

TC.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
DİŞHEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ DEKANLIĞI



**BİFOSFONATLA İLİŞKİLİ ÇENE OSTEONEKROZU  
OLUŞTURULAN RAT MODELİNDE LOKAL VE SİSTEMİK  
OLARAK UYGULANAN MEDİKAL OZON TEDAVİSİNİN  
İYİLEŞMEYE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Burakhan Hakan Tanışık**  
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı**  
**Doç. Dr. Hilal ALAN**

**Uzmanlık Tezi 2019**

TC.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
DİŞHEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

BİFOSFONATLA İLİŞKİLİ ÇENE OSTEONEKROZU OLUŞTURULAN  
RAT MODELİNDE LOKAL VE SİSTEMİK OLARAK UYGULANAN  
MEDİKAL OZON TEDAVİSİNİN İYİLEŞMEYE ETKİSİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ

**Burakhan Hakan TANIŞIK**

**Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı  
Uzmanlık Tezi**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Hilal ALAN**

Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
TDH-2019-1793 proje numarası ile desteklenmiştir.

**MALATYA**  
**2019**

## UZMANLIK TEZİ TUTANAĞI

Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı uzmanlık öğrencisi Araştırma Görevlisi Dt. Burakhan Hakan TANIŞIK 'ın "Bifosfonatla ilişkili Çene Osteonekrozu Oluşturulan Rat Modelinde Lokal ve Sistemik Olarak Uygulanan Medikal Ozon Tedavisinin İyileşmeye Etkisinin Değerlendirilmesi" isimli tezi 01.10.2019 tarihinde aşağıda isimleri yer alan jürimiz tarafından incelenerek başarılı bulunmuş ve kendisinin sınava alınmasına karar verilmiştir.

Jüri Üyesi (BAŞKAN)

Prof.Dr. Gülten KAVAK  
İzmir Katip Çelebi Üniversitesi  
Ağız Diş ve Çene Cerrahisi  
Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Jüri üyesi

Prof.Dr. Nergiz YILMAZ  
İzmir Katip Çelebi Üniversitesi  
Ağız Diş ve Çene Cerrahisi  
Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Jüri Üyesi

Doç.Dr. Ümit YOLCU  
Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi  
Ağız Diş ve Çene Cerrahisi  
Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Jüri üyesi (Danışman)

Doç.Dr. Hilal ALAN  
İnönü Üniversitesi  
Ağız Diş ve Çene Cerrahisi  
Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Onay

Bu çalışma yukardaki jüri tarafından **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Aladdin POLAT

İnönü Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi Dekan

Uzmanlık Tezi

MALATYA 2019

UZMANLIK TEZİ TUTANAĞI

# İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	vi
ABSTRACT .....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Kemik Dokusu .....	4
2.1.1. Kemik Hücreleri .....	4
2.1.1.1. Osteoprogenitör hücreler .....	5
2.1.1.2. Osteoblastlar .....	5
2.1.1.3. Osteoklastlar .....	5
2.1.1.4. Endosteal hücreler.....	6
2.2. Periosteum ve Endosteum.....	6
2.3. Kemik Tipleri.....	7
2.3.1. Primer Kemik Dokusu (Woven Kemik).....	7
2.3.2. Sekonder Kemik Dokusu (Lameller Kemik).....	7
2.4. Kemik Oluşumu ve Kemikleşme Tipleri.....	8
2.4.1. Endokondral Kemik Oluşumu .....	8
2.4.2. İntramembranöz Kemik Oluşumu .....	8
2.5. Kemik Büyümesi ve Yeniden Şekillenme (Remodelling).....	9
2.6. Kemik Dokusunun İyileşmesi.....	10
2.6.1. İltihap Evresi.....	10
2.6.2. Onarım Evresi .....	10
2.6.3. Remodelling Evresi .....	11
2.7. Alveolar Kemik .....	11
2.8. Diş Çekim Yarasının İyileşmesi .....	12
2.8. Bifosfonatlar .....	13
2.8.1. Bifosfonat Grubu İlaçların Tarihçesi .....	13
2.8.2. Bifosfonatların Kimyasal Yapısı .....	14
2.8.2.1. Zoledronik asit .....	15

2.8.3. Bifosfonatların Farmakokinetiği.....	16
2.8.4. Bifosfonatların Etki Mekanizması.....	17
2.8.5. Bifosfonatların Tedavi Edici Etkileri.....	19
2.8.5.1. Bifosfonatların Anti-Rezorptif Etkileri.....	19
2.8.5.2. Bifosfonatların Tümörosidal Etkileri.....	19
2.8.5.3. Bifosfonatların Anti-Anjiyogenik Etkileri.....	20
2.8.6. Bifosfonatların Endikasyonları ve Klinik Uygulamaları.....	20
2.8.7. Bifosfonat Grubu İlaçların Yan Etkileri.....	20
2.9. Bifosfonatla İlişkili Çene Osteonekrozu (BİÇÖ).....	21
2.9.1. BİÇÖ Tedavisinde Yardımcı Tedavi Yöntemlerinin Kullanımı.....	27
2.10. Ozon.....	28
2.10.1. Ozonun Genel Özellikleri.....	28
2.10.2. Ozonun Tarihçesi.....	29
2.10.3. Ozonun Yapay Olarak Üretimi ve Ozon Jeneratörleri.....	30
2.10.4. Ozonun Biyolojik Etkisi.....	31
2.10.4.1. Eritrositlere Olan Etkisi.....	32
2.10.4.2. Lökositlere Olan Etkisi.....	32
2.10.4.3. Trombositlere Olan Etkisi.....	32
2.10.4.4. Endotel Hücrelere ve Vasküler Sisteme Etkisi.....	33
2.10.4.5. Diğer Organlardaki Parenkim Hücrelerine Olan Etkisi.....	33
2.10.5. Ozonun Terapötik Etkisi.....	33
2.10.6. Ozonun Endikasyonları.....	35
2.10.7. Ozonun Kontrendikasyonları.....	36
2.10.8. Ozonun Uygulanma Yolları.....	36
2.10.9. Ozonun Avantajları.....	37
2.10.10. Ozonun Dezavantajları.....	37
2.10.11. Ozonun Yan Etkileri.....	37
2.10.12. Ozonun Diş Hekimliğinde Kullanımı.....	38
2.10.13. Ozonun Oral Cerrahide Kullanımı.....	39
3. MATERYAL VE METOT.....	41
3.1. Çalışma Grupları.....	41
3.2. Bifosfonatın Dozu ve Uygulanma Yolu.....	42
3.4. Medikal Ozon Dozu ve Uygulanması.....	44
3.5. Deney Hayvanlarının Sakrifikasyonu ve Çekim Soketi Bölgesinin Çıkarılması....	46

3.6. Histolojik Değerlendirme .....	47
3.7. İstatistiksel Değerlendirme .....	49
4. BULGULAR.....	50
4.1. Histolojik Bulgular .....	50
4.2. Histolojik Bulguların İstatistiksel Değerlendirmesi .....	73
5. TARTIŞMA.....	79
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	95
KAYNAKLAR.....	96
EKLER .....	114
EK.1. ÖZGEÇMİŞ.....	114
EK.2. ETİK KURUL ONAYI .....	115



## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca değerli bilgilerinden yararlandığım, klinik çalışmalara teşvik eden, hiçbir konuda desteğini esirgemeyen ve tezimin her aşamasında yol gösteren değerli hocam ve tez danışmanım Doç Dr. Hilal ALAN' a,

Uzmanlık eğitimime değerli katkılarından dolayı Doç. Dr. Ümit YOLCU' ya,  
Asistanlık hayatım boyunca yanımda olan beraber bu yolda yürümeye başladığım eş kıdemlim Dt. Ramazan Serdar ESMER' e

Tez çalışmamın deney aşamasında yardımlarını esirgemeyen Dt. Eren Erdoğan ve Dt. Canan Gökçe Kulfel' e,

Tezimin değerlendirilmesinde yardımcı olan Prof. Dr. Mehmet Gül ve Semir Gül' e,

Acı, tatlı anıları birlikte paylaştığımız tüm asistan arkadaşlarıma,

Tezim için maddi destek sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi' ne,

Yaşamım boyunca yanımda olan, hiçbir zaman maddi ve manevi desteğini eksik etmeyen canım aileme ve biricik eşime teşekkür ederim.

## ÖZET

### **Bifosfonatla İlişkili Çene Osteonekrozu Oluşturulan Rat Modelinde Lokal ve Sistemik Olarak Uygulanan Medikal Ozon Tedavisinin İyileşmeye Etkisinin Değerlendirilmesi**

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı deneysel olarak bifosfonat uygulanan ve diş çekimi yapılan ratlarda sistemik ve lokal medikal ozon uygulamasının çekim soket iyileşmesi üzerine etkilerini histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelemektir.

**Materyal ve Metot:** Çalışmada 32 adet Wistar Albino cinsi rat kullanıldı. Denekler 8 rattan oluşan 4 ana gruba ayrıldı: Kontrol (K), Bifosfonat (BİF), Bifosfonat+Lokal Ozon (BİF+LO), Bifosfonat+Sistemik Ozon (BİF+SO) grubu. Kontrol grubu dışındaki tüm gruplara deneyin başından itibaren haftada 1 defa intraperitoneal olarak (0.4 mg/kg) zoledronik asit uygulandı. Deneyin 28. Gününde tüm ratların sol alt 1. büyük azı dişleri çekildi. Lokal (20 µg/ml, 0.5 ml) ve sistemik ozon (0.7 mg/kg) uygulaması diş çekimi sonrası hemen uygulanmaya başlandı. Tüm denekler deneyin 56. günü sakrifiye edildi. Deneklerin sol mandibulaları çıkartılıp histopatolojik incelemeye alındı. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.

**Bulgular:** Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre BİF+SO grubunun epitelizasyon değeri BİF grubunun epitelizasyon değerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0.001$ ). BİF+SO grubunda en yüksek epitelizasyon oranı bulunması dikkat çekicidir. BİF+SO ve K grubunda bağ doku oluşum değerleri BİF grubundan istatistiksel olarak yüksektir ( $p=0.009$ ). K ve BİF-SO grubunun nekroz değerleri BİF grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptanmıştır ( $p=0.011$   $p=0.011$ ). BİF+SO grubunda hiç nekroz görülmemesi diğer bir dikkat çekici bulgudur. İmmünohistokimyasal incelemede osteokalsin düzeyi K grubunda BİF ve BİF+LO grubundan, BİF+LO ve BİF+SO grubunda BİF grubundan, BİF+SO grubunda BİF+LO grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fazla bulunmuştur. Osteopontin düzeyleri K ve BİF+SO grubunda BİF grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ).

**Sonuçlar:** Çalışmamızda elde ettiğimiz histopatolojik, immünohistokimyasal ve istatistiksel bulguları değerlendirdiğimizde tüm gruplarda ozon uygulamasının, iyileşmeye olumlu etkileri olduğu görülmüştür. Ozon uygulamasının kemik iyileşmesine gösterdiği olumlu etkinin ekstraselüler matriks proteinlerinde görülen artışa bağlı olduğu düşünüldü. Bu da medikal ozonun klinik uygulamalarda avantaj sağlayacağını düşündürmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Bifosfonat, medikal ozon, diş çekimi, rat.

## ABSTRACT

### Evaluating the Effect of Local and Systemic Medical Ozone Therapy on Healing in the Bisphosphonate-Related Jaw Osteonecrosis Induced Rat Model

**Objective:** This study aimed to histopathologically and immunohistochemically investigate the effects of systemic and local medical ozone administration on extraction socket's healing in rats experimentally administered bisphosphonates and applied tooth extraction.

**Material and Method:** 32 Wistar-Albino rats were used in the study. Subjects were divided into 4 main groups of 8 rats: Control, Bisphosphonate, Bisphosphonate + Local Ozone, Bisphosphonate + Systemic Ozone. All groups but the control group were administered (0.4 mg / kg) zoledronic acid intraperitoneally once a week from the beginning of the experiment. On the 28th day of the experiment, lower left first molars of all the rats were extracted. Local (20 µg/ml, 0.5 ml) and systemic ozone (0.7 mg / kg) administration was started shortly after tooth extraction. All subjects were sacrificed on the 56th day of the experiment. The left mandibles of the subjects were removed and subjected to histopathological examination. The obtained data were evaluated statistically.

**Results:** According to the findings obtained in our study, epithelialization value of BIF + SO group was found to be significantly higher than epithelialization value of BIF group ( $p < 0.001$ ). It is noteworthy that the highest epithelialization rate was found in the BIF + SO group. Connective tissue formation values in BIF + SO and C groups were statistically higher than BIF group ( $p = 0.009$ ). The necrosis values of the C and BIF-SO group were significantly lower than the BIF group ( $p = 0.011$   $p = 0.011$ ). The absence of necrosis in the BIF + SO group is another remarkable finding. In immunohistochemical examination, osteocalcin levels were significantly higher in C group than BIF and BIF + LO group, BIF + LO and BIF + SO group were found to be more than BIF group. BIF + SO group were significantly higher than BIF + LO group. Osteopontin levels were significantly higher in C and BIF + SO group than BIF group ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** Based on the histopathological, immunohistochemical and statistical findings obtained in our study, ozone administration had positive effects on healing in all groups. It was thought that the positive effect of ozone administration on bone healing was associated with the increase in extracellular matrix proteins. This suggests that medical ozone will provide an advantage in clinical applications.

**Keywords:** Bisphosphonate, medical ozone, tooth extraction, rat

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

$\alpha$	: Alfa
$\beta$	: Beta
$\mu\text{g}$	: Mikrogram
$\mu\text{l}$	: Mikrolitre
$\mu\text{m}$	: Mikrometre
<b>AAOMS</b>	: American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons (Amerika Oral ve Maksillofasiyal Cerrahlar Birliği)
<b>BİÇO</b>	: Bifosfonatla ilişkili çene osteonekrozu
<b>BİF</b>	: Bifosfonat
<b>COX-2</b>	: Cyclooxygenase-2 (Siklooksijenaz-2)
<b>CT</b>	: Bilgisayarlı tomografi
<b>FDA</b>	: U.S. Food and Drug Administration
<b>GAG</b>	: Glikozaminoglukan
<b>HA</b>	: Hyaluronik asit
<b>HBO</b>	: Hiperbarik oksijen
<b>H&amp;E</b>	: Hematoksilen & Eozin
<b>IL-1</b>	: İnterlökin-1
<b>IL-12</b>	: İnterlökin-12
<b>IL-17</b>	: İnterlökin-17
<b>L-1<math>\beta</math></b>	: İnterlökin 1-beta
<b>IL-6</b>	: İnterlökin-6
<b>IL-8</b>	: İnterlökin-8
<b>INF-<math>\gamma</math></b>	: İnterferon gama
<b>İHK</b>	: İmmünohistokimyasal boyama
<b>İNÜ-DEHÜM:</b>	İNönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi
<b>kg</b>	: Kilogram
<b>L</b>	: Lokal
<b>LO</b>	: Lokal Ozon
<b>LOÜ</b>	: Lipit oksidasyon ürünleri
<b>ml</b>	: Mililitre

<b>mm</b>	: Milimetre
<b>MR</b>	: Manyetik Rezonans
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>NO/c GMP</b>	: Nitrik oksit/siklik guanozin mono fosfat
<b>O<sub>2</sub></b>	: Oksijen
<b>O<sub>3</sub></b>	: Ozon
<b>PG</b>	: Proteoglikan
<b>PGE</b>	: Prostaglandin E
<b>PRP</b>	: Plateletten zengin plazma
<b>ROT</b>	: Reaktif Oksijen Türevleri
<b>SF</b>	: Serum Fizyolojik, Salin
<b>S</b>	: Sistemik
<b>SO</b>	: Sistemik Ozon
<b>SS</b>	: Standart Sapma
<b>TAS</b>	: Total Antioksidan Seviyesi
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	: Transforming Growth Factor- $\beta$ (Transforme Edici Büyüme Faktörü- $\beta$ )
<b>TGF-beta1</b>	: Transforming büyüme faktörü-beta1
<b>TME</b>	: Temporomandibular Eklem
<b>TNF</b>	: Tümör nekrotizan faktör
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör nekrotizan faktör-alfa
<b>VEGF</b>	: Vascular Endothelial Growth Factor (Damarsal Endotelial Büyüme Faktörü)

# ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No.</u>	<u>Sayfa No.</u>
Şekil 2.1. Kemik dokusu .....	8
Şekil 2.2. Alveolar Kemik .....	12
Şekil 2.3. Pirofosfat molekül yapısı, Bifosfonat molekül yapısı .....	14
Şekil 2.4. Bifosfonat yapısını meydana getiren R1-R2 zincirleri, güçleri ve osteonekroz oluşturma riskleri .....	15
Şekil 2.5. Diş çekim soketi etrafında gelişen BİÇO' nun görüntüsü.....	25
Şekil 2.6. Alt çenede BİÇO' nun görüntüsü .....	26
Şekil 2.7. BİÇO 'nun klinik ve radyografik görüntüsü .....	26
Şekil 2.8. Ozon molekülü .....	29
Şekil 3.1. Zoledronik asit.....	42
Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan anestezi ilaçları .....	43
Şekil 3.3. Ameliyat ve diş çekimi için kullanılan steril aletler.....	43
Şekil 3.4. Ratların steril aletler ile dil ve yanağının ekarte edilmesi .....	44
Şekil 3.5. Çekimi yapılan alt 1. molar diş .....	44
Şekil 3.6. Medikal ozon cihazı .....	45
Şekil 3.7. Medikal ozon cihazı elektronik ekranı .....	45
Şekil 3.8. Ozon gazının enjektöre transferi .....	46
Şekil 3.9. Deney kontrol grubundaki ratta oluşan BİÇO görüntüsü.....	47
Şekil 4.1. Kontrol Grubu: Diş soket alanı yüzeyi (ok başı), diş soket alanı bağ dokusu (yıldız). H-E, x4. ....	53
Şekil 4.2. Kontrol Grubu: Diş soket alanı yüzeyinde non keratinize çok katlı epitel (ok başı), diş soket alanı bağ dokusu (yıldız). H-E, x10. ....	53
Şekil 4.3. Kontrol Grubu: Diş soket alanı yüzeyinde immatür epitelizasyon (ok başı), diş soket alanı bağ dokusu (yıldız). H-E, x20. ....	54
Şekil 4.4. Kontrol Grubu: Bağ dokusu (beş nokta yıldız), trabeküler kemik (dört nokta yıldız), peritrabeküler endosteum-osteojenik hücreler (ok). H-E, x40. ....	54
Şekil 4.5. Kontrol Grubu: Diş soket alanı bağ dokusu (beş nokta yıldız), immatür kemik doku (artı), kalsifiye kemik doku (dört nokta yıldız). Trikróm, x10. ....	55

<b>Şekil 4.6.</b> Kontrol Grubu: Diş soket alanı, diffüz-zayıf, osteokalsin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X20. ....	55
<b>Şekil 4.7.</b> Kontrol Grubu: Diş soket alanı, diffüz-zayıf, osteokalsin immunreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X40. ....	56
<b>Şekil 4.8.</b> Kontrol Grubu: Diş soket alanı, diffüz-zayıf, osteopontin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X20. ....	56
<b>Şekil 4.9.</b> Kontrol Grubu: Diş soket alanı, diffüz-orta düzeyde osteopontin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X40. ....	57
<b>Şekil 4.10.</b> BİF Grubu: Diş soket alanında dejeneratif doku ve besin artık materyali (yıldız). H-E, x4 .....	58
<b>Şekil 4.11.</b> BİF Grubu: Epitelizasyon göstermeyen diş soket alanı yüzeyi (ok başı), diş soket alanı bağ dokusu (yıldız). H-E, x10 .....	59
<b>Şekil 4.12.</b> BİF Grubu: Diş soket alanında dejeneratif-nekrotik doku artefaktı (yıldız). H-E, x20 .....	59
<b>Şekil 4.13.</b> BİF Grubu: Trabeküler kemik (beş nokta yıldız), peritrabeküler endosteum-osteojenik hücre dejenerasyonu (ok), trabeküler kemik dokuda nekroz alanı (dört nokta yıldız). H-E, x40 .....	60
<b>Şekil 4.14.</b> BİF Grubu: Diş soket alanı bağ dokusu-yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu (beş nokta yıldız), immatür kemik doku (artı), kalsifiye kemik doku (dört nokta yıldız). Trikrom, x10 .....	60
<b>Şekil 4.15.</b> BİF Grubu: Diş soket alanı, diffüz-zayıf, osteokalsin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X20. ....	61
<b>Şekil 4.16.</b> BİF Grubu: Diş soket alanı, diffüz-zayıf, osteokalsin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X40. ....	61
<b>Şekil 4.17.</b> BİF Grubu: Diş soket alanı, diffüz-zayıf, osteopontin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X20. ....	62
<b>Şekil 4.18.</b> BİF Grubu: Diş soket alanı, diffüz-zayıf, osteopontin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X40. ....	62
<b>Şekil 4.19.</b> BİF + LO Grubu: Diş soket alanında dejeneratif doku ve besin artık materyali (yıldız). H-E, x4. ....	63
<b>Şekil 4.20.</b> BİF+ LO Grubu: Diş soket alanında dejeneratif doku (beş nokta yıldız), epitel içermeyen diş soket alanı yüzeyi (ok başı), alveol kemiği (dört nokta yıldız) . H-E, x10.....	64

<b>Şekil 4.21.</b> BİF+ LO Grubu: Diş soket alanında inflamatuvar hücre infiltrasyonu içeren bağ doku (yıldız), diş soket alanı yüzeyinde epitelizasyon (ok başı). H-E, x20. ....	64
<b>Şekil 4.22.</b> BİF+ LO Grubu: Diş soket alanında inflamatuvar hücre infiltrasyonu içeren bağ doku (yıldız). H-E, x40. ....	65
<b>Şekil 4.23.</b> BİF+ LO Grubu: Diş soket alanı bağ dokusu-yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu (beş nokta yıldız), immatür kemik doku (artı), kalsifiye kemik doku (dört nokta yıldız). Trikrom, x10 .....	65
<b>Şekil 4.24.</b> BİF+ LO Grubu: Diş soket alanı, diffüz-zayıf, osteokalsin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X20. ....	66
<b>Şekil 4.25.</b> BİF+ LO Grubu: Diş soket alanı, diffüz-zayıf, osteokalsin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X40. ....	66
<b>Şekil 4.26.</b> BİF+ LO Grubu: Diş soket alanı, diffüz-zayıf, osteopontin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X20. ....	67
<b>Şekil 4.27.</b> BİF+ LO Grubu: Diş soket alanı, diffüz-zayıf, osteopontin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X40. ....	67
<b>Şekil 4.28.</b> BİF + SO Grubu: Diş soket alanı yüzeyinde matür epitelizasyon (ok başı), diş soket alanı bağ dokusu (yıldız). H-E, x4. ....	69
<b>Şekil 4.29.</b> BİF + SO Grubu: Diş soket alanı yüzeyinde immatür epitelizasyon (ok başı), diş soket alanı bağ dokusu (yıldız). H-E, x10. ....	69
<b>Şekil 4.30.</b> BİF + SO Grubu: Diş soket alanı bağ dokusu (yıldız), diş soket alanı yönünde trabeküler kemik büyümesi (ok). H-E, x20. ....	70
<b>Şekil 4.31.</b> BİF + SO Grubu: Diş soket alanı bağ dokusu (beş nokta yıldız), diş soket alanı yönünde trabeküler kemik büyüme alanı (dört nokta yıldız), osteoklast (ok), osteoblast (ok başı). H-E, x40. ....	70
<b>Şekil 4.32.</b> BİF + SO Grubu: Diş soket alanı bağ dokusu (beş nokta yıldız), immatür kemik doku (artı), kalsifiye kemik doku (dört nokta yıldız). Trikrom, x10. 71	71
<b>Şekil 4.33.</b> BİF + SO Grubu: Diş soket alanı, diffüz-orta düzeyde, osteokalsin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X20. ....	71
<b>Şekil 4.34.</b> BİF + SO Grubu: Diş soket alanı, diffüz-orta düzeyde, osteokalsin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X20. ....	72
<b>Şekil 4.35.</b> BİF + SO Grubu: Diş soket alanı, diffüz-orta düzeyde osteopontin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X20. ....	72

<b>Şekil 4.36.</b> BİF + SO Grubu: Diş soket alanı, diffüz-orta düzeyde osteopontin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X40.....	73
<b>Şekil 4.37.</b> Gruplar arasında inflamasyon değerlerinin karşılaştırılması.....	75
<b>Şekil 4.38.</b> Gruplar arasında bağ doku değerlerinin karşılaştırılması.....	76
<b>Şekil 4.39.</b> Gruplar arasında nekroz değerlerinin karşılaştırılması .....	76
<b>Şekil 4.40.</b> Gruplar arasında Osteokalsin değerlerinin karşılaştırılması .....	78
<b>Şekil 4.41.</b> Gruplar arasında Osteopontin değerlerinin karşılaştırılması.....	78



## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo No.</b>	<b>Sayfa No.</b>
<b>Tablo 2.1.</b> BİÇO' nun evrelendirilmesi ve tedavisi .....	24
<b>Tablo 2.2.</b> Ozon uygulaması sonrası organizmada meydana gelen değişiklikler .....	32
<b>Tablo 4.1.</b> Deneklerin histolojik bulguları .....	50
<b>Tablo 4.2.</b> Deneklerin immünreaktivite bulguları ve H skorları .....	51
<b>Tablo 4.3.</b> Gruplar arasında histolojik ölçümlerin karşılaştırılması.....	74
<b>Tablo 4.4.</b> Gruplar arası epitelizasyon, bağ doku ve nekroz ikili karşılaştırmaları .....	75
<b>Tablo 4.5.</b> Gruplar arasında immünohistokimya ölçümlerin karşılaştırılması.....	77
<b>Tablo 4.6.</b> Gruplar arası osteokalsin ve osteopontin ikili karşılaştırmaları.....	77

# 1. GİRİŞ

Diş hekimliğinde yapılan intraoral tedavilerin başında diş çekimi gelmektedir. Her diş hekimi değişik sağlık durumlarına sahip olan hastalardan diş çekimi yapmaktadır. Hastalarda diş çekimi sonrası yara iyileşmesi sürecini sorunsuz olarak geçirmek istemektedir. Çekim yarasının iyileşmesini olumlu ya da olumsuz yönde etkileyen faktörler bu açıdan önem taşımaktadır. Diş çekim yarasının iyileşmesi kırık iyileşmesine benzer aşamalar gösterir. Bu aşamalar kısaca çekim boşluğunda hematoma oluşması, pıhtının organizasyonu, yara yüzeyinin epitelizasyonu, çekim boşluğunda örgü kemiğin oluşumu, örgü kemiğin trabeküler kemik ile yer değiştirmesi ve alveol kemiğin yeniden şekillenmesidir (1). Bu iyileşme süreci sağlıklı bireylerde genellikle sorunsuz olmasına rağmen immün sistemi baskılanan, immün hastalığı, diyabeti ya da metabolik kemik rahatsızlığı bulunan hastalarda bozulmuş ya da gecikmiş bir iyileşme şeklinde gelişebilmektedir. Aynı zamanda iyileşme, bazı metabolik ilaçların kullanımı, enfeksiyon varlığı, hangi çeneden ve bölgeden çekim yapıldığı, hastaların yaşı, sağlığı ve sigara kullanımı gibi bazı önemli faktörlerden de etkilenmektedir (2-4). Kemik iyileşme kapasitesinin azaldığı durumlarda kemik rezorpsiyonunun azaltılması, kemik iyileşmesi ve kemik metabolizmasının kontrolü için önemli bir faktör teşkil etmektedir (5). Bu sebeplerden dolayı kemik rezorpsiyonunu kontrol eden ve kemik depozisyonunu artıran bifosfonat, paratiroid hormon gibi lokal ve sistemik olarak uygulanabilen birçok ilaç kullanılmaktadır (3,6).

Günümüzde tedavi edici etkilerinden dolayı sıklıkla uygulanan, etkin ve güvenilir ilaçlar olarak bilinen bifosfonatlar, özellikle nitrojen içeren türevlerinin damar yoluyla uygulandığı bazı hastalarda, atriyal fibrilasyon, akut faz reaksiyonları, renal yetmezlik ve çene kemiklerinde osteonekroz gibi istenmeyen klinik tablolara neden olmaktadır (7). Bifosfonat grubu ilaçların önemli yan etkilerinden bir tanesi olan çene kemiği osteonekrozuna ait ilk vaka raporları 2003 yılında Marx, Migliorati ve diğer bazı araştırmacılar tarafından tanımlanarak yayınlanmıştır (8,9). İlk olarak ilaçla tedavi edilmeye çalışılan kanser hastalarında karşılaşılan bu klinik tablo başlangıçta, kullanılan kemoterapötik ilaçlara ve steroidlere bağlanmıştır. Ancak zamanla, herhangi bir neden olmadığı halde sadece bifosfonat alan hastalarda osteonekrozla karşılaşılmaması, bifosfonat kullanımı ile ilişkilendirilmesine neden olmuştur. Artan sıklıkta görülen bu

ciddi yan etkinin tedavisinde standardizasyon sağlanması ve vakaların daha doğru bir şekilde değerlendirilmesi amacıyla American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons (AAOMS) tarafından 2009 yılında konsensus raporu yayınlanmıştır. Bu raporda bifosfonatla ilişkili çene osteonekrozu (BİÇO), çenelerine radyoterapi almamış olan, bifosfonat kullanmış veya kullanmakta olan hastalarda mandibula veya maksillada 8 haftadan daha fazla kemiğin açıkta kaldığı durum ile karakterize olarak tanımlanmıştır (9).

BİÇO oluşan vakaların tedavisinde amacımız çevredeki yumuşak ve sert dokuları etkileyen, ağrı, şişlik, iltihap akıntısı, hassasiyet ve kemik nekrozu gibi bulguları ortadan kaldırmak ve hastanın yaşam kalitesini yükseltmektir. Günümüzde uygulanan tedavi yöntemleri hastadaki BİÇO'nun hangi evrede olduğuna göre değişiklik göstermekle birlikte medikal veya medikal-cerrahi tedavileri içermektedir. Son yıllarda bu tedavi yöntemlerine ek olarak destekleyici bazı tedavi yöntemleri de kabul görmeye başlamıştır. Bunlar arasında hiperbarik oksijen (HBO), plateletten zengin plazma (PRP), plateletten zengin fibrin (PRF), medikal ozon, paratiroid hormon ve düşük doz lazer terapisi (DDLTL) yer almaktadır (10–12).

Medikal tedavide kullanılan ilaçlar oral antiseptik gargaralar, sistemik ve lokal antibiyotikler olarak sayılabilir. Cerrahi tedavi seçenekleri arasında ise küretaj, sekestrotomi ve rezeksiyon yer almaktadır. Daha da ilerlemiş olgularda geniş mandibula veya maksilla rezeksiyonu da yapılabilmektedir (10).

Son yıllarda literatürde BİÇO tedavisinde medikal ozon kullanımının etkinliği üzerine çalışmaların yapılmaya başlandığı görülmektedir. Ozon tek başına bir oksijen radikali olmamasına rağmen oksidan molekül olarak sınıflandırılmaktadır. Bu oksidan molekül; belli konsantrasyonlarda kullanıldığında kanda bulunan lipo-protein, lenfosit, monosit, granülosit, platelet ve eritrosit gibi yapılarla reaksiyona girerek önemli antioksidan sistemleri aktive etmekte ve antioksidan enzimlerin üretilmesini sağlamaktadır. Kanda çözünen ozon, çoklu doymamış yağ asitleri, ürik asit, askorbik asit ve albumin gibi antioksidanlar ile reaksiyona girmektedir. Böylece hem toksinler oksidasyon yoluyla elimine edilmiş hem de vücudun bağışıklık sistemi kuvvetlendirilmiş olmaktadır. Yağlarla etkileşime giren ozon, lipid moleküllerindeki karbon atomları arasındaki çift bağları kırarak, keton ve aldehit gibi istikrarlı moleküller, hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) gibi kararsız moleküller ve hidroksil (OH) gibi radikallerin oluşumuna neden olmaktadır. Ozon uygulaması esnasında oksidatif stres ve lipid oksidasyonu

sonucu oluşan hidrojen peroksitin medikal ozon tedavisinin biyolojik etkilerine aracılık ettiği bildirilmiştir. Ozonun biyolojik etkileri; ozon konsantrasyonuna, ozonun dışarıya verilme sũresine, ekstraselũler ve intraselũler antioksidanların doğası arasındaki dinamik dengeye bağlıdır. Farklı tıbbi amaçlar için sistemik medikal ozon uygulamasının yanı sıra, gũnlũk dış hekimliğinde medikal ozonun lokal uygulaması da yaygın hale gelmektedir. Oral cerrahide ozonun, cerrahi mũdahale sırasında ve ayrıca ameliyat sonrası topikal dezenfektan ve iyileştirici bir ajan olarak kullanılabileceği dũřũnũlmektedir (13). Ozonun dış hekimliğindeki etkilerine odaklanan çalışmaların sayısındaki artışa rağmen, oral cerrahideki kullanımı ũzerine bilimsel makale sayısı sınırlıdır. Ayrıca medikal ozonun lokal ve sistemik etkilerini değerlendiren çalışmalar olmasına rağmen lokal ve sistemik uygulamanın karşılaştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada; deneysel olarak BİO modeli oluşturulan ve dış çekimi yapılan ratlar ũzerinde sistemik ve lokal medikal ozon uygulamasının çekim soket iyileşmesi ũzerindeki etkilerinin histolojik ve immũnohistokimyasal olarak incelenmesi amaçlandı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kemik Dokusu

Kemik, bağ dokusunun özel bir şeklidir ve iskelet sisteminin ana yapı maddesidir. Kemik diğer bağ dokuları gibi; hücreler ile hücreler arası matriksten oluşur. Kemiği diğer bağ dokularından ayıran en önemli özellik ise hücreler arası matriksin mineralize bir halde olmasıdır. Kemik dokusu akciğer, beyin, kalp, üreme organları gibi hayati organları korur ve daha da önemli olarak vücudun metabolizmasında da önemli rol oynar. Ayrıca kemikler vücudun kalsiyum ve fosfat iyon dengesini ve bünyesindeki kemik iliği sayesinde hematopoezi (kan hücre yapımını) sağlar. İskelet, vücuttaki total kalsiyumun yaklaşık %99' unu içerir ve bir kalsiyum deposu olarak görev yapar. Kemik dokusu kendisini yapısal olarak yenileyebilen, şeklini, hacmini ve içeriğini dıştan gelen mekanik uyarılar doğrultusunda yönlendirebilen ve yaşam süresince fiziksel kuvvetlere direnç sağlayan bir yapıdadır (14–16).

Kemik dokusunun hücreleri osteoprogenitör hücreler, osteoblastlar, osteositler, kemik yüzeyini döşeyen hücreler ve osteoklastlardır. Kemik matriksi ise organik (% 30) ve inorganik (% 70) kısımlardan oluşur. Organik kısmın temel yapısal bileşeni Tip I kollajendir ve bu kollajen organik kısmın yaklaşık % 90' ını oluşturur. Bunun yanı sıra daha az miktarda Tip V kollajen ve eser miktarlarda tip III, XI ve XIII kollajen içermektedir. Matrikste ayrıca glikozaminoglikanlar, proteoglikanlar, osteokalsin, osteopontin ve osteonektin gibi glikoproteinler, çeşitli sialoproteinler, büyüme faktörleri ve sitokinler bulunur. Osteonektin kollajen ve hidroksiapatit kristallerini birbirine yapıştırırken osteopontin hücreleri matrikse bağlar. Osteokalsin proteini de kan yolu ile gelen kalsiyumu yakalar ve osteoklastları stimüle eder. Matriksin inorganik kısmı ise çoğu hidroksiapatit formunda olmak üzere kristal tuzları (Kalsiyum Hidroksiapatit, Kalsiyum Fosfat) içerir (17).

#### 2.1.1. Kemik Hücreleri

Kemiğin temel hücresel elemanlarını osteoblastlar, osteoklastlar, osteositler, kemik yüzeyini döşeyen osteoprogenitör hücreler, kemik iliği hücreleri ve kemiğin büyüme ile gelişimini düzenleyen immün sistem hücreleri oluşturur. Osteoblast, osteosit ve osteoprogenitör hücreler tek bir hücre türünün olgunlaşma sırasındaki farklı

evrelerini temsil eden osteoblast kökenli hücrelerdir. Osteoklastlar ise monosit-makrofaj gibi progenitör hücrelerden köken alır (18,19).

#### **2.1.1.1. Osteoprogenitör hücreler**

Osteoprogenitör hücreler çoğalma ve farklılaşma kapasitesine sahiptir. Rezorbe olmayan tüm kemik yüzeylerinde bulunurlar. Kemığın normal büyümesi sırasında aktif olan bu hücreler, erişkin ve yaşlılarda inaktif durumdadır. Ancak kemik iç yapısının düzenlenmesi, kırık iyileşmesi veya farklı tipteki yaralanma gibi kemik yapımının uyarıldığı durumlarda harekete geçerek hem sayıca artmaları hem de osteoblast gibi kemik yapıcı hücrelere dönüşmeleriyle ayırt edilebilirler. Kemik yapımı durduğunda osteoblastlar da osteoprogenitör hücrelere dönüşebilir (20). Ayrıca kırık iyileşmesi ve kemik büyümesi sırasında aktif olan osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşerek kemik matriksi salgılanmasına da yardımcı olurlar (14).

#### **2.1.1.2. Osteoblastlar**

Osteoblastlar, embriyonel yaşamda mezenkim hücrelerinden, daha sonra ise bağ dokusunu oluşturan fibroblastlardan farklılaşan, olgun, metabolik olarak aktif olan kemik oluşumunu sağlayan hücrelerdir. Kemik dokusunun yüzeyine yakın dizilirler ve kemikleşme bölgelerinde ve gelişmekte olan kemiklerin periost ile birleşim yerinde bulunurlar. Osteoblastların temel görevi, osteoid adlı organik matriksini ve matriks sentezi için gereken proteinleri ve büyüme faktörlerini sentezlemektir. Osteoblastlar salgıladıkları bu osteoid içerisinde gömülü halde kalırlar. Bunun yanı sıra osteoklastlarla beraber kemik rezorpsiyonunun düzenlenmesinde etkilidir. Osteoblastlar kemik yüzeylerinde yeni kemik oluşumunu sağlarlar. Tüm canlı kemiklerde sürekli devam eden hafif bir osteoblastik aktivite görülür. Osteoblastların aktif yaşam ömrü 1 ile 10 hafta arasındadır ve bu süreçte osteoblastlar bölünmezler. Yeni aktif kemik oluşumu durduğunda bazı osteoblastlar kemik yüzeyini döşeyen hücreler olarak kalırken bir kısmı da osteositlere dönüşmektedir. Osteoblastların bu şekilde farklılaşması, salgılanan büyüme faktörlerinin bir fonksiyonudur (18,21,22).

#### **2.1.1.3. Osteoklastlar**

Osteoklastlar, hormonal ve hücrel mekanizmalar tarafından kontrol edilen, kemik iliğindeki monosit ya da monosit benzeri hücrelerden kökenini alan, asidofilik çok çekirdekli dev hücrelerdir. Kemığın yüzeyinde ve içerisindeki kanallarda gruplar

halinde bulunarak kemik yıkımını sağlarlar. Kemik rezorpsiyonunun başladığı bölgelerde kemik yüzeyine yapışarak salgıladıkları hidrolitik enzimler ile kemiğin ve kalsifiye olmuş kıkırdağın organik ve inorganik matrikslerini yıkıma uğrattırılar. İçerdikleri Katepsin K adı verilen lizozomal enzimler, bu hücrelerin asit fosfataza karşı gösterdiği güçlü histokimyasal reaksiyondan sorumludur. Tartarata dirençli asit fosfataz (TRA-cP) enzimi, osteoklast aktivitesinin ve farklılaşmasının biyokimyasal göstergesi olarak kullanılmaktadır (23,24).

Osteoklastlar, osteoblastlarla birlikte mekanik streslere bağlı olarak kemiğin yeniden şekillenmesinde ve elastikiyetinin sağlanmasında rol oynar. Ayrıca kemiğin yeniden biçimlenme sürecinde sert dokuların çözünüp çevre dokular tarafından emilmesinden sorumludurlar. Kalsiyumun kemik dokusundan kana salınmasında aktif rol oynayarak, kalsiyum çözünürlüğünün düzenlemesine yardımcı olurlar. Osteoklastların yaşam süresi 3-4 hafta olup, bu süre sonunda programlanmış hücre ölümüne (apoptoz) uğramaktadırlar (18,19,21).

#### **2.1.1.4. Endosteal hücreler**

Kemiklerin iç yüzeyinin % 80- % 95' ini kaplayan hücrelerdir. Aktif olmayan osteoblastlardan oluştuğu düşünülmektedir. Kemiğin yeniden şekillenmesinde görev alırlar (25).

#### **2.2. Periosteum ve Endosteum**

Kemiğin iç yüzeyleri endosteum, dış yüzeyleri ise periosteum denilen bağ dokusu tabakaları ile kaplıdır. Periosteum, dışta fibröz tabaka, içte osteojenik tabaka olmak üzere iki ayrı tabakadan oluşmaktadır. Fibröz tabaka kollajen lifler ve fibroblastlardan oluşmaktadır. Sharpey lifleri adını alan periosteal kollajen lifler, matriks içine girerek periostu kemiğe sıkıca bağlar. Osteojenik tabaka ise bölünüp farklılaşarak osteoblastları oluşturabilme potansiyeline sahip yassı hücrelerden (osteprogenitör hücreler) oluşmaktadır. Periosteum eklem kıkırdağı tarafından örtülü halde bulunan yüzeylerde, tendon ve kasların kemiğe tutunduğu yerlerde bulunmaz. Endosteum, kemiğin içindeki bütün boşlukları örtmekte ve tek kat yassı osteoprogenitör hücreler ile az miktarda bağ dokusundan meydana gelmektedir. Bu nedenle endosteum periosteuma göre oldukça incedir. Periosteum ve endosteumun asıl görevlerinden bir tanesi de, kemiğin gelişimi ya da onarımı için gerekli olan yeni osteoblastların sağlanması ve kemik dokusunun beslenmesidir (14-16,26).

### **2.3. Kemik Tipleri**

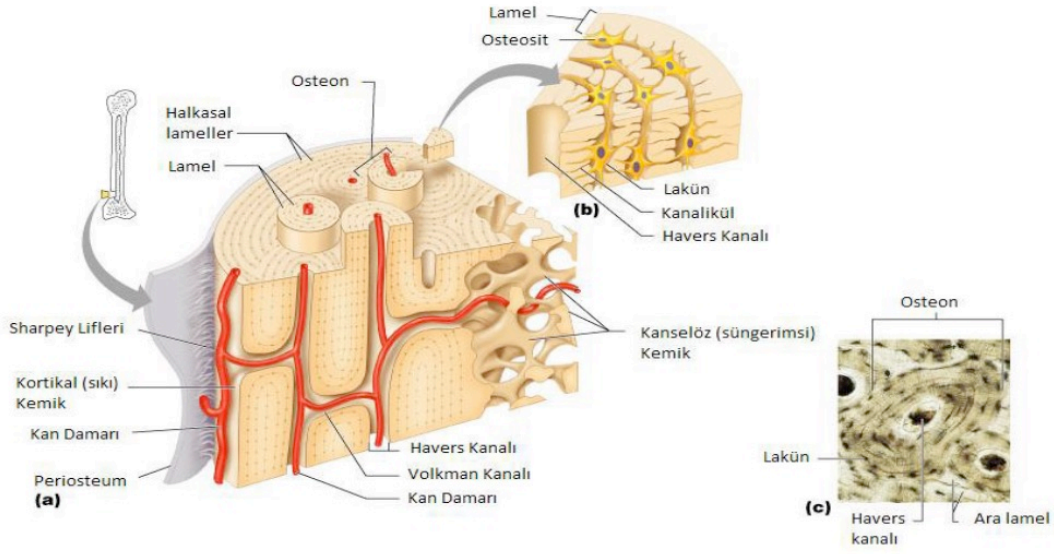
Mikroskopik olarak iki farklı tipte kemik bulunur. Bunlar primer/ olgunlaşmamış/ woven kemik ve sekonder/ olgun/ lameller kemiktir.

#### **2.3.1. Primer Kemik Dokusu (Woven Kemik)**

Primer kemik, prenatal gelişme, büyüme ve kemik iyileşmesi sırasında kan damarlarının etrafındaki osteoprogenitör hücreler tarafından üretilir ve embriyonik iskeleti oluşturur. Yapısında yeni şekillenmiş düzensiz kollajen fibriller ile az miktarda mineral vardır. Lamel içermez, fakat sekonder kemik dokusundan daha fazla osteosit içerir (16).

#### **2.3.2. Sekonder Kemik Dokusu (Lameller Kemik)**

Sekonder kemik dokusu genellikle yetişkinlerde bulunur. Sekonder kemik dokuda yer alan kollajen lifler birbirlerine paralel veya damarsal yapılar etrafında yerleşmiş lameller şeklinde düzenlenmiştir. Kanallar çevresinde dairesel dizilen bu lamellere Havers lamelleri denir. Kan damarlarını, sinirleri ve gevşek bağ dokusunu içeren bir santral kanal (Havers kanalı) etrafını saran, dairesel lamellere Havers sistemi veya osteon denir. Havers sistemi diyafizinin uzun eksenine paraleldir. İki Havers kanalı, aralarında oblik olarak uzanan Volkmann kanalları aracılığıyla birbirleriyle ilişkilidir. Volkmann kanallarının etrafında Havers kanallarında olduğu gibi lameller yoktur. Osteositlerin yerleştiği lakünalar ya lameller arasında ya da lameller üzerinde bulunur (14,16,26).



Şeki 2.1. Kemik dokusu (27)

## 2.4. Kemik Oluşumu ve Kemikleşme Tipleri

Kemik oluşumu, endokondral ve intramembranöz olmak üzere iki şekilde gerçekleşir (22).

### 2.4.1. Endokondral Kemik Oluşumu

Bu tür kemikleşmede en önemli rolü kıkırdak hücreleri alır. Uzun kemiklerin şekillenmesi endokondral kemikleşme ile olur. Önce mezenkim hücreleri kondroblastlara dönüşerek hiyalin bir kıkırdak matris oluşturur. Kondrositler hipertrofiye uğrayarak ölür ve geriye lakünler kalır. Osteoprogenitör hücreler ve kan damarları geride kalan boş alanlarda yer alır. Osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşerek kemik matrisini oluşturur ve daha sonra bu kemik matrisi kalsifiye olur (28).

### 2.4.2. İnamembranöz Kemik Oluşumu

İnamembranöz ya da doğrudan kemikleşme, mezenkim ya da bağ dokusu içinde doğrudan kemik oluşumdur. Mandibula (koronoid çıkıntının bir bölümü ve simfiz bölgesi dışında), kafa kubbesi, parietal kemikler, oksipital ve temporal kemiklerin skuamöz kısımları, ileum, skapula, klavikula ve yüz kemiklerinin bir kısmı intramembranöz olarak kemikleşir. İnamembranöz kemik dokusuna dönüşecek mezenkim bölgesinde bol miktarda kapiller görülür. Mezenkim dokusu kapiller

etrafında yoğunlaşır ve mezenkim hücreleri osteoblastlara dönüşür. Osteoblastların oluşturduğu osteoid doku zamanla mineralize oldukça osteositlere dönüşür ve yerlerini, çevre mezenkim hücrelerinden farklılaşan yeni hücelere bırakır. Böylelikle kan damarları etrafında oluşan kemik trabekülleri giderek büyür. Bu sırada mezenkim dokusu primer kemik iliğini meydana getirir. Süngersi kemik yeterli büyüklüğe ulaştınca, mezenkim membranın periferik kısmı olan periostu oluşturur. Süngersi kemik etrafında, periost tarafından tabaka tabaka birbiri üzerine yığılmış kompakt kemik kabuğu yapılır böylece yeni kemik oluşumu meydana gelmiş olur (28).

### **2.5. Kemik Büyümesi ve Yeniden Şekillenme (Remodelling)**

Kemiğin büyümesi, daha önce oluşmuş dokunun bir bölümü yıkılırken (rezorpsiyon) aynı anda diğer bir bölümünün yapımı (apozisyon) ile oluşur ve kemik yapım miktarı kemik yıkım miktarından daha fazladır. Böylece, kemik büyürken aynı zamanda şekli de korunmuş olur. Ayrıca büyüme dönemindeki çocuklarda kemik döngüsünün hızı yetişkinlere göre 20 kat daha fazladır.

Kemiğin remodelling süreci beş aşamadan oluşmaktadır.

1. Aktivasyon: Bu aşama osteoklastların belirli miktardaki kemiği rezorbe etmek için remodelling oluşturulacak alana yönlendirildiği aşamadır.

2. Rezorpsiyon: Aktive edilmiş olan osteoklastların kemik bölgesine tutunup, salgıladıkları proteolitik enzimler ile kemik rezorpsiyonunu gerçekleştirdiği aşamadır.

3. Geri dönüşüm: Bu aşamada osteoklastların oluşturduğu rezorpsiyon kavitesinde, bazı makrofaj benzeri hücrelerin aktivasyonu ile bir sement hattı oluşturulur. Daha sonra oluşan rezorpsiyon kavitesine osteoblastlar yönlendirilir.

4. Formasyon: Bu safhanın etkin hücreleri osteoblastlardır ve kemik sentezini gerçekleştirirler. Formasyon aşamasındaki osteoblast aktivitesi ortalama 2-3 ay kadar sürmektedir. Bu aşamada osteoid dokunun mineralizasyonu gerçekleşir. Mineralizasyon bittikten sonra osteoblastlar yassı bir şekil alır ve remodelling sona erer.

5. Dinlenme: Bu aşamada remodelling alanında oluşan kemik doku yeni bir remodelling siklusuna kadar olduğu halde kalmaya devam eder (26).

## **2.6. Kemik Dokusunun İyileşmesi**

Kemik dokusu, hücreler ve hücreler arası maddelerden oluşan ve sürekli bir değişim halinde bulunan gerek aktif gerekse pasif olarak vücut dengesinde görev alan bir dokudur. Kemik dokunun bu özelliklerine bağlı olarak kırık hattındaki iyileşme de birçok biyokimyasal ve fizyolojik süreci bünyesinde barındırır. Kemik dokudaki depozisyon, rezorpsiyon ve remodelling süreçleri kemik dokusunun iyileşme sürecini kolaylaştırır. Kemik iyileşmesi iltihap, onarım ve yeniden şekillenme olarak üç aşamada gerçekleşir (20).

### **2.6.1. İltihap Evresi**

Kemik kırıklarında organizmanın verdiği ilk yanıt enflamasyon yani iltihaptır. Kemik dokusuna gelen travma sonucu kırık uçlara komşu olan periost ve yumuşak dokular yırtılır ve damarlar yaralanır. Bu damar ve dokulardaki hasar sonucu meydana gelen kanama ile hematom oluşur. Bu hematom sayesinde bölgedeki proteinler ve hasar görmüş hücreler fibrini meydana getirir; daha sonra meydana gelen bu pıhtı hasar görmüş damarları tıkar ve kanamayı durdurur. Pıhtı, ilk olarak akut inflamasyon hücreleri ile, birkaç gün içinde de kronik enfeksiyon hücreleri ve makrofajlar ile dolar. Pıhtının organize olmasından hemen sonra, pıhtı 3-4 gün içinde granülasyon dokusu ile yer değiştirir. Kemik iyileşmesi için gerekli iki önemli faktör hematomdan sağlanır. Birincisi, hematom kemik ile yumuşak doku arasını doldurarak mekanik stabilite sağlar. İkincisi, osteoblastlara ve kondroblastlara farklılaşan olgunlaşmamış osteoblast ve kondrosit hücrelerinin kırık bölgesine gelmesine aracılık eder (16).

### **2.6.2. Onarım Evresi**

Onarım evresi, kırık meydana geldikten sonra başlasa da yapısal olarak organize olması 7–12 gün civarında sürer. Onarım olayında rol oynayan hücreler mezenkimal kökenli, çok yönlü değişme ve gelişme özelliği olan (pluripotent) hücrelerdir ve bu hücreler farklılaşmaya başladığında, ilk değişikliğe uğrayan hücreler kılcal damarlarla hematom içerisine giren fibroblastlardır. Bu hücreler kırık parçaları arasında yumuşak bir granülasyon dokusu oluştururlar. Kırık bölgesinin orta kısmındaki hücreler dolaşımın az olması nedeniyle kondroblast ve kondrosite dönüşerek kırık dokuyu oluşturur. Fibroblastlar kollajen sentezlerken diğer taraftan kondroblastlar kollajen ve glikozaminoglikanları, osteoblastlar ise osteoid maddeyi salgırlar. Fibröz dokudan, kırıkdaktan ve olgunlaşmamış kemik dokusundan oluşan bu yapıya kallus adı verilir.

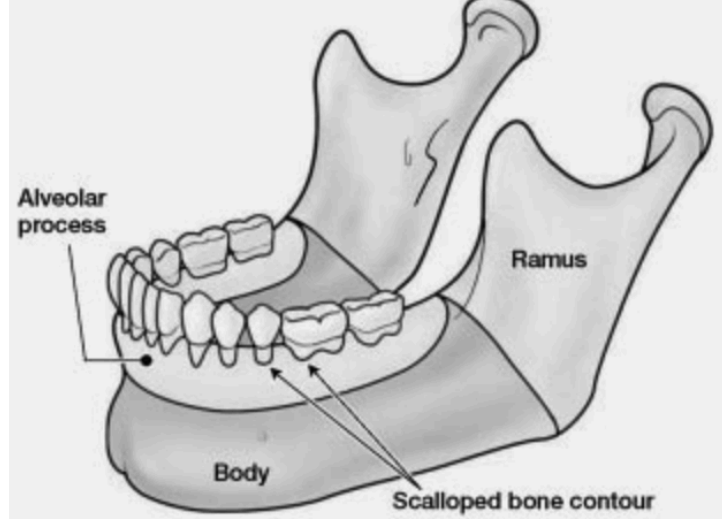
Başlangıçta oluşan yumuşak kallusun içindeki damarlanmanın artması sonucu ostoblastların aktivitesi artar ve bu hücreler tropokollajen salgılayarak kollajen dizilimini düzenlerler. Daha sonra kalsiyum iyonlarının çökmesi ile kallus dokusu sertleşir. Kırık oluşumundan sonra kallus oluşması ve mineralizasyon meydana gelmesi 4-16 hafta kadar sürmektedir (16,20,29,30).

### **2.6.3. Remodelling Evresi**

Kemiğin yeniden şekillenmesi yani remodellingi kemik iyileşmesinin en uzun süren dönemidir. Bu dönemde mikroskopik olarak düzensiz sert yapıdaki kallusun, daha düzenli olan lameller kemiğe dönüşümü görülür. Onarım döneminin ortalarında başlayıp, normalde insanlarda 4-16 hafta arasında sürerken, yıllar boyunca sürebildiği durumlar da olabilmektedir (14,20).

### **2.7. Alveolar Kemik**

Alveoler kemik temel olarak diş köklerini etrafıca saran çene kemiği kısmıdır. Kretin bukkal ve lingual duvarları ile interdental ve interradiküler septaları oluşturan kortikal kemiği ve bu tabakalar arasında bulunan trabeküler kemiği içerir. Alveolar kemik, fetal gelişim sırasında intramembranöz kemikleşme ile oluşur. Alveolar soket duvarını oluşturan ve periodontal ligamentle temasta olan kompakt kemikte çok sayıda Sharpey lifi bulunur. Alveolar kemiğin süngersi kısmı, kemik iliği boşluklarını çevreleyen trabeküllerden oluşur. Kemik iliği boşluklarının duvarları, kemik hücresine dönüşme potansiyeline sahip olan endosteal hücre tabakası ile kaplıdır. Süngersi kemik ağırlıklı olarak interdental ve interradiküler bölgelerde bulunur. Maksillada, mandibulaya göre süngersi kemik oranı daha yüksektir. Alveolar kemik, üzerine gelen değişik mekanik güçlere adapte olabilmek için kuvvetin geldiği basınç bölgelerinde rezorpsiyon, gerilimin olduğu bölgelerde ise fizyolojik yeni kemik oluşumuyla yeniden şekillenir. Alveolar kemiğin yoğunluğunu ve şeklini etkileyen en önemli faktörler, dişlerin varlığı ve aktif olarak fonksiyon görmeleridir. Diş çekimi, alveolar kemiğin hacmini olumsuz yönde etkiler ve kemik miktarının yarıya düşmesine sebep olabilir (31).



Şekil 2.2. Alveolar kemik

### 2.8. Diş Çekim Yarasının İyileşmesi

Diş çekim yarasının iyileşmesi fraktür iyileşmesine benzemekte olup, birbirini takip eden 4 aşamadan oluşmaktadır.

- Soketin kan pıhtısı ile dolması
- Kan pıhtısının sağlıklı granülasyon dokusu ile yer değiştirmesi (7. gün)
- Granülasyon dokusunun aşamalı olarak bağ dokusu ve genç preosseöz doku ile yer değiştirmesi (20. gün)
- Alveolar soketin kemik trabekülleri ile dolması (38. gün) (4,32).

Diş soketten çıkarıldığı andan itibaren bölgede kanama meydana gelir (33). Soket, damarlar aracılığıyla gelen ve soketin içerisini pıhtıyla dolduracak olan kanla dolar (34). Bu kanama olayının ardından ilk gün içerisinde sokete diğer kan hücreleri de gelerek sokette tam bir kan pıhtısı oluşumu meydana gelir. Bu durum daha sonra oluşacak granülasyon dokusu için hücrelerin biraraya gelmesini aktive eder ve inflamasyonu başlatır. Pıhtı mekaniksel bir ara madde gibi davranarak mezenkimal hücreleri de içeren hücrelerle birlikte büyüme faktörlerinin hareketlerini yönlendirir. Nötrofiller daha sonra da makrofajlar yara yerine gelerek yarayı sterilize etmek için bakterileri ve doku artıklarını parçalarlar. Makrofajlar büyüme faktörlerini ve sitokinleri salgılayıp mezenkimal hücrelerin pıhtı içine doğru migrasyonunu başlatır. Diş çekiminden sonra 2 ile 3 gün geçince soketi tamamen doldurmuş olan kan pıhtısı bozulur ve fibrinolizis meydana gelmeye başlar (33–35). Çekim soketinin alveol kret

tepesine bakan kısmında oluşan granülasyon dokusu socketin geri kalan kısmını korumaya yardımcı olur ve iyileşmenin bozulmasını engeller (36). 48 saat sonunda socket içerisindeki epitel hücreleri dönüşüp proliferasyon olarak olgunlaşmamış bağ dokusunu meydana getirir. İlk 1 hafta sonunda socket yeni oluşmuş damarsal yapılarla dolar ve pıhtı tamamen çözülmeye başlar. Yeni oluşan damarsal yapılar socket içini inflamatuvar hücreler bakımından zengin olan immatür bağ dokusuyla doldurmaya başlar. Bu aşamada osteoid, kalsifiye olmamış kemik trabekülasyonları şeklinde socketin tabanında belirginleşir. Sonraki 2-3 haftanın ardından osteoid doku socket tabanından koronale doğru mineralize olmaya başlar ve devam eder. Bu durum diş çekiminden 6 hafta sonra tüm çekim bölgesini saracak olan reepitelizasyon ile devam eder. Socketin tamamen kemikle dolması ve tam bir yoğunluğa ulaşması çekimden sonra 4-6 ay kadar arasında sürer. Çekim socketinin yeri tamamen kemikle dolar ama hiçbir zaman komşu dişlerin alveolar kemik seviyesine kadar gerçekleşmez. Çekim socketinin iyileşme sürecini etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bunlardan bazıları şunlardır; socketin boyutları, çekilen dişin kök sayısı ve çekimden önce kemik dokuda rezorpsiyon olup olmaması ve hastanın genel sistemik durumudur (33,37).

## **2.8. Bifosfonatlar**

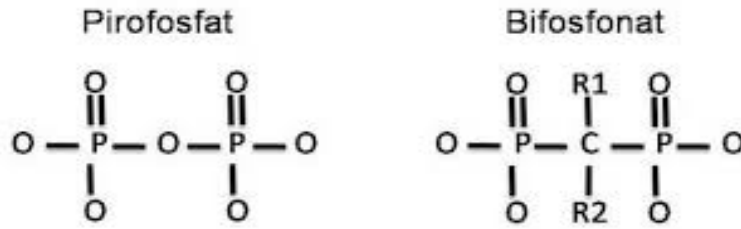
### **2.8.1. Bifosfonat Grubu İlaçların Tarihçesi**

1960' larda Fleisch ve ark tarafından yapılan böbreklerde taş 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, 1970' li yıllarda Paget hastalığının tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. 1970' li yılların sonunda kalsiyum fosfat molekülüne afiniteleri sayesinde teknesyum 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 pamidronatın FDA onayı alması ile osteolitik metastazlar, hiperkalsemi, multipl myeloma gibi hastalıkların tedavilerinde damar içi yolla kullanımına başlanmıştır. Aynı yıl içerisinde alendronatın oral yolla kullanımı özellikle osteoporozun güncel tedavisinde yer almıştır. Günümüzde oral yolla uygulanan ve yaygın olarak kullanılan bir diğer bifosfonat olan risedronat ise 2001 yılında FDA onayı alarak klinik kullanıma girmiştir (38,39).

En etkili ve güçlü 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 sonraki yıllarda antineoplastik ajan olarak multipl myelom ve kemik metastazı olan tümörlerin tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (39).

### 2.8.2. Bifosfonatların Kimyasal Yapısı

Bifosfonatlar, hidrolize edilemeyen sentetik pirofosfatların analogu olan bileşiklerdir. Pirofosfatlar bir oksijene bağlanmış iki fosforik asitten oluşmuş olup polifosfatların en temel şeklidir (40) (Şekil 2-3). Hidroliz yoluyla kolayca parçalanır ve elimine edilirler. Bifosfonatlar, pirofosfattaki oksijenin yerine karbon içerirler ve fosfor-karbon-fosfor yapısı ile hidrolitik parçalanmaya dirençli hale gelirler (Şekil 2-3). Bu yapı ile kemik matriksinde birikebilme ve 10 yılı aşkın bir yarılanma ömrüne sahip olma özelliğini kazanırlar (41).



**Şekil 2.3.** Pirofosfat molekül yapısı, Bifosfonat molekül yapısı

Pirofosfatlardan farklı olarak molekül yapılarında buldukları iki yan zincir sayesinde seçici olarak osteoklastlarca endositoz ile hücre içerisine alınarak, kemik rezorpsiyonu sırasında lokalize olarak salınıp kemik yıkımı süreci 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 (42).

Bifosfonatlar kimyasal yapılarına göre temel olarak 2 ana gruba ayrılır.


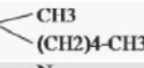

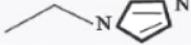
1- Nitrojen içermeyen bifosfonatlar:

- Etidronat - Klodronat- Medronat - Tiludronat

## 2- Nitrojen içeren bifosfonatlar (aminobifosfonatlar):

- Alendronat - Pamidronat- İbandronat- Risedronat- Zoledronat

1. kuşak bifosfonatlar ayrıca nitrojen içermeyen 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. 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 güçlü 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 5000 birim, zoledronatın ise 10.000 birim kadar güçlü olduğu bildirilmiştir (41,43) (Şekil 2.4.).

	R1 zinciri	R2 zinciri	Potens	Osteonekroz oluşturma riskleri sıralaması
Etidronat	OH	—CH <sub>3</sub>	X1	8
Klodronat	Cl	—Cl	X10	7
Tiludronat	H	-S-  -Cl	X10	6
Pamidronat	OH	—CH <sub>2</sub> —CH <sub>2</sub> —NH <sub>2</sub>	X100	5
Alendronat	OH	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> —NH <sub>2</sub>	X1000	4
İbandronat	OH	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> N 	X5000	3
Risedronat	OH		X5000	2
Zoledronat	OH		X10,000	1

Şekil 2.4. Bifosfonat yapısını meydana getiren R1-R2 zincirleri, güçleri ve osteonekroz oluşturma riskleri (44)

### 2.8.2.1. Zoledronik asit

Zoledronik asit kimyasal olarak bifosfonik asit monohidrat olarak adlandırılır. Molekül formülü C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>P<sub>2</sub>•H<sub>2</sub>O, molar kütlesi 290,1 g/mol' dür. Zoledronik asit

sodyum hidroksit solüsyonunda büyük ölçüde çözünürken su ve hidroklorik asitte az çözünür, organik solventlerde ise çözünmez.

Zoledronik asit infüzyonu sonrasında vücutta ilacın plazma konsantrasyonu hızla artmakta, infüzyon periyodunun sonunda en yüksek düzeyine ulaşmakta, ardından dört saat sonra maksimum düzeyinin % 10' una, 24 saat sonra % 1' ine inecek şekilde hızlı azalma göstermektedir. İkinci ilaç infüzyonunun uygulandığı 28. güne kadar maksimum ilaç konsantrasyon düzeyinin % 0.1' ini aşmayacak seviyede oldukça düşük konsantrasyonda kalır (45).

30 günlük aradan sonra tekrarlanan ilacın ardından vücutta ilaç birikimi olmamaktadır. Zoledronik asit vücutta metabolize olmaz ve değişmeden böbreklerden atılır. İlk günün sonunda uygulanan dozun yarısına yakını idrarda bulunur geriye kalanı ise kemik dokuya bağlanmış olur. Kemik dokuya bağlanan ilaç yavaş bir şekilde serbest hale gelip sistemik dolaşıma katılmaya başlar ve ardından böbreklerden atılır (46).

Zoledronik asit yeni nesil bifosfonat moleküllerinden olup osteoklastik aktiviteyi bozarak kemik dokunun yıkımını engeller. Zoledronik asit osteoklastlara olan afiniteleri nedeniyle kemik rezorpsiyon döngüsünde güçlü bir inhibisyon yapar. Osteoklast dönüşümünü ve osteoklastların kemik yıkımı yönündeki aktivitelerini inhibe eder. Osteoklastların apoptotik hücre ölümünü indüklemesi de ayrı bir etkinliktir. Diğer bifosfonat moleküllerine benzer şekilde hidroksiapatite karşı yüksek afinitesi olduğundan doğrudan mineralize kemiğe bağlanır. Kemik rezorpsiyonu ile serbest hale geçen bifosfonat molekülleri tekrardan osteoklast aktivasyonunu bozarak inhibisyon yapar. Bunun sonucu olarak osteoklast aktiviteleri bozulur ve apoptozis meydana gelir (47,48).

### **2.8.3. Bifosfonatların Farmakokinetiği**

Bifosfonatların anti-rezorptif etkileri birçok hayvan modeli üzerinde yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Hem oral yoldan hem de damar yolu ile uygulanabilen bifosfonatlar oral yoldan alındığında, hücreler arası taşınma yolu ile düşük oranlarda barsaklardan emilir. Farklı türevlerin çok değişken emilim düzeyleri bildirilmiştir. Absorbe edilen ilacın büyük kısmı hızla böbreklerden ve çok küçük bir kısmı safra yolu ile atılırken bir kısmı da iskeletsel yapıya geçerek dolaşımdan uzaklaşır. Bifosfonatların yalnızca osteoklastik rezorpsiyon ile bağlı olduğu hidroksiapatitten ayrılabilmesi ve devam eden kemik oluşumu sırasında tekrar iskeletsel yapıya geçerek burada kalmaları

nedeni ile kemikteki yarı ömürleri uzundur ve iskeletsel yapının turn-over düzeyine göre değişkenlik gösterir (49).

Nitrojen içeren ve içermeyen bifosfonatlarda 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 özelliğindedir. Nitrojen içeren bifosfonatlar ise metabolize olmazlar, kemiğe bağlanarak dolaşıma yavaşça salınırlar ve büyük oranda değişmeden, böbrekler aracılığıyla atılırlar (39,50,51).

Bifosfonatlar kemik dokusu içerisinde yer almaya başladıktan sonra uzun yıllar boyunca hem olumlu hem de olumsuz etkilerini göstermeye devam eder. Erken yarı ömürlerinin 10 gün civarında olduğu belirlenmişse de, iskeletsel yarı ömürlerinin 10 yıla kadar uzayabildiği düşünülmektedir. Nitrojen içerikli bir bifosfonat olan alendronatın yarı ömrünün 11 yıldan daha fazla olduğu gösterilmiştir. Pamidronat ve zoledronat gibi kemik metastazı tedavisinde kullanılan bifosfonatlar, her 3 haftada 1 defadan 3-4 ayda bir defaya kadar değişebilen aralıklarda bir doz damar yoluyla uygulanır. Kanser tedavisinde uygulanan dozların, osteoporoz tedavisinde uygulanan bifosfonat dozlarından daha fazla olduğu bilinmektedir. Bu grup ilaçların ilgili hastalıkların tedavisinde giderek vazgeçilmez olmalarının nedeni, malign tümörlerin kemik metastazlarını engelleme, osteoporozlu hastaların kemik ağrılarında azalma, hiperkalsemi ve kemik fraktürlerinde azalma gibi önemli faydalar sağlamalarıdır (7,52).

#### **2.8.4. Bifosfonatların Etki Mekanizması**

Tüm bifosfonatların temel biyolojik etkisi, kemik rezorpsiyonunu dolayısıyla kemik döngüsünü ve yenilenmesini inhibe etmektir. 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. Bifosfonatların doku düzeyindeki temel etkisi, kemik yıkımını da

içeren döngüyü yavaşlatmasıdır. Kemik yıkımını engellemesinin yanında yeni kemik yapım hızını da azaltırlar (53).

Hücresele düzeydeki etki muhtemel 4 mekanizma ile açıklanabilir (54,55).

1. Osteoklastlara dönüşecek olan öncül hücrelerin, olgun osteoklastlara dönüşümünün engellenmesi,

2. Osteoklastların kemiğe doğru hareketlerinin ve kemik dokuya tutunmalarının engellenmesi,

3. Erken apoptoz nedeniyle osteoklastların yaşam süresinin kısalması,

4. Osteoklast aktivitesinin inhibisyonu

Moleküler düzeyde ise bifosfonatların osteoklastlar üzerindeki etkilerinden sorumlu iki farklı mekanizma öne sürülmüştür. Nitrojen içermeyen bifosfonatlar, hedef hücrelerde toksik 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 sentezini ve kemik yıkımını engelleyerek gösterirler. Protein sentezinin inhibisyonu osteoklast sayısını ve aktivitesini azaltır, osteoklast apoptozunu ise destekler (41,56–60).

Bifosfonatların terapötik ve toksik etkileri osteoklastlar üzerindeki etkilerinden kaynaklandığı için osteoklastların normal kemik yenilenme ve şekillenme sürecindeki rolünü iyi bilmek gerekir. Osteoklastlar, kemik iliğindeki osteoklastik prekürsör hücrelerden farklılaşarak gelişir ve çok çekirdekli olgun osteoklastlara dönüşürler (61). Normal kemik yenilenme döngüsünde osteoklastlar, paratiroid hormona cevap olarak Howship lakünleri içerisinde hidroklorik asit salgılayarak kemiğin yüzeysel alanlarında düzensiz sınırlar oluşturacak şekilde kemiği rezorbe ederler. Bu sırada kemik morfojenetik 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 hücrelerin osteoblastlara dönüşümünü destekler ve oluşan osteoblastlar osteoid maddeyi salgılayarak kemik yapımını stimüle eder (38).

### **2.8.5. Bifosfonatların Tedavi Edici Etkileri**

Bifosfonatlarla tedavide beklenen olumlu etkiler, anti-rezorptif, tümörosidal ve antianjiyojenik etki olmak üzere 3 başlık altında incelenebilir.

#### **2.8.5.1. Bifosfonatların Anti-Rezorptif Etkileri**

Bifosfonat grubu ilaçların en önemli ve en güçlü etkileri arasında sayılan antirezorptif etkileri, ulaştıkları konsantrasyonlar ve dokuda retansiyon zamanları değişkenlik gösterir. Kemik dokudaki inflamasyon ve rezorpsiyon süreçlerinde, yüksek hücrel aktiviteye bağlı olarak daha fazla miktarlarda ve daha uzun sürelerle buldukları birçok yayınlara rapor edilmiştir.

Nitrojen içerikli olmayan bifosfonatlar osteoklastlar içerisinde ATP' nin sitotoksik olan yapıtaşlarına ayrılarak hücre içerisinde birikir ve ATP ile yarışır. Sonuç olarak, osteoklastlar yaşamsal fonksiyonları için gerekli olan enerjiden yoksun kalarak apoptoza yönelir. Ortamdaki osteoklastların sayısının ve etkinliğinin azalması, kemik rezorpsiyon miktarının azalmasıyla sonuçlanır (62,63).

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 bulunmaması, osteoklastik aktivite için büyük önem gösteren proteinlerin oluşumuna veya gerekli formlara modifiye olmalarına engel olur. Bu türdeki bifosfonatların tedaviye uygun dozlarda kullanıldığında kemik yapım hızını ve mineralize kemik miktarını arttırdığı hayvan deneylerinde kanıtlanmıştır (64).

#### **2.8.5.2. Bifosfonatların Tümörosidal Etkileri**

Bifosfonat türeviden ilaçların günümüzde oldukça fazla kullanılmalarının temel bir sebebi de tümörosidal etki göstermeleridir. Kemik dokuda malign tümörlerden köken alan metastatik hücrelerin salgıladığı kemik rezorpsiyonuna neden olan maddelerin inhibisyonuna ve yıkılan kemikten açığa çıkan ve tümör gelişimini arttıran faktörlerin oluşumunun engellenmesine neden olması, bifosfonatların tümörosidal etkilerinin temeli olarak gösterilmektedir. Bu bilgiler ışığında, bifosfonatların tümörosit etkilerini asıl olarak, anti-rezorptif etki üzerinden sağladıkları fikrine varılabilmektedir (65,66).

Bifosfonat grubu ilaçların tümörosidal etkilerinin açıklaması niteliğindeki bir diğer bilgi ise, tümör hücrelerinin gelişiminde ve metastazında rol oynayan bazı büyüme faktörlerinin (ILGF-1, ILGF-2, BMP) salınımını engellemesidir. Bifosfonatların, tümöral hücrelerin proliferasyon, adezyon ve invazyon gibi yeteneklerini sınırladığını da gösteren çalışmalar bulunmaktadır (65,67).

### **2.8.5.3. Bifosfonatların Anti-Anjiyogenik Etkileri**

Dokuda var olan damarlardan yenilerinin oluşması olarak tanımlanabilecek olan anjiyogenez süreci, tümör gelişimine temel oluşturan önemli basamaklardan bir tanesidir. Nitrojen içerikli bifosfonatlar, endotelial hücre çoğalması, hücre göçü ve kapiller formunun oluşumu gibi anjiyogenezin temel birçok aşamasını inhibe eder (65).

### **2.8.6. Bifosfonatların Endikasyonları ve Klinik Uygulamaları**

- Menopoz dönemi sonrası, kadınlarda profilaktik veya terapötik amaçlı olarak kemik mineral dansitesini artırmak ve osteoporozla bağlı oluşan kemik kırıklarını azaltmak ve yaşlanmayla beraber glukokortikoid kullanımına ve östrojendeki azalmaya bağlı olarak kemikte oluşan kitlesel azalmayı engellemek,
- Fibröz displazi, Paget's hastalığı, heterotropik ossifikasyonlar, ankilozan spondilit gibi kemikle ilişkili hastalıkları tedavi etmek,
- Meme, prostat ve akciğer gibi kemiğe metastaz özelliği fazla olan kanserlerin tedavisinde antitümöral etkisinden faydalanmak,
- Malign tümörlerle ilişkili hiperkalsemi tedavisinde hiperkalsemiyi önlemek,
- Multiple myelomada osteoklastik aktivitenin artması sonucu oluşan iskeletsel komplikasyonları önlemek,
- Osteogenezis imperfektalı çocuklarda kemik fragilitasını azaltmak ve Gaucher sendromunun kemik lezyonlarını tedavi etmek amacıyla bifosfonatlar kullanılmaktadır (9,44).

### **2.8.7. Bifosfonat Grubu İlaçların Yan Etkileri**

Osteoporoz, multipl myeloma, metastaz yapabilecek malign kemik tümörleri ve kemik metabolizmasını etkileyen hastalıklar konusunda birçok olumlu ve iyileştirici

etkisi olmasına rağmen, uygulanmaları sırasında ve sonrasında birçok yan etkiye de neden olabilecekleri çok sayıda rapor ile gösterilmiştir. 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 (7,40,68). Bunların yanısıra böbreklerde proksimal tübüllerde dejeneratif değişiklik, hücre nekrozu ve membranda fırçamsı yüzeyin kaybolduğu bildirilmiştir. Böbrek yetmezliği veya rahatsızlığı olan hastalarda bifosfonatlar dikkatli kullanılmalıdır.

Bifosfonat grubu ilaçların kemikte yüksek konsantrasyonlara ulaşması halinde, oral mukoza epiteli üzerinde toksik etkileri olabileceği rapor edilmiştir. Diğer yapılan birçok çalışmada da bifosfonat kullanımının en önemli yan etkilerinden biri olarak çene osteonekrozu belirtilmiştir (69).

### **2.9. Bifosfonatla İlişkili Çene Osteonekrozu (BİÇO)**

İlk defa 2003 yılında Marx tarafından tanımlanan BİÇO günümüzde daha da artan oranlarda ve hekimlerin sıkça karşılaşmaya başladıkları ciddi bir sorun olmaya başlamıştır (70).

American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons (AAOMS), 2009 yılında yayınladıkları raporlarında daha önce baş boyun bölgesinden radyoterapi almamış bifosfonat kullanmış ya da kullanmakta olan hastaların çenelerinde 8 haftadan uzun süredir mukozada açığa çıkan kemik görüntüsünü “bifosfonatla ilişkili çene osteonekrozu” olarak tanımlamıştır (9).

AAOMS, antirezortif ve antianjiyojenik ilaçlarla ilişkili maksilla ve mandibuladaki osteonekroz vakalarındaki artışın sadece bifosfonatlarla ilişkili olmadığını başka ilaçlarla da ilişkili olduğunu rapor etmiş, bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw (BRONJ) terimini 2014 yılında yayınlanan makalede medication related osteonecrosis of the jaw (MRONJ) olarak değiştirmiştir. Daha önce baş ve boyun bölgesinden radyoterapi almamış antirezortif ve antianjiyojenik ilaç tedavisi almış veya almakta olan hastaların çenesinde 8 haftadan fazla intraoral veya

extraoral fistüllerle beraber olabilen mukozada açığa çıkan kemik görüntüsü MRONJ olarak tanımlanmıştır (71).

Kemik dokusu üzerindeki baskılamanın BİÇO oluşması ile alakalı olduğu düşünülmektedir ve kemik döngüsünde kullanılan CTX ( kollajen terminal telopeptid) belirleyicisinin BİÇO için de kullanılması adına çalışmalar mevcuttur (72).

İlk kez 2007 yılında Marx tarafından önerilmesinden günümüze kadar çok sayıda araştırmaya konu olmuştur. Kemik rezorpsiyonunu takiben Tip I kollajenin serbestleşmesiyle birlikte salınan CTX, osteoklastik aktiviteyi en iyi gösteren biyolojik markerlardan biri olarak kabul edilmektedir. 2000 yılında Christgau ve arkadaşları, serum CTX testinin antirezorptif tedavinin değerlendirilmesinde belirgin özgünlük ve hassasiyete sahip olduğunu göstermişlerdir (73,74,75).

Kemik dokuda meydana gelen osteonekrozların oluşma sebepleri arasında birçok faktör yer almaktadır. Bunlar arasında en önemlileri olarak değerlendirilebilecekler; ilacın uygulanma yolu ve uygulanan toplam ilaç dozudur. İlaç uygulanma yolu olarak intravenöz yol seçildiğinde kemik dokuda osteonekroz oluşma ihtimali artmaktadır. Oral yolla ilaç alımında da bu risk mevcuttur fakat damar yoluyla uygulamadan daha düşüktür. Bu tür sebeplere ek olarak ağız hijyeninin kötü olması, oral bölgedeki diş kaynaklı enfeksiyonlar, travma veya cerrahi operasyon geçirmiş olmak, uzun süreler steroid kullanmak ve hasta yaşının oldukça ileri olması osteonekroz gelişim riskini arttıran faktörlerdendir. Osteonekroz vakalarıyla ilgili en belirgin semptomlar ağrı, yumuşak doku ödemi, enfeksiyon, dişlerde mobilite, ağızda kötü koku, pürülan iltihapsal akıntı ve açığa çıkmış nekrotik kemik varlığıdır. Belirtiler kendiliğinden meydana gelebileceği gibi daha yüksek oranda oral bölgedeki cerrahi müdahaleler sonrası da görülür (76). BİÇO vakalarında maksilla veya mandibulada sinir hasarına bağlı parestezi şikayetlerine rastlanabilir. Parestezi devamlılık göstermediği gibi mukoza bütünlüğünün bozulmadığı hastalarda paresteziyi destekleyecek herhangi bir patolojik bulgu panoramik radyografilerde izlenmeyebilir. Bu hastalarda ileri görüntüleme yöntemleri olan bilgisayarlı tomografi (CT) ve manyetik rezonanstan (MR) faydalanılabilir (73,75,77).

BİÇO meydana gelmesi durumunda vücutta meydana gelen bozukluklar; özellikle ağrı, ağız kokusu gibi belirtiler hastanın yaşam kalitesini olumsuz etkiler. Bu vakalarda eğer bir de kemoterapi, kortikosteroid tedavisi gibi vücudun bağışıklık sistemini baskılayan tedaviler söz konusuysa maksillada enfeksiyonun sinüzite ve komşu dokular aracılığıyla beyine yayılıp yaşamı tehdit eden komplikasyonların ortaya çıkmasına yol açabilir. Kontrol

altına alınamayıp ilerleyen olgular mandibula çevresinde kutanoz fistül oluşumuna neden olabilir (38). Osteonekroz vakaları mandibulada maksillaya oranla daha fazla görülür. Bunun nedeni maksillanın kanlanması mandibulaya göre daha iyi olması ve kemik yapısının daha spongios özellikte olmasıdır. Mandibula, maksillaya göre daha kompakt yapıda ve kanlanması sadece alveolaris inferior arterden olmaktadır. BİÇO' nun çene kemiklerinde daha sık görülmesi; diş çekimi, periodontal enfeksiyonlar, protez irritasyonu gibi nedenlerle bakterilerin kemiğe invaze olmasıyla açıklanmaktadır. Uzun süre bisfosfonat kullanımına bağlı olarak maksilla ve mandibuladaki kanlanmanın bozulduğu ve diş çekimi sonrası bu açık yara yerinin mevcut oral flora içinde tam olarak iyileşme gösteremediği düşünülmektedir. Vücuttaki diğer kemiklerin yumuşak doku ile iyi bir şekilde kapanması ve floraları tarafından iyi korunması da, bu kemikleri çene kemiklerinden ayırmaktadır. Ayrıca bisfosfonatlar çene kemikleri gibi yüksek metabolizma hızı gösteren kemiklerde daha fazla depolanmaktadır (78).

BİÇO gelişim riskinin belirlenmesinde, kullanılan bifosfonatın türü, veriliş yolu ve dozu önemlidir. Osteopeni, osteoporoz ve Paget Hastalığı tedavilerinde bifosfonat grubu ilaçların oral yolla kullanımı, göreceli olarak düşük BİÇO riski ile ilişkilendirilirken, daha potent olan nitrojen içerikli türevlerin damar yolu ile uygulandığı olgularda risk düzeyinin çarpıcı şekilde daha yüksek olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. BİÇO gelişimi için risk faktörlerini ve hastalığın görülme sıklığını belirlemek amacıyla yapılan çalışmalarda, çeşitli nedenlerle zoledronik asit kullanımının pamidronat kullanımına oranla, on kata yakın daha fazla risk oluşturduğu rapor edilmiştir (79).

Yapılan araştırmalarda BİÇO' nun damar yolu ile alınan ilaçlar sonucunda oluşma sıklığı % 0.8-12 arasında değişirken bu oranın oral preparatların 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 (80).

**Tablo 2.1.** BİÇO' nun evrelendirilmesi ve tedavisi (81)

<b>Evre</b>	<b>Klinik Değerlendirme</b>	<b>Tedavi</b>
<b>Evre 0</b>	Klinik olarak nekrotik kemik yok, nonspesifik klinik bulgular ve semptomlar var.	Tedavi endikasyonu bulunmamaktadır. Ağız hijyeni eğitimi gerekmektedir.
<b>Evre 1</b>	Klinik olarak enfeksiyon bulgusu olmadan, asemptomatik hastalarda ekspoze ve nekrotik kemik var.	Antibakteriyel ağız gargarası, klinik takip, ağız hijyeni eğitimi ve devam eden bifosfonat tedavi endikasyonlarının gözden geçirilmesi gerekmektedir.
<b>Evre 2</b>	Pürülan drenaj olmadan, ekspoze kemik bölgesinde eritem ve ağrı bulguları ile seyreden enfekte ekspoze nekrotik kemik var.	Geniş spektrumlu antibiyotiklerle semptomatik tedavi, antibakteriyel gargara, ağrı kesiciler ve yumuşak doku travmasını engellemek için yüzeysel debridman gerekebilir
<b>Evre 3</b>	Ağrı olan hastalarda nekrotik ve açığa çıkmış kemik, aşağıdaki klinik bulgulardan birinin veya daha fazlasının varlığı; alveolar kemik alanının dışında ekspoze ve nekrotik kemiğin genişlemesi (mandibulanın alt sınırı, ramus, maksillar sinüs ve maksillanın zigomatik çıkıntısı) sonucu patolojik fraktür oluşması; ekstra-oral fistül; oroantral ve/veya oronazal bağlantı; veya mandibulanın alt sınırı veya sinüs tabanında osteolizisin genişlemesi var.	Antibakteriyel ağız gargarası, antibiyotik tedavisi ve ağrı kesici, enfeksiyon ve ağrının giderilmesi için cerrahi debriman veya rezeksiyon gerekebilir.

BİÇO 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 göz önünde bulundurulmalıdır. Günümüzde genel olarak BİÇO tedavisi hastalığın evresine göre medikal yaklaşım, medikal/cerrahi yaklaşım ve medikal/cerrahi yaklaşımın çeşitli destekleyici tedavilerle birlikte uygulanması şeklinde yapılmaktadır.

Evre 1, 2 ve bazı evre 3 olgularında enfeksiyonu kontrol altına almak ve ağrı, fonksiyon kaybı gibi semptomları azaltmak amacıyla klorheksidin ve benzeri antimikrobiyal ajan içeren gargaralar, ağrı kesiciler ve antibiyotikler kullanılır (81). Ağız ortamına açılan çıplak kemik alanlarından alınan örneklerden en sık, Actinomyces, Veillonella, Eikenella, Moraxella, Fusobacterium, Bacillus, Staphylococcus, Streptococcus ve Selenomonas türleri izole edilmiştir. Tüm bu mikroorganizmalar penisiline duyarlıdır. Bu nedenle tedavide ilk tercih edilen antibiyotik penisilin olmalıdır (45).

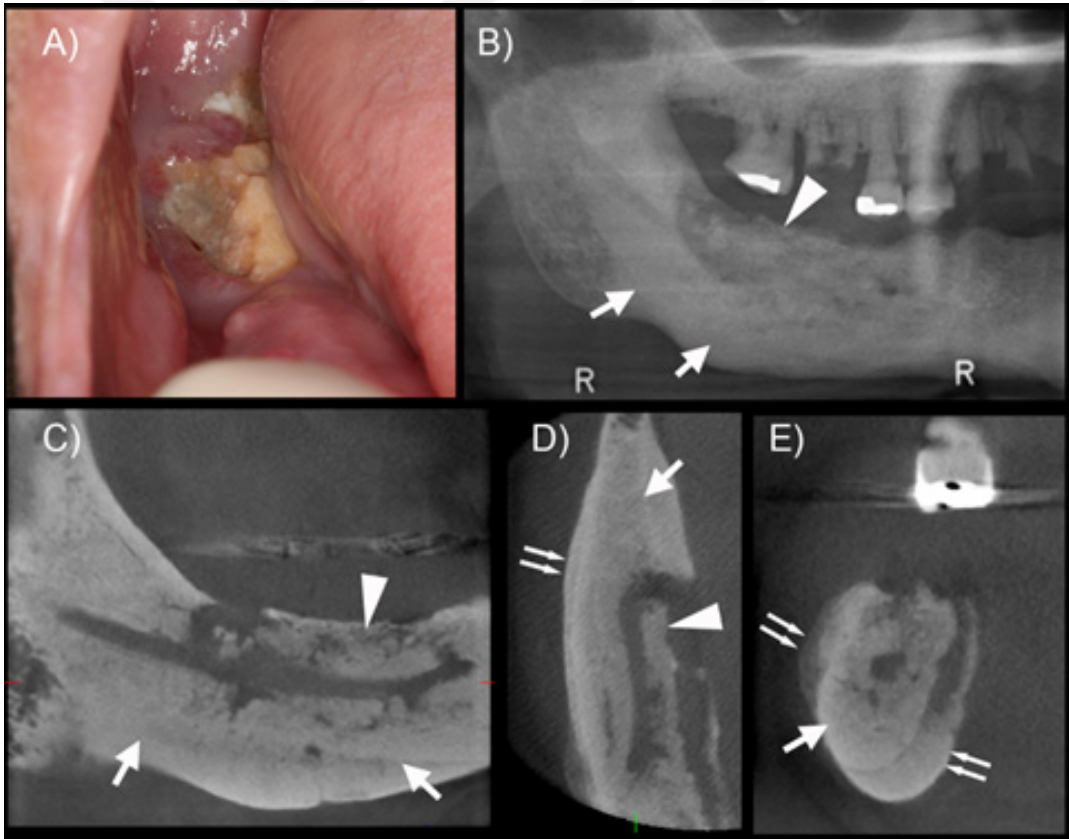
İlaç iyi tolere edildiğinden yıllarca hatta on yıllarca direnç gelişmeden kullanılabilir. İlacın uzun dönem etkisinden kaygı duyulursa hastaya ağrı kontrol altına alınana kadar penisilin kullanılır, daha sonra sadece klorheksidinli gargara ile tedaviye devam edilebilir. Penisilin alerjisi bulunan hastalarda 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 tedavi devam ettirilmelidir. Bu antibiyotiklere dirençli olan vakalarda günde üç kez 500 mg metronidazol kullanımının ağrıyı ve enfeksiyonu kontrol altına alabileceği de gösterilmiştir. Hastanın durumunun iyi olması ve osteonekrozun belirtilerinin stabil olması halinde konservatif tedavi devam ettirilir. İlerlemiş olan ve hastanın yaşam kalitesini kötü etkileyen vakalarda ise cerrahi tedavi uygulamaları söz konusu hale gelir (41).



**Şekil 2.5.** Diş çekim soketi etrafında gelişen BİÇO' nun görüntüsü (82)



Şekil 2.6. Alt çenede BİÇO' nun görüntüsü (83)



Şekil 2.7. BİÇO 'nun klinik ve radyografik görüntüsü (84)

### 2.9.1. BİÇO Tedavisinde Yardımcı Tedavi Yöntemlerinin Kullanımı

BİÇO tedavisinde medikal, medikal/cerrahi yaklaşımlara ek olarak iyileşme sürecini desteklemek ve hızlandırmak üzere literatürde ve raporlarda bazı destek tedaviler önerilmektedir. Bu tedavilerin etkinlikleri tartışmalı olup geçerlilikleri ile ilgili çalışmalar hali hazırda devam etmektedir. İdeal destekleyici yaklaşımın hangisi olduğu ve hangi parametrelerle uygulanması gerektiği henüz net olarak ortaya konulamamıştır (41,85,86).

Farklı nedenlere bağlı olarak gelişen osteonekroz olgularında tedavideki etkinliği bilinen HBO (hiperbarik oksijen); anjiyojenik etkisi nedeniyle BİÇO tedavisinde de kullanılmıştır. HBO tedavisinin yara iyileşmesi ve uzun dönem ağrı skorları üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Khosla ve Bai' nin yapmış olduğu çalışmalar doğrultusunda HBO tedavisinin bifosfonat nedeniyle zarar görmüş osteoklastları uyarıcı özelliği olduğu bulunmuştur. Magopoulos ve ark. HBO tedavisini farklı tedavi protokolleriyle kombine ederek BİÇO tedavisinde kullanmıştır. Fakat sonuçlara göre HBO tedavisinin anlamlı düzeyde bir fark yaratmadığı bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada BİÇO gelişen hastalara medikal ve cerrahi tedavi ile birlikte PRP (platelet rich plasma) uygulaması ve düşük doz lazer tedavisi (DDL) yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda PRP ve DDL' nin iyileşmeyi hızlandırdığı ortaya konmuştur (41,87–89).

Lee ve ark. cerrahi debridmandan sonra şikayetleri geçmeyen bir BİÇO olgusunda günlük düşük doz teriparatit tedavisi uygulamışlardır. Altı ay sonra ekspoze kemiğin iyileştiği ve yara yerinin tamamen kapandığı belirtilmiştir. Paratiroid hormonun osteoklast ve osteoblastları uyarıp, kemik metabolizmasını ve turn overını hızlandırarak bifosfonatların antirezorptif etkilerini tersine çevirdiği düşünülmektedir (90).

BİÇO' nun tedavisinde kullanımı önerilen bir diğer yardımcı tedavi yöntemi de medikal ozon tedavisidir. Ozon tedavisi avasküler nekroza bağlı patolojilerde endojen antioksidan sistemi stimüle ederek, kan akımını, eritrosit ve hemoglobin konsantrasyonunu arttırarak tedavideki etkinliğini göstermektedir. BİÇO' da kullanımı ise, özellikle oksijen metabolizma süreci olmak üzere kalsiyum, fosfor ve demir metabolizması süreci üzerine olan stimülatif etkilerinden ve bakterisid özelliklerinden dolayı bazı yazarlar tarafından önerilmiştir. Ayrıca uygun dozlarda uygulandığında analjezik etkileri de bulunmaktadır.

Agrillo ve ark. tarafından yapılan çalışmada ozon tedavisinin tam mukozal kapanmayla sonuçlanan kemik ve yumuşak doku iyileşmesine yardımcı olduğu gösterilmiştir (91).

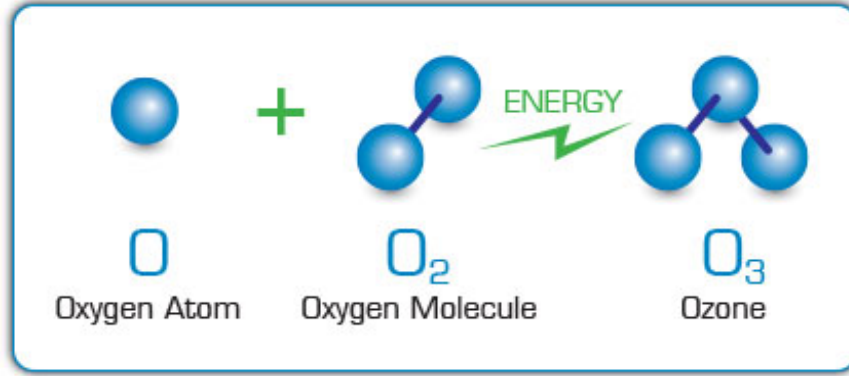
Ozon, kırmızı kan hücreleri konsantrasyonu ve hemoglobin oranını artırmaktadır ve diyapedezi ve retikülohistiyosit sistemlerin fagositozunu pozitif yönde etkilemektedir. Birçok yazar BİÇO tedavisinde medikal ozonun cerrahi tedaviyle kombine olarak kullanımını veya bifosfonat kullanan hastaların diş çekimi sonrası alveolar soket iyileşmesini hızlandırması için kullanımını önermektedir (92).

## **2.10. Ozon**

### **2.10.1. Ozonun Genel Özellikleri**

Ozon bünyesinde üç atom barındıran, endotermik ve termodinamik olarak yüksek derecede stabil olmayan bir oksijen bileşimidir. Basınç ve sıcaklık gibi etkenlere bağlı olarak yarılanma ömürleri oldukça kısadır. Oda sıcaklığında açık mavi renkte olan bir gazdır. Ozon, atmosferin özellikle üst katmanlarında bol miktarda bulunan bir gazdır (93). Atmosfer tabakalarından olan stratosferde gaz formu olarak 1-10 ppm arasında bulunur. Sürekli bir döngü halinde oksijenden oluşur veya oksijene dönüşür. Oksijenden 1.6 kat daha yoğundur ve su içerisinde çözünmesi oksijene göre yaklaşık 10 kat daha fazladır (94).

Ozon, doğanın bilinen en güçlü oksidanlarından birisi olmasından ötürü birçok biyomoleküle karşı etki gösterir. Bu reaktif oksijen türevi, güneşin ultraviyole ışınları tarafından doğal olarak veya yapay olarak medikal jeneratörlerle oluşturulur. Stratosferde güneşin zararlı ultraviyole B ve C ışınlarını absorbe eder ve hava kirliliğine neden olan elemanların okside edilmesini sağlar. Florin ve persülfattan sonra üçüncü en fazla oksidan etkiye sahip madde ozondur. 19. yüzyılda güçlü oksidan özelliği nedeniyle içme sularında dezenfektan etkisinden ötürü kullanılmıştır. Ozon; gazlı ozon, ozonlu su ve ozonlu yağ şeklinde tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır. Ozon, ozonlu su olarak dört derecede üç yüz saat kadar muhafaza edilebilir. Bu muhafaza edilebilme süresi sıcaklık yirmi dereceye çıktığında on saate kadar düşmektedir. Ozonlu yağ formunun hazırlanmasında zeytinyağı, ayçiçek yağı ve susam yağı gibi yağlar kullanılmaktadır. Çalışmalarda kullanılan yağlar arasında en ideal yağ olarak susam yağı bulunmuştur (94–97).



Şekil 2.8. Ozon molekülü (98)

### 2.10.2. Ozonun Tarihçesi

1834’de ozon Schoenbein tarafından keşfedilmiştir. Schoenbein, ozonun sadece oksidan olmadığını aynı zamanda dezenfektan etkisi olduğunu da belirtmiştir (99). Soret, 1865 yılında ozonun kimyasal formülünü bilim dünyasına sunmuştur (100). Ozonla ilgili çalışmalar hızlanmış Mariniak ve Delarive ozonun oksijenin allotropik formu olduğunu belirtmişler, Mulliken ve Dewar ise ozonun moleküler yapısını belirlemişlerdir (101). 1900 yılında ilk ozon jeneratörü patentini alan kişi Nicola Tesla’dır. 1902 yılında Clarke ozonu anemi, kanser, diyabet, influenza ve morfin zehirlenmesi tedavisinde kullanmaya başlamıştır. Ozon, birinci dünya savaşı sırasında da clostridium bakterisine bağlı gazlı gangren, enfekte olmuş yaralar ve fistülleri tedavi etme amacıyla kullanılmıştır (102). Ozon tedavisi keşfedildiği ilk yıllarda ampirik ve kesin olmayan bir yöntem olarak kalmış, Amerika’da 1880’den 1932’ye kadar alternatif tıp olarak kabul görmüştür (103). 1970’lerde oksijen-ozon karışımı kullanılarak yapılan otohemoterapi yaklaşımını Almanya’da yayınlayan Wolff, ozonlu otohemoterapi yöntemini kullanmaya başlamıştır. Son on beş yılda ozon tedavisinde büyük gelişmeler görülmesinin sebebi ozon jeneratörleri ile ozon konsantrasyonlarının net olarak bilinebilmesi ve ozonun, kan ve kan sıvıları üzerindeki etki mekanizmalarının belirlenebilmesidir (104).

Dr. E. A. Fisch (1899-1966) diş hekimliğinde ozonu, ilk olarak ozonlu su olarak kullanmıştır. Fisch geri dönüşümsüz pulpitis olan cerrah Dr. E. Payr’ı ozon kullanarak tedavi etmiş ve alınan olumlu sonuçtan sonra Dr. Payr kendi kliniğinde ozonu tedavi amacıyla kullanmaya başlamıştır. Hemen akabinde Werkmeister ateroskleroza, diyabete

ve radyoterapinin yan etkisine bağlı çeşitli cilt hastalıklarında gaz ozonu kullanmaya başlamıştır (97).

Oral cerrahide ozon, hemostazı sağlamak, lokal oksijen miktarını arttırmak ve bakteriyel kontaminasyonu önleme amacıyla da kullanılmıştır (105).

### **2.10.3.Ozonun Yapay Olarak Üretimi ve Ozon Jeneratörleri**

Yapay ozon gazı; ozon jeneratörleri ile oksijen molekülünün parçalanmasını sağlayarak elde edilen oksijen atomlarından birini başka bir oksijen molekülüne bağlayarak elde edilir. Bu yöntem ile ozon gazı elde edilebilen makinelere ozon jeneratörleri adı verilmektedir.

Ozon jeneratörlerinin çalışma prensipleri 3 ana yöntemle gerçekleşir;

1. UV ozon jeneratörleri: 254 nm' den kısa dalga boyunda ışın veren ultraviyole lambalarının etrafından hava geçirilerek ozon gazı üretilir. UV tekniği ile ozon gazı düşük miktarlarda üretildiğinden bu yöntemde kullanım alanları sınırlıdır. Bu tip jeneratörlerden elde edilen ozon miktarı, su dezenfeksiyonunda ya da arıtma işlemlerinde kullanılmak için yeterli etkinliğe sahip değildir.

2. Kıvılcımsız boşalma esaslı ozon jeneratörleri (Corona-Discharge Esaslı Ozon Jeneratörleri): Yüksek konsantrasyonda ve daha fazla ozon gazı üretimi için kıvılcımsız boşalma teknolojisinin kullanılması gerekmektedir. Kıvılcımsız boşalma, tüp vasıtasıyla sabit elektrik akımı kullanılarak elde edilen kinetik enerji ile elektronları hızlandırarak oksijen molekülündeki oksijen bağını parçalarlar. Bu işlem sonucunda açığa çıkan oksijen atomu ozon gazını oluşturmak üzere oksijen molekülü ile reaksiyona girmektedir. Tıp ve diş hekimliğinde en çok kullanılan jeneratör tipidir.

3. Düşük frekans ozon jeneratörleri: Bu tip jeneratörler ozon gazı üretimi için daha fazla elektrik enerjisi harcarlar. Bu da bu aletlerin en büyük dezavantajıdır (106,107).

OzonytronX® (Mymed, Almanya), Cytozon® (Hansler, Almanya), HealOzone® (CurOzone ABD, Kavo Almanya), Neo Ozone Water-S® (KORMElectronics, Japonya), Ozi-Cure® (Centurion, Güney Afrika), Sander Ozonizer (Eltze®, Almanya), Turkozone Blue S® (Ozon Sağlık Hizmetleri İç ve Dış Tic. San. Ltd. Şti. İstanbul, Türkiye) diş hekimliğinde kullanılan ozon jeneratörlerinden bazılarıdır.

#### 2.10.4.Ozonun Biyolojik Etkisi

Ortamda oksijen varlığında tükürük, kan ve lenf sıvısı gibi vücut sıvılarında çözülen ozon, mukozadan ve deriden geçip hücrelere giriş yapamaz. Çünkü bu tip reaksiyonlardan sonra ortamda ozon molekülleri kalmamaktadır. Dolayısıyla güçlü oksidan olan ozonun negatif etkileri hücrelerde görülmemektedir. Ozon tedavisi iki aşamalı bir tedavidir. Birinci aşamada reaktif oksijen türevleri (ROT), ikinci aşamada lipid oksidasyon ürünleri (LOÜ) görev alırlar. ROT hemen etki gösterir ve ortamdan ayrılır. En mühim ROT olan hidrojen peroksidin sitoplazmada görülmesi, farklı dokulardaki hücrelere özgü farklı biyolojik etkiler göstermesini sağlar. LOÜ farmakodinamik yapıları nedeniyle az toksiktir. Geç ve uzun ömürlü araçlar olarak bu ürünler görev alırlar (95).

Ozon kullanımı aynı zamanda avasküler nekroz ile ilgili patolojilerde etkilidir ve endojen antioksidan sistemini uyararak ve koruyarak, serbest radikal sentezinde aktif olan ksantin / ksantin oksidaz yolunu bloke ederek etkilidir; ayrıca kan dolaşımını aktive ederek, kırmızı kan hücrelerinin sayısını ve hemoglobin konsantrasyonunu artırarak, diapedez ve fagositozu artırarak, mononükleer fagositik sistemi uyararak etki eder (108).

Vücuda ozon uygulandıktan sonra biyolojik olarak birçok etki oluşur. Bu etkilerden bazıları şu şekildedir. Hücre düzeyindeki metabolizma hızının artması, bağışıklık sisteminin aktive edilmesi, eritrositlerin uyarılarak daha fazla oksijen taşınması ve kandaki serbest radikal miktarının düşmesidir (109).

**Tablo 2.2.** Ozon uygulaması sonrası organizmada meydana gelen değişiklikler (109)

<u>Substrat Aktarıcılar</u>	<u>Hedef Yapılar</u>	<u>Fonksiyonel Değişiklikler</u>
O <sub>3</sub> → Plazma	ROT → Eritrosit	O <sub>2</sub> Taşınmasının Arttırılması
	ROT → Lökosit	Bağışıklık Sisteminin Aktivasyonu
	ROT → Trombosit	Büyüme Faktörlerinin Salınımı
	LOÜ → Endotelyum	NO Salınımının Artması
	LOÜ → Kemik İliği	Kök Hücre ve Eritrosit Oluşumu
		Diğer Organlar Antioksidan Enzimlerin Arttırılması

#### 2.10.4.1. Eritrositlere Olan Etkisi

Eritrojeniz sırasında antioksidan enzimlerin sentezlenmesi ozon tedavisi sayesinde artış gösterir. Ozon tedavisi görmüş eritrositler bu sebeple daha gelişmiş metabolik özelliklere sahip olurlar. Herhangi bir yolla ozonlanmış eritrositler damarsal hastalıklardaki hipoksiyi düzeltebilen, bir nevi ‘süper yetenekli eritrosit’ halini alırlar (99).

#### 2.10.4.2. Lökositlere Olan Etkisi

Ozon tedavisinin en önemli ROT ürünü olan hidrojen peroksit, önemli sitokin uyarıcılarından biridir. Hidrojen peroksit, toksik olacak miktarda olmamalı sadece kinazların aktive edilmesini sağlayacak miktarda olmalıdır. Tedavi sırasında immün sistem hücreleri yavaş yavaş artış göstermektedir. Bundan dolayı hastalar tedavi sırasında kendilerini çok daha iyi hissetmektedirler (99).

#### 2.10.4.3. Trombositlere Olan Etkisi

Reaktif oksijen türevlerinin trombositler üzerinde aktivasyon yarattığı bilinmektedir. Bundan dolayı en önemli ROT ürünü olan hidrojen peroksit yoluyla ozon tedavisi trombositleri aktive edebilmektedir. Ozon tedavisi görmüş diyabetik ve arterosklerotik hastalarda ülseratif nekrozların, Transforme Edici Büyüme Faktörü-β

(TGF- $\beta$ ) değerlerindeki artışa bağlı olarak iyileşmesinin daha hızlı olduğu belirtilmiştir (99).

#### **2.10.4.4. Endotel Hücrelere ve Vasküler Sisteme Etkisi**

Bocci ve ark. ozonla zenginleştirilmiş kanın, kùltür ortamında kan damarlarında vazodilatasyonunu sağlayan azot oksitin (NO) plazmadaki miktarını arttırdığını kanıtlamıştır. Etkisi 2 milisaniye kadar da sürse, NO daha uzun ömürlü vazodilatatörlerin oluşması için ortam oluşturur. Bunun sonucu olarak 5-50 dakika arasında değişen vazodilatatör etki söz konusu olur (99).

#### **2.10.4.5. Diğer Organlardaki Parenkim Hücrelerine Olan Etkisi**

Ozon tedavisi LOÜ sayesinde uzak organlarda da etkisini gösterebilmektedir. Uzak organları etkileme vasıtasıyla nöro-endokrin yanıtlar oluşturur, kişinin kendini daha iyi hissetmesini sağlar ve antioksidan sistem üzerinde pozitif katkı sağlayıp antioksidan-oksidan dengesizliğini düzeltir (99).

#### **2.10.5. Ozonun Terapötik Etkisi**

Ozonun terapötik dozu, bir ml kanda 10-80 mikrogramdır. Bu değerler arasında kan ve parenkim hücrelerine toksik etki göstermez (104). Klorine alternatif olarak bulunmuş bakterisit bir ajan olan ozon bakterileri yıkararak etkisizleştirir veya büyümesini önleyerek etki gösterir. Funguslar ve virüsler üzerinde de etkilidir. Antimikrobiyal etkisini protozoalara karşı da gösterir. Virüs kapsülünde hasar ve viral DNA' nın geri dönüşümsüz yıkımı ile antiviral etkisini gösterir (110–114). Ozon birçok sistemik hastalıkta kullanılmaktadır. Bunların bazıları; göz hastalıkları, akut veya kronik bakteriyel, fungal ve viral enfeksiyonlar, iskemik hastalıklar, yaşa bağlı maküler dejenerasyon, ortopedik hastalıklar, dermatolojik hastalıklar, pulmoner, renal, hematolojik ve nörodejeneratif hastalıklardır (93,99). Bakteri metabolik aktivitesini azaltarak veya bakteri hücre duvarına zarar vererek ozonun bakteriler üzerine etkisi gerçekleşmektedir. Bazı çalışmalar ozon tedavisi sayesinde üretilen antikorlar ile bakterilerin tamamen yok edilebileceğini belirtmektedir (115). Ozon tedavisi sırasında ozon; glikoproteinlere, glikolipidlere ve diğer aminoasitlere saldırır. Böylelikle bakteri hücrelerinin enzimatik kontrol sisteminin düzgün çalışmasını engeller. Bu engelleme mekanizması sonucunda hücre zarının membran geçirgenliğini artırır ve hücrenin yaşamsal fonksiyonlarını bozar (94). Ozon uygulanması aynı zamanda, lökositler

tarafından interferon ve interlökin gibi sitokinlerin salınımını sağlayarak bağışıklık sistemini uarmak suretiyle de etki gösterir (116).

Ozon, granülositlerin ve kompleman sistem elemanlarının bakterilere daha kolay ulaşmasını sağladığı için bakterisit etki göstermektedir. Metisiline dirençli staphylococcus aureus için bile güçlü oksidatif bir ortam yaratır. Asidojenik bakterilerin yok edilmesini; proteinlerin sistin, metionin ve histidin gibi kalıntıları olan birçok molekülle etkileşime girerek sağlar. Ozon gazı doz aşımadağı durumlarda gerçek bir ilaç gibi davranabilirken, doz aşımı meydana geldiğinde güçlü ve tehlikeli bir oksidan da olabilir (117). Kanın antioksidan enzimleri, hidrofilik ve lipofilik elemanları tarafından ozon dozunun büyük bir kısmı etkisiz hale getirilir. Nötralize olmayan ozona maruz kalmak dolaşım sistemi için tehlike oluşturmaya rağmen, tıpta güvenli bir şekilde kullanılmaktadır. Ozonun mikrobiyolojik etkilerine ilaveten terapötik etkilerinin de olduğu araştırmacılar tarafından gösterilmiştir. Patojenleri nötralize etme etkisi haricinde, oksijenin oluşmasına katkıda bulunarak fibroblastların aktivasyonunu başlatır. Böylece keratinoblast miktarındaki artış ile birlikte intrasellüler matriks oluşumuna katkıda bulunur ve başarılı iyileşmenin gerçekleşmesine yardımcı olur (97).

Ozon uygulanan kan numunelerinde interferon, interlökin, tümör nekroz faktör  $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ) ve tümör büyüme faktörü  $\beta 1$  (TGF-  $\beta 1$ ) gibi sitokinlerde artış görüldüğü yapılan bazı deneylerde gösterilmiştir (118). Ratlarda oluşturulmuş deneysel diyabet modeli yaptıkları bir çalışmada Al-Dalain ve ark., rektal ozon tedavisinin kandaki glikoz miktarının kontrolünü sağladığını ve damar endotellerinde gelişen oksidatif stresi azalttığını belirtmişlerdir. Çalışma sonucunda ozon tedavisi ile diyabet nedeniyle oluşan endotel hasarının azaltılabileceği sonucuna varmışlardır (119).

Organizmada ozonun meydana getirdiği değişiklikler; yara bölgesindeki oksijenlenmeyi arttırmak, bakterilere karşı öldürücü etki göstererek yara onarımını hızlandırmak olarak değerlendirilir. Medikal ozonun uygulandığı yara bölgesinde, iyileşme açısından oldukça önemli olan büyüme faktörlerinin aktivasyonunda artış meydana gelir. Bu artışa paralel olarak yeni damar yapımı ve fibroblast aktivitesinde de artış olmaktadır. Medikal ozonun kendi başına epitel hücrelerinden geçebilme özelliği bulunmamaktadır fakat ayçiçek yağı, zeytin yağı ve susam yağı gibi doymamış yağ asitleri içeren yağlarla reaksiyona girerek epitel içerisine infiltre olabilir. Deride meydana gelen yaralanmalarda yağ ve ozon uygulanmasının yara iyileşme hızını arttırdığı önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Buradan yola çıkılarak kronik yaralarda,

ülserlerde, iskemik nekrozlarda ve diyabete bağlı yaralarda medikal ozon uygulanması önerilmektedir. Ozonun, ozon oksijen karışımı ya da ozonlanmış yağlar şeklinde yaralara uygulanması dokuda daha fazla iyileştirici etkide bulunmasını sağlar. Ayrıca uygulanacak ozonun dozunun da ne çok fazla ne de az olması gerekmektedir, ideal dozlarda uygulanan ozonla çok daha ideal sonuçlar alınabilmektedir (95,97,120,121).

Saraswathi ve ark.'nın (2015) yayınladığı makalede ozon üzerine şu tespitlerde bulunulmuştur. Ozon, hücrel ve humoral bağışıklık sistemini aktive ederek etkiler. İmmünokompetan hücrelerin çoğalmasını ve immünoglobülinlerin sentezini uyarır. Ayrıca makrofajların işlevini aktive eder ve mikroorganizmaların fagositoza olan duyarlılığını artırır. Ozon tedavisinin 30-55 µg / ml konsantrasyonunda hastalara uygulanmasının tatmin edici sonuçları olduğu, interferon, TNF ve İL 2 üretiminde en yüksek artışı bu dozlarda sağladığı rapor edilmiştir. İnterlökin 2 üretimini takiben, immünolojik reaksiyonlar dizisi tetiklenir. Bu durum tıbbi ozon uygulamasının, bağışıklık sistemi düşük ve / veya bağışıklık eksikliği olan hastalarda bağışıklık aktivasyonu için son derece yararlı olduğu anlamına gelir. (122).

#### **2.10.6. Ozonun Endikasyonları**

Bakteri, virüs, mantarlar nedeniyle oluşan akut ve kronik enfeksiyöz hastalıklarda eğer antibiyotiklere karşı bir direnç gelişmiş ise kullanılabilir. Osteomiyelit, plevral empiyem, peritonit, fistül yolu olan apseler, yatak yaraları, kronik ülser, diyabetik ayak, denizanası ve böcek sokmaları gibi iyileşmeyen yaralarda kullanılabilir. Herpes virüslerine bağlı enfeksiyonların relapsını önlemede kullanılabilir. Romatoid artrit, multipl skleroz gibi otoimmün hastalıklarda hasta konforunu artırma amaçlı kullanılabilir. Terminal dönem nefropatilerinde hasta konforunu biraz olsun artırmada kullanılabilir. Enflamasyonlu ve dejeneratif eklem hastalıklarında, bağışıklık sisteminin aktive edilmesi gibi etkilerine ek olarak ozonun antiinflamatuvar yönündeki özelliklerinden faydalanılır ve bu amaçla kullanılabilir. Ayrıca baş ağrıları ve migrende, kronik yorgunluk sendromunda, dejeneratif eklem hastalıklarında, metabolizma hastalıklarında uyarıcı olarak, tiroid, pankreas, akciğer hastalıkları, dislipidemi, ateroskleroz, taşikardilerde ve miyokard enfarktüsünün kronik döneminde, servikal ve lomber disk hernilerinde, artralji, kronik poliartritlerde ve detoksifikasyonda etkilidir (123,124).

### **2.10.7. Ozonun Kontrendikasyonları**

Medikal ozon uygulamasının önerilmediği durumlar ise; hamilelik, glukoz-6-fosfat-dehidrogenaz eksikliği, hipertiroidizm, ağır anemi, myastania gravis, akut alkol intoksikasyonu, yakın tarihte geçirilmiş miyokord iskemisi, herhangi bir organda hemoraji, ozon alerjisi olarak sıralanabilir (124).

### **2.10.8. Ozonun Uygulanma Yolları**

1. Direk İV infüzyonu – Ozon bir ana damara yavaşça uygulanır.
2. Majör otohemoterapi – Antikoagüle kan ozonla karıştırılmıştır ve damar yoluyla dolaşıma infüze edilir.
3. Rektal/vajinal uygulama – Nemlendirilmiş ozon kateter ile uygulanır.
4. Minör otohemoterapi – Kanla karıştırılmış ozon intramusküler olarak enjekte edilir.
5. Uzun ya da vücut kaplama –Vücut ya da organların bir kısmı nemlendirilmiş ozonda banyo edilir.
6. Ozonlu su
7. Salinde ozon (topikal ya da İV verilir)
8. İntraartiküler uygulama
9. İntraperitoneal uygulama
10. Prolo/Skleroterapi
11. Akupunktur – ozon ile
12. Ozonlu yağlar
13. İnhalasyon
14. Subkonjunktival enjeksiyon– Keratitis sikka ve ülser tedavisinde
15. Gingival ve diş apeks bölgesine enjeksiyonu
16. Üriner mesane insuflasyon – Kronik inflamasyon tedavisinde
17. Disk taşmaları – Proloterapi, interspinal boşluğa ve fasetlerin etrafına enjekte edilebilir, eklemleri stabilize edip, iyileşmeyi hızlandırır.
18. Auriküler (125).

### **2.10.9. Ozonun Avantajları**

İlaçlara göre daha ekonomiktir. Hedefe yönelik kullanımı nedeniyle dar spektrumlu etki gösterir. Bakterilerin ozona karşı direnç geliştirebilme şansı yoktur. Bakteri inaktivasyonuna ek olarak bazı iyileşme faktörlerine katkıda bulunarak terapötik etki gösterebilir. Uygun dozda kullanım durumunda yan etki göstermez. Düşük dozda başlandığında zincir reaksiyonu şeklinde etki göstermesi sağlanarak tedavide adaptasyon sorunu oluşturmaz. Hiperbarik oksijen tedavisinde olduğu gibi hastaları kapalı ortamda tutma gereksinimi olmaz. Uygulama kolaylığı nedeniyle ozonlu yağ uygun dozda gündüz veya gece kullanılabilir. Ozon, majör otohemoterapi haricindeki diğer tüm tedavi şekillerinde kolayca uygulanabilir.

### **2.10.10. Ozonun Dezavantajları**

Tedavideki yanlışlıklar nedeniyle veya daha önceki başarısız denemelerin kötü bir imaja neden olması ve günümüzde halen bilgisiz, tecrübesiz uygulayıcılar tarafından bilinçsiz kullanılması nedeniyle kötü imajın tam olarak düzeltilememesi en büyük dezavantajlardan biridir. Her soruna yönelik uygun tedavi protokolünün çalışma sayısının azlığından dolayı tam olarak belirlenememiş olması, yapılan çalışma azlığı sebebiyle nöro-dejeneratif, otoimmün hastalıklarda ve kanser durumlarında tedaviye yönelik kesin sonuçların henüz bulunmaması, bilim insanlarının ozona olan sempatisinin ve maddi desteğin az olması gibi dezavantajları vardır.

### **2.10.11. Ozonun Yan Etkileri**

Ozonun intravenöz enjeksiyonu pulmoner emboliye sebep olabilmektedir. Almanya'da 1984 yılından bu yana bu prosedür bu sebeple yasaklanmıştır (95). Ozonun yan etkilerini değerlendirirken iki önemli konu göz önünde bulundurulmalıdır. Birinci olarak plazmadaki total antioksidan seviyelerinin (TAS) kinetiğidir. TAS ozon ile azalırken oksijenle değişim göstermez. Bocci ve ark. ozon uygulandıktan 10 dakika sonra verilen farklı konsantrasyonlardaki ozonun TAS üzerine etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında, 40 µg/ml ozon konsantrasyonlarında TAS' ta % 41' lik azalma rapor etmişler, 80 µg/ml ozon konsantrasyonlarında % 52 azalma rapor etmişlerdir. Bu seviyenin normale dönmesi 20 dk sürmektedir. İkinci olarak, ozonla zenginleştirilmiş kanın plazma membranında bulunan fosfolipidler ile peroksidasyon reaksiyonudur. Plazmadan izole edilen ozonlanmış eritrositlerde hemoliz görülmesine rağmen, plazma içerisindeki eritrositlerde görülen hemoliz miktarı çok fazla

olmamaktadır (99). Shrinki ve ark. 100 µg/ml ozona maruz kalmış kandaki eritrositleri inceledikleri çalışmalarında, eritrositlerde % 0.2 ile % 0.5 arasında hemoliz görüldüğünü belirtmişlerdir. Plazmada bulunan antioksidanların eritrosit hemolizini azalttığını belirtmişlerdir. Hidrojen peroksit, ozonun etkili olmasını sağlayan aktivatörlerdendir. Etkili olabilmesi için eşik değerin üzerinde olması gerekmektedir, fakat toksik olacak kadar yüksek dozda olmaması da önemlidir. Ozon tedavisi kanda ölçülebilir ve geçici bir oksidatif strese neden olmaktadır. Kandaki antioksidanlar sayesinde bu stres normal sınırlara çekilebilmektedir. Eritrosit hemolizinin ozon konsantrasyonuyla direkt ilgili olduğu ve ozon konsantrasyonunun 80 µg/ml' yi aşmadığı durumlarda eritrosit hemolizinin çok az olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (126).

Oksidatif özelliklerinden dolayı ozon uygulamasında doza çok dikkat edilmelidir. Olması gereken optimal dozdan daha düşük dozlarda hiçbir etki göstermezken yüksek dozlarda uygulanması toksikasyona ve ciddi hasarlara yol açabilir. Uygulanabilecek optimal dozlarda (10-80 µg /ml) kullanılması durumunda ise kan ve diğer dokularda yer alan enzimler aracılığıyla tedavi edici etkisi ortaya çıkar (95).

Normal koşullarda ozonun havadaki bulunma dozu 0.02 ppm' dir. Gözler ve akciğerler ozonun toksik etkilerine karşı en hassas organlardandır. Gözde oluşan irritasyon ve akciğere yönelik olumsuz etkileri ozonun konsantrasyonu, sıcaklık, nem ve maruz kalınan süreye bağlı olarak değişir. Düşük konsantrasyonda ozon inhalasyonu, boğazda irritasyon ve buna bağlı öksürüğe; yüksek konsantrasyonlardaki inhalasyon ise akciğer ödemeine bile neden olabilir (127,128).

#### **2.10.12. Ozonun Diş Hekimliğinde Kullanımı**

Diş hekimliğinde ozon kullanımı antimikrobiyal, dezenfektan ve doku iyileştirici özellikleri nedeni ile gündeme gelmiştir. Ozon molekülünün sağlık alanındaki koruyucu ve tedavi edici etkisi kesin olarak kanıtlanmıştır ve mevcut tedavi stratejilerine alternatif ya da tamamlayıcı non-invaziv bir tedavi ajanı olarak önerilmektedir.

Ozonun diş hekimliğinde kullanım alanları:

Diş çürüklerinin profilaksisi ve önlenmesi

Pit, fissür, kök ve düz yüzey çürüklerinin remineralizasyonu

Geleneksel koruyucu önlemler ile birlikte çürük kavitelerinin dezenfeksiyonu

Antibiyotik tedavisine destek olarak

Renklenmiş kök kanal tedavili dişlerin ağartılması

Endodontide kök kanallarının dezenfeksiyonu

Kole hassasiyetinin giderilmesi

Yumuşak doku patolojilerinin rehabilitasyonu

Avülse dişlerde reimplantasyon öncesi yıkama solüsyonu olarak

Ağız içi ülser ve yaralarda iyileşme hızının arttırılması

Zor iyileşen enfekte yaralar ve iltihabi sürecin tedavisi

Herpetik lezyonların dezenfeksiyonu olarak sıralanabilir (94,116,129).

Ozon gazı diş hekimliğinde; oksijen-ozon karışımı, ozonlanmış su, ozonlanmış yağ şekillerinde kullanılabilir. Gaz formunda oldukça kararsız bir molekül olan ozonun havada birkaç dakika ömrü varken sudaki ömrü birkaç gün sürmektedir. Bununla birlikte ozonun saf zeytinyağı gibi yağ esaslı bir içerikte çözüldüğünde aylar ve yıllarla ölçülebilecek bir ömrü olduğu bildirilmiştir (130).

### **2.10.13. Ozonun Oral Cerrahide Kullanımı**

Ozon oksijen karışımının ve ozonlanmış distile suyun önemli boyutta terapötik etkisi bulunmaktadır. Detertraj, polisaj sırasında diş çekimi öncesi ve sonrasında oral bölgede ozonlanmış suyun kullanımı tavsiye edilmektedir. Yapılacak cerrahi işlemlerden önce dezenfeksiyon amacıyla oral kavitenin ve drene edilen apselerde apse merkezinin ozonlanmış su ile irrigasyonu önerilmektedir. Maksillofasial bölgedeki iltihabi ve enfeksiyon durumlarının tedavisi için lokal ozonun sistemik antibiyotik uygulamaları ile kombine edilmesi önerilmektedir. Ek olarak ozonun bir diğer uygulama şekli olan gaz ozon uygulamasının yüksek doz radyoterapi sonrası meydana gelebilen oral yaralarda iyileşme hızını artırdığı gösterilmiştir (115,116). Oral kavitede ozonlanmış suyun epitel yara iyileşme süreci üzerindeki etkileri gözlenmiş ve ozonlanmış suyun oral mukozanın iyileşme oranını hızlandırabileceği gösterilmiştir. Bu bilgiler ışığında ozonlanmış yağın da alveolit tedavisinde etkili olabileceği gösterilmiştir. Bununla birlikte sağlıklı hastalarda gömülü yirmi yaş dişi cerrahisi sonrası irrigasyon için ozonlanmış su ile steril izotonik serum fizyolojik

karşılaştırıldığında postoperatif sonuç olarak herhangi bir farklılık görülmemiştir. Benzer olarak mandibüler gömülü yirmi yaş dişi cerrahisi sonrası topikal ozon gazı uygulamasının, klorheksidin ve kontrol grubuna göre alveolit ve yara enfeksiyonu gelişmesi açısından anlamlı bir etkisi olmadığı bildirilmiştir (131–133).

Ozonun oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanımını araştıran bir diğer önemli çalışmada deneklerde oluşturulan yara modellerinde ozonun, akut yara iyileşmesi üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda; ozonlu zeytinyağının kullanıldığı çalışma grubunda, operasyon sonrası beşinci ve yedinci günlerde diğer gruplara göre daha az miktarda yara yüzeyi kaldığı ve fibroblast büyüme faktörü (FGF) haricindeki tüm parametrelerde daha iyi sonuçlar bulunduğunu rapor etmişlerdir (120).

Oral cerrahide osteotomi esnasında soğutma amaçlı ozonlu su kullanılabilir. Gömülü yirmi yaş dişi operasyonları esnasında yıkama ve soğutma suyu olarak ozonlu su kullanılan 250 hastayı içeren prospektif bir çalışmada, ozonlu suyun operasyon sonrası enfeksiyona bağlı oluşabilen komplikasyonları azalttığı rapor edilmiştir (176). Ozon periimplantitiste, implant yüzeyini dekontamine etme amaçlı olarak kullanılabilir (134).

Ozon tedavisi; endojen antioksidan sistemi stimüle ederek, serbest radikal sentezinde aktif olan ksantin oksidaz yolunu inhibe ederek avasküler nekrozlar üzerinde pozitif etki yapar. Ozonun; avasküler nekrozlar üzerine etkisini, kan dolaşımını stimüle ederek, eritrosit ve hemoglobin konsantrasyonunu artırarak gösterdiği çalışmalarda rapor edilmiştir (99,135–137).

### 3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TDH-2019-1793 proje numarasıyla desteklenmiştir. Bu çalışma ile ilgili etik kurul onayı İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 2018/A-41 protokol numarası ile alınmıştır. Çalışmada etkinliği araştırılacak olan deney hayvanları, ilaçlar ve sarf malzemeler, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından sağlanan proje desteği ile tedarik edildi.

Bu çalışmadaki hayvan deneyleri İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi ameliyathanesinde gerçekleştirildi. Bu deneysel çalışmada tamamı dişi ve ağırlıkları 250-350 gr arasında değişen (ortalama ağırlık; 300 gr) 3-4 aylık 32 adet *Wistar Albino* rat kullanıldı. Uzman bir veteriner çalışma süresince deneklerin sağlık durumlarını kontrol etti. Denekler ortalama 24 °C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ortamda deney kafeslerinde tutuldular. Kafeslerine ulaşım imkânı kolay olacak şekilde standart besin ve su konuldu.

#### 3.1. Çalışma Grupları

Çalışmada her biri 8 hayvandan oluşan 4 grup şu şekilde sınıflandırıldı;

- 1) **Kontrol Grubu (K):** Bu gruptaki ratların deneyin 28. günü sol alt 1. molar dişi çekilip, ratlar deney sonunda 56. güne kadar hiçbir medikal ilaç uygulaması yapılmadan sakrifiye edildi (n:8).
- 2) **Deney Kontrol Grubu (Bifosfonat Grubu, Hastalık Grubu, BİF):** Bu gruptaki ratlara deneyin başından itibaren haftada 1 defa zoledronik asit (0.4 mg/kg) uygulanıp 28. günde diş çekimi yapılarak, ratlar deney sonunda 56. günde sakrifiye edildi (n:8).
- 3) **Bifosfonat ve Sistemik Ozon Uygulanan Grup (BİF+SO):** Bu gruptaki ratlara deneyin başından itibaren haftada 1 defa zoledronik asit uygulanıp 28. gün diş çekimi yapılarak ve ilki hemen post operatif olmak üzere sistemik olarak haftada 1 defa 0.7 mg/kg intraperitoneal ozon uygulaması yapıлып, ratlar deney süresi sonunda sakrifiye edildi (n:8).
- 4) **Bifosfonat ve Lokal Ozon Uygulanan Grup (BİF+LO):** Bu gruptaki ratlara deneyin başından itibaren zoledronik asit uygulanıp 28. gün diş çekimi

yapılarak ve ilki hemen post operatif olmak üzere çekilen diş socketinin içerisine lokal olarak haftada 1 defa 0.5 ml 20 µg/ml ozon uygulaması yapıp, ratlar deney süresi sonunda sakrifiye edildi (n:8).

### 3.2. Bifosfonatın Dozu ve Uygulanma Yolu

Deney öncesinde ratlar tartılarak kiloları kaydedildi ve uygulanacak ilaçların miktarları hesaplandı. Çalışmada BİÇO görülme olasılığı olan hayvan modeli oluşturabilmek için nitrojen içerikli bifosfonat uygulanacak olan gruptaki hayvanlara çalışmanın ilk gününden başlamak üzere intraperitoneal yoldan Zoledronik Asit (Zometa 4 mg/ 5 ml iv, Novartis Pharma AG, Basel, Switzerland) 0.4 mg/kg dozda haftada bir defa olmak üzere sekiz hafta boyunca uygulandı. Her enjeksiyon öncesi, deney hayvanlarının vücut ağırlıkları yeniden tartılarak, uygulanacak dozun standardizasyonu sağlandı.

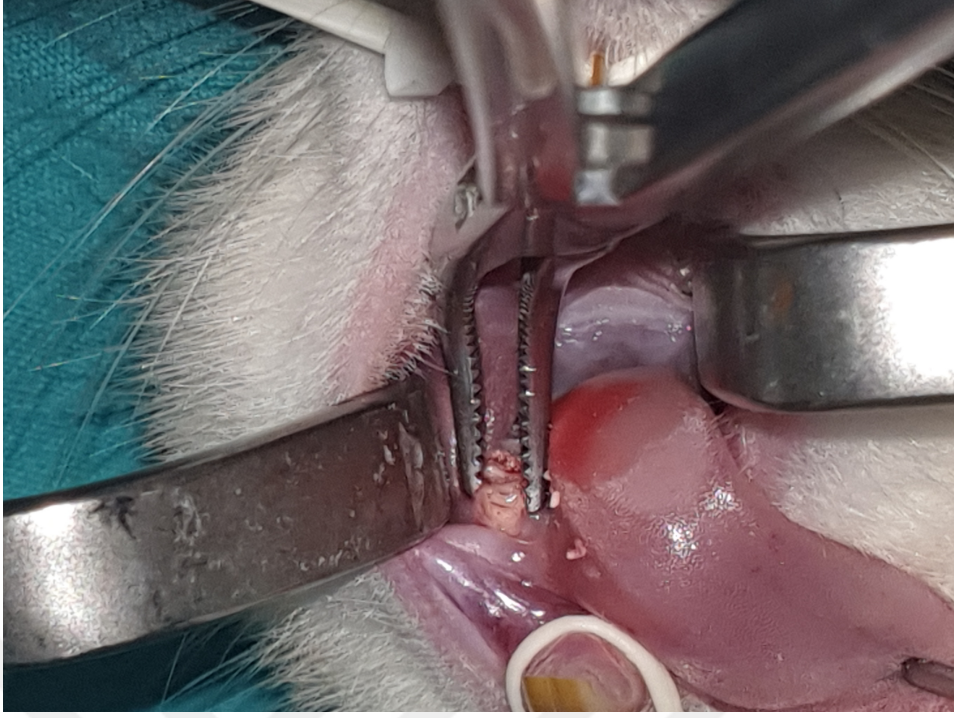


Şekil 3.1. Zoledronik asit

### 3.3. Diş Çekimi Yöntemi

Deneyin 28. gününde asepsi ve antisepsi kurallarına uyularak deneklerin tümüne anestezi için intramuskuler yolla ketamin hidroklorür ((% 10 Alfamine, Alfasan, Hollanda) 50 mg/kg ve ksilazin hidroklorür (% 2 Alfazyne, Alfasan, Hollanda) 5 mg/kg enjeksiyonu yapıldı. Operasyonun yapılacağı bölge açıkta kalacak şekilde steril örtüler ile örtüldü. Lokal hemostaz amacıyla operasyon bölgesine 0,5 cc, 0,006 mg/ml epinefrin içeren % 4' lük artikain (Ultracain D-S Forte- Aventis, İstanbul, Türkiye) ile infiltratif lokal anestezi uygulandı. Steril ameliyat takımındaki aletlerle ratın dil ve yanağı ekarte edildikten sonra ucu kıvrık hemostat yardımı ile lüksasyon uygulanarak deneklerin alt sol 1. büyük azı dişi çekildi. Hemostazı sağlamak için steril tampon uygulandı ve daha sonra çekim bölgeleri





Şekil 3.4. Ratların steril aletler ile dil ve yanağının ekarte edilmesi



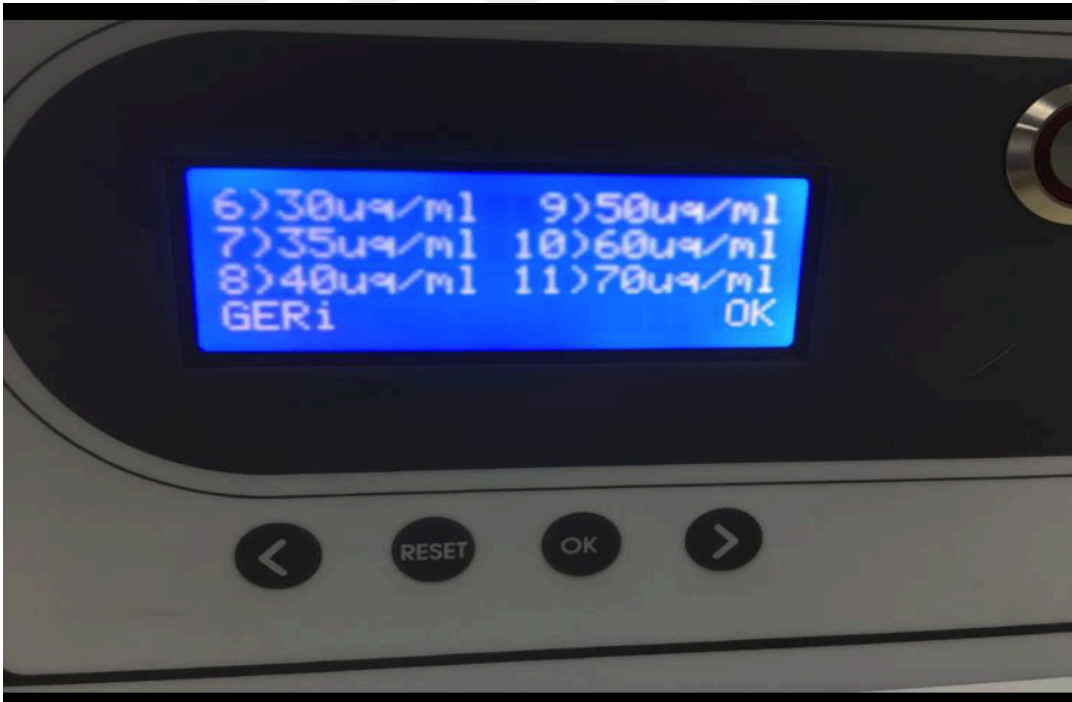
Şekil 3.5. Çekimi yapılan alt 1. molar diş

### 3.4. Medikal Ozon Dozu ve Uygulanması

Ozon gazı elde edebilmek için yüksek frekanslı medikal ozon cihazı kullanıldı (Turkozone Blue, Ozon Sağlık Hizmetleri İç ve Dış Tic. San. Ltd Şti. İstanbul, Türkiye). Cihazın elektronik ekranından gerekli ozon konsantrasyonu seçeneği işaretlenip ozon kanalından boş enjektöre ozon gazı transferi yapıldı.



Şekil 3.6. Medikal ozon cihazı



Şekil 3.7. Medikal ozon cihazı elektronik ekranı

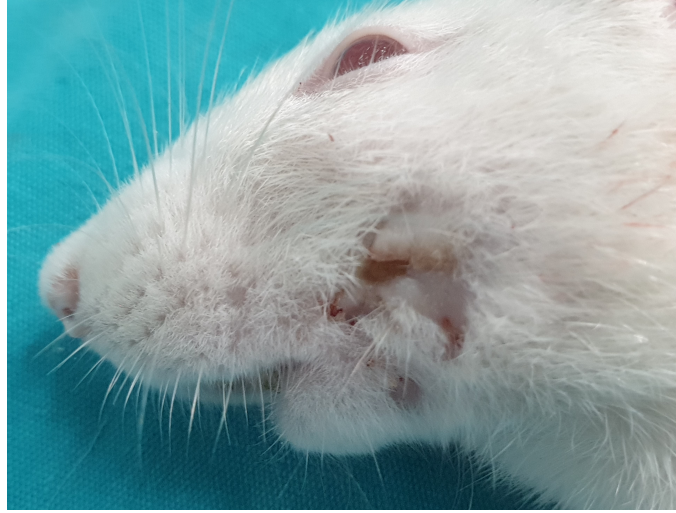


**Şekil 3.8.** Ozon gazının enjektöre transferi

Ozon enjeksiyonu, literatürdeki benzer çalışmalardan referans alınarak sistemik olarak haftada 1 defa 0.7 mg/kg olarak intraperitoneal yolla uygulandı. Lokal olarak ise haftada 1 defa 0.5 ml ve 20 µg/ml konsantrasyonda çekim soketine uygulandı (173-175).

### **3.5. Deney Hayvanlarının Sakrifikasyonu ve Çekim Soketi Bölgesinin Çıkarılması**

Hayvanlar diş çekiminden sonra 56. günde yüksek dozda (200 mg/kg) sodyum pentotal enjeksiyonu (Pethothal, Abbott, ABD) ile sakrifiye edildi. Ratların sol mandibulaları çıkarıldıktan sonra fazla olan yumuşak dokular trimlendi ve materyaller % 10' luk tamponlanmış formole yerleştirildi.



**Şekil 3.9.** Deney kontrol grubundaki ratta oluşan BİÇÖ görüntüsü

### **3.6. Histolojik Değerlendirme**

Alınan doku örnekleri histolojik inceleme için İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı' na gönderildi. Gönderilen kemik doku örnekleri nötral tamponlu % 10' luk formaldehit ile 72 saat süresince, oda ısısında (22-24 °C) tespit edildi. Tespit işlemi sonrasında kemik doku örnekleri RDO-Gold Decalcifier (Apex Engineering Products Corporation, Aurora, IL, USA) solüsyonu içinde, çalkalayıcı tabla üzerinde 8 saat süresince dekalsifikasyon işlemine tabi tutuldu. Dekalsifiye olan kemik doku örnekleri akan çeşme suyunda yıkandıktan sonra etil alkol serilerinden (%50, %70, %96 ve %99,9) geçirilerek dehidratasyon işlemi uygulandı. Ardından ksilen serilerinden geçirildikten sonra 62 °C' de erimiş parafin infiltrasyonunun sonrasında parafin bloklar içerisine gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom (Leica RM214) yardımı ile 6 µm kalınlığındaki kesitler alınarak pozitif şarjlı lamalar üzerine yerleştirildi. Kesitlere histokimyasal olarak hematoksilin-eozin (H-E) ve trikrom (Gomori's one step trichrome) boyaması uygulandı (138).

Ayrıca alınan kesitlerde immünohistokimyasal boyama yöntemi ile osteokalsin (anti-osteocalcin LFM-b14) ve osteopontin (anti-osteopontin FL-100) (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) immünreaktiviteyi belirlendi.

Kesitler etüvde 60° C sıcaklıkta, 1 saat inkübasyonun ardından ksilen serilerinden geçirilerek deparafinize edildi. Takiben alkol serilerinden geçirildikten sonra distile suda yıkandı.

Kesitler antijen retrieval işlemi için Sitrata tampon içinde 121° C'de 15 dakika inkübe edildi ve sonrasında tampon içerisinde oda ısısına soğumaya bırakıldı. Daha sonra kesitler distile su ve PBS ile 2 dakika süresince yıkandı. Yıkama işleminden sonra doku kesitlerinin sınırları hidrofobik kalem ile çizilerek kesitler immünohistokimya uygulama platformuna dizildi. Kesitlere peroksit blok damlatılarak 15 dakika bekletildi ve ardından kesitler PBS ile yıkandı. Kesitlere 5 dakika süresince protein blok uygulandı ve ardından kesitlerin yüzeyinden yıkama yapılmadan protein blok uzaklaştırıldı. Kesitlere primer antikor uygulanarak bir saat 37 °C etüvde inkübasyona bırakıldı ve sonrasında kesitler PBS ile yıkandı. Kesitlere 20 dakika süresince sekonder antikor uygulandıktan sonra PBS ile yıkandı ve ardından 20 dakika süresince Streptavidin peroksidaz (HRP) uygulandıktan sonra PBS ile yıkandı. Daha sonra kesitlere 10 dakika süresince AEC kromojen uygulanıp sonra distile su ile yıkandı. Nükleus boyaması için bir dakika süresince Mayer's hematoksilen boya çözeltisinde bekletildikten sonra distile su ile yıkama aşamasını takiben aqueous mount kullanılarak kesit yüzeyleri lamel ile kapatıldı.

Hematoksilen-eozin, trikrom, osteocalcin ve osteopontin boyamaları uygulanmış olan kesitler, Nikon Eclipse Ni ışık mikroskop, Nikon DS-Fi3 kamera ve Nikon NIS Elements Documentation 5.02 görüntü analiz sistemi (Nikon Corporation, Tokyo, Japan) kullanılarak incelendi ve fotoğraflar alındı.

Hematoksilen-eozin ile boyanmış olan kesitlerde diş soketi alanlarında inflamatuvar hücre infiltrasyonu, yüzey epitelizasyonu, bağ doku oluşumu ve kemik doku oluşumu semikantitatif olarak skorlandı. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu (yok = 0, hafif-fokal alanlarda = 1, orta dercede-lokal alanlarda = 2, şiddetli-diffüz = 3). Epitelizasyon (epitelizasyon yok = 0, yüzey alanı uçlarında, yüzeyin 1/3'ünde epitelizasyon = 1, yüzeyin 2/3'ünde epitelizasyon = 2, tüm yüzey alanında epitelizasyon = 3). Bağ doku (bağ doku yok = 0, soket alanının %1-25'ine kadar = 1, soket alanının %26-50'ine kadar = 2, soket alanının %50'sinden büyük = 3), kemik doku oluşumu (kemik doku yok = 0, soket alanının %1-20'si arasında = 1, soket alanının %21-40'ı arasında = 2, soket alanının %40'ından büyük = 3) ve nekroz (nekroz yok = 0, soket alanının %1-25'ine kadar = 1, soket alanının %26-50'ine kadar = 2, soket alanının %50'sinden büyük = 3).

İmmünohistokimyasal yöntemle boyanan kesitlerde osteopontin ve osteokalsin immünreaktivitesi H-skoru (H Score =  $\sum_{i=1}^n P_i (i+1)$ ),  $P_i$  değeri her % 0-100 aralığındaki

boyanma yoğunluğunda boyanmış hücre yüzdesini ifade etmektedir ve  $i$  değeri ise yoğunluğu göstermektedir; zayıf ( $i = 1$ ), orta ( $i = 2$ ) veya kuvvetli boyanma ( $i=3$ ) (139).

### 3.7. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada yer alan *inflamasyon*, *epitelizasyon*, *bağ doku*, *kemik doku*, *nekroz*, *osteokalsin H-Score*, *osteopontin H-Score* gibi sürekli değişkenin normal dağılıma uygunluğu grafiksel olarak ve Shapiro-Wilks testi ile değerlendirildi. Sürekli değişkenlerin *osteokalsin H-Score* hariç normal dağılıma uymadıkları belirlendi bu nedenle tanımlayıcı istatistiklerinin gösteriminde ortanca (ÇAG–Çeyreklikler Arası Genişlik) değerleri kullanıldı. Ek olarak tanımlayıcı istatistik gösteriminde Ortalama±Standart Sapma değerleri kullanıldı.

Sürekli değişkenler normal dağılıma uymadıklarından istatistiksel analizlerde non-parametrik testler kullanılmıştır. Bu yüzden *inflamasyon*, *epitelizasyon*, *bağ doku*, *kemik doku*, *nekroz*, *osteopontin H-Score* ölçüm değerlerinin gruplara göre karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis non-parametrik varyans analizine başvurulmuştur. Kruskal-Wallis analizi sonucunda fark bulunduğu farklı grubu belirleyebilmek için Mann-Whitney-U testi ile ikili karşılaştırmalar yapılmıştır.

Osteokalsin ve osteopontin H-Score değerlerinin gruplara göre karşılaştırılmasında One-way ANOVA testi kullanıldı. One-way ANOVA testi sonucunda fark bulunduğu farklı grubu belirleyebilmek için post-hoc ikili karşılaştırmalar yapılmıştır ve bonferroni düzeltmesi yapılarak analiz sonuçları verilmiştir.

İstatistiksel analizler ve hesaplamalar için IBM SPSS Statistics 21.0 (IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.) ve MS-Excel 2007 programları kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p<0.05$  olarak kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Histolojik Bulgular

Çalışmamızdaki histolojik bulguların değerlendirilmesinde yukarıda belirtilen skorlar kullanılmıştır. Sakrifiye edilen deneklerin histolojik bulguları Tablo 4.1.'de belirtilmiştir.

**Tablo 4.1.** Deneklerin histolojik bulguları

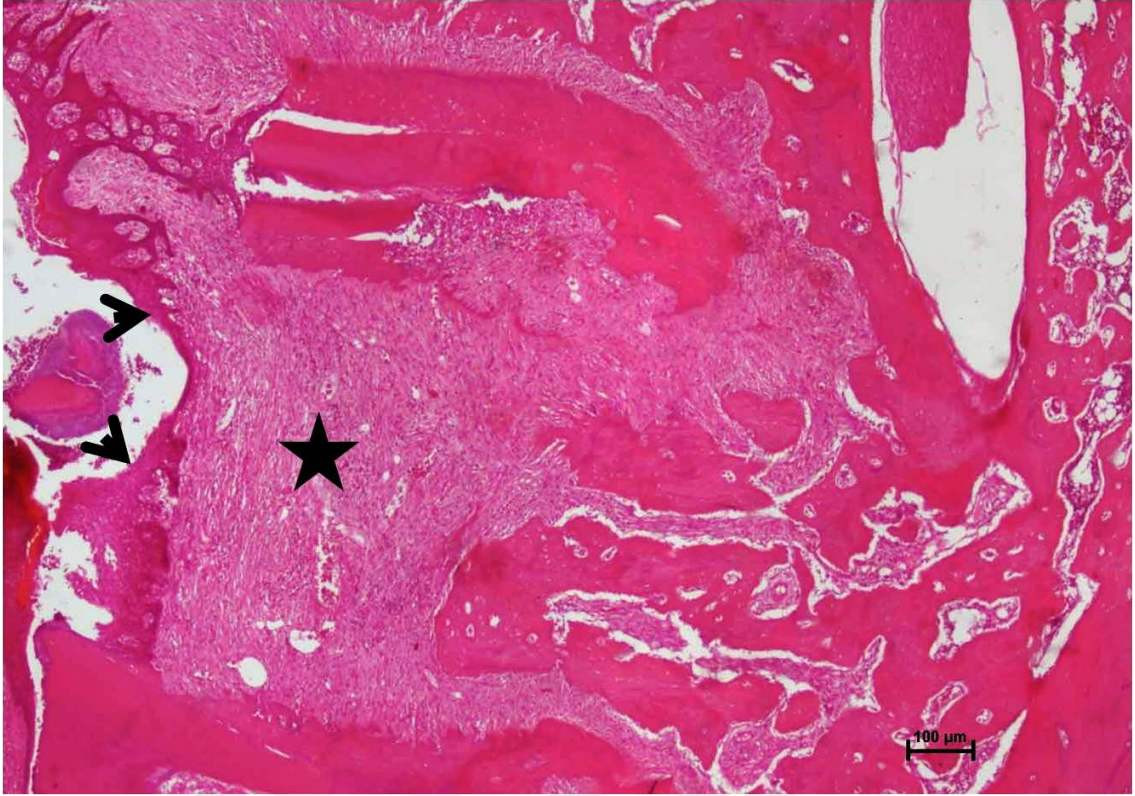
Grup	İnflamasyon	Epitelizasyon	Bağ doku	Kemik Doku	Nekroz
Kontrol					
1	1	2	2	1	0
2	2	1	2	1	0
3	1	2	2	0	0
4	2	3	3	1	0
5	1	2	2	0	0
6	1	1	3	0	0
7	2	3	3	1	0
8	2	2	2	0	0
BİF					
1	2	1	1	0	0
2	1	1	1	0	1
3	2	0	2	0	0
4	2	0	1	1	2
5	1	1	2	0	1
6	2	0	2	0	0
7	1	1	1	1	1
8	2	1	2	0	0
BİF +LO					
1	2	2	2	0	0
2	1	2	2	1	0
3	1	2	2	1	0
4	1	3	1	0	0
5	2	2	2	0	1
6	1	2	2	1	1
7	1	2	2	0	0
8	1	2	2	0	0
BİF + SO					
1	1	2	2	2	0
2	2	3	3	1	0
3	2	2	2	0	0
4	1	2	2	1	0
5	1	2	2	2	0
6	1	3	2	1	0
7	1	3	2	0	0
8	2	2	3	1	0

**Tablo 4.2.** Deneklerin immünreaktivite bulguları ve H skorları

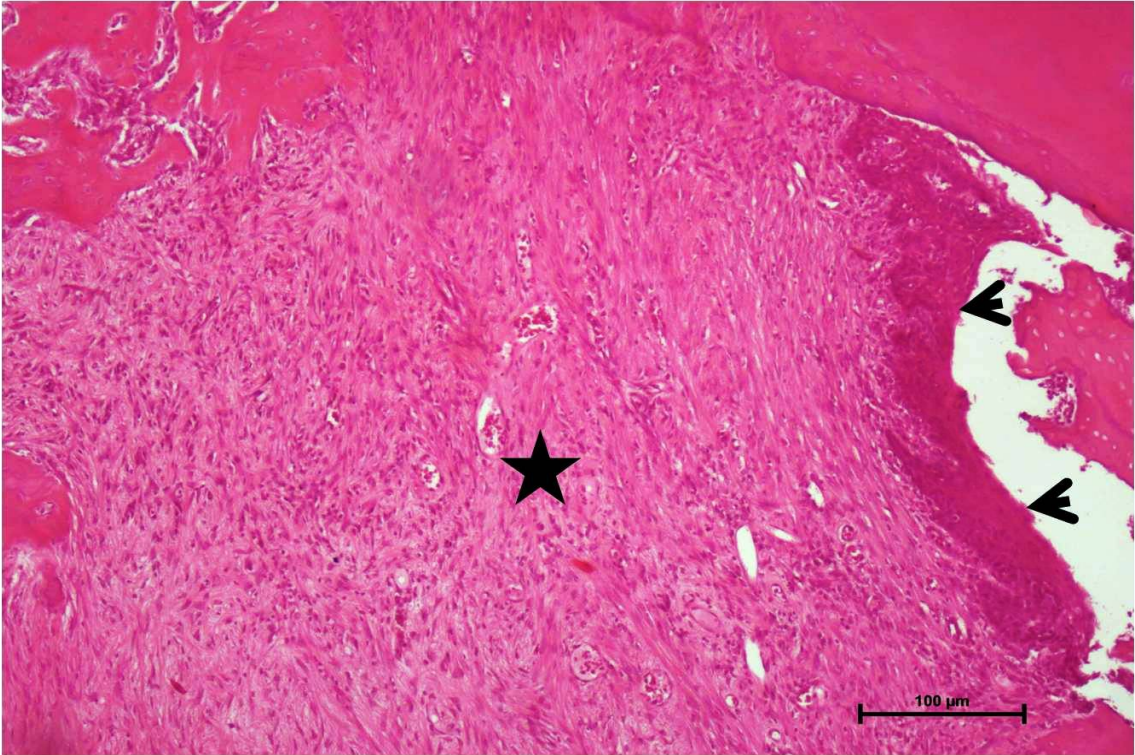
Grup	OC (Osteokalsin)			OP (Osteopontin)		
	Pozitif boyanmış hücre yüzdeleri	Boyanmış hücrelerin yoğunluğu	H Score	Pozitif boyanmış hücre yüzdeleri	Boyanmış hücrelerin yoğunluğu	H Score
<b>Kontrol</b>						
1	60	1	120	70	2	210
2	70	1	140	80	2	240
3	60	2	180	50	1	100
4	80	1	160	70	2	210
5	60	2	180	60	2	180
6	70	1	140	50	1	100
7	60	2	180	70	2	210
8	70	1	140	70	2	210
<b>BİF</b>						
1	40	1	80	20	1	40
2	10	1	20	10	1	20
3	30	1	60	30	1	60
4	50	1	100	20	1	40
5	30	1	60	40	1	80
6	20	1	40	50	1	100
7	30	1	60	20	1	40
8	10	1	20	30	1	60
<b>BİF +LO</b>						
1	50	1	100	60	1	120
2	40	1	80	50	1	100
3	50	1	100	50	1	100
4	50	2	150	40	1	80
5	30	2	90	50	1	100
6	50	1	100	40	1	80
7	60	1	120	40	1	80
8	50	1	100	50	1	100
<b>BİF +SO</b>						
1	60	2	180	70	2	210
2	50	2	150	80	2	240
3	70	2	210	60	1	120
4	60	2	180	70	2	210
5	80	1	160	50	2	150
6	50	2	150	60	2	180
7	70	1	140	60	2	180
8	50	2	150	70	2	210

**Kontrol Grubu (K):** Hematoksilen-eozin boyanan kesitlerde diş soket alanlarında boşluğun büyük oranda fibröz bağ dokusu ile doldurulmuş olduğu görüldü. Diş soket alanlarını dolduran bağ dokusu içinde genel olarak inflamatuvar hücre infiltrasyonu lokal alanlar şeklinde, hafif ve orta dereceli yoğunlukta izlendi. Bağ dokusu içerisinde osteoblast hücre nükleusu yönünde değerlendirilen ökromatik ve iri nükleuslar mevcuttu. Bağ dokusu ekstrasellüler matriksi kollajen lifler içermekle birlikte hücresel açıdan da zengindi. Diş soket alanı yüzeyinde farklı matürasyon derecelerinde epitelizasyon alanları izlenmekle birlikte epitel doku genellikle birkaç sıralı epitel hücre tabakası içeren çok katlı yassı epitel şeklinde izlendi. Bazı bölgelerde epitel bazalinde bağ dokusu papillaları ve yüzeyde keratinizasyon saptandı. Soket alanını dolduran bağ doku içinde yer yer adacıklar şeklinde kemik doku oluşumu ve mevcut kemik trabeküllerinin bağ doku içine doğru gelişim gösterdiği alanlara rastlandı (Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4). Alveol kemiği kemik trabekülleri etrafında endosteum tabakasında tek sıralı osteojenik hücre grupları olağan yoğunlukta ve normal histolojik yapıda gözlemlendi. Trikrom boyaması uygulanan kesitlerde soket alanındaki bağ doku ve immatür kemik doku alanları yeşil, matür-kalsifiye kemik doku alanları kırmızı renkte, hücre nükleusları mor-siyah renkte boyanmış olarak izlendi (Şekil 4.5).

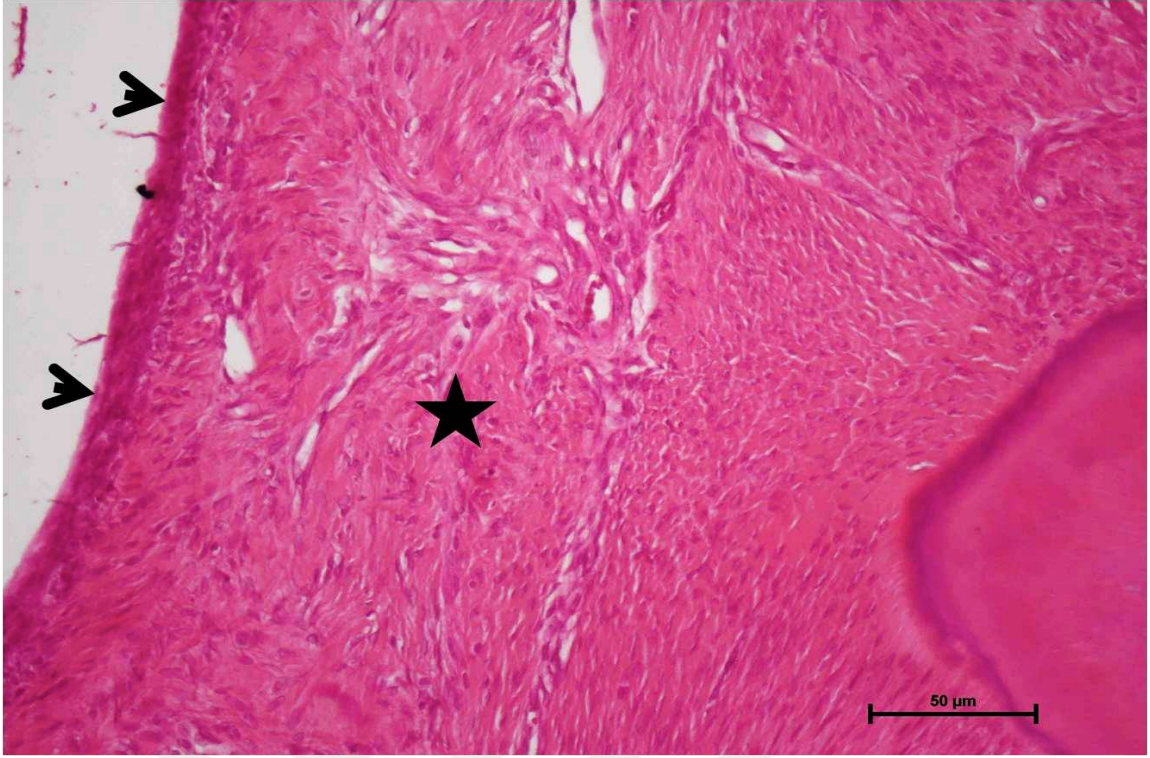
İmmünohistokimyasal boyama uygulanan kesitlerde osteokalsin (Şekil 4.6, 4.7) ve osteopontin (Şekil 4.8, 4.9) immünreaktivite pozitifliği, hücrelerde intrasitoplazmik ve ekstrasitoplazmik alanlarda farklı yoğunluklarda kırmızı-kahve renkte boyanma şeklinde izlendi. Osteokalsin immünreaktivitesi H indeksi  $155.0 \pm 23.30$ , osteopontin immünreaktivitesi H indeksi  $182.5 \pm 53.38$  olarak belirlendi.



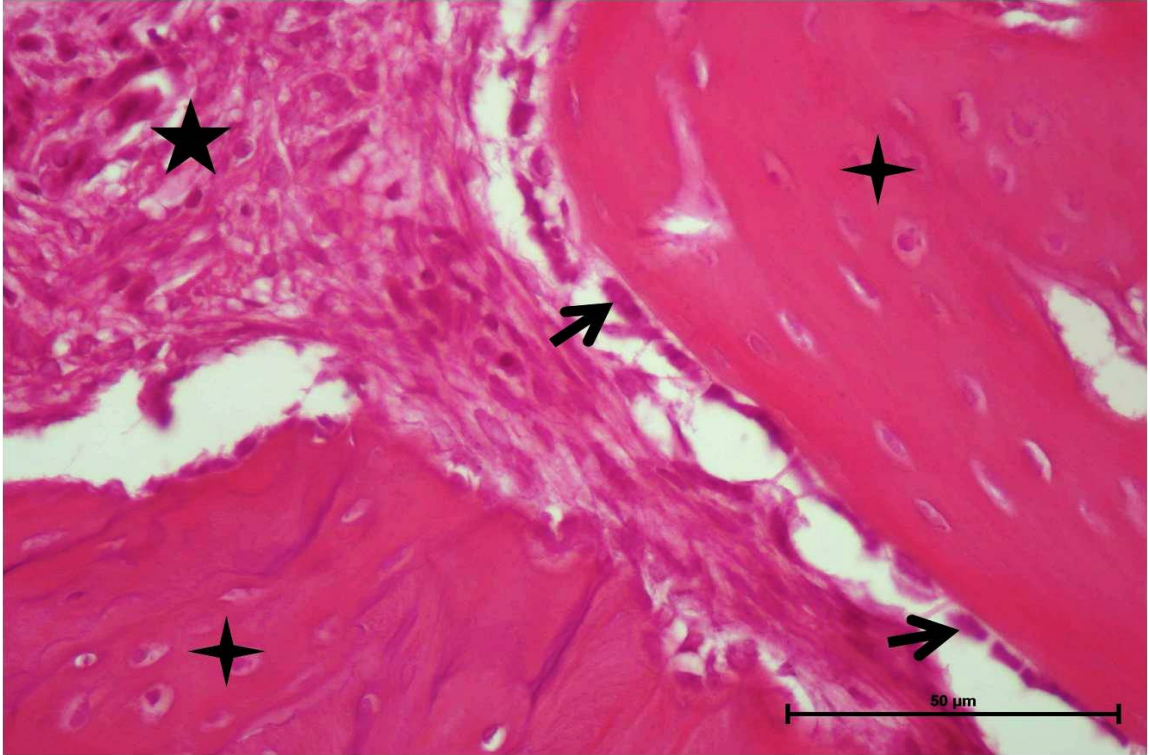
**Şekil 4.1.** Kontrol Grubu: Diş soket alanı yüzeyi (ok başı), diş soket alanı bağ dokusu (yıldız). H-E, x4.



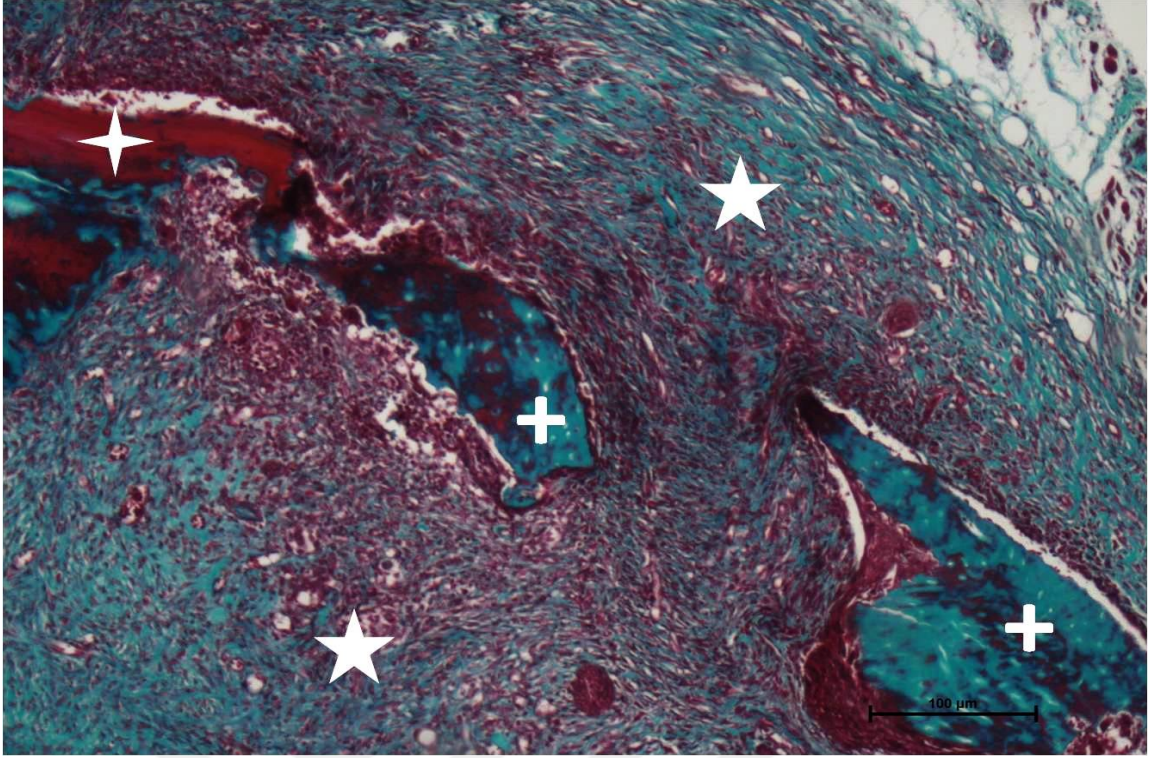
**Şekil 4.2.** Kontrol Grubu: Diş soket alanı yüzeyinde non keratinize çok katlı yassı epitel (ok başı), diş soket alanı bağ dokusu (yıldız). H-E, x10.



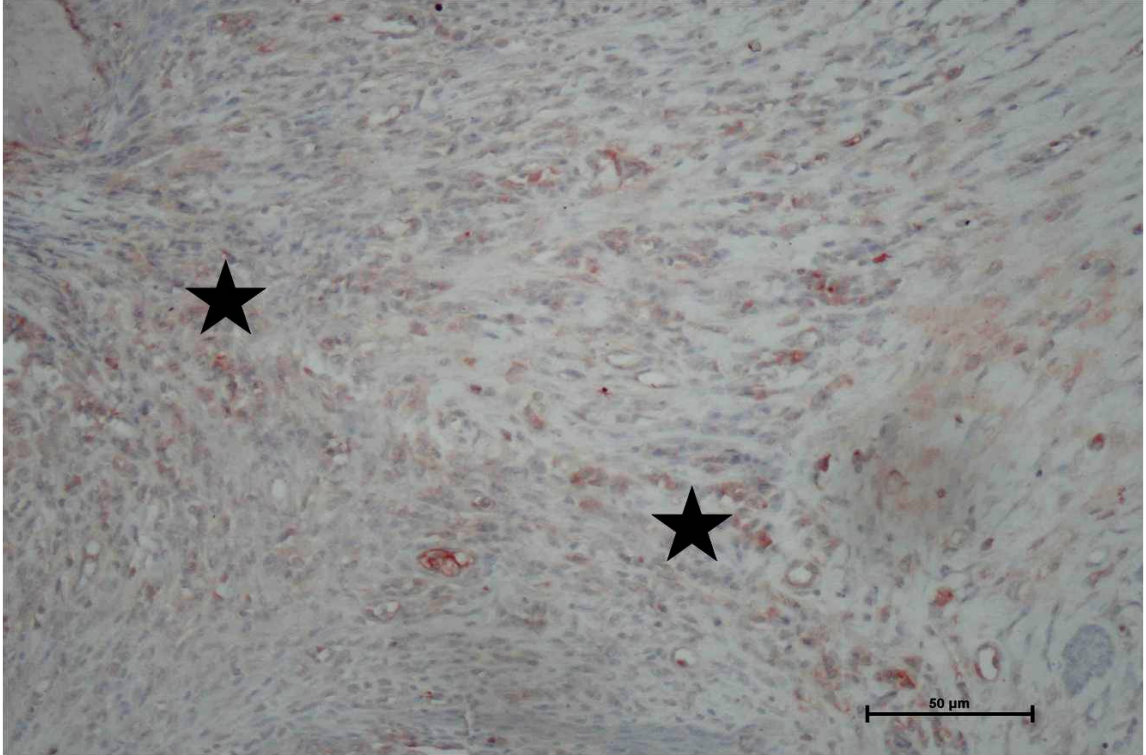
Şekil 4.3. Kontrol Grubu: Diş soket alanı yüzeyinde immatür epitelizasyon (ok başı), diş soket alanı bağ dokusu (yıldız). H-E, x20.



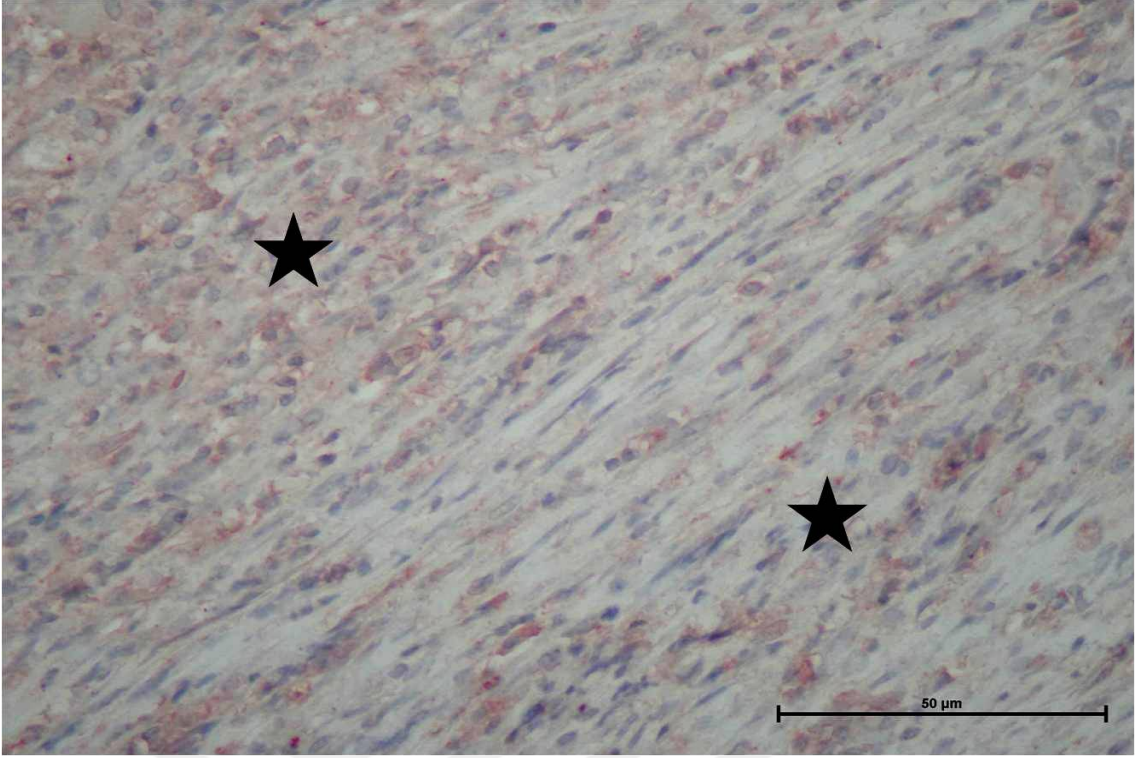
Şekil 4.4. Kontrol Grubu: Bağ dokusu (beş nokta yıldız), trabeküler kemik (dört nokta yıldız), peritrabeküler endosteum-osteojenik hücreler (ok). H-E, x40.



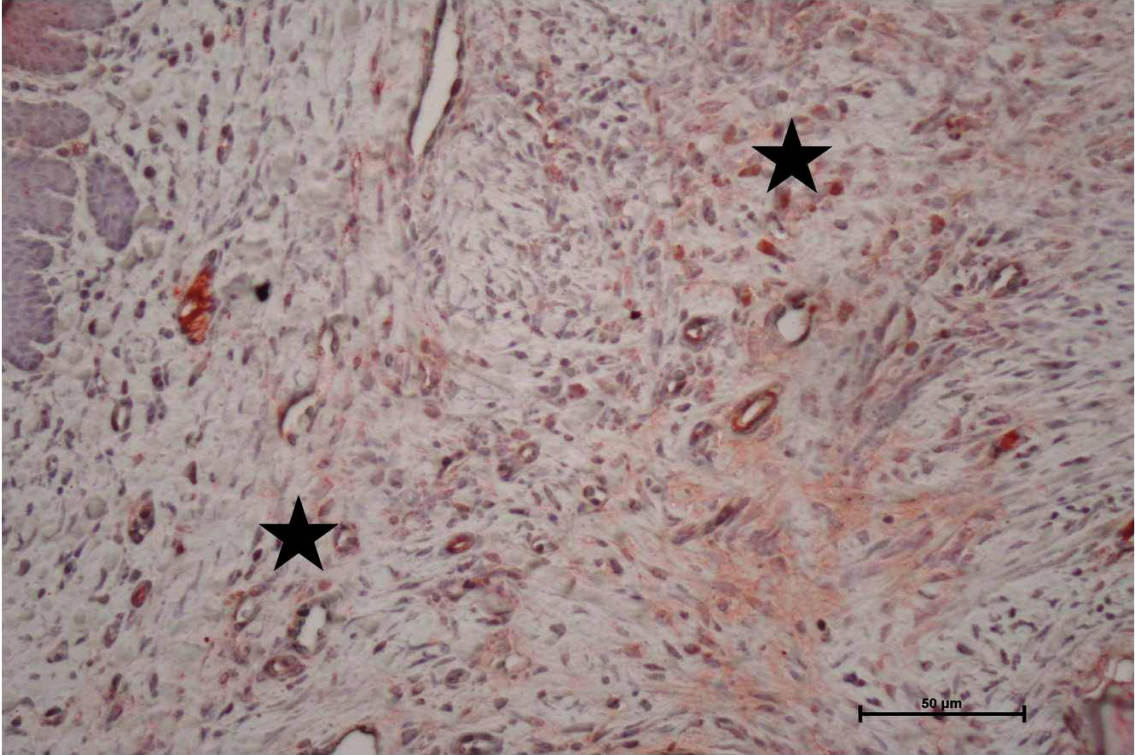
**Şekil 4.5.** Kontrol Grubu: Diş soket alanı bağ dokusu (beş nokta yıldız), immatür kemik doku (artı), kalsifiye kemik doku (dört nokta yıldız). Trikrom, x10.



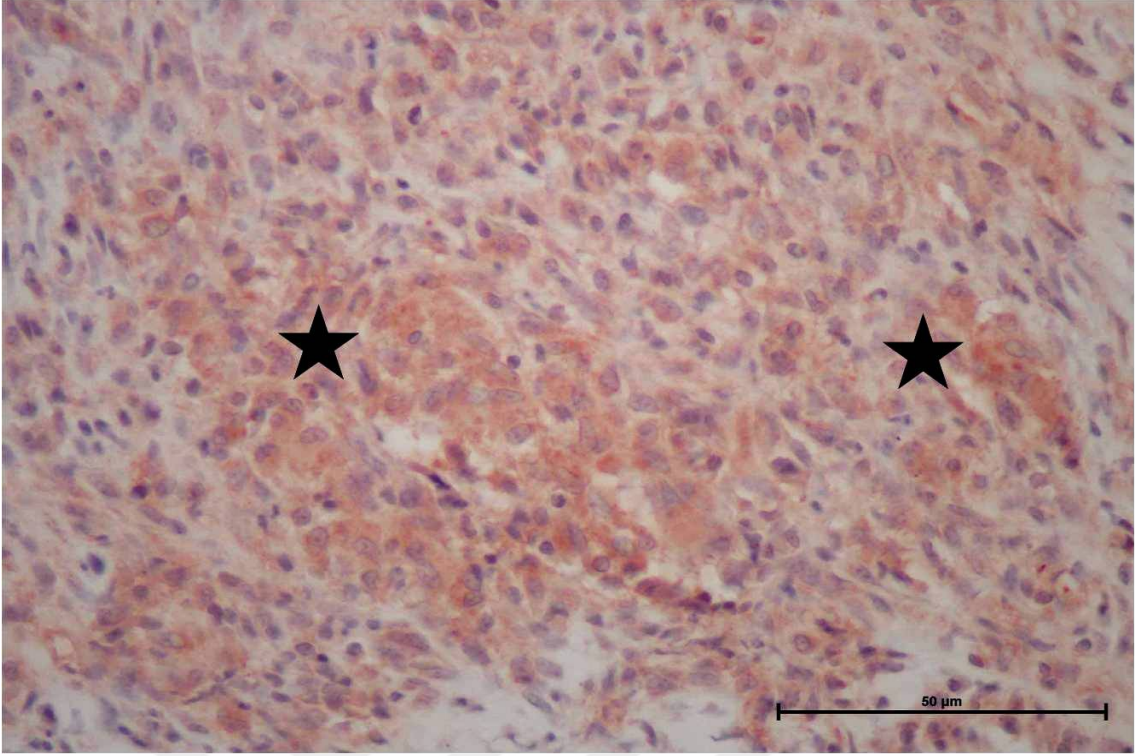
**Şekil 4.6.** Kontrol Grubu: Diş soket alanı, diffüz-zayıf, osteokalsin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X20.



Şekil 4.7. Kontrol Grubu: Diş soket alanı, diffüz-zayıf, osteokalsin immunreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X40.



Şekil 4.8. Kontrol Grubu: Diş soket alanı, diffüz-zayıf, osteopontin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X20.



**Şekil 4.9.** Kontrol Grubu: Diş soket alanı, diffüz-orta düzeyde osteopontin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X40.

**Bifosfonat grubu (Deney Kontrol Grubu, BİF) :** Hematoksilin-eozin boyanan kesitlerde diş soket alanlarının kısmen fibröz bağ dokusu ile dolduğu görüldü. Bu bağ dokusu alanlar içinde inflamatuvar hücre infiltrasyonu belirgin olarak gözlemlendi. Örneklerin büyük kısmında soket alanını dolduran bu bağ dokusu alanlarda yaygın şekilde ve yer yer de alveol kemiğinde lokal nekroz alanları izlendi. Bazı kesitlerde alveol kemiği kemik trabekülleri çevresinde endosteumun aselüler görünümde olduğu ve trabeküler kemikte nekrotik odaklar saptandı. Birkaç kesitte bağ dokusu içinde küçük kemik doku parçacıkları görüldü (Şekil 4.10, 4.11, 4.12, 4.13).

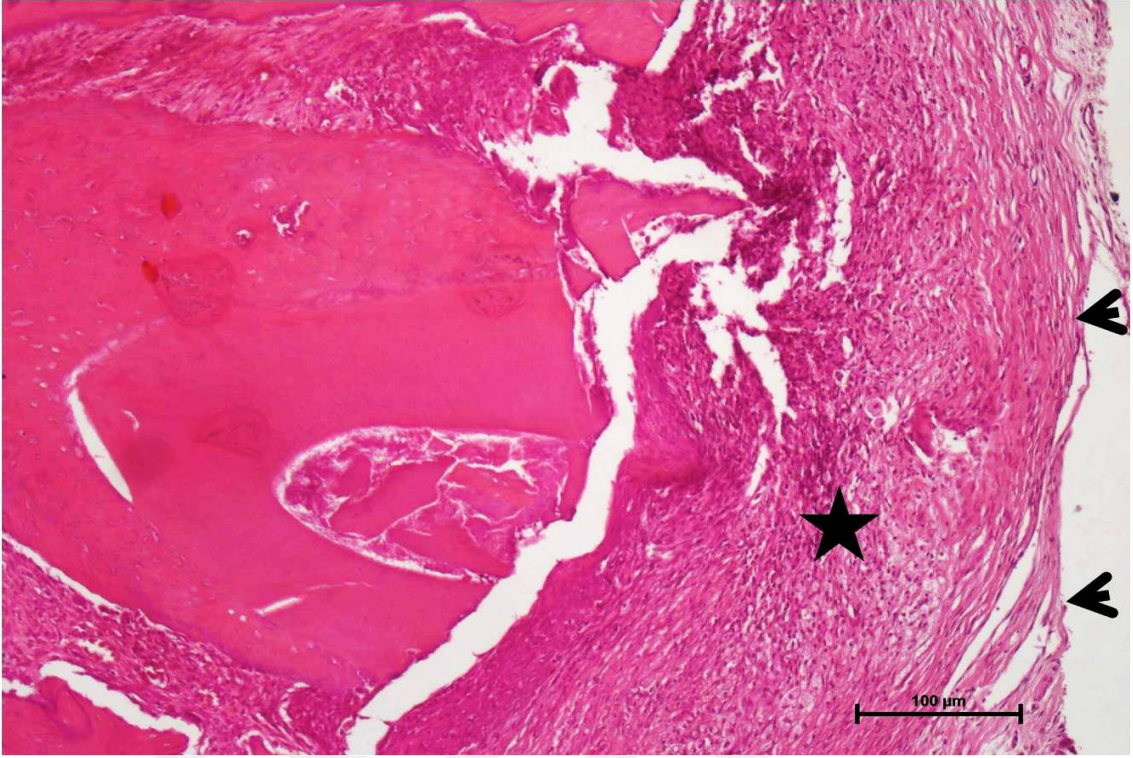
Trikrom boyaması uygulanan kesitlerde nekrotik olmayan bağ doku ve immatür kemik doku alanları yeşil, matür-kalsifiye kemik doku alanları kırmızı renkte, hücre nükleusları mor-siyah renkte boyanmış olarak izlendi. Bağ dokuda yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu mevcuttu (Şekil 4.14).

Osteokalsin (Şekil 4.15, 4.16) ve Osteopontin (Şekil 4.17, 4.18) immünreaktivitesi kesitlerin büyük kısmında diffüz-düşük yoğunlukta saptandı. Bazı alanlarda osteokalsin immünreaktivite pozitifliği saptanmadı. Osteokalsin

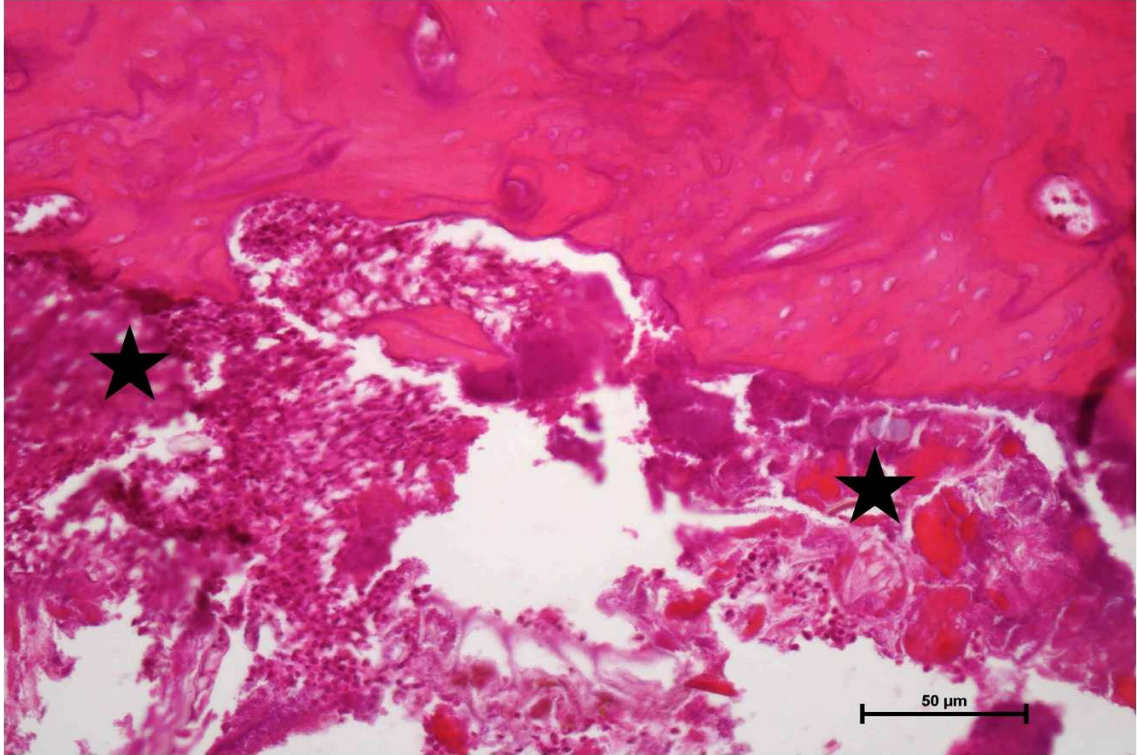
immünreaktivite H indeksi  $55.0 \pm 27.77$ , osteopontin immünreaktivite H indeksi  $55.0 \pm 25.63$  olarak belirlendi.



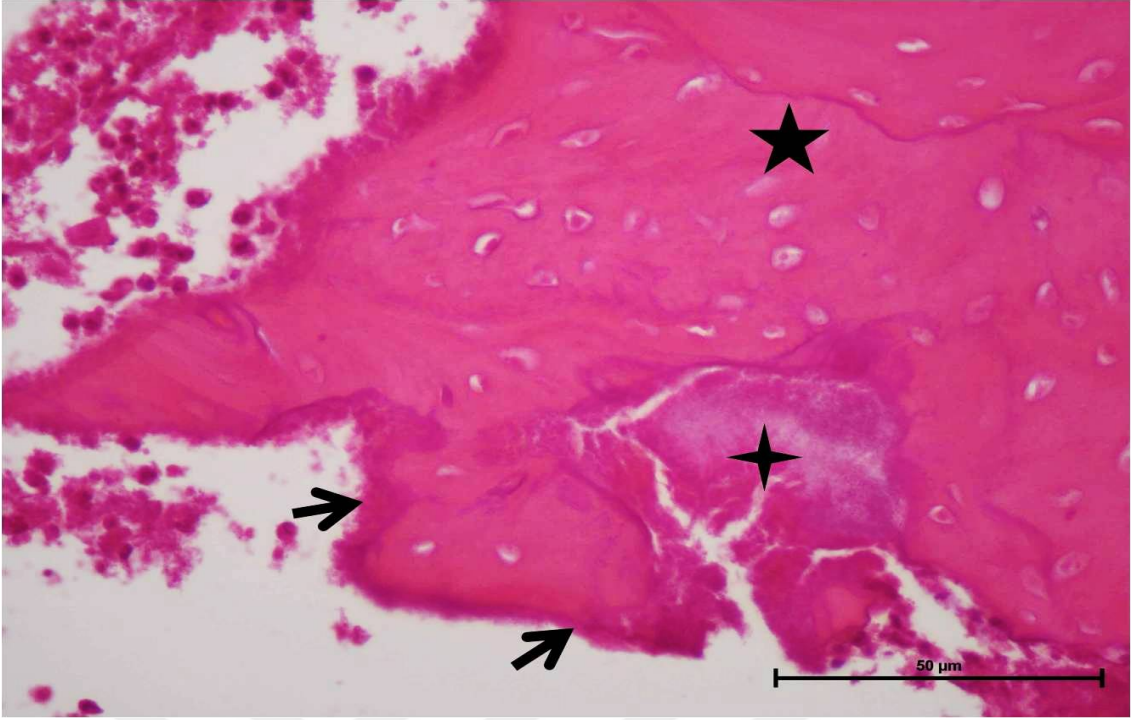
**Şekil 4.10.** BİF Grubu: Diş soket alanında dejeneratif doku ve besin artık materyali (yıldız). H-E, x4



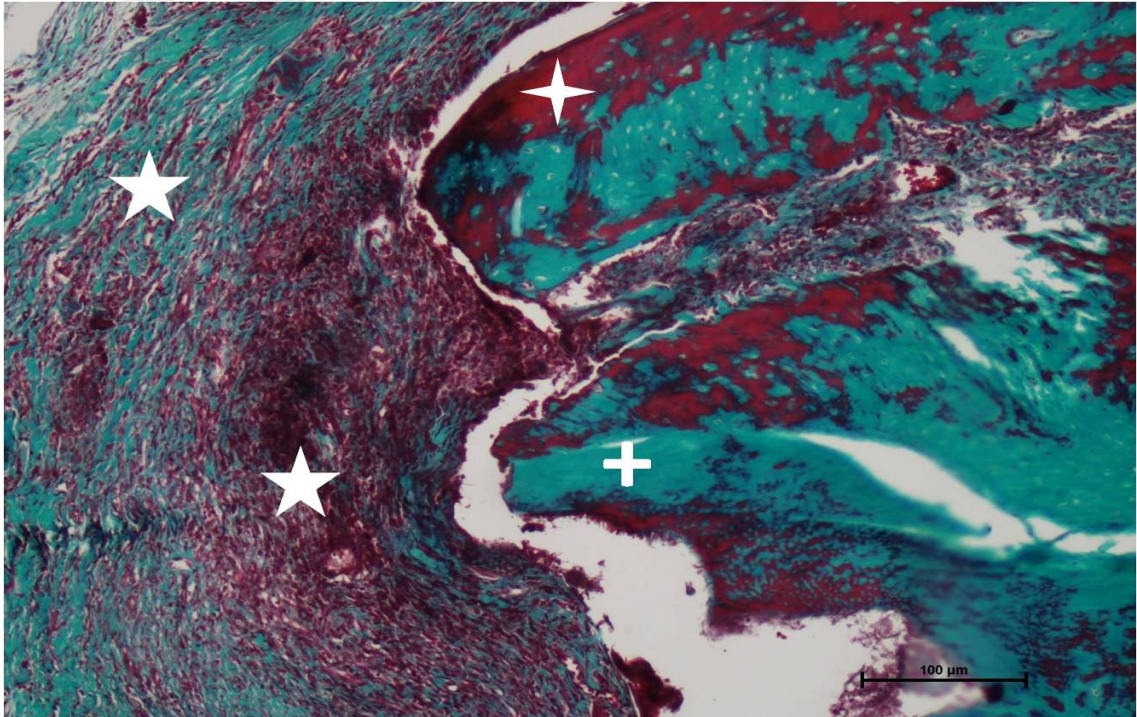
Şekil 4.11. BİF Grubu: Epitelizasyon göstermeyen dış soket alanı yüzeyi (ok başı), dış soket alanı bağ dokusu (yıldız). H-E, x10



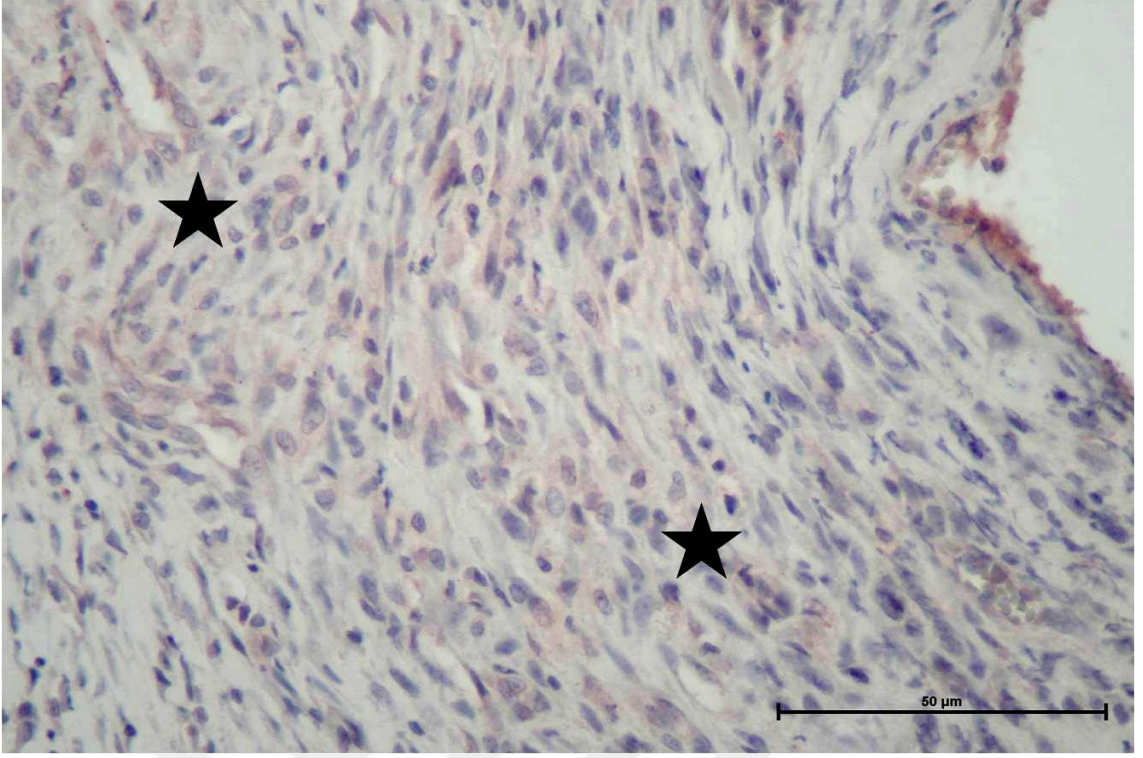
Şekil 4.12. BİF Grubu: Dış soket alanında dejeneratif-nekrotik doku artefaktı (yıldız). H-E, x20



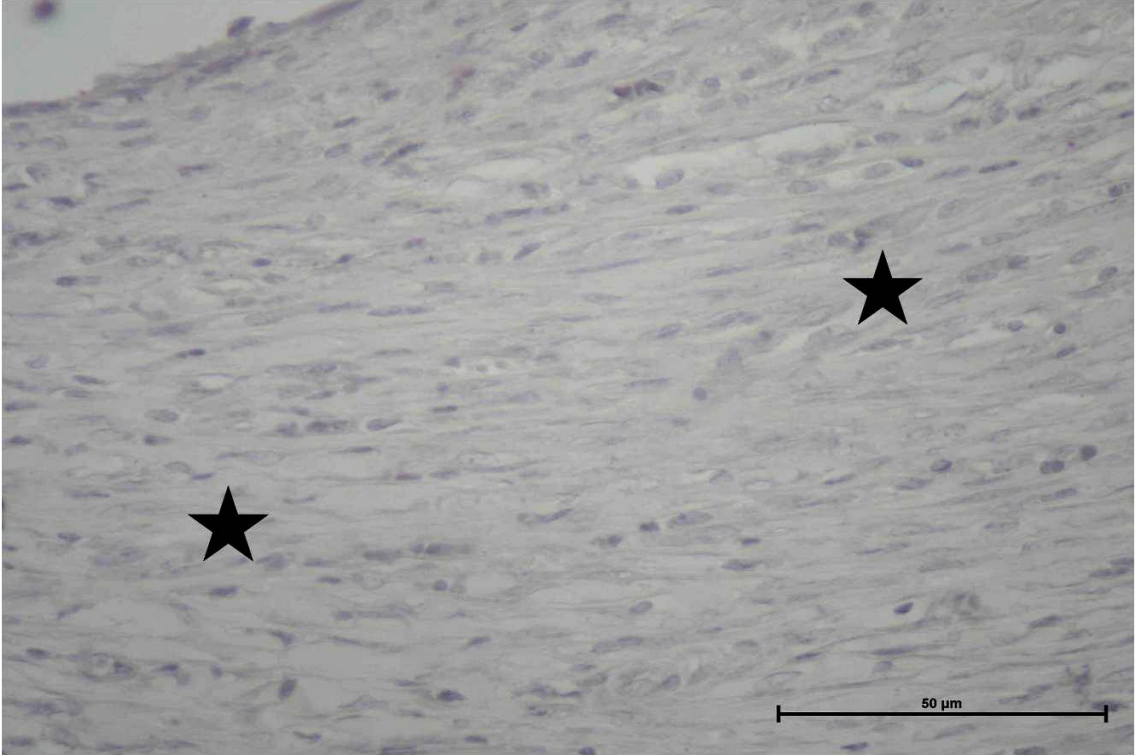
**Şelil 4.13.** BİF Grubu: Trabeküler kemik (beş nokta yıldız), peritrabeküler endosteum-osteojenik hücre dejenerasyonu (ok), trabeküler kemik dokuda nekroz alanı (dört nokta yıldız). H-E, x40



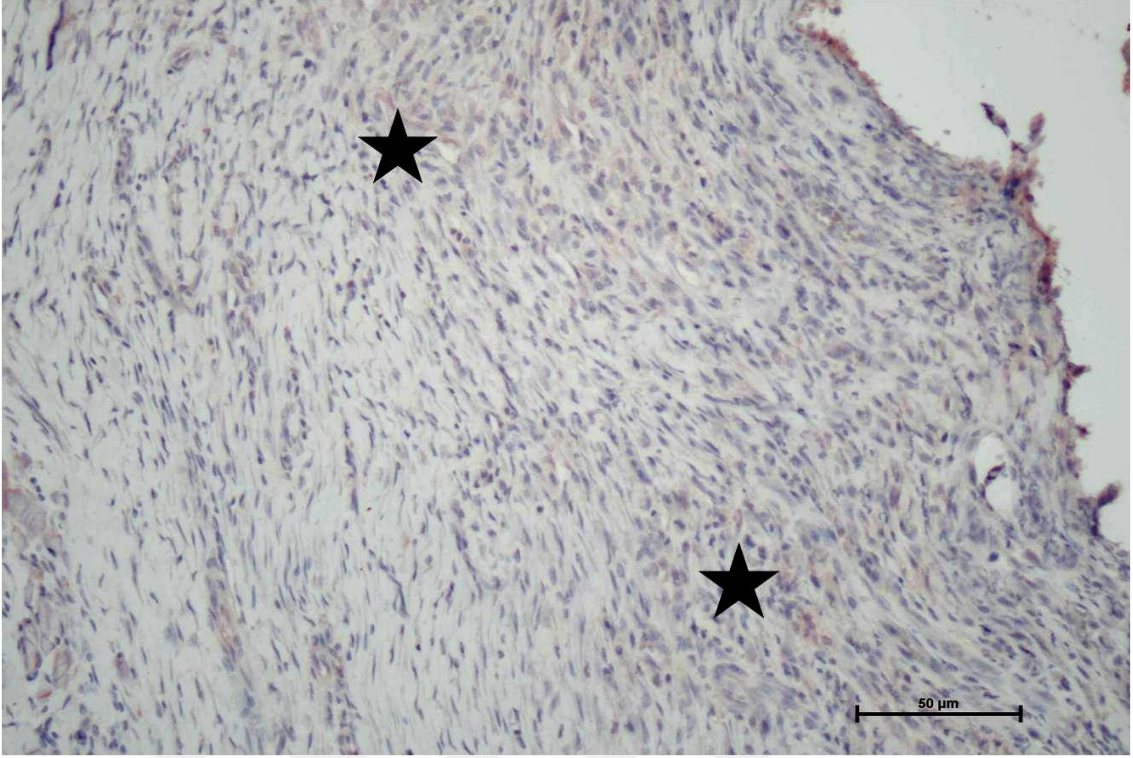
**Şekil 4.14.** BİF Grubu: Diş soket alanı bağ dokusu-yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu (beş nokta yıldız), immatür kemik doku (artı), kalsifiye kemik doku (dört nokta yıldız). Trikróm, x10



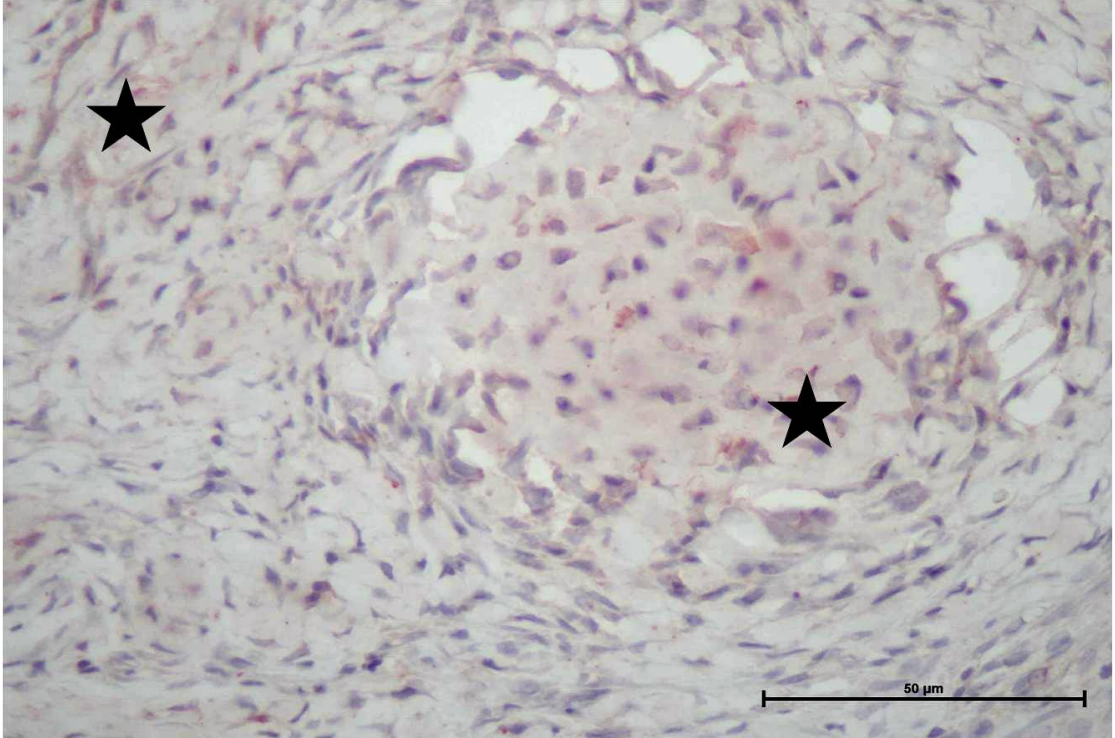
Şekil 4.15. BİF Grubu: Diş soket alanı, diffüz-zayıf, osteokalsin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X20.



Şekil 4.16. BİF Grubu: Diş soket alanı, diffüz-zayıf, osteokalsin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X40.



**Şekil 4.17.** BİF Grubu: Diş soket alanı, diffüz-zayıf, osteopontin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X20.

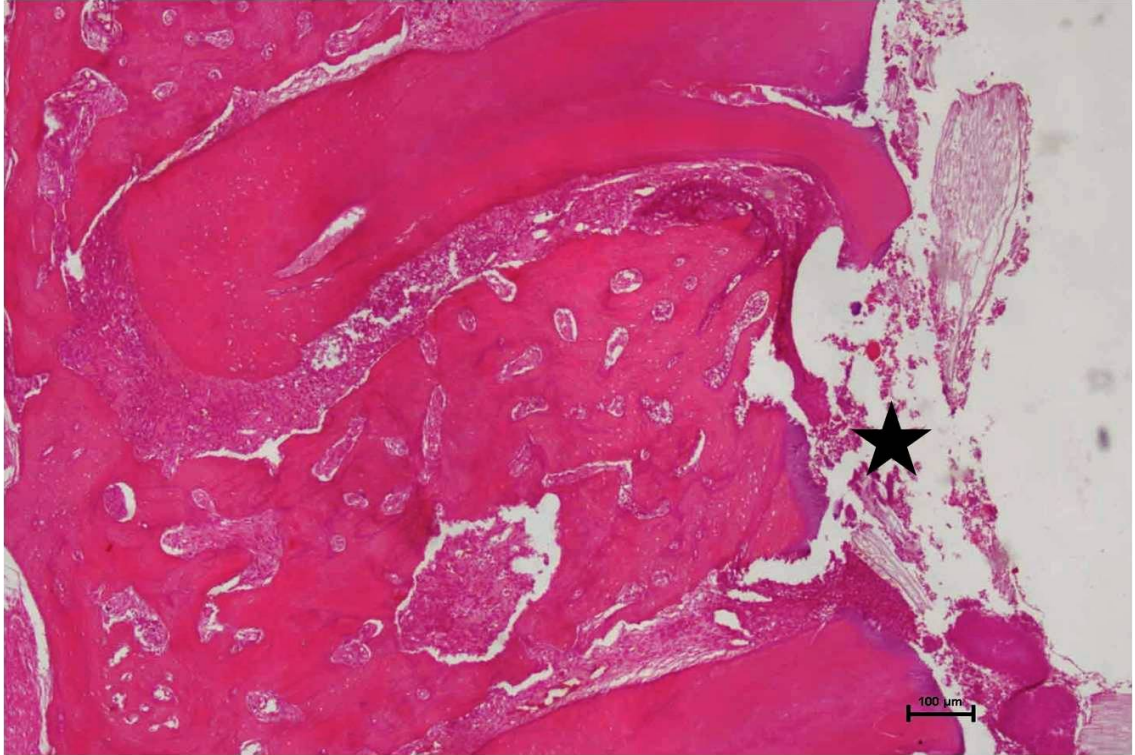


**Şekil 4.18.** BİF Grubu: Diş soket alanı, diffüz-zayıf, osteopontin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X40.

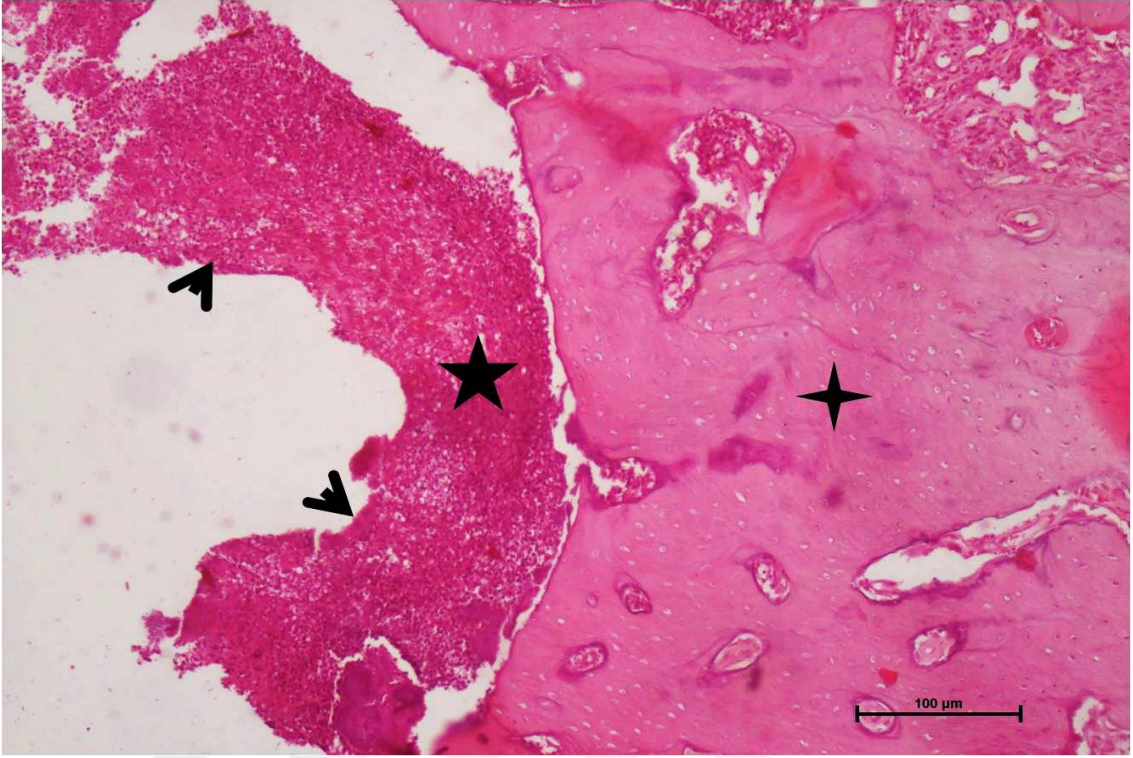
**Lokal ozon grubu (BİF + LO):** Hematoksilen-eozin boyanan kesitlerde diş soket alanlarında kısmen fibröz bağ dokusu gelişimi saptandı. Bağ dokusu içinde farklı derecelerde inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlendi. Soket alanlarında gelişen bağ dokusu yüzeyinde kısmi olarak epitelizasyon alanları saptandı. Ancak bazı kesitlerde soket alanında nekroz mevcuttu. Soket alanında gelişen bağ dokusu içinde kemik doku oluşumu nadir ve küçük odaklar şeklinde izlendi. Alveol kemiğinden soket alanına doğru kemik doku büyümesi iki örnekte minimal düzeyde saptandı. Alveol kemiği endosteumu normal histolojik görünümde değerlendirildi (Şekil 4.19, 4.20, 4.21, 4.22).

Trikrom boyaması uygulanan kesitlerde nekrotik olmayan bağ doku ve inmatür kemik doku alanları yeşil, matür-kalsifiye kemik doku alanları kırmızı renkte, hücre nükleusları mor-siyah renkte boyanmış olarak izlendi. Bağ dokuda yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu mevcuttu (Şekil 4.23)

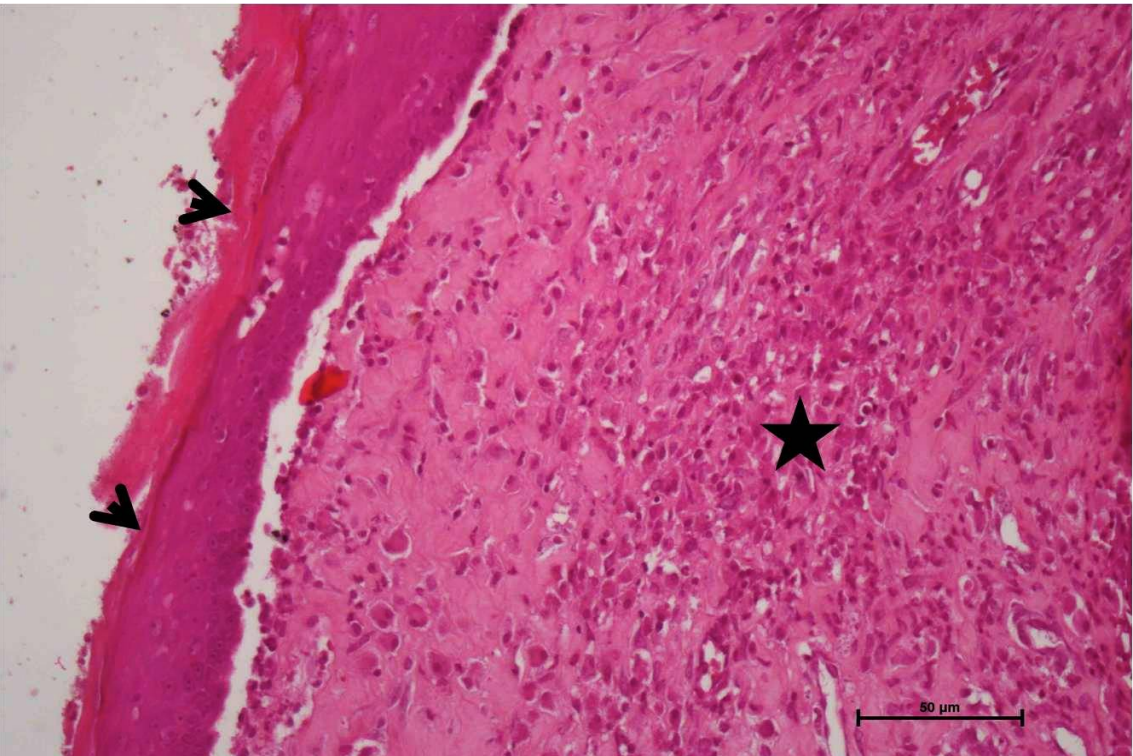
Osteokalsin (Şekil 4.24, 4.25) ve Osteopontin (Şekil 4.26, 4.27) immünreaktivitesi genel olarak düşük yaygınlık ve yoğunlukta izlenmekle birlikte fokal alanlarda orta derece yoğunlukta immünreaktivite gösteren hücreler mevcuttu. Osteokalsin immünreaktivite H indeksi  $105.0 \pm 21.38$ , osteopontin immünreaktivite H indeksi  $95.0 \pm 14.14$  olarak belirlendi.



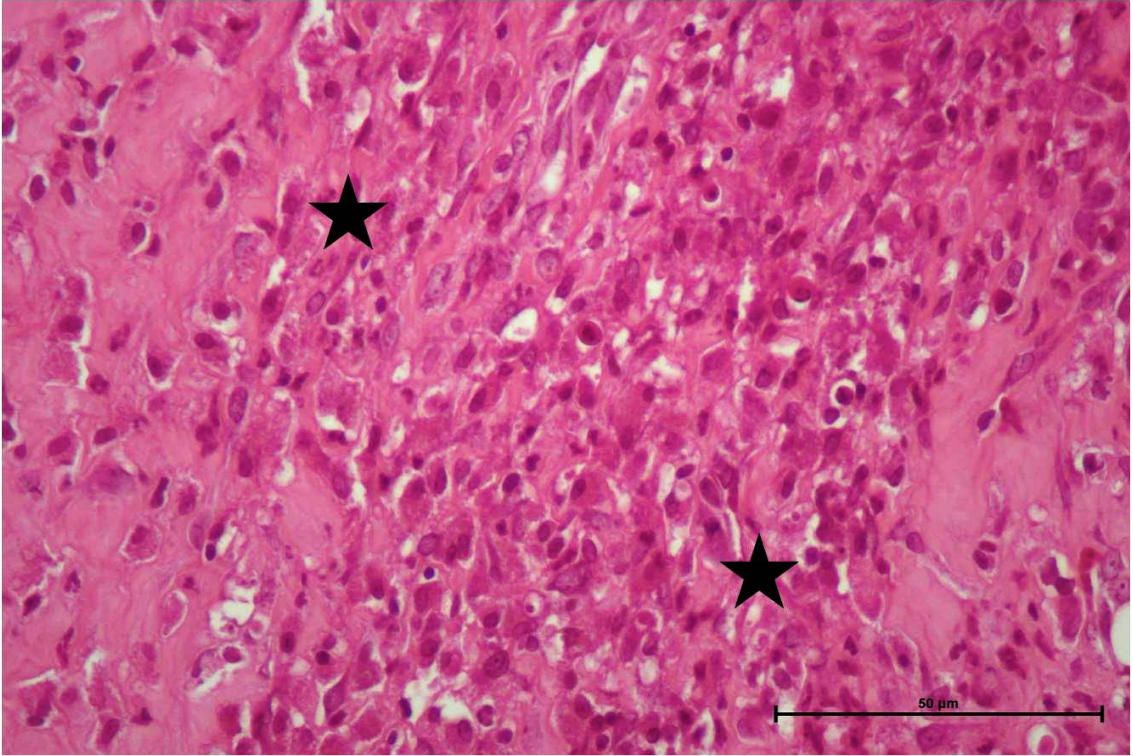
**Şekil 4.19.** BİF + LO Grubu: Diş soket alanında dejeneratif doku ve besin artık materyali (yıldız). H-E, x4.



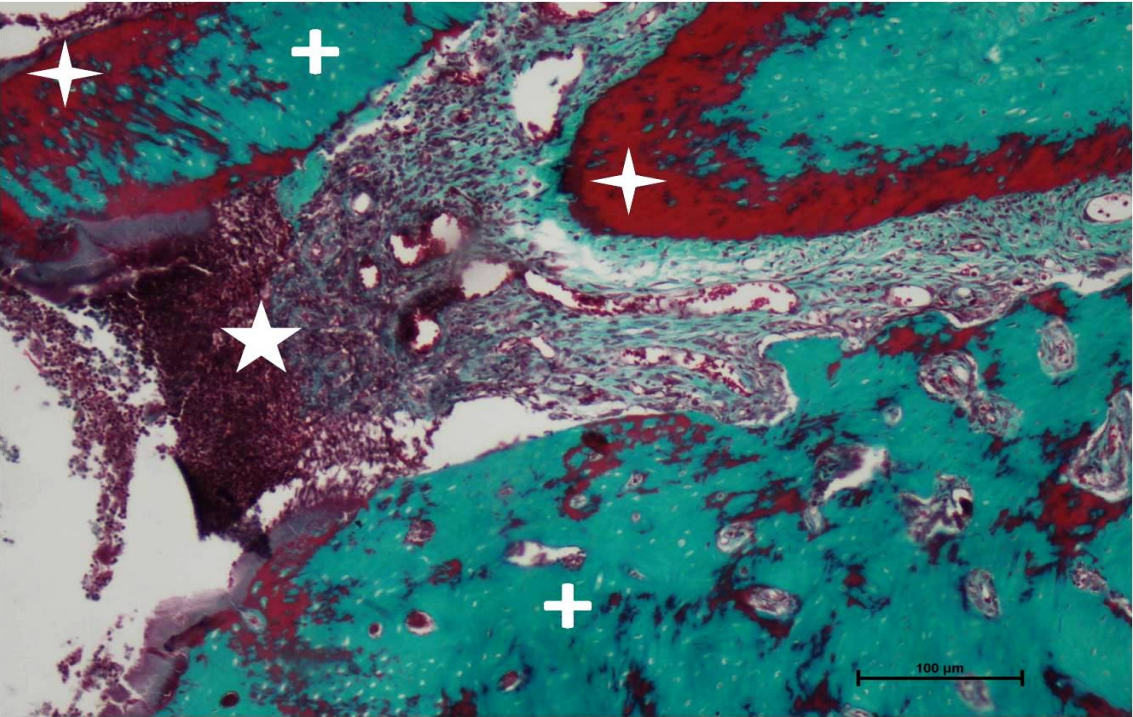
Şekil 4.20. BİF+ LO Grubu: Diş soket alanında dejeneratif doku (beş nokta yıldız), epitel içermeyen diş soket alanı yüzeyi (ok başı), alveol kemiği (dört nokta yıldız) . H-E, x10



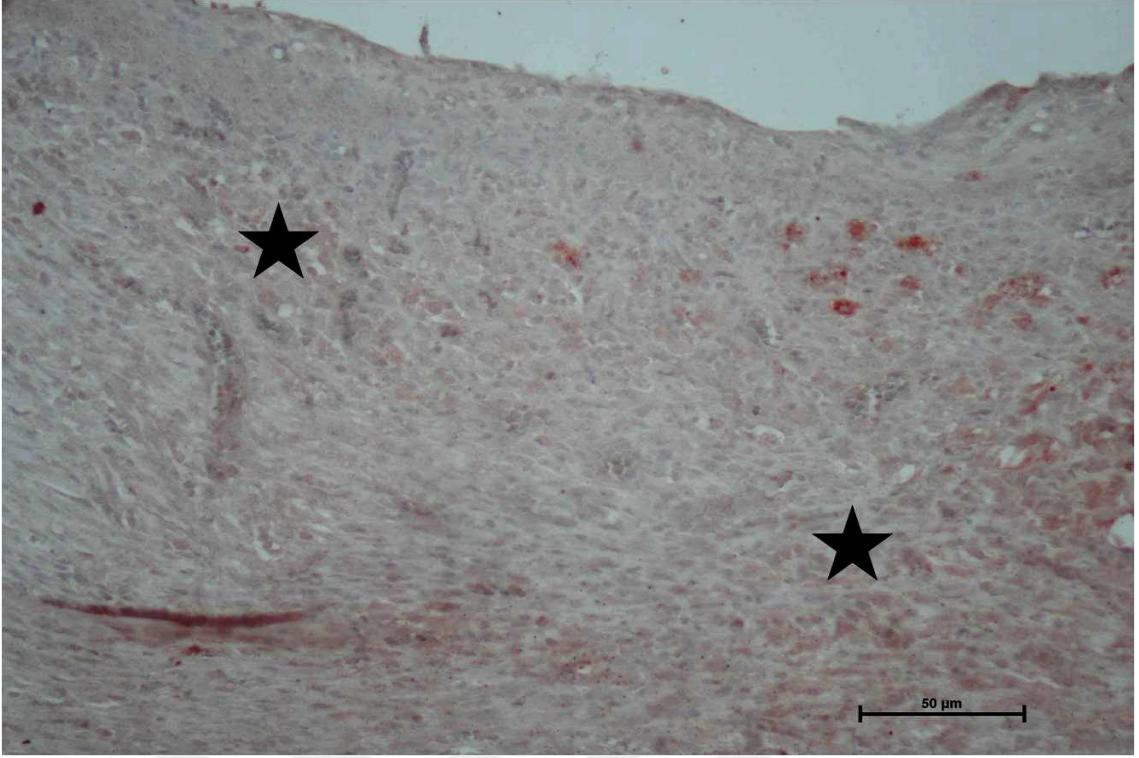
Şekil 4.21. BİF+ LO Grubu: Diş soket alanında inflamatuvar hücre infiltrasyonu içeren bağ doku (yıldız), diş soket alanı yüzeyinde epitelizasyon (ok başı). H-E, x20.



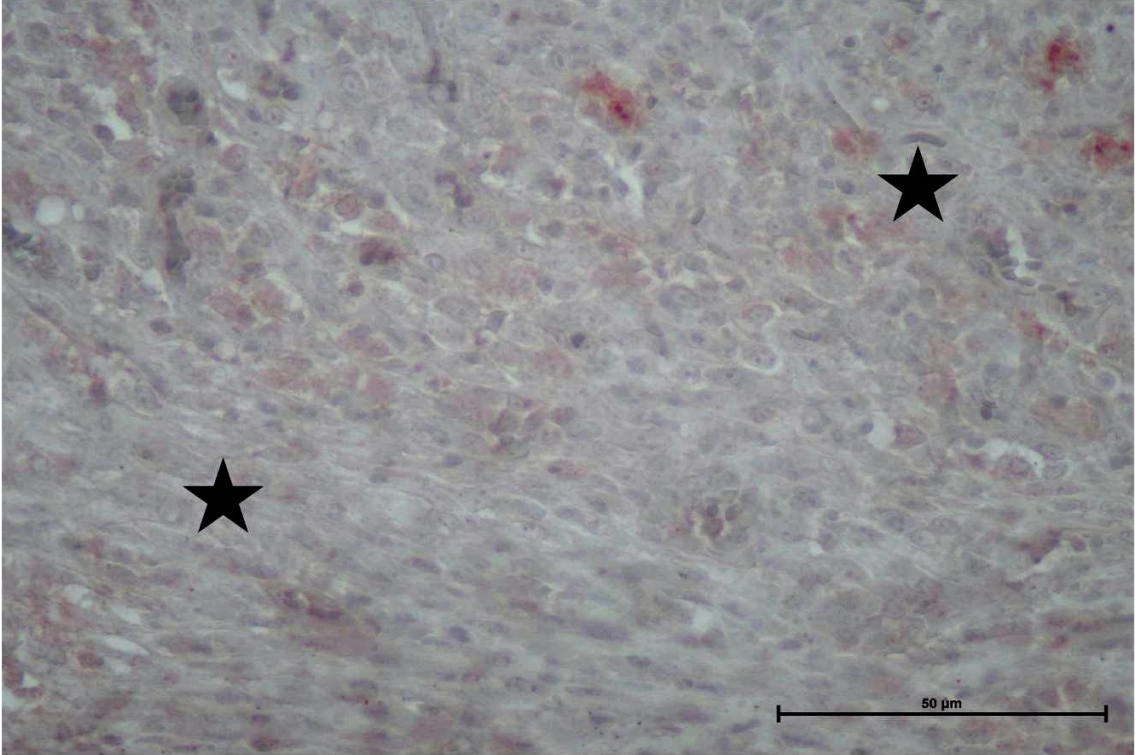
**Şekil 4.22.** B1F+ LO Grubu: Diş soket alanında inflamatuvar hücre infiltrasyonu içeren bağ doku (yıldız). H-E, x40.



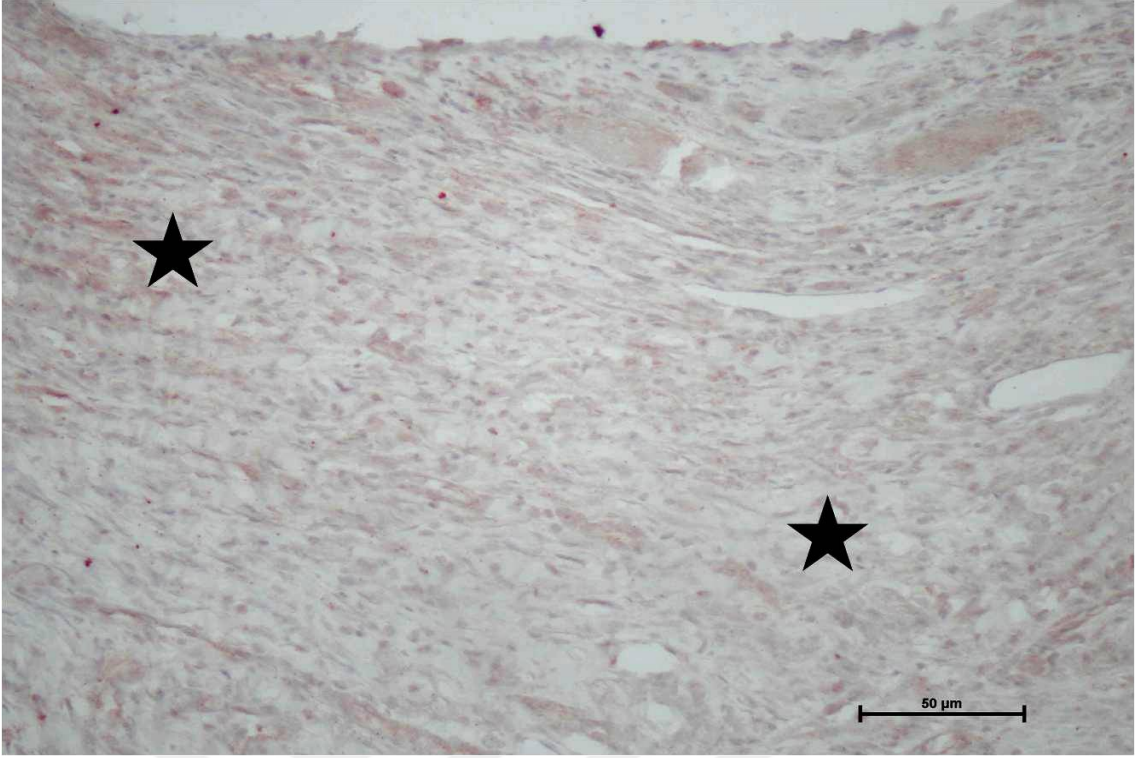
**Şekil 4.23.** B1F+ LO Grubu: Diş soket alanı bağ dokusu-yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu (beş nokta yıldız), immatür kemik doku (artı), kalsifiye kemik doku (dört nokta yıldız). Trikrom, x10



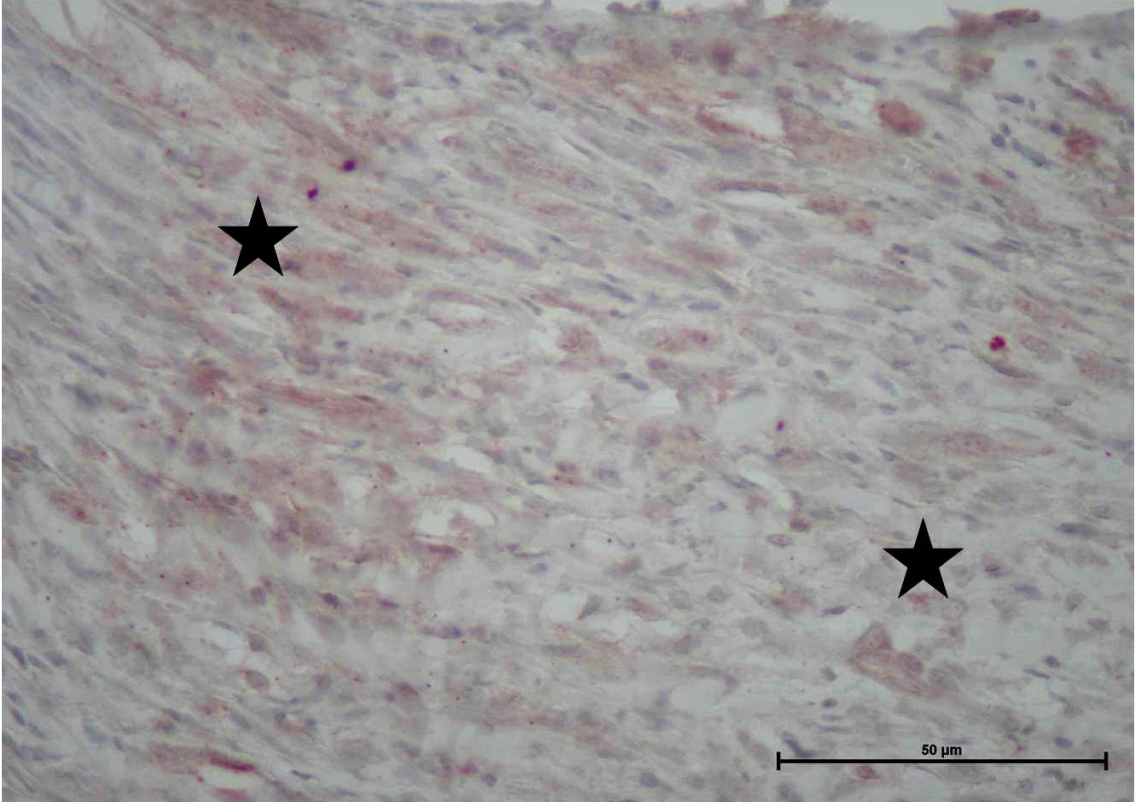
**Şekil 4.24.** BİF+ LO Grubu: Diş socket alanı, diffüz-zayıf, osteokalsin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X20.



**Şekil 4.25.** BİF+ LO Grubu: Diş socket alanı, diffüz-zayıf, osteokalsin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X40.



Şekil 4.26. BİF+ LO Grubu: Diş soket alanı, diffüz-zayıf, osteopontin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X20.

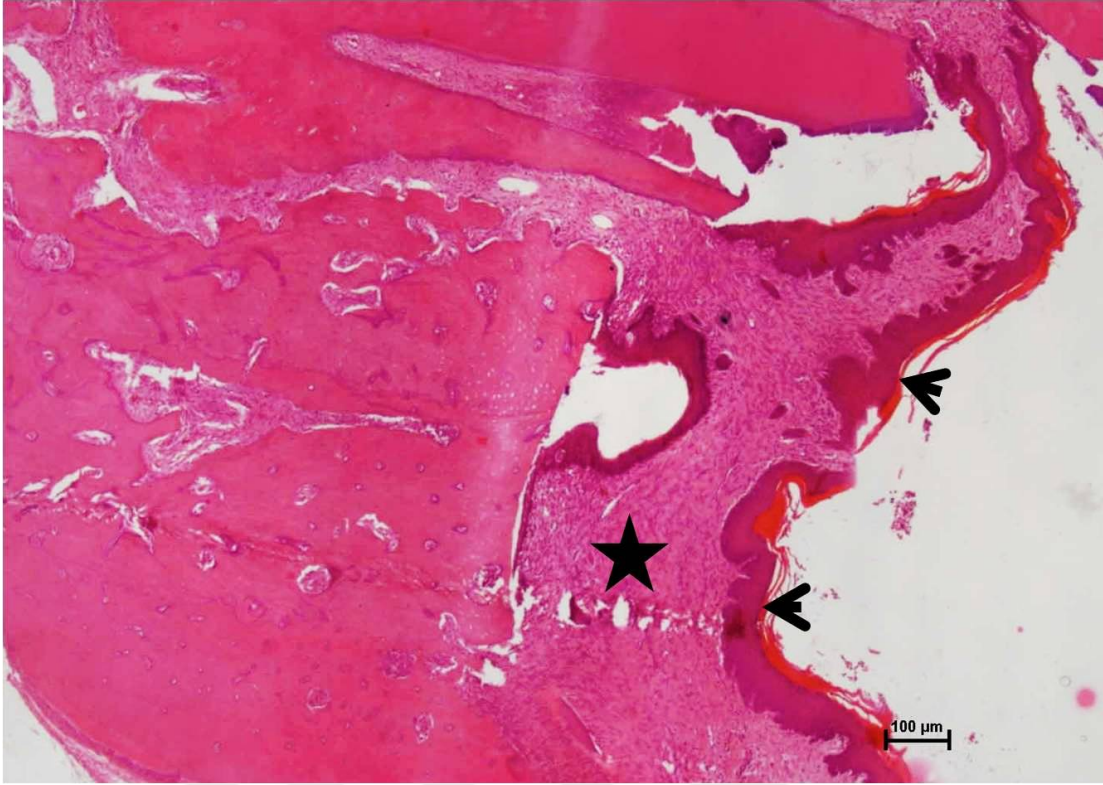


Şekil 4.27. BİF+ LO Grubu: Diş soket alanı, diffüz-zayıf, osteopontin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X40.

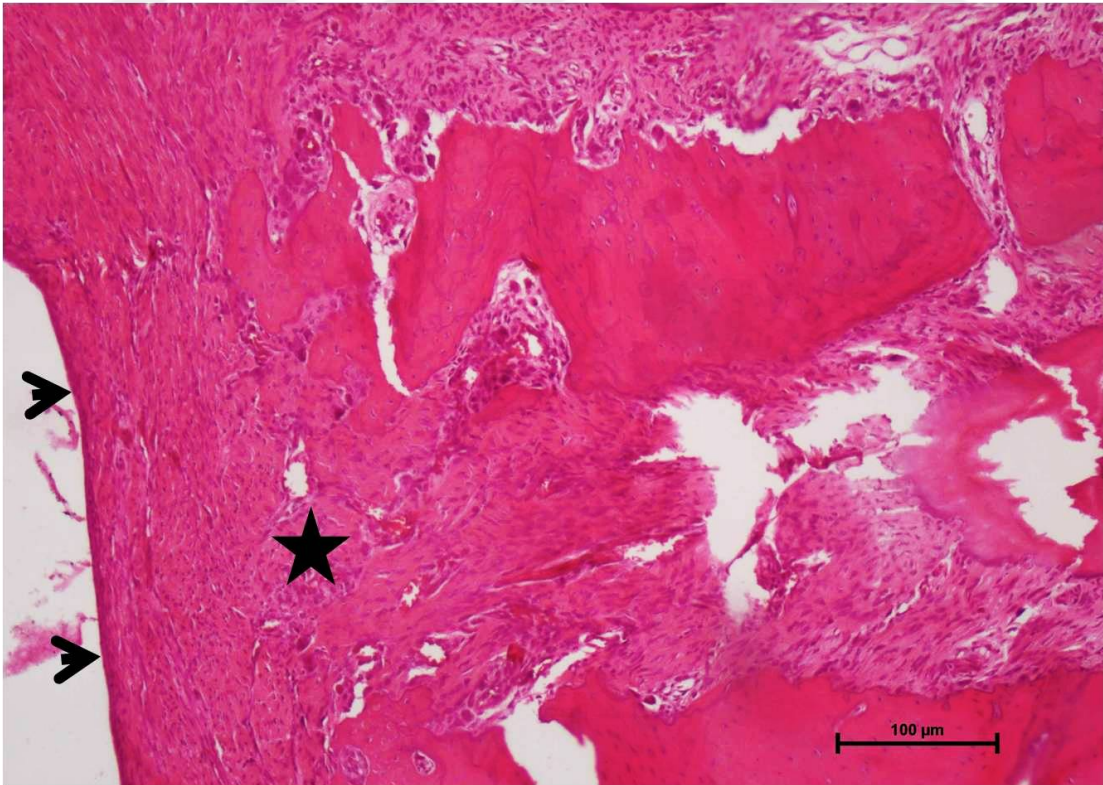
**Sistemik ozon grubu (BİF + SO):** Hematoksilen-eozin boyanan kesitlerde diş soket alanlarının büyük oranda fibröz bağ dokusu ile dolu olduğu görüldü. Bağ dokusu genel olarak minimal düzeyde inflamatuvar hücre infiltrasyonu içeriyordu. Soket alanlarını dolduran bağ dokusu yüzeyinde epitelizasyon izlendi. Kesitlerin çoğunluğunda epitel tabakasının bağ dokusu yüzeyi kapatmış olduğu görüldü. Ancak bazı kesitlerde epitel tabakasının matürasyonunu tamamlamadığı alanlar mevcuttu. Bu alanlarda epitel nonkeratinize çok katlı yassı epitel özelliğinde olup epitel-bağ doku bileşke bölgesinde papilla yapısı içermiyordu. Soket alanında gelişen bağ dokusu içinde kemik doku ve osteojenik adacıklar tespit edildi. Alveol kemiği trabeküllerinin diş soket alanı yönünde bağ dokusu içerisine doğru büyüme gösterdiği dikkati çekti. Alveol kemiği endosteumu normal histolojik görünümde olup tek sıralı osteojenik hücre grupları içeriyordu. Kemik trabekülleri periferinde osteoklast grupları normal yoğunlukta değerlendirildi (Şekil 4.28, 4.29, 4.30, 4.31).

Trikrom ile boyanan kesitlerde diş soket alanında gelişen bağ doku ve primer kemik doku alanları yeşil, matür-kalsifiye kemik doku alanları kırmızı renkte, hücre nukleusları mor-siyah renkte izlenmekte olup normal histolojik yapıda değerlendirildi (Şekil 4.32).

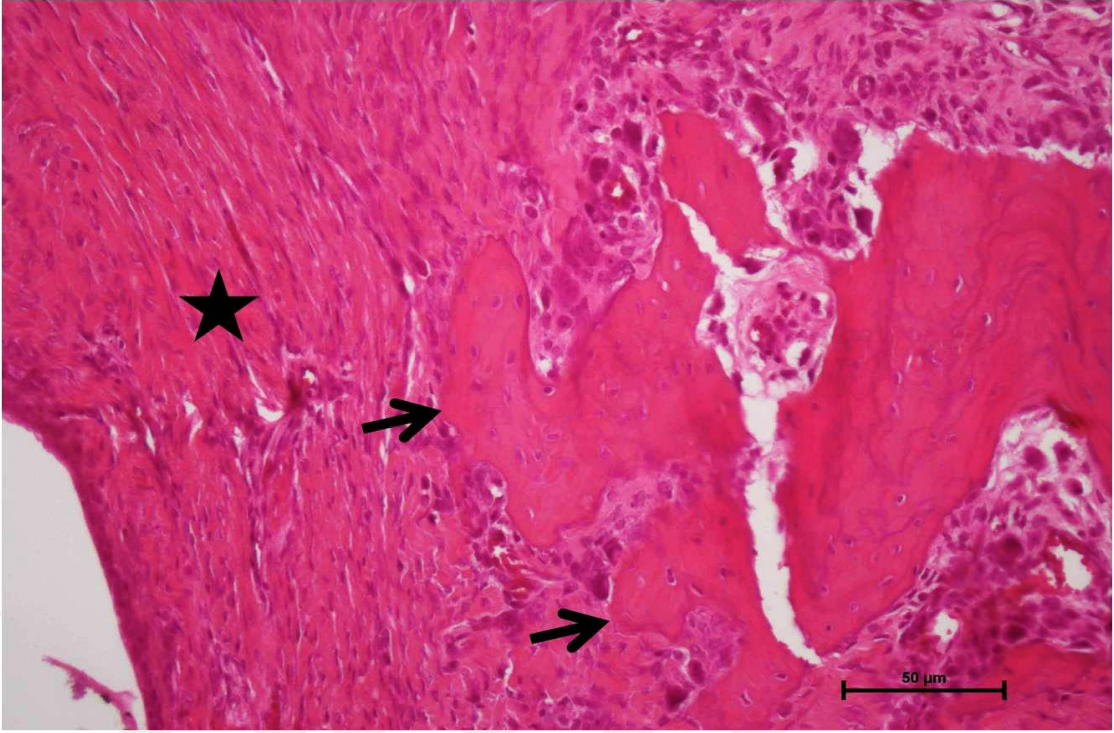
Osteokalsin (Şekil 4.33, 4.34) ve Osteopontin (Şekil 4.35, 4.36) immünreaktivitesi genel olarak diffüz-orta derece yoğunlukta saptandı. Aynı zamanda fokal alanlar şeklinde yüksek derece immünreaktivite pozitifliği gösteren hücre grupları mevcuttu. Osteokalsin immüreaktivite H indeksi  $165.0 \pm 23.29$ , osteopontin immünreaktivite H indeksi  $187.5 \pm 38.45$  olarak belirlendi.



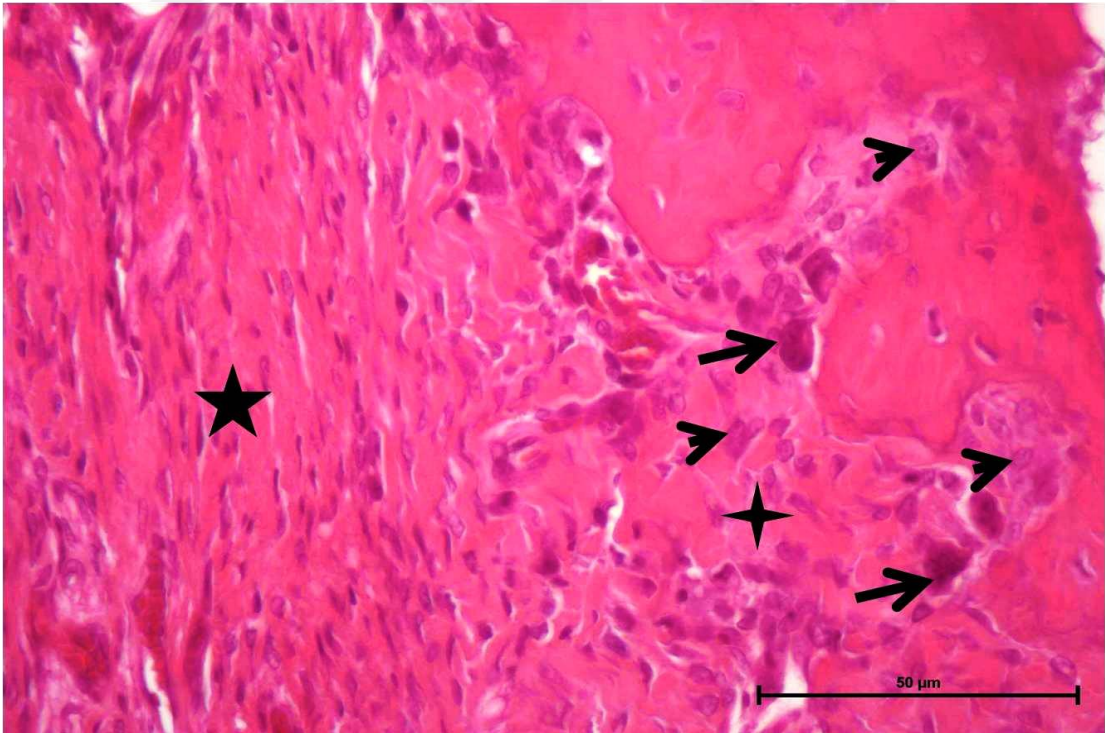
Şekil 4.28. BİF + SO Grubu: Diş soket alanı yüzeyinde matür epitelizeşyon (ok başı), diş soket alanı bağ dokusu (yıldız). H-E, x4.



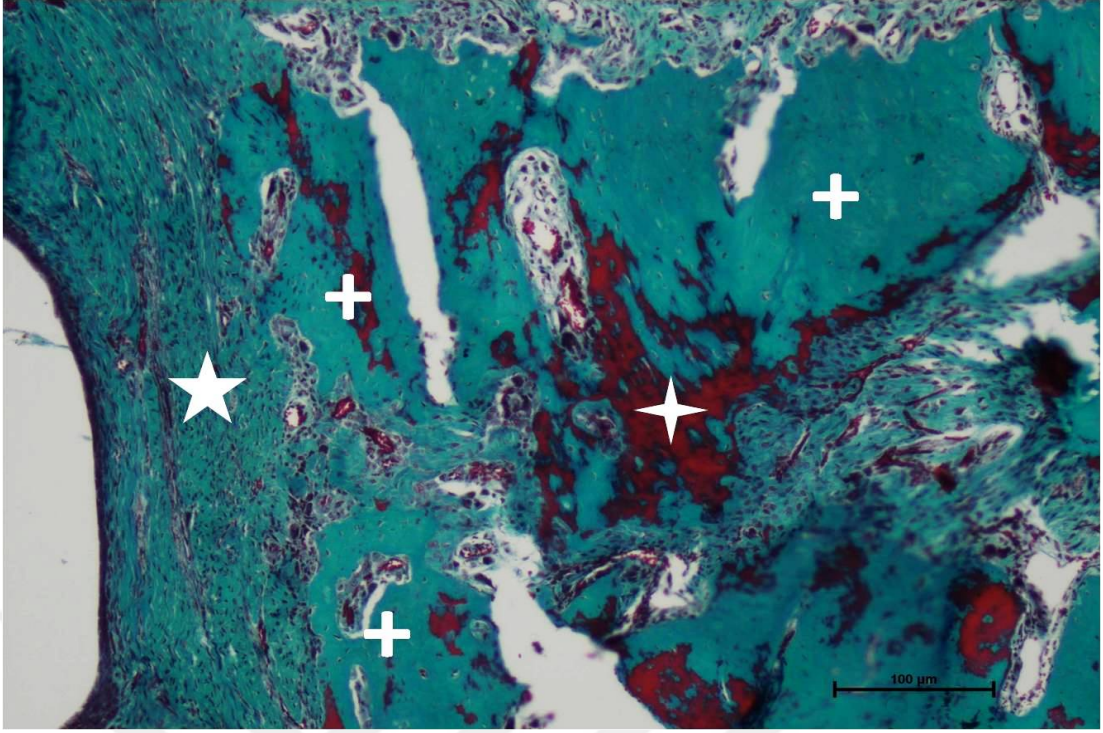
Şekil 4.29. BİF + SO Grubu: Diş soket alanı yüzeyinde immatür epitelizeşyon (ok başı), diş soket alanı bağ dokusu (yıldız). H-E, x10.



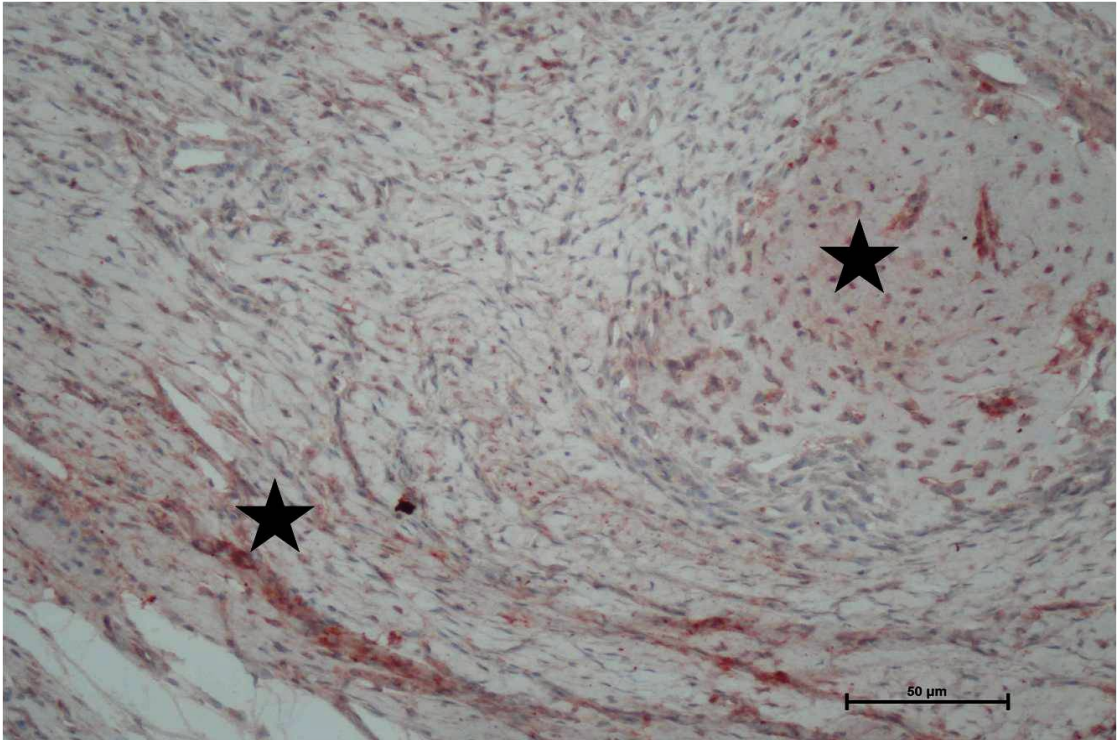
**Şekil 4.30.** BİF + SO Grubu: Diş soket alanı bağ dokusu (yıldız), diş soket alanı yönünde trabeküler kemik büyümesi (ok). H-E, x20.



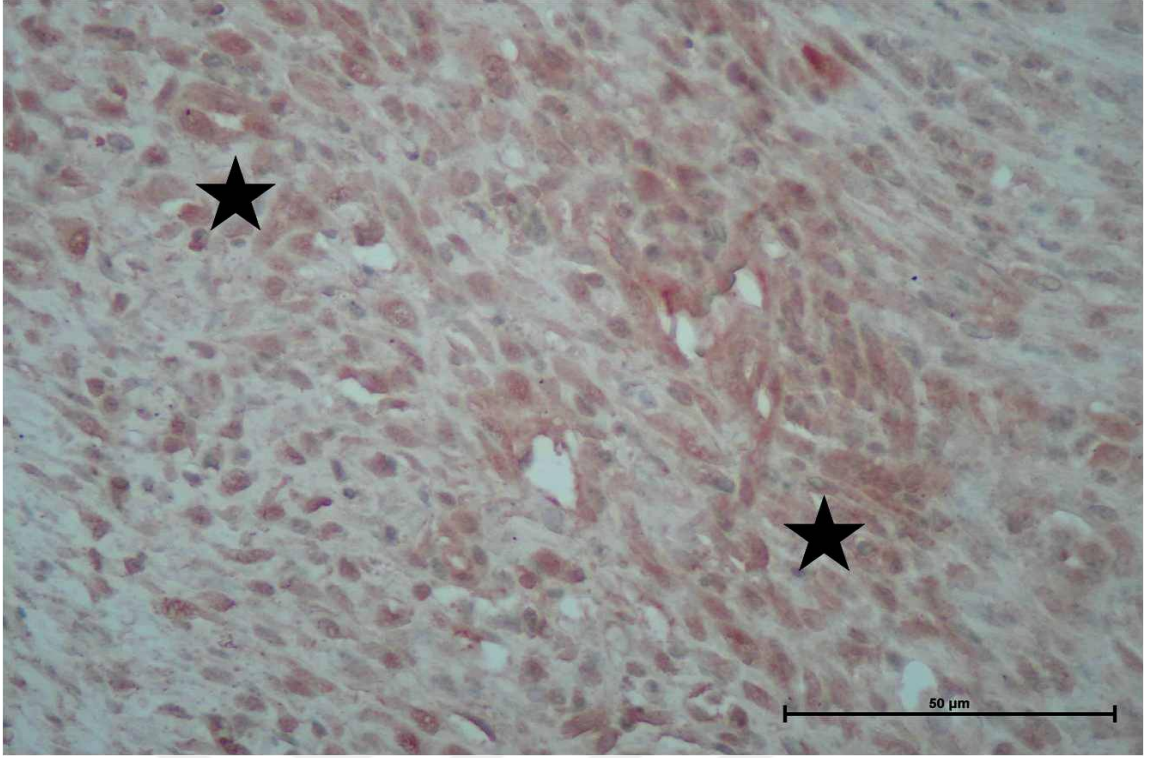
**Şekil 4.31.** BİF + SO Grubu: Diş soket alanı bağ dokusu (beş nokta yıldız), diş soket alanı yönünde trabeküler kemik büyüme alanı (dört nokta yıldız), osteoklast (ok), osteoblast (ok başı). H-E, x40.



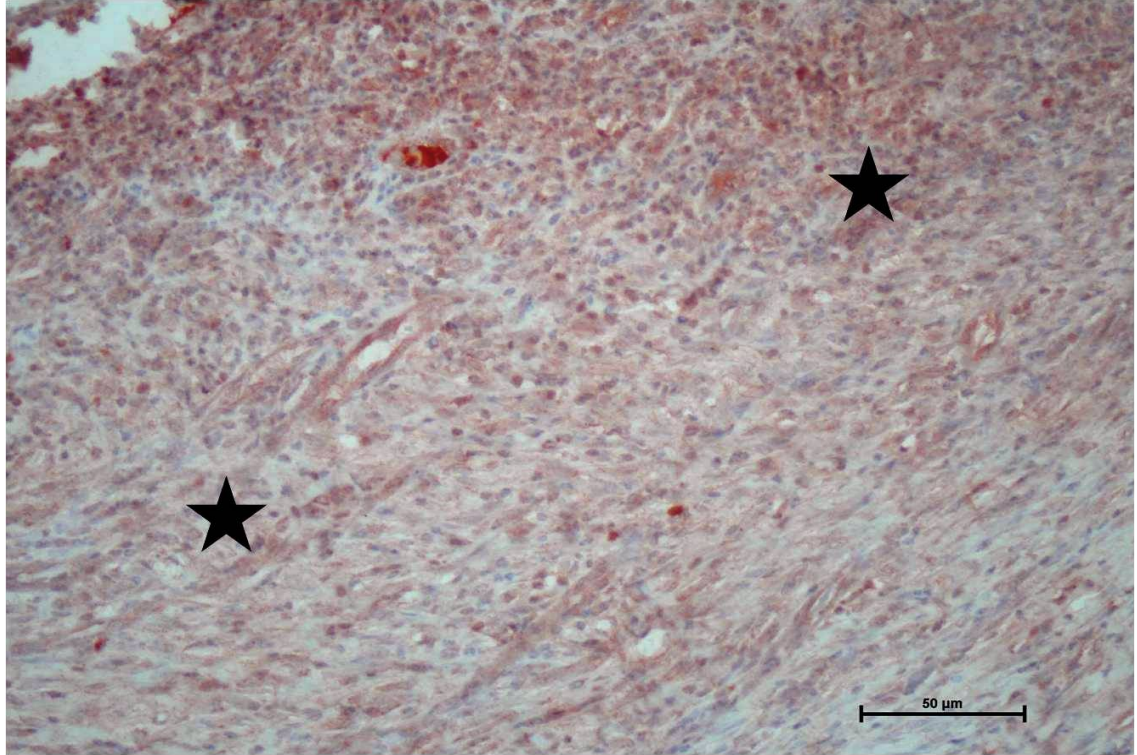
**Şekil 4.32.** BİF + SO Grubu: Diş soket alanı bağ dokusu (beş nokta yıldız), immatür kemik doku (artı), kalsifiye kemik doku (dört nokta yıldız). Trikrom, x10.



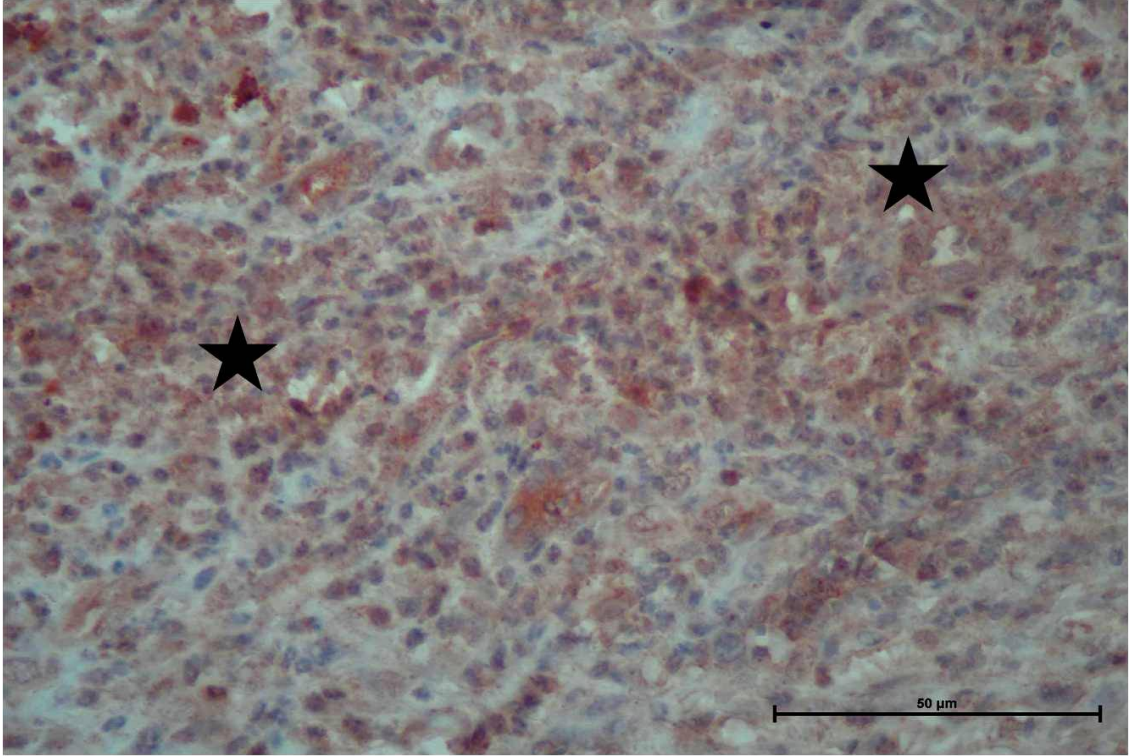
**Şekil 4.33.** BİF + SO Grubu: Diş soket alanı, diffüz-orta düzeyde, osteokalsin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X20.



**Şekil 4.34.** B1F + SO Grubu: Diş soket alanı, diffüz-orta düzeyde, osteokalsin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X40.



**Şekil 4.35.** B1F + SO Grubu: Diş soket alanı, diffüz-orta düzeyde osteopontin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X20.



**Şekil 4.36.** BİF + SO Grubu: Diş soket alanı, diffüz-orta düzeyde osteopontin immünreaktivite pozitifliği (yıldız). İHK, X40.

#### **4.2. Histolojik Bulguların İstatistiksel Değerlendirmesi**

Her grup kendi içinde ve diğer tüm gruplarla, inflamasyon, epitelizasyon, bağ doku, yeni kemik yapımı ve nekroz varlığı açısından değerlendirildiğinde, Tablo 4.3'te belirtilen sonuçlar elde edildi.

Gruplar arasında epitelizasyon değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ( $\chi^2=19.265$ ,  $p<0.001$ ) (Tablo 4.3). Epitelizasyon değerleri ortalamalarına baktığımızda en yüksek değer SO grubunda iken  $2.38\pm 0.52$ , BİF grubunda  $0.63\pm 0.52$  olarak saptanmıştır.

Gruplar arasında bağ doku değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ( $\chi^2=11.625$ ,  $p=0.009$ ). Gruplar arasında bağ doku değerleri ortalamalarına baktığımızda ise en yüksek değer  $2.38\pm 0.52$  ile kontrol grubunda olduğu, en düşük ortalama değer  $1.5\pm 0.53$  ile BİF grubunda olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.3).

**Tablo 4.3.** Gruplar arasında histolojik ölçümlerin karşılaştırılması

	Kontrol	BİF	BİF+LO	BİF+SO	Test İstatistiği	
	Ort±SS Medyan(ÇAG)	Ort±SS Medyan(ÇAG)	Ort±SS Medyan(ÇAG)	Ort±SS Medyan(ÇAG)	$\chi^2*$	P
İnflamasyon	1.5±0.53 1.5 (1.0)	1.63±0.52 2.0 (1.0)	1.25±0.46 1.0 (1.0)	1.38±0.52 1.0 (1.0)	2.460	0.483
Epitelizasyon*	2.0±0.76 2.0 (2.0)	0.63±0.52 1.0 (1.0)	2.13±0.35 2.0 (0.0)	2.38±0.52 2.0 (1.0)	19.265	<0.001
Bağ Doku*	2.38±0.52 2.0 (1.0)	1.5±0.53 1.5 (1.0)	1.88±0.35 2.0 (0.0)	2.25±0.46 2.0 (1.0)	11.625	0.009
Kemik Doku	0.5±0.53 0.5 (1.0)	0.25±0.46 0.0 (1.0)	0.38±0.52 0.0 (1.0)	1.0±0.76 1.0 (2.0)	5.711	0.127
Nekroz*	N/A N/A	0.63±0.74 0.5 (1.0)	0.25±0.46 0.0 (1.0)	N/A N/A	8.895	0.031

\*Kruskal Wallis Test İstatistiği N/A: Not Available

Nekroz değerleri bakımından gruplar arasında ikili karşılaştırmalarda K-BİF ve SO-BİF arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ( $p=0.011$   $p=0.011$ ). Diğer gruplar arasında nekroz düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Tablo 4.4).

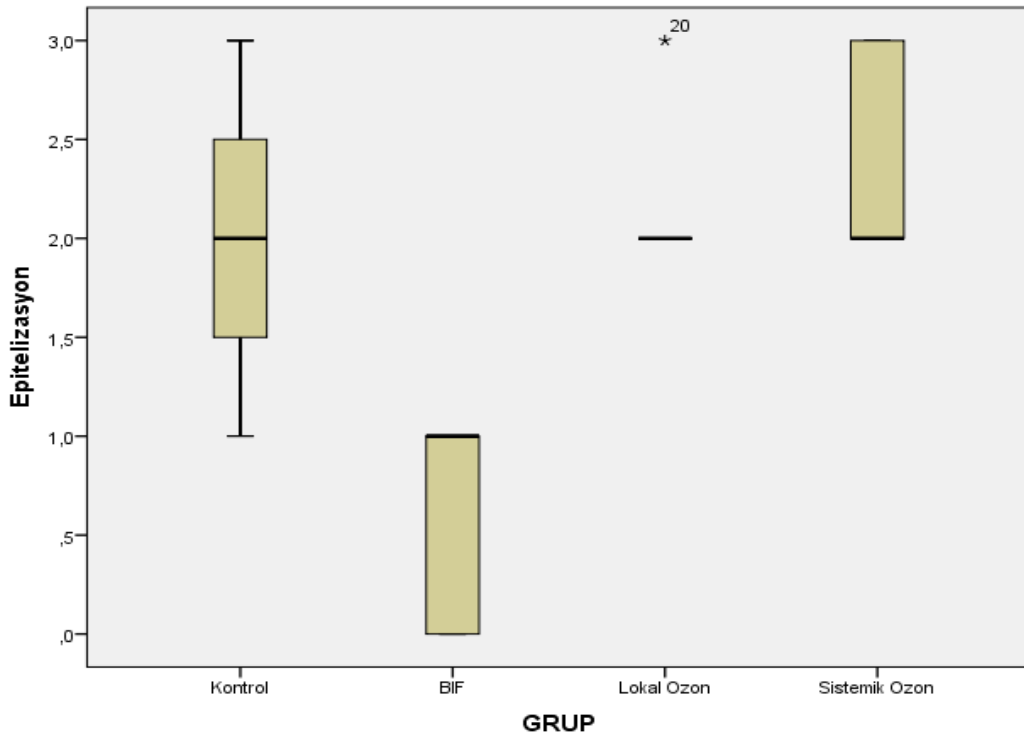
Epitelizasyon değerleri bakımından gruplar arasında ikili karşılaştırmalarda BİF-K, BİF-BİF+LO ve BİF-BİF+SO arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ( $p=0.014$   $p=0.004$ ,  $p<0.001$ ). Diğer gruplar arasında Epitelizasyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Tablo 4.4).

Bağ doku değerleri bakımından gruplar arasında ikili karşılaştırmalarda BİF-BİF+SO ve BİF-K arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ( $p=0.050$   $p=0.012$ ,  $p<0.001$ ). Diğer gruplar arasında bağ doku düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Tablo 4.4).

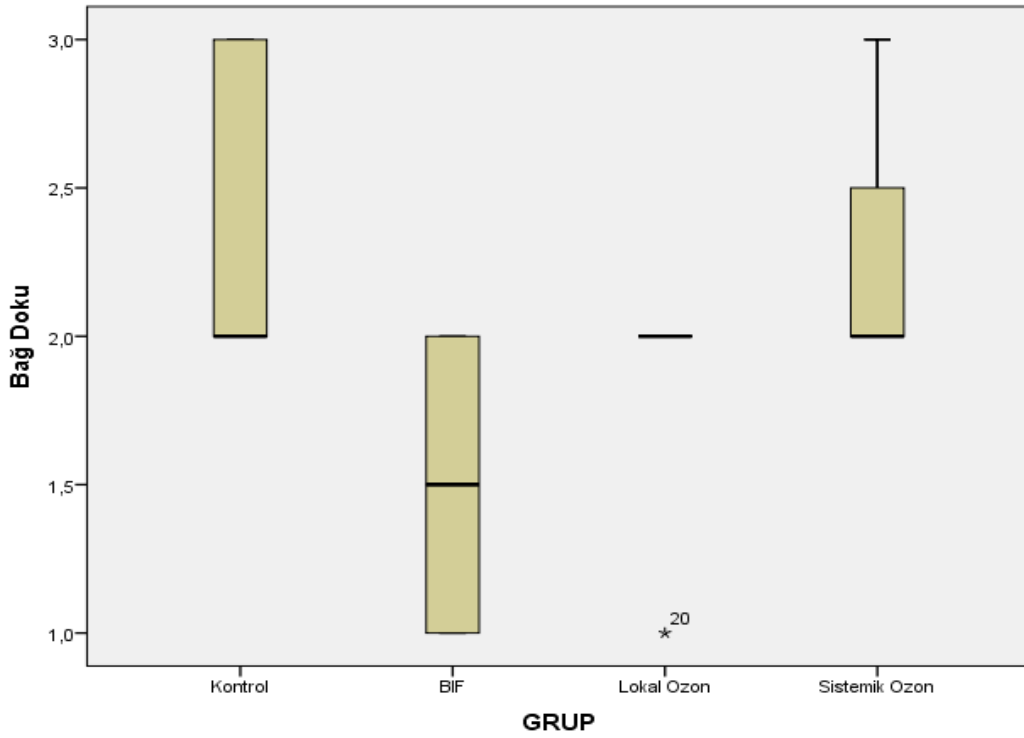
**Tablo 4.4.** Gruplar arası Epitelizasyon, Bağ doku ve Nekroz ikili karşılaştırmaları

Gruplar* Epitelizasyon	p	Gruplar* Bağ Doku	p
BİF-K	<b>0.014</b>	BİF- BİF+LO	1.000
BİF-BİF+LO	<b>0.004</b>	BİF-BİF+SO	<b>0.050</b>
BİF-BİF+SO	<b>&lt;0.001</b>	BİF-K	<b>0.012</b>
K-BİF+LO	1.00	BİF+SO-BİF+LO	1.000
K-BİF+SO	1.000	K-BİF+LO	0.470
BİF+SO-BİF+LO	1.000	K-BİF+SO	1.000

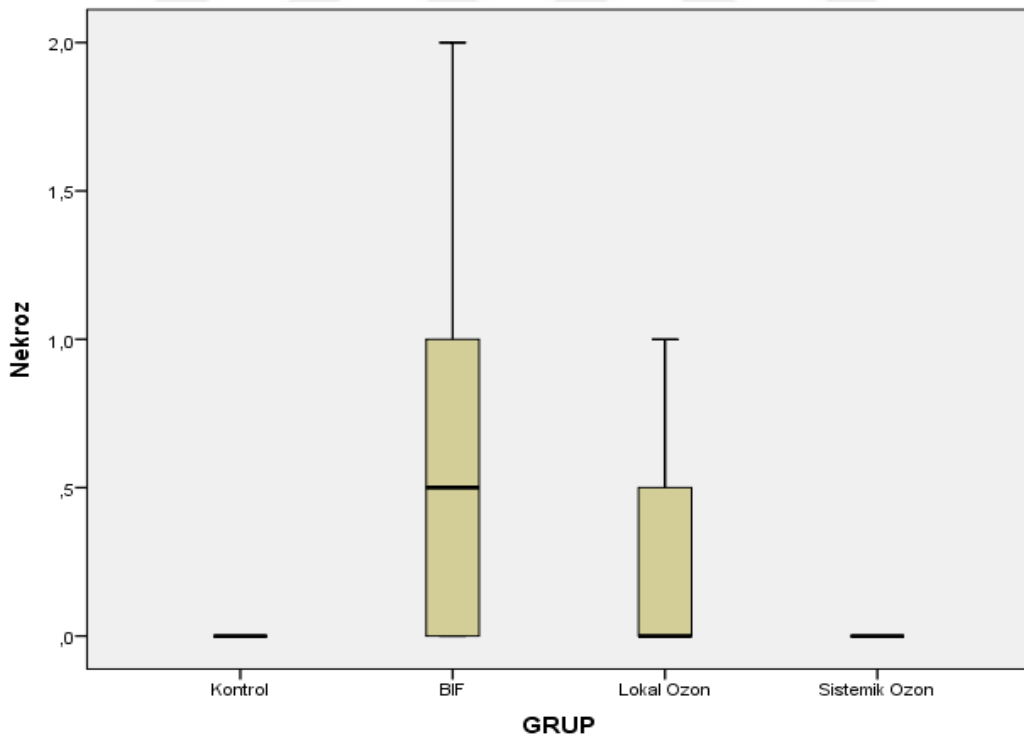
Gruplar* Nekroz	p
K-BİF+SO	1.000
K-BİF+LO	0.223
K-BİF	<b>0.011</b>
BİF+SO-BİF+LO	0.223
BİF-BİF+SO	<b>0.011</b>
BİF-BİF+LO	0.182



**Şekil 4.37.** Gruplar arasında inflamasyon değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4.38. Gruplar arasında bağ doku değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4.39. Gruplar arasında nekroz değerlerinin karşılaştırılması

Gruplar arasında osteokalsin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ( $F=35.490$ ,  $p<0.001$ ) (Tablo 4.5). SO osteokalsin düzeyleri

değerinin ortalaması 165.0±23.29 iken, BİF grubu osteokalsin düzeyleri değerinin ortalaması 55.0 ±27.77 olduğu saptanmıştır.

Gruplar arasında osteopontin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ( $\chi^2=23.487$ ,  $p<0.001$ ). Gruplar arasında osteopontin düzeyleri ortalamalarına baktığımızda ise en yüksek değer 187.5±38.45 ile SO, en düşük ortalama değer ise 55.0±25.63 ile BİF de olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.5).

**Tablo 4.5.** Gruplar arasında immünohistokimya ölçümlerinin karşılaştırılması

	Kontrol	BİF	BİF+LO	BİF+SO	Test İstatistiği	
	Ort±SS Medyan(ÇAG)	Ort±SS Medyan(ÇAG)	Ort±SS Medyan(ÇAG)	Ort±SS Medyan(ÇAG)	F ; $\chi^2$	P
OSTEOKALSİN	155.0±23.30	55.0±27.77	105.0±21.38	165.0±23.29	35.490	<0.001
	150.0 (40.0)	60.0 (50.0)	100.0 (23.0)	155.0 (30.0)		
OSTEOPONTİN	182.5±53.38	55.0±25.63	95.0±14.14	187.5±38.45	23.487	<0.001
	210.0 (90.0)	50.0 (35.0)	100.0 (20.0)	195.0 (53.0)		

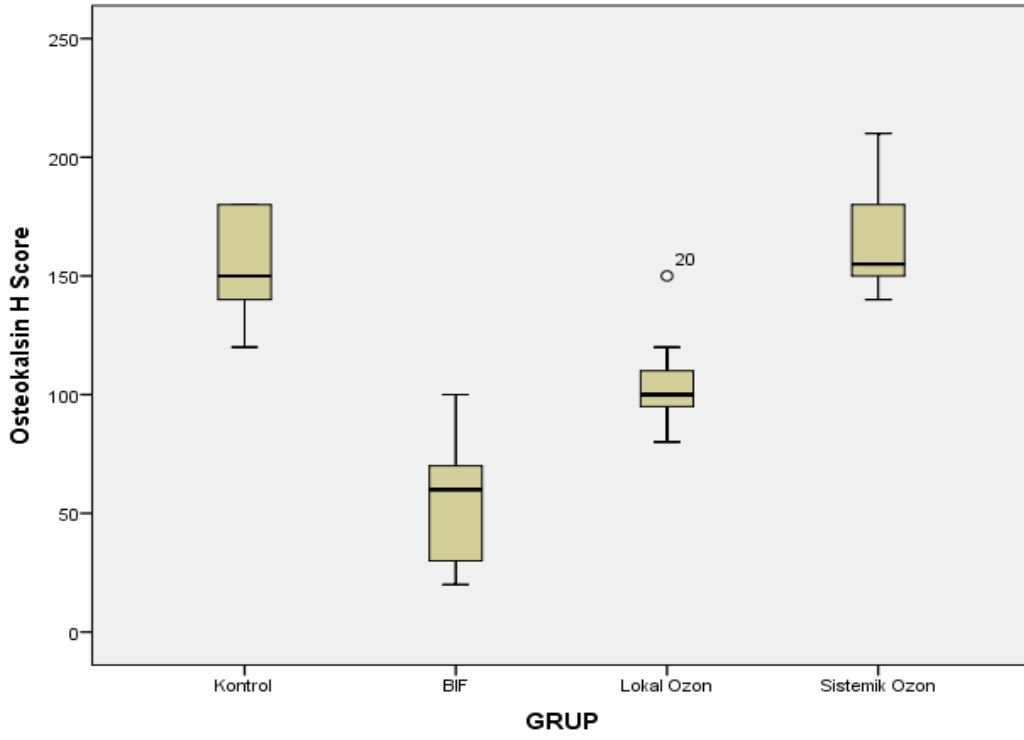
F: One-way ANOVA test istatistiği

Osteokalsin bakımından grupların ikili karşılaştırmasında; K-BİF, K-BİF+LO, BİF-BİF+LO, BİF-BİF+SO ve BİF+LO-BİF+SO arasında anlamlı fark saptandı ( $p<0.001$ ,  $p=0.002$ ,  $p<0.001$ ,  $p<0.001$ ,  $p<0.001$ ) Diğer gruplar arasında osteokalsin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Tablo 4.6).

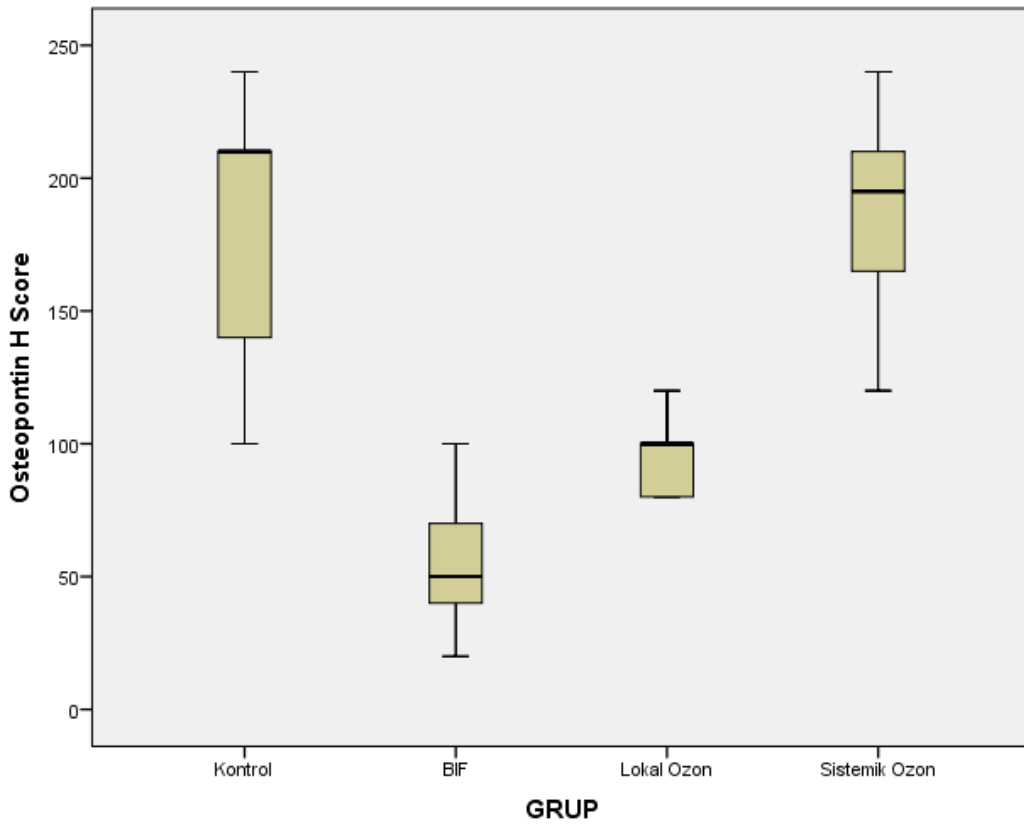
Osteopontin bakımından grupların ikili karşılaştırmasında; BİF-K ve BİF-BİF+SO arasında anlamlı fark saptandı ( $p<0.001$ ,  $p<0.001$ ) Diğer gruplar arasında Osteopontin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Tablo 4.6).

**Tablo 4.6.** Gruplar arası osteokalsin ve osteopontin ikili karşılaştırmaları

Gruplar*Osteokalsin H Score	p	Gruplar*Osteopontin H Score	p
K-BİF	<0.001	BİF-BİF+LO	0.764
K-BİF+LO	0.002	BİF-K	<0.001
K-BİF+SO	1.000	BİF-BİF+SO	<0.001
BİF-BİF+LO	<0.001	BİF+LO-Kontrol	0.094
BİF-BİF+SO	<0.001	BİF+SO-BİF+LO	0.062
BİF+SO-BİF+LO	<0.001	K-BİF+SO	1.000



Şekil 4.40. Gruplar arasında Osteokalsin değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4.41. Gruplar arasında Osteopontin değerlerinin karşılaştırılması

## 5. TARTIŞMA

İskeletin ana yapısını oluşturan kemik dokusu, kas yapılarını destek, kafatasının üst kısmı ve göğüs kafesi boşluklarında olduğu gibi, yaşamsal önem taşıyan organları korumakta ve kan hücrelerini yapan kemik iliğini bünyesinde bulundurmaktadır. Ayrıca kemik kalsiyum, fosfat ve diğer iyonlara ait bir depo olarak iş görmekte ve bu önemli iyonların vücut sıvılarındaki oranlarının sabit tutulabilmesi için, kontrollü olarak salınımını ya da tutulmalarını sağlamaktadır (16).

Ratlarda diş çekiminden sonra iyileşme sürecini etkileyen faktörler ve soket iyileşmesi arasındaki ilişki ile ilgili araştırmalar 1900' lü yılların başlarında başlamıştır (140). Diş çekiminden sonra soketin iyileşme sürecini değerlendiren ilk histolojik ve radyolojik çalışma Euler tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada sağlıklı diş ve dişetine sahip aynı yaş ve büyüklükteki köpekler kullanılmıştır (141).

Diş çekimi sonrasında iyileşme sürecinin ratlar üzerinde takip edilmesi 1900' lü yıllarda başlamıştır. Bu konuda çekim sonrasında değerlendiren ilk çalışma Euler ve ark. tarafından yapılmıştır (141). Diş çekiminden sonra iyileşme süreci pek çok hayvan modeli üzerinde çalışılmış ve nispeten anlaşılmıştır (142). Ancak insanlarda diş çekimi sonrası soket iyileşmesinin histolojisini değerlendiren sadece birkaç çalışma yapılmıştır. Ayrıca Boyne (143), alveolar çekim soketlerinden elde edilen kemik biyopsilerini ve daha yakın tarihte Devlin ve Sloan (144) rezektif kanser cerrahisi sırasında alınan çekim soketi örneklerini incelemiş ve çekimden iki hafta sonra aldığı kemik biyopsilerinde histolojik örneklerdeki bulgularda soket periferinde trabeküler kemik oluşumu ve kemik iliği boşlukları ile soket kenarlarında da osteosit ve osteoblastların bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Erkek ratlarda, Huebsch ve ark.'nın yaptığı çalışmada diş çekiminden sonra iyileşme sürecini araştırmışlardır. Bu çalışmada çekimden 7 saat sonra soketin kan pıhtısı ile dolduğu, 14 saat sonra periodontal membranın hala seçilebildiği belirtilmiştir. Diş çekiminden sonra 5. günde soketin tamamen bağ dokusu ile dolduğu ve kemik oluşumuna yönelik ilk belirtilerin ortaya çıktığı ve 10. günde epitelin yarayı kapattığı tespit edilmiştir. 13. günde soketin neredeyse yeni oluşan kemik dokusu ile dolduğu ve epitelin ağız mukozasına benzediği 25. günde ise soketin tamamen kemik ile dolduğu ve epitelin de farklılaşarak keratinize skuamöz epitel halini aldığı görülmüştür (145).

Araujo ve ark. köpeklerde diş çekimden sonra soket iyileşmesini 8 haftalık bir süreçte araştırmıştır. Çekimden sonraki birinci haftada soketin iç kısmının pıhtı, granülasyon dokusu, geçici matriks (kollajen lifler, damarlar ve fibroblastlardan oluşur) ve az miktarda yeni oluşan kemik ile dolu olduğu gözlenmiştir. İkinci haftada çekim soketinin apikal ve lateral kısımlarında büyük miktarda yeni oluşmuş kemik bulunmuştur. Ayrıca soketin merkezinde geçici matriksin yer aldığı ve mineralize doku ve kemik iliğinin diğer alanları doldurduğu görülmüştür. Sekizinci haftada lingual duvar bukkal duvara göre daha kalın olarak izlenmiş ve iki duvar arasındaki dokunun mineralize olmaya başladığı görülmüştür (146).

Cardaropoli ve ark. tarafından (2003) yapılan bir çalışmada, köpeklerin diş çekim yaralarının iyileşme aşamaları 6 aylık süreçte incelenmiştir. Bu çalışmada da diş çekiminden sonra 1. günde soket içinde pıhtı oluşumu ve pıhtının da inflamatuvar hücreler (özellikle nötrofilik granüositler) ile kaplandığı gözlenmiştir. 3. günde vaskülarize granülasyon dokusu pıhtı ile yer değiştirmeye başlamıştır ve 14. günde soket duvarı boyunca yeni kemik oluşumu izlenmiştir. İlk ay sonunda soketin neredeyse tamamı yeni oluşmuş kemik ile dolmuştur. 3. ay sonunda çoğu bölgedeki örgü kemiğin yerini lameller kemiğe bıraktığı gözlenmiştir. 6. aya kadar yeni oluşmuş kemiğin remodelasyonunun devam ettiği, mineralizasyonda bir miktar azalmanın görüldüğü ve yağ dokuya yer verdiği belirtilmiştir (28).

Boyne ve ark., 12 hastayı kapsayan çalışmalarında, 3 haftalık bir süreç boyunca maksiller premolar diş çekim soketinin iyileşmesini histolojik olarak incelemiştir. 7. ve 8. günlerde sokette kemik oluşumunun bulunmadığı ancak 9. ve 10. günlerde soketin lateral duvarlarında yeni kemik oluşumunun gözlemlendiği belirtilmiştir. 13. ve 14. günlerde alveolar soketin yaklaşık 1/3' ünün kemik ile dolduğu ve 19. günde soketin büyük bir kısmının kemik matriksi ile dolduğu tespit edilmiştir (143).

Kemik metabolizmasını etkileyen birçok ilaç bulunmaktadır. Bunlar; alüminyum içeren antiasitler, antidiabetikler, antiepileptikler, antikanserojenler, antikoagülanlar, antihipertansifler, glukokortikoidler, immünsüpresifler, proton pompa inhibitörleri, selektif serotonin geri alım inhibitörleri, denosumab ve bifosfonatlardır. Bifosfonatlar; kemik yoğunluğunu ve direncini sürdürmeyi özellikle osteoklastlar üzerinden sağlayan antirezorptif ilaçlardır. Günümüzde güçlü birleşikler olan bifosfonatlar; paget hastalığı, osteopeni, osteoporöz, malign hiperkalsemi, malign tümörlerin kemik metastazlarının tedavisinde başarılı olarak kullanılmaktadır (71,147–149).

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. 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 (9,41).

Osteonekrozun oluşum mekanizmasının temeli; osteoklastik aktivitenin inhibisyonu nedeniyle kemiğin normal iyileşme sırasında, rezorbe olamaması sonucu oluşan nekrotik kemik ve bu nekrotik kemiğin ilgili alana kan desteğinin ulaşmasını engellemesidir. Böylece çenenin osteonekrozu bifosfonat tedavisi gören hastalarda en büyük dental komplikasyon haline gelmektedir. Her ne kadar spontan oluşan çene osteonekrozu vakaları rapor edilmişse de (%14), vakaların % 70' inde hastaların dental hastalık veya dental tedavi geçmişi vardır (150).

Osteonekroz bulgusunun hangi nedenle oluştuğu, engelleme amaçlı hangi önlemlerin alınabileceği, tedavisinde neler uygulanabileceğinin araştırılması için klinik, in-vivo ve in-vitro olarak birçok deneysel çalışma yapılmaktadır (28,151–153).

Zoledronik asitin in vitro olarak osteoklastların matürasyonu ve işlevi üzerinde direk etkisi olduğu gösterilmiştir. Rat kalvarya kültürlerinde, zoledronik asit osteoklast matürasyonunu ve kemik yüzeyinde toplanmalarını inhibe etmiştir (154). Osteoklast matürasyonu, progenitör ve prekürsör hücrelerin proliferasyonunu ve farklılaşmasını, füzyonun izlemesi ve daha sonra kemik yüzeyde monositik prokürsörlerin olgunlaşmasından oluşan süreçtir. Zoledronik asit ayrıca olgun osteoklastların işlevsel etkinliğini de baskılamaktadır. İn vivo ve in vitro testler zoledronik asitin çeşitli uyaranlara yanıt olarak olgun osteoklastlar tarafından oluşturulan kemik rezorpsiyonunu diğer bifosfanatlara göre daha güçlü olarak inhibe ettiğini göstermiştir. Bu etki zoledronik asitte, pamidronata göre 850 kat daha fazladır (155).

Kimme 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 belirtilmiştir. 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. Drake ve ark. ise, damar yolu ile alendronat uygulamasının atriyal fibrilasyon riskini arttırdığını raporlamışlardır (63,156,157).

Jang ve ark. (2015) yayınladıkları çalışmalarında ratlar üzerinde deneysel olarak BİÇO oluşturmak için zoledronik asit uygulamışlar ve diş çekmişlerdir. Deney grubundaki ratlara haftada 1 defa olmak üzere 12 hafta boyunca 0.2 mg/ kg dozda zoledronik asit uygulamışlardır. Çalışma sonunda ratların % 67' sinde BİÇO oluştuğunu rapor etmişlerdir. Çalışma sonucunda diş çekiminin BİÇO oluşumunda tetikleyici bir ajan faktör olduğunu da belirtmişlerdir (158).

Vidal- Gutierrez ve ark. yayınladıkları çalışmalarında diş çekimi yapacakları ratlara zoledronik asit uygulayıp BİÇO oluşturmayı amaçlamışlardır. Haftada 1 defa olmak üzere 2 hafta süreyle 0.06 mg/ kg zoledronik asit uygulanmış ve post operatif 2, 4 ve 6. hafta diş çekimleri yapılmıştır. Tüm gruplarda kemikte nekroz görülmüş ve çalışma sonucunda zoledronik asit uygulamasının ve ardından diş çekiminin osteonekroz oluşumunda etken olduğu belirtilmiştir (159).

Barba- Recreo ve ark. çalışmalarında haftada 3 defa olmak üzere 9 hafta boyunca 0.1 mg/ kg zoledronik asit uyguladıkları ratlardan 8 hafta sonra diş çekmişlerdir. Yapılan histopatolojik incelemeden sonra % 80 oranında osteonekroz gelişimi rapor etmişlerdir. Bu çalışmada ayrıca insanda görülen kanser vakalarında 4 haftada 1 defa 0.05 mg/ kg zoledronik asit uygulandığı bildirilmiştir. Bu dozun üzerinde uygulanan zoledronik asit dozlarının ratlarda BİÇO oluşumu için yeterli olduğunu bildirmişlerdir (160).

Haftada 3 defa ve 8 hafta boyunca 0.06 mg/ kg zoledronik asit uygulanan ve diş çekilen ratlarda osteonekroz oluşumu değerlendirilmiştir. 3 haftalık zoledronik asit uygulamasının ardından diş çekimleri yapılmış ve 5 hafta sonra ratlar sakrifiye edilmiştir. Ratlarda gözle görülecek şekilde % 76 oranında osteonekroz oluşumu görülmüştür. Histolojik incelemede ise tüm ratların çekim bölgelerinde osteonekroz bulgularına rastlanmıştır (161).

Zandi ve ark.' nın yaptığı çalışmaları ratlarda BİÇO oluşturma protokolü olarak

birçok diğerk çalışma tarafından kabul görmüştür. Zandi çalışmasında 0.06 mg/ kg zoledronik asiti intraperitoneal olarak ratlara uygulamıştır. Haftada 3 defa ve 8 hafta boyunca zoledronik asite devam etmiştir. 4 haftalık süreçten sonra diş çekimleri yapılan ratlar deney süresinin sonunda sakrifiye edilmiştir. Yapılan histolojik inceleme sonrasında % 83 oranında BİÇO geliştiğı rapor edilmiştir. Bu yöntem daha sonrasında birçok çalışmada kullanılmıştır (162). Çalışmamızda, literatür verileri doğrultusunda, BİÇO oluşumuna neden olma olasılığı daha yüksek olan ve daha güçlü etkiye sahip olan zoledronik asit tercih edilmiştir.

Ratlarda BİÇO modeli oluşturulması için sabit bir protokol bulunmamaktadır. Çalışmamızda zoledronik asit 8 hafta süresince haftada 1 kez intraperitoneal olarak 0,4 mg/kg uygulandı ve zoledronik asitin uygulama dozu, sıklığı ve süresi; Keskinrüzgar ve ark.'nın, Topan ve ark.'nın ve Jabbour ve ark.'nın yaptığı çalışmalara paralellik göstermektedir. Dişlerin bulunduğu alveol kemik bölgesinde turn over miktarı mandibula basis bölgesine göre 3-5 kat daha fazladır. Bundan dolayı BİÇO vakaları daha çok alveolar kret bölgesinde görülmektedir (9,173–175). Bu nedenle çalışmamızda mandibular 1. molar dişin çekimi uygun görülmüştür.

Keskinruzgar ve ark. ratlarda maksilladan diş çekimi yapıp defekt oluşturmuşlardır. BİÇO oluşturmak için haftada 1 defa olmak üzere 7 hafta boyunca 0.4 mg/ kg dozda zoledronik asit uygulamışlardır. Deney sonunda deneklerin çoğunluğunda BİÇO ile karşılaşmışlardır. Bizde bu çalışma ile benzer şekilde bir BİÇO oluşturma protokolü belirledik. Topan ve ark. ratlar üzerinde mandibuladan diş çekimi yapmışlar ve haftada 3 defa olmak üzere 8 hafta boyunca 0.1 mg/ kg zoledronik asit uygulamışlardır. Deney sonunda yapılan histolojik inceleme sonucunda ratların tamamında osteonekroz bulgusu ile karşılaşmışlardır. Jabbour ve ark. ratlar üzerinde mandibuladan diş çekimi yaparak ve haftada 1 defa olmak üzere 7 hafta boyunca 0.13 mg/ kg dozda zoledronik asit uygulamışlardır. Deney süresinin sonunda yapılan incelemede % 70 oranında osteonekroz bulgusu ile karşılaşmışlardır. Çalışmamızda BİÇO oluşum olasılığını arttırmak amacıyla bu çalışmadan daha fazla dozda zoledronik asit uygulamayı uygun bulduk (173-175).

Kobayashi ve ark. sıçanlarda diş çekimini takiben çekim soketine lokal olarak zoledronik asit uyguladıkları, yara iyileşmesinde oluşan farklılıkları inceledikleri araştırmalarında zoledronik asitin yeni kemik oluşumunu inhibe ettiğini, vaskülarizasyonu bozduğunu, oral mukoza epitel hücrelerinin göçünü önlediğini ve bu

durumun socketin bakteri kontaminasyonuna yol açtığını, kemik yüzeyini örten yumuşak dokuda toksik etki oluşturduğunu bildirmişlerdir (163).

Marx ve ark.'nın yaptığı, yaygın olarak kullanılan Pamidronate, Zoledronate ve Alendronate adlı üç bifosfonat preparatının kullanıldığı 119 adet BİÇO olgusunu değerlendirdikleri çalışmada hastaların 32'sinin (% 26) Pamidronate, 48'inin (% 40.3) Zoledronate, 36'sinin (% 30.2) önce Pamidronate ardından Zoledronate ve 3'ünün (% 2.5) Alendronate kullandığını bildirilmişlerdir (41).

Diş çekim boşlukları, iyileşmeyi geciktirici herhangi bir hastalık veya ilaç kullanımı olmadığı sürece 1-2 ay içerisinde kemik ile dolarak iyileşmektedir (32,164). Devlin ve ark. ratlarda diş çekim socketlerindeki kemik iyileşmesini incelediği çalışmada, diş çekim boşluğunun 1-2 haftada kemik ile dolduğunu göstermiştir (144). Zoledronik asit ile indüklenen BİÇO rat modelinde diş çekimi uygulanan çalışmalarda genel olarak diş çekimi boşluğunun iyileşmesi için beklenen sürelerin 2 ile 8 hafta arasında değiştiği görülmektedir (165–171).

Bifosfonat kullanımı sonrası osteonekroz en sık maksilla ve mandibulada görülürken, vücuttaki diğer kemiklerde görülen osteonekroz vakaları oldukça enderdir (172).

Günümüzde BİÇO tedavisi, medikal tedavi, medikal/cerrahi tedavi ve medikal/cerrahi tedavinin çeşitli destekleyici tedavilerle birlikte uygulanması şeklinde yapılmaktadır. Medikal/cerrahi tedaviye yardımcı olarak uygulanan ve dokuda iyileşme potansiyelinin artırılmasını hedefleyen yaklaşımlar; hiperbarik oksijen tedavisi, düşük doz lazer tedavisi, plateletten zengin plazma, günlük düşük doz paratiroid hormon uygulaması, medikal ozon tedavisi, kemik morfogenetik protein, otolog kemik iliği kök hücre enjeksiyonu uygulamalarıdır. Söz konusu bu uygulamaların bazılarının BİÇO tedavisinin başarısında olumlu rol oynadığı öne sürülürken, bazılarının sonuçları hala tartışılmaktadır (91,147,176–178).

Martins ve ark. tarafından yapılan çalışmada BİÇO gelişen hastalara medikal ve cerrahi tedavi ile birlikte PRP (platelet rich plasma) 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 uygulamasının ve analjezik, antiinflamatuvar ve biyomodülatör özellikleri nedeniyle lazerin kullanımının yararlı olduğu belirtilmiştir (179).

Lee ve ark. cerrahi debridmandan sonra şikayetleri geçmeyen bir BİÇO 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 (90).

Vescovi ve ark., 190 BİÇO hastası üzerinde yapmış oldukları çalışmada Nd:YAG lazer ile uygulanan düşük yoğunluklu lazer terapisi ve birlikte yapılan medikal ve cerrahi tedavinin, lazer terapisi uygulanmaksızın yapılan medikal veya medikal ve cerrahi tedaviden daha başarılı olduğunu göstermişlerdir (180).

BİÇO' nun tedavisinde kullanımı önerilen bir diğer yardımcı tedavi yöntemi de medikal ozon tedavisidir. Ozon tedavisi avasküler nekroza bağlı patolojilerde endojen antioksidan sistemi stimüle ederek, kan akımını, eritrosit ve hemoglobin konsantrasyonunu arttırarak tedavideki etkinliğini göstermektedir. BİÇO' da kullanımı ise, özellikle oksijen metabolizma süreci olmak üzere kalsiyum, fosfor ve demir metabolizması süreci üzerine olan stimülatif etkilerinden ve bakterisid özelliklerinden dolayı bazı yazarlar tarafından önerilmiştir. Ayrıca uygun dozlarda uygulandığında analjezik etkileri de bulunmaktadır. Agrillo ve ark. tarafından yapılan çalışmada BİÇO gelişen hastalarda cerrahi debridman yapılmadan önce ve sonra uygulanan ozon tedavisinin tam mukozal kapanmayla sonuçlanan kemik ve yumuşak doku iyileşmesi sağladığı belirtilmiştir (91).

Çalışmamızda diş çekimi sonrası kemik iyileşmesinin başarısını arttırmak ve osteonekroza bağlı komplikasyonları azaltmak için biyofiziksel bir tedavi yöntemi olan ozon tedavisi destekleyici tedavi olarak tercih edildi. Bu tedavi yönteminin BİÇO oluşturulan ratlardaki başarısına yönelik katkısı, histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirilerek araştırıldı.

Ozonterapi tek başına veya diğer tedavi yöntemlerinin etkinliklerini arttırmak amacıyla kullanılabilir. Ozon uygulamaları sonucunda oluşması beklenen ROT ve LOP' in terapötik etki gösterebilmesi için belli bir konsantrasyonda olması gerekir. Yapılan çalışmalarda ozonun terapötik konsantrasyonu 10–80 µg/ml olarak belirlenmiştir. Bu ozon konsantrasyonu total antioksidan kapasiteyi % 25' ten fazla düşürmediği gibi,

azalan antioksidanlar 20 dakika sonra eski haline gelmektedir. Ayrıca, aynı oranların gerek eritrosit gerekse lökosit fonksiyonları üzerinde de olumsuz etkisinin bulunmadığı bildirilmektedir (93,95,118,135).

Ozon tedavisinin etkinliğini artırmak için invaziv olmayan cerrahi girişimlerin yanı sıra antimikrobiyal kemoterapi de (beta laktam grubu ve antifungal ilaçlar) gerekebilmektedir (91).

Agrillo ve ark.'nın yayınladıkları çalışmalarında; BİÇO hastalarının tedavisinde küretajı takiben ozon uygulaması yapılmış, aynı zamanda hastalara  $\beta$ -laktam antibiyotik, antimikotik, askorbik asit ve % 0.02' lik klorheksidin gargara verilmiştir. Hastaların tedavileri sonlandırıldıktan sonra tedavi öncesi ve sonrası ağrı değerlendirmesinde ağrılarının azaldığı, hastalarda semptomların ve lezyonların gerilediği gözlenmiştir. Çalışma sonucunda BİÇO hastalarında önerilen tedavi minimal invaziv cerrahi, antibiyotik ve antimikotik tedaviye ek olarak ozon tedavisidir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda belirtilen tedavi protokollerinde, BİÇO' da ozon terapisi, antibiyotik kullanımı ve cerrahi yaklaşımı destekleyici tedavi olarak önerilmektedir (11,147,180–182).

Kazancıoğlu ve ark.'nın yaptığı bir klinik çalışmada oral liken planusu bulunan 120 yetişkin hasta üzerinde lazer, ozon ve pozitif kontrol grubu olarak da kortikosteroid uygulanan 3 grup karşılaştırılmıştır. Topikal olarak haftada 2 defa ve toplamda 10 defa olmak üzere onar saniye boyunca gaz ozon uygulanan grupta iyileşme oranı kortikosteroid uygulanan grupla eşit ve lazer grubundan daha yüksek bulunmuştur. Diğer birçok çalışmada da gösterildiği gibi medikal ozon uygulamasının yara iyileşmesine olumlu etkisi olduğu açıktır (183).

Erdemci ve ark.'nın (2014) yapmış oldukları çalışmada ise, sistemik ve topikal gaz ozonun ratların çekim soketlerindeki kemik iyileşmesi üzerine olan etkinliklerini karşılaştırmışlardır. 112 tane rat kullanılarak 8 grup oluşturulmuştur. Ratlar dış çekiminin ardından 14. ve 28. günde sakrifiye edilmiş ve örnekler histolojik olarak incelenmiştir. Sistemik medikal ozon uygulanan grupta lokal ozon uygulanan gruba göre daha iyi kemikleşme gözlenmiştir. Çalışmada sonuç olarak sistemik ozon uygulamasının dış çekimi sonrası iyileşme miktarını arttırdığı yazarlar tarafından bildirilmiştir. Yine aynı makalede, ozon-oksijen karışımının, eritrosit membranının

yapısal modifikasyonuna bağı olarak kan akışı üzerinde pozitif bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (184).

Filippi ve ark. yaptıkları çalışmada uygulanan oral cerrahiler sonrası yara yüzeyi üzerine günlük ozonlu su uygulamasının oral mukozanın iyileşmesini hızlandırdığını klinik ve histolojik olarak göstermiştir (115).

Medikal ozon uygulamasının mandibular gömülü yirmi yaş dişi çekimi sonrasında gelişebilen alveolitis komplikasyonunun azaltılması üzerine etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılan bir klinik araştırmada ozon uygulanan grup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hastaların daha az postoperatif ağrı hissettiği ve cerrahi sonrası gaz ozon uygulamasının iyileşme sürecini hızlandırdığı bildirilerek profilaktik ozon kullanımının tüm hastalara rutin olarak uygulanması tavsiye edilmiştir (185).

Yapılan çalışmalarda ozon tedavisinin, cerrahi ve farmakolojik tedavilere verilen yanıtı arttırdığı rapor edilmiştir. Ozonla kombine ettikleri cerrahi ve farmakolojik tedaviler sonrası semptomların azaldığı ve lezyonların ilerlemesinin durduğu rapor edilmiştir (137).

Sistemik ozon uygulanan başka bir çalışmada hiperbarik ozon ve sistemik ozonun etkileri karşılaştırılmıştır. Mikro bilgisayarlı tomografi analizlerinde, 5. ve 30. günde yeni kemik formasyonu açısından hiperbarik oksijen ve ozon grubu, hiperbarik oksijen + ozon grubundan daha iyi sonuçlar vermiştir. Ozon konusunda çalışma yapan araştırmacılar hiperbarik oksijen tedavisi ve ozon uygulamasının kemik iyileşmesi üzerine eşit şekilde etkili olduğu fakat bu ikisinin kombinasyonunun tek başlarına olduklarından daha az etkili olduğu ayrıca ozonun doku gelişimini geliştirmesi, oksijen metabolizmasını etkilemesi, hücre enerjisini arttırması ve antioksidan sistemi düzenlemesi ile kemikte iyileşmeyi sağladığı sonucuna varmışlardır (186).

Ripamonti ve ark., (2012) yaptıkları çalışmalarında 2.5 cm' den daha büyük bifosfonatla ilişkili çene osteonekrozları bulunan 24 hastaya, üç günde bir defa olmak üzere toplamda 10 seans intraoral olarak lokal ozon uygulaması yapmışlardır. Tedaviye devam eden 18 hastanın lezyonlarında gözle görülebilir şekilde iyileşme olduğunu belirtmişlerdir (187).

Agrillo ve ark. yaptığı çalışmada, BİÇO gelişmiş hastalara ve diş çekimi yapılması gereken bifosfonat kullanan hastalara lokal olarak ozon uygulamışlardır. Çekim yapılmadan 1 hafta önce başlamak ve çekimden sonra da 1 hafta devam etmek

üzere haftada 2 defa ve 3 dk boyunca lokal medikal ozon tedavisi yapmışlardır. Çalışmada sonuç olarak cerrahi işlemde önce ve sonra lokal medikal ozon uygulamasının gelişebilecek BİÇO olgularının önüne geçebileceği düşünülmüştür (92).

Yapılan sistematik bir derlemede daha önce yapılan çalışmalarda 161 hastanın medikal ozon tedavisi gördüğü belirtilmiştir. Bu hastalardan 93' ü (% 57.8) tam bir iyileşme, 27' si (% 16.8) kısmi bir iyileşme, 5' inde (% 3.1) lezyonun stabil hale gelip ilerleme göstermediği, 8 hastada (% 5) ise hiçbir iyileşme görülmediği rapor edilmiştir. Ozonun antibiyotik ve cerrahi debridman ile kombinasyon halinde kullanımının bu iyileşme oranlarını daha da arttıracığı görüşüne varmışlardır (108).

Petrucci ve ark. yaptıkları çalışmada 11 multipl myelomalı bifosfonat kullanan hastaya cerrahi debridman öncesinde ve sonrasında sistemik antibiyotikle kombine olarak lokal medikal ozon uygulamışlardır. Hastaların 8 tanesinde tama yakın bir iyileşme sağladıklarını belirtmişlerdir (188).

Agrillo ve ark.'nın (2006) yaptığı bir klinik çalışmada BİÇO bulunan 30 hastaya sistemik antibiyotik, antifungal ve klorhexidin gargara ile tedavilerine ek olarak haftada 2 defa olmak üzere 3 hafta boyunca lokal ozon uygulamışlardır. Hastaların tamamında enfeksiyon bulguları kısıtlanmış ve ağrılarında azalma olduğu bildirilmiştir (147).

Passaretti ve ark.'nın yayınladıkları vaka raporunda 69 yaşında ve meme kanseri olan sonrasında zoledronik asit tedavisi başlanan hastada kendiliğinden BİÇO oluştuğu bildirilmiş, hastaya azitromisin 500 mg başlanmış bununla birlikte 20 ug/ml yoğunlukta ozon gazı lokal olarak uygulanmıştır. Haftada 3 defa olmak üzere 8 hafta boyunca lokal ozon uygulandıktan sonra cerrahi debridman yapılmış ve post operatif ozon uygulanmaya devam edilmiştir. Hastada yara bölgesinde tam bir epitelizasyon sağlandığı belirtilmiştir (189).

Bayer ve ark. ratlar üzerinde deneysel olarak mukozitis oluşturdukları çalışmalarında, topikal ozon ve düşük doz lazer uygulamasının tedavi etkinliklerini karşılaştırmışlardır. Hiçbir ilaç uygulaması yapılmayan ratlarda iyileşme en geç oluşurken, ikinci sırada ozon uygulaması en yüksek iyileşme oranı ise lazer ile tedavi edilen grupta görülmüştür. Buradan da anlaşılacağı üzere medikal ozon uygulamasının yara üzerinde iyileştirici etkisi bulunmaktadır (190).

Steinhart ve ark. tavşanlarda yaptığı deneysel osteomyelit tedavisini inceleyen çalışma, ozonun oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanımını gösteren en önemli

çalışmalardan bir tanesidir. Bu araştırmada iki hafta boyunca ozon-oksijen karışımıyla tedavi edilen çalışma grubu ile dört hafta boyunca ozon-oksijen karışımıyla tedavi edilen çalışma grubunun hem klinik hem de radyografik değerlendirmelerinin kontrol gruplarına göre istatistiksel açıdan daha iyi bulunduğu belirtilmiştir (191).

Kazancıoğlu ve ark. (2013) yayınladıkları çalışmalarında 30 adet rat üzerinde oluşturdukları kalvaryal defektlere lokal ozon ve lazer uygulayarak kemik iyileşmesine olan etkilerine bakmışlardır. 3 gruba ayırdıkları ratlardan biri kontrol grubu, biri ozon diğeri de düşük doz lazer grubu olarak belirlenmiştir. Lokal ozon haftada 3 defa 2 hafta boyunca lokal olarak defekt bölgesine uygulanmıştır. Yapılan histolojik inceleme sonrasında yeni kemik oluşum oranının en fazla ozon grubunda olduğu görülmüştür. Çalışma sonucu olarak cerrahi işlemler sonrası kemik ve yumuşak doku iyileşmesinde lokal ozon uygulanması birçok avantajı barındırmaktadır (183).

Özdemir ve ark., 27 rat üzerinde kalvaryal defekt oluşturarak, defektlere otojen kemik grefti doldürmüşlardır. Lokal ozon uygulayarak bölgedeki kemikleşme oranına bakmışlardır. Haftada 3 defa olmak üzere 2 hafta boyunca defekt alanına lokal ozon uygulamışlardır. 8 hafta sonunda sakrifiye edilen ratlarda yapılan histolojik incelemede en iyi kemik dolumunun görüldüğü grup lokal ozon uygulanan grup olmuştur (192).

Yapılan ilk hayvan çalışmalarında, farelerde yumuşak doku enflamasyonu üzerine yapılan lokal ozon enjeksiyonunda en iyi antiinflamatuvar etkinin 20 µg/ml doz ile elde edildiği bildirilmiştir. Ardından Iliakis ve ark. yaptıkları iki ayrı çalışma ile 20 µg/ml dozun en efektif doz olduğunu desteklemiş ve aynı zamanda yumuşak dokular için en güvenilir doz olduğunu ortaya koymuştur (193,194).

Bocci ve ark.'nın (2011) yayınladığı çalışmada geçmişten bu yana subkutan ozon uygulamasının devam ettiğini belirtmiştir. Subkutan uygulamada dikkat edilmesi gereken noktalardan birisi ozon yoğunluğunun 20 µg/ml' yi aşmaması gerektiğidir. Diğer bir nokta ise subkutan uygulamada ozon miktarı 20 ml' yi geçmemelidir geçmesi durumunda emboli riskinin artabileceğidir (195).

Ceccherelli ve ark.'nın, (1998) yaptığı çalışmada ratların pençelerine subkutan olarak kapsaisin uygulamışlar ve buna bağlı ödem oluşturmuşlardır. Daha sonra 135 rat 9 gruba ayrılmıştır. Lokal subkutan medikal ozon uygulamasının analjezik ve antiinflamatuvar etkinliğini araştırmak için ratlara değişik yoğunluklarda ozon uygulamışlardır. Ratların pençelerine 0.5 ml hacminde ve 10 µg/ml, 20 µg/ml ve 30

$\mu\text{g/ml}$  olmak üzere değişik konsantrasyonlarda lokal subkutan olarak medikal ozon uygulanmış ve sonrasında pençeleri ölçümlere tabi tutulmuştur. Çalışmanın sonucunda  $10 \mu\text{g/ml}$  ve  $30 \mu\text{g/ml}$  yoğunlukta ozon uygulanan grupta anlamlı bir fark bulunamamış,  $20 \mu\text{g/ml}$  uygulanan grupta ise en iyi sonuç alınmıştır. Bu ve buna benzer çalışmalardan yola çıkarak çalışmamızda lokal ozonun uygulama konsantrasyonunu  $20 \mu\text{g/ml}$  olarak belirledik (196).

Büyük ve ark.'nın yaptığı çalışmada ratların maksillalarına ortopedik olarak kuvvet uygulamış ve sutura palatina mediyayı ayırmışlardır. Bu ayrılmanın gerçekleştiği sutura bölgelerine değişik konsantrasyonlarda lokal medikal ozon uygulamışlar ve kemik iyileşmesini nasıl etkilediğine bakmışlardır. Çalışmada 3 gruptan oluşan toplam 48 rat kullanılmıştır. Sutura bölgesine 1 ml hacminde;  $10 \mu\text{g/ml}$ ,  $25 \mu\text{g/ml}$ ,  $40 \mu\text{g/ml}$  konsantrasyonda ve günde 1 defa olmak üzere 5 gün boyunca lokal medikal ozon uygulamışlardır (197). Ratlar sakrifiye edildikten sonra CBCT ve histolojik incelemelerle bölgedeki yeni kemik oluşumu değerlendirilmiştir. Kemik iyileşmesinin en yüksek olduğu grup  $25 \mu\text{g/ml}$  konsantrasyonda ozon uygulanan olarak bulunmuştur.

Koca ve ark. yaptıkları çalışmalarında iskemi reperfüzyon modeli oluşturdukları ratları kullanmışlardır. Ratlara hiperbarik oksijen ve ozon uygulamışlardır. Ozon uygulama protokolü olarak ise bizim de çalışmamızda kullandığımız değer olan  $0.7 \text{ mg/kg}$  uygulanmıştır. Çalışma sonucunda belirtilen miktardaki sistemik intraperitoneal ozon uygulanmasının koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (198).

Alan ve arkadaşları, (2015) yayınladıkları bir çalışmada düşük seviyeli lazer terapisi ile ozon terapisinin kemik iyileşmesi üzerine etkisini incelemiştirlerdir. 36 yetişkin erkek Wistar albino ratın kullanıldığı çalışmada, ratların sağ femurlarına monokortikal defektler açılmış ve bu defektler nano hidroksiapatit grefler ile doldurulmuştur. Denekler 3 gruba ayrılmış birinci gruba diod lazer ile düşük seviyeli lazer tedavisi, ikinci gruba ozon terapisi uygulanmış üçüncü grup ise kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Her gruptaki deneklerin yarısı 4. haftada diğer yarısı ise 8. haftada sakrifiye edilmiştir. Alınan kesitler, inflamasyon yoğunluğunu, bağ dokusunun oluşumunu, osteojenik potansiyel ve osteokalsin aktivitesini değerlendirmek için incelenmiştir. 4 haftalık gruplar arasında yeni kemik oluşumu açısından anlamlı fark izlenememiştir. İmmünohistokimyasal değerlendirmede osteokalsin pozitif hücreler 4. haftada düşük doz lazer grubunda diğer gruplara göre anlamlı derecede fazla bulunmuştur. Ozon grubunda % 80 konsantrasyonda ozon gazı defekt bölgesine

uygulanmış ve lazer grubuna göre daha fazla miktarda kemik oluşumu görülse de bu fark anlamlılık kazanmamıştır. Osteokalsin pozitif boyanan hücreler ise bağ doku ve yeni kemik alanlarında saptanmıştır. Kontrol grubunda ise yeni kemik oluşumu görülmüş, osteokalsin yoğunluğu ise kemik iliğinde tespit edilmiştir. Histomorfometrik değerlendirmede, yeni kemik bölgelerinin düşük doz lazer ve ozon gruplarında daha yüksek olduğu görülmüştür, ayrıca 8. haftadaki kontrol grubuyla karşılaştırıldığında düşük doz lazer grubunda yeni kemik oluşumu bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. Çalışmanın sonucuna göre lazer ile ozonun greftlenmiş defektlerde kemik rejenerasyonunu arttırdığı ve lazer ile ozonun bu anlamda fark yaratmadığı sonucuna ulaşılmıştır (199).

Oğuz ve ark. deneysel osteomyelit modeli oluşturdukları rat modellerinde ozon ve hiperbarik oksijen uygulamasının etkinliğini değerlendiren bir çalışma yapmışlardır. Ozon dozunu bizim de çalıştığımız değer olan 0.7 mg/ kg olarak belirlemişlerdir. İntraperitoneal yolla ozon uygulamışlardır. Bu çalışmada ozon uygulaması, hiperbarik oksijen uygulamasından daha etkili bulunmuştur. Ozon ve hiperbarik oksijenin birlikte uygulandığı grup ise tek tek uygulanan gruptan daha fazla iyileşme oranı göstermiştir (200).

Seven ve ark. gerilim tipi yaralanmaya maruz kalan kaslarda ozonun tedavi edici etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarında, ratlara 0.7 mg/ kg dozda ve intraperitoneal olarak ozon uygulamışlardır. Çalışma sonucunda yazarlar, medikal ozonun kas yaralanmalarında tedavi edici etkisinin bulunduğunu savunmuşlardır (201).

Eroğlu ve ark. (2018) yayınladıkları çalışmalarında 8 adet domuz kullanmışlardır. Her bir hayvanın palatinal yumuşak dokularına 6 adet ve 10 mm çapında lezyon oluşturmuşlardır. Lezyonlar oluşturulduktan hemen sonra 120 sn boyunca 60 µg / ml yoğunlukta medikal ozon uygulamışlardır. 10. günde hayvanlardan alınan doku örneklerini incelemişlerdir. Lokal ozon uyguladıkları grupta TGF ve VEGF oranlarını daha yüksek bulmuşlardır. Bu da ozonun topikal uygulamasının yara iyileşmesini olumlu yönde etkilediğini göstermektedir (202).

Kotze ve ark., Cape Chacma babunları üzerinde topikal ozonun etkilerine bakmışlardır. Babunların alveolar kemiklerine 3 mm çapında ve derinliğinde defektler açmışlardır. Defektler oluşturulduktan hemen sonra 60 sn boyunca lokal medikal ozon uygulaması yapmışlardır. Uygulama sadece 1 defa yapılmış ve babunlardan 3 ve 6.

haftaların sonunda periapikal radyografi almışlardır. Değerlendirmeler radyograflar üzerinden yapılmıştır. Her iki dönemdeki değerlendirmede alveol kemiği iyileşmesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır. Yazarlar sonuç olarak tek seferlik lokal medikal ozon uygulamasının alveol kemiği iyileşmesi üzerine yeterli iyileştirici etkisinin bulunmadığını belirtmişlerdir (203).

Moraes ve ark. yayınladıkları klinik vaka çalışmasında, 53 yaşında, meme kanseri olan ve 7 yıldır iv. bifosfonat kullanan ve kendiliğinden BİÇO oluşan hasta; pürülan eksuda akıntısı ve ağrı şikâyeti ile başvurmuştur. Hastayı tedavi etmek için ozonlanmış yağ lokal olarak uygulanmıştır. Hastaya 3 ay boyunca haftada 1 defa olmak üzere düşük dozda lazer tedavisi ve ozonlanmış yağ lokal olarak uygulanmıştır. Bu sürenin sonunda hastanın semptomları geçmiş, yumuşak doku kapanmış ve kemik stabil hale gelmiştir. Yazarlar yardımcı tedavi yöntemleri olarak lazer ve lokal medikal ozon uygulamasının faydalı olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmayı diğerlerinden ayıran önemli bir nokta ise hastalara hiç antibiyoterapi uygulanmamış olmasıdır (204).

Çalışmamızın bulgularına göre gruplar arasında epitelizasyon değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ( $p < 0.001$ ). Sistemik olarak medikal ozon uygulanan ratlarda epitelizasyon değeri diğer tüm gruplardan daha yüksek bulunmuştur. Sadece bifosfonat uygulanıp medikal ozon uygulaması yapılmayan deney kontrol grubunda epitelizasyon oranı en düşük olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar bifosfonat uygulamasının çekim soketlerindeki epitel ve yeni damar oluşumunu engellediğini fakat medikal ozon uygulamasının bifosfonat uygulanan ve uygulanmayan ratlarda çekim soketinde epitelizasyonu arttırması bakımından önemli bir etkisinin olduğunu göstermektedir. Epitel hücrelerinin yaranın periferinden merkezine doğru göç ederek gerçekleştirdikleri epitelyal hücre göçü yara kapanmasının önemli bir adımıdır. Re-epitelizasyonun çeşitli büyüme faktörleri, sitokinler ve hücre döngüsü regülatörlerinin kompleks etkileşimi ile gerçekleştiği düşünülmekte ve yaraların tam epitelizasyonunun 3 ila 4 hafta arasında gerçekleştiği bilinmektedir, medikal ozonun da büyüme faktörleri, sitokinler ve hücre döngüsü regülatörleri üzerinde olumlu etkileri olduğu rapor edilmiştir (205). Bauss ve ark. (2008) yüksek dozda lokal bifosfonat uygulanması halinde oral epitelde toksik etkinin arttığını bildirmiştir (206). Bizim bulgularımızda da BİF grubunda epitelizasyon en düşük oranda bulunmuştur ve bu çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda bağ doku oluşum değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ( $p=0.009$ ). Bağ doku oluşumunda en yüksek oran kontrol grubunda bulunmuştur. Bifosfonat uygulanan diğer grupların arasında ise sistemik medikal ozon uygulanan grup bağ doku oluşumu açısından en yüksek orana sahip olmuştur. Bu sonuç bize medikal ozon uygulamasının yeni bağ doku oluşumunu desteklediğini açıkça göstermektedir. Bifosfonat uygulamasının ise antianjiyojenik etkisi ile bağ doku proliferasyonunu engellediğini ortaya koymaktadır. Ozon, kırmızı kan hücreleri konsantrasyonu ve hemoglobin oranını artırmaktadır; diyapedezi ve retikülohistiyosit sistemlerin fagositozunu pozitif yönde etkilemektedir (147). Birçok yazar BİÇO tedavisinde medikal ozonun cerrahi tedaviyle kombine olarak kullanımını veya bifosfonat kullanan hastalarda diş çekimi sonrası alveolar soket iyileşmesini hızlandırması için kullanımını önermektedir (92).

Nekroz değerleri bakımından gruplar arasında ikili karşılaştırmalarda K-BİF ve BİF+SO-BİF arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ( $p=0.011$ ). Diğer gruplar arasında nekroz düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. Bu durum ortaya koymaktadır ki uyguladığımız BİÇO protokolü deney sonucunda işe yaramıştır ve daha sonra yapılacak çalışmalara rehber olabilecektir.

İnflamasyon ve yeni kemik doku oluşumu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen BİF+SO ve BİF+LO gruplarında değerler daha iyi bulunmuştur. Bu durum medikal ozon gazı uygulamasının inflamatuvar yanıtı azalttığını ve yeni kemik oluşumunu arttırdığını ortaya koymuştur. Bu bulgumuz Erdemci ve ark.'nın çalışmasıyla benzerlik göstermektedir (206).

Çalışmamızda kemik iyileşmesini değerlendirmek amacıyla immünohistokimyasal incelemeler yapılmıştır. Bu amaçla osteokalsin ve osteopontin ekstraselüler matriks proteinleri ratların kemik dokularında değerlendirilmiştir.

Gruplar arasında osteokalsin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). Gruplar arasında osteokalsin düzeyleri ortalamalarına baktığımızda ise en yüksek değer 165.0±23.29 ile BİF+SO, en düşük ortalama değer ise 55.0±27.77 ile BİF de olduğu belirlenmiştir. İkili karşılaştırmalara bakıldığında K-BİF, K-LO, BİF-LO, BİF-SO ve LO-SO arasında anlamlı fark saptandı ( $p<0.001$ ,  $p=0.002$ ,  $p<0.001$ ,  $p<0.001$ ,  $p<0.001$ ). Bu sonuçlar ozon uygulamasının her

grupta çekim soketlerinde osteokalsin seviyesini artırdığını ve bifosfonatın baskıladığı osteokalsin üretimini artırdığını göstermektedir. Elde ettiğimiz sonuçlar Alan ve ark.'nın çalışma bulgularıyla paralellik göstermektedir (199). Bolland ve ark., HIV+ 33 hastada zoledronatın uzun dönem takibini içeren çalışmalarında 3 yıl boyunca serum osteokalsin seviyesini takip etmişler, sadece 2 doz IV olarak verilen bifosfonatın yaklaşık 3 yıl boyunca serum osteokalsin değerlerini plaseboya göre düşük seviyede tuttuğu gözlemlenmiştir (207). Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgularda bu çalışma sonuçlarına paralellik göstermektedir.

Gruplar arasında osteopontin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). Gruplar arasında osteopontin düzeyleri ortalamalarına baktığımızda en yüksek değer 187.5±38.45 ile BİF+SO, en düşük ortalama değerin ise 55.0±25.63 ile BİF de olduğu belirlenmiştir. Osteopontin bakımından grupların ikili karşılaştırmasında; BİF-K ve BİF-BİF+SO arasında anlamlı fark saptanmıştır ( $p<0.001$ ,  $p<0.001$ ). Diğer gruplar arasında osteopontin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. Dass ve ark., zoledronik asidin osteosarkomu inhibe etmesindeki model çalışmasında bifosfonatın tümör anjiogenezisini direkt olarak etkilediğini ve osteopontin seviyesini azalttığını bulmuşlardır (208). Bulgularımız bu çalışmayla paralellik göstermektedir. Kemik hücrelerinin adezyonunun düzenlenmesi, osteoklast fonksiyonunun düzenlenmesi, matriks mineralizasyonunun düzenlenmesi gibi görevleri olan ve kemik oluşumunda ve yeniden şekillenmesinde yer alan osteopontin, kemik üretiminde artış göstermektedir. Çalışmamızda medikal gaz ozonun, osteopontin üretimini arttırdığı istatistiksel ve immünohistokimyasal olarak görülmüştür.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda elde ettiğimiz histopatolojik, immünohistokimyasal ve istatistiksel bulguları değerlendirdiğimizde tüm gruplarda ozon uygulamasının, iyileşmeye olumlu etkileri olduğu görülmüştür. Ozon uygulamasının kemik iyileşmesine gösterdiği olumlu etkinin ekstraselüler matriks proteinlerinde görülen artışa bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu da medikal ozonun klinik uygulamalarda avantaj sağlayacağını düşündürmüştür.

Çalışmamızın histolojik sonuçlarına göre ozon uygulamasının epitelizasyonu, yeni kemik doku oluşumunu ve bağ doku oluşumunu artırarak yara iyileşmesi üzerine olumlu etkisi olduğu görülmüştür. Bifosfonat uygulamasının ise kemikte iyileşmeyi bozarak nekroza yol açtığı ortaya konulmuştur.

Uygun doz ve konsantrasyonda medikal ozon gazı uygulamasının, BİÇO meydana gelmiş olan bireylerde kemik ve yara iyileşmesini hızlandırabilecek tedavi seçeneği olabileceği sonucuna varıldı.

İmmünohistokimyasal inceleme sonucunda osteokalsin ve osteopontin düzeyi, BİF grubunda diğer gruplara göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Ayrıca sistemik ozon uygulanan gruplarda diğer gruplara göre daha fazla osteokalsin ve osteopontin üretimi olduğu görülmüştür. Bu durum bifosfonat uygulanmış ratlarda ozon uygulamasının, osteokalsin ve osteopontin immünreaktivitesini artırdığını göstermiştir.

Bu çalışmada ozonun kontrol grubuna oranla çekim soket iyileşmesini hangi mekanizma ile hızlandığı tam olarak açıklanamamıştır. Ozon uygulamasının etki mekanizmasının tam olarak aydınlatılması için daha ileri çalışmaların planlanarak yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Medikal ozon gazının etkileri, denek sayısı artırılarak, farklı doz ve konsantrasyonda, farklı uygulama yöntemleri ile farklı zaman dilimlerinde histolojik, immünohistokimyasal ve istatistiksel değerlendirmeleri yapılabilir.

Sonuç olarak ozonun, BİÇO' nun sebep olduğu olumsuz etkileri azaltabileceğini düşünmekteyiz. Ancak kesin bir sonuca varabilmek için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Farina R, Trombelli L. Wound healing of extraction sockets. *Endodontic Topics* 2011,25(1):16-43.
2. Jaafar N, Nor GM. The prevalence of post-extraction complications in an outpatient dental clinic in Kuala Lumpur Malaysia: A retrospective survey. *Singapore Dent J* 2000,23(1):24-8.
3. O'Ryan FS, Lo JC. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in patients with oral bisphosphonate exposure: clinical course and outcomes. *J Oral Maxillofac Surg* 2012,70(8):1844-53.
4. Ozkan A, Bayar GR, Altug HA, Sencimen M, Dogan N, Gunaydin Y, Ergodan E. The effect of cigarette smoking on the healing of extraction sockets: an immunohistochemical study. *J Craniofac Surg* 2014,25(4):e397-402.
5. Casarin RC, Casati MZ, Pimentel SP, Cirano FR, Algayer M, Pires PR, Ghiraldini B, Duarte PM, Ribeiro FV. Resveratrol improves bone repair by modulation of bone morphogenetic proteins and osteopontin gene expression in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2014,43(7):900-6.
6. Kuroshima S, Kovacic BL, Kozloff KM, McCauley LK, Yamashita J. Intra-oral PTH administration promotes tooth extraction socket healing. *J Dent Res* 2013, 92(6):553-9.
7. Shannon J, Modelevsky S, Grippo AA. Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw. *J Am Geriatr Soc* 2011, 59(12):2350–5.
8. Migliorati CA, Siegel MA, Elting LS. Bisphosphonate-associated osteonecrosis: a long-term complication of bisphosphonate treatment. *Lancet Oncol* 2006, 7(6):508–14.
9. Ruggiero SL, Dodson TB, Assael LA, Landesberg R, Marx RE, Mehrotra B. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws--2009 update. *J Oral Maxillofac Surg* 2009 May;67(5 Suppl):2–12.
10. McLeod NMH, Brennan PA, Ruggiero SL. Bisphosphonate osteonecrosis of the jaw: a historical and contemporary review. *The surgeon* 2012, 10(1):36–42.

11. Brozoski MA, Lemos CA. Da Graça Naclério-Homem M, Deboni MC. Adjuvant aqueous ozone in the treatment of bisphosphonate induced necrosis of the jaws: report of two cases and long-term follow-up *J Minerva Stomatol* 2014, 63:35-41.
12. Vescovi P, Campisi G, Fusco V, Mergoni G, Manfredi M, Merigo E, Solazzo L, Gabriele M, Gaeta GM, Favia G, Peluso F, Colella G. 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 Oncol.* 2011, 47(3):191-4
13. Yeğin A, Tosun D. Diş Hekimliğinde Ozon ve Kullanım Alanları. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 2013,23,1; 116-122.
14. Eşrefoğlu M. *Genel Histoloji*. 1. ed. Malatya, Medipress Matbaacılık Yayıncılık Ltd., 2009: 169-88
15. Cormack D. *Essential Histology*. 2th ed. United States of America, Lippincott Williams and Wilkins, 2001: 179-206
16. Junqueira LC, Carneiro J. *Basic Histology*. 10th ed. New York, McGraw-Hill Professional Publishing, 2003: 141-59
17. Webb JCJ, Tricker J. A review of fracture healing. *Current Orthopaedics* 2000,14(6):457-63.
18. Kierszenbaum AL, Tres LL. *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology*. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia, Elsevier, 2016: 145-79
19. Junqueira LC, Carneiro J. *Basic Histology*. 10<sup>th</sup> ed. New York, McGraw-Hill Professional Publishing, 2003: 141-80
20. Kalfas IH. Principles of bone healing. *Neurosurg Focus* 2001,10(4):1-3.
21. Sikavitsas VI, Temenoff JS, Mikos AG. Biomaterials and bone mechanotransduction. *Biomaterials* 2001, 22(19):2581-93.
22. Lee WSS, Cowin SC. *Integrated bone tissue physiology: Anatomy and Physiology*. Bone Mechanics Handbook, 2<sup>nd</sup> ed. Florida: CRC press, 2001: 1-68,.
23. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature*. 2003, 423(6937):337-42.
24. Ross MH, Pawlina W. *Histology A Text and Atlas*, 5<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins Press, 2006: 213-14.
25. Downey PA, Siegel MI. Bone biology and the clinical implications for osteoporosis. *Phys Ther* 2006, 86(1):77-91.

26. Çay HF, Sezer N. Kemik yapısı ve kemik döngüsü üzerine bir derleme. *Fiziksel Tıp* 2002, (5):177-84.
27. <https://www.doku.gen.tr/kemik-doku.html> 20 Temmuz 2019
28. Cardaropoli G, Araujo M, Lindhe J. Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol* 2003, 30(9):809–18.
29. Erol M, Atalan G, Erol H, Doğan Z, Yönez MK. Kırık İyileşmesinde Non-Steroidall Antiiinflatuar İlaçların Etkileri. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci* 2014, 5: 85-90.
30. Kılıçoğlu SS. Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2002; 55: 143-150.
31. Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. *Clinical Periodontology, 10<sup>th</sup> ed.* Philadelphia 2006.
32. Amler MH, Johnson PL, Salman I. Histological and histochemical investigation of human alveolar socket healing in undisturbed extraction wounds. *J Am Dent Assoc* 1960, 61:32–44.
33. Darby I, Chen S, De Poi R. Ridge preservation: what is it and when should it be considered. *Aust Dent J* 2008, 53(1):11–21.
34. Irinakis T. Rationale for socket preservation after extraction of a single-rooted tooth when planning for future implant placement. *J Can Dent Assoc* 2006, 72(10):917–22.
35. Girgin AL, Özfiliz N, Özcan N, Erdost Z. *Temel Histoloji, 2.Baskı.* Ankara, Nobel Yayıncılık, 2014: 237- 261.
36. Çırak E. Düşük Enerji Seviyeli Lazerlerin Diş Çekimi Sonrasında Kemik İyileşmesi Üzerine Olan Etkisinin İncelenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi, 2013: 15-40.
37. Darby I, Chen ST, Buser D. Ridge preservation techniques for implant therapy. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009, 260–71.
38. Fleisch H. Bisphosphonates: mechanisms of action. *Endocr Rev* 1998, 19(1):80–100.
39. Russell RGG. Bisphosphonates: the first 40 years. *Bone* 2011, 49(1):2–19.
40. Bartl R, Frisch B, Tresckow BC. Bisphosphonates in medical practice. actions–side effects–indications–strategies. *In Berlin Heidelberg: Springer-Verlag* 2007, 56(9);191-9.

41. Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg* 2005, 63(11):1567–75.
42. Ashcroft AJ, Davies FE, Morgan GJ. Aetiology of bone disease and the role of bisphosphonates in multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2003, 4(5):284–92.
43. Kutsal YG. *Osteoporozda Kemik Kalitesi*. Ankara, Güneş Kitabevi, 2004: 331-54.
44. Soydan S, Veziroglu F, Araz K. Bifosfonata bağlı olarak çene kemiklerinde gelişen osteonekrozun patogenezi ve tedavisi. *Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 2009, :3361-68.
45. Jagdev SP, Coleman RE, Shipman CM, Rostami-H A, Croucher PI. The bisphosphonate, zoledronic acid, induces apoptosis of breast cancer cells: evidence for synergy with paclitaxel. *Br J Cancer* 2001, 84(8):1126–34.
46. Wang H-L, Weber D, McCauley LK. Effect of long-term oral bisphosphonates on implant wound healing: literature review and a case report. *J Periodontol* 2007, 78(3):584–94.
47. Benford HL, McGowan NW, Helfrich MH, Nuttall ME, Rogers MJ. Visualization of bisphosphonate-induced caspase-3 activity in apoptotic osteoclasts in vitro. *Bone* 2001, 28(5):465–73.
48. Li EC, Davis LE. Zoledronic acid: a new parenteral bisphosphonate. *Clin Ther* 2003, 25(11):2669–708.
49. Rogers MJ, Frith JC, Luckman SP, Coxon FP, Benford HL, Monkkonen J, et al. Molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Bone* 1999, 24(5 Suppl):73-9.
50. Cremers S, Papapoulos S. Pharmacology of bisphosphonates. *Bone*. 2011,49(1):42–9.
51. Papapoulos SE. Bisphosphonate actions: physical chemistry revisited. *Bone* 2006, 38(5):613–6. 52.
52. Green JR. Bisphosphonates: preclinical review. *Oncologist*. 2004 Sep 1;9 Suppl 4:3–13.
53. Hughes DE, MacDonald BR, Russell RG, Gowen M. Inhibition of osteoclast-like cell formation by bisphosphonates in long-term cultures of human bone marrow. *J Clin Invest* 1989, 83(6):1930–5.
54. Watts NB. Treatment of osteoporosis with bisphosphonates. *Rheum Dis Clin North Am* 2001, 27(1):197–214.

55. Fleisch H. *Bisphosphonates in Bone Disease*, 4<sup>th</sup> Edition, USA, Academic Press 2000, 27-51, 123-52, 168-75.
56. Altundal H, Guvener O. The effect of alendronate on resorption of the alveolar bone following tooth extraction. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2004, 33(3):286–93.
57. Dunford JE, Thompson K, Coxon FP, Luckman SP, Hahn FM, Poulter CD, et al. Structure-activity relationships for inhibition of farnesyl diphosphate synthase in vitro and inhibition of bone resorption in vivo by nitrogen-containing bisphosphonates. *J Pharmacol Exp Ther* 2001, 296(2):235–42.
58. Fleisch H. *Bisphosphonates in osteoporosis: an introduction*. *Osteoporos Int*. 1993;3 Suppl 3:S3-5.
59. Luckman SP, Coxon FP, Ebetino FH, Russell RG, Rogers MJ. Heterocycle-containing bisphosphonates cause apoptosis and inhibit bone resorption by preventing protein prenylation: evidence from structure-activity relationships in J774 macrophages. *J Bone Miner Res* 1998, 13(11):1668–78.
60. Russell RG, Rogers MJ. Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. *Bone* 1999, 25(1):97–106.
61. Teitelbaum SL, Ross FP. Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nat Rev Genet* 2003, 4(8):638–49.
62. Cartsos VM, Zhu S, Zavras AI. Bisphosphonate use and the risk of adverse jaw outcomes: a medical claims study of 714,217 people. *J Am Dent Assoc* 2008, 139(1):23–30.
63. Kimmel DB. Mechanism of action, pharmacokinetic and pharmacodynamic profile, and clinical applications of nitrogen-containing bisphosphonates. *J Dent Res* 2007, 86(11):1022–33.
64. Pataki A, Muller K, Green JR, Ma YF, Li QN, Jee WS. 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. *Anat Rec* 1997, 249(4):458–68.
65. Mundy B. Bisphosphonates as anticancer drugs. *Expert Opin Investig Drugs* 1999,8(12):2009–15.
66. Polascik TJ. Bisphosphonates in oncology: evidence for the prevention of skeletal events in patients with bone metastases. *Drug Des Devel Ther* 2009, 3:27–40.
67. Gnant M, Clezardin P. Direct and indirect anticancer activity of bisphosphonates: a brief review of published literature. *Cancer Treat Rev* 2012, 38(5):407–15.

68. Cryer B, Bauer DC. Oral bisphosphonates and upper gastrointestinal tract problems: what is the evidence? *Mayo Clin Proc* 2002, 77(10):1031–43.
69. Tanvetyanon T, Stiff PJ. Management of the adverse effects associated with intravenous bisphosphonates. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* 2006, 17(6):897–907.
70. Marx RE, *Oral & Intravenous Bisphosphonate-Induced Osteonecrosis of the Jaws, History, Etiology, Prevention and Treatment*. Quintessence Pub Inc, 2007, 56;45-8.
71. Ruggiero SL, Dodson TB, Fantasia J, Goodday R, Aghaloo T, Mehrotra B, et al. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw--2014 update. *J Oral Maxillofac Surg* 2014, 72(10):1938–56.
72. Kwon Y-D, Kim D-Y, Ohe J-Y, Yoo J-Y, Walter C. Correlation between serum C-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen and staging of oral bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg* 2009, 67(12):2644–8.
73. Marx RE, Cillo JEJ, Ulloa JJ. Oral bisphosphonate-induced osteonecrosis: risk factors, prediction of risk using serum CTX testing, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg* 2007, 65(12):2397–410.
74. Rosen H, Moses A, Garber J, Iloputaife I, Ross D, Lee S, et al. Serum CTX: a new marker of bone resorption that shows treatment effect more often than other markers because of low coefficient of variability and large changes with bisphosphonate therapy. *Calcif tissue int* 2000,66;2,100-3
75. Christgau S, Bitsch-Jensen O, Bjarnason NH, Henriksen EG, Qvist P, Alexandersen P, et al. Serum CrossLaps for monitoring the response in individuals undergoing antiresorptive therapy. *Bone* 2000,26(5):505-11.
76. Dental management of patients receiving oral bisphosphonate therapy: expert panel recommendations. *J Am Dent Assoc* 2006,137(8):1144–50.
77. Mehrotra B, Ruggiero S. Bisphosphonate complications including osteonecrosis of the jaw. *Hematol Am Soc Hematol Educ Progr* 2006, 356-360,515.
78. Zahrowski JJ. Bisphosphonate treatment: an orthodontic concern calling for a proactive approach. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007, 131(3):311–20.

79. Zervas K, Verrou E, Teleioudis Z, Vahtsevanos K, Banti A, Mihou D, et al. Incidence, risk factors and management of osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma: a single-centre experience in 303 patients. *Br J Haematol* 2006, 134(6):620–3.
80. Bamias A, Kastritis E, Bamia C, Moulopoulos LA, Melakopoulos I, Bozas G, et al. Osteonecrosis of the jaw in cancer after treatment with bisphosphonates: incidence and risk factors. *J Clin Oncol* 2005, 23(34):8580–7.
81. Ruggiero SL, Mehrotra B. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: Diagnosis, prevention, and management. *Annu Rev of Med* 2009, 60, 85-96.
82. <https://docplayer.net/86151896-Bisphosphonate-related-osteonecrosis-of-the-jaw-bronj-audit-on-the-cases-registered-in-the-cwm-taf-area.html>, 22 Temmuz 2019.
83. Nisi M, La Ferla F, Karapetsa D, Gennai S, Miccoli M, Baggiani A, & Gabriele M. Risk factors influencing BRONJ staging in patients receiving intravenous bisphosphonates: a multivariate analysis. *Int j oral and min* 2005, 65;4 23-9.
84. Morrison A, Khan A, Tetradis S, & Peters E. Osteonecrosis of the jaw: an update for dentists. *J Can Dent Assoc* 2015, 81, f19.
85. Curi MM, Cossolin GSI, Koga DH, Zardetto C, Christianini S, Feher O, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws--an initial case series report of treatment combining partial bone resection and autologous platelet-rich plasma. *J Oral Maxillofac Surg* 2011, (9):2465–72.
86. Dayisoylu EH, Senel FC, Ungor C, Tosun E, Cankaya M, Ersoz S, et al. The effects of adjunctive parathyroid hormone injection on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: an animal study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2013, 42(11):1475–80.
87. Freiburger JJ, Padilla-Burgos R, Chhoeu AH, Kraft KH, Boneta O, Moon RE, et al. Hyperbaric oxygen treatment and bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw: a case series. *J Oral Maxillofac Surg* 2007, 65(7):1321–7.
88. Freiburger JJ. Utility of hyperbaric oxygen in treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg* 2009, 67(5 Suppl):96–106.
89. Magopoulos C, Karakinaris G, Telioudis Z, Vahtsevanos K, Dimitrakopoulos I, Antoniadis K, et al. Osteonecrosis of the jaws due to bisphosphonate use. A review of 60 cases and treatment proposals. *Am J Otolaryngol* 2007, 28(3):158–63.
90. Lee J-J, Cheng S-J, Jeng J-H, Chiang C-P, Lau H-P, Kok S-H. Successful treatment of advanced bisphosphonate-related osteonecrosis of the mandible with adjunctive

- teriparatide therapy. *Head Neck* 2011, 33(9):1366–71.
91. Agrillo A, Ungari C, Filiaci F, Priore P, Ianetti G. Ozone therapy in the treatment of avascular bisphosphonate- related jaw osteonecrosis. *J Craniofac Surg* 2007, 18(5), 1071-5.
  92. Agrillo A, Sassano P, Rinna C, Priore P, Iannetti G. Ozone therapy in extractive surgery on patients treated with bisphosphonates. *J Craniofac Surg* 2007, 18(5):1068–70.
  93. Özler M, Öter S, Korkmaz A. Ozon gazının tıbbi amaçlı kullanılması. *TAF Prev Med Bull* 2009;8: 59-64.
  94. Azarpazhooh A, Limeback H. The application of ozone in dentistry: a systematic review of literature. *J Dent* 2008, 36(2):104–16.
  95. Bocci VA. Scientific and medical aspects of ozone therapy state of the art. *Arch Med Res* 2006, 37(4):425–35.
  96. Ohmuller B. Action of ozone on bacteria. *Arbeitskreis Gesundheit* 1892; 8: 228-235.
  97. Travagli V , Zanardi I , Valacchi G , Bocci V. Ozone and ozonated oils in skin diseases: a review. *Mediators of Inflammation* 2010,34;340-8.
  98. <https://medicalozone.info/.html>. 23 Temmuz 2019
  99. Bocci V. Ozone as Janus: this controversial gas can be either toxic or medically useful. *Mediators Inflamm* 2004, 13(1):3–11.
  100. Mordecai B. The history of ozone. the schönbein period, 1839-1868. *Bull Hist Chem* 2001;26: 40-56.
  101. Razumovskii SD, Zaikov GE. Ozone and its reactions with organic compounds. *New York: Elsevier* 1984,33:157-9.
  102. Üstün A. Kimyasal sistit olusturulan deneysel hayvan modelinde; intravezikal ozon uygulamasının mesaneye topikal etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Uzmanlık Tezi, Üroloji Anabilim Dalı. Gaziantep: Gaziantep Üniversitesi, 2007.
  103. Grootveld M, Baysan A, Sidiiqui N, Sim J, Silwood C, Lynch E. History of the clinical applications of ozone. Ozone: the revolution in dentistry. *Quintessence Publishing Co* 2004: 23-30.
  104. Bocci V, Di Paolo N. Oxygen-ozone therapy in medicine: an update. *Blood Purif* 2009;28(4):373–6.
  105. Dereli PS. Ozon, U.V. Ultrason teknolojileri ve kombinasyonlarının ön terbiye işlemlerinde uygulanabilirliğinin araştırılması. Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek

- Lisans Tezi, İzmir: Ege Üniversitesi, 2006.
106. Rodrigues KL, Cardoso CC, Caputo LR, Carvalho JCT, Fiorini JE, Schneedorf JM. Cicatrizing and antimicrobial properties of an ozonised oil from sunflower seeds. *Inflammopharmacology* 2004, 12(3):261–70.
  107. Bektaş Ö. Kronik Periodontitis Hastalarında Başlangıç Periodontal Tedaviye Yardımcı Olarak Kullanılan Sistemik Antibiyotik ve Topikal Gaz Ozon Uygulamasının Klinik ve Mikrobiyolojik Etkinliğinin Değerlendirilmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, İstanbul: Yeditepe Üniversitesi .2013
  108. Fliefel R, Troltsch M, Kuhnisch J, Ehrenfeld M, Otto S. Treatment strategies and outcomes of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ) with characterization of patients: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2015, 44(5):568–85.
  109. Bocci V. Is it true that ozone is always toxic? The end of a dogma. *Toxicol and Appl Pharmacol* 2006, 216 (3), 493-504.
  110. Morris JC. Chlorination and disinfection-state of the art. *J American Water Works Assoc* 1971;63: 669. In.
  111. Emerson MA, Sproul OJ, Buck CE. Ozone inactivation of cell-associated viruses. *Appl Environ Microbiol* 1982, 43(3):603–8.
  112. Dyas A, Boughton BJ, Das BC. Ozone killing action against bacterial and fungal species; microbiological testing of a domestic ozone generator. *J Clin Pathol* 1983, 36(10):1102–4.
  113. Arita M, Nagayoshi M, Fukuizumi T, Okinaga T, Masumi S, Morikawa M, et al. Microbicidal efficacy of ozonated water against *Candida albicans* adhering to acrylic denture plates. *Oral Microbiol Immunol* 2005, 20(4):206–10.
  114. Roy D, Wong PK, Engelbrecht RS, Chian ES. Mechanism of enteroviral inactivation by ozone. *Appl Environ Microbiol* 1981, 41(3):718–23.
  115. Stubinger S, Sader R, Filippi A. The use of ozone in dentistry and maxillofacial surgery: a review. *Quintessence Int* 2006, 37(5):353–9.
  116. Nogales CG, Ferrari PH, Kantorovich EO, Lage-Marques JL. Ozone therapy in medicine and dentistry. *J Contemp Dent Pract* 2008, 9(4):75–84.
  117. Bocci V, Borrelli E, Travagli V, Zanardi I. The ozone paradox: ozone is a strong oxidant as well as a medical drug. *Med Res Rev* 2009, 29(4):646–82.
  118. Bocci V, Luzzi E, Corradeschi F, Paulesu L, Di Stefano A. Studies on the biological effects of ozone: 3. An attempt to define conditions for optimal induction

- of cytokines. *Lymphokine Cytokine Res* 1993, 12(2):121–6.
119. Kuwata K, Sato S, Era S, Sogami M, Kida K, Iwama T, et al. Cross-relaxation times of normal and biochemically induced osteoarthritic rabbit knee cartilages. *Jpn J Physiol* 1997, 47(3):291–7.
  120. Kim HS, Noh SU, Han YW, Kim KM, Kang H, Kim HO, et al. Therapeutic effects of topical application of ozone on acute cutaneous wound healing. *J Korean Med Sci* 2009, 24(3):368–74.
  121. Valacchi G, Fortino V, Bocci V. The dual action of ozone on the skin. *Br J Dermatol* 2005, 153(6):1096–100.
  122. Naik SV, Rajeshwari K, Kohli S, Zohabhasan S, & Bhatia S. Ozone-A Biological Therapy in Dentistry-Reality or Myth?????. *The open dentistry journal* 2016, 10:5, 196.
  123. Viebahn-Hänsler R. Ozon- sauerstoff- therapie ein praktisches handbuch. *Haug/Thieme* 2009; 106 pp.
  124. Applications and Indications of Medical Ozone. *Medical Society for Ozone Application Ozone Seminar Congress, Munich, 2003.*
  125. Shoemaker JM. Ozone therapy - history, physiology, indications, results. 2005.
  126. Shinriki N, Suzuki T, Takama K, Fukunaga K, Ohgiya S, Kubota K, Miura T. Susceptibilities of plasma antioxidants and erythrocyte constituents to low levels of ozone. *Haematologia* 1998;29(3):229–239.
  127. Wright ES, Dziedzic D, Wheeler CS. Cellular, biochemical and functional effects of ozone: new research and perspectives on ozone health effects. *Toxicol Lett* 1990, 51:2:125-45 6.
  128. Sanhueza PA, Reed GD, Davis WT, Miller TL. An environmental decision-making tool for evaluating ground-level ozone-related health effects. *J Air Waste Manag Assoc* 2003;53:12:1448-59.
  129. Garg R, Tandon S. Ozone: A new face of dentistry. *J of Dental Sci* 2009;7:2.
  130. Mosallam RS, Nemat A, El-Hoshy A, Suzuki S. Effect of oleozon on healing of exposed pulp tissues. *J American Sci* 2011;7:38-44.
  131. Guerra OC, Cepero SM, Jordán MEM, Vázquez TC. Aplicación de la ozonoterapia en el tratamiento de la alveolitis. *Rev Cubana Estomatol* 1997;34:21-4.
  132. Filippi A. Ozone in oral surgery - Current status and prospects. *Ozone Sci & Engineer* 1997;19:387-93.
  133. Burdurlu Ç, Delilbaşı Ç, Deniz E, Arslan A. Mandibüler gömülü üçüncü molar

- cerrahisi sonrası topikal ozon ve klorheksidin uygulamasının alveolit ve yara enfeksiyonu üzerine etkilerinin araştırılması. *Turkiye Klinikleri J Dental Sci* 2011;17:17-23.
134. Krozer A, Hall J, Ericsson I. Chemical treatment of machined titanium surfaces. An in vitro study. *Clin Oral Implants Res* 1999, 10(3):204–11.
135. Bocci V. Does ozone therapy normalize the cellular redox balance? Implications for therapy of human immunodeficiency virus infection and several other diseases. *Med Hypotheses* 1996,46(2):150–4.
136. Hernandez F, Menendez S, Wong R. Decrease of blood cholesterol and stimulation of antioxidative response in cardiopathy patients treated with endovenous ozone therapy. *Free Radic Biol Med* 1995, 19(1):115–9.
137. Agrillo A, Ungari C, Filiaci F, Priore P, Iannetti G. Ozone therapy in the treatment of avascular bisphosphonate-related jaw osteonecrosis. *J Craniofac Surg* 2007, 18(5):1071–5.
138. Gul M, Bayat N, Gul S, Hüz M, Yildiz A, Otlu A. A Comparison of Three Different Agents of Decalcification for a Histological Examination of Bone Tissues. 2014.
139. Budwit-Novotny DA, McCarty KS, Cox EB, Soper JT, Mutch DG, Creasman WT, Flowers JL, McCarty KS. Immunohistochemical analyses of estrogen receptor in endometrial adenocarcinoma using a monoclonal antibody. *Cancer Res* 1986,46(10):5419-25.
140. Bodner L, Kaffe I, Cohen Z, Dayan D. Long-term effect of desalivation on extraction wound healing: a densitometric study in rats. *Dentomaxillofac Radiol* 1993, 22:195-8.
141. Euler H. Healing of Extraction Wounds; An Experimental Study. *Deutsche Monat* 1923:1.
142. Melo RB, Guimaraes SB, Silva PG, Oria RB, Melo JU, Vasconcelos PR. Antiperoxidative properties of oil mixes of high ratio Omega-9:Omega-6 and low ratio Omega-6:Omega-3 after molar extraction in rats. *Acta Cir Bras* 2014,29(6):371-5.
143. Boyne PJ. Osseous repair of the postextraction alveolus in man. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1966, 21(6):805–13.
144. Devlin H, Sloan P. Early bone healing events in the human extraction socket. *Int J*

- Oral Maxillofac Surg* 2002, 31(6):641-5.
145. Huebsch RF, Coleman RD, Frandsen AM, Becks H. The healing process following molar extraction. I. Normal male rats (long-evans strain). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1952, 5(8):864–76.
  146. Araujo MG, Lindhe J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol* 2005, 32(2):212–8.
  147. Agrillo A, Petrucci MT, Tedaldi M, Mustazza MC, Marino SMF, Gallucci C, et al. New therapeutic protocol in the treatment of avascular necrosis of the jaws. *J Craniofac Surg* 2006, 17(6):1080–3.
  148. Tardast A, Sjomana R, Loes S, and Abtahi J. Bisphosphonate associated osteomyelitis of the jaw in patients with bony exposure: prevention, a new way of thinking. *J Appl Oral Sci* 2015, 23(3), 310-314.
  149. Ikeda T, Kuraguchi J, Kogashiwa Y, Yokoi H, Satomi T, and Kohno N. Successful treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ) patients with sitafloxacin: new strategies for the treatment of BRONJ. *Bone* 2015, 73:217-222.
  150. Kalra S, Jain V. Dental complications and management of patients on bisphosphonate therapy: A review article. *J Oral Biol and Craniofac Res* 2013, 3(1), 25-30.
  151. Abtahi J, Agholme F, Sandberg O, Aspenberg P. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw in a rat model arises first after the bone has become exposed. No primary necrosis in unexposed bone. *J Oral Pathol Med* 2012, 41, 494–9.
  152. Allen MR, Erickson AM, Wang X, Burr DB, Martin RB, Hazelwood SJ. Morphological assessment of basic multicellular unit resorption parameters in dogs shows additional mechanisms of bisphosphonate effects on bone. *Calcif Tissue Int* 2010, 86-9 .
  153. Altundal H. Alendronatın dis çekimi sonrası processus alveolariste oluşan rezorbsiyona etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Dis Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD Doktora Tezi. İstanbul: Marmara Üniversitesi,1999.
  154. Evans CE, Braidman IP. Effects of two novel bisphosphonates on bone cells in vitro. *Bone Miner* 1994, 26(2):95–107.
  155. Green JR, Muller K, Jaeggi KA. Preclinical pharmacology of CGP 42'446, a new,

- potent, heterocyclic bisphosphonate compound. *J Bone Miner Res* 1994, 9(5):745–51.
156. Pfister T, Atzpodien E, Bohrmann B, Bauss F. Acute renal effects of intravenous bisphosphonates in the rat. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2005,97(6):374–81.
157. Drake MT, Clarke BL, Khosla S. Bisphosphonates: mechanism of action and role in clinical practice. *Mayo Clin Proc* 2008, 83(9):1032–45.
158. Jang HW, Kim JW, & Cha IH. Development of animal model for Bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). *Maxillofac plast and reconstr surg* 2015, 37(1), 18.
159. Gutiérrez XV, Clavel JFG, & Cepeda LG. Dental extraction following zoledronate, induces osteonecrosis in rat' s jaw. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal. Ed. inglesa* 2017, 22(2), 6.
160. Barba-Recreo P, García-Arranz M, Yébenes L, & Burgueño M. Zoledronic acid-related osteonecrosis of the jaws. Experimental model with dental extractions in rats. *J Cranio-Maxillofac Surg* 2014, 42(6), 744-750.
161. Vilarinho JP, Ferrare N, Moreira A, Moura HF, Acevedo AC. Early bony changes associated with bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in rats: A longitudinal in vivo study 2017, 34:23-9.
162. Zandi M, Dehghan A, Malekzadeh H, Janbaz P, Ghadermazi K, & Amini P. Introducing a protocol to create bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in rat animal model. *J Cranio-Maxillofac Surg* 2016, 44(3), 271-278.
163. Kobayashi Y, et al. Zoledronic acid delays wound healing of the tooth extraction socket, inhibits oral epithelial cell migration, and promotes proliferation and adhesion to hydroxyapatite of oral bacteria, without causing osteonecrosis of the jaw, in mice. *J bone miner metab* 2010, 28.2: 165-175.
164. Evian CI, Rosenberg ES, Coslet JG, Corn H. The osteogenic activity of bone removed from healing extraction sockets in humans. *J Periodontol* 1981, 53: 81-85.
165. Sonis ST, Watkins BA, Lyng GD, Lerman MA, Anderson KC. Bony changes in the jaws of rats treated with zoledronic acid and dexamethasone before dental extractions mimic bisphosphonate-related osteonecrosis in cancer patients *Oral Oncol.* 2009, 45:164–172.
166. Biasotto M, Chiandussi S, Zacchigna S, Moimas S, Dore F, Pozzato G, Cavalli F, Zanconati F, Contardo L, Giacca M, Di Lenarda R. A novel animal model to study nonspontaneous bisphosphonates osteonecrosis of jaw. *J Oral Pathol Med* 2010,

35(5):390–396.

167. Maahs MP, Azambuja AA, Campos MM, Salum FG, Cherubini K. Association between bisphosphonates and jaw osteonecrosis: a study in Wistar rats. *Head Neck* 2010, 33(2):199-207.
168. Hokugo A, Christensen R, Chung EM, Sung EC, Felsenfeld AL, Sayre JW, Garrett N, Adams JS, Nishimura I. Increased prevalence of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with vitamin D deficiency in rats. *J Bone Miner Res* 2002, 25(6):1337-49.
169. Erdem M, Cankaya A, Isler S, Demircan S, Soluk M, Kasapoglu C, Oral C. Extraction socket healing in rats treated with bisphosphonate: Animal model for bisphosphonate related osteonecrosis of jaws in multiple myeloma patients. *Med Or* 2004, 54:450-9
170. Vasconcelos CU, et al. Comparison of effects of clodronate and zoledronic acid on the repair of maxilla surgical wounds–histomorphometric, receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand, osteoprotegerin, von Willebrand factor, and caspase-3 evaluation. *J Oral Pathol Med* 2012, 41.9: 702-712.
171. Marino KL, Zakhary I, Abdelsayed RA, Carter JA, O'Neill JC, Khashaba RM, Elsalanty M, Stevens MR, Borke JL. Development of a rat model of 93 bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). *J Oral Implantol* 2001, 56:34-9.
172. Lehrer S, Montazem A, Ramanathan L, Pessin-Minsley M, Pfail J, Stock RG, Kogan R. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws, bone markers, and a hypothesized candidate gene. *J Oral Maxillofac Surg* 2009, 67:159-61.
173. Jabbour Z, El-Hakim M, Henderson JE, de Albuquerque RFJ. Bisphosphonates inhibit bone remodeling in the jaw bones of rats and delay healing following tooth extractions. *Oral Oncol* 2014, 50(5):485–90.
174. Topan C, Kılıç E. Ratlarda deneysel olarak bifosfonata bağlı çene osteonekrozu oluşturulması. *Sağlık Bilimleri Dergisi* 2017: 99-104.
175. Keskinruzgar A, Bozdogan Z, Aras MH, Demir T, Yolcu U, & Cetiner S. Histopathological effects of teriparatide in medication-related osteonecrosis of the jaw: an animal study. *J Maxillofac Surg* 2016, 74(1), 68-78.
176. Cella L, Oppici A, Arbasi MC, Moretto M, Piepoli M, Vallisa D, Zangrandi A, Di Nunzio C, Cavanna L. Autologous bone marrow stem cell intralesional transplantation repairing bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw. *Head &*

*Face Medicine* 2011, 7,32 .

177. Lee JJ, Cheng SJ, Jeng JH, Chiang CP, Lau HP, Kok SH. Successful treatment of advanced bisphosphonate-related osteonecrosis of the mandible with adjunctive teriparatide therapy. *Head and Neck* 2010, 33(9), 1366-71.
178. Martins MAT, Martins MD, Lascalea CA, Curi MM, Migliorati CA, Tenis CA , Marques MM. Association of laser phototherapy with PRP improves healing of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in cancer patients: a preliminary study. *Oral Oncol* 2011, 45;67-9.
179. Martins MAT, Martins MD, Lascalea CA, Curi MM, Migliorati CA, Tenis CA, et al. Association of laser phototherapy with PRP improves healing of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in cancer patients: a preliminary study. *Oral Oncol* 2012, 48(1):79–84.
180. Vescovi P, Merigo E, Manfredi M, Meleti M, Fornaini C, Bonanini M, et al. Nd:YAG laser biostimulation in the treatment of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: clinical experience in 28 cases. *Photomed Laser Surg* 2008, 26(1):37–46.
181. Agrillo A, Filiaci F, Ramieri V, Riccardi E, Quarato D, Rinna C, Ungari C. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (bronj): 5 year experience in the treatment of 131 cases with ozone therapy. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2012, 16(12), 1741-7.
182. Vescovi P, Manfredi M, Merigo E. Adjuvant treatment options in the management of medication-related osteonecrosis of the jaw, otto s. medication-related osteonecrosis of the jaws. *1 ed. Heidelberg* 2015. p. 103-9.
183. Kazancioglu HO, Ezirganli S, Aydin MS. Effects of laser and ozone therapies on bone healing in the calvarial defects. *J Craniofac Surg* 2013, 24(6), 2141-2146.
184. Erdemci F, Gunaydin Y, Sencimen M, Bassorgun I, Ozler M, Oter S, et al. Histomorphometric evaluation of the effect of systemic and topical ozone on alveolar bone healing following tooth extraction in rats. *J Oral Maxillofac Surg* 2014, 43(6):777–83.
185. Ahmedi J, Ahmedi E, Sejfiija O, Agani Z, Hamiti V. Efficiency of gaseous ozone in reducing the development of dry socket following surgical third molar extraction. *Eur j dent* 2016, 10: 381.
186. Kan B, et al. Histomorphometric and microtomographic evaluation of the effects of

- hyperbaric oxygen and systemic ozone, used alone and in combination, on calvarial defect healing in rats. *J Oral Maxillofac Surg* 2015. 73(6): p. 1231 e1-10.
187. Ripamonti CI, Maniezzo M, Boldini S, Pessi MA, Mariani L, Cislighi E. Efficacy and tolerability of medical ozone gas insufflations in patients with osteonecrosis of the jaw treated with bisphosphonates-Preliminary data: Medical ozone gas insufflation in treating ONJ lesions. *J bone Oncol* 2012, 1(3):81–7.
  188. Petrucci MT, Gallucci C, Agrillo A, Mustazza MC, Fo R. Role of ozone therapy in the treatment of osteonecrosis of the jaws in multiple myeloma patients. *Haematol* 2007, 92(9):1289 –90.
  189. Passaretti A, Zuccarini F, Tordiglione P, Araimo Morselli FSM, Imperiale C, et al. Oxygen-ozone treatment in bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw: a case report. *Glob J Anesthesiol* 2016, 3(1): 014-017.
  190. Bayer S, Kazancioglu HO, Acar AH, Demirtas N, Kandas NO. Comparison of laser and ozone treatments on oral mucositis in an experimental model. *Lasers Med Sci* 2017, 32(3):673–7.
  191. Buckwalter JA, Mankin HJ. Articular cartilage: degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration, and transplantation. *Instr Course Lect* 1998,47:487–504.
  192. Ozdemir H, Toker H, Balci H, Ozer H. Effect of ozone therapy on autogenous bone graft healing in calvarial defects: a histologic and histometric study in rats. *J periodontal res* 2013, 48(6), 722-6.
  193. Dıraçoğlu H, Demirhan T. Kas iskelet hastalıklarında ozon-oksijen tedavileri. *Turkish Journal of Physical Medicine & Rehabilitation/Turkiye Fiziksel Tip ve Rehabilitasyon Dergisi* 2016, 62.2 (2016).
  194. Iliakis EM, Valadakis V, Vynios D, Tsiganos C, Agapitos E. Rationalization of the activity of medical ozone on intervertebral disc; a histological and biochemical study. *Rivista di Neuroradiologia* 2001, 14:23-30.
  195. Bocci V, Zanardi I, Travagli V. Oxygen/ozone as a medical gas mixture. a critical evaluation of the various methods clarifies positive and negative aspects. *Medical gas research* 2011, 1(1), 6.
  196. Ceccherelli G, Francesco A, et al. Analgesic effect of subcutaneous administration of oxygen-ozone. A blind study in the rat on the modulation of the capsaicin-induced edema. *Acupunc electrother res* 1998, 23.3-4: 171-184.
  197. Buyuk SK, Ramoglu S, Sonmez MF, The effect of different concentrations of

- topical ozone administration on bone formation in orthopedically expanded suture in rats. *Eur j of orthodontics* 2015, 38(3), 281-85.
198. Koca K, Yurttas Y, Bilgic S, Cayci T, Topal T, Durusu M, Oguz E. Effect of preconditioned hyperbaric oxygen and ozone on ischemia-reperfusion induced tourniquet in skeletal bone of rats. *J Surg Res* 2010,164(1), e83.
  199. Alan H, Vardi N, Ozgur C, Acar AH, Yolcu U, Dogan DO. Comparison of the Effects of Low-Level Laser Therapy and Ozone Therapy on Bone Healing. *J Craniofac Surg* 2015, 26(5):396-400.
  200. Oguz E, Ekinçi S, Eroglu M, Bilgic S, Koca K, Durusu M, & Kilic A. Evaluation and comparison of the effects of hyperbaric oxygen and ozonized oxygen as adjuvant treatments in an experimental osteomyelitis model. *J Surg Res* 2011, 171(1), 61-8.
  201. Seven M, Yıldız Y, Topal T, Korkmaz A, Aykutluğ Ö, Türker T, & Macit E. Ozon tedavisinin sıçan akut kas strain modelindeki etkinliği. *Gulhane Medical Journal* 2016, 58(1).
  202. Eroglu ZT, Kurtis B, Altug HA, Sahin S, Tuter G, Baris E. Effect of topical ozonotherapy on gingival wound healing in pigs: histological and immunohistochemical analysis. *J Appl Oral Sci* 2019, 27-9.
  203. Kotze M, Bütow K-W, Olorunju SA, Kotze HF. Ozone treatment of alveolar bone in the Cape Chacma baboon does not enhance healing following trauma. *J Maxillofac Oral Surg* 2014, 13(2):140–7.
  204. Moraes MB, da Silva Lopes G, Nascimento RD, Gonçalves F de CP, dos Santos LM, Raldi FV. Use of ozone therapy together to low power laser in osteonecrosis induced bisphosphonates-Clinical case. *Brazilian Dent Sci* 2016, 19(1):129–34.
  205. Del Pizzo M, Modica F, Bethaz N, Priotto P, Romagnoli R. The connective tissue graft: a comparative clinical evaluation of wound healing at the palatal donor site. *J clin periodont* 2002, 29: 848-54.
  206. Bauss F, Pfister T, Pappapoulos S. Ibandronate uptake in the jaw is similar to long bones and vertebrae in the rat. *J Bone Miner Metab* 2008, 26:406-8.
  207. Bolland MJ, Grey AB, Horne AM, Briggs SE, Thomas MG, Ellis-Pegler RB, Callon KE, Gamble GD, Reid IR. Effects of intravenous zoledronate on bone turnover and BMD persist for at least 24 months. *J Bone Miner Res* 2008, 23(8): 1304-08.
  208. Dass CR, Choong PF. Zoledronic acid inhibits osteosarcoma growth in an

orthotopic model. *Mol Cancer Ther* 2007, 6(12): 3263-70.



## EKLER

### EK.1. ÖZGEÇMİŞ

#### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı: Burakhan Hakan Tanışık

Doğum Yeri ve Tarihi: Osmaniye 1990

Medeni Hali: Evli

Yabancı Dil: İngilizce

İletişim Adresi: İnönü Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, 44280-Malatya

E-posta Adresi: [burakhanhakantanisik@gmail.com](mailto:burakhanhakantanisik@gmail.com)

#### Eğitim ve Akademik Durumu

İlkokul: İstiklal İlköğretim Okulu

Orta Okul: Özel Bilim İlköğretim Okulu

Lise: Malatya Fen Lisesi

Lisans: İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi (2007-2012)

Uzmanlık: İnönü Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı (2015 Şubat- )

## EK.2. ETİK KURUL ONAYI




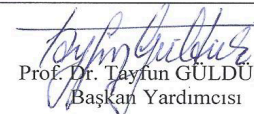
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 22.03.2019  
Toplantı Yeri : Tıp. Fak. Toplantı Salonu-Malatya  
Araştırma Protokol no.su : 2018/A-41  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Rat  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyü : Wistar albino  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 32 Adet  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı: 250-300 gr

Doç. Dr. Hilal ALAN'ın yürüttüğü; "Lokal ve sistemik olarak uygulanan medikal ozon tedavisinin rat Bisphosphonate Related Osteonecrosis of the Jaw (BRONJ) modelinde iyileşmeye etkisinin değerlendirilmesi" isimli 2018/A-41 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmesi şartıyla çalışmanın yapılmasının uygun olduğuna; oy birliği ile karar verildi.

  
Prof. Dr. Davut ÖZBAĞ  
Başkan

  
Prof. Dr. Tayfun GÜLDÜR  
Başkan Yardımcısı

  
Prof. Dr. Metin ATAMBAY  
Üye

  
Prof. Dr. M. Çağatay TAŞKAPAN  
Üye

Prof. Dr. Başak KAYHAN  
Üye  
KATILMADI

  
Doç. Dr. Şengül YÜKSEL  
Üye

  
Vet.Hek. Engin KORKMAZ  
Üye

Akın ÖZ  
Sivil Üye  
KATILMADI

Av. M. Umut YALÇIN  
Sivil Üye  
KATILMADI