

**DÜŞÜK ENERJİ SEVİYELİ LAZER TERAPİSİ VE MECSİNA ADLI HEMOSTATİK AJAN
KULLANILARAK SERT DOKU İYİLEŞMESİNİN HİSTOLOJİK VE MORFOLOJİK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Anıl ÖZYURT

DOKTORA TEZİ

AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

EYLÜL 2014

Dt. Anıl ÖZYURT tarafından hazırlanan "Düşük Enerji Seviyeli Lazer Terapisi ve Mecsina Adlı Hemostatik Ajan Kullanılarak Sert Doku İyileşmesinin Histolojik ve Morfolojik Değerlendirilmesi" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof.Dr. Mehmet Nadir GÜNGÖR

Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum / onaylamıyorum.

Üye: Prof.Dr. Ergun YÜCEL

Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum / onaylamıyorum.

Üye: Prof.Dr. Cahit ÜÇÖK

Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum / onaylamıyorum.

Üye: Prof.Dr. Barış ŞİMŞEK

Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum / onaylamıyorum.

Üye: Prof.Dr. Dilek UĞAR ÇANKAL

Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum / onaylamıyorum.

Tez Savunma Tarihi: 19/09/2014

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dökümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Anıl ÖZYURT

18/09/2014

DÜŞÜK ENERJİ SEVİYELİ LAZER TERAPİSİ VE MECSİNA ADLI HEMOSTATİK AJAN KULLANILARAK
SERT DOKU İYİLEŞMESİNİN HİSTOLOJİK VE MORFOLOJİK DEĞERLENDİRİLMESİ
(Doktora Tezi)

Anıl ÖZYURT

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Eylül 2014

ÖZET

Sert doku iyileşmesi, oral ve maksillofasiyal bölgede yapılan birçok cerrahi girişim öncesi ve sonrası önem arz etmektedir. Çalışmamızda; düşük enerji seviyeli lazer terapisinde kullanılan GaAlAs lazerin ve Mecsina adlı bitkisel kaynaklı hemostatik ajanın uygulanarak kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlandı. Bu amaçla 32 adet Long Evans cinsi dişi ratların sol mandibula diastema bölgelerinde küresel kemik defekt alanları oluşturuldu. Denekler; hiçbir işlem yapılmayan kontrol grubu, sadece GaAlAs düşük enerji seviyeli lazer terapisini uygulanan lazer grubu, sadece Mecsina hemostatik ajan uygulanan Mecsina grubu ve lazer ile birlikte Mecsina uygulanan lazer-Mecsina adlı 4 gruba ayrıldı. Lazer 7 gün boyunca 10 J/cm^2 olacak şekilde ve Mecsina 0,01mL likit olarak cerrahi işlem esnasında uygulandı. Cerrahi işlemi takiben 30 günlük süre sonunda tüm denekler sakrifiye edilerek kemik iyileşmesi histolojik, immunohistokimyasal ve radyolojik olarak değerlendirildi. Histolojik değerlendirmede lazer-Mecsina grubunun diğer gruplara kıyasla daha yaygın kalsifiye kemik dokusuna ve daha fazla osteoblast sayısına sahip olduğu istatistiksel olarak saptandı ($p<0,05$). Morfolojik değerlendirmede nitel inceleme yapılarak lazer-Mecsina grubunun diğer gruplara kıyasla daha fazla kemik dokusu oluşumuna sahip olduğu görüldü. Bu çalışma ile lazer ve Mecsinanın birlikte uygulanmasının kemik iyileşmesini hızlandırmada etkili bir yöntem olduğu görülmüştür.

Bilim Kodu : 1003.1

Anahtar Kelimeler : Düşük enerji seviyeli lazer terapisi, GaAlAs, Mecsina, sert doku iyileşmesi

Sayfa Adedi : 126

Danışman : Prof.Dr. Mehmet Nadir GÜNGÖR

HISTOLOGICAL AND MORPHOLOGICAL EVALUATION OF THE EFFECTS OF LOW LEVEL LASER
THERAPY WITH MECSINA HEMOSTOPPER ON HARD TISSUE HEALING

(Ph.D. Thesis)

Anıl ÖZYURT

GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

September 2014

ABSTRACT

Hard tissue healing is important before and after various surgical procedures in the oral and the maxillofacial area. The aim of this study was to investigate the effect of GaAlAs laser used in low level laser therapy with Mecsina herbal hemostopper application on hard tissue healing. For this purpose, standart spherical bone defects were created on the left mandible diastema sites of 32 female Long Evans rats. The experimental animals were allocated to four groups as follows; control group (nothing applied), the laser group (GaAlAs low level laser therapy), the Mecsina group and the laser-Mecsina combination group. Mecsina in liquid form was applied at a volume of 0,01mL. The laser treatment was performed for a duration of 7 days after surgery at an energy dose of 10 J/cm². All animals were sacrificed so as to observe hard tissue healing histologically, immunohistochemically and radiologically 30 days after the surgery. Histological assessment showed that there were significantly more calcified tissue areas and significantly more osteoblast cells in the laser-Mecsina combination group compared with the other groups (p<0.05). Qualitative morphological assessment showed that more bone tissue existed in the laser-Mecsina combination group compared with the other groups. As conclusion, this study demonstrated that combined treatment with a low laser therapy and Mecsina was the most effective treatment on hard tissue healing among all tested treatment modalities.

Science Code : 1003.1
Key Words : Low level laser therapy, GaAlAs, Mecsina, hard tissue healing
Page Number : 126
Supervisor : Prof.Dr. Mehmet Nadir GÜNGÖR

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince, danışman hocam olmasının yanı sıra bana bir baba olan değerli insan **Prof.Dr. Nadir GÜNGÖR'e**; doktora mülakatımın jürisinde yer alan ve bana güverek anabilim dalına kabul eden **Prof.Dr. Şule YÜCETAŞ'a** ve **Prof.Dr. Ergun YÜCEL'e**; beni akademik hayata yönlendiren **Prof.Dr. Hülya ERTEN'e**; dostluğunu en içten hissettiğim manevi abim **Doç.Dr. Güven KAYAOĞLU'na**; klinik tecrübelerini benimle paylaşan ve her daim desteklerini esirgemeyen başta **Yrd.Doç.Dr. Süleyman BOZKAYA** ve **Prof.Dr. Barış ŞİMŞEK** olmak üzere tüm hocalarıma; North Carolina Üniversitesi'nde eğitim görmemi destekleyerek bana farklı ufuklar açan **Prof.Dr. Nur MOLLAOĞLU'na**, **Prof.Dr. Timothy TURVEY'e** ve **Arzina ALANI'ye**; doktora eğitimi süresince bana doktora kardeşliği yapan **Dr.Dt. Erkan ÇIRAK'a**; manevi olarak hep yanımda olan değerli insan **Dt. Esra DOĞAN'a**; her zaman desteğini yanımda hissettiğim **Murat KULAKAÇ** ve tüm **DESSAT** ekibine, **Başak SAYAR'a**, **Dr.Dt. Gökçe SOĞANCI'ya**, **Selim SEVİNÇ'e**, **Yrd.Doç. Dr. Aslı GÜÇLÜ'ye**, **Dt. Selin AYKOL'a**, **Özgün KAFADAR'a**, **Dr.Dt.Şefik KOLÇAKOĞLU'na**, **Umut BAĞCILAR'a**, **Hakan ÜN'e**; birlik ve beraberlik içinde olduğum asistan arkadaşlarım, hemşire ablalarım ve tüm bölüm personeline; tezimde emeği geçen **Prof.Dr. Çiğdem ELMAS** ve **Dr. Merve SEYMEN'e (G.Ü. Histoloji ve Embriyoloji A.D.)**; **Prof.Dr. Tuncay PEKER'e (G.Ü. Anatomi A.D.)**; **Prof.Dr. Hakan ÇELİK**, **Doç.Dr.İlkan TATAR** ve **Dr. Alper VATANSEVER'e (H.Ü. Anatomi A.D.)**; **Arş.Gör. Deniz ÇALIŞKAN'a (B.Ü. NANOTAM)**; **GÜDAM** personeline; **Hilal SARI'ya (G.Ü.F.B.E. İstatistik A.D.)**; ve son olarak canım annem **Sümran ÖZYURT** ile canım babam **Uzm.Dr. Turgay ÖZYURT'a** sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması **Mustafa Kemal ATATÜRK** ve **İstiklal Savaşı** şehitlerimize atfedilmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Kemik Dokusu	5
2.1.1. Kemik dokusunun fizyolojisi	5
2.1.2. Kemik dokusunun yapısı	6
2.1.3. Kemik tipleri	10
2.1.4. Kemik oluşumu	12
2.1.5. Kemik iyileşmesi	13
2.1.6. Kemik iyileşmesini etkileyen faktörler	17
2.2. Lazerler	20
2.2.1. Tanım ve tarihçe	20
2.2.2. Lazer fiziği	22
2.2.3. Lazer ışınının özellikleri	23
2.2.4. Lazer ışınının elde edilmesi	25
2.2.5. Lazer cihazının temel komponentleri	25
2.2.6. Lazer iletim sistemleri	26

Sayfa

2.2.7. Lazer ile dokunun etkileşimi	28
2.2.8. Lazerin dokudaki etki mekanizması	30
2.2.9. Lazerlerin sınıflandırılması	31
2.2.10. Düşük enerji seviyeli lazer terapisi (DESLT)	32
2.3. Mecsina Hemostopper	39
2.3.1. Ön bilgiler	39
2.3.2. İçeriği	39
2.3.3. Etki mekanizması	45
3. GEREÇ VE YÖNTEM	47
3.1. Deneklerin Seçimi	47
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	48
3.2.1. BTL 4000 GaAlAs soft lazer	49
3.2.2. Mecsina Hemostopper Sprey 10mL	50
3.3. Çalışma Grupları	50
3.4. Çalışma Planı	51
3.4.1. Mecsina uygulaması	55
3.4.2. Lazer uygulaması	55
3.4.3. Çalışmanın sonlandırılması ve deneklerden örneklerin elde edilmesi	56
3.5. Histolojik Değerlendirmeler	57
3.5.1. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi	59
3.5.2. Masson'un üçlü boyama yöntemi	60
3.5.3. İmmunohistokimyasal boyama yöntemi	60
3.6. İstatistiksel Değerlendirmeler	62
3.7. Morfolojik Değerlendirmeler	63
3.7.1. Mikro Tomografi cihazı	63

Sayfa

3.7.2. Mikro Tomografik kesitlerin alınması	63
3.7.3. Mikro Tomografi görüntülerinden üç boyutlu modeller elde edilmesi	64
4. BULGULAR	65
4.1. Histolojik Bulgular	65
4.1.1. Kontrol grubu (K)	65
4.1.2. Lazer grubu (L)	67
4.1.3. Mecsina grubu (M)	69
4.1.4. Lazer-Mecsina grubu (LM)	71
4.2. İstatistiksel Bulgular	74
4.2.1. Dejenerasyon kriterleri istatistiği (ANOVA testi)	74
4.2.2. OPN istatistiği (Kruskal Wallis testi)	80
4.3. Morfolojik Bulgular	81
4.3.1. Kontrol grubu (K)	81
4.3.2. Lazer grubu (L)	84
4.3.3. Mecsina grubu (M)	87
4.3.4. Lazer-Mecsina grubu (LM)	90
5. TARTIŞMA	93
6. SONUÇ	99
KAYNAKLAR	101
EKLER	119
EK-1. Etik Kurul Raporu	120
EK-2. (Devam) Etik Kurul Raporu	122
EK-3. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Sertifikası	124
ÖZGEÇMİŞ	126

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Çalışma gruplarının dağılımı ve inceleme gruplarının oluşturulması.....	50
Çizelge 4.1. ANOVA testi	74
Çizelge 4.2. Varyansların homojenliği	76
Çizelge 4.3. Kruskal Wallis testi ile sıra toplamaları	80

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Kemik iyileşmesi	16
Şekil 2.2. Elektromanyetik ışığın özellikleri	22
Şekil 2.3. Emisyon diyagramları.....	23
Şekil 2.4. Monokromatik lazer ışığı ve polikromatik beyaz ışık.....	24
Şekil 2.5. Kollime lazer ışığı ve kollime olmayan beyaz ışık.....	24
Şekil 2.6. Kohorent lazer ışığı ve non-kohorent beyaz ışık.....	25
Şekil 2.7. Lazer cihazının temel komponentleri	26
Şekil 2.8. Çok katmanlı esnek hollow tüp.....	27
Şekil 2.9. Lazerin dokuyla karşılaştığında ortaya çıkabilecek etkileşimleri	28
Şekil 2.10. Lazerlerin elektromanyetik spektrumdaki yerleri.....	31
Şekil 2.11. Lazer ışığının mitokondri üzerindeki etkisi.....	36
Şekil 3.1. Rat kafatasının soldan görünümü	48
Şekil 4.1. Granülasyon Doku Yoğunluğu grafiği.....	76
Şekil 4.2. Kollajen Matriks Yoğunluğu (Fibrokartilöz Doku) grafiği	77
Şekil 4.3. Kan Damarları ve Vaskülogenez grafiği.....	77
Şekil 4.4. Mineralize Trabeküler Kemik grafiği	78
Şekil 4.5. Osteosit Yoğunluğu grafiği	78
Şekil 4.6. Osteoblast Yoğunluğu grafiği	79
Şekil 4.7. Kalsifiye Kemik Doku grafiği.....	79
Şekil 4.8. Ortalama osteoblast sayıları grafiği	80

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Cam fiber optik kablolar	27
Resim 2.2. <i>Urtica dioica</i>	40
Resim 2.3. <i>Vitis vinifera</i>	40
Resim 2.4. <i>Glychrrhiza glabra</i>	41
Resim 2.5. <i>Alpinia officinarum</i>	42
Resim 2.6. <i>Thymus vulgaris</i>	42
Resim 2.7. <i>Syzygium aromaticum</i>	43
Resim 2.8. <i>Hypericum perforatum</i>	44
Resim 2.9. <i>Mentha arvensis</i>	45
Resim 3.1. Çalışmada kullanılan Long Evans cinsi rat	47
Resim 3.2. BTL 4000 GaAlAs Soft Lazer	49
Resim 3.3. Mecsina hemostopper sprey 10mL	50
Resim 3.4. Deneklere intramuskuler anestezi uygulanması	51
Resim 3.5. Mandibula diastema bölgesine insizyon yapılması	52
Resim 3.6. Yapılan insizyonu takiben flep kaldırılması	52
Resim 3.7. Frezle yapılan ostektomi işlemiyle defekt alanı oluşturulması	53
Resim 3.8. Oluşturulan küresel defekt alanının görünümü	54
Resim 3.9. Kaldırılan flebin yerine tespit edilmesi	54
Resim 3.10. Defekt alanları oluşturulduktan sonra Mecsina likidinin tatbiki	55
Resim 3.11. Defekt bölgelerine ağız dışından lazer uygulanması	56
Resim 3.12. İncelemeye gönderilmek için rezeke edilmiş mandibula örneği	57
Resim 3.13. Parafine blok gömülmüş örneklerin 4-5µ kalınlığında kesilme işlemi	58
Resim 3.14. Kesilen blokların kesit olarak hazırlanması	58
Resim 3.15. Elde edilen kesitlerin etiketlenmesi	59

Resim	Sayfa
Resim 3.16. Kesitlerin Hematoksilen-Eozin boyanma yöntemi ile boyanması	59
Resim 3.17. Kesitlerin Masson Üçlü boyama yöntemi ile boyanması.....	60
Resim 3.18. Kesitlerin immunohisyo kimyasal incelenmesi.....	61
Resim 3.19. SkyScan 1174 mikro tomografi cihazı.....	63
Resim 3.20. Örneklerin akriliğe gömülerek tomografik kesitler alınması	64
Resim 3.21. Kırmızı-mavi üç boyutlu gözlük.....	64
Resim 4.1. Kontrol grubuna ait resimlerde granülasyon dokusu ve mineralize trabeküler kemik (Hematoksilen Eozin x 100).....	65
Resim 4.2. Kontrol grubuna ait resimde kemik iliği, osteoblast ve osteosit (Hematoksilen Eozin x 400)	66
Resim 4.3. Kontrol grubuna ait resimlerde kemik iliği, osteoblast, osteosit, mineralize trabeküler kemik ve kollajen matriks (Masson Trikrom x 400)	66
Resim 4.4. Lazer uygulaması yapılan gruba ait resimlerde granülasyon dokusu ve kollajen matriks (Hematoksilen Eozin x 100)	67
Resim 4.5. Lazer uygulaması yapılan gruba ait resimde osteoblast, osteosit ve mineralize trabeküler kemik (Hematoksilen Eozin x 400)	68
Resim 4.6. Lazer uygulaması yapılan gruba ait resimlerde osteosit, mineralize trabeküler kemik, kollajen matriks, granülasyon dokusu, kan damarları ve vaskülogenez (A: Masson Trikrom x 100, B: Masson Trikrom x 400)	68
Resim 4.7. Mecsina uygulaması yapılan gruba ait resimlerde granülasyon dokusu (Hematoksilen Eozin x 100)	69
Resim 4.8. Mecsina uygulaması yapılan gruba ait resimde osteosit, mineralize trabeküler kemik ve granülasyon dokusu (Hematoksilen Eozin x 400).....	70
Resim 4.9. Lazer uygulaması yapılan gruba ait resimlerde osteosit, mineralize trabeküler kemik, kollajen matriks, granülasyon dokusu, kan damarları ve vaskülogenez, kalsifiye kemik dokusu (A: Masson Trikrom x 100, B: Masson Trikrom x 400)	70
Resim 4.10. Mecsina ve lazer uygulamasının birlikte yapıldığı gruba ait resimlerde granülasyon dokusu (Hematoksilen Eozin x 100)	71
Resim 4.11. Mecsina ve lazer uygulamasının birlikte yapıldığı gruba ait resimde osteosit, mineralize trabeküler kemik, kemik iliği ve osteoblast (Hematoksilen Eozin x 400)	72

Resim	Sayfa
Resim 4.12. Mecsina ve lazer uygulamasının birlikte yapıldığı gruba ait resimlerde osteosit, mineralize trabeküler kemik, kollajen matriks, granülasyon dokusu, kan damarları ve vaskülogenez ile kalsifiye kemik dokusu (A: Masson Trikrom x 100, B: Masson Trikrom x 400).....	72
Resim 4.13. Kontrol (A), lazer uygulaması (B), mecsina uygulaması (C), lazer ve mecsina uygulamalarının birlikte yapıldığı (D) gruplara ait OPN tutulumu gösteren osteoblastlar (OPN primer antikoru x 400)	73
Resim 4.14. Ok işaretleriyle gösterilen kemik spikülü	81
Resim 4.15. Ok işaretleriyle gösterilen kemik spikülü	82
Resim 4.16. Kontrol grubunun geçirgen olmayan üç boyutlu stereoskopik modeli.....	83
Resim 4.17. Ok işaretleriyle gösterilen kemik kabartıları	84
Resim 4.18. Daire içerisinde gösterilen kalsifiye olmamış yeni kemik yapısı oluşumu.....	85
Resim 4.19. Lazer grubunun geçirgen olmayan üç boyutlu stereoskopik modeli	86
Resim 4.20. Ok işaretleriyle gösterilen sıkışmış kavite yapısı	87
Resim 4.21. Ok işaretleriyle gösterilen birleşmiş trabeküler kalsifiye kemik yapıları.....	88
Resim 4.22. Mecsina grubunun geçirgen olan üç boyutlu stereoskopik modeli	89
Resim 4.23. Ok işaretleriyle gösterilen yaygın trabeküler kalsifiye kemik yapıları.....	90
Resim 4.24. İşaretleriyle gösterilen yaygın birleşmiş trabeküler kalsifiye kemik yapıları.....	91
Resim 4.25. Lazer-Mecsina grubunun geçirgen olan üç boyutlu stereografik modeli.....	92

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

μ	Mikron
nm	Nanometre
mW	Miliwatt
J/cm ²	Joule/santimetrekare
mL	Mililitre

Açıklamalar

Kısaltmalar

DESL	Düşük enerji seviyeli lazer
DESLT	Düşük enerji seviyeli lazer terapisi
GaAlAs	Galyum Alüminyum Arsenid
GaAs	Galyum Arsenid
He-Ne	Helyum Neon
ALP	Alkalen fosfataz
ATP	Adenozin trifosfat
BMP	Kemik morfogenetik proteini
BMD	Kemik mineral yoğunluğu
TGF- β	Dönüştürücü büyüme faktörü
PRP	Trombositten zengin plazma
PRF	Trombositten zengin fibrin
PDGF	Trombosit kökenli büyüme faktörü
IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü
PTH	Paratiroid hormon
OPN	Osteopontin

Açıklamalar

1. GİRİŞ

Oral ve maksillofasiyal bölgede meydana gelen kemik defektlerinin rekonstrüksiyonu sağlanarak dokuların estetik, fonasyon ve fonksiyon görevlerinin bireye yeniden kazandırılması, cerrahinin en zorlu uğraş alanlarından birisidir. Çenelerde görülen kemik defektleri; konjenital veya gelişimsel malformasyonlar, tümör cerrahisi, kist enükleasyonları, gömülü diş operasyonları, travma ve enfeksiyonlar gibi çeşitli nedenlerle oluşabilir [1-4]. Bu defekt alanları, günümüzde giderek yaygınlaşan kemik içi implant uygulaması açısından ciddi engel teşkil etmektedir [5].

Kemik ile ilgili birçok cerrahi müdahalenin başarısı, kemiğin temel özelliklerine bağlıdır. Kemik doku; çevreden gelen mekanik ve kimyasal uyarılara göre kendini şekillendirebilen, iyi organize, dinamik bir yapıya sahiptir [6]. Kemiğin süregelen dinamik özelliğinden yararlanarak günümüzde kemik iyileşmesini hızlandırmak için birçok uygulamaya başvurulmaktadır. Mekanik olarak; elektrik ve elektromanyetik tedaviler, hiperbarik oksijen tedavisi, şok dalgası uygulaması, düşük yoğunlukta ultrason uygulaması ve düşük enerji seviyeli lazer (DESL) terapileri; kimyasal olarak; lokal ve sistemik ilaç uygulamaları (Kalsiyum fosfat, kemik morfogenetik proteinleri [BMP], D vitamini, büyüme faktörleri, hormonlar, anabolik steroidler ve bitki ekstraktları) yapılmaktadır [7-12].

Günümüzde kemik iyileşmesinde kullanımı popüler hale gelen fiziksel tedavi yöntemlerinden biri, düşük enerji seviyeli lazerlerdir. Bu amaçla, emisyon dalga boyu 632.8 nm olan Helyum-Neon (He-Ne) ve emisyon dalga boyu 650-830 nm arasında değişen galyum-arsenid (GaAs), galyum-alüminyum-arsenid (GaAlAs) gibi yarı-iletken diyot lazerler kullanılmaktadır [13].

Düşük enerji seviyeli lazerler, doku iyileşmesi sırasında uygulandığında biyostimülasyon yaparak terapötik etki gösterirler [14]. Bu tip lazerlerin ışınları, renk skalasının kırmızı alanında ve kızıl ötesi spektruma yakın bulunurlar. Lazer ışınları biyostimülasyonu sağlamak için; fotokimyasal, fotoelektrik ve fotoenerjik reaksiyonları indükleyerek hücrel fotobiyomodülatör şeklinde terapötik etkide bulunurlar [13]. Düşük enerji

seviyeli lazer ışınlarının temel özellikleri; insan vücudu için termal ve toksik etkilerinin bulunmaması, hücreleri biyostimülasyon ile uyarması ve böylelikle rejeneratif kapasiteyi arttırmasıdır [13-18].

Düşük enerji seviyeli lazer terapisi (DESLT) ile yapılan biyostimülasyon, dokularda enerji birikimini sağlar. Bu da metabolizmal stimulan etki sağlayarak histamin, serotonin ve bradikinin gibi mediatörlerin salınımını arttırır. Böylelikle araşidonik asit üretimi aktive olur ve son olarak araşidonik asit prostaglandine dönüştürülür. Dokulardaki adenozin trifosfat (ATP) oranının artmasıyla artan enerji seviyesi mitozu hızlandırır ve doku iyileşmesini geliştirir, kemik onarımını stimule eder, tamir dokusunda biriken kollajen ve elastik fibrillerin normalitesinde fibroblastların üretimini dengeler. DESLT periferel kan dolaşımını da arttırarak antienflamatuar etki oluşturur ve doku iyileşmesini sağlar [14-18]. DESLT ile ilgili yapılan karşılaştırmalı histopatolojik hayvan çalışmaları; özellikle kemik kırıkları ve rapid palatal ekspansiyon olgularında fibroblast proliferasyonunun ve ossifikasyonun hızlanarak kemik mineral yoğunluğunun önemli ölçüde (BMD) arttığını göstermiştir [17,18]. Böylece, ortodontik ve kraniyomaksillofasial cerrahide lazer uygulamasının kemik iyileşmesine pozitif etki sağladığı saptanmıştır [14-18].

Kemik iyileşme süresinin uzun olması, araştırmacıları bu süreci hızlandırmaya yönelik kimyasal ajanlar üzerine de çalışmalar yapmaya yöneltmiştir. Bu çalışmalarda; BMP-2, osteojenik protein-1, büyüme faktörleri, dönüştürücü büyüme faktörü (TGF- β), trombositte zengin plazma (PRP) ve trombositte zengin fibrin (PRF) gibi biyojenler kullanılmıştır. Günümüzde bu konu üzerine yapılan çalışmalar halen sürmektedir.

Mecina hemostopper; Glycrrhiza Glabra ekstresi (Meyan), Vitis Vinifera özü (Üzüm), Alphina Officinarum özü (Havlıcan), Urtica Dioica özü (Isırgan), Syzygium Aromaticum özü (Karanfil) , Thymus Vulgaris (Kekik suyu), Hypericum Perforatum (Sarı kantaron otu) ve Mentha Arvensis suyu (Tarla nanesi) içeren Türk patentine sahip kanama durucu ajan olarak kullanılan bitki ekstratıdır. Bu bitkisel karışımın damar endoteli, kan hücreleri, anjiyogenezis, hücre proliferasyonu üzerine etkileri olduğu ve

antienflamatuar özelliğe sahip olduğu bildirilmektedir. Literatürde Mecsina ve benzeri kanama durdurucu ajanların etkilerini konu alan çalışmalar mevcut olmasına rağmen, kemik iyileşmesi üzerine olan etkilerini inceleyen çalışma sayısı azdır [19-23].

Bu araştırmada, GaAlAs düşük enerji seviyeli lazer ve Mecsina hemostatik ajanın birlikte kullanımında kemik iyileşmesi üzerine olan etkinliğinin karşılaştırmalı histolojik ve morfolojik incelenmesi ele alınmıştır. Bu çalışmada, mekanik ve kimyasal etkenlerin kombine kullanımının kemik iyileşmesi üzerine olan etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Kemik Dokusu

2.1.1. Kemik dokusunun fizyolojisi

Kemik dokusu, kollajen matriksi içerisinde kalsiyum, fosfat ve hidroksiapatit kristallerinin oluşturduğu bağ dokunun özelleşmiş halidir. Canlı vücudundaki en sert yapılardan birisidir [24]. Canlıların iskelet sistemi dinamik bir durumda yaşam boyunca sürekli olarak osteoblastlar ve osteoklastların koordineli olarak çalışmasıyla yapılır ve yıkılır [25]. Kemik dokusunun iki önemli temel görevi vardır. Bunlar; iskelet sistemini oluşturarak yumuşak dokulara yapısal destek ile koruma sağlaması ve kalsiyum metabolizması ile büyük miktarlarda kalsiyum ve fosfor deposu olarak rol oynamasıdır. Gerekğinde kana ve diğer dokulara bu mineralleri sağlar [26,27]. Kemik matriksinin kompleks yapısındaki kollajen ağı üzerinde %85 kalsiyum fosfat, %10 kalsiyum karbonat, az miktarda kalsiyum florid ve %5 oranında magnezyum florit bulunmaktadır. Kemik minerallerinin primer formu hidroksiapatittir. Kemik doku ayrıca BMP gibi kollajen olmayan proteinler de içermektedir [25].

Kemik metabolizması beslenmeye, güneş ışığına, hormonlara ve fiziksel egzersizlere bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Yaşam süresince mevcut kemik yapısının idamesi için yeterli miktarda protein ve minerallerin sürekli olarak ekzojen yolla sağlanması şarttır. Kemik dokusunun mineral birikimi ve salınımı belli bir dengeye sahiptir. Bu denge 40'lı yaşlardan itibaren değişmeye başlar. 40 yaşından sonraki yaşam döneminde remodelasyon metabolizmasının etkisinin azalması dolayısıyla toplam kemik kütlelerinde azalma görülür [26]. İnsanlar 80'li yaşlarda toplam kemik kütlelerinin %50'sine yakını kaybederler. 30'lu yaşlarda en yüksek kemik kütle seviyesine ulaşırlar. Kadınlar erkeklerden, beyazlar siyahlardan daha düşük kütle oranına sahiptirler. Kadınlar ortalama yaşa bağlı olarak kortikal kemikten %35; kansellöz kemikten %50 oranında kayıp yaşarken, erkekler bu oranın ancak üçte ikisini kaybetmiş olur [28].

2.1.2. Kemik dokusunun yapısı

Kemik dokusu temel olarak ara madde, ara madde içinde dağılmış lifler ve kemik hücrelerinden oluşmaktadır. Bu yapısı itibarıyla kalsifikasyona uğrayan özelleşmiş bir bağ dokusu görünümüne sahiptir [29].

Kemik doku, dışarıdan periosteum adı verilen ve kemiği dış kısımdan besleyen fibrotik bir bağ doku ile sarıdır. Bu tabakanın dış tarafında sık lifli bağ doku, iç tarafında ise osteoprogenitör hücrelerin yer aldığı gevşek lifli bağ doku katmanında osteogenik tabaka bulunur. Osteoprogenitör hücreler, kemik hücrelerinin öncülleridir. Periosteum tabakasının dışında yer alan Sharpey fibrilleri adlı periosteal kollajen lifler, ara maddedeki konsantrik lameller ile periosteumu birbirine bağlar.

Kemik doku, içeriden endosteum adı verilen ve kemiği iç kısımdan besleyen zengin fibril içerikli retikular bir bağ doku ile sarıdır. Bu tabaka içinde de kemik ve kan hücrelerinin öncülleri olan osteoprogenitör hücreler bulunmaktadır [29].

Kemik hücreleri

Osteoprogenitör hücreler

Osteoprogenitör hücreler, mezenşimal kök hücrelerinden oluşan ve kemik dokusu üretmeye koşullanmış, oval çekirdekli, iğ şeklinde görünen hücrelerdir. Periosteumun iç hücre katmanı, havers kanalları, endosteum, volkmann ve medüller kanallarda bol miktarda mevcuttur [24,30,31]. Normal şartlardaki erişkin kemik dokusunda inaktif haldedirler ve bu inaktif şekillerinin morfolojik olarak ayırt edilmesi zordur. Ancak; kemik gelişimi ya da yaralanma gibi herhangi bir nedenle kemik yapımı uyarıldığı durumlarda, sayılarındaki artış ve morfolojik değişimleri sayesinde kolayca ayırt edilirler [32].

Çoğalma haline geçen bu hücreler mitoz ile sayılarını arttırmalar ve bir bölümü kemiği oluşturan osteoblastlara dönüşür. Osteogenezis (kemik yapımı) durduğunda osteoblastlar yeniden osteoprogenitor hücelere dönüşebilirler [33].

Osteoprogenitör hücreler oksijen oranının düşük olduğu durumlarda kondrojenik hücelere dönüşüm gösterebilirler.

Osteoblastlar

Osteoblastlar, osteoprogenitör hücelerden değişen, küresel çekirdekli, silindiriğe yakın şekilli kemik oluşumunu sağlayan temel hücelerdir [27,29]. Kemik oluşumunu; Tip 1 kollajen, glikoproteinler, proteoglikanlar ile osteokalsin, osteonektin ve osteopontin (OPN) gibi organik matriks bileşenlerini sentezleyerek gerçekleştirirler [27,31,34,35]. 15-20 µm büyüklüğündeki bu hücreler birbirlerine kısa uzantılarla bağlanmıştır. Kübik ya da silindirik yapılı olan bu hücreler kemik dokuda yeni matriks oluşumu sırasında yan yana gelerek tabaka oluşturlar [27].

Osteoblastların çekirdekleri büyük ve ökromatin (çekirdeğin açık boyanması) özellikte olup genellikle hücrenin kemik yüzeyinden uzak olan tarafında konumlanır. Sitoplazmalarında granüllü endoplazmik retikulum yaygındır. İyi gelişmiş olan golgi cisimciği, çekirdek ile hücrenin tabanı arasındadır. Osteoblastların mitokondrileri de oldukça fazla sayıdadır. Bütün bu yapısal özellikler, osteoblastların yüksek metabolik aktiviteye sahip hüceler olduğunu açıklar [27].

Osteoblastlar yüksek seviyede alkalen fosfataz (ALP) aktivitesi gösterirler. Bu durum, kemik matriksinde kalsiyum depolanmasını osteoblastların düzenlediğini göstermektedir [27]. Kandaki yüksek ALP seviyesi kemik metabolizmasının aktivitesi hakkında bilgi verici olabilir [29].

Osteoblastlar, osteoid adı verilen ancak henüz kireçlenmemiş matriks tabakasını oluşturlar. Osteoid doku, dokunun sentezi ile kalsifikasyonu arasındaki osteoblast matürasyon periyodu adı verilen ve ortalama olarak 10 gün kadar süren bir süreçte

ortaya çıkmaktadır [34]. Bu süreç, kemik apozisyonu henüz meydana gelmiş matriks üzerine kalsiyum tuzlarının tortulanmasının ardından tamamlanır [36]. Böylelikle osteoblastlar salgıladıkları osteoid doku içinde gömülü kalırlar. Görevlerini tamamlayan osteoblast hücrelerinin şekilleri de yavaş yavaş değişerek iğ veya mekik şeklindeki hücelere dönüşür. ALP aktivitesi hızla düşen osteoblastlar son olarak osteositlere dönüşerek görevlerini tamamlarlar.

Osteositler

Osteoblastlar, salgıladıkları osteoid dokunun kalsifikasyonu sonucunda bu doku içerisinde hapsolurlar ve osteosit adlı olgunlaşmasını tamamlamış yassı hücelere dönüşürler [29]. Osteositin bulunduğu boşluğa lakün adı verilir. Yassı şekilli olan bu hücrelerin ince sitoplazmik uzantıları kanalikül adı verilen kemik kanallarından geçer ve diğer osteositlerle iletişim kurar. Bu iletişim ağı sayesinde osteositler hormonlar vasıtasıyla uyarılabilirler [27].

Osteositler temel kemik hücreleri olup kemiğin hücresel yapısının %90'ını oluşturmaktadırlar [35]. Metabolik faaliyetlerini azaltmış olan osteositlerin kaybedilmeleri durumunda çevresindeki osteoid doku ortadan kalkmaya başlar. Bu durum osteositlerin protein sentezi açısından inaktif durumda olmadığını göstermektedir [27].

Osteositler, kemik yıkımı sırasında içinde bulundukları lakünlerden dışarı çıkınca osteoprogenitör hücelere ve akabinde bunlar da osteoblastlara dönüşebilirler [27].

Osteoklastlar

Osteoklastlar, 20-100 µm çapında, 50'ye yakın çekirdeği bulunan kemik yıkımından sorumlu hareket özeliğine sahip hücrelerdir. Osteoklastlar Howship lakünaları adı verilen kanallarda yaygın halde bulunurlar. Osteoklastlar yıkıma uğratacağı kemik matriks bölgesine katlantıları vasıtasıyla tutunarak asit, kollajenaz, proteolitik ve hidrofilik enzimlerini salgırlar. Kemiğin organik ve inorganik matriksinin yıkımı sonucunda kalsiyum, fosfat gibi mineraller serbest hale geçerek kan dolaşımına katılmaları sağlanır.

Osteoklast aktivitesini kalsitonin, interlökin-10 ve östrojen regüle eder. Tek bir osteoklast hücresi 100 osteoblast hücrelerinin yapmış olduğu kemik matriksini yıkıma uğratabilir [34,37].

Kemik matriksi

Kemik dokusunun büyük kısmını oluşturan hücreler arası maddeye kemik matriksi adı verilir. Kemik matriksi organik ve inorganik kısım olarak ikiye ayrılmaktadır [36,38,39].

Inorganik madde

İnorganik yapı kemik dokuya sertlik veren kısımdır. İçerisinde yüksek oranlarda kalsiyum ve fosfat mineralleri bulunur. Bu moleküller bileşik hale gelerek hidroksiapatit kristalini $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ oluştururlar. İnorganik yapının %85' i kalsiyum fosfat, %10' u kalsiyum karbonat ve geri kalan kısmı ise kalsiyum florit, magnezyum florit, magnezyum sülfat, magnezyum hidroksitten ile diğer elementlerden meydana gelir [27]. Yaş ile birlikte mineral-iyon oranı değişime uğrar ve kemik dokunun esnekliği azalarak daha kırılğan hale gelir. Kemik mineralleri aside maruz bırakıldığında inorganik yapı çözünür ve demineralize olmuş kemik dokusu histolojik inceleme için uygun hale gelir [40].

Organik madde

Organik komponentinin %90-95' lik kısmı Tip-1 kollajenden meydana gelir. Kollajen dışında organik matriks yapı içerisinde amorf yapıda glikozaminoglikanlar ve glikoproteinlerden oluşan temel madde bulunmaktadır [34,37,41]. Kemik kollajeni aynı özelliklere sahip olmamasına rağmen derideki kollajene benzer, fakat kemik kollajeni daha yoğun, daha az çözünür ve mekanik kuvvetlere karşı kuvvetli bir dirence sahiptir [40].

Endosteum ve Periosteum

Endosteum kemiğin içindeki bütün boşlukları örter ve tek katlı yassı osteoprogenitör hücreler ile çok az miktarda bağ dokusundan oluşur [42]. Endosteumun kalınlığı periosteuma göre çok daha incedir [24,34,36].

Periosteum eklem yüzeyleri hariç kemiği dışarıdan sarar. Periosteumun dış tabakası kollajen lifler ve fibroblastlardan oluşmuştur. Demetler halinde periosteal kollajen liflerden oluşan Sharpey lifleri matriks içine girerek periosteumu kemiğe bağlar. Periosteumun iç tabakası osteoblastları oluşturan hücreler olan yassı osteoprogenitör hücreler bakımından zengindir [42]. Osteoprogenitör hücreler kemik dokunun beslenmesinde, gelişiminde ve tamir mekanizmasında rol oynar.

2.1.3. Kemik tipleri

Mikroskopik olarak incelendiğinde iki tip kemik yapısı izlenir. Bunlardan ilki; primer yapı, yani yeni oluşmuş, olgunlaşmamış kemik ve diğeri ise; sekonder yapı, yani primer yapının kalsifiye olarak olgunlaşmış hali olan kemiktir. Fetusun gelişimi esnasında az kalsifikasyona uğrayan primer tip kemik yapısı görülür [29].

Primer kemik

Primer kemik dokunun mineral içeriği ve içinde hapsolan osteosit hücre sayısı azdır. Kollajen lif yapısı düzensiz halde görülür. Primer kemik dokusu geçicidir. Yetişkinlerde kafa kaidesini oluşturan yassı kemiklerin birleşim yerlerinde, diş soketlerinde, alveol kemikte ve bazı tendonların kemiğe girdiği yerler dışında sekonder kemik dokusu ile değiştirir [42].

Sekonder kemik

Sekonder kemik genellikle erişkinlerde bulunan kemik yapısıdır. Primer kemiğin kalsifiye olmasıyla meydana gelir. İçerdiği kollajen lifler birbirlerine paralel veya bir kanal etrafında

dairesel olarak düzenli şekilde dizilmiştir. Etrafında dizildiği kanallara havers sistemi ya da osteon adı verilir. Bu kanallar içerisinde kan damarları, sinir dokusu ve gevşek yapıda bağ dokusu bulunmaktadır. Osteosit içeren lakünalar, lameller arasında veya bazen lameller içinde de yer alabilir. Havers sistemi çevresinde amorf maddelerin çökeltisinden oluşmuş az miktarda kollajen lif içeren matriks yapısı bulunur. Bu yapıya sement adı verilir [42].

Sekonder kemik dokusunun iki farklı tipi vardır: homojen görünüme sahip enine ve boyuna kanal sistemi içeren tipine kompakt kemik dokusu, üç boyutlu ağ şeklinde kemik trabeküllerinden oluşan tipine ise süngerimsi veya kansellöz kemik dokusu adı verilir [43,44].

Kompakt (kortikal) kemik

Homojenize görünüme sahip, yoğun, sert yapılı, düzenli enine ve boyuna kanallar içeren kemik tipidir. İskelet sistemindeki tüm kemiklerin dış kısımlarını ve bunun yanında yassı kemiklerin iç kısımlarını da oluşturur. Boyuna olan kanallara havers kanalları, havers kanallarını birbirine bağlayan enine kanallara volkmann kanalları adı verilir. Her iki kanal içeriğinde de damarlar, sinirler ve bunların üzerini kaplayan gevşek bağ dokusu bulunur. Bu yapısal düzen difüzyona izin vererek tüm kemik dokusunun beslenmesini sağlar [38,39].

Süngerimsi (kansellöz) kemik

Üç boyutlu ağ şeklinde, az yoğun ve yumuşak yapılı süngerimsi kemik tipidir. Nadiren de olsa havers ve volkmann kanalları sistemine sahip olabilir. Tüm kemiklerin iç kısımlarını oluşturur. Aynı hacimdeki kompakt kemik dokusuyla karşılaştırıldığında yaklaşık olarak dört kat daha az ağırlığa sahiptir [1,43,44]. Toplam vücut kemik kütlesinin %20' si süngerimsi kemikten oluşmuştur. Ağ şeklinin içinde kalan boş alanlardaki damarlar sayesinde beslenmesi sağlanır. Üzerine gelen etki ve streslere uyumlu şekilde morfolojisi değişebilir [45,46].

2.1.4. Kemik oluşumu

Kemik oluşumuna osteogenezis adı verilir. Temel olarak iki tip osteogenezis mekanizması vardır. Bunlar intramembranöz kemikleşme ve endokondral kemikleşme olarak tanımlanırlar. Her iki mekanizmada da önce primer kemik dokusu oluşur, daha sonra oluşan bu primer kemik dokusu kalsifiye olarak sekonder kemik dokusuna dönüşür [27].

Eğer mevcut kemiğin üzerine yeni kemik oluşuyorsa bu mekanizmaya appozisyonel kemikleşme adı verilir [47].

Ender olarak, patolojik durumlarda kemik dokusu dışındaki dokularda da kemik oluşumu görülebilmektedir. Anormal tip olan bu kemik oluşumuna ektopik kemik oluşumu adı verilmektedir [27].

Intramembranöz kemikleşme (Zarlararası kemikleşme, direkt ossifikasyon)

Primer kemik oluşumunda önemli olup mezenşimin direkt olarak kemik hücrelerine dönüşmesi ile ortaya çıkar. İyi vaskülarize olmuş ve lifler açısından zengin olan bağ dokudan yapılabir membranda yer alan hücrelerin kemiğe dönüşümü ile gerçekleşir [29]. Bu tip kemikleşmenin olduğu alanlarda kıkırdak yapı olmaksızın kemik yapımı olur. Farklılaşmamış mezenşimal hücreler kemik yapım alanına tabakalar halinde birikir [1,47]. Bu hücreler kan damarları, fibroblastlar ve osteoprogenitör hücreleri içeren bir gevşek organik matriks oluşumunu sağlarlar. Osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşürler ve organik matriks üzerinde mineralizasyonu sağlarlar [27,29,48,49]. Kırık iyileşmesi sırasındaki periosteal iyileşme mekanizmasında intramembranöz kemikleşme şeklinde olmaktadır [47].

Frontal, parietal, oksipital ve temporal kemikler gibi kafatasının bazı yassı kemikleri ile mandibula ve maksillanın bazı kısımları bu tür kemikleşmeden meydana geldikleri için bu kemiklere zar kemikleri de denilmektedir [27].

Endokondral kemikleşme (Kıkırdak içi kemikleşme, indirekt ossifikasyon)

Sekonder kemiklerin yapılanmasında görülen bu kemikleşme türünde, kıkırdaktan kemiğe dönüşüm söz konusudur [29]. Bu kemikleşme tipi, kıkırdak matriksi salınımı yapan ve sonrasında kondrositlere dönüşecek olan differansiye olmamış mezenşimal hücrelerin kemik yapım alanlarında birikmesiyle başlar. Hiyalin ve hiyaline benzer yapıdaki kıkırdağın oluşumundan sonra kıkırdağın bazı bölgeleri kalsifiye olur. Daha sonra mevcut kondrositler büyüyerek damarsal yapılar kıkırdağın içerisine ilerler ve kıkırdak dokunun içerisine yerleşen hücreler dokuda rezorbsiyon meydana getirerek kemik iliği boşluklarını oluştururlar [50]. Damarsal yapılar ile birlikte alana ulaşan osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşürler ve kalsifiye kıkırdak ile olgunlaşmamış kemik üzerinde kemik matriksinin oluşmasını sağlarlar. Olgunlaşmamış kemik ya da örgü kemik olarak adlandırılan bu kemik yapısı farklılaşarak lameller kemiğe dönüşür [47,50].

Kafatasının alt kısmındaki, omurgadaki, pelvisteki, kol ve bacaklardaki kemikler, endokondral kemikleşme ile sonradan kemikle yer değiştirecek olan hiyalin kıkırdaktan oluştukları için hiyalin kıkırdak olarak adlandırılmaktadırlar [27].

2.1.5. Kemik iyileşmesi

Hücre yapımı ve yıkımı faaliyetleri canlıların tüm yaşamı boyunca durmaksızın devam eder. Bu metabolik faaliyetler dengeli bir düzen çerçevesinde gerçekleşir. Çeşitli faktörler bu dengeye etki ederek bazı değişiklikler gerçekleşmesine sebep olabilir. Güngör N. ve diğerleri yapmış olduğu çalışmalarda; cerrahi girişim veya travma neticesinde oluşan yaralanmaların hücre düzeyinde yapısal değişiklikler oluşturduğu ve yalnızca yara bölgesi değil vücudun diğer bölgelerinde yer alan organ ve dokularda da değişikliğe neden olduğunu belirtmektedirler. Araştırmacılar, kobay mandibulasında oluşturdukları kemik defekti ve yumuşak doku yaralanması ile yapmış oldukları çalışmada, meydana gelen travmanın dalak ve kemik iliği metabolizmasını hücresel düzeyde etkilediğini gözlemlemişlerdir. Bu çalışma neticesinde, ağız içerisinde yapılan girişimsel tedavilerin iyileşme dönemlerinde aslında ne kadar karmaşık bir sistemin çalıştığı ifade edilebilir [51].

Kemik dokusunun bütünlüğünün bozulması durumunda, bölgenin tamir edilmesi için bir çok fizyolojik reaksiyonlar oluşmakta ve kemik doku kendisini skar oluşturmadan yenileyebilmektedir [52].

Kemik iyileşmesi, iç içe geçmiş üç ana morfolojik dönemden oluşmaktadır. Bunlar enflamatuvar dönem, onarım dönemi ve yeniden şekillenme dönemleridir [53].

Enflamatuvar dönem (0-96.saat)

Kemik dokusuna gelen travma matrikste hasara, hücrelerin ölmesine, periosteum ve endosteumun devamlılığının bozulmasına sebep olur. Diğer doku travmalarında da olduğu gibi bölgede enflamasyon meydana gelir. Meydana gelen enflamasyon toplamda 1 hafta sürer. Enflamasyon, 48. saatte en yüksek seviyeye ulaşır. Hasar gören bölgedeki vasküler yapılardan kan, lenf sıvısı ve hücre sıvıları yara bölgesinde hematoma meydana getirir [52,54]. Hematom, yara bölgesinin iyileşmesine mekanik olarak stabilizasyon ve kimyasal olarak matriks oluşumunu sağlayan osteoprogenitör ve osteoblast hücrelerinin taşınmasını sağlar [55]. Ayrıca hematoma içerisindeki trombositlerden, zarar görmüş kemik dokularından ve yumuşak dokulardan; interlökin-1, interlökin-6, beta dönüştürücü büyüme faktörü ile trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF) salgılanır. Salgılanan bu faktörler ile enflamatuvar mediatörler, kan damarlarının vazodilatasyonuna, plazma ekstravazasyonuna ve travma bölgesinde ödem oluşumuna neden olurlar. Bu sayede polimorfik hücre göçü, proliferasyonu ve mezenşimal kök hücre farklılaşması sağlanmış olur [56]. Ardından bölgeye gelen makrofaj ve lenfositler anjiogenezisten sorumlu sitokinleri salgırlar. Enflamatuvar olaylar azalmasıyla birlikte nekrotik doku ve eksüda ortadan kalkmaya başlar. Az miktarda fibroblast ve kondrositler bölgeye göç eder ve kallus yapısı [57,58] yavaş yavaş şekillenir (Şekil 2.1a).

Onarım (Reperasyon) dönemi (2-40.gün)

Kemik iyileşmesinin en önemli safhasıdır. Enflamasyon hücreleri ortadan kaybolurken havers kanalı çevresi, periosteum ile endosteum bölgelerinde hücre proliferasyonu başlar ve defekt hattı boyunca uzanır. Defekt uç kısımları hücrelerle dolmaya başlar. Kırık hattında hücre oluşum mekanizmasını tetikleyen faktörün elektriksel değişim olduğu düşünülmektedir. Böylece onarım mekanizması uyarılmış olur. Onarım işlemi travmadan saatler sonra başlasa da yapısal oluşumunu tamamlaması 7-12 gün sürer. Onarım işleminde rol oynayan hücreler mezenşimal kökenli, çok yönlü gelişim gücüne sahip olan hücrelerdir. Bu hücreler çoğunlukla kırık bölgesindeki granülasyon dokusunun içinden, ayrıca periosteumun osteojenik tabakasından ve daha az oranda da endosteumdan köken alırlar. Bu hücreler farklılaşmaya başladığında ilk değişikliğe uğrayan hücreler, kılcal damarlarla hematoma içine giren fibroblastlardır. Travmanın üçüncü gününde karşı kırık uçlarında, yoğun olarak mezenşimal hücreler bulunur. Bu hücreler kırık parçaları arasında yumuşak bir granülasyon dokusu oluştururlar. Periosteal ve endosteal osteojenik hücreler ile fibrin matriksteki fibroblastların çoğalıp farklılaşması granülasyon dokusunu oluşturur. Fibroblastlar kollajen sentezlerken, kondroblastlar kollajen ve glikozaminoglikanları, osteoblastlar da osteoid yapıyı salgırlar. İyileşen kemiğin gerilmeye karşı dayanıklılığı, içerdiği kollajen miktarıyla yakın ilişkilidir [52,55,57-60].

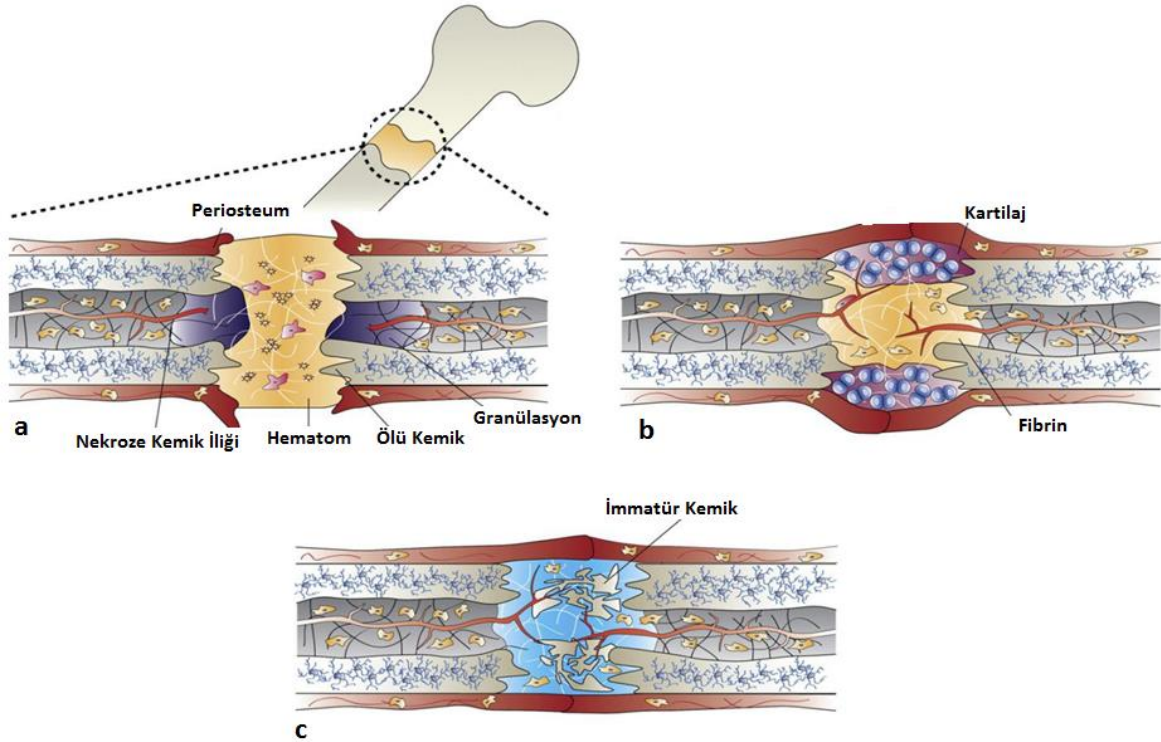
Zamanla her iki kırık parçasının ucunda oluşan manşet tarzındaki kitle birleşerek, kırığa bütünlük sağlayan dış kallusu meydana getirir. Aynı şekilde ilik boşluğunda da benzer olaylar birbirini takip eder. İç kemik zarı ve iliğin kemik yapıcı hücrelerinden gelişen trabeküllerle, iliğin köprülenmesi oluşur ve böylece iç kallus da inşa edilmiş olur. 7 ile 12 günlük periyodun sonrasında yumuşak kallus kitlesi, fibröz doku ve kıkırdaktan oluşmuştur [31,59]. Kemik defektinin uçları, iç ve dış kallus gelişimiyle çok sağlam bir yapıya kavuşur. Kallus oluşumu, yetişkinlerde çocuklara oranla daha yavaş meydana gelir. Kompakt kemiğin de oluşumu trabeküler kemikle kıyaslandığında daha yavaş meydana gelir. Yaralanmadan sonra kallus oluşması ve mineralizasyonu 4. ve 16. haftalar arasındaki periyotta olur. Kallus oluşumuyla beraber kaynamanın olduğu söylenebilir. Bununla beraber, kaynama henüz son noktasına ulaşmış değildir. Onarım evresinin

ortasında, kallusun gereksiz ve etkisiz kısımlarının geri emilimi ve trabeküler kemiğin stres çizgileri boyunca uzanması ile yeniden şekillenme [61] evresi başlar (Şekil 2.1b).

Yeniden şekillenme dönemi (25-100.gün)

Kemiğin yeniden şekillenme dönemi aylar, hatta yıllar sürebilir. Bu evrede düzensiz olan sert kallus, düzenli ve normal sertlikteki kemik lamellerine dönüşür. Onarım işleminin son safhası olan yeniden şekillenme dönemi ortalama 4-16 hafta sürer fakat bazen yıllar boyunca da devam edebilir.

Kemik iyileşmesinde temel kural; aynı kemiğin strese maruz kalan kısmında rezorbsiyon, strese maruz kalmayan kısmında ise kemik oluşumu meydana gelir. Bu kurala Wolf kanunu adı verilir. Stres ortadan kaldırılırsa kemik 1-2 yıl içerisinde eski formuna geri döner. Fakat bu süre bazen 6-9 yıla kadar çıkabilmektedir [59,62,63] (Şekil 2.1c).



Şekil 2.1. Kemik iyileşmesi: a- Enflamatuar dönem, b- Onarım (Reperasyon) dönemi, c- Yeniden şekillenme dönemi [62]

2.1.6. Kemik iyileşmesini etkileyen faktörler

Hormonların etkileri

Paratiroid hormon (PTH), paratiroid bezlerinden salgılanan, kemik ve böbrekler üzerinde etkili olarak kandaki kalsiyum oranının yükseltilmesini sağlayan bir hormondur. Bu hormon, osteoklast aktivitesini arttırırken, osteoblast aktivitesini inhibe eden mekanizmayı tetikler[29].

Kalsitonin, paratiroid hormonun antagonisti gibi çalışır ve kandaki kalsiyum oranını azaltıcı etkinlik gösterir. Tiroid bezinin polipeptid yapıdaki bir hormonudur. Osteoklastların reseptörlerini aktive ederek kemiği rezorbe etmelerini engeller [29]. Kalsitonin osteoblastik aktiviteyi de arttırmaktadır [64].

Somatotropin (büyüme hormonu), epifizeal plak gelişimini uyararak iskelet sisteminin büyümesi üzerine arttırıcı etki yapar. Yapılan klinik çalışmalarda somatotropinin kemikteki kırık iyileşmesine pozitif ivme kazandırdığı gösterilmiştir [65].

Ovaryumdan salgılanan östrojen hormonu da TGF- β üretimini uyararak osteoklast ölümünde artışa yol açtığı için kemik metabolizmasına doğrudan etki eder. Eksikliği, osteoporoziteye sebep olmaktadır. Yapılan çalışmalarda overektomi yapılmış hayvanlarda kırık iyileşmesinin yavaşladığı belirtilmiştir [66].

Glukokortikoidler, anabolik ve katabolik etkisi olan PTH ve IGF-1 (insülin benzeri büyüme faktörü-1) gibi hormonların etkinliğini arttırmaktadırlar. Glukokortikoidlerin aktif osteoblastlar üzerindeki etkilerinin çoğu engelleme yönündedir. Osteoblastların apoptozisine neden olarak, kemik yapımını engellerler [67].

Güngör N. yaptığı çalışmalarda anabolik steroid grubundan Nandrolone Phenyl Propionate'ın osteojenik aktiviteyi arttırdığı sonucuna ulaşmıştır [12].

Bu hormonlar dışında birçok faktör (interlökin-1, tümör dejenere edici faktör, koloni uyarıcı faktör, osteoprotegerin, interferon gibi) farklı tip hücreler tarafından salgılanmakta ve kemik fonksiyonları üzerinde etkili olmaktadır [29].

Beslenmenin etkileri

Gastrointestinal sistem vasıtasıyla alınan gıdalar kemik yapının temel taşlarının temini ve kemik metabolizmasının düzenli bir şekilde çalışabilmesi açısından büyük öneme sahiptirler. Kemik dokusunun ihtiyaç duyduğu başta kalsiyum ve fosfor açısından zengin olan gıdaların yanında birçok besin maddesi ile protein, mineral ve vitamin alımı yaşam boyunca kesintisiz şekilde sağlanmalıdır [29]. Kalsiyumun bağırsaklardaki emilimi ancak D vitamini varlığında gerçekleşmektedir [29,68]. Bu nedenle D vitamini eksikliğinde kırık iyileşmesinin olumsuz yönde etkilendiği gösterilmiştir [68].

Proteinler organizma için temel yapı taşları olmasına rağmen sadece yüksek proteinli besinler ile beslenme, vücut dokularını enerji üretimi amacıyla protein kullanmaya yöneltebilir. Proteinler metabolize edildiklerinde sülfat içeren metabolitler açığa çıkmaktadır. Bu metabolitlerin böbreklerden atılması için plazmadaki kalsiyum kullanılmaktadır. Kalsiyum oranındaki azalma kemik iyileşmesinde problemler oluşturabilir [69].

Tuz tüketiminin artması da kalsiyum atılımını arttıracığı için kemik metabolizması üzerine olumsuz etkiler yapabilmektedir [70].

A vitamini mezenşimal hücre farklılaşmasını sağlarken C vitamini bağ dokunun temel yapı taşı olan kollajenin sentezini sağlayarak kemik iyileşmesi üzerine etki eder. Bunların yanında K vitamini, B6 vitamini ve çinko gibi faktörlerin eksikliğinde de kemik iyileşmesi yavaşlamaktadır [71].

Sistemik hastalıklar ve ilaçların etkileri

Sistemik olarak kemik metabolizmasını olumsuz etkileyen durumların başında diyabet, anemi, tüberküloz, raşitizm, Paget hastalığı, osteopetrozis, osteomalasia, osteogenezis imperfekta, Gaucher hastalığı, polistatik fibröz displazi gibi hastalıklar ve bazı ilaçların kullanımı gelmektedir [29,72].

Diyabet, osteoblast aktivasyonundan sorumlu faktörlerin azalmasıyla; tüberküloz, ise kronik hastalıklar gibi iltihabi olaylar sonucunda artan lökositlerin preteolitik enzimleriyle kemik matriksindeki kalsiyum tuzlarının çözünmesine sebep olur [52,72].

Artmış glukokortikoid hormonu veya steroid kullanımını gerektiren otoimmün hastalıklar da kemik iyileşmesini olumsuz etkiler [73]. Güngör F. ve diğerleri prostoglandin sentezini engelleyen non-steroid antienflamatuar kullanımının, siklooksijenaz enzimini inhibe ederek siklik endoperoksitlerin yapımını engellemek suretiyle kemik iyileşmesini olumsuz yönde etkilediğini gösteren çalışmalar yapmışlardır [74]. Bunun dışında kinolon grubu antibiyotikler de kemik iyileşmesi üzerine olumsuz etkiye sahiptir [75,76]. Son yıllarda onkolojik hastalıkların tedavisinde kullanılan bifosfonat grubu ilaçlar da, çenelerde osteonekrozlara sebep olmakta ve onarım mekanizmasını durdurma etkisi yapmaktadır.

Bazı sistemik ilaç kullanımları ise kemik iyileşmesine olumlu etki yapabilir. Yapılan deneysel çalışmalar kondroitin sülfat, hiyalüronidaz, dikumaral, L-Dopa ve klonidinin kırık iyileşmesini olumlu etkilediğini göstermiştir [52].

Yaş

Artan yaşla ters orantılı olarak mezenşimal hücre farklılaşması, yeni kemik dokusu gelişmesi ve kırığın yeniden şekillenmesi yavaşlar. Geriatrik bireylerde kemik iyileşme süreleri önemli oranda uzar [52].

Alışkanlıklar

Sigara içerdığı nikotinden dolayı güçlü vazokonstrüktör etki yaparak kan akımını azaltır ve yara iyileşmesini yavaşlatır [77]. Sigara içinde bulunan karbonmonoksit gazı da hemoglobine bağlanarak oksijen taşıma kapasitesini azaltır ve bu durum anjiogenezisi önemli ölçüde azaltır. Bunun yanında platelet agregasyonunu arttırması, kanı daha viskoz hale getirmesi ve prostasiklin sentezini bozmasından ötürü kemik iyileşmesi olumsuz yönde etkilenir [78-80].

Kronik alkol kullanımının kemik yapımını azalttığı bilinmektedir. Ratlara uzun süre etanol verilerek yapılan bir çalışmada, etanolün osteoblast aktivitesini bozduğu ve kırık iyileşmesini olumsuz etkilediği gösterilmiştir [81,82].

2.2. Lazerler

2.2.1. Tanım ve tarihçe

Dünya üzerindeki canlıların temel enerji kaynağı Güneş'tir. Güneş ışıkları Dünya'yı aydınlatmasının yanı sıra yaydığı ışınlarla enerji aktarımını sağlar. Bu enerjinin bir kısmı ısı olarak Dünya'ya ulaşırken bir kısmı da bitkilerin fotosentez esnasında gerek duyduğu kimyasal enerjiye kaynak olmuş olur.

Antik Yunan'da güneş ışığı helioterapi amacıyla kullanılmıştır. Çinliler de güneşin tedavi edici olduğunu düşünerek bazı hastalıkların tedavisinde güneş ışığını kullanmışlardır. Bu anlayış günümüze kadar gelerek lazer terapisi adlı tedavi yönteminin ortaya konulmasını sağlamıştır.

Lazerin Tanımı

LASER kelimesi "Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation" kelimelerinin baş harflerinden oluşan bir sözcüktür [83-87]. Türkçe kelime çevirisi olarak "Uyarılmış

ışık ile mikrodalga yükseltici" demektir. Yani anlam olarak "Enerji ile yoğunlaştırılmış ışık" olarak tanımlanabilir [88].

Lazerin Tarihçesi

Lazer fikri ilk olarak 1917 yılında Albert Einstein tarafından kuantum mekaniği kavramıyla ortaya atılmıştır. 1954-1958 yılları arasında Charles Townes ve Arthur Schawlo, MASER (Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation) adlı lazer aygıtını; 1960 yılında da Theodore Harold ruby barlı lazer aygıtını üretmişlerdir [83,84,89-92].

Ruby lazeri takiben 1961 yılında He-Ne ve Nd:YAG lazerler, 1962 yılında argon lazerler ve 1964 yılında da CO₂ lazerler ortaya konulmuştur [93].

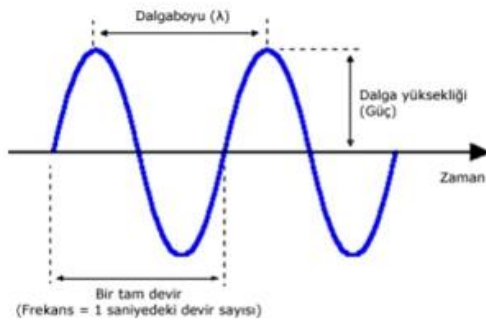
Lazer ışını tıpta ilk kez dermatolog Dr. Leon Goldman tarafından 1962 yılında dövme silinmesi amacıyla kullanılmıştır. Lazerler, oral ve maksillofasiyal cerrahide ilk kez 1970 yılında kullanılmıştır. 1975 yılında ER:YAG lazer ortaya konulmuştur. 1979 yılında ise Horch, ilk kez kemik kesisinde frez yerine lazeri kullanmıştır. 1980'lerin sonlarına kadar yüksek güçlü fototermal lazerler yumuşak doku kesisi ve koagülasyonda kullanılmış, sert dokularda kullanılmaları ise lazer teknolojisinin gelişmesiyle başlamıştır [83,89,94,95].

Düşük enerji seviyeli lazer terapisi fikri ilk kez 1968 yılında Mester ve arkadaşları tarafından yara iyileşmesi üzerinde kullanılmıştır. Araştırmacılar, lazerle yapılan tedavide iyileşme hızının %85 daha hızlı olduğunu ve düşük enerji seviyeli lazer ışınının dokular üzerinde zararlı bir etkisi olmadığını bildirmişlerdir [96].

Galyum-Alüminyum-Arsenid (GaAlAs) gibi yarı iletken düşük enerji seviyeli lazerlerin kullanılmaya başlanması 1970 yıllarına rastlamaktadır [97,98].

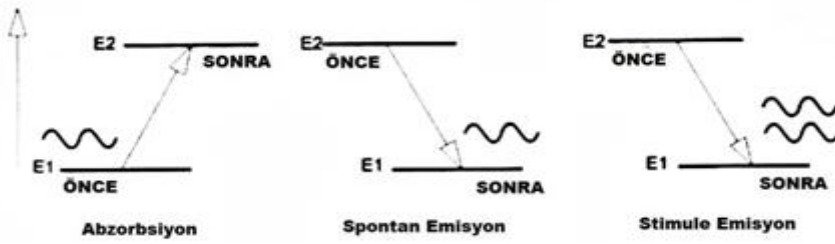
2.2.2. Lazer fiziği

Işık doğrusal yayılım yapan ve dalga şeklinde ilerleyen elektromanyetik bir enerji tipidir. Işık enerjisinin temel birimi ise “foton” dur [88]. Işığın ölçülebilir iki değeri vardır. Bunlar frekans (ν) ve dalga boyudur (λ). Frekans ışığın saniyedeki yayılım sayısını belirtir ve birimi Hertz (Hz)'dir. Dalgaboyu ise ışığın dalga boyunun uzunluğudur ve metrik sistemle ifade edilir. Diş hekimliğinde kullanılan lazerlerin dalga boylarını ölçmek için mikron (10^{-6} m) ve nanometre (10^{-9} m) gibi ölçü birimleri kullanılır. Frekans dalga boyu ile ters ilişkilidir. Dalga boyu ne kadar küçük ise frekans o kadar yüksektir [90]. Dalga boyu aynı zamanda ışığın rengini de belirler [83,99,100]. Dalganın en tepe noktasıyla en alt noktası arasındaki toplam yüksekliğe amplitüt ya da güç denir. Amplitüt ne kadar yüksekse lazer ışığının etkinliği de o kadar yüksektir. Lazer ışınının hızı ise velosite ile ifade edilir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Elektromanyetik ışığın özellikleri [100]

Her atom bir bazal enerjiye (E_1) sahiptir. Termal, elektromanyetik veya diğer bir enerji türüyle karşılaşan atom eğer bu enerjiyi bünyesine alırsa buna absorbsiyon adı verilir ve bazal enerjisinden daha yüksek bir enerjiye (E_2) sahip olur. Atomlar stabil hale geçmeye çalışırlar. Bu yüzden üzerlerindeki enerjiyi bırakmaya eğilimlidirler. Atomların enerji bırakması durumuna emisyon adı verilir. Sonuç olarak atomun uyarılmış haldeki enerjisi ile uyarılmadan önceki enerjisi arasındaki farka eşit miktarda kuantum enerjisi açığa çıkmaktadır ($E_1 - E_2 = E_\Delta$). Aynı enerji seviyesindeki bütün partiküllerin yaydıkları ışığın enerjisi ve dalga boyları birbirleriyle aynıdır (Şekil 2.3) ve bu şekilde yayılan ışık lazer ışını olarak adlandırılır [83,100].



Şekil 2.3. Emisyon diyagramları [83]

Uyarılmış bir atomdan spontan emisyonla ortaya çıkan fotonların yayılım zamanı ve yönü belirgin değildir. Eğer E_Δ enerjisine sahip bir foton E_2 üst enerji seviyesinde bir atoma çarparsa, bu foton ışığın ikinci fotonunun emisyonunu stimüle eder. Bu ikinci foton, kendisine çarpan ilk fotonla aynı enerji ya da dalga boyuna sahiptir ve başlangıç fotonla aynı yönde senkronize hareket eder. Eğer bu iki foton önlerine çıkan ilave başka bir E_2 yüksek enerji seviyeli atomla çarpışılırsa, ortaya lazer ışınının özelliklerine sahip monokromatik (tek dalga boylu), kohorent (senkronize dalgalar şeklinde) ve kollime (birbirine paralel) ışınlar ortaya çıkar [83,91,99,100].

2.2.3.Lazer ışınının özellikleri

Lazer ışını; yüksek yoğunluklu, birbirine paralel, aynı dalga boyuna sahip ve tek renkten oluşan elektromanyetik radyasyondan meydana gelir. Lazer ışını dalga boyuna bağlı olarak renklenir. Lazer ışınının üç ana özelliği vardır. Bunlar; kollime, kohorens ve etkinliktir [90]. Lazer ışınının klinik ve biyolojik açıdan en önemli özelliği tek renkli olmasıdır [90,99].

Monokromatizm ve dalga boyu

Lazer ışığının bütün ışınları aynı yönde ve aynı dalga boyuna (Şekil 2.4) sahiptir. Böylelikle yüksek bir densiteye sahiptir. Bu özelliği sayesinde yüksek enerjiye sahip olan lazer ışığı biyolojik ve klinik etkiler ortaya çıkarabilir. Örneğin; 2 Watt gücündeki bir Nd:YAG lazerin oluşturduğu termal etkiyle diş eti dokusunda kesi yapılabilir [84,91].



Şekil 2.4. Monokromatik lazer ışığı ve polikromatik beyaz ışık [91]

Kolimasyon (Yönlenebilirlik-doğrusallık-paralellik)

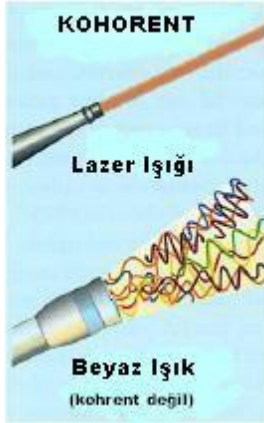
Kolimasyon kavramı, lazer ışınlarının şekillerinin hiç bozulmadan aynı şekilde ilerleyebilmesini ifade eder (Şekil 2.5). Lazer ışınının şekli ve büyüklüğü hiç değişmez. Dişhekimliğinde kullanılan röntgen cihazlarının ışınımı da bu özelliğe sahiptir [91]. Lazer ışınlarının dalgaları birbirlerine paraleldir fakat yapısal olarak dalgalı olduğu için çok az bir sapma göstererek genişleme yapabilir [84,101].



Şekil 2.5. Kollime lazer ışığı ve kollime olmayan beyaz ışık [91]

Koherent (Uyumluluk)

Lazer ışınının dalga yapısının sürekli sabit kalmasını ifade eder (Şekil 2.6). Bu dalganın yüksekliği ve derinliği hiç değişmez [91]. Lazer ışını bu özelliği sayesinde kolayca taşınabilir ve yönlendirilebilir [84,88,102-104].



Şekil 2.6. Kohorent lazer ışığı ve non-kohorent beyaz ışık [91]

2.2.4. Lazer ışınının elde edilmesi

Enerjinin en küçük birimine bir kuantumluk enerji adı verilir. Bu enerji bir atomun ya da molekülün elektronları tarafından absorbe edilir. Uyarılan elektronun bu enerjiyi foton şeklinde salmasıyla spontan emisyon oluşmuş olur. Bir atomun çevresinde farklı enerji seviyelerine ait elektron yörüngeleri vardır. Elektronlar bir yörüngeden daha kararlı diğer bir yörüngeye geçerken enerji salınımı yaparlar. Tungsten filamentli lambaların elektrik enerjisini kullanarak ışık yaymaları bu tip fiziksel reaksiyonlar ile gerçekleşmektedir [91].

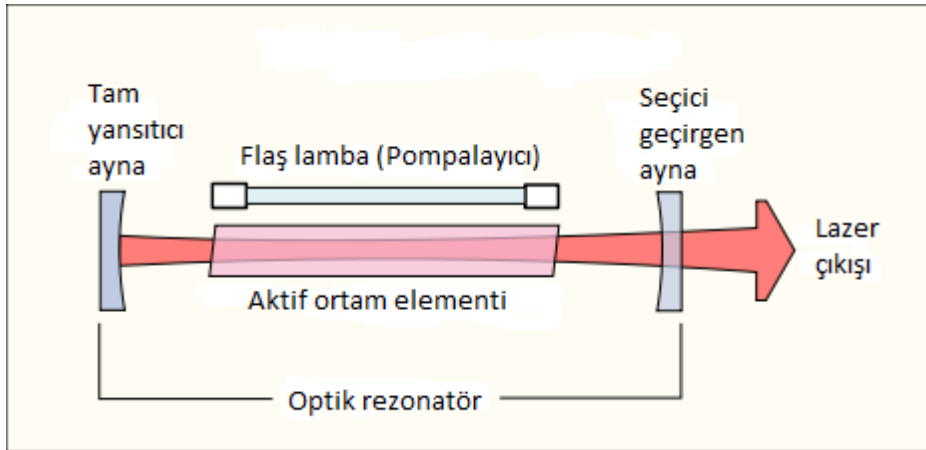
Uyarılmış ve üzerine enerji yükü almış bir atom, yüklü enerjisinin salınımını gerçekleştirmeden hemen önce başka bir uyarılmış atomdan salınan kuantum ile uyarılacak olursa aynı özelliklere sahip ikinci bir kuantum salınımı yapacaktır. Böylelikle her iki kuantum da birbirinin aynısı olacak ve kohorent dalga şeklinde hareket edeceklerdir. Bu duruma stimule emisyon denir ve lazer ışınları bu prensibe göre elde edilirler [91,102].

2.2.5. Lazer cihazının temel komponentleri

Lazer cihazı; bir lazer materyali ve bu lazer materyalini uyarıcı bir enerji kaynağına sahip mekanik komponentlerden meydana gelir. Medikal alanda kullanılan lazerler genelde enerji kaynağı olarak elektrik enerjisini kullanılmaktadırlar. Optik ya da kimyasal enerjiler de lazer materyalinin uyarılması için kullanılabilirler [92,99].

Lazer cihazının merkezinde aktif ortam adı verilen optik bir boşluk bulunmaktadır. Bu boşluğun çekirdeğini kimyasal elementler, moleküller veya bileşikler oluşturur. Lazerler isimlendirilirken aktif ortamı oluşturan maddenin ismini alırlar. Aktif ortam; gaz (helyum, argon, CO₂), sıvı, kristal veya katı durumdaki yarı iletken (galyum, alüminyum, indiyum ve arsenid ya da garnet kristallerinin değişik kombinasyonları olan itriyum, alüminyum, skandium ve galyum ile birlikte kromium, neodimiyum veya erbium bileşkeleri) bir madde olabilir [91].

Çekirdek yapının çevresinde flaş lamba ya da elektriksel spiral gibi bir enerji kaynağı vardır. Optik kavitenin iki ucunda yer alan birbirine paralel konumlu aynalar, ışınların kolimasyonunu sağlar ve fotonların gücünü arttırırlar. Aynalardan biri tam yansıtıcı, diğeri ise seçici geçirgendir. Seçici geçirgen olan ayna, sadece uygun enerji seviyesine ulaşmış olan fotonların optik kaviteden çıkmasına izin verir (Şekil 2.7). Tüm bu işlemler sırasında ortamda ısı da meydana gelir ve soğutucu sistem yardımıyla ortamın ısısı dengelenir [91].



Şekil 2.7. Lazer cihazının temel komponentleri [91]

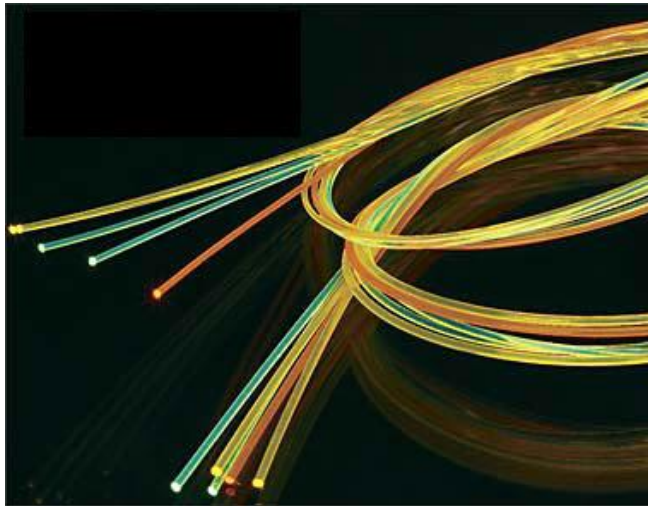
2.2.6. Lazer iletim sistemleri

Optik kaviteden enerji kaynağı ve aynalar yardımıyla oluşturulan lazer ışığının uygun ve kayıpsız şekilde doğru yöne iletilmesi için gerekli iletim komponentleri bulunmaktadır. Bunlar, esnek hollow tüpleri (Şekil 2.8) ve cam fiber optik kablolardır (Resim 2.1). Esnek hollow tüplerinin ucunda ayna bulunur. Lazer ışığı bu tüp boyunca ilerler ve uygulama

başlıından hedef dokuya ulaştırılır. Cam fiber optik kablolar ise daha esnek ve hafiftirler. Özellikle dokuya temas ettirilerek yapılan lazerli cerrahi işlemlerinde cam fiber optik kablolar kullanılır.



Şekil 2.8. Çok katmanlı esnek hollow tüp [91]



Resim 2.1. Cam fiber optik kablolar [91]

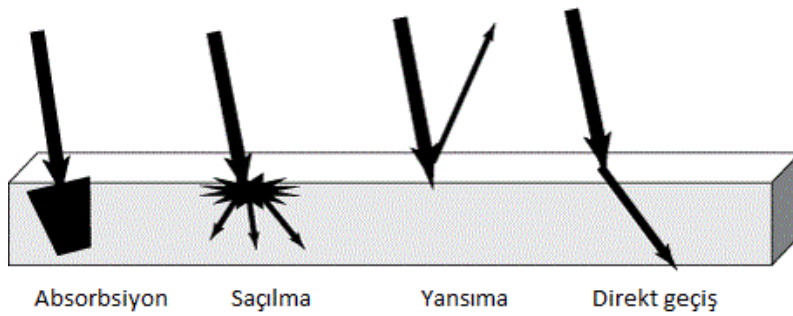
Her iki iletim sisteminde de ışığı odaklayan lensler vardır. Işığın odaklandığı noktaya fokal spot adı verilir. Fokal spot lazer enerjisinin en yoğun olduğu bölgedir. Hollow tüplerde fokal spot mesafesi belirli iken cam fiber optik sistemlerde fokal spot kablonun tam bitim noktasındadır. Lazerlerin cerrahi işlem yapılırken asıl çalışılan bölgeleri fokal spotlarıdır. Fokal spottan uzaklaşarak çalışıldığında ışınlar dağılır. Bu şekilde çalışma ise hemostaz sağlamada faydalı olabilmektedir [91].

Lazer emisyon modları

Lazer cihazları, yaymış oldukları ışık enerjisini kesintiye uğratabilirler. Bu kesintiler sayesinde üç farklı çalışma modu elde edilmiş olur. Kesintinin olmadığı moda devamlı dalga modu adı verilir. Bu modda lazer ışığı uygulanacak bölgeye kesintiye uğramadan sürekli sabit bir seviyede iletilir. Kesintilerin göz kırpması şeklinde olduğu lazer moduna geçitli atım modu adı verilir. Bu modda mekanik bir kapak yardımıyla kaynaktan gelen lazer ışığı milisaniyelik aralıklarla kesintiye uğrar. Böylelikle devamlı dalga moduna göre 10 kat daha fazla pik seviyede güç elde edilebilir. Eğer kesinti süreleri artar ve lazer ışığının uygulama süresi mikrosaniyeler düzeyine indirilirse bu moda serbest akan atımlı mod adı verilir. Bu modda mekanik kapak bulunmaz. Bunun yerine cihazın bilgisayar sistemi ile belirli sürelerde ani çalışması sağlanır. Kısa atım süreleri çok daha yüksek seviyede enerji oluşmasını sağlar [91].

2.2.7. Lazer ile dokunun etkileşimi

Lazer ışınının doku ile etkileşimi dokunun özelliklerine göre dört farklı optik durum ortaya çıkarır. Bunlar; emilim, direkt geçiş, yansıma veya saçılmadır (Şekil 2.9). Meydana gelecek etkileşim tipi; lazer ışığının özellikleri (dalga boyu, enerji yoğunluğu, etkileşim süresi, iletim modu), lazer ışının dokuyla yaptığı açıyla dokuya olan mesafesi ve dokunun kendi özellikleri (dokunun genişliği, kalınlığı, pigmentasyonu, yoğunluğu, sıvı içeriği, mineralizasyon derecesi) ile bağlantılıdır [91].



Şekil 2.9. Lazerin dokuyla karşılaştığında ortaya çıkabilecek etkileşimleri [91]

En çok istenen etkileşim türü emilim yani diğer adıyla absorbsiyondur. Dokularda bulunan kromofor adlı bileşenler seçici davranarak belli dalga boylarındaki ışınları emerler. Genel fizik teorisine göre doku rengi koyulaştıkça dokunun absorbsiyon kapasitesi artış gösterir. Bunun yanında dokularda bulunan su da iyi bir ışın emicidir. Bu duruma bağlı olarak diş dokularının farklı miktarda su içeriği olduğu göz önüne alınacak olursa mine, dentin, kemik, diştaşları, çürük ve pulpa dokuların absorbsiyon seviyeleri arasında farklılık bulunur [91].

Genel kural olarak, 500 ile 1000 nm arasındaki kısa dalga boylu ışınlar, pigmente dokular ve kan elemanları tarafından iyi absorbe edilirler. Melanin pigmentleri diyot ve Nd:YAG lazer ışınlarını yüksek miktarda absorbe ederken hemoglobin ise bu ışınları az miktarda absorbe eder. Uzun dalga boylu ışınlar ise su ve hidroksiapatit kristalleri ile karşılaştıklarında yüksek oranda emilirler. Su için en yüksek emilim gösteren lazer ışınları, 3000 nm ve üzeri dalga boylarına sahip olanlardır. Er:YAG lazerlerin dalga boyu 3000 nm'dir. CO₂ lazerin dalga boyu 10600 nm'dir ve su tarafından iyi absorbe edilir [91].

Lazer ışınının dokudan geçmesi durumuna direkt geçiş adı verilir. Bu durumu büyük ölçüde etkileyen faktör, ışınının dalga boyudur. Erbiyum ailesi lazerler 0.01 mm'lik mesafede penetre olarak yüzeysel doku tabakalarında etkileşime girerken, 800 nm dalga boyundaki diyot lazerler ise 100 mm ve üzeri derinliklere kadar direkt geçiş göstererek ilerleyebilir [91].

Eğer lazer ışını dokuya etki etmeden yönü değişerek geri dönerse bu duruma yansıma adı verilir. Diş çürüğü tespitinde kullanılan lazerler bu prensiple çalışırlar. Bazı lazerlerin kullanımları sırasında ortaya çıkan yansıyan ışınlardan gözü korumak için özel koruyucu gözlükler takılmalıdır [91].

Dokuyla etkileşime giren bazı lazer ışınları uygulandığı dokunun çevresinde saçılmaya uğrayabilir. Saçılma durumu lazer ışınının etkinliğini azaltır fakat kompozit rezinlerin polimerizasyonu gibi dental işlemlerde faydalı olmaktadır [91].

2.2.8. Lazerin dokudaki etki mekanizması

Lazerlerin dokudaki etki mekanizmaları lazer ışınının özelliğine ve dokunun özelliğine göre değişkenlik gösterir. Lazer ışığının herhangi bir termal etki yapmadan moleküler düzeyde fiziksel ve kimyasal etki etmesine fotokimyasal etki denir. Fotokimyasal etkiye örnek olarak bitkilerin yaptığı fotosentez olayı verilebilir. Düşük enerji seviyeli lazerlerin canlı doku üzerinde yara iyileşmesini uyarması, protein sentezini arttırması gibi etkiler yapmasına ise biyostimülan etki denir. Dokudaki akut patolojik durumlarda lazer uygulaması kısa sürede etki gösterirken, kronik durumlarda elde edilecek olumlu biyostimülan cevap daha geç sağlanır. Etki mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber, lazerlerin doku aralarındaki sıvı alışverişini uyardığı ve kan akımını hızlı şekilde düzenlediği düşünülmektedir. Lazer ışınının dokulara enerji sağlayarak ATP sentezini hızlandığı ve bu sayede mitoz aktiviteyi arttırdığı düşünülmektedir. Lazer ışını etki ettiği tüm dokuların metabolik faaliyetlerini hızlandırır. Tüm bunlara dayanarak düşük enerji seviyeli lazer tedavisinin biyostimülasyon etkisi ile kemik iyileşmesini de arttırdığı bazı çalışmalarda belirtilmektedir [13,84,99,107-114].

Lazer ışınının ışığa duyarlı moleküllere selektif şekilde bağlanarak tümör eliminasyonunu sağlaması da fotodinamik etki ile gerçekleşir.

Lazer ışını bazı pigmentler tarafından absorbe edilirse florasan etki gösterebilir. Bu etki dişhekimliğinde çürük teşhislerinde kullanılmaktadır.

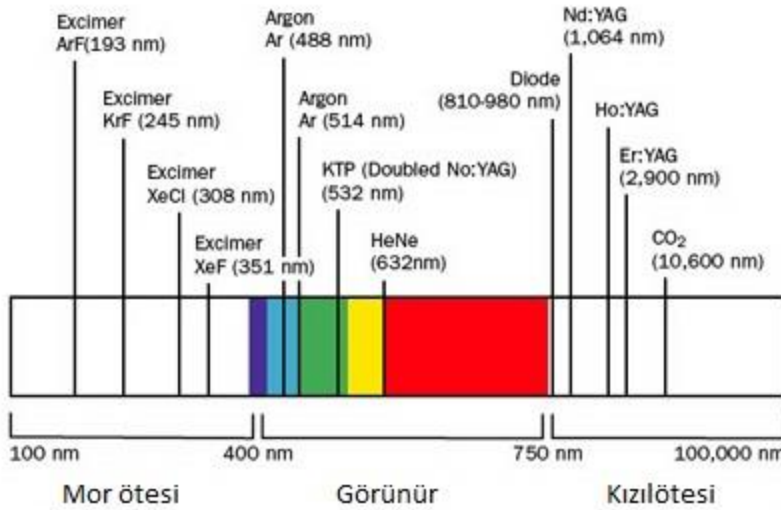
Lazer ışınının dokular tarafından uzun süre absorbe edilerek ısı etkisi oluşturmaya fototermal etki adı verilir. Bu etki dokuda; fotoablasyon, koagülasyon, hemostaz, fotopirolizis ya da dokunun yanmasına sebep olur. Fototermal etkiye maruz kalan dokunun iletkenliğinin fazla olması kollateral komşu dokularda nekrozlara sebep olabilir [115].

Lazer ışınları dokularda fotoplazmolizis ve fotoakustik etkiler de ortaya çıkarabilir. Ani ve güçlü enerji aktarımı kinetik enerjiye dönüşerek dokuların içeriğindeki moleküller arası bağları kopartabilir. Bu şekilde meydana gelen şok dalgası etkisi sert dental dokular

üzerinde fotoakustik etki meydana getirerek dokuyu patlatabilir veya elektronlarda vibrasyon meydana getirerek hızlı genleşmeler ve kasılmalar meydana getirerek fotoplazmolizis etkiyle dokuyu parçalayabilir [86,87].

2.2.9. Lazerlerin sınıflandırılması

Lazerler aktif ortamında bulunan maddeye göre isimlendirilirler. Dalga boylarına göre değişkenlik gösteren lazer ışınları kızılötesi renk spektrumunda yer alırlar (Şekil 2.10) ve termal ışınlam yayarlar [91]. Medikal alanda kullanılan lazer cihazları enerji seviyelerine göre iki gruba ayrılırlar.



Şekil 2.10. Lazerlerin elektromanyetik spektrumdaki yerleri [91]

Yüksek enerji seviyeli (Sert – sıcak - termik - cerrahi) lazerler

Yüksek enerji seviyeli lazerler belli bir fokal spotta yüksek ısı meydana getirerek iyi hemostaz sağlayan kontrollü karbonizasyon işlemi yaparlar. Özellikle tümör cerrahisinde işlem sırasında hematojen yolla oluşabilecek metastazların önüne geçmek için yüksek enerji seviyeli lazerlerin kullanılması önerilmektedir [118]. Tıp ve dişhekimliğinde en çok kullanılan yüksek enerji seviyeli lazerler; karbondioksit (CO2), Nd-YAG, Argon ve Excimer lazerlerdir [119].

Düşük enerji seviyeli (Yumuşak - soğuk - atermik - terapötik) lazerler

Düşük enerji seviyeli lazerler, yüksek enerji seviyeli lazerler gibi dokuda termal bir etki oluşturmazlar. Bu özelliklerinden dolayı dokuya herhangi bir zararlı etkileri bulunmamaktadır. Bu sistemler doku rejenerasyonuna yardımcı oldukları için tıp ve diş hekimliği alanında ağrının giderilmesi, enflamasyon ve ödemin azaltılması ile yara iyileşmesinin hızlandırılması amacıyla kullanılmaktadırlar. Düşük enerji seviyeli lazerlerin fibroblastları uyarıp kollajen yapımının ve epitalizasyonun artmasını, bu sayede de yara iyileşmesini hızlandırdığı ön görülmektedir [99].

Klinik uygulamalarda ensık kullanılan düşük enerji seviyeli lazerler; Helyum Neon (He-Ne) lazerler, diyot lazerler, Galyum-Arsenid (GaAs) ve Galyum-Alüminyum-Arsenid (GaAlAs) yarı iletken diyot lazerlerdir. Dalga boyu 632.8 nm olan He-Ne lazerler daha portatif sistemlerdir ve yaygın kullanılmaktadırlar [120]. GaAlAs lazerler, dentin desentizizasyonunda ve sinir yaralanmalarının palyatif tedavilerinde önerilmektedirler [121]. Ayrıca akut lokalize osteitisin tedavisinde, aftöz lezyonların sebep olduğu ağrıların rahatlatılmasında ve yara iyileşmesi sürecinde de kullanılmaktadır [122-124].

2.2.10. Düşük enerji seviyeli lazer terapisi (DESLT)

Düşük enerji seviyeli lazer tedavisinde kullanılan lazerlere genel olarak terapötik lazerler adı verilmektedir. Non invaziv olan bu tip lazerler için; soft lazer, tıbbi lazer, biyostimülatör lazer, yumuşak lazer, soğuk lazer gibi adlandırmalar da kullanılır. Düşük enerji seviyeli lazer tedavisinin en önemli amacı dokularda oluşan yaraların iyileşmesini hızlandırmaktır. Bunun yanında ödemi, enflamasyonu ve ağrıyı azaltıcı etkilere de sahiptirler. DESLT medikal tedavi olarak 40 yılı aşkın süredir başvurulmuş bir tekniktir [85].

Düşük enerji seviyeli lazerler ilk olarak 1960 yılında Dr. Theodore Maiman tarafından Los Angeles'ta geliştirilmiştir. Yine bu yıllarda Mester tarafından düşük enerji seviyeli lazerlerin karsinogenik etkileri olup olmadığı üzerine çalışmalar yapılmıştır. Mester, ruby ve He-Ne lazerlerle fareler üzerinde çok sayıda çalışma yapmış ve herhangi bir karsinogenik etki olmadığını saptamıştır. Bu çalışmaların sonucunda Mester'in saptadığı en

önemli bulgu ise lazer ışını uygulanan yaraların uygulanmayan yaralara oranla daha hızlı iyileşme göstermesidir. Fareler üzerinde yapılan çalışmaların başarı göstermesi üzerine araştırmacı 875 hastada konvansiyonel yöntemlerle iyileşmeyen yaralara da lazer uygulamış ve %85 'lik bir başarı oranı elde etmiştir. Bu çalışmalarla birlikte ortaya Arndt-Schultz Kanunu adı verilen bir terapötik dozaj formülü ortaya atılmıştır. Bu kanuna göre; uygulanan lazer ışını dozu belirli bir seviyeden düşük ise etkisiz, belirli bir seviyeden yüksek ise inhibitör etki göstermektedir. DESL terapisinde açık yaralar için önerilen optimum doz $1-2 \text{ J/cm}^2$ 'dir [85].

DESL tedavisinin rutin klinik uygulamaları 1980'li yıllarda başlamıştır. Başlangıçta DESL tedavisi için çıkış gücü 30 mW veya daha altı cihazlar kullanılmıştır. Fakat teknolojinin gelişmesiyle 1990'lı yıllarda daha yüksek çıkış gücüne sahip cihazlar üretilmiştir [85].

DESL cihazları farklı dalga boylarına ve farklı çıkış güçlerine sahip olabilirler. Terapötik doza ulaşılabilmesi için önerilen güç aralığı 1 ile 500 mW arasındır [85].

Biyostimülan etki üzerine çalışılan ilk lazer 694 nm dalga boyundaki ruby lazerlerdir. Bunu takiben 632.8 nm dalga boyunda 1-5 mW gücünde He-Ne lazer geliştirilmiştir. 1980'lerin başlarında ise 904 nm dalga boyunda 1-4 mW gücündeki GaAs diyot lazerler geliştirilmiştir. 780-890 nm dalga boyu aralıklarında olan GaAlAs (Galyum-Alüminyum-Arsenid) ise 1980'lerin sonlarında geliştirilmiştir [85].

DESL cihazları insan vücudunun her bölgesinde kullanılmaktadır. Ağız bölgesinde kullanımlar için diş fırçası boyutlarında olan ve özel intraoral uçlara sahip cihazlar da üretilmiştir [85].

Düşük enerji seviyeli lazer tedavisinde kullanılan lazerler

Helyum- Neon (He-Ne) Lazer

Adını aktif ortamında bulundurduğu Helyum gazı ve Neon atomlarından alan lazer sistemleridir. Aktif ortamın elektrik enerjisi ile uyarılmasıyla 633 nm dalga boyunda He-Ne lazer ışınları elde edilmektedir [100].

He-Ne lazerler en yaygın bulunan maliyeti düşük sistemlerdir. He-Ne lazerlerin bir çok farklı tipi olmasına rağmen en yaygın kullanılanları kalem boyutlarında olan ve pil yardımıyla çalışanlarıdır [100,125].

He-Ne lazerler epitelyal büyüme ve periferel sinir sistem yaralanmalarının iyileşmesini indükler. Uygulanacağı bölge yüzeyine temas ettirilerek ya da ettirilmeden rahatça uygulanabilirler [125].

Yarı iletken diyot lazerler (Galyum-Alüminyum-Arsenid, Galyum-Arsenid)

Diyot lazerlerin aktif ortamlarında yarı iletken özellikte alüminyum, indiyum, galyum ve arsenid gibi katı elementler vardır. Yarı iletken diyot lazerlerin dalga boyları kullanıldığı elementlere göre 800 nm ile 980 nm arasında değişkenlik gösterir. Bu dalga boyları kızılötesi elektromanyetik renk spektrumunun başlangıcına tekabül eder. Elde edilen lazer ışınları fiberoptik kablolar yardımıyla devamlı ya da atımlı modlarda iletilebilir [91]. Yarı iletken diyot lazer sistemleri, üzerlerinde bulunan kontrol paneli ile ışın parametrelerinin ayarlanabilmesine imkan verir [100].

GaAlAs lazerler, dalga boyları 820 ile 830 nm aralığında ve 10-200 mW arasında değişen çıkış güçlerine sahip yüksek doku penetrasyonu sağlayan sistemlerdir [126]. Oral mukoza ve kemiğin 4-8 mm altına ulaşabilen seyri nervus alveolaris inferior parestezilerinde ve nervus trigeminus nöropatilerinde tedavi uygulayabilmeye imkan verir [127]. GaAlAs lazerler de He-Ne lazerler gibi dokuya temas ettirilerek ya da ettirilmeden uygulanabilir [129].

GaAs lazer sistemi 904-910 nm dalga boyuna sahip yarı iletken lazerlerdir. Subkutanöz dokulara iyi penetre olurlar.

Lazerlerde dozaj hesaplanması

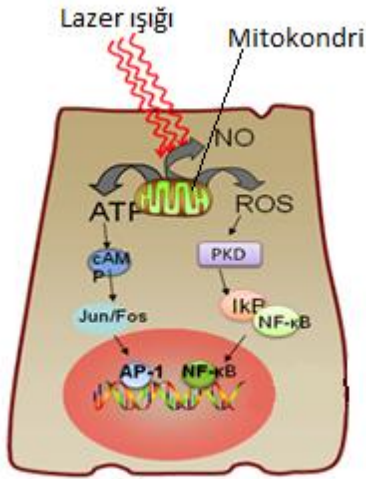
Lazer tedavilerinin doz ayarlamalarında önemli olan nokta optimum dozu uygulamaktır. Cihazın çıkış gücü ile uygulanan zamanın çarpımı, enerji miktarını verir. Örneğin; cihazın çıkış gücü 100mW ve uygulama zamanı 100 saniye ise elde edilen enerji miktarı 10000mJ yani 10J olacaktır. Dokuya uygulanacak enerjinin doz hesaplaması yapılırken, doku yüzey alanının cm^2 cinsinden miktarı hesaplanır ve elde edilen enerjiye bölünür. Örneğin alanın ölçümü 1 cm^2 ise doz $10/1=10\text{J}/\text{cm}^2$ olur. Eğer alan $0,25 \text{ cm}^2$ ise, doz $1/0,25= 4 \text{ j}/\text{cm}^2$ olur. Lazer cihazının ürettiği lazer ışınının cm^2 'ye düşen mW cinsinden güç yoğunluğu, lazer cihazının biyostimülan etkisi açısından oldukça önemlidir. Lazer ışınının karşılaştığı dokunun türü ve kalınlığı uygulamanın etkinliğine etkiyen diğer faktörlerdir. Örneğin lazer enerjisi mukoza ve yağ dokusundan geçişi kas dokusuyla kıyaslandığında daha kolay olmaktadır. Hemoglobin ve diğer pigmentler lazer ışığını kuvvetli emerler. Bu yüzden böyle durumlarda dozun yükseltilmesi gerekmektedir. Lazer ışınının dokuya daha iyi penetre olmasını sağlamak için lazer dokuya yaklaştırılabilir, dokuya bir miktar basınç yapılabilir ya da kan dokusunun yüksek penetrasyonundan kaçınmak için dokuda kısa süreliğine lokal iskemi oluşturulabilir. Bunun yanında uygulanacak dokunun melanin pigmenti açısından da değerlendirilmesi gerekir. Melanin pigmentlerinin yüksek olduğu koyu tenli kişilerde doz arttırılmalıdır.

Açık yaralara yapılan lazer uygulamalarında yara ile lazer arasındaki mesafe 2 ile 4 mm arası olmalıdır. Ağız içi uygulamalarda enerji kaybını azaltmak için lazerlerin uç aparatına jel sürülebilir. Lazer cihazlarının uygulama dozları değişkenlik gösterse de dokulara göre ortalama olarak tavsiye edilen dozlar; gingival dokularda $2-3 \text{ J}/\text{cm}^2$ olacak şekilde haftada iki veya üç seans, kas dokusunda $4-6 \text{ J}/\text{cm}^2$ olacak şekilde haftada iki veya üç seans, temporomandibuler eklem (TME) için $6-10 \text{ J}/\text{cm}^2$ olacak şekilde haftada bir veya iki seans

ve diş dokuları için dişin doğruca üzerine veya apeks bölgesi kemik üzerine 2-4 J/cm² olacak şekilde uygulanır [85].

Düşük enerji seviyeli lazerin etki mekanizması

Terapödik lazerlerin etkileri ve mekanizmasını açıklayan en geçerli teori fotokimyasal teoridir. DESL vücut hücreleri üzerine direkt olarak biyostimülan ışık enerjisi gönderir. Gönderilen bu enerji, hücrelerdeki sitokromofor ve anten pigmentleri gibi hücrenin fotoresptörleri vasıtasıyla mitokondriye iletilerek ATP sentezi yapılmasını sağlar (Şekil 2.11). Bu fotoresptörler, ATP üretimini arttıran C-oksidadz gibi endojen porfirinler ve solunum zincirinde rol oynayan moleküllerdir [85,130].



Şekil 2.11. Lazer ışığının mitokondri üzerindeki etkisi [130]

Bütün proteinler ışığa duyarlıdır. Sadece DESL'in etkilediği 300'e yakın fotokimyasal reaktif protein olduğu bilinmektedir. En bilinen fotokimyasal aktif reseptör proteinleri göz dokusunda bulunan rod ve kon pigmentleridir. Beyinde bulunan ensefalopsin ve epifiz bezindeki pinopsin de ışığa duyarlıdır. Tüm bu örnekler, ışığın insan hayatındaki önemini göstermektedir [85].

DESL terapisinin medikal alandaki en önemli yararı yara iyileşmesini hızlandırmasıdır. Mester ve arkadaşlarının hücreler üzerinde yapmış olduğu elektron mikroskop

incelemelerinde, lazer uygulanmayan taraf ile lazer uygulanan taraflar karşılaştırılmış ve lazer uygulanan tarafta fibroblast hücrelerinin sitoplazmik veziküllerinde elektron yoğunluğunun daha fazla olduğu görülmüştür. Bu durum kollajen sentezinin artmasını sağlar. Bunun yanında, 3H-timidin molekül bağlarının kaynaşma miktarı ölçümüyle hücre çoğalmasının hızlandığı da gözlenmiştir. Lazer uygulaması yapılan tarafta prostaglandin seviyesi de artış göstermiştir. Lazer uygulanan yara bölgesinde hücrelerin stimüle olması enflamasyonu arttırır. Hastalar tedavi başında kısa süreli kaşınma ve iğnelenme hissedebilirler. Bu durum yara iyileşmesinin kanıtı olarak ifade edilebilir [85].

Yara iyileşmesi esnasında görülen mediatörler DESL terapisinin başarısını da doğrudan etkilemektedir. Özkurt ve diğerleri, yaptıkları çalışmada lazerin prostoglandin E_2 (PGE_2) aktivitesinde değişikliğe neden olduğu ve PGE_2 sentezini stimule ettiğini bildirmişlerdir [131].

Enflamasyon sırasında ağrı mediatörlerinin sentezlenmesini indükleyen lazerlerin analjezik etkiyi nasıl oluşturduğu konusu henüz aydınlatılamamıştır. Ancak DESL terapisinin, santral sinir sisteminden seratonin ve asetilkolin; periferik sinir sisteminden histamin ve prostoglandin gibi nörokimyasalların sentezlenmesini indükleyerek analjeziyi sağlamada etkin rol oynadığını düşündürmektedir. Bunun yanında DESL terapisinin endorfin sentezini arttırması, C-liflerinin aktivitesinin, bradikinin seviyesinin ve ağrı eşiğinin azalması da analjezik etkinin faktörleri olabilir [85].

DESL ışınlarının dar dalga boyu spektrumunda birbirlerine uyumlu olarak ilerlemesi tedavi etkinliğini arttırmaktadır. He-Ne lazerler en dar spektrum aralığına sahiptir. Bunun yanında diyot lazerlerin 1 ile 100 nm arası değişen spektrum aralığı, bu tür lazer ışınlarının daha derin dokulara ulaşmasında önemli bir etkidir.

Lazerlerin, özellikle yara iyileşmesi üzerine olan etkileri konusunda yapılan çalışmalarda ışığın polarizasyonunun etkili olduğu belirtilmiştir [85].

Yüksek enerji seviyeli lazerlerin dokuya uygulandığı bölgede merkezden dışa doğru; buharlaşma, koagülasyon, protein denatürasyonu ve hücre stimülasyonu görülür. Hücre stimülasyonu yapan bu son katman lazerle oluşturulan yara bölgesinin, bistüri ile oluşturulan yara bölgesinden niçin daha hızlı iyileştiğini açıklayabilir. DESL terapisinin sağlıklı dokulara olan etkisi az olmasına rağmen bazı araştırmacılar yapılacak cerrahi öncesi de DESL terapisi yapılmasını önermektedirler [85].

DESL terapisi yapılan hastalarda lokal etkinin yanında ortaya çıkan moleküler düzeydeki metabolitler hematojen yolla sistemik etki de gösterirler. Örneğin bir yanık vakasında her iki eli yanan bir hastanın bir eline uygulanacak lazer tedavisi diğer elini de etkileyecektir, ancak ortaya çıkan etki direkt uygulanan ele oranla daha az olacaktır [85].

Düşük enerji seviyeli lazerlerin klinik uygulamaları

DESL terapisi günümüz dişhekimliğinde popüler hale gelmektedir. Genel kural olarak ağız içi uygulamalarda 1cm^2 'lik alana özel ağız içi aparatlarla 2 ile 4 J'lük dozlar uygulanmalı; ağız dışı uygulamalarda 1cm^2 'lik alana 4 ile 10 J'lük dozlar uygulanmalıdır [85]. DESL terapisi dişhekimliğinde bir çok amaçla kullanılmaktadır. Bunlar; postoperatif destekleyici, kemik iyileşmesini hızlandırma (özellikle dental implant uygulamalarında), dentin desentizasyonu, analjezi, antienflamatuvar, enfeksiyon durumları, sinir parestezileri ve temporomandibuler eklem rahatsızlıklarının tedavisi olarak sıralanabilir.

DESL'in kontrendikasyonları ve koruyucu önlemler

DESL tedavisi güvenilir bir tedavi seçeneğidir. Yüksek enerji seviyeli lazerler gibi dokuya destrüktif bir etkisi olmadığı için herhangi bir komplikasyon görülmez. 40 yılı aşkın geçmiş olan DESL terapisinin bugüne kadar rapor edilmiş herhangi bir zararlı etkisi bulunmamaktadır. DESL cihazları düşük risk grubunu ifade eden sınıf III medikal cihaz sınıfında yer almaktadırlar. Retinanın etkilenme riski oldukça düşük olmasına rağmen özellikle yüksek dalga boyuna sahip gözle görünemeyen lazerler kullanıldığı zaman hastanın ve hekimin özel koruyucu gözlükler kullanarak önlem alması gerekmektedir [85].

Dental uygulamalarda da herhangi bir yan etkiye rastlanılmamıştır. Fakat yine de şüpheli malignite durumları varlığında uzman kişiler haricinde tedavi uygulanmamalıdır. DESL terapisinin kesin bir kontrendikasyonu olmamasına rağmen dikkatli olunması gereken bir durum koagülasyon bozukluğu olan hastalardır. DESL terapisi uygulanan kronik ağrılı hastalarda, kısa süreliğine yorgunluk hissinin arttığı ve ağrı süresinin geçici olarak uzadığı da rapor edilmiştir [85].

2.3. Meccina Hemostopper

2.3.1. Ön bilgiler

Meccina hemostopper kanama durdurucu bir ilaçtır. Likit formda ajan olarak literatürlerde tanımlanan bu bitkisel içerikli ajan sekiz bitki özünden elde edilmektedir. Antimikrobiyal içermeyen Meccina, açık yaralara uygulanabilmekte ve vücut tarafından emilebilir özelliktedir. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Ulusal Bilgi Bankası'nda tek kullanımlık cihaz olarak kayıtlıdır. Ticari takdim şekli olarak; tampon, sprey ve likit ampul şeklinde formları vardır.

2.3.2. İçeriği

1 mL Meccina hemostopper ekstresi içerisinde; %12 glycyrrhiza glabra ekstresi, %5 alpinia officinarum özü, %3 thymus serpyllum özü, %4 syzygium aromaticum özü, %16 hypericum perforatum özü, %46 vitis vinifera özü, %8 urtica angustifolia özü , %6 mentha arvensis suyu bulunmaktadır.

Urtica dioica

Isırgan otu olarak bilinen Urtica dioica çiçekli bitki kısmı, yaprak ve kökten oluşur. Tıbbi olarak çiçek, yaprak ve kök kısımları kullanılır. Çiçekli bitki kısmında yer alan batıcı tüylerinde histamin, serotonin, asetilkolin, lökotrienler (LTB4, LTC4, LTD4) yer almaktadır ve bu içerikle antienflamatuar, anestezi, analjezik etki sağladığı düşünülmektedir. Kökünde yer alan steroid, polisakkarit ve lektin yapıların ise antienflamatuar, antifungal,

antiviral ve immünoestimulan etkiye sağladığı ileri sürülmektedir [132,133]. Aktif polisakkarit ve lektin karışımının farklı hemagglütinasyon ve insan lenfosit lektinlerini stimüle ettiği bildirilmiştir (Resim 2.2).



Resim 2.2. *Urtica dioica* [132]

Vitis vinifera

Koruk veya diğer ismi ile üzüm; çiçek, meyve, yaprak, gövde ve kökten oluşur. Tıbbi olarak yaprak ve meyve kısımları kullanılır. Hayvan deneyleri ile kemopreventif, sitoprotektif, antioksidan, vasküler ve sitotoksik etkileri gösterilmiştir. Kollajen stabilizasyonunu da destekler ve kıl folikül hücrelerini proliferasyonunu sağlar. İçeriğindeki prosiyanidinlerin bu etkileri tetiklediği düşünülmektedir [134]. Prosiyanidinler, kapiller duvarları stabilize eder ve ödemi inhibe eden permeabilite artışını önlerler (Resim 2.3)



Resim 2.3. *Vitis vinifera* [134]

Glycyrrhiza glabra

Meyan; çiçek, yaprak, meyve, gövde ve kökten oluşan bir bitkidir. Tıbbi olarak kökleri kullanılmaktadır. Antienflamatuar, antitrombotik, antifungal ve antibakteriyal etkileri olduğu ileri sürülmektedir. İçeriğindeki fenolik bileşiklerinin antibakteriyal; izoflavin bileşiklerinin antifungal, likorisidin, glisirizin ve glisiretinik; asid bileşiklerinin antienflamatuar, glisirizin ile antitrombotik ve tüm bu bileşikler ile de antioksidan özellik gösterdiği ileri sürülmüştür. Glisirizin ve likokalkon flavonoid, trombin ile indüklenen trombosit agregasyonunu inhibe ederek antitrombin etki göstermektedir [135]. Glisiretinik asid; renal 11-beta hidroksisteroid dehidrogenazı inhibe ederek mineralokortikoid etkiye sahiptir (Resim 2.4).



Resim 2.4. Glycyrrhiza glabra [135]

Alpinia officinarum

Havlıcan otu; çiçek, yaprak, gövde ve kökten oluşan bir bitkidir. Tıbbi kullanım alanı gövdede yer alan silindirik rizomudur. Antispazmatik, antifungal ve antibakteriyal etkisi mevcuttur [136] ve bu etkiler flavonoid bileşikler ile gerçekleşir (Resim 2.5).



Resim 2.5. *Alpinia officinarum* [136]

Thymus vulgaris

Kekik; çiçek, yaprak, gövde ve kökten oluşan bir bitkidir. Her kısmı tıbbi olarak kullanılır. Antispazmodik, antibakteriyal, antiviral, antiprotozoan ve antioksidan özelliklere sahiptir [137]. Bu etkilerin flavon bileşiğinden kaynaklandığı hayvan deneyleri ile gösterilmiştir (Resim 2.6).



Resim 2.6. *Thymus vulgaris* [137]

Syzygium aromaticum

Diğer adıyla karanfil, baharat olarak da kullanılmaktadır. *Syzygium aromaticum* kimyasal içeriğinde; sesquiterpenes, uçucu yağ, caryophyllene, tanen ve zatk bulunur. Solunum ve sindirim sistemi rahatsızlıklarında kullanılmaktadır [138,139]. Antimikrobiyal ve antiseptik özelliği bulunmaktadır. Antiviral etkisiyle ilgili çalışmalar da mevcuttur. *Helicobacter pylori* üzerine etkileri olduğu saptanmıştır. Mide kanseri riskini azaltır.

Karanfile koku ve lezzetini veren eugenol adında uçucu bir yağdır. Eugenol, karanfilin temel bileşenidir. Eugenolun, lipid peroksidasyonunu önlediği de gösterilmiştir (Resim 2.7).



Resim 2.7. Syzygium aromaticum [138]

Hypericum perforatum

Binbirdelik otu, sarı kantaron otu, kan otu, yara otu, kuzu kıran, koyun kıran, kılıçotu, püre olarak da adlandırılır. Kırsal alanlarda temmuz ve eylül ayları arasında çiçeklenen bir bitkidir. Avrupa ve Anadolu'da yaygın olarak bulunur. Dünyada sıcak ve ılıman bölgelerde yayılım gösteren 400'ün üzerinde türü olup Avrupa'da 10, Türkiye'de 89 türü vardır. Bunlardan 43'ü endemiktir.

Bu bitki; soğuk algınlığında, bronşiyal ve ürogenital sistem yangılarında antiflojistik amaçla, safra rahatsızlıkları ve mesane irritasyonlarında, nevralsi, migren ağrılarında, siyatik ve çeşitli ülserlerde, diyabette, dispepsinin tedavisinde, antispazmodik, diüretik, emanagog, antimalaryal olarak ve tüberkülozun tedavisinde kullanılır. Bunun yanında haricen kullanım olarak antiseptik, egzema ve mantar hastalıklarının tedavisinde etkili olduğu ve yara iyileşmesini hızlandırdığı da bildirilmektedir [140,141]. Özellikle kantaron yağı yanık yaralarında etkilidir.

İçeriğindeki antidepresan özellikli %0.2 hiperisin ve pseudohiperisin ile sedatif özellikli hiperforinden dolayı depresyon, uykusuzluk, melankoli gibi problemlerde piyasada satılan bitki tozu içerikli haplarının satışı ve kullanımı yaygındır [141].

Yapılan çalışmalarda hypericum ekstrelerinin iyi tolere edildiği ve yan etkilerinin az düzeyde olduğu gösterilmiştir. Hypericum ekstresinin rapor edilen yan etkileri; gastrointestinal sistemde hassasiyet, allerjik reaksiyonlar, yorgunluk, halsizlik, ağız kuruluğu, ışığa duyarlılık ve bunun sonucu deride oluşan lekelenmelerdir. Bu yan etkilerin derecesi hafif ile orta seviye arasında değişkenlik gösterir. Hypericum ekstresi, zayıf ve orta derecedeki depresyon hastalığı tedavisinde endikedir [141]. Fakat intihara teşebbüs gibi psikotik belirtileri olan ciddi depresyon vakalarında kullanımı uygun değildir. Böyle vakalarda sadece yardımcı tedavi olarak kullanılabilir (Resim 2.8).



Resim 2.8. Hypericum perforatum [141]

Mentha arvensis

Anavatanı Orta Avrupa ve Asya olduğu belirtilen nane, çok çeşitli türlere sahiptir. Çoğunluğu Avrupa ve Asya'da bulunan 90 kadar türü bulunmaktadır. Ülkemizde ise 7 türe ait 12 takson yayılım göstermektedir. Nane çok eski bir kültür bitkisidir. Genellikle nemli ve sulak yerlerde yayılım gösteren rizomlu otsulardır. Yapraklar basit, kaliks aktinomorf simetrlili, tüp veya çan şeklindedir.

Nane eski devirlerden beri karminatif olarak bilinir. Mide bulantılarını kesici ve güzel koku verici olarak da kullanılır. Sakız, diş macunu, şeker ve daha birçok endüstriyel dallarda

yaygın olarak kullanılmaktadır [142,143]. Nane; antiseptik, anestezik, serinletici, ferahlatıcı ve bulantı kesici gibi özelliklere sahiptir (Resim 2.9)



Resim 2.9. Mentha arvensis [142]

2.3.3. Etki mekanizması

Mecsin hemostopper, uygulandığı açık yara bölgesindeki endotel hasarın üzerinde mekanik bir bariyer oluşturmaktadır. Temas ettiği yara bölgesinde fibronojen ve kan hücreleriyle etkileşime geçmektedir. Vital eritrosit hücreleri arasında oluşturduğu protein ağı ile hızlı bir şekilde hemostaz sağlar. Pıhtılaşma faktörlerinden bağımsız sağladığı hemostaz, kanama diazetezi olan hastalarda da iyi bir hemostatik yöntem olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Bunun yanında eritrosit hücrelerinin oksijen içeriği sayesinde yara bölgesinde anjiogenezinin arttığı ve bu şekilde yara iyileşmesinin hızlandığı bildirilmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'nın 12.04.2013 tarih ve 66332047-604.01.02/78-8279 sayılı izni alınarak başlanmıştır.

Çalışmamızın deney aşamaları Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi Hayvan Laboratuvarında, histolojik ve immünohistokimyasal incelemeleri Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı'nda, radyolojik incelemeleri Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1. Deneklerin Seçimi

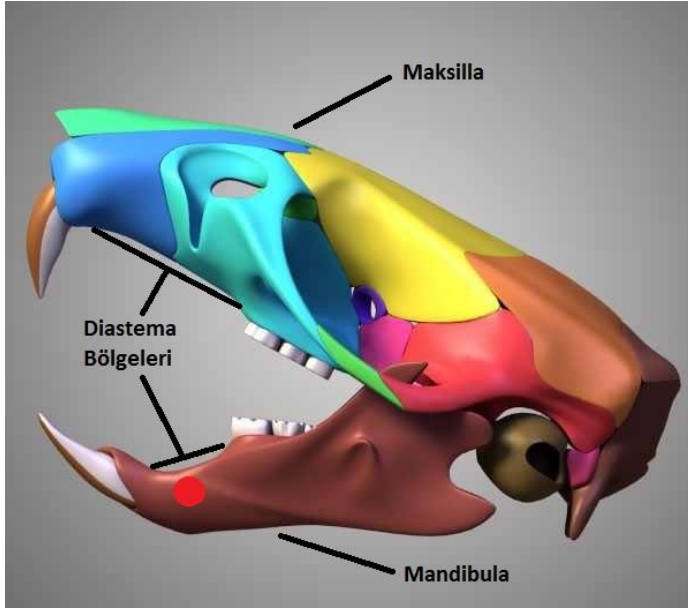
Çalışmamızda, Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi Hayvan Laboratuvarı'ndan temin edilen 32 adet Long Evans cinsi 300-350g ağırlığında sağlıklı dişi ratlar kullanılmıştır. Bütün deney hayvanlarının bakımları aynı oda içerisinde yapılmıştır. Çalışma süresince ratlara kuru pelet yem ve su verilmiştir (Resim 3.1).



Resim 3.1. Çalışmada kullanılan Long Evans cinsi rat

Çalışmadaki tüm ratlara aynı şartlara altında aynı cerrahi işlemler uygulanmıştır. Rat maksillalarının ve mandibulalarının anterior ile posterior dişleri arasında diastema adı

verilen uzun dişsiz boşluk alanlar bulunmaktadır. Cerrahi işlem için bölgeye ulaşım kolaylığı, yeterli kemik dokusu varlığı ve mümkün olan en az morbiditeye sebep olması açısından çalışma için mandibula sol diastema bölgesi seçilmiştir. Tüm ratların bu bölgelerinde 2 mm çapında küresel defekt alanları oluşturulmuştur (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Rat kafatasının soldan görünümü (Mandibula diastema bölgesinde kırmızı yuvarlak ile gösterilen çalışma alanı) [144]

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Çalışmada:

- Ratlarda anesteziyi sağlamak için Ksilazin HCl (Alfazyne %2) ve Ketamin HCl (Alfamine %10)
- Anestezik madde enjeksiyonları, izotonik sodyum klorür ile cerrahi alanın irrigasyonu ve Mecsina uygulamaları için tek kullanımlık insülin enjektörleri
- Ratlarda açık cerrahi işlem yapılabilmesi için; hemostat, ekartör, 15 numara bisturi ucu ve bisturi sapı, periost elevatörü, 2 mm çapında lastik stoperli çelik ront frez, izotonik sodyum klorür, taşınabilir mikro motor (1000rpm), portegü, rezorbe olabilen suture (Ethicon/PDS*II 5.0), suture makası, steril örtüler, steril eldivenler, steril tamponlar, %10'luk povidon iyot çözeltisi

- BTL 4000 GaAlAs soft lazer ve 50mW çıkış gücündeki ağız dışı kullanım aparatı (BTL Industries Ltd./United Kingdom)
- Mecsina Hemostopper Sprey 10mL
- Örneklerin elde edilmesi ve saklanması için elmas separe disk frez, plastik biopsi kapları ve yeterli miktarda %10'luk formaldehit solüsyonu

3.2.1. BTL 4000 GaAlAs soft lazer

Çalışmada kullanılan BTL Laser 4000 modeli İngiltere üretimi lazer cihazı, 830 nm dalga boyunda, elektromanyetik spektrumun kızılötesi, gözle görünmeyen bölümünde yer alan ve aktif alanında galyum, alüminyum ve arsenid gibi yarı iletken katı maddelerden oluşan GaAlAs düşük enerji seviyeli lazerdir. Cihaz devamlı veya kesintili akım modunda çalışabilmekte, ve 50 mW güç üretmektedir. Cihazın üzerinde medikal kullanım amacıyla tanımlanmış çok sayıda program bulunmaktadır. Ancak manuel ayarlama foksiyonu ile istenilen enerji düzeyi ayarlanabilmektedir. Çırak E. 'nin kemik iyileşmesi üzerine yapmış olduğu karşılaştırmalı etkin doz araştırması baz alınarak lazer uygulanacak tüm gruplara 10 J/cm^2 'lik enerji dozu verilmiştir [144]. Birim alana uygulanacak enerji dozunu elde edebilmek için 50 mW gücünde çalışan cihaz manuel olarak 200 saniye çalışma süresine ve devamlı akım moduna ayarlanmıştır (Resim 3.2)



Resim 3.2. BTL 4000 GaAlAs Soft Lazer [144]

3.2.2. Mecsina hemostopper sprej 10mL

Çalışmada kullanılan Mecsina Hemostopper Sprej Türk menşeli bitkisel kanama durdurucu ajandır. Mecsina uygulanan her gruba sprej formundaki ajandan insülin enjektörleri yardımıyla 0.01mL 'lik dozlarda ilaç uygulaması yapılmıştır (Resim 3.3)



Resim 3.3. Mecsina hemostopper sprej 10mL

3.3. Çalışma Grupları

32 adet denneğin sol mandibula diastema bölgelerine 2 mm çapında kemik defekt alanı oluşturulmuştur. Denekler uygulanacak cerrahi işlemlere göre 4 ana gruba ayrılmıştır:

Kontrol (K) Grubu: Bu gruptaki 8 denekte sadece defekt alanı oluşturuldu.

Lazer (L) Grubu: Bu gruptaki 8 denekte defekt alanları oluşturuldu ve cerrahi günü ile takip eden 6 gün boyunca lazer uygulaması yapıldı. (10 J/cm²/gün)

Mecsina (M) Grubu: Bu gruptaki 8 denekte defekt alanları oluşturulurken defekt bölgesine 0.01mL Mecsina likidi tatbik edildi.

Lazer-Mecsina (LM) Grubu: Bu gruptaki 8 denekte defekt alanları oluşturulurken 0.01mL Mecsina likidi tatbik edildi ve cerrahi günü ile takip eden 6 gün boyunca lazer uygulaması da yapıldı. (10 J/cm²/gün)

Çizelge 3.1. Çalışma gruplarının dağılımı ve inceleme gruplarının oluşturulması

<u>Gruplar</u> <u>Tablosu</u>	Kontrol Grubu (K)	Lazer Grubu (L)	Mecsina Grubu (M)	Lazer-Mecsina Grubu (LM)
<i>Histoloji</i>	6	6	6	6
<i>Morfoloji</i>	2	2	2	2

3.4. Çalışma Planı

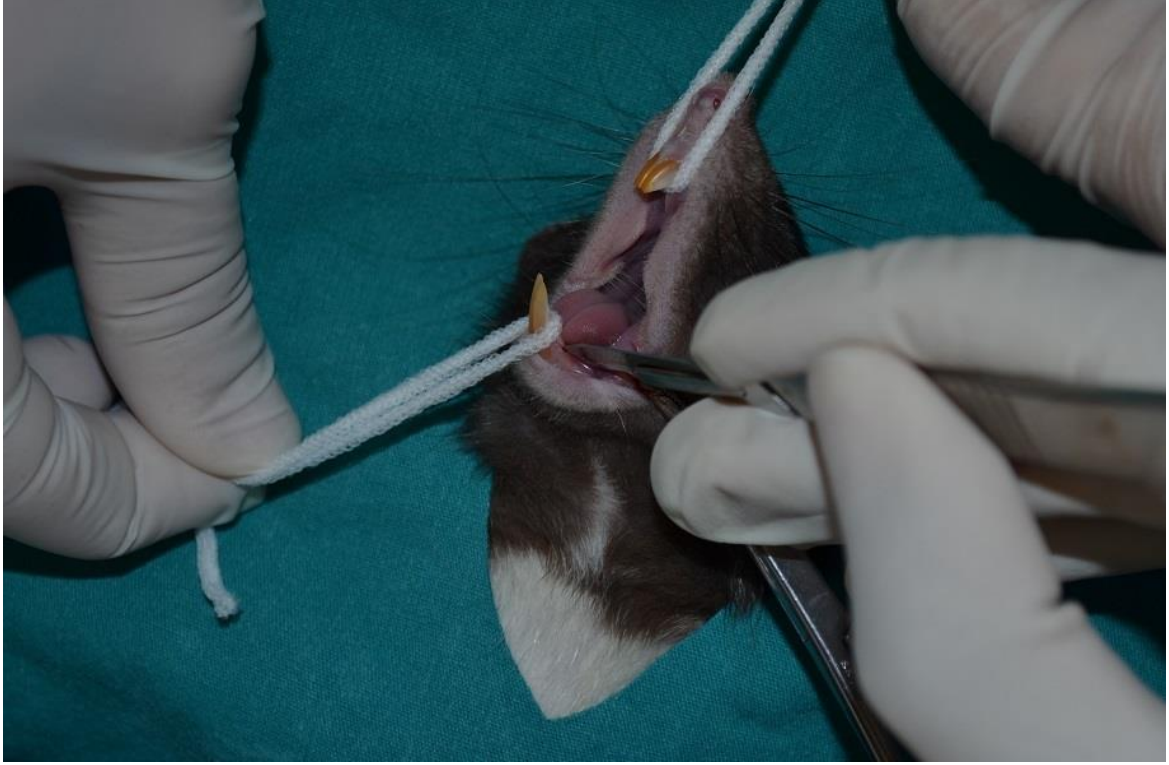
Ratlara veteriner hekim denetiminde anestezi olarak 45 mg/kg dozunda ketamin hidroklorid ve 5 mg/kg ksilazin karıştırılıp intramuskuler olarak enjekte edilerek deneklerin genel anestezisi sağlanmıştır (Resim 3.4).



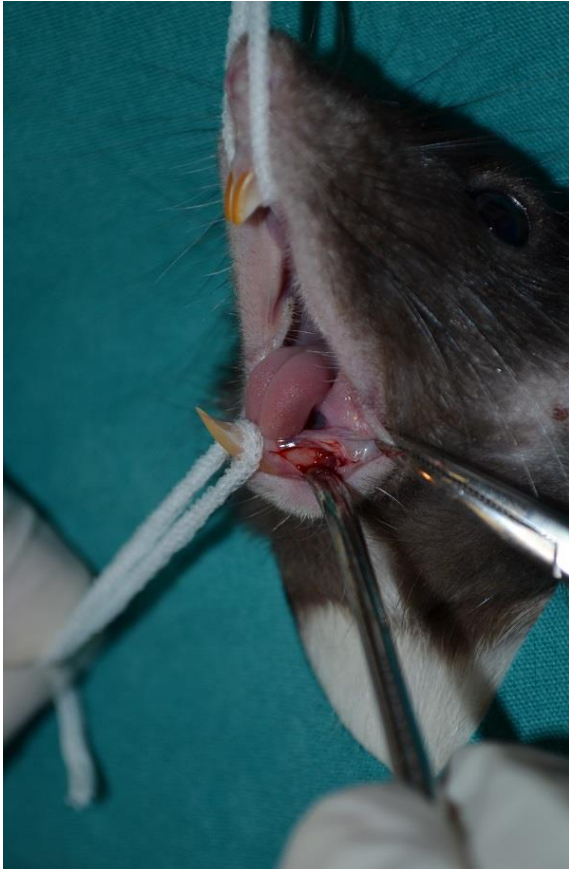
Resim 3.4. Deneklere intramuskuler anestezi uygulanması

Denekler sert bir platform üzerinde sabitlenerek cerrahi yapılacak odaya alınmıştır. Asepsi ve antisepsi şartlarına uyulduktan sonra deneklerin cerrahi işlemine geçilmiştir.

Deneklerin başları sabitlenmiş ve sol mandibulaları yumuşak dokuları travmatize edilmeden ekarte edilmiştir. Sol mandibular insisiv dişin distalinden başlayarak alveolar kret tepesinde posteriora doğru yaklaşık 4 mm uzunluğunda insizyon (Resim 3.5) yapılmıştır. İnsize edilen alan bukkale doğru diseke edilerek mukoperiostal tam kalınlıkta flep kaldırılmış (Resim 3.6) ve mandibulanın bukkal korteksi açığa çıkarılmıştır.



Resim 3.5. Mandibula diastema bölgesine insizyon yapılması



Resim 3.6. Yapılan insizyonu takiben flep kaldırılması

Kanama kontrolü sağlandıktan sonra soğutma altındaki frezle tek noktaya girilerek ostektomi işlemi yapılmış (Resim 3.7) ve bölgede 2 mm çapında küresel defekt alanı (Resim 3.8) oluşturulmuştur (Mecsina grupları için ilaç tatbiki bu aşamada yapılmıştır). Kaldırılan flep sütur (PGA 5.0) yardımıyla yerine tespit edilerek (Resim 3.9) işlem sonlandırılmıştır (Lazer grupları için ilk ışın uygulaması bu aşamada yapılmıştır). Denekler derlenme aşamasında tek tek özel kafeslerde bekletilmiştir. Derlenmesi tamamlanan denekler etiketlenirilmiş ilgili grup kafeslerine alınmıştır.



Resim 3.7. Frezle yapılan ostektomi işlemiyle defekt alanı oluşturulması



Resim 3.8. Oluşturulan küresel defekt alanının görünümü



Resim 3.9. Kaldırılan flebin yerine tespit edilmesi

3.4.1. Mecsina uygulaması

Mecsina uygulaması yapılan gruplar M ve LM gruplarıdır.

Defekt alanının oluşturulmasından sonra kanama kontrolü sağlanmıştır. İnsülin enjektörü yardımıyla bölgeye 0.01mL Mecsina likidi tatbik edilmiş ve likidin tüm defekt alanını kaplayarak etki göstermesi için 15 saniye beklenmiştir (Resim 3.10).



Resim 3.10. Defekt alanları oluşturulduktan sonra Mecsina likidinin tatbiki

3.4.2. Lazer uygulaması

Lazer uygulaması yapılan gruplar L ve LM gruplarıdır. Lazer ışınının dozu 50 mW 'lık gücün 200 saniye uygulanmasıyla $10 \text{ J/cm}^2/\text{gün}$ şeklinde ayarlanmıştır.

Fleplerin tespiti sağlandıktan sonra 1. gün doz uygulaması denek derlenmeden önce lazer cihazının çıkış aparatı ağız dışından temas ettirilerek mandibula ilgili defekt bölgesine dik açı yapacak şekilde uygulanmıştır. Cerrahi gününden sonraki takip eden 6 gün boyunca deneklere genel anestezi verilmeden veteriner hekim yardımıyla deneklerin başı

sabitlenerek uygulama yapılmıştır. Uygulama seanslarının her denek için 24 saatte bir aynı zaman aralığında olmasına dikkat edilmiştir (Resim 3.11)



Resim 3.11. Defekt bölgelerine ağız dışından lazer uygulanması

3.4.3. Çalışmanın sonlandırılması ve deneklerden örneklerin elde edilmesi

30. gün sonunda deneklere ötenazi işlemi yapılarak çalışma sonlandırıldı. Ötenazi işlemi, deneklerin genel anestezi işlemi yapıldıktan sonra ek doz anestezi yapılarak gerçekleştirildi. Solunum depresasyonu ve asistol olan deneklerin tamamen ex olup olmadığı kontrol edildikten sonra örneklerin elde edilme işlemine geçildi.

Mandibular kemik dokusunun dışarıya transfer edilmesi için mental bölgede cilt ve cilt altı dokulardan başlanarak mandibula ramusuna kadar çift taraftan diseksiyon yapıldı. Diseke edilerek açığa çıkarılan mandibula angulusundan ve sol insisiv diş mesialinden elmas separe disk yardımıyla kemik rezeksiyon yapıldı (Resim 3.12).



Resim 3.12. İncelemeye gönderilmek için rezeke edilmiş mandibula örneği

Elde edilen insisiv dişli yarım çene örnekleri %10 'luk formaldehit solüsyonu içeren biopsi kaplarında grup isimleriyle etiketlenerek muhafaza edildi. Etiketleme yapılırken 32 örneğin; her gruptan 6 'şar örnek olacak şekilde toplamda 24 tanesi histolojik inceleme için ve her gruptan 2 'şer örnek olacak şekilde toplamda 8 tanesi morfolojik inceleme için ayrı ayrı gruplandırıldı. Bu şekilde gruplandırılan doku örnekleri histolojik ve morfolojik incelemelerinin yapılması için ilgili anabilim dallarına iletildi.

3.5. Histolojik Değerlendirmeler

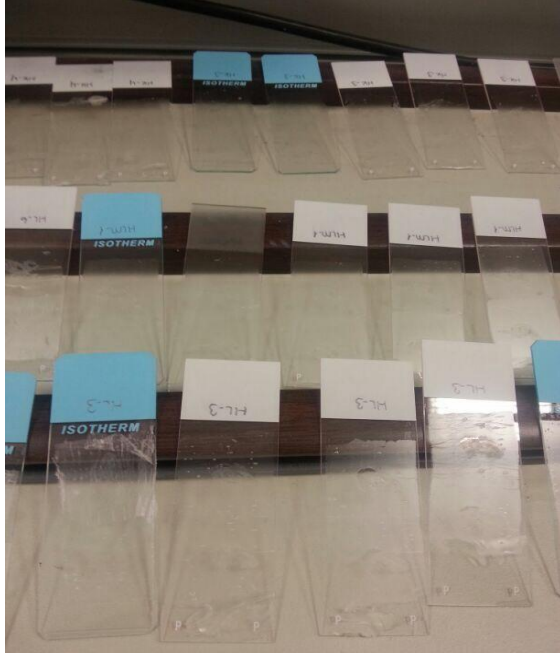
Histolojik inceleme için ayrılan 24 örnek dekalsifikasyon için 60 gün süreyle %10' luk EDTA solüsyonunda bekletildi. Dekalsifikasyonun son iki günlük aşamasında dekaastro solüsyonu da kullanıldı. Tespit ve dekalsifikasyon işlemlerinin ardından doku örnekleri kasetlere alınarak akar su altında 24 saat süresince yıkandı. Suyun uzaklaştırılması için dokular artan konsantrasyonlu alkol serilerinden (%70, %80, %90, %100) sırayla geçirildi. Bu işlemin ardından dokuların parlatılmaları amacıyla ksilole maruz bırakıldı ve inceleme için yapısal olarak hazır hale gelmiş dokular parafine gömüldü. Hazırlanan parafin bloklar 4-5µ kalınlıklarda kesildi (Resim 3.13), inceleme yapılacak kesitler oluşturuldu (Resim 3.14) ve etiketlendi (Resim 3.15). Tüm gruplar için Hematoksilen-Eozin boyaması, Masson'un üçlü boyaması ve OPN primer antikoru ile immünohistokimyasal boyama uygulandı. Dokuların inceleme işlemi Leica DCM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde yapılarak Leica Q Vin 3 programında değerlendirildi ve resimleri çekildi.



Resim 3.13. Parafine blok gömülmüş örneklerin 4-5 μ kalınlığında kesilme işlemi



Resim 3.14. Kesilen blokların kesit olarak hazırlanması



Resim 3.15. Elde edilen kesitlerin etiketlenmesi

3.5.1. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi

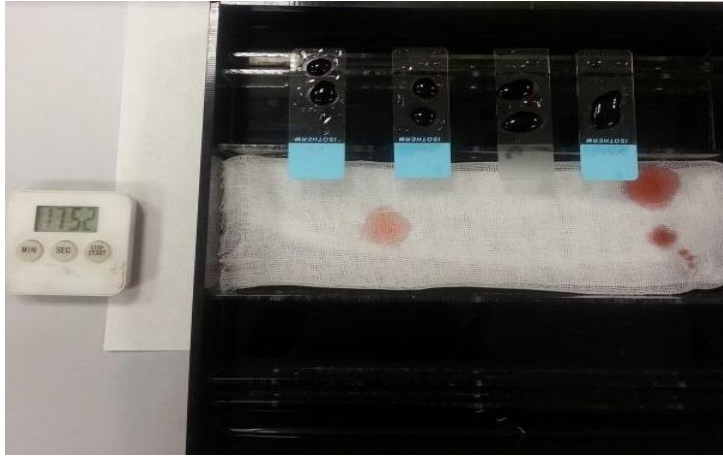
Deney gruplarından alınan kesitler 60°C etüvde 30 dakika bekletildikten sonra, 2x15 dakika ksilole alınarak parafinden arındırılmaları sağlandı. Daha sonra lamlar sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirilip (%100, %96, %80, %70, %50) açık havada bekletilerek kurutuldu. 10 dakika akar suda yıkamanın ardından, Harris Hematoksilen' de 10 dakika boyandı ve tekrar 10 dakika akar suda yıkandı. % 70 alkol + 2-3 damla glasiyel asedik asit karışımına batırılıp tekrar 10 dakika akar suda yıkandı. Lamlar 15 dakika eozinde bekletilip 10 dakika daha akar suda yıkandıktan sonra artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek (%50, %70, %80, %96, %100), 2x15 dakika ksilole alınarak entellan ile kapatıldı (Resim 3.16).



Resim 3.16. Kesitlerin Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi ile boyanması

3.5.2. Masson'un üçlü boyama yöntemi

Kesitler 60°C etüvde 2 saat bekletildikten sonra, 2x5 dakika ksilole alınarak deparifizasyonları sağlandı. 2x3 dakika absolu alkolden geçirildikten sonra sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirildi. Kesitler daha sonra Harris hemotoksilende 20 dakika etkin bırakıldı. Süre sonunda fazla boyanın arındırılması amacıyla akar suda 5 dakika yıkanan kesitlere Bio-optika Masson trikrom (cat: 04-010802, Lot: 0910, Bio-Optica 20134 Milano, ITALY via S. Faustino 58) kiti uygulanarak boyama tamamlandı. Bu erekle kesitlere 10 damla pikrik asit alkol solusyonu (reagent C) damlatıldı ve 4 dakika bekletildi. Daha sonra, dokular hızlıca (3-4 saniye) distile suda çalkalanarak her bir kesite 10 damla asit fuksin (reagent D) damlatılarak yine 4 dakika bekletildi. Camlar distile suyla yıkanarak, üzerlerine 10 damla fosfomolibidik asit solüsyonu (reagent E) da damlatılarak 10 dakika bekletildi. Yıkama yapılmadan, camlar silkelendi ve 10 damla anilin mavisi (reagent F) damlatılarak 5 dakika bekletildi. Son olarak, camlar distile suda yıkanarak artan alkol serilerinden geçirildi ve ksilolde tutularak, entellanla kapatıldı (Resim 3.17).



Resim 3.17. Kesitlerin Masson Üçlü boyama yöntemi ile boyanması

3.5.3. İmmünohistokimyasal boyama yöntemi

Kontrol ve deney gruplarına ait bloklardan mikrotomla (Leica SM 2000, Germany) polizinli lamlara 4 µm kalınlığında kesitler alınarak immünohistokimyasal boyamaları yapıldı. Çalışmada OPN (osteopontin) mouse monoclonal (AKM2A1, sc-21742, Lot: A0411, Santa Cruz) primer antikoru kullanıldı.

Kesitler 37°C' deki etüvde bir gece tutulduktan sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak amacıyla etüv ısısı 57°C' ye çıkarılarak 1 saat daha bekletildi. Camlar deparafinizasyonu tamamlamak için 2 kez 15' er dakika ksilolde bırakıldıktan sonra sırasıyla % 100' lük, % 96' lık ve % 80' lik azalan konsantrasyonlardaki alkol serilerinden 10' ar dakika geçirilerek sudan, 2 kez 5' er dakika distile sudan geçirilerek alkolden arındırıldı ve pap pen (Super PAP Pen, PN IM3580, Becman Coulter Company, France) ile kesit üzerindeki dokuların etrafı çizildi. Camlar 15 dakika % 3' lük hidrojen peroksit'e etkin bırakılarak dokularda, endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi.

Daha sonra, camlar 3 kez 3'er dakika PBS (Phosphate Buffer Saline, pH: 7.4) ile yıkandıktan sonra özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi amacıyla 10 dakika Ultra V Block (Cat: 859043, Lot: 1018708A, İnvitrogen) uygulanarak özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi sağlandı. Bloklama aşamasının ardından kesitler yıkanmadan OPN mouse monoklonal (AKM2A1, sc-21742, Lot: A0411, Santa Cruz) primer antikoruna etkin bırakılarak bir gece bekletildi. Süre sonunda; 3 kez 3' er dakika PBS ile yıkandıktan sonra 20 dakika biyotinli sekonder antikor (Cat: 859043, Lot: 1018708A, İnvitrogen) uygulanarak primer antikora bağlanması sağlandı. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra dokular enzimin biyotine bağlanması amacıyla 20 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksine (Cat: 859043, Lot: 1018708A, İnvitrogen) etkin bırakıldı (Resim 3.18).



Resim 3.18. Kesitlerin immunohisyo kimyasal incelenmesi

Camlar tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kromojen olan DAB (Cat: 00-2020, Lot: 720221A, İnvitrogen) uygulanarak gözle görülebilen immün reaksiyonun açığa çıkması sağlandı. Zemin boyamasında Harris' in Hematoksileni (Cat: 008011, Lot: 73267432A, İnvitrogen) kullanıldı ve camlar entellan ile kapatıldı. Kesitler Leica DM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde ve Leica Q Vin 3 programında değerlendirilerek fotoğraflandı.

3.6. İstatistiksel Değerlendirmeler

Hematoksilen-Eozin boyama ile yapılan değerlendirmeler sonucunda Dejenerasyon Kriterleri tablosu oluşturuldu ve bu tablo için " 0 = Hiç Yok, 1 = Zayıf, 2 = Azdan Ortaya, 3 = Orta, 4 = Ortadan Yoğuna, 5 = Yoğun " sayısal veriler olarak kabul edildi. Granülasyon dokusu yoğunluğu, kollajen matriks yoğunluğu (fibrokartilöz doku), kan damarları ve vaskülogenez, mineralize trabeküler kemik, osteosit yoğunluğu, osteoblast yoğunluğu, kalsifiye kemik doku miktarları için her gruptaki 6 örneğe bu sayısal değerler verildi. Elde edilen veriler istatistiksel değerlendirmeye tabi tutuldu. Grupların sayısal değerleri arasında fark olup olmadığına ANOVA (varyans analizi) testi ile bakıldı.

OPN pozitif hücrelerin saptaması yapılan immunohistokimyasal değerlendirmede her gruptaki 6 örneğin, 1 merkez ve 5 perifer bölgede olmak üzere toplam 6 bölge için osteoblast sayımı yapıldı. Elde edilen verilerden istatistiksel veriler tablosu oluşturuldu. Oluşturulan bu tablo Windows için SPSS 17.0 adlı paket programına aktarıldı ve Shapiro Wilk testi ile verilerin normal dağılıp dağılmadığına bakıldı. p değeri 0,05 'in altında bulunduğu için verilerin normal dağılmadığı sonucuna ulaşıldı. Veriler normal dağılmadığı için Kruskal Wallis testi kullanılarak istatistiksel sonuçlara ulaşıldı.

3.7. Morfolojik Değerlendirmeler

3.7.1. Mikro Tomografi cihazı

Morfolojik inceleme için ayrılan K,L,M ve LM gruplarına ait 8 örneğin kesit görüntülerinin elde edilmesinde SkyScan 1174 Micro CT (SkyScan, Aartsealar, Belçika) isimli bilgisayarlı tomografi cihazı kullanılmıştır. Cihaz farklı yoğunluktaki objelere adapte olabilmesi için, ayarlanabilir voltajı ve çeşitli filtreleri olan bir X ışını kaynağına sahiptir. Görüntüleme işleminde X-ışını tüpü 50 kV ve 800 μ A değerlerinde çalıştırılmıştır. X ışını tarayıcısında 1,3 megapiksel (1280x1024 piksel) kamera bulunmaktadır (Resim 3.19).



Resim 3.19. SkyScan 1174 mikro tomografi cihazı

3.7.2. Mikro Tomografik kesitlerin alınması

Örneklerin SkyScan 1174 Micro CT (SkyScan, Aartsealar, Belçika) tarayıcı ünitesinin tutucusuna sabit bir dikey düzlemde yerleştirilebilmesi için mandibuler kemik blokların posteriorundan sadece 1-2 mm'lik kısımları akriliğin içinde kalacak şekilde, doku örnekleri daire şeklindeki şeffaf akrilik resin disklerle gömüldü (Resim 3.20). Mandibuler kemik blokların görüntülenmesi dikey aksın çevresinde toplamda 360° rotasyonla ve 2° 'lik rotasyon adımlarıyla yapıldı. Kesit kalınlığı her gruptaki örnek için 18 μ m olarak ayarlandı.



Resim 3.20. Örneklerin akriliğe gömülerek tomografik kesitler alınması

Her bir mandibuler kemik bloğunun görüntülenmesi yaklaşık 60 dakika sürdü. Görüntüleme işlemi bittikten sonra Nrecon (Skyscan, Belçika) oluşan kesitsel görüntüler Bitmap (.bmp) formatında bilgisayara kaydedildi.

3.7.3. Mikro Tomografi görüntülerinden üç boyutlu modeller elde edilmesi

Taraması yapılan mandibuler bloklardan 682 ila 924 arasında değişen sayılarda kesitler alındı. Alınan kesitlerden 3D-Doctor adlı bilgisayar programında üç boyutlu görüntü yeniden oluşturuldu. Elde edilen görüntülerin morfolojik incelemesi yapıldıktan sonra görüntülerin maksiller modelleri .obj ya da .dxf formatında bilgisayara kaydedildi. Daha sonra bu formattaki modeller Cinema-4D R15 (Maxon Computer, Germany) adlı modelleme ve animasyon programında yeniden açıldı. Cinema-4D programı kullanılarak iki boyutlu render görüntüleri oluşturuldu. İki boyutlu render görüntüler birleştirilerek geçirgen olan ve geçirgen olmayan, kırmızı-mavi üç boyutlu gözlük (Resim 3.21) yardımıyla izlenebilecek üç boyutlu stereoskopik görüntüler de hazırlandı. Yapılan bu son modellemeler yüksek kalitede .tiff formatına çevrildi.



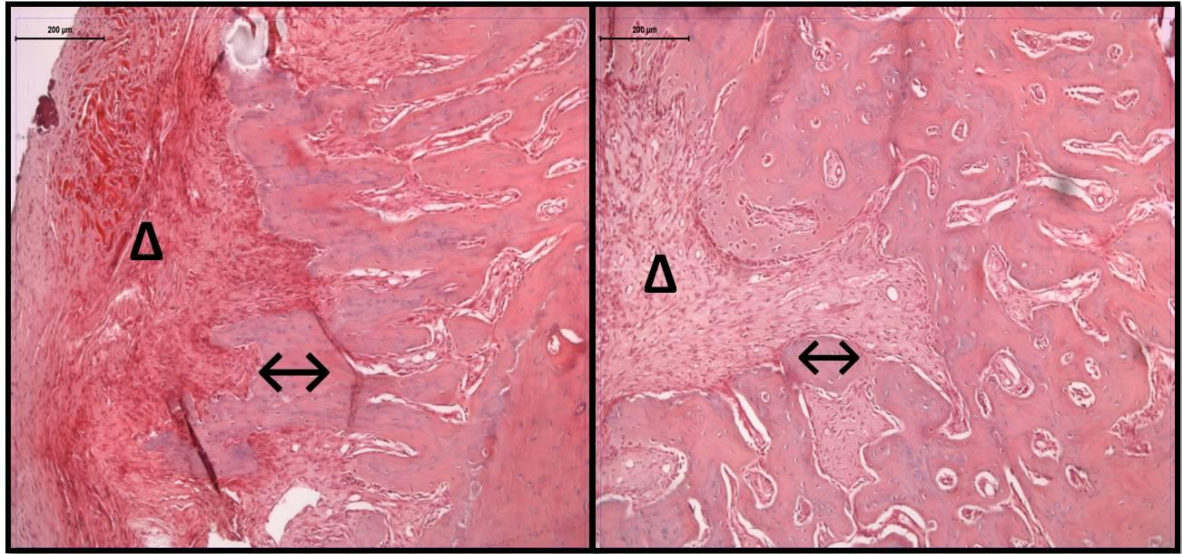
Resim 3.21. Kırmızı-mavi üç boyutlu gözlük

4. BULGULAR

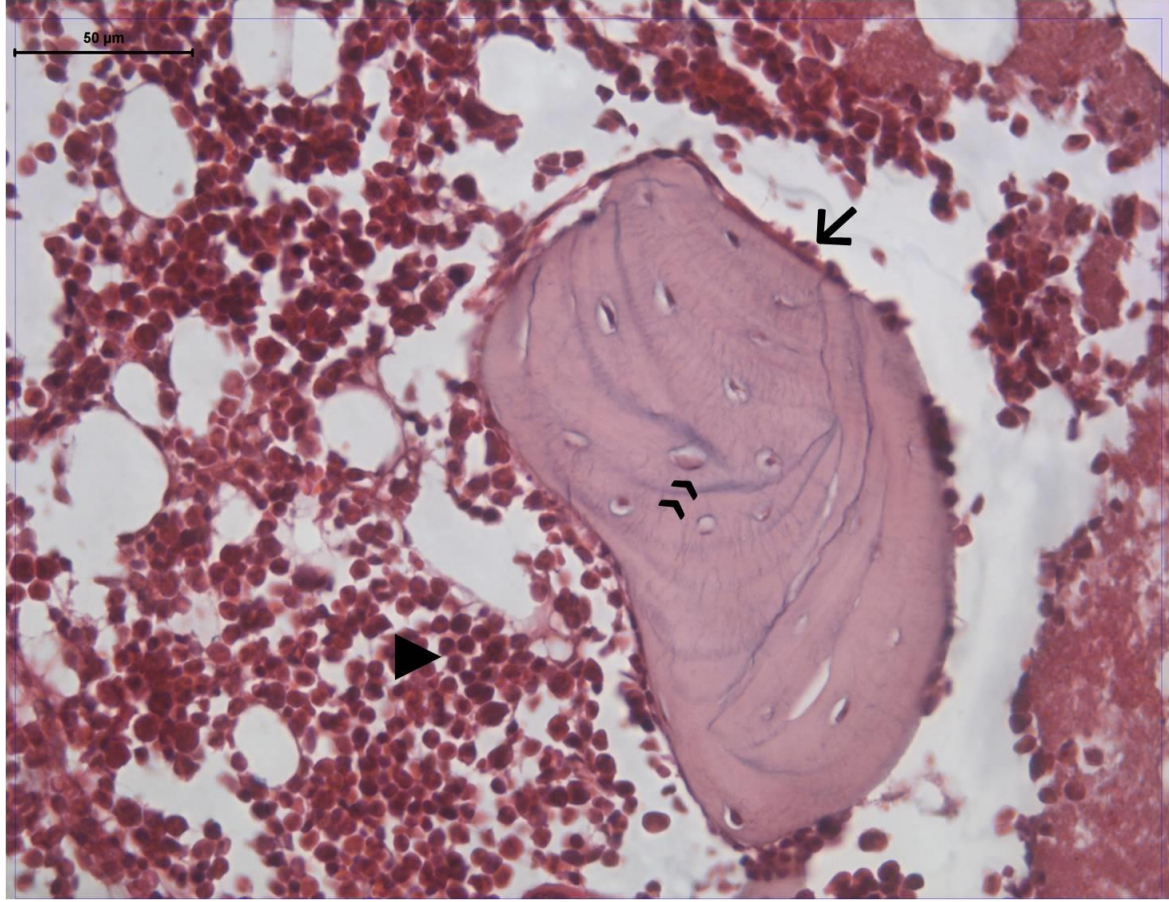
4.1. Histolojik Bulgular

4.1.1. Kontrol grubu (K)

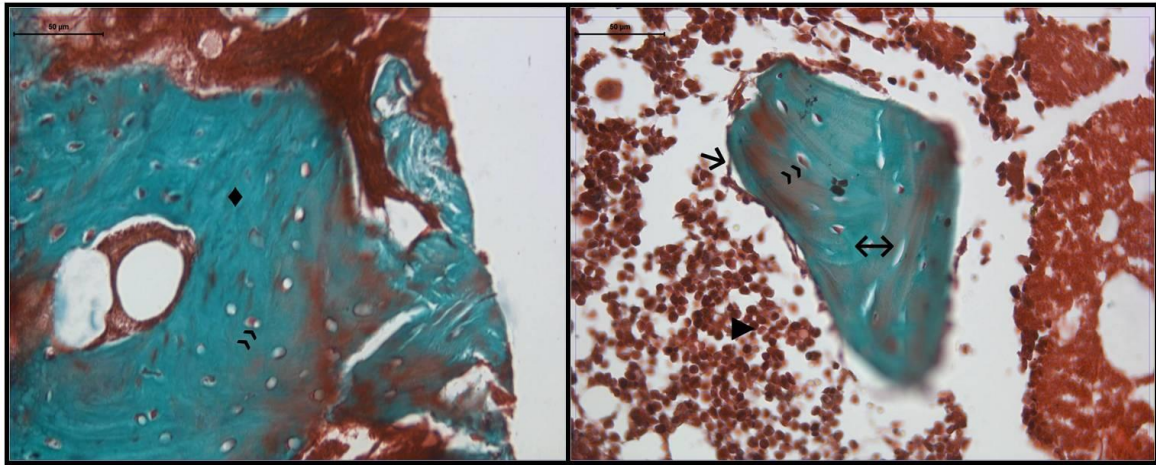
Kontrol grubunda fibrokartilöz dokunun ve saf granülasyon dokusunun oldukça geniş alanı kapsadığı, ancak bununla birlikte bu granülasyon dokusunun çevresinde kemik iliği ile çevrelenmiş trabeküler yapıların varlığı da izlendi. Osteoblastlar, endokondral kemikleşme yolu ile yeni oluşmuş kemik trabekülleri üzerindeki bazı yüzeylerde yerleşik durumdaydı. Kemik trabekülleri içerisinde ise, sentezledikleri matriks içerisinde kalarak farklılaşan osteositler izlendi (Resim 4.1, 4.2 ve 4.3).



Resim 4.1. Kontrol grubuna ait resimlerde granülasyon dokusu (Δ) ve mineralize trabeküler kemik (↔) görülüyor (Hematoksilen Eozin x 100)



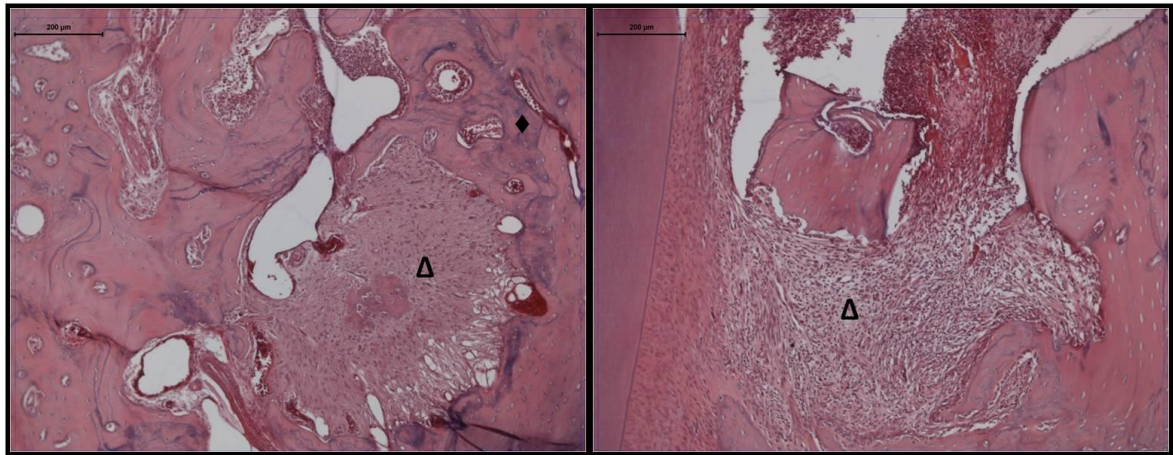
Resim 4.2. Kontrol grubuna ait resimde kemik iliği (►), osteoblast (→) ve osteosit (↔) görülüyor (Hematoksilen Eozin x 400)



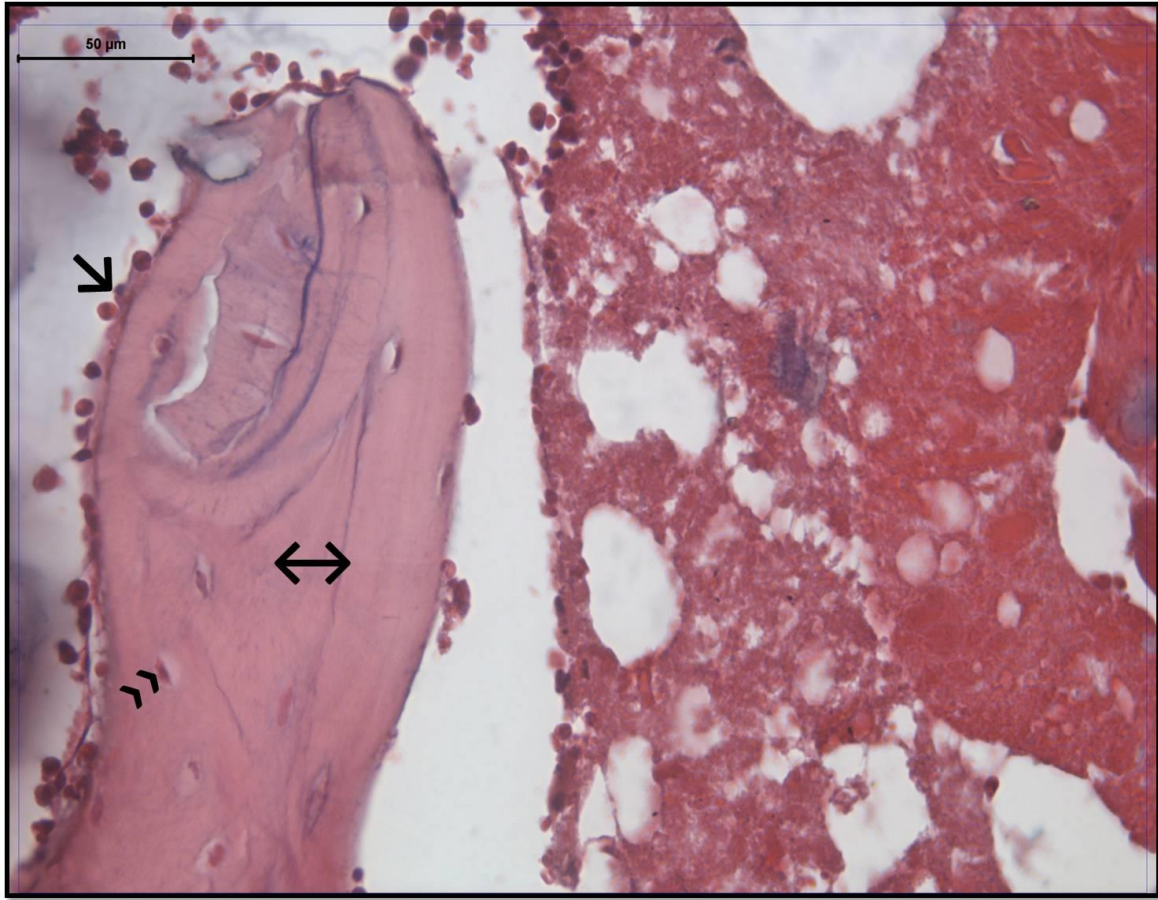
Resim 4.3. Kontrol grubuna ait resimlerde kemik iliği (►), osteoblast (→), osteosit (↔), mineralize trabeküler kemik (◆) ve kollajen matriks (◀→) görülüyor (Masson Trikrom x 400)

4.1.2. Lazer grubu (L)

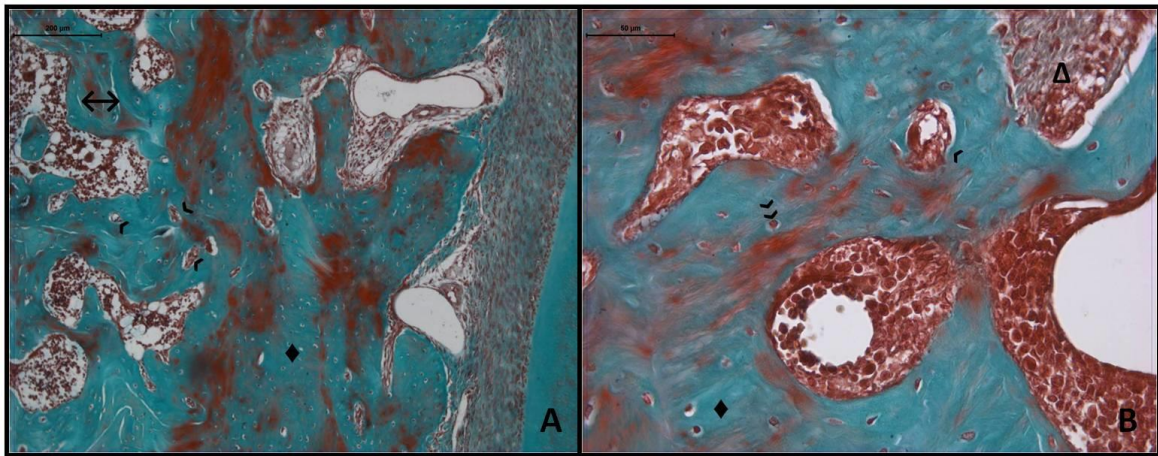
Lazer uygulanan gruba bakıldığında, granülasyon dokusunun kontrol grubuna oranla daha az olduğu, kemik trabekülleri üzerindeki osteoblastların trabeküllerin neredeyse tüm yüzeyini inci tanesi gibi kapladığı görüldü. Üçlü boyama ile yapılan histolojik değerlendirmelerde, yeşille boyanan kollajen yapıların lazer grubunda kontrole karşın daha az alanı kapsadığı görüldü. Yeni oluşan trabeküler kemik ve alveolar kemik yapılarına ait fibrokartilöz doku içerisindeki kıkırdak alanlarda kan damarlarının vaskülogenezisinin artması nedeniyle bu alanlarda yeşille boyanan kollajen yapının kırmızı ile boyanan kemik yapıya farklandığı ve kan damarları çevresinde kemik oluşumunun ve olgunlaşmasının başladığı dikkati çekti. Üçlü boyamalarda görülen kontrol grubunda bu yapıların çok daha az olduğu izlendi. Gerek granülasyon dokusu, gerekse yeni oluşan trabeküler kemik ve osteoblast yoğunluğu göz önüne alındığında, lazer uygulamasının kontrol grubuna karşın daha iyi rejeneratif bulgular sergilediği izlendi (Resim 4.4, 4.5 ve 4.6).



Resim 4.4. Lazer uygulaması yapılan gruba ait resimlerde granülasyon dokusu (Δ) ve kollajen matriks (◆) görülüyor (Hematoksilen Eozin x 100)



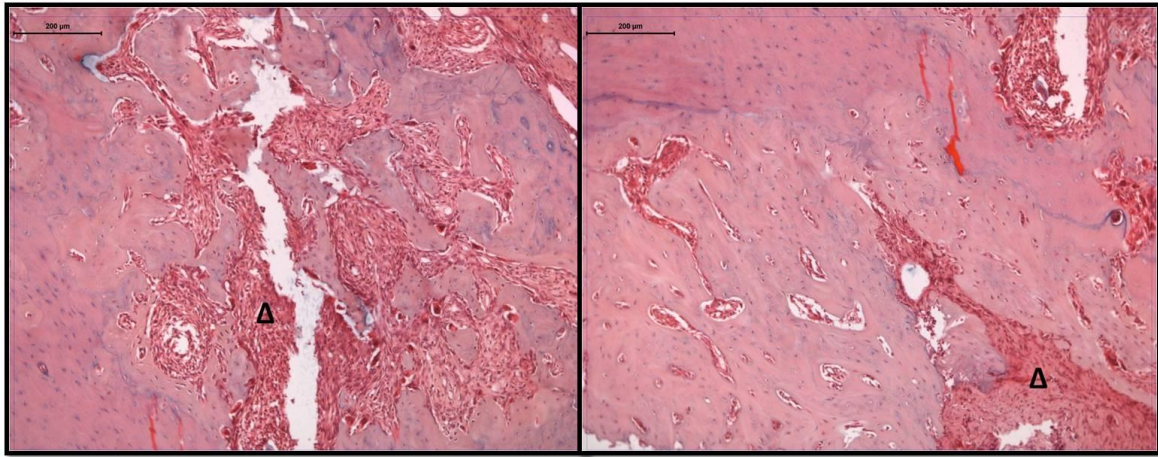
Resim 4.5. Lazer uygulaması yapılan gruba ait resimde osteoblast (→), osteosit (∨) ve mineralize trabeküler kemik (↔) görülüyor (Hematoksilen Eozin x 400)



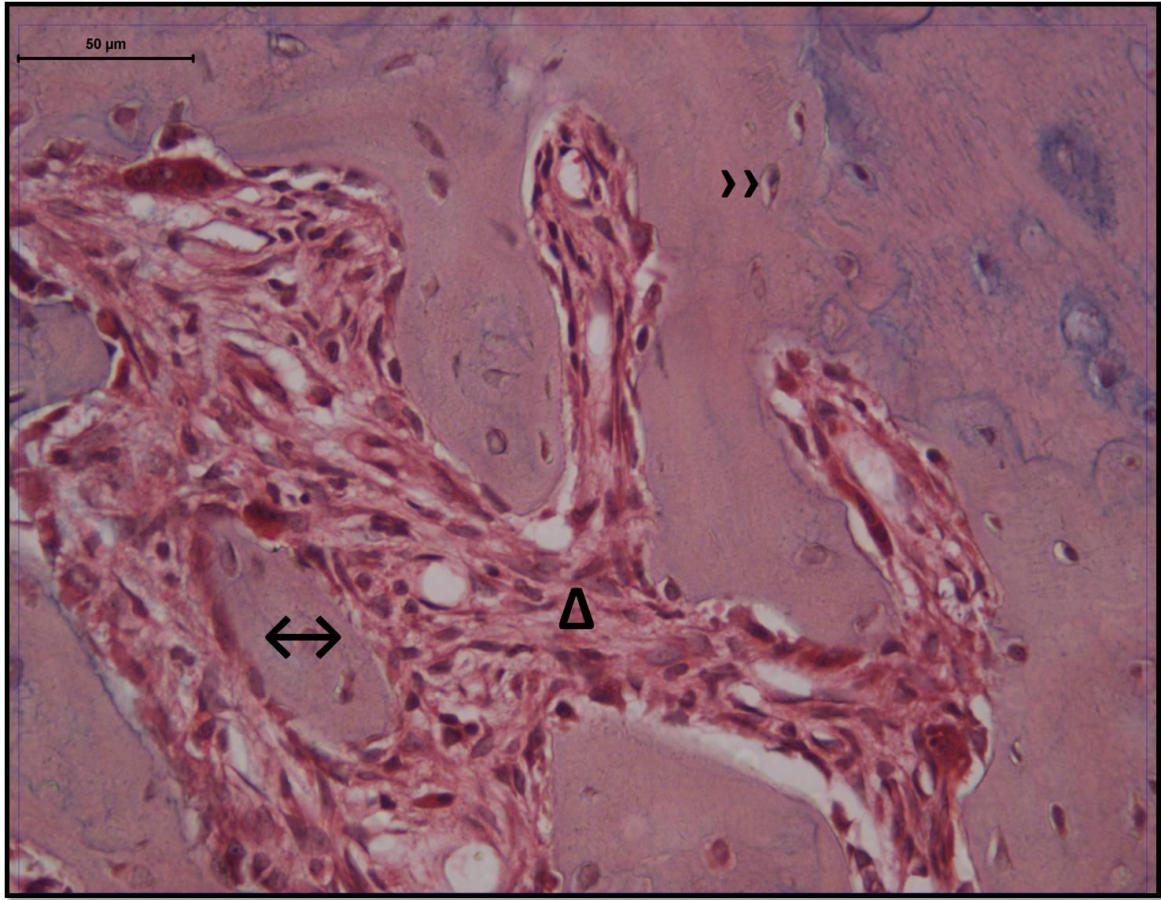
Resim 4.6. Lazer uygulaması yapılan gruba ait resimlerde osteosit (∨), mineralize trabeküler kemik (↔), kollajen matriks (◆), granülasyon dokusu (Δ), kan damarları ve vaskülogenez (∩) görülüyor (A: Masson Trikrom x 100, B: Masson Trikrom x 400)

4.1.3. Mecsina grubu (M)

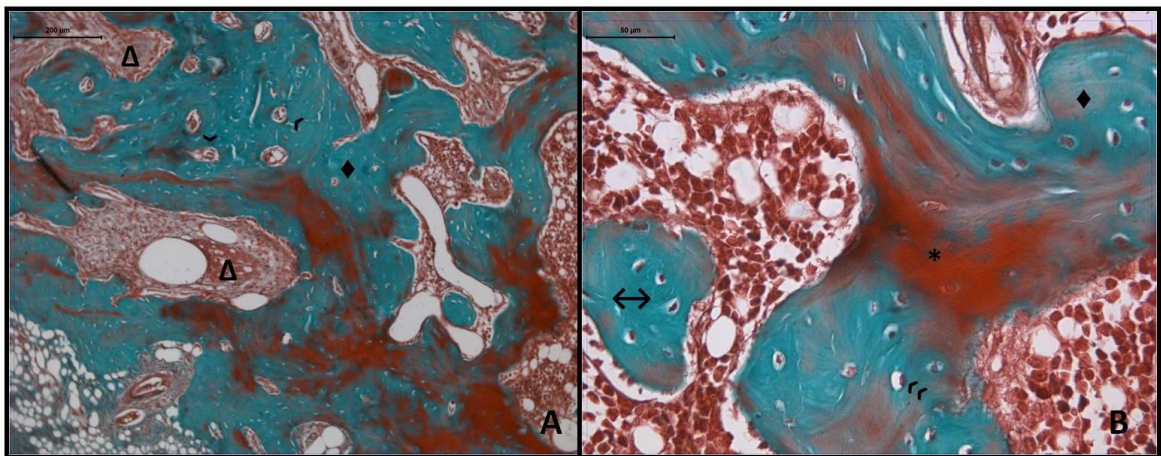
Mecsina uygulaması yapılan grupta hematoksilin eozin ve üçlü boyama bulguları karşılaştırıldığında, bulguların neredeyse lazer uygulaması ile benzer olduğu dikkat çekti. Hatta bu uygulamada da granülasyon dokusu doku genelinde kontrol ve lazer grubuna karşın daha az olarak izlendi. Ancak osteosit ve osteoblastlar yoğun olarak lazer grubunda mecsina uygulanan gruba karşın daha belirgin olarak trabeküllerin yüzeyinde ve içinde izlendi (Resim 4.7, 4.8 ve 4.9).



Resim 4.7. Mecsina uygulaması yapılan gruba ait resimlerde granülasyon dokusu (Δ) görülüyor (Hematoksilen Eozin x 100)



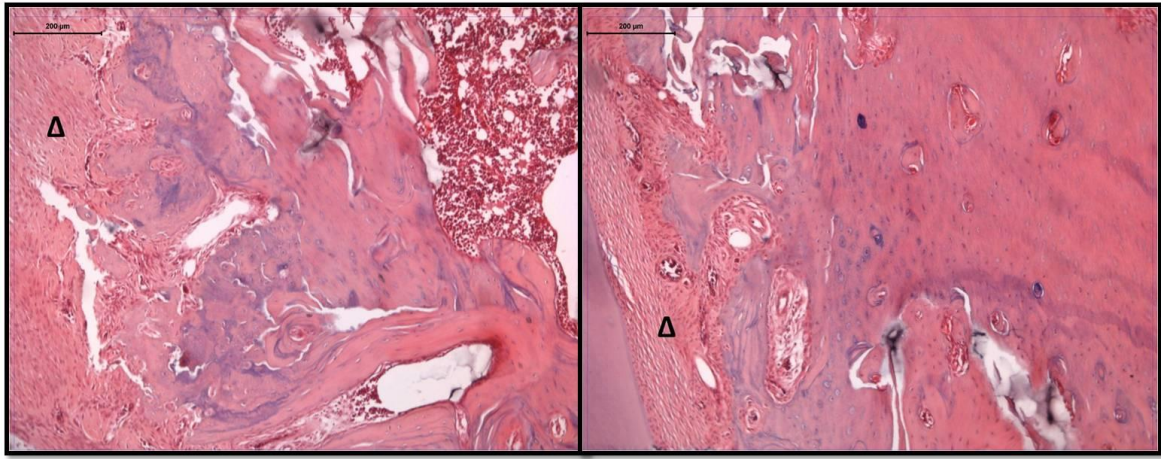
Resim 4.8. Mecsina uygulaması yapılan gruba ait resimde osteosit (>>), mineralize trabeküler kemik (<=>) ve granülasyon dokusu (Δ) görülüyor (Hematoksilen Eozin x 400)



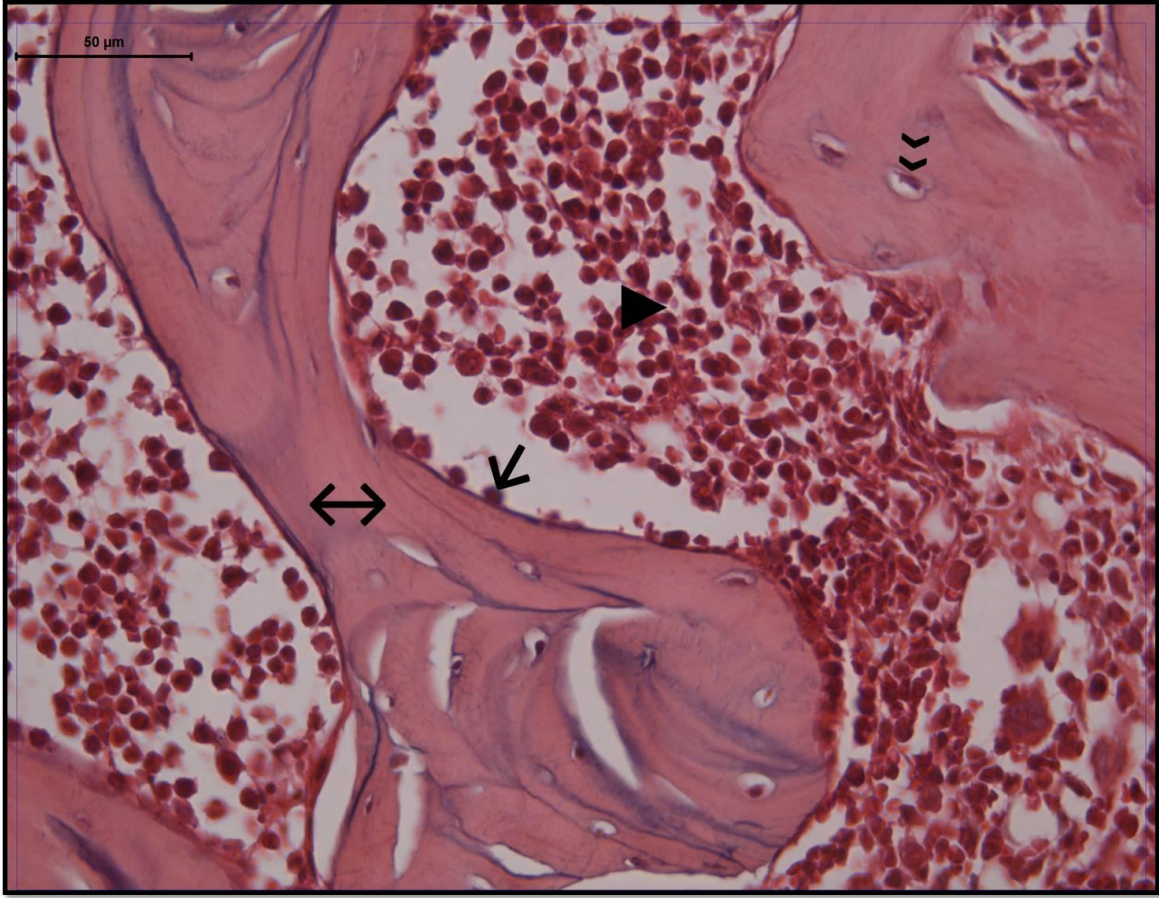
Resim 4.9 Lazer uygulaması yapılan gruba ait resimlerde osteosit (>>), mineralize trabeküler kemik (<=>), kollajen matrisi (♦), granülasyon dokusu (Δ), kan damarları ve vaskülogenez (∩), kalsifiye kemik dokusu (*) görülüyor (A: Masson Trikrom x 100, B: Masson Trikrom x 400)

4.1.4. Lazer-Mecsina grubu (LM)

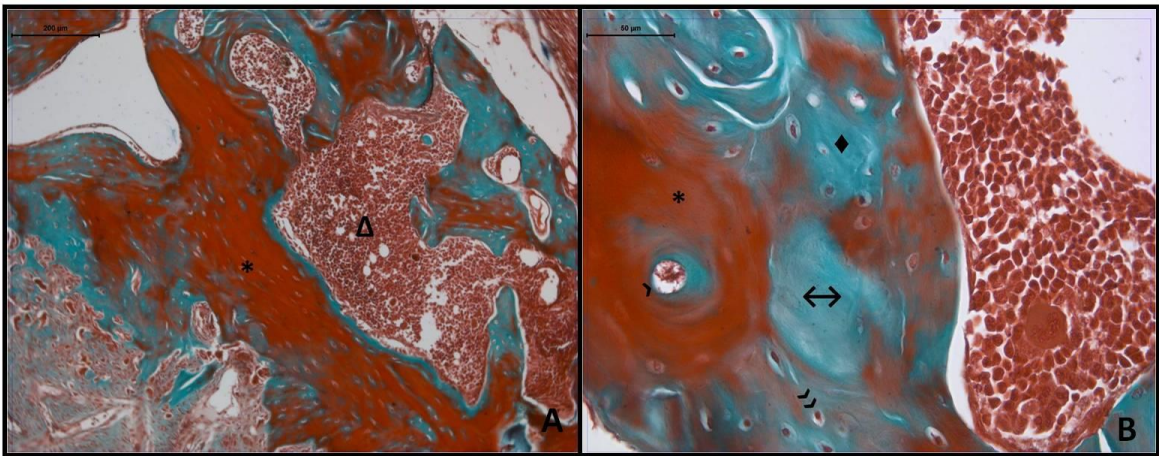
Lazer ve Mecsina' nın birlikte uygulandığı grupta hematoxilen eozin ve üçlü boyama sonucunda mineralize kemik matriksinin en yoğun olarak bu grupta izlendiği, granülasyon dokusunun varlığının ise mecsina uygulanan grup ile benzer olduğu görüldü. Ancak kollajen matriks yoğunluğunun varlığı, trabeküller üzerindeki osteoblastların yoğunluğu, vaskülogenez ve osteosit yoğunluğu da göz önüne alındığında; en rejeneratif grup olduğu sonucuna varıldı (Resim 4.10, 4.11 ve 4.12).



Resim 4.10. Mecsina ve lazer uygulamasının birlikte yapıldığı gruba ait resimlerde granülasyon dokusu (Δ) görülüyor (Hematoksilen Eozin x 100)

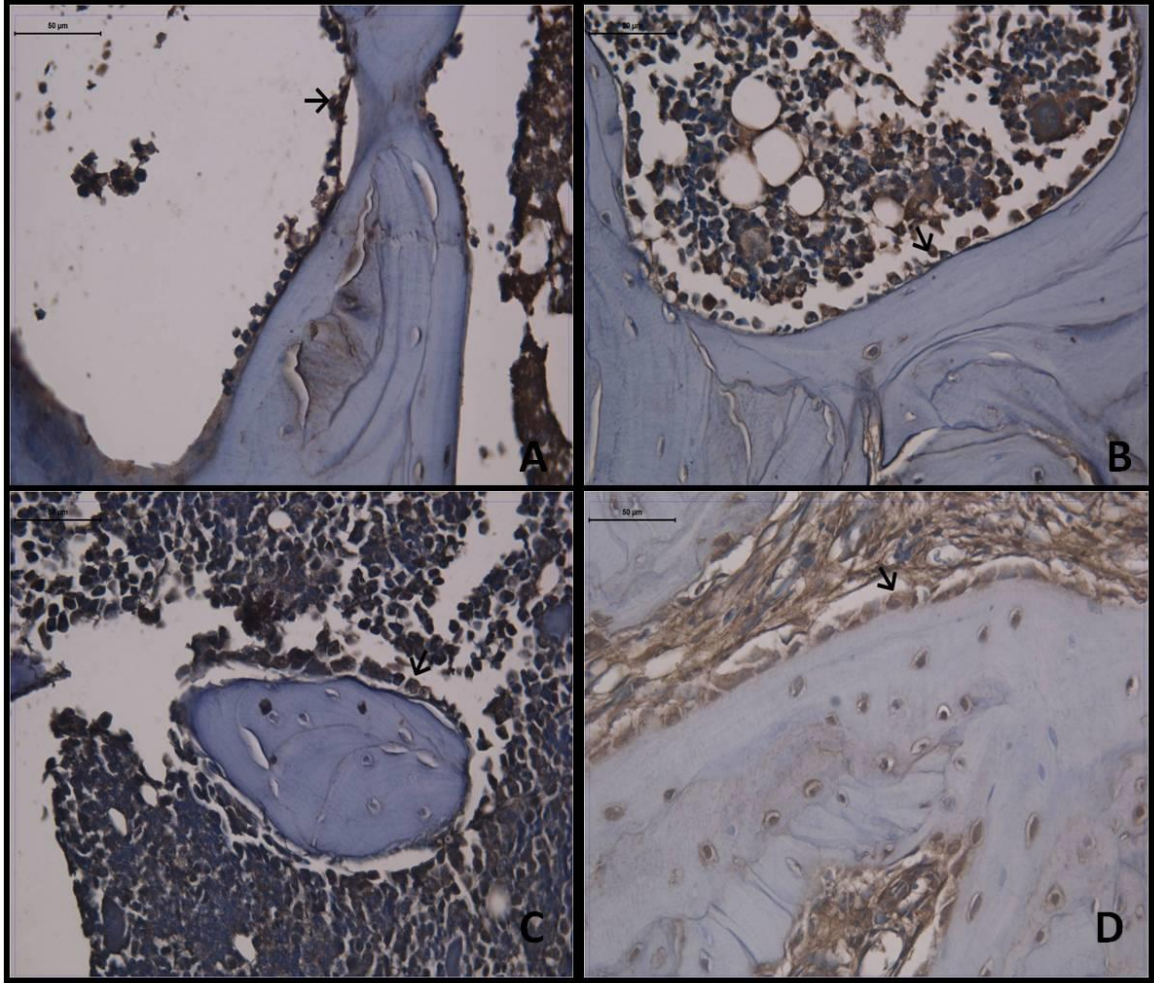


Resim 4.11. Mecsina ve lazer uygulamasının birlikte yapıldığı gruba ait resimde osteosit (>>), mineralize trabeküler kemik (<=>), kemik iliği (►) ve osteoblast (→) görülüyor (Hematoksilen Eozin x 400)



Resim 4.12. Mecsina ve lazer uygulamasının birlikte yapıldığı gruba ait resimlerde osteosit (>>), mineralize trabeküler kemik (<=>), kollajen matriks (♦), granülasyon dokusu (Δ), kan damarları ve vaskülogenez (>), kalsifiye kemik dokusu (*) görülüyor (A: Masson Trikrom x 100, B: Masson Trikrom x 400)

Kemik gelişimi ve kemiğin yeniden modellenmesinde çok yönlü bir rolü olan ve temel olarak osteoblastların ürünü olması nedeniyle osteoblastlara spesifik olan OPN (primer antikoru) ile yapılan immün boyamalarda; bu antikorun tüm gruplarda, yeni oluşan kemik trabekülleri üzerinde yerleşik osteoblastlar üzerinde ortadan kuvvetliye değişen immünreaksiyon gösterdiği izlendi (Resim 4.13).



Resim 4.13. Kontrol (A), lazer uygulaması (B), mecsina uygulaması (C), lazer ve mecsina uygulamalarının birlikte yapıldığı (D) gruplara ait OPN tutulumu gösteren osteoblastlar (→) görülüyor (OPN primer antikoru x 400)

4.2. İstatistiksel Bulgular

4.2.1. Dejenerasyon kriterleri istatistiği (ANOVA testi)

ANOVA testine tabi tutulan granülasyon dokusu yoğunluğu (GDY) (Şekil 4.1), kollajen matriks yoğunluğu (KMY) (Şekil 4.2), kan damarları ve vaskülogenez (KDV) (Şekil 4.3), mineralize trabeküler kemik (MTK) (Şekil 4.4), osteosit yoğunluğu (OSY) (Şekil 4.5), osteoblast yoğunluğu (OBY) (Şekil 4.6), kalsifiye kemik doku (KKD) (Şekil 4.7) miktarlarını ifade eden Dejenerasyon Kriterleri tablosunda tüm değişkenler için $p < 0.05$ çıkmıştır. Bu değer, gruplar arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

Çizelge 4.1. ANOVA testi

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
GDY	Between Groups	99,000	3	33,000	36,094	,000
	Within Groups	128,000	140	,914		
	Total	227,000	143			
KMY	Between Groups	72,000	3	24,000	22,703	,000
	Within Groups	148,000	140	1,057		
	Total	220,000	143			
KDV	Between Groups	108,000	3	36,000	43,448	,000
	Within Groups	116,000	140	,829		
	Total	224,000	143			
MTK	Between Groups	171,000	3	57,000	92,791	,000
	Within Groups	86,000	140	,614		
	Total	257,000	143			
OSY	Between Groups	36,000	3	12,000	11,053	,000
	Within Groups	152,000	140	1,086		
	Total	188,000	143			
OBY	Between Groups	99,000	3	33,000	35,000	,000
	Within Groups	132,000	140	,943		
	Total	231,000	143			
KKD	Between Groups	99,000	3	33,000	36,094	,000
	Within Groups	128,000	140	,914		

Çizelge 4.1. ANOVA testi

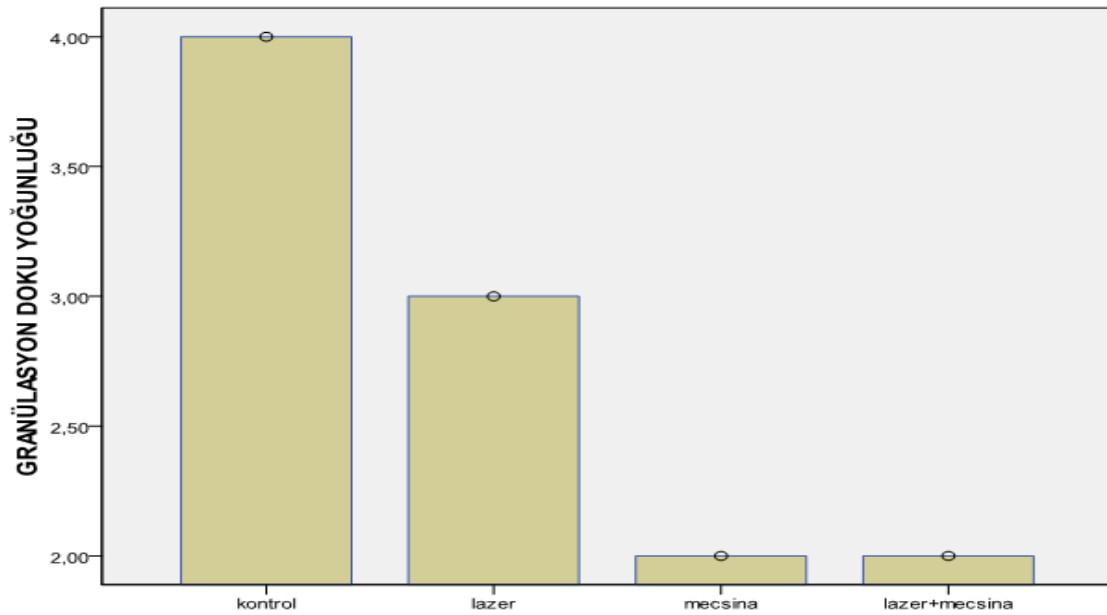
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
GDY	Between Groups	99,000	3	33,000	36,094	,000
	Within Groups	128,000	140	,914		
	Total	227,000	143			
KMY	Between Groups	72,000	3	24,000	22,703	,000
	Within Groups	148,000	140	1,057		
	Total	220,000	143			
KDV	Between Groups	108,000	3	36,000	43,448	,000
	Within Groups	116,000	140	,829		
	Total	224,000	143			
MTK	Between Groups	171,000	3	57,000	92,791	,000
	Within Groups	86,000	140	,614		
	Total	257,000	143			
OSY	Between Groups	36,000	3	12,000	11,053	,000
	Within Groups	152,000	140	1,086		
	Total	188,000	143			
OBY	Between Groups	99,000	3	33,000	35,000	,000
	Within Groups	132,000	140	,943		
	Total	231,000	143			
KKD	Between Groups	99,000	3	33,000	36,094	,000
	Within Groups	128,000	140	,914		
	Total	227,000	143			

Gruplar arasında fark olduğu için varyansların homojenliği testi tablosundaki p değeri incelenir. $p > 0,05$ ise varyanslar homojen dağılmıştır, $p < 0,05$ ise varyanslar homojen dağılmamıştır.

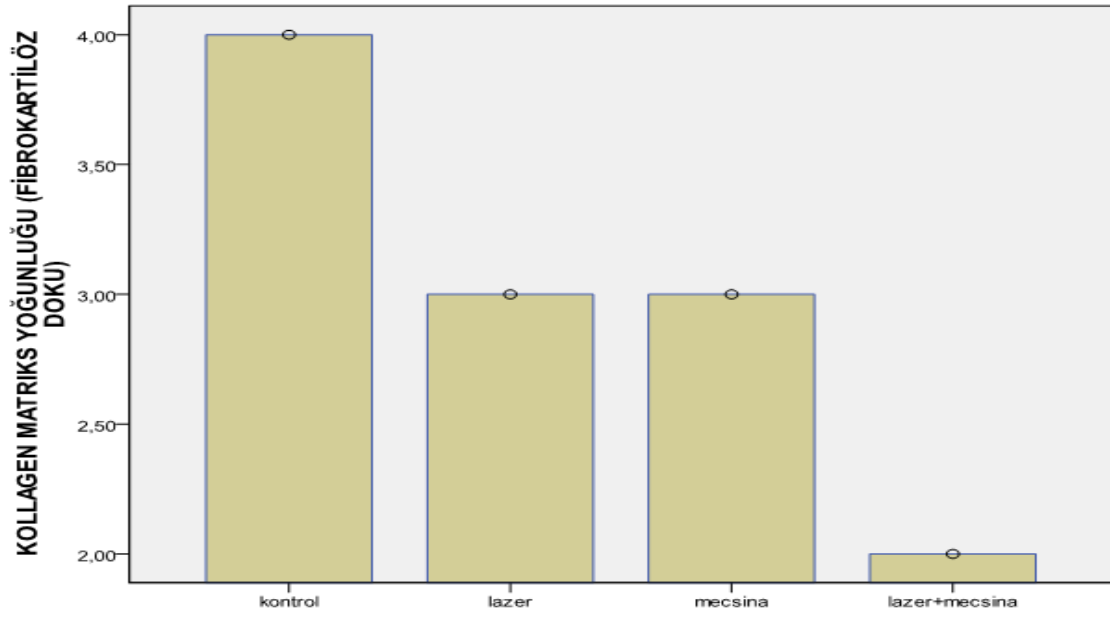
Çizelge 4.2. Varyansların homojenliği

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
GDY	,596	3	140	,619
KMY	,554	3	140	,647
KDV	,089	3	140	,966
MTK	19,338	3	140	,000
OSY	,322	3	140	,810
OBY	,461	3	140	,710
KKD	,596	3	140	,619

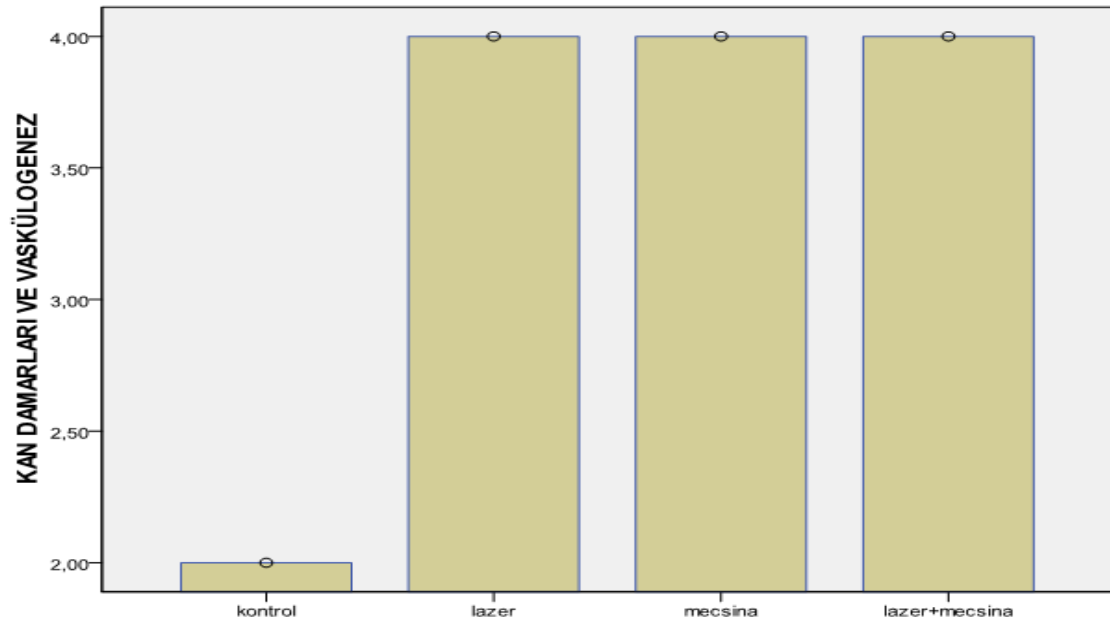
Tabloya bakıldığında MTK değişkeni dışında tüm değişkenlerde $p>0.05$ olduğundan varyanslar homojen dağılmıştır (Çizelge 4.2). Gruplar arası farklılığı yaratan grubu bulmak için Bonferroni düzeltmesi kullanılmıştır.



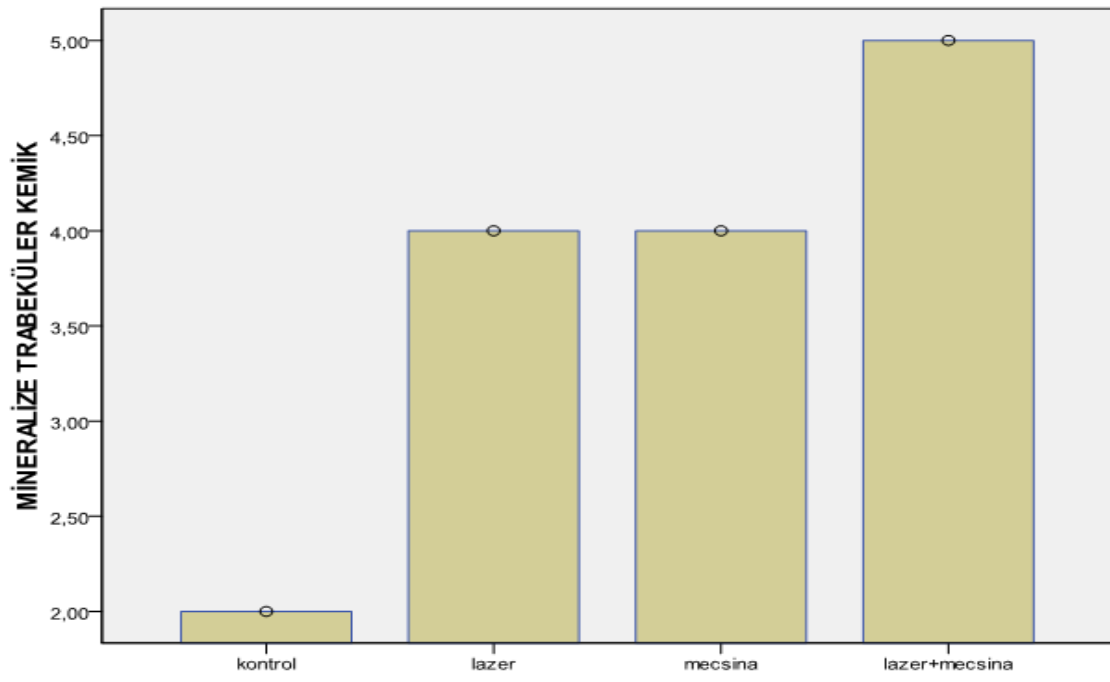
Şekil 4.1. Granülasyon Doku Yoğunluğu grafiği



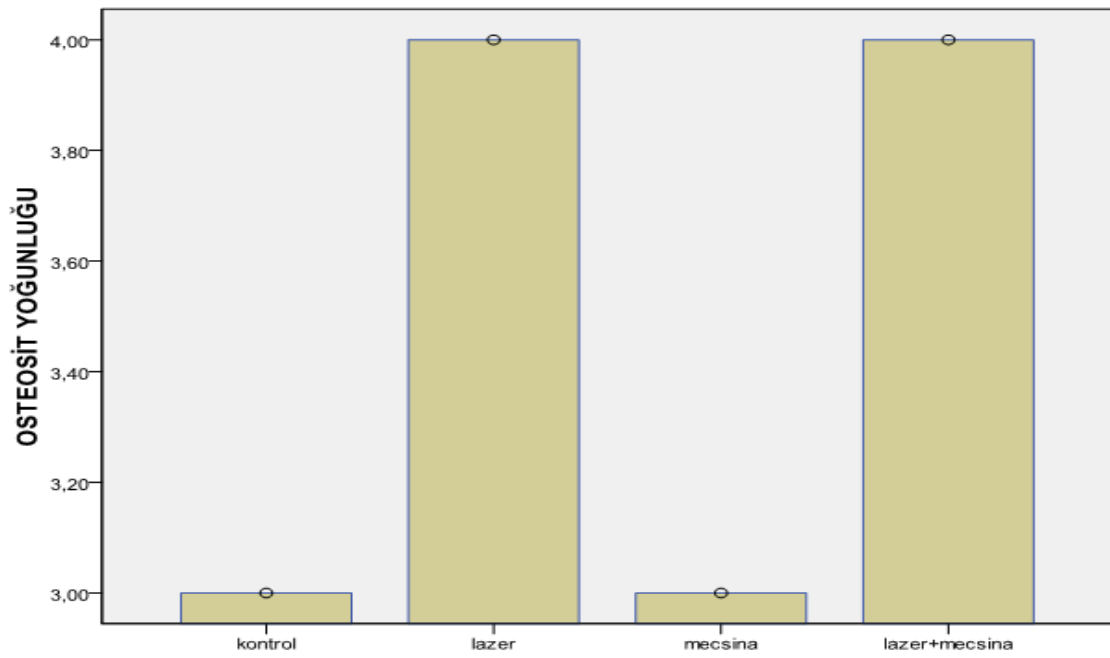
Şekil 4.2. Kollajen Matriks Yoğunluğu (Fibrokartilöz Doku) grafiği



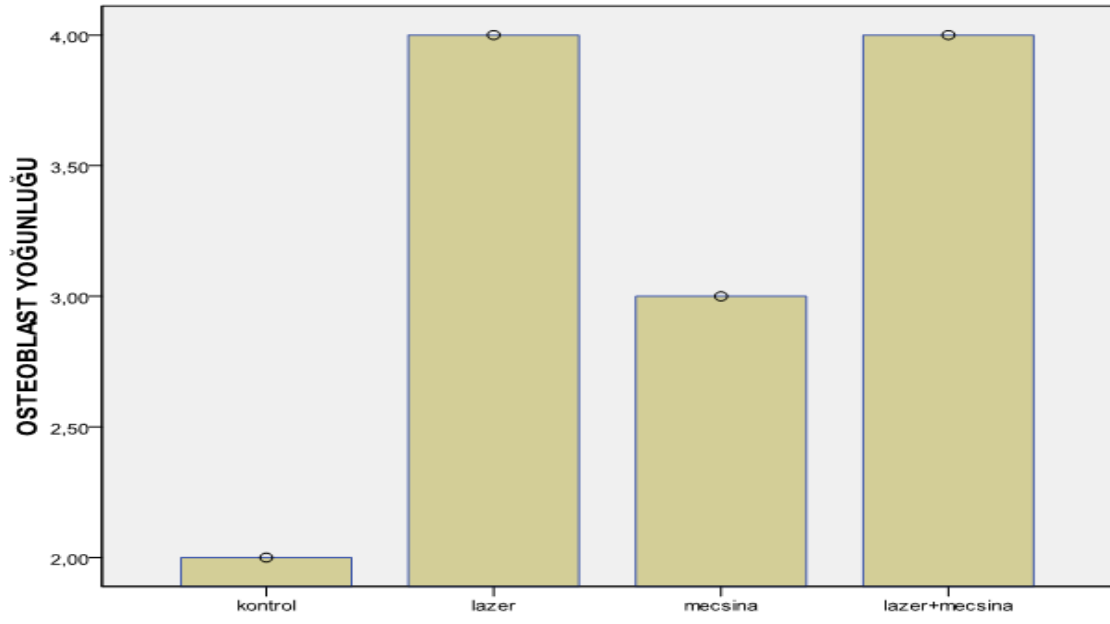
Şekil 4.3. Kan Damarları ve Vaskülojeniz grafiği



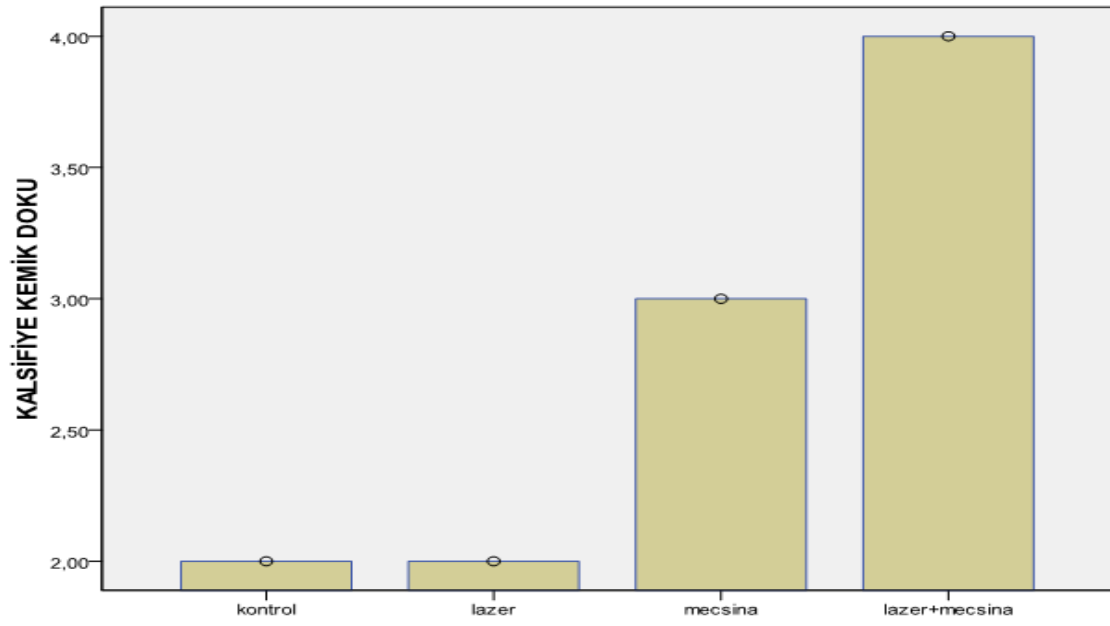
Şekil 4.4. Mineralize Trabeküler Kemik grafiği



Şekil 4.5. Osteosit Yoğunluğu grafiği



Şekil 4.6. Osteoblast Yoğunluğu grafiği



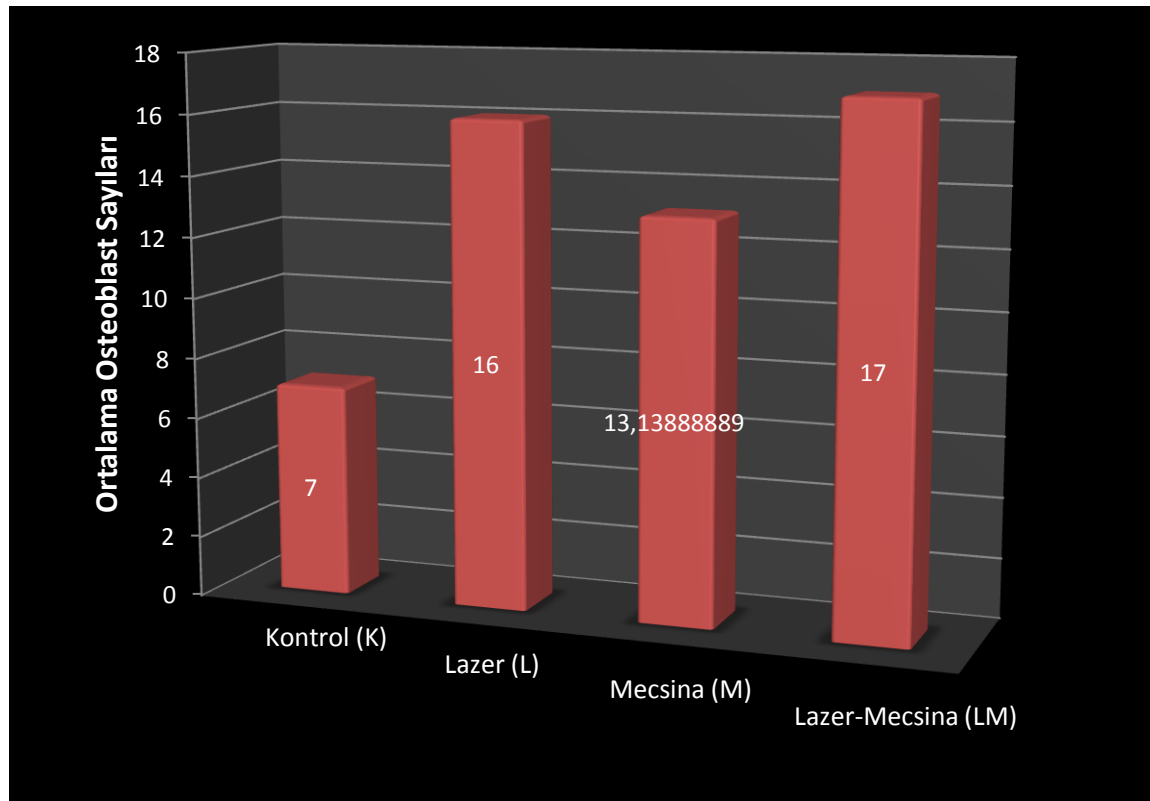
Şekil 4.7. Kalsifiye Kemik Doku grafiği

4.2.2. OPN istatistiği (Kruskal Wallis testi)

Shapiro Wilk testiyle p değeri 0,002 olarak hesaplanmıştır. p değeri 0,05 'in altında olduğu için Kruskal Wallis testi uygulanmış (Çizelge 4.3) ve grupların ortalama değerleri bulunmuştur (Şekil 4.8).

Çizelge 4.3. Kruskal Wallis testi ile sıra toplamaları

Gruplar	N	Sıralama Değerleri Ortalaması
Kontrol	6	3,50
Lazer	6	16,00
Mecsina	6	9,50
Lazer-Mecsina	6	21,00
Toplam	24	

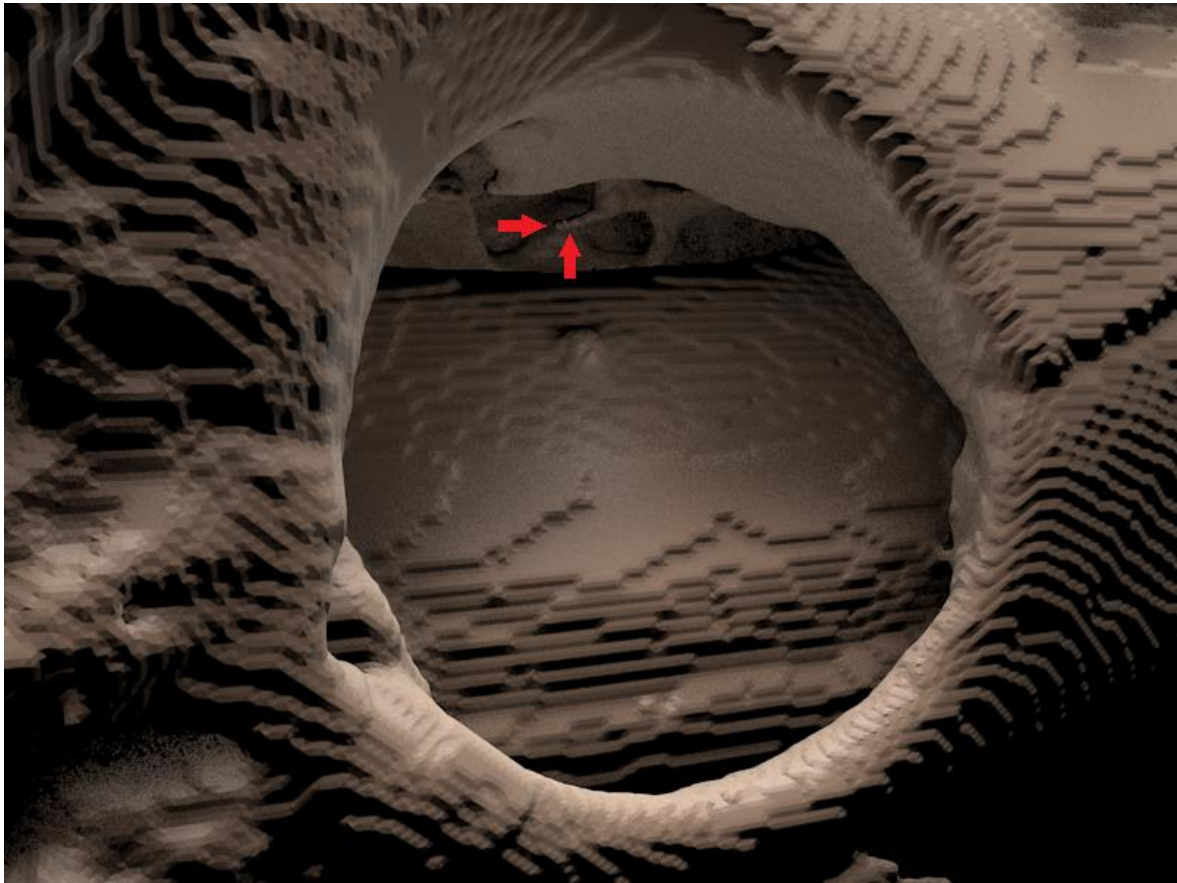


Şekil 4.8. Ortalama osteoblast sayıları grafiği

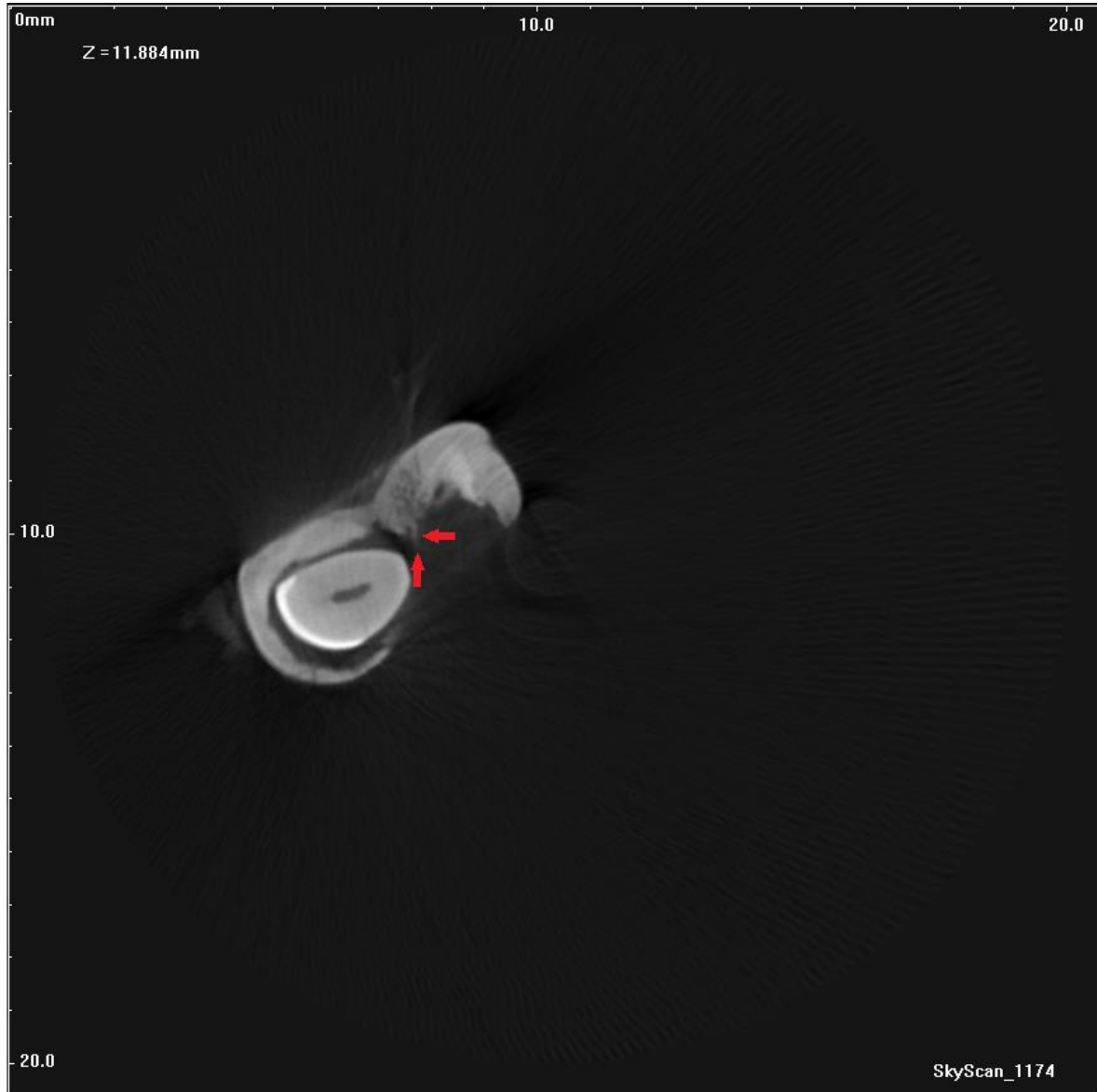
4.3. Morfolojik Bulgular

4.3.1. Kontrol grubu (K)

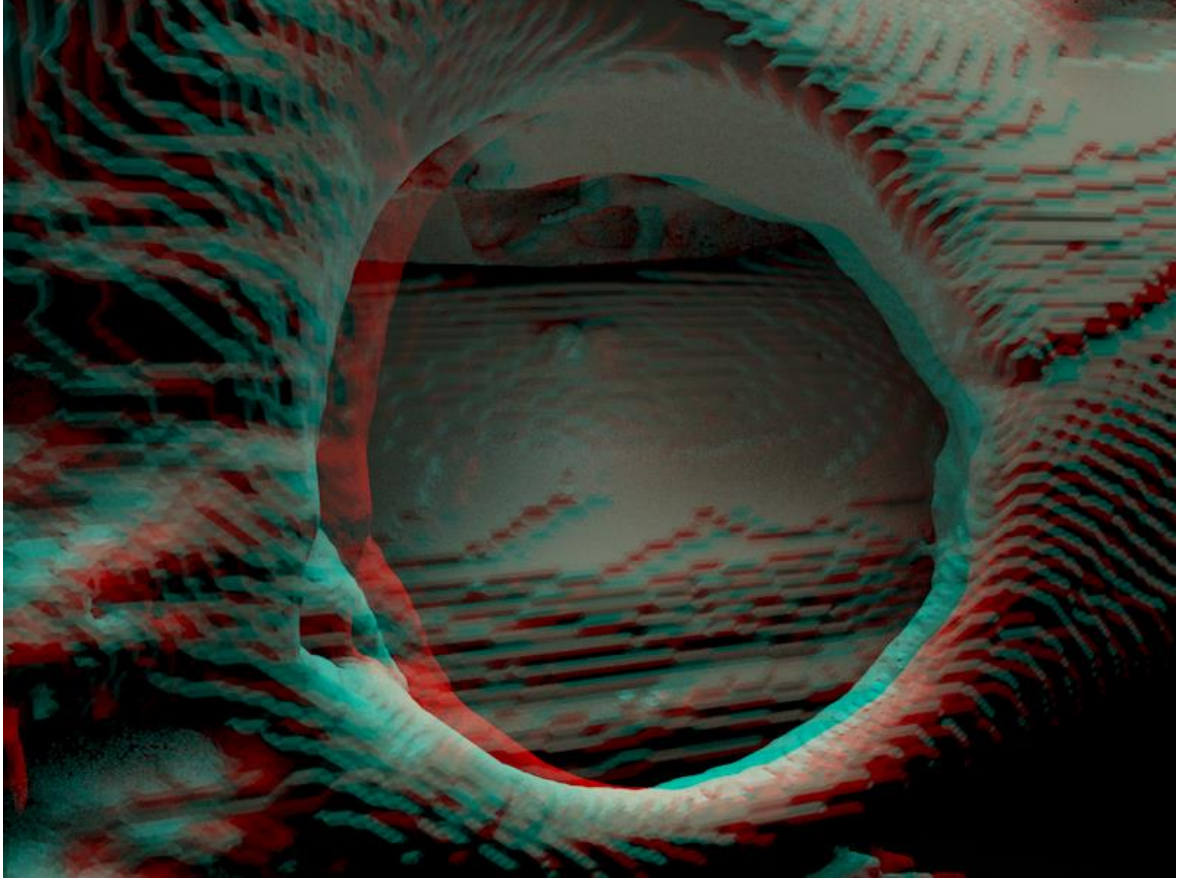
Kontrol grubu incelendiğinde, defekt alanına ait küresel kavitasyon görüntüsü ve kaviteye komşu anterior diş kökü belirgin şekilde görülmektedir. Üç boyutlu model görüntüsü ve radyografik kesitler incelendiğinde, kalsifiye kemik oluşumu olarak sadece kavitenin medialinde yer alan az sayıda kalsifiye kemik spikülü (Resim 4.14, Resim 4.15, Resim 4.16) izlenmektedir. Morfolojik inceleme, histolojik inceleme bulgularıyla uyumludur.



Resim 4.14. Ok işaretleriyle gösterilen kemik spikülü



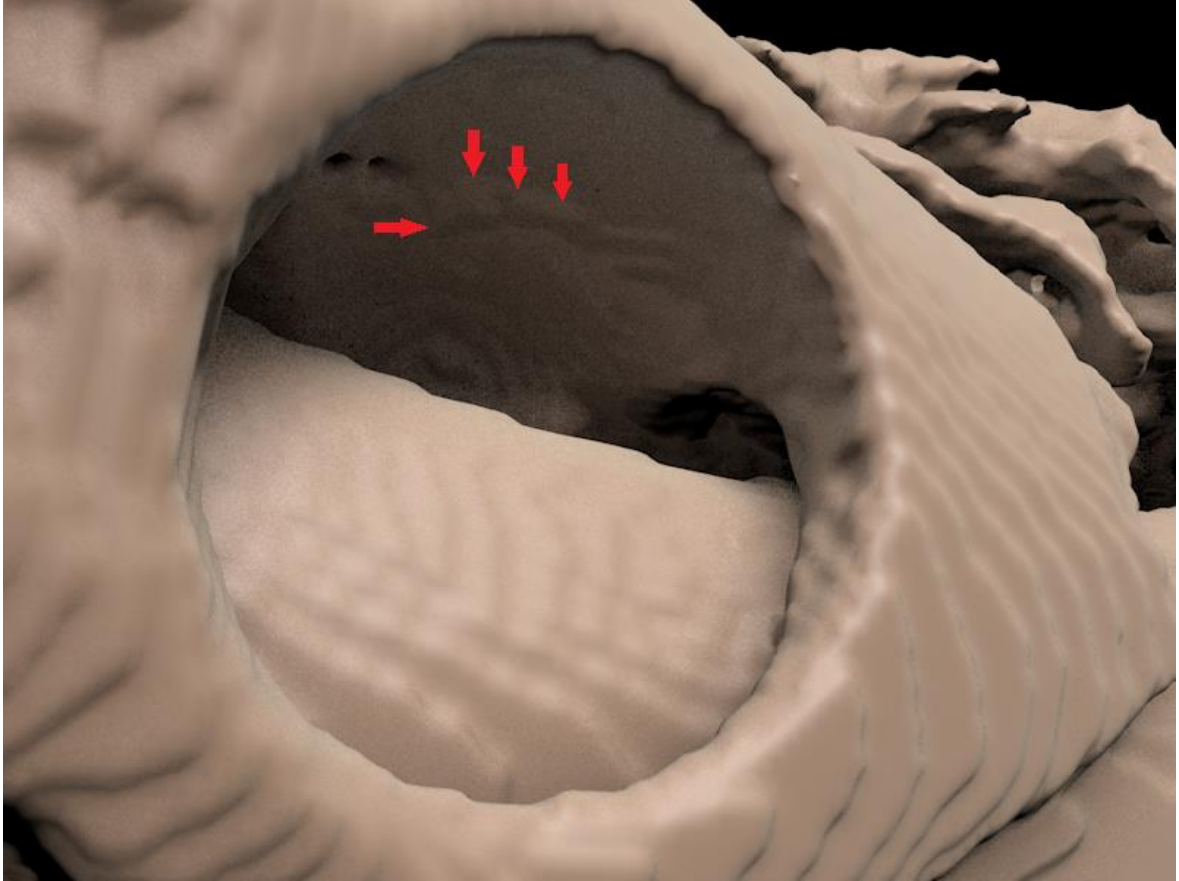
Resim 4.15. Ok işaretleriyle gösterilen kemik spikülü



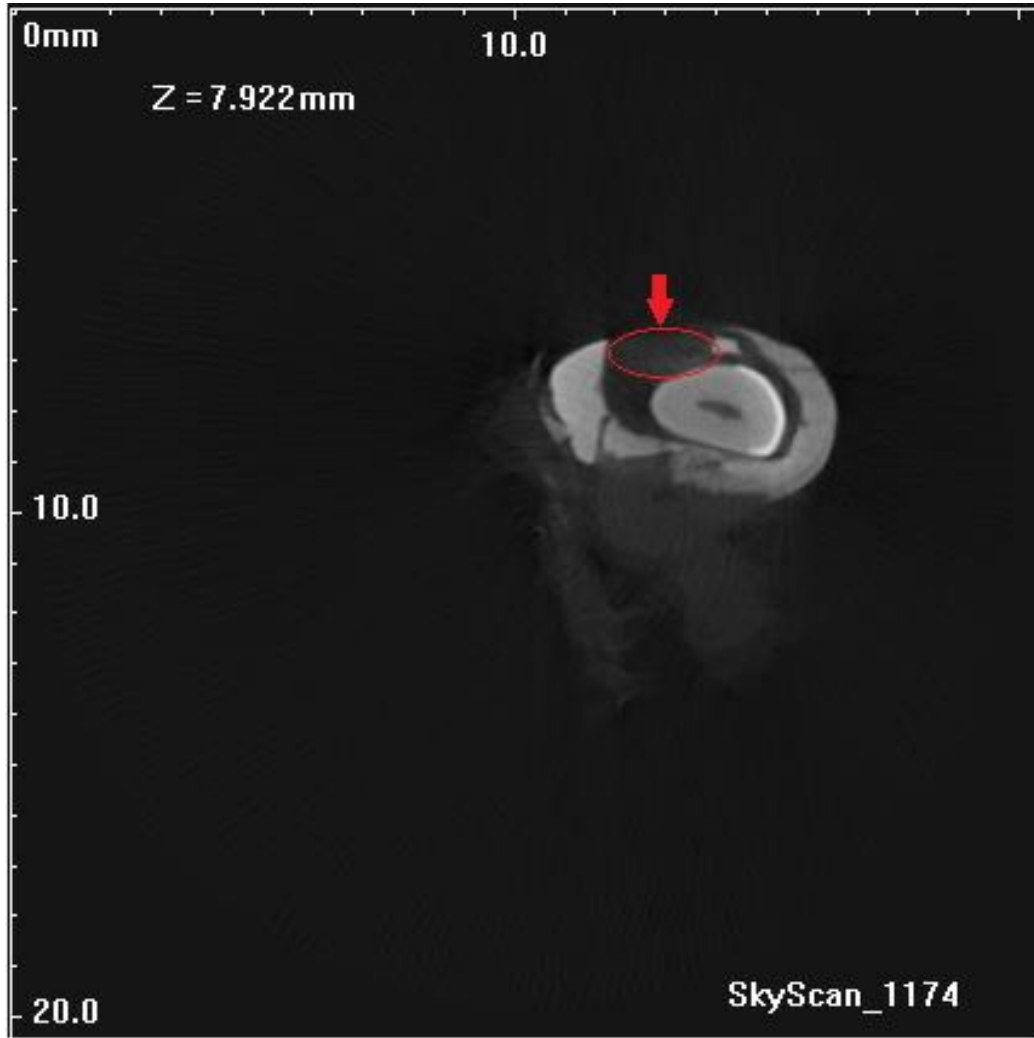
4.16. Kontrol grubunun geçirgen olmayan üç boyutlu stereoskopik modeli (Kırmızı-mavi üç boyutlu gözlükle bakılmalıdır)

4.3.2. Lazer grubu (L)

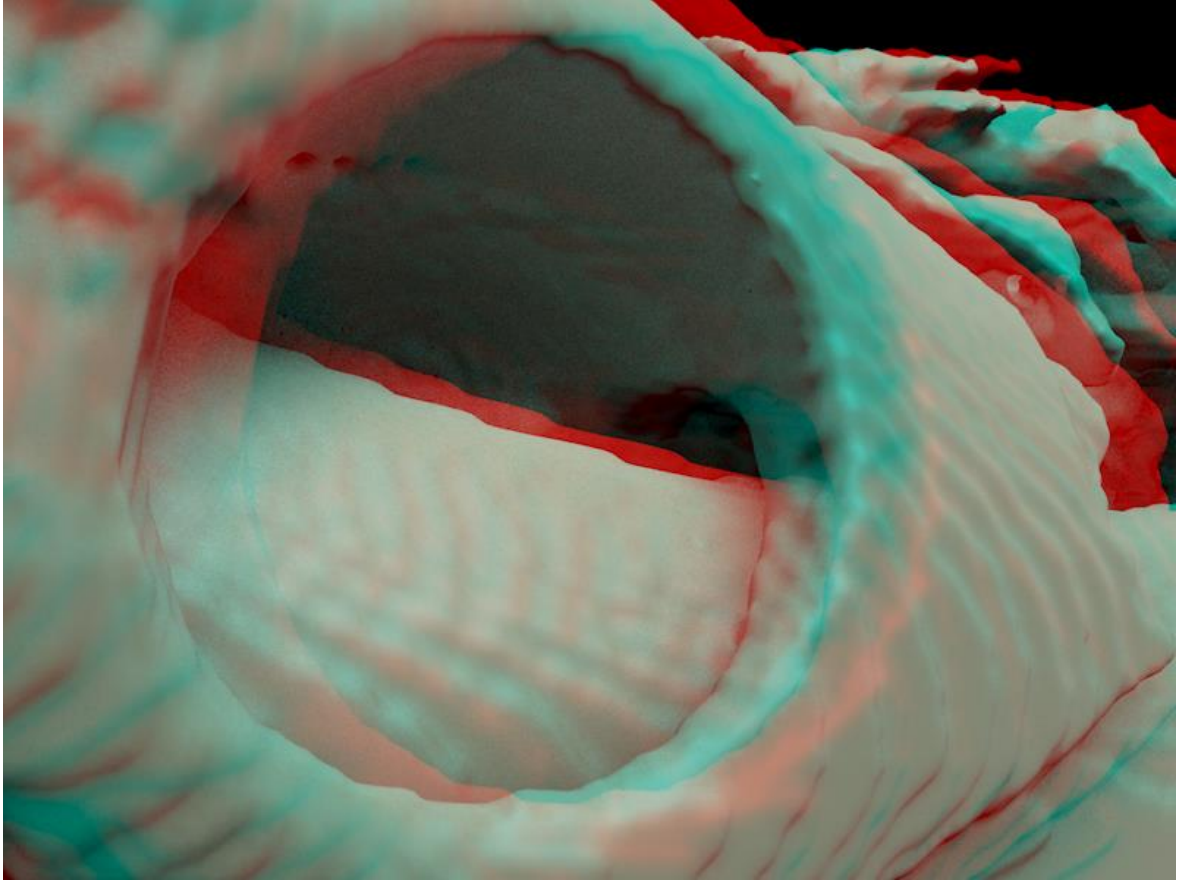
Lazer grubu incelendiğinde, defekt alanına ait küresel kavitasyon görüntüsü ve kaviteye komşu anterior diş kökü belirgin şekilde görülmektedir. Üç boyutlu model görüntüsü incelendiğinde defekt alanındaki kalsifiye kemik oluşumu trabeküler bir yapı göstermemekte fakat kavitenin superior medialinde hafif kabartılı katmansal yapılara (Resim 4.17, Resim 4.19) rastlanmaktadır. Radyografik kesitlerde kavite içerisinde kalsifiye olmamış kemik yapısı hafifçe radyopak olarak izlenmektedir (Resim 4.18). Morfolojik inceleme, histolojik inceleme bulgularıyla uyumludur.



Resim 4.17. Ok işaretleriyle gösterilen kemik kabartıları



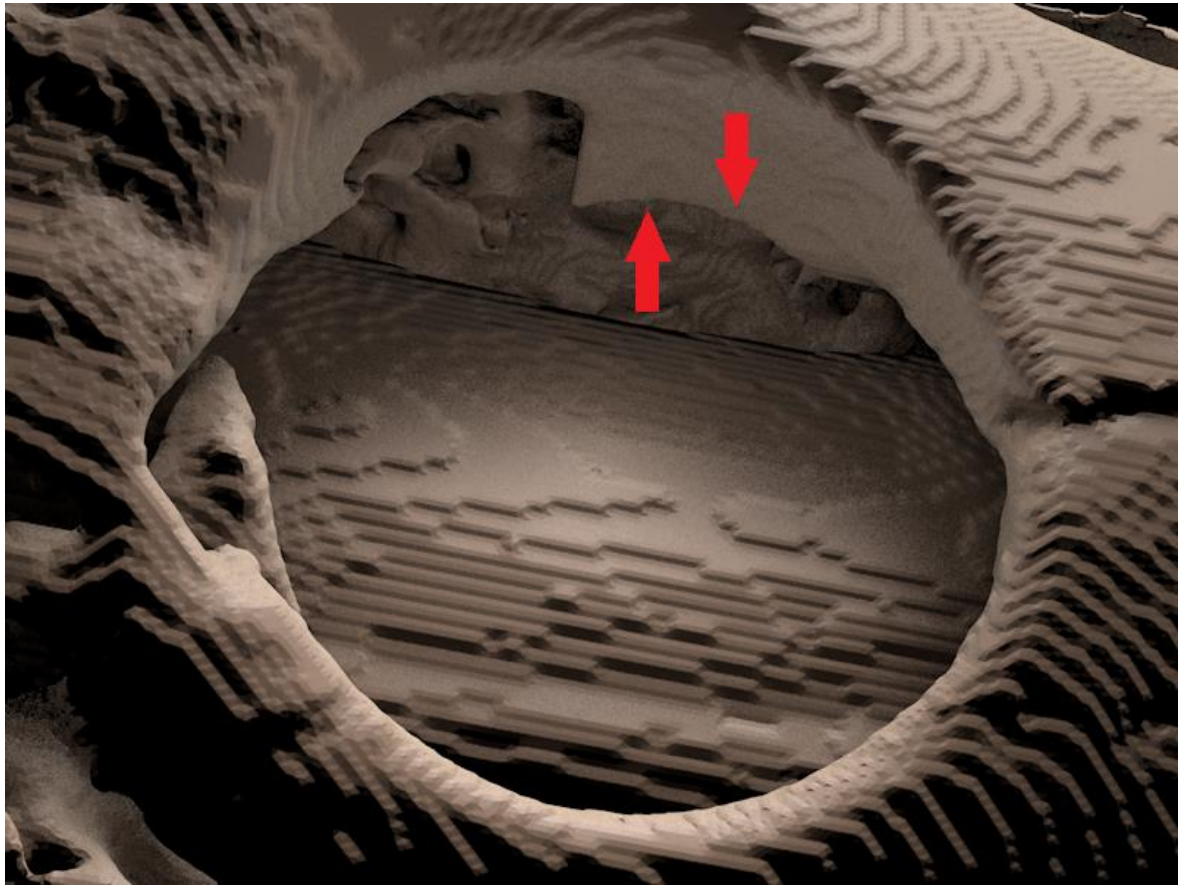
Resim 4.18. Daire içerisinde gösterilen kalsifiye olmamış yeni kemik yapısı oluşumu



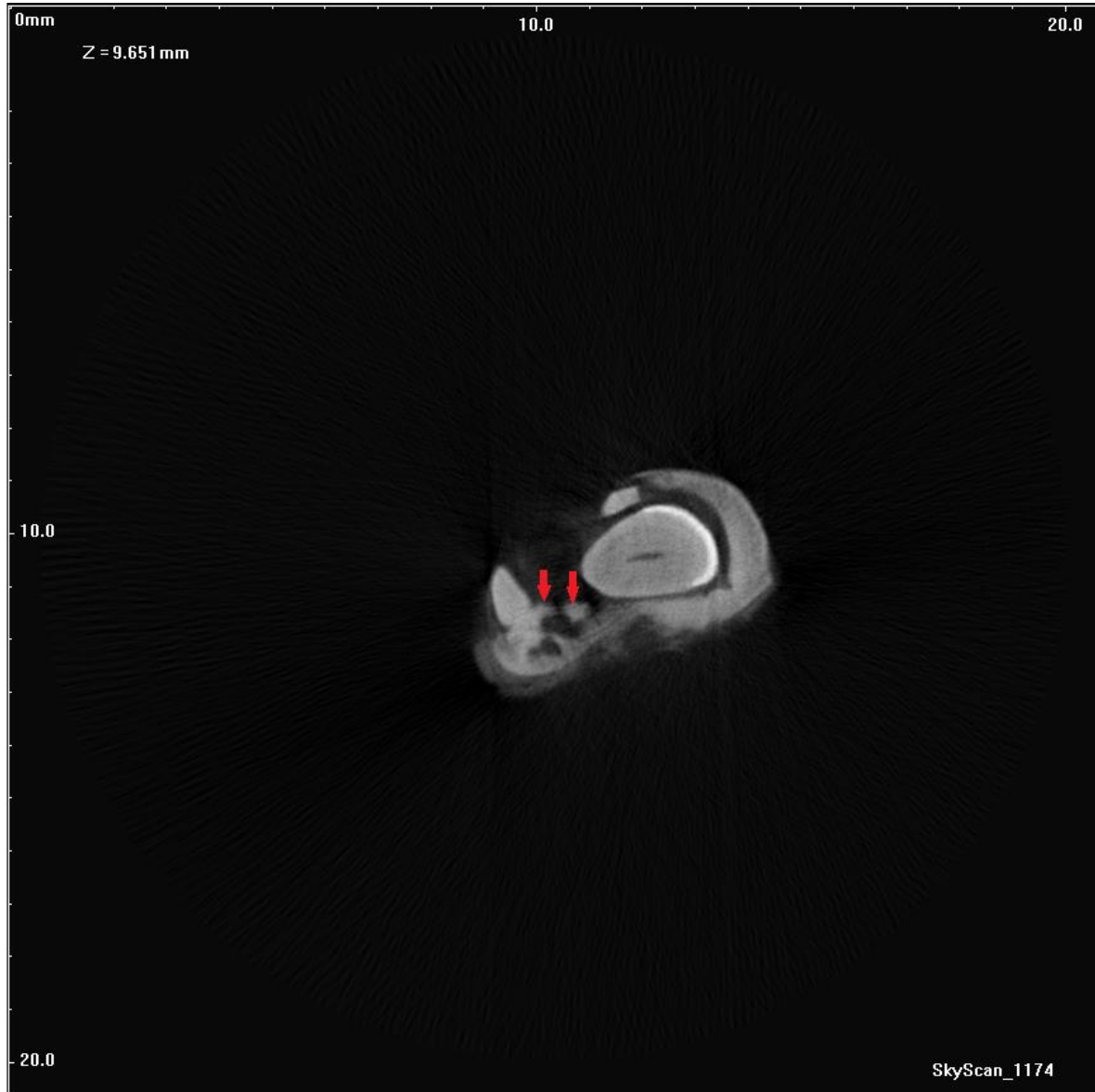
Resim 4.19. Lazer grubunun geçirgen olmayan üç boyutlu stereoskopik modeli (Kırmızı-mavi üç boyutlu gözlükle bakılmalıdır)

4.3.3. Mecsina grubu (M)

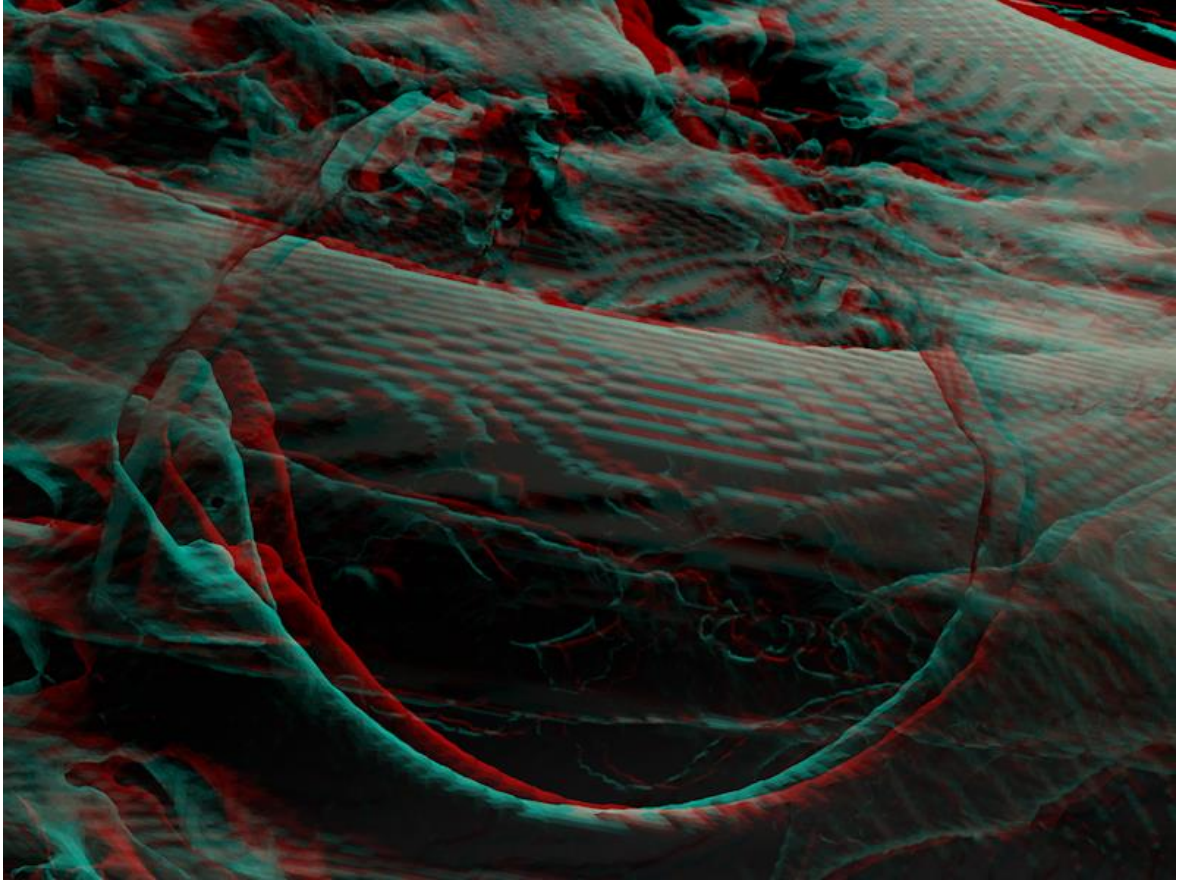
Mecsina grubu incelendiğinde, defekt alanına ait küresel kavitasyon görüntüsü ve kaviteye komşu anterior diş kökü belirgin şekilde görülmektedir. Üç boyutlu model görüntüsü ve radyografik kesitler incelendiğinde birleşen trabeküler kalsifiye kemik yapılarının oluşumuyla kavitenin sığlaşmış olduğu (Resim 4.20, Resim 4.21, Resim 4.22) açıkça görülmektedir. Morfolojik inceleme, histolojik inceleme bulgularıyla uyumludur.



Resim 4.20. Ok işaretleriyle gösterilen sığlaşmış kavite yapısı



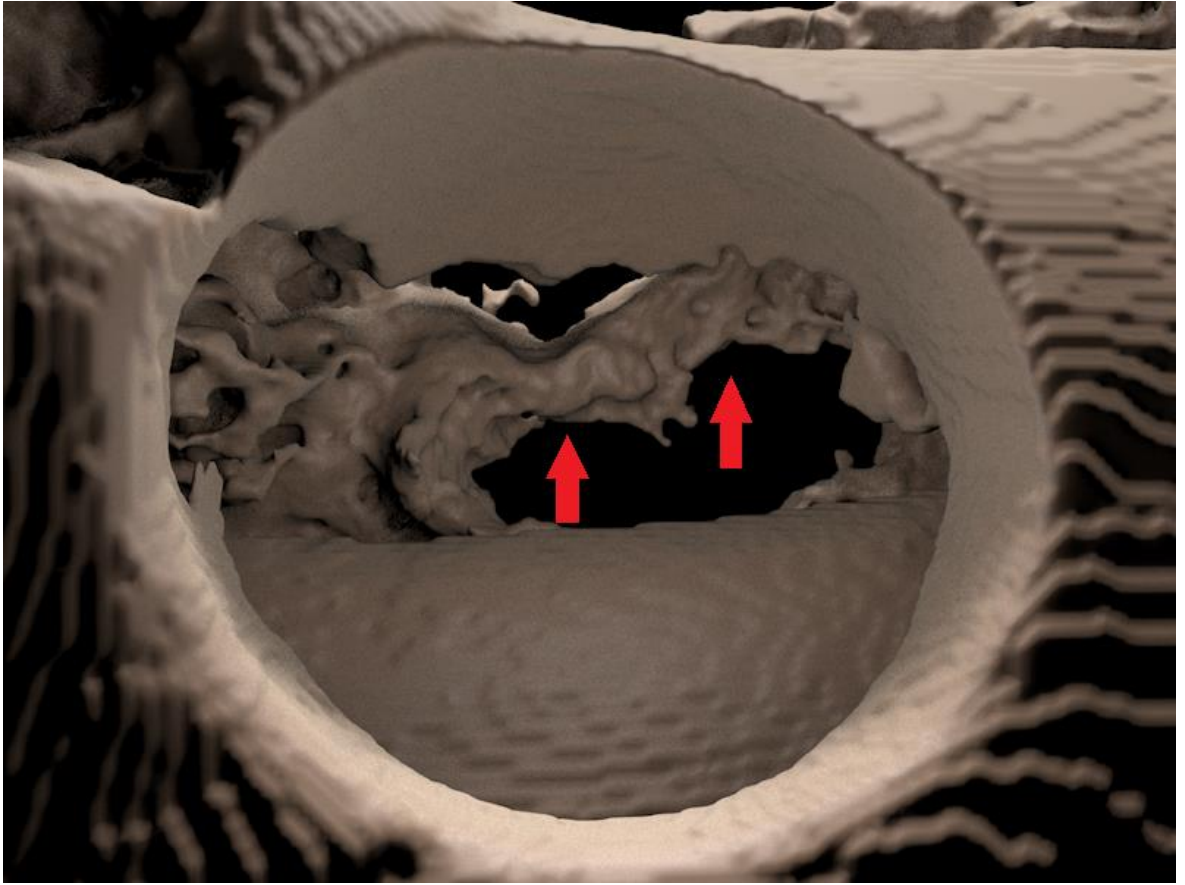
Resim 4.21. Ok işaretleriyle gösterilen birleşmiş trabeküler kalsifiye kemik yapıları



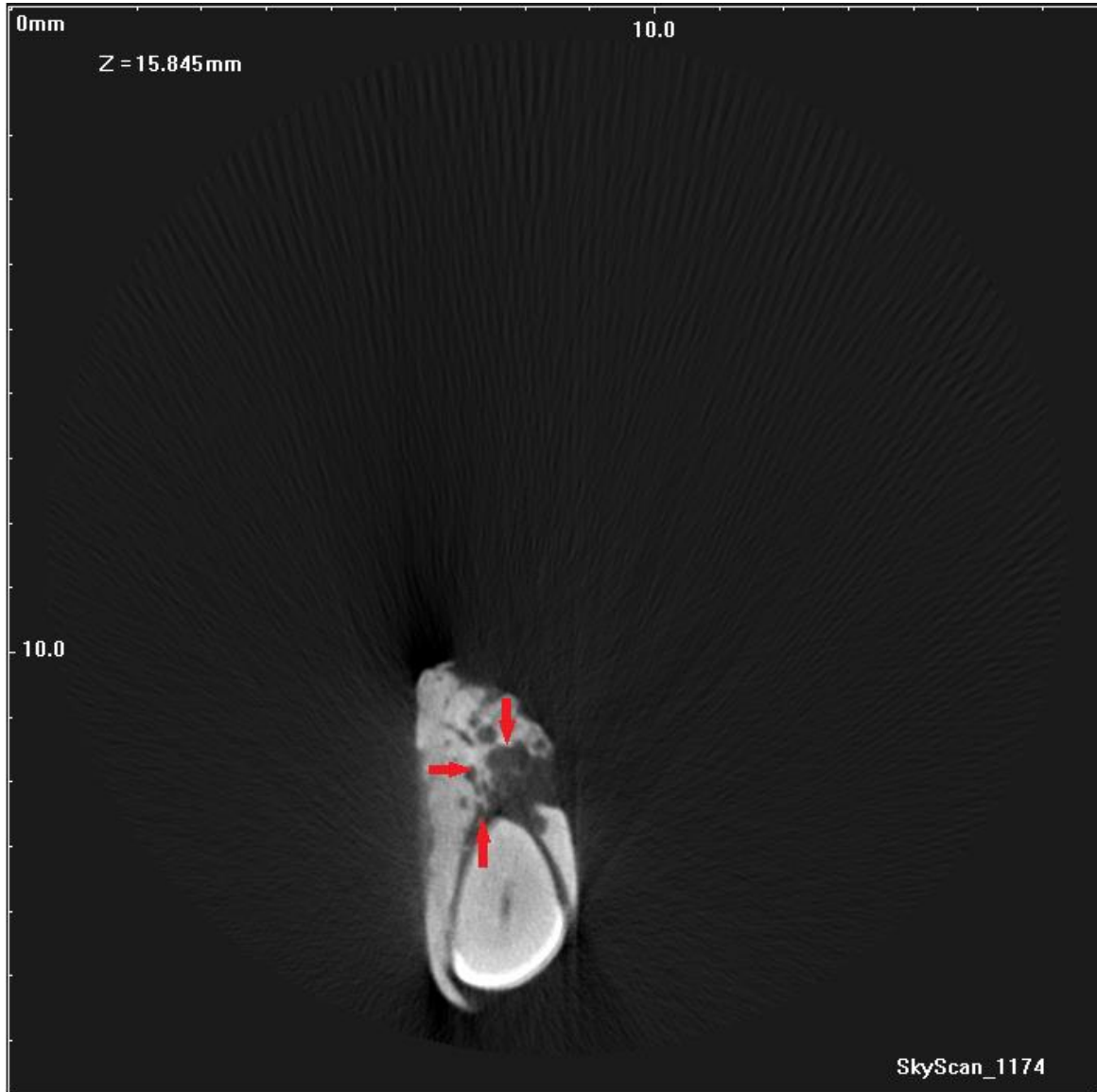
Resim 4.22. Mecsina grubunun geçirgen olan üç boyutlu stereoskopik modeli (Kırmızı-mavi üç boyutlu gözlükle bakılmalıdır)

4.3.4. Lazer-Mecsina grubu (LM)

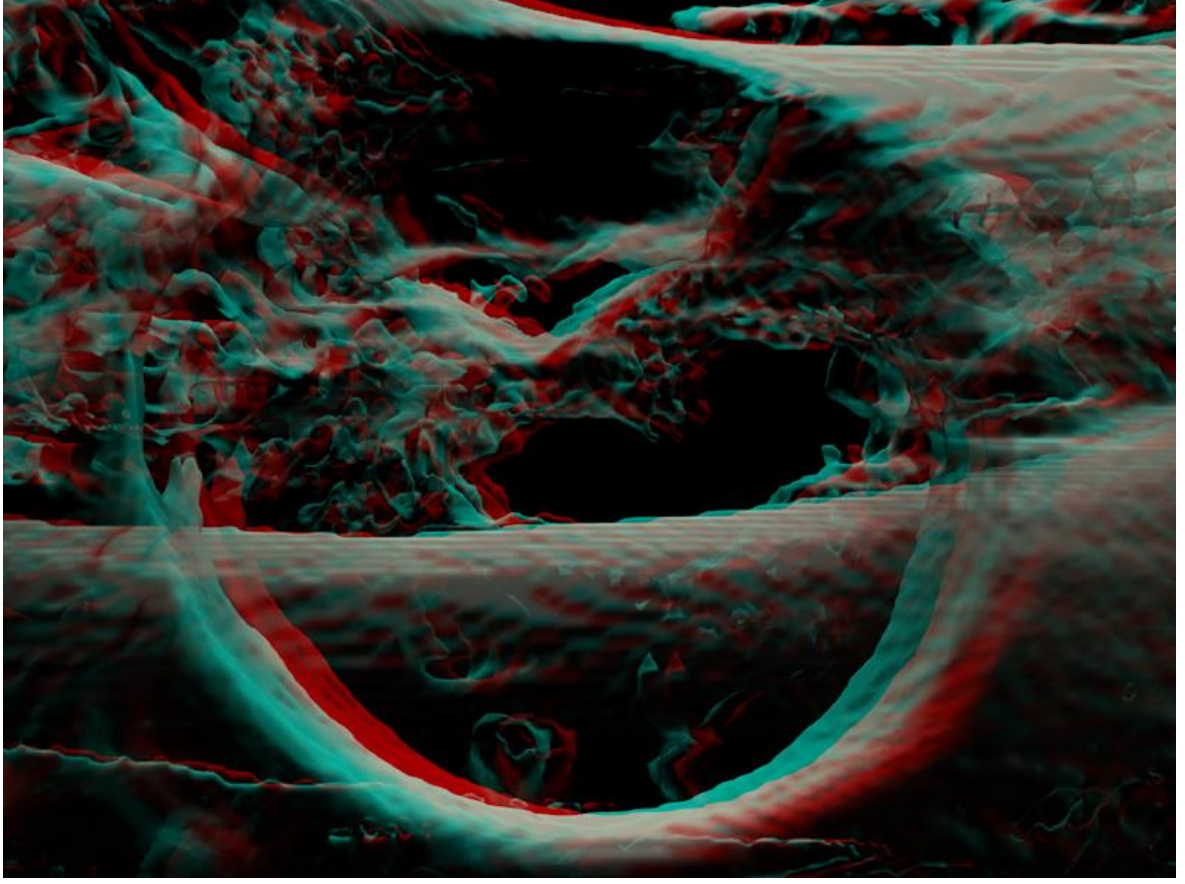
Lazer-Mecsina grubu incelendiğinde, defekt alanına ait küresel kavitasyon görüntüsü ve kaviteye komşu anterior diş kökü belirgin şekilde görülmektedir. Üç boyutlu model görüntüsü ve radyografik kesitler incelendiğinde yaygın olarak birleşen trabeküler kalsifiye kemik yapılarının oluşumuyla kavitenin diğer gruplara kıyasla daha da sığlaşmış olduğu (Resim 4.23, Resim 4.24, Resim 4.25) açıkça görülmektedir. Morfolojik inceleme, histolojik inceleme bulgularıyla uyumludur.



Resim 4.23. Ok işaretleriyle gösterilen yaygın trabeküler kalsifiye kemik yapıları



Resim 4.23. Ok işaretleriyle gösterilen yaygın birleşmiş trabeküler kalsifiye kemik yapıları



Resim 4.22. Lazer-Mecsina grubunun geçirgen olan üç boyutlu stereoskopik modeli (Kırmızı-mavi üç boyutlu gözlükle bakılmalıdır)

5. TARTIŞMA

Sert doku üzerine yapılan girişimsel işlemler işlemler oral ve maksillofasiyal cerrahi rutininin büyük bir bölümünü oluşturur. Diş çekimi, implant uygulamaları, kemik rekonstrüksiyon işlemleri, ortognatik cerrahi prosedürleri, maksillofasiyal travmatoloji, tümör eksizyonları gibi kemiği ilgilendiren birçok durumda kemik iyileşmesinin önemi ön plana çıkmaktadır. Kemik dokusu üzerinde yara meydana gelmesini takiben ilgili bölgede kan pıhtısı oluşumu ile iyileşme süreci başlar. İyileşme sürecinin erken evrelerinde granülasyon dokusu meydana gelir. İlerleyen zamanlarda kademeli olarak yeni kemik oluşumu gözlenir. İyileşme sürecinin tamamı 4-6 ay arasında tamamlanmakta ve sonraki dönemlerde kemik remodelizasyonu gerçekleşmektedir [145].

Ağız ortamı sürekli olarak mekanik ve kimyasal etkilere maruz kalmaktadır. Bu durum, ağız ortamındaki yumuşak ve sert dokuların iyileşme sürecini etkilemektedir. Genel kural olarak bir yaranın sorunsuz bir şekilde iyileşmesi için o bölge mekanik ve kimyasal travmalardan uzak tutulmalıdır. Hastalara, ağız dokularında yapılan herhangi bir cerrahi işlem sonrasında beslenmeyle ilgili bazı kısıtlanmalar getirilebilmektedir. Yara iyileşmesinin sağlıklı bir şekilde gerçekleşmesi için zorunlu olarak yapılan bu kısıtlamalar hastaların belli bir süre zarfında yaşam kalitelerinin düşmesine sebep olabilir. Bu açıdan yara iyileşmesinin hızı büyük önem arz etmektedir.

Kemik iyileşmesini stimule etmek amacıyla birçok çalışma yapılmış ve farklı yöntemler kullanılmıştır. Bu amaçla; tedavi yöntemi olarak otojen greftler, allojen greftler, büyüme faktörleri, polimerik membranlar, emdogain, plateletten elde edilen plazma ve fibrin türevleri, düşük enerji seviyeli lazer uygulamaları, ultrason, elektromanyetik terapiler gibi yöntemler denenmiştir [18,145].

Düşük enerji seviyeli lazerlerin kemik iyileşmesi üzerinde kullanımı günümüzde oldukça popüler hale gelmiştir. Lazerlerin kemik iyileşmesi üzerine olumlu etkilerinin bilinmesine rağmen hangi enerji düzeylerinde kullanılması gerektiği konusunda tartışmalar halen sürmektedir. Çırak (2013)'ın ratlarda üzerinde yapmış olduğu He-Ne ve GaAlAs lazerleri karşılaştıran doz çalışmasına göre; GaAlAs lazerin 10 J/cm^2 enerji düzeyinde uygulanması

kemik iyileşmesinde en başarılı etkiyi göstermiştir. Çalışmamızda da bu bulguya dayanarak GaAlAs lazer 10 J/cm^2 dozunda olacak şekilde uygulanması tercih edilmiştir [144].

Çalışmamızda ratların diastema bölgeleri komplikasyon ihtimali düşük olduğu için operasyon alanı olarak belirlenmiştir. Ağız içinde yapılacak cerrahi girişim göz önüne alındığında, mandibula büyüklüğü ve ulaşılabilirliği açısından Long Evans cinsi ratlar denek olarak seçilmiştir. Mandibula maksillaya oranla daha kortikal yapıya sahip olduğu için inceleme açısından daha belirgin sonuçlar görülebilmesi ön görülmüştür. Kullanılan çelik frez ise sert dokuyu ilgilendiren birçok cerrahi operasyonlarda rutin kullanılan ostektomi enstrumanıdır.

Yapılan çalışmalar karşılaştırıldığında ratların kemik iyileşme süreci insanlardakine benzer nitelikte fakat iyileşmenin daha hızlı olduğu görülmüştür [146]. Bu nedenle çalışmamızda deneysel model olarak ratlar tercih edilmiştir.

Ratlarda yapılan diş çekimi çalışmalarında yara iyileşmesi sürecinin 3-6 hafta arasında tamamlandığı bildirilmektedir [147,148]. Kıyaslanabilir kemik iyileşmesi değerlendirilmesi yapılabilmesi amacıyla deneklere 30. günde sakrifikasyon yapılması planlanmıştır.

Nagasawa ve diğerlerinin (1991) diş çekimi sonrasında hastalara $0.64\text{-}2.56 \text{ W/cm}^2$ gücünde GaAlAs lazeri 5 dk boyunca uyguladıkları ve lazer uygulanmayan kontrol grubu ile karşılaştırdıkları klinik çalışmanın radyolojik inceleme lazer grubunun kontrol grubuna göre alveolar kemik iyileşmesi arttırdığı görülmüştür [149]. Çalışmamızdaki lazer gruplarında da benzer sonuçlar olduğu görülmektedir.

Saito ve diğerlerinin (1997) ratlarda midpalatal sutur genişletmesi esnasında 7 gün boyunca uyguladıkları GaAlAs lazer tedavisinin kemik iyileşmesi üzerinde kontrol grubuna kıyasla daha hızlı bir kemikleşme olduğu görülmüştür [17]. Çalışmamızda da bu çalışmaya paralel olarak 7 gün süreyle lazer uygulaması yapılmış ve bu çalışmayı destekleyen sonuçlar bulunmuştur.

Guzardella ve diğerleri (2002) GaAlAs lazerin rat femuru üzerinde oluşturdukları kemik defekti üzerine olan iyileşmesini incelemişlerdir. 10 gün süreyle toplamda 300 J/cm^2 enerji uyguladıkları çalışmada lazerin 21. gündeki yeni kemik oluşumu ve metabolik faaliyetler

üzerindeki etkisini histolojik olarak başarılı bulmuşlardır [150]. Bizim çalışmamızın histolojik sonuçları da iyileşme metabolizmasının hızlandığına dair sonuçlar vermektedir.

Pretel ve diğerlerinin (2007), rat mandibulasında oluşturdukları kemik defektinde GaAlAs lazerin kemik onarımında etkisini araştırdıkları çalışmada deneklere toplamda $178\text{J}/\text{cm}^2$ 'lik enerji dozunda GaAlAs lazer (35mW, 780nm, 40sn) uygulayarak, lazer uygulamadıkları kontrol grubu ile karşılaştırarak lazerin 15, 45 ve 60 günlük süre sonunda etkilerini Hematoksilen Eozin ve Masson üçlü boyama ile histolojik olarak incelemişlerdir. 15 ve 45 günlük takipte olunan lazer uygulanan gruplarda hızlı yeni kemik matriks formasyonu oluştuğunu ancak 60. Günde bu farkın ortadan kalktığını bildirmişlerdir. 45. Gün gruplarından lazer uygulanmayan kontrol grubunda gevşek bağ dokusu içerisinde lameller yapıda yeni kemik formasyonu oluştuğu ancak lazer uygulanan grupta ise defektin sıkı bağ doku içerisinde sekonder kemik ile karakterize yeni kemik doku ile tamamen dolduğu bildirilmiştir [151]. Bu bulgular bizim çalışmamızın bulguları ile tamamen benzerlik göstermektedir.

Miloro ve diğerlerinin (2007), tavşan mandibulasında gerçekleştirdikleri distraksiyon osteogenezi sonrasında GaAlAs lazerin kemik iyileşmesi üzerine etkisini inceledikleri deneysel çalışmada distraksiyonu takiben distraksiyon alanına 6 noktadan 6J'lük enerjide distraksiyonda açma turunun uygulandığı 10 gün süre ile GaAlAs lazer uygulamışlar; 2, 4, ve 6 haftalık gruplar oluşturarak, lazerin radyolojik ve histolojik olarak etkisini değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar tüm zaman dilimlerinde, lazer uygulanan gruplarda oluşturulan 10 mm'lik distraksiyon açıklığında radyolojik olarak kemik iyileşme skorlarının daha yüksek olduğunu ve histolojik olarakta yeni kemik trabekülasyon alanının ve ossifikasyonun daha ileri düzeyde olduğunu bildirmişlerdir [152]. Bizim çalışmamızın radyolojik ve histolojik bulguları bu araştırmacıların bulgularını tamamen desteklemektedir.

Kreisner ve diğerlerinin (2010) tavşan mandibulasında gerçekleştirdikleri distraksiyon osteogenezi sonrasında GaAlAs lazerin kemik iyileşmesi üzerine etkisini histolojik olarak inceledikleri çalışmalarında lazer grubuna $10\text{J}/\text{cm}^2$ 'lik enerji dozunda GaAlAs lazeri kemiğin konsolidasyon sürecinde 48 saat aralıklarla uygulamışlardır. Araştırmacılar çalışmalarında lazer grubunda yeni kemik yapısının yüzdesinin daha

yüksek olduğunu ve tedavi sürecini kısaltabileceğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda lazer grubumuzda kontrol grubuna göre yeni kemik yapısı belirgin bir şekilde fazla olduğu hem histolojik hemde radyolojik incememizde görülmüştür [153]. Bu çalışmada belirtildiği gibi bizim çalışmamızda da kemik defekt iyileşme süresinin lazerle kısaltılabileceği düşüncesi ile aynı paralelliktedir.

Mecsina bitkisel kaynaklı kanama durdurucu ajandır. Piyasada Mecsina ile benzer içeriğe sahip olan bir diğer ajan Ankaferd Hemostopper (ABS)'dir. Mecsina'nın içerik olarak ABS'den farkı; *syzygium aromaticum* özü (Karanfil) ve *Mentha arvensis* suyu (Tarla nanesi) ihtiva etmesidir. ABS ve Mecsina'nın hemostatik etkinliği üzerine birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalar, ABS ve Mecsina'nın eritrositlerden pıhtı oluşturarak vaskülarizasyon miktarını arttırdığı ve enflamasyon süresini kısalttığı böylelikle yumuşak dokuda iyileşme sürecini hızlandırdığını ifade etmektedir.

Akalın ve diğerleri (2014) ratlarda yapmış oldukları dermal yara iyileşmesi çalışmasında ABS uygulanan grubun kontrol grubuna oranla daha hızlı iyileşme gösterdiğini ifade etmektedir [154].

Bu durumdan yola çıkılarak ilgili ajanlar hakkında kemik iyileşmesi üzerine çalışma yapılabileceği fikri doğmuştur. Yumuşak doku iyileşmesi üzerine birçok çalışmalar yapılmasına rağmen kemik iyileşmesi üzerine yapılmış çalışma sayısı azdır. Mecsina'nın kemik iyileşmesi üzerine etkisi bakımından herhangi bir çalışmanın olmadığı görülmüş olup, bu çalışmada elde edilen bulgular orjinal olarak ortaya konulmuştur.

Gül ve diğerleri (2010) ABS ile rat kalvaryalarında yapmış olduğu kemik iyileşmesi çalışmasında istatistiksel olarak ABS'nin kemik iyileşmesi üzerine etkinliğinin olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar bizim çalışmamıza benzer sonuçlar göstermektedir [155].

İşler ve diğerleri ABS' nin erken dönem kemik iyileşmesi üzerine olan etkilerini araştırdıkları çalışmada ABS uygulanan gruptaki yeni kemik dokusu oluşumunun kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu saptamıştır. Bu çalışmada yazarlar ABS' nin yeni kemik oluşumunu stimüle ettiğini, ABS uygulanan grupta kontrol grubuna

göre nekrozis ve fibrozisin daha az görüldüğünü bildirmiştir [23]. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgularla benzerlik göstermektedir.

ABS' nin kemik yüzeylerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 30 adet ratın femuruna bilateral olarak 3 mm çapında kemik defekti oluşturulmuştur. Sağ femurdaki defektlere 0,5 ml ABS uygulanmış, sol femura herhangi bir madde uygulanmamıştır. Ratlar 7., 28. ve 42. günlerde sakrifiye edilerek alınan örnekler incelenmiştir. Yapılan histopatolojik inceleme sonucunda 7. gün sonuçlarına göre ABS uygulanan grupta yeni kemik yapımının daha fazla olduğu saptanmıştır. 28. ve 42. günlerde ise kontrol grubuna göre anlamlı bir fark saptanmamıştır. Yazarlar ABS' nin erken dönem kemik iyileşmesini hızlandığını ve herhangi bir yabancı cisim reaksiyonuna neden olmadığını bildirmişlerdir [156]. Bu çalışma da bizim çalışmamıza benzer sonuçlar göstermektedir.

Son iki çalışmada kemik iyileşmesi sadece mikroskopik incelemeyle değerlendirilmiştir. Ancak literatürde ABS'nin kemik iyileşmesi üzerine immunohistokimyasal inceleme yapılan çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda immunohistokimyasal inceleme ile elde edilen veriler de bulunmaktadır.

Arpacı E. (2011) lokal hemostatik ajanlar olan ABS ve kitosanın, ratlarda diş çekimi sonrası çekim soketinin iyileşmesine etkisini değerlendirdiği çalışmada ABS ve kitosanın yeni kemik dokusu oluşumu üzerine anlamlı pozitif etkileri olmadığı sonucuna ulaşmıştır [22].

Öztemel A. (2013) ABS ve greft uygulamasıyla rat tibiaları üzerinde kemik defekt alanları oluşturarak kemik iyileşmesini incelemiş ve ABS'nin kemik iyileşmesi üzerine anlamlı pozitif bir etkisinin olmadığını bildirmiştir [157]. Bu çalışma bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında farklı sonuçlar ortaya çıkarmaktadır.

Çalışmamızda histolojik ve morfolojik çalışmalar yapılmış olup histolojik çalışmalar istatistiksel testlerle değerlendirilmiş fakat morfolojik değerlendirmeler sadece nitel olarak yapılmıştır. Kemik iyileşmesinin değerlendirilmesi konusunda morfometrik analizler şeklinde yapılan radyolojik çalışmaların yapılması önerilir.

Etik çerçeveler içinde yaptığımız hayvan çalışmasıyla lazer ve Mecsina'nın kemik iyileşmesi üzerine histolojik ve morfolojik değerlendirmeleri yapılmıştır. Değerlendirilmesi yapılan lazer ve Mecsina'nın etkin bir tedavi seçeneği olarak önerilebilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Buna ek olarak, kemik iyileşmesi hakkında etik çerçeveler içinde insan çalışmaları yapılması da önerilir.

6. SONUÇ

Bu çalışmada; düşük enerji seviyeli lazer terapisinde kullanılan GaAlAs lazer ve Mecsina hemostatik ajan mandibulada oluşturulan kemik defektlerine uygulandı. Ratlarda ideal kemik iyileşme süresi olan 30. gün sonunda çalışma sonlandırılarak kemik iyileşmesi histolojik, immunohistokimyasal ve radyolojik olarak değerlendirildi.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre;

- GaAlAs lazerin histolojik incelemede kontrol grubuyla kıyaslandığında, iyileşme sürecindeki doku değişimlerini belirgin ölçüde hızlandığı görülmüştür.
- GaAlAs lazerin immunohistokimyasal incelemede kontrol grubuyla kıyaslandığında, osteoblast sayısını arttırarak kemik oluşumu aktivitesini arttırdığı görülmüştür.
- GaAlAs lazerin morfolojik incelemede kontrol grubuyla kıyaslandığında az miktarda kalsifiye kemik alanları olduğu fakat kemik kalsifiye olmayan kemik alanlarının yoğun olduğu görülmüştür.
- Mecsina hemostatik ajanının histolojik incelemede kontrol grubuyla kıyaslandığında, iyileşme sürecindeki doku değişimlerini belirgin ölçüde hızlandırdığı; fakat lazer grubuyla kıyaslandığında daha az etkin olduğu görülmüştür.
- Mecsina hemostatik ajanının immunohistokimyasal incelemede kontrol grubuyla kıyaslandığında, osteoblast sayısını arttırarak kemik oluşumu aktivitesini arttırdığı; fakat lazer grubuyla kıyaslandığında daha az etkin olduğu görülmüştür.
- Mecsina hemostatik ajanının morfolojik incelemede kontrol grubuyla kıyaslandığında, kalsifiye kemik alanlarının yaygın olduğu fakat lazer grubuna göre yeni oluşan kalsifiye olmamış kemik dokusunun az miktarda olduğu görülmüştür.
- GaAlAs lazer ile Mecsina hemostatik ajanının birlikte uygulandığı histolojik incelemede kontrol grubuyla kıyaslandığında; iyileşmenin önemli ölçüde tamamlanarak en başarılı sonucu verdiği görülmüştür.

- GaAlAs lazer ile Mecsina hemostatik ajanının birlikte uygulandığı immunohistokimyasal incelemede kontrol grubuyla kıyaslandığında; en fazla osteoblast sayısına sahip ve kemik iyileşmesinin en yoğun olduğu görülmüştür.
- GaAlAs lazer ile Mecsina hemostatik ajanının birlikte uygulandığı morfolojik incelemede diğer gruplarla kıyaslandığında; en yoğun ve yaygın kalsifiye kemik alanlarına sahip olduğu izlenmiştir.

Sonuç olarak; histolojik ve morfolojik bulgular birbirlerini destekler nitelikte görülmektedir. Bu durum; 7 gün boyunca $10 \text{ J/cm}^2/\text{gün}$ şeklinde GaAlAs lazer uygulaması ve cerrahi girişim tamamlanmadan önce defekt alanına Mecsina hemostatik ajanın uygulanmasının kemik iyileşmesi sürecini hızlandırma açısından başarılı bir yöntem olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızda düşük enerji seviyeli lazer fiziksel etken ve Mecsina kimyasal etken olarak kullanılmıştır. Literatürde kemik iyileşmesi üzerine fiziksel ve kimyasal etkenlerin kombine bir şekilde kullanıldığı başka bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu yönüyle çalışmamızın özgün bir çalışma olduğu kanısındayız.

GaAlAs lazerin ve Mecsina hemostatik ajanın klinik etkinlikleri konusunun tam olarak aydınlatılması amacıyla daha uzun postoperatif döneme sahip randomize kontrollü çalışmaların yapılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Greenberg, A.M., Prein, J. (2002). **Craniomaxillofacial Reconstructive and Corrective Bone Surgery**, New York: Springer.
2. Abe, Y., Takahata, M., Ito, M., Irie, K., Abumi, K., Minami, A. (2007). Enhancement of graft bone healing by intermittent administration of human parathyroid hormone (1-34) in a rat spinal arthrodesis model. **Bone**, 41(5):775-85.
3. Sarkar, M.R., Augat, P., Shefelbine, S.J., Schorlemmer, S., Huber-Lang, M., Claes, L. (2006). Bone formation in a long bone defect model using a platelet-rich plasma-loaded collagen scaffold. **Biomaterials**, 27(9):1817-23.
4. Oral, R., Oral, O. (2010). Diş Hekimliği ve Osteoporoz. **Haseki Tıp Bülteni**, 48:9-13.
5. Chiapasco, M., Casentini, P., Zaniboni, M. (2009). Bone Augmentation Procedures in Implant Dentistry. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, 24:238-59.
6. Roberts, W.E., Hartsfield, J.K. (2004). Bone development and function: genetic and enviromental mechanisms. **Semin Orthodontics**, 10:100-122.
7. Bouxsein, M.L., Turek, T.J., Blake, C.A. (2001). Recombinant human bone morphogenic protein-2 accelerates healing in a rabbit ulnar osteotomy model. **Journal of Bone and Joint Surgery**, 83:1219-30.
8. Higgins, T.F., Dodds, S.D., Wolfe, S.W. (2002). A biomechanical analysis of fixation of intra-articular distal radial fractures with calcium-phosphate bone cement. **Journal of Bone and Joint Surgery**, 84:1579-86.

9. Leisner, S., Shahr, R., Aizenberg, I., Lichovsky, D., Levin-Harrus, T. (2002). The effect of short-duration, high-intensity electromagnetic pulses on fresh ulnar fractures in rats. **Journal of Veterinary Medicine. A Physiology Pathology Clinical Medicine**, 49:33- 37.

10. Doetsch, A.M., Faber, J., Lynnerup, N., Watjen, I., Bliddal, H., Danneskiold-Samsoe, B. (2004). The effect of calcium and vitamin D3 supplementation on the healing of the proximal humerus fracture: a randomized placebo- controlled study. **Calcified Tissue International**, 75:183-8.

11. Larrison, S., Kim, W., Caja, V.L., Egger, E.L. (2001). Effect of early axial dynamization on tibial bone healing. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, 388:240- 251.

12. Güngör, N. (1985). Nandrolone Phenyl Propionate'ın kemik defektinin iyileşmesi üzerine etkisinin deneysel olarak incelenmesi. **Gazi Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Dergisi**, 11(1):145-161.

13. Angeletti, P., Pereira, M.D., Gomes, H.C., Hino, C.T., Ferreira, L.M., Paulo, S. (2010). Effect of low-level laser therapy (GaAlAs) on bone regeneration in midpalatal anterior suture after surgically assisted rapid maxillary expansion. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, 109:38-46.

14. Kawasaki, K., Shimizu, N. (2000). Effects of low-energy laser irradiation on bone remodeling during experimental tooth movement in rats. **Laser Surgery Medicine**, 26(3):282-91.

15. Luger, E.J., Rochkind, S., Wollman, Y., Kogan, G., Dekel, S. (1998). Effect of low- power laser irradiation on the mechanical properties of bone fracture healing in rats. **Lasers Surgery Medicine**, 22:97-102.

16. Takeda, Y. (1988). Irradiation effect of low laser on alveolar bone after tooth extraction. Experimental study in rats. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, 17(6):388-91.
17. Saito, S., Shimizu, N. (1997). Stimulatory effects of low-power laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in the rat. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, 11(5):525-32.
18. Korany, N.S., Mehanni, S.S., Hakam, H.M., El-Maghraby, E.M.F. (2012). Evaluation of socket healing in irradiated rats after diode laser exposure (histological and morphometric studies). **Archives of Oral Biology**, 57:884-891.
19. Huri, E., Akgul, T., Ayyildiz, A., Germiyanoglu, C. (2009). Hemostasis in retropubic radical prostatectomy with Ankaferd BloodStopper: a case report. **Kaohsiung Journal of Medical Science**, 25(8):445-7.
20. Arslan, S., Haznedaroglu, I.C., Oz, B., Goker, H. (2009). Endobronchial Application of Ankaferd Blood Stopper to Control Profuse Lung Bleeding Leading to Hypoxemia and Hemodynamic Instability. **Respiratory Medicine CME**, 2:144-46.
21. Akarsu, C., Kalayci, M.U., Yavuz, E., Özkara, S. (2011). Sıçanlarda karaciğer laserasyon modelinde Ankaferd Blood Stopper ve fibrin yapıştırıcının hemostatik etkinliğinin karşılaştırılması. **Ulusal Travma Acil Cerrahi Dergisi**, 17(4):308-12.
22. Arpacı, SE. (2010). **Sıçanlarda Diş Çekimi Sonrasında Uygulanan Lokal Hemostatik Ajan Ankaferd' in Doku İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi**. Doktora Tezi. Marmara Üniversitesi, İstanbul.
23. İşler, S.C., Demircan, S., Çakarar, S., Çebi, Z., Keskin, C., Soluk, M. (2010). Effects of folk medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper® on early bone healing. **Journal of Applied Oral Science**, 18(4):409-14.

24. Erdoğan, D., Görgün, M., Hatiboğlu, M.T., Ilgaz, C. (1999). **Genel Histoloji**, 2. Baskı. Ankara: Hatiboğlu Yayınevi.
25. Garg, A.K. (2004). **Bone Biology, harvesting, grafting for dental implants. 1st edition**, Quintessence Publishing Company Incorporation.
26. Siebert, J.S., Salama, H. (1996). Alveolar ridge preservation and reconstruction. **Periodontology 2000**, 11:69-84.
27. Akay, M.T. (2001). **Genel histoloji**, 5. Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık.
28. Garg, A.K. (2001). Preservation, augmentation, and reconstruction of the alveolar ridge. **Dental Implantology**, Update 12:81-85.
29. Öber, A., İzzetoğlu, T.G. (2006). **Histoloji. 1. Baskı**. Ankara: Nobel Yayın Dağıtım.
30. Mills, S.E. (2007). **Histology for Pathologists**, Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
31. Gartner, L.P., Hiatt, J.L. (2007). **Cartilage and Bone, Color Textbook of Histology. 2nd edition**, Philadelphia: Saunders Elsevier.
32. Soydan, N. (1992). **Genel Histoloji**, İstanbul: Beta Yayıncılık.
33. Erkoçak, A. (1987). **Histoloji**, İstanbul: Beta Basın Yayın Dağıtım.
34. Çay, F.H., Sezer, N. (2002). Kemik yapısı ve kemik döngüsü üzerine bir derleme. **Fiziksel Tıp**, 5:177-84.
35. Little, N., Rogers, B., Flannery, M. (2011). Bone formation, remodelling and healing. **Surgery**, 29(4):141-45.

36. Aytekin, Y., Solakoğlu, S. (2006). **Temel Histoloji Text Atlas. 11th edition**, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.
37. Fernandez-Tresguerres-Hernandez-Gil, I., Alobera-Gracia, M.A., del-Canto-Pingarron, M., Blanco-Jerez, L. (2006). Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. **Medicina Oral Patologia Oral Y Cirugia Bucal**, 11(1):47-51.
38. Doblaré, M., García, J.M., Gómez, M.J. (2004). Modelling bone tissue fracture and healing: a review. **Engineering Fracture Mechanics**, 71(13- 14):1809-40.
39. Sommerfeldt, D.W., Rubin, C.T. (2001). Biology of bone and how it orchestrates the form and function of the skeleton. **European Spine Journal**, 10 Supplement 2:86-95.
40. Tuskan, C., Yaltırık, M. (2002). **Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Biyomateyaller**, İstanbul: İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Yayınları.
41. Kalfas, I.H. (2001). Principles of bone healing. **Neurosurgery Focus**, 10(4):7- 10.
42. Junqueira, L.C., Carneiro, J. (2006). **Histoloji**, (çev. Aytekin Y ve Solakoğlu S), İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri.
43. Amsellem, M., Masson, J.M., Negui, B. (1987). Endotelon in the tratment of venolymphatic problems in premenstrual syndrome – multicenter study on 165 patients. **Tempo Medical**, 282: 46–51.
44. Leeson, T.S., Leeson, R.C. (1981). **Histology**, Philadelphia, London, Toronto: W.B. Saunders company.
45. Jee, W.S.S., Cowin, S.C. (2001). **Integrated bone tissue physiology: Anatomy and physiology. Bone Mechanics Handbook. 2nd edition**, Florida: CRC press.

46. Sikavitsas, V.I., Temenoff, J.S., Mikos, A.G. (2001). Biomaterials and bone mechanotransduction. **Biomaterials**, 22:2581-2593.
47. Bostrom, M.P.G., Yang, X., Koutras, I. (2000). Biologics in bone healing. **Current Opinion Orthopedics**, 11:403-412.
48. Nancy, A. (2007). **Ten Cate's Oral Histology Developmenti Structure, and Function. 7th Edition**, Dt Louis, Missouri: Mosby Inc;2007.
49. Rodan, G.A. (1992). Introduction to bone biology. **Bone**, 13:3-6.
50. Caplan, A. (1990). Cartilage begets bone versus endochondral myelopoiesis. **Clinical Orthopedics**, 261:257-267.
51. Güngör, N., Türker, M. (1985). Mandibulada Oluşturulan Kemik Defekti ve Yumuşak Doku Yaralanması Sonrası Dalak ve Kemik İliği Dokusunda Hücresel Aktivitenin Deneysel Olarak İncelenmesi. **Gazi Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi**, 11(1):15-34.
52. Kılıçoğlu Serin, S. (2002). Mikroskopi Düzeyinde Kırık İyileşmesi. **Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası**, 55(2):143-150.
53. Cruess, R.L. (1984). **Healing of bone,tendon and ligament: Fractures. 2nd edition**, Philadelphia: Lippincott Company.
54. Ovalle, W.K., Nahirney, P.C., Netter, F.H. (2008). **Netter's essential histology. 1st edition**, Philadelphia: Saunders/Elsevier.
55. Altunatmaz, K. (2004). Kırık iyileşmesinin biyolojisi ve biyolojik osteosentez. **İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, 30:141-47.

56. Einhorn, T.A. (1998). The cell and molecular biology of fracture healing. **Clinical Orthopedics Related Research** 7-21.
57. Lavine, L.S., Grodzinsky, A.J. (1987). Electrical stimulation of repair of bone. **American Journal of Bone and Joint Surgery** 69(4):626-30.
58. Lieberman, J.R., Friedlaender, G.E. (2005). Bone Regeneration and Repair. **Biology and Clinical Applications**. Totowa NJ: Humana Press.
59. Miller, M.D., (1996). Bone. In: Miller MD, Thomson SR, Hart JA, editors. **Review of Orthopaedics 6th edition**. Philadelphia: Saunders.
60. Ham, A.W., Cormack, D.H. (1987). **Ham's histology 9th edition**. Philadelphia: Lippincott.
61. Li, G., White, G., Connolly, C., D.M. (2002). Cell Proliferation and Apoptosis During Fracture Healing. **Journal of Bone Mineral Research**. 17(5):791-99.
62. Brand, R.A., Rubin, C.T. (1987). Fracture Healing. **The scientific basis of orthopaedics. 2nd edition**. Norwalk/Connecticut: Appleton & Lange.
63. Aksoy, C. (2004). Kırık iyileşmesi. **Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi Dergisi**. 43(3):1-4.
64. Dogan, H., Ozcelik, B., Gedikoglu, G., Senel, S. (2001). The effect of calcitonin on osseous healing in guinea pig mandible. **Journal of Endodontics**. 27:160-163.
65. Kolbeck, S., Bail, H., Schmidmaier, G., Alquiza, M., Raun, K., Kappelgard, A., Flyvbjerg, A., Haas, N., Raschke, M. (2000). Homologous growth hormone accelerates bone healing - a biomechanical and histological study. **Bone**. 33:628-637.

66. Cao, Y., Mori, S., Mashiba, T., Westmore, M.S., Ma, L., Sato, M., Akiyama, T., Shi, L., Komatsubara, S., Miyamoto, K., Norimatsu, H. (2002). Raloxifene, estrogen, and alendronate affect the processes of fracture repair differently in ovariectomized rats. **Journal of Bone Mineral Research**. 17:2237-2246.

67. Cream, B.E., Petersen, D.N., Raisz, L.G. (1990). Cortisol enhances the anabolic effects of insulin-like growth factor I on collagen synthesis and procollagen messenger ribonucleic acid levels in cultured 21-day fetal rat calvariae. **Endocrinology**. 126(3):1576-83.

68. Dewey, K.G. (2001). Nutrition growth and complementary feeding of the breastfed infant. **Pediatrics Clinical North America Journal**. 48:87-104.

69. Pollak, D., Floman, Y., Simkin, A., Avinezer, A., Freund, H.R. (1986). The effect of protein malnutrition and nutritional support on the mechanical properties of fracture healing in the injured rat. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**. 10:564- 567.

70. Teucher, B., Fairweather-Tait, S. (2003). Dietary sodium is a risk factor for osteoporosis: where is the evidence. **Proceeding of The Nutrition Society**. 62:859-866.

71. Kaplan, B., Gonul, B., Dincer, S., Dincer Kaya, F.N., Babul, A. (2004). Relationships between tensile strength, ascorbic acid, hydroxyproline, and zinc levels of rabbit full-thickness incision wound healing. **Surgery Today**. 34:747-751.

72. Dalle Carbonare, L., Giannini, S. (2004). Histologic diagnosis of metabolic bone disease: bone histomorphometry. **Reumatismo**. 56:15-23.

73. Luppen, C.A., Blake, C.A., Ammirati, K.M., Stevens, M.L., Seeherman, H.J., Wozney, J.M., Bouxsein, M.L. (2002). Recombinant human bone morphogenetic protein-2 enhances osteotomy healing in glucocorticoid-treated rabbits. **Journal of Bone Mineral Research**. 17:301-310.
74. Güngör, F., Türker, M., Güngör, N., Erinaç, A. (1985). Çekim Yaralarında İndometasin'in Lokal ve Sistemik Tatbikinde Prostaglandin Aktivitesinin Deeneysel Olarak Saptanması. **Gazi Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi** II(1):133-144.
75. Perry, A.C., Prpa, B., Rouse, M.S., Piper, K.E., Hanssen, A.D., Steckelberg, J.M., Patel, R. (2003). Levofloxacin and trovafloxacin inhibition of experimental fracture healing. **Clinical Orthopedics**. 414:95-100.
76. Huddleston, P.M., Steckelberg, J.M., Hanssen, A.D., Rouse, M.S., Bolander, M.E., Patel, R. (2000). Ciprofloxacin inhibition of experimental fracture healing. **American Journal of Bone and Joint Surgery**. 82:161-173.
77. Jones, J.K., Triplett, R.G. (1992). The relationship of cigarette smoking to impaired intraoral wound healing: a review of evidence and implications for patient care. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**. 50(3):237-239.
78. Benowitz, N.L., Jacob, P. (2000). Effects of cigarette smoking and carbon monoxide on nicotine and cotinine metabolism. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**. 67:653-659.
79. Os, I., Hoieggren, A., Larsen, A., Sanset, P.M., Djurovic, S., Berg, K., Os, A., Birkeland, K., Westheim, A. (2003). Smoking and relation to other risk factors in postmenopausal women with coronary artery disease, with particular reference to whole blood viscosity and beta-cell function. **Journal of Internal Medicine** 253:232-239.

80. Roy, S. (1999). Effects of smoking on prostacyclin formation and platelet aggregation in users of oral contraceptives. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**. 180:363-368.

81. Chakkalakal, D.A., Novak, J.R., Fritz, E.D., Mollner, T.J., McVicker, D.L., Lybarger, D.L., McGuire, M.H., Donohue, T.M. Jr. (2002). Chronic ethanol consumption results in deficient bone repair in rats. **Alcohol Alcohol**. 37:13-20.

82. Elmali, N., Ertem, K., Ozen, S., Inan, M., Baysal, T., Guner, G., Bora, A. (2002). Fracture healing and bone mass in rats fed on liquid diet containing ethanol. **Alcohol Clinical Experimental Research**. 26:509-513.

83. Clayman, L., Kuo, P. (1997). **Lasers in Maxillofacial Surgery and Dentistry**. New York: Thieme Medical Publishers.

84. Baxter, G.D. (1994). **Therapeutic Lasers Theory and Practice**. Singapore: Longman Singapore Publishers.

85. Sun, G., Tuner, J. (2004). Low-level Laser Therapy in Dentistry. **Dental Clinics of North America**. 48: 1061-76.

86. Colluzzi, D.J. (2000). An Overview of Laser Wavelengths Used in Dentistry. **Dental Clinics of North America**. 753-65.

87. Colluzzi, D.J., Convissar, R.A. (2008). **Atlas of Laser Applications in Dentistry**. Quintessence Publishing Company Incorporation.

88. Sarı, H., Tüzün, Ş., Akgün, K. (2002). **Fiziksel Tıp Yöntemleri**. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.

89. Strauss, R.A., Fallon, S.D. (2004). Lasers in contemporary oral and maxillofacial surgery. **Dental Clinics of North America**. 48:861-888.

90. Pick, R.M., Powell, G.L. (1993). Lasers in dentistry: Soft-Tissue Procedures. **Dental Clinics of North America**. 37(2):281-296.
91. Colluzzi, D.J. (2004). Fundamentals of dental lasers: Science and instruments. **Dental Clinics of North America**. 48:751-770.
92. Catone, G.A., Alling, C.C. (1997). **Laser applications in oral and maxillofacial surgery**. Philadelphia:W B Saunders.
93. Wagner, R.F. J.R., Brown, T., MC Carthy, E.M. (2000). What is low level laser therapy. **Dermatologic Surgery** 15(3):325.
94. England, S. (1988). Introduction to mid laser theraphy. **Physiotherapy** 74(3):100-2.
95. Gerold, K., Eyrich, H. (2005). Laser-osteotomy induced changes in bone. **Journal of Medical Laser Application**. 20:25-36.
96. Mester, E., Spiry, T., Szende, B., Tota, J.G. (1971). Effect of laser rays on wound healing. **American Journal of Surgery**. 122:532-5.
97. Parker, S. (2007). Low level laser use in dentistry. **British Dentistry Journal**. 202:131-7.
98. Posten, W., Wrone, D.A., Dover, J.S., Arndt, K.A., Silapunt, S., Alam, M. (2005). Low level laser therapy for wound healing: mechanism and efficacy. **Dermatologic Surgery**. 31:334-340.
99. Özbayrak, S. (1999). **Lazer Prensipleri Biyolojik Etkileri ve Diş Hekimliğinde Kullanımı**. İstanbul: E.S.C ve Sharplan Lazerleri Türkiye Temsilciliği Ortadoğu Anonim Şirketi. Bilimsel Yayın Serisi.

100. Baxter, G.D. (1994). **Therapeutic lasers; theory and practice**. London: Churchill Livingstone.
101. Myers, T.D. (1991). Lasers in dentistry: their application in clinic practice. **Journal of American Dental Association**. 122(1):46-50.
102. Göktepe, A.S., Tuna, N. (2001). **Lazer/Elektroterapi**. Nobel Yayınları, Ankara.
103. Kitchen, S.S., Partridge, C.J. (1991). A review of low level laser therapy: Part I: Background, Pysiological Effects and Hazards. **Physiotherapy** 77(3):161-168.
104. Kitchen, S., Bazin, S. (1990). **Clayton'un Elektoterapi Kitabı**. (çev. Füzün S), İzmir: Güven Kitabevi.
105. Lukáč, M. (2003). Physical basics of laser for dentists, **Book of abstract lasers in stomatology**, Bled.
106. Kayıhan, H., Dolunay, N. (1992). **Isı-Işık-Su**. Hacettepe Üniversitesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksekokulları Yayınları.
107. Basford, J.R. (1995). Low intensity laser therapy, still not an established clinical tool. **Lasers Surgery Medicine**. 16 : 331-42.
108. Ribeiro, D.A., Matsumoto, M.A., (2008). Low level laser therapy improves bone repair in rats treated with anti-inflammatory drugs. **Journal of Oral Rehabilitation**. 35:925-33.
109. Bernardes da Silva, A.P.R., Petri, A.D., Crippa, G.E., Stuari, A.S., Rosa, A.L., Stuari, M.B.S. (2012). Effect of low-level laser therapy after rapid maxillary expansion on proliferation and differentiation of osteoblastic cells. **Lasers in Medical Science**. 27:777-83.

110. Carvalho Pde, T., Silva, I.S., Reis, F.A., Belchior, A.C., Facco, G.G., Guimaraes, R.N., Fernandes, G.H., Denadai, A.S. (2006). Effect of 650 nm low power laser on bone morphogenetic protein in bone defects induced in rat femors. **Acta Cirurgica Brasileira**. 21(4):63-8.

111. Ninomiya, T., Hosoya, A., Nakamura, H., Sano, K., Nishisaka, T., Ozawa, H. (2007). Increase of bone volume by a nanosecond pulsed laser irradiation is caused by a decreased osteoclast number and an activated osteoblasts. **Bone**. 40:140-8.

112. Zahra, S.E., Elkasi, A.A., Eldin, M.S., Vandeyska-Radunovic, V. (2009). The effect of low level laser therapy (LLLT) on bone remodelling after median diastema closure: A one year and half follow-up study. **Ortoto Waves**. 68:116-22.

113. AboElsaad, N.S., Soory, M., Gadalla, L.M.A., Ragab, L.I., Dunne, S., Zalata, K.R., Louca, C. (2009). Effect of soft laser and bioactive glass on bone regeneration in treatment of bone defects(an experimental study). **Lasers Medical Science**. 24:527-33.

114. Shakouri, S.K., Soleimanpour, J., Salekzamani, Y., Oskuie, M.R. (2010). Effect of low-level laser therapy on the fracture healing process. **Lasers Medical Science**. 25:73-77.

115. Haris, D.M., Werkhaven, J.A., (1989). Biophysics and applications of medical lasers. **Advances in Otolaryngology Head and Neck Surgery**. 3:91-123.

116. Miserendino, L.J., Pick, R.M. (1995). **Lasers in Dentistry**. Chicago: Quintessence.

117. Miserendino, L.J., Neiburger, E.J. (1989). Thermal effects of continuous wave CO₂ laser exposure on human teeth: an in-vitro study. **Journal of Endodontics**. 14:302-5.

118. Mayer, H.M., Müller, G., Schwetlick, G. (1993). Lasers in percutaneous disc surgery. **Acta Orthopaedica Scandinavica**. 64:38-44.
119. Gonzales, C.D., Zakariasen, K.L., Dederich, D.N., Pruhs, R.J. (1996). Potential preventive and therapeutic hard-tissue applications of CO₂, Nd-YAG and Argon lasers in dentistry: A review. **Journal of Dentistry for Children**. 63(3):196-207.
120. Middia, M. (1991). Lasers in Dentistry. **British Dentistry Journal**. 170(9):343-346.
121. Gerschman, J.A., Ruben, J., Gebart-Eaglemont, J. (1994). Low level laser therapy for dentinal tooth hypersensitivity. **Australian Dentistry Journal**. 39(6):353- 57.
122. Cernavin, I., Pugatschew, A., Boer, N., Tyas, M.J., (1994). Laser applications in dentistry: A review of the literature. **Australian Dentistry Journal**. 39(1):28-32.
123. Myers, M.L. (1991). The effect of laser irradiation on oral tissues. **The Journal of Prosthodontics Dentistry**. 66(3):395-97.
124. Yücel, E., Delilbaşı, E., Günhan, Ö. (1988). Soft lazerin yara iyileşmesi üzerine etkisinin histopatolojik olarak incelenmesi. **Hacettepe Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi**. 12(1):24-29.
125. Greguss, P. (1984). Low level laser therapy-reality or myth? **Optics Laser Technology**. 16(2):81-5.
126. Khullar, S.M. (1996). Effect of low level laser treatment on neurosensory deficits subsequent to sagittal split ramus osteotomy. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**. 82(2):132-8.
127. Kahraman, S. (2004). Low level laser therapy in oral and maxillofacial surgery. **Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North American** 16:277-88.

128. Miloro, M., Repasky, M. (2000). Low level Laser Effect on neurosensory recovery after sagittal ramus osteotomy. **Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**. 89(1):12-18.
129. Herascu, N. (2005). Low level laser therapy efficacy in post-operative wounds. **Photomedicine and Laser Surgery**. 23(1):70-3.
130. Enwemeka, C.S. (1999). Quantum Biology of Laser Biostimulation. **Laser Therapy** 11:52-3.
131. Özkurt, İ., Güngör, N., Ercan, S., Günhan, Ö., Yılmaz, D. (1983). Lazerin Prostaglandin Benzeri Aktivite Düzeyine Olan Etkisi. **Karadeniz Tıp Dergisi**.
132. Legssyer, A., Ziyat, A., Mekhfi, H., Bnouham, M. (2002). Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. in isolated rat heart and aorta. **Phytotherapy Research**. 16:503-7.
133. Testai, L., Chericoni, S., Calderone, V., Nencioni, G. (2002). Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) roots extracts: in vitro and in vivo pharmacological studies. **Journal of Ethnopharmacology**. 81:105-9.
134. Barka, E.A., Belarbi, A., Hachet, C., Nowak, J. (2000). Enhancement of in vitro growth and resistance to gray mould of *Vitis vinifera* co-cultured with plant growth-promoting rhizobacteria. **FEMS Microbiology Letters** 186:91-5.
135. Sheela, M.L., Ramakrishna, M.K., Salimath, B.P. (2006). Angiogenic and proliferative effects of the cytokine VEGF in Ehrlich ascites tumor cells is inhibited by *Glycyrrhiza glabra*. **International Immunopharmacology** 6:494-8.
136. Matsuda, H., Ando, S., Kato, T., Morikawa, T. (2006). Inhibitors from the rhizomes of *Alpinia Officinarum* on production of nitric oxide in lipopolysaccharide-activated macrophages and the structural requirements of diarylheptanoids for the activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. 14:138-42.

137. Ernst, E., Marz, R.W., Sieder, C. (1997). Acute bronchitis: effectiveness of Sinupret. Comparative study with common expectorants in 3,187 patients. **Fortschritte der Medizin**. 115:52-3.
138. Lee, K.G., Shibamoto T. (2001). Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds *Syzygium aromaticum*. **Food Chemistry**. 74(4): 443-448.
139. Cai., L., Wu, C. D. (1996). Compounds from *Syzygium aromaticum* possessing growth inhibitory activity against oral pathogens. **Journal of Natural Products**. 59(10): 987-990.
140. Atalay, Y. (2011). **Aşıl tendonu zedelenmiş sıçanlarda *Hypericum perforatum* ve *Calendula officinalis* bitki tentürlerinin etkilerinin incelenmesi**, Doktora Tezi, Dumlupınar Üniversitesi, Kütahya.
141. Peşin, İ. (2007). ***Hypericum perforatum* L. ve *Hypericum scabrum* L. bitkilerinin yara iyileştirici ve antienflamatuvar aktiviteleri üzerinde çalışmalar**, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
142. Bachiega, T.F. (2012). Clove and eugenol in noncytotoxic concentrations exert immunomodulatory/anti-inflammatory action on cytokine production by murine macrophages. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. 64(4): 610-616.
143. Londonkar, R. L., Poddar, P. V. (2009). Studies on activity of various extracts of *Mentha arvensis* Linn against drug induced gastric ulcer in mammals. **World Journal of Gastrointestinal Oncology**. 1(1): 82.
144. Çırak, E. (2013). **Düşük enerji seviyeli lazerlerin diş çekimi sonrasında kemik iyileşmesi üzerine olan etkisinin incelenmesi**, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

145. Del Fabbro, M., Bortolin, M., Taschieri, S. (2011). Is autologous platelet concentrate beneceficial for post-extraction socket healing? A systemetic review. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**. 40:891-900.
146. Elsubeihi, E.S., Heersche, J.N.M. (2004). Quantitative assessment of post-extraction healing and alveolar ridge remodelling of the mandible in female rats. **Archives of Oral Biology**. 49:401-412.
147. Astrand, P., Carlsson, G.E. (1969). Changes in the alveolar process after extractions in the White rat. A histological and fluorecence microscopic study. **Acta Odontologica Scandinavica**. 27(1):113-27.
148. Guglielmotti, M.B., Cabrini, R.L. (1985). Alveolar wound healing and ridge remodeling after tooth extraction in the rat: a histologic, radiographic, and histometric study. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**. 43(5):359-64.
149. Nagasawa, A., Kato, K., Negishi, A. (1991). Bone regeneration effect of low level lasers including argon laser. **Low Level Laser Therapy**. 3:59-62.
150. Guzardella, G.A., Fini, M., Torricelli, P., Giavaresi, G., Giardino, R. (2002). Laser Stimulation on Bone Defect Healing: An In Vitro Study. **Lasers in Medical Science**. 17:216-20.
151. Pretel, H., Lizarelli, R.F.Z., Ramalho, L.T.O. (2007). Effects of Low-Level Laser Therapy on Bone Repair: Histolohical Study in Rats. **Lasers in Surgery and Medicine**. 39:788-96.
152. Miloro, M., Miller, J.J., Stoner, J.A. (2007). Low-Level Laser Effect on Mandibular Distraction Osteogenesis. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**. 65:168-76.

153. Kreisner, P.E., Blaya, D.S., Gaiao, L., Santos, M.E.S.M., Etges, A., Filho, M.S., Oliveira, M.G. (2010). Histological evaluation of the effect of low-level laser on distraction osteogenesis in rabbit mandibles. **Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal**. 15(4):616-18.
154. Akalin, C. (2014). Beneficial effects of Ankaferd Blood Stopper on dermal wound healing: An experimental study. **International wound journal**. 11(1): 64-68.
155. Bahadır, B. (2011). "Effects of Ankaferd Blood Stopper® on bone regeneration in rat calvarial defects. **Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences**. 31(2): 390-396.
156. Şimşek, H.O. (2010). **Beş farklı bitki ekstresinden elde edilen kanama durdurucu ajanın (Ankaferd) kemik yüzeylerine etkisinin deneysel olarak incelenmesi**. Doktora Tezi. Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi; 2010.
157. Öztemel, A. (2013). **Ankaferd Blood Stopper'ın kemik dokusu iyileşmesi üzerine olan etkilerinin deneysel olarak incelenmesi**, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

EKLER

EK-1. Etik Kurul Raporu



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

SAYI : 66332047-604.01.02/ **18-8279**
KONU :

12/04/2013

Sayın

Prof.Dr.Mehmet Nadir GÜNGÖR
Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Mehmet Nadir GÜNGÖR, Anıl ÖZYURT, Çiğdem ELMAS ve Hakan Hamdi ÇELİK'ten oluşan, G.Ü.ET-13.028 kod numaralı ve "**Düşük Enerji Seviyeli Lazer Terapisi ve Mecsina Adlı Hemostatik Ajan Kullanılarak Sert Doku İyileşmesinin Histolojik ve Morfolojik Değerlendirilmesi**" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-13.028 and entitled "**Morphological and Histological Investigation of the Effects of Low Level Laser Therapy (LLL) and Mecsina Hemostopper on Bone Healing**" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

EK : 1 Liste

L. AÇIK

Prof.Dr. Leyla AÇIK
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

EK-2. (Devam) Etik Kurul Raporu

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI
KARARLARI KATILIM LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 05.04.2013		TOPLANTI SAYISI : 05	
ADI-SOYADI			
Prof.Dr.Leyla AÇIK (Başkan)		KATILDI	
Uzm.Dr.Şeyda DİKER (Başkan Yrd.)		KATILDI	
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU		KATILDI	
Prof.Dr.Tuncay PEKER		KATILDI	
Prof.Dr.Şule COŞKUN CEVHER		KATILDI	
Prof.Dr.Esra AKKOL		KATILDI	
Yrd.Doç.Dr.İhsan YIKILGAN		KATILAMADI	
Dr.Kadir BAŞAR		KATILDI	
İlknur ALKAN		KATILAMADI	

Prof.Dr.Leyla AÇIK
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

L. AÇIK

EK-3. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Sertifikası



30 Kasım-08 Aralık
2011

X. DENEY HAYVANLARI UYGULAMA VE ETİK KURSU

KATILIM SERTİFİKASI

Sayın, Anıl ÖZYURT

Gazi Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu onayı ile Gazi Üniversitesi
Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve
Deneysel Araştırmalar Merkezi tarafından,
30 Kasım-08 Aralık 2011 tarihleri arasında düzenlenen
"Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu X"a katılarak,
Teorik ve Pratik Eğitimleri başarı ile tamamlamış ve
bu sertifikayı almaya hak kazanmıştır.

Prof. Dr. Rıza AYHAN
Rektör

Prof. Dr. Gökhan ALPASLAN
Etik Kurul Başkanı

Prof. Dr. Nurten TÜRKÖZKAN
Merkez Müdürü

Sertifika No. 2011/10-26

ÖZGEÇMİŞ



Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ÖZYURT, Anıl
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 11/08/1986 Üsküdar
 Medeni Hali : Bekar
 Telefon : 0 (544) 811 89 86
 E-posta : anilozyurt@gazi.edu.tr

Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet Yılı
Doktora	Gazi Üniversitesi/Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi A.D.	2014
Lisans	Gazi Üniversitesi/Dişhekimliği Fakültesi	2010
Lise	Balıkesir Gönen Anadolu Lisesi	2004

İş Deneyimi	Çalıştığı Yer	Görev
2013	North Carolina Üniversitesi	Misafir Doktor
2010-2014	Gazi Üniversitesi/Dişhekimliği Fakültesi	Doktora Öğr.

Yabancı Dili

İngilizce

Yayınlar

1. Moharamnejad, N., Özyurt, A. (2014). Median Ventral Tongue Flap For Oral Soft Tissue Reconstruction **Türk Oral ve Maksillofasiyal Cerrahi Derneği 21. Uluslararası Kongresi**
2. Özyurt, A., Erten, H. (2010) Staining-Preventive Effect of Topical Fluoride Application After Vital Tooth Bleaching **American Dental Association Annual Session Orlando FL**

Hobiler

Tüplü dalış, gitar çalmak, masa tenisi, sinema, tiyatro oyunculuğu, fotoğrafçılık