

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

RATLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN
DEFEKTLERDEKİ KEMİK İYİLEŞMESİNE LED
FOTOTERAPİNİN ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Musa KARTÖZ
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Timuçin BAYKUL

Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim
Birimi tarafından 3977-D1-14 proje numarası ile desteklenmiştir.

Tez No: 128

2015 – ISPARTA

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Programı** Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 03/11/2015

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Timuçin BAYKUL

Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Dekanı Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Ana Bilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Umut TEKİN

Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Ana Bilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Zuhale YETKİN AY

Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Periodontoloji Ana Bilim Dalı

Üye : Yrd. Doç. Dr. Müge ÇINA AKSOY

Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Ana Bilim Dalı

Üye : Yrd. Doç. Dr. Yavuz FINDIK

Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Ana Bilim Dalı

ONAY : Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu' nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

Doç. Dr. Mustafa KAYAN

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

BEYAN

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

Çalışmamız esnasında kullanılan malzemeleri sağlayan ve/veya üreten herhangi bir firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

“Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Defektlerdeki Kemik İyileşmesine Led Fototerapinin Etkisinin Değerlendirilmesi” adlı doktora tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Dt. Musa KARTÖZ



Danışman

Prof. Dr. Timuçin BAYKUL



ÖNSÖZ

Doktora eğitimim süresince bilgi birikimiyle bana yol gösteren, tecrübelerini ve bilgisini paylaşmaktan çekinmeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Timuçin BAYKUL'a,

Eğitimim süresince bana her anlamda ışık tutan Yrd. Doç. Dr. Yavuz FINDIK'a,

Anabilim dalımızın değerli hocaları Doç. Dr. Gülperi KOÇER'e, Yrd. Doç. Dr. Müge ÇINA AKSOY'a ve Yrd. Doç. Dr. Fatih ŞENTÜRK'e,

Doktora eğitimim süresince hep yanımda olan ve desteklerini benden esirgemeyen değerli asistan arkadaşlarım Olgun TOPAL, Samed SÖNMEZ başta olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma ve anabilim dalı çalışanlarına,

Tezimin histolojik verilerini değerlendiren Arş. Görevlisi Meltem ÖZGÖÇMEN'e,

Araştırma verilerimin istatistiksel değerlendirmesini gerçekleştiren Doç. Dr. Özgür KOŞKAN'a,

Doktora tezimi destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi (SDÜ) Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine,

Eğitim sürecim boyunca ve hayatımın her aşamasında bana her bakımdan destek olan sevgili babam Hüdayi KARTÖZ'e, sevgili annem Zeynep KARTÖZ'e ve kardeşim Mehlika KARTÖZ'e,

Son olarak her zaman yanımda olan, desteğini ve anlayışını en üst düzeyde hissettiğim sevgili eşim Burcu POLAT KARTÖZ'e teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY SAYFASI	ii
BEYAN	iii
ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER ve KISALTMALAR	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Kemik Dokusu.....	2
2.1.1. Kemik Hücreleri	3
2.1.1.1. Osteoblastlar.....	3
2.1.1.2. Osteositler	3
2.1.1.3. Osteoklastlar.....	4
2.1.2. Kemik Matriksi	4
2.1.3. Periosteum ve Endosteum.....	5
2.1.4. Kemik Tipleri.....	6
2.1.4.1. Primer Kemik Dokusu.....	7
2.1.4.2. Sekonder Kemik Dokusu	7
2.1.5. Histogenez	8
2.1.5.1. İnamembranöz Kemikleşme	9
2.1.5.2. Endokondral Kemikleşme	10
2.1.6. Kemik İyileşmesi	11
2.2. Kemik İyileşmesini Hızlandırıcı Yöntemler	13
2.2.1. Hiperbarik Oksijen Tedavisi	13
2.2.2. Ultrason Tedavisi	13
2.2.3. Düşük Yoğunlukta Lazer Tedavisi	15
2.2.4. Elektromanyetik Terapi	16
2.3. Kemik Greftleri	18
2.3.1. Otojen Greftler	20
2.3.2. Allojenik Greftler.....	21

2.3.3. Ksenojenik Greftler	22
2.3.4. Alloplastik Greftler	23
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	24
3.1. Deney Hayvanları.....	24
3.2. Gruplar.....	25
3.3. Uygulanan Cerrahi Girişimler	26
3.4. Deney Hayvanlarının Postoperatif Takibi.....	29
3.5. Deney Hayvanlarına LED Fototerapi Uygulaması.....	30
3.6. Deney Hayvanlarının Sakrifikasyonu.....	32
3.7. Histolojik İnceleme	33
3.8. İstatistiksel Değerlendirme.....	34
4. BULGULAR	35
4.1. Deney Hayvanları.....	35
4.2. Histolojik İnceleme Bulguları	37
4.3. İstatistiksel Sonuçlar.....	47
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	64
ÖZET.....	66
SUMMARY	67
KAYNAKLAR	68
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	74
EKLER.....	75
ÖZGEÇMİŞ.....	76

SİMGELER ve KISALTMALAR

Atm	: Atmosfer Basıncı
°	: Derece
gr	: Gram
IM	: İntramuskuler
IP	: İntraperitoneal
LED	: Light Emitting Diode
m	: Metre
mm	: Milimetre
cm	: Santimetre
cm²	: Santimetre kare
<	: Küçüktür
>	: Büyüktür

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Çalışmadaki gruplar ve uygulanan tedaviler.....	26
Tablo 2. Çalışmadaki defektlere uygulanan greft materyalleri	26
Tablo 3. Kullanılan ilaçlar	29
Tablo 4. Deney hayvanlarının ağırlık ölçümleri.....	36
Tablo 5. Deney hayvanlarının ağırlıklarının istatistiksel analizleri.....	37
Tablo 6. Histolojik inceleme sonuçları.....	38
Tablo 7. Deney grubu ve kontrol grubunun karşılaştırılması için uygulanan Mann Whitney U testi sonuçları	48
Tablo 8. Deney grubu için uygulanan Wilcoxon işaret testi sonuçları.....	49
Tablo 9. Kontrol grubu için uygulanan Wilcoxon işaret testi sonuçları.....	50

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Deney hayvanlarının kafesleri	25
Resim 2. Cerrahi girişim öncesinde ratların dezenfeksiyonu ve bölgenin traşlanması	27
Resim 3. Cilt kesisi	28
Resim 4. Defektin trefin frez ile açılması	28
Resim 5. Sütür aşaması.....	29
Resim 6. LED fototerapi aygıtı.....	30
Resim 7. LED fototerapi uygulaması	32
Resim 8. Alınan femur örneği	33
Resim 9. Kontrol grubu sağ femur kemiği defekt bölgesi.....	40
Resim 10. Kontrol grubu sol femur kemiği defekt bölgesi	41
Resim 11. Kontrol grubu sağ femur kemiği defekt bölgesi.....	42
Resim 12. Kontrol grubu sol femur kemiği defekt bölgesi	43
Resim 13. Deney grubu sağ femur kemiği defekt bölgesi.....	44
Resim 14. Deney grubu sol femur kemiği defekt bölgesi	45
Resim 15. Deney grubu sağ femur kemiği defekt bölgesi.....	46
Resim 16. Deney grubu sol femur kemiği defekt bölgesi	47

1. GİRİŞ

Günümüzde oral ve maksillofasiyal cerrahide kemik grefti kullanımı gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır. Birçok ameliyat sırasında kemik grefti kullanılması gerekmektedir. Oral ve maksillofasiyal cerrahide greft kullanımı sonrasında olgun kemiğin oluşması için beklenilmesi gereken bir süre (3-6 ay) mevcuttur. Böylelikle tedavi süresi uzamakta ve hastalar bu dönemden negatif olarak etkilenmektedirler. Diş hekimliğinde ve tıpta kemik iyileşmesi çok önemli bir yer tutar. Bu iyileşme süreci ne kadar uzarsa hastanın tedavisi de o kadar geç gerçekleşmektedir.

Kemik grefti uygulamaları, hastada yeterli kemiğin mevcut olmadığı birçok durumda uygulanmaktadır. Yetersiz kemik miktarını arttırmak için çeşitli kemik grefti tipleri kullanılmaktadır. Bunlar; otojenik, allojenik veya ksenojenik greftlerden birisi olabilir. Bu greftlerin uygulanması sonrasında beklenilmesi gereken sürenin azaltılması için ise birçok farklı alternatif terapi uygulanmıştır. Bunlar; elektromanyetik terapi, ultrason terapisi, lazer terapisi. Bu çalışmada, otojenik ve allojenik kemik greftlerinin uygulanması sonrasında kemiğin maturasyonunun hızlandırılması için LED fototerapi uygulaması kullanılmıştır.

Led fototerapinin kemik iyileşmesi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Böylece klinikteki kullanıma olacak katkıları daha belirgin şekilde ortaya konulmuştur. LED fototerapinin kullanımına yönelik kesin bir protokol yoktur. Bu çalışma ile yara bölgesine, 14 gün boyunca 10dk olarak uygulanan LED fototerapinin kemik iyileşmesine yönelik olan etkileri ortaya çıkarılmaya çalışılmıştır. Kemiğin olgunlaşması esnasındaki bu sürenin kısaltılması amacı ile LED fototerapi ile biostimülasyon gerçekleştirilerek maturasyon süresinin kısaltılması amaçlanmıştır. Bununla birlikte yeni oluşan kemiğin kalitesinin de artması sağlanmaya çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik Dokusu

Kemik canlıda dengeyi sağlayan, zengin kanlanması ve innervasyona sahip olan, ekstraselüler matriksin kalsiyum ve fosfat tuzlarıyla mineralleşmesini tamamladığı dayanıklı bir destek dokudur (1).

Kemik, yetişkin iskeletinin en önemli yapı taşıdır. Yumuşak dokulardan meydana gelmiş, yapıları destekler. Kafatası ve toraks boşluklarında yer alan yaşamsal organları korur. Kan hücrelerinin yapıldığı kemik iliğinin yatağıdır. Ayrıca kalsiyum, fosfat ve diğer iyonların vücut sıvılarındaki konsantrasyonlarını sabit düzeyde tutabilmek için, bu önemli iyonların kontrollü olarak salıverilmelerini ya da depolanabilmelerini sağlar. Bu işlevlerine ek olarak, bir kaldıraç sistemi oluşturup, çizgili(iskelet) kas kasılmalarının doğurduğu kuvvetleri arttırarak bunları bedensel hareketlere dönüştürür. Kemik, özel bir bağ dokusudur, kemik matriksi denilen hücrelerarası madde kalsifiye olmuştur. Üç hücre tipi içerir: Bu hücreler matriksin laküna adı verilen kavitelerinde yerleşmiş olan osteositler, matriksin organik kısımlarının sentezini yapan osteoblastlar ve kemik dokusunun rezorpsiyonu ve yeniden modellenmesini sağlayan çok çekirdekli dev bir hücre olan osteoklastlardır. Bütün kemikler iç yüzeylerinde endosteum ve dış yüzeylerinde de periosteum adı verilen osteojenik hücrelere sahip zarlar ile örtülüdür (2).

Uygulanan strese göre değişebilen, uyum sağlayabilen dinamik bir yapıdır. Bütünleşmiş birçok hücreden oluşur, metabolik ve biyolojik olarak aktif bir dokudur. Vücudumuzun yapıtaşı olan temel iyon ve minerallerin vücutta konsantrasyonunun sağlanmasında önemli rol oynar (3,4).

2.1.1. Kemik Hücreleri

2.1.1.1. Osteoblastlar

Osteoblastlar, kemiği oluştururlar. Farklılaşmamış mezenşimal hücrelerden türerler. Osteoblastlar kemik matriksinin organik bileşenlerin sentezinden sorumludur. Kemiğin inorganik kısımlarının yapılabilmesi canlı osteoblastların varlığına bağlıdır (2).

Osteoid denilen temel maddeyi oluşturan proteoglikan, glikozaminoglikan ve glitoproteinler salgırlar. Alkali fosfatazlarca zengin olup kemik dokudaki temel maddeye Kalsiyum fosfat depolanmasını ayarlarlar. Osteoblastların kemik yapımındaki fonksiyonları sona erdiğinde, sitoplazmalarındaki ribonükleik asit düzeyi düşer ve bazofili karakterlerini kaybederek osteositlere dönüşmektedirler (5).

Matriks sentezi esnasında osteoblastlar ince yapı düzeyinde aktif protein sentezi yapan ve salgılayan hücrelere benzerler. Osteoblastlar kutuplaşmış hücrelerdir. Matriks sekresyonu, daha önce yapılmış kemik matriksi ile temas halinde olan osteoblast yüzeylerinden gerçekleşir. Böylece osteoblastlar ile daha önce meydana gelmiş kemik matriksi arasında osteoid adını alan yeni ancak henüz kalsifiye olmamış matriks yer alır. Bu olaya kemik apozisyonu adı verilir ve zamanla kalsiyum tuzlarının çökmesi ile işlem tamamlanır.

2.1.1.2. Osteositler

Osteoblastlardan köken alan osteositler, matriks lamelleri arasında bulunan lakünalar içine yerleşmişlerdir. Her lakünada sadece bir osteosit bulunmaktadır. Osteositlerin sitoplazmik uzantıları ince silindirik matriks kanalcıklarıyla sarılmıştır. Komşu osteositler sitoplazmik uzantılarının birbirleri arasında yaptıkları hücre bağlantıları ile temas meydana getirip, besin maddelerinin bu yapılar aracılığı ile hücreden hücreye geçişini sağlarlar. Osteositler ile kan damarları arasında oluşan bazı molekül alış-veriş işlemleri, osteositler ile kemik

matriksi arasında bulunan çok az miktardaki ekstraselüler madde aracılığı ile de olabilmektedir.

Osteositler, lakünalar içine yerleşmiş matrikste yer alan matür hücrelerdir. Kemik dokusunun beslenmesinden sorumludur. Kalsiyum ve fosfor konsantrasyonunun düzenlenmesinde önemlidir (6).

2.1.1.3. Osteoklastlar

Osteoklastlar çok büyük, ileri derecede dallanmış olan hareketli hücrelerdir. Osteoklastlar kökenini kandan alan monositlerin bir araya gelmesi ile oluştukları için mononükleer fagositik sistemin kapsamı içinde yer almaktadır (2).

Osteoklastlar kemik matriksini etkileyen, asit, kollajenaz ve diğer proteolitik enzimleri salgırlar. Böylece kalsifiye olmuş temel maddeyi serbest hale çıkarırlar. Kemik rezorpsiyonu sırasında meydana gelen artıkların ortadan kaldırılmasında aktif olarak rol alırlar (1). Elektron mikroskoplarında fermentatif olarak erimiş kemiklerin pinositoz yolu ile sitoplazmada varlıkları saptanmaktadır. Osteoklastlar mikrovilluslara sahiptir, bu ise kuvvetli rezorpsiyon yeteneklerini göstermektedirler (5).

2.1.2. Kemik Matriksi

İnorganik maddeler, kemiğin kuru ağırlığının %50'sini oluşturur. İçeriğinde özellikle kalsiyum ve fosfat çoktur. Ayrıca bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyum da mevcuttur. Röntgen ışını difraksiyon yöntemi ile yapılan araştırmalarda kalsiyum ve fosforun, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ kompozisyonunda birleşerek hidroksiapatit kristallerini oluşturduğu belirlenmiştir. Burada önemli miktarda amorf kristal olmayan kalsiyum fosfat da bulunur. Elektron mikrograflarda, kemik hidroksiapatit kristalleri 40x25x3 nm. boyutlarında plakalar halinde bulunur. Kollajen liflerin yanında amorf madde ile çevrili halde pozisyonlanırlar. Hidroksiapatitin yüzeyindeki iyonlar suya doyurulduğu için kristalin etrafı su ve iyonlardan oluşmuş bir tabaka ile

kaplanmıştır. Hidrasyon kabuğu denilen bu katman vücut sıvıları ile kristal arasındaki iyon alışverişinin gerçekleşmesini kolaylaştırmaktadır.

Kemik siyaloproteini ve osteokalsin, kalsiyuma sıkıca bağlanabilmelerine olanak veren ve olasılıkla kemik matriksinin kalsifikasyonunu başlatmaktan sorumlu olan birkaç gama-karboksiglutamik asit kalıntısı barındırır. Normalde tip I kollajen içeren diğer dokular kalsifiye olmaz ve bu proteinleri içermez. Kollajenden zengin olduğu için, dekalsifiye edilmiş kemik, kollajen boyaları ile koyu olarak boyanır. Hidroksiapatit ile kollajen lifleri arasındaki ilişki, kemiğin özelliği olan sertliğinden ve dayanıklılığından sorumludur. Kemik dekalsifiye edildikten sonra şeklini korur, ancak bir tendon kadar esnek hale gelir. Çoğunluğu kollajenden oluşan matriksin organik kısımlarının ortadan kaldırılması halinde de kemiğin orijinal şekli bozulmaz ancak kolayca kırılabilir (2).

2.1.3. Periosteum ve Endosteum

Kemiğin dış ve iç yüzeyleri, kemiği oluşturan hücrelerden ve bağ dokusundan meydana gelen tabakalarla kaplıdır. Dışarıdaki katmana periosteum içerideki katmana ise endosteum adı verilir. Periosteumun dış tabakası kollajen lifler ve fibroblastlardan meydana gelmiştir. Demetler halinde periosteal kollajen liflerden oluşan sharpey lifleri, matriks içine girerek periostu kemiğe bağlar. Hücreden daha zengin olan periosteumun iç tabakası, bölünüp farklılaşarak osteoblastları oluşturabilme potansiyeline sahip olan, yassı hücreler açısından zengindir. Bu osteoprogenitör hücreler, konumları, yassı şekilleri, çok az miktardaki granüllü endoplazma retikulumları ve az gelişmiş olan golgi kompleksleri ile özellik kazanırlar. Otoradyografik çalışmalar, bu hücrelerin 3H-Thymidine aldıklarını ve daha sonra bu maddenin osteoblastlarda da saptandığını ortaya koymuştur. Bu hücreler kemiğin büyümesi ve onarımında başlıca rolü oynarlar (2).

Periosteum, eklem yüzleri hariç tüm kemiği saran vasküler konnektif bağ dokusu tabakasıdır. Kemiğin beslenmesini, tamirini, gelişimini ve desteğini

sağlamada önemlidir. Yapısında temel olarak kollajen ve elastik lifler vardır ve ligaman, tendon ve eklem kapsüllerinin yapışmasına olanak verir (7).

Endosteum, kemiğin içindeki bütün boşlukları örter ve tek kat yassı osteoprogenitör hücreler ile çok az miktarda bağ dokusundan oluşmaktadır. Bundan dolayı endosteum periosteumdan daha incedir. Periosteum ve endosteumun temel görevleri, kemik dokusunun beslenebilmesi, büyüebilmesi ve onarımı için gerekli olan yeni osteoblastları aralıksız olarak sağlamaktır. Bu nedenle kemik cerrahisinde periosteum ve endosteumun korunması çok önem arz etmektedir (2).

2.1.4. Kemik Tipleri

Kemiğin mikroskopik olarak incelenmesi sonucu, 2 farklı tip kemik bulunduğu ortaya konmuştur. Primer, olgunlaşmamış ya da kaba lifli kemik ve sekonder, olgun ya da lameller kemik. Primer kemik embriyolojik gelişim sürecinde kırık ve diğer nedenlerle alakalı onarım işlemlerinde ilk ortaya çıkan kemik türüdür. Sekonder kemiğin lameller halinde organize olmuş kollajen lif dağılımının aksine, primer kemik rastgele ve değişik yönlere dağılmış ince kollajen lifler barındırmaktadır.

Enine kesilmiş kemik kesitleri incelendiğinde boşluksuz yoğun sahalar kompakt kemiği, çok sayıda birbirleri ile ilişkili boşluklardan oluşan alanlar ise süngerimsi kemiği meydana getirir. Bununla birlikte mikroskopik olarak gerek kompakt kemiğin, gerekse süngerimsi kemiğin boşlukları birbirinden ayıran trabeküllerinin histolojik yapıları aynıdır.

Uzun kemiklerin şişkince olan uç kısımlarına epifiz adı verilir. Epifizler ince bir kompakt kemik tabakasıyla kaplanmış süngerimsi kemikten oluşmuştur. Diyafiz adı verilensilindirik kısmın hemen hemen tümü kompakt kemikten meydana gelir ve kemik iliği boşluğuna bakan yüzeylerinde çok az süngerimsi kemik bulunur. Çoğu kez kısa kemiklerin merkezlerindeki süngerimsi kemik, tamamen kompakt kemikle çevrelenmiştir. Kafatası kemiklerini oluşturan yassı kemikler, diploe denilen süngersi kemik tabakasıyla ayrılan, plaka denilen 2

kompakt kemik tabakasına sahiptir. Süngerimsi kemikle uzun kemiklerin diyaforizlerindeki kemik boşlukları iki tür kemik iliği ile doldurulmuştur. Bunlardan biri, kan hücrelerinin oluşturduğu kırmızı kemik iliği, diğeri ise çoğunluğu yağ hücrelerinden oluşan sarı kemik iliğidir (2).

2.1.4.1. Primer Kemik Dokusu

İlk ortaya çıkan kemik dokusu primer kemiktir. Geçicidir ve yetişkinlerde, kafadaki yassı kemik eklemleri, dış alveolleri ve tendonların kemiğe tutunduğu yerler gibi birkaç nokta dışında, yerini sekonder kemiğe bırakmaktadır. Primer kemik dokusu, sekonder kemik dokusuna kıyasla, rastgele dizilmiş kollajen liflerin yası sıra daha az mineral içerir ve sekonder kemik dokusundan daha fazla osteosit içerir (2).

Yüksek hücre döngüsü ve içeriği olan, daha az organize olmuş katmanları ile daha fazla su bulunduran, lamellar kemikten daha zayıf, deforme olabilen bir yapıya sahip bir kemiktir (3).

2.1.4.2. Sekonder Kemik Dokusu

Üzerine etkiyen yük dağılımına göre karmaşık biçimde düzenlenmiş, kortikal veya spongioz yapıda izlenen, olgun kemik dokusudur. Ara lameller sistemi ile Havers sistemi “Cement line” adı verilen keskin bir hat ile ayrılır (8).

Sekonder kemik dokusu genellikle yetişkinlerde bulunan bir çeşittir. Burada kollajen lifler tipik olarak 3-7µm kalınlığında birbirlerine paralel ya da vasküler bir kanal etrafında dairesel olarak yerleşmiş lameller şeklinde organize olmuştur. Kan damarlarını, sinirleri ve gevşek bağ dokusunu içeren bir kanalın etrafını saran, dairesel lamellerin oluşturduğu bütünlüğe havers sistemi ya da osteon adı verilir. Osteositleri içeren lakünalar, lamellerin arasında ve seyrek olarak da içinde bulunur. Her lamelde kollajen lifler birbirine paraleldir. Her Havers sisteminin etrafı, birkaç kollajen lif ve mineralize amorf matriksten oluşan yapıştırıcı madde ile çevrilidir.

Kompakt kemikte lameller, havers sistemleri, dış dairesel lameller, iç dairesel lameller ve intertisyel lamellerden ibaret tipik bir düzen gösterirler. Her havers sistemi uzun sıkça dallanan ve diyafizin uzun eksenine paralel olan bir silindirdir. Merkezi bir kanal çevresine yerleşmiş 4-20 dairesel lamelden oluşur. Endosteum ile örtülü her kanal içinde kan damarları, sinirler ve gevşek bağ dokusu bulunmaktadır. Havers kanalları, yatay ya da oblik seyreden Volkmann kanalları aracılığı ile kemik iliği boşlukları, periosteum ve kendi aralarında iletişim kurmaktadır. Volkmann kanalları dairesel lameller içermezler. Lamelleri delerek geçerler. Kemik önce var olan kan damarlarının etrafına matriksin çökmesi ile meydana gelmektedir.

İç ve dış dairesel lameller, adlarından da anlaşılacağı üzere, kemik iliği boşluğunun çevresinde ve periosteumun hemen altında yer alırlar. Bunların lamelleri, merkezleri kemik iliği boşluğu olmak üzere, dairesel olarak yerleşmişlerdir. Dış dairesel lamellerin sayısı, iç dairesel lamellerden daha fazladır. Her iki dairesel sistem arasında çok sayıda Havers sistemi bulunmaktadır. Havers sistemlerinin arasında da, üçgen ya da düzensiz gruplar halinde, birbirlerine paralel lamellerden oluşan intertisyel ya da ara lameller bulunmaktadır. Bunlar büyüme ve yeniden şekillenme sırasında yıkılan eski Havers sistemlerinden ardakalan lamellerdir (2).

2.1.5. Histogenez

Kemik 2 yolla meydana gelmektedir; Osteoblastların salgıladıkları matriksin doğrudan doğruya mineralizasyonu (intramembranöz kemikleşme) ya da, daha önce var olan kıkırdak matriksinin çökmesi (endokondral kemikleşme) ile kemik oluşması.

Her iki yolla da, ilk ortaya çıkan kemik dokusu, primer ya da olgunlaşmamış kemik dokusudur. Primer kemik dokusu geçicidir ve kısa bir süre sonra yerini sekonder kemik dokusuna (lamelli kemik) bırakmaktadır. Büyüme sürecinde, primer kemik sahaları, rezorbe olan sahalar ve lamelli kemik sahaları yan yana bulunmaktadır. Kemik sentezi ve ortadan kaldırılışı (yeniden

şekillenmesi) sadece büyüyen kemiklerde olmayıp, yetişkinlerde de, hızını oldukça azaltarak hayat boyu devam eder (2).

2.1.5.1. İntramembranöz Kemikleşme

Pek çok yassı kemiğin kaynaklandığı intramembranöz kemikleşmeye, mezenkimal doku yoğunlaşmaları içinde olduğu için bu ad verilmiştir. Frontal ve pariyetal kemiklerin tamamı ile oksipital ve temporal kemikler, mandibula ve maksillanın bazı kısımları intramembranöz kemikleşme ile meydana gelmektedir. İntramembranöz kemikleşme kısa kemiklerin ve uzun kemiklerin büyümesinde ve uzun kemiklerin kalınlaşmalarında rol almaktadırlar.

Mezenkim yoğunlaşması içinde kemikleşmenin başladığı ilk noktaya primer kemikleşme merkezi adı verilmektedir. Olay bir grup mezenkimal hücrenin osteoblasta dönüşmesi ile başlamaktadır. Yeni kemik matriksinin oluşmasını, kalsifikasyon takip etmektedir, bunun sonucunda bazı osteoblastların etrafları sarılır ve daha sonra bu hücreler osteosite dönüşürler. Gelişmekte olan bu kemik adacıklarına histolojik kesitlerdeki görüntülerinden ötürü spikül (iğnecik) adı verilmektedir. Spiküller, aralarında kapillerleri, kemik iliği hücrelerini ve farklılaşmamış hücreleri içeren boşluk uzantılarını saran duvarların kesitleridir. Kemikleşme merkezinde hemen hemen aynı zamanlarda böyle birkaç grup ortaya çıkar ve bunlar birleşerek, zamanla süngerimsi yapıyı oluşturmaktadırlar. Kemik spikülleri arasındaki bağ dokusuna, kan damarları ve kemik iliği hücrelerini oluşturacak olan fazla sayıda farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin girmesi ile, kemik iliği hücreleri de meydana gelmektedir.

Mezenkimal doku yoğunlaşması içindeki hücreler bölünerek, kemikleşme merkezinin devamlı olarak büyümesinden sorumlu olan, daha fazla sayıda osteoblastı meydana getirirler. Birkaç kemikleşme merkezi işinsal olarak büyüyüp birleşerek, başlangıçtaki orijinal bağ dokusunun yerini almaktadırlar. Bebeklerdeki fontaneller buna bir örnek olarak gösterilebilirler. Bunlar bağ dokusundan oluşan, kafatasının henüz kemikleşmemiş yumuşak bölgelerine karşılık gelmektedirler (2).

Özellikle doğumdan sonra, kafatasının yassı kemiklerinin gerek iç gerekse dış yüzeylerindeki intramembranöz kemik yapımı, kemik yıkımına oranla belirgin derecede üstünlük göstermektedir. Bundan dolayı, iki tabaka kompakt kemik (iç ve dış tabakalar) ortaya çıkar ama merkezi kısım (diploe) süngerimsi yapısını korur. Bağ dokusunun kemikleşmeye katılmayan bölümleri ise, intramembranöz kemiğin periosteum ve endosteumunu meydana getirmektedir (2). Bu tür kemikleşmede periosteum ve endosteum kemikleşmeye katılmayan bağ dokusu tarafından üretilir. Trabeküllerarası boşluklardaki bağ dokusu da kemik iliğinin myeloid veya hemapoetik dokusuna dönüşmektedir (9).

2.1.5.2. Endokondral Kemikleşme

Bu tip kemikleşme, kıkırdağımsı matriks salınımı yapan ve ileride kondrositlere donusecek olan differansiye olmamış mezensimal hücrelerin kemik yapım sahasında birikmesi ile başlar (10). Endokondral kemikleşme şekli, meydana getirilecek kemiğin şekline benzeyen hiyalin kıkırdaktan oluşmuş küçük bir model içinde cereyan eder. Bu tür kemikleşme kısa ve uzun kemiklerin şekillenmesinden sorumludur.

Temel olarak endokondral kemikleşme 2 aşamadan ibarettir. İlk aşama kemik modelindeki kondrositlerin hipertrofisi ve harabiyetidir. Daha sonra, kalsifiye kıkırdak matriksi septalarının birbirinden ayırdığı genişlemiş lakünalar kalmaktadır. İkinci aşama, osteoprogenitör hücreler ve kan kapillerlerinden oluşan osteojenik tomurcuk, dejenere olmuş kıkırdak hücrelerinden geriye kalan alanlara girer. Osteoprogenitör hücreler, kıkırdağımsı septumun üstünü kemik matriksi ile kaplayan osteoblastlara dönüşmektedir. Böylece kalsifiye kıkırdak dokusu septumları, kemikleşmenin başlamasına yardımcı olmaktadır.

Uzun kemikler, her iki ucu genişlemiş (epifiz) silindirik bir gövdeden (diyafiz) oluşmuş hiyalin kıkırdaktan meydana gelmektedir. Ortaya çıkacak olan ilk kemik dokusu diyafizleri saran perikondriumun içindeki intramembranöz kemikleşme ile meydana gelmektedir. Kıkırdağı çevreleyen perikondriumun iç kısmında kemik manşeti adı verilen silindirik bir kemik tabakası meydana

gelmektedir. Yeni oluşan kemiği sardığı için perikondrium, periost ismini almaktadır. Yeni meydana gelen kemikte, manşetin içinde kalan kondrositler dejenere olur, kırıldak matriksinin devamlılıklarını sağlama yetenekleri de ortadan kalkar; kalsiyum çökmeye başlar ve kırıldak matriksi kalsifiye olur.

Periosteumdan kaynaklanan osteojenik tomurcuğun kan damarları, osteoklastlar tarafından kemik manşette açılan deliklerden geçerek, kalsifiye olmuş kırıldak matriksi içine girer. Kan damarlarının yanısıra osteoprogenitör hücreler de bu alanlara girmektedir. Prolifere olarak osteoblastları oluştururlar. Osteoblastlar kalsifiye kırıldak matriksi üzerinde, aralıksız bir tabaka oluşturarak primer kemik sentezini başlatırlar (2).

2.1.6. Kemik İyileşmesi

Bir kemik kırıldığında kırık bölgesinde kan ve pıhtı ile karışmış olan kemikleşmeye elverişli bir granülasyon dokusu (pro-kallus) oluşmaktadır. Bu granülasyon dokusu zamanla örgülü kompakt bir bağ doku, sonra da kırıldak doku karakterini almaktadır. Son safhada bu doku fibro-kartilajenöz bir yapıya dönüşür. Kırıklarda kırılmış olan kemik uçları arasındaki aralığı dolduran bu fibro-kartilajenöz yapıya fibro-kartilejenöz kallus adı verilmektedir. Bu yapı zamanla kırık uçları arasındaki boşluğu tamamen doldurur ve uçları birbirine sıkıca bağlar. Kemikleşmeye uygun olan bu dokunun etrafında ilk kemikleşme periosteal ve endosteal olarak başlar. Zamanla kırık bölgesinden fibro-kartilajenöz kallus içine doğru yayılır.

Periferden merkeze doğru ilerleyen bu tarz kemikleşme yani intrakartilajenöz kemikleşme sonucu fibrokartilajenöz kallus tamamıyla kemikleşmektedir. Böylece Osseoz kallus meydana gelir. Kemik kallus şartlar uygun olduğunda kireçleşir. Bu ise, tipik spongiöz kemik yapısında bir dokudur. Kemik kallus zamanla boşlukları içinde havers sistemlerinin oluşumu ile kompakt kemik dokusu karakteri kazanmaktadır. Böylece kırık uçlar birbiri ile tamamen kaynaşırlar (5).

Kemiğin kırılmasından sonra, yaralanmış bölgede genel doku tepkimeleri görülür. Bunlar esas olarak kanama ve daha sonra burada granülasyon dokusunun oluşturduğu pıhtılaşma olaylarıdır. Granülasyon dokusu vücutta bir yabancı cisme, harabiyete, yaralanmaya veya enfeksiyonlara karşı savunma tepkimesi esnasında oluşan özellikle histiyosit (makrofaj) ve lenfositlerden meydana gelen bir doku tipidir. Pıhtılaşma sürerken granülasyon dokusu daha yoğun bağ dokusu haline dönüşür. Burada, yapısında bol miktarda kollajen fibrilleri bulunduran fibrilli kıkırdak ve kıkırdak dokusu gelişir. Böylece kırık parçalar arasındaki boşluk, bağ ve kıkırdak dokusundan oluşan ve kaynamayı sağlayan bir doku ile doldurulur. Kırık parçaların arasındaki yeni öncül kemik dokusu, periosteum ve endosteumun dipteki tabakalarında bulunan osteoprogenitör hücrelerin aktivasyonu ile oluşturulmaya başlanır. Böylece periosteumun altındaki trabeküllerin ağısı yapısı oluşur. Endosteumdan kaynaklanan yeni kemik oluşumu da kemik iliği boşluğunda yer alan taze kıkırdağımsı doku etrafında, yukarıdakine benzer şekilde oluşur. Endokondral kemik oluşumunda olduğu gibi, fibrilli kıkırdak dokusunun kemikleşmesi, kemiğin derece derece bu dokuyla yer değiştirmesiyle tamamlanmaktadır. Kırık bölgedeki kemik oluşumu, iki kırık uçta yeni süngerimsi kemik meydana gelince hemen hemen tamamlanmış olmaktadır. Bundan sonra sırayla kemiğin yıkımı ve sert kemiğin yapımı gerçekleştirilerek, kırık bölge tamamen onarılmış olur (11).

Çalışmamızda iki farklı tipte kemik grefti kullanılmıştır. Birincisi ratlardan alınan otojen greft, diğeri ise sığır kaynaklı kemik grefti olan Bio-Oss®(Geistlich, İsviçre). Ratlardan alınan otojen greft osteojenik, osteoindüktif ve osteokondüktif özellikler gösterirken, Bio-Oss® ise osteokondüktif ve kısmen osteoindüktif özellikler göstererek iyileşme sürecine katılmaktadır.

Otojen greftlerin iyileşmesinde birinci aşamada osteojenik özellikleri olan hücrelerin osteoid yapımı gerçekleşmektedir. İlk 4 hafta bu hücreler en aktif seviyededir. İkinci aşama osteoindüksiyondur, 2-6 hafta arasında gerçekleşir. Üçüncü aşamada ise kemiğin anorganik komponentleri matriks ve minerallerin kaynağını oluşturur ve osteokondüksiyon ile apozisyon başlar (12). Sığır kaynaklı Bio-Oss® kemik greftinin iyileşmesi ise remodelasyon yoluyla

gerçekleşmektedir. Kemik grefti rezorbe olurken, gelen kuvvetlerin yönüne ve şiddetine bağlı olarak yeni kemik oluşumu izlenmektedir (13).

2.2. Kemik İyileşmesini Hızlandırıcı Yöntemler

2.2.1. Hiperbarik Oksijen Tedavisi

Hiperbarik oksijen tedavisi; %100 oranında oksijen inhalasyonunun kapalı bir alanda 1 atm'den daha yüksek basınç altında sağlanmasıdır. Birçok tedavide, hiperbarik oksijen tedavisinin kemik iyileşmesi üzerinde pozitif etkilerinin olduğu saptanmıştır (14).

Oksijen oranı alkalen fosfataz aktivitesini arttırmakta; böylece, kemik yapımı ve kalsiyum depozisyonu artmaktadır (15). Tam tersine, hipoksida, alkalen fosfataz aktivitesi azalmaktadır (16). Kronik hipoksik durumlarda kırık iyileşmesi gecikmektedir (17). Bunun ötesinde, hipoksi; iskemi ve vasküler hastalıklar gibi patofizyolojik durumlara yol açabilmekte bunun sonucunda da kemik kayıpları yaşanabilmektedir (18).

Wu ve Hsieh ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda, hiperbarik oksijen tedavisinin osteoblastlardaki proliferasyon ve differansiyasyonu arttırdığı rapor edilmiştir (15,19).

Muhonen ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise mandibular distraksiyon ostegenezisinde postoperatif olarak uygulanan hiperbarik oksijen tedavisinin geçmişte radyoterapi gören kemiklerdeki osteoblastik aktiviteyi arttırdığı görülmüştür. Yine aynı çalışmada hiperbarik oksijen tedavisinin neovaskülarizasyon üzerindeki belirgin pozitif etkileri de saptanmıştır (20).

2.2.2. Ultrason Terapisi

Ultrason, yüksek frekanslı ses dalgalarıdır. Normal koşullarda insan kulağı saniyede 16000 Hz ila 20000 Hz frekansındaki sesleri duyabilir. İnsan kulağının duyamadığı 20 KHz frekansın üstündeki ses dalgalarına ultrason adı

verilmektedir. Ultrason dalgaları pratikte çok farklı amaçlarla; imalat sektöründe, denizcilikte ve tıbbın değişik alanlarında kullanılmaktadır. Ultrasonun tıp alanında kullanımı tanısal veya tedavi amaçlı olabilmektedir. Tıpta tedavi ve teşhis amacı ile kullanılan ultrason cihazlarında yüksek frekanslı ses dalgaları piezo-elektrik kristallerle elde edilmektedir. Ses dalgaları, tiplerine içinde seyrettikleri ortama ve ortamın ısısı gibi durumlara bağlı olarak belirli bir hızda yayılırlar. Bu dalgalar, havada 340 m/sn, suda 1500 m/sn, kas dokusunda 1560 m/sn, kemikte 3000 m/sn, cam ve celikte 5000 m/sn hızla yayılmaktadırlar. Diğer dalga şekillerinde olduğu gibi, ses dalgaları da yansıma, kırılma, yayılma ve ortamdan geçerken zayıflama gibi fiziki durumlar gösterirler (21).

Ultrason uygulaması, kemik rejenerasyonunu ve bio-absorbsiyon stimülasyonunu arttıran bir teknik olarak rapor edilmiştir (22,23). Yarım yüzyılı aşkın bir süredir ultrason uygulamaları kemik iyileşmesinde, terapotik amaçla kullanılmaktadırlar. Ultrason, kemik defektlerinin büyümesinde bir stimulus olarak fonksiyon görmektedir. Ultrason, insanın duyabileceği sınırların üstündeki akustik radyasyondur. Bu, yüksek frekanstaki akustik dalgalar, insan vücudu içerisine iletilebilen bir çeşit mekaniksel enerji türüdür (24).

Ultrasonun keşfi, 1880 yılında Jacques ve Pierre Curie kardeşlerin kristal materyallerin üzerine değişik açılarda uygulanan basıncın altında elektrik üretilebildiğini keşfetmeleri ile başlamıştır. Bunu daha sonra piezoelektrik etki olarak tarif etmişlerdir. 1. Dünya savaşının başlarında Paul Langevin bu prensipten yararlanarak mükemmel denizaltı dedektörleri yapmıştır. Ultrasonun tedavi amaçlı kullanımı 1900'lü yılların ortalarında başlamıştır. Alman bilim adamı Pohlman 1938 yılındaki teorisinde bütün hastalıkların kökeninin metabolizmada meydana gelen bir stazdan kaynaklandığını savunmuştur. Bu oluşan stazların dokuya uygulanacak ultrason dalgaları ile oluşturulan mekaniksel impulslar ile elimine edilebileceğinden bahsetmiştir. Daha sonra bir ultrason cihazı dizayn ederek hastalara 10 gün boyunca günde 10 dakika olmak üzere ultrason uygulamış ve myaljide, ağrıda, noraljide azalma olduğu görülmüştür. 1950'li yıllara kadar ultrason uygulaması birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. Ancak o dönemdeki genel düşünce, kemik dokusunun ultrason

enerjisinden zarar görebileceği bu nedenle kemik dokusunun ultrason dalgalarından uzak tutulması gerektiği yönünde idi. 1950 yılında Maintz ilk defa ultrason ve kemik iyileşmesi üzerine bir araştırma yapmıştır. Tavşanlarda oluşturulan kırıklarda ultrasonun osteogenezis üzerine etkisi araştırılmış ve periosteal kemik yapımına ultrasonun olumlu etkisi olduğu kanıtlanmıştır. Ultrasonun kemikte yarattığı ısısal zararın azaltılması için Shiro, ultrason yoğunluğunun azaltılması ve dalgaların kesikli şekilde uygulanmasını gündeme getirmiştir. Araştırmacı, genç tavşanlarda tibia kemiklerine 0,2 W/cm² yoğunlukta kesikli ultrason uygulamış ve deney grubundaki tavşanlarda artmış osteoblastik-kondroblastik aktivite gözlemlendiğini bildirmiştir. Dyson ve Brookes ratlarda yaptıkları bilateral fibula osteotomisi sonrası, tek tarafa 500 miliwatt/cm² yoğunlukta kesikli ultrason tedavisi uygulamışlar ve ultrason uygulanmayan tarafa göre kırık iyileşmesinde artış olduğunu rapor etmişlerdir. Yazarlar ultrason etkinliğinin, en çok kırık iyileşmesinin erken döneminde ortaya çıktığını bildirmişlerdir. Daha sonra yapılan araştırmalarda ultrasonun tıbbın birçok alanında etkili olduğuna dair bulgular rapor edilmiştir (25).

Ultrason uygulaması, kemik iyileşmesinde rol alan tüm majör hücre tiplerini etkiler, bunlar; osteoblast, osteoklast, kondrosit ve mezenşimal kök hücrelerdir. (26) Yapılan in vitro çalışmalarda, ultrason uygulamasının, kemik formasyonu ve rezorpsiyonu üzerinde belirgin multifaktöriyel etkileri saptanmıştır. Primer olarak etkilenen hücre tipleri osteoblastlar ve osteoklastlardır. Remodelasyon alanlarında, rezorpsiyon ve formasyon arasında anatomik ve fonksiyonel olarak yakın bir ilişki bulunmaktadır (27).

2.2.3. Düşük Yoğunlukta Lazer Terapisi

İlk defa 1981 yılında Rusya'da, pek çok klinik çalışma sonrasında kullanılmaya başlanmıştır. Uygulamasının basit olması, yan etkilerinin yok denecek kadar az olması ve bazı hastalıklar hariç (hipertroidi, epilepsi, hamilelik v.b.) pek çok hastada uygulanabilmesi, tedavi maliyetinin düşüklüğü gibi nedenlerle tüm dünyada kullanımı yaygınlaşmıştır.

Düşük yoğunlukta lazer terapisinin prensibi kırmızı kan hücrelerine direk olarak biostimülatif ışık enerjisini aktarmaktır. Absorbe edilen lazer enerjisi hücrelerdeki moleküllerin ve atomlarının stimülasyonunu sağlamaktadır. Düşük yoğunlukta lazer terapisi ile dokularda hızlı ve belirgin derecede bir ısı artışı olmamaktadır (28).

Düşük yoğunlukta lazer terapisinin hücreler üzerinde biostimülan etkileri bulunmaktadır. Böylece birçok farklı biyolojik değişiklik meydana gelmektedir. Hücrelerdeki fotoreseptörler etkilenir, elektron transport zinciri stimüle edilir ve hücresel aktivite hızlandırılmaktadır (29).

Düşük yoğunlukta lazer terapisinin, yara iyileşmesi ve kollajen sentezi üzerinde çeşitli biostimülan etkileri rapor edilmiştir. Enflamasyon azaltılmakta, hücre proliferasyonu hızlandırılmakta ve iyileşme kalitesi arttırılmaktadır (30,31).

Düşük seviye lazer terapisinin osteoblast proliferasyonu ve diferansiyasyonunda pozitif etkilerinin olduğu, hücresel düzeyde ve hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (32). İlk olarak 1974'te Shugaroz ve Voronkov düşük seviye lazer terapisinin stimülasyon etkilerini göstermişlerdir (33). Birçok çalışmada, lazer ışığının yara iyileşmesindeki ve kollajen sentezindeki pozitif etkileri rapor edilmiştir (34,35,36). Ek olarak düşük seviye lazer terapisinin enflamasyonu azalttığı ve fibroblast proliferasyonunu ve angiogenezisi stimüle ettiği görülmüştür (37,38,39). Lazerler, yüksek etkisi bulunan LEDler tanıtılincaya kadar birçok çalışmada primer ışın kaynağı olarak kullanılmışlardır (40).

2.2.4. Elektromanyetik Terapi

Luigi Galvani 1792 yılında, kurbağaların kas uçlarının uyarılması sırasında elektriksel aktivitenin oluştuğunu tespit etmiştir, böylece, hayvanların ve insanların endojen kaynaklı elektriksel sinyaller oluşturduğu anlaşılmıştır. Bu ilk buluştan sonra, bakterilerden en gelişmiş memelilere kadar tüm organizmaların, hücre bölünme oranlarına, doku büyümesine ve yara iyileşmesine etki eden hassas birer elektromanyetik alana sahip oldukları farkedilmiştir. Çeşitli hastalıkların

tedavisinde elektrik stimülasyonu kullanımı, 1800'lü yılların ortalarında başlamıştır (41).

Kemik dokusu da diğer tüm dokular gibi elektriksel özellikler taşımaktadır. Uzun kemiklerin diyafizleri dinlenme halindeyken pozitif yüklüdür. Kırık bölgeleri ve büyümekte olan kemik bölgeleri ise negatif yüklüdürler. Kemiklerin üzerine uygulanan yükler sonucunda elektriksel değişiklikler oluşmaktadır. Bu tip yükler sonucu oluşan potansiyeller iki tiptir. Birincisi; kollajen matriks üzerindeki baskıya bağlı olarak, deformasyon sonucunda oluşan piezoelektrik potansiyel, ikincisi ise; yük taşıyan kemiklerde sürekli iyon akışından dolayı meydana gelen elektriksel potansiyeldir (41). Kemikteki mekanik güçlere bağlı olarak gelişen elektriksel değişiklikler ve kuru kemikteki piezoelektrik etki ilk defa Fukada ve Yasuda tarafından tanımlanmıştır. Araştırmacılar ilk defa strese maruz kalan kemiklerde, konkav taraftan konveks tarafa doğru oluşan bir elektrik potansiyeli tarif etmişlerdir. Friedenbergl ve Brighton bu teoriyi geliştirmişler ve kemiğin üzerine gelen yükler ile yeniden şekillendiğini (remodelling) savunan Wolff kuralı ile ilişkilendirmişlerdir. Sonuç olarak kemik iyileşmesini hızlandırmak amacıyla elektriksel uyaran kullanılmaya başlanmıştır (42).

Yeni kemiğin oluşum süreci kompleks bir hadisedir ve bu olayda alkalın fosfataz ve osteokalsin önemli rol oynamaktadır. Alkalın fosfataz, fosfat için kullanılan bir enzimdir ve fosforik asit oluşumunu sağlamaktadır. Bu metabolit de kemik formasyonunda gerekli bir unsurdur. Bundan dolayı, bu belirteçlerin seviyeleri kemik formasyonu hakkında bilgi vermektedir. Bunun ötesinde, osteokalsin, osteoblastlar tarafından differansiyasyon sırasında salgılanmaktadır ve bundan dolayı osteoblast differansiyasyonunda güçlü bir belirteçtir. 2012 yılında Luo ve arkadaşları elektromanyetik terapinin, insan mezenşim hücreleri üzerinde, osteojenik diferansiyasyondaki etkilerini yayınlamışlardır. Yazarlar, alkalın fosfataz ve osteokalsin düzeylerini, hücre differansiyasyonu için belirteçler olarak kullanmışlardır. Hastalara, 21 gün boyunca, günde 30 dk, 5-150Hzlik elektromanyetik tedavi uygulamışlardır. Sonuç olarak, elektromanyetik terapi uygulanan vakalarda, kemik hücreleri boyutlarında ve differansiyasyonunda artış

saptamışlardır. Bu bulgular ışığında, elektromanyetik tedavinin kemik differansiyasyonunda tetikleyici bir rolünün olduğuna karar vermişlerdir (43).

2.3. Kemik Greftleri

100 yıldan beri çok çeşitli kemik kaynaklı biomateryal yüz iskeletinin rekonstrüksiyonunda kullanılmıştır. Bu materyaller travma, konjenital deformite veya tümör rezeksiyonları sonrasında kemik bütünlüğünün bozulduğu vakalarda uygulanmıştır. Birçok hastada rekonstrüksiyon için kemik greftleri kullanılması gerekmektedir. Normal kemik iyileşmesi hakkındaki önemli bilgilerimiz ve kemik greftlerindeki gelişmeler ile kullanılan greftlerdeki etki ve verim artmıştır.

Yüz kemiklerinden, özellikle çene kemiklerinde, defektler şu nedenlerle oluşabilmektedir; tümör rezeksiyonu, travma, enfeksiyon, konjenital ve gelişimsel malformasyonlar. Rekonstrükte edilen defektlerin boyutları küçük alveoler defektlerden rezeksiyon defektlerine kadar değişkenlik gösterebilmektedir. İskeletsel bir yapının boyut, şekil, pozisyon olarak oluşan bir defekti rekonstrüktif cerrahi ile yerine konabilmektedir (44).

Kemik greftleri, maksillofasial cerrahinin vazgeçilmez bir parçası haline gelmişlerdir. Cerrahlar için birçok materyal bulunmasına rağmen, her materyalin uygulanabilirliği değerlendirilmelidir. Alloplastik materyallerin avantaj ve dezavantajları, otojen dokuya karşı olan üstünlükleri, spesifik endikasyonlarının olması, alıcı saha ve çevresinin kalitesi, yumuşak dokunun durumu, greft uygulamasının gerekliliği saptanmalıdır. Greften istenen fonksiyon büyümeyi de içeriyorsa otojen greftler muhakkak göz önünde bulundurulmalıdır. Uygulayacağımız greftin üzerine ne kadar fonksiyonel stres geleceği de değerlendirilmelidir. Eğer greft strese ya da travmaya maruz kalacaksa, enflamatuvar cevap oluşacaktır. Alıcı saha, uyguladığımız grefti yeteri kadar kaplamalı ve onu strese maruz kalmaktan korumalıdır. Alıcı sahanın vaskülarizasyonun kalitesi ve kantitesi de yeterli olmalıdır. Her implant immobilizasyon için bir forma gerek duyar, bunlar; yerleşebilmesi için bir cep oluşturulmasından, vidalanmaya, tellere ya da suture ligatürlerine kadar

değişebilmektedirler. Yukarıdaki faktörlerin değerlendirilmesinden sonra, spesifik greft materyali seçimi yapılabilir (45).

Kullanılan greftlerde şu 3 kavram ve bunların mevcudiyeti çok fazla önem taşımakta ve greft seçimini de etkilemektedir:

Osteoindüksiyon: Bu terim ilkel, diferansiye olmamış ve pluripotent hücrelerin kemik şekillendiren hücre köküne stimüle olarak gelişmesidir. Bir başka tanımlama ise “osteogenezin indüklediği” işlemdir.

Osteokondüksiyon: Bu terim kemiğin bir yüzeyde büyüdüğü anlamına gelir. Osteokondüktif yüzey kemiğin büyümesine izin verir ya da porlardan, deliklerden ve kanallardan yayılmasına olanak vermektedir (46).

Osteojenik Aktivite: Osteogenezis yada ossifikasyon osteoblastlar tarafından yeni kemik materyalinin oluşturulmasıdır. Yeni kemik dokusu oluşumuyla eş anlamlıdır (47).

İdeal Greft Materyallerinin Özellikleri

İdeal implantın özellikleri implanttan istenilen fonksiyonlarla orantılıdır. İstenilen özellikler bu bölümde anlatılmıştır ve spesifik alloplastlar tarafından sağlanan özellikler sıralanmıştır.

- Kimyasal yönden inert, biouyumlu, allerjik ve karsinojenik olmamalı,
- Yeni kemik oluşumu için iskelet görevi görmeli ya da yeni kemik oluşumunu indüklemeli,
- Hastanın kendi dokularıyla yenilenmeli,
- Radyografik incelemede radyopak olmalı,
- Kimyasal dokusunda bozulma olmadan sterilize edilebilmeli,
- Hidrofilik olmalı böylece doku sıvılarıyla bütünleşebilmeli,
- Fonksiyona katılmalı ve böylece mikroorganizmaların çoğalmasına olanak vermemeli,

- Bükülebilmeli, şekil verilebilmeli, yontulabilmeli ve şeklini muhafaza etmeli,
- Poröz yapıda olmalı ve içerisinde doku büyümesine olanak vermeli,
- Altındaki kemikte rezorbsiyona olanak vermemeli veya yumuşak doku şeklini bozmamalı,
- Vidalar, teller ya da sütürler ile fikse edilebilmeli,
- Kullanıma hazır olmalı,
- Otojen ya da alloplastik materyallerin üzerine greftlenebilmesi için uygun yüzeye sahip olmalı,
- Augmente edildiği dokuya benzer fiziksel özellikleri olmalı,
- Gerektiğinde en az doku hasarı vererek çıkarılabilmeli,
- Antibiyotik, steroid ve bone morfojenik proteinleri gibi diğer materyaller için matriks görevi görmeli,

Şu anda tüm bu kriterleri sağlayan bir implant bulunmamakla beraber klinisyenleri tatmin eden bazı materyaller vardır (48).

2.3.1. Otojen Greftler

Otojen greftler, bireyin kendisinden elde edilen kemik greftleridir. Hacimsel etkilerine ek olarak, yeni kemik oluşumunu sağlamaları esas önemli olan konudur. Otojen kemik greftleri, kemik defektlerinin tedavilerinde altın standarttır. Heterogreftler ve sentetik greftlere kıyasla biyolojik avantajları bulunmaktadır. Osteojenik, osteoindüktif ve osteokondüktif özelliklerin hepsini barındırmaktadırlar. Biyolojik ve mekanik özelliklerin mükemmel bir kombinasyonu ve maliyeti düşürücü özelliklerinden dolayı, otojen greftler kemik defektlerinin onarımlarında önemli bir rol oynamaya devam edeceklerdir (49).

Doğasında olan doku uyumuna karşı, otojen dokunun dezavantajları da düşünülmelidir. Donör materyalin elde edilmesi için tüm olası komplikasyonlar ve donör sitede enfeksiyon gelişmesi riski ile beraber ikinci cerrahi prosedüre ve

genellikle ikinci cerrahi sahaya ihtiyaç vardır. Sonuç olarak, greft rezorbsiyonunun ve remodelasyonunun öngörülemeysi mükemmel rekonstrüksiyon için bir engel teşkil etmektedir. Bununla birlikte, otojen doku, en stabil ve biouyumlu alloplastın bile başaramayacağı bir biyouyumluluk göstermektedir (50).

Otojen Greftlerin Avantajları

- Biyouyumlu olması
- İnert
- Vaskülarizasyonun iyi olması
- Alloplastik implantlarla karşılaştırıldığında enfeksiyon oranının düşük olmasıdır.

Otojen Greftlerin Dezavantajları

- Bölgesel olarak sınırlı kaynak olması
- Donör saha gerekliliği
- Greftin rezorbsiyonu
- Remodelasyon safhasının öngörülememesidir (51).

2.3.2. Allojenik Greftler

Allojenik kemik, bir bireyden alınan ve diğer bireye transfer edilen non-vital osseöz dokudur. Genellikle oral ve maksillofasiyal cerrahide otojen greftlerin ikinci bir alternatifi olarak kullanılmaktadırlar. Allojenik greftlerin 3 ana tipi mevcuttur. Bunlar; taze dondurulmuş, dondurulmuş kurutulmuş kemik grefti (FDBA), demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik grefti (DFDBA)'dir. Taze dondurulmuş greftler, viral hastalıkların bireye aktarılması olasılığından dolayı, kraniomaksillofasiyal cerrahide çok nadir olarak kullanılmaktadırlar (52).

Dondurulmuş kurutulmuş kemik greftinin osteokondüktif ve osteoindüktif özelliklerinden dolayı kullanımını avantajlı sayılabilmektedir. FDBA, cerrahi

işlemlerde önerilmesine rağmen, normal iyileşme sürecini doğrulayan çok az sayıda insan çalışması mevcuttur. DFDBA, deminerilizasyon sürecinde ortaya çıkan Bone Morphogenetic Protein (BMP)'den dolayı kemik oluşumunu indüklemektedir. 13 tane protein (BMP 1-13) tipinin osteoindüktif etkilerinin olduğu ve yeni kemik oluşumuna olanak sağladığı görülmüştür. Sonuç olarak, DFDBA osteoindüktif ve osteokondüktif özellikler içermektedir (53,54).

İşlem sürecinde maruz kaldıkları etkilerle materyallerin özellikleri değişmesine rağmen, organik bölümün kaybolmasıyla birlikte, greftteki biyolojik ve mekanik bütünlük sağlanabilmektedir. İşlem görmüş bu allogreftler, vücut tarafından iyi tolere edilirler ve nadiren tamamen reddedilmektedirler (55).

2.3.3. Ksenojenik Greftler

Bir türden alınan ve başka bir türe transfer edilen, deproteinize edilmiş kansellöz kemik greftleridirler. Günümüzde, insan kaynaklı greftlerin az bulunabilirliğinden dolayı, ksenogreftler sterilizasyon ve bazı işlemlere tabii tutulduktan sonra kullanılabilirler. İmmunolojik reaksiyon ve patojenik geçişten dolayı, bu tür greftlerin organik komponentleri tamamen çıkarılmaktadır. Geriye kalan inorganik komponent, yeni kemik oluşumu için sadece bir iskelet görevi görmekle kalmaz, aynı zamanda yeni kemik oluşumunda gerekli olan kalsiyumun da kaynağıdır. Bunun ötesinde, ksenogreftler, büyüme faktörleri ve allogreftler ile kombine olarak otojen kemiği stimüle etmek için de kullanılmaktadırlar (56).

Sıklıkla kullanılan ksenogreftler; mercan, sığır ve domuz kaynaklıdır. Ksenojenik greftler teorik olarak, eğer insanlara transferi güvenli ise, sınırsız miktarda elde edilebilmektedirler. Buradaki asıl sorun, sığır kaynaklı greftlerde, spongios ensefalit gibi hayvansal hastalıkların taşınması riskidir. Ksenogreftler, allogreftlere benzer özellik göstermektedirler. Osteojenik ve kısmen osteoindüktif özellikleri, uygulanan işlemler sırasında kaybolmaktadır. Böylece enfeksiyon geçişi engellenmektedir (57).

2.3.4. Alloplastik Greftler

Alloplastik greftler, insan kemiğinin yerini alabilmesi için geliştirilmiş sentetik materyallerdir. Metal, seramik, polimer ve kompozit yapıda olabilmektedirler. Piyasada bulunan greft materyallerinin porözitesinde, geometrisinde çözünülebilirliğinde ve yoğunluklarında farklı varyasyonlar mevcuttur. Alloplastik greftler osteokondüktif materyallerdirler (55).

Alloplastlar, hazır olarak bulunan kemik greftleridirler ve hastadaki donör saha ihtiyacını yok etmektedirler. İdeal olarak, alloplastik implant materyalleri bio-uyumlu, non-antijenik, non-karsinojenik ve non-enflamatuvar olmalıdırlar. Ek olarak, alloplastik greftler; yeteri kadar porözlü olmalı, içerisinde ve etrafında kemik oluşumuna izin vermeli (osteokondüksiyon), kemik oluşumunu indüklemeli (osteoindüksiyon), rezorbe olarak kemik ile yer değiştirmeli, radyograflarda radyoopak görüntü vermeli, sterilize edilirken yapısında herhangi bir değişiklik olmamalı, çeşitli derecelerde ve nemde stabil kalmalı, ucuz olmalı ve kolay uygulanabilir olmalıdır.

Alloplastların çoğu osteokondüktif özelliklere sahiptirler. Osteokondüksiyona karşı dokunun cevabında, materyalin porözitesinin ve doku ile arasındaki bağlantısının önemli bir rolü bulunmaktadır. Materyalin dokuyla arasındaki ilişki ve porözite miktarı arttıkça, içerisinde kemiğin büyümesi olanağı da artmaktadır.

Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmış bazı alloplastik kemik greftleri;

Sentetik Hidroksiapatit Seramikler

Calcitite HA 2040 ve 4060

Orthomatrix Ha-500

Osteogen

Osteograf D

Osteograf LD (58).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 3977-D1-14 proje numarası ile desteklendi. Ayrıca çalışmamız Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 06 Mart 2014 tarih ve 06 sayılı kararı ile onaylandı (Ek 1). Kullanılan deney hayvanları, Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı'nda yetiştirilen, Wistar Albino cinsi, yaklaşık 350-400 gr ağırlıklarında, 6-8 aylık 24 adet erkek ratlardır.

Ratlar her kafeste birer adet olmak üzere tabanı talaşlar ile kaplı olan Eurotype 4 polikarbon kafeslere yerleştirildi. Çalışma, $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık altında, %55 bağıl nem oranına sahip; 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ışık periyoduna sahip olan ortamda gerçekleştirildi. Ratlar deney süresince standart pelet formundaki yemlerle (Poyraz Zirve® S-2, Kütahya, Türkiye) ve musluk suyu ile beslendi (Resim 1).



Resim 1. Deney hayvanlarının kafesleri. Her hayvan deney süresince ayrı kafeste tutulmuştur.

3.2. Gruplar

Deney hayvanları her grupta 12 rat olacak şekilde rastgele olarak 2 gruba dağıtılarak, kontrol ve deney grupları oluşturulmuştur (Tablo 1).

Kontrol grubunda; ratların sağ ve sol femurlarına trefin frez ile 3 mm'lik birer tane defekt açılmıştır. Sağ femura otojen greft, sol femura ise sığır kaynaklı kemik grefti (Bio-Oss®, Geistlich, İsviçre) uygulanmış ve iyileşme sürecine bırakılmıştır.

Deney grubunda; aynı şekilde ratların sağ ve sol femurlarına trefin frez ile 3 mm'lik birer tane defekt açılmıştır. Sağ femura otojen greft, sol femura ise sığır kaynaklı kemik grefti (Bio-Oss®, Geistlich, İsviçre) uygulanmış ve iyileşme

süresince 14 gün boyunca operasyon bölgelerine hergün 10dk süre ile LED fototerapi uygulanmıştır (Tablo 2).

Tablo 1. Çalışmadaki gruplar ve uygulanan tedaviler

Gruplar	Denek Sayısı	LED Fototerapi Uygulaması
Kontrol Grubu	12	-
Deney Grubu	12	+

Tablo 2. Çalışmadaki defektlere uygulanan greft materyalleri

Gruplar	Uygulanan Greft Materyali	LED Fototerapi Uygulaması	Denek Sayısı
Kontrol Grubu Sağ Femur	Otojen Greft	-	12
Kontrol Grubu Sol Femur	Bio-Oss®	-	12
Deney Grubu Sağ Femur	Otojen Greft	+	12
Deney Grubu Sol Femur	Bio-Oss®	+	12

3.3. Uygulanan Cerrahi Girişimler

Cerrahi girişimler öncesinde ratların kiloları tartılarak kaydedildi ve her rat için kullanılacak olan ilaç miktarları ayarlandı. Çalışmamızda ketamin hidroklorür 90mg/kg (Ketasol®, Richterpharma, Avusturya) ve 10mg/kg xylazine hidroklorür (Alfazyne®, Alfasan, Hollanda) olarak kullanıldı (Tablo 3). İlaçlar ratlara intraperitoneal (IP) olarak enjekte edilerek genel anestezi sağlandı.

Ratların sağ ve sol üst bacak bölgeleri traşlandıktan sonra %10luk povidon iyot solüsyonu (Povideks®, Kimpa, Türkiye) ile dezenfekte edilerek cerrahi girişime hazır hale getirildi (Resim 2).



Resim 2. Cerrahi girişim öncesinde ratların dezenfeksiyonu ve bölgenin traşlanması

Cerrahi girişimde, ilk olarak cilt kesisi yapıldı (Resim 3). Devamında künt diseksiyon ile cilt ve cilt altı dokular ve son olarak da periost da geçilerek ratların femurlarına ulaşım sağlandı. Ratların femurları tamamen açığa çıkarıldıktan sonra periost elevatörleri ile çevre dokuların korunması sağlandı. Femurda defekt açılması ve otojen greftin alınması sırasında 3mm çapında trefin frezler kullanıldı (Resim 4). Bu işlem her iki femura da uygulandı. Sağ femurdaki defektlere otojen greftler yerleştirildi. Sol femurdaki defektlere ise sığır kaynaklı greftler (Bio-Oss®, Geistlich, İsviçre) yerleştirildi. Greftler yerleştirildikten sonra kemik yüzeyinden diseke edilen kaslar 3/0 rezorbe olabilen poliglaktin suture (Vicryl®, Ethicon, US), cilt ise 3/0 ipek suture (Doğsan®, Trabzon, Türkiye) kullanılarak primer olarak suture edildi. Cerrahi bölge serum fizyolojik ile irrigate edildi ve kanama kontrolü yapıldı (Resim 5).



Resim 3. Cilt kesisi



Resim 4. Defektin trefin frez ile açılması



Resim 5. Sütur aşaması

Tablo 3. Kullanılan ilaçlar

Adı	Dozu	Hacmi	Veriliş Yolu	Veriliş Sıklığı	Etki Süresi
Xylazine HCl (Alfazyne®)	10 mg/kg	0,08ml	IP	1	30 dk
Ketamin HCl (Ketasol®)	90 mg/kg	0,18ml	IP	1	30 saat
Amikasin sülfat (Amikozit®)	5mg/kg		IM	Postop. 3 gün	24 saat
Ketoprofen (Profenid®)	3 mg/kg		IM	Postop. 3 gün	24 saat

3.4. Deney Hayvanlarının Postoperatif Takibi

Operasyon sonrası, enfeksiyon kontrolü için 3 gün süreyle, intramuskuler (IM) 5 mg/kg amikasin sülfat/gün (Amikozit® 500 mg flakon, Eczacıbaşı, Türkiye) ve ağrı kontrolü için, intramuskuler (IM) 3 mg/kg/gün ketoprofen (Profenid® 100mg ampul, Eczacıbaşı, Türkiye) enjeksiyonu yapıldı.

Ratlar normal şehir suyu ve hazır pellet yem (Poyraz Zirve® S-2, Kütahya, Türkiye) ile bazal miktarda (ad libitum) beslendi. Çalışmada etik kurallara uygun olarak deneye tabi tutulan her hayvan deney süresince 21-22°C oda sıcaklığında, %50-55 nem ayarlı, optimize edilmiş hayvan bakım odalarında, ayrı ayrı kafeslerde barındırıldı. Gün içerisinde yapılan kontrollerde ratların genel sağlık durumları, genel güçsüzlük, yem ve su alımında azalma, dispne, cilt ve tüy değişikliği, kafes temizliği takip edildi. Cerrahi girişim öncesinde ve ratların sakrifiye işleminden önce ağırlıkları ölçülüp kaydedildi. Hiçbir hayvanda kontroller sırasında çalışma dışı bırakılması için kritik olan %20'den daha fazla ağırlık kaybı gözlenmedi. Postoperatif takipler sırasında hiçbir hayvanda herhangi bir komplikasyon görülmedi ve hiçbir denek çalışma dışı bırakılmadı.

3.5. Deney Hayvanlarına LED Fototerapi Uygulaması

Bu çalışmada kullanılan LED fototerapi cihazı Osseopulse®'tur (Biolux Research Ltd. Vancouver, Canada.) (Resim 6). Etki alanı 4 cm², dalgaboyu 618nm ve çıkış gücü 20 mW/cm²'dir. Ratlar polietilen aygıtların içerisine yerleştirildikten sonra Osseopulse®'un paletleri yardımıyla femur bölgesi üzerine LED fototerapi uygulanmıştır.



Resim 6. LED fototerapi aygıtı

Deney grubundaki hayvanların sağ ve sol femur kemikleri bölgesine postoperatif 1. günden başlanarak LED fototerapi uygulaması yapıldı. LED fototerapi uygulaması süresi 10 dk olarak belirlendi. LED fototerapi uygulaması 14 gün boyunca her gün 1 defa olacak şekilde gerçekleştirildi. LED fototerapi uygulanırken ratların kıpırdamaması için, silindirik plastik aygıtlara yerleştirildi. LED fototerapi uygulaması deney grubunda her iki femura ayrı ayrı uygulandı. Fototerapiden önce ratlara herhangi bir pre-medikasyon yapılmadı. Uygulama boyunca, bir araştırmacı işlemi kesintisiz şekilde takip etti. Ratlar plastik aygıtlara yerleştirildikten sonra uygulama sorunsuz bir şekilde gerçekleştirilebildi (Resim 7).

Deney grubundaki ratlara sakrifiye edildikleri 15. güne kadar hergün 1 defa 10 dklık LED fototerapi uygulanmıştır. Kontrol grubundaki ratlar da, aynı strese maruz kalmaları için, aynı şekilde silindirik aygıtların içine yerleştirilmiş fakat LED fototerapi uygulaması yapılmamıştır.



Resim 7. LED fototerapi uygulaması

3.6. Deney Hayvanlarının Sakrifikasyonu

14 günlük LED fototerapi uygulamasından sonra, hayvanlara sakrifikasyon işlemi yapılmıştır. Sakrifikasyon işleminden önce hayvanlarda genel anestezi sağlanmıştır. Deney hayvanlarının sakrifikasyonu için genel anestezi altında fazla miktarda kan alınmıştır. Daha sonra hayvanların femurları alınarak defekt bölgesine yönelik histolojik inceleme yapılmıştır (Resim 8).



Resim 8. Alınan femur örneği

3.7. Histolojik İnceleme

Alınan dokuların histolojik incelemeleri S.D.Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Dokular fiksasyon işlemi için tamponlanmış %10'luk nötral formaldehit (Merck, Darmstadt; Germany) içine alınarak 24-48 saat bekletildikten sonra dekalsifikasyon için %10'luk folik asit (Merck) çözeltisi içerisine alındı. 7-8 haftalık dekalsifikasyon işlemi süresince solüsyonlar haftalık olarak yenilendi. Dekalsifikasyonu takiben, nötral formaldehit solüsyonunda, immersiyon fiksasyon yöntemi uygulanarak tespit edilen dokular, çeşme suyu altında bir gece süren yıkama işleminden sonra sırasıyla aşağıdaki işlemlerden geçirildi.

A) Dehidratasyon

Dokular dereceli alkollerde aşağıda belirtilen sürelerde bekletildi.

Alkol derecesi/ Süre

%50/ 1 saat

%70/ 1 saat

%80/ 1 saat

%90/ 1 saat

%96/ 1 saat

% 100/ 1 gece

B) Şeffaflaştırma

Ksilolde 5-15 dk

C) Emdirme

Ksilol ve parafinde (60⁰ etüvde) 15 dakika

Yumuşak parafinde (60⁰ etüvde) 1 saat

Sert parafinde (60⁰ etüvde) 4 saat

D) Gömme

Sert parafin kullanılarak dokular bloklandı. Hazırlanan parafin bloklardan kızaklı mikrotom kullanılarak 4 mikron kalınlığında kesitler alındı.

Histolojik değerlendirme için preparatlar hematoksilin- eozin ile (rutin boyama yöntemiyle) boyandı.

3.8. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmamızda yeni kemik alanı ve osteoblast sayısı özellikleri bakımından elde edilen veriler parametrik testlerin önşartlarını sağlamadıkları için transformasyona $(\sqrt{x} + 3/r)$ tabi tutulmuşlardır. Fakat transformasyona tabi tutulan veriler de parametrik testlerin önşartlarını sağlamadıkları için non-parametrik testlerden “Mann-Whitney U” ve “Wilcoxon İşaret Testi” kullanılmıştır. Herbir yönde ayrı ayrı olmak üzere 2 grubun karşılaştırılmasında “Mann-Whitney U” testi kullanılmıştır. Herbir grupta ayrı ayrı olmak üzere de yönlerin karşılaştırılmasında “Wilcoxon İşaret Testi” kullanılmıştır.

Ağırlık özelliği bakımından elde edilen veriler parametrik testlerin önşartlarını sağladığı için faktöriyel düzende tekrarlanan ölçümlü varyans analizi tekniği kullanılmıştır. Çalışmamızda grup faktörünün deney ve kontrol olmak üzere iki seviyesi, zaman faktörünün de deney başı ve deney sonu olmak üzere iki seviyesi mevcuttur. Tekrarlanan ölçümler zaman faktörünün seviyelerinde gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Deney Hayvanları

Çalışmada kullanılan ratlar, Wistar Albino cinsi, yaklaşık 350-400 gr ağırlıklarında, 6-8 aylık 24 adet erkek ratlardır. Ratların hiçbiri ameliyat öncesinde, sırasında veya sonrasında kaybedilmemiştir. Operasyon sonrasında ve sakrifikasyon işlemine kadar geçen süreçte ise hiçbir deney hayvanında osteomyelit, enfeksiyon, yara yüzeyinde açılma veya apse formasyonu rapor edilmedi. Operasyon sırasında, ratların femurlarına defektler açılırken de hiçbir denekte çalışma dışı bırakılması için bir sorun yaşanmamıştır. Sonuç olarak, kontrol ve deney gruplarındaki 24 rattan 48 femur örneği başarılı bir şekilde elde edildi.

Deney başlangıcında ve sakrifikasyon öncesinde her deney hayvanının tek tek ağırlık ölçümleri gerçekleştirildi. Yapılan bu ölçümlerin sonuçları Tablo 4.'te gösterildi.

Canlı ağırlık özelliği bakımından yapılan varyans analizi sonucunda zaman X grup interaksiyonu istatistik olarak önemli bulundu ($p < 0.05$). Bunun anlamı zamanlar arasındaki farklılığın gruptan gruba sabit kalmayıp değiştiği ya da gruplar arasındaki farklılığın zamandan zamana sabit kalmayıp değiştiğidir.

Bunun sonucu olarak zamanlar arasındaki farklılıklar karşılaştırılırken herbir grupta ayrı karşılaştırılmalı, gruplar arasındaki farklılıklar karşılaştırılırken de herbir zamanda ayrı ayrı karşılaştırılmalıdır. Nitekim, karşılaştırmalar bu esasa göre yapılarak Tablo 5'te ortalamalar üzerinde latin harfleriyle gösterimiştir. Grup 1'de (deney grubu) deney öncesi ağırlıklar sakrifikasyon öncesi ağırlıklardan daha yüksek bulunmuştur. Grup 2'de (kontrol grubu) deney öncesi ve sakrifikasyon öncesi ağırlıkları arasındaki farkın değişmediği görülmüştür. Deney öncesinde ve sakrifikasyon öncesinde grupların ağırlık ortalamaları arasındaki farkların istatistik olarak önemli olmadığı sonucuna varılmıştır ($p > 0.05$).

Sonuç olarak; 1. ve 2. grupların ağırlıkları arasında anlamlı fark yoktur.

2. grupta sakrifikasyon öncesi ağırlıklar ve deney öncesi ağırlıklar karşılaştırıldığında da anlamlı bir fark bulunmadı. Fakat 1. grubun sakrifikasyon öncesi ağırlıkları, deney öncesi ağırlıklara göre anlamlı olarak azaldı.

Tablo 4. Deney hayvanlarının ağırlık ölçümleri

n	Kontrol Grubu Deney Öncesi Ölçümler	Kontrol Grubu Sakrifikasyon Öncesi Ölçümler	Deney Grubu Deney Öncesi Ölçümler	Deney Grubu Sakrifikasyon Öncesi Ölçümler
1	340 gr	320 gr	340 gr	335 gr
2	360 gr	365 gr	400 gr	380 gr
3	335 gr	340 gr	320 gr	310 gr
4	430 gr	425 gr	345 gr	368 gr
5	335 gr	340 gr	365 gr	333 gr
6	320 gr	330 gr	346 gr	325 gr
7	335 gr	340 gr	357 gr	334 gr
8	375 gr	366 gr	365 gr	340 gr
9	355 gr	347 gr	345 gr	336 gr
10	310 gr	319 gr	340 gr	318 gr
11	345 gr	336 gr	355 gr	335 gr
12	380 gr	375 gr	310 gr	311 gr

Tablo 5. Deney hayvanlarının ağırlıklarının istatistiksel analizleri

Grup	Zaman	Ortalama	Standart Sapma	95% Güven Aralığı	
				Alt Sınır	Üst Sınır
1	1	348,417Aa	8,031	331,761	365,072
	2	335,417Ba	7,342	320,191	350,642
2	1	351,667Aa	8,031	335,011	368,322
	2	350,250Aa	7,342	335,025	365,475

Büyük harfler her bir grupta zamanlar arasındaki farklılığı, küçük harfler ise her bir zamanda gruplar arası farklılığı göstermektedir. Farklılık sadece 1. grupta, 2. zamanda görülmektedir.

4.2. Histolojik İnceleme Bulguları

Kontrol ve deney gruplarından alınan sağ ve sol femur kesitlerinde incelenen yapısal değişiklikler Abdel-Wahhab ve arkadaşlarının yapmış oldukları derecelendirmeye göre değerlendirilmiştir (59) (Tablo 6).

Kontrol grubunun femur doku kesitlerinin histolojik incelemesinde, normal histolojik yapılar dışında herhangi bir bulguya rastlanmamıştır ($p>0.05$). Deney grubunun sağ femur doku kesitlerinin histolojik incelemesinde yeni kemikleşme alanları oluşmuş ve osteoblastlar gözlemlenmiştir ($p<0.05$). Deneysel parametrelerin histolojik (yapısal) değerlendirmesi skorlanmıştır.

Negatif Skor (-): Hiçbir yapısal değişikliğin olmaması,

1 Pozitif Skor (+): Hafif derecede yapısal değişiklik mevcut,

2 Pozitif Skor (++) : Orta derecede yapısal değişiklik mevcut,

3 Pozitif Skor (+++) : Ciddi derecede yapısal değişiklik mevcuttur (59).

Hematoksilen eozin ile boyanan doku örneklerinden elde edilen kesitler; osteoblast ve yeni kemik oluşumu bakımından kantitatif histomorfometrik analiz ile incelendi. Elde edilen mikroskobik görüntüler IBM uyumlu bilgisayar, yüksek

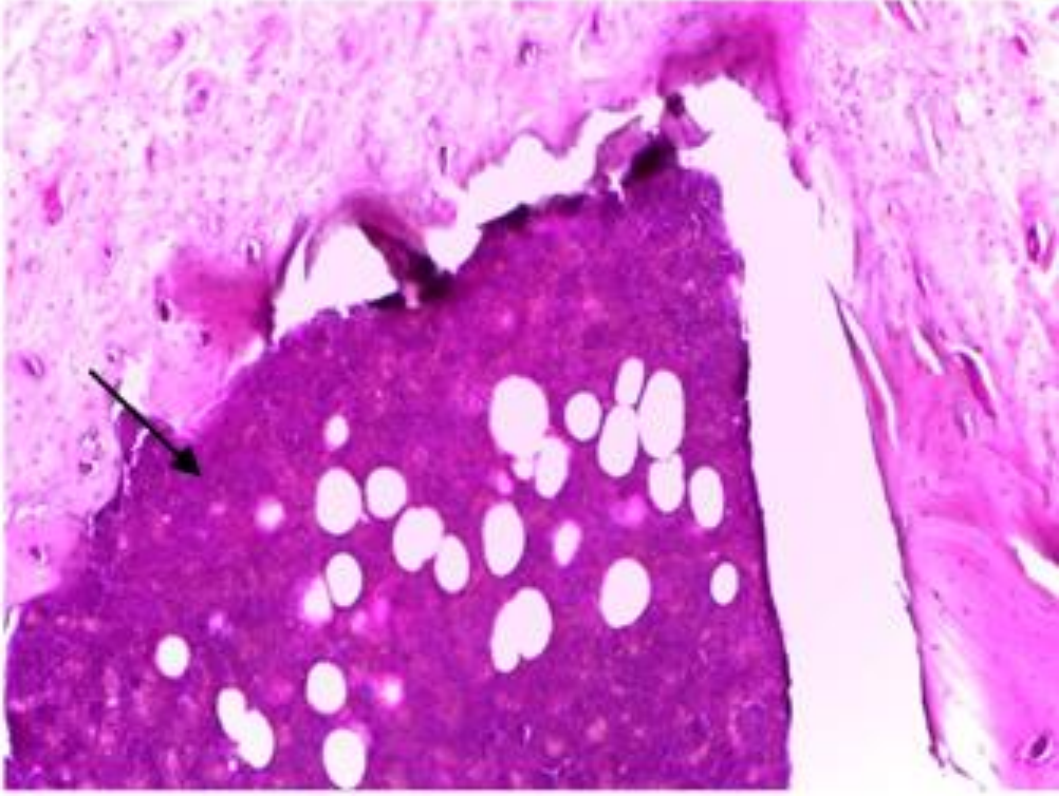
çözünürlüklü video monitör ve Image J (Wayne-Rasband) programı ile değerlendirildi.

Görüntü analiz sistemi ile herbir rat için değerlendirilen bulgulardan, deney grubunda kontrol grubuna kıyasla daha fazla kemikleşme alanı ve daha fazla osteoblast miktarı gözlemlenmiştir. Kontrol grubunda defekt bölgesinde rejenerasyon doku içinde hücrelerin daha düzensiz olduğu gözlemlenmiştir.

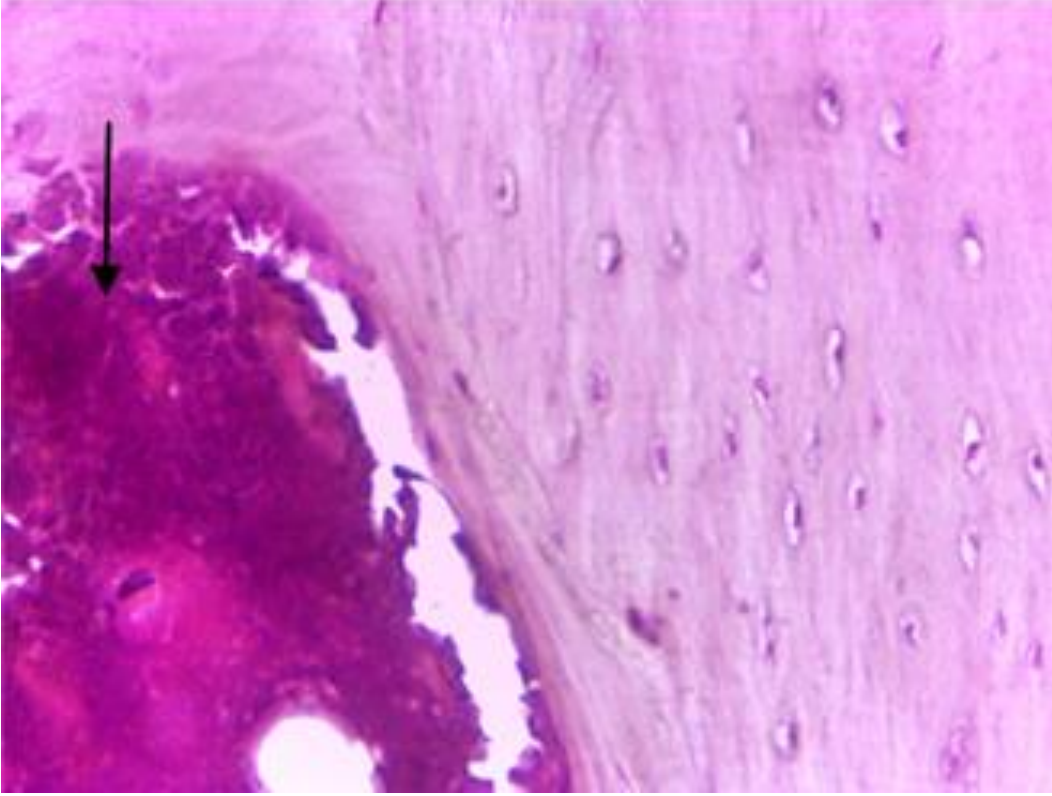
Tablo 6. Histolojik inceleme sonuçları

	YENİ KEMİKLEŞME ALANI	OSTEOBLAST OLUŞUMU
Kontrol Sağ Femur Rat 1	-	-
Deney Sağ Femur Rat 1	+++	+++
Kontrol Sağ Femur Rat 2	-	-
Deney Sağ Femur Rat 2	++	++
Kontrol Sağ Femur Rat 3	+	+
Deney Sağ Femur Rat 3	-	-
Kontrol Sağ Femur Rat 4	-	-
Deney Sağ Femur Rat 4	++	++
Kontrol Sağ Femur Rat 5	-	-
Deney Sağ Femur Rat 5	-	-
Kontrol Sağ Femur Rat 6	-	-
Deney Sağ Femur Rat 6	+	+
Kontrol Sağ Femur Rat 7	+	+
Deney Sağ Femur Rat 7	++	++
Kontrol Sağ Femur Rat 8	-	-
Deney Sağ Femur Rat 8	-	-
Kontrol Sağ Femur Rat 9	++	++
Deney Sağ Femur Rat 9	++	++
Kontrol Sağ Femur Rat 10	-	-
Deney Sağ Femur Rat 10	+++	+++
Kontrol Sağ Femur Rat 11	-	-
Deney Sağ Femur Rat 11	-	-
Kontrol Sağ Femur Rat 12	-	-
Deney Sağ Femur Rat 12	+++	+++

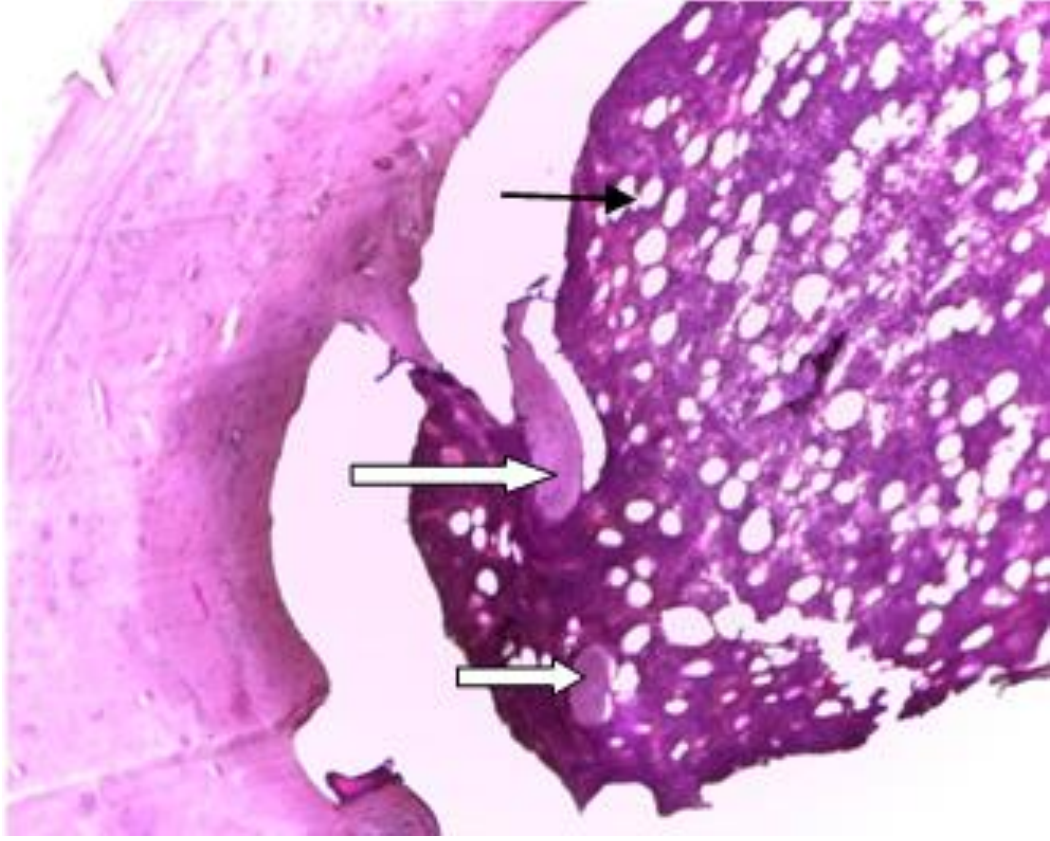
	YENİ KEMİKLEŞME ALANI	OSTEOBLAST OLUŞUMU
Kontrol Sol Femur Rat 1	-	-
Deney Sol Femur Rat 1	++	++
Kontrol Sol Femur Rat 2	-	-
Deney Sol Femur Rat 2	++	++
Deney Sol Femur Rat 3	-	-
Kontrol Sol Femur Rat 3	-	-
Deney Sol Femur Rat 4	-	-
Kontrol Sol Femur Rat 4	-	-
Deney Sol Femur Rat 5	++	++
Kontrol Sol Femur Rat 5	-	-
Deney Sol Femur Rat 6	++	++
Kontrol Sol Femur Rat 6	-	-
Kontrol Sol Femur Rat 7	-	-
Deney Sol Femur Rat 7	-	-
Kontrol Sol Femur Rat 8	-	-
Deney Sol Femur Rat 8	+	+
Kontrol Sol Femur Rat 9	-	-
Deney Sol Femur Rat 9	-	-
Kontrol Sol Femur Rat 10	-	-
Deney Sol Femur Rat 10	++	++
Kontrol Sol Femur Rat 11	-	-
Deney Sol Femur Rat 11	++	++
Kontrol Sol Femur Rat 12	-	-
Deney Sol Femur Rat 12	++	++



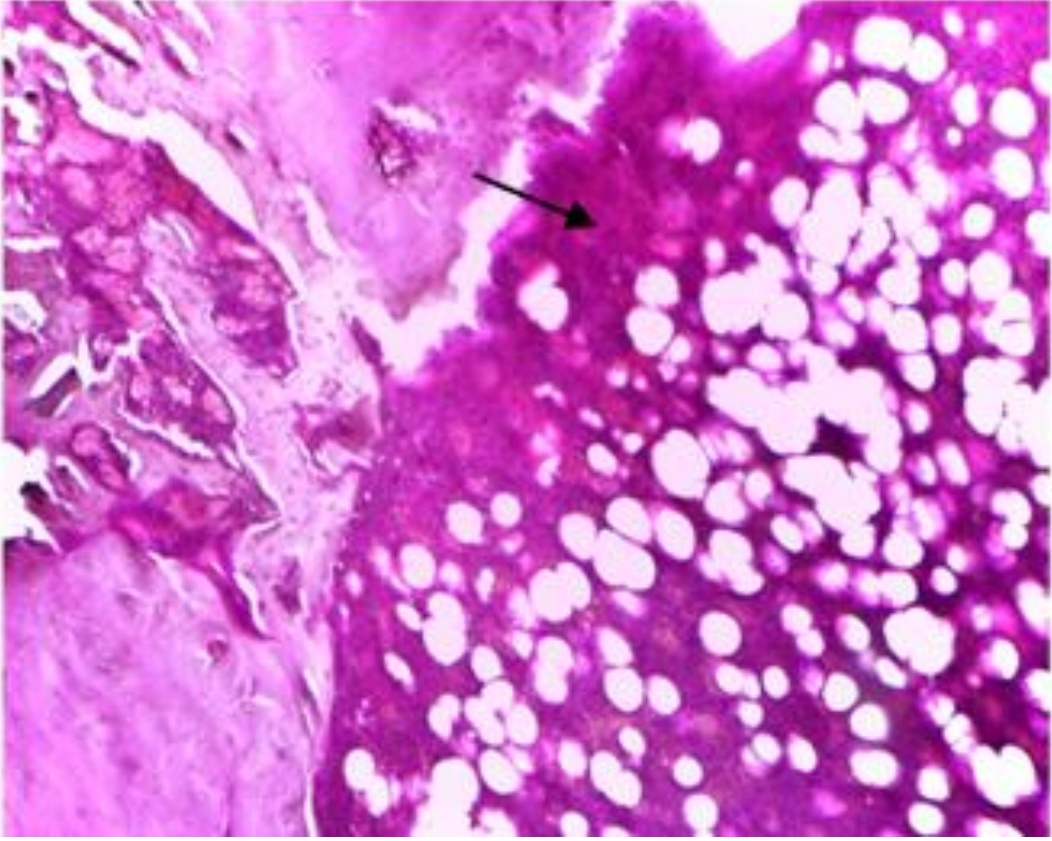
Resim 9. Kontrol grubu sağ femur kemiği defekt b6lgesi. Siyah ok kemik iliğini g6stermektedir. Otojen greftleme sonrası kemik iliği oluşumu ve kısmi miktarda yeni kemikleşme alanı g6zlemlenmiştir. Çok sınırlı sayıda osteoblast oluşumu mevcuttur.



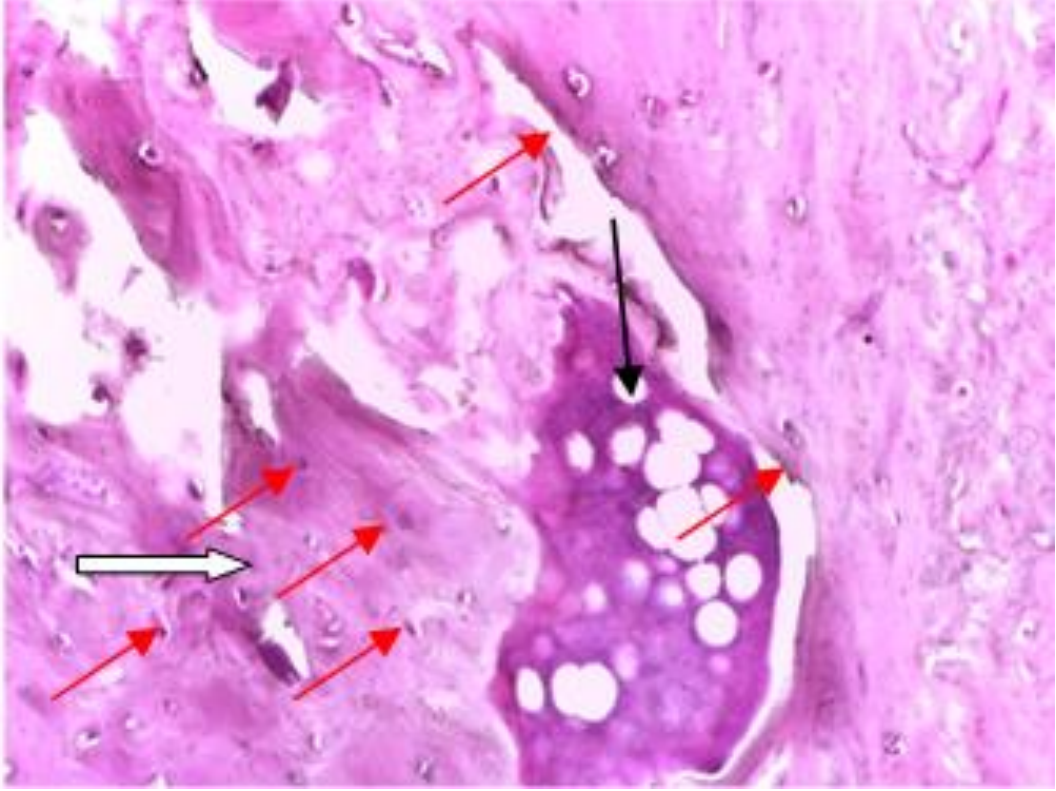
Resim 10. Kontrol grubu sol femur kemiği defekt b3lgesi. Siyah ok kemik iliğini g3stermektedir. Bio-Oss ile greftleme sonrasında kemik iliği oluşumu g3zlemlenmiştir.



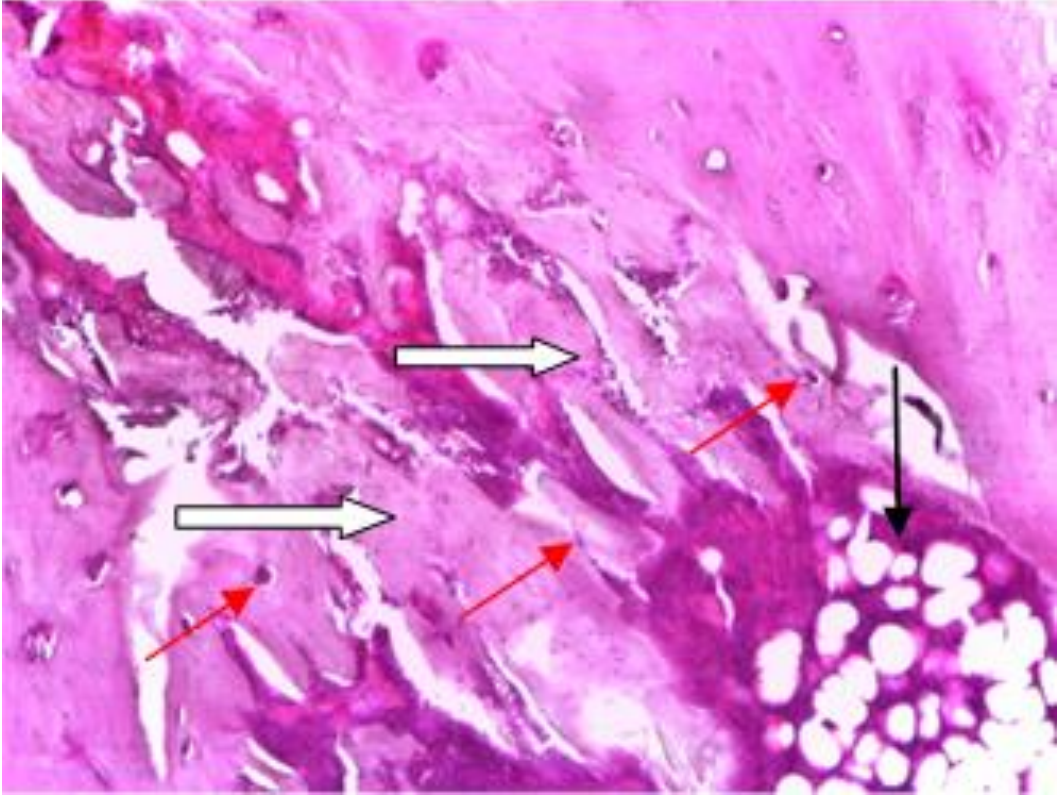
Resim 11. Kontrol grubu sağ femur kemiği defekt bölgesi. Siyah ok kemik iliğini, beyaz oklar ise yeni kemikleşme alanlarını göstermektedir. Otojen greftleme sonrası kemik iliği oluşumu ve kısmi miktarda yeni kemikleşme alanı gözlemlenmiştir. Çok sınırlı sayıda osteoblast oluşumu mevcuttur.



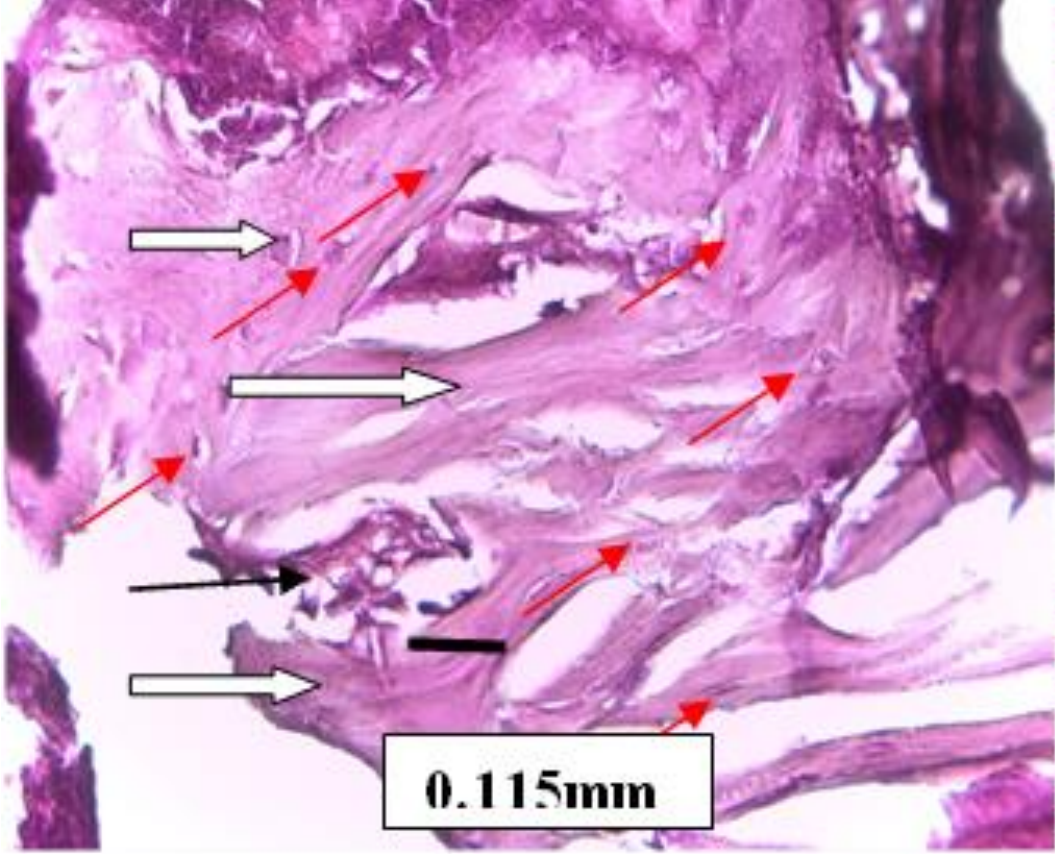
Resim 12. Kontrol grubu sol femur kemiği defekt bölgesi. Siyah ok kemik iliğini göstermektedir. Bio-Oss ile greftleme sonrasında kemik iliği oluşumu gözlemlenmiştir.



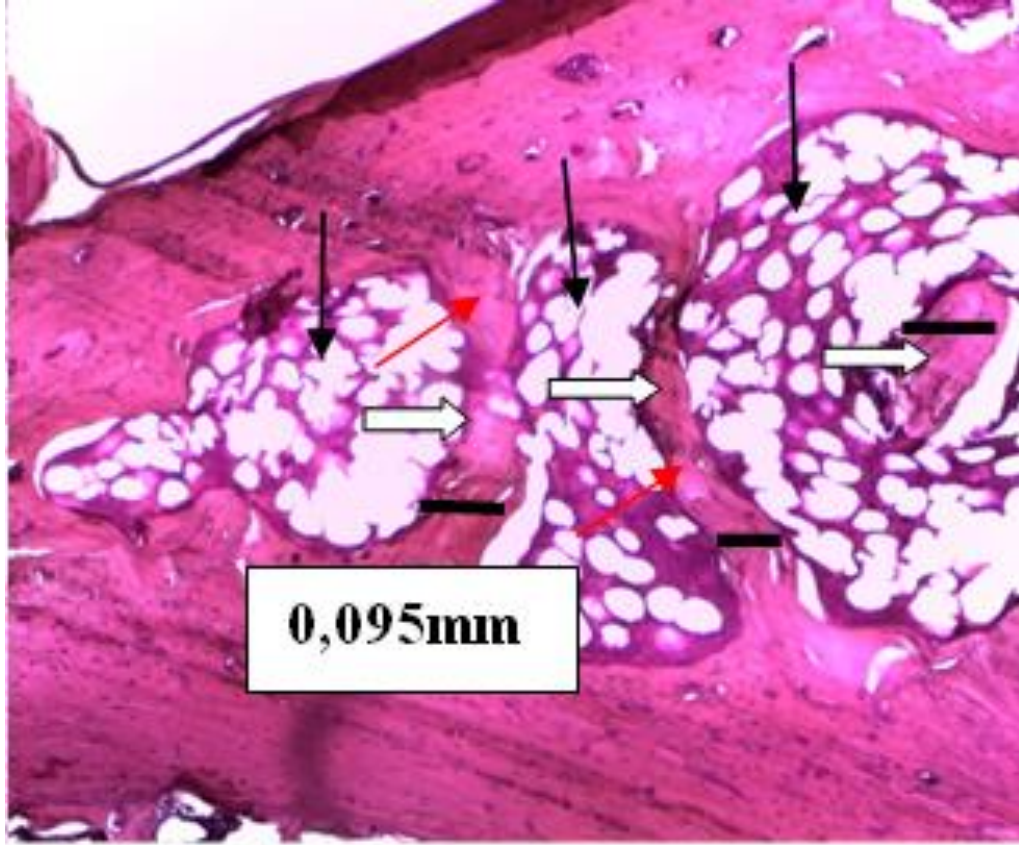
Resim 13. Deney grubu sağ femur kemiği defekt bölgesi. Siyah ok kemik iliğini, beyaz ok yeni kemikleşme alanlarını, kırmızı oklar ise osteoblastları göstermektedir. Otojen greftleme ve LED fototerapi sonrasında, kemik iliği oluşumu ve yeni kemikleşme alanları ile birlikte belirgin sayıda osteoblast oluşumu görölmektedir.



Resim 14. Deney grubu sol femur kemiği defekt bölgesi. Siyah ok kemik iliğini, beyaz ok yeni kemikleşme alanlarını, kırmızı oklar ise osteoblastları göstermektedir. Bio-Oss ile greftleme ve LED fototerapi sonrasında kemik iliği oluşumu ve yeni kemikleşme alanları ile paralel olarak osteoblast oluşumu gözlemlenmiştir.



Resim 15. Deney grubu sağ femur kemiği defekt bölgesi. Siyah ok kemik iliğini, beyaz ok yeni kemikleşme alanlarını, siyah çizgi yeni kemikleşme alanı ölçümünü, kırmızı oklar ise osteoblastları göstermektedir. Otojen greftleme ve LED fototerapi sonrasında, kemik iliği oluşumu ve yeni kemikleşme alanları ile birlikte belirgin sayıda osteoblast oluşumu görülmektedir.



Resim 16. Deney grubu sol femur kemiği defekt bölgesi. Siyah ok kemik iliğini, beyaz ok yeni kemikleşme alanlarını, siyah çizgi yeni kemikleşme alanı ölçümünü, kırmızı oklar ise osteoblastları göstermektedir. Bio-Oss ile greftleme ve LED fototerapi sonrasında kemik iliği oluşumu ve yeni kemikleşme alanları ile paralel olarak osteoblast oluşumu gözlemlenmiştir.

4.3. İstatistiksel Sonuçlar

Sağ ve sol gruplarda ayrı ayrı olmak üzere hem yeni kemik oluşumu hem de osteoblast sayısı özellikleri bakımından Grup 1 ve Grup 2 sıra ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.01$). Yani sağ grupta yeni kemik oluşumu özelliği bakımından deney grubunun daha yüksek değerler aldığı görülmüştür ($p < 0.01$). Bu durum sol grupta yeni kemik oluşumu özelliği bakımından da deney grubunun daha yüksek değerler aldığı şeklinde görülmüştür ($p < 0.01$).

Sağ grupta osteoblast özelliği bakımından deney grubunun kontrol grubundan daha yüksek değerler aldığı görülmüştür ($p < 0.01$). Bu durum sol

grupta da osteoblast özelliği bakımından da deney grubunun daha yüksek değerler aldığı görülmüştür ($p<0.01$) (Tablo 7).

Deney grubu ve kontrol grubu ayrı ayrı olmak üzere hem yeni kemik oluşumu hem de osteoblast sayısı özelliği bakımından sağ ve sol grupların sıra ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemli değildir ($p>0.05$). Yani deney grubu yeni kemik oluşumu özelliği bakımından sağ ve sol gruplarda sıra ortalamalarının benzer değerler aldığı görülmüştür. Bu durum kontrol grubunda da yeni kemik oluşumu özelliği bakımından sağ ve sol gruplarda sıra ortalamalarının arasındaki fark istatistik olarak önemli değildir ($p>0.05$) (Tablo 8).

Deney grubunda osteoblast özelliği bakımından sağ ve sol gruplarda sıra ortalamalarının yine benzer değerler aldığı görülmüştür ($p>0.05$). Bu durum kontrol grubunda osteoblast özelliği bakımından sağ ve sol gruplarda sıra ortalamalarının arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğu bulunmuştur ($p>0.05$) (Tablo 9).

Tablo 7. Deney grubu ve kontrol grubunun karşılaştırılması için uygulanan Mann Whitney U testi sonuçları

	Grup	N	Sıra Ortalaması	Toplam Değerler
Sağ grupta yeni kemik alanı oluşumu	1	12	16,00	192,00*
	2	12	9,00	108,00
	Toplam	24		
Sol grupta yeni kemik alanı oluşumu	1	12	16,00	192,00*
	2	12	9,00	108,00
	Toplam	24		
Sağ grupta osteoblast sayısı	1	12	16,00	192,00*
	2	12	9,00	108,00
	Toplam	24		
Sol grupta osteoblast sayısı	1	12	16,00	192,00*
	2	12	9,00	108,00
	Toplam	24		

Grup 1 Deney Grubu, Grup 2 Kontrol Grubu.

$p<0.01$, ($p:0.008$)

Deney grubu her kriterde anlamlı olarak yüksek değerler almıştır.

Tablo 8. Deney grubu için uygulanan Wilcoxon işaret testi sonuçları

		N	Sıra Ortalaması	Toplam Değer
Sol grupta yeni oluşan kemik alanı ve Sağ grupta yeni oluşan kemik alanı	Negatif Değer	8 ^{b*}	5,13	41,00
	Pozitif Değer	2 ^c	7,00	14,00
	Eşitlik	2 ^d		
	Total	12		
Sol grupta osteoblast sayısı ve sağ grupta osteoblast sayısı	Negatif Değer	8 ^{e*}	5,19	41,50
	Pozitif Değer	2 ^f	6,75	13,50
	Eşitlik	2 ^g		
	Total	12		

a. Grup 1 = Deney Grubu

b. Sol grupta yeni oluşan kemik alanı < Sağ grupta yeni oluşan kemik alanı

c. Sol grupta yeni oluşan kemik alanı > Sağ grupta yeni oluşan kemik alanı

d. Sol grupta yeni oluşan kemik alanı = Sağ grupta yeni oluşan kemik alanı

e. Sol grupta osteoblast sayısı < Sağ grupta osteoblast sayısı

f. Sol grupta osteoblast sayısı > Sağ grupta osteoblast sayısı

g. Sol grupta osteoblast sayısı = Sağ grupta osteoblast sayısı

p>0.05 (p:0.169, p:0.153)

Sağ gruptaki değerler daha yüksek olmasına rağmen, deney grubu içerisindeki sağ ve sol gruplarda hiçbir kriter açısından anlamlı fark bulunmamıştır.

Tablo 9. Kontrol grubu için uygulanan Wilcoxon işaret testi sonuçları

		N	Sıra Ortalaması	Toplam Değer
Sol grupta yeni oluşan kemik alanı ve Sağ grupta yeni oluşan kemik alanı	Negatif Değer	2 ^b	3,50	7,00
	Pozitif Değer	2 ^c	1,50	3,00
	Eşitlik	8 ^{d*}		
	Toplam	12		
Sol grupta osteoblast sayısı ve sağ grupta osteoblast sayısı	Negatif Değer	2 ^e	3,50	7,00
	Pozitif Değer	2 ^f	1,50	3,00
	Eşitlik	8 ^{g*}		
	Toplam	12		

a. Grup 2 = Kontrol Grubu

b. Sol grupta yeni oluşan kemik alanı < Sağ grupta yeni oluşan kemik alanı

c. Sol grupta yeni oluşan kemik alanı > Sağ grupta yeni oluşan kemik alanı

d. Sol grupta yeni oluşan kemik alanı = Sağ grupta yeni oluşan kemik alanı

e. Sol grupta osteoblast sayısı < Sağ grupta osteoblast sayısı

f. Sol grupta osteoblast sayısı > Sağ grupta osteoblast sayısı

g. Sol grupta osteoblast sayısı = Sağ grupta osteoblast sayısı

p>0.05 (p:0.461)

Kontrol grubu içerisindeki sağ ve sol gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

5. TARTIŞMA

Son yıllarda oral ve maksillofasial cerrahideki greft uygulamaları sonrasında hızlı bir şekilde kemikleşmenin sağlanması için çeşitli hızlandırıcı terapilerin kullanılması popüler hale gelmiştir. Bu amaçla; ultrason uygulaması, hiperbarik oksijen tedavisi, düşük yoğunlukta lazer terapisi, elektromanyetik terapi kullanılmıştır. Son zamanlarda ise yeni bir teknik olan LED fototerapi uygulamaları kullanılmaya başlanmıştır. LED fototerapi yeni bir teknik olmasına rağmen henüz kesin bir uygulama protokolü yoktur. Bu sebeple bu çalışmada, 14 gün boyunca 10dk süreyle uygulanan LED fototerapinin kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda ratların sağ ve sol femurlarında defektler oluşturulmuş, sağ defekte otojen greft, sol defekte ise sığır kaynaklı bir greft olan Bio-Oss uygulanmıştır. Operasyon sonrasında ratlar 14 gün boyunca 10dk'lık LED fototerapi uygulamasına maruz bırakılmıştır. Deney sonucunda defektlerdeki kemik iyileşmesi üzerine LED fototerapinin etkileri histolojik olarak incelenmiştir.

Bu çalışmamızda deney hayvanı olarak Wistar albino cinsi erkek ratlar kullanılmıştır. Menstrual siklus sırasındaki hormonal değişiklikler ile kemik iyileşmesi etkilenebilmektedir. Bunun için dişi ratlar çalışmamızda kullanılmamıştır. Östrojen salgısının ve menstrual siklusun olmaması nedeniyle sadece erkek ratlar çalışmaya dahil edilmiştir. Literatürdeki yine benzer çalışmalarda Wistar albino cinsi ratlar seçilmiştir (60). Wistar albino cinsi 24 tane erkek rat ile çalışma yapılmıştır. Çalışmaya dahil edilen 24 ratın beslenmeleri ve genel sağlık durumları günlük takip edilmiştir. Stuermer ve arkadaşlarının 30 rat üzerinde yaptıkları bir çalışmada, anesteziye bağlı olarak 2 adet ratın, postoperatif olarak da 1 adet ratın öldüğü bildirilmiştir. Fakat bizim çalışmamızda anestezi sırasında veya sonrasında herhangi bir komplikasyon ile karşılaşmamıştır. Çalışma sonuna kadar hiçbir ratta ölüm vakası görülmemiştir. Bunun sebebi olarak ise bütün deney hayvanlarının ayrı kafeslerde tutulması ve düzenli postoperatif takip gösterilebilir (61).

Deney başlangıcında ve sakrifikasyondan önce ratların, yapılan ağırlık ölçümleri sonuçları istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Deney başlangıcında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Sakrifikasyon öncesi yapılan ölçümlerin sonuçlarında, deney grubundaki ratların ağırlıklarının anlamlı bir şekilde azaldığı sonucuna ulaşılmıştır. Fakat kontrol grubunda yapılan deney başlangıcı ve sakrifikasyon öncesindeki ölçümler arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bunun nedeni olarak metabolizmayı hızlandıran LED fototerapinin etkisi düşünülebilir ama ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Brawn ve arkadaşlarının yaptıkları 2007 tarihli bir çalışmada sonuçlar fototerapi ile hücrel metabolizmanın hızlandığı yönündedir, ATP üretiminin artması ile iskemik, zarar görmüş, toksik veya zayıf perfüzyonlu hücrelerin fonksiyonunda ve metabolizmasında artış gözlenmiştir (40).

Ratların mandibula veya maksillasında bu bölgedeki çalışma zorluğu, ratların diyetlerinde çıkabilecek problemler ve diyetlerinde değişiklik yapılması gerekliliği sebebiyle işlem yapılamamaktadır. Bu nedenle femur kemiği operasyon yapılacak bölge olarak seçilmiştir. Maksiller ve mandibuler kemiklerin iyileşmeleri intramembranöz kemikleşme yoluyla olmaktadır fakat kemikleşme tipleri birbirlerinden farklı bile olsa, yapılan çalışmalarda vücudun herhangi bir bölgesindeki kemik dokusunun iyileşmesi bulgularının başka bir bölge için de geçerli olabileceği düşünülmektedir. Femoral bölgenin bir avantajı ise, sağ ve sol femurların kullanılıp sonuçların karşılaştırılabilmesidir (62). Bu sebeplerden dolayı yaptığımız çalışmada femur bölgesi seçilmiştir. Femur bölgesinde yaptığımız işlemler sırasında veya sonrasında herhangi bir fraktür veya başka bir komplikasyon ile karşılaşılmamıştır. İşlem öncesinde, sırasında veya sonrasında deney tamamlanmadan önce deney hayvanlarının hiçbiri ölmemiştir.

Yapılan bu çalışmada ratların femurlarına trefin frezler yardımıyla 3mmlik defektler açılmıştır. Bu defektler oluşturulurken ratların femurlarında herhangi bir fraktür görülmemiştir. Yapılan çalışmalarda benzer olarak ratların femurlarına 3mmlik defektler açılmakta ve greftler uygulanmaktadır. Fındık ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada 24 ratın kullanıldığı bir deneyde 5 fraktür kırığı görülmüştür. Bunun nedeni olarak ise femurda yanyana 2 defekt açılırken

defektler arasında 3 mm'den daha az mesafe bırakıldığı için bu komplikasyon ile karşılaşıldığı bildirilmiştir (63).

Kritik boyutlu defekt, bir hayvanda herhangi bir osteopromotif bir materyal kullanılmadan yaşam boyu spontan olarak kemik yapımı (dolumu) ile iyileşme gösteremeyen en küçük boyutlu kemik defekti olarak tanımlanmaktadır. Bu tip defektler kemik dolumundan çok, fibroz bağ dokusuyla dolumu ve iyileşme eğilimi göstermektedirler (64). Ratlarda kalıcı bir kemik defekti oluşturulabilmesi için femur kemiklerinde 3mm çapında bir defekte ihtiyaç duyulmaktadır (65). Bundan dolayı çalışmamızdaki defektlerin herbiri 3mm çapında olacak şekilde açılmıştır.

Çalışmamızda LED fototerapi uygulaması öncesinde deney hayvanlarına herhangi bir premedikasyon yapılmamıştır. Ratlar, özel olarak hazırlanmış polietilen silindirik aygıtlar içerisine yerleştirilmiştir ve LED fototerapi uygulaması gerçekleştirilmiştir. Hayvanların aygıtlar içerisine yerleştirilmeleri esnasında herhangi bir zorluk ile karşılaşılmamış ve 10dklık süre içerisinde bir sorun yaşanmamıştır. Soares ve arkadaşlarının yaptıkları benzer bir çalışmada ratlara LED fototerapi uygulaması yapılırken sedasyondan kaçınılmıştır (66). Çalışmamızda 14 gün boyunca LED fototerapinin tekrarlanmasından ve sedatif ilaçlara bağlı komplikasyonların gelişebilecek olmasından dolayı LED fototerapi uygulaması öncesinde herhangi bir sedatif madde kullanılmamıştır. Buna rağmen denekler kolay bir şekilde polietilen aygıtlara yerleştirilebilmiş ve LED fototerapi uygulaması yapılabilmektedir.

Fototerapideki fizyoloji; sitokrom c oksidaz tarafından fotonların emilmesi ve bunun sonucu olarak selüler metabolizmadaki değişiklik olarak açıklanabilir (67). ATP üretiminin artması ile iskemik, zarar görmüş, toksik veya zayıf perfüzyonlu hücrelerin fonksiyonunda ve metabolizmasında artış gözlenebilir (40).

Işık tedavisi ile osteoblastların sayısı ve aktivitesi artmaktadır. Osteoblastlardaki bu proliferasyon ve diferansiyasyon artışı, ışık tedavisi görmeyen vakalarla kıyaslandığında, kemik iyileşmesinde kalsiyum

akümülyasyonunun artmasına yol açmaktadır. Lazer ve LED terapi TGF-B1 ve başka diğer mediyatörlerin de açığa çıkmasına sebep olmaktadır. Lazer veya LED kullanımı ile hidroksiapatit depozisyonu artmaktadır ve ayrıca olgun osteoblastlarda hidroksiapatit sekresyonu artmaktadır. Artan hidroksiapatit yoğunluğu kemikteki mineral yoğunluğu ile ilişkilidir ve yüksek kalsiyum alımı ile kemik mineral yoğunluğu artmaktadır. Hidroksiapatit depozisyonu kemiğin olgunlaştığını göstermektedir. Bizim yaptığımız bu çalışmada da LED fototerapi uygulaması ile, kemikteki osteoblast sayısı ve yeni oluşan kemik alanı artmıştır (68).

LEDler, lazerlere etkili bir alternatiflerdir. LEDler optimal dalga boyunda ve enerji seviyesinde ışın yaymaktadırlar. Böylece doku zararı görülmemektedir. Bunun ötesinde, LED terapi, FDA tarafından onaylanmıştır ve insanlarda kullanılmasında herhangi bir risk faktörü yoktur (69).

Bu çalışmada hızlandırıcı aygıt olarak LED fototerapi cihazı seçilmiştir. LEDlerin lazerlere oranla birçok avantajı bulunmaktadır bunlar; uçlar kullanılarak uygulama kolaylığı sağlaması, daha küçük olmaları ve daha düşük enerji seviyesine sahip olmalarıdır. Lazerlerle kıyaslandığında daha düşük enerji seviyesine sahip oldukları için herhangi bir göz zararına neden olmazlar. Son çalışmalarda LED ile düşük doz lazer terapisinin benzer terapötik etkilere sahip olduğu görülmüştür. Hayvan çalışmalarında düşük doz lazer tedavisinin, ratların kafataslarında oluşturulan cerrahi defektlerdeki otojen ve zenogreftlerin iyileşmesini hızlandırdığı görülmüştür (40).

Çalışmamızda LED fototerapi 14 gün boyunca 10dklık süreyle uygulanmıştır. Şu anda LED fototerapinin uygulamasına yönelik kesin bir protokol mevcut değildir. Yapılan çalışmalarda LED fototerapi uygulaması farklı şekillerde gerçekleştirilmiştir. Farklı çalışmalarda LED fototerapi protokolleri; bazı çalışmalarda hergün (76), bazılarında 24 saatlik aralıklarla (78), bazı çalışmalarda ise 48 saatlik aralıklarla (66,70) uygulanmıştır. Bizim 10dklık süreyle 14 gün boyunca uygulanan bir protokol seçmemizin nedeni, uygulama süresinin kısaltılıp ratlar üzerinde oluşabilecek stresin en aza indirgenmesi, kısa süreli terapilerin de yarar sağlayabileceğinin irdelenmesi ve böylece erken kemik

iyileşmesinin üzerine LED fototerapinin etkisinin değerlendirilebilmesidir. Farklı protokoller ile LED fototerapi uygulaması sonucunda yapılan tüm çalışmalarda, bizim çalışmamız da dahil olmak üzere, kemik iyileşmesinin hızlandırılabileceği sonucuna varılmıştır.

In vitro ve in vivo olarak yapılan birkaç çalışma, LED fototerapinin doku yenilenmesini etkilediği gösterilmiştir. Bununla birlikte, bu mekanizma daha halen tam olarak anlaşılammıştır. LED fototerapinin etkilerinin lazer tedavisiyle benzer pozitif etkilerinin olduğu düşünülmektedir. In vitro ve in vivo çalışmalarda, normal ve patolojik durumlarda, LED fototerapinin yararlı etkileri rapor edilmiştir. Bu sonuçlar da bizim çalışmamızla uyumludur ve oluşan kemikteki osteoblast sayısı ve yeni oluşan kemik alanının artmasına yol açmaktadır (70,71).

Pinheiro ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları bir çalışmada, kemik defektleri Hidroksiapatit + Beta-Trikalsiyum Fosfat ile doldurulmuş ve iki farklı ışık kaynağı uygulanmıştır. Bu çalışmadaki amaç, mineralizasyon ve remodelasyondaki biokimyasal değişiklikleri saptamaktır. 60 Wistar rat 6 gruba ve daha sonra 2 alt gruba ayrılmıştır. (Ratlara 15. ve 30.günlerde sakrifikasyon uygulanmıştır.) Her deney hayvanının femurunda standart cerrahi defekt oluşturulmuştur. 3 grupta defektler pıhtı ile doldurulmuştur. Bir grupta herhangi bir terapi uygulanmamış, bir grupta lazer uygulanmış ve bir grupta da LED fototerapi uygulanmıştır. (pıhtı, pıhtı+lazer, pıhtı+LED grupları) Diğer 3 grupta defektler biomateryal ile doldurulmuştur. Biomateryal ile doldurulan bir grupta terapi uygulanmamış, bir grupta lazer terapisi uygulanmış ve bir grupta da LED fototerapi uygulanmıştır. (Biomateryal, Biomateryal+lazer, Biomateryal+LED grupları) Lazer (780 nm, 70 mW, U 0.4 cm²) veya LED fototerapi (850 ± 10 nm, 150 mW, U 0.5 cm²) uygulaması 2 hafta boyunca 48 saatlik aralıklarla gerçekleştirilmiştir. Sakrifikasyondan sonra, kemik örnekleri, Raman spektroskopisi ile incelenmiştir. İstatistiksel analiz sonuçları, şu değişkenlerde belirgin farklı oranlar göstermiştir; kollajen maturasyonu, mineralizasyon, karbonat oluşumu, kemik maturasyonu. 30. günde pıhtı ve biomateryal gruplarındaki oranlar, matur olmayan kollajen depozisyonunun artmış olduğunu

göstermektedir. Biomateryal grubunda kollajen maturasyonu daha fazla bulunmuştur. Işık kaynağından bağımsız olarak, ışık terapisi ile sadece kollajen depozisyonunun belirgin olarak arttığı bulunmuştur. Deney sonunda, pıhtı grubunda, tip I kollajen miktarı daha fazla olarak saptanmıştır. Diğer yandan, tip I kollajen depozisyonu, ışık terapisi almış biomateryal grubunda azalmıştır. Lazer veya LED terapisi ile ilişkisiz olarak, artmış hidroksiapatit depozisyonundan dolayı, hidroksiapatit+Beta trikalsiyum fosfat grefti kemik defektlerinin iyileşmesini hızlandırmaktadır. Bu çalışmadaki sonuçlar da bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir. Bio-Oss uyguladığımız defektlere LED uygulaması yapılması ile yeni oluşan kemik alanı arttırılabilmektedir. Sonuç olarak biomateryal tipleri farklı dahi olsa LED uygulaması ile kemik oluşumu hızlandırılabilir (71).

Kemik dokusu kaybının tedavisi zor gerçekleştirilir ve iyileşmeyi hızlandırmak için birçok teknik sunulmuştur. Biomateryal kullanımı ve son zamanlarda ışık terapileri geniş bir alan oluşturmaktadır. Soares ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptıkları bir çalışmada, oluşturulan kemik defektleri hidroksiapatit+beta trikalsiyum fosfat ile greftlendikten sonra LED fototerapi uygulaması yapılmıştır. Yapılan bu çalışmada hedef; bifazik granüler hidroksiapatit+beta trikalsiyum fosfat ile greftlenen defektlere LED fototerapi uygulandıktan sonra kemik iyileşmesindeki histolojik analizlerinin incelenmesidir. 40 rat 4 gruba ayrılmıştır. (Pıhtı, LED, Biomateryal, Biomateryal+LED) Bu grupların herbiri içerisinde 2 alt gruba ayrılmıştır. (15. ve 30. günlerde sakrifikasyon) Trefin frez ile her deney hayvanının femurunda kemik defektleri oluşturulmuştur. Pıhtı grubundaki defektler sadece pıhtı ile doldurulmuştur. LED grubundaki defektler ise pıhtı ile doldurulduktan sonra LED uygulamasına tabii tutulmuşlardır. Biomateryal+LED grubunda ise defektler biomateryal ile doldurulduktan sonra, 2 hafta boyunca 48 saatlik aralıklarla ışık terapisi uygulanmıştır. Sakrifikasyondan sonra, femur örnekleri alınmış ve ışık mikroskopunda incelenmiştir. Deney sonucunda görülmüştür ki biomateryal+LED grubu en gelişmiş kemik iyileşmesi evresinde olarak saptanmıştır. Sonuç olarak, biomateryal uygulanan ya da uygulanmayan defektlerde, LED fototerapi ile kemik iyileşmesinin hızlandırılabileceği

saptanmıştır. Bizim yaptığımız çalışmada da otojen greft ya da Bio-OSS uygulanan defektlerde, LED uygulaması ile her iki grupta da kemik iyileşmesinin hızlandığı görülmüştür. Biomateryal tipleri ve LED terapi protokolleri farklı olsa bile sonuç olarak kemik iyileşmesinin hızlandırılabilceği görülmüştür (66).

Ortopedi ve diş hekimliğinde, kemik rejenerasyonunun hızlandırılması için lazer uygulaması yüksek bir potansiyel barındırmaktadır. Pagin ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları bir çalışmada, LED fototerapi ile kemik büyümesinin indüklenebildiği sonucuna ulaşılmıştır. Lazer ve LED terapisinin pre-osteoblast gelişimi ve diferansiyasyonu üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bu çalışmanın amacı, LED terapisi ve lazer terapisinin pre-osteoblast MC3T3 proliferasyonu ve diferansiyasyonu üzerindeki etkilerinin karşılaştırılmasıdır. Hücreler red, infrared ve LED ışınlarına maruz bırakılmışlardır. Kontrol grubuna ise ışık terapisi yapılmamıştır. Hücre büyümesi kolorimetrik test ile ölçülmüştür (24,48,72 ve 96. saatlerde). Hücre diferansiyasyonu ise Alkalın Fosfataz sayımı ile değerlendirilmiştir (72,96. saatlerde; 7 ve 14. günlerde). 24. saatte, hücre büyümesi kontrol grubuna oranla; LED ile 3.6 kat, kırmızı lazer (3 J/cm²) ile 6.8 kat, kırmızı lazer (5 J/cm²) ile 10.1 kat artmıştır. (p<0.05) Diğer periyotlarda hücre büyümeleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. (p>0.05) ALP üretimi hiçbir zaman aralığında ışık terapisinden etkilenmemiştir. (p>0.05) İlk 24 saatte ışık kaynakları arasında anlamlı farklar olmasına rağmen bu fark ilerleyen zamanlarda ortadan kaybolmuştur. Bu çalışmadan çıkarılabilecek sonuç; lazer ve LED fototerapinin hücre büyümesi üzerinde benzer etkilerinin olduğu fakat hücre diferansiyasyonunda herhangi bir etkisinin olmadığı yönündedir. Bizim yaptığımız çalışmada da LED fototerapinin kemik iyileşmesini benzer şekilde hızlandırdığı sonucuna ulaşılmıştır (72).

Rosa ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları bir çalışmada erken dönemdeki kemik iyileşmesinin 1.,3. ve 5. günlerdeki LED fototerapi ile indüklenebileceği görülmüştür. Hızlı maksilla ekspansiyonu yapılan ratlara uygulanan LED fototerapinin midpalatal suturedeki kemik formasyonuna olan etkileri incelenmiştir. 20 yetişkin erkek rat 4 gruba ayrılmıştır; grup 1 kontrol grubu, grup 2 ekspansiyon grubu, grup 3 ekspansiyon ve lazer grubu, grup 4

ekspansiyon ve LED grubudur. Deney süresi 8 gündür. 3. ve 4. gruplarda ışık terapileri 1., 3. ve 5. günlerde uygulanmıştır. Bütün deneklerde, ekspansiyonlar helikoid 0.020” paslanmaz çelik ortodontik yaylarla gerçekleştirilmiştir. Çalışmada diod lazer (λ 780 nm, 70 mW, spot of 0.04 cm², t=257 s, spatial average energy fluence (SAEF) of 18 J/cm²) ve LED (λ 850 nm, 150 mW±10 mW, spot of 0.5 cm², t=120 s, SAEF of 18 J/cm²) kullanılmıştır. Alınan örnekler, midpalatal sütür bölgesinde ve suture yakın kortikal alanda Raman spektroskopisiyle incelenmiştir. Alınan sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Ekspansiyon grubu ve LED ya da lazer grupları arasında hidroksiapatit yoğunlukları açısından anlamlı farklar bulunmuştur. (p<0.05) LED grubunda en yüksek hidroksiapatit değerleri saptanmıştır. Işın tedavisi uygulanan gruplar arasında, kollajen depozisyonu açısından anlamlı farklar yoktur fakat LED grubu en yüksek değerlere sahiptir. Sonuç olarak, uygulanan Raman spektroskopisi ile ortodontik ekspansiyon sonrasında midpalatal sütür bölgesinde, lazer ve LED terapileri sayesinde hidroksiapatit depozisyonu artmaktadır. LED grubunda en yüksek hidroksiapatit değerlerinin bulunması LED fototerapinin Lazer terapisine iyi bir alternatif olabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada bizim çalışmamızdan farklı bir fototerapi protokolü uygulanmasına rağmen, benzer şekilde LED fototerapi uygulaması ile kemik iyileşmesinin hızlandırılabilmesi görülmüştür (73).

Lim ve arkadaşlarının 2014 yılındaki yaptıkları bir çalışmada, fareden elde edilen çeşitli hücrelerdeki, LED fototerapinin, osteoklast(özellikle yuvarlak şekilli) formasyonu ve aktivitesi üzerine etkisi incelenmiştir. 635 nm dalga boyundaki LED fototerapisinden sonra, hücre yaşamı MTT analizi ile değerlendirilmiştir. Total tartrate dirençli asit fosfataz miktarı (TRAP) ve yuvarlak şekilli osteoklast sayıları ayrı ayrı incelenmiştir. Ek olarak, kontrol ve LED grubundaki gen ekspresyon seviyeleri RT-PCR ile değerlendirilmiştir. Morfolojik analizde, farklı hücre tiplerinde, yuvarlak şekilli osteoklast formasyonu belirgin bir şekilde LED fototerapi tarafından inhibe edilmiştir. Kontrol grubuna oranla, LED fototerapi uygulanan gruptaki yuvarlak şekilli osteoklast sayısı ve kemik rezorpsiyonu aktivitesi belirgin derecede daha az bulunmuştur. Bununla birlikte, aktin halka formasyonunu sağlayan integrin beta-3 ve c-Src seviyeleri de düşük bulunmuştur. Yaptığımız çalışmada LED fototerapi uygulanan ratlardaki

histolojik incelemelerde osteoklast varlığı saptanamamıştır. Sonuç olarak, 635 nm dalga boyuna sahip fototerapi kemik remodelasyonunda önemli bir rol oynamaktadır ve bu sayede osteoporoz veya diğer rezorptif kemik hastalıklarını önlemek için yararlı bir araç olarak kullanılabilir (74).

Aciole ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları bir çalışmada, amaç; overektomi yapılan, LED fototerapi uygulanan ve uygulanmayan ratlardaki femural kemik defektlerindeki, fosfat hidroksiapatit, karbonat hidroksiapatit ve lipid-protein düzeylerini gözlemlemektir. 30 dişi rat 4 gruba ayrılmıştır. (Bazal, OVX, OVX+Pıhtı, OVX+Pıhtı+LED) Daha sonra 2 alt gruba ayrılmıştır. (15. ve 30. günlerde sakrifikasyon) Tüm deneklerde, bazal grup hariç, overektomi ile osteoporoz indüklenmiştir. Deney hayvanlarında osteoporoz oluşturulduktan sonra, her hayvanda femur kemiğine 5mm²'lik bir defekt açılmıştır. Defektlere LED ($\lambda=850\pm 10$ nm, P=150 mW, CW, $\Phi=0.5$ cm²) terapi 2 hafta boyunca 48 saatlik aralıklarla uygulanmıştır. Raman ölçümleri cerrahiden 30 gün sonra defekt yüzeylerinden gerçekleştirilmiştir. Bazal, OVX+Pıhtı, OVX+Pıhtı+LED gruplarında; fosfat hidroksiapatit (p<0.001; 15. ve 30. günlerde), karbonat hidroksiapatit (p<0.001; 15. ve 30. günlerde), lipid-protein (p=0.002; 15. ve 30. günlerde) düzeylerinde anlamlı farklar bulunmuştur. Ek olarak, OVX, OVX+Pıhtı ve OVX+Pıhtı+LED grupları arasında, aynı pik noktalarda tüm zamanlarda anlamlı farklar bulunmuştur. (p<0.001) 15. ve 30. günlerde, OVX+Pıhtı ve OVX+Pıhtı+LED grupları arasında; fosfat hidroksiapatit(p<0.001), karbonat hidroksiapatit (p<0.001), lipid-protein (p<0.003) seviyelerinde anlamlı farklar bulunmuştur. Çalışmanın sonuçları, overektomi yapılan ratlardaki kemik defektlerine uygulanan LED fototerapinin, hidroksiapatit depozisyonunu arttırdığını ortaya koymuştur. Bu yapılan çalışmadaki protokol bizim çalışmamızdan farklı olmasına rağmen benzer şekilde LED fototerapi uygulaması ile kemik iyileşmesinin hızlandırılabilceği ortaya konulmuştur (75).

Castro ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları bir çalışmada amaç, LED uygulanan ve uygulanmayan, sağlıklı ve demir eksikliği anemisi olan, oluşturulan defektleri hidroksiapatit ile greftlenen ve greftlenmeyen ratlardaki kemik iyileşmesinin saptanmasıdır. Deney hayvanları 8 gruba ayrılmıştır; Pıhtı;

Pıhtı+LED; Anemik+Pıhtı; Anemik+LED; Graft; Graft+LED; Anemik+Graft ve Anemik+Graft+LED. LED fototerapi ($\lambda 850 \pm 10$ nm, 150 mW, CW, $\Phi=0.5$ cm², 16 J/cm²) 15 gün boyunca uygulanmıştır. Raman ölçümlerinde; fosfat apatit, karbonat apatit, protein analiz edilmiştir. Anemik ve sağlıklı ratlar arasında yapılan ölçümlerde belirgin farklar bulunamamıştır. LED+Anemik ve Anemik grup ile karşılaştırıldığında; Anemik+Graft+LED grubu fosfat apatit değerleri açısından en düşük değerleri göstermiştir ($p<0.001$). Graft+LED grubunda anemik ratlarda protein seviyeleri en düşük olarak ölçülmüştür. LED fototerapi ve graft beraber uygulandığında, hidroksiapatit oranı artmakta bununla birlikte organik komponent oranları düşmektedir. Castro ve arkadaşlarının yaptıkları bu çalışma da bizim sonuçlarımızla paralellik göstermektedir fakat LED uygulaması protokolü detaylıca açıklanmamıştır. Sonuç olarak LED uygulaması ile kemik iyileşmesinin hızlandırılabileceğini sonucunu ortaya koymaktadır (76).

Soares ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları bir çalışmada, lazer veya LED fototerapilerinin, bifazik sentetik mikrogranüler hidroksiapatit + beta trikalsiyum fosfat ile greftlenen defektlerdeki iyileşmeyi etkileyip etkilemediği incelenmiştir. Bu çalışmada, hayvan örneklerinde raman spektroskopisi ile inorganik (~ 960 , $\sim 1,070$ cm⁻¹) ve organik ($\sim 1,454$ cm⁻¹) içerikler incelenmiştir. Çalışmada 6 grup mevcuttur, bunlar; pıhtı, lazer, LED, biomateryal, lazer+biomateryal ve LED+biomateryal gruplarıdır. Deney hayvanlarının sağ tibialarında drill ile defektler oluşturulmuştur. LED uygulanacak gruptaki defektler 2 hafta boyunca 48 saatlik aralıklarla fototerapiye maruz bırakılmışlardır. 15. ve 30. günlerde deney hayvanları sakrifiye edilmiş ve alınan örnekler incelenmiştir. ~ 960 -cm⁻¹'de ölçülen uç değer, pıhtı ve biomateryal ile doldurulan defektlerde fototerapi ile belirgin derecede etkilenmiştir. $\sim 1,070$ -cm⁻¹'de ölçülen uç değer, pıhtı ile doldurulan defektlerde, hem zaman ile hem LED fototerapi ile belirgin derecede etkileşim göstermiştir. Biomateryal ile doldurulan defektlerde sadece lazer kullanımı ile anlamlı sonuçlar elde edilebilmiştir. $\sim 1,454$ -cm⁻¹'de ölçülen uç değer, pıhtı ile doldurulan defektlerde, zaman ve fototerapi ile anlamlı bir etkileşim göstermemiştir. Raman spektroskopisi ile yapılan ölçümlerde, hem mineral hem matriks komponentlerinde, biomateryal kullanılan veya kullanılmayan defektlerde, lazer ve LED fototerapi kullanımı ile kemik

defektlerindeki iyileşme geliştirilmiştir. Benzer olarak bu çalışmada da LED fototerapi uygulamasının kemik iyileşmesi üzerinde pozitif etkileri rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise biomateryal uygulanan veya uygulanmayan defektlerde osteoblast sayısı ve yeni kemik alanları artmıştır, LED fototerapi uygulaması ile biomateryal tipleri farklı olsa bile kemik iyileşmesinin hızlandırılabilceği görülmüştür (77).

Soares ve arkadaşlarının yaptıkları bir diğer çalışmada, hidroksiapatit ile greftlenen ve greftlenmeyen defektlere uygulanan LED fototerapinin etkileri Raman spektroskopisiyle incelenmiştir. Birçok etiyolojik faktöre bağlı biçimde oluşan kemik kayıplarının tedavileri zordur ve bu iyileşmeyi geliştirebilmek için; biomateryal kullanımı ve son günlerde fototerapi uygulamaları kullanılmaktadır. Yapılan bu çalışmada raman spektroskopisi kullanılarak kemik dokusundaki, hem inorganik (~ 960 , $\sim 1,070$, and $1,077 \text{ cm}^{-1}$) hem de organik ($\sim 1,454$ and $\sim 1,666 \text{ cm}^{-1}$) içeriklerin mineralizasyon seviyeleri değerlendirilmiştir. Ratlar 4 gruba ve daha sonra iki alt gruba (15. ve 30. günlerde sakrifiye) ayrılmıştır. Cerrahi defektler her deney hayvanının femurunda trefin frezler yardımıyla oluşturulmuştur. Pıhtı grubunda defektler sadece pıhtı ile doldurulmuştur, LED grubunda ise defekt pıhtı ile doldurulduktan sonra LED fototerapi uygulanmıştır. Biomateryal ve LED+biomateryal gruplarında iki grup da biomateryal ile doldurulmuş fakat ikinci gruba LED fototerapi ($\lambda 850 \pm 10 \text{ nm}$, 150 mW , $\Phi \sim 0.5 \text{ cm}^2$, 20 J/cm^2 , 140 J/cm) 2 hafta boyunca 24 saatlik aralıklarla uygulanmıştır. 15. ve 30. günlerde deney hayvanları sakrifiye edilmiş ve alınan örnekler raman spektroskopisiyle incelenmiştir. Deney sonunda hidroksiapatit değerleri, LED+biomateryal grubunda yüksek bulunmuştur, yine aynı grupta organik içerik değerleri daha az olarak saptanmıştır. Sonuç olarak, Raman spektroskopisi sonucunda ulaşılan artmış hidroksiapatit değerlerine dayanarak, biomateryal kullanımı sonrasında LED fototerapi uygulamasının, bizim çalışmamızdaki osteoblast sayısı ve yeni kemik alanı artışı gibi parametrelerin ışığında, kemik iyileşmesinde etkili olduğu sonucuna ulaşılabilmektedir (78).

Literatürdeki çalışmalarda LED fototerapi uygulamaları farklı protokollerle gerçekleştirilmiştir. Bazı araştırmacılar 24 bazı araştırmacılar ise 48

saatte bir 20dk süreyle LED fototerapi uygulamışlardır. Bazı literatürlerde ise protokolden detaylıca bahsedilmemiştir. Bizim yaptığımız çalışmada 14 günlük LED fototerapi uygulaması 10dk boyunca her gün uygulanmıştır. Uygulama süresi kısa tutularak ratların yaşayacakları stres en aza indirgenmeye çalışılmıştır. Sürenin 14 günle sınırlandırılması ile de kemik iyileşmesinin erken döneminin incelenmesi hedeflenmiştir. Sonuç olarak uyguladığımız bu protokol 10dklık kısa bir uygulamayla bile de kemik iyileşmesi üzerinde pozitif etkilerin görülebileceği saptanmıştır.

Ağız, diş ve çene cerrahisinde otojen greft uygulamaları altın standart olarak kabul edilmektedir. Otojen greftler kemik defektlerinin onarımında sıklıkla kullanılmaktadır. Bunun yanında piyasada bulunan kullanıma hazır kemik greftleri de mevcuttur. Bunlardan bir tanesi de çalışmamızda kullandığımız sığır kaynaklı bir biomateryal olan Bio-Oss®'tur. Çalışmamızda, LED fototerapi uygulanan deney grubundaki soketlerden sağ taraftakilere otojen greft, sol taraftakilere ise Bio-Oss® kemik grefti yerleştirilmiştir. Bu iki defektin 15. gündeki histolojik özellikleri, kontrol grubuna oranla yeni kemik alanı oluşumu ve osteoblast sayısı açısından karşılaştırılmıştır. Bizim çalışmamızda literatürden farklı olarak otojen kemik greftinin LED fototerapi ile kemikleşmesi incelenmiştir. LED fototerapi uyguladığımız deney grubunda, hem Bio-oss uygulanan soketlerde hem de otojen greft uygulanan soketlerde oluşan yeni kemik alanının ve osteoblast sayılarının anlamlı olarak daha fazla olduğu rapor edilmiştir. LED fototerapi uygulaması ile hem Bio-Oss® kemik greftinin hem de otojen kemik greftinin kemikleşme hızı arttırıldığı görülmüştür.

Yaptığımız bu çalışmada erken dönemdeki kemik iyileşmesinin hızlandırılabileceği görülmüştür, bizim çalışmamıza benzer sonuçların bulunduğu Brawn ve arkadaşlarının 2007 yılındaki yaptıkları çalışmada, Biolux LED fototerapinin, hidroksiapatit partikülleri ile greftlenmiş çekim soketlerinde, kemik formasyonu ve partikül rezorbsiyonu üzerinde pozitif etkileri olduğu görülmüştür. Biolux LED fototerapi tedavisi ile implant yerleştirilmesine kadar beklenen süre kısaltılabilmektedir. Histolojik bulgular, kemik iyileşmesinin hızlandığını ve

böylece canlı kemikte implant yerleştirilmesi için beklenmesi gereken süreyi kısalttığını düşündürmektedir (40).

Kemik iyileşmesinin hızlandırılmasının önemli olduğu noktalardan birisi de implant uygulaması sonrasındaki iyileşme periyodudur. LED fototerapi ile osteoentegrasyon hızlandırılarak implantların daha kısa sürede yüklenebilmesi sağlanabilmektedir. Brawn ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptıkları bir çalışmada 28 hastaya 45 dental implant yerleştirilmiştir. Daha sonra 21 gün boyunca 20dklık LED fototerapi (618 nm) implant bölgesine uygulanmıştır. Bütün implantlar Ostell (Ostell AB, Sweden) ile primer stabilite ve 14,30, 60 ve 90. günlerdeki stabilite test edilmiştir. LED terapi uygulanan hastalarda dental implantların stabilite ve 14,30 ve 60. günlerde anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur. 90. günde ise belirgin bir fark bulunmamıştır. Sonuç olarak, LED fototerapi uygulanan implantların stabilitesi hızlanmıştır. Bu göstermektedir ki LED fototerapi ile dental implantların osteoentegrasyonu hızlandırılabilir (79).

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Bu çalışmada kullanılan ekipman ile ve uzman bir ekip tarafından sedasyon uygulanmadan LED fototerapi uygulaması yapılabilir. Böylece ek ilaç kullanımına gerek kalmaz ve sedatif ajanlardan dolayı görülen rat ölümlerinin önüne geçilebilir.

2. Çalışma alanı küçük olmasından dolayı sağ ve sol femurların karşılaştırılması düşünülürse, LED fototerapi sırasında kontrol için kullanılması düşünülen diğer femur fototerapiden etkilenebilecektir. Çalışmanın güvenilirliği açısından, bir kontrol grubu oluşturulması gereklidir.

3. Çalışma sırasında hiçbir rat ölümü görülmemesinin sebebi olarak düzenli günlük postoperatif takip ve her ratın ayrı kafeslerde tutulması düşünülebilmektedir.

4. LED fototerapi uygulaması sırasında osteoklast aktivitesi baskılanır böylece kemik iyileşmesi safhasındaki rezorbsiyon aşaması kısalmaktadır. Bu yüzden LED fototerapi uygulaması ile kemik iyileşmesi süresi kısaltılabilmektedir. Ayrıca LED fototerapi osteoporotik hastalarda da iyi bir tedavi alternatifi olarak düşünülebilir.

5. Yapılan bu çalışmada 15. güne kadar olan erken kemik iyileşmesi açısından, LED fototerapi uygulaması ile Bio-Oss kemik greftinin kemikleşme süreci hızlandırılabilir. Aynı şekilde otojen greft uygulanan defektteki kemik iyileşmesinin de LED fototerapi uygulanarak hızlandırılabileceği sonucuna ulaşılmıştır

6. LED fototerapi uygulaması için henüz kesinleşmiş bir protokol yoktur. Yapılan çalışmalarda birçok farklı protokol uygulanmıştır. Bizim yaptığımız çalışmada ise 14 gün boyunca hergün 10 dklık LED fototerapi uygulaması ile kemik iyileşmesinin hızlandırılabileceği ortaya konulmuştur.

7. LED aygıtları lazerlere iyi bir alternatifirler ve lazerlerin neden olduğu göz zararına neden olmazlar.

8. LED fototerapi uygulaması ile kemik iyileşmesi hızlandırılabilir ve oluşan kemiğin mineralizasyon derecesi artırılabilir.

ÖZET

Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Defektlerdeki Kemik İyileşmesine Led Fototerapinin Etkisinin Değerlendirilmesi

Günümüzde oral ve maksillofasiyal cerrahide kemik grefti kullanımı gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır. Birçok ameliyat sonrasında hasta rehabilitasyonu için kemik grefti kullanılması gerekmektedir. Oral ve maksillofasiyal cerrahide greft kullanımı sonrasında kemik maturasyonu geç gerçekleşir. Hastaların rehabilitasyon süresi uzar, hastaların bu süreyi geçirmesi zordur. Bu zor ve uzun sürenin kısaltılması amacı ile lazer ve led kaynakları ile biostimülasyon gerçekleştirilerek maturasyon süresinin kısaltılması amaçlanmıştır. Diş hekimliğinde ve tıpta kemik iyileşmesi çok önemli bir yer tutar. Bu iyileşme süreci ne kadar uzarsa hastanın tedavisi ve rehabilitasyonu da o kadar zor gerçekleşmektedir. Uygulanan LED fototerapi ile kemik iyileşmesi hızlandırılabilir. Bununla birlikte yeni oluşan kemiğin kalitesi de artacaktır.

Bu çalışma 24 tane wistar albino rat üzerinde gerçekleştirilmiştir. Ratlar 2 gruba ayrılmıştır. Ratların sağ ve sol femurlarına 3 mm'lik birer tane defekt açılmıştır. Ratların sağ femurlarına otojen greftler, sol femurlarına sıgır kaynaklı kemik grefti olan Bio-Oss® (Geistlich, İsviçre) yerleştirilmiştir. Çalışma grubunda kontrol grubundan farklı olarak yara bölgesine 14 gün boyunca 10 dk süresince LED fototerapi (Osseopulse, Biolux Research Ltd., Vancouver, Canada) uygulanmıştır.

Histolojik incelemeler sonucunda LED fototerapi grubunda osteoblast sayısının ve yeni oluşan kemik alanının anlamlı olarak daha yüksek bulunduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak LED fototerapinin kemik iyileşmesini hızlandırdığı ve klinik uygulamalarda kullanılabilirliği düşünülebilir.

Anahtar kelimeler: Kemik iyileşmesi, LED fototerapi, Kemik grefti

SUMMARY

Evaluating of LED Phototherapy Effect to Bone Healing on Experimental Defects in Rats

Currently bone grafting procedures are increasingly used in oral and maxillofacial surgery. After many surgical procedures bone grafting is necessary. In oral and maxillofacial surgery, after grafting procedures, bone maturation is a slow process. Patients' rehabilitation period which is difficult for patients, is prolonged. To decrease this hard and long time, laser and led sources are used for biostimulation to accelerate bone maturation time. In dentistry and medicine, bone healing has a very important role. If this healing period is delayed, treatment and rehabilitation of patients becomes more difficult. Use of LED phototherapy accelerates bone healing. Results indicate that LED light causes quicker repair process and improves the quality of newly formed bone.

In this study, we use 24 wistar albino rats for experiment. Rats divided into two groups. 3mm defects done to each femur bones. Autologous bone grafts applied to right femors and bovine derived allogeneic bone grafts (Bio-Oss) applied to left femur bones. In the experiment group, LED phototherapy (Biolum Research Ltd., Vancouver, Canada) applied to wound for 10 minutes a day for 14 days.

In this study, effects of LED phototherapy on bone healing evaluated. Therefore possible contributions to clinical use more clearly demonstrated. There is no exact protocol to define use of LED phototherapy. We used LED phototherapy for 10 minutes a day for 14 days to bone defects and evaluated the effects of LED phototherapy to bone healing process. It may be concluded that the use of LED phototherapy was effective in the process of bone repair of bone defects in the femur of rats.

Keywords: Bone healing, LED phototherapy, Bone graft

KAYNAKLAR

- 1- Junqueira LC, Carneiro J. Temel histolojide kemik. İstanbul: Nobel Tıp Kitap Evleri; 2006:141-52.
- 2- Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Temel histoloji. İstanbul: Barış Kitapçılık, 1998: p. 132-148.)
- 3- Naftel JP, Daley WP, Lynch CJ, Haines ED, Yang G, Fratkin JD. Cartilage and bone. In: Cui D (Eds.). Atlas of histology with functional and clinical correlations. 1th ed. Philadelphia: Lippincott Williams; 2011:79-98.
- 4- Eroschenko VP. Cartilage And Bone. In: Di Fiore's atlas of histology with functional correlations. 11th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2008:79-91.
- 5- Cireli E, Genel Histoloji Hücre ve Dokular. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi 1999. s 229-249.
- 6- Parvizi J. Bone. In: Pepper D, Hetherington P (Eds.). High yield orthopaedics. 1st ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2010:61-3.
- 7- Ross MH, Wojciech P. Bone. In: Histology a test and atlas, with correlated cell and molecular biology. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2011:218-52.
- 8- Levison DA, Reid R, Burt AD, Harrison DJ, Fleming S. The locomotor system. In: Muir's testbook of pathology. 14th ed. London: Bookpower; 2008:330-3.
- 9- Marks SC, Popoff SN. Bone cell biology: The regulation of development, structure and function in the skeleton. The American J of Anatomy, 1998 (183): 1-44.
- 10- Lynch, S. E. (Ed.) Tissue Engineering applications in maxillofacial surgery and periodontics 1999.
- 11- Akay T, Genel Histoloji. Ankara: Palme Yayıncılık 2006. s 147-171.
- 12- Efeoğlu C. "Kemik Defektlerinin Otojen Trombositten Zengin Plazma (TZP) ve B-Trikalsiyumfosfat Uygulaması, Deneysel Çalışma" Doktora Tezi E.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2003.
- 13- Bruggenkate CM, Kraaijenhagen HA, Krekeler G et al. Autogeneous Maxillary Bone Grafts in Conjunction with Placement of ITI Endosseous Implants. Int J Oral Maxillfacial Surgery. 1992,21:81-84.
- 14- Demirtaş et al. The effect of hyperbaric oxygen therapy on fracture healing in nicotinized rats. Ulus Travma Acil Cerrahi Derg, May 2014, Vol. 20, No. 3
- 15- Wu D, Malda J, Crawford R, Xiao Y (2007) Effects of hyperbaric oxygen on proliferation and differentiation of osteoblasts from human alveolar bone. Connect Tissue Res 48: 206–213

- 16- Utting JC, Robins SP, Brandao-Burch A, Orriss IR, Behar J, et al. (2006) Hypoxia inhibits the growth, differentiation and bone-forming capacity of rat osteoblasts. *Exp Cell Res* 312: 1693–1702.
- 17- Heppenstall RB, Goodwin CW, Brighton CT (1976) Fracture healing in the presence of chronic hypoxia. *J Bone Joint Surg Am* 58: 1153–1156.
- 18- Laroche M, Moulinier L, Leger P, Lefebvre D, Mazieres B, et al. (2003) Bone mineral decrease in the leg with unilateral chronic occlusive arterial disease. *Clin Exp Rheumatol* 21: 103–106.
- 19- Hsieh CP, Chiou YL, Lin CY. Hyperbaric oxygen-stimulated proliferation and growth of osteoblasts may be mediated through the FGF-2/ MEK/ERK 1/2/NF- κ B and PKC/JNK pathways. *Connect Tissue Res* 2010;51:497-509.
- 20- Muhonen A, Haaparanta M, Grönroos T, Bergman J, Knuuti J, Hinkka S, et al. Osteoblastic activity and neoangiogenesis in distracted bone of irradiated rabbit mandible with or without hyperbaric oxygen treatment. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2004;33:173-8.
- 21- Ziskin, M. C. Fundamental physics of ultrasound and its propagation in tissue. *Radiographics* 1993, 13, 705-9.
- 22- Lin FH, Lin CC, Lu CM, Liu HC, Wang CY. The effects of ultrasonic stimulation on DP-bioglass bone substitute. *Med Eng Phys* 1995;17:20-26.
- 23- Tanzer M, Harvey E, Kay A, Morton P, Bobyn JD. Effect of noninvasive low intensity ultrasound on bone growth into porous-coated implants. *J Orthop Res* 1996;14:901-906.
- 24- Min-Ho Yang, et al: Application of Ultrasound Stimulation in Bone Tissue Engineering. *International Journal of Stem Cells* 2010;3:74-79.
- 25- Schortinghuis, J., Stegenga, B., Raghoobar, G. M. & De Bont, L. G. Ultrasound stimulation of maxillofacial bone healing. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003,14, 63-74.
- 26- Claes L, Willie B. The enhancement of bone regeneration by ultrasound. *Prog Biophys Mol Biol* 2007;93:384-398.
- 27- Erdogan O, Esen E. Biological aspects and clinical importance of ultrasound therapy in bone healing. *J Ultrasound Med* 2009;28:765-776.
- 28- Ebrahimi et. al. The Influence of Low-Intensity Laser Therapy on Bone Healing. *Journal of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences*. 2012; Vol. 9, No. 4.
- 29- Mester E, Mester AF, Mester A. The biomedical effects of laser application. *Lasers Surg Med*. 1985;5(1):31-9.
- 30- Ueda Y, Shimizu N. Pulse irradiation of low-power laser stimulates bone nodule formation. *J Oral Sci*. 2001 Mar;43(1):55-60.
- 31- Khadra M, Ronold HJ, Lyngstadaas SP, Ellingsen JE, Haanaes HR. Low-level laser therapy stimulates bone-implant interaction: an experimental study in rabbits. *Clin Oral Implants Res*. 2004 Jun;15(3):325-32.

- 32- Stein A, Benayahu D, Maltz L, et al. Low-level laser irradiation promotes proliferation and differentiation on human osteoblast in vitro. *Photomed Laser Surg.* 2005;23:161–166.
- 33- Trelles MA, Mayayo E. Bone fracture consolidates faster with low-power laser. *Lasers Surg Med.* 1987;7:36–45.
- 34- Ghamsuri SM, Yamada II, Acorda JA, et al. Histopathological effects of low level laser therapy on secondary healing of teat wound in dairy cattle. *Laser Ther.* 1995;8:81–88.
- 35- Mester E, Jaszagi-Nagy F. The effect of laser radiation on wound healing and collagen synthesis. *Studia Biophysica.* 1973;35:227–230.
- 36- Saperia D, Glasberg E, et al. Demonstration of elevated type I and type III procollagen mRNA levels in cutaneous wounds treated with Helium-Neon laser. Proposed mechanism for enhanced wound healing. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 1986;138:1123–1128.
- 37- Aimbire F, Albertini R, et al. Low level laser therapy induces dose dependent reduction of TNF α levels in acute inflammation. *Photomed Laser Surg.* 2006;1:33–37.
- 38- Almeida-Lopes L, Rigau J, Zangaro RA, et al. Comparison of the low level laser therapy effects on cultured human gingival fibroblasts proliferation using different irradiance and same fluence. *Lasers Surg Med.* 2001;29:198–184.
- 39- Garavello I, Baranauskas V, da Cruz Hofling MA, et al. The effects of low laser irradiation on angiogenesis in injured rat tibia. *Histol Histopathol.* 2004;19:43–48.
- 40- Brawn PR, Kwong-Hing A. Histologic Comparison of Light Emitting Diode Phototherapy-Treated Hydroxyapatite-Grafted Extraction Sockets: A Same-Mouth Case Study. *Implant Dentistry.* 2007;16:204-207.
- 41- Isaacson, B. M. & Bloebaum, R. D. Bone bioelectricity: what have we learned in the past 160 years? *J Biomed Mater Res A* 2010, 95, 1270-9.
- 42- Fukada E., Y. I. on the piezoelectric effect of bone. *Journal of the physical of Japan* 1957, vol: 12 no: 10.
- 43- Saliev T, Mustapova Z, Kulsharova G. Therapeutic potential of electromagnetic fields for tissue engineering and wound healing. *Cell Prolif.*, 2014, 47, 485-493.
- 44- Hupp J.R, Ellis E, Tucker M.R: *Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery.* Mosby;2008: 605-618.
- 45- Dickinson JT, Jaquiss GW: *Alloplastic implants, Otolaryngol Clin North Am* 5:481, 1972.
- 46- Wilson – Hench J *Osteoinduction.* Williams DF (ed) *Progress in biomedical engineering. Definitions in biomaterials.* Elsevier, Amsterdam. 1987; 4:29.
- 47- Caetano-Lopes J, Canhão H, Fonseca JE. 2007. "Osteoblasts and bone formation". *Acta reumatológica portuguesa* 32 (2): 103–10.

- 48- Kent JN, Misiek D, Kinnebrew MC: Alloplastic materials for augmentation in cosmetic surgery. In Peterson LJ, editor: Principles of oral and maxillofacial surgery, Philadelphia, 1992, JB Lippincott.
- 49- Pape HC, Evans A, Kobbe P. Autologous Bone Graft: Properties and Techniques. *J Orthop Trauma* 2010;24:S36–S40.
- 50- Mass CS, Merwin GE, Wilson J: Comparison of biomaterials for facial bone augmentation, *Arch Otol Head Neck Surg* 116:551, 1990.
- 51- Fonseca RJ: Biomaterials for Posttraumatic Maxillofacial Reconstruction. In Aziz SR, Ziccardi VB, Zweig BE, editors: Oral and Maxillofacial Trauma, 2005, Elsevier.
- 52- Burchardt H. The biology of bone graft repair. *Clin Orthop Relat Res* 1983;(174):28-42.
- 53- Hoexter DL. Osseous regeneration in compromised extraction sites: A ten-year case study. *J Oral Implantol* 2002;28(1):19-24.
- 54- Boyan BD, Ranly DM, Schwartz Z. Use of growth factors to modify osteoinductivity of demineralized bone allografts: Lessons for tissue engineering of bone. *Dent Clin North Am* 2006;50(2):217-28.
- 55- Nazirkar G, Singh S, Dole V. Effortless Effort in Bone Regeneration: A Review. *Journal of International Oral Health* 2014; 6(3):120-124.
- 56- Richardson CR, Mellonig JT, Brunsvold MA, McDonnell HT, Cochran DL. Clinical evaluation of Bio-Oss: A bovine-derived xenograft for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J Clin Periodontol* 1999;26(7):421-8.)
- 57- Develioglu H, Unver Saraydin S, Kartal U: The bone-healing effect of a xenograft in a rat calvarial defect model. *Dent Mater J* 2009, 28:396–400.
- 58- Mah J, Hung J, Jinxi W et al. The efficacy of various alloplastic bone grafts on the healing of rat calvarial defects. *European Journal of Orthodontics* 26 (2004) 475-482.
- 59- Abdel-Wahhab MA, Nada SA, Arbid MS. Ochratoxicosis: prevention of developmental toxicity by L- methioine in rats, *Journal of applied toxicology:JAT*, 1999 Jan-feb;19(1):7-12.
- 60- Yingling, V., Elle Saine, M. & Joshi, R. Hypothalamic suppression decreases bone strength before and after puberty in a rat model. *Calcif Tissue Int* 2009, 84, 485-93.
- 61- Stuermer, E. K., Komrakova, M., Werner, C. et al. Musculoskeletal response to whole-body vibration during fracture healing in intact and ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int* 2010, 87, 168-80.
- 62- Hall, B. K. & Miyake, T. Divide, accumulate, differentiate: cell condensation in skeletal development revisited. *Int J Dev Biol* 1995; 39, 881-93.
- 63- Yavuz Fındık. “Düşük Yoğunlukta Kesikli Ultrason Uygulamasının Otojen Kemik Grefti İyileşmesi Üzerine Etkisi” Doktora Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi. 2011.

- 64- Develioglu H. Kritik Boyutlu ve Kritik Boyutlu Olmayan Defektler. Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi Cilt:6 Sayı:1-2003.
- 65- S. Zwingenberger, A. Niederlohmann, C. Vater et al. Establishment of a Femoral Critical-Size Bone Defect Model in Immunodeficient Mice. *J Surg Res*, 181 (2013), pp. e7-14.
- 66- Karu TI, Pyatibrat LV, Folyakov SF, et al. Absorption measurements of a cell monolayer relevant to phototherapy: reduction of cytochrome c oxidase under near IR radiation. *J Photochem Photobiol B Biol*. 2005;81:98–106.
- 67- Soares LG, Marques AM, Guarda MG. Repair of Surgical Bone Defects Grafted with Hydroxylapatite + β -TCP and Irradiated with $\lambda=850$ nm LED Light. *Brazilian Dental Journal* (2015) 26(1): 19-25.
- 68- Rosa CB, Habib FA, Araujo TM et al. Effect of the laser and light-emitting diode (LED) phototherapy on midpalatal suture bone formation after rapid maxilla expansion: a Raman spectroscopy analysis. *Lasers Med Sci*. 2013.
- 69- Al-Watban FA, Andres BL (2006) Polychromatic LED in oval fullthickness wound healing in non-diabetic and diabetic rats. *PhotomedLaser Surg* 24:10–16.
- 70- Whelan HT, Buchmann EV, Whelan NT et al. (2001) NASA light emitting diode medical applications: from deep space to deep sea. *Space Technology and Applications International Forum*, pp 35–45.
- 71- Pinheiro AL, Soares LG, Marques AM et al. Raman ratios on the repair of grafted surgical bone defects irradiated or not with laser or LED. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 138 (2014) 146–154.
- 72- Pagan MT, Oliveira FA, Oliveira RC et al. Laser and light-emitting diode effects on pre-osteoblast growth and differentiation. *Lasers Med Sci* (2014) 29:55–59.
- 73- Rosa CB, Habib FAL, Araujo TM et al. Effect of the laser and light-emitting diode (LED) phototherapy on midpalatal suture bone formation after rapid maxilla expansion: a Raman spectroscopy analysis. *Lasers Med Sci* (2014) 29:859–867.
- 74- Lim HJ, Bang MS, Jung HM et al. A 635-nm light-emitting diode (LED) therapy inhibits bone resorptive osteoclast formation by regulating the actin cytoskeleton. *Lasers Med Sci* (2014) 29:659–670.
- 75- Acirole JM, Castro IC, Soares LP et al. Assessment of the LED phototherapy on femoral bone defects of ovariectomized rats: a Raman spectral study. *Lasers Med Sci* (2014) 29:1269–1277.
- 76- Castro IC, Rosa CB, Junior JA et al. Assessment of the use of LED phototherapy on bone defects grafted with hydroxyapatite on rats with iron-deficiency anemia and nonanemic: a Raman spectroscopy analysis. *Lasers Med Sci* (2014) 29:1607–1615.

- 77- Soares LG, Marques AM, Acirole JM et al. Do laser/LED phototherapies influence the outcome of the repair of surgical bone defects grafted with biphasic synthetic microgranular HA + β -tricalcium phosphate? A Raman spectroscopy study. *Lasers Med Sci* (2014) 29:1575–1584.
- 78- Soares LG, Marques AM, Guarda MG et al. Raman spectroscopic study of the repair of surgical bone defects grafted or not with biphasic synthetic micro-granular HA + β -calcium triphosphate irradiated or not with λ 850 nm LED light. *Lasers Med Sci* (2014) 29:1927–1936.
- 79- Brawn PR, Kwong-Hing A, Boeriu S et al. Accelerated implant stability after LED photobiomodulation. *J Dent Res* 87(Spec Iss B):2021, 2008.

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

BEYAN

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

Tezi Hazırlayan

Dt. Musa KARTÖZ



Danışman

Prof. Dr. Timuçin BAYKUL



EKLER

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı



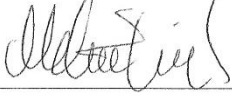



TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
06.03.2014	08	06

Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 06 MART 2014 tarihinde Saat 14:00'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır,

Süleyman Demirel Üniversitesi Diş hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi A.D. Öğretim Üyesi Prof. Dr. **Timuçin BAYKUL**'un yürütücüsü olduğu Yrd. Doç. Dr. Yavuz FINDIK, Yrd. Doç. Dr. Dilek BAYRAM, Arş. Gör. Meltem ÖZGÖÇMEN, Dt. Musa KARTÖZ'ün yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı, "Ratlarda deneysel olarak oluşturulan defektlerdeki kemik iyileşmesine LED fototerapinin etkisinin değerlendirilmesi" başlıklı çalışma;

Deneysel Hayvanın	Türü	Cinsiyeti	Sayısı	Yaşı
	Sıçan (Wistar Albino)	Erkek	24	6-8 aylık /250-300gr

Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından oy birliği ile UYGUN görülmüştür.

Doç. Dr. Efkan UZ BAŞKAN	Prof. Dr. Münire ÇAKIR BAŞKAN YARDIMCISI	Doç. Dr. İbrahim Metin ÇİRİŞ ÜYE
		
Yrd. Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR ÜYE	Yrd. Doç. Dr. Gülnur ÖZGÜNER ÜYE	Yrd. Doç. Dr. Müge ÇINA AKSOY ÜYE
KATILMADI		
Öğr. Gör. İbrahim ONARAN ÜYE	Vet. Hekim İsmail UZ ÜYE	Ecz. Mustafa Serhan DERYAL ÜYE
	KATILMADI	KATILMADI

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Musa	Soyadı : Kartöz	
Doğ.Yeri	Bornova	Doğ.Tar. 26.02.1987	
Uyruğu	T.C.	Tel : 0505 579 21 48	
Email : kartz.musa@gmail.com			

Eğitim Düzeyi

	Mezun Old. Kurum	Mezuniyet Yılı
Doktora	S.D.Ü Dış Hekimliği Fakültesi	2015
Yüls.Lis.	Ege Üniversitesi DışHekimliği Fakültesi	2010
Lisans		
Lise	Isparta Altınbaşak Anadolu Lisesi	2004

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
		-
		-
		-

Yabancı Dilleri	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce (iyi)	79	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf, - olarak değerlendirin

Yayımlan/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri