

RATLARDA DENEYSEL OLARAK BİFOSFONATA BAĞLI ÇENE OSTEONEKROZU OLUŞTURULMASI  
EXPERIMENTAL DEVELOPMENT OF BISPHTHOSPHONATE INDUCED OSTEONECROSIS OF THE JAWS IN RATS

CİHAN TOPAN<sup>1</sup>, ERDEM KILIÇ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi AD, Kayseri

**ÖZ**

Bifosfonat türevi ilaçlar, kemik metabolizması bozukluğu ile ilişkili birçok hastalıkta kullanılmaktadır. Bu ilaçların kullanımı sonrası gelişen ciddi yan etkilerden biri de bifosfonata bağlı çene osteonekrozudur. Bu çalışmada, ratlara bifosfonat uygulaması ve diş çekimi sonrası çene kemiklerinde osteonekroz oluşturulan hayvan modeli sunulmuştur.

Çalışmamızda Wistar Albino ırkı 24 adet dişli rat 2 gruba ayrılmıştır. 1. gruptaki ratların (n=12) alt çene sol birinci ve ikinci molar dişleri çekildikten sonra alveol kemiğinde defekt oluşturulmuştur. 2. gruptaki ratlara (n=12) 0.1mg/kg zoledronat 8 hafta boyunca haftada 3 kez intraperitoneal olarak uygulanmış ve bu sürenin sonunda ilk gruba uygulanan aynı cerrahi işlemler gerçekleştirilmiştir. Hayvanlar kurban edilerek diş çekim bölgesi klinik, histolojik ve radyolojik olarak değerlendirilmiştir.

Bu çalışmanın sonuçlarında, radyolojik açıdan 2. grubun defekt hacmi değeri ortalamasının 1. grubunkinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha geniş olduğu tespit edilmiştir. (p<0,05). 1. gruptaki hiçbir hayvanda klinik olarak nekrotik kemik oluşumu gözlenmemiştir. Ancak, 2. gruptaki deneklerin %45 'inde nekrotik kemik varlığı izlenmiştir.

Sonuç olarak, ratlara zoledronik asitin uygulanması sonrası diş çekimi ile osteonekroz gelişen hayvan modeli oluşturulabilir.

**Anahtar kelimeler:** Bifosfonat, alveol defekti, osteonekroz.

**ABSTRACT**

Bisphosphonates are used for the treatment of diseases associated with bone metabolism disorders. One of the serious side effects due to the usage of this kind of drugs is the bisphosphonate related osteonecrosis of the jaws. In this study, we present an animal model in rats which were treated with bisphosphonate and developed osteonecrosis of jaw bones after dental extraction.

24 Wistar Albino female rats were divided randomly into 2 groups. In group 1 (n=12), mandibular left molars extraction and alveolar bone defects were established in the same region. In group 2 (n=12), 0.1mg/kg zoledronate, during a 8-week period for 3-times in a week was intraperitoneally injected, afterwards rats were underwent the same surgical procedure as in group 1. At the end of this period, animals were sacrificed for radiological, histological and clinical evaluations.

As a result, the mean value of volume defects in group 2 was found significantly larger than the values of group 1 in radiologic aspect (p<0,05). Clinically, necrotic bone formation was not observed in any of the animals in group 1, whereas necrotic bone formation was observed in 45% of the animals in group 2.

In conclusion, an animal model can be developed by administering zoledronic acid with dental extraction in rats.

**Keywords:** Bisphosphonates, alveolar defect, osteonecrosis.

## 1. GİRİŞ

Bifosfonatlar; osteoporozun, kemik metastazlarıyla birlikte seyreden meme, prostat, akciğer kanserleri, multiple myeloma gibi malignitelerin, osteopeni, Paget hastalığı, osteogenezis imperfekta gibi kemiği ilgilendiren sistemik hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan ilaçlardır (1). Son yıllarda ilacın yaygın kullanımını ile birlikte bazı komplikasyonları görülmeye başlamıştır ve bunlardan biri de bifosfonata bağlı çene osteonekrozudur (BBÇO) (2). Çene kemiklerinde oluşan bifosfonata (BP) bağlı osteonekroz; hastanın devam eden ya da geçmişte antirezortif veya anti-anjiyojenik kullanımı hikayesi olması, baş-boyun bölgesine daha önceden radyoterapi uygulanmamış olması, maksilla ve/veya mandibula bölgesinde 8 haftadan daha uzun süre devam eden açığa çıkmış nekrotik kemik varlığı veya maksillofasial bölgede kemiğe kadar ulaşan ağız içi veya ağız dışı fistül varlığı özellikleri ile tanınır (3).

Yüksek remodelasyon oranı sebebi ile alveolar kemikte vücuttaki diğer kemiklere oranla 100 kat daha fazla bifosfonat birikmektedir (4). Vücuttaki en yüksek remodelasyon oranına sahip kemik çene kemikleri olduğu için osteonekroz görülme riski de en yüksek bu kemiklerdedir.

BBÇO'nun tedavisi ile ilgili net bir görüş yoktur. Osteonekroz teşhisi konduktan sonra sekonder enfeksiyonların gelişmesini önlemek için antibiyotikler ve oral antiseptik solüsyonlar kullanılmalıdır. Bu tür konservatif tedavi yöntemlerine rağmen ideal bir başarı sağlanamayabilir. Cerrahi olarak rezeksiyon, sert ve yumuşak doku greftleri ile rekonstrüksiyon yapılmasına rağmen osteonekrotik sahanın daha da genişlediği rapor edilmiştir (5-7).

BÇÇO'nun tedavisi ile ilgili yeni yöntemler geliştirmek ve patogenezi hakkında daha fazla bilgi elde etmek için deneysel çalışmalar yapmak önemlidir. Ancak, günümüzde hala standart bir BÇÇO hayvan modeli mevcut değildir. Literatürdeki modeller; kullanılan hayvanın cinsi, bifosfonatın türü ve uygulama şekli, dozu, uygulama zamanı ve eşlik eden başka türdeki ilaçların (kortikosteroidler ve immünsupresif ilaçlar) varlığı açısından büyük farklılıklar göstermektedir (8-11). Yeni tedavi şekilleri geliştirebilmek için hastalığın kliniğini yansıtan standart ve tekrarlanabilir BÇÇO hayvan modellerine ihtiyaç vardır.

Bu çalışmamızda, ratlarda bifosfonat uygulaması sonrası diş çekimi ve alveol kemik defekti meydana getirilmesi ile çene kemiklerinde osteonekroz oluşturulan BÇÇO hayvan modeli sunulmuştur.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Çalışma Planı ve Cerrahi İşlemler

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylandı. (Protokol no:143). Deney hayvanı olarak Wistar Albino ırkı, yetişkin dişi ratlar (sıçan) kullanıldı. Tüm hayvanların doğum zamanları (8 hafta ve üzeri erişkin) ve mevcut ağırlıklarının (ortalama 190 gr) birbirlerine çok yakın olmasına özen gösterildi.

Çalışmadaki hayvanlar, her biri 12 adet rat içeren 2 gruba rastgele olarak ayrıldı. 1. gruptaki ratların mandibula sol birinci ve ikinci molar dişlerinin çekimi gerçekleştirildi ve çekim soketine küçük rond frez ile

1.4 mm'lik iki ayrı alveol kemiği defekti oluşturuldu (Resim 1). 2. gruptaki ratlara 8 hafta boyunca, haftada 3 kez, 0.1mg/kg zoledronat (Zometa®, 4 mg flakon, Novartis, Türkiye) (ZA) intraperitonel (ip) olarak enjekte edildi. Sekiz haftanın sonunda 2. gruptaki hayvanlara, ilk gruba uygulanan aynı cerrahi işlemler gerçekleştirildi. Diş çekimleri sonrasında, 2. gruptan 1 adet rat öldüğü için çalışma dışı kaldı. Çalışma süresi sonunda tüm hayvanlar sakrifiye edildi.

### 2.2. Çekim Soketlerinde Mukozal İyileşmenin Klinik Olarak Değerlendirilmesi

Ratlar sakrifiye edildikten sonra örneklerin diş çekim bölgeleri abse ve açığa çıkmış nekroze kemik varlığının değerlendirilmesi için çıplak gözle muayene edildi. Çekim soketlerinde iyileşmenin klinik olarak değerlendirilmesi için mukozal kapanma varlığı incelendi. Değerlendirilme sonuçlarına göre (0) bozuk iyileşme (abse varlığı, açığa çıkmış nekroze kemik), (1) kısmi kapanma mevcut, (2) mukozal kapanma tamamlanmış, sorunsuz iyileşme olarak değerlendirildi.

### 2.3. Radyolojik Değerlendirme

Diş çekimi sonrası alveol kemikteki iyileşme ve rezorpsiyona bağlı meydana gelen kemiksel değişiklikleri değerlendirmek için radyolojik kesitlerde görülen rezorpsiyon ve alveol kemiğinde meydana gelen defektin hacmi hesaplandı.

### 2.4. Histolojik Değerlendirme

Deney hayvanlarının alt çene sol bölgelerindeki kemik dokusu Exact 300 CL (Exakt Apparabau, Norderstad, Almanya) sert doku kesme cihazı ile parçalar halinde küçültüldü ve %4 lük nötral formalin içinde tamponlandı. Fiksasyon süresinin ardından blok halinde gelen kemik dokusundan 2-3 mm kalınlığında kesitler alındı. Örnekler etanol içeren alkol havuzlarında birer gün süreyle dehidrate edildi ve sonrasında örnekler metil metakrilat rezin (Tecnovit 7200) -alkol karışımı içerisinde 24 saat vakum altında infiltre edildi.

Daha sonra, örnekler plastik kalıplar içerisinde vakum altında hava kabarcığı kalmayacak şekilde gömüldü ve 8 saat süre ile polimerize edildi. Tamamen sertleşmiş olan bloklar pleksiglas lam üzerine Technovit 7210 VLC (Kulzer & CO. GmbH, Friedrichsdorf, Almanya) kullanılarak vakum altında yapıştırıldı.

Lam üzerine yapıştırılmış bu örneklerden hassas kesme cihazına bağlı elmas testere (Exakt 300 CL, Exakt Apparabau, Norderstad, Almanya) ile 300-350 µm kalınlığında kesitler elde edildi. Bu kesitler, mikro aşındırma sistemine (Exakt 400 CS, Exakt Apparabau, Norderstad, Almanya) bağlı zımparalar ile 40 µm kalınlığına kadar inceltildi. Histolojik kesitler hemotoksilen ve eozin boyama yöntemi ile boyandıktan sonra, metil metakrilat kullanılarak üzerleri lamel ile kapatıldı.

Tüm kesitler histolojik değerlendirme ışık mikroskopunda epitel doku şekillenmesi, kemik oluşumu açısından değerlendirildi.

### 2.5. İstatistiksel Değerlendirme

Tüm istatistiksel değerlendirmelerde SPSS 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) istatistik yazılımından faydalanıldı. Verilerin normal dağılımı 'Shapiro-Wilk' testi ile değerlendirildi. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerde Kruskal-Wallis testi uygulandı. Kategorik değişkenlerde Ki-Kare analizi yapıldı. p<0,05 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Klinik Değerlendirme Sonucu Ortaya Çıkan Bulgular

Deney hayvanlarının diş çekim bölgeleri iyileşme miktarı klinik olarak incelendiğinde, 1. gruptaki 10 hayvanın çekim soketlerinin tamamen, 2 hayvanın kısmen mukozaya ile kapanmış görüldü, hiçbir hayvanda tamamen nekrotik açık kemik yüzeyi veya püü akışı gözlenmedi (Resim 1). 2. gruptaki 5 hayvanın diş çekim bölgesinde



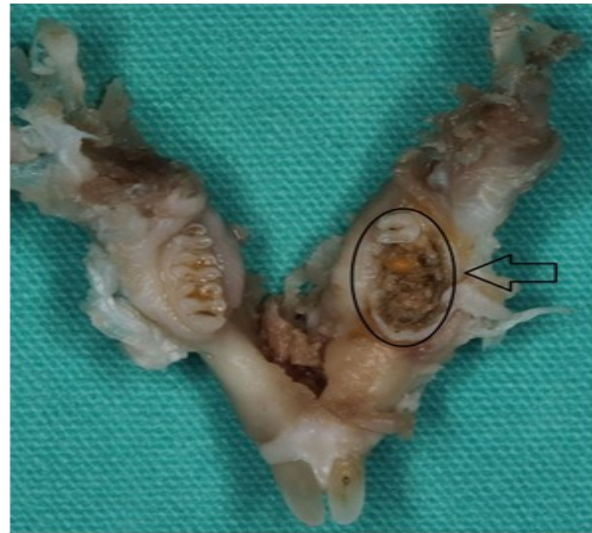
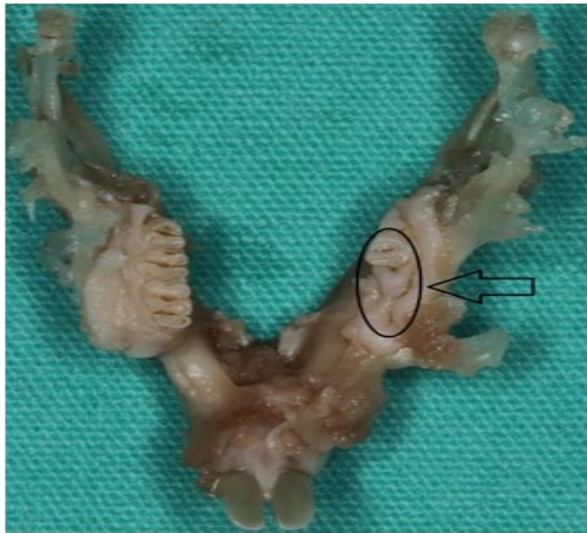
arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu görüldü ( $p=0,004$ ) (Tablo 1).

#### 3.2. Radyolojik Değerlendirme Sonucu Ortaya Çıkan Bulgular

İstatistiksel değerlendirmeler sonucunda 1. grubun defekt hacmi değeri ortalaması 5,08 mm<sup>3</sup>, 2. grubunki ise 9,0 mm<sup>3</sup> olduğu tespit edilmiştir. Bu iki grup arasın-



Resim 1. Molar dişlerin çekiminin gerçekleştirilmesi (a) ve alveol kemiğinde defekt oluşturulması (b)



Resim 2. (a) Grup 1'e ait örnekten elde edilen alt molar diş bölgesinde tamamen kapanmış mukozanın görüntüsü (Siyah ok). (b)

Tablo 1. İlk ve ikinci grupların örneklerinin diş çekim bölgelerinin klinik olarak değerlendirilmesi.

	Bozuk iyileşme n (%)	Kısmi iyileşme n (%)	Tam iyileşme n (%)	p
Grup 1	0 (0,0)	2 (16,7)	10 (83,3)	0,004
Grup 2	5 (45,5)	4 (36,4)	2 (18,2)	

nekrotik açık kemik yüzeyi görülürken, 4'ünde kısmen, 2'sinde tamamen mukozaya ile kapanmış olduğu tespit edildi (Resim 2). Ayrıca bu gruptaki 3 denekte diş çekim yapılan bölgeden püü akışı geldiği görüldü. İstatistiksel değerlendirmeler sonucunda klinik iyileşme ile gruplar

daki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Tablo 2).

#### 3.3. Histolojik Değerlendirme Sonucu Ortaya Çıkan Bulgular

Birinci gruptaki histolojik kesitleri incelendiğinde ge-

Tablo 2. Kontrol ve deney grupları defekt hacmi değeri açısından radyolojik analiz sonuçları.

	Grup 1	Grup 2	p
	Ortalama ± s.h	Ortalama ± s.h	
	Medyan(min-max)	Medyan(min-max)	
Hacim	5,08±2,15	9,0±2,15	0,001
	4,5 (3-11)	7 (5-25)	

nelde keratinize çok katlı yassı epitelin şekillenmiş ve kemik dokusunun iyileşmiş olduğu gözlenmiştir. Herhangi bir inflamasyon bulgusuna rastlanmamıştır. Diş çekim kavitesinin eski kemik dokusu üzerinde kalan alanda osteosit içeren lakünalardan ve kapillerden zengin şekillendirilmiş yeni kemik dokusu ile doldurulduğu görülmüştür.

İkinci gruptaki histolojik kesitleri incelendiğinde genel olarak yara bölgesindeki epitel dokusunun tam yenilenmediği gözlenmiştir. Nekroza bağlı olarak hasar gören kemik dokusunun tam iyileşmediği, yer yer boşlukların olduğu ve bu boşlukların yeni kemik dokusu ile tam kapanmadığı görülmüştür. Diş çekim socketinin bağ dokusu ile dolmuş olduğu ve kemik dokusu oluşumunun eksik kalmış olduğu gözlenmiştir.

#### 4. TARTIŞMA

BÇÇO'nun patogenezinin henüz tam olarak ortaya konulamamış olması ve insanlar üzerinde çalışılmaları ilgili kısıtlılıklardan dolayı hastalığın daha iyi anlaşılması ve değişik tedavi seçeneklerinin denenmesi için basit ve güvenilir hayvan modelleri geliştirilmesi gerekmiştir (12). Ratlar birçok fizyolojik ve farmakolojik çalışmada deney hayvanı olarak kullanılmaktadır. Ratların deney hayvanı olarak sık tercih edilmesinin nedeni hızlı üreyebilmesi, deney uygulama aşamasında kullanımının pratik ve bakımının kolay olması, kısa sürede genetik açıdan benzer gruplar oluşturulabilmesidir (13). Literatürde bazı araştırmacılar tarafından oluşturulan fare, rat, köpek, domuz gibi çeşitli BÇÇO hayvan modelleri mevcuttur (14). Deneysel olarak oluşturulan BP'ye bağlı osteonekroz hayvan modeli için en sık ratların tercih edildiği görülmüştür. Recreo ve arkadaşları (8), Neto ve arkadaşları (9) ve Maahs ve arkadaşları (11) deneysel olarak oluşturdukları BÇÇO modeli için ratları kullanmışlardır. Araştırmacılar ratlarda, ZA uygulanması ile BÇÇO patofizyolojisinin daha iyi anlaşılabilmesi ve tedavi yöntemleri üzerinde çalışılabilmesi için güvenilir ve tekrarlanabilir bir BÇÇO modeli oluşturulabileceğini öne sürdükleri için ilaç olarak zoledronik asidi tercih ettik (10). Aynı zamanda zoledronik asit bugüne kadar hazırlanan en güçlü BP çeşididir (15). Rat modelinin seçilmesinin avantajları; bu deneklerin üretiminin kolay ve ekonomik olmasıdır. Bu avantajları sayesinde birçok yayın BÇÇO modeli için ratların kullanımını desteklemektedir (16). Bu nedenlerle bu çalışmada, BÇÇO oluşumunu indüklemek için deney hayvanı olarak ratların kullanılmasına karar verilmiştir.

BP kullanımı sonrası osteonekroz en fazla maksilla ve mandibulada görülürken (17-19) vücudun diğer kemik-

lerinde görülen osteonekroz olguları birkaç olgu sunumu ile sınırlı kalmıştır (20,21). Vaskülarizasyon özelliklerinden dolayı çenelerde görülen osteonekroz olgularının %60'ı mandibula, %30'u maksillada görülürken, %10'u her iki kemikte birlikte görülmektedir (22). BP tedavisi devam ederken yapılacak diş çekimi gibi dentoalveolar cerrahi girişimlerin, BÇÇO riskini anlamlı derecede yükselttiği bilinmektedir (23,24). Ayrıca yapılan deneyler kullanılan hayvan modellerinde, BP'nin diş çekim yarasının iyileşmesi üzerinde olumsuz etkisi olduğu gösterilmiştir (11,25-28). Bu sebeple diş çekimi, osteonekroz oluşumunun amaçlandığı rat modellerinde sıklıkla uygulanan bir yöntemdir. Biasotto ve arkadaşları, dentoalveolar cerrahi uygulanan hastalarda, BÇÇO gelişme riskinin daha fazla olması sebebiyle, ratlarda diş çekimi sonrası çekim socketinde kemik defekti oluşturmuşlar ve tüm hayvanlarda BÇÇO oluşturabilmişlerdir (10). Çalışmamızda, BÇÇO'nun daha çok mandibulada görülmesi sebebiyle diş çekimlerinin mandibulada yapılması ve çekim sonrası alveol kemiğinde defekt oluşturulması tercih edilmiştir.

Diş çekim boşlukları, iyileşmeyi geciktirici herhangi bir hastalık veya ilaç kullanımı olmadığı sürece 1-2 ay içerisinde kemik ile dolarak iyileşmektedir (29-31). Ratlarda diş çekim socketlerindeki kemik iyileşmesinin incelendiği bir çalışmada, diş çekim boşluğunun 1-2 hafta içerisinde kemik ile dolduğu gösterilmiştir (32). Zoledronik asit uygulaması ile BÇÇO oluşturulan rat modeli çalışmalarında, genel olarak diş çekimi boşluğunun iyileşmesi için beklenen sürelerin 2 ile 8 hafta arasında değiştiği görülmektedir (10,11,27,28,33). Bu çalışmada, deney hayvanlarının diş çekim boşluğunun iyileşmesi ve/veya osteonekroz gelişimi için diş çekimi sonrası 8 hafta beklenmiştir.

Diş çekimi sonucu oluşan BÇÇO'nun değerlendirildiği çalışmalarda çene kemiğinde meydana gelen değişikliklerin klinik ve radyografik değerlendirmelerinin yapılması mümkündür.

Bifosfonatlara bağlı gelişen osteonekrozun klinik muayenesinde karakteristik bulgu nekroze alveol kemiğidir. Nekroze kemik ekpoze olup ağrı ile kendini gösterse de bazen osteonekrotik lezyonlar ağızda bir süre asemptomatik olarak kalabilmektedir. Erken dönemde, açığa çıkan kemiğin yüzeyi düzgündür ve daha sonra bu düzgün yüzey pürüzlü hale gelir. Kemiğin sivri kenarları temasta olan yumuşak dokuda ülserasyona neden olabilir. Sonrasında kemik sekestrasyonu ve patolojik kırık oluşabilir (34,35). Yaptığımız bu çalışmada, ratların dişleri çekilip, çekim socketlerine 2 ayı defekt oluşturduktan sonra klinik olarak mukozal kapanmanın ger-



çekleşip gerçekleşmediği değerlendirilmiştir. Klinik değerlendirme sonuçlarına göre, BP uygulaması sonrası klinik olarak alveol kemiğinde nekroz gelişebileceği görülmüştür.

Hastalığın klinik tablosu, her zaman mukoza altındaki BÇÇO lezyonunun yaygınlığını ve şiddetini tam olarak yansıtmadığından, radyolojik görüntüleme yöntemlerinin kullanımı kaçınılmaz olmaktadır (36,37). BÇÇO'nun radyografik bulguları hastalığa özgü olmasa da erken tanı için önemlidir. Radyolojik değerlendirmede konvansiyonel radyografiler, bilgisayarlı tomografi, dental volumetrik tomografi (DVT), manyetik rezonans görüntüleme ve kemik sintigrafisinden faydalanılır (1). Yapılan çalışmalarda bilgisayarlı tomografinin, BÇÇO vakalarında en fazla yarar sağlayan görüntüleme yöntemlerinden biri olduğu belirtilmektedir (38-40). BT incelemelerinde ise kemikte osteolitik değişimler, kortikal ve trabeküler kemik yapısında bozulma, bölgesel skleroz, periosteal kemik proliferasyonu, kemik iliğinde daralma ve sekestr oluşumu görülür (38,39). Biasotto ve arkadaşları yapmış olduğu bir çalışmada, BP uygulaması sonrası diş çekimi yapılan ve defekt oluşturulan deney grubundaki ratların BT görüntülerinde, kortikal ve spongiöz kemik defektlerine karşılık gelen bölgelerde osteolitik alanların olduğunu tespit etmişlerdir. Buna karşılık, kontrol grubundaki deneklerin radyografilerinde ise diş çekim soketinin ve oluşturulan defektin sınırlarında azalma olduğunu görmüşlerdir (10). Ağaçayak ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada, BP uygulaması sonrası travmatik ve atravmatik diş çekimi yapılan ratların lateral sefalomatik görüntülerini incelemişlerdir. Radyografik görüntülerin sonucuna göre, atravmatik diş çekimi yapılan grubun % 10, travmatik diş çekimi yapılan grubun % 30'unda diş çekim soketinden daha geniş bir radyolüsent alan izlenmiştir (41). Çalışmamızın sonuçları da benzer şekilde bifosfonatların radyolojik olarak diş çekim soketindeki radyolüsent ve osteolitik görüntünün hacmini anlamlı derecede arttırdığını göstermiştir.

Sonuç olarak, ratlara zoledronik asitin uygulanması sonrası mandibulada diş çekimi ve defekt oluşturulması ile bifosfonat osteonekroz modeli oluşturulabilir ve bu model BÇÇO'ya sebep olan potansiyel faktörlerin bulunması ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi için araştırmalarda kullanılabilir.

### Bilgilendirme

Makalenin istatistiksel değerlendirme aşamasındaki yardımlarından dolayı araştırma görevlisi Yasemin Seyfeli'ye teşekkür ederiz.

### KAYNAKLAR

1. Ertaş ET, Atıcı MY. Bifosfonatlar ve çene kemiğinde görülen osteonekroz. *Selcuk Dental Journal* 2016; 2(2):91-100.
2. Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg* 2003; 61(9):1115-1117.
3. Ruggiero SL, Dodson TB, Fantasia J, 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): 1938-1956.
4. Reid IR, editor *Anti-resorptive therapies for osteoporosis*. *Semin Cell Dev Biol* 2008; 19(5):473-478.
5. Akarslan ZZ, Kahraman SA. Kemik metastazı yapmış prostat kanseri tedavisinde kullanılan bifosfonata bağlı olarak çene kemiklerinde gelişen osteonekroz: vaka raporu ve literatür derlemesi. *Atatürk Üniv Dış Hek Fak Derg* 2008; 18(3): 105-110.
6. Şalvarcı A, Altınay S. Mandibular osteonecrosis due to bisphosphonate use. *Turkish Journal of Urology* 2015;41(1) 43-47.
7. Keskinrüzgar A, Yanık S, Aras MH, Çetiner S. Teriparatid ve diş hekimliği. *Acta Odontol Turca* 2015; 32(13):165-170.
8. Barba-Recreo P, García-Arranz M, Yébenes L, Burgueño M, Del Castillo Pardo De Vera JL. Zoledronic acid-related osteonecrosis of the jaws. Experimental model with dental extractions in rats. *J Craniomaxillofac Surg* 2014;42(6):744-750.
9. Conte Neto N, Spolidorio LC, Andrade CR, et al. Experimental development of bisphosphonate related osteonecrosis of the jaws in rodents. *Int J Exp Pathol* 2013;94(1): 65-73.
10. Biasotto M, Chiandussi S, Zacchigna S, et al. A novel animal model to study non-spontaneous bisphosphonates osteonecrosis of jaw. *J Oral Pathol Med* 2010;39(5):390-396.
11. Maahs MP, Azambuja AA, Campos MM, Salum FG, Cherubini K. Association between bisphosphonates and jaw osteonecrosis: a study in Wistar rats. *Head Neck*. 2011; 33(2):199-207.
12. Khosla S, Burr D, Cauley J, et al. Bisphosphonate associated osteonecrosis of the jaw: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Miner Res* 2007; 22(10):1479-1491.
13. Gibbs RA, Weinstock GM, Metzker ML, et al. Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. *Nature* 2004; 428(6982):493-521.
14. Sharma D, Hamlet S, Petcu E, Ivanovski S. Animal models for bisphosphonate related osteonecrosis of the jaws an appraisal. *Oral Dis* 2013; 19(8):747-754.
15. Li EC, Davis LE. Zoledronic acid: a new parenteral bisphosphonate. *Clin Ther* 2003; 25(11):2669-2708.
16. Uyanne J, Calhoun CC, Le AD. Antiresorptive Drug-Related Osteonecrosis of the Jaw. *Dent Clin North Am* 2014; 58(2):369-384.
17. Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg* 2005; 63(11):1567-1575.
18. Van den Wyngaert T, Huizing MT, Vermorken JB. Osteonecrosis of the jaw related to the use of bisphosphonates. *Curr Opin Oncol* 2007; 19(4):315-322.
19. Melo MD, Obeid G. Osteonecrosis of the jaws in patients with a history of receiving bisphosphonate therapy: strategies for prevention and early recognition. *J Am Dent Assoc* 2005; 136(12):1675-1681.

20. Polizzotto MN, Cousins V, Schwarzer AP. Bisphosphonate associated osteonecrosis of the auditory canal. *Br J Haematol* 2006;132(1):114.
21. Froelich K, Radeloff A, Köhler C, et al. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the external ear canal: a retrospective study. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2011; 268(8):1219-1225.
22. Lehrer S, Montazem A, Ramanathan L, et al. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws, bone markers, and a hypothesized candidate gene. *J Oral Maxillofac Surg* 2009; 67(1):159-161.
23. Vahtsevanos K, Kyrgidis A, Verrou E, et al. Longitudinal cohort study of risk factors in cancer patients of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Clin Oncol* 2009; 27(32):5356-5362.
24. Badros A, Weikel D, Salama A, et al. Osteonecrosis of the jaw in multiple myeloma patients: clinical features and risk factors. *J Clin Oncol* 2006; 24(6):945-952.
25. Allen MR, Kubek DJ, Burr DB, Ruggiero SL, Chu T-M. Compromised osseous healing of dental extraction sites in zoledronic acid-treated dogs. *Osteoporos Int* 2011; 22(2):693-702.
26. Hikita H, Miyazawa K, Tabuchi M, Kimura M, Goto S. Bisphosphonate administration prior to tooth extraction delays initial healing of the extraction socket in rats. *J Bone Miner Metab* 2009; 27(6):663-672.
27. 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(2): 164-172.
28. Ali EM, Burak CA, Cemil IS, et al. Extraction socket healing in rats treated with bisphosphonate: animal model for bisphosphonate related osteonecrosis of jaws in multiple myeloma patients. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2011;16(7):879-883.
29. Horowitz R, Holtzclaw D, Rosen PS. A review on alveolar ridge preservation following tooth extraction. *J Evid Based Dent Pract* 2012; 12(3):149-160.
30. 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(1):32-44.
31. Evian C, Rosenberg E, Coslet J, Corn H. The osteogenic activity of bone removed from healing extraction sockets in humans. *J Periodontol* 1982; 53(2):81-85.
32. Devlin H, Sloan P. Early bone healing events in the human extraction socket. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002;31(6):641-645.
33. Hokugo A, Christensen R, Chung EM, et al. Increased prevalence of bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw with vitamin D deficiency in rats. *J Bone Miner Res* 2010; 25(6):1337-1349.
34. Almazrooa SA, Woo SB. Bisphosphonate and nonbisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a review. *J Am Dent Assoc* 2009;140(7):864-875.
35. Ruggiero SL, Fantasia J, Carlson E. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: background and guidelines for diagnosis, staging and management. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;102(4):433-441.
36. Wilde F, Heufelder M, Winter K, et al. The role of surgical therapy in the management of intravenous bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaw. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2011; 111(2):153-163.
37. Stockmann P, Vairaktaris E, Wehrhan F, et al. Osteotomy and primary wound closure in bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a prospective clinical study with 12 months follow-up. *Support Care Cancer* 2010;18(4):449-460.
38. Bisdas S, Pinho NC, Smolarz A, et al. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: CT and MRI spectrum of findings in 32 patients. *Clin Radiol* 2008; 63(1):71-77.
39. Bianchi SD, Scoletta M, Cassione FB, Migliaretti G, Mozzati M. Computerized tomographic findings in bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw in patients with cancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;104(2):249-258.
40. Chiandussi S, Biasotto M, Dore F, et al. Clinical and diagnostic imaging of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws. *Dentomaxillofac Radiol* 2006;35: 236-243.
41. Agaçayak K, Yuksel H, Atilgan S, et al. Experimental investigation of relationship between trauma and bisphosphonate-related osteonecrosis. *Niger J Clin Pract* 2014;17(5): 559-564.