

# Zoledronate가 토끼장골에서 채취한 상악동 골이식부위 치유에 미치는 영향

송준호 · 이수운 · 박상준

인제대학교 의과대학 부산백병원 구강악안면외과

**Abstract** (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2009;35:158-163)

## EFFECT OF ZOLEDRONATE TO BONE HEALING PROCESS AFTER ILIAC BONE GRAFT INTO MAXILLARY SINUS IN RABBIT

Jun-Ho Song, Soo-Woon Lee, Sang-Jun Park

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Pusan Paik hospital,, Inje University

**Objective :** Recently, we are interested in bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). Most of patients with osteonecrosis have taken medicine bisphosphonate for a long time. But the mechanism of osteonecrosis in BRONJ was not clarified yet. The aim of this study is to evaluate the difference of bone healing effect after bone graft from ilium to maxillary sinus in rabbits between zoledronate-treated and zoledronate-not treated groups.

**Method :** The subjects was divided into two groups. The experimental group was 9 rabbits, treated with intraperitoneal administration of zoledronate(0.06mg/kg) once per week for 3 weeks. In control group, same procedure was applied but administered saline instead of zoledronate. After 4 weeks, surgical operation under local anesthesia (ketamine 3.0cc, xylazine 1.0cc) was done. At postoperative 1, 2, 4, 8 weeks later, each rabbits were sacrificed and removed the bone grafted area. Gross, radiologic and histopathologic examinations of bone grafted area were performed.

**Result :** There were no conspicuous differences of radiological findings between experimental and control groups in any experimental weeks. In experimental group, new bone formation appeared earlier than control group at 1 week after operation, and maturation of bony tissue were more conspicuous at 2 and 4 weeks after operation, compared with control group. In 8 weeks after operation, similar microscopic findings were noted in both groups.

**Conclusion :** In the bisphosphonate-treated rabbits, new bone formation in the bone grafted area appeared earlier and bony maturation was more conspicuous, even though there were no significant differences of gross and radiological findings. These findings suggest that bisphosphonate might be promotive effect in the healing process in early stage after administration.

**Key words:** Bisphosphonate, Zoledronate, Bone graft, Bone healing

### I. 서론

최근 치의학 분야에서 관심의 대상 중 하나는 bisphosphonate로 인한 골괴사가 발생한 BRONJ (bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw)이다. Bisphosphonate 제제는 골다공증의 예방 및 치료 목적으로 최근에 가장 많이 사용하는 약제로서 이의 원조 화합물질인 diphosphonate는 파이프의 부식을 막기 위해 공업용으로 사용되던 화합물질이었다. bisphosphonate는 생체에서 무기질 침착을 억제하는 inorganic pyrophosphate의 구조와 유사한 화학적 구조를 갖

는 합성유도체이다. Inorganic pyrophosphate는 두 개의 인산기가 phosphoanhydride 결합(P-O-P 구조)를 형성하는 반면에, bisphosphonate는 탄소원자에 연결되는 phosphoether 결합(P-C-P 구조)를 갖는다(Fig. 1).

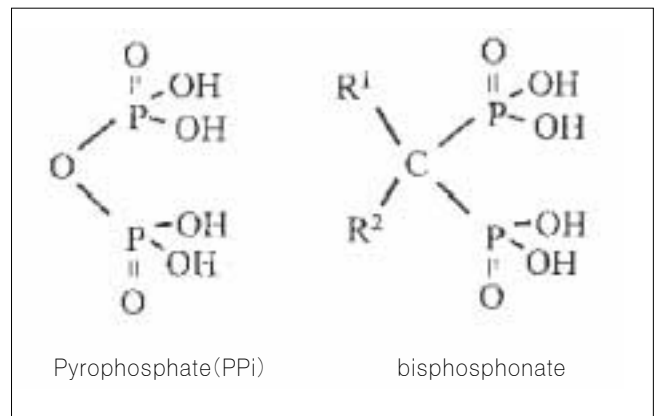


Fig. 1. Structures of bisphosphonate and pyrophosphate.

#### 박상준

614-735 부산광역시 부산진구 개금동 633-165

부산백병원 구강악안면외과학교실

#### Sang-Jun Park

Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, Section of Dentistry

Inje University Pusan Paik Hospital

Tel: 82-51-890-6114 Fax: 82-51-896-6675

E-mail: ds5nki@hanmail.net

이 제제는 pyrophosphate의 구조 중 P-O-P의 중앙 부위 O를 C로 치환한 구조를 갖고, R1과 R2라는 측쇄사슬을 가지고 있으며, R1은 bisphosphonate의 골무기질에 대한 결합능을 결정하는 부위이며 R2는 약리학적인 강도 및 활성도를 결정하는 부위이다. 즉 측쇄사슬의 변형 종류에 따라서 약제를 구분하는데 1세대 약제로는 etidronate, clodronate가 있고, 2세대로는 aledronate, pamidronate, 3세대는 risedronate, ibandronate, zoledronate로 분류한다.

P-C-P구조는 P-O-P구조에 비하여 산성조건에서도 쉽게 가수분해되지 않는다. 이와같은 bisphosphonate의 특성으로 인하여 최근 골다공증, 뼈조직 대사장애, 치아이동, 뼈조직 암의 전이 억제, 과도한 뼈파괴세포작용에 의한 질환 치료 등 다양한 영역에서 임상적 응용 및 연구에 이용되고 있다. Grypas 등<sup>1)</sup>은 bisphosphonate는 고농도에서는 광화 장애를 유발하나 낮은 농도에서는 광화 작용이 정상적이고, 뼈모세포의 작용을 저해하지 않음으로써 뼈 형성이 증가된다. Alakanhgas 등<sup>2)</sup>은 bisphosphonate의 뼈파괴세포에 의한 뼈 흡수 억제 작용은 명확하지 않으나 일반적으로 bisphosphonate는 뼈파괴세포 기능을 직접 억제하는 것으로 알려져 있다.

현재까지 보고된 바에 의하면 bisphosphonate는 뼈파괴세포와 그 전구세포에 작용하여 mevalonate pathway를 억제한다고 알려져 있다. Luckman 등<sup>3)</sup>은 bisphosphonate는 hydroxymethyl-glutaryl coenzyme A로부터 mevalonate 합성 등 여러 중간 과정을 거쳐 farnesyl diphosphate (FPP)와 geranylgeranyl diphosphate (GGPP)가 합성되는 과정에서 FPP synthase를 억제함으로써 궁극적으로 FPP와 GGPP 생성이 이루어지지 않게 한다. FPP와 GGPP는 단백질의 prenylation에 필요하며 대표적인 prenylation 단백질의 예는 GTPase로 알려져 있다. GTPase는 뼈파괴세포의 기능, 세포형태, 세포내 신호 전달, 소포체 수송 및 세포사 등에 관여한다. Zhang 등<sup>4)</sup>은 GTPase는 기능을 발현하기 위하여 prenylation이 선행되어야 하며 이 과정을 통하여 세포막에 결합하거나 다른 단백질과 상호 작용하게 된다. 따라서 bisphosphonate에 의하여 prenylation이 억제되면 뼈파괴세포의 기능장애가 초래되고 뼈 흡수가 이루어지지 않게 된다.

Vitte 등<sup>5)</sup>은 bisphosphonate가 뼈모세포에 작용함으로써 뼈모세포가 paracrine factor를 분비하여 간접적으로 뼈파괴세포에 영향을 미친다는 in vitro 실험보고도 많다. 하지만, Sahni 등<sup>6)</sup>은 현재까지 bisphosphonate의 뼈모세포에 대한 작용 기전이 뚜렷이 구명된 바 없으며, 뼈모세포에 대한 bisphosphonate 연구 대부분이 in vitro 체제를 이용하고 있어 생체에서 일어나는 복잡한 현상을 이해하는 데에는 한계가 있고, 사용한 모델 유형에 따라 결과가 상이하며 따라서 작용기전이 현재까지 적립되어 있지 않다. 본 연구는 토끼에 주입한 bisphosphonate가 bone graft시 상악동의 이식부위 치유과정에 미치는 영향에 대해서 육안적, 방사선적, 병리조직학적으로 규명하고자 한다.

## II. 연구 재료 및 방법

### 1. 연구 재료

2.4~2.5Kg의 뉴질랜드 산 수컷 가토 20마리를 사용하였으며 예비실험을 시행하여 가토의 상악동의 위치와 형태, 장골능의 위치를 확인하였다.

본 연구에 사용된 bisphosphonate제제는 zoledronate (ZOMETA 4mg/5ml, NOVARTIS)이었다. zoledronic acid는 2개의 질소 원자를 포함한 imidazole-ring을 가진 bisphosphonate 제제이다. 이는 혈청 단백질과 약 22% 정도 결합력이 있으며, 정맥주사 이후 1시간 내에 뼈와 신장으로 분포된다. 또한 24시간이 지나면 혈청 내 농도는 1% 이하로 감소하며, 37~41%는 소변으로 배설된다.

실험군 9마리의 토끼에서는 zoledronate를 주 1회 0.06mg/Kg (0.073cc/Kg)을 3주간 복강내로 자입하였고, 대조군에서는 9마리의 토끼에게 동일량의 생리식염수를 같은 방법으로 투여하였다.

### 2. 연구 방법

#### 1) 외과적 수술

약물 투여 1주 후에 토끼 장골에서 block bone을 토끼 상악동에 이식하였다. 케타민 (ketamine HCl Injection, 휴온스) 10mg/Kg과 2% Xylazine (Rompum, 유한양행) 2mg/Kg을 혼합하여 정맥주사하였다. 그 후 surgical site에 국소마취시키고 (1:100,000 에피네프린 함유 2% 리도카인, 유한양행) 외과적 수술을 시행하였다

가토 장골능을 찾아 절개후 근육 및 점막 조직 층별박리 후 장골을 노출시켜 trephine bur로 장골에서 bone을 채취하였고, 장골부위 봉합후 가토의 전두부에 3cm 정도의 수직 절개를 가해 층별 박리를 시행하였고, 골을 노출시킨 후 전두골 봉합선 1.5cm 측하방 5mm, 측방 5mm×10mm 정도의 골편을 제거하여 상악동의 전벽을 제거한 후 외과 큐렛을 사용하여 상악동 점막을 거상하였다. 이후 장골에서 얻어진 골을 분쇄하여 상악동에 이식하였다. 술후 감염방지를 위해 0.5cc antibiotic & 0.5cc analgesic을 1회/day×3day 투여하였다. 이후 1, 2, 4, 8주후 케타민과 CO<sub>2</sub>를 이용하여 희생시킨 후 해당부위 골을 채취하였다.

#### 2) 방사선적 평가

실험 주수별 채취한 골조직을 치과에서 사용하는 방사선 사진 (65kvp, 7.5mA, 0.25sec)의 조건하에 step wedge와 함께 촬영을 하였고, scion image program으로 step-wedge를 기준으로 흑화도를 측정하였다. Step-wedge는 0.03mm 두께에서 0.30mm까지 10단계로 0.03mm씩 두께가 증가하는 것을 이용하였다. 평가는 골이식 부위의 mean density로 측정하여 골 밀도 scion image program의 흑화도로 단순 평가하였다.

3) 병리조직학적 평가

실험군과 대조군에서 절제된 골조직의 육안 소견을 비교 조사한 다음 포르말린에 고정하였으며, 골조직이 함유된 경우 탈석회화 과정을 거친 후 일반적인 조직제작과정을 통해 H&E 염색을 실시하였다.

Ⅲ. 연구 결과

1. 육안적 소견

모든 실험 동물들은 상악동 골 이식후 체중감소 등의 별다른 이상소견 없이 건강하였으며, 염증 소견이나 창상 이개없이 잘 치유된 모습을 보였다. 토끼를 희생한 후 수술부위를 다시 노출시켰을 때, 1, 2주군에서는 숙주골과 부분적 분리를 보였으나, 4, 8주군에서는 주변 숙주골과 잘 융합되어 있었다.

2. 방사선적 소견

방사선적 평가에서 실험군과 대조군은 모두 시간이 경과할수록 골밀도가 증가하는 경향을 보였으나 두 군 사이의 뚜렷한 차이는 나타나지 않았다 (Fig. 2, Table 1).

3. 병리조직학적 소견

실험 1주 대조군에서는 이식골 부위에 섬유모세포의 증식이 현저하며, 일부에서 신생 골 형성이 나타나기 시작하였으나 염증반응은 미약하였다. 실험군에서는 이식골 부위에 섬유모세포의 증식과 함께 대조군에 비하여 현저한 신생골 형성이 관찰되었으며, 염증반응은 미약하였다(Fig. 3). 실험 2주 후 대조군에서는 이식골 부위에 섬유모세포의 증식 대신 신생골 형성이 주로 관찰되었고, 실험군에서는 이식골 부위에 신생골 형성이 현저하며, 성숙 골 조직으로 이행되고 있었다(Fig. 4). 실험 4주 후 대조군에서는 이식골 부위에 일부 신생 골이 잔존하나 성숙 골 조직으로 대체되고 있었고, 실험군에서는 이식골 부위가 성숙된 골 조직으로 대체되어 있었으며, 일부 골수 조직도 관찰되었다(Fig. 4) 실험 8주 후 대조군과 실험군 모두 이식골 부위가 성숙한 골 조직으로 대체되어 이식한 부위를 확인하기 어려웠다 (Fig. 4).

Table 1. Change of mean bone density by radiographic finding.

	1 week	2 weeks	4 weeks	8 weeks
Control group	135	145	160	165
Experimental group	137	148	162	168

Control group: normal saline injection

Experimental group: zoledronate (administrated bisphosphonate) administration

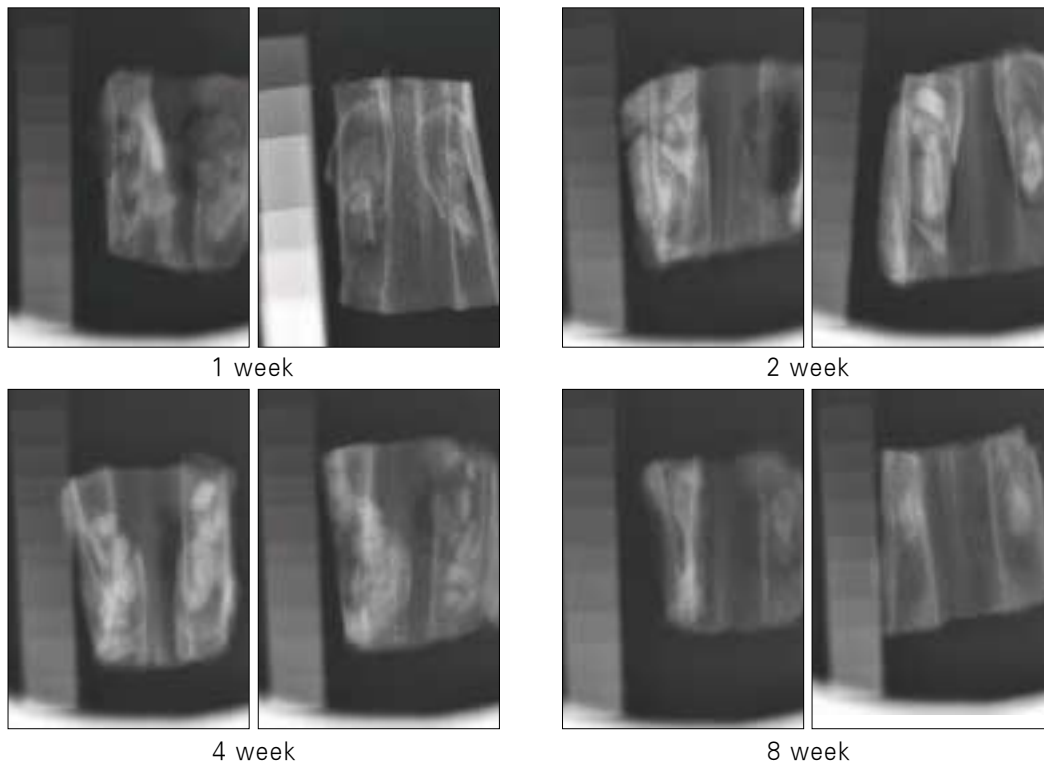
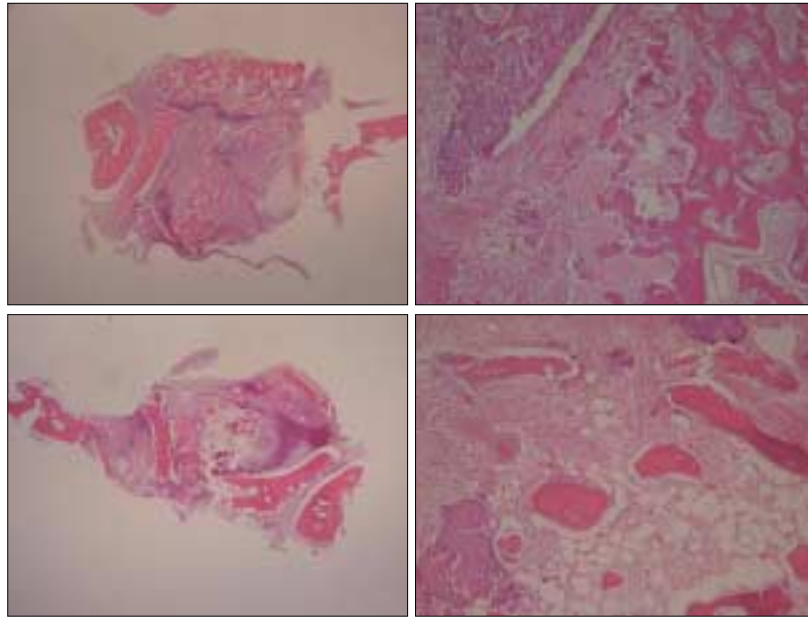
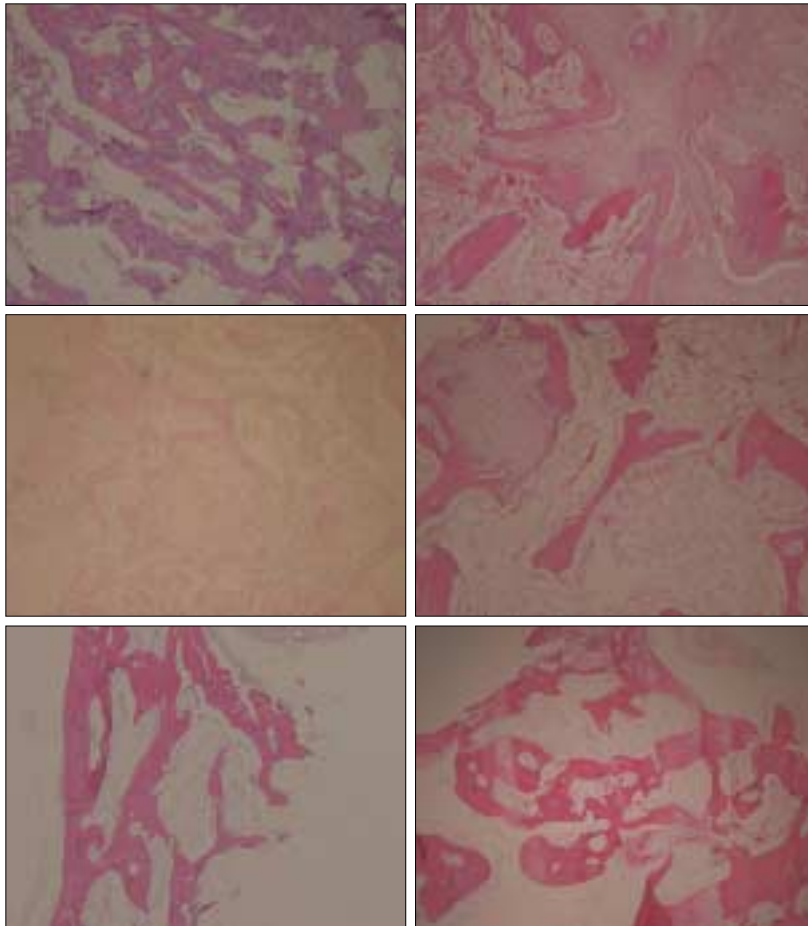


Fig. 2. Radiographic finding after 1, 2, 4, 8 weeks (left: experimental group, right: control group). There are no conspicuous differences between experimental and control groups.



**Fig. 3.** Microscopic finding of bone graft area after 1 week. More conspicuous new bone formation is noted in the experimental group (upper lane, Lt.  $\times 40$ , Rt.  $\times 100$ ), compared with control group (lower Lane, Lt.  $\times 40$ , Rt.  $\times 100$ ).



**Fig. 4.** Microscopic finding of bone graft area after 2 weeks (1st lane), 4 weeks (2nd lane) & 8 weeks (3rd lane). More conspicuous new bone formation is noted in the experimental group (Lt-sided,  $\times 40$ ), compared with control group (Rt-sided,  $\times 100$ ).

#### Ⅳ. 고 찰

골 조직의 생성과 흡수 기전이 현재까지 명확하게 밝혀지지 않았으나 뼈모세포와 뼈파괴세포의 작용에 의하여 끊임없는 형태변화를 겪는다. 골 흡수과정은 단핵세포가 융합되어 다핵세포인 뼈파괴세포를 형성함으로써 시작되며, 성숙한 뼈파괴세포는 골 표면에 부착되어 부착 부위에 산성 미세환경을 조성하여 광물질을 제거한다.

골 개조에 영향을 줄 수 있는 약제의 하나로서 Fleish 등<sup>7)</sup>에 의해 소개된 bisphosphonate는 뼈파괴세포에 의한 골흡수를 억제하는 작용이 있으며, 지속적인 개발에 의해 더욱 강력한 효과를 가진 제제가 소개되어 왔다. 현재 이들 약제는 paget's disease<sup>8)</sup>, 악성종양에 의한 hypercalcemia<sup>9)</sup>, 부갑상선기능항진증<sup>10)</sup>, 골다공증<sup>11)</sup>등의 치료에 사용되고 있으며, 치과분야에서도 치주질환에 의한 치조골 흡수억제<sup>12)</sup>와 교정치료시 고정원으로 사용되는 치아의 이동방지 및 교정후 재발방지등 임상적 적용 가능성에 대한 연구가 되고 있다<sup>13,14)</sup>.

Bisphosphonate에 의해 나타나는 골흡수 억제효과에 관한 기전은 여러 가지로 추정되고 있는데, Hughes 등<sup>15)</sup>은 조혈전구세포로부터 뼈파괴세포로의 분화를 억제하기 때문이라 하였고, Flanagan 등<sup>16)</sup>은 성숙한 뼈파괴세포의 활성을 억제하여 골흡수를 억제한다고 하였다. 또 Hughes 등<sup>17)</sup>은 뼈파괴세포의 apoptosis를 유도하기 때문이라 하였다.

그러나 bisphosphonate가 뼈모세포에 대한 작용을 통하여 뼈파괴세포에 간접적으로 작용하여 나타난다는 보고도 있다. Yu 등<sup>18)</sup>은 뼈모세포는 뼈흡수를 촉진하는 호르몬이나 cytokine의 효과를 중재하는 기능 외에 뼈흡수를 억제하는 물질의 작용을 중재하는 역할을 하고 있음이 제기되어 왔다. 즉, 뼈의 생리적 흡수는 뼈모세포와 뼈파괴세포의 상호작용에 의하여 이루어진다. Vitte 등<sup>9)</sup>은 CRP 10/30 뼈모세포를 이용한 실험에서 bisphosphonate의 뼈 흡수 억제 작용에 대한 효과는 부분적으로 뼈모세포에 의하여 이루어짐을 보고하였다. 또한 Nishikawa 등<sup>19)</sup>은 시험관내에서 bisphosphonate로 뼈모세포를 전 처리한 후 뼈파괴세포와 함께 배양하면 뼈파괴세포의 흡수작용이 억제되고, 시험관내의 약물 역가와 생체에서의 뼈 흡수 억제능이 일치하며 이 결과는 bisphosphonate가 뼈모세포에 작용하여 뼈 흡수를 억제하는 기전을 밝히고자 하였으며, 뼈 흡수를 촉진하는 인자의 형성을 억제하거나 뼈 흡수를 억제하는 인자의 형성을 촉진하는 인자의 형성을 억제하거나 뼈 흡수를 억제하는 인자의 형성을 촉진한다는 가정 아래 진행하였다. 또한 Shani 등<sup>20)</sup>은 골흡수를 억제하는 bisphosphonate의 효과는 뼈파괴세포를 직접 억제하기 보다는 뼈모세포에 대한 영향으로 인하여 간접적으로 나타나는 효과라고 하였다. 또 bisphosphonate는 조골세포 자체의 분화 및 기능에도 영향을 줄 수 있는 바, Schenk 등<sup>21)</sup>은 쥐에 HEBP를 장기간 투여시 골조직의 골석회화를 억제한다고 하였고,

Tenenbaum 등<sup>22)</sup>은 HEBP는 가역적으로 골석회화를 억제한 반면 APD는 저용량에서 골석회화를 촉진할 수 있다고 하였다.

Brunsvold 등<sup>23)</sup>은 2세대의 BPs의 효과에 대해서 원숭이 치주적 실험을 시행하였는데, 0.005mg/kg의 용량은 치주염을 지연시킨다고 하였으나 과량 투여는 효과가 없다고 하였다. O'uchi 등<sup>24)</sup>은 BPs의 3세대인 YM175를 1.0mg/kg/day, 5day/week의 투여시 대조군과 비교해서 2주 뒤 47%, 25주 뒤 31%의 뼈높이의 감소를 방해하였다고 보고하였다. Burcu 등<sup>25)</sup>은 쥐에게 risedronate를 3주동안 0.5mg/kg/week 투여시 눈에 띄는 치주적으로 치조골 흡수를 막아줬다고 보고하였다.

최근 골다공증의 복용과 관련된 BRONJ (bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw)가 치과적으로 이슈가 되고 있어 bisphosphonate의 부정적인 측면이 부각되고 있는 실정이다. Bisphosphonates을 투여 받는 환자에서의 골 괴사의 잠재적인 위험성은 장기간 투여를 받고, 정맥 내 투여 받으며, 치아나 치조골에 대한 외과적 처치를 시행한 경우에 발생율이 높게 나타난다. 구강이 외과적 처치 후 골 노출을 쉽게 보이나 정상 세균 총이 존재함에도 합병증이 없이 쉽게 치유되지만, 어떤 약물의 사용, 전신적 쇠약의 경우 치유능력이나 혈관공급이 떨어져, 치유를 지연시켜 골 노출 및 골수염으로의 진행을 쉽게 한다.

정맥 내로 투여되는 약제 중 Zoledronic acid는 강력한 골전이억제, 골 흡수억제를 나타내는 반면 구강 내에서 합병증의 발생률도 높게 나타내고 있다. 이 약제의 사용 후 많은 증례의 합병증이 보고되고 있다<sup>26)</sup>. 발치나 치조골관련 수술과 무관하게 자발적으로 골의 노출과 골 괴사로의 이행이 많은 경우에서 보고 되고 있어 이 약제의 사용 후 골을 둘러싸고 있는 치주조직, 연조직과 골 막에 대한 이 약제의 작용이 연구되고 있다<sup>27)</sup>.

이에 본 연구는 적정 치료 용량의 zoledronate(0.06mg/Kg (0.073cc/Kg)을 주 1회 \* 3 토끼에게 주사하여 장골에서 뼈를 채취하여 상악동에 이식하였다. 이후 1, 2, 4, 8주 후 상악동에서 골채취후 방사선검사와 병리조직학적 검사를 시행하였다. 단기간에 치료용량으로 투여된 bisphosphonate에 의해 육안 소견상 bisphosphonate 투여한 토끼와 투여하지 않은 토끼와의 차이점은 없었고 방사선적 검사에서도 두 군 간 흑화도의 특별한 차이점을 알 수 없었다. 이는 이식된 부정확한 장골양의 측정과 밀정농도의 이상의 bone density가 방사선 사진상 불투과성 특성으로 기인한 것으로 본다. 하지만 병리조직학적인 소견상 차이를 보였는데, bisphosphonate를 투여한 토끼의 상악동 골이식부에서 1주 경과 후에 신생 골 형성이 대조군보다 빨리, 뚜렷하게 나타났고, 2주와 4주 후에는 골 성숙이 현저하게 나타났다. 따라서 단기간 치료용량으로 bisphosphonate를 투여하면 골 이식 부위의 골 치유반응이 빠르다는 것을 알 수 있었다.

## V. 결 론

Bisphosphonate를 주 1회 0.06mg/kg을 3주간 투여한 토끼에게서 골 이식을 시행한 후 이식부 치유과정에 미치는 영향을 방사선적 및 병리조직학적 평가를 한 결과, 병리조직학적으로 bisphosphonate를 투여한 토끼의 상악동 이식부위에서 신생 골형성 및 골성숙소견이 더 높은 것으로 나타났으나 방사선적으로 bisphosphonate를 투여한 토끼의 이식부위 골밀도와 투여하지 않은 토끼의 이식부위 골밀도와는 크게 다르지 않았다.

L.E. Bilston 등<sup>28)</sup>은 bisphosphonate가 Distraction Osteogenesis시 골재생에 좋은 효과가 나타난다고 보고하였고, A. Alper 등<sup>29)</sup>도 Zoledronic acid를 투여한 토끼가 Distraction Osteogenesis시 신생골 형성에 좋은 효과가 나타났다고 보고하였다. 요약하면 bisphosphonate를 단기간 치료 용량으로 사용할 경우 골 치유 반응에 작용해 빠른 치유 과정이 나타난다는 것을 알 수 있었다. 따라서 향후 bisphosphonate의 조골, 파골세포의 미치는 영향을 추가한다면 치과분야 치주질환에 의한 치조골 흡수억제와 교정치료시 교정원으로 사용되는 치아의 이동방지 및 교정후 재발방지 등 임상적 적용에 대한 연구에 도움이 될 것이다.

## 참고문헌

- Grynblas MD, Acito A, Dimitriu M, Mertz BP, Very JM. Changes in bone mineralization, architecture and mechanical properties due to long-term (1 year) administration of pamidronate (APD) to adult dogs. *Osteoporos Int* 2002; 12:74-81.
- Alakangas A, Selander K, Mulari M, Halleen J. Aledronate disturbs vesicular trafficking in osteoclasts. *Calcif Tissue Int* 2002; 70:40-7.
- Luckman SP, Hughes DE, Coxon FP. Nitrogen-containing bisphosphonates inhibit the mevalonate pathway and prevent post-translational prenylation of GTP-binding proteins, including Ras. *J Bone Miner Res* 1998;13:581-9.
- Zhang FL, Casey PJ. Protein prenylation : molecular mechanism and functional sequences. *Annu Rev Biochem* 1996;65:241-69.
- Vitte C, Fleisch. Bisphosphonates induce osteoblasts to secrete an inhibitor of osteoclast-mediated resorption. *Endocrinology* 1996;137:2324-33.
- Sahni M, Guenther HL, Fleisch. Bisphosphonates act on rat bone resorption through the medication of osteoblasts. *J Clin Invest* 1993;91:2004-11.
- Fleisch H, Russel RGG, Bisaz S et al. The influence of pyrophosphate analogues (diphosphonates) on the precipitation and dissolution of calcium phosphate in vitro and in vivo. *Calcif Tissue Res, Suppl* 1968;2:10-10A.
- Audran M, Clochon P. Treatment of Paget's disease of bone with (4-chlorophenyl) thiomethylene bisphosphonate. *Clin Rheumatol* 1989;8:71-9.
- Adami S, Bolzicco GP. The use dichloromethylene bisphosphonate and aminobutane bisphosphonate in hypercalcemia of malignancy. *Bone Miner* 1987;2:395-404.
- Schmidli RS, Wilson I. Aminopropylidene bisphosphonate (APD) in mild primary hyperparathyroidism : effect on clinical status. *Clin Endocrinol* 1990;32:293-300.
- Passeri M, Baroni MC. Intermittent treatment with intravenous 4-amino-1-hydroxybutylidene-1, 1-bisphosphonate (AHBuBP) in the therapy of postmenopausal osteoporosis. *Bone Miner* 1991; 15:237-48.
- Shoji K, Horiuchi H. Inhibitory effects of a bisphosphonate (residronate) on experimental periodontitis in rats. *J periodontol Res* 1995;30:277-84.
- Adachi H, Igarashi K. Effects of topical administration of a bisphosphonate (risedronate) on orthodontic tooth movements in rat. *J Dent Res* 1994;73:1478-84.
- Igarashi K, Mitani H. Anchorage and retentive effects of a bisphosphonate (AHBuBP) on tooth movements in rat. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1994;106:279-89.
- Hughes DW. Inhibition of osteoclast-like cell formation by bisphosphonate in long-term cultures of human bone marrow. *J Clin Invest* 1989; 83:1930-5.
- Cocchini MG, Fleisch H. Bisphosphonate in vitro specifically inhibit, among the hematopoietic series, the development of the mouse mononuclear phagocyte lineage. *J Bone Miner Res* 1990; 5:1019-27.
- Hughes DE, Wright KR. Bisphosphonate promote apoptosis in murine osteoclasts in vitro and in vivo. *J Bone Miner Res* 1995; 10:1478-87.
- Yu X, Scholler J. Pretreatment of an osteoblastic like cell line with bisphosphonates inhibits its PTH-stimulated induction of osteoclastic bone resorption. *J Bone Miner Res [Suppl 1]* 1994; 9:S232(abstract).
- Nakagawa N, Yasuda H. Basic fibroblast growth factor induces osteoclast formation by reciprocally regulating the production of osteoclast differentiation factor and osteoclastogenesis inhibitory factor in mouse osteoblastic cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;265:158-63.
- Sahni M, Grunther HL. Bisphosphonates act on Rat bone resorption through the medication of osteoblast. *J Clin Invest* 1993; 91:2004-11.
- Schenk R, Merz WA. Effect of EHDP and Cl2MDP on the calcification and resorption of cartilage and bone in the tibial epiphysis and metaphysics of rat. *Calcif Tissue Res* 1973;11:196-214.
- Tenenbaum HC, Torontail M. Effect of Bisphosphonates and Inorganic Pyrophosphate on osteogenesis in vitro. *Bone* 1992; 13:249-55.
- Brunsvold MA. Effect of a bisphosphonate on experimental periodontitis in monkeys. *J Periodontol* 1992;63:825-30.
- O'uchi N, Nishikawa H. Inhibitory effects of YM175, a bisphosphonate, on the progression of experimental periodontitis in beagle dogs. *J Periodontal Res* 1998;33:196-204.
- Burcu OC, Gonca CK. Effect of risedronate on alveolar bone loss and angiogenesis: a stereologic study in rat. *J. Periodontol* 2008; 79:1955-9.
- American Association of Oral and Maxillofacial surgeon. Position Paper on Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the jaw-2009 Update 4 page.
- Regina Landesberg. Inhibition of oral mucosa cell wound healing by bisphosphonates, *J. oral and maxillofacial surgery* 2008;66: 839-7.
- A. Alper. Experimental evaluation of the effects of zoledronic acid on regenerate bone formation and osteoporosis in mandibular DO, *J. oral and maxillofacial surgery* 2006;64:1232-6.
- L.E. Bilston. Zoledronic acid improves the mechanical properties of normal and healing bone. *Clin Biomech* 2002;17:716.