



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AĞIZ, DIŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**FARKLI ENERJİ YOĞUNLUKLARINDA
DÜŞÜK ENERJİ SEVİYELİ LAZER (DESL)
BİYOSTİMÜLASYONUNUN KEMİK
İYİLEŞMESİNE ETKİSİNİN HAYVAN
MODELİ ÜZERİNDE İNCELENMESİ**

Kerem Turgut ATASOY

DOKTORA TEZİ

Yrd. Doç. Dr. Yavuz Tolga KORKMAZ

TRABZON-2015

BEYAN

Bu tez çalışmasının KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih

Kerem Turgut ATASOY

İthaf

Sevgili Annem'e ve Babam'a, Kıymetli Eşim'e, Oğlum'a...

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince ufkumu genişleten, eğitimime yaptığı katkılardan dolayı minnettar olduğum sevgili hocam ve danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Yavuz Tolga KORKMAZ'a,

Sonsuz destekleri için Karadeniz Teknik Üniversitesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı hocalarıma, asistan arkadaşlarıma ve klinik çalışanlarına,

Tezimin deney aşamasında yardımlarını esirgemeyen başta Dt. Burak CEZAIRLİ olmak üzere, Dt. Onur YILMAZ'a ve Dt. Çağışan PİRPİR'e,

Çalışmamızın histolojik incelemesini yapan Karadeniz Teknik Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Ersan ODACI'ya,

Çalışmamızın istatistiksel analizini gerçekleştiren değerli hocam Doç. Dr. Tamer TÜZÜNER'e

Teşekkür Ederim

Arş. Gör. Kerem Turgut ATASOY

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İç kapak sayfası	
KABUL ve ONAY	
BEYAN	
İthaf	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGELER, KISALTMALAR ve FORMÜLLER DİZİNİ	xi
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1. Kemik	5
4.1.1. Kemik Hücreleri	5
4.1.1.1. Osteoblastlar	5
4.1.1.2. Osteoklastlar	5
4.1.1.3. Osteositler	6
4.1.1.4. Osteoprogenitör Hücreler	6
4.1.2. Kemik Matriksi	6
4.1.2.1. Kemiğin Organik Matriksi	7
4.1.2.2. Kemiğin İnorganik Matriksi	7
4.1.3. Kemik Zarları	7
4.1.3.1. Endosteum	7
4.1.3.2. Periosteum	7
4.1.4. Kemik Dokusu Çeşitleri	8
4.1.4.1. Primer Kemik Dokusu	8
4.1.4.2. Sekonder Kemik Dokusu	8
4.2. Kemik Oluşumu	9
4.2.1. İntramembranöz Kemikleşme	9

4.2.2. Endokondral Kemikleşme	9
4.3. Kemiğin Metabolik Rolü	9
4.4. Kemik Remodelingi ve İyileşmesi	10
4.5. Lazer	11
4.5.1. Lazerin Tanımı	11
4.5.2. Lazer Fiziği	11
4.5.2.1. Işık ve Özellikleri	12
4.5.3. Lazer Işınının Özellikleri	13
4.5.3.1. Monokromatisite	13
4.5.3.2. Koherens	13
4.5.3.3. Kolimasyon	14
4.5.3.4. Enerji Taşıyıcılık	14
4.5.4. Lazer İletim Sistemleri	14
4.5.5. Lazer Işınının Yayılımı	15
4.5.6. Lazer Doku Etkileşimleri	15
4.5.7. Lazer Sistemlerinin Sınıflandırılması	16
4.5.7.1. Güçlerine Göre Lazer Tipleri	16
4.5.7.2. Elde Edildiği Aktif Maddeye Göre Lazer Tipleri	16
4.5.7.3. Lazer Işınının Dalga Boyuna Göre Lazer Tipleri	17
4.5.8. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Lazerler	17
4.5.8.1. Argon Lazer	17
4.5.8.2. Diyot Lazer	18
4.5.8.3. Neodymium Lazer	18
4.5.8.4. Erbium Türü Lazerler	18
4.5.8.5. CO ₂ Lazer	19
4.5.9. Dozaj ve Hesaplaması	20
4.5.10. Düşük Enerji Seviyeli Lazer (DESL) Biyostimülasyonu	20
4.5.10.1. DESL Etki Mekanizması	20
4.5.10.2. DESL Biyostimülasyonunda Kullanılan Lazerler	21
4.5.10.3. DESL Biyostimülasyonunun Klinik Uygulamaları	21
4.5.10.4. DESL Biyostimülasyonunun Doku İyileşmesine Etkisi	22
4.5.10.5. DESL Biyostimülasyonunun Güvenliliği ve Kontrendikasyonları	23

5. GEREÇ ve YÖNTEM	26
5.1. Deney Hayvanları	26
5.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	27
5.3. Deneye Hazırlık	28
5.4. Cerrahi Yöntem	28
5.5. DESL Biyostimülasyon Protokolü	31
5.6. Sakrifikasyon	32
5.7. Histopatolojik Değerlendirme	33
5.8. İstatistiksel Analiz	34
6. BULGULAR	35
6.1. Histopatolojik Bulgular	35
6.1.1. Kontrol Grupları	35
6.1.2. DESL Grupları	37
6.2. Gruplara Ait Hücre Sayım Bulguları	45
6.3. Gruplara Ait İstatistiksel Analiz Bulguları	53
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	58
8. SONUÇLAR	84
9. KAYNAKLAR	85
10. ETİK KURUL ONAYI	105
11. ÖZGEÇMİŞ	106

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 1. Kontrol dört hafta grubuna ait histopatolojik inceleme verileri	45
Tablo 2. Kontrol sekiz hafta grubuna ait histopatolojik inceleme verileri	46
Tablo 3. L5 dört hafta grubuna ait histopatolojik inceleme verileri	47
Tablo 4. L5 sekiz hafta grubuna ait histopatolojik inceleme verileri	48
Tablo 5. L10 dört hafta grubuna ait histopatolojik inceleme verileri	49
Tablo 6. L10 sekiz hafta grubuna ait histopatolojik inceleme verileri	50
Tablo 7. L20 dört hafta grubuna ait histopatolojik inceleme verileri	51
Tablo 8. L20 sekiz hafta grubuna ait histopatolojik inceleme verileri	52
Tablo 9. Osteosit parametresinin gruplar arası ve zamana bağlı istatistiki analizi	53
Tablo 10. Osteoblast parametresinin gruplar arası ve zamana bağlı istatistiki analizi	54
Tablo 11. Osteoklast parametresinin gruplar arası ve zamana bağlı istatistiki analizi	55
Tablo 12. Fibroblast parametresinin gruplar arası ve zamana bağlı istatistiki analizi	56
Tablo 13. Damar parametresinin gruplar arası ve zamana bağlı istatistiki analizi	57

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1. Şematik olarak bir lazer cihazı	12
Şekil 2. Normal ışık ve lazer ışınının özellikleri	13
Şekil 3. Zamansal ve uzamsal uyum	14

KISALTMA, SİMGE ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ALP	Alkalen Fosfataz
ATP	Adenozin -Tri-Fosfat
b-FGF	Basit Fibroblast Growth Factor
BCP/PLGA	Bikalsiyum fosfat/polilaktid-koglikolid
Cbfa1	Core-binding factor alpha-1
cm²	Santimetre kare
COX-2	Siklooksijenaz-2
DESL	Düşük Enerji Seviyeli Lazer
DNA	Deoksi Ribonükleik Asit
Er: YAG	Erbiyum:Yitriyum-Alüminyum-Garnet
FDA	Food and Drug Administration
Ga-Al-As	Galyum-Alüminyum-Arsenid
gr	Gram
He-Ne	Helyum-Neon
Hol: YAG	Holmiyum:Yitriyum-Alüminyum-Garnet
IGF	Insulin-like Growth Factor
J	Joule
KTP	Potasyum Titanil Fosfat
KTÜ	Karadeniz Teknik Üniversitesi
mW	Miliwatt
nm	Nanometre
Nd: YAG	Neodyum:Yitriyum-Alüminyum-Garnet
PRF	Platelet Rich Fibrin
rIGF	Recombinant Insulin-like Growth Factor
RNA	Ribonükleik Asit
Sn	Saniye
µm	Mikrometre
VEGF	Vasküler Endotelyal Growth Factor
W	Watt

Formüller**Ca**

Kalsiyum

CO₂

Karbondioksit

NaCl

Sodyum Klorür

P2G

Fenol-Gliserin-Glikoz

1. ÖZET

Farklı Enerji Yoğunluklarında Düşük Enerji Seviyeli Lazer (DESL) Biyostimülasyonunun Kemik İyileşmesine Etkisinin Hayvan Modeli Üzerinde İncelenmesi

Oral ve maksillofasiyal cerrahide kemik dokuya yönelik pek çok girişimsel işlem yapılmaktadır. Post-operatif süreçte kemik doku iyileşmesinin, düşük enerji seviyeli lazer biyostimülasyonu (DESL) uygulaması ile desteklenebileceği, pek çok çalışmada öne sürülmüş ancak, ideal DESL biyostimülasyon yöntemi konusunda bir görüş birliği bulunmamaktadır. Bu çalışmada, 940 nm dalga boylu lazer ile DESL biyostimülasyonunun farklı enerji yoğunluklarında uygulanmasının ratlarda kemik iyileşmesi üzerindeki etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Farklı güç yoğunluklarında DESL biyostimülasyonunun, ratların sağ tibialarında oluşturulan kemik defektlerinin iyileşmesindeki etkilerini kıyaslamak amacıyla ratlara L5, L10, L20 olarak üç ayrı grup olmak üzere 1.5 watt, üç watt, altı watt güç ve beş J/cm², 10 J/cm², 20 J/cm² enerji yoğunluğunda, 10 saniye boyunca devamlı modda DESL biyostimülasyonu, defekt oluşturulduktan hemen sonra ve takip eden iki, dört, altı, sekiz, on ve onikinci günlerde uygulanmıştır. Ayrıca, DESL biyostimülasyonu uygulanmayan iki kontrol grubunda da toplam 12 adet ratın sağ tibialarında oluşturulan defektler değerlendirilmiştir. Erken dönem kemik iyileşmesi dördüncü haftada, geç dönem kemik iyileşmesi sekizinci haftada ratlar sakrifiye edilerek incelenmiştir. Gruplar altı adet rat içermiş olup, her ratın sağ tibiası histolojik olarak değerlendirilmiştir.

Çalışma sonunda 940 nm dalga boylu lazer kullanarak beş, 10 ve 20 J/cm² enerji yoğunluklarındaki DESL biyostimülasyonunun geç dönem kemik iyileşmesi üzerinde etkili olmadığı, sadece 10 J/cm² enerji yoğunluğunda DESL biyostimülasyonunun dördüncü haftada fibroblastik aktiviteyi arttırdığı, görülmüştür. Kemik hücrelerinin 940 nm dalga boylu lazer ile biyostimülasyonu sonucunda profilerasyonlarının arttığını gösteren in vitro çalışmaların in vivo çalışmalar ile desteklenmesi gerekmektedir. Bu dalga boyundaki lazerin kemik iyileşmesi üzerindeki etkisinin farklı süre, güç ve enerji yoğunluklarında uygulandığı daha kapsamlı ve detaylı in vivo çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: Düşük Enerji Seviyeli Lazer Tedavisi, Ga-Al-As Lazerler, Kemik

2. SUMMARY

Evaluating the Efficacy of Low-Level Laser (LLL) Biostimulation with Different Energy Intensities on Bone Healing In Animal Model

Many invasive procedures to the bone tissue are performed in oral and maxillofacial surgery. It has been claimed by many studies that, bone healing in post-operative recovery period can be supported by application of low-level laser (LLL) biostimulation, although there is not a consensus about the ideal method of LLL biostimulation.

In this study, efficacy of LLL biostimulation by using 940 nm wavelength laser with different power intensities on bone healing was evaluated. LLL biostimulation is applied to three group of rats as L5, L10 and L20 immediately after creating defects and on following second, fourth, sixth, eighth, tenth and twelfth days with powers of 1.5 W, three W, six W and with energy intensities of five J/cm², 10 J/cm², 20 J/cm² for 10 seconds in continuous mode for evaluating the effect of efficacy of LLL biostimulation with different power intensities on healing of bone defects created on right tibia of rats. Additionally, created defects in right tibia of 12 rats in two control groups were also evaluated. Short term bone healing was evaluated on fourth week while late term bone healing was evaluated on eighth week by sacrificing rats. Groups consisted of six rats each and right tibia of each rat was evaluated with histological analysis.

In the end of the study, it has been concluded that LLL biostimulation by using 940 nm laser with five, 10 and 20 J/cm² energy intensities is not effective on bone healing, but only LLL biostimulation with an energy intensity of 10 J/cm² increased fibroblastic activity at 4th week. In vitro studies that exhibit proliferation of bone cells with 940 nm laser should be supported by in vivo studies. Further detailed and more comprehensive in vivo studies in which the laser in this wavelength is applied with different time, power and energy intensities are required to evaluate the effects on bone healing.

Key words: Low-Level Laser Therapy, Ga-Al-As Lasers, Bone

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Düşük enerji seviyeli lazer (DESL) biyostimülasyonu, yumuşak ve sert doku yaralanmalarında iyileşmesinin desteklenmesinde kullanılabilen etkili ve güncel bir tedavi alternatifidir. DESL biyostimülasyonunun, kemik iyileşmesi üzerinde uyarıcı etkisi bulunduğu dair literatürde pek çok çalışma bulunmaktadır (1-6). Çeşitli deneysel in vivo çalışmalarda, DESL'in standardize kemik defektleri ve yapay fraktürlerin iyileşmesi üzerinde hızlandırıcı etkide bulunduğu rapor edilmiştir (7-9). Dörtbudak ve arkadaşları (10), yaptıkları in vitro çalışmada osteoblast hücre kültür ortamında DESL'in kemik matriks oluşumunu stimüle ettiğini ortaya koymuşlardır. Benzer şekilde Khadra ve arkadaşları da (11), tavşan modeli üzerinde yaptıkları çalışmada DESL biyostimülasyonunun kemik-implant birleşimi üzerinde iyileşmeyi hızlandırıcı etkili olduğunu belirtmişlerdir. Bir diğer çalışmada, farelerde kalvaryumda oluşturulan defekte uygulanan DESL biyostimülasyonunun kemik metabolizmasını ve mineralizasyonunu hızlandırdığı sonucuna varılmıştır (12). DESL biyostimülasyonunun etkinliği konusunda en çok kabul gören hipotez, lazer enerjisinin hücrede sitokromları aktive ederek hücre içi aktiviteyi hızlandırdığı, ATP ve ALP konsantrasyonunu ve kalsiyum salınımını arttırdığıdır. Bununla birlikte DESL biyostimülasyonu vaskülarizasyonu arttırıcı etkisinin yanı sıra, anti-inflamatuvar etkisine bağlı olarak mediyatör salınımını arttırarak kemik matriks oluşumunu uyarır ve kemik iyileşmesini hızlandırır (13).

Literatürde DESL biyostimülasyonu uygulamasına dair standart bir protokol bulunmamasından dolayı kemik iyileşmesi üzerinde farklı dozlarda uygulanan DESL biyostimülasyonunun doza bağlı etkinliği, kemik defekti oluşturulmuş farklı deneysel hayvan modellerinde histolojik olarak incelenmiştir. Her ne kadar DESL biyostimülasyonunda ilk olarak Helyum-Neon lazerler kullanılmışsa da derin dokudaki penetrasyon gücü ve etkin biyostimülasyon yapabilme özelliklerinden dolayı günümüzde artık Galyum-Alüminyum-Arsenid lazerler tercih edilmektedir. Çalışmamızda, oluşturulan tibia defektlerinde kemik iyileşmesinin desteklenmesi amacıyla Galyum-Alüminyum-Arsenid lazer kullanılarak beş J/cm², 10 J/cm², 20 J/cm² enerji yoğunluklarında DESL biyostimülasyonunun uygulanmıştır. Daha sonra defekt alanındaki osteoblastik aktivite histolojik olarak değerlendirilmiştir. Ratlar üzerinde deney ve kontrol gruplarını içeren karşılaştırmalı bir çalışma modeli olarak planlanan bu çalışmanın amacı, kemik iyileşmesinin DESL biyostimülasyonu ile desteklenerek erken

dönem ve geç dönem kemik iyileşmesi üzerindeki potansiyel biyostimülasyon etkisinin histolojik olarak incelenmesidir. Çalışma, farklı enerji yoğunluklarında DESL biyostimülasyonu uygulamasının kemik iyileşme mekanizmasına farklı düzeylerde katkıda bulunarak iyileşme sürecini hızlandırabileceği hipotezi üzerine kurulmuştur.

Çalışmamız Karadeniz Teknik Üniversitesi (KTÜ) Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurul Başkanlığı ve KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Ayrıca çalışmamız, KTÜ Bilimsel Araştırmalar Koordinasyon Birimi'nin 21.03.2014 tarihli 11140 kodlu Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) tarafından desteklenmiştir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Kemik

Kemik dokusu; iskelet sisteminin temelini oluşturan özelleşmiş bir bağ dokusudur. Yapısı, hücreler ve hücreler arası matriksten oluşmakta olup hematopoetik, biyomekanik ve metabolik işlevleri vardır. Bu işlevleri sayesinde iskelet-kas sistemi fonksiyonlarını ve bütünlüğünü sağlar, organları korur ve kan üretimini sağlar.

4.1.1. Kemik Hücreleri

Kemik dokuyu oluşturan hücresel elemanlar; osteoblastlar, osteoklastlar, osteositler ve osteoprogenitör hücrelerdir.

4.1.1.1. Osteoblastlar

Osteoblastlar, mezenkimal hücrelerden veya farklılaşmamış hücrelerden gelişen, kemik yapımında sorumlu hücrelerdir. Periosteum, endosteum ve kemik iliğinde bulunan osteoblastlar, aktif kemik oluşumunun olduğu bütün bölgelerde bulunurlar. Kemik yapımı esnasında aktif olan osteoblastlar kübik şekilli, büyük çekirdekli yapı gösterirken, kemik yapımında görev almadıkları pasif dönemlerinde ise yassılaşır. Osteoblastlar, kemik matriksindeki kollajen ve kollajen olmayan protein sentezinden, alkalen fosfataz enzimi içermesi sayesinde osteoid maddenin mineralizasyonundan sorumludur. Osteoblastların bir kısmı kemik yüzeyini döşeyen hücrelere dönüşürken bir kısmı da osteositlere dönüşür. Ayrıca bu hücrelerde paratiroid hormonu, 1,25-dihidroksivitamin D, kalsitonin, östrojen ve glukokortikoid gibi kemik metabolizmasında etkili moleküllere özel reseptörler vardır. (14-16).

4.1.1.2. Osteoklastlar

Kemik rezorbsiyonundan sorumlu hücreler olan osteoklastlar, hareketli ve çok büyük boyutlu hücrelerdir. Hücrenin büyüklüğü ve çekirdek sayısı rezorbe edilen kemiğin mineralizasyon miktarı ile doğru orantılıdır. Osteoklastlar, kemiğin rezorbe olmuş “*Howship lakünası*” adlı boşluklarında bulunurlar. Osteoblastlarla birlikte kemiğin yeniden şekillenmesinde rol oynayan osteoklastlar, salgıladıkları asit fosfataz, kollajenaz gibi proteolitik enzimlerle kemiğin organik ve inorganik kısımlarının yıkımını sağlarlar. Osteoklastların kemiğin hangi bölgesinde yıkım yapacağını belirleyen mekanizma kesin olarak tespit edilememekle birlikte sitokinler ve hormonların kontrolünde olduğu öne

sürülmüştür. Osteoklastlarda spesifik kalsitonin hormonu reseptörleri vardır. Osteoblastların aksine osteoklastlar, paratiroid hormonu reseptörü içermezler. Uyarılmaları, osteoblast reseptörüne bağlanan paratiroid hormonunun aktivasyonu ile salgılanan osteoklast uyarıcı faktör ile sağlanır. Rezorbsiyon tamamlanınca osteoklast hücresi yok olur veya köken aldığı hücreye dönüşür. Bifosfonatlar, kalsitonin ve östrojen hormonları osteoklastların etkilerini azaltırken, paratiroid, tiroksin hormonları ve D vitamini osteoklast etkinliğini artırır (14, 16-19).

4.1.1.3. Osteositler

Osteositler, kemik oluşumu esnasında osteoblast hücrelerinden bazılarının yeni oluşan osteoid madde içinde kalarak organellerinin çoğunu kaybetmesiyle oluşan dönüşmüş hücrelerdir (14). Bununla birlikte; osteositler birbirleriyle mekanik ve elektriksel olarak bağlantılı hücrelerdir. Kemikte boş lakünalar bulunması, osteositlerin apoptoza uğrayabileceğini gösterirken buna sebep olarak hücreler arası bağlantıda veya hücre-matriks etkileşimindeki kesintilerin etkili olabileceği öne sürülmüştür. Östrojen, bifosfonatlar ve kemiğe gelen fizyolojik kuvvetler osteosit apoptozunu önleyici etkiye sahiptirler (17, 19-21).

4.1.1.4. Osteoprogenitör Hücreler

Kemiğin embriyonik mezenkimal dokusundan köken alan osteoprogenitör hücreler endosteum ve periosteumda bulunurlar. Osteoprogenitör hücreler iki tipte olup, bunlardan birincisi osteoblastların geliştiği preosteoblastlardır. Diğer tip osteoprogenitör hücreler ise osteoklastlara öncülük ederler (22). Büyüme tamamlanınca pasif hale gelen bu hücreler, gerektiğinde uygun medyatörlerin varlığında (interlökinler, trombosit kaynaklı büyüme faktörü ve insülin benzeri büyüme faktörü) aktive olarak osteoblast veya osteoklastlara dönüşebilirler (15, 20, 23, 24).

4.1.2. Kemik Matriksi

Kemiği oluşturan yapısal bileşenler, %65 inorganik matriks (mineral), %35 organik matriks (osteoid madde), kemik hücreleri ve çözünebilen sinyal faktörleridir (16, 25).

4.1.2.1. Kemiğin Organik Matriksi

Kemik matriksinin %35'ini oluşturan organik matriks osteoid madde olarak adlandırılır. Bu yapı %90 oranında Tip 1 kollajen, %10 oranında ise kollajen olmayan proteinler, lipidler ve makroproteinlerden oluşmaktadır (26). Kollajen, kemiğin lifli yapısını oluşturur. Matriksin kollajen proteinleri Tip 1 kollajen ve bunları bağlayan glikozaminoglikanlardan meydana gelir. Kollajen olmayan proteinlerin en yaygın olanları osteokalsin, osteonektin ve osteopontindir. Osteokalsin, osteoblastlar tarafından salgılanır ve kemik mineralizasyon ve kalsiyum iyon mekanizmasında etkilidir. Osteonektin de yine osteoblastlar tarafından salgılanır, hücre matriks etkileşiminde ve kollajen bağlanmasında görev alır. Osteoblast, osteosit ve osteoklast gibi hücreler tarafından üretilen osteopontin ise osteoklastların kemik mineral matriksine bağlanmasını sağlayarak kemik remodeling mekanizmasında görevli olabileceği düşünülen kollajen olmayan bir proteindir (27, 28).

4.1.2.2. Kemiğin İnorganik Matriksi

Kemiğin mineralize bölümünü oluşturan inorganik matriks, büyük oranda saf olmayan hidroksiapatit yapıda olup, içerisinde bulunan karbonat, magnezyum ve flor gibi elementler kollajen liflerin üzerine çökerek kristal yapıyı oluştururlar. Kristal ağlar aralarındaki sıkı bağ, kemiğin gerilme ve sıkışma kuvvetlerine karşı dirençli olmasını sağlar (26, 29).

4.1.3. Kemik Zarları

Kemik; iç yüzeyinde endosteum ve dış yüzeyinde periosteum adlı bağ dokusu tabakaları ile sarılmıştır. Periosteum ve endosteumun temel görevleri; kemik dokunun onarım, beslenme ve büyümesi için gereken yeni osteoblastları sağlamaktır (22).

4.1.3.1. Endosteum

Kemiğin iç yüzeyindeki boşlukları örten, osteoprogenitör hücreler ve az miktarda da bağ doku içeren bağ dokusu tabakasıdır. Osteojenik ve hemopoetik potansiyele sahiptir (16).

4.1.3.2. Periosteum

Periost, eklem yüzeyleri dışında kemiğin dış yüzeyini örten bir bağ dokusudur. Kortikal kemik ile çevresindeki yumuşak dokular arasında bağlayıcı görev görür. Periostun dış yüzeyindeki fibröz tabaka; fibroblastlar, kollajen, elastin lifler, sinir ağı ve

kılcal damarlar içerirken iç yüzeyindeki tabaka ise erişkin mezenkimal ön hücreler, farklılaşmamış osteojenik ön hücreler, osteoblastlar, fibroblastlar, kılcal damarlar ve sinirlerden oluşmaktadır (16, 30).

4.1.4. Kemik Dokusu Çeşitleri

Kemik dokusu, kollajen liflerinin doku içindeki dağılımına göre primer kemik dokusu ve sekonder kemik dokusu olarak ikiye ayrılır (16).

4.1.4.1. Primer Kemik Dokusu

Embriyolojik gelişim sürecinde ve kemik onarımında ilk olarak oluşan kemik türü, primer kemik dokusudur. Primer kemik dokusu; osteositlerin organik matriks içine düzensiz dizilim gösterdiği, hücreden zengin ve mekanik olarak güçsüz bir kemik dokusudur (25). Vücutta genellikle geçici olarak bulunan primer kemik dokusu, kafatasının eklem bölgeleri, çenelerde alveol kemiği ve bazı tendonların kemiğe bağlandığı yerler haricinde sekonder kemik ile yer değiştirir.

4.1.4.2. Sekonder Kemik Dokusu

Primer kemik dokusu, postnatal süreçte vücuttaki kemiklerin tamamına yakınında matriksi lamelli bir düzen gösteren sekonder kemik dokusuna dönüşür. Sekonder kemik makroskopik olarak süngerimsi (spongioz) ve kompakt (kortikal) kemik olarak iki form gösterir (25).

Kortikal kemik, yoğun bir kemik olup iskelet sisteminin %80'ini, kemiklerin iç ve dış tabakalarını oluşturur. Kortikal kemiğin yapısında kemiğin uzun eksenine paralel seyreden Havers kanalları ve bu kanallara dik seyreden Wolkman kanalları adı verilen yan kanallarla birbirine bağlanmıştır. Wolkman kanalları, kemik iliği boşluğu ve periost arasında bağlantıyı sağlar (29).

Spongioz kemik, iki kortikal kemik arasında bulunan, kemik iliğinin bulunduğu boşlukları sınırlayan anastomoz yapmış kemik trabekülleri ağından oluşur. Kortikal kemik, içiçe geçmiş lameller yapı gösterirken spongioz kemikte düzensiz lameller mevcuttur ve havers kanalı gözlenmez (16, 25).

4.2. Kemik Oluşumu

Kemik oluşumu, çoğunlukla bir kırıkta modelin mineralizasyonu şeklinde gerçekleşen endokondral kemikleşme ve daha az oranda da intramembranöz kemikleşme ile doğrudan meydana gelir.

4.2.1. İntramembranöz Kemikleşme

Kırıkta bir geçiş yapısı olmadan doğrudan yeni kemik oluşmasıdır. Embriyonik dönemde ve kırık iyileşmesinde izlenir. Bu tip kemikleşme mezenkimal kökenli embriyonel bağ dokusu içinde gerçekleşir. Frontal ve parietal kemikler, mandibula, maksilla ve temporal kemiklerin bazı bölgeleri intramembranöz kemikleşme ile oluşur. Kemikleşmenin olacağı bölgede fibroblastik aktivite sonucu kollajen fibrilleri bağ dokusu alanları oluştururlar. Hücrelerden bir kısmı osteojenik hücrelere, bu hücreler de osteoblastlara farklılaşarak osteoid maddeyi oluştururlar. Osteoid madde kalsifiye olur ve lakünalar içindeki osteoblastlar osteositlere dönüşür. Osteosite dönüşen osteoblastların yerini mezenkimal hücrelerinden dönüşen yeni osteoblastlar alır. Bu sayede kemik trabekülleri giderek büyür (23, 25).

4.2.2. Endokondral Kemikleşme

Kemik oluşumu ve iskelet gelişiminin temel oluşum şekli endokondral kemikleşmedir. Başlangıçta mezenkimal dokunun yoğunlaşması sonucunda bir kırıkta modeli oluşur. Kırıkta modelin merkezinde kondrositler büyür ve kırıkta modelini rezorbe ederek ileride kalsifiye olacak kırıkta matriksi bırakırlar. Kırıkta matriks yapısı içine vasküler invazyonun gerçekleşmesi ile osteoblastlara farklılaşan osteoprogenitör hücreler, oluşacak kemiğin diafiz bölgesinde primer kemikleşme odaklarının ortaya çıkmasını sağlar. Uzun kemiklerin uçlarındaki epifiz bölgelerinde ise sekonder kemikleşme odakları oluşur. Kırıktağın her iki ucu büyümeye devam eder ve iskeletsel gelişimin tamamlanması ile kırıkta oluşumu durarak epifiz ile diafiz bölgeleri birleşir (25, 31).

4.3. Kemiğin Metabolik Rolü

Vücuttaki kalsiyumun %99'u kemik dokuda bulunur. Kan ve kemik arasında devamlı olarak kalsiyum değişimi yapılır. Kalsiyum iyonları, hidroksiapatit kristallerinden hücreler arası sıvıya direkt geçiş yoluyla veya paratiroid hormonun

aracılığıyla kemik matriksinin osteoklastlar tarafından eritilerek emilimi yoluyla kemikten kana geçer. Bir diğer hormon kalsitonin ise matriksin eritilip emilmesine engel olarak osteoklast engelleyici etkiye sahiptir (32, 33).

Mineralize kemik matriksi belirli sitokinler ve büyüme faktörleri için depo görevi görür ve bu matriksin rezorpsiyonu yoluyla bu mediyatörlerin lokal ve sistemik etki göstermelerini sağlar. Buna ilaveten kemik, alkali tuzların depolanması veya salınması yoluyla kanın pH dengesinin sağlanmasına katkıda bulunur. Ayrıca ağır metaller, büyük oranda kemik dokuda depolanarak dolaşımdan uzak tutulur (20, 34).

4.4. Kemik Remodeling ve İyileşmesi

Kemiklerin şeklinin oluşmasına “*modeling*” (yapım), kemiklerin şeklinin değişmeksizin yapılıp yıkılmasına ise “*remodeling*” (yeniden şekillenme) denir. Osteoblastlar ve osteoklastların aktivitesi, yaşam boyu süren bir kemik yapım ve yıkım dengesini sağlar. Normal koşullarda osteoblastik aktivite osteoklastik aktiviteden çok az daha fazladır. Bu mekanizmada genetik özellikler, mekanik etkenler ve sistemik endokrin etkenler etkilidir. (35, 36) Erişkinlerde remodeling daha fazla iken, çocuklarda modeling daha fazla oranda gerçekleşir (37).

Kemik; yeterli kan dolaşımı ve sağlam bir mekanik stabilite sağlanması halinde defektin boyutuna göre ya orijinal yapısını yeniden kazanacak kadar iyi iyileşir ya da tamir olacak şekilde iyileşir. Kemikte bir defekt oluştuğunda, büyüme faktörleri ve diğer bazı mediyatörlerin aracılığıyla bölgesel bir kemik rejenerasyonu başlar. Kemik defektinin rejenerasyonunda ilk olarak bölgeye kan akımı olması sonucu pıhtı oluşur. Pıhtı içine vasküler gelişim (anjyogenesis) ve mezenkimal hücre göçü ile granülasyon dokusu oluşur. Bu doku kademeli olarak geçici bir bağ dokusuna dönüşür (fibroplazi). Osteoprogenitör hücreler bağ dokuda bulunan kan damarları çevresinde osteoblastlara dönüşürler ve osteoid üretirler. Bu ilk oluşan kemik “*örgü kemik*” (woven bone) olarak da adlandırılmakta olup, iyi organize olmamış kollajen matriksi, mineralize matriks içinde gömülü kalmış çok sayıda osteoblast ve mekanik olarak güçsüz yapısıyla karakterizedir. Örgü kemik yeniden şekillenme sonucu dönüşeceği lameller kemiğe dayanıklı bir çatı, matriks mineralizasyonu ve osteoprogenitör hücreler için kaynak sağlar. İlk birkaç haftada örgü kemik oluşumu tamamlanır. Osteoklastik aktivite ile ilk oluşan örgüsel

kemikte oluşan boşlukların yerini kemik iliği doldurur ve zamanla örgü kemik lameller yapıdaki kemiğe dönüşür (23, 36, 38).

4.5. Lazer

Işık yüzyıllardır iyileştirici bir ajan olarak kullanılmaktadır. Antik Yunan'da güneş ışınları sağlığı bozulan insanları tedavi amacıyla (helioterapi) kullanılmıştır. Güneş ışığına maruz bırakılan Mısırlılarda “*Q-humması*” (Rickettsia) görülmemesinin, ışığın iyileştirici gücüne bağlı olduğunu belirten tarihsel bulgular vardır (39). İlk lazer yakut kristali kullanılarak yapılmış, gelişen teknoloji ile birlikte helyum-neon (He-Ne), argon, karbondioksit (CO₂), erbiyum-yitrium-alüminyum-garnet (Er:YAG), Neodyum-yitrium-alüminyum-garnet (Nd:YAG), galyum-alüminyum-arsenid (Ga-Al-As) gibi farklı türde lazerler ile farklı tedavi yöntemleri geliştirilmiştir (40).

4.5.1. Lazerin Tanımı

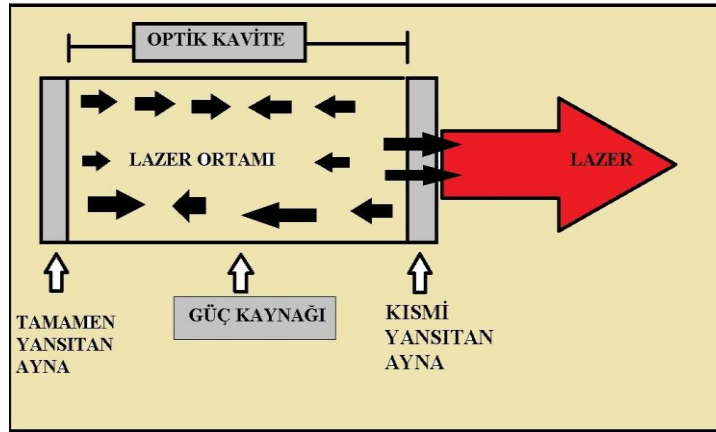
Lazer kelimesi “Radyasyonu uyarılmış emisyonu ile ışığın güçlendirilmesi” anlamına gelen, İngilizce “Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation” kelimelerinin baş harflerinden oluşan bir sözcüktür (41).

4.5.2. Lazer Fiziği

Boltzman prensibine göre alt enerji seviyesinde üst enerji seviyesinden daima fazla atom bulunur. Lazer sisteminde ise bunun tersine çevrilmesi gerekir. Alt enerji seviyesi temel durum olarak, üst enerji seviyesi ise uyarılmış durum olarak adlandırılabilir. Bir atom temel durumdaysa ve uygun dalga boyunda fotonlar içeren bir radyasyon alanı üzerine doğru geliyorsa bir foton absorbe ederek uyarılmış duruma geçebilir. Bir süre sonra atom kendiliğinden aynı dalga boyunda bir foton yayacak ve tekrar temel duruma dönecektir (42). Einstein, uyarılmış atomun temel duruma dönmesi için bir başka yol olduğunu daha göstermiştir. Buna göre, uyarılmış atom uygun dalga boyunda bir başka radyasyon alanına konursa, foton salarak (emisyon) temel duruma geçmesi için uyarılacaktır. Spontan emisyonda, salınan foton gelen radyasyonla ilgisiz ve rastgele bir yönde olurken; uyarılmış emisyonda ise salınan fotonlar gelen ışınla eş zamanlı ve uyumludur (koherent). Lazer ışınları bu prensibe göre elde edilir (43).

Lazer cihazı, içinde lazer ortamı ve bu ortamın her iki tarafında birbirine paralel aynalar bulunan bir sistemdir. Aynalardan biri ışını %100 yansıtırken, diğeri kısmen

yansıtır. Lazer ortamı başlangıçta aktif durumda değildir. Lazer ortamına gelen uyarıcı ışık ortamı aktif hale getirerek moleküllerin dizilimini tersine çevirir. Yeni dizilim ile, lazer ortamının atomları dinlenme (temel) durumundan çıkıp enerji verecek duruma gelir. Uyarılmış bir atom tarafından üretilen bir fotonluk enerji, ışık kaynağınca uyarılmış diğer bir atomdan bir fotonluk enerji açığa çıkmasını sağlar. Bu reaksiyon sonucu iki fotonluk enerji birikir. Sonuçta ışıma gücünün iki katı enerjiye sahip ışık demeti oluşur. Bu ışık demeti uyarılmış lazer ortamında ilerlerken yeni atomları uyarır. Tam yansıtıcı aynaya ulaşan ışık huzmesinin yönü tersine döner, uyarılmış lazer ortamından tekrar geçer ve güçlenerek diğer aynaya gelir. Aynalar arasında tekrarlanan geçişler ile ışık huzmesi yeterli oranda yükseltildiğinde yarı iletken aynadan lazer ışığı olarak dışarıya geçer; bu sürede enerji kaynağı çalıştıkça aktif lazer yayılımı sağlanır (40, 44) (Şekil 1).



Şekil 1. Şematik olarak bir lazer cihazı (Kaynak: Convissar, 2011: 14)

Sonuç olarak; bir ışık kaynağından çıkan foton enerjisini belirli bir ortamdan geçirerek bu ortamın atomlarındaki elektronların dönüş hızı arttırılmakta ve böylece gelen ışınlardan çok farklı, yeni bir foton enerjisi elde edilerek tek bir doğrultuda sevk edilmektedir. İlk ışık kaynağı veya bu ışığın geçtiği ortamı değiştirerek çok farklı özellikleri olan lazerler elde etmek mümkündür (44, 45).

4.5.2.1. Işık ve Özellikleri

Işık foton adı verilen birimlerden oluşan, bir partikül veya dalga halinde hareket eden bir enerji formudur (45). Işığın “dalga yüksekliği” ve “dalga boyu” adlı iki ana özelliği vardır. Dalga yüksekliği; dalga salınımının en yüksek noktası ile sıfır noktası arasındaki mesafe olarak tanımlanır. Dalga yüksekliği ışığın parlaklığı ile ilgili bir

kavramdır. Dalga boyu ise, dalga üzerinde benzerlik gösteren iki nokta arası mesafeyi göstermektedir ve ölçü birimi metredir (44, 46).

Işığın dalga yüksekliği ve dalga boyu, fotonların enerji seviyelerini ve elektromanyetik spektrumdaki yerlerini belirler. Elektromanyetik spektrumdaki kızılötesi ve mikrodalga ışınlar gibi uzun dalga boylu ışınlar düşük enerji üretir. Kısa dalga boylundaki ışınlar ise yüksek enerjili ultraviyole ışınları ve X ışınlarıdır (46, 47).

4.5.3. Lazer Işınının Özellikleri

Elektromanyetik spektrumun görünür ışık ve kırmızı ötesi bölgesinde yer alan lazerleri klasik ışıktan ayıran bazı özellikler vardır (48). Bu özellikler; monokromatisite, koherens, kolimasyon ve enerji taşıyıcılıktır (Şekil 2).



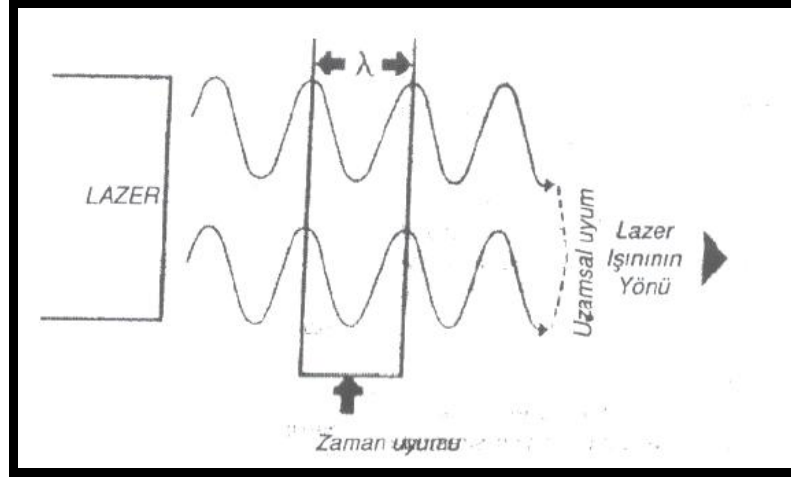
Şekil 2. Normal ışık ve lazer ışınının özellikleri (Kaynak: Lukac M, 2003:36)

4.5.3.1. Monokromatisite

Normal ışık bir çok dalga boyunu bir arada bulundurmasına karşın, lazer ışını tek veya belirli birkaç dalga boyunda ışınlardan oluşmuştur. Örneğin Ruby lazer 694.3 nm'de, He-Ne lazer 632.8 nm'de kırmızı ışık verir. Monokromosite, spesifik uygulamalar ya da dokular için belirli dalga boylarının seçilmesine olanak verir (43, 49).

4.5.3.2. Koherens

Lazer ışın dalgaları arasında uzamsal ve zamansal tam bir uyumluluk vardır. Uzamsal uyum; lazer ışınları arasında iyi bir faz korelasyonu olduğu anlamına gelir. Zamansal uyum ise lazer ışınlarının dalga boyunun zamanla değişmemesidir. Bunun anlamı; ışık dalgalarının aynı fazda bulunması ve birbirine paralel olmasıdır (Şekil 3) (43-45).



Şekil 3. Zamansal ve uzamsal uyum (Kaynak: Coluzzi, 2007:12)

4.5.3.3. Kolimasyon

Lazer ışınları, kolimasyon özelliği sayesinde çok ince bir demet halinde yayılır . Normal ışık çok kısa süre ve mesafede yayılır. Lazer ışığı ise çok az yayılma göstermesi nedeniyle çok ince olsa bile uzak mesafelere kadar aynı incelikte ulaşabilir. Bu nedenle “kolimasyon” (doğrultulmuş ışın) deyimini kullanılmaktadır. Fiberoptik bir iletkenle istenilen bölgeye kolaylıkla yönlendirilmesi mümkündür (40, 43, 50).

4.5.3.4. Enerji Taşıyıcılık

Lazer ışınlarının büyük bir elektromanyetik alan gücü vardır ve buna bağlı olarak enerji taşıyıcılık özelliğine sahiptirler (40, 44, 50).

4.5.4. Lazer İletim Sistemleri

Lazer sistemlerinde üretilen enerjinin hedef dokuya ergonomik ve kayıpsız iletilmesi gerekmektedir. Bunun sağlanması için belli başlı iki ana iletim sistemi mevcuttur.

Bunlardan ilki, ucunda ayna ile sonlanan, hareketli kollardan oluşan tüplerdir. Lazer ışığı tüp boyunca iletilir ve tüpün sonunda bir uygulama başlığından yansıtılan bu sistem, CO₂ lazerler ve erbiyum grubu lazerlerde kullanılır.

İkinci iletim sistemi, cam fiber optik kablodur. Esnek, hafif ve küçük çaplı olup, diyet, Nd:YAG gibi kısa dalga boyuna sahip cihazlarda kullanılır. Bu sistem, temaslı veya temassız olarak kullanılabilir ancak cerrahi işlemlerde daha çok temaslı uygulamalar tercih edilir (44, 51).

4.5.5. Lazer Işınının Yayılımı

Lazer ışını, enerjisini devamlı dalga modu, aralıklı atım modu ve serbest atım modu olmak üzere üç yolla yayar.

Devamlı dalga modu, hekimin ayak pedalına bastığı süre boyunca lazer ışınının devamlı ve tek güç seviyesinde yayılması olup, sabit ve stabil bir enerji ileten moddur. Devamlı modda çalışırken dokuda termal hasarları engellemek için lazeri aralıklarla durdurarak çalıştırmak gerekir.

Aralıklı atım modu, devamlı bir lazer ışını hüzmelerinin akış yolu üzerindeki mekanik bir kapak aracılığıyla lazer enerjisinin her birkaç milisaniyede bir açılıp kapatıldığı moddur. Bu modda, patlama şeklinde enerji sağlar.

Serbest atım modu ise çok yüksek enerji seviyeli lazer ışınının çok kısa süreler için yayılması ve göreceli olarak uzun süreler boyunca kapatılması şeklinde çalışır. Çok yüksek güç değerlerine ulaşılsa bile ışınlama süresi kısa olduğu için ortalama güç görece az olur (44, 52).

4.5.6. Lazer Doku Etkileşimleri

Lazer ışınının doku ile etkileşimi dokunun optik özelliklerine göre dört farklı şekilde gerçekleşmektedir. Bunlar; absorbsiyon, iletim, yansıma ve yayılımdır (53).

Dokunun lazer ışınına absorbe etmesi, lazer doku etkileşim şekilleri arasında en çok tercih edilenidir. Doku tarafından absorbe edilen enerji miktarını pigmentasyon, su içeriği gibi dokuya ait özellikler, lazerin dalga boyu ve emisyon modu belirler. Doku içinde belirli bir dalga boyundaki lazer ışınına seçici olarak absorbe eden kromofor sayısı, lazer ışınının absorbsiyon miktarını belirler. Lazerin dokudaki penetrasyon derinliği, absorbsiyonu ile ters orantılıdır (41). Hemoglobinin, kırmızı dalga boyunu yansıtır ve arteriyel kan damarlarına renk verirken, daha az oksijen içeren venöz kan daha fazla kırmızı ışık emerek daha koyu görünür (44).

İkinci etkileşim, lazer ışınının hedef dokuda etki oluşturmada doğrudan geçişidir. Bu özellik, ışının dalga boyu ile ilişkilidir. Örneğin su kısa dalga boylu diyot ve Nd:YAG gibi lazerler için geçirgenken, Er:YAG, CO₂ gibi uzun dalga boylu lazerlere yüksek emilim gösterir.

Üçüncü etkileşim yansıma olup, hedef dokuda herhangi bir etki meydana getirmeden gönderilen ışının geri dönmesidir. Yansıma, ışının göz gibi hasar görebilecek dokulara gitmesi halinde tehlikeli olabilecek bir özelliktir.

Dördüncü etkileşim lazer ışığının yayılımıdır. Yayılımda enerjinin azalması nedeniyle istenen biyolojik etki elde edilememektedir. Ayrıca komşu dokularda ısınmaya bağlı doku hasarı görülebilir (45).

4.5.7. Lazer Sistemlerinin Sınıflandırılması

Medikal ve dental lazerler güçlerine, kullanılan aktif ortama ve dalgaboylarına göre sınıflandırılırlar.

4.5.7.1. Güçlerine Göre Lazer Tipleri

Lazer cihazları güçlerine göre yumuşak lazerler ve sert lazerler olarak ikiye ayrılır.

Yumuşak lazerler, düşük enerjili veya soğuk lazerler olarak da adlandırılırlar. Klinik kullanımda en yaygın olan yumuşak lazerler; Helyum-Neon (He-Ne), Galyum-Arsenid (Ga-As), Galyum-Alüminyum-Arsenid (Ga-Al-As) lazerlerdir. Hücresel aktiviteyi uyaran bu lazerler, 1-500 mW (miliwatt) güç aralığında olup dokularda termal etkiler yaratmazlar (54, 55).

Sert lazerler yüksek enerjili veya sıcak lazerler olarak adlandırılan, genellikle cerrahi amaçlarla kullanılan lazerlerdir. En sık kullanılan sert lazerler, CO₂, Nd:YAG ve Argon lazerlerdir. Uyguladıkları güç 30-100 W (watt) arasındadır (44, 56).

4.5.7.2. Elde Edildikleri Aktif Maddeye Göre Lazer Tipleri

1- Katı haldeki aktif madde kullanılan lazerler:

- Ruby (yakut)
- Neodmiyum: Yitrium-Alüminyum-Garnet (Nd:YAG) lazer
- Holmiyum: Yitrium-Alüminyum-Garnet (Hol:YAG) lazer
- Erbiyum: Yitrium-Alüminyum-Garnet (Er:YAG) lazer
- Erbiyum, Kromiyum: Yitrium-Skandiyum-Galyum-Garnet (Er,Cr:YSSG) lazer

2- Gaz haldeki aktif madde kullanılan lazerler:

- Helyum-Neon (He-Ne) lazer

- Argon lazer
- CO₂ lazer
- Eksimer lazer

3- Sıvı haldeki aktif madde kullanılan lazerler:

- Dye lazer
- Rhodamine lazer

4- Yarı iletken haldeki aktif madde kullanılan lazerler:

- Galyum-Arsenid (Ga-As) lazer
- Galyum-Alüminyum-Arsenid (Ga-Al-As) lazer

4.5.7.3. Lazer Işınının Dalga Boyuna Göre Lazer Tipleri

Lazer ışınları, dalga boylarına göre de sınıflandırılırlar. Buna göre;

- Ultraviole ışık spektrumunda bulunan lazerler: Eksimer lazerler
- Görünür ışık spektrumunda bulunan lazerler: Argon ve Potasyum Titanil Fosfat (KTP) lazerler
- Kızılötesi ışık spektrumunda bulunan lazerler: Ga:As, Ga:Al:As, Nd:YAG, Er:YAG, Er,Cr:YSSG,CO₂ (45)

4.5.8. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Lazerler

4.5.8.1. Argon Lazer

Argon lazer, aktif ortamı argon gazı olan ve yüksek akıma sahip bir elektrik lambasının enerjisini sağladığı bir lazerdir. Emisyon şekilleri devamlı veya atımlı olan, fiber optik sistemli ve spektrumun görünür ışın bölümünden olan tek cerrahi lazerdir (57). Argon lazerlerden 488 nm dalga boyuna sahip olanlar, rezin materyallerin polimerizasyonu ve diş beyazlatma işleminde kullanılırken, 514 nm dalga boyundaki Argon lazerler gingivektomi, frenektomi gibi yumuşak doku cerrahilerin yanı sıra, hemoglobin tarafından emilmesi sayesinde vasküler lezyonların ve inflamatuvar periodontal hastalıkların tedavisinde kullanılırlar (45, 58). Her iki dalga boyu da diş sert

dokuları ve su tarafından çok az absorbe edildiği için dış çevresinde yapılacak yumuşak doku cerrahilerinde kullanım avantajı sağlar (59).

4.5.8.2. Diyot Lazer

Katı aktif ortamlı yarı iletken bir lazer türü olan diyot lazerler; galyum, alüminyum ve arseniğin değişik kombinasyonlarından (Ga-As, Ga-Al-As) oluşur. Sürekli veya atımlı modlarda kullanılabilen diyot lazerler fiber optik iletim sistemine sahiptir. Temaslı uygulandıklarında yumuşak doku cerrahisinde kullanılabilirken temassız modda derin dokulardaki vasküler lezyonların koagülasyonunda kullanılırlar (57, 60). Düşük enerji seviyeli lazer (DESL) tedavisinde kullanılan yarı iletken diyot lazerler, biyostimülasyon ve ağrı kontrolü amacıyla kullanılırlar (44, 61). Diyot lazerler, pigmente dokular tarafından yüksek oranda absorpsiyon gösterebilirler de hemostaz sağlama etkinliği bakımından Argon lazerlerin gerisindedirler. En önemli avantajı, küçük ve taşınabilir olmalarıdır.

4.5.8.3. Neodymium: YAG (Nd:YAG) Lazer

Katı halde aktif madde içeren Nd:YAG lazer, kızılötesi spektrumda bulunur. Genellikle devamlı modda kullanılır ve fiber optik iletim sistemine sahiptir. Gözle görünmeyen ışın yaydığı için rehber ışık ile birlikte kullanılan Nd:YAG lazer, dış hekimliğinde kullanılmak üzere tasarlanan ilk lazerdir (57). Yumuşak doku penetrasyonu iyi olduğu için lokal hemostaz sağlamada etkilidir (62, 63). Kısa dalga boyuna sahip olmasından dolayı CO₂ lazerden daha fazla enerji içerir. Pigmente dokular tarafından yüksek emilim göstermesiyle vasküler yapıların koagülasyonunda ve yumuşak dokuya yönelik cerrahilerde kullanılabilir. Aynı ölçülerde bir CO₂ lazere göre doku destrüksiyonu daha fazladır. Yansıma, Nd:YAG lazerlerde fazla olduğu için çevre dokuların etkilenmesi de söz konusu olabilir. Bunun önüne geçmek için temaslı çalışmaya yarayacak uçlar işlemin kontrollü bir şekilde yapılmasını sağlar. Temassız uygulamalarda pulpada analjezi sağlamada ve aftöz ülser tedavisinde kullanılır (45, 64).

4.5.8.4. Erbiyum Türü Lazerler

Erbiumun katı aktif madde olarak kullanıldığı bu grup lazerler, iki ayrı alt gruptan oluşur. Bunlardan birincisi Erbiyum, Kromiyum: Yitriyum-Skandiyum-Galyum-Garnet (Er,Cr:YSGG) lazer, ikincisi ise Erbiyum: Yitriyum-Alüminyum-Garnet (Er:YAG) lazerdir.

Er,Cr:YSGG lazer 2780 nm dalga boyuna sahipken, Er:YAG lazer 2940 nm dalga boyuna sahiptir. Her iki lazer de spektrumun görünmeyen kızılötesi bölümünde yer alır. Her iki sistem de serbest atımlı modda ve hareketli kollardan oluşan tüp iletim sistemi ile kullanılır. Her iki sistemin de uç kısmında bir uygulama aparatı ve onun ucunda da 0.5 mikrometre (μm) çapında lazerin odaklandığı cam uç vardır. Dental uygulamalar için su veya hava soğutmalı sistemleri mevcuttur (57).

Su ve hidroksiapatit kristalleri tarafından absorpsiyonları çok iyi olduğu için özellikle yumuşak doku cerrahilerinde, diş ve kemik gibi sert dokulara yönelik cerrahilerde avantajlı bir lazerdir. Bütün dental lazerler arasında en az hemostaz sağlayan lazer çeşidi olmalarından dolayı vaskülarizasyonun az olduğu dokularda kullanımı önerilmektedir (44). Ayrıca kemik dokuya yönelik cerrahi işlemlerde de remodeling mekanizmasına olumsuz bir etki yaratmadığı tespit edilen erbiyum lazerler osteotomilerde kullanılabilmelerine karşın, derinlik kontrolünün zor sağlanmasından dolayı sinüs lift operasyonlarında membran bütünlüğünü koruyamayacakları için uygun değildir (57, 65).

Periimplantitis ve periimplant mukozitis tedavisinde de çevre yumuşak dokuyu ve kemiği etkileyebilme özelliği sayesinde tedavi amaçlı kullanılırken implant yüzeyine zarar vermez ve yüksek bakterisit etkisi vardır (66, 67).

4.5.8.5. CO₂ Lazer

Aktif madde olarak CO₂ gazı içerirler. 10600 nm dalga boyu ile elektromanyetik spektrumun kızılötesi bölgesinde bulunan CO₂ lazerler, enerjinin devamlı moda veya aralıklı atım modunda iletildiği sistemlerdir (45, 68). Fiber sistemler yerine hareketli kollardan oluşan tüp sistemi ile iletim sağlanan CO₂ lazerler; su, kollajen ve hidroksiapatit tarafından iyi absorbe edilir.

CO₂ lazerlerin dokuda yüzeysel penetrasyon özelliği vardır. Bu özellik sayesinde liken planus, kandidiazis ve çeşitli hiperkeratotik lezyonlar gibi oral mukozaya yönelik cerrahilerde dokunun kesilmesi veya buharlaştırılması yoluyla kullanılır (68, 69). Kemik doku gibi su içeriği az olan dokularda, termal yan etkiye sahip olması başlıca dezavantajıdır (45).

4.5.9. Dozaj ve Hesaplaması

Lazer uygulamalarında geniş bir tedavi edici doz aralığı söz konusu olsa da, önemli olan en uygun dozun uygulanmasıdır. Buna göre;

$$\text{Uygulanan enerji (Joule)} = \text{Güç (miliwatt)} \times \text{Zaman (saniye)}$$

$$\text{Doz} = \text{Uygulanan Enerji/Işınlanan alan}$$

Örneğin; 200 mW'lık bir lazer 10 saniye, iki cm²'lik alana uygulandığında; 200 mW x 10 sn = 2000 mJ = iki J enerji elde edilir. Doz ise iki J/iki cm² = Bir J/cm² olarak hesaplanır ki bu aynı zamanda enerji yoğunluğudur.

Lazer ışınları dokuya girdikten sonra yansıtılır, emilir, iletilir veya dağılır. Lazer probu ve hedef doku arasındaki dokunun kalınlığı ve türü dikkat edilmesi gereken diğer unsurlardır. Örneğin lazer ışını mukoza ve yağ dokusundan daha kolay geçerken, hemoglobinden zengin olan kas dokusundan pigmentler tarafından emildiği için daha az geçer. Işının kas dokunun da derinine penetre olabilmesi için dozun yükseltilmesi gerekir. Benzer şekilde melaninden zengin pigmentli cilde sahip esmer bireylerde ışınlar daha çok absorbe olduğu için derin dokulara penetrasyon daha az iken beyaz tenli bireylerde aynı dozla daha derin dokuya ulaşılabilir. Lazer, dokuya dik uygulandığı takdirde iyi penetrasyon gösterirken, açılı uygulamalarda penetrasyonu azalır (70).

4.5.10. Düşük Enerji Seviyeli Lazer (DESL) Biyostimülasyonu

Düşük Enerji Seviyeli Lazer (DESL) biyostimülasyonu, dokulara düşük seviyede enerji iletildiği için ısı, ses veya titreşim yaymaz. DESL biyostimülasyonunun hücresel düzeyde etkisine dair en yaygın kabul gören mekanizma, lazer enerjisinin hücre içi kromofor adlı fotoreseptörler tarafından absorbe edilerek metabolik enerjiye dönüştürülmesidir (71).

4.5.10.1. DESL Etki Mekanizması

DESL biyostimülasyonu; mikro dolaşımda, Adenozin-Tri-Fosfat (ATP), Ribonükleik Asit (RNA) ve Deoksi Ribonükleik Asit (DNA) sentezinde artış sağlar. Hücre içine giren fotonlar hücre membranı ve mitokondrideki ışığa duyarlı kromoforlar tarafından emilir. Foton enerjisi hücre içinde ATP şeklinde hücre proliferasyonu ve fonksiyonlarını değiştirecek kimyasal enerjiye çevrilir. DESL uygulamalarında hücrelerde fizyolojik değişiklikleri takiben membran geçirgenliği de değişir ve hücre mitozu ve

proliferasyonu gibi çeşitli biyolojik süreçleri uyaran ek kalsiyum (Ca) taşınır. Daha yüksek dozlarda lazer uygulandığında ise çok fazla Ca salınır. Bu da ATPaz (Adenozin Trifosfataz) ve Ca pompalarının hiperaktivitesi, hücrenin ATP stoğunun tükenmesi ve hücre metabolizmasının inhibisyonu ile sonuçlanır (72, 73).

4.5.10.2. DESL Biyostimülasyonunda Kullanılan Lazerler

He-Ne, Ga-As ve Ga-Al-As lazerler DESL biyostimülasyonunda kullanılan lazerler olarak literatürde belirtilmekle birlikte, günümüzde daha çok Ga-As veya Ga-Al-As lazerler tercih edilmektedir (74, 75).

He-Ne lazer; gaz aktif maddeye sahip, 630-660 nm dalga boyunda kırmızı renkli bir lazer olup, yara iyileşmesi, skar dokusu, deri hastalıkları ve kronik ağrıda etkili olduğu bildirilen bir lazer tipidir. He-Ne lazerde, enerjinin %50'den fazlası deri yüzeyinin bir cm derinliğinden daha az bir kısmında absorbe olduğundan yüzeysel uygulamalarda tercih edilir (76, 77).

Ga-As lazer; yarı iletken aktif ortamlı, 904-910 nm dalga boyunda bir lazer olup, subkutan dokulara derin penetrasyon özelliğine sahiptir (78).

Ga-Al-As lazer de yarı iletken aktif ortamlı 830-980 nm dalga boyunda, DESL biyostimülasyonunda en çok kullanılan lazer türüdür. Hemoglobin ve su tarafından çok az absorbe edildiği için yüksek doku penetrasyonu özelliğine sahiptir (79, 80).

4.5.10.3. DESL Biyostimülasyonunun Klinik Uygulamaları

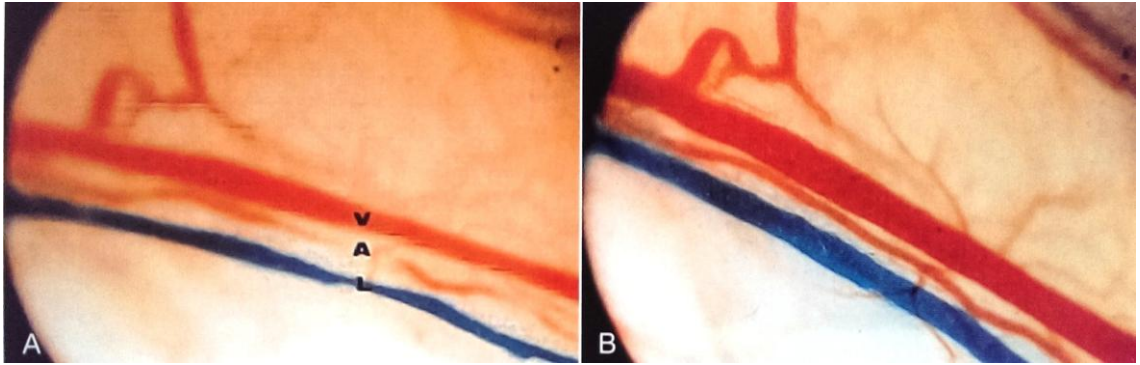
DESL biyostimülasyonu; FDA tarafından onaylanmıştır ve ayrıca tıp ve diş hekimliğinde pek çok alanda kullanım endikasyonu bulunur. Bunlar aşağıda sıralanmıştır:

- Oral mukozadaki cerrahi yaralar
- Diş çekim kavimleri
- Rekürrent aftöz lezyonlar
- Post-operatif ağrı ve ödem kontrolü
- Kemik rejenerasyonu
- Romatoid artrit
- Osteoartrit

- Karpal tünel sendromu
- Tendinit
- Miyofasiyal ağrı sendromu
- Ortodontik diş hareketleri
- Pareteziler
- Dentin hassasiyeti (81-89)

4.5.10.4. DESL Biyostimülasyonunun Doku İyileşmesine Etkisi

DESL biyostimülasyonu hem yumuşak dokuda hem de sert dokuda iyileşme potansiyelini arttırıcı etkiye sahiptir. DESL biyostimülasyonu mast hücreleri üzerine etki ederek vazoaaktif etki gösterir ve ışınlanan dokuda mikrodolaşımı arttırır (90-92). Bu mikrodolaşım artışı sayesinde fibroblast proliferasyonunun artması ve kollajen sentezinde artış gibi yumuşak doku iyileşmesinde etkili olan mekanizmalar harekete geçer (93, 94) (Resim 1). Çeşitli in vivo ve in vitro çalışmalarda DESL biyostimülasyonunun kollajen gen ekspresyonunu arttırdığı ve buna bağlı olarak anlamlı derecede kollajen doku artışı olduğu belirtilmiştir (95, 96).



Resim 1. A. DESL  ncesi ven, arter ve lenfatik damarlar. B. DESL biyostimülasyonu sonrası vazoaaktif etki ile genişleyen damar çapları ile mikro dolaşımın artışı (V: Ven, A: Arter, L: Lenfatik damar, Kaynak: Convissar, 2011:269)

DESL biyostimülasyonu ile makrofajların fagositik etkisi artar, doku iyileşmesi aşamasında gerçekleşen fibrin rezorbsiyonu hızlanır ve fibroblast büyüme faktörü salgılanır. DESL biyostimülasyonunun hücresel düzeyde doku iyileşmesinde etkili olduğu bir diğer yapı da lenfositlerdir. Epitel hücrelerindeki lenfositler üzerinde hareket arttırıcı etkisi sayesinde daha hızlı proliferasyon, granülasyon dokusu oluşumu ve buna bağlı erken epitelizasyon gerçekleşir (75, 97).

DESL biyostimülasyonunun sinir hücreleri üzerinde inflamatuvar mediyatör salgılanmasında azalma, daha hızlı rejenerasyon ve aksonal büyüme gibi etkileri vardır. Bu sebeple sinir rejenerasyonunu hızlandırıcı özelliğinden de faydalanılır (75, 94).

Kemik formasyonunda DESL biyostimülasyonunun olumlu etkisi olduğu pek çok çalışmada ortaya konmuştur. Hücre aktivitesinin artması sonucu ATP ve ALP üretiminde artış ve kalsiyum salgılanması, DESL'in kemik iyileşmesini stimüle edici mekanizmalarından biridir (98). Bir diğer mekanizma, vaskülarizasyonun artması ile mediyatör salınımı sonucunda osteoblastların ostositlere dönüşümünün sağlanması şeklindedir (12, 99). Dental implant ile kemik arasında osteointegrasyonu da hızlandırıcı etkiye sahip olduğu belirtilen DESL biyostimülasyonunun uygulanma şekli konusunda standart bir prosedür olmamakla birlikte tek seans yerine birden fazla sayıda seans DESL biyostimülasyonu uygulamasının etkinliğinin arttığı, kemik iyileşmesini ve mineralizasyonu hızlandığı bildirilmiştir (11).

4.5.10.5. DESL Biyostimülasyonunun Güvenliliği ve Kontrendikasyonları

Lazer cihazları dikkatli kullanılmamaları halinde ciddi yaralanmalara ve doku hasarlarına sebep olabilirler. Özellikle gözde retinal, korneal hasarlar ve hatta körlük gelişebilir.

Lazer cihazları, oluşturabilecekleri potansiyel zararlara göre kullanıcının gereken önlemleri alması amacıyla çeşitli sınıflandırmalara tabi tutulmuştur. Farklı lazer sınıfları, uluslararası lazer güvenlik standardı IEC 60825-1 ve Avrupa standardı EN 60825-1 tarafından tanımlanmıştır (100). 2003 yılında yapılan en güncel sınıflamaya göre lazerlerin yaratabilecekleri en fazla hasar ile mücade edilebilir maksimum ekspoz değerlerine göre Avrupa standardı EN 60825-1 oluşturulmuştur.

Bu sınıflamaya göre;

- Sınıf 1, güvenli lazerlerdir. Güçleri oldukça düşüktür.
- Sınıf 2, görünür dalga boylarını (400-700nm) içeren lazerlerdir. Doğrudan içine bakılmadığı sürece tehlike oluşturmazlar. Göz kapatma refleksinin korunmada yeterli olduğu varsayılmaktadır.

- Sınıf 1M ve 2M, büyüteçli yani “Magnifying” lazerlerdir. Tek başlarına göz için riskli değildir ancak gözlük, teleskop ve büyüteç gibi etkili optiklerle kullanılması halinde hasar yaratabilir.

- Sınıf 3R lazerlerde, korunulmaması halinde cilt yanıkları ve göz hasarı gelişebilir.

- Sınıf 4 ise çıkış gücü 0.5 W’tan büyük lazerlerdir. En küçük temasta cilt ve göz hasarı görülür. Uygulama alanında alev almaya müsait malzemelerin olmaması gerekir. Terapötik amaçla kullanılan lazerlerin büyük kısmı sınıf dördtür (101). Bütün lazer cihazlarının üzerinde hangi güvenlik sınıfında olduğunu belirten bir ibare mevcuttur (Resim 2).



Resim 2. DESL biyostimülasyonunda kullanılan sınıf dört lazer

Lazer uygulamalarında genel olarak uyulması gereken başlıca güvenlik protokolleri;

- Lazer uygulanan ortama giriş çıkışın kontrollü olması ve uygulama esnasında kapıda uyarıcı işaret bulunması
- Lazer uygulayıcı personelin ve hasta başta olmak üzere odada bulunan herkesin koruyucu gözlükler kullanması
- Uygulama sırasında ortamda yansıtıcı yüzey ve cisimlerin bulunmaması
- Sınıf 4 lazerlerle çalışılırken ortamda yanıcı ve patlayıcı cisim bulundurulmaması
- Uygulamada oluşabilecek cerrahi dumanın kontamine olması nedeniyle sağlıklı bir şekilde aspirasyonu ve ortamın ideal bir havalandırma ve filtreleme sistemine sahip olması şeklinde sıralanabilir (101, 102).

DESL biyostimülasyonunun iyileşme üzerinde olumlu etkileri bilinmekle birlikte kontrendike olduğu durumlar da sözkonusudur. Bunlar:

1. Kanser: In vitro çalışmalar, DESL biyostimülasyonunun kanser hücrelerini stimüle edebildiğini göstermiştir. Bu nedenle kanser, DESL biyostimülasyonunda kesin bir kontrendikasyondur.

2. Gebelik: Fetüse etkileri net olarak bilinmediğinden gebelerde DESL biyostimülasyonu uygulamasından kaçınılmalıdır.

3. Endokrin Bezler: Tiroid gibi endokrin bezlerde aşırı salgılamaya neden olabilir.

4. Çocuklarda kaynamamış fontaneler

Bu kesin kontrendikasyonlar haricinde DESL biyostimülasyonunun olumsuz etkilerini gösteren herhangi bir kanıt olmasa da pacemaker varlığında, epilepsi hastalarında ve çocuklarda büyüme plaklarında DESL biyostimülasyonu uygulamasından kaçınılmalıdır (74).

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Deney Hayvanları

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 09.10.2013 tarihli, 2013/53 protokol no'lu onayı ve Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinasyon Birimi'nin 21.03.2014 tarih ve 11140 kodlu proje desteği ile Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nde yürütülmüştür. Çalışmamızda 48 adet ergin dişi 250-300 gr ağırlığında wistar rat kullanılmıştır . Tüm hayvanlar çalışma öncesi sistemik enfeksiyon ve anatomik malformasyon açısından değerlendirilmiştir. Ratlar Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nde her grup için ayrı kafeslerde, aynı laboratuvar şartlarında barındırılmıştır (Resim 3). Hayvanlar için uygun sıcaklıkta ($20\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2$) havalandırma tertibatı olan ve güneş alan bir ortam sağlanmıştır. Hayvanlar herhangi bir kısıtlama ve özel koşul uygulamaksızın standart rat yemi ile beslenmiştir. İki haftalık ortama intibak periyodundan sonra deney aşamasına geçilmiştir.



Resim 3. Wistar ratların barındırılması

5.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Araştırmamızda ratlara uygulanacak DESL biyostimölasyonu dozlarına göre Kontrol, L5, L10 ve L20 olmak üzere dört ana gruba ayrılmışlardır. Bu ana gruplar da hayvanların sakrifiye edilecekleri haftaya göre dördüncü ve sekizinci hafta alt gruplarına ayrılmışlardır.

1. Grup (Kontrol Grubu): 12 denekten oluşan bu grupta deneklerin sağ tibialarında kemik defekti açılmış ve herhangi bir tedavi uygulanmaksızın iyileşme takip edilmiştir. Sakrifikasyon günlerine göre denekler iki alt gruba ayrılmıştır.

Kontrol grubu alt grupları:

1.a. (K/4) Post-operatif dördüncü haftada sakrifiye edilen grup (n=6)

1.b. (K/8) Post-operatif sekizinci haftada sakrifiye edilen grup (n=6)

2.Grup (L5 Grubu): 12 denekten oluşan bu grupta deneklerin sağ tibialarında kemik defekti açıldıktan sonra ilk doz kemik defektlerinin oluşturulduğu seansta ve takip eden post-operatif iki, dört, altı, sekiz, 10 ve 12 günlerde ve her seanta beş J/cm² DESL biyostimölasyonu uygulanmıştır. Sakrifikasyon günlerine göre denekler iki alt gruba ayrılmıştır.

L5 grubu alt grupları:

2.a. (L5/4) Post-operatif dördüncü haftada sakrifiye edilen grup (n=6)

2.b. (L5/8) Post-operatif sekizinci. haftada sakrifiye edilen grup (n=6)

3.Grup (L10 Grubu): 12 denekten oluşan bu grupta deneklerin sağ tibialarında kemik defekti açıldıktan sonra ilk doz kemik defektlerinin oluşturulduğu seansta ve takip eden post-operatif iki, dört, altı, sekiz, 10 ve 12. günlerde ve her seansta 10 J/cm² DESL biyostimölasyonu uygulanmıştır. Sakrifikasyon günlerine göre denekler iki alt gruba ayrılmıştır.

L10 grubu alt grupları:

3.a. (L10/4) Post-operatif dördüncü haftada sakrifiye edilen grup (n=6)

3.b. (L10/8) Post-operatif sekizinci haftada sakrifiye edilen grup (n=6)

4.Grup (L20 Grubu): 12 denekten oluşan bu grupta deneklerin sağ tibialarında

kemik defekti açıldıktan sonra ilk doz kemik defektlerinin oluşturulduğu seansta ve takip eden post-operatif iki, dört, altı, sekiz, 10 ve 12. günlerde ve her seansta 20 J/cm² DESL biyostimülasyonu uygulanmıştır. Sakrifikasyon günlerine göre denekler iki alt gruba ayrılmıştır.

L20 grubu alt grupları:

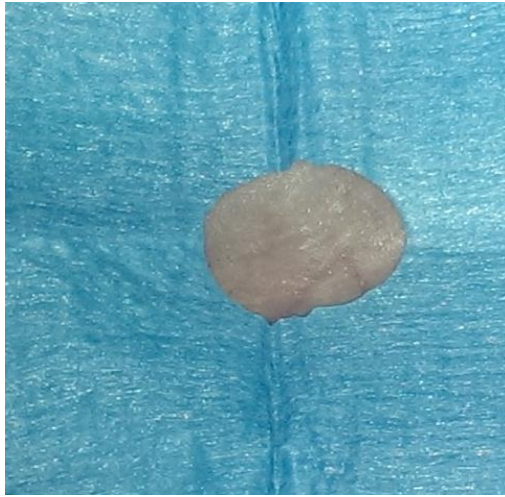
4.a. (L20/4) Post-operatif dördüncü haftada sakrifiye edilen grup (n=6)

4.b. (L20/8) Post-operatif sekizinci haftada sakrifiye edilen grup (n=6)

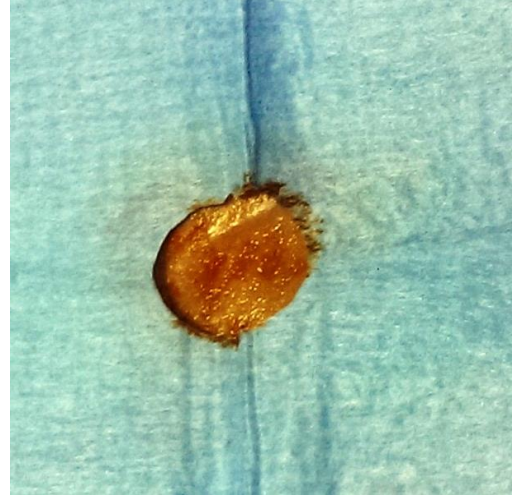
Her bir hayvanın sağ tibiası histolojik inceleme amaçlı kullanılmıştır. Bu nedenle deneyimizde örneklem sayısı 48 olmuştur (n=48).

5.3. Deneye Hazırlık

Anestezi öncesi her hayvan tartılarak ağırlığı belirlendi. Uygun anestezi dozu her hayvan için hesaplandıktan sonra 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketasol® %10, Richter Pharma, Austria) ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun® enj. % 2 sol. Bayer, Germany) intraperitoneal olarak uygulandı. Anesteziyi takiben bacak medial bölgesinin cildi traşlandı (Resim 4a). Antisepsi için povidon iyot (Betadine® sol. Kansuk, Türkiye) solüsyonu ile ilgili cilt bölgesi silindi (Resim 4b).



Resim 4a. Tibia üzerinde cildin traşlanması



Resim 4b. Cildin dezenfeksiyonu

5.4. Cerrahi Yöntem

Deney hayvanlarının sağ tibiaları üzerindeki cilde hemostaz sağlamak amacıyla 27 gauge iğneli enjektör ile 0.5 cc lokal anestetik artikain hidroklorür (Ultracain® DS, Sanofi-Aventis, Frankfurt/Main, Germany) enjeksiyonu yapıldı. Kullanılacak ekipman

steril cerrahi örtü üzerine yerleştirildi (Resim 5). Tibia medial yüzeyine ulaşmak amacıyla kemiğin uzun eksenine paralel, 25 mm uzunluğunda cilt kesisi yapıldı (Resim 6). Künt diseksiyonla kemiğe ulaşarak taşınabilir mikromotora bağlı bir piyasemen ve bir mm çapında bir çelik rond frez yardımıyla serum fizyolojik irrigasyonu altında dizin 10 mm distalinde beş mm x iki mm boyutlarında monokortikal kemik defekti oluşturuldu (Resim 7). Cerrahi alan serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra 3/0 poliglaktin suture ile primer olarak suture edildi (Resim 8). En son olarak cilt povidon iyot solüsyonu ile silindi.



Resim 5. Steril cerrahi ekipmanın hazırlanması



Resim 6. Tibia medialinin diseke edilmesi



Resim 7. Kemik defekti



Resim 8. Dokuların suture edilmesi

5.5. DESL Biyostimülasyon Protokolü

Kontrol grubu dışındaki gruplara, ilk seansı operasyondan hemen sonra olmak üzere post-operatif iki, dört, altı, sekiz, 10 ve 12. günlerde DESL biyostimülasyonu 940 nm dalga boyunda Ga-Al-As lazer cihazı kullanılarak yapılmıştır (Resim 9). DESL biyostimülasyonu her seansta üç cm² 'lik alana 10 saniye süreyle, devamlı modda, L5 grubunda 1.5 W çıkış gücü, L10 grubunda üç W çıkış gücü, L20 grubunda altı W çıkış gücüyle ve sırasıyla beş J/cm², 10 J/cm² ve 20 J/cm² enerji yoğunluklarında uygulanmıştır (Resim 10).



Resim 9. Ga-Al-As lazer cihazı



Resim 10. DESL biyostimülasyonu uygulaması

5.6. Sakrifikasyon

Sakrifikasyon için hayvan ketamin ksilazin karışımı ile uyutulduktan sonra servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi. Her hayvanın sağ tibiası, diz ve ayak bileklerinden kırılarak ayrıldı ve yumuşak doku kemikten insizyon ve diseksiyon ile çıkartılarak defekt oluşturulan tibialar elde edildi (Resim 11). Defekt bölgesinde organize olan doku ise uzaklaştırılmadı.



Resim 11. Rejenere olmuş defekt alanını içeren tibia spesmeni

5.7. Histopatolojik Değerlendirme

Cerrahi olarak çıkartılan materyal histolojik incelemeler için % 10'luk fosfat tamponlu formaldehit tespitine alındı. Daha sonra örnekler Decal® (Decal chemical Corporation, NewYork, USA) solusyonunda 72 saat süre dekalsifikasyona tabi tutuldu. Kemik dokusundaki yumuşama elle teyit edildikten sonra örnekler akar su altında dekalsifikasyon solusyonunun uzaklaşması için yıkandı. Yıkama işleminden sonra örnekler tekrar formaldehit solüsyonu içerisine konuldu. Transport işleminden sonra uygun alanlardan alınan doku örnekleri rutin doku takibine alındı ve son olarak parafine gömülerek bloklandı. Doku blokları tam otomatik mikrotom (LEICA RM 2255, US) yardımıyla dokunun başlangıcına kadar 20 µm'lik kesitlerle trimlendi, dokuya ulaşıncaya beş µm'lik ince kesitler alındı. Alınan kesitler 45°C'de benmari içindeki sıcak su üzerinde kırışıkların açılması için bekletildi ve lam üzerine alındı. Kesit alma işlemi tamamlandıktan sonra lam üzerine alınan dokular Hematoksilen&Eozin ile boyandı. Elde

edilen preperatlardan histolojik inceleme için hedeflenen parametreler (osteosit, osteoblast, osteoklast, fibroblast ve damar sayısı) DP 71 (Japan) kameralı ışık mikroskobunda (Olympus, BX51, Japan) Analysis 5 Research (Olympus Soft Imaging Solution, Germany) programı kullanılarak hesaplandı. Dokuya ait histopatolojik değerlendirme yine aynı mikroskopta yapıldı ve fotoğrafları çekilerek dijital ortama aktarıldı.

5.8. İstatistiksel Analiz

Elde edilen histopatolojik verilerin istatistiksel değerlendirmesi SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL; USA) paket programı kullanılarak yapıldı. Sonuçların istatistiksel değerlendirmesi için gruplar arası karşılaştırmada dördüncü ve sekizinci haftalarda Kruskal Wallis, Mann-Whitney U testi ve gerektiği durumlarda Bonferroni düzeltmesi kullanıldı ($p < 0.01$). Grup içi karşılaştırmada her bir grup için Wilcoxon Signed-Rank Test kullanıldı ($p < 0.05$). İncelenen parametrelerin aralarında zamana bağlı korelasyon analizi Spearman korelasyon testi ile gerçekleştirildi ($p < 0.05$).

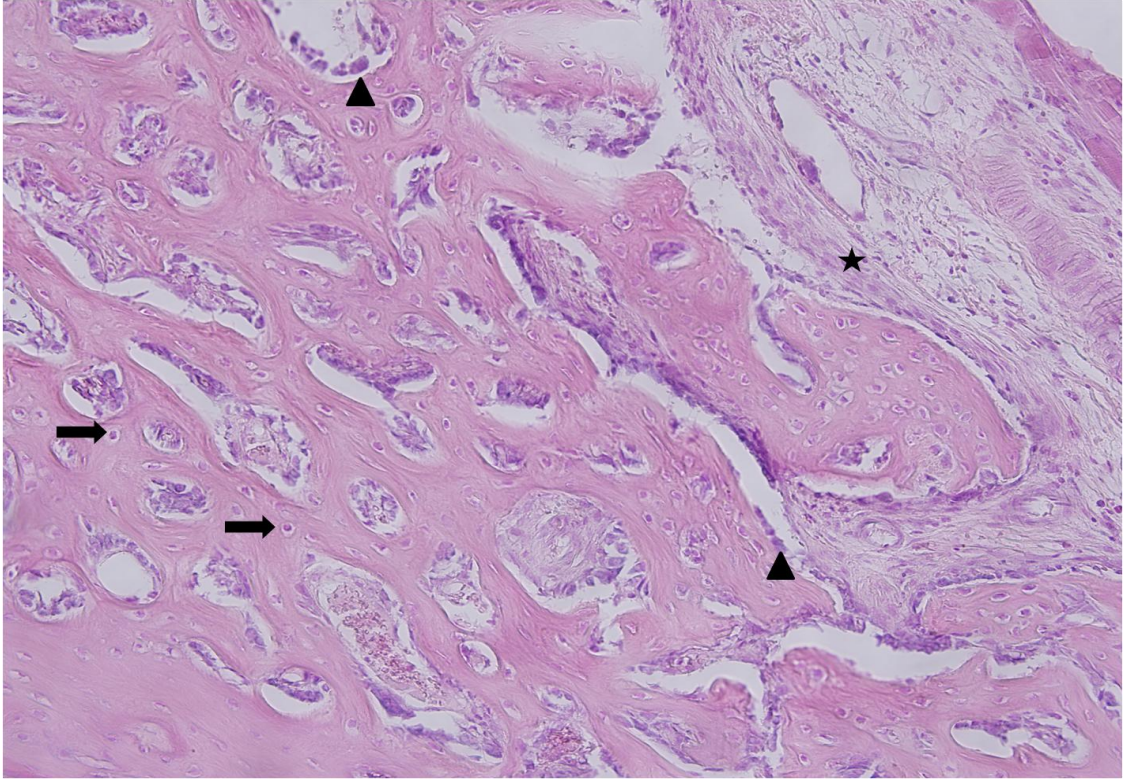
6. BULGULAR

Çalışmaya alınan hiçbir rat enfeksiyon veya başka bir sebeple ölmedi ve çalışma dışı bırakılan hayvan olmadı. Çalışmaya alınan ratlar standart yaşta ve kiloda oldukları için ratların yaş, kilo gibi özellikler bakımından aralarında anlamlı fark bulunup bulunmadığına bakılmadı. Kemik dokusunun bütün hayvanlarda bütünlüğünü koruduğu, hiçbir dejenerasyona uğramadığı ve normal yapıda olduğu görüldü.

6.1. Histopatolojik Bulgular

6.1.1. Kontrol Grupları

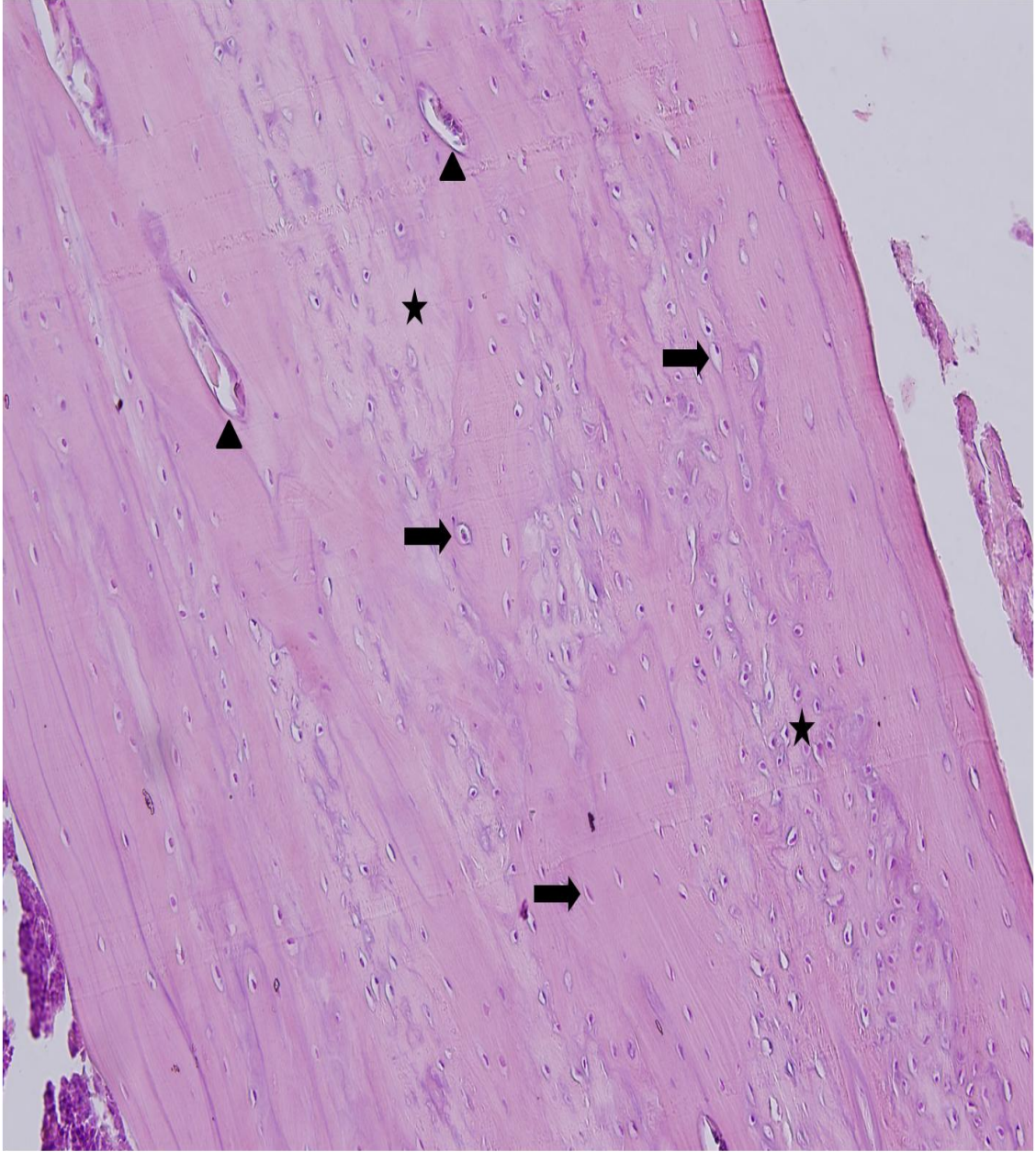
K/4 grubuna ait doku kesitlerinde, yer yer fibröz doku tarafından sarılmış olan yoğun trabeküler immatür kemik yapısı ve kemik trabekülleri üzerinde az miktarda kalsifiye kırıkdağ bölgeleri gözlenmiştir (Resim 12).



Resim 12. K/4 grubundan alınan örnekte gözlenen fibröz doku, osteosit ve osteoblast hücreleri (Yıldız: Fibröz doku, Sağ ok: Osteosit, Üçgen: Osteoblast)

K/8 grubuna ait doku kesitlerinde ise, doku üzerinde yer yer trabeküler yer yer ise kalsifikasyon hattının belirli olduğu immatür kemik yapısının hakim olduğu gözlenmiştir. Buna ek olarak immatür kemik yapısından matür kemik yapısına geçişin bir göstergesi olan kemik matriksindeki lamelleşmelerin olduğu alanlar izlenmiştir. Kemik matriksinin

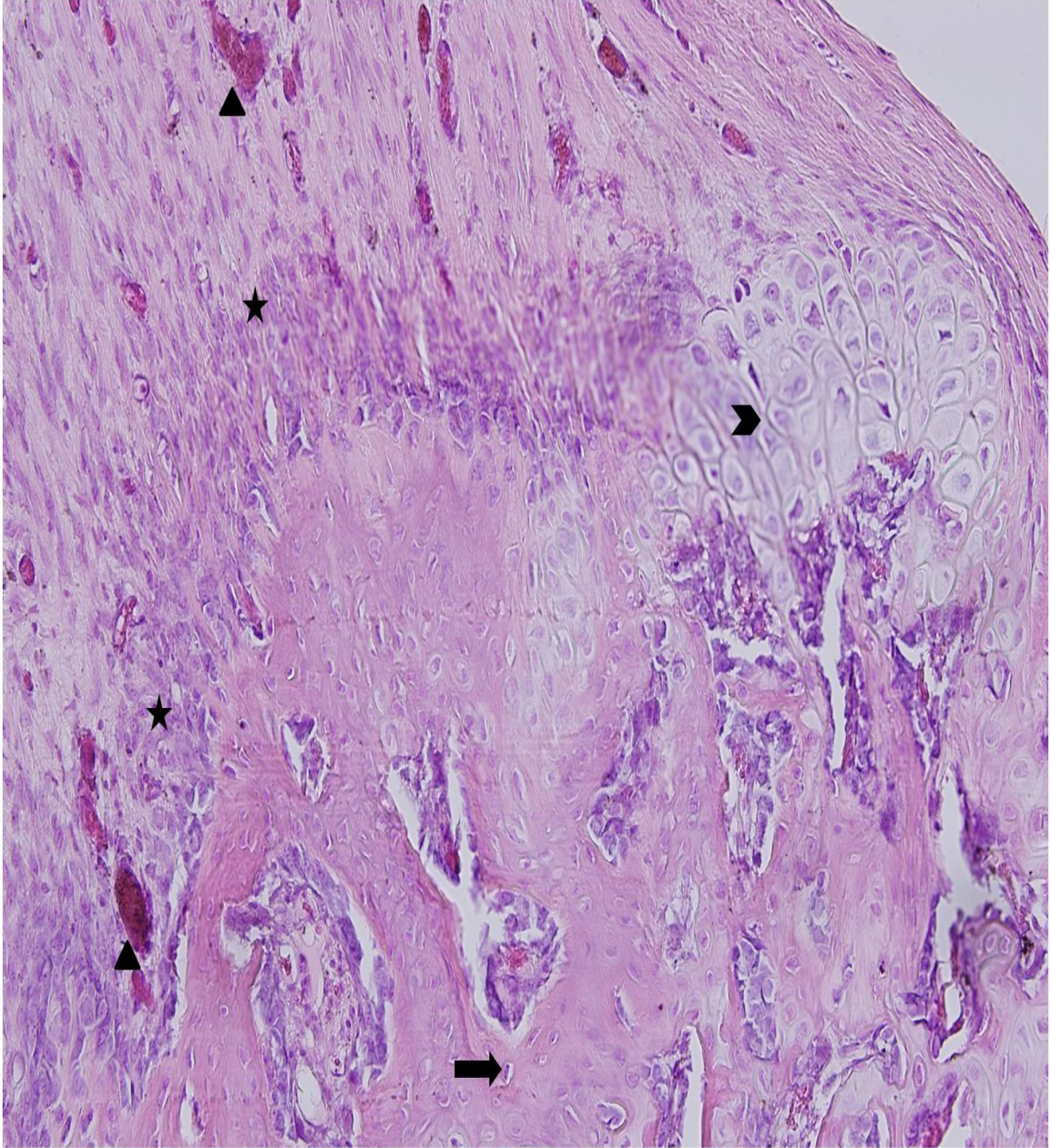
non-homojenize yapıda olması kemik iyileşme sürecinin devam ettiğini göstermekte olup vasküler kanalların yoğunlaştığı belirlenmiştir (Resim 13).



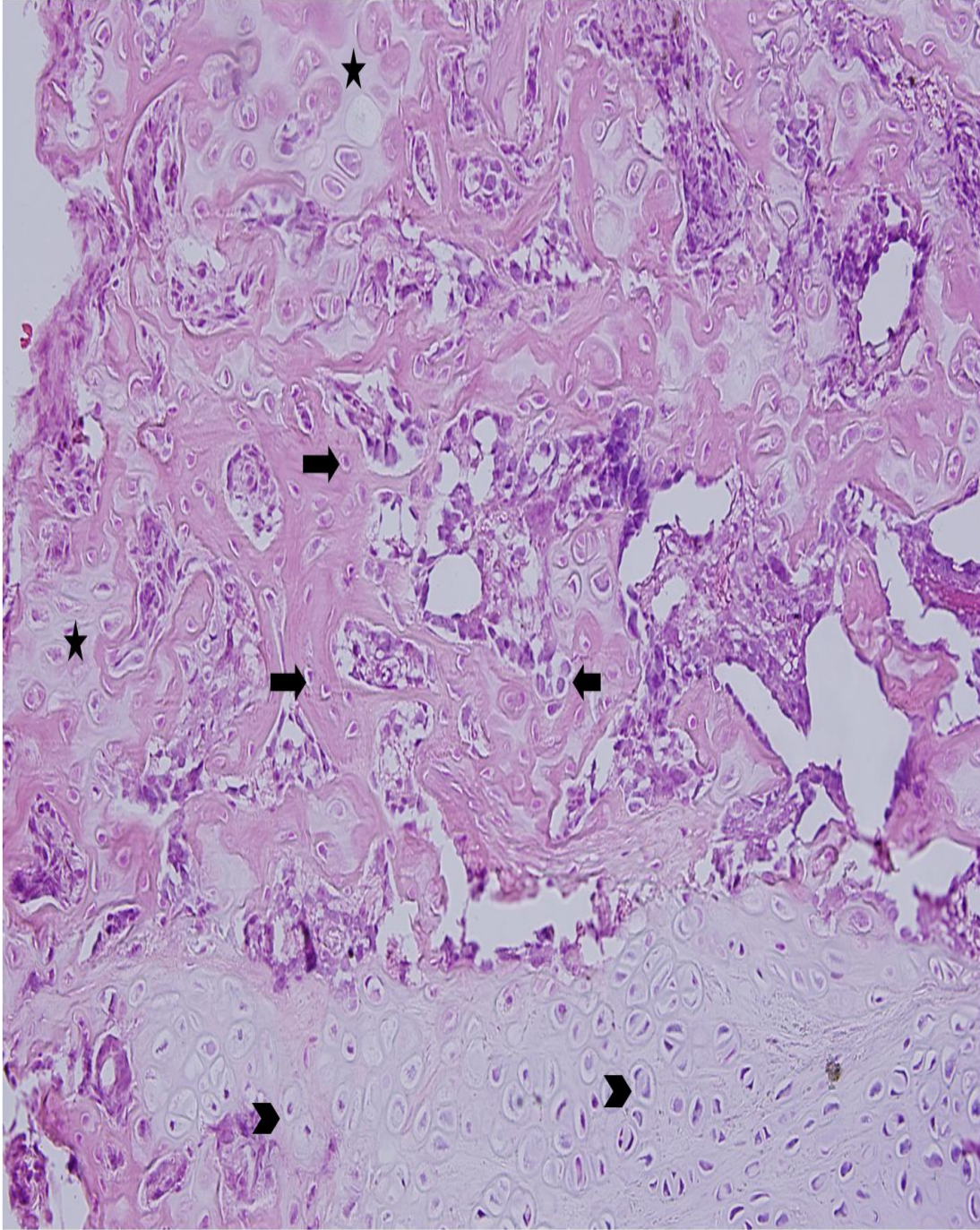
Resim 13. K/8 grubundan alınan örnekte gözlenen non-homojenize kemik matriksi, osteosit ve vasküler kanal (Yıldız: Non-homojenize kemik matriksi, Sağ ok: Osteosit, Üçgen: Vasküler kanal).

6.1.2. DESL Grupları

L5/4 grubunun doku kesitlerinde, yoğun fibröz dokudan aşamalı olarak kıkırdak, trabeküler immatür kemik yapısına geçiş ve kemik trabeküllerinde osteositlerin arasında yer alan kalsifiye kıkırdak bölgeleri izlenmiştir (Resim 14a, Resim 14b).

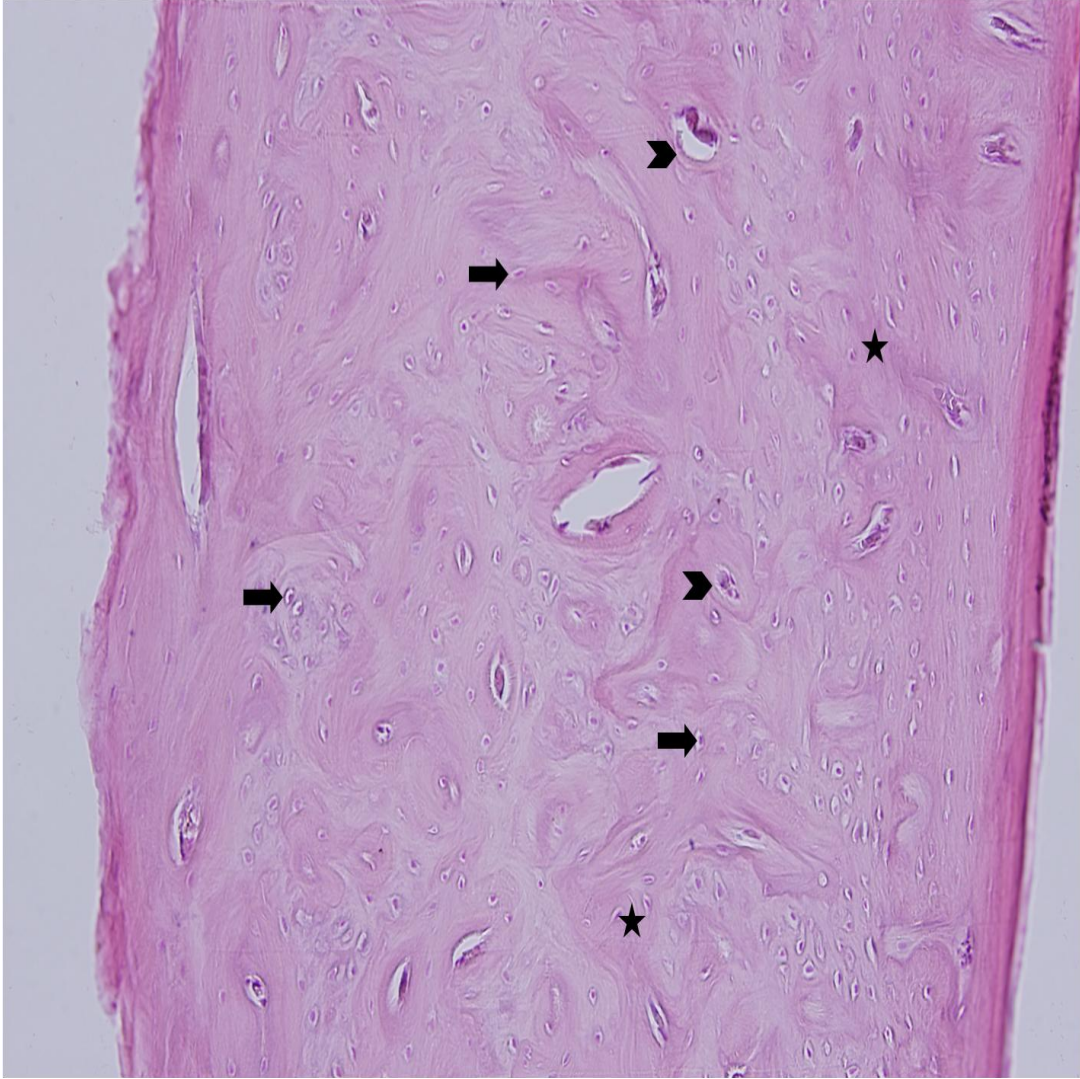


Resim 14a. L5/4 grubundan alınan örnekte gözlenen fibröz doku, osteosit, kıkırdak ve damar (Yıldız: Fibröz doku, Sağ ok: Osteosit, Ok başı: Kıkırdak, Üçgen: Damar)



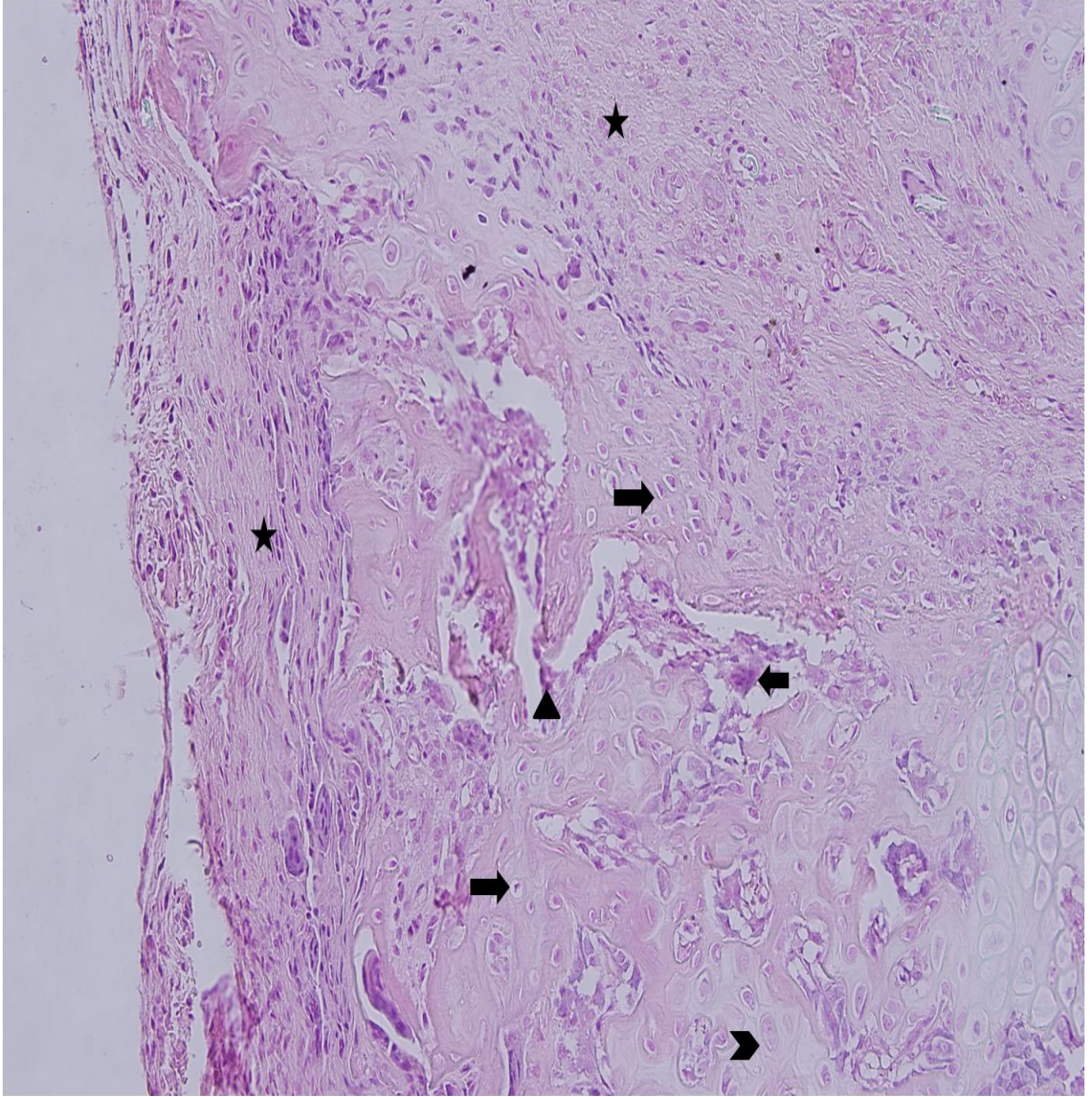
Resim14b. L5/4 grubundan alınan örnekte gözlenen kalsifiye kıkırdak,osteosit,osteoblast ve kıkırdak doku (Yıldız: Kalsifiye kıkırdak, Sağ ok: Osteosit, Sol ok:Osteoblast, Ok başı: Kıkırdak doku)

L5/8 grubunun doku kesitlerinde ise, trabeküler immatür kemik yapısından non-homojenize matriks içerisinde yer yer lamelleşmelerin görüldüğü matür kemiğe geçiş formu yapısında bir görüntüyle birlikte bazı alanlarda ise kalsifikasyon hattının ayırt edilebildiği tespit edilmiştir (Resim 15).



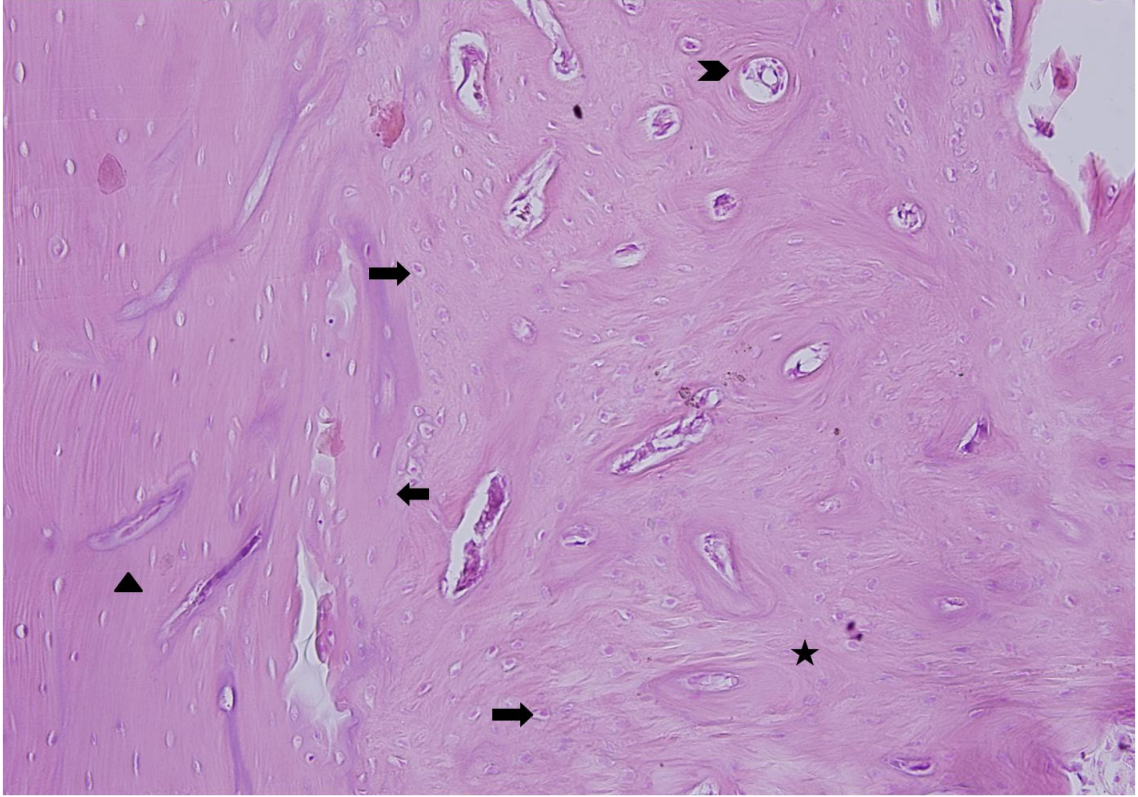
Resim 15. L5/8 grubundan alınan örnekte gözlenen fibröz doku, osteosit, kırkırak ve damar (Yıldız: Non-homojenize kemik matriksi, Sağ ok: Osteosit, Ok başı: Vasküler kanal)

L10/4 grubunun doku kesitlerinde, genel olarak trabeküler immatür kemik yapısının etrafında yer alan fibröz doku alanları dokuya hakim iken, fibröz dokudan immatür ve matür kemik dokusuna geçiş formu olan kıkırdak dokusuna sahip alanlar gözlemlenmemiştir. Bunlara ek olarak, trabeküler immatür kemik yapısında kemik trabeküllerinin üzerinde osteositlerin arasında yer alan kalsifiye kıkırdak bölgeleri izlenmiştir (Resim 16).



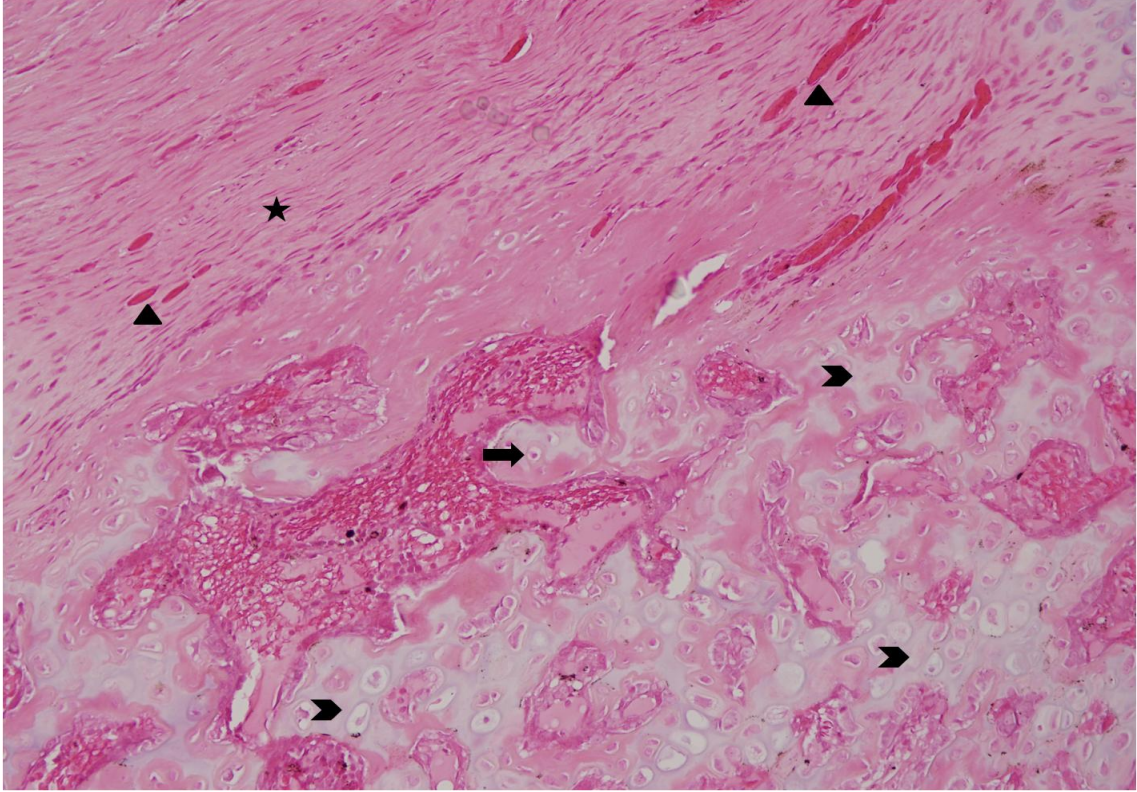
Resim 16. L10/4 grubundan alınan örnekte gözlenen fibröz doku, osteosit, osteoblast ve kalsifiye kıkırdak (Yıldız: Fibröz Doku, Sağ ok: Osteosit, Sol ok: Osteoklast, Üçgen: Osteoblast, Ok başı: Kalsifiye kıkırdak)

L10/8 grubunun doku kesitlerinde ise, doku üzerinde trabeküler immatür kemik yapısından non-homojenize matriks içerisinde yer yer lamelleşmelerin görüldüğü matür kemiğe geçiş formu yapısında alanlar izlenmiştir. Homojenize matrikse sahip matür kemik yapısının gözlenmemiş olması kemik iyileşme sürecinin tam olarak tamamlanmadığını göstermiştir (Resim 17).



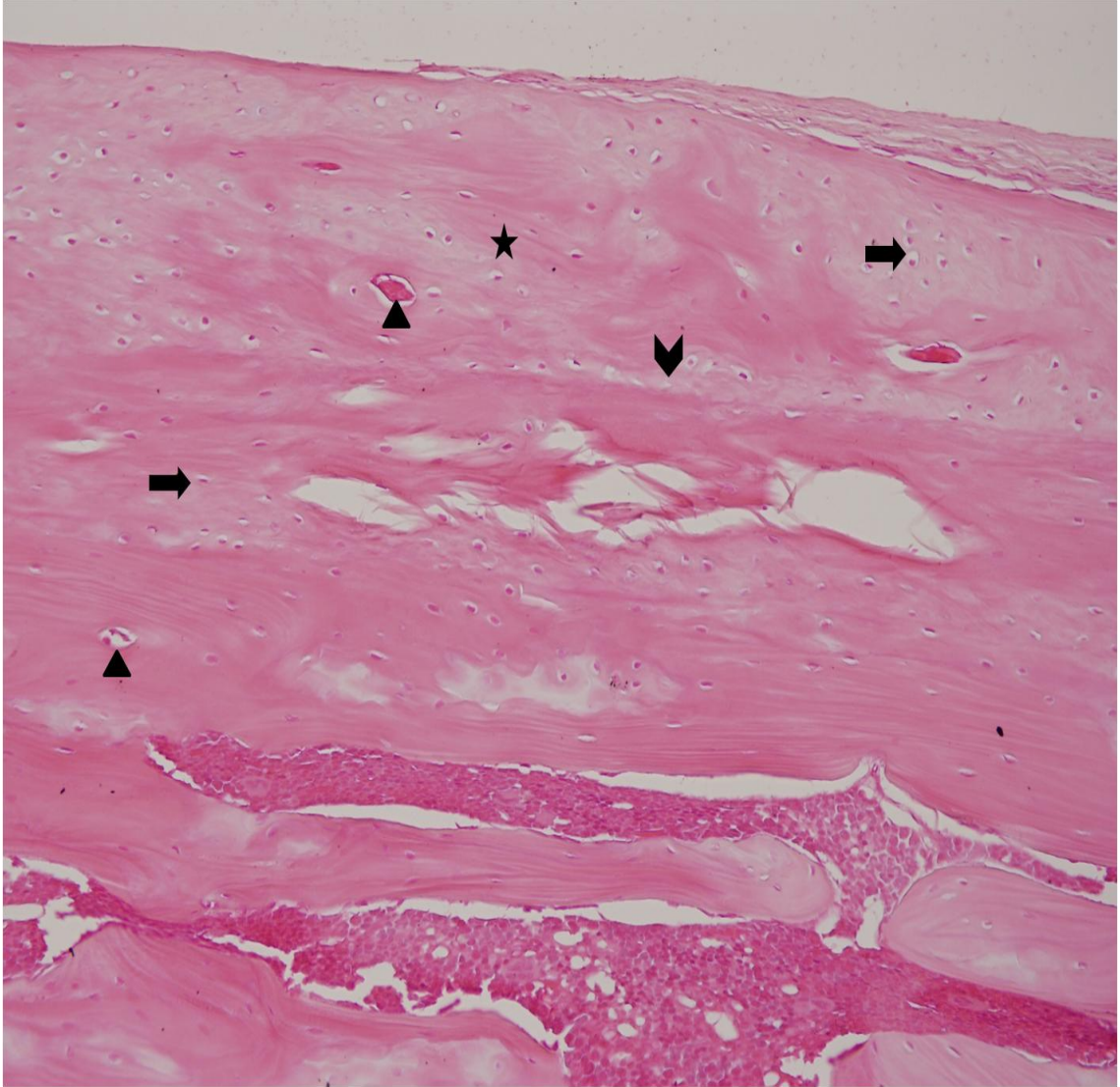
Resim 17. L10/8 grubundan alınan örnekte gözlenen non-homojenize kemik matriksi, osteosit, vasküler kanal ve lamelleşme, kalsifikasyon hattı ve homojenize matriks (Yıldız: Non-homojenize kemik matriksi, Sağ ok: Osteosit, Ok başı: Vasküler kanal ve lamelleşme, Sol ok: Kalsifikasyon hattı, Üçgen: Homojenize matriks)

L20/4 grubunun doku kesitlerinde, genel olarak trabeküler immatür kemik yapısının etrafında bol kan damarlı bir yapı gösteren fibröz doku alanları gözlemlendi. Fibröz dokudan immatür ve matür kemik dokusuna geçiş formu olan kıkırdak dokusuna sahip alanlar gözlemlenmezken, trabeküler immatür kemik yapısında kemik trabeküllerinin üzerinde yer alan yoğun kalsifiye kıkırdak bölgeleri dikkati çekmiştir (Resim 18).

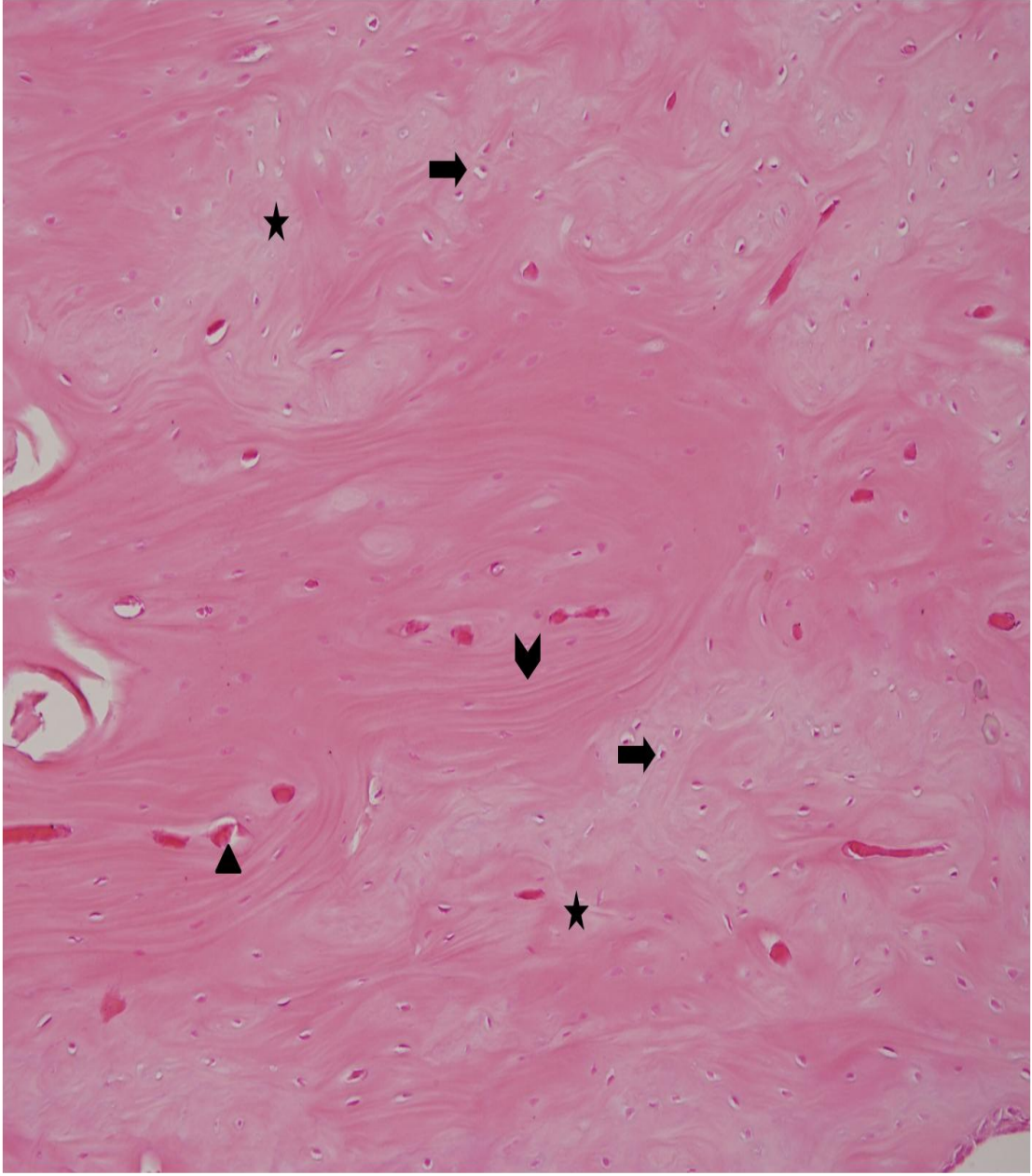


Resim 18. L20/4 grubundan alınan örnekte gözlenen fibröz doku, damar, osteosit ve kalsifiye kıkırdak (Yıldız: Fibröz doku, Üçgen: Damar, Sağ ok: Osteosit, Ok başı: Kalsifiye kıkırdak)

L20/8 grubunun doku kesitlerinde ise, dokuya üzerinde trabeküler immatür kemik yapısından, non-homojenize matriksin hakim olduğu matür kemiğe geçiş formu yapısında alanların olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca non-homojenize matriks içerisinde yer yer lamelleşmelerin başladığı görülürken, buna ek olarak, bazı alanlarda kalsifikasyon hattının ayırt edilebildiği tespit edilmiştir (Resim 19a, Resim 19b).



Resim 19a. L20/8 grubundan alınan örnekte gözlenen non-homojenize kemik matriksi, osteosit ve kalsifikasyon hattı (Yıldız: Non-homojenize kemik matriksi, Üçgen: Vasküler kanal, Sağ ok: Osteosit, Ok başı: Kalsifikasyon hattı)



Resim 19b. L20/8 grubundan alınan örnekte gözlenen non-homojenize kemik matriksi, osteosit, vasküler kanal ve lamelleşme (Yıldız: Non-homojenize kemik matriksi, Üçgen: Vasküler kanal, Sağ ok: Osteosit, Ok başı: Lamelleşme)

6.2. Gruplara Ait Hücre Sayım Bulguları

Kontrol dört hafta grubuna ait histopatolojik inceleme sonucu elde edilen veriler Tablo 1’de sunulmuştur.

Tablo 1. Kontrol dört hafta grubuna ait histopatolojik inceleme verileri

Hayvan no	Osteosit sayısı	Osteoblast sayısı	Osteoklast sayısı	Fibroblast sayısı	Damar sayısı
Hayvan 1	940	228	2	908	2
Hayvan 2	1266	788	4	750	18
Hayvan 3	1211	432	0	345	6
Hayvan 4	576	102	3	1280	0
Hayvan 5	672	242	6	0	0
Hayvan 6	891	306	6	0	0

*Her hayvandaki defektten alınan histolojik kesitte sayılan osteosit, osteoblast, osteoklast, fibroblast ve damar sayıları

Kontrol sekiz hafta grubuna ait histopatolojik inceleme sonucu elde edilen veriler Tablo 2’de sunulmuştur.

Tablo 2. Kontrol sekiz hafta grubuna ait histopatolojik inceleme verileri

Hayvan no	Osteosit sayısı	Osteoblast sayısı	Osteoklast sayısı	Fibroblast sayısı	Damar sayısı
Hayvan 1	1448	0	0	0	0
Hayvan 2	958	64	0	620	6
Hayvan 3	1083	375	0	730	6
Hayvan 4	1563	129	0	0	0
Hayvan 5	1251	18	0	0	0
Hayvan 6	1742	0	0	0	0

*Her hayvandaki defektten alınan histolojik kesitte sayılan osteosit, osteoblast, osteoklast, fibroblast ve damar sayıları

L5 dört hafta grubuna ait histopatolojik inceleme sonucu elde edilen veriler Tablo 3'te sunulmuştur.

Tablo 3. L5 dört hafta grubuna ait histopatolojik inceleme verileri

Hayvan no	Osteosit sayısı	Osteoblast sayısı	Osteoklast sayısı	Fibroblast sayısı	Damar sayısı
Hayvan 1	641	232	7	466	47
Hayvan 2	767	278	8	137	9
Hayvan 3	662	417	15	391	11
Hayvan 4	721	407	6	279	10
Hayvan 5	504	144	4	226	12
Hayvan 6	550	352	5	224	2

*Her hayvandaki defektten alınan histolojik kesitte sayılan osteosit, osteoblast, osteoklast, fibroblast ve damar sayıları

L5 sekiz hafta grubuna ait histopatolojik inceleme sonucu elde edilen veriler Tablo 4’te sunulmuştur.

Tablo 4. L5 sekiz hafta grubuna ait histopatolojik inceleme verileri

Hayvan no	Osteosit sayısı	Osteoblast sayısı	Osteoklast sayısı	Fibroblast sayısı	Damar sayısı
Hayvan 1	794	0	0	0	0
Hayvan 2	695	66	0	288	0
Hayvan 3	1008	0	0	0	0
Hayvan 4	1391	170	0	0	0
Hayvan 5	1281	100	0	102	3
Hayvan 6	860	42	0	360	0

*Her hayvandaki defektten alınan histolojik kesitte sayılan osteosit, osteoblast, osteoklast, fibroblast ve damar sayıları

L10 dört hafta grubuna ait histopatolojik inceleme sonucu elde edilen veriler Tablo 5’te sunulmuştur.

Tablo 5. L10 dört hafta grubuna ait histopatolojik inceleme verileri

Hayvan no	Osteosit sayısı	Osteoblast sayısı	Osteoklast sayısı	Fibroblast sayısı	Damar sayısı
Hayvan 1	1170	90	2	1250	14
Hayvan 2	624	82	4	1095	86
Hayvan 3	342	120	6	760	0
Hayvan 4	526	128	12	920	16
Hayvan 5	490	462	8	1020	18
Hayvan 6	962	396	2	1218	8

*Her hayvandaki defektten alınan histolojik kesitte sayılan osteosit, osteoblast, osteoklast, fibroblast ve damar sayıları

L10 sekiz hafta grubuna ait histopatolojik inceleme sonucu elde edilen veriler Tablo 6’da sunulmuştur.

Tablo 6. L10 sekiz hafta grubuna ait histopatolojik inceleme verileri

Hayvan no	Osteosit sayısı	Osteoblast sayısı	Osteoklast sayısı	Fibroblast sayısı	Damar sayısı
Hayvan 1	1256	126	0	262	2
Hayvan 2	914	569	0	0	0
Hayvan 3	1435	54	0	384	3
Hayvan 4	840	309	0	0	0
Hayvan 5	1023	339	0	156	21
Hayvan 6	1296	24	0	0	0

*Her hayvandaki defektten alınan histolojik kesitte sayılan osteosit, osteoblast, osteoklast, fibroblast ve damar sayıları

L20 dört hafta grubuna ait histopatolojik inceleme sonucu elde edilen veriler Tablo 7’de sunulmuştur.

Tablo 7. L20 dört hafta grubuna ait histopatolojik inceleme verileri

Hayvan no	Osteosit sayısı	Osteoblast sayısı	Osteoklast sayısı	Fibroblast sayısı	Damar sayısı
Hayvan 1	681	552	6	452	23
Hayvan 2	938	543	1	307	0
Hayvan 3	994	212	3	703	4
Hayvan 4	652	175	7	158	1
Hayvan 5	597	327	5	123	1
Hayvan 6	818	318	4	220	2

*Her hayvandaki defektten alınan histolojik kesitte sayılan osteosit, osteoblast, osteoklast, fibroblast ve damar sayıları

L20 sekiz hafta grubuna ait histopatolojik inceleme sonucu elde edilen veriler Tablo 8’de sunulmuştur.

Tablo 8. L20 sekiz hafta grubuna ait histopatolojik inceleme verileri

Hayvan no	Osteosit sayısı	Osteoblast sayısı	Osteoklast sayısı	Fibroblast sayısı	Damar sayısı
Hayvan 1	1401	120	0	0	0
Hayvan 2	1228	0	0	0	0
Hayvan 3	911	47	0	0	0
Hayvan 4	1100	41	0	0	0
Hayvan 5	1387	10	0	0	0
Hayvan 6	1364	0	0	0	0

*Her hayvandaki defektten alınan histolojik kesitte sayılan osteosit, osteoblast, osteoklast, fibroblast ve damar sayıları

6.3. Gruplara Ait İstatistiksel Analiz Bulguları

Osteosit, osteoblast, osteoklast, fibroblast ve damar sayılarının her grup için ayrı ayrı istatistiksel analiz verileri Tablo 9, Tablo 10, Tablo 11, Tablo 12 ve Tablo 13'te sunulmuştur.

Tablo 9. Osteosit parametresinin gruplar arası ve zamana bağlı istatistiki analizi
[Ortalama±standart sapma (minimum-maksimum)]

Grup	4 Hafta	8 Hafta	p Değeri (d)
Kontrol	926±277.58 (576-1266)	1340.8±297.61 (958-1742)	0.037 ^A
L5	640.83±99.76 (504-767)	1004.83±278.14 (695-1391)	0.01 ^A
L10	685.67±315.15 (342-1170)	1127.33±236.05 (840-1435)	0.037 ^A
L20	780±162.40 (597-994)	1231.83±195.18 (911-1401)	0.01 ^A
p Değeri (e)	0.191 ^z	0.212 ^z	

Grup içi karşılaştırmada büyük üst karakter kullanılmıştır.

Gruplar arası karşılaştırmada küçük üst karakter kullanılmıştır.

A: p<0.05

z: p>0.05

d: Kontrol ve DESL gruplarının kendi içlerinde zamana (haftalara) bağlı karşılaştırmaları

e: Her bir hafta içinde kontrol ve DESL gruplarının kendi aralarında karşılaştırılmaları

Osteosit sayısı; Kontrol, L5, L10 ve L20 gruplarının hepsinde sekizinci haftada, dördüncü haftaya göre istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir (p<0.05). Bununla birlikte dördüncü ve sekizinci haftalarda ise tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık bulunmamıştır (p>0.05).

Tablo 10. Osteoblast parametresinin gruplar arası ve zamana bağlı istatistiki analizi
[Ortalama±standart sapma (minimum-maksimum)]

Grup	4 Hafta	8 Hafta	p Değeri (d)
Kontrol	349.67±240.03 (102-788)	97.67±144.53 (0-375)	0.037 ^A
L5	305±106.89 (504-767)	63±65.12 (0-170)	0.006 ^B
L10	213±169.50 (102-788)	153.5±136.49 (24-339)	0.262
L20	354.5±160.71 (144-417)	36.33±45.75 (0-120)	0.04 ^A
p Değeri (e)	0.401 ^z	0.258 ^z	

Grup içi karşılaştırmada büyük üst karakter kullanılmıştır.

Gruplar arası karşılaştırmada küçük üst karakter kullanılmıştır.

A: p<0.05, B: p<0.01

z: p>0.05

d: Kontrol ve DESL gruplarının kendi içlerinde zamana (haftalara) bağlı karşılaştırmaları

e: Her bir hafta içinde kontrol ve DESL gruplarının kendi aralarında karşılaştırılmaları

Osteoblast sayısı; Kontrol (p<0.05), L20 (p<0.05) ve L5(p<0.01) gruplarında sekizinci haftada dördüncü haftaya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüş göstermiştir. Bununla birlikte dördüncü ve sekizinci haftalarda ise tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık bulunmamıştır (p>0.05).

Tablo 11. Osteoklast parametresinin gruplar arası ve zamana bağlı istatistiki analizi
[Ortalama±standart sapma (minimum-maksimum)]

Grup	4 Hafta	8 Hafta	P Değeri (d)
Kontrol	3.5±2.34 (0-6)	0	0.007 ^B
L5	7.5±3.93 (4-15)	0	0.002 ^B
L10	5.67±3.88 (2-12)	0	0.002 ^B
L20	4.33±2.16 (1-7)		
p Değeri (e)	0.203 ^z	1 ^z	

Grup içi karşılaştırmada büyük üst karakter kullanılmıştır.

Gruplar arası karşılaştırmada küçük üst karakter kullanılmıştır.

B: $p < 0.01$

z: $p > 0.05$

d: Kontrol ve DESL gruplarının kendi içlerinde zamana (haftalara) bağlı karşılaştırmaları

e: Her bir hafta içinde kontrol ve DESL gruplarının kendi aralarında karşılaştırılmaları

Osteoklast sayısı; Kontrol, L5, L10, L20 gruplarının hepsinde sekizinci haftada, dördüncü haftaya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüş göstermiştir ($p < 0.01$). Dördüncü ve sekizinci haftalarda ise tüm gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Tablo 12. Fibroblast parametresinin gruplar arası ve zamana bağlı istatistiki analizi
[Ortalama±standart sapma (minimum-maksimum)]

Grup	4 Hafta	8 Hafta	P Değeri (d)
Kontrol	547.17±519.23 (0-1280)	225±297.61 (0-730)	0.171 ^Z
L5	287.17±120.92 (137-466)	125±278.14 (0-360)	0.107 ^Z
L10	1043.83±185.43 (760-1250)	133.67±236.05 (0-384)	0.004 ^B
L20	327.17±218.64 (123-703)	0	
p Değeri (e)	0.014 ^a	0.3 ^Z	
p Değeri (f)	0.004 ^a		
p Değeri (g)	0.004 ^a		

Grup içi karşılaştırmada büyük üst karakter kullanılmıştır.

Gruplar arası karşılaştırmada küçük üst karakter kullanılmıştır.

a: p<0.05, z: p>0.05

B: p<0.01, Z: p>0.05

d: Kontrol ve DESL gruplarının kendi içlerinde zamana (haftalara) bağlı karşılaştırmaları

e: Her bir hafta içinde kontrol ve DESL gruplarının kendi aralarında karşılaştırılmaları

f: 4. haftada L5 ve L10 gruplarının kendi aralarında karşılaştırılmaları

g: 4. haftada L10 ve L20 gruplarının kendi aralarında karşılaştırılmaları

Fibroblast sayısı; L10 ve L20 gruplarında sekizinci haftada dördüncü haftaya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüş göstermiştir (p<0.01). Kontrol ve L5 gruplarında ise dört ve sekiz hafta sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmamıştır (p>0.05). Dördüncü haftada L10 grubunda L5 ve L20 grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek fibroblast sayısı görülmüştür (p<0.05). Ancak sekizinci haftada tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmamıştır (p>0.05).

Tablo 13. Damar parametresinin gruplar arası ve zamana bağlı istatistiki analizi
[Ortalama±standart sapma (minimum-maksimum)]

Grup	4 Hafta	8 Hafta	p Değeri (d)
Kontrol	4.33±7.09 (0-18)	2±3.09 (0-6)	0.589 ^Z
L5	15.17±15.99 (2-47)	0.5±1.22 (0-3)	0.005 ^B
L10	23.67±31.22 (0-86)	4.33±8.26 (0-21)	0.121 ^Z
L20	5.17±8.84 (0-23)	0	0.007 ^B
p Değeri (e)	0.115 ^Z	0.242 ^Z	

Grup içi karşılaştırmada büyük üst karakter kullanılmıştır.

Gruplar arası karşılaştırmada küçük üst karakter kullanılmıştır.

z: p>0.05

B: p<0.01, Z: p>0.05

d: Kontrol ve DESL gruplarının kendi içlerinde zamana (haftalara) bağlı karşılaştırmaları

e: Her bir hafta içinde kontrol ve DESL gruplarının kendi aralarında karşılaştırılmaları

Damar sayısı bakımından L5 ve L20 gruplarında sekizinci haftada dördüncü haftaya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede bir azalma görülmüştür (p<0.01). Ancak kontrol ve L10 gruplarında dördüncü ve sekizinci hafta değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir (p>0.05). Bununla birlikte dördüncü ve sekizinci haftalarda tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık bulunmamıştır (p>0.05).

Bu verilere ek olarak, L5 grubunda dördüncü haftadaki fibroblast sayısı ile aynı haftadaki osteoklast sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede pozitif bir ilişki belirlenirken (r=0.25, p<0.05), sekizinci haftadaki fibroblast sayısı arasında ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde negatif bir ilişki saptanmıştır (r=-0.88, p<0.05).

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Kemik dokusu, normal şartlarda yapım ve yıkım mekanizmalarının bir denge oluşturduğu remodeling mekanizması ile varlığını sürdüren özelleşmiş bir bağ dokudur. Kemikteki osteoklastik aktivite sonucu yıkım gerçekleşirken, osteoblastik aktivite sonucunda yapım gerçekleşir. Yapım ve yıkım mekanizmaları ömür boyu süren bir remodeling dengesi oluştururlar. Travma veya cerrahi operasyonlara bağlı olarak kemik doku bütünlüğü bozulursa kemik iyileşme mekanizmaları devreye girer. Kemik bütünlüğünün bozulduğu bu durumlarda iyileşme sürecini hızlandırmak ve sorunsuz bir iyileşme sağlamak ilk hedef olmuştur. Bu çalışmanın amacı, DESL biyostimülasyonunun farklı enerji yoğunluklarında uygulanmasıyla kemik doku iyileşmesi üzerindeki etkileri rat tibaları değerlendirmektir.

Travma sonucu devital veya iskemik hale gelen kemiğe vasküler akımın artması, bölgeye kan akımıyla gelen osteoprogenitör hücrelerin osteoklastlara dönüşerek yıkımı başlatması, perivasküler osteojenik hücrelerin osteoblastları oluşturması ve osteoblastların da osteoklastlarca oluşturulan yıkım kavitesini lameller kemik yapısıyla doldurması gibi bir dizi hücreyel olay sonucunda kemik iyileşmesi sağlanır (103). Kemik iyileşmesi; kemiğe gelen travmanın derecesi, enfeksiyon, lokal malignite, radyasyona bağlı osteonekroz gibi lokal etkenlerin yanı sıra, Paget, Fibröz Displazi, Diabetes Mellitus, osteoporoz, A ve D vitamini eksiklikleri veya fazlalıkları, hormonal bozukluklar, anemi veya kortikosteroid kullanımı gibi sistemik etkenlerden olumsuz etkilenebilen bir süreçtir (104, 105). Bu olumsuz etkileri azaltmak ve kemik dokuya yönelik cerrahi işlemler sonrasında iyileşme sürecini hızlandırmak amacıyla pek çok klinik uygulama geliştirilmiştir. Bunlar; kemik greftleri, çeşitli büyüme faktörleri, PRF (Platelet Rich Fibrin), düşük yoğunluklu atımlı ultrason, DESL biyostimülasyonu gibi yöntemlerdir (106-109). Kemik grefti uygulamalarından, otojen kemik greftleri osteoindüktif özellikleri sayesinde kemik iyileşmesini artırıcı etki gösterirken, allojenik veya ksenojenik kemik greftlerinin çeşitli büyüme faktörleri ile kombine edilerek kullanılması halinde kemik iyileşmesi üzerinde olumlu etkiye sahip olduğu pek çok çalışmada bildirilmiştir (110, 111). Büyüme faktörlerinin greftlerle kombine edilmeksizin uygulamalarının da kemik iyileşmesi üzerindeki olumlu etkileri ortaya konmuştur (112, 113). Kemik iyileşmesini hızlandırmak amacıyla kullanılan bir diğer yöntem, PRF uygulaması olup hastadan alınan kanın özel bir ekipmanla santrifüj edilmesi yoluyla elde

edilir (114). Bu yöntemlerden greft uygulamaları invaziv bir işlem gerektirmesi, büyüme faktörleri elde edilmesi zor ve maliyetli olmaları, PRF de yine hastadan kan alma yoluyla elde edildiği için invaziv bir işlem olması gibi dezavantajlar içermektedirler. Düşük yoğunluklu atımlı ultrason ve DESL biyostimülasyonu; kemik iyileşmesini hızlandırıcı etkiye sahip diğer yöntemlere göre minimal invaziv iki ayrı uygulama methodudur (115). Düşük yoğunluklu atımlı ultrason piezo elektrik yoluyla hücre membranını uyararak anjiogenetik ve osteojenik etkiyi artırırken, DESL biyostimülasyonu fotobiyomodülasyon yoluyla hücre içi bir takım reaksiyonlar zincirini tetikleyerek kemik iyileşmesini hızlandırır (116).

Son yıllarda DESL biyostimülasyonu; gerek minimal invaziv ve sonuçları öngörülebilir bir yöntem oluşu, gerekse literatürde kemik metabolizması üzerine olumlu etkilerinin belirtilmesi ve klinik uygulama kolaylığı gibi nedenlerle ön plana çıkmaktadır (12, 117). DESL uygulamasını iyileşme potansiyelini arttırıcı diğer tekniklere nazaran avantajlı kılan bir diğer unsur da lokal olarak uygulandığı bölgede etkili olurken, enjekte edilen kimyasal ajanlar veya oral yolla alınan medikamentler gibi sistemik yan etkileri olmamasıdır. DESL biyostimülasyonunun kemik doku iyileşmesine etkisinin değerlendirildiği çeşitli çalışmalarda DESL'in hücresel düzeyde ATP sentezini arttırdığı, hücre içi elektron taşıma zincirini uyardığı ve hücresel pH'ı düşürdüğü öne sürülmüştür. DESL biyostimülasyonunun klinik etkinliğini yukarıda sayılan hücresel reaksiyonlar sağlar (47). Bu biyokimyasal reaksiyonlar ve hücre membranındaki değişiklikler sayesinde, makrofaj, fibroblast, lenfosit gibi iyileşmede rol oynayan hücrelerin aktivitesi artar (118, 119). Kollajen ve DNA sentezinde artış, nekrotik dokunun daha hızlı uzaklaştırılması, kalsiyum birikiminde, periost hücre fonksiyonunda, osteoblast ve osteosit fonksiyonunda, yeni vaskülarizasyon miktarında artış görülmesi de pek çok çalışmada DESL biyostimülasyonuna bağlı gelişen biyokimyasal olayların sağladığı klinik sonuçlar arasındadır (7, 120-122). DESL biyostimülasyonunun sağladığı diğer klinik değişiklikler arasında, endokondral kemikleşmeyi uyarması, mezenkimal hücrelerin erken farklılaşmasını sağlaması, preosteojenik hücreleri arttırması ve kallus oluşumunu uyarması yer alır ki bütün bu değişiklikler neticesinde kemik doku iyileşmesi hızlanır (123).

Bu çalışmada, kemik yaralanmaları sonrası iyileşmenin hızlandırılması ve sorunsuz bir iyileşme sağlanması amacıyla uygulanan invaziv yöntemler yerine, herhangi

bir yan etkisi olmadığı bildirilen, hastalar tarafından tolere edilebilir olan ve vücutta çeşitli dokular üzerinde iyileşmeye olumlu katkısı olan DESL biyostimülasyonunun farklı enerji yoğunluklarında uygulanmasıyla kemik dokuda oluşan değişiklikler rat tibiaları üzerinde açılan kritik olmayan boyutta monokortikal defektler üzerinde değerlendirilmiştir. Çalışmamızda oluşturulan defektlerin boyutları, ratlarda kemik onarımının ele alındığı diğer çalışmalarla uyumluluk arz edecek şekilde belirlenmiştir (124-126).

Literatürde, kemik iyileşmesinin değerlendirildiği in vivo çalışmalarda bir çok hayvan modeli kullanılmıştır. Bunlar arasında köpek, tavşan, koyun gibi hayvan modelleri bulunmakla birlikte, hayvan temininde yaşanan zorluklar nedeniyle araştırmacılar başka modeller üzerinde çalışmaya yönelmişlerdir. Kemik iyileşmesinin değerlendirildiği bir çok çalışmada deney hayvanı olarak rat kullanılmıştır (107, 127). Aronson ve ark. (128) yaptıkları çalışmada kemik iyileşmesinin değerlendirilmesi için rat modelinin uygunluğunu değerlendirmişlerdir. Rat modelini tercih etme nedenleri olarak düşük maliyetli olmaları, kolay temin edilebilmelerinin yanı sıra kemik metabolizmaları ve fizyolojileri hakkında geniş bilgi sahibi olunmasını belirtmişlerdir. Araştırmacılar; ratlarda en uzun kemiklerden biri olması, cerrahi olarak kolay ulaşım sağlanması ve operasyon sonrası ratın normal günlük aktivitelerine devam edebilmesi açısından tibia üzerinde çalışılmasının uygun olduğunu belirtmişlerdir. Bu bilgilerden yola çıkarak biz de hayvan modeli olarak rat modelini, operasyon bölgesi olarak da tibiayı kullanmayı tercih ettik.

Çalışmamızda hayvanların tibia defektlerinin oluşturulması öncesinde genel anesteziyelerinin sağlanmasında, literatür incelemeleri doğrultusunda ketamin hidroklorür ve ksilazin kombinasyonu kullanılmıştır (129, 130). Genel anestezi sonrası anestezi kaynaklı herhangi bir komplikasyon ile karşılaşılmamıştır.

Perioperatif antibiyotik uygulaması, insanlarda rutin bir uygulama iken deneysel hayvan çalışmalarında bu konuda bir görüş birliği bulunmamaktadır. Bazı araştırmalarda kemik iyileşmesinin antibiyotik tedavisi uygulamasıyla geciktiği bildirilmiştir. Perry ve ark. (131) levofloksasin ve trovafloksasin uygulanan ratlarda kallus olgunlaşmasında gecikme ve kırıldak yapımında artış gözlenirken daha az örgü kemik yapımı görüldüğünü belirtmişlerdir. Bir diğer çalışmada; ratlarda femur fraktürü oluşturulduktan sonra

gentamisin veya vankomisin uygulanmışlar ve kırık iyileşmesi üzerinde olumsuz bir etki görülmediği belirtilmiştir (132). Favaro-Pipi ve ark. (129) rat tibialarında defekt oluşturdukları çalışmada post-operatif antibiyotik uygulamamışlar, sadece suturlar atıldıktan sonra cildi povidon iyot solüsyonu ile dezenfekte etmişlerdir. Biz de perioperatif antibiyotik kullanımı konusunda literatürdeki çelişkili sonuçlardan ve sistemik yan etkilerden dolayı çalışmamızda kullandığımız deney hayvanlarına perioperatif antibiyotik uygulamadık.

Deney hayvanları üzerinde kemik iyileşmesinin incelendiği çalışmalarda post-operatif analjezik ilaç kullanılması konusu da tıpkı antibiyotik kullanılması gibi ihtilaflı bir konudur. Nonsteroid antiinflatuar ilaçlar etki mekanizmaları gereği siklooksijenaz enzim inhibisyonu yaparlar ve bu enzimin osteoblast farklılaşmasında etkili olur (133). Hayvanlarda kemik defekti oluşturulan çalışmalarda iyileşmeye olumsuz etki gösterebileceği nedeni ile analjezik kullanılmaması gerektiğini savunan çeşitli çalışmacılara karşın (134, 135) hayvanlarda analjezik kullanımının kemik iyileşmesi üzerinde olumsuz etki göstermeyeceğini savunan araştırmalar da mevcuttur (134, 136, 137). Yapılan bir çalışmada farelerde tibia fraktürü oluşturulmuş ve farklı nonsteroid antiinflatuar ilaçların kullanımının kemik sağlığına olumsuz bir etkisi olmadığı belirtilmiştir (137). Buna karşın Beck ve ark. (136) rat tibialarında transvers osteotomi yapıp, intermedüller pin fiksasyonu uyguladıkları çalışmalarında diklofenak kullanımının kemiğin eğilme direncinde ve yoğunluğunda azalmaya neden olduğunu savunmuşlardır. Bir başka çalışmada parekoksib ve indometazin uygulamasının rat tibia fraktürü iyileşmesi üzerinde etkileri değerlendirilmiş ve sonuçta maksimum gerilme kuvveti ve kemik mukavemeti üzerinde azaltıcı etkisi olduğu belirtilmiştir (138). Biz de çalışmamızda DESL biyostimülasyonunun iyileşme üzerindeki etkisinin sağlıklı bir şekilde değerlendirilebilmesi için deneylerimizde kullandığımız ratlara post-operatif analjezik uygulamadık.

DESL biyostimülasyonunun sistemik etkilerinin değerlendirildiği çeşitli çalışmalarda, lazer uygulamasına bağlı salgılanan sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin dolaşım sistemine salınımı nedeniyle tedavi edilmeyen bölgeyi de etkileyebileceği belirtilmiştir. Bu durumun kontrol grubunu aynı hayvan üzerinde uygulayan çalışmalarda DESL biyostimülasyonunun etkisiz sonuçlar vermesini açıklayıcı bir sebep olabileceği görüşüne yer verilmiştir. (12, 139, 140). Bu nedenle biz de çalışmamızda DESL

biyostimülasyonunun muhtemel sistemik etkilerini önlemek amacıyla tibia defektlerini hayvanların tek bacakları üzerinde oluşturduk ve kontrol grubunu ayrı hayvanlarda oluşturulan defektler üzerinde değerlendirdik.

Lazer ışınının terapötik etkileri ilk olarak bağ dokusunda incelenmiş olup, Abergel ve ark. (95) tarafından in vitro ortamda insan cildinden elde edilen fibroblastlar üzerinde düşük enerji seviyeli lazer uygulamasının kollajen üretiminde artış sağladığı ortaya konmuş, 1987 yılında yapılan bir diğer çalışmada He-Ne lazerin farelerde deneysel olarak oluşturulan yaralara uygulanmasının iyileşme üzerinde etkileri değerlendirilmiştir (141). Dokularda toplam kollajen miktarı ve gerilme kuvvetinin incelendiği çalışmada, yaralardaki gerilme kuvvetinde lazer uygulanan grupta birinci ve ikinci haftalarda anlamlı artış gözlenirken, iki ay sonunda toplam kollajen miktarında kontrol grubuna göre artış olduğu belirtilmiştir. Chekurov (142) tarafından da lazer ışınının kemik dokuda iyileşmeyi hızlandırıcı etkisi olduğu bildirilmiştir (143, 144). Lazer ışınının termal etki oluşturmaksızın kemik doku gibi derin dokularda etkili olabilmesi için dokulara penetre olabilme özelliği yüksek bir lazer türü olan düşük enerji seviyeli lazerler ile uygulanması gerekmektedir (13, 145). Düşük enerji seviyeli lazer (DESL) uygulamasının biyostimülasyon etkisi göstermesi nedeniyle DESL biyostimülasyonu olarak da adlandırılan uygulamada en sık kullanılan lazer türleri, Ga-Al-As ve He-Ne lazerlerdir (146).

He-Ne lazer kullanılan bir çalışmada rat tibialarında oluşturulan defektlere post-operatif altı gün boyunca He-Ne lazer uygulanmış ve anlamlı derecede osteoblast ve osteoklast hücre artışı olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte alkalen fosfataz enziminde de önce hızlı, daha sonra yavaş bir artış olduğu tespit edilmiştir (127). Peccins ve ark. (147) 15 tavşanın sağ femur ve tibialarında oluşturdukları defektlere He-Ne lazer ile DESL biyostimülasyonu uygulamış ve kontrol amaçlı kullanılan sol tibia ve femur ile karşılaştırdıklarında çalışma grubunda tibiada daha fazla olmak üzere her iki kemik dokuda da iyileşmede artış olduğunu saptamışlardır. He-Ne lazerin kemik dokuda etkili olduğunu gösteren bu çalışmalara karşın David ve ark. (148) intramedüller pin ile fikse ettikleri tibia fraktürlerinde He-Ne lazerin iyileşmeye bir etkisinin olmadığı sonucuna varmışlardır. Bayat ve ark. (145) ise diyabetik ratlarda He-Ne lazer uygulanan tibia kemiklerinin mekanik değerlendirmesi sonucunda kontrol grubuna göre daha yüksek yük değerlerine ulaşıldığını belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar He-Ne lazer ile tavşan

femurlarındaki defektlere DESL biyostimülasyonu uygulamışlar ve kemik iyileşmesinde histolojik bir değişiklik olmadığı gibi biyomekanik olarak daha güçsüz bir kemik yapısı oluştuğunu belirtmişlerdir. Bu duruma sebep olarak da He-Ne lazerin penetrasyon derinliğinin yeterli olamayabileceğini öne sürmüşlerdir (149, 150).

Düşük enerji seviyeli lazerlerin dokuda etkili olabilmesi için kromofor adlı hücre içi reseptörler tarafından absorbe edilmesi gerekmektedir. Uygulandıkları dokuda anlamlı miktarda termal değişiklik yapmayan düşük enerji seviyeli lazerlerde, kısa dalga boylu ışınlar kromoforlar tarafından uzun dalga boylu ışınlar kadar iyi absorbe edilemez, yüksek miktarda saçılım gösterirler ve dolayısıyla dokuya penetre olamazlar (43, 151). He-Ne lazerler 600-700 nm dalga boylu aralığında olup, yüzeysel etki gösterirlerken Ga-Al-As lazerler 800-980 nm aralığında dalga boyuna ve daha derin penetrasyon özelliğine sahiptirler (41, 152). Ga-Al-As lazerler, su ile en az seviyede etkileşime girerek daha derin dokulara penetre olmaları sayesinde pratik uygulamalarda daha etkili sonuçlar elde etme imkanı sunmaktadırlar. Pinheiro ve ark. (153) yaptıkları çalışmada 632.8 nm dalga boyunda He-Ne lazerin enerjisinin %37'sini 0.5 ile bir mm arası doku derinliğinde kaybettiğini belirtirken, kızılötesi dalga boylarının ise aynı enerji miktarını iki mm derinlikte kaybettiğini belirterek kızılötesi dalga boyunda çalışmayı tercih ettiklerini belirtmişlerdir.

DESL biyostimülasyonu amacıyla çalışmamızda He-Ne lazere göre kemik iyileşmesi üzerinde daha olumlu sonuçları bildirilen ve daha derin doku penetrasyonu özelliğine sahip Ga-Al-As lazer sistemi kullanılmıştır.

Favaro-Pipi ve ark. (129) DESL biyostimülasyonu ve düşük yoğunluklu atımlı ultrason yöntemlerinin kemik doku iyileşmesi üzerindeki etkinliklerini rat tibialarında oluşturdukları defektler üzerinde karşılaştırmışlardır. Ga-Al-As lazer cihazı kullanılan çalışma sonucunda DESL biyostimülasyonu uygulanan hayvanlarda ultrason ve kontrol gruplarına göre daha olgun kemik trabekülleri, daha yüksek miktarda kemik oluşumu tespit edilmiş fakat düşük yoğunluklu atımlı ultrason uygulaması ile kontrol grubu arasında farklılık görülmediği belirtilmiştir. Araştırmacılar, DESL biyostimülasyonunun osteogenezisi uyararak kemik iyileşmesine katkıda bulunduğunu belirtirken, düşük yoğunluklu atımlı ultrasonun osteoklast aktivasyonu ile kemik yapım/yıkım mekanizmasını harekete geçirdiğini ancak uygulama yönteminden kaynaklı olarak kontrol

grubu ile arasında farklılık görülmemiş olabileceğini savunmuşlardır (154). Bir diğer in vitro çalışmada, osteoblastik hücre kültürüne Ga-Al-As lazer ile DESL biyostimülasyonu uygulanmış ve çalışma sonucunda mitokondriyal takip boyası ile işaretlenen hücrelerde, mitokondriyal aktivite artışı ve hücre proliferasyonu gözlenmiş, dolayısıyla DESL biyostimülasyonunun osteoblastik hücre kültürü üzerinde uyarıcı etki gösterdiği belirtilmiştir (89). Guzzardella ve ark. (155) rat femurlarında oluşturdukları kemik defektlerine Ga-Al-As lazer ile DESL biyostimülasyonu uygulamışlar ve çalışma sonucunda DESL biyostimülasyonunun osteoblast aktivitesini arttırarak osteogenezisi hızlandığını ileri sürmüşlerdir. Ga-Al-As lazer kullanılarak yapılan DESL biyostimülasyonunun kemik dokuya etkisinin değerlendirildiği bir başka çalışmada, rat femurunda yaratılan defektlere DESL biyostimülasyonu uygulanmıştır. DESL biyostimülasyonu uygulanan hayvanlarda erken kemik iyileşmesi döneminde kollajen liflerde artış gözlenirken, geç kemik iyileşmesi döneminde ise iyi organize kemik trabeküllerinde kontrol grubuna göre anlamlı derecede artış gözlenmiştir (156).

DESL biyostimülasyonunun etkinliğinde rol oynayan parametreler; dalga boyu, enerji yoğunluğu, toplam ışınlama süresi ve ışınlamanın tekrarlanma miktarı olduğu belirtilmiştir (157). Schnidl ve ark. (158) düşük enerji seviyeli lazerler için aşağıdaki parametreleri tanımlamışlardır: Dalga boyu 300-10600 nm arasında, ışınlama süresi 10 ile 3000 saniye arasında, 0.01 J/cm^2 ile 100 J/cm^2 enerji yoğunluğunda, 0.01 W/cm^2 ile 10 W/cm^2 güç yoğunluğunda uygulanmalıdır. Çalışmamızda her seansta uygulanan güçler 1.5 W, üç W ve altı W, enerji yoğunlukları beş J/cm^2 , 10 J/cm^2 ve 20 J/cm^2 ve ışınlama süresi her seansta 10 saniye olarak uygulanmış olup, bu değerler Schindl ve ark. tarafından tanımlanan parametreler aralığındadır.

Kullanılan lazerin dalga boyu, dokunun absorbe edeceği enerji miktarıyla ve buna bağlı olarak hücresel aktivitelerle doğrudan ilişkilidir (159). Farklı dalga boylu lazerlerle yapılan DESL biyostimülasyonlarının dokular ve hücreler üzerindeki etkileri, pek çok çalışmada değerlendirilmiştir. Postherpetik nevralji tedavisinde DESL biyostimülasyonu kullanılan bir çalışmada (160) araştırmacılar 633 nm dalga boylu lazer ile olumlu sonuç alamadıklarını belirtirken, bir diğer araştırmada 830 nm dalga boylu lazer kullanımının postherpetik nevralji ağrısını anlamlı derecede azalttığı sonucuna varılmıştır (161). Dalga boyu 633 nm olan lazerin 830 nm dalga boylu lazere göre daha başarısız sonuç vermesinin, cildin üst tabakalarını geçemeyişi sonucunda dokulara daha az penetre

olabilmesinden kaynaklandığı belirtilmiştir (162). Pinheiro ve ark. (163) kemik yaralanmalarında DESL biyostimülasyonu amacıyla kullanılan 830 nm dalga boylu infrared spektruma ait bir lazerin, 632.8 nm veya 790 nm gibi görünür spektruma ait lazerlere göre daha etkili olduğunu savunmuşlardır. Farklı dalga boylu lazerler kullanılarak yapılan DESL biyostimülasyonunun osteoporotik ratlarda oluşturulan kemik defektlerinin iyileşmesi üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği bir başka çalışmada 660 nm dalga boylu lazerin 808 nm dalga boylu lazere göre fibroblast proliferasyonu üzerinde daha etkili olduğu görülmüştür (3). Pires-Oliveira ve ark. (164) osteoporotik hayvan modelinde 904 nm dalga boylu lazer kullanarak yapılan DESL biyostimülasyonunun kemik iyileşmesine olumlu etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Literatürde, Ga-Al-As lazer ile DESL biyostimülasyonu yapılan çeşitli çalışmalarda sıklıkla 810 nm, 830 nm, 904 nm dalga boylarında lazerler kullanılmış olup, 940 nm dalga boyunda bir Ga-Al-As lazer cihazı ile yapılan DESL biyostimülasyonunun in vivo ortamda kemik iyileşmesine etkisinin değerlendirildiği yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır (85, 107, 165). Çalışmamızda kullanılan 940 nm dalga boylu Ga-Al-As lazer cihazı ile DESL biyostimülasyonu uygulaması sayesinde, He-Ne ve bazı görece düşük dalga boylu Ga-Al-As lazerlere göre daha yüksek dalga boylu bir Ga-Al-As lazer cihazıyla DESL uygulanmasının, doku tarafından daha fazla miktarda enerjinin absorbe edilmesini sağlayarak daha yüksek biyostimülatif etki gösterebileceği düşünülmüştür.

Arndt Schulz kanunu, DESL'lerin doza bağlı etkilerini açıklamak için sık olarak kullanılan bir kanundur. Bu kanuna göre göre düşük miktarda stimülasyonlar, vital aktiviteyi çok az etkilerken, daha güçlü stimülasyonlar daha fazla etkiler ancak optimal sınırı geçen stimülasyonlar vital aktiviteyi baskılar ve biyolojik olarak inhibe edici özellikte olurlar (151, 166). Bu kanuna uygun olarak DESL ile yüksek miktar enerji uyguladığında biyostimülasyon oluşmakta, fakat çok fazla enerji uygulandığında biyostimülatif etki kaybolup biyoinhibisyon gelişmektedir (167). Biyoinhibisyona neden olan mekanizma tam olarak anlaşılamasa da yüksek miktarda üretilen reaktif oksijen türevlerinin oksidatif stresi artırarak sitokrom c salınımını tetiklediği ve böylece mitokondriyal enerji üretimini durdurarak nekroz ve apoptoza sebep olduğu düşünülmektedir (168). Biyoinhibisyon, fizik tedavide ağrı kontrolü amacıyla DESL biyostimülasyonu yapıldığında istenen bir özellik iken doku iyileşmesinin uyarılmasının istendiği durumlarda istenmeyen bir özelliktir. Hücre metabolizmasının stimülasyonunda

rol oynayan fotoreseptör, solunum zincirinin terminal enzimi olan sitokrom c oksidaz'dır (152). Mitokondri tarafından üretilen nitrik oksit, sitokrom c oksidaza bağlanarak oksijenin yerini alır ve solunumu inhibe eder. Sitokrom c oksidaz tarafından absorbe edilen lazer ışınlarının, fazla nitrik oksitin çözülmesini sağlayarak mitokondri inhibisyonunu tersine çevirdiği ileri sürülmektedir. DESL biyostimülasyonunun hücre çekirdeği ve mitokondri arasında iletişimi sağlayan moleküller olan reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türlerine etki ederek nükleik asit sentezi, protein sentezi, enzim aktivasyonunda artış olduğu, böylece hücre proliferasyonu, migrasyonu ve molekül adezyonunda artış sağlandığı bildirilmiştir (151).

DESL biyostimülasyonunun doza bağlı etkisinin incelendiği in vitro çalışmalar, hayvan deneyleri ve klinik çalışmalarda düşük dozlu lazer uygulamalarının yüksek dozlu lazer uygulamalarına göre daha iyi sonuç verdiği bildirilmekle beraber, inhibe edici dozun ve kemik iyileşmesine en etkili olan dozun miktarı konusunda bir görüş birliği bulunmamaktadır. Bazı araştırmacılar (169, 170) kemik iyileşmesine yüksek dozlarda DESL biyostimülasyonunun faydalı olacağını savunurken, bazıları (61, 171) ise daha düşük dozların etkili olacağını öne sürmüştür. Doz hesaplaması yapılırken cm^2 'ye düşen enerji miktarı hesaplanarak uygulanan doz belirlenir. Buna göre, güç (watt) x zaman (saniye) = enerji (joule) formülü ile elde edilen enerji miktarının lazer ışınına maruz kalan alana (cm^2) bölünmesi neticesinde uygulanan enerjinin yoğunluğu elde edilmektedir. Enerji yoğunluğu, DESL biyostimülasyonunun etkinliğinde önemli rolü olan bir parametredir. Çalışmamızda DESL biyostimülasyonu uygularken kullandığımız etki alanı ayarlanabilir biyostimülasyon başlığının 20 mm fokal spotta uygulanması ile üç cm^2 'lik bir dairesel alanda lazer ışının etki göstermesi sağlanmış olup, 1.5 W, üç W ve altı W güçlerde 10 saniye devamlı modda ışınlama yapılmıştır. Beş J/cm^2 enerji yoğunluğu elde etmek için 15 joule, 10 J/cm^2 enerji yoğunluğu elde etmek için 30 joule ve 20 J/cm^2 enerji yoğunluğu elde etmek için 60 joule gücünde enerji uygulanmıştır. Fokal spot çapının tek seferde bütün alana lazer uygulanmasına imkan tanımayacak büyüklüğe sahip olması gibi durumlarda ışınlanacak alana aynı seansta farklı noktalardan uygulama yapılarak uygulanan toplam doz artırılabilir.

Kim ve ark. (172) DESL biyostimülasyonunun periodontal dokular üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılara göre, tek noktaya 4.98 J/cm^2 gelecek şekilde toplam yedi noktadan uygulanan günlük 34.86 J/cm^2 enerji yoğunluğu başarılı bir sonuç

vermiştir. Pinheiro ve ark. (153) tarafından yapılan bir çalışmada, ratlarda oluşturulan defektler dört J/cm² enerji yoğunluğunda DESL biyostimülasyonunun dört adet farklı noktadan uygulanması neticesinde 16 J/cm²'lik bir toplam dozda bir DESL biyostimülasyonu uygulamasının kontrol grubuna göre anlamlı miktarda kemik artışı sağladığı bildirilmiştir. Çalışmamızda, literatürde bütün defekt alanının lazer ışınına maruz bırakıldığı benzer çalışmalarda (153, 173, 174) olduğu gibi; rat tibialarında oluşturulan defekt alanının beş mm x iki mm=10 mm²=0.1 cm² olması ve üç cm² çapında dairesel bir alanın ışınlaması neticesinde tüm defekt alanını kaplaması nedeniyle, fokal spot dışında kalma ihtimali olmadığı göz önünde tutularak her seansta tek noktadan ışınlama yapılmıştır.

Literatürde DESL biyostimülasyonunun kemik iyileşmesine etkisinin değerlendirildiği in vitro çalışmalarda genellikle daha düşük enerji yoğunluklarında DESL biyostimülasyonu uygulanırken, in vivo çalışmalarda daha yüksek enerji yoğunlukları kullanılmıştır (150, 175-179). Bu durum, in vivo çalışmalarda lazer ışınının belirli bir kalınlıktaki dokuyu geçerek kemik dokuya ulaşana kadar dokuya penetre olması gerekliliği mevcutken, in vitro çalışmalarda direkt olarak hücre düzeyinde ışınlanabilmesi nedeniyle penetrasyon ihtiyacı bulunmaması ile açıklanabilir.

Oliveira ve ark. (89) tarafından osteoblastik hücre kültürüne uygulanan DESL biyostimülasyonunun etkinliğinin değerlendirildiği çalışmada; üç J/cm² yoğunlukta 24 saat aralıklarla toplam üç seans DESL biyostimülasyonunun ardından 24 ve 48. saatlerde yapılan ışınlamaların sonunda mitokondriyel aktivitede artış ve osteoblastik hücre kültüründe profilerasyon olduğu tespit edilmiştir. Çalışmanın sonucunda üç J/cm² yoğunlukta uygulanan enerjinin kemik hücre stimülasyonunda etkili olduğu belirtilmiştir.

Shimizu ve ark. (180) rat kalvaryumundan elde edilen hücre kültürü üzerinde tek seans 3.75 J/cm² enerji yoğunluğunda DESL biyostimülasyonu ve rekombinant insülin benzeri büyüme faktörünün (rIGF-1) kemik nodül formasyonu üzerine uyarıcı etkileri olduğunu ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar, lazer uygulaması ile yüksek konsantrasyonda rIGF-1'in benzer oranlarda kemik sağladığını gözlemlemiş ve nodül formasyonunda etkili olan IGF-1 proteininin sentezinde gen düzeyinde stimülasyon elde ettiklerini göstermişlerdir. Rasouli Ghahroudi ve ark. (181) tavşan kalvaryumlarında oluşturdukları defektler üzerinde DESL biyostimülasyonu ve Bio-Oss greft materyalinin

osteogenezis üzerine etkilerini ayrı ayrı ve birlikte kullanarak karşılaştırmışlardır. Ga-Al-As diyot lazer cihazı ile dört J/cm² enerji yoğunluğunda DESL biyostimülasyonu, ilk uygulama cerrahiden sonraki gün olmak üzere 48 saatte bir 20 gün boyunca uygulanmıştır. Çalışma sonucunda, yeni oluşan kemik miktarının dört J/cm²'lik DESL biyostimülasyonu ve Bio-Oss greft materyalinin birlikte uygulandığı örneklerde en fazla olduğu, bunu sırasıyla sadece Bio-Oss, sadece DESL biyostimülasyon ve kontrol gruplarının takip ettiği gösterilmiştir. Ozawa ve ark. (1) tarafından yapılan in vitro çalışmada rat kalvayumundan elde edilen osteoblastik hücre kültürlerine Ga-Al-As lazer ile 3.82 J/cm² enerji yoğunluğunda DESL biyostimülasyonu uygulanmıştır. Çalışma sonucunda DESL biyostimülasyonunun erken dönemde osteoblast proliferasyonunu arttırdığı görülmüştür.

Lirani-Galvao ve ark. (182) ratlarda tibia osteotomileri oluşturdukları çalışmada seans başına 112 J/cm² yoğunlukta enerji uygulanmasının kemik onarımı üzerinde etkili olduğunu savunmuşlardır. Cerqueira ve ark. (183) koyunlarda distraksiyon sonrası konsolidasyon periyodunda DESL biyostimülasyonunun 16 J/cm² enerji yoğunluğunda uygulanması ile daha fazla kemik trabekülü oluştuğunu belirtmişlerdir. Blaya ve ark. (184) rat femurlarında oluşturulan defektlere DESL biyostimülasyonu uyguladıkları çalışma sonucunda 10 J/cm² yoğunlukta enerji uygulanması ile lazer uygulanmayan gruba göre daha yüksek miktarda yeni kemik yapım alanı olduğunu bildirmişlerdir. Bossini ve ark. (133) ise osteoporotik ratların tibialarında oluşturdukları defektlere 60 J/cm² ve 120 J/cm² yoğunluklarda enerji uygulamışlardır. Çalışma sonucunda özellikle 120 J/cm²'lik grupta daha yüksek miktarda kollajen fibrili ve bu fibrillerde daha düzenli bir dizilim olduğu görülmüştür. Hem 60 J/cm², hem 120 J/cm² enerji yoğunluklarında osteoblast diferansiyasyonunda ve üretiminde görev alan COX-2 (siklooksijenaz-2), Cbfa-1 (core-binding factor alpha-1) ve VEGF (vasküler endotelial growth factor) gibi moleküllerin sentezinde artış olduğu immünohistokimyasal analiz ile ortaya konmuştur. Başka bir çalışmada rat modelinde DESL biyostimülasyonunun kemik iyileşmesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada oluşturulan kemik defektlerine ksenogreft uygulanmış ve Ga-Al-As lazer 16 J/cm² enerji yoğunluğunda kullanılmıştır. Çalışma sonucunda DESL biyostimülasyonu uygulanan hayvanlarda kontrol grubuna göre kemik iyileşmesinde artış gözlenmiştir (185). Gomes ve ark. (186) tarafından yapılan bir çalışmada 32 tavşanın mandibular sol kesici dişleri çekilmiş ve sokete immedat implant yerleştirilmiştir.

Hayvanlar kontrol, beş J/cm², 10 J/cm², 20 J/cm² gruplarına ayrılmış ve DESL biyostimülasyonu her ışınlama uygulanacak dozun yarısı implantın medialine, yarısı lateraline olacak şekilde iki eşit doza bölünerek yapılmıştır. İmplant stabilitesi, kemik-implant teması ve implant yivleri arasında oluşan yeni kemik miktarı gibi parametrelerin değerlendirildiği çalışmada implant stabilitesi, rezonans frekans analizi ile test edilmiş ve 20 J/cm² grubunda en iyi stabilitenin elde edildiği görülmüştür. Kemik-implant teması miktarı 20 J/cm² grubunda en yüksek olduğu tespit edilmiş, yeni kemik alanı 10 J/cm² ve 20 J/cm² gruplarında kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur.

Çalışmamızda DESL biyostimülasyonunun kemik defektlerinin iyileşmesi üzerindeki etkisinin değerlendirileceği enerji yoğunlukları, Gomes ve ark. (186) tarafından yapılan çalışmadaki parametrelere benzer şekilde beş J/cm², 10 J/cm², 20 J/cm² olarak uygulanmıştır. Gomes ve ark. çalışmalarında farklı bir hayvan modeli olan tavşan modelini kullandıkları, farklı dalga boyunda bir lazer cihazıyla DESL biyostimülasyonu uygulamış oldukları ve farklı bir cerrahi işlem sonrası iyileşmeyi inceledikleri için, çalışmamızdaki hayvan modelinin, dalga boyu ve uygulanan cerrahi işlemde kaynaklanan farklılıklardan bağımsız olarak, aynı enerji yoğunluklarında DESL uygulanması sayesinde geniş bir enerji yoğunluğu aralığındaki DESL biyostimülasyonu uygulamalarının etkinliklerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

DESL biyostimülasyonunun etkinliğinin uygulama sıklığına da bağlı olduğu bilinmektedir. Biyostimülasyon amacıyla DESL uygulama sıklığına dair literatürde farklı yöntemler mevcuttur. Bazı araştırmacılar post-operatif tek doz DESL biyostimülasyonu uygulama yolunu tercih etmişlerdir (126, 129). Buna karşın birden fazla seans ışınlama yapılmasının biyostimülasyon etkisini arttırdığını savunan çok sayıda araştırma da bulunmaktadır (6, 181, 187, 188). Genellikle DESL protokolünün her gün uygulandığı araştırmalarda daha düşük dozlar tercih edilirken, 48 saatte bir DESL biyostimülasyonu yapılan araştırmalarda daha yüksek bir doz tercih edilmiştir (189, 190).

Barbosa ve ark. (191) rat femurlarında yapılan osteotomilere, post-operatif 660nm dalga boylu kırmızı lazer ve 830 nm dalga boylu Ga-Al-As lazeri osteotomiden hemen sonra ve takip eden 48 saatte bir olmak üzere, haftada üç kere yedi, 14 ve 21 günlük dozlar uygulamışlardır. Çalışmada kullanılan farklı lazerlerin dalga boyları ve uygulanan seans sayıları haricinde enerji yoğunluğu, uygulama süresi ve çıkış modu gibi

parametreler aynı şekilde sabit tutulmuş ve osteotomi alanındaki kemik onarımı optik dansitometre ile ölçülmüştür. Ga-Al-As lazer ile biyostimüle edilen defektler, kontrol grubuna göre yedi ve 14 günlük gruplarda anlamlı derecede onarılmışken, kırmızı lazer kullanılan gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı kemik onarımı sadece yedinci günde gözlenmiştir. Bu doğrultuda kırmızı lazerlerin doku iyileşmesinin daha erken döneminde etkili olabildiği, kızılötesi spektrumdaki Ga-Al-As lazerin ise daha uzun süre iyileşmeye katkı sağlayabileceği öne sürülmüştür. Bu durum, lazerin doku penetrasyon özelliğinin kırmızı lazerde kızıl ötesi lazere göre daha az olmasına bağlanmıştır (186, 192). Bununla birlikte hem kırmızı, hem kızılötesi dalga boyundaki lazerlerle yapılan DESL biyostimülasyonu sayesinde; endotelial hücre proliferasyonunun uyarılması, fibroblast artışının ve buna bağlı kollajen sentezinin uyarılması, osteoprogenitör hücrelerin, osteoblastların ve osteoklastların uyarılarak kemik onarımının sağlanması, DNA ve RNA sentezinde artışla beraber hücre büyümesinde ve protein sentezinde artış görüldüğü literatürde birçok farklı çalışmada vurgulanmıştır (7, 189, 193-196).

Hubler ve ark. (61) distraksiyon osteogenezi sonrası oluşan kemiğe DESL biyostimülasyonu uygulamasının etkinliğini değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada, beş tavşana üç günlük latent sürenin ardından 0.7 mm/gün ritminde yedi gün boyunca distraksiyon osteogenezi yapmış ve 10 günlük konsolidasyon süresini beklemişlerdir. Beş tavşandan üçüne konsolidasyon süresi boyunca 48 saatte bir olmak üzere cerrahi işlem sonrası iki, dört, altı, sekiz ve 10. günlerde 830 nm dalga boylu Ga-Al-As lazer cihazı ile DESL biyostimülasyonu uygulamışlardır. DESL biyostimülasyonu uygulanan tavşanlardan bir tanesi kemik fragmanlarının erken birleşmesi nedeniyle çalışma dışı bırakılmış, DESL uygulanan diğer iki tavşandan alınan doku örnekleri, distraksiyon osteogenezi bölgesindeki yeni oluşan kemiğin kimyasal yapısı, kalsiyum, fosfor oranları ve kristal yapısının incelenmesi amacıyla X-ışını floresans ve X-ışını difraksiyonu ile incelenmiştir. Çalışma sonucunda DESL biyostimülasyonu uygulanan grupta daha yüksek miktarda Ca, P ve mineralizasyon olduğu belirtilirken, difraktogram sonucunda yeni oluşan kemikteki kristal yapının hidroksiapatit benzeri bir yapıda olduğu görülmüştür.

Bossini ve ark. (133) tarafından yapılan bir çalışmada osteoporotik ratlar üzerinde oluşturulan tibia defektlerine cerrahiden hemen sonra ve takip eden iki, dört, altı, sekiz, 10 ve 12. günlerde DESL biyostimülasyonu yapılmıştır. Çalışma sonucunda her iki lazer

uygulanan grupta da kontrol grubuna göre daha yüksek oranda yeni oluşan kemik ve granülasyon dokusu olduğu tespit edilmiştir.

Fangel ve ark. (197) biyosilikat adlı biyoaktif bir materyalin DESL biyostimülasyonu ile birlikte uygulanmasının osteopenik ratlarda kemiğin biyomekanik yapısı üzerindeki etkilerini 40 rat üzerinde incelemişlerdir. Biyostimülasyon, ilk doz cerrahiden hemen sonra, diğer dozlar takip eden iki, dört, altı, sekiz 10, 12. günlerde olacak şekilde uygulanmıştır. Gruplar kontrol grubu, defekte sadece biyosilikat doldurulan grup, defekte sadece lazer uygulanan grup ve defekte biyosilikat ile birlikte lazer uygulanan grup olarak ve her grupta 10'ar adet rat olacak şekilde düzenlenmiştir. Histopatolojik analiz sonucunda özellikle biyostilikat ile birlikte lazer uygulanan grupta en yüksek seviyede kemik yapımı gözlenmiş, biyomekanik analiz sonucunda da yine aynı grupta biyomekanik özelliklerde artış olduğu sonucuna varılmıştır.

Biz de çalışmamızda DESL biyostimülasyon uygulama sıklığını, DESL biyostimülasyonu yapılan çalışmaların pek çoğu ile uyumlu olacak şekilde ilk dozun cerrahi işleminden hemen sonra, takip eden dozların ise post-operatif iki, dört, altı, sekiz, 10 ve 12. günlerde olacak şekilde belirledik (133, 181, 197).

DESL biyostimülasyonunun etkinliğini belirleyen bir diğer faktör de lazerin dokuya uygulanma süresidir. Park ve ark. (198) tarafından yapılan bir çalışmada ratlarda diş çekim boşluklarına DESL biyostimülasyonu uygulama süresinin kemik iyileşmesi üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Sistemik bir hastalığı bulunmayan 24 ratın sağ ve sol maksiller birinci molar dişleri çekilmiş, hayvanlar bir, iki ve beş dakika ışınlamaya maruz kalanlar ve kontrol grubu olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. Ga-Al-As lazer cihazı ile DESL biyostimülasyonu uygulanmış ve bir dakikada uygulanan enerji yoğunluğu 13.95 J/cm^2 olarak hesaplanmıştır. Buna göre gruplara 13.95 , 27.9 , 69.75 J/cm^2 enerji yoğunluğunda DESL biyostimülasyonu uygulanmıştır. Bu durumda 69.75 J/cm^2 enerji yoğunluğuna ulaşılan beş dakika ışınlamanın yapıldığı grupta en yüksek miktarda osteojenik ve büyüme faktörlerine ait Runx2 gibi genlerin ayrıca mRNA ve proteinlerin sentezinde artış görülmüştür. Araştırmacılar çalışma sonuçları doğrultusunda, ışınlama süresindeki artışla doğru orantılı olarak ratların çekim soketlerinde yeni kemik oluşumu ve mineralizasyonunda hızlanma olduğunu belirtmişlerdir. Bu sayede; klinik uygulamalarda özellikle geç iyileşmeye sebep olan sistemik hastalığı olan bireylerde

iyileşme süresinin kısaltılarak yaşam kalitesinin arttırılabileceği ileri sürülmüştür (198).

Vasconcellos ve ark. (199) tarafından normal ve osteopenik kemiğe titanyum implant yerleştirilmesi ve DESL biyostimülasyonu uygulamasının kemik iyilesine etkisinin değerlendirildiği çalışmada, ratlarda oluşturulan monokortikal femur defektlerine titanyum silindirik implant yerleştirilmiştir. DESL biyostimülasyonu toplam yedi seans yapılmış olup, her seansta bir dakika 30'ar saniyelik uygulamalar şeklinde toplam 16 J/cm² yoğunlukta enerji uygulanmıştır. DESL biyostimülasyon seansı başına 100 saniye süren bir ışınlama protokolünün uygulandığı bu çalışmanın sonucunda da lazer uygulanan grupların hepsinde lazer uygulanmayan gruplara göre anlamlı miktarda yeni kemik yapımı tespit edilmiştir.

Pereira ve ark. (200) tarafından yapılan bir başka çalışmada, fibroblast kültür ortamında DESL biyostimülasyonu uygulamasının hücre büyümesine ve prokollajen sentezine etkisi değerlendirilmiştir. Çalışmada, DESL biyostimülasyonu yapılırken uygulama gücü ve fokal spot değerleri sabit tutulmuş, uygulama süresi değiştirilmek suretiyle uygulanan enerji yoğunluğunun da değiştirilmesi yoluyla üç çalışma grubu ve bir kontrol grubu oluşturulmuştur. Çalışma gruplarından birincisine altı saat ara ile iki J/cm² enerji yoğunluğunda 16'şar saniyelik iki seans olmak üzere toplam dört J/cm² yoğunlukta enerji uygulanmıştır. İkinci grupta altı saat ara ile ilk seans bir J/cm² enerji yoğunluğunda sekiz saniye, ikinci seans iki J/cm² enerji yoğunluğunda 16 saniye olmak üzere toplam üç J/cm² yoğunlukta enerji uygulanmıştır. Üçüncü grupta ise ilk seans iki J/cm² enerji yoğunluğunda 16 saniye, ikinci seans üç J/cm² enerji yoğunluğunda 24 saniye olmak üzere toplam beş J/cm² yoğunlukta enerji uygulanmıştır. Çalışma sonucunda üç J/cm² ve dört J/cm² enerji yoğunluğunda ışınlamaya maruz kalan gruplar kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmış fibroblast hücre sayısı ve fibroblast hücre büyümesi göstermiştir. Bununla birlikte beş J/cm² yoğunlukta ışınlanan grup ise kontrol grubu ile benzer bir sonuç vermiş, her iki grupta da, üç J/cm² ve dört J/cm² gruplarından anlamlı derecede düşük değerler elde edilmiştir. Çalışma sonucunda araştırmacılar, DESL biyostimülasyonunun doza bağlı etkinliğinin belirli bir noktaya kadar arttığının üç J/cm² ve dört J/cm² lik gruplardaki artış ile açıklanabileceğini belirtmişler, belirli bir noktadan sonra inhibe edici etkinin olduğunu beş J/cm² lik grupta değişiklik olmaması ile ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada ışınlama protokolü, uygulanan gücün sabit tutularak uygulama süresinin değiştirilmesi sonucunda uygulanan enerji yoğunluğunun da

değiştirilmesi şeklinde uygulanmıştır. Bizim çalışmamızda ise uygulanan süre 10 saniye ile sabit tutulmuş olup, uygulanan güçlerin değiştirilmesi yolu ile farklı enerji yoğunluklarında DESL biyostimülasyonu uygulanmıştır.

Kemik iyileşmesini hayvan modeli üzerinde değerlendiren pek çok çalışmada erken ve geç dönem kemik iyileşmesi incelenmiştir. Ancak erken ve geç dönem olarak hangi haftalardaki kemik iyileşmesinin değerlendirileceği konusu, literatürde farklı zaman aralıklarında ele alınmıştır. Kemik iyileşmesinin incelenme süresi, çalışmalarda kullanılan deney hayvanına göre farklılık göstermektedir. Farelerin kullanıldığı çalışmalarda kemik iyileşmesi dört haftada tamamlanırken, deney hayvanı olarak ratların kullanıldığı çalışmalarda kemik iyileşmesinin iyileşmesinin beş-altı haftayı bulduğu dolayısıyla geç dönemdeki iyileşmenin incelenmesi için en az bu süre kadar beklenmesi gerektiği bildirilmiştir (201, 202). Erken kemik iyileşmesinin incelendiği rat modellerinde minimum iki hafta beklenmesi gerektiği belirtilmiş, bu süreden önce oluşan kallus yapısının yumuşaklığından dolayı histolojik ve özellikle biyomekanik analizlerde incelenmesinin zorluğuna dikkat çekilmiştir. (203).

DESL biyostimülasyonunun tavşanlarda kalvaryal defekt iyileşmesi üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada erken ve geç dönemdeki iyileşme, dördüncü ve sekizinci haftalarda yapılan sakrifikasyonlarla değerlendirilmiştir. Araştırma sonucunda DESL biyostimülasyonu yapılan tavşanlarda, kontrol gruplarına göre daha fazla kemik iyileşmesi görüldüğü, ancak dört ve sekizinci haftalar arasında yeni oluşan kemik miktarı bakımından anlamlı farklılık olmadığı belirtilmiştir (181).

Nissan ve ark. (125) tarafından yapılan bir çalışmada ratlarda oluşturulan bilateral mandibula defektlerinden sağ taraf kontrol sol taraf çalışma grubu olmak üzere dört mW/cm^2 ve $22.4 mW/cm^2$ güç yoğunluklarında DESL biyostimülasyonu uygulanmıştır. Uygulama sıklığı, oluşturulan gruplara göre post-operatif bir, iki ve dördüncü haftalarda sakrifiye edilen her hayvana sakrifikasyon zamanına dek her gün olacak şekilde belirlenmiştir. Ratlara radyoaktif kalsiyum izotopu olan ^{45}Ca enjekte edilmiş ve yeni oluşan kallustaki radyokalsiyum birikimine göre osteojenik aktivite değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda araştırmacılar, dört mW/cm^2 güç yoğunluğunda DESL biyostimülasyonu yapılan hayvanlarda ışınlanan bölgelerin içerdiği radyokalsiyum miktarının kontrol bölgelerine göre anlamlı derecede arttığını belirtmişlerdir. Dört

haftalık gruplarda iki haftalık gruplara göre anlamlı derecede yüksek radyokalsiyum birikmesinin, doza bağılı olarak DESL etkinliğinin artması ile açıklanabileceğini öne sürmüşlerdir. Öte yandan 22.4 mW/cm^2 yoğunlukta güç uygulanan ratlarda kontrol bölgeleri ile farklılık görülmemiştir. Bu çalışmada defekt bölgesindeki kalluslar defektten kürete edildikten sonra santrifüj edilmiş ve içeriği kimyasal olarak incelenmiştir. Bu sebeple dokuların erken kemik iyileşmesi döneminde değerlendirilebilmesi, histolojik veya biyomekanik analiz yapılan çalışmaların aksine birinci haftada yapılabilmektedir.

Obradović ve ark. (204) kemik iyileşmesinde olumlu etkisi olduğu belirtilen bikalsiyum fosfat/polilaktid-koglikolid (BCP/PLGA) biyomateryalinin ratlarda deneysel olarak oluşturulmuş mandibular defektlere implante edilmesi ve ardından Ga-Al-As veya He-Ne lazer uygulamasının kemik iyileşmesine etkisini değerlendirmişlerdir. DESL biyostimülasyonları, ilk seansı cerrahiden hemen sonra, diğer seanslar takip eden dört gün üstüste uygulanmıştır. Hayvanlar iki, altı ve sekizinci haftalarda kurban edilmiş ve kemik iyileşmesi histomorfometrik olarak incelenmiştir. Sonuçta, iki ve altı haftalık gruplarda, lazer uygulanmayan kontrol gruplarına göre yüksek miktarda yeni kemik yapımı görülmüştür. Sekiz haftada ise kontrol ve lazer grupları ile arada anlamlı değişiklik olmadığı belirtilmiştir. Araştırmacılar çalışma sonucunda; DESL biyostimülasyonunun kemik defektlerinin iyileşmesinin erken döneminde etkili olduğunu ve BCP/PLGA implante edilen materyalin entegrasyonunu kolaylaştırdığını belirtmişlerdir.

Bir diğer çalışmada, ratlarda deneysel olarak oluşturulan mandibula defektlerine biyoaktif cam ve DESL biyostimülasyonu uygulamasının iyileşme üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Çalışmada 36 adet ratın yarısına sadece biyoaktif cam, diğer yarısına ise hem DESL biyostimülasyonu hem de biyoaktif cam uygulaması yapılmıştır. DESL biyostimülasyonu dört seans ve her seans başına dört J/cm^2 enerji yoğunluğunda uygulanmıştır. Histolojik değerlendirme için hayvanlar dört, sekiz ve 12. haftalarda kurban edilmiştir. Biyoaktif cam uygulamasına ilave olarak DESL biyostimülasyonu yapılan hayvanlarda dört ve sekizinci haftalarda anlamlı miktarda artmış kemik iyileşmesi gözlenmiştir. 12. haftada ise lazer uygulanan ve uygulanmayan gruplar arasında farklılık olmadığı belirtilmiştir (205).

Literatürde kemik iyileşmesinin erken ve geç dönemde değerlendirileceği hafta konusunda farklı çalışmalar olmakla beraber çalışmamızda geç dönem kemik iyileşmesi, Einhorn tarafından bildirildiği üzere (206) ratlar üzerinde geç dönem kemik iyileşmesinin incelenebilmesi için gereken minimum altı haftalık zaman dilimini de içine alacak şekilde sekiz haftada değerlendirilmiştir. Çalışmamızda erken dönem kemik iyileşmesi ise literatürdeki benzer çalışmalar (181, 207, 208) doğrultusunda post-operatif dördüncü haftada değerlendirilmiştir.

DESL biyostimülasyonunun kemik iyileşmesi üzerinde etkileri pek çok çalışmada immünohistokimya, biyomekanik analiz ve histolojik analiz gibi farklı yöntemler kullanılarak incelenmiştir (197, 209). İmmünohistokimyasal incelemeler, genel olarak pahalı ve uygulaması teknik hassasiyet gerektiren analizler olmaları sebebiyle daha az tercih edilirler (210). Bazı çalışmalarda kallusun sağlamlığının değerlendirilmesi amacıyla biyomekanik analiz uygulanmıştır (211). Literatürdeki pek çok çalışmada ise dokular histolojik analiz ile hücresel düzeyde incelenmiştir (12, 126, 205). Kemik dokuyu oluşturan temel hücresel elemanlar osteoblast, osteosit, osteoklast ve fibroblastlardır. Kemik dokusu iyileşirken, bölgede ilk olarak oluşan kan pıhtısının içinde damar oluşumu başlar. Fibroblastik aktivite sonucu kollajen fibrilleri bağ dokusu alanları oluştururlar ve bu alanlarda oluşan osteojenik hücrelerin osteoblastlara ve osteoblastların da osteositlere dönüşmesi neticesinde kemik iyileşmesi tamamlanır. Bu sebeple, bu çalışmalarda kemik iyileşme mekanizmasında en sık incelenen parametreler; osteoblast, osteosit, osteoklast, fibroblast hücreleri ile yeni oluşan damarlar ve kollajen fibrilleridir.

Garavello ve ark. (189, 212) rat tibialarında frez ile oluşturulan defektlere iki ayrı grupta 31.5 J/cm^2 ve 94.5 J/cm^2 enerji yoğunluklarında lazer uygulamış ve post-operatif sekiz ve 15. günlerdeki örnekler üzerinde histomorfometrik incelemeler yapmıştır. Çalışmada 94.5 J/cm^2 enerji yoğunluğunda DESL biyostimülasyonu yapılan grupta 31.5 J/cm^2 enerji yoğunluğu grubuna göre anlamlı derecede fazla damar oluşumu görülürken, her iki lazer grubunun da kontrol grubundan fazla damar oluşumu gösterdiği görülmüştür. DESL etkinliğinin zamana bağlı değişimine ilişkin olarak, lazer uygulanan gruplarda damar oluşumundaki artışın sekizinci günde, 15. günden daha fazla olduğu, zaman ilerledikçe inhibitör etki göstermiş olabileceği öne sürülmüştür.

Benzer şekilde Khadra ve ark. (12) rat kalvaryumunda oluşturulan kemik defektlerine günlük 23 J/cm^2 yoğunlukta enerji ile DESL biyostimülasyonu uyguladıkları çalışmalarında 14. günde yeni damar oluşumunun 28. güne göre daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

DESL biyostimülasyonunun ratlarda femoral büyüme plakları üzerinde etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, sakrifikasyon gününe kadar her gün femur distalindeki büyüme plağı bölgesine DESL biyostimülasyonu uygulanmış ve hayvanlar yedi, 14 ve 21. günlerde sakrifiye edilmişlerdir. Yeni damar oluşumu bakımından 14 ve 21. günlerde DESL biyostimülasyonu yapılan grupta daha yüksek yeni damar oluşumu görülmüştür. Aynı zaman dilimlerinde lazer uygulanan grupta daha geniş kalsifiye kıkırdak alanı görülmekle birlikte, 21. günde kondrosit sayısının kontrol grubunda DESL biyostimülasyonu grubuna göre daha fazla olduğu gözlenmiştir. Femoral büyüme plaklarının DESL biyostimülasyonundan etkilenmediği, hatta yedi ve 14. günlerde kontrol grubunda femur uzunluğunun daha fazla ölçüldüğü tespit edilmiştir. Çalışmacılar bu durumu; DESL biyostimülasyonuna bağlı yeni damar oluşumu artışının kondrositlerin erken ölmesine ve kalsifiye kıkırdakın oluşmasına ve böylece femur uzunluğunun kısa kalmasına bağlı olabileceği şeklinde bir hipotez ile açıklamışlardır (213). Bizim çalışmamızda ise damar oluşumu, bütün gruplarda dördüncü haftada sekizinci haftaya göre yüksek olma eğilimi göstermekle birlikte dördüncü haftadaki artmış damar sayısı, sadece L5 ve L20 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Medina-Huertas ve ark. (214) osteoblast benzeri hücrelerin DESL biyostimülasyonu sonrasında alkalen fosfataz aktivitesi ve antijenik özellikleri bakımından etkilenip etkilenmediğini değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada, osteoblast benzeri hücrelere Ga-Al-As diyot lazer ile DESL biyostimülasyonu uygulamışlardır. Çalışmada 24 saat sonunda lazer uygulanan grupta kemik yapımının belirteçlerinden biri olan ALP artışı görülmüştür. Bununla birlikte, osteblast hücrelerindeki biyostimülan etki meydana getiren sitokinler ve büyüme faktörlerinde artış tespit edilmiştir. Bu biyostimülan etkinin, osteoblastların otokrin özellikleri sayesinde kendileri tarafından salınan sitokinlerin lazer enerjisi uygulamasına verdiği bir yanıt olduğu bildirilmiştir (215). Khadra ve ark. (12) da rat kalvaryumundaki defektlerde hem 14 hem 28. günlerde DESL uygulanan hayvanlarda DESL uygulanmayan hayvanlara göre yüksek sayıda osteoblast olduğunu rapor etmişlerdir. Stein ve ark. (216) tarafından

yapılan hücre kültürü çalışmasında, 632 nm dalga boyu ve 10 mW güçte DESL biyostimülasyonu He-Ne lazer kullanılmış ve osteoblast farklılaşmasının arttığı, böylece kemik iyileşmesinin hızlandığı ortaya konulmuştur. Hücre kültürüne DESL biyostimülasyonu uygulanan başka bir çalışmada, kemik nodüllerinde bir ve 12. günler arasında artış görülmüş, 14. günde etkinin azaldığı belirtilmiştir. Normal şartlarda 21 günde oluşan kemik nodülleri, DESL biyostimülasyonu yapılan kültürlerde 13 günde oluşmuştur (1). Bu sonuç, DESL biyostimülasyonunun erken dönemde osteoblastik profilerasyonun arttığını göstermiştir. Ayrıca aynı erken dönemde, ALP aktivitesinde de artış olduğu belirtilmiştir. ALP'nin hücre farklılaşmasını gösteren bir belirteç olduğu, çalışma sonucunda hücre farklılaşmasında erken dönemde belirgin miktarda artış olduğu, dolayısıyla DESL biyostimülasyonunun erken dönemde osteoblast farklılaşmasına ve proliferasyonuna olumlu katkısı olduğu bildirilmiştir. Bu araştırma sonucunda, DESL biyostimülasyonunun etkinliğinde ışınlamanın yapıldığı iyileşme fazının önemli rol oynadığı, erken dönemde hücre farklılaşması ve proliferasyonu gibi aktivitelerin daha fazla olduğu, hücresel düzeyde açıklanmıştır. Çalışmamızın sonuçları da erken ve geç iyileşme dönemlerinde osteoblast sayısı bakımından grupların anlamlı farklılık göstermesi doğrultusunda, benzer araştırmalarla (5, 180, 217) da uyumluluk göstermiştir. Bizim çalışmamızda da L10 grubu hariç bütün gruplarda osteoblast sayısının dördüncü haftada sekizinci haftaya göre anlamlı derecede yüksek değerlere sahip olduğu görülmüş ($p<0.05$), L10 grubunda da dördüncü haftadaki osteoblast değerinin sekizinci haftaya göre yüksek olma eğilimi gözlenmiş ancak, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu doğrultuda Stein ve ark. (216) ve Ozawa (1)'nin çalışmaları sonucunda elde edilen osteoblast diferansiyasyonunun iyileşmenin erken döneminde daha fazla olduğu bulgusu da çalışmamızın sonuçları ile örtüşmektedir. Ayrıca çalışmamızda osteoblast hücrelerinin sekizinci haftada dördüncü haftaya göre daha düşük değerlere sahip olması, kemiğin maturasyonuna bağlı olarak osteoblastların osteositlere dönüşmesi ile açıklanabilir.

Da Cunha ve ark. (218) tarafından yapılan bir araştırmada femur bölgesine radyoterapi uygulanmış ratlarda DESL biyostimülasyonunun kemik iyileşmesine etkisi deneysel olarak araştırılmıştır. Kontrol grubundaki ratlara sadece radyoterapi uygulanmış, üç farklı çalışma grubundaki ratlara da bir grupta radyoterapiden önce, bir grupta radyoterapiden hemen sonra ve bir grupta da radyoterapiden dört hafta sonra toplam yedi seans DESL biyostimülasyonu uygulanmıştır. Bütün hayvanlar radyoterapi sonrası altıncı

haftada sakrifiye edilmiştir. Çalışma sonucunda tüm radyoterapi öncesi ve radyoterapiden dört hafta sonra DESL biyostimülasyonu uygulanan gruplarda osteosit sayısında anlamlı artış olduğu görülmüştür. Dörtbudak ve ark. (219) da beş adet erkek babunun bilateral iliyak kemiklerine dörder adet implant yerleştirdikleri çalışmalarında osteosit sayısının bakımından DESL biyostimülasyonu uygulanan bölgelerde uygulanmayan bölgelere göre anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızın sonuçlarında osteosit değerleri bütün gruplarda sekizinci haftada dördüncü hafta değerlerine göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Bu durum, kemik maturasyonunun gerçekleşmesiyle osteosit sayısının artacağı şeklinde açıklanabilir. Bununla birlikte kontrol ve DESL biyostimülasyonu grupları arasında ise anlamlı farklılık görülmemiştir.

Nicola ve ark. tarafından DESL biyostimülasyonunun hücre aktivitesi üzerindeki etkisini değerlendirildiği bir hayvan çalışmasında 48 adet ratın femurunda defekt oluşturulmuş ve 24 hayvana işlem sonrası iki, dört, altı ve sekizinci günlerde DESL biyostimülasyonu uygulanmış, 24 hayvana ise kontrol grubu olmaları amacıyla DESL biyostimülasyonu uygulanmamıştır. Hayvanlar cerrahi işleminden beş, 15 ve 25 gün sonra sakrifiye edilmiş ve histomorfometrik analiz yapılmıştır. DESL biyostimülasyonu yapılan hayvanlarda kontrol grubundakilere göre beş ve 25. günlerdeki değerlendirmelerde yüksek miktarda osteoklast yüzey alanı olduğu tespit edilmiştir (4). Benzer şekilde Aihara ve ark. yaptıkları in vitro çalışmada rat kemik iliğinden elde edilmiş osteoklast prekürsör hücrelerinden oluşan kültüre, sekiz gün DESL biyostimülasyonu yapılmıştır. Çalışma sonucunda günlük bir, üç ve altı dakika sürelerde DESL biyostimülasyonu uygulanan kültürlerde osteoklast farklılaşmasında artış görüldüğü bildirilmiştir (220). Ancak başka bir hücre kültürü çalışmasında DESL uygulamasının osteoblast ve osteoklast farklılaşması bakımından fark oluşturmadığı bildirilmiştir (221). Bir diğer çalışmada da rat tibiası üzerinde oluşturulan defektlerde DESL biyostimülasyonu yapılan grupta sekizinci günde 15. güne göre osteoklastların sayısında DESL biyostimülasyonu yapılmayan gruba göre artış görüldüğü belirtilmiştir. (189). Bizim çalışmamızın sonucunda da bütün gruplarda erken dönemde osteoklast hücreleri geç döneme göre anlamlı derecede yüksek görülmüştür ($p<0.05$). Gruplar arasında osteoklast değerleri bakımından farklılık görülmemiştir ($p>0.05$). Osteoklast hücrelerinin kemik iyileşmesinin erken döneminde geç dönemine göre fazla olması, bu hücrelerin defekt alanındaki ölü kemiğin uzaklaştırılması görevlerini yerine getirmeleri ile açıklanabilir.

DESL biyostimülasyonunun fibroblast aktivasyonu sağlayarak yara iyileşmesi üzerinde olumlu etkileri olduğunu belirten pek çok çalışma mevcuttur (158, 222). Sharifian ve ark. (223) atımlı DESL biyostimülasyonu uygulamasının yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında diyabetik ve diyabetik olmayan ratlarda, her hayvanın sırt bölgesine deri insizyonu yapmışlardır. Çalışma grubunda insizyonlara 0.2 J/cm^2 yoğunlukta enerji kullanarak DESL biyostimülasyonu uygularken, kontrol grubundaki hayvanlara ise DESL biyostimülasyonu uygulamamışlardır. Çalışma sonucunda makrofaj sayısı, yeni damar oluşumu ve fibroblast değerleri bakımından DESL uygulanan hayvanlarda DESL uygulanmayanlara göre hem diyabetik, hem de diyabetik olmayan ratlarda anlamlı bir fark görülmüştür. Ayrıca basit fibroblast growth factor (b-FGF) gen sentezinde de DESL uygulanan bütün hayvanlarda anlamlı artış gözlenmiştir. Usumez ve ark. (224) çeşitli dalga boylarında DESL biyostimülasyonunun, 35 adet ratın oral mukozasında deneysel olarak oluşturulan mukozitis üzerinde etkilerini değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda 980 nm dalga boylu lazerin uygulandığı grupta Fibroblast Groth Factor'ün (FGF) anlamlı derecede artmış olduğu bulunmuştur. Bu bulgular, 980 nm dalga boylu diyet lazerin fibroblast büyümesini ve proliferasyonunu arttırarak yara iyileşmesini hızlandırdığını ortaya koymuştur. Benzer şekilde Re Poppi ve ark. (3) tarafından yapılan bir diğer çalışmada, ovariektomi yapılan 18 rat üzerinde femur defektleri oluşturulmuş ve defekt bölgesine DESL biyostimülasyonu uygulanmıştır. Çalışma sonucunda DESL biyostimülasyonunun fibroblast oluşumunda artışa neden olduğu rapor edilmiştir. Pinheiro ve ark. (185) da, DESL biyostimülasyonu sonucunda kollajen üretiminde artış olduğunu görmüş ve bu etkiyi büyüme faktörlerinin özellikle de FGF üretimindeki artışla ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda büyüme faktörlerine odaklanılmamakla birlikte, DESL uygulaması yapılan bütün gruplarda dördüncü haftada sekizinci haftaya kıyasla, fibroblast sayısı bakımından bu çalışma sonuçları ile uyumluluk gösterecek şekilde anlamlı derecede yüksek değerler tespit edilmiştir ($p<0.05$). Çalışmamızdaki fibroblast değerleri erken kemik iyileşmesinin değerlendirildiği dördüncü haftada L10 grubunda bütün gruplardan yüksek olma eğilimi göstermekle birlikte bu artış yalnızca L10 grubunda, L20 ve L5 gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı olarak bulunmuştur. Ancak sekizinci haftada bütün gruplarda fibroblast sayılarında azalma eğilimi görülmüş, bu azalma yine L10 grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.. Kemik maturasyonu gerçekleştikçe ortamdaki fibroblast

sayısının azalacağı bilinmektedir. 10 J/cm² enerji yoğunluğunda DESL biyostimülasyonu uygulanan L10 grubunda erken dönemde anlamlı fibroblastik aktivite artışı sağlanmıştır. Yine aynı grupta geç dönemde ise fibroblastlar ortamda en az miktarda bulunarak kemikte fibröz iyileşmenin minimal derecede olduğu belirlenmiştir. Doku kesitlerinde trabeküler immatür kemik yapısından, non-homojenize matriks içerisinde yer yer lamelleşmelerin görüldüğü matür kemiğe geçiş formunda alanların izlenmesi, L10 grubunda geç dönemde kemik maturasyonuna katkıda bulunulduğunu göstermiştir.

Vasconcellos ve ark. (130) ratlarda femur bölgesine yerleştirilen implant çevresindeki kemik iyileşmesinin incelendiği çalışmalarında osteoporotik ve sağlıklı ratlardan DESL biyostimülasyonu uygulanmayanlarda ikinci haftada olgunlaşmamış kemik matriksi ve birkaç adet düzensiz kemik trabekülü olduğunu belirlemişlerdir. Buna karşın DESL biyostimülasyonu uygulanan ratlarda ikinci haftada daha yüksek sayıda kemik hücresi olduğunu belirtmişlerdir. Altıncı haftada ise sağlıklı ratlarda implant ile kemik arasında oluşan örgü kemik miktarının DESL uygulanan gruplarda anlamlı derecede yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır. Çalışmada, sağlıklı ratlarda uygulanan DESL biyostimülasyonu sonucunda lazer uygulanmayan gruba göre iki ve altıncı haftalarda daha yüksek kemik oluşumu gözlenmiştir. Osteoporotik ratlarda ise DESL biyostimülasyonunun ikinci haftada yüksek miktarda kemik oluşumu sağladığı belirtilmiştir.

Favaro-Pipi ve ark. (129) tarafından ratlarda oluşturulan kemik defektlerinde DESL biyostimülasyonunun özellikle kemik iyileşmesinin erken döneminde etkili olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar, post-operatif. 14. günde kontrol grubunda yeni kemik oluşumu, granülasyon dokusu tarafından sarılmış ve remodeling gösteren kemik trabekülleri gözlenirken, DESL biyostimülasyonu uygulanan grupta kontrol grubuna göre yüksek miktarda yeni kemik oluşumu ve yoğun vaskülarizasyon, osteojenik aktivite ve primer kemik oluşumu gösteren bağ dokusu tespit etmişlerdir. 25. günde kontrol grubunda kemik defektinde olgunlaşmış kemik trabekülleri görülmüş olup, DESL biyostimülasyonu uygulanan grupta ise olgun kemik trabeküllerinin yanısıra kemik iliği alanlarının da oluşmaya başladığı gözlenmiştir. Başka bir çalışmada, farklı enerji seviyelerinde DESL biyostimülasyonunun erken yara iyileşmesi döneminde kemik matriks organizasyonu üzerindeki etkisi incelenmiştir. Morfometrik analiz sonucunda bütün DESL uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre trabeküler kemik miktarında post-

operatif 15. günde artış gözlenmiştir. Histolojik analiz sonucunda da 15. günde 0.3 J ve 0.9 J enerjilerde DESL biyostimülasyonu uygulanan gruplarda kollajen fibrillerinde lameller dizilime yakın bir görüntü elde edilmiş, osteonların kontrol gruplarına göre daha düzenli bir yapı kazandığı, osteoblast ve osteositlerin defektin periferinde ve içerisinde sıralandığı tespit edilmiştir (189).

Çalışmamızda kontrol gruplarında dördüncü haftada kısmen fibröz doku tarafından sarılmış olan yoğun trabeküler immatür kemik yapısı gözlenirken L5 grubunda dördüncü haftada yoğun fibröz dokudan aşamalı olarak kıkırdak ve trabeküler immatür kemik yapısına geçiş gözlenmiştir. L10 grubunun dördüncü haftadaki değerlendirmesi sonucunda immatür ve matür kemik dokusuna geçiş formu olan kıkırdak dokusuna sahip alanlar gözlenmemiştir. Bu doğrultuda L10 grubunda immatür ve matür kemik dokusuna geçiş formu olan kıkırdak alanlarının gözlenmemesi ve fibröz doku alanlarının dokuya hakim olması, erken dönemde L10 grubunda elde edilen yüksek fibroblastik aktivite ile ilişkili olmasına bağlanabilir. Bu sonuç, Pinheiro ve Gerbi (225)'nin DESL biyostimülasyonunun kemik iyileşmesinin erken döneminde fibroblastik aktiviteyi uyardığı sonucu ile uyumludur. L20 grubunun dört haftalık değerlendirmesinde trabeküler immatür kemik yapısının etrafında bol kan damarlı bir yapı gösteren fibröz doku alanları görülmüştür. Bu grupta immatür kemikten matür kemiğe geçiş formu olan kıkırdak dokusuna sahip alanlar gözlenmemiş olmakla birlikte histolojik kesitlerde fibröz dokunun etrafında yüksek miktarda damarlanma görülmesinin, DESL biyostimülasyonunun damar oluşumu üzerinde olumlu etkisi olduğunu belirten çalışmalar (213, 226) ile uyumlu olduğu düşünülebilir. Sekizinci haftadaki sonuçlarda ise bütün gruplarda immatür kemikten matür kemiğe geçişin bir parametresi olan kemik matriksinde lamelleşmeler görülmüş, non homojenize kemik matriksinin olması iyileşmenin devam ettiğini ortaya koymuştur. Bu sonuç, DESL biyostimülasyonunun erken dönemde etkinliğinin daha fazla olduğunu belirten literatürdeki pek çok çalışma (1, 3, 227) ile uyumludur.

Literatürde DESL biyostimülasyonu uygulanan kemik dokusunda osteosit, osteoblast, osteoklast, fibroblast ve damar sayısı gibi parametrelerin zamana bağlı olarak göstermiş oldukları korelasyonu inceleyen yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda L5 grubunda dördüncü haftada fibroblast ve osteoklast sayıları arasında tespit edilen istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki, kemik hasarı gerçekleşen bölgede ilk

olarak osteoklastların rezorbsiyon amacıyla çoğaldığı ve daha sonra bölgede fibroblastik aktivite artışı olduğu bilgisi ile uyumludur. Ayrıca sekizinci haftadaki fibroblast sayısı ile dördüncü haftadaki fibroblast sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde negatif bir ilişki saptanmış olması da, geç dönemde fibroblastik aktivitenin azaldığı bilgisi ile uyumlu bir veridir (23). Bunun sonucu olarak; DESL biyostimülasyonun düşük enerji yoğunluğunda kullanılması durumunda hücrel aktivitelerin normal iyileşme sürecine yakın şekilde seyredeceği düşünülebilir.

Çalışmamızın limitasyonlarından biri, kontrol grubunun DESL biyostimülasyonunun sistemik etkilerini elimine etmek amacıyla farklı hayvanlarla oluşturulmasıdır. Bu durum, anatomik farklılıkların etkisini arttırmış olabilir. Ancak aynı hayvanın diğer tibiasının kontrol olarak kullanılmasının, DESL biyostimülasyonu sonucu sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin dolaşım sistemine salınımı nedeniyle tedavi edilmeyen bölgeyi de etkileyebileceği düşünülmüştür. Bu yüzden kontrol grubu olarak aynı hayvanın diğer tibiası kullanılmamıştır.

Çalışmamızın bir diğer limitasyonu da, kemik iyileşmesinin değerlendirilmesi amacıyla ratların kullanılmasıdır. Ratlarda tibia kemiği çok ince bir yumuşak doku ve cilt ile örtülüdür. Ancak insanda bu durum, biraz daha farklılık gösterir. Bu yüzden doku penetrasyon özelliği nedeniyle derin dokulara nüfuz edebildiği için tercih edilen Ga-Al-As diyot lazerlerin insan kemik dokusunda gösterdiği etkinin, ratlardaki etkiden farklı olabileceği de unutulmamalıdır.

Çalışma sonucunda DESL ve kontrol grupları arasında kemik parametrelerinde anlamlı farklılık olmamasının, kullanılan lazerin dalga boyuna veya DESL biyostimülasyonunun uygulandığı güç ve zamana bağlı olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızda kemik iyileşmesine katkısı olmadığı görülen beş J/cm², 10 J/cm² ve 20 J/cm² enerji yoğunluklarını, uygulanan gücün azaltılıp ışınlama süresinin arttırılmasıyla uygulamanın, kemik iyileşmesi üzerinde farklı etkileri olabileceği göz önünde tutulmalıdır. Literatürde yüksek dalga boylu (940 nm) diyot lazer kullanımının kemik iyileşmesine etkisinin değerlendirildiği bazı çalışmalarda (214, 228), DESL biyostimülasyonunun osteoblastik aktivite üzerinde uyarıcı etkisi olduğu ortaya konulmuştur. Bununla beraber yüksek dalga boylu diyot lazerlerin farklı enerji yoğunluklarında uygulamalarının karşılaştırıldığı yeterli sayıda in vivo çalışma

bulunmamaktadır. Seçmiş olduğumuz yüksek dalga boylu (940 nm) lazer cihazının kemik iyileşmesi üzerinde uzun dönemde anlamlı bir katkısının olmadığı, ancak kemik iyileşmesinin erken döneminde özellikle 10 J/cm² enerji yoğunluğunda kullanıldığında fibroblastik aktiviteyi stimüle ettiği görülmüştür. Bu veri, fibroblastik aktivite artışına ihtiyaç duyulan yumuşak doku iyileşmesinin bozulduğu diyabetik hastalarda DESL biyostimülasyonu uygulanmasına yönelik olarak diyabetik hayvan modeli çalışmaları için temel teşkil edebilir. Bununla beraber, yüksek dalga boylu lazer ile biyostimülasyon sonucunda kemik hücrelerinin profilerasyonlarının arttığını gösteren in vitro çalışmaların in vivo çalışmalar ile desteklenmesi gerekmektedir. Bu tür yüksek dalga boylu lazerlerin kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerinin farklı süre, güç ve enerji yoğunluklarında uygulandığı daha kapsamlı ve detaylı in vivo çalışmalara ihtiyaç vardır.

8. SONUÇLAR

1. 940 nm dalgaboylu Ga-Al-As diyot lazer kullanarak beş, 10 ve 20 J/cm² enerji yoğunluklarında DESL biyostimülasyonu uygulamasının osteosit, osteoblast, osteoklast ve damar oluşumu bakımından kontrol grubu ile arasında erken ve geç dönemde anlamlı bir farklılık görülmemiştir.
2. 10 J/cm² yoğunlukta yapılan DESL biyostimülasyonunun erken dönem kemik iyileşmesinin incelendiği dördüncü haftada fibroblast aktivitesini beş J/cm² ve 20 J/cm² yoğunlukta DESL biyostimülasyonlarına göre anlamlı derecede arttırdığı görülmüştür (p<0.05).
3. Kontrol ve DESL biyostimülasyonu gruplarının hepsinde osteosit sayısı sekizinci haftada dördüncü haftaya göre istatistiksel anlamlı derecede artmıştır (p<0.05). Osteoblast ve osteoklast sayıları ise sekizinci haftada dördüncü haftaya göre istatistiksel anlamlı fark derecede azalmıştır (p<0.05).
4. Damar oluşumu bakımından 5 J/cm² ve 20 J/cm² DESL biyostimülasyonu uygulanan gruplarda dört ve sekizinci haftalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir (p<0.05).
5. L5 grubunda fibroblast ve osteoklast sayısında sekizinci haftada, dördüncü haftaya göre anlamlı derecede azalma tespit edilmiştir (p<0.05).
6. 940 nm dalga boyu Ga-Al-As lazerin kemik hücreleri üzerindeki etkisinin incelenmesi amacıyla uygulanacak enerji miktarının, gücün azaltılıp uygulama süresinin artırılarak uygulandığı edildiği başka hayvan çalışmalarına ihtiyaç vardır.

9. KAYNAKLAR

1. Ozawa Y, Shimizu N, Kariya G, Abiko Y (1998). Low-energy laser irradiation stimulates bone nodule formation at early stages of cell culture in rat calvarial cells. *Bone* 22: 347-354.
2. Sahar M. Adel KEAaAAS (2011). Effect of Low Level Laser Therapy on Bone Histomorphometry in Rats. *Life Science Journal* 8: 372-378.
3. Re Poppi R, Da Silva AL, Nacer RS, Vieira RP, de Oliveira LV, Santos de Faria Junior N, de Tarso Camilo Carvalho P (2011). Evaluation of the osteogenic effect of low-level laser therapy (808 nm and 660 nm) on bone defects induced in the femurs of female rats submitted to ovariectomy. *Lasers Med Sci* 26: 515-522.
4. Nicola RA, Jorgetti V, Rigau J, Pacheco MT, dos Reis LM, Zangaro RA (2003). Effect of low-power GaAlAs laser (660 nm) on bone structure and cell activity: an experimental animal study. *Lasers Med Sci* 18: 89-94.
5. Ueda Y, Shimizu N (2001). Pulse irradiation of low-power laser stimulates bone nodule formation. *J Oral Sci* 43: 55-60.
6. Diniz JS, Nicolau RA, de Melo Ocarino N, do Carmo Magalhaes F, de Oliveira Pereira RD, Serakides R (2009). Effect of low-power gallium-aluminum-arsenium laser therapy (830 nm) in combination with bisphosphonate treatment on osteopenic bone structure: an experimental animal study. *Lasers Med Sci* 24: 347-352.
7. Trelles MA, Mayayo E (1987). Bone fracture consolidates faster with low-power laser. *Lasers Surg Med* 7: 36-45.
8. Yaakobi T, Maltz L, Oron U (1996). Promotion of bone repair in the cortical bone of the tibia in rats by low energy laser (He-Ne) irradiation. *Calcif Tissue Int* 59: 297-300.
9. Rochkind S, Kogan G, Luger EG, Salame K, Karp E, Graif M, Weiss J (2004). Molecular structure of the bony tissue after experimental trauma to the mandibular region followed by laser therapy. *Photomed Laser Surg* 22: 249-253.
10. Dortbudak O, Haas R, Mallath-Pokorny G (2000). Biostimulation of bone marrow cells with a diode soft laser. *Clin Oral Implants Res* 11: 540-545.

11. Khadra M, Ronold HJ, Lyngstadaas SP, Ellingsen JE, Haanaes HR (2004). Low-level laser therapy stimulates bone-implant interaction: an experimental study in rabbits. *Clin Oral Implants Res* 15: 325-332.
12. Khadra M, Kasem N, Haanaes HR, Ellingsen JE, Lyngstadaas SP (2004). Enhancement of bone formation in rat calvarial bone defects using low-level laser therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 97: 693-700.
13. Honmura A, Yanase M, Obata J, Haruki E (1992). Therapeutic effect of Ga-Al-As diode laser irradiation on experimentally induced inflammation in rats. *Lasers Surg Med* 12: 441-449.
14. Raisz LG (1999). Physiology and pathophysiology of bone remodeling. *Clin Chem* 45: 1353-1358.
15. RE. Baron (1996). *Anatomy and ultrastructure of bone*. Lippincott-Raven Publishers, New York 152-159.
16. WSS. Jee (2001). *Bone Mechanics Handbook*, 2nd ed., CRC Press, Florida.
17. H. Fleisch (1997). *Bisphosphonates in Bone Diseases. From the Laboratory to the Patient*. 3rd. Parthenon Publishing Group, New York, 145-150.
18. Chambers TJ (1980). The cellular basis of bone resorption. *Clin Orthop Relat Res*: 283-293.
19. Bonewald LF (1999). Establishment and characterization of an osteocyte-like cell line, MLO-Y4. *J Bone Miner Metab* 17: 61-65.
20. Ignac Fogelman GG, Hans Van der Wall (2012). *Radionuclide and hybrid bone imaging*, Springer, Berlin, 173-194.
21. Xing L, Boyce BF (2005). Regulation of apoptosis in osteoclasts and osteoblastic cells. *Biochem Biophys Res Commun* 328: 709-720.
22. McLean F UM (1968). *Bone. Fundamentals of the physiology of skeletal tissue*. University of Chicago Press, Chicago, 435-436.
23. Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R (1996). Bone biology. II: Formation, form, modeling, remodeling, and regulation of cell function. *Instr Course Lect* 45: 387-399.
24. Burchardt H (1983). The biology of bone graft repair. *Clin Orthop Relat Res*: 28-42.

25. N. Soydan (1985). Genel Histoloji. İ.Ü. Basımevi ve Film Merkezi, İstanbul,108-112.
26. Gehron Robey P (1989). The biochemistry of bone. *Endocrinol Metab Clin North Am* 18: 858-902.
27. Lumachi F, Camozzi V, Tombolan V,Luisetto G (2009). Bone mineral density, osteocalcin, and bone-specific alkaline phosphatase in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann N Y Acad Sci* 1173 Suppl 1: E64-67.
28. Villarreal XC, Mann KG,Long GL (1989). Structure of human osteonectin based upon analysis of cDNA and genomic sequences. *Biochemistry* 28: 6483-6491.
29. Junqueira L.C. CJ, Kelly R.O. (1998). Temel Histoloji. 8. Baskı. Baris Kitabevi Ltd. Sti, İstanbul.
30. Jung RE, Glauser R, Scharer P, Hammerle CH, Sailer HF,Weber FE (2003). Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans. *Clin Oral Implants Res* 14: 556-568.
31. Young B HJ (2000). Wheather's Functional Histology. 4th. Churchill Livingstone, 286-291.
32. Gunness M,Hock JM (1993). Anabolic effect of parathyroid hormone on cancellous and cortical bone histology. *Bone* 14: 277-281.
33. Luiz Carlos Junqueira JC (2003). Basic Histology. 10th. McGraw-Hill, New York, 121-130.
34. Taichman RS (2005). Blood and bone: two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche. *Blood* 105: 2631-2639.
35. Arthur C. Guyton JEH (2007). Tıbbi Fizyoloji. 11. Basım. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 957-960.
36. Fernandez-Tresguerres-Hernandez-Gil I, Alobera-Gracia MA, del-Canto-Pingarron M,Blanco-Jerez L (2006). Physiological bases of bone regeneration II. The remodeling process. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 11: E151-157.
37. Kobayashi S, Takahashi HE, Ito A, Saito N, Nawata M, Horiuchi H, Ohta H, Ito A, Iorio R, Yamamoto N,Takaoka K (2003). Trabecular minimodeling in human iliac bone. *Bone* 32: 163-169.
38. Fernandez-Tresguerres-Hernandez-Gil I, Alobera-Gracia MA, del-Canto-Pingarron M,Blanco-Jerez L (2006). Physiological bases of bone regeneration I.

- Histology and physiology of bone tissue. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 11: E47-51.
39. Bloch H (1990). Solartheology, heliotherapy, phototherapy, and biologic effects: a historical overview. *J Natl Med Assoc* 82: 517-518, 520-511.
 40. Strauss RA, Fallon SD (2004). Lasers in contemporary oral and maxillofacial surgery. *Dent Clin North Am* 48: 861-888.
 41. Coluzzi DJ (2000). An overview of laser wavelengths used in dentistry. *Dent Clin North Am* 44: 753-765.
 42. Silfvast WT (2004). *Laser Fundamentals*. Cambridge University Press, Cambridge.
 43. Tuna N (2001). *Elektroterapi*. Nobel Tıp Yayıncılık, İstanbul, 155-161.
 44. Convissar RA (2011). *Laser Fundamentals. Principles and Practice of Laser Dentistry* (Ed: Donald J. Coluzzi RAC). Mosby Elsevier, Missouri, 12-15.
 45. Coluzzi DJ (2004). Fundamentals of dental lasers: science and instruments. *Dent Clin North Am* 48: 751-770.
 46. Leon Goldman RJR (1971). *Lasers in Medicine*. Gordon and Breach, Science Publishers Inc, New York.
 47. Karu TI (1986). Molecular mechanism of the therapeutic effect of low-intensity laser irradiation. *Dokl Akad Nauk S.* 291: 1245-1249.
 48. Serel S, Kaya B, Sara Y, Heper AO, Can Z (2010). Histopathological and electrophysiological study of CO(2), Er:YAG, and CO (2) + Er:YAG laser effect on peripheral nerve. *Aesthetic Plast Surg* 34: 193-199.
 49. Horch H. DH (2005). New aspects of lasers in oral and craniomaxillofacial surgery. *Medical Laser Application* 20: 7-11.
 50. Alling GC. (1997). *Laser Applications in Oral and Maxillofacial Surgery*. W.B. Saunders, Philadelphia 309-317.
 51. Verdaasdonk RM, van Swol CF (1997). Laser light delivery systems for medical applications. *Phys Med Biol* 42: 869-894.
 52. Neff A, Kolk A, Deppe H, Horch HH (1999). [New aspects for indications of surgical management of intra-articular and high temporomandibular dislocation fractures]. *Mund Kiefer Gesichtschir* 3: 24-29.

53. Dederich DN (1993). Laser/tissue interaction: what happens to laser light when it strikes tissue? *J Am Dent Assoc* 124: 57-61.
54. Cernavin I, Pugatschew A, de Boer N, Tyas MJ (1994). Laser applications in dentistry: a review of the literature. *Aust Dent J* 39: 28-32.
55. Myers ML (1991). The effect of laser irradiation on oral tissues. *J Prosthet Dent* 66: 395-397.
56. Lewis Clayman PK (1997). *Lasers in Maxillofacial Surgery and Dentistry*. Thieme, New York, 111-117.
57. Convissar RA (2011). *Lasers in Implant Dentistry*. Mosby, Missouri, 114-116.
58. Powell GL ER, Blankenau RJ, Schouten JR (1995). Evaluation of argon laser and conventional light-cured composites. *J Clin Laser Med Surg* 13: 315-317.
59. Finkbeiner RL (1995). The results of 1328 periodontal pockets treated with the argon laser: selective pocket thermolysis. *J Clin Laser Med Surg* 13: 273-281.
60. Saleh HM, Saafan AM (2007). Excision biopsy of tongue lesions by diode laser. *Photomed Laser Surg* 25: 45-49.
61. Hubler R, Blando E, Gaiao L, Kreisner PE, Post LK, Xavier CB, de Oliveira MG (2010). Effects of low-level laser therapy on bone formed after distraction osteogenesis. *Lasers Med Sci* 25: 213-219.
62. Deppe H, Horch HH (2007). Laser applications in oral surgery and implant dentistry. *Lasers Med Sci* 22: 217-221.
63. Myers TD (1991). Lasers in dentistry. *J Am Dent Assoc* 122: 46-50.
64. White JM, Goodis HE, Setcos JC, Eakle S, Hulscher BE, Rose CL (1993). Effects of pulsed Nd:YAG laser energy on human teeth: a three-year follow-up study. *J Am Dent Assoc* 124: 45-51.
65. Stubinger S, Ghanaati S, Saldamli B, Kirkpatrick CJ, Sader R (2009). Er:YAG laser osteotomy: preliminary clinical and histological results of a new technique for contact-free bone surgery. *Eur Surg Res* 42: 150-156.
66. Schwarz F, Bieling K, Sculean A, Herten M, Becker J (2004). [Treatment of periimplantitis with laser or ultrasound. A review of the literature]. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 114: 1228-1235.
67. Haj-Ali R, Walker MP (2002). A provisional fixed partial denture that simulates gingival tissue at the pontic-site defect. *J Prosthodont* 11: 46-48.

68. Pogrel MA (1989). The carbon dioxide laser in soft tissue preprosthetic surgery. *J Prosthet Dent* 61: 203-208.
69. Frame JW (1985). Carbon dioxide laser surgery for benign oral lesions. *Br Dent J* 158: 125-128.
70. De Nguyen T, Turcotte JY (1994). Lasers in dentistry and in oral and maxillofacial surgery. *J Can Dent Assoc* 60: 227-228, 231-226.
71. Karu T (1989). Photobiology of low-power laser effects. *Health Phys* 56: 691-704.
72. Buravlev EA, Zhidkova TV, Vladimirov YA, Osipov AN (2013). Effects of laser and LED radiation on mitochondrial respiration in experimental endotoxic shock. *Lasers Med Sci* 28: 785-790.
73. Hilf R, Murant RS, Narayanan U, Gibson SL (1986). Relationship of mitochondrial function and cellular adenosine triphosphate levels to hematoporphyrin derivative-induced photosensitization in R3230AC mammary tumors. *Cancer Res* 46: 211-217.
74. Tuna H. Lazer BM, Kutsal YG (2010). *Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon*. 2. Baskı. Ayrıntı Basımevi, Ankara.
75. Walsh L, Goharkhay, K., Verheyen, P., Moritz, A. (2006). Low Level Laser Therapy (LLLT). *Oral Laser Application*. (Ed: Moritz A). Quintessence, Berlin, 521-539.
76. Nissan M, Rochkind S, Razon N, Bartal A (1986). HeNe laser irradiation delivered transcutaneously: its effect on the sciatic nerve of rats. *Lasers Surg Med* 6: 435-438.
77. Carvalho PT, Mazzer N, dos Reis FA, Belchior AC, Silva IS (2006). Analysis of the influence of low-power HeNe laser on the healing of skin wounds in diabetic and non-diabetic rats. *Acta Cir Bras* 21: 177-183.
78. Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, de Almeida P, Ramos L, Iversen VV, Bjordal JM (2010). Effect of low-level laser therapy (GaAs 904 nm) in skeletal muscle fatigue and biochemical markers of muscle damage in rats. *Eur J Appl Physiol* 108: 1083-1088.
79. Kulekcioglu S, Sivrioglu K, Ozcan O, Parlak M (2003). Effectiveness of low-level laser therapy in temporomandibular disorder. *Scand J Rheumatol* 32: 114-118.

80. Marei MK, Abdel-Meguid SH, Mokhtar SA, Rizk SA (1997). Effect of low-energy laser application in the treatment of denture-induced mucosal lesions. *J Prosthet Dent* 77: 256-264.
81. Walsh LJ (1997). The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 2. Hard tissue applications. *Aust Dent J* 42: 302-306.
82. Walsh LJ (1997). The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 1. Soft tissue applications. *Aust Dent J* 42: 247-254.
83. Neiburger EJ (1995). The effect of low-power lasers on intraoral wound healing. *N Y State Dent J* 61: 40-43.
84. Tuner J HL (2010). Medical Indications. *The New Laser Therapy Handbook*. (Ed: Tuner J HL). Prima Books Co. , Grangesberg:, 527-565.
85. Gur A, Sarac AJ, Cevik R, Altindag O, Sarac S (2004). Efficacy of 904 nm gallium arsenide low level laser therapy in the management of chronic myofascial pain in the neck: a double-blind and randomize-controlled trial. *Lasers Surg Med* 35: 229-235.
86. Bulow PM, Jensen H, Danneskiold-Samsøe B (1994). Low power Ga-Al-As laser treatment of painful osteoarthritis of the knee. A double-blind placebo-controlled study. *Scand J Rehabil Med* 26: 155-159.
87. Branco K, Naeser MA (1999). Carpal tunnel syndrome: clinical outcome after low-level laser acupuncture, microamps transcutaneous electrical nerve stimulation, and other alternative therapies--an open protocol study. *J Altern Complement Med* 5: 5-26.
88. Meneguzzo DT, Lopes LA, Pallota R, Soares-Ferreira L, Lopes-Martins RA, Ribeiro MS (2013). Prevention and treatment of mice paw edema by near-infrared low-level laser therapy on lymph nodes. *Lasers Med Sci* 28: 973-980.
89. Pires Oliveira DA, de Oliveira RF, Zangaro RA, Soares CP (2008). Evaluation of low-level laser therapy of osteoblastic cells. *Photomed Laser Surg* 26: 401-404.
90. Schaffer M, Bonel H, Sroka R, Schaffer PM, Busch M, Reiser M, Duhmke E (2000). Effects of 780 nm diode laser irradiation on blood microcirculation: preliminary findings on time-dependent T1-weighted contrast-enhanced magnetic resonance imaging (MRI). *J Photochem Photobiol B* 54: 55-60.

91. Nunez SC, Nogueira GE, Ribeiro MS, Garcez AS, Lage-Marques JL (2004). He-Ne laser effects on blood microcirculation during wound healing: a method of in vivo study through laser Doppler flowmetry. *Lasers Surg Med* 35: 363-368.
92. Pereira MC, de Pinho CB, Medrado AR, Andrade Zde A, Reis SR (2010). Influence of 670 nm low-level laser therapy on mast cells and vascular response of cutaneous injuries. *J Photochem Photobiol B* 98: 188-192.
93. Medrado AR, Pugliese LS, Reis SR, Andrade ZA (2003). Influence of low level laser therapy on wound healing and its biological action upon myofibroblasts. *Lasers Surg Med* 32: 239-244.
94. Convissar RA (2011). *Low-Level Lasers in Dentistry. Principles and Practice of Laser Dentistry.* (Ed: Jan Tuner PHB-K). Elsevier, Missouri, 269.
95. Abergel RP, Lyons RF, Castel JC, Dwyer RM, Uitto J (1987). Biostimulation of wound healing by lasers: experimental approaches in animal models and in fibroblast cultures. *J Dermatol Surg Oncol* 13: 127-133.
96. Reddy GK, Stehno-Bittel L, Enwemeka CS (2001). Laser photostimulation accelerates wound healing in diabetic rats. *Wound Repair Regen* 9: 248-255.
97. Bisht D, Mehrotra R, Singh PA, Atri SC, Kumar A (1999). Effect of helium-neon laser on wound healing. *Indian J Exp Biol* 37: 187-189.
98. de Souza Merli LA, de Medeiros VP, Toma L, Reginato RD, Katchburian E, Nader HB, Faloppa F (2012). The low level laser therapy effect on the remodeling of bone extracellular matrix. *Photochem Photobiol* 88: 1293-1301.
99. JS Rohenshein (1997). Laser biostimulation: photobioactivation, a modulation of biologic processes by low-intensity laser radiation. *Lasers in maxillofacial surgery and dentistry.* (Ed: Clayman L KP). Thieme, New York, 165-174.
100. Parker S (2007). Laser regulation and safety in general dental practice. *Br Dent J* 202: 523-532.
101. Piccione PJ (2004). Dental laser safety. *Dent Clin North Am* 48: 795-807.
102. Edwards BE, Barnes LK, Gibbs JB, Nguyen GB (2002). Medical laser safety hazard evaluation. *Health Phys* 83: S36-44.
103. Kalfas IH (2001). Principles of bone healing. *Neurosurg Focus* 10: E1.
104. Hayda RA, Brighton CT, Esterhai JL, Jr. (1998). Pathophysiology of delayed healing. *Clin Orthop Relat Res*: S31-40.

105. Waters RV, Gamradt SC, Asnis P, Vickery BH, Avnur Z, Hill E, Bostrom M (2000). Systemic corticosteroids inhibit bone healing in a rabbit ulnar osteotomy model. *Acta Orthop Scand* 71: 316-321.
106. Karunakar P, Prasanna JS, Jayadev M, Shrivani GS (2014). Platelet-rich fibrin, "a faster healing aid" in the treatment of combined lesions: A report of two cases. *J Indian Soc Periodontol* 18: 651-655.
107. Tim CR, Pinto KN, Rossi BR, Fernandes K, Matsumoto MA, Parizotto NA, Renno AC (2014). Low-level laser therapy enhances the expression of osteogenic factors during bone repair in rats. *Lasers Med Sci* 29: 147-156.
108. Ueno M, Urabe K, Naruse K, Uchida K, Minehara H, Yamamoto T, Steck R, Gregory L, Wulschlegel ME, Schuetz MA, Itoman M (2011). Influence of internal fixator stiffness on murine fracture healing: two types of fracture healing lead to two distinct cellular events and FGF-2 expressions. *Exp Anim* 60: 79-87.
109. Dijkman BG, Sprague S, Bhandari M (2009). Low-intensity pulsed ultrasound: Nonunions. *Indian J Orthop* 43: 141-148.
110. Silva AM, Astolphi RD, Perri SH, Koivisto MB (2013). Filling of extraction sockets of feline maxillary canine teeth with autogenous bone or bioactive glass. *Acta Cir Bras* 28: 856-862.
111. De Stavola L, Tunkel J (2013). Results of vertical bone augmentation with autogenous bone block grafts and the tunnel technique: a clinical prospective study of 10 consecutively treated patients. *Int J Periodontics Restorative Dent* 33: 651-659.
112. Bibbo C, Nelson J, Ehrlich D, Rougeux B (2015). Bone morphogenetic proteins: indications and uses. *Clin Podiatr Med Surg* 32: 35-43.
113. Lissenberg-Thunnissen SN, de Gorter DJ, Sier CF, Schipper IB (2011). Use and efficacy of bone morphogenetic proteins in fracture healing. *Int Orthop* 35: 1271-1280.
114. Joseph VR, Sam G, Amol NV (2014). Clinical evaluation of autologous platelet rich fibrin in horizontal alveolar bony defects. *J Clin Diagn Res* 8: ZC43-47.
115. Hantes ME, Mavrodontidis AN, Zalavras CG, Karantanas AH, Karachalios T, Malizos KN (2004). Low-intensity transosseous ultrasound accelerates

- osteotomy healing in a sheep fracture model. *J Bone Joint Surg Am* 86-A: 2275-2282.
- 116.Kocyigit ID, Coskunes FM, Pala E, Tugcu F, Onder E, Mocan A (2012). A comparison of the low-level laser versus low intensity pulsed ultrasound on new bone formed through distraction osteogenesis. *Photomed Laser Surg* 30: 438-443.
 - 117.Romano CL, Romano D, Logoluso N (2009). Low-intensity pulsed ultrasound for the treatment of bone delayed union or nonunion: a review. *Ultrasound Med Biol* 35: 529-536.
 - 118.Young S, Bolton P, Dyson M, Harvey W, Diamantopoulos C (1989). Macrophage responsiveness to light therapy. *Lasers Surg Med* 9: 497-505.
 - 119.Passarella S, Casamassima E, Quagliariello E, Caretto G, Jirillo E (1985). Quantitative analysis of lymphocyte-Salmonella interaction and effect of lymphocyte irradiation by Helium-Neon laser. *Biochem Biophys Res Commun* 130: 546-552.
 - 120.Yamada K (1991). Biological effects of low power laser irradiation on clonal osteoblastic cells (MC3T3-E1). *Nihon Seikeigeka Gakkai Zasshi* 65: 787-799.
 - 121.Gordjestani M, Dermaut L, Thierens H (1994). Infrared laser and bone metabolism: a pilot study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 23: 54-56.
 - 122.K. Motomura (1984). Effects of various laser irradiation on callus formation after osteotomy. *Nippon Reza Igakkai Shi (The Journal of Japan Society for Laser Medicine)* 4: 195-196.
 - 123.Nagasawa A KK, Takaoka K (1988). Experimental evaluation on bone repairing activation effect of lasers based on bone morphologic protein. *Nippon Reza Igakkai Shi (The Journal of Japan Society for Laser Medicine)* 9: 165-168.
 - 124.Ribeiro DA, Matsumoto MA (2008). Low-level laser therapy improves bone repair in rats treated with anti-inflammatory drugs. *J Oral Rehabil* 35: 925-933.
 - 125.Nissan J, Assif D, Gross MD, Yaffe A, Binderman I (2006). Effect of low intensity laser irradiation on surgically created bony defects in rats. *J Oral Rehabil* 33: 619-924.
 - 126.Pretel H, Lizarelli RF, Ramalho LT (2007). Effect of low-level laser therapy on bone repair: histological study in rats. *Lasers Surg Med* 39: 788-796.

- 127.Barushka O, Yaakobi T,Oron U (1995). Effect of low-energy laser (He-Ne) irradiation on the process of bone repair in the rat tibia. *Bone* 16: 47-55.
- 128.Aronson J, Shen XC, Skinner RA, Hogue WR, Badger TM,Lumpkin CK, Jr. (1997). Rat model of distraction osteogenesis. *J Orthop Res* 15: 221-226.
- 129.Favaro-Pipi E, Feitosa SM, Ribeiro DA, Bossini P, Oliveira P, Parizotto NA,Renno AC (2010). Comparative study of the effects of low-intensity pulsed ultrasound and low-level laser therapy on bone defects in tibias of rats. *Lasers Med Sci* 25: 727-732.
- 130.de Vasconcellos LM, Barbara MA, Deco CP, Junqueira JC, do Prado RF, Anbinder AL, de Vasconcellos LG, Cairo CA,Carvalho YR (2013). Healing of normal and osteopenic bone with titanium implant and low-level laser therapy (GaAlAs): a histomorphometric study in rats. *Lasers Med Sci*.
- 131.Perry AC, Prpa B, Rouse MS, Piper KE, Hanssen AD, Steckelberg JM,Patel R (2003). Levofloxacin and trovafloxacin inhibition of experimental fracture-healing. *Clin Orthop Relat Res*: 95-100.
- 132.Haleem AA, Rouse MS, Lewallen DG, Hanssen AD, Steckelberg JM,Patel R (2004). Gentamicin and vancomycin do not impair experimental fracture healing. *Clin Orthop Relat Res*: 22-24.
- 133.Bossini PS, Renno AC, Ribeiro DA, Fangel R, Ribeiro AC, Lahoz Mde A,Parizotto NA (2012). Low level laser therapy (830nm) improves bone repair in osteoporotic rats: similar outcomes at two different dosages. *Exp Gerontol* 47: 136-142.
- 134.Huo MH, Troiano NW, Pelker RR, Gundberg CM,Friedlaender GE (1991). The influence of ibuprofen on fracture repair: biomechanical, biochemical, histologic, and histomorphometric parameters in rats. *J Orthop Res* 9: 383-390.
- 135.Boursinos LA, Karachalios T, Poultsides L,Malizos KN (2009). Do steroids, conventional non-steroidal anti-inflammatory drugs and selective Cox-2 inhibitors adversely affect fracture healing? *J Musculoskelet Neuronal Interact* 9: 44-52.
- 136.Beck A, Krischak G, Sorg T, Augat P, Farker K, Merkel U, Kinzl L,Claes L (2003). Influence of diclofenac (group of nonsteroidal anti-inflammatory drugs) on fracture healing. *Arch Orthop Trauma Surg* 123: 327-332.

- 137.Mullis BH, Copland ST, Weinhold PS, Miclau T, Lester GE,Bos GD (2006).
Effect of COX-2 inhibitors and non-steroidal anti-inflammatory drugs on a mouse fracture model. *Injury* 37: 827-837.
- 138.Dimmen S, Nordsletten L,Madsen JE (2009). Parecoxib and indomethacin delay early fracture healing: a study in rats. *Clin Orthop Relat Res* 467: 1992-1999.
- 139.Rochkind S, Rousso M, Nissan M, Villarreal M, Barr-Nea L,Rees DG (1989).
Systemic effects of low-power laser irradiation on the peripheral and central nervous system, cutaneous wounds, and burns. *Lasers Surg Med* 9: 174-182.
- 140.Schindl A, Heinze G, Schindl M, Pernerstorfer-Schon H,Schindl L (2002).
Systemic effects of low-intensity laser irradiation on skin microcirculation in patients with diabetic microangiopathy. *Microvasc Res* 64: 240-246.
- 141.Lyons RF, Abergel RP, White RA, Dwyer RM, Castel JC,Uitto J (1987).
Biostimulation of wound healing in vivo by a helium-neon laser. *Ann Plast Surg* 18: 47-50.
- 142.Chekurov PR, Yeremin, A. V (1976). Investigation of the Stimulating Effect of Laser Light on Bone Tissue Repair Processes. Alma-Ata.
- 143.Yamada K (1991). Biological effects of low power laser irradiation on clonal osteoblastic cells (MC3T3-E1). *The Journal of the Japanese Orthopedic Association* 65: 101-114.
- 144.Inyushin VM,Chekurov PR (1976). Biostimulation Through Laser Radiation and Bioplasma. Danish Society for Psychical Research.
- 145.Khalighi HR, Anbari F, Beygom Taheri J, Bakhtiari S, Namazi Z,Pouralibaba F (2010). Effect of Low-power Laser on Treatment of Orofacial Pain. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects* 4: 75-78.
- 146.AlGhamdi KM, Kumar A,Moussa NA (2012). Low-level laser therapy: a useful technique for enhancing the proliferation of various cultured cells. *Lasers Med Sci* 27: 237-249.
- 147.Peccin MS, de Oliveira F, Muniz Renno AC, Pacheco de Jesus GP, Pozzi R, Gomes de Moura CF, Giusti PR,Ribeiro DA (2013). Helium-neon laser improves bone repair in rabbits: comparison at two anatomic sites. *Lasers Med Sci* 28: 1125-1130.

148. David R, Nissan M, Cohen I, Soudry M (1996). Effect of low-power He-Ne laser on fracture healing in rats. *Lasers Surg Med* 19: 458-464.
149. Bayat M, Javadieh F, Dadpay M (2009). Effect of He-Ne laser radiation on healing of osteochondral defect in rabbit: a histological study. *J Rehabil Res Dev* 46: 1135-1142.
150. Bayat M, Abdi S, Javadieh F, Mohsenifar Z, Rashid MR (2009). The effects of low-level laser therapy on bone in diabetic and nondiabetic rats. *Photomed Laser Surg* 27: 703-708.
151. Huang YY, Chen AC, Carroll JD, Hamblin MR (2009). Biphasic dose response in low level light therapy. *Dose Response* 7: 358-383.
152. Karu TI, Kolyakov SF (2005). Exact action spectra for cellular responses relevant to phototherapy. *Photomed Laser Surg* 23: 355-361.
153. Pinheiro AL, Limeira Junior Fde A, Gerbi ME, Ramalho LM, Marzola C, Ponzi EA, Soares AO, De Carvalho LC, Lima HC, Goncalves TO (2003). Effect of 830-nm laser light on the repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone and decalcified cortical osseous membrane. *J Clin Laser Med Surg* 21: 301-306.
154. Gebauer D, Mayr E, Orthner E, Ryaby JP (2005). Low-intensity pulsed ultrasound: effects on nonunions. *Ultrasound Med Biol* 31: 1391-1402.
155. Guzzardella GA, Fini M, Torricelli P, Giavaresi G, Giardino R (2002). Laser stimulation on bone defect healing: an in vitro study. *Lasers Med Sci* 17: 216-220.
156. Gerbi ME, Pinheiro AL, Marzola C, Limeira Junior Fde A, Ramalho LM, Ponzi EA, Soares AO, Carvalho LC, Lima HV, Goncalves TO (2005). Assessment of bone repair associated with the use of organic bovine bone and membrane irradiated at 830 nm. *Photomed Laser Surg* 23: 382-388.
157. Lomke MA (2009). Clinical applications of dental lasers. *Gen Dent* 57: 47-59.
158. Schindl A, Schindl M, Pernerstorfer-Schon H, Schindl L (2000). Low-intensity laser therapy: a review. *J Investig Med* 48: 312-326.
159. Karsai CRaS (2011). *Laser and IPL Technology in Dermatology and Aesthetic Medicine*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
160. Walker J. B. ALK, Cooney M. M. , Goldstein J. , Tamayoshi S. , Segal-Gidan F. (1988). Laser therapy for pain of trigeminal neuralgia. *Clinical Journal of Pain* 3: 183-187.

161. Moore K. C. HN, Kumar P. S. , Jayakumar C. S. , Ohshiro T. (1988). A double blind crossover trial of low level laser therapy in the treatment of postherpetic neuralgia. *Laser Therapy* 1: 7-9.
162. Smith K (1991). The photobiological basis of low-level laser radiation therapy. *Laser Ther* 3: 19-24.
163. Pinheiro A.L.B. OMG, Martins P.P.M., Ramalho L.M.P, Oliveira M.A.M., Junior A.N., Nicolau R.A. (2001). Biomodulatory effects of LLLT on bone regeneration. *Laser Therapy* 13: 73-79.
164. Pires-Oliveira DA, Oliveira RF, Amadei SU, Pacheco-Soares C, Rocha RF (2010). Laser 904 nm action on bone repair in rats with osteoporosis. *Osteoporos Int* 21: 2109-2114.
165. Saito S, Shimizu N (1997). Stimulatory effects of low-power laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in the rat. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 111: 525-532.
166. Chow RT, Heller GZ, Barnsley L (2006). The effect of 300 mW, 830 nm laser on chronic neck pain: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Pain* 124: 201-210.
167. Sommer AP, Pinheiro AL, Mester AR, Franke RP, Whelan HT (2001). Biostimulatory windows in low-intensity laser activation: lasers, scanners, and NASA's light-emitting diode array system. *J Clin Laser Med Surg* 19: 29-33.
168. al-Watban FA, Andres BL (2001). The effect of He-Ne laser (632.8 nm) and Solcoseryl in vitro. *Lasers Med Sci* 16: 267-275.
169. Oliveira P, Sperandio E, Fernandes KR, Pastor FA, Nonaka KO, Renno AC (2011). Comparison of the effects of low-level laser therapy and low-intensity pulsed ultrasound on the process of bone repair in the rat tibia. *Rev Bras Fisioter* 15: 200-205.
170. Fangel R, Bossini PS, Renno AC, Granito RN, Wang CC, Nonaka KO, Driusso P, Parizotto NA, Oishi J (2014). Biomechanical properties: effects of low-level laser therapy and Biosilicate(R) on tibial bone defects in osteopenic rats. *J Appl Biomater Funct Mater* 12: 271-277.
171. Vescovi P, Merigo, Manfredi M, Meleti M, Fornaini C, Bonanini M, Rocca JP, Nammour S (2008) Nd:YAG laser biostimulation in the treatment of

- bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: clinical experience in 28 cases. *Photomed Laser Surg* 26: 37-46.
172. Kim YD, Kim SS, Kim SJ, Kwon DW, Jeon ES, Son WS (2010). Low-level laser irradiation facilitates fibronectin and collagen type I turnover during tooth movement in rats. *Lasers Med Sci* 25: 25-31.
 173. Nascimento SB, Cardoso CA, Ribeiro TP, Almeida JD, Albertini R, Munin E, Arisawa EA (2010). Effect of low-level laser therapy and calcitonin on bone repair in castrated rats: a densitometric study. *Photomed Laser Surg* 28: 45-49.
 174. Silva Junior AN, Pinheiro AL, Oliveira MG, Weismann R, Ramalho LM, Nicolau RA (2002). Computerized morphometric assessment of the effect of low-level laser therapy on bone repair: an experimental animal study. *J Clin Laser Med Surg* 20: 83-87.
 175. Asai T, Suzuki H, Kitayama M, Matsumoto K, Kimoto A, Shigeoka M, Komori T (2014). The long-term effects of red light-emitting diode irradiation on the proliferation and differentiation of osteoblast-like MC3T3-E1 cells. *Kobe J Med Sci* 60: E12-18.
 176. Basso FG, Turrioni AP, Soares DG, Bagnato VS, Hebling J, de Souza Costa CA (2014). Low-level laser therapy for osteonecrotic lesions: effects on osteoblasts treated with zoledronic acid. *Support Care Cancer* 22: 2741-2748.
 177. Huertas RM, Luna-Bertos ED, Ramos-Torrecillas J, Leyva FM, Ruiz C, Garcia-Martinez O (2014). Effect and clinical implications of the low-energy diode laser on bone cell proliferation. *Biol Res Nurs* 16: 191-196.
 178. Bloise N, Ceccarelli G, Minzioni P, Vercellino M, Benedetti L, De Angelis MG, Imbriani M, Visai L (2013). Investigation of low-level laser therapy potentiality on proliferation and differentiation of human osteoblast-like cells in the absence/presence of osteogenic factors. *J Biomed Opt* 18: 128006.
 179. Park JJ, Kang KL (2012). Effect of 980-nm GaAlAs diode laser irradiation on healing of extraction sockets in streptozotocin-induced diabetic rats: a pilot study. *Lasers Med Sci* 27: 223-230.
 180. Shimizu N, Mayahara K, Kiyosaki T, Yamaguchi A, Ozawa Y, Abiko Y (2007). Low-intensity laser irradiation stimulates bone nodule formation via insulin-like growth factor-I expression in rat calvarial cells. *Lasers Surg Med* 39: 551-559.

- 181.Rasouli Ghahroudi AA, Rokn AR, Kalhori KA, Khorsand A, Pournabi A, Pinheiro AL,Fekrazad R (2014). Effect of low-level laser therapy irradiation and Bio-Oss graft material on the osteogenesis process in rabbit calvarium defects: a double blind experimental study. *Lasers Med Sci* 29: 925-932.
- 182.Lirani-Galvao AP, Jorgetti V,da Silva OL (2006). Comparative study of how low-level laser therapy and low-intensity pulsed ultrasound affect bone repair in rats. *Photomed Laser Surg* 24: 735-740.
- 183.Cerqueira A, Silveira RL, Oliveira MG, Sant'ana Filho M,Heitz C (2007). Bone tissue microscopic findings related to the use of diode laser (830 nm) in ovine mandible submitted to distraction osteogenesis. *Acta Cir Bras* 22: 92-97.
- 184.Blava DS, Guimaraes MB, Pozza DH, Weber JB,de Oliveira MG (2008). Histologic study of the effect of laser therapy on bone repair. *J Contemp Dent Pract* 9: 41-48.
- 185.Pinheiro AL, Limeira Junior Fde A, Gerbi ME, Ramalho LM, Marzola C,Ponzi EA (2003). Effect of low level laser therapy on the repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone. *Braz Dent J* 14: 177-181.
- 186.Gomes FV, Mayer L, Massotti FP, Baraldi CE, Ponzoni D, Webber JB,de Oliveira MG (2014). Low-level laser therapy improves peri-implant bone formation: resonance frequency, electron microscopy, and stereology findings in a rabbit model. *Int J Oral Maxillofac Surg*.
- 187.dos Reis FA, Belchior AC, de Carvalho Pde T, da Silva BA, Pereira DM, Silva IS,Nicolau RA (2009). Effect of laser therapy (660 nm) on recovery of the sciatic nerve in rats after injury through neurotmesis followed by epineural anastomosis. *Lasers Med Sci* 24: 741-747.
- 188.Khadra M (2005). The effect of low level laser irradiation on implant-tissue interaction. In vivo and in vitro studies. *Swed Dent J Suppl*: 1-63.
- 189.Garavento-Freitas I, Baranauskas V, Joazeiro PP, Padovani CR, Dal Pai-Silva M,da Cruz-Hofling MA (2003). Low-power laser irradiation improves histomorphometrical parameters and bone matrix organization during tibia wound healing in rats. *J Photochem Photobiol B* 70: 81-89.

190. Matsumoto MA, Ferino RV, Monteleone GF, Ribeiro DA (2009). Low-level laser therapy modulates cyclo-oxygenase-2 expression during bone repair in rats. *Lasers Med Sci* 24: 195-201.
191. Barbosa D, de Souza RA, Xavier M, da Silva FF, Arisawa EA, Villaverde AG (2013). Effects of low-level laser therapy (LLLT) on bone repair in rats: optical densitometry analysis. *Lasers Med Sci* 28: 651-656.
192. Basford JR (1995). Low intensity laser therapy: still not an established clinical tool. *Lasers Surg Med* 16: 331-342.
193. da Silva RV, Camilli JA (2006). Repair of bone defects treated with autogenous bone graft and low-power laser. *J Craniofac Surg* 17: 297-301.
194. Freitas IGF BV, Cruz-Höfling MA (2000). Laser effects on osteogenesis. *Appl Surf Sci* 154–155: 548–554.
195. Schlager A, Kronberger P, Petschke F, Ulmer H (2000). Low-power laser light in the healing of burns: a comparison between two different wavelengths (635 nm and 690 nm) and a placebo group. *Lasers Surg Med* 27: 39-42.
196. Karu T, Pyatibrat L, Kalendo G (1995). Irradiation with He-Ne laser increases ATP level in cells cultivated in vitro. *J Photochem Photobiol B* 27: 219-223.
197. Fangel R, Bossini PS, Renno AC, Ribeiro DA, Wang CC, Toma RL, Nonaka KO, Driusso P, Parizotto NA, Oishi J (2011). Low-level laser therapy, at 60 J/cm² associated with a Biosilicate((R)) increase in bone deposition and indentation biomechanical properties of callus in osteopenic rats. *J Biomed Opt* 16: 078001.
198. Park JB, Ahn SJ, Kang YG, Kim EC, Heo JS, Kang KL (2013). Effects of increased low-level diode laser irradiation time on extraction socket healing in rats. *Lasers Med Sci*. 30: 719-726.
199. de Vasconcellos LM, Barbara MA, Deco CP, Junqueira JC, do Prado RF, Anbinder AL, de Vasconcellos LG, Cairo CA, Carvalho YR (2014). Healing of normal and osteopenic bone with titanium implant and low-level laser therapy (GaAlAs): a histomorphometric study in rats. *Lasers Med Sci* 29: 575-580.
200. Pereira AN, Eduardo Cde P, Matson E, Marques MM (2002). Effect of low-power laser irradiation on cell growth and procollagen synthesis of cultured fibroblasts. *Lasers Surg Med* 31: 263-267.
201. Einhorn TA (2005). The science of fracture healing. *J Orthop Trauma* 19: S4-6.

- 202.Claes L, Blakytyn R, Gockelmann M, Schoen M, Ignatius A,Willie B (2009). Early dynamization by reduced fixation stiffness does not improve fracture healing in a rat femoral osteotomy model. J Orthop Res 27: 22-27.
- 203.Histing T, Garcia P, Holstein JH, Klein M, Matthys R, Nuetzi R, Steck R, Laschke MW, Wehner T, Bindl R, Recknagel S, Stuermer EK, Vollmar B, Wildemann B, Lienau J, Willie B, Peters A, Ignatius A, Pohlemann T, Claes L,Menger MD (2011). Small animal bone healing models: standards, tips, and pitfalls results of a consensus meeting. Bone 49: 591-599.
- 204.Radmila Obradović LK, Dragan Mihailović, Nenad Ignjatović, Dragan Uskoković (2007). Comparative Efficacy Analysis of Biomaterials and Soft Lasers in Repair of Bone Defects Journal of Oral Laser Applications 7: 161-166.
- 205.AboElsaad NS, Soory M, Gadalla LM, Ragab LI, Dunne S, Zalata KR,Louca C (2009). Effect of soft laser and bioactive glass on bone regeneration in the treatment of bone defects (an experimental study). Lasers Med Sci 24: 527-533.
- 206.Einhorn TA (1999). Clinically applied models of bone regeneration in tissue engineering research. Clin Orthop Relat Res: S59-67.
- 207.Li KH, Cheng L, Zhu Y, Deng GB,Long HT (2013). Effects of a selective cyclooxygenase-2 inhibitor (celecoxib) on fracture healing in rats. Indian J Orthop 47: 395-401.
- 208.Zacchetti G, Dayer R, Rizzoli R,Ammann P (2014). Systemic treatment with strontium ranelate accelerates the filling of a bone defect and improves the material level properties of the healing bone. Biomed Res Int 2014: 549785.
- 209.Marques L, Holgado LA, Francischone LA, Ximenez JP, Okamoto R,Kinoshita A (2014). New LLLT protocol to speed up the bone healing process-histometric and immunohistochemical analysis in rat calvarial bone defect. Lasers Med Sci.
- 210.Keithley EM, Truong T, Chandronait B,Billings PB (2000). Immunohistochemistry and microwave decalcification of human temporal bones. Hear Res 148: 192-196.
- 211.Fleming B, Paley D, Kristiansen T,Pope M (1989). A biomechanical analysis of the Ilizarov external fixator. Clin Orthop Relat Res: 95-105.
- 212.Garavello I, Baranauskas V,da Cruz-Hofling MA (2004). The effects of low laser irradiation on angiogenesis in injured rat tibiae. Histol Histopathol 19: 43-48.

- 213.Oliveira SP, Rahal SC, Pereira EJ, Bersano PR, Vieira Fde A,Padovani CR (2012). Low-level laser on femoral growth plate in rats. *Acta Cir Bras* 27: 117-122.
- 214.Medina-Huertas R, Manzano-Moreno FJ, De Luna-Bertos E, Ramos-Torrecillas J, Garcia-Martinez O,Ruiz C (2014). The effects of low-level diode laser irradiation on differentiation, antigenic profile, and phagocytic capacity of osteoblast-like cells (MG-63). *Lasers Med Sci* 29: 1479-1484.
- 215.Pyo SJ, Song WW, Kim IR, Park BS, Kim CH, Shin SH, Chung IK,Kim YD (2013). Low-level laser therapy induces the expressions of BMP-2, osteocalcin, and TGF-beta1 in hypoxic-cultured human osteoblasts. *Lasers Med Sci* 28: 543-550.
- 216.Stein A, Benayahu D, Maltz L,Oron U (2005). Low-level laser irradiation promotes proliferation and differentiation of human osteoblasts in vitro. *Photomed Laser Surg* 23: 161-166.
- 217.Ueda Y,Shimizu N (2003). Effects of pulse frequency of low-level laser therapy (LLLT) on bone nodule formation in rat calvarial cells. *J Clin Laser Med Surg* 21: 271-277.
- 218.Da Cunha SS, Sarmento V, Ramalho LM, De Almeida D, Veeck EB, Da Costa NP, Mattos A, Marques AM, Gerbi M,Freitas AC (2007). Effect of laser therapy on bone tissue submitted to radiotherapy: experimental study in rats. *Photomed Laser Surg* 25: 197-204.
- 219.Dortbudak O, Haas R,Mailath-Pokorny G (2002). Effect of low-power laser irradiation on bony implant sites. *Clin Oral Implants Res* 13: 288-292.
- 220.Aihara N, Yamaguchi M,Kasai K (2006). Low-energy irradiation stimulates formation of osteoclast-like cells via RANK expression in vitro. *Lasers Med Sci* 21: 24-33.
- 221.Bouvet-Gerbettaz S, Merigo E, Rocca JP, Carle GF,Rochet N (2009). Effects of low-level laser therapy on proliferation and differentiation of murine bone marrow cells into osteoblasts and osteoclasts. *Lasers Surg Med* 41: 291-297.
- 222.Al-Watban FA, Zhang XY,Andres BL (2007). Low-level laser therapy enhances wound healing in diabetic rats: a comparison of different lasers. *Photomed Laser Surg* 25: 72-77.

- 223.Sharifian Z, Bayat M, Alidoust M, Farahani RM, Bayat M, Rezaie F,Bayat H (2014). Histological and gene expression analysis of the effects of pulsed low-level laser therapy on wound healing of streptozotocin-induced diabetic rats. *Lasers Med Sci* 29: 1227-1235.
- 224.Usumez A, Cengiz B, Oztuzcu S, Demir T, Aras MH,Gutknecht N (2013). 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*.
- 225.Pinheiro AL,Gerbi ME (2006). Photoengineering of bone repair processes. *Photomed Laser Surg* 24: 169-178.
- 226.Cury V, Moretti AI, Assis L, Bossini P, Crusca Jde S, Neto CB, Fangel R, de Souza HP, Hamblin MR,Parizotto NA (2013). Low level laser therapy increases angiogenesis in a model of ischemic skin flap in rats mediated by VEGF, HIF-1alpha and MMP-2. *J Photochem Photobiol B* 125: 164-170.
- 227.Piva JA, Abreu EM, Silva Vdos S,Nicolau RA (2011). Effect of low-level laser therapy on the initial stages of tissue repair: basic principles. *An Bras Dermatol* 86: 947-954.
- 228.Jawad MM, Husein A, Azlina A, Alam MK, Hassan R,Shaari R (2013). Effect of 940 nm low-level laser therapy on osteogenesis in vitro. *J Biomed Opt* 18: 128001.



KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURUL ONAY BELGESİ

Çalışmasının Adı : “Deneysel Olarak Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Farklı Güçlerde Düşük Enerji Seviyeli Lazer (DESL) Biyostimülasyonunun Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisi”

Çalışmacılar : Y.Doç.Dr.Yavuz Tolga KORKMAZ, Arş.Gör.Dt.Kerem Turgut ATASOY, Prof.Dr.Ersan ODACI

Anabilim Dalı : Ağız-Diş-Çene Cerrahisi ABD.

Etik Kurul Dosya No 2013/ 53	Etik Kurul Toplantı Tarihi 08.10.2013	Etik Kurul Toplantı No 2013/14	Etik Kurul Karar No 3
---	--	---	--------------------------------------

Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, Tıp Fakültesi Dekanlığı Toplantı Salonu’nda Prof.Dr.Yavuz ÖZORAN’ın başkanlığında; “Deneysel Olarak Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Farklı Güçlerde Düşük Enerji Seviyeli Lazer (DESL) Biyostimülasyonunun Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisi” başlığını taşıyan tez çalışmasının, Karadeniz Teknik Üniversitesi’nde yürütülmesinin mümkün olduğuna; çalışmacıların bu çalışmayı yürütülebilecek kalifikasyonda olduklarına; araştırmanın dosyada belirtilen haliyle tıbbi etik açıdan uygun olduğuna; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir. (08.10.2013)

Prof. Dr. Yavuz ÖZORAN
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı : Kerem Turgut ATASOY
Doğum tarihi ve yeri :1984/Kurtalan/SİİRT
Telefon : 0462 3774729
E-posta : keremturgutatasoy@hotmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans /Yüksek Lisans	Marmara Üni. Diş Hek. Fak.	2008

AKADEMİK/MESLEKİ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre
Diş Hekimi	Confident Ağız Diş Sağlığı Merkezi/İstanbul	2008-2009
Araştırma Gör.	KTÜ Diş Hekimliği Fakültesi/Trabzon	2009-2015

YABANCI DİL

İngilizce: ÜDS-2011: 78.75

UZMANLIK ALANI

Oral Cerrahi, Temporomandibular Eklem Hastalıkları Tanı ve Tedavisi

ÖDÜLLER

YAYINLAR

SCI EXPANDED KAPSAMINDAKİ DERGİLERDE YAYINLANAN MAKALELER:

1.Ungor C, **Atasoy KT**, Taskesen F, Cezairli B, Dayisoğlu EH, Tosun E.Senel FC. Short-term results of prolotherapy in the management of temporomandibular joint dislocation. J Craniofac Surg Mar;24(2):411-5.doi: 10.1097/SCS.0b013e31827ff14f.

SCI EXPANDED KAPSAMI DIŞINDAKİ DERGİLERDE YAYINLANAN MAKALELERİN KÜNYESİ

ULUSAL BİLİMSEL DERGİLERDE YAYINLANAN MAKALELERİN KÜNYESİ

1.Ungor C, **Atasoy KT**, Senel FC. Yanlış endikasyona bağlı olarak iyileşme sürecinde maksiller sinüse dental implantların migrasyonu: 2 vaka raporu Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg. Cilt:24, Sayı:1, Yıl: 2014, Sayfa: 93-97.