



**RATLARIN UNİKORTİKAL DEFEKTLERİNDE DÜŞÜK
SEVİYELİ LAZER TERAPİSİ İLE BİRLİKTE LOKAL OLARAK
UYGULANAN BORİK ASİTİN KIRIK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE
OLAN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Ferda TURGUT

Veterinerlik Cerrahisi Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Latif Emrah YANMAZ**

Doktora Tezi-2022

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARIN UNİKORTİKAL DEFEKTLERİNDE DÜŞÜK
SEVİYELİ LAZER TERAPİSİ İLE BİRLİKTE LOKAL
OLARAK UYGULANAN BORİK ASİTİN KIRIK
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN
BELİRLENMESİ**

Ferda TURGUT

**Veterinerlik Cerrahisi Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Latif Emrah YANMAZ**

**ERZURUM
2022**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
TABLolar DİZİNİ	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Kemik Yapısı	2
2.1.1. Kemik Oluşum Mekanizmaları.....	4
2.1.2. Kırık İyileşmesi.....	6
2.1.3. Kırık İyileşmesinin Sınıflandırılması.....	7
2.1.4. Kırık İyileşmesinin Komplikasyonları.....	9
2.2. Bor	9
2.2.1. Borun Önemi.....	9
2.2.2 Borun Özellikleri	10
2.2.3. Bor'un Kimyasal Özellikleri.....	11
2.2.4. Borun Kullanım Alanları	12
2.3. Lazer	13
2.3.1. Lazerin Tanımı ve Tarihçesi	13
2.3.2. Lazer Işığının Özellikleri	15
2.3.2.1. Monokromatik	15
2.3.2.2. Parlaklık	15

2.3.2.3. Koherent.....	15
2.3.2.4. Tek Yönlülük	15
2.3.3. Lazer Tipleri	16
2.3.3.1 Katı Hal Lazerler (Katkılı İzolatör Lazer)	16
2.3.3.2. Gaz Lazerler.....	16
2.3.3.2.1. He: Ne Lazer	16
2.3.3.2.2. Argon İyon Lazer.....	17
2.3.3.2.3. Moleküler Lazer.....	17
2.3.3.2.4. Karbon Dioxide (CO ₂) Lazer.....	18
2.3.3.2.5. Nitrojen Lazer	18
2.3.3.2.6. Eksimer Lazer	18
2.3.3.3. Sıvı Lazer.....	19
2.3.3.4. Yarı İletken Lazer	19
2.4.Düşük Seviyeli Lazer Terapisi.....	20
2.4.1. LLLT'nin Mekanizması.....	21
2.5. Kemik Defektleri	22
2.6. Kemik Defekti İyileşmesi	23
3. MATERYAL VE METOT.....	25
3.1. Çalışma Grupları.....	25
3.2. Anestezi Protokolü.....	25
3.3. Operasyon Prosedürü.....	25
3.4. Radyolojik İncelemeler.....	27
3.5. Düşük Seviyeli Lazer Terapisi Uygulaması	28
3.6. Klinik Değerlendirme	29
3.7. Biyokimyasal Değerlendirme	29

3.8. Histopatolojik Değerlendirme.....	30
3.8.1. İmmünohistokimyasal analizler.....	31
3.8.2. İmmünofloresans inceleme.....	31
3.9. İstatistiksel Analizler.....	32
4. BULGULAR.....	33
4.1. Klinik Muayene Bulguları.....	33
4.2. Radyografik Muayene Bulguları.....	33
4.2.1. Postoperatif 15. Gün Bulguları.....	33
4.2.2. Postoperatif 30. Gün Bulguları.....	33
4.3. Biyokimyasal Bulgular.....	35
4.4 Histopatolojik Bulgular.....	35
4.4.1. 15. Gün Histopatolojik Bulgular.....	35
4.4.2. 30. Gün Histopatolojik Bulgular.....	37
4.5. İmmünofloresan ve İmmünohistokimyasal Bulgular.....	38
4.5.1. 15. Gün İmmünofloresan ve İmmünohistokimyasal Bulgular.....	38
4.5.2. 30. Gün İmmünofloresan ve İmmünohistokimyasal Bulgular.....	40
5. TARTIŞMA.....	42
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	52
KAYNAKLAR.....	53
EKLER.....	77
EK-1. ÖZGEÇMİŞ.....	77
EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU.....	78
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU.....	79
EK-4. TEZ ADI DEĞİŞİKLİĞİ BİLDİRİM FORMU.....	81

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten ve tezimin her aşamasında desteğini yanımda hissettiğim danışman hocam Sayın Prof. Dr. Latif Emrah YANMAZ'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Ayrıca bu tez çalışması sırasındaki yardımları ve doktora eğitimim sürecinde verdikleri eğitim ve katkılardan dolayı Dr. Öğr. Üyesi Mümin Gökhan ŞENOCAK'a ve anabilimdalı başkanımız Dr. Öğr. Üyesi Uğur ERSÖZ'e

Tez kapsamında biyokimyasal analizleri yapan Doç. Dr. Betül APAYDIN YILDIRIM'a (Atatürk Üniversitesi, Erzurum) histopatolojik analizleri yapan Doç. Dr. Serkan YILDIRIM'a (Atatürk Üniversitesi, Erzurum),

Doktora eğitimim ve doktora tez çalışmamda ilgi ve desteklerini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Sıtkıcan OKUR'a (Atatürk Üniversitesi, Erzurum) ve çalışma arkadaşlarıma,

Son olarak bugünlere gelmemde en büyük katkıya sahip, hayatımın her anında sevgilerini ve desteklerini yanımda hissettiğim annem, babam ve kardeşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ferda TURGUT

ÖZET

Ratların Kritik Boyuttaki Defektlerinde Düşük Seviyeli Lazer Terapisi ile Birlikte Lokal Olarak Uygulanan Borik Asit ve Boraks Dekahidratın Kırık İyileşmesi Üzerine Olan Etkisinin Belirlenmesi

Amaç: Bu çalışmada, düşük seviyeli lazer terapisi (LLLT) ve lokal olarak uygulanan borik asidin (BA) kırık iyileşmesi üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Materyal ve Metot: Her deneğin proksimal femur anterolateral yüzeyinde cerrahi olarak unikortikal femoral defekt oluşturuldu. Toplam 56 Wistar albino faresi olan denekler rastgele dört gruba ayrıldı (her bir grup n = 14): kontrol, LLLT ($\lambda = 905 \mu\text{m}$, 10.000 Hz, 25 mW ve tepe gücü 25 W), BA (40 mg/kg) ve BA + LLLT.

Bulgular: Otuzuncu günde en yüksek radyolojik skor LLLT + BA grubundayken (3,63 [2–4]), ardından BA (3,38 [2,75–3,75]), kontrol (3 [2–3,25]) ve LLLT (2,5 [1,25–3]) olarak sıralandı. Postoperatif 15. ve 30. günlerde, malondialdehit seviyeleri BA + LLLT grubunda kontrol grubuna göre daha düşüktü ($p < 0.001$). 30. günde süperoksit dismutaz, katalaz ve alkalın fosfataz seviyeleri BA + LLLT grubunda kontrol grubuna göre daha yüksekti ($p < 0.001$). 15. ve 30. gün histopatolojik, immünofloresan ve immünohistokimyasal bulgular kontrol grubu ile karşılaştırıldığında BA ve BA + LLLT grupları arasında fark bulunmadı ($p < 0.05$).

Sonuç: BA ve LLLT'nin lokal uygulaması kırık iyileşmesini hızlandırmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Bor, Borax, Fotobiyomodulasyon, Fotobiyostimülasyon, Osteoblast.

ABSTRACT

Determination of the Effect of Local Applied Boric Acid and Borax Decahydrate On Fracture Healing in Critical Size Defects of Rats

Objective: This study aimed to investigate the effects on fracture healing of locally applied boric acid (BA) with and without low-level laser therapy (LLLT).

Materials and Methods: A unicortical femoral defect was surgically created on the anterolateral surface of proximal femur of each subject. The subjects, totaling 56 Wistar albino rats, were randomly allocated into four groups (n = 14 each): control, LLLT ($\lambda = 905 \mu\text{m}$, 10,000 Hz, 25 mW and peak power 25 W), BA (40 mg/kg), and BA + LLLT groups.

Results: On the 30th day, the highest radiological score was recorded for the LLLT + BA group (3.63 [2–4]), followed by the BA (3.38 [2.75–3.75]), control (3 [2–3.25]), and LLLT (2.5 [1.25–3]) groups. On days 15 and 30 post-surgery, malondialdehyde levels were significantly lower among the BA + LLLT group compared to the control group ($p < 0.001$). On day 30, superoxide dismutase, catalase, and alkaline phosphatase levels were highest in the BA + LLLT group compared to the control group ($p < 0.001$). When the histopathological, immunofluorescence, and immunohistochemical findings on the 15th and 30th days were compared with the control group, a statistically significant difference was found for the BA and BA + LLLT groups ($p < 0.05$).

Conclusion: This study suggests that locally applied BA with LLLT accelerates fracture healing.

Keywords: Boron, Borax, Osteoblast, Photobiomodulation, Photobiostimulation.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ALP	:	Alkaleen fosfataz
AMP	:	Adenozin Monofosfat
ATP	:	Adenozin Trifosfat
BA	:	Borik Asit
BMP-2	:	Bone Morfogenetik Protein 2
Ca	:	Kalsiyum
CAT	:	Katalaz
CCO	:	Sitokrom C-Oksidaz
CO₂	:	Karbondioksit
DAB	:	3-3' diaminobenzidine
DAPI	:	4', 6-diamidino-2-phenylindole
DCM	:	4-disyanometilen-2-metil-6-p-dimetilaminostiril-4H-piran
ELISA	:	Enzyme-Linked İmmün Sorbent Assay
FITC	:	Florescein isothiocyanate
H&E	:	Hematoksile Eosin
He	:	Helyum
HPLT	:	Yüksek Güçlü Lazer Terapisi
Hz	:	Hertz
IF	:	İmmünofloresan
IHC	:	İmmünohistokimya
J	:	Joule
kg	:	Kilogram
kW	:	Kilowatt
LLLT	:	Düşük Seviyeli Lazer Terapisi
MDA	:	Malondialdehit
Mg	:	Magnezyum

mg	:	Miligram
mRUST	:	Modified Radiographic Union Score for Tibial Fractures
NBT	:	Nitro Blue Tetrazolium
Ne	:	Neon
nm	:	Nanometre
PBM	:	Fotobiyomodülasyon
PBS	:	Phosphate Buffer Saline
ppm	:	Parts Per Million
RAP	:	Bölgesel Hızlanma Fenomeni
RNS	:	Reaktif nitrojen türleri
ROS	:	Reaktif oksijen türleri
RUST	:	Radiographic Union Score for Tibial Fractures
SOD	:	Süperoksit dismutaz
TBA	:	Tiobarbitürik Asit
TCA	:	Trikloroasetik Asit
TNF	:	Tümör Nekroz Faktörü
UV	:	Ultraviyole
W	:	Watt

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Türkiye ve dünyada toplam bor madeni rezervleri	10
Şekil 3.1. Preoperatif hazırlık ve defekt oluşturulması	27
Şekil 3.2. Lazer cihazı ve LLLT uygulaması	29
Şekil 4.1. Gruplara göre radyografiler	34
Şekil 4.2. Femur dokusunun 15. gün histopatolojik kesitleri	36
Şekil 4.3. Femur dokusunun 30. gün histopatolojik kesitleri.	38
Şekil 4.4. Femur dokusunun 15. günü TNF- α ve BMP-2 ekspresyonları	40
Şekil 4.5. Femur dokusunun 30. günü TNF- α ve BMP-2 ekspresyonları	41

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Borun anatomik yapısı, bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri	12
Tablo 2.2. Borik asitin bazı kullanım alanları	13
Tablo 4.1. Gruplara göre 15 ve 30. gün radyolojik skorlar	34
Tablo 4.2. Gruplara göre 15 ve 30. gün MDA, SOD, CAT ve ALP düzeyleri	35
Tablo 4.3. TNF- α ve BMP-2 ekspresyonları istatistiksel analiz sonuçları	39



1. GİRİŞ

Kırık iyileşmesi, genetik, biyolojik ve mekanik faktörler tarafından düzenlenen haftalar ile yıllar arasında gerçekleşen karmaşık bir süreçtir. Bu süreç, çok sayıda hücre ve moleküler aracının uzamsal ve zamansal olarak koordineli etkileşimini gerektirir. Beklenen iyileşme süresi, kırık değerlendirme skorunda kullanılan mekanik, biyolojik ve klinik faktörler dahil olmak üzere birçok faktöre bağlıdır.

Borik asit (BA), tıp alanında en yaygın kullanılan bor bileşenidir. BA, kalsiyum (Ca), D vitamini ve magnezyum (Mg) ile etkileşime girdiği için kemik metabolizmasını etkilediği düşünülen önemli bir elementtir. Bor, kemiklerin biyomekanik özelliklerini artırır. Diyetteki bor eksikliği, osteogenezde önemli bir azalmaya neden olur ve bu da kemik iyileşmesinde değişikliğe neden olur. BA, kemik büyümesi ve onarımına yardımcı olur ayrıca preosteoblastların proliferasyonunu ve osteoblastik aktiviteyi hızlandırır.

Fotobiyoloji veya biyostimülasyon olarak da adlandırılan düşük seviyeli lazer terapisi (LLLT), tek bir dalga boyunda ışık üreten, invaziv olmayan ısı, ses ve titreşim yaymayan bir ışık kaynağı tedavisidir. LLLT'nin fibroblastların işlevini etkilediğine, bağ dokusu onarımını hızlandırdığına ve antiinflamatuvar ajan olarak hareket ettiğine inanılmaktadır. LLLT, kallus hacmini ve kemik mineral yoğunluğunu artırır, osteositlerin çoğalmasını hızlandırır. LLLT osteoblastik aktiviteyi, vaskülarizasyonu ve kollajen liflerinin organizasyonunu artırır. LLLT'nin avantajları, kolay erişilebilir olması, aynı anda ilaç uygulaması gerektirmemesi ve doku için güvenli olmasıdır.

Bu çalışma ile Wistar-Albino ratlarda deneysel olarak oluşturulan femoral kemik defektine lokal olarak uygulanan BA ve LLLT'nin etkilerinin belirlenmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

Kemikler, vücuda şekil ve mekanik destek veren, koruma sağlayan ve hareketi kolaylaştıran iskelet sisteminin organlarıdır. Ek olarak, kemikler vücudun mineral homeostazına ve endokrin düzenlemesine de katkı sağlamaktadır.^{1,2} Bazı stres koşulları altında, kemik dokusunun mukavemeti tolere etme yeteneği azalır. Bu mukavemetler kemik dokusunun toleransını aştığı zaman kemik kırığı meydana gelir.³

Oldukça karmaşık olan kırık iyileşmesi süreci hala tam olarak anlamamamıza rağmen son yıllarda yapılan araştırmalar, onarım sürecini ve iyileşme sonucunu etkileyen yaş, periost hasarı, hormonlar ve beslenme gibi çeşitli faktörler arasındaki ilişkileri belirlemiştir.⁴

2.1. Kemik Yapısı

Kemik iskeletinin temel işlevi, yumuşak dokular ve kaslar için güçlü, destekleyici ve mekanik bir yapı sağlamaktır. Ayrıca, iskelet sistemi torako-abdominal organları korur ve kemik iliği için bir yuva görevi görür. Bunun yanı sıra kemikler hematopoez ve Ca metabolizmasında anahtar rol oynar.⁵ Aynı zamanda metabolik ve fizyolojik süreçler için Ca, fosfat ve esansiyel iyonlar için ana rezervuardır.⁶

Kompozit yapıda olan kemik hücreler, hücre dışı matrisi ve lipidleri içerir.⁷ Kemik yaklaşık % 20'si sudur; ağırlığının % 30-35'i organik, % 65-70'i ise inorganik maddelerden oluşur.⁸ Kemik hücresel bileşenleri arasında osteoblastlar, osteositler, osteoklastlar ve osteojenik progenitor hücreler bulunur.^{5,9}

Osteoblastlar ve osteositler mezenkimal kök hücrelerden farklılaşır. Osteositler, lakunada olgunlaşmış osteoblastlardır ve kollajen üretirler.⁹ Bu hücrelerin diğer işlevleri hücre dışı matris sentezinin düzenlenmesi, biriktirilmesi ve mineralizasyonudur. Ek olarak, bu hücreler kan-kalsiyum homeostazında rol oynar ve kemikler için bir mekanosensör görev görür.¹⁰ Çok çekirdekli osteoklastlar makrofaj-monositlerden

türetilir; proteolitik enzimler üretir ve kemik rezorpsiyonu, Ca ve fosfat atılımı, kemik iyileşmesi ve yeniden şekillenmesinde önemli bir rol oynarlar.⁹ Osteojenik öncü hücreler, mezenkimal hücrelerden türetilen ve olgun osteoblastlara ve osteositlere farklılaşabilen bir tür kök hücredir.⁸

Kemik matrisinin organik fazı kolajen lifleri⁵, proteoglikanlar, glikoproteinler, fosfoproteinler⁷, dekorin, osteonektin, trombospondin, fibronektin, osteopontin, kemik sialoproteini, osteokalsini¹⁰ ve fosfolipidler⁷ gibi kolajen olmayan proteinleri içerirken inorganik fazı ise esas olarak kristalin, mineral tuzları ve hidroksiapatit formundaki Ca'dan ibarettir.¹¹ Bunun yanı sıra % 85 trikalsiyum fosfat, % 10 kalsiyum karbonat ve % 5 kalsiyum florür ve magnezyum florür gibi florür türevleri inorganik maddeleri içerir.⁸ Yapısına göre iki tür kemik dokusu vardır:

1) Süngerimsi (trabeküler) kemik: Yassı ve küboidal hücrelerle trabekül adı verilen plaka ve dikmelerden oluşur. Uzun ekstremite kemiklerinin epifiz ve metafizinde bulunur. Makroskobik görünümü süngere benzediği için bu adı almıştır. Havers ve Volkmann kanalları yoktur.

2) Kortikal (kompakt) kemik: Kortikal kemiğin temel fonksiyonel birimi, osteonlar veya Havers sistemleri olarak bilinen silindirik yapılardır ve Havers kanalını (Volkmann kanallarıyla birlikte) çevreleyen birkaç lamel vardır.¹² Uzun kemiklerin diyafiz kısmı kompakt kemikten oluşur. Uzun kemikler yoğun bir yapıya sahiptir, ağırlık taşıyan yapılar olmaları sebebiyle görevleri fiziksel olarak stabilite sağlamaktır.⁶ Lamellar kemik, kortikal kemikteki olgun formdur.⁵ İskelet büyümesi veya kırık iyileşmesi sırasında, düzensiz olarak bulunan kollajen lifleri ve dokuma kemik olarak bilinen rastgele yerleşmiş kristallerden oluşan bir matrise sahip geçici bir yapı, lamellar kortikal kemiğin gelişiminde rol oynar.⁶ Süngerimsi kemiğin osteositleri, süngerimsi kemik Haversian sistemlerini içermediğinden kanaliküller yoluyla kemik iliğindeki sinüzoidlere doğru

hareket eder.⁹ Kemik iyi damarlanmış bir dokudur ve kan damarlarının endotelinin kemik bütünlüğünün sağlanmasında kritik bir rolü vardır.¹³ Meduller damarlar ile periosteal damarlar arasında intrakortikal anastomozlar bulunur. Periosteal dolaşım, periostu ve korteksin üst kısmını besler. Meduller dolaşım, kemik iliğini ve korteksin alt kısmını besler ve terminal dalları kemik iliğinde metafiz damarlarını oluşturur. Metafiz damarları, kemik oluşumu için osteoprogenitör hücrelerin yanında distal kısmı besler. Epifiz damarları, çoğalan ve hipertrofik dokuların üst kısmını besler.¹⁴

2.1.1. Kemik Oluşum Mekanizmaları

Kemik gelişimi, intramembranöz ve endokondral kemik oluşumu olmak üzere iki mekanizma ile gerçekleşir. İntramembranöz ossifikasyon, kemik oluşumu kıkırdak faz aracılığı olmaksızın gerçekleşir ve bu yola katkıda bulunan hücreler iç periostta osteojenik tabakada bulunur. Endokondral ossifikasyon, kıkırdağın ilk sentezini endokondral kemik oluşumu dizisi takip eder.¹⁴ Kemik, intramembranöz ossifikasyon, endokondral ossifikasyon veya her ikisinin bir kombinasyonu ile oluşabilir. Bu süreçler arasındaki temel fark, kıkırdaklı fazın varlığı veya yokluğudur. Mezenkimal progenitör hücreler çoğaldığında ve ardından doğrudan osteoblastlara farklılaştığında intramembranöz kemikleşme meydana gelir; ancak endokondral ossifikasyonda mezenkimal hücreler ilk aşamada kondrositlere farklılaşır ve kıkırdaklı matrisi salgılar. Dokuma kemik daha sonra bu kıkırdaktan oluşur.⁵ Endokondral ossifikasyondan oluşan kemik, intramembranöz ossifikasyondan oluşan kemiğe göre daha iyi biyomekanik özelliklere sahiptir, çünkü endokondral ossifikasyonda kıkırdaktan sabit bir matris yapılı ve ardından kalsifikasyon başlar, ancak intramembranöz ossifikasyonda sadece kemiğin trabekülleri oluşturulur.^{5,15} İntramembranöz ossifikasyon, önce kıkırdağı oluşturmadan kemiği oluşturur. Bu işlem osteoprogenitör ve farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin aracılığı ile gerçekleştirilir ve sert kallus oluşumu ile sonuçlanır. Kemik

iyileşmesinin erken evresinde endotel hücreleri polimorfik hücrelere dönüşür ve daha sonra osteoblastik fenotipe dönüşür.¹⁶ Endokondral kemik oluşumu, farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin kırıkdağa alınmasını, çoğalmasını ve farklılaşmasını içerir, bunu kalsifikasyon ve kemik ile yer değiştirme izler. Endokondral kemik oluşumunun aşamaları arasında hematoma oluşumu, yangı, anjiyogenez, kırık oluşumu, kırıkdağ kalsifikasyonu, kemik oluşumu ve son olarak kemiğin yeniden şekillenmesi vardır. Dış yumuşak dokular ve kırık bölgesinin periostu, kırık parçalarını stabilize ederek köprüleme veya kallus oluşumunu sağlar.¹⁷ Yeniden şekillenme evresinde, iyileşme bölgesinin mekanik bütünlüğünü eski haline getirmek için yeni oluşturulan doku kademeli olarak lameller kemik ile değiştirilir.¹⁸

Kemik bütünlüğünün tamamen veya kısmen, travmatik veya patolojik, iç ve dış sebeplerden dolayı bozulmasına kırık adı verilir.^{19,20} Literatürde çeşitli kemik kırığı türleri kapsamlı bir şekilde tanımlanmıştır. Kemik kırıklarına çoğu zaman travmalar veya belirli kemik hastalıkları neden olurken, makro kırıklar da sağlıklı kemikte mikro kırıkların meydana gelmesi sonucu ortaya çıkabilir ve buna “stres kırığı” denir. Bu mikro kırıklar normalde sürekli maruziyetten sonra meydana gelir.^{1,9} Dış bir etki veya kasların yoğun kasılması nedeniyle bir kemiğe aşırı yük bindirerek strese neden olmak travmatik kırılmaya neden olur. Kemik tümörlerinin gelişmesine bağlı olabilecek düşük mekanik özelliklere sahip kemikler, travmatik kırılmaya karşı hassastır. Yumuşak dokuların yüksek enerjili kuvvetleri absorbe edememesi de travmatik kırık riskini artırır. Bazı kemik hastalıkları, kemik yıkımına veya kemik dokunun hassasiyetine neden olur ki bu hassasiyet önemsiz bir travmada bile patolojik kırık olarak adlandırılan bir kırığa neden olabilir. Döngüsel yükler tarafından mikro hasarların oluşması ve bunların onarılamaması ve yeniden şekillendirilememesi, mikro çatlaklara neden olabilir ve dolayısıyla makro çatlaklara neden olabilir.¹²

2.1.2. Kırık İyileşmesi

Kırık iyileşmesi genetik, biyolojik ve mekanik faktörler tarafından düzenlenen haftalar ve yıllar sürebilen karmaşık bir biyolojik süreçtir.²¹ İntramembranöz ossifikasyon yoluyla meydana gelebildiği gibi daha yaygın olarak uzun kemik kırıklarında görülen endokondral ossifikasyon yoluyla da meydana gelebilir.^{22,23}

Kırık iyileşmesi çok sayıda hücre ve moleküler araçların uzamsal ve zamansal olarak koordineli etkileşimini gerektirir. Yaş, beslenme ve hormonal durum, yetersiz redüksiyon, enfeksiyon, ilaçlar ve travmanın şiddeti kırık iyileşmesini etkileyen faktörlerdendir.²⁴ Bunlara ek olarak, kemik rejenerasyonu kırık bölgesindeki biyomekanik ortamdan da etkilenir.²⁵

Kırıktan hemen sonra, kan damarlarının bozulması ve kanın pıhtılaşmasıyla kemik uçları çevresinde kırık hematomu oluşur.²⁵ Kırık bölgesinde oksijen kaynağı sınırlı olduğundan, erken kırık hematomu düşük oksijen seviyesine sahiptir; laktat üretimi ve hücre kalıntılarının birikmesi nedeniyle doku pH'sında azalma görülür.²⁶ Nötrofiller, kırıktan saatler sonra kırık hematomunda ortaya çıkan ilk hücre tipidir.²⁷ Nötrofiller fagositoz ile hücre kalıntılarını ve patojenleri uzaklaştırarak çeşitli inflamatuvar mediatörler ve kemokinler salgırlar.²⁸ Bu proinflamatuvar faktörler, monosit ve lenfosit gibi diğer bağışıklık hücrelerinin bölgeye alımını indükler.^{27,29} Nötrofiller ayrıca progenitör hücre göçü ve neo-anjiyogenezi indükleyebilir.³⁰ Nötrofilik faktörler tarafından bölgeye alınan makrofajlar da başarılı kırık onarımı için çok önemlidir. Makrofajların olmaması, kemik yaranmasından sonra granülasyon dokusu oluşumunun tamamen başarısız olmasına neden olur ve böylece kemik rejenerasyonunu inhibe eder.³¹

İndirekt kemik iyileşmesi olarak da adlandırılan endokondral kırık iyileşmesinin ara aşamasında, yüksek doku suşları ve düşük oksijen saturasyonu ile kırık boşluğuna yakın biyomekanik ve biyokimyasal ortam, mezenkimal progenitör hücrelerin ve

periosteal progenitör hücrelerin kondrojenezini destekler. Kırık aralığının her iki yanında kırık dokusu oluşur ve kırık aralığının başlangıç stabilitesini sağlamak için kırık hattına doğru büyür. Kırık kallusunun kenarlarında doğrudan kemik oluşumuna teşvik eden direkt iyileşme, düşük doku suşları ve daha yüksek oksijen seviyelerine sahiptir.²⁵

Kallus olgunlaşması sırasında kondrositler hipertrofik hale gelir ve çevrelerindeki matrisi mineralize etmeye başlarlar. Bazı kondrositler, osteoprogenitör hücrelerin boş lakunaya alınmasına izin vermek için apoptoza girerken, diğerleri kırık kallusunda kemik oluşumunu teşvik etmek için osteoblastlarda trans farklılaşmasını başlatır.^{32,33} Kırık kortekslerin kemik köprülenmesi yoluyla kırık bölgesinde yüksek derecede stabilite elde ettikten sonra, monositik hücrelerden olan hematopoietik progenitör hücreleri osteoklastlara farklılaşır ve kırık kallusunu rezorbe etmeye başlar. Yeniden şekillenme, orijinal kemik yapısı restore edilene kadar devam eder.²⁵

2.1.3. Kırık İyileşmesinin Sınıflandırılması

Kemik, fibröz skar oluşumu olmadan iyileşebilen birkaç dokudan biridir.³⁴ Klasik histolojik terimlerle kırık iyileşmesi, primer (direkt) ve sekonder (indirekt) kırık iyileşme modelleri olmak üzere iki tipe ayrılmıştır.³⁵

Primer (Direkt) İyileşme: Sekonder iyileşmeden daha hızlı bir iyileşme olan³⁶ primer iyileşme, kırık iyileşmesinin doğal sürecinde yaygın olarak meydana gelmez.³⁴ Bu iyileşme türünde herhangi bir dış doku oluşumu olmaksızın intramembranöz kemik oluşumunu ve doğrudan kortikal yeniden şekillenmeyi içerir.³⁷ Rijit fiksasyon sağlanarak kırık fragmentlerinin hareketliliği azaltılırsa ve buna bağlı olarak fragmentler arası gerilim de azalırsa primer iyileşme ortaya çıkar.¹⁶ Kemiğin uzun eksenine boyunca hareket eden osteonlar kırık bölgesini geçerek fragmentler arası boşluğu doldurabilir, kemik silindirlenini bırakır ve aşamalı olarak kırık çok sayıda osteon oluşumuyla iyileşir.³⁷ Tam iyileşmenin sağlanması genellikle birkaç aydan birkaç yıla kadar sürer.³⁴ Korteksin bir

tarafındaki kemik, mekanik sürekliliği yeniden sağlamak için diğer taraftaki kemikle birleştiğinde kırık iyileşir. Bu süreç, yalnızca kırık fragmentlerinin anatomik restorasyonu olduğunda ve fragmentler arası gerilimde önemli bir azalma ile kırık redüksiyonunun stabilitesi sağlandığında gerçekleşir. Bu koşullar altında, kırığın bir tarafındaki kemik rezorpsiyon hücreleri, kan damarları tarafından penetrasyon yolları sağlayarak Haversian sistemlerini oluştururlar. Bu yeni kan damarlarına, osteoblastlar için osteoprogenitör hücreler haline gelen endotel hücreleri ve perivasküler mezenkimal hücreler eşlik eder. Bu olaylar, kesme konileri olarak bilinen ayrık yeniden modelleme birimlerinin oluşumuyla sonuçlanır.³⁵ Primer kırık iyileşmesinde eğer kırık anatomik olarak küçülürse mikrometrik düzeyde osteonal iyileşme gerçekleşir. Osteoklastlar "kesme konileri" oluşturur ve öncelikle kırık bölgesini geçer. Bu çok yüksek stabilite gerektirir ve pratikte nadir görülen tiptir.³⁸ Osteonal aktivite, yaralanmanın yakınında artar ve bu fenomene "bölgesel hızlanma fenomeni" (RAP) denir ve doğrudan kırık iyileşmesinde önemli bir rol oynar. RAP'ın kesin mekanizması bilinmemesine rağmen bu fenomene, diğer doku onarım tiplerinde görüldüğü gibi aynı sinyal molekülleri aracılık ediyor olabilir.¹⁸ Zamanla, kapsamlı yeniden şekillenme meydana gelir. Ayrıca, bu tür onarım süreci normalde birincil kırık iyileşmesi olarak bilinir.¹²

Sekonder (İndirekt) İyileşme: Endokondral kemikleşme, ikincil iyileşme ve kallus iyileşmesi gibi özel isimlerle de anılan dolaylı kemik iyileşmesi, düzenli bir kemik onarımı ve yeniden yapılanma sürecidir.³⁹ Dolaylı iyileşmenin aşamaları; impaksiyon, inflamasyon, birincil yumuşak kallus oluşumu, kallus mineralizasyonu ve kallus yeniden şekillenmesini içerir.⁴⁰ Tipik olarak kırık uçları arasında bazı mikro hareketler olabileceği zaman ortaya çıkar ve bu genellikle intramedüller çivileme ve eksternal fiksasyon tekniklerinden sonra olur.³⁴ Bu tip kırık iyileşmesi genellikle hareketle artar ve rijit

fiksasyonla engellenir.¹⁷ Kırık iyileşmesinin dolaylı modelinde hem intramembranöz hem de endokondral kemik iyileşmesi meydana gelir.³⁴

2.1.4. Kırık İyileşmesinin Komplikasyonları

Kırık iyileşmesinin komplikasyonları ani, erken ve geç komplikasyonlar olarak üç gruba ayrılabilir. Ani komplikasyonlar; hipovolemik şok (sistemik), büyük damarlarda kas ve tendonlarda, eklemlerde ve iç organlarda yaralanmadır. Erken komplikasyonlar; hipovolemik şok, yağ embolisi, derin ven trombozu, pulmoner sendrom, aseptik travmatik ateş, açık kırıkta septisemi, enfeksiyon ve kompartman sendromudur. Geç komplikasyonlar ise kaynama gecikmesi (delay-union), kaynama yokluğu (non-union), yanlış kaynama(mal-union), hatalı kaynama (synostose), avasküler nekroz, kemik boyunda kısalma, eklem sertliği, osteomyelit, iskemik kontraktür, miyozit ossifikans ve osteoartritir. Komplikasyonlar arasında ağrı, sinir hasarı, vasküler yaralanma, yara sorunları, enfeksiyon, daha ileri cerrahi gereksinimi, instabilite ve hematoma yer alır.⁴¹ Düşük enerjili ve bazı açık yaralanmalar nadiren ciddi komplikasyonlarla ilişkilidir, ancak yüksek enerjili travmanın neden olduğu açık kırıkların çoğu genellikle daha ayrıntılı analiz gerektiren büyük problemler doğurur. Yumuşak doku durumu, travmanın enerji seviyesi, kırığın parçalanması, tedavi yöntemi, kontaminasyon ve ilişkili yaralanmalar kırık iyileşmesini etkileyebilir.⁴²

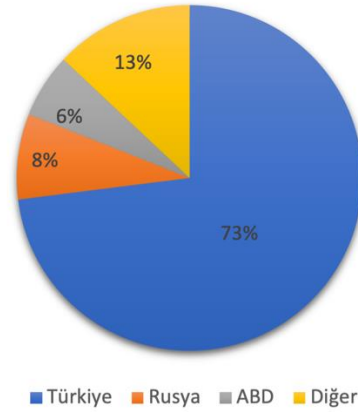
2.2. Bor

2.2.1. Borun Önemi

Bolluk bakımından yer yüzeyinde en çok bulunan 51. element olan bor, boratlar ve borosilikatlar olarak doğada bulunur. Bor izotoplarının doğada bulunuş miktarları bölgelere göre farklı olmasına rağmen, bilinen bor yataklarındaki bor miktarı Amerika Birleşik Devletleri ve California'da düşük, Türkiye'de ise yüksektir.⁴³ En yaygın boraks, kolemanit, üleksit, kernit, probertit, datolit, sassolite (borik asit), szaibelit ve borasittir.⁴⁴

Doğada bileşik olarak bulunan bor elementi, işlenip saf hale getirilebilmektedir. Türkiye’de en çok bulunan bor türevleri boraks, üleksit ve kolemanittir. Diğer dünya ülkeleri kolemanit üretimi yönünden tamamen Türkiye’ye bağılyken, üleksit üretimi yönünden ise kısmen Türkiye’ye bağılıdır.⁴⁵

Birçok endüstri dalında yaygın bir kullanım alanı bulunan bor mineralleri ve türevleri 21. yüzyılın petrolü olarak adlandırılmakta ve yaşam standartlarının yükseltilmesindeki önemi gün geçtikçe artmaktadır. Bir bor ürünü bazı durumlarda başka bir ürünün yerini tutabilmesine rağmen, günümüz koşullarında bor ürünlerinin yerini aynı kalite ve ucuzlukta tutabilecek başka bir mineralin bulunmayışı ve stratejik anlamda da değerli olması bora özel bir anlam kazandırır. Bu stratejik değerden ötürü bor üretimi dünya çapında önemli bir yere sahiptir.^{46,47} Türkiye bor mineralleri üretiminde dünyada birinci sırada yer almaktadır (Şekil 2.1.).⁴⁷⁻⁴⁹ Borun mineral metabolizmasında, immün yanıtta ve endokrin sistemde görev yaptığı kabul edilmektedir. Ayrıca bor, kemik büyümesi ve sağlığı için de metabolik olarak önemlidir.⁵⁰⁻⁵²



Şekil 2.1. Türkiye ve dünyada toplam bor madeni rezervleri

2.2.2 Borun Özellikleri

Bor kelimesinin kökeni Arapça ve Farsça buraq/baurach ve burah kelimelerinden meydana gelmektedir.⁵³ Tiftikli yüzey yapısına ve yarı şeffaf görünüme sahiptir. Doğada

az bulunur ve yer kabuğunda ortalama 10 ppm'den az olarak bulunmaktadır. Yer kabuğundaki dağılımı çok az olmasına rağmen belirli yataklarda bor miktarı çok fazladır, bu da ekonomik bor yataklarının oluşumunu sağlamıştır. Türkiye'de bu yerlerden biridir.⁵⁴ Bor, tortul kayalarda, toprakta, kömürde ve deniz suyunda yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Deniz suyundaki küresel ortalama bor konsantrasyonunun yaklaşık 4.6 mg/L olduğu tahmin edilmektedir.⁵⁵ Bor ticari kullanımlar, orman yangınları, kömür yanması ve volkanlardan atmosfere salınır. Başka bir atmosferik kaynak oluşturan kaya ayrışmasının bir sonucu olarak okyanusa ulaşır.⁵⁶ Atmosferdeki borun % 65-85'i dünya okyanuslarından elde edilir. Bor cam, deterjan, seramik ve gübre gibi birçok mamül maddenin bir bileşenidir ve bu maddelerden salınması sonucu veya üretimleri sırasında çevreye bulaşabilmektedir.⁵⁷ Çevresel borun % 7-18'i, birkaç ana "antropojenik" kaynaktan, yani gübrelerden, atık su arıtma tesisi salınımlarından ve kömürle çalışan enerji santralleri tarafından salınan uçucu kül atıklarından kaynaklanmaktadır.⁵⁶

2.2.3. Bor'un Kimyasal Özellikleri

Periyodik tablodaki III A grubu elementi olan bor, oksijene karşı büyük bir afiniteye sahiptir ve elektron eksikliği olan tek ametal elementtir. III A grubundaki diğer elementlere göre karbon ve silikona benzerliği çok yüksektir. Kimyasal sembolü "B" olup, periyodik cetvelde III A grubunun metal olmayan tek elementidir.⁴⁴ Atom numarası 5, atom ağırlığı 10.81 ve özgül ağırlığı 2.30-2.46 olan bor elementinin amorf toz halindeki rengi koyu kahverengi ve çok gevrek, sert yapılı monoklinik kristal halinin rengi ise sarımsı kahverengidir. Erime noktası yaklaşık olarak 2300 °C'dir.⁵⁸

Bor öncelikle doğal bir üründür ve genellikle çevrede boratlar halinde bulunur.⁵⁶ Boratlar, borun oksijenle bağlanması sonucu oluşan bor-oksijen bileşikleridir. Hayvanlara verildiğinde inorganik boratlar biyolojik olarak BA'ya dönüştürülür ve

mukozal yüzeylerden emilir. İnsanlara veya hayvanlara verilen boratın % 90'dan fazlası BA olarak atılır. Hem in vitro hem de in vivo sistemlerde BA, cis-hidroksil gruplarına bir afinite gösterir ve bu tür bir afinite, BA'nın bazı biyolojik etkilerini ve ürettiği mekanizmayı açıklayabilir.⁵⁹ Doğada yaklaşık 230 çeşit bor minerali bulunmaktadır. Boraks pentahidrat, boraks dekahidrat, BA, sodyum perborat, sodyum metaborat, sodyum oktaborat bor türlerinden bazılarıdır.⁶⁰ Borun anatomik yapısı ve bazı özellikleri⁶¹ tablo 2.1.'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Borun anatomik yapısı, bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Değişkenler	Değerler	Değişkenler	Değerler
Atom Çapı (Å)	1.17	Kaynama Noktası (°C)	4002
İyon Çapı (Å)	0.23	Erime Noktası (°C)	2300
Atom Hacmi (cm ³ /mol)	4.46	Mohs Sertliği	9.3
Elektron Dizilimi	1s ² 2s ² p ¹	Vickers Sertliği MN M-2	4900
Elektron Sayısı	5	Buharlaştırma Isısı (KJ/mol)	489.7
Nötron Sayısı	6	Buhar Basıncı (pa)	0.348
Füzyon Isısı (KJ/mol)	50.2	Fiziksel Görünümü	Katı

2.2.4. Borun Kullanım Alanları

Bor hem kendi başına hem de bor alaşımları, bor tuzları ve organometalik bor kompleksleri olarak ileri teknoloji malzemesi olarak kullanılır. Hem kendi başına hem de başka maddelere katılarak maddeye ileri teknoloji özelliği kazandırır. Bor ürünleri hafif, gerilmeye karşı dirençli ve kimyasal etmenlere dayanıklı olduğu için roket yakıtı, plastik, sanayi, lastik, kâğıt endüstrisi, ısıya dayanıklı cam, porselen üretimi, tarım, çelik üretimi, ilaç, kimya, kozmetik üretimi, fotoğrafçılık ve çimento sanayi gibi yaygın kullanım alanına sahiptir.⁴³

Medikal sahada en sık kullanılan bor bileşeni BA'dır. Antiseptikler, bor alaşımları, nükleer, yangın geciktirici, naylon, tekstil, gübre, katalist, cam, cam elyafı, emaye, sır sanayilerinde gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır.^{60,61}

Tablo 2.2. Borik asitin bazı kullanım alanları

Kullanım Alanı	Kullanım Yerleri
Cam Sanayi	Fırın camları, laboratuvar cam malzemeleri, cam elyafı, tek filaman fiberglass üretimi,
Deterjan	Sabun ve deterjan üretimi
Tarım	Bor gübresi
Alev Geciktirici	Alev geciktirici, ahşap deniz yat ve havacılık boyalarında alev geciktirici,
Nükleer Sanayi	Reaktör soğutucusu, nötron emiciler, reaktör kontrol çubukları, nükleer kazalarda güvenlik amaçlı ve nükleer atık depolayıcı olarak
Tıp	Ostreopoz tedavilerinde, alerjik hastalıklarda, psikiyatride, kemik gelişiminde, manyetik rezonans görüntüleme cihazlarında, göz yıkama solüsyonu
Uzayve Havacılık Sanayii	Sürtünmeye-aşınmaya ve ısıya dayanıklı malzemeler, roket yakıtı

Borik asit, Ca, D vitamini ve Mg ile etkileşime girdiğinden, kemik metabolizmasını etkilediği düşünülen önemli bir elementtir.^{62,63} Ayrıca bor bileşiklerinin oksidatif stres parametrelerini de etkilediği düşünülmektedir. Osteokondral defektlerde boraks dekahidrat ve hyaluronik asitin birlikte kullanılması oksidatif stres parametrelerini azaltmıştır.⁶⁴

2.3. Lazer

2.3.1. Lazerin Tanımı ve Tarihçesi

Lazer; Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation kelimelerinin ilk harflerinden oluşan bir kısaltmadır.⁶⁵ Lazerin ilk kavramsal yapı taşı, Albert Einstein'ın fotonların uyarılmış atomlardan özdeş fotonların emisyonunu uyarabileceğine dair 1916 tarihli önerisiydi. 1917 yılında Albert Einstein fotoelektrik amplifikasyonunu anlatarak lazerin icadının temellerini atmıştı.⁶⁶ Rudolf Ladenburg, 1928'de uyarılmış emisyonun dolaylı kanıtlarını bildirdi. Bununla birlikte, zamanın fizikçileri etkiyi “negatif soğurma” olarak adlandırdılar ve bunun pratik önemi olmadığını düşündüler.⁶⁷ 1940 yılında Rus fizikçi Valentin A. Fabrikant, bir gaz deşarjındaki uyarılmış emisyonun uygun koşullar

altında ışığı güçlendirebileceğini öne sürdü.⁶⁸ 1951'de Charles H. Townes, mikrodalga frekanslarında uyarılmış emisyonun rezonant bir boşlukta salınarak tutarlı olup üretebileceğini öne sürerek bir sonraki kavramsal adımı attı. 1954'te Townes ve öğrencisi James Gordon, uyarılmış amonyak moleküllerini 24 Ghz'de salındıkları rezonans boşluğuna yönlendiren ilk mikrodalga ustasını gösterdi.⁶⁹ 1960 yılında sert ve yumuşak doku üzerinde lazeri kullanan ilk kişi Miaman olmuştur. Lazerlerin son yirmi yılda uygulanma sahası genişlemiştir. Doktorlar ışığın ten rengi ve yaralar gibi birçok şeyi gözlemlmelerine izin verdiğini ve en etkili terapötik eylem yolunu seçmelerine yardımcı olduğunu fark ettiler. Bu, araştırmacıları tıp ve dişçilik alanlarında lazerlerin özel uygulamalarını keşfetmeye yöneltti.⁷⁰

Lazer aynı zamanda biostimülan lazer veya fotobiomodülasyon olarakta geçmektedir. Hücre kültürleri ve klinik çalışmalarda yapılan birçok karşılaştırmalı araştırmada ışık enerjisi için cevap veren temel doz belirlenmiştir. Bu yüzden düşük doz terimi kullanılmaktadır. Belirlenen dozun yukarısı beklenen sonucu negatif yönde etkileyebilir. Lazerin kullanım amaçlarından bazıları şunlardır; yara iyileşmesi, doku tamiri, doku ölümünün engellenmesi, ağrı, ödem, akut yaralanmalar ve kronik hastalıklarda inflamasyonu önlemek, nörolojik ağrıyı ve nörolojik problemleri önlemek ve akupunkturdur.⁷¹

Lazerin, artan hücre proliferasyonu,⁷² iyileşme sürecini hızlandırma, doku rejenerasyonunu teşvik etme, hücre ölümünü önleme,⁷³ anti-inflamatuar aktivite⁷⁴ ve ağrıyı giderme⁷⁵ dahil olmak üzere doku üzerinde derin biyolojik etkileri olduğu bildirilmiştir. Lazer tarafından desteklenen fotobiyolojik-fotokimyasal olaylar, bitkiler tarafından gerçekleştirilen fotosentez gibidir. Düşük yoğunluklu görünür ışığın herhangi bir canlı biyolojik sistemi etkilemesini sağlamak için, enerji taşıyan fotonlar, hedef

biyolojik sistemin bir fotoreseptörüne veya kromoforuna ait elektronlar tarafından absorbe edilmelidir.⁷⁶

Lazerin temel mekanizmalarından biri mitokondrinin uyarılmasıdır. Sitokrom c-oksidadaz (CCO) aktivitesinin modülasyonu yoluyla ışık spektrumunun görünür ve yakın kızılötesi bölgesindeki fotonlar tarafından elektron transferinin hızlandırılmasının fototerapötik etki mekanizmasında anahtar bir hedef olduğu düşünülür.⁷⁷ Bu uyarım, artan adenozin trifosfat (ATP) üretimine, modülasyon redoksuna ve transkripsiyon faktörlerinin indüksiyonuna yol açar.⁷⁸

2.3.2. Lazer Işığının Özellikleri

2.3.2.1. Monokromatik

Yayılan ışık dalgaları aynı dalga boyu ve enerji ile çıkar. Yayılan tek bir dalga boyu veya dar bir dalga boyu bandı, bitişik yapıları korurken doku içinde hassas hedeflemeye izin verir.⁷⁹

2.3.2.2. Parlaklık

Yayılan ışık demeti son derece yoğundur ve açısal olarak iyi merkezlenmiştir. Parlaklık veya yoğunluk önemli özelliklerden biridir ve nanosaniyeler içinde son derece yüksek tepe gücünün sağlanabildiği darbe ve Q-anahtarlama gibi tekniklerle geliştirilebilir.⁷⁹

2.3.2.3. Koherent

Koherent, dalga biçiminin kesinliğinin bir ölçüsüdür. Son derece uyumlu lazer ışını daha hassas bir şekilde odaklanabilir. Yayılan tüm fotonlar hem uzayda hem de zamanda faz uyumu içinde titreşir.⁷⁹

2.3.2.4. Tek Yönlülük

Tüm fotonlar belirli bir yörüngede hareket eder. Lazerin yönlülüğü, yavaşça yayılan son derece dar bir ışık huzmesinin emisyonu ile ilişkilidir. Lazer aparatı içinde,

fotonların dar bir yola verimli bir şekilde kolimasyonu, kat edilen her metre için yaklaşık 1 mm'lik bir sapma faktörü ile sonuçlanır. Yönlülük, lazer ışınının çok küçük bir nokta boyutuna odaklanmasını sağlar.⁷⁹

2.3.3. Lazer Tipleri

2.3.3.1 Katı Hal Lazerler (Katkılı İzolatör Lazer)

Katı hal lazerleri, geçiş metalleri, nadir toprak iyonları ve aktinitleri yalıtkan konak kafeslerine gömerek elde edilen aktif ortamlara sahiptir.⁸⁰ Aktif iyonların enerji seviyeleri yalnızca kalıcı eylemlerden sorumluyken, lazer işleminin verimliliğini belirlemede ana malzemenin termal iletkenliği ve termal genişmesi gibi fiziksel özellikler önemlidir.⁸¹ Katkılı iyon etrafındaki konak atomların düzenlenmesi, enerji seviyelerini değiştirir. Aktif ortamdaki farklı lazer dalga boyları, aynı aktif iyonla farklı konakçı materyallerin katılanmasıyla elde edilir. Nd:YAG en iyi kalıcı malzemelerden biridir ve katı hal lazer malzemelerinin temsilcisidir.⁸²

2.3.3.2. Gaz Lazerler

Gaz lazerleri hemen hemen tüm güçlerde (miliwatt [mW] ila megawatt) ve dalga boylarında yaygın olarak bulunur; darbeli ve sürekli modlarda çalıştırılabilir. Aktif ortamın doğasına bağlı olarak, atomik, iyonik ve moleküler olmak üzere üç tip gaz lazeri vardır. Gaz lazerlerinin çoğu elektrik deşarjı ile pompalanır. Deşarj tüpündeki elektronlar, elektrotlar arasındaki elektrik alanı ile hızlandırılır. Bu hızlandırılmış elektronlar, aktif ortamdaki atomlar, iyonlar veya moleküller ile çarpışır ve popülasyonun ters çevrilmesi ve uyarılmış emisyon durumunu elde etmek için daha yüksek enerji seviyelerine geçişi indükler.⁸³

2.3.3.2.1. He: Ne Lazer

He-Ne lazer, atomik gaz lazerlerinin en basiti ve temsilcisidir. Aktif ortam, yaklaşık 10 Torr'luk bir basınçta, birkaç milimetre çapında ve 0.1-1 m uzunluğunda dar

bir tüpe doldurulmuş 10:1 He ve Ne gazları karışımıdır. Boşalma başlatıldığında tüp direnci çok düştüğünden, deşarj akımını sınırlamak için güç kaynağı ile seri olarak dirençli bir kutu kullanılır. Ne atomunun enerji seviyeleri lazer geçişlerinde doğrudan yer alır ve He atomları Ne atomlarına verimli bir uyarma mekanizması sağlar.⁸³

2.3.3.2.2. Argon İyon Lazer

Argon iyon lazeri, yüksek ışın kalitesine sahip yeşil veya mavi çıkış ışınının tipik olarak birkaç watt (W) gücünü üreten, yaygın olarak kullanılan iyon gaz lazerlerinden biridir. Bir argon iyon lazerinin çekirdek bileşeni, iki içi boş elektrot arasındaki yoğun bir elektrik boşalmasının yüksek yoğunluklu argon (Ar) iyonlarına sahip bir plazma oluşturduğu, örneğin berilyum oksit gibi seramikten yapılmış Ar dolu bir tüptür. Tüpün etrafındaki bir solenoid bir manyetik alan oluşturmak için kullanılır, bu da plazmanın tüp eksenini yakınında manyetik olarak hapsedilmesiyle ışının çıkış gücünü artırır. Bir metre uzunluğunda bir tüp içeren tipik bir cihaz, onlarca kilovatlık elektrik gücü kullanarak, yeşil spektral bölgede 514.5 nanometre (nm)'de 2.5–5W lazer ışını çıkış gücü üretebilir. Yayılan ısı, borunun etrafında soğutulmuş bir su akışı ile uzaklaştırılır. En yüksek çıkış gücü, standart 514.5 nm hattında elde edilir. Ar iyon lazerleri, çeşitli dalga boylarında eşzamanlı çıktı ile çok hatlı çalışma eğilimine sahiptir.^{81,83}

2.3.3.2.3. Moleküler Lazer

Atomik ve iyonik lazerlerdeki izole atomlar ve iyonların aksine, moleküller ayırık enerji seviyeleri yerine geniş enerji bantlarına sahiptir. Elektronik, titreşim ve dönme enerji seviyelerine sahiptirler. Her elektronik enerji seviyesi, V olarak atanan çok sayıda titreşim seviyesine sahiptir ve her titreşim seviyesi, J olarak atanan bir dizi dönme seviyesine sahiptir. Elektronik enerji seviyeleri arasındaki enerji ayrımı, UV ve görünür spektral aralıklarda bulunurken, titreşimsel-dönel olanlarda bulunur.⁸⁴

2.3.3.2.4. Karbon Dioxide (CO₂) Lazer

Karbondiyoksit, kızılötesi dalga boyunda yüksek güç ve yüksek verimli gaz lazeri sergileyen moleküler gaz lazer malzemesidir. Kesme, delme, kaynak vb. dahil olmak üzere maksimum endüstriyel uygulamalar sunar. Nano malzemelerin işlenmesinin lazer piroliz yönteminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Karbondiyoksit, üç simetrik esneme, eğilme ve antisimetrik esneme titreşim modlarına sahip simetrik bir moleküldür. Örneğin, moleküllerin enerji seviyesi, 2 birim enerji ile saf asimetric germe modunda olduğunu temsil eder. He-Ne lazerde He'nin rolüne çok benzeyen N₂, CO₂ lazerlerde ara olarak kullanılır. CO₂ lazerde N₂ ve CO₂ titreşim seviyeleri arasındaki enerji farkı, He-Ne lazerde He ve Ne (20 eV) enerji seviyeleri arasındaki farkla karşılaştırıldığında çok daha küçüktür (0.3 eV); bu nedenle, 0.3 eV'den daha yüksek enerjilere sahip CO₂ lazerin deşarj tüpünde nispeten daha fazla sayıda elektron mevcuttur.⁸⁵

2.3.3.2.5. Nitrojen Lazer

Nitrojen lazerde, lazer geçişi iki elektronik enerji seviyesi arasında gerçekleşir, bu nedenle lazer ultraviyole (UV) bölgesinde 337 nm dalga boyunda çalışır. Burada üst elektronik seviye, alt seviyeye göre daha kısa bir kullanım ömrüne sahiptir. Bu nedenle CW işlemi sağlanamaz, ancak dar darbe genişliği ile darbeleri işlem mümkündür. Darbe genişliği dardır, çünkü uzun süreli başlar başlamaz, alt durumun popülasyonu artarken, üst durumdaki nüfus azalır ve hızlı bir şekilde kalıcılığın mümkün olmadığı bir duruma hızla ulaşılır.⁸⁰

2.3.3.2.6. Eksimer Lazer

Eksimerler, itici veya ayrılmış temel durumlara sahip olan ve ilk uyarılmış durumlarında kararlı olan moleküllerdir. Genellikle, temel durumda daha az sayıda molekül vardır; bu nedenle toprak durumundan doğrudan pompalama mümkün değildir. Moleküller, enerjik halojenür ve nadir gaz iyonlarının kombinasyonu ile doğrudan ilk

uyarılmış elektronik durumda oluşur. Temel durumdaki moleküllerin sayısı, uyarılmış duruma kıyasla çok düşük olduğundan, popülasyonun ters çevrilmesi durumu kolayca elde edilebilir. Kalıcı eylem, bağlı uyarılmış elektronik durumdan ayrışma temel durumuna geçişle yapılır. Temel durumdaki nüfus her zaman düşük kalır çünkü moleküller bu noktada atomlara ayrışır.^{81,83}

2.3.3.3. Sıvı Lazer

Sıvılar, katılara kıyasla daha homojendir ve gazlara kıyasla daha büyük aktif atom yoğunluğuna sahiptir. Bunlara ek olarak, herhangi bir fabrikasyon zorluğu yaratmazlar, ısının kaviteden taşınması için basit sirkülasyon yolları sunarlar ve kolayca değiştirilebilirler. DCM (4-disyanometilen-2-metil-6-p-dimetilaminostiril-4H-piran), rodamin, stiril, kumarin, stilben ve benzerleri gibi organik boyalar, uygun çözücüler içinde çözülmüş, kazanç ortamı olarak işlev görür. Boya moleküllerinin çözeltisi, iyi absorpsiyon katsayısına sahip bir radyasyon dalga boyu tarafından optik olarak uyarıldığında, floresan olarak bilinen daha uzun dalga boylu radyasyon yayar. Soğurulan ve yayılan fotonlar arasındaki enerji farkı çoğunlukla ışıınımsız geçişler tarafından kullanılır ve sistemde ısı oluşturur. Boya/sıvı lazerlerdeki daha geniş floresan bandı, dalga boyu ayarının benzersiz özelliği ile onları büyüler. Ayarlanabilir ve uyumlu ışık kaynakları olarak organik boya lazerleri, spektroskopi, holografi ve biyomedikal uygulamalarda giderek daha önemli hale geliyor.^{82,84}

2.3.3.4. Yarı İletken Lazer

Kuantum kuyu lazerleri olarak da bilinen yarı iletken lazerler küçük, ucuz, toplu olarak üretilebilir ve kolayca ölçeklenebilir. Bunlar temel olarak, ışık yayan diyotlara (LED'ler) çok benzer şekilde, ileri polarizasyonda yük taşıyıcının yeniden birleştirilmesiyle belirli dalga boyunda ışık üreten p-n bağlantı diyotudur.⁸⁵ LED'ler kendiliğinden emisyonla sahipken, lazer diyotlar uyarılmış emisyonla radyasyon yayar.

Popülasyon tersinmesi durumuna ulaşmak için işletme akımının eşik değerinden yüksek olması gerekir. Yarı iletken diyot lazerdeki aktif ortam, iki boyutlu 2 katmanın birleşme bölgesi şeklindedir. Lazer salınımını sürdürmek ve optik geri bildirim için harici ayna gerekmez. İki katman arasındaki kırılma indisi farklılıklarından kaynaklanan yansıtma veya aktif ortama toplam iç yansıma bu amaç için yeterlidir. Diyotların uç yüzleri yarılar ve yansıtıcı yüzeylerin paralelliği sağlanır. Tek tip yarı iletken malzemedan yapılan bağlantıya homojunction, iki farklı yarı iletkenle elde edilene ise heterojunction denir. Yüksek taşıyıcı yoğunluklu p ve n tipi yarı iletkenler, çok ince ($\approx 1 \mu\text{m}$) tükenme katmanı ile p-n bağlantısı oluşturmak için bir araya getirilir. Lazer, sınırlı dar bölgede gerçekleşir ve optik geri besleme, bölünmüş uç yüzler arasındaki yansımalarla yapılır.^{86,87}

2.4.Düşük Seviyeli Lazer Terapisi

Fotobiyoloji veya biyostimülasyon olarak da adlandırılan düşük seviyeli lazer terapisi (LLLT), tek bir dalga boyunda ışık üreten, invaziv olmayan ısı, ses ve titreşim yaymayan bir ışık kaynağı tedavisidir. LLLT'nin bağ dokusu hücrelerinin (fibroblastlar) işlevini etkilediğine, bağ dokusu onarımını hızlandırdığına ve bir anti-inflamatuar ajan olarak hareket ettiğine inanılmaktadır. 632 ile 904 nm arasında değişen farklı dalga boylarına sahip lazerler genellikle kas-iskelet sistemi rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. 660 nm ile 905 nm arasındaki dalga boyları cilde ve yumuşak/sert dokulara nüfuz etme kabiliyetine sahiptir. Bu ışığın ağrı, iltihaplanma ve doku onarımı üzerinde iyi bir etkisi vardır.⁸⁸ 0.5 W'den düşük bir çıkış gücü LLLT olarak sınıflandırılırken, 500 mW veya 0.5'den daha fazla çıkış gücüne sahip lazerler Yüksek Güçlü Lazer Terapisi (HPLT) olarak adlandırılır. HPLT, daha yüksek güç yoğunluğu (ışınlama) nedeniyle cilt yüzeyinde ısı oluşturur. LLLT, tedavi sırasında bir ısınma hissi yaratmadığından genellikle "Soğuk Lazerler" olarak adlandırılır.⁸⁹

Düşük Seviyeli Işık Terapisi veya Fotobiyomodülasyon (PBM) olarak da bilinen LLLT, düşük yoğunluklu bir ışık tedavisidir. Etki termal değil fotokimyasaldır. Işık, hücreler içinde biyokimyasal değişiklikleri tetikler ve fotonların hücrel fotoresptörler tarafından emildiği ve kimyasal değişiklikleri tetiklediği bitkilerdeki fotosentez süreciyle karşılaştırılabilir.⁸⁸ LLLT genellikle düşük güçlü bir lazer veya LED ile tipik olarak güç aralığı 10mW–500mW olan ışık uygulamasıdır. Spektrumu kırmızı ile kızılötesi, 660nm–905nm bir dalga boyuna sahip ışık kullanılır çünkü bu dalga boyları cilde ve yumuşak/sert dokulara nüfuz etme yeteneğine sahiptir ve ağrı, yangı ve doku onarımı üzerine pozitif etkileri çalışmalar ile kanıtlanmıştır. Güç yoğunluğu (ışım) genellikle 5W/cm² civarındadır ve birkaç hafta boyunca haftada birkaç kez 30-60 saniye süreyle bir yaralanmaya veya ağrılı bölgeye uygulanır. Yangının azalması, ağrının giderilmesi ve doku yenilenmesinin hızlandırılması beklenen etkilerindedir.⁸⁸

2.4.1. LLLT'nin Mekanizması

Düşük güçlü, görünür veya kızılötesine yakın ışığın biyolojik bir sistem üzerinde etkili olması için, fotonun bir foton alıcısına veya kromofora ait elektronik absorpsiyon bantları tarafından soğurulması gerekir (fotobiyolojinin birinci yasası).⁹⁰ Kromofor, bir bileşiğe (örneğin, klorofil, hemoglobin, miyoglobin, CCO, diğer sitokromlar, flavin, flavoproteinler veya porfirinler) renk veren bir moleküldür (veya bir molekülün parçasıdır). Bir dokudaki "optik pencere", kırmızı ve yakın kızılötesi dalga boyları kullanılarak ışığın dokuya nüfuzunun en üst düzeye çıkarıldığı bir dalga boyu aralığını tanımlar.⁷¹

Mitokondri, hücrelerimizdeki “enerji santralleri”dir ve bu nedenle gıda moleküllerini ve oksijeni oksidatif fosforilasyon yoluyla enerjiye dönüştürür. CCO'nun memeli hücrelerinde kırmızı-NIR dalga boyu aralığı için birincil foto-alıcı olduğu öne sürülmüştür.⁹¹ Mitokondride üretilen nitrik oksit (NO), COX'e bağlanarak yaralı veya

hipoksik hücrelerde oksijenin yerini alabilir.⁹² Işık aracılı vazodilatasyon süreci ilk olarak 1968'de RF Furchgott⁹³ tarafından tanımlanmıştır ve NO'nun biyolojik özellikleri üzerine yaptığı araştırma sonunda 1998'de Nobel Ödülü'ne layık görülmüştür.⁹⁴ LLLT, reaktif oksijen türlerini (ROS) artırıp reaktif nitrojen türlerini (RNS) azaltarak genel hücre redoks potansiyelinde daha fazla oksidasyon yönünde bir kayma üretebilir.^{95,96} LLLT'nin uzun vadeli etkilerinin, LLLT tarafından mitokondriyal stimülasyondan üretilen ani kimyasal sinyal molekülleri tarafından çeşitli transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu sinyal moleküllerinden en önemlilerinin ATP, siklik-AMP, NO ve ROS olduğu düşünülmektedir.⁹⁰

Düşük dozlarda LLLT'nin fibroblastların,^{97,98} keratinositlerin,⁹⁹ endotel hücrelerinin¹⁰⁰ ve lenfositlerin^{101,102} hücre proliferasyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Proliferasyon mekanizmasının, mitokondrinin sinyal yollarının aktivasyonuna yol açan foto-stimülasyonundan ve nihayetinde büyüme faktörlerinde artışa yol açan transkripsiyon faktörlerinin düzenlenmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.^{97,103,104} LLLT neovaskülarizasyonu iyileştirebilir, anjiyogenezi teşvik edebilir; akut¹⁰⁵ ve kronik yaraların^{106,107} iyileşmesine yardımcı olmak için kollajen sentezini artırabilir. Birçok çalışmada, LLLT'nin iki fazlı doz yanıt eğrisi^{108,109} sergilediği gözlemlenmiştir. Daha düşük dozlarda, daha yüksek dozlardan çok daha etkili olduğu görülmüştür. Bu düşük doz deri, sinir, tendon, kıkırdak ve kemikleri iyileştirme yeteneği göstermiştir. Düşük yoğunluklu LLLT, mitokondriyi uyarır ve mitokondriyal membran potansiyelini yükseltir.¹⁰⁸

2.5. Kemik Defektleri

Hayvanlarda kemik onarımı, ektopik kemik ve kemik defekti modelleri kullanılarak araştırılmıştır. Ektopik kemik oluşumu, iskelet dışı bir bölgede meydana gelir ve malzemelerin kaslara^{110,111} veya diğer kemik dışı dokulara yani deri altı bölgelere

implantasyonunu içerir. Ektopik kemik modelleri, incelenen materyalin mutlak osteoindüktif kapasitesini yansıtırken, test materyallerinin genel onarıcı yanıtı, kemikli bir bölgede daha iyi değerlendirilir, dolayısıyla kemik defekti modellerine ihtiyaç duyulur.¹¹² Kemik defekt modelleri, kemik grefti ikamelerinin ve diğer materyallerin, proteinlerin ve doku mühendisliğine dayalı kavramların hem osteokondüktif hem de osteoindüktif potansiyellerinin değerlendirilmesine izin verir. Kemik defekt modelleri, non-unionlar, kemik bozukluklarından ve iatrojenik kökenlerden kaynaklanan kusurların tedavileri ile ilgili klinik bilgiler sağlayabilir. Farelerde ve ratlarda non-union modeller, kaburga kırıklarından,¹¹³⁻¹¹⁶ tibia kemiğine¹¹⁶⁻¹¹⁸ kadar geniş bir yelpazede yaygın olarak kullanılmaktadır. Yaygın kemik defekt modelleri, kalvarial defekt,^{119,120} segmental defektleri^{121,122} ve pencere defektlerini¹²³ içerir. Kalvarial defekt modeli, implantları ve büyüme faktörlerini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır.^{119,124} Trepanasyon kullanımı, segmental defekt gibi diğer modellerle karşılaştırıldığında standardizasyon ve tekrarlanabilirlik sağlar. Kritik boyut defekti hayvanın yaşamı boyunca kendiliğinden iyileşmeyecek bir kusur olarak tanımlanır.^{124,125}

Pencere defekt modelleri, tibia veya ulna gibi kemiklerde kemik iliğinin çıkarılmasıyla gerçekleştirilebilir. Altında bulunan kemik iliği kesilmeden bırakılırken kortikal tabaka ve endosteum çıkarılır.¹²⁶

2.6. Kemik Defekti İyileşmesi

Cerrahi defektlerin iyileşmesi üç aşamaya ayrılır bunlar; inflamatuvar, osteoindüksiyon-osteogenez ve remodelling'tir. Ameliyattan hemen sonra, inflamatuvar faz hematoma varlığı ile ortaya çıkar. Çoğu zaman, çok sınırlı yüzeysel hücreler, çoğu hücresel bileşen nekroza uğrarken, greft nakli sayesinde yaygın beslenme yoluyla hayatta kalır.¹²⁷ Bu aşamada granülasyon dokusu, vasküler ve mezenkimal hücreler öne çıkar. Osteoklastlar bu aşamada aktiftir ve ölü kemiği vasküler büyümeye izin vermek için

ıkarırlar. Mezenkimal hücrelerin osteojenik hücrelere farklılaşması bir sonraki aşamaya, yani osteoindüksiyona işaret eder. Yeni kemik oluşumu ağırlıklı olarak farklılaşmış mezenkimal hücreler tarafından sağlanır. Nekrotik kemiğin kenarlarındaki osteoblastlar, nekrotik osteoidi çevreleyen yeni kemik matrisi üretir. Bu süreç “yerine koyma” olarak adlandırılır. Rezorbe edici nekrotik osteoid, radyolojik olarak radyodansite ve greft hacminde kademeli bir azalma ile gösterilir. Müteakip kemik yeniden şekillenmesi, greft ve doğal kemik arasındaki keskin sınırları tanımlar ve sonunda trabeküler devamlılık sağlanır.¹²⁸



3. MATERYAL VE METOT

Çalışma, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) tarafından onaylanan 12.04.2021 tarihli ve 76 no'lu deneysel dizayn protokolü çerçevesinde gerçekleştirildi. Çalışmanın hayvan gerecini Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen 56 adet erkek, ağırlıkları 300-400 gr arasında olan Wistar-Albino rat oluşturdu. Ratlar, ad libitum su ve gıda bulunan 12 saat aydınlık-karanlık döngüsüne sahip bir odada ve her grup ayrı kafeste ve her kafeste 7 rat olacak şekilde barındırıldı.

3.1. Çalışma Grupları

Çalışmanın materyalini oluşturan 56 rat, her grupta 14 rat olmak üzere rastgele 4 gruba ayrıldı: Kontrol grubu (yalnızca defekt oluşturulan grup), LLLT grubu (kemik defekti sonrasında lazer terapisi uygulanan grup), BA grubu (kemik defekti borik asit ile doldurulan grup) ve BA+LLLTT grubu (kemik defekti borik asit ile doldurulduktan sonra lazer terapisi uygulanan grup).

3.2. Anestezi Protokolü

Operasyondan 1 saat önce deri altı 0.5 mg/kg dozda butorphanol (Butomidor, İnterhas[®], Türkiye) ve deri ensizyonundan hemen önce ise deri altı 1 mg/kg meloksikam (Meloksikam, Bavet[®], Türkiye) uygulandı. Ratlarda genel anestezi 10 mg/kg xylazin (Rompun % 2, Bayer[®], Türkiye) ve 100 mg/kg ketaminin (Ketasol[®] % 10, İnterhas, Avusturya) intraperitoneal yolla uygulanmasıyla gerçekleştirildi.¹²⁹

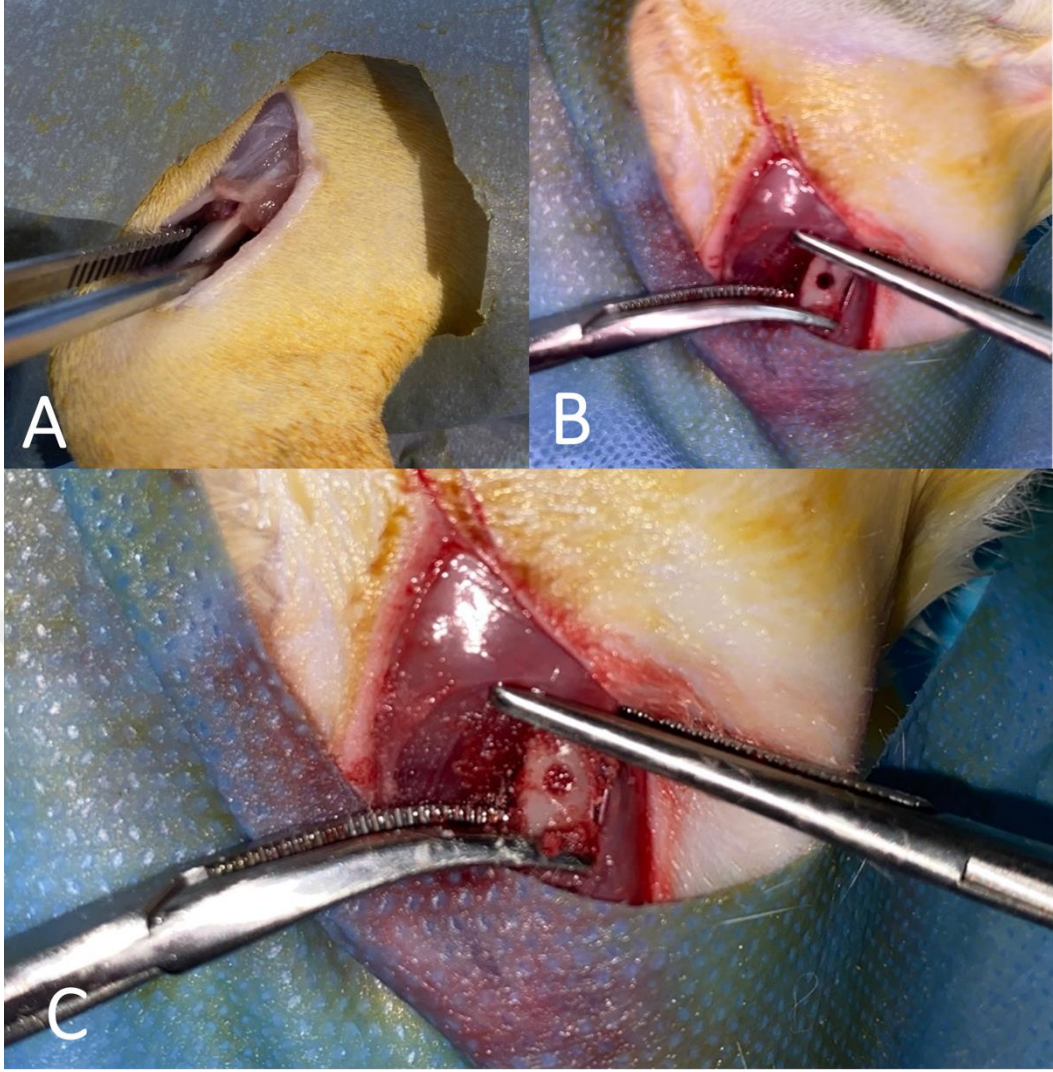
3.3. Operasyon Prosedürü

Hayvanların 1 haftalık adaptasyon süreçlerinin tamamlanmasının ardından, klinik muayenelerini takiben sol bacaklar coxafemoral eklem proksimalinden tarsal eklem distaline kadar traş makinesi (Saphır, Heiniger[®], İsviçre) ile traş edildi. Ensizyon hattı merkez kabul edilerek merkezden çevreye doğru % 50 sulandırılmış povidon iyot

kompleksine (Poviiodeks antiseptik % 10, Kimpa[®], Türkiye) batırılmış steril gazlı bezler aracılığıyla bölgeye povidon iyot uygulanıp 1 dakika (dk) bekletildi ve bu işlem beş kez tekrarlandı. Beşinci uygulama sonunda bütün bölge steril gazlı bez yardımıyla % 10'luk povidon iyodin ile boyanarak steril serviyetle sınırlandırıldı.

Anterolateral yaklaşımla, deri üzerine gerçekleştirilen ensizyon sonrası, *biceps femoris* ve *vastus lateralis* kasları arasından femur shaftına ulaşıldı. Femur'a ulaşıldıktan sonra femur proksimalinde 2.8 mm'lik dril ile unikortikal defekt oluşturuldu. Kemik defekt oluşturulurken frezin düşük devirde dönmesi amaçlandı ve kemik nekrozunu önlemek için oda sıcaklığındaki % 0.9 serum fizyolojik (İzo-Fleks[®], Eczacıbaşı-Baxter, Türkiye) ile irrigasyon sağlandı. BA ve BA+LLLT gruplarındaki deneklerde defekt içerisine 40 mg/kg BA (Eti Bor Maden Enstitüsü, Borik Asit toz) yerleştirilerek kapatılırken, kontrol ve LLLT grubunda defekt içerisine herhangi bir madde uygulanmadı. Uygulama öncesinde düz sterilizasyon rulosu ile paketlenen BA, etilen oksit sterilizatöründe steril edildi (Şekil 3.1).

Deri altı dokusu ve kaslar 4/0 coated vicryl (Ethicon[®], ABD) ile sürekli dikiş yöntemiyle, deri ise 4/0 naylon iplik (Plus Surgical Sutures[®], Çin) kullanılarak basit ayrı dikiş yöntemi ile kapatıldı. Postoperatif süreçte hayvanlara bandaj uygulaması yapılmadı. Operasyondan sonra 3 gün boyunca ratlara deri altı 0.5 mg/kg butorphanol 12 saatte bir uygulandı ve içme sularına 1 mg/kg meloksikam katıldı. Postoperatif 10. günde deri dikişleri uzaklaştırıldı.



Şekil 3.1. Preoperatif hazırlık ve defekt oluşturulması A: Femurun açığa çıkarılması, B: Defektin oluşturulması, C: Defektin borik asit ile doldurulması

3.4. Radyolojik İncelemeler

Hayvanların radyografisi deney öncesinde anestezi altındayken, 15 ve 30. günlerde ise sakrifikasyondan sonra gerçekleştirildi. Ratlardan craniocaudal ve mediolateral olmak üzere iki yönlü radyografisi (40 kilovolt (kV), 100 miliamper (mA) ve 2.20 mA saniye (mAS)) alındı. 15 ve 30. günlerdeki radyografi çekimleri ötenazi sonrasında gerçekleştirildi. Radyografik muayeneler yapılırken, 5 kilowatt (kW), 100

kV/100 mA gücünde sabit röntgen cihazından (Mex-100, Oberhausen-Germany) ve 35x43 röntgen kasedinden (DRx, Corestream®, Newyork, ABD) yararlanıldı.

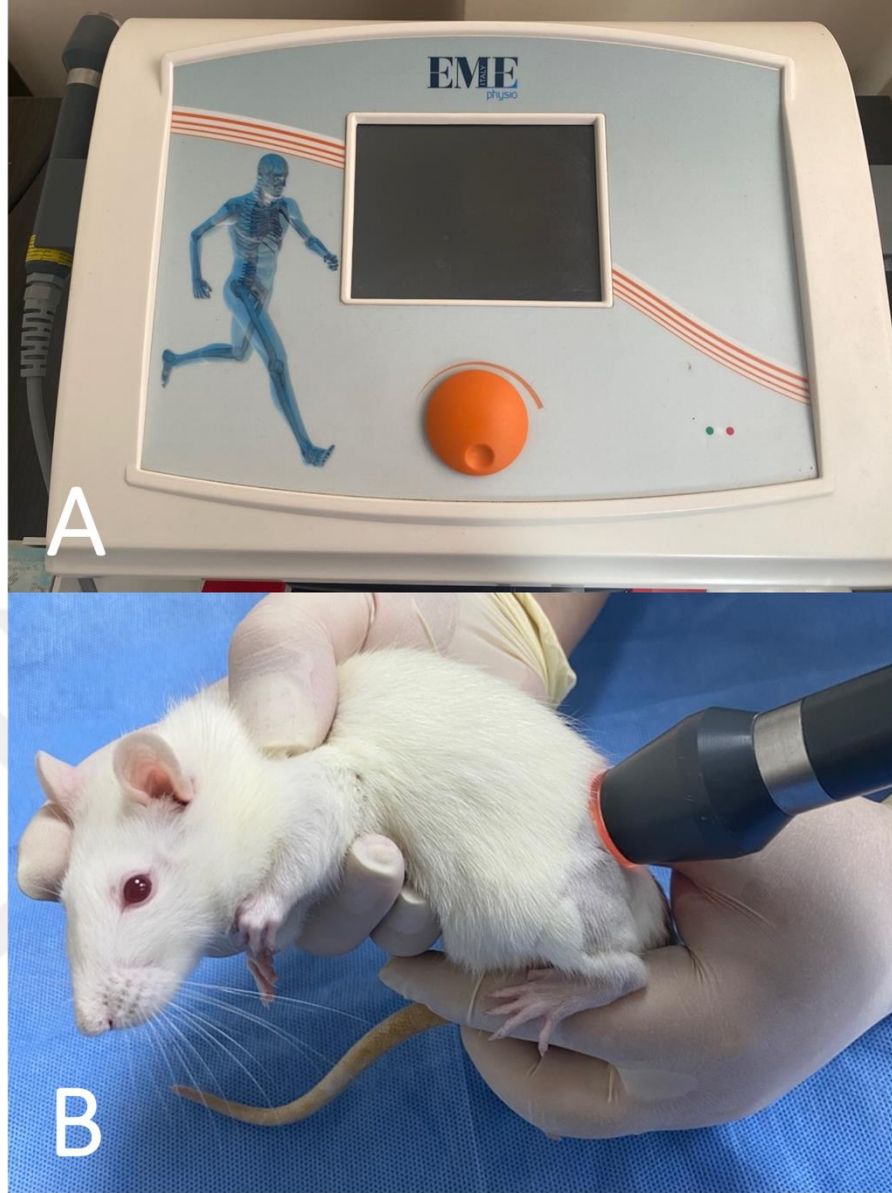
Elde edilen radyolojik görüntüler mRUST (Modified Radiographic Union Score for Tibial Fractures) skalasına göre iki kişi tarafından kör olarak değerlendirilip ortalaması alınarak 1 ile 4 arasında puanlandı. Kırık hattı görünür ve kallus oluşumu yoksa 1, kırık hattı görünür kallus oluşumu var ise 2, kırık hattı görünür ve fragmentler arasında köprü oluşumu varsa 3 ve kırık hattı görünmüyor ve remodelling şekillenmişse 4 puan olarak değerlendirildi.¹³⁰

3.5. Düşük Seviyeli Lazer Terapisi Uygulaması

Lazer uygulaması için mono-diodik lazer probu (MLA1/25) ile 905 nm dalgaboylu, 25 mW güç çıkışı olan infrared taşınabilir lazer cihazı kullanıldı (Lasarmed 2200, Eme Phsio İtaly).

Düşük seviyeli lazer terapisi GaAs (Galyum-Arsenik) lazer 905 nm dalga boyunda, 10000 Hz, 25 mW, sürekli modda, 1 cm² alana, 4 J/cm² dozda, tam temas tekniğiyle, dikişler rehber alınarak LLLT ve BA+LLLT gruplarına cihaz on, kontrol ve BA gruplarına ise cihaz off konumuna getirilerek günde 1 defa olmak üzere 14 gün boyunca uygulandı (Şekil 3.2).

Lazer terapisinin dozu (güç/ışınlama alanı) x zaman=J/cm² formüle göre hesaplanarak 4J/cm² düzeyinde operasyondan sonraki günden başlamak üzere iki hafta boyunca ve günde 160 saniye süreyle uygulandı. Ratlar tedavi süresince aynı kişi tarafından tutulurken, sabit bir kişi tarafından terapi gerçekleştirildi. İşlem sırasında her iki kişi de koruyucu gözlük kullandı.



Şekil 3.2. A: Çalışmada kullanılan lazer cihazı, B: Düşük seviyeli lazer terapisinin kırık bölgesine uygulanması

3.6. Klinik Değerlendirme

Tüm hayvanların yara hattı kızarıklık, ödem, eksudasyon ve yara hattının açılması yönünden 10 gün boyunca değerlendirildi.

3.7. Biyokimyasal Değerlendirme

Biyokimyasal analizler için 15. ve 30. günlerde her gruptan 7 adet rat anestezi altındayken servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi. İşlem sırasında *vena jugularisten*

alınan 6 mL kan lityum heparinli tüplere aktarıldı. Kan örnekleri 3000 devirde (rpm) 10 dk santrifüj (Allegra X-30R Centrifuge, Beckman Coulter, ABD) edilip plazmaları ayrıldıktan sonra biyokimyasal analiz yapılincaya kadar -20°C’de derin dondurucuda saklandı. Plazmada malondialdehit (MDA) düzeyine,¹³¹ katalaz (CAT),¹³² süperoksit dismutaz (SOD)¹³³ ve alkalin fosfataz (ALP) aktivitesine ticari olarak temin edilen ELISA kitinde (Shangai Coon Koon Biotech Co. Ltd, China) belirtilen protokol uygulanarak Biotek ELISA reader (Biotechepocha UV-Visible EIA Spektrofotometre) ile ölçümler yapıldı.

3.8. Histopatolojik Değerlendirme

Histopatoloji amacıyla alınan kemik dokuları % 10’luk formalin solüsyonunda 48 saat tespit edildikten sonra, dekalsifikasyon için osteosot (Merc, HC313331, Germany) içerisinde 96-120 saat bekletilerek dokuların yumuşaması sağlandı. Dokular yumuşatıldıktan sonra akan çeşme suyunda 24 saat yıkandı. Doku takibinde % 80’lik alkolde (12 saat x 2 defa), % 90’lık alkolde (12 saat x 2 defa), % 96’lık alkolde (12 saat x 2 defa), % 100’lük alkolde (12 saat x 2 defa), kloroform (5 saat x 3 defa), sıvı parafinde (12 saat) işlemlerinden geçtikten sonra solüsyon bloklara gömüldü. Her bloktan 4 mm kalınlığında kesitler alınıp lam üzerinde preparatlar hazırlandı. Histopatolojik inceleme için hazırlanan preparatlar hematoksilin-eosin ile boyanıp ışık mikroskobu ile incelendi. Işık mikroskobunda 40x’lık büyütme ile incelenen kesitler incelendi. Kesitler kaplanan alana göre anjiogenez, nekroz, mononükleer hücre infiltrasyonu, granülasyon dokusu, fibrozis ve osteoblastik aktivite yönünden değerlendirilerek yeni oluşan alan toplam alanın % 1 ile % 25’i arasında ise 1, % 26 ile %50 arasında ise 2, % 51 ile % 75 arasında ise 3, % 76’dan % 100’e kadar ise 4 olarak skorlandı.¹³⁴

3.8.1. İmmünohistokimyasal analizler

İmmünperoksidaz inceleme amacıyla adhezivli (poly-L-Lysin) lamlara alınan tüm kesitler, ksilol ve alkol serilerinden geçirilerek, deparafinize ve dehidre edildi. Daha sonra distile suda 5 dk yıkandı. Fosfat buffer solüsyonu (PBS, pH 7.2) ile 5 dk yıkanıp, % 3'lük H₂O₂'de 10 dk tutularak, endojen peroksidaz inaktive edildi. PBS de 5-10 dk yıkandıktan sonra, nonspesifik zemin boyanmasını önlemek için tüm primer ve sekonder antikolarla uyumlu olan protein blok ile 5 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda doku kesitleri üzerinde kalan blok solüsyonunun fazlası döküldükten sonra yıkanma yapılmadan primer antikör tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) (Cat No: sc-52746 dilution ratio:1/100 US) PBS damlatıldı. Primer antikora uygun olarak 1 saat oda sıcaklığında ya da 1 gece +4C'de bekletildi. PBS ile 2 kez 5'er dk yıkanıp, biotinize sekonder antikör ile oda sıcaklığında 10-30 dk inkube edildi. PBS ile tekrar yıkanan kesitler, streptavidin-peroksidaz da 10-30 dk bekletildikten sonra PBS ile aynı şekilde yıkandı. Yıkama işleminden sonra kesitlere 3-3' Diaminobenzidine (DAB) kromojen, damlatılarak kromojeni almasına göre 5-10 dk bekletildi. Zemin boyanması için Mayer's hematoksilende 1-2 dk tutulduktan sonra musluk suyunda yıkandı. Daha sonra alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek lamelle kapatılarak ışık mikroskopunda (Leica DM 1000) incelendi. Kesitler, ZEISS Zen Imaging Software programında değerlendirildi. Veriler nm olarak ifade edildi.¹³⁵

3.8.2. İmmünofloresans inceleme

Polilizinli lamlara 4 μ m kalınlığında kesitler alındıktan sonra deparafinizasyon ve dehidrasyon işlemleri yapılarak PBS ile yıkandı. Çekirdekteki antijeni maskelemek için 5 dk arayla 4 kez mikrodalga ile kaynatılıp oda ısısında soğumaya bırakıldı. Soğuduktan sonra PBS ile yıkanıp protein blok damlatılarak 10 dk beklendi. Primer antikörler (BMP-2) (Cat No: ab214821 Dilution Ratio: 1/100 UK) uygun sulandırmada hazırlanıp

damlatıldı ve kullanım şartlarına bağı uygun sıcaklıkta ve sürede bekletilip PBS ile yıkandı. Sekonder işaretleyici olarak immünofloresan antikor FITC (Cat No: ab6717 Dilution Ratio:1/500 UK) damlatılarak karanlık ortamda 45 dk bekletildi ve distile su ile yıkandı. Daha sonra sekonder olarak DNA işaretliyiçi maunting medium'lu DAPI (DAPI) (Cat No: D1306 Dilution Ratio: 1/200 US) damlatılıp 5 dk karanlık ortamda bekletildikten sonra dokular distile su ile yıkanıp lamel ile kapatıldı. İşlenen dokular floresans ataçmanlı mikroskopta incelendi (Zeiss Leica DM 1000). Kesitler bir floresan mikroskobu (ZEISS AXIO, Almanya) altında incelendi ve ZEISS Zen Görüntüleme Yazılımı programında değerlendirildi. Veriler nm olarak ifade edildi.¹³⁴

3.9. İstatistiksel Analizler

Çalışmanın verilerini değerlendirmeden önce verilerin normal dağılımlarını belirleme amacıyla Shapiro Wilk testi uygulandı. Varyansların homojenliği Leneve testiyle analiz edildi. Normal dağılan veriler için zaman içerisindeki gruplar arasındaki farkı belirlemek için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Zaman içerisindeki grup farklılıklarını belirlemek için Post Hoc Tukey testi uygulandı. Grupların zamanlar arasındaki farkı belirlemek için (15 ve 30. gün) bağımsız örneklem t-testi kullanıldı. Normal dağılmayan veriler için zaman içerisindeki gruplar arasındaki farkı belirlemek için Kruskal-Wallis testi ve çoklu karşılaştırma için Dunn testi kullanıldı. Grupların zamanlar arasındaki farkı belirlemek için (15 ve 30. gün) Mann Whitney U testi kullanıldı. Tüm veriler, SPSS yazılımı, sürüm 22.0 (IBM Software, Inc. Chicago, Amerika Birleşik Devletleri) için istatistiksel paket kullanılarak analiz edildi ve $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi. Veriler ortalama \pm standart sapma (SD) veya medyan (aralık) olarak sunuldu.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Muayene Bulguları

Kontrol grubundaki bir deneğin bacağına şişkinlik ve eksudasyon şekillendiği görüldü. Yapılan muayenede yara kenarlarının açıldığı ve yara hattında irin birikimi fark edildi.

Borik asit grubunda bir denekte postoperatif 2. günde dikişlerin açıldığı görüldü ve bu olguda yara hattı primer olarak tekrar kapatıldı. Hayvanlarda ilk 2 gün hariç topallık bulgusuna rastlanmadı.

4.2. Radyografik Muayene Bulguları

4.2.1. Postoperatif 15. Gün Bulguları

Kontrol grubunun 15. gününde alınan radyografisinde dört denekte kallus oluşumu gözlenmezken defekt alanı görünür halde, iki denekte ise kallus oluşumu gözlenirken defekt alanı görünür haldeydi.

LLLT grubunda bir denek hariç tüm deneklerde kallus oluşumu gözlenirken üç denekte köprü oluşumu mevcut olmasına rağmen defekt alanı görünür haldeydi.

BA grubunun 15. gün bulgularında tüm deneklerde kallus oluşumu izlendi.

BA+LLLT grubunda tüm deneklerde kallus oluşumu gözlenirken beş denekte yeniden şekillenme de gözlemlendi.

4.2.2. Postoperatif 30. Gün Bulguları

Kontrol grubu 30. gün radyografik değerlendirmesinde tüm deneklerde kallus oluşumu gözlemlenirken hiçbir denekte defekt tam olarak kapanmamıştı.

LLLT grubunda ise; bir denek hariç diğer tüm deneklerde kallus oluşumu gözlemlendi.

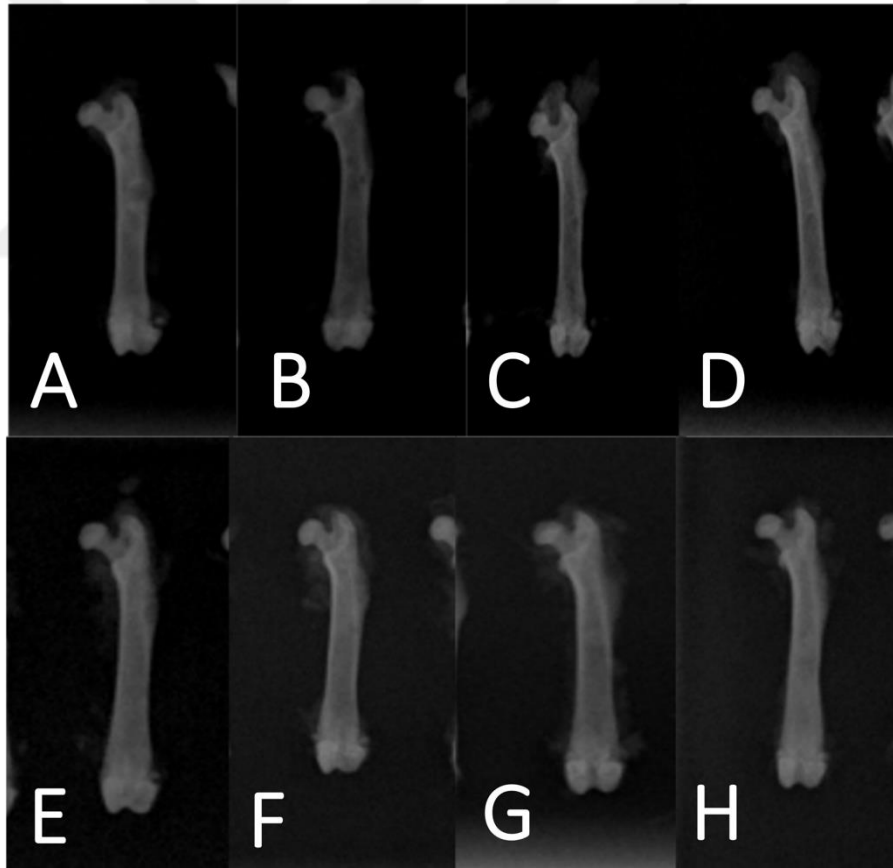
BA grubunda tüm deneklerde kallus oluşumu mevcutken 3 denekte yeniden şekillenme 4 denekte ise köprü oluşumunun mevcut olduğu gözlemlendi.

BA+LLLT grubunda tüm deneklerde kallus oluşumu mevcutken beş denekte remodelling şekillendiği gözlemlendi.

Tablo 4.1. Gruplara göre 15 ve 30. gün radyolojik skorlar

	15.gün	30.gün
Kontrol	1.62 (1.0-2.0) ^d	3.0 (2.0-3.25) ^b
LLLT	2.37 (1.5-3.0) ^c	2.5 (1.25-3.0) ^c
BA	2.5 (2.25-2.75) ^b	3.38 (2.75-3.75) ^a
BA+LLLT	3.5 (2.25-4.0) ^a	3.63 (2-4) ^a

p<0.01 ve a,b,c: Aynı sütundaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arası fark önemlidir.



Şekil 4.1. Gruplara göre 15. ve 30. gün radyografiler (A: Kontrol grubu 15. gün radyografisi, B: LLLT grubu 15. gün radyografisi, C: BA grubu 15. gün radyografisi, D: BA+LLLT grubu 15. gün radyografisi, E: Kontrol grubu 30. gün radyografisi, F: LLLT grubu 30. gün radyografisi, G: BA grubu 30. gün radyografisi, H: BA+LLLT grubu 30. gün radyografisi)

4.3. Biyokimyasal Bulgular

BA+LLLT grubunda kontrol grubuna kıyasla 15. ve 30. günlerde MDA düzeyi önemli oranda azalırken, aynı günlerde SOD, CAT ve ALP aktivitelerinde artış görüldü. Çalışmanın 15. ve 30. gününde yapılan biyokimyasal değerlendirmelerde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlendi ($p<0.001$).

Tablo 4.2. Gruplara göre 15 ve 30. gün MDA (mmol/L), SOD (U/mL), CAT (kU/L) ve ALP (U/L) düzeyleri

15.gün	MDA	SOD	CAT	ALP	p
Kontrol	35.51±1.08 ^{aA}	8.96±0.11 ^{cDE}	25.49±0.81 ^{cF}	107.07±1.54 ^{dE}	$p<0.001$
LLLT	25.11±0.59 ^{bB}	12.27±0.47 ^{bC}	26.31±0.74 ^{cF}	112.33±0.61 ^{cD}	$p<0.001$
BA	23.66±0.46 ^{bB}	12.47±0.69 ^{bC}	60.12±2.69 ^{bE}	115.93±0.68 ^{bC}	$p<0.001$
BA+LLLT	17.06±0.63 ^{cC}	15.99±0.33 ^{aB}	77.01±2.07 ^{aD}	120.98±0.37 ^{aB}	$p<0.001$
30.gün					
Kontrol	19.34±0.63 ^{aC}	8.17±0.84 ^{cE}	94.75±1.13 ^{cC}	108.33±1.32 ^{bDE}	$p<0.001$
LLLT	18.83±0.74 ^{aC}	11.35±0.72 ^{cD}	101.99±1.78 ^{cC}	112.41±0.66 ^{bCD}	$p<0.001$
BA	13.56±0.85 ^{bD}	18.39±0.93 ^{bB}	127.36±4.75 ^{bB}	122.82±1.64 ^{aAB}	$p<0.001$
BA+LLLT	12.01±0.47 ^{bD}	21.94±0.95 ^{aA}	195.17±7.84 ^{aA}	127.32±0.90 ^{aA}	$p<0.001$

a,b,c: Aynı sütundaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arası fark önemlidir.

A,B,C,D,E: Aynı sütundaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arası fark önemlidir.

4.4 Histopatolojik Bulgular

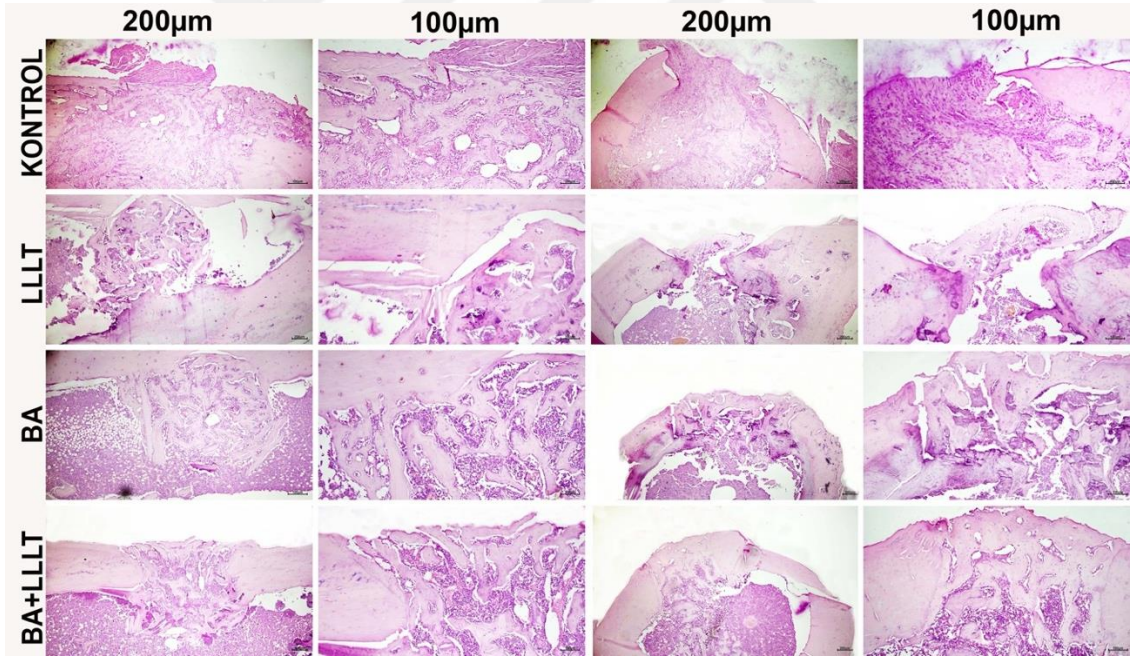
4.4.1. 15. Gün Histopatolojik Bulgular

Kontrol Grubu: Femoral defekt bölgesinde, fibröz kallusun şekillendiği, şiddetli düzeyde inflamasyonun oluştuğu, osteoblastik aktivitenin başladığı gözlemlendiğinden seviye 1 olarak kabul edildi (Şekil 4.2).

LLLT Grubu: Femur dokularında defekt oluşturulan bölgede, şiddetli düzeyde fibröz kallus, defekte yakın kısımlardaki kondrositlerde orta düzeyde artış ve inflamasyon, hafif düzeyde osteoblastik aktivite meydana geldiği gözlemlendiğinden seviye 2 olarak kabul edildi (Şekil 4.2).

BA Grubu: Femur dokularında defekt oluşturulan bölgede, sıkı bir bağdoku oluşumu ve bu fibröz dokuların yerini kondrositlerin aldığı şiddetli düzeyde fibrokartilajinöz kallus şekillendiği gözlemlendi. Hafif düzeyde inflamasyon ve şiddetli düzeyde osteoblastik aktivite gözlemlendiğinden seviye 3 olarak kabul edildi (Şekil 4.2). Kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p<0.05$) tespit edildi.

BA+LLLT Grubu: Femur dokularında defekt oluşturulan bölgede, fibröz kallusun yerini çoğunlukla kondrositlerin aldığı, kemik trabeküllerinin şekillendiği, çok şiddetli düzeyde osteoblastik aktivitenin bulunduğu gözlemlendiğinden seviye 4 olarak kabul edildi (Şekil 4.2). Kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p<0.05$) tespit edildi.



Şekil 4.2. Femur dokusu, defekt oluşumunun 15. günü, transversal ve longitudinal kesitler, H&E, Bar:100-200µm

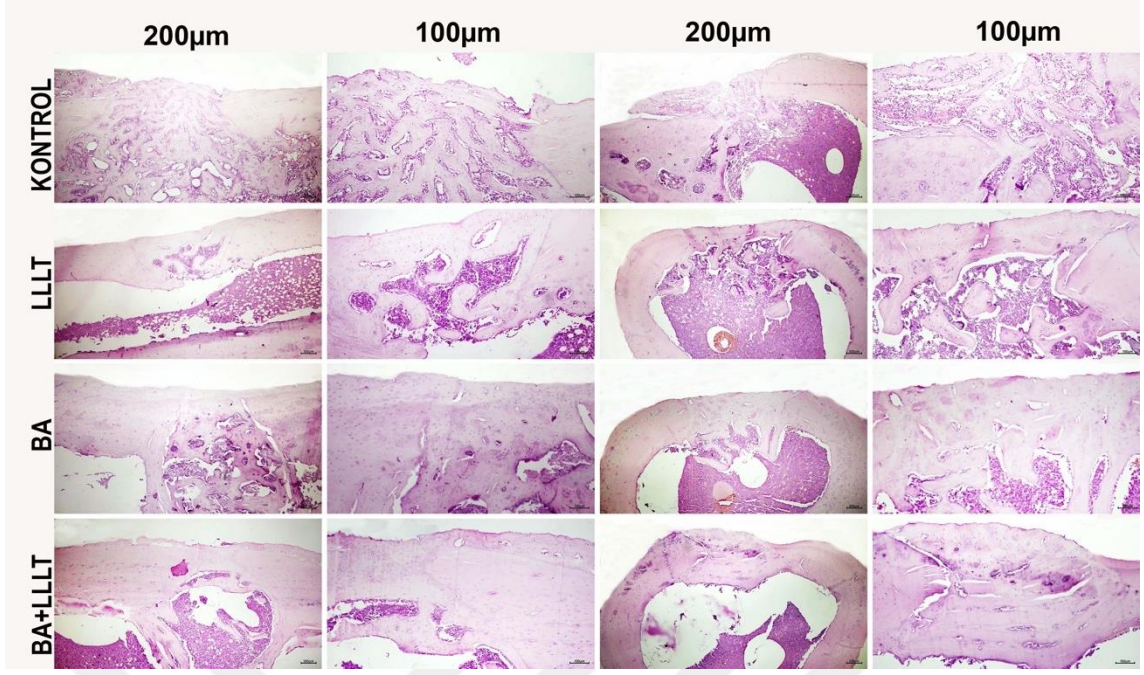
4.4.2. 30. Gün Histopatolojik Bulgular

Kontrol Grubu: Femur dokularında defekt oluşturulan bölgede, defektin kapanmak üzere olduğu, kondrositlerin arttığı fibröz dokunun azaldığı gözleendiğinden seviye 1 olarak kabul edildi (Şekil 4.3).

LLLT Grubu: Femur dokularında defekt oluşturulan bölgede, kemik defektinin kapandığı, orta düzeyde osteoblastik aktivitenin geliştiğı, remodelling sürecinin başladığı gözleendiğinden seviye 2 olarak kabul edildi (Şekil 4.3).

BA Grubu: Femur dokularında defekt oluşturulan bölgede, defektin kapandığı, şiddetli düzeyde osteoblastik ve osteoklastik aktivite, şiddetli düzeyde kemik iliğı ve kemik trabekülü oluşumları gözleendiğinden seviye 3 olarak kabul edildi (Şekil 4.3). Kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p<0.05$) tespit edildi.

BA+LLLT Grubu: Femur dokularında defekt oluşturulan bölgede, defektin tamamlandığı, osteoblastik ve osteoklastik aktivitenin çok şiddetli düzeyde olduğu, şiddetli düzeyde kemik iliğı oluşumu gözleendiğinden seviye 4 olarak kabul edildi (Şekil 4.3). Kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p<0.05$) tespit edildi.



Şekil 4.3. Femur dokusu, defekt oluşumunun 30. günü, transversal ve longitudinal kesitler, H&E, Bar:100-200µm.

4.5. İmmüno Floresan ve İmmünohistokimyasal Bulgular

4.5.1. 15. Gün İmmüno Floresan ve İmmünohistokimyasal Bulgular

Kontrol Grubu: Femur dokularında defekt oluşturulan bölgede, osteoblastlarda hafif düzeyde sitoplazmik BMP-2 ekspresyonu, yangı hücrelerinde damar çevrelerinde hafif düzeyde TNF- α ekspresyonları gözlemlendi (Şekil 4.4).

LLL Grubu: Femur dokularında defekt oluşturulan bölgede, osteoblastlarda orta düzeyde BMP-2 ekspresyonu, yangı hücrelerinde, damar çevrelerinde orta düzeyde TNF- α ekspresyonları belirlendi (Şekil 4.4).

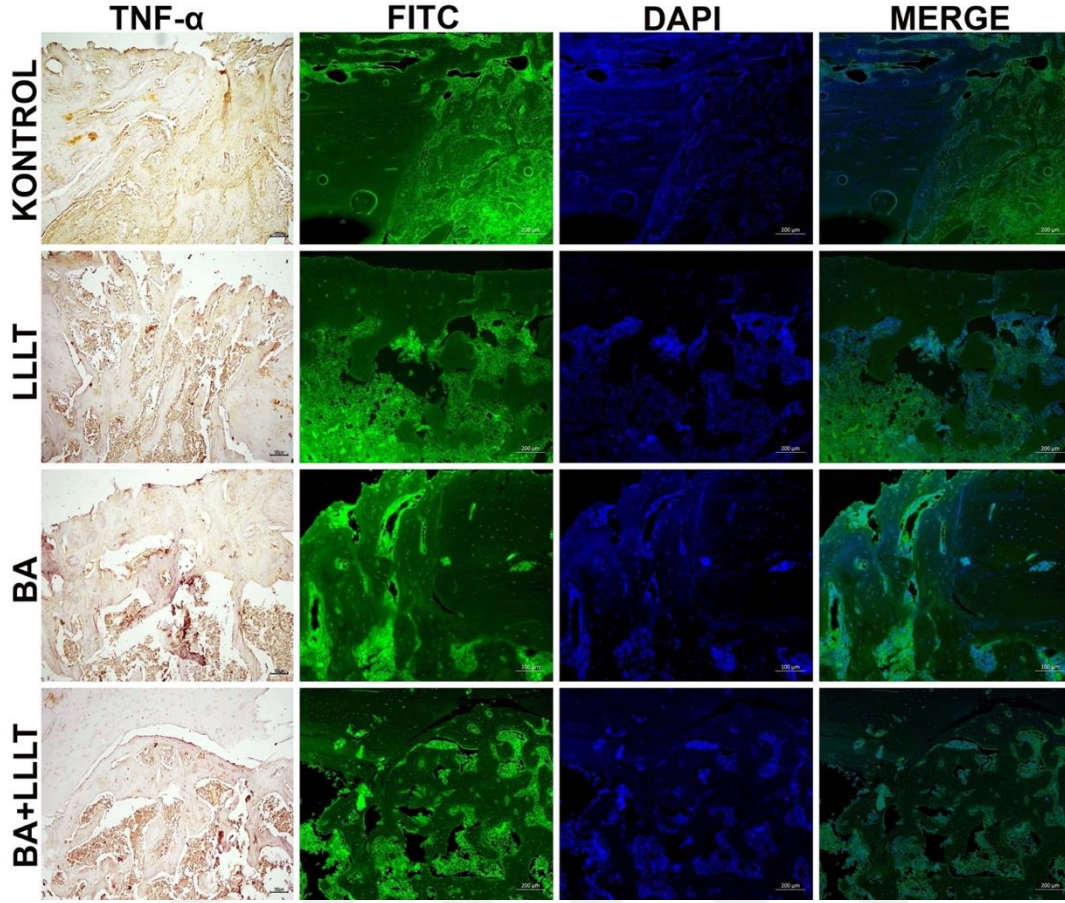
BA Grubu: Femur dokularında defekt oluşturulan bölgede, osteoblastlarda şiddetli düzeyde BMP-2 ekspresyonu, damar çevrelerinde ve yangı hücrelerinin sitoplazmalarında orta düzeyde TNF- α ekspresyonları görüldü (Şekil 4.4). Kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p < 0.05$) tespit edildi.

BA+LLLT Grubu: Femur dokularında defekt oluşturulan bölgede, osteoblastlarda çok şiddetli düzeyde BMP-2 ekspresyonu, yangı hücrelerinin sitoplazmalarında ve damar çevrelerinde şiddetli düzeyde TNF- α ekspresyonları gözlemlendi (Şekil 4.4). Kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p<0.05$) tespit edildi. İmmünohistokimyasal ve immünofloresan bulguların istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.3'te verildi.

Tablo 4.3. Femur dokularında defekt oluşumunun 15. ve 30. gününde immünohistokimyasal ve immünofloresan bulguların istatistiksel analiz sonuçları

15. gün	TNF- α (nm)	BMP-2 (nm)
Kontrol	19.63 \pm 1.57 ^a	20.74 \pm 4.36 ^a
LLLT	40.11 \pm 3.15 ^b	39.31 \pm 4.13 ^b
BA	39.52 \pm 4.25 ^b	60.14 \pm 3.28 ^c
BA+LLLT	60.27 \pm 5.21 ^c	79.11 \pm 4.34 ^d
30. gün		
Kontrol	65.27 \pm 3.52 ^a	20.31 \pm 4.48 ^a
LLLT	41.43 \pm 5.19 ^b	39.18 \pm 4.92 ^b
BA	40.98 \pm 6.22 ^a	58.91 \pm 5.37 ^c
BA+LLLT	25.56 \pm 2.35 ^c	79.11 \pm 3.61 ^d

(a,b,c,d; Aynı sütündeki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farkı ifade etmektedir)



Şekil 4.4. Femur dokusu, defekt oluşumunun 15. günü, TNF- α ekspresyonları, IHC-P, BMP-2 ekspresyonları (FITC), IF, Bar:200 μ m.

4.5.2. 30. Gün İmmüno Floresan ve İmmünohistokimyasal Bulgular

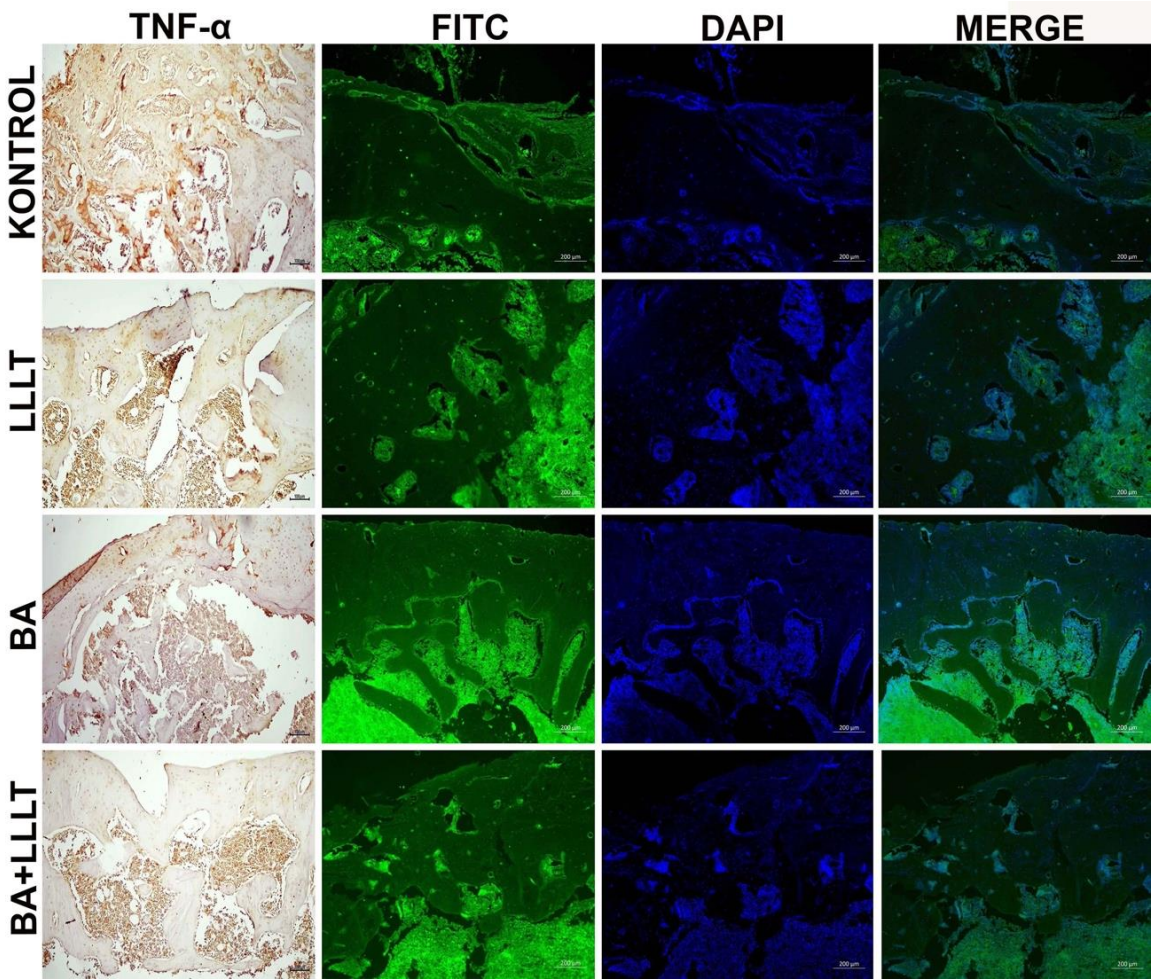
Kontrol Grubu: Femur dokularında defekt oluşturulan bölgede, osteoblastlarda hafif düzeyde BMP-2 ekspresyonu, damar çevrelerinde, inflamatuvar hücrelerin sitoplazmasında şiddetli düzeyde TNF- α ekspresyonları gözlemlendi (Şekil 4.5).

LLLT Grubu: Femur dokularında defekt oluşturulan bölgede, osteoblastlarda orta düzeyde BMP-2 ekspresyonu, inflamatuvar hücrelerin sitoplazmasında, damar çevrelerinde orta düzeyde TNF- α ekspresyonları belirlendi (Şekil 4.5).

BA Grubu: Femur dokularında defekt oluşturulan bölgede, osteoblastlarda şiddetli düzeyde BMP-2 ekspresyonu, damar çevrelerinde ve yangı hücrelerinde orta

düzeyde TNF- α ekspresyonları tespit edildi (Şekil 4.5). Kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p<0.05$) tespit edildi.

BA+LLLT Grubu: Femur dokularında defekt oluşturulan bölgede, osteoblastlarda çok şiddetli düzeyde BMP-2 ekspresyonu, damar çevrelerinde ve inflamatuvar hücrelerin sitoplazmalarında hafif düzeyde TNF- α ekspresyonları gözlemlendi (Şekil 4.5). Kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p<0.05$) tespit edildi.



Şekil 4.5. Femur dokusu, defekt oluşumunun 30. günü, TNF- α ekspresyonları, IHC-P, BMP-2 ekspresyonları (FITC), IF, Bar:200 μ m.

5. TARTIŞMA

Bu çalışma sonucunda, unikortikal femoral defekt oluşturulan ratlarda BA'nın tek başına ve düşük seviyeli lazer terapisiyle birlikte kullanılmasının kırık iyileşmesini hızlandırdığı bulundu. Yapılan çalışmalarda LLLT'nin kallus hacmini ve kemik mineral yoğunluğunu artırdığı,^{136,137} osteositlerin proliferasyonunu hızlandırdığı, osteoblastik aktiviteyi, vaskülarizasyonu,¹³⁸⁻¹⁴⁰ kollajen liflerinin organizasyonunu ve adenozin trifosfat seviyelerini artırdığı bildirilmiştir.¹⁴¹ LLLT'nin kolay erişilebilir olması, eş zamanlı ilaç uygulaması gerektirmemesi, doku için güvenli olması, ensizyon veya cerrahi implantlar üzerinden uygulanabilmesi avantajları olarak sayılabilir.¹⁴² Önceki araştırmalarda bor bileşenlerinin kırık iyileşmesi üzerine pozitif etkileri olduğu vurgulanmıştır. Kırık iyileşmesinde greft materyallerinin (otojenik, koral, polietilen hidroksiapatit kompoziti, trombosit zengin fibrin, deve kuşu yumurtası, demineralize kemik matriksi) kullanıldığı ve bu maddelerin etkinliğinin LLLT ile artırıldığını gösteren birçok araştırma makalesi de mevcuttur.¹⁴³⁻¹⁴⁶

Hayvan modelleri, ortopedi ve travma araştırmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Etik sorunlar nedeniyle, araştırmacılar yeni in vitro sistemler kurarak hayvan modellerini değiştirmeye odaklanmıştır.¹⁴⁷ Ratlar daha düşük maliyet (satın alma, yetiştirme ve barınma), kolay kullanım ve hayvan sayısını artırma fizibilitesi nedeniyle en yaygın olarak kullanılan hayvanlardır.^{148,149} Küçük hayvan modelleri, özellikle fareler ve ratlar, kısa ömürleri ve gelişmiş metabolizmaları nedeniyle kolay kullanım, daha düşük maliyet ve hızlı deney gibi çeşitli avantajlar sergiler. Küçük hayvanlar, yeni tedavi seçeneklerinin yanı sıra patofizyoloji ve patogenezi incelemek için ideal modeller olarak hizmet ederler. Sınırlı yaşam süreleri nedeniyle kemirgenler, yaşa bağlı kemik metabolizması ve rejeneratif çalışmalar için olumlu bir şekilde kullanıldığından^{150,151} sunulan çalışma ratlar üzerinde gerçekleştirildi.

Farelerde^{119,152} ve ratlarda^{153,154} kalvarial defektler gibi kritik boyut defektleri oluşturulabilir. Kafatasının yeri ve çevresi, kemik defektinin değerlendirilmesi için birtakım sınırlamalar sunar. Kafatasındaki yerel kan akışı doğal olarak azdır ve kafatası, yükün (ağırlık taşıma) minimum olduğu trabeküler kemikten oluşur.¹⁵² Bu nedenle, kemik iyileşmesinin iki ana faktörü olan anjiyogenez ve mekanik yüklemenin etkisinin değerlendirilmesi söz konusu olduğunda, kalvarial defekt modeli yetersiz kalmaktadır. Farelerde, bu modelin duramater'in küçük boyutu ve kırılabilirliği nedeniyle bazı dezavantajları vardır.¹⁵² Kritik boyut defektleri ve segmental defektler, özellikle ağırlık taşıyan bölgelerde bulduklarında immobilizasyon ve stabilizasyon sağlamak için stabilizatör veya fiksator kullanımı gerektirir. İnternal ve external fiksatorler, yumuşak doku veya damar yaralanmasına neden olabilir ve normal hareketi engelleyerek iyileşme sürecini uzatabilir.¹⁵⁵ Bu komplikasyonlardan kaçınmak için sunulan çalışmada fiksatorsüz defekt modeli olan unikortikal defekt oluşturuldu.

Yanmaz ve ark.¹⁵⁶ femur orta diyafizinde deneysel olarak 1 mm çapında defekt oluşturarak LLLT'nin kırık iyileşmesi üzerine olan etkisini araştırmıştır. Cottrell ve ark.¹⁵⁷ ise femur distalinde 2.7 mm çapında defekt oluşturarak lipoksigenazın kırık iyileşmesi üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Barbosa ve ark.¹⁵⁸ femur diyafizinde 2.8 mm'lik defekt oluşturarak düşük seviyeli lazer terapisinin kemik iyileşmesi üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Yanmaz ve ark.¹⁵⁶ 1 mm dril ile oluşturulan defekti limitasyon olarak kabul ederek daha kalın dril ucunun bilgisayarlı tomografi ve radyografik değerlendirmeler için daha uygun olduğunu belirtmiştir. Barbosa ve ark.¹⁵⁸ 2.8 mm'lik drilin sıçan femurunun radyografik değerlendirmesi için uygun olduğunu belirttiğinden¹⁵⁸ sunulan çalışmada 2.8 mm çapında femoral defekt oluşturuldu.

Bor vücuttan kısa sürede atıldığı için toksik etkisini ancak yüksek dozlarda alındığında gösterir. Tek doz olarak alındığında ölümcül olma olasılığı düşüktür. Dolaşım

bozuklukları ve böbrek yetmezliği gibi rahatsızlıklar varsa, yüksek doz B alındıktan birkaç gün sonra ölüm meydana gelebileceği bildirilmiştir.¹⁵⁹ Ratlarda akut oral B toksik dozu 3.5-4 g/kg'dır. Erkek Sprague-Dawley ırkı ratlarda 3.45 g/kg, dişi ratlarda ise 4.08 g/kg BA alımında toksite oluşur. BA toksikasyonunda, depresyon, ataksi, kasılmalar ve ölüm görülebilir.¹⁶⁰ Hakkı ve ark.¹⁶¹ düşük dozlarda B kullanımının kemik dokusu için başarılı bir tedavi olduğunu ve son yıllarda B'nin hücrenel veya sistemik toksisitesine dair net bir kanıt bulunmadığını bildirmiştir. Ratlarda oral toksik doz ile ilgili birçok çalışma olmasına rağmen,^{160,162-164} lokal BA uygulaması için optimal doz mevcut değildir. Bu çalışmada defektin hacmi göz önüne alınarak toksik oral doz limitlerinin altında bir doz olan 40 mg/kg kullandı.

Düşük seviyeli lazer terapisinin dalga boyuna, doza ve lokal duruma bağlı olarak yumuşak dokular üzerinde antiinflamatuvar etkisi olduğu, bu nedenle ağrıyı azalttığı ve hücrelerin proliferasyonunu uyararak iyileşme sürecini hızlandırdığı bildirilmiştir.¹⁶⁵ LLLT'nin kemik kırıklarında osteoblastik aktiviteyi, kan damarını ve mineralize kemik matrisini arttırdığı bulunmuştur.¹⁶⁶ Sella ve ark.¹⁶⁷ rat non-union modelinde LLLT'nin kırık iyileşmesini hızlandırmada etkili olduğunu ve kemiğin yeniden şekillenmesinin tüm aşamalarını kısaltarak bu onarım sürecinde bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Pretel ve ark.¹⁶⁸ LLLT'nin doğrudan hasarlı dokuya kullanımının, kemiğin yeniden şekillenmesi üzerine biyostimüle edici bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. LLLT'nin dalga boyu ve uygulama süresi gibi birçok faktör halen araştırılmaktadır.¹⁶⁹ Kortikal defektlerde farklı dozlarda LLLT kullanılabilir.¹³⁰ Literatürde farklı yazarlar tarafından kemik iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalarda farklı dalga boylarında, kuvvetlerde ve enerji yoğunluklarında LLLT kullanımına rastlanmaktadır. Bu farklılıklar nedeniyle ideal bir doz standardizasyonu belirlemek mümkün değildir.¹⁷⁰⁻¹⁷² Ayrıca hücre büyüme evresi, sıklığı ve sayısı gibi çeşitli faktörler de LLLT'yi etkiler.¹⁷² Lazer tedavisinde kullanılan

enerji yoğunluğu yazarlar tarafından baştan sona tartışılmıştır,^{173,174} ancak ideal fotobiyomodülasyonu elde etmek için uygulanan dozların standardizasyonu yoktur.^{175,176} Santos ve ark.¹⁷⁰ 4.0 J/cm² lazer terapisinin kemik rejenerasyonunu hızlandırdığı sonucuna vardığından bu çalışmada Santos ve ark.¹⁷⁰ referans alınarak lazer dozu 4.0 J/cm² olarak belirlendi.

Kemiğin yeniden şekillenme süreci aylarca sürer ve sonuçta normal kemik yapısının yenilenmesiyle sonuçlanır.¹⁷⁷⁻¹⁸⁰ Dincel ve ark.¹⁸¹ farklı fosfodiesteraz inhibitörlerinin rat femur kırık iyileşmesi üzerindeki biyomekanik, histolojik ve radyolojik etkilerini değerlendirirken 15. ve 30. günlerde ötenazi gerçekleştirilmiştir. Diwan ve ark.¹⁸² nitrik oksitin kırık iyileşmesi üzerine etkilerini değerlendirirken ötenazi için 4,7,15 ve 30. günleri kullanmışlardır.¹⁸² Bu çalışmada, literatürdeki diğer çalışmalar¹⁸³⁻¹⁸⁷ ve kırık iyileşme süreci göz önünde bulundurularak deneklere 15. ve 30. günlerde ötenazi uygulandı.

Geçmişten günümüze kemik onarımını değerlendirmek için farklı görüntüleme araçları kullanılmıştır.¹⁸⁸⁻¹⁹⁰ Daha ince dilimler ve yüksek kaliteli rekonstrüksiyonlar oluşturma yeteneğindeki gelişmelerle birlikte bilgisayarlı tomografi (BT), kırık iyileşmesinin değerlendirilmesinde yararlı bir teknik olarak ortaya çıkmıştır. Kemik gücünü değerlendirmek için invaziv manuel testler kullanan hayvan çalışmaları, BT bulguları ile iyi bir korelasyon göstermiştir.^{191,192} Grigoryan ve ark.¹⁹³ kallus oluşumunu radyografilerden daha erken tespit ettiğini göstererek BT'nin faydasını doğrulamıştır. BT daha yüksek maliyeti ve daha yüksek radyasyon profili nedeniyle kırık iyileşmesinin değerlendirilmesinde rutin olarak kullanılmamaktadır.¹⁹⁴ Ayrıca metal implantların artefaktlar oluşturması, görüntü ve rekonstrüksiyon kalitesini düşürmeside başka bir dezavantajdır.¹⁹⁵ Düşük maliyeti, yaygın kullanımı ve nispeten düşük radyasyon profili nedeniyle radyografi, klasik olarak kırık iyileşmesinin değerlendirilmesinde en çok

kullanılan teknik olmuştur. Dijital radyografik inceleme, mineralize dokuları değerlendirmek için çok önemli bir araçtır ve çalışmalar, bu tekniğin kemik onarımında görselleştirme ve değerlendirmeye izin verdiğini gösterdiğinden¹⁹⁶ kırık iyileşmesinin değerlendirilmesinde radyografi tercih edildi.

Radyografik skorlama sistemlerinin geliştirilmesi ve bu sistemlerin belirli belirteçlerle tanımlanması, vakalara yaklaşımın standartlaştırmasına yardımcı olmuştur.¹⁹⁷ Femur kırıklarında iyileşmenin değerlendirilmesi için evrensel olarak kabul edilmiş araçlar yoktur.¹⁹⁸ Kortikal devamlılık, kırık hattı görünürlüğünün kaybı ve kallus miktarı, kırık iyileşmesi ile ilgili radyolojik kararlar alınmasında yaygın olarak kullanılmaktadır.¹⁹⁹ Kırık iyileşmesini ve kaynamayı tanımlama yeteneği, tedavinin başarısını belirlemede ve iyileşme olup olmadığını tahmin etmede önemlidir.²⁰⁰ Tibia kırıkları için radyografik kaynama skalası (RUST) yakın zamanda tibia shaft kırıklarının intramedüller çivileme sonrası iyileşmesini değerlendirmek için geliştirilmiştir.^{201,202} Her bir tibial korteks (anterior, posterior, medial ve lateral) için sayısal bir değer kullanan RUST, her ikisi de gözlemciler arasında en güvenilir kemik iyileşmesi belirtileri olarak bulunan kallus oluşumu ve kırık hattı görünürlüğünü kırık iyileşmesini değerlendirmek için kullanır.²⁰³ RUST puanının geçerlilik ve güvenilirliği daha önceki çalışmalarda değerlendirilmiştir.^{202,204} Ancak bu radyografik skorlama sistemi, kırık iyileşmesini tanımlamak için kesin bir sonuç vermez. Bunun yerine, RUST skoru, kallus oluşumu meydana geldikten sonra kırık hattının görünür olup olmadığına dair kararı içerir.²⁰⁰ Kemik yeniden şekillenmesi ile kaybolan bir kırık hattı, kallusun varlığı veya yokluğu ile ilgili kortikal değerlendirmede daha fazla alt bölünmeye yol açmıştır.²⁰⁵ Radyografik iyileşmedeki bu ilerlemeyi daha doğru bir şekilde tanımlamak için modifiye RUST (mRUST) skoru geliştirilmiştir.²⁰⁰ Standart RUST skoruna ek olarak, mRUST skoru kallus oluşumu ve köprülü kallus oluşumu¹⁹⁸ olarak alt bölümlerle ayrılır. mRUST skoru,

kallus oluşumu ve köprü oluşumu aşaması arasında daha geniş bir skor aralığı sunmak için geliştirilmiştir.¹⁷⁶ Bu nedenle çoklu kortekslerde köprülenmenin gözlenmesi olarak tanımlanan kırık kaynaması ile ilgili karar vermede mRUST skoru RUST skoruna göre daha avantajlıdır.²⁰⁶ Kallus oluşumundan kortekslerin yeniden şekillenmesine kadar olan iyileşme evresini değerlendirmek için mRUST skorunda yorumcular arasındaki anlaşma, RUST skoruna göre daha yüksektir.²⁰⁵ RUST ve mRUST skoru, tibia kırıklarında kırık kaynamasını değerlendirmek için geliştirilmiş olsalar da, farklı anatomik bölgelerde farklı tespit yöntemleri ve farklı kırık tipleri veya osteotomi koşulları için kemik kaynamasının değerlendirilmesi için de güvenilir bir şekilde kullanılabilirdiğinden^{200,207-210} sunulan çalışmada 30 günlük postoperatif dönemi kapsayacak şekilde radyografik değerlendirmede mRUST skorlama sistemi tercih edildi. Postoperatif 15 ve 30. günlerde yapılan radyolojik skorlamada en iyi skorun BA+LLLT grubunda görülmesi bu grupta iyileşmenin daha hızlı şekillenmesiyle ilişkili olabilir.

Kemiklerde, ALP esas olarak iskeletin mineralizasyonundan sorumludur ve kemik oluşumu ile ilişkilidir. Büyüme dönemlerinin yanı sıra, osteoblastlar tarafından sentezlenen ALP, vücutta aktif kemik oluşumu meydana geldiğinde daha yüksek serum seviyelerine ulaşır. Kemiğe özgü ALP kadar spesifik olmasada, toplam ALP seviyeleri kırık iyileşmesi sırasında kemik oluşumunun göstergesi olduğu kanıtlanmıştır.²¹¹ ALP, mevcut çalışmada kemik yeniden şekillenmesinde bir belirteç olarak değerlendirildi. Kontrol grubunda ALP aktivitesinde azalma tespit edilirken 15 ve 30. günler kendi aralarında ve günler arasında karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre BA+LLLT grubunda ALP aktivitesinde yükselme görülmesi BA+LLLT grubundaki kırık iyileşmenin diğer gruplara kıyasla daha hızlı olması kaynaklı olabilir.

Oksidatif stres, toksik reaktif oksijen türevi (ROS) bileşiklerinin ara ürünlerinin seviyesinin, konağın endojen antioksidan savunmasını yendiği bir durum olarak

tanımlanır. Reaktif oksijen ara ürünleri, hücrel proteinlere ve nükleik asitlere zarar vererek hücre zarının tahrip olmasına yol açan lipid peroksidasyonunu indükleyerek doğrudan hücrel hasara neden olur.²¹² Lipid peroksidasyonu, hücrel hasarın bir mekanizmasıdır; hücrelerde ve dokularda oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılır. En yaygın bulunan karbonil bileşiği ise MDA'dır. Hücreler ROS'ların zararlı etkilerinden korunabilmek için enzimatik ve non-enzimatik savunma sistemlerini kullanırlar. Enzimatik (SOD, glutasyon peroksidaz (GSH-Px), CAT) veya non-enzimatik savunma sistemleri (glutasyon (GSH), α -tokoferol, karotenoidler ve C-vitamini) kullanılarak serbest oksijen radikalleri uzaklaştırılabilir.^{213,214} Bu nedenle, MDA ölçümü, lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. SOD ve CAT, serbest oksijen radikallerini temizleyen ve dolayısıyla bu radikallerle ilişkili toksisiteyi azaltan başlıca enzimlerdir.²¹⁵ Lipid peroksidasyon ürünü olan MDA hücre ve dokularda oksidatif stresin bir göstergesi olduğundan çalışmamızda kırık iyileşme sürecinde MDA düzeyleri ve enzimatik savunma sistemlerinden olan SOD ve CAT aktiviteleri değerlendirildi. Kontrol grubunda MDA düzeyindeki yükselme unikortikal kemik defektine bağlı oksidatif stresin artarak MDA düzeyinde yükselmeye sebep olduğunu düşündürdü. BA ve BA+LLLT gruplarında MDA düzeyinde düşüş görülmesi ise tedavinin oksidatif stresi azaltması ve buna bağlı olarak MDA düzeyini düşürdüğünü göstermektedir.

Kontrol grubunda tüm SOD ve CAT aktivitelerinde azalış tespit edilmesi oksidatif stresin çalışma boyunca devam etmesi kaynaklı olabilir. BA ve LLLT uygulaması sonucunda SOD ve CAT aktivitelerinde artış görülmesi oksidatif stresin baskılanmasıyla ilişkili olması muhtemeldir. Daha önce yapılan çalışmalarda kırık iyileşmesi sırasında oksidatif stres meydana geldiği ve ROS'un kırık iyileşmesini olumsuz etkileyen faktörlerden biri olduğu gösterilmiştir.¹⁷¹⁻¹⁷³ Göktürk ve ark.¹⁷³ ROS'un kırık iyileşmesi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, kırık sonrası yapılan muayenelerde artan

radikal üretiminin kırık iyileşmesini bozduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle kırık iyileşmesinde erken dönemler son derece önemlidir.^{172,173} Dolayısıyla BA ve LLLT uygulamasının SOD ve CAT aktivitesini artırarak antioksidan enzim aktivitesini düzenlediği, ROS'un zararlı etkilerini baskıladığı ve kırık iyileşmesine olumlu etki yaptığı söylenebilir.

Hematoksilen-eosin boyama yöntemi patolojide rutin kullanılan bir metottur. Bu metotla kemik dokuda meydana gelen rejeneratif değişiklikler, iyileşme skalaları, yangısal olaylar, osteoblastik ve osteoklastik aktiviteler tespit edilir.²¹⁶ Yapılan çalışmada materyal metotta ifade edildiği gibi 15. ve 30. günlerde kemik dokular dekalsifiye edildikten sonra hematoksilen-eosin boyama yöntemi ile boyanan kemik dokularında osteoblastik aktivite, inflamasyon, fibröz kallus ve rejenerasyon yönünden değerlendirilerek gruplar arasındaki farklar skorlandı.

Kusuzaki ve ark.²¹⁷ kemik defekti oluşturarak kemik onarımındaki kanaliküllerin gelişimini araştırdıkları çalışmada defekt oluşturulmasını takiben 3. günde defekt bölgesinde fibroblastlar ve lamellar kemik osteositlerini gözlemişlerdir. Defekt oluşumunu takiben 14. günde lamellar kemikte bulunan osteositlerin kemik kanaliküllerini geliştirdikleri ve osteositlerin hala görülebilir olduğunu bildirmişlerdir.

Taguchi ve ark.²¹⁸ yeşil flüoresanın kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmada yapılan hematoksilen-eosin boyamada femur kırığından bir hafta sonraki kesitlerde kallus oluşumunun gözlenmediğini, kırık oluşumundan üç hafta sonra boyanan kesitlerde ise kırık bölgesinin periferinde erken intramembranöz ossifikasyon gösteren dokuma kemik oluşumunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda 3. haftada kırık çevresinde birçok inflamatuvar hücre görüldüğünü 5. haftada ise yeni kemik iliği oluşumunun şekillendiğini bildirmişlerdir.

Kemik onarımında vaskülarizasyonun iyi olduğu bölgelerde bulunan hücreler osteoblastlara farklılaşarak adım adım trabekülasyonu başlatır.²¹⁹ Bu çalışmada tüm zamanlarda BA ve BA+LLLT grubundaki şiddetli düzeyde gözlenen osteoblastik aktivitenin sebebinin trabekülasyona bağlı olduğu düşünüldü.

Kemik iyileşmesi, sonunda remodellinge yol açan ve rejeneratif iyileşme sürecini başlatan inflamatuvar bir reaksiyonla başlar. Bu erken reaksiyonun dengesiz bir bağışıklık tepkisini, iyileşme sürecini ve kemik iyileşmesini geciktirerek başarılı iyileşme sonucunu tehlikeye atarak bozduğu varsayılmaktadır.²²⁰ Kemik dokudaki inflamasyon kontrol grubunda şiddetli seyrederken BA+LLLT grubunda inflamasyon gözlenmemesinin sebebinin BA+LLLT grubundaki iyileşmenin kontrol grubuna göre daha iyi olması ve buna bağlı olarak yangının azalmasıyla ilgili olabilir.

Osteoklastların kallus ve remodelling fazına katıldıkları bilinmektedir.²²¹ 30. günde BA grubunda şiddetli, BA+LLLT grubunda çok şiddetli osteoklastik aktivite gözlenmesinin sebebi BA ve BA+LLLT grubunda remodelling fazının başlamasıyla ilişkili olabilir.

Kırık iyileşmesinde 1-3. günler arasında akut inflamasyon, mezenşimal göç ve proliferasyona bağlı olarak TNF- α yükselir. 3-7. günlerde kartilaj üretimi nedeniyle normal seviyelere inerken 7-14. günlerde hipertrofik kondrosit fenomeni ve anjiyogenezin etkisiyle normal seviyede veya hafif yüksek seyrederek. 14-28. günler arasında osteoblast farklılaşmasından dolayı seviyesi yüksektir. 28. gün ve sonrasında osteoklastogenez sebebiyle yüksek veya normal seviyelerine geri dönmeye başlar.²²²

Bu çalışmada 15. günde TNF- α ekspresyonları BA ve BA+LLLT grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) düzeyde yüksek iken 30. günde düşük olarak bulundu. TNF- α 'nın kemik üzerindeki anjiogenezise, mezenşimal hücre göçüne, osteoblastların proliferasyonu ve osteoblast farklılaşmasına katkı

sağlaması göz önünde bulundurulduğunda²²² sunulan çalışmanın 15. günündeki TNF- α ekspresyon yüksekliğinin osteoblastik aktivite ve yangının yüksek olmasıyla ilişkili olabileceği düşünüldü. 30. günde gözlenen ekspresyon düşüklüğünün sebebinin ise BA ve BA+LLLT grubunda remodelling fazının çoğunluğunun gerçekleşmiş olmasıyla bağlantılı olabileceği düşünülmektedir.

Bone Morfogenetik Protein-2, kemik büyümesini ve oluşumunu indükleyebilen, osteoblast ve kondrosit proliferasyonunu arttırabilen, hücre kemotaksisini, proliferasyonunu ve osteojenik farklılaşmaya teşvik eden osteoindüktif bir ajan olarak tanımlanmaktadır.²²³⁻²²⁵ Deneyin 15. ve 30. günlerinde BA ve BA+LLLT osteoblastlardaki BMP-2 ekspresyonu, kontrol grubuna kıyasla yüksek bulundu. Sunulan çalışmada BA grubundaki şiddetli düzeyde BMP-2 ekspresyonunun sebebinin yüksek düzeydeki osteoblastik aktiviteyle ilişkili olabileceği, BA+LLLT grubundaki çok şiddetli düzeyde BMP-2 ekspresyonunun sebebinin ise BA ile LLLT'nin beraber kullanımının kemik rejenerasyonu üzerine pozitif etkilerine bağlı olabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Doğada yaklaşık 230 çeşit bor minerali bulunmaktadır. BA medikal sahada en sık kullanılan bor bileşenidir. BA'nın kemik metabolizmasını, Ca, Mg ve D vitamini ile etkileşime girdiği aynı zamanda kemiklerin biyomekanik özelliklerini arttırdığı son yapılan çalışmalara ortaya konmuştur.

Borik asit, kemik büyümesi ve onarımına yardımcı olur ayrıca preosteoblastların proliferasyonunu ve osteoblastik aktiviteyi hızlandırır. LLLT osteoblastik aktiviteyi, vaskülarizasyonu ve kollajen liflerinin organizasyonunu artırır. LLLT'nin avantajları, kolay erişilebilir olması, aynı anda ilaç uygulaması gerektirmemesi ve doku için güvenli olmasıdır.

Borik asit ve BA+LLLT gruplarında MDA düzeyinin azaldığı SOD, CAT ve ALP aktivitelerinin arttığı, açılan defektin kapandığı, osteoblastik aktivitenin hızlandığı, BMP-2 ekspresyon düzeylerinin arttığı görülmüştür. Böylece BA ve LLLT'nin birlikte kullanılmasıyla kırık iyileşmesi hızlanmaktadır. Ancak birlikte kullanımının faydalarını daha iyi kanıtlamak ve optimal BA dozunu belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Bigham-Sadegh A, Oryan A. Basic concepts regarding fracture healing and the current options and future directions in managing bone fractures. *Int Wound J* 2015; 12: 238–247.
2. Marolt D, Knezevic M, Novakovic GV. Bone tissue engineering with human stem cells. *Stem Cell Res Ther* 2010; 1: 1–11.
3. Oryan A, Alidadi S, Moshiri A. Current concerns regarding healing of bone defects. *Hard Tissue* 2013; 2: 1–12.
4. Giannoudis P, Tzioupis C, Almalki T, et al. Fracture healing in osteoporotic fractures: Is it really different?: A basic science perspective. *Injury* 2007; 38: 90–99.
5. Webb JCJ, Tricker J. A review of fracture healing. *Bone Biology* 2000; 14: 457–463.
6. Feng X, McDonald JM. Disorders of Bone Remodeling. *Annu Rev Pathol* 2011; 6: 121.
7. Boskey AL, Coleman R. Aging and Bone. *J Dent Res* 2010; 89: 1333–1348.
8. Pilitsis JG, Lucas DR, Rengachary SS. Bone healing and spinal fusion. *Neurosurg Focus* 2002; 13: 1–6.
9. Ulstrup AK. Biomechanical concepts of fracture healing in weight-bearing long bones. *Acta Orthop Belg* 2008; 74: 291–302.
10. Salgado AJ, Coutinho OP, Reis RL. Bone Tissue Engineering: State of the Art and Future Trends. *Macromol Biosci* 2004; 4: 743–765.
11. Shegarfi H, Reikeras O. Review Article: Bone Transplantation and Immune Response. *Journal of Orthopaedic Surgery* 2009; 17: 206–211.

12. Doblaré M, García JM, Gómez MJ. Modelling bone tissue fracture and healing: a review. *Eng Fract Mech* 2004; 71: 1809–1840.
13. Kanczler JM, Oreffo ROC. Osteogenesis and angiogenesis: the potential for engineering bone. *Eur Cell Mater* 2008; 15: 100–114.
14. Shapiro F. Bone Development and its Relation to Fracture Repair. The Role of Mesenchymal Osteoblasts and Surface Osteoblasts. *Eur Cell Mater* 2008; 15: 53–76.
15. Augat P, Simon U, Liedert A, et al. Mechanics and mechano-biology of fracture healing in normal and osteoporotic bone. *Osteoporosis International* 2005; 16: 36–43.
16. Tsiridis E, Upadhyay N, Giannoudis P. Molecular aspects of fracture healing: Which are the important molecules? *Injury* 2007; 38: 11–25.
17. Dimitriou R, Tsiridis E, Giannoudis P v. Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury* 2005; 36: 1392–1404.
18. Barry S. Non-steroidal anti-inflammatory drugs inhibit bone healing: A review. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology* 2010; 23: 385–392.
19. Antepiloğlu H, Samsar E, Akın F. *Veteriner Genel Şiruji*. Ankara: AÜ Basımevi, 1980.
20. Poitout DG. *Biomechanics and Biomaterials in Orthopedics*. Springer, 2016.
21. Emeli A, Erkan Inanmaz M, Isik C, et al. Serum ghrelin levels during fracture healing and immunohistochemical investigation of ghrelin in bone tissue. *Acta Medica Mediterranea* 2014; 30: 137–142.
22. Santiago HAR, Zamarioli A, Sousa Neto MD, et al. Exposure to secondhand smoke impairs fracture healing in rats. *Clin Orthop Relat Res* 2017; 475: 894–902.

23. Frost H. The biology of fracture healing. An overview for clinicians. Part I. *Clin Orthop Relat Res* 1989; 248: 283–293.
24. Calori GM, Albisetti W, Agus A, et al. Risk factors contributing to fracture non-unions. *Int J Care Injured* 2007; 38: 11–18.
25. Claes L, Recknagel S, Ignatius A. Fracture healing under healthy and inflammatory conditions. *Nature Reviews Rheumatology* 2012 8:3 2012; 8: 133–143.
26. Lu C, Saless N, Hu D, et al. Mechanical Stability Affects Angiogenesis during Early Fracture Healing. *J Orthop Trauma* 2011; 25: 494.
27. Kovtun A, Bergdolt S, Wiegner R, et al. The crucial role of neutrophil granulocytes in bone fracture healing. *Eur Cell Mater* 2016; 32: 152–162.
28. Kovtun A, Messerer DAC, Scharffetter-Kochanek K, et al. Neutrophils in tissue trauma of the skin, bone, and lung: Two sides of the same coin. *J Immunol Res* 2018; 2018: 1–12.
29. Prystaz K, Kaiser K, Kovtun A, et al. Distinct effects of IL-6 classic and trans-signaling in bone fracture healing. *Am J Pathol* 2018; 188: 474–490.
30. Bastian OW, Koenderman L, Alblas J, et al. Neutrophils contribute to fracture healing by synthesizing fibronectin+ extracellular matrix rapidly after injury. *Clinical Immunology* 2016; 164: 78–84.
31. Raggatt LJ, Wullschleger ME, Alexander KA, et al. Fracture healing via periosteal callus formation requires macrophages for both initiation and progression of early endochondral ossification. *Am J Pathol* 2014; 184: 3192–3204.
32. Zhou X, von der Mark K, Henry S, et al. Chondrocytes transdifferentiate into osteoblasts in endochondral bone during development, postnatal growth and fracture healing in mice. *PLoS Genet* 2014; 10: e1004820.

33. Hu DP, Ferro F, Yang F, et al. Cartilage to bone transformation during fracture healing is coordinated by the invading vasculature and induction of the core pluripotency genes. *Development* 2017; 144: 221–234.
34. Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing. *Injury* 2011; 42: 551–555.
35. Einhorn T. The Cell and Molecular Biology of Fracture Healing. *Clin Orthop Relat Res* 1998; 355: 7–21.
36. Aydin A, Memisoglu K, Cengiz A, et al. Effects of botulinum toxin a on fracture healing in rats: an experimental study. *Journal of Orthopaedic Science* 2012 17:6 2012; 17: 796–801.
37. Isaksson H, Comas O, van Donkelaar CC, et al. Bone regeneration during distraction osteogenesis: Mechano-regulation by shear strain and fluid velocity. *J Biomech* 2007; 40: 2002–2011.
38. Phillips AM. Overview of the fracture healing cascade. *Injury* 2005; 36: 5–7.
39. LaStayo PC, Winters KM, Hardy M. Fracture healing: Bone healing, fracture management, and current concepts related to the hand. *Journal of Hand Therapy* 2003; 16: 81–93.
40. Greenbaum MA, Kanat IO. Current concepts in bone healing. Review of the literature. *J Am Podiatr Med Assoc* 1993; 83: 123–129.
41. Allison DC, Lindberg AW, Samimi B, et al. A comparison of mineral bone graft substitutes for bone defects. *Oncol Hematol Rev* 2011; 07: 38.
42. Karladani AH, Granhed H, Kärholm J, et al. The influence of fracture etiology and type on fracture healing: a review of 104 consecutive tibial shaft fractures. *Arch Orthop Trauma Surg* 2001; 121: 325–328.
43. Özkan ŞG, Çebî H, Delice S, et al. Bor minerallerinin özellikleri ve madenciliği. 2 *Endüstriyel Hammaddeler Sempozyumu* 1997; 224–228.

44. Ozkan S, Kuyumcu HZ, Onal G. Mineral Raw Materials-A recent outlook for borates mining and industry in Turkey. *Surface Mining-the World of Mining* 2008; 60: 43.
45. Helvacı C. Türkiye Borat yatakları jeolojik konumu, ekonomik önemi ve bor politikası. *Journal of Balıkesir University Institute of Science and Technology* 2003; 5: 4–41.
46. Sönmez E, Yorulmaz S. Kırka boraks işletmesi artık killerin tuğla yapımında kullanılabilirliğinin araştırılması. In: *Endüstriyel Hammaddeler Sempozyumu*. 1995, pp. 165–168.
47. Aşkın S, Olgun A, Erdoğan Y. An investigation on the possible use of boron wastes in the brick construction. *Journal of Science and Technology of Dumlupınar University* 2002; 003: 44–49.
48. Sönmez E, Yorulmaz S. Kırka boraks işletmesi artık killerin tuğla yapımında kullanılabilirliğinin araştırılması. In: *Endüstriyel Hammaddeler Sempozyumu*. 1995, pp. 165–168.
49. Yenmez N. Stratejik bir maden olarak bor mineralinin Türkiye için önemi. *Coğrafya Dergisi, Sayı* 2009; 19: 59–94.
50. Nielsen FH. Boron in human and animal nutrition. *Plant and Soil* 1997; 193: 199–208.
51. Kabu M, T Civelek. Effects of propylene glycol, methionine and sodium borate on metabolic profile in dairy cattle during periparturient period. *Rev Med Vet (Toulouse)* 2012; 163: 419–430.
52. Hunt CD. Dietary boron: Progress in establishing essential roles in human physiology. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2012; 26: 157–160.

53. Mirsultan A, Tursun M, Karaman A. Eski uygur hukuk belgelerinde geen borun ve borunluq zerine. *Eski Trkeden ađdař Uygurcaya* 2014; 89–106.
54. Ediz N, zdađ H. Bor Mineralleri ve Ekonomisi. *Journal of Science and Technology of Dumlupınar University* 2001; 2: 133–151.
55. Samman S, Naghii MR, Lyons Wall PM, et al. The nutritional and metabolic effects of boron in humans and animals. *Biological Trace Element Research* 1998; 66: 227–235.
56. Howe PD. A review of boron effects in the environment. *Biol Trace Elem Res* 1998; 66: 153–166.
57. Argust P. Distribution of boron in the environment. *Biol Trace Elem Res* 1998; 66: 131–143.
58. Salazar K, Marci K. Mineral commodity summaries. *US Geological Survey* 2012; 58–60.
59. Bolaños L, Lukaszewski K, Bonilla I, et al. Why boron? *Plant Physiology and Biochemistry* 2004; 42: 907–912.
60. Acarkan N. Bor rn eřitleri ve kullanım alanları. In: Kaan Erarslan (ed). Ktahya-Türkiye, 2002, pp. 1–5.
61. Etimaden. Bor Elementi. <https://www.etimaden.gov.tr/bor-elementi> (accessed 28 November 2022).
62. Devirian TA, Volpe SL. The physiological effects of dietary boron. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2010; 43: 219–231.
63. Benderdour M, Hess K, Gadet MD, et al. Effect of boric acid solution on cartilage metabolism. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 234: 263–268.

64. Korkmaz M, Turkmen R, Demirel HH, et al. Effect of boron on the repair of osteochondral defect and oxidative stress in rats: an experimental study. *Biol Trace Elem Res* 2019; 187: 425–433.
65. Cotler HB, Chow RT, Hamblin MR, et al. The Use of Low Level Laser Therapy (LLLT) for Musculoskeletal Pain. *MOJ Orthop Rheumatol* 2015; 2: 188–194.
66. Hecht J. Short history of laser development. *Optical Engineering* 2010; 49: 091002.
67. Ladenburg R. Untersuchungen über die anomale dispersion angeregter gase. *Zeitschrift für Physik* 1928 48:1 1928; 48: 15–25.
68. Fabrikant VA. Emission mechanism of a gas discharge. *Trudy* 1940; 41: 236–296.
69. Gordon JP, Zeiger HJ, Townes CH. Molecular microwave oscillator and new hyperfine structure in the microwave spectrum of NH₃. *Physical Review* 1954; 95: 282.
70. Malay K, Subramaniam N. A review on application of lasers in oral medicine. *International Journal for Research Trends and Innovation* 2021; 6: 121–125.
71. Hamblin MR, Demidova TN. Mechanisms of low level light therapy. *Mechanisms for Low-Light Therapy* 2006; 6140: 112.
72. AlGhamdi KM, Kumar A, Moussa NA. Low-level laser therapy: a useful technique for enhancing the proliferation of various cultured cells. *Lasers in Medical Science* 2011 27:1 2011; 27: 237–249.
73. Chu YH, Chen SY, Hsieh YL, et al. Low-level laser therapy prevents endothelial cells from TNF- α /cycloheximide-induced apoptosis. *Lasers Med Sci* 2018; 33: 279–286.

74. Aimbire F, Albertini R, Pacheco MTT, et al. Low-level laser therapy induces dose-dependent reduction of TNF α levels in acute inflammation. *Photomed Laser Surg* 2006; 24: 33–37.
75. Chow RT, Johnson MI, Lopes-Martins RA, et al. Efficacy of low-level laser therapy in the management of neck pain: a systematic review and meta-analysis of randomised placebo or active-treatment controlled trials. *The Lancet* 2009; 374: 1897–1908.
76. Zilov VG, Khadartsev AA, Bitsoev VD. Effects of polychromatic visible and infrared light on biological liquid media. *Bull Exp Biol Med* 2014; 157: 470–472.
77. Karu T. *The Science of Low-Power Laser Therapy*. Amsterdam: Gordon and Breach Science Publishers and OPA, 1998.
78. Farivar S, Malekshahabi T, Shiari R. Biological effects of low level laser therapy. *J Lasers Med Sci* 2014; 5: 58.
79. Purohit G. Overview of Lasers. *Applied Innovative Research* 2020; 2: 193–203.
80. Abdallah A, Abdelgani R, Ali A, et al. 1-5 the effect of temperature and laser type on optical fiber temperature coefficient. *American Journal of Optics and Photonics* 2017; 5: 1–5.
81. Ifflander R. *Solid-state lasers for materials processing: fundamental relations and technical realizations*. Springer Science & Business Media, 2001.
82. Letokhov VS, Shank CV, Shen YR, et al. *Interaction of Intense Laser Light with Free Electrons, MV Fedorov: Laser Science and Technology and International Handbook*. Switzerland: GmbH, 1991.
83. O’Shea DC, Callen WR, Rhodes WT. *Introduction to Lasers and their Applications*. Philippines: Addison-Wesley Publishing Company, 1977.
84. Weber MJ. *Handbook of Laser Science and Technology*. Boston: CRC Press, 1991.

85. Dattoli G, Renieri A. *Experimental and theoretical aspects of Free-Electron Lasers in Laser Handbook*. Amsterdam: North Holland, 1984.
86. Luchini P, Motz H. *Undulators and Free-Electron Lasers*. Oxford: Clarendon Press, 1990.
87. Marshall JC. *Free Electron Lasers*. New York: Mac Millan Publishing Company, 1985.
88. Cotler HB, Chow RT, Hamblin MR, et al. The use of low level laser therapy (LLLT) for musculoskeletal pain. *MOJ Orthop Rheumatol* 2015; 2: 1–16.
89. Anders JJ, Lanzafame RJ, Arany PR. Low-level light/laser therapy versus photobiomodulation therapy. *Photomed Laser Surg* 2015; 33: 183–184.
90. Chung H, Dai T, Sharma SK, et al. The nuts and bolts of low-level laser (Light) therapy. *Ann Biomed Eng* 2012; 40: 516–533.
91. Wong-Riley MTT, Liang HL, Eells JT, et al. Photobiomodulation directly benefits primary neurons functionally inactivated by toxins: role of cytochrome c oxidase. *Journal of Biological Chemistry* 2005; 280: 4761–4771.
92. Brown GC. Nitric oxide regulates mitochondrial respiration and cell functions by inhibiting cytochrome oxidase. *FEBS Lett* 1995; 369: 136–139.
93. Ehrreich SJ, Furchgott RF. Relaxation of mammalian smooth muscles by visible and ultraviolet radiation. *Nature* 1968; 218: 682–684.
94. Martin W. Robert F. Furchgott, Nobel laureate (1916–2009) – a personal reflection. *Br J Pharmacol* 2009; 158: 633–637.
95. Zhang J, Xing D, Gao X. Low-power laser irradiation activates Src tyrosine kinase through reactive oxygen species-mediated signaling pathway. *J Cell Physiol* 2008; 217: 518–528.

96. Alexandratou E, Yova D, Handris P, et al. Human fibroblast alterations induced by low power laser irradiation at the single cell level using confocal microscopy. *Photochemical & Photobiological Sciences* 2002; 1: 547–552.
97. Lubart R, Wollman Y, Friedmann H, et al. Effects of visible and near-infrared lasers on cell cultures. *J Photochem Photobiol B* 1992; 12: 305–310.
98. Frigo L, Fávero GM, Campos Lima HJ, et al. Low-level laser irradiation (InGaAlP-660 nm) increases fibroblast cell proliferation and reduces cell death in a dose-dependent manner. *Photomed Laser Surg* 2010; 28: 1–6.
99. Basso FG, Oliveira CF, Kurachi C, et al. Biostimulatory effect of low-level laser therapy on keratinocytes in vitro. *Lasers Med Sci* 2013; 28: 367–374.
100. Szymanska J, Goralczyk K, Klawe JJ, et al. Phototherapy with low-level laser influences the proliferation of endothelial cells and vascular endothelial growth factor and transforming growth factor-beta secretion. *J Physiol Pharmacol* 2013; 64: 387–391.
101. Moore P, Ridgway TD, Higbee RG, et al. Effect of wavelength on low-intensity laser irradiation-stimulated cell proliferation in vitro. *Lasers Surg Med* 2005; 36: 8–12.
102. Agaiby AD, Ghali LR, Wilson R, et al. Laser modulation of angiogenic factor production by T-Lymphocytes. *Lasers Surg Med* 2000; 26: 357–363.
103. Oliveira Sampaio SCP, Juliana JS, Cangussú MCT, et al. Effect of laser and LED phototherapies on the healing of cutaneous wound on healthy and iron-deficient Wistar rats and their impact on fibroblastic activity during wound healing. *Lasers Med Sci* 2013; 28: 799–806.
104. Stadler I, Evans R, Kolb B, et al. In vitro effects of low-level laser irradiation at 660 nm on peripheral blood lymphocytes. *Lasers Surg Med* 2000; 27: 255–261.

105. Chen CH, Tsai JL, Wang YH, et al. Low-level laser irradiation promotes cell proliferation and mRNA expression of type I collagen and decorin in porcine achilles tendon fibroblasts In Vitro. *Journal of Orthopaedic Research* 2009; 27: 646–650.
106. Usumez A, Cengiz B, Oztuzcu S, et al. Effects of laser irradiation at different wavelengths (660, 810, 980, and 1,064 nm) on mucositis in an animal model of wound healing. *Lasers Med Sci* 2014; 29: 1807–1813.
107. Dadpay M, Sharifian Z, Bayat M, et al. Effects of pulsed infra-red low level-laser irradiation on open skin wound healing of healthy and streptozotocin-induced diabetic rats by biomechanical evaluation. *J Photochem Photobiol B* 2012; 111: 1–8.
108. Huang YY, Chen ACH, Carroll JD, et al. Biphasic dose response in low level lighththerapy. *Dose-Response* 2009; 7: 358–383.
109. Woodruff LD, Bounkeo JM, Brannon WM, et al. The efficacy of laser therapy in wound repair: A meta-analysis of the literature. *Photomed Laser Surg* 2004; 22: 241–247.
110. Aspenberg P, Andolf E. Bone induction by fetal and adult human bone matrix in athymic rats. *Acta Orthop Scand* 1989; 60: 195–199.
111. Tsai CH, Chou MY, Jonas M, et al. A composite graft material containing bone particles and collagen in osteoinduction in mouse. *J Biomed Mater Res* 2002; 63: 65–70.
112. Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone grafting. *Orthopedic Clinics of North America* 1987; 18: 213–225.
113. Asaumi K, Nakanishi T, Asahara H, et al. Expression of neurotrophins and their receptors (TRK) during fracture healing. *Bone* 2000; 26: 625–633.

114. Yamagiwa H, Tokunaga K, Hayami T, et al. Expression of metalloproteinase-13 (collagenase-3) is induced during fracture healing in mice. *Bone* 1999; 25: 197–203.
115. Thompson Z, Miclau T, Hu D, et al. A model for intramembranous ossification during fracture healing. *Journal of Orthopaedic Research* 2002; 20: 1091–1098.
116. Bourque WT, Gross M, Hall BK. A reproducible method for producing and quantifying the stages of fracture repair. *Lab Anim Sci* 1992; 42: 369–374.
117. Le AX, Miclau T, Hu D, et al. Molecular aspects of healing in stabilized and non-stabilized fractures. *Journal of Orthopaedic Research* 2001; 19: 78–84.
118. Hiltunen A, Aro HT, Vuorio E. Regulation of extracellular matrix genes during fracture healing in mice. *Clin Orthop Relat Res* 1993; 297: 23–27.
119. Lee JY, Musgrave D, Pelinkovic D, et al. Effect of bone morphogenetic protein-2-expressing muscle-derived cells on healing of critical-sized bone defects in mice. *J Bone Joint Surg* 2001; 83: 1032–1039.
120. Lee JY, Peng H, Usas A, et al. Enhancement of bone healing based on ex vivo gene therapy using human muscle-derived cells expressing bone morphogenetic protein 2. *Human gene therapy* 2004; 13: 1201–1211.
121. Kirkeby OJ, Nordsletten L, Skjeldal S. Healing of cortical bone grafts in athymic rats. *Acta Orthop Scand* 2009; 63: 318–322.
122. Raschke M, Kolbeck S, Bail H, et al. Homologous growth hormone accelerates healing of segmental bone defects. *Bone* 2001; 29: 368–373.
123. Cheng MH, Brey EM, Allori A, et al. Ovine model for engineering bone segments. *Tissue Eng* 2005; 11: 214–225.
124. Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop Relat Res* 1986; 205: 299–308.

125. Einhorn T. Clinically applied models of bone regeneration in tissue engineering research. *Clin Orthop Relat Res* 1999; 59–67.
126. Stubbs D, Deakin M, Chapman-Sheath P, et al. In vivo evaluation of resorbable bone graft substitutes in a rabbit tibial defect model. *Biomaterials* 2004; 25: 5037–5044.
127. Murphey M, Sartoris J, Bramble J. *Bramble, radiographic assessment of bone grafts, in bone grafts & bone substitutes*. Saunders. Philadelphia, 1992.
128. Prolo DJ, Pedrotti PW, Burres KP, et al. Superior osteogenesis in transplanted allogeneic canine skull following chemical sterilization. *Clin Orthop Relat Res* 1982; 168: 230–242.
129. Heng K, Marx JO, Jampachairsi K, et al. Continuous rate infusion of alfaxalone during ketamine-xylazine anesthesia in rats. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 2020; 59: 170–175.
130. Fiset S, Godbout C, Crookshank MC, et al. Experimental validation of the radiographic union score for tibial fractures (RUST) using micro-computed tomography scanning and biomechanical testing in an in-vivo rat model. *J Bone Joint Surg Am* 2018; 100: 1871–1878.
131. Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, et al. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol* 1979; 135: 372–376.
132. Góth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinica Chimica Acta* 1991; 196: 143–151.
133. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497–500.

134. Karayürek F, Kadiroğlu ET, Nergiz Y, et al. Combining platelet rich fibrin with different bone graft materials: An experimental study on the histopathological and immunohistochemical aspects of bone healing. *J Craniomaxillofac Surg* 2019; 47: 815–825.
135. Yildirim S, Ekin S, Huyut Z, et al. Effect of chronic exposure to sodium fluoride and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene on some blood parameters and hepatic, renal, and cardiac histopathology in rats. 2018; 51: 278–290.
136. Bayat M, Virdi A, Jalalifirouzkouhi R, et al. Comparison of effects of LLLT and LIPUS on fracture healing in animal models and patients: A systematic review. *Prog Biophys Mol Biol* 2018; 132: 3–22.
137. Cunha MJS, Esper LA, Sbrana MC, et al. Effect of low-level laser on bone defects treated with bovine or autogenous bone grafts: In vivo study in rat calvaria. *Biomed Res Int*; 2014.
138. Kazancioglu HO, Ezirganli S, Aydin MS. Effects of laser and ozone therapies on bone healing in the calvarial defects. *Journal of Craniofacial Surgery* 2013; 24: 2141–2146.
139. Khadra M, Kasem N, Haanæs HR, et al. Enhancement of bone formation in rat calvarial bone defects using low-level laser therapy. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* 2004; 97: 693–700.
140. Liu X, Lyon R, Meier HT, et al. Effect of lower-level laser therapy on rabbit tibial fracture. *Photomed Laser Surg* 2007; 25: 487–494.
141. Lirani-Galvão AP, Jorgetti V, Lopes Da Silva O. Comparative study of how low-level laser therapy and low-intensity pulsed ultrasound affect bone repair in rats. *Photomedicine and Laser Therapy* 2007; 24: 735–740.

142. Sella VRG, do Bomfim FRC, Machado PCD, et al. Effect of low-level laser therapy on bone repair: a randomized controlled experimental study. *Lasers Med Sci* 2015; 30: 1061–1068.
143. Bosco AF, Faleiros PL, Carmona LR, et al. Effects of low-level laser therapy on bone healing of critical-size defects treated with bovine bone graft. *J Photochem Photobiol B* 2016; 163: 303–310.
144. de Oliveira Rosso MP, Buchaim DV, Pomini KT, et al. Photobiomodulation therapy (PBMT) applied in bone reconstructive surgery using bovine bone grafts: A systematic review. *Materials* 2019; 12: 4051.
145. Weber JBB, Pinheiro ALB, de Oliveira MG, et al. Laser therapy improves healing of bone defects submitted to autologous bone graft. *Photomed Laser Surg* 2006; 24: 38–44.
146. de Oliveira Gonçalves JB, Buchaim DV, de Souza Bueno CR, et al. Effects of low-level laser therapy on autogenous bone graft stabilized with a new heterologous fibrin sealant. *J Photochem Photobiol B* 2016; 162: 663–668.
147. Richards RG, Milz S, Schneider E, et al. Animal models for implant biomaterial research in bone: A review. *Eur Cell Mater* 2007; 13: 1–10.
148. Jacenko O, Olsen BR. Transgenic mouse models in studies of skeletal disorders. *J Rheumatol Suppl* 1995; 43: 39–41.
149. Houdebine LM. Transgenic animal models in biomedical research. *Methods Mol Biol* 2007; 360: 163–202.
150. Santos LF, Singulani MP, Stringhetta-Garcia CT, et al. Oxytocin effects on osteoblastic differentiation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells from adult and aging female Wistar rats. *Exp Gerontol* 2018; 113: 58–63.

151. Hambright WS, Niedernhofer LJ, Huard J, et al. Murine models of accelerated aging and musculoskeletal disease. *Bone* 2019; 125: 122–127.
152. Aalami OO, Nacamuli RP, Lenton KA, et al. Applications of a mouse model of calvarial healing: Differences in regenerative abilities of juveniles and adults. *Plast Reconstr Surg* 2004; 114: 713–720.
153. Tamura S, Kataoka H, Matsui Y, et al. The effects of transplantation of osteoblastic cells with bone morphogenetic protein (BMP)/carrier complex on bone repair. *Bone* 2001; 29: 169–175.
154. Bosch C, Melsen B, Vargervik K. Importance of the critical-size bone defect in testing bone-regenerating materials. *J Craniofac Surg* 1998; 9: 310–316.
155. Cheung KMC, Kaluarachi K, Andrew G, et al. An externally fixed femoral fracture model for mice. *Journal of Orthopaedic Research* 2003; 21: 685–690.
156. Yanmaz LE, Ersoz U, Okur S, et al. The effect of low-level laser therapy on rat unicortical femoral defect. *The Thai Journal of Veterinary Medicine* 2021; 51: 277–284.
157. Cottrell JA, Keshav V, Mitchell A, et al. Local inhibition of 5-lipoxygenase enhances bone formation in a rat model. *Bone Joint Res* 2013; 2: 41–50.
158. Barbosa D, de Souza RA, Xavier M, et al. Effects of low-level laser therapy (LLLT) on bone repair in rats: Optical densitometry analysis. *Lasers Med Sci* 2013; 28: 651–656.
159. Devirian TA, Volpe SL. The physiological effects of dietary boron. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2003; 43: 219–231.
160. Weir RJ, Fisher RS. Toxicologic studies on borax and boric acid. *Toxicol Appl Pharmacol* 1972; 23: 351–364.

161. Hakki SS, Dundar N, Kayis SA, et al. Boron enhances strength and alters mineral composition of bone in rabbits fed a high energy diet. *J Trace Elem Med Biol* 2013; 27: 148–153.
162. Gorustovich AA, Steimetz T, Nielsen FH, et al. Histomorphometric study of alveolar bone healing in rats fed a boron-deficient diet. *Anatomical Record* 2008; 291: 441–447.
163. Vaziri ND, Oveisi F, Culver BD, et al. The Effect of Pregnancy on Renal Clearance of Boron in Rats Given Boric Acid Orally. *Toxicological Sciences* 2001; 60: 257–263.
164. Devirian TA, Volpe SL. The Physiological Effects of Dietary Boron. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2003; 43: 219–231.
165. Saito S, Shimizu N. Stimulatory effects of low-power laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in the rat. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 1997; 111: 525–532.
166. Schindl A, Schindl M, Pernerstorfer-Schon H, et al. Low-intensity laser therapy: a review. *J Investig Med* 2000; 48: 312–326.
167. Sella VRG, do Bomfim FRC, Machado PCD, et al. Effect of low-level laser therapy on bone repair: a randomized controlled experimental study. *Lasers Med Sci* 2015; 30: 1061–1068.
168. Pretel H, Lizarelli RFZ, Ramalho LTO. Effect of low-level laser therapy on bone repair: Histological study in rats. *Lasers Surg Med* 2007; 39: 788–796.
169. Freddo AL, Rodrigo SM, Massotti FP, et al. Effect of low-level laser therapy after implantation of poly-L-lactic/polyglycolic acid in the femurs of rats. *Lasers Med Sci* 2009; 24: 721–728.

170. dos Santos DA, de Guzzi Plepis AM, da Conceição Amaro Martins V, et al. Effects of the combination of low-level laser therapy and anionic polymer membranes on bone repair. *Lasers Med Sci* 2020; 35: 813–821.
171. Zhu W, Murrell GAC, Lin J, et al. Localization of Nitric Oxide Synthases During Fracture Healing. *Journal of Bone and Mineral Research* 2002; 17: 1470–1477.
172. Duygulu F, Yakan B, Karaoglu S, et al. The effect of zymosan and the protective effect of various antioxidants on fracture healing in rats. *Arch Orthop Trauma Surg* 2007; 127: 493–501.
173. Göktürk E, Turgut A, Baygu C, et al. Oxygen-free radicals impair fracture healing in rats. *Acta Orthop Scand* 2009; 66: 473–475.
174. Bouxsein ML, Boyd SK, Christiansen BA, et al. Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. *J Bone Miner Res* 2010; 25: 1468–1486.
175. Wu Y, Adeeb S, Doschak MR. Using micro-CT derived bone microarchitecture to analyze bone stiffness - a case study on osteoporosis rat bone. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2015; 6: 80.
176. Cooke ME, Hussein AI, Lybrand KE, et al. Correlation between RUST assessments of fracture healing to structural and biomechanical properties. *Journal of Orthopaedic Research* 2018; 36: 945–953.
177. Ghiasi MS, Chen J, Vaziri A, et al. Bone fracture healing in mechanobiological modeling: A review of principles and methods. *Bone Rep* 2017; 6: 87–100.
178. Kostenuik P, Mirza FM. Fracture healing physiology and the quest for therapies for delayed healing and nonunion. *Journal of Orthopaedic Research* 2017; 35: 213–223.
179. Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing. *Injury* 2011; 42: 551–555.

180. Frost HM. The biology of fracture healing. An overview for clinicians. Part I. *Clin Orthop Relat Res* 1989; 283–293.
181. Dincel YM, Alagoz E, Arikan Y, et al. Biomechanical, histological, and radiological effects of different phosphodiesterase inhibitors on femoral fracture healing in rats. *Journal of Orthopaedic Surgery* 2018; 26: 1–9.
182. Diwan AD, Wang MX, Jang D, et al. Nitric Oxide Modulates Fracture Healing. *Journal of Bone and Mineral Research* 2000; 15: 342–351.
183. Alves AMM, de Miranda Fortaleza LM, Filho ALMM, et al. Evaluation of bone repair after application of a norbixin membrane scaffold with and without laser photobiomodulation (λ 780 nm). *Lasers Med Sci* 2018; 33: 1493–1504.
184. Camati PR, Giovanini AF, de Miranda Peixoto HE, et al. Immunoexpression of IGF1, IGF2, and osteopontin in craniofacial bone repair associated with autogenous grafting in rat models treated with alendronate sodium. *Clin Oral Investig* 2017; 21: 1895–1903.
185. Dincel YM, Alagoz E, Arikan Y, et al. Biomechanical, histological, and radiological effects of different phosphodiesterase inhibitors on femoral fracture healing in rats. *Journal of Orthopaedic Surgery* 2018; 26: 1–9.
186. Fortaleza LM de M, Alves AMM, Filho ALMM, et al. Raman spectroscopy analysis of bone regeneration in a rat model by implantation of a biocompatible membrane scaffold with and without LED photobiomodulation (λ 945 \pm 20 nm). *Vib Spectrosc* 2020; 111: 103154.
187. Soares LGP, Marques AMC, Guarda MG, et al. Influence of the λ 780 nm laser light on the repair of surgical bone defects grafted or not with biphasic synthetic micro-granular hydroxylapatite + Beta-Calcium triphosphate. *J Photochem Photobiol B* 2014; 131: 16–23.

188. Pinheiro ALB, Martinez Gerbi ME, de Assis Limeira F, et al. Bone repair following bone grafting hydroxyapatite guided bone regeneration and infra-red laser photobiomodulation: A histological study in a rodent model. *Lasers Med Sci* 2009; 24: 234–240.
189. Márquez Martínez ME, Pinheiro ALB, Ramalho LMP. Effect of IR laser photobiomodulation on the repair of bone defects grafted with organic bovine bone. *Lasers Med Sci* 2008; 23: 313–317.
190. Kazem Shakouri S, Soleimanpour J, Salekzamani Y, et al. Effect of low-level laser therapy on the fracture healing process. *Lasers Med Sci* 2010; 25: 73–77.
191. Yee AJM, Bae HW, Friess D, et al. Accuracy and interobserver agreement for determinations of rabbit posterolateral spinal fusion. *Spine (Phila Pa 1976)* 2004; 29: 1308–1313.
192. Markel MD, Morin RL, Wikenheiser MA, et al. Quantitative CT for the evaluation of bone healing. *Calcified Tissue International* 1991 49:6 1991; 49: 427–432.
193. Grigoryan M, Lynch JA, Fierlinger AL, et al. Quantitative and qualitative assessment of closed fracture healing using computed tomography and conventional radiography¹. *Acad Radiol* 2003; 10: 1267–1273.
194. Fisher JS, Kazam JJ, Fufa D, et al. Radiologic evaluation of fracture healing. *Skeletal Radiol* 2019; 48: 349–361.
195. Mc Laughlin PD, Munk PL. Dual-Energy CT for the musculoskeletal system. *Radiology* 2018; 281: 690–707.
196. Eastaugh-Waring SJ, Joslin CC, Hardy JRW, et al. Quantification of fracture healing from radiographs using the maximum callus index. *Clin Orthop Relat Res* 2009; 467: 1986–1991.

197. Augat P, Morgan EF, Lujan TJ, et al. Imaging techniques for the assessment of fracture repair. *Injury* 2014; 45: 16–22.
198. Morshed S. Current Options for Determining Fracture Union. *Adv Med* 2014; 2014: 1–12.
199. Bhandari M, Guyatt GH, Swiontkowski MF, et al. A Lack of Consensus in the Assessment of Fracture Healing Among Orthopaedic Surgeons. *J Orthop Trauma* 2002; 16: 562–566.
200. Litrenta J, Tornetta P, Mehta S, et al. Determination of Radiographic Healing: An Assessment of Consistency Using RUST and Modified RUST in Metadiaphyseal Fractures. *J Orthop Trauma* 2015; 29: 516–520.
201. Whelan DB, Bhandari M, Stephen D, et al. Development of the radiographic union score for tibial fractures for the assessment of tibial fracture healing after intramedullary fixation. *Journal of Trauma - Injury, Infection and Critical Care* 2010; 68: 629–632.
202. Kooistra BW, Dijkman BG, Busse JW, et al. The radiographic union scale in tibial fractures: reliability and validity. *J Orthop Trauma* 2010; 24: 81–86.
203. Corrales LA, Morshed S, Bhandari M, et al. Variability in the Assessment of Fracture-Healing in Orthopaedic Trauma Studies. *J Bone Joint Surg Am* 2008; 90: 1862.
204. Leow JM, Clement ND, Tawonsawatruk T, et al. The radiographic union scale in tibial (RUST) fractures. *Bone Joint Res* 2016; 5: 116–121.
205. DiSilvio F, Foyil S, Schiffman B, et al. Long bone union accurately predicted by cortical bridging within 4 months. *JBJS Open Access* 2018; 3: E0012.

206. Mısıır A, İlker Yıldız K, Kızıkapın TB, et al. Reliability of RUST and modified RUST scores for evaluation of union in pediatric and adult femoral shaft fractures. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2021; 55: 127–133.
207. Patel SP, Anthony SG, Zurakowski D, et al. Radiographic scoring system to evaluate union of distal radius fractures. *J Hand Surg Am* 2014; 39: 1471–1479.
208. Richards BS, Wilkes D, Dempsey M, et al. A radiographic scoring system to assess healing in congenital pseudarthrosis of the tibia. *Journal of Pediatric Orthopaedics Part B* 2015; 24: 118–122.
209. Franzone JM, Finkelstein MS, Rogers KJ, et al. Evaluation of fracture and osteotomy union in the setting of osteogenesis imperfecta: reliability of the modified radiographic union score for tibial fractures (RUST). *J Pediatr Orthop* 2020; 40: 48–52.
210. Sganga ML, Summers NJ, Barrett B, et al. Radiographic union scoring scale for determining consolidation rates in the calcaneus. *The Journal of Foot and Ankle Surgery* 2018; 57: 2–6.
211. Mohamadnia AR, Shahbazkia HR, Sharifi S, et al. Bone-specific alkaline phosphatase as a good indicator of bone formation in sheepdogs. *Comp Clin Path* 2007; 16: 265–270.
212. Suzuki YJ, Packer L. Inhibition of NF- κ B activation by vitamin E derivatives. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 193: 277–283.
213. Draper HH, Hadley M. A review of recent studies on the metabolism of exogenous and endogenous malondialdehyde. *Xenobiotica* 2009; 20: 901–907.
214. Romero FJ, Bosch-Morell F, Romero MJ, et al. Lipid peroxidation products and antioxidants in human disease. *Environ Health Perspect* 1998; 106: 1229–1234.

215. de Groot H, Rauen U. Ischemia-reperfusion injury: processes in pathogenetic networks: a review. *Transplant Proc* 2007; 39: 481–484.
216. Fischer AH, Jacobson KA, Rose J, et al. Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. *Cold Spring Harb Protoc* 2008; 2008: 655–658.
217. Kusuzaki K, Kageyama N, Shinjo H, et al. Development of bone canaliculi during bone repair. *Bone* 2000; 27: 655–659.
218. Taguchi K, Ogawa R, Migita M, et al. The role of bone marrow-derived cells in bone fracture repair in a green fluorescent protein chimeric mouse model. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 331: 31–36.
219. Gartner LP, Hiatt JL. *Color textbook of histology e-book*. Elsevier Health Sciences, 2006.
220. Schmidt-Bleek K, Schell H, Schulz N, et al. Inflammatory phase of bone healing initiates the regenerative healing cascade. *Cell Tissue Res* 2012; 347: 567–573.
221. Crues RL, Dumont J. Fracture healing. *Can J Surg* 1975; 18: 403–413.
222. Karnes JM, Daffner SD, Watkins CM. Multiple roles of tumor necrosis factor- α in fracture healing. *Bone* 2015; 78: 87–93.
223. Stockmann P, Park J, von Wilmowsky C, et al. Guided bone regeneration in pig calvarial bone defects using autologous mesenchymal stem/progenitor cells – A comparison of different tissue sources. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* 2012; 40: 310–320.
224. Majumdar MK, Wang E, Morris EA. BMP-2 and BMP-9 promotes chondrogenic differentiation of human multipotential mesenchymal cells and overcomes the inhibitory effect of IL-1. *J Cell Physiol* 2001; 189: 275–284.

225. Scott Thies R, Bauduy M, Ashton BA, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 induces osteoblastic differentiation in W-20-17 stromal cells. *Endocrinology* 1992; 130: 1318–1324.




EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Ferda Turgut
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Medeni Hali:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
Faks:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	
Lisans:	
Yüksek lisans:	
Doktora:	
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	
Almanca:	
Rusça:	
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
İlgi Alanları ve Hobiler	

EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

	SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ Graduate School of Health Sciences	
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹		
Öğrencinin Adı ve Soyadı	Ferda TURGUT	
Öğrencinin Numarası		
Ana Bilim Dalı	Veterinerlik Cerrahisi	
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Doktora	
<p>Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.</p>		
Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	% 0	% 15
II. Genel Bilgiler	% 13	% 35
III. Materyal ve Metod	% 31	% 35
IV. Bulgular	% 12	% 15
V. Tartışma	% 2	% 20
<p><i>Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.</i></p>		
Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı	
8.12.2022	8.12.2022	
<p>¹ Bu form bilgisayar ortamında doldurulmalı, çıktısı imzalanıp Tez Savunması Jüri Öneri Formu'yla birlikte Ana Bilim Dalı Başkanlığı aracılığıyla ÜBYS üzerinden Enstitüye iletilmelidir.</p>		

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Rektörlük



Sayı : E-75296309-050.01.04-2200430371
Konu : HADYEK Kararı.

27.12.2022

HUKUK MÜŞAVİRLİĞİNE

İlgi : 19.12.2022 tarihli ve E-77040475-641.04-2200421380 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazımız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 22.12.2022 tarihli ve 2022/14 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 295 no'lu kararı ile sözkonusu doktora tez çalışmasının isminin değiştirilerek yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, mevcut oy birliği ile karar verilmiş olup, taahhütname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYEK Sonuç Raporu"nun Başkanlığımıza gönderilmesi hususunda;

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

TOPLANTI TARİHİ : 22.12.2022

TOPLANTI SAYISI : 2022/14

KARAR NO 295 Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Klinik Bilimler Bölümü, Veterinerlik Cerrahisi Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç.Dr.Latif Emrah YANMAZ'ın danışmanlığında, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülen doktora öğrencisi Arş.Gör.Ferda TURGUT'un "**Ratların Kritik Boyuttaki Defektlerinde Düşük Seviyeli Lazer Terapisi İle Birlikte Lokal Olarak Uygulanan Borik Asit ve Boraks Dekahidratın Kırık İyileşmesi Üzerine Olan Etkisinin Belirlenmesi**" isimli doktora tez çalışmasının isminin "**Ratların Unikortikal Defektlerinde Düşük Seviyeli Lazer Terapisi İle Birlikte Lokal Olarak Uygulanan Borik Asitin Kırık İyileşmesi Üzerine Olan Etkisinin Belirlenmesi**" olarak değiştirilmesi ile ilgili Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Rektörlüğü, Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalında öğretim üyesi olarak görevine devam eden doktora tez çalışmasının danışmanı Prof.Dr.Latif Emrah YANMAZ'ın talebi ile ilgili 19.12.2022 tarihli ve E-77040475-641.04-2200421380 sayılı Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü, Hukuk Müşavirliğinin yazısı ekindeki Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Rektörlüğü, Personel Daire Başkanlığının 16.12.2022 tarihli ve E-69871852-600-227401 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen doktora tez çalışmasının isminin değiştirilerek yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, taahhütname hükümleri gereğince çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Ek : Sonuç Raporu. 1 Adet.

EK-4. TEZ ADI DEĞİŞİKLİĞİ BİLDİRİM FORMU

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ Graduate School of Health Sciences	
TEZ ADI DEĞİŞİKLİĞİ BİLDİRİM FORMU	
Öğrencinin Adı ve Soyadı	Ferda TURGUT
Ana Bilim Dalı	Veterinerlik Cerrahisi
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Doktora
Veterinerlik Cerrahisi Ana Bilim Dalı Başkanlığına	
Danışmanlığımı yürüttüğüm ve yukarıda bilgileri yazılı olan bilim dalımız öğrencisinin Tez adı aşağıda belirtilen şekilde değiştirilmiştir. Bilgilerinize arz ederim. 23.12.2022	
Değişiklik Türü	Tez Adı Değişikliği ☒
Tezin Eski Adı	RATLARIN KRİTİK BOYUTTAKİ DEFEKTLERİNDE DÜŞÜK SEVİYELİ LAZER TERAPİSİ İLE BİRLİKTE LOKAL OLARAK UYGULANAN BORİK ASİT VE BORAKS DEKAHİDRATIN KIRIK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ
Tezin Yeni Adı	Ratların Unikortikal Defektlerinde Düşük Seviyeli Lazer Terapisi ile Birlikte Lokal Olarak Uygulanan Borik Asitin Kırık İyileşmesi Üzerine Olan Etkisinin Belirlenmesi
Tezin İngilizce Adı	Investigating Effects of Locally Applied Boric Acid on Fracture Healing with and without Low-Level Laser Therapy
Değişikliğin Gerekçesi	Defekt için plak temin güçlüğü