

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**DENEYSEL KEMİK DEFEKTLERİNDE UYGULANAN
KARBON KÖPÜK VE 810 NM LASER'İN İYİLEŞME ÜZERİNE
OLAN ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK
İNCELENMESİ**

ZEYNEP SEVÜK

**DANIŞMAN
PROF. DR. İ. HAKAN ÖZYUVACI**

**AĞIZ,DIŞ,ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI
AĞIZ,DIŞ,ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ
PROGRAMI**

İSTANBUL-2011

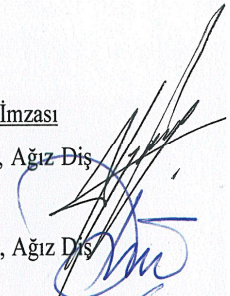
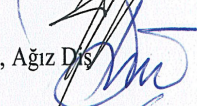
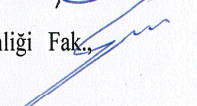

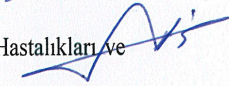
TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Programında Zeynep Sevük tarafından hazırlanan Deneysel kemik defektlerinde uygulanan karbon köpük ve 810 nm laser'in iyileşme üzerine olan etkilerinin histopatolojik olarak incelenmesi başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

01 / 07 / 2011

Tez Sınav Jürisi

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

- 1.Prof. Dr. İ. Hakan Özyuvacı (Tez Danışmanı), İstanbul Üniv., Diş Hekimliği Fak., Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi ABD. 
- 2.Prof. Dr. R. Deniz Fırat (Tez İzleme Komitesi), İstanbul Üniv., Diş Hekimliği Fak., Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi ABD. 
- 3.Prof. Dr. Erhan Fıratlı (Tez İzleme Komitesi), İstanbul Üniv., Diş Hekimliği Fak., Periodontoloji ABD. 
- 4.Prof. Dr. Bilge Bilgiç, İstanbul Üniv., Tıp Fakültesi, Patoloji ABD. 
- 5.Prof. Dr. Kamil Göker, Marmara Üniv., Diş Hekimliği Fak., Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi ABD. 

BEYAN

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

Zeynep Sevük



İTHAF

Anneme ve Babama ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgisini, yardımını, desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Hakan Özyuvacı'ya,

Tez bulgularımın değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen, tezimin her aşamasında bilgilerine danıştığım İ.Ü Tıp Fakültesi Patoloji A.D Öğretim üyesi değerli hocam Prof. Dr. Bilge Bilgiç'e,

Çalışmamın gereç bölümünde desteklerinden dolayı Unimed Ltd. Şirketi'ne, Enver Atalı'ya,

Deneyletim süresince özveriyle yardım eden DETAE çalışanlarına,

Tezimin histopatolojik preparatlarının hazırlanmasında yardımlarından dolayı Zürih Üniversitesi öğretim üyelerinden sayın Prof. Dr. Mutlu Özcan'a, Mehmet Ali Doğan'a, Selime Filiz'e, Necati Üzüm'e,

Tez çalışmamın çeşitli aşamalarında emeği geçen çok sevdiğim çalışma arkadaşlarıma,

Doktora eğitimim boyunca dostluklarıyla yanımda olan arkadaşlarım Deniz Işık'a, Ezgi Gülüm'e, Gizem Gülgezen'e, Anla Akata'ya,

Hayatım boyunca her zaman destek olan, fedakarlığını esirgemeyen annem Lamia Sevük'e ve babam Çetin Sevük'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2616

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
BEYAN	İİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİİ
ÖZET	XİV
ABSTRACT.....	XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ	16
2. GENEL BİLGİLER.....	18
2.1. Kemik.....	18
2.1.1. Kemiğin makroskopik ve mikroskopik yapısı:.....	18
2.1.2. Kemiğin hücresel yapısı:	19
2.1.2.1. Osteoblast:	20
2.1.2.2. Osteosit:	20
2.1.2.3. Osteoklast:	21
2.1.3. Kemiğin gelişimi:.....	21
2.1.3.1. İntramembranöz kemikleşme:.....	22
2.1.3.2. Endokondral kemikleşme:	22
2.1.4. Kemik defekti iyileşmesi:.....	23
2.1.4.1. Primer kemik iyileşmesi:	23
2.1.4.2. Sekonder kemik iyileşmesi:	23
2.2. LASER:.....	26
2.2.1. LASER'in tarihçesi:	26
2.2.2. Işık:.....	27
2.2.3. Absorpsiyon ve spontan emisyon:	27
2.2.4. Uyarılmış emisyon:	28
2.2.5. LASER ışınının özellikleri:	29
2.2.6. LASER enerjisinin oluşumu:.....	30

2.3. LASER'lerin sınıflandırılması:	31
2.3.1. Diyet LASER'ler:	32
2.4. LASER'in diş hekimliğinde kullanımı:	33
2.5. Işık ve doku:.....	34
2.5.1. LASER'in biyolojik dokulardaki etki mekanizmaları:	36
2.6. Düşük düzeyli LASER terapisi (DDLDT):.....	37
2.6.1. Hücre içerisinde glikoliz ve oksidatif fosforilasyon:	38
2.6.2. DDLDT'nin etki mekanizması:	39
2.6.2.1. Primer reaksiyonlar:	39
2.6.2.2. Sekonder reaksiyonlar:	41
2.6.2.3. Tersiyer reaksiyonlar:	42
2.6.3. DDLDT'nin kemik dokusu üzerine etkileri:	43
2.7. Kemik greftleri:	48
2.8. Karbon köpük:	51
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	54
3.1. GEREÇ:	54
3.2. YÖNTEM:.....	54
3.2.1. Deney hayvanları ve grupları:	54
3.2.2. Ana gruplar ve alt grupları:	55
3.2.3. Graft materyalinin hazırlanması:	56
3.2.4. Cerrahi protokol:.....	57
3.2.5. Postoperatif DDLDT uygulaması:	61
3.2.6. Histopatolojik değerlendirme:	62
4. BULGULAR.....	66
4.1. Histopatolojik bulgular:	66
4.1.1. Kontrol grubu:	66
4.1.2. LASER Grubu:	71
4.1.3. Graft Grubu.....	76
4.1.4. Graft + LASER Grubu	80
4.2. Histopatolojik bulguların istatistiksel değerlendirmesi:	85
4.2.1. Yeni kemik yapım alanlarının değerlendirilmesi:.....	85
4.2.2. Yeni oluşan kemiğin niteliğinin değerlendirilmesi:.....	88
4.2.3. Fibrozisin değerlendirilmesi	91

4.2.4. Damarlanmanın değerlendirilmesi:.....	94
4.2.5. İltihabın değerlendirilmesi:	97
5. TARTIŞMA	99
KAYNAKLAR	109
HAM VERİLER.....	109
FORMLAR.....	119
ETİK KURUL KARARI.....	120
PATENT HAKKI İZİNİ.....	121
TELİF HAKKI İZİNİ	122
ÖZGEÇMİŞ.....	123

TABLolar LİSTESİ

Tablo 4-1: Günlere göre yeni kemik yapım alanlarının gruplar arasında karşılaştırılması	85
Tablo 4-2: Yeni kemik yapım alanlarının günlere ve gruplara göre dağılımının grafik olarak karşılaştırılması.....	87
Tablo 4-3: Günlere göre yeni oluşan kemiğin niteliğinin gruplar arasında karşılaştırılması	88
Tablo 4-4: Yeni oluşan kemiğin niteliğinin gruplara ve günlere dağılımının grafik olarak karşılaştırılması	90
Tablo 4-5: Günlere göre fibrozisin gruplar arasında karşılaştırılması	91
Tablo 4-6: Fibrozisin gruplara ve günlere dağılımının grafik olarak karşılaştırılması ...	93
Tablo 4-7: Günlere göre damarlanmanın gruplar arasında karşılaştırılması	94
Tablo 4-8: Damarlanmanın gruplara ve günlere dağılımının grafik olarak karşılaştırılması	96
Tablo 4-9: Gruplara göre iltihap görülme oranlarının değerlendirilmesi	97
Tablo 4-10: İltihabın gruplara ve günlere dağılımının grafik olarak karşılaştırılması....	98

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: LASER ortamı	31
Şekil 2-2: Elektromanyetik spektrumda LASER dalga boyları	32
Şekil 2-3: Işık ve doku	35
Şekil 2-4: Bazı moleküllerin çeşitli dalga boylarına göre absorpsiyon katsayıları	36
Şekil 2-5: Glikoliz ve oksidatif fosforilasyon	38
Şekil 2-6: Hücre membranında elektron taşınması	39
Şekil 3-1: Karbon köpük bloğu	57
Şekil 3-2: Laboratuvar eleği	57
Şekil 3-3: Longitudinal cilt disseksiyonu	58
Şekil 3-4: Tibianın medial yüzeyi	58
Şekil 3-5: Serum fizyolojik irrigasyonu altında kemik defekti açılması	59
Şekil 3-6: Karbon greft materyali	60
Şekil 3-7: Defektin içerisindeki greft materyali	60
Şekil 3-8: Defekt bölgesinin 3,0 dikişle kapatılması	61
Şekil 3-9: Lasersmile Diyet LASER cihazı	62
Şekil 3-10: Postoperatif DDLT uygulaması	62
Şekil 4-1: 7. gün kontrol grubunda immatür ince trabeküler osteoid madde (Masson Trikrom x40)	66
Şekil 4-2: 7. gün kontrol grubunda kemik taslağı şeklinde kallus (HE x40)	67
Şekil 4-3: 14. gün kontrol grubunda defekt içerisinde periosttan başlayan yeni kemik oluşumu ve damarlanma (Masson Trikrom x40)	67
Şekil 4-4: 14. gün kontrol grubunda defekti dolduran ince kemik trabekülleri (HE x40)	68
Şekil 4-5: 21. gün kontrol grubunda kortikal kapanma başlangıcı (HE x40)	68
Şekil 4-6: 21. gün kontrol grubunda defektin içerisindeki meduller ve kortikal doku (HE x40)	69
Şekil 4-7: 30. gün kontrol grubunda defekt bölgesinde yoğun kemikleşme (HE x40)	69
Şekil 4-8: 30. gün kontrol grubunda defekt bölgesini tümüyle kapatan, çevreye göre daha ince kompakt kemik dokusu görülmektedir (HE x40)	70
Şekil 4-9: 60. gün kontrol grubunda kortikal nitelikte kemik oluşumu (HE x40)	70
Şekil 4-10: 7. gün LASER grubunda yeni oluşan kemik trabekülleri ve reaktif periost (Masson Trikrom x40)	72

Şekil 4-11: 7. gün LASER grubunda damardan zengin aktif bağ dokusu içerisinde yeni kemik trabekülleri (HE x40).....	72
Şekil 4-12: 14. gün LASER grubunda defekt uçlarından başlayan yeni kemik yapımı (Masson Trikrom x40).....	73
Şekil 4-13: 14. gün LASER grubunda anastomoz yapan trabeküller ve bu alanı dolduran medüller doku (HE x40).....	73
Şekil 4-14: 21. gün LASER grubunda kemikleşme alanları arasında bağ dokusu içinde çok sayıda damar kesiti görülmektedir (Masson Trikrom x40).....	74
Şekil 4-15: 21. gün LASER grubunda defekt içerisinde kortikal kapanma başlangıcı (HE x40).....	74
Şekil 4-16: 30. gün LASER grubunda defekt içerisindeki kortikal ve trabeküler onarım (Masson Trikrom x40).....	75
Şekil 4-17: 60. gün LASER grubunda defekt sınırı (HE x40).....	75
Şekil 4-18: 7. gün greft grubunda greft materyali arasında oluşmaya başlayan osteoid doku (Toluidin mavisi x40).....	77
Şekil 4-19: 14. gün greft grubunda defekt alanındaki greft materyali ve yeni kemik oluşumu (Toluidin mavisi x40).....	77
Şekil 4-20: 21. gün greft grubunda uygulanan greft materyali çevresindeki olgunlaşmaya başlamış kemik dokusu (Toluidin mavisi x40).....	78
Şekil 4-21: 30. gün greft grubunda defekti dolduran greft ve trabeküler kemik (Toluidin mavisi x40).....	78
Şekil 4-22: 60. gün greft grubunda defektin kemik dokusu ve greft materyali ile onarımı (Toluidin mavisi x100).....	79
Şekil 4-23: 7. gün greft+LASER grubunda greft materyaline komşu yeni kemik yapım alanı (Toluidin mavisi x100).....	81
Şekil 4-24: 14. gün greft+LASER grubunda uygulanan greft materyalinin defekt içindeki dağılımı (Toluidin mavisi x40).....	81
Şekil 4-25: 14. gün greft+LASER grubunda greft materyali arasında yeni gelişen kemik dokusu (Toluidin mavisi x100).....	82
Şekil 4-26: 21. gün greft+LASER grubunda defekti dolduran greft materyali ile birlikte trabeküler kemik (Toluidin mavisi x40).....	82
Şekil 4-27: 21. gün greft+LASER grubunda defekt sınırındaki kemikleşme (Toluidin mavisi x100).....	83

Şekil 4-28: 30. gün greft+LASER grubunda greft materyali ve yeni oluşan kemik (Toluidin mavisi x100).....	83
Şekil 4-29: 60. gün greft+LASER grubunda kortikal nitelikteki yeni kemik yapım alanı (Toluidin mavisi x100).....	84

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ADP:	Adenozin difosfat
ALP:	Alkalin fosfataz
ATP:	Adenozin trifosfat
BMP:	Bone morphogenic protein
CHA:	Kalsiyum hidroksilapatit
CO₂:	Karbon dioksit
DDLT:	Düşük düzeyli LASER terapisi
Er:Cr:YSGG:	Erbiyum,chromium:yttrium selenium gallium garnet
GaAs:	Gallium arsenide
HeNe:	Hellium neon
LED:	Light emitting diode
NADH:	Nikotinamit adenin dinükleotit
Nd:YAG:	Neodymium-doped yttrium aluminium garnet
PTH:	Parathormon
TGF-β:	Transforming growth factor beta
TME:	Temporomandibuler eklem

ÖZET

Sevük Z. Deneysel kemik defektlerinde uygulanan karbon köpük ve 810 nm LASER'in iyileşme üzerine olan etkilerinin histopatolojik olarak incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız, Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2011

Çalışmamızın amacı: Sıçan tibialarında deneysel olarak oluşturulan kemik defektlerine karbon köpükten elde edilen parçacıklar yerleştirilmiş ve postoperatif 1., 3. ve 7. günlerde 810 nm GaAlAs düşük dozlu LASER uygulanmıştır. Bu uygulamanın, kemik iyileşme sürecine etkilerinin histopatolojik yöntemlerle incelenmesi amaçlanmıştır.

150 adet Wistar Albino cinsi 250 ± 20 g ağırlığında 10-12 haftalık erkek sıçan, dört ana gruba ayrıldı: LASER, greft, greft+LASER, kontrol. Çalışmamızda etik kurallara uygunluk açısından, deneyde kullanılan sıçanların sağ tibialarında açılan defektler deney gruplarını, sol tibiaları ise kontrol grubunu oluşturmaktadır. Her uygulamada dalga boyu 810 nm 2 cm^2 alana 0,5 W çıkış gücüyle 40 sn. ve 10 J/cm^2 dozda enerji verilmiştir. LASER uygulaması, günlük aynı saatlerde olmak üzere 1., 3. ve 7. günlerde insizyon hattı hedef alınarak yapılmıştır. Çalışmamızda, histopatolojik inceleme için örnekler 7, 14, 21, 30 ve 60. günlerde alınmıştır.

Histopatolojik değerlendirmede, 14. gün yeni kemik yapım alanları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0,05$). LASER grubunun 14. gün yeni kemik yapım alanınının, Greft+LASER grubundan anlamlı şekilde fazla olduğu saptanmıştır ($p:0,048$). 21. günde ise LASER grubunun yeni kemik yapım alanları, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha fazladır ($p:0,031$). Yeni kemik yapım alanlarının niteliği, fibrozis, damarlanma ve iltihap değerlendirildiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Bu bulgular ışığında DDLT, erken dönem kemik iyileşmesini olumlu yönde etkilemektedir. Aynı zamanda karbon köpük biyomateryalinin, biyouyumlu olması ve osteoindüktif özelliklerinden dolayı kemik defektlerinin onarımında kullanılabileceğini fakat bu konuda daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler : DDLT, karbon köpük greft materyali, sıçan, kemik

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2616

ABSTRACT

Sevük Z. Histopathological examination of the effect of 810 nm low-level LASER therapy on the repair of rat tibia bone defects grafted with carbon foam bone graft material.

The aim of this study was to assess histopathologically the effect of 810 nm LLLT on the repair of standardized bone defects on the tibia of rats which were grafted with carbon foam. 150 young adult healthy male Wistar albino rats (weight 250 ± 20 g) rats divided into four groups receiving following treatments: LASER, graft, graft+LASER, control. The defect has been created in right tibia and the other tibia serves as control group. The laser therapy (810 nm, 0,5 W, 40 sec) consisted of 10 J/cm^2 per session around the defect. The animals were sacrificed at 7, 14, 21, 30, 60 days after surgery. The results showed histological evidence of increased deposition of bone matrix on the 14th day and during the same period, the bone volume was greater at the LASER group compared with graft+LASER group ($p: 0,048$). A significant difference ($p: 0,031$) in the volume of newly formed bone was observed between the LASER group and control group. They were no significant differences between the groups, concerning the quality of the new bone areas, fibrosis, vascularisation and inflammation. The results demonstrated that LLLT stimulated osteogenesis during the initial stages of the healing process in a tibial defect of the rat. The carbon foam bone graft material is found to be biocompatible and osteoinductive, but its impact on bone defect repair needs further investigations.

Key Words: LLLT, carbon foam graft material, rat, bone

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 2616

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kemik kayıpları çeşitli fizyolojik veya patolojik durumlardan dolayı meydana gelebilir. Fizyolojik kayıplar çoğunlukla yaşlanma sonucu ortaya çıkar. Cerrahi işlemler veya patolojik dokunun çıkartılması sonucu meydana gelen kayıplarda ise fizyolojik tamir devreye girer. Bu iyileşme sürecini yaş, beslenme, hormonlar, vitaminler, lokal kanlanma gibi faktörler etkileyebilir veya defekt, fizyolojik tamire izin vermeyecek kadar büyük olabilir. Kemik iyileşmesi, morfoloji ve kompozisyonundan dolayı yumuşak dokuların iyileşmesinden daha uzun zaman alır. Bu süreci hızlandırmak amacıyla kimyasal uyarılar, biyomateryaller, kemik morfojenetik proteinleri, ultrason, elektromanyetik alanlar ve son zamanlarda LASER terapisi uygulanmıştır (46, 60, 62).

Kemik yaşam boyunca tekrar oluşma ve şekillenme yeteneğine sahiptir. Buna rağmen klinik açıdan baktığımızda bazı kemik defektlerinin kendiliğinden iyileşmediği durumlar olabilmektedir. Bu durum genellikle travma, kemik anomalileri, enfeksiyon, kist veya tümör rezeksiyonundan kaynaklanabilir. Kemik iyileşmesini sağlayabilmek için defektin onarılması çene cerrahisinde sıklıkla başvurulan bir yöntemdir. Otojen ve allojen kemik greftlerinin getirdiği problemler gözönünde bulundurularak, sentetik olarak üretilen organik veya inorganik materyaller kullanıma sunulmuştur. Turgut ve ark., antijenik özelliği olmayan, uzun süre saklanabilen, istenilen miktarda elde edilebilen ve üretimi ucuz olan karbon köpüğün, kemik greft materyali olarak kullanılabileceğini ileri süren araştırmalar yapmışlardır (83).

Biyomateryal uygulamasından sonra kemikte görülen iyileşme süreci ile kemik kırığının iyileşmesi birbirleriyle benzerlik göstermektedir. Deneysel ve klinik olarak yapılan çalışmalarda düşük düzeyli LASER terapisi (DDL) sonucunda osteogenezisin uyarıldığı ve kırık konsolidasyon zamanını azaldığı görülmüştür. Işık, yüzyıllardır terapötik bir ajan olarak kullanılmaktadır. Eski Yunan tarihinde güneş ışığı, tedavi amacı ile kullanılırken, Çinliler, raşizm, cilt kanseri ve hatta psikoza tedavisinde güneş ışığını kullanmışlardır. 20. yüzyılda LASER'in bilimsel olarak icat edilmesinden sonra 1960'ta Mester'in yaptığı bir dizi çalışma sonucu biyostimülatif etki kanıtlanmıştır (10, 57, 67).

LASER'in biyostimülasyon etkisi çeşitli teorilerle açıklanmaya çalışılmıştır. Bu teorilerden en çok kabul göreni, mitokondride solunum zincirini ve adenozin trifosfat (ATP) sentezini arttırmasıdır. Yapılan birçok çalışma sonucu; LASER ışığının antiinflamatuvar, biyostimülan ve yara iyileştirici etkileri, hücre çoğalması ve dokudaki damarlanmanın artmasına bağlanmıştır. LASER terapisi alanında birçok çalışma vardır. Bu çalışmaların çoğunda LASER'in olumlu etkileri gözlemlenirken henüz standart bir tedavi protokolü belirlenememiştir (50, 70).

İstenilen klinik etkiyi sağlamak için dikkat edilmesi gereken en önemli konu verilen enerji miktarıdır. Bu enerji, LASER'in dalga boyu, frekansı, kullanım modu ve dozu gibi teknik parametrelerin yanı sıra; hedef doku ve bu dokunun su, hemoglobin, pigment içeriklerine bağlı olarak da değişmektedir (50, 68).

Çalışmamızda, sıçan tibialarında deneysel olarak oluşturulan kemik defektlerine karbon köpükten elde edilen parçacıkların yerleştirilmesini takiben, postoperatif 1., 3. ve 7. günlerde uygulanan 810 nm GaAlAs düşük dozlu LASER terapisinin kemik iyileşme sürecine etkilerini histopatolojik yöntemlerle incelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik

2.1.1. Kemiğin makroskopik ve mikroskopik yapısı:

Kemik, organik ve inorganik komponentleri olan özelleşmiş bir bağ dokusudur. Bütün bağ dokuları gibi tipik olarak hücreler, lifler ve hücre dışı materyal yani matriksten oluşur. Makroskopik olarak incelendiğinde, gözenekli yapısının değişkenlik göstermesi iki tip kemik dokusunu ortaya koyar: Kompakt kemik ve trabeküler kemik. (82).

Kompakt kemik Havers sistemi adı verilen birçok silindir şekilli yapısal ünitelerden oluşur. Her sistem, kemikte uzunlamasına yol alan bir kanal etrafını çevreler. Bu ünitelerdeki canlı kemik hücreleri birbirine yapışarak kompakt kemiğin çerçevesini oluşturur. Havers sisteminin benzersiz yapısı sayesinde besinlerin ve atık ürünlerin dağıtılmasına izin verilir. Uzunlamasına yol alan Havers kanalları birbirine Volkman kanallarıyla bağlıdır. Aralarında bağlantı olan bu kanallarda, kemiğin dış yüzeyinden osteonlara kan ve lenf taşıyan damarlar bulunur. Havers ve Volkman kanalları kemik doku içerisinde % 5-10 gözenekli yapıyı oluşturur. Bu tür kemik yassı kemiklerin dış yüzeyinde veya uzun kemiklerin diafizinde görülür (16,58, 82).

Kansellöz, trabeküler veya süngerimsi kemik, mikroskopik olarak kompakt kemikten farklıdır. Kansellöz kemikte osteonlar yoktur. Bunun yerine trabekül adı verilen iğneye benzer kemik yapısı mevcuttur. Kemik hücreleri trabeküllerin içinde bulunur. Besinler ve atık ürünler ufak kanalcıklardan diffüzyon yoluyla taşınır. Yüksek oranda gözenekli yapıya sahip kansellöz kemik, genellikle yassı kemikler veya uzun kemiklerin epifizinde bulunur. Gözeneklerin içi kan damarları, sinirler ve çeşitli hücreleri içeren kemik iliği ile doludur. Kemik matriksi tabakalar halinde bulunur ve bu tabakalar yer yer dikey olarak sıralanırlar, bazı yerlerde ise rastgele dizilmişlerdir. Kemik iliği, kan hücresi üretimi yaptığı zamanlarda mezenkimal kök hücrelerin depolandığı yer olması nedeniyle kırmızı görünür. Yaşın ilerlemesiyle birlikte bu ilik kavitesi sarı yağ dokusu ile yer değiştirir ve yağ deposu olarak kullanılır. Süngerimsi kemikteki trabekül dizilimi ilk bakışta rastgele gibi görünür ama organize bir şekilde dizilmiştir. İğne şeklindeki bu kemik, stres çizgileri boyunca düzenlenmiştir ve uygulanan kuvvetin doğası ve büyüklüğüne göre her kemikte farklı şekildedirler. Bu

özellik kemiğin dayanıklılığını artırır ve yapı ile fonksiyon arasındaki ilişki için güzel bir örnektir (16,58, 82).

Kemiğin eklem yüzeyleri haricinde iç ve dış yüzeyi, tabakalar halinde dizilmiş olan osteoprogenitör hücreler ve bağ dokusu ile döşelidir. Periost, kemiği yumuşak dokulardan ayıran bir bariyer gibidir. Sharpey fibrilleri adı verilen kollajen lif demetleri ile kemiğe bağlıdır. Daha iç tabakada ise embriyonik dönemde osteoblastlardan oluşan, erişkin bireylerde ise herhangi bir yaralanmaya cevap verebilecek olan osteoprogenitör hücrelerin bulunduğu kambiyum tabakası bulunur. Endosteum ise kemiğin iç yüzeyini döşeyen tek katlı yassı osteoprogenitör hücrelerden oluşur. Her iki tabaka da kemiğin beslenmesini ve onarımını sağlar (35, 58, 85).

Mikroskopik olarak incelendiğinde kemik, kollajen liflerin dizilim yönlerine göre primer ve sekonder olmak üzere iki tiptir. Primer kemik, embriyonik dönemde ve kırık durumunda ilk meydana gelen kemik dokusudur. Erişkinde ise kırık onarımında, Paget hastalığı, renal osteodistrofi, hiperparatiroidizm, florozis gibi kemik patolojilerindeki gibi hızlanmış bir kemik yapımının gerektiği durumlarda tekrar ortaya çıkar. Kollajen lifler rastgele dizilmiş olup osteosit sayısı fazla ve mineral içeriği azdır, dolayısıyla x-ışınını daha kolay geçirir. Sekonder kemik ise erişkinlerde görülür ve yapısında 3-5 µm genişliğinde paralel kollajen lifler bulunur. Kan damarları, sinirler ve gevşek bağ dokusunun bulunduğu merkez bir kanalın etrafında, düzgün ve paralel olarak yerleşmiş kollajen lifler, hücreler ve kemik matriksi ile karakterizedir. Primer kemik esnektir buna karşılık sekonder kemik daha serttir. Primer kemik, lamellar kemiğe göre daha hızlı oluşur ve osteoid yığılması ile mineralizasyon arasında 1-3 günlük bir zaman aralığı vardır (6, 16, 35, 82, 85).

2.1.2. Kemiğin hücresel yapısı:

Kemiğin % 65'i mineral, % 25'i organik matriks ve % 10'u sudur (6, 24, 58). Organik kısmın % 90-95'ini tip I kollajenin oluşturduğu kollajen lifler, plazma proteinleri, proteoglikanlar, osteonektin, osteokalsin, osteopontin, kemik sialoproteinleri ve kemik morfojenik proteinlerini içerir. Kollajen liflerinin dizilimi mineralizasyon şeklini belirler. Kemiğe gerilme gücü ve esneklik kazandırır, sertlik ve sıkışma gücünü sağlayan mineral kristallerinin oluşmasında çekirdek görevi görür. Sıkışma ve gerilme kuvvetlerine karşı en iyi direnci gösterebilmek için kemik bu doğrultuda şekillenir (24, 58).

İnorganik kısım kuru kemik ağırlığının %50-60'ını oluşturur ve esas olarak hidroksilapatit ($\text{Ca}_{10}[\text{PO}_4]_6[\text{OH}]_2$) kristalini, bunun yanı sıra sodyum, magnezyum, karbonat ve florid moleküllerini içermektedir. Vücutta bulunan kalsiyumun yaklaşık %99'u hidroksilapatit kristali şeklinde kemiklerde depolanır. Hidroksilapatitin yüzeyindeki hidroksil iyonları, vücut sıvılarıyla kristal arasındaki iyon alışverişini kolaylaştırır. Elektron mikroskopuyla bakıldığında, ana madde ile çevrilmiş kollajen lifleri boyunca hidroksilapatit kristallerinin dizilmiş olduğu gözlemlenir (35, 58, 85).

2.1.2.1. Osteoblast:

Osteoblastlar, mezenkimal kök hücrelerden farklılaşarak, kemik matriksinin kollajen ve kollajen olmayan proteinlerini ve proteoglikanlarını salgırlar (21, 24, 35). Osteoid tabakası mineralize olmamış kemik matriksidir ve osteoblast hücre membranından organik maddelerin atılması sonucu oluşur. Kollajen lifleri osteoid içerisinde düzenli sıralanırlar; kalsiyum ve fosfatın çökmesi için iskelet olarak iş yaparlar (82). Hematoksilen-eozin (HE) ile boyandığında ve ışık mikroskopunda incelendiğinde osteoblastlar yoğun bazofilik özellik gösterirler. Hızla oluşmakta olan kemik yüzeyinde epitel hücrelerinin dizilimini andıran kübik veya kolumnar şekilde sıralanırlar. Osteoblastlar, kalsiyum pompası aracılığıyla kalsiyumun hücre dışına taşınmasını yani serumdaki kalsiyum miktarının artmasını sağlar. Kemik matriksinin yapımı dışında osteoblastlar, osteoblastik aktiviteyi arttıran büyüme faktörleri, kemokinler ve prostaglandinleri salgırlar. Parakrin yolla ise osteoklastlara etki gösterirler. Osteoblastlar, kemik rezorpsiyonu ve kalsiyumun taşınmasını kontrol eden D vitamini, parathormon (PTH) ve hormonlar için reseptör bulundururlar. Vasküler endotelial büyüme faktörü sayesinde osteoblastlar yeni kan damarı oluşumunda rol alırlar. Yeni kan damarlarının oluşması kemik onarımı ve defektlerin kemik dokusu ile dolması için vazgeçilmez bir unsurdur. İntegrinler, osteoblastların metal implant yüzeyine yapışmasında rol oynar. Glükokortikoidler gibi integrinlerin salınımını azaltan durumlarda, osteoblastik tabakanın organizasyonu durur ve osteositlerin oluşumu azalır. Kemik oluşumu sırasında osteoblastlar kemik matriksi içerisinde hapsolurlar ve osteositlere dönüşürler (21).

2.1.2.2. Osteosit:

Osteoblastlara kıyasla, osteositler, yassı, badem şeklindedir ve HE ile boyandığında hafif bazofilik olarak görülür (21, 35). Her bir osteositin gövdesi kemik

sıvısı, mineralize olmamış kollajen lifleri ve proteoglikanlarla dolu olan laküner alanlar içerisinde (6). Osteoblastların ve kemik yüzeyini döşeyen hücrelerin bulunduğu tarafa doğru besin sağlamak amacıyla sitoplazmik uzantılarını geliştirirler. Laküner ve kanalcıklar, en derin osteosit tabakasından osteoid tabakaya kadar kemik sıvısının dolaşımını ve osteositler arasındaki iletişimi sağlarlar. Bazı araştırmacılar, osteositlerin yüklerin karşılanmasında kemiğin yeniden şekillenmesinde rol oynayan transforming growth factor- β (TGF- β) salgıladıklarını düşünmektedirler (21).

2.1.2.3. Osteoklast:

Osteoklastlar, kemiğin yeniden şekillenmesinde rezorpsiyondan sorumlu çok çekirdekli dev hücrelerdir. Osteoklastlar 1873'te Kölliker tarafından tarif edilmiştir. Aktif olarak rezorbe eden osteoklastlar kemik yüzeyine yapışarak kendi enzimleriyle oluşturduğu Howship lakünü adı verilen matrikste bulunurlar. Hücre çapı 30-100 μ m arasında değişiklik gösterir ve çekirdek sayıları 3-30 kadardır. Sitoplazması asidofiliktir ve vakuoller içerir. Kemik yüzeyine bakan tarafta fırça gibi yüzeyleri vardır. Osteoblastların aksine, osteoklastlar mezenkimal hücrelerden değil hemopoetik sistemden kaynaklanırlar (6). Faaliyetleri, parathormonun osteoblastlara etkisi sonucu bu hücrelerden salınan osteoklast uyarıcı faktör tarafından başlatılır (35). Osteoklastlar, kemik matriks parçacıklarını ve kristalleri fagositoz yoluyla hücre içine alır, eritir ve kan dolaşımına salgılar. Erişkinlerde yalnızca kemik yüzeylerinin % 1'inde aktif olarak bulunurlar. Üç haftada ancak 0,2-1,0 mm çapında ve birkaç milimetre uzunluğundaki bir hacmi rezorbe eder. Osteoklastlar lokal kemik rezorpsiyonu tamamlandığında dejenere olarak kaybolurlar ve bunun yerlerini yeniden şekillenmenin devamını sağlayan osteoblastlar alır (24).

2.1.3. Kemiğin gelişimi:

Doğum öncesinde iskelet, kıkırdaktan veya kemik şeklindeki fibröz yapılardan oluşur. Kademeli olarak bu kıkırdak modellerin yerini kalsifiye kemik matriksi alır. Büyüyen kemiğin kıkırdak bir modelden erişkin kemik oranlarına ulaşma süreci, sürekli şekillenmesini yani devamlı bir osteoblast ve osteoklast aktivitesini gerektirir. Osteogenesis, sürekli yapım ve yıkım olaylarını tanımlamak için kullanılır.

Vücuttaki çoğu kemik bir kıkırdak modelden gelişir ve bu olaya endokondral kemikleşme denir. Yassı kemiklerin bir kısmı fibröz bir membran şeklinde oluşurlar ve bu olaya da intramembranöz kemikleşme adı verilir. Her iki kemikleşme tipinde de ilk

oluşan kemik, primer kemiktir ve kısa zaman içerisinde yerini lameller kemik alır (35, 82).

2.1.3.1. İntramembranöz kemikleşme:

İntramembranöz kemikleşme adından da anlaşıldığı gibi bir bağ dokusu membranından meydana gelir. Kafatasının yassı kemikleri membran içindeki hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasıyla şekil almaya başlar. Bu osteoblast kümecikleri kemikleşme merkezi olarak adlandırılır. Matriks materyali ve kollajen fibrilleri salgırlar. Osteoblastların Golgi aygıtları, mukopolisakkarit sentezlemek ve salgılamak için özelleşirler ve endoplazmik retikulum kollajeni salgırlar. Zaman içerisinde mukopolisakkarit yani ana madde osteoblastın çevresinde birikir. Pek çok kollajen lif demetleri ana madde içinde gömülü kalır. Ana madde ve kollajen lifler kemiğin organik matriksini oluşturur. Bu organik matriksin kemikleşmesi kalsiyum tuzlarının çökmesiyle olur.

Kemiğin kalsifikasyonu devam ettikçe trabeküller ortaya çıkar ve süngerimsi kemiği oluşturmak üzere ağa katılırlar. Süngerimsi kemik her tarafında kompakt kemik plakasıyla örtülür. Yenidoğanların fontaneleri kafatasında yumuşak alanlardır ve henüz kalsifiye olmamış bağ dokusuna örnektir. Yassı kemik oluştuğunda dış yüzeyine kemik dokusu eklenmesiyle boyut olarak büyür. Bu olaya apozisyonel kemik büyümesi denir (35, 82).

2.1.3.2. Endokondral kemikleşme:

Endokondral kemikleşme, kemiğin küçük bir şekline benzeyen hiyalin kırıkdağın içerisinde gelişir. Vücuttaki çoğu uzun veya kısa kemik bu kırıkdağ modelinden oluşur. Bir uzun kemiğin endokondral kemikleşmesi şu olayları içerir: ilk oluşan kemik dokusu, kırıkdağın yarısını saran içi boş silindirik şekilde kemikte hat oluşturur. Bu boyun intramembranöz kemikleşme ile oluşmuştur. Lokal kırıkdağ hücreleri dejenerer olur, hücre büyür, matriks kalsifiye olur ve ölür. Diyafiz ortasına kan damarları girmeye başladığında kırıkdağ model hızla değişerek primer kemikleşme merkezi oluşur. Kan damarları, osteoprogenitör hücreleri taşır ve osteoblastlar kalsifiye matrikse yapışarak devamlı tabakalar halinde primer kemik yapımına başlar. Sekonder kemikleşme merkezi epifizlerde ortaya çıkar ve her iki ucun diyafizine doğru kemik büyümesi devam eder. Eklem kırıkdağı hayat boyu kırıkdağ olarak kalır, epifiz plağı ise kemiğin uzunlamasına büyümesinden sorumludur. Endokondral kemikleşme

diyafizden epifize doğru ilerler ve kemik boyca uzamaya başlar. Kemiğin boyca uzaması durunca, diyafizle epifiz arasında epifiz plağı olarak bilinen kıkırdak tabakası kalır. Büyüme periyotları boyunca, epifizyal kıkırdaktaki hücreler bu tabakayı kalınlaştırır. Diyafize en yakın kıkırdığın kemikleşmesiyle birlikte osteblastlar organik kemik matriksini sentezlerler ve matriks kalsifikasyona uğrar. Sonuç olarak kemik daha geniş bir hal alır. Kemiğin diyafizinin boyca uzamasını sağlayan epifiz plağıdır (35, 78, 82).

2.1.4. Kemik defekti iyileşmesi:

Kemik hasara uğradığında kendini yenileyebilme özelliğine sahiptir. Fakat diğer dokular skar oluşumu ile kendilerini onarabilirler. Kemik, kendini yine kemikle onarır (36, 85). Bir kemik defekti matrikste hasara, hücrelerde ölüme, periostta yırtıklara ve kırık kemik uçlarında yer değişimine neden olur (41). Kemik iyileşmesi, histolojik gözlemlere dayanmaktadır ve hematoma oluşumu, akut enflamasyon, onarım, yeniden şekillenme safhalarından oluşur.

Histolojik olarak iki tip kırık iyileşmesi vardır. Primer kırık iyileşmesi, kırığın anatomik olarak redükte edilmesi, stabilize edilmesi ile olur. Bu olay, açık redüksiyon veya rijit internal fiksasyonla sağlanır. Kırık iyileşmesinin büyük çoğunluğu ise sekonder iyileşme ile gerçekleşir, kırığın kendi kendine iyileşmesidir ve daha sık görülür.

2.1.4.1. Primer kemik iyileşmesi:

Primer kemik iyileşmesi, kırık parçaların anatomik redüksiyonunun ve rijit fiksasyonunun sağlanması veya yeşil ağaç kırığı sonucunda kallus oluşumuna gerek duyulmaksızın meydana gelen iyileşme sürecidir. Kırık bölgesi intramembranöz kemikle dolar. Bu tür iyileşme kesin hareketsizlik gerektirdiğinden nadir rastlanır (19).

2.1.4.2. Sekonder kemik iyileşmesi:

Serbest kırık uçları arasında 1 mm'den fazla mesafe olduğu takdirde kemik sekonder olarak iyileşir. Sekonder kemik iyileşmesi hem endokondral hem de intramembranöz kemikleşme ile olur (14).

3 faza ayrılır:

Hematomu takiben akut enflamasyon ve damarlanma

Kırıkta oluşumu, kalsifikasyon ve bunun kaldırılması, kemik oluşumunu içeren tamir fazı

Şekillenme fazı (85).

Hematom:

Kemiğin kırılması sonucu yalnızca hücreler, kan damarları ve kemik matriksinde hasar olmaz; aynı zamanda kas ve sinir dokularını içeren etraftaki yumuşak dokuda da hasar oluşur. Hematom, hematopoetik hücrelerin ve trombositlerin enflamasyon sürecini başlatması için bir kaynak oluşturur. Hasarı takip eden ilk 48 saat içinde enflamatuar bir cevap başlar ve kırıktan sonraki bir hafta içinde de bu cevap kaybolur. Bu enflamatuar cevap, kırığı iki yönde sabitlemeye yardım eder: oluşan ağrı, bireyi hasarlı yeri korumaya yönlendirirken oluşan şişlik ise kırığın hareketini engeller. Nötrofiller çoğunlukta olmak üzere lenfosit, monosit, mast hücreleri ve makrofajlar akut enflamasyonun hücresel kısmını oluştururlar (45, 80). Nötrofillerin asıl görevi erken dönemde hücresel çoğalma ve farklılaşmayı kontrol eden sitokinlerin salınmasıdır. Fagositik hücreler ise nekrotik artıkların kırık alanından kaldırılmasını sağlar. Polimorfonükleer lökositler, lenfositler, monositler ve doku makrofajları yara bölgesine çekilir ve damarlanmanın uyarılması için sitokin salınımını aktive eder. Damar dışına çıkan kan, pıhtıyı oluşturur. Hematom, medüller kanal içerisinde, kırık uçlar, periost ve kas altında birikir. Hematomun oluşması, yeniden kanamanın başlamasını engeller ve fibrin ağına dönüşerek hücre göçü için yol oluşturur. Kemik kırığı, kan desteğinin kesintiye uğramasına sebep olur ve hipoksik nekrotik alanlar oluşur. Düşük oksijen miktarı ve pH, sitokinlerin iyileşme sürecinde açığa çıkmasını sağlar (45, 80, 85).

Onarım:

Kemik iyileşmesinin erken döneminde hematom ve periostun önemli rol oynadıkları pek çok araştırmacı tarafından kabul edilmiştir (63). Periostun kambiyum tabakasındaki hücreler 8-12 saat içerisinde çoğalır. Bu hücrelerin çoğalmaya başlamasıyla kılcıl damarlar artar. Damarlanma süreci, kapiller tomurcuklarının kırık alanı içerisine doğru büyümesini içerir. Fibroblastlar ise yara alanına göç ederek kollajeni depolar. Kollajen ve zengin damar ağı kombinasyonu granülasyon dokusunu

oluşturur. Onarım fazına yakından bakıldığında intramembranöz kemikleşme, kondrogenez ve endokondral kemikleşme ile karşılaşılır. Kesintisiz dolaşım ve enflamasyon cevabı ile mezenkimal hücrelerin ortama katılması sonucunda kallus oluşumu gözlenir. İntramembranöz kemikleşme, kırık oluşumundan sonraki birkaç gün içerisinde başlar fakat çoğalma aktivitesi kırıktan iki hafta sonra durur. Periostun kambiyum tabakasında bulunan osteoprogenitör hücrelerden primer kemik gelişir ve kırığın birkaç milimetre uzağında birikir. Bu şekilde eksternal kallusta oluşan kemik, sert kallus olarak adlandırılır. İntramembranöz kemikleşmenin olduğu bu kallus etrafında ise daha az oksijenin bulunduğu alanda, mezenkimal hücrelerin kondroblastlara farklılaşması sonucu kıkırdak matriks oluşur. Matriks içinde kalan kondrositler ise çoğalarak avasküler bazofilik bir matriks sentezleyerek kıkırdak görünüşünü alır. Fibröz doku ve yeni oluşan kıkırdak, yumuşak kallus olarak adlandırılır ve doğal olarak kıkırdak, bütün fibröz dokunun yerini alır. Kıkırdak matriksi mineralizasyonunu, glikozaminoglikanlar engeller. Bu nedenle hipertrofik hale gelen kondrositler ilk olarak glikozaminoglikanların yapısını bozan proteoglikanaz enzimini salgırlar. Böylece bu hücreler ve daha sonra da osteoblastlar, kalsiyum fosfat içeren vezikülleri matriks içine bırakırlar. Fosfat iyonlarının kalsiyum ile birlikte çökmesini sağlayan alkalın fosfataz enzimini taşırlar. Komşu kemikteki kapillerler ise, kalsifiye kıkırdağın içine göç ederek oksijen miktarının artmasını sağlarlar. Kıkırdak taslağı yavaş yavaş ortadan kaldırılır ve osteoblastlar primer kemik oluşturmaya başlarlar.. Sonuç olarak kallus, iki kırık parçayı birbirine bağlayan primer kemiktir. Bundan sonra yeniden şekillenme başlar (19, 45, 85).

Yeniden şekillenme:

Yeniden şekillenme evresi, kırık iyileşmesinin en son evresidir ve düzensiz fazla kallusun rezorbe olması, primer kemiğin yerini lamellar kemiğin almasıyla başlar. Kırık onarımının yeniden şekillenmesi, trabeküllerin zayıf olduğu bölgelerin rezorpsiyonu ve yeni kemiğin stres çizgilerine uygun olarak yapılmasını içerir. Yeniden şekillenme sonucunda, kırık bölgesi mekanik yüklerin etkisiyle değişikliğe uğrar ve kemik korteksi kırık oluşumundan önceki yapısına benzer bir şekil alır (19, 41, 45).

2.2. LASER:

2.2.1. LASER'in tarihçesi:

1704 yılında, Newton, ışığı parçacıkların yayılması olarak tanımlamıştır. 1803 yılında ise Young'ın ışığın polarizasyonunu kanıtlaması ile ışığın dalgalar halinde yayıldığı diğer bilim adamları tarafından da kabul görmüştür. 1880 yılında Maxwell'in elektromanyetik yayılma teorisi üzerine ışığın da elektromanyetik alanda yüklü parçacıkların hızla titreşerek yayıldığı matematiksel olarak ortaya konmuştur (67).

Niehl Bohr'un atom yapısının üzerindeki dizaynı, kuantum fiziğinde önemli bir rol oynamıştır. Bohr'a göre atomlar kararlı durumdayken enerji yaymazlar. Buna karşılık uyarılmış durumdan kararlı duruma geçerken büyük bir enerji yayarlar. Bu teoriye göre, 1917'de Einstein, radyasyon parçacığının yani fotonun absorbe edilmesi ile elektronlar düşük enerjili yörüngeden yüksek enerjili yörüngeye sıçramaktadır ve bu esnada radyasyon şeklinde bir enerji açığa çıkmaktadır ki buna da emisyon denmektedir. Kuantum teorisinin bir parçası olan 'Radyasyonun stimule edilmiş emisyonu' fikrini ortaya atarak LASER fiziğinin temellerini ortaya koymuştur. Einstein'ın bu teorisi 1955 yılında Townes ve Gordon tarafından gerçekleştirildi. "Microwave Amplification of Stimulated Emission of Radiation"ın akronimi olan MASER ile optik bir ortam içerisindeki amonyum gazı kullanılarak koherent mikrodalga enerjisi üretilmiştir. Townes'tan bağımsız olarak Prokhorov ve Basov ise Moskova'da MASER fikrini ortaya atarak ilk prototipi geliştirmişlerdir. 1964 yılında kuantum araştırmaları hakkında Townes, Prokhorov ve Basov Nobel Fizik Ödülünü paylaşmışlardır.

Einstein'ın ilk teorisinden tam 43 yıl sonra, Theodore Maiman, yakut kristalini kırmızı ışık demeti oluşturmak üzere mikrodalga enerjisi tarafından güçlendirerek ilk ticari LASER ortaya koymuştur. 1960 yılında ise Nature dergisinde bu çalışmasını yayınlanmıştır.

Solid yakut LASER'in keşfedilmesini takiben, ilk helyum-neon LASER 1961 yılında Bell Laboratuvarlarında, ilk yarı iletken LASER 1962 yılında General Electric Laboratuvarlarında, ilk neodymium-doped yttrium aluminium garnet (Nd:YAG) ve karbondioksit (CO₂) LASER yine Bell Laboratuvarlarında geliştirilmiştir. Her durumda, LASER'in ismi aktif ortamın içeriğine göre adlandırılmıştır (12, 28, 32, 57).

2.2.2. Işık:

Sıradan beyaz ışık, elektromanyetik spektrumdaki dalga boylarının insan retinasında görünür hale gelmesidir (67). Modern fizikçilere göre ise ışığın doğası dalgalar veya parçacıklar halindedir (57). Işığın ne olduğu hakkındaki görüşler 18. yüzyılın başlarında Isaac Newton tarafından bildirilmiştir. Yansıma ve kırılma davranışına dayanarak ışığın partikül akımından oluştuğu varsayılmıştır. Daha sonraki deneyler, ışığın bir dalga boyuna sahip olduğu ve bu davranışın, dalga mekaniği ile açıklanabildiği gösterilmiştir. 19. yüzyılın sonlarına doğru dalga teorisi oldukça kabul görmesine rağmen ısıtılan cisimlerin ışık yayması açıklanamamıştır. Bu durumu açıklayabilmek üzere Max Planck, yine partikül teorisini kullanmıştır. Siyah cisimdeki atomların, harmonik titreşimlerle hareket etmesi ve her bir atomun temel kuantum enerjisine sahip olduğunu

$$E = h \cdot \nu$$

denklemleriyle ispat etmiştir. Buna göre: h: Planck sabiti, ν : yayılan radyasyonun sıklığıdır. Bu önemli denklem dalga boyu ve ışık hızı biriminde yazıldığı takdirde

$$E = \frac{h \cdot c}{\lambda}$$

elde edilir ve enerji, dalga boyu ile ters orantılıdır. Elektromanyetik spektruma bakıldığında, X ışınları ve kısa dalga boylu ışınların penetrasyon derinliği daha fazladır buna karşılık, radyo dalgaları için özel alıcıların bulunması gerekmektedir (67).

Einstein da, bu teoriyi destekleyerek fotoelektrik etkiyi açıklarken ışığın partikül özelliği taşıdığını savunmuştur. Işıktaki bu partiküller foton olarak bilinir ve yukarıdaki ilişkiye göre ışık, enerji, frekans ve dalga boyuna sahiptir. Sonuç olarak ışık partikül özelliği taşıyan bir dalgadır. Birçok deney sonucunda ışığın davranışını açıklamak için dalga ve partikül özelliklerini kabul etmek gerekir.

2.2.3. Absorpsiyon ve spontan emisyon:

Işık, atomdaki bir elektronun yüksek enerji seviyesine doğru uyarılması ve daha sonra bu enerjisi kaybetmesi sırasında oluşan kuantum sürecinin bir ürünüdür. Niels Bohr'un teorisine göre atomlar dinlenme halindeyken kararlı durumdadırlar ve enerji yaymazlar (32). İçine enerji iletilen bir atomdaki elektron bu enerjisi alır ve uyarılmış seviyeye gelir. Bu uyarılmış seviyede elektron enerjisini kaybedebilir ve düşük enerji

seviyesine iner, fakat bu süre zarfında enerji korunmalıdır. Sonuç olarak yüksek enerji seviyesi ile düşük enerji seviyesi arasındaki enerji farkı yok edilemez, foton veya diğer bir atoma transfer edilen enerji olarak ortaya çıkar. Bu olay enerjinin muhafaza edilmesi esasına dayanır.

Düşük enerji seviyesindeki bir atom, enerji absorbe ettiğinde yüksek enerji seviyesine çıkar. Absorbe edilen enerji elektrik, termal, optik, kimyasal veya nükleer enerji olabilir. Yüksek ve düşük enerji seviyeleri arasındaki fark, atom tarafından absorbe edilen enerjidir. Absorpsiyon olayı, atomları yüksek enerji seviyesine doğru uyarır. Bu uyarma metoduna rağmen atomlar düşük enerji seviyelerinde bulunmayı tercih eder. Yüksek enerji seviyesinden düşük enerji seviyesine geçen atomdan foton oluşur ve iki atomik enerji seviyesi arasındaki enerji farkı foton enerjisidir. Enerji, foton veya elektromanyetik dalga olarak yayılır ve atom düşük enerji seviyesine iner (28). Bu olaya spontan emisyon adı verilir.

$$E_{foton} = E_{başlangıç} - E_{son} = h\nu_{foton}$$

Akkor ışık ampulünü incelediğimiz takdirde, tungsten filaman ısı ve ışık yayar. Enerji, filamanı kateden elektrik enerjisi olarak sağlanır. Bu sırada filamanın ısısı 3000 Kelvin'e kadar çıkar. Bu termal enerji, tungsten atomlarını uyararak yüksek enerji seviyesine çıkmasını sağlar. Fakat atomlar, doğaları gereği düşük enerji seviyesini tercih ettiği için enerjilerini kaybederken ışık yayarlar. Atom tarafından kaybedilen enerji ışık olarak ortaya çıkar. Düşük enerji seviyesindeki atomlar yeniden termal enerjiyi absorbe etmeye hazır hale gelirler. Bütün enerji ışık olarak yayılmaz. Sisteme giren elektrik enerjisinin büyük bir kısmı ısı enerjisi ve kızılötesi ışık olarak ortaya çıkar (12, 67).

2.2.4. Uyarılmış emisyon:

Eğer E enerjisine sahip bir ışığın fotonu, kararlı durumdaki bir atoma doğru yönlendirilirse absorbe edilir ve atom daha yüksek enerji seviyesine çıkar. Ortaya çıkan fotonun enerjisi, en azından bir üst seviyeye çıkan enerjiyle eşit olmalıdır. Fakat, atom zaten yüksek enerji seviyesinde ise doğru dalga boyunda gelen foton, atomu aynı dalga boyunda foton salma yönünde uyarır. Sonuç olarak aynı yönde ve dalga boyunda iki foton ortamı terkeder. Işın özünde, ilk foton uyarılmış ve güçlendirilmiş olur ve buna uyarılmış salınım denir (12).

Albert Einstein'ın teorsine göre özetle, aynı uyarılma enerjisine sahip atomlarda birden çok kuantum enerjisi olduğu takdirde birden çok kuantum açığa çıkar ve buna da uyarılmış emisyon denir. Enerji iki eş foton halinde saçılır.

Uyarılmış emisyonun en önemli özelliği, gelen foton ve uyarılmış elektrondan gelen fotonun koharent yani, aynı frekansta aynı fazda ve aynı polarizasyon doğrultusunda olmasıdır.

Bu fotonlar, daha fazla atoma enerji verme yeteneğine sahiptir ve benzer fotonların yayılmasını sağlar. Uygun şartlar altında, aktif ortamdaki atomların büyük çoğunluğu dinlenme halinden çok, yükseltilmiş halde bulunurlar. Bu uyarımın devamı için, pompalama mekanizması adı verilen sabit bir enerji kaynağı gereklidir.

Aktif ortamdaki iki ayna, bu fotonları ileri geri yansıtarak daha fazla uyarılmaya sebep olur ve aktif ortamdaki birbirini izleyen geçişler foton ışınının gücünü artırır. Bu olaya güçlendirme adı verilir (10).

2.2.5. LASER ışınının özellikleri:

Diğer ışık kaynakları gibi LASER ışığı da kuantum mekaniği tarafından idare edilir fakat diğer ışık kaynaklarından farklı olarak üç tane kendine özgü özelliği vardır:

Koherentlik: LASER ışığının en ilginç özelliğidir. LASER ışığının elektromanyetik alanının zaman ve yön bakımından belirli bir faz içerisinde olmasıdır. Bu özellik, bir LASER'den yayılan bütün foton dalgalarının tepe ve çukur noktalarının aynı zamanda ve aynı evrede olduğunu gösterir. Koherentlik, fotonların içinde kopyalandığı LASER'in güçlendirilmesi sırasında oluşur. Fotonların aynı fazda kalmaları için tam olarak aynı dalga boyuna sahip olmaları gerekir. Eğer bazı fotonlar, farklı bir dalga boyundaysa, diğerlerine göre göreceli olarak farklı fazda olur ve ışık koherent olmaz. Koherent özelliği, LASER ışınına iki ayrı özellik daha kazandırır (12, 65).

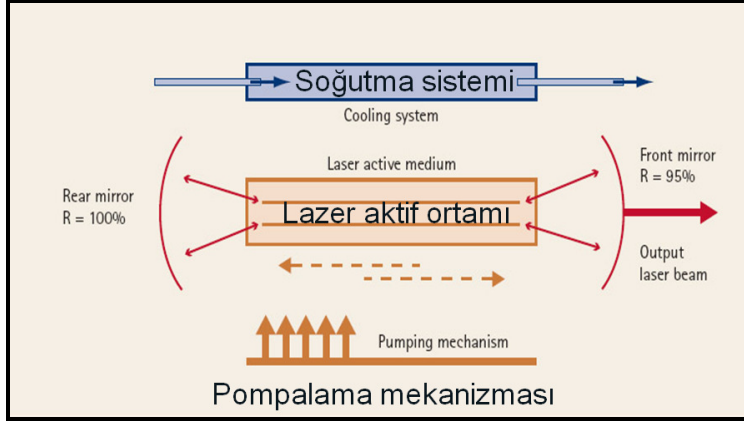
Monokromasite: LASER'in belirli frekans bandında tek renkli ve belirli bir dalga boyunda ışık yaratma özelliğidir. Koherentliğin bir sonucu olduğu için değişik dalga boyundaki fotonlar koherent olamaz. LASER olmayan ışıklar ise içerisinde birçok dalga boyu barındırır. Beyaz ışık bir prizmadan geçirildiğinde ışığın sonsuz sayıda dalga boyuna ve rengine sahip olduğu görülür.

Kolimasyon: LASER ışığının uzun mesafeler boyunca sınırlandırılmış şekilde kalmasını sağlar. LASER ışını uzayda oldukça paralel bir şekilde yol alır. LASER kavitesinden yayılan ışın, sabit ölçü ve şekle sahiptir. X-ışını aygıtlarının ürettiği radyasyon da bu özelliğe sahiptir. LASER tüpündeki ışığın fotonları, tüpü terketmeden önce birçok kez aynalar tarafından yansıtılırlar. Hafif bir açıyla seyreden fotonlar tüpten çıkamaz ve duvarlar arasında sıçrama yaparlar. Bütün LASER ışınları bir miktar diverjans gösterir fakat hiçbir zaman sıfır olamaz. El fenerinin duvarda bıraktığı ışık lekesi, duvardan uzaklaştıkça büyürken, LASER'in aydınlattığı nokta ise hep aynı büyüklükte kalır (12, 65).

LASER'in klinik olarak yararı etkinlik özelliğidir. Masa lambası örneğini verecek olursak, aydınlatma işinin bir ürünü olarak ısı açığa çıkar. 100 watt'lık bir ampul, 20 watt'lık aydınlatmanın yanı sıra 80 watt'lık çevresini ısıtan görünmez bir radyant enerji yayar. Buna karşılık, 2 watt'lık Nd:YAG LASER'in sağladığı termal enerji dişetini kesecek güçtedir (10).

2.2.6. LASER enerjisinin oluşumu:

LASER cihazı içerisinde aktif LASER ortamı ve bu ortamın her iki tarafında birbirine paralel olarak yerleştirilmiş aynaların bulunduğu optik kavite içerisinde yer alır. LASER ortamı başlangıçta aktif durumda değildir. Pompalama sistemi tarafından LASER ortamına gelen ilk enerji, ortamı aktif hale getirir. Bu uyarıcı enerji sıklıkla ışık kaynağı olup, diyot LASER ünitesi veya elektromanyetik makara da olabilir. Aktif madde uyarıldığı takdirde, elektronları bir üst seviyeye çıkar ve eski yerlerine dönerken foton yayarlar. Uyarılmış bir atom tarafından üretilen bir fotonluk enerji, ışık kaynağınca uyarılmış diğer bir atomdan bir fotonluk enerji açığa çıkmasını sağlar. Bu reaksiyon sonucu iki fotonluk enerji birikir. Sonuçta ışıma gücünün iki katı enerjiye sahip ışık demeti oluşur. Bu ışık demeti uyarılmış LASER ortamında ilerlerken yeni atomları uyarır. Optik rezonatör kavitede aynalardan biri ışını % 100 yansıtırken, diğeri kısmen yansıtır. Tam yansıtıcı aynaya ulaşan ışık hüzmesinin yönü tersine döner, uyarılmış LASER ortamından tekrar geçer ve güçlenerek diğer aynaya gelir. Aynalar arasında tekrarlanan geçişler ile ışık hüzmesi yeterli oranda yükseltildiğinde yarı iletken aynadan LASER ışığı olarak dışarıya geçer bu süreçte, enerji kaynağı çalışmaya devam ettikçe aktif LASER yayılımı sağlanır (Şekil 2-1).



Şekil 2-1: LASER ortamı

Aktif ortamdaki enerjinin hepsi ışık enerjisine çevrilmez. Bir kısım enerji de ısı enerjisine dönüşerek aktif ortamda ısı artışına sebep olur. Aktif ortamdaki sıcaklık, çalışma optimum sıcaklığında veya daha altında tutulmalıdır ve bunun için soğutma sistemi kullanılır (10, 50, 57, 67).

2.3. LASER'lerin sınıflandırılması:

Elde Edildiği Etken Maddelere Göre:

Katı LASER'ler: En güçlü çıkışa sahip olan LASER'lerdir. Örn: Ruby, Nd:YAG

Gaz LASER'ler: Helyum-neon (He-Ne), Argon, Kripton ve CO₂ LASER'lerdir. En etkili olanlar He-Ne ve CO₂ LASERlerdir. CO₂ LASERleri çok yüksek frekanslıdır, hücreleri 500 W'ta buharlaştırır.

Sıvı LASER'ler: Organik boya maddelerinin genellikle alkol içinde çözündürülmüş eriyikleri, ışık güçlendirici maddeler olarak ve pompalama sistemleri şeklinde kullanılır.

Yarı iletken LASER'ler: Gallium arsenide (Ga-As) LASER bu gruptadır. Değişken elektriksel iletken özellikleri olan, yarı iletken tabakalardan oluşmuştur.

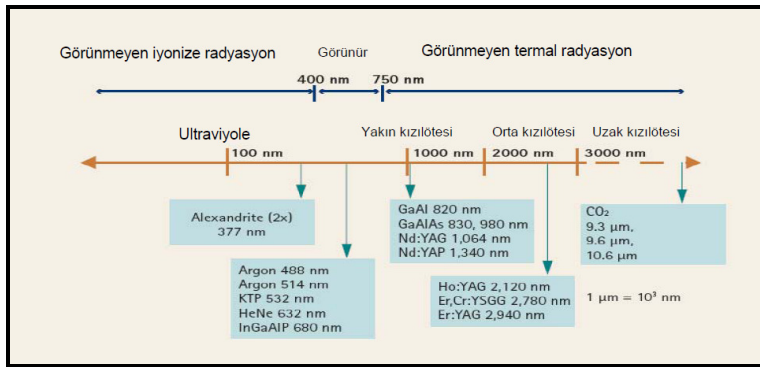
Güçlerine Göre:

Bu nitelendirilme onların milliwatt (mW) veya watt (W) güçlerine göre yapılır. Bu özellikteki LASER'ler; yüksek enerjili LASER'ler ve düşük enerjili LASER'ler olarak adlandırılırlar. Yüksek enerjili LASER'lerin gücü 80 mW'tan yüksek olup termal ışıklıdır. Delme, elmas kesme ve cerrahide kullanılırlar. Düşük enerjili LASERlerin gücü en çok 50-80 mW'a kadardır. Termal olmayan bir ışık salarlar. Bunlar dokularda

yıkım oluşturmadıkları için tıbbi alanda en sık yara iyileştirme ve fizik tedavide kullanılmaktadırlar.

LASER Işınının Dalga Boyuna Göre:

Dalga boyu infrarujdan, ultraviyoleye kadar değişir. Bu özellikteki LASER'ler; kırmızı LASER'ler (kırmızıya ışıldayan, görülen ışıklı) ve kızılötesi LASER'ler olarak adlandırılırlar. Tıbbi uygulamalarda en sık kullanılan düşük enerjili kırmızı LASER türü He-Ne LASERdir. Işın dalga boyu 633 nm'dir. İnfrared LASER türü ise gallium alluminium arsenide (Ga-Al-As) LASER'dir. Işın dalga boyu 904 nm'dir (Şekil 2-2).



Şekil 2-2: Elektromanyetik spektrumda LASER dalga boyları

2.3.1. Diyot LASER'ler:

1972'de kullanılmaya başlanan diyot LASER'ler günümüze kadar hızlı bir şekilde gelişme göstermiştir. Mühendislik ve ticari alanlardaki bu gelişmeler, 635 nm dalga boyundan 980 nm'ye kadar geniş bir dalga boyu seçeneğinin oluşmasını sağlamıştır. 1990'ların başında, yakın kızıl ötesi ışın yayan diyot LASER'ler ticari olarak kullanıma sunulmuştur. Ağırlıklarının az olması, kolay taşınabilmesi, düşük maliyet ve daha uzun çalışma süresi gibi avantajları, medikal alanda kullanımını arttırmıştır. Diyot LASER'ler, transistörler gibi yarı iletken elektronik cihazlardır. LASER ışığı, diyotun içerisinde elektrik akımının geçmesiyle üretilir. Çeşitli renklerde ışın yaymalarına rağmen çoğu düşük güçte kızılötesi ışın yayarlar (43). Diyot LASER'ler, birçok elektronik cihazların gösterge panelinde bulunan, içinden elektrik akımı geçtiği zaman ışık saçan light emitting diode (LED)'lere benzerler. Buna karşılık, diyot LASER'ler yaydığı ışın koherent, monokromatik ve bir yöne sahip olan bir ışıktır (50).

Diyot LASER, alüminyum, indiyum, galyum ve arsenik gibi yarı iletken kristallerin belli bir kombinasyonu ile üretilen aktif ortamı katı olan bir LASER'dir. Bu materyalin iki ucuna bağlı optik rezonatör aynalar bulunur ve pompalama mekanizması olarak elektrik enerjisi kullanılır (10). Aktif ortamın kristal olması özelliği sayesinde, iki ucu seçici olarak cilalanabilir ve bu sayede tam veya kısmi yansıtıcı yüzeyler meydana geldiği için optik rezonatörü taklit edebilir. Bir silikon levhadan diğerine deşarj olduğunda aktif ortamdaki fotonlar serbest bırakılır (67).

Diş hekimliğinde kullanılan dalga boyları alüminyum içeren aktif ortamlar için 800 nm, indiyum için ise 980 nm'dir. Her cihaz LASER enerjisini fiberoptik taşıyıcılarla iletir. Devamlı veya atımlı modda cerrahi işlemler için temaslı, derin koagülasyon için temassız olarak kullanılır.

Argon cihazlara benzer olarak operasyonun etkin olabilmesi için fiberin temizlenmiş olması gerekir. Bazı hekimler, fiberin ucunda bir miktar karbon pigmenti bulunmasını tercih ederler. Bu yöntemle, LASER enerjisinin büyük bir kısmı temas noktasında odaklanarak doku insizyonunu hızlandırır.

Bütün diyot dalga boyları pigmente dokular tarafından iyi absorbe edilir ve derin penetrasyon gücü vardır, fakat hemostatik özelliği argon kadar hızlı değildir. Bu LASER'ler, diş sert dokuları tarafından göreceli olarak zayıf absorbe edilirler. Bunun sonucunda mine, sement ve dentine yakın olan bölgelerde yumuşak doku cerrahisi güvenli olarak yapılabilir (10).

2.4. LASER'in diş hekimliğinde kullanımı:

Maiman'ın 1960'ta çekilmiş bir dişe yakut LASER uygulamasından, 1989 yılına kadar diş hekimliği alanında LASER kullanılmamıştır. 1989 yılında Dr. Terry Myers tarafından geliştirilen Nd:YAG LASER'in ticari olarak kullanıma sunulmasıyla birlikte LASER diş hekimliğinde de kullanılmaya başlanmıştır. Düşük güçte olması ve diş sert dokularında kullanılması uygun olması nedeniyle diş hekimleri arasında kısa zamanda popüler hale gelmiş ve ilk olarak 1990 yılında İngiltere'de satılmıştır.

1990'ların başında, tıp alanlarında kullanılan diğer dalga boylarındaki cihazlar ufak değişiklikler yapılarak, diş hekimliğine uygun hale getirilmiştir. Argon, Nd:YAG, CO₂ ve yarı iletken diyot LASER'ler diş sert dokularını parçalamaya yönelik ihtiyacı karşılayamamıştır. 1989 yılında Keller ve Hibst'in deneysel çalışmaları sonucunda

erbiyum yttrium-alüminyum-garnet (Er:YAG) (2940 nm) LASER'in, dentin, mine ve kemiği kesme özelliği geliştirilmiştir. Bu LASER 1995 yılında ticari olarak piyasaya sürülmüştür ve kısa sürede bunu takiben 1997'de erbiyum,chromium::yttrium-selenium-gallium-garnet (Er:CR:YSGG) LASER, diş hekimlerinin bütün cerrahi ihtiyaçlarını karşılayan bir LASER cihazı olarak kullanılmaya başlanmıştır (67).

2.5. Işık ve doku:

Işık enerjisi, havadan daha yoğun bir ortama girdiğinde temel olarak 4 farklı yayılım şekli gösterir (10, 50):

- Kırılma
- Yansıma
- Absorpsiyon
- Saçılma (Şekil 2-3)

Kırılma ve yansıma birbirine bağlıdır. Korneal dokular gibi şeffaf ortamlarda kırılma önemli bir rol oynarken, opak ortamlarda kırılmayı ölçmek, absorpsiyon ve saçılmadan dolayı zordur. Tüm bu özellikler dokunun tipine ve dalga boyuna bağlıdır (61).

LASER'in doku ile olan ilişkisinde (Şekil 2-3), hedef dokunun absorpsiyon ve saçılma özelliklerini bilmek, başarılı bir tedavi için önemlidir. Buna karşılık biyolojik dokuların homojen olmaması nedeniyle ancak ortalama doku parametreleri bilinebilir.

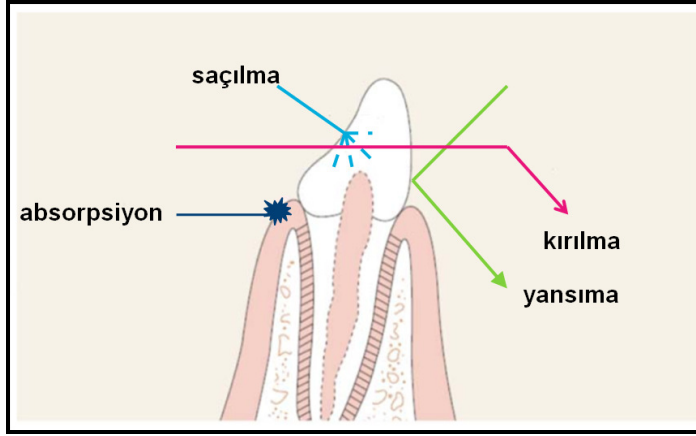
Yansıma elektromanyetik radyasyonun, yansıtıldığı yüzeyde bir etki yaratmadan geri dönmesidir. Genellikle, yansıtıcı yüzey, doku ve hava gibi kırılma indeksleri farklı olan iki maddenin fiziksel sınırıdır. Ortamın yoğunluğu veya ışının ortama giriş açısı yansıma açısından küçükse LASER ışını tamamen yansır, ortama dik bir açıyla girerse yansıma hemen hemen hiç görülmez. Diş dokusunda çürük belirleyici LASER cihazlarının çalışma mekanizması, yansıtılan ışın miktarının ölçülmesi esasına dayanır. Bazı LASER'lerdeki ışık yansıması 3 metreden daha fazla uzaklıklarda bile hala yeterli enerjiye sahip olabilir. Bu yansıyan ışığın gözlere direkt zararlı etkisi vardır (9, 10, 61).

Kırılma ise yansıtıcı yüzeylerin kırılma indeksi farklı olan iki ortamı ayırması sonucu oluşur. Genel olarak dokuların kırılma indeksi, absorpsiyon ve saçılmadan

dolayı ölçülemez. Işın dokuyla hiçbir etkileşime girmez ve ışın üzerinde hiçbir etkisi olmaz (9, 61).

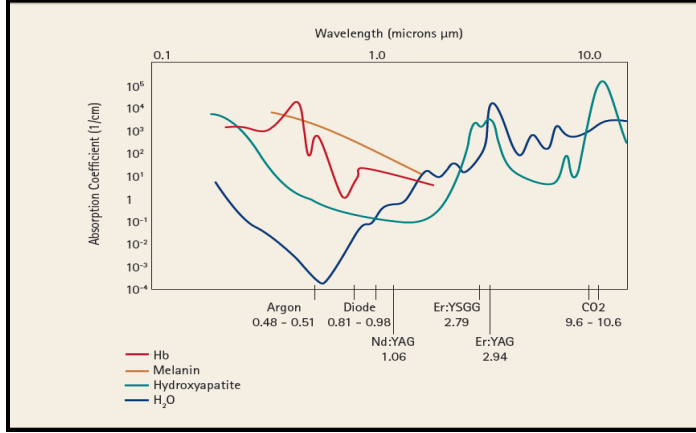
Saçılma, ışının doku içerisinde kontrolsüz bir şekilde değişik yönlere doğru ilerlemesidir ve enerjinin azalmasına ve distrosiyonuna neden olur. Hiçbir yararlı biyolojik etki görülmemekle birlikte çevre dokularda istenmeyen ısı artışına neden olur. Genel olarak ışığın saçılma miktarı LASER'in dalga boyu ile ters orantılıdır (9, 68).

Absorpsiyon, ortama giren ışık enerjisinin azaltılarak enerjinin başka şekillerine dönüşmesidir. Işının, doku tarafından absorbe edilmesi istenen bir etkidir. Bir ortamın elektromanyetik radyasyonu absorbe etmesi temel olarak, atomlarının ve moleküllerinin elektronik bileşenleri, radyasyonun dalga boyu, absorbe eden tabakanın kalınlığı ve absorbe eden ajanların ısı ve konsantrasyonu gibi faktörlere bağlıdır (61).



Şekil 2-3: Işık ve doku

Biyolojik dokularda absorpsiyon, su molekülleri, proteinler ve pigmentler tarafından gerçekleşir (Şekil 2-4). Su molekülleri kızılötesi ışınları absorbe ederken, protein ve pigmentler ultraviyole ışınları daha fazla absorbe ederler. Dokuların dalgaboyuna hassas olmaları sayesinde günümüzde bazı tümörlerin tedavisinde LASER ışınından yararlanılır. Hastanın vücuduna damar yolu ile verilen özel boyalar tümörlü dokularda birikir ve doku LASER cihazı ile ışınlanır. Bu sayede, dokunun absorpsiyon katsayısı artar ve daha etkin bir tedavi gerçekleşir, bununla birlikte komşu dokular daha az hasar görmüş olurlar (50, 68).



Şekil 2-4: Bazı moleküllerin çeşitli dalga boylarına göre absorpsiyon katsayıları

Absorpsiyonu etkileyen birincil faktörler:

- Emisyon modu
- LASER'in gücü
- LASER'in güç yoğunluğu
- Işının hareketi
- Endojen ve eksojen soğutucular

Absorpsiyonu etkileyen ikincil faktörler:

- Dalga boyu
- Dokunun içeriği
- Dokunun kalınlığı
- Yüzeyin ıslaklığı
- LASER ışınının geliş açısı
- Maruz kalma süresi
- Temaslı veya temassız modda kullanım (9, 50, 65, 68).

2.5.1. LASER'in biyolojik dokulardaki etki mekanizmaları:

Fototermal: LASER enerjisinin neredeyse tamamı yumuşak dokudaki su ve doku kromoforları tarafından absorbe edilir, artan ısı karşısında 100 ° C'de hücreler arası sıvı buharlaşır ve genişler, hücreler parçalanır ve doku hacminin % 75 ile % 95'i buhar olarak kaybedilir. Daha yüksek ısılarda, organik matriks de buharlaşır ve tam doku ablasyonu gerçekleşir. LASER ışınının oluşturduğu termal etkiler, lokal hipertermi, koagülasyon, buharlaştırma ve seçici fototermolizdir. Ayrıca diğer

moleküller de başka dalga boylarına duyarlı olabilir ve dokunun ısıtılması olayında önemli rol oynayabilirler. Isı oluşumu, dokuda geri dönüşümsüz olarak hasara neden olmasının yanı sıra, ayrı dokuları eriterek birleştirmek üzere de kullanılır.

Fotoakustik: Atımlı LASER enerjisi, hedeflenen dokunun fiziksel olarak kesilmesine yol açan şok dalgaları veya yüksek basınçlı dalgalar halinde akustik enerjiye dönüşür. Oftalmoloji ve üroloji alanında fotoakustik etkileşim sayesinde çeşitli tedaviler yapılmaktadır.

Fotokimyasal: Dokunun içindeki moleküller arasındaki kimyasal bağlar LASER ışını sayesinde direk olarak yıkılır ve moleküller, biyokimyasal reaktif duruma doğru uyarılırlar. Bunun sonucunda doku, termal hasar yaratmadan kesilebilir. Sert dokularda LASER ışınının çalışma prensibi daha çok bu etkiye dayanır.

Fotodinamik: Genellikle, fotodinamik etkileşimler, ışığa duyarlı molekülleri kullanarak, oksijenin biyokimyasal olarak reaktif olan formunu yani serbest oksijeni oluştururlar. Serbest oksijen radikali sitotoksiktir ve dokudaki bazı önemli komponentleri okside ederek doku yıkımını başlatır. LASER ışınının fotodinamik etkileşimi daha çok kanserli hücrelerde kullanılır.

Biyostimülasyon: Düşük dozlu LASER'lerin kullanımı, ağrının azaltılması, yara yeri iyileşmesinin uyarılması veya hücre metabolizmasının değiştirilmesini sağlamaktadır. Bu olaylar halen tam olarak anlaşılmasa da fiziksel, biyokimyasal ve fizyolojik mekanizmalar etkilenmektedir (50, 84).

2.6. Düşük düzeyli LASER terapisi (DDLTL):

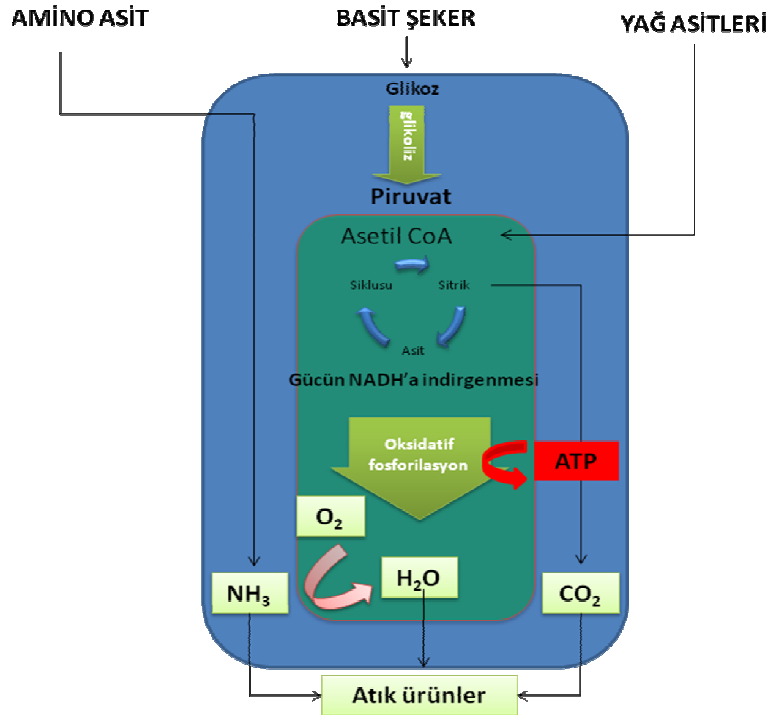
1960 yılında Theodore Maiman'ın LASER'i geliştirmesiyle birlikte LASER konusundaki çalışma ve araştırmalar hızla devam etmiştir. 1960'lı yılların sonlarına doğru, Mester isimli araştırmacı, düşük enerjili yakut ve HeNe LASER'lerin kanser oluşturmadaki etkisi üzerine çalışmalarına başlamıştır. Deney grubundaki farelerin tüyleri, kontrol grubundakilere göre daha hızlı uzamıştır ve LASER'in deney grubunda hiçbir karsinojenik etkisi bulunmamıştır. Bunun üzerine Mester, açık yarası olan ve konvansiyonel tedaviye yanıt vermeyen 875 hastada LASER uygulamış ve % 85 başarıya ulaşmıştır. İlk deneyler dozajın tedavide etkisi olduğunu göstermektedir: çok az doz hiç bir etki yaratmazken, tedavi edici doz belirli bir çerçevede yer almaktadır ve bu dozun üzerinde LASER'in kullanımı tedaviyi engeller (54).

1980'lerde DDLT klinikte uygulanmaya başlanmış ve bununla birlikte daha az maliyeti olan yarı iletken aygıtlar kullanılmaya başlanmıştır. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA)'in karpal tünel sendromunun LASER ile tedavisini kabul etmesi, LASER'in gelişimine olumlu etki sağlamıştır.

Biyostimülasyon, düşük düzeyli LASER terapisi (DDLTL) olarak da adlandırılır. Görünür kırmızı ya da yakın kızıl ötesi ışığın doku üzerine uygulanması sonucu ağrının, inflamasyonun ve ödemin azaldığı; yaralı doku ve sinir hasarlarının iyileşmesinin hızlandığı bir tedavi şeklidir (69).

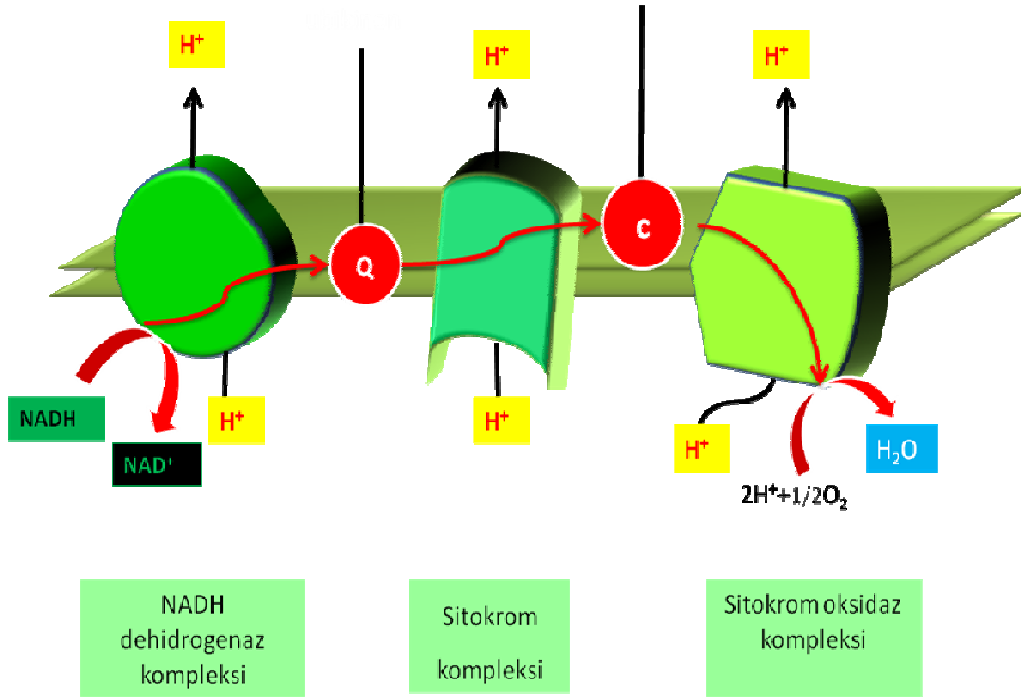
2.6.1. Hücre içerisinde glikoliz ve oksidatif fosforilasyon:

Glikoliz, glikozun enzimlerle pirüvik asite (pirüvat) kadar yıkılması olayıdır. Bütün canlılarda glikoliz reaksiyonları aynı şekilde gerçekleşir. Olaylar için tüm canlılarda aynı enzimler görevlidir. Oksidatif fosforilasyon oksijenli solunumun son evresini teşkil eder. Başlangıçta glikozu aktifleştirmek için 2 ATP harcanır. Reaksiyonlar sırasında 4 ATP oluşturulur. 2 nikotinamid adenin dinükleotit (NADH) meydana gelir. Oluşan NADH'ler oksijenli solunumda elektron taşıma sistemine aktarılır ve her birinden üçer ATP elde edilir (Şekil 2-5).



Şekil 2-5: Glikoliz ve oksidatif fosforilasyon

İç membrana gömülü 3 büyük enzim kompleksi bulunmaktadır. NADH dehidrogenaz kompleksi NADH'den elektron kabul eder ve ubikinona geçirir. Ubikinon elektronlarını sitokrom b-c kompleksine transfer eder. Bu kompleks ise elektronları sitokrom oksidaz kompleksine taşır. Sitokrom oksidaz kompleksi her seferinde 1 elektron alır ve oksijene 4 elektron verir. Solunum zincirindeki pek çok elektron taşıyıcılar görünür ışığı absorbe ederler. Genel olarak her birinin belli bir emilim spektrumu vardır. Bu elektron taşıyıcılarından olan sitokrom c ise yakın kızılötesi ışığı daha çok absorbe eder. Böylece elektron taşınma hızında artış gözlenir (Şekil 2-6) (58).



Şekil 2-6: Hücre membranında elektron taşınması

2.6.2. DDLT'nin etki mekanizması:

2.6.2.1. Primer reaksiyonlar:

Fotoakseptör moleküller üzerine ışığın etki mekanizması henüz açığa kavuşmamıştır. Literatüre bakıldığında 4 ana olasılık üzerine HeLa hücreleri kullanılarak elde edilen araştırmalar vardır. Bu hücreler ölümsüz epitel hücre kültürleri olup, 1951 yılında Henrietta Lacks isimli araştırmacının uterus servikal kanseri

üzerindeki çalışmaları sırasında kullanılmaya başlanmıştır. LASER ile ilgili çalışmalarda sıklıkla başvuru olan bir hücre kültürüdür.

Taşıyıcı moleküllerin redoks özelliklerindeki değişiklik: Redoks (oksidoreduksiyon) İngilizce reduction (indirgenme) ve oxidation (yükseltgenme) kelimelerinin kısaltılmasından elde edilmiş bir kelime olup elektron alış-verişinin olduğu kimyasal tepkimeleri belirtmek için kullanılır. İki çeşit redoks tepkimesi vardır:

Yükseltgenme bir atom, iyon ya da molekülün elektron kaybına uğradığı tepkimelerdir.

İndirgenme bir atom, iyon ya da molekülün elektron aldığı tepkimelerdir.

Elektron taşıyıcıların elektriksel durumlarının ışıkla uyarılmasından sonra redoks özelliklerindeki değişiklik, elektron transfer hızında artışa sebep olur. Buna benzer bir mekanizma da fotosentez reaksiyon merkezlerinde bulunur. Son ölçümlere göre, sitokrom c oksidaz molekülü veya sitokrom b-d ve b-0 komplekslerinin ışıkla uyarılması sonucu, bu merkezlerin redoks durumları ve moleküldeki elektron akış hızları etkilenir (49).

Absorbe eden kromoforların lokalize olarak ısınması: Bazı organik maddelerin rengini oluşturan ve aromatik bileşiklerin yapısında bulunduğu zaman molekülün görünür bölgede absorpsiyon bandına sahip olmasına sebep olan ve maddenin renkli olmasını sağlayan kimyasal gruba kromofor denir. Elektronik durumların ışıkla uyarılması sırasında, uyarılma enerjisinin bir bölümü ister istemez ısı enerjisine çevrilir. Bunun sonucunda, absorbe eden kromoforlarda lokal bir ısı artışı meydana gelir. Ortalama bir zaman veya uzaklıktaki bir örnekte ısı artışı, radyasyon yoğunluğu ve dozun ayarlanmasıyla önlenir. Absorbe edici biyomoleküllerdeki lokal sıcaklık artışı yapısal değişikliklere de sebep olabilir; enzimlerin aktivasyonu veya engellenmesi gibi biyokimyasal reaksiyonları tetikleyebilir. Kromoforların lokal ısınma problemi, tüm doku ısımlandığında farklı bir hal alır.

Artan süperoksit yapımı: Oksijenin solunum zincirindeki esas görevi 4 elektronun indirgenmesi sonucu suyun oluşmasıdır. Normal metabolik olaylarda oksijen bir veya iki değerlikle indirgenir. Hidroksil (HO) ve süperoksit (O_2^-) radikalleri bir elektronun indirgenmesiyle oluşur. Mitokondride ise, solunum zincirindeki elektron akışının uyarılması sonucu süperoksit oluşumunda artış gözlenir. Fizyolojik şartlar

altında adenosin difosfat (ADP)'ın oksidatif fosforilasyonu sırasında, süperoksit bir elektron kaynağı olarak kullanılabilir ve böylece mitokondrinin süperoksiti absorbe ettiği kanıtlanmıştır. Bazı yazarlara göre, bu anlatılan mekanizma dışında NADH'ye bağlı bir yolla da süperoksit elde edilebilir.

Singlet oksijenin açığa çıkması: *Singlet oksijen*, eşleşmemiş elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Monokromatik görünür ışığın HeLa hücrelerindeki DNA sentezine etkisi ve porfirin ve flavinlerin spektroskopik verilerine dayanarak, ışığın bu moleküller tarafından emilmesi singlet oksijenin açığa çıkmasına sebep olur. Karu ve ark. yaptıkları bir çalışmada, mantarların aerobik ve anaerobik ortamlarda He-Ne LASER ile ışınlanması sonucu protein sentezinde artış tespit edilmiştir. Bu bulgu, singlet oksijen teorisine ters düşmektedir (74, 88).

2.6.2.2. Sekonder reaksiyonlar:

Primer reaksiyonlar ışınlanma sürecinde gelişen reaksiyonlardır. Diğer bir yanda, radyasyon sonrası hücre içindeki biyokimyasal reaksiyonlar saatler ve günlerce sürer. Hücrelerin ışınlamadan sonraki biyolojik cevapları, sekonder reaksiyonlar olarak adlandırılır.

Işığın hücre üzerindeki etkisi sitokrom c oksidaz tarafından emilme miktarına bağlıdır. NADH dehidrogenaz gibi bazı flavoproteinler ise mavi ve kırmızı ışığa duyarlıdır. Solunum zinciri hücresel homeostazı sağlar. Buna bağlı olarak sitokrom ve flavinik komponentlerin ışıkla uyarılması sonucu diğer biyokimyasal reaksiyonların ve hücre çoğalmasının birikimli olarak artmasını sağlar.

Sekonder reaksiyonlarda, zincirleme metabolik etkiler hücresel düzeyde değişikliklerle sonuçlanmaktadır. İntrasellüler kalsiyum seviyesinin değişmesi sonucu mitokondriden sitoplazmaya kalsiyum salınır. Hücre metabolizması ve hücre migrasyonu, RNA ve DNA sentezi, mitoz bölünme, protein sekresyonu ve hücre proliferasyonu gibi yara iyileşmesi için gerekli olan iletişim yollarının düzenlenmesi uyarılmış olur.

Eğer fotoreseptörler mitokondride konumlanmışlarsa, nukleustaki DNA ve RNA sentezinde ya da plazma membranındaki değişiklikler nasıl oluşmaktadır? Bu sorunun cevabı pek belli değildir.

Sekonder reaksiyonların meydana gelmesinde üç iletim yolu söz konusudur. Birincisi intrasellüler ATP düzeyi üzerinden fotoreseptörün kontrolüdür. Bilinmektedir ki ATP düzeyindeki en ufak değişiklik dahi hücre metabolizmasında değişikliklere sebep olmaktadır. Yine de pek çok çalışmada redoks dengesinin rolünün ATP'den daha önemli olduğu ileri sürülmüştür. Örneğin hücrelerde meydana gelen hipoksik yaralanmalarda enerji durumundan çok hücrelerin redoks dengesini sağlaması daha önemli bir durumdur. İkinci ve üçüncü yollar hücrel redoks basamağı ile ilişkilidirler. Redoks potansiyelindeki artış daha fazla oksijen elde edilmesi ile sonuçlanacaktır.

Bazı çalışmalarda intrasellüler redoks basamağı ile pek çok hücrel iletişim yolları ayarlanmaktadır. Günümüzde ekstrasellüler uyarının, hücrel iletişim yoluyla proliferasyon ve differansiyasyon gibi hücrel cevapları meydana getirebildiğine inanılmaktadır. Hücrel redoks basamağının değişmesi hücrel iletişim yoluyla (fosfolipaz A₂ gibi moleküller aracılığı ile) gen ekspresyonunu etkileyebilmektedir.

Düşük dozlu LASER terapisinin etkilerindeki değişiklikler ışınım esnasında hücrenin genel redoks düzeyi ve pH'si ile açıklanmaktadır. pH'nin düşük olduğu (redoks basamağının indirgenmiş tarafa taşındığı) hücreler, normal ya da normale yakın pH değerine sahip olan hücrelerden daha kuvvetli cevap verirler.

2.6.2.3. Tersiyer reaksiyonlar:

Tersiyer reaksiyonlarda ışınlanmış hücreler birbirleri ile ve ışınlanmamış hücrelerle artmış sitokin ve büyüme faktörü seviyeleri sayesinde iletişim kurarlar. T lenfositlerinin, makrofajların ve mast hücrelerinin aktivasyonu ile immün yanıtta artış gerçekleşir. Endorfin salgılanmasında artış ve bradikinin salgılanmasında azalma sonucu ağrıda azalma meydana gelir.

Redoks mekanizması yalnızca solunum zinciri yoluyla etkilenmez, redoks zincirinde görünür spektrumdaki ışığı absorbe eden moleküller de metabolik yolların düzenlenmesinde rol sahibidir. Bunun bir örneği de fagositik hücrelerdeki nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidazdır (NADPH-oksidad). Bu da mitokondri dışındaki solunuma etkili bir faktördür. Bu çok komponentli enzim sistemi mikrobiyal ya da diğer aktivasyonlara karşı reaktif oksijen türlerini üreten redoks zinciridirler. He-Ne, yarı iletken LASER'ler ve diyot LASER'ler ile ışınım bu zinciri aktive edebilir. Sonuç olarak fagositlerin direk ışınlanması ile açığa çıkan bu reaktif oksijen türleri, doğrudan ışınlanmamış diğer hücreleri aktive ya da de-aktive edebilmektedir. Bu yolla,

ışınlanmamış hücrelerde indirekt aktivasyon (ya da süpresyon) meydana gelmektedir. Sekonder faktörler (reaktif oksijen türleri, lemfokinler, sitokinler ve nitrik oksit) aracılığıyla çeşitli hücreler arasında meydana gelen bu ortak etkileşim, düşük dozlu LASER'in organizma düzeyindeki etkisi düşünüldüğünde oldukça önemlidir (37, 74, 88).

2.6.3. DDLT'nin kemik dokusu üzerine etkileri:

Araştırmacılar, değişik tür LASER ışınlarının biyolojik etkilerini birçok deneysel çalışmalarda gözlemlemişlerdir. LASER uygulaması sırasındaki doz, uygulama sıklığı, dalga boyu gibi parametreler, bu araştırmalarda oldukça fazla değişkenlik göstermiştir.

DDLT, vazodilatasyona sebep olarak lokal kan akımında artışa sebep olur. Bunun sonucunda, dokuya oksijen taşır ve immün yanıtın başlamasını sağlayan hücrelerin göçünü hızlandırır. Mast hücreleri üzerine olan etkisi sayesinde damarsal olaylar başlar. 660, 829, 990 nm dalga boylarındaki ışığın, mast hücrelerinin degranülasyonunu başlattığı kanıtlanmıştır, granüller, enflamasyonu uyaran sitokinleri içerir. Sitokinlerin salınması sonucu ise dokulara lenfosit infiltrasyonu başlar. Lökosit trafiği için mast hücreleri önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle DDLT ile bu hücrelerin uyarılması önem kazanır.

DDLT sonucu ATP yapımı ve hücre metabolizma hızında artış olur. Buna bağlı olarak makrofaj, lenfosit, epitel hücreleri, fibroblastların çoğalması ve kollajen sentezi uyarılır.

DDLT'nin kollajen üretimini aktive etme ve artırma etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, sıçanların sırt cildinde panç kullanarak standart defektler oluşturulmuş ve operasyonu takiben, 48 saat aralıklarla 7 gün boyunca 685 nm ve/veya 830 nm DDLT uygulanmıştır. LASER uygulanan yaralarda iltihap daha ileri safhada ve daha yoğun izlenmiştir. İnflamatuvar yanıtın ışınlanan dokularda ani ve daha şiddetli olarak başladığı, iltihabın daha erken safhada çözüldüğü, artmış kollajen yapımının da buna bağlı olarak daha erken olduğu sonucuna varılmıştır (53).

Kollajen yapımının araştırıldığı bir başka çalışmada, 685 nm ve 830 nm dalga boylarında LASER cihazları kullanılmıştır. DDLT uygulaması operasyondan 24 saat sonra başlatılmak üzere 12 gün boyunca hergün yapılmıştır. Araştırmacılar, LASER

uygulanmasının kollajen sentezini arttırdığı ve daha sıralı bir yapı oluşturduğu sonucuna varmışlar; bu sonucun yanı sıra, doku yanıtının doz ve dalga boyuna bağımlı olarak değişiklik gösterdiği vurgulanmıştır(7).

DDLDT'nin biyolojik etkileri, LASER ışığının monokromasite ve koherentlik özelliklerinin yanı sıra, ışınlanan hücrelerin büyüme safhasına da bağlıdır. Yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar sonucu, belirli dalga boyu ve enerji yoğunluğundaki ışının, dokunun metabolizmasında değişikliklere neden olduğu kanıtlanmıştır (15).

DDLDT'nin kemik dokusunu stimule ettiği saptanmış ve bunun nedeni DDLDT'nin mitokondriyal ATP üretimi ve ATP'nin hücresel fosfolipit tabakadaki düzenlenme özelliği gibi genel etkilerine bağlanmıştır. Bunlara ek hipotezler ise ışınlanmış hücrelerin iyon alış veriş oranlarının düzenlenme kapasitesi ve böylece spesifik enzim ve substratların katalitik özelliklerine etki etmesidir (20).

LASER'in kemik üzerinde oluşturduğu etkiden sorumlu ana hücreler dışında, kemik yenilenmesinde kalsifikasyondan sorumlu çeşitli sitokinler ve büyüme faktörleri rol oynamaktadır.

Ozawa ve ark. sıçan kafatasından elde edilen hücre kültürü çalışmasında LASER'in kemik üzerinde oluşturduğu etkiden sorumlu ana hücrelerin belirlenmesi ve kemikteki rejenerasyon süresince LASER'in bu hücreler üzerinde ne gibi etkilerinin olduğunu araştırmışlardır. Böylece erken dönemde LASER uygulanması sonucu, kemik tomurcuklarının sayı ve alan bakımından fazla olmasını, alkalın fosfataz (ALP) aktivitesinde ve osteokalsin gen salınımında artışı sağlamıştır (64).

Başka bir hücre kültürü çalışmasında, araştırmacılar HeNe LASER kullanarak osteoblast hücrelerini 2. ve 3. günlerde ışınlayarak osteoblast hücre çoğalmasını immünohistokimyasal yöntemlerle; farklılaşma ve olgunlaşmasını ALP, osteopontin ve kemik siyaloprotein işaretleyicisi ile incelemişlerdir. Işınlanan hücrelerde bu değerlerin iki kat daha iyi olduğu bulunmuştur (81).

In vitro olarak 6 sıçan üzerinde yapılan bir organ kültürü çalışmasında, 12 femurun distal epifizinde standart bir alanda kemik defektleri oluşturulmuş, 6 defekt her gün olmak üzere 10 gün boyunca GaAlAs (780nm) LASER'e tabi tutulmuştur. Geri kalanlar kontrol grubu olarak bırakılmıştır. 21 gün sonra LASER grubunda, ALP ve Ca

oranlarında önemli artışlar gözlenmiş ve defektli alanın iyileşme oranı kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (29).

Bazı yazarlar, DDLT'nin kemik yapımındaki etkisini, osteoblastik aktivitede, damarlanmada ve kollajen liflerin organizasyon hızındaki artışa bağlamışlar. Kemik onarım safhasına bağlı olarak, DDLT'nin rezorpsiyon veya formasyonu hızlandırdığı birçok araştırmada kanıtlanmıştır (11). Liu ve arkadaşlarının tavşan tibiasında yaptıkları bir çalışmada, 830 nm dalga boylu LASER kullanmışlardır. Hematomun yeniden organizasyonu sırasında, erken dönemde kırık tamir sürecinin daha hızlı olduğunu ve kallus hacminin arttığını gözlemlenmiştir (46).

Nicolau ve ark. GaAlAs LASER'in kemik onarımı üzerine etkilerinin hücresel olarak incelendikleri bir çalışmada, statik kemik oluşumu için osteoid hacmi, osteoid yüzeyi, osteoblast yüzeyi ve osteoid kalınlığını analiz edilmiştir. 24 sıçan femurunda açılan defekti takiben 2, 4, 6, 8. günlerde 660 nm dalga boyu DDLT uygulanmıştır. LASER uygulanan grupta operasyondan 5 gün sonra kemik hacminde önemli artış saptanmıştır. 15. günde osteoblast yüzeyi LASER grubunda önemli derecede yüksek, 25. günde osteoid hacmi kontrol grubundakilere göre daha yüksek bulunmuştur. DDLT uygulanan grupta 5. günde osteoklast yüzeyi de önemli ölçüde yüksek bulunmuştur. Sonuçta bulgulara ilişkin 2 mekanizma düşünülmüştür. Birincisi LASER dalga boyunun direkt olarak osteoklastlar üzerine etki etmiş olması, ikincisi ise, osteoklastların osteoblast aktivitesine etki etmesidir. Bu çalışmanın sonucunda GaAlAs LASER'in hasar bölgesi ve çevresindeki kemik hücrelerini; özellikle de osteoklast aktivitesini arttırdığı, kemik onarım sürecinin iltihapsal periyodunda kullanıldığı zaman, normal hücre aktivitesini arttırdığı kanısına varılmıştır (60).

Garavello-Freitas ve arkadaşları, sıçanların tibialarında deneysel olarak oluşturulan defektlere 7 gün DDLT uygulamışlar, ilk hafta boyunca kontrol grubuna kıyasla, trabeküler alanda artış gözlenirken ikinci haftada anlamlı bir fark gözlenmemiştir (23).

Damarlanma, yara iyileşmesinde sirkülasyonun yeniden oluşması, iskemik nekrozun engellenmesi açısından can alıcı bir rol oynar. Damarlanmayı başlatan ve uyarıcı her türlü tedavi iyileşmeye yardımcı olur. Yeni oluşan dokuya oksijen ve besin desteği sağlarken, onarıcı hücrelerin büyümesini, göç etmesini, çoğalmasını ve sentez yapmasını sağlar (33).

Salate ve ark. sıçanların aşıl tendon yırtığı üzerine yaptıkları deneysel çalışmada, LASER uygulanan hayvanlarda, damarlanma olayının hem erken başladığını hem de kontrol grubuna kıyasla sayıca daha fazla olduğunu kanıtlamışlardır (77).

Garavello ve ark. sıçan tibialarında HeNe LASER'in kemik iliğinde oluşan yeni damarlar üzerine etkilerini araştırmışlar, cerrahi olarak oluşturulan defekti takiben bir gruba 7, diğer gruba 14 gün boyunca cilt üzerinden LASER uygulamışlardır. LASER uygulanan gruplarda uygulanmayan gruba göre kemik matriks yapımı daha hızlı bulunurken, 7 günlük LASER uygulaması damarlanmayı anlamlı derecede arttırmış, buna karşın 7 günden fazla uygulanan gruplarda damarlanma ve trabeküler alanda belirgin bir azalma gözlenmiştir (87).

Khadra ve ark., GaAlAs LASER'in kemik iyileşmesi üzerine etkilerinin histolojik ve histokimyasal yöntemlerle incelendiği çalışmada, sıçan kafatasında açtıkları defektlere 6 gün boyunca 23 J/cm^2 DDLT uygulamışlardır. 14 günde damarlanma ve fibröz doku oluşumu kontrol grubuna göre daha fazla bulunmuş, LASER ışını uygulanan örneklerde kalsiyum ve fosfor miktarının kontrol grubuna göre artış gösterdiği saptanmıştır. Bu minerallerdeki artış sebebi ise osteoblast farklılaşmasındaki artış olarak kabul edilmiş ve kalsifikasyona pozitif etkisi olduğu sonucuna varılmıştır (39).

Kemik onarımının DDLT ile stimüle edilmesi üzerine sayıca artan birçok çalışma vardır ve kemik dokusunun iyileşmesi üzerine olumlu sonuçlar ortaya koymaktadır. Bunu yanı sıra DDLT'nin implante edilen biyomateryaller üzerine etkileri konusunda çok az rapor edilmiş çalışma bulunmaktadır ve tedavi şekli olarak nadiren önerilmiştir.

Bazı yazarlar, kemik defektlerinin inorganik sıgır kemiğiyle onarımında DDLT'nin uyarıcı rolü olduğunu düşünmektedirler. Gerbi ve ark., sıçan femurunda oluşturulan defektlerin liyofilize sıgır kemiğiyle doldurulmasını takiben uygulanan LASER tedavisinin etkilerini araştırmışlardır. Hayvanlar, operasyonun hemen ardından ve gün aşırı olmak üzere yapılan 7 uygulama ile LASER ışınına maruz kalmışlardır. 15, 21 ve 30 gün sonunda histolojik bulgular, DDLT'nin organik liyofilize sıgır kemiğiyle birlikte uygulanmasının, kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine olumlu biyomodülatif etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Literatürdeki veriler, DDLT'nin hidroksilapatit

implant çevresinde de yeni kemik oluşumu ve sert dokuda artışa neden olduğunu göstermiştir (26).

Bir başka çalışmada Pinheiro ve ark., DDLT'nin inorganik sığır kemiği ile greftlenmiş defektler üzerine etkilerini araştırmışlardır. Işınlanan kemikteki tamir olayı, cerrahi işlem sonrası 15. gün gibi erken bir dönemde, greft etrafında artmış kemik oluşumu ve kollajen liflerin miktarı ile karakterizedir. Yazarlar, inorganik sığır kemiği ile onarılan defektlerde DDLT'nin olumlu etkilerinin olduğu sonucuna varmışlardır (71).

Lopes ve ark. yaptıkları çalışmada, 830 nm LASER uygulamasının dental implantların iyileşme süreci üzerine etkilerini araştırmışlardır. Raman spektroskopisi yöntemi kullanılarak yapılan bu çalışmada olgun kemiğin organik bölümü olan kalsiyum hidroksilapatit (CHA) miktarı ölçülmüş, ilk 15 gün sonunda deney ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunamazken; 30 ve 45. günlerde ışınlanan gruplarda CHA birikimi daha fazla ölçülmüştür. Yazarlar, 830 nm dalga boyunun derin penetrasyon gücü sayesinde dental implantların osseointegrasyonu sürecinde olumlu etkilerinin olduğu kanısına varmışlardır (47, 48).

Weber ve ark. otojen greft uygulanan kemik defektlerinde DDLT'nin etkilerini iltihabi yanıt, yeni kemik oluşumu ve kollajen sentezini histolojik yöntemlerle araştırmışlardır. 60 wistar sıçanı ile gerçekleştirilen bu deneyde, 830 nm dalga boyunda 10 J/cm^2 dozunda LASER, alıcı kemik yatağı ve/veya otojen grefte 15 gün süresince uygulanmıştır. Greft yatağının ışınlandığı gruplarda kemik oluşumu anlamlı ölçüde fazla bulunmuştur. DDLT hücrel çöğalma sürecinde uygulandığında tüm ışınlanan gruplarda kontrol grubuna kıyasla 15. günde daha fazla kemik oluşumu gözlenmiş olup, 21. günde daha stabil bulunmuştur (86).

Rochkind ve ark., DDLT'nin ve Bio-Oss materyali ile birlikte 14 gün boyunca uygulanmasının mineralizasyonu ve kemik onarımını arttırdığını belirtmişlerdir. Bununla birlikte başka araştırmacılar da 14 günden fazla süren LASER uygulamasının, stimülasyon konusunda başarısız olup ve zamana bağlı olduğunu rapor etmişlerdir (62, 76).

Khadra ve ark, GaAlAs LASER'in kemik içine yerleştirilen titanyum implantlarla osseointegrasyonunu histomorfometrik analiz, energy-dispersive X-ray microanalyzer (EDAX) ve germe-çekme testleriyle değerlendirmişlerdir.

Histomorfometrik analiz sonucu ışınlanan örneklerde daha yüksek kemik-implant teması tespit edilmiştir. EDAX sonucu deney grubundaki kalsiyum ve fosfor oranları daha fazla bulunurken, 8 hafta sonunda DDLT uygulanan örneklerde tam bir fonksiyonel bağlantı olduğu kanıtlanmıştır. Bu sonuçlara dayanarak DDLT, titanyum implantların bağlantısını olumlu yönde etkilemektedir (40). Ancak, DDLT'nin etkilerinin negatif bulunduğu çalışmalar da vardır.

David ve ark. HeNe LASER uygulamasının kırık iyileşmesi üzerine etkilerini radyolojik ve histolojik yöntemlerle incelemişlerdir. 62 sıçanın her iki tibiasında yapılan osteotomiye takiben 2 ve 6 hafta boyunca DDLT uygulanmıştır. Radyolojik ve histolojik tetkikler, HeNe LASER'in kemik iyileşme sürecini hızlandırmadığını göstermiştir (13). Jakse ve ark. yaptıkları *in vivo* çalışmada, sinus lifting ile birlikte dental implant uygulamasını takiben DDLT uygulamışlardır. İmplant uygulanan bölgeler, operasyon sırasında ve postoperatif bir hafta boyunca 680 nm dalga boyunda 3-4 J/cm² dozunda LASER ile ışınlanmıştır. Bu deneysel çalışmada yazarlar, DDLT'nin sinüs greftinin rejenerasyonu üzerinde olumlu bir etkisi bulunmamakla birlikte implant osseointegrasyonu üzerine olumlu etkilerinin olabileceğini düşünmektedirler (34).

DDLT'nin kemik-implant ve biyomateryallerle olan etkileşimi üzerine yapılmış fazla araştırma yoktur. Alıcı kemik ve biyomateryal arasındaki hücresel reaksiyonlar başarıyı belirler. Optimal doku-biyomateryal etkileşiminin aranmasında DDLT'nin bu hücrelere olan etkisi araştırılması gereken bir alandır.

2.7. Kemik greftleri:

Doku ve organların kazanılmış veya konjenital defektlerinin onarımında yer tutucu ve yeniden yapımı uyarıcı etkisi olan materyallere greft adı verilir. Oral ve maksillofasiyal bölgede kemikte oluşan bu dejenerasyon ve malformasyonlar kemik greftleri ile onarılmaya çalışılır (27, 89).

Kemik greftleri uygulandıkları bölgede dört ayrı mekanizma ile şekillenir:

Osseointegrasyon: Kemik grefti ve kemik yüzeyi arasında fibrotik bir tabaka olmadan kimyasal bir bağın meydana gelmesidir.

Osteokondüksiyon: Greft materyalinin rezorbe olarak yeni kemik oluşumunda çatı görevi üstlenmesi ve bu rezorbsiyon aşamasında defekt kenarında yeni kemiğin şekillenmesidir. Yani greft materyali defekte fiziksel destek sağlarken, aynı zamanda

tamir sürecinden kanlanmayı ve Havers kanallarının oluşmasını yönlendiren bir matriks oluşturmaktadır.

Osteoindüksiyon: Greft materyalinin uyarısı ile çevre dokulardaki kök hücrelerin değişerek, osteogenezisi başlatmasıdır. Osteoindüktif etki sadece kök hücrelerini etkilemeyip, bununla beraber kemik yenilenmesinin ve onarımının değişik aşamalarını uyaran faktörleri de içermektedir. Kas gibi heterotropik bir bölgeye yerleştirilen bir greft materyalinin etrafında kemik oluşumu gözlenirse bu biyomateryal osteoindüktif olarak kabul edilir.

Osteogenezis: Greft materyali içinde var olan osteoblastik hücreler ile yeni kemiğin şekillenmesidir. Greftin içinde hazır olarak bulunan osteoprogenitör hücrelerinin çoğalarak osteoblastlara dönüşmesi ve yeni kemik yapımına katılmasıdır. Sıklıkla otogreftlerde bulunan bir özelliktir (1, 30, 51, 66).

Kemik greftleri elde edildikleri dokulara veya üretildikleri maddelere göre başlıca 4 gruba ayrılır:

Otojen kemik greftleri:

Otojen kemik grefti, bireyin kendi vücudunun başka bir bölgesinden elde edilen kemiktir ve osteojenik etkili tek greft materyalidir. Bu yüzden tüm greft materyalleri arasında altın standart olarak değerlendirilir. Otojen kemik greftinin uygulamasını takiben iyileşme üç fazda gerçekleşir: greftlenen otojen kemik osteogenezis, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon süreçlerince iyileşir.

Serbest otojen kemik grefti, yerleştirilmesini takiben 2-4 haftalık sürede osteojenik etki gösterir. Greft ile birlikte transplante edilen osteoblastik hücreler, grefti çevreleyen vasküler dokudan beslenerek 3-4 gün hayatta kalır. Greft yüzeyinde bulunan osteoblastlar ve kök hücreler proliferasyondan ve yeni osteoid şekillendirmesinden sorumludurlar.

Greftlemeden yaklaşık 2 hafta sonra osteoindüktif süreç başlar, 6. haftada pik yapar ve 6 ay kadar sürer. En son aşamada osteokondüktif etki ile apozisyonel kemik oluşumu gerçekleşir.

Greft operasyonundan 3-7 gün sonra, kök hücreler ve endosteal osteoblastlar, az miktarda osteoid üretirler. Yeni oluşmakta olan kan dolaşımı arttıkça dokunun besin ve

oksijen desteği sağlanacak ve osteoid üretimi artacaktır. Bu süreçte yeni kemiğin şekillenmesi başlayacak ve organize olmayan ağsı kemik oluşumu meydana gelecektir.

Otojen kemik greftlerinin ikinci bir cerrahi prosedür gerektirmesi, post-operatif morbiditenin yüksek olması, donör alanlarda kemik dokunun zayıflaması gibi önemli dezavantajları sebebiyle bunlara alternatif olarak allogreftler ve heterogreftler geliştirilmiştir (3, 55).

Allogreftler:

Homojen kemik grefti (allogreft), aynı türden fakat farklı genetik özelliklere sahip bireylerden elde edilen greft materyalidir. Donörler yaşayan kişiler veya kadavralar olabilir. Bakteriyel enfeksiyon ve viral hastalıkları taşıması (hepatit, HIV), donörden donöre değişen kemik kalitesi, pahalı olması, yabancı cisim reaksiyon potansiyeline sahip olmaları gibi dezavantajları vardır. Allogreftlerdeki bu dezavantajları azaltmak ve yabancı cisim reaksiyonunu en aza indirmek için canlı hücreler uzaklaştırılır. Bu prosedürler ile allogreftlerde canlı hücre olmamasından dolayı osteojenik özellikler de zayıflar.

Bu işlemler sonunda kemikte kalan proteinlerden biri kemik şekillendirici proteindir (Bone Morphogenetic Protein-BMP). Demineralize kemiğin osteoindüktif potansiyelinin temelinde kemik matrisi proteinleri özellikle de BMP yer almaktadır. Demineralize kemik bütün BMP türlerini bilinmeyen oranda içerisinde bulundurmaktadır (3, 4).

Ksenogreftler:

Ksenogreftler, farklı bir türde canlıdan elde edilen greft materyalleridir. Söz konusu materyallere örnek olarak doğal hidroksilapatit ve organize olmamış sığır kemiği gösterilebilir. Ksenogreftler antijenlerinin insan türünden farklı olmasından dolayı yabancı cisim reaksiyonuna neden olurlar. Bu reaksiyonu azaltmak için uygulanan yöntemlerden dolayı osteojenik kapasiteleri de düşük seviyelerde kalmaktadır, osteokondüktif özelliktedirler (2, 56).

Alloplastik kemik greftleri:

Otogreftlerin sınırlı miktarda elde edilmesi, allogreft ve ksenogreftlerin hastalık transfer riski gibi istenmeyen özelliklerinden dolayı günümüzde araştırmacılar sentetik yolla üretilmiş osteoindüktif greft materyallerine yönelmişler ve birçok sentetik materyali kemik defektlerinde kullanılmak üzere üretmişlerdir. Alloplastlar son yıllarda maksillofasiyal iskeletin onarımında kullanılan gerekli bir materyal haline gelmiştir. Alloplastik materyallerin başarı veya başarısızlığı bir çok etkene bağlıdır. Örneğin kimyasal birleşimi, biyostabilitesi, fiziksel formu, mekanik özellikleri, implante edilecek olan saha gibi. Vücutta genel olarak bulunan maddelerin alloplastların kimyasal yapısında bulunması implantın başarı oranını artırır. İskelet sistemi primer olarak kalsiyum, yumuşak dokularda da hidrokarbondan oluşur. Genelde alloplastlar bu iki yapının temel bağı olan karbon ve kalsiyumdan elde edilmişlerdir. Alloplastik greftler, seramikler, biyoaktif cam, kalsiyum karbonat, kompozit polimerler ve kalsiyum sülfat gibi sentetik materyallerdir (2, 31).

2.8. Karbon köpük:

Aynı elementin uzayda farklı şekilde dizilerek oluşturduğu kristallerine allotrop denir. Elmas ve grafit, karbonun allotroplarıdır. Elmasta her karbon atomu, dört başka karbon atomuna bağlanarak üç boyutlu katı bir yapı oluşturur. Bal peteği şeklinde birbirine paralel olarak düzenlenmiş şekline ise grafit adı verilir. Karbonun birçok formu, biyouyumluluğu sayesinde çeşitli biyolojik uygulamalarda kullanılmıştır. Karbonun birçok uygulamada kullanılmasının sebebi, karbon atomlarının oluşturduğu çok çeşitli yapılarıdır. Grafit kaplı pirolitik karbon kalp kapağı protezleri gibi, çeşitli biyolojik kaplamalar için bir temel malzeme olarak kullanılan inert bir materyaldir. Grafitik karbon köpük, gözeneklilik ve düşük yoğunluk gibi özellikleri sayesinde, termal ve elektriksel özelliklere sahiptir ve ısı alıcıları, radyatör, uzay teknolojisi gibi alanlarda da potansiyel uygulamaları olan yeni bir malzemedir.

Elmas ve grafit dışında karbonun camı karbon, fulerenler, kümelenmiş elmas nanoçubuklar, karbon nanoköpüğü gibi yapay allotropları da vardır. Doğal karbon allotroplarının yanı sıra bu yapay allotroplar, kardiyovasküler, ortopedik ve dental alanlarda kullanım yeri bulmuşlardır. Karbon materyali 25 yılı aşkın bir süredir tıbbın birçok alanında araştırılmıştır. Bilimsel dergilerde, karbon materyalinin olağanüstü kimyasal ve fiziksel özelliklerini kanıtlayan yazılar sunulmuştur (42, 52).

İdeal kemik greft materyalini bulmak birçok araştırmacının hedefi olmuştur. Geçtiğimiz 10 yıl boyunca kemik defektlerinin onarımında çeşitli greft materyalleri popülerlik kazanmıştır. Bu materyallerin çoğu osteokondüktiftir ve implante edildiği ortamda bir iskelet yapısı oluştururlar. Greft materyalinin gözenekli olması, kemiğe daha kolay infiltre olmasını, greft materyalinin osseointegre olmasını ve kemik iyileşmesinin hızlanmasını sağlamaktadır. Alıcı kemikten oluşan en az üç duvarın bulunması kapiller damarlar ve osteoprogenitör hücrelerin, bu gözenekli iskelet yapısının derinlerine doğru gelişmesini kolaylaştırır.

Bu çalışmada incelenecek olan karbon köpüğün yapıldığı mezofaz zifti Mitsubishi AR ziftidir. Bu zift sentetik naftalin türevli olup % 100 anizotropik mezofazdır. Mitsubishi AR zifti gibi sentetik malzemelerden türetilmiş mezofaz ziftleri kömür katranı veya petrol ziftinden türetilmiş mezofaz ziftlerine oranla daha homojen molekül dağılımına sahiptirler. Termoplastik ana malzemenin erimiş haldeyken yüksek basınç bölgesinden düşük basınç bölgesine geçmesiyle düşük ağırlıklı moleküller buharlaşarak köpük oluşumu sağlanır. Üfleme yöntemi denilen bu yöntemle hücre kenarlarında yüksek oranda tabakalaşmış yapılar oluşur. Uygulanan ek ısıl işlemler sonucunda bu tabakalı yapı önemli miktarda değişir. Elde edilen ham köpük üzerine uygulanacak stabilizasyon, karbonizasyon ve grafitizasyon işlemleri ile yüksek modüle sahip karbon fiberlerle kıyaslanabilir yüksek derecede grafitizasyon elde edilebilir. Hücre kirişlerinin birbiriyle bağlı ağ yapısı nedeniyle, grafitik karbon köpüğün elastik modülünü ve ısıl iletkenliğini geniş bir aralıkta değiştirmek mümkündür (18, 83).

Karbon köpük biyouyumluluğu kanıtlanmış bir materyaldir. Maurer ve ark. yaptıkları *in vitro* çalışmada grafitik karbon köpük, silikon dioksitle kaplanmış karbon köpük, kollajenle kaplanmış karbon köpük ve karbon nanotüple kaplanmış karbon köpüğün insan osteoblast hücreleri ile ilişkisini araştırmışlardır. Kaplanmamış olan örneklerde osteoblast hücreleri düzenli bir ağ oluşturacak şekilde yayılmışlardır. Silikon dioksitle kaplı yüzeyler ise hidrofilik bulunmuş fakat hücreler küme halinde homojen olarak yapışmamıştır. Kollajen kaplanmış yüzeylerde, kollajen, gözenekleri kapatmış, osteoblast yapışmasını engellemiştir. Karbon nanotüple kaplanmış olan örneklerde ise, hücrelerin yapışacağı yüzey alanı arttığı için implant materyali için daha uygun bulunmuştur (52).

Turgut ve ark. 30 sıçanda yaptıkları *in vivo* çalışmada ise karbon köpüğünün biouyumluluğunu test edip kemik içerisine yerleştirildiğinde, kemikle olan ilişkisini gözlemlemişlerdir. 15 sıçanın sırt cildinde insizyon yapılarak karbon köpük yerleştirilmiş, 3 ay sonunda köpüğün etrafında ince bir fibröz kapsül gözlenmiştir. Köpüğün gözenekleri arasında gevşek bağ dokusu görülmüştür. Kapsülün çevresi ise artmış damarlanma ile karakterizedir. Diğer 15 sıçanın femurunda ise monokortikal defekt açılıp karbon köpük defekte uyarlanarak yerleştirilmiştir. 3 ay sonunda yapılan histolojik inceleme sonucu ise karbon köpüğün, kemiğin trabeküler yapısıyla devamlılık arz ettiği, bunun yanı sıra iltihabi hücrelerin çok az sayıda olduğu, damarlanmanın arttığı gözlenmiştir. Yazarlar, karbon köpüğün sitotoksik etkisinin olmadığını ve sıçanlarda yabancı cisim reaksiyonuna sebep olmadığını vurgulamakla birlikte, bu konuda daha fazla çalışmanın yapılması gerektiği kanısına varmışlardır (83).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ:

150 adet Wistar-Albino türü, 250±20 gr ağırlığında ve 10-12 haftalık erkek sıçan

Ketamin HCl (50 mg/ml Ketalar®, Parke Davis)

Steril ameliyat takımı

10 cc'lik insülin enjektörleri

Fizyodispenser (KaVo, Almanya)

Cerrahi piyasemen (KaVo, Almanya)

% 0,9 serum fizyolojik

1 mm çapında yuvarlak uçlu paslanmaz çelik frez

3.0 ipek dikiş ipliği (Doğsan, İstanbul, Türkiye)

% 10'luk formaldehit çözeltisi

Laboratuar eleği (Retsch, Almanya)

Karbon köpük greft materyali

810 nm dalga boylu LASER cihazı (Biolase, ABD)

3.2. YÖNTEM:

3.2.1. Deneysel hayvanları ve grupları:

Çalışmamızda deneysel hayvanlarının ameliyatları ve sakrificasyonları İ.Ü. Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü Deneysel Hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Greft materyali içeren kemik dokuları Zürih Üniversitesi'nde hazırlanmış olup diğer örneklerle birlikte, histopatolojik incelemeler İ.Ü Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

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

Çalışmamızda 150 adet Wistar Albino cinsi 250±20 g ağırlığında 10-12 haftalık erkek denek, deney süresi boyunca 21±1°C sıcaklıkta, bağıl nem oranı % 40-60, ışık

periyodu 12 saat aydınlık 12 saat karanlık standardını sağlayacak şekilde otomatize edilmiş olan ortamda, metal kafesler içerisinde muhafaza edilmişlerdir. Denekler, İstanbul Yem Sanayi tarafından üretilen % 21 oranında protein içeren standart sıçan yemi ve şehir suyu ile beslenmişlerdir.

Çalışmamızda etik kurallara uygunluk açısından, deneyde kullanılan sıçanların sağ ve sol tibiaları deney protokolüne dahil edilmiştir. Araştırmamız 4 ana grup ve 7., 14., 21., 30., 60. günlerde sakrifikasyon dönemlerine göre düzenlenmiş 5 alt grup içermektedir.

3.2.2. Ana gruplar ve alt grupları:

1. Grup: 50 denekten oluşan bu grupta, deneklerin sağ tibialarına kemik defekti açılıp ipek dikişle kapatılmıştır. Operasyonu takip eden 1., 3. ve 7. günlerde 40 saniye süresince DDLT uygulanmıştır. Sakrifikasyon günlerine göre 5 alt gruba ayrılmıştır:

- 7. günde sakrifiye edilen alt grup
- 14. günde sakrifiye edilen alt grup
- 21. günde sakrifiye edilen alt grup
- 30. günde sakrifiye edilen alt grup
- 60. günde sakrifiye edilen alt grup

2. Grup: 50 denekten oluşan bu grupta, deneklerin sağ tibialarına kemik defekti açılıp, defektin içerisine karbon greft materyali uygulanmış, ipek dikişle kapatılmıştır. Sakrifikasyon günlerine göre 5 alt gruba ayrılmıştır:

- 7. günde sakrifiye edilen alt grup
- 14. günde sakrifiye edilen alt grup
- 21. günde sakrifiye edilen alt grup
- 30. günde sakrifiye edilen alt grup
- 60. günde sakrifiye edilen alt grup

3. Grup: 50 denekten oluşan bu grupta, deneklerin sağ tibialarına kemik defekti açılıp, defektin içerisine karbon greft materyali uygulanmış, ipek dikişle kapatılmıştır. Operasyonu takip eden 1., 3 ve 7. günlerde 40 saniye süresince DDLT uygulanmıştır. Sakrifikasyon günlerine göre 5 alt gruba ayrılmıştır:

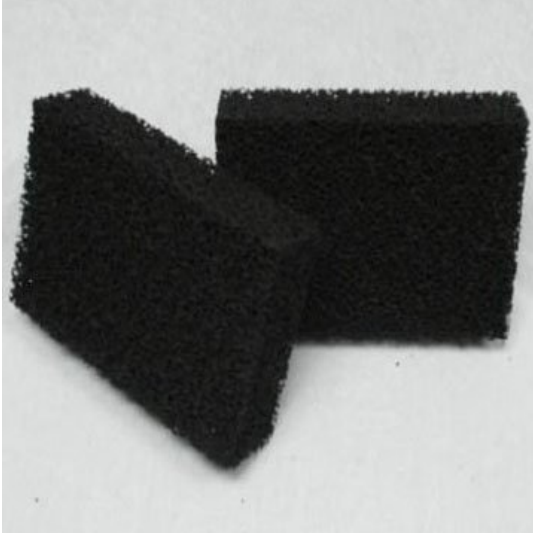
- 7. günde sakrifiye edilen alt grup
- 14. günde sakrifiye edilen alt grup
- 21. günde sakrifiye edilen alt grup
- 30. günde sakrifiye edilen alt grup
- 60. günde sakrifiye edilen alt grup

4. Grup: 50 denekten oluşan bu grupta, deneklerin sol tibialarına kemik defekti açılıp ipek dikişle kapatılarak doğal iyileşmeye bırakılmıştır. Sakrifikasyon günlerine göre 5 alt gruba ayrılmıştır:

- 7. günde sakrifiye edilen alt grup
- 14. günde sakrifiye edilen alt grup
- 21. günde sakrifiye edilen alt grup
- 30. günde sakrifiye edilen alt grup
- 60. günde sakrifiye edilen alt grup

3.2.3. Greft materyalinin hazırlanması:

Ekşilioğlu ve ark. tarafından üretilen blok şeklindeki mezofaz zift tabanlı karbon köpük (Şekil 3-1), 1-2 mm büyüklüğünde partiküllerin elde edilebilmesi için, kemik havanında öğütüldükten sonra, eşit büyüklükte partiküller elde etmek için özel laboratuvar eleklerinden geçirilmiştir (Şekil 3-2).



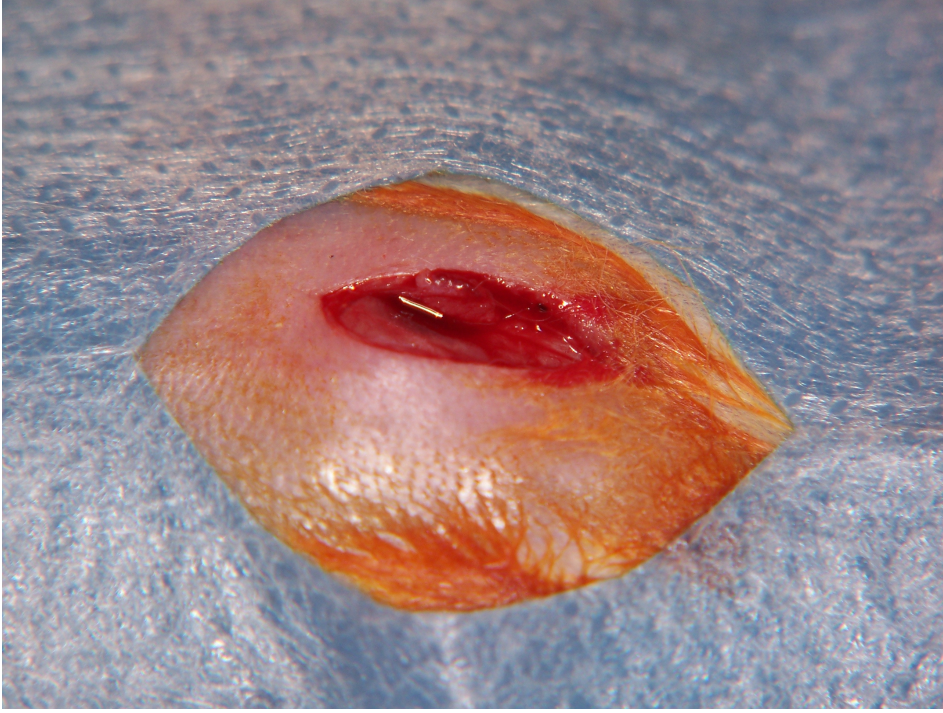
Şekil 3-1: Karbon köpük bloğu



Şekil 3-2: Laboratuvar eleği

3.2.4. Cerrahi protokol:

Deneklere, 100 mg/kg I.M ketamin HCl enjeksiyonuyla genel anestezi uygulandı. Standart pozisyona getirilen sıçanların sağ ve sol bacaklarının medial yüzleri traşlanp, iyot solüsyonuyla dezenfekte edildikten sonra, tibiaların medial yüzeylerine ulaşmak amacıyla 20 mm uzunluğunda longitudinal cilt disseksiyonu yapıldı (Şekil 3-3). Künt disseksiyonla tibiaların medial yüzeyine ulaşıldı (Şekil 3-4).

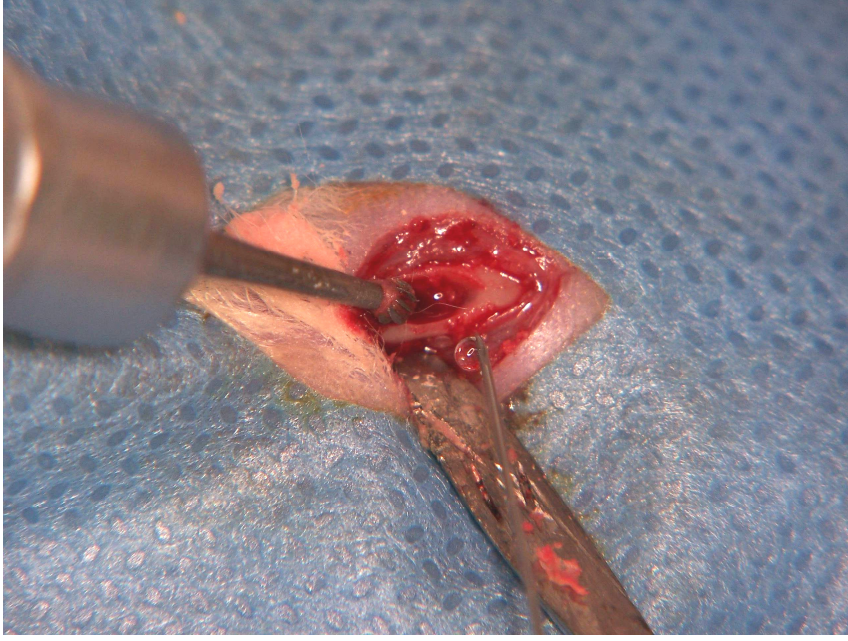


Şekil 3-3: Longitudinal cilt disseksiyonu



Şekil 3-4: Tibianın medial yüzeyi

Serum fizyolojik irrigasyonu altında piyasemene takılı 1 mm çapındaki paslanmaz elik yuvarlak uçlu cerrahi frezle korteks ve medulla tabakalarını içine alan kemik defektleri oluşturuldu (Şekil 3-5). Grup 2 ve 3'te deneklerin sağ tibialarına serum fizyolojik içerisinde bekletilen karbon köpük greft materyali uygulandı (Şekil 3-6, 3-7). Operasyon bölgesi 3,0 dikişlerle kapatıldı (Şekil 3-8).



Şekil 3-5: Serum fizyolojik irrigasyonu altında kemik defekti açılması



Şekil 3-6: Karbon greft materyali



Şekil 3-7: Defektin içerisindeki greft materyali



Şekil 3-8: Defekt bölgesinin 3,0 dikişle kapatılması

3.2.5. Postoperatif DDLT uygulaması:

Çalışmamızda 'Lasersmile' yarı iletken GaAlAs diyot LASER kullanılmıştır. Her uygulamada dalga boyu 810 nm 2 cm² alana 0,5 W çıkış gücüyle 40 sn. ve 10 J/cm² dozda enerji verilmiştir. LASER uygulaması, günlük aynı saatlerde olmak üzere 1., 3. ve 7. günlerde insizyon hattı hedef alınarak yapılmıştır. 1,5 cm'lik mesafeyi ayarlayabilmek için fiber optik uca kroşe bükülmüş ve dokuya nazik temasla mesafe standardizasyonu sağlanmıştır.



Şekil 3-9: Lasersmile Diyet LASER cihazı



Şekil 3-10: Postoperatif DDLT uygulaması

3.2.6. Histopatolojik değerlendirme:

Denekler, yüksek doz anestetik madde ile sakrifiye edildikten sonra her iki tibianın defekt bulunan kısımları çıkarılmıştır. Greft materyali içermeyen örnekler, en az 24 saat % 10'luk formaldehit içinde fiksasyon sürecini takiben, 48 saat boyunca % 15'lik nitrik asit solüsyonu ile dekalsifiye edilmiştir. Rutin doku takibinin ardından, longitudinal kesit almaya uygun bir şekilde parafin bloklara gömülmüştür. Her örneğe

ait parafin bloklardan ortalama 2-4 µm kalınlıkta seri kesit alınarak HE ile boyanmıştır. Bağ dokusu ve kemik gelişimine ait değişikliklerin daha rahat incelenebilmesi amacıyla gerekli görülen bazı örneklere ait kesitlere Masson Trikrom histokimyasal reaksiyonu uygulanmıştır.

Greft materyali içeren örneklerde ise,

Dehidratasyon işlemi: Örnekler % 70, % 80, % 90, % 96,5 ve % 99,5'lik derişimlerde hazırlanmış 5 adet etil alkol solüsyonu içerisinde değişimleri artan sırayla 24'er saat bekletilerek kurutulmuştur. En son kapta % 99,5'lik etil alkol solüsyonunda bekletilen örnekler plastik infiltrasyon safhasına hazır hale getirilmiştir.

Plastik infiltrasyon: Örnekler histolojik kesitlerde kullanılmaya elverişli metilmetakrilat historezin solüsyonu (Technovit® 7200 VLC, Kulzer & CO. GmbH, Friedrichsdorf, Germany) içerisinde, negatif basınç altında 8-12 saat süreyle tutulmuştur.

Örneklerin gömülmesi ve akril polimerizasyonu: Örnekler özel şeffaf kutular içerisinde Technovit® 7200 historezin kullanılarak gömülmüştür. Hava kabarcığı olmaması için vakum altında örneklerin gömüldüğü kutular sabit 40°C'de, düşük yoğunlukta sarı ışık altında 4 saat polimerize edilmiştir. Doku içine işlemiş olan rezinin tam olarak polimerizasyon için yüksek yoğunlukta mavi ışık (450 nm) kullanarak polimerizasyona 4 saat daha devam edilmiştir.

Blokların ilk kesime hazırlanması ve paralel yüzey hazırlığı: Bloklar şeffaf kutucuklar kırılarak çıkarılmıştır. Düz olan alt yüzey bir pleksiglas lam üzerine polimetilmetakrilat yapıştırıcı (Technovit® 7210 VLC, Kulzer & CO. GmbH, Friedrichsdorf, Almanya) yardımıyla vakum altında yapıştırılmıştır. Örneğin, lama yapıştırılmayan tarafının paralel yüzey hazırlığı "Exakt Mikroaşındırma Sistemi" kullanılarak 1200 grit zımpara yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Daha sonra karşıt yüzeye paralel olacak şekilde ikinci bir pleksiglas lam yapıştırılmıştır.

Bloktan ilk kesit alma: Örneklerden "Exakt 300 CP Hassas Kesme Sistemi" kullanarak elmas testere yardımıyla preparatı ortadan ikiye ayıracak şekilde ilk kesitler elde edilmiştir. Tam orta hattan elde edilen kesitlerin yüzey paralelligi "Exakt Mikroaşındırma Sistemi" kullanılarak 1200 – 2500 grit zımparalarla sağlandıktan sonra polisajlı yüzeylere tekrar pleksiglas lam yapıştırılmıştır. İkinci kez testereye alınan

örneklerden preparata yakın final kesitler alınmıştır. Son kesitlerin kalınlığı 200 µm olacak şekilde ayarlanmıştır.

Final Kesitin hazırlanması: 200 µm kalınlıktaki son kesiden sonra örneklere tekrar “Exakt 400 CS mikroaşındırma Sistemi” yardımıyla zımpara uygulanmıştır. 1200 grit elmas kaplı zımpara ile 80 µm kalınlığa indirilen kesitler, 2500 grit zımparayla polisajlanarak 50 µm kalınlığa inceltiştir. Orta kesinin iki tarafından her örnekten analize tabi tutulacak iki kesit hazırlanmıştır.

Boyama işlemi: Hazırlanan final kesitler % 10'luk H₂O₂ banyo solüsyonunda 5 dakika bekletildikten sonra Toluidin Mavisi ile 30 dk boyanıp yıkanmıştır. 8 saat karanlık ortamda kurumaya bırakılmıştır.

Tüm mikroskopik incelemeler Olympus BX50'de yapılmıştır. Elde edilen sonuçlardan Nikon Eclipse 80i dijital kamera kullanılarak, yüksek rezolüsyon modunda yapılan fotoğraflama ile resim örnekleri alınmıştır.

Kesitler aşağıdaki değerlendirme kriterlerine göre sınıflandırıldı:

- Yeni kemik yapımı alanları
- Yeni oluşan kemiğin niteliği
- Fibrozis
- Damarlanma
- İltihap

Yeni kemik yapımı alanları:

% 0 - % 30 arası alanı kaplıyorsa(+),

% 40 - % 70 arası alanı kaplıyorsa (++) ,

% 70'tan fazla alanı kaplıyorsa (+++) olarak değerlendirildi.

Yeni oluşan kemiğin niteliği

% 0 - % 30 arası olgunlaşmışsa (+),

% 40 - % 70 arası olgunlaşmışsa (++) ,

% 70'ten fazla olgunlaşmışsa (+++) olarak değerlendirildi.

Fibrozis:

% 0 - % 5 arası alanı kaplıyorsa (-),

% 5 - % 30 arası alanı kaplıyorsa (+),

% 30 - % 60 arası alanı kaplıyorsa (++) ,

% 60'tan fazla alanı kaplıyorsa (+++) olarak değerlendirildi.

Damarlanma:

% 0 - % 30 arası alanı kaplıyorsa (+),

% 40 - % 70 arası alanı kaplıyorsa (++) ,

% 70'ten fazla alanı kaplıyorsa (+++) olarak değerlendirildi.

İltihap:

İltihabi hücre infiltrasyonu varsa (-),

İltihabi hücre infiltrasyonu yoksa (+) olarak değerlendirildi.

İstatistiksel değerlendirme:

İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007&PASS (Power Analysis and Sample Size) 2008 Statistical Software (Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma, medyan, frekans) yanı sıra verilerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis test ve farklılığa neden çıkan grubun tespitinde Mann Whitney U test kullanıldı. İltihap verilerinin değerlendirilmesinde ise Ki-Kare test kullanıldı. Anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Histopatolojik bulgular:

4.1.1. Kontrol grubu:

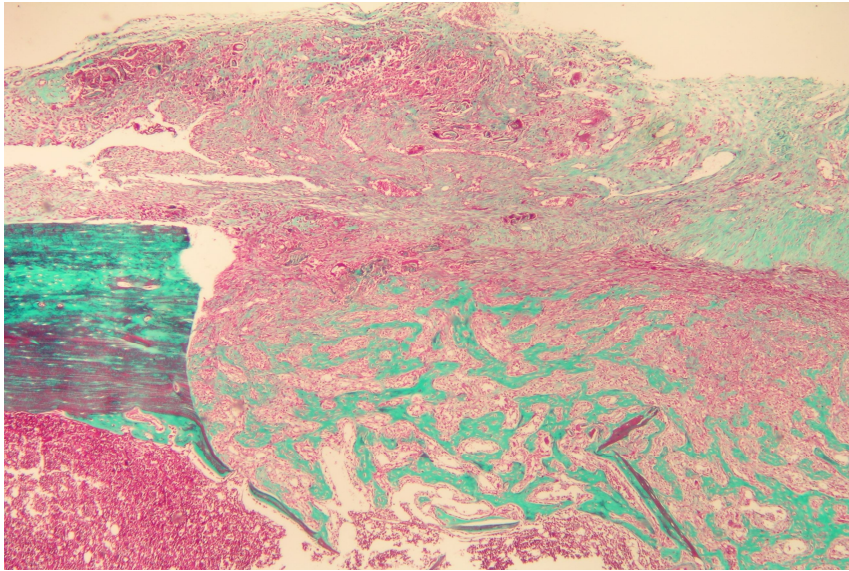
7. günde defekt alanının yaklaşık % 35'ini dolduran osteoid doku ince ve immatürdür. Fibrotik bağ dokusu daha çok defektin periosta bakan tarafında yoğun olarak izlenmektedir. Bununla birlikte birkaç örnekte iltihabi infiltrasyon görüldü (Şekil 4-1, 4-2).

14. günde gevşek bağ dokusunun altında, 7. güne kıyasla daha matür, ince trabeküler kemik taslağı oluşumu vardır. Defekt alanının ancak % 45'ini kaplamaktadır. Periostal alanda hafif fibrozis mevcuttur (Şekil 4-3, 4-4).

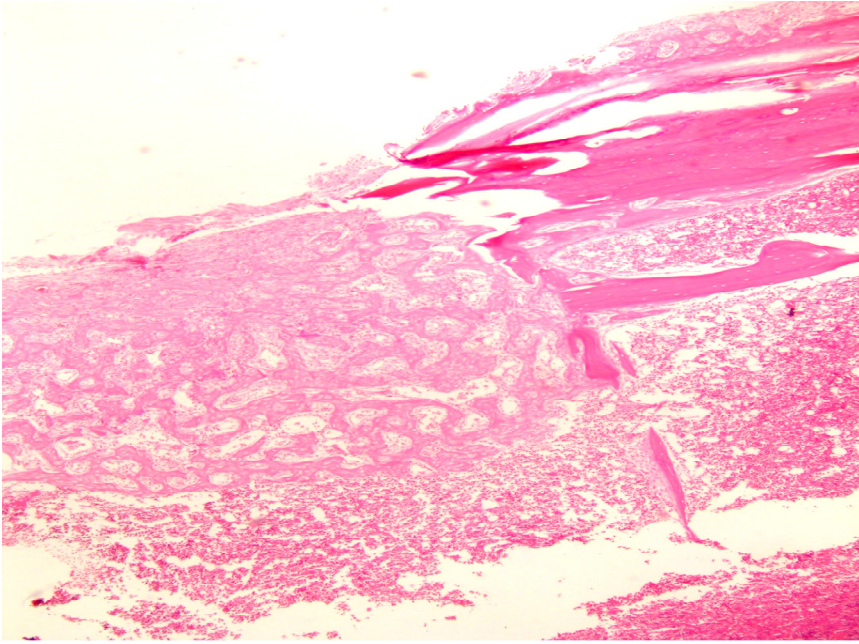
21. günde çoğu örnekte kortikal onarımın gerçekleştiği ve defektin büyük bir kısmının meduller doku ile dolduğu görülmüştür. Osteoblastik aktivitedeki artış, kemiğin daha lamellar tarzda görünmesini sağlamaktadır (Şekil 4-5, 4-6).

30. günde kemik remodelasyonu belirgin olup kortikal defektte kapanmanın sağlandığı görülmüştür (Şekil 4-7, 4-8).

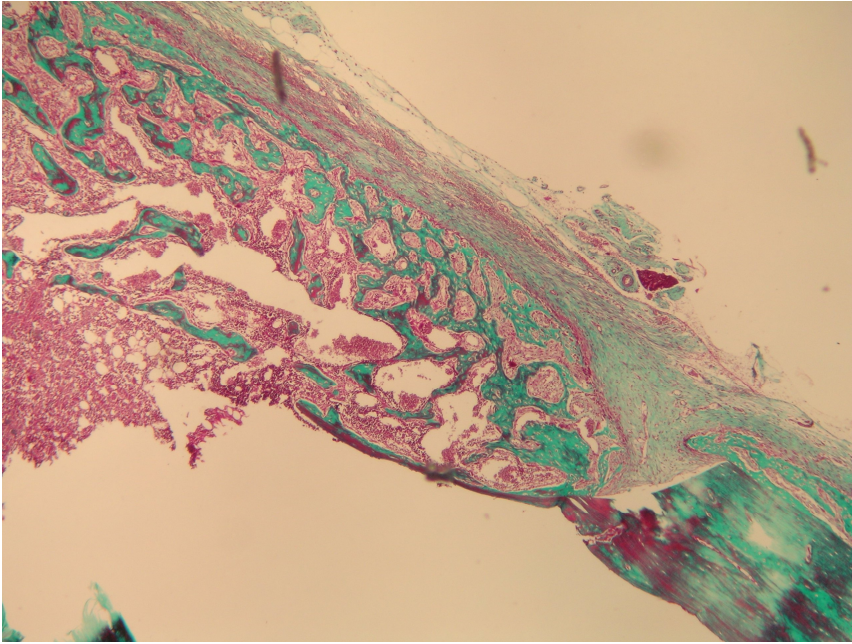
60. günde ise kemik defekti ile kortikal kemik neredeyse birbirinden ayırt edilemeyecek kadar matür ve intaktır (Şekil 4-9).



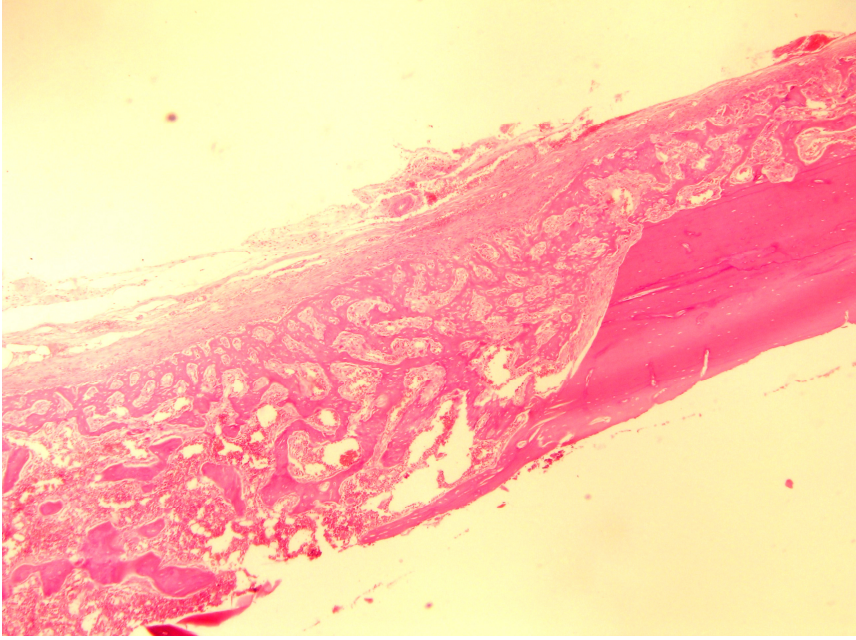
Şekil 4-1: 7. gün kontrol grubunda immatür ince trabeküler osteoid madde (Masson Trikrom x40)



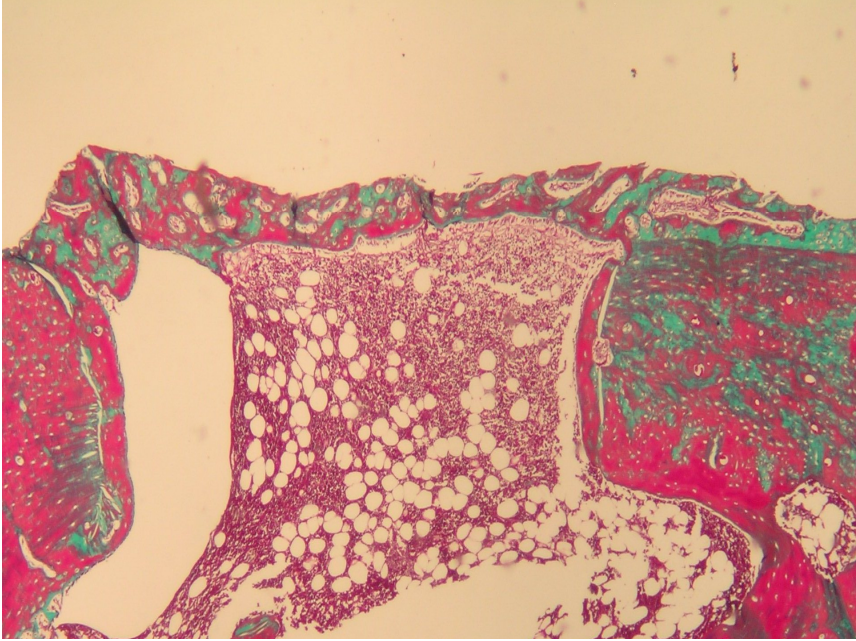
Şekil 4-2: 7. gün kontrol grubunda kemik taslağı şeklinde kallus (HE x40)



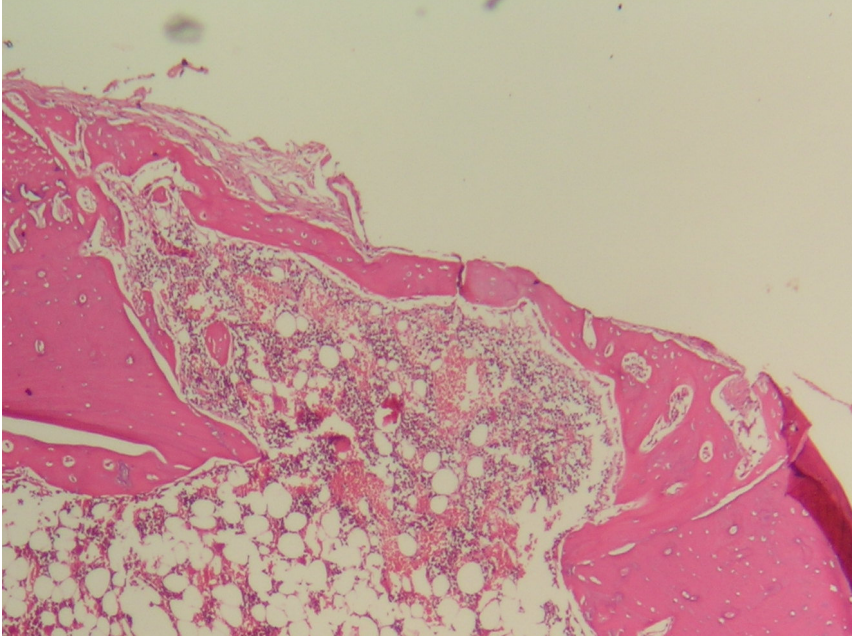
Şekil 4-3: 14. gün kontrol grubunda defekt içerisinde periosttan başlayan yeni kemik oluşumu ve damarlanma (Masson Trikrom x40)



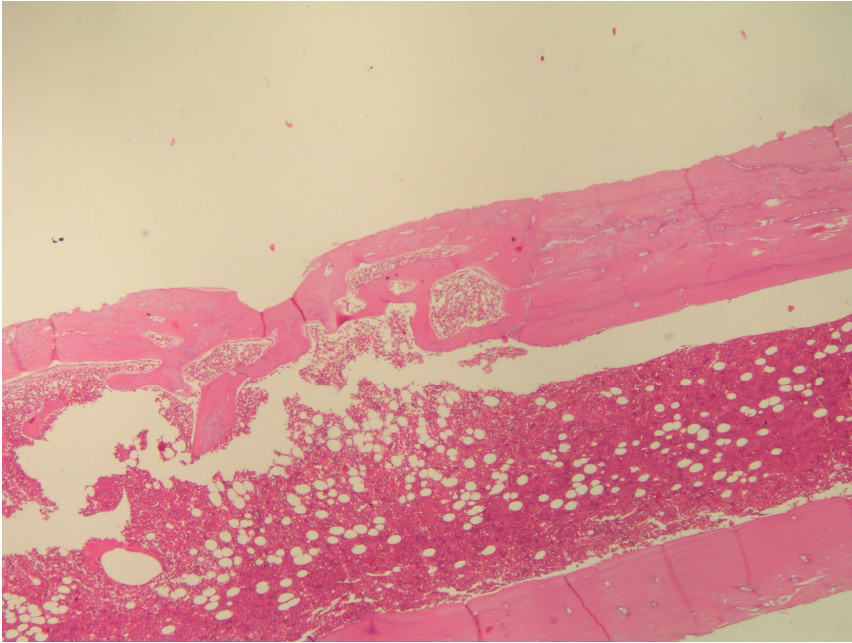
Şekil 4-4: 14. gün kontrol grubunda defekti dolduran ince kemik trabekülleri (HE x40)



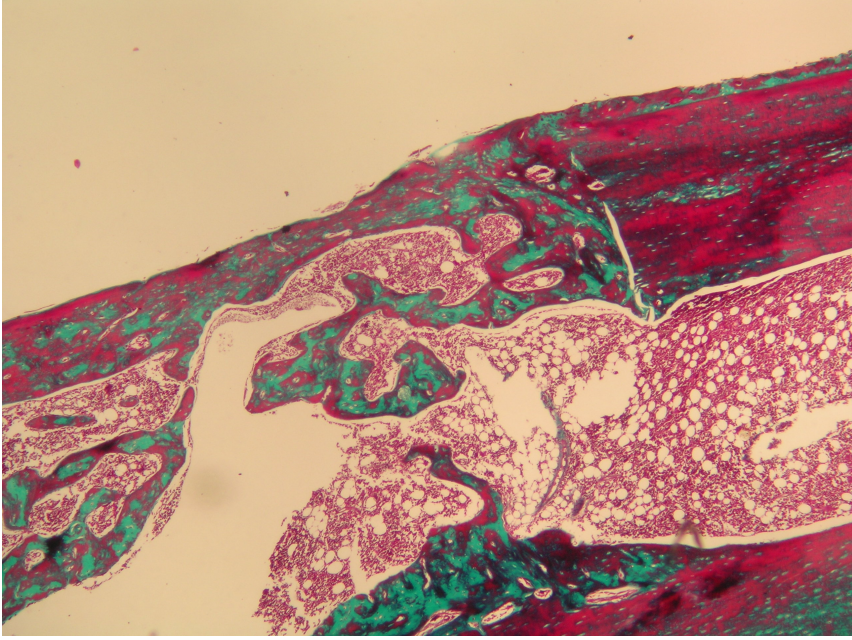
Şekil 4-5: 21. gün kontrol grubunda kortikal kapanma başlangıcı (HE x40)



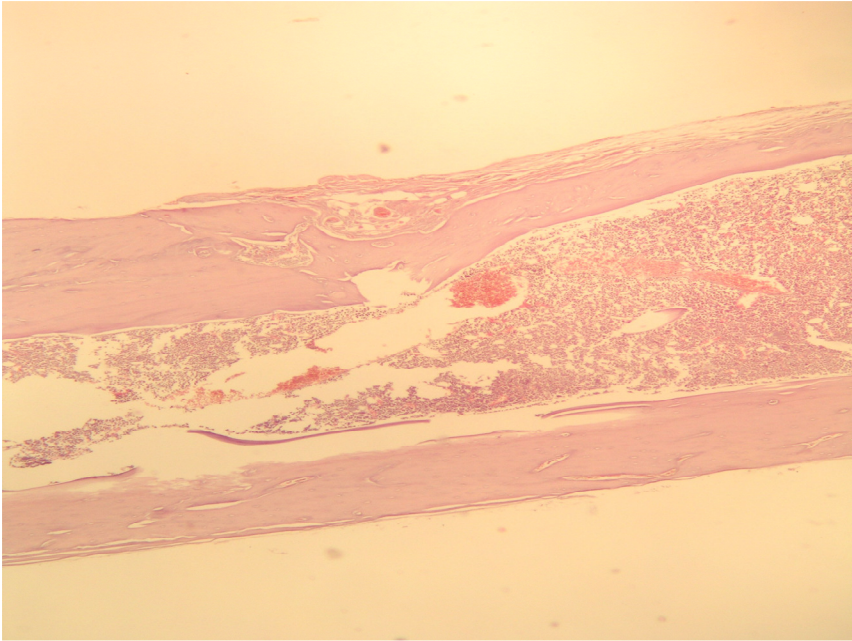
Şekil 4-6: 21. gün kontrol grubunda defektin içerisindeki meduller ve kortikal doku (HE x40)



Şekil 4-7: 30. gün kontrol grubunda defekt bölgesinde yoğun kemikleşme (HE x40)



Şekil 4-8: 30. gün kontrol grubunda defekt bölgesini tümüyle kapatan, çevreye göre daha ince kompakt kemik dokusu görülmektedir (HE x40)



Şekil 4-9: 60. gün kontrol grubunda kortikal nitelikte kemik oluşumu (HE x40)

4.1.2. LASER Grubu:

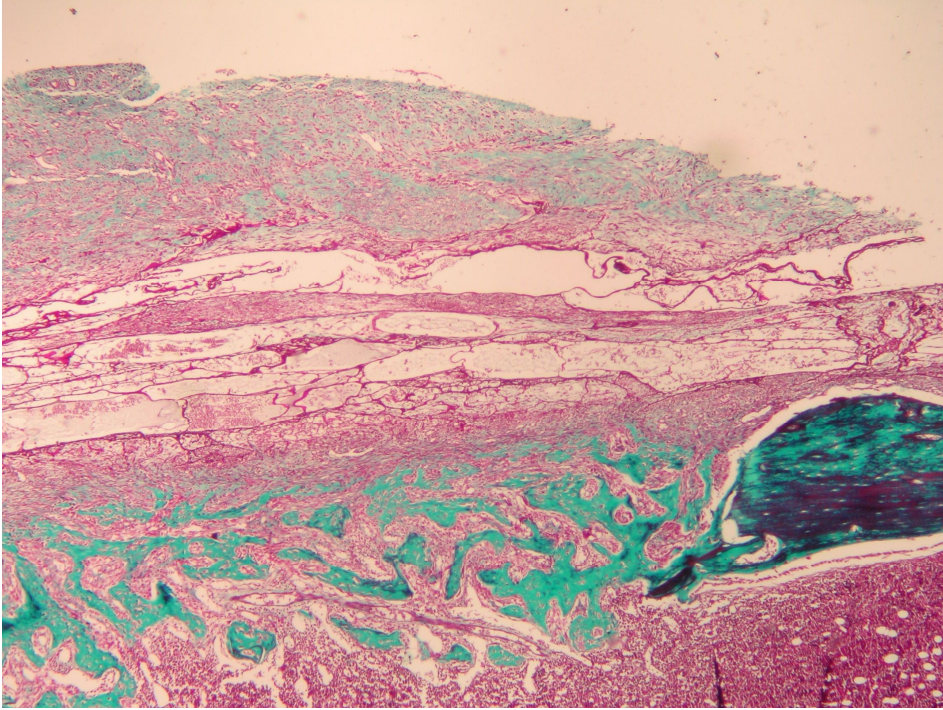
7. günde defekt bölgesinin yaklaşık % 45'ini dolduran damardan zengin fibrotik bağ dokusu içerisinde yeni oluşan kemik trabekülleri mevcuttur. Defekte komşu alanlarda aktif osteoblastlar, periosta komşu alanlarda bir miktar fibrozis izlendi. 2 hayvanda defekt alanında yabancı cisim reaksiyonuna bağlı iltihabi hücre infiltrasyonu görüldü (Şekil 4-10, 4-11).

14. günde defekt bölgesini % 30-60 oranında kemik köprüsü tarzında kapatan, damardan zengin kalın trabeküler yapıda kemik yapımı görülmüştür. Periosta bakan yüzeylerde hafif fibrozis mevcuttur. Kontrol grubuna kıyasla kan damarları ve fibröz doku miktarı daha fazladır (Şekil 4-12, 4-13).

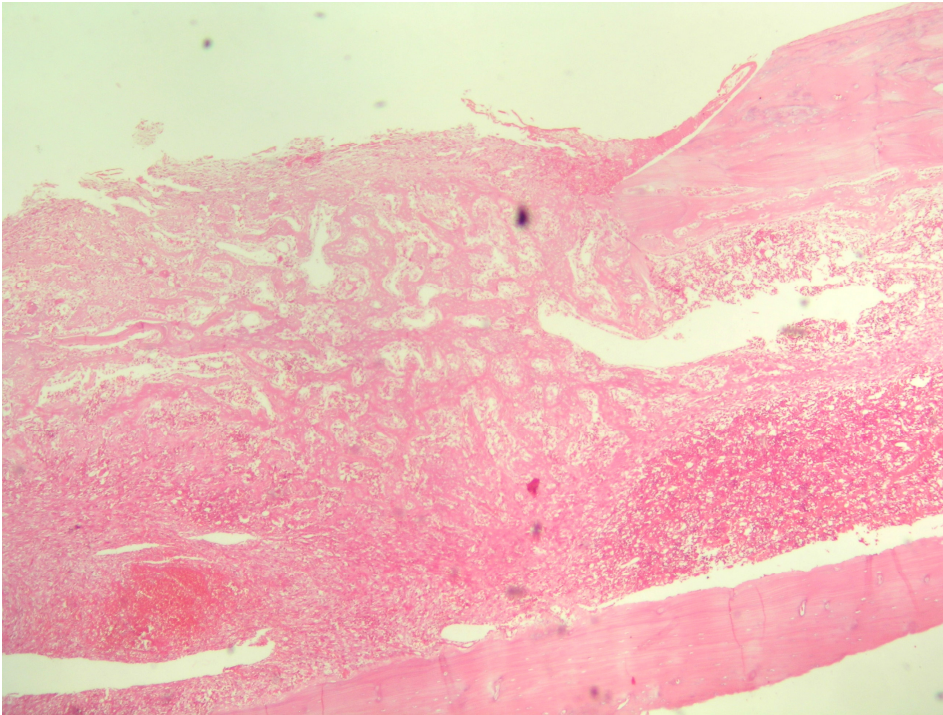
21. günde kesitlerde oldukça fazla düzeyde damarlanma gösteren trabeküler yapıda olgunlaşmış kemik doku bulunmuştur. Bu doku kortikal kapanmayı çoğu örnekte sağlamıştır. Bu orandaki iyileşme kontrol grubunda ancak 30. günde görülmüştür (Şekil 4-14, 4-15).

30. günde defektteki kortikal onarım tamamlanmış olup, yer yer trabeküler kemik ve arasında meduller dokuya rastlanmaktadır. Kontrol grubuna kıyasla daha az reaktif ve daha matür bir görünüme sahiptir (Şekil 4-16).

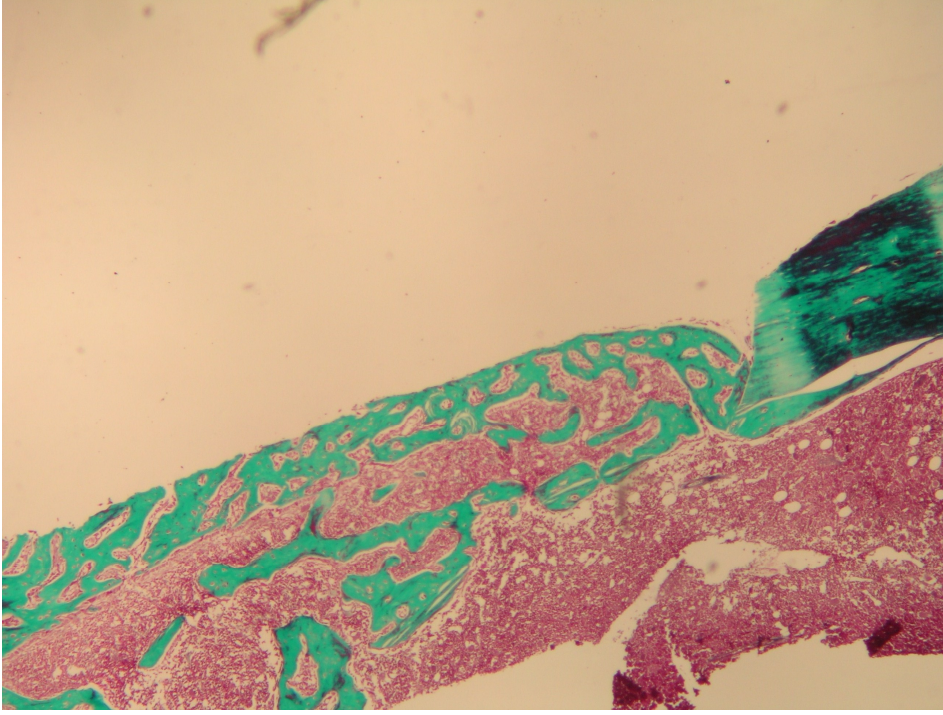
60. günde defekt bölgesi lamellar kemik dokusu ile kapanmış olup meduller alanda doğal yapıda kemik iliği bulunmaktadır (Şekil 4-17).



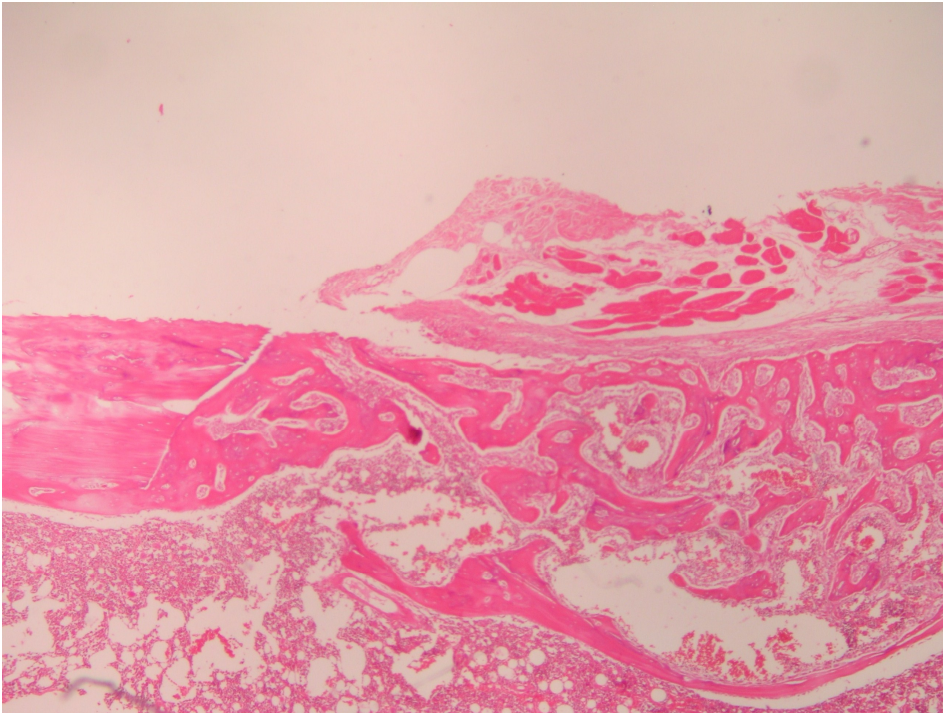
Şekil 4-10: 7. gün LASER grubunda yeni oluşan kemik trabekülleri ve reaktif periost (Masson Trikrom x40)



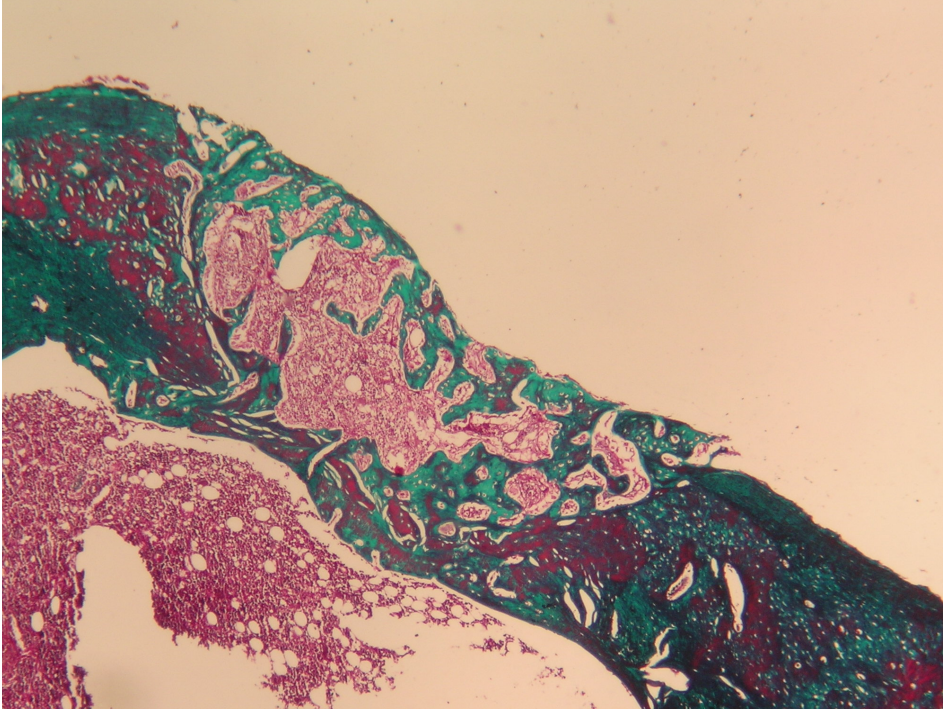
Şekil 4-11: 7. gün LASER grubunda damardan zengin aktif bağ dokusu içerisinde yeni kemik trabekülleri (HE x40)



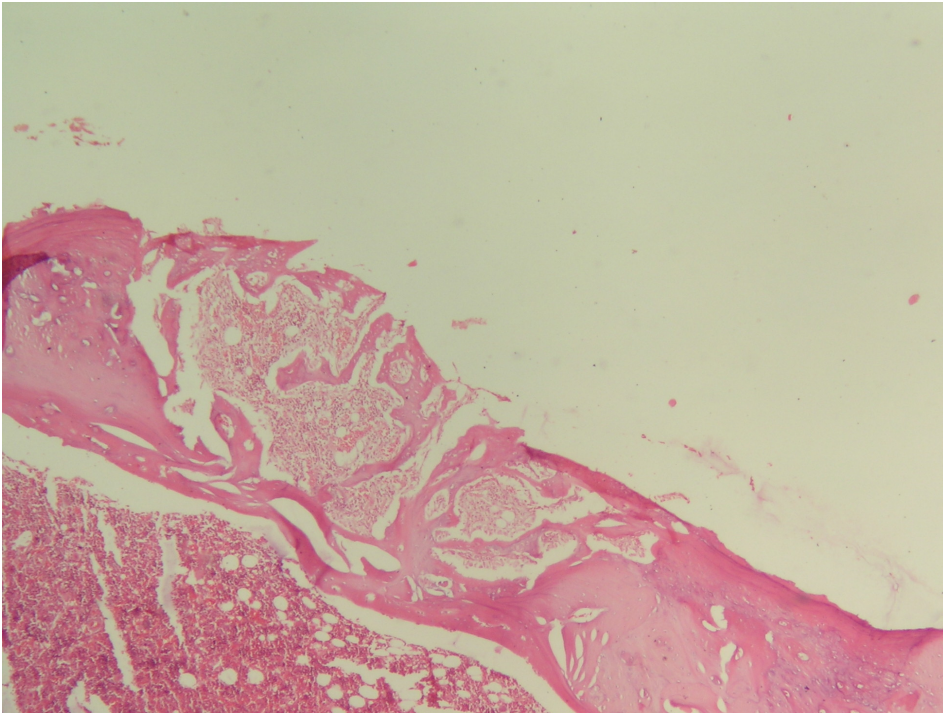
Şekil 4-12: 14. gün LASER grubunda defekt uçlarından başlayan yeni kemik yapımı (Masson Trikrom x40)



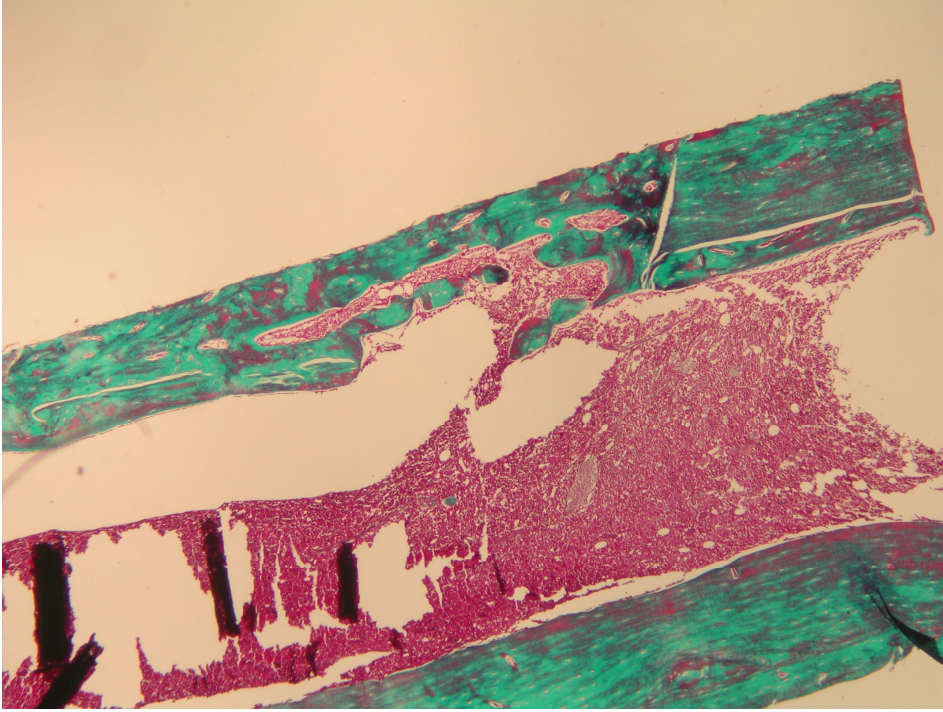
Şekil 4-13: 14. gün LASER grubunda anastomoz yapan trabeküller ve bu alanı dolduran medüller doku (HE x40)



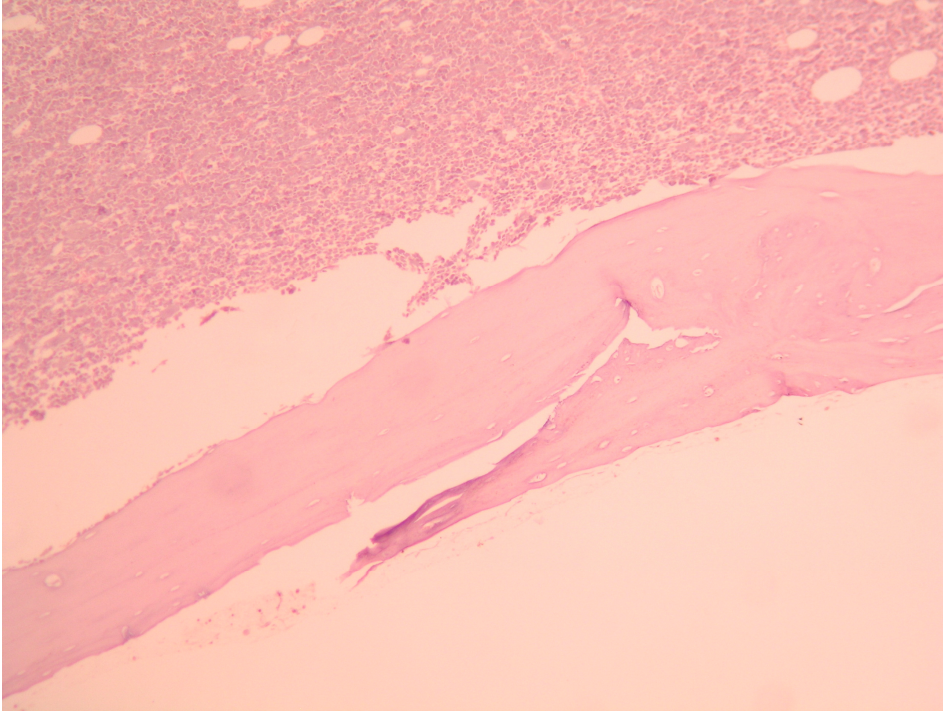
Şekil 4-14: 21. gün LASER grubunda kemikleşme alanları arasında bağ dokusu içinde çok sayıda damar kesiti görülmektedir (Masson Trikrom x40)



Şekil 4-15: 21. gün LASER grubunda defekt içerisinde kortikal kapanma başlangıcı (HE x40)



Şekil 4-16: 30. gün LASER grubunda defekt içerisindeki kortikal ve trabeküler onarım (Masson Trikrom x40)



Şekil 4-17: 60. gün LASER grubunda defekt sınırı (HE x40)

4.1.3. Greft Grubu

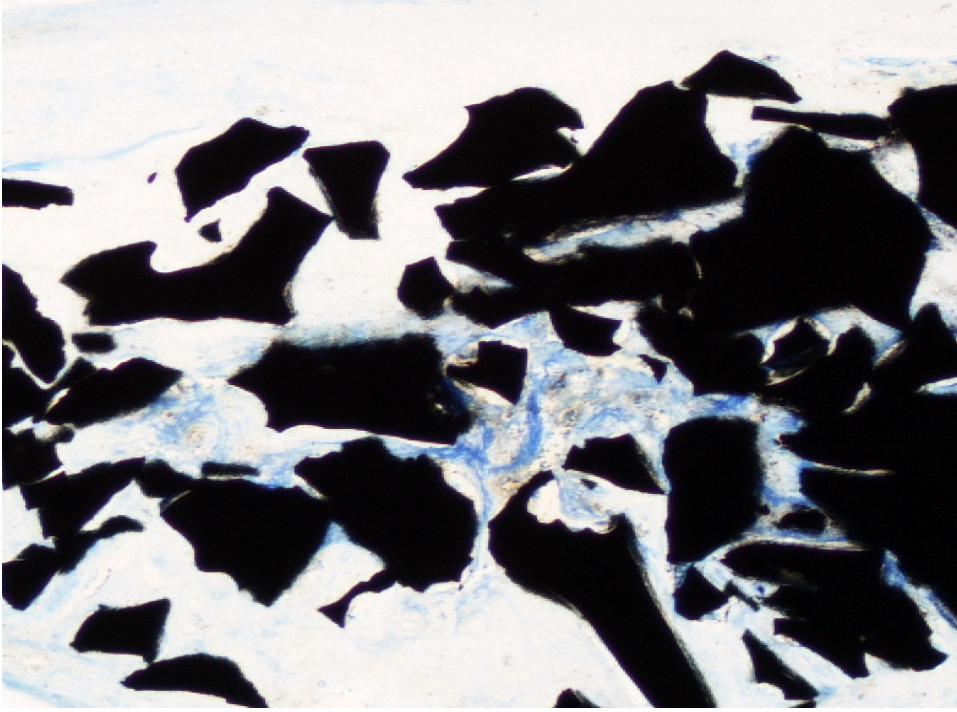
7. günde defekt alanının % 30-60'ını dolduran yeni kemik trabekülleri saptandı. Herhangi bir yabancı cisim reaksiyonu veya iltihabi bir bulgu yoktur. Kemik greftlerinin arasındaki yeni kemik oluşumları dikkati çekmektedir (Şekil 4-18).

14. günde greft materyali yüzeyinde olgunlaşmamış yeni kemik dokusu izlenmekte olup, defekt alanı az sayıda yeni oluşan kemik trabekülleri ile dolmuştur. Greft etrafında yalnızca bir örnekte iltihabi infiltrasyon izlenmekte olup, az sayıda örnekte de fibrozis gözlenmiştir (Şekil 4-19).

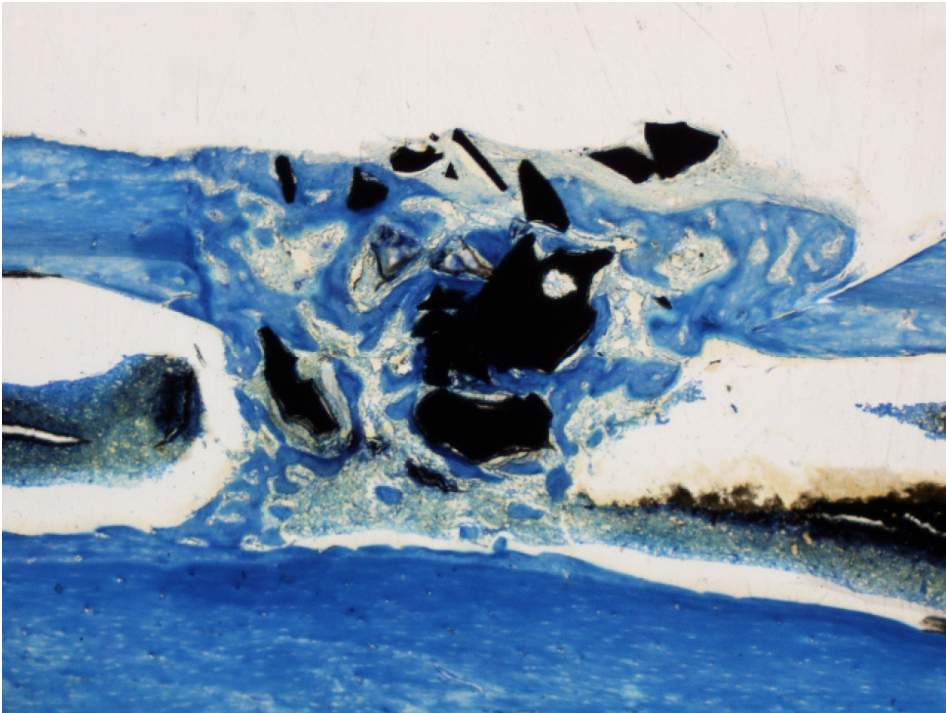
21. günde greft uygulanan defektlerde daha mineralize ve olgun bir kemik oluşumu vardır. Örneklerin bir kısmında kortikal onarım görülmüştür. İmplant edilen materyale komşu kemik yapımında artış vardır. Uygulanan greft materyalleri rezorbe olmamıştır. Kesitlerde fibrozis ve iltihabi hücre infiltrasyonuna rastlanmamıştır (Şekil 4-20).

30. günde greft parçalarının etrafında daha organize bir kemik dokusu gözlenmektedir. Örneklerin çoğunda kortikal onarım tamamlanmış olup greft parçalarının etrafında yoğun ve kalın trabeküler olgun kemik dokusu izlenmektedir (Şekil 4-21).

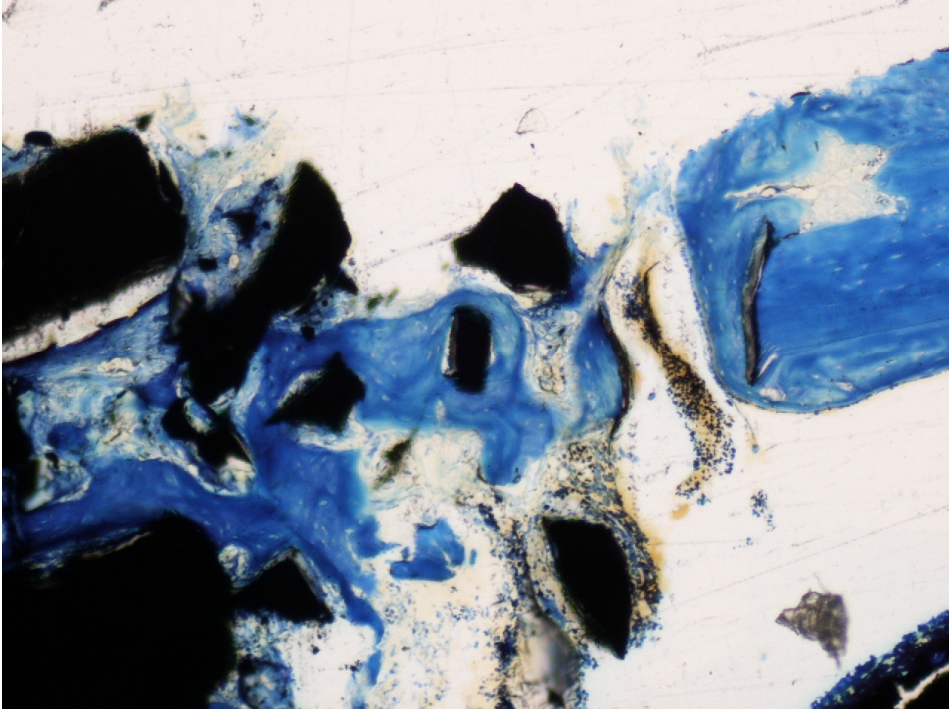
60. günde defekt ile kortikal kemik arasındaki sınır belli belirsiz olup, kortikal onarım tamamlanmıştır (Şekil 4-22).



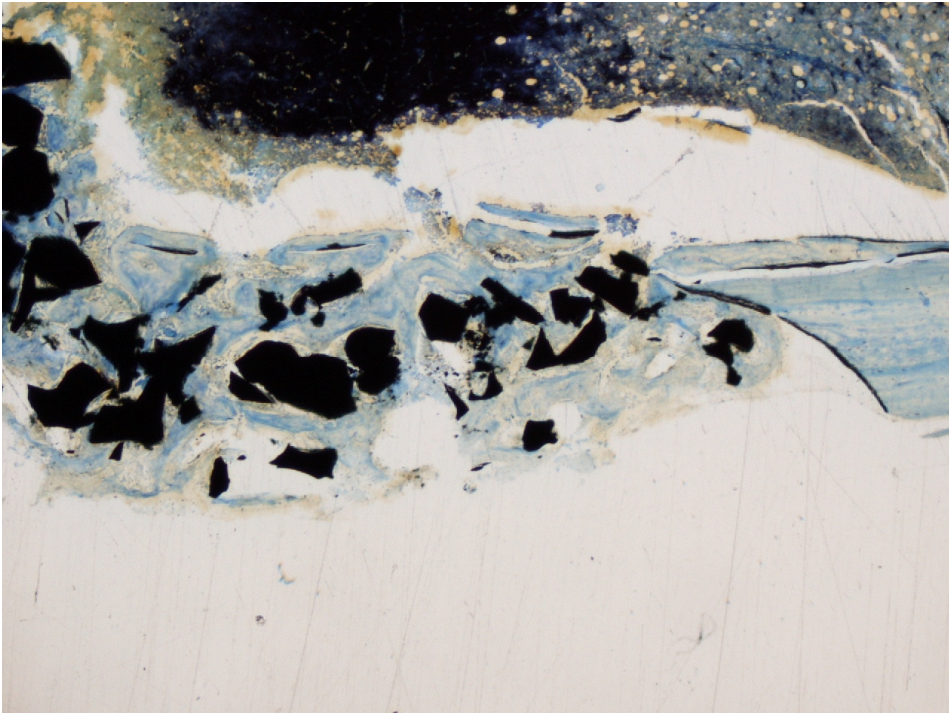
Şekil 4-18: 7. gün greft grubunda greft materyali arasında oluşmaya başlayan osteoid doku (Toluidin mavisi x40)



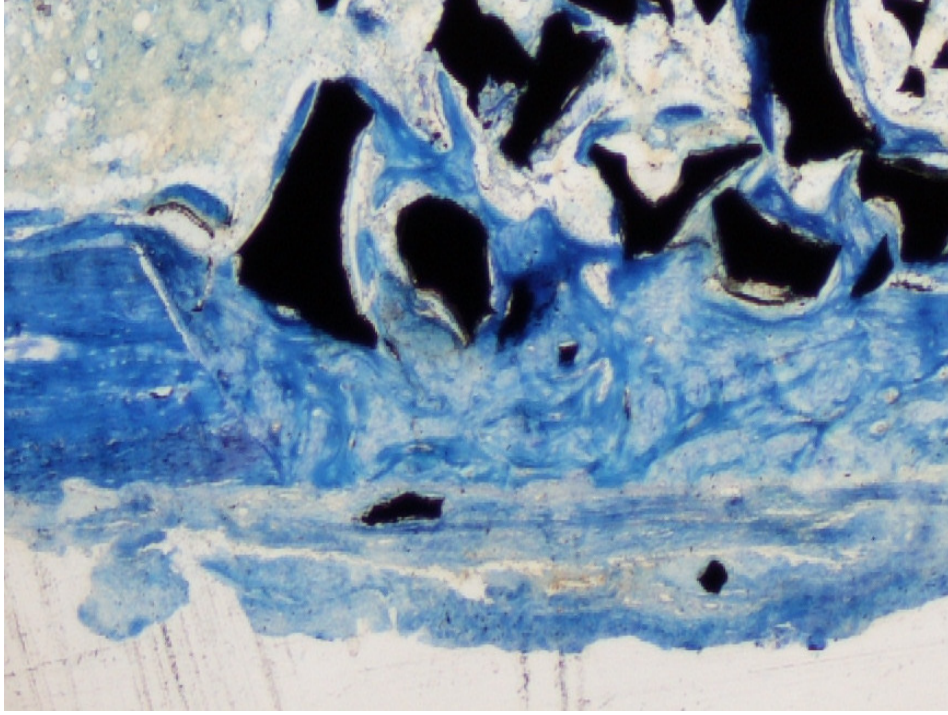
Şekil 4-19: 14. gün greft grubunda defekt alanındaki greft materyali ve yeni kemik oluşumu (Toluidin mavisi x40)



Şekil 4-20: 21. gün greft grubunda uygulanan greft materyali çevresindeki olgunlaşmaya başlamış kemik dokusu (Toluidin mavisi x40)



Şekil 4-21: 30. gün greft grubunda defekti dolduran greft ve trabeküler kemik (Toluidin mavisi x40)



Şekil 4-22: 60. gün greft grubunda defektin kemik dokusu ve greft materyali ile onarımı (Toluidin mavisi x100)

4.1.4. Greft + LASER Grubu

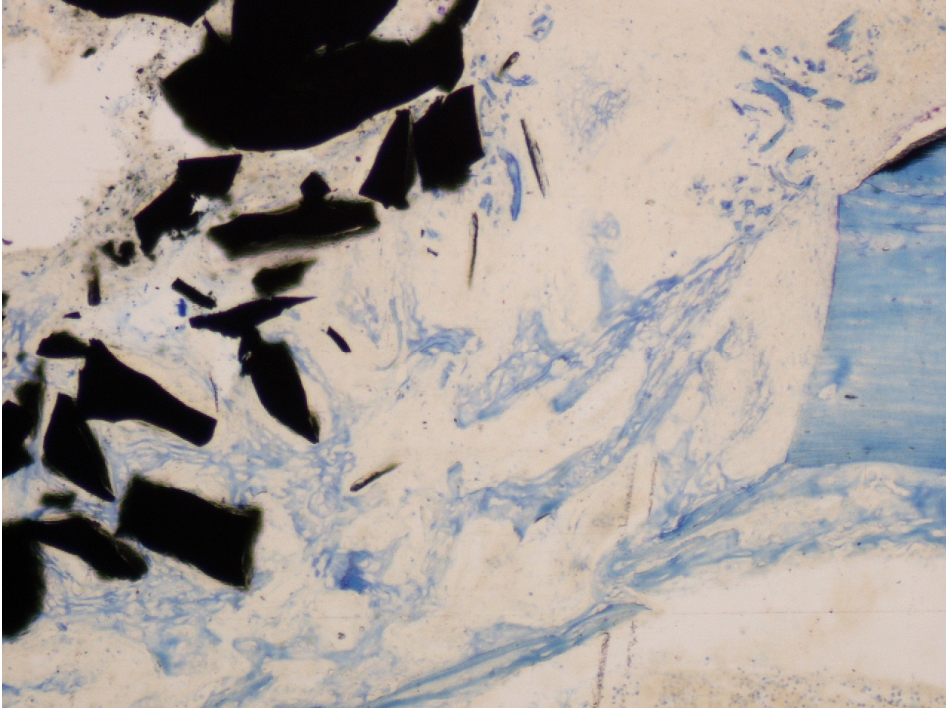
7. günde defekt alanında damardan zengin bağ dokusu gözlemlendi, bunun yanı sıra greft materyallerinden periferik doğru gelişme gösteren kemik taslağı şeklinde yapılar mevcuttur. Periosteal ve medüller alana komşu bölgelerde vaskülarize alanlar tespit edildi (Şekil 4-23).

14. günde greft, kavitenin çoğunu doldurmakta olup, yeni kemik ile çevrelenmiştir. Bazı bölgelerde yeni kemik oluşumu greft ile alıcı kemik yatağını birleştirmiş olup, kesitlerin çoğunda yeni damar oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4-24, 4-25).

21. günde osteoblastik aktivite gözlenmektedir. Defektin çoğu greft materyali ve medüller doku ile dolmuştur. Kortikal onarım tamamlanmaktadır. Greft materyalinde herhangi bir rezorpsiyon gözlenmemekle birlikte komşu alanlarda yeni oluşan kemik yer almaktadır (Şekil 4-26, 4-27).

30. günde ışınlanmayan örneklerle kıyasla daha az reaktif ve daha olgun bir kemik dokusu görülmüştür. Trabekülasyonda azalma ile birlikte kortikal kapanma örneklerin çoğunda tamamlanmıştır (Şekil 4-28).

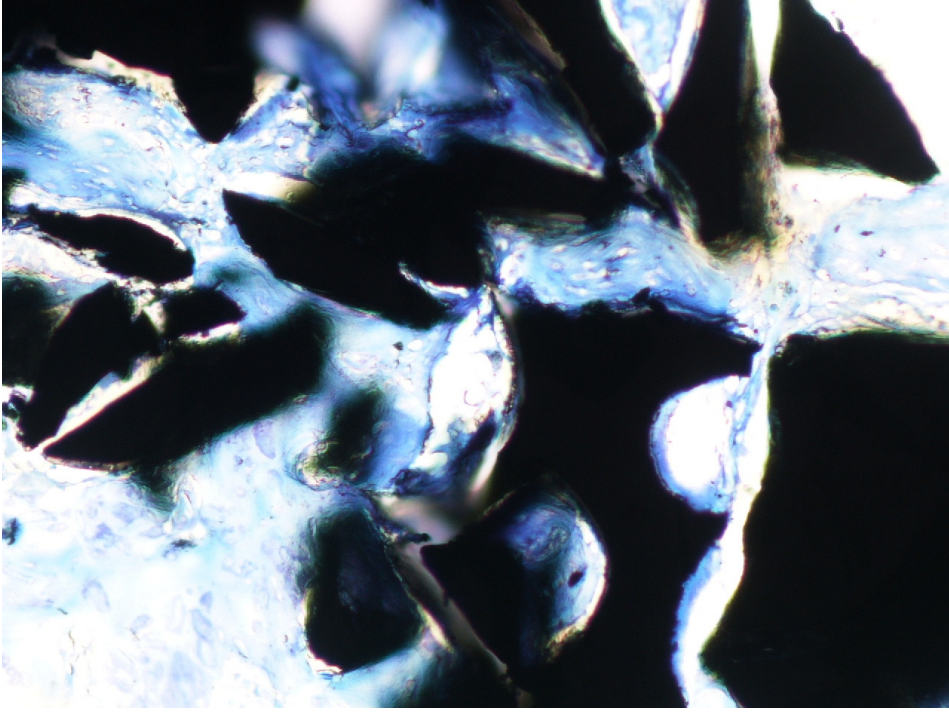
60. günde kortikal kapanma tamamlanmakla birlikte, greft materyalinde herhangi bir rezorpsiyon yoktur (Şekil 4-29).



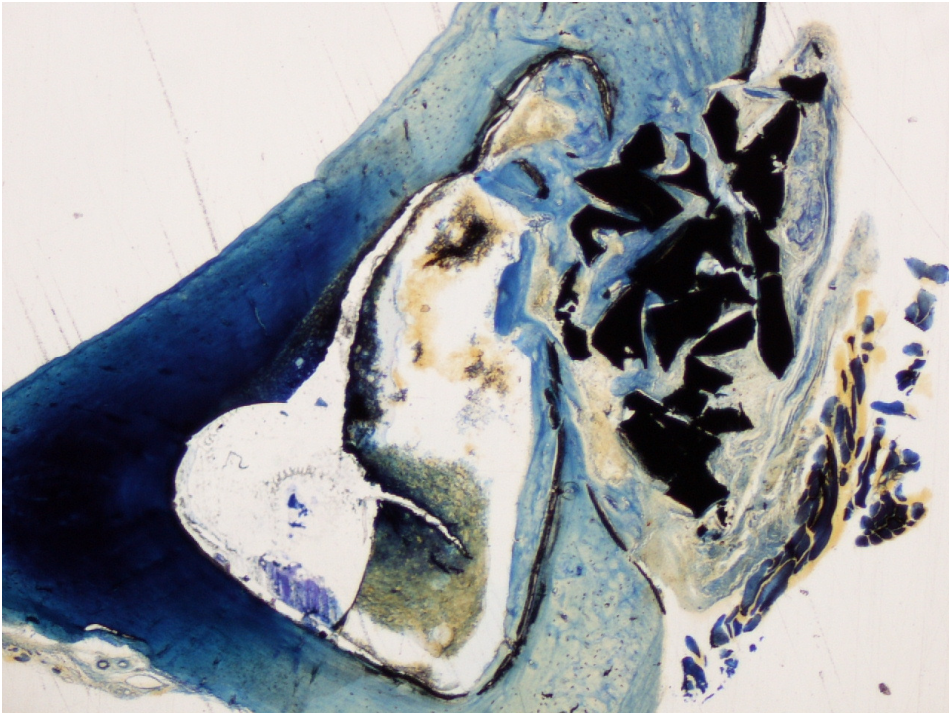
Şekil 4-23: 7. gün greft+LASER grubunda greft materyaline komşu yeni kemik yapım alanı (Toluidin mavisi x100)



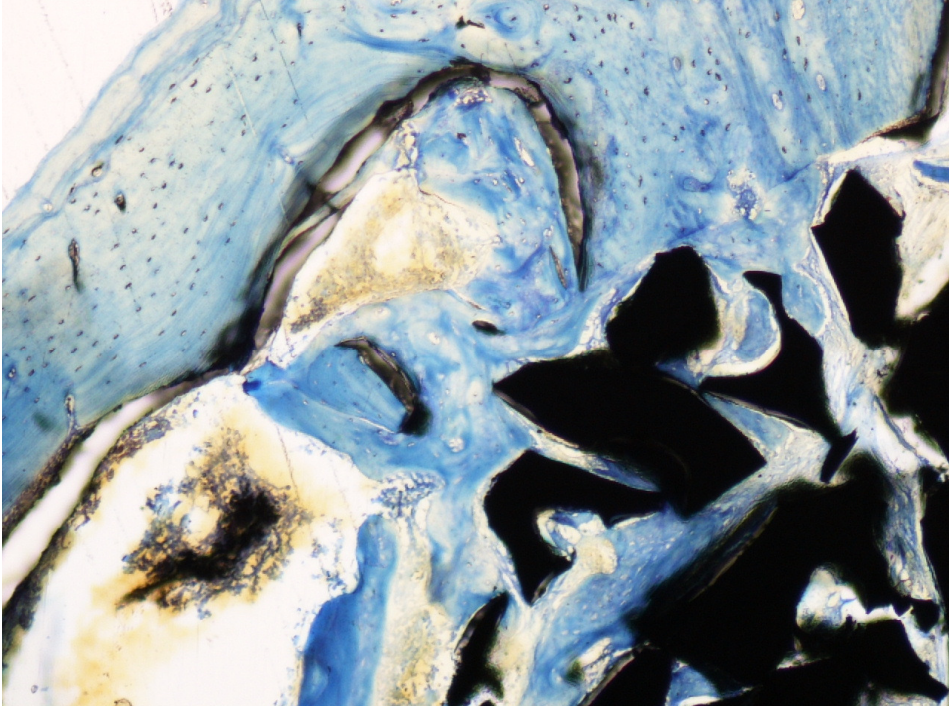
Şekil 4-24: 14. gün greft+LASER grubunda uygulanan greft materyalinin defekt içindeki dağılımı (Toluidin mavisi x40)



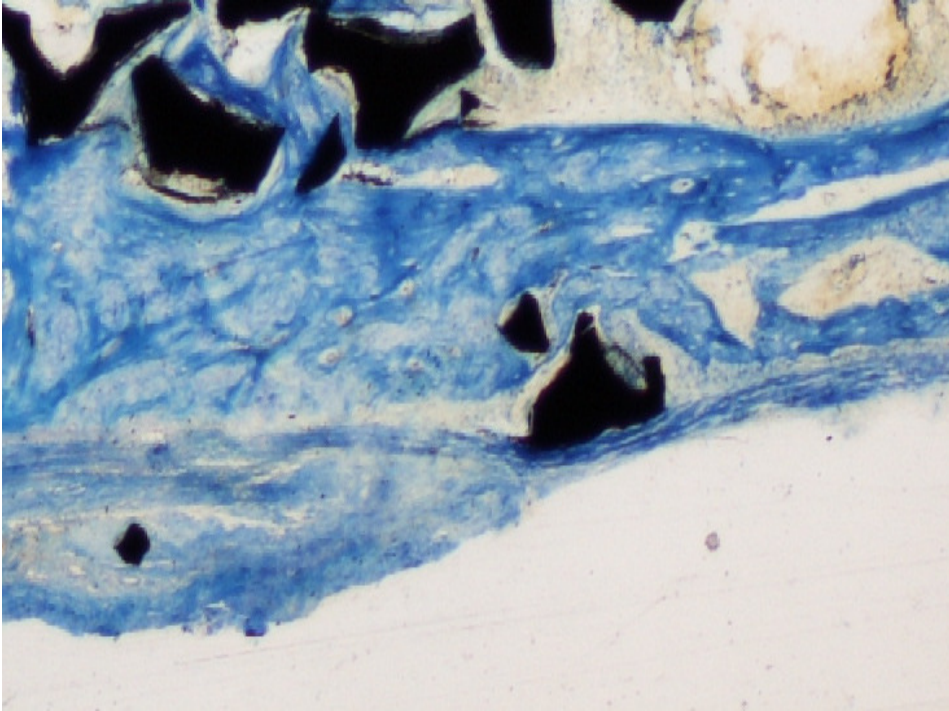
Şekil 4-25: 14. gün greft+LASER grubunda greft materyali arasında yeni gelişen kemik dokusu (Toluidin mavisi x100)



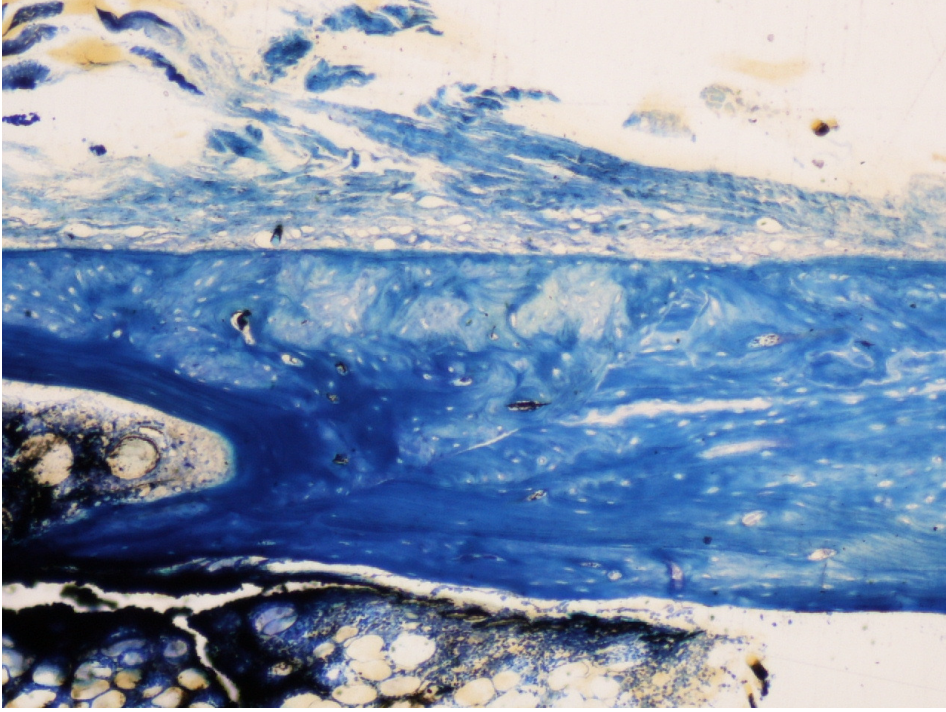
Şekil 4-26: 21. gün greft+LASER grubunda defekti dolduran greft materyali ile birlikte trabeküler kemik (Toluidin mavisi x40)



Şekil 4-27: 21. gün greft+LASER grubunda defekt sınırındaki kemikleşme (Toluidin mavisi x100)



Şekil 4-28: 30. gün greft+LASER grubunda greft materyali ve yeni oluşan kemik (Toluidin mavisi x100)



Şekil 4-29: 60. gün greft+LASER grubunda kortikal nitelikteki yeni kemik yapım alanı (Toluidin mavisi x100)

4.2. Histopatolojik bulguların istatistiksel değerlendirmesi:

4.2.1. Yeni kemik yapım alanlarının değerlendirilmesi:

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

		Yeni kemik yapım alanları					
		7. gün	14. gün	21. gün	30. gün	60. gün	Toplam
LASER	1; n	3	0	0	0	0	3
	2; n	6	4	2	0	0	12
	3; n	0	5	6	8	9	28
	Ort±SD	1,66±0,50	2,55±0,52	2,75±0,46	3,00±0	3,00±0	2,58±0,63
	Medyan	2	3	2	3	3	3
	Mean rank	18	25,33	24	18,5	18	99,98
Greft	1; n	2	3	2	0	0	7
	2; n	5	5	5	3	1	19
	3; n	1	1	2	5	8	17
	Ort±SD	1,87±0,64	1,77±0,66	2,00±0,70	2,62±0,51	2,88±0,33	2,23±0,72
	Medyan	2	2	2	3	3	2
	Mean rank	20,75	14,17	13,22	12,69	16,11	76,87
Greft + LASER	1; n	2	1	0	0	0	3
	2; n	6	7	4	2	0	19
	3; n	1	1	4	6	8	20
	Ort±SD	1,88±0,60	2,00±0,50	2,50±0,53	2,75±0,46	3,00±0	2,41±0,63
	Medyan	2	2	2,5	3	3	2
	Mean rank	21,06	17,17	20	14,63	18	76,87
Kontrol	1; n	6	2	0	0	0	8
	2; n	3	5	8	0	0	16
	3; n	0	2	1	7	8	18
	Ort±SD	1,33±0,50	2,00±0,70	2,11±0,33	3,00±0	3,00±0	2,24±0,76
	Medyan	1	2	2	3	0	2
	Mean rank	12,5	17,33	13,78	18,5	18	78,14
^a p		0,157	0,048*	0,031*	0,119	0,427	0,043*
^b LASER/-Kontrol		0,169	0,087	0,010*	1	1	0,027*
^b Greft-Kontrol		0,075	0,491	0,694	0,08	0,346	0,924
^b Greft+LASER-Kontrol		0,053	1	0,088	0,17	1	0,357
^b LASER-Greft LASER		0,423	0,040*	0,317	0,143	1	0,14
^b Greft-Greft+LASER		0,955	0,396	0,134	0,602	0,346	0,283

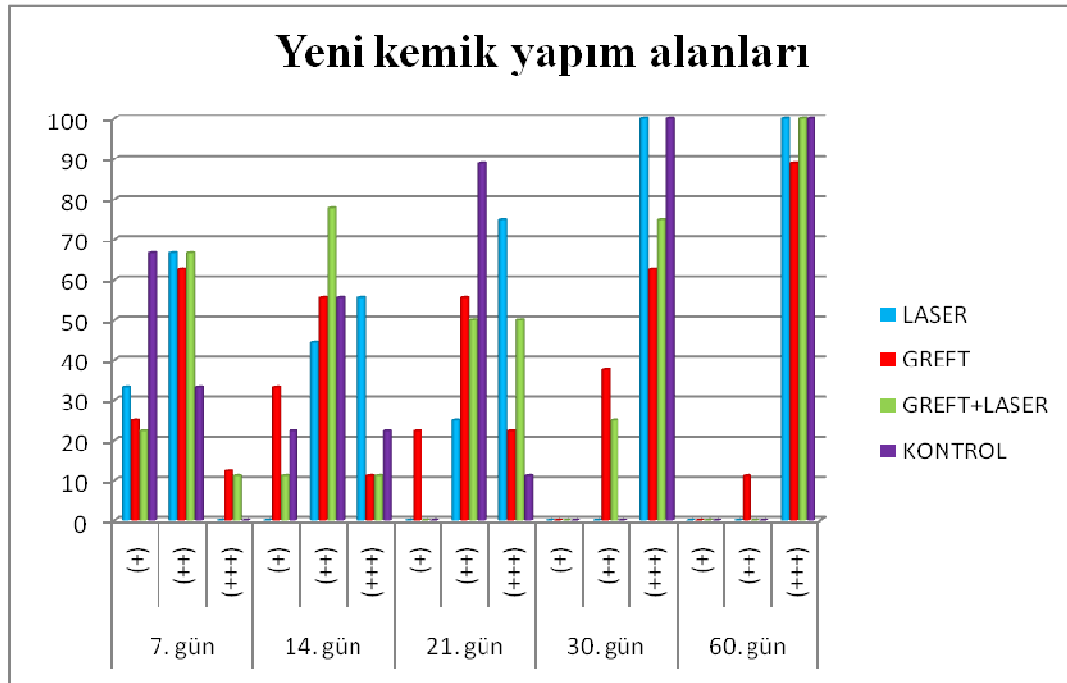
Gruplara göre 7. gün, 30. gün ve 60. gün yeni kemik yapım alanlarının arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplara göre 14. gün yeni kemik yapım alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını saptamak amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; LASER grubunun 14. gün dolma oranının Greft+LASER grubundan anlamlı şekilde yüksek olduğu saptanmıştır ($p:0,048$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplara göre 21. gün yeni kemik yapım alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını saptamak amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; LASER grubunun 21. gün yeni kemik yapım alanlarının kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek olduğu saptanmıştır ($p:0,031$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplara göre toplam yeni kemik yapım alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını saptamak amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; LASER grubunun toplam dolma oranının kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek olduğu saptanmıştır ($p:0,043$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). Günlere göre yeni kemik yapım alanlarının karşılaştırılması Tablo 4-1 ve 4-2'de görülmektedir.

Tablo 4-2: Yeni kemik yapım alanlarının günlere ve gruplara göre dağılımının grafik olarak karşılaştırılması



4.2.2. Yeni oluşan kemiğin niteliğinin değerlendirilmesi:

Tablo 4-3: Günlere göre yeni oluşan kemiğin niteliğinin gruplar arasında karşılaştırılması

	Nitelik						
	7. gün	14. gün	21. gün	30. gün	60. gün	Toplam	
LASER	1; n	7	2	0	0	0	9
	2; n	2	7	2	0	0	11
	3; n	0	0	6	8	9	23
	Ort±SD	1,22±0,44	1,77±0,44	2,75±0,46	3,00±0	3,00±0	2,32±0,81
	Medyan	1	2	3	3	3	3
	Mean rank	17,89	21,72	19,75	16,00	17,50	88,38
	Greft	1; n	5	3	0	0	0
2; n		3	5	4	0	0	12
3; n		0	1	5	8	9	23
Ort±SD		1,37±0,51	1,77±0,66	2,55±0,52	3,00±0	3,00±0	2,34±0,78
Medyan		1	2	3	3	3	3
Mean rank		20,56	20,94	16,44	16,00	17,50	89,34
Greft+ LASER		1; n	6	5	0	0	0
	2; n	3	3	3	0	0	9
	3; n	0	1	5	8	8	22
	Ort±SD	1,33±0,50	1,55±0,72	2,62±0,51	3,00±0	3,00±0	2,26±0,86
	Medyan	1	1	3	3	3	3
	Mean rank	19,83	17,17	17,63	16,00	17,50	85,52
	Kontrol	1; n	9	6	0	0	0
2; n		0	3	4	0	0	7
3; n		0	0	5	7	8	20
Ort±SD		1,00±0	1,33±0,50	2,55±0,52	3,00±0	3,00±0	2,12±0,91
Medyan		1	1	3	3	3	2
Mean rank		14,00	14,17	16,44	16,00	17,50	85,52
^a p		0,253	0,284	0,834	1,000	1,000	0,063
^b LASER/-Kontrol	0,145	0,065	0,417	1,000	1,000	0,318	

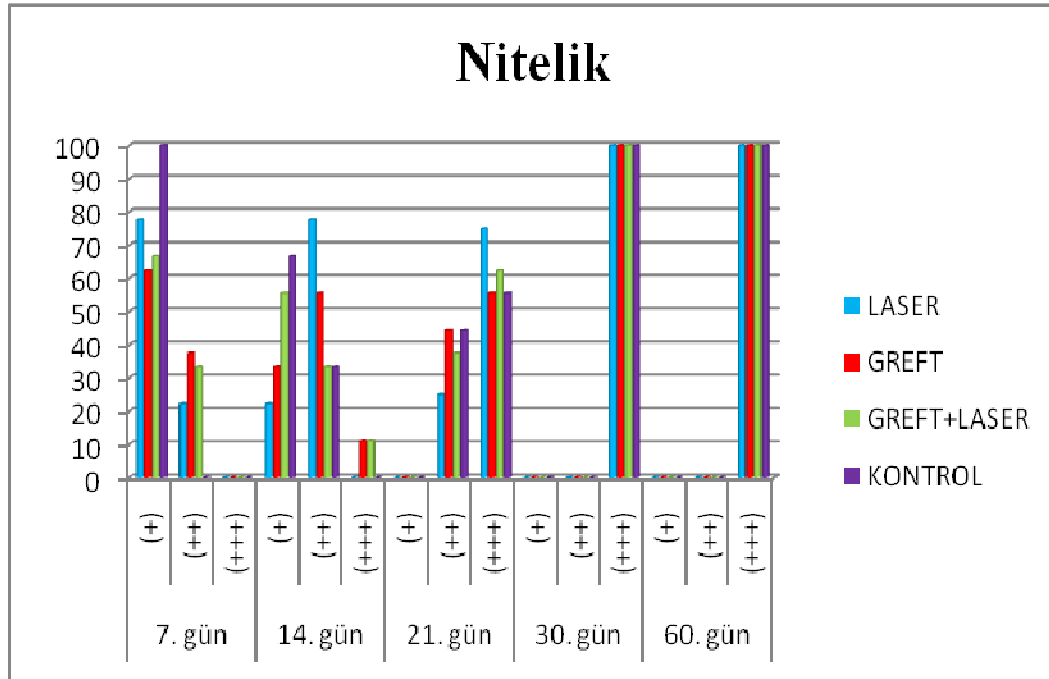
^bGreft-Kontrol	0,050	0,136	1,000	1,000	1,000	0,270
^bGreft+LASER- Kontrol	0,065	0,537	0,778	1,000	1,000	0,488
^bLASER-Greft LASER	0,609	0,315	0,602	1,000	1,000	0,772
^bGreft-Greft+LASER	0,862	0,437	0,778	1,000	1,000	0,699

^a*Kruskal Wallis test* ^b*Mann Whitney U test*

Gruplara göre 7. gün, 14. gün, 21. gün, 30. gün, 60. gün ve toplam olgularda yeni oluşan kemiğin niteliğinin skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gün bazında ve toplamda yeni oluşan kemiğin niteliği açısından kontrol grubu ile LASER, greft, LASER + greft; LASER ile greft+LASER; greft ile greft + LASER değerlendirme sonuçları Tablo 4-3'te ve Tablo 4-4'te görülmektedir.

Tablo 4-4: Yeni oluşan kemiğin niteliğinin gruplara ve günlere dağılımının grafik olarak karşılaştırılması



4.2.3. Fibrozisin değerlendirilmesi

Tablo 4-5: Günlere göre fibrozisin gruplar arasında karşılaştırılması

		Fibrozis					
		7. gün	14. gün	21. gün	30. gün	60. gün	Toplam
LASER	0; n	0	6	7	8	9	30
	1; n	4	3	1	0	0	8
	2; n	2	0	0	0	0	2
	3; n	3	0	0	0	0	3
	Ort±SD	1,88±0,92	0,33±0,50	0,12±0,35	0±0	0±0	0,49±0,88
	Medyan	2	0	0	0	0	0
	Mean rank	21,89	18,33	18,13	15,50	17,50	87,08
Greft	0; n	1	6	9	8	9	33
	1; n	6	3	0	0	0	9
	2; n	1	0	0	0	0	1
	3; n	0	0	0	0	0	0
	Ort±SD	1,00±0,53	0,33±0,50	0±0	0±0	0±0	0,26±0,49
	Medyan	1	0	0	0	0	0
	Mean rank	12,00	18,33	16,00	15,50	17,50	79,05
Greft+ LASER,	0; n	0	5	6	8	8	27
	1; n	5	3	2	0	0	10
	2; n	3	1	0	0	0	4
	3; n	1	0	0	0	0	1
	Ort±SD	1,55±0,72	0,55±0,72	0,25±0,46	0±0	0±0	0,50±0,77
	Medyan	1	0	0	0	0	0
	Mean rank	18,72	20,94	20,25	15,50	17,50	91,04
Kontrol	0; n	0	7	9	6	8	30
	1; n	5	2	0	1	0	8
	2; n	3	0	0	0	0	3
	3; n	1	0	0	0	0	1
	Ort±SD	1,55±0,72	0,22±0,44	0±0	0,14±0,37	0±0	0,40±0,73

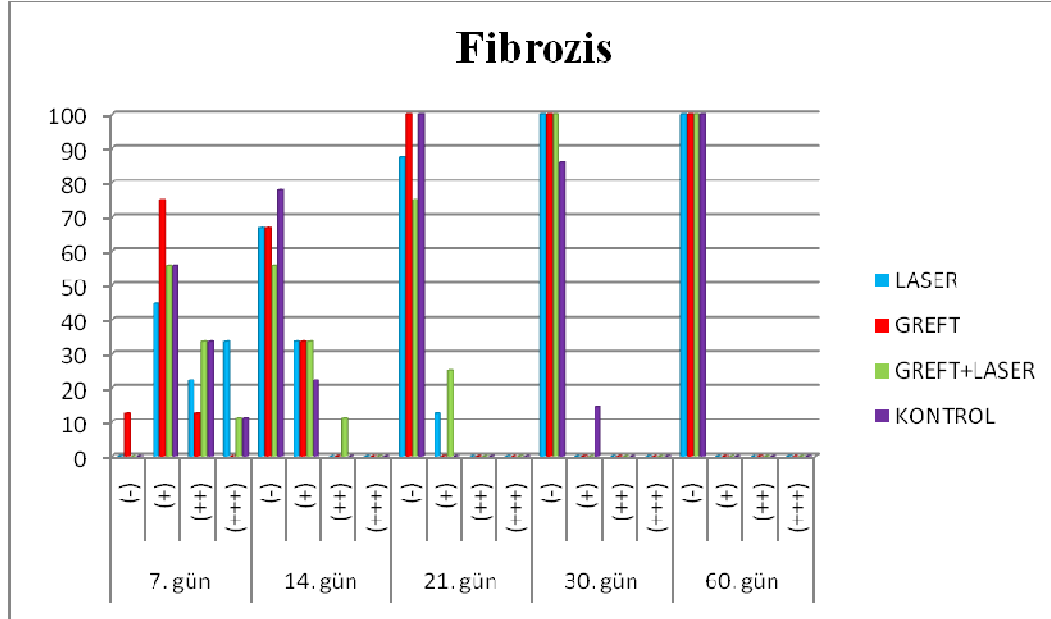
Medyan	1	0	0	0	0	0
Mean rank	18,72	16,39	16,00	17,71	17,50	84,96
^ap	0,158	0,739	0,226	0,330	1,000	0,599
^bLASER/-Kontrol	0,442	0,609	0,289	0,285	1,000	0,805
^bGreft-Kontrol	0,100	0,609	1,000	0,285	1,000	0,473
^bGreft+LASER- Kontrol	1,000	0,286	0,121	0,285	1,000	0,497
^bLASER-Greft LASER	0,442	0,537	0,535	1,000	1,000	0,676
^bGreft-Greft+LASER	0,100	0,537	0,121	1,000	1,000	0,151

^aKruskal Wallis test ^bMann Whitney U test

Gruplara göre 7. gün, 14. gün, 21. gün, 30. gün, 60. gün ve toplam olgularda fibrozis skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gün bazında ve toplamda fibrozis açısından kontrol grubu ile LASER, greft, LASER+greft; LASER ile greft+LASER; greft ile greft +LASER değerlendirme sonuçları Tablo 4-4 ve 4-5'te görülmektedir.

Tablo 4-6: Fibrozisin gruplara ve günlere dağılımının grafik olarak karşılaştırılması



4.2.4. Damarlanmanın değerlendirilmesi:

Tablo 4-7: Günlere göre damarlanmanın gruplar arasında karşılaştırılması

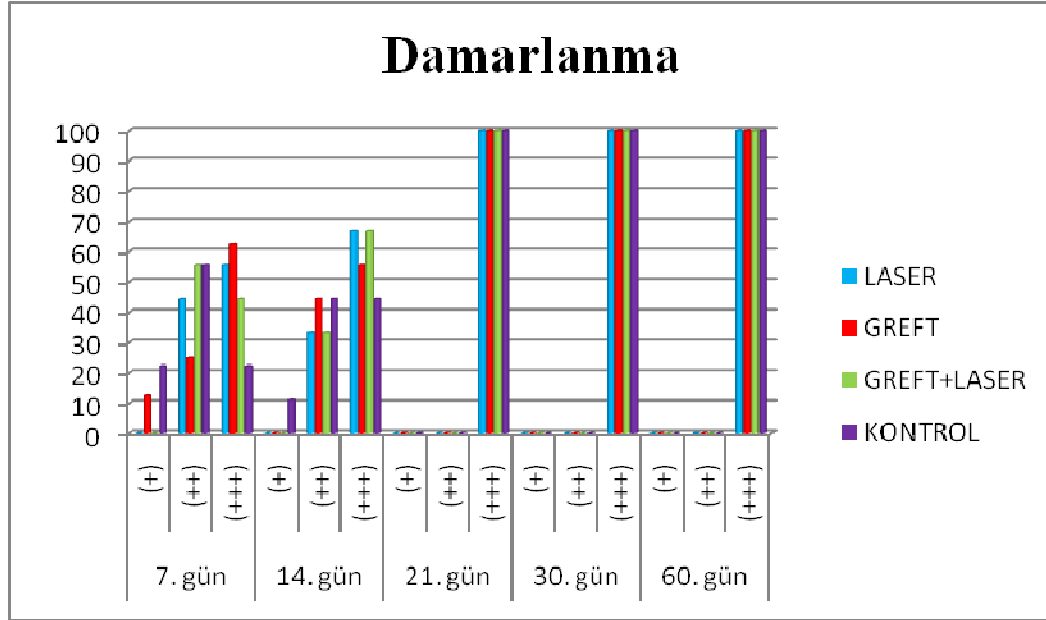
		Damarlanma					
		7. gün	14. gün	21. gün	30. gün	60. gün	Toplam
LASER	1; n	0	0	0	0	0	0
	2; n	4	3	0	0	0	7
	3; n	5	6	8	8	9	36
	Ort±SD	2,55±0,52	2,66±0,50	3,00±0	3,00±0	3,00±0	2,83±0,37
	Medyan	0	3	0	0	0	3
	Mean rank	20,39	20,17	17,50	16,00	17,50	88,99
	Greft	1; n	1	0	0	0	0
2; n		2	4	0	0	0	6
3; n		5	5	9	8	9	36
Ort±SD		2,50±0,75	2,55±0,52	3,00±0	3,00±0	3,00±0	2,81±0,45
Medyan		3	3	0	0	0	3
Mean rank		20,31	18,22	17,50	16,00	17,50	88,59
Greft+ LASER		1; n	0	0	0	0	0
	2; n	5	3	0	0	0	8
	3; n	4	6	8	8	8	34
	Ort±SD	2,44±0,52	2,66±0,50	3,00±0	3,00±0	3,00±0	2,81±0,39
	Medyan	2	3	0	0	0	3
	Mean rank	18,61	20,17	17,50	16,00	17,50	86,69
	Kontrol	1; n	2	1	0	0	0
2; n		5	4	0	0	0	9
3; n		2	4	9	7	8	30
Ort±SD		2,00±0,70	2,33±0,70	3,00±0	3,00±0	3,00±0	2,64±0,62
Medyan		2	2	0	0	0	3
Mean rank		12,94	15,44	17,50	16,00	17,50	77,57
^a p		0,277	0,652	1,000	1,000	1,000	0,375
^b LASER/-Kontrol	0,087	0,291	1,000	1,000	1,000	0,141	

^bGreft-Kontrol	0,146	0,518	1,000	1,000	1,000	0,162
^bGreft+LASER- Kontrol	0,165	0,291	1,000	1,000	1,000	0,247
^bLASER-Greft LASER	0,647	1,000	1,000	1,000	1,000	0,739
^bGreft-Greft+LASER	0,664	0,638	1,000	1,000	1,000	0,780
^a <i>Kruskal Wallis test</i>			^b <i>Mann Whitney U test</i>			

Gruplara göre 7. gün, 14. gün, 21. gün, 30. gün, 60. gün ve toplam olgularda damarlanma skorlarına arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gün bazında ve toplamda damarlanma açısından kontrol grubu ile LASER, greft, LASER+greft; LASER ile greft+LASER; greft ile greft +LASER değerlendirme sonuçları Tablo 4-5 ve 4-6'da görülmektedir.

Tablo 4-8: Damarlanmanın gruplara ve günlere dağılımının grafik olarak karşılaştırılması



4.2.5. İltihabın değerlendirilmesi:

Tablo 4-9: Gruplara göre iltihap görülme oranlarının değerlendirilmesi

		Günler					
İltihap		7. gün	14. gün	21. gün	30. gün	60. gün	Toplam
		n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)
LASER	Yok	7 (%77,8)	8 (%88,9)	8 (%100)	8 (%100)	9 (%100)	40 (%93,0)
	Var	2 (%22,2)	1 (%11,1)	0	0	0	3 (%7,0)
Greft	Yok	6 (75,0)	8 (%88,9)	9 (%100)	8 (%100)	9 (%100)	40 (%93,0)
	Var	2 (%25,0)	1 (11,1)	0	0	0	3 (%7,0)
Greft+ LASER	Yok	7 (%77,8)	8 (%88,9)	8 (%100)	8 (%100)	8 (%100)	39 (%92,9)
	Var	2 (%22,2)	1 (11,1)	0	0	0	3 (%7,1)
Kontrol	Yok	5 (%55,6)	9 (%100)	9 (%100)	7 (%100)	8 (%100)	38 (%90,5)
	Var	4 (%44,4)	0	0	0	0	4 (%9,5)
^ap		0,678	0,779	-	-	-	0,965

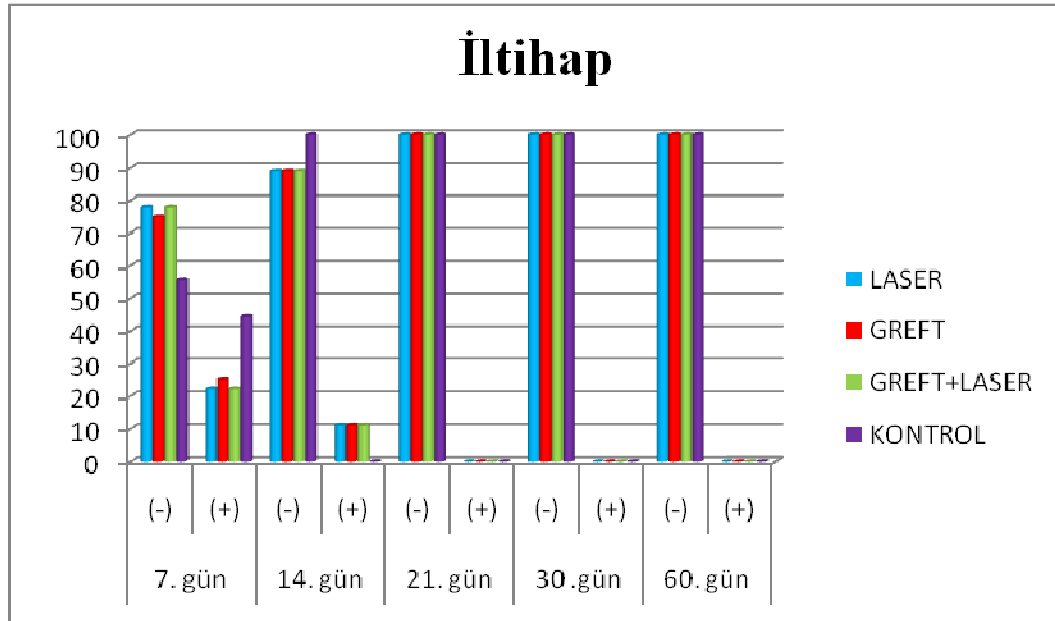
Ki kare test

7. ve 14. günde grupların iltihap oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir ($p>0,05$).

Gruplarda 21.gün, 30.gün ve 60.günlerde iltihap hiçbir olguda görülmemektedir ($p>0,05$).

Toplam olgularda yine grupların iltihap oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir ($p>0,05$). Gruplara göre iltihap görülme oranlarının değerlendirilmesi Tablo 4-9 ve 4-10'da görülmektedir.

Tablo 4-10: İltihabın gruplara ve günlere dağılımının grafik olarak karşılaştırılması



5. TARTIŞMA

Kemik iyileşme sürecini hızlandırmak amacıyla çeşitli yöntemler denenmiştir. Birçok çalışma, bu süreçte rol oynayan büyüme faktörleri, iskelet olarak uygulanan yapılar, fiziksel ve biyokimyasal ajanlar üzerine yoğunlaşmıştır. 1970'lerde LASER'in kullanımının yaygınlaşmasını takiben, Chekurov, LASER'in kemik iyileşmesini hızlandığı yönünde bir rapor hazırlamıştır. Diğer araştırmacılar ise zaman içerisinde LASER'in kemik doku üzerindeki etkilerini histolojik, histokimyasal, biyokimyasal ve radyografik yöntemlerle incelemişlerdir. Bazı yazarlar, DDLT sonucu iyileşmenin hızlandığını, buna karşılık bir kısım araştırmacı ise iyileşmede gecikme olduğunu bildirerek çok değişik sonuçlara varmışlardır.

Yaptığımız literatür taramalarında *in vivo* kemik defekti iyileşmesi çalışmalarında en çok sıçanların kullanıldığını tesbit ettik. Yapılan çalışmalarda sıkça kullanılması yanında temin edilebilme kolaylığı, ucuz olmaları, büyük hayvanlara göre daha kolay manipüle edilmeleri, daha fazla örnek alınabilme imkanı sunmaları, fizyolojileri hakkında yeterli kaynak bulunması ve enfeksiyona olan dirençleri gibi avantajları nedeniyle, sıçan modeli kullanılmıştır. Çalışmamızda karşılaşılabilecek komplikasyon riskini en aza indirmek ve kolay manipüle etmek için defektin, sıçan tibiasında açılmasını uygun gördük. Ayrıca oral floradan kontamine olma olasılığı nedeniyle ağız içi deney modellerine göre defektin tibiada açılması daha avantajlıdır. Dişi memeli hayvanların dönemsel hormonal farklılıklara bağlı olarak stabil olmayan bir metabolizmaları vardır. Tüm bu nedenler göz önünde bulundurularak, bu çalışmada yetişkin erkek sıçanlar kullanılmıştır (8).

Fototerapi, hücre içerisinde fotobiyolojik olayların başlamasıyla süregelen reaksiyonlar zinciridir. Bu biyolojik yanıtın meydana gelmesinde birçok faktör etkilidir.

Karu ve ark. çok çeşitli dalga boyuna sahip olan LASER cihazlarını kullanarak yaptıkları çalışmada, ışığın fotobiyolojik reaksiyon başlatan etki spektrumunun 600-950 nm arasında olduğunu bildirmişlerdir. Bu dalga boyu aralığında ise dört ayrı pik pozisyonu olan bölgeler bulunmuştur. Bunlar: 613,5-623,5 nm, 667,5-683,7 nm, 750,7-772,3 nm ve 812,5-846 nm'dir. Çalışmamızda kullandığımız 810 nm dalga boyundaki GaAlAs aktif maddeli LASER cihazı etki spektrumu içinde olup belirtilen pik bölgelerine çok yakındır (38).

Uygulanan LASER enerjisinin absorbe olma miktarı, dokunun hemoglobin, melanin, su içeriği gibi özelliklerinden dolayı değişkenlik gösterir. Işık spektrumuna baktığımızda kızıl ve yakın kızıl ötesi dalga boylarındaki ışıkların suyla az etkileşime girmesi nedeniyle en etkili absorpsiyonu sağlamaktadır. Aynı zamanda canlı dokularda hemoglobinin ışığı daha az absorbe etmesi de daha derine penetre olmasını sağlayan bir diğer faktördür.

Optimal yara iyileşmesini elde edebilmek için çeşitli dalga boylarının kombine olarak kullanılmasını savunan bazı araştırmacılar, LASER'e alternatif olarak LED'lerin biyostimülasyonda kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir (87). Işık biyolojik dokudan geçerken dolambaçlı bir yol izler ve birçok kez saçılır. Bu saçılma olayı sonucu, ışığın yönü, polarizasyonu ve koherensi rastgele bir hal alır. 600-1300 nm dalga boyları arasındaki ışık, dokularda fazlaca saçılır. Mendez ve ark. yaptıkları bir çalışmada, absorpsiyon ve penetrasyon gücü farklı olan iki dalga boyunun aynı zamanda kombine olarak kullanımı sonucu, yaranın hem yüzeysel hem de derin bölümlerinin stimüle olduğunu görmüşlerdir. Birçok çalışmada kısa dalga boylarının daha iyi sonuç verdiği anlatılmaktadır. Bu çalışmada ise 830 nm dalga boyu tek başına veya uzak kızılötesi ışınla birlikte kullanıldığında daha iyi sonuç elde edilmiştir. 830 nm'nin daha derin penetrasyon gücü ve bu dalga boyunda daha yüksek yoğunluktaki enerjinin neden olduğu ısı etkisiyle, derin dokularda bulunan hücrelerin stimülasyonu sağlanmış olur (53).

Literatürde 632,8 nm dalga boyundaki HeNe LASER ile yapılan çalışmalara daha sık rastlanmaktadır, fakat çalışmamızda GaAlAs LASER'in penetrasyon derinliği daha fazla olduğu için, postoperatif kemik dokusunun biyostimülasyonunda 810 nm dalga boyunun daha etkili olacağını düşündük.

Karu ve ark. hücre stimülasyonunda dalga boyu, koherens, doz ve zaman bazında çeşitli ışık kaynakları kullanmışlardır. Tek sıra hücre kültürlerinde koherens biyolojik bir anlam taşımaz, hücreler çıplaktır ve ortamda saçılma olayına rastlanmaz, etkisini derin dokularda belli eder. Kollajen lifler, ışığın dokuya optik girişi ve saçılmasından sorumludur. Epidermisteki ileriye doğru saçılma, kısa dalga boylarında daha geniş olmakla birlikte, dalga boyuna bağımlı bir olaydır. Kitlesel dokularda ise koherens, ışık stimülasyonunda önemli bir parametredir (72, 73).

Cerrahi dışında kullanılan dalga boylarında doz ayarlaması çok önemlidir. Bu, Arndt-Schultz kuralıyla açıklanabilir. Buna göre düşük dozların bir etkisi yokken, tedavi edici bir doz aralığının mevcut olduğu ve bunlardan daha yüksek dozlarınsa aksine inhibitör etkisinin olduğu söylenmiştir. Hamster yumurta hücreleri üzerinde yapılan bir araştırmada çok çeşitli dozlar uygulanmıştır. Buna göre $<60 \text{ mJ/cm}^2$ 'de biyoaktivasyon görülmemekle birlikte, $120\text{-}240 \text{ mJ/cm}^2$ biyostimülasyon, $300\text{-}600 \text{ mJ/cm}^2$ 'de ise serbest oksijen radikallerinin açığa çıkmasıyla bioinhibisyon görülmüştür.

Hedef dokuya iletilen enerji miktarına enerji yoğunluğu veya uygulanan doz denir. Uygulanan doz J/cm^2 cinsinden ölçülür. LASER ışımının gücü, enerji yoğunluğu ve zamanın ürünüdür. Cerrahi veya kesici LASER'lerde enerji yoğunluğu yaklaşık 1000 J/cm^2 iken, klinik uygulamalarda DDLT için bu yoğunluk $2\text{-}10 \text{ J/cm}^2$ olarak değişmektedir (69). Buna karşılık Laakso ve ark., biyostimülasyonun terapötik aralığının uygulanan hedef dokuya bağlı olarak değişebileceğini vurgulamışlardır (44).

Dokulara göre tavsiye edilen bazı dozlar; gingival dokular için $2\text{-}3 \text{ J/cm}^2$ haftada iki veya üç kez, kas dokusu için $4\text{-}6 \text{ J/cm}^2$ haftada iki veya üç kez, temporomandibuler eklem (TME) için haftada bir veya iki kez $6\text{-}10 \text{ J/cm}^2$ ve dişin apeks bölgesindeki kemiğin üzerine $2\text{-}4 \text{ J/cm}^2$ miktarında uygulanmasıdır (50).

Pinheiro ve ark. 830 nm 40 mW gücünde 16 J/cm^2 GaAlAs LASER'i 15 gün boyunca, gün aşırı uygulayarak kemik defekti iyileşmesini incelemişler, ışınlanan gruplarda onarımın daha gelişmiş bulunduğunu tespit etmişlerdir (71). Aynı dozu kullanan Gerbi ve ark. da olumlu sonuçlar almışlardır (25).

Nicola ve ark. 660 nm dalga boylu GaAlAs LASER, 10 J/cm^2 dozunda gün aşırı uygulandığında kemik hücrelerinin aktivitesinde artış sağladığı sonucuna varmışlardır (60).

Blaya ve ark. kemik defekti iyileşmesini inceledikleri çalışmalarında 685 ve 830 nm dalga boylarındaki LASER'leri aynı dozda uygulamışlar ve her iki dalga boyunun da kemik oluşumunu ve dikey kemik yapımını arttırdığı sonucuna varmışlardır (5).

Nascimento ve ark. ise enerji yoğunlukları 10 J/cm^2 olan 670 ve 685 nm dalga boylarındaki LASER'leri değişik güç yoğunluklarında uygulamışlardır. Kontrol grubuna göre, bütün güç yoğunluklarında DDLT'nin yara iyileşmesini hızlandırdığını

gözlemlemişler ve DDLT'nin olumlu etkilerinin dalga boyu ve yoğunlukla ters orantılı olduğunu rapor etmişlerdir. Düşük dalga boyu ile yüksek yoğunlukta veya yüksek dalga boyu ile düşük yoğunluk uygulamasında en başarılı sonuçlar elde edilmiştir (15).

Çalışmamızda kullandığımız 10 J/cm^2 enerji yoğunluğundaki 810 nm dalga boylu GaAlAs LASER uygulaması incelediğimiz literatürlerle uyumludur.

DDL'T'nin tek bir seferde uygulandığı çalışmalar olduğu gibi, literatürlerde çoklu uygulamalar daha fazla göze çarpmaktadır (59, 75, 79).

Dörtbudak ve ark. 690 nm diyot LASER'le yaptıkları *in vitro* araştırmada, hücre kültürlerine 3., 5., 7. günlerde LASER uygulanmıştır. Yapılan çalışmada bu hücrelerin 3 kez ışınlanması sonucu, kemik matriks proteinlerinde kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde artış saptanmıştır (17).

Ng ve ark. yaptıkları çalışmada, cerrahi olarak oluşturulan kollateral ligaman yırtıklarının bir bölümüne operasyon sırasında tek doz $31,6 \text{ J/cm}^2$, diğer bölümüne ise her doz $3,5 \text{ J/cm}^2$ olacak şekilde 9 gün boyunca 660 nm LASER uygulamışlardır. Bir seferde yüksek dozda yapılan uygulama sonucu ligamanda onarım gözlenirse de, çoklu uygulamalar daha başarılı bulunmuştur (59). Buna karşılık Rezende ve ark. yaptıkları çalışmada, 830 nm tek doz uygulamada biyolojik bir yanıt alırlarken, bu yanıtın doza bağlı olduğu sonucuna varmışlardır (75).

Silva ve ark. 830 nm diyot LASER'le yapılan araştırmada sıçanların femurunda açılan defeklerde yeni oluşan kemik miktarını araştırmışlar, haftada 3 kez her seans $4,8 \text{ J/cm}^2$ doz uygulamak suretiyle 1 ve 4 hafta sonundaki kemik oluşumunu değerlendirmişlerdir. 4. hafta sonunda LASER uygulanan gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. LASER uygulaması ile kemiğin onarım sürecinde erken dönemde etkili bulunmuştur. Tedavi sonundaki toplam dozun iyileşme sonucuna etkisi olmadığı gözlenmiş ve uygulanan toplam doz inhibitör doza ulaşmamıştır (79).

Ozawa ve ark. sıçan kafatasından elde edilen hücre kültürü çalışmalarında, LASER'i erken dönemde uygulayıp kemik tomurcuklarının sayı ve alan bakımından fazla olduğunu bildirmişlerdir. Buna karşılık, 14 günden fazla süren uygulamalarda, herhangi bir stimülatif etki saptamamışlardır (64).

Gerbi ve ark. sıçanlarda yaptıkları çalışmada, her seansta 16 J/cm^2 olmak üzere 15 gün boyunca, gün aşırı LASER uygulamışlar ve 15., 21. ve 30. günlerde medüller

doku, granülasyon dokusu, kollajen lifler ve yeni oluşan kemiğin kalitesini histolojik analizle incelemişlerdir. Çalışmanın en önemli bulguları 15. günde kaydedilmiştir. Bu günde kortikal kapanma sağlanmış, Havers sisteminin şekillenmeye başladığı görülmüştür. Bu hızlı iyileşme, deney sonuna kadar devam etmiş olup, kortikal alandan kaynağını alan ve defekt merkezini de dolduran kemik trabekülleri ile karakterizedir. 21 ve 30. günlerde ise birbirine benzer bir görüntü vardır (25).

Araştırmacılar, LASER'in erken dönemde uygulanmasının kemik iyileşmesini hızlandırdığını, geç dönemde uygulanmasının ise kemik rejenerasyonunda önemli bir rol oynadığını vurgulamışlardır. Bu nedenden dolayı ışınlamaya 15 gün boyunca devam etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise 1 hafta içerisinde 3 kere tekrarlanan uygulama sonucu 14. günde kortikal kapanmanın kısmen gerçekleştiği ve defektin medüller dokuyla dolduğu gözlenmiştir. Bu yüzden LASER uygulamasının 1 hafta içinde 3 kere tekrarlanmasının yeterli olduğu görüşündeyiz.

LASER'in kemik oluşumunu uyarmasının iki yolla olduğunu düşünmekteyiz. İlk olarak kemik matriksini oluşturacak, osteoblastlar, hücrel olarak çoğalır; daha sonra ise öncü hücrelerin farklılaşması ve osteoblastik hücrelerin sayıca daha da artmasıyla biyostimülatif etki görülür. Bu etki hücrenin ışınlama anındaki fizyolojik durumuna bağlıdır. Bu bulgular eşliğinde tekrarlanan uygulamalarımızda, hücrelerin hem çoğalma hem de farklılaşmaları sırasında olmasının daha faydalı olduğunu düşünerek çalışmamızda LASER uygulamasını 1., 3. ve 7. günlerde gerçekleştirmeyi uygun gördük.

Kemik onarımında damarlanma önemli bir rol oynar. Büyüme faktörleri ve damarsal mediyatörler osteoblastların farklılaşmasından sorumludurlar. Lokal hipoksi, damarsal faktörlerin yapımını uyarır ve hasarlı bölgeye lokal kan desteğinin yeniden gelişmesini sağlar. Kan damarı, kemik dokusunun oluşması için önemlidir. Kemik onarımı, doku hasarını takiben başlar; lokal kan akımının artması ve dokuda anoksi ile sonuçlanır. Kan damarları, vazodilatasyon ile genişler ve alanı kan doldurur. Pıhtı, kanamayı sınırlayarak iltihabı başlatır. Pıhtı içerisindeki fibrin, iyileşme sürecinde yer alan hücrelerin göçü için ağısı bir yapı oluşturur. Bu göçte ilk yer alan hücreler trombositlerdir ve büyüme faktörlerini salgırlar.

LASER, büyüme faktörlerinin seviyesindeki artış ile beraber farklılaşmış hücrelerin çoğalma, olgunlaşma ve kemik matriks salınımı üzerine etki gösterir. Aynı

zamanda LASER uygulaması sonucunda, damarlanma ve iltihabi yanıtın erken başlaması da kemik matriks yapımını hızlandırır (70, 77).

Biz de yaptığımız çalışmada, DDLT'yi 1., 3. ve 7. günlerde uygulayarak, bu onarım sürecini hematoma organizasyonu, fibroblastik aktivite ve osteoblastik farklılaşma aşamalarında stimüle ederek, iyileşmenin hızlanmasını amaçladık.

Stein ve ark. insan osteoblastlarından elde edilen hücre kültürleri üzerinde DDLT'nin etkisini araştırdıkları çalışmada, hücrelerin çoğalmasını, farklılaşmasını ve olgunlaşmasını gözlemlemişlerdir. Işınlanmamış hücre kültürlerine kıyasla, ışınlanan kültürlerde anlamlı ölçüde fark bulunmuştur. DDLT'nin insan osteoblastlarının çoğalması ve olgunlaşmasını uyardığı sonucuna varmışlardır (81).

Nicolau ve ark.'nın LASER'in kemik onarımı üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalarında, kemik hücrelerine 660 nm dalga boyunda 10 J/cm² dozunda LASER uygulamışlardır. Deney grubunda kemik hacmi, osteoblast yüzeyi, mineral birikimi ve osteoklast miktarları daha yüksek düzeyde bulunurken, LASER'in kemik onarım sürecinde ve iltihap aşamasında uygulanmasının, çevredeki kemik hücrelerinin aktivitesini arttırdığı sonucuna varmışlardır (60).

Mendez ve ark. yaptıkları çalışmada ışınlanan yara ile kontrol grubunu kıyasladıklarında daha yoğun bir enflamasyon ve tamir sürecinin daha ileri bir evrede olduğu gözlemlemişlerdir. DDLT inflamatuvar yanıtın daha kısa bir sürede başlayıp çabuk çözülmesini ve kollajen birikiminde artışı sağlar (53).

Carrinho ve ark. da LASER'in kollajen sentezini arttırdığını ve kollajen liflerinin daha düzgün yerleştiğini bildirmişlerdir. Kontrol grubuna göre LASER uygulanan tüm gruplarda daha hızlı bir iyileşme süreci gözlemişlerdir (7).

Garavello ve ark. sıçan tibialarında deneysel olarak oluşturdukları defektlerde HeNe LASER'in kemik matriks organizasyonu üzerine etkilerini incelemişlerdir. Aynı zamanda matriks kollajen lifleri picrosirius polarizasyon tekniği ile saptanmıştır. LASER'in, kemik onarımındaki gelişimiyle uyumlu olarak, ışınlanmış gruplardaki kollajen lif organizasyonunu arttırdığı, 14. günde fibrillerin sekonder kemiğe benzer lamellar şekilde dizildiğini ifade etmişlerdir. Buna karşılık aynı dozun 7 günden fazla uygulandığı gruplarda damarlanma ve trabeküler alanda belirgin bir azalma gözlenmiştir (23).

Bizim çalışmamızda, 7. gün sonunda LASER grubunda fibrotik bağ dokusu içerisinde yeni oluşan dağınık primer kemik trabekülleri gözlenmiştir. Kontrol grubuna göre LASER grubunda, fibrozisin daha yoğun görüldüğü birkaç örnek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Greft ve LASER'in birlikte uygulandığı örneklerde ise kontrol grubuna yakın sonuçlar elde edilmiştir. Greft uygulamasının fibroblastik aktiviteyi azalttığını düşünmekteyiz. DDLT'nin kollajen üretimini aktive etme ve arttırma etkisinin kemik onarımında daha iyi bir kemik matriks üretimine sebep olabileceğini savunan yazarlarla aynı görüşteyiz.

Khadra ve ark. sıçan kafatasında açtıkları defektlere 6 gün boyunca 23 J/cm^2 dozunda 830 nm LASER uygulamışlardır. 14. günde damarlanma ve fibröz doku oluşumu kontrol grubuna göre daha fazla görülürken, 28. günde deney ve kontrol grupları arasında fark görülmemiştir. Böylece histolojik bulguların, DDLT'nin erken kemik iyileşmesi periyodunda metabolizma ve mineralizasyonu hızlandırıldığını vurgulamışlardır (39).

Garavello ve ark. sıçan tibiasında yaptıkları çalışmada, damarlanma ve yeni kemik oluşumunu değerlendirilmişlerdir. 7 ve 14 günlük gruplar halinde yürütülmüş çalışmada, $31,5 \text{ J/cm}^2$ ve $94,5 \text{ J/cm}^2$ enerji yoğunluğunda LASER uygulamışlardır. 7 gün boyunca $94,5 \text{ J/cm}^2$ LASER uygulamasının ilk hafta sonunda damarlanmayı anlamlı derecede arttırdığını gözlemlemişlerdir. Buna karşın 7 günden fazla ışınlanan grupta, kontrol grubuna kıyasla daha az damarlanma bulunmuştur. Yazarlar, LASER uygulamasının süresine bağlı olarak pozitif veya negatif etkilerinin olabileceği sonucuna varmışlardır (22).

Çalışmamızda, LASER ve/veya greft uygulanmış olan defekt gruplarının histopatolojik incelemelerinde 14. günde kapiller damar oluşumları, kontrol grubundakilere oranla biraz daha artmış olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu nedenle bulguların, araştırmacıların bulguları ile pek fazla örtüşmediğini, GaAlAs LASER'in kemik onarımının erken döneminde damarlanmayı anlamlı derecede arttırmadığını söyleyebiliriz. 21. günde LASER grubunda yeni kemik yapım alanı kontrol grubuna göre anlamlı derecede fazla olsa da 30. ve 60. günlerde her iki grupta da benzer bulunmuştur. Bütün günlerde LASER grubunda kemik matriksinin daha organize ve matür bir yapıya sahip olduğunu gözlemledik. Kemik rejenerasyonu

sürecinde damarlanmanın rolü büyüktür. Bulgularımız ışığında bu süreci hızlandıran sadece damarlanmada artışın değil başka faktörlerin de olabileceği düşüncesindeyiz.

Guzzardella ve ark. 780 nm LASER'in kemik defekti iyileşmesi üzerine etkilerinin incelendiği *in vitro* doku kültürü çalışmalarında, sıçan femurlarının distal epifizinde kemik defektleri oluşturarak, defektlere 10 gün boyunca GaAlAs LASER uygulamışlardır. 7., 14. ve 21. günlerde ALP enzim aktivitesi, ilerleyen günlerde azalmış fakat kontrol grubuna kıyasla daha fazla bulunmuştur. 21. günde histomorfometrik ölçümler sonucu defektli alanın iyileşme oranı, kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmakla birlikte defektin tam kapanmadığı gözlenmiştir (29).

Pinheiro ve ark. DDLT'nin inorganik sığır kemiği ile greftlenmiş defektler üzerine etkilerini araştırmışlardır. 15. günde greft partiküllerinin etrafında kollajen fibrillerin bulunduğunu gözlemlemişlerdir. 21. günde ise bu partiküller yeni oluşan kemik tarafından sarılmıştır. Yazarlar, inorganik sığır kemiğinin osteokondüktif olduğunu savunmaktadırlar. Örneklerde rastlanılan makrofaj ve dev hücrelerin, greft materyalini rezorbe etmeye çalışarak, iyileşme sürecini yavaşlattığı düşünülmüştür (71).

Bizim çalışmamızda ise 14. günde greft etrafında kollajen liflerden çok yeni kemik oluşum alanları dikkati çekmektedir. Greft, kavitenin çoğunu doldurmakta olup, yeni kemik ile çevrelenmiştir. Bazı bölgelerde yeni kemik oluşumu greft ile alıcı kemik yatağını birleştirmiştir. 21. günde ise yeni kemik oluşumu daha çok kortikal defektin kapanması yönündedir. Defektin çoğu greft materyali ve bunları çevreleyen lamellar yapıda kemik ile dolmuştur. 30 ve 60. günlerde yeni oluşan kemik, kortikal kemiğe benzer özelliktedir.

Karbon köpük biyouyumluluğu kanıtlanmış bir materyaldir. Maurer ve ark. yaptıkları *in vitro* çalışmada grafitik karbon köpük, silikon dioksitle kaplanmış karbon köpük, kollajenle kaplanmış karbon köpük ve karbon nanotüple kaplanmış karbon köpüğün insan osteoblast hücreleri ile ilişkisini araştırmışlardır. Kaplanmamış olan örneklerde osteoblast hücreleri düzenli bir ağ oluşturacak şekilde yayılmışlardır. Silikon dioksitle kaplı yüzeyler ise hidrofilik bulunmuş fakat hücreler küme halinde homojen olarak yapışmamıştır. Kollajen kaplanmış yüzeylerde, kollajen, gözenekleri kapatmış, osteoblast yapışmasını engellemiştir. Karbon nanotüple kaplanmış olan örneklerde ise, hücrelerin yapışacağı yüzey alanı arttığı için implant materyali için daha uygun bulunmuştur (52).

Turgut ve ark. 30 sıçanda yaptıkları *in vivo* çalışmada ise karbon köpüğünün biouyumluluğunu test edip kemik içerisine yerleştirildiğinde, kemikle olan ilişkisini gözlemlemişlerdir. 15 sıçanın sırt cildinde insizyon yapılarak karbon köpük yerleştirilmiş, 3 ay sonunda köpüğün etrafında ince bir fibröz kapsül gözlenmiştir. Köpüğün gözenekleri arasında gevşek bağ dokusu görülmüştür. Kapsülün çevresi ise artmış damarlanma ile karakterizedir. Diğer 15 sıçanın femurunda ise monokortikal defekt açılıp karbon köpük defekte uyarlanarak yerleştirilmiştir. 3 ay sonunda yapılan histolojik inceleme sonucu ise karbon köpüğün, kemiğin trabeküler yapısıyla devamlılık gösterdiği, bunun yanı sıra iltihabi hücrelerin çok az sayıda olduğu, damarlanmanın arttığı gözlenmiştir. Yazarlar, karbon köpüğün sitotoksik etkisinin olmadığını ve sıçanlarda yabancı cisim reaksiyonuna sebep olmadığını vurgulamakla birlikte, bu konuda daha fazla çalışmanın yapılması gerektiği kanısına varmışlardır (83).

Çalışmamızda kullandığımız karbon köpük greft materyalinin osteoindüktif olduğunu düşünmekteyiz. Örneklerden hiçbirinde greft materyalini rezorbe etmeye çalışan dev hücrelere ve osteoklast topluluklarına rastlanmamış, greft materyalinden kaynaklanabilecek yabancı cisim reaksiyonu veya iltihabi hücre infiltrasyonu tespit edilmemiştir. Greft materyali ile yeni kemik arasında direk bir osteogenezis mevcuttur. Bu durum titanyum implant materyalleri ile kemiğin arasındaki ilişkiye benzetilebilir.

Weber ve ark. otojen greft uygulanan kemik defektlerinde DDLT'nin etkilerini iltihabi yanıt, yeni kemik oluşumu ve kollajen sentezi miktarını histolojik yöntemlerle araştırmışlardır. Çalışmada 15. gün gibi erken bir safhada kemiğin yeniden şekillenmeye başladığı ve 21. günde ise durumun sabitlendiği tespit edilmiştir. Bulgularımız, Weber ve ark. bulgularıyla paralellik göstermektedir. 14. günde LASER grubu diğer gruplarla kıyaslandığında en fazla dolma oranına sahiptir. Bu durum, DDLT'nin hücresele çoğalma sırasında yapılması gerektiğini kanıtlamaktadır (86).

Biz de çalışmamızda deney grubunda 14. günde kortikal köprünün çoğu örnekte kapanmış olduğunu gözlemledik. 30. günde ise 21. güne kıyasla Havers sisteminin daha olgun bir görünümü vardır. 60. günde bütün gruplarda defekt içerisinde kortikal nitelikte olgun kemik bulunmaktadır. DDL uygulamasının en çok 14 ve 21. günlerde etkili olduğunu, daha ilerleyen günlerde ise kemik iyileşme sürecinin kontrol grubuyla aynı olduğunu gözlemledik.

SONUÇ

- Son yıllarda DDLT'nin kemik iyileşmesi üzerine etkilerini araştıran birçok çalışma bulunmaktadır. Ancak, dalga boyu, çalışma gücü, uygulama süresi ve sıklığı gibi birçok parametrenin etkili olması, standart bir tedavi protokolünün geliştirilmesini zorlaştırmaktadır. Sıçan tibiasında yaptığımız *in vivo* deneysel çalışma sonucu kullandığımız 0,5 W 810 nm GaAlAs LASER'in, postoperatif 1., 3. ve 7. günlerde 40 saniye boyunca uygulanması, erken dönem kemik iyileşmesini olumlu yönde etkilediği için bu parametrelerin uygun olduğu düşüncesindeyiz.
- DDLT, kemik onarım sürecini, hematoma organizasyonu, fibroblastik aktivite ve osteoblastik farklılaşma aşamalarında stimüle etmektedir. Biz de, histopatolojik yöntemlerle elde ettiğimiz bulgular ışığında 14. günde kortikal kapanmanın sağlandığını istatistiksel yöntemlerle değerlendirdik.
- Karbon köpük greft materyali, elde edilmesi ucuz bir biomateriyaldir. Çalışmamızda, greft materyalini rezorbe etmeye çalışan dev hücrelere ve osteoklast topluluklarına rastlanmamış, greft materyalinden kaynaklanabilecek yabancı cisim reaksiyonu veya iltihabi hücre infiltrasyonu tespit edilmemiştir. Bulgularımız ışığında, bu materyalin biyouyumlu olması ve osteoindüktif özelliklerinden dolayı kemik defektlerinin onarımında kullanılabileceğini düşünmekteyiz.
- Çalışmamızda tüm gruplarda iltihap, damarlanma, fibrozis açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. 30 ve 60. günlerde kontrol ve deney grupları arasında kemik iyileşmesi açısından hiçbir fark görülmemiştir.

KAYNAKLAR

1. Albrektsson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J.* 2001 Oct; 10 Suppl 2: 96-101.
2. Bauer TW, Muschler GF. Bone graft materials. An overview of the basic science. *Clin Orthop Relat Res.* 2000 Feb; (371): 10-27.
3. Betz RR. Limitations of autograft and allograft. New synthetic solutions. *Orthopedics.* 2002 25: 561-70.
4. Bigham AS, Dehghani SN, Shafiei Z, Torabi Nezhad S. Xenogenic demineralized bone matrix and fresh autogenous cortical bone effects on experimental bone healing: radiological, histopathological and biomechanical evaluation. *Journal of Orthopaedics Traumatology* 2008; 9: 73-80.
5. Blaya DS, Guimarães MB, Pozza DH, Weber JB, de Oliveira MG. Histologic study of the effect of laser therapy on bone repair. *J Contemp Dent Pract.* 2008 Sep 1;9(6):41-8.
6. Buser D, Dahlin C, Schenk RK. *Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry.* Chicago, Quintessence Publishing Co.; 1994: 49-56.
7. Carrinho PM, Renno AC, Koeke P, Salate AC, Parizotto NA, Vidal BC. Comparative study using 685-nm and 830-nm lasers in the tissue repair of tenotomized tendons in the mouse. *Photomed Laser Surg.* 2006 Dec; 24(6): 754-8.
8. Carroll JD. Photomedicine and LLLT Literature Watch. *Photomed Laser Surg.* 2011 Jun;29(6):441-2.
9. Carroll L, Humphreys TR. LASER-tissue interactions. *Clin Dermatol.* 2006 Jan-Feb; 24(1): 2-7.
10. Coluzzi DJ. Fundamentals of dental lasers: science and instruments. *Dent Clin North Am.* 2004 Oct; 48(4): 751-70.
11. Coombe AR, Ho C-TG, Philips JR. The effects of low level laser irradiation on osteoblastic cells. *Clin Orthod Res* 2001 4: 3-14.

12. Csele M. *Fundamentals of light sources and lasers*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.; 2004.
13. David R, Nissan M, Cohen I, Soudry M. Effect of lowpower He-Ne laser on fracture healing in rats. *Lasers Surg Med*. 1996; 19(4): 458-64.
14. Dimitriou R, Tsiridis E, Giannoudis PV. Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury*. 2005 Dec; 36(12):1392-404.
15. do Nascimento PM, Pinheiro AL, Salgado MA, Ramalho LM. A preliminary report on the effect of laser therapy on the healing of cutaneous surgical wounds as a consequence of an inversely proportional relationship between wavelength and intensity: histological study in rats. *Photomed Laser Surg*. 2004 Dec; 22(6): 513-8.
16. Doblaré M, García JM, Gómez JM. Modelling bone tissue fracture and healing: a review. *Engineering Fracture Mechanics* 2004; 71: 1809–1840.
17. Dörtbudak O, Haas R, Mallath-Pokorny. Biostimulation of bone marrow cells with a diode soft laser. *Clin Oral Implants Res*. 2000 Dec; 11(6): 540-5.
18. Ekşilioğlu A. Sıcaklık, Çözücü ve Ek Karbon Malzemelerin Mezofaz Zift Bazlı Karbon Köpüğünün Özelliklerine Etkilerinin İncelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2004.
19. Fonseca RJ, Walker RV, Betts NJ, Barber HD. *Oral and Maxillofacial Trauma*. V.1. Philadelphia, WB Saunders; 1997.
20. Gable P, Tuner J. Bone stimulation by low level laser - a theoretical model for the effects. *Clinixperience*. 2003; 67:
<http://www.laserbassenergie.com/images/orthopedie/BoneStimulationbyLLL.pdf>
21. Garant PR. *Oral Cells and Tissues*. Illinois, Quintessence Publishing Co.; 2003: 195-200.

22. Garavello I, Baranauskas V, da Cruz-Höfling MA. The effects of low laser irradiation on angiogenesis in injured rat tibiae. *Histol Histopathol*. 2004 Jan; 19(1): 43-8.
23. Garavello-Freitas I, Baranauskas V, Joazeiro PP, Padovani CR, Dal Pai-Silva M, da Cruz-Höfling MA. Low-power laser irradiation improves histomorphometrical parameters and bone matrix organization during tibia wound healing in rats. *J Photochem Photobiol B*. 2003 May-Jun; 70(2): 81-9.
24. Garg AK. *Bone Biology, Harvesting, Grafting for Dental Implants*. Illinois, Quintessence Publishing Co.; 2004: 3-20.
25. Gerbi ME, Marques AM, Ramalho LM, Ponzi EA, Carvalho CM, Santos R de C, Oliveira PC, Nôia M, Pinheiro A. Infrared laser light further improves bone healing when associated with bone morphogenic proteins: an *in vivo* study in a rodent model. *Photomed Laser Surg*. 2008 Feb; 26(1): 55-60.
26. Gerbi MEM, Pinheiro AL, Marzola C. Assessment of bone repair associated with the use of organic bovine bone and membrane irradiated at 830 nm. *Photomed Laser Surg* 2005 23: 382–388.
27. Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E. Bone substitutes: an update. *Injury*. 2005 Nov; 36 Suppl 3: 20-7.
28. Gross JA, Herrmann TRW. History of lasers. *World J Urol* 2007; 25: 217–220.
29. Guzzardella GA, Fini M, Torricelli P, Giavaresi G, Giardino R. Laser stimulation on bone defect healing: an *in vitro* study. *Lasers Med Sci*. 2002; 17(3): 216-20.
30. Habibovic P, de Groot K. Osteoinductive biomaterials--properties and relevance in bone repair. *J Tissue Eng Regen Med*. 2007 Jan-Feb; 1(1): 25-32.
31. Hollinger JO, Battistore GC. Biodegradable bone repair materials. *Clin Ortop relat Res* 1986 207: 305.
32. Houk LD, Humphreys T. Masers to magic bullets: an updated history of lasers in dermatology. *Clinics in Dermatology* 2007; 25: 434–442.

33. İhsan FR. Low-level laser therapy accelerates collateral circulation and enhances microcirculation. *Photomed laser surg.* 2005 jun; 23(3): 289-94.
34. Jakse N, Payer M, Tangl S, Berghold A, Kirmeier R, Lorenzoni M. Influence of low-level laser treatment on bone regeneration and osseointegration of dental implants following sinus augmentation: an experimental study on sheep. *Clin Oral Implants Res* 2007; 18: 517–524.
35. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. *Basic Histology*. 9th ed. ABD, McGraw-Hill Publishing Co. 1998: 134-151.
36. Kanczler JM, Oreffo RO. Osteogenesis and angiogenesis: the potential for engineering bone. *Eur Cell Mater.* 2008 May 2;15:100-14.
37. Karu T. *The Science of Low-Power Laser Therapy*. Amsterdam, Hollanda: Overseas Publishers Association; 1998.
38. Karu TI, Kolyakov SF. Exact action spectra for cellular responses relevant to phototherapy. *Photomed Laser Surg.* 2005 Aug; 23(4): 355-61.
39. Khadra M, Kasem N, Haanaes HR, Ellingsen JE, Lyngstadaas SP. Enhancement of bone formation in rat calvarial bone defects using low-level laser therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004 Jun; 97(6): 693-700.
40. Khadra M, Rønold HJ, Lyngstadaas SP, Ellingsen JE, Haanaes HR. Low-level laser therapy stimulates bone-implant interaction: an experimental study in rabbits. *Clin Oral Implants Res.* 2004 Jun;15(3):325-32.
41. Kılıçoğlu SS. Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, 2002;55(2):143-150.
42. Kırca M. Mikro hücreli karbon köpüklerin istatistiksel ve sayısal olarak modellenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2006.
43. Korkmaz Y. Investigation of 980 nm diode laser parameters for soft tissue surgery, *Yüksek Lisans Tezi*, Boğaziçi Üniversitesi Biyomedikal Mühendislik Enstitüsü, İstanbul, 2006.

44. Laakso EL, Richardson CR, Cramond T. Factors affecting low level laser therapy. *Aust J Physio.* 1993; 39: 95-99.
45. Lieberman JR, Friedlaender GE. *Bone Regeneration and Repair: Biology and Clinical Applications.* New Jersey: Humana Press Inc.; 2005.
46. Liu X, Lyon R, Meier HT, Thometz J, Haworth ST. Effect of lower-level laser therapy on rabbit tibial fracture. *Photomed Laser Surg.* 2007 Dec;25(6):487-94.
47. Lopes CB, Pinheiro AL, Sathaiiah S, Da Silva NS, Salgado MA. Infrared laser photobiomodulation (lambda 830 nm) on bone tissue around dental implants: a Raman spectroscopy and scanning electronic microscopy study in rabbits. *Photomed Laser Surg.* 2007 Apr;25(2):96-101.
48. Lopes CB, Pinheiro AL, Sathaiiah S, Duarte J, Cristinamartins M. Infrared laser light reduces loading time of dental implants: a Raman spectroscopic study. *Photomed Laser Surg.* 2005 Feb; 23(1): 27-31.
49. Lubart R, Eichler M, Lavi R, Friedman H, Shainberg A. Low-energy laser irradiation promotes cellular redox activity. *Photomed Laser Surg.* 2005 Feb; 23(1): 3-9.
50. Manni JG. *Dental Applications of Advanced LASERs.* Burlington: JGM Associates Inc.; 2004.
51. Marx RE, Bone and bone graft healing. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2007 Nov; 19(4): 455-66.
52. Maurer EI. Surface modification of carbon structures for biological applications, *Yüksek Lisans Tezi*, Wright State University, 2010.
53. Mendez TM, Pinheiro AL, Pacheco MT, Nascimento PM, Ramalho LM. Dose and wavelength of laser light have influence on the repair of cutaneous wounds. *J Clin Laser Med Surg.* 2004 Feb; 22(1): 19-25.
54. Mester E, Szende B, Gärtner P. The effect of laser beams on the growth of hair in mice. *Radiobiol Radiother (Berl).* 1968; 9(5): 621-6.

55. Misch CE. *Contemporary Implant Dentistry*. 3rd ed. Missouri: Mosby Inc.; 2008.
56. Moore WR, Graves SE, Bain GI. Synthetic bone graft substitutes, *ANZ J Surg*. 2001 Jun;71(6):354-61.
57. Moritz A. *Oral Laser Applications*. Illinois: Quintessence Publishing Co.; 2006.
58. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's Biochemistry*. 25th ed. ABD, McGraw-Hill Publishing Co. 2000: 707-708.
59. Ng GY, Fung DT, Leung MC, Guo X. Comparison of single and multiple applications of GaAlAs laser on rat medial collateral ligament repair. *Lasers Surg Med*. 2004;34(3):285-9.
60. Nicola RA, Jorgetti V, Rigau J, Pacheco MT, dos Reis LM, Zângaro RA. Effect of low-power GaAlAs laser (660 nm) on bone structure and cell activity: an experimental animal study. *Lasers Med Sci*. 2003; 18(2): 89-94.
61. Niemi MH. *Laser-Tissue Interactions: Fundamentals and Applications*. Berlin: Springer-Verlag; 2007.
62. Ninomiya T, Miyamoto Y, Ito T. High-intensity pulsed laser irradiation accelerates bone formation in metaphyseal trabecular bone in rat femur. *J Bone Miner Metab* 2003 21: 67-73.
63. Ozaki A, Tsunoda M, Kinoshita S, Saura R. Role of fracture hematoma and periosteum during fracture healing in rats: interaction of fracture hematoma and the periosteum in the initial step of the healing process, *J Orthop Sci*. 2000;5(1):64-70.
64. Ozawa Y, Shimizu N, Kariya G, Abiko Y. Low-energy laser irradiation stimulates bone nodule formation at early stages of cell culture in rat calvarial cells. *Bone*. 1998 Apr; 22(4): 347-54.
65. Özbayrak S. *LASER prensipleri, biyolojik etkileri ve diş hekimliğinde kullanımı*. İstanbul: ESC ve Sharplan Lazerleri Türkiye Temsilciliği Ortadoğu A.Ş yayın serisi; 1999.

66. Özyuvacı İH. Hidroksilapatit yerleştirilmesinden sonra kemik yapısındaki biyomekanik ve histolojik değişikliklerin deneysel incelenmesi, *Doktora Tezi*, İ.Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 1992.
67. Parker S. Introduction, history of lasers and laser light production. *Br Dent J.* 2007 Jan 13; 202(1): 21-31.
68. Parker S. Laser-tissue interaction. *Br Dent J.* 2007 Jan 27; 202(2): 73-81.
69. Parker S. Low-level laser use in dentistry. *Br Dent J.* 2007; 202: 131-138.
70. Pinheiro AL, Gerbi ME. Photoengineering of bone repair processes. *Photomed Laser Surg.* 2006 Apr; 24(2): 169-78.
71. Pinheiro AL, Limeira Júnior Fde A, Gerbi ME, Ramalho LM, Marzola C, Ponzi EA. Effect of low level laser therapy on the repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone. *Braz Dent J.* 2003;14(3):177-81.
72. Pinheiro AL, Pozza DH, Oliveira MG, Weissmann R, Ramalho LM. Polarized light (400-2000 nm) and non-ablative laser (685 nm): a description of the wound healing process using immunohistochemical analysis. *Photomed Laser Surg.* 2005 Oct; 23(5): 485-92.
73. Qadri T, Bohdanecka P, Tunér J, Miranda L, Altamash M, Gustafsson A. The importance of coherence length in laser phototherapy of gingival inflammation: a pilot study. *Lasers Med Sci.* 2007 Nov; 22(4): 245-51.
74. Reddy GK. Photobiological basis and clinical role of low-intensity lasers in biology and medicine. *J Clin Laser Med Surg.* 2004 Apr;22(2):141-50.
75. Rezende SB, Ribeiro MS, Núñez SC, Garcia VG, Maldonado EP. Effects of a single near-infrared laser treatment on cutaneous wound healing: biometrical and histological study in rats. *J Photochem Photobiol B.* 2007 Jun 26; 87(3): 145-53.
76. Rochkind S, Kogan G, Luger EG, Salame K, Karp E, Graif M, Weiss J. Molecular structure of the bony tissue after experimental trauma to the

- mandibular region followed by laser therapy. *Photomed Laser Surg.* 2004 Jun;22(3):249-53.
77. Salate AC, Barbosa G, Gaspar P, Koeke PU, Parizotto NA, Benze BG, Foschiani D. Effect of In-Ga-Al-P diode laser irradiation on angiogenesis in partial ruptures of Achilles tendon in rats. *Photomed Laser Surg.* 2005 Oct; 23(5): 470-5.
78. Shapiro F. Bone development and its relation to fracture repair. The role of mesenchymal osteoblasts and surface osteoblasts. *Eur Cell Mater.* 2008 Apr 1;15:53-76.
79. Silva Júnior AN, Pinheiro AL, Oliveira MG, Weismann R, Ramalho LM, Nicolau RA. Computerized morphometric assessment of the effect of low-level laser therapy on bone repair: an experimental animal study. *J Clin Laser Med Surg.* 2002 Apr; 20(2): 83-7.
80. Simmons DJ. Fracture Healing Perspectives. *Clin Orthop Relat Res.* 1985 Nov; (200):100-13.
81. Stein A, Benayahu D, Maltz L, Oron U. Low-level laser irradiation promotes proliferation and differentiation of human osteoblasts *in vitro*. *Photomed Laser Surg.* 2005 Apr; 23(2): 161-6.
82. Thibodeau GA, Patton KT. *Anatomy&Physiology*. 4th ed. St. Louis, Mosby Inc.; 2007: 188-200.
83. Turgut G, Eksilioglu A, Gencay N, Gonen E, Hekim N, Yardim MF, Sakiz D, Ekinçi E. Pore structure engineering for carbon foams as possible bone implant material. *J Biomed Mater Res A.* 2008 Jun 1; 85(3): 588-96.
84. van Gemert MC, Welch AJ. Clinical use of laser-tissue interactions. *IEEE Eng Med Biol Mag.* 1989; 8(4): 10-3.
85. Webb JCJ, Tricker J. A review of fracture healing. *Current Orthopaedics* 2000; 14: 457-463.

86. Weber JB, Pinheiro AL, de Oliveira MG, Oliveira FA, Ramalho LM. Laser therapy improves healing of bone defects submitted to autologous bone graft. *Photomed Laser Surg.* 2006 Feb;24(1):38-44.
87. Whelan HT, Smits RL Jr, Buchman EV, Whelan NT, Turner SG, Margolis DA, Cevenini V, Stinson H, Ignatius R, Martin T, Cwiklinski J, Philippi AF, Graf WR, Hodgson B, Gould L, Kane M, Chen G, Caviness J. Effect of NASA light-emitting diode irradiation on wound healing, *J Clin Laser Med Surg.* 2001 Dec; 19(6): 305-14.
88. Vladimirov YA, Osipov AN, Klebanov GI. Photobiological principles of therapeutic applications of laser radiation. *Biochemistry (Mosc).* 2004 Jan; 69(1): 81-90.
89. Zhang X, Awad HA, O'Keefe RJ, Guldberg RE, Schwarz EM. A perspective: engineering periosteum for structural bone graft healing. *Clin Orthop Relat Res.* 2008 Aug; 466(8): 1777-87.

HAM VERİLER

Gruplar	Total sayı	<u>dolma oranı</u>			<u>matürite</u>			<u>Fibrozis</u>				<u>damarlanma</u>			<u>iltihap</u>	
		1	2	3	1	2	3	0	1	2	3	1	2	3	0	1
		Skorlar			Skorlar			Skorlar				Skorlar			Skorlar	
LASER																
7. gün	9	3	6	0	7	2	0	0	4	2	3	0	4	5	7	2
14.gün	9	0	4	5	2	7	0	6	3	0	0	0	3	6	8	1
21.gün	8	0	2	6	0	2	6	7	1	0	0	0	0	8	8	0
30.gün	8	0	0	8	0	0	8	8	0	0	0	0	0	8	8	0
60.gün	9	0	0	9	0	0	9	9	0	0	0	0	0	9	9	0
GREFT																
7. gün	8	2	5	1	5	3	0	1	6	1	0	1	2	5	6	2
14.gün	9	3	5	1	3	5	1	6	3	0	0	0	4	5	8	1
21.gün	9	2	5	2	0	4	5	9	0	0	0	0	0	9	9	0
30.gün	8	0	3	5	0	0	8	8	0	0	0	0	0	8	8	0
60.gün	9	0	1	8	0	0	9	9	0	0	0	0	0	9	9	0
GREFT+ LASER																
7. gün	9	2	6	1	6	3	0	0	5	3	1	0	5	4	7	2
14.gün	9	1	7	1	5	3	1	5	3	1	0	0	3	6	8	1
21.gün	8	0	4	4	0	3	5	6	2	0	0	0	0	8	8	0
30.gün	8	0	2	6	0	0	8	8	0	0	0	0	0	8	8	0
60.gün	8	0	0	8	0	0	8	8	0	0	0	0	0	8	8	0
KONTROL																
7. gün	9	6	3	0	9	0	0	0	5	3	1	2	5	2	5	4
14.gün	9	2	5	2	6	3	0	7	2	0	0	1	4	4	9	0
21.gün	9	0	8	1	0	4	5	9	0	0	0	0	0	9	9	0
30.gün	7	0	0	7	0	0	7	6	1	0	0	0	0	7	7	0
60.gün	8	0	0	8	0	0	8	8	0	0	0	0	0	8	8	0

FORMLAR

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 53

30.04.2008

Sn. Prof. Dr. Hakan Özyuvacı
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi,

Karar No: 44
Başvuru Tarihi: 18.04.2008

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, Dt. Zeynep Sevrük'e ait "Deneysel kemik defektlerinde uygulanan karbon köpük ve 840 nm laserin iyileşme üzerine olan etkilerinin histolojik olarak incelenmesi" isimli proje Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul İlkelerine uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Mehmet KAYA
İ. Ü. HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Müjdat UYSAL
Üye

Prof. Dr. Nuriye AKEV
Üye

Prof. Dr. Gülderen ŞAHİN
Üye

Prof. Dr. Cüneyt K. ORAL
Üye

Doç. Dr. Alper YILMAZ
Üye

Uzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Üye

Avukat Nuriye ALTUN
Üye

Mak. Müb. Seyfettin AVCI
Üye

İstanbul Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı
Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü
Vakıf Güreba Caddesi 34280 Şehremini-İSTANBUL
TEL : (0 212) 414 20 00/33375
E mail : deneyhyv@istanbul.edu.tr

PATENT HAKKI İZİNİ

TELİF HAKKI İZİNİ

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Zeynep	Soyadı	Sevük
Doğ.Yeri	İstanbul	Doğ.Tar.	24.05.1981
Uyruğu	T.C	TC Kim No	46993331356
Email	zsevuk@gmail.com	Tel	5323755809

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2011
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2005
Lisans	Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2005
Lise	Özel Fransız Saint Joseph Lisesi	2000

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
Fransızca	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi		
İngilizce	İyi	İyi	İyi		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel

LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

Yayımları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri**Özel İlgi Alanları (Hobileri):**