T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

ZOLEDRONİK ASİT VERİLEN SIÇANLARDA DİŞ ÇEKİMİ SONRASI YARAYA UYGULANAN DÜŞÜK DOZ LAZER TEDAVİSİNİN KEMİK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK VE BİYOKİMYASAL OLARAK İNCELENMESİ

GİZEM GÜLGEZEN

DANIŞMAN
PROF. DR. BİLGİN ÖNER

AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

AĞIZ,DİŞ ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ PROGRAMI

İSTANBUL-2013

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Programında Dt.Gizem GÜLGEZEN tarafından hazırlanan "Zoledronik Asit Verilen Sıçanlarda Diş Çekimi Sonrası Yaraya Uygulanan Düşük Doz Lazer Tedavisinin Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisinin Histopatalojik ve Biyokimyasal Olarak İncelenmesi " başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

31 / 10 / 2013

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı) İmzası

1.Prof.Dr.Bilgin ÖNER-Danışman (İ.Ü.Diş.Hek.Fak.Ağız Diş Çene Cerrahisi A.B.D.)

2.Prof.Dr.Sami YILDIRIM (İ.Ü.Diş.Hek.Fak.Ağız Diş Çene Cerrahisi A.B.D.)

3.Prof.Dr.Canan ALATLI (İ.Ü.Tıp Fak. Onkoloji Enstitüsü)

4.Prof.Dr.Kamil GÖKER (M.Ü.Diş Hek.Fak.Ağız Diş Çene Cerrahisi A.B.D.)

5.Prof.Dr.Ayfer KAYNAR (İ.Ü.Diş Hek.Fak. Ağız Diş Çene Cerrahisi A.B.D)

BEYAN

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

GİZEM GÜLGEZEN



İTHAF

Aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgisini, yardımını, desteğini esirgemeyen bana her konuda yol gösterici olan değerli hocam, tez danışmanım Sayın Prof.Dr. Bilgin Öner'e

Yoğun çalışma temposuna rağmen tezimin histopatolojik bulgularının değerlendirilmesindeki ve yorumlanmasındaki emeklerinden ötürü İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü, Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Bilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Canan ALATLI' ya, sonuçların istatistik değerlendirmesinde yardımlarından dolayı İ.Ü. Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof.Dr. Rian Dişçi ve Araş.Gör. Kamber Kaşali'ye,

Deneyde kullandığım ilaçların hazırlanmasında yardımlarından ötürü İ.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç Dr. Erdal Cevher'e,

Deney prosedürünün oluşturulmasında yardımlarından dolayı Sayın Doç. Dr. Yiğit Şirin'e,

Deney çalışmalarımda yardımlarından dolayı sevgili arkadaşlarım Dr. Deniz Işık'a , Dr. Çiğdem Özçamur Güneş'e, Dr. Gülşah Güven'e, Dt. Senem Yıldırımtürk'e, Dt. Eda Kaya'ya, Dt. Deniz Başaran'a, Dt. Alen Palancıoğlu'na, tez yazım aşamasındaki desteğinden dolayı Tolga Erol'a ve preperatların hazırlanmasında yardımlarından dolayı laborant Mehmet Bozoğlu'na,

Hayatımın hiçbir anında verdikleri sevginin ve desteğin eksikliğini hissetmediğim ve hissetmeyeceğim, sevgili annem Kamile Gülgezen ve sevgili babam Recai Gülgezen'e ve daimi dostum, meslektaşım, kardeşim Dt. Hilal Gülgezen'e,

Doktora eğitimim sırasında aldığım bursla çalışmalarımı destekleyen TUBİTAK'a teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 13330

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI……ii
BEYAN……iii
İTHAF…… iv
TEŞEKKÜR……..v
İÇİNDEKİLER……vi
TABLOLAR LİSTESİ……..x
ŞEKİLLER LİSTESİ……....xi
SEMBOLLER/KISALTMALAR LİSTESİ……..xiii
ÖZET……xiv
ABSTRACT……xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ……...1
2. GENEL BİLGİLER……3
2.1. BİFOSFONATLAR……3
2.1.1. BİFOSFONAT GRUBU İLAÇLARIN TARİHÇESİ……3
2.1.2. BİFOSFONATLARIN KİMYASAL YAPISI……4
2.1.3. BİFOSFONATLARIN FARMAKOKİNETİĞİ……6
2.1.4. BİFOSFONATLARIN ETKİ MEKANİZMASI……7
2.1.5. BİFOSFONATLARIN TEDAVİ EDİCİ ETKİLERİ……9
2.1.5.1. BİFOSFONATLARIN ANTİ-REZORPTİF ETKİLERİ……...9
2.1.5.2. BİFOSFONATLARIN TÜMOROSİDAL ETKİLERİ……10
2.1.5.3. BİFOSFONATLARIN ANTİ-ANJİYOGENİK ETKİLERİ...11
2.1.6. BİFOSFONAT GRUBU İLAÇLARIN YAN ETKİLERİ……11
2.1.7. BİFOSFONATLARIN ENDİKASYONLARI……13
2.1.8. BİFOSFONATLARIN KONTRENDİKASYONLARI……..17
2.1.9. BİFOSFONATLARIN İNDÜKLEDİĞİ ÇENE OSTEONEKROZU (BRONJ) NUN TANIMI VE TARİHÇESİ……18
2.1.10. BRONJ'UN KLİNİK, RADYOLOJİK, HİSTOLOJİK VE MİKROBİYOLOJİK BULGULARI……19
2.1.11. BİFOSFONATA BAĞLI OSTEONEKROZUN PATOFİZYOLOJİSİ……..22
2.1.12. BİFOSFONATLARIN İNDÜKLEDİĞİ ÇENE KEMİĞİ OSTEONEKROZUNDA RİSK FAKTÖRLERİ……24
2.1.13. BRONJ OLGULARININ EVRELENDİRİLMESİ……..27
2.1.14. BRONJ GELİŞİMİNİ ENGELLEMEYE YÖNELİK YAKLAŞIMLAR……...29
2.1.14.1. BİFOSFONAT TEDAVİSİNE BAŞLAMADAN ÖNCE…...29
2.1.14.2. BİFOSFONAT TEDAVİSİ ESNASINDA……...30
2.1.14.3. BİFOSFONAT UYGULAMASINA ARA VERİLMESİNİN ÖNEMİ……..32
2.1.15. BRONJ'UN TEDAVİSİNE YÖNELİK YAKLAŞIMLAR…….33

2.1.15.1. BRONJ'UN KONSERVATİF TEDAVİ PROTOKOLÜ……35
2.1.15.2. BRONJ'UN CERRAHİ DEBRİDMANI……..35
2.1.16. BRONJ TEDAVİSİNDE YARDIMCI TEDAVİ YÖNTEMLERİNİN KULLANIMI…….36
2.2. LAZER……...40
2.2.1. LAZER UYGULAMALARININ TARİHÇESİ……..40
2.2.2. IŞIK TANIMI……42
2.2.3. LAZER IŞIĞI TANIMI……43
2.2.4. TEMEL LAZER FİZİĞİ……45
2.2.5. LAZER IŞIĞININ OLUŞUMU VE LAZER CİHAZININ BİLEŞENLERİ……...47
2.2.6. LAZER İLETİM SİSTEMİ……49
2.2.7. DOKULARIN OPTİK ÖZELLİKLERİ……...51
2.2.8. LAZERİN BİYOLOJİK DOKULARA ETKİ MEKANİZMASI……54
2.2.8.1. FOTOKİMYASAL ETKİLER……...54
2.2.8.2. FOTOTERMAL ETKİ……...56
2.2.8.3. FOTODEKOMPOZİSYONEL ETKİ……...56
2.2.9. LAZERİN AVANTAJLARI……59
2.2.10. LAZERİN DEZAVANTAJLARI……59
2.2.11. LAZERİN SINIFLAMASI……59
2.2.12. ORAL VE MAKSİLLOFASİYAL CERRAHİDE KULLANILAN LAZERLER……61
2.2.12.1. CO_2 LAZER……61
2.2.12.2. Nd:YAG LAZER……...61
2.2.12.3. Er:YAG LAZER……62
2.2.12.4. Ho:YAG LAZER……63
2.2.12.5. ARGON LAZER……63
2.2.12.6. He-Ne LAZER……...63
2.2.12.7. Er,Cr:YSGG LAZER……..63
2.2.12.8. DİYOT LAZERLER……...64
2.2.12.8.1. GALLİUM ALUMİNUM ARSENİDE DİYOT LAZER……...63
2.2.12.8.2. GALLİUM ARSENİDE DİYOT LAZER……64
2.2.13. DÜŞÜK ENERJİLİ LAZER TEDAVİSİ……..64
2.2.13.1. DELT'İN ETKİ MEKANİZMASI……68
2.2.13.2. DELT'İN KLİNİK UYGULAMALARI VE ENDİKASYONLARI……...71
2.2.13.3. DELT'İN KONTRENDİKASYONLARI……72
2.2.14. GÜVENLİ LAZER KULLANIMI VE ALINMASI GEREKEN ÖNLEMLER……..73
2.2.14.1. LAZERLERİN GÜVENLİK SINIFLAMASI……..74

2.2.14.2. LAZER KULLANIMININ RİSKLERİ……76
2.2.14.3. LAZER GÜVENLİK ÖLÇÜTLERİ…….77
2.3. KEMİK……..79
2.3.1. KEMİK DOKUSUNUN GENEL ÖZELLİKLERİ…….79
2.3.2. KEMİK DOKUSUNUN KİMYASAL YAPISI……...80
2.3.2.1. İNORGANİK YAPI……..79
2.3.2.2. ORGANİK YAPI……..80
2.3.3. KEMİĞİN BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLERİ……..82
2.3.4. KEMİK HÜCRELERİ……82
2.3.4.1. OSTEOPROGENİTÖR HÜCRELER……..82
2.3.4.2. OSTEOBLASTLAR……...83
2.3.4.3. OSTEOKLASTLAR……...84
2.3.4.4. OSTEOSİTLER……..85
2.3.5. KEMİK DOKUSU TİPLERİ……86
2.3.5.1. PRİMER KEMİK DOKUSU……86
2.3.5.2. SEKONDER KEMİK DOKUSU……..86
2.3.6. KEMİK DOKUSUNUN MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ…….88
2.3.7. KEMİK ZARLARI……88
2.3.8. KEMİK OLUŞUMU (OSTEOGENEZ) VE EVRELERİ……90
2.3.8.1. İNTRAMEMBRANÖZ KEMİKLEŞME…….90
2.3.8.2. ENDOKONDRAL KEMİKLEŞME……91
2.3.9. KEMİK BÜYÜMESİ VE YENİDEN ŞEKİLLENME……92
2.3.9.1. ŞEKİLLENME (MODELLİNG)……...93
2.3.9.2. YENİDEN ŞEKİLLENME (REMODELLİNG)……..93
2.3.10. KEMİK İYİLEŞMESİ……93
2.3.11. KEMİK METABOLİZMASINI ETKİLEYEN FAKTÖRLER……...97
2.3.12. ALVEOLER KEMİK……98
2.3.13. DİŞ ÇEKİMİ YARASININ İYİLEŞMESİ……99
3. GEREÇ VE YÖNTEM……...101
3.1. GEREÇ……101
3.1.1. LAZER CİHAZI……..101
3.1.2. SUBKÜTAN ENJEKSİYON İÇİN ZOMETA'NIN HAZIRLANMASI……..102
3.1.3. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME İÇİN ÖRNEKLERİN HAZIRLANMASI VE KİT KULLANIMI……103
3.2. YÖNTEM……105
3.2.1. DENEY HAYVANLARI VE GRUPLARI……105
3.2.1.1. ANA GRUPLAR VE ALT GRUPLARI…….....105
3.2.2. DENEY PROSEDÜRÜ……..…….106
3.2.3. HİSTOPATOLOJİK PREPARATLARIN HAZIRLANMASI……110
3.2.3.1. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME KRİTERLERİ…111

3.2.4. HİSTOMORFOMETRİK DEĞERLENDİRME……111
3.2.5. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME……..112
4. BULGULAR……...113
4.1. İSTATİSTİKSEL BULGULAR……..113
4.1.1. YENİ KEMİK YAPIM ALANLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ……113
4.1.2. OSTEOBLAST SAYISININ DEĞERLENDİRİLMESİ……114
4.1.3. DAMARLANMA ORANININ DEĞERLENDİRİLMESİ……..115
4.1.4. KOLLAJEN LİF ALANLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ…….117
4.1.5. EPİTELİN YÜZEYİ KAPATMA ORANININ DEĞERLENDİRİLMESİ……....118
4.1.6. OSTEOKLAST SAYISININ DEĞERLENDİRİLMESİ……120
4.1.7. İLTİHAP HÜCRESİ SAYISININ DEĞERLENDİRİLMESİ……...121
4.1.8. NEKROTİK KEMİK ALANLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ..123
4.1.9. KEMİK SPESİFİK ALKALEN FOSFATAZ DÜZEYİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ……124
4.1.10. SERUM CTX-1 DÜZEYİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ…….126
4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR……129
5. TARTIŞMA……135
6. SONUÇLAR……..156
7. KAYNAKLAR……...159
ETİK KURUL KARARI……..191
ÖZGEÇMİŞ……..192

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2- 1: Bifosfonat grubu ilaçların jenerik isimleri ve uygulanan dozları…..14
Tablo 2-2: Lazer uygulamalarında ısıya bağlı doku değişimleri……..57
Tablo 2-3: DELT'in hücre düzeyinde spesifik etkileri……68
Tablo 4-1: Haftalara göre yeni kemik yapım alanlarının gruplar arasında karşılaştırılması……. 113
Tablo 4-2: Haftalara göre osteoblast sayısının gruplar arasında karşılaştırılması……. 114
Tablo 4-3: Haftalara göre damarlanma oranının gruplar arasında karşılaştırılması…….. 116
Tablo 4-4: Haftalara göre kollajen lif alanlarının gruplar arasında karşılaştırılması…….117
Tablo 4-5: Haftalara göre epitelin yüzeyi kapatma oranının gruplar arasında karşılaştırılması…….118
Tablo 4-6: Haftalara göre osteoklast sayısının gruplar arasında karşılaştırılması…….120
Tablo 4-7: Haftalara göre iltihap hücresi sayısının gruplar arasında karşılaştırılması…….121
Tablo 4-8: Haftalara göre nekrotik kemik alanının gruplar arasında karşılaştırılması…….123
Tablo 4-9: Kemik ALP düzeyinin haftalara göre gruplar arasında karşılaştırılması……125
Tablo 4-10: Serum CTX-1 değerinin diş çekimi öncesi ve sonrası değerlerinin haftalara göre gruplar arasında dağılımı……127
Tablo 4-11: 5. haftada serum CTX-1 değerinin istatistiksel değerlendirilmesi.128

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Pirofosfat molekül yapısı……4
Şekil 2-2: Bifosfonat molekül yapısı……4
Şekil 2-3: Evre 2 BRONJ olgusunun ağız içi görünümü……19
Şekil 2-4: BRONJ hastasının BT görüntüsü…….20
Şekil 2-5: Işığın dalga boyları…….43
Şekil 2-6: Lazerin biyolojik dokulardaki etkisi……52
Şekil 2-7: Farklı lazerlerin farklı ortamlardaki absorbsiyon oranları…….53
Şekil 2-8: Lazerin derin dokulara etkisi……58
Şekil 3-1: Deneyde kullanılan diyot lazer cihazı…… 102
Şekil 3-2: Deneyde kullanılan zoledronik asit preperatı (ZOMETA)……. 103
Şekil 3-3: Seyreltilen zoledronik asit çözeltisinin steril membran filtreden geçirilerek steril flakonlara aktarılması…… 103
Şekil 3-4: Alınan kan örneklerinin serumun ayrıştırıldığı santrifüj cihazı… 104
Şekil 3-5: Alınan kan örneklerinin santrifüj sonrası durumu…….. 105
Şekil 3-6: Opere edilecek ratın tesbiti ve operasyon bölgesinin dezenfeksiyonu…… 107
Şekil 3-7: Üst çenede diş çekiminin yapılacağı molar diş bölgesi…….. 108
Şekil 3-8: Diş çekiminden sonra hemostaz sağlanması……. 108
Şekil 3-9: Çekim bölgesine düşük doz lazer uygulaması……. 109
Şekil 3-10: İntrakardiak kan alımı……. 110
Şekil 4-1: Yeni kemik yapımı alanlarının haftalara ve gruplara göre dağılımının grafik olarak karşılaştırılması……. 114
Şekil 4-2: Osteoblast sayısının gruplara ve haftalara göre dağılımının grafik olarak değerlendirilmesi…… 115
Şekil 4-3: Damarlanma oranının gruplara ve haftalara göre dağılımının grafik olarak değerlendirilmesi…… 116
Şekil 4-4: Kollajen lif alanının gruplara ve haftalara göre dağılımının grafik olarak değerlendirilmesi…… 118
Şekil 4-5: Yüzey epitelinin kapatma oranının gruplara ve haftalara göre dağılımının grafik olarak değerlendirilmesi……...119
Şekil 4-6: Osteoklast sayısının gruplara ve haftalara göre dağılımının grafik olarak değerlendirilmesi ……. 121
Şekil 4-7: İltihap hücresi sayısının gruplara ve haftalara göre dağılımının grafik olarak değerlendirilmesi……122
Şekil 4-8: Nekrotik kemik alanının gruplara ve haftalara göre dağılımının grafik olarak değerlendirilmesi……124
Şekil 4-9: Kemik spesifik alkalen fosfataz düzeyinin gruplara ve haftalara göre dağılımının grafik olarak değerlendirilmesi……. 126
Şekil 4-10: Serum CTX-1 değerinin gruplara ve haftalara göre dağılımının grafik olarak değerlendirilmesi……128

Şekil 4-11: Lazer grubunda 3. haftada yoğun yeni kemik yapımı alanı izlenmektedir. **(H&E X100)**…….. 129
Şekil 4-12: Antibiyotik grubunda 3. haftada yeni kemik yapımı çevresinde osteoblastlar ve osteoklastlar görülmektedir. **(H&E X200)**…… 129
Şekil 4-13: Lazer grubunda 3. haftada yeni kemik yapımı çevresinde osteoblastlar görülmektedir. **(H&E X200)** ……. 130
Şekil 4-14: Lazer grubunda 3. haftada yoğun kapiller damar artışı ve iltihap hücreleri izlenmektedir. **(H&E X400)** …… 130
Şekil 4-15: Lazer grubunda 5. haftada epitelin altında yoğun kollajen alanı ve yeni kemik yapımı izlenmektedir. **(H&E X200)**…….131
Şekil 4-16: Antibiyotik grubu 5. haftada epitelin yüzeyi tamamen örttüğü görülmektedir. Daha derinde eski kemik ve yeni kemik yapım alanları izlenmektedir. **(H&E X40)**…… 131
Şekil 4-17: Antibiyotik grubunda 3. haftada kemik dokusu arasında kalan bağ dokusu adacıkları içinde osteoklastlar izlenmektedir. **(H&E X400)**…… 132
Şekil 4-18: Kontrol grubu 5. haftada kemik dokusu çevresinde osteoklastlar görülmektedir. **(H&E X400)**…… 132
Şekil 4-19: Kontrol grubu 3. haftada epitelin yüzeyi örtemediği alanda nekrotik kemik, üzerinde mikroorganizmalar, daha derinde yeni kemik yapımı ve kollajen liflerden zengin bağ dokusu görülmektedir. **(H&E X100)**……133
Şekil 4-20: Kontrol grubu 5. haftada epitelin yüzeyi örtmediği görülmektdir. Yüzeyde ülser, iltihap hücreleri ve nekrotik kemik alanları izlenmektedir. **(H&E X40**)……. 133
Şekil 4-21: Kontrol grubunda 3. haftada ölü kemik dokusu çevresinde mikroorganizma kolonileri ve iltihap görülmektedir. **(PAS X200)** ……134
Şekil 4-22: Kontrol grubu 5. haftada yüzeyde diş kalıntıları, yüzeyi örtmeye çalışan epitel, bir alanda yoğun iltihap ve derinde eski kemik ve yeni kemik yapımı alanları izlenmektedir. **(H&E X40)**…… 134

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

FDA	Food and Drug Administration
ATP	Adenozin trifosfat
FPPS	Farnesil pirofosfat sentetaz
BMP	Bone morphogenetic protein
ILGF1	Insuline-like growth factor 1
ILGF2	Insuline-like growth factor 2
ZA	Zoledronik asit
AAOMS	American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons
BRONJ	Bisphosphonate Related Osteonecrosis of the Jaw
MR	Manyetik rezonans
MMP2	Matriks metallopeptidase-2
CTX	C-terminal cross-linking telopeptid
TSH	Tiroid stimülan hormon
HBO	Hiperbarik oksijen tedavisi
PRP	Trombositten zenginleştirilmiş plazma
MASER	Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation
Nd:YAG	Neodymium: Yttrium – Aluminium – Garnet
Er:YAG	Erbium: Yttrium – Aluminium – Garnet Lazer
TME	Temporomandibuler eklem
DELT	Düşük enerjili lazer tedavisi
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotid
TRAP	Tartarata dirençli asit fosfataz
PTH	Paratiroid hormon

ÖZET

Gülgezen G. (2013). Zoledronik asit verilen sıçanlarda diş çekimi sonrası yaraya uygulanan düşük doz lazer tedavisinin kemik iyileşmesi üzerine etkisinin histopatolojik ve biyokimyasal olarak incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Bifosfonat grubu ilaçlar terapotik etkileri nedeniyle multipl myelom, kemik metastazı olan kanserler, Paget hastalığı ve osteoporoz gibi sağlık sorunlarının tedavisinde yıllardır kullanılan ilaçlardır. Ancak son yıllarda bu ilaç grubunu kullanan hastalarda ciddi bir yan etki olarak çene kemiklerinde dental işlemlerden sonra veya işlem yapılmadan gelişen aseptik kemik nekrozlarının oluştuğu görülmüştür. Bu durumun etyolojisi, risk unsurları, klinik seyri ve etkin tedavi yöntemleri halen tartışılmaktadır. İlaca bağlı gelişen osteonekrozun tedavisinde günümüze kadar çeşitli tedavi yöntemleri denenmiştir fakat hiçbir tedavi protokolünde tam iyileşmeye ulaşılamamıştır. Günümüzde tedavide medikal ve cerrahi yöntemlerin yanı sıra destekleyici tedaviler de kullanılmaktadır.Bu tedaviler arasında yan etkilerinin sınırlı olması, farmakolojik ve invaziv bir yöntem olmayışı ile düşük enerjili lazer tedavisi (DELT) nin öne çıktığı görülmektedir. Özellikle erken dönem yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkileri deneysel ve klinik birçok çalışma ile kanıtlanmış olan DELT'nin anti-inflamatuar ve anti-mikrobiyal etkileri ile bifosfonata bağlı gelişen osteonekrozun tedavi protokolünde yer alabileceği sınırlı sayıda çalışma ile öne sürülmüştür.

Bu çalışmanın amacı bifosfonat grubu ilaç kullanan hastalarda yapılan oral cerrahi prosedürlerden sonra ilaca bağlı gelişebilecek osteonekrozu engellemede düşük doz lazer tedavisinin ne kadar etkili olduğunu araştırmaktır. Bu amaçla deneysel olarak zoledronik asit verilen ratlarda diş çekimi yapıldıktan sonra, belirlenen protokolde 3 ve 5 hafta boyunca uygulanan düşük doz lazerin etkinliği antibiyotik uygulaması ile karşılaştırılarak değerlendirildi. Sonuçlara göre düşük doz lazerin biyostimülan olarak damarlanma miktarını, kollajen lif alanını ve yeni kemik oluşumunu arttırdığını gözlemledik. Antibiyotik tedavisinin ise ortamdaki bakteri kolonizasyonunu azaltarak daha az iltihap hücresi görülmesini ve defekt üzerindeki epitelin kapanma oranının artmasını sağladığını gözlemledik.

Anahtar Kelimeler : Bifosfonat, Osteonekroz, Düşük doz lazer tedavisi, Biyostimülasyon, Rat

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 13330

ABSTRACT

Gulgezen G, (2013). Histopathological and biochemical evaluation of the effect of low level laser therapy applied on wound after tooth extraction in zoledronic acid treated rats. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Oral Surgery, PhD thesis,Istanbul.

Bisphosphonates are bone resorption inhibitor drugs which are mainly used for preventing bone metastases in cancer patients, treatment of multiple myeloma, Paget's disease,osteoporosis. On the other hand, in this patient group it has been observed that aseptic bone necrosis develops with or without dental trauma. Various treatment modalities consisting of combinations of medical, surgical and supportive approaches have been proposed for the treatment of BRONJ in the literature, yet a consensus is only achieved on the outlines. Among supportive approaches that are performed in combination with medical and surgical approaches, aiming enhancement in tissues' healing response, low level laser therapy (LLLT) stands out with its non-invasive and non-pharmacologic characteristics and low rate of side effects. Owing to its clinically and experimentally proven positive effects on early stages of wound healing, anti-inflammatory and anti-microbal properties, LLLT is proposed as an adjunct to medical and surgical treatments of BRONJ in limited number of studies.

The aim of this study is to evaluate the efficiency of low level laser therapy to prevent possible osteonecrosis which can develop after dental surgical procedures performed in patients who use bisphosphonates. For this purpose we investigated the efficiency of low level laser therapy(LLLT) in comparision with antibiotic treatment. We applied laser to extraction sockets of experimentally zoledronic acid treated rats. According to the results we observed that LLLT improved new bone formation area, collagen bundle area ,vascularization and antibiotic treatment reduced the amount of microbial biofilm, inflammation and improved the closure of the mucosa above the socket.

Key Words: Bisphosphonate, Osteonecrosis, Low level laser therapy, Biostimulation, Rat.

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 13330

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bifosfonat grubu ilaçlar, kemik metabolizmasında düzensizliklere yol açan osteoporoz, Paget hastalığı, multipl myelom, kemik metastazı olan kanserler ve malignansi hiperkalsemisi gibi sistemik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. İlacın kullanımındaki temel amaç, osteoklastların hücresel fonksiyonlarının inhibisyonu veya osteoklast apoptozisi ile kemik rezorpsiyonunun inhibe edilmesi ve kemiğin mineral yoğunluğunda artış sağlanmasıdır (24).

Günümüzde terapötik etkilerinden dolayı sık uygulanan, etkin ve güvenilir ilaçlar olarak bilinen bifosfonatlar, özellikle nitrojen içeren türevlerinin damar yoluyla uygulandığı bazı olgularda, atriyal fibrilasyon, akut faz reaksiyonları, renal yetmezlik ve çene kemiklerinde osteonekroz gibi istenmeyen klinik tablolara neden olmaktadır(237). Bifosfonat grubu ilaçların önemli yan etkisi olan çene kemiği osteonekrozuna ait ilk vaka raporları 2003 yılında Marx, Migliorati ve diğer araştırmacılar tarafından tanımlanarak yayınlanmıştır (174,224).İlk olarak kanser hastalarında karşılaşılan bu klinik tablo başlangıçta, kullanılan kemoterapötik ilaçlara ve steroidlere bağlanmıştır. Ancak zaman içerisinde, herhangi bir neden olmadığı halde yalnız bifosfonat alan hastalarda osteonekrozla karşılaşılması, bifosfonat kullanımı ile ilişkilendirilmesine yol açmıştır.

Artan sıklıkta görülen bu ciddi yan etkinin tedavisinde standardizasyon sağlanması ve vakaların sağlıklı değerlendirilmesi amacıyla American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons (AAOMS) tarafından 2009 yılında konsensus yayınlanmıştır. Bu konsensusta bifosfonata bağlı gelişen osteonekroz (BRONJ), çenelerine radyoterapi almamış olan, bifosfonat kullanmış veya kullanmakta olan hastalarda mandibula veya maksillada 8

haftadan daha fazla süren kemik ekspozu ile karakterize bir durum olarak tanımlanmıştır(226).

BRONJ'un oluşum süreci lokal ve sistemik olarak sınıflandırılabilen birçok risk faktörü ile ilişkilidir. Etyolojisinde rol oynayan lokal risk faktörleri arasında oral cerrahi işlemler, protez kullanımına bağlı iritasyonlar ve periodontal hastalık varlığı gösterilirken, eşlik eden malignansilerin, diyabet gibi diğer sistemik hastalıkların varlığı, kullanılan bifosfonat grubu ilacın türü, dozu, veriliş yolu, süresi, kortikosteroid türevleri gibi faktörler de BRONJ oluşumuna zemin hazırlayan sistemik risk faktörleri olarak belirtilmektedir (76,115).

BRONJ klinik olarak asemptomatik ekspoze alveoler kemik veya çevre yumuşak dokularda hassasiyet, ağrı, ödem gibi enfeksiyon bulgularının eşlik ettiği çıplak kemik görüntüsü şeklinde izlenir. İleri derecedeki olgularda ise bu bulgulara, ekstraoral fistüller ve patolojik kırıklar da eşlik edebilir(227).

Bifosfonata bağlı çene kemiği osteonekrozu hastanın yaşam kalitesini düşüren olumsuz bir tablo olduğundan tedavisi önem arz etmektedir. Ayrıca bifosfonatların, ilgili hastalıkların tedavisindeki yararları nedeniyle vazgeçilmez olmaları ve kullanımlarının tamamen kesilmesinin yerine göre imkansız olması, osteonekrozun tedavisi kadar risk unsurlarının azaltılarak osteonekroz oluşmasının engellenmesine yönelik yöntemleri de önemli hale getirmektedir.

Literatürde, düşük doz lazer tedavisinin biyostimülan etkilerinden dolayı BRONJ tedavisinde medikal ve cerrahi tedaviye destekleyici tedavi olarak kullanıldığı ve olumlu sonuç alındığı çalışmalar mevcuttur. Çalışmamızda lazerin olumlu etkilerinin osteonekroz oluşumunu engellemede ne kadar faydalı olacağını araştırmayı planladık. Bu amaçla zoledronik asit verilen ratlarda diş çekimi yapıldıktan sonra farklı total dozlarda uygulanan düşük doz lazerin kemik iyileşmesindeki olumlu etkisini, antibiyotik verilen ve hiçbir tedavi yapılmayan gruplardaki ratların iyileşmesi ile karşılaştırarak değerlendirmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.BİFOSFONATLAR

2.1.1.BİFOSFONAT GRUBU İLAÇLARIN TARİHÇESİ

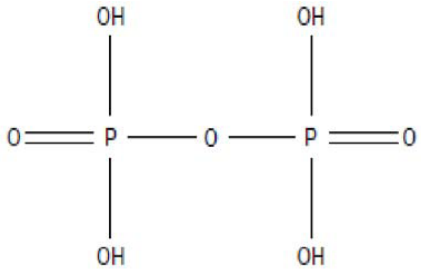
19. yüzyılın ortalarında Alman kimyagerler tarafından sentezlenen bifosfonatlar ilk olarak endüstri alanında boru hatları üzerine kalsiyum tuzlarının çökelmesini önlemek amacıyla kullanılmışlardır(24,167). 1960'lı yıllarda Fleisch ve ark. tarafından yapılan böbrek taşı oluşumunu engelleme potansiyelini hedef alan çalışmalarla bifosfonatların anti-rezorptif etkisi tanımlanmıştır. Bu çalışmaları takiben iskelet ve kalsiyum metabolizması üzerindeki etkileri bildirilen, sentez edilen ilk bifosfonat olan etidronat, 1971 yılında Paget hastalığının tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır(239). 1970'li yılların sonunda kalsiyum fosfata yüksek afiniteleri sayesinde teknesyum 99m ile birlikte kemik gamma-grafileri elde etmek için kullanılmış, ayrıca anti-tartar ve antiplak etkilerinden dolayı diş macunları içine katılmışlardır. 1995 yılında, günümüzde en sık kullanılan nitrojen içerikli bifosfonatlardan olan pamidronat'ın (Aredia) FDA onayı alması ile osteolitik metastazlar, hiperkalsemi, multipl myeloma gibi hastalıkların tedavilerinde damar içi yolla kullanımına başlanılmıştır. Aynı yıl içerisinde alendronat (Fosamax)' ın oral yolla kullanımı özellikle osteoporozun güncel tedavisinde yer almıştır. Günümüzde oral yolla uygulanan ve yaygın olarak kullanılan bir diğer bifosfonat olan risedronat (Actonel) ise 2001 yılında FDA onayı alarak klinik kullanıma girmiştir (229).

En potent olarak kabul edilen ve damar içi yolla uygulanan nitrojen içerikli bifosfonat türevi ise zoledronik asit olup, 2001 yılında FDA onayı aldıktan sonra, ilk kez maligniteye bağlı hiperkalseminin tedavisinde kullanılmış ve izleyen yıllar içerisinde antineoplastik ajan olarak multipl

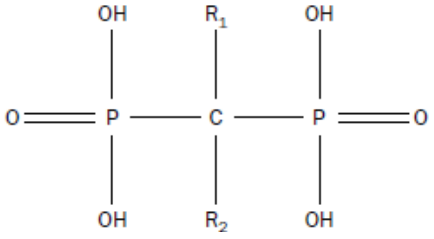
myelom ve kemik metastazı olan tümörlerin tedavisinde tercihle kullanılmaya başlanılmıştır (229).

2.1.2. BİFOSFONATLARIN KİMYASAL YAPISI

Bifosfonatlar, hidrolize edilemeyen sentetik pirofosfatların analoğu olan bileşiklerdir. Pirofosfatlar bir oksijene bağlanmış iki fosforik asitten oluşmuş olup polifosfatların en basit şeklidir(24)(**Şekil 2-1).** Hidroliz yoluyla kolayca parçalanır ve elimine edilirler(167).Bifosfonatlar, pirofosfattaki oksijenin yerine karbon içerirler ve fosfor-karbon-fosfor yapısı ile hidrolitik parçalanmaya dirençli hale gelirler**(Şekil 2-2)**. Bu yapı ile kemik matriksinde birikebilme ve 11 yıldan daha uzun yarılanma ömrüne sahip olma özelliğini kazanır(167). Pirofosfatlardan farklı olarak molekül yapılarında bulundurdukları iki yan zincir sayesinde seçici olarak osteoklastlarca endositoz ile hücre içerisine alınarak, kemik rezorbsiyonu sırasında lokalize olarak salınıp süreç üzerinde inhibe edici bir etki oluştururlar. Farklı yapıdaki bifosfonatlar bu iki zincirin değiştirilmesi ile oluşturulur. Yan zincirlerden R1, genellikle hidroksil grubu içerir ve bileşiğe, kemik mineraline ve kalsiyum kristallerine yüksek bağlanma özelliğini vererek bileşiğin kemik matriksine yapışmasını sağlar. İkinci serbest karbon bağı R2 ye ise değişik kimyasal gruplar bağlanır ve bu değişkenlik bifosfonatın antirezorptif özelliğini belirler(21).



Şekil 2-1: Pirofosfat molekül yapısı



Şekil 2-2: Bifosfonat molekül yapısı

Bifosfonatlar kimyasal yapılarına göre 2 ana gruba ayrılır.

1- Nitrojen içermeyen bifosfonatlar:
   - Etidronat
   - Klodronat
   - Medronat
   - Tiludronat
2- Nitrojen içeren bifosfonatlar (aminobifosfonatlar):
   - Alendronat
   - Pamidronat
   - İbandronat
   - Risedronat
   - Zoledronat

Nitrojen içermeyen bifosfonatlar ayrıca 1. kuşak bifosfonatlar olarak bilinir. Klinik olarak 30 yılı aşkın süredir kullanılmaktadır. Merkezdeki karbon atomuna bağlanan basit zincirlerden (medronat, klodronat, etidronat) veya klorofenil grubu içeren zincirlerden (tiludronat) oluşurlar ve etkinliği daha az olan bifosfonatlardır(21,102).

Nitrojen içeren aminobifosfonatlardan alendronat ve pamidronat, 2. kuşak bifosfonatlar olarak adlandırılırlar ve tek bir nitrojen atomu içeren basit alifatik zincirlere sahip olmaları dolayısıyla 1. kuşak bifosfonatlardan ayrılırlar (21). Risedronat, ibandronat ve zoledronat ise daha potent olup 3. kuşak bifosfonatlar olarak tanımlanırlar. Risedronat heterosiklik halka yapısına, zoledronat ise 2 nitrojen atomu içeren 5 üyeli imidazol halka yapısına sahiptir ve bu yapı ilacı diğer bifosfonatlara göre daha etkin bir hale getirmektedir. Örnek olarak, etidronatın kemik rezorpsiyonunu inhibe etme gücü 1 birim

kabul edildiğinde, alendronatın 1000 birim, pamidronatın 1000-5000 birim, zoledronatın ise 10.000 birim kadar güçlü olduğu bildirilmiştir(146,167).

2.1.3. BİFOSFONATLARIN FARMAKOKİNETİĞİ

Bifosfonatların anti-rezorptif etkileri birçok hayvan modeli üzerinde ve farklı tümör türleri oluşturularak uygulanan çalışmalarla gösterilmiştir (134). Çalışma mekanizmaları halen tam olarak aydınlatılamamış ise de tümör hücreleri üzerinde doğrudan herhangi bir etkileri olmadığı, ancak kemiği yıkıma ve tümör invazyonuna daha dayanıklı hale getirdiği bilinmektedir (237). Hem oral yoldan hem de damar yolu ile uygulanabilen bifosfonatlar oral yoldan alındığında, parasellüler taşınma yolu ile düşük oranlarda barsaklardan emilir. Farklı türevlerin çok değişken emilim düzeyleri bildirilmiştir. Absorbe edilen ilacın büyük kısmı (%80) hızla böbreklerden ve çok küçük bir kısmı safra yolu ile atılırken bir kısmı da (%20) iskelet yapıya geçerek dolaşımdan uzaklaşır. Bifosfonatların yalnızca osteoklastik rezorpsiyon ile bağlı olduğu hidroksiapatitten ayrılabilmesi ve devam eden kemik oluşumu sırasında tekrar iskelet yapıya geçerek burada kalmaları nedeni ile kemikteki yarı ömürleri uzundur ve iskeletsel yapının turnover düzeyine göre değişkenlik gösterir (66,221).

Organizmada kemik iskeletin yüksek düzeyde bifosfonat tutma kapasitesi olduğu bilinmektedir. Öte yandan kemik yapıdaki kısmın metabolizasyonu ve kemiğe geçmeyen diğer kısmın atılımı ile ilgili ise henüz net ve kesin bir görüş ortaya konulamamıştır(105).

Nitrojen içeren ve içermeyen bifosfonatlar için metabolizasyon ve atılım yolları farklılık gösterir. Nitrojen içermeyen bifosfonatlar hidrolize edilemeyen, sitotoksik adenozin trifosfatın (ATP) analoglarına metabolize olurlar. Bu toksik yan ürünlerin, osteoklast içerisinde birikmesi sonucu mitokondriyal fonksiyonu zayıflatması da, bifosfonatların bilinen etkilerinden olan osteoklast apoptozunu açıklar niteliktedir. Nitrojen içeren bifosfonatlar ise metabolize olmazlar,

kemiğe bağlanarak dolaşıma yavaşça salınırlar ve büyük oranda değişmeden, böbreklerden atılırlar (66,195,229).

Bifosfonatlar, kemik matriksi içerisinde yer aldıktan sonra, aylardan yıllara kadar değişen uzun sürelere yansıyan biyoyararlanım sağlarlar ve bu nedenle her türlü olumlu ve olumsuz etkileri de uzun ömürlü olmaktadır. Erken yarı ömürlerinin 10 gün düzeyinde olduğu belirlenmiş ise de, iskeletsel yarı ömürlerinin 10 yıla kadar uzayabildiği düşünülmektedir. Nitrojen içerikli bir bifosfonat olan alendronat'ın iskeletsel yarı ömrünün 10,9 yıl olduğu gösterilmiştir (105,237).

Pamidronat ve zoledronat gibi kemik metastazı tedavisinde kullanılan bifosfonatlar ise her 3 haftadan 3-4 aya kadar değişen dönemlerde bir doz damar yoluyla uygulanır (4mg). Kanser tedavisinde uygulan dozların, osteoporoz tedavisinde uygulanan bifosfonat dozlarından 7 – 12 kat daha fazla olduğu bilinmektedir. Bu grup ilaçların ilgili hastalıkların tedavisinde giderek vazgeçilmez olmalarının nedeni, kemik metastaz hızında yavaşlama, kemik ağrılarında, hiperkalsemide ve fraktürler gibi iskeletsel komplikasyonlarda azalma sağlamalarıdır (105,237).

2.1.4. BİFOSFONATLARIN ETKİ MEKANİZMASI

Tüm bifosfonatların temel biyolojik etkisi, kemik rezorbsiyonunu dolayısıyla kemik döngüsünü ve yenilenmesini inhibe etmektir(167). Yapılan çalışmalarda bifosfonatların osteoklast inhibisyonuna ve/veya dönüşümsüz hücre ölümüne sebep olarak osteoklastlar üzerine direkt etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Bu etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte günümüzde yapılan çalışmaların ışığında, birbirine bağlı olan doku, hücre ve moleküler düzeyde etki mekanizmalarından söz edilmektedir(119,267).

Doku düzeyindeki temel etki, kemik yıkımının engellenmesine sebep olan kemik döngüsündeki azalmadır. Kemik yıkımını engelleme etkisinin bir

parçası olarak bifosfonatlar yeni kemiğin yeniden yapılanma birimlerinin oluşma hızı olan aktivasyon sıklığını azaltırlar(119,267).

Hücresel düzeydeki etki muhtemelen dört mekanizma ile açıklanabilir. (92,267)

1. Osteoklast öncül hücrelerinin aktivasyonu ile öncül hücrelerin olgun osteoklastlara dönüşümünün engellenmesi,
2. Osteoklastın kemiğe kemotaksisinin ve tutunmasının engellenmesi,
3. Erken apoptoz nedeniyle osteoklastın yaşam süresinin kısalması,
4. Osteoklast aktivitesinin inhibisyonu.

Moleküler düzeyde ise bifosfonatların osteoklastlar üzerindeki etkilerinden sorumlu iki farklı mekanizma öne sürülmüstür(16,228,233). Nitrojen içermeyen bifosfonatlar, hedef hücrelerde toksik adenozin trifosfat (ATP) analogları oluşturarak rezorptif yeteneğin azalmasına ve hücre ölümüne neden olur. Aksine nitrojen içeren bifosfonatlar osteoklastlar üzerine doğrudan etki ederler. Etkilerini, osteoklast fonksiyonu için gerekli olan kolesterol biyosentezindeki mevalonat yolunda bulunan farnesil pirofosfat sentetaz (FPPS) enziminin inhibisyonu yoluyla protein prenilasyonunu ve kemik yıkımını engelleyerek gösterirler. Protein prenilasyonunun inhibisyonu osteoklast sayısını ve aktivitesini azaltır, osteoklast apoptozunu ise destekler(16,82,90,159,167,228).

Bifosfonatların kemik rezorpsiyonu ile ilgili olacağı düşünülen daha birçok biyokimyasal etkileri tanımlanmıştır. Laktik asit yapımı ve proton birikiminde azalma, lizozomal enzim ve pirofosfataz inhibisyonu, prostaglandin sentezi ve interlökin-1 yapımının önlenmesi, membran geçirgenliğinde artışa ve kalsiyum dengesinde değişikliklere neden olabilir(90). Bifosfonatlar, osteoblastların osteoklastları inhibe eden maddeler üretmelerine neden olarak dolaylı yoldan da etkili olabilirler(91,221,267).

Bifosfonatların terapötik ve toksik etkileri osteoklastlar üzerindeki etkilerinden kaynaklandığından dolayı osteoklastların normal kemik yenilenme ve şekillenme sürecindeki rolünü iyi bilmek gerekir. Osteoklastlar, kemik iliğindeki osteoklastik prekürsörlerden cFos ve PU.1 gibi transkripsiyon faktörlerine cevap olarak farklılaşarak gelişir ve çok çekirdekli olgun osteoklastlara dönüşürler(250). Normal kemik yenilenme döngüsünde osteoklastlar, paratiroid hormona cevap olarak Howship lakünleri içerisinde hidroklorik asit salgılayarak kemiğin yüzeyel alanlarında düzensiz sınırlar oluşturacak şekilde kemiği rezorbe ederler. Bu sırada kemik morfogenetik proteinin(BMP) ve insülin benzeri büyüme faktörleri 1 ve 2 (ILGF1 ve ILGF2)'nin ortama salınımı hızlanır. Bu proteinler ortamda lokal olarak bulunan ve dolaşan kök hücrelerinin osteoblastlara dönüşümünü destekler ve oluşan osteoblastlar osteoid maddeyi salgılayarak kemik yapımını sağlar(91).

2.1.5. BİFOSFONATLARIN TEDAVİ EDİCİ ETKİLERİ

Bifosfonatlarla tedavide beklenen olumlu etkiler, anti-rezorptif, tümorosidal ve antianjiyojenik etki olmak üzere incelenebilir.

2.1.5.1.BİFOSFONATLARIN ANTİ-REZORPTİF ETKİLERİ

Bifosfonat grubu ilaçların en önemli ve en güçlü etkileri arasında sayılan antirezorptif etkileri, ulaştıkları konsantrasyonlar ve dokuda retansiyon zamanları yönünden farklı kemik yüzeylerde değişkenlik gösterir. Kemik dokudaki inflamasyon ve rezorpsiyon süreçlerinde, yüksek hücresel aktiviteye bağlı olarak daha fazla miktarlarda ve daha uzun sürelerle bulundukları rapor edilmiştir (50,139).

Nitrojen içerikli olmayan bifosfonatlar osteoklastik hücreler içerisinde ATP'nin sitotoksik analoglarına metabolize olarak hücre içerisinde birikir ve ATP ile yarışır. Sonuç olarak, osteoklastlar yaşamsal fonksiyonları için gerekli olan enerjiden yoksun kalarak apoptoza yönelir. Ortamdaki osteklastların

sayısının ve etkinliğinin azalması, kemik rezorpsiyon miktarının azalmasıyla sonuçlanır(50,139).

Alendronat, pamidronat, ibandronat, risedronat ve zoledronik asit gibi nitrojen içerikli olan bifosfonatlar ise, kolesterol ve sterol üretiminde önemli bir yol olan mevalonat yolu enzimlerinden, farnesil-difosfat sentazı inhibe ederek osteoklastik aktivitenin inhibisyonunu sağlar. Ortamda farnesil difosfatın aktif olarak bulunmayışı, osteoklastik aktivite için büyük önem gösteren prenile olmuş proteinlerin oluşumuna veya gerekli formlara modifiye olmalarına engel olur(220).

Tedavide uygun dozlarda kullanıldığında kemik yapım hızını ve mineralize kemik miktarını arttırdığı hayvan deneylerinde kanıtlanmıştır(200).

2.1.5.2. BİFOSFONATLARIN TÜMOROSİDAL ETKİLERİ

Günümüzde bifosfonatların tercihle kullanılan ilaçlar olmalarında, en az antirezorptif etkileri kadar önemli olan bir diğer etkisi de tümorosidal etkidir. Kemik doku içerisinde metastatik hücrelerin salgıladığı ve osteoklast kökenli kemik rezorpsiyonuna neden olan ve rezorbe olan kemikten salınarak tümör gelişimini arttıran bazı faktörlerin inhibisyonu, bifosfonatların tümorosidal etkilerinin temeli olarak gösterilmektedir. Bu bilgiler ışığında, bifosfonatların tümorosit etkilerini asıl olarak, anti-rezorptif etki üzerinden sağladıkları düşünülmektedir (179,211).

Bifosfonat grubu ilaçların tümorosidal etkilerinin açıklaması niteliğindeki bir diğer bilinen ise, tümör hücrelerinin gelişiminde ve metastazında rol oynayan bazı büyüme faktörlerinin (ILGF-1, ILGF-2, BMP) salınımını inhibe etmesidir. Özellikle primer tümörün tedavisine destek olarak uygulandıklarında bifosfonatların, metastaz gelişiminin en erken bulgularından olan dissemine tümör hücrelerine ait büyüme faktörlerini ve diğer bazı modulatörleri inhibe ettiği gösterilmiştir (142). Bifosfonatların, tümoral

hücrelerin proliferasyon, adezyon ve invazyon gibi yeteneklerini sınırladığını da gösteren çalışmalar bulunmaktadır (101,179).

2.1.5.3. BİFOSFONATLARIN ANTİ-ANJİYOGENİK ETKİLERİ

Dokuda var olan damarlardan yenilerinin oluşması olarak tanımlanabilecek olan anjiyogenez süreci, tümör gelişimine temel oluşturan bir basamaktır. Nitrojen içerikli bifosfonatlar, endotelyal hücre proliferasyonu, göçü ve kapiller formu oluşumu gibi anjiyogenezin temel birçok aşamasına engel olur(179).

Nitrojen içerikli bifosfonatların, rat modellerinde deneysel olarak aort halkası oluşturulmasında ve over yumurtalarında karyo-allantoik membran oluşumunda inhibe edici etkileri gösterilmiştir (60,61). Benzer etkiler, Stresing ve arkadaşları tarafından, kısır ratlarda testesteron stimulasyonu yolu ile prostat bezi oluşumunu amaçladıkları çalışmalarında, bifosfonat uygulanmasını izleyerek anjiyogenezin epitelyal yönden baskılandığını rapor edilmiştir (244). Kemik iliği monositleri tarafından endositoz yolu ile hücre içerisine alınabildikleri gösterilmiş olan bifosfonatlardan özellikle zoledronik asitin bazik-fibroblastik büyüme faktörü aracılığı ile anjiyogenezi inhibe ettiği ve endotelyal hücre apoptozuna neden olduğu gösterilmiştir (273). Bu bulgulara dayanarak, bifosfonatların anjiyogenezi inhibe ederek, kemik iliği kökenli myeloid hücrelerin tümör bölgesine göçüne engel olduğu öne sürülmektedir (60,61).

2.1.6.BİFOSFONAT GRUBU İLAÇLARIN YAN ETKİLERİ

Bifosfonatların metastatik kemik kanserleri, osteoporoz ve multipl myeloma benzeri kemik metabolizmasını etkileyen hastalıklar üzerinde bilinen olumlu etkilerine rağmen, uygulanmaları sırasında ve sonrasında birçok yan etkiye de yol açabilecekleri çok sayıda rapor ile gösterilmiştir (24,105,237,257).

Bu yan etkilerden en güncel olanı ve son yıllarda sık görüleni; çene kemiklerinde avasküler, iyileşmeyen, çıplak kemik alanları şeklinde ortaya çıkan çene kemiği osteonekrozlarıdır. Bifosfonatlar; çene kemiği osteonekrozunun yanı sıra daha seyrek olarak özofageal mukozal ülserasyonlar, özofajit, akut faz reaksiyonları konjunktivit, sklerit ve episklerit gibi oküler inflamasyonlar ve iskelet, kas ağrıları gibi diğer yan etkilerden de sorumlu tutulmaktadır (24,67,237).

Akut faz reaksiyonları, grip benzeri bulgular, yüksek ateş, titreme, miyalji ve artralji gibi intravenöz bifosfonat uygulamaları ile ilişkilendirilen kısa süreli reaksiyonlardır(24). Semptomlar intravenöz uygulamalar sonrası %10 oranında görülür, infüzyondan 28-36 saat sonrasına kadar devam edebilir ve 2-3 günde kendiliğinden geçer(201). Oral uygulamalarda da ilaç yeterli doza ulaşıldığında semptomlar izlenebilir.

Kimmel ve ark. tarafından nitrojen içerikli bifosfonatların farmakodinamiğini ve klinik uygulamalarını değerlendirilen çalışmada, damar yolu ile ibandronat veya zoledronik asit uygulamasını izleyen 4 gün içerisinde gelişen renal toksisite olguları rapor edilmiş ve kronik böbrek yetmezliği olan hastaların, bifosfonat terapisi için uygun adaylar olmadığı öne sürülmüştür (139). Pfister ve ark. sağlıklı ratlar üzerinde yaptığı çalışmada nitrojen içeren farklı bifosfonat tiplerinin, farklı dozlarının böbrek hücreleri üzerine etkisini araştırmışlar ve doza bağlı olarak böbrekte proksimal tübülde dejeneratif değişikliği, hücre nekrozunu ve membranda fırçamsı yüzeyin kaybolduğunu bildirmişlerdir(203). Drake ve ark. ise, damar yolu ile alendronat uygulamasının atriyal fibrilasyon riskini arttırdığını bildirilmişlerdir (81).

Cartsos ve ark. çeşitli nedenlerle bifosfonat tedavisi görmüş yüksek sayıda hasta grubu üzerinde yaptıkları kapsamlı klinik çalışma sonucu bifosfonat grubu ilaçların kemikte yüksek konsantrasyonlara ulaşması halinde, oral mukoza epiteli üzerinde toksik etkileri olabileceğini rapor etmişlerdir (50)

2.1.7. BİFOSFONATLARIN ENDİKASYONLARI

Bifosfonatlar başlıca, kemik metastazlarının önlenmesi ve tedavisinde, orta ve şiddetli malign hastalıklara bağlı artmış kan kalsiyum seviyesinin düzenlenmesinde, kemik kanserlerinde metastazı engellemede, multipl myelom, Paget hastalığı ile osteoporoz tedavisinde kullanılmaktadır.

Osteoklastlarda apoptoza yol açan bifosfonatların, tümör hücreleri üzerine de direkt apoptotik etkileri bulunmaktadır. Oral klodronat, intravenöz pamidronat ve zoledronik asit, kemik metastazlarında sıklıkla kullanılan bifosfonatlardır. Klinik kullanımda en etkin bifosfonat olan zoledronik asidin, metastatik meme kanseri, multipl myelom, maligniteye bağlı hiperkalsemi, Paget hastalığı ve solid tümörlerin kemik metastazlarında etkinliği kanıtlanmıştır. Pamidronat ile karşılaştırıldığında, maligniteye bağlı hiperkalsemi ve iskeletsel komplikasyonların azaltılmasında daha etkin olduğu saptanmıştır (76,195). Uzun yıllar intravenöz olarak pamidronat etkin bir şekilde kullanıldıysa da, son yıllarda daha uzun etki süreli zoledronik asit daha çok tercih edilir hale gelmiştir.

Oral bifosfonatlar tedavide genellikle günlük dozlar şeklinde uygulanmaktadır. Bununla birlikte, alendronat ve risedronat gibi bifosfonatların haftalık doz uygulamaları da geliştirilmiştir.

Günümüzde en sık olarak kullanılan bifosfonat çeşitlerini ve kullanım alanlarını kısaca özetlemek gerekirse**(Tablo 2-1)**:

Etidronat, kemik yaralanmalarından oluşan hipertrofik kalsifikasyonların tedavisinde ve Paget hastalığı tedavisinde oral yolla kullanılan ve azot içermeyen bir bifosfonattır. Sınıfının etki gücü en az olan bifosfonat çeşididir. Yarılanma ömrü kısadır, tedavide kullanılan dozu günlük 350-750 mg dır(167).

Alendronat, oral yolla alınan ve osteoporoz ile osteopenide en sık tercih edilen azot içerikli bifosfonattır. Yarılanma ömrü 10 yıldan uzundur, tedavide kullanılan dozu haftalık 70 mg dır(167).

Risedronat, azot içerikli diğer bir bifosfonattır. Alendronattan sonra osteoporoz ve osteopenide en sık kullanılan ikinci bifosfonattır. Yarılanma ömrü de alendronat gibi 10 yıldan uzundur, etkin tedavi dozu haftalık 35 mg veya günlük 5mg dır(167).

İbandronat, azot içerikli bir bifosfonattır ve yarılanma ömrü 10 yıldan uzundur. Osteoporoz için alınan diğer ilaçların aksine ayda bir kez 150mg dozunda ya da 2,5mg'lık günlük dozlar halinde kullanılabilmektedir(167).

Pamidronat, multipl myelom, metastatik meme kanseri, metastatik prostat kanseri, maligniyete bağlı hiperkalsemi olgularında kullanılır. 3-4 haftada bir, 90mg dozunda infüzyonla verilir.

Bifosfonat Türevi	Jenerik İsmi	Onaylanmış Endikasyonu	Önerilen Dozu/ Veriliş Yolu	Nitrojen İçeriği	(Etidronat'a) Rölatif Gücü
Etidronat	DIDRONEL	Paget Hastalığı, Heterotrofik Ossifikasyon	ORAL Günlük 350-750 mg, 6 Ay	YOK	1
Tiludronat	SKELID	Paget Hastalığı	ORAL Günlük 400 mg, 3 Ay	YOK	50
Alendronat	FOSAMAX	Osteoporoz / Paget Hastalığı	ORAL Günlük 10 – haftalık 70 mg	VAR	1000
Risedronat	ACTONEL	Osteoporoz/ Paget Hastalığı	ORAL Günlük 5mg – haftalık 35 mg	VAR	1000
Ibandronat	BONIVA	Postmenopozal osteoporoz	ORAL Günlük 2,5 mg – Aylık 150 mg	VAR	1000
Pamidronat	AREDIA	Malignansi Hiperkalsemisi, Multiple Myeloma, Kemik Metastazı, Paget Hastalığı	DAMAR YOLU 90 mg / 3 Hafta	VAR	1000-5000
Zoledronat	ZOMETA RECLAST	Malignansi Hiperkalsemisi, Multiple Myeloma, Kemik Metastazı, Paget Hastalığı	DAMAR YOLU 4 mg /3 Hafta	VAR	+10000

Tablo 2-1: Bifosfonat grubu ilaçların jenerik isimleri ve uygulanan dozları

Zoledronik asit (ZA) azot içeren yeni kuşak bir bifosfonat molekülü olup osteoklastik aktiviteyi ve kemik rezorpsiyonunu engelleyen günümüzde bilinen en potent bifosfonattır(157). 3-4 haftada bir defa 15 dakikalık infüzyon şeklinde 4mg olarak uygulanır. Pamidronat 90mg ve zoledronik asit 4mg dozları, etidronattan 10.000 kat daha etkili bulunmuştur (167). Yarılanma ömrü pamidronat gibi 10 yıldan fazla, hatta ömür boyudur. ZA, 2001 yılında FDA tarafından onaylanmış olup primer olarak malign hastalıkların yarattığı hiperkalseminin tedavisinde, multipl myelom ve tümör metastazlarında standart antineoplastik tedaviyle birlikte kullanımı tanımlanmıştır. Bu onkolojik endikasyonlar dışında Paget hastalığı ve postmenopozal osteoporoz tedavisinde kullanımı 2007 yılında FDA onayını almıştır(157). Onkolojik endikasyonlarda önerilen doz 4 haftada bir 15 dk'lık intravenöz infüzyon yoluyla 4 mg'dır. Paget hastalığı ve postmenopozal osteoporozda önerilen ZA dozu ise yılda bir 15 dk'lık infüzyonla 5mg şeklindedir.

ZA osteoklastlara olan etkileri nedeniyle kemik rezorpsiyon döngüsünde potent bir inhibisyon yapar. Osteoklast formasyonunu ve osteoklastların rezorpsiyon aktivitelerini inhibe eder(157). Osteoklastların apoptotik hücre ölümünü indüklemesi de ayrı bir mekanizmadır(24). Diğer bifosfonatlara benzer şekilde hidroksiapatite karşı yüksek afinitesi nedeniyle direk olarak mineralize kemiğe bağlanma yapar. Bu şekilde kemik rezorpsiyonu ile açığa çıkan bifosfonat, osteoklastları tekrar etkileyerek inhibisyon yapar. ZA diğer azot içeren bifosfonatlara benzer şekilde mevalonat gidiş yolunu bozarak etki eder. Bunun sonucu olarak osteoklast aktiviteleri bozulur ve apoptoz meydana gelir(140,157). Zoledronik asitin rol oynadığı ileri sürülen diğer etki mekanizmaları; osteoklast matürasyonunun inhibisyonu, osteoklastların rezorpsiyon bölgesine göç etmelerinin engellenmesi, sitokin üretiminin azalması, direk antitümör etkinliği (sitostatik-sitolitik etki), tümör hücrelerinin

yayılmasının ve kemik matrikse adhezyon yolu ile invazyonunun engellenmesi ve tümörlerde anti-anjiyojenik etkisi olarak sıralanabilir(17,41,89,273).

ZA kemiğe konsantrasyona bağlı bir bağlanma gösterir. Bu özelliği pamidronata benzerlik gösterir. Ratlarda yapılan in-vivo çalışmada karbon izotopu (^{14}C) etiketli ZA molekülünün damar içi infüzyondan bir saat sonrasında, aksiyal ve apendiküler iskelette, kafa kemikleri mandibula ve böbrekte geniş bir dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. Enjeksiyondan 8 ay sonra kan ve yumuşak dokulardaki ZA seviyelerinin oldukça düşmesine rağmen (<1 pmol/kg) kemikteki miktarın halen yüksek olduğu görülmüştür(104).

Fare kalvaryum kemik kültürü üzerinde yapılan in-vitro çalışmada ZA'nın diğer beş bifosfonata göre vitamin D3 kaynaklı kalsiyum salınımını daha etkili bir biçimde inhibe ettiği gözlenmiştir. ZA'nın pamidronata göre 100 kat, klodronat, alendronat, ibandronat ve risedronata göre sırasıyla 200, 25, 10 ve 5 kat daha potent olduğu tespit edilmiştir(70). Tiroparatiroidektomi yapılmış ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada 1,25- dihidroksivitamin D3 verilerek oluşturulan osteoklast kaynaklı kemik rezorbsiyonu ve hiperkalsemi modelinde pamidronata göre 850 kat potent olduğu saptanmıştır. Buna ilaveten intak ratlarda tibial kemik yoğunluğunun %50 artırılmasında pamidronata göre 200 kat, trabeküler kalsiyum içeriğinin %50 artırılmasında 100 kattan fazla potent olduğu bulunmuştur(11).

Mevalonat yolunun engellenmesi üzerinde yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada eşit konsantrasyonlarda zoledronik asit ve risedronat protein frenilasyonunu total olarak inhibe ederken pamidronat kısmen etkilemiş, klodronat, etidronat ve tiludronat etki göstermemiştir(65).

Benford ve ark.'nın osteoklast apoptozu üzerinde yaptıkları in-vitro çalışmada azot içeren ve içermeyen bifosfonatların etkinlikleri karşılaştırılmıştır(31). Çalışmada tüm bifosfonatlar apoptoza neden olurken, ZA'nın diğerlerine oranla osteoklast apoptozunun bir belirteci olan caspase-3

benzeri proteazların aktivasyonunu daha fazla artırdığı ve FPPS enzimini daha potent bir şekilde inhibe ettiği saptanmıştır.

Zoledronik asitin diğer bifosfonat grubu ilaçlara oranla çok daha düşük konsantrasyonlarının prostat kanser hücresi gelişimini engellediği belirtilmektedir (157).

Osteoklastlar üzerine etkileri bilinen bifosfonat ilaçların aynı zamanda osteoblastlar üzerine de direk etkileri bulunmaktadır. ZA ve pamidronat osteoklast proliferasyonunu aynı düzeyde inhibe ederken, etidronat daha az potent etki göstermiştir. Bununla birlikte etidronat kemik formasyonu üzerine etki göstermezken, ZA ve pamidronatın kemik formasyonunu ve osteoblast farklılaşmasını artırdığı gösterilmiştir(217).

2.1.8. BİFOSFONATLARIN KONTRENDİKASYONLARI

Yapılan çalışmalarda kesin kontrendikasyon olarak belirtilen birkaç durum vardır. Bunların dışında doz hesaplanarak dikkatli kullanılması gereken durumlar mevcuttur.

Renal yetmezliği olan hiperkalsemi hastalarının tedavisinde klodronat ve pamidronat başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Fakat tedavi sırasında plazma ve kreatinin klirens değerleri kontrol altında tutulması gereklidir. Bu nedenle böbrek hastalarında bifosfonat kullanımına ilişkin kesin bir kontrendikasyon yoktur.

Gastrointestinal, özofageal rahatsızlıkları olan hastalarda oral yoldan alınan bifosfonatlar kullanılırken dikkatli olunmalıdır.

Bifosfonatlar plasentayı geçebildiğinden ve fetüs üzerine sitotoksik etkileri bulunabileceğinden hamilelerde kullanımı kontrendikedir. Ayrıca anne sütüne geçebileceğinden emziren annelerde de kullanımı önerilmemektedir.

Aminoglikozid grubu antibiyotik kullananlarda hipokalsemi gelişme riski nedeniyle bifosfonat kullanımı kontrendikedir(92,105).

2.1.9. BİFOSFONATLARIN İNDÜKLEDİĞİ ÇENE OSTEONEKROZU (BRONJ) NUN TANIMI VE TARİHÇESİ

Çenelerde bifosfonata bağlı gelişen osteonekroz, ilk olarak 2002'de Marx ve Stern tarafından debridman yapıldığında daha da kötüye giden ve miktarında artış görülen iyileşmeyen ekspoze kemik olarak tanımlanmıştır. Fakat bu durum 100 yıldan daha fazla bir süre önce 'fossy jaw' olarak tanımlanan mesleki bir sanayi hastalığı olarak bilinmektedir. İngiltere ve Amerika Birleşik Devletleri'nde fosfat madencileri ve kibrit fabrikalarındaki işçilerin çalıştığı süre ile ilişkili olarak sadece ağızlarında iyileşmeyen ekspoze kemik alanlarının geliştiği rapor edilmiştir(167,224,225).

İlk olarak intravenöz bifosfonat kullanan kanser hastalarında görülen bu bulgunun, hastaların çoğunun kullandığı deksametazona bağlı olduğu düşünülse de zamanla osteoporoz tedavisi için oral bifosfonat kullanan hastalarda da bu bulgu gözlendiğinden bifosfonat grubu ilaçların çene kemiklerinde osteonekroza sebep olabileceği fikri kabul görmüştür. 2002'de tanımlanmasının ardından birçok vaka bildirimi ve tedaviye yönelik çalışma yapılmıştır. Gittikçe artan sıklıkta görülen bu ciddi yan etkinin tedavisinde standardizasyon sağlanması ve vakaların sağlıklı değerlendirilmesi amacıyla American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons (AAOMS) tarafından 2009 yılında konsensus yayınlanmıştır. Bu konsensusta bifosfonata bağlı gelişen osteonekroz (BRONJ), çenelerine radyoterapi almamış olan, bifosfonat kullanmış veya kullanmakta olan hastalarda mandibula veya maksillada 8 haftadan daha fazla süren kemik ekspozu ile karakterize bir durum olarak tanımlanmıştır. 8 haftalık zaman periyodu, diş çekimi ve oral cerrahi girişimler sonrası yumuşak doku kapanmasının tamamlanması ve ekspoze kemik varlığının olmaması için yeterli süre olarak görülmüştür(137). Çene kemiklerinde osteonekroz görülen hastalarda bu durumun %25'nin spontan olarak geliştiği, %75'nin ise diş çekimi başta olmak üzere periodontal cerrahi,

apikal rezeksiyon veya dental implant uygulaması gibi invazif cerrahi girişimleri takiben ortaya çıktığı belirtilmiştir(167). Ayrıca vaskülarizasyon özellikleri nedeniyle %60 mandibulada, %30 maksillada osteonekroz görülürken, %10 her iki kemikte birlikte görülebilmektedir(226).

2.1.10. BRONJ'UN KLİNİK, RADYOLOJİK, HİSTOLOJİK VE MİKROBİYOLOJİK BULGULARI

Ağızdaki BRONJ bulguları, osteoradyonekroz ve osteomiyelit ile aynı görüntü vermesinden dolayı kesin tanıya, bulguların hastanın medikal ve dental hikayesi ile örtüşmesi sonucu varılır. Bu lezyonlar, ağız boşluğu içerisinde farklı büyüklükte ve yerleşimde, çoğu kez asemptomatik olarak seyreden çıplak kemik alanları olarak izlenir**(Şekil 2-3).** Enflamasyon veya enfeksiyon eşliğinde lezyon semptomatik hale gelir. Bu durumda ağrı öncelikli bulgudur. Ayrıca etkilenen bölgedeki dişlerde periodontal hastalıkla bağlantısı olmayan mobilite mevcuttur(168, 191, 223, 227). İlerleyen dönemde, enfeksiyon bulgularının da eşlik etmesi ile mukozal şişlikler, eritem, ödem, ülserasyon, fistül oluşumu, pü drenajı gibi bulgular eklenebilir. Lezyonların kontrol altına alınamadığı veya ileri evrede başvuran hastalarda seyrek olarak, inferior alveoler kanalın tutulumu ile sinir parestezisi, maksiller sinüs tutulumu ve/veya patolojik fraktürler gibi daha trajik bulgular da gözlenebilir (32,227,257).



Şekil 2-3: Evre 2 BRONJ olgusunun ağız içi görünümü(168)

BRONJ lezyonlarının radyografik olarak değerlendirilmesinde; panoramik grafiler osteosklerotik, osteolitik, reaktif periostlu miks lezyonların, patolojik fraktürlerin saptanmasında yardımcı olur. Günümüzde gelişmiş olan bilgisayarlı tomografiler (BT) de tanıyı kolaylaştırmaktadır**(Şekil 2-4).**



Şekil 2-4: BRONJ hastasının BT görüntüsü

Kemik sintigrafileri ve manyetik rezonans görüntüleme (MR) yöntemleri BRONJ için en iyi tarama yöntemleridir, patolojilerin erken tanısının yanı sıra osteonekroz sınırlarının belirlenmesine de yardımcı olur(56). TC99 metilen difosfonat ile alınan kemik sintigrafisi ile metastatik kanser ve multipl myelom hastalarında yapılan retrospektif bir çalışmada olguların %66'sında radyoizotop tutulumu farklılığı saptanmış ve bu bölgelerde daha sonra BRONJ geliştiği bildirilmiştir. Bu görüntüleme yöntemleri nekrotik kemiğin rezeke edileceği olgularda sınırların belirlenmesi açısından önemlidir(4).

Radyografik incelemelerde ekspoze kemiğin görülmediği erken dönemde değişiklikler sınırlıdır. İyileşmenin geciktiği diş çekim bölgeleri, etkilenen bölgede periapikal alanlarda ve/veya alveol kretinde radyolusent alanlar ve periodontal ligament aralıklarında daralma ve lamina durada kalınlaşma gibi belirtiler gözlenebilir. Geç dönemde ise geniş osteoliz alanları, sekestr formasyonu ve patolojik fraktürler izlenebilir(137,174,219,252). Bisdas ve

ark. yaptıkları çalışmada bifosfonata bağlı osteonekroz gelişen 32 hastada MR ve BT görüntüleri değerlendirmişler, değerlendirme sonucunda hastaların çene kemiklerinde osteolitik değişiklikleri, sklerotik lezyonları, nekrozun bulunduğu bölgede periosteal kemik proliferasyonunu, kemik iliği alanının azaldığını ve bazı hastalarda patolojik fraktür geliştiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca ekspoze kemiğin görülmediği erken dönem olgularında dezorganize trabeküller içeren fokal skleroz alanları ve zayıf kortikomeduller farklılaşma gözlenmiştir. Bu görünümün osteonekroz gelişebilecek hastalarda erken bir belirti olabileceğini belirtmişlerdir(38).

BRONJ'un histolojisinde, süpüratif osteomiyelit ya da osteoradyonekroza benzer biçimde bazı bakteriyel kolonizasyonlar içeren non-spesifik nekrotik kemik görünümü vardır. Buna karşın santral kemik biyopsileri incelendiğinde her birinin farklı, kendine özgü mekanizmalara sahip olduğu görülür. Süpüratif osteomiyelitte, kemik iliği boşluğunda inflamatuar hücre görülür. Ayrıca sıklıkla hiperemi ve anaerob mikroorganizmaların ortak bulgusu ile ilişkili olarak kemik iliği boşluğundaki kan damarlarında tromboz görülür. Nekrotik kemik ve bir miktar kabul edilebilir oranda reaktif kemik de sıklıkla gözlenir(167). Osteoradyonekrozda benzer şekilde nekrotik kemik bulunur ancak kemik iliği inflamasyonu görülmez. Kemik iliği boşluğu, zayıf asellüler ve sellüler kollajen içeren ilik fibrozisi ve radyasyona maruz kalmış dokuya özgü hiposelüler, hipovasküler ve hipoksik karakter gösterir. Mikroorganizmalar kemik yüzeyinde kolonize olur, fakat doku derinliklerine girmez. Çünkü radyasyona bağlı osteonekroz birincil olarak bakteriyel bir olgu değil, radyasyonun dokulara etkisi sonucu gelişen bir durumdur. BRONJ'da ise, kemik iliği inflamasyonu ve fibrozisi oluşmaz, kemik iliğinde boş asellüler alanlar vardır(108).

BRONJ'da nekrotik kemik yüzeyinde kolonize olmuş olan mikroorganizmalar sıklıkla hatalı osteomiyelit teşhisi konulmasına neden

olur(167). Ekspoze kemikten alınan örneklerin kültürlerinde aktinomiçes türleri izole edilebilir, ancak aktinomiçesler dental florada sık rastlanan bakteri olduğundan durumun gerçek bir supuratif enfeksiyon mu, yoksa sadece yüzey kolonizasyonu mu olduğunun ayrımı dikkatli yapılmalıdır.

Yapılan birçok klinik çalışmada bifosfonata bağlı gelişen osteonekrozda en fazla izole edilen mikroorganizma aktinomiçes olmasına rağmen bu hastalığın aktinomiçese bağlı gelişen bir durum olduğunu kanıtlar bir sonuç yoktur(109,145,186).

2.1.11. BİFOSFONATA BAĞLI OSTEONEKROZUN PATOFİZYOLOJİSİ

Bifosfonata bağlı gelişen osteonekrozun neden oluştuğuna dair birçok deneysel ve klinik çalışma yapılmıştır, çalışmalar sonucunda henüz net bilimsel bir cevap verilememekle birlikte birkaç olası neden üzerinde durulmaktadır(88,113,114,120,158,161).

Bauss ve ark. tarafından deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmada bifosfonat tutulumunun sadece çene kemiklerinde değil femur ve vertebralarda da aynı derecede olduğu ortaya çıkmıştır(29). Birikme miktarı birbirine yakın olmasına rağmen sadece çene kemiklerinde osteonekroz odaklarının görülmesinin nedeni olarak, çene kemiklerinin dış çevre ile sürekli temas halinde olması, dişler ve çiğneme kuvvetleri aracılığıyla devamlı mikrotravmaya maruz kalmasından dolayı kemik remodelling oranının yüksek olması ve ağız ortamında devamlı bakteri varlığı düşünülmektedir(5).

Dixon ve ark. farklı bölgedeki kemik remodeling oranlarını incelediklerinde, alveolar krette tibiaya göre 10 kat, mandibulanın inferior sınırındaki kemiğe göre 5 kat ve mandibular kanal seviyesindeki kemiğe göre ise 3-5 kat daha fazla remodeling gerçekleştiğini tespit etmişlerdir(79).

Çene kemiklerindeki bu yüksek remodeling oranı sayesinde daha fazla bifosfonat açığa çıkar ve ortamda bifosfonatlar daha yüksek

konsantrasyonlarda bulunurlar(167). Eğer remodeling devam ederken kemikte daha fazla bifosfonat birikimi olursa ya da diş çekimi gibi bir travma oluşursa alveoler kemik osteoklastik kemik rezorbsiyonuna yeniden şekillenme ile cevap veremez ve nekrotik hale gelir. Bunu takiben yüzeyi örten mukoza, altındaki kemikten gelen kan akımını zamanla kaybeder ve bütünlüğü bozulur, böylece klinik olarak ekspoze kemik dokusu gözlenir(167).

Bifosfonatların indüklediği çene kemiği osteonekrozu sadece dişli bölgelerde görülmez. Torusların üzerinde bulunabileceği gibi kısmi veya tamamen dişsiz hastalarda da görülebilir. Torusların yüksek remodeling oranına sahip kortikal kemikten oluşması ve ince bir mukoza ile örtülü olması ve dişsiz ağızlarda uyumu bozulmuş eski protezlerin kullanımı nedeniyle de osteonekroz oluşabilir. Çeneler birbirleri ile kıyaslandığında ise, mandibulanın maksillaya oranla 2 kat daha fazla etkilendiği çeşitli çalışmaların sonucunda gösterilmiştir (165,234).

BRONJ gelişiminde etkisi olduğu düşünülen bir diğer teori mikrobiyolojik kontaminasyon sonucu ortam pH'sının düşmesinin ortama daha fazla bifosfonat salınımı ile sonuçlandığı ve daha da şiddetlenen kemik nekrozu görüldüğü teorisidir(253). Otto ve ark. tarafından mezenkimal kök hücreleri üzerinde yapılan in-vitro çalışmada farklı tipteki bifosfonatların, farklı konsantrasyonlarının, farklı pH derecelerindeki etkilerinin BRONJ oluşum mekanizmasında nasıl rol aldığı araştırılmıştır. Sonuca göre BRONJ'un gelişmesinde ortam pH'sının önemli bir faktör olduğu, zoledronik asit ile en fazla olmak üzere yüksek dozda ve düşük pH'ta mezenkimal kök hücre ölümünün en fazla olduğu belirtilmiştir(190).

Bifosfonatların oral mukoza üzerine olan toksik etkilerinden dolayı çene kemiği nekrozuna yol açtığını düşünen araştırmalar da mevcuttur(6,235,270). Kyrigidis ve ark. yaptıkları literatür derlemesinden edindikleri sonuca göre oral bifosfonatların gastrik mukoza üzerindeki ülseratif etkisinden yola çıkarak ağız

mukozasında da fibroblast ve keratinositlerin proliferasyonunu ve migrasyonunu etkileyerek mukozal yara iyileşmesini bozduğu ve böylelikle mukoza altındaki zayıf metabolik ve immun özelliği olan kemiğin bakteri ortamına açılarak nekroze olduğu görüşünü sunmuşlardır(148).

Landesberg ve ark. oral mukoza hücrelerinin iyileşme süreçlerinin bifosfonat kullanımı ile inhibisyonunu değerlendirdikleri çalışmalarında, bifosfonatların keratinositlerin migrasyonunu bozarak oral mukoza hücrelerinde yara iyileşmesini geciktirdiğini ve mukozal yaralanmaları kolaylaştırdığını göstermişlerdir (149). Benzer şekilde zoledronik asitin epitel hücrelerinin adezyonunu inhibe ederek kemik üzerinde toksik etkiler gösterdiği Reid'e ait çalışmada rapor edilmiştir (216).

Bifosfonatların antianjiyojenik etkisi ile kemikteki damarlanmanın bozulmasına yol açarak çene kemiklerinin oksijenasyonunu azalttığı ve BRONJ gelişiminde rol oynadığı bir diğer etki olarak öne sürülmektedir.(168) Fakat kemik dokuda damarlanma düzeyinin bifosfonat tedavisinden etkilenmediğini öne süren histolojik çalışmalar da bulunmaktadır (112).

Lehrer ve ark. bifosfonata bağlı çene kemiklerinde oluşan osteonekrozun genetik mutasyona bağlı olarak hassas bireylerde oluştuğu hipotezini savunarak, matriks metalloproteinaz ailesinden matriks metallopeptidase-2 genindeki mutasyonun bifosfonata bağlı osteonekrozla ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca zoledronik asit ve alendronatın neden olduğu atriyal fibrilasyonla vücutta ilişkili olan tek genin MMP2 olduğu belirlenmiştir(155).

2.1.12. BİFOSFONATLARIN İNDÜKLEDİĞİ ÇENE KEMİĞİ OSTEONEKROZUNDA RİSK FAKTÖRLERİ

BRONJ'un etyolojisinde risk faktörlerini kullanılan ilaca bağlı risk faktörleri, lokal ve sistemik risk faktörleri olarak sınıflandırabiliriz(76,116,232).

İlaca bağlı risk faktörleri:

- Kullanılan bifosfonatın tipi (Zoledronik asit > pamidronat > alendronat)
- Uygulama şekli (intravenöz > oral)
- Tedavinin süresi

Zervas ve ark. BRONJ gelişimi için risk faktörlerini ve hastalığın görülme sıklığını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında, çeşitli nedenlerle zoledronik asit kullanımının pamidronat kullanımına oranla, 9.5 kat daha fazla risk oluşturduğunu rapor etmişlerdir (276).

Yapılan araştırmalarda BRONJ'un damar yolu ile alınan ilaçlar sonucunda oluşma sıklığı %0,8-12 arasında değişirken bu oranın oral preperatların kullanımında %0,01-0,06 arasında değiştiği kaydedilmiş ve uygulanan cerrahi işlemlerin tetikleyici rol oynadığı, cerrahi işlemler sonrasında oranın artış göstererek %0,09-0,34 düzeyine ulaştığı rapor edilmiştir (23,226, 227).

Onkolojik tedavi amacıyla kullanılan bifosfonat dozları osteoporoz için kullanılan dozlardan 10-12 kat daha fazladır(214). Zoledronik asitle tedavi gören hastalarda BRONJ görülme riski diğer ilaçlarla tedavi görenlere göre daha fazladır. Bunun sebebi ilacın uzun yarılanma ömrü olabilir. Zoledronik asit, önerilen aylık 4 mg'lık dozda alındığında 3-12 ay içerisinde oral lezyonlar gelişebilir(167). Eşit etkili pamidronat preperatlarının ise önerilen aylık 90 mg'lık dozu düzenli şekilde alınırsa, 10-16 ay içerisinde ekspoze kemik oluşumuna sebep olabilir. Oral yolla alınan alendronatın osteoporoz tedavisinde önerildiği gibi günlük 10 mg'lık veya haftalık 70 mg'lık kullanılan dozu, yarılanma ömrü biraz daha kısa olduğundan ve oral kullanım yoluyla belirgin biçimde daha yavaş emildiğinden ekspoze kemik oluşmasına 2 yıl veya daha fazla sürede yol açar(167).

Lokal risk faktörleri

- Dento-alveolar cerrahi (diş çekimi, implant yerleştirilmesi, periapikal cerrahi)
- Çene kemiklerinde travma
- Kötü ağız hijyeni
- Periodontal hastalıklar
- Palatal ve lingual toruslar, kemik eksoztozları, mylohyoid çıkıntı
- Kötü uyumlu proteze bağlı travma
- Alkol ve tütün bağımlılığı

Diş çekimi, dental implant, kemiği ilgilendiren periodontal cerrahi ve periapikal cerrahi uygulanan hastalarda bifosfonata bağlı çene kemiği osteonekrozu gelişme sıklığının spontan gelişmeye oranla daha fazla olduğu bildirilmiştir. Marx ve ark. tarafından yapılan çalışmada 119 olgu değerlendirilmiş, görülen osteonekroz vakalarının %25,2 sinin spontan olarak ortaya çıktığı, %37,8'inin diş çekimi sonrası, %28,6'sının peridontal hastalığa bağlı, %11,2'sinin periodontal cerrahi sonrası ve %0,8'inin apikal rezeksiyon ile oluştuğu bildirilmiştir(167).

Sistemik ve demografik risk faktörleri

- Yaşlılık ,(65 yaş üzeri),
- Cinsiyet, (kadın > erkek)
- Irk,
- Kronik kortikosteroid tedavisi,
- Kemoterapi,
- Östrojen tedavisi,
- Kanser tanısı (multipl myelom > meme kanseri > prostat kanseri > diğer kanserler)
- Kanserle birlikte görülen osteoporoz, osteopeni tanısı

- Yetersiz beslenme
- Diyabet
- İmmun sistem baskılanması

Artan yaş ile birlikte bifosfonata bağlı çene kemiği osteonekrozu gelişme riskinin artacağı düşünülmektedir. Bardos ve ark. intravenöz bifosfonat kullanan hastalarda her 10 yıl için osteonekroz gelişme riskinin %9 oranında arttığını bildirmişlerdir. Şu ana kadar yapılan çalışmaların batı ülkelerinden çıkmış olması bifosfonata bağlı osteonekrozun beyaz ırkta daha fazla geliştiği yönünde bir izlenim oluşturmaktadır. Ancak, IV bifosfonatların kullanımının ilk defa batı ülkelerinde başlamış olması ve gelişmekte olan ülkelerde bu problemin daha geç fark ediliyor olması bunun sebebi olabilir(23).

Kortikosteroidlerin bifosfonatlarla beraber veya tedavi öncesi kullanımı, kollajen dokunun yapısının bozulmasına sebep olduğu için osteonekroz gelişim riskini de arttırmış olur.(57,167).

Hoff ve ark. tarafından yapılan çalışmada meme kanseri nedeniyle tedavi amacıyla bifosfonat kullanılan 1338 hastanın 16'sında (% 1,2), multipl myelom nedeniyle tedavi gören 548 hastanın 13'ünde (% 2,4) BRONJ olgusu rapor etmiştir (115). Wang ve ark. ise, kendilerine ait hasta gruplarında bu oranın daha yüksek olduğunu (multipl myelom % 3,8, meme kanseri %2,5 ve prostat kanseri % 2,9) bildirmişlerdir (266).

2.1.13. BRONJ OLGULARININ EVRELENDİRİLMESİ

Çenelerinde bifosfonata bağlı osteonekroz gelişen farklı klinik semptomlara sahip birçok hastanın bulunması nedeniyle, hastanın detaylı sistemik hikayesine, klinik ve radyolojik bulgularına dayanarak yapılacak olan medikal, cerrahi ve yardımcı tedavilerin seçimini kolaylaştıracak bir sınıflama sistemine ihtiyaç duyulduğu görüşüne varılmıştır. Literatürde birçok evrelendirme sistemi bulunmaktadır. Günümüzde 2007 yılında AAOMS bünyesinde Ruggiero ve ark. tarafından oluşturulan evrelendirme sistemi en sık

kullanılandır(147). 2009 yılında revize edilen bu sisteme göre belli semptomları gösteren hastalar 4 evrede değerlendirilmiş tedavi protokolleri bu derecelendirmeye göre oluşturulmuştur(167,226). Ruggiero ve ark. tarafından oluşturulan bu sınıflamada her kadrandaki kemik nekrozu derecesinin klinik olarak ve kemik katılım miktarının radyografik olarak değerlendirilmesi esas alınmıştır.

Bu evreleme sistemine göre;

Evre 0 : Bu aşamada ağız içinde henüz ekspoze kemik yoktur, fakat klinik olarak odontojen nedenle açıklanamayan diş ağrısı, mandibulada eklem bölgesine de yayılabilen künt ağrı, maksiler sinüs duvarında kalınlaşma ve enflamasyonla ilişkili olabilen sinüs ağrısı, duysal değişiklikler ve dişlerde periodontal hastalığa bağlı olmayan mobilite görülebilir. Radyografide kemiğin trabeküler yapısında değişiklikler (osteopenik görünüm), lamina dura'da kalınlaşma ve periodontal ligament aralığında daralma görülebilir.

Evre 1: Klinik olarak enfeksiyon bulgusu yoktur, asemptomatik olan hastalarda ekspoze ve nekrotik kemik mevcuttur.

Evre 2: Pürülan drenaj olmadan, ekspoze kemik bölgesinde eritem ve ağrı bulguları ile seyreden enfekte ekspoze nekrotik kemik mevcuttur.

Evre 3: Hastada ağrı ile birlikte ekspoze ve nekrotik ve aşağıdaki klinik bulgulardan bir veya daha fazlası mevcuttur.

- Alveolar kemik alanının dışında ekspoze ve nekrotik kemiğin genişlemesi (mandibulanın alt sınırı, ramus, maksiler sinüs ve maksillanın zigomatik çıkıntısı) sonucu patolojik kırık oluşması
- Ekstraoral fistül

- Oroantral ve /veya oronazal bağlantı
- Mandibulanın alt sınırı veya sinüs tabanında osteolizisin genişlemesi

2.1.14. BRONJ GELİŞİMİNİ ENGELLEMEYE YÖNELİK YAKLAŞIMLAR

2.1.14.1.BİFOSFONAT TEDAVİSİNE BAŞLAMADAN ÖNCE

Yapılan birçok çalışma, BRONJ olgularının büyük çoğunluğunun dental cerrahi travmalar sonucu geliştiğini göstermektedir. Araştırmacılar BRONJ riskinin azaltılmasında en etkin önlem olarak, bifosfonat kullanımına başlanılmadan önce hastanın tüm dental tedavilerinin kapsamlı olarak tamamlanmasını ve ideal ağız hijyeninin sağlanmasını, sonradan risk oluşturabilecek durumlar söz konusuysa radikal tedavilerin yapılmasını önermiştir. Bifosfonat tedavisi öncesi medikal onkologlar ve/veya sorumlu hekimler detaylı bir dental muayene ve tedavi için hastalarını bir diş hekimine, özellikle oral ve maksillofasiyal cerrahi uzmanına yönlendirmelidir. Bu yaklaşım sayesinde, bifosfonat tedavisi sırasında olası risk ve komplikasyonlar en aza indirgenecektir(42,77).

Hasta öncelikle detaylı bir klinik ve radyolojik muayeneden geçirilmelidir. Tedavisi mümkün olmayan dişler çekilmeli, diş taşı temizliği, gerekli restorasyonları ve kanal tedavileri yapılmalıdır. Radikal davranılıp olası enfeksiyon odakları giderilmeli, gerekli dental tedavilerin tümü daha sonradan işlem gerektirmeyecek şekilde yapılmalıdır(139,256). Endikasyonu varsa eğer sabit veya 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 uzun süre gerektirdiğinden ve implant yerleştirilmesinin kısa veya uzun dönemde osteonekroz gelişim riskini arttırabileceği göz önüne alınarak planlanmamalıdır. Gömülü olan dişler ise,

tamamen kemik ile örtülü olduğunda, klinik ve radyolojik olarak enfeksiyon riski yoksa kontrol radyografileri ile izlenmek üzere bırakılabilir (167, 226).Benzer olarak, tek ve küçük toruslar cerrahi tedaviyi gerektirmez ancak, multilobüler ve üzeri gergin mukoza ile örtülü ve travmaya yatkın olan toruslar, özellikle intravenöz bifosfonat tedavisi öncesi cerrahi olarak düzeltilmelidir(226). İnvaziv dental işlemlerden önce özelikle kanser hastalarında normalden daha yüksek enfeksiyon riski bulunduğundan profilaksi yapılması önerilmektedir(167). Eğer diş çekimi yapılmışsa soketlerin iyileşmesi tamamlanıncaya kadar (14-21 gün) bifosfonat tedavisine başlanması ertelenmelidir(226).

Dental işlemlerden sonra hasta osteonekroz riski konusunda bilgilendirilerek ağız hijyeninin önemi vurgulanmalı, bifosfonat tedavisine başlandıktan sonra düzenli dental kontrolleri yapılmalıdır.

2.1.14.2. BİFOSFONAT TEDAVİSİ ESNASINDA

Diş hekimleri ve maksillofasiyal cerrahlar bifosfonat kullanan hastalarda çenelerde osteonekroz gelişme riski hakkında bilgi sahibi olmalıdır. Yapılacak tedaviden önce hastaların bifosfonat kullanımına ilişkin dental ve medikal hikayeleri sorgulanmalı, ilacın hangi formunun kullanıldığına dikkat edilmelidir. Oral kavite ekspoze kemik açısından dikkatlice değerlendirilmeli, alt çenenin posterior lingual korteksine ve torus alanlarına özellikle dikkat edilmelidir. Panaromik radyografi alınarak osteoliz ve artmış alveoler kemik yoğunluğu açısından değerlendirilmelidir. Periodontal aralığa ve lamina duraya özellikle dikkat edilmelidir çünkü periodontal ligament boşluğunun genişlemesi ve sklerozu veya lamina duranın kaybı alveoler kemikte subklinik bifosfonat toksisitesinin göstergeleridir. Bifosfonat kullanan hastalarda tüm rutin restoratif işlemler yapılabilir fakat yüksek dozda ve özellikle intravenöz bifosfonat kullanan hastalarda invaziv dental işlemlerdem mümkün olduğunca

kaçınılmalıdır. Ayrıca bu hastaların protez uyumu iyi olmalıdır ve uyumun sağlanabilmesi için hasta takibi gereklidir (42).

Dental cerrahi işlemlerden kaçınılamayacağı durumlarda hastanın osteonekroz gelişimi açısından riskini değerlendirmek amacıyla serum C-terminal cross-linking telopeptid(CTX) değerlendirilebilir. Tip 1 kollajenin bir parçası olan CTX fragmanı diğer dokulardaki tip 1 kollajende bulunmaz, sadece kemikte bulunur. Bu nedenle kemik rezorpsiyonunun değerlendirilmesi için serumda CTX-1 tayini osteoporoz veya diğer kemik hastalıklarında antirezorptif tedavinin (bifosfonatlar veya hormon replasman tedavisi) etkinliğinin izlenmesinde güvenilir bir testtir. Fizyolojik veya patolojik olarak artmış kemik rezorpsiyonunda tip I kollajen fazla miktarda parçalanır, serumda ve idrarda kollajen fragmanlarının seviyesinde orantılı bir yükselme olur. Özellikle nitrojen içeren bifosfonatlar ile tedavi edilen hastalarda rezorpsiyon ileri derecede baskılanır, serum CTX-1 düzeyi çok düşük seviyelere inebilir.

Marx ve ark.nın 2007 yılında yaptıkları çalışmada osteoporoz için oral bifosfonat alan ve BRONJ oluşan hastalarda CTX düzeyinin anlamlı olarak düşük olduğunu göstermiştir. Bu çalışmaya göre 100 pg/ml altındaki değerlerde kemik yenilenme döngüsü hızı en düşüktür bu nedenle çene osteonekrozu gelişimi açısından yüksek risk grubudur. 100-125 pg/ml arasındaki değerler orta risklidir. 126-149 pg/ml arasındaki değerler minimal riskli olup 150 pg/ml üzerindeki değerlerde ise klinik olarak çenelerde normal kemik rejenerasyonu görülür(168). Marx ve ark. tarafından belirlenen bu serum değerleri oral bifosfonatların etkilerini değerlendiren birçok çalışmada kullanılmıştır(22,93,151,222). Bu nedenle Food and Drug Association (FDA)'dan serum CTX-1 değeri ölçümünün kemik turnoverının değerlendirilmesinde bir standart olması onayı istenilmiştir. Serum CTX-1 değerinin çoğu çalışmada riski değerlendirmede güvenilir bir değer olduğu belirtilirken (22,93,147,151) bazı çalışmalarda semptomlarla ilişkili olmadığı bildirilmiştir(152,154).

Serum CTX-1 testi bifosfonat kullanan hastalarda dental tedavi öncesinde değerlendirilebilecek etkili bir kılavuzdur. Özellikle osteoporoz sebebiyle oral bifosfonat kullanan hastalarda baskılanmış olan kemik turnover seviyesini ölçmek için kullanılır. Bu test kanser hastalarında güvenilir değildir çünkü kanserin kendisi de kollajen bozulmasına yol açacağından sonuç normalden fazla çıkacaktır.

Ayrıca AAOMS tarafından belirlenen kemik metabolizması ile ilgili diğer serum parametreleri olan kalsitonin, tiroid stimülan hormon (TSH),telopeptit-N,25 hidroksi vitamin D, parathormon, osteokalsin ve kemik spesifik alkalen fosfataz da osteonekroz riskinin değerlendirilmesi amacıyla farklı çalışmalarda kullanılmıştır. (151,154,167,249) Bifosfonat kullanan hastalarda kemikte yapım ve yıkım etkinliği ile ilgili bu değerlerin önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir.

2.1.14.3. BİFOSFONAT UYGULAMASINA ARA VERİLMESİNİN ÖNEMİ

Bifosfonat grubu ilaçların kemik dokuda belirli bir konsantrasyona ulaştıktan sonra kullanım süresine ve dozajına bağlı olarak değişen yarı ömürlerinin, aylardan yıllara kadar uzadığı bilinmektedir. Bifosfonatlar dokularda istenilen konsantrasyonlara ulaştıktan sonra tedaviye ara verilse bile organizmada kalarak, olumlu etkileri kadar olumsuz etkilerini de uzun yıllar sürdürebilmektedir. Bu uzun süreli etkileri nedeniyle araştırmalar sonucunda özellikle kısa süre bifosfonat tedavisine ara verilmesinin BRONJ'un önlenmesinde veya tedavisinde herhangi bir yarar sağlamayacağı görüşüne varılmıştır(97,226,227). Öte yandan, bifosfonat grubu ilaçların organizmadaki varlığını ve olumsuz etkilerini en aza indirecek sürelerde tedaviye ara verilmesi, hastaların sistemik durumları yönünden her zaman mümkün olmamaktadır.

AAOMS'un 2009 tarihli BRONJ durum değerlendirme raporunda, oral yolla bifosfonat kullanan hastalarda, sistemik koşulların elvermesi halinde,

bifosfonat tedavisine verilecek 6-12 aylık aranın lezyonların spontan sekestrasyonuna veya debridman cerrahisini izleyerek gerilemesine neden olabileceği bildirilmiştir. Damar yoluyla bifosfonat tedavisi almakta olan hastalarda ise bifosfonat tedavisine ara verilmesinin kısa dönemde hiçbir yarar sağlamayacağı ancak uzun süre ara verilmesi halinde, yeni oral lezyonların oluşumunun önüne geçilebileceği ve klinik semptomların azalabileceği öne sürülmektedir(226).

Bu bilgiler ışığında Marx tarafından önerilen prosedüre göre 2 yıldan daha az süreyle oral bifosfonat kullanan, klinik ve radyografik risk faktörü olmayan hastalarda implant uygulaması dışında diğer işlemlerin yapılmasında sakınca yoktur. Oral bifosfonatı iki yıldan az bir süredir kullanan ancak en az bir risk faktörü taşıyan hastalar için ilaç kullanımına 6 ay ara verilmesi ve bu süre sonunda serum CTX-1 değerinin ölçülmesi önerilir. CTX-1 değeri 125 pg/mL'nin altında ise planlanan cerrahi tedavi durdurulmalı ve ilaç tatili üç ay daha uzatılmalıdır. Eğer değer 125 pg/mL'nin üzerindeyse planlanan cerrahi müdahale yapılabilir. Üç aylık iyileşme periyodundan sonra ilaca tekrar başlanabilir. Herhangi bir risk faktörü olmayan ancak 3 yıldan daha uzun süre bifosfonat kullanan hastalarda üç aylık ilaç tatilini takiben operasyon yapılabilir. İlk muayenede ve üç aylık aradan sonra alınan serum CTX-1 değerleri değerlendirilmelidir. Operasyondan üç ay sonra ilaca devam edilebilir. İlaç tatiline diş hekimi kendisi değil, hastanın ilgili uzman hekiminin önerisi doğrultusunda karar vermelidir(168).

2.1.15. BRONJ'UN TEDAVİSİNE YÖNELİK YAKLAŞIMLAR

BRONJ gelişen hastalarda tedavinin amacı, ağrının giderilmesi, yumuşak ve sert dokuda oluşan enfeksiyonun kontrolü ve hastalığın ilerlemesinin engellenmesidir. Bifosfonat kullanan hastanın tedavi planının oluşturulabilmesi için öncelikle hastalığın hangi evrede olduğu ve önerilen tedaviler

değerlendirilmelidir. Günümüzde genel olarak BRONJ tedavisi hastalığın evresine göre medikal yaklaşım, medikal/cerrahi yaklaşım ve medikal/cerrahi yaklaşımın çeşitli destekleyici tedavilerle birlikte uygulanması şeklinde yapılmaktadır.

Evre 0 olgularında tedavi:

Tedaviye gerek yoktur. Çürük dişler, periodontal hastalık gibi lokal risk faktörleri ortadan kaldırılır. Hastaya ağız hijyeni eğitimi verilir.

Evre 1 olgularında tedavi:

Asemptomatik ekspoze kemiğin bulunması nedeniyle %0.12'lik klorheksidin içerikli oral gargaralarla günde 3-4 kez ağzın çalkalanması ve optimum oral hijyenin sağlanması yeterlidir.

Evre 2 olgularında tedavi:

Geniş spektrumlu antibiyotiklerle semptomatik tedavi ve %0.12'lik klorheksidin içerikli oral gargaralarla günde 3-4 kez ağzın çalkalanmasının yanı sıra, ağrı kesiciler ve yumuşak doku travmasını engellemek için yüzeyel debridman önerilmektedir.

Evre 3 olgularında tedavi:

Bu evrede, BRONJ lezyonlarının yanı sıra, osteolizis alanları, fistül veya fraktür gibi daha ciddi durumlarla karşılaşılabilir. Hastanın sistemik durumu uygun olmadığında veya önerilen tedaviye isteksiz olması halinde, yalnız medikal tedavi uygulanarak kontrolleri sürdürülebilir. Cerrahi uygulamaya hastanın onkoloğunun onayı koşuluyla karar verilmesi halinde, pre-operatif olarak geniş spektrumlu antibakteriyel ajanlar uzun süreli ve damar içi yolla verilmelidir. Pre-operatif medikal tedaviyi izleyerek, marjinal veya segmental rezeksiyonu içeren cerrahi tedavi uygulanabilir(226).

2.1.15.1. BRONJ'UN KONSERVATİF TEDAVİ PROTOKOLÜ

Evre 1, 2 ve bazı evre 3 olgularında enfeksiyonu kontrol altına almak ve ağrı, fonksiyon kaybı gibi semptomları azaltmak amacıyla klorheksidin içeren gargaralar, ağrı kesiciler ve antibiyotikler kullanılır. Ağız ortamına açılan çıplak kemik alanlarından alınan örneklerden en sık, Actinomyces, Veilonella, Eikenella, Moraxella, Fusobacterium, Bacillus, Staphylococcus, Streptococcus ve Selenomonas türleri izole edilmiştir. Tüm bu mikroorganizmalar penisiline duyarlıdır. Bu nedenle tedavide ilk tercih edilen antibiyotik penisilindir(45). Tedavide 500 mg penisilin V potasyum günde 4 kez verilir ve uzun dönem uygulanmalıdır. İlaç iyi tolere edildiğinden yıllarca hatta on yıllarca direnç gelişmeden kullanılabilir. İlacın uzun dönem etkisinden kaygı duyulursa hastaya ağrı kontrol altına alınana kadar penisilin kullandırılır, daha sonra sadece klorheksidinli gargara ile tedaviye devam edilir. Penisilin alerjisi bulunan hastalarda ise günde bir kez olmak üzere 100 mg doksisiklin , 500 mg levofloksasin veya 500 mg azitromisin kullanılabilir. Fakat levofloksasin ve azitromisin ile tedavi uzun süreli kullanımda toksisiteye sebep olduklarından yalnızca semptomlar geçene kadar yapılmalıdır. Bu antibiyotiklere dirençli olan vakalarda günde üç kez 500 mg metronidazol kullanımının ağrıyı ve enfeksiyonu kontrol ettiği gösterilmiştir(167).

Hastanın durumu stabil görülür ve semptomlar tolere edilebilir düzeyde ise konservatif tedaviye devam edilir. İlerleyen osteonekroz bulguları görülüyor ise cerrahi debridman önerilir.

2.1.15.2. BRONJ'UN CERRAHİ DEBRİDMANI

Preoperatif olarak 1 g amoksisilin veya 600 mg klindamisin verilir. Tüm nekrotik kemik çıkarılır ve ilişkili dişler çekilir. Kemik yüzeyleri düzleştirilir. Yumuşak doku gergin olmamak kaydıyla primer olarak kapatılır. Postoperatif

500 mg amoksisilin veya 450 mg klindamisin en az iki hafta süre ile kullandırılır. Cerrahi işlem sonrası oral hijyen değerlendirilmesi yapılır(188).

2.1.16. BRONJ TEDAVİSİNDE YARDIMCI TEDAVİ YÖNTEMLERİNİN KULLANIMI

BRONJ tedavisinde medikal, medikal/cerrahi yaklaşımlara ek olarak iyileşme sürecini desteklemek ve hızlandırmak üzere literatürde bazı destek tedaviler önerilmektedir. Bu tedavilerin etkinlikleri tartışmalı olup geçerlilikleri ile ilgili çalışmalar halen devam etmektedir. İdeal destekleyici yaklaşımın hangisi olduğu ve hangi parametrelerle uygulanması gerektiği henüz net olarak ortaya konulamamıştır (68,70,167).

Farklı nedenlere bağlı olarak gelişen osteonekroz olgularında tedavideki etkinliği bilinen hiperbarik oksijen tedavisi(HBO)'nin anjiyojenik etkisi nedeniyle bifosfonata bağlı gelişen osteonekrozun tedavisinde de kullanılmıştır. HBO yardımcı tedavisi ile anaerob ortamın indirgenmesi, damarlanmanın indüklenmesi ve çevre dokulardaki enfeksiyonun kontrol altına alınması sağlanır. Bu yöntem çene kemiği osteoradyonekrozunun tedavisi ve önlenmesinde kesin bir tedavi yöntemi olmakla birlikte BRONJ'da yararlılığı kanıtlanmamıştır. Bunun nedeni iki durumun fizyopatolojik mekanizmalarının birbirinden farklı olmasıdır(95,96).

Bifosfonatlara bağlı gelişen osteonekroz, doğrudan osteoklastlar üzerinde gerçekleşen kimyasal toksisite nedeniyle kemiğin yeniden şekillenmesi ve yenilenmesi sonucu oluştuğundan HBO tedavisinin yararlı olmadığı bildirilmiştir. Osteoradyonekrozda kapillerler, radyasyon gören alanda hiposellüler etki sonucu ölürken BRONJ'da kapillerler kemik ölümü sonucu sekonder olarak yok olurlar. BRONJ gelişen alanda oksijenlenme eksikliği görülmemesi nedeniyle HBO'nun basit tedavi mekanizması işlememektedir(167).

HBO tedavisinin yara iyileşmesi ve uzun dönem ağrı skorları üzerinde etkin olduğu bilinmektedir(95,167). Khosla ve Bai'nin yapmış olduğu çalışmalar ile HBO tedavisinin, bifosfonat tedavisine bağlı olarak zarar görmüş olan osteoklastları uyarıcı özelliği olduğu gösterilmiştir (95,96,137). Magopoulos ve ark. HBO tedavisini farklı tedavi protokolleriyle kombine ederek BRONJ tedavisinde kullanmıştır. Fakat sonuçlara göre HBO tedavisinin herhangi bir fark yaratmadığı bildirilmiştir(162).

BRONJ'un tedavisinde kullanımı önerilen bir diğer yardımcı tedavi yöntemi ozon tedavisidir. Ozon tedavisi avasküler nekroza bağlı patolojilerde endojen antioksidan sistemi stimule ederek, kan akımını, eritrosit ve hemoglobin konsantrasyonunu arttırarak tedavideki etkinliğini göstermektedir(7). BRONJ'da kullanımı ise, özellikle oksijen metabolizma süreci olmak üzere kalsiyum, fosfor ve demir metabolizması süreci üzerine olan stimulatif etkilerinden ve bakterisid özelliklerinden dolayı bazı otörler tarafından önerilmiştir. Ayrıca uygun dozlarda uygulandığında analjezik etkileri de bulunmaktadır(7). Agrillo ve ark. tarafından yapılan çalışmada BRONJ gelişen hastalarda cerrahi debridman yapılmadan önce ve sonra uygulanan ozon tedavisinin tam mukozal kapanmayla sonuçlanan kemik ve yumuşak doku iyileşmesi sağladığını belirtmişlerdir(8).

Literatürde BRONJ'un tedavisinde trombositten zengin plazma, paratiroid hormon ve kemik morfojenik protein (BMP) uygulanması ile ilgili sınırlı sayıda olgu raporu bulunmaktadır.

Cella ve ark. rapor ettikleri bir evre üç BRONJ olgusunda iliak kretten alınan kemik iliğini ve hastanın kendi kanından elde edilen trombositten zenginleştirilmiş plazma(PRP)yı birlikte kullanarak ekspoze kemik bölgesine yerleştirmişlerdir. İşlemden 30 ay sonra bölgenin tamamen iyileştiğini bildirmişlerdir. İyileşmenin kemik iliği içindeki kök hücrelerin, farklı hücrelere farklılaşabilme ve uygulandığı bölgedeki hasar görmüş dokuyu onarabilme

özelliklerinden dolayı nekrotik kemik bölgesinde osteogenezisi arttırması sayesinde gerçekleştiğini vurgulamışlardır (54).

Martins ve ark. tarafından yapılan çalışmada BRONJ gelişen hastalara medikal ve cerrahi tedavi ile birlikte PRP uygulaması ve düşük doz lazer tedavisi yapılmıştır. Tedavi sonuçlarının karşılaştırıldığı bu çalışmada en iyi iyileşmenin antibiyotik tedavisi ile birlikte cerrahi debridman yapılan ve lokal olarak PRP ve lazer biyostimülasyonu uygulanan vakalarda gerçekleştiği bildirilmiştir. Çalışmaya göre osteonekrozun tedavisinde yardımcı yöntem olarak ortama yüksek konsantrasyonda eritrosit ve eritrositlerin salgıladığı büyüme faktörlerini sağlayan PRP'nin ve analjezik, antienflamatuar ve biyomodülatör özellikleri nedeniyle lazerin kullanımının yararlı olduğu belirtilmiştir(166).

Lee ve ark. cerrahi debridmandan sonra şikayetleri geçmeyen bir BRONJ olgusunda günlük düşük doz teriparatide tedavisi uygulamışlardır. Altı ay sonra ekspoze kemiğin iyileştiği ve yara yerinin tamamen kapandığı belirtilmiştir. Paratiroid hormonun osteoklast ve osteoblastları uyarıp, kemik metabolizmasını ve turnoverını hızlandırarak bifosfonatların antirezorptif etkilerini tersine çevirdiği düşünülmektedir(153).

Harper ve ark. tarafından rapor edilen bir BRONJ olgusunda, minimal invaziv cerrahi yaklaşımın günlük düşük doz paratiroid hormon tedavisi ile desteklenmesinin belirti ve bulguların azalmasında ve iyileşmede önemli rol oynadığını öne sürmüşlerdir (110).

Literatürde toplam 6 vakada iyileşme sağlayan bu alternatif destek tedavinin geçerlilik kazanması için daha yüksek sayıda uygulamaya ve kontrollü klinik çalışmalara gereksinim olduğu belirtilmiştir(246).

Lazerler günümüzde diş hekimliğinin ve tıbbın farklı alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Lazerlerin biyostimülatif ve antibakteriyel etkileri ile yara iyileşmesinin hızını ve sürecini olumlu etkiledikleri bilinen bir gerçektir.

Lazerlerin yara iyileşmesi ve hücre proliferasyonu üzerindeki etkilerine yönelik çok sayıda araştırma bulunmaktadır (10,30,118,196,207,210). Bazı araştırmacılar, düşük yoğunluktaki lazer irradyasyonunun hücre proliferasyonunu uyarma özelliği ile birçok hastalığın tedavisinde önemli rolü olabileceğini ve kullanılabilirliğini öne sürmektedirler. Yapılan in vitro çalışmalar insan fibroblast kültürlerinin lazer ile stimüle edilmesi sonucu metabolik aktivitelerin değiştiğini göstermektedir (14). Polosukhin ve ark.'nın yapmış oldukları araştırma ile lazer irradyasyonunun lenf ve kan damarlarını stimüle ettiği gösterilmiştir (212). Vidinski ve ark. ratlar üzerinde yapmış oldukları çalışmada diyot lazer irradyasyonunun cerrahi yara iyileşmesinde reepitelizasyon ve maturasyon fazlarını hızlandırdığını gözlemlemiş ve rapor etmişlerdir (259).

Stein ve ark. tarafından yapılan in-vitro çalışmada düşük enerjili lazer uygulamasının doza bağımlı olarak osteoblast benzeri hücreler üzerine erken dönemde biyostimülan etkisi olduğunu bildirmişlerdir(242). Merli ve ark., kemik iyileşmesi üzerine düşük enerjili lazer uygulamasının etkisini inceledikleri çalışmalarında lazer uygulanan dokularda yeni kemik depolanmasının daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Lazerin bu etkiyi kemik onarım süreci üzerinde kemik inorganik matriksini ve osteoblastların mitozunu arttırarak yarattığı öne sürülmektedir (170).

Vescovi ve ark., 190 BRONJ hastası üzerinde yapmış oldukları çalışmada Nd:YAG lazer ile uygulanan düşük yoğunluklu lazer terapisi ve birlikte yapılan medikal ve cerrahi tedavinin, DELT uygulanmaksızın yapılan medikal veya medikal ve cerrahi tedaviden daha başarılı olduğunu göstermişlerdir (255).

Yapılan çalışmalar, düşük yoğunluklu lazer ile sağlanan biyostimülatif etkinin BRONJ tedavisinde destek tedavi olarak yararlanabilineceğini göstermektedir.

Tosun ve ark. titanyum diskler üzerinde bakteri kolonizasyonunu izleyerek farklı lazer kaynakları ile irradyasyon uyguladıkları çalışmalarında,

doğru parametrelerle uygulandığında lazerin, ağız boşluğunda sıklıkla bulunan mikroorganizmalar üzerinde antibakteriyel etkinliği olduğunu rapor etmişlerdir (251).

Düşük yoğunluklu lazer, özellikle ödem ve ağrının azaltılması, doku onarım sürecinin kısalması ve yara iyileşmesini olumlu yönde etkilenmesi ile BRONJ'un medikal/cerrahi tedavisine yardımcı olmaktadır (106,160,231,236,255,258).

2.2. LAZER

2.2.1.LAZER UYGULAMALARININ TARİHÇESİ

Işık, tedavi amaçlı yüzyıllardır kullanılmaktadır. Güneş ışığının tedavi edici bir etkiye dönüştürülmesi düşüncesi ve uygulaması eski Yunan'da heliyoterapi (vücudun güneş ışınlarına maruz bırakılması) olarak karşımıza çıkmaktadır (69). Çinliler raşitizm, cilt kanserleri ve bazı psikolojik rahatsızlıkları iyileştirmek için güneş ışığını kullanmıştır. Güneş ışığının raşitizm tedavisi üzerindeki olumlu etkisi 1700'lerin sonlarında kesinleşerek, bu tedavi yöntemi fototerapi adını almıştır.

M.Ö. 1400'lerde yerliler psoralens denen bitkilerden elde edilen bir fotosensitif ilacı vitiligo tedavisinde kullanmışlardır, hazırlanan losyon cilde sürülmüş ve güneşe çıkılmıştır. Mısırlılar da aynı maddeyi lökoderma tedavisinde kullanmışlardır. 1974'de psoralensin morötesi A ışınım ile kombine kullanıldığında psoriazis ve vitiligo tedavisinde gerçekten etkili olduğu görülmüştür(176). Bu tedaviye fotokemoterapi adı verilmiştir.

Günümüzde konvansiyonel cerrahi girişimlerin yerine gerçek bir alternatif olarak kabul edilen lazerin temeli, 1917 'de geliştirilen Albert Einstein'ın İzafiyet teorisine dayanmaktadır (84,156). Teoriye göre uygun boyutlu bir fotonun, hali hazırda uyarılmış durumda bulunan bir moleküle

çarpması halinde bu molekülün daha düşük enerji düzeyine inerken, kendine çarpan fotonla tamamen aynı büyüklükte ve o fotonla aynı doğrultuda hareket eden diğer bir fotonun salınacağı fikri oluşturulmuştur (83,247).

1958'de Schalow ve Townes, bu teoriyi temel alarak tüm lazerlerin ana prensibi olan MASER'i (Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation) rapor etmişlerdir(80). İlk lazer ışını, 1960'da Theodore Harold Mainman, tarafından kromiyum oksit ile kaplı alüminyum oksitten yapılmış sentetik bir ruby barı kullanılarak, laboratuvarda deneysel olarak üretilmiştir(163).

Takip eden yıllarda araştırmacılar bu görünür lazer enerjisini tıp alanlarında kullanmayı denemişlerdir. Bir dermatolog olan Dr. Leon Goldman yakut lazer kullanarak dövme çıkarmaya çalışmıştır. Diş hekimi olan kardeşi de 1965 yılında lazeri diş yüzeyine uygulayarak ağrısız mine aşındırmasını gerçekleştirmiştir. Yıllar geçtikçe Goldman ve diğer araştırmacılar değişik tip lazerlerin biyolojik dokular üzerine kesme, koagülasyon sağlama, ablasyon ve vaporizasyon etkisini rapor etmişlerdir (69,176, 247).

1960 yılının sonlarında Budapeşte'de Mester, düşük enerjili red ışığı lazeri ve Helyum-Neon lazerlerin olası karsinojenik etkileri ile ilgili çalışmaları başlatmıştır. Araştırmacının kullandığı fare modelinde lazer kullanılan gruptaki farelerin kıllarının kontrol grubundakilere göre daha hızlı uzadığı ve deney grubunun üzerine lazer uygulamasının karsinojenik etkisinin olmadığı görülmüştür (248).

1964 yılında Patel ve arkadaşları Karbondioksit (CO_2) Lazeri, aynı yıl içerisinde de Geusic ve arkadaşları, Neodymium: Yttrium – Aluminium – Garnet (Nd:YAG) lazeri geliştirmiştir (69). Aynı yıl içerisinde, ışık kontrolünün daha kolay olması ve hemoglobin tarafından yüksek oranlarla emilmesi nedeni ile günümüzde retinal cerrahide kullanılan Argon Lazer geliştirilmiştir. İzleyen

yıllar içerisinde, Dye Lazer (1969), Excimer Lazer (1975) ve Erbium: Yttrium – Aluminium – Garnet Lazer (Er:YAG) (1975) geliştirilmiştir (69,176).

1970'li yılların sonlarına kadar yumuşak dokulara yönelik cerrahi uygulamalarda çeşitli amaçlarla kullanımı yaygınlaşan lazerin oral ve maksillofasiyal cerrahi alanında, sert dokularda ilk kullanımı lazerle ilk kemik osteotomisini uygulayan Horch tarafından 1979 yılında gerçekleştirilmiştir. 1980'li yıllarda da Fischer ve Frame, benign ve premalign oral lezyonların cerrahi tedavisinde CO_2 lazeri kullanmışlar ve elde ettikleri sonuçları yayınlamışlardır (69,176).

1987 yılında bir Nd:YAG lazer olan ilk portatif lazer cihazı hazırlanmış ve 2 yıl sonra Myers & Myers tarafından Amerikan Gıda ve Sağlık dairesinden dental kullanım amaçlı izni alınmıştır (180).

Laser kelimesi, ***L***ight ***A***mplification by ***S***timulated ***E***mission of ***R***adiation tanımındaki kelimelerin ilk harflerinden oluşmaktadır. Lazerin etki mekanizmasını açıklayabilmek için bu terimi oluşturan ışık, stimüle emisyon, amplifikasyon ve radyasyon kavramlarının tanımlanması gerekir.

2.2.2. IŞIK TANIMI

Işık, modern fizikteki anlamıyla kendisini oluşturan dalgaların ya da taneciklerin özelliklerine göre değişken olan ışın demetidir. Işığın özellikleri dalga boyuna ya da frekansına bağlı olarak değişmektedir. Işığın periyodik olarak değişen elektrik alanı ve ona dik olan manyetik alanı vardır. Bu elektromanyetik enerjinin temel yapı taşı ise "foton" dur.

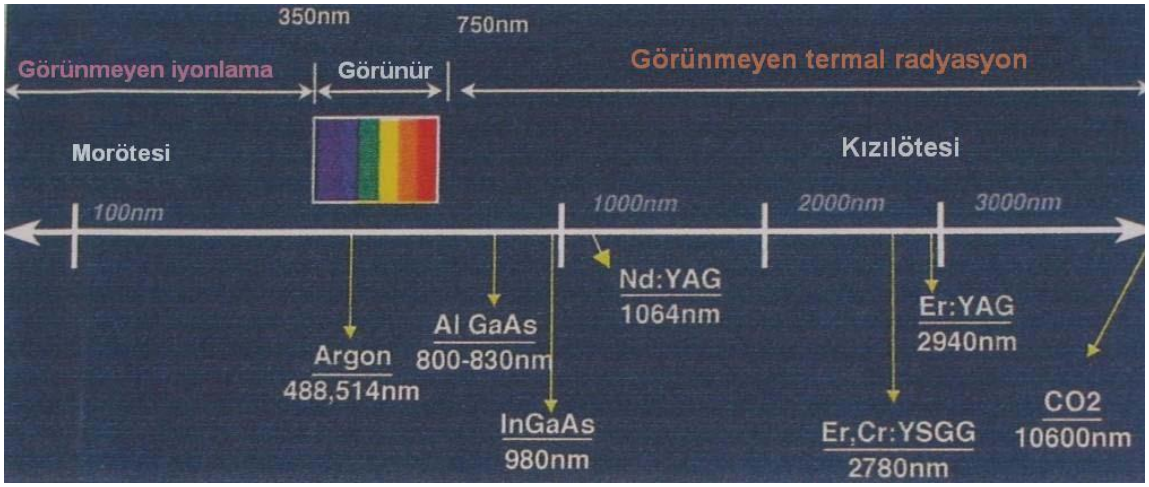
Işığın, tranversal ses dalgalarının olduğu gibi yayılımı için bir ortama ihtiyacı yoktur. Michelson'un 1881 deki deneyi, ışığın yayılım için ortama ihtiyaç duymadığını, boşluğun ışığın bilinen c: 3×10^8 ms^{-1} hızında yayılımına izin verdiğini açıkça kanıtlamıştır.

Işık demetleri 400 nm'den 800 nm'ye kadar uzanan görülebilir spekturumun daha ötesine uzanır. Ultraviyole ışık ise daha kısa dalga boylarına

ve X ışınlarının altına uzanır. Yüksek enerji sonucu ortaya çıkan görülebilir radyasyonun geniş aralığı, yakın, orta ve uzak ultraviyole (sırasıyla UVA, UVB ve UVC),vakum ultraviyole (yaklaşık 200 nm'den aşağı) ve yaklaşık 100nm'yi aşan ekstrem ultraviyole gruplarına ayrılabilir. Görünür spektrumun diğer yanında THz radyasyonu olarak da isimlendirilen yakın kızılötesi (30mikrometre'ye kadar)orta kızılötesi (yaklaşık 50 mikrometreye kadar) ve uzak kızılötesi (mm dalga boyunun onda birine kadar) gibi gruplara ayrılan kızıl ötesi ışık vardır(43)(**Şekil 2-5).**

2.2.3. LAZER IŞIĞI TANIMI

Lazer ışığının görünür sıradan ışıktan farkı lazer ışığının tek bir renk ve dalga boyuna sahip olmasıdır. Bu özelliği nedeniyle monokromatik ışık olarak isimlendirilir.



Şekil 2-5: Işığın dalga boyları (62)

Lazer ışığının iş görebilme yeteneği vardır. Lazerin asıl klinik yararı iş görebilme yeteneğinden doğmaktadır. Örneğin sıradan bir ışık kaynağı ışık yayması yanında daha çok ısı üretir. 100 watlık bir ampul 20 watlık ışınım gerçekleştirirken bunun yanında 80 watlık görünmeyen ve etrafını ısıtan ancak ışık olmayan radyant enerji üretir. 2 watlık bir Nd:YAG lazer ise diş eti papilini kesecek kadar termal enerji üretir (62).

Lazer monokromasi, koherens ve kolimasyon gösteren yüksek enerji kaynağıdır. Diğer ışık kaynakları ve ısı oluşturan ışık kaynakları da bu özellikleri gösterir, fakat lazer ışığı bu özellikleri aynı anda gösterir.

Kolimasyon (doğrusallık): Çok az sapma gösteren hemen hemen paralel ışık kaynağı oluşturulmasıdır. Lazer ışığı kaynağından çıktıktan sonra şekli ve büyüklüğü hiç değişmez. Diş hekimliğinde kullanılan röntgen cihazları ışınımı da bu şekildedir. Kolimasyon nedeniyle yoğunlaşan lazer ışığını mercek kullanımı ile daha da yoğunlaştırmak mümkündür. Böylesi bir durumda ışığın etkisi ve gücü artacak ancak bunu sağlayan merceklerin kısa mesafeli odak uzunluklarına bağlı olarak kullanılan materyaldeki etki derinliği azalacaktır (268). Pratikte yapılacak işe göre gücün yoğunluğu ile etkili olması istenen tabaka derinliği arasında bir seçim yapılma zorunluluğu vardır.

Koherens (uyumluluk): Lazer ışığının elektromanyetik alanının zaman ve yön bakımından belirli bir faz ilişkisinde olmasıdır. Lazer ışığı yayılırken dalga şeklini, yüksekliği ve derinliğini, hiç bozmaz. Bu özellik büyük mesafelerde, lazer ışığının uyumluluğunun ayarlanmasını ve çok iyi biçimde odaklanabilmesini sağlar (268).

Monokromasi: Sadece belirli frekans bandında (lazer hattı) tek renkli lazer ışığı oluşturulabilmesidir. Monokromatik yapıdaki lazer ışığı görünür veya görünmez olabilir. Tek renklilik seçici görsel absorbsiyona ve sonucunda seçici doku tutulumuna (ısınmasına) neden olur (20,28,129,133,144,171,268)

Parlaklık: Lazerin parlaklık özelliği ışık kaynaklarından meydana gelir ve zararlıdır. Parlaklığın artması paralellik ve ayarlamalarla ortaya çıkar. Yüksek parlaklık lazerin küçük noktalara odaklanmasından kaynaklanır. Bu odaklanma cerrahın ihtiyacına göre değişebilir. Lazerin bu özelliği doku kesisinde ve oftalmolojide kullanılır(37,268).

2.2.4.TEMEL LAZER FİZİĞİ

Maddenin en küçük birimi molekül olup metrenin milyarda biri büyüklüğündedir. Molekül mekanik olarak parçalanamaz, molekülün atomlarına parçalanması sadece fiziksel yol ile olur. Atom da proton, nötron ve elektronlarına mekanik olmayan ve oldukça komplike yöntemler ile parçalanabilir. Pozitif yüklü protonlar ve nötral olan nötronlar çekirdeği oluşturur, negatif yüklü elektronlar ise bu çekirdeğin etrafında yer alırlar(193).

Işığın oluşumunda iki temel fiziksel kural vardır:

1. Elektronlar sadece belirli ve sabit yörüngeler arasında hareket ederler
2. Elektronlar uyarılma sonucu bir yörüngeden diğer bir üst yörüngeye sıçrarken radyasyon şeklinde enerji açığa çıkarırlar (**emisyon**) veya enerji alırlar(**absorbsiyon**)(193).

Emisyon:

En küçük enerji birimi olan kuantum, atomun veya molekülün elektronları tarafından absorbe edildiğinde uyarılma olur. Bu uyarılma sonucunda; durağan haldeki bir elektron yörünge değiştirerek bir üst enerji düzeyindeki yörüngeye geçer. Aktif hale gelen bu elektron tekrar kararlı yani düşük enerjili olma eğilimindedir. Bu elektron tekrar düşük enerji yörüngesine dönerken ortama foton şeklinde enerji saçar. Bu sürece **spontan emisyon** adı verilir. Bir atom üzerinde farklı enerji seviyelerine sahip farklı elektron yörüngeleri olduğu için bu yörüngelerden elektronların kararlı olduğu yörüngeye geçişi esnasındaki foton salınımı da farklı dalga boylarında olacaktır(62,268).

Albert Einstein'ın teorisine göre ise uyarılmış bir atom, benzer enerji düzeyindeki bir foton ile etkileşime girdiğinde ikinci bir enerji salınımına (foton) neden olur. Ortaya çıkan enerji koherent dalga olarak yayılan benzer özellikteki iki fotondan meydana gelir ki bu kavram da **stimüle emisyon** olarak adlandırılmaktadır (62). Birlikte hareket eden bu fotonlar daha fazla atomun

uyarılmasına, uyarılan atomlar da benzer özelikte yeni fotonların salınmasına neden olur. Uygun koşullar altında, ortamdaki uyarılmış atomlar, dinlenme halindeki atomlardan sayıca daha fazla hale gelir. Bu uyarılma halinin sürdürülebilmesi için sürekli bir enerji kaynağına gereksinim duyulur ki bu enerji kaynağı da lazer sistemi ana bileşenlerinden pompalama sistemidir. Ortama salınan bu fotonlar aynalardan yansıyarak ortamda kaldıkları için daha fazla stimüle emisyona neden olur ve lazer materyali içerisinden geçen fotonlar, foton huzmesinin gücünü arttırır. Bu sürece ise amplifikasyon denir (62,268).

Radyasyon, lazer tarafından elektromanyetik enerji formu şeklinde üretilen ışık dalgalarıdır. Elektromanyetik spektrum, dalga boyu 10^{-12} olan gamma ışınlarından, dalga boyları binlerce metrelere ulaşabilen radyo dalgalarına kadar, dalga enerjilerinin tamamını ifade eder. 300 nm'den az olan düşük dalga boyları, iyonize olarak adlandırılır (62,268).Yüksek frekans ve düşük dalga boylu radyasyon yüksek foton momentumuna sahiptir. Bu yüksek foton enerjisi biyolojik dokulara yüksek penetrasyon gösterir ve ayrıca atom ve moleküllerde enerji yüklenmesine sebep olur. 300 nm'den yüksek dalga boylu ışıklar daha az foton enerjisine sahiptir ve etkileşimde olduğu dokuda stimülasyon ve ısı artışına neden olurlar. Tüm dental lazer cihazların dalga boyları 0.5 μm (500 nm) ile 10,6 μm (10.600 nm) arasındadır. Bu nedenle bir kısmı görünür ışıkken geri kalan kısmı kızılötesi noniyonize kısımda yer alır ve termal ışınım yayar. İyonize (hücresel DNA'da mutojenik etkili) ve noniyonize ışınlar arası çizgi, morötesi ve görünür mor ışık arasındadır (350 nm) (62).

Lazer enerjisinin birimi olan foton dalgası 3 temel özellik ile tanımlanabilir:

1) **Velosite:** Işığın hızıdır. Lazeri oluşturan tüm fotonlar aynı hızda hareket ederler.
2) **Dalga genişliği** (Amplitud): En üst noktadan tabana doğru dalga salınımının toplam yüksekliği fotonun dalga genişliğidir. Dalga genişliği

dalga boyundaki enerji miktarının ölçümüdür. Genişliğin ve enerji miktarının büyük olması yararlıdır. Birimi joule dür.

3) **Dalga boyu:** Dalga üzerindeki iki benzer nokta arasındaki uzaklık dalga boyunu ifade eder. Dalga boyu dokular ile reaksiyonun nasıl olduğunun ve lazer ışığının cerrahi alanda nasıl iletildiğinin önemini gösteren fiziksel ölçüdür. Dalga boyu ölçü birimi metredir. Bu ölçünün daha küçük birimleri ise mikron veya nanometredir(46).

Dalga salınımlarının sayısının saniye başına ölçümü olan frekans, dalga boyu ile bağlantılı olan dalga özelliği olup, dalga boyunun oransal tersidir ve Hertz birimi ile ifade edilir. Daha küçük dalga boyu daha büyük frekanstır(46,62).

Her dalga boyu foton enerjisine sahiptir. Enerji, koherent dalga olarak hareket eden birbirlerine benzer olan iki foton olarak ortaya çıkar veya salınır. Bütün dental lazer aygıtların emisyon dalgaboyları 0.5 μm (500 nm) ile 10.6 μm (10.600 nm) arasında değişir. Lazer ışık fotonları temel fizikte iş olarak bilinen doku etkisini yaratır. Enerji iş yapma özelliğidir ve joule veya milijoule olarak ifade edilir. Güç zaman içerisinde yapılan işin ölçümüdür, birimi watt dır. 1 saniyedeki enerji 1 joule olup 1 watt'a eşittir (62).

2.2.5.LAZER IŞIĞININ OLUŞUMU VE LAZER CİHAZININ BİLEŞENLERİ

Lazer cihazını oluşturan parçaları tanımlamak ışığın nasıl oluştuğunun daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır. Lazer sistemleri temel olarak lazer aktif maddesini içeren rezonans odası, pompalama sistemi ve optik parçalardan oluşur. Bu kısımlar dışında cihazlar, soğutma sistemi, iletim apareyi gibi mekanik parçalara da sahiptir (268).

Lazer cihazının merkezinde rezonans odası veya optik kavite denilen bir bölüm vardır. Bu kavite içerisinde aktif ortam denilen kimyasal elementler,

moleküller veya bileşiklerden oluşan bir kor bulunur. Lazer, ismini bu aktif ortamdan alır. Bu gaz, kristal veya katı yarı iletkenlerden oluşabilir. (268). Diş hekimliğinde iki adet gaz aktif ortamlı lazer kullanılmaktadır. Bunlar Argon ve CO_2 lazerlerdir. Bir kısım lazerler de katı yarı iletken aktif medyumdan oluşurlar. Bunlar tabakalar halinde sıralanan gallium, aluminyum, indium ve arsenikten oluşurlar. Kristal korlu lazerler ise yttrium, aluminyum, scandium ve gallium kombinasyonlarından oluşup, chromium, neodymium veya erbiyum elementler içine damlatılarak oluşturulurlar(182).

Enerji kaynağı, lazer ışığının üretilebilmesi için hem gerekli olan uyarılmayı başlatmak hem de daha üst enerji düzeylerine çıkartmak üzere aktif maddenin atomlarını uyarmak amacıyla kullanılır. Bugün sağlık alanında kullanılan lazerlerin çoğunda enerji kaynağı olarak elektrik enerjisi kullanılmaktadır. Elektrik enerjisine ek olarak optik veya kimyasal enerjiler de lazer materyallerinin uyarılması amacıyla kullanılmaktadır.

Pompalama sistemi ile aktif ortama dışarıdan enerji aktarılır ve aktif madde uyarılır. Aktarılan enerji, aktif ortamdaki atomları kararsız hale getirir. Atomların elektronları bir üst enerji düzeylerine çıkar ve eski düzeylerine dönerken foton yayarlar. Rezonans odasının bir tarafında %100, diğer tarafında ise % 90 oranında yansıtıcı aynalar bulunmaktadır. Bu fotonlar rezonans odasının bir duvarını oluşturan %100 yansıtıcı aynadan yansıyarak rezonans odasındaki diğer atomları uyarır ve benzer fotonların yayılmasını sağlar. Salınan foton, salınmasını sağlayan elektronun sahip olduğu enerjiye göre belli bir dalga boyuna ve bu dalga boyunu yansıtan bir renge sahip olur. Elektronları aynı düzeydeki iki benzer atomun sağladığı fotonların rengi ve dalga boyları da benzer olacaktır (62,268). Burada ışınların dalga boylarını ve enerjilerini etkileyen iki önemli faktör vardır. Birincisi sistemin hangi güçle ve ne kadar bir süreyle pompalandığı, ikincisi ise aktif maddeyi oluşturan atomlar ve bunların güçleridir(62).

Rezonans odasının iki ucunda yer alan aynalar, salınan fotonları öne ve arkaya yansıtarak stimüle emisyonun oluşmasını sağlar ve aktif ortamdaki foton demetinin enerjisini arttırırlar. Bu olay ise yukarıda tanımlanan amplifikasyon sürecidir.

Amplifikasyon sırasında ısı açığa çıkacağından aktif ortamın soğutulması gerekmektedir. Aynaların paralelliği ışığın kollimasyonunu sağlarken bu aynalardan bir diğerinin %90 oranında yansıtıcı, seçici geçirgen oluşu, yeterli enerji düzeyine ulaşan ışık demetinin optik kaviteden çıkışına olanak sağlar (193).

Optik kaviteden dışarı çıkan ışık, cihaz içerisindeki optik sistemde odaklanarak lazer iletim sistemlerinin yardımı ile operasyon alanına gönderilir. Bu iletim kesintisiz ve sürekli olabileceği gibi, aralıklı atımlar şeklinde de olabilir. Lazer ışığının salınımındaki bu düzenleme cihaz içerisinde optik sisteme yerleştirilen metal perdeciklerle ya da aktif maddeyi uyaran pompalama sistemi modifikasyonları ile sağlanmaktadır. Çalışılacak olan dokunun biyolojik özelliklerine bakılarak atım tipine karar verilir (62).

2.2.6.LAZER İLETİM SİSTEMİ

Koherent ve kollime lazer ışığı kullanım rahatlığı ve maksimum verim için ergonomik ve kayıpsız iletilmek zorundadır. Belli başlı iki ana iletim sisteminden söz etmek mümkündür. İlki ucunda ayna ile sonlanan esnek hollow tüpleridir. Lazer ışığı tüp boyunca iletilir ve tüpün sonunda bir uygulama başlığından yansıtılır ve hedef dokuya temassız şekilde iletilir. Safir veya hollow metal aksesuar bir uç yerleştirilerek lazer dokuya temas ederek de kullanılabilir.

İkinci iletim sistemi cam fiber optik kablodur. Bu sistem daha esnek, daha hafif ve harekete daha kolaylıkla cevap verebilecek bir sistemdir. Çap olarak genellikle daha küçüktür, özellikle bazı yumuşak doku lazerleri 200– 600

μm çapında fiber optik kabloya sahiptir. Bu sistem temaslı veya temassız kullanılabilir. Daha çok temas edilerek kullanımı tercih edilmektedir.

Yukarıda anlatılan her iki sistemde de ışığı odaklayan lensler vardır. Lazerin odaklandığı ve enerji yoğunluğunun en fazla olduğu bir nokta vardır. O nokta fokal spot olarak isimlendirilir. Fokal spotta enerji yoğunluğu maksimumdur ve bu mesafe lazerin iş gördüğü mesafedir. Fokal spot insizyonel ve eksizyonel işlemlerde önemlidir. Hollow tüplü sistemlerde fokal spot belirli bir mesafede iken fiber optik kablolu sistemlerde ya ışığın kabloyu tam terk ettiği noktada veya çok yakınındadır. Eğer lazer fokal spot noktasından uzaklaştırılırsa ışın dağılır. Bu modda uygulandığında bölgenin hemostazı için kullanılabilir. Ancak daha da uzaklaştırılacak olursa daha geniş bir alana dağılacak ve etkisiz hale gelecektir.

Argon, diyot ve Nd:YAG lazerler gibi kısa dalga boylu lazerler küçük, esnek cam fiberler ile iletilebilirler. Er, Cr:YAG ve Er:YAG lazerler ise dalga boylarının büyüklüğü ve büyük dalga boylarının iletici camın kristal moleküllerine uyum sağlayamaması nedeniyle fiber sistemlerle kullanılamazlar. Suya yüksek emilimleri nedeniyle minimum hidroksil içeriği olan yüksek maliyetli fiber sistemlerle ancak iletilebilirler. En yüksek dalga boylu dental lazer olan CO2 lazerler, henüz günümüzde kullanılan fiber optik sisteme uyumlu hale getirilememiştir, bu nedenle hala hollow tüp ile iletilmektedir (136).

Dental lazer cihazları ışınsal enerjiyi üç farklı şekilde iletirler:

Sürekli atım modu (continuous wave 'cw'): Kesintisiz ışımayı belirtir. Lazer uygulaması kullanıcı tarafından kesilmediği sürece aynı düzeyde ışın iletimi kesintisiz olarak süregelir. Yumuşak dokudaki çalışmalar için cw lazer kullanılır.

Aralıklı atım modu (pulsasyonlu): Işığın ayarlanabilir kesinti süreleriyle iletimidir. Bu iletim şekli sürekli bir emisyonun bir bariyer aracılığı ile cihaz

içerisinde otomatik olarak kesilmesidir. Sert dokularda termik zarar vermemek için pulsasyon lazeri kullanılır. Tıpta kullanılan pulsasyon lazerlerinin enerjisi 1mJ-1J arasında, pulsasyon süresi 10 nS ile milisaniyeler arasında, pulsasyon tekrarlama aralığı da 1Hz-100 Hz arasındadır.

Serbest atımlı mod: Bu ışıma şekli yüksek güç düzeylerine ulaşan lazerlere özgü olup mikrosaniye gibi kısa sürelerde ışıma oluşturulup, ardından uzun bir süre için lazerin kapalı kaldığı atım modudur(71).

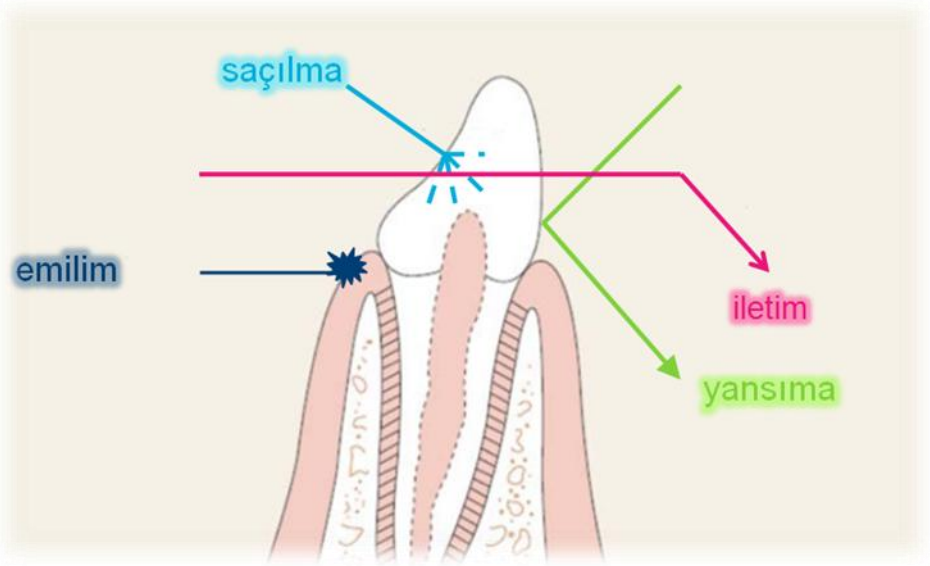
2.2.7. DOKULARIN OPTİK ÖZELLİKLERİ

Lazer ışığının optik özelliğinde dalga boyu, enerji yoğunluğu, enerji süresi, dokulardaki optik özellikler ve buna bağlı oluşan termik ve tıbbi etkiler de en önemli etkenlerdir. Lazer ışını hedef dokunun optik özelliklerine bağlı olarak dört farklı fiziksel etkileşim sergiler. Işın doku tarafından emilebilir (absorbsiyon), hiçbir etkileşime girmeden direkt olarak dokulardan geçebilir (transmisyon), saçılabilir (scattering) veya yansıtılabilir (refleksiyon) (64)**(Şekil 2-6).**

Yansıma(refleksiyon): Işık, çevre ile materyal arasındaki kırılma indeksleri ile ilgili olarak değişim gösterir. Bu indeksler arasındaki fark ve materyal ışık açısı ne kadar büyük ise yansıma da o kadar büyük olur. Dokuların homojen olmayan yapısı yansımada en önemli faktördür. Yansıyan ışık dar açılı olarak saçılırken paralelliğine devam edebilir ve daha fazla difüze olabilir. Yansıyan ışığın, direkt olarak gözle teması zararlıdır ki bu durum, kullanım sırasında güvenlik önlemlerinin alınmasını gerektirir (62,193).

Saçılma: Saçılma lazer ışınlarının doku içerisine yayılarak hedef bölgeden daha geniş bir bölgenin etkilenmesine neden olur ve istenilen miktarda enerji transferi sağlanamaz. Bu nedenle herhangi bir yararlı biyolojik etki görülmez. Saçılan bu ışınlar, cerrahi alana komşu dokularda ısı iletimine bağlı olarak gelişen hasarlara neden olur (62).

Transmisyon (İletim): Transmisyon sonucunda lazer, yüzeyel dokulardan etkileşimsiz olarak geçer ve hedef doku aralığında etkisini gösterir. Bu özellik büyük oranda ışığın dalga boyu ile ilişkilidir. Örneğin su; Argon, Diyot ve Nd:YAG gibi kısa dalga boylu ışınlar için geçirgen iken erbiyum grubu ve CO_2 lazer ışınları için yüzeyel doku tabakalarında yüksek emilim gösterir. Bu nedenle çevre dokulara enerji iletimi minimum düzeyde kalır (62).



Şekil 2-6: Lazerin biyolojik dokulardaki etkisi

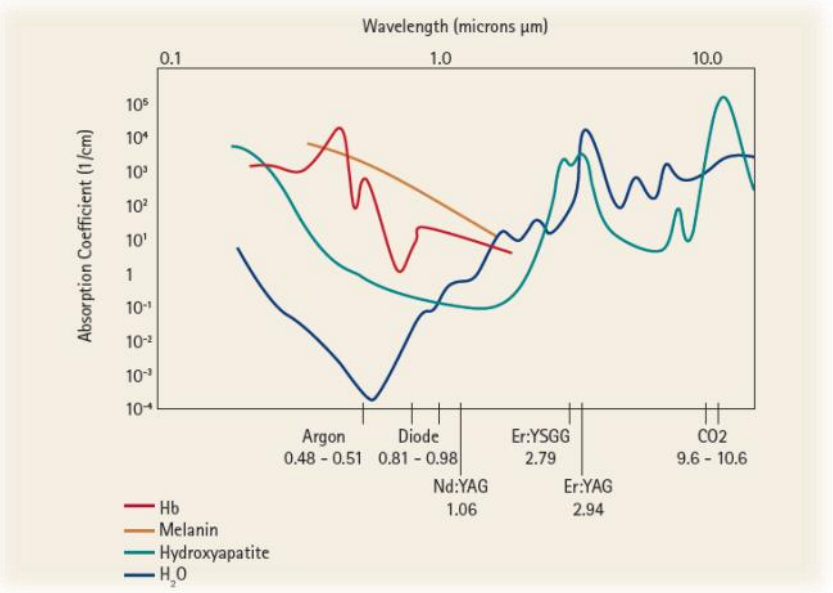
Absorbsiyon (Emilim): Absorbsiyon ile lazer ışını doku tarafından emilir ve lazerlerin asıl istenen etkisi oluşur. Doku tarafından absorbe edilen enerji miktarı, pigmentasyon, su içeriği gibi doku özelliklerine, lazerin dalga boyuna ve yayılım tipine bağlıdır. Spektrumun mor ötesi bölgesinde absorbsiyon dokunun protein içeriğine bağlı iken, kızıl ötesi bölgede dokunun su içeriği önem kazanır (62).

Bu etkenlerden başka, pigmentler, aromatik sistem ve nükleik asit gibi diğer makro moleküller de dalga boylarına göre değişik şiddette lazer ışını absorbe ederler. Protein ve diğer birçok organik molekül, mor ötesi spektrumda (200-400 nm) kuvvetli absorbsiyon gösterir. Hemoglobin, görünen ışık mor

ötesinin yeşil ve sarı renklerine kadar (800 nm) yüksek düzeyde absorbsiyon gösterir. En önemli epidermal kromofor olan melanin tüm görünen ışığı, mor ötesi ışık bölgesine kadar absorbe eder. Buna karşın, kızıl ötesi ışın özellikle su tarafından absorbe edilir (268).

Dokuların lazer ışınını absorbe etme miktarı absorbsiyon katsayısı (α) ile ifade edilir. Absorbsiyon katsayısı, lazer ışığının materyal içerisinde kat ettiği yolda 1mm'lik mesafede enerjinin ne kadarının başka bir enerji türüne dönüştüğünü ifade eder. Işığın absorbsiyon miktarı arttıkça, penetrasyon derinliği azalır. CO_2 ve Er:YAG lazerler büyük oranda su tarafından absorbe edilir. Dokuların ana komponenti su olduğundan, ışık enerjisinin ısı enerjisine transformasyonu çok hızlı bir biçimde ve 0,2 ile 1,0 mm'lik doku derinliğinde olur. Bu hızlı termal cevap, suyu, dolayısıyla dokuları buharlaştırır. Nd:YAG lazer ise, yüzey sıcaklığını fazla arttırmadan derin dokulara işleyebilir. Böylece derin tabakalardaki hedeflere ulaşmak kolaylaşır. Argon-İyon, Argon-Dye, Nd:YAG ve frekansı arttırılmış Nd:YAG lazerlerin, hemoglobin melanin ve diğer organik kısımlara affinite göstermeleri iyi bir koagülasyon etkisi yaratır (64).

Lazerin hedef dokularda olan etkilerini belirleyen faktörler, kullanılan lazere ve hedef dokuya göre farklılık gösterir(62,193)(**Şekil 2-7).**



Şekil 2-7: Farklı lazerlerin farklı ortamlardaki absorbsiyon oranları

2.2.8. LAZERİN BİYOLOJİK DOKULARA ETKİ MEKANİZMASI

Lazerin dokulardaki etkisini belirleyen faktörler; lazerin dalga boyu, dokunun absorbsiyon katsayısı, kullanılan güç miktarı, ışının odaklandığı alandaki keskinliği ve lazer ucunun objeye olan uzaklığıdır. Sert veya yumuşak dokulara uygulanan lazerin etkisi fototermal, fotokimyasal ve fotodekomposizyon mekanizmaları ile ortaya çıkar(197,199).

2.2.8.1. FOTOKİMYASAL ETKİLER

Lazer ışığının fotokimyasal etkileri, lazerin herhangi bir termal etkisi olmadan absorbsiyonu ile molekül ve atomların fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirmesidir. Lazer ışığının neden olduğu fotokimyasal etkileşimler dokuların iyileşme ve tamir gibi biyokimyasal ve moleküler işlemlerinde uyarıcı rol oynar. Bu etki sayesinde lazerler, tanı ve tedavi amaçlarıyla, fotodinamik tedavi, biyostimülasyonda kullanılmaktadır (176). Enerji yoğunluğu arttığında, fotokimyasal etkiler fototermal etkiye dönüşebilir.

Biyostimülasyon: Düşük dozlu lazerlerin kullanımı, ağrının azaltılması, yara yeri iyileşmesinin uyarılması veya diğer biyolojik olayların değiştirilmesini sağlamaktadır. Akut patolojik olgularda lazerden kısa sürede yanıt alınmasına

karşın, kronik olgularda iyileşme üzerine olumlu cevabı daha uzun süre alır. Lazerin biyostimülasyon etkisi halen tam olarak anlaşılmasa da fiziksel, biyokimyasal ve fizyolojik mekanizmalar etkilenmektedir.

Doku iyileşmesi için midlazerler kullanılır. Doku arası sıvı alışverişinin uyarılmasıyla, arterio kapiller vazodilatasyon sonucu kan akımının düzenlenerek iltihaplı alandaki ödem giderilir. Hücrenin protoplazmasındaki elektrolit alışverişi uyarılır ve metabolik aktivite hızlandırılır. ATP sentezi ile oksijenin, vazodilatasyon sonucu kullanımı artar, nükleik asitlerle sitoplazmik enzimlerin aktivitesi sonucu hücre mitozu uyarılır. Lazer lenfosit, granülositler ile kemotaksisi uyarır, böylece nekrotik doku artıklarını yaradan uzaklaştırarak yaranın temizlenmesini sağlar. Fibroblast aktivitesinin belirgin artışı sonucu kollajen ve retikulum liflerinin üretiminde hızlanma görülür. Kapiller düzeyindeki yeni damarların oluşumundaki artış sonucu onarım süreci uyarılır, granülasyon dokusunun arttığı görülür. Epitel hücre proliferasyonunun uyarılması sonucu yara giderek, tamamen iyileşir. Bu etkilerin sonucunda lazer ışınının yara iyileşmesi üzerine olumlu etkisi tüm kaynaklarca kabul edilmektedir.

Düşük doz lazer tedavisinin biyostimulasyon etkisi, hücre kültürü yanıtında, yara iyileşmesinde, hormonal ve nöral stimulasyonda, antifilojistik reaksiyonda, ağrı kontrolünde birçok çalışmayla incelenmiştir. Bazı araştırmacılar da biyostimülasyon etkisini kemik iyileşmesinde incelemişlerdir. Düşük doz lazer uygulamasının kemik iyileşmesini arttırdığı bazı deneysel çalışmalarda gösterilmiştir(20,26,51,193).

Fotodinamik tedavi: Sitotoksik fotokimyasal reaksiyona dayanan deneysel bir kanser tedavi yöntemidir. Lazer ışını, uygulanan ilacı aktive ederek, ilacın makrofaj ve endotelyal hücrelerde yer almasını sağlamaktadır. Bu etki ile tümörü besleyen damarlar yok edilerek tümöral dokuların nekrozu amaçlanır.

2.2.8.2. FOTOTERMAL ETKİ

Fototermal etki, lazer enerjisinin ısıya dönüşerek dokuyu tahrip etmesini tanımlar. Hücre içerisindeki ısının 100^{o} C düzeyine ulaşması halinde hücre proteinleri denatüre olarak kaybolur ve oluşan buhar etkisi ile hücre patlayarak, yok olur. Dokudaki suyun tamamının buharlaşması sonucu hücre proteinlerinin söz konusu denatürasyonu ile bu etki lazere çok daha derin dokulara inebilme özelliği kazandırır. Enerji yoğunluğunun artması da, daha derin dokularda eksizyonu kolaylaştırır. Bir başka deyişle, ışının gücü, çıkartılacak dokunun derinliği ile doğru orantılı olmalıdır. Yanı sıra, düşük dozlarda uzun süre uygulanan lazer ışını ise, yüksek dozla fakat kısa süreyle uygulanan ışından daha derin bir termal etki meydana getirir. Bu nedenle insizyonlarda genellikle, yüksek enerji düzeyinde kısa süreli kullanımlar tercih edilmektedir (268). Lazer homojen olan bir dokuya uygulanırsa, gücü azalarak alt tabakalara ulaşır ve kısmen yansıyarak rezorbe edilir. Isının 300° C'den fazla olduğu durumlarda doku buharlaşır ve buharlaşan kısmın altında 150° C'den fazla ısı içeren bir bölge karbonize olur. Bundan sonraki tabakada da doku koagüle olur. Daha alt tabakada ise doku sıcaklığının daha az artması nedeniyle geri dönüşümü olan hafif değişiklik meydana gelir(193)(**Tablo 2-2).**

2.2.8.3.FOTODEKOMPOZİSYONEL ETKİ

Bu etkiler fotodisrüpsiyon, fotomekanik ve fotoablasyondur.

Fotodisrüpsiyon etki: Yüksek enerjili lazerlerin kullanılması ile sekonder şok dalgası, bir plazma (toplam yükü nötral olan iyonize bir partikül bulutu) oluşturarak dokuyu mekanik olarak tahrip eder(274).

Fotomekanik Etki: Hızlı ve yüksek güçte lazer enerjisinin doku ekspansiyonu ve şok dalgası yaratarak hedef dokuda mekanik hasar oluşturması esasına

dayanır. Dye lazerler bu etkiye sahiptir. Lazer enerjisinin dokular üzerindeki bu etkisine fotoakustik etki de denir (268).

Fotoablasyon: Lazer ışını komşu dokulara hiçbir zarar vermeden hedef dokunun atomik ve moleküler bağlarını kırar. Isı enerjisi dokunun buharlaşma sıcaklığından fazla ise enerjinin büyük kısmı absorbe edilerek aniden patlama şeklinde buharlaşır. Buna fotoablasyon denir. Diş sert dokularından parçacıklar halinde madde kaldırılarak kavite açma bu etki ile gerçekleştirilmektedir. Absorbsiyonun şiddeti doku cinsine ve lazer dalga boyuna bağlıdır. Dokunun derin kısmında ısı enerjisi azalır, dolayısıyla dokudaki ısı enerjisinin oluşturduğu sıcaklık da azalır. Bu durumda dokudaki termik zararlar çok az olup aşağı yukarı lazer ışınının penetrasyon derinliği kadar olur. Fotoablasyonun oluşması için şart olarak kısa lazer pulsasyonları ve ışının doku içerisine çok az bir derinlikte girmesi gerekir(193). Sadece excimer lazerler atomik ve moleküler bağları ayırabilecek yüksek enerjili ışınım yaparlar.

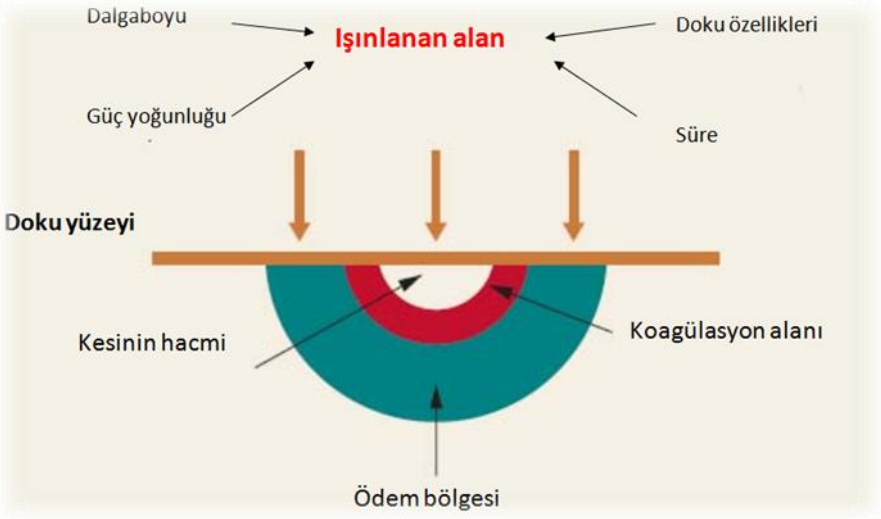
ISI (°C)	Doku değişikliği
37	İrreversible değişiklik görülmez
40-45 40-45	Enzim salgılanması, ödem oluşumu, membranda çözülme ve zamana bağlı hücre ölümü
60	Proteinlerin denatüre olması, koagülasyon nekrozları
80	Kollagenin denatüre olması, membran defektleri
100	Kuruma
150 <	Karbonizasyon
300>	Buharlaşma, gaz oluşumu

Tablo 2-2: Lazer uygulamalarında ısıya bağlı doku değişimleri

Lazerin dokuyu kesmesi, doku yüzeyindeki sıcaklığın arttırılmasıyla dokunun koagülasyonu ve buharlaşması ile gerçekleşir. Koagülasyon, dokuların 60-100°C arasında ısıtılması sonucu olur. Bu safhada dokuda görülen

değişiklikler, doku proteinlerinin denatürasyonu sonucu doku beyazlaması ve büzülmesidir. Sıcaklık 100°C'ye yaklaştığında, sıvı ve katı haldeki dokular buharlaşmaya başlar. Dokuların, katı ya da sıvı durumdan, gaz fazına geçmesi, yani buharlaşması dokuların kesilmesine neden olur.

Karbonizasyon oluşumu çok önemlidir, çünkü bu bölgede lazer ışını absorbsiyonu artar ve çok yüksek ısı oluşur. Aynı durum dokunun kuruması ile de oluşabilir. Bu durumda ısının yayılması engelleneceği için o bölgede ısı artışı söz konusudur. Lazerin dokudaki değişik termik etkileri hiç bir zaman ayrı ayrı oluşmaz, örneğin lazer ile dokuyu kesme işleminde olduğu gibi hepsi değişik katmanlarda aynı anda gözlenir**(Şekil2-8).** Lazer homojen bir dokuya uygulanırsa, gücü azalarak alt tabakalara ulaşır ve kısmen yansıyarak rezorbe edilir. Isının 300° C' den fazla olduğu durumlarda doku buharlaşır ve buharlaşan kısmın altında 150° C' den fazla ısı içeren bir bölge karbonize olur. Bundan sonraki tabakada da doku koagüle olur. Daha alt tabakada ise geri dönüşümsüz zarar oluşmadan doku sıcaklığı biraz artmıştır. Oluşan bu bölgelerin genişlikleri kullanılan lazerin dalga boyu ve daha önce bahsedilen diğer parametrelerle ilgilidir(64,197,198).



Şekil 2-8: Lazerin derin dokulara etkisi

2.2.9. LAZERİN AVANTAJLARI

1. Operasyonda hemostazı sağlayarak ya çok az kanamaya sebep olur ya da hiç kanamaya sebep olmaz.
2. Operasyon esnasında ya hiç ağrıya sebep olmaz ya da çok az ağrı oluşturur.
3. Lokal anestezik kullanmadan basit cerrahi operasyonların gerçekleştirilebileceğine dair literatür bilgisi mevcuttur.
4. Bistüriye göre daha hassas kesiye olanak verir.
5. Operasyon alanında termal etki ile sterilizasyon sağlar böylelikle enfeksiyon riskini azaltır.
6. Operasyon bölgesinde bistüriye göre daha az bir skar dokusu oluşmasını sağlar.
7. Operasyon sonrası daha az ağrı ve şişlik meydana gelir.
8. Koagülopatili hastalarda klasik yönteme göre daha kolay cerrahi işlemler yapılabilir.(265)

2.2.10. LAZERİN DEZAVANTAJLARI

1. Konvansiyonel tekniğe göre lazerin hızı tatmin edici değildir.
2. Lazer cerrahisinde yara iyileşmesi mükemmel olmasına rağmen iyileşme süresi uzamıştır. Normalde 7-10 günde iyileşen bir doku lazer uygulama sonrası ancak 2-3 hafta sonra tamamen iyileşir.
3. Hekimin ve yardımcı personelin lazer eğitimi almasını gerektirir(164)
4. Pahalı bir tedavi yöntemidir.
5. Lazer ışını hastaya, hekime ve yardımcılarına zarar verebilir.

2.2.11.LAZER SINIFLAMASI

Medikal ve dental uygulamalarda kullanılan lazerler elde edildikleri aktif ortama göre ve kullanım alanlarına göre sınıflandırılır.

Elde edildikleri aktif ortama göre (59):

a. **Katı aktif ortamdan elde edilen lazerler:**

- Ruby (yakut) lazer
- Neodmiyum:Yitriyum-Alüminyum-Garnet (Nd:YAG) lazer
- Holmiyum:Yitriyum-Alüminyum-Garnet (Hol:YAG) lazer
- Erbiyum: Yitriyum-Alüminyum-Garnet (Er:YAG) lazer
- Erbiyum, Kromiyum: Yitriyum-Skandiyum-Galliyum-Garnet (Er,Cr:YSGG) lazer

b. **Gaz aktif ortamdan elde edilen lazerler**

- Helyum-Neon (HeNe) lazer
- Argon lazer
- CO2 lazer
- Excimer lazer

c. **Sıvı aktif ortamdan elde edilen lazerler:**

- Dye lazer
- Rhodamine lazer

d. **Yarı iletken aktif ortamdan elde edilen lazerler:**

- Galyum-Arsenid (GaAs) lazer
- Galyum-Alüminyum-Arsenid (GaAlAs) lazer

Kullanım Alanlarına Göre:

a. **Cerrahi (Yüksek enerjili) Lazerler:** Termal etkiye sahip, genellikle cerrahi amaçla kullanılan lazerlerdir. Güçleri 30-100 W arasındadır.

1. CO2 lazer
2. Nd:YAG lazer
3. Ho:YAG lazer
4. Er:YAG lazer
5. Er,Cr: YSGG

6. Argon lazer
7. Ruby lazer
8. GaAlAs lazer
9. Dye lazer
10. Excimer lazer

b. Terapötik (düşük enerjili) Lazerler: Bu lazerler hücresel aktiviteyi uyaran dalga boylarında, soğuk (atermik) ve düşük güce sahip kaynaklar olup terapötik amaçlı kullanılırlar.

1. HeNe lazer 633nm gaz lazer
2. GaAIAs lazer 780-890 nm yarı iletken lazer
3. GaAs lazer 904 nm yarı iletken lazer
4. Defokus Yakut lazer 694 nm katı hal lazer
5. Defokus Nd: YAG lazer 1064 nm katı hal lazer

2.2.12. ORAL VE MAKSİLLOFASİYAL CERRAHİDE KULLANILAN LAZERLER

Tıp alanında kullanılmak üzere farklı tipte lazerler üretilmiştir. Oftalmoloji, jinekoloji, dermatoloji, estetik cerrahi gibi alanlarda lazer kullanımı, oral cerrahide kullanımından daha önce başlamıştır. 1980'li yılların başında maksillofasiyal cerrahide kullanılmaya başlayan lazer teknolojisinin ilerleyen zamanla birlikte farklı dalga boylarının farklı endikasyonlarda kullanılabileceği ortaya çıkmıştır ve lazer kullanımının tedavideki etki skalası günden güne genişlemiştir(265). Sıklıkla kullanılan lazerler;

2.1.12.1. CO_2 LAZER

10.600 nm'lik dalga boyunda 3 atım modunda çalışabilen gaz lazerlerden karbon dioksit (CO_2) lazer; tüm su bazlı dokulara karşı mükemmel afinitesi olduğundan dolayı oral ve maksillo - fasiyal alanında çok geniş olarak kullanılan bir yumuşak doku lazeridir. İntraoral ve ekstraoral olarak yapılan

çoğu yumuşak doku cerrahilerinde bu dalga boyu idealdir. CO_2 lazer ile yumuşak dokularda kolayca kesi yapılabilir ve koagülasyon sağlanabilir. Hidroksi apatit tarafından herhangi bir lazerden çok daha fazla emilir. Fakat sert dokular içindeki su miktarı çok az olduğundan dolayı sert dokularda kullanımı nekroza sebep olabilmektedir(243).

2.1.12.2. Nd:YAG Lazer

1064 nm dalga boyunda, sürekli ve pulsed atım modunda çalışabilen katı hal lazerlerinden Nd:YAG lazerin de kullanım alanı oldukça geniştir. Uygulanan yüzeyde doku tarafından minimum düzeyde absorbe edilse bile maksimum penetrasyona sahiptir. Bu özelliği ile yumuşak dokuların derin kısımlarındaki 2-3 mm çapındaki damarları ablasyona uğratarak mükemmel bir koagülasyon sağlar. Bu lazerle ağız içindeki yumuşak dokuların cerrahisi anestezisiz ve minimal kanama ile yapılabilir. Kontakt modda (kesici) ve non-kontakt modda (koagülasyon) çalıştırılabilir. Böylelikle, anjiyomatöz lezyonların koagülasyonunda, kanama bozukluğu olan hastalarda kanama kontrolünün sağlanmasında, temporomandibular eklemin artroskopik cerrahisinde, CO_2 lazer ile birlikte vasküler dokuların rezeksiyonunda kullanılır(243).

2.1.12.3. Er:YAG Lazer

2940 nm dalga boyunda, pulsed atım modunda çalışan katı hal lazerlerinden Er:YAG lazerler özellikle sert dokularda ve kozmetik yüz cerrahisinde yararlı bir şekilde kullanıldığından dolayı gittikçe popüler olmaktadır. Su tarafından yüksek bir şekilde absorbe edilir ve dokudaki penetrasyon derinliği minimumdur(1μm).Termik etkilerinin azlığından ve implant cilalı metal yüzeyde yansıdığından dolayı implant cerrahisinde sert dokuların preparasyonu için, ikinci aşama implant cerrahisinde, yumuşak dokuların düzeltilmesinde ve peri-implantitisin tedavisinde kullanılabilir.

Ayrıca yüzeyel etkiye sahip olduğundan fasiyal kozmetik cerrahide kullanımı artmıştır(243).

2.1.12.4. Holmium:YAG Lazer

2100 nm dalga boyunda, pulsed modda çalışan bir katı hal lazeri olan Ho:YAG lazer, yaygın olarak TME cerrahisinde kullanılmaktadır. Su tarafından absorbsiyon kapasitesi CO_2 ve Nd:YAG lazer arasındadır bu nedenle koagülasyon kapasitesi açısından ortalama bir lazerdir. Bu lazer bisturi ile kıyaslandığında çevre dokulara daha az zarar verir, daha iyi hemostaz sağlar ve penetrasyon derinliği kontrol edilebilir. Ortamda serum fizyolojik ve laktatlı Ringer solüsyonu bulunduğunda çalışılabilir. Böylece bu lazer karakteristik olarak diskoplasti, diskektomi ve sinovektomi gibi TME operasyonlarında kullanılabilir(243).

2.1.12.4. Argon Lazer

514 nm dalga boyunda sürekli modda çalışan gaz lazerlerden Argon lazer, melanin, hemoglobin ve diğer pigmentler tarafından oldukça iyi absorbe edilir. Bu nedenle dermatolojide, maksillofasiyal bölgedeki geniş vasküler dokuların tedavisinde kullanılır. Bu lazer çeşitli vasküler lezyonlar için etkili olsa dahi daha derin lezyonlar için etkisiz kalmaktadır(243).

2.1.12.5. Helyum-Neon(He-Ne) lazer

633 nm dalga boyunda, sürekli atım modunda çalışan bir gaz lazer olan He-Ne lazer sert doku lazerlerinin kullanımından önce pilot lazer olarak, yumuşak dokuda yara iyileşmesinin hızlandırılmasında ve ağrı tedavisinde kullanılır(178). En geniş kullanım alanı, malign hücrelerin fotosensitif maddelerle işaretlenerek ışınlama yoluyla yok edildiği fotodinamik tedavidir.

2.1.12.6. Er,Cr:YSGG

2780 nm dalga boyunda, pulsed modda çalışan bu lazer yumuşak ve sert dokulardaki işlemlerde kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Bu lazerler oral ve maksillofasiyal cerrahide yumuşak dokuda gingivoplasti, gingivektomi,

fibromların eksizyonunda, yumuşak doku kesilerinde, gingival hiperpigmentasyonda depigmentasyon işlemlerinde, sert dokuda çene kemiğini içeren cerrahi girişimlerde, apikal rezeksiyonda ve periodontal tedavi işlemlerinde uygulanabilirler.

2.1.12.7. DİYOT LAZERLER

2.1.12.7.1. GALLİUM ALUMİNİUM ARSENİDE DİYOT LAZER

Bu lazer 820-830 nm dalga boyunda ve genellikle 10-70 mW da kullanılır. Odaklanmış lazer demeti lezyonun üzerine genellikle temas etmeden kullanılır, ama bazen kontak veya kontak ve baskılı bir şekilde de kullanılabilir. Diyot lazerler, kemik iyileşmesinde deneysel ve klinik çalışmalarda kullanılmaktadır. GaAlAs yüksek doku penetrasyonuna sahiptir çünkü bu lazerin hemoglobin ve su tarafından absorbsiyonu iyi değildir. Deriye ve oral mukozaya uygulanan GaAlAs lazer dalgaları dokulara penetre olur ve oral mukozanın 4-8 mm altına kemiğe ve sinir dokusuna kadar ulaşır. Yüksek penetrasyon gücünden dolayı trigeminal sinir parestezilerinde çok yararlı bir şekilde kullanılabilir(55,175).

2.1.12.7.2. GALLİUM ARSENİDE DİYOT LAZER

Deri pigmentlerindeki ve sudaki düşük absorbsiyonundan dolayı derin dokulara kadar penetre olabilen 904 nm dalga boyunda ışık yayan bir lazerdir. Gallium Arsenide(GaAs) ve GaAlAs lazerler yüksek güç yoğunluğunda, oldukça güvenilir ve düşük maliyetli olmalarıyla oldukça fazla kullanılmaktadır(103).

Diyot lazerler cerrahi amaçlarla kullanılacağı gibi oldukça düşük güç yoğunluğunda da tedavi amaçlı kullanılabilirler.

2.2.13. DÜŞÜK ENERJİLİ LAZER TEDAVİSİ

Bazı lazerler aracılığı ile hücresel fonksiyonların uyarılması amacına dayanır. Spesifik dalga boyu ve enerjisine sahip olan bu lazerler, dokularda

termal değişikliklere neden olmadan, hücrenin biyokimyasal yapısını, proliferatif aktivitenin stimülasyonunu veya inhibisyonunu etkilerler. Güç düzeyleri mW'larla ifade edilen bu tip lazer ışınlarının enerji aralıkları da 1-500 mw'dır. Bu amaçla kullanılan lazerlerin etki mekanizması, lazerlerin fotokimyasal etki teorisi ile açıklanmaktadır (25,80,181).

Tedavi edici lazerleri cerrahi lazerlerden ayırmak için soft, soğuk, düşük yoğunluklu lazer tedavisi tanımlamaları kullanılmaktadır. Tedavide genellikle düşük enerjili lazerler kullanılır, ayrıca cerrahi lazerler de yeniden odaklanıp düşük enerjili lazerler olarak kullanılabilir. Düşük enerjili lazerler kullanılarak yapılan tedaviye biyostimülasyon veya biyomodülasyon adı verilir. Biyomodülasyon daha uygun bir tanımdır, çünkü bu tedavi uygun dozlarda biyolojik süreci hızlandırdığı gibi yüksek dozlarda aynı süreci baskılayabilir(1,172).

Medikal alanda düşük enerjili lazer tedavisi (DELT) ile ilgili ilk çalışmayı 1968 yılında Endre Mester gerçekleştirmiştir. 1973 yılında ise Plogg DELT'nin akupunktur amacıyla kullanılabileceğini ortaya koymuştur. DELT'nin medikal alanda kullanımının asıl öncüsünün ise, 1980'li yıllarda ağrı tedavisi ve flep nekrozlarının önlenmesi gibi amaçlarla DELT uygulayarak temellerini ve sonuçlarını rapor eden Dr. Toshio Ohshiro olduğu kabul edilmektedir (59,172).

1980'li yılların başlarında geliştirilen Gallium-Aluminum-Arsenid (Ga-Al-As) lazer ile, 1991 yılında Kemmotsu ve ark. tarafından, ilk kez ağrının giderilmesi amacıyla düşük enerji düzeyi uygulanmıştır 1994 yılında ise Eckerdal, bu lazer türünün, düşük enerji düzeylerinde uygulanmasının yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkilerini rapor etmiştir (44,207).

DELT'nin sinir hasarı onarımı üzerinde de etkilerinin olduğu yapılan bazı çalışmalarla gösterilmiştir. Kırık iyileşmesi üzerine düşük enerjili lazerin etkilerinin araştırıldığı ilk çalışmaların, 1986 yılında Tang, 1987'de Trelles ve yine 1987'de Hernandez Ros tarafından yapıldığı bilinmektedir. İzleyerek

1991'de Yamada, 1995'te Barushka ve 1996'da Yaakobi DELT'nin kemik onarımını hızlandırıcı etkisini yaptıkları çalışmalarla kanıtlamışlardır (34,53,205).

Düşük enerjili lazer tedavisinin farklı dokularda etkisini incelemek amacıyla birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda kullanılan lazer uygulama protokolleri dalga boyu, dozimetre, uygulama sıklığı açısından çok çeşitlilik gösterir. Yapılan çalışmalarda ortak kanı, belli dalga boyundaki bir soft lazerin belirli bir uygulama prosedüründe biyostimülatif etkilerinin olduğu fakat bu prosedürün uygulama süresi, dokuya iletilen enerji miktarı azaltılır ya da arttırılırsa etkinin olmayacağı veya olumsuz yönde etkili olacağı yönündedir(263). DELT'de ilk kullanılan lazerler He-Ne lazerler olsa da daha sonra yerini gallium arsenide kaynaklı diyot lazere bırakmıştır. Fototerapi tedavilerinde dalga boyunun tedavideki etkisi büyük olduğundan canlı dokularda hangi dalga boylarının ne gibi etkilerinin olabileceği iyi değerlendirilmelidir(265).

Yarı iletken diyot lazerler, kullanımı ve taşınması kolay kompakt cihazlardır. HeNe lazerlerden farklı olarak, yarı iletken diyot lazerler için yüksek voltajın gerekli olmaması taşınabilirliğini kolaylaştıran önemli bir unsurdur. Ayrıca basit eksternal aparatlar kullanılarak çeşitli dalga boylarında lazer atımı elde etmek mümkündür. Diyot lazerlerin ömürleri 100.000 ile 600.000 saat arasındadır (271).

DELT amacıyla yarı iletken diyot lazerlerden genellikle yakın infrared spektrumda bulunan ve dalga boyu 700 nm ile 900 nm arasında değişen GaAlAs ve görünen spektrum aralığının kırmızı kısmında bulunan ve dalga boyu 600 nm ile 680 nm arasında olan InGaAsP lazer kullanılır. Diyot lazerlerin güç çıkışları ölçüldüğünde 10-50 mW arasındadır. Ancak çıkış gücünün internal optik yolda ve iletim sisteminde belirli kayba uğrayacağı göz önünde bulundurulmalıdır (265).

Operasyon sırasında diyot lazer cihazının sıcaklığının artması da çıkış gücünü azaltır. Lazer cihazı içinde bulunan internal fototransistör yardımı ile istenilen ayarlar yapılarak lazerin sıcaklığının veya çıkış gücünün görüntülenmesi ve sabit güç üretimi sağlanır. Yeterli ısı emiciler ve soğutucu ile sıcaklığın potansiyel olumsuz etkilerinin önlenmesi mümkündür. Sadece DELT amacı ile kullanılan lazer cihazları lazer güvenlik kriterlerine göre Sınıf 3R olup, uygulama sırasında ortamda bulunan herkes tarafından lazer dalga boyuna uygun olan koruyucu gözlüğü kullanmalarını gerektirir.

Dozaj ve Hesaplaması:

DELT uygulamalarında en önemli unsurlardan biri de optimum dozun uygulanmasıdır. Optimum doz ayarlamasında esas alınan formüller şunlardır;

Verilen enerji (mJ) = Güç (mW) X Zaman (sn)

Doz (J/cm^2) = Verilen Enerji (J) / Uygulanan Alan (cm^2)

Örneğin; 100 mW'lık bir lazer 10 sn 0,5 cm^2'lik alana uygulanırsa;

100 mW x 10 sn = 1000 mJ = 1 J enerji elde edilir. Doz ise 1 J/ 0.5 cm^2 = 2 J/cm^2 olarak hesaplanır.

Lazer enerjisinin dokulara aktarılmasında dokunun türü ve kalınlığı göz önünde bulundurulmalıdır. Mukoza ve yağ dokusunun iletkenliği fazla iken; kas dokularından, lazeri fazla emen pigment ve hemoglobinden zengin dokulardan daha az geçer (272).

Açık yaralar dışında kontak konumda uygulanması önerilir. Non-kontak konumda uygulandığında lazer ucu ile ilgili bölge arasındaki uzaklık 2-4 mm olmalıdır (265).

Dokulara göre tavsiye edilen bazı dozlar; gingival dokular için 2-3 j/cm^2 haftada iki veya üç kez, kas dokusu için 4-6 j/cm^2 haftada iki veya üç kez, TME için haftada bir veya iki kez 6-10 j/cm^2 ve dişin doğruca üzerine veya apeks bölgesinde kemik üzerine 2-4 j/cm^2 uygulanır (248).

2.2.13.1. DELT'NİN ETKİ MEKANİZMASI

Bu mekanizma görünür kırmızı ve infrarede yakın dalga boyundaki ışıkların hücre içindeki fotoreseptörler (özellikle mitokondri membranındaki elektron taşıma zincirindekiler) tarafından emilimi gerçeğine dayanır (135). Işığın hücrenin solunum zinciri bileşenleri tarafından absorbsiyonu, solunum zincirinin ve indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) havuzu oksidasyonunun kısa süreli aktivasyonuna neden olur ve hücre aktivasyonunda artışa yol açar. Oksidatif fosforilasyonun uyarılması, hücre sitoplazmasının ve mitokondrisinin redoks düzeyinde değişikliğine neden olur. Elektron taşıma zinciri ATP desteğinin artması hücreye daha fazla destekleyici güç sağlar. Bu durum mitokondri membranının elektrik potansiyelinin ve sitoplazmanın alkalizasyonunun artması ile nükleik asit sentezinin aktivasyonunda rol oynar. Düşük enerjili lazer tedavisi vazodilatasyona ve sonucunda artan lokal kan akımına yol açar. Bu sayede bölgeye daha fazla oksijen taşınmasına ve immün hücrelerin doku içine daha fazla geçişine neden olur. Ayrıca endotelyumdaki düz kaslarda gevşemeyi ve rahatlamayı sağlar. Bu iki etki sayesinde hızlanmış doku iyileşmesi meydana gelir (265). DELT'nin, hücresel düzeyde spesifik etkileri Tablo 2-3'da gösterilmiştir.

Fibroblast	**proliferasyon, maturasyon, hareket kabiliyetinde artış, miyofibroblastlara dönüşüm, PGE_2 ve IL-1 salınımında azalma, bFGF sekresyonunun azalması**
Makrofaj	**fagositoz, fibroblast büyüme faktörü salınımı, fibrin rezorpsiyonu**
Lenfosit	**aktivasyon, artmış proliferasyon**

Epitel hücreleri	**Motilite**
Endotel	**artmış granülasyon dokusu,vasküler düz kas rahatlaması**
Sinir dokusu	**azalmış inflamatuar medyatör sentezi, maturasyon ve rejenerasyon, aksonal büyüme**

Tablo 2-3: DELT'in hücre düzeyinde spesifik etkileri

DELT, mast hücreleri üzerine etki göstererek vazoaktif etkiyi arttırır. Farklı ışık türlerinin mast hücreleri üzerine etkileri ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır (263). El Sayed ve ark. 660 nm, 820 nm ve 940 nm dalga boyundaki diyot lazerlerin mast hücrelerinin degranülasyonuna neden olduğunu rapor etmiştir(86). Pereira ve ark. yaptıkları deneysel araştırmada cerrahi işlemi izleyerek DELT uygulamasının polimorfonükleer hücrelerin ve mast hücrelerinin artışına yol açtığını bildirmiştir(202).

Mast hücreleri, daha çok ciltte, oral mukozada ve pulpada mikrovasküler endotelde dağılmıştır. Mast hücrelerinin granüllerinde pro-inflamatuar sitokin tümör nekrozitan faktör-α bulunur. Degranülasyon ile sitokinlerin salınımı, endotelyal-lökosit adezyon moleküllerinin ekspresyonunu arttırarak dokuların lökosit infiltrasyonunu indükler(261).

Bazı mast hücrelerinin proteazı, bazal membranı değiştirir ve lökositlerin doku içerisine geçişini kolaylaştırır (262). Mast hücreleri lökosit trafiğinin kontrolünde çok önemli rol oynar. Mast hücrelerinin fonksiyonlarının DELT tarafından düzenlenmesi ağız boşluğundaki inflamasyon alanlarının tedavisinde önemlidir.

Laboratuar çalışmaları ile düşük doz lazer uygulamasının ciltteki, bukkal mukozadaki ve dişetindeki fibroblastlar üzerinde; proliferasyonda, maturasyonda, hareket kapasitesinde, miyofibroblastlara dönüşümde ve bazal

fibroblast büyüme faktörü salınımında artışa yol açarken pro-inflamatuar prostoglandin E2 salınımında azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir (265).

DELT'nin makrofajlar üzerindeki etkileri; artan fagositik etki ve bazal fibroblast büyüme faktörünün aşırı salınımı yönündedir. Makrofajlar, fibrini doku iyileşmesinin yıkım aşamasında rezorbe eder. Onarımla ilgili cevabının ilk evrelerinde (örn; travmadan 6 saat sonra) DELT, fagositik aktivitenin artması aşamasını hızlandırır. Dokuların iyileşmesi sırasında rezorpsiyonun hızlanması, proliferasyon aşamasının daha hızlı ve erken başlamasına zemin oluşturur.

DELT sayesinde lenfositler, epitel hücrelerinde daha hareketli olmaya başlar. Defekti örtmek üzere doku alanı boyunca göç ederken daha aktive olur ve daha çabuk prolifere olur. Bu sayede endotelyum granülasyon dokusunu daha hızlı oluşturur.

Erken epitelizasyon, artan fibroblastik reaksiyonlar, lökosit infiltrasyonu ve neo-vaskülarizasyon DELT ile ışınlanan tüm dokularda izlenir. Bu olayların birlikte etkisi doku onarımı için gerekli olan zamanı azaltırken, onarımdaki dokunun direncini arttırır (39).

Hücresel düzeyde doku iyileşmesinde, DELT'nin etkileri aşağıda sıralanan aşamalarda gerçekleşir;

İlk aşama, proinflamatuar ve inflamasyonun vazoaktif aşamasıdır. Bu aşama; kan damarlarının kesilmesi ile pıhtı oluşması, nötrofil ve makrofajların yara bölgesine infiltrasyonu sonucu trombosit yığınının birikmesi aşamasıdır. İnfiltre olan hücreler ve fibroblast hücreleri büyüme faktörü gibi biyolojik aktif ürünler meydana getirirler. DELT uygulaması ile fibroblast ve makrofajlardan artan fibroblast büyüme faktörü salınımı sağlanır.

İkinci aşama proliferasyon aşamasıdır. Bu dönemde, yeni kan damarlarının oluşmasıyla granülasyon dokusu meydana gelir. Yeni bağ dokusu

birikimi ile kombine olan anjiogenezis, doku matriksinin makrofajlar tarafından başarılı bir şekilde rezorpsiyonuna gereksinim duyar(87).

Son aşama remodelasyon olup, bu aşama aylar hatta yıllarca sürebilir. Bu aşamaya yönelik Karu ve ark. yapmış oldukları çalışmada, çeşitli dalga boylarındaki lazerleri fibroblast hücre kültürlerine uyguladıklarında, kırmızı ışığın fibroblastların DNA sentezini arttırdığını rapor etmişlerdir(135). Bu çalışmaya benzer bir çalışmada ise Walsh ve ark. (265) hücre kültüründe 630 nm, 670 nm ve 830 nm dalga boyundaki DELT'yi kemik hücrelerine ve fibroblastlara uygulamış, 830 nm dalga boyundaki lazerin kemik hücrelerinde fibroblastlardan daha fazla etkili olduğunu göstermişlerdir.

İn vitro ve in vivo çalışmalarda, doku iyileşmesi sırasında cilt fibroblast kültürlerinde kollajen gen ekspresyonunun arttığı, lazerle tedavi edilen bölgelerde belirgin kollajen artışı olduğu izlenmiştir (2). Aynı zamanda, ortamda kollajenin pepsinde daha az çözüldüğü saptanmıştır. Bu durum proteolitik yıkıma dokunun dayanıklılığı olarak yorumlanır. Tüm elde edilen biyomekanik ve biyokimyasal veriler, lazer biyostimülasyonunun, kollajen üretimini arttırarak bağ dokusu stabilitesini güçlendirdiği, dolayısıyla doku onarım sürecini hızlandırıp sağlamlaştırdığının kanıtıdır (214).

Sinir hücrelerine DELT uygulaması ile bu dokularda inflamatuar medyatör salınımında azalma, daha hızlı maturasyon, rejenerasyon ve aksonal büyüme izlenir (265). Yapılan klinik çalışmalarla, DELT'nin post-herpetik nevralji, dentinal hipersensitivite ve ortodontik diş hareketleri sonrası oluşan ağrıları azalttığı rapor edilmiştir (73,100,260).

2.2.13.2.DELT'NİN KLİNİK UYGULAMALARI VE ENDİKASYONLARI

Lazerin dokuda biyostimülasyon etkisi ile ilgili çalışmalar daha çok doku iyileşmesi ve ağrı üzerinde yoğunlaşmaktadır (52, 143). DELT'nin diş hekimliği

ve maksillofasiyal cerrahide doku iyileşmesini hızlandırmak üzere kullanıldığı alanlar (131,184,185,264);

• Oral yumuşak dokulardaki cerrahi alanlar,

• Diş çekim alanları,

• Dişeti insizyonları,

• Rekürrent aftöz stomatit lezyonları,

• Pulpotomi sonrası sekonder dentin oluşumunun desteklenmesi,

• Kemoterapiye bağlı oral ülserasyonlar,

• TME yaralanmaları,

• Hasar gören nöral dokuların rejenerasyonunun hızlandırılması,

• Postoperatif ağrının azaltılması,

• Kemik rejenerasyonu,

• Post-herpetik nevralji,

• Bifosfonata bağlı çene kemiği osteonekrozunda destekleyici tedavi,

• Orofasiyal bölgedeki ağrıların giderilmesi(19).

2.2.13.3. DELT'NİN KONTRENDİKASYONLARI

• Hamilelik,

• Malign lezyonlara yakın olan alanlar,

• Varriköz venler,

• Enfekte bölgeler,

• Çocuklarda kaynamamış fontanellalar, uygulamaya kontrendike durumlardır (19).

Tuner ve Hode yaptıkları literatür derlemesinde DELT'nin başarısız olduğu yayınları inceleyerek, hasta seçimi, lazer optik faktörlerinin seçimi ve standardizasyonunun hatalı olması halinde DELT'nin olumsuz sonuçlara yol açabileceğini rapor etmişlerdir(254). Bu faktörler;

- Hasta seçim faktörleri;

- Kullanılan ilaçlar ve uygulanan tedaviler gibi sonuca etki edebilecek faktörler,
- Anestezi kullanımı,
- Takip süresinin uzunluğu,
- Optimum tedavi zamanlaması,
- Hastalar üzerindeki plasebo etkinin miktarının belirlenmesi,
- Optik faktörler;
- Lazer kaynağı
- Dalga boyu
- Spot (nokta) büyüklüğü
- Lazerin gücü
- Lazerin enerjisi
- Çalışma konumu (sürekli veya atımlı konum)
- Tedavinin zamanlaması (tek veya tekrarlanan).

2.2.14. GÜVENLİ LAZER KULLANIMI VE ALINMASI GEREKEN ÖNLEMLER

Diş hekimliği uygulamalarında lazer çok kullanışlı olan ancak doğru kullanılmadığında da tehlikeli sonuçlara yol açabilen bir alettir. Birçok uygulamada belirgin avantajları olmasına rağmen olası komplikasyonlar göz önüne alınarak yarar/zarar hesabı yapılmalı ve lazer kullanımına buna göre karar verilmelidir(198,265).

Doğru lazer seçimi ve kullanımı için, cerrahın lazer cerrahisi konusunda daha önceden deneyiminin olması gerekir. Dolayısıyla cerrah hangi lazerin hangi durumlarda kullanılacağı, lazerin doku etkileri, güvenli kullanımı ve olası komplikasyonları konusunda mutlaka eğitim almalıdır. Günümüzde dünyadaki pek çok merkezde lazer cerrahisi öncesinde cerrahın lazer kullanımı ve güvenliği konusunda resmi bir eğitim alması şart koşulmaktadır(198,265).

Tıpta kullanılan lazerlerin çoğu insan gözünün göremeyeceği dalga boylarındadır. Karbondioksit, Nd: YAG, Holmiyum: YAG, Erbiyum: YAG, oftalmik diyot lazerler bir taraftan kızılötesinde; Excimer lazerler de diğer taraftan morötesinde ışık verirler. Görünen spektrumda sadece Argon, Dye, Kripton ve nispeten zararsız Helyum- Neon lazerler yer almaktadır. Lazerin görünmez oluşu ve dalga boyuyla bağlantılı olarak değişik yüzeylerden yansıyabilmesi tehlikesini daha da arttırmaktadır. Özellikle karbondioksit lazer düz fakat mat bazı yüzeylerden, görünen ışığın aynadan yansıdığı gibi yansımaktadır(198,265).

Lazer radyasyonu öncelikle gözleri ve deriyi tehlikeye atar. Retinanın hasarı genellikle onarılamaz, deri ise gözlerden daha az duyarlı olmak ile birlikte hasarlar genellikle yüksek enerjiler sonucu oluşur.

2.2.14.1. LAZERLERİN GÜVENLİK SINIFLAMASI

Bu sınıflandırma, gözlerin ve diğer dokuların lazer ışığına maruz kalması ile oluşabilecek olan tehlikeli durumlara göre lazer tiplerinin sınıflandırılmasıdır. En kötü durum lazere minimum uzaklıkta, uzun süre maruz kalmak ve koruyucu gözlük takmamış olmak şeklinde kabul edilmiştir. Lazer cihazları kullanımları esnasında oluşabilecek tehlikeleri belirten sınıf etiketiyle etiketlenmelidir. Ayrıca standart güvenlik önlemlerinde sınıflamaya göre özelleştirilmiş olan güvenlik gereksinimleri sağlanmalıdır.

Farklı lazer sınıfları, uluslararası lazer güvenlik standardı IEC 60825-1 ve Avrupa standardı EN 60825-1 tarafından tanımlanmıştır. Altı gruptan oluşan lazer sınıflaması 2003 yılında Avrupa standartları doğrultusunda yenilenmiştir. Müsaade edilen maksimum ekspoz değerlerine göre yapılan bu yeni sınıflama 7 gruptan oluşmaktadır (204).

SINIF I: Bu lazerler çok tehlikeli ışık çıkarmazlar. Çürük tespit eden lazerler ve CD çalarlarda bulunan lazerler bu gruba girer. Çıplak gözle bakmak göze zarar

vermez fakat optik gözlük kullanılıyorsa yansıma göz önünde bulundurulmalıdır. Bu lazerlerin maksimum gücü 40μW(mavi ışık) ve 400μW(kırmızı ışık) tır.

SINIF I M: "M" büyüteçli aletleri tarif etmek için kullanılan bir kısaltmadır. Bu sınıftaki lazerler çıplak göz için herhangi bir tehlike oluşturmazken, büyüteç özelliği olan herhangi bir aletle bakıldığında göze zarar verme potansiyelleri bulunmaktadır.

SINIF II: Güçleri 1 mW' ın altında olan ve ışığı gözle görülen lazerler (He-Ne). Doğrudan içlerine bakılmadıkça bu lazerler tehlike teşkil etmezler. Gözün kırpma refleksinin bu lazerlere karşı yeterli bir savunma mekanizması olduğu varsayılır. Lazer pointer örnek olarak gösterilebilir.

SINIF II M: 1M grubu lazerler gibi optik cihazlarla bakılmadığı sürece güvenli sistemler olarak sınıflandırılır.

SINIF III: Bu sınıftaki lazerlerin kullanımı sırasında gözler ve cilt tehlike altındadır. Hasarın kısa süreli ekspoz sonrası dahi oluşabildiği bilinmektedir. Kullanımları sırasında kullanıcı, yardımcı personel ve hasta direkt ya da indirekt yansımalardan korunmalıdır.

SINIF IIIR: Bu gruptaki lazerler kısa sürelerle maruz kalınması halinde dahi hasar oluşturabileceklerinden ötürü koruyucu gözlük kullanımı gereklidir. Düşük çıkış gücüne sahip bazı düşük doz tedavi cihazlarını içerir.

SINIF IV: Bu sınıftaki lazer sistemlerinin güçleri 0,5 W'tan yüksektir. Tüm yüksek güçlü, cerrahi ve diğer kesici lazerleri içermektedir. Çıkış gücünün daha yüksek sınırı yoktur. Diş hekimliğinde kullanılan tüm cerrahi lazerler ve oral ve maksillofasiyal cerrahi işlemlerde kullanılan lazerler bu sınıftadır. Sınıf III lazerlerin güvenlik önlemlerinden daha fazlası yapılmalıdır. Yangın oluşma tehlikesi mevcuttur. Bu grup lazerler tehlike açısından en riskli olandır. Direkt

gelen ışığın, yansıyan ve saçılan ışığın korunmasız personele ve hedef dokuya zarar verme olasılığı yüksektir(164,198,265).

2.2.14.2. LAZER KULLANIMININ RİSKLERİ

Lazer ışınına bağlı riskler

Hedef olmayan dokuların lazer ışınına maruz kalması sonucu görülen etkilerdir.

Optik riskler

Genel olarak diş hekimliğinde kullanılan lazerlerin 2 tip dalga boyu gözde hasara sebep olur. 400-1400 nm arasında dalga boyuna sahip olan lazer ışını gözün ön tarafındaki transparan dokuları geçerek retinaya zarar verir. 2.780-10.600 nm dalga boyundaki daha uzun ışınlar ise korneaya zarar verir. Hasarların iyileşme sürecine bakıldığında retina hasarları daha ciddidir. Görünür dalga boyundaki ışınlar selektif olarak kırmızı veya yeşil konların yok olmasına sebep olabilir. Bu durum renk körlüğüne sebep olabilir. Retina hasarları, retina ağrı reseptörü içermediğinden başlangıçta fark edilmeyebilirler. Uzun dalga boyuna sahip ışınlar gözün önündeki yapılarla ilişkide bulunacağından görmede bozukluğa, skarlaşmaya ve fonksiyon kaybına sebep olabilir(198).

Dermal riskler

Lazerin cilt üzerine iyonize etkisi sebebiyle prekanseröz olabilecek hasarlar meydana gelebilir.

Lazer ışınına bağlı olmayan riskler

Bu etkiler, lazerin hareketli parçalarının oluşturabileceği fiziksel hasarlar, elektrik şoku ve donanım gereçlerinden (basınçlı hava ve su) kaynaklanabilecek durumlardır. Yangın riskine karşı anestezik gazlar ve kimyasallar lazerin yanında bulundurulmamalıdır. Ayrıca lazer ile kesilen

doku parçaları hekim, hasta ve yardımcı personel için tehlike oluşturmaktadır. Sıçrayan doku parçalarından korunmak için Uygun ağ yapısına sahip koruyucu maskelerin ve yüksek emiş hızında aspiratörün kullanılması gerekmektedir(198).

Lazerle çıkarılan dokular

Çürük dokunun uzaklaştırılması gibi nonkalsifiye dokularda uygulanan işlemlerde ve tüm yumuşak doku işlemlerinde kompleks bir kimyasal karışım açığa çıkmaktadır. Bu karışım su buharını, hidrokarbon gazları, karbonmonoksit ve dioksit gazları ve tanecikli organik materyali (bakteri ve viral ajanlar) içermektedir. Bu artıkların inhalasyonu ciddi olabilir ve solunum güçlüklerine, mide bulantısına ve bakteri inokulasyonuna sebep olabilir(198).

2.2.14.3.LAZER GÜVENLİK ÖLÇÜTLERİ

– Tedavi lazerlerinin kullanıldığı odanın kapısı kapalı tutulmalı ve üzerine uyarıcı levha asılmalıdır. ABD' deki uygulama tüm yüksek güçlü lazerlerin elektronik kumanda sisteminin odanın kapısının durumunu kontrol etmesi ve kapı açıldığı anda lazeri kesmesi yönündedir. Bunu sağlamak amacıyla lazer ünitesinin bir yerinde 'interlock' adı verilen iki telli bir çıkış vardır. Bu tellerin, kapı kapalıyken devre tamamlanacak şekilde bağlanması gerekir. Lazerin kullanıldığı odada ayna veya başka yansıtıcı yüzey bulunmamalıdır. Patlayıcı gazların olduğu yerlerde lazer ışını uygulanmamalıdır. Genel anestezi uygulanacaksa; her zamanki PVC entübasyon tüpü yerine kırmızı kauçuk ve /veya metalik olarak kaplanmış tüp kullanılmalıdır. Odaya girmeye yetkili olan hastane personeli, kendileri ve hasta açısından temel lazer emniyeti konusunda bilgilendirilmelidir(198,263).

– Lazer kullanımında zorunlu tedbir lazer emniyet gözlüğüdür. Lazer kullanılmakta olan odada hasta ve doktor dahil herkesin gözlerinin korunması zorunludur. Lazer emniyet gözlüğü veya mikroskop/ endoskop koruyucu

filtresi seçimi yapılırken ilk olarak camın kullanılmakta olan lazerin dalga boyunu filtre edici özelliklerde olup olmadığı incelenir. Bunu takiben gözlüğün veya filtrenin lazerin gücüne göre yeterli optik yoğunlukta olması kontrol edilir. Camın optik yoğunluğunun mümkün olduğu kadar yüksek seçilmemesinin sebebi aşırı derecede yoğun olan filtrenin diğer dalga boylarını da bir miktar etkilemesi ve görüntüyü bozmasıdır. Gözlükle bile olsa bir lazerin doğrudan içine bakmak son derece tehlikelidir. Gözle görülmeyen lazer ışınları için uygun emniyet gözlükleri ve filtreleri genellikle renksizdir ve sürekli kullanılmaları mümkündür. Kornea yüzeyinde oluşan göz yaralanmaları lazer ışını göze direkt etki ederse meydana gelebilir(164,198,265).

–Farklı lazerler farklı emniyet gözlüklerini gerektirir. Karbondioksit lazerden korunma normal periodontal girişimlerde kullanılan gözlükler gibi şeffaf emniyet gözlükleri ile sağlanabilir. Hasta için de aynı gözlükler kullanılabileceği gibi, ilave önlem olarak ıslak gaz tamponlar gözlerin üzerine direkt olarak konulabilir. Nd:Yag lazerden korunmada, hem hekim hem de yardımcı personel için yeşil emniyet gözlüğü gerekmektedir. Önemle vurgulamak gerekir ki; bunlar birbiriyle değiştirilebilir değildir. Şeffaf güvenlik gözlüğü Nd:Yag lazerde kullanılamayacağı gibi karbondioksit lazer uygulanırken de yeşil emniyet gözlüğü kullanılmaz(164,198, 265).

– Sınıf IIIR ve sınıf IV lazer kullanımında cihaz mutlaka lazer kullanım danışmanı ve lazer güvenlik görevlileri tarafından kontrol edilmelidir. Kullanım danışmanı genellikle tıbbi fizik uzmanıdır. Lazerden korunmak için gerekli olan cihazların tedarikinden sorumludur. Güvenlik görevlisi ise lazer uygulamasının güvenli şekilde yapılmasından sorumludur(198,265).

– Lazerle operasyon yapılan bölümün fiziksel bariyerleri olması gereklidir. Bir veya iki kapısı olmalıdır. Girişlerden yetkisi olmayan kişilerin

girmesi rahatlıkla engellenir. Lazer tedavisi sırasında sadece hekimin, hastanın ve asistanın kontrol edilen bölgeye alınması gereklidir.

– Tüm lazerlerde cihaza dahil olan güvenlik ekipmanları bulunmaktadır. Bunlar;

- Acil 'dur' düğmesi
- Kazara çalıştırmayı engellemek için üzeri kapalı ayak pedalı
- Işın yayılma parametrelerini doğru gösteren kontrol paneli
- Işının yayılmasını belirten görsel veya işitsel işaretler
- Cihazın iç kısmına yetkili olmayanların erişimini engelleyen kilitli ünit paneli(198).

2.3. KEMİK

2.3.1. KEMİK DOKUSUNUN GENEL ÖZELİKLERİ:

İskelet sisteminin ana maddesi olan kemik dokusu, özelleşmiş bir bağ dokusudur. Hücreler ve içinde gömülü halde lifler taşıyan hücreler arası dokudan (ekstrasellüler matriks) oluşur. Bu ekstrasellüler matriks kalsifiye olduğu için de diğer bağ dokulardan farklıdır.

Kemik, vücudun iskelet yapısını oluşturarak dokulara destek olan, yüzeyine tutunan kaslarla birlikte vücudun hareketliliğini sağlayan, beyin, omurilik ve iç organları koruyan, vücuttaki başlıca kan yapıcı doku olan kemik iliğini barındıran ve vücuttaki birçok süreç için gerekli olan kalsiyum, fosfor, sodyum, magnezyumu depolayan sert bir dokudur(127,241). Kemik dokusu kendini yapısal olarak yenileyebilen, şeklini, hacmini ve içeriğini dıştan gelen mekanik uyaranlar doğrultusunda yönlendirebilen ve yaşam süresince istemli fiziksel aktivitelere direnç ve destek sağlayan bir yapıya sahiptir. Ayrıca mineral depolama özelliği sayesinde hücre dışı sıvı dengesinin korunmasında rol oynayan bir yapıya sahiptir(238).

2.3.2. KEMİK DOKUSUNUN KİMYASAL YAPISI:

Kemik %65 oranında inorganik matriks(mineral), % 35 oranında organik matriks (osteoid madde), hücreler ve su içeren bir yapıdır (121,150,241,275).

2.3.2.1. İnorganik yapı:

İnorganik matriks kemik kuru ağırlığının %65'ini oluşturur. İnorganik matriksin kimyasal bileşimi büyük oranda saf olmayan hidroksiapatitten ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) oluşur. Apatit kristalleri plak biçiminde, 20-80 nm uzunluğunda, 2-5 nm kalınlığında küçük kristallerdir. Vücuttaki kalsiyumun (Ca^{+2}) %99'u, magnezyumun (Mg^{+2}) çoğu, sodyumun (Na^{+2}) dörtte biri, potasyumun (K^{+}) az miktarı kemik içinde bulunur. Kemiğin mineral kısmı ayrıca sitrat, hidroksil ve florür gibi anyonları da kapsar. Yaşlanma ile birlikte kalsiyum ve karbonat oranı artar, fosfat ve magnezyum oranı azalır(40,238,241)

2.3.2.2. Organik yapı:

Kemiğin yapısal, biyokimyasal ve mekanik özelliklerini belirleyen kemik organik matriksi, kollajen ve kollajen lifler arasında bulunan esas maddeden oluşur. Kemik organik matriksinin yaklaşık %90'ını Tip 1 kollajen, geriye kalanını kollajen dışındaki diğer matriks proteinleri, minör kollajen tipleri, lipidler ve diğer makroproteinler oluşturur. Büyüme faktörleri, sitokinler, matriks proteinlerinden osteokalsin, osteonektin, osteopontin, kemik proteoglikanları, fosfoproteinler ve proteolipitler kemik hacmine küçük, biyolojik fonksiyonuna ise büyük katkılarda bulunan diğer kemik bileşenleridir(40,99,241).

Kollajen ekstrasellüler matriksin temel proteini olup dokuların deformasyona direnç göstererek şeklini korumasını sağlayan fibröz bir proteindir. İnsan vücudundaki total proteinin % 30' unu vücut ağırlığının % 6' sını oluşturan kollajen, yer aldığı dokuya göre yapısal ve fonksiyonel benzerlikler gösteren değişik formlarda bulunmaktadır. Diş ve kemiklerdeki

kollajen lifleri arasına yerleşmiş olan hidroksiapatitler bu dokuların sertliğini verir.

Kollajen lifleri, tropokollajen birimlerinden oluşur. Tropokollajenin ön maddesi olan prokollajenin 1000 aminoasit uzunluğundaki polipeptid zincirleri, bağ dokusu ribozomlarında ayrı ayrı sentezlenerek, granüllü endoplazmik retikuluma salınırlar. Pro-α1 ve pro-α2 denilen bu zincirlerde, aminoasit bileşimleri kollajene özgü olmayan, büyük C- ve N- terminal uzantı peptidleri bulunur. Terminal propeptidlerde olgun kollajende bulunmayan zincirler arası di-sülfit bağları yer almaktadır. Disülfit bağları, üç pro-α zincirinin üçüz helezon şeklinde tutulmasını sağlar.

Prokollajen zincirleri endoplazmik retikulumda çeşitli enzimler yardımıyla hidroksillenir. Bu işlem için askorbik asit, demir,α-ketoglutarat ve oksijen gereklidir.

Prokollajen polipeptidlerin üçlü sarmal oluşturabilmesi için her bir pro α zincirinde en az 100 prolil kalıntısının ve N- ve C- terminal propeptidlerinin bulunması gereklidir.

Üçlü sarmal yapı oluşumundan sonra prokollajen düz endoplazmik retikulum ve golgi kompleksinden geçerek ekzositozla hücre dışına salınır. Hücre dışına verildikten sonra fibriller prokollajen moleküllerinin N- ve C-terminal propeptidleri spesifik proteolitik enzimler tarafından uzaklaştırılır. Propeptidlerin uzaklaştırılmasıyla oluşan tropokollajen molekülleri özgün dizilişini alarak fibrilleri meydana getirir. Bu aşamada olgunlaşmamış olan fibriller, çapraz bağlarla sağlanan gerilme gücüne henüz sahip değildir. Daha sonra bazı reaksiyonlarla kovalent çapraz bağ oluşumu tamamlanır. Bu olay tüm hayat boyu devam eder ve biriken çapraz bağlar, kollajeni daha kırılgan yapar ve kemikler daha kolay kırılabilir(128).

2.3.3. KEMİĞİN BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLERİ

Kemiğin biyokimyasal belirteçleri osteoblast ve osteoklastlar tarafından salgılanan ürünlerin serum ve idrarda taranması esasına dayanır.

Kemik yapım belirteçleri osteokalsin, prokollajen tip 1 propeptidleri (Pıcp, Pınp) ve alkalen fosfatazdır. Bunlardan kemik spesifik alkalen fosfataz osteoblastlarca yapılıp matriks veziküllerinde biriktirilen bir izoenzimdir(98).

Kemik formasyonu sırasında osteoblastlarca sentezlenen osteokalsin kemik matriksine yerleştirilen bir peptittir. Osteokalsinin küçük bir kısmı ise matriks yerine seruma geçer. Yapılan çalışmalar kemik turnover mekanizmasının arttığı hiperparatiroidi, kronik böbrek yetmezliği, metastatik karsinoma gibi durumlarda osteokalsinin arttığını, kemik turnoverının azaldığı steroid tedavisi, büyüme hormonu eksikliği, hipotiroidi gibi durumlarda da osteokalsinin azaldığını göstermektedir(98,111,194).

Kemik yıkım belirteçleri osteoklast aktivasyonunun son ürünü olarak kan dolaşımına salınırlar. Bunlar idrar hidroksiprolini, hidroksilizin glikozidleri, piriinolin ve deoksipiridinolin, tip 1 kollajen C- terminal çapraz bağlı telopeptiditip 1 kollajen N-terminal çapraz bağlı telopeptidi ve serum tartarata dirençli asit fosfataz (TRAP)'dır(98,111,123,194).

2.3.4. KEMİK HÜCRELERİ:

Kemiğin hücresel komponenti; osteoprogenitör hücreler, osteoblastlar, osteoklastlar, osteositler ve kemik iliğinin hematopoetik elemanlarından oluşur(49).

2.3.4.1. OSTEOPROGENİTÖR HÜCRELER:

Osteoblastlar, osteoprogenitör hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşmasıyla meydana gelmektedirler. Bu progenitör hücreler, kemik iliği stroma hücreleri veya multi potansiyel stroma hücreleri olarak da bilinen mezenkimal kök hücrelerden oluşurlar. Mezenkimal kök hücreler, osteojenik

uyarı ile doğrudan osteoblastlara farklılaşabilirler. Spongioz kemik iliğinde yüksek oranlarda mezenkimal kök hücre varlığı tespit edilmiştir(150)

Rezorbe olmayan tüm kemik yüzeylerinde bulunurlar. Sekonder kemiğin dış yüzünü örten periostun derin tabakasında, internal meduller yüzeyleri örten endosteumda ayrıca Havers ve Volkman kanallarının örtüsünde ve büyüyen kemiklerin metafizindeki kıkırdak matriksin trabeküllerinde bulunurlar (49,238). Büyüme sırasında aktif olan bu hücreler, büyüme tamamlandığında, kemik internal reorganizasyonunda, kırık iyileşmesinde, yaralanma durumunda aktive olurlar (150,169).

2.3.4.2.OSTEOBLASTLAR:

Metabolik olarak aktif kemik oluşturan olgun hücrelerdir. Kemiğe güç ve dayanıklılığını kazandıran 'osteoid' adlı organik yapıyı salgılarlar. Kemiğin kalsifikasyonuna ve kısmen rezorpsiyonuna katılırlar ve kemiğin kalsiyum alımını düzenlerler(49,238).

Osteoblastlar büyük bir çekirdek, hücresel uzantılar, hücreler arası bağlantılar, sık endoplazmik retikulum, gelişmiş golgi apareyi ve içleri kollajenle dolu salgı kesecikleri içerirler. Mezenkimde veya temel ilik dokusunda yer alan kök hücrelerden oluşurlar.

Kemikleşme bölgelerinde ve gelişmekte olan kemiklerin periostunun kemiğe temas eden derin bölgelerinde bulunurlar. Etkin hallerinde kübik şekilli olan osteoblastlar, kemikte birbirlerine çok yakın dizilerek 15-30 μm kalınlığında bir tabaka oluştururlar. Kemikteki özel proteinler olan osteokalsin ve kemik sialoproteinlerinin salgılanmasının yanında, yüksek alkalen fosfataz aktivitesi, kollajen salgılanması ve kollajen yapıda olmayan proteinlerin sentezlenmesi, mekanik ve kimyasal uyaranlara karşı yanıt geliştirilmesi osteoblastların tipik özellikleridir. Paratiroid hormonu, prostaglandinler, D vitamini metabolizmasının yan ürünleri, adrenal ve gonadal steroidler, sitokinler ve lenfokinler gibi moleküllere özel reseptörler içerirler(121,241).

Osteoblastların aktif yaşam ömrü 1-10 haftadır. Bazı osteoblastlar salgıladıkları osteoid içerisinde gömülü kalırlar. Yeni aktif kemik oluşumu durduğunda osteoblastların aktiviteleri önce yavaşlar, sonra durur ve sonunda oluşan lakünalar içinde hapsolarak osteosit haline geçerler(127). Bazıları ise periosteal ve endosteal yüzeylerde astar hücreleri olarak kalırlar(49,150,238).

2.3.4.3.OSTEOKLASTLAR:

Kemik iliğindeki monosit ya da monosit benzeri hücrelerden kaynaklanan, çok çekirdekli (50 çekirdek) büyük fagositik hücrelerdir. Normalde erişkinlerde kemik yüzeyinin yüzde birinden daha az bir bölümünde aktivite gösterirler(107).

Osteoklastlar, kalsitonin ve osteoklast uyarıcı faktör için reseptörler taşırlar. Bu hücreler, çıplak kemik yüzeyine yapışarak salgıladıkları hidrolitik enzimlerle kemiğin organik yapısını, organik matriksini ve kalsifiye kıkırdağı eriten 'kesici koniler' adlı grupları oluşturarak fonksiyon görürler. Bu işlem sonucunda kemik yüzeyinde 'Howship lakünaları' adı verilen sığ, eroziv çukurlar oluşur(49).

Osteoklastlar aktif ya da inaktif durumda olabilirler. Aktif olarak rezorpsiyon gerçekleşen kemikteki osteoklastlarda yapısal olarak dört ayrı bölge izlenir.

Bazal bölge, Howship lakünasına yerleşmiş, hücrenin en uzak bölgesidir. Çok sayıda organeller, çekirdekler, golgi kompleksi, sentriyoller içerir. Mitokondriyonlar, granüllü endoplazmatik retikulum ve polizomlar hücrenin her tarafına dağılmışlardır. Daha çok fırçamsı kenara yakın dururlar.

Fırçamsı kenar, rezorbe edilen kemikle doğrudan komşu olan kısmıdır. Bu kenar, rezorbe edilen bölgeye parmaksı uzantılarla aktif şekilde tutunur. Bu bölgeye subosteoklastik bölüm de denir. Burada lizozomlar bulunur.

Saydam bölge, fırçamsı kenarın hemen çevresindeki lateral bölgedir. Organel yoktur. Aktin mikroflamentlerinden zengindir. Saydam görülür. Hücre, kemik matriksine bu bölgeden tutunur.

Veziküler bölge, bazal bölge ile fırçamsı kenar arasındaki bölümdür. Çok sayıda endostatik ve ekzostatik veziküller içerir(173).

Kemiğin hangi bölgesinin rezorbe olacağını belirleyen sinyal mekanizması netlik kazanmamakla beraber, kemik yüzeyini döşeyen hücrelerin bu sinyaller aracılığı ile osteoklastlarla temasa geçerek, osteoid tabakanın çözülmesini sağladığı düşünülmektedir. Osteoklastlar osteoblastlarla birlikte kemiğin mekanik etkenlere bağlı olarak şekillenmesinde rol oynarlar(121).

Osteoklastların etkinlikleri bifosfonatların, kalsitonin ve östrojen hormonlarının etkileriyle azalır, paratiroid, tiroksin hormonları ve D vitamini ile artar(92).

2.3.4.4. OSTEOSİTLER:

Kalsiyum tuzlarının birikmesiyle sertleşen kemik matriksi içerisinde hapsolmuş osteoblastlara osteosit denir. Şekil olarak içinde hapsoldukları lakün adı verilen boşluklara uyan osteositler sitoplazmik uzantılara sahiptirler ve kanalikuli adı verilen küçük kanalcıklar sayesinde diğer osteositlerle ve kan damarlarıyla ilişkidedirler. Bu durum, kemiğin kalsifiye olmuş matriksi içerisinde gömülü kalmış olan bu hücrelerin kan yoluyla gelen hormonlarla nasıl uyarılabildiğini ve bunlara hücrelerin nasıl yanıt verdiğini açıklamaktadır(49,238). Bu hücreler hücre dışı kalsiyum ve fosfor seviyelerinin kontrolüne katkıda bulundukları gibi; hücreler arası etkileşim sayesinde lokal uyarılara yanıt olarak gelişen yeniden şekillenme olayında da rol oynarlar(49).

Yaşlanmayla östrojen hormonunun azalmasıyla ve glukokortikoid yapıda hormonların artmasıyla osteositlerin sayısı azalır. Osteositlerin yaşam ömrü birkaç yıldır. Osteoblastlar gibi osteositler de hücre bölünme yeteneklerini kaybetmiş hücrelerdir(107).

2.3.5. KEMİK DOKUSU TİPLERİ:

Mikroskopik olarak yapılan incelemeler sonucu iki farklı tip kemik bulunduğu ortaya çıkmıştır; primer, olgunlaşmamış (woven) kemik ve sekonder, olgun (lameller) kemik(121,241).

2.3.5.1. PRİMER KEMİK DOKUSU

Primer kemik, kan damarlarının yakınındaki osteoprogenitör hücreler tarafından prenatal gelişme, büyüme ve kemik iyileşmesi sırasında üretilir. Ayrıca embriyonik iskeleti de bu tip kemik dokusu oluşturur. Geçici bir kemik yapısı olup yetişkinlerde, kafadaki yassı kemik eklemleri, diş alveolleri ve tendonların kemiğe tutunduğu bölgeler gibi birkaç yer dışında yerini üç yaşından sonra lameller kemiğe bırakır. Oldukça hızlı oluşur. Hücrece zengindir ve yeni şekillenmiş düzensiz kollajen fibriller içerir. Bu lifler çevre dokulardan kemiğe penetre olur. Woven kemik oldukça az mineral içerir dolayısıyla da mekanik direnci azdır. Lameller kemiğe oranla daha kısa ömürlüdür. Lamel içermez fakat sekonder kemik dokusundan daha fazla osteosit içerir(127,150,241,275).

2.3.5.2. SEKONDER KEMİK DOKUSU

Gelişim süresince primer kemiğin yerini, 3-7 mikrometre kalınlığındaki lamellerden oluşan sekonder kemik alır. Sekonder kemik dokusu iki farklı tipte görülür. Bunlardan biri hemen hemen homojen olup mikroskop büyütmelerinde ancak bazı enine ve boyuna kanal kesitleri gösteren sıkı kompakt kemik dokusu, diğeri ise birbirleriyle anastomozlaşarak üç boyutlu bir ağ yapan kemik trabeküllerinden oluşmuş olan süngerimsi ya da kansellöz kemik dokusudur(150,241,275).

Kompakt kemiğin makroskobik olarak homojen ve sert yapıda olduğu, mikroskobik olarak kan damarları taşıyan kanallar sisteminden oluştuğu gözlenmektedir. Organizmada tüm kemiklerin dış yüzleri kompakt kemikten yapılmıştır.

Kompakt kemik dokusunda iki tip kanal bulunur;

Havers kanalları: Kompakt kemiğin uzun eksenini dik kesen, belli aralıklarla yerleşmiş kanallardır. Enine alınan kesitlerde mikroskopik olarak yuvarlak biçimli oldukları görülmektedir.

Volkmann kanalları: Komşu Havers kanallarını birbirine bağlayan yan kanallardır. Kesitlerde, Havers kanalları arasında boyuna uzandıkları görülür. Kemiklerin yüzeylerindeki besleyici deliklerden giren kan damarları Volkmann kanallarından geçerek Havers kanallarına girerler. Böylelikle kan damarları kompakt kemiğin tümüne dağıldıktan sonra içteki kemik iliği boşluklarına geçerler. Kemik dokusunun matriksi ve hücreleri bu damarlardan çıkan besin maddelerinin difüzyonu ile beslenirler. Kanallardaki damarlar ince, gevşek bir bağ dokusuyla sarılıdır. Bunun içinde sinir lifleri ve lenf sıvısı bulunur.

Kemik lamelleri üç ayrı şekilde yerleşim göstermektedirler.

Havers lamelleri: Havers kanallarının çevresinde iç içe yerleşmiş halkalar şeklinde lamellerdir. Ortadaki Havers kanalı ile bunu çevreleyen özel lameller bir sistem olarak kabul edilirler ve bu sistem Havers lameller sistemi ya da osteon olarak adlandırılır. Kompakt kemikteki dokunun çoğunu osteonlar oluşturur.

Ara lameller: Osteonların arasında kalan alanları dolduran lamellerdir. Ara lamel grupları düzensiz şekillerde uzantı göstermektedirler.

İç ve dış dairesel lameller: Kompakt kemiklerin iç ve dış yüzeylerinde üst üste dairesel şekilde bulunan lamellerdir. İç lameller, kemik iliği boşluğuna bakan lamellerdir. Dış lameller ise periosteumun altında bulunan lamellerdir, sayıca iç lamellerden fazladır(40,150,183,275).

Spongioz kemik, kemik trabeküllerinin birbirleriyle anastomoz yaparak oluşturduğu süngerimsi bir yapıdır. Trabeküller arasında birbirleriyle bağlantılı irili ufaklı boşluklar ve bu boşluklar içinde kemik iliği vardır. Spongioz kemikte osteon bulunmaz. Vücut kemiklerinin hacimsel olarak %20 sini oluşturur. Kısa

ve uzun kemiklerin metafiz ve epifizlerinin iç kısımlarıyla, yassı kemiklerin iç yüzleri süngerimsi kemikten oluşmuştur. Mekanik etkilere karşı dirençsizdir, kolaylıkla kırılır (36,121,150,238,269).

2.3.6. KEMİK DOKUSUNUN MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Kemikler makroskopik olarak uzun ve yassı kemikler olarak ikiye ayrılırlar. Uzun ve yassı kemikler dışarıdan farklı gibi görünseler de iç yapıları birbirine benzerdir.

Tipik bir erişkin kemiği, diafiz adı verilen ve merkezi konumlanan uzun bir silindirin iki ucunda yer alan daha geniş ve oval şekilli epifiz olarak isimlendirilen bölümlerden oluşur. Diafizin her iki ucunun sonuna doğru kalınlaşarak epifizle birleşen kısımlara ise metafiz adı verilir(121).

Epifizler ince bir kompakt kemik tabakasıyla kaplanmış süngerimsi kemikten oluşmuştur. Diafizin ise hemen hemen tümü kompakt kemikten oluşur ve kemik iliği boşluğuna bakan yüzeylerinde çok az süngerimsi kemik vardır. Süngerimsi kemikle uzun kemiklerin diafizlerindeki kemik boşlukları iki tür kemik iliği ile doldurulmuştur. Bunlardan biri, kan hücrelerinin oluşturduğu kırmızı kemik iliği, diğeri ise çoğunluğu yağ hücrelerinden oluşan sarı kemik iliğidir(107).

Farklı kemiklerdeki kortikal ve kansellöz kemik oranı çeşitlilik gösterir. Ayrıca kortikal ve kansellöz kemikler gelişim, yapı, fonksiyon, kemik iliğine yakınlık, damarlanma, turnover süreleri yaşa bağlı değişiklik miktarları ve travmaya karşı dayanıklılık açısından da birbirlerinden farklılık gösterirler(127,241).

2.3.7. KEMİK ZARLARI

Kemiğin iç ve dış yüzeyleri, periost ve endosteum diye adlandırılan, tabakalar halinde, kemik yapan hücreler ve bağ dokusu ile örtülüdür (127).

Periost; kortikal kemik ile onu çevreleyen yumuşak dokular ya da kaslar arasındaki bağlantıyı sağlar. Periost kalınlığı heryerde aynı değildir. Eklem yüzeylerinde, tendon bağlantılarında ve sesamoid kemikte periost bulunmaz. Buna karşılık, femur boyunda, distal radiusta ve vertebra gibi kırılma riski yüksek yerlerde bulunur (127,241,275). Periost histolojik olarak iki farklı tabakadan oluşur. Ayrıca enzimler ile belirlenebilen beş farklı işlevsel bölgeye ayrılır. Anatomik olarak, dışta yer alan fibröz tabaka fibroblastlardan, kollajenden, elastin liflerden oluşur ve belirgin sinir ağıyla çok sayıda kılcal damar içerir. Daha içte yer alan ve kemik yüzeyi ile doğrudan temas eden kambiyum tabakası ise hücresel bakımdan zengin olup, erişkin mezenkimal ön hücreleri, farklılaşmamış osteojenik ön hücreler, osteoblastlar, fibroblastlar, kılcal damarlar ve sempatik sinirler içerir. Sempatik sinirlerin yoğunluğu, kemiğin endost tabakasına göre oldukça fazladır(127,241). Periosttaki fibroblastların sayısı ve fibröz tabakanın kalınlığı ile periostu döşeyen damarların sıklığı yaşlanma ile azalır. Damarsal içerik bakımından zengin olan periost dokusunda çok miktarda endotelyal perisit hücresi bulunur. Perisitler osteoblastlara farklılaşabilirler. Bu hücreler osteoprogenitor hücre kaynağı olarak periostal kemik oluşumuna katkıda bulunurlar. Perisitlerin kültür ortamında mineralize olarak alkalen fosfataz, osteokalsin, osteopontin ve kemik sialoproteini sentezlerini gerçekleştirebildikleri bildirilmiştir. Çocuklarda periostun osteojenik potansiyeli yüksektir (121,126).

Endosteum; kemik içindeki bütün boşlukları astarlar ve tek tabaka halinde yassılaşmış osteoprogenitor hücreler ile çok az miktardaki retiküler bağ dokusundan oluşur(127).

Periostun ve endosteumun kemik dokusunun beslenmesi ve devamlı olarak yeni osteoblast sağlayıp kemik büyümesi ve onarımı için önlem alması ana işlevleridir(127,241).

2.3.8. KEMİK OLUŞUMU (OSTEOGENEZ) VE EVRELERİ

Kemik iki yolla şekillenir; osteoblastların salgıladıkları matrikse doğrudan minerallerin çökmesi ile zar içinde kemikleşme (intramembranöz kemikleşme) veya önceden mevcut kıkırdak matriks üzerine tortulanarak kıkırdak içinde kemikleşme (endokondral kemikleşme)(72,127).

Her iki yolda da meydana çıkan ilk kemik, birincil veya örgü kemiktir. Birincil kemik geçici bir dokudur ve kısa sürede tam lameller veya ikincil kemikle yer değiştirir. Kemik büyümesi esnasında, birincil kemik alanları, rezorbsiyon alanları ve ikincil kemik sahaları yan yana görülürler. Bu kemik yapımı ve ortadan kaldırılış birleşimi, büyüyen kemiklerin yanı sıra yetişkininkilerde de hayat boyu meydana gelir ama yetişkinlerdeki değişim hızı epeyce yavaştır(72,127).

2.3.8.1. İNTRAMEMBRANÖZ KEMİKLEŞME:

İntramembranöz kemikleşmede mezenkim kökenli yoğun embriyonel bağ dokusu bir model oluşturarak yeni kemik oluşumuna yardımcı olur. Bu kemikleşme tipi çoğu yassı kemiğin oluşum mekanizmasıdır. Kafatasının frontal ve parietal kemiklerinin yanı sıra oksipital, temporal, mandibula ve maksilla kemiklerinin bazı kısımları intramembranöz kemikleşme ile oluşur. Bu mekanizmanın kısa kemiklerin büyümesinde ve kemik kalınlaşmasında da katkısı vardır(127). Embriyoda bu kemiklerin oluşacağı yerde ilk kemikleşme merkezleri, mezenkim dokusundan ve membran taslaklarının ortasından başlayarak çevreye doğru genişler. İntramembranöz terimi kemiğin mezenkim veya bağ dokusundan membranlar içinde meydana gelmesini anlatmaktadır.

Kemik dokusuna dönüşecek olan mezenkim bölgesinde ilk olarak kan damarlarında artış görülür. Kapillerler birbirleriyle anastomozlaşarak sık kapiller ağlarını yaparlar. Daha sonra kapillerler etrafındaki mezenkim hücreleri osteoblastlara farklılaşırlar. Osteoblastlar, kollajen lifleri ve kemik

hücreleri arasındaki esas maddeyi salgılarlar. Bu şekilde meydana gelen henüz içinde kalsiyum bileşikleri çökmemiş dokuya osteoid doku denir. Osteoid madde mineralize olur. Mineralizasyon ilerledikçe lakünalar içinde hapsolan osteoblastlar osteositlere dönüşürler ve sitoplazmik uzantılarıyla birbirleriyle bağlantı kurarlar. Kemikleşme merkezlerinin yüzeyini örten hücreler mitoz bölünmeye uğrayarak daha fazla osteoblast meydana getirirler. Bu yeni osteoblastlar da kemik oluşumu sağlar. Olay bu şekilde devam ederek, osteoblastlar osteositlere dönüştükçe bunların yerini çoğalmaya devam eden mezenkim hücrelerinden farklılaşmış yeni osteoblastlar alır. Bu suretle kan damarları etrafında oluşan kemik trabekülleri giderek büyür. Bunlar başlangıçta yer yer izole trabeküller halindedir; büyüme devam ettikçe birbirleriyle anastomozlaşarak, kapiller ağları etrafından onlar gibi ağsı yapıdaki süngerimsi kemik dokusunu yaparlar. Bu sırada kemik trabekülleri arasında kavitelerin içini dolduran mezenkim dokusu primer kemik iliğini yapar.

Süngerimsi kemik yeterli büyüklüğe ulaşınca, mezenkim membranın periferik kısmı süngerimsi kemiği dıştan sararak periostu oluşturur. Periostun derin katlarındaki genç bağ dokusu hücreleri kemik etrafına dizilir ve osteoblastları yaparlar. Bunlar da osteoid maddeyi salgılayıp osteositlere dönüşürler. Sonunda süngerimsi kemik etrafında periost tarafından tabaka tabaka birbiri üzerine yığılmış kompakt kemik kabuğu oluşmuş olur(47,121,241).

2.3.8.2. ENDOKONDRAL KEMİKLEŞME:

Bu tür kemikleşme klavikula dışında kalan uzun kemiklerin, kalça kemiklerinin, omurganın ve kafa tabanının kemikleşme mekanizmasıdır(121). Önce kemiğin mezenkim dokusundan hyalin kıkırdak yapıda küçük bir taslak oluşur. Daha sonra kıkırdak taslak aposizyonel büyüme yoluyla daha uzun bir şekil alır. Perikondriyumla sarılı olan diyafiz ve epifizler oluşur. Kıkırdak

modelin ortasında yer alan kondrositler büyüyerek onları çevreleyen kıkırdağı rezorbe ederler ve geride trabeküllü bir kıkırdak matriks kalır. Daha sonra bu kıkırdak matriks kalsifiye olur. Periost kıkırdak taslağın yüzeyinde ince bir tabaka yeni kemik dokusu oluşturur. Kıkırdak taslakta ilkel mezenkim dokusu ve kan damarları çoğalır. Bu mezenkim dokusu daha sonra osteoblastlara ve kemik iliği hücrelerine farklılaşır. Osteoblastlar ağsı kemiği oluşturmaya başlar(238,241,275).

Bu olaylar sonucunda ilk kıkırdak taslağın uç kısımları orta kısımdan primer kemikleşme merkezi denilen geniş bir alanla ayrılır. Ancak kıkırdağın her iki ucu büyümeye devam eder. Orta kısmın uç bölümlerindeki kıkırdak kemikleşmeye başlar. Bu aşamada gelişmekte olan kemik uzun bir diyafiz ve bunun her iki ucunda yarım ay şeklinde halen kıkırdak dokudan meydana gelen epifizlerden oluşur. Diyafiz ile her iki epifiz arasında yer alan bölgelere büyüme plağı ya da epifiz plağı adı verilir. Bunların içinde kıkırdak doku çoğalmaya devam ederek kemiğin boyunun uzamasını sağlar. Genel iskelet sisteminin olgunlaşmasıyla beraber hormonal etkenler daha fazla kıkırdak oluşumunu engelleyerek büyüme plaklarının kemikleşmesini ve diafiz ile epifizlerin birleşmesini sağlar(18,241,275).

Fonksiyonel streslerin etkisiyle, kalsifiye kıkırdak dokusu ve bunu çevreleyen düzensiz ağsı kemik yeniden şekillenerek kemik kompakt yapıda bir dış tabaka ve ortasında boşluk bulunan kansellöz yapıda bir iç tabakadan oluşur. Yaşlanma ile birlikte orta kısım rezorbe olarak kemik iliği ile dolu geniş bir boşluk haline gelir (238,241,275).

2.3.9. KEMİK BÜYÜMESİ VE YENİDEN ŞEKİLLENME

Kemiklerin büyümesi genetik ve fiziksel etkenlerle yakından ilgilidir. Kemiğin enine büyümesi, genişlemesi yüzeyindeki periost tabakasından oluşan osteoblastlar sayesinde gerçekleşir. Kemiklerin boylarının uzaması ise kıkırdak

taslağın yeni kemik dokusuyla düzenli olarak yer değiştirdiği endokondral kemikleşme sayesinde olur(241).

Kemik büyümesi genel olarak önceden meydana getirilmiş dokunun eritilerek yıkılması ve eş zamanlı olarak yeni kemiğin döşenmesi ile ilişkilidir. Bu yöntem kemik büyürken şeklinin korunmasına olanak sağlar. Yeniden kemik şekillenmesi (kemik döngüsü) oranı çocuklarda, yetişkinlerde görülenin 200 katı daha hızlı olabilir. Yetişkinlerdeki yeniden şekillenme, iskeletin birçok yerinde eş zamanlı olarak gerçekleşen devingen fizyolojik bir süreçtir, kemik büyümesi ile benzerliği yoktur(127).

2.3.9.1. ŞEKİLLENME (MODELLİNG)

Şekillenme, kemiklerin ve eklemlerin şeklini, hacmini, anatomisini ve büyümesini kontrol eden mekanizmadır. Şekillenme süreci genel olarak, rezorpsiyon ve yeni kemik oluşumu (apozisyon) mekanizmaları sayesinde kemik yüzeylerine daha fazla kemik dokusu eklenmesi ya da varolan kemik dokusunun azalması şeklinde tanımlanabilir. Büyüme sırasında yeni kemik oluşumu miktarı rezorbe olandan daha fazladır.

2.3.9.2. YENİDEN ŞEKİLLENME (REMODELLİNG)

Kemiğin yeniden şekillenmesi ile biyomekanik ve metabolik olarak çevre şartlarında varlığını sürdürebilen kemik elde edilir. Süngerimsi kemiğin ya da yaşla kalitesi azalan kemiğin önce rezorbe olması daha sonra ilgili bölgede lameller yapıda yeni kemik oluşmasına (remodelling) yeniden şekillenme adı verilir. Yaşam boyunca devam eden yeniden şekillenme ile kemiğin yenilenmesi, kalsiyum metabolizmasının düzenlenmesi, kemikte meydana gelen zararların onarımı sağlanmış olur(36,121,123).

2.3.10. KEMİK İYİLEŞMESİ

Organizmada herhangi bir nedenle hasar gören dokular belirli bir oranda kendilerini yenileyebilmektedir. Kemik dokusu bu onarım işini en iyi

yapan dokulardandır. Kemik defektlerinin ve kemik kırıklarının iyileşme süreci, bir dizi biyokimyasal, biyomekanik, hücresel ve hormonal komponentlerden oluşan kompleks bir mekanizmadır. Devamlı biçimde birbirini takip eden depozisyon, yeniden biçimlendirme ve rezorpsiyon olayları iyileşme sürecini oluştururlar. Kemikte yumuşak doku iyileşmesinde meydana gelen skar dokusu oluşmaz(36,117,122,130,241).

Kemik dokusunda oluşan hasarlar genel olarak iki şekilde iyileşir. Primer iyileşme olarak tanımlanan ilk tipte kırık parçalar birbirine temas eder. İntramembranöz kemik oluşumu ile kortikal tabakaların doğrudan yeniden şekillenmesi gerçekleşir. Bu şekilde gerçekleşen iyileşme kırık bölgesinde kesin hareketsizlik gerektirdiğinden diğer tipe göre daha az rastlanır. Klinik uygulamalarda kırık bölgesinin dekompresyon plakları, miniplaklar v.b. gibi çeşitli mekanizmalarla tespitinin sağlandığı durumlarda primer kırık iyileşmesi elde edilir. Sekonder iyileşmede ise endokondral kemik oluşumu görülür. Değişik özelliklere sahip hücre topluluklarının çoğalarak, farklılaşarak ve matriks oluşturarak birlikte işlev görmelerini gerektirir(123,138,238).

Histolojik olarak iyileşme sürecindeki evreler birbirinden zaman olarak kesin sınırlarla ayrılamaz ve her evre daima kendinden bir önceki veya bir sonraki evre içinde bulunur. Histolojik görünüme göre yapılan sınıflamalarda küçük farklılıklar hariç, genel olarak aynı bulgular kabul edilip benzer sıralamalar yapılmıştır.

Buna göre kemik iyileşme süreci üç evrede gerçekleşir(130,241)

a. Enflamasyon evresi (Hematom, 1-4 gün)

b. Onarım evresi (Reparasyon, 2-40 gün)

c. Yeniden şekillenme evresi (Remodeling, 25-100 gün)

Enflamasyon evresi

Bir kemik kırığı, matrikste hasara, hücrelerde ölüme, periost ve endosteumda yırtıklara ve kemik uçlarında yer değişimine neden olur. Tüm

doku travmalarında olduğu gibi, kırıklarda da ilk verilen yanıt enflamasyondur (36, 117).Travmanın şiddetine bağlı olarak, kırık uçları komşuluğundaki periost ve çevre yumuşak dokular perfore olarak, vasküler ağlar travmatize olur. Kırık uçlarını karşılıklı çaprazlayan kan ve lenf damarlarının yaralanmasıyla bu uçlar arasındaki kemik iliğinde ve etrafında kan ve lenf sıvısı toplanır. Bu sıvı birikerek periostu kaldırır. Kanamanın durmasını ve pıhtılaşmayı sağlamak için trombosit ve trombotik faktörlerin toplanmasıyla bazı moleküller yara bölgesine salınır. Kanamanın pıhtılaşması ile kırık uçları arasında, periost altında ve periost yırtılmışsa bunun etrafında hematom oluşur(269).

Hematom, sağlam yumuşak dokular tarafından sarılır. Hematomun kemik iyileşmesinde önemli bir rolü vardır. Hematomun basıncı, kırık uçlarının bir arada tutulmasına yardım eder ve onarım hücrelerinin migrasyonunu kolaylaştıracak fibrinden bir yapı iskeleti sağlar. Ayrıca hematom ortamındaki trombositler ve hücrelerden, büyüme faktörü ve diğer proteinler salınır. Bu proteinler, kemik iyileşmesinde yeri olan hücre göçünde, periostal hücre çoğalmasında ve onarım dokusu matriksinin sentezinde aracıdırlar(269).

Kırık oluştuktan sonra, arterlerde vazokonstraksiyon, kılcal damar ve venlerde ise vazodilatasyon izlenir. Bunun nedeni, dokudaki mast hücrelerinin, kırık bölgesine histamin salgılamasıdır. Ayrıca kılcal damar zar geçirgenliği artar. Vazodilatasyon ve plazma eksudasyonuna bağlı olarak, kırık bölgesinde ilk 24 saat içinde ödem oluşur. Polimorf çekirdekli lökositler, monosit ve lenfositleri içeren akut enflamatuar hücreler, ödemli bölgeye doğru göç eder. Komşu Havers lamelleri arasında fazla anastomoz olmadığından, kırık hattının her iki tarafında belirli bir mesafeye kadar olan bölgede dolaşım durur. Sonuçta kırık uçlarında, kemik dokuda nekroz alanları oluşur. Kırık ve çevre dokudan prostoglandinlerin salınımı yanısıra nekrotik materyalin varlığı akut enflamasyonun başlatılmasında önemli rol alır. Kırık bölgesindeki hematom, 48 saat içinde organize olup fibrinden bir yapı oluşturur. Fibrinojen eklenen lizin,

fenilalanin, gamaglobin ve albuminle fibrine dönüşür. Polimorf çekirdekli lökositler ve makrofajların diyapedezi ile fibrin matriks oluşur(138,192,213,269).

Onarım evresi

Organize olan hematomu çevreleyen kılcal damarların genişlemesi ile hiperemik ve hızlı bölünen hücreler içeren granülasyon dokusu oluşur ve hematomun yerini alır. Bu evrede rol alan hücreler mezenkimal kaynaklı, çok yönlü gelişebilme özelliği olan hücrelerdir. Çoğunlukla kırık bölgesindeki granülasyon dokusunun içinden, ayrıca periostun osteojenik tabakası ve daha az olarak da endosteumdan köken alırlar.

Kırık bölgesinde mezenkimal hücre çoğalması ilk 16 saatte saptanmıştır. Bu çoğalma, kırık sonrası 32 saatte en üst düzeye çıkar. Tamir safhası, kırık oluşumundan sonraki ilk saatlerde başlasa da yapısal olarak tipik hale gelmesi 7-12 gün sürer.

Periost ve endostun osteojenik hücreleri ve fibrin matriksin içindeki fibroblastların granülasyon dokusu oluşumunda önemli rolleri vardır. Fibroblastlar kollajen sentezlerken, kondroblastlar kollajen ve glikozaminoglikanları, osteoblastlar ise osteoid maddeyi salgılarlar. Kallus adı verilen bu karmaşık yapı fibröz doku, kıkırdak ve olgunlaşmamış kemik dokusundan oluşur, damarlanması çoktur. Osteoblastlar, tropokollajen salgılayarak kollajen liflerin dizilimini düzenlerler. Bunların üzerine kalsiyum iyonları çökerek sert kallus oluşur. Kallusun etkisiz kısımlarının rezorpsiyonu ve trabeküler kemiğin stres çizgileri boyunca uzaması ile yeniden şekillenme evresi başlar. Yaralanma sonrasında kallusun oluşması ve mineralizasyonu 4-16 hafta arasında bir zaman gerektirir.

Yeniden şekillenme evresi

Kemiğin şekillenmesi en uzun evre olup, aylar hatta yıllar sürebilir. Onarım evresi sırasında oluşan, mekanik olarak kuvvetli ancak mikroskopik olarak düzensiz kallusun normal kemiğin lameller içeriğiyle değişmesi bu

evrede olur. Kalsifiye kıkırdak doku, osteoklastların rezorpsiyonu sonucu trabeküller kemik dokusuna dönüşür. Daha sonra lameller kemik oluşur ve kas kuvvetleri ile mekanik etkenlere paralel olarak dizilen osteonlar gelişir. Kemik iliğinin bulunduğu bölgedeki kallus dokusu osteoklastlar tarafından rezorbe edilir ve kemik dokusu olağan görünümünü kazanır. Bu evre normalde onarım evresinin ortalarında başlayıp, 4-16 hafta sürerken, yıllar boyunca da devam edebilir(241).

2.3.11. KEMİK METABOLİZMASINI ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Kemik yapımı, şekillenmesi, yeniden şekillenmesi ve tamiri gibi hücresel işlevlerin uyumlu bir şekilde yürütülebilmesi için çeşitli sistemik ve lokal düzenleyici faktörlere ihtiyaç vardır. Sistemik hormonlar, tüm vücut seviyesindeki değerler doğrultusunda etkili olurken, aynı zamanda da hedef hücrelerden lokal düzenleyici faktörlerin salınımını kontrol ederler. Lokal düzenleyici faktörler ise sınırlı alanlarda özellikli işlevlerin kontrolünü üstlenirler.

Kemik metabolizmasının düzenlenmesinde, sistemik hormonların önemli etkileri vardır. Kalsitropik hormonlardan kemik metabolizmasını en çok etkileyen üçü; paratiroid hormon, vitamin D ve kalsitonindir.

Paratiroid hormon (PTH), kemik ve böbrekler üzerinde etkili olarak, kanda ve ekstrasellüler sıvıda kalsiyum düzeyinin yüksek tutulmasını sağlar. Kemik üzerinde yeniden şekillenmeyi uyaran bir etkisi vardır. Bu hormon öncelikle osteoblast reseptörlerini etkileyerek, yeni kemik yapımının durdurulmasını ve osteoklast uyarıcı faktörün salgılanmasını sağlayarak, kemik matriksinin rezorbe olmasını ve kalsiyumun kemikten serbest kalmasını sağlar.

D vitamini bağırsaklarda ve böbreklerde kalsiyum bağlama özelliği olan hücreleri harekete geçirir ve aktif kalsiyum transferine yardımcı olur(138).

Kalsitonin, tiroid bezinden salgılanan ve plazma kalsiyum konsantrasyonunu düşüren peptid yapısında bir hormondur. Etkisi paratiroid hormonunun etkisinin zıttıdır. Ancak kalsiyum iyon konsantrasyonunun kontrolünden paratiroid hormona göre etkileri kantitatif olarak daha azdır(126).

Kemik metabolizması aynı zamanda trombositlerden, makrofajlardan ve fibroblastlardan salgılanan büyüme faktörleri adı verilen proteinlerden de etkilenir. Kemiğin iyileşme sürecinde damarlanmasını, sertliğini, mekanik olarak işlev görmesini sağlayan bu proteinler, kemik morfogenetik proteinleri(BMP), insülin benzeri büyüme faktörleri (IGF), dönüştürücü büyüme faktörleri (TGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörleri (PDGF) ve fibroblast kaynaklı büyüme faktörleri (FGF)'dir. Bu proteinler monosit ve fibroblast gibi mezenkim kökenli hücrelerin göç etmesini, çoğalmasını ve kemik hücrelerine farklılaşmasını düzenlerler(94,138).

2.3.11. ALVEOLER KEMİK

Alveoler kemik, çene kemiklerinin, diş soketlerini içeren ve dişleri destekleyen ünitesidir. Alveoler kemik, kretin bukkal ve lingual duvarlarını, interdental ve interradiküler septaları oluşturan kortikal kemikten ve bu tabakalar arasında yer alan trabeküllerden oluşur. Alveoler kemik, çok sayıda damar ve sinir iletiminin sağlandığı kanal sistemiyle, periodontal ligament ile etkileşim halinde bulunmaktadır (49). Alveoler kemiğin kompozisyonu diğer kemiklerden farklı değildir, fetal gelişim esnasında intramembranoz ossifikasyon yolu ile oluşur.

Alveol soket duvarını oluşturan ve periodontal ligametle temasta olan kompakt kemikte çok sayıda Sharpey lifleri bulunur. Bu kemik demet kemiği olarak adlandırılır. Alveoler kemiğin spongioz kısmı; kemik iliği boşluklarını çevreleyen trabeküllerden oluşur. Kemik iliği boşluklarının duvarları, kemik hücresine dönüşme potansiyeli olan endosteal hücre tabakası ile kaplıdır. Spongioz kemik, ağırlıklı olarak interdental ve interradiküler bölgelerde

bulunur. Maksilla'da mandibula'ya göre spongioz kemik oranı daha yüksektir. Alveoler kemiğin konturu; diş köklerin şeklini takip eder. Yüksekliği ve kalınlığı; diş dizimi, köklerin açılanması ve okluzal kuvvetler gibi faktörlerden etkilenir. Bazı bölgelerde; kemik çok ince kalıp kaybolabilir, kökün bir kısmı açıkta kalabilir. Alveoler kemik, sert yapısına rağmen, periodontal dokular arasında en hassas ve değişken dokudur. Dişlerin erüpsiyonunu takiben, kemik yüksekliğinin lokal ve sistemik faktörler tarafından kontrol edilmesi sonucu, dişler ve destek dokular arasında dinamik bir ilişki söz konusudur (230) .

Alveoler kemik, üzerine gelen değişik mekanik güçlere adapte olabilmek için kuvvetin geldiği basınç bölgelerinde rezorpsiyon, gerilimin olduğu bölgelerde ise yeni kemik oluşumuyla fizyolojik remodelinge uğrar (49) .

Vücutta diğer kemiklerden farklı olarak, alveoler kemiğin yüksekliğini, konturunu ve yoğunluğunu etkileyen en önemli faktörler, dişlerin varlığı ve aktif fonksiyon görmeleridir. Diş çekimi; alveoler kemiğin vertikal ve horizontal boyutlarını etkiler ve %50'ye kadar azalmasına neden olabilir(49).

2.3.12. DİŞ ÇEKİMİ YARASININ İYİLEŞMESİ

Diş çekim yarasının iyileşmesi, özelleşmiş bir sekonder yara iyileşmesi örneğidir ve kırık iyileşmesine benzer aşamalar gösterir. Çekimi takiben açığa çıkan periodontal ligament damarlarında kanama oluşur, çekim soketi kanla dolar. Bu kanama aynı zamanda debrisin yara bölgesinden uzaklaşmasını sağlar. Çekimden sonraki ilk saatler çok önemlidir; alveol soketine kan dolması engellenirse yara iyileşmesi gecikir veya iyileşme olmayabilir(36,117).

Çekim sonucu ortaya çıkan doku hasarıyla orta derecede inflamatuar yanıt gelişir, soketteki kan damarları dilate olur. Çekim sonrası organize olan pıhtı, iyileşme sürecinde rol alan hücrelerin yara bölgesine ulaşabilecekleri bir çatı görevi üstlenir ve zamanla granülasyon dokusuyla yer değiştirir. 1. günde periferden pıhtıya doğru lökosit göçü olur. 3. günden itibaren pıhtı granülasyon

dokusu ile yer değiştirene dek çevre bağ dokusundan fibroblast ve kapillerler gelişmeye başlar. Alveolar proseste osteoklastik aktivite sonucu rezorpsiyon meydana gelir. 5. günde çekim soketinin etrafındaki yara kenarları kontrakte olarak, mukozal epitel, organize olan pıhtının yüzeyi üzerinde prolifere olur ve çekim boşluğunu örtmeye başlar. Yara bölgesinin mukoza ile primer olarak kapanması 3-4 haftalık bir süreci alacaktır. 7. günde fibroblastların organizasyonu yanında çekim esnasında zarar gören küçük alveol parçacıkları ya rezorbe olur ya da sekestr olarak atılır. 14. günde pıhtının yerini granülasyon dokusu alır. İyileşen alveolün çevresinde kalsifiye olmamış kemik dokusu oluşur. Alveolün orijinal şekli 14. günde oluşmaya başlar. 21. günde depozisyon sonucu soket osteoid dokuyla dolar, dördüncü haftada tamamen epitelize olur. Az miktarda kalsifiye olan kemik trabekülleri, radyografide izlenmeye başlanır. Alveoler soketteki kemik iyileşmesi yaklaşık 4-6 ay boyunca devam eder ve bu süreden sonra radyografik olarak, aynı bireydeki sağlıklı kemik dokusundan ayırt edilemez (36,74,117,275,269).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3. 1. GEREÇ

Çalışmamızda İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nden alınan 200±50 gr ağırlığında ve 10-12 haftalık 48 adet Sprague-Dawley türü dişi sıçan kullanıldı. Çalışmada aşağıdaki gereçler kullanıldı.

- Ketalar flakon (Parke Davis,Karlsruhe, Almanya)
- Rompun® flakon (ksilazin hidroklorür, Bayer Türk Kimya San. Ltd. Şti)
- Künt uçlu periost elevatörü, özel açılı pens
- 5 cc'lik enjektör
- Eppendorf tüpü 1.5 ml'lik
- Kan alma tüpü(Kırmızı kapaklı) 6ml'lik
- %10'luk formol çözeltisi
- Zometa IV 4 mg flakon (Novartis)
- Penicillin G Potasyum. 1.000.000 IU Kristalize toz içeren enjektabl flakon. (İ.E.Ulagay)
- Mikrolitre ve hematokrit santrifüj cihazı (Nüve, NF 048)
- Rat Bone Alkaline Phosphatase(BALP) ELISA Kit (Bio-Medical Assay Co.Ltd.China)
- Doris Diode Laser, CTL 1106 MX, Warsaw, Poland
- Rat C-telopeptide of type I collagen, CTX-1 ELİSA Kit (Cusabio Co. China)

3.1.1. Lazer cihazı

Çalışmamızda Doris firmasının CTL 1106 MX model 820 nm dalga boylu, gücü 10-50 mW arası değişebilen yarı iletken, sürekli atım modlu diyot lazerini kullandık**(Şekil 3-1).**



Şekil 3-1: Deneyde kullanılan diyot lazer cihazı

3.1.2. Subkütan enjeksiyon için Zometa'nın hazırlanması

Çalışamada kullanılacak zoledronik asit çözeltisi İ.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı laboratuarında hazırlanmıştır. Hazırlama işlemine başlamadan önce çalışmada kullanılacak flakon ve kauçuk tıpalara sterilizasyon işlemi uygulanmıştır. Flakonlar 160°C'de 1.5 saat havalı etüvde, kauçuk tıpalar ise 120°C'de 20 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

4 mg/5 ml'lik zoledronik asit çözeltisi (Zometa®) son konsantrasyonu 0,025 mg/ml olacak şekilde % 0,9 izotonik sodyum klorür çözeltisiyle seyreltilmiştir(**Şekil 3-2**). Sonrasında, hazırlanan çözelti 0,22 µm'lik por çapına sahip polieter sülfon yapısındaki steril membran filtreden (Millex®GP 0,22 µm

- Merck Millipore) süzülerek flakonlara dolumu yapılmıştır. Bu işlemler, sınıf II Tip B biyolojik güvenlik kabininde (Thermo Sciencetific MSC 1.2) yapılmıştır**(Şekil 3-3).**



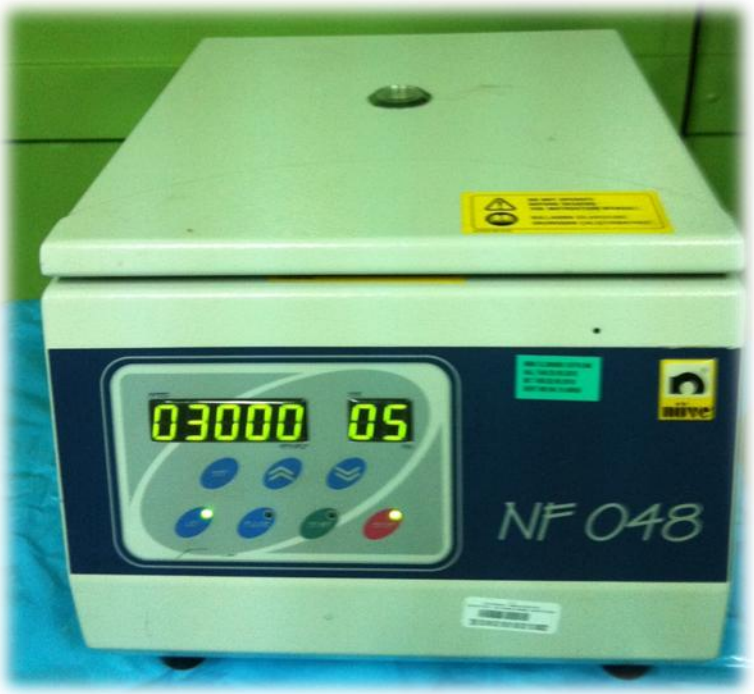
Şekil 3-2: Deneyde kullanılan zoledronik asit preperatı (ZOMETA)



Şekil 3-3: Seyreltilen zoledronik asit çözeltisinin steril membran filtreden geçirilerek steril flakonlara aktarılması

3.1.3. Biyokimyasal değerlendirme için örneklerin hazırlanması ve kit kullanımı

Tüm ratlardan diş çekimi öncesi ve sakrifikasyondan önce sabah saatlerinde 6 saat açlıktan sonra kan örnekleri alınmıştır. Alınan kan örnekleri oda sıcaklığında trombositlerin çökelmesi için 30 dakika boyunca bekletildikten sonra santrifüj cihazında 3000 devirde 5 dakika boyunca santrifüj edilmiştir **(Şekil 3-4).** Santrifüj sonucunda ayrışan serum, mikropipetler yardımıyla alınarak steril eppendorf tüplerine aktarılmıştır **(Şekil 3-5**). Daha sonra yapılacak biyokimyasal değerlendirme için -80 °C 'de saklanmıştır.



Şekil 3-4: Alınan kan örneklerinin serumun ayrıştırıldığı santrifüj cihazı



Şekil 3-5: Alınan kan örneklerinin santrifüj sonrası durumu

3.2. YÖNTEM

3.2.1.Deney hayvanları ve Grupları

Çalışmamızda deney hayvanlarında yapılan tüm işlemler ve sakrifikasyonlar İ. Ü. Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı Laboratuarında, kemik dokularının histopatolojik incelemeleri İ. Ü. Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Anabilim Dalı'nda biyokimyasal incelemeler İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

Bu proje kapsamındaki hayvan deneyleri için, İ. Ü. Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Etik Kurul onayı alınmıştır.

Deney hayvanları 21°C sıcaklıkta, bağıl nem oranı %40-60, ışık periyodu 12 saat aydınlık 12 saat karanlık standardını sağlayacak şekildeki ortamda, deney süreleri boyunca her metal kafes içerisinde 4 sıçan olacak şekilde

muhafaza edilmiş, İstanbul Yem Sanayi tarafından üretilen %21 oranında protein içeren standart sıçan yemi ve distile su ile beslenmişlerdir.

Araştırmamızda kullanılan deney hayvanları tedavi ve kontrol grupları dahil olmak üzere 3 ana grup ve 3. ve 5. haftadaki sakrifikasyon dönemlerine göre düzenlenmiş 6 alt gruba ayrılmıştır.

3.2.1.1. Ana gruplar ve alt grupları:

Grup 1 (Lazer ile tedavi grubu): Diş çekimi yapılıp sonrasında gün aşırı düşük doz lazer uygulanan bu grup 2 alt gruba ayrıldı.

a) 3. haftada sakrifiye edilecek alt grup (8 adet)
b) 5. haftada sakrifiye edilecek alt grup (8 adet)

Grup 2 (Antibiyotik ile tedavi grubu): Diş çekiminden sonra bir hafta boyunca antibiyotik tedavisi uygulanan bu grup 2 alt gruba ayrıldı.

a) 3. haftada sakrifiye edilecek alt grup (8 adet)
b) 5. haftada sakrifiye edilecek alt grup (8 adet)

Grup 3 (Kontrol grubu): Diş çekiminden sonra hiçbir tedavi uygulanmayan bu grup 2 alt gruba ayrıldı.

a) 3. haftada sakrifiye edilecek alt grup (8 adet)
b) 5. haftada sakrifiye edilecek alt grup(8 adet)

3.2.2. Deney prosedürü:

Çalışmada kullanılan tüm ratların arasından 8 tanesi seçilerek kuyruk veninden kan alındı. Bu örnek işlem yapılmamış ratlarda serum CTX-1 ve kemik spesifik ALP değerinin ölçümü için kullanıldı. Elde edilen ortalama değer işlem yapılmamış denek adı altında çalışma sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanıldı. Daha sonra kullanılan tüm ratlara diş çekiminden önceki 3 hafta boyunca her gün çözelti haline getirilmiş Zometa, uygulamadan önce kilo ölçümü yapılıp uygun miktar ayarlanarak subkütan

olarak verildi. İlacın osteonekroz oluşumuna sebep olan kemikteki birikim miktarı hesaplanarak, toplamda her bir rata 2.25 mg/kg Zometa uygulandı.

3 hafta sonunda deneklerde 70 mg/kg ketamin ve 13 mg/kg ksilazin'in intraperitonal uygulaması ile genel anestezi sağlandı. Anestezi sağlandıktan sonra standart postürde tespit edilen tüm deneklerden öncelikle serum CTX-1 seviyesi ölçümü için kuyruk veninden kan alındı. Kan alım işlemi prosedüre uygun olarak 6 saat açlıktan sonra sabah saatlerinde yapıldı. Eppendorf tüplerine alınan kanın santrifüj cihazında serumu ayrıştırıldı ve sonra kit ile çalışılmak üzere – 80 °C'de saklandı.

Kan alımı sonrasında deney hayvanı operasyon bölgesi dışarıda kalacak şekilde steril örtülerle kapatıldı**(Şekil 3-6).** Diş çekimi yapılacak olan sağ maksiller molar bölgedeki dişler küçük ekartör ve künt uçlu periost elevatörü yardımıyla dişeti eleve edilerek açığa çıkarıldı**(Şekil 3-7).** Ucu inceltilmiş, açılı özel pensler ile 3 adet molar diş çekimi yapıldı. Hemostaz steril tamponlarla sağlandı**(Şekil 3-8).**



Şekil 3-6: Opere edilecek ratın tesbiti ve operasyon bölgesinin dezenfeksiyonu



Şekil 3-7: Üst çenede diş çekiminin yapılacağı molar diş bölgesi



Şekil 3-8: Diş çekiminden sonra hemostaz sağlanması

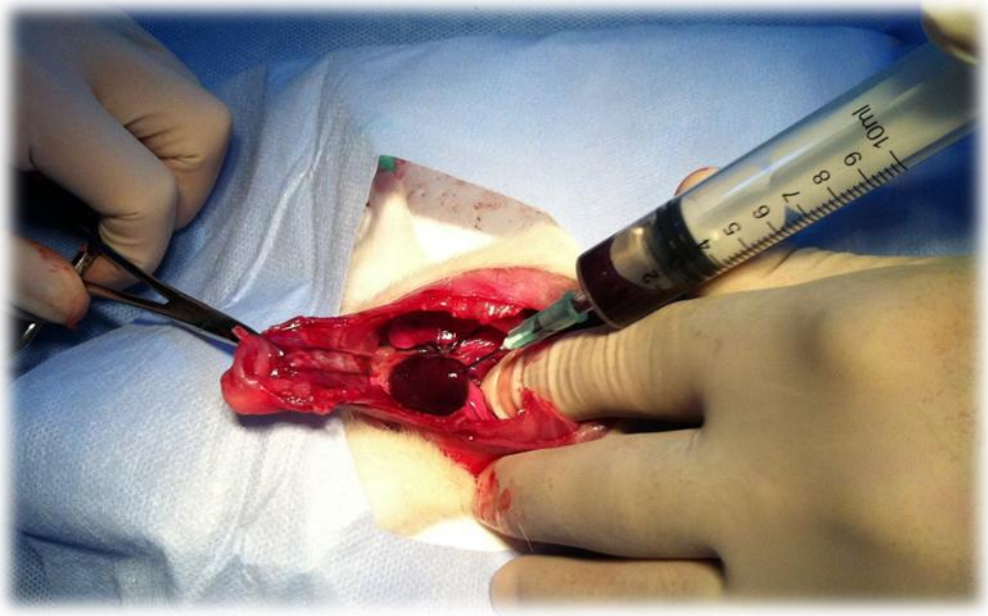
Grup 1: Bu gruptaki deneklere diş çekiminin yapıldığı günden başlanarak sakrifikasyon günleri olan 21. ve 35. günlere kadar gün aşırı düşük doz lazer uygulandı. Lazer uygulaması 45° açılı prob ile temaslı modda kullanılarak 50 mW çıkış gücünde 16 saniye boyunca toplamda seans başına 16J/cm^2 doz uygulanarak yapıldı. Lazer uygulamasında ilk doz diş çekimi yapıldıktan hemen sonra uygulandı. Standardizasyonun sağlanması açısından uygulama gün aşırı aynı saatlerde yapıldı. İlk gün, operasyon için yapılan anestezi altında lazer uygulaması yapıldı, takip eden günlerdeki uygulamalar eter inhalasyon anestezisi altında gerçekleştirildi**(Şekil 3-9).** Alt gruplar 3. ve 5. haftada sakrifiye edildi. Sakrifikasyon öncesi ratlardan biyokimyasal inceleme için intrakardiak yöntemle kan alındı.



Şekil 3-9: Çekim bölgesine düşük doz lazer uygulaması

Grup 2: Bu gruptaki deneklere diş çekiminin yapıldığı günden başlanarak 7 gün boyunca penisilin G 1000000 IU subkütan olarak 0,1 mg/kg dozda uygulandı. Alt gruplar 3. ve 5. haftada sakrifiye edildi. Sakrifikasyon öncesi ratlardan biyokimyasal inceleme için intrakardiak yöntemle kan alındı**(Şekil 3-10).**

Grup 3: Bu gruptaki deneklere hiçbir tedavi uygulanmadı. Alt gruplar 3. ve 5. haftada sakrifiye edildi. Sakrifikasyon öncesi ratlardan biyokimyasal inceleme için intrakardiak yöntemle kan alındı.



Şekil 3-10: İntrakardiak kan alımı

3.2.3. HİSTOPATOLOJİK PREPARATLARIN HAZIRLANMASI

Sakrifikasyondan sonra çıkartılan kafatası yumuşak dokulardan ve deriden temizlenerek % 10'luk tamponlanmış formaldehite alındı. Maksiller sağ taraftaki çekim bölgesini içeren kemik dokusu, formolde tespit olduktan sonra dekalsifikayon işlemi için sodyum sitrat (% 20) ve formik asit (% 50) içeren solüsyona alındı. Dekalsifikasyon ve rutin takip işleminden sonra örnekler parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan hazırlanan 4µ incelikteki kesitler Hematoksilen Eozin(H.E.) boyası ile boyandı ve ışık mikroskobunda incelendi. H.E. ile bakteri kolonizasyonu tespit edilen kesitlerde Periodic Acid Schiff(PAS) boyası kullanıldı.

3.2.3.1. Histopatolojik değerlendirme kriterleri:

Tüm kesitlerde çekim soketi alanlarındaki iltihap hücresi sayısı, osteoklast sayısı, osteoblast sayısı, epitelin defekti kapatma oranı ve damarlanma miktarı değerlendirilmiştir.

Bu bulgular osteoblast ve iltihap hücresi sayısı için;

- Bir büyük büyütme alanında hücre sayısı 10-35 arasında ise (skor 1)
  35-60 arasında ise (skor 2)
  60< ise (skor 3)

Damarlanma miktarı için;

- Bir büyük büyütme alanında damar sayısı 5-15 arasında ise (skor 1)
  15-30 arasında ise (skor 2)
  30< ise (skor 3)

Epitelin defekti kapatma oranı için;

- Defektin yarıdan az kısmını kapatıyorsa (skor 1)
- Defektin yarıdan fazla kısmını kapatıyorsa (skor 2)
- Defektin tamamını kapatıyorsa (skor 3) olarak değerlendirilmiştir.

Osteoklast sayısına defekt içindeki tüm osteoklastlar sayılarak ulaşılmıştır.

3.2.4. HİSTOMORFOMETRİK DEĞERLENDİRME:

Çalışmamızda yeni kemik, kollajen lif ve nekrotik kemik alanı yüzdeleri histomorfometrik değerlendirme ile incelendi. Bu amaçla "Olympus Soft imaging system analySIS FIVE" isimli görüntü analiz sistemi kullanıldı. Ratlardaki defekt alanlarının standart olmayışından dolayı her ratta total defekt alanı ölçüldü ve diğer ölçülen alanlar total alana bölünerek oran elde edildi. Sonuçlar yüzde (%) değeri ile ifade edildi.

3.2.5. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME:

Çalışmanın istatistiksel analizleri İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalı'nda Statistical Package for the Social Science (SPSS) paket programı kullanılarak yapıldı. Normal dağılımın görülmediği değişkenlerin kıyaslanmasında, ikili karşılaştırmalar için Mann-Whitney-U, ikiden çok grup karşılaştırılmasında Kruskall-Wallis testleri kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık değeri $p<0,05$ olarak alındı. Kruskall-Wallis sonucunda anlamlı çıkan değerler için gruplar arası 2'li karşılaştırmalarda bonferroni düzeltmesi yapılarak $p=0,05/6=0,008$ yeni p değerine göre kıyaslandı. Normal dağılan değişkenler için ise ANOWA testi kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. İSTATİSTİKSEL BULGULAR

4.1.1. Yeni kemik yapım alanlarının değerlendirilmesi

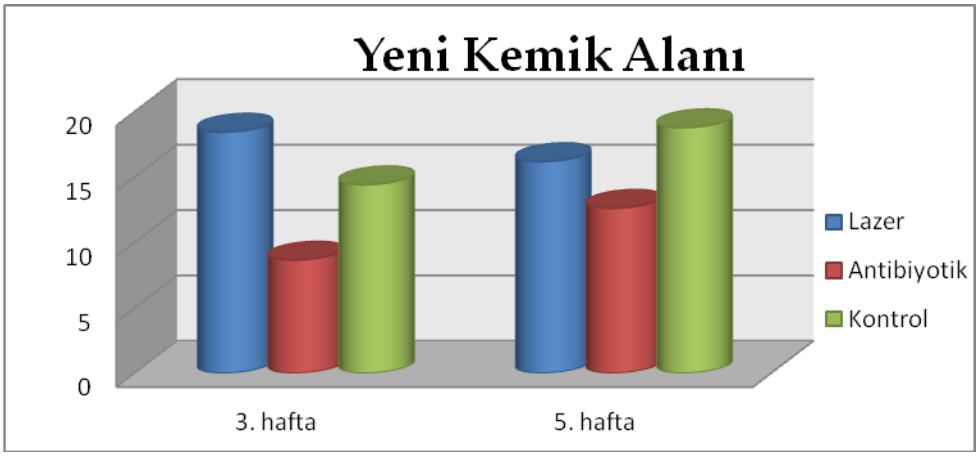
Yeni Kemik Alanı		3. hafta(%)	5. hafta(%)	[b]p
Lazer	Ortalama	19,13	17,86	
	Standart sapma	7,58	13,83	
	Medyan	18,43	16,18	
				0,6
Antibiyotik	Ortalama	8,86	12,38	
	Standart sapma	4,88	9,63	
	Medyan	8,65	12,61	
				0,462
Kontrol	Ortalama	14,66	15,58	
	Standart sapma	7,52	7,73	
	Medyan	14,41	18,77	
				0,462
[a]p, [c]p		[c]p= 0,022	[a]p= 0,388	

[a] *Kruskall Wallis test* [b] *Mann Whitney U test* [c] *ANOWA test*

Tablo: 4-1: Haftalara göre yeni kemik yapım alanlarının gruplar arasında karşılaştırılması

Yeni kemik alanının 3. haftadaki ortalama değeri lazer grubunda % 19,13±7,58, antibiyotik grubunda %8,86±4,88 ve kontrol grubunda %14,66±7,52 olduğu görüldü(Şekil 4-11, Şekil 4-12). Yeni kemik alanı 3. haftada lazer grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla bulundu **(p=0,022).** Yeni kemik alanının 5. haftadaki ortalama değeri lazer grubunda %16,18, antibiyotik grubunda %12,61 ve kontrol grubunda %18,77 bulundu. 5. haftada gruplar arasında yeni kemik alanı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p>0,05).

Deney grupları, kendi içinde haftalar arasında yeni kemik alanı bakımından kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı(p>0,05). Haftalara göre yeni kemik yapım alanlarının karşılaştırılması Tablo 4-1 ve Şekil 4-1'de görülmektedir.



Şekil 4-1: Yeni kemik yapımı alanlarının haftalara ve gruplara göre dağılımının grafik olarak karşılaştırılması

4.1.2. Osteoblast sayısının değerlendirilmesi

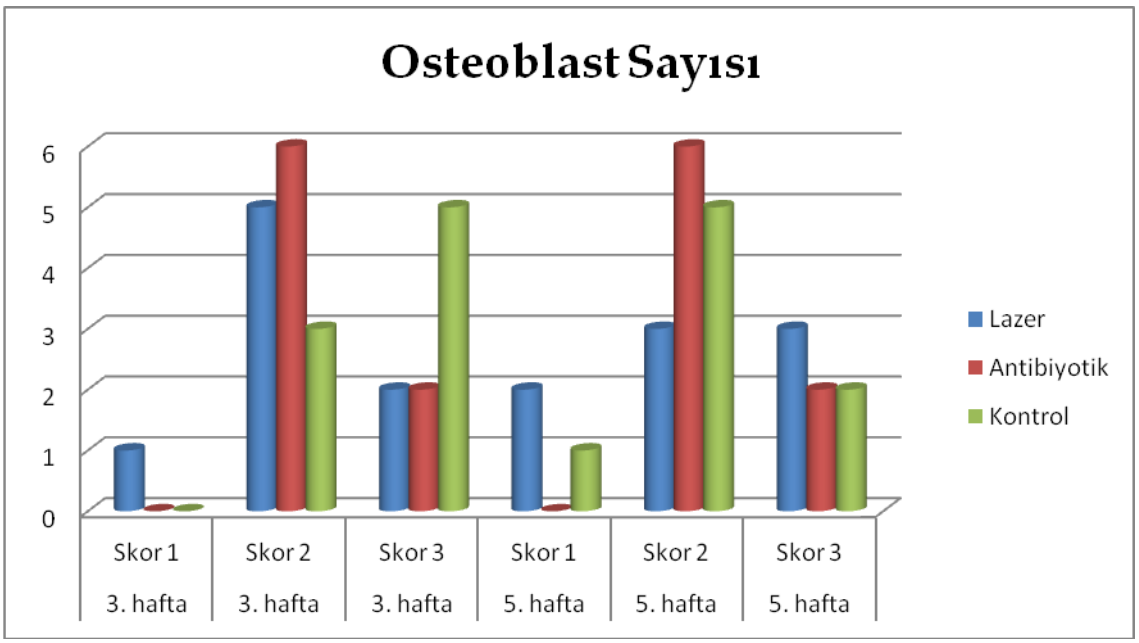
Osteoblast sayısı	Skor	3. hafta (n)	5. hafta (n)	[b] *p*
Lazer	**1**	1	2	
	2	5	3	
	3	2	3	
	Medyan	2	2	0,954
Antibiyotik	**1**	0	0	
	2	6	6	
	3	2	2	
	Medyan	2	2	1
Kontrol	**1**	0	1	
	2	3	5	
	3	5	2	
	Medyan	3	2	0,112
[a] *p*		0,188	0,938	

[a] *Kruskall Wallis test* [b] *Mann Whitney U test*

Tablo 4-2: Haftalara göre osteoblast sayısının gruplar arasında karşılaştırılması

Osteoblast sayısı medyan değeri 3. haftada lazer grubunda 2, antibiyotik grubunda 2, kontrol grubunda 3 bulunurken, 5. haftada lazer grubunda 2, antibiyotik grubunda 2, kontrol grubunda 2 bulundu. 3. ve 5. haftada osteoblast sayısı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı($p>0,05$)(Şekil 4-13).

Deney grupları kendi içinde haftalar arasında kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı($p>0,05$). Haftalara göre osteoblast sayısının karşılaştırılması Tablo 4-2 ve Şekil 4-2'de görülmektedir.



Şekil 4-2: Osteoblast sayısının gruplara ve haftalara göre dağılımının grafik olarak değerlendirilmesi

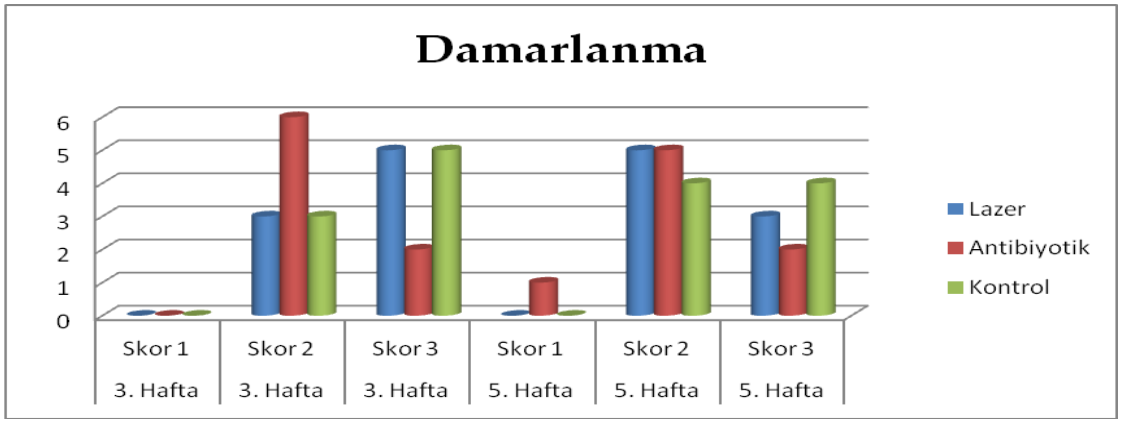
4.1.3. Damarlanma oranının değerlendirilmesi

Damarlanma oranı medyan değeri 3. haftada lazer grubunda 3, antibiyotik grubunda 2, kontrol grubunda 3 bulunurken, 5. haftada lazer grubunda 2, antibiyotik grubunda 2, kontrol grubunda 3 bulundu. Damarlanma oranı açısından 3. haftada ve 5. haftada gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı($p>0,05$)(Şekil 4-14).

Tüm gruplar kendi içinde haftalar arasında değerlendirildiğinde damarlanma değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p>0,05). Haftalara göre damarlanma oranının karşılaştırılması Tablo 4-3 ve Şekil 4-3'de görülmektedir.

Damarlanma	Skor	3. hafta (n)	5. hafta (n)	[b]p
Lazer	1	0	0	
	2	3	5	
	3	5	3	
	Medyan	3	2	0,333
Antibiyotik	1	0	1	
	2	6	5	
	3	2	2	
	Medyan	2	2	0,699
Kontrol	1	0	0	
	2	3	4	
	3	5	4	
	Medyan	3	3	0,626
[a]p		0,238	0,453	
[a] *Kruskall Wallis test*			[b] *Mann Whitney U test*	

Tablo 4-3: Haftalara göre damarlanma oranının gruplar arasında karşılaştırılması



Şekil 4-3: Damarlanma oranının gruplara ve haftalara göre dağılımının grafik olarak değerlendirilmesi

4.1.4. Kollajen lif alanlarının değerlendirilmesi

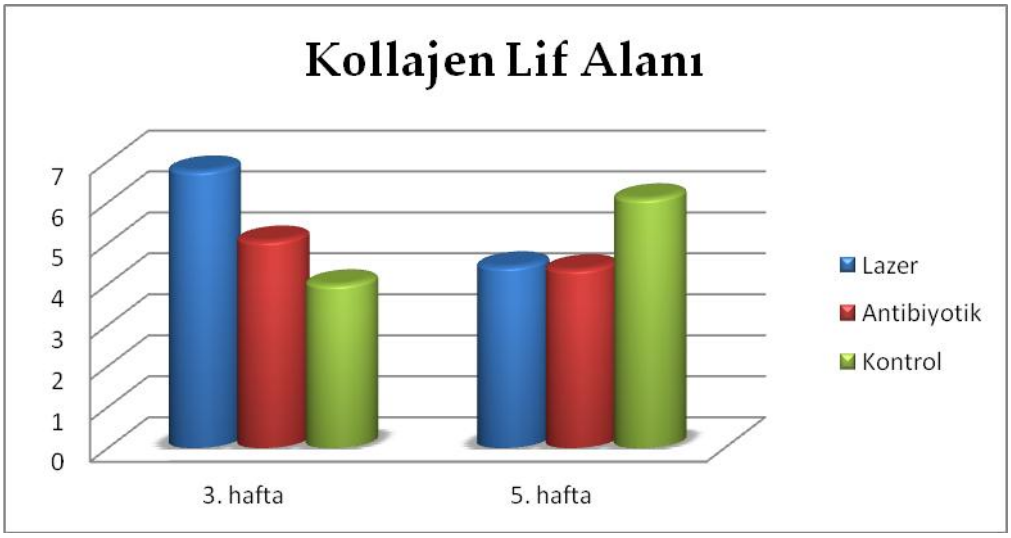
Kollajen Lif Alanı		3. hafta (%)	5. hafta(%)	^{b}p
Lazer	Ortalama	6,52	4,53	
	Standart sapma	2,22	1,52	
	Medyan	6,77	4,43	0,074
Antibiyotik	Ortalama	4,73	4,87	
	Standart sapma	1,52	2,53	
	Medyan	5,06	4,36	0,834
Kontrol	Ortalama	4,64	5,56	
	Standart sapma	2,46	1,00	
	Medyan	3,99	6,09	0,074
^{a}p		0,179	0,339	

[a] *Kruskall Wallis test* [b] *Mann Whitney U test*

Tablo 4-4: Haftalara göre kollajen lif alanlarının gruplar arasında karşılaştırılması

Kollajen lif alanı medyan değeri 3. haftada %6,77, antibiyotik grubunda %5,06, kontrol grubunda %3,99 bulunurken, 5. haftada lazer grubunda %4,43, antibiyotik grubunda %4,36, kontrol grubunda %6,09 bulundu. Kollajen lif alanı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi($p>0,05$)(Şekil 4-15).

Deney grupları kendi içinde haftalar arasında kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı($p>0,05$). Haftalara göre kollajen lif alanının karşılaştırılması Tablo 4-4 ve Şekil 4-4'de görülmektedir.



Şekil 4-4: Kollajen lif alanının gruplara ve haftalara göre dağılımının grafik olarak değerlendirilmesi

4.1.5. Epitelin yüzeyi kapatma oranının değerlendirilmesi

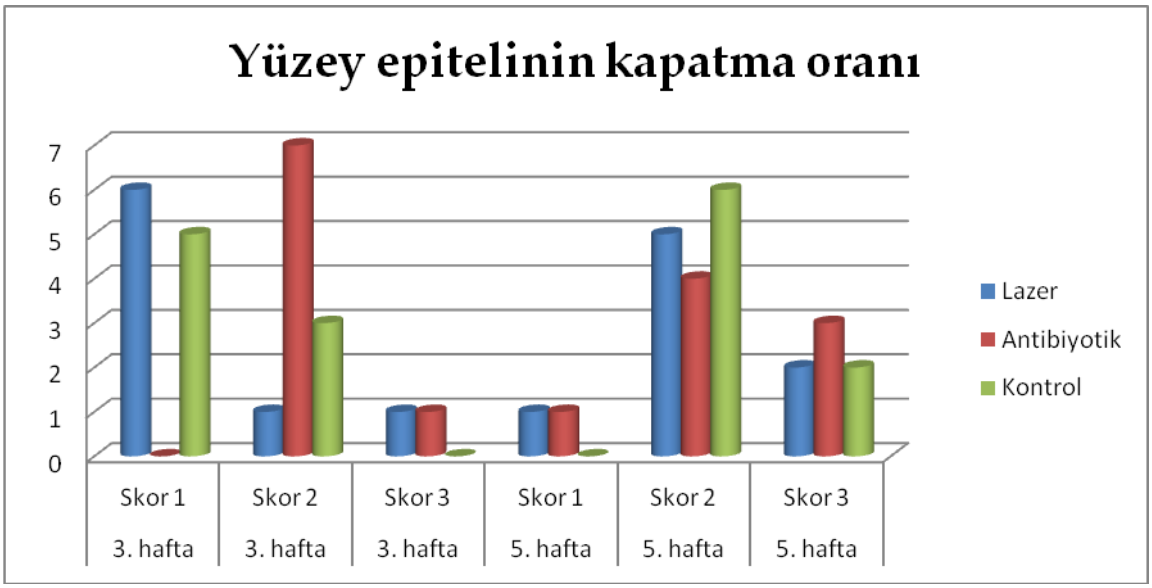
Epitelin yüzeyi kapatma oranı	Skor	3. hafta (n)	5. hafta (n)	[b]p
Lazer	1	6	1	
	2	1	5	
	3	1	2	
	Medyan	1	2	
				0,036
Antibiyotik	1	0	1	
	2	7	4	
	3	1	3	
	Medyan	2	2	
				0,561
Kontrol	1	5	0	
	2	3	6	
	3	0	2	
	Medyan	1	2	
				0,007
[a]p		***0,015***	0,893	

[a] *Kruskall Wallis test* [b] *Mann Whitney U test*

Tablo 4-5: Haftalara göre epitelin yüzeyi kapatma oranının gruplar arasında karşılaştırılması.

Epitelin yüzeyi kapatma oranı medyan değeri lazer grubunda 1, antibiyotik grubunda 2, kontrol grubunda 1 bulundu. Sonuca göre epitelin yüzeyi kapatma oranı, antibiyotik grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla bulundu(**p=0,015**) (Şekil 4-16). 5. haftada epitelin yüzeyi kapatma oranı medyan değeri lazer, antibiyotik ve kontrol gruplarında 2 bulundu. Bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı(p>0,05).

Lazer ve kontrol gruplarında 3. ve 5. haftalar epitelin kapatma oranı açısından kıyaslandığında her iki grupta da 5. haftada 3. haftaya göre fazla kapatma olması istatistiksel olarak anlamlı bulundu [lazer **(p=0,036),** kontrol **(p=0,007)**]. Haftalara göre epitelin yüzeyi kapatma oranının karşılaştırılması Tablo 4-5 ve Şekil 4-5'de görülmektedir.



Şekil 4-5: Yüzey epitelinin kapatma oranının gruplara ve haftalara göre dağılımının grafik olarak değerlendirilmesi

4.1.6. Osteoklast sayısının değerlendirilmesi

Osteoklast Sayısı		3. hafta (n)	5. hafta (n)	[b]*p*
Lazer	**Ortalama**	34	49	
	Standart sapma	24	17	
	Medyan	36	54	0,172
Antibiyotik	**Ortalama**	72	54	
	Standart sapma	89	47	
	Medyan	46	44	0,834
Kontrol	**Ortalama**	25	59	
	Standart sapma	27	23	
	Medyan	15	66	***0,027***
[a]*p*		0,222	0,839	

[a] *Kruskall Wallis test* [b] *Mann Whitney U test*

Tablo 4-6: Haftalara göre osteoklast sayısının gruplar arasında karşılaştırılması

Osteoklast sayısı medyan değeri 3. haftada lazer grubunda 36, antibiyotik grubunda 46, kontrol grubunda 15 bulunurken, 5. haftada lazer grubunda medyan değer 54, antibiyotik grubunda 44, kontrol grubunda 66 bulundu. Osteoklast sayısı açısından karşılaştırıldığında 3. ve 5. haftada gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı($p>0,05$)(Şekil 4-17).

Gruplar kendi içlerinde haftalar arasında karşılaştırıldığında, kontrol grubunda 3. ve 5. haftalar kıyaslandığında osteoklast sayısının 5. haftada istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla olduğu bulundu**($p=0,027$)**(Şekil 4-18). Haftalara göre osteoklast sayısının gruplar arasında karşılaştırılması Tablo 4-6 ve Şekil 4-6'da görülmektedir.



Şekil 4-6: Osteoklast sayısının gruplara ve haftalara göre dağılımının grafik olarak değerlendirilmesi

4.1.7. İltihap hücresi sayısının değerlendirilmesi

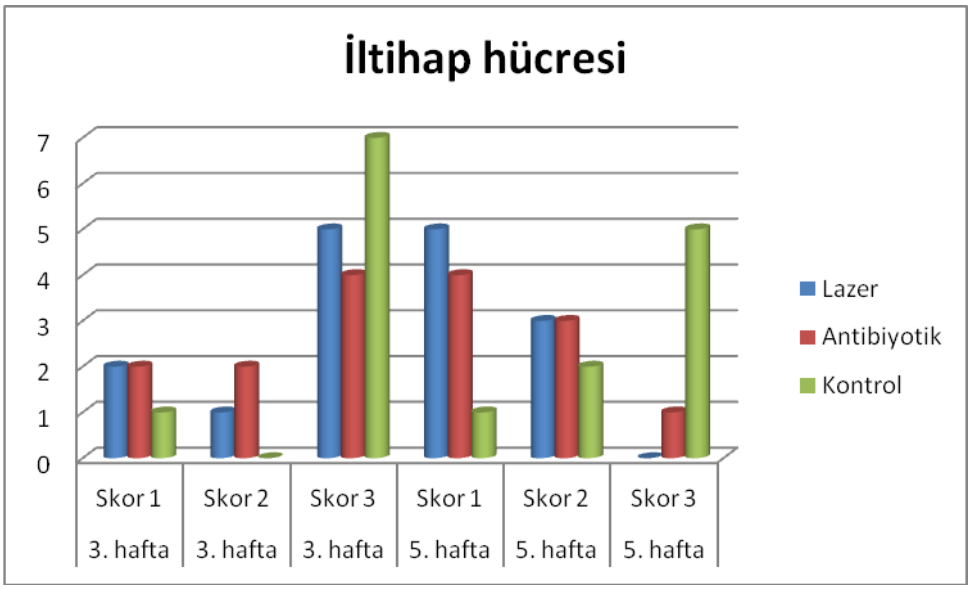
İltihap hücresi	Skor	3. hafta (n)	5. hafta (n)	^{b}p
Lazer	**1**	2	5	
	2	1	3	
	3	5	0	
	Medyan	3	1	
				0,028
Antibiyotik	**1**	2	4	
	2	2	3	
	3	4	1	
	Medyan	3	2	
				0,148
Kontrol	**1**	1	1	
	2	0	2	
	3	7	5	
	Medyan	3	3	
				0,333
^{a}p		0,366	***0,019***	

^{a} *Kruskall Wallis test* ^{b} *Mann Whitney U test*

Tablo 4-7: Haftalara göre iltihap hücresi sayısının gruplar arasında karşılaştırılması

İltihap hücresi sayısı medyan değeri 3. haftada lazer, antibiyotik ve kontrol grubunda 3 bulunurken, 5. haftada lazer grubunda 1, antibiyotik grubunda 2, kontrol grubunda 3 bulundu. Gruplar iltihap hücresi açısından karşılaştırıldığında 3. haftada gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmezken($p>0,05$), 5. haftada kontrol grubunda diğer gruplara göre iltihap hücresi sayısı istatistiksel olarak fazla bulundu**(p=0,019).**

Gruplar haftalar arasında karşılaştırıldığında lazer grubunda iltihap hücresi sayısı 3. haftada 5. haftaya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla bulundu**(p=0,028).** Haftalara göre iltihap hücresi sayısının gruplar arasında karşılaştırılması Tablo 4-7 ve Şekil 4-7'de görülmektedir.



Şekil 4-7: İltihap hücresi sayısının gruplara ve haftalara göre dağılımının grafik olarak değerlendirilmesi

4.1.8. Nekrotik kemik alanının değerlendirilmesi

Nekrotik Kemik Alanı		3. hafta(%)	5. hafta(%)	[b]p
Lazer	Ortalama	6,83	4,07	
	Standart sapma	6,51	2,39	
	Medyan	4,99	3,66	0,462
Antibiyotik	Ortalama	2,88	2,25	
	Standart sapma	1,58	2,13	
	Medyan	2,56	2,13	0,4
Kontrol	Ortalama	12,79	6,32	
	Standart sapma	14,51	3,73	
	Medyan	9,08	6,17	0,294
p		***[a]p=0,013***	***[c]p=0,03***	

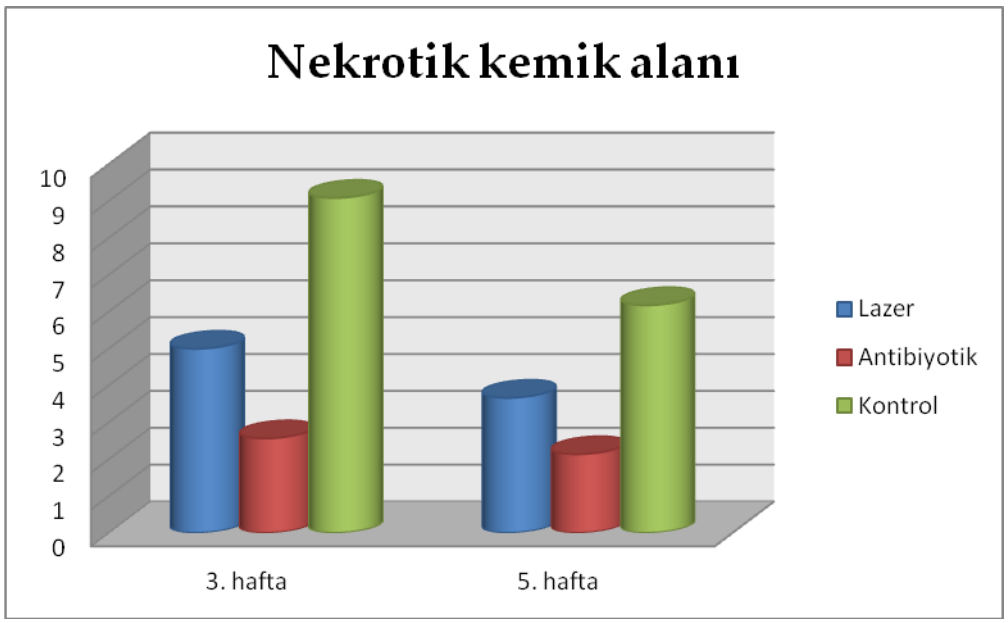
[a] Kruskall Wallis test [b] Mann Whitney U test [c] ANOWA test

Tablo 4-8: Haftalara göre nekrotik kemik alanının gruplar arasında karşılaştırılması

Sonuçlara göre nekrotik kemik alanı medyan değeri lazer grubunda %4,99, antibiyotik grubunda %2,56 ve kontrol grubunda %9,08 olarak bulunurken, 5. haftada medyan değer lazer grubunda %4,07, antibiyotik grubunda %2,25, kontrol grubunda %6,32 olarak bulundu(Şekil 4-19)(Şekil 4-20). Nekrotik kemik alanı, 3. haftada diğer gruplara göre kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla bulundu**(p=0,013)**. Aynı şekilde 5. haftada da nekrotik kemik alanı kontrol grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla görüldü**(p=0,03)**.

Tüm gruplarda haftalar arasında nekrotik kemik alanı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı(p>0,05). Haftalara göre

iltihap hücresi sayısının gruplar arasında karşılaştırılması Tablo 4-8 ve Şekil 4-8'de görülmektedir.



Şekil 4-8: Nekrotik kemik alanının gruplara ve haftalara göre dağılımının grafik olarak değerlendirilmesi

4.1.9. Kemik spesifik alkalen fosfataz düzeyinin değerlendirilmesi

Kemik ALP medyan değeri 3. haftada lazer grubunda 4,14, antibiyotik grubunda 3,98, kontrol grubunda 4 bulunurken, 5. haftada medyan değer lazer grubunda 4,46, antibiyotik grubunda 3,33, kontrol grubunda 3,94 bulundu. İşlem yapılmamış ratlardan alınan örneklerin medyan değeri 4,75 olarak ölçüldü. Kemik ALP değeri açısından 3. haftada lazer, antibiyotik, kontrol ve işlem yapılmamış olan gruplarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmazken($p>0,05$), 5. haftada gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu**($p=0,011$).** Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını saptamak amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda, antibiyotik grubunun kemik ALP değerinin işlem yapılmamış gruba göre istatistiksel olarak sınırlı anlamlı derecede düşük olduğu gözlendi**($p=0,01$).** Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı($p>0,008$).

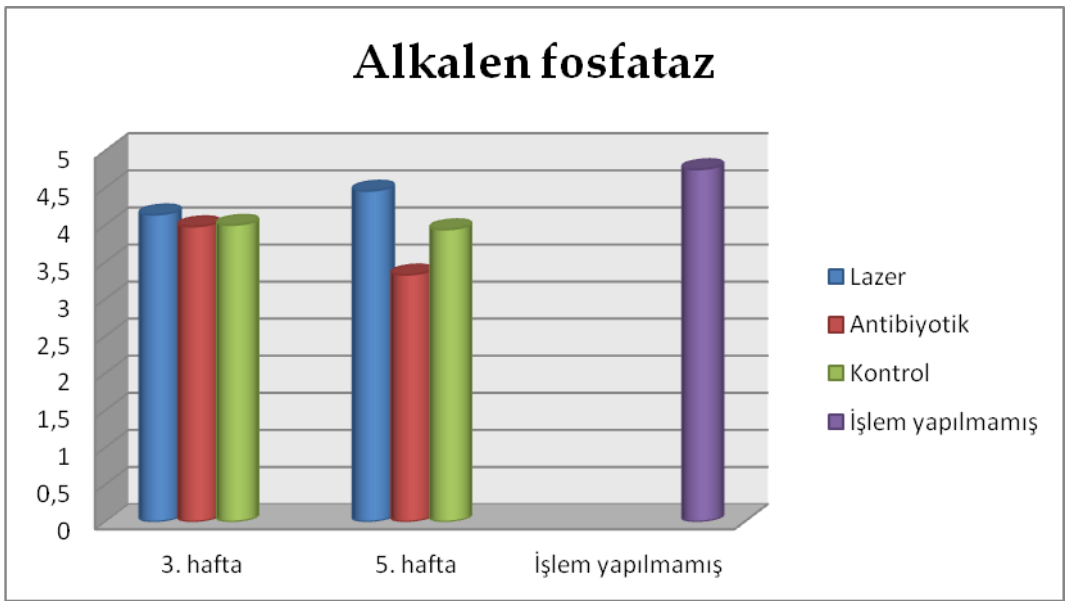
Haftalara göre kemik alkalen fosfataz değerinin gruplar arasında karşılaştırılması Tablo 4-9 ve Şekil 4-9'da görülmektedir.

Kemik ALP		İşlem Yapılmamış	3. hafta	5. hafta
Lazer	**Ortalama**		4,30	4,65
	Standart sapma		1,07	1,09
	Medyan		4,14	4,46
Antibiyotik	**Ortalama**		3,95	3,60
	Standart sapma		0,43	0,59
	Medyan		3,98	3,33
Kontrol	**Ortalama**		4,43	4,02
	Standart sapma		1,17	0,36
	Medyan		4,00	3,94
İşlem yapılmamış	**Ortalama**	5,22		
	Standart sapma	1,72		
	Medyan	4,75		
[a] ***p***			0,146	***0,011***

[a] *Kruskal-Wallis*

5. hafta Lazer/Antibiyotik	p=0,031
5. hafta Lazer/Kontrol	p=0,103
5. hafta Lazer/ İşlem yapılmamış	p=0,4
5. hafta Antibiyotik/ Kontrol	p=0,58
5. hafta Antibiyotik/ İşlem yapılmamış	***p=0,01***
5. hafta Kontrol/İşlem yapılmamış	p=0,035
Mann-Whitney-U *(Bonferroni düzeltmesi p<0,008 anlamlı)*	

Tablo 4-9: Kemik ALP düzeyinin haftalara göre gruplar arasında karşılaştırılması



Şekil 4-9: Kemik spesifik alkalen fosfataz düzeyinin gruplara ve haftalara göre dağılımının grafik olarak değerlendirilmesi

4.1.10. Serum CTX-1 düzeyinin değerlendirilmesi

İşlem yapılmamış grupta, 3. haftada diş çekimi öncesi ve sonrasında, 5. haftada diş çekimi öncesinde serum CTX-1 değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı($p>0,05$). 5. haftada diş çekimi sonrasındaki değer ise diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu **($p=0,012$).** Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını saptamak amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda antibiyotik grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak sınırlı anlamlı derecede artış gözlendi**($p=0,009$).** Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı($p>0,008$).

Diş çekimi öncesi ve sonrasında gruplara ve haftalara göre serum CTX-1 değerlerinin karşılaştırılması Tablo 4-10, 4-11 ve Şekil 4-10'da gösterilmiştir.

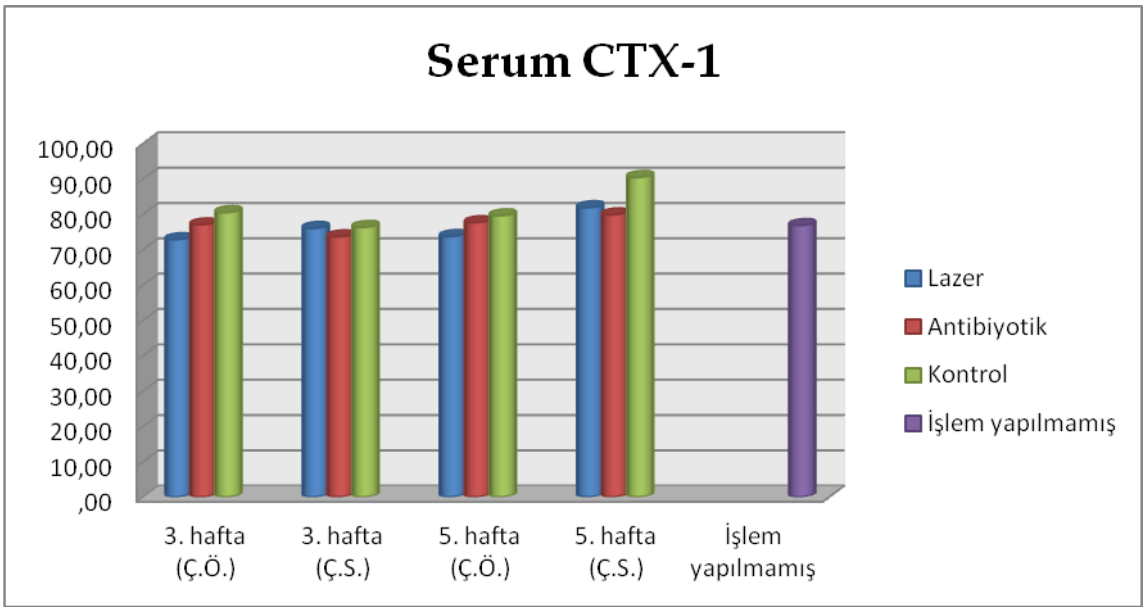
Serum CTX-1	İşlem Yapılmamış	3.hafta (Ç.Ö.)	3. hafta (Ç.S.)	5. hafta (Ç.Ö.)	5. hafta (Ç.S.)
Lazer	Ortalama	73,77	77,35	82,45	91,84
	Std sapma	9,90	13,55	28,26	25,33
	Medyan	72,86	76,03	73,73	81,90
Antibiyotik	Ortalama	76,77	74,02	77,25	81,11
	Std sapma	5,59	8,17	3,99	7,09
	Medyan	77,04	73,64	77,66	79,87
Kontrol	Ortalama	78,93	77,99	79,20	90,86
	Std sapma	8,93	6,98	4,98	4,34
	Medyan	80,51	76,32	79,60	90,44
İşlem yapılmamış	Ortalama	87,38			
	Std sapma	34,59			
	Medyan	76,86			
p Kruskall-Wallis		0,178	0,565	0,358	***0,012***

Ç.Ö.Çekimöncesi Ç.S.Çekim sonrası

Tablo 4-10: Serum CTX-1 değerinin diş çekimi öncesi ve sonrası değerlerinin haftalara göre gruplar arasında dağılımı

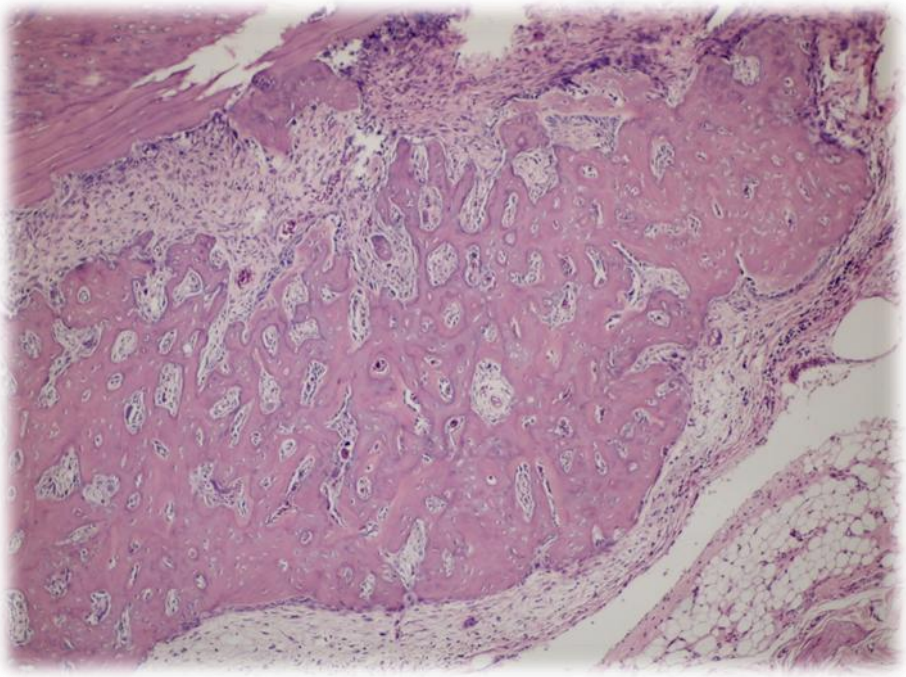
5. hafta Lazer/Antibiyotik	p=0,227
5. hafta Lazer/Kontrol	p=0,074
5. hafta Lazer/ İşlem yapılmamış	p=0,074
5. hafta Antibiyotik/ Kontrol	***p=0,009***
5. hafta Antibiyotik/ İşlem yapılmamış	p=0,345
5. hafta Kontrol/İşlem yapılmamış	p=0,012
Mann-Whitney-U *(Bonferroni düzeltmesi p<0,008 anlamlı)*	

Tablo 4-11: 5. haftada serum CTX-1 değerinin istatistiksel değerlendirilmesi

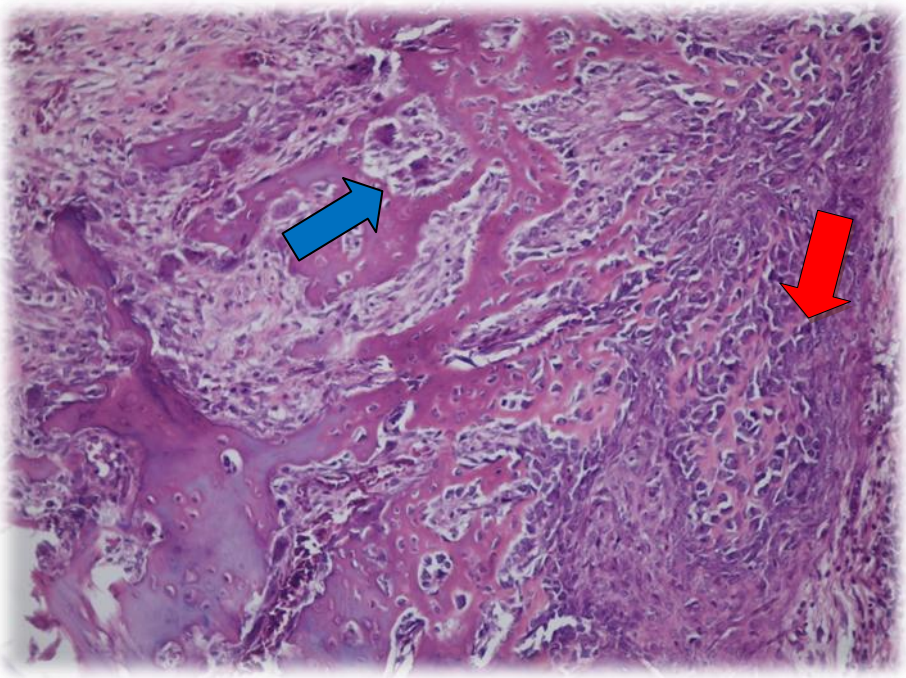


Şekil 4-10: Serum CTX-1 değerinin gruplara ve haftalara göre dağılımının grafik olarak değerlendirilmesi

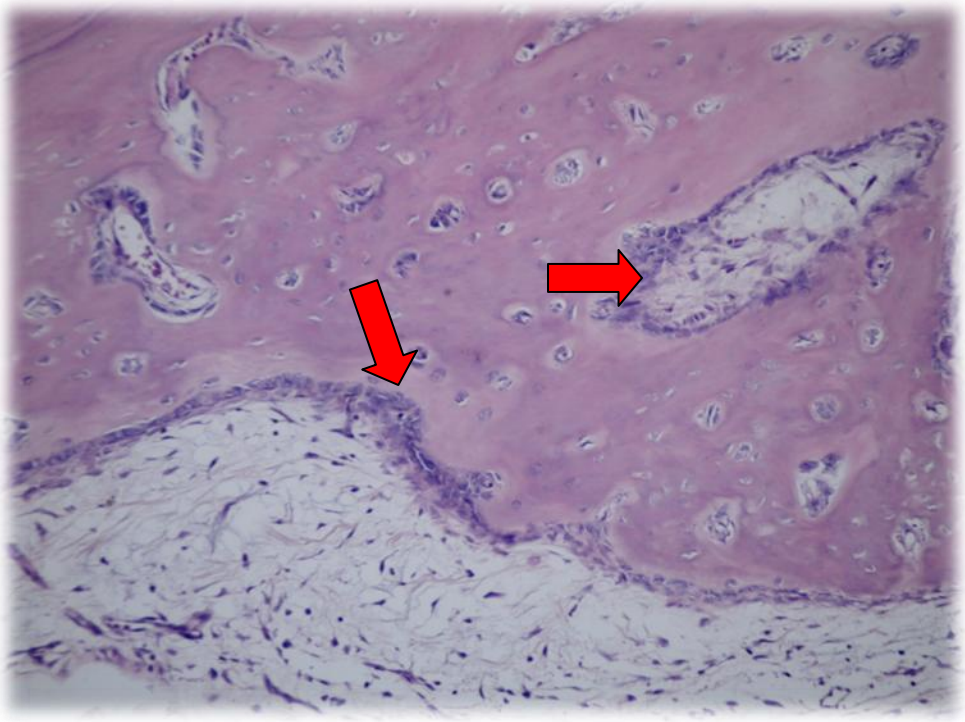
4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR



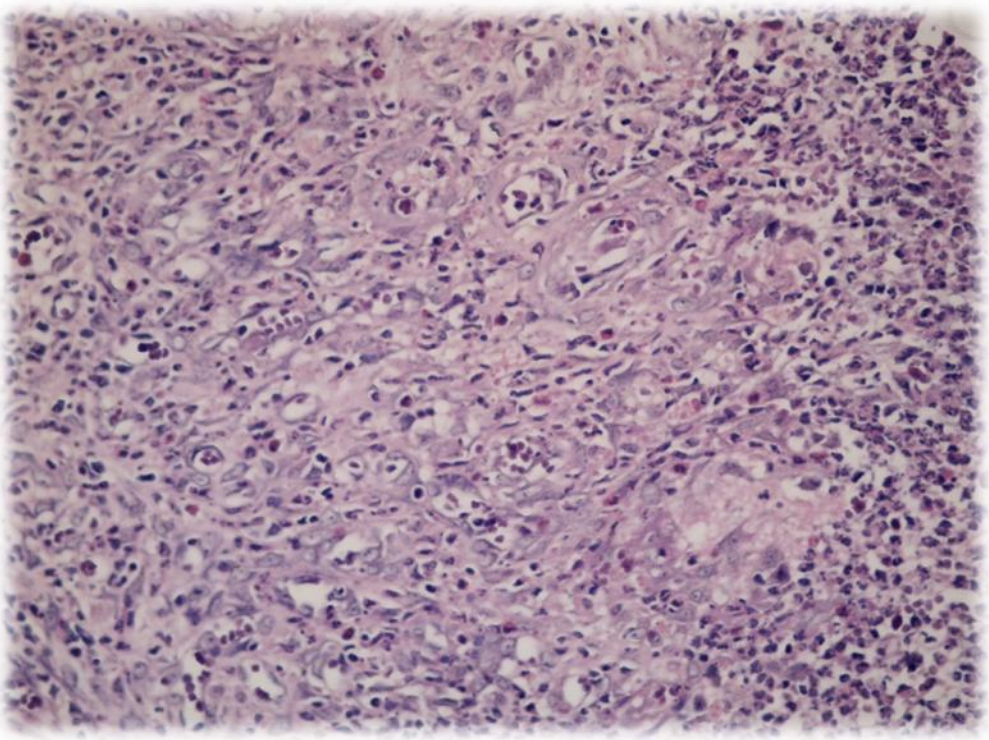
Şekil 4-11: Lazer grubunda 3. haftada yoğun yeni kemik yapımı alanı izlenmektedir. **(H&E X100)**



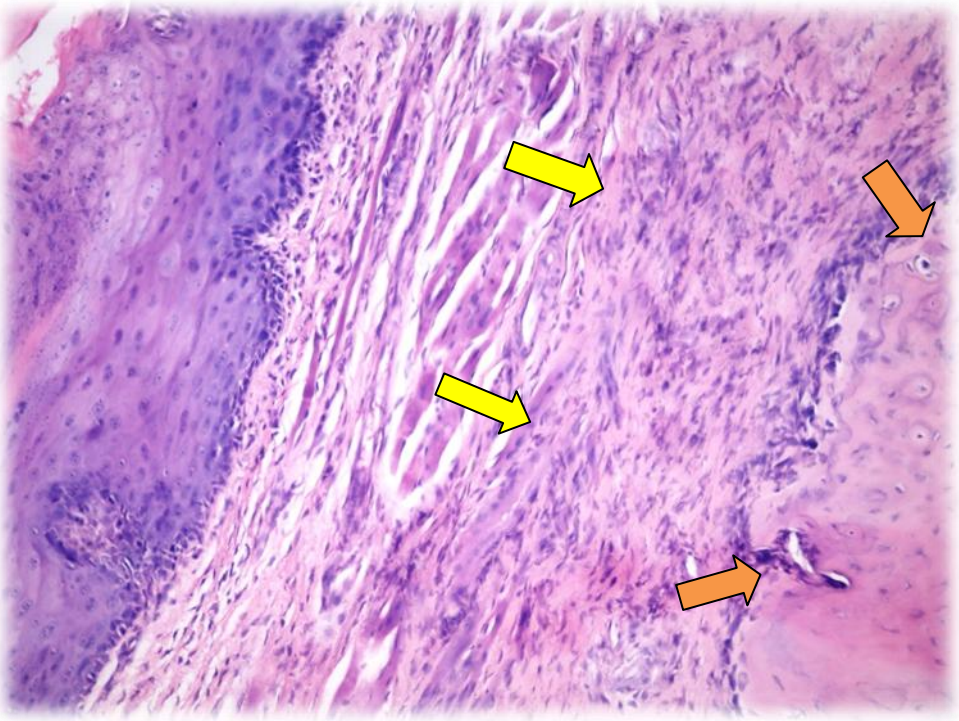
Şekil 4-12: Antibiyotik grubunda 3. haftada yeni kemik yapımı çevresinde osteoblastlar ve osteoklastlar görülmektedir. **(H&E X200)**(kırmızı ok: osteoblastlar, mavi ok: osteoklastlar)



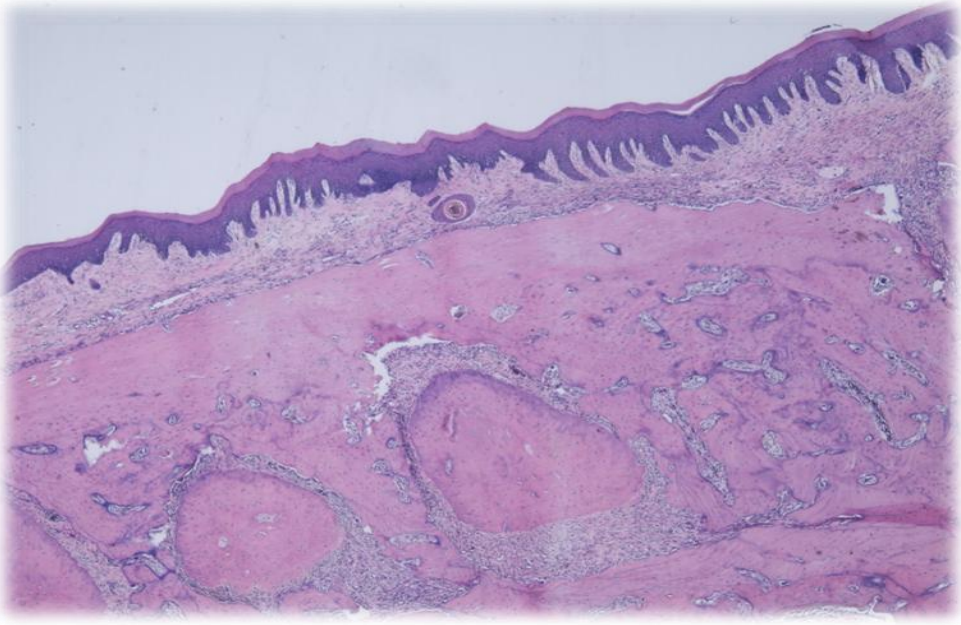
Şekil 4-13: Lazer grubunda 3. haftada yeni kemik yapımı çevresinde osteoblastlar görülmektedir. **(H&E X200)**



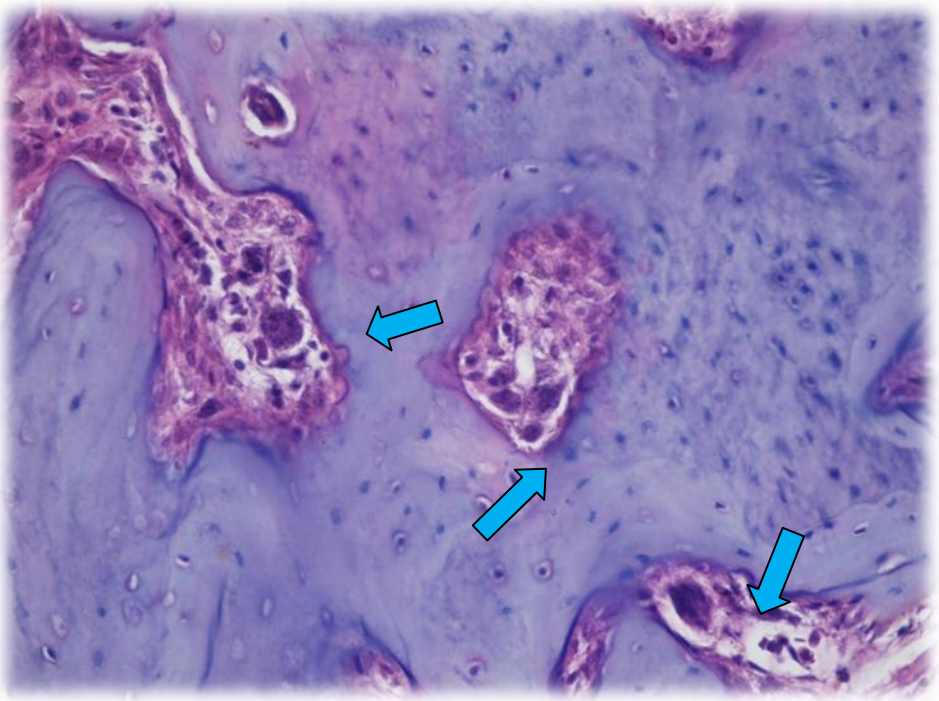
Şekil 4-14: Lazer grubunda 3. haftada yoğun kapiller damar artışı ve iltihap hücreleri izlenmektedir. **(H&E X400)**



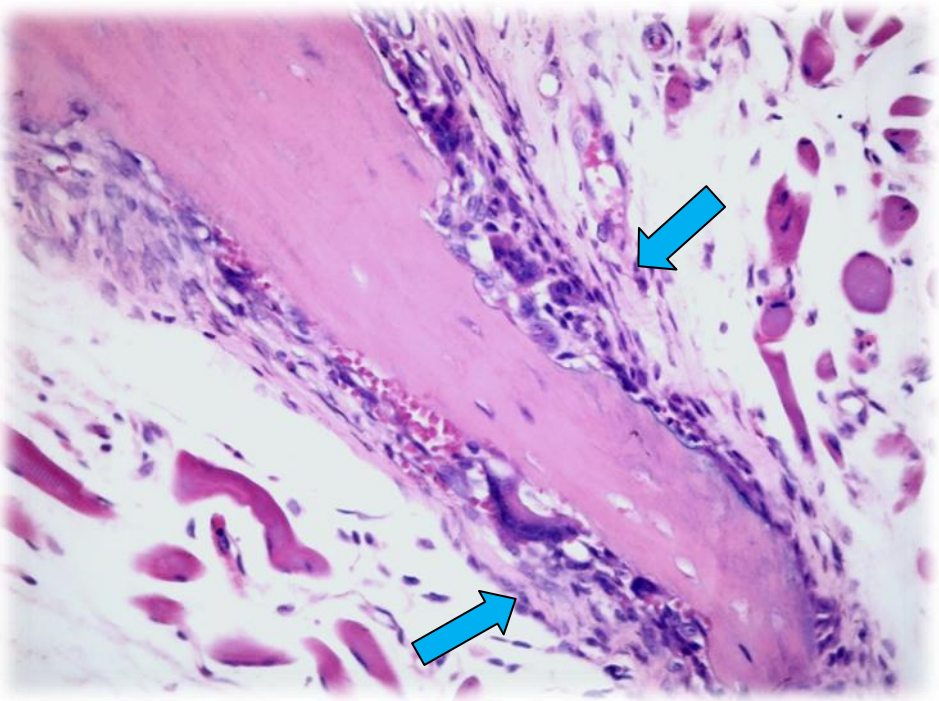
Şekil 4-15: Lazer grubunda 5. haftada epitelin altında yoğun kollajen alanı ve yeni kemik yapımı izlenmektedir. **(H&E X200)** (sarı ok: kollajen, turuncu ok: yeni kemik)



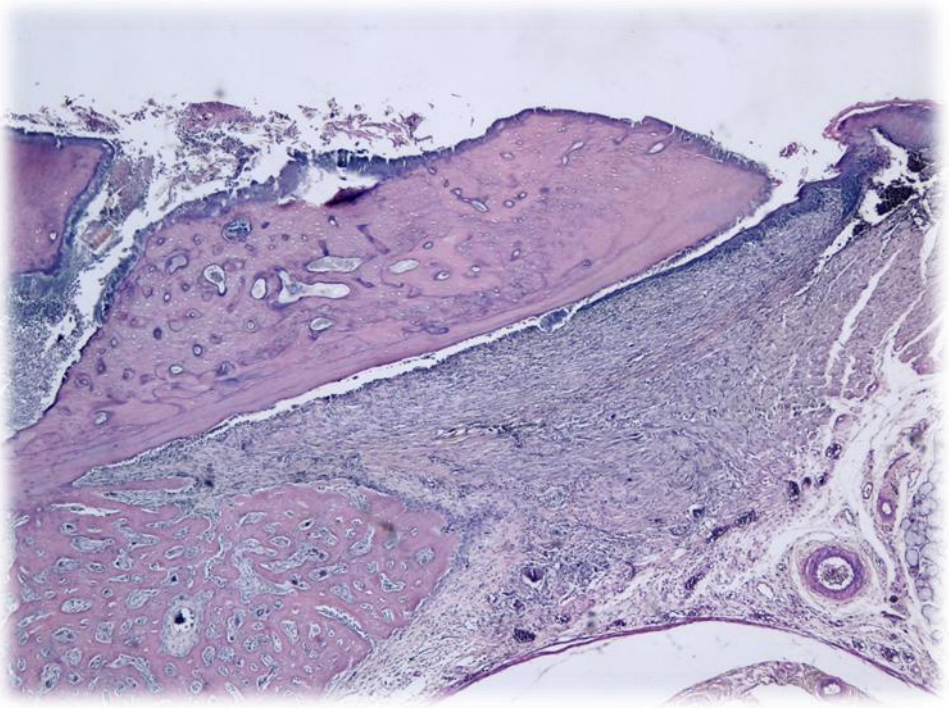
Şekil 4-16: Antibiyotik grubu 5. haftada epitelin yüzeyi tamamen örttüğü görülmektedir. Daha derinde eski kemik ve yeni kemik yapım alanları izlenmektedir. **(H&E X40)**



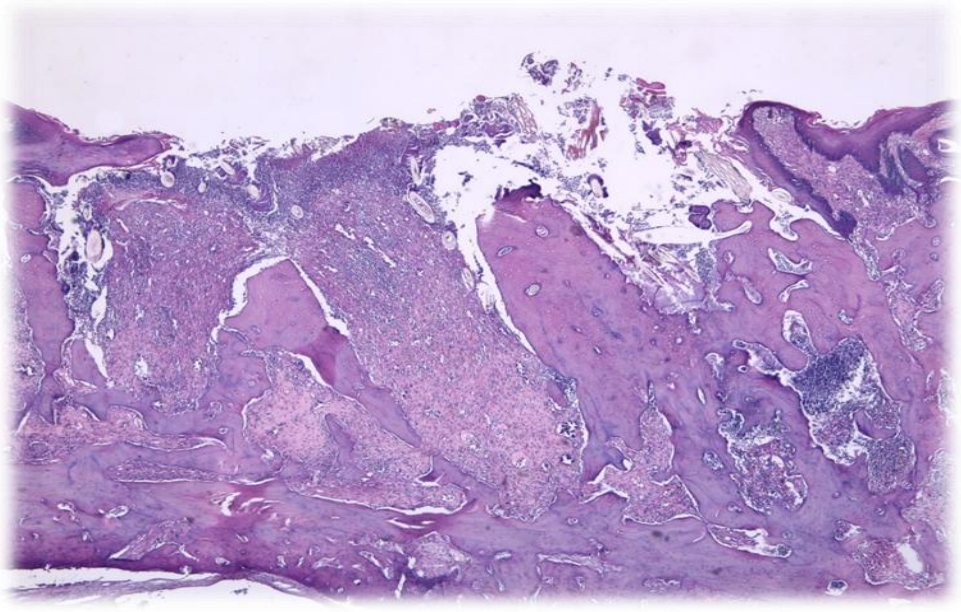
Şekil 4-17: Antibiyotik grubunda 3. haftada kemik dokusu arasında kalan bağ dokusu adacıkları içinde osteoklastlar izlenmektedir. **(H&E X400)**



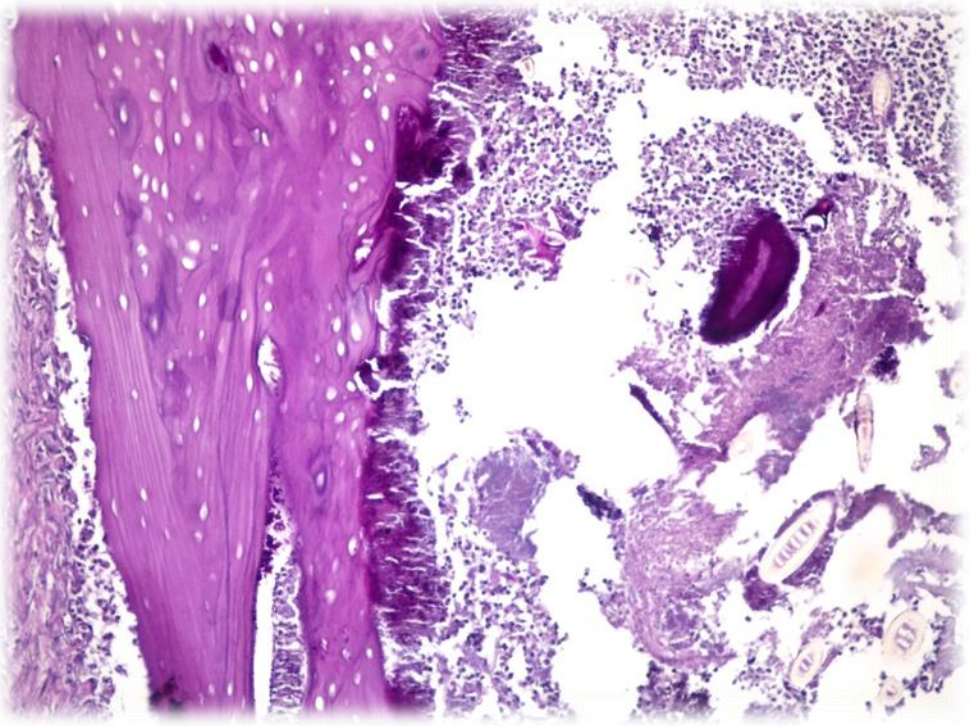
Şekil 4-18: Kontrol grubu 5. haftada kemik dokusu çevresinde osteoklastlar görülmektedir. **(H&E X400)**



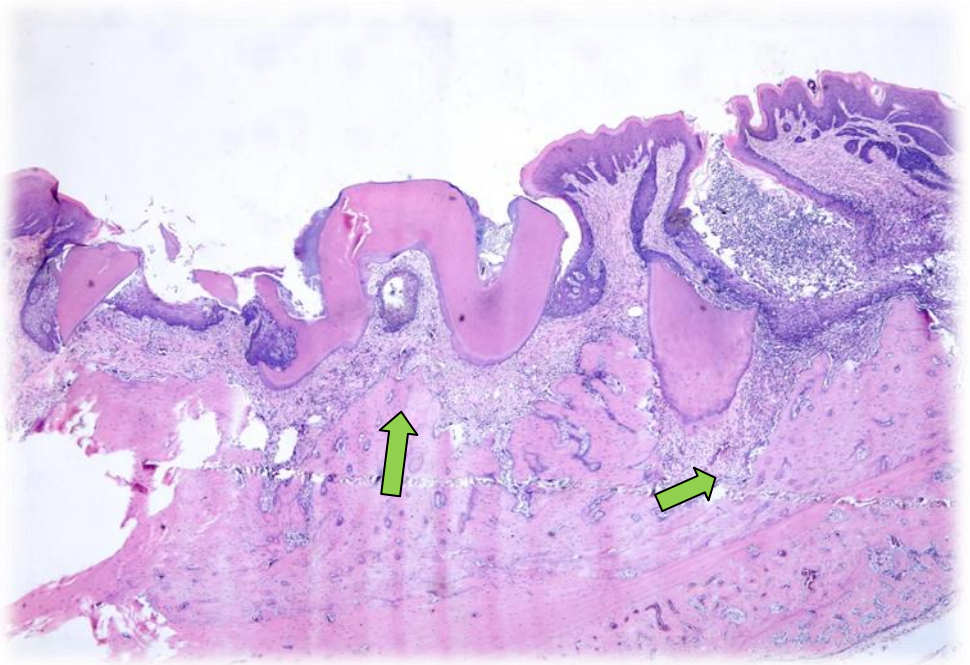
Şekil 4-19: Kontrol grubu 3. haftada epitelin yüzeyi örtemediği alanda nekrotik kemik, üzerinde mikroorganizmalar, daha derinde yeni kemik yapımı ve kollajen liflerden zengin bağ dokusu görülmektedir. **(H&E X100)**



Şekil 4-20: Kontrol grubu 5. haftada epitelin yüzeyi örtmediği görülmektdir. Yüzeyde ülser, iltihap hücreleri ve nekrotik kemik alanları izlenmektedir. **(H&E X40)**



Şekil 4-21: Kontrol grubunda 3. haftada ölü kemik dokusu çevresinde mikroorganizma kolonileri ve iltihap görülmektedir. **(PAS X200)**



Şekil 4-22: Kontrol grubu 5. haftada yüzeyde diş kalıntıları, yüzeyi örtmeye çalışan epitel, bir alanda yoğun iltihap ve derinde eski kemik ve yeni kemik yapımı alanları izlenmektedir. **(H&E X40)**

5. TARTIŞMA

Bifosfonatlar, tedavideki etkinliğini kemik rezorpsiyonunu inhibe ederek gösteren pirofosfat analoğu olan ilaçlardır. Osteoporoz ve Paget hastalığı tedavisinde oral yoldan alınıp, kemik mineral yoğunluğunu arttırarak kırık riskini azaltması nedeniyle 30 yıldan fazla süredir başarı ile kullanılan bifosfonatlar, son yıllarda multipl myelom, meme ve prostat kanseri, malignansiye bağlı hiperkalsemi gibi hastalıkların, hayatı tehdit eden patolojik kemik fraktürü, spinal sinir sıkışması ve ciddi kemik ağrıları gibi iskeletsel komplikasyonlarını engellemek amacıyla yaygın şekilde kullanılmaktadır.

Bifosfonatların damar yolu ile alındığında, oral yoldan kullanıma göre daha yüksek düzeyde biyo-yararlanımı olduğu ve ilacın kemik dokusundaki ömrünün çok daha uzun olduğu bilinmektedir. Oral bifosfonatların sadece %0,64 ünün ince bağırsakta emildiği ve %0,5'nin kemiğe ulaştığı bildirilmiştir. Dolaşımdaki yarı ömürleri 30 dakika ile 2 saat arasında olan bifosfonatların kemik mineral dokusuna geçip depolandığında kemik yenilenme döngüsü tekrarladıkça açığa çıkarak yaklaşık 11 yıl boyunca etkilerini gösterdikleri belirtilmiştir(167).

Bifosfonatların tümorosidal, antianjiyojenik ve antirezorptif tedavi edici etkilerinin yanı sıra nefrotoksisite, oral kullanım ile gastrointestinal sistem ülserasyonları, damar yolu ile kullanımda grip benzeri semptomlar gibi yan etkilerinin de görüldüğü bildirilmiştir. 2003 yılında Marx, Migliorati, Ruggiero gibi klinisyenler sadece bifosfonat kullanımına bağlı çene kemiklerinde görülen osteonekroz olgularını vaka raporlarında belirtmişlerdir. Daha önceden bildirilen ve bu hastaların kullandıkları kemoterapi ilaçlarına ve kortikosteroidlere bağlı olarak geliştiği düşünülen osteonekroz vakalarının da bifosfonata bağlı gelişen osteonekroz olduğu anlaşılmıştır(167,226).

Osteonekroz bulgusunun hangi nedenle oluştuğu, engelleme amaçlı hangi önlemlerin alınabileceği, tedavisinde neler uygulanabileceğinin araştırılması için klinik ve in-vivo, in-vitro olarak birçok deneysel çalışmalar yapılmaktadır(3,12,15,48). Bu çalışmalarda henüz osteonekrozun neden oluştuğuna dair net olmasa da birçok farklı görüş sunulmuştur. Bir görüşe göre osteonekrozun başlangıcı kullanılan spesifik bifosfonatın etkinliği, kullanım süresi ve kullanım sıklığı ile ilişkilidir. Örnek vermek gerekirse bifosfonat grubu ilaçlar içerisinde kullanımdaki en güçlü etkili preparat olan Zometa'nın önerilen aylık 4 mg 'lık dozu alındığında 3-12 ay içinde kemiğin ekspoze olmasına yol açacağı bulunmuştur. Oral yolla osteoporoz tedavisinde kullanılan Fosamax'ın önerilen günlük 10 mg veya haftalık 70 mg lık dozu alındığında ise yarılanma ömrü daha kısa olduğu ve oral kullanım yolu ile daha yavaş absorbe olduğu için ekspoze kemik oluşumuna yol açması 2 yıl veya daha fazla zaman alacağı belirtilmiştir(167).

Bifosfonata bağlı gelişen çene kemiği osteonekrozu (BRONJ) oluşumu üzerinde etkili olan sistemik risk faktörleri arasında ileri yaş, eşlik eden maligniteler, diyabet, otoimmün rahatsızlıklar gibi hastalıklar, kemoterapötik ilaç kullanımı ve sigara gibi ikincil faktörler gösterilmektedir. En az sistemik faktörler kadar belirleyici rol oynayan lokal risk faktörleri arasında ise, invaziv oral cerrahi işlem hikayesi ve protez iritasyonu zemin hazırlayıcı unsurlar olarak öne çıkmaktadır (76,116,167).

Araştırmalara göre bifosfonata bağlı gelişen çene kemiği osteonekrozunun damar yolu ile alınan ilaçlar sonucunda oluşma sıklığı %0,8-12 arasında değişirken bu oranın oral preparatların kullanımında %0,01-0,06 arasında değiştiği kaydedilmiştir(35,226). Ancak uygulanan oral cerrahi işlemlerin tetikleyici rol oynadığı ve bu oranın artış göstererek % 0,09 – 0,34 düzeyine ulaştığı rapor edilmiştir(227).

Çenelerde bifosfonata bağlı olarak gelişen osteonekroz vakalarının %25'inin kendiliğinden geliştiği %75'inin ise başta diş çekimi olmak üzere, periodontal cerrahi ve implant yerleştirmesine bağlı olduğu görülmüştür(167).

Günümüzde bifosfonata bağlı gelişen çene kemiği osteonekrozu ile ilgili cevaplanmayan en önemli soru neden çene kemiklerini etkilediğidir. 2002 yılında ilk tanımlandığından beri bifosfonata bağlı geliştiği bildirilen osteonekroz vakalarının tümünün çene kemiklerinde görüldüğü kaydedilmiştir. Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda bifosfonat tutulumunun sadece çene kemiklerinde değil femur ve vertebralarda da olduğu ortaya çıkmıştır. Fakat sadece çene kemiklerinde osteonekroz görülmesinin nedeni çene kemiklerindeki lokal kemik turnover hızının vücuttaki diğer kemiklerden daha yüksek olmasına bağlanmıştır. Yapılan çalışmalarda alveol kemiklerinde diğer kemiklere göre turnover hızının 100 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir(29, 215). Ayrıca alveol kemiğinde osteonekroz oluşumuna dair diğer teoriler, alveol kemiklerinin dış ortamdan sadece ince bir mukoza ile korunması, çiğneme ve parafonksiyonel hareketlerle oluşan devamlı mikrotravma varlığı, dişler aracılığı ile bakteriden zengin bir ortam ile ilişkide olması sayılabilir.

Bifosfonata bağlı çene kemiği osteonekrozu klinik olarak ekspoze kemik alanları ile karakterize ağrılı, fonksiyonel kayba yol açan ve hasta yaşam kalitesini oldukça düşüren olumsuz bir tablo olduğundan tedavisi önem arz etmektedir. Ayrıca bifosfonatların, ilgili hastalıkların tedavisindeki yararları nedeniyle vazgeçilmez olmaları ve kullanımlarının tamamen kesilmesinin, yerine göre imkânsız olması, BRONJ'un tedavisi kadar risk unsurlarının azaltılmasını da önemli hale getirmektedir. BRONJ tedavi yöntemlerinden kesin sonuç alınamaması, uygulanan semptomatik tedaviyle sadece hastanın şikayetlerinin kısa süreli iyileştirilebilmesi nedeniyle diş hekimleri için de sıkıntı yaratmaktadır.

Risk faktörlerini ortadan kaldırmak için bifosfonat tedavisine başlanacak olan hastalarda öncelikli olarak kapsamlı ağız içi klinik ve radyolojik muayene yapılmalı ve ileride oluşabilecek dental enfeksiyonlara bağlı diş kayıplarını önlemek için radikal tedaviler planlanmalıdır. Eğer klinikte bifosfonat kullanmış ya da kullanmakta olan hastaya dental işlem yapılacaksa tedaviden önce kemik rezorpsiyonu parametrelerinden, serum CTX-1 değerinin incelenmesi osteonekroz oluşma riskinin değerlendirilmesi için önemli bir kriterdir. Tip 1 kollajenin bir parçası olan CTX fragmanı diğer dokulardaki tip 1 kollajende bulunmaz, sadece kemikte bulunur. Bu nedenle kemik rezorpsiyonunun değerlendirilmesi için güvenilir bir testtir. Serum CTX-1 değerinin düşük olması BRONJ gelişimi açısından risk olduğunu gösterir. BRONJ gelişiminin değerlendirilmesinde serum CTX-1 değeri birçok klinik çalışmada kullanılmıştır. Çoğu çalışmada riski değerlendirmede güvenilir bir değer olduğu belirtilirken(93,151,22,147), bazı çalışmalarda ise semptomlarla ilişkili olmadığı bildirilmiştir(152,154). Biz de çalışmamızda zoledronik asitin kemik döngüsüne etkisini ve osteonekrozu engellemeye yönelik yaptığımız lazer ve antibiyotik tedavisinin ne kadar etkili olduğunu değerlendirmek amacıyla serum CTX-1 değerini, ayrıca kemik yapımını değerlendirmek amacıyla, önemli bir belirteç olan kemik spesifik alkalen fosfataz değerini ölçtük.

Farklı klinik semptomlara sahip birçok hastanın bulunması nedeniyle, detaylı sistemik hikayelerine, klinik ve radyolojik bulgularına dayanarak yapılacak olan medikal, cerrahi ve yardımcı tedavilerin seçimini kolaylaştıracak bir sınıflama sistemine ihtiyaç duyulmuştur. Literatürde BRONJ'a ait birçok sınıflama sistemi bulunmaktadır. Günümüzde 2007 yılında AAOMS bünyesinde Ruggiero ve ark. tarafından oluşturulan evrelendirme sistemi en sık kullanılandır. 2009 yılında revize edilen bu sisteme göre belli semptomları

gösteren hastalar 4 evrede değerlendirilmiş tedavi protokolleri bu derecelendirmeye göre oluşturulmuştur(226).

Günümüzde genel olarak BRONJ tedavisi, medikal yaklaşım, medikal/cerrahi yaklaşım ve medikal/cerrahi yaklaşımın çeşitli destekleyici tedavilerle birlikte uygulanması şeklinde yapılmaktadır. Medikal/cerrahi tedavi yöntemine yardımcı olarak uygulanan ve dokuda iyileşme cevabının arttırılmasını hedefleyen yaklaşımlar; hiperbarik oksijen tedavisi, düşük doz lazer tedavisi, plateletten zengin plazma, günlük düşük doz paratiroid hormon uygulaması, ozon tedavisi, kemik morfogenetik protein, otolog kemik iliği kök hücre enjeksiyonu uygulamalarıdır. Söz konusu bu uygulamaların bazılarının BRONJ tedavisinin başarısında olumlu rol oynadığı öne sürülürken, bazılarının sonuçları tartışılmaktadır (7,8,54,166,153). BRONJ'un medikal/cerrahi tedavisinde düşük doz lazer uygulaması ile sağlanan biyostimülasyonun, dokuda yarattığı anti-inflamatuar ve anti-mikrobiyal etki ile yara iyileşmesinin hızını ve sürecini olumlu yönde etkilediği yapılan birçok çalışma ile gösterilmiştir (255,258).

Literatürde bifosfonatların osteonekroza nasıl yol açtığı ve bu durumun fizyopatolojisine dair sonuçlar kesin olarak bilinmemektedir. Uygun bir hayvan modelinin oluşturulması BRONJ'un fizyopatolojisinin anlaşılmasında ve önleyici ve tedavi edici yöntemlerin geliştirilmesinde yardımcı olacaktır. Araştırmacılar farklı dozlar kullanarak, farklı tipteki bifosfonat preparatlarının deney hayvanlarının çene kemiklerinde osteonekroz oluşturma etkisini ve kemikte görülen değişiklikleri incelemişlerdir(9,27,124,240).

Çalışmamızda klinik sonuçlarıyla hastanın yaşam kalitesini önemli ölçüde düşüren BRONJ oluşumunu engellemek için farklı tedavi protokollerini denemeyi amaçladık. Bu düşünce doğrultusunda 3 ve 5 hafta boyunca farklı total dozda uygulanan düşük doz lazer tedavisinin ve antibiyotik tedavisinin osteonekroz gelişimini engellemede ne kadar etkili olduğunu araştırmayı

planladık. BRONJ oluşumunu engellemeye yönelik yapılan deneysel çalışmaların azlığı nedeniyle elde ettiğimiz sonuçları ayrı ayrı düşük doz lazerin tedavideki etkinliğini araştıran ve zoledronik asit ile osteonekroz modeli geliştirmeye yönelik çalışmalarla karşılaştırdık.

Bifosfonat grubu ilaçların farklı preparatlarının çene kemiklerindeki etkilerini inceleyen birçok çalışma bulunmaktadır. Allen ve ark. tarafından köpeklerde yapılan bir çalışmada BRONJ değerlendirilmiştir(13). Çalışmaya göre 1 veya 3 yıl boyunca farklı dozlarda (0,2 mg/kg ve 1mg/kg) günlük oral alendronat verilen köpeklerin hiçbirinde alveoler kemik ekspoze olmamıştır. Histopatolojik incelemede ise düşük doz alendronatla tedavi edilen köpeklerin % 25' inin mandibulalarında nekroze matriks bölgeleri gözlenirken yüksek dozda bu oran bir yılda %17, üç yılda % 33 olarak gözlemlenmiştir. Araştırmacılar tarafından gözlemlenen nekroze matriks bölgelerinin BRONJ'un erken evresinde görülen değişikliklere benzediği, ileri dönemde kemiğin fizyolojik streslerinin de eklenmesiyle çene kemiğinin ekspoze olabileceği belirtilmiştir. İskeletsel mikro hasarın kemik yenilenme döngüsünün baskılanması sonucu bir yılda oluştuğunu ve daha uzun tedavi süresi ile ilerlemediğini vurgulamışlardır.

Bu çalışmada deney hayvanı olarak köpek kullanılmasının sebebi, köpeklerde kemik iyileşmesi için gereken sürenin insanlardakine yakın olması ve kemikleşmenin insanlardakine benzer olarak intrakortikal şekillenme ile olmasıdır. Araştırmacılar BRONJ oluşumunun intrakortikal kemik oluşumunun baskılanması sonucu olduğunu düşündüklerinden, ratların BRONJ oluşturma modellerinde kullanımlarının faydalı olmayacağını belirtmişlerdir. Fakat geliştirilen rat modellerinde de osteonekroz bulgularına rastlanması bu teoriyi desteklememektedir(27,240).

Literatür taramasında kemik iyileşmesi ve düşük doz lazer çalışmalarında genellikle kemirgen hayvanların (rat, tavşan, fare, guinea

domuzları) kullanıldığı ve içlerinde en çok ratların tercih edildiği görülmektedir (27,240). Bizim çalışmamızda deney hayvanı olarak rat seçmemizin sebebi kolay ulaşılabilirliği, maliyetinin az olması ve çalışma kolaylığı sağlamasıdır. Ayrıca ileride yapılacak çalışmalarda BRONJ gelişim modeli için ratların kullanılıp kullanılamayacağı sorusuna ışık tutmak amacıyla rat modeli seçilmiştir.

Bifosfonata bağlı gelişen çene kemiği osteonekrozunda en önemli tanı kriterlerinden biri ekspoze kemiğin ağız içinde 8 haftadan daha fazla süre kalmasıdır(225,226). Bu diagnostik kriter çoğu deneysel osteonekroz modeli çalışmasında göz önünde bulundurulmuştur(33,58,85,124). Fakat aralarındaki metabolik farklılıklardan dolayı insanlardaki klinik bulguların deney hayvanlarına birebir yansıtılamayacağı düşünülmektedir. Ratlarda ve insanlarda diş çekimi yarasının evreleri benzer olsa da kemik yenilenmesi ratlarda çok daha hızlı bir şekilde meydana gelir. Okamoto ve de Russo tarafından yapılan çalışmada ratlardaki kemik metabolizmasının insanlara oranla üç kat daha hızlı olduğu bildirilmiştir(75, 189). Bu nedenle, osteonekroz gelişimini değerlendirmek için insandaki sekiz haftalık sürece karşılık, ratlarda dört haftalık bir sürenin yeterli olacağı düşünülmüştür(63).

Biz de çalışmamızda yapılan lazer ve antibiyotik tedavilerinin osteonekroz gelişimini engellemede ne kadar etkili olduğunu anlamak amacıyla, ratlarda osteonekroz gelişimi için geçmesi gereken sürenin 4 hafta olması gerektiği düşüncesiyle sakrifikasyon dönemlerini 3. ve 5. hafta olarak belirledik.

Conte Neto ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada alendronat verilen ve diş çekimi yapılan ratlarda iltihap, damarlanma, nekrotik kemik varlığı ve yeni kemik oluşumu bulguları incelenmiştir(63). 28. günde sakrifikasyonları yapılan ratlarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmış kemik nekroz alanları ve buna paralel olarak iltihap miktarının da arttığı gözlemlenmiştir. 3.

günde sakrifikasyonu yapılan ratlarda iltihap ve kemik nekroz alanların varlığı kontrol ve alendronat gruplarında eşit olarak ölçülmüştür. Bunun nedeni olarak 3. günde halen soket iyileşmesinin ilk aşamalarında olması gösterilmiştir. Damarlanma yönünden 3. günde kontrol ve alendronat gruplarında farklılık gözlemlenmezken, 28. günde alendronat verilen ratlarda damarlanma miktarının anlamlı derecede daha az olduğu bildirilmiştir. Ayrıca yeni kemik oluşumu miktarlarında alendronat grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük görüldüğü belirtilmiştir. Alendronat verilen tüm ratlarda 28. gün sonunda parsiyel epitel kapanması ve ekspoze kemik odakları görülmüştür. Sonuca göre alendronatın kemik turnover mekanizması üzerine baskılayıcı nitelikte etkisi olduğu belirtilmiştir.

Çalışmamızda benzer olarak 3. haftada sakrifiye edilen ratlarda tüm gruplarda eşit iltihap değeri ölçüldü. 5. haftada ise lazer grubunda en az(skor 1), kontrol grubunda ise en fazla(skor 3) iltihap değeri bulundu. İstatistiksel olarak anlamlı olan bu farklılığın nedeninin kontrol grubunda çekim bölgesinde daha fazla nekrotik kemik bulunması olduğu düşünülmektedir.

Biasotto ve ark. tarafından BRONJ oluşturma amaçlı olarak yapılan bir çalışmada 5 hafta boyunca haftada tek doz 0,04 mg zoledronik asit verilen ratlardan 5 hafta sonunda üst çeneden molar diş çekimi yapılmıştır(33). Çekimden 7 hafta sonra sıçanlara tek doz intravenöz teknezyum 99m işaretli metilen difosfonat enjekte edilmiş ve sintigrafi çekildikten bir hafta sonra sakrifikasyonları yapılmıştır. Sakrifikasyondan sonra tüm ratların bilgisayarlı tomografisi çekilmiştir. Ayrıca histolojik olarak incelendiğinde zoledronik asit ile tedavi edilen tüm ratların çekim bölgesinde iyileşmenin bozulduğu ve kemiğin ekspoze olduğu görülmüştür. Kontrol grubunda ise kemik defektinin iyileşme sürecinde epitelizasyon görülmüştür. Kemik sintigrafisi de bu süreci desteklemektedir. Kontrol grubunda tutulum fizyolojik seviyedeyken, zoledronik asit verilen ratlarda azalmış tutulum gözlenmiştir. Zoledronik asit

grubunda BT taraması ve 3 boyutlu rekonstrüksiyon ile elde edilen görüntülerde defekt bölgesinin kortikal sınırlarının düzensizleştiği ve spongioz ve lameller kemikte geniş bir yıkım alanı ve osteolitik alan olduğu ortaya çıkmıştır. Fakat kontrol grubunda normal bir iyileşme paterninde öngörüldüğü gibi ilk oluşturulan defektin hacminde azalma görüldüğü yani defektin iyileşerek küçüldüğü gözlemlenmiştir. Histolojik incelemede zoledronik asit ile tedavi edilen ratlarda ülsere mukoza, içi boş osteosit lakünleri içeren nekrotik kemik tabakaları, soket iç çeperinde rezorpsiyon ve iltihap hücreleri ile sarılı kemik sökestrı gözlemlenmiştir. Bu çalışmada toplamda bir rata 0,2 mg zoledronik asit verilmiştir ve tüm ratlarda klinik olarak osteonekroz bulguları görülmese de histolojik olarak çekim bölgesinde boş osteosit lakünleri, ülsere mukoza ve nekrotik kemik görülmüştür.

Çalışmamızda kullandığımız zoledronik asit dozuna önceki çalışmalardan elde edilen, insanda BRONJ oluşumuna sebep olan zoledronik asit birikimine aylık 4 mg lık tedavi dozunun ortalama 40 kez verilmesinden sonra ulaşıldığı bilgisinden yola çıkılarak karar verildi(115,208). Buna göre bir rata verilmesi gereken toplam dozun 2,25 mg/kg olması gerektiği hesaplandı. Kullandığımız ratların ortalama ağırlığı 200 g olduğundan toplamda bir rata 0,45 mg zoledronik asit verildi. Bu toplam doz 21 günlük bir periyod boyunca her gün subkütan uygulanarak verildi. Bu doz uygulandığında kontrol grubundaki ratlarda hem klinik hem de histolojik olarak osteonekroz bulguları görüldüğünden bu dozun ratlarda BRONJ geliştirme modelinde kullanılabileceği düşünüldü.

Biasotto ve ark. tarafından yapılan aynı çalışmada zoledronik asit verilen ratların çekim soketinde boş osteosit lakünleri ile karakterize nekrotik kemik tabakaları gözlemlenmiştir. Çalışmamızda 3. ve 5. haftalarda nekrotik kemik alanının kontrol grubunda en fazla, antibiyotik grubunda en az olmak üzere istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğu görüldü. Ayrıca iltihap

hücresi miktarının 3. haftada gruplar arasında anlamlı bir farklılık göstermediği, tüm gruplarda en yüksek değerde olduğu görüldü. Bunun nedeni olarak iyileşmenin erken dönemlerinde epitelin kapanma miktarının daha az olmasından dolayı sokete yemek artıklarının girmesi sonucu iltihap hücresi miktarının daha fazla olması düşünüldü. 5. haftada ise iltihap hücresi miktarının kontrol grubunda en fazla, lazer grubunda en az olmak üzere anlamlı derecede farklılık gösterdiği bulundu. Bu farklılığın 5. haftada tüm gruplarda epitel kapanma miktarı aynı olsa da ortamdaki nekrotik kemik miktarı ile bağlantılı olduğu düşünüldü. 5. haftada nekrotik kemiğin en fazla olduğu kontrol grubunda en yüksek skorda iltihap hücresi bulunduğu görüldü.

Yine Biasotto ve ark.'nın yaptığı çalışmaya göre zoledronik asitin osteoklast aktivitesini baskıladığı ve böylelikle soketteki eski kemik parçalarının rezorbe olmayarak ortamda kaldığı ve nekrotik hale geldiği düşünülmektedir. Çalışmamızda bu teoriyi destekler şekilde osteoklast sayısının 3. haftada lazer ve antibiyotik gruplarına göre kontrol grubunda oldukça azaldığı fakat lazer ve antibiyotik gruplarında birbirine yakın olduğu görüldü. 5. haftada osteoklast sayısı açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmezken, kontrol grubunda 3. ve 5. haftalar arasında anlamlı derecede farklılık görüldü. Osteoklast sayısı 3. haftada 15 iken, 5. haftada 66 olarak ölçüldü. Literatürde deneysel çalışmalarda bifosfonat tutulumu gözlenen kemikte osteoklast sayımının yapıldığı çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda 5. haftada kontrol grubunda osteoklast sayısının diğer gruplara göre daha fazla görülmesini ortamdaki nekrotik kemik miktarının daha fazla olmasına bağlıyoruz. Nekrotik kemiğin daha fazla olması kemiği yıkacak osteoklastların daha fazla olmasını açıklamaktadır. Ortamda 5. haftada dahi nekrotik kemik olmasından dolayı zoledronik asitin osteoklastların sayısı üzerine değil daha çok aktiviteleri üzerine negatif etkisi olduğunu düşünmekteyiz.

Literatürde düşük doz lazerin kemik iyileşmesi üzerine etkisinin incelendiği birçok çalışma mevcuttur(118,187,209). Kullanılan lazerin tipine, dalga boyuna, uygulanan toplam enerji miktarına göre farklılıklar gösteren çalışmaları incelediğimizde, uygulama yönünden en pratik olan diyot lazeri kullanmayı uygun gördük. Yapılan çalışmalarda 820-840 nm dalga boyları arasındaki diyot lazerlerin dokuda daha derine ilerleyerek iyileşmeyi daha fazla arttırdığı belirtilmiştir. Ayrıca seans başına yüksek dozda uygulanan lazerin yeni kemik oluşumu ve kollajen lif alanını düşük doz uygulamalarına göre daha fazla arttırdığı görülmüştür. Bu nedenle çalışmamızda 820 nm dalga boyunda, 50 mW çıkış gücüne sahip Galyum aluminyum arsenid lazer seans başına 16J/cm^2 dozunda 3 ve 5 hafta süresince gün aşırı, toplamda 176 J/cm2 ve 288 J/cm2 dozda biyostimülasyon amaçlı kullanıldı.

Diniz ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada osteoporoz tedavisinde bifosfonat ile birlikte kullanılan düşük doz lazerin tedavideki etkinliği araştırılmıştır(78). Düşük doz lazer uygulamasının osteoblast ve osteoklastların yapımını ve aktivitelerini arttırıcı etkilerinden yararlanarak osteoporozda kemik yapımının arttırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya göre overektomi uygulanmış ratlarda gruplar tedavi tiplerine göre oluşturulmuştur. Buna göre sadece alendronat, sadece delt, delt ve alendronat tedavisi kombinasyonu ve kontrol grubu olacak şekilde 4 gruba ayrılmıştır. Düşük doz lazer uygulaması 8 hafta boyunca gün aşırı femur ve vertebra bölgelerine 50 mW gücünde 4J/cm2 dozunda 830 nm dalga boyunda lazer ile yapılmıştır. Sadece lazer uygulanan grupta osteoblastik aktivitenin ve trabeküler kemik hacminin kontrol grubuna göre arttığı belirtilmiş, sadece alendronat kullanılan ratlarda da benzer şekilde artma gözlenmiştir. Her iki tedavinin kombine kullanıldığı ratlarda ise trabeküler kemik hacmi en fazla bulunmuştur. Sonuçta düşük düzey lazer uygulamasının trabeküler kemik hacmini arttırarak osteoporoz tedavisinde etkili olarak kullanılabileceği fikrine varılmıştır.

Renno ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada osteopenik ratlarda farklı dozlarda uygulanan düşük doz lazerin kemik hacmini arttırmadaki etkileri karşılaştırılmıştır(218). Çalışmada ana gruplar overektomi uygulanmış ve uygulanmamış gruplar olarak, alt gruplar ise toplamda 60 J/cm2 ve 120 J/cm2 lazer uygulanan gruplar olarak oluşturulmuştur. Lazer uygulaması tüm ratların femur bölgesine 830 nm dalga boyunda, 100 W/m2 gücünde, 0,6 mm çapında prob ile GaAlAs lazer kullanılarak yapılmıştır. Lazer irradiasyonu 8 hafta boyunca gün aşırı femurun hep aynı bölgesine uygulanmıştır. Sonuçlara göre yüksek dozda lazer uygulanan gruplarda kemik hacminin daha fazla arttığı, overektomi uygulanan ratlarda kontrol grubuna göre kemik hacminin daha fazla arttığı görülmüş, overektomi uygulanan ratlarda düşük doz lazer uygulamasının 120J/cm2 dozda uygulandığında kemik hacmini en çok arttırdığı belirtilmiştir.

Pinheiro ve ark. tarafından yapılan çalışmada düşük doz lazerin kemik grefti uygulanan bölgede kemikleşme üzerine etkisi değerlendirilmiştir(206). Bu amaçla tüm ratların femurlarında defekt oluşturulmuş, ratlar greft uygulanmayan kontrol grubu, greft grubu ve greft+lazer grubu olarak ayrılmıştır. Lazer uygulaması, 830 nm dalga boyunda, 40 mW gücünde lazer ile seans başına 16J/cm2 dozda 7 seans günaşırı yapılmıştır. Toplamda bir rata 112 J/cm2 dozda lazer uygulanmıştır. Ratlar 15., 21. ve 30. günlerde sakrifiye edilmiştir. Sonuçlara göre infrared lazer ışığının kemik defektlerinin iyileşmesini hızlandırdığı görülmüş. Lazerin etkisinin 30. günde sakrifiye edilen deneklerde en fazla görüldüğü, lazerin özellikle kollajen lif alanı oranını ve yeni kemik oluşumunu arttırdığı belirtilmiştir.

Çalışmamızda düşük doz lazer verilen grupta, 3. haftada yeni kemik yapımı oranının diğer gruplara göre en fazla olduğunu fakat 5. haftada diğer gruplara göre ortalama bir değerde olduğunu gördük. Bunun sebebinin düşük doz lazerin doza bağlı olarak etki etmesi olduğu ve yüksek dozlarda osteoid

oluşumu üzerine etkisi olmadığı veya negatif yönde etkilediği düşünüldü. Çalışmamızda aldığımız bu sonuçların yüksek total dozda lazer biyostimülasyonu yapılan çalışmaların sonuçlarıyla paralellik gösterdiği görüldü.

Korany ve ark. tarafından radyoterapi yapılan ratlarda diş çekimi yarasına uygulanan düşük doz lazerin iyileşmedeki etkinliği histolojik olarak incelenmiştir(141). Çalışmaya göre 6 gray gamma radyasyona tabi tutulan ratlardan 3 gün sonra diş çekimi yapılmıştır. Ratlar 3., 7. ve 10. günlerdeki sakrifikasyon zamanlarına göre 3 ana gruba ayrılmıştır. Aynı ratta mandibula sağ diş çekimi bölgesi kontrol grubu, mandibula sol diş çekimi bölgesi lazer grubu olarak belirlenmiştir. Düşük doz lazer tedavisi için devamlı dalga boylu 830 nm dalga boyunda 75 mW gücünde yarı kontakt modda GaAlAs diyot lazer kullanılmıştır. Lazer uygulaması diş çekiminden hemen sonra sol mandibuladaki çekim soketine uygulanmıştır. Sonuçlara göre çekimden sonraki 3. günde lazer grubunda kontrol grubuna göre daha ileri seviyede doku iyileşmesi gözlenmiştir. Kontrol grubundaki soketlerde olgunlaşmamış kollajen fibril demetleri ve pıhtı kalıntıları içeren hassas bağ dokusu, soketin tabanında az miktarda osteoblastik aktivite gösteren osteoid birikimi gözlenirken lazer grubunda soketin lateral duvarlarında ve tabanında yeni oluşan süngerimsi kemik alanları izlenmiştir. İyileşme alanında olgunlaşmış ve olgunlaşmamış kollajen fibril demetlerinin karışık olarak bulunduğu, kemik yapımı ve rezorpsiyonunun gözlendiği belirtilmiştir. Çekimden 7 gün sonra, kontrol grubunda çekim bölgesinin kısmen periferden merkeze doğru yoğunluğu azalan, yeni oluşmuş süngerimsi kemik ile dolduğu, soketin geri kalan kısmının damardan fakir, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış kollajen fibril demetlerinin bulunduğu fibröz doku ile dolu olduğu belirtilmiştir. Lazer grubunda ise soketin neredeyse tamamını dolduran geniş kemik trabeküllerden oluştuğu, koronal kısmın ise ağız epiteli ile tamamen kapanmış olduğu ve epitelin altında

olgunlaşmış kollajen fibril demetlerinden oluşan bir tabakanın oluştuğu belirtilmiştir. 10. günde ise lazer grubundaki soketin olgun kemiğe yakın özellikte kollajen yapısı gösteren süngerimsi kemikle tamamen dolduğu, kontrol grubundaysa soketin merkezinde halen fibröz dokunun bulunduğu, soketin lateral duvarlarında ve tabanında ise kemikleşmenin gerçekleştiği görülmüştür. Yapılan histomorfometrik değerlendirmede yeni kemik oluşum miktarı % değeri ile ölçülmüştür. Sonuçlara göre 7. günde yeni kemik oluşumunun lazer grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmış olduğu görülmüştür. Fakat bu değer 10. günde gruplar arasında anlamlı bir fark oluşturmamıştır.

Korany tarafından yapılan çalışmada lazer uygulamasının iyileşmenin erken dönemlerinde damarlanma miktarını arttırdığı görülmüştür. Çalışmamızda kontrol, lazer ve antibiyotik grupları arasında damarlanma açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı. Lazer grubunda 3. haftadaki damarlanma değerinin 5. haftaya göre daha yüksek olduğu görüldü. Ayrıca kollajen lif alanının paralel şekilde daha fazla olduğu görüldü. Bu durum lazerin özellikle yumuşak doku iyileşmesinin erken dönemlerinde daha etkili olmasına bağlandı. Kontrol grubunda 3. ve 5. haftalarda en yüksek damarlanma skorunun görülmesinin, ortamda nekrotik kemik varlığına bağlı olarak iltihabi hücre infiltrasyonunun fazla olmasına bağlı olduğu sonucuna varıldı.

Kan ve ark. tarafından sunulan vaka raporunda Zometa ile tedavi gören ve diş çekimi yapılan 2 hastada, çekim sonrasında düşük doz lazer uygulamasının osteonekroz gelişimini engelleme amacı ile kullanıldığı belirtilmiştir(132). Çalışmaya göre bir hastada Zometa kesildikten sonra, diğerinde ilaç kesilmeden, uygun ağız hijyeni sağlandıktan sonra atravmatik diş çekimleri yapılmış ve yara yerleri primer olarak kapatılmıştır. Bir hastada 1064 nm dalga boyunda 1.25 W çıkış gücüne sahip Nd:YAG lazer ile diğer hastada 808 nm dalga boyunda 0,5 W çıkış gücüne sahip diyot lazer ile

biyostimülasyon çekim sonrasında ve ertesi gün olmak üzere 2 seans şeklinde yapılmıştır. Elde edilen klinik bulgulara göre uzun dönem takipte her iki hastada da çekim bölgelerinin sorunsuz olarak iyileştiği belirtilmiştir.

Çalışmamızda, bu çalışmaya benzer olarak Zometa verilen ve diş çekimi yapılan ratlarda osteonekroz gelişimini önlemeye yönelik olarak düşük doz lazer tedavisini kullanmayı amaçladık. Sonuçlara göre diş çekimi yarasının iyileşmesini klinik olarak değerlendirebileceğimiz yüzey epitelinin kapanma miktarı açısından 3. ve 5. haftada lazer grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık olmadığını gözlemledik.

Kaynaklar incelendiğinde, bifosfonata bağlı osteonekroz gelişen hastalardan alınan nekrotik kemik örneklerinde histolojik olarak aktinomiçes izole edildiği belirtilmiştir. Bu nedenle bifosfonat kullanan hastalarda dental işlemlerden önce ve sonra kullanılan antibiyotik tedavisinin osteonekrozu engellemede ne kadar başarılı olduğunu inceleyen çalışmalar yapılmıştır(124,177).

Montefusco ve ark. tarafından yapılan çalışmada retrospektif olarak BRONJ gelişmiş 178 hasta, BRONJ a yol açan dental işlemden önce profilaksi yapılıp yapılmadığına göre 2 grupta incelenmiştir(177). BRONJ a yol açan dental işlemler ise verilen periodontal hasara göre diş çekimi, periodontal cerrahi, preprotetik cerrahi ve implant yerleştirilmesi yüksek riskli işlemler, kanal tedavisi, konservatif tedavi ve sabit protez uygulamaları ise düşük riskli işlemler olarak değerlendirilmiştir. Profilakside amoksisilin ve klavulonik asit kombinasyonu işlemden bir gün başlayıp, 4 gün boyunca, günde iki defa 1g kullanılmıştır. Sonuçlara göre yüksek riskli işlem yapılan 66 hastada profilaksi yapılmayan 29 hastanın 8'inde osteonekroz gelişmiştir. Profilaksi yapılan 37 hastanın ise hiçbirinde osteonekroz oluşmamıştır. Bu gözlemlere dayanarak antibiyotik profilaksisinin osteonekroz gelişimini engellemede koruyucu etkisi olduğu sonucuna varılmıştır. Çalışmada ayrıca uzun süreli bifosfonat

kullanımının (ortalama 20 ay) BRONJ oluşumuna zemin hazırladığı görülmüştür. Proteze bağlı iritasyon gibi minör travmaların oral mukozaya belirgin bir etkisi olmayacağından osteonekroza yol açmadığı düşünülmüştür. Sonuçta bifosfonat kullanan hastalarda dental işlem öncesinde yapılan antibiyotik profilaksisi ve sonrasındaki uygulamanın osteonekroz riskini azalttığı sonucuna varılmıştır.

Jornet ve ark., BRONJ un oluşumunda öncelikli olarak dental işlem ile oluşan travmanın etkili olduğu, sonrasında bölgenin bakteri invazyonuna açılması ile osteonekroz geliştiği teorisine dayanarak deneysel bir model geliştirmişlerdir(124,125). Çalışmada profilaktik antibiyotik uygulamasının etkisini değerlendirmek için sıçanlara multipl myelom hastalarındaki ilaç düzeni taklit edilerek pamidronat ve deksametazon verilmiş, gruplara göre alt veya üst çeneden diş çekimi yapılmış ve 8., 15. ve 21. günlerde sakrifiye edilmiştir. Profilakside antibiyotik olarak benzilpenisilin sodyum 1.000.000 IU diş çekiminden 3 gün önce başlayarak 7 gün boyunca 0,1 ml/kg uygulanmıştır. Histolojik olarak damarlanma, iltihabi infiltrasyon, kemik nekrozu ve mukozanın defekti kapatma miktarı kriterleri değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre pamidronat ve deksametazon verilip diş çekimi yapılan fakat profilaksi yapılmayan grupta %34,6 oranında osteonekroz geliştiği, profilaksi yapılan grupta ise %9,61 oranında osteonekroz geliştiği bildirilmiştir. Osteonekroz gelişen sıçanlarda histolojik olarak damarlanmanın azaldığı, iltihabi infiltrasyonun ise orta ile ciddi derece arasında değiştiği belirtilmiştir.

Çalışmamızda Jornet tarafından yapılan çalışmaya benzer olarak sıçanlara zoledronik asit tedavisi uyguladık, fakat yapılan çalışmalarla kortikosteroidlerin de tek başına osteonekroza yol açabileceği ispatlandığından ilave kortikosteroid kullanmayı düşünmedik. Bu çalışmaya benzer şekilde sıçanlara benzilpenisilin (penisilin G) 1.000.000 IU 7 gün boyunca 0,1 ml/kg uyguladık. Çalışmamızda gruplar histolojik olarak iltihap hücresi miktarı

açısından incelendiğinde 3. haftada antibiyotik ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı, her iki grupta da iltihabın 3 skor derecesinde olduğu, 5. haftada ise istatistiksel olarak anlamlı şekilde kontrol grubunda en fazla (skor 3), antibiyotik grubunda ise daha az (skor 2) iltihap hücresi olduğu görüldü.

Epitelin çekim yüzeyini örtme derecesi açısından bakıldığında 3. haftada kontrol ve lazer grubunda defektin yarıdan daha az oranda kapandığı (skor 1), antibiyotik grubunda ise yarıdan daha fazla kapandığı (skor 2) görüldü. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu. 5. haftada ise gruplar arasında farklılık görülmedi.

Nekrotik kemik alanı gruplar arasında 3. ve 5. haftada istatistiksel olarak anlamlı bulundu. 3. haftada kontrol grubunda en fazla(%9,08), antibiyotik grubunda ise en az (%2,56) nekrotik kemik alanı bulundu. 5. haftada benzer şekilde kontrol grubunda en fazla (%6,32), antibiyotik grubunda en az (%2,25) nekrotik kemik alanı bulundu. Lazer biyostimülasyonunun osteoklast üzerine olumlu etkisine dair net bilgi olmadığından nekrotik kemik alanının lazer gruplarında antibiyotik gruplarına göre daha fazla olmasının normal olduğu düşünüldü. Antibiyotik tedavisi ortamdaki bakteri kolonizasyonunu dolayısıyla iltihap hücresi miktarını azalttığından BRONJ'un mikrobiyolojik kontaminasyon sonucu şiddetlendiği (215) görüşünden yola çıkılarak antibiyotik gruplarında daha az iltihap hücresi bulunması sonucunda daha az nekrotik kemik oluşması anlamlı görüldü. Ayrıca daha az iltihap hücresi bulunması sebebiyle yüzey epitelinin kapatma oranının yani ortam izolasyonunun daha fazla olması sonucu nekrotik kemiğin daha az oluşması anlamlı bulundu.

Yapılan çalışmalarda bifosfonata bağlı gelişen osteonekrozun etyopatogenezinde aktinomiçeslerin rolü olduğu belirtilmiştir(l86,226,253). Biz de çalışmamızda aktinomiçes etkenini araştırmak için hematoksilen eozin (H.E.) ile bakteri kolonizasyonu izlenen preperatları Periodic Acid Schiff (PAS)

boyası ile inceledik. Sonuçlara göre gruplar arasında en fazla kontrol grubunda H.E. ile bakteri kolonizasyonu görüldü. Tüm gruplarda yapılan PAS boyası sonucunda aktinomiçes için spesifik bir görüntü olan ışınsal yayılım görüntüsü izlenmedi.

Bifosfonat grubu ilaç kullanmış veya kullanmakta olan hastalarda serum CTX-1 değerinin ölçümü BRONJ gelişim riskinin değerlendirilmesinde önemli bir kriter olarak kullanılmaktadır.

Fleisher ve ark. tarafından restrospektif olarak yapılan bir klinik çalışmada serum CTX-1 değerinin radyolojik bulgularla birlikte osteonekroz riskinin tahmin edilmesinde ne kadar etkili olduğu araştırılmıştır(93). Çalışmada daha önceden bifosfonat tedavisi görmüş ve dentoalveolar cerrahi işlem yapılmasına ihtiyacı olan veya BRONJ gelişmiş olan 123 hastanın retrospektif olarak röntgen kayıtlarının ve serum CTX-1 sonuçlarının değerlendirilmesi yapılmıştır. Sonuçlara göre BRONJ gelişmiş olan hastaların %88 inde periodontal ligamanda genişleme izlenmiştir. Diş çekimi sonrası BRONJ gelişen hastaların çekim öncesindeki serum CTX-1 değerlerinin düşük olduğu (<150 pg/ml) ve bu sonucun BRONJ riskini tahmin etmede kullanılabilir bir kriter olduğu görüşüne varılmıştır.

Lazarovici ve ark. tarafından yapılan klinik çalışmada bifosfonata bağlı osteonekroz riskini değerlendirmek amacıyla kemik yıkımı için serum CTX-1 ve paratiroid hormon seviyesi değerini, kemik yapımı için ise kemik spesifik alkalen fosfataz değerini ölçmüşlerdir(151). Çalışmaya göre bifosfonat kullanan ve dental işlemin kaçınılmaz olduğu hastalardan 6 saat açlık sonrası kan alınıp serum CTX-1, PTH ve kemik spesifik ALP testleri yapılmıştır. Dental işlem yapıldıktan sonra hastalara 1 hafta boyunca günde 1,5 g lık dozlarda amoksisilin reçete edilmiştir. 78 hastanın tedavisinin yapıldığı bu çalışmada 2 aylık takipten sonra 18 hastada BRONJ(%23) geliştiği bildirilmiştir. Bu hastaların 4'ünün oral, 14'ünün ise intravenöz bifosfonat aldığı belirtilmiştir.

Çalışmanın biyokimyasal sonuçlarına göre BRONJ gelişen hastalarda serum CTX-1 değerinin ortalaması 256 pg/ml iken osteonekroz gelişmeyen hastalarda ortalama 332 pg/ml bulunmuştur. BRONJ gelişimi için risk sınırının 150 pg/ml olduğu göz önünde bulundurulduğunda sonuçlar anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca serum CTX-1 değeri 150 pg/ml nin altında olan 15 hastadan 8'inde BRONJ oluştuğu belirtilmiştir ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kemik spesifik alkalen fosfataz değeri BRONJ gelişenlerde 20,38 pg/ml, gelişmeyenlerde 20,83 pg/ml bulunmuştur. Bu değerler normal ALP değerine göre daha düşüktür. Bulgulara göre 150 pg/ml nin altında serum CTX-1 değerine sahip olan hastaların BRONJ gelişimi açısından risk altında olduğu ve serum CTX-1 değerinin risk değerlendirmesinde önemli bir belirteç olduğu sonucuna varılmıştır. Kemik spesifik ALP değerinin ise yararlı bir belirteç olabileceği fakat daha fazla vaka ile araştırılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

Bagan ve ark. tarafından yapılan bir klinik çalışmada çene kemiklerinde bifosfonata bağlı osteonekroz gelişen 15 hastada ve kontrol amaçlı aynı yaş grubunda ve cinsiyet dağılımında 10 sağlıklı kişide serum CTX-1 seviyeleri ölçülmüştür(22). BRONJ gelişen hastalarda ortalama CTX-1 değeri 294.10±76.27 pg/ml iken sağlıklı kişilerde ortalama 490.56 ± 77.71 pg/ml bulunmuştur. Ayrıca menopoz sonrası dönemdeki kadınlarda ortalama 439 pg/ml, menopoz öncesi kadınlarda ortalama 287 pg/ml ve erkeklerde ortalama 294 pg/ml ölçülmüştür. BRONJ gelişmiş hastalarda serum CTX-1 değeri ile ekspoze kemik alan sayısı ve alanı arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Sonuçlara göre BRONJ gelişen hastalarda serum CTX-1 değerinin düştüğü görülmüştür.

Lehrer ve ark. tarafından yapılan çalışmada BRONJ gelişmiş olan 5 hastada kan değerleri değerlendirilmiştir(154). Sonuçlara göre kemik spesifik alkalen fosfataz değeri ortalaması 10,38±4,18 μg/l bulunmuştur. Bu değerlerin normale göre düşük olduğu gözlenmiştir. Serum CTX-1 seviyesi açısından ortalama değer 402.53±241.34 pg/ml bulunmuştur. Bu değer normal sınırlar

içindedir. Sonuçlara göre BRONJ gelişen hastalarda CTX-1 değerinin değişmediği kemik spesifik ALP değerinin ise düştüğü görülmüştür.

Kwon ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada oral bifosfonat ile tedavi edilen ve çene kemiklerinde bifosfonata bağlı osteonekroz gelişen 18 osteoporoz hastasında serum CTX-1 değerleri ölçülmüştür ve bu değerin ağız içindeki ekspoze kemik odaklarının miktarı ve seviyesi ile ilişkisi incelenmiştir(147). 18 hastanın %72'sinin Marx tarafından oluşturulan serum CTX-1 değerine bağlı risk değerlendirme derecesine göre yüksek ve orta derecedeki risk grubunda olduğu görülmüştür(168). Ayrıca CTX-1 değeri ne kadar düşükse klinik bulguların o derecede daha kötü olduğu belirtilmiştir. Bu da Marx tarafından geliştirilen risk değerlendirme derecesi sınıflamasını destekler niteliktedir.

Conte Neto ve ark. tarafından yapılan çalışmada alendronat verilen ve diş çekimi yapılan ratlarda serum CTX-1 ve kemik spesifik ALP değerleri ölçülmüştür. Alendronat verilen ratlarda kontrol grubuna göre serum CTX-1 ve kemik spesifik ALP değerlerinin 3. ve 28. günde daha düşük olduğu gözlemlenmiştir(63).

Sonuç olarak bifosfonat tedavisi gören hastalarda dental işlemlerden önce serum CTX-1 değerinin ölçülmesinin, riski değerlendirmek amacıyla önemli bir belirteç olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur. Ayrıca BRONJ gelişen hastalarda da serum CTX-1 değerinin düştüğü belirtilmiştir. Kullanılan bifosfonatın tipi ve kullanım süresine göre bu değer değişkenlik göstermektedir. Kemik spesifik alkalen fosfataz değerinin ise BRONJ gelişen hastalarda düştüğü fakat her vakada böyle bir sonuç alınmadığı, BRONJ gelişim riskinin değerlendirilmesinde kullanılabilmesi için daha çok vaka sayılı araştırmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Biz de çalışmamızda zoledronik asit verdiğimiz sıçanlarda ilacın kemik turnover miktarı üzerine etkisini incelemek amacıyla serum CTX-1 ve kemik spesifik ALP değerlerini inceledik. Sağlıklı ratlardan alınan kan örneklerinden

elde edilen ortalama değere göre diş çekimi öncesi ve sakrifikasyon öncesi alınan kan örneklerinden elde edilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı. Kemik spesifik ALP değerinin ise sağlıklı ratların ortalamasına göre tüm gruplarda 3. ve 5. haftada azaldığı, bu azalmanın en fazla antibiyotik grubunda olduğu görüldü. Antibiyotik verilen grupta 5. haftada normal değere göre istatistiksel olarak sınırda anlamlı derecede düşük (p=0,01) düzeyde kemik spesifik ALP seviyesi ölçüldü. Bu bulgu histolojik olarak osteoid madde yapımının 5. haftada antibiyotik grubunda diğer gruplara göre daha az olduğu bulgusu ile paralellik göstermektedir.

Çalışmamızı kısıtlayan en önemli durum ratlardan diş çekimi yaparken üst çenedeki dişlerin 4 köklü ve ince olması nedeniyle bazı köklerin kırılarak içeride kalması ve iyileşmeyi sağlıklı değerlendirmemize engel olmasıydı. Literatürde ratlarda diş çekimi yapılan araştırmalarda eğer kök kırığı oluştuysa o ratın deney dışı bırakıldığı belirtilmiştir(9). Fakat çalışmamızda gruplardaki ratların sayılarının az olması nedeniyle istatistiksel değerlendirmeyi yapabilmek için kök kırığı olan ratları deneyden çıkarmadık. Yaptığımız gözleme göre çekim soketinde kırık kökün varlığının, kökün pozisyonuna göre yüzeye yakınsa defekt kapanmasını engellediği daha derinde ise etkisi olmadığı görülmüştür(Şekil 4-22). Defektin üzerinin mukoza ile kapanmasının kök varlığı nedeniyle gerçekleşmediği deneklerde açık yaraya giren yemek artıklarının da etkisiyle iltihap hücresi miktarının daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Diş kökünün kırılmadığı ratlardaki histoloji sonuçlarına bakarsak; damarlanma değerinin değişmediğini, kontrol grubunda 3. ve 5. haftada iltihabın en fazla olmasından dolayı damarlanmanın da en fazla olduğunu gördük. İltihap hücresi miktarının antibiyotik gruplarında en az, kontrol gruplarında ise en fazla olduğunu tespit ettik. Antibiyotik grubunda

iltihabın az olmasının sebebinin antibiyotiğin ortamdaki mikroorganizmaları azaltması olduğunu, kontrol gruplarındaki artışın ise hem 3. hem de 5. haftada nekrotik kemik alanının en fazla olmasından dolayı olduğunu düşünmekteyiz. Nekrotik kemik alanının önceki sonuçlara paralel olarak antibiyotik grubunda en az olduğu, kontrol grubunda ise en fazla olduğu görüldü. Ayrıca grupların kendi içlerinde 3. ve 5. haftalar karşılaştırıldığında nekrotik kemik alanının tüm gruplarda önemli miktarda azaldığı gözlemlendi. Yeni kemik alanı açısından gruplar incelendiğinde 3. ve 5. haftada lazer gruplarında diğer gruplara göre daha fazla yeni kemik alanı olduğunu görüldü. Bunun sebebinin düşük doz lazerin osteoblastlar üzerine olan pozitif etkisinden dolayı olduğunu düşünmekteyiz. Yine bu sonuca paralel olarak osteoblast sayısının 3. ve 5. haftalarda lazer gruplarında en fazla olduğu görüldü. Ağız mukozasının soket yüzeyini kapatma oranı kontrol gruplarında 3. ve 5. haftada en az görülürken lazer ve antibiyotik gruplarında birbirine yakın olduğu görüldü. Bunun sebebinin kontrol grubunda nekrotik kemik alanının ve iltihabın daha fazla olmasından kaynaklandığı düşünüldü. Osteoklast sayısı açısından gruplar arasında 3. ve 5. haftalarda önemli bir farklılık gözlemlenmedi. Fakat haftalar arasında tüm gruplarda 5. haftada artış şeklinde değişiklik görüldü. Zoledronik asitin osteoklast sayısından ziyade fonksiyonunu etkilediği fikrine varıldı.

6. SONUÇLAR

- Bifosfonat grubu ilaçlar, kemik metabolizmasını etkileyen hastalıkların tedavisindeki yararları ve olumlu özellikleri nedeniyle vazgeçilemez olmalarının yanı sıra beraberinde çene kemiklerinde osteonekroz riskini getirmektedir.

- Bifosfonat tedavisi uygulanacak olan hastaların onkoloğu ve/veya ilgili uzman hekimi BRONJ riskini göz önüne alarak tedavi öncesinde diş hekimi veya oral maksillofasiyal cerrahi uzmanı ile mutlaka konsültasyon yapmalıdır. Bifosfonat kullanımına başlanılmadan önce hastanın tüm dental tedavileri kapsamlı olarak tamamlanmalı, sonradan risk oluşturabilecek durumlar varsa radikal tedavilerin yapılması hedeflenmelidir.

- BRONJ'un gelişiminin engellenmesi ve tedavi edilmesine yönelik klinik çalışmaların çok sayıda olmasına karşın sınırlı sayıda deneysel çalışma mevcuttur. Çalışmamızda zoledronik asitin ratlarda çekim bölgesini olumsuz olarak etkilediğini hatta tedavi uygulanmamış grupta osteonekroza yol açtığını gözlemledik. Elde ettiğimiz bu bilgiler ışığında rat modelinin bifosfonatların çene kemikleri üzerine etkilerinin araştırılmasında uygun bir model olduğu sonucuna vardık.

- Zoledronik asit verilen ratlarda diş çekim bölgelerinde düşük doz lazerin biyostimülan olarak damarlanma miktarını, kollajen lif alanını ve yeni kemik oluşumunu arttırdığını gözlemledik. Ancak bu olumlu sonuçların daha yüksek total doz lazer uygulandığında artış göstermediği sonucuna vardık. Lazerin olumlu etkisinin daha net anlaşılması için daha fazla sayıda denekte, farklı doz ve uygulama süreleri kullanılarak yapılacak çalışmalara ihtiyaç olduğu görüşündeyiz.

- Çalışmamızda antibiyotik uygulamasının ortamdaki bakteri kolonizasyonunu azaltmasına bağlı olarak yumuşak doku iyileşmesinde etkili olduğunu gözlemledik.

- Bulgularımıza göre, bifosfonat grubu ilaçları kullanmış ya da kullanmakta olan hastalarda zorunlu oral cerrahi girişim sonrasında, antibiyotik ve lazerin olumlu etkileri göz önüne alındığında bunların kombine olarak uygulanmasının osteonekroz oluşmaksızın iyileşme sağlayabileceği görüşündeyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Abergel RP, Meeker CA, Lam TS, Dwyer RM, Lesavoy MA, Uitto J. (1984). Control of connective tissue metabolism by laser: Recent developments and future prospects. *Journal of the American Academy of Dermatology, 11,* 1142-50.
2. Abergel, R.P., Lyons, R.F., Castel, J.C., Dwyer, R.M.,Uitto, J. (1987). Biostimulation of wound healing by lasers: experimental approaches in animal models and in fibroblast cultures. *Journal of Dermatologic Surgery and Oncology, 13(2),* 127-33.
3. Abtahi J, Agholme F, Sandberg O, Aspenberg P. (2012). Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw in a rat model arises first after the bone has become exposed. No primary necrosis in unexposed bone. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, *41*, 494–9.
4. Adjemian CB, Lausten L, Ang DB, Johnson M, Katz J, Bonewald LF. (2009). Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw: Model and Diagnosis with Cone Beam Computerized Tomography. *Cells Tissues Organs, 189*, 284–8.
5. Aghaloo TL, Kang B, Sung EC, Shoff M, Ronconi M, Gotcher JE, Bezouglaia O, Dry SM, Tetradis S. (2011). Periodontal disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in the rat. *Journal of Bone and Mineral Research, 8(26).*
6. Agis H, Blei J, Watzek G, Gruber R. (2010). Is zoledronate toxic to human periodontal fibroblasts? *Journal of Dental Research, 89(1),* 40-45.
7. Agrillo A, Petrucci MT, Tedaldi M, Mustazza MC, Marino SMF, Gallucci C, Ianetti G. (2006). New therapeutic protocol in the treatment of avascular necrosis of the jaws. *Journal of Craniofacial Surgery, 17(6),* 1080-3.

8. Agrillo A, Ungari C, Filiaci F, Priore P, Ianetti G. (2007). Ozone therapy in the treatment of avascular bisphosphonate- related jaw osteonecrosis. *Journal of Craniofacial Surgery, 18(5),* 1071-5.
9. Aguirre JI, Altman MK, Vanegas SM, Franz SE, Bassit ACF, Wronski TJ. (2010). Effects of alendronate on bone healing after tooth extraction in rats. *Oral Diseases, 16,* 674–85.
10. Aimbire F, Albertini R, Pacheco MT, Castro-Faria-Neto HC, Leonardo PS, Iversen VV, Lopes-Martins RA, Bjordal JM. (2006). Low-level laser therapy induces dose dependent reduction of TNF alpha levels in acute inflammation. *Photomed Laser Surgery, 24(1),* 33-7.
11. Allen MR. (2007). Animal models of osteonecrosis of the jaw. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions, 7(4),* 358-60.
12. Allen MR, Erickson AM, Wang X, Burr DB, Martin RB, Hazelwood SJ. (2010). Morphological assessment of basic multicellular unit resorption parameters in dogs shows additional mechanisms of bisphosphonate effects on bone. *Calcified Tissue International, 86,* 67-71.
13. Allen MR, Kubek DJ, Burr DB, Ruggiero SL, Chu TMG. (2010). Compromised osseous healing of dental extraction sites in zoledronic acid-treated dogs. *Osteoporosis International, 22(2),* 693-702.
14. Almeida-Lopes L, Rigau J, Zângaro RA, Guidugli-Neto J, Jaeger MM. (2001). Comparison of the low level laser therapy effects on cultured human gingival fibroblasts proliferation using different irradiance and same fluence. *Lasers in Surgery and Medicine, 29(2),* 179-84.
15. Altundal H. (1999). Alendronatın dis çekimi sonrası processus alveolariste olusan rezorbsiyona etkisi. Marmara Üniversitesi, Saglık Bilimleri Enstitüsü Agız Dis Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD Doktora Tezi.

16. Altundal H, Güvener O. (2004). The effect of alendronate on resorption of the alveolar bone following tooth extraction. *International Journal of Oral Maxillofacial Surgery, 33,* 286–93.
17. Aparicio A, Gardner A, Tu Y, Savage A, Berenson J, Lichtenstein A. (1998). In vitro cytoreductive effects on multiple myeloma cells induced by bisphosphonates. *Leukemia, 12,* 220-9.
18. Archer WH. (1985). *Oral and maxillofacial surgery.* Philadelphia: W.B. Saunders Publishing.
19. Arı, H. (2002). Miyofasiyal ağrı sendromunda laser ve tetik nokta enjeksiyonunun karşılaştırılması. GATA, Ankara.
20. Arndt, K.A, Noe, J.M, Northam, D.B.C, Itzkan, I. (1981). Laser Therapy. *Journal of the American Academy of Dermatology,* 5(6), 649-54.
21. Ashcroft AJ, Davies FE, Morgan GJ. (2003). Aetiology of bone disease and the role of bisphosphonates in multiple myeloma. *Lancet Oncology, 4(5),* 284-92.
22. Bagan JV, Jimenez Y, Gomez D, Sirera R, Poveda R, Scully C. (2008). Collagen telopeptide (serum CTX) and its relationship with the size and number of lesions in osteonecrosis of the jaws in cancer patients on intravenous bisphosphonates. *Oral Oncology, 44,* 1088-9.
23. Bamias A, Kastritis E, Bamia C, Moulopoulos LA, Melakopoulos I, Bozas G, Koutsoukou V, Gika D,Anagnostopoulos A, Papadimitriou C,Terpos E, Dimopoulos MA. (2005). Osteonecrosis of the Jaw in Cancer After Treatment With Bisphosphonates: Incidence and Risk Factors. *Journal of Clinical Oncology, 23,* 8580-7.
24. Bartl R,Frisch B,Tresckow E, Bartl C. (2007). *Bisphosphonates in Medical Practice. Actions–Side Effects–Indications–Strategies.* Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.

25. Basford JR. (1986). Low-energy laser treatment of pain and wounds: Hype, hope, or hokum? *Mayo Clinic Proceedings, 61(8),* 671-5.
26. Basford JR. (1995). Low intensity laser therapy, still not an established clinical tool. *Lasers in Surgery and Medicine, 16,* 331-42.
27. Basi DL, Hughes PJ, Math VT, Sabino M, Mariash A, Lunos SA, Jensen E, Gopalakrishnan R. (2011). Matrix metalloproteinase-9 expression in alveolar extraction sockets of zoledronic acid-treated rats. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 69,* 2698-707.
28. Başgöze ,O., Kutsal ,Y,G, Utku .T., Narman ,S. (1985).Diz ortoartritinde yeni bir tedavi yöntemi: Lazer. *Fizyoterapi Rehabilitasyon, 4(6),* 601-7.
29. Bauss F, Pfister T, Papapoulos S. (2008). Ibandronate uptake in the jaw is similar to long bones and vertebrae in the rat. *Journal of Bone Mineral Metabolism, 26,* 406–8.
30. Bayram H, Kenar H,Taşar F, Hasırcı V. (2013). Effect of low level laser therapy and zoledronate on the viability and ALP activity of Saos-2 cells. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 42,* 140–6.
31. Benford HL, McGowan NW, Helfrich MH, Nuttall ME, Rogers MJ. (2001). Visualization of bisphosphonate induced caspase-3 activity in apoptotic osteoclasts in vitro. *Bone, 28,* 465–73.
32. Beninati F, Pruneti R, Ficarra G. (2013). Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws (Bronj). *Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal, 18(5),* 752-8.
33. Biasotto M, Chiandussi S, Zacchigna S, Moimas S, Dore F, Pozzato G, Cavalli F, Zanconati F, Contardo L, Giacca M, Di Lenarda R. (2010). A novel animal model to study non-spontaneous bisphosphonates osteonecrosis of jaw. *Journal of Oral Pathology and Medicine, 39,* 390–6.
34. Bilezikian JP. Raisz LG. Rodan GA. (1996). Principles of bone biology. *San Diego: Academic Press*, *3*, 30-2.

35. Bilezikian JP. (2006). Osteonecrosis of the Jaw — Do Bisphosphonates Pose a Risk? *The New England Journal of Medicine, 355,* 22. Bilezikian JP, Lawrence GR, Martin TJ. (2008). *Principles of bone biology. 3rd ed.* Elsevier Inc. Vol:1
36. Bilezikian JP, Lawrence GR, Martin TJ. (2008). *Principles of bone biology. 3rd ed.* Elsevier Inc. Vol:1
37. Bir Y. (1994). Diş hekimliğinde lazer. *Ege Üniversitesi Diş hekimliği Fakültesi Dergisi*, 95-100.
38. Bisdas S, Pinho NC, Smolarz A, Sader R, Vogl TJ, Mack MG. (2008). Biphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: CT and MRI spectrum of findings in 32 patients. *Clinical Radiology, 63*, 71-7.
39. Bisht, D., Mehrotra, R., Singh, P.A., Atri, S.C.,Kumar, A. (1999). Effect of helium-neon laser on wound healing. *Indian Journal of Experimental Biology*, *37(2),* 187-9.
40. Bloom W, Fawcett DW. (1975). *A textbook of histology. 10th ed.* Philadelphia: W.B. Saunders.
41. Boissier S, Ferreras M, Peyruchaud O, Magnetto S, Ebetino FH, Colombel M. (2000). Bisphosphonates inhibit breast and prostate carcinoma cell invasion, an early event in the formation of bone metastases. *Cancer Research, 60,* 2949-54.
42. Bonacina R, Mariani U, Villa F, Villa A. (2010). Preventive Strategies and Clinical Implications for Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw: A Review of 282 Patients. *Journal of the Canadian Dental Association, 77*, 147.
43. Bradley PF. (1997). A review of the use neodymium YAG laser in oral and maxillofacial surgery. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 35*, 26-35.

44. Brinkerhoff Z. (1998). World association for laser therapy. A Report on the Second Congress of WALT.
45. Brozoski MA, Traina AA, Deboni MC, Marques MM, Naclério-Homem Mda G. (2012). Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *The Brasilian Journal of Reumatology, 52(2),* 265-70.
46. Burns T, Wilson M , Pearson GJ. (1992). Laser induced killing of photosensitized cariogenic bacteria. *Journal of Dental Research, 71*, 675.
47. Cardaropoli G, Araujo M, Lindhe J. (2003). Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites: An experimental study in dogs. *Journal of Clinical Periodontology, 30,* 809-18.
48. Cardaropoli G, Araujo M, Hayacibara R, Sukekava F, Lindhe J. (2005). Healing of extraction sockets and surgically produced – augmented and non-augmented – defects in the alveolar ridge. An experimental study in the dog. *Journal of Clinical Periodontology, 32*, 435–40.
49. Carranza FA, N.M. (1996). *Clinical periodontology*. 8th ed. Philadelphia: W.B. Saunders.
50. Cartsos VM, Zhu S, Zavras AI. (2008). Bisphosphonate use and the risk of adverse jaw outcomes: a medical claims study of 714,217 people. *The Journal of American Dental Association, 139(1),* 23-30.
51. Carvalho Pde T, Silva IS, Reis FA, Belchior AC, Facco GG, Guimarães RN, Fernandes GH, Denadai AS. (2006). Effect of 650 nm low-power laser on bone morphogenetic protein in bone defects induced in rat femors. *Acta Cirurgica Brasileira, 21(4),* 63-8.
52. Carvalho, R.L., Alcantara, P.S., Kamamoto, F., Cressoni, M.D.,Casarotto, R.A. (2010). Effects of low-level laser therapy on pain and scar formation after inguinal herniation surgery: a randomized controlled single-blind study. *Photomed Laser Surgery, 28(3),* 417-22.

53. Catone GA. Alling III CC. (1997). *Laser applications in oral and maxillofacial surgery: Introduction.* Philadelphia: WB Saunders.

54. Cella L, Oppici A, Arbasi MC, Moretto M, Piepoli M, Vallisa D, Zangrandi A, Di Nunzio C, Cavanna L. (2011). Autologous bone marrow stem cell intralesional transplantation repairing bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw. *Head & Face Medicine, 7,* 16.

55. Cerqueira A, Silveira RL, Oliveira MG, Sant'ana Filho M, Heitz C. (2007). Bone tissue microscopic findings related to the use of diode laser (830ηm) in ovine mandible submitted to distraction osteogenesis. *Acta Cirurgica Brasileira, 22(2),* 92-7.

56. Chiandussi S, Biasotto M, Dore F, Cavalli F, Cova MA, Di Lenarda R. (2005). Clinical and diagnostic imaging of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws. *Dentomaxillofacial Radiology, 35,* 236-43.

57. Christodoulou C, Pervena A, Klouvas G, Galani E, Falagas ME, Tsakalos GA, Nikolakopoulou VA, Acholos V, Karapanagiotidis G, Batziou E, Skarlos DV. (2009). Combination of bisphosphonates and antiangiogenic factors induces osteonecrosis of the jaw more frequently than bisphosphonates alone. *Oncology, 76,* 209–11.

58. Cizmeci Senel F, Kadıoglu Duman M, Efnan Muci E, Cankaya M, Pampu AA, Ersoz S,Gunhan O. (2010). Jaw bone changes in rats after treatment with zoledronate and pamidronate. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics, 109,* 385-91.

59. Clayman L, Kuo P. (1997). *Lasers in maxillofacial surgery and dentistry.* New York: Theme.

60. Clezardin P, Benzaid I, Croucher PI. (2011). Bisphosphonates in preclinical bone oncology. *Bone, 49(1),* 66-70.

61. Clezardin P. (2012). Potential anticancer properties of bisphosphonates: insights from preclinical studies. *Anticancer Agents in Medicinal Chemistry, 12(2),* 102-13.
62. Coluzzi DJ. (2004). Fundamentals of dental lasers: Science and instruments. *Dental Clinics of North America, 48(4),* 751-70.
63. Conte Neto N, Spolidorio LC, Andrade CR, Bastos AS,Guimara M, Marcantonio E. (2013). Experimental development of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in rodents. *International Journal of Experimental Pathology, 94,* 65–73.
64. Convissar RA, (2004). The biologic rationale for the use of lasers in dentistry. *Dental Clinics of North America*, *48(4),* 771-94.
65. Coxon FP, Helfrich MH, Van't Hof R, Sebti S, Ralston SH, Hamilton A, Rogers MJ. (2000). Protein geranylgeranylation is required for osteoclast formation, function, and survival: Inhibition by bisphosphonates and GGTI-298. *Journal of Bone Mineral Research, 15,* 1467–76.
66. Cremers S, Papapoulos S. (2011). Pharmacology of bisphosphonates. *Bone, 49(1),* 42-9.
67. Cryer R, Bauer DC. (2002). Oral bisphosphonates and upper gastrointestinal tract problems: What is the evidence? *Mayo Clinic Proceedings, 77,* 1032-43.
68. Curi MM, Cossolin GS, Koga DH, Zardetto C, Christianini S, Feher O, Cardoso CL, dos Santos MO. (2011). Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws—an initial case series report of treatment combining partial bone resection and autologous platelet-rich plasma. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 69(9),* 2465-72.
69. Daniell MD, Hill JS. (1991). A history of photodynamic therapy. *Australian and New Zealand Journal of Surgery, 61(5),* 340-8.

70. Dayisoylu EH, Şenel FC, Üngör C, Tosun E, Çankaya M, Ersöz S, Taşkesen F. (2013). The effects of adjunctive parathyroid hormone injection on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: an animal study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.*
71. Dederich DN. (1993). Laser tissue interaction, what happens to laser light when it strikes tissue? *Journal of American Dental Assoc*iation, *124,* 57-61.
72. Deschaseaux F, Sensebe L, Heymann D. (2009). Mechanisms of bone repair and Regeneration. *Trends in Molecular Medicine 15(9).*
73. De Souza, T.O., Martins, M.A., Bussadori, S.K., Fernandes, K.P., Tanji, E.Y., Mesquita-Ferrari, R.A. (2010). Clinical evaluation of low level laser treatment for recurring aphthous stomatitis. *Photomed Laser Surgery*, *28(2),* 85-8.
74. Devlin H, Hoyland J, Newall JF, Ayad S. (1997). Trabecular bone formation in the healing of the rodent molar tooth extraction socket. *Journal of Bone and Mineral Research 12(12).*
75. Devlin H. (2000). Early bone healing events following rat molar tooth extraction. *Cells Tissues Organs, 167,* 33-7.
76. Diel IJ, Fogelman I, Al-Nawas B, Hoffmeister B , Migliorati C , Gligorov J, Pecherstorfer M, Aapro MS. (2007). 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, 64,* 198–207.
77. Dimopoulos MA, Kastritis E, Bamia C, Melakopoulos I, Gika D, Roussou M, Migkou M, Papaiakovou EE, Christoulas D, Terpos E, Bamias A. (2009). Reduction of osteonecrosis of the jaw (ONJ) after implementation of preventive measures in patients with multiple myeloma treated with zoledronic acid. *Annals of Oncology, 20,* 117–20.

78. Diniz JS, Nicolau RA, Ocarino N. (2009). Sera effect of low-power gallium-aluminum-arsenium laser therapy (830 nm) in combination with bisphosphonate treatment on osteopenic bone structure: an experimental animal study. *Lasers in Medical Science, 24,* 347-52.
79. Dixon RB, Tricker ND, Garetto LP. (1997). Bone turnover in elderly canine mandible and tibia. *Journal of Dental Research, 76,* 336.
80. Dörtbudak O, Haas R, Mallath-Pokorny G. (2000). Biostimulation of bone marrow cells with a diode soft laser. *Clinical Oral Implants Research, 11(6),* 540-5.
81. Drake MT, Clarke BL, Khosla S. (2008). Bisphosphonates: Mechanism of action and role in clinical practice. *Mayo Clinic Proceedings, 83(9),* 1032-45.
82. Dunford JE, Thompson K, Coxon FP, Luckman SP, Hahn FM, Poulter CD, Ebetino FH, Rogers MJ. (2001). Structure-activity relationships for inhibition of farnesyl disphosphate synthase in vitro and inhibition of bone resorption in vivo by nitrogen-containing bisphosphonates. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 296,* 235–42.
83. Einstein A. (1917). On the quantum theory of radiation. *Physika Zeitschrift, 18,* 121-8.
84. Eldeniz AU, Ozer F, Hadimli HH, Erganis O. (2007). Bactericidal efficacy of Er, Cr:YSGG laser irradiation against Enterococcus faecalis compared with NaOCl irrigation: An ex vivo pilot study. *International Endodontic Journal,* 40(2), 112-9.
85. El-salem K, Ababneh B,Rudnıckı S, Malkawı A, Alrefaı A, Khader Y, Saadeh R, Saydam M. (2011). Prevalence and risk factors of muscle complıcatıons secondary to statıns muscle nerve. *Muscle Nerve, 44(6),* 877–881.
86. El Sayed, S.O.,Dyson, M. (1990). Comparison of the effect of multiwavelength light produced by a cluster of semiconductor diodes

and of each individual diode on mast cell number and degranulation in intact and injured skin. *Lasers in Surgery and Medicine*, *10(6),* 559-68.

87. England, S. (1988). İntroduction to Mid Laser Therapy. *Physiotherpy, 74(3),* 100-2.
88. Erdem MA, Cankaya AB, Isler SC, Demircan S, Soluk M, Kasapoglu C, Oral CK. Extraction socket healing in rats treated with bisphosphonate: Animal model for bisphosphonate related osteonecrosis of jaws in multiple myeloma patients. *Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal, 16(7),* 879-83.
89. Evans CE, Braidman IP. (1994). Effects of two novel bisphosphonates on bone cells, in vitro. *Journal of Bone and Mineral Research, 26,* 95-107.
90. Fleisch H. (1993). Biphosphonates in osteoporosis. An introduction. *Osteoporosis International, 3,* 3-5.
91. Fleisch H. (1998). Bisphosphonates: Mechanisms of action. *Endocrine Reviews, 19(1),* 80-100.
92. Fleisch H. (2000). *Bisphosphonates in bone disease-from the laboratory to the patient.* USA, Academic Pres, 27-51, 123-52, 168-75.
93. Fleisher KE, Welch G, KOttal S, Craig RG, Saxena D, Glickman RS. (2010). Predicting risk for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: CTX versus radiographic markers. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics, 4*, 110.
94. Fonseca RJ, Walker RV. (1991). *Oral and maxillofacial trauma. V.1,* Philadelphia: W.B.Saunders.
95. Freiberger JJ, Padilla-Burgos R, Chhoeu AH, Kraft KH, Boneta O, Moon RE, Piantadosi CA. (2007). Hyperbaric oxygen treatment and bisphosphonate induced osteonecrosis of the jaw: A case series. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 65(7),* 1321-7.

96. Freiberger JJ. (2009). Utility of hyperbaric oxygen in treatment of bisphosphonaterelated osteonecrosis of the jaws. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 67(5 Suppl),* 96-106.

97. Gallego L, Junquera L. (2009). Consequence of therapy discontinuation in bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 47,* 67–8.

98. Garnero P, Delmas P. (2000). Biochemical markers of bone turnover. *Osteoporosis International, 6,* 2-17.

99. Gehron-Robey P, Boskey AL. *The biochemistry of bone in osteoporosis.* Academic Press.

100. Genovese, M.D, Olivi, G. (2010). Use of laser technology in orthodontics: Hard and soft tissue laser treatments. *European Journal of Paediatric Dentistry, 11(1),* 44-8.

101. Gnant M, Clézardin P. (2012). Direct and indirect anticancer activity of bisphosphonates: A brief review of published literature. *Cancer Treatment Reviews, 38(5),* 407-15.

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

103. Gorjestani M, Demaut l, Thierens H. (1994). Infrared laser and bone metabolism: A pilot study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 23,* 54-6.

104. Green JR. (2001). Chemical and biological prerequisites for novel bisphosphonate molecules: Results of comparative preclinical studies. *Seminars in Oncology, 28(6),* 4–10.

105. Green JR. (2004). Bisphosphonates: Preclinical Review. *The Oncologist, 9(4),* 3-13.

106. Guarda MG, Paraguassu GM, Cerqueira NS, Cury PR, Farias JG, Ramalho LMD. (2012). Laser GaAlAs (860 nm) photobiomodulation for

the treatment of bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. *Photomedicine and Laser Surgery, 5(30).*

107. Guyton AC, Hall JE. (2007). *Tıbbi fizyoloji.* Nobel Tıp Kitabevleri

108. Hansen T, Kunkel M, Weber A,Kirkpatrick CJ. (2006). Osteonecrosis of the jaws in patients treated with bisphosphonates – histomorphologic analysis in comparison with infected osteoradionecrosis. *Journal of Oral Pathology and Medicine, 35*, 155–60.

109. Hansen T, Kunkel M, Springer E, Walter C, Weber A, Siegel E, Kirkpatrick CJ. (2007). Actinomycosis of the jaws—histopathological study of 45 patients shows significant involvement in bisphosphonate-associated osteonecrosis and infected osteoradionecrosis. *Virchows Arch, 451,* 1009–17.

110. Harper RP, Fung E. (2007). Resolution of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the mandible: possible application for intermittent low-dose parathyroid hormone [rhPTH(1-34)]. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 65(3),* 573-80.

111. Haspolat K, Söker M. (2002). Kemiğe ait biyokimyasal değerler ve onkoloji. *Dicle Tıp Dergisi, 29(3).*

112. Hellstein JW, Adler RA, Edwards B, Jacobsen PL, Kalmar JR, Koka S, Migliorati CA, Ristic H. (2011). Managing the care of patients receiving antiresorptive therapy for prevention and treatment of osteoporosis: Executive summary of recommendations from the American Dental Association Council on Scientific Affairs Expert Panel on Antiresorptive Agents. *Journal of American Dental Association, 142(11),* 1243-51.

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

114. Hiraga T, Ninomiya T, Hosoya A, Nakamura H. (2010). Administration of the bisphosphonate zoledronic acid during tooth development inhibits tooth eruption and formation and induces dental abnormalities in rats. *Calcif Tissue International, 86,* 502–10.

115. Hoff AO, Toth BB, Altundag K, Johnson MM, Warneke CL, Hu M, Nooka A, Sayegh G, Guarneri V, Desrouleaux K, Cui J, Adamus A, Gagel RF, Hortobagyi GN. (2008). Frequency and risk factors associated with osteonecrosis of the jaw in cancer patients treated with intravenous bisphosphonates. *Journal of Bone and Mineral Research, 23(6),* 826-36.

116. Hokugo A,Christensen R, Chung EM, Sung EC, Felsenfeld AL, Sayre JW, Garrett N, Adams JS, Nishimura I. (2010). Increased prevalence of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with vitamin D deficiency in rats. *Journal of Bone and Mineral Research, 6(25).*

117. Hollinger JO, Einhorn TA, Doll BA. (2004). *Bone tissue engineering.* CRC Press.

118. Huertas RM, Bertos EL, Torrecillas JR, Leyva FM, Ruiz C,Martínez OG. (2013). Effect and clinical implications of the low-energy diode laser on bone cell proliferation. *Biological Research for Nursing.*

119. Hughes DE, MacDonald BR, Russell RGG, Gowen M. (1989). Inhibition of osteoclast-like cell formation by bisphosphonates in long-term cultures of human bone marrow. *The Journal of Clinical Investigation, 83.*

120. Huja SS, Mason A, Fenell CE, Hueni S, D'Atri, Fernandez SA. (2011). Effects of short-term zoledronic acid treatment on bone remodeling and healing at surgical sites in the maxilla and mandible of aged dogs. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 69,* 418-27.

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

122. Jensen OT. (2008). *The sinus bone graft.* Quintessence Publishing Inc.

123. Joerring S, Krogsgaard M, Wilbek H, Jensen LT. (1994). Collagen turnover after tibial fractures. Arch Orthop Trauma Surg, 113(6), 334-6.

124. Jornet PL, Alonso FC, Minano FM, Garcıa FG, Ortega VV. (2010). An experimental study of bisphosphonate-induced jaws osteonecrosis in Sprague–Dawley rats. *Journal of Oral Pathology and Medicine, 39*, 697–702.

125. Jornet PL, Alonso FC, Canovas AM, Minano FM, Garcia FG, Ortega VV. (2011). Perioperative antibiotic regimen in rats treated with pamidronate plus dexamethasone and subjected to dental extraction: A study of the changes in the jaws. *Journal of Oral and Maxilloafacial Surgery, 69(10),* 2488-93.

126. Jung RE, Glauser R, Schaner P, Hammerle CH, Sailer HF, Weber FE. (2003). Effect of RHBMP-2 on guided bone regeneration in humans. Clin Oral Implants Res, 14(5), 556-68.

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

128. Kadler KE, Holmes DF. (1996). Collagen fibril formation. *Biochemistry, 316*, 1-11.

129. Kahn, J.(Ed). (1987). *Principles and Practice of Electrotherap.,* F.Ed.U.S.A.: Churchill Livingstones Inc.Ss, 50-67, 107-52.

130. Kalfas IH. (2001). Principles of bone healing. Neurosurgery Focus, 15, 10(4).

131. Kan, B., Altay, M.A., Tasar, F., Akova, M. (2010). Low-level laser therapy supported teeth extractions of two patients receiving IV zolendronate. *Lasers in Medical Science*, *26(5)*, 569-75.

132. Kan B, Altay MA, Taşar F, Akova M. (2011). Low-level laser therapy supported teeth extractions of two patients receiving IV zolendronate. *Journal of Lasers in Medical Science, 26*, 569–75.

133. Kana S., Hutschenreiter G.,Haina D.,Waidelich W. (1981). Effect of low power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats. *Archives of Surgery, 116*, 293-6.

134. Kanakis I, Kousidou OCh, Karamanos NK. (2005). In vitro and in vivo antiresorptive effects of bisphosphonates in metastatic bone disease. *In Vivo, 19(1),* 311-8.

135. Karu, T. (1989). Photobiology of low-power laser effects. *Health Physics*, *56(5),* 691-704.

136. Khadra, M., Ronald, H.J., Lyngstadaas, S.P., Ellingsten, J.E., Haanes, H.R. (2004). Low-level laser therapy stimulates bone-implant interaction: An experimental study in rabbits. *Clinical Oral Implants Research, 15*, 325–32.

137. Khosla S, Burr D, Cauley J, Dempster DW, Ebeling PR, Felsenberg D, Gagel RF, Gilsanz V, Guise T, Koka S, McCauley LK, McGowan J, McKee MD, Mohla S, Pendrys DG, Raisz LG, Ruggiero SL, Shafer DM, Shum L, Silverman SL, Van Poznak CH, Watts N, Woo SB, Shane E. (2007). Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: Report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. *Journal of Bone and Mineral Research, 22(10),* 1479-91.

138. Kılıçoğlu SS. (2002). Mikroskobi düzeyinde kırık iyileşmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, 2*, 143-50.

139. Kimmel DB. (2007). Mechanism of action, pharmacokinetic and pharmacodynamic profile, and clinical applications of nitrogen-containing bisphosphonates. *Journal of Dental Research, 86(11),* 1022-33.

140. Kobayashi Y, Hiraga T, Ueda A, Wang L, Nakano MM, Hata K, Yatani H, Yoneda T. (2010). Zoledronic acid delays wound healing of the tooth extraction socket, inhibits oral epithelial cell migration, and promotes proliferation and adhesion to hydroxyapatite of oral bacteria, without causing osteonecrosis of the jaw, in mice. *Journal of Bone and Mineral Metabolism, 28,* 165–75.

141. Korany NS, Mehanni SS, Hakam HM, El,Maghraby EMF. (2012). Evaluation of socket healing in irradiated rats after diode laser exposure (Histological and morphometric studies). *Archives of Oral Biology, 57(7),* 884-91.

142. Korpal M, Yan J, Lu X, Xu S, Lerit DA, Kang Y. (2009). Imaging transforming growth factor-beta signaling dynamics and therapeutic response in breast cancer bone metastasis. *Nature Medicine, 15(8),* 960-6.

143. Kreisler, M.B., Haj, H.A., Noroozi, N.,Willershausen, B. (2004). Efficacy of low level laser therapy in reducing postoperative pain after endodontic surgery: A randomized double blind clinical study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, *33(1),* 38-41.

144. Kroy W. The Application of lasers in medicine booklet, 1-15.

145. Kumar SKS, Gorur A, Schaudinn C, Shuler CF, Costerton JW, Sedghizadeh PP. (2010). The role of microbial biofilms in osteonecrosis of the jaw associated with bisphosphonate therapy. *Current Osteoporosis Reports, 8,* 40-8.

146. Kutsal YG. (2004). *Osteoporozda Kemik Kalitesi.* Ankara, Güneş Kitabevi, 331-54.

147. Kwon YD, Kim DY, Ohe JY, Yoo JY, Walter C. (2009). Correlation between serum C-Terminal cross-linking telopeptide of type I collagen and staging of oral bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 67, 2644-8.

148. Kyrigidis A, Triaridis S, Antoniades K. (2009). Effects of bisphosphonates on keratinocytes and fibroblasts having a role in the development of osteonecrosis of the jaw. *Bioscience Hypotheses, 2,* 153-9.

149. Landesberg R, Cozin M, Cremers S, Woo V, Kousteni S, Sinha S, Garrett-Sinha L, Raghavan S. (2008). Inhibition of oral mucosal cell wound healing by bisphosphonates. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 66(5),* 839-47.

150. Lavelle LBC. (1975). *Applied physiology of the mouth.* Bristol: John Wright and Sons Lımıted.

151. Lazarovici TS, Gross SM, Vered I, Pariente C, Kanety H, Givol N, Yahalom R, Taicher S, Yarom N. (2010). Serologic bone markers for predicting development of osteonecrosis of the jaw in patients receiving bisphosphonates. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 68,* 2241-7.

152. Lee CYS, Suzuki JB. (2010). CTX biochemical marker of bone metabolism. Is it a reliable predictor of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws after surgery? Part II: A prospective clinical study. *Implant Dentistry, 19(1),* 29-38.

153. Lee JJ, Cheng SJ, Jeng JH, Chiang CP, Lau HP, Kok SH. (2010). Successfull treatment of advanced bisphosphonate-related osteonecrosis of the mandible with adjunctive teriparatide therapy. *Head and Neck, 33(9),* 1366-71.

154. Lehrer S, Montazem A, Ramanathan L, Pessin-Minsley M, Pfail J, Stock RG, Kogan R. (2008). Normal serum bone markers in

bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics, 106,* 389-91.

155. Lehrer S, Montazem A, Ramanathan L, Pessin-Minsley M, Pfail J, Stock RG, Kogan R. (2009). Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws, bone markers, and a hypothesized candidate gene. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 67,* 159-61.

156. Lewis C,Kuo P. (1997). *Lasers in maxillofacial surgery and dentistry.* New York: Thieme, 12-68.

157. **Li EC, Davis LE. (2003).** Zoledronic acid: a new parenteral bisphosphonate. *Clinical Therapeutics, 25(11),* 2669-708.

158. Lin WL, McCulloch C, Cho M. (1994). Differentiation of periodontal ligament fibroblasts into osteoblasts during socket healing after tooth extraction in the rat. *The Anatomical Record, 240,* 492-506.

159. Luckman SP, Coxon FP, Ebetino FH, Russell RGG, Rogers MJ. (1998). Heterocycle-containing bisphosphonates cause apoptosis and inhibit bone resorption by preventing protein prenylation: Evidence from structure–activity relationships in J774 macrophages. *Journal of Bone and Mineral Research, 11(13).*

160. Luomanen M, Alaluusua S. (2012). Treatment of bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws with Nd: YAG laser biostimulation. *Journal of Lasers in Medical Science, 27(1),* 251-5.

161. Maahs MP, Azambuja AA, Campos MM, Salum FG, Cherubini K. (2011). Association between bisphosphonates and jaw osteonecrosis: A study in Wistar rats. *Head and Neck, 33,* 199–207.

162. Magopoulos C, Karakinaris G, Telioudis Z, Vahtsevanos K, Dimitrakopoulos I, Antoniadis K, Delaroudis S. (2007). Osteonecrosis of the jaws due to bisphosphonate use: A review of 60 cases and treatment

proposals. *American Journal of Otolaryngology- Head and Neck Medicine and Surgery, 28*, 158-63.

163. Maiman TH. (1960). Stimulated optical radiation by ruby. *Nature, 187*, 493-4.

164. Manni JG. (2004). *Dental applications of advanced lasers.* Jgm Associates Inc.

165. Mariotti A. (2008). Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws. *Journal of Dental Education, 72(8),* 919-29.

166. Martins MAT, Martins MD, Lascala CA, Curi MM, Migliorati CA, Tenis CA , Marques MM. (2011). Association of laser phototherapy with PRP improves healing of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in cancer patients: A preliminary study. *Oral Oncology, 48(1),* 79-84.

167. Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. (2005). Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: Risk factors, recognition, prevention and treatment. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 63,* 1567–75.

168. Marx RE, Cillo JE Jr, Ulloa JJ. (2007). Oral bisphosphonate-induced osteonecrosis: Risk factors, prediction of risk using serum CTX testing, prevention, and treatment. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 65(12),* 2397-410.

169. McLean F, Ulrist MR. (1963). Recent advences in physiology of bone. J Bone Joint Surg Am, 45, 1305-13.

170. Merli LA, Santos MT, Genovese WJ, Faloppa F. (2005). Effect of low-intensity laser irradiation on the process of bone repair. *Photomed Laser Surgery, 23(2),* 212-5.

171. Mert G. (1986). Lazer ışını özellikleri ve uygulama sahaları. *Fizyoterapi-Rehabilitasyon, 5(1)*, 47-52.

172. Mester E, Mester AF, Mester A. (1985). The biomedical effects of laser application. *Lasers in Surgery and Medicine*, *5(1),* 31-9.

173. Meyer U, Wiesmann HP. (2006). *Bone and cartilage engineering.* Germany: Springer.

174. Migliorati CA, Siegel MA, Elting LS. (2006). Bisphosphonate-associated osteonecrosis: a long-term complication of bisphosphonate treatment. *Lancet Oncology, 7,* 508–14.

175. Miloro M, Repasky M. (2000). Low-level laser effect on neurosensory recovery after sagittal ramus osteotomy. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics, 89(1),* 12-8.

176. Miserendino LJ, Neiburger EJ, Pick RM. (1987). Current status of lasers in dentistry. *Ill Dentistry Journal*, *56(4),* 254-7.

177. Montefusco V, Gay F, Spina F, Miceli R, Maniezzo M, Ambrosini MT, Farina L, Piva S, Palumbo A, Boccadoro M, Corradını P. (2008). Antibiotic prophylaxis before dental procedures may reduce the incidence of osteonecrosis of the jaws in patients with multiple myeloma treated with bisphosphonates. *Leukemia and Lymphoma, 49(11),* 2156-62.

178. Moritz A. (2006). *Oral laser application.* Quintessence Publishing

179. Mundy GR. (1999). Bisphosphonates as anticancer drugs. *Expert Opinion on Investigational Drugs, 8(12),* 2009-15.

180. Myers, M.D., Myers, E.D., Stone, R.M. (1989). First soft tissue study utilizing a pulsed Nd:YAG dental laser. *Northwest Dent, 68,* 14–7.

181. Myers TD. (1991). Lasers in dentistry. *Journal of American Dental Association, 122(1),* 46-50.

182. Myers TD.(2000). The future of lasers in dentistry. Dental Clinics of North America, 44(1), 971-80.

183. Nanci A. (2003). *Ten Cate's oral histology. Development, structure and function. 6th ed.* USA: Mosby.

184. Neiburger, E.J. (1995). The effect of low-power lasers on intraoral wound healing. *New York State Dental Journal*, *61(3),* 40-3.

185. Neiburger, E.J. (1999). Rapid healing of gingival incisions by the heliumneon diode laser. *Journal of Massachusetts Dental Society*, *48(1),* 8-13, 40.

186. Naik NH, Russo TA. (2009). Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: The role of actinomyces. *Clinical Infectious Diseases*, *49(11),* 1729-32.

187. Nissan J, Assif D, Gross MD, Yaffe A, Binderman I. (2006). Effect of low intensity laser irradiation on surgically created bony defects in rats. *Journal of Oral Rehabilitation*, *33*, 619–24.

188. Nocini PF, Saia G, Bettini G, Ragazzo M, Blandamura S, Chiarini L, Bedogni A. (2009). Vascularized fibula flap reconstruction of the mandible in bisphosphonate-related osteonecrosis. *The Journal of Cancer Surgery*, *35*, 373-9.

189. Okamoto T, de Russo MC. (1973). Wound healing following tooth extraction. *Revista da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, 2(2),* 153-69.

190. Otto S, Pautke C, Opelz C, Westphal I, Drosse I, Schwager J, Bauss F, Ehrenfeld M, Schieker M. (2010). Osteonecrosis of the jaw: Effect of bisphosphonate type, local concentration and acidic milieu on the pathomechanism. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 68,* 2837-45.

191. Otto S, Schreyer C, Hafner S, Mast G, Ehrenfeld M, Stürzenbaum S, Pautke C. (2012). Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws - Characteristics, risk factors, clinical features, localization and impact on oncological treatment. *Journal of Craniomaxillofacial Surgery*, *40(4),* 303-9.

192. Ozaki A. (2000). Role of fracture hematoma and periostium during fracture healing in rats. J Orthop Sci, 5, 64-70.

193. Özbayrak S. (1999). *Lazer prensipleri, biyolojik etkileri ve diş hekimliğinde kullanımı.* E.S.C ve Sharpan lazerleri Türkiye Temsilciliği Ortadoğu A.Ş. Bilimsel Yayın Serisi, İstanbul.

194. Pagani F, Francucci CM, Moro L. (2005). Markers of bone turnover: Bichemical and clinical perspectives. *Journal of Endocrinological Investigation, 28(10),* 8-13.

195. Papapoulos SE. (2006). Bisphosphonate actions: physical chemistry revisited. *Bone, 38(5),* 613-6.

196. Park JJ, Kang KL. (2012). Effect of 980-nm GaAlAs diode laser irradiation on healing of extraction sockets in streptozotocin-induced diabetic rats: a pilot study. *Lasers in Medical Science, 27*, 223–30.

197. Parker S. (2007). Introduction, history of lasers and laser light production. *British Dental Journal, 202,* 21-31.

198. Parker S. (2007). Laser regulation and safety in general dental practice. *British Dental Journal, 202,* 523-32.

199. Parker S. (2007). Laser-tissue interaction. *British Dental Journal, 202*, 73-81.

200. Pataki A, Müller K, Green JR, Ma YF, Li QN, Jee WSS. (1997). Effects of short-term treatment with the bisphosphonates zoledronate and pamidronate on rat bone: A comparative histomorphometric study on the cancellous bone formed before, during and after treatment. *The Anatomical Record, 249,* 458-68.

201. Pazianas M, Miller P, Blumentals WA, Bernal M, Kothawala P. (2007). A review of the literature on osteonecrosis of the jaw in patients with osteoporosis treated with oral bisphosphonates: Prevalence, risk factors, and clinical characteristics. *Clinical Therapeutics, 8(29).*

202. Pereira, M., de Pinho, C., Medrado, A., Andrade Zde, A.,Reis, S. (2010). Influence of 670 nm low-level laser therapy on mast cells and

vascular response of cytaneous injuries. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, *98(3),* 188-92.

203. Pfister T, Atzpodien E, Bohrmann B, Bauss F. (2005). Acute renal effects of intravenous bisphosphonates in the rat. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology, 97,* 374-81.

204. Piccione PJ. (2004). Dental laser safety. *Dental Clinics of North America, 48(4),* 795-807.

205. Pinheiro A. (2003). Recent studies on bone regeneration. *International Congress Series, 1248,* 69-72.

206. Pinheiro A, Oliveira MG, Martins PPM, Ramalho LMP, Oliveira MAM. (2001). Biomodulatory effects of lllt on bone regeneration. *Laser Therapy, 13*, 73-9.

207. Pinheiro ALB, Limeria FA, Gerbi MEM, Ramalho LMP,Marzola C.(2003) Effect of 830-nm Laser Light on the Repair of Bone Defects Grafted with Inorganic Bovine Bone and Decalcified Cortical Osseus Membrane. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery***.**21(5);301-306.

208. Pinkel D. (1958). The use of body surface area as a criterion of drug dosage in cancer chemotherapy. *American Association for Cancer Research, 18(7),* 853-6.

209. Pires-Oliveira DAA, Oliveria RF, Amadei SU,Pacheco-Soares C,Rocha RF. Laser 904 nm action on bone repair in rats with osteoporosis. *Osteoporos Int.* 21:2109-14,2010.

210. Piva JA, Abreu EM, Silva Vdos S, Nicolau RA. (2011). Effect of low level laser therapy on the initial stages of tissue repair: Basic principles. *Anais Brasileiros de Dermatologia, 86(5),* 947-54.

211. Polascik TJ. (2009). Bisphosphonates in oncology: evidence for the prevention of skeletal events in patients with bone metastases. *Journal of Drug Design, Development and Therapy, 21(3),* 27-40.

212. Polosukhin VV. (1997). Dynamics of the ultrastructural changes in blood and lymphatic capillaries of bronchi in inflammation and following endobronchial laser therapy. *Virchows Arch, 431(4),* 283-90.

213. Prendergast PJ, Meulen MC. (2001). Mechanics of bone generation. In: Cowin SC (ed). *Bone mechanics handbook. 2nd ed.* Florida: CRC Press, 1-13.

214. Reddy, G.K., Stehno-Bittel, L.,Enwemeka, C.S. (2001). Laser photostimulation accelerates wound healing in diabetic rats. *Wound Repair and Regeneration*, 9(3), 248-55.

215. Reid IR, Brown JP, Burckhardt P, Horowitz Z, Richardson P, Trechsel U, Widmer A, Devogelaer JP, Kaufman JM, Jaeger P, Body JJ, Brandi ML, Broell J, Di Micco R, Genazzani AR, Felsenberg D, Happ J, Hooper MJ, Ittner J, Leb G, Mallmin H, Murray T, Ortolani S, Rubinacci A, Saaf M, Samsioe G, Verbruggen L, Meunier PJ. (2002). Intravenous zoledronic acid in postmenopausal women with low bone mineral density. *The New England Journal of Medicine, 346,* 653-61.

216. Reid IR. (2009). Osteonecrosis of the jaw: Who gets it, and why? *Bone, 44(1),* 4-10.

217. Reinholz GG, Getz B, Pederson L, Sanders ES, Subramaniam M, Ingle JN, Spelsberg TC. (2000). Bisphosphonates directly regulate cell proliferation, differentiation, and gene expression in human osteoblasts. *Cancer Research, 60,* 6001–7.

218. Renno ACM, Moura FM, Santos NSA, Tirico RP, Bossini PS, Parizotto NA. (2006)Effects of 830-nm Laser, Used in Two Doses, on Biomechanical Properties of Osteopenic Rat Femora. *Photomedicine and Laser Surgery,24(2),*202-206.

219. Rocha GC, Jaguar GC, Moreira CR, Neves EG, Fonseca FP, Pedreira EN. (2012). Radiographic evaluation of maxillofacial region in

oncology patients treated with bisphosphonates. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics.*

220. Roelofs AJ, Thompson K, Gordon S, Rogers MJ. (2006). Molecular mechanisms of action of bisphosphonates: Current status. *Clinical Cancer Research, 12(20 Pt 2),* 6222-30.

221. Rogers MJ, Frith JC, Luckman SP, Coxon FP, Benford HL, Mönkkönen J, Auriola S, Chilton KM, Russell RGG. (1999). Molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Bone, 24(5),* 73-9.

222. Rosen HN, Moses AC, Garber J, Ross DS, Lee SL, Greenspan SL. (1998). Utility of biochemical markers of bone turnover in the follow-up of patients treated with bisphosphonates. *Calcif Tissue International, 63,* 363-8.

223. Rugani P, Luschin G, Jakse N, Kirnbauer B, Lang U, Acham S. (2013). Prevalence of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw after intravenous zoledronate infusions in patients with early breast cancer. *Clinical Oral Investigations.*

224. Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff SL. (2004). Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: A review of 63 cases. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 62,* 527-34.

225. Ruggiero S, Gralow J, Marx RE, Hoff AO, Schubert MM, Huryn JM, Toth B, Damato K, Valero V. (2006). Practical guidelines for the prevention, diagnosis, and treatment of osteonecrosis of the jaw in patients with cancer. www.jopasco.org

226. Ruggiero SL, Dodson TB, Assael LA, Landesberg R, Marx RE, Mehrotra B; (2009). American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw - 2009 update. Task Force on Bisphosphonate-Related Osteonecrosis

of the Jaws, AmericanAssociation of Oral and Maxillofacial Surgeons.Aust Endod J.35(3):119-30.

227. Ruggiero SL, Mehrotra B. (2009). Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: Diagnosis, prevention, and management. *Annual Review of Medicine, 60,* 85-96.

228. Russell RGG, Rogers MJ. (1999). Bisphosphonates: From the laboratory to the clinic and back again. *Bone, 25*, 97-106.

229. Russell RG. (2011). Bisphosphonates: The first 40 years. *Bone, 49(1),* 2-19.

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

231. Saracino S, Mozzati M, Martinasso G, Pol R, Canuto RA, Muzio G. (2009). Superpulsed laser irradiation increases osteoblast activity via modulation of bone morphogenetic factors. *Lasers in Surgery and Medicine, 41,* 298–304.

232. Sarasquete ME, Gonzalez M, San Miguel JF, Garcıa-Sanz R. (2009). Bisphosphonate-related osteonecrosis: Genetic and acquired risk factors. *Oral Diseases, 15*, 382–7.

233. Sato M, Grasser W, Endo N, Akins R, Simmons H, Thompson DD,Golub E, Rodan GA. (1991). Bisphosphonate action alendronate localization in rat bone and effects on osteoclast ultrastructure. *Journal of Clinical Investigation, 88.*

234. Sawatari Y, Marx RE. (2007). Bisphosphonates and bisphosphonate induced osteonecrosis. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America, 19(4),* 487-98.

235. Scheper MA, Chaisuparat R, Cullen KJ, Meiller TF. (2010). A novel soft-tissue in vitro model for bisphosphonate-associated osteonecrosis. *Fibrogenesis & Tissue Repair*, *3*, 6.

236. Scoletta M, Arduino PG, Lucia Reggio L, Dalmasso P, Mozzati M. (2010). Effect of low-level laser irradiation on bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: Preliminary results of a prospective study. *Photomedicine and Laser Surgery, 28(2).*

237. Shannon J, Shannon J, Modelevsky S, Grippo AA. (2011). Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw. *Journal of American Geriatric Society, 59(12),* 2350-5.

238. Sikavitsas VI, Temenoff JS, Mikos AG. (2001). Biomaterials and bone mechanotransduction. *Biomaterials, 22*, 2581-93.

239. Smith R, Russell RGG, Bishop M. (1971). Diphosphonates and Paget's disease of bone. *Lancet, 1,* 945–7.

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

241. Soydan N. (1985). *Genel histoloji.* İstanbul: İ.Ü. Basımevi ve Film Merkezi: 100-19

242. Stein E, Koehn J, Sutter W, Wendtlandt G, Wanschitz F, Thurnher D, Baghestanian M, Turhani D. (2008). Initial effects of low-level laser therapy on growth and differentiation of human osteoblast-like cells. *Wiener Klinische Wochenschrift, 120/3–4*, 112–7.

243. Strauss RA, Fallon SD. (2004). Lasers in contemporary oral and maxillofacial surgery. *Dental Clinics of North America, 48,* 861-88.

244. Stresing V, Fournier PG, Bellahcène A, Benzaïd I, Mönkkönen H, Colombel M, Ebetino FH, Castronovo V, Clézardin P. (2011).

Nitrogencontaining bisphosphonates can inhibit angiogenesis in vivo without the involvement of farnesyl pyrophosphate synthase. *Bone, 48(2),* 259-66.

245. Stubinger S, Dissmann JP,Pinho NC, Saldamli B, Seitz O, Sader R. A (2009). Preliminary report about treatment of bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw with Er:YAG laser ablation. *Lasers in Surgery and Medicine, 41* ,26–30.

246. Subramanian G, Cohen HV, Quek SYP. (2011). A model for the pathogenesis of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw and teriparatide's potential role in its resolution. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics, 112(6),* 744-53.

247. Sulewski, J. (2000). Historical survey of laser dentistry. *Dental Clinics of North America,* 44(4), 717-52.

248. Sun, G., Tuner, J. (2004). Low-level laser therapy in dentistry. Dental Clinics of North America, 48, 1061–76.

249. Swaminathan R. (2001). Biochemical markers of bone turnover. *Clinica Chimica Acta, 313,* 95–105.

250. Teitelbaum SL, Ross FP. (2003). Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nature, 4,* 638-49.

251. Tosun E, Tasar F, Strauss R, Kıvanc DG, Ungor C. (2012). Comparative evaluation of antimicrobial effects of Er:YAG, Diode, and CO(2) lasers on TitaniumDiscs: An experimental study. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 70(5),* 1064-9.

252. Treister N, Sheehy N, Bae EH, Friedland B, Lerman M, Woo S. (2009). Dental panoramic radiographic evaluation in bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws. *Oral Diseases, 15(1),* 88-92.

253. Tsurushima H, Kokuryo S, Sakaguchi O, Tanaka J, Tominaga K. (2013). Bacterial promotion of bisphosphonate-induced osteonecrosis in

Wistar rats. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery,42(11),*1481-87.

254. Tuner, J.,Hode, L. (1998). It's all in the parameters: A critical analysis of some well-known negative studies on low-level laser therapy. *Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery*, *16(5)*, 245-8.

255. Vescovi P, Merigo E, Meleti M, Fornaini C, Nammour S, Manfredi M. (2007). Nd:YAG laser biostimulation of bisphosphonate-associated necrosis of the jawbone with and without surgical treatment. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 45(8),* 628-32.

256. Vescovi P, Campisi G, Fusco V, Mergoni G, Manfredi M, Merigo E, Solazzo L, Gabriele M, Gaeta GM, Favia G, Peluso F, Colella G. (2011). Surgery-triggered and non surgery-triggered bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws (BRONJ): A retrospective analysis of 567 cases in an Italian multicenter study. *Oral Oncology, 47(3),* 191-4.

257. Vescovi P, Merigo E, Meleti M, Manfredi M, Guidotti R, Nammour S. (2012). Bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaws: A concise review of the literature and a report of a single-centre experience with 151 patients. *Journal of Oral Pathology and Medicine, 41(3),* 214-21.

258. Vescovi P,Merigo E, Meleti M, Manfredi M, Fornaini C, Nammour S. (2012). Surgical approach and laser applications in BRONJ osteoporotic and cancer patients. *Journal of Osteoporosis.2012;2012:585434,* 1-8.

259. Vidinský B, Gál P, Toporcer T, Balogácova M, Hutnanova Z, Kilík R, Bober J, Sabo J, Longauer F. (2005). Effect of laser irradiation of diode laser on healing of surgical wounds in rats. *Rozhl Chir, 84(8),* 417-21.

260. Wahl, G.,Bastanier, S. (1991). Soft laser in postoperative care in dentoalveolar treatment. *ZWR, 100(8),* 512-5.

261. Walsh, L.J., Lavker, R.M.,Murphy, G.F. (1990). Determinants of immune cell trafficking in the skin. *Laboratory Investigation*, *63(5),* 592-600.

262. Walsh, L.J., Kaminer, M.S., Lazarus, G.S., Lavker, R.M.,Murphy, G.F. (1991). Role of laminin in localization of human dermal mast cells. *Laboratory Investigation*, *65(4),* 433-40.

263. Walsh, L.J. (1995). Ultraviolet B irradiation of skin induces mast cell degranulation and release of tumour necrosis factor-alpha. *Immunology and Cell Biology*, *73(3),* 226-33.

264. Walsh, L.J. (1997). The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 1. Soft tissue applications. *Australian Dental Journal*, *42(4),* 247-54.

265. Walsh, L., Goharkhay, K., Verheyen, P.,Moritz, A. (2006). *Low level laser therapy (LLLT). A. Moritz (Ed.). Oral Laser Application.* Berlin: Quintessenz, 521-39.

266. Wang EP, Kaban LB, Strewler GJ, Raje N, Troulis MJ . (2007). Incidence of osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma and breast or prostate cancer on intravenous bisphosphonate therapy. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, *65(7),* 1328-31.

267. Watts NB. (2001). Treatment of osteoporosis with bisphosphonates. *Rheumatic Disease Clinics of North America, 27(1),* 197-208.

268. Waynant RW. (2001). *Lasers in medicine.* CRC Press, 140-55.

269. Webb JCJ, Tricker J. (2000). A review of fracture healing. *Current Orthopaedics, 14(6),* 457-63.

270. Wehrhan F, Stockmann P, Nkenke E, Schlegel KA, Guentsch A, Wehrhan T, Neukam FW, Amann K. (2011). Differential impairment of vascularization and angiogenesis in bisphosphonate-associated

osteonecrosis of the jaw-related mucoperiosteal tissue. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics, 112,* 216-21.

271. Wheeler, J.,Slater, N. (1990). Squaring off: The He-Ne vs red diode. *Lasers and Optronics*, *16,* 38-44.

272. White, J.M., Goodis, H.E., Setcos, J.C., Eakle, S., Hulscher, B.E.,Rose, C.L. (1993). Effects of pulsed Nd:YAG laser energy on human teeth: A three-year follow-up study . *Journal of American Dental Association*, *124(7),* 45-51.

273. Wood J, Bonjean K, Ruetz S, Bellahcène A, Devy L, Foidart JM, Castronovo V, Green JR. (2002). Novel antiangiogenic effects of the bisphosphonate compound zoledronic acid. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 302(3),* 1055-61.

274. Yazıcı RA., Dayangaç B. (1998). Diş hekimliği ve lazer. *Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 23(1)* ,20-9.

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

276. Zervas K, Verrou E, Teleioudis Z, Vahtsevanos K, Banti A, Mihou D, Krikelis D, Terpos E. (2006). Incidence, risk factors and management of osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma: A single-centre experience in 303 patients. *British Journal of Haematology, 134(6),* 620-3.

T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 2012/ 36 02/04/ 2012

Sn:Prof.Dr. Bilgin ÖNER
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Karar No :2012/ 36
Başvuru :26.03.2012

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, aşağıda çalışma materyali belirtilen Doktora Öğrencisi Gizem GÜLGEZEN'e ait "Zoledronik Asit Verilen Sıçanlarda Diş Çekimi Sonrası Yaraya Uygulanan Düşük Doz Lazer Tedavisinin Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisinin Histopatolojik Ve Biyokimyasal Olarak İncelenmesi" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Sıçan
	Cinsiyeti	Dişi
	Sayısı	48
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi		04/2012-10/2012

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ
İ.Ü.HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIRIK
İ.Ü.HADYEK Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Pınar YAMANTÜRK ÇELİK
Üye

Doç.Dr.Ufuk ÇAKATAY
Üye

Yard.Doç.Dr.Alper OKYAR
Üye

Yard.Doç.Dr Altan ARMUTAK
Üye

Uzm.Vet.Hek.Fatma TEKELİ
Üye

Mak.Yük.Müh. Dr.Burak OLGUN
Üye

Avukat Selma DEMİR
Üye

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	GİZEM	**Soyadı**	GÜLGEZEN
Doğ.Yeri	TEKİRDAĞ	**Doğ.Tar.**	03/10/1984
Uyruğu	TC	**TC Kim No**	39598489690
Email	ggulgezen@hotmail.com	**Tel**	05368485383

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mez. Yılı**
Doktora	AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI	2013
Yük.Lis.		
Lisans	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ	2007
Lise	TEKİRDAĞ FEN LİSESİ	2002

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***	**KPDS/ÜDS Puanı**	**(Diğer) Puanı**
İNGİLİZCE	ÇOK İYİ	İYİ	ÇOK İYİ	91,25	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
LES Puanı	96,690	96,290	95,655
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
MİCROSOFT OFFİCE	ÇOK İYİ