

ALPER ALTAY

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2006

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

DOKTORA TEZİ

**DÜŞÜK YOĞUNLUKLU, ATIMLI ULTRASONUN DENEY
HAYVANLARINDA KEMİK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE
ETKİSİNİN BİYOKİMYASAL VE HİSTOPATOLOJİK
OLARAK İNCELENMESİ**

**ALPER ALTAY
DİŞ HEKİMİ**

**DANIŞMAN
PROF.DR.ÇETİN KASAPOĞLU**

**AĞIZ, DİŞ, ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI**

İSTANBUL-2006

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Yüksek lisans / Doktora. Tezi olarak kabul edilmiştir.

/ /

Prof.Dr.Emine Kökoğlu
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Program Adı : Diş Hekimliği

Programın seviyesi : Yüksek Lisans () Doktora (x)

Anabilim Dalı : Ağız-Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı

Tez Sahibi : Alper ALTAY

Tez Başlığı : Düşük yoğunluklu atımlı ultrasonun deney hayvanlarında kemik iyileşmesi üzerine etkisinin biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelenmesi

Sınav Yeri :

Sınav Tarihi :

Tez Sınav Jürisi

1. Prof.Dr.Çetin Kasapoğlu (Tez Danışmanı), İstanbul Üniv., Diş Hekimliği Fak., Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD.

2. Prof.Dr.Hasan Meriç(Tez İzleme Komitesi Üyesi), İstanbul Üniv., Diş Hekimliği Fak., Periodontoloji AD

3. Prof.Dr.Cüneyt Korhan Oral(Tez İzleme Komitesi Üyesi), İstanbul Üniv., Diş Hekimliği Fak., Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD.

4. Prof.Dr.Cengizhan Keskin, İstanbul Üniv., Diş Hekimliği Fak., Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD.

5. Prof.Dr.Kamil Göker, Marmara Üniv., Diş Hekimliği Fak., Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD.

BEYAN

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

ALPER ALTAY

Sevgili annem ve babama,

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca ilgisini, desteğini, bilgisini ve sabrını hiçbir zaman esirgemeyen, öğreten ve yönlendiren, değerli hocam Sayın Prof.Dr.Çetin Kasapoğlu'na,

Her zaman candan ilgi ve desteğiyle yanımda olan Anabilim Dalı başkanımız Sayın Prof.Dr.Cengizhan Keskin'e,

Desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Sayın Prof.Dr.Cüneyt Korhan Oral'a ve tüm hocalarıma,

Her zaman yanımda olan değerli ağabeyim Dr.Okhan Oral'a,

Yardımlarından dolayı Sayın Prof.Dr.Gülçin Erseven, Sayın Dr.Vakur Olgaç ve Sayın Dr. Nihan Aksakallı'ya,

Doktora süresince her konuda desteklerini gördüğüm sevgili dostlarım Dt.Mehmet Ali Erdem, Dt.Burak Çankaya, Dt.Cemil İşler, Dt.Mete Yüceyaltırık, Dt. Selçuk Erkut ve tüm çalışma arkadaşlarıma,

Deney çalışmalarında büyük yardımlarını gördüğüm Dt.Osman Sami Ağlarcı ve Dt. Caner Cangül'e,

Hayatım boyunca daima yanımda olan, benden sevgilerini ve desteklerini hiç esirgemeyen; beni bugüne getiren sevgili annem Neşe Altay, babam Resul Altay ve kardeşim Orkun Altay'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	V
TABLolar LİSTESİ	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	Xİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİİ
ÖZET	XİV
ABSTRACT.....	XV
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Kemik dokusu.....	3
2.1.1 Kemik dokusunun tanımı ve genel özellikleri.....	3
2.1.2 Kemik dokusunun kimyasal yapısı.....	3
2.1.3 Morfoloji.....	4
2.1.4 Kemik tipleri.....	4
2.1.4.1 Kortikal kemik.....	4
2.1.4.2 Kansellöz kemik.....	5
2.1.4.3 Woven kemik.....	5
2.1.5 Kemik hücreleri.....	5
2.1.5.1 Osteoklastlar.....	5
2.1.5.2 Osteoblastlar.....	6
2.1.5.3 Osteositler.....	8
2.1.6 Periost.....	8
2.1.7 Endost.....	9
2.1.8 Kemik büyüme ve gelişiminin evreleri.....	9

2.1.8.1 Modeling (şekillenme).....	9
2.1.8.2 Remodeling (yeniden şekillenme).....	10
2.1.9 Kırık iyileşmesi.....	10
2.1.9.1 Primer kırık iyileşmesi.....	10
2.1.9.2 Membranöz (intramembranöz) kemik iyileşmesi.....	11
2.1.9.3 Sekonder Kırık İyileşmesi.....	12
2.1.9.3.a İnflamasyon.....	12
2.1.9.3.b Granülasyon Dokusu Safhası.....	13
2.1.9.3.c Kallus safhası.....	14
2.1.9.4.d Remodeling.....	15
2.3 Ultrason ve Kemik iyileşmesi.....	16
2.3.1 Ultrason.....	16
2.3.2 Terapötik ultrason.....	16
2.4 Alkalen fosfataz.....	20
2.5 Kalsiyum.....	21
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
3.1 LIPUS üretici.....	24
3.2 Cerrahi yöntem.....	25
3.3 Biyokimyasal analiz.....	26
3.4 Histopatolojik analiz	26
3.5 İstatistiksel yöntem.....	26
4.BULGULAR.....	32
4.1 Histopatolojik Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeleri	32
4.1.1. 7. ve 14. Günlerde Sakrifiye Edilen Grupların Histopatolojik Bulguları	33
4.1.2. Histopatolojik Bulguların İstatistiksel Değerlendirmesi.....	41
4.2. Araştırmamızda Elde Edilen Serum Ca ⁺² Değerleri ve İstatistiksel Analizleri	47

4.2.1. Serum Ca^{+2} Değerleri.....	47
4.2.2.Çalışmamızda elde edilen Serum Ca^{+2} Bulgularının İstatistiksel Değerlendirilmesi.....	50
4.3. Araştırmamızda Elde Edilen Serum ALP Değerleri ve İstatistiksel Analizleri.....	53
4.3.1. Serum ALP Değerleri.....	53
4.3.2.Çalışmamızda elde edilen Serum ALP Bulgularının İstatistiksel Değerlendirilmesi.....	55
5.TARTIŞMA	58
KAYNAKLAR	71
ETİK KURUL KARARI.....	82
PATENT HAKKI İZNİ.....	83
TELİF HAKKI İZNİ	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
ÖZGEÇMİŞ	83

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 0-1: Histopatolojik bulguların skorlanması.....	31
Tablo 4-2: 1-7 gün LIPUS grubunun histopatolojik bulguları.....	32
Tablo 4-3: 1-7 gün kontrol grubunun Histopatolojik bulguları.....	32
Tablo 4-4: 7-14 gün LIPUS grubunun histopatolojik bulguları.....	33
Tablo 4-5: 7-14 gün kontrol grubunun histopatolojik bulguları.....	33
Tablo 4-6: 1-14 gün LIPUS grubunun histopatolojik bulguları.....	34
Tablo 4-7: 1-14 gün kontrol grubunun histopatolojik bulguları.....	35
Tablo 4-8: Histopatolojik bulguların istatistiksel değerlendirmesi	41
Tablo 4-9: Histopatolojik bulgulara göre iltihabın gruplarda dağılımı.....	42
Tablo 4-10: Histopatolojik bulgulara göre nekrozun gruplarda dağılımı.....	43
Tablo 4-11: Histopatolojik bulgulara göre fibrozisin gruplarda dağılımı.....	43
Tablo 4-12: Histopatolojik bulgulara göre yeni kemik yapımının gruplarda dağılımı....	44
Tablo 4-13: Histopatolojik bulgulara göre grupların kendi aralarında istatistiksel değerlendirmesi.....	44
Tablo 4-14: 1-7 gün LIPUS grubunun serum Ca^{+2} değerleri.....	46
Tablo 4-15: 1-7 gün kontrol grubunun serum Ca^{+2} değerleri.....	46
Tablo 4-16: 7-14 gün LIPUS grubunun serum Ca^{+2} değerleri.....	47
Tablo 4-17: 7-14 gün kontrol grubunun serum Ca^{+2} değerleri	47
Tablo 4-18: 1-14 gün LIPUS grubunun serum Ca^{+2} değerleri	48
Tablo 4-19: 1-14 gün kontrol grubunun serum Ca^{+2} değerleri	48
Tablo 4-20: Ca^{+2} Bulgularının istatistiksel değerlendirmesi	49
Tablo 4-21: Gruplara göre ortalama serum Ca^{+2} değerleri	50
Tablo 4-22: Grupların Serum Ca^{+2} değerlerinin DUNN`s Çoklu Karşılaştırma Testi ile incelenmesi.....	51
Tablo 4-23: 1-7 gün LIPUS grubunun serum ALP değerleri	52
Tablo 4-24: 1-7 gün kontrol grubunun serum ALP değerleri.....	52
Tablo 4-25: 7-14 gün LIPUS grubunun serum ALP değerleri.....	52

Tablo 4-26: 7-14 gün kontrol grubunun serum ALP değerleri.....	53
Tablo 4-27: 1-14 gün LIPUS grubunun serum ALP değerleri.....	53
Tablo 4-28: 1-14 gün kontrol grubunun serum ALP değerleri.....	53
Tablo 4-29: Serum ALP bulgularının istatistiksel değerlendirilmesi.....	54
Tablo 4-30: Grupların serum ALP bulgularının istatistiksel değerlendirilmesi.....	55
Tablo 4-31: Grupların serum ALP değerlerinin DUNN`s Çoklu Karşılaştırma Testi ile incelenmesi.....	56

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 0-1: LIPUS jeneratörü ve aplikatörü.....	27
Şekil 0-2: Eşitleyici ajan.....	27
Şekil 0-3: Operasyon öncesi tıraşlanmış sağ tibiaların antiseptik solusyon ile temizlenmesi.....	28
Şekil 0-4: Yumuşak dokuların disseke edilerek tibianın açığa çıkarılması.....	28
Şekil 0-5: Tur motoruyla irrigasyon altında defekt hazırlanması.....	29
Şekil 0-6: 3x2 mm boyutlarında kemiğin medullasına kadar oluşturulan defekt.....	29
Şekil 0-7: Defekt bölgesinin suturlarla kapatılması.....	30
Şekil 0-8: Eşitleyici ajan uygulaması.....	30
Şekil 0-9: LIPUS aplikatörünün uygulanması.....	31
Şekil 4-1: 1-7 gün LIPUS grubu - Defekt bölgesinde kanama alanı çevresinde hematoma organizasyonu ve genç mezenkim hücreleri arasında yeni kemik trabekülleri (H&E x 40).....	37
Şekil 4-2: 1-7 gün LIPUS grubu - Granülasyon dokusu içinde yoğun lenfosit, plazma hücresi, az sayıda nötrofil ve eozinofil polimorf infiltrasyonu. (H&E x 200).....	37
Şekil 4-3: 1-7 gün LIPUS grubu - Defekt kenarlarını kallus oluşumundan önce şekillendiren osteoklastlar. (H&E x 200).....	38
Şekil 4-4: 7-14 gün LIPUS grubu - Defekt bölgesini ince bir kemik köprüsü tarzında kapatan yeni kemik yapımı (H&E x 40).....	38
Şekil 4-5: 7-14 gün LIPUS grubu - Defekt kenarından ortaya uzanan yeni kemik köprüsü (H&E x 100).....	39
Şekil 4-6: 7-14 gün kontrol grubu - Kontrol grubunda defekt bölgesini dolduran dağınık yerleşimli yeni kemik trabekülleri (H&E x 200).....	39
Şekil 4-7: 1-14 gün LIPUS grubu - Defekt bölgesini kapatan yeni kemik köprüsü (H&E x 100).....	40
Şekil 4-8: 1-14 gün LIPUS grubu - Defekt bölgesini kapatan ve anastomozlar yapan yeni kemik trabekülleri (H&E x 40).....	40

Şekil 4-9: 1-14 gün kontrol grubu - Defekt bölgesini dolduran aktif fibröz doku içinde çok sayıda yeni kemik trabekülleri (H&E x 100).....	41
Şekil 4-10: 1-14 gün kontrol grubu - Defekt kenarından defekti kapatmaya yönelik uzanım gösteren köprü biçiminde trabeküler kemik dokusu (H&E x 40).....	41
Şekil 4-11: Histopatolojik bulgulara göre iltihabın gruplarda dağılımı.....	43
Şekil 4-12: Histopatolojik bulgulara göre nekrozun gruplarda dağılımı.....	44
Şekil 4-13: Histopatolojik bulgulara göre fibrozisin gruplarda dağılımı.....	44
Şekil 4-14: Histopatolojik bulgulara göre yeni kemik yapımının gruplarda dağılımı....	45

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

LIPUS: Düşük yoğunluklu atımlı ultrason (Low intensity pulsed ultrasound)

ALP: Alkalen fosfataz

BGP: Kemik glaprotein (Bone glaprotein)

NCP: Kollajen olmayan protein (non-collagen protein)

ATP: Adenozintrifosfat

ATPaz: Adenozintrifosfataz

MHz: Megahertz

kHz: Kilohertz

ms: Milisaniye

BNR: Işın non üniformite oranı (Beam Nonuniformity Ratio)

CMV: sitomegalovirus

ÖZET

ALTAY A.(2006), Düşük Yoğunluklu Atımlı Ultrasonun Deney Hayvanlarında Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisinin Biyokimyasal ve Histopatolojik Olarak İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı. Doktora Tezi, İstanbul.

Çalışmamızda düşük yoğunluklu atımlı ultrasonun (LIPUS) kemik iyileşmesi üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık. Yaptığımız deneysel çalışmada, sıçanların sağ tibialarında oluşturduğumuz kemik defektlerine günde 5 dakika olmak üzere 0,5 watt/cm² 1,0 MHz ve 2ms olmak üzere 14 gün boyunca gruplara göre belirlediğimiz günlerde düşük yoğunluklu atımlı ultrason uyguladık.

Nekroz, iltihap, fibrozis ve yeni kemik yapımını incelediğimiz histopatolojik değerlendirmeyi 14.günde hayvanları kurban ederek yaptık. Aynı zamanda sıçanların serumlarındaki Ca⁺² ve ALP değişikliklerini de 0.ve 14. günlerde yaptığımız biyokimyasal analizlerle inceledik.

Araştırmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre, post operatif 1-7, 7-14 ve 1-14. günlerde uygulanan LIPUS'un yeni kemik yapımını, özellikle 1-14.gün grubunda fark edilir derecede arttırdığını tespit ettik. Fakat bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (1-14 gün p=0,586).

LIPUS uygulamasının, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, 1-14 gün grubunda 14. günde serum Ca⁺² değerlerini anlamlı derecede düşürdüğünü (p=0.002) ve serum ALP düzeylerini anlamlı derecede yükselttiğini gözlemledik (p=0.018). Ancak diğer gruplarda LIPUS uygulamasının, serum Ca⁺² ve serum ALP değerlerini, istatistiksel anlamlılık gösterecek kadar etkilemediğini tespit ettik.

Anahtar Kelimeler : LIPUS, sıçan, ALP, yeni kemik yapımı, Ca⁺²

ABSTRACT

ALTAY A.(2006). The histopathologic and biochemical effects of low intensity pulsed ultrasound on bone healing, an experimental study. İstanbul University, Institute of Health Science. Faculty of Dentistry, Department of Oral Surgery.

The purpose of this study was to evaluate the effects of low intensity pulsed ultrasound (LIPUS) on bone healing. 48 Wistar Albino adult male rats were used for the experiment. Defects were produced surgically on tibiae and 0,5 watt/cm² 1,0 MHz and 2ms pulsed ultrasound was exposed on tibiae, 5 mins/day for 14 days on different combination of weeks. 24 rats were used for LIPUS exposure and 24 were maintained as untreated controls.

Rats were sacrificed and histopathologic effects of LIPUS on bone defects and plasma Ca⁺² and ALP levels were evaluated on 14th day after surgery.

Ultrasound therapy was most effective when applied on the first 2 weeks following the surgery. The results suggest that LIPUS does not stimulate bone healing when applied in the 1st or the 2nd week postoperatively, but increases new bone formation in 2 weeks. But these findings were not statistically significant (p=0.586)

LIPUS stimulation group demonstrated significant lower serum Ca⁺² levels (p=0,002) and higher serum ALP levels (p=0,0018), when compared with control group on day 14. Parallel to the histopathological findings, statistically no significant difference was observed in serum Ca⁺² and ALP levels between groups on the exposure periods.

Key words : LIPUS, Bone healing, ALP, Ca⁺², rat

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde dişhekimliğinin amacı sorunsuz bir stomatognatik sistem sağlamaktır. Bu amaca hizmet eden alt disiplinlerden biri olan ağız, diş ve çene cerrahisi, bütün dişhekimliği branşları arasında iskelet sisteminin temel yapısını taşıyan kemik dokusuyla en yakın ilişki içinde olmalıdır.

Stomatognatik sistemin sağlığını etkileyen; kemiğin atrofi, defekt ve hastalıklarının mümkün olan en hızlı şekilde ortadan kaldırılması, konfor, fonksiyon, estetik ve sağlığın yeniden kazanılması açısından çok önemlidir. Oral ve maksillofasiyal bölgede çene rezeksiyonları, gömük diş operasyonları, kırıklar, kist enükleasyonları gibi durumlar stomatognatik sistemde kemik defektine yol açan durumlardır ve kaybedilen kemik dokusunun yeniden yapılanmasını gerektirirler (2,10,11,70,103). Kemik dokusundaki defektlerin iyileşmesi, fibrozis, nekroz, iltihap ve yeni kemik oluşumu gibi bir çok mekanizmayla meydana gelen bir süreçtir. Uzun kemiklerde defekt iyileşmesi 3-4 aylık bir süre gerektirebilir (47). Kemik iyileşmesi bir çok hücre çeşidinin, yüzlerce gen tipinin beraber çalışması ve ekstrasellüler matriksin karmaşık organizasyonu ile meydana gelir. Doğanın bu iyileşmeyi optimize ettiği, dolayısıyla bu iyileşme sürecini augmented etmenin ya da hızlandırmanın zor olduğu hep tartışılmıştır.

Bu süreyi kısaltmak için kullanılan yöntemlerden biri de terapötik dozlarda uygulanan ultrasondur(99).

Ultrason, insan kulağının algılayamayacağı frekanslardaki akustik basınç dalgasının biyolojik dokular tarafından iletildiği ve absorbe edildiği bir mekanik enerji şeklindedir(75,132). Tıpta terapötik, operatif ve diagnostik olarak kullanım alanı vardır.

1952 yılında Corradi ve Cozzolino İtalya’da tavşanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada sürekli-dalgalı ultrasonun kemik kallusu oluşumunu stimüle ettiği bildirmişlerdir(15). Bu çalışmaya dayanarak bir sonraki yıl aynı yöntem klinikte 8 hasta üzerinde denenmiş, tedavinin güvenli olduğu ve periostal kallus oluşumunda artış sağladığı görülmüştür(16).

Takip eden yıllarda araştırmacılar terapötik amaçlı ultrasonu değişik frekanslarda, kuvvetlerde ve sürelerde uygulamışlardır. Kemik dokusunda aşırı ısınma yaratarak yanmaya yol açmaması için, ultrasonun sürekli olarak değil, atımlı olarak verilmesinin uygun olduğu bulunmuştur. Yapılan birçok in vitro ve in vivo çalışmada, düşük yoğunluklu, atımlı ultrasonun (LIPUS) fraktür iyileşmesi ve defekt iyileşmesindeki biyolojik mekanizmalar üzerinde olumlu etkilerinin olduğu gözlenmiştir.

Çalışmamızın amacı, LIPUS’un kemik defektlerinin iyileşmesi üzerinde olumlu etkisinin olup olmadığını, varsa hangi dönemlerde uygulandığında daha olumlu etkilerinin olduğunu ve kendi haline bırakılan defekt iyileşmesine göre üstünlüklerini hem eksperimental, hem de biyokimyasal olarak araştırmaktır.

Araştırmamızda kırk sekiz adet Wistar Albino sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar on altışarlı üç ana gruba ayrılmış, bu ana gruplar da LIPUS uygulanan grup ve kontrol grubu olarak ikiye altı gruba ayrılmıştır. 1-7, 7-14 ve 1-14. günler arasında LIPUS uygulanan ve LIPUS uygulamasının bittiği günlerde kurban edilen sıçanlarda histopatolojik açıdan iltihap, nekroz, fibrozis ve yeni kemik yapımı; biyokimyasal açıdan da alkalen fosfataz ve kalsiyumun serumdaki düzeyleri incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kemik dokusu

2.1.1 Kemik dokusunun tanımı ve genel özellikleri

İskelet sistemi, kemikler ve bunları birbirine bağlayan bağ dokusundan oluşur. Sistemin çatısını oluşturan kemik dokusu, sertlik ve sağlamlık açısından bağ dokusundan farklılık gösterir. Diğer bağ dokularından farklı olarak kemik, yapısında bulunan hücrelerin ve ara maddenin üzerine organik ve inorganik tuzların çöktüğü, bu yüzden sağlamlık ve esneklik gibi özellikler kazanmış olan bir bağ dokusu türüdür(28,101). Sağlam yapısı sayesinde kraniyum, pelvis ve toraks içinde bulunan yumuşak dokuları korumanın yanı sıra, organizma için bir mineral rezervuarı görevini görür. Başta kalsiyum ve fosfat olmak üzere bazı iyonların kontrollü olarak salınımlarını ve depolanmalarını sağlayarak vücut sıvılarındaki konsantrasyonlarını sabit tutar.

2.1.2 Kemik dokusunun kimyasal yapısı

Kemik, %65 oranında mineral, %35 oranında da organik matriks, hücreler ve su içerir. Mineral yapı, kristal yapı içine dağılmış olan magnezyum, karbonat, flor, stronsiyum ve sitrat içeren hidroksiapatitten ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) oluşur(28,102). Organik matriksin %90'ı kollajen, %10'u kollajen olmayan proteindir(NCP)(46,56). En sık rastlanılanları osteokalsin, osteonektin, osteopontin ve kemik siyaloprotein olan; işlevi tam olarak bilinmeyen, mineralizasyonda rol oynadıkları düşünülen bu proteinlerin idrarda saptanması kemik metabolizmasında sorun olduğunu gösterir(46,56,101).

Kemik glaprotein(BGP) olarak da adlandırılan osteokalsin, asit özelliktedir ve sentezi K vitaminine bağlıdır. Plazma seviyesi kemik yapımıyla orantılı olduğu için bir osteoblast seviye göstergesi olarak nitelendirilebilir(96). Osteoblast ve fibroblast

tarafından yapılan bir başka NCP olan osteonektin, kollajen ve hidroksilapatitle etkileşir. Sadece kemikte bulunan bu NCP hücre ve mineral matriks arasında köprü görevi gördüğünden osteopontin adını da almaktadır(96).

2.1.3 Morfoloji

Tibia, femur ve humerus gibi uzun kemikler, kemiğin makroskopik yapısının incelenmesinde klasik birer örnektirler. Tipik bir erişkin uzun kemiği, diafiz adı verilen silindirik yapının uçlara doğru kalınlaşarak metafiz adını alarak epifizle birleşmesiyle sonlanır. Eklem bölgesinin maruz kaldığı kuvvetlerin eşit olarak dağılması için kıkırdakla kaplı olması, uzun kemiklerinin uç kısımlarının merkezden daha kalın ve sağlam yapıda olmasına neden olur. Kıkırdağın epifiz ve metafiz tarafından desteklenmesi sonucu bu bölgeler diafizden daha geniş olarak biçimlenir (35,53,56,84,129).

2.1.4 Kemik tipleri

2.1.4.1 Kortikal kemik

Diafizi oluşturan kortikal kemik, kompakt kemik olarak da anılır. Kortikal kemik, mikroskopik boyutta kanalcıklar içeren, erişkin bir birey iskeletinin yaklaşık %80'ini oluşturan, kemiklerin dış yüzeyini örterek destek ve koruyucu görevi gören sert ve yoğun bir kütledir. Uzun kemiklerin sadece dış yüzeylerini örterken, yassı kemiklerin hem iç hem dış yüzeylerini kaplar. Kompakt kemik iç içe geçmiş halkalar biçiminde, kemiğin uzun eksenine boyunca Havers kanallarının etrafında konumlanmış olan lamel adı verilen mikroskopik matriks tabakaları içerir. Kanallar ve onu çevreleyen bu lamellerin bütününe Havers sistemi ya da osteon adı verilir. Kemiğin yüzeyine dik olarak konumlanan; iç ve dış yüzey arasında bağlantı kuran diğer bir kanal yapısı ise Volkmann kanallarıdır. Bu iki kanal sistemi içindeki damar ağı birbirleriyle bağlantılıdır(28,53,102,129).

2.1.4.2 Kansellöz kemik

Hacimsel olarak vücudun %20'sini oluşturan, spongioz veya süngersi kemik olarak da adlandırılan kansellöz kemik, yassı kemiklerin kortikal tabakaları arasında ve uzun kemiklerin metafizinde bulunur. Makroskopik olarak gözlenebilen, trabekül adı verilen iğnemsî plak ve gözeneklerden oluşan kansellöz kemikte osteon bulunmaz. Trabeküllerin arası kan ve kemik iliğiyle doludur. Kan damarları kansellöz kemiğin medial kemik kavitesindeki kemik iliğine besin taşırlar (1,28,44,46,102).

2.1.4.3 Woven kemik

Çeşitli kaynaklarda ağıs kemik, embriyonel kemik ya da primer kemik olarak da geçen woven kemik, oldukça hızlı oluşan, hücrece zengin, lameller yapı yerine yeni şekillenmiş düzensiz kollajen fibriller içeren kemiktir. Mineral içeriği azdır ve mekanik direnci düşüktür. Defekt ve kemik iyileşmesi sırasında, kallus oluşumu gibi fizyolojik olaylarda, osteosarkom, paget hastalığı ve hiperparatioidizm gibi patolojik oluşumlarda görülür. Yetişkinlerde kafadaki yassı kemik eklemleri, diş alveolleri ve tendonların kemiğe tutunduğu bölgeler gibi birkaç yer dışında yerini 3 yaşından sonra kompakt kemiğe bırakır(46,56,8,73,109,114).

2.1.5 Kemik hücreleri

Temel kemik hücreleri osteoklastlar, osteoblastlar, osteositler, kemik yüzeyini döşeyen hücreler, iliğe ait hücreler ve immün sistem hücreleridir.

2.1.5.1 Osteoklastlar

Osteoklastlar kemik rezorpsiyonundan sorumlu olan, 1-50 arasında çekirdeği olan, çapları 20-50 µm arasında değişen dev hücrelerdir. Trabeküler ve kompakt

kemiklerin iç yüzeylerinde oluşurlar. Olgunlaşmış lameller kemiğin rezorpsiyonunda, olgunlaşmamış örgü kemiğe göre osteoklastlar daha büyük boyutlardadır. Kemik iliği hücrelerinin fagositik karakterli olanlarından kaynaklanırlar ve mitoz bölünme yapmazlar(57,59,84,90,114,115). Osteoklastlar genelde kemik rezorpsiyonunun başladığı bölgelerde Howship lakünleri adı verilen rezorpsiyon kavimleri içinde bulunurlar. Sitoplazmalarında asit fosfataz içeren granüller bulunur. Aktif veya pasif durumda bulunabilirler. Aktive olduklarında, kemik matriksine bakan yüzeylerinde kutupsu bir membran yapısı gözlenir. Kutupsu membran yapısının etrafında organel içermeyen, mikroflamanlar açısından zengin şeffaf bir sitoplazmik bölge oluşur. Osteoklastın kemik matriksi yüzeyine tutunduğu, rezorpsiyonun başladığı alan burasıdır (7,14,59,65).

Emilim, şeffaf bölgede pH'ın 3,5 olduğu ortamda karbonik anhidrazın etkisiyle H_2CO_3 'ten serbestlenen hidrojen iyonlarının kemiğin mineral yapısını çözmesiyle gerçekleşir. Kemik matriksinin kollajenini ve diğer proteinleri de metalloproteinaz, fosfataz, katepsin K gibi diğer protein yıkıcı enzimler eritir(54). Osteoklastların etkinlikleri; bifosfonatların, kalsitonin ve östrojen hormonlarının etkileriyle azalırken, tiroksin, paratiroid hormonları ve D vitamini ile artar(126,128).

Osteoklastların paratiroid hormon reseptörleri bulunmadığından, bu hormona olan bu duyarlılığın osteoblast dizilimindeki hücreler tarafından yönlendirildiği; emilimin yeri, uyarılması ve engellenmesinin bu mekanizmayla kontrol edildiği öne sürülmüştür(20,36,111).

2.1.5.2 Osteoblastlar

Organik matriksin sentezlenmesinde ve mineralizasyonunda önemli rol oynayan osteoblastlar, yeni kemik oluşturma yeteneğine sahip hücrelerdir. Salgıladıkları sitokinler, büyüme faktörleri ve hormonların işlev görmesinden sorumludur. Direkt veya indirekt uyarılmalarıyla remodeling meydana gelir.

Mezenkimal hücrelerden veya farklılaşmamış hücrelerden köken alırlar. Büyük bir çekirdek, hücresel uzantılar, hücreler arası bağlantılar, sık endoplazmik retikulum, gelişmiş golgi apareyi ve içleri kollajenle dolu salgı kesecikleri içerirler. Kübik halde

bulundukları etkin hallerinde birbirlerine çok yakın dizilerek kemikte 15-30 µm kalınlığında bir tabaka oluştururlar. Kemik matriksinin organik bileşenlerinin sentezinden sorumludurlar. Ekstrasellüler kemik matriksi içine matriksmetalloproteinaz salgırlar. Salgıladıkları sitokinler ve büyüme faktörleriyle osteoklastlar ve çeşitli hematopoetik hücrelerin değişimini sağlarlar. Kalsiyum pompası olarak bilinen plazma adenozin trifosfataz (ATPaz) içerirler ve ATP hidrolizinden elde ettikleri enerjiyle ekstrasellüler matrikse Ca iyonu pompalarlar.

Osteoblastlar paratiroid hormonu, prostoglandinler, D vitamini metabolizmasının yan ürünleri, gonad ve adrenal steroidler gibi moleküllere özel reseptörler içerirler.

Osteoblastik farklılaşmayı kontrol eden unsurun çekirdek bağlayıcı faktör $\alpha 1$ olduğu düşünülmektedir. Mezenkimde veya kemik ilik temel dokusundaki kök hücrelerde osteoblast dizilimine geçildiği anda, osteoblast ön hücreler çoğalır. Bu hücreler önce preosteoblastlara, sonra da olgun osteoblastlara dönüşür.

Kemiğin matriks yapısının %90'ı kollajen, %10'u da kollajen olmayan yapıdaki proteinlerden oluşur. Matriks oluşumunu mineralizasyon takip eder. Matriks oluşumu osteoblast ve osteid arasındaki bölgede, mineralleşmeden 15 gün önce olur. Matriks sentezinden önceki 9 gün boyunca ortamda preosteoblastlar bulunur. Bir bölgede kutuplaşmış olan osteoblastlar kemik matriksi ile temas ederek matriks sekresyonunu yapar. Böylece osteoblastlar ile daha önce meydana gelmiş kemik matriksi arasında osteid adını alan kalsifiye olmamış matriks meydana gelir. Bu olaya kemik apozisyonu denir.

Hücre dışı mineralizasyon osteid ile yeni oluşan kemik arasındaki mineralizasyon sınırı olarak tanımlanan bölgede meydana gelir. Matriks formasyonu ile mineralizasyon arasında belirli bir süre geçtiği için bölgenin yüzeyinde osteid birleşim adı verilen mineralize olmamış bir tabaka kalır. Erişkinlerde bu süre 10 gündür. Woven kemikte ise gecikme süresi çok kısa olduğundan bu tabaka görülmez.

Osteoblastlar ve osteoklastlar kemik iliğinden kaynağını alan hücreler oldukları için gelişimleri birbirleriyle ilişkilidir. Dolayısıyla osteoblast farklılaşması osteoklast gelişimi için bir ön gerekliliktir (9,17,25,27,40,42,56,59,67,76,83,84,102,110).

2.1.5.3 Osteositler

Osteositler kemik oluşumu sırasında kemik matriksi içinde kalmış olan olgun osteoblastlardır. Osteid kalsifikasyona uğrayıp hidroksiapatit kristallerini oluştururken bazı osteoblastlar kemik içinde kalarak organellerinden çoğunu kaybeder ve osteosite dönüşürler. Dönüşen osteoblast sayısı oluşum hızına bağlı olduğu için oluşum hızı arttıkça bölge içinde kalan osteosit sayısı da artar (9,15,59,105).

Normal bir insan kemiğinde osteblastlardan 10 kat fazla sayıda osteosit hücresi bulunur. Yaşlanma, östrojen kaybı, kuvvete maruz kalma ve kronik glukokortikoid uygulanması osteosit ölümünü artırır(39,79,80,124). Paratiroid hormon uygulanması ile ölümünün engellendiği bildirilmiştir(58).

Farklılaşma sırasında oluşan osteositler damar yapıyla iletişim halinde olmak için diğer hücelere sitoplazmik uzantılar gönderirler. Etraflarında bulunan lakünler ve kanalcıklar, kemik sıvısının en derinde bulunan osteositlere dahi ulaşmasını; dolayısıyla gerekli metabolitlerin ve iyonların transfer edilebilmesini sağlar (42).

Osteositler, remodelingi sağlayacak olan fiziksel etkileri kimyasal sinyallere çevirirler. Etken kuvvetlerin büyüklüklerine ve dağılımlarına en duyarlı olacak şekilde konumlanmışlardır. Kemik rezorpsiyonu sırasında osteoklastlar yardımıyla kemik matriksinden serbestlenirler.

Osteositlerin, kemik içinde kalsiyum akışını kontrol ederek kemiğin mineral direncini sağlamak, hasarları tespit etmek, hücrelerarası ilişkiyi sağlayarak bükülme kuvvetlerine göre kemiğin remodelingini düzenlemek gibi görevleri vardır(42,44,46,68,69).

2.1.6 Periost

Kortikal kemiklerin dış yüzeyini örten osteojenik bağ dokusu membranına periost adı verilir. İki katmandan oluşan periost, kortikal kemik ile onu çevreleyen yumuşak dokular veya kaslarla arasındaki bağlantıyı sağlar.

Dış katman fibröz bir yapıya sahiptir. Fibroblastlardan, kollajenden, elastin liflerden ve bir damar-sinir ağından oluşur. Sharpey lifleri denen elastin lifler, periostun iç kısmından çevresel lamellerin içine uzanır.

Kemik yüzeyi ile direkt temas halinde olan iç katmansa; kambium adını alır ve mikrovasküler yapıdan, hücreler ve onların öncüleri açısından zengindir. Bu katmanda mezenkimal ve osteojenik ön hücreler, osteoblastlar, fibroblastlar, kılcacık damarlar ve sempatik sinirler bulunur (56,76).

Kambium katmanında olgun osteoblastlara daha az rastlanır. Bu katmanda yaşlanma ile birlikte atrofi ve incelmeye olur.

Periosttaki fibröz tabakanın kalınlığı ve fibroblastların sayısı; damarların sıklığı yaşla azalır. Fakat fiziksel etkenlerde veya kemik iyileşmesi esnasında yeni damar meydana getirebildiği gözlenmiştir (53,76).

2.1.7 Endost

Kortikal ve kansellöz kemiğin iç kısmını kaplayan, tek sıra halinde dizilmiş kemik hücrelerinden meydana gelen tabakaya endost adı verilir. Endost kemik iliğiyle kemik yüzeyi arasındaki sınırı teşkil eder (76).

2.1.8 Kemik büyüme ve gelişiminin evreleri

2.1.8.1 Modeling (şekillenme)

Birbirine çok yakın iki olgu olan büyüme ve şekillenmeden, büyümeyi kontrol eden yerel faktörler, gereken yapıda bir şekillenmeyi de organize ederler. Şekillenme, kemik yüzeylerinde meydana gelen yıkım ve yapım olayları sonucunda yüzeye yeni kemik dokusu eklenmesi veya varolan kemik dokusunun azalması olarak nitelendirilebilir. Büyüme esnasında periostal kemik yapımı, endostal yıkımdan daha fazla olmaktadır. Şekillenme, kemiğin büyüme, şekil, dayanıklılık hacim ve anatomi gibi temel özelliklerinin belirlendiği safhadır. Buna bağlı olarak şekillenme kortikal

tabakanın kalınlığını artırır ve kemik iliğinin bulunduğu boşluğun çapını genişleterek uzun kemiklerin uç kısımlarını şekillendirir (46,56,76,107).

2.1.8.2 Remodeling (Yeniden şekillenme)

Yeniden şekillenme işlemi, kemiğin biyomekanik ve metabolik yapısının korunması için çok önemlidir. Örneğin metafizlerde oluşan woven kemik dokusu olgun kemikle karşılaştırıldığında yapısal olarak daha zayıftır. Zamanla kalitesi azalan olgun kemiğin yeni kemik dokusuyla değiştirilmesi ya da yenilenmesi gerekir. Remodeling adı verilen mekanizma, rezorbe olan Woven ya da yaşla kalitesi azalan kemiğin, ilgili bölgede lameller yapıda yeni kemik oluşturmaktır. Normal koşullarda bir erişkin kemiğinin kortikal kısmının 20 yıllık, kansellöz kısmının 1-4 yıllık yaşam süresi vardır. Sürekli olarak kemiği yenileyen remodeling, kemiğin kalsiyum metabolizmasını düzenlemesini, maruz kaldığı yükleri taşıma kapasitesini koruyabilmesini, meydana gelen hasarların onarılabilmesini ve kan hücrelerinin üretiminin devamlılığını sağlar.

2.1.9 Kırık iyileşmesi

Herhangi bir hasar ya da madde kaybı durumunda kendini yenileyebilme yeteneğine sahip olan kemiğin tamir süreciyle beraber bir fizyolojik olaylar zinciri başlar. Kemik, skar dokusu oluşturmada yeniden organize olarak iyileşir. Kırık iyileşmesi kırık olduğu andan itibaren başlar. Düzenli kemik doku ile kırık uçları birleşinceye kadar devam eder (1,61,93).

2.1.9.1 Primer kırık iyileşmesi

Primer kemik iyileşmesi, kırıkların açık reposisyon ve stabil osteosentezinde görülen iyileşme türüdür. Kırık bölgesinde herhangi bir dış kallus oluşmadan boşluğun intramembranöz kemikle dolduğu iyileşme türüdür. Rejenerasyon, fibröz ve kondral

safhalar olmadan, kemik eksenine paralel osteon oluşumuyla meydana gelir. Kırık korteksinin kompaktlığı osteon oluşumuna zemin hazırlamaktadır. Kırık çizgisinin iki tarafında kapiller ve Havers kanalının canlı kalan osteojenik hücreleri çoğalmaya başlar. Bu hücrelerin bazıları osteoklastlara farklılaşıp havers kanallarını genişletir. Osteoblastlar genişleyen havers kanallarına yerleşerek konsantrik lamellerin oluşumunu sağlarlar. Yeni oluşan osteonlar endosttan kaynaklanan iç kallusla yer değiştirirler. Primer kemikleşme periost reaksiyonu görülmeyen ve stabil osteosentez gerektiren iyileşme türüdür. Çeşitli mekanizmalarla tespit edilen dokuda stabilitenin sürekliliği kaybolursa instabilite kallus görülür (114,123).

2.1.9.2 Membranöz (intramembranöz) kemik iyileşmesi

Intramembranöz kemik iyileşmesi direkt olarak gevşek bağ dokusundan kırık uçlarının temas ettiği yerlerde membranöz kemik ünitelerinin oluşumuyla meydana gelir (50,114). Uzantıların temas ettiği mezenkimal hücreler kılcal damarların oluşmasıyla sitoplazmaları koyu boyanan daha yuvarlak şekilli hücrelere dönüşerek osteojenik hücre dönemini başlatırlar. Kıkırdak oluşumu görülmez. Histolojik olarak kemikleşmenin başladığı dönem osteojenik dönemdir (50).

Bir sonraki safhada osteojenik hücrelerden osteoblastlar farklılaşır. Osteoblastlar kemik organik matriksini sentezlerler. Kalsiyum absorpsiyonu ile başlayan matriks mineralizasyonu süreci içinde bazı osteoblastlar osteosite dönüşerek laküna içinde yerleşirler (50,83). Yeni oluşmuş kemik üniteleri sentezin başladığı noktadan dışa doğru ışın demetleri biçiminde yer değiştirme süreci ile diziler ve büyürler. Devam eden osteoblast ve osteosit aktivitesiyle trabeküller büyüyüp ağ şeklinde yapılanarak kansellöz kemiği oluştururlar (50,83). Osteojenik hücreye dönüşme potansiyelinde olan çok az sayıdaki mezenkim hücresi kansellöz kemiğin trabekül yüzeyi boyunca yerleşirler. Osteoblastların apozisyonel aktivasyonu ve osteoklastların da kemik rezorpsiyonu sonucu trabeküler yapının yeniden şekillenmesi sağlanır. Trabeküller arası boşluklar daralır, Haversian sistemler oluşarak kompakt kemik yapısı meydana gelir (50,117).

2.1.9.3 Sekonder Kırık İyileşmesi

Sekonder kırık iyileşmesi, organizmanın kırık bölgesini bir kallus yapısı ile sararak hareketsizliği sağladığı iyileşme şeklidir. Fibröz kondral ve kemik dokusu oluşumu endokondral kemikleşmeyle benzerlik gösterdiği için endokondral iyileşme olarak da adlandırılmaktadır (117). Histolojik olarak iyileşme süresindeki her faz bir önceki veya bir sonraki fazla iç içedir (92,117).

Kırık iyileşmesi 4 ayrı safhada incelenebilir (4):

- İnflamasyon safhası
- Granülasyon dokusu safhası
- Kallus safhası
- Remodeling safhası

2.1.9.3.a İnflamasyon

İnflamasyon sahası kırıktan sonra birkaç saat içinde başlar ve gelişen yumuşak kallusla yer değiştirene kadar bir kaç gün devam eder. Dokuya gelen kuvvetin oluşturduğu hasarla birlikte periost yırtılır, kortikal kemik yer değiştirmesi ve ayrılması, kırık sahasındaki haversian kanallarındaki damarlarda kesilme ve ilik içeriğinin kırık boşluğuna akması görülür. Meydana gelen kanamayla, sellüler debris ve doku fragmanları bir hematoma içine sarılır. Oluşan hematoma, çevre yumuşak doku sahalarıyla sınırlanmış hipoksik asidik bir oluşumdur. Trombositler hızla, kan sızan hasarlı damarları tıkar ve hematoma içinde nekrotik pıhtı oluşturmak üzere fibrin depo edilir (49,60).

İnflamasyon sahasında ilk görülen hücreler mezenkimal kök hücreler adı verilen ve bir çok hücreye farklılaşma yeteneğine sahip öncü hücrelerdir. Pıhtı, önce akut inflamasyon hücreleri ile, bir kaç gün içinde de kronik enfeksiyon hücreleri ve makrofajlar ile dolar. Toplanan mezenkimal kök hücreleri pıhtıyı organize eder. Bunun hemen sonrasında içe doğru büyüyen kapillerler ile birlikte pıhtı 3 ya da 4 gün içinde reperatif fibrovasküler granülasyon dokusu ile yer değiştirir.

Kırık sahasındaki kemiğin devaskülarize uçları nekrotiktir ve osteositik aralık, hücreler otolize uğradıkça boşalmaya başlar. Bunu nekrotik kemiğin osteoklastik rezorpsiyonu takip eder (49,85).

2.1.9.3.b Granülasyon Dokusu Safhası

Granülasyon dokusu safhasında ilk gerçekleşen olay hematomun organizasyonudur. Öncü hücreler lokal uyarılara cevap vererek farklılaşmaya ve oluşmuş olan hemotomu organize etmeye başlar. Birden çok hücreye farklılaşma yeteneğine sahip olan bu öncü hücreler yeni damar oluşumu, fibroblast, intersellüler materyaller, destek hücreleri ve diğer hücrelere farklılaşırlar (38). Kırık iyileşmesini başlatan ve sonrasında kontrol eden lokal ve sistemik mediatörler osteoblastların, kondroblastların, kondroklastların ne zaman, nerede, ne kadar yapılacağını; aktivitelerini ne kadar sürdüreceklerini ve bunun için gerekli olan enerji kaynağını belirlerler. Öncü hücrelerin organizasyonu ve farklılaşmasıyla oluşan yumuşak granülasyon dokusu kırık bölgesinde bir miktar stabilite sağlar. Bu devrede kırık bölgesi pH'sı asittir (38,50,92,123).

İnflamasyon safhasında olduğu gibi tamir sürecinde rol oynayan hücrelerinde mezenkimal kaynaklı olduğu, bunların kollajen, kıkırdak ve kemik dokusunu yaptıkları bilinmektedir (1,38,47,91,114,117).

Kırığın ikinci gününden itibaren kallusu oluşturacak hücre proliferasyonu periostun kırık hattına yakın derin tabakasında başlar. Farklılaşarak çoğalan osteoprogenitör hücreler periostla kemik arasında birikerek periostu kemikten bir miktar ayırırlar (50,83).

Osteojenik hücrelerin çoğalma sürecine paralel olarak kapiller tomurcuklanma başlar. İlk dönemlerinde periostal damarlar, kapiller tomurcuklanmasına yardımcı olur (50,83,92,123). Fakat kapiller gelişimi osteojenik hücre gelişimi kadar hızlı olmadığından beslenmenin daha iyi olduğu kemiğe yakın derin seviyedeki hücreler osteoblastlara dönüşür. Kemiğe yakın olmayan granülasyon dokusu kuşağının üzerinde yerleşen hücreler dolaşım yönünden fakirdirler. Bu bölgedeki kapiller gelişim hızı hücre çoğalmasına uyum gösteremediğinden hücreler kondrositlere farklılaşır. Kuşağın dış yüzeyinde kıkırdak dokusu meydana gelir (50,83).

Kırık bölgesinde osteoblastların bulunduğu yerde osteoid doku oluşur. Proteoglikanlar, polipeptidler, lipidler ve osteoblastların yüzeyinden salgılanan amorf madde osteoid dokuda özel moleküller halinde yerleşir. Organik matriks mineralizasyonuna uygun olacak şekilde özel yapılanma gösterir (50,91,96,114).

Osteoprogenitör hücreler ve fibrin matriksten kaynaklanan kırık dokusu hücreleri prekondroblast, kondroblast, kondrosit ve hipertrofiye kondrosit evreleriyle çoğalıp olgunlaşırlar. Kondrositler kırık doku matriksi yaparlar. Böylece osteoblast ve kondrositler tarafından yapılan osteoid doku ve kırık doku matriks bir sonraki safhaya mineralizasyon için hazırlanmış olur (83,96).

2.1.9.3.c Kallus safhası

Kallus fazında osteoid doku ve kırık doku matriksin mineralizasyonu gerçekleşir (38,50,96). Osteoblastlar, osteoid dokuda mineralizasyonu başlatıp devam ettirirler. Hücresel düzeyde mineralizasyonun devam ettiği matriks vezikülleri; lipid, yoğunlaşmış kalsiyum fosfat, alkalen fosfataz, alkalen adenozintrifosfat ve profosfataz enzimlerini içerirler (38,48,50,91,96,116).

Olgunlaşmış matriks vezikülleri, organik matrikse taşınarak parçalanır. Profosfataz enzimi kalsifikasyonu inhibe eden profosfatları parçalayarak mineralizasyon için uygun ortamı hazırlar (100,114). Alkalen fosfataz, fosfat esterlerinden fosfat iyonunu serbestleştirerek kalsiyumun lokal çökmesini sağlar (100,114). Olgunlaşan matriks veziküllerinin taşıyıcı kalsiyum fosfat amorf fazda organik matrikste depolanmaya başlar (96).

Kalsifiye doku içinde kalan osteoblastlar, osteositlere dönüşerek dağınık trabeküler kemik ağını yaparlar. Kemik trabeküllerinin sayısı gittikçe artar ve bu trabeküller birbirleriyle birleşerek bir kemik ağı meydana getirirler. Osteoblastlarla başlayıp devam eden kırık iyileşmesi intramembranöz kemik iyileşmesi şeklindedir (38,50,91,96).

Kırık dokuda alkalen fosfataz salgılanmasıyla kırık doku matriksin kalsifikasyonu başlar (38,50,91,96). Kalsifiye doku içinde kalan kondrositler difüzyonla beslendiklerinden ölmeye başlarlar ve bulundukları yerlerde lakünler meydana gelir. Kondroklastik aktiviteyle rezorbsiyon artar ve lakünler genişler. Bu süreç devam

ederken laküner boşluklara kapiller damarlar ve osteojenik hücreler invaze olmaya başlar. Kalsifikasyon olmadan vaskülarizasyon ilerleyemez (50,91,96). Kıkırdak doku kalsifiye olmadan kapiller damarlar bu dokuya yönelmeye başlamışlardır. Lakün içine invaze olan osteojenik ve kan kaynaklı hücrelerden mikro çevre koşullarının değişimine bağlı olarak osteoblastlar belirir. Rezorbe olan kalsifiye kıkırdak matriksle yeni kemik yapımı sürecine bağlı olarak kemik dokusu yer değiştirir (38,50,91,96).

2.1.9.3.d Remodeling

Mineralize kallusun kemik içindeki boşluğun etrafını köprüyle çevrelemesinden sonra, kallus hacmi artmaya başlar. Oluşan kallus miktarı redüksiyonun doğruluğuna ve immobilizasyonun derecesine bağlıdır. Yapım safhasında fragmanlar arasındaki boşluğun büyük olması yeniden yapılanmanın uzamasına neden olur. Bu süreç tamamlandıktan sonra kallusun büyümesi yavaşlar; olgunlaşması ve remodelingi başlar. Olgunlaşmamış osteoid parçaları mineralize olur, yüzey apozisyonu ile trabeküller kalınlaşır. Kıkırdak nodülleri olgunlaşır, matriks kalsifiye olur ve kalan kıkırdağın endokondral ossifikasyonu gerçekleşir (34,64,78).

Nekrotik kemiğin rezorpsiyonunun tamamlanmasıyla beraber tamir dokusunun uzantıları, açık Haversian kanallarına ve kansellöz kemiğin ilik boşluğuna girer. Kalan nekrotik kemik, yerini yeni olgunlaşan canlı kemiğe bırakır (34,68).

Dokudaki devamlılık olgun kallus tarafından yeniden sağlandığı ve fiziksel kuvvetler ossifiye kallus köprüsünden iletildiği sürece; kallus, stres çizgileri boyunca yeniden şekillenmeye başlar. Daha çok kuvvet alan kallusun periferi hızla bir kortikal kemiğe dönüşür. Kallus trabeküllerinde yeniden dizilme ve rezorpsiyon ortaya çıkar. Kallustaki mezenkimal proliferasyonlar sarı ya da kırmızı ilikle yer değiştirir. Kallusu çevreleyen periost incelmıştır ve osteoblastların aktif proliferasyonu durmuştur. Zaman geçtikçe strese maruz kalarak kortikal kemiğe olgunlaşan alanlarının aksine, kallusun strese maruz kalmayan alanları rezorbe olur. Kemik zamanla, tekrar kırık öncesi şeklini almaya ve fonksiyonunu görmeye başlar (34,49,64).

2.2 Ultrason ve Kemik iyileşmesi

2.2.1 Ultrason

Ultrason, insan kulağının algılayamayacağı frekanslardaki akustik basınç dalgasının biyolojik dokular tarafından iletildiği ve absorbe edildiği bir mekanik enerji şeklidir (75,132). 20-20000 Hertz arasındaki mekanik titreşimler sestir. İnsan kulağı ancak bu limitin altındaki sesleri algılayabilir. Kulağın algılama sınırı olan 20 kHz'in üstündeki mekanik titreşimlere ise ultrason denir.

Ultrasonun tıpta terapötik, operatif ve diagnostik olarak kullanım alanı vardır.

Ses dalgaları baskılı ve seyrekleşmiş alanlar içeren boyuna dalgalardır. Bir ses dalgasına maruz kalan materyallerin partikülleri, dalgayla beraber hareket etmek yerine, belli merkez odaklı olarak titreşirler. Partiküllerin titreşmesini sağlayan, sesteki enerjinin materyale geçmesidir.

Ultrason cihazları, elektrik enerjisini mekanik enerjiye dönüştürmek için seramik ve quartz piezoelektrik kristaller kullanırlar. Cihazlar, ana ünite ve prob olmak üzere başlıca iki parçadan oluşurlar. Bir yüksek frekans jeneratörü olan ana ünite koaksiyel bir kablo aracılığıyla enerjiyi aplikatör de denilen proba iletir. Prob doku üzerine direkt olarak uygulanır. Uygulama esnasında tam nüfuzun sağlanması ve enerji kaybı olmaması için, uygulama yüzeyi bir likit materyalle kaplanır. Genellikle jelöz kıvamlı ultrason sıvıları kullanılan bu işlem sayesinde aplikatörün dokuya ilettiği dalgaların bütün yüzeye ulaşması hedeflenir.

2.2.2 Terapötik ultrason

Partiküllerin 1 saniyede maruz kaldığı baskı/seyselme siklusunun sayısı anlamına gelen ultrason frekansın değeri genellikle 1-3 MHz arasındır. Dalga üzerindeki iki eş nokta arasındaki mesafeyi simgeleyen dalgaboyu ise 1MHz'te 1.5 mm ve 3 MHz'te 0.5 mm'dir. Ultrason dalgalarının hızı ise salin solusyonunda 1500 ms^{-1} iken havada 350 ms^{-1} 'dir. Bu değerlerden de anlaşılacağı gibi ultrason dalgaları yoğun ortamlarda daha hızlı ilerlerler. Ultrasonun çoğu dokudaki hızının salin solusyonundakine yakın olduğu kabul edilmektedir.

Hız, frekans ve dalgaboyu faktörleri birbirlerine bağlı olmakla beraber, her doku tipinde sabit değillerdir. Matematiksel olarak kabul edilen formül ise $\text{Hız} = \text{frekans} \times \text{dalgaboyu}$ şeklindedir.

Dokudaki moleküler titreşimin artması ısı oluşmasına neden olacağından ultrason dokular üzerinde termal değişikliklere neden olur (6,82,108,125). Bu değişikliklerin istenilen düzeyde kalmaları, verilen ısıнын kontrollü olmasına bağlıdır. Bu ihtiyaçtan ötürü ultrasonun atımlı ya da kesikli kullanılması gibi yöntemler ortaya çıkmıştır.

Ultrason demetleri uniform değillerdir ve transducerdan uzaklıklarına göre farklılıklar gösterirler. Tedavi başlığına en yakın olan ultrason demeti bölgesine yakın bölge, enterferans bölgesi ya da Frenzel alanı adı verilir. Ultrasonun bu alandaki davranışı diğer alanlardakinden farklılık gösterebilir. Bu bölgedeki ultrason enerjisi, cihazın ayarlandığı değerin 12-15 kat kadar üzerine çıkabilir. Frenzel alanı boyu transducer kristalinin yarıçapının dalgaboyuna bölünmesiyle hesaplanır. Örneğin 1 mhz frekansta çalışan 30 mm çapındaki bir kristalin Frenzel hattı 10 cm boyundadır. Daha yüksek frekanslı bir ultrason cihazı kullanıldığında sınırlar daha da büyüyecektir.

Bu sınırların ardında kalan bölgeye ise uzak bölge ya da Fraunhofer alanı adı verilir. Ultrason ışını bu bölgede daha uniform ve ıraksaktır. Yakın bölgede varolan sıcak noktalar bu bölgede belirgin değildir. Dolayısıyla bu alan efektif olarak erişim alanı dışında kabul edilir.

Ultrason aplikatörleri için bir başka kalite indikatörü de ışın non-üniformite oranıdır (Beam Nonuniformity Ratio-BNR). Bu değer enterferans alanının indikatörü olarak da adlandırılabilir. BNR sayısal olarak en yüksek dalga yoğunluğunun ortalama yoğunluğa oranıdır. Bir çok aplikatör için ortalama BNR değeri 4-6'dır. Ultrasonun doğası gereği teorik olarak en iyi değerin 4 olduğu kabul edilse de kimi üreticiler bu limiti aştıklarını ve kendi ürettikleri jeneratörlerin 1 BNR değerine ulaştığını öne sürmüşlerdir.

Bütün materyaller ses dalgalarının geçişine empedans gösterirler. Bir dokunun spesifik empedansı dokunun yoğunluğu ve elastikiyetiyle hesaplanır. Enerjinin bir ortamdan başka bir ortama maksimal transmisyonunun sağlanması için iki ortamın empedansının aynı olması gereklidir. Ultrasonun jeneratörden dokulara geçişinde bunun sağlanamayacağı çok açıktır. Dolayısıyla empendans farkının yükselmesiyle yansıma artacak, daha az miktarda enerji dokuya aktarılacaktır(120).

Çelik aplikator yüzeyinden havaya geçişteki empedans farkı en yüksek farktır. Ultrasonun etkili olabilmesi için üstesinden gelmesi gereken ilk empedans farkı budur. Bu farkı minimuma indirmek için uygun eşitleyici ajanlar kullanılmalıdır. Aplikatörle deri arasında ufak hava boşluklarının kalması durumunda dahi yansıyan ultrason miktarı %99,998' e ulaşabilir ki bu da neredeyse hiç iletim olmadığı anlamına gelir.

Eşitleyici ajan olarak su, çeşitli yağlar ve kremlerden mamul jeller kullanılabilir. İdeal eşitleme ajanı bütün boşlukları dolduracak kadar sıvı kıvamlı, fakat yerinde sabit kalacak kadar visköz olmalıdır. Ajan minimal düzeyde emilmeli, incelmemeli, dokuya rahatsızlık vermemelidir(21,24,62,125). Günümüzde jel bazlı ajanlar, yağ ve krem bazlı ajanlara tercih edilmektedir. Su da iyi bir ajandır ve alternatif olarak kullanılabilir. Fakat viskozite kriterini karşılayamadığı için yetersiz kalmaktadır.

Temas hattında yaşanan yansıma sorununa ilaveten, ışınların doku yüzeyine 90° açı ile temas etmemesi durumunda kırılma sorunu ortaya çıkar. Ajandan geçen ışının dokuya giriş açısı ajana girdiği açının aynısı değildir. Doku içinde efektif olabilmesi için kritik açı 15° dir. Bu açı daha düştüğünde Ultrason demeti dermal dokular içinde ilerleyerek istenilen dokuya geçmeden kaybolur.

Ultrasonun terapötik etkilerinden biri de iyileşmeyi hızlandırmasıdır. Hasarlı dokuda iyileşmeyi hızlandırmanın yanı sıra tamir kalitesini de artırdığı bilinmektedir. Ultrasonun terapötik etkilere termal ve termal olmayan olarak ikiye ayrılır.

Termal mod yoğun kollajen dokuların ısıtılması esasına dayanır. Nispeten yüksek yoğunluk ve devamlı ışın gerektirir. Devamlı modda 0.5 W/cm²'den yüksek dozlar seçildiğinde istenilen etki elde edilebilir.

Termal olmayan modda ise ultrasonun kavitasyon ve akustik akım özelliklerinden yararlanır. Mekanizma aynı olmasa da bu mod mikromasajı çağırıştırır.

Kavitasyon, dokular ve vücut sıvıları arasında gaz boşlukları oluşmasına dayalıdır. Stabil ve stabil olmayan olmak üzere iki tip kavitasyon vardır. Stabil kavitasyon terapötik dozlarda görülür. Doku içindeki çözünmüş gazların baloncuklar oluşturarak büyümeleri ve birikmeleri esasına dayanır. Maksimum boyutlarına ulaşmak için yaklaşık 1000 siklus geçirirler. Kavitele akustik akım fenomeninin gelişmesine

yardımcı olurlar. Stabil olmayan kavitasyon ise ultrason siklusunun düşük basınçlı bölümünde baloncuklar oluşmasıdır. Bu baloncuklar yüksek enerji aldıklarında kolayca dağılırlar.

Akustik akım hücre membranı ve stabil kavitasyon balonunun yüzeyi gibi yapıların yakınında bulunan sıvıların küçük anaforlarına verilen addır. Diffüzyon oranlarını ve membran geçirgenliğini etkiler. Hücre membranın potansiyelindeki değişiklikler sodyum iyonu geçirgenliğini değiştirir. Protein sentezi ve sellüler sekresyonlar gibi bir çok metabolik prosesin kontrol mekanizması olan enzimleri etkileyen kalsiyum iyon transferi modifiye olur.

Akustik akım ve stabil kavitasyonun kombine etkileri hücre membranın ve dolayısıyla bütün hücrenin aktivite seviyelerini değiştirir. Ultrason enerjisi bu proses için tetikleyici görev görür (22,23,67,122).

Terapötik ultrasonun kullanımının kontrendike olduğu durumlar da vardır:

- 1- Gebelik sırasında uterus üzerinden embriyo veya fetusa,
- 2- Malign oluşumlarda veya malign olabileceği düşünülen dokularda,
- 3- Kanayan veya kanama eğilimi olan dokularda,
- 4- Derin ven trombozu, emboli ve şiddetli aterosklerozis/arteriosklerozisi de içeren vasküler anomalilerde,
- 5- Anestezili alanlarda (sadece termal tip için),
- 6- Akut infeksiyonlarda
- 7- Faktör verilmemiş hemofili hastalarında,
- 8- Gözde,
- 9- Ganglion stellada,
- 10- İlerlemiş kalp hastalıklarında kardiyak bölgede,
- 11- Kalp pili veya benzeri implante edilmiş cihazların varlığında,
- 12- Laminektomi sonrasında omurilikte
- 13- Subkütanöz majör sinirlerde
- 14- Kranyumda,
- 15- Subkütanöz kemik şişliklerinde,

16- Gonadlarda,

17- Çocuklarda aktif epifizlerde kontrendikedir(122).

2.3 Alkalen fosfataz

Alkalen fosfataz bütün dokularda bulunan bir enzimdir. Yüksek konsantrasyonda alkalen fosfataz barındıran dokular başlıca bağırsaklar, karaciğer, safra duktusları, kemik ve plasentadır. Hasarlı veya hastalıklı dokular, enzimleri kana serbestler. Böylelikle bazı patolojik durumlarda serum ALP düzeyi yüksek çıkabilir (72,87).

Alkalen fosfataz, laboratuvarında alkalen pH'da (pH~9-10) optimum reaksiyon verir. Vücuttaki alkalen fosfatazın büyük bir kısmı osteoblastlar tarafından oluşturulur. Serum izoenzimlerin karışımı şeklindedir. Çocuklarda normal kemik büyümesi nedeni ile yüksektir. Gebeliğin 3. trimesterinde yüksek olabilir(87).

Alkalen fosfataz düzeyinde artmaya yol açan bazı patolojiler:

İskelet sistemini etkileyen patolojiler: Primer hiperparatiroidi (Paratiroidler cerrahi olarak çıkarıldıktan sonra, serum alkalen fosfatazdaki artış devam eder. Kemik onarımı tamamlanana kadar, yavaş yavaş normale döner.), Sekonder hiperparatiroidi, kırık iyileşmesi, Paget hastalığı (Serum düzeyi hastalığın ilerlemesi ile yavaş olarak artar. Osteojenik sarkom gelişirse hızlı bir artış gözlenir.), Osteomalazi (Erken dönemde ve hipofosfatazlı nadir hastalar dışında alkalen fosfataz artmaktadır.), Ankilozan spondilitis, Cushing sendromu, Hereditör hiperfosfatazemi, Neoplastik hastalıklar

Hepatobiliyer Hastalıklar: Kolelitiyazis ile tıkanma, Karaciğer apsesi, Biliyer siroz, Primer ya da metastatik karaciğer tümörü, Viral hepatit, Sarkoidozis, Amiloidozis, Alkolik hepatit, Pankreatit, Enfeksiyöz mononükleozis, Kist hidatik, CMV enfeksiyonu, İlaçlara bağlı karaciğer hastalığı

Diğer hastalıklar:Sepsis, Böbrek yetmezliği, Diabetes Mellitus, Hipertiroidizm,

Lösemiler, Renal karsinoma, Meme karsinomu ve metastazları, Konjestif kalp yetmezliği, Renal rikets, İlaçlar (Asetoheksamid, allopürinol, karbamazepim, sefaloridin, klorpropamid, furasemid, metildopa, oral kontraseptifler, fenotiyazin, tolazamid,tolbutamid)

Alkalen fosfataz düzeyinde azalmaya yol açan bazı patolojiler:

Hipotiroidi, Herediter hipofosfatazemi (Serum kalsiyumu ve plazma inorganik fosforu normaldir. Kemik ve serum alkalen fosfataz aktivitesi çok düşüktür), Anemiler, Akondroplazi (Çocuklarda, büyümedeki durma sonrasında, hızla yetişkinlerdeki düzeye düşer), Kretinizm(Büyümedeki durma sonrasında, serum düzeyi hızla yetişkin düzeyine düşer), Kwashiokor (Tedaviyi takiben iki haftada düşüklük artar, daha sonra normal düzeye yükselir), C vitamini eksikliği, Klofibrat tedavisi, Kemiklerde radyoaktif maddelerin toplanması, osteoblastlarda yıkıma neden olduğundan serum alkalen fosfataz düzeyi düşebilir(72).

2.4 Kalsiyum

Kalsiyum, kemik yapısı için zorunlu minerallerden biridir. Tüm vücut ağırlığının % 1,5 - 2,0'sini oluşturur. Bu kalsiyumun % 98 i kemiklerde, % 1' i dışerde, diğer % 1'i ise kan dolaşımı ve yumuşak dokularda bulunmaktadır. Dolaşımda olan kısım pıhtılaşma mekanizmaları, sinir iletimi kas aktivitesi gibi fonksiyonlarda rol aldığından büyük önem taşır. (19,72)

Plazmada kalsiyum, diffüze olmayan kompleks olarak proteine bağlı şekilde (%33), diffüze olabilen fakat ayrışmayan kompleks olarak sitrat, bikarbonat ve fosfat anyonları ile (%12) ve iyonize şekilde (%55) bulunur. Normal sınırlar içerisinde olduğu halde yaz aylarında kış aylarından daha yüksek düzeylerde bulunur.(72)

Kalsiyum Düzeyinin Artmasına Yol Açan durumlar:

Absorbsiyonda artma (D vitamini ya da A vitamini fazlalığı, Süt-alkali sendromu), Endokrin hastalıklar (Adrenal yetersizlik, Primer hiperparatiroidizm, Sekonder hiperparatiroidizm, Akromegali, Cushing sendromu), Neoplastik hastalıklar (Kemik metastazları, Lenfoproliferatif hastalıklar, Parat hormon benzeri peptidlerin salınımına

yol açan tümörler), İyatrojenik, Tiyazid diüretiklerine bağlı, İmmobilizasyon, Hipofosfatazi , Sarkoidoz , Akut kemik atrofisi , Renal hastalıklar , Lityum tedavisi(72)

Kalsiyum Düzeyinin Azalmasına Yol Açan Bazı Sebepler:

Emiliminde veya alımında azalma (Malabsorbsiyon, D vitamini eksikliği, İnce bağırsak şant operasyonu), Diüretik tedavisi, Kronik böbrek yetmezliği , Hipoparatiroidizm, Tiroidin edüller karsinomu , Neoplastik hastalıklar (Kemik metastazı, Kalsifiye kondrosarkom), Akut pankreatit, Hipoalbünemi, Hipomagnezemi, Hiperfosfatemi, Kalsitonin ile tedavi edilen Paget hastalığı, İlaçlar(72)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızın amacı, LIPUS'un kemik defektlerinin iyileşmesi üzerinde olumlu etkisinin olup olmadığını, varsa hangi dönemlerde uygulandığında daha olumlu etkilerinin olduğunu ve kendi haline bırakılan defekt iyileşmesine göre üstünlüklerini hem eksperimental, hem de biyokimyasal olarak araştırmaktır.

Çalışmamızda 48 adet (300±20) gr. ağırlığında 6 aylık, erkek Wistar Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar normal su (çeşme suyu) ve İstanbul Yem Sanayi tarafından hazırlanan %21 oranında protein içeren yemlerle beslendi.

Araştırmamızı İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Laboratuvarı, İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Anabilim Dalı, İ.Ü.Temel Onkoloji Anabilim Dalı Kanser Biyokimyası Bilim Dalında gerçekleştirdik.

Çalışmamızda etik kurallara uygunluk açısından, deneyde kullanılan sıçanların sağ tibialarının tamamı deney protokolüne dahil edilmiştir.

Araştırmamız, sıçanlara LIPUS uygulanma dönemine göre üzere 3 ana grup ve her bir ana grup için LIPUS uygulanan ve kontrol grubu olmak üzere 2'şer alt gruptan oluşmaktadır. Belirtilen ana gruplar ve alt grupları aşağıdaki gibidir:

Birinci Grup; 1-7 gün GRUBU: Sağ tibialarına defekt açılarak iyileşmenin takip edildiği 14.günde sakrifiye edilen grup (n=16),

1a) LIPUS 1-7 GÜN GRUBU: Defekt oluşturulduktan sonra 1-7.günler arası LIPUS uygulanıp, iyileşmenin takip edilerek post-operatif 14.günde sakrifiye edilen grup (n=8).

1b) Kontrol 1-7 GÜN GRUBU: Defekt oluşturulduktan sonra LIPUS uygulanmadan, normal iyileşmenin takip edilerek post-operatif 14.günde sakrifiye edilen grup (n=8).

İkinci Grup; 7-14 gün GRUBU: Sağ tibialarına defekt açılarak iyileşmenin takip edildiği 14.günde sakrifiye edilen grup (n=16),.

2a) LIPUS 7-14 GÜN GRUBU: Defekt oluşturulduktan sonra 7-14.günler arası LIPUS uygulanıp, iyileşmenin takip edilerek post-operatif 14.günde sakrifiye edilen grup (n=8).

2b) Kontrol 7-14 GÜN GRUBU: Defekt oluşturulduktan sonra LIPUS uygulanmadan, normal iyileşmenin takip edilerek post-operatif 14.günde sakrifiye edilen grup (n=8).

Üçüncü Grup; 1-14 gün GRUBU: Sağ tibialarına defekt açılarak iyileşmenin takip edildiği 14.günde sakrifiye edilen grup (n=16),.

3a) LIPUS 1-14 GÜN GRUBU: Defekt oluşturulduktan sonra 1-14.günler arası LIPUS uygulanıp, iyileşmenin takip edilerek post-operatif 14.günde sakrifiye edilen grup (n=8).

3b) Kontrol 1-14 GÜN GRUBU: Defekt oluşturulduktan sonra LIPUS uygulanmadan, normal iyileşmenin takip edilerek post-operatif 14.günde sakrifiye edilen grup (n=8).

3.1. LIPUS üretici:

Çalışmamızda 0-20 watt gücünde, 0-2,0 watt/cm² yoğunlukta, 0-3,5 ms atım aralıklı ultrason üretebilen Sonicator Ultrasound Generator (Mettler Electronics Corp Anaheim CA USA) kullanıldı. (Şekil 3.1) Üretcin deneylerde kullandığı doz ve tedavi süresi planlaması Dyson ve Brookes'in modeli(104), grupların oluşturulması ise Azuma ve arkadaşlarının (115) modeli örnek alınarak yapıldı. Dyson ve Brookes (104) 70 sıçanda bilateral fibular fraktürler meydana getirip, 12 sıçanı da kontrol grubu olarak

kullandıkları çalışmalarında $0,5 \text{ W/cm}^2$, 2ms atımlı, 1,5-3,0 MHz ultrason terapisini farklı sürelerde ardışık günlerde uygulamışlardır. Azuma ve arkadaşları(115) 69 sıçan üzerinde birleşmemiş kırık yarattıkları çalışmada; hayvanları 1-8 gün, 9-16 gün, 17-24.gün ve 1-24.gün olmak üzere 4 ana gruba, bu ana grupları da LIPUS ve kontrol grubu olmak üzere ikişer alt gruba ayırmışlar, hayvanlara. 30 mW/cm^2 , 1,5 MHz, 200 ms atımlı LIPUS uygulamışlardır. Çalışmamızda ise 2 hafta boyunca farklı günlerde $0,5 \text{ watt/cm}^2$ 1,0 MHz ve 2ms atımlı LIPUS uygulanan sıçanlarda ultrason tedavisinin 14 günün hangi döneminde daha etkili olduğu incelendi. (Şekil 3-8, Şekil 3-9)

Eşitleyici ajan olarak Konix Ultrasound-Ekg Transmission Gel (Turkuaz Sağlık Hizmetleri, Medikal, Temizlik, Kimyasal Ürünler San ve Tic Ltd Şti) kullanıldı. (Resim 3.2)

Ultrason uygulanacak gruplar genel anestezi altında günde 5 dakika olmak üzere 7 ve 14 gün uygulamaya tabi tutuldu. Beşer dakikalık uygulamanın ardından sıçanlar normal kafeslerine alınarak sıvı ve besin ihtiyaçlarının karşılanması sağlandı. Çalışmanın başlangıcında ve sakrifikasyondan önce sıçanların ağırlıkları karşılaştırılarak herhangi bir kilo değişikliği olup olmadığı kontrol edildi.

3.2. Cerrahi Yöntem

Sıçanlara 100 mg/kg İ.M. ketamin HCl (50 mg/ml Ketalar®, Parke Davis) enjeksiyonu ile genel anestezi uygulandı. Standart postürde sabitlenen sıçanların sağ bacaklarının medial yüzleri tıraşlanıp iyod solüsyonu ile dezenfekte edildikten sonra, tibialarının medial yüzlerine ulaşmak amacıyla 20-25 mm. uzunluğunda longitudinal cilt, cilt altı ve periost insizyonu yapıldı (Şekil 3-3). Künt disseksiyonla tibiaların medial yüzüne ulaşıldı (Şekil 3-4). Serum fizyolojik irrigasyonu altında tur motoru piyasemenine takılı 2 mm. çapındaki cerrahi yuvarlak uçlu frez ile 3 mm. uzunluğunda ve 2 mm. genişliğinde korteksten medullaya kadar ulaşan oluklar oluşturuldu(Şekil 3-5, Şekil 3-6). Oluşturulan olukların içi serum fizyolojikle yıkandıktan sonra cilt dokusu ipek iplikler ile suture edildi (Şekil 3-7). Yara bakımı yapılarak sıçanlar tekrar kafeslerine alındı.

3.3.Biyokimyasal Analiz

Çalışmamızda biyokimyasal analizler İ.Ü. Temel Onkoloji Anabilim Dalı Kanser Biyokimyası B.D.`nda gerçekleştirildi.

Deneklerden 0.ve 14. günlerde kuyruktan en az 1,5 cc olacak miktarda kan alındı. Kanlar 10cc`lik heparinsiz tüplerle bekletilmeden laboratuara taşındı ve serum Ca^{+2} ve ALP düzeyleri değerlendirildi.

3.4.Histopatolojik Analiz

LIPUS uygulama tarihlerine göre toplam 6 aşamada 8`şerli gruplar halinde tüm deney ve kontrol hayvanlarının operatif işlemleri tamamlandı. Postoperatif 14. günde yüksek dozda dietil eter anestezisinin irreversible dönemdeki letal etkisi görüldükten sonra tüm deney ve kontrol gruplarının sakrifikasyon işlemleri tamamlandı. Sıçanların sağ tibiaları çıkartıldıktan sonra materyaller %10`luk tamponlanmış formole yerleştirildi. Histopatolojik değerlendirmeler için materyaller İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Anabilim Dalı`na gönderildi. Çalışmamızdaki materyallerin kemik dokusunun histolojik değerlendirilmesi için %10`luk tamponlanmış formaldehitte tespit edilen parçaların fazla kısımları temizlendi. Kemik parçaların formik asit-sodyum sitrat çözeltisinde dekalsifiye edilmesinden sonra parçalardan mikroskopik kesitler alındı. Parçalar rutin doku takibinden geçirildi ve parafin bloklar hazırlandı. Elde edilen parafin bloklardan 5-7 μ kalınlığında seri kesitler alınarak Hematoksilen & Eosin ile boyandı ve ışık mikroskobunda incelendi.

3.5.İstatistiksel Yöntem

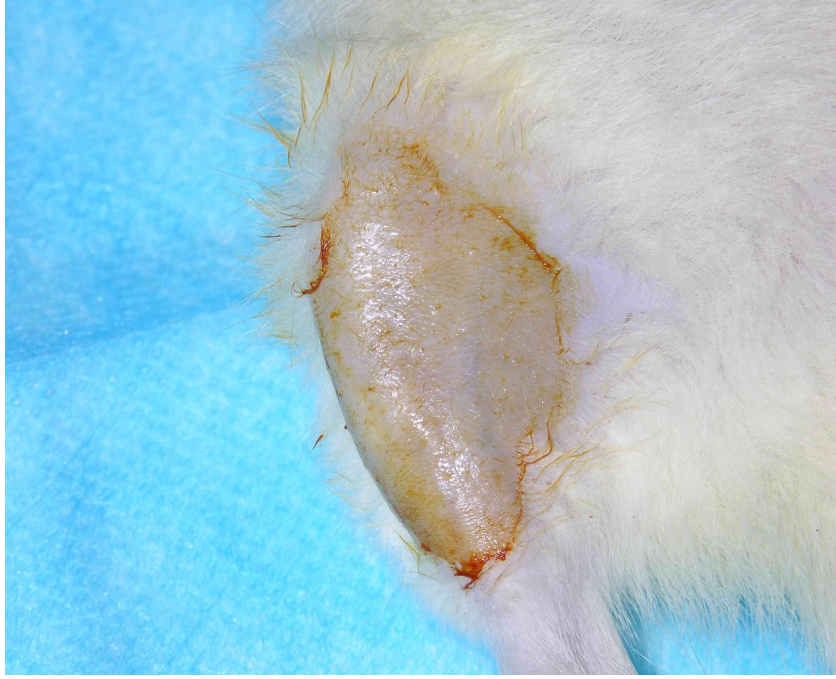
Bu çalışmada istatistiksel analizler GraphPad Prisma V.3 paket programı ile yapılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma) yanı sıra grupların tekrarlayan ölçümlerinde Friedman testi, gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testi alt grup karşılaştırmalarında Dunn`s çoklu karşılaştırma testi, nitel verilerin karşılaştırmalarında ki-kare testi kullanılmıştır. Sonuçlar, anlamlılık $p<0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.



Şekil 3-1: LIPUS jeneratörü ve aplikatörü



Şekil 3-2: Eşitleyici ajan



Şekil 3-3: Operasyon öncesi tıraşlanmış sağ tibiaların antiseptik solusyon ile temizlenmesi



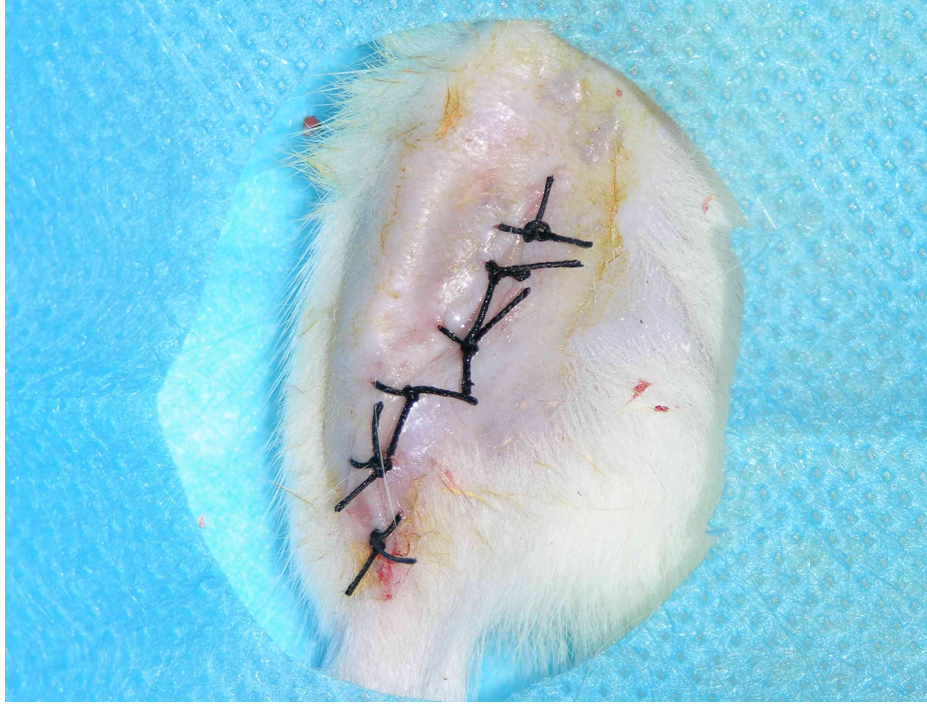
Şekil 3-4: Yumuşak dokuların disseke edilerek tibianın açığa çıkarılması



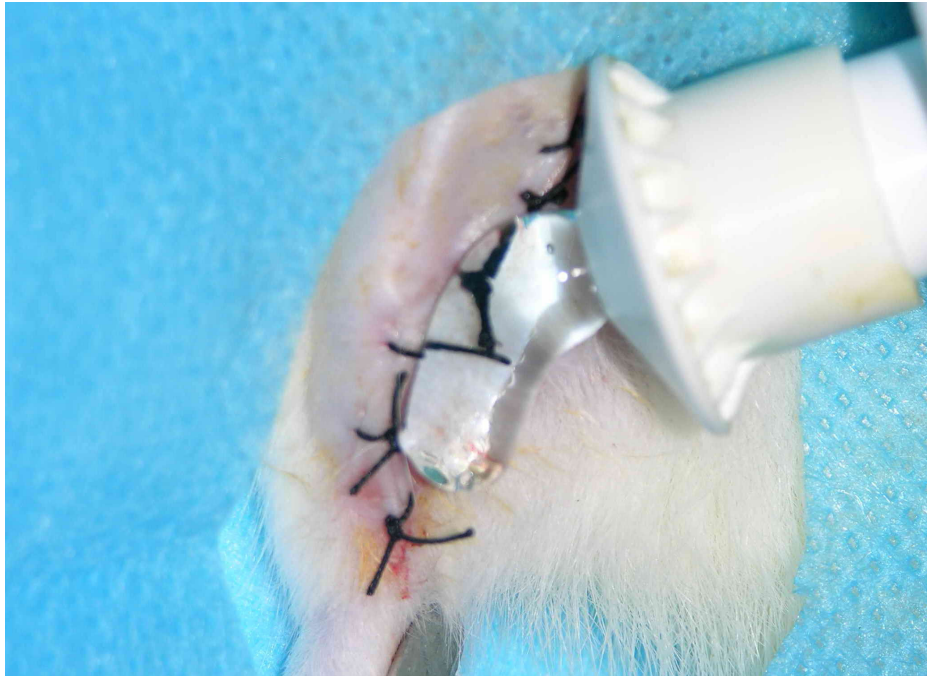
Şekil 3-5: Tur motoruyla, irrigasyon altında defekt hazırlanması



Şekil 3-6: 3x2 mm boyutlarında kemiğin medullasına kadar oluşturulan defekt



Şekil 3-7: Defekt bölgesinin suturlarla kapatılması



Şekil 3-8: Eşitleyici ajan uygulaması



Şekil 3-9: LIPUS aplikatörünün uygulanması

4. BULGULAR

Araştırmamızda 48 adet Wistar Albino sıçan kullandık. Sıçanları onaltışarlı üç ana gruba ayırdık, bu ana grupları da LIPUS uygulanan grup ve kontrol grubu olarak ikiye alt gruba ayırdık. 1-7, 7-14 ve 1-14. günler arasında LIPUS uygulanan ve 14.gün sakrifiye edilen sıçanlarda histopatolojik açıdan iltihap, nekroz, fibrozis ve yeni kemik yapımı; biyokimyasal açıdan da alkalen fosfataz ve kalsiyumun serumdaki düzeylerini inceledik.

Araştırmamızın sonunda sıçanlarda herhangi bir kilo kaybı gözlenmedi.

Araştırmamızın istatistiksel analizleri GraphPad Prisma V.3 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma) yanı sıra grupların tekrarlayan ölçümlerinde Friedman testi, gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testi alt grup karşılaştırmalarında Dunn's çoklu karşılaştırma testi, nitel verilerin karşılaştırmalarında ki-kare testi kullanılmıştır. Sonuçlar, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4.1. Histopatolojik Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeleri

Çalışmamızda bütün gruplardan 14.günde elde edilen kesitler iltihap, nekroz, fibrozis ve yeni kemik oluşumu kriterlerine göre sınıflandı. Alanların yüzdelik oranlarının hesaplanmasında 10/100'lük kamaralı oküler kullanıldı. $\times 100$ büyütme altında 5 alan sayılarak ortalamaları alındı. Histolojik skor tablosu hazırlanırken negatif sonuçlu gözlemlere 0 ya da yok, kesitin %0-30'unu kaplıyorsa 1, %31-60'ını kaplıyorsa 2, %60'tan fazlasını kaplıyorsa 3 değerlendirilmeleri kullanıldı (Tablo 4-1).

	%0-30	%31-60	>%61
İLTİHAP	1	2	3
NEKROZİS	1	2	3
FİBROZİS	1	2	3
YENİ KEMİK YAPIMI	1	2	3

Tablo 4-1: Histopatolojik bulguların skorlanması

4.1.1. 7. ve 14. Günlerde Sakrifiye Edilen Grupların Histopatolojik Bulguları

GRUP 1 LIPUS	İLTİHAP	NEKROZ	FİBROZİS	YENİ KEMİK YAPIMI
SIÇAN 1	3	0	1	0
SIÇAN 2	3	1	1	0
SIÇAN 3	1	0	1	0
SIÇAN 4	3	1	1	0
SIÇAN 5	1	0	2	1
SIÇAN 6	3	1	1	1
SIÇAN 7	3	1	1	0
SIÇAN 8	1	0	2	2

Tablo 4-2: 1-7 gün LIPUS Grubunun Histopatolojik Bulguları

Hayvanların 3'ünde defekt alanının %30'una varan mononükleer infiltrasyon izlendi. Kalan 5 hayvanda ise defekt alanının %60'ından fazlasını kaplayan kronik iltihap hücresi infiltrasyonu saptandı. Hayvanların 4'ünde %30'a varan oranda nekroz görüldü. Geri kalan 4 hayvanda ise nekroz yoktu. 6 hayvanda defekt alanının %30'una varan fibrozis, 2 hayvanda ise %60'ına varan fibrozis vardı. 2 hayvanda defekt bölgesinin %30'una, 1 hayvanda ise %60'ına varan oranda yeni kemik yapımı görülürken kalan hayvanlarda yeni kemik yapımı yoktu.

GRUP 1 KONTROL	İLTİHAP	NEKROZ	FİBROZİS	YENİ KEMİK YAPIMI
SIÇAN 1	1	0	1	1
SIÇAN 2	0	0	1	1
SIÇAN 3	1	0	1	0
SIÇAN 4	0	0	2	1
SIÇAN 5	0	0	1	1
SIÇAN 6	1	0	1	0
SIÇAN 7	0	0	1	1
SIÇAN 8	0	0	1	2

Tablo 4-3: 1-7 gün Kontrol Grubunun Histopatolojik Bulguları

Hayvanların 3'ünde defekt bölgesinde %30'a varan mononükleer iltihap hücresi infiltrasyonu vardı. Diğerlerinde iltihap saptanmadı. Hiç bir hayvanda nekroz yoktu. Hayvanların 1'inde defekt bölgesinin %60'ına varan fibrozis görülürken, kalanlarda %30'a varan fibrozis vardı. 2 hayvanda yeni kemik yapımı yoktu. 1 hayvanda defekt bölgesinin %60'ına kadar kaplayan yeni kemik yapımı vardı. Kalan 5 hayvanda ise %30'a varan yeni kemik yapımı görüldü.

GRUP2 LİPUS	İLTİHAP	NEKROZ	FİBROZİS	YENİ KEMİK YAPIMI
SIÇAN 1	0	0	2	2
SIÇAN 2	0	0	2	2
SIÇAN 3	0	0	2	2
SIÇAN 4	0	0	1	3
SIÇAN 5	0	0	3	2
SIÇAN 6	0	0	2	2
SIÇAN 7	0	0	2	2
SIÇAN 8	1	0	3	2

Tablo 4-4: 7-14 gün LİPUS Grubunun Histopatolojik Bulguları

Hayvanların yalnızca 1’inde defekt bölgesinde %30 a varan mononükleer iltihap hücresi infiltrasyonu saptandı. Diğerlerinde iltihap yoktu. Hiç bir hayvanda nekroz görülmedi. 1 hayvanda defekt alanının %30’una kadar varan fibrozis, 5 hayvanda defekt alanının %60’ına varan fibrozis, 2 hayvanda ise %60’ından fazla fibrozis saptandı. Hayvanların 1’inde %60’ın üzerinde yeni kemik yapımı görülürken kalanların tümünde %31-60 arası yeni kemik yapımı gözlemlendi.

GRUP2 KONTROL	İLTİHAP	NEKROZ	FİBROZİS	YENİ KEMİK YAPIMI
SIÇAN 1	1	0	1	3
SIÇAN 2	3	0	2	2
SIÇAN 3	1	0	2	1
SIÇAN 4	1	0	2	2
SIÇAN 5	1	0	1	2
SIÇAN 6	0	0	1	3
SIÇAN 7	1	0	2	2
SIÇAN 8	0	0	1	3

Tablo 4-5: 7-14 gün Kontrol Grubunun Histopatolojik Bulguları

Hayvanların 2’sinde iltihap hücresi yoktu. 1 hayvanda defekt alanının %60’ının üzerinde mononükleer iltihap hücresi infiltrasyonu varken 5 hayvanda ise %30’a varan iltihap hücresi gözlemlendi. Hayvanların hiç birinde nekroz izlenmedi. Bunların 4’ünde defekt bölgesinin %30’una, kalan 4’ünde de %60’ına kadar fibrozis oluşumu saptandı. 1 hayvanda defekt bölgesinin %30’una kadar yeni kemik oluşumu vardı. 4 hayvanda %60’a varan yeni kemik yapımı izlenirken, 3 hayvanda ise %60’ın üzerinde yeni kemik yapımı vardı.

GRUP3 LİPUS	İLTİHAP	NEKROZ	FİBROZİS	YENİ KEMİK YAPIMI
SIÇAN 1	2	0	2	2
SIÇAN 2	1	0	1	3
SIÇAN 3	1	0	1	2
SIÇAN 4	1	0	2	3
SIÇAN 5	1	0	2	3
SIÇAN 6	0	0	1	3
SIÇAN 7	1	0	2	3
SIÇAN 8	1	0	2	3

Tablo 4-6:1-14 gün LİPUS Grubunun Histopatolojik Bulguları

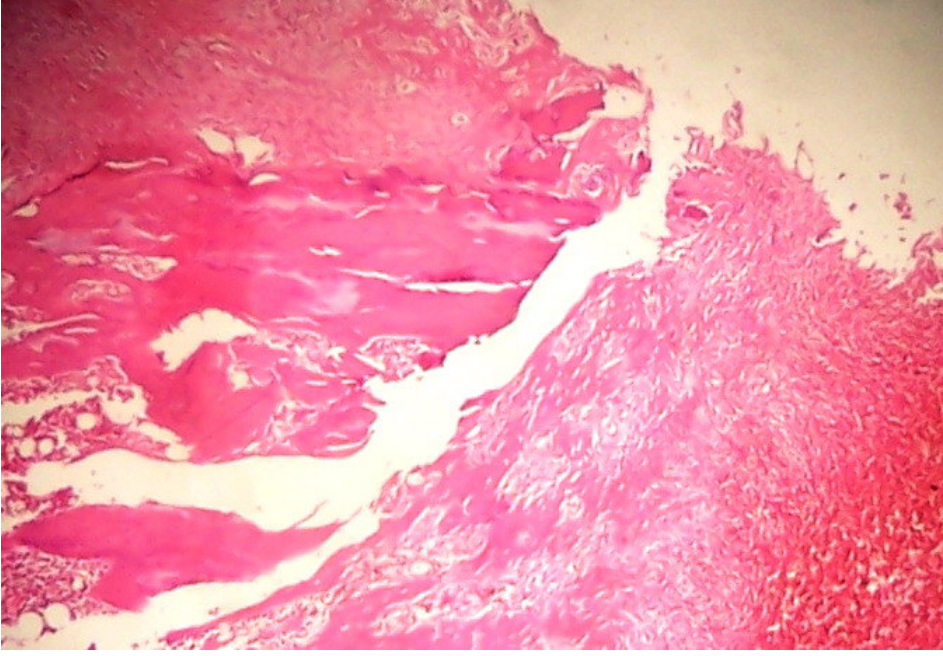
Defekt bölgesinde hayvanların 1'inde iltihap izlenmedi. 1 hayvanda %60'a varan mononükleer iltihap hücresi infiltrasyonu vardı. Kalan 6 hayvanda %30' a varan mononükleer iltihap hücresi infiltrasyonu görüldü. Hayvanların hiç birinde nekroz yoktu. 3 hayvanda defekt bölgesinde %30'a varan fibrozis, kalan tüm hayvanlarda %60'a varan fibrozis görüldü. Hayvanların 2'sinde defekt alanının %60'ına varan yeni kemik yapımı izlenirken kalan hayvanlardaki yeni kemik yapımı oranı %60'ın üzerindeydi.

GRUP3 KONTROL	İLTİHAP	NEKROZ	FİBROZİS	YENİ KEMİK YAPIMI
SIÇAN 1	0	0	2	1
SIÇAN 2	1	0	1	3
SIÇAN 3	1	0	1	3
SIÇAN 4	3	0	2	2
SIÇAN 5	0	0	2	2
SIÇAN 6	1	0	2	3
SIÇAN 7	1	0	1	2
SIÇAN 8	1	0	1	2

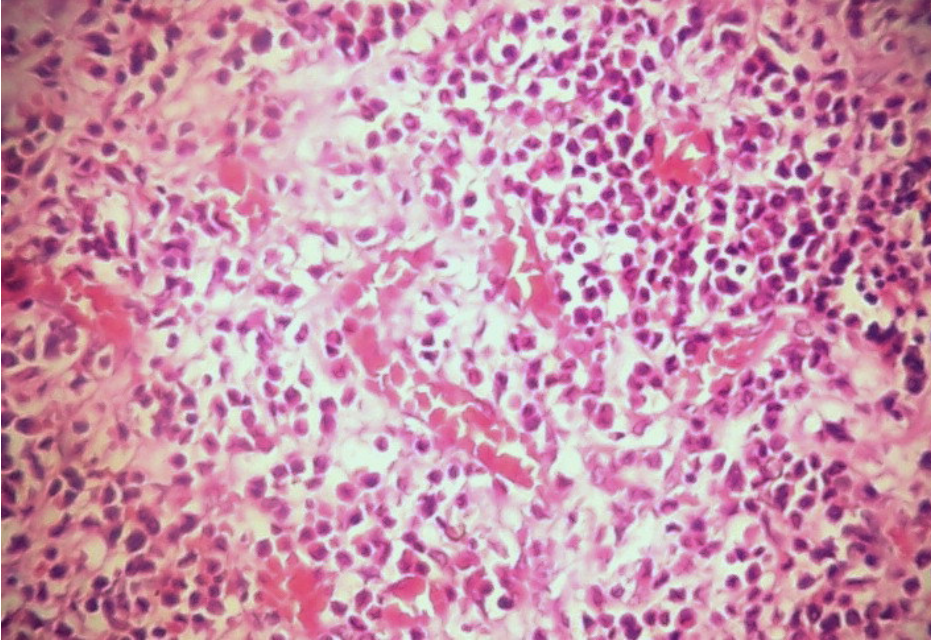
Tablo 4-7: 1-14 gün Kontrol Grubunun Histopatolojik Bulguları

Hayvanların 2'sinde iltihap gözlenmedi. 1 hayvanda defekt alanının %60'ının üzerinde, kalan 5 hayvanda ise defekt alanında %30'a varan oranda mononükleer iltihap hücresi infiltrasyonu izlendi. Hiç bir hayvanda nekroz görülmedi. Hayvanların 4'ünde defekt alanının %30'una, diğer 4'ünde ise %60'ına varan fibrozis vardı. 1 hayvanda %30'a

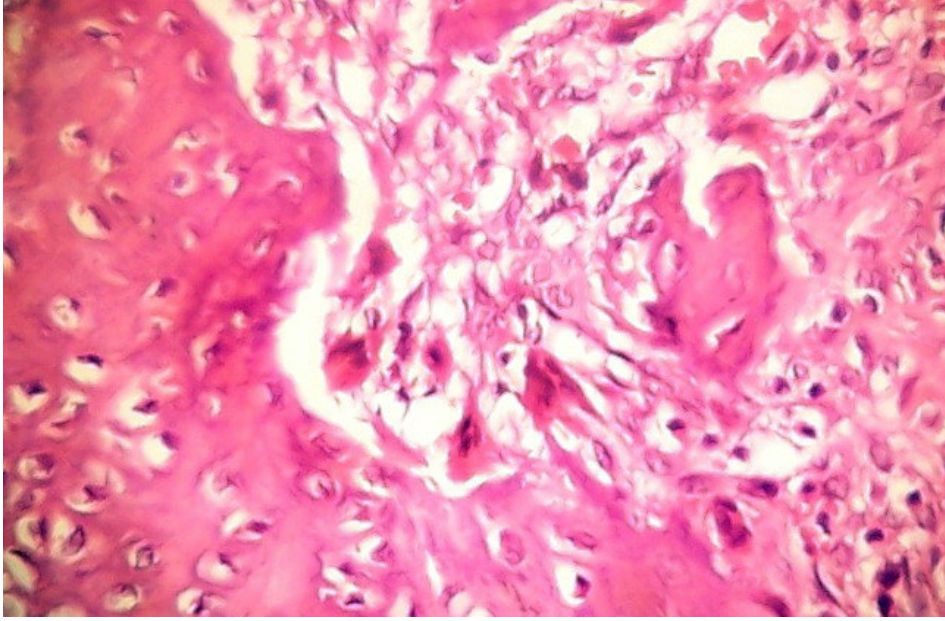
varan yeni kemik yapımı saptanırken, 4 hayvanda %60'a varan, kalan 3 hayvanda ise %60'ın üzerinde yeni kemik yapımı gözlemlendi.



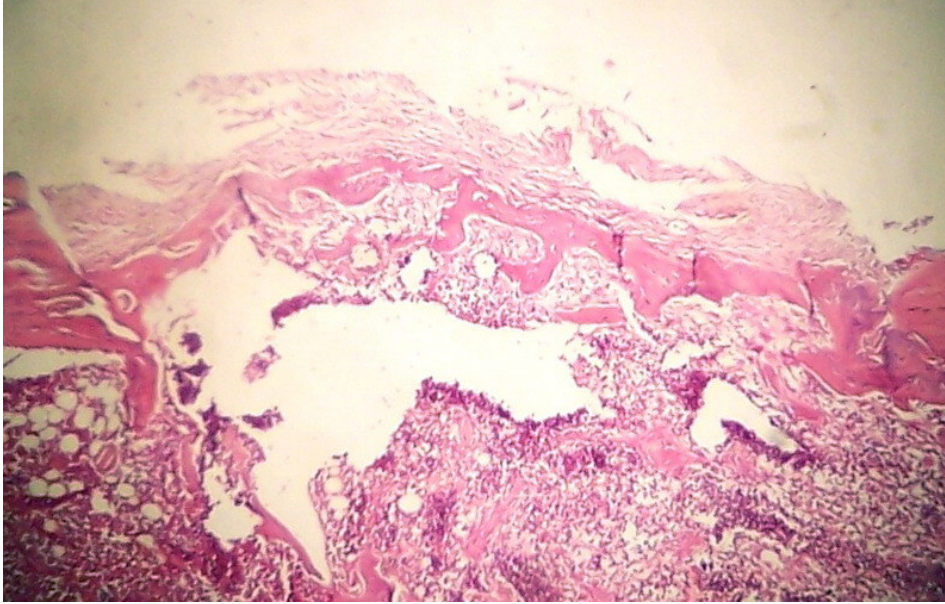
Şekil 4-1: 1-7 gün LIPUS grubu - Defekt bölgesinde kanama alanı çevresinde hematoma organizasyonu ve genç mezenkim hücreleri arasında yeni kemik trabekülleri (H&E x 40).



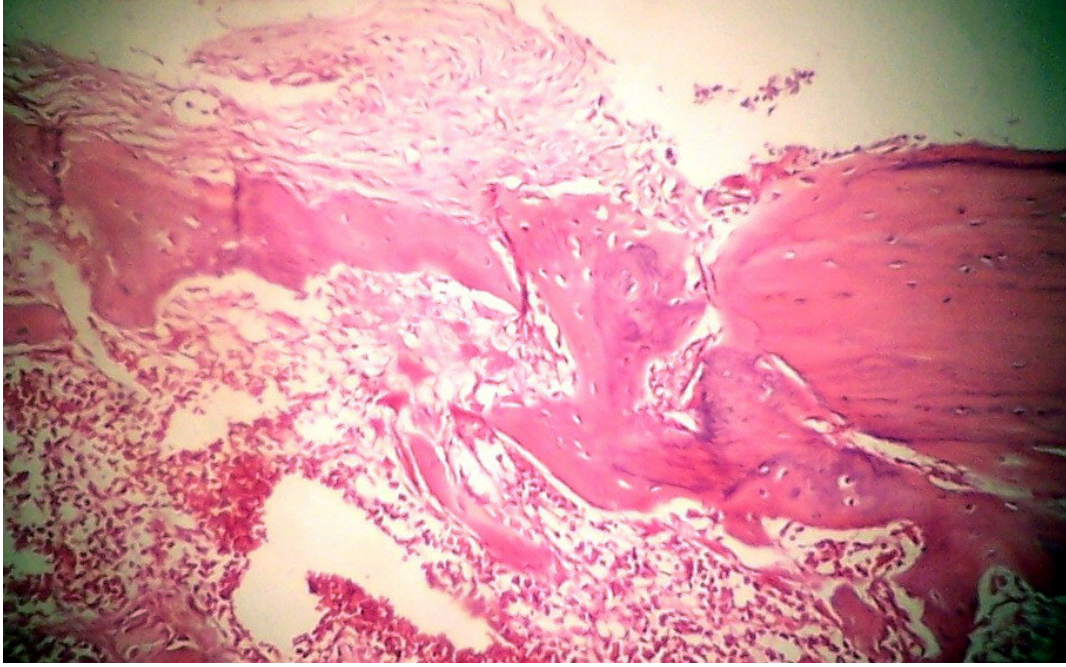
Şekil 4-2: 1-7 gün LIPUS grubu - Granülasyon dokusu içinde yoğun lenfosit, plazma hücresi, az sayıda nötrofil ve eozinofil polimorf infiltrasyonu. (H&E x 200).



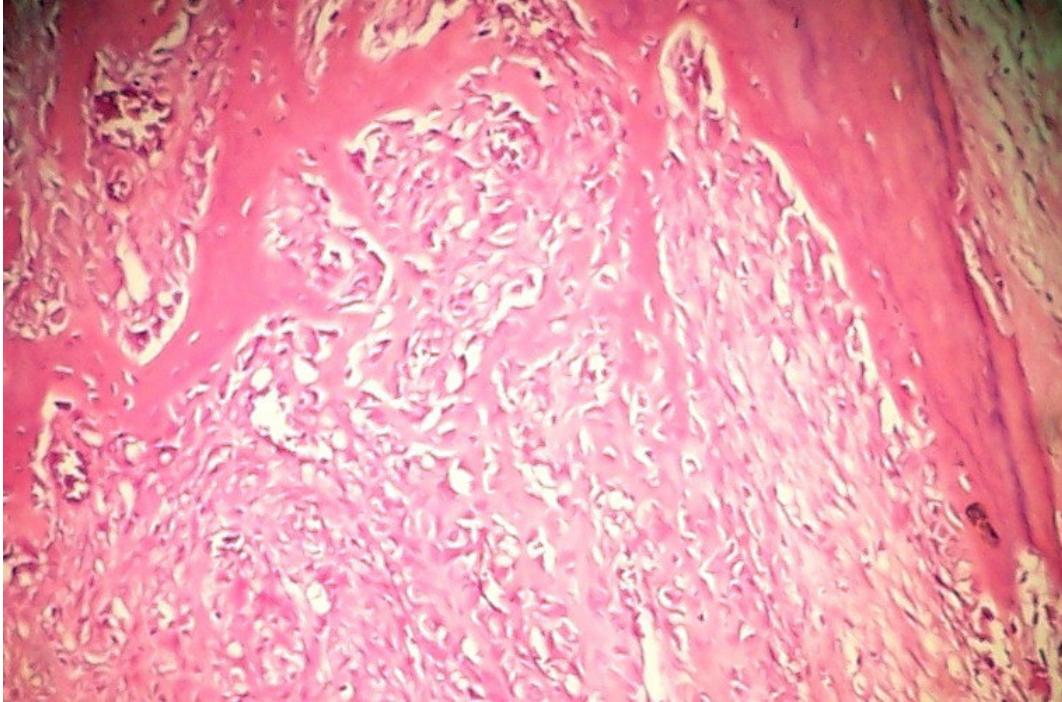
Şekil 4-3: 1-7 gün LIPUS grubu - Defekt kenarlarını kallus oluşumundan önce şekillendiren osteoklastlar. (H&E x 200)



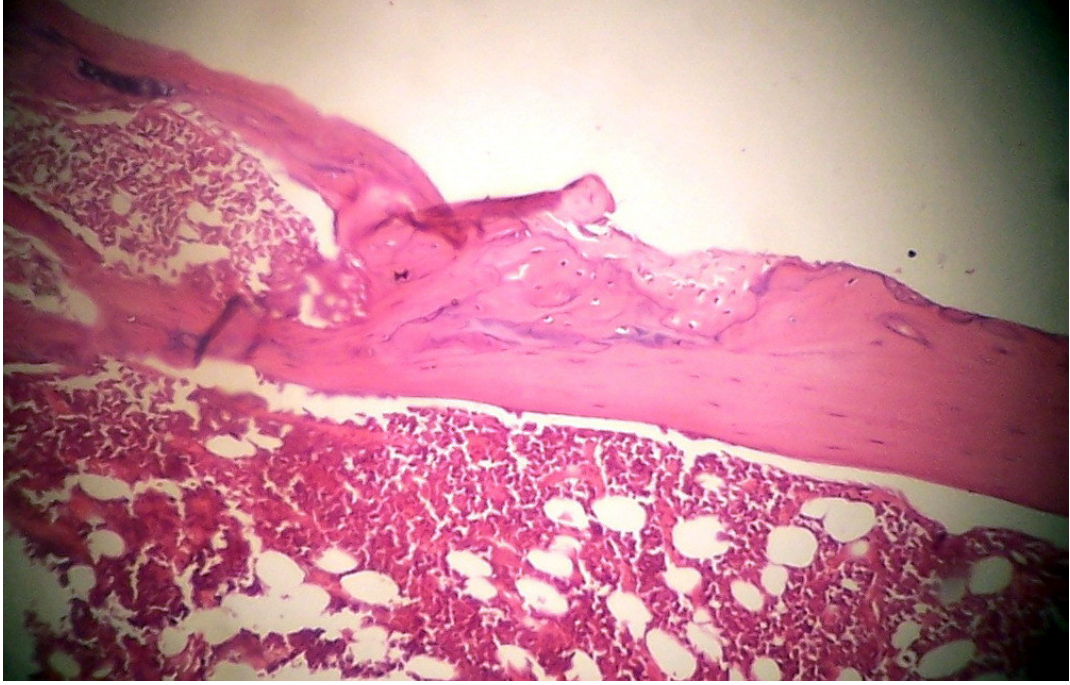
Şekil 4-4: 7-14 gün LIPUS grubu - Defekt bölgesini ince bir kemik köprüsü tarzında kapatan yeni kemik yapımı (H&E x 40)



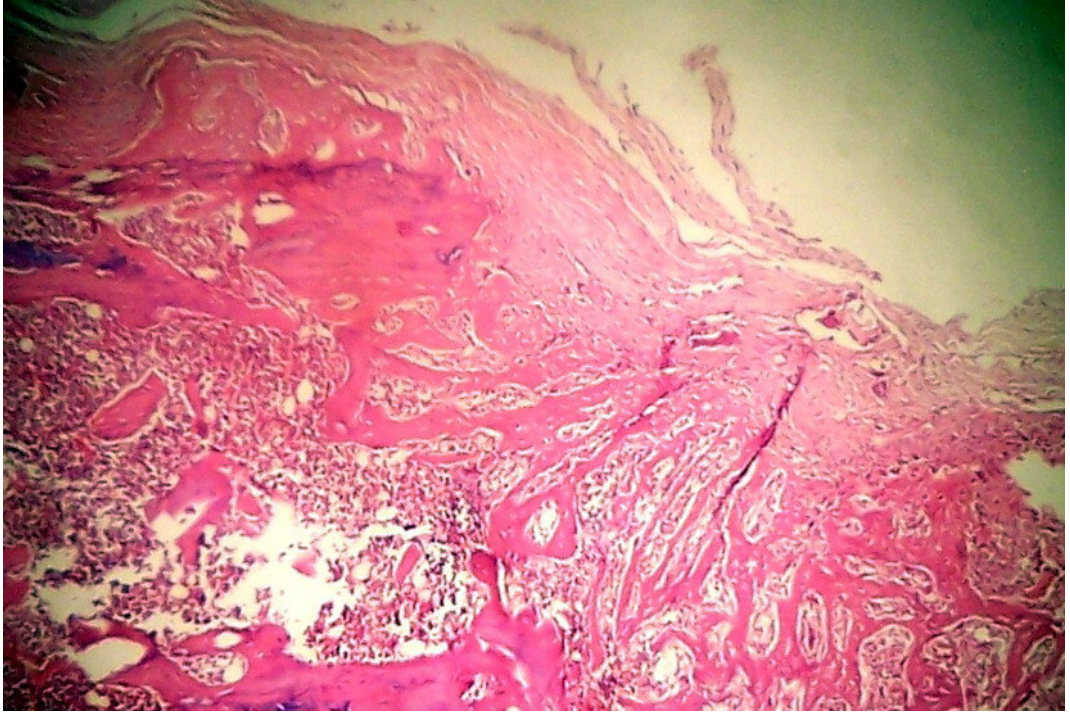
Şekil 4-5: 7-14 gün LIPUS grubu - Defekt kenarından ortaya uzanan yeni kemik köprüsü (H&E x 100)



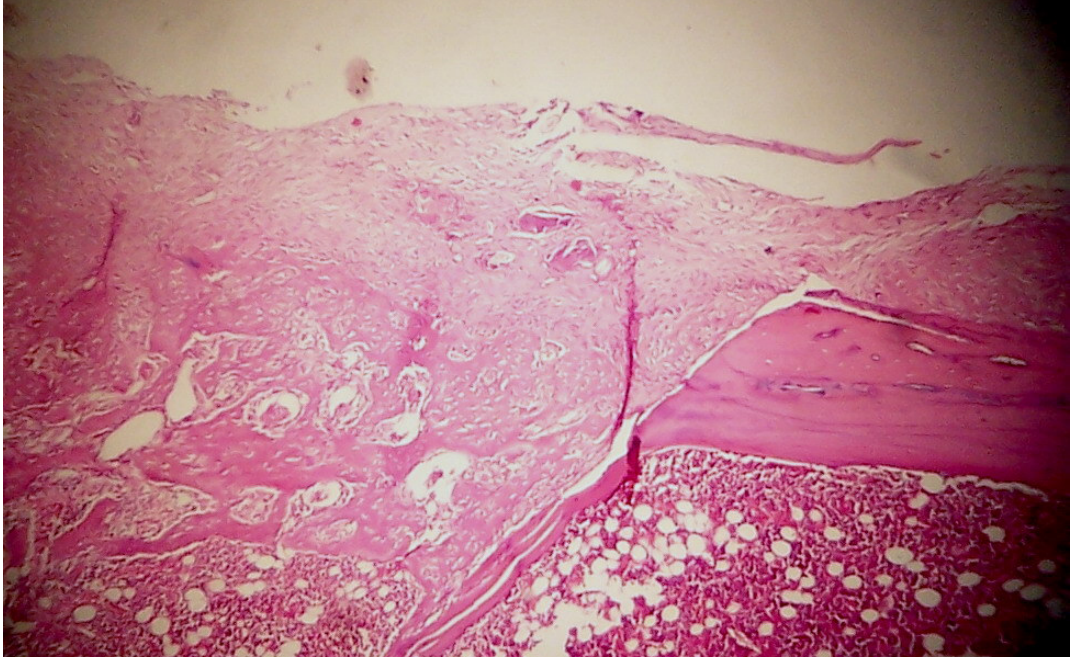
Şekil 4-6: 7-14 gün kontrol grubu - Kontrol grubunda defekt bölgesini dolduran dağınık yerleşimli yeni kemik trabekülleri (H&E x 200)



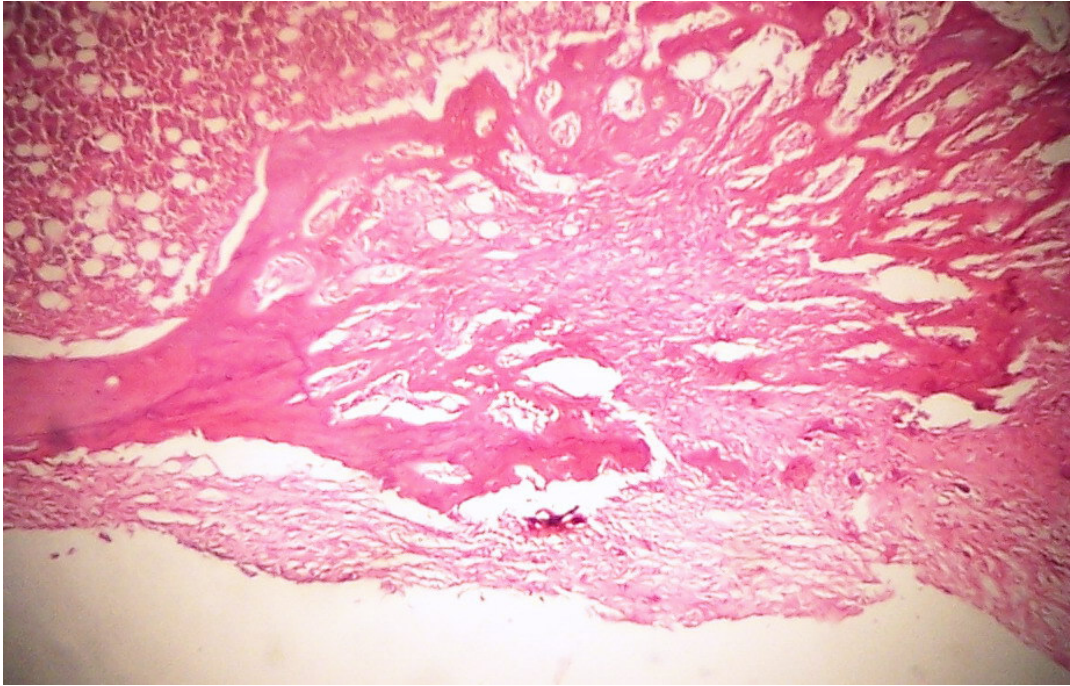
Şekil 4-7: 1-14 gün LIPUS grubu - Defekt bölgesini kapatan yeni kemik köprüsü (H&E x 100)



Şekil 4-8: 1-14 gün LIPUS grubu - Defekt bölgesini kapatan ve anastomozlar yapan yeni kemik trabekülleri (H&E x 40)



Şekil 4-9: 1-14 gün kontrol grubu - Defekt bölgesini dolduran aktif fibröz doku içinde çok sayıda yeni kemik trabekülleri (H&E x 100)



Şekil 4-10: 1-14 gün kontrol grubu - Defekt kenarından defekti kapatmaya yönelik uzanım gösteren köprü biçiminde trabeküler kemik dokusu (H&E x 40)

4.1.2. Histopatolojik Bulguların İstatistiksel Değerlendirmesi

Gruplar , kendi içinde ve diğer tüm gruplarla beraber değerlendirildiğinde Tablo 4-8`de görülen sonuçlar elde edildi.

Kontrol													
		Lipus		Lipus		Lipus		Kontrol		Kontrol		1-14	
		1-7 Gün		7-14 Gün		1-14 Gün		1-7 Gün		7-14 Gün		Gün	
İltihap	Yok	0	0,0%	7	87,5%	1	12,5%	5	62,5%	2	25,0%	2	25%
	%0-30	3	37,5%	1	12,5%	6	75,0%	3	37,5%	5	62,5%	4	50%
	%31-60	0	0,0%	0	0,0%	1	12,5%	0	0,0%	0	0,0%	2	25%
													$\chi^2:43,47$
													$p=0,000$
	%>60	5	62,5%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	1	12,5%	0%	1
Nekroz					100,0		100,0		100,0		100,0		100
	Yok	4	50,0%	8	%	8	%	8	%	8	%	8	%
	%0-30	4	50,0%	0	0,0%		0,0%		0,0%	0	0,0%		0,0%
Fibrozis	%0-30	6	75,0%	1	12,5%	3	37,5%	7	87,5%	4	50,0%	4	50%
	%31-60	2	25,0%	5	62,5%	5	62,5%	1	12,5%	4	50,0%	4	50%
	%>60	0	0,0%	2	25,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%		0%
Yeni Kemik Yapımı	Yok	5	62,5%	0	0,0%	0	0,0%	2	25,0%	0	0,0%		0%
													12,5
	%0-30	2	25,0%	0	0,0%	0	0,0%	5	62,5%	1	12,5%	1	%
													62,5
	%31-60	1	12,5%	7	87,5%	2	25,0%	1	12,5%	4	50,0%	5	%
													$\chi^2:51,32$
													$p=0,000$
	%>60	0	0,0%	1	12,5%	6	75,0%	0	0,0%	3	37,5%	2	25%
													1

Tablo 4-8: Histopatolojik bulguların istatistiksel değerlendirilmesi

LIPUS grubunun 1-7 gün, 7-14 gün, 1-14 gün gruplarının iltihap varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir ($p=0,0002$).

LIPUS grubunun 1-7 gün, 7-14 gün, 1-14 gün gruplarının nekroz varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir ($p=0,008$).

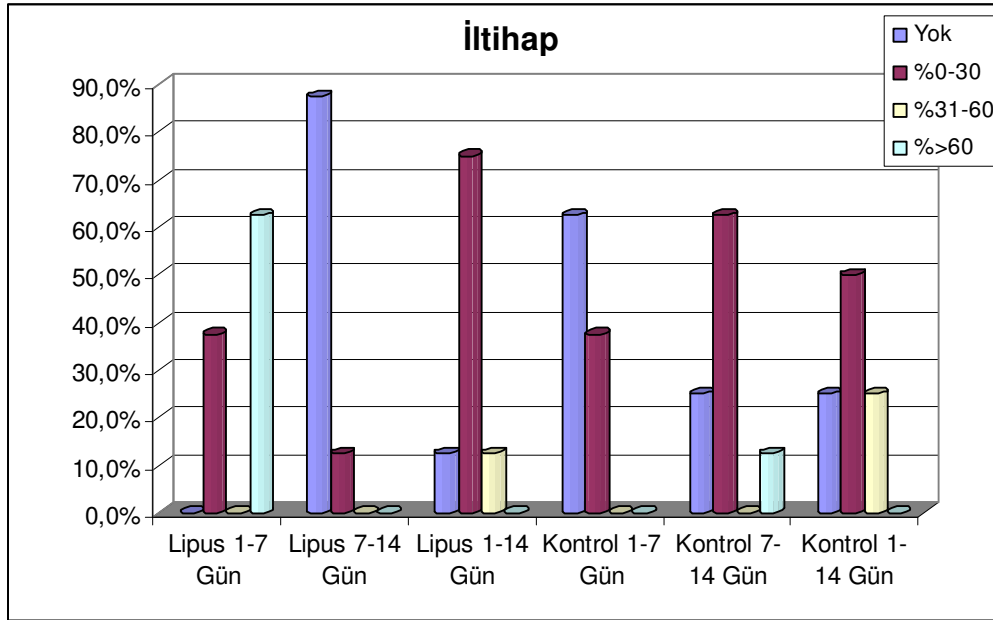
LIPUS grubunun 1-7 gün, 7-14 gün, 1-14 gün gruplarının fibrozis varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0,054$).

LIPUS grubunun 1-7 gün, 7-14 gün, 1-14 gün gruplarının yeni kemik oluşumu varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir ($p=0,0001$).

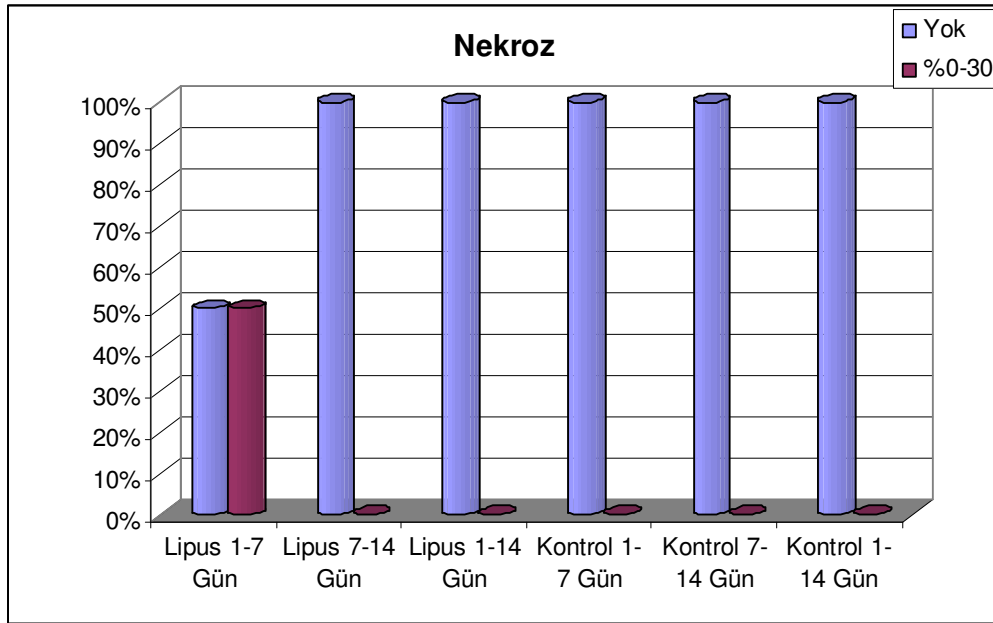
Kontrol grubunun 1-7 gün, 7-14 gün, 1-14 gün gruplarının iltihap varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0,203$).

Kontrol grubunun 1-7 gün, 7-14 gün, 1-14 gün gruplarının fibrozis varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0,201$).

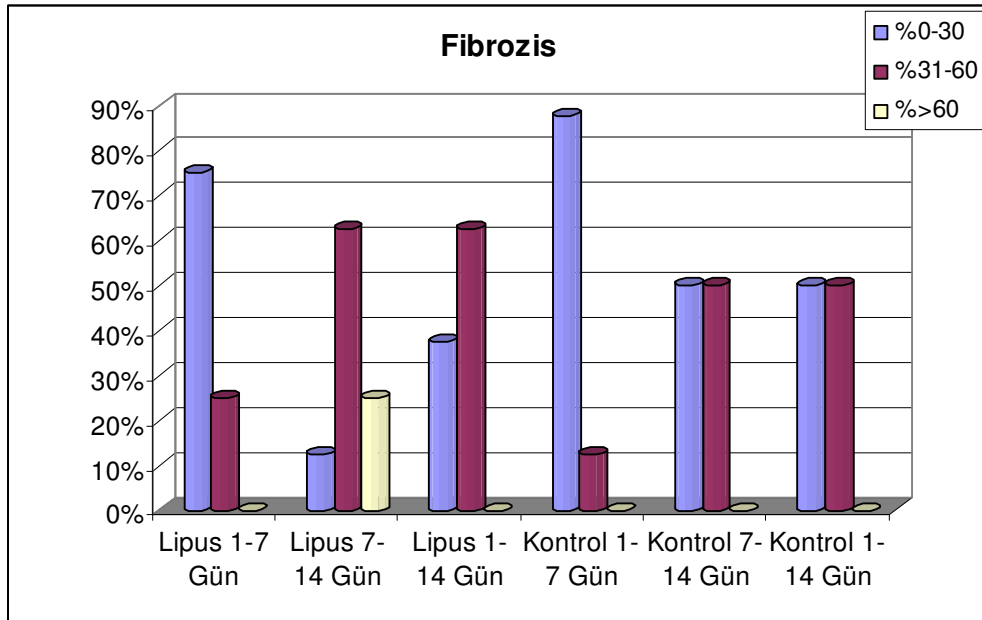
Kontrol grubunun 1-7 gün, 7-14 gün, 1-14 gün gruplarının YKO varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir ($p=0,03$).



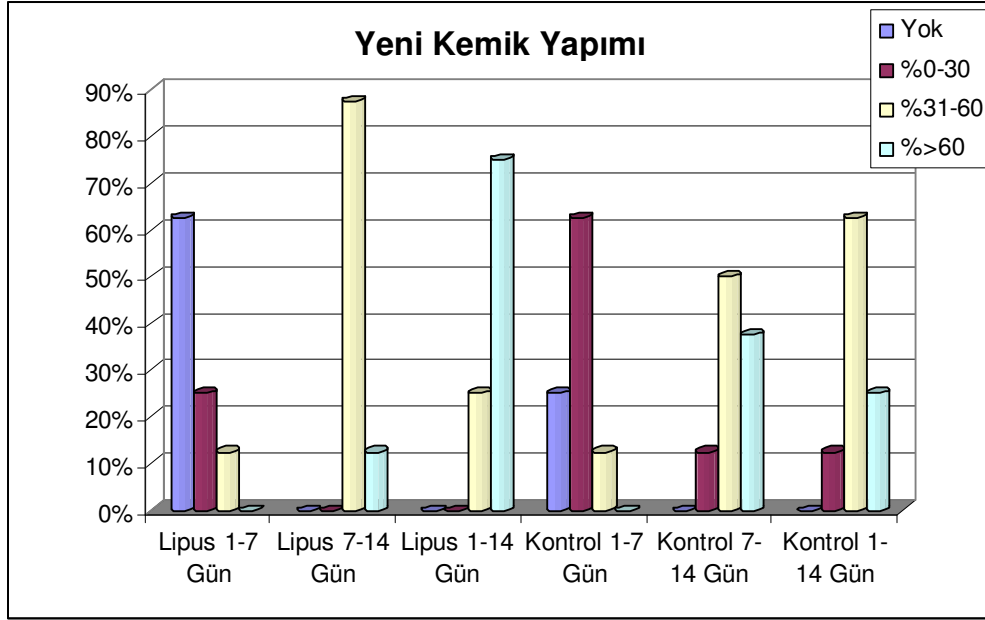
Şekil 4-11: Histopatolojik bulgulara göre iltihabın gruplarda dağılımı



Şekil 4-12: Histopatolojik bulgulara göre nekrozun gruplarda dağılımı



Şekil 4-13: Histopatolojik bulgulara göre fibrozisin gruplarda dağılımı



Şekil 4:14: Histopatolojik bulgulara göre yeni kemik yapımının gruplarda dağılımı

	LIPUS	Kontrol	1-7 G. K/L	7-14 G. K/L	1-14 G. K/L
İltihap	p=0,0002	p=0,203	p=0,006	p=0,03	p=0,586
Nekroz	p=0,008	-	p=0,02	-	-
Fibrozis	p=0,054	p=0,201	p=0,521	p=0,141	p=0,614
YKY	p=0,0001	p=0,03	p=0,276	p=0,244	p=0,117

Tablo 4-9: Histopatolojik bulgulara göre grupların kendi aralarında istatistiksel değerlendirmesi

1-7 gün LIPUS ve kontrol grubunun iltihap varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir (p=0,006).

7-14 gün LIPUS ve kontrol grubunun iltihap varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir (p=0,03).

1-14 gün LIPUS ve kontrol grubunun iltihap varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0,586).

1-7 gün LIPUS ve kontrol grubunun nekroz varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir ($p=0,006$).

1-7 gün LIPUS ve kontrol grubunun fibrozis varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0,521$).

7-14 gün LIPUS ve kontrol grubunun fibrozis varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0,141$).

1-14 gün LIPUS ve kontrol grubunun fibrozis varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0,614$).

1-7 gün LIPUS ve kontrol grubunun yeni kemik yapımı varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0,276$).

7-14 gün LIPUS ve kontrol grubunun yeni kemik yapımı varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0,244$).

1-14 gün LIPUS ve kontrol grubunun yeni kemik yapımı varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0,117$).

1-7, 7-14 ve 1-14 gün gruplarının hiç birinde LIPUS ve kontrol grubunun yeni kemik varlığı yapımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir. ($p=0,276$, $p=0,244$, $p=0,117$)

Fakat histopatolojik skor tablosuna bakıldığında 1-14 gün grubunda LIPUS grubu ile kontrol grubu arasındaki yeni kemik yapımının fark edilir derecede arttığı görülmektedir:

1-14 gün LIPUS grubu: 2 sıçanda %31-60, 6 sıçanda %60'tan fazla

1-14 gün kontrol grubu: 1 sıçanda %0-30, 5 sıçanda %31-60, 2 sıçanda %60'tan fazla

4.2. Araştırmamızda Elde Edilen Serum Ca^{+2} Değerleri ve İstatistiksel Analizleri

Çalışmamızda biyokimyasal analizler İ.Ü. Temel Onkoloji Anabilim Dalı Kansere Biyokimyası B.D.'nda gerçekleştirildi. Deneklerden 0. ve 14. günlerde kuyruktan en az 1,5 cc olacak miktarda kan alındı. Kanlar 10 cc'lik heparinsiz tüplerle bekletilmeden laboratuara taşındı ve serum Ca^{+2} düzeyleri değerlendirildi

4.2.1. Serum Ca^{+2} Değerleri

GRUP1 LIPUS	Ca^{+2} (mg/dL)	Ca^{+2} (mg/dL)
	0.gün	14.gün
SIÇAN 1	10.1	9.7
SIÇAN 2	10.3	10.1
SIÇAN 3	10.3	9.8
SIÇAN 4	10.2	10.1
SIÇAN 5	10.5	10.1
SIÇAN 6	10.3	10.0
SIÇAN 7	10.2	10.2
SIÇAN 8	9.8	9.8

Tablo 4-10: 1-7 gün LIPUS grubunun serum Ca^{+2} değerleri

GRUP1 KONTROL	Ca^{+2} (mg/dL)	Ca^{+2} (mg/dL)
	0.gün	14. gün
SIÇAN 1	10.1	9.6
SIÇAN 2	10.0	9.7
SIÇAN 3	10.3	9.8
SIÇAN 4	10.2	9.9
SIÇAN 5	10.2	9.8
SIÇAN 6	10.2	9.6
SIÇAN 7	9.9	9.7
SIÇAN 8	9.8	9.5

Tablo 4-11: 1-7 gün kontrol grubunun serum Ca^{+2} değerleri

GRUP2	Ca⁺²(mg/dL)	Ca⁺²(mg/dL)
LIPUS	0.gün	14.gün
SIÇAN 1	10.1	9.5
SIÇAN 2	10.2	9.4
SIÇAN 3	10.3	9.8
SIÇAN 4	10.3	9.7
SIÇAN 5	10.0	9.5
SIÇAN 6	9.7	9.5
SIÇAN 7	10.1	9.6
SIÇAN 8	9.6	9.5

Tablo 4-12: 7-14 gün LIPUS grubunun serum Ca⁺² değerleri

GRUP2	Ca⁺²(mg/dL)	Ca⁺²(mg/dL)
KONTROL	0.gün	14.gün
SIÇAN 1	10.2	9.4
SIÇAN 2	10.1	9.5
SIÇAN 3	9.9	9.7
SIÇAN 4	9.9	9.6
SIÇAN 5	10.3	9.5
SIÇAN 6	10.1	9.6
SIÇAN 7	10.0	9.5
SIÇAN 8	10.4	9.4

Tablo 4-13: 7-14 gün kontrol grubunun serum Ca⁺² değerleri

GRUP3 LIPUS	Ca⁺²(mg/dL) 0.gün	Ca⁺²(mg/dL) 14.gün
SIÇAN 1	10.6	9.4
SIÇAN 2	10.3	9.1
SIÇAN 3	10.1	9.2
SIÇAN 4	9.9	9.3
SIÇAN 5	10.2	9.3
SIÇAN 6	10.5	9.2
SIÇAN 7	9.8	9.2
SIÇAN 8	10.1	9.0

Tablo 4-14: 1-14 gün LIPUS grubunun serum Ca⁺² değerleri

GRUP3 KONTROL	Ca⁺²(mg/dL) 0.gün	Ca⁺²(mg/dL) 14.gün
SIÇAN 1	10.1	9.6
SIÇAN 2	10.0	9.3
SIÇAN 3	9.9	9.5
SIÇAN 4	9.8	9.5
SIÇAN 5	10.0	9.6
SIÇAN 6	10.5	9.7
SIÇAN 7	9.8	9.4
SIÇAN 8	10.2	9.5

Tablo 4-15: 1-14 gün kontrol grubunun serum Ca⁺² değerleri

4.2.2.Çalışmamızda elde edilen Serum Ca^{+2} Bulgularının İstatistiksel Değerlendirilmesi

	Ca^{+2} (mg/dL)	LIPUS	Kontrol	MW	p
1-7 Gün	Başlangıç	10,21±0,2	10,09±0,17	18,5	0,146
	14.Gün	9,98±0,18	9,7±0,13	8	0,011
	Z	-2,201	-2,536		
	p	0,028	0,011		
7-14 Gün	Başlangıç	10,04±0,26	10,11±0,18	29	0,75
	14.Gün	9,56±0,13	9,53±0,1	27,5	0,619
	Z	-2,536	-2,527		
	p	0,011	0,012		
1-14 Gün	Başlangıç	10,19±0,27	10,04±0,23	20,5	0,223
	14.Gün	9,21±0,13	9,51±0,13	2,5	0,002
	Z	-2,527	-2,527		
	p	0,012	0,012		

Tablo 4-16: Ca^{+2} Bulgularının İstatistiksel Değerlendirilmesi

1-7.Gün LIPUS ve kontrol gruplarının başlangıç Ca^{+2} ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (p=0,146).

1-7.Gün LIPUS grubunun 14.gün Ca^{+2} ortalamaları kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,011).

1-7.Gün LIPUS grubunun 14.gün Ca^{+2} değerleri başlangıç değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p=0,028).

1-7.Gün Kontrol grubunun 14.gün Ca^{+2} değerleri başlangıç değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p=0,011).

7-14.Gün LIPUS ve kontrol gruplarının başlangıç Ca^{+2} ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (p=0,75).

7-14.Gün LIPUS ve kontrol gruplarının 14.gün Ca^{+2} ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (p=0,619).

7-14.Gün LIPUS grubunun 14.gün Ca^{+2} değerleri başlangıç değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p=0,011$).

7-14.Gün Kontrol grubunun 14.gün Ca^{+2} değerleri başlangıç değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p=0,012$).

1-14.Gün LIPUS ve kontrol gruplarının başlangıç Ca^{+2} ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir ($p=0,223$).

1-14.Gün LIPUS grubunun 14.gün Ca^{+2} ortalamaları kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p=0,002$).

1-14.Gün LIPUS grubunun 14.gün Ca^{+2} değerleri başlangıç değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p=0,012$).

1-14.Gün Kontrol grubunun 14.gün Ca^{+2} değerleri başlangıç değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p=0,012$).

$\text{Ca}^{+2}(\text{mg/dL})$		LIPUS	Kontrol
Başlangıç	1-7 Gün	10,21±0,2	10,09±0,17
	7-14 Gün	10,04±0,26	10,11±0,18
	1-14 Gün	10,19±0,27	10,04±0,23
	KW	2,15	1,04
	p	0,340	0,605
14.Gün	1-7 Gün	9,98±0,18	9,7±0,13
	7-14 Gün	9,56±0,13	9,53±0,1
	1-14 Gün	9,21±0,13	9,51±0,13
	KW	19,76	7,96
	p	0,0001	0,019

Tablo 4-17: Gruplara göre ortalama serum Ca^{+2} değerleri

LIPUS 1-7.gün , 7-14.gün, 1-14 gün gruplarının başlangıç Ca^{+2} ortalama değerleri arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir ($p=0,340$).

Kontrol 1-7.gün , 7-14.gün, 1-14 gün gruplarının başlangıç Ca^{+2} ortalama değerleri arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir ($p=0,605$).

LIPUS 1-7.gün, 7-14.gün, 1-14 gün gruplarının 14.gün Ca^{+2} ortalama değerleri arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p=0,0001$).

1-7 gün grubunun Ca değerleri 1-14 gün değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,001$).

1-7 gün grubunun Ca değerleri 1-14 gün değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

Dunn's Çoklu Karşılaştırma Testi	Lipus 14.Gün	Kontrol 14.Gün
1-7 Gün / 7-14 Gün	$P > 0.05$	$P > 0.05$
1-7 Gün / 1-14 Gün	$P < 0.001$	$P < 0.05$
7-14 Gün / 1-14 Gün	$P > 0.05$	$P > 0.05$

Tablo 4-18: Grupların Serum Ca^{+2} değerlerinin DUNN's Çoklu Karşılaştırma Testi ile incelenmesi

Dunn's çoklu karşılaştırma testine göre 1-7 gün LIPUS grubu ile 1-14 gün LIPUS grubunda elde edilen Ca^{+2} değerlerinin istatistiksel karşılaştırmasında elde edilen sonuç, 1-7 gün kontrol grubu ile 1-14 gün kontrol grubunda elde edilen Ca^{+2} değerlerinin istatistiksel karşılaştırmasında elde edilen sonuçtan daha anlamlıdır. ($P<0.001$)

4.3. Araştırmamızda Elde Edilen Serum ALP Değerleri ve İstatistiksel Analizleri

Çalışmamızda biyokimyasal analizler İ.Ü. Temel Onkoloji Anabilim Dalı Kansere Biyokimyası B.D.'nda gerçekleştirildi. Deneklerden 0. ve 14. günlerde kuyruktan en az 1,5 cc olacak miktarda kan alındı. Kanlar 10 cc'lik heparinsiz tüplerle bekletilmeden laboratuara taşındı ve serum ALP düzeyleri değerlendirildi

4.3.1. Serum ALP Değerleri

GRUP1 LİPUS	ALP(U/L) 0.gün	ALP(U/L) 14.gün
SIÇAN 1	321	373
SIÇAN 2	324	381
SIÇAN 3	338	382
SIÇAN 4	313	352
SIÇAN 5	324	377
SIÇAN 6	322	419
SIÇAN 7	320	401
SIÇAN 8	345	393

Tablo 4-19: 1-7 gün LİPUS grubunun serum ALP değerleri

GRUP1 KONTROL	ALP(U/L) 0.gün	ALP(U/L) 14.gün
SIÇAN 1	320	415
SIÇAN 2	318	390
SIÇAN 3	320	422
SIÇAN 4	324	472
SIÇAN 5	330	451
SIÇAN 6	325	388
SIÇAN 7	340	394
SIÇAN 8	318	399

Tablo 4-20: 1-7 gün kontrol grubunun serum ALP değerleri

GRUP2 LİPUS	ALP(U/L) 0.gün	ALP(U/L) 14.gün
SIÇAN 1	320	405
SIÇAN 2	322	398
SIÇAN 3	331	414
SIÇAN 4	327	387
SIÇAN 5	337	400
SIÇAN 6	326	459
SIÇAN 7	318	396
SIÇAN 8	325	394

Tablo 4-21: 7-14 gün LİPUS grubunun serum ALP değerleri

GRUP2 KONTROL	ALP(U/L) 0.gün	ALP(U/L) 14.gün
SIÇAN 1	311	427
SIÇAN 2	319	421
SIÇAN 3	311	419
SIÇAN 4	338	486
SIÇAN 5	325	392
SIÇAN 6	307	404
SIÇAN 7	335	463
SIÇAN 8	316	413

Tablo 4-22: 7-14 gün kontrol grubunun serum ALP değerleri

GRUP3 LİPUS	ALP(U/L) 0.gün	ALP(U/L) 14.gün
SIÇAN 1	326	439
SIÇAN 2	332	437
SIÇAN 3	313	421
SIÇAN 4	347	460
SIÇAN 5	321	483
SIÇAN 6	341	436
SIÇAN 7	324	420
SIÇAN 8	330	458

Tablo 4-23: 1-14 gün LİPUS grubunun serum ALP değerleri

GRUP3 KONTROL	ALP(U/L) 0.gün	ALP(U/L) 14.gün
SIÇAN 1	309	418
SIÇAN 2	330	409
SIÇAN 3	322	441
SIÇAN 4	318	436
SIÇAN 5	315	420
SIÇAN 6	324	399
SIÇAN 7	328	417
SIÇAN 8	321	421

Tablo 4-24: 1-14 gün kontrol grubunun serum ALP değerleri

4.3.2.Çalışmamızda elde edilen Serum ALP Bulgularının İstatistiksel Değerlendirilmesi

	ALP(U/L)	LIPUS	Kontrol	MW	p
1-7 Gün	Başlangıç	325,88±10,41	324,38±7,52	29	0,751
	14.Gün	384,75±19,99	416,38±30,78	11	0,027
	Z	-2,521	-2,521		
	p	0,012	0,012		
7-14 Gün	Başlangıç	325,75±6,14	320,25±11,47	19,5	0,189
	14.Gün	406,63±22,6	428,13±31,21	15	0,074
	Z	-2,521	-2,524		
	p	0,012	0,012		
1-14 Gün	Başlangıç	329,25±10,9	320,88±6,85	16,5	0,103
	14.Gün	444,25±21,43	420,13±13,48	9,5	0,018
	Z	-2,524	-2,521		
	p	0,012	0,012		

Tablo 4-25: Serum ALP Bulgularının İstatistiksel Değerlendirilmesi

1-7.Gün LIPUS ve kontrol gruplarının başlangıç ALP ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (p=0,751).

1-7.Gün LIPUS grubunun 14.gün ALP ortalamaları kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p=0,027).

1-7.Gün LIPUS grubunun 14.gün ALP değerleri başlangıç değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,012).

1-7.Gün Kontrol grubunun 14.gün ALP değerleri başlangıç değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,012).

7-14.Gün LIPUS ve kontrol gruplarının başlangıç ALP ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (p=0,189).

7-14.Gün LIPUS ve kontrol gruplarının 14.gün ALP ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (p=0,074).

7-14.Gün LIPUS grubunun 14.gün ALP değerleri başlangıç değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,012$).

7-14.Gün Kontrol grubunun 14.gün ALP değerleri başlangıç değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,012$).

ALP(U/L)	Lipus	Kontrol
1-7 Gün	325,88±10,41	324,38±7,52
7-14 Gün	325,75±6,14	320,25±11,47
1-14 Gün	329,25±10,9	320,88±6,85
KW	1,04	1,16
Başlangıç p	0,594	0,559
1-7 Gün	384,75±19,99	416,38±30,78
7-14 Gün	406,63±22,6	428,13±31,21
1-14 Gün	444,25±21,43	420,13±13,48
KW	15,03	1,07
14.Gün p	0,001	0,584

Tablo 4-26: Grupların Serum ALP bulgularının istatistiksel değerlendirilmesi

LIPUS 1-7.gün , 7-14.gün, 1-14 gün gruplarının başlangıç ALP ortalama değerleri arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir ($p=0,594$).

Kontrol 1-7.gün , 7-14.gün, 1-14 gün gruplarının başlangıç ALP ortalama değerleri arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir ($p=0,559$).

LIPUS 1-7.gün , 7-14.gün, 1-14 gün gruplarının 14.gün ALP ortalama değerleri arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p=0,001$). 1-7 gün grubunun ALP değerleri 1-14 gün değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,001$).

Kontrol 1-7.gün , 7-14.gün, 1-14 gün gruplarının 14.gün ALP ortalama değerleri arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir ($p=0,559$).

Dunn's Çoklu Karşılaştırma Testi Lipus 14.Gün	
1-7 Gün / 7-14 Gün	$P > 0.05$
1-7 Gün / 1-14 Gün	$P < 0.001$
7-14 Gün / 1-14 Gün	$P > 0.05$

Tablo 4-27: Grupların Serum ALP değerlerinin DUNN's Çoklu Karşılaştırma Testi ile incelenmesi

Kontrol 1-7.gün, 7-14.gün, 1-14 gün gruplarının 14.gün ALP ortalama değerleri arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p=0,019$).

1-14 gün grubunun ALP değerleri 1-7 gün grubunun değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,001$).

5. TARTIŞMA

Ultrason 50 yıldan uzun bir süredir ağrı ve yaralanmaların tedavisi için kullanılmaktadır. Geçen yıllarla beraber ultrasonun klinik etkileri in vitro ve hayvan çalışmalarıyla daha açıklığa kavuşmaktadır. In vitro çalışmaların yaşayan organizmalarda homeostatik mekanizmalar etkisi altında yapılmadığını göz önüne alırsak, hayvan deneyleri bu etkilere daha farklı bir anlam kazandırmaktadır.

Ultrasonun olumlu fizyolojik etkileri şöyle sıralanabilir (94):

- 1- Ultrasonun indükleyici ısısı, yağlı subkütanöz dokuların izole edici ve etki azaltıcı özelliklerine rağmen 8 cm'ye kadar derindeki dokuları ısıtabilen tek enerji türüdür.
- 2- Ultrason ısısı kollajen liflerin ekstensibilitesini artırır.
- 3- Metabolik etkiler: Hücrenin biyokimyası sıcaklığa çok duyarlıdır. 1°C'lik sıcaklık artışının, dokudaki metabolik hızı artırdığı, 2-3°C'lik artışın kas spazmını, eklem hareket güçlüğü, ağrıyı ve kronik inflamasyonu azalttığı; kan akışını hızlandığı bilinmektedir.
- 4- Akustik akım: Ultrason dalgalarına paralel akan sıvılar hasarlı bölgeye gereken oksijen ve besini taşıyıp artıkları uzaklaştırarak iyileşmeyi hızlandırır.

1952 yılında İtalya'da Corradi ve Cozzolino tarafından yapılan ilk hayvan çalışmasında ultrasonun kemik kallusu oluşumunu stimüle ettiği saptanmıştır(10). Bu ilk deney, aynı araştırmacılar tarafından 8 hasta üzerinde bir sonraki sene yapılacak ilk klinik çalışmaya yol göstermiş, klinik çalışma sonucunda periostal kallusta artış saptanmıştır.

Bu çalışmalardan 30 yıl sonra Dyson ve Brookes 500mW/cm² ultrason uyguladıkları sıçan bilateral fibular fraktürlerini incelemişler; ultrasonla hızlandırılmış kemik iyileşmesini tanımlamışlardır. Bu araştırmacılar ultrasonun özellikle fraktürün erken safhalarında etkili olduğu bulgusuna ulaşmışlardır (43).

Xavier ve Duarte tavşanlarda oluşturdukları 26 kırığa günde 20 dakika 30mW/cm² gibi çok düşük bir yoğunlukta LIPUS uygulamışlar, histolojik ve

radıyografik değerlendirmeler sonucunda LIPUS grubunda kontrol grubuna oranla %28 oranında hızlanmış kortikal kemik köprüsü oluşumu gözlemişlerdir. Bu bulgulardan, osteotomi bölgesine LIPUS uygulanmasının kallus üretimini stimüle ettiği ve böylece erken mineralizasyon prosesini sağladığı sonucuna varmışlardır (26).

Doku tamiri; aşamalı, kimyasal mediatörlere gereksinim duyan, zarar gören dokuyu yerine koymak için efektif bir materyal oluşturan skar dokusunun oluşumuna kadar devam eden bir prosesler sürecidir.

Ultrason, inflamasyon safhasında mast hücreleri, trombositler, beyaz hücreler ile onların fagositik görevleri ve makrofajlar üzerinde stimüle edici bir etki yapar (41,74,82,108). Örneğin ultrason uygulaması, inflamasyon mediatörü olarak rol alan lökotrin ve prostoglandin sentezinin bir öncüsü olan araşidonik asitin serbestlenmesine yol açan mast hücresi degranulasyonunu indükler (66,77,82). Bu hücrelerin aktivitesini artırmasından ötürü terapötik ultrasonun etkisi antiinflamatuvar değil de proinflamatuvar olarak tanımlanabilir. Böylece ultrason inflamatuvar yanıtı artırarak bir inflamasyon optimize edici görevi görür. Inflamatuvar yanıt, dokunun efektif tamiri için gereklidir ve prosesin daha iyi tamamlanması bir sonraki faz olan proliferasyonun daha çabuk başlaması demektir.

Ultrason, proliferasyon fazında da (skar oluşumu), hücreleri regüle ederek stimülan görevi görür. Bu safhada birincil hedef hücreler fibroblastlar, endotelyal hücreler ve myofibroblastlardır(29,56,74,77,82,88,130,131). Bu hücreler skar yapımı sırasında aktif olan hücrelerdir. Dolayısıyla proinflamasyonda olduğu gibi, ultrason burada da proproliferatif etki gösterir. Normal proliferatif fazı değiştirmez fakat etkinliği artırarak skar dokusunun optimal biçimde yapılmasını sağlar. Harvey ve arkadaşları (51) düşük dozda atımlı ultrasonun protein sentezini çoğalttığını göstermiş ve onları takiben bir çok araştırmacı da ultrasonun fibroplazi ve kollajen sentezini artırdığını ispat etmişlerdir (21,32,55,88,113). Reher ve arkadaşları(89) ise yaptıkları çalışmada terapötik ultrasonun doku onarımında rol alan bir çok büyüme faktörünün aktivitesi üzerinde pozitif etkisi olduğunu bulmuşlardır.

Yeniden şekillenme safhasında ilk oluşan skar dokusu, tamir edilmekte olan dokunun fonksiyonel özelliklerini edinerek kendini tasfiye eder. Bir skar ligamanı, ligaman olamaz ama ligamentöz doku gibi davranır. Bu olay özellikle kollajen liflerin gelişen skar dokusuna yönelmesi ve predominant tip III kollajenin daha dominant bir tip olan tip I kollajene dönüşmesiyle olur (18,37,45,116). Araştırmalar remodeling fazının kısa süreli bir faz olmadığını, kaliteli bir tamirin tamamlanmasının bir yıl ya da daha uzun bir süreyi bulabileceğini göstermiştir (108).

Terapötik ultrason uygulaması yeni oluşan kollajen liflerinin en doğru yöne yönelmesini sağlayıp, tip III'ten tip I'e dönüşümünü hızlandırır. Böylece çekme kuvvetlerine karşı direncini ve skar mobilitesini artırarak skar dokusunun remodelingini olumlu yönde etkiler (82,119). Dokulara uygulanan ultrason, dokuların fonksiyonel kapasitesini artırır (55,82).

Heckman ve arkadaşları, 67 kapalı tibial fraktürü inceledikleri klinik çalışmalarında kırıkların 33'ünü terapötik ultrason cihazıyla tedavi ederken, kalan 34'üne plasebo cihazı uygulamışlardır. Tedaviye fraktür oluşumundan 7 gün sonra başlayan araştırmacılar 1.5 MHz, 200ms terapötik ultrason uyguladıkları 20 hafta sonunda yaptıkları radyografik incelemelerde, ultrason grubunda ortalama olarak 96 günde kortikal kemik köprüsü oluşumu gözlerken, plasebo grubunda bu süre 154 gününü bulmuştur. Aktif tedavi grubuyla plasebo grubunun iyileşmelerinin istatistiksel olarak karşılaştırılmalarından çıkan sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur(52).

Ardan ve arkadaşları, 67 köpek femuru üzerinde cerrahi defektler açmışlar; 5, 10, 15, 20 ve 25 W/cm² ultrason uyguladıkları femurları radyografik incelemeye tabi tutmuşlardır. 25 hayvanda fraktür oluşumu, 51 hayvanda iyileşmede gecikme saptanırken en dikkat çekici bulgu olarak 33 ultrason grubu hayvanın 25'inde görülen kortikal nekroz ve 19'unda görülen meduller fibrozistir. Araştırmacılar nekrozun yüksek oranda görülmesine bağlı olarak ortaya çıkan bu kemik iyileşmesi gecikmesini, uygulanan ultrasonun dozunun çok yüksek olmasına bağlamaktadırlar(3). Çalışmamızda 1-7 gün LIPUS grubunda sıçanların yarısında nekrotik alanlar gördük. Aynı grupta yeni kemik yapımı, 1-7 gün kontrol grubundan bile daha düşük değerlerdeydi. Bu düşük kemik yapımı miktarını defekt bölgesinde görülen nekrotik alanlardan kaynaklandığını ;

fakat kullanılan ultrason dozunun Ardan ve arkadaşlarının uyguladığının 1/50'si olması nedeniyle nekrozun ultrason dozundan çok, ilk opere edilen grup olan 1-7 gün LIPUS grubunda tur motoru ile defekt açılması esnasında irrigasyonu yetersiz yapmamızdan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Nolte ve arkadaşları 2001 yılında yaptıkları çalışmada, tibia, femur, radius/ulna, skafoid, humerus, metatarsal ve klavikulada meydana gelmiş 29 birleşmemiş kırık vakasına ultrason terapisi uygulamışlardır. Kırıkların primer tedavisi, vakaların 21'inde cerrahi, 8'inde ise konservatif olarak yapılmış; kırık bölgelerine günde 20 dakika ultrason uygulanmıştır. Vakaların %86'sında 22 haftada iyileşme sağlanmış ve bu sonuç noninvazif ultrason terapisinin birleşmemiş kırıkların tedavi süresini kısaltması açısından anlamlı bulunmuştur. Bu çalışmanın bulguları 1-14 gün grubunda elde ettiğimiz yeni kemik yapımı histopatolojik skorlarıyla uyumluluk göstermektedir(81).

Dyson ve Brookes 70 sıçanda bilateral fibular fraktürler meydana getirip, 12 sıçanı da kontrol grubu olarak kullandıkları çalışmalarında $0,5 \text{ W/cm}^2$, 2ms atımlı, 1,5-3,0 MHz ultrason terapisini farklı sürelerde ardışık günlerde uygulamışlardır. Ultrason tedavisinin en etkili olduğu dönem olarak, iyileşmenin sert kallus oluşumundan önceki inflamatuvar ve erken proliferatif fazlarının gerçekleştiği ilk 2 haftayı saptamışlardır (30).

Azuma ve arkadaşları 69 sıçan üzerinde birleşmemiş kırık yarattıkları çalışmada hayvanları 1-8 gün, 9-16 gün, 17-24.gün ve 1-24.gün olmak üzere 4 ana gruba, bu ana grupları da LIPUS ve kontrol grubu olmak üzere ikiye alt gruba ayırmışlardır. 30 mW/cm^2 , 1,5 MHz, 200 μs atımlı LIPUS uyguladıkları çalışmanın sonuçlarını mekanik testlerle, sert kemik kallusu alanı ve kemik mineral içeriği ölçümlerinin yanısıra radyolojik ve histopatolojik tetkiklerle değerlendirmişlerdir. Histolojik analizler sonucunda 9 ve 17.günlerde endokondral ossifikasyon, 17 ve 25.günlerde ise kemik remodelingi kontrol gruplarına göre anlamlı derecede fazla çıkmıştır (5).

Araştırmamızda kullandığımız $0,5 \text{ W/cm}^2$, 1,0 MHz ve 2ms atımlı ultrasonun doz ve tedavi süresi planlamasını Dyson ve Brookes'un modelini örnek alarak

yaparken, grupları ise Azuma ve arkadaşlarının çalışmasından yola çıkarak oluşturduk. 2 hafta boyunca farklı günlerde aynı terapötik dozda ultrason uyguladığımız sıçanlarda ultrason tedavisinin 14 günün hangi döneminde daha etkili olduğunu inceledik(30).

Araştırmamızın sonunda yeni kemik oluşumunu incelendiğimizde LIPUS gruplarıyla kontrol grupları arasında, 1-7, 7-14 ve 1-14 gruplarının hiç birinde istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemesek de histopatolojik skor tablosuna baktığımızda 1-14 gün grubunda LIPUS grubu ile kontrol grubu arasındaki yeni kemik yapımının fark edilir derecede arttığını gördük. Bu da, operasyon sonrası 2 hafta boyunca uygulanan LIPUS grupta hem ilk hafta LIPUS uygulanan gruptan, hem ikinci hafta LIPUS uygulanan gruptan, hem de LIPUS uygulanmamış gruptan daha hızlı yeni kemik yapımı olduğunu gösteriyordu. (1-14 gün LIPUS grubu: 2 sıçanda %31-60, 6 sıçanda %60'tan fazla ; 1-14 gün kontrol grubu: 1 sıçanda %0-30, 5 sıçanda %31-60, 2 sıçanda %60'tan fazla) Her 3 kontrol grubunda da kemik iyileşmesi 1-7 gün LIPUS grubundan daha iyi gerçekleşirken; bunun 1-7 gün LIPUS grubunda gördüğümüz nekroza bağlı olabileceğini düşündük.

Tsai ve arkadaşları erkek tavşan fibulalarında 3 mm'lik aralıklarla oluşturdukları birleşmemiş kırıklara 1,0 W/cm², 1,5 MHz, günde 15 dakika uyguladıkları terapötik ultrasonun, kemik oluşumunu stimüle ettiğini gözlemişlerdir (112).

Junior Santos ve arkadaşları 56 sıçanın sağ üst kesici dişini çekmiş; hayvanları biri kontrol, diğeri de deney grubu olmak üzere ikiye ayırmışlardır. Postoperatif 3, 6, 9, 12, 15, 18 ve 21.günde sakrifiye ettikleri hayvanlara ölüm gününe kadar 1,0 MHz ultrason uygulamışlardır. Yapılan histopatolojik incelemeler, ultrason grubunda erken granülasyon dokusu ve hızlı kemik köprüsü oluşumunun yanısıra, alveolar iyileşme sürecinin de hızlandığını göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçları, özellikle iyileşme bozukluğu ya da gecikmesi olan hastalarda ve hızlı alveolar iyileşmenin istendiği durumlarda, diş çekimleri sonrasında, LIPUS uygulamasının olumlu sonuçlar verebileceğini göstermiştir(97).

Pilla ve arkadaşları 139 tavşanın fibulalarında 1 mm'lik Gigli testeresiyle bilateral osteotomiler meydana getirdikleri çalışmalarında, hayvanların fibulalarının birine 30 mW/cm², 1,5 MHz ultrasonu günde 20 dakika uygulamışlar; kontralateral fibulayı ise kontrol grubu olarak almışlardır. Hayvanlar 14 ve 28.günlerde sakrifiye edilmiştir. 17.günden 28.güne kadar yapılan ölçümlerde ultrason uygulanan fibulalar, sağlam kemik kadar dayanıklı bulunmuştur. Ultrason uygulanmamış grupta ise kemiğin aynı dayanıklılığa ulaşması 28 günü bulmuştur. Bu bulgular araştırmamızdaki 1-14 gün LIPUS grubunun yeni kemik yapımı bulgularıyla örtüşmektedir(86).

Takikawa ve arkadaşları 14 sıçanda bilateral kapalı tibial fraktürler meydana getirmişler, fraktür bölgesine 30 mW/cm², 1,5 MHz, 200 µs atımlı ultrasonu günde 20 dakika uygulamışlardır. 2 haftayla 6 hafta arasında hayvanlar sakrifiye edilmiş, çıkarılan tibialarda radyolojik ve histolojik inceleme yapılmıştır. 6 hafta sonunda radyografik inceleme sonucunda 14 birleşmemiş kırıktan 7'sinde iyileşme görülürken, kontrol grubunda bütün kırıklar aynı süre sonunda birleşmemiş olarak kalmıştır(106).

Wang ve arkadaşları 22 erkek sıçanda bilateral kapalı femoral fraktürler oluşturmuş, hayvanların 16'sına postoperatif 14 günün 10'unda 30 mW/cm², 0,5-1,5 MHz , 200 µs atımlı ultrason uygulamışlar, kalan 6 hayvanı ise kontrol grubu olarak incelemişlerdir. Postoperatif 21.günde histolojik ve radyografik inceleme yapılmıştır. Ultrason tedavisi görmüş 16 hayvanın 5'inde radyografide kırık alanlarında kemik köprüsü oluşumu gözlenirken kontrol grubundaki hiç bir hayvanda birleşme saptanmamıştır. Yapılan dayanıklılık testlerinde ultrason grubu, kontrol grubundan %22 daha fazla torka mukavemet göstermiştir(118).

Erdoğan ve arkadaşları 2006 yılında 30 tavşan üzerinde yaptıkları araştırmada unilateral mandibular osteotomi gerçekleştirmişlerdir. Kemik segmentleri miniplaklar ve vidalarla repoze edilmiş ve fiksasyonları sağlanmıştır. Hayvanların 15'ine 20 gün boyunca günde 20 dakika, 30 mW/cm², 1,5 MHz, 200 µs ultrason uygulanmıştır. Hayvanların hepsi postoperatif 22.günde sakrifiye edilmiştir. Histolojik ve radyolojik bulgularla desteklenen biyomekanik test bulguları, LIPUS uygulanmış grupta anlamlı derecede kemik iyileşmesinin hızlandığını göstermiştir(33).

Chan ve arkadaşları 18 haftalık erkek tavşanlarla yaptıkları çalışmada LIPUS'un distraksiyon osteogenezisinin konsolidasyon safhasındaki remodeling üzerine etkisini incelemişlerdir. Günde 1 mm distraksiyon yapılan 17 hayvanın 10'una 30 mW/cm^2 , 1,5 MHz ultrason 4 haftalık konsolidasyon süreci boyunca günde 20 dakika uygulanmıştır. Radyografik incelemeler ve torsiyonel test bulguları sonucunda, 14.günde LIPUS grubunda, kontrol grubuna oranla kemik mineral yoğunluğunda %9,18, sert kallus hacminde %116, kemik mineral içeriğinde % 83, kemik dayanıklılık indeksinde % 94 fazlalık saptanmıştır. 28.günde LIPUS tedavisi almış kallusta, proksimal ve distal bölgelerde neokortikalizasyon görülmüştür. Bu bulgular distraksiyon osteogenezisinin konsolidasyon safhasında LIPUS'un remodeling üzerinde hızlandırıcı etkisi olduğunu göstermektedir (13).

LIPUS konusundaki en detaylı araştırmalardan biri olan, Kristiansen ve arkadaşlarının 83 hastada 10 farklı bölgede meydana gelen 85 kırığı inceledikleri klinik çalışmalarında 40 kırık LIPUS'la tedavi edilmiş, 45 kırığa ise plasebo aygıtı uygulanmıştır. Bilateral kırık bulunan iki hastanın birer kırıkları aktif aletle, diğer kırıkları da plasebo aletiyle tedavi edilmiştir. Her iki gruptan toplam 23 hasta çeşitli sebeplerle çalışmadan ayrılmış ve takipleri yapılamamıştır. LIPUS grubundaki hastalara 30 mW/cm^2 , 1,5 MHz, 200 μs atımlı ultrason 29-77 gün arasında, ortalama 62 gün uygulanmıştır. Ultrason uygulamalarından sonra hastaların ortalama 111 gün takibi yapılmıştır. Çalışmada erken trabeküler köprü oluşumu aktif grupta 30 ± 1 günde, plasebo grubunda 39 ± 2 günde görülürken; kortikal köprü oluşumunda 1.korteks aktif grupta 39 ± 2 günde, plasebo grubunda 50 ± 3 günde, 2.korteks 43 ± 2 günde, plasebo grubunda 56 ± 4 günde, 3.korteks aktif grupta 51 ± 4 günde, plasebo grubunda 77 ± 5 günde, 4.korteks aktif grupta 61 ± 3 günde, plasebo grubunda 98 ± 5 günde gözlenmiştir. Organize trabeküler köprü oluşumu ise 5. haftada aktif grupta $\%17 \pm 5$, plasebo grubunda $\%4 \pm 2$; 6.haftada $\%37 \pm 5$, plasebo grubunda $\%12 \pm 4$; 8.haftada aktif grupta $\%56 \pm 6$, plasebo grubunda 20 ± 5 ; 10.haftada $\%74 \pm 6$, plasebo grubunda 36 ± 7 ; 12.haftada aktif grupta $\%85 \pm 4$, plasebo grubunda $\%51 \pm 6$; 16.haftada aktif grupta $\%96 \pm 2$, plasebo grubunda $\%71 \pm 5$ oranlarında görülmüştür. Kırık oluşumundan erken trabekuler iyileşmeye kadar geçen süre aktif grupta 31 ± 2 gün, plasebo grubunda 43 ± 3 gün; 1.korteksle kortikal köprü oluşumunun başlamasına kadar geçen süre ise aktif grupta 37 ± 3 gün, plasebo grubunda 52 ± 3 gün olarak hesaplanmıştır. Bu veriler $p < 0,05$

anlamlılık düzeyinde incelendiğinde LIPUS uygulanan grubun plasebo grubuna oranla gösterdiği erken trabeküler iyileşmenin ve kortikal köprü yapımının başlangıç süresinin kısalması istatistiksel olarak oldukça anlamlıdır. Organize trabeküler köprünün oluşum süresi ele alındığında ise, LIPUS grubunda plasebo grubuna göre çok anlamlı derecede hızlı oluşum gözlenmiştir. Kristiansen ve arkadaşlarının LIPUS'un kemik oluşumunu hızlandırıcı etkisi yönündeki bulguları, yaptığımız araştırmanın 1-14.gün grubundaki yeni kemik yapımındaki artış bulgularıyla paraleldir. Araştırmamızda 1-14 gün LIPUS grubunda 2 sıçanda %31-60, 6 sıçanda %60'tan fazla yeni kemik yapımı görülürken; 1-14 gün kontrol grubunda 1 sıçanda %0-30, 5 sıçanda %31-60, 2 sıçanda %60'tan fazla yeni kemik yapımı saptanmıştır (63).

Yang ve arkadaşları 2001 yılında 10 köpekte bilateral ulna defektleri açarak ultrason uygulamışlardır. Hayvanları küçük defekt ve büyük defekt grubu olarak ikiye ayıran araştırmacılar, çalışmalarında 50 mW/cm^2 , 1,0 MHz, 200 μs atımlı ultrason dalgaları kullanmışlardır. Defektler, küçük defekt grubunda diafiz genişliğinin yarısı, büyük defekt grubunda diafiz genişliğinin 1,5 katı olarak hazırlanmış; kontralateral taraf da kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Ultrason uygulamasına cerrahiye takip eden gün başlanmış, günde 15 dakika olmak kaydıyla haftada 6 gün devam edilmiştir. 5 ay süren deney sonunda küçük defekt modelinde LIPUS grubunda 4 hayvanda kortekte remodeling gözlenirken, kontrol grubunda bu sayı sadece 1 olarak bulunmuştur. Defektte rejenere olan kemikten bir köprü oluşmamışsa bu defekt, birleşmemiş kabul edilmiştir. Kontrol grubundaki 5 defektin 3'ü birleşmemiş olarak kalırken, LIPUS grubunda bütün defektlerde birleşme görülmüş fakat remodelingde gecikme gözlenmiştir. Araştırmacılar erken kırık iyileşmesi döneminde ultrasonun en iyi noninvazif metod olduğunu savunmuşlardır (127).

Schortinghuis ve arkadaşları 72 sıçanda açtıkları 5,9 mm çapındaki mandibular defektlere 4 hafta boyunca günde 20 dakika, 30 mW/cm^2 , 1,5 MHz, 200 μs atımlı ultrason uygulamışlardır. Defekt bölgeleri 2 ve 4.hafta sonunda yüksek çözünürlüklü dijital radyografilerle ve histopatolojik tetkiklerle değerlendirilmiştir. Araştırmacılar 4 hafta sonunda LIPUS'un sıçan mandibulasında kemik defekti iyileşmesini stimüle etmediği bulgusuna ulaşmışlardır(99).

Sun ve arkadaşları, 36 sıçanda bilateral defektler açıp 7 ve 14 gün in vitro doku kültüründe muhafaza ettikleri femurlara 320 ve 770 mW/cm² LIPUS uygulamasını 15 gün sürdürmüşler, çalışma sonucunda kemik iyileşmesini histomorfolojik muayeneyle ve prostoglandin E₂ sentezi ve sekresyonunu inceleyerek değerlendirmişlerdir. Bütün ultrason uygulanmış femurlarda iyileşme, kontrol grubu olarak bırakılan kontralateral gruptan iyi çıkarken, özellikle 770 mwatt/cm² LIPUS uygulanan femurdaki iyileşme anlamlı derecede fazla bulunmuştur(104).

Bütün bu araştırmacılardan Schorthinguis ve arkadaşları (99) dışında kalanların tamamı LIPUS'un kemik iyileşmesi üzerine hızlandırıcı etkisi olduğu sonucuna varmışlardır. Bu bulgular, araştırmamızda elde ettiğimiz özellikle 1-14 gün kontrol grubu ile LIPUS grubu yeni kemik yapımı karşılaştırması sonucuyla (p=0,117) uyum göstermektedir. Araştırmamızda 1-7 gün, 7-14 gün ve 1-14 gün LIPUS grupları arasında yeni kemik yapımı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiştir(p=0,0001). Grupların kontrol gruplarıyla arasında yapılan yeni kemik yapımı incelemesinde 1-7 günde p=0,276, 7-14 günde p=0,244, 1-14 günde ise p=0,117 değerleri hesaplanmıştır. Bu değerler istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, histopatolojik skor tablosuna bakıldığında en yüksek yeni kemik oluşumu skorunun görüldüğü 1-14 gün LIPUS grubunda elde edilen sonuçlar LIPUS uygulamasının ilk 2 hafta boyunca yapılmasının yeni kemik yapımı üzerine en olumlu sonuçları verdiğini belirten; LIPUS uygulama süresi ve dozunu örnek model olarak aldığımız Dyson ve Brookes'un çalışmasıyla büyük uyum göstermektedir. LIPUS uygulamasını 7 ve 14 günle sınırlı tuttuğumuz çalışmamızda, dokulara verilen ultrasonun süresinin uzatılması durumunda yeni kemik yapımına olumlu etkisinin daha da artacağı düşüncesindeyiz.

1-7 gün LIPUS grubunda gerçekleşen yeni kemik yapımının, 1-7 gün kontrol grubundan daha az olmasını dikkat çekici bulduk. Erken dönemde uygulanıp yarım bırakılan LIPUS tedavisinin kemik oluşumuna olumsuz etkisinin görülmesini, ultrasonun erken dönemde hücresel düzeyde kemik oluşum mekanizmalarını baskılamasına bağladık. Bu düşüncemiz Azuma (5) ve Warden'in (121) çalışmalarıyla uygunluk göstermektedir.

Sato ve arkadaşları bacak boyu uzatma operasyonları uygulanan hastalarda yaptıkları bir klinik çalışmada, LIPUS kullanımının kallus oluşumunu hızlandığını, böylece eksternal fiksatörün daha erken çıkarılarak hastanın yaşam standardının daha da yükselebileceğini vurgulamışlardır. Araştırmacılara göre LIPUS endokondral kemikleşme, agregan gen ekspresyonu ve kalsiyum emilimini artırmaktadır (98).

Ryaby ve arkadaşları yaptıkları bir in vitro çalışmada LIPUS'un farklılaşan kırıkta ve kemik hücre kültürlerinde kalsiyum aktivitesini artırdığını, bunun da hücre metabolizmasında değişikliğe yola açtığını ve osteoblastik aktiviteyi artırdığını bildirmişlerdir. Her iki araştırmanın sonuçlarında da görüldüğü gibi LIPUS, dokulardaki kalsiyum emilimini artırır(95).

Bu bulgular, araştırmamızda özellikle LIPUS-kontrol grubu karşılaştırmalarında elde ettiğimiz plazma kalsiyum seviyesindeki düşüşlerle (1-14 gün LIPUS grubu/kontrol grubu : $p=0,002$) uyum göstermektedir. Plazma kalsiyum seviyesindeki düşüş yeni kemik yapımını ifade etmektedir. Kalsiyum seviyesi düşüşündeki istatistiksel değişiklikler, yeni kemik yapımı oranlarında elde ettiğimiz istatistiksel artışla paralel seyretmektedir.

Zorlu ve arkadaşları, 32 sıçan üzerinde bilateral fibular defektler açarak LIPUS ve elektrostimülasyonun etkilerinin karşılaştırmasını yapmışlardır. 16 hayvan ultrason grubu olarak ayrılmış, bunların yarısına 100 mW/cm^2 ultrason, günde 2 dakikadan, 14 gün boyunca uygulanmıştır. Histopatolojik, biyokimyasal ve radyografik incelemeler sonucunda ultrasonun inflamasyon safhasını kısalttığını; yeni damar oluşumunu, alkalen fosfataz ve lizozim aktivitesini artırdığını bulmuşlar, bu bulguları ultrasonun piezoelektrik etkisine dayandırmışlardır(133).

Leung ve arkadaşları 28 hastadaki 30 kompleks tibial fraktürle yaptıkları çalışmada 30 mW/cm^2 , 1,5 MHz, 200 μs atımlı ultrasonu fraktür sahasına 90 gün boyunca uygulamışlardır. 15 hastadaki 16 fraktür LIPUS grubu, 13 hastadaki 14 fraktür de kontrol grubu olarak alınmıştır. Araştırma sonucunda yapılan radyolojik incelemelerde, LIPUS grubunda kallus oluşumunun kontrol grubundan anlamlı derecede hızlı olduğu; 6, 15, 18 ve 21. haftalarda yapılan kemik mineral içerik

ölçümlerinin LIPUS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulgularına ulaşılmıştır. Araştırmacılar LIPUS'un özellikle zayıf iyileşme potansiyeli olan hastalardaki kemik iyileşme proseslerinde kullanılması gerektiğini vurgulamışlardır. Hastaların plazma ALP düzeylerinde yapılan ölçümlerde LIPUS grubunda, kontrol grubuna oranla 6.haftadan 27.haftaya kadar daha yüksek değerler bulunmuştur. Özellikle 12, 18 ve 27.haftada elde edilen bulgular (hepsi için $p<0,05$) oldukça anlamlıdır (66).

Kemik matriks proteinlerinden biri olan ALP'deki artış kemik yapımının bir indikatörüdür. Araştırmacıların bu bulguları çalışmamızda 1-14 gün ($p<0,018$) LIPUS grubunda elde ettiğimiz ALP artışıyla uyum göstermektedir.

Warden ve arkadaşları LIPUS'un izole edilmiş kemik yapıcı UMR-106 hücrelerindeki mRNA yanıtına olan etkisini araştırmışlardır. 30 mW/cm^2 , 1,0 MHz, 200 μs atımlı ultrason verilen doku kültürlerinde ALP'nin 24 saatten önce yanıt vermediği görülmüştür. Kemik yapımı yanıtı olarak nitelendirilen ALP mRNA seviyesi artışının, erken safhalarda baskılansa da araştırma süresinin tamamı ele alındığında stimüle edildiği görülmüştür. Bu bulgular, araştırmamızdaki 1-7 gün LIPUS ve 1-14 gün LIPUS grupları arasındaki karşılaştırmada elde edilen serum ALP seviyelerindeki artış bulguları arasındaki farkla benzerlik göstermektedir (121).

Fyfe ve Chahl, intravenöz yoldan gümüş nitrat verdikleri sıçanlara 500 mW/cm^2 , 2.9, 1.5 ve 0.79 MHz, 2 ms atımlı LIPUS'u 2-5 dakika arası farklı sürelerde uygulamışlar ve sıçanları 30 dakika sonra sakrifiye ederek akut inflamatuvar yanıtı araştırmışlardır. Özellikle 2 ve 4 dakika boyunca 0.79 MHz LIPUS uygulanan grupta inflamatuvar yanıtta anlamlı derecede artış saptamışlardır(41).

Araştırmamızda 1-7 gün LIPUS-kontrol grubu iltihap karşılaştırması istatistiksel değeri $p=0,006$, 7-14 gün LIPUS-kontrol grubu iltihap karşılaştırması istatistiksel değeri $p=0,03$ ve 7-14 gün LIPUS-kontrol grubu iltihap karşılaştırması istatistiksel değeri $p=0,586$ olarak bulunmuştur. LIPUS grupları arasında iltihap değerlendirmesinde anlamlı farklılık($p=0,0002$) gözlenmesine rağmen, kontrol grupları arasında gözlenen fark anlamlı değildir($p=0,203$). Bu bulgular Fyfe ve Chahl'ın (41) LIPUS'un

inflamasyon üzerine stimüle edici etkisi olduğunu belirten çalışmalarıyla paralellik göstermektedir. İltihabın en yoğun görüldüğü grup, 1-7 gün LIPUS grubu olmuştur. Bu da erken dönemde LIPUS'un inflamasyon üzerine daha etkili olduğu sonucunu ortaya koymaktadır.

Elde edilen fibrozis bulguları incelendiğinde 3 grupta da anlamlı bir farklılığa rastlanmamıştır (1-7 gün LIPUS-kontrol grubu fibrozis karşılaştırması istatistiksel değeri $p=0,521$, 7-14 gün LIPUS-kontrol grubu fibrozis karşılaştırması istatistiksel değeri $p=0,141$ ve 7-14 gün LIPUS-kontrol grubu fibrozis karşılaştırması istatistiksel değeri $p=0,614$). LIPUS ve kontrol gruplarının kendi aralarında yapılan değerlendirmelerinde de anlamlı bir sonuca ulaşılamasa (LIPUS $p=0,054$ ve kontrol $p=0,201$) ve LIPUS'un farklı uygulama dönemlerinde uygulamasının fibrozis üzerine farklı etkileri olmadığı sonucu çıkarılabilecek olsa da literatürde benzer bir incelemeye rastlanmadığından yorum yapmak zorlaşmaktadır. Gruplar arasındaki karşılaştırmada histopatolojik skor tablolarına göre fibrozis incelendiğinde en yüksek değerlere 7-14 gün LIPUS grubunda rastlanmaktadır. Yeni vasküler oluşumun en fazla olduğu bu dönemde primer kemik iyileşmesinin başlaması ve kallusun formasyonun hazırlanması genel kemik yapımı prensipleriyle uyum göstermektedir.

Çalışmamızda LIPUS 1-7 gün grubu dışında hiç bir grupta nekroz görülmezken, bu grupta oluşan nekrozun tur motoruyla defekt açılması sonucu oluşan yüksek ısıya bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

SONUÇ

Araştırmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre, kemik defektlerinde LIPUS uygulamasının, kemik iyileşmesi üzerinde olumlu etkisi olduğunu tespit ettik. Postoperatif dönemde hemen başlanıp kesintisiz devam ettirilen 14 günlük LIPUS uygulamasının yeni kemik yapımını artırdığını, erken dönemde uygulanıp yarım bırakılan ultrason tedavisinin ise hücresel düzeydeki kemik yapım mekanizmalarını baskıladığını bulduk.. Araştırmamızın sonucunda ortaya çıkan serum Ca^{+2} ve serum ALP değerleri, LIPUS uygulanan gruplarda, LIPUS'un kemik yapımı üzerindeki olumlu etkisi olduğunu kanıtlar nitelikte değişiklikler göstermiştir. LIPUS uygulanan gruplarda kontrol gruplarına oranla, özellikle de 1-14 gün LIPUS grubunda serum Ca^{+2} değerlerinin düşük çıkmasının, iyileşme sırasında lokal Ca^{+2} kullanımının artmasıyla ilişkili olduğunu düşünmekteyiz. Yine buna paralel olarak serum ALP düzeylerinin de LIPUS grubunda daha yüksek bulunmasının, yeni kollajen matriks sentezinin artmasına bağlı olduğu fikrini savunmaktayız.

1952'den bu yana yapılan araştırmalar, ultrasonun farklı dozlar, frekanslar ve atım aralıklarıyla doku üzerinde kullanılarak iyileşmenin hızlandırılmasını hedef almaktadır. Bütün bu yapılan çalışmalara rağmen LIPUS tedavisinde en etkin dozu, frekansı, atım aralığını belirleyen bir araştırmanın olmaması ve değişik değerlerin baz alınarak kullanılması etkin bir LIPUS tedavi protokolünün saptanamamasına neden olmaktadır. Bu alanda gelecekte yapılacak olan çalışmaların LIPUS'un doku iyileşmesi üzerine etkilerini daha da artıracığı inancını taşımaktayız..

KAYNAKLAR

1. Alturfan, A. K., Akalın, Y. (2002). Ortopedik Travmatoloji. İstanbul : Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. 10-14.
2. Archer WH. Oral and Maxillofacial Surgery. (1975) W.B. Saunders Publishing, Philadelphia,; 1427-1453.
3. Ardan NI Jr, Janes JM, Herrick JF. (1957). Ultrasonic energy and surgically produced defects in bone.J Bone Joint Surg Am. 1957 Apr;39-A(2):394-402.
4. Aykın B. T. Lokomotor sistem patolojisi. Ders notu.
5. Azuma Y, Ito M, Harada Y, Takagi H, Ohta T, Jingushi S. (2001). Low-intensity pulsed ultrasound accelerates rat femoral fracture healing by acting on the various cellular reactions in the fracture callus. J Bone Miner Res. Apr;16(4):671-80.
6. Baker, K. G., V. J. Robertson, et al. (2001). "A review of therapeutic ultrasound: biophysical effects." Phys Ther 81(7): 1351-8.
7. Ballı, B. Kemik iyileşmesi ve iyileşmeyi etkileyen faktörler. (2004) Bitirme tezi. İ. Ü. Dişhekimliği Fakültesi. İstanbul
8. Bernard GW. Healing and repair of osseous defects. (1991) Dent Clin North Am; 35 :469-477
9. Bölükbaşı, N. Alveol kemiği implant ilişkisi. (2004) İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Oral Implantoloji Anabilim Dalı. Seminer çalışması.
10. Carlsson GE. Responses of jawbone to pressure. (2004) Gerodontology; 21 :65-70.
11. Carranza FA. Bone Loss and Patterns of Bone Destruction. In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA (eds). (2002) Carranza's Clinical Periodontology. 9.ed. W.B. Saunders Publishing, Philadelphia, 354-358.
12. Casarotto, R. A., J. C. Adamowski, et al. (2004). "Coupling agents in therapeutic Ultrasound: Acoustic and thermal behaviour." Arch Phys Med Rehabil 85: 162-165.
13. Chan CW,Qin L, Lee KM,Zhang M: Low Intensity Pulsed Ultrasound Accelerated Bone Remodeling during Consolidation Stage of Distraction

- Osteogenesis Journal of orthopaedic research February 2006 Published online 18 November 2005 in Wiley InterScience
14. Clara M, Maskar Ü. (1972) Histoloji I. 2.Baskı. İstanbul : Sermet Matbaası.; 274-306.
 15. Corradi C., Cozzolino A. (1952) The action of ultrasound on the evolution of an experimental fracture in rabbits. *Minerva ortop.*55:44-5
 16. Corradi C., Cozzolino A. (1953) Ultrasound and bone callus formation during function. *Arch Ortop.* 66:77-98
 17. Cowin, S. C. Bone Mechanics Handbook. (2001) 2nd edn. Boca, Raton, London, New York, Washington: CRC Press. Bölüm 1: 1-68, Bölüm 2: 1-24.
 18. Culav, E. M., C. H. Clark, et al. (1999). "Connective tissues: Matrix composition and its relevance to physical therapy." *Physical Therapy* 79(3): 308-319.
 19. David G. Lambert. Calcium signaling protocols (2006) 2nd ed. Published: Totowa, N.J. : Humana Press. Sayfa 473-7
 20. Dawson~Hughes, B., (1999) Pharmacologic treatment of postmenopausal osteoporosis, in *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed., LippincottWilliams & Wilkins, Philadelphia, chap. 53. sayfa 611
 21. Dedeoğlu, R. K. (2004) DBM (Demineralize kemik matriksi) ve β -trikalsiyum fosfat'ın deneysel kemik defektlerinde ayrı ayrı ve birlikte kullanıldıklarında iyileşme üzerine olan etkilerinin karşılaştırılmalı olarak değerlendirilmesi. Tez. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. İstanbul
 22. Dinno, M. (1989). "The significance of membrane changes in the safe and effective use of therapeutic and diagnostic ultrasound." *Phys Med Biol* 34: 1543-5.
 23. Dinno, M. A., L. A. Crum, et al. (1989). "The effect of therapeutic ultrasound on electrophysiological parameters of frog skin." *Ultrasound in Med and Biol* 15(5): 461-470.
 24. Docker, M. F., D. J. Foulkes, et al. (1982). "Ultrasound couplants for physiotherapy." *Physiotherapy* 68(4): 124-125.
 25. Donald S. G., Bassam A. M., Andrei A. C. (1998) Biology of allografting. *Orthop Clin North Am.*; 29: 199-204.

26. Duarte, L.R., Xavier, C.A., Choffie, M., McCabe, J.M. (1996): Review of nonunions treated by pulsed low-intensity ultrasound. *Société Internationale de Chirurgie Orthopedique et de Traumatologie (SICOT)*, P2.110:PDS80.
27. Ducy, P., Zhang, R., Geoffroy, V., Ridall, A. L., and Karsenty, C., (1997) *Osf2/Cbfa1: a transcriptional activator of osteoblast differentiation; Cell*, 89, 747
28. Duthie RB. Bone and Joint Tissues. In : Kyle J, Karey LC (eds). (1989) *Scientific Foundations of Surgery* 4.ed. Heinemann Medical Books, London, 1989: 150 – 166.
29. Dyson, M. and D. Smalley (1983). Effects of ultrasound on wound contraction. *Ultrasound Interactions in Biology & Medicine*. R. Millner, E. Rosenfeld and U. Cobet. New York, Plenum Press: 151-158.
30. Dyson M., Brookes M. (1983) Stimulation of bone repair by ultrasound. *Ultrasound Med Biol Suppl* 2:61-6
31. Enwemeka, C. S. (1989). "The effects of therapeutic ultrasound on tendon healing." *Am J Phys Med Rehabil* 68(6): 283-287.
32. Enwemeka, C. S., O. Rodriguez, et al. (1990). "The biomechanical effects of low-intensity ultrasound on healing tendons." *Ultrasound Med Biol* 16(8): 801-7.
33. Erdogan O, Esen E, Ustun Y, Kurkcu M, Akova T, Gonlusen G, Uysal H, Cevlik F. (2006) Effects of low-intensity pulsed ultrasound on healing of mandibular fractures: an experimental study in rabbits. *J Oral Maxillofac Surg. Feb*;64(2):180-8.
34. Ericksen, E. F., Axelrod, D. W., Melsen, F. *Bone Histomorphology*. (1994) Raven Press, New York. s: 44-46
35. Erimoğlu C. İnsan Anatomisi. (1990) İ.Ü. Basımevi ve Film Merkezi , İstanbul; 6-7.
36. Fleisch, H., *Bisphosphonates in Bone Diseases*. (1997) From the Laboratory to the Patient, 3rd ed., Parthenon Publishing Group, New York, chap. 1. p 41
37. Forrest, L. (1983). "Current concepts in soft connective tissue wound healing." *Br J Surgery* 70: 133-140.
38. Frost, H. M. (1989) The biology of fracture healing on over view for clinicians part I. *Clin Orthop Rel Res*; 248: 283-293.
39. Frost, H. M., (1960) In vivo osteocyte death, *J. Bone Joint Surg.*, 42A,138.

40. Frost, H. M., (1995) Introduction to a New Skeletal Physiology, Vol.1 and II, Pajaro Group, Pueblo
41. Fyfe, M. C. and L. A. Cahal (1982). "Mast cell degranulation: A possible mechanism of action of therapeutic ultrasound." *Ultrasound in Med & Biol* 8(Suppl 1): 62.
42. Garant, P. R. (2003) Oral Cells And Tissues. Quintessence Publishing Co. Inc. Illinois: Chapter 7-8. page 442-57
43. Gebauer GP, Lin SS, Beam HA, Vieira P, Parsons JR. (2002) Low-intensity pulsed ultrasound increases the fracture callus strength in diabetic BB Wistar rats but does not affect cellular proliferation. *J Orthop Res*. May;20(3):587-92.
44. Gehron-Robey, P., Boskey, A. L. (1996) The biochemistry of bone, in Osteoporosis. Marcus, E., Feldman, D., Kelsey, J., Eds., Academic Pres, San Diego, chap.4. page 74-8
45. Gomez, M. A., S. L. Woo, et al. (1989). "Medical collateral ligament healing subsequent to different treatment regimens." *J. Appl. Physiol*. 66(1): 245-252.
46. Gorski JP. (1998) Is all bone the same? Distinctive distributions and properties of non-collagenous matrix proteins in lamellar vs. woven bone imply the existence of different underlying osteogenic mechanisms. *Crit Rev Oral Biol Med*; 9 :201-223.
47. Greenberg A.M. (1993) Craniomaxillofacial fractures. New York : Springer-Verlag.; 33-41
48. Gross, D., Williams, W. S. (1982) Streaming potential and electromechanical response of physiologically-moist bone. *J Biomech*; 15: 277-295
49. Güven, Y. Kıkırdak, Kemik ve Diş Biyokimyası. (1988) İ. Ü. Dişhekimliği Fak. Biyokimya Bilim Dalı Ders notları,
50. Ham, A. W., Cormack, D. H. (1979) Histophysiology of Cartilage Bone and Joints J.B. Philadelphia and Toronto: Lippincott Company.
51. Harvey, W., M. Dyson, et al. (1975). "The stimulation of protein synthesis in human fibroblasts by therapeutic ultrasound." *Rheumatology & Rehabilitation* 14: 237-.
52. Heckman JD, Ryaby JP, McCabe J, Frey JJ, Kilcoyne RF. (1994) Acceleration of tibial fracture-healing by non-invasive, low-intensity pulsed ultrasound.*J Bone Joint Surg Am*. Jan;76(1):26-34.

53. Hollinshead HW, Rosse C. (1985) Textbook of Anatomy. 4.ed. Harper & Row Publishing, Philadelphia, 24-30.
54. Hunt TK, Ellison EC, Sen CK. (2004) Oxygen: at the foundation of wound healing--introduction. *World J Surg*; 28 :291-293.
55. Huys, S., B. S. Gan, et al. (1993). "Comparison of effects of early and late ultrasound treatment on tendon healing in the chicken limb." *J Hand Ther* 6: 58-59.
56. Jee WSS. (2001) Integrated Bone Tissue Physiology: Anatomy and Physiology. In: Cowin SC (ed). *Bone Mechanics Handbook*. 2. ed. CRC Press, Florida; 1-68.
57. Jee, WSS. (1999) Structure and function of bone tissue in *Orthopaedics, Principles of Basic and Clinical Science*, Bronner, F. and Worrell, R. V., Eds., CRC Press, Boca Raton, FL, chap. 1. p 11-29
58. Jilka, R. L., Weinstein, R. S., Bellido, T., Roberson, P, Parfitt, A. M., and Manolagas, S., (1999) Increased bone formation by prevention of osteoblast apoptosis with parathyroid hormone, *T Clin. Invest*, 10-4, 439
59. Junguiera, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O. (1998) *Temel Histoloji*. 8.Baskı. İstanbul : Barış Kitabevi Ltd. Şti. 132-151.
60. Kabisch, W.T., De Bruyn, P.P., Pabuwat, S. N. (1968) Quantitative characteristics of phagocytic organs. *Anat Rec*. Jun; 161(2): 197-210.
61. Kılıçoğlu, S. S. (2002) Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*; 55(2); 143-150.
62. Klucinec, B., M. Scheidler, et al. (2000). "Effectiveness of wound care products in the transmission of acoustic energy." *Phys Ther* 80(5): 469-76.
63. Kristiansen TK, Ryaby JP, McCabe J, Frey JJ, Roe LR. (1997) Accelerated healing of distal radial fractures with the use of specific, low-intensity ultrasound. A multicenter, prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Bone Joint Surg Am*. Jul;79(7):961-73.
64. Lanyon, L. E. (1993) Osteocytes, strain detection, bone modeling and remodeling. *Calcif. Tissue Int*; 53(Suppl), 102.
65. Leeson, T. S., Leeson, C. R. (1976) *Histology*. 4th edn. Philadelphia, London, Toronto: W.B. Saunders Company; 144-164.

66. Leung KS, Lee WS, Tsui HF, Liu PP, Cheung WH. (2004) Complex tibial fracture outcomes following treatment with low-intensity pulsed ultrasound. *Ultrasound Med Biol.* Mar;30(3):389-95.
67. Leung, M. C., G. Y. Ng, et al. (2004). "Effect of ultrasound on acute inflammation of transected medial collateral ligaments." *Arch Phys Med Rehabil* 85: 963-966.
68. Lian, J. B., and Stein, G. S., (1996) Osteoblast biology, in *Osteoporosis*, Marcus, R., Feldman, D., and Kelsey, I., Eds., Academic Press, San Diego, chap. 2. p.23-7
69. Lian, J. B., Stein, G. S., Canalis, E., Gehron-Robey, P., and Boskey, A. L., (1999) Bone formation: osteoblast lineage cells, growth factors, matrix proteins and the mineralization process, in *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed., Favus, M. 1., Ed., LippincottWilliams & Wilkins, Philadelphia, chap. 3. p. 79-86
70. Lindqvist C. (1992) Mandibular reconstruction with free bone grafts. *Curr Opin Dent*; 2 :25-37.
71. Marie, P. J., (1999) Cellular and molecular alterations of osteoblasts in human disorders of bone formation, *Histol. Histopathol*, 14, 525.
72. Martha H. (2006) Stipanuk. *Biochemical, physiological, & molecular aspects of human nutrition* 2nd ed. Published: St. Louis : Saunders Elsevier. Sayfa 1094-1005
73. Martin, R.B. Burr, D.B., (1989) Mechanical adaptation, in *Structure, Function and Adaptation Of Compact Bone*. Raven Press, New York, chaps.2,4,7 and 8.
74. Maxwell, L. (1992). "Therapeutic ultrasound: Its effects on the cellular & molecular mechanisms of inflammation and repair." *Physiotherapy* 78(6): 421-426.
75. Maylia E, Nokes LD. (1999) The use of ultrasonics in orthopaedics-a review. *Technol Health Care*;79:961-173
76. Meade JB, Cowin SC, Klawitter JJ, Van Buskirk WC, Skinner HB. (1984) Bone remodeling due to continuously applied loads. *Calcif Tissue Int*; 36, 25-30.
77. Mortimer, A. J. and M. Dyson (1988). "The effect of therapeutic ultrasound on calcium uptake in fibroblasts." *Ultrasound in Med & Biol* 14(6): 499-506.

78. Mundy, F. R. (1999) Bone remodeling, in *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. 4th ed., Favus, M. J., Ed., Lippincott/Williams & Wilkins, chap. 4. p 98
79. Noble BS, Stevens H, Mosley JR, Pitsillides AA, Reeve J, Lanyon L. (1997) Bone loading changes the number and distribution of apoptotic osteocytes in cortical bone. *J Bone Miner Res*;12(Suppl 1):S111.
80. Noble, B., Stevens, H., Loveridge, N., and Reeve, J., (1997) Identification of apoptotic changes in osteocytes in normal and pathological human bone, *Bone*, 20, 273.
81. Nolte PA, van der Krans A, Patka P, Janssen IM, Ryaby JP, Albers GH. (2001) Low-intensity pulsed ultrasound in the treatment of nonunions. *J Trauma*. Oct;51(4):693-702; discussion 702-3.
82. Nussbaum, E. L. (1997). "Ultrasound: to heat or not to heat - that is the question." *Physical Therapy Reviews* 2: 59-72.
83. Oral O. L-Dopa'nın (Allojenik greft uygulanan ve uygulanmayan) kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine olan etkilerinin deneysel araştırılması (2000) Doktora tezi. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı. İstanbul; 4-22.
84. Parfitt A.M. (1995) Problems in the application of in vitro systems to the study of human bone remodeling. *Calcif. Tissue Int.* 56 (Suppl.1), S5-S7,
85. Parfitt, A. M. (1983) The physiologic and clinical significance of bone histomorphometric data, in *Bone Histomorphometry: Techniques and Interpretation*. Recker, R. R., Ed., CRC Press, Boca Raton, FL, s 143.
86. Pilla AA, Mont MA, Nasser PR, Khan SA, Figueiredo M, Kaufman JJ, Siffert RS. (1990) Non-invasive low-intensity pulsed ultrasound accelerates bone healing in the rabbit. *J Orthop Trauma*.;4(3):246-53
87. Qiu, Yushi. Construction and use of an alkaline phosphatase fusion/insertion mutagenesis system to identify membrane/secreted proteins in *Vibrio vulnificus* and other gram-negative bacteria [electronic resource] *ACTA Academiae Medicinae* 2004
88. Ramirez, A., J. A. Schwane, et al. (1997). "The effect of ultrasound on collagen synthesis and fibroblast proliferation in vitro." *Med Sci Sports Exerc* 29: 326-332.

89. Reher, P., N. Doan, et al. (1999). "Effect of ultrasound on the production of IL-8, basic FGF and VEGF." *Cytokine* 11(6): 416-23.
90. Revell, P.A. (1986) *Pathology of Bone*. Great Britain : Springer - Verlag. Berlin Heidelberg : 1-30, 203-231.
91. Robert, B., Bently, D., Bently, G. (1983) *Mercer's Orthopaedic Surgery*. London, 8th ed. 1983 27-65.
92. Rockwood & Green. (1975) *Fractures*. Lippincot Company, Philadelphia, Toronto; copyright, 97-105.
93. Rowe, N.L., Williams, J. L. (1985) *Maxillofacial Injuries*. Edinburgh London Melbourne and New York : Churchill Livingstone. 50-52
94. Rubin C, Bolander M, Ryaby JP, Hadjiargyrou M. (2001) *J Bone Joint Surg Am*. Feb;83-A(2):259-70.
95. Ryaby JT, Matthew J, Duarte-Alves A. (1992) Low intensity pulsed ultrasound affects adenylate cyciase activity and TGF-P synthesis in osteoblastic cells. *Trans Orthop Res Soc* 17:59-60.
96. Sandy C. Marks, J.R. and Steven N. Popoff (1988): *Bone cell biology: The regulation of development, structure and function in the skeleton*. *The American Journal Of Anatomy*; 183: 1-44.
97. Santos Junior PV, Melhado RM. (1990) Effects of ultrasonic stimulation on tooth extraction wound healing: histological study in rats *Rev Odontol UNESP*.;19(1):291-9.
98. Sato W, Matsushita T, Nakamura K. (1999) Acceleration of increase in bone mineral content by low-intensity ultrasound energy in leg lengthening. *J Ultrasound Med*. Oct;18(10):699-702.
99. Schortinghuis J, Ruben JL, Raghoobar GM, Stegenga B. (2004) Ultrasound to stimulate mandibular bone defect healing: a placebo-controlled single-blind study in rats.*J Oral Maxillofac Surg*. Feb;62(2):194-201.
100. Scott, J. H. (1957) The mechanical basis of bone formation. *J Bone Joint Surg*;39-B:134.
101. Sikavitsas VI, Temenoff JS, Mikos AG. (2001) Biomaterials and bone mechanotransduction. *Biomaterials*; 22 :2581-2593
102. Soydan N. (1985) *Genel Histoloji*. İ.Ü. Basımevi ve Film Merkezi, İstanbul, 100-119.

103. Stellingsma C, Vissink A, Meijer HJ, Kuiper C, Raghoobar GM. (2004) Implantology and the severely resorbed edentulous mandible. *Crit Rev Oral Biol Med*; 15 :240-248.
104. Sun JS, Tsuang YH, Lin FH, Liu HC, Tsai CZ, Chang WH. (1999) Bone defect healing enhanced by ultrasound stimulation: an in vitro tissue culture model. *J Biomed Mater Res*. Aug;46(2):253-61.
105. Şirin SY. (2005) Deneyisel olarak meydana getirilen kemik defektlerine yerleştirilen farklı tipteki uapay kaynaklı greft materyallerinin kemikleşmesinde hiperbarik oksijen uygulamasının etkilerinin incelenmesi Doktora tezi. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı. İstanbul
106. Takikawa S, Matsui N, Kokubu T, Tsunoda M, Fujioka H, Mizuno K, Azuma Y. (2001) Low-intensity pulsed ultrasound initiates bone healing in rat nonunion fracture model. *J Ultrasound Med*. Mar;20(3):197-205.
107. Tanyel RC. (2005) Ksenogreft kemik esaslı greft materyalinin deneyisel kemik defektlerine kemik iliği ve mononükleer hücre ile birlikte uygulanmasının iyileşme üzerine olan etkilerinin karşılaştırılmalı olarak değerlendirilmesi Doktora tezi. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı. İstanbul
108. ter Haar, G. (1999). "Therapeutic Ultrasound." *Eur J Ultrasound* 9: 3-9.
109. The Orthoteers Orthopedic Education Resource, 10 January 2001. Bone & fracture mechanics, Bone-structure & function. Available at :<http://www.orthoteers.co.uk> Giriş tarihi 24 Şubat 2004.
110. Themistocleous GS, Katopodis H, Sourla A, Lembessis P, Doillon CJ, Soucacos PN, Koutsilieris M. (2004) Three-dimensional type I collagen cell culture systems for the study of bone pathophysiology. *In Vivo*; 18 :687-696
111. Tomkinson, A., Reeve, I., Shaw, R. W., and Noble, B. S., (1997) The death of osteocyte by apoptosis in human bone is observed following estrogen withdrawal by GnRH analog, *J. C/in. Endocrinol. Metab.*, 82, 3128.
112. Tsai CL, Chang WH, Song GM. (1991) Ultrasound can affect bone healing both locally and systemically. *Chin J Physiol* ; 34(2):213-22.

113. Turner, S., E. Powell, et al. (1989). "The effect of ultrasound on the healing of repaired cockrel tendon: is collagen cross-linkage a factor?" J Hand Surg 14B: 428-433.
114. Türek, S. L. (1980) Ortopedi İlkeleri ve Uygulamaları. Florida - Miami: Mount Sina Tıp Merkezi ve Miami Kardiyoloji Enstitüsü; 32-151.
115. Urist, M.R., McLean, F.C. (1952) Osteogenetic potency and new-bone formation by induction in transplants to the anterior chamber of the eye. J Bone Joint Surg Am. Apr ;34-A(2): 443-76
116. Venable, J. (1989). Integumentary potentials and wound healing. Electric Fields in Vertebrate Repair. R. Borgens. New York, Alan Liss Inc: 171-224.
117. Waisman, B. N. W., Sledge, C. B. (1986) Orthopaedic radiology. W.B.Saunders Company, Philadelphia.
118. Wang SJ, Lewallen DG, Bolander ME, Chao EY, Ilstrup DM, Greenleaf JF. (1994) Low intensity ultrasound treatment increases strength in a rat femoral fracture model. J Orthop Res. Jan;12(1):40-7.
119. Wang, E. D. (1998). "Tendon repair." J Hand Ther 11(2): 105-10.
120. Ward, A. R. (1986). Electricity, Fields and Waves in Therapy. Marrickville, Australia, Science Press. Page. 209-216
121. Warden SJ, Favaloro JM, Bennell KL, McMeeken JM, Ng KW, Zajac JD, Wark JD. (2001) Low-intensity pulsed ultrasound stimulates a bone-forming response in UMR-106 cells. Biochem Biophys Res Commun. Aug 24;286(3):443-50.
122. Watson, T. (2000). "Masterclass. The role of electrotherapy in contemporary physiotherapy practice." Manual Therapy 5(3): 132-41.
123. Weber, B. G., Cech, (1973) O. Pseudoarthrosen. Verlag Hans Huber, Bern,
124. Weinstein, R. S., Jilka, R. L., Parfitt, A. M., and Manolagas, S. C., (1998) Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids, J. Clin. Invest, 102, 274.
125. Williams, R. (1987). "Production and transmission of ultrasound." Physiotherapy 73(3): 113-116.
126. Wozney, J. M. (1998) The bone morphogenetic protein family: multifunctional cellular regulators in the embryo and adult. Eur J Oral Sci; 106 (Suppl 1): 160-166.

127. Yang KH, Park SJ (2001) Stimulation of Fracture Healing in a Canine Ulna Full-defekt Model by Low-intensity Pulsed Ultrasound Yonsei Medical Journal vol. 42, no. 5, pp. 503-508
128. Yang, N.N., Byrant, H.U., Hardikar, S., Sato, M., Galvin,R.J.S., Glasebrook, A.L., Termine, J.D. (1996) Estrogen and raloxifene stimulate transforming growth factor -3 gene expression in rat bone: A potential mechanism for estrogen- or raloxifene- mediated bone maintenance. *Endocrinology*; 137, 2075-2084.
129. Young B, Heath JW. (2000) Wheather's Functional Histology 4.ed. Churchill Livingstone, Edinburgh, 142-151.
130. Young, S. R. and M. Dyson (1990). "Macrophage responsiveness to therapeutic ultrasound." *Ultrasound Med Biol* 16(8): 809-16.
131. Young, S. R. and M. Dyson (1990). "The effect of therapeutic ultrasound on angiogenesis." *Ultrasound Med Biol* 16(3): 261-9.
132. Ziskin MC. (1987) Applications of ultrasound in medicine- comparison with other modalities. In:Rapachioli MH, Grandolfo M, Rindi A, editors. *Ultrasound: medical applications, biological effects and hazard potential*. New York:Plenum Pres;. p 49-59
133. Zorlu U, Tercan M, Ozyazgan I, Taskan I, Kardas Y, Balkar F, Ozturk F. (1998) Comparative study of the effect of ultrasound and electrostimulation on bone healing in rats. *Am J Phys Med Rehabil*. Sep-Oct;77(5):427-32.

ETİK KURUL KARARI

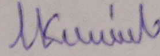
T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ
(DETAE)
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU

Ar. Gör. Alper Altay, İ. Ü. Diş Hek. Fak. Ağız-Diş Çene Hast. Ve Cer. Anabilim Dalı,

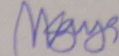
Karar No:13

İlgi:14.05.2005 tarihli yazınız.

Sorumluluğunu üstlendiğiniz “Düşük yoğunluklu atılımlı ultrasonun deney hayvanlarında kemik iyileşmesi üzerine etkisinin biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelenmesi” isimli projeniz Etik Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul İlkeleri’ne uygun bulunmuştur.



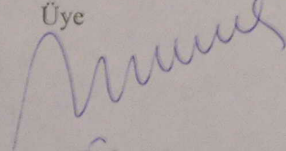
Yard. Doç. Dr. Mutlu KÜÇÜK
Deney Hayvanları Etik Kurulu
Başkanı



Prof. Dr. Mehmet KAYA
Üye

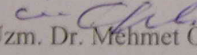
Prof. Dr. Müzeyyen MAMAL TORUN

Üye



Uzm. Dr. Mehmet ÖZEK

Üye



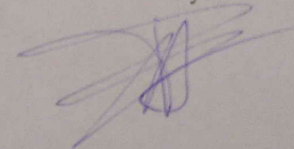
Doç. Dr. Asiye NURTEN

Üye



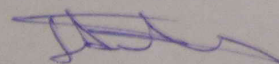
Doç. Dr. Bülent AHISHALI

Üye



Vet. Hek. Fatma TEKELİ

Raportör



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	ALPER	Soyadı	ALTAY
Doğ.Yeri	ARTVİN	Doğ.Tar.	1976
Uyruğu	TC	TC Kim No	19012435342
Email	alperaltay@gmail.com	Tel	+905323722248

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İ.Ü.Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2006
Yük.Lis.	İ.Ü.Diş Hekimliği Fakültesi	2000
Lisans	İ.Ü.Diş Hekimliği Fakültesi	2000
Lise	Bursa Anadolu Lisesi	1994

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

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

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

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Office	Çok iyi

Yayımları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgil Alanları (Hobileri):