

GÖKAY KARAPINAR

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2018



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**BİFOSFONAT KULLANIMINA BAĞLI ÇENELERDE
GÖRÜLEN OSTEONEKROZDA FOTODİNAMİK
TEDAVİNİN ETKİLERİNİN SIÇANLARDA
DEĞERLENDİRİLMESİ**

GÖKAY KARAPINAR

**DANIŞMAN
PROF.DR. MERAL ÜNÜR**

**AĞIZ DİŞ ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI
AĞIZ HASTALIKLARI PROGRAMI**

İSTANBUL-2018

TEZ ONAYI**DOKTORA TEZİ ONAYI**

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Ağız Hastalıkları Programında Doktora öğrencisi 'Gökay KARAPINAR' tarafından Prof. Dr. Meral ÜNÜR 'nın danışmanlığında hazırlanan 'Bifosfonat Kullanımına Bağlı Çenelerde Görülen Osteonekrozda Fotodinamik Tedavinin Etkilerinin Sıçanlarda Değerlendirilmesi' başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 07/01/2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Hayriye Arzu ERGEN
İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar DETAE
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

Jüri-Danışman

Prof. Dr. Meral ÜNÜR
İ.Ü. Diş Hek. Fak.
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi A.D.

Jüri

Doç. Dr. Kıvanç BİKTAS KAYHAN
İ.Ü. Diş Hek. Fak.
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi A.D.

Jüri

Doç. Dr. Hasan GABİR
Marmara Üniversitesi Diş Hek. Fak.
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi A.D.

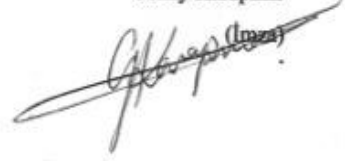
Jüri

Doç. Dr. Ediz DENİZ
Yeditepe Üniversitesi Diş Hek. Fak.
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi A.D.

BEYAN**BEYAN**

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

Gökay Karapınar

 (İmza)

İTHAF

Desteklerini her zaman hissettiğim aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgisi, tecrübesi ve hoşgörüsü ile her zaman bana destek olan değerli hocam, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Meral ÜNÜR' e,

Doktora tezim süresince gerek fikirleriyle, gerekse sonuçların değerlendirilmesinde yoğun temposundan zaman ayırarak büyük emek veren İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü, Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Bilim Dalı Öğretim Üyesi, değerli hocam Sayın Doç. Dr. Vakur OLGAÇ' a,

Tez çalışma konumun oluşmasında bilgisi ve tecrübesiyle yol gösteren, gerekli materyallerin temininde destek olan değerli hocam Sayın Doç. Dr. Kıvanç BEKTAŞ KAYHAN' a,

Deneylerde kullandığımız biyokimyasal parametrelerin belirlenmesi ve değerlendirilmesinde büyük katkısı bulunan, sorularıma içtenlikle yanıt veren ve tezin gelişim sürecinde emekleri bulunan İ.Ü. Aziz Sancar Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Ana Bilim Dalı öğretim üyesi, değerli hocam Prof. Dr. Arzu ERGEN' e,

Deneyler sırasında ve doktora eğitimim süresince yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Dt. Ayşem YURTSEVEN GÜNAY' a, Dt. Yunus Emre YAVUZ' a, Dt. Hasan EKMEKÇİOĞLU' na ve doktoramız süresince en zorlu günlerde dahi hep birbirimize yardımcı olduğumuz kıdemdaşlarıma ve tüm asistan arkadaşlarıma,

Bu uzun ve zorlu süreçte hep yanımda olan değerli aileme,

Her ihtiyaç duyduğumda desteğini yanımda hissettiğim Dt. Aslı YILMAZ' a,

teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 24060

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....	Xİİ
ÖZET.....	Xİİİ
ABSTRACT.....	XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Bifosfonatlar.....	3
2.1.1. Bifosfonatların Tarihçesi ve Gelişimi.....	3
2.1.2 Bifosfonatların Kimyasal ve Moleküler Yapısı.....	3
2.1.3. Bifosfonatların Sınıflandırılması.....	5
2.1.3.1. Kimyasal Yapılarına Göre Bifosfonatların Sınıflandırılması.....	5
2.1.3.2. Jenerasyonlarına Göre Bifosfonatların Sınıflandırılması.....	5
2.1.3.3. Etkinlik Derecelerine Göre Bifosfonatlar.....	5
2.1.3.4. Veriliş Yollarına Göre Bifosfonatlar.....	6
2.1.4. Bifosfonatların Etki Mekanizması.....	7
2.1.5. Bifosfonatların Farmakokinetiği.....	9
2.1.6. Bifosfonatların Farmakodinamiği.....	9
2.1.7. Bifosfonatların Klinik Kullanımı ve Endikasyonları.....	10
2.2. Diğer Antirezorptif ve Antianjiyojenik İlaçlar.....	10
2.3. İlaça Bağlı Çenelerde Görülen Osteonekroz (MRONJ).....	12
2.3.1. MRONJ'un Tarihçesi ve İsimlendirilmesi.....	12
2.3.2. MRONJ'un Tanısı.....	13
2.3.3. MRONJ'un Epidemiyolojisi.....	17
2.3.4. MRONJ'un Etyopatogenezi.....	19

2.3.5. MRNOJ'un Risk Faktörleri ve Önlenmesi.....	20
2.3.5. MRONJ'un Evreleri.....	23
2.3.6. MRONJ'un Tedavisi.....	24
2.3.7. MRONJ'da Kullanılan Serum Biyobelirteçleri.....	26
2.3.7.1. Serum TRACP-5b.....	29
2.3.8. Zoledronik Asit.....	30
2.4. Kemik.....	32
2.4.1. Kemik Dokusunun Genel Özellikleri.....	32
2.4.2. Kemik Hücreleri.....	33
2.4.3. Kemik Oluşumu ve Kemikleşme Türleri.....	34
2.4.3.1. İntramembranöz Kemikleşme.....	34
2.4.3.2. Endokondral Kemikleşme.....	35
2.4.4. Kemiğin Yeniden Şekillenmesi (Remodelling).....	36
2.4.5. Alveolar Kemik ve Diş Çekimi Sonrası İyileşme Süreci.....	36
2.4.5.1. Alveolar Kemik.....	36
2.4.5.2. Diş Çekimi Sonrası İyileşme Süreci.....	37
2.5. Fotodinamik Tedavi.....	39
2.5.1. Fotodinamik Tedavinin Tanımı, Tarihçesi ve Kullanım Alanları.....	39
2.5.2. Antimikrobiyal Fotodinamik tedavi.....	41
2.5.2.1. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavinin Etki Mekanizması.....	41
2.5.2.2. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavinin Konak Üzerine Etkileri.....	42
2.5.2.3. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavinin Kullanım Alanları.....	43
2.5.2.4. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavide Işık Kaynakları.....	46
2.5.2.5. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavide Kullanılan Fotosensitizan Maddeler...48	
2.5.3. ToluidinMavisi.....	50
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	52
3.1. Gereç.....	52
3.1.1. İntraperitoneal Enjeksiyon İçin Zoledronik Asitin Hazırlanması.....	53
3.1.2. Fotodinamik Tedavi İçin FotoSan® 630 Cihazı ve Fotosensitizanı.....	53
3.1.3. Deney Hayvanlarının Ağırlık Ölçümleri İçin Hassas Terazı Kullanılması.....	54
3.1.4. Serum TRACP-5b Ölçümü İçin Örneklerin Hazırlanması.....	55
3.2. Yöntem.....	56
3.2.1. Deney Hayvanları ve Deney Grupları.....	56

3.2.2. Deney Grupları ve Deney Prosedürü.....	57
3.2.3. Histopatolojik Değerlendirme.....	64
3.2.3.1. Histopatolojik Değerlendirme İçin Preperatların Hazırlanması.....	64
3.2.3.2. Histopatolojik Değerlendirme Kriterleri.....	64
3.2.4. Histomorfometrik Değerlendirme.....	64
3.2.5. İstatistiksel Değerlendirme.....	65
4.BULGULAR.....	66
4.1. İstatistiksel Bulgular.....	65
4.2. Histopatolojik Bulgular.....	73
5.TARTIŞMA.....	77
6.KAYNAKLAR.....	89
HAM VERİLER.....	108
ETİK KURUL KARARI.....	110
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	111
ÖZGEÇMİŞ.....	112

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2-1: Bifosfonat dışındaki antirezorptif ve antianjiyojenik ilaçların etken maddeleri, etki mekanizmaları, endikasyonları tablosu (Poxleitner ve ark. 2017).....	11
Tablo 2-2: MRONJ'un evreleri (AAOMS 2014 pozisyon belgesine göre) (Ruggiero ve ark. 2014).....	22
Tablo 4-1. Gruplar arasında nekroz ve epitel açıklığının karşılaştırılması.....	66
Tablo 4-2: Z.A. grupları ve pozitif kontrol grubu arasında nekroz ve epitel açıklığının karşılaştırılması.....	66
Tablo 4-3: Gruplar arasında enflamasyon ve yeni kemik oluşumu derecelerinin karşılaştırılması.....	67
Tablo 2-4: Z.A. grupları ve pozitif kontrol grubu arasında enflamasyon ve yeni kemik oluşumu derecelerinin karşılaştırılması.....	68
Tablo 4-5: Sıçanların ağırlık değişiminin gruplar arasında karşılaştırılması.....	68
Tablo 4-6: Z.A. grupları ve pozitif kontrol grubu arasında sıçanların ağırlık değişiminin karşılaştırılması.....	69
Tablo 4-7: Serum TRACP-5b sonuçlarının gruplar arasında karşılaştırılması.....	70
Tablo 4-8: Serum TRACP-5b sonuçlarının Z.A. grupları ve pozitif kontrol grubu arasında karşılaştırılması.....	71

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Bifosfonatların moleküler yapısını belirleyen bölgeler gösterilmiştir (De ponte 2012).....	4
Şekil 2-2: Bifosfonatların kimyasal yapısında nitrojen ya da amino grubu mevcut ise ‘nitrojen içeren bifosfonat’ terimi kullanılabilir.....	5
Şekil 2-3: Bifosfonatların etki gücü karşılaştırması (De Ponte 2012).....	6
Şekil 2-4 : Bifosfonatlar osteoklast apoptozisine yol açarak etkilerini gösterirler (De ponte 2012).....	7
Şekil 2-5: Osteoklastın yapısı.....	8
Şekil 2-6: Osteonekrozun progresif ilerleyişi (Prof. Dr. Meral ÜNÜR ve Doç. Dr. Kıvanç BEKTAŞ KAYHAN ‘ın arşivinden).....	15
Şekil 2-7: Sağ üst çenede antiseptic gargara ve antiseptic emdirilmiş gaz tampon ile konservatif olarak tedavi edilen MRONJ lezyonu görülmektedir (Mücke ve ark. 2016b).....	16
Şekil 2-8: Alt çenedeki MRONJ lezyonunun aksiyal kesit BT görüntülemesi ve kronik enfeksiyona bağlı oluşan ağız dışı füstül görülmektedir(Mücke ve ark. 2016b).16	
Şekil 2-9: Zoledronik asitin molekül formülü şekilde görülmektedir.....	30
Şekil 2-10: Diş çekimi sonrası iyileşme seçenekleri (Cohen ve Cohen-Levy 2014).....	38
Şekil 2-11: Yara iyileşmesi evreleri (Cohen ve Cohen-Levy 2014).....	38
Şekil 2-12: Fotodinamik tedavi reaksiyonu şeması (Konopka ve Goslinski 2007).....	40
Şekil 2-13: Toluidin mavisi (Wilson ve ark. 2004).....	51
Şekil 3-1: FDT uygulamasında kullandığımız Fotosan 630 ışık cihazı.....	53
Şekil 3-2: FDT ışık cihazına ait 8mm’lik künt uç.....	54
Şekil 3-3: Sıçanların hassas terazide ağırlık ölçümleri.....	55
Şekil 3-4: Sakrifikasyon sonrası serum TRACP-5b ölçümü için alınan kan örnekleri.....	56
Şekil 3-5: Deney grubundaki hayvanlara 6 hafta boyunca intraperitoneal enjeksiyonlar gerçekleştirilmiştir.....	58
Şekil 3-6: Diş çekimleri anestezi altında uygun forsepsler ile gerçekleştirilmiştir.....	59
Şekil 3-7: Diş çekimi sonrası çıkarılan üst 1. büyük azı dişi.....	59

Şekil 3-8: Fotosensitizan madde (0,1 mg/ml Toluidn mavisi) uygulandıktan sonra ışık kaynağı ile 40 sn ışık uygulanmıştır.....	60
Şekil 3-9: Sakrifikasyon sonrası 1. grup (negatif kontrol)'taki sıçalarda açığa çıkmış kemik yüzeyi ve MRONJ lezyonları görülmektedir.....	61
Şekil 3-10: Sakrifikasyon sonrası 2.grup (FDT)'a ait çekim yapılan bölgelerdeki kemiğin üzerinde kısmen epitelize olmuş düzensiz iyileşme dokusu görülmektedir.....	62
Şekil 3-11: Sakrifikasyon sonrası mukozanın tamamen kapandığı 3. Grup(pozitif kontrol)'e ait ağız içi görünüm.....	63
Şekil 4-1: Grupların MRONJ tanısı yüzdeleri.....	65
Şekil 4-2. Sıçanların ağırlık değişiminin gruplar arasında karşılaştırılması.....	69
Şekil 4-3: Sıçanların ağırlık değişiminin Z.A. grupları ve pozitif kontrol grubu arasında karşılaştırılması.....	70
Şekil 4-4. Serum TRACP-5b sonuçlarının gruplar arasında karşılaştırılması.....	71
Şekil 4-5. Serum TRACP-5b sonuçlarının Z.A. grupları ve pozitif kontrol grubu arasında karşılaştırılması.....	72
Şekil 4-6 : 1.Grupta (negatif kontrol) çekim soketinin üzerindeki çok katlı yassı epitel yara yüzeyini kapatamamıştır. Yüzeyde debris ve nekrotik kemik parçaları görülmektedir. Derinde geniş alanlar kaplayan nekrotik kemik ve çevrede yoğun lenfoplazmositer hücre infiltrasyonu ve mikroorganizma kolonileri vardır (H&EX40).	73
Şekil 4-7: 2. Grupta yüzey epitelinin yara yüzeyini kısmen kapattığı izlenmektedir. Altında lenfoplazmositer hücre infiltrasyonu içeren bağ dokusu içinde nekrotik kemik dokuları görülmektedir (H&E X40).....	74
Şekil 4-8: 2. Grupta(FDT Grubu) fokal nekrotik alan çevresinde, aktif fibroz doku içinde yeni kemik trabekülleri (H&E X400).....	75
Şekil 4-9 : 3. Grupta (pozitif kontrol) çok katlı yassı epitelyum yara yüzeyini büyük ölçüde kapatmıştır. Yüzey epitelinin, altında az miktardaki nekrotik kemik parçalarını çevreler tarzda derine doğru proliferasyonu dikkati çekmektedir. Sağlam kemik dokusu içinde osteoklastik aktivite – remodelling ve yeni kemik trabekülleri izlenmektedir (H&E X 40).....	75
Şekil 4-10: 3. Grupta sağlam kemik dokusu içinde osteoklastik aktivite – remodelling (H&E X400).....	76

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

BF : Bifosfonat

Z.A.: Zoledronik asit

FDT: Fotodinamik Tedavi

PDT: Photodynamic therapy

aFDT: Antimikrobiyal fotodinamik tedavi

BT: Bilgisayarlı tomografi

CBCT: Cone beam computed tomography (Konik ışınli bilgisayarlı tomografi)

MR: Manyetik rezonans

MRONJ: Medication-related osteonecrosis of the jaw (İlaç kullanımına bağılı çenelerde görülen osteonekroz)

TRACP-5b: Tartrate-resistant acid phosphatase-5b

RANKL: Receptor activator of nuclear factor- κ B

OPG: Osteoprotegerin

IV: Intra venöz

IM: Intra musküler

AAOMS: American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons

FDA: Food and Drugs Administration

LED: Light emitting diode

ÖZET

Karapınar, G. (2018). Bifosfonat kullanımına bağlı çenelerde görülen osteonekrozda fotodinamik tedavinin etkilerinin sıçanlarda değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız Diş Çene Cerrahisi ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Bifosfonatlar inorganik pirofosfatların sentetik analogları olup, osteoklastların yol açtığı kemik yıkımını baskılayan ilaçlardır. 2003 yılında bifosfonat kullanımına bağlı çenelerde görülen osteonekroz (BRONJ) tanımı ilk olarak yapılmıştır ve 2014 yılından itibaren ilaç kullanımına bağlı çenelerde görülen osteonekroz (MRONJ) adıyla kapsamı genişletilmiştir. Çalışmamızda diş çekimi sonrası MRONJ modeli oluşturulan sıçanlarda, fotodinamik tedavinin etkilerinin, doku örneklerinde histopatolojik ve histomorfometrik inceleme ve serum TRACP-5b ölçümü ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

MRONJ çenelerde görülen antirezorptif veya antianjiyojenik ilaç kullanımına bağlı, radyoterapi görmemiş hastalarda, 8 haftadan uzun süren iyileşmeyen ekspoze kemik varlığı olarak tanımlanmaktadır.

20. yüzyılın başlarından bu yana fotodinamik tedavinin (FDT) medikal kullanımı başlamış, son yıllarda ise gelişen teknoloji ile özellikle mikroorganizmalar ve tümörler üzerinde etkisi ile önemli bir tedavi seçeneği haline gelmiştir. Fotodinamik tedavi kısaca hücrelerin, mikroorganizmaların veya moleküllerin ışık aracılığıyla inaktivasyonu olarak tanımlanabilir.

Çalışmamızda 24 adet Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan 8'er hayvandan oluşan 3 gruba ayrılmıştır. 1. ve 2. gruba 6 hafta boyunca zoledronik asit, 3. gruba ise %0,9 sodyum klorür solüsyonu intraperitoneal yolla uygulanmıştır. Enjeksiyonlar tamamlandıktan sonra diş çekimleri gerçekleştirilmiştir. 2. gruba diş çekimi sonrası 2 hafta süresince haftada 3 kez fotodinamik tedavi uygulanmış ve takip edilmiştir. 16. hafta sonunda sakrifikasyon gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak fotodinamik tedavinin epitel açıklığı ve enflamasyonda azalmaya, yeni kemik oluşumunda artışa yol açtığı bulunmuştur. Serum TRACP-5b değerlerinin osteonekroz varlığında anlamlı derecede azaldığı gösterilmiştir. Öncü bir çalışma olan bu tez çalışmasında FDT' nin MRONJ' un önlenmesinde faydalı olabileceği gösterilmiştir. İlave hayvan ve insan çalışmaları ile elde edilen bulguların doğrulanması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Bifosfonat, Fotodinamik Tedavi, Osteonekroz, MRONJ, Biyobelirteç

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 24060

ABSTRACT

Karapınar, G. (2018). Evaluation of effects of photodynamic therapy on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in rats. Istanbul University Institute of Health Sciences, Department of Oral and Maxillofacial Surgery. PhD Thesis. Istanbul. 2018.

Bisphosphonates are synthetic analogs of inorganic pyrophosphate and are drugs that suppress bone destruction caused by osteoclasts. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ) was first introduced in 2003 and its scope was expanded by the name medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ), since 2014. The aim of this study was to evaluate the effects of photodynamic therapy on tissue samples by histopathological and histomorphometric examination and serum TRACP-5b (Tartrate-resistant acid phosphatase-5b) measurement in rats.

MRONJ is defined as a non-healing exposed bone presence in the jaw that lasts longer than 8 weeks in patients without radiotherapy due to the use of antiresorptive or antiangiogenic drugs.

Since the beginning of the 20th century, medical use of photodynamic therapy (PDT) has started and in recent years, it has become an important treatment option especially with its effect on microorganisms and tumors. Photodynamic therapy can be described briefly as inactivation of cells, microorganisms, or molecules through the light.

In this study, 24 Sprague-Dawley male rats were divided into 3 groups consisting of 8 animals. Zoledronic acid was administered to group 1 and 2 and 0.9% sodium chloride was administered to group 3 intraperitoneally. After the injections were completed, dental extractions were performed. Photodynamic therapy was applied to group 2, three times a week for 2 weeks after the extraction. At the 16th week, sacrifice was performed. As a result, photodynamic therapy has led to a decrease in epithelial opening and inflammation and an increase in the formation of new bone. Serum TRACP-5b values were shown to decrease significantly in osteonecrosis. In this study, PDT was shown to be useful for the prevention of MRONJ. Additional animal and human studies should confirm the findings.

Key Words: Bisphosphonate, Photodynamic therapy, Osteonecrosis, MRONJ, Biomarker

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No: 24060

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bifosfonatlar inorganik pirofosfatların sentetik analogları olup, osteoklastların yol açtığı kemik yıkımını baskılayan ilaçlardır. Bifosfonatlar günümüzde osteoporoz, malign hastalıkların kemik metastazları ve metabolik kemik hastalıklarının(Paget hastalığı, Osteogenezis İmperfekta, Primer Hiperparatroidizm) tedavisinde ve önlenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (Jang ve ark. 2013).

2003 yılında bifosfonat kullanımına bağlı çenelerde görülen osteonekroz(BRONJ) tanımı ilk olarak Marx tarafından yapılmıştır ve 2014 yılından itibaren ilaç kullanımına bağlı çenelerde görülen osteonekroz (MRONJ) adıyla kapsamı genişletilmiştir. MRONJ çenelerde görülen antirezortif veya antianjiyojenik ilaç kullanımına bağlı, radyoterapi görmemiş hastalarda, 8 haftadan uzun süren iyileşmeyen eksoze kemik varlığı olarak tanımlanmaktadır.

MRONJ patogenezi henüz tamamen anlaşılmış değildir. Normal kemik döngüsünün bozulması, anjiyogenezisin ve yara iyileşmesinin problemli olması, genetik polimorfizm ve mikrobiyal biyofilm gibi birçok lokal veya sistemik faktöre bağlı olabilir (Sharma ve ark. 2013). Kyrgidis ve ark. (2008) diş çekimi başta olmak üzere invaziv dental tedavilerin MRONJ gelişiminde en önemli faktörlerden biri olduğunu belirtmiştir. MRONJ’da en önemli nokta önleyici ve koruyucu yaklaşımlardır. MRONJ lezyonu meydana geldikten sonra kesin ve etkili bir tedavi seçeneği henüz bulunmamaktadır (Jang ve ark. 2013).

MRONJ geliştikten sonrasında tedavi süreci uzun ve zorlu olabilmektedir. Hastanın hayat kalitesi önemli derecede düşmektedir. MRONJ oluşumunun önlenmesi için dental cerrahi işlemler sonrasında mukoperiostal flap ile cerrahi alanın primer olarak kapatılması ve işlem öncesi ve sonrası antibiyotik kullanımı, ağız içi antimikrobiyal gargaraların kullanımı ile MRONJ gelişme riski azaltılmıştır ancak bu önlemler her zaman yeterli olmamaktadır.

Fotodinamik tedavinin 20. yüzyılın başlarından bu yana tıp alanında kullanımı başlamış, son yıllarda ise gelişen teknoloji ile birlikte farklı alanlarda kullanılan önemli bir tedavi seçeneği haline gelmiştir. Fotodinamik tedavi kısaca hücrelerin, mikroorganizmaların veya moleküllerin ışık aracılığıyla inaktivasyonu olarak tanımlanabilir. Etki etmesi istenilen alana toksik olmayan bir fotosensitizan maddenin uygulanıp, üzerine belirli bir dalga boyunda ışığın verilerek singlet oksijen ve hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen moleküllerinin oluşması sonucu etkisi oluşur. Reaktif oksijen molekülleri nekroz ve/veya apoptozis sonucu hücre ölümüne yol açmaktadır (Agostinis ve ark. 2011).

MRONJ’da fotodinamik tedavinin kullanımına ilişkin araştırmalar literatürde az sayıdaki olgu sunumu ve iki adet hayvan çalışmasıyla sınırlıdır. Rugani ve ark. (2013)’nın olgu sunumunda,

fotosensitizan madde olarak metilen mavisi kullanılarak ve 680 nm dalga boyunda ışık uygulanarak MRONJ semptomlarının ortadan kalktığı gözlemlenmiştir.

Çalışmamızda MRONJ modeli oluşturulan sıçanlarda diş çekimi sonrası fotodinamik tedavinin(Fotosan 630, CMS Dental, Kopenhag, Danimarka) etkilerinin, alınan örneklerde Hematoksilen Eozin(HE) boyasıyla histopatolojik inceleme yapılması, Olympus analySIS 5 (Tokyo – Japan) görüntü analiz programı kullanılarak histomorfometrik inceleme yapılması ve serum TRACP-5b biyobelirteci seviyelerinin ELISA kiti ile ölçülmesi ile değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bifosfonatlar

2.1.1. Bifosfonatların Tarihçesi ve Gelişimi

Kimyasal olarak bifosfonatların(BF) ilk olarak sentezlenmesi 1800'lü yıllara dayanmaktadır (Russel 2011). İnsanda ilk olarak kullanılan BF olan 'etidronat' 100 yıl önce sentezlenmiştir (Russel 2011).

BF'lerin erken dönemde kullanım alanları tekstil, gübre ve petrol endüstrisi gibi çok farklı alanlarda olmuştur (Blomen 1995).

1960'lı yıllara gelindiğinde Fleisch ve Neumann tarafından in vitro deneyler yapılmıştır.

1969 yılında BF' nin insanda kullanımı ilk olarak gerçekleşmiştir. Progresif ossifikans fibrodisplazi (FOP) adı verilen hastalığın tedavisinde etidronat kullanılmış ve Lancet dergisinde yayınlanmıştır.

1971 yılında Smith ve ark. tarafından Paget hastalığının tedavisinde etidronat kullanılmıştır (Russel 2011).

BF'nin ilk geliştirilme döneminde öncelikle kalsifikasyon inhibitörleri olduğu varsayımı üzerine çalışmalar yapılmıştır (Fleisch ve ark.1970). Erken dönem çalışmalarda BF'nin pirofosfatlar gibi hidroksiapatit kristallerine bağlandığı bulunmuştur (Fleisch ve ark. 1969). Önemli kırılma noktalarından birisi, sonraki çalışmalarda BF'nin kemik rezorpsiyonunu inhibe ettiğinin bulunmasıdır ve bunun üzerine kemik hastalıklarının tedavisi üzerine çeşitli deneysel modeller geliştirilmeye başlanmıştır (Russel ve ark. 1970).

İlerleyen yıllarda bifosfonatların osteoklast aktivitesini inhibe edici ve antianjiojenik özelliklerinin keşfedilmesiyle, prostat, meme, akciğer kanserleri gibi solid tümörlerin kemik metastazlarında, multiple miyeloma gibi onkolojik hastalıklarda ve osteoporoz, Paget hastalığı, osteopeni, osteogenezis imperfekta gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (Russel ve ark. 2007).

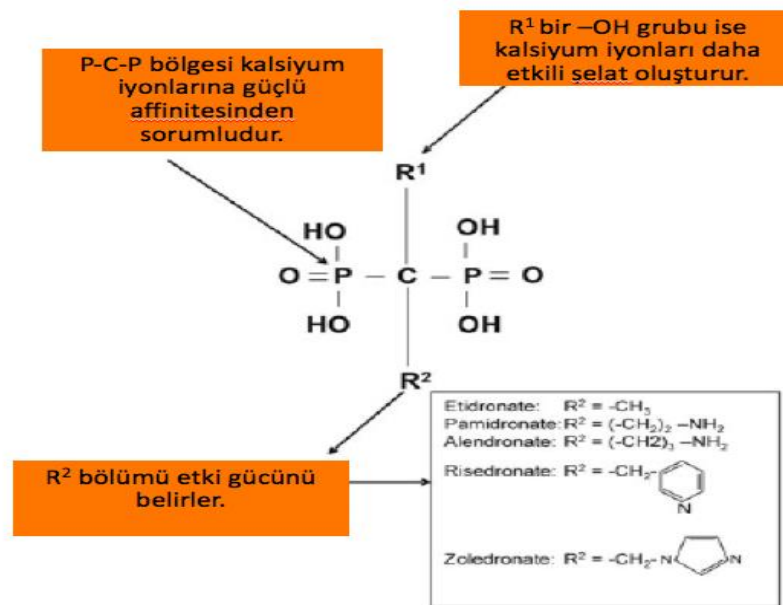
2.1.2. Bifosfonatların Kimyasal, Moleküler Yapısı

BF'lar kemik hücrelerinin morfolojisini ve aktivitesini çeşitli yollarla etkileyen kemoterapötik antirezorptif ilaçlardır (Zara ve ark. 2015; Donetti ve ark. 2014).

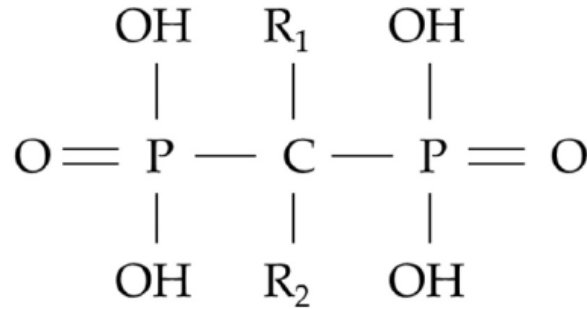
BF merkezi bir karbon atomuna bağlı bir hidroksil grubu ile kalsiyuma bağlanma yeteneği oluşturmakta, karbon atomunun diğer tarafında ise ilacın hidroksiapatite afinitesinden sorumlu fosfonat grubu bulunur (Şekil 2-1).

Moleküler yapısında eğer bir nitrogen ya da amino grubu mevcut ise ‘Nitrojen içeren bifosfonatlar olarak isimlendirilir (Şekil 2-2). Nitrojen içeren bifosfonatlar, nitrojen içermeyen BF gruplarına göre 10 ile 10,000 kez daha güçlü ilaçlardır (Drake ve ark. 2008). Etki gücü en yüksek nitrojen içeren BF zoledronik asittir (Zafar ve ark. 2016).

Şekil 2-1 : Bifosfonatların moleküler yapısını belirleyen bölgeler gösterilmiştir (De ponte 2012).



Şekil 2-2: Bifosfonatların kimyasal yapısında nitrojen ya da amino grubu mevcut ise ‘nitrojen içeren bifosfonat’ terimi kullanılabilir.



2.1.3. Bifosfonatların Sınıflandırılması

2.1.3.1. Kimyasal Yapılarına Göre Bifosfonatların Sınıflandırılması

Bifosfonatlar kimyasal yapılarına göre nitrojen içeren ve nitrojen içermeyen bifosfonatlar olmak üzere 2 ana gruba ayrılır (Goodman ve Gilman 2006):

Nitrojen içermeyen bifosfonatlar (alkil bifosfonatlar): Etidronat, klodronat, tiludronattır.

Nitrojen içeren bifosfonatlar (aminobifosfonatlar): Alendronat, pamidronat, ibandronat, risedronat ve zoledronat’tır.

2.1.3.2. Jenerasyonlarına Göre Bifosfonatların Sınıflandırılması

Bifosfonatlar jenerasyonlarına göre başlıca 3 gruba ayrılmaktadır (Goodman ve Gilman 2006):

1. jenerasyon: R2 yan zincirinde alkil türevi bulunan etidronatın, klor türevi bulunan klodronatın ve klorofenil grubu bulunan tiludronatın temsil ettiği gruptur. Bu bifosfonatların etkinliği daha azdır ve zayıf bir antirezorptif aktiviteye sahiptir.
2. jenerasyon: Nitrojen içeren aminobifosfonatlardan alendronat ve pamidronatın temsil ettiği gruptur.
3. jenerasyon: Nitrojen içeren aminobifosfonatlardan olan ibandronatın, zoledronatın ve risedronatın temsil ettiği gruptur.

2.1.3.3. Etkinlik Derecelerine Göre Bifosfonatlar

1. jenerasyondan 3. jenerasyona kadar her geliştirilen bifosfonat bir öncekiyle antirezorptif etkiye yönelik karşılaştırılmıştır (Kanakakis ve ark. 2005). Bifosfonatların

etkileri ilk çıkarılan ve nitrojen içermeyen bifosfonat olan etidronat baz alınarak değerlendirildiğinde, kemik rezorpsiyonunu inhibe etme derecesi etidronatın 1 birim kabul edilirken, bu etki klodronatta 10, tiludronatta 50, alendronat, risedronat ve ibandronatta 1000, pamidronatta 1000-5000, zoledronatta ise 10.000+ birim olarak kabul edilmektedir (Marx 2011). Diğer bir çalışmada ise yukarıdakinden farklı olarak, etki güçleri sıralanırken klodronat 1 birim olarak baz alınmış ve sıralama aşağıdaki gibi oluşmuştur.

Şekil 2-3: Bifosfonatların etki gücü karşılaştırması (De Ponte 2012).

Klodronat	Cl	Cl	1
Pamidronat	OH	$(CH_2)_2 - NH_2$	10
Alendronat	OH	$(CH_2)_3 - NH_2$	100
İbandronat	OH	$\begin{array}{c} (CH_2)_2 - NCH_3 \\ \\ (CH_2)_4 - CH_3 \end{array}$	500
Zoledronat	OH	$CH_2 -$ 	1000

2.1.3.4. Veriliş Yollarına Göre Bifosfonatlar

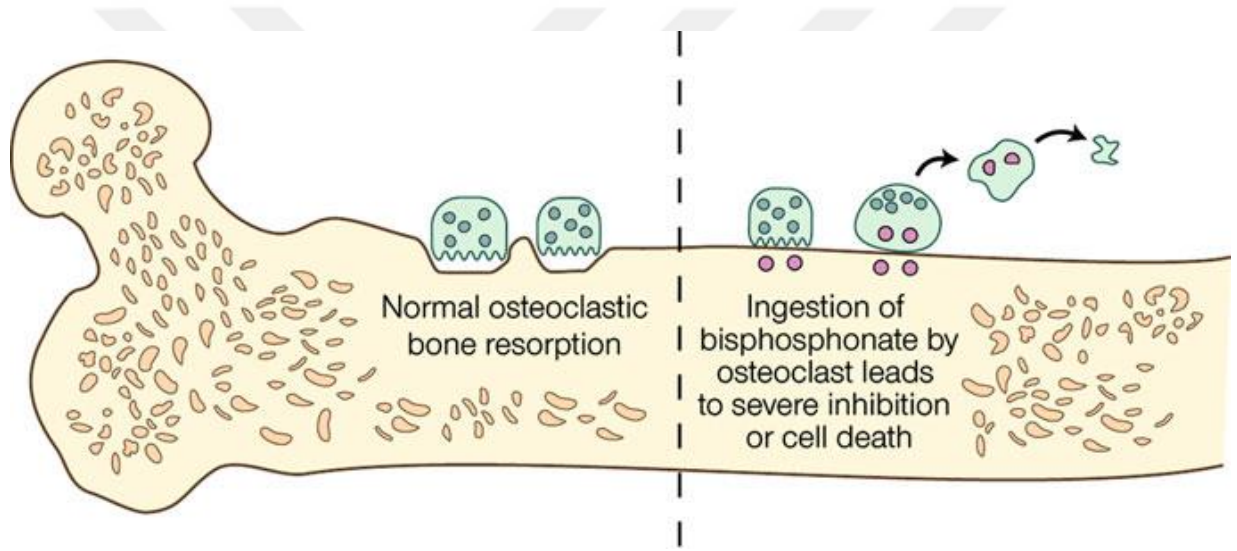
Günümüzde çeşitli ülkelerde kullanım ruhsatı almış bilinen en az 11 bifosfonat türü ilaç mevcuttur. Bunlar etidronat, klodronat, tiludronat, pamidronat, alendronat, ibandronat, risedronat, zoledronat ve limitli kullanıma sahip olpadronat, neridronat ve minodronat olarak sıralanabilir.

Veriliş yollarına göre temel olarak oral ve parenteral olarak ele alınırlar. Oral yoldan verilen bifosfonatlar; alendronate, etidronat, risedronat iken, hem oral hem de parenteral yol ile verilen bifosfonat, ibandronat ve klodronattır. Oral yoldan alındıklarında çok az absorbe olan ve fazla yan etkiye sahip ilaçlar parenteral yol ile verilirler (Goodman ve Gilman 2006).

2.1.4. Bifosfonatların Etki Mekanizması

Nitrojen içeren BF'lar intrasellüler mevalonat yolağının enzimlerini inhibe ederek osteoklastların hayatta kalmasına ve kemiği rezorbe etme yeteneğine engel olur (Jobke ve ark. 2014).

Şekil 2-4 : Bifosfonatlar osteoklast apoptozisine yol açarak etkilerini gösterirler (De ponte 2012).



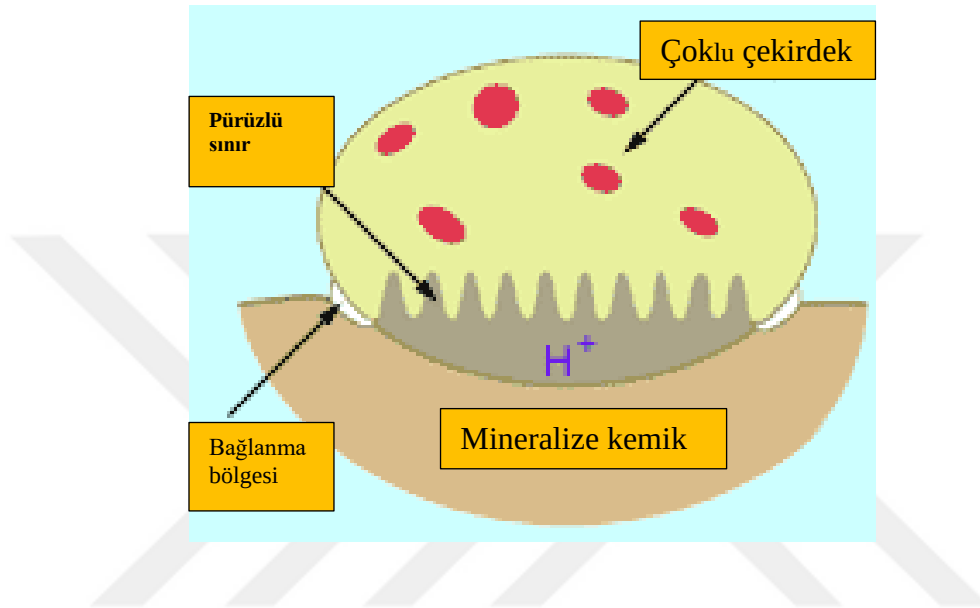
BF'ler osteoklast formasyonunu önler, fenotipini ve fonksiyonunu bozar ve apoptozisi teşvik eder (Sharma ve ark., 2013; Gong ve ark. 2011; George ve ark. 2018). Kalsiyum iyonları ile şelat oluşturur ve hidroksiapatite bağlanarak osteoklastların prekürsör hücrelerinin oluşumunu önleyen faktörler açığa çıkarır (Zara ve ark., 2015).

Osteoklastlar multisellülerdir ve aşağıdaki özelliklere sahiptir:

- a) Kemiğin yıkılması için protein ve asitleri içeren dalgalı sınır yapısı (Stenbeck 2002),
- b) Kemik yıkım ürünlerinin intrasellüler olarak taşındığı intrastoplazmik veziküller (Galvao ve ark., 2011),

c) Plazma membranının kemiğe yapıştığı bölgeleri çevreleyen, yüzük şekilli ve aktinden zengin bağlanma bölgeleri (Teti ve ark., 1991; Matsumoto ve ark., 2013) .

Şekil 2-5: Osteoklastın yapısı



BP osteoklastların boyutunda ve çekirdek sayısında artışa yol açar, osteoklastın dalgalı sınır bölgesini bozar, intrastoplazmik veziküllerin oluşumunu önler ve bağlanma bölgelerinde ayrılmalara yol açar. (Jobke ve ark. 2014) Ayrıca nitrojen içeren bifosfonatlar, ‘farnesil pirofosfat sentaz’ enziminin sentezini yapan mevolonat yolağını(pathway) engeller.

BF osteoblastları da etkiler. Yüksek dozda BF uygulamasının ($\geq 10^{-5}$ M) osteoblast hücre döngüsünü bozduğu ve apoptozise yol açtığı, bunun sonucunda da osteoblast proliferasyonunun azaldığı görülmüştür. Düşük dozlarda BP uygulamasında ($\sim 10^{-9}$ – 10^{-6} M) ise osteoblastlar üzerinde daha az olumsuz etkiye yol açtığı gösterilmiştir (Zara et al., 2015; Manzano-Moreno ve ark. 2015).

Kemik yoğunluğunu arttırmayı hedefleyen bazı çalışmalarda, nitrojen içeren bifosfonatların osteoblastları proliferasyon fazından, proliferasyonun olmadığı matriks olgunlaşması fazına taşıdığı bulunmuştur. Bu da daha yüksek yoğunlukta ama daha az proliferasyon yapabilen bir kemik oluşumuna yol açar. Diğer taraftan aynı çalışmada nitrojen içermeyen bifosfonatların(clodronate) osteoblastların cyclin D1 ve tip 1 kollajen gen ekspresyonları ve sonucunda da osteoblast aktivitesi üzerinde herhangi bir etki yapmadığı bulunmuştur (Koch ve ark. 2010).

Nitrojen içermeyen bifosfonatlar (etidronat, klodronat ve tiludronat) ilk jenerasyon bifosfonatlar olarak bilinirler. Erken dönemlerde kullanılan ve nitrojen içermeyen bifosfonatların aksine ikinci ve üçüncü jenerasyon bifosfonatlar (aledronat, risedronat, ibandronat, pamidronat ve zoledronik asit) osteoklast apoptozisine yol açarlar (Drake ve ark. 2008).

2.1.5. Bifosfonatların Farmakokinetiği

Farmakokinetik çalışmalarında tüm bifosfonatların kemiğe yüksek afinitesi olduğu ve düşük intestinal absorpsiyona sahip olduğu bulunmuştur (Reid ve ark. 2002). İskelet sistemi tarafından depo edilen ilaç seviyeleri böbrek fonksiyonu, kemik turnover kapasitesi ve kemik mineral afinitesi ile ilişkilidir. İskelet sistemi yüksek BF tutma kapasitesine sahiptir ve ana BF eliminasyonu böbrekler aracılığıyla sağlanır (Drake ve ark. 2008).

Nitrojen içermeyen BF'lar sitotoksik ve nonhidrolize ATP analoglarına metabolize olurlar (Lin 1996). Bu toksik yan ürünlerin birikimi mitokondriyal fonksiyonu etkiler ve sonucunda da osteoklastların apoptozisine yol açar.

Nitrojen içeren BF'larda ise böbreklerden değişmeden doğrudan atılım gerçekleşir. Oral yolla kullanılan bifosfonatlar tipik olarak biyoyararlanımının düşmemesi için aç iken kullanımı önerilmektedir (Rossini ve ark. 2006).

2.1.6. Bifosfonatların Farmakodinamiği

BF'lar seçici olarak kemiğin aktif remodeling bölgelerindeki yüzeylere bağlanırlar ve endositoz ile osteoklastların içerisine girerler (Yood ve ark. 2003).

Nitrojen içermeyen BF'larda sitotoksik ATP analogları oluşturarak mitokondriyal fonksiyonun bozulması ve osteoklastların apoptozisi ile kemik rezorpsiyonu inhibe olur (Lin 1996).

Nitrojen içeren BF'larda ise intrasellüler mevolonat yolağının kilit enzimleri inhibe edilerek osteoklastların yaşaması için ve kemik rezorpsiyonu için gerekli olan küçük GTPazların frenilasyonu ve aktivasyonunu engellenir. Mevolonat yolağı kolesterol, diğer steroller ve izoprenoid lipidlerin üretiminden sorumlu biyosentetik bir yoldur. Bazı izoprenoid lipidler (farnesil pirofosfat ve geranil- geranil pirofosfat) Ras, Rho, Rab ve Cdc42 gibi küçük GTPazların frenilasyon ve aktivasyonu için elzemdir. Bu küçük GTPazlar osteoklast morfolojisi, iskeletsel düzenlemeler, membran dalgalanması ve hücre yaşamında önemli

sinyal proteinleridir. Yapılan çalışmalar FDPS (farnesil pirofosfat sentaz) inhibisyonunun nitrojen içeren bifosfonatların kemik resorpsiyonundaki etkisindeki temel mekanizma olduğu göstermiştir (Drake ve ark. 2008).

2.1.7. Bifosfonatların Klinik Kullanımı ve Endikasyonları

Bifosfonatların ilk klinik kullanımı kalsifikasyon inhibitörü olarak olmuştur. Etidronat bu amaçla ilk olarak fibrodisplazi ossifikans progresiva (FOP, eski adı miyozitis ossifikans) hastalığının tedavisinde kullanılmıştır (Smith 1995). Etidronat total kalça replasmanı cerrahisi olan hastalarda heterotopik ossifikasyonu önlemede ve mobilitiyi artırma amaçlı kullanılmıştır (Bijvoet ve ark. 1974). Yine erken dönem deneysel çalışmalarda diş taşlarını önlemek için diş macunu içerisine katılarak topikal kullanımına ilişkin denemeler yapılmıştır. Diğer bir erken dönem çalışmasında, kemik metastazlarının görüntülenmesinde yüksek kemik afinitesi nedeniyle gamma-emitting technetium izotopu ile uygulaması yapılmıştır (Francis ve Fogelman 1987).

Bifosfonatlar günümüzde çok geniş bir yelpazede kemik ilişkili hastalıklarda kullanılmaktadırlar. Sıklıkla kullanıldığı hastalıklar: Osteoporoz (juvenil, postmenopozal veya senil, glukokortikoidlerle ya da organ nakli ilişkili, androjen yoksunluğuna bağlı olarak), Paget hastalığı, metastatik kemik hastalıkları, Multipl Myelom, Osteogenezis Imperfekta, malignensiye bağlı hiperkalsemi olarak sayılabilir.

Uygulama yolu olarak genellikle oral ve parenteral yol kullanılmaktadır. Son yıllarda transdermal yol gibi farklı yöntemler de araştırılmaktadır (Russel 2011).

2.2. Diğer Antirezorptif ve Antianjiyojenik İlaçlar

Denosumab (anti-receptor activator of nuclear factor kappa ligand(RANKL)-antikoru) osteoklast fonksiyonunu inhibe eden, kemik rezorpsiyonunu azaltan ve kemik yoğunluğunu arttıran antirezorptif bir ilaçtır. Genellikle osteoporozlu veya metastatik kemik hastalığı bulunan hastalarda uygulanır. Denosumab bifosfonatların istenmeyen yan etkilerine güçlü bir alternatif olarak sunulan bir ilaçtır. Ancak ilacın kullanımıyla beraber denosumabın da osteonekroza yol açtığı ortaya çıkmıştır (Rosella ve ark. 2016).

Antianjiyojenik ilaçlar ise damar gelişimini engeller ve anjiyogenezis sinyal kaskadını bloke eder. Bu ilaç grubu kendi içerisinde iki kısımda incelenebilir. Monoklonal antikolar ile büyüme faktörü ya da reseptörünü durduran (bevacizumab), diğer grupta ise tirozin kinaz reseptörüne bağlanan (sunitinib ve sorafenib) (Rosella ve ark. 2016).

Tablo 2-1: Bifosfonat dışındaki antirezortif ve antianjiyojenik ilaçların etken maddeleri, etki mekanizmaları, endikasyonları tablosu (Poxleitner ve ark. 2017).

Etken madde	Etki mekanizması	Endikasyonları
Denosumab	25-32 gün yarılanma ömürlü anti-RANKL antikoruna ile etki eder.	-Kemik metastazlarında iskelet ilişkili olayların önlenmesinde -Postmenopozal osteoporozda
Bevacizumab	VEGF antikoruna ile etki eder.	-Metastatik kolon kanseri -Glioblastoma -Metastatik küçük hücreli olmayan bronş kanseri -Metastatik renal hücreli kanser -Over kanseri ve maküler dejenerasyonu
Sunitinib	Tirozin kinaz inhibitörleri ile etki eder.	-Metastatik renal hücreli kanser -Gastrointestinal stromal tümörler
Everolimus, sirolimus, temsirolimus	Mekanik rapamisin hedeflerinin büyüme faktörleri ve protein transkripsiyon yollarına müdahalesi	-Metastatik renal hücreli kanser -Hormon pozitif meme kanseri -Pankreasın nöroendokrin tümörleri - Organ nakli immünsüpresyonunda

Denosumab tedavisi özellikle osteoporotik hastalarda kırıkların önlenmesinde ve solid tümörlere bağlı oluşan metastatik kemik hastalıklarında klinik kullanımı tercih edilmektedir (Tablo 2-1). Multipl myelomda ise denosumab endike değildir (Poxleitner ve ark. 2017).

Antianjiyojenik ilaç grubu ise yeni kan damarlarının oluşumunu çeşitli sinyal moleküllerine bağlanarak ve anjiyogenezis sinyal kaskadını bozarak inhibe eder. Antianjiyojenik ilaçlar gastrointestinal tümörlerde, böbrek hücreli karsinomlarda, nöroendokrin tümörlerde ve diğer malignansilerde kullanılabilmektedir (Tablo 1).

Önceleri çene kemiklerindeki osteonekroz riskinin bifosfonat kullanımıyla ilişkili olduğu düşünülmekteydi. Denosumabın ve yeni antianjiyojenik ilaçların piyasaya çıkmasıyla birlikte bu durum değişmiştir ve karmaşık bir hal almıştır. Denosumabın osteonekroz ile ilişkisi kabul görmekle birlikte antianjiyojenik ilaçlar açısından kimi araştırmacılar bu durumu kabul ederken (Ruggiero ve ark 2014), 2015 yılındaki International Taskforce on Osteonecrosis

of the Jaw (ITONJ) konsensüs raporuna kanıtların yeterli olmadığı gerekçesiyle antianjiyojenik ilaçlar listeden çıkarılmıştır (Poxleitner ve ark. 2017).

2.3. İlaça Bağlı Çenelerde Görülen Osteonekroz (MRONJ)

2.3.1. MRONJ'un Tarihçesi ve İsimlendirilmesi

İlk yayınlanan olgularda intravenöz (IV) bisfosfonatlarla tedavi edilen hastaların maksillofasiyal bölgelerinde iyileşmeyen, açığa çıkmış nekrotik kemik ile karakterize alanlar mevcuttur. Amerikan Oral ve Maksillofasiyal Cerrahi Derneği (AAOMS), 2009 yılında yayınladıkları makalede, daha önce baş-boyun bölgesinden radyoterapi almamış, bisfosfonat kullanmış ya da kullanmakta olan hastaların çenelerinde 8 haftadan uzun süre mukozadan açığa çıkan kemik görüntüsünü 'bisfosfonata bağlı çene kemiği osteonekrozu (BRONJ)' olarak tanımlamıştır (Şentürk ve Koçer 2017).

İlk BRONJ olguları 2003 yılında Marx ve ark.(2003) tarafından ve 2004 yılında Ruggiero ve ark. (2004) tarafından bildirilmiştir.

2014'te tüm ilaçları kapsayan bir osteonekroz tanımı MRONJ (Medication-related osteonecrosis of the jaw) olarak AAOMS(American Assosication of Oral and Maxillofacial Surgeons) tarafından önerilmiştir (Ruggiero ve ark. 2014).

Bifosfonatlar ve denosumab, osteoporoz ve metastatik kemik hastalıklarının tedavisinde kullanılan antirezorptif ilaçlardır. Denosumab bifosfonatlara daha güçlü ve daha az istenmeyen yan etkiye sahip olması amacıyla üretilmiş anti-RANKL(anti-reseptör activator of nuclear factor kappa ligand) türü bir ilaçtır ancak denosumabın da çenelerde osteonekroza yol açtığı görülmüştür (Fusco ve ark. 2011).

2.3.2. MRONJ'un Tanısı

2014'te MRONJ tanısı AAOMS tarafından aşağıdaki kriterlere göre konulmuştur:

1. Maksillofasiyal bölgede 8 haftadan fazla açıkta kemik varlığı ya da intraoral veya ekstraoral fistül ile açılmış kemiğin tespit edilmesi,
2. Halihazırda alınan veya geçmişte alınmış antirezorptif (bifosfonat veya denosumab) ya da anti-anjiyojenik ilaçlar,
3. Çenelerden alınan radyoretapi ya da çene kemiğinde metastatik kemik hastalığı olmaması.

Eğer bu kriterlere uymayan bir durum mevcut ve nekroze kemik açığa çıktıysa histopatolojik inceleme ile teşhis desteklenir ve herhangi bir malignensi ihtimali ekarte edilir (Bedogni ve ark. 2007).

Histolojik görünüm boş osteosit lakünleri ile karakterize nekrotik kemik trabekülleri şeklindedir. Nekrotik kemik alanı genellikle bakteri kolonileri ve düzensiz rezorpsiyon alanları ile birlikte görülür (Weinstein ve ark. 2009). Canlı kemik kısımlarında aktinomiçes varlığı ile ilgili literatür bulunmakla birlikte patogenezdaki rolü netlik kazanmamıştır (Thumbigere-Math ve ark. 2009). Uzun süreli bifosfonat tedavisi alanlarda büyük ve çok çekirdekli osteoklastlar görülebilmekte ve intratrabeküler boşluklar nötrofil, lenfosit ve plazma hücreleri ile dolu olabilir Damarlar anti-anjiyojenik etki nedeniyle genelde seyrekleşir (Mücke ve ark. 2016a).

MRONJ klinik bir tanıdır (Khan ve ark. 2015). Ancak radyolojik görüntülemeler tanıya ve tedavi modelini belirlemeye yardımcı olabilmektedir (Şekil 2-6, şekil 2-7, şekil 2-8).

Panoramik radyografi osteonekrozun tespitinde özellikle de erken aşamalarda belirgin bir görüntü vermez. Bu durumda CBCT daha hassas görüntü verir. Osteonekrozda yıkılan kemik alanları bulunur ve tipik özelliği yoğun trabeküller ve radyolüsent düzensiz alanlar ile beraber ölü kemiğin radyopak sökestr görüntüsü ile karakterizedir. Nekroze kemik ile sağlıklı kemiğin sınırları genellikle iyi ayırt edilemez (Mücke ve ark. 2016b).

BT(Bilgisayarlı Tomografi) veya CBCT(Konik Işınlı Bilgisayarlı Tomografi) incelemede osteonekroz kemiğin kortikal marjınlarında düzensizlik ve kortikal kemiğin yıkımı ile karakterizedir. Periostal kalınlaşma görülebilir. Ayrıca osteolitik ve osteosklerotik alanlar gözlenebilir. Fistül oluşumu, tamamlanmamış çekim soketi iyileşmesi ve bozulmuş trabeküler yapı görülebilir.

Stockmann ve ark.(2010) çalışmasında MRONJ'un radyolojik olarak tanısı panoramik röntgen ile %54, BT ile ise %96 olarak bulunmuştur.

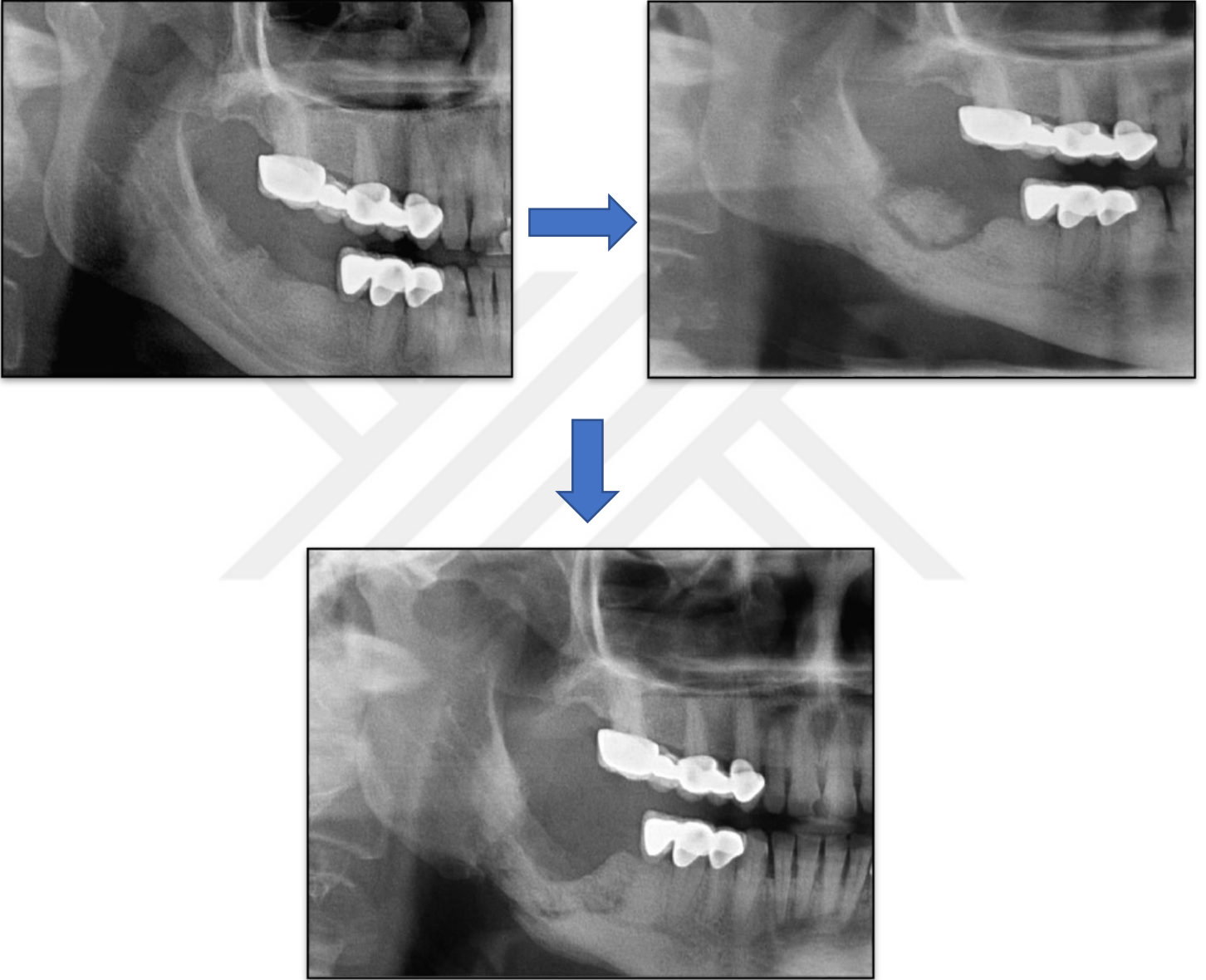
MR(Manyetik Rezonans) görüntülemesi BT'ye oranla daha az bilgi ve detay vermektedir. MR görüntülemesi kemik iliği ve yumuşak dokudaki anormallikler hakkında bilgi verir.

18 F- fluorodeoxyglucose-positron tomography (FDG-PET) diğer bir diagnostik modalite olup osteonekroz alanını kesin olarak tespit edebilir.

Özetle MRONJ'da görüntüleme önemli bir araç olup panoramik röntgen ve beraberinde gerekli ise CBCT görüntüleme değerlendirilmelidir.

Antiresorptif ilaç kullanan hastalarda ve MRONJ riski yüksek ise ekspozite kemik olmasa dahi standart radyolojik görüntüleme yapılmalıdır (Mücke ve ark. 2016b).

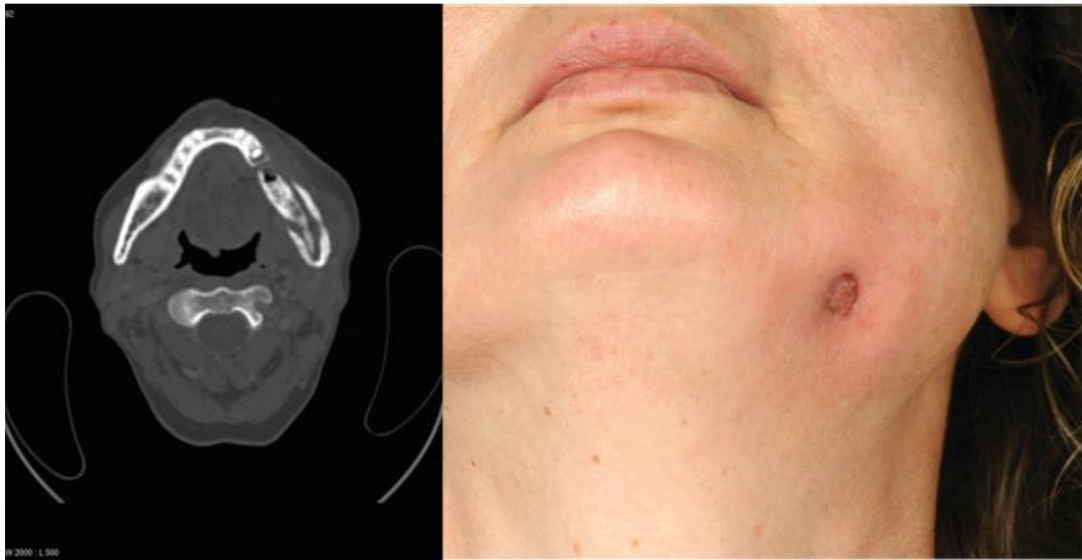
Şekil 2-6: Osteonekrozun progresif ilerleyişi (Prof. Dr. Meral ÜNÜR ve Doç. Dr. Kıvanç BEKTAŞ KAYHAN 'ın arşivinden)



Şekil 2-7: Sağ üst çenede antiseptik gargara ve antiseptik emdirilmiş gaz tampon ile konservatif olarak tedavi edilen MRONJ lezyonu görülmektedir (Mücke ve ark. 2016b).



Şekil 2-8: Alt çenedeki MRONJ lezyonunun aksiyal kesit BT görüntülemesi ve kronik enfeksiyona bağlı oluşan ağız dışı füstül görülmektedir (Mücke ve ark. 2016b).



2.3.3. MRONJ'un Epidemiyolojisi

MRONJ vakalarının çoğu bifosfonatlar ya da denosumabı uzun süreli intravenöz kullananlarda görülmektedir (Then ve ark. 2012).

Görüldüğü yer ve seyrine bağlı olmakla birlikte mandibulada sökestrasyon veya patolojik kırık ihtimali vardır. Mandibulada kırık %4,5 gibi görece düşük oranda olmasına rağmen ciddi sonuçlar doğurabilmektedir (Otto ve ark. 2013). Dental, oral ve maksillofasial komplikasyonlar hastalığın ciddiyeti ve seyrine göre çeşitli şekillerde görülebilmektedir.

MRONJ mandibulada maksillaya göre daha sık görülür (2:1) (Abu-Id ve ark. 2008). Bunun sebebi olarak maksillanın vasküleritesinin daha fazla olması ve mandibuladaki artmış kortikal kemik varlığı gösterilebilir. Mukozanın lingual tarafı daha incedir ve MRONJ oluşumu için daha riskli bir bölgedir (Mücke ve ark. 2016b).

1 yıl intravenöz bifosfonat kullanımı sonrası hastaların %1'inde MRONJ gelişmekte, 4 yıl kullanım sonrası ise bu rakam %13'e yükselmektedir. Bu da kullanım süresinin MRONJ oluşumunda bağımsız önemli bir faktör olduğunu göstermektedir (Dimopoulos ve ark. 2006). Ortalama MRONJ gelişim süresi malign hastalıklarda 20 ay, osteoporozda ise 4,4 yıl olarak bulunmuştur (Lo ve ark. 2010). Yapılan çalışmalarda vakaların %71-84'ünde odontojenik enfeksiyonlar ve periodontal hastalıkların var olduğu tespit edilmiş, %62'sinde ise diş çekimlerinin tetikleyici faktör olduğu bulunmuştur (Ruggiero ve ark. 2014). Primer osteoporozda oral veya intravenöz bifosfonat alanlar düşük risk profilindedir. (Prevalans %0.1) 6 ayda bir intravenöz BP alanlarda ise risk %2'ye yükselmektedir. Kemik metastazı ya da multipl myelom nedeniyle aylık olarak intravenöz BP alanlar ise yüksek risk profilindedir ve prevalans %1-20 arasındadır. Metastatik kemik tümörü bulunan hastalarda faz 2 ve faz 3 klinik denemelerde MRONJ insidansı denosumab kullananlarda %2, zoledronat kullananlarda ise %1,4 bulunmuştur. Osteoporoz tedavisinde de denosumab ve bifosfonatların benzer oranlarda görülme sıklığı olduğu rapor edilmiştir (Poxleitner ve ark. 2017).

IV bifosfonat kullanımı da önemli bir etkidir. BRONJ olgularının %83,2'si IV kullananlarda görülmüştür (Marx ve ark. 2007).

Kullanılan ilaca göre BRONJ ortalama oluşum süreleri zoledronatta 12-24 ay, pamidronatta 19-30 ay ve ibandronatta 13- 21,5 ay olarak gösterilmiştir (Thumbigere-Math. ve ark. 2009).

Dental cerrahi işlemler BRONJ insidansını 5,3-18 katına çıkarabilmektedir. Bronj olgularının %20-33'u ise spontan olarak görülebiliyor (Vahtsevanos ve ark. 2009). Bir olgu serisinde multipl myelom ve kemik metastazı olan solid tümör hastalarında, tedavi başlamadan önce yapılan dental muayene, oral hijyenin artırılması,gerekli radyografik

kontrol, dental işlemlerin profilaktik olarak yapılması ve devamında 6 aylık kontroller yapılarak MRONJ insidansının 1243 hastada %4,6'dan %0,8'e düştüğü bulunmuştur (Sim Ie ve ark. 2015).

Cinsiyet ile BRONJ arasındaki ilişki net değildir. Bazı araştırmacılara göre cinsiyet ile BRONJ gelişimi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır (Marx ve ark. 2005). Kadınlarda daha yüksek oranda görüldüğünü gösteren çalışmalar olmakla birlikte, bunun sıklıkla osteoporozda kadınlarda kullanıldığı için, kadınlarda daha yüksek oranda oluştuğunu ifade eden araştırmacılar da bulunmaktadır (Filleul ve ark. 2010).

Yapılan bir derlemede, 97 yayında, toplam 4789 hasta tedavi edilmiştir. Ortalama yaş 66,5'tir. 4481'inde cinsiyet belirtilmiş %32,8 erkek, %67,2's, kadındır. Kadın erkek oranı 2:1 gibi yüksek bir oran belirtilmiştir (Fliefel ve ark. 2015).

Olguların 4602'sinde BP kullanım sebebi olan hastalıklar sırasıyla, multipl myelom (%31,2), meme kanseri (%29,5), osteoporoz (%19,6), prostat kanseri (%9,6), metastaz (%2,5) ve diğer kanser türleri (%7,6) olarak kayıtlara geçmiştir (Fliefel ve ark. 2015).

BP kullanan 4118 hastanın %58,9'u zoledronat, %3,1'i alendronat ve %11,4'ü bifosfonat kombinasyonu bir ilaç kullanmıştır. Ortalama BP tedavi süresi 15,7 aydır (Fliefel ve ark. 2015).

3198 olguda, MRONJ oluşumunda etken olarak %61,7 ile diş çekimi, %7,2'sinde oral bölgede cerrahi işlem, %5'inde periodontal hastalık ve %7,4'ünde proteze bağlı travma neden olarak gösterilmiştir. %14,8 gibi yüksek bir oranda da BRONJ lezyonunun spontan olarak geliştiği belirtilmiştir (Fliefel ve ark. 2015).

Bir RANKL inhibitörü olan denosumab kullanmış kanser hastası grupta ise MRONJ riski %0,7 ile %1,9 arasında bulunmuştur (Qi ve ark. 2014). Antianjiyojenik bir ajan olan bevacizumab kullananlarda MRONJ riski %0,2 bulunmuştur. Bevacizumab ve zoledronatı beraber alanlarda ise bu oran %0,9'a yükselmiştir (Guarneri ve ark. 2010).

2.3.4. MRONJ'un Etyopatogenezi

İlk MRONJ olgularının 15 yıl önce bildirilmesine karşın hastalığın patofizyolojisi henüz kesin olarak aydınlatılamamıştır. Klinisyenler ve araştırmacılar arasında MRONJ'un altında yatan potansiyel mekanizmalar hakkında tartışma devam etmektedir. MRONJ'un çenelerde görülmesine ilişkin bozulmuş kemik remodelingi, kemik rezorpsiyonunun inhibisyonu, mikrotravma, doğuştan gelen ya da kazanılmış bağışıklığın baskılanması, vitamin D eksikliği, yumuşak dokuda antirezorptif ilaçların birikimi ve toksisitesi, inflamasyon ve enfeksiyon gibi birçok etken bilimsel çalışmalarda araştırılmaya devam etmektedir.

MRONJ patofizyolojisini anlatan iki ana teori bulunmaktadır.

İlkinde 'içten dışa', osteoklast temelli olup, osteoklastik aktivitenin inhibisyonu ve kemik turnoverının baskılanmasıyla birlikte fizyolojik mikrohasarın yayılması, muhtemel lokal enfeksiyon ve çene kemiğinin bunun sonucu olarak nekroze olması olarak açıklanır.

Diğer teoride ise, 'dışta içe', oral mukozanın bütünlüğünün bozulması ile bakteri geçirgenliği ve lokal enfeksiyon sonucunda zayıf kemik remodelingi ile kemiğin nekroze olması olarak ifade edilmektedir.

MRONJ bu iki teorinin kombinasyonu şeklinde de ortaya çıkabilir ve hipovaskülerite önemli bir rol oynamaktadır (Fliefel ve ark. 2015).

Antirezorptif ilaçlar osteoklast differansiyasyonunu ve fonksiyonunu inhibe etmekte ve apoptozisi arttırmaktadır ancak bu etki bütün iskelet sistemi için geçerlidir. MRONJ ise sadece çenelerde, alveolar kemikte gözlemlenmektedir. Bu durumda maksilla ve mandibulanın diğer kemiklere göre artmış remodeling oranı ve diğer faktörler ile açıklanabilir. Yine de ilave çalışmalar ile hastalığın etyolojisi değerlendirilmelidir. Ayrıca her hastanın kendi özel durumu ve koşulları içerisinde barındırdığı risk de doğal olarak farklı olmaktadır (Ruggiero ve ark. 2014).

2.3.5. MRONJ'un Risk Faktörleri ve Önlenmesi

MRONJ'da risk faktörü olarak sayılabilecek birçok etken bulunmaktadır.

IV bifosfonat kullanımı önemli bir etkidir. Amino-bifosfonatlar intravenöz uygulandığında MRONJ riski artmaktadır.. Primer osteoporozda oral veya intravenöz bifosfonat alanlar düşük risk profilindedir.(Prevalans %0.1) 6 ayda bir intravenöz BP alanlarda ise risk %2'ye yükselmektedir. Kemik metastazı ya da multipl myelom nedeniyle aylık olarak intravenöz BP alanlar ise yüksek risk profilindedir ve prevalans %1-20 arasındadır (Poxleitner ve ark. 2017).

Etki gücü ve dozu riskin oluşumunda önemlidir. Örneğin zoledronat kullanımı diğer bifosfontalara göre etki gücü(potency) nedeniyle ile riski artırır (Mücke ve ark. 2016b). Yapılan çalışmalarda bifosfonatlar arasında en yüksek BRONJ riski oluşturanlar nitrojen içeren zoledronat ve pamidronat olarak bulunmuştur (Fliefel ve ark. 2015).

İlacın kullanım süresi de diğer bir risk faktör olarak değerlendirilmektedir. Yapılan bir çalışmada 1 yıl intravenöz bifosfonat kullanımı sonrası hastaların %1'inde MRONJ gelişmiştir, 4 yıl kullanım sonrası ise bu rakam %13 'e yükselmiştir. Bu da kullanım süresinin MRONJ oluşumunda bağımsız önemli bir faktör olduğunu göstermektedir (Dimopoulos ve ark. 2006).

MRONJ gelişiminde genel olarak doz, kullanım süresi ve etki gücü etkili olan faktörlerdir (Hoff ve ark. 2008).

İlacın kemikte uzun yıllar kalabilmesi ilaç tatili seçeneğinin etkisini kısıtlamaktadır.

Hastanın medikal geçmişi ve sistemik durumu da MRONJ gelişimi açısından risk faktörüdür. Kemoterapi, eritropoietin tedavisi, renal diyaliz, hipotroidizm ve diyabet önemli risk faktörleridir. Kortikosteroid kullanımının riski arttırdığına dair çalışmalar olsa da (Jadu ve ark. 2015) bunun belirgin bir risk faktörü olmadığı belirlenmiştir yayınlar da mevcuttur (Mücke ve ark. 2011).

MRONJ risk faktörlerinden en tutarlı olanlardan birisi invaziv dental işlemler ve özellikle de diş çekimleridir. Bunlara protez irritasyonu ve periodontal hastalıklarda ilave edilebilir (Mücke ve ark. 2016b).

Dental cerrahi işlemler MRONJ insidansını 5,3-18 katına çıkarabilmektedir (Vahtsevanos ve ark. 2009). MRONJ olgularının %20-33'u ise spontan olarak görülebiliyor (O'Ryan ve ark. 2012).

Yaş, sigara ve obezite ilave risk faktörleri arasında değerlendirilir (Wessel ve ark. 2008). Yaş ve MRONJ riski arasında bazı yayınlar anlamlı bir korelasyon bulamazken bazılarında ise ileri yaştan BRONJ riskini arttırdığı belirtilmiştir. Yaş ilerledikçe inflamatuvar olayların artması, immün disfonksiyon, kan akışındaki ve remodelingteki azalma ve artmış oksidatif stresin MRONJ sıklığını arttırabileceği belirtilmiştir (Fliefel ve ark. 2015).

Yapılan çalışmalarda MRONJ olgularının %71-84'ünde odontojenik enfeksiyonlar ve periodontal hastalıkların var olduğu tespit edilmiş, %62'sinde ise diş çekimlerinin tetikleyici faktör olduğu bulunmuştur (Tsao ve ark. 2013).

Bir olgu serisinde multipl myelom ve kemik metastazı olan solid tümör hastalarında, tedavi başlamadan önce yapılan dental muayene, oral hijyenin arttırılması, gerekli radyografik kontrol, dental işlemlerin profilaktik olarak yapılması ve devamında 6 aylık kontroller yapılarak MRONJ insidansının 1243 hastada %4,6'dan %0,8'e düştüğü bulunmuştur (Sim Ieve ark. 2013).

Bir başka çalışmada diş çekimleri sonrası preoperatif olarak antibiyotik verilmeyen olguların %57'sinde MRONJ geliştiği görülmüştür. Çekim öncesi antibiyotik profilaksisi uygulanan olgularda ise MRONJ gelişimi görülmemiştir (Montefusco ve ark. 2008). Profilaksiyi diş çekiminden 3 gün öncesinden başlatmanın ilave bir fayda sağlamadığı da ifade edilmiştir (Heufelder ve ark. 2014). Mukoperiostal flap ile çekim soketleri kapatılarak ilgili bölgenin iyileşmesi sağlanmıştır (Ferlito ve ark. 2010).

Cinsiyet ile BRONJ arasındaki ilişki net değildir. Kadınlarda daha yüksek oranda görüldüğünü gösteren çalışmalar olmakla birlikte, bunun sıklıkla osteoporozda kadınlarda kullanıldığı için, daha yüksek oranda oluştuğunu iddia edenlerde vardır (Fliefel ve ark. 2015).

Enflamasyon veya enfeksiyon MRONJ oluşumunda en çok üzerinde durulan faktörlerden birisi olmuştur. Bakteri türleri, özellikle Aktinomiçesler, alınan BRONJ kemik biyopsilerinde görülmüştür. Yapılan çalışmalarda sadece bakterilerin değil mantar ve virüsler de tespit edilmiş ve osteonekroz oluşumunun engellemesinde daha sofistike tedavi yöntemleri aranmaya başlamıştır (Ruggiero ve ark. 2014; Sedghizadeh ve ark. 2012).

Lokal risk faktörleri arasında diş çekimi %52-61 oran ile en sık karşılaşılan nedendir (Vahtsevanos ve ark. 2009). Periodontal hastalıklar ya da periapikal patolojiler gibi inflamatuvar dental hastalıklar birer MRONJ risk faktörüdür (Tsao ve ark. 2013). Kemiğin açığa çıkma riski bulunması nedeniyle de bu tedavilerde de diş çekimlerinde olduğu gibi dikkatli olunmalıdır.

Hareketli protez kullanımı da diğer bir risk faktörü olarak bulunmuştur (Kyrgidis ve ark. 2008).

Kortikosteroidler de MRONJ riskini arttıran ilaçlar olarak değerlendirilmektedir. Antirezortif ilaçlar ile birlikte verilen antianjiyogenik ilaçlar da MRONJ riskini artırır (Fliefel ve ark. 2015).

Sigara kullanımı da yapılan bir çalışmada risk faktörü olarak belirtilmekle birlikte (Kyrgidis ve ark. 2008) bir diğer kontrollü çalışmada zoledronat kullanmış kanserli hasta grubunda sigarayla MRONJ ile anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Tsao ve ark. 2013).

MRONJ insidansı yapılan çalışmalarda mandibulada(%73) maksillaya oranla(%22,5) daha yüksek bulunmuştur. Mandibulada çalışırken daha dikkatli olunmalıdır. %4,5 oranında ise her iki çenede de görülebilir (Saad ve ark. 2012).

MRONJ'un önlenmesinde erken dental konsültasyon ve hastanın olası riskler hakkında bilgilendirilmesi çok büyük önem taşımaktadır.

İlaç tatili halen tartışmalı bir konu olsa da modifiye stratejilerle hastaya uygun bir ilaç tatili düzenlemesinin faydalı olabileceği ifade edilmiştir (Damm ve Jones 2013).

Antirezortif tedavisi öncesi mutlaka oral muayane yapılmalı ve enfeksiyon odakları temizlenmelidir ve düzenli kontroller ile takip edilmelidir. Eğer acilen antirezortif tedavi başlanması gerekli ise diş çekimleri ve diğer dental tedaviler yapıldıktan sonra çekim iyileşene kadar en az 2-3 hafta tedavi ertelenmelidir. Cerrahi tedaviler mutlaka antibiyotik profilaksisi altında yapılmalı, en azından 1 gün önce antibiyotik başlanılıp 3 gün daha devam edilmelidir (Poxleitner ve ark. 2017).

2.3.5. Bifosfonat Kullanımına Bağlı Çenelerde Görülen Osteonekrozun Evreleri

Tablo 2-2: MRONJ'un evreleri (AAOMS 2014 pozisyon belgesine göre) (Ruggiero ve ark. 2014)

MRONJ Evresi Klinik görünüm

Risk altında	Oral ya da I.V. bifosfonat almış hastada açığa çıkmış kemik yoktur.
0.Evre	Açığa çıkmış kemik bulunmamak ile birlikte spesifik olmayan klinik bulgular ve semptomlar bulunur.
1.Evre	Enfeksiyon bulgusu olmaksızın asemptomatik, açığa çıkmış ve nekroze kemik bulunur.
2. Evre	Ağrılı ve eritemli, enfeksiyon bulguları içeren, pürülan akıntı olan/olmayan açığa çıkmış ve nekroze kemik bölgesi bulunur.
3. Evre	Ağrılı ve eritemli, enfeksiyon bulguları içeren, açığa çıkmış ve nekroze kemiğin, 1) alt çenede inferiyor sınıra veya ramusa doğru alveolar kemik bölgesi ötesine genişlediği, 2) üst çenede ise maksiller sinus ya da zigomatik kemiğin ötesine genişlediği, patolojik kırık, ekstraoral fistül veya oro-antral/oro-nasal yol oluşan veya 3) mandibula inferiyor sınır ya da maksiller sinus tabanına uzanan osteolizis bulunan durumlardan birisini içermektedir.

2.3.6. MRONJ'un Tedavisi

MRONJ'un oluşmadan önlenmesi temel hedef olmalıdır ancak tüm önlemlere rağmen yukarıda bahsekonu birçok etken nedeniyle oluşabilmektedir. MRONJ tanısı konulduktan sonra tedavide en önemli aşama ekspoze ve nekrotik kemiğin uzaklaştırılması ihtiyacıdır. Nekrotik kemiğin ve enfekte dokuların debridmanı sonrası sıkı bir şekilde defektin kapatılması yara iyileşmesi ve bakteriyel kontaminasyonun minimize edilmesi açısından çok önemlidir (Otto ve ark. 2013).

İmmüsuprese olan veya kanser hastalarında sistemik olarak tüm yaraların iyileşmesi zorlaşır ve bu BRONJ olan kişileri de etkiler. Bu hastalarda nüks oranları yapılan 2 yıllık takipte %11-%50 arasında gözlenmiştir (Mücke ve ark. 2016b).

Nüks önemli bir prognostik değer olup komplikasyonların artma riskini göstermektedir. Bu gibi durumlarda tekrarlayan başarısız debridman tedavileri yerine daha radikal tedavi seçenekleri değerlendirilmelidir. Bunlardan birisi olan vaskülerize doku greftleri ile başarılı sonuçlar alındığı bildirilmektedir. Radikal rezeksiyon ve rekonstrüksiyon gerekli durumlarda hayat kalitesini arttırabilen tedavi seçeneğidir (Seth ve ark. 2010).

AAOMS hastalığının tedavisinde aşamalı bir yaklaşım ve öncelikli olarak konservatif tedavi yaklaşımları tercih edilmesi daha ön planda önerilmektedir.8 Antibiyotik kullanımı ve lokal ağız gargaraları kullanılarak gerçekleşen konservatif tedavi ile tedavi düzeyi %23'ler seviyesinde bulunmuştur (Hoff ve ark. 2008).

Alman AWMF rehberinde ise lezyonun ilerlemesinin durdurulması için erken cerrahi girişim tercih edilmektedir ve %90'lara varan bir başarı ifade edilmiştir (Grötz ve ark. 2012). Bu tedavi protokolünde hasta 2 gün önce antibiyotik kullanmaya başlar ve işlem sonrası 5 gün daha devam eder. Genel anestezi altında nekrotik kemiğin tamamı uzaklaştırılır, keskin köşeler düzeltilir ve yumuşak doku çok dikkatli bir şekilde kapatılır (Voss ve ark. 2012). Cerrahi sırasında nekroz kemiğin sınırlarının belirlenmesi için florosan işaretleme tekniği kullanılır. Yara iyileşmesine yardımcı olması için hastalar nasogastrik tüp ile sadece sıvı gıdalarla beslenir (Grötz ve ark. 2012).

Antirezortif ilaçların diş çekiminden önce kesilmesinin pozitif etkisi ile ilgili bilimsel veriler net değildir. Ancak yüksek risk grubu hastalarda cerrahi işleminden 2 ay öncesinde antirezortif tedavinin kesilmesi ve yara iyileşmesi tamamlandıktan sonra da devam edilebilmesi önerilmiştir (Ruggiero ve ark. 2014).

MRONJ'un tedavisi öncelikle semptomların azaltılması ve hastalığın ilerleyişinin durdurulması ile beraber nekroze kemiğin uzaklaştırılmasına dayanır. Tedavide henüz bir altın standart yoktur. Tedavi konservatiften radikal yaklaşımlara geniş bir spektrumda seçenekler barındırır. Önlenmesi için gerekli önlemler alınmalıdır (Lerman ve ark. 2013).

Son bilimsel yayınlarda teriparatid (N-terminal 34-amino acid recombinant human parathyroid hormone) (Bashutski ve ark. 2010) , pentoksifilin ve a-tokoferol ile beraber uygulanan antimikrobiyal tedavi (Epstein ve ark. 2010) ,ozon kullanımı gibi farklı yeni yöntemlerin tedaviye katkısı olduğu belirtiliyor (Petrucchi ve ark. 2007).

Tedavi sonucunda ortaya çıkabilecek tablo 6 farklı durum olarak sıralanmıştır. Bunlar:

- 1)Tam iyileşme, ekspozite olan kemiğin üzerini oral mukozanın tamamen örtmesi olarak tanımlanır.
- 2)Kısmi iyileşme, lezyonun boyutunda küçülme veya lezyonların sayısında azalma ve/veya enfeksiyon ya da ağrı semptomlarının kesilmesidir.
- 3)Stabil hastalık, klinik görünüm ve semptomlarda herhangi bir değişim/gelişim olmamasıdır.
- 4)Progresif hastalık, lezyon sayısında veya boyutunda artış veya enfeksiyonun ciddiyeti ya da ağrı seviyesinde artış ile gözlenir.
- 5) Regresif hastalık, lezyonların sayısında veya boyutunda azalma veya enfeksiyon düzeyi ya da ağrıda azalmadır.
- 6) İhmal edilebilir ya da hiç iyileşme olmadığı durum olarak sayılabilir.

Tedavide farklı yaklaşımlar mevcuttur. AAOMS tarafından medikal tedavi ve minimal invaziv yaklaşımlar öncelikli olarak önerilip cerrahi işlemlerin mümkün olduğunca ertelenirken, bazı yayınlarda ise radikal cerrahi ile tedavi tercih edilmektedir (Bedogni ve ark. 2011).

Rekombinant human BMP2 gibi büyüme faktörleri (Cicciu ve ark. 2012), PRP55, VEGF, TGF b, lazer kullanımı, ozon tedavisi (Bocci 1996), hiperbarik oksijen tedavisi , teriparatid (a recombinant human parathyroid hormone) (Rubin ve ark. 2003), yardımcı tedavi yöntemleri olarak literatürde yer almaktadır.

Enfeksiyon oluşmadan ve kemik ekspozite olmadan oral mukozal iyileşme tamamlandığında tedavi sonucu başarılı olmaktadır. Çekim sonraki 12 ay boyunca BRONJ riski nedeniyle kontrollerle takip edilmesinde fayda vardır (Curi ve ark. 2011).

BRONJ tedavisinde temel amaç mukozanın örtülerek sekonder enfeksiyon oluşumunun önlenmesidir.

2.3.7. Bifosfonat Kullanımına Bağlı Çenelerde Görülen Osteonekrozda Kullanılan Serum Biyobelirteçleri

Son yıllarda birçok farklı biyokimyasal belirteç kemik remodelingini değerlendirmede kullanılmış ve literatürde yer almıştır. Ancak bunların bazıları büyük farklılıklar göstermiş ve hasta yaşına bağlı olarak da değiştiği değerlendirilmiştir.

Kemik metabolizmasının biyokimyasal olarak izlenmesi, kemik remodelingi sırasında üretilen enzimlerin, proteinlerin ya da indirgenmiş ürünlerin ölçülmesi ile değerlendirilmektedir. Çeşitli biyokimyasal belirteçler spesifik ve hassas olarak antirezorptif tedavinin izlenmesi, kırık riskinin değerlendirilmesi, kemik metastazlarında iskeletsel olayların riskinin değerlendirilmesi gibi alanlarda incelenerek klinisyenlere katkı sunabilmektedir.

2003 yılından itibaren BRONJ tanımının yapılmasıyla birlikte araştırmacılar tarafından riski ortaya koyabilecek bir biyobelirteç bulmak için çalışmalar yapılmıştır. Günümüze kadar herhangi bir biyobelirtecine kanıta dayalı olarak BRONJ/MRONJ’da kullanımının faydalı olduğu bulunamamıştır. Literatürdeki biyobelirteç çalışmalarında serum CTx, Glu-OC, TRACP 5b, RANKL, OPG, RANKL/OPG, Treg/Th17, GCF IL-1B, Porphyromonas gingivalis’e karşı serum antikor seviyesi, serum VEGF, ESR, CRP değerleri gibi çok farklı moleküller araştırılmıştır.

Marx ve ark.(2007) yaptıkları kontrolsüz retrospektif çalışmada serum C-terminal telopeptid tip 1 kollajen(CTx)’in MRONJ için faydalı bir tahmin belirteci olabileceği ifade edilmiştir. Ancak devam eden yıllarda çeşitli klinik araştırmalarda bunun tersi sonuçlar bulunmuştur. Global olarak antirezorptif ilaçlara ihtiyacın artarak devam ettiği bu dönemde yüksek BRONJ riskinin tespit edilmesinde katkı sunabilecek bir biyobelirteç arayışı devam etmektedir.

2014 yılında yayınlanan AAOMS belgesinde kanıta dayalı olarak herhangi bir biyobelirtecine kullanımı önerilmemiştir (Ruggiero ve ark. 2014). Dünya çapında antirezorptif ilaçların kullanımının artarak devam etmesi ve sonucunda da MRONJ riskinin artmakta olduğu gerçeği sebebiyle MRONJ biyobelirteci arayışları devam etmektedir (Weinstein 2009).

Osteoklastlar MRONJ’da bifosfonatların etkilerinin ortaya çıkmasını sağlayan anahtar hücreler olarak iki temel fonksiyona sahiptir. Bunlar kemik rezorpsiyonu ve kemik remodeling dengesinin korunmasıdır.

Osteoklasta bağımlı kemik rezorpsiyonunda kollajen kaynaklı moleküller olan CTx ve N-terminal telopeptid tip 1 kollajen metabolik, patolojik veya metastatik kemik hastalıklarında

bize fikir vermektedir (Hansen ve ark. 2006). Osteoklastların diğer fonksiyonu olan kemik remodelingi dengesini osteoblastlar ile çiftler oluşturarak gerçekleştirmesidir. Bu fonksiyon osteoklast sayısı ve tartrate resistant acid phosphatase izoformu (TRACP 5B) gibi osteoklast spesifik moleküller sayesinde değerlendirilebilir (Bagan ve ark. 2005).

RANK/RANKL/OPG iyi bilinen bir sistemdir ve osteoklastların fonksiyonunu, proliferasyon, differansiyasyon, aktivasyon ve apoptozis gibi farklı özelliklerini düzenler (Fedele ve ark. 2015). Bu sistemdeki anormallikler çeşitli kemik hastalıklarına işaret eder. RANKL/OPG oranı multip myeloma ve metastatik kemik hastalıkları için anormal kemik remodelingini gösteren etkin bir parametredir (Wessel ve ark. 2008).

906 hasta ile yapılan prospektif bir çalışmada düşük serum RANKL seviyeleri non-travmatik kemik kırığı riskindeki artış ile ilişkili bulunmuştur. Olumlu özellikleri yanında düşük kemik spesifitesi ve lokal kemik ortamını ne kadar yansıttığı konusunda şüpheler olması gibi bazı limitasyonları olduğu bildirilmiştir (Dimopoulos ve ark. 2006).

Sonuç olarak incelenen bu biyobelirteçler antirezorptif ilaç kullanan kişilerdeki dental invaziv işlem ihtiyacı doğduğunda MRONJ riskinin değerlendirilmesi ve tedavi planlamasının belirlenmesinde önemli fayda sunabilirler.

TRACP 5b ve RANKL/OPG bu hayvan çalışmasında başarılı veriler sunmuş olsa da klinik olarak kullanılabilmesi için çeşitli insan çalışmalarıyla desteklenmesi gerekmektedir. Bunun da gelecekteki MRONJ çalışmalarına yön vereceğini düşünüyoruz.

MRONJ oluşumunda alınan doz sayısı ve ilacın dokularda birikimi hastalığın patogeneğinde önemlidir. Bifosfonatlar osteoklastların differansiyasyonunu inhibe eder ve zoledronik asit TNF-alfa ve RANKL'ın indüklediği prekürsörlerin migrasyonuna engel olur (Lo ve ark. 2010).

Ruggiero ve ark.(2014)'a göre sistemik belirteçlerin kullanımı henüz bilimsel temele dayanmamaktadır. Birçok çalışmada farklı biyobelirteçler denense de klinik kullanıma hazır bir biyobelirteç henüz yoktur.

Bifosfonatlar yapılan hayvan çalışmalarında Receptor Activator for Nuclear Factor kappa Ligand(RANKL)'yı azalttığı ve Osteoprotegrin(OPG)'i seviyelerini arttırdığı bulunmuştur (Tsao ve ark. 2013). Şu ana kadar yapılan çalışmalarda BRONJ evrelemesi ile serum RANKL ve OPG değerleri arasında anlamlı bir ilişki yoktur.

Serum CTX ile ilgili bazı çalışmalarda olumlu sonuçlar elde edilse de diğerlerinde ise bunu destekler sonuçlar bulunmamıştır (Vescovi ve ark. 2013).

Bagan ve ark.(2005) çalışmasında s-CTX ile MRONJ riski arasında anlamlı bir ilişki bulamamıştır. Bunun yanında s-CTX değerlerinin hastalar arasında büyük değişkenlik gösterdiği ifade edilmiştir (Çalışma grubunda 50-1010 pg/mL arası değerler bulunmuştur.). Bu çalışmada karşılaştırılan s-CTX, s-OC ve s-PTH biyobelirteçleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. s-BAP ortalama değeri ise MRONJ grubunda anlamlı derecede düşük çıkmıştır. Henüz bu biyobelirteç için rutin klinik kullanım açısından yeterli kanıt yoktur. İlave çalışmalar ile bilimsel ve klinik olarak kullanıma uygunluğunun değerlendirilmesi gerekecektir.

ALP(alkaline fosfataz) osteoblastlar tarafından üretilen bir enzim olup uzun yarı ömrü ve renal klirensten etkilenmemesi nedeniyle serumdaki seviyesi kemik formasyonunun değerlendirilmesinde faydalı olabilir (Ruggiero ve ark. 2014).

Yapılan çalışmalarda α -CTX and TRACP 5b ‘nin MRONJ risk değerlendirmesinde faydalı olabilecek yeni biyobelirteç adayları olduğu ancak ilave araştırmalara ihtiyaç olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada OC, DPD, CTX, NTX, BAP ve PTH’ın MRONJ risk değerlendirmesinde kullanılabileceğine ilişkin verileri yetersiz bulunmuştur (McGowan ve ark. 2018).

2.3.7.1. Serum TRACP-5b

Serum TRACP 5b kemik hastalıklarında ve özellikle de yüksek osteoklast spesifitesi ve düşük diürenal değişkenlik(gündüz-gece), stabil olarak depolanabilmesi, beslenmeden, renal veya hepatik sorunlardan etkilenmemesi nedeniyle önemli bir biyobelirteçtir (Vercruysse ve ark. 2014).

Mücke ve ark.(2016b) çalışmasında CTx, Glu-OC, TRACP-5b, RANKL ve OPG biyobelirteçleri sıçan modelinde kıyaslanmış ve MRONJ için TRACP-5B ve RANKL/OPG’nin potansiyel biyobelirteçler olabileceği belirlenmiştir. Bu çalışmada MRONJ grubunda MRONJ oluşmayan gruba göre anlamlı derecede daha düşük serum TRACP 5b seviyeleri bulunmuştur. Düşük TRACP 5b seviyeleri anormal kemik remodeling baskılanması durumunu işaret etmektedir. TRACP 5b ve RANKL/OPG bu hayvan çalışmasında başarılı veriler sunmuş olsa da klinik olarak kullanılabilmesi için çeşitli insan çalışmalarıyla desteklenmesi gerekmektedir. Bunun da gelecekteki BRONJ çalışmalarına yön vereceğini düşünüyoruz.

Erken tahmin yapmayı sağlayan biyobelirteçler antizeorptif ilaç seçiminde ve hastalığın prognozunun öngörülmesinde önemli katkı sunabilirler. Antirezorptif tedaviler sonucundaki kemik rezorpsiyonunun ölçülmesinde TRACP-5b önemli biyobelirteç adaylarından birisidir (Taylor ve ark. 2010).

TRACP 5a ve 5b olmak üzere iki izoformdan oluşur. Makrofajlar ve dendritik hücreler sadece TRACP-5a üretir. TRACP-5b ise osteoklastlar tarafından üretilerek aktif bir enzim olarak kan dolaşımına salınır. Kan dolaşımındaki yüksek TRACP-5b seviyeleri artmış kemik rezorpsiyonuna işaret eder. Bu özellikle primer osteoporozlu ve kemik metastazı bulunan hastalar açısından önemli bir bulgudur (Ruggiero 2015).

TRACP-5b düşük diürenal değişkenliği nedeniyle örnek toplama süresi açısından esneklik sağlar (Fehm ve ark. 2009). TRACP-5b'nin antirezorptif tedavi etkinliğinin takibinde etkili bir biyobelirteç olduğu gösterilmiştir (Henry ve ark. 2011).

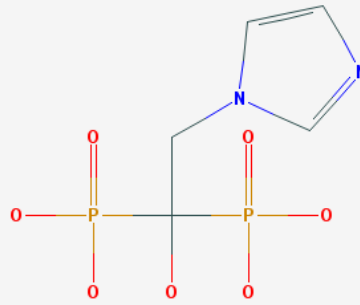
TRACP-5b aktivitesi ölçülmesinde 3 farklı method bulunmaktadır. Bunlardan ilki 'kinetik metod' olarak adlandırılmaktadır ve TRACP-5b değerleri spesifik bir TRACP-5a inhibitörü olan heparin varlığında ölçülmektedir (Fehm ve ark. 2009). Diğer ikisi ise immunoassay metodudur. Bu iki methoddan ilki selektif bir TRACP 5b substratı olan -naphthyl phosphate kullanarak, ikincisi ise optimum pH (TRACP 5a için 5,2, TRACP 5b için 5,8) kullanılarak TRACP 5b, TRACP 5a'dan ayrıştırılır (Vahtsevanos ve ark. 2009).

Kim ve ark.(2016) s-TRACP 5b'yi faydalı bir biyobelirteç olarak bulmuş ve düşük serum seviyelerinin osteonekroz ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir (Saad ve ark. 2012). Kuroshima ve ark.(2013) ise bunu tersi yönde s-TRACP 5b'nin faydalı olmadığını belirtmişlerdir. BRONJ gelişiminin doza bağımlı olarak ilacın birikimiyle ilişkisi kabul edilse de benzer koşullar altındaki çalışmalarda farklı sonuçlar bireyler arasındaki farklı farmakolojik yanıtı bağlı olabileceği değerlendirilmektedir.

2.3.8. Zoledronik asit

Zoledronik asit, kimyasal adı 1-Hidroxy-2-imidazol-1-ylethylidene difosfonik asit olarak bilinen, imidazol yan halkalı yan zinciri olan, heterosiklik azot içeren bir bifosfonattır. Diğer bifosfonatlardan farklı olarak halka yapısında ikinci azot atomu bulunur ve en potent özelliklere sahip bifosfonattır (İbrahim ve ark. 2003) (Şekil 2-9).

Şekil 2-9: Zoledronik asitin molekül formülü şekilde görülmektedir.



Molekül formülü $C_5H_{10}N_2O_7P_2 \cdot H_2O$ olup molekül ağırlığı 290'dır. Kokusuz, beyaz bir kristalin materyel olup alkali pH'da ve suda (az miktarda) çözünabilmektedir.

Zoledronik asit metastatik kemik kanserlerinde, osteoporoz, multiple myelom, maligniteye bağlı hiperkalsemi, Paget Hastalığı gibi bifosfonatların kullanıldığı tüm hastalıklarda kullanılabilmektedir. Zoledronik asitin maligniteye bağlı yarattığı hiperkalsemide kullanımı 2001 yılında, multiple myelomda ve solid tümörlerin kemik metastazlarında antineoplastik tedaviyle birlikte kullanımı 2002'de, postmenapozal osteoporoz ve Paget hastalığının tedavisinde kullanımı ise 2007'de Amerika Birleşik Devletleri'nin FDA(Food and Drug Administration) kurumundan onay almıştır.

Zoledronik asit (ZA) osteoklastların fonksiyon ve yapısını değiştirerek kemik rezorpsiyonunu inhibe eden üçüncü kuşak nitrojen içeren bir bifosfonat grubu ilaçtır. Diğer bifosfonatlarda

olduğu gibi mevalonat yolağındaki lipid biyosentezinde rol alan farnesil pirofosfat sentaz enziminin inhibisyonuna yol açarak etkisini gösterir (Russel ve ark. 2007). In vitro çalışmalarda zoledronik asitin diğer bifosfonatlara göre etki gücünün daha yüksek olduğu bulunmuştur (Coxon ve ark. 2000). Zoledronik asidin hidroksiapatite afinitesi diğer bifosfonatlara göre daha fazladır. Alınan ZA dozunun %39'u ilk 24 saat içinde idrar yolu ile değişmeksizin atılmasına rağmen geride kalan miktar kemiğe sıkı olarak bağlanır, çok az oranda dolaşım sistemine salınır ve uzun süreli kemikte etkisinin devam ettiği çalışmalarda gösterilmiştir. Antirezortif etkileri dışında zoledronik asidin antitümör, antianjiyojenik ve antimetastatik etkilere sahip olduğu literatürde bildirilmektedir (Fraghi ve ark. 2016).

Bifosfonatların etkileri ilk çıkarılan ve nitrojen içermeyen etidronat baz alınarak relatif olarak değerlendirildiğinde, kemik rezorpsiyonunu inhibe etme derecesi etidronatın 1 birim kabul edilirken, bu etki klodronatta 10, tiludronatta 50, alendronat, risedronat ve ibandronatta 1000, pamidronatta 1000-5000, zoledronatta ise 10.000+ birim olarak kabul edilmektedir (Shiraki ve ark. 2017).

Zoledronik asit yüksek etki gücü ile üçüncü kuşak nitrojen içeren bir bifosfonat olarak en sık kullanılan antirezortif ilaçlardan birisidir. 2015 yılında yapılan geniş kapsamlı bir sistematik derlemede, incelenen 97 yayında, toplam 4789 MRONJ gözlenen hasta değerlendirilmiştir. Ortalama yaş 66,5'tir. BP kullanan 4118 hastanın %58,9'u zoledronat, %3,1'i alendronat ve %11,4'ü bifosfonat kombinasyonu bir ilaç kullanmıştır. Bu çalışmada görüldüğü üzere zoledronik asit kullanımı yüksek etki nedeniyle diğer bifosfonatlara göre daha yüksek MRONJ riski ortaya koymaktadır (Fliefel ve ark. 2015).

2.4. KEMİK

2.4.1. Kemik Dokusunun Genel Özellikleri

İskelet sisteminin temelini oluşturan olan kemik dokusu, özelleşmiş bir bağ dokusudur. Hücreler ve içinde gömülü halde lifler taşıyan hücreler arası dokudan (ekstrasellüler matriks) oluşur. Kemik vücuttaki en sert dokulardan birisidir (Çay ve ark. 2002).

Kemik dokusu insan vücudu için 3 temel fonksiyonu yerin getirir. Bunlar:

- 1) Mekanik fonksiyon : İskelet sistemindeki kasların tutunmasını sağlar ve sinir sistemi aracılığıyla kasların fonksiyonlarını yerine getirmelerini sağlar.
- 2) Koruma fonksiyonu : Kafatasında ve toraks boşluğunda yer alan hayati öneme sahip iç organların ve diğer yumuşak dokuların korunmasını sağlar. Ayrıca kemik iliğini barındırarak kan elemanlarının oluşumunu sağlar.
- 3) Metabolik fonksiyon: Kalsiyum , fosfat ve diğer gerekli iyonları depolayarak, bu iyonların vücut sıvılarındaki homeostazını sağlar (Çay ve ark. 2002).

Kemik dokusu yapısal olarak kendini yenileyebilen, şeklini, hacmini ve içeriğini dışarıdan gelen gelen mekanik uyaranlar doğrultusunda yönlendirebilen ve yaşam süresince istemli ve istemsiz fiziksel aktivitelere direnç ve destek sağlayan kendine özgü bir yapıya sahiptir.

Kemik matriksinin organik ve inorganik bileşenleri vardır. Kemik %65 oranında inorganik matriks(mineral), % 35 oranında organik matriks (osteoid madde), hücreler ve su içeren bir yapıdır (Jee 2001).

Kemiğin inorganik yapısı yüksek oranda kalsiyum ve fosfat içerir. Bu moleküller kemikte hidroksiapatit kristallerini ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) oluştururlar. Hidroksiapatit kristalleri plak biçiminde, 20-80 nm uzunluğunda, 2-5 nm kalınlığında küçük kristallerdir.

Kemik organik matriksi ise, kollajen ve kollajen lifler arasında bulunan esas maddeden oluşur. Kemik organik matriksinin yaklaşık %90'ını Tip 1 kollajen oluşturmaktadır. Geri kalan kısmında ise kollajen dışındaki diğer matriks proteinleri, minör kollajen tipleri, lipidler ve diğer proteinler bulunur (Jee 2001).

Kemik dış yüzeyini saran tabakaya periosteum, iç yüzeyini saran tabakaya ise endosteum denir. Periosteum, kollajen lifler ve fibroblastların yoğun olduğu bir tabakadır. Kollajen liflerin kemik matriksine doğru penetre olması ve periost tabakasının kemiğe bağlanmasını sağlayan liflere Sharpey lifleri adı verilir.

Anatomik özellikler bakımından vücuttaki kemikler morfolojik açıdan iki kısımda incelenebilir. Bunlar: 1)Yassı kemikler (mandibula, skapula, kafatası,vs.), 2) Uzun kemikler (femur,tibia, humerus vs.). Uzun ve yassı kemikler dışarıdan farklı gibi görünseler de iç yapıları birbirine benzerdir. Kemiğin genişleme gösteren uç kısımlarına epifiz adı verilir. Büyüme aşamasındaki bir kemikte epifiz ile metafiz arasında kalan kıkırdak tabakada epifizyal kıkırdak ya da büyüme plakası adı verilen bölüm bulunur. Bu bölüm proliferatif hücreler içerir ve kemiğin uzunlamasına büyümesinde etkilidir (Çay ve ark. 2002; Favus 2006).

Değişik kemiklerdeki kortikal ve kansellöz kemik yüzdeleri çeşitlilik gösterir. Kortikal ve kansellöz kemikler damarlanma, gelişim, kemik iliğine yakınlık, yapı, fonksiyon, turnover süreleri, yaşla ilgili değişimler ve travmaya dayanıklılık bakımından farklılık gösterirler (Junquiera ve Carneiro 2006).

2.4.2. Kemik Hücreleri

Osteoklastlar kemik dokusunun rezorpsiyonunda sorumlu hücrelerdir. Osteoblastlar ve osteoklastik preskürsörlerin füzyonu tamamlandıktan sonra osteoklastik prekürsör hücreler oluşur. Oluşan çok çekirdekli osteoklast hücreleri kemik yüzeyine yapışır ve rezorpsiyonu başlatır. Osteoklastlar kemik matriksini kırmada lizozomal enzimler ve hidrojen iyonları kullanır. Kemik matriksinin inorganik kısmı hidroksiapatit(kalsiyum fosfat) kristallerinden, organik matriksi ise kollajen, proteoglikanlar ve glikoproteinlerden oluşur. Rezorpsiyon süreci kemik matriksinde içi oyulmuş bölgeler(Howship lakünleri) yaratır. Kemik yıkımında mononükleer hücreler tarafından ‘tersine(reversal) faz’ denilen bir sürecin yürüdüğü düşünülmektedir. Organik materyel degrade olurken diğer yandan kemik çökmesinin başlaması için büyüme faktörleri salınmaya başlar (Rowe ve Sharma 2018).

Osteoblastlar metabolik olarak aktif kemik oluşturan olgun kemik hücreleridir. Osteoblastlar büyük bir çekirdek, hücresel uzantılar, hücreler arası bağlantılar, gelişmiş bir golgi apareyi, endoplazmik retikulum ve içleri kollajenle dolu salgı kesecikleri içerirler. Osteoblastlar mezenkimde veya temel ilik dokusunda yer alan kök hücrelerden oluşurlar. Osteoblastların aktif yaşam ömrü 1-10 hafta arasındadır.Bazı osteoblastlar salgıladıkları osteoid içerisinde gömülü kalırlar. Osteoklastlar ömrünü tamamladıktan sonra 3 farklı duruma geçer. Bunlar 1) yassılaşıp ve kemik yüzeyinde, periostal veya endostal yüzeylerdeki hücreler arasında yerini

alır. 2) Lakünler içinde hapsolarak osteosite dönüşür. 3) Apoptozis ile ölürler (Rowe ve Sharma 2018).

Osteositler olgun kemikte en sık görülen hücre tipidir. Kemik matriksi içinde bulunurlar ve lakünlerdeki mikroskobik boşlukları dolduran hapsolmuş osteoblastlardır. Osteositlerin yaşam ömrü birkaç yıldır. Osteoblastlar gibi osteositler de hücre bölünme yeteneklerini kaybetmiş hücrelerdir. Kemik remodelinginde kemik stresine bağlı olarak komşu osteositlere sinyal iletimini sağlayarak rol oynar. Osteositler ayrıca kemik içerisindeki sıvı akışının düzenlenmesinde rol alır. Mekanotransdüksiyon adı verilen süreç ile kemiğe gelen mekanik kuvvetler biyokimyasal sinyallere dönüşür. Osteositler bu sinyallerin iletiminde görev alır ve çevre hücrelerin mekanik strese karşı nasıl adapte olacağına ilişkin talimatlar oluşturur (Guyton ve Hall 2007; Rowe ve Sharma 2018).

Osteoprogenitör hücreler mezenkimal kök hücrelerden oluşurlar. Mezenkimal kök hücreler, osteojenik uyarı ile doğrudan osteoblastlara farklılaşabilir. Sekonder kemiğin dış yüzünü kaplayan periostun derin tabakasında, internal meduller yüzeyleri kaplayan endosteumda, büyüyen kemiklerin metafizindeki kırıkda matriksin trabeküllerinde ve Havers ve Volkman kanallarının örtüsünde bulunurlar. Osteoprogenitör hücreler rezorbe olmayan tüm kemik yüzeylerinde bulunurlar. Büyüme sırasında aktif olup, büyüme tamamlandığında, kemik iç reorganizasyonunda, kırık iyileşmesinde, yaralanma gibi durumlarda tekrar aktive olurlar (Rowe ve Sharma 2018).

2.4.3. Kemik Oluşumu ve Kemikleşme Türleri

2.4.3.1. İntramembranöz Kemikleşme

İntramembranöz kemik oluşumunda kemikleşme, mezenkimal dokunun yoğun olduğu bir tabakada gerçekleşir. Vücuttaki yassı kemiklerin çoğunda bu kemikleşme türü geçerlidir. Kafatasındaki frontal ve parietal kemikler başta olmak üzere ve oksipital, temporal, mandibula ve maksilla kemiklerinin bazı kısımları intramembranöz kemikleşme ile oluşur. Bu mekanizmanın kısa kemiklerin büyümesine ve kemik kalınlaşmasına da katkısı vardır. Kısa kemiklerin oluşumunda ve uzun kemiklerin kalınlaşmasında intramembranöz kemikleşme etkili olmaktadır. Intramembranöz kemik oluşumunda yüksek derecede vaskülarize olan embriyonik bağ dokusu içerisindeki bir kısım mezenkimal hücre doğrudan preosteoblastlara ve osteoblastlara doğru bölünme ve farklılaşma gösterir. Hücre bölünme ve farklılaşması sonrasında kemik matriksi ve oluşan matriksin mineralizasyonu gerçekleşir (Junquiera ve Carneiro 2006).

2.4.3.2. Endokondral Kemikleşme

Endokondral kemikleşme, şekil olarak oluşturulacak kemiğin küçük bir modeline benzer hyalin kıkırdak yapısında gerçekleşir. Bu kemikleşme türü kısa ve uzun kemiklerin oluşumundan büyük oranda sorumludur. Mekanizmanın başlangıcında avasküler bir embriyonik kıkırdak dokusu mevcuttur. Bu dokunun oluşumunda mezenkimal kaynaklı hücrelerden önce prekondroblastlar sonra da kondroblastlar oluşur. Oluşan kondroblastlar kıkırdak matriksini sentezler ve kıkırdak yapının periferinde yani perikondrium bölgesinde yer alan mezenkimal hücreler, bölünmeye ve farklılaşmaya devam eder. Bu sürece apozisyonel büyüme adı verilir. Bu sürecin sonunda kondrositler ölür ve kemik yapıya benzer trabeküllü bir kıkırdak matriks oluşur (Junquiera ve Carneiro 2006).

Daha sonra bu kıkırdak matriks kalsifiye olur. Periost, kıkırdak taslağın üzerinde ince bir tabaka yeni kemik dokusu oluşturur. Kıkırdak taslakta ilkel mezenkim dokusu ve kan damarları çoğalır ve mezenkim dokusu osteoblastlara ve kemik iliği hücrelerine farklılaşır. Osteoblastlar tarafından ağsı kemik oluşturulmaya başlanır (Young ve Heat 2000).

2.4.4. Kemiğin Yeniden Şekilllenmesi (Remodelling)

Kemik yaşamı boyunca remodelingi devam eden bir dokudur. Remodeling osteoblastların ve osteoklastların etkileşimiyle oluşan bir süreçtir. Homeostatik denge içerisinde rezorpsiyon ve yeni kemik oluşumu denge içerisinde yürür. 1990 yılında Frost tarafından bu fenomen kemik remodelingi olarak tanımlanmıştır (Frost 1990).

Trabeküler kemik daha yüksek yüzey/ hacim oranına sahip olduğu için, kortikal kemiğe göre daha aktif olarak remodeling gösterir. Osteoklastlar yaklaşık 25m/gün hızla trabeküler yüzeylerde yolculuk yapar (Hadjidakis ve Androulakis 2006).

Remodeling genel olarak 4 fazda incelenebilir. Bunlar aktivasyon, rezorpsiyon, geri dönüşüm ve formasyon fazlarıdır. Aktivasyon fazında kemik iliğindeki osteositler ve preosteoblastlar farklılaşarak enzim üretmeye başlarlar. Kısmen differansiye olmuş mononükleer preosteoklastlar, sitokinler ve büyüme faktörlerinin etkisi ile çok çekirdekli osteoklastlara dönüştürülür.

Rezorpsiyon fazı çok çekirdekli osteoklastların oluşumuyla başlar. Osteoklastik rezorpsiyonun tamamlanmasının ardından geri dönüşüm fazında kemik yüzeyinde mononükleer hücreler görülür. Bu hücreler yüzeyi yeni osteoblastların kemik şekillendirmesine ve osteoblast differansiyasyonu ve migrasyonu için sinyal oluşturmaya hazırlar. Şekillendirme fazında rezorbe olan kemik yeni kemikle yer değiştirene kadar devam eder. Remodeling fazları farklı sürelerde devam ederler. Rezorpsiyon fazı yaklaşık 2 hafta, tersine dönüş 4-5'ya kadar sürebilir, formasyon fazı ise yeni kemik iskeleti tamamen oluşana kadar, 4 ay kadar sürebilir (Hadjidakis ve Androulakis 2006).

2.4.5. Alveolar Kemik ve Diş Çekimi Sonrası İyileşme Süreci

2.4.5.1. Alveolar Kemik

Alveolar kemik, intramembranöz kemikleşme ile oluşan, diş soketlerini içeren ve dişleri destekleyen kemik türüdür. İçinde dişlerin yer aldığı alveoler kemik dışta kompakt kemik ile örtülüdür. Diş kök yüzeylerine bakan yüzünü yani alveolar soket duvarını kortikal kemik oluşturur ve doğrudan periodontal membran (lamina dura) ile birleşmektedir. Periodontal ligamentle temasta olan bu kortikal kemikte çok sayıda Sharpey lifleri (demet kemiği) bulunmaktadır (Carranza 1996).

Alveoler kemik, üzerine gelen değişik mekanik güçler karşısında adaptasyon göstermekte ve fizyolojik remodeling mekanizması sonucu kuvvetin geldiği basınç bölgelerinde rezorpsiyon, gerilimin olduğu bölgelerde ise yeni kemik oluşumu meydana gelmektedir. Alveolar kemik barındırdığı diş yapıları nedeniyle vücuttaki diğer kemiklerden farklıdır. Çene kemiklerine periodontal lifler aracılığıyla tutunan dişler, aktif olarak fonksiyon görürler ve çeşitli kuvvetlere, dış etkilere maruz kalırlar. Dişler ve destek dokular arasında değişken ve dinamik bir ilişki söz konusudur. Diş çekimi, cerrahi işlemler, periodontal enfeksiyonlar, patolojik lezyonlar gibi birçok lokal faktör ve çok sayıda sistemik etken kemiğin boyutlarında değişiklikler meydana getirir (Saffar ve ark. 2000).

2.4.5.2. Diş Çekimi Sonrası İyileşme Süreci

Her cerrahi işlem dokudaki homeostazisi bozar. Doku devamlılığındaki bozulma mikroorganizmalar için giriş kapısı oluşturur. Oluşan tehdit inflamatuvar mediyatörleri üreten hücreler tarafından fark edilir ve savunma hattı oluşturulur. Klinik duruma göre değişmekle birlikte 4 farklı yanıt mümkündür (Cohen ve Cohen-Levy 2014) :

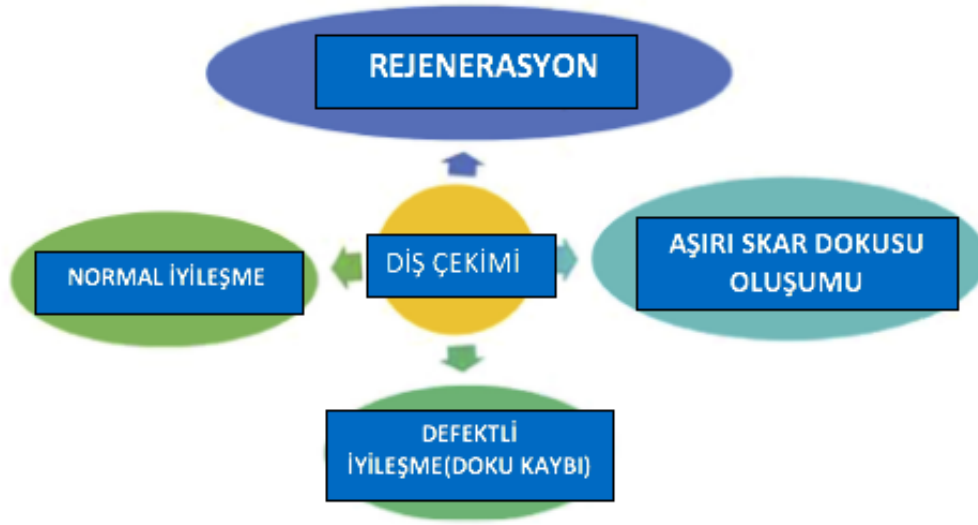
- a) Normal tamir
- b) Defektli iyileşme
- c) Aşırı skar oluşumu veya rejenerasyon
- d) Periodontal cerrahi girişim ile oluşan iyileşme

İyileşme 3 fazda görülür. Bunlar inflamatuvar, proliferatif ve maturasyon fazlarıdır. Bu süreçte çekim soketi kan ile dolarken, plateletlerin kollajen bağ dokusuyla teması ile başlar. Platelet agregasyonu ile pıhtı tabakası oluşur. Pıhtı kanamayı kontrol altına alır ve sikatrizasyon için destek görevi görür. Plateletler PDGF(Platelet-Derived-Growth-Factor) ve TGF-b(Transforming Growth Factor-beta) gibi büyüme faktörleri ve sitokinleri üreterek anjiyogeneze rol oynar (Cohen ve Cohen-Levy 2014).

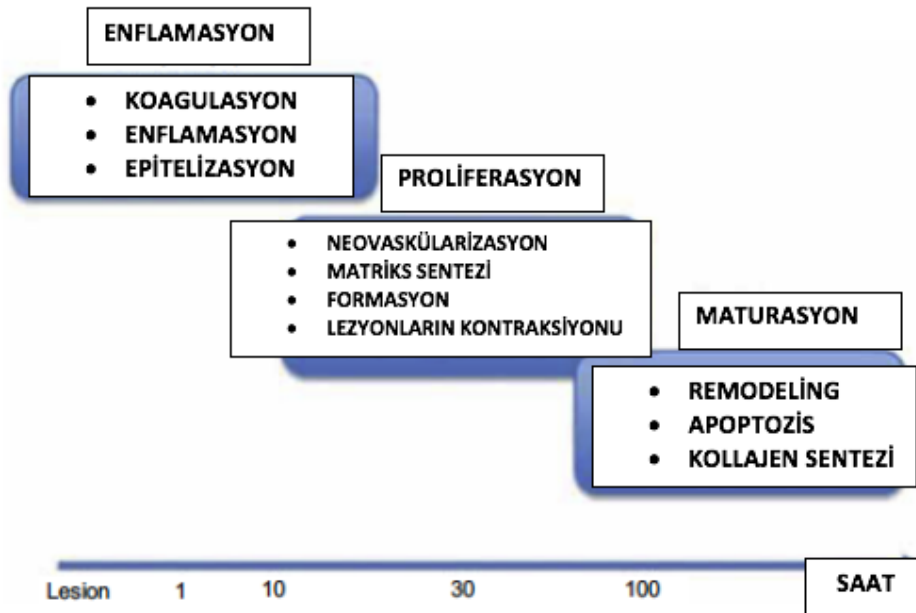
Dental soket 1 hafta içerisinde pıhtı ile yer değiştirerek, süratle neo-vaskülarize dokular, inflamatuvar hücreler ve eritrositleri barındıran granülasyon dokusu ile dolar. Sonraki aşamaya provizyonel matriks adı verilir. Bu aşamada mezenkimal hücreler yoğun bir ağ oluşturarak çalışmaya başlar. İmmatür kemik progresif olarak trabeküler ve spongioz kemiğin içine doğru remodelinge uğrar. Yapılan insan çalışmalarında çekim sonrası mineralizasyon 1. haftanın sonunda başlar. 2-4 hafta arasında pıhtı granülasyon dokusu ve provizyonel matriks ile yer değiştirmeye başlar. 6-8 hafta arasında granülasyon dokusunun çoğu provizyonel matriks(yaklaşık %60'ı) ve immatür kemik(yaklaşık %40'ı) ile yer değiştirmiştir (Cohen ve Cohen-Levy 2014).

Çekim bölgesinin epitelizasyonu yara kenarlarından başlayarak, stratum basale tabakasındaki hücrelerin migrasyonu ve bölünmesi ile başlar. Cerrahi işlem sonrası 12 saat içerisinde mukozal iyileşme başlar. Ağız boşluğundaki iyileşme septik, nemli ve yüksek rejenerasyon kapasitesiyle karakteristiktir. Mukozal iyileşme, cilt iyileşmesine kıyasla belirli biyolojik faktörler nedeniyle daha hızlı gerçekleşir (Cohen ve Cohen-Levy 2014).

Şekil 2-10: Diş çekimi sonrası iyileşme seçenekleri (Cohen ve Cohen-Levy 2014).



Şekil 2-11: Yara iyileşmesi evreleri (Cohen ve Cohen-Levy 2014).



2.5. FOTODİNAMİK TEDAVİ

2.5.1. Fotodinamik Tedavinin Tanımı, Tarihçesi ve Kullanım Alanları

Fotodinamik tedavi(FDT) fotosensitizan adı verilen toksik olmayan maddelerin oksijen varlığında, uygun dalga boyundaki ışığı absorbe etmesiyle, öncelikle uyarılmış tekil durumun(singlet state) oluşumu ve ardından uzun süreli uyarılmış üçlü duruma geçişiyle oluşan fotokimyasal bir olaydır (Şekil 2-12). Moleküler oksijen varlığında fotokimyasal reaksiyonlar tekil oksijen(singlet oksijen) ve hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen ürünleri üretirler. Reaktif oksijen ürünleri proteinlere, lipitlere ve nükleik asitlere karşı oksidatif hasara yol açar ve nekroz/apoptozis ile hücre ölümüne sebep olur (Silva ve ark. 2015).

FDT günümüzde genel olarak en sık malign, premalign lezyonlarda, dermatolojik hastalıklarda ve antimikrobiyal etkileri nedeniyle enfeksiyonlarda kullanılmaktadır.

Işığın tedavilerde kullanımının ilk tarihsel kayıtları antik Yunan, Mısır ve Hindistan'a kadar uzanmaktadır. FDT'nin bilimsel anlamda temel prensibi 1900 yılında tamamen şans eseri olarak Oscar Raab tarafından akridin kırmızısının Paramecium türleri üzerindeki toksisitesini inceleyen doktora tezi çalışması sırasında, boyar maddenin ışık eşliğinde mikroorganizmalar üzerindeki etkileri farkedilerek Münih'te keşfedilmiştir. 1905 yılında ise von Tappeiner ve Albert Jesionek cilt kanserlerinde FDT'yi denemişlerdir (Cieplik ve ark. 2018). 20. Yüzyılın başlarında Danimarkalı bir hekim olan Niels Finsen ark lambası ile Lupus Vulgaris tedavisi yaparak ilk başarılı FDT raporlarından birisini yayınlamıştır (Carrera ve ark. 2016).

1905 yılında bakterilerin fotodinamik inaktivasyonu ilk olarak tanımlanmıştır.

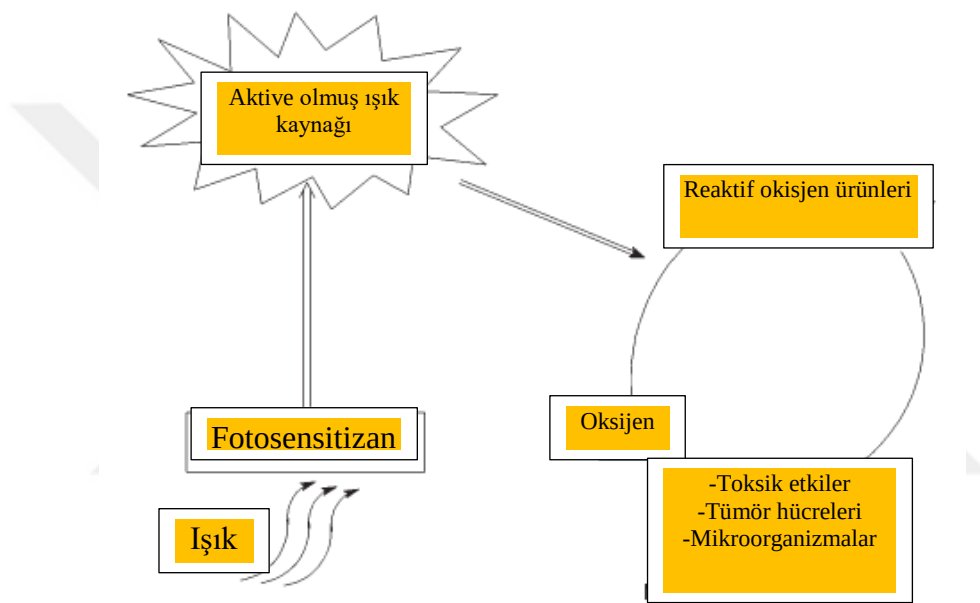
Anti-kanser FDT son 30 yıldır aktinik keratoz veya bazal hücreli karsinoma gibi bir çok kanser türünün tedavisinde kullanıma girmiştir. Antimikrobiyal FDT ise antibiyotiklerin keşfedilmesi ile bir dönem geri planda kalmış olsa da antibiyotik direnci sorunun 1990'lardan itibaren ortaya çıkması ile yeniden keşfedilmeye başlanmıştır (Wainwright 2017) .

1970'li yıllardaki Dougherty'nin çalışmaları FDT açısından bir dönüm noktası olmuştur.5 Dougherty ticari olarak uygun bir fotosensitizan üretmiş ve güvenilir bir ışık kaynağı ve düzgün klinik denemeler yaparak onkoloji alanı için FDT'nin önemini bir kez daha ortaya koymuştur. Yaptığı çalışmalar FDT'nin babası olarak tanımlanmasına yol açmıştır (Allison ve

Moghissi 2013). 1990’larda ilk olarak FDA tarafından ‘Photofrin’ isimli fotosensitizan kullanım onayı almıştır (Ormond ve Freeman 2013).

FDT oral mukozada etkili olarak antimikrobiyal kullanımı dışında oral kanserler ve premalign lezyonlarda kullanımı henüz araştırılmaktadır. FDT oral lökoplaki, oral liken planus ve baş-boyun kanserlerinin tedavisinde potansiyele sahiptir (Konopka ve Goslinski 2007).

Şekil 2-12: Fotodinamik tedavi reaksiyonu şeması (Konopka ve Goslinski 2007).



FDT’nin antitümör tedavilerde kullanımı genellikle intravenöz yolla olmuştur. Işığın tümör bölgesine çeşitli yöntemler ile verilmesi sonucu 3 farklı mekanizma ile antitümör etkiler oluşmaktadır. Bunlar tümör hücrelerine direk sitotoksikite, tümör mikrovasküler yapısının yıkılması ve konak immün sistemini aktive eden akut enflamatuvar yanıtın tetiklenmesi olarak sıralanabilir (Silva ve ark. 2015).

Onkoloji alanından sonra FDT en sık enfeksiyonlarda kullanılmaktadır. FDT’nin enfeksiyonlarda kullanımı ciddi bir küresel sağlık sorunu haline gelen antibiyotik direnci gelişimiyle beraber hız kazanmıştır (Silva ve ark. 2015). Gram-pozitif, gram-negatif bakteriler, mantarlar, parazitler ve virüsler gibi çok çeşitli mikroorganizmaların inaktive edilmesine yönelik yüzlerce FDT çalışması yapılmaktadır. Ancak literatürde in vivo modeller daha az sayıda yer almaktadır.

2.5.5. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi

1928’de penisilinin keşfiyle 1940’lar ile 1960’lı yıllar arasında antibiyotiklerin altın çağı başlamış ve aminoglikozitler, tetrasiklinler, kloramfenikol, makrolidler, glikopeptitler, oksazolidinonlar, ansamisinler, kinolonlar ve streptograminler gibi farklı antibiyotik sınıfları bulunmuştur. 1970’lerden günümüze kadar bu antibiyotiklerin çoğuna karşı bakteriler direnç geliştirmeye başlamıştır. Benzer bir durum antifungal ilaçlar ve dezenfektanlar için de oluşmuştur (Cieplik ve ark. 2018).

2014 yılındaki bir derlemede global antibiyotik direnci sonucu günümüzde 700.000/yıl ölüm sayısı, 2050 yılına kadar 10.000.000/yıl’a yükseleceği öngörülmektedir . Bu raporda acil olarak yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi gerekliliği ve dirençli mikroorganizmalar için alternatif metodlara ihtiyaç olduğu bildirilmiştir (Renwick ve ark. 2016).

Antimikrobiyal fotodinamik tedavide(aFDT) mikroorganizmaları öldürmede ışıkla aktive olan fotosensitizanlar ile oluşan tekil oksijen(singlet) ve serbest radikallerden faydalanılır. aFDT antibiyotiğe dirençli mikroorganizmaları elimine edebilirken, aFDT’te karşı herhangi bir direnç gelişimi oluşmamaktadır (Kikuchi ve ark. 2015).

aFDT’nin özellikle lokal enfeksiyonlarda kullanımı etkili olmaktadır. Kanser tedavilerindeki FDT kullanımı genellikle intravenöz yolla verilen fotosensitizan maddenin tümör dokusunda birikimi prensibiyle çalışmaktadır. aFDT ‘de ise fotosensitizan bundan farklı olarak ilgili bölgeye uygulanmaktadır. Burda önemli nokta fotosensitizan maddenin mikroorganizmalara karşı konak hücreden farklı olarak seçici etkisi ve konak hücrelere zarar vermemesidir (Dai ve ark. 2009).

2.5.2. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavinin Etki Mekanizması

aFDT toksik olmayan bir molekül olan fotosensitizan madde, fotosensitizana uygun bir ışık kaynağı (genellikle infrared spektruma yakın dalga boyunda) ve moleküler oksijenden oluşan üçlü bir mekanizmayla çalışmaktadır (Cieplik ve ark 2018).

Fotonun enerjisinin absorpsiyonu ardından fotosensitizan düşük enerji seviyesine sahip tekil durumundan uyarılmış tekil duruma geçer. Bu aşamada fotosensitizan enerji kaybedip ‘tekil

duruma' geri dönebilir ya da daha uzun ömürlü 'uyarılmış üçlü duruma' geçer. Bu duruma 'sistem içi geçiş'(inter-system crossing) denilir. Bu aşama sonrası iki mekanizma ile reaktif oksijen ürünleri oluşur. Tip 1 mekanizmada elektronlar süperoksit radikalleri, serbest hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit oluşumuna sebep olan reaksiyonlar oluşturur. Tip 2 mekanizmada ise enerji doğrudan moleküler oksijene aktarılır ve yüksek derecede reaktif, 'uyarılmış tekil oksijen' oluşur. FDT sırasında bu iki mekanizmayı birbirinden ayırtmak zordur. FDT sırasında oluşan hedef hücre hasarından daha çok tip 2 mekanizma sorumlu olmakla birlikte fotosensitizan ve oksijen seviyelerine bağlı olarak tip 1 ve tip 2 mekanizmalar ile hedeflenen mikroorganizma hasarı oluşur (Cieplik ve ark 2018).

FDT'nin istenilen etkisi temel olarak singlet oksijen ile oluşur. Uyarılmış tekil oksijen, yüksek seviyede reaktif, biyolojik maddeler ile etkileşimi fazla olan ve etkilediği bölgede oksidatif hasara yol açan bir moleküldür. Fotodinamik reaksiyon sonucu uyarılmış tekil oksijen bakteri, virüs, mantar ve protozoa türlerine karşı geniş antimikrobiyal etki gösterir. FDT'nin yapılan çalışmalarda biyostimülatif, antienflamatuvar ve biofilm parçalayıcı etkileri bulunmuştur (Soukos ve Goodson 2000). FDT lipopolisakkarit inhibisyonu yaparak ve proenflamatuvar sitokin salımında azalmaya sebep olarak antienflamatuvar etkisini göstermektedir. Işık kaynağı olarak düşük enerji seviyeli lazer kullanıldığında, biyostimülasyon etkisi ortaya çıkmaktadır. Bu etki hücre mitokondrisinde ATP sentezini arttırmaktadır ve sonucunda proliferatif etki göstermektedir (Karu 1988; Peker-Tekdal ve Gürkan 2014).

FDT sonucu oluşan reaktif oksijen ürünleri plazma membranı yapısını ve hatta DNA'yı etkileyebilir ve lipid peroksidasyonu, enzimatik sistemlerin inhibisyonu ve proteinlerin agglütinasyonu gibi mekanizmalar ile hücre ölümüne yol açar. FDT mikroorganizmalar ve kanserli hücreler gibi hastalıklı dokular üzerine yüksek seviyede seçicidir (Paschoal ve ark. 2013). aFDT sırasında sadece fotosensitizanın selektif olarak biriktiği ve ışığa maruz kalan hücreler öldürülür. Sonuç olarak FDT non-invaziv bir prosedür olarak , kümülatif toksisiteye yol açmadığı için tekrarlayan sayılarda uygulanmasında bir sakınca bulunmamaktadır. Düşük risk düzeyi sebebiyle yaşlı ve sistemik durumu zayıf bireylerde dahi kullanılabilir (Carrera ve ark. 2016).

2.5.3. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavinin Konak Üzerine Etkileri

Fotodinamik reaksiyon sonucu uyarılmış tekil oksijen bakteri, virüs, mantar ve protozoa türlerine karşı geniş antimikrobiyal etki gösterir. Biyolojik sistemde ömrü 0,04 μ s gibi kısa bir süredir ve etki yarıçapı 0,02 μ m'dir. Bu özelliğiyle etki hedeflenen bölge ile sınırlı kalır, çevre dokuların zarar görmesi önlenir (Komerik ve ark. 2000, Peker-Tekdal ve Gürkan 2014).

FDT'nin klinik uygulamalarında konak hücreleri üzerine potansiyel fototoksitesi olup olmadığı önemli bir konudur. Yapılan çalışmalarda bakterilerin öldürülmesi için gereken ışık dozları, keratinositler ve fibroblastlara toksik olabilecek seviyedeki ışık dozuna oranla çok daha düşük seviyede bulunmuştur (Soukos ve ark. 1996). FDT'nin periodontal ligaman hücreleri üzerinde lokal vasodilatasyon ve anjiyogenezisi ve hücrel kemotaksisi arttırarak, lokal inflamatuvar mediyatörleri inhibe ederek olumlu etkileri gösterilmiştir (Tanaka ve ark. 2012). FDT nötrofiller üzerine migrasyonu ve integrasyonu arttırarak bağışıklık sistemi üzerinde modülatör (düzenleyici) etkilere yol açmaktadır (Seguier ve ark. 2010). FDT ayrıca konak kaynaklı TNF-alfa ve IL-1beta gibi sitokinleri inaktive eder. FDT antijen sunan hücreleri de etkiler. Makrofaj ve Langerhans hücrelerinde T lenfosit aktivasyon kapasitesini azaltarak inflamatuvar iltihabi yanıtı azaltır (Kikuchu ve ark 2015).

FDT'nin sistemik uygulaması sonrası görülebilen konak üzerine en büyük yan etkisi foto hassasiyettir. Ciltte fotosensitörün uyarımı ile ışık ile aktivasyon sonucu fotohassasiyet gelişebilmektedir. Bazı fotosensitizan türlerinin gün ışığıyla aktivasyonu sonucu önlem alınmaz ise yanıklara sebep olabilir. Önlem olarak ilaç vücuttan elimine olana kadar gereken sürede süre doğrudan güneş ışığı maruziyetten uzak durulmalıdır (Onat ve Tosun 2014).

2.5.4. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavinin Kullanım Alanları

Fotodinamik antimikrobiyal tedavi ilaç direnci gelişmiş mikroorganizmalar üzerinde antibakteriyel, antifungal ve antiviral etkisiyle bir alternatif tedavi seçeneği oluşturmaktadır. Bakterilerin bu sitotoksik reaksiyona direnç geliştirmesi eldeki veriler ışığında mümkün görünmemektedir (Konopka ve Goslinski 2007). Superoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimler bazı oksijen radikallerine karşı etkili olsa da singlet oksijene karşı etkili değildir. Fotosensitizan maddeler enfekte alana topikal olarak ve ya enjeksiyon yoluyla uygulanabilmektedir.

aFDT çok farklı alanlarda bakteri, mantar, virüs ve protozoa gibi çeşitli mikroorganizmaların inkative edilmesinde kullanılmaktadır. aFDT'nin kullanım alanlarını aşağıdaki gibi sıralayabiliriz: (Dai ve ark. 2009)

a) Kan sterilizasyonu

Kan sterilizasyonunda PDT kullanımı ilk olarak 1992 yılında Alman Kızıl Haç örgütü tarafından onaylanmıştır. Bazı viral enfeksiyonlar sonrası pencere dönemi denilen serolojik testler ile hastalığın tespit edilemediği bir dönem oluşabilmesi nedeniyle enfeksiyon riski bulunmaktadır. Çeşitli çalışmalarda hepatit B, hepatit C ve HIV gibi patojenlerin inaktivasyonu araştırılmıştır (Ben-Hur ve ark. 1995).

b) Cilt enfeksiyonları

Akne vulgaris multifaktöriyel bir hastalıktır. İlk klinik deneme 2000 yılında Hongcharu ve ark tarafından ALA-PDT ve 550 nm dalga boyunda ki ışık ile uygulanarak, bildirilmiştir (Hongcharu ve ark. 2000).

c) Oral ve dental enfeksiyonlar

Oral kavite oldukça kompleks, aerobik ve anaerobik Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler, mantarlar, mikoplasma, protozoa ve virüsler gibi çok çeşitli mikroorganizmalardan oluşan bir yapıya sahiptir. Dental plak farklı mikroorganizmaları barındıran çeşitli savunma mekanizmaları da içeren bir biyofilmdir (Konopka ve Goslinski 2007).

Diş hekimliğinde antibiyotik kullanımını sınırlamak ve tedavi sonuçlarını iyileştirmek için aFDT kullanımı faydalı olabilmektedir (Cieplik ve ark. 2018).

Periodontal enfeksiyonlarda aFDT kullanımı tartışmalıdır. Yapılan klinik çalışmalarda ciddi kronik periodontitiste veya agresif periodontitiste mekanik tedavilere yardımcı olarak aFDT uygulamasının olumlu sonuçlarından bahsedilmiştir (Cieplik ve ark. 2018).

Son yıllarda artarak büyüyen diğer bir sorun olan periimplantitis ile ilgili 2018 yılında yayınlanan bir sistematik derlemede mekanik debridman ile birlikte aFDT kullanımının belirgin derecede faydalı olduğu ve gelişme sağladığı bildirilmektedir (Sivaramakrishnan and Sridharan 2018).

Endodontide aFDT ciddi enfeksiyon barındıran kök kanallarının dezenfeksiyonunda ve özellikle de tek seans tedavilerde etkili bir yöntem olarak bildirilmektedir. Yapılan randomize kontrollü klinik deneyde 6 ay takip sonrası tedavi sonuçlarının konvansiyonel yöntemle kıyaslaması yapılmış ve daha iyi klinik ve radyografik sonuçlar elde edildiği görülmüştür. (de Miranda ve Colombo 2018)

aFDT'nin oral fungal enfeksiyonlarda kullanımı çeşitli klinik çalışmalar ve olgu sunumlarıyla bildirilmiştir. aFDT'nin en az standart antifungal tedavi kadar etkili olduğu bildirilmektedir (Cieplik ve ark. 2018).

Ağız içi sık karşılaşılan diğer bir lezyon olan Oral Liken Planus'un tedavisinde FDT kullanımına ilişkin olumlu sonuçlar alındığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Onat ve Tosun 2014).

Ağız içi yaralar ile ilgili Lin ve ark.(2009)'nın yaptıkları çalışmada Wistar cinsi sıçanların üst 1. azı dişlerinin palatinalinde eksizyonel yaralar oluşturulmuştur. Ardından bu bölgelere streptokok ve aktinomiçes türleri süspansiyon şeklinde enjekte edilmiştir. 24 saat sonrasında toluidin mavisi ve 635 nm dalga boyundaki diode laser ile 48 J/cm² enerji kullanılarak bakterilerin %97'si öldürülmüştür ve kontrol grubuna göre FDT grubunda yara iyileşmesi hızı artmıştır.

d)Mide

Helikobakter pilori insan gastrik mukozasında bulunan bir Gram-negatif spiral, mikroaerofilik bakteridir. Helikobakter pilori insan midesinin mukus tabakasında kolonize olur ve peptik ülser, adenokarsinom gibi hastalıklara yol açabilmektedir. Yapılan çalışmalarda FDT uygulanan bölgelerde H.Pilori azalma gerçekleştiği görülmüştür (Dai ve ark. 2009).

e) Yara iyileşmesi

Cerrahi yara enfeksiyonları hastane enfeksiyonlarının %25'ini oluşturmakta ve sıkça antibiyotik direnci tablosu göstermektedirler. S. Aereus, enterekokus, Gram-negatif enterik basil etken mikroorganizmalar arasında sayılabilirler. Bağırsak ameliyatı olan kişiler, kanser kemoterapisi nedeniyle nötropenik kişiler, diyabet hastaları ve vasküler hastalıklar cerrahi sonrası yara enfeksiyonu açısından yüksek risk grubundadır. FDT özellikle ilaç direnci gelişmiş olgularda yara enfeksiyonlarının tedavisinde kullanımı önemlidir (Dai ve ark. 2009). Hamblin ve ark. fareler üzerindeki çalışmalarında FDT'nin yara iyileşmesi üzerindeki belirgin olumlu etkisini göstermiştir (Hamblin ve ark. 2002).

f)Leishmaniasis

Leishmania paraziti, kutanöz bölgelerde, mukoz membranlarda(mukokutanöz) veya iç organlarda(viseral) hastalık oluşturmaya ile karakterize birçok ülkede endemik olarak görülebilen bir hastalık etkenidir. İn vivo çalışmalarda FDT kullanımının olumlu sonuçlar verdiği bildirilmiştir (Dai ve ark. 2009).

g) Mikobakteriyel enfeksiyon

Mikobakterium tüberkülozis progresiv, bulaşıcı ve önemli bir halk sağlığı problemidir. O’Riordan ve ark. geliştirdikleri fare modelinde lokalize mikobakteriyel enfeksiyonu FDT ile in vivo tedavi etmişleridir (O’Riordan ve ark. 2006).

h) Otitis media

Otitis media viral üst solunum yolu enfeksiyonlarından sonra çocukluk çağında en sık görülen hastalıktır. Antibiyotik kullanımının yaygınlaşmasına rağmen Otitis Media günümüzde hala ciddi komplikasyonlara yol açabilmektedir. Jung ve ark. in vivo enfeksiyon gerbil(kemirgen) modelinde en yaygın etkenler olan hemofilus influenza ve streptokoküs pnömöni üzerinde FDT’nin güçlü bir etkiye sahip olduğu göstermişlerdir (Jung ve ark. 2009).

ı) Osteomyelit

Bisland ve ark.(2006) yaptıkları çalışmada FDT uygulaması sonucu bakteriyel çoğalmada anlamlı derecede bir gecikme ve biyofilm formasyonlarında azalma göstermişlerdir.

j) Virüs enfeksiyonları

Lokal herpes simpleks enfeksiyonu ve human papilloma virüs(HPV)’ün FDT ile inaktivasyonu çalışmalarında, iyileşme bakımından olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Dai ve ark. 2009).

2.5.3. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavide Işık Kaynakları

FDT’de ilk kullanılan ışık kaynağı polikromatik, nonkoherent, beyaz ışık ve ısı oluşturan lambalar olmuştur. Lazerlerin 1960’lı yıllarda icat edilmesiyle monokromatik, koherent ışık sağlayan ve optimum dalga boyunda ve yüksek enerji yoğunluklu, fiberoptik kablolar ile ışık transmisyonu sağlayan lazer ışığı kullanılmaya başlamıştır. Diğer bir ışık kaynağı LED(Light emitting diode)’lerdir. LED’ler, ısıyı yükseltmeden, bir yarı iletken bant aralığında, ışık emisyonu oluşturmada elektriği kullanır. LED’ler kırmızı, mavi ve yeşil olmak üzere 3 renk ışık ve kızılötesine yakın ($> 700 \text{ nm}$) ışık oluşturabilir (Carrera ve ark. 2016).

Fotosensitizan maddenin aktivasyonu için 3 farklı ışık kaynağı türü bulunmaktadır. Bunlar lazerler, LED(light emittig diode) ışık kaynağı ve gaz lambaları(kuartz-tungsten-halojen veya xenon lambalar)'dır. Lazerler genellikle monokromatik olmaları ve tek bir fiber optik kablo ile çeşitli iletim cihazlarına aktarılabilmektedirler. LED'ler ise lazere oranla biraz daha geniş emisyon spektrumuna sahiptirler ve en önemli farkları lazere göre daha ucuzdurlar. Gaz lambaları ise lazerler ve LED'lere avantajı her tür fotosensitizana uygun spektruma filtreleme yapılarak uyabilirler. Daha fazla ısınmaya yol açmaları ve etkili bir şekilde fiber optik kablo gibi daha küçük iletim araçlarına aktarılamaması ise gaz lambalarının dezavantajlarıdır (Cieplik ve ark. 2018).

Işık, doğrusal olarak yayılan elektromanyetik dalgalar olarak tanımlanır. FDT'de optimum sonuçları elde edebilmek için doğru dalga boyunda ışık kullanılması gerekir. Genellikle FDT'de görünür ışık kullanılmaktadır. İnsan dokuları kırmızı ışığı etkin bir şekilde iletir. Fotosensitizanın daha geniş aktivasyon dalga boyuna sahip olması, daha derinlere ışığı penetre olmasını sağlar. Bu sebeple yapılan araştırmalar sonucunda fotosensitizanların çoğu 630 ile 700 nm dalga boyu aralığındaki kırmızı ışık ile aktive olurlar. 630 nm dalga boyu yaklaşık 0,5 cm penetrasyon derinliği, 700 nm dalga boyu ise yaklaşık 1,5 cm ışık penetrasyon derinliği sağlar. Bu limitler tedavi derinliğini belirlemektedir (Konopka ve Goslinski 2007). Görünür ışığın dalga boyu 400 ile 700 nm arasındadır. 600 nm'nin altındaki dalga boyları endojen moleküller tarafından yüksek absorbsiyona uğrar ve bu nedenle konak dokuda yan etkiler oluşturmamak adına 600 nm üzerindeki dalga boyları tercih edilmelidir.

Son yıllarda gelişen teknolojiyle birlikte LED kullanımı artmıştır. Bu ışık kaynağı çok daha maliyeti düşük, boyut olarak küçük, hafif ve esnek kullanım imkanı sunmaktadır. LED'ler ise yarı iletken, diyod temelli olup ana maddeleri silikondur. Üzerinden akım geçtiğinde foton açığa çıkararak ışık verirler. Lazerlere kıyasla termal hasar riski daha azdır, kullanım hassasiyeti daha düşüktür, maliyeti daha azdır ve kolay taşınabilmesi nedeniyle pratiktirler. (Peker-Tekdal ve Gürkan 2014).

FDT'de lazerler sıklıkla kullanılmaktadır. FDT'de helyum-neon (633 nm), diyod (655, 685, 810, 980 nm), argon (488, 514 nm) ve KTP (532 nm) türü lazerler tercih edilmektedir. Günümüzde ise genellikle diod lazerler kullanılmaktadır (Peker-Tekdal ve Gürkan 2014).

2.5.6. Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavide Kullanılan Fotosensitizan Maddeler

20. yüzyılın başlarında fotodinamik tedavinin keşfiyle birlikte fotosensitizan adı verilen ışıkla aktive olabilen boyar maddeler geliştirilmeye başlanmıştır. Son 20 yılda ise fotodinamik özellikleri optimize etmek için fotosensitizan maddelerin kimyasal yapıları modifiye edilmiş ya da yeni fotosensitizan grupları üretilmiştir (Cieplik ve ark. 2018).

- Fenotiyazinyum türevleri

İlk fenotiyazinyum boyası (metilen mavisi) Heinrich Caro tarafından 1870’te geliştirilmiştir. Metilen mavisi kırmızı ışık spektrumunda (600-680 nm) güçlü absorpsiyon gösterir. Antimikrobiyal FDT’de kullanılan klasik fenotiyazinyum temelli fotosensitizanlar Metilen mavisi (3,7-bis(dimethylamino)-phenothiazin-5-ium chloride) ve toluidin mavisi [3-amino-7-(dimethylamino)-2- methyl- phenothiazin-5-ium chloride)’dir. Bu iki fotosensitizan son 20 yılda kimyasal modifikasyonlar geçirerek rafine edilmişlerdir. Fenotiyazinler dış hekimliğinde klinik kullanımı onaylanmış ilk fotosensitizandır (Cieplik ve ark. 2018).

- Porphirin, klorin ve ftalosiyanin türevleri

Porfirinler, klorinler ve ftalosiyaninler 4 pirol halkası içeren (porfirinler,ftalosyaninler) veya 3 pirol ve 1 pirolin alt ünitesi içeren(klorinler) olmak üzere benzer heterosiklik-makrosiklik yapıdaki maddelerdir. Klorinler ve porfirinlerden farklı olarak ftalosiyaninler hidrofobik ve yüksüzdür. Bu nedenle çözünbilmeleri ve fotosensitizan olarak kullanılabilimleri için nano-emülsiyonlar içerisinde enkapsülasyon gibi metodlarla kullanılabilir (Cieplik ve ark. 2018).

İlk jenerasyon porfirin türevleri ve ikinci jenerasyon klorinler ve ftalosiyaninler tümörlerin tedavisinde klinik kullanım onayı almışlardır (Carrera ve ark. 2016) .

- Ksantan türevleri

Eosin, eritrozin ve Rose Bengal gibi anyonik ksantan boya ları fluoresinden üretilir ve yeşil spektrumda yoğun absorpsiyon gösterir (480-550 nm). Genel olarak, tip 2 mekanizmaya göre hareket etseler de negatif yükleri aFDT’de fotosensitizan olarak kullanımlarına engel olmaktadır (Cieplik 2014).

- Fuleren türevleri

Fulerenler karbon atomlarından üretilen futbol topu şekilli moleküllerdir. Ultraviyole ve görünür ışı kta güçlü absorpsiyon gösterir. Biyofilmler üzerine çeşitli çalışmalarda kullanılmaktadır (Cieplik 2014).

- Fenalenon türevleri

Fenalenon renk maddeleri bitkiler tarafından patojenlere karşı biyosentezi yapılan, güneş ışığı altında tekil oksijen oluşturan maddelerdir (Cieplik 2014).

- Riboflavin türevleri

Riboflavinin, diğer adıyla vitamin B2, ultraviyole A irradyasyonu altında tekil oksijen ürettiği bilinen bir durumdu. Ancak hidrofilikliğinin zayıf olması nedeniyle antimikrobiyal etkinliği yetersizdi. Yakın zaman önce riboflavin türevleri geliştirilerek fotodinamik etkinliği arttırılmıştır. Bu fotosensitizan ultraviyole A ve mavi ışık spektrumunda (350-470 nm) absorpsiyon göstermektedir (Cieplik 2014).

- Kurkumin türevleri

Kurkumin (1E,6E-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)- 1,6- heptadiene-3,5-dione) doğal olarak Curcuma longa isimli bitkinin köklerinden elde edilen sarı bir maddedir. E100 gıda katkısı olarak onaylanmıştır. Kimyasal modifikasyonlar ile ultraviyole/mavi spektrumda(300-500 NM) etkilidir (Cieplik 2014).

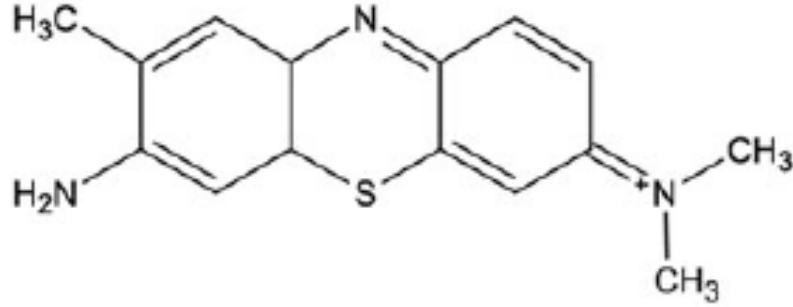
Mikrobiyal enfeksiyonların tedavisinde kullanılacak fotosensitizör maddelerin maksimum absorpsiyon dalgaboyu, ışık absorpsiyon miktarı, lipofilite, iyonizasyon gibi özelliklerine ek olarak yüksek miktarda uzun ömürlü uyarılmış tekil form oksijen oluşturmaya istenmektedir. Ayroca fotosensitizan madde mikroorganizmaları öldürürken, konak dokularda minimum hasara yol açmalıdır (Onat ve Artun 2014).

2.5.7. Toluidin mavisi

Toluidin mavisi, uygun dalga boyundaki ışık varlığında, gram negatif hücre membranlarındaki lipopolisakkaritlerle etkileşime geçerek etkisini gösterir. 630 nm dalga boyundaki ışık ile maksimum absorpsiyon ve optimum fotodinamik özellikler gösterir (Matsubara ve ark. 2008).

Yapılan çalışmalarda toluidin mavisinin etkinliği araştırılmıştır. Toluidin mavisinin fotodinamik etkinliği yanı sıra rahim ağzı mukozası ve oral bukkal mukozadaki anormal doku değişikliklerinin takibinde cerrahi işlem öncesinde kullanılabilir. Toluidin mavisi 596 nm ve 630 nm dalga boyundaki ışığı absorbe eden, metakromatik, asidofilik bir fotosensitizandır. Selektif olarak sülfatlar, karboksilatlar ve fosfat radikalleri gibi asidik doku bileşenlerini boyarlar. Toluidin mavisinin nükleik asitlere affinitesi vardır ve sonuç olarak yüksek DNA ve RNA içeriğine sahip dokulara bağlanır. Yapılan çalışmalarda *P. gingivalis*, *F. nucleatum*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacillus casei*, *Actinomyces viscosus* ve *Candida albicans* gibi türlere karşı etkinliği bulunmuştur.

Şekil 2-13: Toluidin mavisi (Wilson ve ark. 2004)



Toluidin mavisi (3-amino-7- dimetilamino-2- metil- fenotiazin -5-ium klorid) son 20 yıldır üzerinde yapılan çalışmalar ile çeşitli modifikasyonlara uğramıştır. Toluidin mavisi dış hekimliği alanında klinik olarak onaylanan ilk fotosensizan maddedir (Şekil 2-13).

Bir fenotiyazinyum tuzu olan toluidin mavisi insan dokularına toksik olmaması ve tekil oksijen oluşumunda yüksek kuantum verimine sahip oluşu nedeniyle mikroorganizmaların inaktivasyonunda geniş kullanım alanına sahiptir. Klinik kullanımda tükürük ve mekanik hareketlerle hedef dokudan uzaklaşabilmektedir. Bunun önüne geçmek ve solüsyonun tedavide retansiyon zamanını arttırmak için sınırlı sayıda çalışma vardır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

Bu çalışmada İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nden alınan 230 ± 50 gr ağırlığında ve 10-12 haftalık 24 adet Sprague-Dawley türü erkek sıçan kullanılmıştır.

Çalışmamızda kullanılan gereçler aşağıda sıralanmıştır:

- ❖ Ketazol %10 flakon (Richter farma, Austria)
- ❖ Rompun® flakon (Ksilazin hidroklorür, Bayer Türk Kimya San. Ltd. Şti)
- ❖ İnce uçlu küçük kök davyesi, açılı hemostat , doku pensi
- ❖ 5 cc'lik enjektör
- ❖ 1 cc'lik insülin enjektörü
- ❖ Eppendorf tüpü 1.5 ml'lik
- ❖ Kan alma tüpü (Kırmızı kapaklı) 6ml'lik
- ❖ Ameliyat seti
- ❖ %10'luk formol çözeltisi
- ❖ Ostezolen IV 4 mg/5ml flakon (Zoledronik asit, Recordati İlaç)
- ❖ Mikrolitre ve hematokrit santrifüj cihazı (Nüve, NF 048)
- ❖ Rat Tartrate Resistant Acid Phosphatase-5b(TRACP-5b) ELISA Kit (Shanghai YeHua Biological Technology Co., Ltd. Gical Technology Co., Ltd, China)
- ❖ FotoSan® 630 LAD(Light Activated Disinfection) (CMS Dental, Danimarka)
- ❖ FotoSan® Fotosensitizanı(Toluidin Mavisi) (CMS Dental, Danimarka)
- ❖ Microtom Bıçağı
- ❖ Gömme Kaseti Kapaklı

- ❖ Parafin
- ❖ Rodajlı Lam
- ❖ 200 mikrolitre sarı pipet ucu

3.1.1. İntraperitoneal Enjeksiyon İçin Zoledronik Asitin Hazırlanması

Zoledronik asit , 5ml’lik flakonlar içerisinde 4 mg zoledronik asit bulunduran solüsyonların % 0,9 izotonik sodyum klorür çözeltisiyle seyreltilmesi ile deney hayvanı için toplam dozu 2,4 mg/kg, 6 hafta boyunca haftada 2 kez yapılacak olan uygulama başına dozu 0,2mg/kg olacak şekilde intraperitoneal uygulama öncesi hazırlanmıştır.

3.1.2. Fotodinamik Tedavi İçin FotoSan® 630 Cihazı ve FotoSan® Fotosensitizan

Fotosan 630 yaklaşık $2\text{w}/\text{cm}^2$ çıkış gücüne sahip, ortalama 630 nm dalgaboyunda kırmızı ışık yayan, içerisindeki şarj olabilir 3,2 voltluk bataryası sayesinde kablosuz olarak kullanılabilen bir sınıf 1 LED cihazdır (Şekil 3-1).

Şekil 3-1: FDT uygulamasında kullandığımız Fotosan 630 ışık cihazı.



1,2 ml'lik Fotosan fotosensitizanları, 3 farklı viskozite seçeneğiyle(low,medium,high), özel ışık geçirilmeyen tekli paketlerde, 0.1 mg/ml toluidin mavisi içeren enjektörlerden oluşmaktadır. Üretici tavsiyesine uyarak yüksek(high) viskoziteye sahip olan versiyonu kullanılmıştır. Uygulama günü açılan fotosensitizan enjektörü aynı deneyde kullanılmış, farklı günlerdeki her deney için yeni fotosensitizan kullanılmıştır.

Bizim çalışmamızda üreticinin tavsiye ettiği şekilde 8mm'lik künt uçlar (Şekil 3-2) ile yüksek viskoziteli fotosensitizan ajan çekim bölgesine sürüldükten sonra ve ısınmanın önüne geçmek için cihazın programında yer alan 10'ar saniyelik periyotlar halinde, çekim bölgesinin 4 tarafından toplamda 40 sn ışık uygulanmıştır.

Şekil 3-2: FDT ışık cihazına ait 8mm'lik künt uç.



3.1.3. Deney Hayvanlarının Ağırlık Ölçümleri İçin Hassas Terazı Kullanılması

Deney hayvanları deneylere başlanılan ilk gün 0. Hafta, zoledronik asit ve serum enjeksiyonlarının tamamlandığı 6. Hafta sonunda ve çekimler yapılmadan önce 14. Haftada hassas terazide tartılarak ağırlık değişimleri takip edilmiştir (Şekil 3-3).

Şekil 3-3: Sıçanların hassas terazide ağırlık ölçümleri.

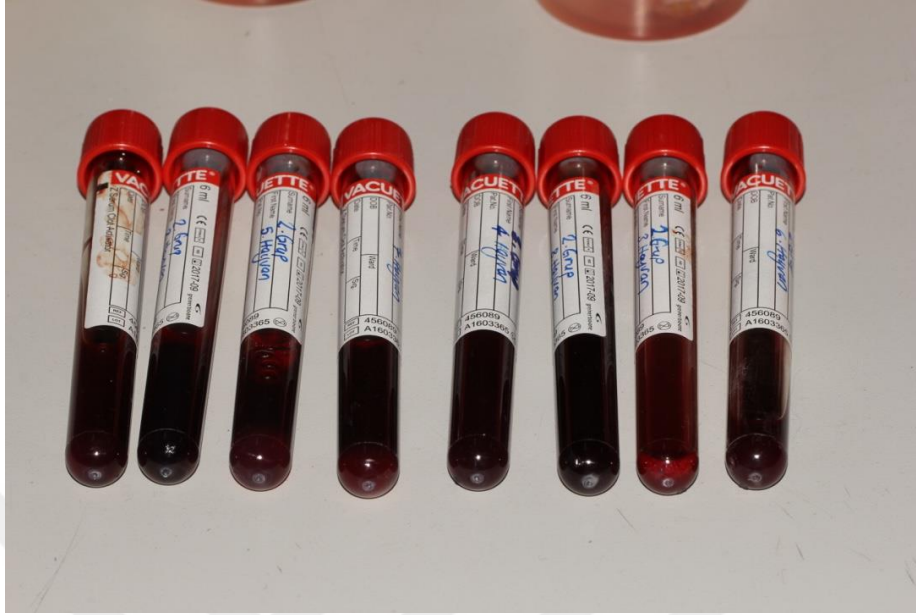


3.1.4. Serum TRACP-5b Ölçümü İçin Örneklerin Hazırlanması

Sakrifikasyon sırasında 3 deney grubundan da serum TRACP-5b ölçümleri için alınan kanlar, kırmızı kan tüplerine enjekte edilir. Alınan örneklerin trombositlerin çökmesi için 30 dk boyunca oda sıcaklığında bekletilmesinin ardından 2500 devirde 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonucunda serum ve plazma ayrıştırılmış, mikropipet yardımıyla alınarak steril eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Daha sonra yapılacak değerlendirme için -80 C’de muhafaza edilmiştir.

Serum TRACP-5b değerlendirmesi İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalında gerçekleştirilmiştir.

Şekil 3-4: Sakrifikasyon sonrası serum TRACP-5b ölçümü için alınan kan örnekleri.



3.2. YÖNTEM

3.2.1. Deney Hayvanları ve Deney Grupları

Çalışmamızda deney hayvanlarında yapılan tüm işlemler ve sakrifikasyonlar İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı laboratuvarında, alınan kemik örneklerinin histopatolojik incelemeleri İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü, Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Anabilim Dalı'nda, serum TRACP-5b incelemesi ise İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Bu proje kapsamındaki hayvan deneyleri için İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu(HADYEK)'ten onay alınmıştır.

Deney hayvanları; 22 ± 1 °C sıcaklıkta, bağıl nem oranı %40-60 ve ışık periyodunun 12 saat aydınlık 12 saat karanlık standardını sağlayan ortamda, deney süreleri boyunca her metal kafes içerisinde 3 sıçan olacak şekilde muhafaza edilmiştir. Deney hayvanları, %21 oranında protein içeren standart sıçan yemi ve distile su ile beslenmişlerdir. Araştırmamızda kullanılan deney hayvanlarından 3 ana grup oluşturulmuştur.

3.2.2. Deney Grupları ve Deney Prosedürü

Çalışmamızda 24 adet Sprague Dawley türü, 230 ± 50 gr ağırlığındaki 10-12 haftalık erkek sıçanlar kullanılmıştır. Deney hayvanlarının 22 ± 1 °C oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık otomatize odalarda standart laboratuvar yemi ve çeşme suyuyla ad libitum beslenmeleri sağlanmıştır. Deneylere başlamadan önce hayvanların 1 hafta ortama uyum sağlamaları için beklenilmiştir.

Çalışmamızda hayvanlar 8'er sıçandan oluşan 3 gruba ayrıldı. Tüm gruplarda deney hayvanlarının anestezisi, Ketamin Hidroklorür(Ketalar) 100 mg/kg ve Ksilazin Hidroklorür(Rompun) 10mg/kg ile sağlandı. Sağ üst 1. Molar diş çekimi öncesi işlem yapılacak bölge batikonla dezenfekte edildikten sonra asepti ve antisepti kurallarına uyulmuştur ve steril cerrahi aletler kullanılmıştır. Sağ üst 1. molar dişlerinin çekimi uygun forsepsler kullanılarak yapılmıştır. Operasyon sonrası steril gaz tampon ile kanama kontrolü sağlandıktan sonra işlem sonlandırılmıştır.

1.grup (Negatif Kontrol) (Zoledronik Asit Uygulanması + Diş çekimi)

8 hayvandan oluşan bu gruptaki hayvanlara 6 hafta boyunca, haftada 2 kez intraperitoneal yolla 0.2 mg/kg zoledronik asit, %0,9 steril izotonik sodyum klorür solüsyonuyla karıştırılarak verildi. Diş çekimleri 6. Haftanın sonunda yukarıda belirtilen koşullarda yapıldıktan sonra, 10 hafta boyunca deney hayvanları takip edilmiştir. 16 hafta sonunda sakrifikasyon işlemi öncesinde anestezi altında, intrakardiyak yolla kan örneği alımı sağlanmış ve sakrifikasyon gerçekleştirilmiştir.

2.grup (FDT Grubu) (Zoledronik Asit Uygulanması + Diş çekimi + Fotodinamik Tedavi):

8 hayvandan oluşan bu gruptaki hayvanlara 6 hafta boyunca, haftada 2 kez intraperitoneal yolla 0.2 mg/kg zoledronik asit, %0,9 steril izotonik sodyum klorür solüsyonuyla karıştırılarak verildi. Diş çekimleri 6. Haftanın sonunda, yukarıda belirtilen koşullarda yapıldıktan hemen sonra çekim soketine fotosensitizan olarak içerisinde Fotosan fotosensitizan ajanı olan, 0.1 mg/ml'lik toluidin mavisi sürülerek, Fotosan 630 ile 2 hafta boyunca, haftada 3 kez, 10'ar saniye boyunca, 4 farklı açıdan toplamda 40 sn, fotodinamik tedavi uygulanmıştır. Sonrasında 8 hafta boyunca deney hayvanları takip edilmiştir. 16 hafta sonunda sakrifikasyon işlemi öncesinde anestezi altında intrakardiyak yolla kan örneği alımı sağlanmış ve sakrifikasyon gerçekleştirilmiştir (Şekil 3-5, şekil 3-6, şekil 3-7, şekil 3-8).

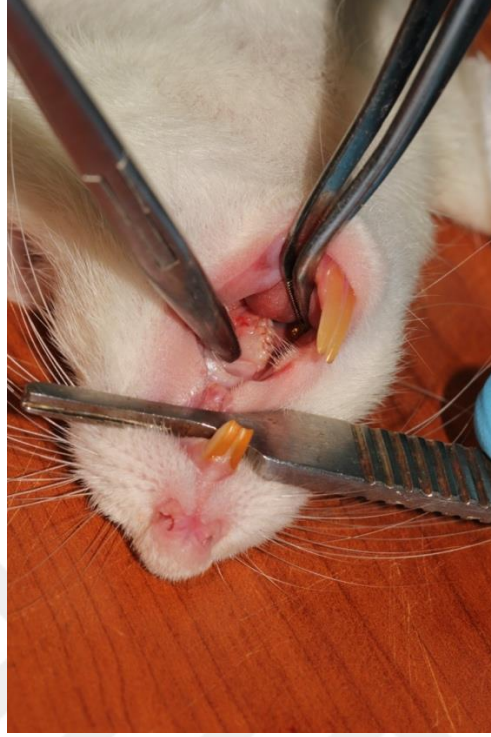
3.grup (Pozitif Kontrol) (%0.9 İzotonik Sodyum Klorür Solüsyonu Enjeksiyonu + Diş Çekimi)

8 hayvandan oluşan bu gruptaki hayvanlara 6 hafta boyunca, haftada 2 kez intraperitoneal yolla 0,5 ml %0,9 steril izotonik sodyum klorür solüsyonu verildi. Diş çekimleri 6. Haftanın sonunda yukarıda belirtildiği şekilde yapıldı. 10 hafta boyunca deney hayvanları takip edilmiştir. 16 hafta sonunda sakrifikasyon işlemi öncesinde anestezi altında, intrakardiyak yolla kan örneği alımı sağlanmış ve sakrifikasyon gerçekleştirilmiştir. Bu gruptaki hayvanlardan 1 tanesi deneyler sırasında ex olmuştur, kalan sağlıklı 7 hayvan ile deneylere devam edilmiştir.

Şekil 3-5: Deney grubundaki hayvanlara 6 hafta boyunca intraperitoneal enjeksiyonlar gerçekleştirilmiştir.



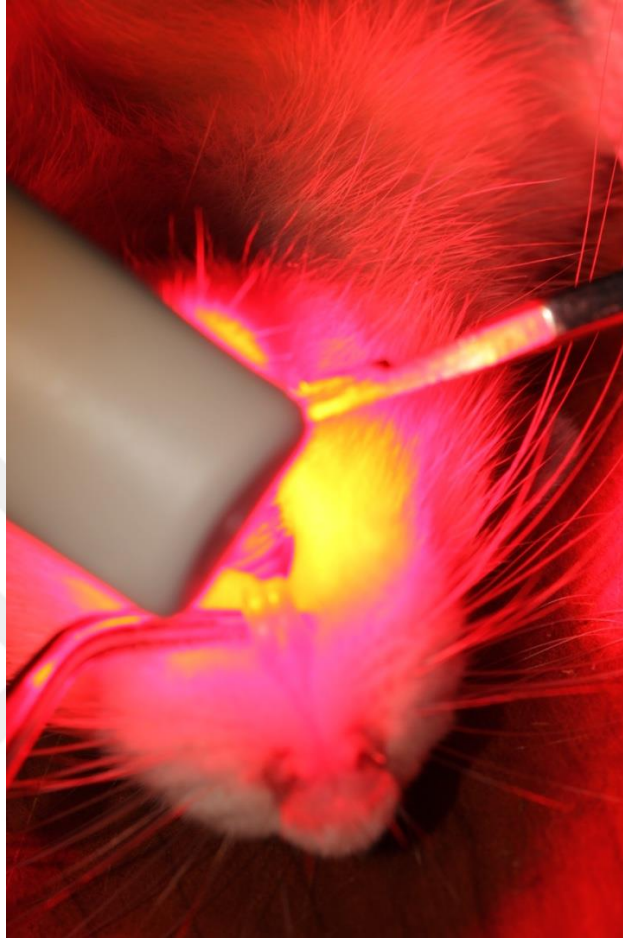
Şekil 3-6: Diş çekimleri anestezi altında uygun forsepsler ile gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3-7: Diş çekimi sonrası çıkarılan üst 1. büyük azı dişi.



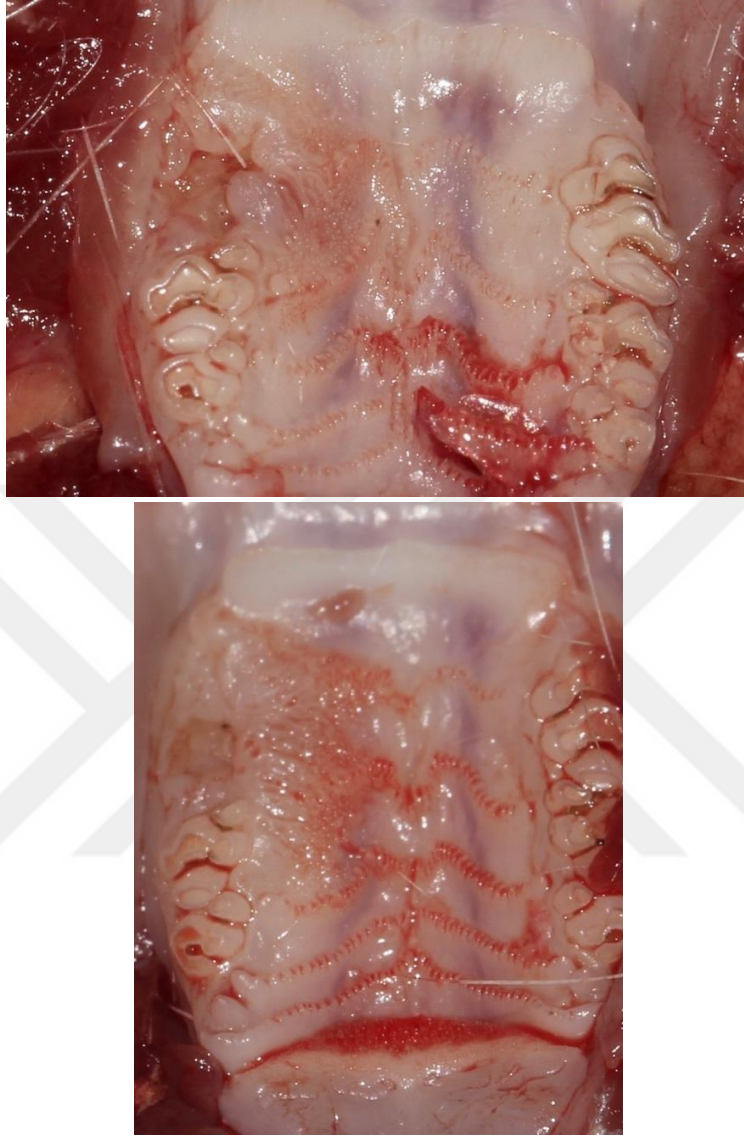
Şekil 3-8: Fotosensitizan madde (0,1 mg/ml Toluidn mavisi) uygulandıktan sonra ışık kaynağı ile 40 sn ışık uygulanmıştır.



Şekil 3-9: Sakrifikasyon sonrası 1. grup (negatif kontrol)'teki sıçalarda açığa çıkmış kemik yüzeyi ve MRONJ lezyonları görülmektedir.



Şekil 3-10: Sakrifikasyon sonrası 2.grup (FDT)'a ait çekim yapılan bölgelerdeki kemiğin üzerinde kısmen epitelize olmuş düzensiz iyileşme dokusu görülmektedir.



Şekil 3-11: Sakrifikasyon sonrası mukozanın tamamen kapandığı 3. Grup (pozitif kontrol)'e ait ağız içi görünüm.



3.2.3. Histopatolojik Değerlendirme

3.2.3.1. Histopatolojik Değerlendirme İçin Preperatların Hazırlanması

Yüksek doz anestezi madde enjeksiyonu ile kurban edilen deney hayvanlarının kafatası çıkartıldıktan sonra 1 hafta süreyle %10 luk tamponlanmış formalinde fiks edildi. Kafatası formolde tespit olduktan sonra deri ve yumuşak dokudan temizlendi. Dekalsifikasyon işlemi için sodyum sitrat (%20) ve formik asit (%50) içeren solüsyona alındı. Dekalsifikasyondan sonra makroskopik olarak, çekim boşluklarından geçecek şekilde 3mm kalınlığında frontal kesitler alındı. Bu parçalar rutin doku takibinden geçirildi ve parafin bloklar hazırlandı. Parafin bloklardan elde edilen 3 mikron kalınlığındaki kesitler hematoxylin ve eozin ile boyanıp ışık mikroskopunda incelendi.

3.2.3.2. Histopatolojik Değerlendirme Kriterleri

- İltihap
- Yeni kemik yapımı

İltihap ve yeni kemik oluşumu;

- %0 ise (0) yok,
- %5- %30 arasını kaplıyorsa (1) hafif,
- %30-60 arasını kaplıyorsa (2) orta,
- %60'dan fazlasını kaplıyorsa (3) ağır olarak skorlandı.

3.2.4. Histomorfometrik Değerlendirme

İnceleme sırasında tüm defekt bölgesini kapsayan dijital görüntüler alındı ve ölçümler bu fotoğraflar üzerinden yapıldı. Histomorfometrik ölçümlerde “ Olympus AnalySIS 5 (Tokyo – Japan) “ görüntü analiz programı kullanıldı. Nekrotik dokusunun kapladığı alan milimetre kare cinsinden ölçüldü. Epitel açıklığı ise aynı programda mm cinsinden ölçüldü.

3.2.5. İstatistiksel Değerlendirme

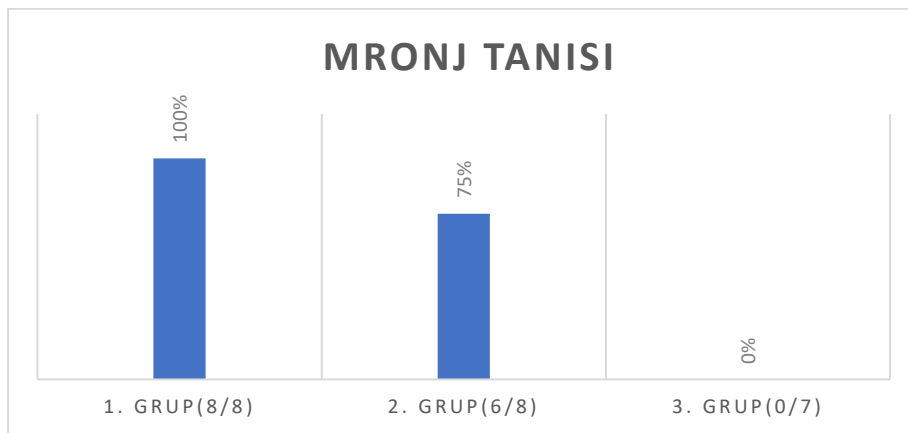
İstatistiksel analizler SPSS versiyon 23.0 programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu histogram grafikleri ve Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Tanımlayıcı analizler sunulurken ortalama, standart sapma, ortanca ve minimum-maximum değerler kullanılmıştır. 2x2 gözlerde Pearson Ki Kare ve Fisher's Exact Testleri ile karşılaştırıldı. Normal dağılım gösteren (parametrik) değişkenler üçlü gruplar arasında değerlendirilirken ANOVA testi ikili gruplar arasında karşılaştırılırken bağımsız T testi kullanılmıştır. Normal dağılım göstermeyenler (nonparametrik) üçlü gruplar arasında değerlendirilirken Kruskal Wallis Testi ikili gruplar arasında karşılaştırılırken Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Tekrar eden ölçümler, tekrarlayan ölçümler varyans analizi ile değerlendirilmiştir. P-değerinin 0.05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirildi

4. BULGULAR

4.1. İstatistiksel Bulgular

Bizim çalışmamızda zoledronik asit uygulanan ve diş çekimi yapılan 1. gruptaki hayvanların 8/8'inde (%100) ve Z.A.+ Çekim + FDT uygulanan 2. Grupta 6/8 hayvanda (%75) 8 haftalık süre sonunda klinik olarak MRONJ tanısı konulmuştur. 3. grup(kontrol)'de ise çekim soketleri tam olarak iyileşmiştir (Şekil 4-1).

Şekil 4-1: Grupların MRONJ tanısı yüzdeleri



Bu çalışmada histomorfometrik inceleme sonucunda, nekroz ve epitel açıklığı gruplar arasında karşılaştırıldığında; 1. grubun nekroz medyan değerinin ($4,26 \text{ mm}^2$) 3. gruba göre ($1,41 \text{ mm}^2$) anlamlı derecede ($p < 0,05$) daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p: 0,004$). Fotodinamik tedavi uygulanan 2. grubun nekroz medyan değeri ($2,51 \text{ mm}^2$), 1. gruba ($4,26 \text{ mm}^2$) göre daha düşük olmakla birlikte bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

1. grubun epitel açıklığı medyan değeri ($1,77 \text{ mm}$), 2. ($0,33 \text{ mm}$) ve 3. ($0,11 \text{ mm}$) gruba göre anlamlı derecede daha yüksektir. 3. grubun epitel açıklığı medyan değeri ($0,11 \text{ mm}$) ise diğer iki gruba göre anlamlı derecede daha düşüktür ($p < 0,001$). FDT grubunun epitel açıklığı negatif kontrole göre anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ($p < 0,001$) (Tablo 4-1).

Tablo 4-1: Gruplar arasında nekroz ve epitel açıklığının karşılaştırılması.

	Grup 1 (Negatif kontrol)			Grup 2 (FDT)			Grup 3 (Pozitif kontrol)			p*
	Medyan	Min.	Max.	Medyan	Min.	Max.	Medyan	Min.	Max.	
Nekroz	4,26	2,96	4,77	2,51	0,19	5,50	1,41	1,22	1,52	0,004
Epitel açıklığı	1,77	1,10	2,90	0,33	0,18	0,61	0,18	0,11	0,55	<0,001

*Kruskal Wallis Testi

Çalışma ve kontrol grupları arasında nekroz ve epitel açıklığı karşılaştırıldığında; çalışma grubunun nekroz medyan değerinin ($3,30 \text{ mm}^2$) kontrol grubuna göre ($1,41 \text{ mm}^2$) daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p: 0,004$). Benzer şekilde çalışma grubunun epitel açıklığı medyan değeri ($0,86$) kontrol grubuna göre ($0,18$) daha yüksektir ($p: 0,001$) (Tablo 4-2).

Tablo 4-2: Z.A. grupları ve pozitif kontrol grubu arasında nekroz ve epitel açıklığının karşılaştırılması.

	Z.A. (Grup 1 ve 2)			Pozitif kontrol (Grup 3)			p
	Medyan	Min.	Max.	Medyan	Min.	Max.	
Nekroz	3,30	,19	5,50	1,41	1,22	1,52	0,004
Epitel açıklığı	,86	,18	2,90	,18	,11	,55	0,001

*Mann Whitney U Testi

Gruplar arasında enflamasyon ve yeni kemik oluşumu dereceleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı fark olduğu gözlenmiştir. Buna göre 1. Grubun tamamının enflamasyon derecesi ağırken 2. grubun hafif enflamasyon oranı (%37,50) 3. Gruba göre (%85,71) daha düşüktür (p:0,002). 3. grupta çoğunluk(%85,71) hafif enflamasyona sahipken, 3. grubun ağır enflamasyon oranı %0' dır.

FDT grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmamakla birlikte, orta(%25) ve ağır(%37,5) enflamasyon oranı, 1. gruba göre azdır, 3. gruba göre ise daha yüksektir.

1. Grubun hafif derecede yeni kemik oluşumu oranı (%25) 2. Gruba (%62,50) ve 3. Gruba (%28,57) göre daha düşüktür (p:0,010). (Tablo) FDT grubunun hafif yeni kemik oluşumu oranı negatif kontrole göre anlamlı derecede yüksektir (p:0,010) (Tablo 4-3).

Tablo 4-3: Gruplar arasında enflamasyon ve yeni kemik oluşumu derecelerinin karşılaştırılması

		Grup 1 (Negatif kontrol)		Grup 2 (FDT)		Grup 3 (Pozitif kontrol)		p*
		n	%	n	%	n	%	
Enflamasyon	Yok	0	(,00)	0	(,00)	0	(,00)	0,002
	Hafif	0	(,00)	3	(37,50)	6	(85,71)	
	Orta	0	(,00)	2	(25,00)	1	(14,29)	
	Ağır	8	(100,00)	3	(37,50)	0	(,00)	
Yeni kemik oluşumu	Yok	6	(75,00)	2	(25,00)	0	(,00)	0,010
	Hafif	2	(25,00)	5	(62,50)	2	(28,57)	
	Orta	0	(,00)	1	(12,50)	3	(42,86)	
	Ağır	0	(,00)	0	(,00)	2	(28,57)	

*Ki-Kare Testi

Çalışma ve kontrol grupları arasında enflamasyon ve yeni kemik oluşumu dereceleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı fark olduğu gözlenmiştir. Buna göre çalışma grubunda ağır enflamasyon görülme oranı (%68,75) kontrol grubuna göre (%0,00) daha yüksekken hafif enflamasyon görülme oranı çalışma grubunda (%18,75) kontrol grubuna göre (%85,71) düşüktür (p:0,006). Hafif yeni kemik oluşumu oranı çalışma grubunda (%43,75) kontrol grubuna göre (%28,57) daha yüksektir (p:0,007) (Tablo 3-4).

Tablo 3-4: Z.A. grupları ve pozitif kontrol grubu arasında enflamasyon ve yeni kemik oluşumu derecelerinin karşılaştırılması

		Z.A. (Grup 1 ve 2)		Pozitif kontrol (Grup 3)		p*
		n	%	n	%	
Enflamasyon	Yok	0	(,00)	0	(,00)	0,006
	Hafif	3	(18,75)	6	(85,71)	
	Orta	2	(12,50)	1	(14,29)	
	Ağır	11	(68,75)	0	(,00)	
Yeni kemik oluşumu	Yok	8	(50,00)	0	(,00)	0,007
	Hafif	7	(43,75)	2	(28,57)	
	Orta	1	(6,25)	3	(42,86)	
	Ağır	0	(,00)	2	(28,57)	

*Ki-Kare Testi

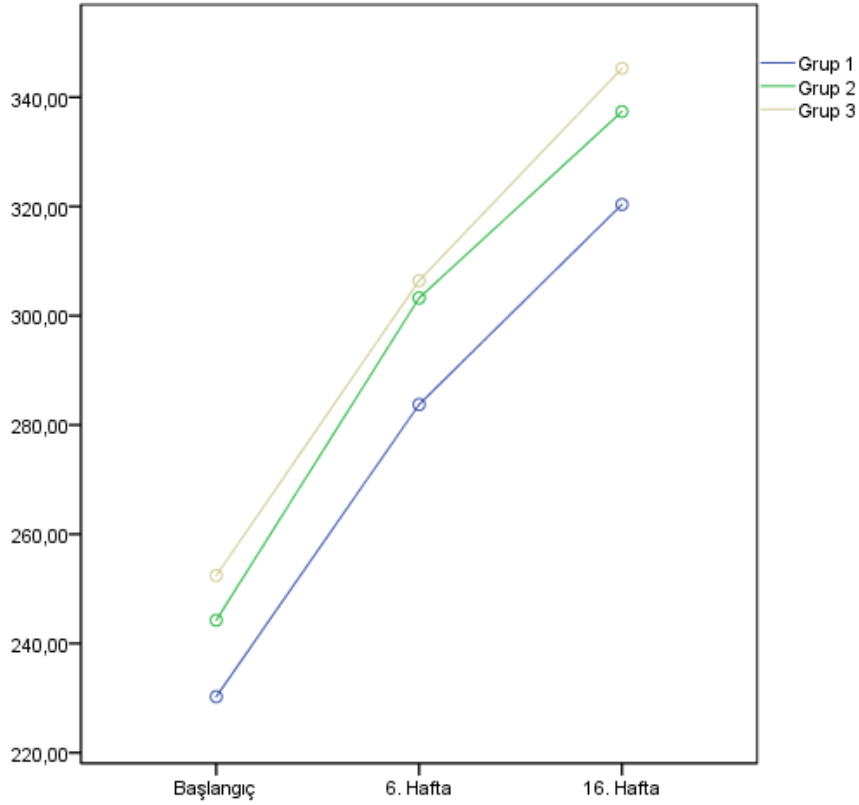
Sıçanların ağırlık değişimi gruplar arasında karşılaştırıldığında; gruplar arasında sıçanların ağırlık değişimi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir (p>0,05) (Tablo 4-5, Şekil 4-2).

Tablo 4-5: Sıçanların ağırlık değişiminin gruplar arasında karşılaştırılması

Sıçanların ağırlığı (gr)	Grup 1			Grup 2			Grup 3			p*
	Ort.	s.s.	Medyan	Ort.	s.s.	Medyan	Ort.	s.s.	Medyan	
Başlangıç	230,25	±17,41	228,00	244,25	±33,21	257,50	252,43	±27,24	260,00	0,971
6. hafta	283,75	±42,15	287,50	303,25	±37,80	315,00	306,43	±38,72	326,00	
16. hafta	320,38	±35,45	322,50	337,38	±28,88	349,50	345,29	±36,70	362,00	

*Tekrarlayan ölçümler varyans analizi

Şekil 4-2. Sıçanların ağırlık değişiminin gruplar arasında karşılaştırılması



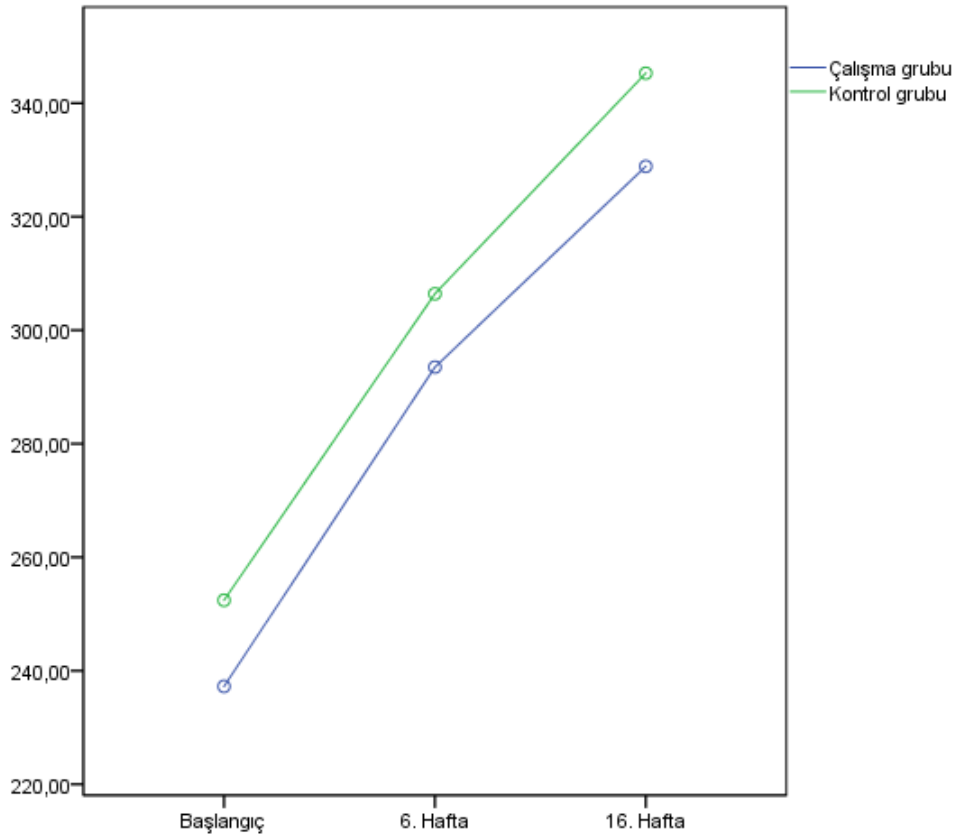
Sıçanların ağırlık değişimi çalışma ve kontrol grupları arasında karşılaştırıldığında; sıçanların ağırlık değişimi bakımından çalışma ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$) (Tablo 4-6, şekil 4-3).

Tablo 4-6: Z.A. grupları ve pozitif kontrol grubu arasında sıçanların ağırlık değişiminin karşılaştırılması

	Z.A. (Grup 1 ve 2)			Pozitif kontrol (Grup 3)			p*
	Ort.	s.s.	Medyan	Ort.	s.s.	Medyan	
Başlangıç	237,25	±26,62	239,50	252,43	±27,24	260,00	0,890
6. hafta	293,50	±39,97	303,00	306,43	±38,72	326,00	
16. hafta	328,88	±32,45	338,00	345,29	±36,70	362,00	

*Tekrarlayan ölçümler varyans analizi

Şekil 4-3: Sıçanların ağırlık değişiminin Z.A. grupları ve pozitif kontrol grubu arasında karşılaştırılması

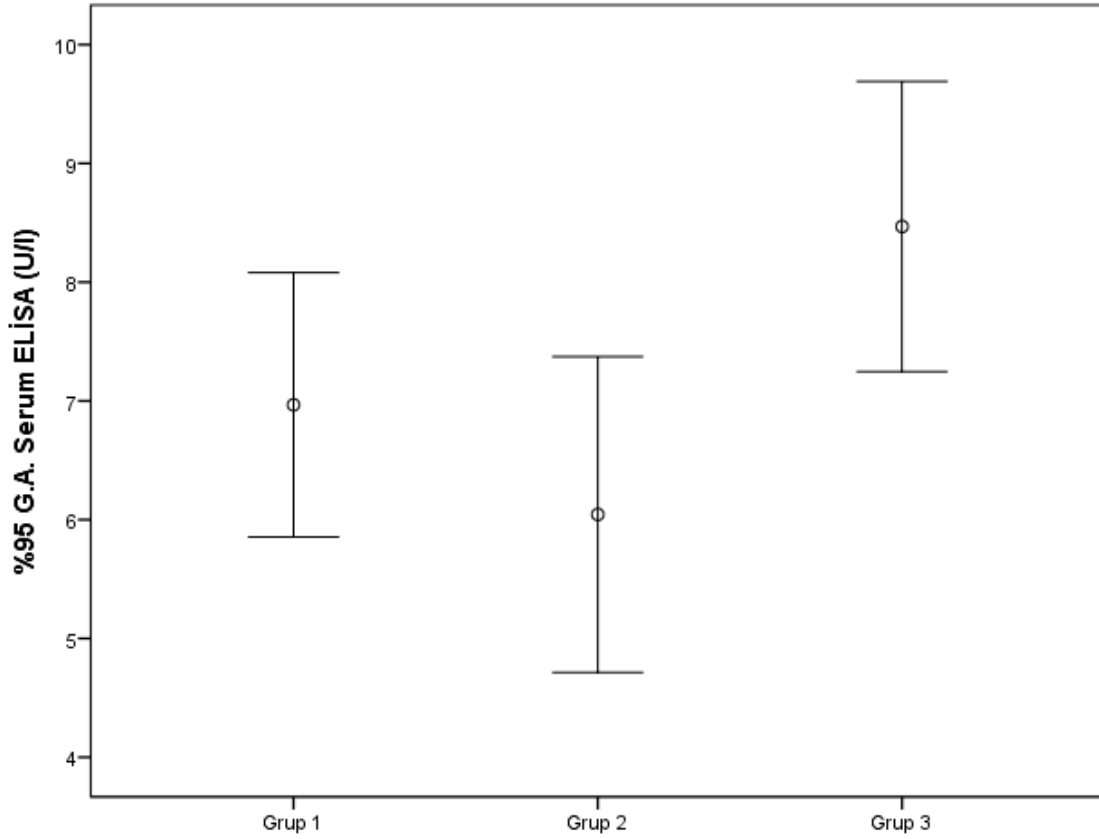


Serum TRACP-5b sonuçları gruplar arasında karşılaştırıldığında; gruplar arasında anlamlı fark olduğu gözlenmiştir. Yapılan post-hoc analizle bu anlamlılığın 2. ve 3. Gruplar arasındaki anlamlı farktan kaynaklandığı saptanmıştır. Buna göre 2. Grubun serum TRACP-5b ortalaması ($6,04 \pm 1,59$ U/I) 3. Gruba göre ($8,47 \pm 1,32$ U/I) daha düşüktür ($p:0,013$) (Tablo 4-7).

Tablo 4-7: Serum TRACP-5b sonuçlarının gruplar arasında karşılaştırılması.

	Grup 1			Grup 2 (FDT)			Grup 3			p*
	Ort.	s.s.	Medyan	Ort.	s.s.	Medyan	Ort.	s.s.	Medyan	
TRACP-5b (U/I)	6,97	$\pm 1,33$	7,20	6,04	$\pm 1,59$	5,58	8,47	$\pm 1,32$	8,30	0,013

*ANOVA testi



Şekil 4-4. Serum TRACP-5b sonuçlarının gruplar arasında karşılaştırılması.

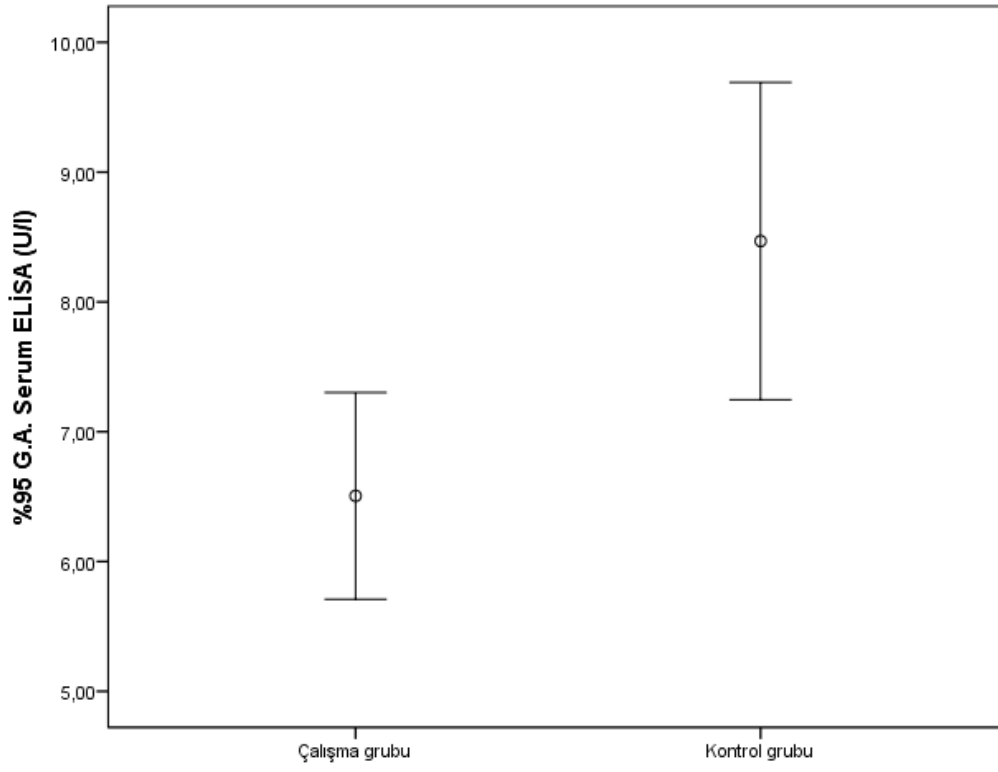
Serum TRACP-5b sonuçları çalışma ve kontrol grupları arasında karşılaştırıldığında; çalışma grubunun serum TRACP-5b ortalaması ($6,51 \pm 1,49$ U/I) kontrol grubuna göre ($8,47 \pm 1,32$ U/I) anlamlı derecede daha düşük olduğu gözlenmiştir ($p:0,007$) (Tablo 4-8, şekil 4-5).

Tablo 4-8: Serum TRACP-5b sonuçlarının Z.A. grupları ve pozitif kontrol grubu arasında karşılaştırılması.

	Z.A. (Grup 1 ve 2)			Pozitif kontrol (Grup 3)			p*
	Ort.	s.s.	Medyan	Ort.	s.s.	Medyan	
Serum ELİSA (U/I)	6,51	±1,49	6,33	8,47	±1,32	8,30	0,007

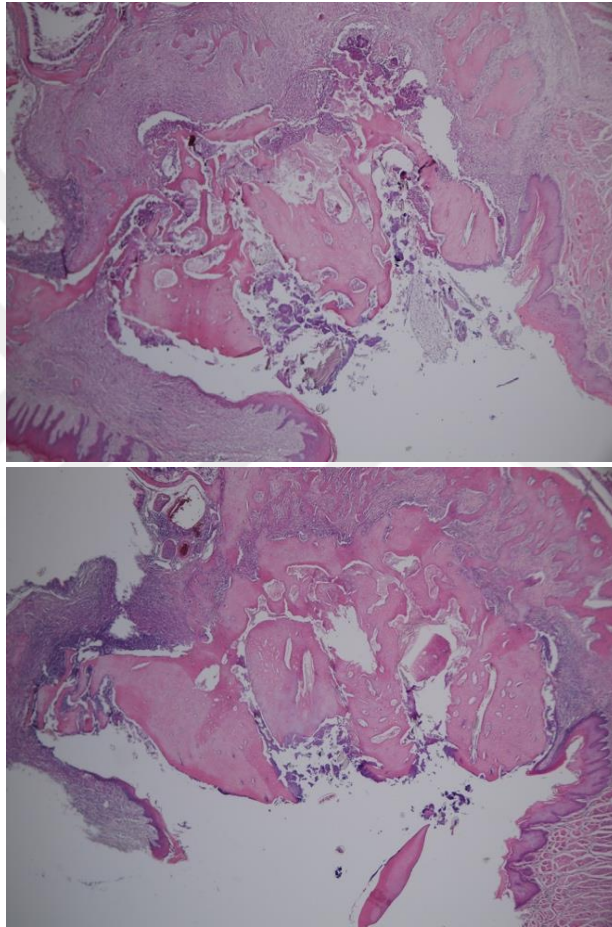
*Bağımsız T Testi

Şekil 4-5. Serum TRACP-5b sonuçlarının Z.A. grupları ve pozitif kontrol grubu arasında karşılaştırılması.

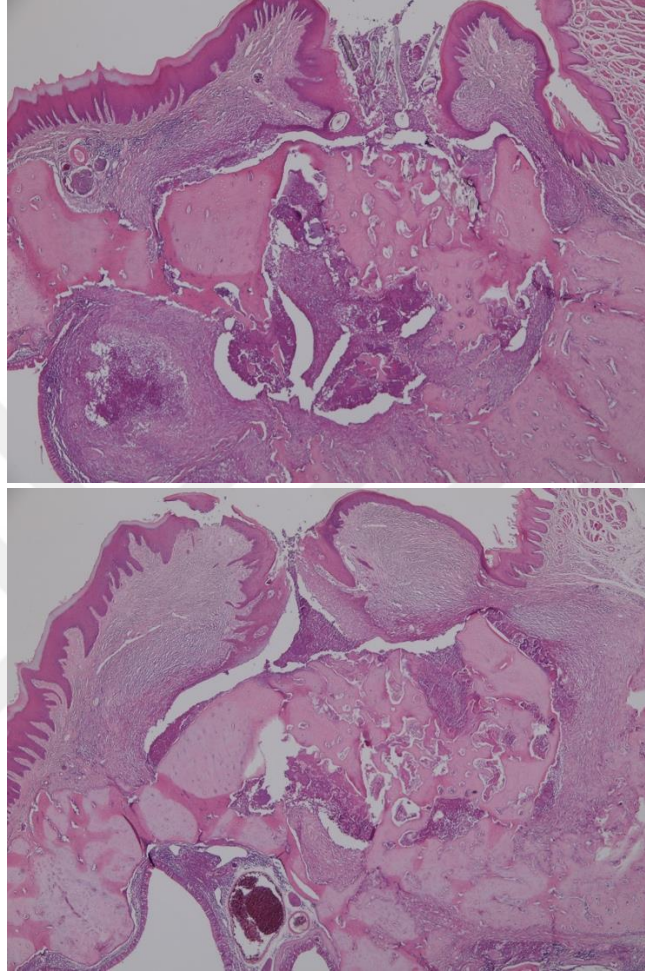


4.2. Histopatolojik Bulgular

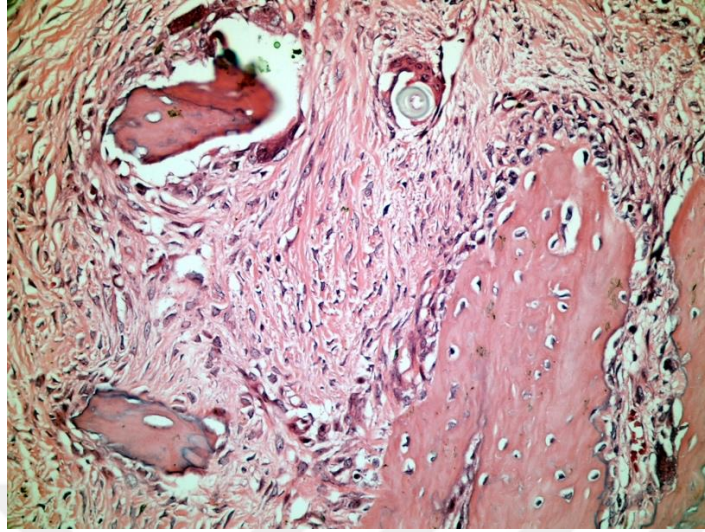
Şekil 4-6 : 1.Grupta (negatif kontrol) çekim soketinin üzerindeki çok katlı yassı epitel yara yüzeyini kapatamamıştır. Yüzeyde debris ve nekrotik kemik parçaları görülmektedir. Derinde geniş alanlar kaplayan nekrotik kemik ve çevrede yoğun lenfoplazmositer hücre infiltrasyonu ve mikroorganizma kolonileri vardır (H&E X40).



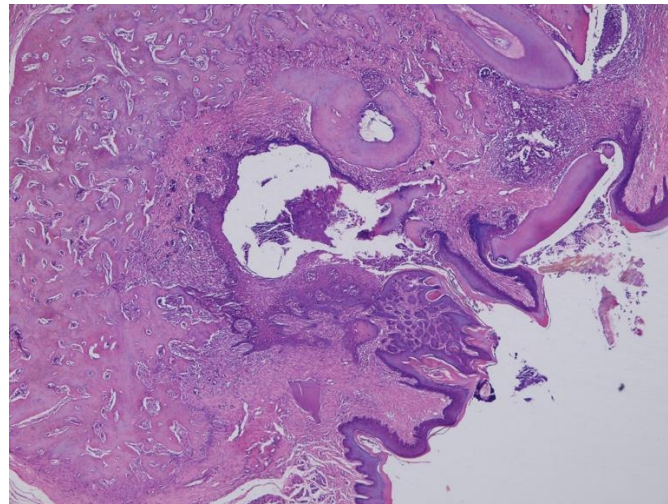
Şekil 4-7: 2. Grupta yüzey epitelinin yara yüzeyini kısmen kapattığı izlenmektedir. Altında lenfoplazmositer hücre infiltrasyonu içeren bağ dokusu içinde nekrotik kemik dokuları görülmektedir (H&E X40).



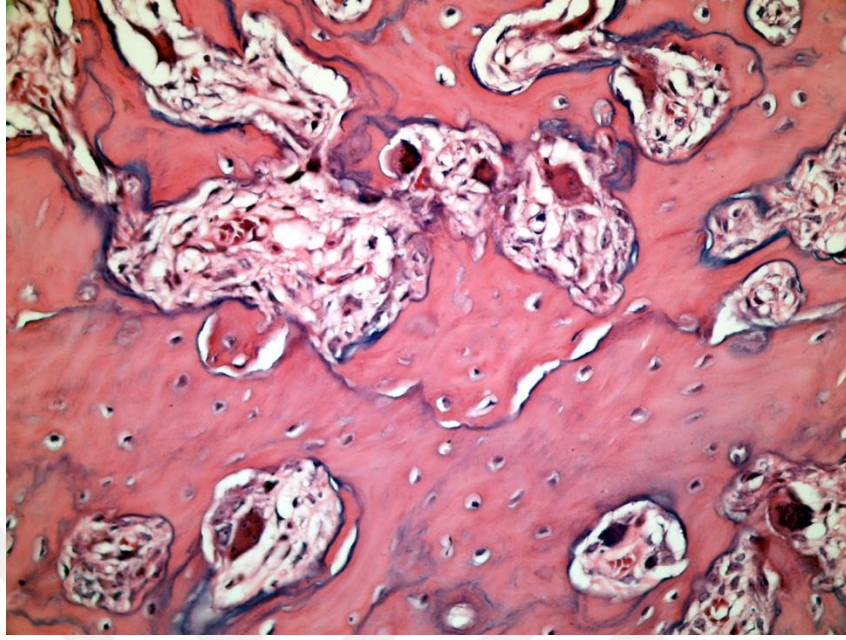
Şekil 4-8: 2. grupta (FDT Grubu) fokal nekrotik alan çevresinde, aktif fibroz doku içinde yeni kemik trabekülleri (H&E X400).



Şekil 4-9 : 3. Grupta (pozitif kontrol) çok katlı yassı epitelyum yara yüzeyini büyük ölçüde kapatmıştır. Yüzey epitelinin, altında az miktardaki nekrotik kemik parçalarını çevreler tarzda derine doğru proliferate olduğu dikkati çekmektedir. Sağlam kemik dokusu içinde osteoklastik aktivite – remodelling ve yeni kemik trabekülleri izlenmektedir (H&E X 40).



Şekil 4-10: 3. Grupta sağlam kemik dokusu içinde osteoklastik aktivite – remodelling (H&E X400).



5. TARTIŞMA

MRONJ çalışmalarının insanlardaki sınırlamaları nedeniyle bu konuda basit, güvenilir ve tekrarlanabilir hayvan modellerine ihtiyaç vardır. 2003 yılında bifosfonat kullanımına bağlı çenelerde görülen osteonekrozun tanımlanmasının ardından günümüze kadar çok çeşitli hayvan çalışmaları yapılmıştır. Sharma ve ark. (2013)'nın çalışmasında kullanılan hayvan modelleri değerlendirilmiştir. Bunlar arasında köpek, minipig, fare, sıçan gibi farklı hayvan türlerinde çalışmalar yapılmıştır. Sıçan modelleri içinde ise Wistar, Rice, Sprague-Dawley gibi farklı cins sıçanlar kullanılmıştır. Çalışmaların geneline bakılacak olursa sıçan çalışmalarının daha fazla sayıda olduğu ve cins olarak da bizim kullandığımız tür olan Sprague-Dawley ve Wistar cinsi sıçanların daha yoğun kullanıldığı görülmektedir. Ancak bu çalışmalarda çoğunlukla MRONJ lezyonu geliştirilmesini amaçlamıştır. MRONJ'un tedavisine yönelik literatürde daha az sayıda çalışma mevcuttur.

Diş çekimi MRONJ modeli oluşturulmasında en sık kullanılan yöntemlerden birisidir. Histomorfometri kemik formasyonunu ölçmede altın standart olarak kabul edilmektedir ve bu çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Bu metodun dezavantajı olarak süreçlerin uzun olması ve zaman alması sayılabilir (Ersan ve ark. 2013).

Sıçanlarda diş çekimi ile ilgili çalışmalarda, sağlıklı sıçanlarda çekimden 2 gün sonra çekim soketinde yeni kemik yapımının başladığı, 7. günde alveolar kemikteki kemik rezorpsiyonunun fibröz matriks ile yer değiştirdiği ve çekimden 14 gün sonrasında yeni kemik oluşumu süreci sonucu soketin dolduğu gösterilmiştir (Hikita ve ark. 2009).

İlk MRONJ olgularının 15 yıl önce bildirilmesine karşın hastalığın patofizyolojisi henüz kesin olarak aydınlatılamamıştır. Klinisyenler ve araştırmacılar arasında MRONJ'un altında yatan potansiyel mekanizmalar hakkında tartışma devam etmektedir. MRONJ'un çenelerde görülmesine ilişkin bozulmuş kemik remodelingi, kemik rezorpsiyonunun inhibisyonu, mikrotravma, doğuştan gelen ya da kazanılmış bağışıklığın baskılanması, vitamin D eksikliği, yumuşak dokuda antirezorptif ilaçların birikimi ve toksisitesi, inflamasyon ve enfeksiyon gibi birçok etken bilimsel çalışmalarda araştırılmaya devam etmektedir (Ruggiero ve ark. 2014).

Bifosfonatların etki mekanizması, osteoklast formasyonunu önleme, osteoklast fenotipini ve fonksiyonunu bozma ve apoptozisi teşvik ederek işlev görmektedir (Fliefel ve ark. 2015). Erken dönem kullanılan, nitrojen içermeyen bifosfonatların aksine ikinci ve üçüncü jenerasyon bifosfonatlar (aledronat, risedronat, ibandronat, pamidronat ve zoledronik asit) osteoklast apoptozisine yol açarlar. Nitrojen içeren bir bifosfonat olan zoledronik asit, yapılan MRONJ çalışmalarında en sık kullanılan ilaçlardan birisidir (Barba- Recreo ve ark. 2014). Bizim çalışmamızda diğer araştırmaların çoğunda olduğu gibi zoledronik asit (Z.A.) MRONJ modeli tercih edilmiştir.

Çalışmamızda kullanılacak Z.A. uygulama dozu, yapılan literatür taraması sonucu benzer çalışmalar ile paralel olacak şekilde her bir sıçana verilmesi gereken toplam doz 2,4 mg/kg olarak belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda Z.A. 6 hafta boyunca haftada iki kez 0,2 mg/kg intraperitoneal yolla verilmek suretiyle toplamda 2,4 mg/kg toplam doza ulaşılmıştır (Dayısoylu ve ark. 2013; Ersan ve ark. 2014; Ali-Erdem ve ark. 2011; Barba-Recreo ve ark. 2013; Duygu- Çapar ve ark. 2016). Uygulama kolaylığı ve etkinliği açısından literatürde de sıkça kullanıldığı gibi intraperitoneal yolla enjeksiyonlar gerçekleştirilmiştir.

Yapılan literatür taramaları sonucunda, MRONJ çalışılan hayvan modellerinin çoğunda bifosfonat kullanımı ve ardından diş çekimi yapılmak suretiyle değerlendirmeler yapılmıştır. Bifosfonat kullanımı yanında kortikosteroid verilmesi (Çankaya ve ark. 2011; Abtahi ve ark. 2012), çekim soketlerinin frezler ile cerrahi olarak genişletilmesi (Biasotto ve ark. 2010), D vitamini eksikliği (Hokugo ve ark. 2010) gibi farklı modeller de denenmiştir.

Bizim çalışmamızda araştırılan diğer bir parametre ise serum TRACP-5b biyobelirteci seviyeleridir. Kemik metabolizmasının biyobelirteçler ile izlenmesi, kemik remodelingi sırasında üretilen enzimlerin, proteinlerin ya da indirgenmiş ürünlerin ölçülmesi ile değerlendirilmektedir. Çeşitli biyokimyasal belirteçler hassas olarak antirezorptif tedavinin izlenmesi, kırık riskinin değerlendirilmesi, kemik metastazlarında iskeletsel olayların riskinin değerlendirilmesi gibi alanlarda incelenerek klinisyenlere katkı sunabilmektedir (Duygu-Çapar ve ark. 2016). Bu konuda henüz üzerinde fikir birliği sağlanan ve klinik kullanımı önerilen bir biyobelirteç yoktur ancak deney hayvanları ve insanlar üzerinde araştırmalar yapılmaya devam edilmektedir.

MRONJ'un etyolojisinde enfeksiyonun yerine ilişkin araştırmalar yapılmaya devam etmektedir. Mikroorganizmalar ve özellikle bakteriyel mikrofilmlerin kemik yüzeyinde osteoklastik rezorpsiyon ile birlikte MRONJ gelişiminde ve osteonekroz üzerinde etkisi olduğu bilinmektedir (Khan ve ark. 2015).

FDT, reaktif oksijen ürünleri üretimi sonucu mikroorganizma ölümlerine neden olur. Stafilakokus aureus gibi birçok kemik enfeksiyonundan sorumlu gram pozitif bakteriyel patojenler, gram negatif bakteriler, parazitler, mantarlar ve virüsler gibi mikroorganizmalara FDT etkilidir.

Bu tez çalışmasında toluidin mavisi fotosensitizanı kullanılarak 630 nm dalga boyunda kırmızı ışık üreten LED ışık kaynağına sahip FDT cihazı kullanılmıştır. Toluidin mavisi toksik olmayan ve irritasyona yol açmayan, mikroorganizmalara karşı etkili bir fotosensitizan maddedir (dos Reis Jr ve ark. 2015). Toluidin mavisi, uygun dalga boyundaki ışık varlığında, gram negatif hücre membranlarındaki lipopolisakkaritlerle etkileşime geçerek etkisini gösterir. 630 nm dalga boyundaki ışık ile maksimum absorpsiyon ve optimum fotodinamik özellikler gösterir (Kikuchi ve ark. 2015).

Bizim çalışmamızda, çok sayıda çalışmada baz alınan Z.A. ve diş çekimi modeli uygulanmış ve ardından bir gruba fotodinamik tedavi uygulanarak fotodinamik tedavinin MRONJ gelişimi üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Fotodinamik tedavi uzun yıllardır antimikrobiyal ve antikanser özellikleri nedeniyle üzerinde çalışılan bir alan olmuştur ancak MRONJ alanındaki FDT araştırmaları az sayıdaki olgu sunumu ve yaptığımız literatür taramasında, 2018 yılı sonlarında yayınlanan 2 adet hayvan çalışması ile sınırlıdır.

Çalışmamızda deney hayvanları 8'er hayvandan oluşan 3 gruba ayrılmıştır. 1. gruba(negatif kontrol) zoledronik asit uygulaması ve diş çekimi, 2. gruba (FDT) zoledronik asit uygulaması, diş çekimi ve ardından fotodinamik tedavi, 3. gruba (pozitif kontrol) ise diş çekimi deney prosedürlerinin gerektirdiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Histopatolojik incelemede iltihap skoru ve yeni kemik yapımı değerlendirilmiştir.

Gruplar arasında enflamasyon ve yeni kemik oluşumu dereceleri karşılaştırıldığında, anlamlı fark olduğu gözlenmiştir. Negatif kontrol grubunun tamamının enflamasyon derecesi ağırdır. Negatif kontrol (%85,71) hafif enflamasyona sahipken, pozitif kontrol grubunun ağır enflamasyon oranı %0' dır. Negatif kontrolün hafif derecede yeni kemik oluşumu oranı (%25) FDT grubu (%62,50) ve pozitif kontrole (%28,57) göre daha düşüktür (p:0,010). FDT grubunun negatif kontrole göre yeni kemik oluşumunu anlamlı derecede arttırdığı görülmektedir.

Bu çalışmada histomorfometrik inceleme sonucunda, nekroz ve epitel açıklığı gruplar arasında karşılaştırıldığında; FDT grubunun ortalama nekroz alanı değeri ($2,51 \text{ mm}^2$), negatif kontrole ($4,26 \text{ mm}^2$) göre daha düşük olmakla birlikte aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmamıştır. FDT uygulaması osteonekroz alanında anlamlı derecede azalmaya yol açmamıştır.

Negatif kontrolün epitel açıklığı ortalama değeri (1,77 mm), FDT (0,33 mm) ve pozitif kontrole (0,11 mm) gruba göre anlamlı derecede daha yüksektir. 3. grubun epitel açıklığı ortalama değeri (0,11 mm) ise diğer iki gruba göre anlamlı derecede daha düşüktür ($p < 0,001$). FDT grubu epitel açıklığı negatif kontrole göre anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda zoledronik asit (ZA) uygulanan sıçanlarda çalışmanın başlangıcında, Z.A. uygulamasının bittiği 6. Haftanın sonunda ve sakrifikasyon öncesi 16. Haftada yapılan ağırlık ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı derecede bir fark bulunamamıştır. Ersan ve ark.(2014) çalışmasında bizim çalışmamıza benzer bir şekilde, Z.A. uygulanan sıçanlar ile kontrol grubu arasında ağırlık açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Ervolino ve ark.(2018)' nın çalışmasında bizim çalışmamıza benzer şekilde Z.A. ve FDT uygulamasını içeren deney ve kontrol gruplarında sıçanlarda herhangi bir ağırlık değişimi görülmemiştir.

Bizim çalışmamızda zoledronik asit uygulanan ve diş çekimi yapılan 1. gruptaki hayvanların 8/8'inde (%100) ve Z.A.+ Çekim + FDT uygulanan 2. Grupta 6/8 hayvanda (%75) 8 haftalık süre sonunda klinik olarak MRONJ tanısı konulmuştur.

Ervolino ve ark.(2018) çalışmasında 28 adet 20 aylık(yaşlı) Wistar sıçan kullanılmıştır. Tüm hayvanların alt 1. azı dişlerine deneysel periodontitis oluşturmak amacıyla pamuk bir ligatür bağlanmıştır. 7'şer hayvandan oluşan 4 grup oluşturulmuştur. 2'sine 0.9% sodyum klorür içeren solüsyon, 2'sine ise zoledronik asit uygulanmıştır. Sadece Z.A. uygulaması+ diş çekimi olan grupta %100'ünde MRONJ benzeri lezyonlar gözlenmiştir.

MRONJ hayvan modeli oluşturma amaçlı ilk çalışmalar arasında Allen ve ark. (2007) ve Sonis ve ark. (2009) 'nın çalışmaları yer almaktadır. Sonis ve ark. (2009) çalışmasında 10 adet Wistar cinsi dişi sıçan kullanılmıştır. 5'er sıçandan oluşan iki grup oluşturulmuş ve bunlardan çalışma grubuna 0,04 mg zoledronik asit 5 hafta boyunca, haftada 1 kez intravenöz yolla uygulanmıştır. Diğer gruba ise kontrol grubu olarak, serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmıştır. 5 hafta sonunda her iki grubun da diş çekimleri yapılmıştır. Diş çekimleri diğer çalışmaların çoğundan farklı olmak üzere cerrahi motor ile kemik kaldırılmak suretiyle gerçekleştirilmiştir. Çekimden 7 hafta sonra sakrifikasyon yapılmış ve histopatolojik inceleme, bilgisayarlı tomografi incelemesi ve kemik sintigrafisi ile sonuçlar değerlendirilmiştir. Çalışma grubunun %100'ünde MRONJ görülmüştür.

Ersan ve ark.(2014) çalışmasında 10'ar adet Sprague-Dawley cinsi sıçandan oluşan 3 grup oluşturulmuştur. Bu gruplardan birisine Z.A. uygulanmış, diğerine Z.A.+ Teriparatid uygulanmış ve 3. Grup ise kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Z.A. ve Z.A.+ Teriparatid uygulaması yapılan grupların tamamında osteonekroz görülürken, kontrol grubunda ise osteonekroz görülmemiştir. Histomorfometrik ölçümlerde ise Z.A. grubunda (%88) , Z.A. + Teriparatid (%62) tedavisi uygulanan gruba göre nekrotik kemik alanı anlamlı derecede ($p<0,05$) yüksek bulunmuştur.

Kim ve ark.(2016) çalışmasında 48 adet Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanılmıştır. 36'sına 6 hafta boyunca haftada 1 kez 0,2 mg/kg intraperitoneal yolla zoledronik asit uygulanmıştır. 12 adet sıçandan oluşan kontrol grubuna ise uygulanmamıştır. 6 hafta sonunda diş çekimleri yapılmıştır ve ardından çalışma grubuna 8 hafta boyunca Z.A. uygulamasına devam edilmiştir. Sakrifikasyon sonrası Z.A. grubundaki sıçanların %75'inde (27/36) MRONJ görülmüştür.

Ali-Erdem ve ark.(2011) çalışmasında ise 80 adet Wistar cinsi sıçan kullanılarak geniş denek sayısı ile zoledronik asit ve deksametazon uygulanmış sıçanlarda osteonekroz insidansı %60 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada sıçanlar yalnızca 3 kez ilaç almış ve diş çekiminden sadece 28 gün sonra sakrifikasyon yapılmıştır.

Marino ve ark. (2012) çalışmasında 15'er Sprague-Dawley cinsi sıçandan oluşan 1 çalışma ve 1 kontrol grubu oluşturulmuştur. Çalışma grubundaki İ.V. yolla Z.A. uygulanan sıçanların çekim sonrası 8 haftalık süre sonunda %75'inde (6/8) kemik ekspoz olmuştur. Kontrol grubunun tamamında mukoza sorunsuz iyileşmiştir. Yapılan histopatolojik incelemede ise boş osteosit lakünleri, kemik ara yüzlerinde vasküleritede azalma, kemik yüzeylerinin düzensiz rezorpsiyonu gibi bulgulara rastlanmış, Z.A. uygulanan deney grubunun tamamında farklı derecelerde osteonekroz görülmüştür.

Howie ve ark. (2015) çalışmasında 13 hafta boyunca I.V. 0,08 mg/kg/hafta zoledronik asit uygulanan gruptaki sıçanların tamamında (%100) çekim yapılan bölgede kemik ekspoz olmuştur ve 8 hafta bekleme sonrası MRONJ tanısı konulmuştur. Bu çalışmada yapılan incelemede, zoledronik asit kullanımına bağlı olarak hayvanlarda herhangi bir karaciğer ya da böbrek toksisitesine rastlanmamıştır.

Dayısoylu ve ark. (2013) çalışmasında 8 hafta boyunca haftada 3 kez 0,1 mg/kg Z.A. intraperitoneal yolla uygulanmış ve Z.A.+ çekim grubunda %66 oranında MRONJ geliştiği gözlemlenmiştir. Aynı çalışmada sadece serum enjeksiyonu yapılan kontrol grubunda inflamasyon görülmezken, Z.A.+çekim yapılan grupta %100 oranında ciddi düzeyde inflamasyon ölçülmüştür. Bu çalışmada tedavi olarak diğer bir gruba Z.A. ve çekim sonrası parathormon uygulanmış ve uygulanmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,01$) fark bulunmuştur. Bu çalışmada da belirtildiği üzere histomorfometri dışında daha spesifik sonuçlar veren TUNNEL analizi yöntemi ile daha kaliteli ölçümler yapılabileceği

belirlenmektedir. TUNNEL yönteminde osteoblast ve osteoklast gibi kemik oluşumunda etkin hücrelerin sayısı dışında aktivitesi ve canlılığı da ölçülebilmektedir.

Barba-Recreo ve ark.(2013) çalışmasında 5'er Wistar cinsi sıçandan oluşan 4 grup oluşturulmuştur. 1. ve 2. gruba 9 hafta boyunca haftada 3 kez 0,1 mg/kg Z.A. intraperitonel yolla verilmiş, 3. gruba haftada 1 kez 9 hafta boyunca 0,1 mg/kg Z.A. intravenöz yolla uygulanmıştır. 4. gruba ise kontrol grubu olarak izotonik serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmıştır. 1. 3 ve 4. gruplara 9 hafta sonunda diş çekimleri yapılmıştır. 1 hafta sonra hayvanlar sakrifiye edilerek histopatolojik ve radyolojik inceleme yapılmıştır. 1. grupta (Z.A.+çekim) osteonekroz görülme oranı %80 olarak bulunmuştur. İ.V. Z.A. uygulanan 3. grupta osteonekroz %25, kontrol grubunda ise %20 olarak bulunmuştur.

Vidal-Gutiérrez ve ark.(2017) çalışmasında 16 Wistar cinsi sıçandan oluşan çalışma (çekimlerden 7 ve 14 gün önce 0,06 mg/kg Z.A. uygulaması) ve kontrol grupları oluşturulmuştur. Çalışma grubunda sıçanlar 2., 4. ve 6. haftada sakrifikasyonları gerçekleştirilerek 3 alt grupta incelenmiştir. Örnekler makroskopik, radyolojik ve histolojik incelemeye tabi tutulmuştur. Çalışma grubundaki hayvanların %100'ünde osteonekroz klinik olarak görülmüştür. Histolojik incelemede herhangi bir sınıflama yapılmadan inflamatuvar infiltrasyon çalışma grubunun tamamında var olduğu (%100) bulunmuştur

Kobayashi ve ark.(2010) çalışmasında, deney hayvanı olarak literatürde MRONJ çalışmalarında daha az kullanılan, fareler kullanılmış ve 0,25 mg/kg Z.A. subkutan enjeksiyonu sonrası üst çene 1. molar diş çekimi gerçekleştirilmiş ve klinik olarak MRONJ semptomları görülmemiştir.

Yang ve ark. (2015) çalışmasında Sprague-Dawley sıçanlara İ.V. yolla 3 hafta boyunca haftada 1 kez Z.A. uygulanmış ve diş çekimleri yapılmıştır. Çekim sonrası da Z.A. uygulamasına devam edilmiş. Çekim sonrası 12. haftada sakrifiye edilen grupta, çalışma grubunda %37 oranında (3/8) kemik ekspoz olmuş, %75 (6/8) oranında inflamatuvar infiltrasyon bulunmuş ve tamamında (8/8) osteonekroz görülmüştür. Kontrol grubunda ise iyileşme sorunsuz gerçekleşmiştir.

Çalışmamızda yapılan serum TRACP-5b ölçümlerinde, çalışma ve kontrol grupları karşılaştırıldığında, literatürdeki diğer çalışmalar ile paralel olacak şekilde MRONJ görülen çalışma gruplarındaki (Grup 1 ve grup 2) TRACP-5b ortalaması ($6,51 \pm 1,49$ U/I) kontrol grubuna (3.grup) göre ($8,47 \pm 1,32$ U/I) anlamlı derecede daha düşük olduğu gözlenmiştir ($p:0,007$).

Yapılan post-hoc analizde, fotodinamik tedavi uygulanan 2. grup ile kontrol grubu olan 3 . grup arasında da anlamlı fark saptanmıştır. Buna göre 2. grubun serum TRACP-5b ortalaması ($6,04 \pm 1,59$ U/I) 3. gruba göre ($8,47 \pm 1,32$ U/I) daha düşüktür ($p:0,013$). 3. gruba göre 1. grubun da ortalama değeri düşük olmakla birlikte anlamlı bir fark oluşmamıştır.

Fotodinamik tedavi uygulanan grup olan 2. grupta ve negatif kontrol grubu olan 1. grupta beklendiği üzere 3. grup (pozitif kontrol)'a göre daha düşük TRACP-5b değerleri görülmüştür.

Histomorfometri ve histopatolojik değerlendirme sonuçlarından farklı olarak 2. grupta, daha ağır nekroz ve inflamasyona sahip 1. gruba göre daha düşük TRACP-5b değeri bulunması, ilerleyen çalışmalarda daha çok sayıdaki denek grupları ile doğrulanmalıdır ve nedenleri araştırılmalıdır. Literatürde FDT uygulanmış denek grubunda serum biyobelirteçlerinin değişiminin değerlendirilmesine ilişkin bulguların kıyaslanabileceği benzer bir çalışma şu an itibarıyla bulunmamaktadır.

Kim ve ark.(2016) çalışmasında 48 adet Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanılmıştır. 36'sına 6 hafta boyunca haftada 1 kez 0,2 mg/kg intraperitoneal yolla zoledronik asit uygulanmış, 12 adet sıçandan oluşan kontrol grubuna ise uygulanmamıştır. 6 hafta sonunda diş çekimleri yapılmıştır ve ardından çalışma grubuna 8 hafta boyunca Z.A. uygulamasına devam edilmiştir. Sakrifikasyon sonrası Z.A. grubundaki sıçanların %75'inde (27/36) MRONJ görülmüştür. Alınan serum örneklerinde CTx, Glu-OC, TRACP 5b, RANKL, OPG ve TRACP-5b biyobelirteçleri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda TRACP-5b ve RANKL/OPG biyobelirteç seviyeleri çalışma başlangıcında, çekimler sırasında ve sakrifikasyon sırasında, 3 farklı zamanda ölçülerek osteonekroz varlığında anlamlı derecede düşük değerler elde edilmiştir. Bu çalışmada serum TRACP-5b ve RANKL/OPG'nin MRONJ'da biyobelirteç olarak kullanılabileceği, bu durumun insan çalışmalarıyla teyit edilmesi gerektiği belirtilmiştir.

Duygu-Çapar ve ark.(2016) çalışmasında sıçanlar 6'şar hayvanda oluşan 4 farklı gruba ayrılmıştır. Çalışma grubundakilere 0,1 mg/kg Z.A. 8 hafta boyunca haftada 3 kez olmak üzere verilmiştir. Z.A. uygulaması+çekim yapılan 1. grubun tamamında klinik olarak MRONJ gelişmiştir. Z.A. uygulaması+çekim+mukoperiostal flap ile kapatılan 2. grupta ve Z.A.+çekim+doksisiklin sponge ile mukoperiostal kapatılan 3. grupta, 1. gruba göre klinik histomorfometrik incelemede nekrotik alan genişliği bakımından anlamlı derecede daha düşük olarak bulunmuştur ($p<0,01$). Gruplar arasında enflamasyon bakımından doksisiklin sponge konulan 3. grubun lehine olmak üzere anlamlı derece fark bulunmuştur ($p<0,01$). Yapılan serum CTX, ALP(Alkalen fosfataz) ve TRACP-5b biyobelirteç seviyeleri değerlendirmesinde MRONJ gelişen grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0.05$). Bizim çalışmamızda ise bu çalışmadan farklı olarak serum TRACP-5b değeri MRONJ gelişen çalışma grubunda kontrole göre daha düşük bulunmuştur. Bu durumun bu çalışmadaki denek grubunun az sayıda olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Jang ve ark.(2015) çalışmalarında her grupta 9 hayvan olacak şekilde 3 gruba ayrılmıştır. 1. grup kontrol, 2. gruba haftada 1 kez olmak üzere 4 hafta 0,2 mg/kg Z.A. uygulanmış ve 3. gruba ise aynı dozda Z.A. ile birlikte 5 mg/kg dexametazon enjekte edilmiştir. Z.A.+ çekim uygulanan 2. gruba %66 oranında MRONJ tanısı konulmuştur. Serum biyobelirteci olarak CTX ve TRACP-5b seçilmiştir. Çekim sırasında ve çekim sonrası 2., 4. Ve 8. Haftalarda alınan kan örneklerinin değerlendirilmesi sonucu, serum CTX MRONJ tanısında faydalı bulunmazken, TRACP-5b değerleri tüm ölçümlerde MRONJ tanısı alan hayvanlarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Bu çalışmada bizim çalışmamızla benzer şekilde serum TRACP-5b değeri osteonekroz olan grupta daha düşük olarak bulunmuştur.

Kuroshima ve ark. (2012) ise farelerdeki çalışmasında düşük serum TRACP-5b seviyelerinin kemik rezorpsiyonunun baskılanmasını yansıtmadığı ve antirezorptif tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesinde faydalı olmadığı ifade edilmiştir.

FDT cihazları farklı dalga boylarına ve farklı fotosensitizantlara sahip olabilen sistemlerdir. Literatürde yer alan çalışmaların çoğunda ışık kaynağı olarak diyet lazer veya düşük seviyeli lazer(low-level laser) tercih edilmiştir. Lazer ışık kaynaklarının bilinen biyostimulasyon etkisi ile antimikrobiyal FDT etkisine ilave olarak doku iyileşmesini olumlu etkilediği değerlendirilmektedir. Bizim çalışmamızda, literatürdeki diğer MRONJ çalışmalarından farklı olarak, ışık cihazında (Fotosan 630, CMS Dental, Kopenhag, Danimarka) LED (Light Emitting Diode) ışık kaynağı kullanılmıştır. Chaves ve ark.(2014)'nın lazer ve LED ışığının biyostimulasyon etkilerini kıyaslayan bir literatür derlemesinde dalga boyu ve doza göre de değişmekle birlikte lazer ve LED'in benzer biyostimulasyon etkilerine sahip olduğu ifade edilmiştir. Lazer ışığı ve LED ışık kaynağı arasındaki benzerliklerin ve farkların antirezorptif ilaç kullanımı sonrası doku iyileşmesi üzerine etkilerinin ortaya konması, yapılacak ilave kontrollü çalışmalar ile değerlendirilmelidir.

Poli ve ark.(2018) olgu sunumunda, osteoporoz nedeniyle 3 yıl boyunca intramusküler klodronat(nitrojen içermeyen bir bifosfonat grubu ilaç) kullanan kadın hastaya, mandibula intraforaminal bölgede gerçekleştirilmiş diş çekimlerini takiben 4. ayda kemiğin ekspoz olmaları ve enfeksiyon bulguları nedeniyle ve MRONJ teşhisi konulmuştur. Tedavi planı sökektrektomi, flebin açılarak cerrahi debridman yapılması ve destekleyici olarak cerrahi alana fotodinamik tedavi uygulanmıştır. FDT, 660 nm dalga boyunda ışık veren diyet lazer ışık cihazı (HELBO® TheraLite Laser, Bredent Medical, Senden, Almanya) kullanılarak, firmanın önerdiği metilen mavisi temelli fotosensitizan madde uygulanmıştır. Yapılan 6 aylık takip sonucunda tedavinin klinik ve radyolojik açıdan başarılı olduğu tespit edilmiştir.

Ervolino ve ark.(2018) çalışmasında 28 adet 20 aylık(yaşlı) Wistar sıçan kullanılmıştır. Tüm hayvanların alt 1. azı dişlerine deneysel periodontitis oluşturmak amacıyla pamuk bir ligatür bağlanmıştır. 7'şer hayvandan oluşan 4 grup oluşturulmuştur. 2'sine 0.9% sodyum klorür içeren solüsyon, 2'sine ise zoledronik asit uygulanmıştır. Bu ikişerli gruplardan birisine FDT

uygulanmış diğerine ise uygulanmadan kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Zoledronik asit 7 hafta boyunca her 3 günde 1 intraperitoneal yolla uygulanmıştır ve ardından çekimler yapılmıştır. Çekimden 28 gün sonra sakrifikasyon gerçekleştirilmiştir. FDT olarak 660 nm dalga boyundaki düşük seviyeli lazer ışık cihazı ve metilen mavisi fotosensitizan çekim gününden itibaren toplamda 3 seansta uygulanmıştır. Sonuç olarak sadece Z.A. +çekim uygulanan grubun tamamında 28 gün sonunda kemik ekspozite olmuştur. Z.A.+ FDT uygulanan grup ve diğer iki kontrol grubunda ise benzer şekilde mukozanın kapandığı ve ekspozite kemik olmadığı görülmüştür. Z.A+FDT grubunda, Z.A. uygulanan negatif kontrol grubuna göre nekrotik kemik alanı oranında ve inflamatuvar sitokinlerde anlamlı derecede azalma görülmüştür. FDT'nin Z.A. uygulanmış sıçanlarda, periodontitis oluşturulan dişlerin çekimi sonrası iyileşmeyi hızlandırdığı ve MRONJ oluşum sürecine engel olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada makroskopik incelemede Z.A+FDT grubunun mukozal kapanması %100 (7/7) olurken, bizim çalışmamızda bu oran %25 (2/8) olarak bulunmuştur.

Sarkanat ve ark.(2018) çalışmasında 20 erkek ve 2 aylık sıçan üzerinde MRONJ diş çekim modeli uygulamışlardır. Sıçanlar 10'ar hayvandan oluşan deney grubu ve kontrol grubu olmak üzere iki gruba ayrılmışlardır. Her iki gruba da 0,04 mg zoledronik asit İ.V. yolla kuyruk veninden 5 hafta boyunca, haftada 1 kez uygulanmıştır. 2 hafta beklendikten sonra 1. azı dişi çekimleri gerçekleştirilmiştir. Her iki gruptan da 2'şer sıçan kaybedilerek, 8'er hayvan ile devam edilmiştir. Deney grubundakilere diş çekimi yapılan seansta ve takip eden 7 hafta boyunca, 808 nm dalga boylu düşük seviyeli lazer cihazı ve 1 mg/ml Indosyanin yeşili fotosensitizan maddesi ile FDT uygulanmıştır. Kontrol grubu FDT uygulanmadan takip edilmiştir. Sonuç olarak deney grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede MRONJ evresi açısından gerileme(1. Evreden 0.evreye geçiş), histopatolojik ve histomorfometrik incelemede inflamasyonda azalma, canlı kemik oranında artış ve nekroze kemik oranında azalma, neovaskülarizasyonda artış ve osteoklast sayısında artış ölçülmüştür. Bu çalışma, bizim çalışmamızın yazımı sırasında literatürdeki en güncel 2 çalışmadan birisi olup, farklı fotodinamik tedavi cihazı ve fotosensitizan maddeler kullanılmakla birlikte, kontrol grubu ile deney grubu kıyaslandığında bizim çalışmamıza benzer pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Bizim çalışmamızda epitel açıklığının azalması, hafif derecede yeni kemik oluşumunun artması ve ağır enflamasyonun azalması bakımından FDT grubu ile negatif kontrol arasında anlamlı bir fark oluşmuştur. Nekroz alanı ise FDT grubunda negatif kontrole göre azalmıştır ancak anlamlı bir fark oluşturmamıştır.

Yukarda bahsedilen Ervolino ve ark.(2018) ve Sarkanat ve ark.(2018) çalışmasında bizim çalışmamıza genel prensipler bakımından benzer, ancak deney prosedürlerinde farklılıklar ve farklı parametreler barındıran iki benzer sıçan MRONJ diş çekim+ FDT uygulaması modeli uygulanmıştır. Bu iki çalışma da öncü çalışmalar olmaları bakımından önemlidir. Bu iki çalışmanın ortak yönü farklı dalga boylarındaki farklı düşük seviyeli lazerler ve farklı fotosensitizanlar ile FDT uygulanmıştır. İkisinde de FDT'nin çekim sonrası iyileşmeyi desteklediği sonuçlar alınmıştır. Bizim çalışmamızda bu iki çalışmayı destekler yönde, FDT grubunda negatif kontrole göre epitel açıklığının azalması, yeni kemik oluşumunun artması, ağır enflamasyonun azalması sonuçları elde edilmiştir. MRONJ'un önlenmesinde

kullanılabilecek ideal FDT uygulamasının, ışık kaynağı, fotosensitizanı, uygulama dozu, süresi gibi birçok değişkenin ilerideki çalışmalar ile mukayeseli olarak ortaya konulup araştırılması gerekmektedir.

de Castro ve ark. (2016) 'nın olgu raporunda 2 olguya antibiyoterapiyi takiben cerrahi debridman, fotodinamik tedavi ve ardından PRF(Platalet Rich Fibrin) uygulanmıştır. 1. Olguda 46 yaşında osteoporozlu kadın hasta, 6 yıldır haftada 1 kez 70 mg alendronat tablet ve günde 1 kez 20 mg prednizolon tablet almakta, 2 yıl önce diş çekimi yapılan bölgede şişlik, pürülan eksüdasyon ve fistül gözlemleniyor. Antibiyoterapi ardından cerrahi debridman ve fotodinamik tedavi uygulanmasına karar veriliyor. Fotosensitizan olarak 37,5 mg/L toluidin mavisi cerrahi debridman yapılan bölgeye uygulanıp 660 nm dalga boyunda ışık(lazer) 8 farklı noktaya toplamda 100 saniye uygulanıyor. Ardından kemik defekti hastanın kanından hazırlanan PRF ile kapatıldı. Yapılan 10 aylık klinik ve radyolojik takipte semptomların düzeldiği, bölgede tam iyileşmenin sağlandığı görüldü. 2. olguda 51 yaşında kadın hastada, 1 yıl önce alt kanin dişine kanal tedavisi uygulanmıştır ancak şikayetler geçmemiştir. İntraoral fistül, pürülan akıntı ve ekspoz kemik mevcuttur. Hastada diyabetes mellitus ve osteoporoz bulunmaktadır. Haftada 1 kez 70 mg alendronat kullanmış olan bu olguda FDT'yi takiben PRF uygulanmıştır. 14 aylık takip sonucu sorunsuz bir iyileşme gözlemlenmiştir.

Rugani ve ark. (2013) yaptığı 12 hastadan oluşan olgu serisinde 680 nm dalga boyunda kırmızı ışık veren diyet lazer ile 50 mg/5 ml yoğunluğundaki metilen mavisi fotosensitizan madde kullanılmıştır. 12 hastanın 5'i MRONJ 0. Evre, 7'si ise MRONJ 2. evredeki hastalardır. Oluşturulan protokole göre fistüller antiseptik gargaralar ile yıkanmış ve 2 hafta boyunca haftada 2 kez FDT uygulanmıştır. Erken evre olan evre 0'daki hastalara antiseptikli gargara ve FDT uygulaması sonucu tam mukozal iyileşme sağlanmıştır. Cerrahi tedavi sonrası postoperatif mukozal kapanma sağlanamamış, Evre 2'deki 7 hastanın 5'inde FDT sonrası mukozal kapanma sağlanmış, 2'sinde ise kapanma sağlanamamıştır. Bu çalışmada özellikle erken evrelerde FDT'nin oldukça başarılı sonuçlar verdiği, ileri evrelerde ise destekleyici olarak kullanımının değerlendirilebileceği ifade edilmiştir. Işık cihazı olarak lazer kullanımının biyostimülasyon etkisi ile iyileşmeyi olumlu etkileyebileceği değerlendirilmiştir.

Scoletta ve ark.(2010) 20 MRONJ hastası üzerinde yaptıkları çalışmasında boyut olarak 2,5 cm'den küçük lezyonlar çalışmaya katılmış ve düşük düzey lazerin MRONJ üzerinde kullanımının ağrı, ödem, lezyonun boyutunda anlamlı derecede azalmaya yol açtığı bulunmuştur.

Israel ve ark. (2016) çalışmasında, prostat kanserine bağlı kemik metastazlarını önlemek için denosumab kullanmış 83 yaşındaki erkek hastada, alt çene alveol kemiğinde bir bölgeye MRONJ teşhisi konulmuştur. 660 nm dalga boyundaki lazer ve 0.005% metilen mavisi

fotosensitizan kullanılarak, 90 saniye olacak şekilde haftada 1 kez ve 15 hafta boyunca FDT uygulanmıştır. Yapılan radyolojik ve klinik takipte enfeksiyon bulgularının kaybolduğu, iyileşmenin iyi olduğu gözlemlenmiştir.

MRONJ’u tetikleyen faktörler arasında mikroflora varlığının etkili olduğu hipotezi savunulmaktadır. MRONJ lezyonlarından alınan örneklerde fusobakterium, eikenella , basillus, aktinomiçes, stafilokokus ve streptokoküs gibi türler izole edilmiştir (Rugani ve ark. 2013). Mikroorganizmaların çoğunluğu fakültatif anaeroplardır. Bu organizmalar tipik olarak nekrotik kemikte oksijensiz, kanlanmanın olmadığı alanlarda yaşamaya uygundurlar (Sedghizadeh ve ark. 2012).

Fotodinamik tedavinin antimikrobiyal aktivitesi tekil oksijen tarafından gerçekleştirilmektedir. Moleküler oksijenin yüksek kimyasal reaktivitesi ekstrasellüler molekül üzerinde direk etkilidir. Bakteriyal biyofilmdeki ekstrasellüler matriksteki polisakkaritler fotohasara duyarlıdır. Bu önemli bir avantajdır. Biyofilmlerin bozulması fotodinamik tedavinin antibiyotik direncine ve kolonizasyona karşı etkinliğini arttırmaktadır (Konopka ve Goslinski 2007).

FDT’nin cerrahi müdahaleyle birlikte uygulanması bozulmuş yara iyileşmesi riskini azaltarak başarı olasılığını arttırmaktadır. FDT’nin MRONJ’da kullanımının daha iyi değerlendirilebilmesi için ilave kontrollü çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Sonuç olarak;

- 1) MRONJ insidansı son yıllarda artan antirezorptif ilaç kullanımı ile birlikte artmıştır. MRONJ ile ilgili deneysel çalışmalarda sıçan diş çekim modeli osteonekroz oluşturmada kullanılmaktadır. Bizim çalışmamızda da zoledronik asit ve diş çekimi yapılan sıçanlarda osteonekroz amaçlandığı şekilde oluşturulmuştur.
- 2) Çalışmamızda histopatolojik incelemede ağır enflamasyon değeri FDT grubunda, negatif kontrole göre daha düşük, hafif yeni kemik oluşumu ise daha yüksek bulunmuştur. FDT çekim sonrası iyileşmeyi olumlu etkilemektedir ve MRONJ riskini azaltmaktadır.
- 3) Histomorfometri kemik formasyonunu ölçmede altın standart olarak kabul edilmektedir ve çalışmalarda sıkça kullanılmaktadır. Çalışmamızda yapılan histomorfometrik incelemede FDT grubunun epitel açıklığı, negatif kontrole göre anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur. Nekroz alanı ölçümünde ise anlamlı bir fark olmamak ile birlikte FDT grubu ortalama nekroz alanı, negatif kontrole göre daha

düşüktür. Histomorfometrik bulgular FDT'nin iyileşmeyi destekleyici yönde etkilerini göstermektedir.

- 4) MRONJ'da çeşitli serum biyobelirteçleri araştırılmıştır ancak bu konuda bir konsensus sağlanamamıştır. Bizim çalışmamızda literatür ile uyumlu şekilde serum TRACP-5b değeri Z.A. uygulanan ve osteonekroz gelişen çalışma grubunda(1 ve 2.grup), pozitif kontrole(3.grup) göre anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur. Çalışma grubu içerisindeki negatif kontrol ve FDT grubu arasında ise anlamlı bir fark oluşmamıştır. Serum TRACP-5b'nin MRONJ'da osteonekroz varlığında sağlıklı kontrole göre daha düşük değerlerde olduğu ancak nekroz alanı miktarı, evresi, iyileşme durumundaki farklılıkları göstermede faydalı olmadığı görülmüştür.
- 5) Bu çalışmada elde edilen bulgular ışığında FDT'nin daha çok sayıda denek ve deney grubu kullanılarak, ilave kontrollü hayvan ve insan çalışmaları yapıldıktan sonra MRONJ'un önlenmesinde ve tedavisinde faydalı ve destekleyici bir tedavi seçeneği olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

Abtahi, J., Agholme, F., Sandberg, O., & Aspenberg, P. (2012). Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw in a rat model arises first after the bone has become exposed. No primary necrosis in unexposed bone. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 41(6), 494-499.

Abu-Id MH, Warnke PH, Gottschalk J, et al. “Bis-phossy jaws”—high and low risk factors for bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. *J Craniomaxillofac Surg* 2008;36(2):95–103

Aghahosseini, F., Arbabi-Kalati, F., Fashtami, L. A., Fateh, M., & Djavid, G. E. (2006). Treatment of oral lichen planus with photodynamic therapy mediated methylene blue: a case report. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal (Internet)*, 11(2), 126-129.

Agostinis, P., Berg, K., Cengel, K.A., Foster, T.H., Girotti, A.W., Gollnick, S.O., Hahn, S.M., Hamblin, M.R., Juzeniene, A., Kessel, D. et al. (2011) Photodynamic therapy of cancer: an update. *CA Cancer J. Clin.* 61, 250–281

Ali-Erdem, M., Burak-Cankaya, A., Cemil-Isler, S., Demircan, S., Soluk, M., Kasapoglu, C., Korhan-Oral, C. (2011). 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*, 16(7), e879-3.

Allen, M. R. (2007). Animal models of osteonecrosis of the jaw. *JOURNAL OF MUSCULOSKELETAL AND NEURONAL INTERACTIONS*, 7(4), 358.

Allison, R. R., & Moghissi, K. (2013). Photodynamic therapy (PDT): PDT mechanisms. *Clinical endoscopy*, 46(1), 24.

Bagan JV, Murillo J, Jimenez Y, et al. Avascular jaw osteonecrosis in association with cancer chemotherapy: series of 10 cases. *J Oral Pathol Med* 2005;34(2):120–123

Barba-Recreo, P., García-Arranz, M., Yébenes, L., & Burgueño, M. (2014). Zoledronic acid-related osteonecrosis of the jaws. Experimental model with dental extractions in rats. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 42(6), 744-750.

Bashutski JD, Eber RM, Kinney JS, Benavides E, Maitra S, Braun TM, et al. Teriparatide and osseous regeneration in the oral cavity. *N Engl J Med* 2010;363: 2396–405.

Bedogni A, Saia G, Ragazzo M, et al. Bisphosphonate-associated osteonecrosis can hide jaw metastases. *Bone* 2007;41(6): 942–945

Ben-Hur E, Geacintov NE, Studamire B, Kenney ME, Horowitz B. The effect of irradiance on virus sterilization and photodynamic damage in red blood cells sensitized by phthalocyanines. *Photochem Photobiol* 1995;61:190—5.

Biasotto, M., Chiandussi, S., Zacchigna, S., Moimas, S., Dore, F., Pozzato, G., ... & Di Lenarda, R. (2010). A novel animal model to study non-spontaneous bisphosphonates osteonecrosis of jaw. *Journal of oral pathology & medicine*, 39(5), 390-396.

Bijvoet OL, Nollen AJ, Slooff TJ, Feith R. Effect of a diphosphonate on para-articular ossification after total hip replacement. *Acta Orthop Scand* 1974;45(6):926–34.

Bisland SK, Chien C, Wilson BC, Burch S. Pre-clinical in vitro and in vivo studies to examine the potential use of photodynamic therapy in the treatment of osteomyelitis. *Photochem Photobiol Sci* 2006;5:31—8.

Blomen LJMJ. Discovery and history of the non-medical uses of bisphosphonates. Chapter 7. In: Bijvoet O, Fleisch HA, Canfield RE, Russell RGG, editors. *Bisphosphonates on bone*. Elsevier Science B.V.; 1995. p. 111–24.

Bocci V. Does ozone therapy normalize the cellular redox balance? Implications for therapy of human immunodeficiency virus infection and several other diseases. *Med Hypotheses* 1996;46:150–4.

Carranza FA, N.M. (1996). *Clinical periodontology*. 8th ed. Philadelphia: W.B. Saunders.

Carrera, E. T., Dias, H. B., Corbi, S. C. T., Marcantonio, R. A. C., Bernardi, A. C. A., Bagnato, V. S., ... & Rastelli, A. N. S. (2016). The application of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in dentistry: a critical review. *Laser physics*, 26(12), 123001.

Cicciu M, Herford AS, Juodzbals G, Stoffella E. Recombinant human bone morphogenetic protein type 2 application for apossible treatment of bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaw. *J Craniofac Surg* 2012;23:784–8.

Cieplik, F., Deng, D., Crielaard, W., Buchalla, W., Hellwig, E., Al-Ahmad, A., & Maisch, T. (2018). Antimicrobial photodynamic therapy—what we know and what we don't. *Critical reviews in microbiology*, 44(5), 571-589.

Cohen, N., Cohen-Levy, J. (2014). Healing processes following tooth extraction in orthodontic cases. *Journal of Dentofacial Anomalies and Orthodontics*, 17(3).

Coxon FP, Helfrich MH, Van't Hof IR, Sebti S, Ralston SH, Hamilton A, Rogers MJ (2000) Protein geranylgeranylation is required for osteoclast formation, function, and survival: inhibition by bisphosphonates and GGTI-298. *J Bone Miner Res* 15:1467–1476.

Curi MM, Cossolin GSI, Koga DH, Zar- detto C, Christianini S, Feher O, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws—an initial case series report of treatment combining partial bone resection and autologous platelet-rich plasma. *J Oral Maxillofac Surg* 2011;69: 2465–72.

Çapar, G. D., Sapmaz-Metin, M., Kütan, E., Tomruk, C. O., Yalcin, G. M., Er, N., Ozfidan, G. K. (2016). Preventive effect of doxycycline sponge against bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: an animal study. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 30(4), 752-761.

Çay H.F., Sezer N. (2002). Kemik yapısı ve kemiğin döngüsü üzerine bir derleme, *Fiziksel Tıp* 2002; 5(3): 177-184.

Dai, T., Huang, Y. Y., Hamblin, M. R. (2009). Photodynamic therapy for localized infections—state of the art. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 6(3-4), 170-188.

Damm DD, Jones DM: Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: A potential alternative to drug holidays. *Gen Dent* 61: 33, 2013.

Dayisoylu, E. H., Şenel, F. Ç., Üngör, C., Tosun, E., Çankaya, M., Ersöz, S., Taskesen, F. (2013). The effects of adjunctive parathyroid hormone injection on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: an animal study. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 42(11), 1475-1480.

de Castro, M. S., Ribeiro, N. V., de Carli, M. L., Pereira, A. A. C., Sperandio, F. F., & Hanemann, J. A. C. (2016). Photodynamically dealing with bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: Successful case reports. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 16, 72-75.

de Miranda RG, Colombo APV. 2018. Clinical and microbiological effectiveness of photodynamic therapy on primary endodontic infections: a 6-month randomized clinical trial. *Clin Oral Investig*. 22:1751–1761.

De Ponte, F. S. (2012). *Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw: a multidisciplinary approach*. New York: Springer.

Dimopoulos MA, Kastritis E, Anagnostopoulos A, et al. Osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma treated with bisphosphonates: evidence of increased risk after treatment with zoledronic acid. *Haematologica* 2006;91(7):968–971.

Donetti, E., Gualerzi, A., Sardella, A., Lodi, G., Carrassi, A., Sforza, C., 2014.

Alendronate impairs epithelial adhesion, differentiation and proliferation in human oral mucosa. *Oral Dis*. 20, 466–472.

dos Reis Jr, J. A., dos Santos, J. N., Barreto, B. S., de Assis, P. N., Almeida, P. F., & Pinheiro, A. L. B. (2015). Photodynamic Antimicrobial Chemotherapy (PACT) in osteomyelitis induced by *Staphylococcus aureus*: microbiological and histological study. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 149, 235-242.

Drake, M. T., Clarke, B. L., & Khosla, S. (2008, September). Bisphosphonates: mechanism of action and role in clinical practice. In *Mayo Clinic Proceedings* (Vol. 83, No. 9, pp. 1032-1045). Elsevier.

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.

Ersan, N., van Ruijven, L. J., Bronckers, A. L., Olgaç, V., İlğüy, D., & Everts, V. (2013). Teriparatide and the treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a rat model. *Dentomaxillofacial Radiology*, 43(1), 20130144.

Ervolino, E., Statkiewicz, C., Toro, L. F., de Mello-Neto, J. M., Cavazana, T. P., Issa, J. P. M., ... & Casatti, C. A. (2018). Antimicrobial photodynamic therapy improves the alveolar repair process and prevents the occurrence of osteonecrosis of the jaws after tooth extraction in senile rats treated with zoledronate. *Bone*.

Favus, M. J. (Ed.). (2006). *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. Rittenhouse Book Distributors.

Fedele S, Bedogni G, Scoletta M, et al. Up to a quarter of patients with osteonecrosis of the jaw associated with antiresorptive agents remain undiagnosed. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2015; 53(1):13–17.

Fehm T, Beck V, Banys M, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: incidence and risk factors in patients with breast cancer and gynecological malignancies. *Gynecol Oncol* 2009;112(3): 605–9.

Ferlito S, Liardo C, Puzzo S: Dental extractions in patient treated with intravenous bisphosphonates and risk of osteonecrosis of jaws: presentation of a preventive protocol and case series. *Minerva Stomatol* 2010; 59: 593–601.

Filleul O, Crompton E, Saussez S. Bisphosphonate- induced osteonecrosis of the jaw: a review of 2,400 patient cases. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010;136:1117–24.

Fleisch, H., R.G.G. Russel & M.D. Francis. 1969. Diphosphonates inhibit hydroxyapatite dissolution in vitro and bone resorption in tissue culture and in vivo. *Science* 165: 1262–1264.

Fleisch, H.A., R.G. Russel, S. Bisaz, et al. 1970. The inhibitory effect of phosphonates on the formation of calcium phosphate crystals in vitro and on aortic and kidney calcification in vivo. *Eur. J. Clin. Invest.* 1: 12–18.

Fliefel, R., Tröltzsch, M., Kühnisch, J., Ehrenfeld, M., & Otto, S. (2015). Treatment strategies and outcomes of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ) with characterization of patients: a systematic review. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 44(5), 568-585.

Fragni, M., Bonini, S. A., Stabile, A., Bodei, S., Cristinelli, L., Simeone, C., . & Sigala, S. (2016). Inhibition of survivin is associated with zoledronic acid-induced apoptosis of prostate cancer cells. *Anticancer research*, 36(3), 913-920.

Francis MD, Fogelman I. 99mTc-diphosphonate uptake mechanisms on bone. In: Fogelman I, editor. *Bone scanning in clinical practice*. London: Springer Verlag; 1987. p. 1–6.

Frost, H.M. 1990. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU):2. Redefining Wolff's law: the remodeling problem. *Anat. Rec.* 226: 414–422.

Fusco V, Galassi C, Berruti A, et al. Osteonecrosis of the jaw after zoledronic acid and denosumab treatment. *J Clin Oncol* 2011; 29(17):e521–e522; author reply e523–e524.

Galvão, M.J., Santos, A.R., Ribeiro, M.D., Ferreira, A., Nolasco, F., 2011. Optimization of the tartrate-resistant acid phosphatase detection by histochemical method. *Eur. J. Histochem.* 55 (1), e1.

George, E. L., Lin, Y. L., & Saunders, M. M. (2018). Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a mechanobiology perspective. *Bone reports*.

Gong, L., Altman, R.B., Klein, T.E., 2011. Bisphosphonates pathway. *Pharmacogenet. Genomics* 21 (1), 50–53.

Goodman and Gilman's. (2006). *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. New York: Mc GrawHill.

Grötz K, Piesold JU, Al-Nawas B: Bisphosphonat-assoziierte Kiefernekrose (BP-ONJ) und andere Medikamenten-assoziierte Kiefernekrosen. AWMF Online 2012; AWMF Register-Nr. 007/091.

Guarneri V, Miles D, Robert N, 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* 122:181, 2010.

Guyton AC, Hall JE. (2007). *Tıbbi fizyoloji*. Nobel Tıp Kitabevleri 108. Hansen T, Kunkel M, Weber A, Kirkpatrick CJ. (2006).

Hadjidakis, D. J., Androulakis, I. I. (2006). Bone remodeling. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1092(1), 385-396.

Hamblin MR, O'Donnell DA, Murthy N, Contag CH, Hasan T. Rapid control of wound infections by targeted photodynamic therapy monitored by in vivo bioluminescence imaging. *Photochem Photobiol* 2002;75:51—7.

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(3):155–160.

Henry D, Costa L, Goldwasser F, et al. A doubleblind, randomized study of denosumab versus zoledronic acid for the treatment of bone metastases in patients with advanced cancer (excluding breast and prostate) or multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2011;29:1125.

Heufelder MJ, Hendricks J, Remmerbach T, Frerich B, Hemprich A, Wilde F: Principles of oral surgery for prevention of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2014; 117: e429–35.

Hikita, H., Miyazawa, K., Tabuchi, M., Kimura, M., Goto, S. (2009). Bisphosphonate administration prior to tooth extraction delays initial healing of the extraction socket in rats. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 27, 663-72.

Hoff AO, Toth BB, Altundag K, et al. Frequency and risk factors associated with osteonecrosis of the jaw in cancer patients treated with intravenous bisphosphonates. *J Bone Miner Res* 2008;23(6): 826–836.

Hokugo A, Christensen R, Chung EM, Sung EC, Felsenfeld AL, Sayre JW, et al: Increased prevalence of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with vitamin D deficiency in rats. *J Bone Miner Res* 25: 1337e1349, 2010.

Hongcharu W, Taylor CR, Chang Y, Aghassi D, Suthamjariya K, Anderson RR. Topical ALA-photodynamic therapy for the treatment of acne vulgaris. *J Invest Dermatol* 2000;115:183—92.

Howie, R. N., Borke, J. L., Kurago, Z., Daoudi, A., Cray, J., Zakhary, I. E., ... & Medani, F. (2015). A model for osteonecrosis of the jaw with zoledronate treatment following repeated major trauma. *PloS one*, 10(7), e0132520.

Ibrahim, A., Scher, N., Williams, G., Sridhara, R., Li, N., Chen, G., ... & Hsieh, Y. (2003). Approval summary for zoledronic acid for treatment of multiple myeloma and cancer bone metastases. *Clinical Cancer Research*, 9(7), 2394-2399.

Israel, M. S., Antero, S. A., Riche, G. C., Pinheiro, G. L., Meira, M. L. D., Heimlich, F. V., ... & de Menezes Maciel, R. (2016). Photodynamic Therapy for Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws: A Case Report. *International Journal of Clinical Medicine*, 7(12), 824.

Jadu F, Lee L, Pharoah M, Reece D, Wang L. A retrospective study assessing the incidence, risk factors and comorbidities of pamidronate- related necrosis of the jaws in multiple myeloma patients. *Ann Oncol* 2007;18(12):2015–2019.

Jang, H. W., Kim, J. W., & Cha, I. H. (2015). Development of animal model for Bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). *Maxillofacial plastic and reconstructive surgery*, 37(1), 18.

Jee WSS. (2001). Integrated bone tissue physiology: Anatomy and physiology. In: Cowin SC (ed). *Bone Mechanics Handbook*. 2. ed. Florida: CRC Press, 1- 68.

Jobke, B., Milovanovic, P., Amling, M., Busse, B., 2014. Bisphosphonate-osteoclasts: changes in osteoclast morphology and function induced by antiresorptive nitrogencontaining bisphosphonate treatment in osteoporosis patients. *Bone* 59, 37–43.

Jung JY, Seung Kwon P, Chul Ahn J, Ge R, Suh MW, Rhee CK. In vitro and in vivo photodynamic therapy of otitis media in gerbils. *Laryngoscope* 2009.

Junquiera LC, Carneiro J. (2006). Temel histoloji text ve atlas (Solakoğlu S, Aytekin Y) İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri.

Kanakis, I., Kousidou, O.Ch ve Karamanos, N.K. (2005). In Vitro and In Vivo Antiresorptive Effects of Bisphosphonates in Metastatic Bone Disease. *In vivo*, 19, 311-318.

Karu, T. I. (1988). Molecular mechanism of the therapeutic effect of low-intensity laser radiation. *Lasers Life Sci*, 2(1), 53-74.

Khan AA, Morrison A, Hanley DA, et al; International Task Force on Osteonecrosis of the Jaw. Diagnosis and management of osteonecrosis of the jaw: a systematic review and international consensus. *J Bone Miner Res* 2015;30(1):3–23.

Kikuchi, T., Mogi, M., Okabe, I., Okada, K., Goto, H., Sasaki, Y., ... & Mitani, A. (2015). Adjunctive application of antimicrobial photodynamic therapy in nonsurgical periodontal

treatment: a review of literature. *International journal of molecular sciences*, 16(10), 24111-24126.

Kim JW, Cha IH, Kim SJ, et al. Biomarkers for bisphosphonate- related osteonecrosis of the jaw. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2016;18:281291.

Kobayashi Y, Hiraga T, Ueda A, 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. *J Bone Miner Metab*. 2010;28: 165–175.

Koch, F. P., Yekta, S. S., Merkel, C., Ziebart, T., & Smeets, R. (2010). The impact of bisphosphonates on the osteoblast proliferation and collagen gene expression in vitro. *Head & face medicine*, 6(1), 12.

Komerik N, Wilson M, Poole S. The effect of photodynamic action on two virulence factors of gram-negative bacteria. *Photochem Photobiol* 2000; 72: 676–680.

Konopka, K. ; Goslinski, T. Photodynamic therapy in dentistry. *Journal of dental research*, 2007, 86.8: 694-707.

Kuroshima S, Go VA, Yamashita J. Increased numbers of nonattached osteoclasts after long-term zoledronic acid therapy in mice. *Endocrinology*. 2012;153:17-28

Kuroshima S, Kovacic BL, Kozloff KM, et al: Intra-oral PTH administration promotes tooth extraction socket healing. *J Dent Res* 92:553, 2013.

Kyrgidis A, Vahtsevanos K, Koloutsos G, Andreadis C, Boukovinas I, Teleioudis Z, Patrikidou A, Triaridis S. (2008) Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a case–control study of risk factors in breast cancer patients. *J Clin Oncol* 26(28):4634–8.

Lerman MA, Xie W, Treister NS, Richardson PG, Weller EA, Woo SB. Conservative management of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: staging and treatment outcomes. *Oral Oncol* 2013;49: 977–83.

Lin J, Bi LJ, Zhang ZG, Fu YM, Dong TT. Toluidine blue-mediated photodynamic therapy of oral wound infections in rats. *Lasers Med Sci* 2009.

Lin JH. Bisphosphonates: a review of their pharmacokinetic properties. *Bone* 1996;18(2):75–85.

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.

Manzano-Moreno, F.J., Ramos-Torrecillas, J., De Luna-Bertos, E., Ruiz, C., García-Martínez, O., 2015. High doses of bisphosphonates reduce osteoblast-like cell proliferation by arresting the cell cycle and inducing apoptosis. *J. Craniomaxillofac. Surg.* 43, 396–401.

Marino, K. L., Zakhary, I., Abdelsayed, R. A., Carter, J. A., O’neill, J. C., Khashaba, R. M., ... & Borke, J. L. (2012). Development of a rat model of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). *Journal of Oral Implantology*, 38(S1), 511-518.

Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg* 2005;63(11):1567–1575.

Marx RE, Cillo JE, 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.

Matsubara, T.; Kusuzaki, K.; Matsumine, A.; Satonaka, H.; Shintani, K.; Nakamura, T.; Uchida, A. Methylene blue in place of acridine orange as a photosensitizer in photodynamic therapy of osteosarcoma. *In Vivo* 2008, 22, 297–303.

Matsumoto, T., Nagase, Y., Hirose, J., Tokuyama, N., Yasui, T., Kadono, Y., Ueki, K., Kadowaki, T., Nakamura, K., Tanaka, S., 2013. Regulation of bone resorption and sealing zone formation in osteoclasts occurs through protein kinase B-mediated microtubule stabilization. *J. Bone Miner. Res.* 28 (5), 1191-1202.

McGowan, K., McGowan, T., & Ivanovski, S. (2018). Risk factors for medication-related osteonecrosis of the jaws: A systematic review. *Oral diseases*, 24(4), 527-536.

Montefusco V, Gay F, Spina F, et al.: Antibiotic prophylaxis before dental procedures may reduce the incidence of osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma treated with bisphosphonates. *Leuk Lymphoma* 2008; 49: 2156–62.

Mücke 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(5):907–913.

Mücke T, Jung M, Mitchell DA, et al. Are infective blood measurements predictors of recurrence in patients with bisphosphonaterelated osteonecrosis of the jaws? *Br J Oral Maxillofac Surg* 2016 (Mücke ve ark. 2016a)

Mücke, T., Krestan, C. R., Mitchell, D. A., Kirschke, J. S., & Wutzl, A. (2016, July). Bisphosphonate and medication-related osteonecrosis of the jaw: a review. In *Seminars in musculoskeletal radiology* (Vol. 20, No. 03, pp. 305-314). Thieme Medical Publishers. (Mücke ve ark. 2016b)

O’Riordan K, Sharlin DS, Gross J, et al. Photoinactivation of Mycobacteria in vitro and in a new murine model of localized Mycobacterium bovis BCG-induced granulomatous infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50: 1828—34.

O’Ryan FS, Lo JC. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in patients with oral bisphosphonate exposure: clinical course and outcomes. *J Oral Maxillofac Surg* 2012;70(8):1844–1853

Onat, H., Tosun, G. (2014). DİŞ HEKİMLİĞİNDE FOTODİNAMİK TEDAVİ. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 24(1).

Ormond, A., & Freeman, H. (2013). Dye sensitizers for photodynamic therapy. *Materials*, 6(3), 817-840.

Otto S, Pautke C, Hafner S, et al. Pathologic fractures in bisphosphonate- related osteonecrosis of the jaw—review of the literature and review of our own cases. *Craniomaxillofac Trauma Reconstr* 2013;6(3):147–154.

Paschoal M A, Tonon C C, Spolidório D M P, Bagnato V S, Giusti J S M and Santos-Pinto L . 2013. Photodynamic potencial of curcumin and blue LED against *S. Mutans* in a planktonic culture Photodiagnosis Photodyn. Ther. 10 313–9.

Peker Tekdal, G., Gürkan, A. *Diş Hekimliği ve Periodontolojide Fotodinamik Tedavi Uygulamaları*. 2014. Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 35(3), 8-22.

Petrucci MT, Gallucci C, Agrillo A, Mustazza MC, Foa R. Role of ozone therapy in the treatment of osteonecrosis of the jaws in multiple myeloma patients. *Haematologica* 2007;92:1289–90.

Poli, P. P., Souza, F. Á., & Maiorana, C. (2018). Adjunctive use of antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of medication-related osteonecrosis of the jaws: A case report. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*.

Poxleitner, P., Engelhardt, M., Schmelzeisen, R., & Voss, P. (2017). The prevention of medication-related osteonecrosis of the jaw. *Deutsches Ärzteblatt International*, 114(5), 63.

Qi WX, Tang LN, He AN, et al: Risk of osteonecrosis of the jaw in cancer patients receiving denosumab: A meta-analysis of seven randomized controlled trials. *Int J Clin Oncol* 19:403, 2014.

Reid IR, Brown JP, Burckhardt P, et al. Intravenous zoledronic acid in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med* 2002;346(9):653–661.

Renwick, M. J., Simpkin, V., & Mossialos, E. (2016). Targeting innovation in antibiotic drug discovery and development. The need for a One Health–One Europe–One World Framework.

Ribeiro APD, Andrade MC, Bagnato VS, Vergani CE, Primo FL, Tedesco AC, Pavarina AC. 2015. Antimicrobial photodynamic therapy against pathogenic bacterial suspensions and biofilms using chloro-aluminum phthalocyanine encapsulated in nanoemulsions. *Lasers Med Sci.* 30:549–559.

Rosella, D., Papi, P., Giardino, R., Cicalini, E., Piccoli, L., & Pompa, G. (2016). Medication-related osteonecrosis of the jaw: Clinical and practical guidelines. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*, 6(2), 97.

Rossini M, Bianchi G, Di Munno O, et al. Osteoporosis in Clinical Practice (TOP) Study Group. Determinants of adherence to osteoporosis treatment in clinical practice. *Osteoporos Int* 2006;17(6): 914–921.

Rowe, P., Sharma, S. (2018). Physiology, Bone, Remodeling. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing.

Rubin MR, Bilezikian JP. The anabolic effects of parathyroid hormone therapy. *Clin Geriatr Med* 2003;19:415–32.

Rugani P, Truschnegg A, Acham S, Kimbauer B, Jakse N (2013) Use of Photodynamic Therapy in Treatment Bisphosphonate-related Osteonecrosis of the Jaws: Literature Review and Case Series. *J Anal Bioanal Tech.*

Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff SL. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *J Oral Maxillofac Surg* 2004;62(5):527–534.

Ruggiero SL, 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; 72(10):1938–1956.

Ruggiero, S. L. (2015). Diagnosis and staging of medication-related osteonecrosis of the jaw. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics*, 27(4), 479-487.

Russel L, R.G., R.C. Muhlbauer, S. Bisaz, et al. 1970. The influence of pyrophosphate, condensed phosphates, phosphonates and other phosphate compounds on the dissolution of hydroxyapatite in vitro and on bone resorption induced by parathyroid hormone in tissue culture and in thyroparathyroidectomised rats. *Calcif. Tissue Res.* 6: 183–196.

Russell, R. G. G. (2011). Bisphosphonates: the first 40 years. *Bone*, 49(1), 2-19.

Russell, R. Graham G., et al. "Bisphosphonates: an update on mechanisms of action and how these relate to clinical efficacy." *Annals of the New York Academy of Sciences* 1117.1 (2007): 209-257.

Saad F, Brown JE, Van Poznak C, 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* 23:1341, 2012.

Saffar JL, Lasfargues JJ, Cherruau M. (1997). Alveolar bone and the alveolar process: The socket that is never stable. *Periodontology* 2000, 13, 76-90.

Sarkarat, F., Modarresi, A., Chiniforush, N., Yazdanparast, L., & Rakhshan, V. (2018). Efficacy of photodynamic therapy (PDT) in minimizing bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws (BRONJ) after dental extraction: a preliminary animal study. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*.

Scoletta M, Arduino PG, Reggio L, Dalmaso P, Mozzati M (2010) Effect of lowlevel laser irradiation on bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: preliminary results of a prospective study. *Photomed Laser Surg* 28: 179 184.

Sedghizadeh PP, Yooseph S, Fadrosch DW, et al: Metagenomic investigation of microbes and viruses in patients with jaw osteonecrosis associated with bisphosphonate therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 114:764, 2012.

Seguier, S.; Souza, S.L.; Sverzut, A.C.; Simioni, A.R.; Primo, F.L.; Bodineau, A.; Correa, V.M.; Coulomb, B.; Tedesco, A.C. Impact of photodynamic therapy on inflammatory cells during human chronic periodontitis. *J. Photochem. Photobiol. B* 2010, 101, 348–354.

Seth R, Futran ND, Alam DS, Knott PD. Outcomes of vascularized bone graft reconstruction of the mandible in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Laryngoscope* 2010;120(11): 2165–2171.

Sharma, D., Ivanovski, S., Slevin, M., Hamlet, S., Pop, T.S., Brinzaniuc, K., Petcu, E.B., Miroiu, R., 2013. Bisphosphonate-related osteonecrosis of jaw (BRONJ): diagnostic criteria and possible pathogenic mechanisms of an unexpected anti-angiogenic side effect. *Vasc. Cell* 5, 1–8.

Shiraki, M., Tanaka, S., Suzuki, H., Ueda, S., & Nakamura, T. (2017). Safety, pharmacokinetics, and changes in bone metabolism associated with zoledronic acid treatment in Japanese patients with primary osteoporosis. *Journal of bone and mineral metabolism*, 35(6), 675-684.

Silva, Z. S., Bussadori, S. K., Fernandes, K. P. S., Huang, Y. Y., & Hamblin, M. R. (2015). Animal models for photodynamic therapy (PDT). *Bioscience reports*, 35(6), e00265.

Sim Ie W, Sanders KM, Borromeo GL, Seymour JF, Ebeling PR: Declining incidence of medication-related osteonecrosis of the jaw in patients with cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100: 3887–93.

Sivaramakrishnan G, Sridharan K. 2018. Photodynamic therapy for the treatment of peri-implant diseases: a network meta-analysis of randomized controlled trials. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 21:1–9.

Smith R. Ectopic calcification and ossification Chapter 31. In: Bijvoet O, Fleisch HA, Canfield RE, Russell RGG, editors. Bisphosphonate on bones. Elsevier Science B.V.; 1995.

Sonis ST, Watkins BA, Lyng GD, Lerman MA, Anderson KC. Bony changes in the jaws of rats treated with zoledronic acid and dexamethasone before dental extractions mimic bisphosphonates-related osteonecrosis in cancer patients. *Oral Oncol* 2009; 45: 164–72

Soukos NS, Goodson JM. Photodynamic therapy in the control of oral biofilms. *Periodontol* 2000. 2011; 55: 143–166.

Soukos, N.S.; Wilson, M.; Burns, T.; Speight, P.M. Photodynamic effects of toluidine blue on human oral keratinocytes and fibroblasts and streptococcus sanguis evaluated in vitro. *Lasers Surg. Med.* 1996, 18, 253–259.

Stenbeck, G., 2002. Formation and function of the ruffled border in osteoclasts. *Semin. Cell Dev. Biol.* 13 (4), 285–292.

Stockmann P, Hinkmann FM, LellMM, 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(3):311–317.

Şentürk, M. F., & Koçer, G. (2017). İlaça Bağlı Olarak Görülen Çene Kemiklerinde Görülen Osteonekroz (Mronj): Derleme. *SDU Journal of Health Science Institute/SDÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, (1).

Tanaka, M.; Mroz, P.; Dai, T.; Huang, L.; Morimoto, Y.; Kinoshita, M.; Yoshihara, Y.; Nemoto, K.; Shinomiya, N.; Seki, S.; et al. Photodynamic therapy can induce a protective innate immune response against murine bacterial arthritis via neutrophil accumulation. *PLoS ONE* 2012, 7.

Taylor K, Middlefell L, Mizen K. Osteonecrosis of the jaws induced by anti-RANK ligand therapy. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2010;48:221–3.

Teti, A., Marchisio, P.C., Zallone, A.Z., 1991. Clear zone in osteoclast function: role of podosomes in regulation of bone-resorbing activity. *Am. J. Phys.* 261 (1), C1–C7.

Then C, Hörauf N, Otto S, et al. Incidence and risk factors of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in multiple myeloma patients having undergone autologous stem cell transplantation. *Onkologie* 2012;35(11):658–664.

Thumbigere-Math V, Sabino MC, Gopalakrishnan R, et al. Bisphosphonate- related osteonecrosis of the jaw: clinical features, risk factors, management, and treatment outcomes of 26 patients. *J Oral Maxillofac Surg* 2009;67(9):1904–1913.

Tsao C, Darby I, Ebeling PR, et al.: Oral health risk factors for bisphosphonate-associated jaw osteonecrosis. *J Oral Maxillofac Surg* 2013; 71: 1360–6.

Vahtsevanos K, Kyrgidis A, Verrou E, et al. Longitudinal cohort study of risk factors in cancer patients of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Clin Oncol* 2009;27(32):5356–5362.

Vercruysse H Jr, Backer Td, Mommaerts MY. Outcomes of osseous free flap reconstruction in stage III bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: systematic review and a new case series. *J Craniomaxillofac Surg* 2014;42(5):377–386.

Vescovi P, Meleti M, Merigo E, et al.: 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; 18: e680–5.

Vidal-Gutiérrez, X., Gómez-Clavel, J. F., & Gaitán-Cepeda, L. A. (2017). Dental extraction following zoledronate, induces osteonecrosis in rat's jaw. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal*, 22(2), e177.

Voss PJ, Joshi Oshero J, Kovalova-Muller A, et al.: Surgical treatment of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: technical report and follow up of 21 patients. *J Craniomaxillofac Surg* 2012; 40: 719–25.

Wainwright, M. (2017). Dyes, flies, and sunny skies: photodynamic therapy and neglected tropical diseases. *Coloration Technology*, 133(1), 3-14.

Weinstein RS, Roberson PK, Manolagas SC. Giant osteoclast formation and long-term oral bisphosphonate therapy. *N Engl J Med* 2009;360(1):53–62

Wessel JH, Dodson TB, Zavras AI. Zoledronate, smoking, and obesity are strong risk factors for osteonecrosis of the jaw: a case-control study. *J Oral Maxillofac Surg* 2008;66(4):625–631.

Wilson, J.J.; Jones, H.; Burock, M.; Smith, D.; Fraker, D.L.; Metz, J.; Glatstein, E.; Hahn, S.M. Patterns of recurrence in patients treated with photodynamic therapy for intraperitoneal carcinomatosis and sarcomatosis. *Int. J. Oncol.* 2004, 24, 711–717.

Yang, H., Pan, H., Yu, F., Chen, K., Shang, G., & Xu, Y. (2015). A novel model of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in rats. *International journal of clinical and experimental pathology*, 8(5), 5161.

Yood RA, Emani S, Reed JI, Lewis BE, Charpentier M, Lydick E. Compliance with pharmacologic therapy for osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2003 Dec;14(12):965–968.

Young B, Heath JW. (2000). Wheather's functional histology. 4th ed. Churchill Livinstone.

Zafar, S., Coates, D.E., Cullinan, M.P., Drummond, B.K., Milne, T., Seymour, G.J., 2016. Effects of zoledronic acid and geranylgeraniol on the cellular behaviour and gene expression of primary human alveolar osteoblasts. *Clin Oral Investig.*

Zara, S., De Colli, M., di Giacomo, V., Zizzari, V.L., Di Nisio, C., Di Tore, U., Salini, V., Gallorini, M., Tetè, S., Cataldi, A., 2015. Zoledronic acid at subtoxic dose extends osteoblastic stage span of primary human osteoblasts. *Clin Oral Investig* 19, 601–611.

HAM VERİLER

Histomorfometrik ve histopatolojik inceleme sonucunda her bir biyopsi örneğine ait veriler aşağıdaki gibidir:

	Nekroz mm ²	Ept.açıklığı mm	Enflamasyon(0-3)	Yeni kemik oluşumu(0-3)
1G 1H	3	2,01	3	1
1G 2H	4,12	1,52	3	0
1G 3H	2,96	1,14	3	1
1G 4H	3,32	1,1	3	0
1G 5H	4,39	1,29	3	0
1G 6H	4,52	2,9	3	0
1G 7H	4,77	2,81	3	0
1G 8H	4,6	2,52	3	0
2G 1H	1,72	0,24	3	0
2G 2H	3,58	0,33	2	1
2G 3H	0,19	0,41	1	1
2G 4H	0,19	0,19	1	1
2G 5H	5,5	0,5	3	0
2G 6H	3,29	0,61	3	1
2G 7H	3,29	0,32	2	1
2G 8H	1,67	0,18	1	2
3G 1H	1,42	0,15	1	2
3G 2H	1,3	0,55	1	2
3G 3H	1,48	0,18	1	1
3G 4H	1,22	0,11	2	1
3G 5H	1,32	0,15	1	3
3G 6H	1,41	0,18	1	2
3G 7H	1,52	0,2	1	3

Sıçanların ağırlığı (gr)

0.hafta	6.hafta	16.hafta(sakrfikasyon öncesi ölçülen)
1.grup		
213	310	340
263	270	325
233	260	288
223	300	320
219	295	345
245	280	310
212	350	375
234	205	260
Ort: 230,25	Ort: 283,75	Ort: 320,375
2.grup		
270	240	300
255	335	344
260	306	345

260	325	302
250	320	350
275	310	308
194	340	356
190	250	332
Ort: 213	Ort: 303,25	Ort: 329,6
3.grup		
268	276	329
220	262	297
260	339	345
245	352	340
275	326	332
214	261	289
285	329	352
Ort: 252,4	Ort: 306,4	Ort: 326,2

Serum TRACP-5b (U/l) sonuçları aşağıdaki gibidir:

1. Grup 1	6,51
1. Grup 2	7,89
1. Grup 3	6,15
1. Grup 4	8,15
1. Grup 5	4,93
1. Grup 6	5,62
1. Grup 7	8,37
1. Grup 8	8,12
2. Grup 1	7,27
2. Grup 2	7,31
2. Grup 3	8,76
2. Grup 4	5,14
2. Grup 5	4,71
2. Grup 6	6,02
2. Grup 7	4,95
2. Grup 8	4,19
3. Grup 1	7,45
3. Grup 2	6,77
3. Grup 3	9,93
3. Grup 4	9,2
3. Grup 5	8,3
3. Grup 6	10,16
3. Grup 7	7,47

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayın Prof. Dr. Meral ÜNÖR
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Başvuru : 17.11.2016

Toplantı Tarihi : 28.11.2016

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, aşağıda çalışma materyali belirtilen, **Dt. Gökay KARAPINAR**'a ait "Bifosfonat kullanımına bağlı çenelerde görülen osteonekrozda fotodinamik tedavinin etkilerinin sıçanlarda değerlendirilmesi" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Sıçan
	Cinsiyeti	Erkek
	Sayısı	30
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi	01.01.2017/ 01.01.2018	

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ
İÜ HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIRIK
Üye

Prof. Dr. Ufuk ÇAKATAY
Üye

Prof.Dr. İlhan İLKILIÇ
Üye

Doç.Dr. Alper OKYAR
Üye

Yard.Doç.Dr Altan ARMUTAK
Üye

Uzm.Vet.Hek.Fatma TEKELİ
Üye

Dr. Burak OLGUN
Mak.Yük. Müh.
Üye

Avukat Selma DEMİR
Üye

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

BİFOSFONAT KULLANIMINA BAĞLI ÇENELERDE GÖRÜLEN
OSTEONEKROZDA FOTODİNAMİK TEDAVİNİN ETKİLERİNİN
SIÇANLARDA DEĞERLENDİRİLMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

%4

BENZERLİK ENDEKSİ

%2

İNTERNET
KAYNAKLARI

%2

YAYINLAR

%2

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

Submitted to Istanbul University

Öğrenci Ödevi

%1

2

www.journalagent.com

İnternet Kaynağı

%1

3

YAZICI, Tayfun, ŞENTÜRK, Mehmet Fatih and
KOÇER, Gülperi. "İlaca Bağlı Olarak Görülen
Çene Kemiklerinde Görülen Osteonekroz
(Mronj): Derleme", Süleyman Demirel
Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 2017.

Yayın

<%1

4

Submitted to Üsküdar Üniversitesi

Öğrenci Ödevi

<%1

5

angora.baskent.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%1

6

ONAT, Halenur and TOSUN, Gül. "DİŞ
HEKİMLİĞİNDE FOTODİNAMİK TEDAVİ",
Atatürk Üniversitesi, 2014.

<%1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	GÖKAY	Soyadı	KARAPINAR
Doğ.Yeri	İSTANBUL	Doğ.Tar.	04.02.1991
Uyruğu	TC	TC Kim No	12881852128
Email	gokaykarapinar@gmail.com	Tel	05334258335

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ	2018
Yük.Lis.	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ	2009
Lisans	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ	2009
Lise	Özel Kültür Fen Lisesi	2005

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Doktora Öğrencisi	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2014-2018
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İNGİLİZCE	ÇOK İYİ	İYİ	İYİ		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	83		
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office Word	İyi
Power Point	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Yayınlar:

-Karapınar G., Zincir Ö.O., Ünür M. Diş Hekimliğinde Çapraz Enfeksiyon. Dişhekimliği Dergisi(2014), Sayı 116:32-36.

-Karapınar G., Zincir Ö.O., Mercan Ç., Katiboğlu G., Katiboğlu A.B., Belirli çap ve boydaki dental implantların dinamik yorgunluk ölçümlerinin değerlendirilmesi. Türk Diş Hekimliği Dergisi, Ocak 2015, 92:06-09.

-Bulutsuz A.G., Mercan Ç,Ü., Karapınar G., Katiboğlu A.B., Lewandowska M. Influence of Surface Modification Methods on the Topography of Dental Implants by Using Metrological Observation Techniques, ACTA PHYSICA POLONICA A, Vol.129(2016), No.4.

-Karapınar, G., & Unur, M. (2018). Current Approaches in Recurrent Aphthous Stomatitis. CLINICAL AND EXPERIMENTAL HEALTH SCIENCES, 8(1), 62-66.

