



TC.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI



**BİFOSFONAT VERİLEN RATLARDA DİŞ ÇEKİMİ SONRASI DİYOT
LAZERLE UYGULANAN FOTOBİYOMODÜLASYON, E VİTAMİNİ VE
PENTOKSİFİLİNİN KEMİK VE DİŞETİ DOKUSU ÜZERİNE ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Cansu ERHAN

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Tuba TALO YILDIRIM

ELAZIĞ, 2021

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Filiz ACUN KAYA

Dekan

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Filiz ACUN KAYA

Periodontoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Tuba TALO YILDIRIM

Danışman

Uzmanlık Tez Değerlendirme Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....



ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Cansu ERHAN

İmza

Doç. Dr. Tuba TALO YILDIRIM

Danışman

Periodontoloji Anabilim Dalı

ELAZIĞ

İTHAF

Canım annem Nazan ERHAN'a



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle her zaman desteğini hissettiğim, teorik ve pratik olarak üzerimde büyük emeği olan, Değerli Hocam Doç. Dr.Tuba TALO YILDIRIM'a, uzmanlık eğitimim sonunda tanıştığım, bilgi ve tecrübelerini esirgemedi bu kısa süre zarfında bize aktaran ve mesleki vizyonumuzu genişleten Dekanımız ve Anabilim Dalı Başkanımız çok Kıymetli Hocam Prof. Dr. Filiz ACUN KAYA'ya, uzmanlık eğitimimin başından sonuna kadar kendilerinden çok şey öğrendiğim, hiçbir konuda bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, tezimin her aşamasında emeği olan Değerli Hocam Doç. Dr. Serkan DÜNDAR'a ve Anabilim Dalımızın değerli öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Alihan BOZOĞLAN'a, tez döneminde gösterdiği sabır ve katkılar için Değerli Hocam Prof. Dr. İbrahim Hanifi ÖZERCAN'a, Fırat Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Kliniği asistanları, hemşireleri ve diğer çalışanlarına, tüm deney süresince desteğini ve yardımlarını esirgemeyen zamansız bir şekilde aramızdan ayrılan Suat DOĞAN'a ve tüm FÜDAM personellerine,

Bugünlere gelmemde büyük emeği olan, tüm kararlarımda, doğrularımda ve yanlışlarımda arkamda duran, beni her zaman maddi ve manevi destekleyen Annem Nazan ERHAN, Babam Cengiz ERHAN ve Ablam Suna Funda ERHAN'a, son olarak hayatıma büyük katkıları olan Dr. Öğr. Üyesi Kübra BİLGE, Dt. Recai TEMİZKAN, Dt. Zeliha HAYIRLIDAĞ, Uzm. Dt. Gamze KARAMAN, Uzm. Dt. Cansu Büşra UZUN, Arş. Gör. Dt. Yusuf EZGİ ve Arş. Gör. Dt. Oğuzhan UÇAR'a

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Arş. Gör. Dt Cansu ERHAN

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	II
ETİK BEYAN	III
İTHAF	IV
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER	VI
KISALTMALAR	XIII
1. ÖZET	1
2.ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	6
3.1. Genel Bilgiler	8
3.1.1. Kemik Dokusu	8
3.1.1.1. Kemiğin Makroskopisi	8
3.1.1.1.1. Kortikal (Kompakt) Kemik	9
3.1.1.1.2. Trabeküler (Süngerimsi) Kemik	9
3.1.1.2. Kemiğin Mikroskopisi	10
3.1.1.2.1. Primer Kemik	10
3.1.1.2.2. Sekonder Kemik	10
3.1.1.3. Kemiğin Moleküler Yapısı	11
3.1.1.3.1. İnorganik Matriks	11
3.1.1.3.2. Organik Matriks	12
3.1.1.3.3. Kemik Hücreleri	12
3.1.1.3.3.1 Osteoblastlar	13
3.1.1.3.3.2. Osteositler	14
3.1.1.3.3.3. Osteoklastlar	14
3.1.1.3.3.4. Osteoprogenitör Hücreler	15
3.1.1.4. Kemik Zarları	15
3.1.1.4.1. Periosteum	15
3.1.1.4.2. Endosteum	16
3.1.1.5. Kemik Oluşumu (Osteogenez)	16
3.1.1.5.1. İntramembranöz Kemikleşme	16

3.1.1.5.2. Endokondral Kemikleşme	18
3.1.1.6. Kemiğin Büyümesi ve Gelişmesi	19
3.1.1.7. Kemiğin Şekillenmesi ve Yeniden Şekillenmesi (Modeling ve	19
3.1.1.8. Kemik İyileşmesi	20
3.1.1.9. Alveolar Kemik	26
3.1.1.9.1. Diş Çekimi Sonrası İyileşme Süreci	27
3.1.2. Bifosfonatlar	28
3.1.2.1. Bifosfonatların Tarihsel Gelişimi	28
3.1.2.2. Bifosfonatların Kimyasal Yapısı	29
3.1.2.3. Bifosfonatların Sınıflandırılması	30
3.1.2.3.1. Etidronat	31
3.1.2.3.2. Klodronat	31
3.1.2.3.3. Tiludronat	31
3.1.2.3.4. Alendronat	32
3.1.2.3.5. Pamidronat	32
3.1.2.3.6. İbandronat	32
3.1.2.3.7. Risendronat	32
3.1.2.3.8. Zoledronat	33
3.1.2.4. Çenelerin İlaça Bağlı Osteonekrozu	34
3.1.2.5. Bifosfonat Tedavisine Başlanılmasından Önce Alınması Gereken Önlemler	38
3.1.3. Lazer	39
3.1.3.1. Lazerin Tanımı ve Diş Hekimliğinde Lazer Kullanımının Tarihçesi	39
3.1.3.2. Lazer Fiziği	40
3.1.3.2.1. Işık	40
3.1.3.2.2. Amplifikasyon	41
3.1.3.2.3. Uyarılmış Emisyon	42
3.1.3.2.4. Radyasyon	42
3.1.3.3. Lazer İletim Sistemleri ve Emisyon Modu	44
3.1.3.4. Lazer Doku Etkileşimi	45
3.1.3.5. Düşük Doz Lazer Tedavisi – Fotobiyostimülasyon	49
3.1.3.6. Lazerlerin Sınıflandırılması	51

3.1.3.7. Diş Hekimliğinde Kullanılan Lazerler	53
3.1.4. E Vitamini	56
3.1.5. Pentoksifilin	58
4. GEREÇ VE YÖNTEM	61
4.1. Deney Hayvanları ve Deneysel Düzenek	61
4.2. Kan Örneği Elde Edilmesi ve Sakrifikasyon	67
4.3. Histopatolojik Analiz	67
4.4. İmmünohistokimyasal Analiz	74
4.5. Biyokimyasal Analiz	77
4.6. İstatistiksel İncelemeler	78
5. BULGULAR	79
6. TARTIŞMA	91
7. SONUÇ VE ÖNERİLER	116
8. KAYNAKLAR	123
9. EKLER	141
10. ÖZGEÇMİŞ	142

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Bifosfonat sınıflaması ve ticari isimleri (93).	30
Tablo 2. Doku sıcaklığıyla birlikte dokuda gözlenen etki (147).	47
Tablo 3. Grupların yeni kemik oluşumu düzeyleri açısından değerlendirilmesi	79
Tablo 4. Grupların osteoklast ve osteoblast düzeyleri açısından değerlendirilmesi	80
Tablo 5. Grupların fibrozis, enflamasyon ve anjiyogenezis düzeyleri açısından değerlendirilmesi	82
Tablo 6. Grupların RANKL ve OPG boyanma düzeyleri açısından değerlendirilmesi	84
Tablo 7. Grupların biyokimyasal parametreler açısından değerlendirilmesi	86
Tablo 8. Grupların CTX ve osteokalsin açısından değerlendirilmesi	89

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Kemiğin mikroskobik yapısı.	10
Şekil 2.	Osteoblast ve Osteoklast formasyonu).	13
Şekil 3.	İntramembranöz kemikleşmenin şematik görüntüsü	17
Şekil 4.	Enkondral kemikleşmenin gösterilmesi	19
Şekil 5.	Pirofosfat ile bifosfonatın kimyasal yapıları	29
Şekil 6.	Lazerin oluşumu.	42
Şekil 7.	Diş hekimliğinde kullanılan lazerlerin elektromanyetik spektrumdaki yeri.	43
Şekil 8.	Lazerin doku etkileşiminin diş üzerinde gösterilmesi.	46
Şekil 9.	Deneyisel çalışma düzeneği	66
Şekil 10.	Grupların yeni kemik oluşumu düzeyinin grafik ile gösterilmesi.	80
Şekil 11.	Grupların osteoklast düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.	81
Şekil 12.	Grupların osteoblast düzeylerinin grafik ile incelenmesi.	81
Şekil 13.	Grupların fibrozis düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.	83
Şekil 14.	Grupların enflamasyon düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.	83
Şekil 15.	Grupların anjiyogenezis düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.	84
Şekil 16.	Grupların RANKL boyama düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.	85
Şekil 17.	Grupların OPG boyama düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.	85
Şekil 18.	Grupların serum ALT düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.	87
Şekil 19.	Grupların serum ALP düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.	87
Şekil 20.	Grupların serum Ca düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.	88
Şekil 21.	Grupların serum P düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.	89
Şekil 22.	Grupların serum osteokalsin düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.	90

RESİM LİSTESİ

Resim 1.	Zoledronik asit	62
Resim 2.	İntraperitoneal bifosfonat enjeksiyonu	62
Resim 3.	Ratın çekilen sol alt 1.molar dişi	63
Resim 4.	Diyot lazer ve fotomodülasyon için kullanılan modu	63
Resim 5.	E vitamini ve Pentoksifilin ampulü	64
Resim 6.	NF200 santrifüj cihazı	67
Resim 7.	Hafif derecede yeni kemik oluşumunun histolojik görünümü (Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)	68
Resim 8.	Orta derecede yeni kemik oluşumunun histolojik görünümü (Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)	69
Resim 9.	Yoğun derecede yeni kemik oluşumunun histolojik görünümü (Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)	69
Resim 10.	Hafif yoğunlukta osteoblastların histolojik görünümü (Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)	70
Resim 11.	Yoğun düzeyde osteoblastların histolojik görünümü (Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)	70
Resim 12.	Hafif yoğunlukta osteoklastların histolojik görünümü (Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)	71
Resim 13.	Yoğun düzeyde osteoklastların histolojik görünümü (Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)	71
Resim 14.	Orta yoğunlukta fibrozisin histolojik görünümü (Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)	72
Resim 15.	Kontrol grubuna ait şiddetli yoğunlukta fibrozisin histolojik görünümü (Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)	72
Resim 16.	Orta derecede inflamasyonun histolojik görünümü (Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)	73
Resim 17.	Yoğun derecede inflamasyonun histolojik görünümü (Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)	73
Resim 18.	Hafif derecede artış gösteren anjiyogenezisin histolojik görünümü (Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)	74

Resim 19. Şiddetli derecede artış gösteren anjiyogenezisin histolojik görünümü (Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)	74
Resim 20. Az yoğunluklu RANKL boyamasının immünohistikimyasal görünümü (40x büyütme)	75
Resim 21. Orta yoğunluklu RANKL boyamasının immünohistikimyasal görünümü (40x büyütme)	75
Resim 22. Şiddetli yoğunluklu RANKL boyamasının immünohistikimyasal görünümü (40x büyütme)	76
Resim 23. Orta yoğunlukta OPG boyamasının immünohistokimyasal görünümü (20x büyütme)	76
Resim 24. Şiddetli yoğunlukta OPG boyamasının immünohistokimyasal görünümü (20x büyütme)	77

KISALTMALAR

AAOMS	: Amerikan Oral ve Maksillofasiyal Cerrahi Derneği
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ALP	: Alkalen Fosfataz
ALT	: Alanin Aminotransferans
ark.	: Arkadaşları
AST	: Aspartat Aminotransferans
ATP	: Adenozin Trifosfat
BMP-2	: Kemik Morfojenik Protein 2
BRONJ	: Bifosfonata Bağlı Oluşan Osteonekroz (Biphosphonate- Related Osteonecrosis)
°C	: Derece Santigrat
Ca	: Kalsiyum
c-AMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
CaP	: Kalsiyum Fosfat
CBCT	: Konik Işınlı Bilgisayarlı Tomografi (Cone Beam Computer Tomography)
cm	: Santimetre
cm³	: Santimetre küp
CO₂	: Karbondioksit
CTx	: C telopeptid X
DDLTL	: Düşük doz lazer tedavisi
dl	: Desilitre
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DPD	: Deoksiipridinolin
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
Er, Cr: YSGG	: Erbium, Krom Katkılı İttriyum Skandiyum Galyum Garnet
Er: YAG	: Erbium Katkılı İttriyum Alüminyum Granat
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FoodandDrugAdministration)
FÜDAM	: Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi
H⁺	: Hidrojen İyonu

HA	: Hidroksiapatit
HCO₃	: Bikarbonat
HF	: Hidrojen Florür
Hol:YAG	:Holmium: Yttrium-Aluminum-Garnet lazer
IL-1	: İnterlökin 1
IL-1β	: İnterlökin 1 Beta
IL-6	: İnterlökin 6
IV	: İntravenöz
K-ALP	: Kemiğe Özgü Olan Alkalen Fosfataz
kcal /mol	: Kilo Kalori Bölü Mol
kg/m²	: Kilogram bölü metrekaare
KTP	: Potasyum Titanil Fosfat
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (Low Density Lipoprotein)
L-PRF	: Lökosit Trombositten Zengin Fibrin (Leukocyte -Platelet Rich Fibrin)
M	: Molar
M-CSF	: Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör
μm	: Mikrometre
μM	: Mikromolar
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
MR	: Manyetik Rezonans
MRONJ	: İlaça Bağlı Çenelerde Oluşan Osteonekroz(Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw)
MTT	: 3-(4,5-Dimetiltiyazol2-Yl)-2,5-Difeniltetrazolyum-Bromür
Na-K ATPaz	: Sodyum Potasyum Adenozin Trifosfotaz
Nd: YAG	: Neodmiyum Yttrium Alüminyum Garnet Lazer
Nd: YAP	: Neodimyum Katkılı İttriyum Alüminyum Provskite
nm	: Nanometre
nM	: Nanomolar
ODAR	:Osteoklast Differansiyasyon ve Aktivasyon Reseptörü

OH	: Hidroksit
ONJ	: Çene osteonekrozu (Osteonecrosis of the Jaw)
OPG	: Osteoprotegerin
P	: Fosfor
PGE2	: Prostoglandin E2
pg/ml	: Pikogram/Mililitre
PICP	: Prokollagen Tip Propeptid
PO₄	: Fosfat
PRP	: Trombozitten Zengin Plazma (Platalet Rich Plasma)
PTH	: Paratiroid/Parat hormon
PYD	: Pridinolin
RANK	: Nükleer Faktör Kappa β Ligand Reseptör Aktivatörü(Receptor activator of nuclear factor kappa-B)
RANKL=OPGL=ODF	: Nükleer Faktör Kappa β Ligand Reseptör Aktivatörü Ligandı (Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand)
rhBMP-2	: İnsan Kemiği Morfogenetik Protein-2
rpm	: Dakikadaki Devir Sayısı (Revolutions Per Minute)
SD	: Standart Sapma (Standart Deviation)
Tc99m MDP	: Teknesyum 99m Metilen Difosfatın
TCP	: Trikalsiyumfosfat
TGF-α	: Tromboksan, Transforme Edici Büyüme Faktörü Alfa
TGF-β	: Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta
TNF	: Tümör Nekroz Faktörü
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktörü Alfa
TNFL	: Tümör Nekroz Faktör Ligandı
TNFR	:Tümör nekroz faktörü reseptörleri
TRAIL	:Tümör nekrozitan faktör ile ilgili apoptozisi destekleyen ligand
TRANCE-R	:TNF ilişkili Aktivasyon-İndüksiyon Sitokin Reseptörü
U/L	: Ünite / Litre
μg	: Mikrogram

1. ÖZET

Bifosfonata bağılı çenelerde gelişen osteonekroz tedavisi için fikir birliği bulunmamaktadır.

Bu çalışmanın amacı bifosfonat uygulanan ratlarda diş çekimi sonrası uygulanan fotobiyomodülasyonun, E vitamini ve pentoksifilin kemik iyileşmesi üzerindeki etkinliğinin incelenmesidir. Çalışmamızda Sağlıklı Grup (n=8), Kontrol Grubu (n=8), Lazer Grubu (n=11), E vitamini Grubu (n=11), Pentoksifilin Grubu (n=11), Lazer-Pentoksifilin Grubu (n=10), Lazer-E vitamini Grubu (n=11), Pentoksifilin-E vitamini Grubu (n=10) olmak üzere 8 gruba ayrıldı. Deneklerin tamamı 36. günde sakrifiye edildi. Yeni kemik oluşumu, osteoblast ve osteoklast, fibrozis, enflamasyon ve anjiyogenezis yoğunlukları histopatolojik; Reseptör aktivatör faktör kappa B (NF-kB) ligandı (RANKL) ve osteoprotegerin (OPG) yoğunluğu immünohistokimyasal; alkalen fosfataz (ALP), kalsiyum (Ca), fosfor (P), aspartat aminotransferans (AST), alanin aminotransferans (ALT), C-telopeptid X (CTX) ve osteokalsin düzeyleri biyokimyasal olarak değerlendirildi. İstatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 programı kullanıldı.

Çalışma sonucunda Lazer-E vitamini grubunda yüksek seviye yeni kemik oluşumu görülme oranı, Kontrol, Pentoksifilin, Lazer-Pentoksifilin ve Pentoksifilin-E vitamini gruplarından anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Lazer grubunda yüksek seviye yeni kemik oluşumu görülme oranı, Kontrol ve Pentoksifilin gruplarından anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). E vitamini grubunda yüksek seviye kemik oluşumu görülme oranı, Kontrol ve Pentoksifilin gruplarından istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Kontrol grubunda şiddetli fibrozis görülme oranı, Sağlıklı, Lazer, E vitamini, Pentoksifilin, Lazer-E vitamini ve

Pentoksifilin-E vitamini gruplarından istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Sağlıklı grubun ALP düzeyi, E vitamini, Pentoksifilin, Lazer-Pentoksifilin, Lazer-E vitamini ve Pentoksifilin-E vitamini gruplarından istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Kontrol grubunun serum Ca ve ALT düzeyi, Pentoksifilin-E vitamini grubundan istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Sağlıklı grubun serum P düzeyi, Lazer, E vitamini, Pentoksifilin, Lazer-Pentoksifilin, Pentoksifilin-E vitamini gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Çalışmamızda Kontrol grubunun osteokalsin düzeyi, Lazer, Pentoksifilin, Lazer-Pentoksifilin ve Lazer-E vitamini gruplarından istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Gruplar arasında RANKL, OPG boyanma düzeyleri, osteoblast, osteoklast, enflamasyon, anjiyogenezis yoğunlukları, AST ve CTX düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çalışmamızın sonuçlarına göre MRONJ modeli oluşturulmak istenilen ratlarda kullanılan lazer ve E vitaminin tek başına veya birlikte kullanılmasının kemik doku üzerine olumlu etkiler oluşturulabileceği ifade edilebilir fakat bu konu ile ilgili geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: bifosfonat, lazer, fotobiyomodülasyon, E vitamini, pentoksifilin

2.ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF PHOTOBIOMODULATION, VITAMIN E AND PENTOXIFYLLINE ON THE BONE AND GINGIVAL TISSUE AFTER TOOTH EXTRACTION IN RATS GIVEN BIPHOSPHONATE

With the spread of bisphosphonates, the incidence of osteonecrosis of the jaw bones, which is one of its side effects, is increasing, but there is no consensus on the treatment of osteonecrosis of the jaw due to bisphosphonates.

The aim of this study was to examine the effect of photobiomodulation, vitamin E and pentoxifylline on bone healing after tooth extraction in rats treated with bisphosphonates. In our study, Healthy Group (n=8), Control Group (n=8), Laser Group (n=11), Vitamin E Group (n=11), Pentoxifylline Group (n=11), Laser-Pentoxifylline Group (n=10), Laser-Vitamin E Group (n=11), Pentoxifylline-Vitamin E Group (n=10). All of the subjects were sacrificed at the end of 36 days. For histopathological and immunohistochemical analyzes, new bone formation, osteoblast and osteoclast density, fibrosis, inflammation and angiogenesis in mandibular bone and bone tissue taken from the Mandibular region were evaluated histopathologically, RANKL and OPG density were evaluated immunohistochemically. Alkaline phosphatase (ALP), calcium (Ca), phosphorus (P), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), C-telopeptide X (CTX) and osteocalcin analyzes were performed from blood samples taken from the subjects. While evaluating the findings obtained in the study, IBM SPSS Statistics 22 program was used for statistical analysis.

As a result of the study, the incidence of high-level new bone formation in the Laser-Vitamin E group was significantly higher than the Control, Pentoxifylline, Laser-Pentoxifylline and Pentoxifylline-Vitamin E groups ($p<0.05$). The incidence of high-level bone formation in the laser group was significantly higher than in the Control and Pentoxifylline groups ($p<0.05$). The incidence of high bone formation in the vitamin E group was statistically higher than that of the Control and Pentoxifylline groups ($p<0.05$). The incidence of severe fibrosis in the control group was statistically higher than the Healthy, Laser, Vitamin E, Pentoxifylline, Laser-Vitamin E and Pentoxifylline-Vitamin E groups ($p<0.05$). The ALT level of the control group was found to be statistically higher than the Pentoxifylline-vitamin E group ($p<0.05$). The ALP level of the healthy group was found to be statistically higher than the vitamin E, Pentoxifylline, Laser-Pentoxifylline, Laser-Vitamin E and Pentoxifylline-vitamin E groups ($p<0.05$). The serum Ca level of the control group was statistically higher than the Pentoxifylline vitamin E group ($p<0.05$). The serum P level of the healthy group was statistically significantly higher than the Laser, Vitamin E, Pentoxifylline, Laser-pentoxifylline, Pentoxifylline- Vitamin E groups ($p<0.05$). In our study, the osteocalcin level of the Control group was found to be statistically lower than the Laser, Pentoxifylline, Laser-pentoxifylline and Laser-Vitamin E groups ($p<0.05$). There was no statistically significant difference between the groups in terms of RANKL, OPG staining levels, osteoblast, osteoclast, inflammation, angiogenesis intensities, AST and CTX levels ($p>0.05$).

According to the results of our study, it can be stated that the combined use of laser and vitamin E alone in the rat model for which the MRONJ model is desired

can have positive effects on bone tissue, but there is a need for extensive studies on this subject.

Keywords: bisphosphonate, laser, photobiomodulation, vitamin E, pentoxifylline



3.GİRİŞ

Bifosfonatlar osteoklastlara etki ederek kemik rezorpsiyonunu engellediğinden malign hiperkalsemi, multiple myelom, Paget hastalığı ve kemik metastazı görülen hastalarda kullanılmaktadır. Bifosfonatlar kemik dokuda mineral yoğunluğunun artmasını sağlamaktadır (1). Bifosfonatlar hem osteoklastların hem de osteoblastların işleyişine engel olmaktadır (2).

Bifosfonatlar içeriklerine göre nitrojen bulunduran ve nitrojen bulundurmeyen olmak üzere iki çeşittir. Bifosfonatların nitrojen bulunduran çeşitlerinde özellikle daha çok karşılaşılan birtakım komplikasyonlar bulunmaktadır. Akut faz reaksiyonları, atriyal fibrilasyon, renal yetmezlik bu komplikasyonlardan birkaçıdır. Bu komplikasyonların yanında özellikle çene kemiklerinde osteonekroz görülmektedir. Marx ve ark. 2003'te çene kemiklerinde osteonekroz oluşumuyla ilgili ilk olgu sunumunu yayınlamışlardır (3, 4).

Amerikan Oral ve Maksillofasiyal Cerrahi Derneği (AAOMS) tarafından 2014 yılında yayınlanan bildirgede ilaç kullanımıyla ilişkili olarak çene kemiklerinde gelişen osteonekroz (Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw) MRONJ olarak isimlendirmiştir. Bu bildirideki MRONJ tanımı: baş ve boyun bölgesinden lokalize radyoterapi almamış, bifosfonat içerikli ilaç kullanmış ya da kullanmakta olan hastaların çene kemiklerinde sekiz haftadan daha uzun süren nekrotik kemik varlığı olarak belirlenmiştir (5). Sistemik ve lokal faktörler osteonekrozların oluşumunu etkilemektedir. Geçirilen malign hastalıklar ve diyabet sistemik faktörler; dişin çevre dokularında yıkıma yol açan periodontal hastalıklar, diş çekimi, protez vurukları ve oral cerrahi işlemler ise lokal faktörler kategorisinde yer almaktadır. Bu faktörlerin yanı sıra osteonekroz riskini arttıran ilaca bağlı birtakım etkenler de mevcuttur.

Bunlar; ilacın verildiği yol, türü, kullanım dozu, içeriği ve birlikte steroid gibi ilaçların kullanımı olarak sayılabilir (6, 7).

MRONJ tedavisi için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır bunlar; medikal, cerrahi ve destekleyici tedavilerdir. Lazerle uygulanan fotobiyomodülasyon, trombositten zengin fibrin (PRF), paratiroid hormon, E vitamini, hiperbarik oksijen tedavisi, pentoksifilin ve ozon terapisi cerrahi operasyon öncesinde ve sonrasında uygulanan destekleyici tedaviler arasındadır (8, 9).

Düşük doz lazer tedavisi (DDLT, fotobiyomodülasyon-fotodinamik terapi), tıpta giderek daha fazla kullanılan, ağrı kesici, yara iyileşmesi ve sinir rejenerasyonu gibi çeşitli etkilere sahip olduğu gösterilen yenilikçi bir yaklaşımdır. Oral dokulara uygulandığında yara iyileşmesini geliştirerek potansiyel antimikrobiyal ve biyostimülatör etkileri olduğu gösterilmiştir. Bilim insanları, DDLT'nin kemik üretimini uyarabilme yeteneğini araştırmışlardır. Bu nedenlerden dolayı, lazer ile yapılan biyostimülasyonun MRONJ tedavisinde yardımcı olabileceği öne sürülebilir (10, 11).

E vitamini, oksidatif stres sırasında oluşan serbest radikal hasarını azaltan ve hücre zarlarını koruyan güçlü bir antioksidandır. İskemik kalp hastalığı ve periferik arter hastalığının tedavisi için FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından onaylanan pentoksifin ise vazodilatasyonu artırarak, kan viskozitesini azaltıp periferik kan akışını artırır. Aynı zamanda anti-tümör nekroz faktörü alfa (anti-TNF α) etkilerini indükler, iltihabı önler ve fibrozisi azaltır. Bu iki ajanın da MRONJ tedavisinde etkili olabileceği gösterilmiştir (12).

Bu çalışmada amacımız, bifosfonat uygulaması yapılmış ratlarda diş çekimi sonrası uygulanacak fotobiyomodülasyonun, E vitamini ve pentoksifilinin kemik

iyileşmesi üzerindeki etkinliğinin incelenmesidir. Yapılan bu çalışmanın sonunda kemik iyileşmesi üzerine etkiler histopatolojik değerlendirmede osteoblast, osteoklast, inflamatuvar hücre infiltrasyon, anjiyogenezis, fibrozis yoğunlukları, yeni kemik oluşumu; immünohistokimyasal olarak OPG ve RANKL yoğunluğu, biyokimyasal olarak serum osteokalsin, CTX, Ca, P, ALT, ALP ve AST açısından değerlendirilmiştir.

3.1. Genel Bilgiler

3.1.1. Kemik Dokusu

Kemik, iskelet sisteminin ana maddesi olup, yapısal destek ve kalsiyum metabolizmasına yardımcı olmak üzere iki temel fonksiyona sahip, dinamik, konnektif, ileri derecede özelleşmiş bağ dokusudur. Kemik dokusu osteoblast ve osteoklast tarafından sağlanan yapım ve yıkım sayesinde dinamik bir yapıya sahiptir. Kemik içerisinde barındırdığı ilik sayesinde kan üretir böylece bağışıklık ve dolaşım sistemine; kalsiyum depolayarak endokrin sistemine katkıda bulunur (13, 14). Kemik yapısını; makroskopik, mikroskopik ve moleküler olarak 3 farklı boyutta inceleyebiliriz (13).

3.1.1.1. Kemik Makroskopisi

Kemik makroskopisi kortikal (kompakt) ve trabeküler (süngerimsi, kansellöz) olmak üzere iki kısımdan oluşur. Kemik sertliğini oluşturan kortikal kısım daha çok uzun kemiklerin gövdelerinde bulunurken, kemik daha yumuşak olan trabeküler kısmı ise vertebralarda, kemiklerin nispeten iç taraflarında ve daha çok kortikal kemik altında yer alır (15).

3.1.1.1.1. Kortikal (Kompakt) Kemik

Kortikal kemik; vücut ağırlığının %85'ini içeren, homojen ve yoğun bir yapıya sahiptir. İçerisinde uzun eksene paralel seyreden ve bağ dokusu ile çevrili nörovasküler yapılar bulunan havers kanalları mevcuttur. Havers kanalları, lameller kemik tarafından çepeçevre sarılmıştır. Bir kanal etrafındaki 8-15 adet dairesel lamelin, etrafını sardıkları santral kanallarla birlikte meydana getirdikleri bütünlüğe osteon ya da havers sistemi denilmektedir. Lameller arasında ve seyrek olarak da içinde bulunan lakünalar osteositleri içermektedir. Lameller arasında bulunan bu osteositler, gap junction (neksus) ile yani elektriksel sinapslar aracılığı ile iletişim halindedirler. Diğer bir kanal yapısı ise, wolkmann kanalları olarak bilinen havers kanallarını birbirine bağlayan yanal kanallardır. Bu kanallar kemik iliği boşluğu ve periost arasındaki bağlantıyı sağladığından besleyici kanallar olarak da adlandırılmaktadır (16, 17).

3.1.1.1.2.Trabeküler (Süngerimsi) Kemik

Kortikal kemiğe göre daha yumuşak ve zayıf olan trabeküler kemik vücut ağırlığının %15'ini oluşturmaktadır. Kemik trabeküllerinin birbiriyle anastomozlaşarak yaptığı süngerimsi yapıya sahiptir. Trabeküler yapının aralarındaki boşluklarda kan damarları ve kemik iliği bulunur (13). Hem kortikal hem de trabeküler kemik aynı kemik hücrelerine ve ekstraselüler matriks elemanlarına sahiptirler fakat mimari yapıları birbirinden farklıdır. Bu farklılık kuvvete karşı dirençlerini ve fonksiyonel özelliklerini etkiler. Böylelikle kortikal kemiğe koruyucu ve mekanik direnç; trabeküler kemiğe ise metabolik fonksiyona yardımcı olma özelliği kazandırmaktadır (18).

3.1.1.2. Kemiğin Mikroskopisi

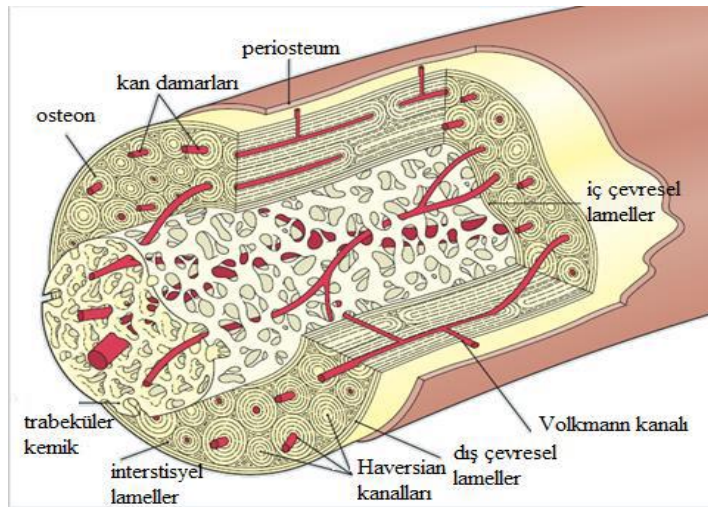
Kemiğin mikroskopisi: Primer (olgunlaşmamış) kemik ve Sekonder (olgun) kemikten oluşmaktadır (19).

3.1.1.2.1. Primer Kemik

Primer kemik intrauterin dönemde ve kemik iyileşmesi sırasında geçici olarak meydana gelir. Kafatasında bulunan düz kemiklerin suturaları, diş soketleri, bazı tendonların kemiğe bağlandığı yerler primer kemiğin daimi olarak bulunabildiği sınırlı bölgelerdir. Bu sınırlı alanlar dışında kollajen liflerin düzensiz olduğu ve mineral içeriği az olan primer kemik hayat boyunca olgunlaşarak osteosit sayısının daha az olduğu sekonder kemiğe dönüşür. Bu dönüşüme remodeling denir (16).

3.1.1.2.2. Sekonder Kemik

Lameller (olgun) kemik olarak da bilinen sekonder kemik, yetişkinlerde yaygın olarak bulunan kemik türüdür ve kalsifiye derecesi primer kemiğe göre daha yüksektir(16). Paralel tabakalar halinde sıralanan ve tip 1 kollajenden oluşan lameller yapı kemiğe dayanıklılık kazandırmaktadır (20). Kompozit kemik, primer kemiğin sekonder kemiğe geçişi esnasında görülen kemik formudur (13).



Şekil 1. Kemiğin mikroskobik yapısı (21).

3.1.1.3. Kemiğin Moleküler Yapısı

Kemiğin moleküler yapısı temel olarak inorganik matriks, organik matriks ve bunların arasındaki hücrelerden oluşmaktadır. Organik matriks kemik ağırlığının %30-35'ini oluşturmaktadır. Kemiğin kimyasal yapısının %71'i inorganik tuz, %18,5'i kollajen, %8,5'i su, %1,75'i protein ve %0,25'i mukopolisakkarittir (19).

3.1.1.3.1. İnorganik Matriks

Kemik dokusu, insan vücudunun en önemli mineral deposudur. Kalsiyum, fosfat, magnezyum, bikarbonat, potasyum, sodyum, sitrat ve florürün oluşturduğu inorganik matriks kuru kemik ağırlığının %60-70'ini oluşturur. Kemiklerde bulunan en önemli inorganik bileşen $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ kimyasal formülüne sahip hidroksiapatittir (22, 23). Hidroksiapatit tuzları organik lifler arasına yerleşerek kemiğin sert ve dayanıklı hale gelmesini sağlamaktadır (24). Elektron mikroskobu altında incelendiğinde hidroksiapatit kristalleri kollajen fibrilleri arasında gömülü olarak gözlenir. Hidroksiapatit kristallerinin dekalsifiye olması kemik yapısının morfolojisini bozmaktansa dokuya esneklik kazandırmaktadır (25).

Kalsiyum; iskelet sisteminin oluşmasını, güçlenmesini, kan pıhtılaşması, sinir iletiminin gerçekleşmesi gibi birçok göreve sahip vücut ağırlığının %1,5-2'sini oluşturan temel minerallerden biridir. Kalsiyum en fazla kemik dokuda bulunurken az bir kısmı dış, kan ve yumuşak dokuda yer almaktadır. Kemik dokusundaki kalsiyum depo edilen hidroksiapatitin içinde ve kalsiyum fosfat halinde bulunur. Kalsiyum dengesi D vitamini ve paratiroid hormon tarafından sağlanmaktadır. Diyetle alınan kalsiyum D vitamini sayesinde büyük oranda bağırsaklardan emilir ve bir kısmı dışkı, bir kısmı idrar yoluyla atılır (26, 27).

Fosfor; protein sentezlenmesi, enerji üretimi ve hücre büyümesi gibi birçok göreve sahip olan, kemik ve dişin yapısına katılan ayrıca kemikte kalsiyumdan sonra en fazla bulunan mineraldir. Organizmada fosfat bileşiği şeklinde bulunur. Paratiroid hormon fosfat dengesinin sağlanması için anahtar rol oynamaktadır. Besinlerden elde edilen fosfat idrar yoluyla atılır (28, 29).

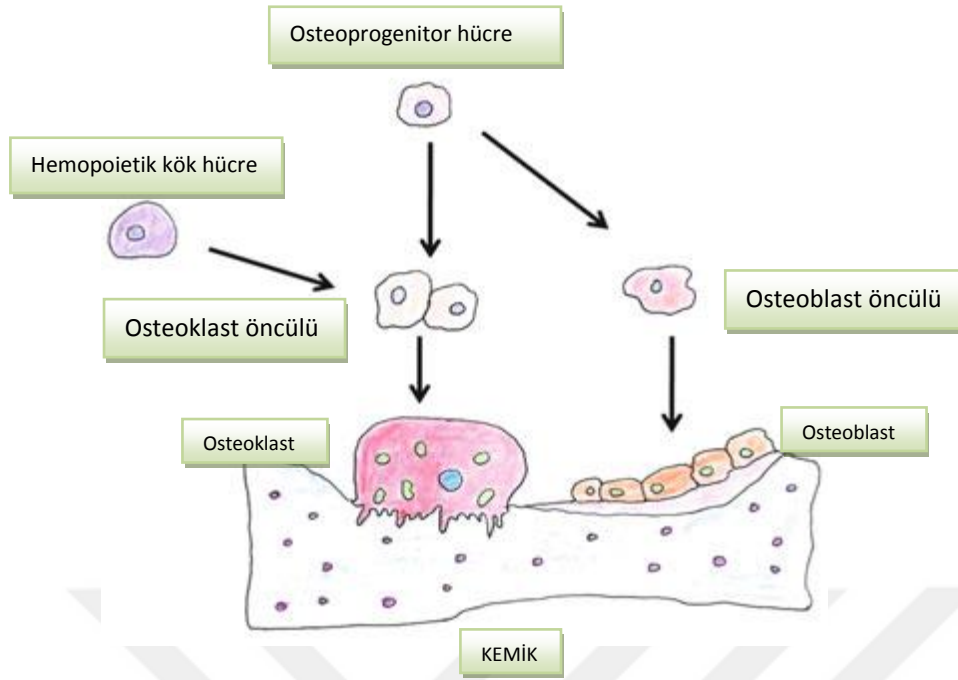
3.1.1.3.2. Organik Matriks

Organik matriksin %90'ı, osteoblast tarafından üretilen tip I kollajen olup, geri kalanı da kollajen olmayan dokudur. Kollajen yapının büyük kısmını tip I kollajen oluştururken daha az kısmını tip V kollajen oluşturur. Kollajen lifler kemiğe gerilme direnci sağlar (30, 31). Kollajen yapı ve arasına yerleşmiş olan hidroksiapatit kristallerinin bir arada bulunması kemiğe dayanıklılık özelliği sağlar. Hidroksiapatit kristalleri kemiğe sertlik verirken, kollajen lifler elastiklik katarak kemiğin kırılabilirliğini azaltır (13, 32).

Kollajen olmayan yapı proteoglikanlardan ve glikoproteinlerden oluşmaktadır. Tüm fonksiyonları bilinmemekle birlikte hidroksiapatit kristallerini kollajene bağlamak, büyüme faktörlerinin salınımında görev almak, organik matriksin kalsifikasyonu, osteoblast ve osteoklast metabolizmasını düzenlemek gibi fonksiyonları tanımlanmıştır. Osteokalsin, osteopontin, osteonektin ve kemik sialoprotein en yaygın bulunan kollajen olmayan proteinlerdir (33).

3.1.1.3.3. Kemik Hücreleri

Kemiğin temel hücresel elemanları; osteoblastlar, osteositler, osteoklastlar, osteoprogenitör hücreler, kemik yüzeyini döşeyen hücreler, kemik iliği hücreleri ve kemiğin büyüme gelişimini düzenleyen immun hücrelerdir. Bu hücreler kemiğin yapım ve yıkım işlemleri sırasında canlılığın devamlılığından sorumludur (34).



Şekil 2. Osteoblast ve Osteoklast formasyonu(35).

3.1.1.3.3.1 Osteoblastlar

Mezenkimal kökenli olan osteoblastlar tip I kollajen ve bazı kollajen olmayan proteinlerin sentezinden sorumludur (36). Osteoblastlar matriks mineralizasyonunu başlatır ve düzenler. Otokrin ve parakrin mekanizmaları kullanarak komşu osteoblastları, osteositleri ve osteoklastları kontrol ederler (37, 38). Yapılan çalışmalar osteoblastların sitoplazmalarında ALP, osteopontin ve osteokalsinin; membranlarında RANKL salgılandığı ve paratiroid hormon, prostoglandinler, D vitamini, östrojen ve sitokinlerle ilgili reseptörlerin bulunduğunu ortaya koymuştur (37, 39).

Osteoblastlar RANKL salımını hücre yüzeylerinden sağlarlar. RANKL, osteoklast öncülleri tarafından salınan RANK (Reseptör aktivatör faktör kappa B) ile etkileşime girerek osteoklast farklılaşmasını etkinleştirir. Olgun osteoklastlarda RANK ve RANKL'ın etkileşimi osteoklastların aktivasyonuna yol açar ve hayatta

kalma süresini uzatır. Osteoprotegerin (OPG), osteoblastlar ve stromal hücrelerin salgıladığı, RANK ve RANKL'ın etkileşimini bloke etmekle görevli proteindir (40).

Osteoblastların aktif yaşam ömrü 1-10 haftadır. Bazı osteoblastlar kendileri tarafından salgılanan osteoid içerisinde kalırlar. Yeni aktif kemik oluşumu tamamlandığında osteoblast aktivitesi yavaşlayarak durur ve sonunda oluşan lakünalar içinde hapsolarak osteosit haline geçerler (16).

3.1.1.3.3.2. Osteositler

Olgun kemik hücresi olarak da bilinen kemiğin esas hücresi olan osteositler lakünaların içinde yer alırlar. Bununla birlikte kemik matriksini rezorbe etme ve sentezleme yetenekleri vardır (41). Osteositlerin en karakteristik özellikleri oldukça uzun olan uzantılarıdır. Bu uzantılar kimyasal ve mekanik sinyallerin iletilerek kemik homeostazinin sağlanmasından sorumlu olan hem osteoblastlarla hem de osteositlerin kendi kendileriyle iletişiminden sorumlu ağlardır (36). Osteositlerin ömrü yaklaşık 25 yıldır. Mekanik kuvvetleri biyolojik aktiviteye çeviren mekanosensör hücrelerdir. Fiziksel kuvvetlerin algılanması osteositleri, prekürsör hücreleri, osteoblastları ve osteoklastları hedef alan hücreiçi habercilerin üretilmesine ve salgılanmasına neden olur (42, 43).

3.1.1.3.3.3. Osteoklastlar

Osteoklast hücreleri kemik iliği granülosit-makrofaj öncül hücrelerinden köken alan, 100µm'luk çapa sahip çok çekirdekli ve kemik rezorpsiyon mekanizmasından sorumlu olan makrofaj işlevine sahip hücrelerdir (44). Howship lakünası olarak bilinen kemikte rezorpsiyonun başladığı bölgelerde bulunurlar. Osteoklastlar kollajenaz gibi proteolitik enzimler salgılayarak kemikte rezorpsiyon sırasında ortaya çıkan artıkları ortadan kaldırırlar (16). Osteoklastların etkinliklerini

bifosfonatlar, kalsitonin ve östrojen hormonları azaltırken, paratiroid, tiroksin hormonları ve D vitamini arttırmaktadır (45).

3.1.1.3.3.4. Osteoprogenitör Hücreler

Mezenkim hücrelerinden köken alan periosteum ve endosteum tabakalarında bulunan stromal hücrelerin farklılaşması sonucu oluşurlar. Osteoprogenitör hücreler mitoz yeteneğine sahip, olgun kemik hücrelerine farklılaşabilen hücrelerdir (28, 46). Osteoprogenitör hücreler üzerinde yapılan çalışmalarda iki tip osteoprogenitör hücreye rastlanmıştır. Bunlardan ilki osteoblastlara dönüşme kapasitesi bulunan preosteoblastlardır. Bu hücreler az gelişmiş golgi cisimciği ve gelişmemiş endoplazmik retikulum olarak tanımlanır. İkincisi ise osteoklastlara dönüşme kapasitesi olan hücrelerdir. Bu hücreler de serbest ribozomlar ve belirgin mitokondri ile ayırt edilebilirler (47).

3.1.1.4. Kemik Zarları

Kemiklerin iç ve dış yüzeyleri kemik öncü hücreleri ve bağ dokusundan oluşan zarlar ile kaplıdır (16). Bunlar;

3.1.1.4.1. Periosteum

Kemiği dıştan saran kalın, yoğun ve düzensiz bağ dokusundan oluşur. Temel olarak lifli ve osteojenik olmak üzere iki tabaka halinde bulunur. Lifli tabaka periostun yoğun, lifli, vasküler tabakası olan ve dış yüzeyinde bulunan tabakasıdır. Osteojenik tabaka ise daha gevşek düzenlenmiş, bağ dokusundan oluşan periostun iç tabakasıdır. Lifli tabaka fibroblastlardan oluşurken osteojenik tabakada osteoprogenitör hücrelerden oluşmaktadır (48).

3.1.1.4.2. Endosteum

Kemiğin, ilik boşlukları endosteum ile kaplanmıştır. Endosteum, bu kavitelere yerleşmiş olan osteoprogenitör hücreler ve osteoblastlar içeren bağ dokusunun çok ince bir katmanıdır. Endosteum bu nedenle periosttan oldukça incedir. Kemik dokusunun beslenmesi ve kemiğin onarımı veya büyümesi için sürekli olarak yeni osteoblastlar sağlanması, periost ve endosteumun temel görevleri arasındadır (49).

3.1.1.5. Kemik Oluşumu (Osteogenez)

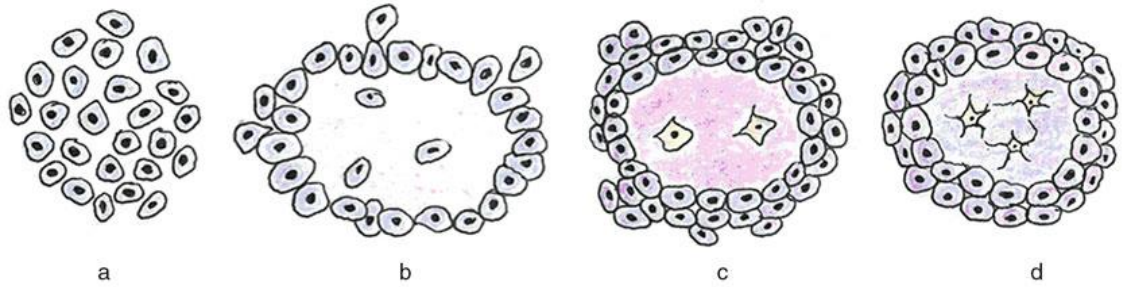
İntramembranöz ve endokondral olmak üzere iki tipte görülür. İntramembranöz kemikleşmede osteoblastların salgıladığı matriksin direkt mineralizasyonu söz konusu iken endokondral kemikleşmede kıkırdak matriksin üzerine kemik matriksinin çökme mekanizması söz konusudur. Her iki kemikleşme tipinde de ilk önce primer kemik dokusu meydana gelir. Oluşan bu doku daha sonra sekonder kemiğe dönüşür. Kemik yapım ve yıkımı, gelişmekte olan kemiklerde görülmekle birlikte yaşam boyu yavaşlayarak devam eden bir süreçtir (16).

3.1.1.5.1. İntramembranöz Kemikleşme

İntrauterin hayatın 8. haftasında oluşmaya başlar. Dışta periosteum tabakası içte endosteum tabakası tüm kemikleri kaplamaktadır. Bu tabakalardan ayrılan osteoblast hücreleri, kıkırdak matriks gibi hiçbir ön taslak oluşturmadan direkt olarak kemik dokusu meydana getirirler. Bu nedenle, bu kemikleşme türüne direk kemikleşme, zarsal kemikleşme isimleri de verilmektedir (49, 50).

İntramembranöz kemik oluşumu, mezenkim kökenli yoğun embriyonel bağ dokusunda gerçekleşir. Çevrelerindeki membranda damarlanmanın artmasıyla mezenkim hücreleri, kemikleşme merkezleri adı verilen bölgelerde osteoid madde

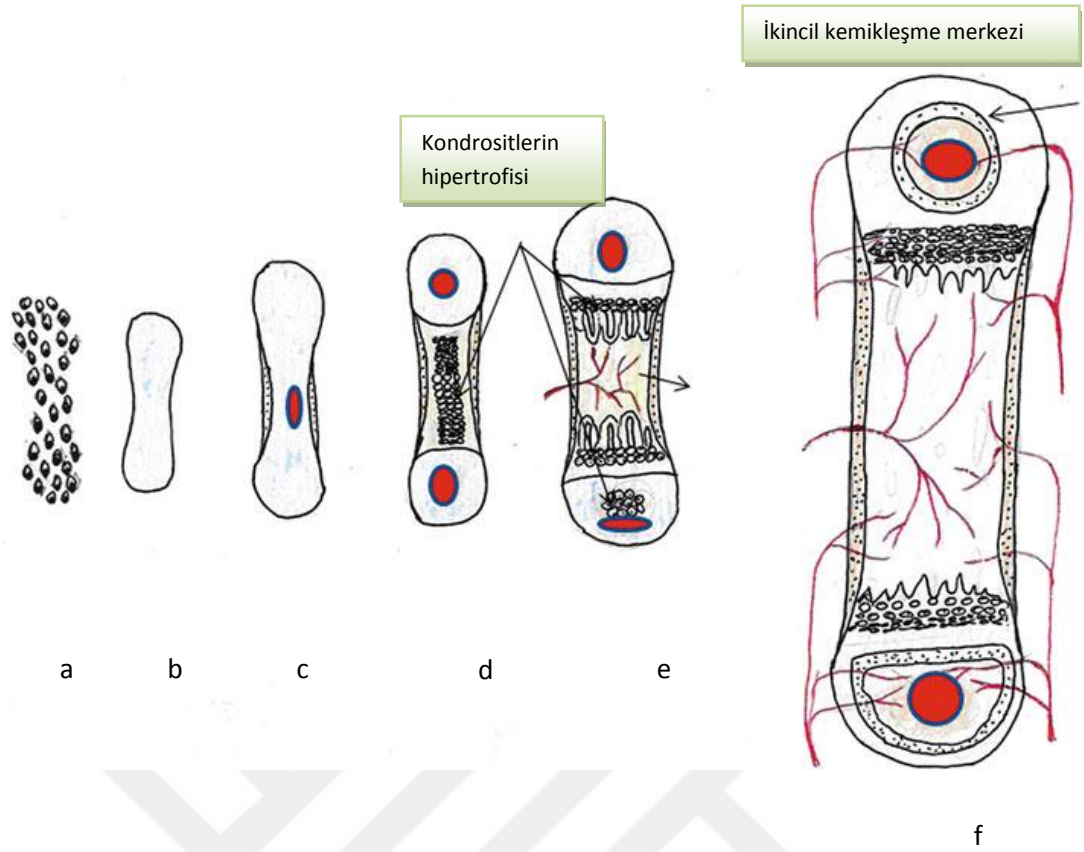
sentezini ve salgılanmasını gerçekleştiren osteoblastlara dönüşür. Daha sonra oluşan osteoid maddenin mineralizasyonu gerçekleşir. Osteoid madde mineralize oldukça lakünalar içinde kalan osteoblastlar osteositlere dönüşürler. Osteositlere özgü sitoplazmik uzantılar ile kemiğin kanalları içinde birbirleriyle bağlantı kurarlar. Kemikleşme merkezlerinin yüzeyini döşeyen hücreler mitoz bölünmeye uğrayarak daha fazla osteoblast meydana getirirler. Yeni osteoblastlar ise daha fazla kemik oluşumu sağlarlar. Oluşan bu yapıda kollajen liflerin rastgele ve düzensiz dağılım içerisinde olduğu gösterilmiştir. Osteoklastların rezorpsiyonu ve osteoblastların yeni kemik oluşturmasıyla lamelli yapıda olgun kortikal ya da kansellöz kemik meydana gelir. Bu sırada gelişmekte olan kemik dokusunun içinde kalan ilkel mezenkim dokusu da kemik iliğini oluşturur (51, 52). Kranyum kubbesi, parietal kemikler, oksipital ve temporal kemiklerin skuamöz kısımları, mandibula (koronoid çıkıntının bir bölümü ve simfiz bölgesi dışında) ileum, skapula, klavikula ve yüz kemiklerinin bir kısmı intramembranöz olarak kemikleşir (53).



Şekil 3. İntramembranöz kemikleşmenin şematik görüntüsü a. Osteoprogenitor hücre kümeleri b. Hücrelerin arasında ve merkezde kollajen ve amorf sıvının birikimi c. Mezenşimal hücreler osteoid dokuyu üreten osteoblastlara dönüşümü d. İlkel osteoblastların oluşturduğu kemik dokusu (35).

3.1.1.5.2. Endokondral Kemikleşme

İntrauterin dönemde endokondral kemikleşme olacak yerlerdeki mezenkim hücrelerinden önce bir kıkırdak taslak dokusu oluşur. Buna birincil (primordial) kıkırdak adı verilir. Bu tip ossifikasyon esas olarak kısa ve uzun kemiklerin oluşumundan sorumludur. Uzun kemiklerin diafiz kısımlarının ilk kemikleşmesi, embriyonik dönemde bu kıkırdak taslaktan indirek olarak meydana gelir. Diafiz kemikleştikten sonra, diafizin üstünü saran kıkırdak kılıfı (perikondrium) periosteuma dönüşür. Bundan sonra diafizde olan kemikleşme olayları, intamembranöz (direkt) kemikleşmeyle meydana gelecektir. Uzun kemiğin diafizinin uçlarında birincil kıkırdaklar kalır ve buradan endokondral kemikleşmeyle kemik uzunluğu artar. Postnatal dönemde uzun kemiklerin uç kısmında bulunan primordial kıkırdakta ikincil kemikleşme merkezi oluşur ve uzun kemiğin epifizi meydana gelir. Diafiz ile epifiz arasında bir kıkırdak tabakası kalır. Buna epifiz kıkırdağı denir. Büyüme sona erinceye kadar epifiz kıkırdağındaki hücre çoğalması ve endokondral kemikleşmeyle kemik uzunluğu artar. Büyüme sona erdiğinde epifiz kıkırdağı tamamen kemikleşerek ortadan kaybolur (50). Bir taslak oluşumunun ardından kemik oluşumu olduğu için bu kemikleşme türüne indirek kemikleşme de denir (49, 54).



Şekil 4. Enkondral kemikleşmenin gösterilmesi a. Osteoprogenitor hücrelerin kümelenmesi b. Hyalin kartilaj modeli c. Primer kemikleşme merkezi d. İkincil kemikleşme merkezi e. Epifizyal kıkırdak ve kemik dokusu f. Kan damarlarının şematik gösterimi (35).

3.1.1.6. Kemiğin Büyümesi ve Gelişmesi

Kemik dokusunun yapımı ilk olarak mezenkim hücrelerinin osteoblastlara farklılaşması, osteoblastların kollajen fibrilleri ve osteoidi salgılamasıyla oluşur. Organik maddenin mineralizasyonu ve osteoklastların ortamda belirmesi süreci ile devam eder. Kemikte sürekli yapım ve yıkım meydana gelmektedir (55).

3.1.1.7. Kemiğin Şekillenmesi ve Yeniden Şekillenmesi (Modeling ve Remodeling)

Şekillenme kavramı, kemiklerin ve eklemlerin üç boyutlu şeklini, anatomisini ve büyümesini kontrol eden mekanizmayı ifade eden bir kavramdır. Şekillenme,

yapım ve yıkım mekanizmalarından oluşan kemik dokusunun artış ve azalışı olarak tanımlanabilir. Kemiğin yeniden şekillenmesi ise biyomekanik ve metabolik olarak çevre şartlarında varlığını sürdürebilen kemiğin elde edilmesini ifade eder. Süngerimsi veya yaş ile birlikte kalitesi azalan kemiğin ilk olarak rezorbe olması daha sonra yeniden oluşmasına (remodelling) yeniden şekillenme adı verilir. Yeniden şekillenme ile kalsiyum metabolizmasının düzenlenmesi, kemiğin yenilenmesi ve kemikte meydana gelen hasarın onarımı sağlanmış olur (19, 56).

3.1.1.8. Kemik İyileşmesi

Kıkırdak, kas, sinir, ligamentler gibi bütün kas-iskelet sistemine ait doku hasarları fibrotik doku ile iyileşir dolayısıyla skar dokusu oluşur ancak kemik fibrotik skar dokusu oluşturmaksızın iyileşme özelliğinden dolayı emsalsizdir (57). Dıştan veya içten kemiğin yapısında meydana gelen hasar primer (doğrudan) veya sekonder (dolaylı) yolla iyileşebilmektedir. Primer kemik iyileşmesi; kallus dokusu oluşturmaksızın ve hasarın intramembranöz kemik ile giderildiği bir iyileşme şeklidir. Sekonder kemik iyileşmesinde ise hasar bölgesinde kallus dokusu oluşur ve hasar endokondral kemikleşme ile onarılır (58, 59). İyileşme süreci yangı (enflamasyon), onarım (proliferasyon) ve yeniden şekillendirme (remodeling) olmak üzere üç fazdan oluşur (60).

Yangı (enflamasyon) fazı: Yaralanmanın hemen ardından başlayarak sonraki yaklaşık 2 haftalık süreci kapsar. Bu süreçteki ilk adım, pıhtılaşmadır. Yaralanmanın olduğu bölgeye ilk olarak sitokin salınımı sağlanır daha sonra makrofajlar hasarlı doku ve hücrelerin fagositozunu gerçekleştirir. Osteoklastlar, mineral bileşenlerin geri dönüştürülmesi için bölgedeki hasarlı kemiğin rezorbsiyonuna başlar. Bunun

yanında, miyeloid ve mezenkimal hücre kökenli hücreler, osteoblastlara ve kondroblastlara farklılaşır. Bölgede RANKL/OPG oranı azalır (61).

Onarım (proliferasyon) fazı: Yaralanmanın ikinci fazıdır. Pıhtının içindeki fibrin ağları ve fibroblastlardan salgılanan kollajenler birleşerek genç granülasyon dokusunu meydana getirirler. Oluşan bu genç granülasyon dokusuna bir hafta sonra osteoblast ve kondroblastların eklenmesiyle yumuşak fibröz kallus gelişir. Yaralanan bölgedeki bağ dokusunda oluşan küçük kırıldak parçacıkları endokondral kemikleşmesi için taslak oluşturur ve bu yolla primer kemik (yumuşak kallus) meydana gelir. Sonraki süreçte kondroblastlar osteoblastlara dönüşür ve osteoblastlardan osteoid üretilir. Osteoid dokunun üzerine kalsiyum tuzlarının (hidroksiapatit) da çökmesiyle ön kallus (fibrokartilagenöz) şekillenmiş olur. Ön kallus (sekonder kemik) sert olmasına rağmen kırılıgandır. Ön kallusun yerini yavaş yavaş kemiksi kallus alır. Bu süreç toplamda 4-6 hafta sürer (62, 63).

Yeniden Şekillenme (remodelling) fazı: Onarımın son aşamasında, kemik matriksi ve kırıldak olgun lameller kemiğe dönüşür. İdeal kemik onarımını belirleyen D vitamini, kalsiyumun varlığı ve miktarıdır. Yeniden şekillenme aşaması, bireysel kemik metabolizmasına bağlı olarak değişir, ancak genellikle yaralanma zamanından sonra aylar gerektirir (61).

Kemik yapım ve yıkımında bakılacak biyokimyasal belirteçler metabolik kemik hastalıklarının tanı ve tedavi takibi için önemlidir. Kemik yapım ve yıkımı gösteren markerlardan bazıları; total ALP, kemik ALP, osteokalsin, kemik sialoprotein, osteonektin, tartarat dirençli asit fosfataz, hidroksiprolin, pridinolin, deoksipridinolin, N-terminal telopeptid, CTX'tir(64).

ALP: Bağırsak, böbrek, kemik, plasenta ve karaciğer gibi birçok organ ve dokuda üretilir. Birden fazla dokuda üretilmesi sebebiyle total alkalen fosfataz enzimi osteoporoz tanı ve tedavisi için spesifik bir test değildir. Bununla birlikte yaşa bağlı olarak kemikte oluşan yapım-yıkım dengesinin önemli bir belirteçidir. Osteoblastlar tarafından sentezlenen kemiğe özgü alkalen fosfataz menopoz sonrası kadınlarda osteoblast aktivasyonunu gösteren duyarlı bir parametredir. Menopoz sonrası oluşan osteoporozda ve bifosfonat tedavisinden sonra oluşan kemik yapım-yıkım hızındaki azalmanın tespitinde kemik alkalen fosfotaz duyarlı ve güvenli bir testtir (65).

Osteokalsin: Osteoblastlar tarafından sentezlenen, kemik metabolizmasının değerlendirilmesinde kullanılan invaziv olmayan ve spesifik bir belirleyicidir. Kemik yapım belirteci olarak da bilinmektedir. Kemikte kollajen olmayan proteinler arasında en fazla bulunanıdır. Serum osteokalsin düzeyi yüksek kemik dönüşümü ile karakterize durumlarda artmaktadır. Büyüme atağının gerçekleştiği puberte buna iyi bir örnektir. K vitamini sayesinde karboksilasyona uğradığı ve K vitamini eksikliğinde ortaya çıkan osteopeniden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Bu proteinin atılımı idrar yoluyla gerçekleşmektedir (66).

Kemik sialoprotein: Osteoblastlar tarafından kemik yıkımı boyunca salgılanan kemik ekstrasellüler matriksine ait kollajen olmayan proteindir. Kemik döngüsü hızlandığında serumdaki miktarı artarken bifosfonat kullanımının ardından azalmaktadır (67).

Osteonektin: Mineralize olmuş kemik yapısında en fazla yer alan kollajen olmayan proteindir. Hidroksiapatite ve kollajene afinitesi yüksektir. Kemik mineral

yapılarını kollajene bağladığı için kemik mineralizasyonunu başlattığı düşünülmektedir (68).

Tartarat dirençli asit fosfataz: Trombosit, eritrosit, kemik, dalak ve prostat gibi birçok hücre ve dokunun yapısında yer alır. Kemikte izoenzimi osteoklastlar tarafından üretilir ve kemik rezorpsiyon göstergesidir. ALP ile pH'sının asidik olması dışında benzer özelliklere sahiptir (69).

Hidroksiprolin: Kollajende bol miktarda bulunur. Kollajenin yıkımı sırasında salınır ve birçok vücut sıvısında yer alır. İdrarda artmış hidroksiprolin kemik yıkımının göstergesi olarak kabul edilir. Kollajenin sadece kemik dokuda bulunmayışı hidroksiprolinin kemik yıkımın göstergesi için olan spesifitesini düşürmektedir (64).

Pridinolin (PYD) ve Deoksiipridinolin (DPD): olgun kollajenin yapısında yer alır. Kollajen yıkımının en spesifik ve en duyarlı göstergesi olarak kabul edilir. Karaciğer ve böbrekte metabolize edilip idrar yolu ile atılırlar. PYD daha çok tip 1 kollajen ve tip 2 kollajende; DPD en çok tip 1 kollajende yer almaktadır. Dolayısıyla DPD'ninkemiğe spesifitesi PYD'den fazladır (69).

CTX: Kemik rezorpsiyon tespitinde faydalanan ve kemik dokusu dışındaki dokularda bulunmadığından duyarlılığı yüksek olan belirteçtir. CTX tip 1 kollajenin C terminal telopeptid bölgesinde bulunan α_1 zinciri ile diğer kollajenin α_1 ya da α_2 zinciri arasında yer almaktadır. Tip 1 kollajenin maturasyon belirtecidir. Kemikte gerçekleşen rezorpsiyonla birlikte dolaşıma geçerler. Bifosfanatların kullanımıyla birlikte serumdaki seviyeleri azalmaktadır (70).

N-telopeptid: Tip 1 kollajene özgü olan ve olgun kemik kollajeninin osteoklastlar tarafından yıkımı esnasında salınan bir markerdir. Tip 1 kollajenin

bulunduğu diğerk dokulardaki kollajen yıkımı sırasında ortaya çıkmaması kemiğee özgöl bir gösterge olduğuunun kanıtıdır. İdrar yoluyla atılır (71).

OPG/RANK/RANKL Sistemi

Son zamanlarda yapılan araştırmalar kemik yapım-yıkımının TNF (tümör nekroz faktör) ailesine bağılı bir takım sitokin tarafından kontrol edildiğini göstermiştir. Bu moleküller RANKL, reseptörü RANK ve OPG'dir. RANKL, kemik rezorpsiyonunun güçlü bir stimölatorü olarak görev yaparken OPG koruyucudur. Kemik yapım-yıkımının dengesinin kaybolduğu durumlarda OPG-RANKL dengesizliğı görölmektedir. Yapılan son çalışmaları OPG/RANK/RANKL üçlüsünün immün ve vasküler sistemin devamlılığında önemli bir yere sahip olduğunu göstermiştir (72).

Tümör nekroz faktörü reseptörleri (TNFR) süper ailesinin üyesi olan OPG; TNFRS11B olarak da bilinir ancak TNFR süper ailesinin diğerk reseptörlerinde bulunan transmembran ve sitoplazma gibi kısımlar bulunmaz. OPG molekölü 401 aminoasitin bir araya gelmesiyle oluşarı bir polipeptiddir ve 21 aminoasitlik propeptid kısmının ayrılmasını takiben 380 aminoasitlik olgun proteinden oluşur (73). OPG, TNFR ailesinin üyelerinde bulunan hücre membranlarındaki dört adet sisteinden zengin bölge ve N-terminal bölgesinde bulunan TNFR-2 ve CD40 ile yakından ilişkili olan toplam yedi bölgeden oluşur. OPG'nin 1. ve 4. bölgeleri osteoklast üretimini durdurmakla görevli iken 5. ve 6. bölgeler ölüm bölgeleri olarak bilinir. C-terminal alanındaki ölüm bölgeleri DR3, TNFR-1, CD95/Fas ve TNF ilişkili apoptozisi indükleyen ligand (TNFR) gibi apoptozisi indükleyen sitokinlerin sitoplazmalarında yer alır. OPG'nin 4, 5 ve 6. bölgelerinin görevi apoptozis için sinyal iletimini sağlamaktır. OPG'nin TRAIL (Tümör nekrozitan faktör ile ilgili

apoptozisi destekleyen ligandı) ile birleşerek TRAIL'in sağladığı apoptozise engel olduğu belirtilmektedir. OPG'nin 7. bölgesinin sindekan-1 olarak bilinen transmembran proteoglikanına heparin sülfat bağlamakla görevli olduğu gösterilmiştir. OPG'nin 7. bölgesi olan heparin bağlayan bölge konum olarak RANKL bağlayan bölgeden uzakta yer aldığından kemik yıkımına engel olmaz. OPG'nin 7.bölgesine sindekan-1'in bağlanması RANKL/OPG kompleksinin yok edilmesinde etkin olduğu belirtilmiştir (74).Kemik yapım-yıkım mekanizmasında aktif rol oynayan OPG proteinin kalp, karaciğer, böbrek, akciğer, timus, lenf nodları, kemik iliği, osteoblastlar, B lenfositler, vasküler düz kas hücreleri ve artiküler kondrositler gibi birden fazla doku ve organda bulunduğu gösterilmiştir (73, 74).

TNF ailesinin bir üyesi olan RANKL; TRANCE, ODF, osteoprotegerin ligand (OPGL) ve TNFSF11 olarak isimlendirilir. RANKL geni kromozom 13q14'de bulunmaktadır. 317 aminoasitten oluşan çözünür iki formu bulunmaktadır. Bunlardan ilki membrana bağlı olan 40-45 kDa büyüklüğünde hücresel bölüm iken diğeri biyolojik olarak aktif olan 32 kDa büyüklüğündeki kısımdır.

RANKL bulunmayan sıçanlarda osteoklast yetersizliğinden dolayı osteopetroz geliştiği gösterilmiştir. Osteoklast öncüllerinin matür osteoklastlara dönüşümü için RANKL ve M-CSF (makrofaj kolon stimüle edici faktör) ortamda olması gerekmektedir. Bu nedenle RANKL'in osteoklastogenezis için kilit rol oynadığı belirtilmektedir. RANKL; kemik, kemik iliği, beyin, lenfoid dokular (lenf nodları, dalak, timus, Peyer plakları, fetal karaciğer) ve meme dokusu gibi birçok dokuda bulunmaktadır. RANKL üretimi glukokortikoidler, IL-1, Wnt ligandları, TNF- α , D vitamini ve TGF- β gibi pek çok faktörden etkilenmektedir (73). Kemik rezorpsiyonuyla birlikte immün sistemi de etkileyen RANKL enflamasyon sırasında

sadece osteoblastlardan değil T hücrelerinde de salgılanarak bu mekanizmayı kanıtlar. Dokudaki OPG ve RANKL ekspresyonlarından hangisi daha fazla ise fazla olan protein RANK ile birleşerek kemik yapım ve yıkımına karar verilir (75, 76).

RANK, RANKL için reseptör görevi görmektedir. Osteoklast differansiyasyon ve aktivasyon reseptörü (ODAR) veya TNF ilişkili aktivasyon-indüksiyon sitokin reseptörü (TRANCE-R) olarak isimlendirilir. T ve B hücrelerinde, fibroblastlarda, dendritik hücrelerde ve preosteoklastalarda bulunan 616 aminoasitten oluşan tip1 transmembran proteinidir. Bu protein 28 amino asitlik sinyal peptidini içeren hücre dışı kısım ile 21 amino asitlik transmembran ve geniş sitoplazmik kısımlarından oluşmaktadır. RANK'ı kodlayan gen *Tnfrsf11a*; insanda 18q22.1 kromozomda bulunmaktadır. RANK, pankreas, timus, karaciğer, kolon, meme, prostat, deri, kalp, akciğer, beyin, iskelet kasları, böbrek ve kemik iliğinde bulunmaktadır (77). RANKL'ın RANK'a bağlanması ile birlikte dört tanesi osteogeneze üç tanesi ise osteoklastın canlılığını sürdürmesine ve aktivasyonuna yardım eden yedi hücre içi sinyal yolağı meydana gelir (74).

3.1.1.9. Alveolar Kemik

Alveolar kemik, intramembranöz kemikleşme ile oluşan, diş soketlerini içeren ve dişleri destekleyen kemik türüdür. Alveolar kemik dışta kortikal kemik ile örtülüdür. Diş kök yüzeylerine bakan yüzünü kortikal kemik oluşturur ve doğrudan periodontal membran ile birleşmektedir. Kortikal kemik ile periodontal ligamentin temasta olduğu alanda çok sayıda sharpey lifleri (demet kemiği) bulunmaktadır (78). Alveolar kemiğin iç kısmında ise kemik iliğinin etrafındaki trabeküllerden meydana gelen süngerimsi kemik yer almaktadır. Maksillada mandibulaya göre daha yüksek

oranda bulunan süngerimsi kemik en çok interdental ve interradyiküler alanlarda bulunmaktadır (79).

3.1.1.9.1. Diş Çekimi Sonrası İyileşme Süreci

Diş çekimi socketindeki yara iyileşmesi, pıhtı oluşumu, re-epitelizasyon, granülasyon doku oluşumu ve kemik oluşumu gibi basamaklardan oluşur. Yani çekim socketinin iyileşmesi sadece yumuşak dokuyu değil sert doku onarımını da içermektedir (80). Diş çekiminin ardından oluşan kanama eritrositlerin çökmesine neden olur ve böylece fibrin ağları meydana gelir. Periodontal ligamentteki kan damarları büzülür ve orta dereceli enflamatuvar cevap gelişir.

1. gün: 24 saat sonra meydana gelen vazodilatasyon sonucunda periferden pıhtıya doğru lökosit göçü olur.

2. gün: Periodontal ligamentteki fibroblastların hasar alanına gelmesiyle yüzey epitelinde proliferasyon başlar. Komşu alveol kemikte ise osteoklast aktivasyonu ile birlikte rezorpsiyon tetiklenir.

3. gün: Pıhtı granülasyon dokusu ile yer değiştirinceye kadar çevre bağ dokusundan fibroblast ve kapillerler gelişmeye devam eder.

5. gün: Granülasyon dokusu için anahtar rol oynayan fibroblast ve damar endotel hücreleri socket tabanına yığılmış halde bulunur.

7. gün: Yeni kapillerlerin sayısı artmıştır. Fibrin ağında bulunan fibroblastlar çoğalarak organize olmaya başlamıştır. Yara yeri küçük olan yerlerde epitelizasyonun tamamlanması 7. güne denk gelebilir. Çekim esnasında zarar gören küçük alveol parçacıkları ya rezorbe olur ya da sökestr olarak atılır.

14. gün: Pıhtı olgun granülasyon dokusu ile yer değiştirir. Periodontal ligament artıklarındaki hücrelerin osteoblasta dönüşmesiyle oluşan genç kemik

trabekülleri gözlenir. Yüzeysel epitelizasyon tamamlanmıştır. Alveolün orjinal şekli 14. günde oluşmaya başlar (81).

3.1.2. Bifosfonatlar

3.1.2.1. Bifosfonatların Tarihsel Gelişimi

Bifosfonatlar, inorganik prifosfonatların metabolize olmayan analoglarıdır. Polifosfatların en basit grubu olan prifosfatlar endüstride kalsiyum karbonat çökmesini önlemek amacıyla kullanılmaktadır. Prifosfat, canlı dokularda ise kalsifikasyon ve kemik yıkımının düzenlenmesinde önemli role sahiptir. Bifosfonatlar, prifosfatlarla aynı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptir. Kullanımını kolaylaştırmak için enzimatik parçalanmaya karşı kararlı hale getirilmişlerdir (82).

19. yy'da endüstride, tekstil, gübre sanayinde ve petrol borularında kullanılmak üzere üretilen bifosfonatlar, kalsiyum tuzlarının çökmesini engellemek amacıyla kullanılmıştır. Günümüzde, gıda, kozmetik ve inşaat sanayilerinde kullanılmakta olan bu bileşikler sağlık alanında ilk olarak 1960'lı yıllarda bifosfonatın in vitro ortamda hidroksiapatitin çözünmesini ve in vivo ortamda kemik rezorpsiyonunun engellendiğinin rapor edilmesinden sonra kullanılmıştır (83, 84). Bu çalışmaları takiben sentez edilen ilk bifosfonat olan etidronat, Paget hastalığının tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (85).

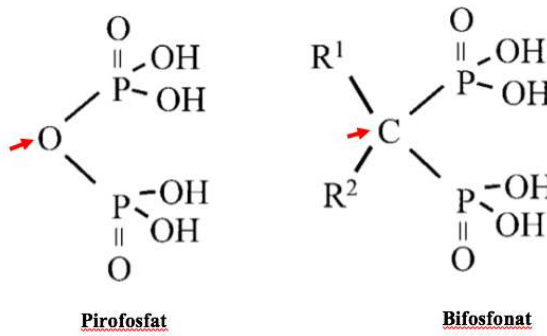
Bifosfonatların kullanım alanlarından biri de tanı amaçlı kemik görüntüleme sistemleri olmuştur. Kalsiyum fosfata olan yüksek afiniteleri nedeniyle sintigrafi alınması sırasında teknesyum 99m metilen difosfatın (Tc99m MDP) gibi radyoaktif maddelerin kemiğe transferinde aktif rol oynamıştır. Tc99m MDP ile yapılan kemik taramalarında kemik döngüsü fazla olan mandibula ve maksillada yoğun infiltrasyon

gösterdikleri bilinmektedir. Anti-tartar ve antiplak etkilerinden dolayı diş macunları içinde yer almaya başlamıştır (86, 87).

Nitrojen içerikli bifosfonat türevi olan zoledronik asit damar içi yolla uygulanan, en potent kabul edilen bifosfonat türü olup 2000'li yılların başında FDA onayı almıştır. İlk olarak maligniteye bağlı hiperkalseminin tedavisinde kullanılmış daha sonra antineoplastik ajan olarak multipl myelom ve kemik metastazı olan tümörlerin tedavisinde kullanılmaya başlanılmıştır (88).

3.1.2.2. Bifosfonatların Kimyasal Yapısı

Bifosfonatlar vücutta doğal olarak bulunan inorganik pirofosfatların kararlı benzerleridir. Pirofosfat molekülündeki oksijen atomu (P-O-P) bifosfonatlarda yerini karbon atomuna bırakmıştır (P-C-P). Bu nedenle enzimatik parçalanmaya dirençli hale gelerek klinik kullanımı kolaylaşmıştır. Pirofosfatlarda bulunan iki fosfat grubu fosfoanhidrit bağlarıyla bağlanırken bifosfonatlarda fosfat grubu fosfoester bağları ile bağlanmıştır (89).



Şekil 5. Pirofosfat ile bifosfonatın kimyasal yapıları

Bifosfonatlar pirofosfatlarda bulunmayan, R1 ve R2 olarak bilinen 2 yan zincir sayesinde osteoklastlarca endositoz ile hücre içerisine alınarak ve kemik rezorpsiyonu sırasında lokalize olarak salınarak süreç üzerinde inhibisyon oluştururlar. R1 pozisyonunda bulunan hidroksil grubu kalsiyuma ve kemik

minerallerine olan afiniteyi arttırır. Bioaktif R2 yan zincirinin ise rezorpsiyon inhibisyonundan sorumlu olduğu bilinmektedir (90, 91). R2 yan zincirine nitrojenkatıldığında bifosfonatlar en aktif hale gelirken çenelerde osteonekroz meydana getirebilmektedir (86).

3.1.2.3. Bifosfonatların Sınıflandırılması

Bifosfonatlar kimyasal yapılarına göre R2 yan zincirinde nitrojen içeren ve nitrojen içermeyen olmak üzere 2 gruba ayrılır. Nitrojen içermeyen bifosfonatlar (alkil bifosfonatlar): Etidronat, Klodronat, Medronat, Tiludronat'tır. Nitrojen içeren bifosfonatlar (aminobifosfonatlar): Alendronat, Pamidronat, İbandronat, Risendronat, Zoledronat'tır (92).

Nitrojen içermeyen bifosfonatlar birinci kuşak (etidronat, klodronat, tiludronat) olarak adlandırılır ve R2 zincirleri kısadır. İkinci kuşak bifosfonatlar (alendronat, pamidronat) birinci kuşak bifosfonatlara kıyasla 10-100 kat daha güçlüdürler. Üçüncü kuşak bifosfonatlar (risedronat, ibandronat, zoledronikasit) birinci kuşak bifosfonatlara kıyasla 10000 kat daha güçlülerdir.

Tablo1. Bifosfonat sınıflaması ve ticari isimleri (93).

1.Kuşak Bifosfonatlar	2.Kuşak Bifosfonatlar	3. Kuşak Bifosfonatlar
Etidronat (Difosfen®, Osteum®)	Alendronat(Fosamax®)	Risedronat (Actonel®, Acrel®)
Tiludronat (Skelide®), Klodronat (Bonefos®)	Pamidronat (Aredia®)	İbandronat (Boniva®) Zoledronat (Zometa®)

Bifosfonatların intravenöz (zoledronat ve pamidronat) ve oral (ibandronat, etidronat, alendronat, tiludronat, risedronat,) olmak üzere iki şekilde uygulama yolu bulunmaktadır. Hem oral hem de intravenöz yol ile verilen bifosfonat ibandronat ve klodronattır (94).

3.1.2.3.1.Etidronat

Etidronat ilk bulunan ve günümüzde FDA tarafından osteoporoz tedavisinde kullanımı önerilmeyen bisfosfonat içerikli bir ilaçtır. Kemik rezorpsiyonunu engellediği dozun kemik mineralizasyonunu da engellediğinin ortaya çıkmasıyla birlikte osteoporoz tedavisi için kullanımı terk edilmiştir (95). Etidronat kemik yoğunluğunu arttırmadaki etkisini kemiğin hücresel elemanları üzerinden değil kalsiyum fosfata kimyasal olarak bağlanarak hidroksiapatitin formasyonunu, büyümesini ve yıkımını inhibe ederek gerçekleştirir. Bu durum ilacın dozuna bağlıdır. Düşük dozlarda bile hidroksiapatitin yıkımını inhibe etme etkileri yüksektir. Kemikten yaklaşık beş ayda elimine edilir (96).

3.1.2.3.2. Klodronat

Klodronat makrofajlardan ve endotelial hücrelerden sitokin sekresyonunu inhibe eder, böylece tümör anjiyogenezini bozar. Hücrelerde ATP (adenozin trifosfat)'nin bağlanacağı bölgeleri bloke eder ve apoptozise neden olur (97). Klodronat serum kalsiyum konsantrasyonunu, osteoklast mekanizmasını, üriner kalsiyum ve hidroksiprolin salgılanmasını azaltır. Hem oral hem de intravenöz yolla alınabilen klodronatın intravenöz dozunun yüksek olması serum kreatinin seviyesinde artışa ve böbrek fonksiyon bozukluğuna yol açmaktadır (34).

3.1.2.3.3. Tiludronat

Kemik rezorpsiyonu üzerine etkisini osteoklastların aktivitesini engelleyerek gösterirler. FDA tarafından Paget hastalığı için kullanımı onaylanmıştır (98).

3.1.2.3.4. Alendronat

Alendronat (alendronik asit), kemik yüzeylerine bağlanan ve osteoklastlar tarafından kemik rezorpsiyonunu önleyen nitrojen içeren bir bisfosfonattır. Oral alendronatın 5-10mg/gün, osteoporozu olan veya olmayan postmenopozal kadınlarda kullanımı uygundur. Histomorfometrik analizler, alendronatın kemik kalitesini bozmadığını ortaya koymuştur. İlacın kullanılmasıyla ortaya çıkan yan etkiler geçicidir ve en sık karın ağrısı, bulantı, hazımsızlık, asit yetersizliği ve kas-iskelet ağrısıdır (99).

3.1.2.3.5. Pamidronat

Pamidronat, osteoklast aracılı kemik rezorpsiyonunu inhibe edebilen bifosfonatlar sınıfına aittir. Pamidronat için FDA onaylı endikasyonlar, orta veya şiddetli malign hiperkalsemi, orta ve şiddetli Paget hastalığı, meme kanserinin osteolitik kemik metastazları ve multipl miyelom gibi osteolitik lezyonlardır. İntravenöz kullanımından dolayı kemikte nekroza yol açabilir (100).

3.1.2.3.6. İbandronat

Menopoz dönemi sonrası kadınlarda görülen osteoporozun tedavisi için ibandronat ayda bir oral veya üç ayda bir intravenöz şeklinde kullanılabilen azot içeren bir bisfosfonat grubu ilaçtır (101).

3.1.2.3.7. Risendronat

Risedronat, menopoz sonrası ve glukokortikoid kaynaklı osteoporoz, Paget hastalığının önlenmesi veya tedavisi için oral yoldan verilen bisfosfonattır. İlaç, kemik turnoverını ve osteoklastik etkiler yoluyla rezorpsiyonu azaltır (102).

3.1.2.3.8. Zoledronat

Zoledronat (zoledronik asit) imidazol halkalı yan zincire sahip, kimyasal olarak bifosfonik asit monohidrat olarak adlandırılan, heterosiklik azot bulunduran bir bifosfanattır. Diğer bifosfonatlardan farkı halka yapısında ikinci azot atomunun bulunması ve dolayısı ile en potent özelliklere sahip olmasıdır (91). Pamidronat gibi intravenöz olarak kullanılmaktadır. Pamidronat, etidronata göre tahminen 5000 kat daha potent iken zoledronat, etidronata göre 10000 kat daha potettir (103).

Molekül ağırlığı 290,1 gram olup beyaz bir kristal toz şeklinde bulunmaktadır. Suda ve sodyum hidroksit solüsyonlarında çözünbilme özelliğine sahiptir. Zoledronat infüzyon solüsyonu için üretilen flakon, 4.264 mg zoledronik aside eşdeğer inaktif bileşiğinde 4 mg zoledronat (anhidro), hacim yapıcı ajan, sodyum sitrat ve tamponlayıcı ajan içermektedir (104).

Antirezorptif etkileri dışında zoledronik asidin antitümör, antianjiyojenik ve antimetastatik etkilere sahip olduğu literatürde bildirilmektedir (105). Bu etkilerini çeşitli mekanizmalarla gösterirler. Bu mekanizmalar; kemikte rezorpsiyon olan alanlara osteoklastların gelmesine, olgunlaşmasına ve sitokin üretimine engel olmak suretiyle işlevselliğini bozmaktır (106-108). Zoledronik asidin biyotransformasyonuna dair kesin kanıt bulunmamakla birlikte eliminasyonun böbrekler yoluyla gerçekleştiği bilinmektedir. 24 saat sonra dozun yaklaşık %40'ının, 6 ay sonra %50'sinin ve 12 ay sonra %60'ın böbrekler yoluyla atıldığı gösterilmiştir. Bu bilgi bisfonatın kemikte uzun süreli tutulduğunu göstermektedir. Malign hiperkalsemi sonrası tek doz intravenöz 4 mg ve 8 mg'lık zoledronik asidin normokalsemi için güvenli ve etkili olduğu gösterilmiştir (109).

Paget hastalığı, multiple myelom, meme kanseri, maligniteye bağlı hiperkalsemi ve solid kemik tümörlerinin metastazlarında etkisi kanıtlanan en etkin bifosfonat zoledronik asittir (91). Zoledronik asit tedavisinin en sık görülen yan etkileri; halsizlik, anemi, kas ağrıları, ateş ve bacaklarda ödem, böbrek yetmezliği, hipokalsemidir. İlk kez zoledronik asit infüzyonu alanlarda grip benzeri semptomlar görülmüştür. Zoledronik asit tedavisi alan multiple myelom hastalarında çene nekrozu da görülen bir yan etkidir (110, 111). Zoledronik asidin meme, akciğer veya prostat maligniteleri ve multiple myelom gibi kronik uygulanması gereken durumlarda 3 veya 4 hafta aralıklarla 4 mg uygulanmasının iskeletle ilişkili komplikasyonların azaltılmasında etkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca 15 dakika boyunca infüze edilen 4 mg zoledronik asitin böbrek tarafından tolere edilebildiği, 15 dakikadan daha kısa süren infüzyonda serum kreatininde artış riski bulunduğu gösterilmiştir (112-114).

3.1.2.4. Çenelerin İlaça Bağlı Osteonekrozu

Çene osteonekrozu (ONJ) ilk kez 2003 yılında Marx tarafından bisfosfonat tedavisi ile ilişkili olarak bildirilmiştir (111). 2014 yılında AAOMS tarafından oluşturulan özel komite çenelerin bisfosfonat ile ilişkili osteonekrozunda BRONJ; ilaçla ilişkili osteonekroz MRONJ terimlerini desteklemektedir. Bifosfonat kullanımına bağlı oluşan osteonekrozlar bifosfonat veya denasumab ilaç kullanmış veya halen kullanmakta olan baş boyun bölgesinden radyoterapi almamış hastaların maksilla veya mandibulalarında 8 haftadan daha uzun süre ile var olan nekrotik kemik ekspozları, bir veya birden fazla intraoral ve/veya ekstraoral fistül varlığı olarak tanımlanmıştır (115).

MRONJ'un ağrı, ekspoz olan nekrotik kemik, fistül, şişme, selülit ve pü akışı gibi enfeksiyon belirtileri mevcuttur. Bunlara ek olarak alt dudak veya çene bölgesinde hipoestezi, parestezi ve ağız kokusu gibi septomlara neden olması hekimleri daha dikkatli olmaya yönlendirmektedir (116, 117). Alveolar osteitis, sinüzit, gingivitis, periodontitis, periapikal patolojiler, fibroosseöz lezyonlar, sarkoma, kronik sklerotik osteomyelitis ve temporomandibular eklem hastalıkları gibi durumlarla ayırıcı tanısının konulması MRONJ'un doğru teşhis edilebilmesi için önemlidir. Ekspoz kemik ya da sekestrin antirezorptif veya antianjiyogenik ilaç kullanmamış hastalarda da oluşabileceği unutulmamalıdır (118).

Bu patolojinin nedeni osteoklast fonksiyonunun inhibisyonu ve tümör büyümesine engel olmak amacıyla oluşan apaptozisin artışıdır. İlaçlar hidroksiapatitte uzun süre kaldığından dolayı kullanılan ilacın miktarına ve tedavi süresine bağlı olarak yıllarca etki edebilmektedir. Nitrojen içerikli bifosfonatlar farnesil difosfonat sentezini ve küçük GTPaz fenillenmesini inhibe eder.

MRONJ patofizyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Çenelerdeki lokalizasyonunu açıklayabilen birkaç hipotez vardır; bu hipotezler arasında enflamasyon, enfeksiyon, mikrotravma, kemik remodelasyonu veya rezorpsiyonunun aşırı baskılanması, anjiyogeneze inhibisyonu, yumuşak dokuda bifosfonat toksisitesi, ağız boşluğunun kendine özgü biyofilmi, mandibulanın terminal vaskülarizasyonu, bağışıklığın baskılanması ve D vitamini eksikliği sayılabilir (119). MRONJ'un mikrobiyolojik açıdan incelenmesinde en fazla aktinomiçesler sonrasında kandida albicans, enterokoklar, alfa hemolitik streptokoklar, hemofilus influenza, laktobasiller, klebsiella pnömonia ve enterobakterler türleri izole edilmiştir (120).

Panoramik radyograflar üzerinde yapılan bir çalışmada MRONJ'a sahip tüm hastalarda kemik sklerozu olduğu gösterilmiştir. Lamina durada kalınlaşma, sklerozis, zayıf/iyileşmeyen çekim soketleri, periodontal ligament boşluğunun genişlemesi, osteolizis, sekestr, fistül, yumuşak doku kalınlaşması ve periosteal yeni kemik oluşumu da gözlenmiştir. Takip edilen hastalarda, progresif sklerotik değişikliklere bağlı mandibular kanalda daralma tespit edilmiştir (121). Bilgisayarlı dental tomografide MRONJ için en yaygın iki bulgunun süngerimsi kemiğin trabeküler yapısının yıkımı ve kortikal kemiğin erozyonu olduğu belirtilmiştir (122).

MRONJ için tanımlanmış üç risk faktörü mevcuttur. Bunlar; lokal faktörler, sistemik hastalıklar ve kullanılan ilaç türüdür. Zolendronat ile tedavi edilen hastalarda ONJ riski, plasebo ile tedavi edilen kişilere göre 50-100 kat daha yüksek bulunmuştur (123, 124). Oral cerrahi MRONJ için en büyük risk faktörlerinden biridir. Bazı araştırmacılara göre, hastaların %52-61'i diş çekimini hızlandırıcı bir olay olarak bildirmiştir (125, 126). ONJ riski diş çekimi sonrası oral bifosfonatlarla tedavi edilen hastalarda %0.5; intravenöz bifosfonatlar ile tedavi edilen kanser hastalarında %1.6-14.8 arasında değişmektedir (127). MRONJ, manbibulada (%73) maksillaya (%22.5) kıyasla daha sık görülür ve olguların %4,5'i her iki çeneyi de içerir (126). IV veya oral antirezorptif ve antianjiyojenik ajanları kullanan hastalarda akılcı tedavi kılavuzlarını yönlendirmek ve prognozu değerlendirmek için veri toplamak amacıyla araştırmacılar evreleme sisteminin kullanılmasını önermektedir.

Risk altında olarak sınıflandırılan grupta oral veya intravenöz bifosfonat ile tedavi edilen hastalar bulunmaktadır ve belirgin nekrotik kemik varlığı izlenmemektedir. Bu grubun tedaviye ihtiyacı yoktur. Hasta takibi ve eğitimi önerilir.

Evre 0; klinik muayenede nekrotik kemik görülmez. Klinik olarak künt ve duruma göre TME bölgesine yayılan ağrı mevcuttur. Sinüs duvarında kalınlaşma ve enflamasyonla birlikte sinüste ağrı olabilir. Dişlerde periodontal hastalık ile ilişkilendirilmeyen mobilite ve travma ya da diş çürüğünden bağımsız periodontal ve periapikal fistül varlığı görülebilir. Radyografik muayenede periodontal hastalıktan bağımsız alveolar kemikte rezorpsiyon, trabekül kemikte artış, çekim soketlerinde yeni kemik oluşumunun gözlenmemesi, periodontal ligamentin ve lamina duranın genişlemesi gibi hastalığa özgü olmayan semptomlar mevcuttur. Tedavi olarak semptomların giderilmesine yönelik ağrı kesici ilaç, antibiyotik kullanımı ve hastalığın ilerleme riskinden dolayı takip önerilmektedir (118, 128).

Evre 1; asemptomatik hastalarda ekspoz nekrotik kemik varlığı veya fistüller görülebilir. Alveolar kemikte lokalize radyografik bulgular gözlenebilir. Tedavi olarak bifosfonat tedavisi endikasyonlarının gözden geçirilerek hastaların üç ayda bir klinik olarak takip edilmesi ve hasta eğitimi gerekmektedir. Bu hastalara antibakteriyel ağız gargarası önerilmektedir (118, 129).

Evre 2; pürülan drenajlı veya pürülan olmayan ekspoz kemikte ağrı, eritem gibi enfeksiyonla ilişkili nekrotik kemik ve fistül varlığı saptanmaktadır. Hastalar genellikle semptomatiktir. Semptomatik tedavi uygulanmaktadır. Bu kapsamda antibiyotik, analjezik kullanılması ve antibakteriyel gargara verilebilir. Mikrobiyal kültürler yapılarak uygun antibiyotik rejimine başlanması önerilmektedir. Ekspoz kemikten izole edilen mikroorganizmaların genellikle penisiline duyarlı olduğu, penisilin alerjisi olan hastalarda kinolon, metronidazol, klindamisin, doksisisiklin ve eritromisinin başarılı sonuçlar verdiği gösterilmiştir. Mevcut enfeksiyonu hafifletmek

ve yumuşak dokuda oluşan travmanın tedavisi için debridman önerilmektedir (118, 129).

Evre 3; hastalarda ekspoze ve nekrotik kemik alanının büyümesi (maksillanın zigomatik çıkıntısı, maksillar sinüs, ramus ve mandibulanın alt sınırı), patolojik fraktür oluşması, oroantral ve/veya oronazal bağlantı, ekstraoral fistül, mandibulanın alt sınırı veya sinüs tabanında nekrotik alanın genişlemesi gibi semptomlardan bir veya birden fazlası bulunmaktadır. Öncelikle semptomatik tedavi uygulanır. Antibiyotik tedavisi, analjezik uygulanması, antibakteriyel gargara yapılması ve enfeksiyonun devamı halinde cerrahi debridman yapılması veya rezeksiyon önerilmektedir (118, 129). Medikal ve cerrahi tedaviye ek olarak ozon uygulaması, lazer tedavisi, uzun süreli bir antibiyotik tedavisi (tipik olarak penisilin türevleri), kök hücrelerin uygulanması, trombosit açısından zengin plazma, paratiroid hormonunun uygulanması, pentoksifilin ve E vitamininin kullanımı ile ilgili çalışmalar devam etmektedir (130, 131).

3.1.2.5. Bifosfonat Tedavisine Başlanılmasından nce Alınması Gereken nlemler

Tedaviyi yapan onkolog bifosfonat tedavisini reçete eder etmez, hasta muayene için acil bir şekilde diş hekimine veya ağız ve çene-yüz cerrahisi uzmanına gitmelidir. Hastanın sistemik durumu uygunsa, akut veya kronik apseli, restore edilemeyecek kadar madde kaybı veya ileri düzeyde periodontal hastalığı olan dişlerin çekimi, bifosfonat tedavisine başlanılmadan 1 ay önce yapılmalıdır. Hastanın sorumlu hekim(ler)i ile yapılacak konsultasyon sonucuna göre bu srenin tam bir kemik iyileşmesi sağlanana kadar uzatılmasının yarar sağlayacağı düşünülmektedir. Diş ekimlerinin ardından diş taşı temizliği, gerekli restorasyonları ve kanal

tedavileri yapılmalıdır (132). Endikasyon varlığında yumuşak astar materyalleri ile kaplanmış bölümlü protez yapılması ile hastaya ideal ağız fonksiyonunun kazandırılması da bifosfonat tedavisi öncesinde gerçekleştirilmelidir. Dental implant destekli protetik rehabilitasyon, cerrahi ve protetik aşamaları olan uzun süreleri gerektirdiğinden ve implant yerleştirilmesinin kısa veya uzun dönemde osteonekroz gelişimi riskini arttırabileceği göz önüne alınarak planlanmamalıdır. Gömülü olan dişler ise, tamamen kemik ile örtülü olduğunda klinik ve radyolojik olarak enfeksiyon riski yaratmadığında, kontrol radyografiler ile izlenmek üzere bırakılabilir. Küçük lingual mandibular torusların çıkarılması gerekmezken, büyük, çok loblu mandibular torus veya orta hat palatal torusların bifosfonat tedavisine başlamadan 1 ay önce çıkarılması önerilir. Profilaktik antibiyotik uygulaması invaziv olmayan diş bakımı gerekli değildir, ancak herhangi bir invaziv diş prosedürü için penisilin tercih edilen ilk ilaçtır. Penisilin alerjisi olan kişiler için kombinasyon tedavisi kinolon ve metronidazol veya eritromisin ve metronidazol iyi ikinci seçimlerdir. Sadece klindamisin aktivite eksikliği nedeniyle önerilmez. Bisfosfonat tedavisi rejimi başladıktan sonra 4 ayda bir kontrol hastalara tavsiye edilir (133).

3.1.3. Lazer

3.1.3.1. Lazerin Tanımı ve Diş Hekimliğinde Lazer Kullanımının Tarihçesi

“Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation” kelimelerinin ilk harflerinden oluşturulan LASER “radyasyonun uyarılmış emisyonu ile ışığın güçlendirilmesi” anlamını taşımaktadır (134). Albert Einstein 1916’da yayınladığı “Zur Quantum Theories der Strahlung” isimli teorisinde emisyon stimülasyonu tabirini ilk defa kullanarak lazer teoreminin gelişmesi için katkıda bulunmuştur

(135). İlk lazer cihazı 1960 yılında Theodore Maiman tarafından yakut kristalinden geliştirilmiştir. Böylece diş hekimleri bu görünür lazer enerjisinin olası etkilerini incelemiştir (136).

1970 ve 1980'lerde yapılan çalışmalar, diş sert dokularıyla daha iyi etkileşime sahip olduğu düşünülen CO₂ ve neodim YAG (Nd: YAG) gibi diğer cihazlara yönelmiştir. Aynı yıllarda oral yumuşak doku lezyonları için CO₂ lazer kullanımının faydaları belirtilmiştir. FDA'dan 1980'lerin sonuna doğru Nd: YAG lazer için onay alınmıştır. O zamandan beri, diş hekimleri muayenehanesinde kullanılmak üzere çok sayıda lazer üretilmiş ve daha fazlası geliştirilmektedir (136).

3.1.3.2. Lazer Fiziği

Lazer kelimesi, Uyarılmış Radyasyon Emisyonu ile Işık Amplifikasyonunun kısaltmasıdır. Bu kelimelerin her biri üzerinde yapılan çalışma, lazerin nasıl çalıştığının temel ilkelerinin anlaşılmasını sağlayacaktır.

3.1.3.2.1. Işık

Işık, parçacık olarak var olan ve dalgalarda sabit hızda hareket eden bir elektromanyetik enerji biçimidir. Bu ışıma enerjisinin temel birimine foton denir (136). Fotonun iki temel özelliği vardır. Birincisi, dalga ekseninin sıfır eksenden zirveye dikey yüksekliğini tanımlayan genliktir. Bu, dalgadaki enerji miktarı ile ilişkilidir; genlik ne kadar büyük olursa, yararlı işler yapabilen enerji miktarı da o kadar büyük olur. Joule enerji birimidir ancak diş hekimliği için kullanılan birim joule'ün binde biri olan milijoule'dür. Fotonun ikinci özelliği, dalga üzerindeki karşılıklı gelen iki nokta arasındaki yatay mesafe olan dalga boyudur. Bu ölçüm hem lazer ışığının cerrahi bölgeye nasıl iletildiği hem de doku ile nasıl reaksiyona girdiği açısından çok önemlidir. Dalga boyu metre olarak ölçülür ve diş hekimliğinde

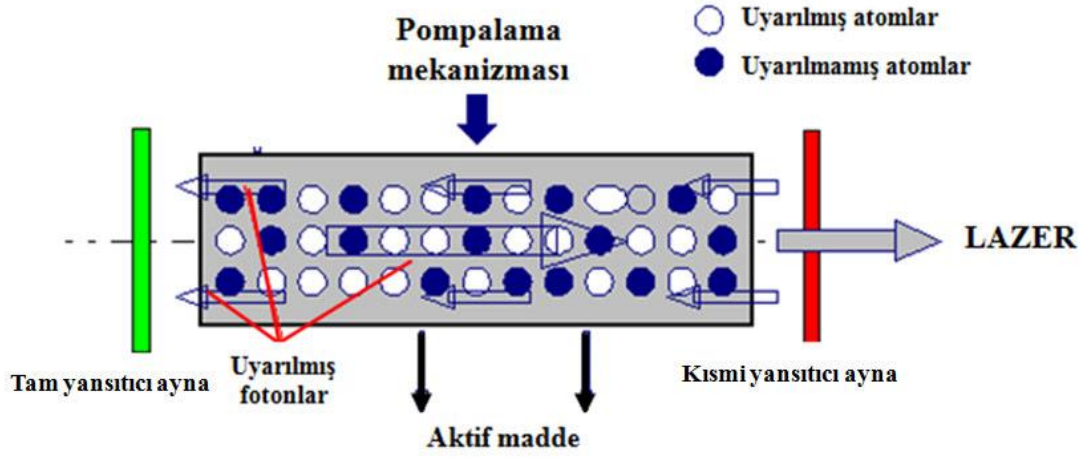
kullanılan lazerler nanometre (10^{-9} metre) veya mikron (10^{-6} metre) terminolojisini kullanacak kadar küçük dalga boylarına sahiptir. Saniyede üretilen dalga sayısı frekans olarak adlandırılır. Birimi Hertzdir. Frekans, dalga boyu ile ters orantılıdır. Dalga boyu ne kadar kısa olursa, frekans o kadar yüksek olur ve bunun tersi de geçerlidir (137).

Bir masa lambası tarafından üretilen normal ışık, sıcak beyaz bir ışıktır. İnsan gözünün gördüğü beyaz renk, görünür spektrumun kırmızı, sarı, yeşil, mavi ve menekşe gibi birçok renginin bir toplamıdır. Işık genellikle odaklanmamış yani dağınıktır. Lazer ışığı normal ışıktan iki özellik ile ayırt edilir. Lazer ışığı monokromatiktir, çünkü bazen tek bir renkte bazen de görünmez olan bir lazer ışını üretir. Her lazer ışığı dalgası koherenttir yani fiziksel boyut-şekil bakımından aynıdır ve belirli bir elektromanyetik enerji biçimi üretir. Yayılan lazer ışınları uzun bir mesafe boyunca toplanır, ancak fiber optiklerden üretilen ışınlar genellikle farklılık gösterir. Hepsi hassas bir şekilde odaklanabilir ve bu monokromatik, tutarlı ışık enerjisi, tedavi hedefine ulaşma işini yapabilir (138).

3.1.3.2.2.Amplifikasyon

Lazer cihazının bileşenlerini belirlemek, ışığın nasıl üretildiğini anlamada yararlıdır. Optik bir boşluk cihazın merkezindedir. Boşluğun çekirdeği kimyasal elementlerden, moleküllerden veya bileşiklerden oluşur ve aktif ortam olarak adlandırılır. Lazerler, bir gaz kabı, bir kristal veya bir katı hal yarı iletken olabilen aktif ortamın materyali baz alınarak adlandırılır. Bu çekirdeğin etrafında, enerjiyi aktif ortama pompalayan bir flaş cihazı, bir elektrik devresi veya elektrik bobini olan bir uyarma kaynağı vardır. Optik boşluğun iki ucunda birbirine paralel iki ayna bulunmaktadır. Bu aynalar rezonatör görevi görür yani gelişen enerjiyi toplamaya ve

yükseltmeye yardımcı olur. Bu olaya amplifikasyon denir. Mekanik bileşenlerin diğer kısımlarını ise odaklama lensleri ve soğutma sistemi oluşturmaktadır (139).



Şekil 6. Lazerin oluşumu (136).

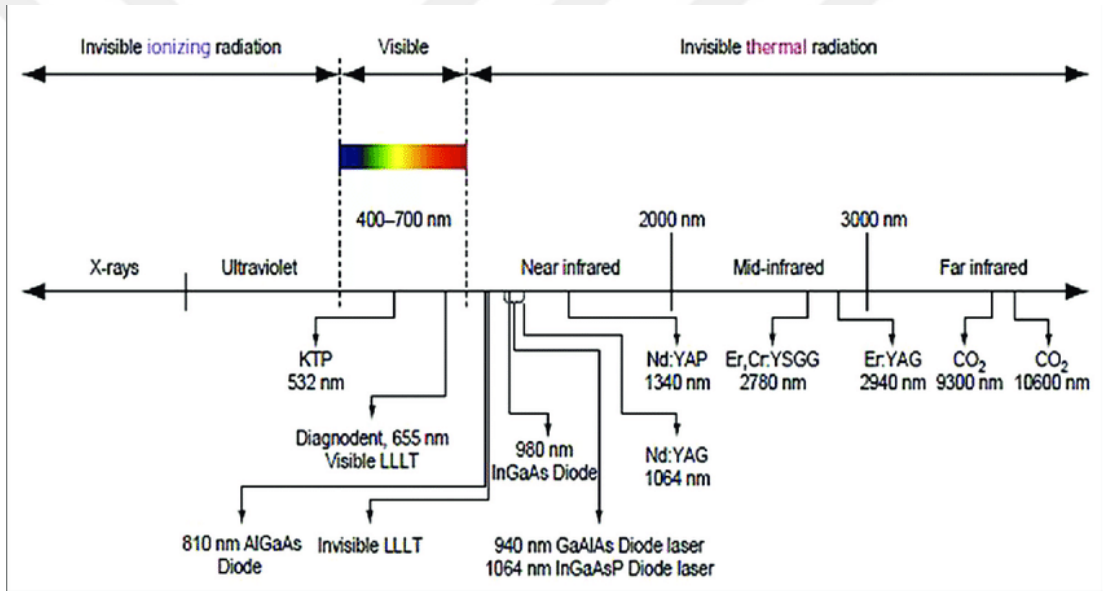
3.1.3.2.3. Uyarılmış Emisyon

Uyarılmış emisyon, pompalama mekanizması nedeniyle aktif ortam içinde gerçekleşen süreçtir ve 1916'da Albert Einstein tarafından keşfedilmiştir. Bu keşif daha sonra Max Planck ve Neils Bohr tarafından teorikleştirilmiştir (140). Kuantum teorisi; atom modelini ve bir kuantumu atomdan yayılan en küçük enerji birimi olarak tanımlamıştır. Kuantum, atomun veya molekülün elektronları tarafından absorbe edildiğinde uyarılma sonucu oluşur. Bu uyarılma ile elektronlar kendi yörüngelerinden bir üst yörüngeye geçerler. Uyarılmış elektronun, tekrar kararlı hale gelme yani kendi yörüngesine inme eğilimi vardır ve bu elektron tekrar kendi yörüngesine inerken ortama enerji saçır (kuantum emisyonu). Bu süreç “spontan emisyon” denir (136).

3.1.3.2.4. Radyasyon

Lazerin ürettiği elektromanyetik formdaki ışık dalgalarıdır. Dalga boyu 10^{-12} metre olan gamma ışınlarından, dalga boyları binlerce metrelere ulaşabilen radyo

dalgalarına kadar, dalga enerjilerinin tamamına elektromanyetik spektrum denir. İyonize radyasyon terimi 300 nm'den daha düşük dalga boylarını tanımlamak için kullanılmaktadır (138).Mevcut tüm dental lazer cihazları yaklaşık 0.5 mikron veya 500 nanometreden 10.6 mikrona veya 10.600 nanometreye kadar değişen dalga boylarına sahiptir. Bu durum dental lazerlerin elektromanyetik spektrumun görünür veya görünmez kısmında iyonize olmayan bölgesine yerleşmesine neden olur. Tüm dental lazerler, iyonize olmayan spektrumun termal radyasyon olarak adlandırılan kısmında yer almaktadır (137).



Şekil 7. Diş hekimliğinde kullanılan lazerlerin elektromanyetik spektrumdaki yeri (141).

Görünür ışık yayan iki tür lazer vardır;

Neodimyum katkılı itriyum alüminyum granat (Nd:YAG) ve potasyum titanil fosfat (KTP) lazerler; 532 nm dalga boyuna sahip yeşil ışık

- Düşük seviyeli lazerler: 635 ve 650 nm'lik dalga boyuna sahip kırmızı ışık yayarlar. Bu gruptaki lazerler cerrahi olmayan işlemlerde ve çürük tespiti için tercih edilir.

- Diğer dental lazerler elektromanyetik spektrumun kızılötesi kısmında yer alırlar. Yakın, orta ve uzak mesafelerde görünmez lazer ışığı yayarlar. Bunlar, yaklaşık 800 ile 900 nm arasındaki dalga boylarına sahip fotobiyomodülasyon nedeniyle kullanılan lazerleri kapsamaktadır;
- Diyot lazer-800 ve 830 nm arasındaki dalga boyları ve yarı iletken alüminyum, galyum ve arsenidin aktif ortamı.
- Diyot lazer-940 nm, aktif ortam alüminyum / indiyum, galyum ve arsenid
- Diyot lazer-980 nm, indiyum, galyum ve arsenidin aktif ortamı
- Nd: YAG lazer-1.064 nm
- Diyot lazer- 1064nm, indiyum, galyum, arsenit ve fosfatın aktif ortamı
- Neodimyum katkılı itriyum alüminyum provskite (Nd: YAP) lazer-1340nm
- Er, Cr: YSGG lazer-2.780 nm
- Er: YAG lazer-2940nm
- CO₂ lazer-9300nm.
- CO₂ lazer-10600nm (138, 142).

3.1.3.3. Lazer İletim Sistemleri ve Emisyon Modu

Lazer enerjisi, operasyon bölgesine çeşitli yollarla iletilmektedir. Kısa dalga boyuna sahip olan KTP, diyot ve Nd: YAG gibi lazerler enerjisini hedef dokuya ileten çıplak cam fiberlere sahip küçük, esnek fiber optik kablolarla iletmektedir (137). Erbium ve CO₂ lazer cihazları daha sert cam fiberler, yarı esnek içi boş tüpler veya eklemlili kollarla üretilmiştir. Lazerler, iletim sistemine uygun olarak kontakt (dokuya temas ederek) veya kontakt olmadan (dokuya temas etmeden) uygulanabilir(138, 142).

Hedefleme ışını fiber veya tüp boyunca eş eksenli olarak iletilir ve operatöre lazer enerjisinin odaklanacağı kesin noktayı gösterir. Aktif ışın lensler tarafından odaklanır. İçi boş tüpler veya eklemlili kol yardımı ile odaklanan ışın çalışma bölgesinde bir nokta haline gelir. Buna fokal spot denir. Fiber optik uç dokudan uzaklaştıkça lazer odaklanamayacağı için etkinliği azalmaktadır (137). Çalışılacak dokunun tipine bakılarak atım tipine karar verilir (136).

Dental lazerler ışınsal enerjiyi üç farklı şekilde iletirler: bunlardan ilki sürekli atım modudur. Işın iletimi kullanıcı tarafından lazer uygulaması kesilmediği sürece kesintisiz olarak devam eder ve genellikle yumuşak doku cerrahisinde tercih edilir. İkincisi aralıklı (pulsasyonlu) olan atım modudur. Bu iletim şekli sürekli emisyonun cihaz içerisinde bir bariyer ile otomatik olarak kesilmesiyle oluşturulur. Sıklıkla sert dokularda termal zarar vermemek için kullanılır. Üçüncüsü serbest atımlı moddur. Bu modda mikrosaniye gibi kısa sürelerde ışıma oluşur ve sonrasında uzun bir süre lazer ışıma gerçekleşmez (143).

3.1.3.4. Lazer Doku Etkileşimi

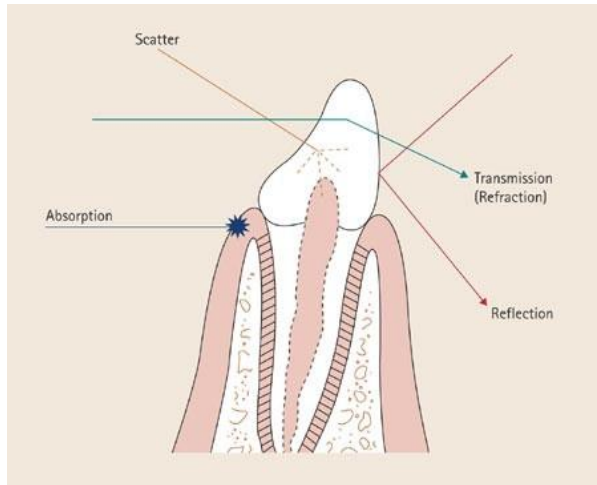
Lazer ışınının dokudaki etkisini dokunun optik özellikleri belirler. Bu etkileşim dört farklı şekilde gerçekleşir. Bunlar; yansıma (refleksiyon), saçılma (scatter), geçiş (transmisyon), emilim (absorbsiyon)dir (143).

Yansıma (refleksiyon); hedef dokuda lazer ışığının hiçbir etkileşime girmeden yüzey dokudan geri dönmesi olarak tanımlanır. Hedef dokudaki homojen olmayan yapılar lazer ışığının yansımasındaki en önemli faktördür. Yansıyan lazer ışınları kullanıcının gözlerine zarar verebilir bu nedenle kullanıcının korunması gerekmektedir (136, 143).

Saçılma (scatter); lazer ışınının doku içine girdikten sonra yayılarak hedef bölgeden daha geniş bir bölgeyi etkilemesi demektir. Böylece istenilen yoğunlukta enerji transferi yapılamaz ve yararlı biyolojik etki sağlanamaz. Saçılan bu ışınlar, cerrahi alana komşu dokuda ısı birikimine ve termal hasara sebep olur (136, 143).

Geçiş (transmisyon); lazer enerjisinin odak dokuda etki yaratmadan direkt olarak dokudan geçmesidir. Bu etkileşim lazerin dalga boyuna bağlıdır (136).

Emilim (absorbsiyon); lazer ışığı ve hedef doku arasında meydana gelen etkileşimlerden en fazla istenilenidir. Lazer ışığının enerjisinin doku tarafından emilmesidir. Bu enerjinin emilim miktarı hedef dokunun pigmentasyon ve su içeriği gibi özellikleri ile lazerin emilsiyon şekli ve dalga boyuna bağlıdır. Doku içerisinde spesifik dalga boyuna sahip lazer ışığını absorbe eden yapılara kromofor adı verilmektedir. Doku içerisinde kromofor sayısı lazer ışığının emilim miktarını belirlemektedir (143).



Şekil 8. Lazerin doku etkileşiminin dış üzerinde gösterilmesi (144).

Lazer ışını dokuda bazı biyolojik etkileşimler meydana getirir. Bu etkileşimler; ışının dalga boyuna, enerji miktarına, ışınlama süresine ve dokuların özelliklerine göre değişir (145). Biyolojik etkiler şöyle sıralanabilir;

Fotodinamik etki:

Işığa duyarlı molekülleri kullanarak ve serbest oksijen radikali oluşturarak fotodinamik etkileşim gözlemlenir. Oluşan sitotoksik yapıdaki serbest oksijen radikali dokuda bazı komponentleri yıkıma uğratar. Lazer ışınının fotodinamik etkileşimi daha ziyade kanserli dokularda kullanılır (146).

Fototermal etki:

Lazer enerjisi ısıya dönüşerek dokuda hasar oluşturur. Lazer ışığının termal etkisi koagülasyon ve buharlaşma olarak düşünülebilir. Termal etkiler meydana gelen ısıнын derecesi ve uygulama süresine göre farklılık gösterebilir. Lazer bir dokuya uygulandığında gücü azalarak alt tabakalara ulaşır aynı zamanda kısmi olarak yansıyarak rezorbe olur. Isının 300°C'nin üzerine çıkması dokuda buharlaşma meydana getirir. Buharlaşan bölgenin alt tabakasında 150°C'den yüksek ısı içeren kısım karbonizasyona uğrar. Bu tabakanın bir alt tabakasında koagülasyon oluşur. Alt tabakadaki dokuda sıcaklığın daha az iletilmesine bağlı olarak geri dönüşümlü hafif değişiklikler gelişir (147, 148).

Tablo 2. Doku sıcaklığıyla birlikte dokuda gözlenen etki (147).

ISI (°C)	Dokuda gözlenen etki
37	Geri dönüşümlü değişiklikler görülür
40-45	Enzim salgılanması, ödem oluşumu, membranda çözülme ve zamanabağı hücre ölümü
60	Protein denatürasyonu, koagülasyon nekrozu
80	Kollajen denatürasyonu, membran defektleri
100	Kuruma
150 <	Karbonizasyon
300 >	Buharlaşma

Fotokimyasal Etki:

Lazer dokuların iyileşmesi ve tamir edilebilmesi için stimüle edici rol oynar. Bunu herhangi bir termal etki yaratmadan absorpsiyon ile molekül ve atomların fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirerek meydana getirir. Enerji yoğunluğu arttığında ise fotokimyasal etkiler fototermal etkiye dönüşür (149).

Fotoablasyon Etkisi:

Lazerin hedef dokuda atomik ve moleküler bağları kırmasına rağmen komşu dokuda herhangi bir zarar görmemesi esasına dayanır. Oluşan ısı, dokunun buharlaşma sıcaklığından yüksek olduğunda enerjinin çoğu absorbe edilir ve bunu takiben ani patlama şeklinde buharlaşır. Bu etki fotoablasyon olarak adlandırılmaktadır.

Fotomekanik Etki:

Lazer enerjisinin şok dalgası yaratarak hedef dokuda mekanik hasar oluşturmaya dayanmaktadır. Lazer enerjisinin bu etkisine fotoakustik etki de denir (150).

Biyostimülasyon:

Düşük enerjili lazerlerin kullanılmasıyla oluşan; antiinflamatuvar etki, ağrının azaltılması fibroblast proliferasyonunun artması gibi biyolojik olayları kapsamaktadır. Bu etki arterio kapiller vazodilatasyon sonucu sıvı alış-verişinin uyarılmasıyla ödemin azaltılması ve hücrelerin mitokondrilerinin uyarılarak ATP sentezinin artması ile oluşmaktadır (151). Lazer ışınları ile yapılan biyostimülasyon işlemlerinin in vivo ve in vitro çalışmalarda kemik defektlerinin iyileşmesini hızlandırdığı, osteoblastların aktivitelerini artırdığı, osteoklastik aktiviteyi azalttığı

gösterilmiştir. Biyostimulasyon işlemi düşük doz lazerlerin bu amaç için kullanılmasıyla yapılabilmektedir (152).

3.1.3.5. Düşük Doz Lazer Tedavisi – Fotobiyostimülasyon

Düşük doz lazer tedavisi; lazerin hedef dokuda maksimum 1°C'lik ısı artışıyla oluşturduğu biyostimülan etkiye denir (153). Düşük doz lazer tedavisi literatürde, 'lazerli fotobiyostimülasyon', 'fotobiyomodülasyon' veya 'biyostimülasyon' gibi terimlerle de ifade edilmektedir (154).

Fotobiyomodülasyonun etki mekanizmasının açıklanmasında bilinen en iyi teori fotokimyasal teoridir. Teoriye göre ışık, dokudaki bir takım fotoreseptörlerce emilmektedir. Emilimin ardından bir dizi biyolojik reaksiyonlar gerçekleşmektedir. Bu fotoreseptörler, solunum zincirindeki pirol halkalarından oluşan porfirinler ile çeşitli moleküllerdir ve ATP üretimini stimüle ederler (155). Fotobiyomodülasyonun;

- ATP üretiminin stimüle edilmesi,
- Protein sentezinin ve DNA fonksiyonlarının arttırılması,
- Asetilkolin ve serotonin düzeylerini artırarak sinir sistemi iletiminin kolaylaştırılması,
- Arteriyel mikrosirkülasyonun artırılması,
- Lenfatik ve venöz dolaşımın artışı ile ödemin azaltılması,
- Na, Cl, K iyonları ile hücre membranının düzenlenmesi,
- Mitokondri aktivitesinin uyarılması,
- Fibroblast ve makrofaj gibi hücrelerin aktivetelerinin düzenlenmesi,
- Hücreler arası iletişimi hızlandıran sitokinler ve buna benzer mediyatörlerin salınımının artırılması,
- Lökositlerin sayıca artışı ile enflamasyonun azaltılması,

- Hücre bölünmesinin hızlandırılması,
- Kollajen oluşmasının ve epitel gelişmesinin sağlanması buna bağlı skar doku oluşumunun azaltılması gibi etkileri bulunmaktadır (154, 155).

Yara bölgesindeki hasarlı hücrelerde vaskülarizasyonun bozulmasına bağlı olarak beslenme azalır. Metabolik aktivitenin azalması proton yoğunluğunda düşüşe ve ATP üretiminde azalmaya neden olur. Hasarlı hücrelerde bulunan sitokrom c oksidazın absorbe ettiği ışık proton pompası görevi görerek ATP üretimini artırır (154). Düşük yoğunluklu lazer ve ışık yayan diyotlar (LED – Light Emitting Diode) görünür kırmızı ışıktan kızılötesi spektruma yakın ışın üretirler. Bu ışınların iskelet kasında, sinir dokusunda, deride ve kemikte damarlanmayı artırdığı gösterilmiştir (156).

Düşük yoğunluklu lazerin asetilkolin, serotonin, prostoglandin ve histamin metabolizması üzerinde etkilerini gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu tedavinin analjezik etki mekanizmasının nasıl gerçekleştiği netliğini kazanmamış olmasına karşın endorfin sentezlenmesini stimüle ederek C liflerinin aktivitesinin azalmasıyla sağlandığı düşünülmektedir (155). Fotobiyomodülasyon DNA sentezini artırarak kemikteki metabolik aktiviteyi artırır. Bu etkisini osteoblast proliferasyonunu stimüle ederek, osteosit sayısını artırarak yaptığı gösterilmiştir. Bununla birlikte ALP ve mineralizasyonu da arttırdığına dair çalışma mevcuttur (152). DDLT'nin kemik üzerindeki etkinliğinin lenfatik sistem üzerinden gerçekleştiğini iddia eden teoriye göre; DDLT lenf damarları üzerinde dilatasyon gerçekleştirerek sirkülasyonu artırır ve artan lenfatik sirkülasyon kemik içi sirkülasyonu artırır (157). DDLT'nin intraoral 2-4 j/cm², ekstraoral 4-10 j/cm²'yi geçmeyecek dozlarda uygulanması önerilmektedir (158). He-Ne ve diyot lazer biyostimülasyon için kullanılan düşük

doz lazerlerdir. Er:YAG, CO₂, Nd:YAG lazerler ise yüksek güce sahip lazerler olmalarına karşın odaklanmamış modda ve düşük güç yoğunluğunda kullanıldıklarında biyostimulan, antiinflamatuvar ve analjezik etkileri görülmektedir (159).

Ga-Al-As, Argon ve Helyum-Neon lazerin kemik iyileşmesi üzerindeki etkinliğinin histolojik olarak gösterildiği çalışmalarda kullanılan bu lazerlerin osteogenezi stimüle ettiği ve osteoklastlar üzerinde inhibe edici etki oluşturduğu gösterilmiştir (160). Farelerin kullanıldığı bir çalışmada hızlı palatal genişletme esnasında Gallium-Aluminum- Arsenide (Ga-Al-As) diyot lazer ile yapılan biyostimülasyonun kemik iyileşmesi üzerinde doza bağlı olarak 1.2 ve 1.4 kat artış sağladığı gösterilmiştir. Bu çalışmada erken dönemde uygulanan biyostimülasyonun daha etkin olduğu belirtilmiştir (161).

3.1.3.6. Lazerlerin Sınıflandırılması

Medikal alanda kullanılan lazerlerin sınıflandırılması için birtakım parametreler kullanılmıştır.

Kullanılan Aktif Maddeye Göre Lazerler:

1. Katı Lazerler

- Holmium: Yttrium-Aluminum-Garnet lazer (Hol:YAG)
- Yakut (Ruby) Lazer
- Nd:YAG lazer
- Er:YAG lazer

2. Sıvı lazerler:

- Dye lazer
- Rhodamine lazer

3. Gaz lazerler:

- He-Ne lazer
- Argon lazer

- CO₂ lazer
- Excimer lazer

4. Yarı iletken lazerler:

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

Kullanım Alanlarına Göre Lazerler

- 1. Soğuk lazerler:** Termal etki ile biyostimülasyon oluşturan düşük enerjili lazerlerdir
- 2. Sıcak lazerler:** Termal etki ile dokuda fotoablasyon oluşturan yüksek enerjili lazerlerdir. Cerrahi lazer olarak da bilinirler.
- 3. Fotoradyan lazerler:** Kanser tedavisinde kullanımı denenen lazerlerdir.
- 4. Fotokoagülatör lazerler:** Kanama kontrolü için kullanılan lazerlerdir.

Dalga Boylarına Göre Lazerler:

- 1. Ultraviyole lazerler:** Excimer, Argon, Fluoride lazerler
- 2. Görünür ışık lazerler:** Argon, Potasyum-Titanyl-Fosfat (KTP) lazerler
- 3. Enfraruj (kızılötesi) lazerler:** Ga-As, Ga-Al-As, Nd:YAG, Er:YAG, Er,Cr:YSGG ve CO₂ lazerler

Lazer Işını Hareketlerine Göre Lazerler:

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

Dokuda Hasar Oluşturma Risklerine Göre Lazerler:

- 1. Sınıf:** Düşük güçte kullanıldığında dokuya zarar vermeyen güvenli lazerlerdir. Diyot lazer.
- 2. Sınıf:** Işığı gözle görülen gücü 1 mW'ın altında olan lazerlerdir. He-Ne lazer. Doğrudan içlerine bakılmadıkça tehlikeli değildir ve göz kırpmaya refleksinin bu lazerlerden korunmak için yeterli olduğu düşünülmektedir.

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

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

3b sınıfı: Gözlüksüz bakılmaması gereken lazerler

4. **Sınıf:** Yangın tehlikesi oluşturan, cilt ve göz için tehlike teşkil eden lazerlerdir. Bu lazerlerin yansıyan veya genişleyerek saçılan ışıkları bile gözler için tehlikelidir. Bu nedenle emniyet tedbirlerinin alınması gerekir. Tedavi amaçlı kullanılan lazerlerin çoğu bu kategoridedir

Dozlarına Göre Lazerler:

1. **Yüksek doz lazerler:** Sıcak lazerler bu gruptadır. Argon, CO₂, Nd:YAG ve Er:YAG lazerler
2. **Orta doz lazerler:** Yarı iletken lazerlerdir. Dalga boyu 830-904 nm olan diyot lazerler bu grupta yer almaktadır.
3. **Düşük doz lazerler:** Soğuk lazerler bu gruptadır. Güçleri en fazla 50-80 mW'a kadar çıkabilir. Dokuda fotokimyasal etki sayesinde biyostimülasyon oluştururlar. Atımlı veya devamlı mod özelliğine sahiptirler. Galyum-Alüminyum-Arsenid ya da Helyum-Neon lazerler bu grupta yer almaktadır(162, 163).

3.1.3.7.Diş Hekimliğinde Kullanılan Lazerler

CO₂ Lazerler

Aktif maddesi CO₂ gazı olan 10.600 nm dalga boyuna sahip lazerdir. Elektromanyetik spektrumun kızıl ötesi iyonize olmayan kısmında bulunmaktadır.

Kesintili ve atımlı modda kullanılabilir (164). Suyu afinitelerinin yüksek olması sebebiyle koagülasyon sağlama ve yumuşak doku kesisinde oldukça başarılıdır (165). Penetrasyon özelliklerinin sıkı olmasından dolayı mukozaya ait lezyonların tedavisinde uygulanabilir. Epitel tabakada karbonizasyona neden olduğundan doku iyileşmesini geciktirirken eksizyonla çıkarılan lezyonların nüks ihtimalini düşürmektedir. CO₂ lazer ışınlarının hidroksiapatit kristalleri tarafından absorpsiyonlarının fazla olmasından dolayı dişe yakın bölgelerde çalışılırken dikkatli olunmalıdır (142, 150).

Nd:YAG Lazerler

Katı aktif maddeli 1064 nm dalga boyuna sahip lazerlerdir. Elektromanyetik spektrumun kızıl ötesi bölgesinde bulunmaktadır. Sürekli ve aralıklı atım modlarında kullanılabilir. Renkli pigmentlere afinitesi fazla olduğundan melanin tarafından yüksek oranda absorpsiyona uğrarlar (138). Uygulanan bölgede derin penetrasyon yüzeyde ise minimum absorpsiyon oluştururlar. Bu özelliklerinden dolayı koagülasyon, yumuşak doku cerrahisi, hemanjiyoma tedavisi gibi birçok işlemde kullanılabilir (143).

Erbium Lazerler

Katı aktif maddeli olan erbiyum, krom, yitrium, skandiyum, galyum ve garnet kristallerinden oluşan Er:Cr:YSGG; erbiyum, yitrium, alüminyum ve garnet kristallerinden oluşan Er: YAG lazerler erbiyum ailesine ait iki lazer türüdür. Er:Cr:YSGG lazer 2780 nm; Er: YAG lazerler ise 2940 nm dalga boyuna sahiptir. Elektromanyetik spektrumun görünmez iyonize olmayan kızıl ötesi kısmında bulunurlar (134). Erbiyum lazerler serbest hareketli atım modunda kullanılırlar. Lazer ışınının dokuya iletilmesi içerisinde yansıtıcı aynaların bulunduğu 0.5µm

apındaki fiber optik uçlar sayesinde gerçekleşmektedir ve bu sistem içerisinde hava-su spreyi bulunmaktadır. Hidroksiapatite ve suya afiniteleri fazladır (166). Sert dokularda termal hasar oluşturmadan kullanılabilirler. Erbiyum lazerlerin kullanıldığı sert doku cerrahisi sonrası iyileşmenin konvansiyonel cerrahi sonrası iyileşmeye göre daha hızlı olduğu gösterilmiştir. Yumuşak doku cerrahisinde de kullanım alanına sahiptir. Kan içerisindeki suyun yüzeysel olarak buharlaştırması hemostaz özelliklerini sınırlandırmaktadır (167).

Argon Lazerler

Aktif maddesi argon gazı olan 457- 502 nm dalga boyuna sahip lazerlerdir. Elektromanyetik spektrumun görünür ışık üreten bölgesinde yer almaktadır. Atımlı veya devamlı modda kullanılabilirler. Hemoglobin tarafından absorpsiyonu yüksektir. Mukozal lezyonların tedavisi ve dişeti estetiğinin sağlanması gibi yumuşak doku cerrahilerinde kullanılırlar (143).

Diyot Lazerler

Aktif maddeleri yarı iletken olan diyot lazerler; alüminyum, indiyum, arsenid ve galyum gibi elementlerin kombinasyoundan oluşur. 800 nm dalga boyuna sahip diyot lazerlerin aktif maddesi alüminyum iken 980 nm dalga boyuna sahip diyot lazerlerin aktif maddesi indiyum elementidir. Dalga boyları elektromanyetik spektrumun görülmeyen iyonize olmayan kısmında yer almaktadır. Fiber optik uçlar sayesinde iletimi sağlanan lazer enerjisi sürekli veya atımlı, kontak ya da kontakt olmayan modunda kullanılabilmektedir fakat diyot lazerin sürekli modda kullanılması doku üzerinde ani sıcaklık artışına yol açabileceğinden bu lazer sisteminin içinde soğutucu yer almaktadır (168). Pigmente dokular tarafından absorpsiyonu yüksektir. Hemoglobin zerindeki etkinliği sayesinde hemostaz

sağlama konusunda kullanıcıya yardımcı olmaktadır. Diş ve benzeri sert dokular tarafından zayıf absorpsiyona uğraması yumuşak dokuda güvenle kullanılabilmesine olanak tanımaktadır (169). FDA tarafından mukoza insizyonu, pıhtılaşma, yumuşak doku küretajı, sulkular debridman gibi yumuşak doku işlemleri için 1995 yılında onay almıştır. Boyutlarının küçük olması ve maliyetlerinin diğer lazerlere göre düşük olması avantajları arasında yer almaktadır (170). Portatif olan diyet lazerler 400 mikronluk uca sahip el parçası yardımıyla kullanılırlar. Lazer uçlarının kullanılmadan önce aktif hale getirilmesi gerekmektedir. Bu aktivasyon işlemi lazerin çalışır haldeyken fiber ucun artikülasyon kağıdına batırılması ile tamamlanır. Operasyon sonrası fiber ucun 2-3mm'lik bölümü koparılıp yeni uç kullanıma hazır hale getirilir. Eksizyon için kullanımı sırasında kayan fırça darbeleri şeklinde kullanımı hekime kolaylık sağlamaktadır. Lazer dumanının ve yanık kokusunun azaltılması için aspirasyon işlemi önem arz etmektedir.

Sulkuler debridman, periodontal cep dezenfeksiyonu, çürük tespiti, kök kanalı dezenfeksiyonu, diş beyazlatma, aftöz ülserlerin ve herpetik lezyonların tedavisi ve biyostimülasyon gibi farklı birçok işlem için kullanımı uygundur (171). Diyet lazerlerin düşük enerji seviyesinde yüksek penetresyona sahip olması biyostimülasyon için kullanımında anahtar rol oynamaktadır (172).

3.1.4. E Vitamini

Vitaminler vücutta üretilemeyen ve organizmanın canlılığını devam ettirmesi için gerekli olan besinler ile vücuda alınan maddelerdir. Evans ve Bishop 1925 yılında farelerin üremelerine yardımcı olan bir maddeden bahsetmişlerdir. Bulunan bu madde D vitamininden sonra keşfedildiği için alfabetik sıraya göre E vitamini olarak isimlendirilmiştir. Evans ve arkadaşlarının 1936 yılında yaptığı çalışma

sonucunda E vitamini ile beslenmeyen farelerin doğum oranlarının azaldığı görülmüştür. Buradan yola çıkılarak E vitaminine yunanca tocos (doğum) ve pherin (ortaya çıkarmak) sözcüklerinden oluşan tocopherol (tokoferol) ismi verilmiştir. (173). Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda ise E vitamininin yalnız üreme sistemine yardımcı olmadığı hücresel hasarların onarılması ve organizmanın devamlılığının sağlanmasında da rol aldığı gösterilmiştir.

E vitamini yani tokoferoller bir grup madde için kullanılan ortak bir isimdir. Bu maddelerin kroman halkasına bağlı hidrokarbondan oluştuğu bilinmektedir. Kroman halkasındaki benzen grubu üzerinde proton veya metil gruplarındaki farklılığa göre alfa, beta, gama, delta gibi isimlendirmeleri mevcuttur (174). E vitaminin en aktif formu alfa tokoferoldür. Alfa tokoferolün vücutta iki temel görevi mevcuttur; ilki lipofilik özelliği en yüksek olan antioksidan olarak görev yapmak ikincisi ise selenyum metabolizmasında rol oynamaktır. Alfa tokoferol yağ, etanol, aseton ve eterde çözünürken suda çözünmez. Yüksek dozda kullanımı vücutta toksik etkiye neden olmamaktadır (175).

Hücrelerde bulunan yağ asitleri kendiliğinden ya da serbest radikallerin etkisiyle oksitlenmektedir. Bu oksitlenmenin etkisiyle hücre membranında zedelenme oluşmaktadır. Serbest radikallerin oluşturduğu bu olumsuz etki antioksidan ajanlar tarafından engellenmektedir (176). Antioksidanlar ise çeşitli yollarla etkinliklerini gösterirler. Bunlar; serbest oksijen radikallerini nötralize etmek, serbest oksijen radikallerinin oluşumuna neden olan reaksiyonları durdurmak olarak sayılabilir (177).

Alfa tokoferol LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) üzerinde koruyucu etki göstererek plak rüptürünü, vazospazmı ve trombosit adezyonunu azaltır. Endotelial

hücrelerde devamlılığı sağlar, düz kaslarda proliferasyonu baskılar, adezyonmoleküllerinin seviyesini azaltır. Ayrıca IL-1 β , IL-6, TNF-alfa gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını azaltır (178, 179).

E vitaminiyle ilgili yapılan bir çalışmada trabeküler kemik ve osteoid doku miktarını artırdığı ve böylece kemiğin uzunlamasına büyümesini stimüle ettiği gösterilmiştir. Bir başka çalışmada ise E vitamininin okside edici ajanlarla ve trabekül kemik miktarını artırarak kalsiyum kaybına engel olduğu ve yeni kemik oluşumunu stimüle ettiği belirtilmiştir (180, 181). E vitamininin immünostimulan, kollajen yıkımını azaltan ve antienflamatuvar etkisinin olduğu dolayısıyla da gingivektomi işleminin ardından yara bölgesinin iyileşmesinin hızlandırılmasında ve periodontitis tedavisinde kullanılmaktadır (182).

E vitamininin metabolize edilmesi karaciğerde gerçekleşirken vücuttan atılması idrar ve safra yoluyla olmaktadır. Vücutta tüm dokularda bulunan E vitamini büyük oranda yağ dokuda bulunur ve depolanır (183). E vitamini esas olarak yeşil yapraklı bitkilerin kloroplastlarında oluşur. Soya yağı, ayçiçeği yağı, mısır yağı gibi birçok bitkisel kaynaklı yağlarda, yumurta, balık ve tavuk gibi gıda maddelerinde bulunmaktadır (180, 183).

3.1.5. Pentoksifilin

Pentoksifilin, immün modülasyon, hücre membranının akışkanlığının sağlanması, fibrinolizisin stimüle edilmesi ve antikoagulan etkilere sahip olması gibi çeşitli özellikleri bulunan, metil ksantin türevi ve fosfodiesteraz inhibitörü bir ilaçtır (184). Pentoksifilin 5'nükleotidaz enzimini inhibe ederek dokudaki ATP kaybını azaltır ve iskemik süreçte enerji tüketimini en aza indirerek hücre hasarına engel olmaktadır (185). Fosfodiesteraz enzimin inhibe olmasıyla hücre içindeki c-AMP

seviyesi artmaktadır. Bu artışla birlikte hücre membranında stabilizasyonu sağlayan membran proteinlerinin fosforilasyonu gerçekleşmektedir ve Na-K ATPaz aktivitesi sayesinde hücre membran stabilitesi artmaktadır (186).

Pentoksifilin antiinflamatuvar özelliğinin proinflamatuvar mediatörlerin üretimine engel olarak gerçekleştiği gösterilmiştir. Pentoksifilin 5'nükleotidaz enzimini inhibe etmesi dokudaki hasar mekanizmasını bozmakla kalmayıp hasarın onarılması sırasında ihtiyaç duyulan enerjiyi de korumaktadır. Pentoksifilin hem monositler tarafından üretilen hemde granüositler tarafından üretilen TNF- α 'nın üretilmesine engel olmaktadır (187).

Pentoksifilin genel olarak etkileri;

- Trombosit agregasyonunu engelleme
- Lökosit kemotaksisinde artma
- Lökositlerin IL-1 ve TNF- α 'ya karşı cevabında azalma
- Endotel lökosit adezyonunda azalma
- Nötrofil degranülasyonunda azalma
- Süperoksidad salınımında azalma
- T ve B lensofit aktivitesinde azalma
- Natural killer (doğal öldürücü) hücre etkinliğinde azalma
- Kan viskozitesinde azalma
- Periferik kan dolaşımında artma ve buna bağlı olarak doku oksijenizasyonunda artma
- Eritrosit membran elastikiyetinde artma
- Hücre içi kalsiyum artışına bağlı hücre membran sertliğinde artma (184, 188).

- Dermal fibroblast üretiminde azalma
- Antioksidan özellik gösterme ve
- Kolajenaz aktivitesine sahip olma özelliğini gösteren invitro çalışmalar mevcuttur (189).

Pentoksifilin oral ve parenteral kullanım şekilleri vardır ve her iki yolla da alındığında neredeyse tamamı absorbe edilir. İlaç alımını takiben 4-8 saatleri arasında aktif metabolitler oluşur ve plazmada en yüksek seviyeye ulaşır. İlacın vücuttan atılımı böbrekler aracılığıyla gerçekleşir (190).

4.GEREÇ VE YÖNTEM

Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 2019/57 nolu etik kurul onayı alınan bu çalışma Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından DHF.19.07 proje nosu ile desteklendi. Deneysel aşamalar Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezinde, analiz aşamaları Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Patoloji Laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

4.1. Deney Hayvanları ve Deneysel Düzenek

Çalışmamızda Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi Hayvan Laboratuvar'ından temin edilen 80 adet 12 haftalık Sprague Dawley cinsi ağırlığı 300-500gr arasında değişen erkek sağlıklı ratlar kullanıldı. Deney süresince bakımları Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi Hayvan Laboratuvar'ında yapıldı. Ratlar; 21-24⁰C'de, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olacak şekilde, %40-45 oranında nemli odada tutuldu. Kuru pelet yem ve su ile beslenen ratlar özel havalandırma sistemine ait odalardaki kafeslerde bekletildi.

MRONJ görülme ihtimali daha yüksek olduğu için çalışmamızda nitrojen içerikli bifosfonat grubu ilaçlardan zoledronik asit 4mg/5ml i.v. enjeksiyon için konsantre çözelti (İDOL İLAÇ DOLUM SAN. VE TİC. A.Ş.) kullanıldı. Çalışmada yer alan sağlıklı grup dışındaki tüm ratlara, 3 hafta süresince haftada bir kez intraperitoneal 0,06mg/kg zoledronik asit enjeksiyonu yapıldı.

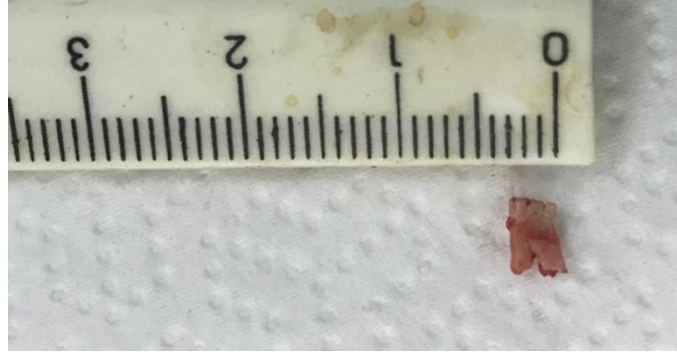


Resim1.Zoledronik asit



Resim2. İnteraperitonel bifosfonat enjeksiyonu

Çalışmanın 22. günü anestezi olarak 45 mg/kg ketamin hidroklorid ve 5mg/kg ksilazin karıştırılıp intramuskuler olarak enjekte edilerek deneklerin genel anestezisi sağlandıktan sonra diş çekimi yapıldı. Deneklerin tamamının mandibular sol 1. molar dişlerinin çekimi, 15 numaralı bistüri ucuyla bien elavator kullanılarak asepti ve antisepti kurallarına uyularak yapıldı. Kanama kontrolünün sağlanması için çekim soketlerine gaz tamponlar yerleştirildi.



Resim3. Ratın çekilen sol alt 1.molar dişi

Çalışmamızda 940 nm InGaAs diyot lazer (EPIC X, Biolase) 1.5 W, 10 saniye ($5J/cm^2$) $3cm^2$ dozunda Lazer, Lazer-E vitamini ve Lazer-Pentoksifin gruplarına diş çekiminin hemen ardından, 3, 5 ve 7.günde çekim bölgesinin iz düşümünden ekstra oral olarak uygulandı.



Resim 4. Diyot lazer ve fotomodülasyon için kullanılan modu

Kemik doku üzerinde yara iyileşmesini olumlu etkilediği savunulan E vitamini 300mg intramuskuler ampulü (Aksu Farma, Türkiye) ve pentoksifilinin 100mg/5ml intravenöz ampulü (Santa Farma İlaç Tic. A.Ş.Türkiye) kullanıldı.



Resim 5. E vitamini ve Pentoksifilin ampulü

Denekler rast gele 8 gruba ayrıldı.

- 1. Sağlıklı Grup (n=8):** Bu gruptaki deneklerin çalışmanın 22. gününde sol mandibular 1. molar dişi çekildi. 36 günlük deneysel düzenek sonunda denekler sakrifiye edilerek mandibular kemikleri alındı.
- 2. Kontrol Grubu (n=8):** Bu gruptaki deneklere 36 günlük deneysel düzenek boyunca 0, 7 ve 14. günde intraperitoneal nitrojen içerikli bifosfonat uygulandı ve 22. günde sol mandibular 1. molar diş çekildi. 36 günlük deneysel düzenek sonunda denekler sakrifiye edilerek mandibular kemikleri alındı.
- 3. Lazer Grubu (n=11):** Deneklere 0, 7 ve 14. günde intraperitoneal nitrojen içerikli bifosfonat verildi ve 22. günde sol mandibular 1. molar diş çekildi. Bu gruptaki deneklere çekim anında, çekim sonrasında 3, 5 ve 7. günde çekim bölgesine 940 nm dalga boyunda diyot lazer biyostimülasyon modunda uygulandı. 36 günlük deneysel düzenek sonunda denekler sakrifiye edilerek mandibular kemikleri alındı.
- 4. E vitamini Grubu (n=11):** Deneklere 0, 7 ve 14. günde intraperitoneal nitrojen içerikli bifosfonat verildi ve 22. günde sol mandibular 1. molar diş çekildi. Çekimin ardından 14 gün boyunca her gün 20 mg/kg E vitamini

intraperitoneal olarak deneklere uygulandı. 36 günlük deneysel düzenek sonunda denekler sakrifiye edilerek mandibular kemikleri alındı.

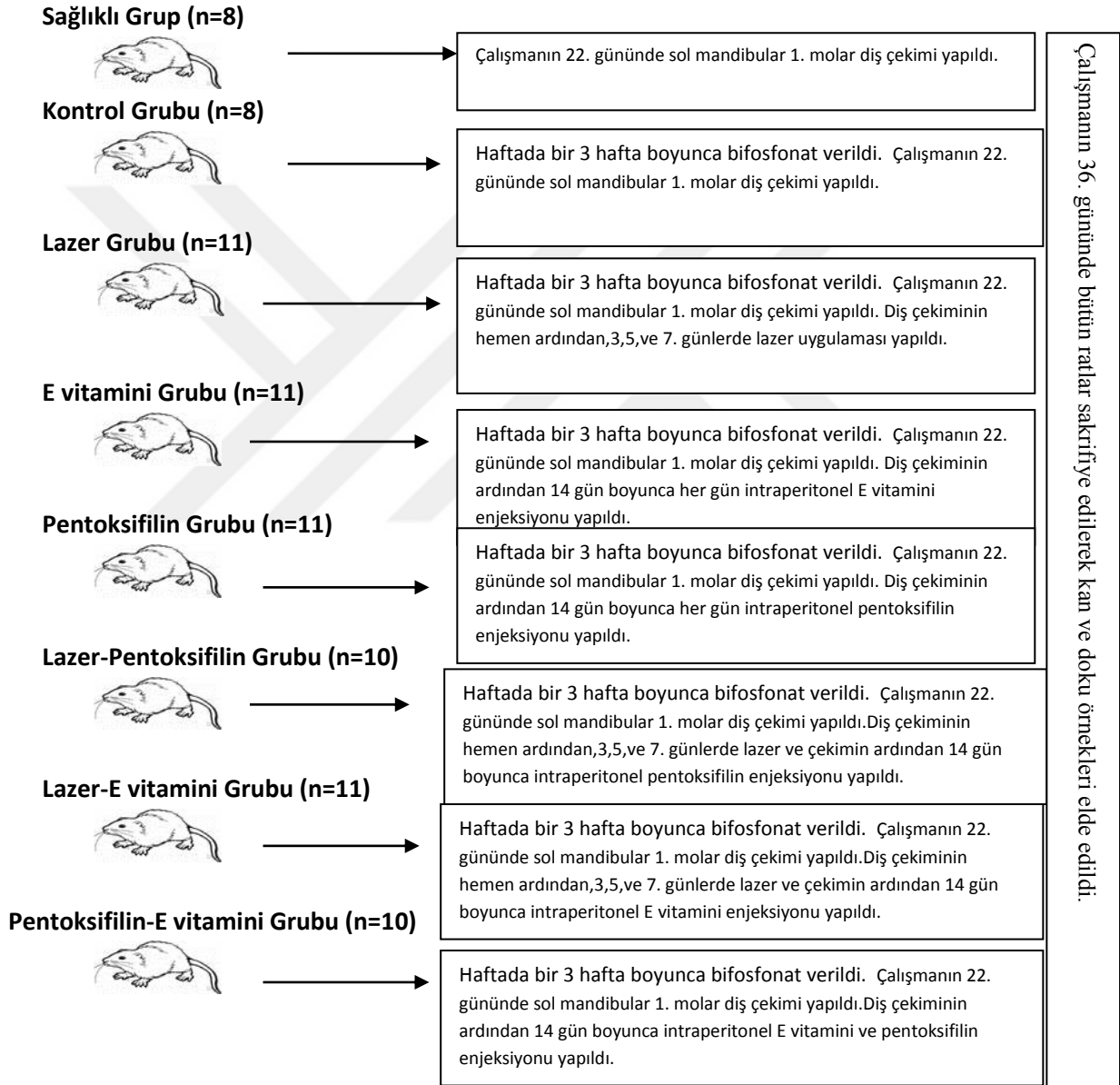
5. Pentoksifilin Grubu (n=11): Deneklere 0, 7 ve 14.günde intraperitoneal nitrojen içerikli bifosfonat verildi ve 22. günde sol mandibular 1. molar diş çekildi. Çekimin ardından 14 gün boyunca her gün 50 mg/kg pentoksifilin intraperitoneal olarak deneklere uygulandı. 36 günlük deneysel düzenek sonunda denekler sakrifiye edilerek mandibular kemikleri alındı.

6. Lazer-Pentoksifilin Grubu (n=10): Deneklere 0, 7 ve 14. günde intraperitoneal nitrojen içerikli bifosfonat verildi ve 22. günde sol mandibular 1. molar diş çekildi. Çekimin ardından 11 olan denek sayısı 10'a düşmüştür. Geriye kalan deneklere çekim anında, çekim sonrasında 3, 5 ve 7. günde çekim bölgesine 940 nm dalga boyunda diyet lazer biyostimülasyon modunda uygulandı ve çekim sonrasındaki 14 gün boyunca her gün 50 mg/kg pentoksifilin intraperitoneal olarak verildi. 36 günlük deneysel düzenek sonunda denekler sakrifiye edilerek mandibular kemikleri alındı.

7. Lazer-E vitamini Grubu (n=11): Deneklere 0, 7 ve 14. günde intraperitoneal nitrojen içerikli bifosfonat verildi ve 22. günde sol mandibular 1. molar diş çekildi. Bu gruptaki deneklere çekim anında, çekim sonrasında 3, 5 ve 7. günde çekim bölgesine 940 nm dalga boyunda diyet lazer biyostimülasyon modunda uygulandı ve çekimin ardından 14 gün boyunca her gün 20 mg/kg E vitamini intraperitoneal olarak verildi. 36 günlük deneysel düzenek sonunda denekler sakrifiye edilerek mandibular kemikleri alındı.

8. Pentoksifilin-E vitamini Grubu (n=10): Deneklere 0, 7 ve 14. günde intraperitoneal nitrojen içerikli bifosfonat verildi ve 22. günde sol mandibular

1.molar diş çekildi. Çekimin ardından 11 olan denek sayısı 10'a düşmüştür. Geriye kalan deneklere çekimin ardından 14 gün boyunca her gün 20 mg/kg E vitamini ve 50 mg/kg pentoksifilin intraperitonel olarak uygulandı. 36 günlük deneysel düzenek sonunda denekler sakrifiye edilerek mandibular kemikleri alındı.



Şekil 9. Deneysel çalışma düzeneği

4.2.Kan Örneği Elde Edilmesi ve Sakrifikasyon

Deneye başlandıktan 36 gün sonra diş çekimi için uygulanan genel anestezi prosedürü (ksilazin 5 mg/kg ve ketamin hidroklorid 45 mg/kg karıştırılarak intramuskuler enjeksiyon) uygulanarak deneklerden 10 cc'lik enjektörlerle intrakardiyak kan alındı. Biyokimyasal analiz için alınan kan örnekleri pıhtı aktivatörü ihtiva eden vakumlu cam steril kaplara aktarıldı. 3000 devirde 10 dakika süreyle santrifüj edilen örnekler eppendorflara alınarak analiz gününe kadar -80°C'de bekletildi.



Resim 6. NF200 santrifüj cihazı

Histopatolojik ve immünohistokimyasal analizlerin yapılması için mandibular kemiğin dışarı çıkarılması kafatasının cilt ve cilt altı diseksiyonu yöntemi kullanılarak yapıldı. Alınan mandibular kemik %10'luk konsantrasyondaki formaldehit içinde bekletildi.

4.3. Histopatolojik Analiz

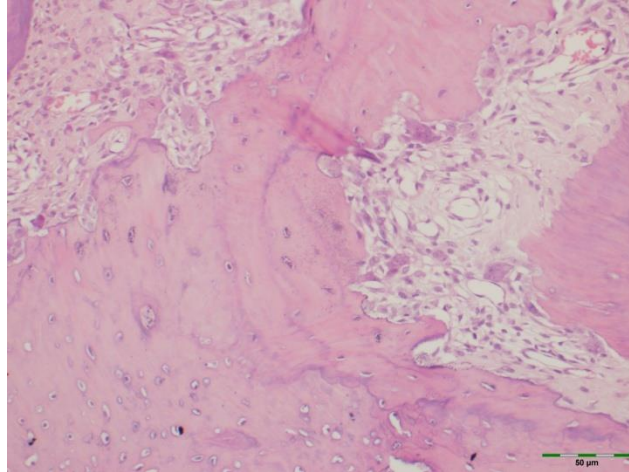
İncelenmek üzere çıkarılan mandibular kemikler, %10'luk konsantrasyondaki formalin çözeltisinde 72 saat fiske edildikten sonra %10'luk formik asit içinde bekletilerek dekalsifikasyonları sağlandı. %10'luk formik asit çözeltisi iki günde bir

değiştirilerek dekalsifikasyonları bir haftada tamamlandı. Ardından akarsuda yıkanan örnekler rutin takip işlemi sonrası parafin bloklara gömüldü. Hemotoksilen-eozin boyasının yapılması için sagittal düzlemde 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Elde edilen kesitler 65°C’de bir saat deparafinize edildikten sonra ksilol ve alkolde bekletildikten sonra suda yıkanarak boyama işlemine geçildi. Hemaotoksilen-eozinde boynanan kesitler ışık mikroskopunda (Olympus, BX51, Japan) incelendi.

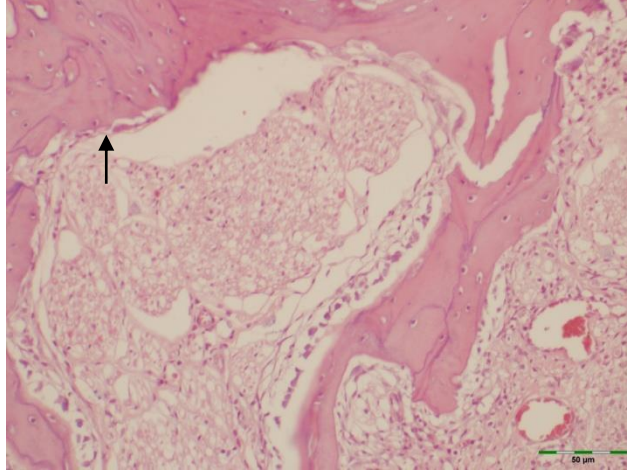
Mandibular molar bölgeden alınan hematoksilen-eozin boyalı kesitlerde, yeni kemik oluşumu, osteoblast ve osteoklast, fibrozis, enflamasyon ve anjiyogenezis yoğunlukları değerlendirildi.

Yeni kemik oluşumunun skorlaması:

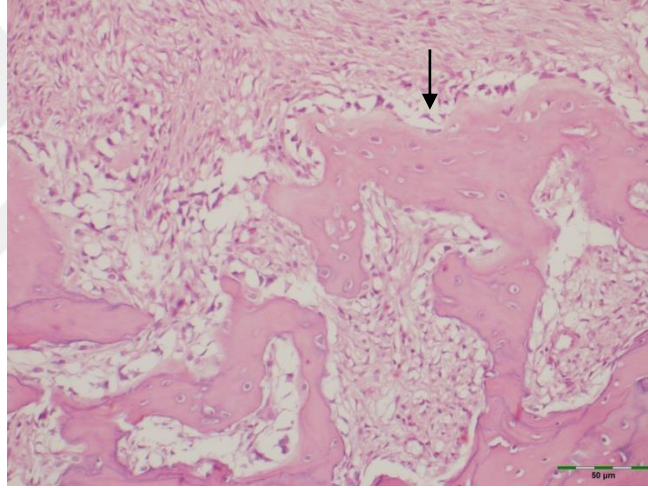
- 0→ kemik oluşumu yok
- 1→ hafif derecede kemik oluşumu
- 2→ orta derecede kemik oluşumu
- 3→ yoğun derecede kemik oluşumu.



Resim 7. Hafif derecede yeni kemik oluşumunun histolojik görünümü
(Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)



Resim 8. Orta derecede yeni kemik oluşumunun histolojik görünümü
(Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)



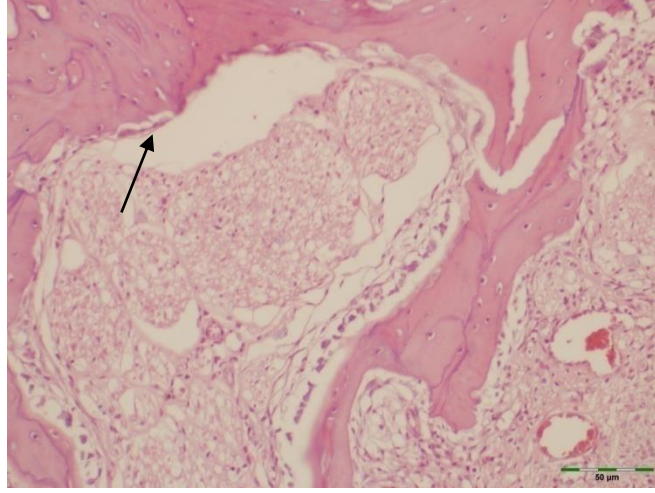
Resim 9. Yoğun derecede yeni kemik oluşumunun histolojik görünümü
(Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)

Osteoblast hücrelerinin skorlaması:

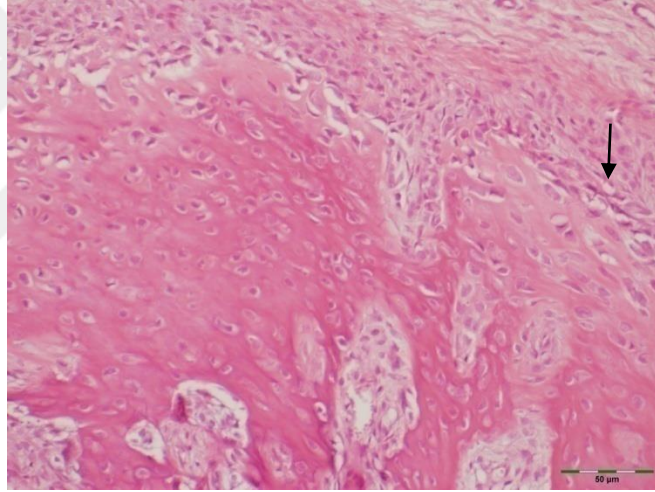
0→osteoblast hücresi yok

1→ osteoblastlar hafif yoğunlukta

2→ osteoblastlar yoğun olarak görülmekte.



Resim 10. Hafif yoğunlukta osteoblastların histolojik görünümü
(Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)



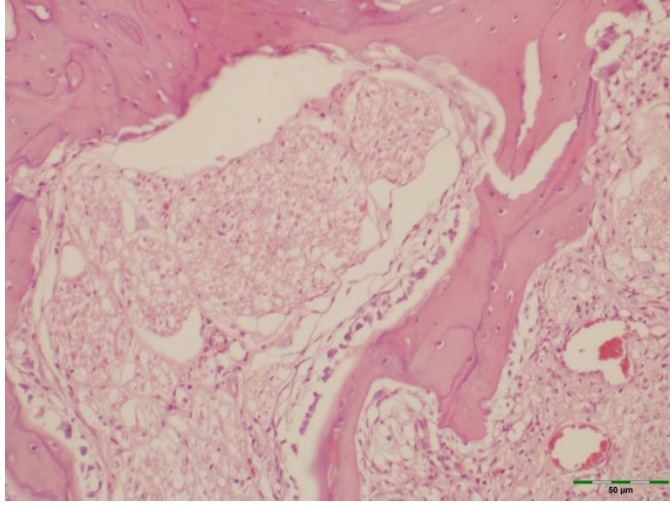
Resim 11. Yoğun düzeyde osteoblastların histolojik görünümü
(Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)

Osteoklast hücrelerin skorlaması:

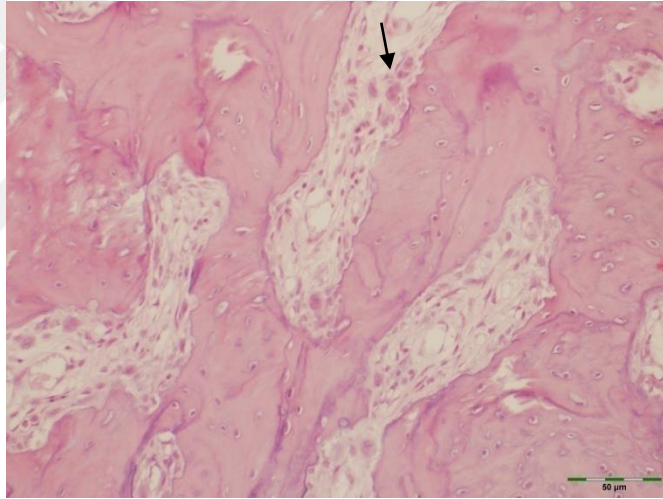
0→osteoklast hücresi yok

1→osteoklastlar hafif yoğunlukta

2→osteoklastlar yoğun olarak görülmekte (191).



Resim 12. Hafif yoğunlukta osteoklastların histolojik görünümü
(Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)



Resim 13. Yoğun düzeyde osteoklastların histolojik görünümü
(Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)

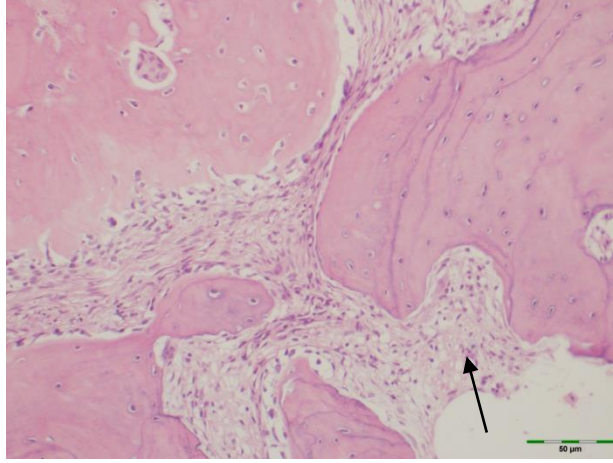
Fibrosiz skorlaması:

0→yok

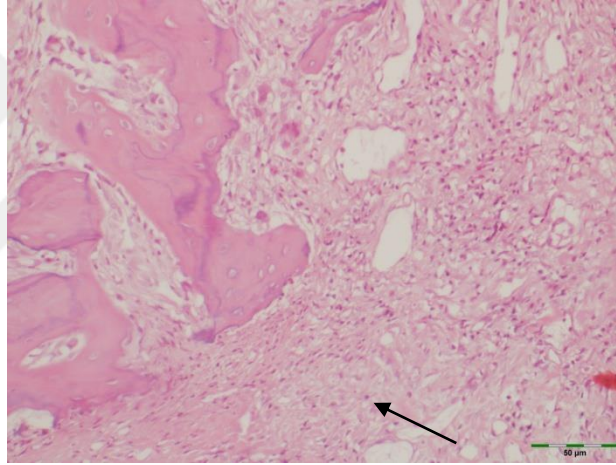
1→hafif yoğunlukta

2→orta yoğunlukta

3→şiddetli yoğunlukta görülmekte (192).



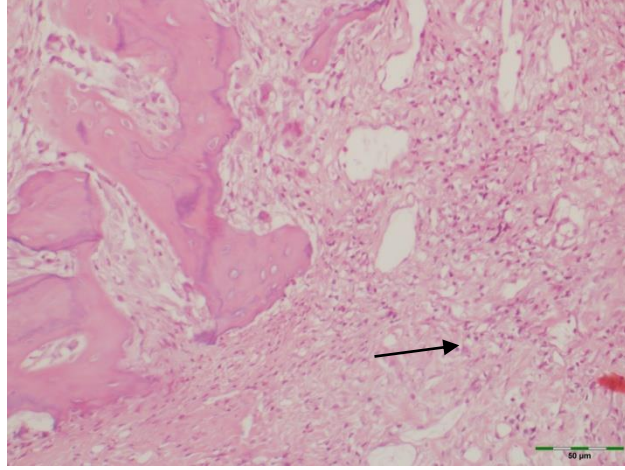
Resim 14. Orta yoğunlukta fibrozisin histolojik görünümü
(Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)



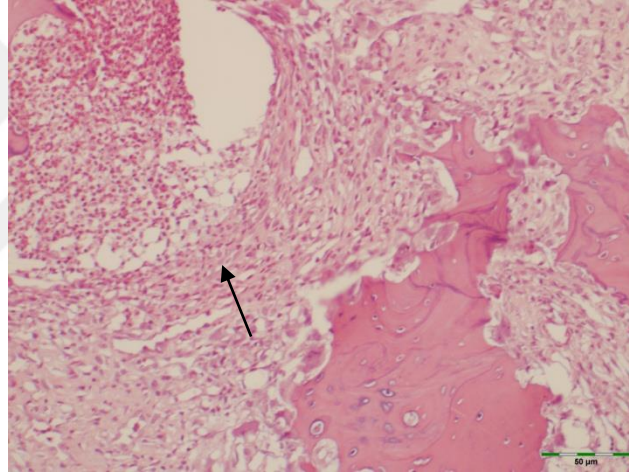
Resim 15. Kontrol grubuna ait şiddetli yoğunlukta fibrozisin histolojik görünümü
(Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)

İnflamasyon skorlaması:

- 1 → hafif derecede inflamasyon
- 2 → orta derecede inflamasyon
- 3 → yoğun derecede inflamasyon (193).



Resim 16. Orta derecede inflamasyonun histolojik görünümü
(Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)



Resim 17. Yoğun derecede inflamasyonun histolojik görünümü
(Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)

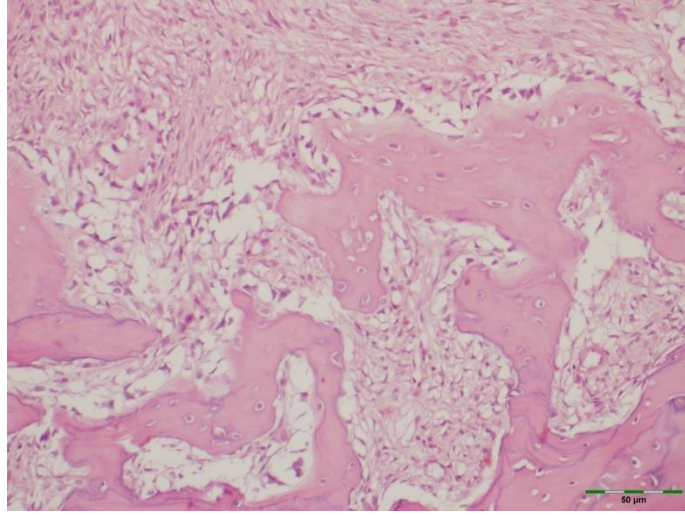
Anjiyogenezis skorlaması:

0→artış yok

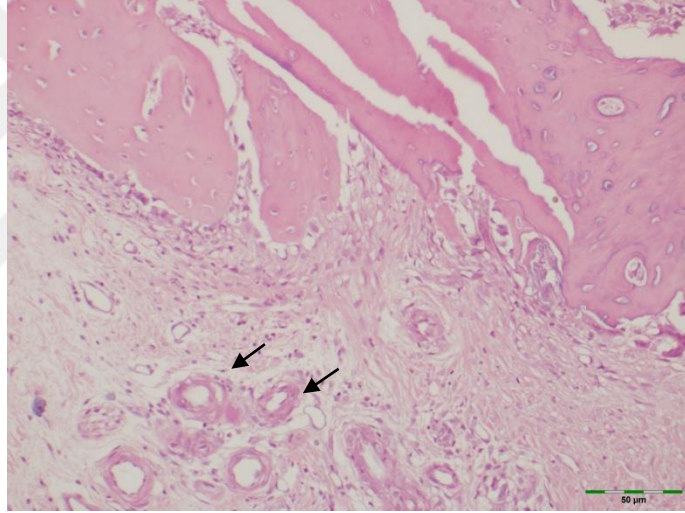
1→hafif derecede artış

2→orta derecede artış

3→şiddetli derecede artış (194).



Resim 18. Hafif derecede artış gösteren anjiyogenezisin histolojik görünümü
(Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)

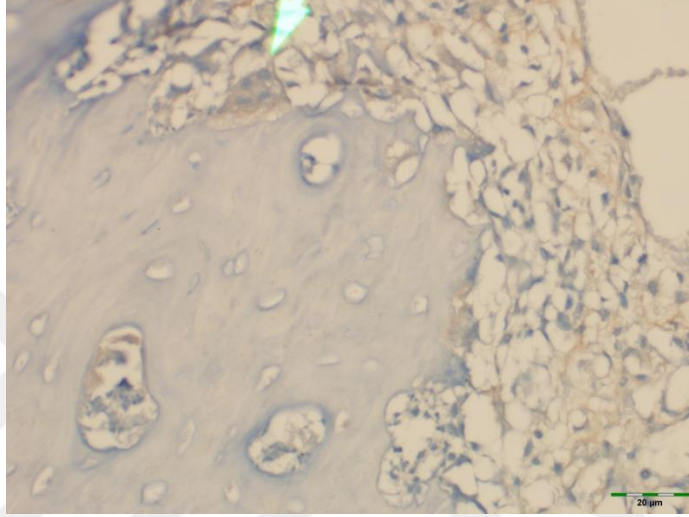


Resim 19. Şiddetli derecede artış gösteren anjiyogenezisin histolojik görünümü
(Hemotoksilen Eozin-20x büyütme)

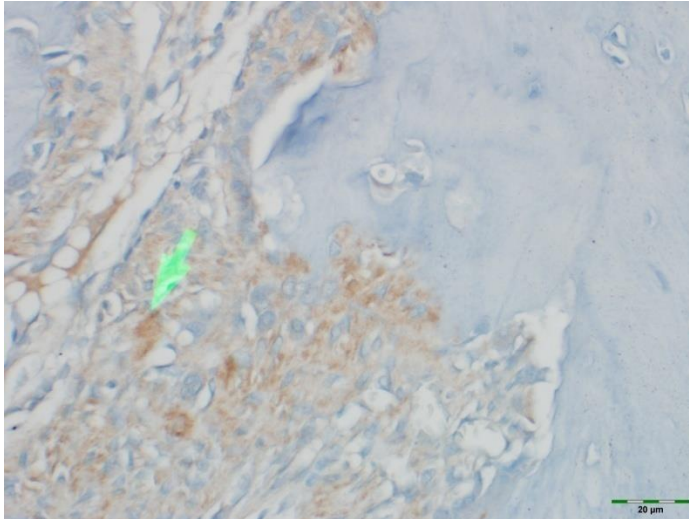
4.4. İmmünohistokimyasal Analiz

Ratların alveolar kemik dokusunda RANKL ve OPG immüno-reaktivitelerini belirlemek için bir avidin-biyotin-peroksidaz kompleksine ait prosedür uygulandı. Poli L lizin ile 5 µm kalınlığında doku kesitleri hazırlandı. Parafinden arındırılmış kesitler Ventana XT otomatik boyama cihazında 1/200 seyreltilmiş primer antikorlar RANKL (sc-377079) ve OPG (sc-390518) Rat Poliklonal IgG Antikorları(Santa

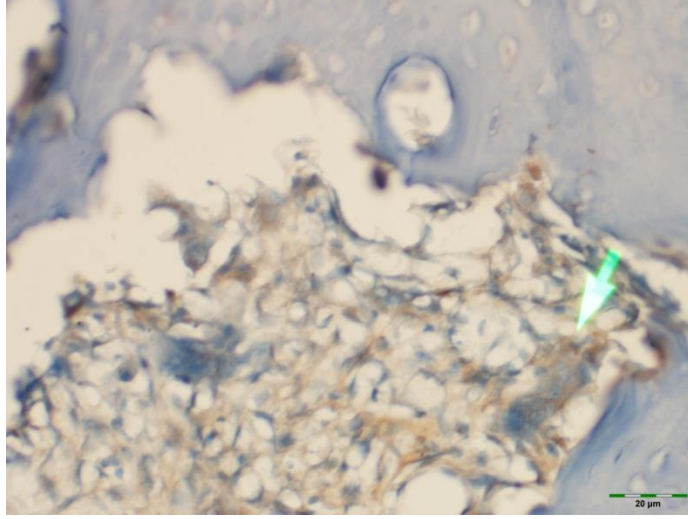
Cruz Biotechnology, Santa Cruz, California, ABD) ile boyandı. Boyanan kesitlerdeki dokular ışık mikroskobu (Olympus, BX51-Japonya) ile incelendi. İmmünohistokimyasal analiz için skorum boyamanın yoğunluğu esas alınarak oluşturuldu. Yoğunluk 0→ yok, +0.5→ çok az yoğun, +1→ az yoğun, +2→ orta yoğunlukta, +3→ şiddetli yoğunlukta olacak şekilde skorlandı (195).



Resim 20. Az yoğunluklu RANKL boyamasının immünohistokimyasal görünümü
(40x büyütme)



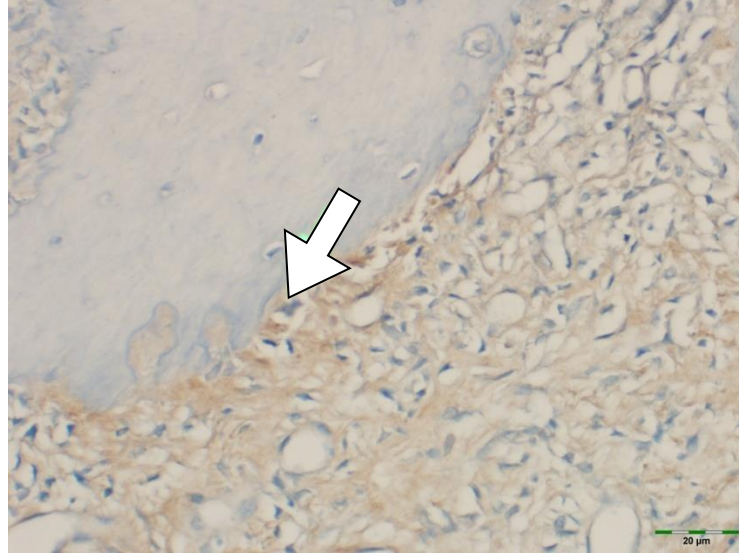
Resim 21. Orta yoğunluklu RANKL boyamasının immünohistokimyasal
görünümü (40x büyütme)



Resim 22. Şiddetli yoğunluklu RANKL boyamasının immünohistikimyasal görünümü (40x büyütme)



Resim 23. Orta yoğunlukta OPG boyamasının immünohistokimyasal görünümü (20x büyütme)



Resim 24. Şiddetli yoğunlukta OPG boyamasının immünohistokimyasal görünümü
(20x büyütme)

4.5. Biyokimyasal Analiz

Alınan kan örnekleri biyokimya tüpüne aktarılarak 3000 devirde 10 dakika sentrifüj edilip serum elde edildi. Elde edilen serumlar analiz edilinceye kadar -80 °C’de muhafaza edildi. Biyokimyasal analizin tamamı Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı’nda gerçekleştirildi. Serum örneklerinden Ca, P, ALP, ALT ve AST değerlerine otoanalizör cihazında (Advia 2400 Siemens) bakıldı. CTX değerleri, ELISA yöntemi ile ticari kit (Andygene, AD1903Ra, China) kullanılarak tespit edildi. Ölçülen değerler ng/mL cinsinden kaydedildi. CTX için sensitivite 5.0 ng/mL, intra-assay CV <%8 ve inter-assay CV < %10 idi. Osteokalsin değerleri de ELISA yöntemi için üretilen ticari kit (Andygene, AD1613Ra, China) kullanılarak tespit edildi ve ölçümler ng/mL cinsinden kaydedildi. Osteokalsin için sensitivite 0,01 ng/mL, intra-assay CV <%8 ve inter-assay CV <%10 idi.

4.6.İstatistiksel İncelemeler

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanıldı. Parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro Wilks testleri ile değerlendirilmiştir. Niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Oneway Anova testi ve farklılığa neden çıkan grubun tespitinde Tukey HDS testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Dunn's testi kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Ki-Kare testi ve Fisher Freeman Halton testi kullanıldı. Anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

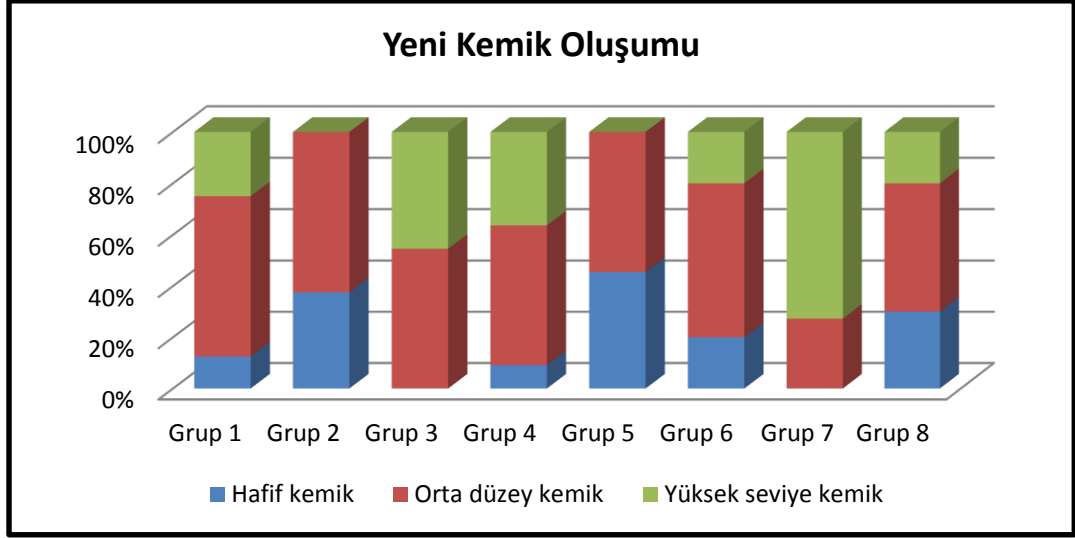
5. BULGULAR

Çalışmamız grup 1 (sağlıklı grup), grup 2 (kontrol grubu), grup 3 (lazer grubu), grup 4 (E vitamini grubu), grup 5 (pentoksifilin grubu), grup 6 (lazer-pentoksifilin grubu), grup 7 (lazer- E vitamini grubu) ve grup 8 (pentoksifilin- E vitamini grubu) olmak üzere 8 grup üzerinden yürütülmüştür.

Tablo 3.Grupların yeni kemik oluşumu düzeyleri açısından değerlendirilmesi

	Grup 1 (n=8)	Grup 2 (n=8)	Grup 3 (n=11)	Grup 4 (n=11)	Grup 5 (n=11)	Grup 6 (n=10)	Grup 7 (n=11)	Grup 8 (n=10)	p
Yeni kemik oluşumu	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Hafif kemik	1 (%12,5)	3 (%37,5)	0 (%0)	1 (%9,1)	5 (%45,5)	2 (%20)	0 (%0)	3 (%30)	0,016*
Orta düzey kemik	5 (%62,5)	5 (%62,5)	6 (%54,5)	6 (%54,5)	6 (%54,5)	6 (%60)	3 (%27,3)	5 (%50)	
Yüksek seviye kemik	2 (%25)	0 (%0)	5 (%45,5)	4 (%36,4)	0 (%0)	2 (%20)	8 (%72,7)	2 (%20)	
<i>Ki-kare test</i>		* <i>p</i> <0.05							

Gruplar arasında yeni kemik oluşumu düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p=0.016$; $p<0.05$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan değerlendirmeler sonucunda; Grup 7’de yüksek seviye kemik oluşumu görülme oranı, Grup 2, Grup 5, Grup 6 ve Grup 8’den anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p_1:0.002$, $p_2:0.000$; $p_3:0.033$; $p_4:0.027$; $p<0.05$). Grup 3’de yüksek seviye kemik oluşumu görülme oranı, Grup 2 ve Grup 5’ten anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p_1:0.014$, $p_2:0.005$; $p<0.05$). Grup 4’te yüksek seviye kemik oluşumu görülme oranı, Grup 2 ve Grup 5’ten anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p_1:0.034$, $p_2:0.036$; $p<0.05$). Diğer gruplar arasında yeni kemik oluşumu düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo3, Şekil 10).



Şekil 10. Grupların yeni kemik oluşumu düzeyinin grafik ile gösterilmesi.

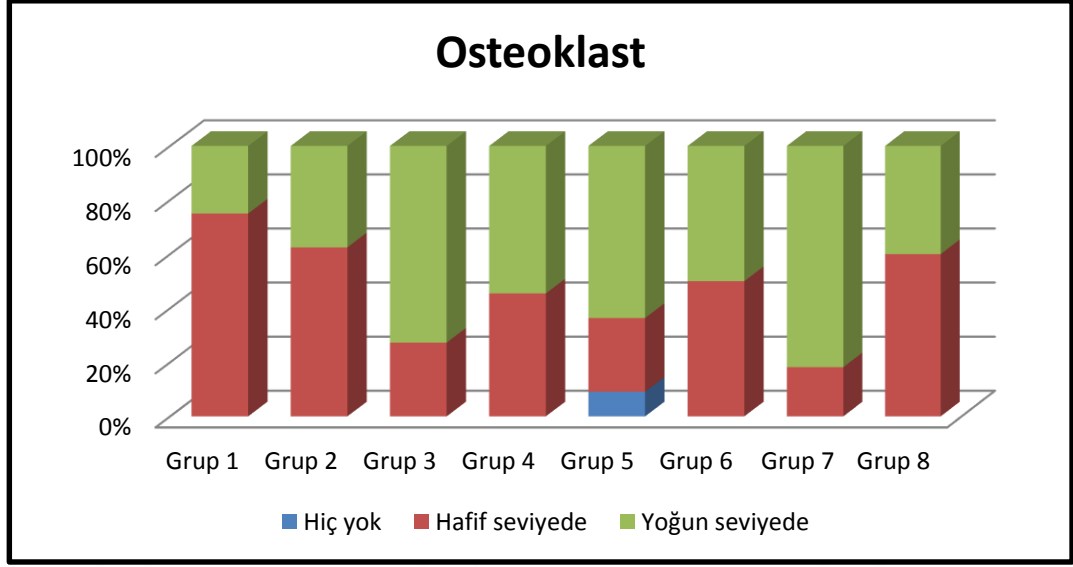
Tablo 4. Grupların osteoklast ve osteoblast düzeyleri açısından değerlendirilmesi

	Grup 1 (n=8)	Grup 2 (n=8)	Grup 3 (n=11)	Grup 4 (n=11)	Grup 5 (n=11)	Grup 6 (n=10)	Grup 7 (n=11)	Grup 8 (n=10)	p
Osteoklast									
Hiç yok	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%9,1)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	¹ 0,265
Hafif seviyede	6 (%75)	5 (%62,5)	3 (%27,3)	5 (%45,5)	3 (%27,3)	5 (%50)	2 (%18,2)	6 (%60)	
Yoğun seviyede	2 (%25)	3 (%37,5)	8 (%72,7)	6 (%54,5)	7 (%63,6)	5 (%50)	9 (%81,8)	4 (%40)	
Osteoblast									
Hafif seviyede	1 (%12,5)	2 (%25)	1 (%9,1)	2 (%18,2)	6 (%54,5)	2 (%20)	0 (%0)	4 (%40)	² 0,065
Yoğun seviyede	7 (%87,5)	6 (%75)	10 (%90,9)	9 (%81,8)	5 (%45,5)	8 (%80)	11 (%100)	6 (%60)	

¹Ki-kare test

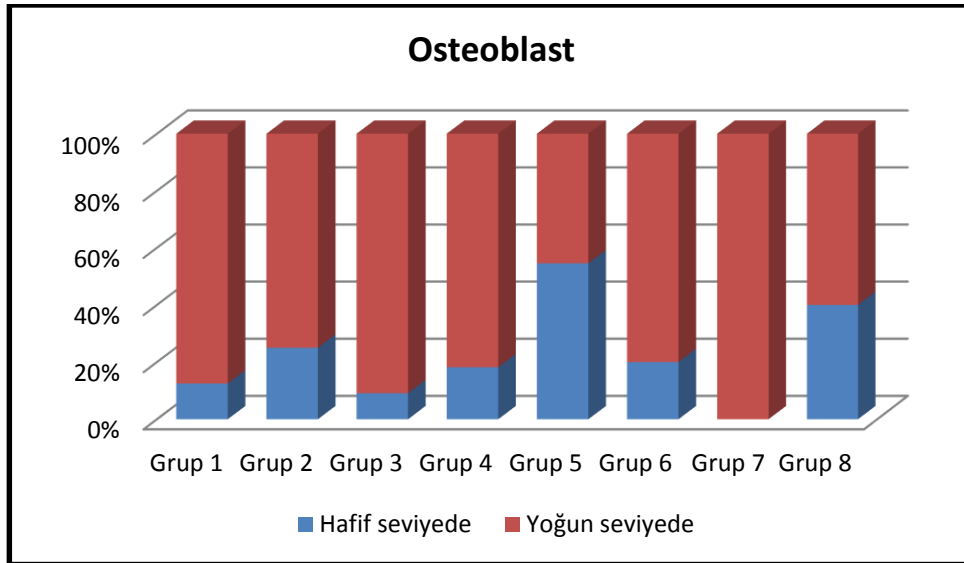
²FisherFreemanHalton test

Gruplar arasında osteoklast düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.265$; $p>0.05$). Grup 1'in %25'inde, Grup 2'nin %37.5'inde, Grup 3'ün %72.7'sinde, Grup 4'ün %54.5'inde, Grup 5'in %63.6'sında, Grup 6'nın %50'sinde, Grup 7'nin %81.8'inde, Grup 8'in %40'ında yoğun seviyede osteoklast oluşumu görülmüştür (Tablo 4, Şekil 11).



Şekil 11. Grupların osteoklast düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.

Gruplar arasında osteoblast düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.065$; $p>0.05$). Grup 1'in %87.5'inde, Grup 2'nin %75'inde, Grup 3'ün %90.9'unda, Grup 4'ün %81.8'inde, Grup 5'in %45.5'inde, Grup 6'nın %80'inde, Grup 7'nin %100'ünde, Grup 8'in %60'ında yoğun seviyede osteoblast oluşumu görülmüştür (Tablo 4, Şekil 12).

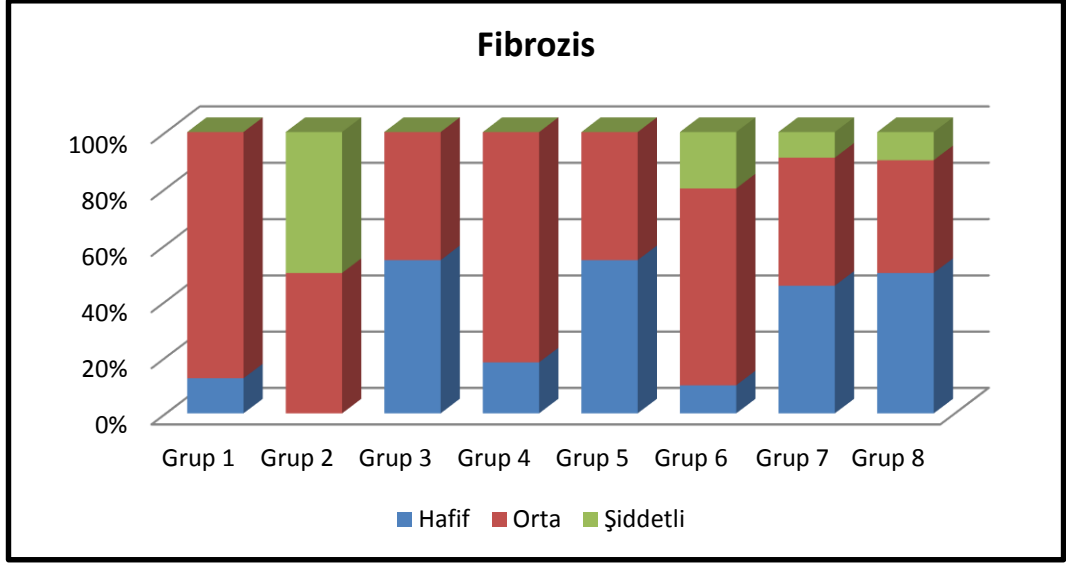


Şekil 12. Grupların osteoblast düzeylerinin grafik ile incelenmesi.

Tablo 5.Grupların fibrozis, enflamasyon ve anjiyogenezi düzeyleri açısından değerlendirilmesi

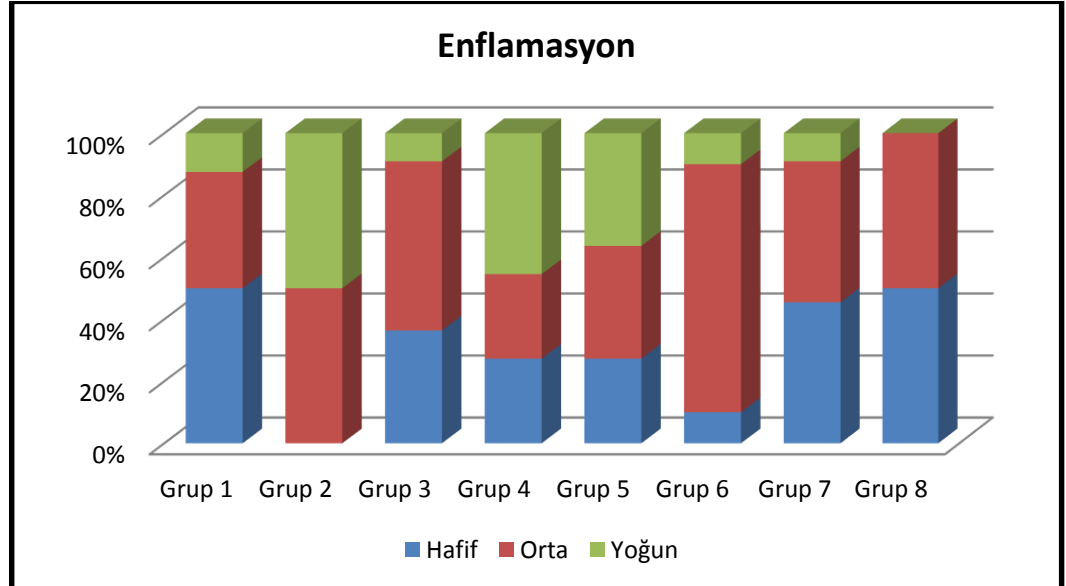
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6	Grup 7	Grup 8	
	(n=8)	(n=8)	(n=11)	(n=11)	(n=11)	(n=10)	(n=11)	(n=10)	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	p
Fibrozis									
Hafif	1 (%12,5)	0 (%0)	6 (%54,5)	2 (%18,2)	6 (%54,5)	1 (%10)	5 (%45,5)	5 (%50)	0,003*
Orta	7 (%87,5)	4 (%50)	5 (%45,5)	9 (%81,8)	5 (%45,5)	7 (%70)	5 (%45,5)	4 (%40)	
Şiddetli	0 (%0)	4 (%50)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	2 (%20)	1 (%9,1)	1 (%10)	
Enflamasyon									
Hafif	4 (%50)	0 (%0)	4 (%36,4)	3 (%27,3)	3 (%27,3)	1 (%10)	5 (%45,5)	5 (%50)	0,068
Orta	3 (%37,5)	4 (%50)	6 (%54,5)	3 (%27,3)	4 (%36,4)	8 (%80)	5 (%45,5)	5 (%50)	
Yoğun	1 (%12,5)	4 (%50)	1 (%9,1)	5 (%45,5)	4 (%36,4)	1 (%10)	1 (%9,1)	0 (%0)	
Anjiyogenezi									
Hafif	4 (%50)	0 (%0)	4 (%36,4)	3 (%27,3)	3 (%27,3)	1 (%10)	5 (%45,5)	5 (%50)	0,068
Orta	3 (%37,5)	4 (%50)	6 (%54,5)	3 (%27,3)	4 (%36,4)	8 (%80)	5 (%45,5)	5 (%50)	
Yoğun	1 (%12,5)	4 (%50)	1 (%9,1)	5 (%45,5)	4 (%36,4)	1 (%10)	1 (%9,1)	0 (%0)	
<i>Ki-kare test</i>			<i>*p<0.05</i>						

Gruplar arasında fibrozis düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p:0.003; p<0.05). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan değerlendirmeler sonucunda; Grup 2’de şiddetli fibrozis görülme oranı, Grup 1, Grup 3, Grup 4, Grup 5, Grup 7 ve Grup 8’den anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (p₁:0.045, p₂:0.003; p₃:0.018; p₄:0.003; p₅:0.043; p₆:0.044; p<0.05). Diğer gruplar arasında fibrozis düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0.05) (Tablo 5, Şekil 13).



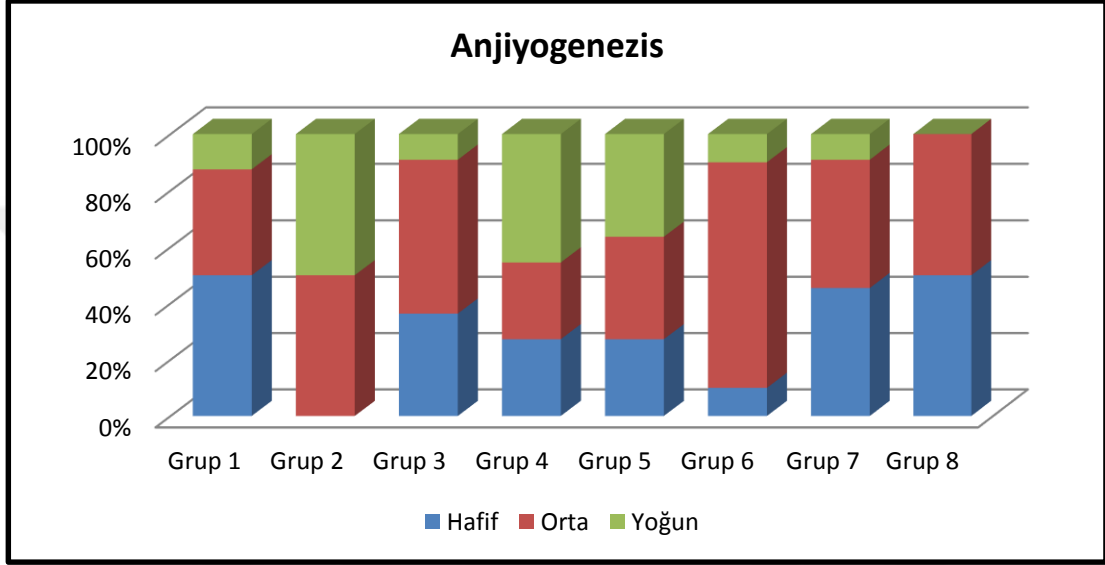
Şekil 13. Grupların fibrozis düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.

Gruplar arasında enflamasyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.068$ $p>0.05$). Grup 1'in %12.5'inde, Grup 2'nin %50'inde, Grup 3'ün %9.1'inde, Grup 4'ün %45.5'inde, Grup 5'in %36.4'ünde, Grup 6'nın %10'unda, Grup 7'nin %9.1'inde, Grup 8'in %0'ında yoğun seviyede enflamasyon görülmüştür (Tablo 5, Şekil 14).



Şekil 14. Grupların enflamasyon düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.

Gruplar arasında anjiyogenezis düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.068$ $p>0.05$). Grup 1'in %12.5'inde, Grup 2'nin %50'inde, Grup 3'ün %9.1'inde, Grup 4'ün %45.5'inde, Grup 5'in %36.4'ünde, Grup 6'nın %10'unda, Grup 7'nin %9.1'inde, Grup 8'in %0'ında yoğun seviyede anjiyogenezis görülmüştür (Tablo 5, Şekil 15).



Şekil 15. Grupların anjiyogenezis düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.

Tablo 6. Grupların RANKL ve OPG boyanma düzeyleri açısından değerlendirilmesi

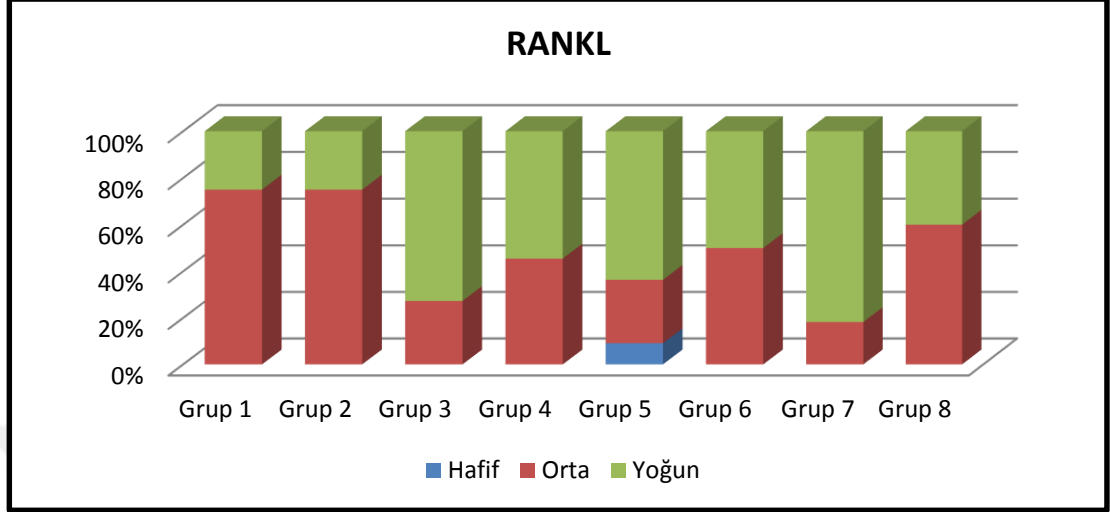
	Grup 1 (n=8)	Grup 2 (n=8)	Grup 3 (n=11)	Grup 4 (n=11)	Grup 5 (n=11)	Grup 6 (n=10)	Grup 7 (n=11)	Grup 8 (n=10)	p
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
RANKL									
Hafif	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%9,1)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	¹ 0,176
Orta	6 (%75)	6 (%75)	3 (%27,3)	5 (%45,5)	3 (%27,3)	5 (%50)	2 (%18,2)	6 (%60)	
Yoğun	2 (%25)	2 (%25)	8 (%72,7)	6 (%54,5)	7 (%63,6)	5 (%50)	9 (%81,8)	4 (%40)	
OPG									
Orta	1 (%12,5)	3 (%37,5)	1 (%9,1)	2 (%18,2)	6 (%54,5)	2 (%20)	0 (%0)	4 (%40)	² 0,054
Yoğun	7 (%87,5)	5 (%62,5)	10 (%90,9)	9 (%81,8)	5 (%45,5)	8 (%80)	11 (%100)	6 (%60)	

¹Ki-kare test

²FisherFreemanHalton test

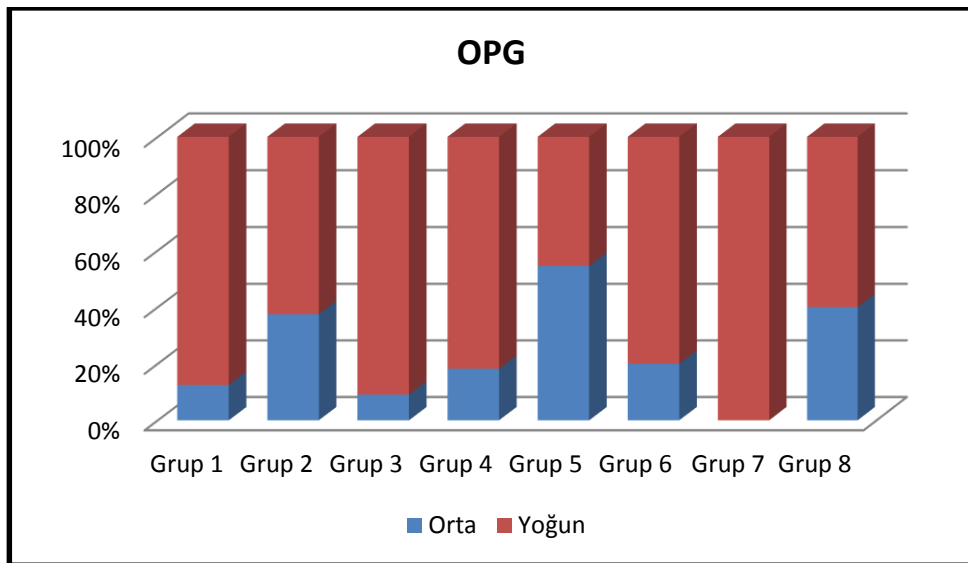
Gruplar arasında RANKL boyanma düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.176$; $p>0.05$). Grup 1'in %25'inde, Grup 2'nin %25'inde, Grup 3'ün %72.7'sinde, Grup 4'ün %54.5'inde, Grup 5'in

%63.6'sında, Grup 6'nın %50'sinde, Grup 7'nin %81.8'inde, Grup 8'in %40'ında yoğun seviyede RANKL boyanması görülmüştür (Tablo 6, Şekil 16).



Şekil 16. Grupların RANKL boyama düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.

Gruplar arasında OPG boyanma düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.054$; $p>0.05$). Grup 1'in %87.5'inde, Grup 2'nin %62.5'inde, Grup 3'ün %90.9'unda, Grup 4'ün %81.8'inde, Grup 5'in %45.5'inde, Grup 6'nın %80'inde, Grup 7'nin %100'ünde, Grup 8'in %60'ında yoğun seviyede OPG boyanması görülmüştür (Tablo 6, Şekil 17).



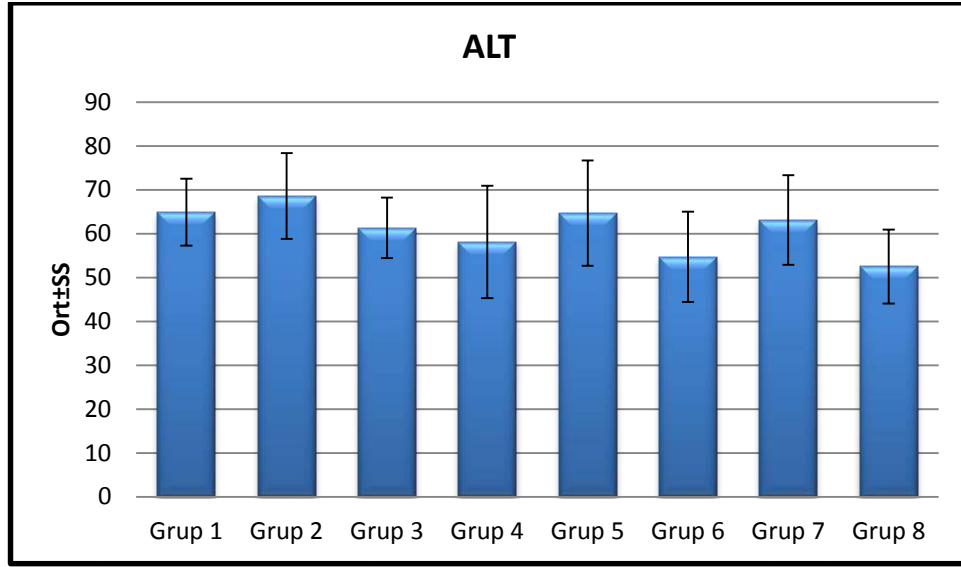
Şekil 17. Grupların OPG boyama düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.

Tablo 7.Grupların biyokimyasal parametreler açısından değerlendirilmesi

	AST	ALT	ALP	Ca	P
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS
Grup 1	233.9±34.1	64.9±7.6	171±85.0	10.4±0.8	7.1±0.6
Grup 2	288,8±75,7	68,6±9,8	115,4±35	10,6±1,5	6,3±1
Grup 3	248,1±54,7	61,3±6,9	119,2±53,8	9,7±1,0	5,4±0,7
Grup 4	277,7±68,2	58,1±12,8	105,8±33,4	10,1±0,8	5,7±0,7
Grup 5	269,2±66,4	64,7±12	107,5±28	10,1±1,3	5,6±1
Grup 6	243,7±48,2	54,7±10,3	90,4±25,1	10,1±0,9	5,9±0,7
Grup 7	280,5±76	63,1±10,2	108,6±31,5	10,2±1,4	6,4±0,9
Grup 8	215,7±32,1	52,5±8,4	99,6±32,8	8,8±0,8	5,6±0,7
p	0,104	0,012*	0,014*	0,031*	0,000*
<i>Oneway ANOVA Test</i>		<i>*p<0.05</i>			

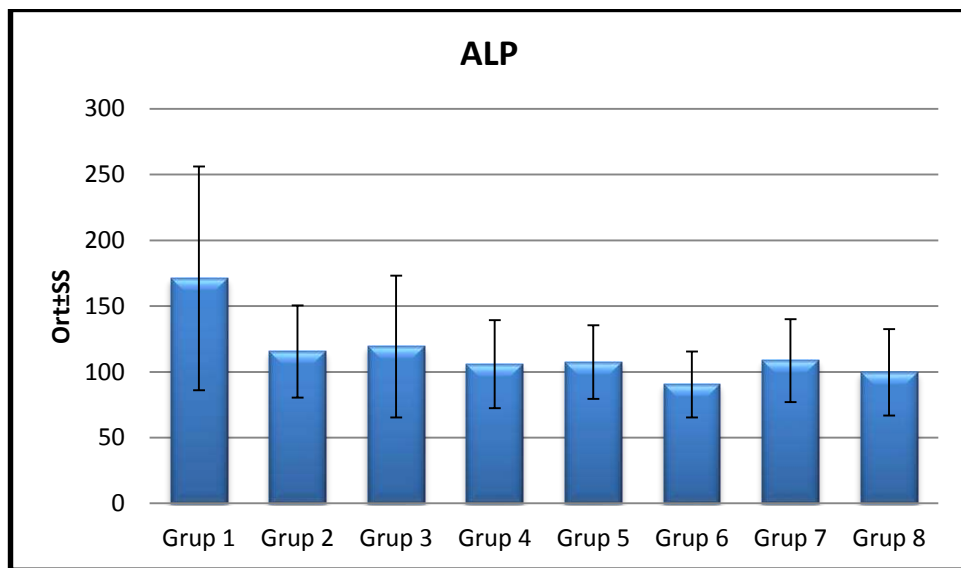
Gruplar arasında AST düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p:0.104; p>0.05) (Tablo7).

Gruplar arasında ALT düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p:0.012; p<0.05).Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan Tukey HSD test sonucunda; Grup 2'nin ALT düzeyi, Grup 8'den anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p:0.024; p<0.05). Diğer gruplar arasında ALT düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0.05) (Tablo 7, Şekil 18).



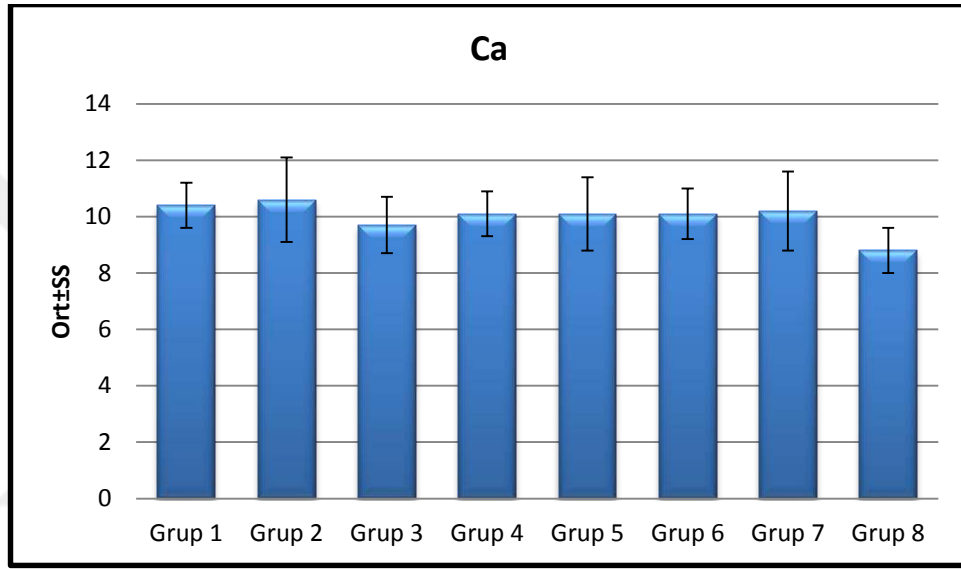
Şekil 18. Grupların serum ALT düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.

Gruplar arasında ALP düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.012$; $p<0.05$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan Tukey HSD test sonucunda; Grup 1'in ALP düzeyi, Grup 4, Grup 5, Grup 6, Grup 7 ve Grup 8'den anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p_1:0.033$, $p_2:0.042$; $p_3:0.004$; $p_4:0.049$; $p_5:0.017$; $p<0.05$). Diğer gruplar arasında ALP düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo 7, Şekil 19).



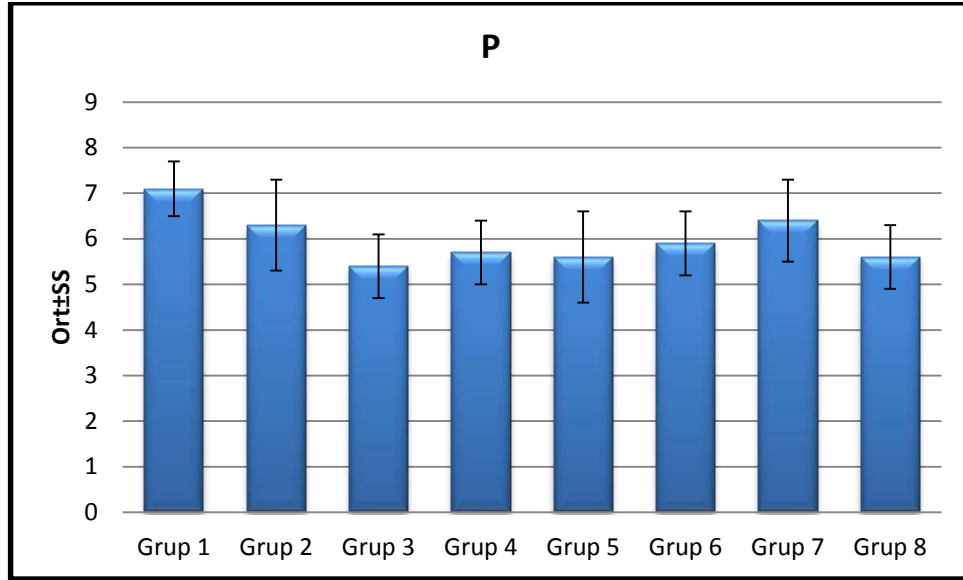
Şekil 19. Grupların serum ALP düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.

Gruplar arasında kalsiyum düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.031$; $p<0.05$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan Tukey HSD test sonucunda; Grup 2'nin kalsiyum düzeyi, Grup 8'den anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p:0.021$; $p<0.05$). Diğer gruplar arasında kalsiyum düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo 7, Şekil 20).



Şekil 20. Grupların serum Ca düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.

Gruplar arasında fosfor düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.000$; $p<0.05$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan Tukey HSD test sonucunda; Grup 1'in fosfor düzeyi, Grup 3, Grup 4, Grup 5, Grup 6 ve Grup 8'den anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p_1:0.001$, $p_2:0.008$; $p_3:0.002$; $p_4:0.033$; $p_5:0.003$; $p<0.05$). Diğer gruplar arasında fosfor düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo 7, Şekil 21).



Şekil 21. Grupların serum P düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.

Tablo 8. Grupların CTX ve osteokalsin açısından değerlendirilmesi

	CTX	Osteokalsin
	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)
Grup 1	382,8±210,5 (356,4)	12,1±6,4 (10,2)
Grup 2	228,2±61,8 (244,8)	7,9±3,8 (7,7)
Grup 3	469,8±315,1 (567,7)	13,7±5,4 (12,6)
Grup 4	358,3±216,9 (290,1)	12,2±7,5 (11,1)
Grup 5	299,3±252,4 (170,1)	15,5±8 (12)
Grup 6	283,1±217,4 (223,7)	21,6±14,4 (16,6)
Grup 7	422,3±281,6 (350,7)	21,4±10,6 (17,1)
Grup 8	395±256 (374)	12,7±4,7 (12,7)
p	0,486	0,013*

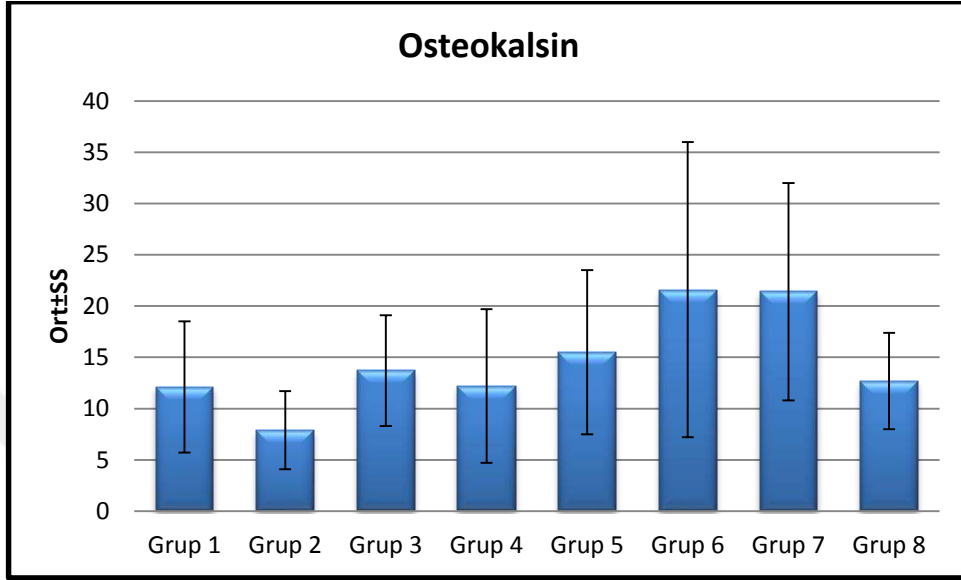
Kruskal Wallis Test

* $p < 0.05$

Gruplar arasında CTX düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.486$; $p > 0.05$) (Tablo 8).

Gruplar arasında osteokalsin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.013$; $p < 0.05$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan Dunn'testisi sonucunda; Grup 2'nin osteokalsin düzeyi, Grup 3, Grup 5, Grup 6 ve Grup 7'den anlamlı şekilde düşük bulunmuştur

($p_1:0.038$, $p_2:0.014$; $p_3:0.003$; $p_4:0.007$; $p<0.05$). Diğer gruplar arasında osteokalsin düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo 8, Şekil 22).



Şekil 22. Grupların serum osteokalsin düzeylerinin grafik ile gösterilmesi.

6.TARTIşMA

Kemik dokusu; yapısal olarak iç organları korumak, kas ve eklemlere destek olarak vücudun hareketini sağlamak, yapısındaki kemik iliği sayesinde kan üretimine yardımcı olmak, çeşitli uyarılara cevap vermek gibi birçok görevi üstlenen özelleşmiş bağ dokusudur. Bu özelleşmiş bağ dokusunun moleküler yapısının çoğunluğunu tip 1 kollajenden oluşan organik kısım ve kalsiyum fosfor gibi minerallerden oluşan hidroksiapatitin bulunduğu inorganik kısım oluşturmaktadır (196). Kalsiyum; iskelet sisteminin oluşması, güçlenmesi, kan pıhtılaşması, sinir iletiminin gerçekleşmesi gibi birçok göreve sahip temel minerallerden biridir. Kalsiyum en fazla kemik dokuda bulunurken az bir kısmı dış, kan ve yumuşak dokuda yer almaktadır(26, 27). Fosfor; protein sentezlenmesi, enerji üretimi ve hücre büyümesi gibi birçok göreve sahip olan, kemik ve dişin yapısına katılan, kemikte kalsiyumdan sonra en fazla bulunan mineraldir (28, 29).

Yaşam boyunca kemik dokusunda osteoblast ve osteoklastların oluşturduğu yapım ve yıkım dengesi (remodeling) mevcuttur (196). Bu dengeyi etkileyen sistemik ve lokal faktörler bulunmaktadır. Sistemik faktörler; genetik, mekanik, vasküler, beslenme, hormonlar (tiroid hormonu, paratiroid hormonu, kalsitonin, D vitamini, androjen, östrojen, progesteron, insülin, glukokortikoid ve büyüme hormonları) iken lokal faktörler; büyüme faktörleri, sitokinler ve kemik matriks proteinleridir (35).

Kemik yapım ve yıkımında bakılacak biyokimyasal belirteçler metabolik kemik hastalıklarının tanı ve tedavi takibi için önemlidir. Kemik yapım ve yıkımını gösteren belirteçlerden bazıları; total ALP, kemik ALP, osteokalsin, kemik

sialoprotein, osteonektin, tartarat dirençli asit fosfataz, hidroksiprolin, pridinolin, deoksiprinidolin, N-terminal telopeptid, CTX'tir (64).

Karaciğer enzimlerinden ALT ve AST hepatositler tarafından üretilirken, ALP safra kanal epitelyum hücreleri tarafından üretilir fakat bu enzimlerin üretimi karaciğere özgü değildir. ALT ve AST kalp kası ve iskelet kasında sentezlenir. ALP bağırsak epiteli ve kemikte sentezlenir (197). ALT, karaciğer hasarının gözlenmesinde en fazla yararlanılan testtir. Karaciğer hücrelerinin sitoplazmasında bulunur ve çoğunlukla protein sentezinde kullanılarak karaciğer hasarının belirlenmesinde görev alır. Karaciğer hasarının olması durumunda ALT değeri yükselir. AST, karaciğer hasarının belirlenmesinde ALT ile birlikte kullanılır (198).

Osteokalsin; osteoblastlar tarafından sentezlenen, kemik metabolizmasının değerlendirilmesinde kullanılan spesifik bir belirleyicidir. Kemik yapım markeri olarak da bilinmektedir. Kemikte kollajen olmayan proteinler arasında en fazla bulunanıdır. Serum osteokalsin düzeyi yüksek kemik dönüşümü ile karakterize durumlarda artmaktadır (66).

CTX; ilaç kullanımına bağlı osteonekroz oluşum riskinin belirlenmesi, tedavi protokollerinin değerlendirilmesi gibi kemik yapım ve yıkımını göstermek amacıyla kullanılan belirteçtir. CTX değerinin <150-200 pg/ml olması osteonekroz gelişimi için riskli olarak kabul edilmiştir fakat bu konuda fikir birliğine varılmamış olması birçok çalışma yapılmasına neden olmuştur (199).

Kemik remodelinginde meydana gelen anormallikler iskeletsel bozukluklar, periodontal hastalıklar, osteoporoz, hiperparatiroidizm, Paget hastalığı, osteopetrozis gibi klinik tablolara neden olmaktadır (35). Osteoporoz, osteolitik kemik metastazları, Paget hastalığı, hiperparatiroidizm gibi hastalıkların tedavisinde

antirezoptif özelliklerinden dolayı uzun yıllardır bifosfonatlar tercih edilmektedir (200). Bifosfonatlar oral ve intravenöz olarak kullanım şekillerine sahiptir. Osteoporoz ve osteopeni gibi hastalıkların tedavisinde oral bifosfonatlar tercih edilirken, malign hastalıkların kemik metastazında ve multiple myelom gibi hastalıklarda intravenöz bifosfonatlar tercih edilmektedir (201). Bifosfonatlar nitrojen içeren ve nitrojen içermeyen olarak sınıflandırılmaktadır. Nitrojen içerikli bifosfonatlar içermeyenlere göre daha güçlülerdir ve osteoklastlarda maksimum konsantrasyonlarda bulunurlar (202).

Zoledronik asit nitrojen içerikli ve intravenöz yolla alınan bifosfonat türüdür. Hidroksiapatite afinitesi yüksek olduğu için direkt olarak kemiğe bağlanır. En yaygın kullanım alanına ve potens değerine sahip olan bifosfonattır (203). Zoledronik asit tedavisinin ardından halsizlik, anemi, kas ağrıları, ateş, bacaklarda ödem, hepatotoksisite, böbrek yetmezliği, hipokalsemi, çene kemiklerinde görülen nekroz tespit edilen yan etkilerdir (110, 111). Osteonekrozun çene kemiklerinde diğer iskelet sistemindeki kemiklere göre görülme sıklığı 100 kat daha fazladır. Bu durumun nedenleri diğer kemiklere göre görülen remodelasyon hızının fazla olması, oral ve dış ortamın sürekli ilişki halinde olması, travmaya yatkınlığı ve vaskülarizasyonudur (204, 205).

Medikal geçmişinde bifosfonat kullanmış yada kullanmakta olan, baş ve boyun bölgesinden radyoterapi almamış hastalarda maksillofasiyal alanda sekiz haftadan daha uzun süre ekspoz nekroz kemik varlığıyla karakterize olan durum 2009 yılında AAOMS tarafından BRONJ olarak tanımlanmıştır ve BRONJ tablosunun çok görülmesiyle birlikte 2014 yılında AAOMS; BRONJ tanımlamasını MRONJ olarak güncellenmiştir (3, 118).

MRONJ'un oluşumunda; lokal faktörler, eşlik eden hastalıklar ve kullanılan ilaç türü en önemli risk faktörleridir. MRONJ insidansının kullanılan ilaçların tipine, veriliş şekline, kullanım süresine, toplam alınan doza göre farklılık oluşturacağını gösteren birçok çalışma mevcuttur (118, 206-208). Oral biyoyararlanımının düşük olması ve eşit doz uygulamanın kolay olması sebebiyle intraperitoneal olarak zoledronik asit uygulamasının yapıldığı çalışmalar literatürde mevcuttur (209, 210). Bizim çalışmamız Aghaloo ve ark.'larının kullandığı doz, süre, uygulama şekline uygun ve Vem firmasının görüşleri doğrultusunda, 70 kg ağırlığındaki bir insanın ayda bir aldığı bifosfonat dozuna denk gelecek şekilde yapıldı.

MRONJ gelişimi açısından diş çekiminin yüksek risk içeren bir etken (%52-61) olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiş olup çeşitli hayvan çalışmalarıyla da desteklenmiştir. Diş çekimindeki riskin büyük olmasının ise dişe veya periodontal dokulara ait enfeksiyon nedeniyle olduğu belirtilmiştir. Ayrıca mandibulada maksillaya göre görülme sıklığı 2-3 kat daha fazla iken %4,5'inde her iki çenede de tutulum vardır(211).

Zoledronik asit kullanımı gün geçtikçe artış göstermektedir. Kullanımdaki bu artış MRONJ prevelansında da artışa yol açmaktadır. MRONJ bulgularıyla kliniğimize başvuran hastaların varlığı çalışmamız için motivasyon kaynağı olmuştur. Biz de çalışmamızda zoledronik asit kullanarak ve mandibular diş çekimi yaparak alveolar kemikte nekroz oluşturmayı amaçladık.

Kemik dokusuna ait iyileşme prosedürü ancak histopatolojik çalışmalarla tespit edilebilmektedir. Kemik dokudan biyopsi alınarak gerçekleştirilen bu çalışmaların insanlar üzerinde yapılmasının etik olmadığı ortaya konulmaktadır. Bu nedenle histopatolojik çalışmalar için deney hayvanları uygun bulunmaktadır (212).

Fare, rat, köpek, tavşan gibi hayvanlar denek olarak bu tür çalışmalarda tercih edilmiştir. Ratların immünitesinin insan immünitesine benzer olması, maliyetinin uygun olması, bakımlarının kolay olması nedeniyle biz de çalışmamızda rat tercih ettik. Dişi ratlarda siklus dönemine bağlı olarak gerçekleşen hormonal değişikliğin kemik rejenerasyonunu etkilediğini gösteren çalışmalar mevcuttur (213). Hormonal değişikliklerden kemik yapım ve yıkımının etkilenmemesi için çalışmamızda erkek rat tercih edildi.

Ratlarda diş çekim soketindeki iyileşmenin histolojik olarak incelendiği çalışmalarda 3.günde soketin tamamen pıhtı ile dolduğu, 7. günde pıhtının bağ dokusuyla yer değiştiği, 14 ve 15. günde ise yeni kemik lamellerinin oluştuğu gösterilmiştir (214, 215). Erken dönem kemik oluşumunun izlenmesi için çalışmamızda diş çekiminin ardından 14. günde sakrifikasyon gerçekleştirildi.

Son yıllarda kemik formasyonu üzerinde yapılan çalışmalar TNF ailesine ait OPG, RANK ve RANKL olarak isimlendirilen birtakım sitokin grubu üzerinde yoğunlaşılmasına neden olmuştur. OPG ve RANKL osteoklast gelişiminde anahtar rol oynayan kemik mekanizması ile ilgili düzenleyicilerdir. Bu düzenlenyecilere serum, immünohistokimyasal ve genetik olarak invivo ve invitro çalışmalarda bakılabilmektedir (216). Bifosfonatların da etkinliğini osteoklast üzerinde göstermesinden ötürü çalışmamızda OPG ve RANKL yoğunluğu değerlendirildi.

MRONJ tedavisi zor olduğundan çeşitli yardımcı tedavi yöntemleri kullanılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Hiperbarik oksijen tedavisi, düşük doz lazer tedavisi, Lökosit ve Plateletten Zengin Fibrin (L-PRF) ve varyasyonları (Platelet Rich Fibrin (PRF), Plateletten Zengin Plazma (PRP) veya Lökosit-Plateletten Zengin Plazma (LPRP), ozon terapisi, florosan kılavuzlu cerrahi, teriparatid uygulanması,

rekombinant insan kemiği morfogenetik protein-2 (rhBMP-2), pentoksifilin ve E vitamini uygulanması MRONJ tedavisi için uygulanan yardımcı yöntemlerdir. Bu tedavilerin terapötik etkinliklerini karşılaştıran kapsamlı çalışmalar bulunmamaktadır (217).

Yukarıda sayılan yardımcı tedavi yöntemlerinden düşük doz lazer uygulaması, E vitamini ve pentoksifilinin etkinliklerini kendi içinde ve kombinasyonlarının etkinliklerini gösteren kapsamlı çalışma olmaması nedeniyle çalışmamızı bu şekilde yapmayı hedefledik. Bu kıyaslama ratlardan elde edilen serumdan biyokimyasal; kemik doku örneklerinden histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirildi.

Lazerin hasarlı dokuların rejenerasyonu için kullanımı ilk defa 1971 yılında Mester ve ark.'ları tarafından yapılmıştır. Fotobiyomodülasyon yani düşük doz lazer terapisi kavramı analjezi, doku iyileşmesi, sinir rejenerasyonu, antimikrobiyal ve biyostimlan özellikleri içerisinde barındıran nispeten yeni bir kavramdır. Lazerin dokular üzerindeki biyostimülasyon mekanizması tam olarak bilinmemektedir fakat hücrelerdeki fotoreseptörlerin lazeri absorbe etmesiyle başlayan reaksiyon zinciri mekanizma olarak kabul görmektedir. Absorbe edilen ışın ile mitokondrilerde adenzin trifosfat (ATP) oluşur. ATP retimi hücresel aktiviteyle birlikte hücre mitozunu da stimüle eder. Kılcal kan damarlarında vazodilatasyon, ödemin ve ağrının giderilmesi düşük doz lazer terapisinin diğer etkinlikleri arasında yer almaktadır (11). Hasarlı kemik doku üzerinde ise antibakteriyel özelliğe sahip olması, osteoblast sayısını ve etkinliğini arttırması ve organik matriksi genişletmek suretiyle yara yeri iyileşmesini hızlandırdığına dair çalışmalar mevcuttur. Düşük doz

lazer terapisinin bu özelliklere sahip olması MRONJ için de umut verici bir tedavi yöntemi olarak görülmesine neden olmaktadır.

Argon, karbondioksit, diyot, He: Ne ve Nd: YAG lazerler günümüzde biyostimülasyon için kullanılan lazerler arasındadır. Düşük doz lazer terapisinin bifosfonata bağlı gelişen osteonekroz üzerine etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada hastalar lezyon boyutu, ağrı, ödem, pü akışı, fistül varlığı ve ağız kokusu açısından değerlendirilmiştir. Diyot lazerle (904nm) yapılan biyostimülasyon (iki günde bir toplam 10seans) sonrasında bütün bulgularda istatistiksel olarak anlamlı derecede bir azalma tespit edilmiştir (218, 219).

E vitamini kimyasal yapılarındaki farklılığa göre alfa, beta, gama, delta tokoferol gibi isimlendirmeleri mevcuttur ve en aktif formu alfa tokoferoldür. Alfa tokoferolün en önemli özelliği ise lipitte çözünerek antioksidan etkiye sahip olmasıdır (174). Antioksidanların çeşitli mekanizmalarla kemik rezorpsiyonuna engel olduğu düşünülmektedir (220). E vitaminin aktif formlarından biri olan tokotriolün RANKL'ı inhibe ederek kemik rezorpsiyonuna engel olduğunu gösteren çalışmada kemik yıkımı ile karakterize kemik hastalıklarının tedavisi ve önlenmesi için terapötik değere sahip olabileceği gösterilmiştir (221).

Pentoksifilin kan akımını arttırarak dokunun oksijenlenmesini sağlayan fosfodiesteraz enzimini inhibe eden metilksantin türevi bir ilaçtır. Kan viskozitesini azaltmak, eritrosit miktarını arttırmak, nötrofil ve makrofaj üzerine etki ederek antienflamatuar özellikgösterdiği belirtilmiştir. Dokuda hipoksi ve benzeri bir hasar meydana geldiğinde enerji tüketimini en aza indirmek için ATP kaybına engel olur. Artan ATP hücre membran proteinlerinin stabilitesini sağlar. Pentoksifilin vazokonstrüksiyona ve trombosit agregasyonuna engel olur

(222).MRONJpatofizyolojisinde mikrosirkülasyonun bozulması, osteoblast, osteoklast ve kemik iliği stromal hücrelerinde oluşan toksisite, bakteriyel enfeksiyon, immünitinin ve TGF- β 1 yolağında meydana gelen bozulma yer almaktadır.Fosfodiesteraz inhibitörlerinin kan akımını artırdığı böylece hasarlı alanın beslenmesini düzenlendiğini, TGF- β 1 sinyallerini düzenlediğini, antifibrotik etki göstererek tedavi edici ve önleyici etkinliğinin olduğu gösterilmiştir (223). Pentoksifilin kullanımının MRONJ oluşumuna engel olması amacıyla profilaktik olarak kullanımının olumlu sonuçlarını gösteren literatür de mevcuttur (224).

Literatür taramaları sonucunda biz de çalışmamızda GaAlAs diyot lazer (940nm) 1.5 Watt 10 saniye süreyle 3 cm²'lik alanı kaplayacak şekilde handspace dış çekim soketinin izdüşümü olan bölgeye ekstraoral olarak konumlandırıldı. Fotobiyostimülasyonu dış çekiminin hemen ardından, 3, 5 ve 7. günlerde 5 j/cm²'lik güçte toplam 20 j/cm² olacak şekilde uygulandı. E vitamini verilen gruplardaki 20 mg/kg olan doz ayarlaması Türk ve ark.'larının yaptıkları çalışmaya uygun olarak; pentoksifilin verilen gruplarda ise Aydın ve ark.'larının yaptıkları çalışmaya uygun doz ayarlaması yapılarak günlük 50 mg/kg intraperitoneal ilaç enjeksiyonu yapıldı.

Kim ve ark.'larının osteonekroz modeli oluşturmak için yaptıkları çalışmada ratlara 14 hafta boyunca haftada 0,2 mg/kg zoledronik asit subkutan olarak uygulanmıştır. Çalışmanın 6. haftasında dış çekimi, çekimden 8 hafta sonra ise ratların sakrifikasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Ratların serum OPG ve RANKL düzeyleri değerlendirilmiş olup bifosfonat verilen grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde RANKL miktarında düşüş olduğu rapor edilmiştir (225). Bizim çalışmamızda sağlıklı ve kontrol grupları arasında OPG ve RANKL yoğunluğu açısından istatistiksel olarak bir fark olmaması nedeniyle

çalışmamız bu literatürle çelişmektedir. Bu çelişki nedeninin bizim çalışmamızda kullanılan bifosfatın doz ve süresinin, sakrifikasyon süresinin bu çalışmadan farklılık göstermesi olduğu düşünülmektedir.

Mercatali ve ark.'larının kanser teşhisi alan intravenöz bifosfonat kullanan 49 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada hastalar OPG, RANK ve RANKL değerleri açısından 12 ay boyunca takip edilmiştir. Başlangıçtaki OPG ve RANKL değerleriyle kıyaslandığında takip sonunda OPG'nin %96 arttığı, RANKL'ın ise %22 azaldığı ve RANKL/OPG oranının azalıp osteoklast yoğunluğunu azalttığı sonucuna varılmıştır. Bu nedenle de zoledronik asitin OPG, RANK ve RANKL gibi sitokinlerin miktarını etkileyebileceği rapor edilmiştir (226). Bizim çalışmamızda sağlıklı ve kontrol grupları arasında OPG ve RANKL yoğunluğu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Dolayısıyla bizim çalışmamız bu literatürle çelişmektedir. Bu çelişki nedeninin kullanılan bifosfonat türü, dozu, süresi ve takip zamanından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Paget hastalığı ve prostat kanserine bağlı kemik metastazı görülen hastalarda bifosfonat kullanımına bağlı serum P değerinin düştüğünü gösteren çalışmalar mevcuttur (227, 228). Bizim çalışmamızda sağlıklı gruptaki P değeri $7,1 \pm 0,6$; kontrol grubundaki P değeri $6,3 \pm 1$ olarak tespit edilmiş olup sağlıklı ve kontrol grubu arasında P değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı sonucuna vardık. Dolayısıyla bizim çalışmamız bu literatürlerle çelişmektedir. Bu sonuç bize P değerinin biyokimyasal olarak bifosfonat kullanımına bağlı düştüğünü fakat istatistiksel olarak bir fark oluşturmadığını göstermektedir. Bu farkın nedeninin gruptaki rat sayısı, kullanılan bifosfonatın türü, dozu ve süresinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Kuyucu postmenapozal osteoporoz teşhisi konulan yılda bir 5mg bifosfonat kullanan 50 adet hastayı yaklaşık 7 yıl takip ederek bu hastaların bifosfonat enjeksiyonu öncesi ve tedavi bitimindeki serum Ca, P, ALP ve AST değerlerine bakmıştır. Çalışmanın sonucunda serum Ca düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olarak azalma gözlemlendiği diğer biyokimyasal parametreler açısından ise anlamlı bir fark oluşmadığı tespit edilmiştir (229). Bizim çalışmamızda Ca değeri açısından sağlıklı ve kontrol grupları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiş olması bu literatürle çelişmektedir. Bu çelişkinin nedeni kullanılan bifosfonat doz ve süresinden kaynaklanabilmesinin yanında takip süresinin farklılık göstermesi olabilir. Çalışmamızdaki sağlıklı ve kontrol grupları arasında serum P, ALT ve AST değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmaması bu literatürü desteklemektedir.

Şener ve ark.'ları diş çekimi sonrası bifosfonat verilen ratlarda 14. gündeki sakrifikasyon gerçekleştirmişlerdir. Serum ALT ve AST düzeyi bifosfonat verilen deney grubunda bifosfonat verilmeyen kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmamıştır (230). Bizim çalışmamızda da ALT ve AST değerleri arasında sağlıklı grup ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmaması bu literatürü desteklemektedir.

Choi ve ark.'larının yaptıkları çalışmada MRONJ görülen 41 ve görülmeyen 76 adet osteoporoz nedeniyle oral bifosfonat kullanan hastaların CTX ve ALP değerlerinin gruplar arasında anlamlı bir fark oluşturmadığı gösterilmiştir. Dolayısıyla MRONJ riskini ya da evrelemesini belirlemede bu değerlerin yetersiz olabileceği sonucuna varılmıştır (199). Bizim çalışmamızda da sağlıklı grup ve kontrol grupları arasında serum CTX ve ALP düzeyleri açısından istatistiksel olarak

anlamli fark tespit edilmedi. Bu nedenle bizim çalışmamız literatürü desteklemektedir.

Kim ve ark.'ları bifosfonat kullanan MRONJ gelişen ve gelişmeyen hastaların osteokalsin, CTX, N-terminal telopeptit, kemiğe özgü ALP ve deoksipiridinolin değerlerini karşılaştırdığında anlamlı bir farkın oluşmadığını göstermişlerdir. Dolayısıyla osteokalsin ve CTX gibi değerlerin MRONJ gelişme riskini belirlemede güvenilir belirteçler olmayacağı belirtilmiştir (231). Bizim alışmamızda da sağlıklı grup ile kontrol grubu arasında serum osteokalsin, CTX ve ALP değerleri açısında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmediğinden çalışmamız bu literatürü desteklemektedir.

Cura ve ark.'ları ratlara 2 haftada bir toplam 4 seans 0.035 mg/kg intravenöz zoledronik asit verip diş çekimi gerçekleştirmişlerdir. Ratlar çekim sonrası 14, 28 ve 42. günlerde kurifiye edilmiştir. 14. günde kurifiye edilen ratların klinik incelemesinde zoledronik asit uygulamasının deneklerin %40'ında osteonekroz belirtilerine neden olurken histolojik kesitlerde deney grubundaki ratların tamamında yoğun inflamatuvar hücre hücre infiltrasyonuna bağı nekroz alanları tespit edilmiştir (232). Bizim alışmamızda ise kontrol grubunda %50 oranında yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu tespit edilmiş olup diğer gruplara göre daha yüksek oranda yoğun hücre infiltrasyonu gözlenmiştir. Bu nedenle çalışmamız bi literatürü desteklemektedir.

Matsumoto ve ark.'larının zoledronik asitin çekim soketleri üzerindeki etkinliğini araştırdıkları çalışmada Wistar cinsi erkek ratlar kullanılmıştır. Ratlara 0.035 mg/kg IV zoledronik asit 15 günde bir 5 doz olacak şekilde uygulanmış ve 5. dozun yapıldığı gün ratlardan diş çekimi yapılmıştır. Diş çekiminin ardından 14 ve

28. günlerde ratlar sakrifiye edilerek immünohistokimyasal olarak incelenmiştir. Zoledronik asit kullanılmayan grupta 14. günde sakrifiye edilen ratların soketlerinde primer kemik trabekülleri aktif osteoblastlar, orta bölgede ise olgun kemik trabekülleri ve trabeküller arasında bağ dokusu ve mononükleer lökosit infiltrasyonu gözlenmiştir. 28. günde ise lameller olgun kemik ve fibröz bağ dokusu gösterilmiştir. Zoledronik asit kullanılan grupta 14. günde kontrol grubundan farklı olarak kemik trabekülleri sadece orta bölgede lokalizedir. Yoğun nötrofil infiltrasyonu mevcuttur. 28. günde sakrifiye edilen ratların kemiklerinde olgun lameller kemiğin yanında olgunlaşmamış kemik trabekülleri de gözlenmiştir. OPG değerleri 14 ve 28. günde sakrifiye edilen ratlarda kontrol grubunda yoğun olarak bulunurken zoledronik asit grubunda daha az yoğunlukta bulunmuştur. RANKL değerleri açısından deneydeki dört grup arasında fark olmadığı gözlenmiştir. Zoledronik asitin OPG-RANKL arasındaki dengeyi bozduğu ve çekim soketinin iyileşmesini geciktirdiği sonucuna varılmıştır (233). Biz de çalışmamızda erken dönem kemik oluşumunu görebilmek ve karşılaştırmak için diş çekiminden sonra 14. günde ratlar sakrifiye edildi. Histolojik incelemede kontrol grubunda görülen inflamatuvar hücre infiltrasyonunun diğer gruplardan yüksek olması bu literatürü desteklemektedir. İmmünohistokimyasal olarak değerlendirildiğinde sağlıklı grubun %87,5'inde kontrol grubunun %62,5'inde yoğun OPG boyaması tespit edildi. Sağlıklı ve kontrol gruplarının %25'inde yoğun RANKL boyaması tespit edildi. Bu nedenle çalışmamız bu literatürü desteklemektedir.

Guiterrez ve ark.'ları wistar cinsi ratlarla yaptıkları araştırmada çalışma grubundaki ratlara deneyin 7. ve 14. gününde 0.06 mg/kg zoledronik asit intraperitoneal olarak uygularken kontrol grubundaki ratlara aynı volümde salin

uygulamışlardır. Ardından diş çekimi yapılarak 2, 4 ve 6. haftalarda ratlar sakrifiye edilmiştir. Diş çekiminin ardından 2.haftada sakrifiye edilen deney grubundakiratlarda nekrotik kemik gözlenmiştir. Deney gruplarında osteoklast sayısı ve nekrotik kemik alanı istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artarken kontrol gruplarında nekrotik kemik gözlenmemiştir (234). Bizim çalışmamızda histolojik inceleme sonucunda sağlıklı grubun %25'inde kontrol grubunun %37,5'inde yoğun osteoklast oluşumu; sağlıklı grubun %12,5'inde, kontrol grubunun %50'sinde yoğun enflamatuvar hücre infiltrasyonu tespit edilmiş olup sonuçlarımız literatürü desteklemektedir.

Aghaloo ve ark.'larının ratlarda yaptıkları çalışmada 3 hafta boyunca 0,06 mg/kg zoledronik asit intraperitoneal olarak yapılmış ardından maksiler 1. molar dişlere steril tel bağlamak suretiyle oluşturdukları periodontal lezyonların %47'sinde osteonekroz tablosu görülmüştür (235).

Abo Elsaad ve ark.'ları düşük doz lazer terapisinin kemik defektleri üzerindeki etkinliğini araştırmışlardır. GaAlAs lazer ile 0, 3, 5 ve 7. günlerde düşük doz lazer terapisi uygulanmış ve çalışma sonunda orta dozda haftada birkaç kez uygulamanın, uygulama aralığını kısa tutmanın ve ışınlamanın başlangıç fazındayken yapmanın fibroblast gelişiminde ve kemik formasyonunda etkinliği artırdığı gösterilmiştir (236). Bizim çalışmamızda da lazer uygulaması 0, 3, 5 ve 7. günlerde yapıldı. Lazer grubunda görülen yeni kemik oluşumu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Bu nedenle çalışmamız bu literatürü desteklemektedir.

Bayram ve ark.'ları zoledronik asit ve düşük doz lazer terapisinin ALP ve insan osteoblast benzeri hücrelere (Soas-2) etkinliğini araştırmışlardır. Düşük doz

lazer terapisinin ALP düzeyini arttırırken zoledronik asitin her iki parametreyi de düşürdüğünü, zoledronik asit ve düşük doz lazer terapisinin birlikte kullanımında düşük doz lazer terapisinin zoledronik asitin olumsuz etkilerini azalttığı gösterilmiştir (237). Histopatolojik incelememizde sağlıklı grubun %87,5'inde, kontrol grubunun %75'inde lazer grubunun %90.9'unda yoğun seviyede osteoblast saptandı. Buradan zoledronik asitin osteoblast seviyesini düşürdüğü; düşük doz lazer terapisinin zoledronik asitin olumsuz etkisini azalttığı sonucuna varılmış olup bu sonuç literatürü desteklemektedir. Biyokimyasal incelememizde ALP düzeyleri; sağlıklı grupta 171 ± 85.0 , kontrol grubunda $115,4 \pm 35$, lazer grubunda $119,2 \pm 53.8$ olarak saptandı. Bu sonuç bize bifosfonatın ALP düzeyini düşürdüğünü lazerin ise bifosfonatın düşürdüğü ALP düzeyini artırdığı sonucuna varılmıştır. Bu nedenle sonuçlarımız literatürü desteklemektedir.

Basso ve ark.'ları hücre kültüründe zoledronik asit ve farklı dozlarda (0.5, 1.5, 3,5 ve 7 j/cm²) düşük doz lazer terapisinin etkinliğine bakmışlardır. Zoledronik asit uygulamasının osteoblast aktivitesini ve ALP düzeyini düşürdüğü gösterilmiştir. Zoledronik asit verilip lazer uygulanan kültürlerde osteoblast canlılığı ve ALP açısından zoledronik asit verilen grupla arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmamıştır (238). Bizim çalışmamızda sağlıklı grupla kontrol grubu açısından osteoblast yoğunluğu ALP düzeyi açısından istatistiksel bir fark oluşmaması literatürle çelişmektedir. Bu çelişkinin nedeni çalışma düzeneğinin farklı olması, kullanılan bifosfonat türü, dozu ve süresinin, çalışmayı sonlandırma süresinin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışmamızda kontrol grubuyla lazer grubu arasında osteoblast yoğunluğu ve ALP düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmaması bu literatürü desteklemektedir.

Shin ve ark.'ları yaptıkları çalışmada osteoblastlar üzerinde alendronatın ve alendronat uygulanan osteoblastlara düşük doz lazer terapisinin oluşturduğu değişikliği araştırmışlardır. Osteoblastlara 50 µM alendronat verildikten sonra 1.2 J/cm² düşük seviyeli Ga-Al-As lazer ($\lambda = 808 \pm 3$ nm, 80 mW ve 80 mA; spot boyutu, 1 cm²) uygulanmıştır. Ardından hücrelerin hayatta kalabilirliği, OPG, RANKL ve M-CSF değerlerine bakılmıştır. Alendronat verilen osteoblastların ömürlerinin, OPG, RANKL ve M-CSF değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir. Alendronatın ardından düşük doz lazer verilen osteoblastlarda ise hücre yaşayabilirliğinde RANKL ve M-CSF değerlerinde artış gözlenirken OPG değerleri etkilenmemiştir (239). Bizim çalışmamızda immünohistokimyasal inceleme sonucunda sağlıklı grubun %87,5'inde kontrol grubunun %62,5'inde yoğun OPG boyaması tespit edildi. Bu sonuç literatürü desteklemektedir. Kontrol grubunun %62,5'inde, lazer grubunun %90,9'unda yoğun OPG boyaması tespit edilmiş olup bu sonuç literatürle çelişmektedir. Bu çelişkinin nedeni bizim kullandığımız lazer dozu ile literatürdeki dozun farklılığından kaynaklanabilir. Sağlıklı ve kontrol grubun %25'inde yoğun RANKL boyaması tespit edilmiş olup bu sonuç literatürle çelişmektedir. Bu çelişkinin nedeni kullanılan bifosfonat türünün bizim çalışmamızdakinden farklı olması olabilir. Kontrol grubunun %25'inde lazer grubunun %72,7'sinde yoğun RANKL boyaması tespit edilmiş olup bu sonuç literatürü desteklemektedir.

Jeong ve ark.'ları rekombinant insan kemiği morfogenetik protein-2 (rhBMP-2) ve DDLT'nin bifosfonatla tedavi edilen osteoblastlar üzerindeki sinerjik etkisini değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada kültür ortamına alınan insan fetal osteoblast hücrelerine 100 µM alendronat ilave edilmiştir daha sonra 808 nm dalga

boyunda Ga-Al-As lazer (toplam enerji gücü 1.2 J/cm² 15 sn süreyle) tek başına veya 100 ng/mL rhBMP-2 ile birlikte uygulanmıştır. Hücrelerin canlılığı, OPG, RANKL ve M-CSF gibi parametreler analiz edilmiştir. Alendronat ile tedavi edilen osteoblastlar üzerinde rhBMP-2 ve DDLT'nin osteoblastik aktiviteyi arttırmak ve kemik matriksi oluşturmak için sinerjistik etki gösterdiği, kontrol grubuna göre alendronat uygulanan kültürlerde OPG, RANKL ve M-CSF markerlarında istatistiksel azalma olduğu tespit edilmiştir. rhBMP-2 veya DDLT uygulamasından sonra ise OPG, RANKL ve M-CSF ekspresyonu artmıştır. rhBMP-2 ve DDLT'nin etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı, kombine uygulama rhBMP-2 ve DDLT'nin her iki tedavinin tek başına uygulanmasından daha fazla sitokin artışına neden olduğu gösterilmiştir (240). Çalışmamızda immünohistokimyasal olarak sağlıklı grubun %87,5'inde, kontrol grubunun %62,5'inde ve lazer grubunun %90,9'unda yoğun OPG boyaması tespit edildi. Sonucumuz literatürü desteklemektedir. Sağlıklı ve kontrol grubunun %25'inde yoğun RANKL boyaması tespit edilmiş olup literatürle çelişmektedir. Bu çelişkinin nedeninin çalışmamızda kullanılan bifosfonatın dozundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Kontrol grubunun %25'inde lazer grubunun %72,7'inde yoğun RANKL boyaması tespit edilmiş bu sonuç literatürü desteklemektedir.

Karapınar ve ark.'ları çalışmalarında 24 adet Sprague-Dawley erkek ratı rastgele 3 gruba ayırmışlardır. 1. gruba (negatif kontrol) zoledronik asit uygulaması ve diş çekimi, 2. gruba (FDT) zoledronik asit uygulaması, diş çekimi ve ardından haftada 3 kez olacak şekilde 2 hafta boyunca fotodinamik tedavi, 3.gruba (pozitif kontrol) ise diş çekimi uygulayarak histopatolojik olarak yeni kemik oluşumu değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda lazerle uygulanan fotodinamik tedavinin

istatistiksel olarak epitel yüzeyindeki açılma miktarını azalttığı ve yeni kemik oluşumunu artırdığı gösterilmiştir (241). Bizim çalışmamızda da lazer grubunun yeni kemik oluşumu açısından kontrol grubundan istatistiksel olarak yüksek bulunması bu literatürü desteklemektedir.

Mergoni ve ark.'larının yaptıkları çalışmada intraperitoneal zoledronik asit verilmesi ve diş çekimi yapılmak suretiyle osteonekroz modeli oluşturmak istedikleri ratları kontrol, lazer, tedavi ve lazer-tedavi olmak üzere gruplandırlardır. Biyotimulan olarak 0, 2, 4 ve 6. günlerde 14.37 j/cm^2 , 1.25 w, 5 dakika 1064 nm dalga boyunda Nd:YAG lazer kullanmışlardır. Lazer ve lazer+tedavi grupları diğer gruplara göre istatistiksel olarak daha yüksek osteokalsin ekspersyonuna sahip olduğu rapor edilerek yeni kemik oluşumunda daha etkin olduğu gösterilmiştir (242). Bizim çalışmamızda da osteokalsin değeri bifosfonat verilip diş çekilen kontrol grubunda lazer, pentoksifilin, lazer-pentoksifilin ve lazer-E vitamini gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Lazerin kullanıldığı bütün grupların kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş olması bu literatürü desteklemektedir.

Weber ve ark.'ları zoledronik asit ve deksametazon kullanılan ratlarda diş çekiminin ardından düşük doz lazer terapisinin etkinliğini değerlendirmişlerdir. Toplam 28 adet Wistar rat rastgele 4 gruba (kontrol (K), zolderonik asit-deksametazon (ilaç grubu) ve kırmızı ışık lazer, kızıl ötesi lazer grubu olarak) ayrılmıştır. Çalışmanın başlangıcından itibaren kontrol grubu dışındaki ratlara 35 gün boyunca her gün 1 mg/kg deksametazon haftada bir 7.5 mg/kg zoledronik asit verilmiştir. Kontrol grubuna ise kullanılan aynı ilaç hacimlerinde serum fizyolojik verilen ratların 36. gün 1 ve 2. molar dişleri çekilmiştir. Diş çekiminin ardından ratların sakrifiye edileceği güne kadar her gün iki grup rata lazer uygulanmıştır.

AlGaAs diyot lazer sistemi çalışma için kullanılmıştır. Lazer gruplarından biri 0.3 W güçte kırmızı ışık (685 nm dalga boyu) iken diğeri 0.9 W kızılötesi ışıktır (830 nm dalga boyu). Her iki grupta da enerji 4 J olarak ayarlanmıştır. Lazer ışığı intraoral olarak, kontakt modda ve sürekli olarak uygulanmıştır. Diş çekiminin ardından 14. günde ratlar sakrifiye edilerek maksiller kemikleri incelenmek üzere alınmıştır. Ratlar histolojik olarak değerlendirildiğinde kontrol grubunun ilaç grubuna göre daha fazla vaskülarizasyon (%50-60) gösterdiği, iki lazer grubu arasında ise benzerlik (%80) olduğu tespit edilmiştir. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu açısından histolojik olarak gruplar arasında farklılık olmasına karşın vaskülarizasyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu açısından istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır. Kontrol grubuyla lazer grupları arasında osteoklast ve osteoblast aktivitesi, yeni kemik oluşumu benzer bulunurak ilaç grubuna göre ise daha yüksek bulunmuştur (243). Bizim çalışmamızda da sağlıklı, kontrol ve lazer grupları arasında angiyojenesis ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu açısından istatistiksel olarak bir fark bulunmamış olması bu literatür ile benzerlik göstermektedir. Histopatolojik olarak sağlıklı grubun %12.5'inde, kontrol grubunun %50'sinde ve lazer grubunun %9.1'inde inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve angiyojenesis yoğunluğu tespit edildi. Çalışmamızda sağlıklı, kontrol ve lazer grupları arasında osteoblast ve osteoklast yoğunluğu açısından istatistiksel olarak fark bulunmamış olması bu literatürle çelişirken yeni kemik oluşumu yoğunluğunun lazer grubunda kontrol grubuna daha yüksek bulunmuş olması bu literatürü desteklemektedir.

Türk ve ark.'larının kırık modeli oluşturdukları hayvan çalışmasında günlük intraperitoneal uygulanan 20 mg/kg E vitamininin 15, 45 ve 60. günlerdeki etkinlikleri kontrol grubuyla karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Kırık iyileşmesinin etkinliği

biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelendiğinde 15, 45 ve 60. günlerde sakrifiye edilen ratlardaki iyileşmenin alfa tokoferol verilen grupta kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde fazla olduğu gösterilmiştir (244). Bizim çalışmamızda da histolojik olarak incelendiğinde kontrol grubunda %0, E vitamini grubunda %36,4, lazer-E vitamini grubunda %72,7, E vitamini-pentoksifilin grubunda %20 oranın yüksek seviye yeni kemik oluşumu tespit edilmiştir. Bu nedenle sonucumuz literatür ile benzerdir.

Overiyektomi yapılarak ostoporoz modeli oluşturulan ratlarda kullanılan E vitaminin vertabralarda oluşan kemik ve mineral yoğunluğunda azalmanın etkinliğini düşürdüğü ve kemik yapımında rol aldığı gösterilmiştir (245). Bununla birlikte yüksek doz E vitaminli diyetle beslenen ratlarda osteokalsin düzeyinin ve kemik mineral yoğunluğunun değişmediğini gösteren çalışma mevcuttur (246). Bizim çalışmamızda da osteokalsin düzeyinin E vitamini ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmamış olması bu literatürü desteklemektedir.

Lean ve ark.'ları ratlarda overiyektomi yaparak osteoporoz modeli oluşturdukları çalışmada kullanılan antioksidanların RANKL'ı baskılamak suretiyle ve birçok yolla osteoklast ekspresyonuna engel olduğunu göstermiştir (247). Bizim çalışmamızda kontrol ve E vitamini grupları arasında RANKL ve osteoklast yoğunluğu açısından istatistiksel olarak bir fark bulunmamış olması bu çalışmayla çelişmektedir. Bu çelişkinin nedeni overiyektomi işleminin RANKL üzerindeki etkinliğinin bilinmemesi, kullanılan antioksidan türünün ve dozunun bizim çalışmamızdan farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Norazlina ve ark.'ları E vitaminin nikotine maruz bırakılan ratların kemik metabolizması üzerine etkinliğini inceledikleri çalışmada kontrol grubu ve E vitamini verilen grup arasında osteokalsin açısından istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır (181). Bizim çalışmamızda kontrol ve E vitamini grupları arasında osteokalsin değeri açısından istatistiksel olarak fark oluşmaması bu literatürü desteklemektedir.

E vitamininin kemik metabolizması üzerine etkinliğinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise serum Ca ve ALP miktarını istatistiksel olarak arttırdığı sonucuna varılmıştır (248). Çalışmamızda serum ALP ve Ca değeri açısından kontrol grubunun E vitamini grubundan farklılık göstermemesi bu literatürle çelişmektedir. Çelişkinin nedeni bizim çalışmamızda kullandığımız bifosfonatın etkinliğinden kaynaklanabilir. Kontrol grubunun serum Ca düzeyinin pentoksifilin-E vitamini grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunması bu çalışma sonucuna benzerdir.

E vitamini alt türlerinin kemiğin üzerindeki etkinliğine histomorfometrik olarak bakıldığı çalışmada osteoklast, osteoblast sayılarının ve yeni kemik oluşumunun E vitamini verilen bütün gruplarda kontrol grubundan daha yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır (249). Bizim çalışmamızda da yeni kemik oluşumunun lazer, E vitamini ve lazer-E vitamini gruplarının kontrol grubuna göre yüksek olması bu çalışmayı desteklemektedir. Histopatolojik olarak incelendiğinde osteoblast ve osteoklast yoğunluğu açısından E vitamini grubunun kontrol grubundan daha yüksek olması bu çalışmayı desteklemektedir.

E vitamini alt türlerinin kullanıldığı bir başka çalışmada ise alkalen fosfatazı erken dönemde (7.günde) azalttığını geç dönemde (14.günde) ise kontrol grubuna göre bir farklılık oluşturmadığı gösterilmiştir (250). Bizim çalışmamızda da ALP

değerleri açısından bifosfonat verilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın oluşmaması bu çalışmayı desteklemektedir.

Nikotin ve E vitaminin kemik üzerindeki etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada nikotinin OPG ve RANKL etkilemediği, kemik Ca miktarını azalttığı ve osteoklastogenezisi arttırdığı, E vitaminin ise OPG'yi RANKL'dan daha fazla artırarak kemik koruyucu özelliği olduğu gösterilmiştir (251). Bizim çalışmamızda immünohistokimyasal olarak incelendiğinde E vitamini grubunun OPG yoğunluğunun kontrol grubundan yüksek olması bu çalışmayı desteklemektedir.

Fosfodiesteraz inhibitörü olan pentoksifilin hücre kültüründe kemik iliği ve kalvaryal osteoblastları etkileyerek osteoklastları indüklediği gösterilmiştir. Pentoksifilin osteoklastojenik etkisi, OPG'nin eklenmesiyle tamamen bloke edildiği rapor edilmiştir (252). Bizim çalışmamızda osteoklast ve RANKL yoğunluğu açısından gruplar arasında bir fark oluşturmaması bu literatürle çelişmektedir. Histolojik olarak kontrol grubunun %37.5'inde pentoksifilin grubunun %63.6'sında, lazer-pentoksifilin grubunun %50'sinde ve pentoksifilin-lazer grubunun %40'ında yoğun osteoklast oluşumu gözlenmiş olup literatürle uyumludur.

Aydın ve ark.'larının kırık modeli oluşturdukları hayvan çalışmasında sakrifikasyona kadar günlük verilen 50 mg/kg pentoksifilin yara yeri üzerindeki etkinliği kontrol grubuyla karşılaştırılarak radyografik ve histolojik olarak incelenmiştir. Radyografik olarak 1, 2 ve 3. hafta sakrifiye edilen ratlarda pentoksifilin erken dönemde kırık iyileşmesini hızlandırdığı ancak sonraki dönemde kallus oluşumu açısından kontrol ve pentoksifilin grupları arasında bir fark gözlenmemiştir (253). Bizim çalışmamızda da kontrol ve pentoksifilin kullanılan

gruplar arasında yeni kemik oluşumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark oluşmaması nedeniye çalışmamız bu literatürü desteklemektedir.

Pal ve ark.'ları pentoksifilin osteojenik ve osteo-anjiyojenik etkinliklerinin osteopeni oluşturulan ratlardaki etkinin tersine çevrilmesini araştırmışlardır. Yaptıkları bu çalışma sonucunda yetişkin insan dozunun %16'sı verilen overiyektomi yapılmış ratlarda serum CTX-1 düzeyinin, vasküler endotelial büyüme faktörünün ve reseptörünün arttığı, anjiyogenezisi arttırarak vaskülarizasyonu artırdığı ve böylece osteopeni bulgularını tersine çevirdiği sonucuna varılmıştır (254). Bizim çalışmamızda CTX ve anjiyogenezis değerlerinin gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark oluşturmaması bu literatürle çelişmektedir. Bunun nedeni bizim çalışmamızdaki bifosfonatın CTX ve anjiyogenez üzerinde etkisinin olabileceği düşünülmektedir.

Horiuchi ve ark.'larının yaptıkları çalışmada deney hayvanları kullanılarak pentoksifilin ve parathormonun etkinlikleri değerlendirildiğinde pentoksifilin BMP-2'yi arttırmak suretiyle yeni kemik oluşumunu artırdığını gösterilmiştir (255). Bizim çalışmamız yeni kemik oluşumu açısından değerlendirildiğinde kontrol grubuyla pentoksifilin, lazer-pentoksifilin ve pentoksifilin-E vitamini grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı sonucuna vardık. Dolayısıyla bizim çalışmamız bu literatürle çelişmektedir. Bunun nedeni kullanılan bifosfonatın yeni kemik oluşumu üzerindeki etkinliği olduğu düşünülmektedir.

Takami ve ark.'ları fosfodiesteraz etkinliğini göstermek için yaptıkları çalışmada osteoklast formasyonu, OPG ve RANKL yoğunluğunda artış olduğunu rapor etmişlerdir (256). Bizim çalışmamızda gruplar arasında OPG ve RANKL yoğunluğu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemesine rağmen;

çalışmamızda kontrol grubunda %25, pentoksifilin grubunda %63.6, pentoksifilin-E vitamini grubunda %50 ve pentoksifilin-E vitamini grubunda %40 oranında yoğun RANKL oluşumu tespit edilmiştir. Bu sonuç literatür ile uyumludur. Kontrol grubunda %62.5, pentoksifilin grubunda %45.5, pentoksifilin-E vitamini grubunda %80 ve pentoksifilin-E vitamini grubunda %60 oranında yoğun OPG oluşumu tespit edildi. Bu sonuç pentoksifilin ve E vitamini kombinasyonunun OPG seviyesini yükselttiği şeklinde yorumlanabilir.

Kombine pentoksifilin-E vitamini tedavisinin, mandibulada oluşan osteonekrozu azaltmada etkili olduğu gösterilmiştir. Standart bir tıbbi tedavi olmadığından, bu kombinasyon osteonekroz tedavisinde mevcut yöntemlere bir alternatif oluşturmaktadır. Bu iki ilaç güçlü antifibrotik etkilere sahip olduğundan sinerjik bir şekilde hareket eder. Bu kombinasyonun fibroatrofik değişiklikleri azaltarak ve osteoblastik iyileşmeyi uyarak osteonekrozu tedavi edebileceği düşünülmektedir (257). Biz de çalışma gruplarımızı belirlerken bu nedenle E vitamini ve pentoksifilin kombinasyonunu kullandık. Histopatolojik olarak incelediğimizde kontrol grubunda %50, pentoksifilin-E vitamini grubunda %10 şiddetli fibrozis tespit edilmiş olup istatistiksel olarak da anlamlı derecede yüksektir ve sonucumuz literatürle uyumludur.

Nguyen ve ark.'larının osteoradyonekroz modeli oluşturdukları çalışmada E vitamini ve pentoksifilin kombinasyonunun kortikal kemik kalitesini ve miktarını her bir ilacın tek başına etkinliğinden daha fazla arttırdığı rapor edilmiştir (258). Bu nedenle biz de çalışmamızda gruplandırma yaparken pentoksifilin ve E vitamini kombinasyonunu kullandık. Yeni kemik oluşumu açısından E vitamini-pentoksifilin grubunun E vitamini ve pentoksifilin grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde

farklılık göstermemesi bu literatürle çelişmektedir. Histopatolojik olarak incelediğimizde pentoksifilin grubunun %0'ında, E vitamini grubunun %36,4'ünde E vitamini-pentoksifilin grubunun %20'sinde yeni kemik oluşumu gözlenmiştir. Bu çelişkinin nedeni çalışmamızda kullandığımız bifosfonatın kemik doku üzerinde etkinliğinin olması, kullanılan E vitamini ve pentoksifilin dozundan, çalışma süresinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Epstein ve ark.'ları yaptıkları çalışmada bifosfonat kullanımına bağlı çeşitli büyüklüklerde osteonekroz varlığına sahip 6 hasta takip etmişlerdir. Bu hastalara günde 2 defa kullanılmak üzere 400mg pentoksifilin ve E vitamini, %0.12 klorheksidin solüsyonu verilmiştir. Hasta takiplerinde açıkta kalan nekroz alanlarında %16-100 arasında azalma olduğu tespit edilmiştir (9). Histopatolojik olarak incelendiğinde kontrol grubunda %50, E vitamini-pentoksifilin grubunda %0 oranında enflamasyon tespit edilmiştir. Bu sonuç literatürle uyumludur.

Patel ve ark.'larının osteonekrozu olan 62 hastayı retrospektif olarak inceledikleri çalışmada pentoksifilin ve E vitamini kombinasyon kullanımının %56 oranında osteonekroz alanında küçülmeye neden olduğunu göstermiştir (259). Histopatolojik olarak incelendiğinde kontrol grubunda %50, E vitamini-pentoksifilin grubunda %0 oranında enflamasyon tespit edilmiştir. Bu sonuç literatürle uyumludur.

Heifetz ve ark.'larının yayınladıkları sistematik derlemede bifosfonat kullanımına bağlı osteonekroz gelişen hastalara günde 2 defa olacak şekilde 400mg pentoksifilin 400 IU E vitamini ve %0.12 klorheksidin reçete edilmiş 3-48 ay aralığında takip edilmiştir. Hastalardaki mevcut osteonekroz alanında %16-100 aralığında azalma, ağrı ve eritemin ortadan kaldırıldığını rapor etmişlerdir (260).Histopatolojik olarak incelendiğinde kontrol grubunda %50, E vitamini-

pentoksifilin grubunda %0 oranında enflamasyon tespit edilmiştir. Bu sonuç literatürle uyumludur.



7.SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Bu çalışma bifosfonat verilen ratlarda lazer, E vitamini, pentoksifilin ve kombinasyonlarının biyokimyasal, histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelendiği ilk çalışmadır.
2. Çalışmamızda lazer-E vitamini grubunda yüksek seviye yeni kemik oluşumu görülme oranı, kontrol, pentoksifilin, lazer-pentoksifilin ve pentoksifilin-E vitamini gruplarından anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Lazer grubunda yüksek seviye yeni kemik oluşumu görülme oranı, kontrol ve pentoksifilin gruplarından anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). E vitamini grubunda yüksek seviye yeni kemik oluşumu görülme oranı, kontrol ve pentoksifilin gruplarından istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Bu sonuç lazerin, E vitaminin ve bunların kombinasyonlarının bifosfonat verilen ratlarda yeni kemik oluşumunu olumlu etkilediğini düşündürmektedir.
3. Gruplar arasında osteoklast düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Histolojik olarak değerlendirildiğinde sağlıklı grubun %25'inde, kontrol grubunun %37.5'inde, lazer grubunun %72.7'sinde, E vitamini grubunun %54.5'inde, pentoksifilin grubunun %63.6'sında, lazer-pentoksifilin grubunun %50'sinde, lazer-E vitamini grubunun %81.8'inde, pentoksifilin-Evitamini grubunun %40'ında yoğun seviyede osteoklast oluşumu görülmüştür. Bu sonuç bize kullanılan bifosfonat süre ve miktarının osteoklast düzeyini düşürmek için yeterli olmadığını düşündürmektedir. Bunun nedeni kullanılan bifosfonatın dozu ve süresi olabilir. Bifosfonat verilen gruplarda kullanılan lazer, E vitamini, pentoksifilin ve bunların kombinasyonunun osteoklast yoğunluğunu artırdığı görülmektedir.

4. Gruplar arasında osteoblast düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Histolojik olarak değerlendirildiğinde sağlıklı grubun %87.5'inde, kontrol grubunun %75'inde, lazer grubunun %90.9'unda, E vitamini grubunun %81.8'inde, pentoksifilin grubunun %45.5'inde, lazer-pentoksifilin grubunun %80'inde, lazer-E vitamini grubunun %100'ünde, pentoksifilin-Evitamini grubunun %60'ında yoğun seviyede osteoblast oluşumu görüldü. Bu sonuç bize kullanılan bifosfonat doz ve süresinin osteoblast yoğunluğunu azalttığını göstermektedir. Lazer ve E vitamini kombinasyonunun, lazerin, E vitamininin, lazer ve pentoksifilin kombinasyonunun kontrol grubuna göre osteoblast yoğunluğunun daha yüksek çıkması nedeniyle osteoblast formasyonunu olumlu etkilediğini düşündürmektedir.
5. Kontrol grubunda şiddetli fibrozis görülme oranı, sağlıklı, lazer, E vitamini, pentoksifilin, lazer-E vitamini ve pentoksifilin-E vitamini gruplarından istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Bu sonuç bize ratlara bifosfonat verilmesinin şiddetli fibrozis yoğunluğunda artışa neden olabileceğini, kullanılan lazer, E vitamini, pentoksifilin, lazer-E vitamini kombinasyonu ve pentoksifilin-E vitamini kombinasyonunun bifosfonatın şiddetli fibrozis oluşumu üzerinde olumlu sonuç göstereceğini düşündürmektedir.
6. Gruplar arasında enflamasyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Histopatolojik olarak incelendiğinde sağlıklı grubun %12.5'inde, kontrol grubunun %50'inde, lazer grubunun %9.1'inde, E vitamini grubunun %45.5'inde, pentoksifilin grubunun %36.4'ünde, lazer-pentoksifilin grubunun %10'unda, lazer-Evitamini grubunun %9.1'inde,

pentoksifilin-E vitamini grubunun %0'ında yoğun seviyede enflamasyon görülmüştür. Bu sonuç bize kullanılan bifosfonatın doz ve süresinin yoğun enflamasyon görülme yoğunluğunda artışa neden olabileceğini ve kemik iyileşmesi için kullanılan lazer, E vitamini, pentoksifilin ve kombinasyonlarının yoğun seviyede görülen enflamasyon miktarını azalttığını düşündürmektedir.

7. Gruplar arasında anjiyogenezis düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Histopatolojik olarak incelendiğinde sağlıklı grubun %12.5'inde, kontrol grubunun %50'inde, lazer grubunun %9.1'inde, E vitamini grubunun %45.5'inde, pentoksifilin grubunun %36.4'ünde, lazer-pentoksifilin grubunun %10'unda, lazer-E vitamini grubunun %9.1'inde, pentoksifilin-E vitamini grubunun %0'ında yoğun seviyede anjiyogenezis görülmüştür. Bu sonuç bize kullanılan bifosfonatın yoğun anjiyogenezis görülme miktarında artışa neden olabileceğini ve kemik iyileşmesi için kullanılan lazer, E vitamini, pentoksifilin ve kombinasyonlarının yoğun seviyede görülen anjiyogenezis miktarını azalttığını düşündürmektedir.

8. Gruplar arasında RANKL boyanma düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). İmmünohistokimyasal olarak değerlendirildiğinde sağlıklı grubun %25'inde, kontrol grubunun %25'inde, lazer grubunun %72.7'sinde, E vitamini grubunun %54.5'inde, pentoksifilin grubunun %63.6'sında, lazer-pentoksifilin grubunun %50'sinde, lazer-E vitamini grubunun %81.8'inde, pentoksifilin-E vitamini grubunun %40'ında yoğun seviyede RANKL boyanması görülmüştür. Bu sonuç bize kullandığımız bifosfonat dozu ve süresinin RANKL yoğunluğunu değiştirmeyecek düzeyde

olduğunu, lazer, E vitamini, pentoksifilin ve kombinasyonlarının RANKL yoğunluğunu artırdığını düşündürmektedir.

9. Gruplar arasında OPG boyanma düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). İmmünohistokimyasal olarak değerlendirildiğinde sağlıklı grubun %87.5'inde, kontrol grubunun %62.5'inde, lazer grubunun %90.9'unda, E vitamini grubunun %81.8'inde, pentoksifilin grubunun %45.5'inde, lazer-pentoksifilin grubunun %80'inde, lazer-E vitamini grubunun %100'ünde, pentoksifilin-E vitamini grubunun %60'ında yoğun seviyede OPG boyanması görülmüştür. Bu sonuç bize kullanılan bifosfonatın kullanılan doz ve süresinin OPG yoğunluğunda düşüşe, lazer-E vitamini, lazer, E vitamini ve lazer-pentoksifilin OPG yoğunluğunda artışa neden olabileceğini düşündürmektedir.
10. Gruplar arasında AST düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Biyokimyasal olarak incelendiğinde gruplar arasındaki AST düzeyleri şu şekildedir; sağlıklı grupta $233,9\pm34,1$ U/L, kontrol grubunda $288,8\pm75,7$ U/L, lazer grubunda $248,1\pm54,7$ U/L, E vitamini grubunda $277,7\pm68,2$ U/L, pentoksifilin grubunda $269,2\pm66,4$ U/L, lazer-pentoksifilin grubunda $243,7\pm48,2$ U/L, lazer-E vitamini grubunda $280,5\pm76$ U/L, pentoksifilin-Evitamini grubunda $215,7\pm32,1$ U/L. AST düzeyinin kontrol grubunda sağlıklı gruba ve diğer tüm gruplara göre yüksek olmasının bifosfonatın kullanılan doz ve süresinin bu parametreyi artırdığı ve karaciğer üzerinde toksik etki oluşturabilceği şeklinde yorumlanabilir. Kontrol grubuyla lazer, E vitamini, pentoksifilin, lazer-pentoksifilin, lazer-Evitamini ve pentoksifilin-E vitamini grupları kıyaslandığında kullanılan bütün materyallerin

bifosfonatın AST düzeyi üzerindeki etkisini olumlu yönde etkilediğini ve bu olumlu etkinin en fazla pentoksifilin-E vitamini grubunda olduğunu düşündürmektedir.

- 11.** Çalışmamızda kontrol grubunun ALT düzeyi pentoksifilin-E vitamini grubundan istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Bu sonuç bize sağlıklı ve kontrol grupları arasında ALT düzeyleri açısından farklılık bulunmaması kullanılan bifosfonatın doz ve süresinin ALT düzeyinde değişikliğe yol açamayacak düzeyde olduğu şeklinde yorumlanabilir. Bifosfonat verilen ratlarda kullanılan pentoksifilin ve E vitamini kombinasyonunun ALT düzeyini düşürürerek karaciğer üzerinde oluşacak olumsuz etkiyi azaltacağını düşündürmektedir.
- 12.** Çalışmamızda sağlıklı grubun ALP düzeyi, E vitamini, pentoksifilin, lazer-pentoksifilin, lazer- E vitamini ve pentoksifilin- E vitamini gruplarından istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).
- 13.** Çalışmamızda kontrol grubunun serum Ca düzeyi, pentoksifilin-E vitamini grubundan istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Bu sonuç bize pentoksifilin ve E vitamini kombinasyonun kemik Ca seviyesinin daha yüksek olduğu ve bunun da kemik maturasyonunu olumlu etkileyeceğini düşündürmektedir.
- 14.** Çalışmamızda sağlıklı grubun serum P düzeyi, lazer, E vitamini, pentoksifilin, lazer- pentoksifilin, pentoksifilin- E vitamini gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Bu sonuç bize kullanılan bifosfonat doz ve süresinin kontrol ve sağlıklı grubun serum P düzeyi açısından

aralarında istatistiksel olarak bir fark oluşturmaması nedeniyle serum P düzeyini olumsuz yönde etkilemediği şeklinde yorumlanabilir.

15. Gruplar arasında CTX düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0.05$). Bu sonuç bize kullanılan bifosfonat dozu ve süresinin CTX düzeyini etkileyecek düzeyde olmadığını düşündürmektedir.

16. Çalışmamızda kontrol grubunun osteokalsin düzeyi, lazer, pentoksifilin, lazer-pentoksifilin ve lazer-E vitamini gruplarından istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Bu sonuç bize bifosfonat verilen ratlarda lazer, pentoksifilin, lazer pentoksifilin kombinasyonu ve lazer E vitamini kombinasyonun osteokalsin üzerinde olumlu etki gösterdiğini düşündürmektedir.

Bu sonuçlar doğrultusunda MRONJ oluşturulmak istenilen rat modelinde lazer, E vitamini ve pentoksifilin uygulamasının osteoklast, osteoblast, RANKL, OPG, enflamasyon, anjiyogenezis yoğunluğu, AST ve CTX düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmamasına rağmen biyokimyasal, immünohistokimyasal ve histopatolojik açıdan farklılıklar gözlemlenmiştir. Özellikle OPG ve osteoblast yoğunluğunu lazer ve E vitamini kombinasyonunun olumlu etkilediği görülmüştür.

Sonuç olarak MRONJ modeli oluşturulmak istenilen bu çalışmada, gruptaki rat sayısının belirlenmesi, bifosfonatın sadece bir türünün kullanılmış olması, kullanım dozunun ve sıklığının belirlenmesi, lazerin uygulama şeklinin, doz ve süresinin belirlenmesi, E vitamini ve pentoksifilinin tek bir preparat formunda, uygulama şeklinde, dozunda ve süresinde kullanılmasının, sakrifikasyon süresinin tüm grupta aynı olmasının bu çalışmadaki limitasyonları oluşturduğu düşünülmektedir. Lazerin, E vitaminin ve pentoksifilinin MRONJ'u önleyici ve

tedavi edici etkinliğinin belirlenmesi için farklı doz ve sürelerde bifosfonat, lazer, E vitamini ve pentoksiflin uygulaması yapılarak, sakrifikasyon süreleri farklı olan, radyolojik, biyokimyasal, immünohistokimyasal ve histopatolojik analizlerin yapıldığı daha kapsamlı deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.



8.KAYNAKLAR

1. Silva LF, Curra C, Munerato MS, Deantoni CC, Matsumoto MA, Cardoso CL, et al. Surgical management of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: literature review. *Oral And Maxillofacial Surgery*. 2016;20(1):9-17.
2. Luckman SP, Hughes DE, Coxon FP, Russell RGG, Rogers MJ. Nitrogen-containing biphosphonates inhibit the mevalonate pathway and prevent post-translational prenylation of GTP-binding proteins, including Ras. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2005;20(7):1265-1274.
3. Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff SL. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2004;62(5):527-34.
4. Migliorati CA, Siegel MA, Elting LS. Bisphosphonate-associated osteonecrosis: a long-term complication of bisphosphonate treatment. *The Lancet Oncology*. 2006;7(6):508-14.
5. Ruggiero SL, Dodson TB, Fantasia J, Goodday R, Aghaloo T, Mehrotra B, et al. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw--2014 update. *Journal of Oral And Maxillofacial Surgery*. 2014;72(10):1938-1856.
6. Diel IJ, Fogelman I, Al-Nawas B, Hoffmeister B, Migliorati C, Gligorov J, et al. Pathophysiology, risk factors and management of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: Is there a diverse relationship of amino- and non-aminobisphosphonates? *Critical Reviews In Oncology/Hematology*. 2007;64(3):198-207.
7. Hoff AO, Toth BB, Altundag K, Johnson MM, Warneke CL, Hu M, et al. Frequency and risk factors associated with osteonecrosis of the jaw in cancer patients treated with intravenous bisphosphonates. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2008;23(6):826-836.
8. Martins MA, Martins MD, Lascala CA, Curi MM, Migliorati CA, Tennis CA, et al. Association of laser phototherapy with PRP improves healing of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in cancer patients: a preliminary study. *Oral Oncology*. 2012;48(1):79-84.
9. Epstein MS, Wicknick FW, Epstein JB, Berenson JR, Gorsky M. Management of bisphosphonate-associated osteonecrosis: pentoxifylline and tocopherol in addition to antimicrobial therapy. *Oral Radiology and Endodontology*. 2010;110(5):593-6.
10. Lyons A, Ghazali N. Osteoradionecrosis of the jaws: current understanding of its pathophysiology and treatment. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2008;46(8):653-60.
11. Carroll JD, Milward MR, Cooper PR, Hadis M, Palin WM. Developments in low level light therapy (LLLT) for dentistry. *Dental Materials*. 2014;30(5):465-75.

12. Owosho AA, Estilo CL, Huryn JM, Yom SK. Pentoxifylline and tocopherol in the management of cancer patients with medication-related osteonecrosis of the jaw: an observational retrospective study of initial case series. *Oral pathology and Oral Radiology*. 2016;122(4):455-9.
13. Garg AK. Bone biology, harvesting, grafting for dental implants: rationale and clinical applications: Quintessence Publishing Company. 2004.
14. Neovius E, Engstrand T. Craniofacial reconstruction with bone and biomaterials: review over the last 11 years. *Journal of plastic, reconstructive & aesthetic surgery : JPRAS*. 2010;63(10):1615-23.
15. Wang X, Nyman JS, Dong X, Leng H, Reyes M. Fundamental biomechanics in bone tissue engineering. *Synthesis Lectures on Tissue Engineering*. 2010;2(1):1-225.
16. Junqueira LCU, Carneiro J. Basic histology: text & atlas: McGraw-Hill Professional; 2005.
17. Wraight PJ, Howard PW. Femoral impaction bone allografting with an Exeter cemented collarless, polished, tapered stem in revision hip replacement: a mean follow-up of 10.5 years. *The Journal of Bone and joint Surgery British*. 2008;90(8):1000-1004.
18. Bronner F, Worrell RV. Orthopaedics: principles of basic and clinical science: CRC Press, 1999.
19. Jee W. Integrated bone tissue physiology: anatomy and physiology. *Bone Mechanics Handbook*. 2001.
20. Mescher AL. Junqueira's basic histology: text and atlas: McGraw-Hill Medical 13th ed. New York; 2013.
21. Lowe J, Anderson P, Stevens AS. Lowe's Human Histology. Elsevier/Mosby; 2015.
22. Sikavitsas VI, Temenoff JS, Mikos AG. Biomaterials and bone mechanotransduction. *Biomaterials*. 2001;22(19):2581-93.
23. Downey PA, Siegel MI. Bone biology and the clinical implications for osteoporosis. *Physical Therapy*. 2006;86(1):77-91.
24. Bancroft JD, Gamble M. Theory and practice of histological techniques: Elsevier Health Sciences; 2008.
25. Deng HW, Liu YZ. Current topics in bone biology: World Scientific, 2005.
26. Fleming JE, Cornell CN, Muschler GF. Bone cells and matrices in orthopedic tissue engineering. *Orthopedic Clinics*. 2000;31(3):357-74.
27. Gökçöl B. Köpeklerde ovariohysterektominin serum bakır, çinko, kalsiyum, fosfor konsantrasyonları üzerine etkisi: Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2009.
28. Garant PR. Oral cells and tissues: Quintessence, 2003.

29. Ynsa M, Ager F, Alves L, Zubeldia M, Millán J, Pinheiro T. Elemental distributions in femoral bone of rat under osteoporosis preventive treatments. *Journal of Microscopy* 2006;224(3):298-305.
30. Akay MT. Genel Histoloji: Palme Yayıncılık, 2006.
31. Guyton AC, Hall JE, Çavuşoğlu H, Yeğen BÇ, Aydın Z, Alican İ. Tıbbi fizyoloji: Nobel Tıp Kitabevleri; 2007.
32. Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. *CJASN*. 2008;3:131-139.
33. Özer T. Deneyisel Kemik Defektlerinde Lokal Olarak Uygulanan Alendronatın İyileşme Üzerine Etkilerinin Histomorfometrik ve Radyolojik Yöntemler İle İncelenmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2017.
34. Bartl R, Frisch B, Tresckow E, Bartl C. Bisphosphonates in medical practice: actions-side effects-indications-strategies: Springer Science & Business Media, 2007.
35. Kini U, Nandeesh B. Physiology of bone formation, remodeling, and metabolism. *Radionuclide and hybrid bone imaging*: Springer; 2012: 29-57.
36. Franz-Odenaal TA, Hall BK, Witten PE. Buried alive: how osteoblasts become osteocytes. *Developmental dynamics*. American Association of Anatomists. 2006;235(1):176-90.
37. Mills S. Histology for pathologists: Lippincott Williams & Wilkins, 2019.
38. Marks SC, Popoff SN. Bone cell biology: the regulation of development, structure, and function in the skeleton. *The American Journal of Anatomy*. 1988;183(1):1-44.
39. Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2008;473(2):139-146.
40. Thomas GP, Baker S, Eisman J, Gardiner E. Changing RANKL/OPG mRNA expression in differentiating murine primary osteoblasts. *Journal of Endocrinology*. 2001;170(2):451-60.
41. Eşrefoğlu M. Genel ve Özel Histoloji. Ankara: Pelikan Yayınevi, 2004:82.
42. Dahl J, Greenson J, Mills S. Histology for pathologists. Mills SE Colon 3th ed Lippincott Williams & Wilkins; Philadelphia. 2007:627-43.
43. Tate MLK, Adamson JR, Tami AE, Bauer TW. The osteocyte. *The international Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2004;36(1):1-8.
44. Gartner LP, Hiatt JL. Color textbook of histology e-book: Elsevier Health Sciences; 2006.
45. Orcel P, Beaudreuil J. Bisphosphonates in bone diseases other than osteoporosis. *Joint Bone Spine* 2002;69(1):19-27.
46. Tuskan C, Yaltırık M. Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan biyomateryaller. İÜ Basım ve Yayınevi Müdürlüğü, İstanbul. 2002:19-26.

47. Bain BJ, Clark DM, Wilkins BS. Bone marrow pathology: John Wiley & Sons, 2019.
48. Caplan A. The cellular and molecular embryology of bone formation. Bone Miner Res. 1987;5:117-83.
49. Junqueira L, Histoloji CJT. Solakoğlu S, Aytekin Y (Çevirenler). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri. 2009:418-427.
50. PDM Ü. Ortodonti, Anomaliler, Sefalometri, Etioloji, Büyüme ve Gelişim, Tanı. TC Yeditepe Üniversitesi Yayınları, 2000:213-308.
51. Calmar EA, Vinci RJ. The anatomy and physiology of bone fracture and healing. Clinical Pediatric Emergency Medicine. 2002;3(2):85-93.
52. Guyton AC, Hall JE. Textbook of medical physiology: Saunders Philadelphia, 1986.
53. Cardaropoli G, Araujo M, Lindhe J. Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. Journal of Clinical Periodontology. 2003;30(9):809-818.
54. Marieb EN, Hoehn K. Human anatomy & physiology: Pearson education; 2007.
55. Janqueira LC, Carneiro J. Basic Histology text and atlas. Mc Grawhill, New York, 2005.
56. Bilezikian JP, Raisz LG, Martin TJ. Principles of bone biology: Academic Press, 2008.
57. Nather A. Bone grafts and bone substitutes: basic science and clinical applications: World Scientific Publishing Company; 2005.
58. Kiliçoğlu SS. Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası. 2002;55(02):112-120,
59. Oral R. Overektomi Uygulanmış Sıçanların Tibialarında Oluşturulan Kemik Defektlerinde Sistemik Parathormon Tedavisinin ve Lokal Kemik Greftlerinin Kemik Yapım Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması: Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. İstanbul; 2008.
60. Steed DL. Wound-healing trajectories. The Surgical clinics of North America. 2003;83(3):547-55, vi-vii.
61. Fazzalari N. Bone fracture and bone fracture repair. Osteoporosis international. 2011;22(6):2003-6.
62. Altunatmaz K. Kırık İyileşmesinin Biyolojisi Ve Biyolojik Osteosentez. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2004;30(1):141-7.
63. Barnes G, Kostenuik P, Gerstenfeld L, Einhorn TA. Perspective-Growth Factor Regulation of Fracture Repair. Journal of Bone and Mineral Research. 1999;14(11):1805-15.

64. Swaminathan R. Biochemical markers of bone turnover. *Clinica chimica acta*. 2001;313(1-2):95-105.
65. Garnero P, Shih WJ, Gineyts E, Karpf DB, Delmas PD. Comparison of new biochemical markers of bone turnover in late postmenopausal osteoporotic women in response to alendronate treatment. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1994;79(6):1693-700.
66. Halil H, Kinik E. Osteokalsin düzeylerinin adölesandaki büyüme atağını izleme ve büyüme potansiyelini belirlemedeki önemi. *Çağdaş Tıp Dergisi*. 2018;8(4):333-8.
67. Zhang J-H, Wang J, Tang J, Barnett B, Dickson J, Hahsimoto N, et al. Bone sialoprotein promotes bone metastasis of a non-bone-seeking clone of human breast cancer cells. *Anticancer research*. 2004;24(3A):1361-8.
68. Altan S, Sağsöz H. Tavşanlarda *Tarantula Cubensis* Ekstraktı ve Düşük Enerjili Lazer Uygulanan Deneysel Kemik Defektlerinin İyileşmesinde Osteonektin ve Osteokalsinin Etkilerinin Araştırılması. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 13(2):149-56.
69. Hannon RA, Eastell R. Bone markers and current laboratory assays. *Cancer treatment reviews*. 2006;32:7-14.
70. Okabe R, Nakatsuka K, Inaba M, Miki T, Naka H, Masaki H, et al. Clinical evaluation of the Elecsys β -CrossLaps serum assay, a new assay for degradation products of type I collagen C-telopeptides. *Clinical chemistry*. 2001;47(8):1410-4.
71. Apone S, Lee M, Eyre D. Osteoclasts generate cross-linked collagen N-telopeptides (NTx) but not free pyridinolines when cultured on human bone. *Bone*. 1997;21(2):129-36.
72. Babür C, Özcan G. OPG/RANK/RANKL'in periodontolojideki yeri. *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 2010;27(2):137-44.
73. Liu W, Zhang X. Receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL)/RANK/osteoprotegerin system in bone and other tissues. *Molecular medicine reports*. 2015;11(5):3212-8.
74. Kurban S, Mehmetoğlu İ. Osteoprotegerin, rank ve rank ligand. *Türk Biyokimya Dergisi*. 2007;32(4):178-84.
75. Takayanagi H. Inflammatory bone destruction and osteoimmunology. *Journal of periodontal research*. 2005;40(4):287-93.
76. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature*. 2003;423(6937):337-42.
77. Walsh MC, Choi Y. Biology of the RANKL–RANK–OPG system in immunity, bone, and beyond. *Frontiers in immunology*. 2014;5:511.
78. Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. *Carranza's clinical periodontology*: Elsevier Health Sciences; 2011.

79. Newman M, Takei H, Klokkevold P, Carranza F. Clinical Periodontology. 10 [sup] th ed. St Louis, Missouri: WB Saunders. 2006.
80. Larjava H. Oral wound healing: an overview. Oral Wound Healing: Cell Biology and Clinical Management, First Edition edited by Hannu Larjava. 2012:1-9.
81. Webb J, Tricker J. A review of fracture healing. Current Orthopaedics. 2000;14(6):457-63.
82. Diel IJ, Solomayer EF, Costa SD, Gollan C, Goerner R, Wallwiener D, et al. Reduction in new metastases in breast cancer with adjuvant clodronate treatment. The New England journal of medicine. 1998;339(6):357-63.
83. Fleisch H. Bisphosphonates: mechanisms of action. Endocrine reviews. 1998;19(1):80-100.
84. Bartl R, Tresckow E, Bartl C. Bisphosphonat-Manual: Springer Science & Business Media; 2005.
85. Francis M, Valent D. Historical perspectives on the clinical development of bisphosphonates in the treatment of bone diseases. Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions. 2007;7(1):2.
86. Marx RE. Oral and intravenous bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws. Chicago, Ill, USA: Quintessence. 2007.
87. Gomez Font R, Martinez Garcia ML, Olmos Martinez JM. Osteochemonecrosis of the jaws due to bisphosphonate treatments. Update. Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal. 2008;13(5):318-324.
88. Russell RG. Bisphosphonates: the first 40 years. Bone. 2011;49(1):2-19.
89. Marx R. Oral & intravenous Bisphosphonate-Induced Osteonecrosis of the jaws. Florida: Quintessence Co. Inc; 2007.
90. Shannon J, Shannon J, Modelevsky S, Grippo AA. Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw. J Am Geriatr Soc. 2011;59(12):2350-5.
91. Papapoulos SE. Bisphosphonate actions: physical chemistry revisited. Bone. 2006;38(5):613-6.
92. Woo SB, Hellstein JW, Kalmar JR. Narrative [corrected] review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws. Annals of internal medicine. 2006;144(10):753-61.
93. Milner RJ, Farese J, Henry CJ, Selting K, Fan TM, de Lorimier LP. Bisphosphonates and cancer. Journal of veterinary Internal Medicine. 2004;18(5):597-604.
94. Lacy C, Armstrong L, Goldman M, Lance L. Drug Information Handbook 2006-2007. Washington, DC: The American Pharmaceutical Association. 2006.
95. Fleisch HA. Bisphosphonates: preclinical aspects and use in osteoporosis. Annals of medicine. 1997;29(1):55-62.

96. Sarin J, DeRossi SS, Akintoye SO. Updates on bisphosphonates and potential pathobiology of bisphosphonate-induced jaw osteonecrosis. *Oral Diseases*. 2008;14(3):277-85.
97. Reusser NM, Dalton HJ, Pradeep S, Gonzalez-Villasana V, Jennings NB, Vasquez HG, et al. Clodronate inhibits tumor angiogenesis in mouse models of ovarian cancer. *Cancer biology & therapy*. 2014;15(8):1061-7.
98. Bilezikian JP. Osteonecrosis of the jaw--do bisphosphonates pose a risk? *The New England Journal of Medicine*. 2006;355(22):2278-81.
99. Sharpe M, Noble S, Spencer CM. Alendronate. *Drugs*. 2001;61(7):999-1039.
100. Ballard T, Chargui S. Pamidronate. StatPearls: StatPearls Publishing; 2019.
101. Frampton JE, Perry CM. Ibandronate. *Drugs*. 2008;68(18):2683-707.
102. Dunn CJ, Goa KL. Risedronate. *Drugs*. 2001;61(5):685-712.
103. Green JR. Anti-tumor potential of bisphosphonates. *Medizinische Klinik (Munich, Germany : 1983)*. 2000;95:23-28.
104. Ayan M. Sistemik olarak verilen zoledronik asidin (Zometa®), titanyum dental implantların osteointegrasyon düzeylerine etkisi: Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2008.
105. Fragni M, Bonini SA, Stabile A, Bodei S, Cristinelli L, Simeone C, et al. Inhibition of Survivin Is Associated with Zoledronic Acid-induced Apoptosis of Prostate Cancer Cells. *Anticancer Research*. 2016;36(3):913-20.
106. Evans CE, Braidman IP. Effects of two novel bisphosphonates on bone cells in vitro. *Bone and Mineral*. 1994;26(2):95-107.
107. Jagdev S, Coleman R, Shipman C, Rostami-H A, Croucher P. The bisphosphonate, zoledronic acid, induces apoptosis of breast cancer cells: evidence for synergy with paclitaxel. *British Journal of Cancer*. 2001;84(8):1126-34.
108. Kryger ZB. Practical plastic surgery: CRC Press, 2007.
109. Major P, Lortholary A, Hon J, Abdi E, Mills G, Menssen H, et al. Zoledronic acid is superior to pamidronate in the treatment of hypercalcemia of malignancy: a pooled analysis of two randomized, controlled clinical trials. *Journal of Clinical Oncology*. 2001;19(2):558-67.
110. Ibrahim A, Scher N, Williams G, Sridhara R, Li N, Chen G, et al. Approval summary for zoledronic acid for treatment of multiple myeloma and cancer bone metastases. *Clinical cancer research. Journal of the American Association for Cancer Research*. 2003;9(7):2394-9.
111. Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *Journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 2003;61(9):1115-7.

112. Rosen LS, Gordon D, Kaminski M, Howell A, Belch A, Mackey J, et al. Zoledronic acid versus pamidronate in the treatment of skeletal metastases in patients with breast cancer or osteolytic lesions of multiple myeloma: a phase III, double-blind, comparative trial. *Cancer journal (Sudbury, Mass)*. 2001;7(5):377-87.
113. Saad F, Gleason D, Murray R, Tchekmedyian S, Venner P, Lacombe L, et al. Zoledronic acid reduces skeletal complications in patients with hormone-refractory prostate carcinoma metastatic to bone: a randomized, placebo-controlled trial. *J Natl Cancer Inst*. 2002;94:1458-68.
114. Rosen LS, Gordon D, Tchekmedyian S, Yanagihara R, Hirsh V, Krzakowski M, et al. Zoledronic acid versus placebo in the treatment of skeletal metastases in patients with lung cancer and other solid tumors: a phase III, double-blind, randomized trial--the Zoledronic Acid Lung Cancer and Other Solid Tumors Study Group. *Journal of Clinical Oncology*. 2003;21(16):3150-7.
115. Otto S, Pautke C, Van den Wyngaert T, Niepel D, Schiødt M. Medication-related osteonecrosis of the jaw: Prevention, diagnosis and management in patients with cancer and bone metastases. *Cancer Treatment Reviews*. 2018;69:177-87.
116. Ficarra G, Beninati F. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: the point of view of the oral pathologist. *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*. 2007;4(1):53.
117. Saad F, Brown J, Van Poznak C, Ibrahim T, Stemmer S, Stopeck AT, et al. Incidence, risk factors, and outcomes of osteonecrosis of the jaw: integrated analysis from three blinded active-controlled phase III trials in cancer patients with bone metastases. *Annals of Oncology*. 2012;23(5):1341-7.
118. Ruggiero SL, Dodson TB, Fantasia J, Goodday R, Aghaloo T, Mehrotra B, et al. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw-2014 update. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2014;72(10):1938-56.
119. Rosella D, Papi P, Giardino R, Cicalini E, Piccoli L, Pompa G. Medication-related osteonecrosis of the jaw: Clinical and practical guidelines. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*. 2016;6(2):97.
120. Shuster A, Reiser V, Trejo L, Ianculovici C, Kleinman S, Kaplan I. Comparison of the histopathological characteristics of osteomyelitis, medication-related osteonecrosis of the jaw, and osteoradionecrosis. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2019;48(1):17-22.
121. Phal PM, Myall R, Assael LA, Weissman J. Imaging findings of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws. *American Journal of Neuroradiology*. 2007;28(6):1139-45.
122. Wilde F, Heufelder M, Lorenz K, Liese S, Liese J, Helmrich J, et al. Prevalence of cone beam computed tomography imaging findings according to the clinical stage of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Oral Pathology And Oral Radiology*. 2012;114(6):804-11.

123. Scagliotti GV, Hirsh V, Siena S, Henry DH, Woll PJ, Manegold C, et al. Overall survival improvement in patients with lung cancer and bone metastases treated with denosumab versus zoledronic acid: subgroup analysis from a randomized phase 3 study. *Journal of thoracic oncology: International Association for the Study of Lung Cancer*. 2012;7(12):1823-9.
124. Reid IR, Bolland MJ, Grey AB. Is bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw caused by soft tissue toxicity? *Bone*. 2007;41(3):318-20.
125. Vahtsevanos K, Kyrgidis A, Verrou E, Katodritou E, Triaridis S, Andreadis CG, et al. Longitudinal cohort study of risk factors in cancer patients of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Journal of Clinical Oncology* 2009;27(32):5356-62.
126. Saad F, Brown JE, Van Poznak C, Ibrahim T, Stemmer SM, Stopeck AT, et al. Incidence, risk factors, and outcomes of osteonecrosis of the jaw: integrated analysis from three blinded active-controlled phase III trials in cancer patients with bone metastases. *Journal European Society for Medical Oncology*. 2012;23(5):1341-7.
127. Yamazaki T, Yamori M, Ishizaki T, Asai K, Goto K, Takahashi K, et al. Increased incidence of osteonecrosis of the jaw after tooth extraction in patients treated with bisphosphonates: a cohort study. *International Journal Oral Maxillofacial surgery*. 2012;41(11):1397-403.
128. Fedele S, Porter SR, D'Aiuto F, Aljohani S, Vescovi P, Manfredi M, et al. Nonexposed variant of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a case series. *The American Journal of Medicine*. 2010;123(11):1060-4.
129. O'Ryan FS, Khoury S, Liao W, Han MM, Hui RL, Baer D, et al. Intravenous bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: bone scintigraphy as an early indicator. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*: 2009;67(7):1363-72.
130. Ristow O, Otto S, Troeltzsch M, Hohlweg-Majert B, Pautke C. Treatment perspectives for medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ). *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2015;43(2):290-3.
131. Magremanne M, Reychler H. Pentoxifylline and tocopherol in the treatment of yearly zoledronic acid-related osteonecrosis of the jaw in a corticosteroid-induced osteoporosis. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*: 2014;72(2):334-7.
132. Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2005;63(11):1567-75.
133. Wang J, Goodger N, Pogrel M. Osteonecrosis of the jaws associated with cancer chemotherapy1. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2003;61(9):1104-7.
134. Moritz A, Beer F, Goharkhay K, Schoop U, Strassl M, Verheyen P, et al. Oral laser application: Quintessence Berlin, 2006.
135. Tuner J, Hode L. Laser therapy: clinical practice and scientific background: a guide for research scientists, doctors, dentists, veterinarians and other interested parties within the medical field: Prima Books, 2002.

136. Coluzzi DJ. Fundamentals of dental lasers: science and instruments. *Dental Clinics of North America*. 2004;48(4):751-70, v.
137. Coluzzi DJ. *An Overview of Lasers in Dentistry*-2011.
138. Convissar RA. *Principles and Practice of Laser Dentistry-E-Book*: Elsevier Health Sciences; 2015.
139. Miller ST. *Dictionary of scientific biography*. Reference Services Review. 1981.
140. Bohr N. *The theory of spectra and atomic constitution: three essays*: Cambridge University Press; 2011.
141. Walsh L. The current status of laser applications in dentistry. *Australian Dental Journal* 2003;48(3):146-55.
142. Convissar RA. *Atlas of laser applications in dentistry*: Quintessence Publishing Company; 2007.
143. Coluzzi DJ. Fundamentals of lasers in dentistry: basic science, tissue interaction, and instrumentation. *J Laser Dent*. 2008;16:4-10.
144. Parker S. Laser-tissue interaction. *British Dental Journal*. 2007;202(2):73-81.
145. Neimz MH. *Laser-tissue interactions: Fundamentals and applications*. Berlin: Springer; 2003.
146. Alexiades-Armenakas M. Laser-mediated photodynamic therapy. *Clinics in dermatology*. 2006;24(1):16-25.
147. de Mello EDA, Pagnoncelli RM, Munin E, Sant'Ana Filho M, de Mello GPS, Arisawa EAL, et al. Comparative histological analysis of bone healing of standardized bone defects performed with the Er: YAG laser and steel burs. *Lasers in Medical Science*. 2008;23(3):253-60.
148. Catone GA, Ailing III CC, Smith BM. Laser applications in oral and maxillofacial surgery. *Implant Dentistry*. 1997;6(3):238.
149. Tuner J, Hode L. Depth of penetration of laser light in tissue. *Laser Partner Clinixperience*. 2000;15:1-3.
150. Waynant RW. *Lasers in medicine*: CRC Press, 2011.
151. Asnaashari M, Safavi N. Application of low level lasers in dentistry (endodontic). *Journal of Lasers in Medical Sciences*. 2013;4(2):57.
152. Renno A, McDonnell P, Parizotto N, Laakso E-L. The effects of laser irradiation on osteoblast and osteosarcoma cell proliferation and differentiation in vitro. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2007;25(4):275-80.
153. Altan BA, Sokucu O, Ozkut MM, Inan S. Metrical and histological investigation of the effects of low-level laser therapy on orthodontic tooth movement. *Lasers in Medical Science*. 2012;27(1):131-40.

154. Sun G, Tunér J. Low-level laser therapy in dentistry. *Dental Clinics of North America*. 2004;48(4):1061-76, viii.
155. De Nguyen T, Turcotte J. Lasers in dentistry and in oral and maxillofacial surgery. *Journal Canadian Dental Association*. 1994;60(3):227-8, 31.
156. Zhang R, Mio Y, Pratt PF, Lohr N, Warltier DC, Whelan HT, et al. Near infrared light protects cardiomyocytes from hypoxia and reoxygenation injury by a nitric oxide dependent mechanism. *Journal Molecular Cellular Cardiology*. 2009;46(1):4-14.
157. Gable P, Tuner J. Bone stimulation by low level laser-a theoretical model for the effects. *Laser Partner, Clinixperience-All Volumes*. 2003.
158. Miloro M, Repasky M. Low-level laser effect on neurosensory recovery after sagittal ramus osteotomy. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2000;89(1):12-8.
159. Bhat AM. Lasers in prosthodontics-An overview part 1: Fundamentals of dental lasers. *The Journal of Indian Prosthodontic Society*. 2010;10(1):13-26.
160. Mester E, Mester AF, Mester A. The biomedical effects of laser application. *Lasers in surgery and medicine*. 1985;5(1):31-9.
161. Saito S, Shimizu N, of Dentistry FNUS. Stimulatory effects of low-power laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in the rat. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 1997;111(5):525-532.
162. Robertson V, Ward A, Low J, Reed A, MCSP D. *Electrotherapy explained: principles and practice*: Elsevier Health Sciences, 2006.
163. Mayer HM, Müller G, Schwetlick G. Lasers in percutaneous disc surgery: beneficial technology or gimmick? *Acta Orthopaedica Scandinavica*. 1993;64:38-44.
164. Pang P, Andreana S, Aoki A, Coluzzi D, Obeidi A, Olivi G, et al. Laser energy in oral soft tissue applications. *J Laser Dent*. 2010;18(3):123-31.
165. Lai JB, Poon CY. Treatment of ranula using carbon dioxide laser–Case series report. *IntJOral Maxillofacial Surgery*. 2009;38(10):1107-11.
166. Rechmann P, Goldin DS, Hennig T, (editors). *Er: YAG lasers in dentistry: an overview*. *Lasers in dentistry IV; International Society for Optics and Photonics*. 1998:
167. Puricelli E, editor *Oral soft tissue surgery using Er: YAG laser in contact and non-contact modes*. 7th International Congress of Lasers in Dentistry Brussels, Belgium, International Society for Lasers in Dentistry; 2000.
168. Moritz A. *Oral laser application*: Quintessenz Verlage-GMBH; 2006.
169. Midda M, Renton-Harper P. Lasers in dentistry. *BrDentJournal*. 1991;170(9):343-6.
170. Aoki A, Sasaki KM, Watanabe H, Ishikawa I. Lasers in nonsurgical periodontal therapy. *Periodontology* 2000. 2004;36(1):59-97.

171. Kravitz ND, Kusnoto B. Soft-tissue lasers in orthodontics: an overview. *American J OrthodontDentofacial Orthopedics*. 2008;133(4):S110-S4.
172. Yildirimturk S, Sirin Y, Soluk Tekkesin M, Gurler G, Firat D. The effects of low-level laser therapy on the healing of bone defects in streptozotocin-induced diabetic rats: A histological and morphometric evaluation. *J Cosmetic and Laser Therapy*. 2017;19(7):397-403.
173. Rucker RB, Suttie JW, McCormick DB. *Handbook of vitamins*: CRC Press, 2001.
174. Friedrich W. *Handbuch der Vitamine*: Urban & Schwarzenberg; 1987.
175. MacDonald-Wicks LK, Garg ML. Vitamin E supplementation in the mitigation of carbon tetrachloride induced oxidative stress in rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2003;14(4):211-8.
176. El-Demerdash FM, Yousef MI, Kedwany FS, Baghdadi HH. Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen quality of male rats: protective role of vitamin E and β -carotene. *Food and Chemical Toxicology*. 2004;42(10):1563-71.
177. Sokol RJ. The coming of age of vitamin E. *Hepatology*. 1989;9(4):649-53.
178. Åsman B, Wijkander P, Hjerpe A. Reduction of collagen degradation in experimental granulation tissue by vitamin E and selenium. *Journal ClinPeriodontol*. 1994;21(1):45-7.
179. Singh U, Devaraj S, Jialal I. Vitamin E, oxidative stress, and inflammation. *Annu Rev Nutr*. 2005;25:151-74.
180. Shuid AN, Mehat Z, Mohamed N, Muhammad N, Soelaiman IN. Vitamin E exhibits bone anabolic actions in normal male rats. *J Bone Mineral Metabol*. 2010;28(2):149-56.
181. Norazlina M, Lee P, Lukman H, Nazrun A, Ima-Nirwana S. Effects of vitamin E supplementation on bone metabolism in nicotine-treated rats. *Singapore Medical Journal*. 2007;48(3):195.
182. Duygulu F, Yakan B, Karaoglu S, Kutlubay R, Karahan OI, Ozturk A. The effect of zymosan and the protective effect of various antioxidants on fracture healing in rats. *Archives Orthopaedic Trauma Surgery*. 2007;127(7):493-501.
183. Dutta A, Dutta SK. Vitamin E and its role in the prevention of atherosclerosis and carcinogenesis: a review. *J AmCollege Nutr*. 2003;22(4):258-68.
184. Paradowski P, Zeman K. Pentoxifylline. *Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej*. *Postepy Hig Med Dosw* 1995; 49(2): 201-220.
185. Boldt J, Brosch C, Piper S, Suttner S, Lehmann A, Werling C. Influence of prophylactic use of pentoxifylline on postoperative organ function in elderly cardiac surgery patients. *Critical Care Medicine*. 2001;29(5):952-8.

186. Udassin R, Vromen A, Seror D, Haskel Y. Pentoxifylline attenuates ischemia/reperfusion injury to the small intestine in the rat. *Pediatric Surgery International*. 1996;11(5-6):329-33.
187. Nawashiro H, Martin D, Hallenbeck JM. Inhibition of tumor necrosis factor and amelioration of brain infarction in mice. *J Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 1997;17(2):229-32.
188. Thiel M, Bardenheuer H. Drug therapy of sepsis. An indication for pentoxifylline? *Der Anaesthesist*. 1994;43(4):249-56.
189. Lyons A, Brennan P. Pentoxifylline—a review of its use in osteoradionecrosis. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2017;55(3):230-4.
190. Goodman LS, Brunton LL, Chabner B, Knollmann BC. *Goodman & Gilman's pharmacological basis of therapeutics*: New York: McGraw-Hill, 2011.
191. Toker H, Ozdemir H, Ozer H, Eren K. A comparative evaluation of the systemic and local alendronate treatment in synthetic bone graft: a histologic and histomorphometric study in a rat calvarial defect model. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology And Oral Radiology*. 2012;114(5):S146-S52.
192. Günay A, Arpağ OF, Atilgan S, Yaman F, Atalay Y, Acikan I. Effects of caffeic acid phenethyl ester on palatal mucosal defects and tooth extraction sockets. *Drug Design, Development and Therapy*. 2014;8:2069.
193. Pretel H, Lizarelli RF, Ramalho LT. Effect of low-level laser therapy on bone repair: Histological study in rats. *Lasers in Surgery and Medicine*. Official J American Society for Laser Medicine and Surgery. 2007;39(10):788-96.
194. Onur H, Cakici H, Kukner A, Aygun H, Sarkalkan N, Baysal G. Effect of platelet-rich plasma on tendon-to-bone healing after rotator cuff repair in rats: an in vivo experimental study. *Acta orthopaedica Et Traumatologica Turcica* 2012;46(4):301-7.
195. Remmele W. Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue. *Pathologie* 1987;8:138-40.
196. Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006;1092(1):385-96.
197. Şentürk H, Canbakan B, Hatemi İ. Karaciğer enzim yüksekliklerine klinik yaklaşım. *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Gastroenteroloji Klinik Yaklaşım Sempozyum Dizisi*, İstanbul. 2004;38:9-13.
198. Courtney M, Townsend J, Beauchamp R, Evers B, Mattox K. *Sabiston textbook of surgery*. Elsevier Inc. 2004;628.
199. Choi S-Y, An C-H, Kim S-Y, Kwon T-G. Bone turnover and inflammatory markers of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in female osteoporosis patients. *Journal Oral Maxillofacial Surgery, Medicine, Pathology*. 2013;25(2):123-8.

200. Barba-Recreo P, García-Arranz M, Yébenes L, Burgueño M. Zoledronic acid–related osteonecrosis of the jaws. Experimental model with dental extractions in rats. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2014;42(6):744-50.
201. Ömezli MM, Ayranci F, Torul D, Akdoğan EÖ. İlaça Bağlı Çene Kemigi Osteonekrozu: Bir Derleme. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 2021;1-.
202. Kalra S, Jain V. Dental complications and management of patients on bisphosphonate therapy: A review article. *J Oral Biology and Craniofacial Research*. 2013;3(1):25-30.
203. Green JR, editor *Chemical and biological prerequisites for novel bisphosphonate molecules: results of comparative preclinical studies*. Seminars in Oncology, 2001: Elsevier.
204. Kim K, Park W, Oh S, Kim H-J, Nam W, Lim S-K, et al. Distinctive role of 6-month teriparatide treatment on intractable bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Osteoporosis International*. 2014;25(5):1625-32.
205. Longo F, Guida A, Aversa C, Pavone E, Di Costanzo G, Ramaglia L, et al. Platelet rich plasma in the treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: personal experience and review of the literature. *International Journal Dentistry*. 2014;2014.
206. Migliorati CA, Woo S-B, Hewson I, Barasch A, Elting LS, Spijkervet FK, et al. A systematic review of bisphosphonate osteonecrosis (BON) in cancer. *Supportive care in cancer*. *Support Care Cancer*. 2010;18(8):1099-106.
207. Dimopoulos MA, Kastiris E, Anagnostopoulos A, Melakopoulos I, Gika D, Moulopoulos LA, 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):968-71.
208. Cetiner S, Sucak GT, Kahraman SA, Akı SZ, Kocakahyaoglu B, Gultekin SE, et al. Osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma treated with zoledronic acid. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. 2009;27(4):435-43.
209. Senel FC, Duman MK, Muci E, Cankaya M, Pampu AA, Ersoz S, et al. Jaw bone changes in rats after treatment with zoledronate and pamidronate. *Oral Radiology Endodontology*. 2010;109(3):385-91.
210. Pacheco VN, Langie R, Etges A, Ponzoni D, Puricelli E. Nitrogen-containing bisphosphonate therapy: assessment of the alveolar bone structure in rats—a blind randomized controlled trial. *International Journal Experimental Pathology*. 2015;96(4):255-60.
211. Schiodt M, Otto S, Fedele S, Bedogni A, Nicolatou-Galitis O, Guggenberger R, Herlofson BB, Ristow O, Kofod T. Workshop of European task force on medication-related osteonecrosis of the jaw-Current challenges. *Oral Dis*. 2019;25(7):1815-1821.
212. Pearce A, Richards R, Milz S, Schneider E, Pearce S. Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *Eur Cell Mater* 2007;13(1):1-10.

213. Yang H, Pan H, Yu F, Chen K, Shang G, Xu Y. A novel model of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in rats. *IntJClinExperimental Pathol*. 2015;8(5):5161.
214. Pinto JR, Bosco ÁF, Okamoto T, Guerra JB, Piza IG. Effects of nicotine on the healing of extraction sockets in rats. A histological study. *Brazilian Dental Journal*. 2002;13(1):3-10.
215. Hikita H, Miyazawa K, Tabuchi M, Kimura M, Goto S. Bisphosphonate administration prior to tooth extraction delays initial healing of the extraction socket in rats. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. 2009;27(6):663-72.
216. Wang F, Chen W, Chen H, Mo L, Jin H, Yu Z, et al. Comparison between zoledronic acid and clodronate in the treatment of prostate cancer patients with bone metastases. *Medical Oncology*. 2013;30(3):657.
217. Govaerts D, Piccart F, Ockerman A, Coropciuc R, Politis C, Jacobs R. Adjuvant therapies for MRONJ: A systematic review. *Bone*. 2020;115676.
218. Scoletta M, Arduino PG, Reggio L, Dalmaso P, Mozzati M. Effect of low-level laser irradiation on bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: preliminary results of a prospective study. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2010;28(2):179-84.
219. Weber JBB, Camilotti RS, Ponte ME. Efficacy of laser therapy in the management of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ): a systematic review. *Lasers in Medical Science*. 2016;31(6):1261-72.
220. Hatipoglu M, Alptekin NÖ, Avunduk MC. Deneyisel periodontitis oluşturulmuş diyabetik sıçanlarda α - tokoferol'ün alveoler kemik kaybı üzerine etkileri. *Cumhuriyet Dental Journal*. 2014;17(4):380-388.
221. Ha H, Lee JH, Kim HN, Lee ZH. α -Tocotrienol inhibits osteoclastic bone resorption by suppressing RANKL expression and signaling and bone resorbing activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2011;406(4):546-51.
222. Samlaska CP, Winfield EA. Pentoxifylline. *J AmAcad Dermatol*. 1994;30(4):603-21.
223. Li J, Wang W. Positive effect of pentoxifylline on medication-related osteonecrosis of the jaw. *J StomatolOral Maxillofacial Surgery*. 2020;121(3):264-7.
224. Yalcin-Ulker GM, Cumbul A, Duygu-Capar G, Uslu Ü, Sencift K. Preventive effect of phosphodiesterase inhibitor pentoxifylline against medication-related osteonecrosis of the jaw: an animal study. *J Oral Maxillofacial Surgery*. 2017;75(11):2354-68.
225. Kim JW, Cha IH, Kim SJ, Kim MR. Biomarkers for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *ClinImplant Dentistry Related Research*. 2016;18(2):281-91.
226. Mercatali L, Ricci M, Scarpi E, Serra P, Fabbri F, Ricci R, et al. RANK/RANK-L/OPG in patients with bone metastases treated with anticancer agents and zoledronic acid: a prospective study. *IntJMolSci*2013;14(6):10683-93.
227. Ho J, Sundar S. Prolonged hypocalcemia after zoledronic acid in a patient with metastatic prostate carcinoma: did zoledronic acid trigger osteoblastic activity and avid calcium uptake? *ClinGenitourinary Cancer*. 2012;10(1):50-3.

228. Ferraz-de-Souza B, Martin RM, Correa PHS. Symptomatic intracranial hypertension and prolonged hypocalcemia following treatment of Paget's disease of the skull with zoledronic acid. *J Bone Mineral Metabolism*. 2013;31(3):360-5.
229. Kuyucu E. Postmenapozal osteoporozlu hastalarda zoledronik asit infuzyonunun olumsuz etkileri. *Okmeydanı Tıp Dergisi* 33(4):247-252, 2017
230. Şener A, Altundal H, Göker B, Yurtsever E. Alendronatın diş çekimi sonrası ratlarda plazma biyokimyasal parametrelerine ve oksidatif strese etkisi. *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 2009;26(3):147-53.
231. Erdil A, Soylu E, Altan A, Akbulut N. Çenelerin İlaça Bağlı Osteonekrozu ve Güncel Tedavi Yaklaşımları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*. 2019;28(4):285-99.
232. Curra C, Cardoso CL, Ferreira Júnior O, Curi MM, Matsumoto MA, Cavenago BC, et al. Medication-related osteonecrosis of the jaw. Introduction of a new modified experimental model. *Acta cirurgica brasileira*. 2016;31(5):308-13.
233. Matsumoto MA, de Abreu Furquim EM, Gonçalves A, Santiago-Júnior JF, Saraiva PP, Cardoso CL, et al. Aged rats under zoledronic acid therapy and oral surgery. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2017;45(5):781-7.
234. Vidal-Gutiérrez X, Gómez-Clavel J-F, Gaitán-Cepeda L-A. Dental extraction following zoledronate, induces osteonecrosis in rat's jaw. *Medicina Oral, Patologia Oral Y Cirugia Bucal*. 2017;22(2):e177.
235. Aghaloo TL, Kang B, Sung EC, Shoff M, Ronconi M, Gotcher JE, et al. Periodontal disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in the rat. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2011;26(8):1871-82.
236. AboElsaad NS, Soory M, Gadalla LM, Ragab LI, Dunne S, Zalata KR, et al. Effect of soft laser and bioactive glass on bone regeneration in the treatment of infra-bony defects (a clinical study). *Lasers in Medical Science*. 2009;24(3):387-95.
237. Bayram H, Kenar H, Taşar F, Hasırcı V. Effect of low level laser therapy and zoledronate on the viability and ALP activity of Saos-2 cells. *IntJOral Maxillofacial Surgery*. 2013;42(1):140-6.
238. Basso FG, Turrioni APS, Soares DG, Bagnato VS, Hebling J, de Souza Costa CA. Low-level laser therapy for osteonecrotic lesions: effects on osteoblasts treated with zoledronic acid. *Supportive Care in Cancer*. 2014;22(10):2741-8.
239. Shin S-H, Kim K-H, Choi N-R, Kim I-R, Park B-S, Kim Y-D, et al. Effect of low-level laser therapy on bisphosphonate-treated osteoblasts. *Maxillofacial Plastic and Reconstructive Surgery*. 2016;38(1):1-8.
240. Jeong S-Y, Hong J-U, Song JM, Kim IR, Park BS, Kim CH, et al. Combined effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 and low level laser irradiation on bisphosphonate-treated osteoblasts. *J Korean AssocOral Maxillofacial Surgeons*. 2018;44(6):259.

241. Karapınar G, Zincir ÖÖ, Ünür M, Olgaç NV. The Use of Photodynamic Therapy on Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws: An Animal Study. *Balkan Journal of Dental Medicine*. 2020;1.
242. Mergoni G, Vescovi P, Sala R, Merigo E, Passerini P, Maestri R, et al. The effect of laser therapy on the expression of osteocalcin and osteopontin after tooth extraction in rats treated with zoledronate and dexamethasone. *Supportive Care in Cancer*. 2016;24(2):807-13.
243. Weber JBB, Camilotti RS, Jasper J, Casagrande LCO, Maito FLDM. Effect of low-level laser therapy on tissue repair after dental extraction in rats administered zoledronic acid and dexamethasone. *J Biomedical Optics*. 2017;22(5):058001.
244. Turk C, Halici M, Guney A, Akgun H, Sahin V, Muhtaroglu S. Promotion of fracture healing by vitamin E in rats. *J InterMedResearch*. 2004;32(5):507-12.
245. Kasai S, Ito A, Shindo K, Toyoshi T, Bando M. High-dose α -tocopherol supplementation does not induce bone loss in normal rats. *PLoS One*. 2015;10(7):e0132059.
246. Chai SC, Wei CI, Brummel-Smith K, Arjmandi BH. The role of vitamin E in reversing bone loss. *Aging Clinand ExperRes*. 2008;20(6):521-7.
247. Lean JM, Davies JT, Fuller K, Jagger CJ, Kirstein B, Partington GA, et al. A crucial role for thiol antioxidants in estrogen-deficiency bone loss. *J ClinInvest*. 2003;112(6):915-23.
248. Norazlina M, Ima-Nirwana S, Gapor MTA, Khalid BAK. Tocotrienols are needed for normal bone calcification in growing female rats. *Asia Pacific JClinNutrit*. 2002;11(3):194-9.
249. Mehat MZ, Shuid AN, Mohamed N, Muhammad N, Soelaiman IN. Beneficial effects of vitamin E isomer supplementation on static and dynamic bone histomorphometry parameters in normal male rats. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. 2010;28(5):503-9.
250. Soeta S, Higuchi M, Yoshimura I, Itoh R, Kimura N, Amasaki H. Effects of vitamin E on the osteoblast differentiation. *J VetMedSci*. 2010;1002280174-.
251. Norazlina M, Maizatul-Neza J, Azarina A, Nazrun A, Norliza M, Ima-Nirwana S. Effects of vitamin E on receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) in rats treated with nicotine. *MedJ Malaysia*. 2010;65(1):14-7.
252. Kim M, Chun Y, Yim M. Effect of pentoxifylline, a phosphodiesterase inhibitor, on osteoclast formation. *Yakhak Hoeji*. 2004;48(3):197-201.
253. Aydın K, Şahin V, Gürsu S, Mercan AŞ, Demir B, Yıldırım T. Effect of pentoxifylline on fracture healing: an experimental study. *Joint Diseases and Related Surgery*. 2011;22(3):160-5.

254. Pal S, Porwal K, Singh H, Malik MY, Rashid M, Kulkarni C, et al. Reversal of Osteopenia in Ovariectomized Rats by Pentoxifylline: Evidence of Osteogenic and Osteo-Angiogenic Roles of the Drug. *Calcified Tissue Inter.* 2019;105(3):294-307.
255. Horiuchi H, Saito N, Kinoshita T, Wakabayashi S, Tsutsumimoto T, Otsuru S, et al. Enhancement of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2)-induced new bone formation by concurrent treatment with parathyroid hormone and a phosphodiesterase inhibitor, pentoxifylline. *J Bone Mineral Metabol.* 2004;22(4):329-34.
256. Takami M, Cho ES, Lee SY, Kamijo R, Yim M. Phosphodiesterase inhibitors stimulate osteoclast formation via TRANCE/RANKL expression in osteoblasts: possible involvement of ERK and p38 MAPK pathways. *FEBS letters.* 2005;579(3):832-8.
257. Fan H, Kim SM, Cho YJ, Eo MY, Lee SK, Woo KM. New approach for the treatment of osteoradionecrosis with pentoxifylline and tocopherol. *Biomaterials Research.* 2014;18(1):1-10.
258. Nguyen TTH, Eo MY, Seo MH, Myoung H, Kim SM, Lee JH. Effects of pentoxifylline and tocopherol on a rat-irradiated jaw model using micro-CT cortical bone analysis. *EurArchives of Oto-Rhino-Laryngol.* 2019;276(12):3443-52.
259. Patel V, Gadiwalla Y, Sassoon I, Sproat C, Kwok J, McGurk M. Use of pentoxifylline and tocopherol in the management of osteoradionecrosis. *BrJ Oral Maxillofacial Surgery.* 2016;54(3):342-5.
260. Heifetz-Li JJ, Abdelsamie S, Campbell CB, Roth S, Fielding AF, Mulligan JP. Systematic review of the use of pentoxifylline and tocopherol for the treatment of medication-related osteonecrosis of the jaw. *Oral Pathology and Oral Radiology.* 2019;128(5):491-497.

9. EKLER



T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar No	Protokol No	Proje Yürütücüsü
10.04.2019	2019/10	108	2019/57	Doç. Dr. Tuba TALO YILDIRIM

"Bifosfonat verilen ratlarda diş çekimi sonrası diyet lazerle uygulanan fotobiyomodülasyon, E vitamini ve pentoksifilin kemik ve dişeti dokusu üzerine etkisinin incelenmesi" başlıklı araştırma projenizde 82 Adet Sprague-Dawley Rat kullanılacağı ve hayvanlar üzerinde yapılacak girişimlerde hayvan kullanım etiği ilkelerine uyulacağı tarafınızdan beyan edilmiştir. Bu çerçevede aşağıda ismi bulunan araştırmacılara ait bu çalışmanın "Firat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesi" yönünden uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

1. Doç. Dr. Tuba TALO YILDIRIM
2. Arş. Gör. Cansu ERHAN
3. Doç. Dr. Serkan DÜNDAR
4. Dr. Öğr. Üyesi Alihan BOZOĞLAN
5. Doç. Dr. Gökhan ARTAŞ

Başkan	Prof. Dr. Mustafa İSSİ	
Başkan V.	Prof. Dr. Gülsüm ÖKSÜZTEPE	
Üye	Prof. Dr. Sinan CANPOLAT	
Üye	Doç. Dr. Asiye BAŞUSTA	
Üye	Doç. Dr. Serkan DÜNDAR	
Üye	Doç. Dr. Burcu GÜL BAYKALIR	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Eşef BOLAT	
Üye	Vet. Hek. Özgür BULMUŞ	
Üye	Onur UYGUR	
Üye	Murat DAĞHAN	

10. ÖZGEÇMİŞ

