

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DIŞ ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**DÜŞÜK YOĞUNLUKTA KESİKLİ ULTRASON
UYGULAMASININ OTOJEN KEMİK GREFTİ
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

DT. YAVUZ FINDIK

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMAN
PROF. DR. TİMUÇİN BAYKUL**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim
Birimi tarafından 2094-D-10 Proje numarası ile desteklenmiştir.**

Tez. No:

2011- ISPARTA

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

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

Tez Savunma Tarihi: 09/08/2011

- Tez Danışmanı: Prof. Dr. Timuçin BAYKUL
Süleyman Demirel Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi
Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı
- Üye : Prof. Dr. Doğan DOLANMAZ
Selçuk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi
Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı
- Üye : Doç. Dr. H. Hüseyin YILMAZ
Süleyman Demirel Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi
Oral Diagnoz ve Radyoloji Anabilim Dalı Başkanı
- Üye : Yrd.Doç. Dr. Gülperi KOÇER
Süleyman Demirel Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi
Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı
- Üye : Yrd. Doç. Dr. Müge Çına AKSOY
Süleyman Demirel Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi
Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı

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

Prof. Dr. Mehmet Fehmi ÖZGÜNER
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım hocalarıma, birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma ve SDÜ Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim dalı klinik ve ameliyathane personeline;

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

Tezimin deneysel kısmının gerçekleştirildiği SDÜ Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı ve personeline;

Tezimin biyokimyasal verilerini değerlendiren Arş. Görevlisi Havva KOÇAK'a ;

Araştırma verilerimin DEXA değerlendirmesini gerçekleştiren Prof.Dr. Mustafa YILDIZ'a ;

Eğitim sürecim boyunca ve hayatımın her aşamasında bana her bakımdan destek olan sevgili annem Gülser FINDIK, babam Muharrem FINDIK ve ablam Hilal FINDIK'a, teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Kemik Dokusu.....	3
2.1.1 Kemik Histolojisi	3
2.1.1.1. Kemik Hücreleri	4
2.1.1.2. Kemiği Saran Yapılar	5
2.1.1.2.1. Periosteum	5
2.1.1.2.2. Endosteum	6
2.1.3 Kemik Yapımı ve Kemik İyileşmesi Mekanizmaları.....	6
2.1.3.1 Endokondral Kemik Yapımı	6
2.1.3.2 İntramembranöz Kemikleşme	7
2.1.3.3 Appozisyonel Kemikleşme.....	8
2.1.4 Kemik İyileşmesi Safhaları	8
2.1.4.1 Hematom Oluşumu (1-6 gün).....	9
2.1.4.2 Fibrokartilaj Kallus Oluşumu (7-12gün).....	9
2.1.4.3 Osteoid Doku Oluşumu (12-21 gün)	10
2.1.4.4 Geçici Kallusun Kalsifikasyonu (21. günden sonrası)	10
2.1.5 Kemik Belirteçleri ve Kemik Döngüsü	10
2.1.6 Kemik İyileşmesini Hızlandırmak Amaçlı Yapılan Tedaviler	14
2.1.6.1 Fiziksel Tedaviler	14
2.1.6.1.1 Elektrik ve Elektromanyetik Tedavi.....	14
2.1.6.1.2 Hiperbarik Oksijen Tedavisi	16
2.1.6.1.3 Düşük Enerjide Lazer Uygulaması.....	16
2.1.6.1.4 Ekstrakorpeal Şok Dalgası Uygulaması	17
2.1.6.1.5 Kemiğin Mekanik Stimulasyonu.....	18
2.1.6.1.6 Kemik İyileşmesinde Ultrason Kullanımı	19
2.1.6.1.6.1 Ultrason Dalgalarının Fiziksel Özellikleri.....	20
2.1.6.1.6.2 Ultrason Dalgalarının Etkileri ve Etki Mekanizmaları.....	24
2.1.6.1.6.2.1 Biyolojik Etkileri.....	24
2.1.6.1.6.2.2 Fizyolojik Etkileri.....	25
2.1.6.1.6.2.2.1 Isısal Değişimler.....	26
2.1.6.1.6.2.2.2 Isısal Olmayan Değişimler	26
2.1.6.1.6.2.3 Piezoelektrik Etkiler	27
2.1.7 Oral Cerrahide Kullanılan Greft Materyalleri	28
2.1.7.1 Ototgreftler	29
2.1.7.2 Allogreftler	31
2.1.7.3 Heterogreftler	32
2.1.7.4 Alloplastikler	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM	34
3.1 Deney Hayvanları.....	34
3.2 Gruplar.....	35
3.3 Cerrahi Girişim.....	36
3.4 Postoperatif Takip	41

3.5 Ultrason uygulaması.....	42
4.BULGULAR	47
5.TARTIŞMA.....	58
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	71
ÖZET.....	72
SUMMARY	73
KAYNAKLAR.....	74
ÖZGEÇMİŞ.....	84

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ALP	:Alkale fosfataz
ATP	:Adenozin Trifosfat
Atm	:Atmosfer basıncı
BMC	:Kemik mineral içeriği
BMD	:Kemik mineral yoğunluğu
BMP	:Kemik morfojenik proteini
cm	:Santimetre
cm ²	:Santimetre kare
DEXA	:Dual enerji-X ışını absorpsiyometri
DDKKA	:Demineralize Dondurulmuş-Kurutulmuş Kemik Allogreftleri
DKKA	:Dondurulmuş-Kurutulmuş Kemik Allogreftleri
FGF	:Fibroblast büyüme faktörü
g	:Gram
HA	:Hidroksiapatitler
He-Ne	:Helyum-neon
Hz	:Hertz
IGF	:İnsulin büyüme faktörü
Kg	:Kilogram
KHz	:Kilohertz
m	:Metre
mm	:Milimetre
mmHg	:Milimetre-cıva
mv	:Milivolt
NTX	:Tip I kollajen telopeptidler
PDGF	:Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
PGE ₂	:Prostaglandin E ₂
sn	:Saniye
TGF-β	:Dönüştürücü büyüme faktörü beta
TRAP	:Tartarata dirençli asit fosfataz

VEGF	:Vasküler endotelyal büyüme faktörü
yy	:Yüzyıl
%	:Yüzde
μm	:Mikrometre
$^{\circ}\text{C}$:Derece santigrad
>	:Büyüktür
<	:Küçüktür

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 : Ses dalgalarının transvers, ultrason dalgalarının longitudinal yayılımı	21
Şekil 2 : Gelen, iletilen ve yansıyan dalgaların şematik görünümü	23
Şekil 3 : a) DEXA taraması yapılırken tüm femurun analizinin yapıldığı büyük alan taraması b) Femur başından, defekti ve otojen greft yerleştirilen defekti içine alındığı bölgenin analizinin yapıldığı küçük alan taraması	45

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Deney hayvanlarının kafesleri	35
Resim 2: Genel anestezi için kullanılan ilaçlar	36
Resim 3: Operasyon alanının traşlanarak tüylerden arındırılması	37
Resim 4: Cilt kesisi.....	38
Resim 5: Femur kemiğinin açığa çıkarılması.....	38
Resim 6: Femur kemiğine 3mm'lik trefin frezler ile kesilerin yapılması	39
Resim 7: 3mm'lik trefin frezle elde edilen otojen greft	39
Resim 8: Açılan iki defektin üst kısmına otojen greftin yerleştirilmesi, alt defektin boş bırakılması	40
Resim 9: Operasyon alanının dikiş ile kapatılması	40
Resim 10: Postoperatif uygulanan amikasin sülfat ve tramadol hidroklorür	41
Resim 11: Deney hayvanlarına ultrason uygulanması	42
Resim 12: Ultrason cihazı ve jeli	43
Resim 13: DEXA cihazı ile femur ölçümlerinin yapılması.....	44

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1	Kemik yapım belirteçleri	13
Tablo 2	Kemik yıkım belirteçleri	13
Tablo 3	Kemik iyileşmesi mekanizmaları	28
Tablo 4	Araştırma gruplarını oluşturan kontrol ve deney grupları	36
Tablo 5	Deney ve kontrol grubu hayvanların DEXA ve biyokimyasal verileri	47
Tablo 6	Çalışma dışı bırakılan sıçanlar ve femurların gruplara göre dağılımı (Deney hayvanı veya femursayısı (n))	48
Tablo 7	Deney öncesi ve sakrifikasyon işlemi öncesinde hayvan ağırlıkları	49
Tablo 8	Ameliyat öncesi grupların hayvan ağırlıkları bulguları	50
Tablo 9	Kontrol grubu ameliyat öncesi ve sonrası hayvan ağırlıkları bulguları	50
Tablo 10	Deney grubu ameliyat öncesi ve sonrası hayvan ağırlıkları bulguları	51
Tablo 11	Deney ve kontrol grubu Ca değeri bulguları	51
Tablo 12	Deney ve kontrol grubu ALP değeri bulguları	52
Tablo 13	Büyük alanda deney grubu sağ ve sol femur kemikleri BMD bulguları	53
Tablo 14	Büyük alanda deney grubu sağ ve sol femur kemikleri BMC bulguları	53
Tablo 15	Büyük alanda kontrol grubu sağ ve sol femur kemikleri BMD bulguları	54
Tablo 16	Büyük alanda kontrol grubu sağ ve sol femur kemikleri BMC bulguları	54
Tablo 17	Deney grubu küçük alanda BMD bulguları	54
Tablo 18	Deney grubu küçük alanda BMC bulguları	55
Tablo 19	Kontrol grubu küçük alanda BMD bulguları (P=0.208)	55
Tablo 20	Kontrol grubu küçük alanda BMC bulguları	55
Tablo 21	Büyük alan deney ve kontrol gruplarının sağ femurları BMD ve BMC bulguları	56
Tablo 22	Küçük alan deney ve kontrol gruplarının sağ femurları BMD ve BMC bulguları	56
Tablo 23	Büyük alan deney ve kontrol gruplarının sol femurları BMD ve BMC bulguları	57
Tablo 24	Küçük alan deney ve kontrol gruplarının sol femurları BMD ve BMC bulguları	57

1.GİRİŞ

Kemik dokusu, oral ve maksillofasiyal cerrahinin sıklıkla operasyon alanında yer alan, iyileşmesi ve rekonstrüksiyonu kritik öneme sahip olan bir dokudur. Çene kemiği kırıkları, dental implant cerrahisi, ortognatik cerrahi, kemiği içine alan kistik ve tümoral lezyonlarda kemiğe yapılan müdahaleler sonrası kemiğin komplikasyonsuz ve kısa sürede iyileşmesi tedavinin başarısı ve hasta morbiditesinde oldukça önemlidir.

Kemik iyileşmesi tıbbın çeşitli alanlarında önemle üzerinde durulan bir konudur. Kemik yapının tamirinde uygun malzemenin seçimi tedavi sürecini önemli ölçüde etkilemektedir. Kemik eksikliğinin olduğu bölgeye ve eksikliğin büyüklüğüne göre bu defektlerin greft veya kemik dokusu transferi ile tedavisi mümkündür. Oral ve maksillofasiyal bölgede kullanılacak greft çeşitleri; otogreftler, alloplastlar ve allojenik greftler olarak sıralanabilir. Hastaların cerrahi sonrasında normal fonksiyonlarını daha hızlı şekilde kazanmaları amacıyla günümüzde kemik iyileşmesini hızlandırmak için birçok uygulama gerçekleştirilmektedir. Bunların arasında; lokal ve sistemik ilaç uygulamaları (kalsiyum fosfat, kemik morfogenetik proteinler, vitamin D, büyüme faktörleri, hormonlar), elektromanyetik alan ile uyarı, hiperbarik oksijen tedavisi ve fiziksel stimülasyon sayılabilir (Jones, 2005, Leisner et al., 2002). Kemik iyileşmesi sürecini hızlandırmak ve komplikasyonlarını azaltmaya yönelik tekniklerden birisi de son yıllarda uygulama sıklığı artan ve araştırma konusu olan ultrason uygulamasıdır.

Ultrason'un kemik iyileşmesi üzerine olan etkilerini araştıran çalışmaların sayısı son 15 yılda hızlı bir şekilde artmıştır. Birçok in vitro, in vivo ve klinik çalışmada ultrason uygulamasının kemik iyileşmesini pozitif yönde etkilediği gösterilmektedir (Rubin C, 2001, Warden et al., 2000). 1,5 Mhz operasyon frekansına sahip, 30 miliwatt/cm² yoğunlukta, 200 mikrohertz atım frekanslı, kesikli (pulsed) ultrason uygulamasının kemik iyileşmesini hızlandığı belirtilmiştir (Rubin C, 2001).

Araştırmamızda, kemiklerde iyileşmeyi hızlandığı gösterilen düşük yoğunluktaki kesikli ultrason uygulamasının rat femurlarında oluşturulan defektler

ve defektlere yerleştirilen otojen kortikal blok kemik greftlerindeki etkinliği incelenmişti

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kemik Dokusu

Kemik; insan iskelet sisteminin en önemli yapıtaşını oluşturur. Yumuşak dokuları destekler, kafatası ve göğüs boşluklarında yer alan hayati organları korur. Ayrıca kemik dokusu; kalsiyum, fosfat ve diğer iyonların vücut sıvılarındaki konsantrasyonlarını sabit düzeyde tutabilmek için, bu önemli iyonların kontrollü olarak dolaşıma salıverilmelerini ya da depolanabilmelerini sağlar. Bu işlevlerine ek olarak, bir taşıma sistemi oluşturup, iskeletsel kas kasılmalarının doğurduğu kuvvetleri artırarak bunları bedensel hareketlere dönüştürür (Junqueira L.C., 1998). Basınç, çekilme, eğilme ve bükülmelere karşı yüksek derecede dayanıklı olan kemik, aynı zamanda oldukça hafif bir materyalden oluşmuştur. Kemik, kaba şeklinden mikroskobik yapısına kadar tüm organizasyon seviyelerinde minimum ağırlık ve maksimum ekonomik materyalle çok büyük bir dayanıklılığa sahiptir. Dayanıklılığı ve sertliğine karşılık bireyin ömrü boyunca yıkılıp yeniden yapılan, canlı ve dinamik bir dokudur. Bütün bu özelliklere sahip olan bu kemik, cerrahi müdahalelerle şekli değiştirilebilen tek dokudur (Topçu, 2007).

2.1.1 Kemik Histolojisi

Kemik doku histolojik olarak 2 ana grupta incelenebilir. Bunlar lamellar ve örgü kemik tipidir. İnsan vücudunda normalde lamellar kemik doku hâkim iken, örgü kemik dokusu gelişmemiş ya da patolojik durumlarda önümüze çıkar. Lamellar kemik dokusu bulunduğu yere ve fonksiyona göre özelleşerek ikiye ayrılır. Bunlar kortikal kemik dokusu ve kansellöz kemik dokusudur. Kortikal kemik dokusu tüm vücut kemiklerinin yaklaşık %80'ini oluşturur. Kortikal kemik uzun eksenine paralel ve dikey kanallar ihtiva eden yapıda iken kansellöz kemik dokusu anastomozlarla ağ oluşturan kemik trabeküllerinden oluşur. Kortikal kemik volkman kanallarıyla birbirine bağlanan sıkıca sarılmış osteon veya havers sistemlerini ihtiva eder. Bu kanallarda arterioller, venüller, kapillerler, lenfatikler ve sinirler yer alır. Kansellöz kemik daha az yoğundur ve daha yavaş bir yaşam döngüsüne sahiptir. Kortikal

kemik dokunun medüller kanalında ve kansellöz dokunun trabekülleri arasında kemik iliği bulunur (Ataoğlu T., 1999).

2.1.1.1. Kemik Hücreleri

Kemik hüceleri morfoloji, fonksiyon ve karakteristik özelliklerine göre 4 gruba ayrılabilirler. Bunlar; farklılaşmamış (osteoprojenitör) hücreler, osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlardır.

Osteoprojenitör hücreler, küçük, tek nukleuslu, birkaç organelli ve düzensiz şekillidirler. Osteoblastlar farklılaşma veya çoğalma uyarısı alana kadar osteoprojenitör hücre durumunda bulunurlar (Junqueira L.C., 1998).

Osteoblastlar, kemiği oluştururlar. Farklılaşmamış mezenşimal hücrelerden türerler. Osteoblastlar kemik matriksinin organik bileşenlerinin sentezinden (tip 1 kollajen, proteoglikanlar ve glikoproteinlerin sentezinden) sorumludurlar. İyi gelişmiş golgi kompleksi ve yoğun endoplazmik retikulum içerirler. Stoplazmik uzantıları osteoid tabakayı geçerek komşu osteositlere uzanır. Aktif osteogenezin olmadığı bölgelerde kemik yüzeyinde düzleşmiş, endoplazmik retikulumca daha fakir hücreler gözlenir. Bu hücrelerin osteoprojenitör hücreler olduğu düşünülür. Bölünebilen ve preosteoblastlara farklılaşabilen hücrelerdir. Preosteoblastlara dönüşünce artık bölünemezler, sadece osteoblastlara dönüşebilirler (Ataoğlu T., 1999).

Osteoklastlar; kemik rezorpsiyonundan sorumlu, büyük nukleuslu, düzensiz şekilli hücrelerdir. Kemik yüzeyindeki girintilerde bulunan, çok çekirdekli hücrelerdir. Kemik rezorpsiyonunda temel rol oynarlar. Kemiğe bakan yüzeyleri oldukça girintili çıkıntılıdır. Sitoplazmasında çok sayıda veziküller, lizozomlar, mitokondriler fakat az sayıda endoplazmik retikulum bulunur. Tırtıklı kenarda, yani aktif kemik rezorpsiyonunun olduğu tarafta, vezikül boyutunda ve konsantrasyonunda artış vardır. Tırtıklı kenarın etrafı, kemik yüzeyi ile yakın

temastadır ve hücrelerin oturduğu lakünayı adeta sıvar (Chen et al.). Osteoklastlar hematopoetik orijinli makrofajlardan köken alır. Osteoklastların sayısı ve aktivitesi paratiroid hormon ile artabilir ve kalsitonin ile azalabilir. Bu hormonların dışında lokal olarak üretilen interlökin-1, diğer bazı sitokinler ve prostoglandinler de kemik rezorpsiyonunu etkiler (Junqueira L.C., 1998).

Osteoblastlardan köken alan osteositler, matriks lamelleri arasında bulunan lakünalar içinde yerleşmişlerdir. Olgun kemiğin %90'dan fazla hücresi osteositlerdir. Osteositlerin; yüksek nukleus / sitoplazma oranları ve uzun bağlayıcı sitoplazmik uzantıları bulunmaktadır (Junqueira L.C., 1998).

2.1.1.2. Kemiği Saran Yapılar

Kemiğin iç yüzeyini örten tabakaya endosteum, dış yüzeyini örten tabakaya ise periosteum denir.

2.1.1.2.1. Periosteum

Periosteum; eklem, kırık yüzeyleri, tendon, ligament, eklem kapsülü hariç kemiklerin dış yüzeylerini kaplar. Periosteumun 2 tabakası vardır; dışta fibröz tabaka, içte hücreden ve damardan zengin iç tabaka. Dış tabaka yoğun fibröz doku matriksi ve fibroblast benzeri hücreler içerir. Tendon, ligament ve eklem kapsülü yapışmaları kemiğe tutunmak için bu tabakadan direkt geçemezler. Bazı bölgelerde yoğun fibröz doku yapışlıkları periosteum ile devamlılık yapan membranlar, uzantılar yapar. İç taraftaki osteojenik tabaka kemik ve kırık yapabilecek kapasitede hücreler içerir (Allen et al., 2004).

Periosteumun dış fibröz tabakasında, birçok alanlarda, küçük damar ağları bulunur. Periosteumun yüzeyindeki kan damarlarının dalları fibröz tabakaya girerek, periosteumun derin tabakasının dallanmasına katkıda bulunur, buradan kemiğe geçerek medullar vasküler sisteme karışırlar. Sinirler bu kan damarlarına eşlik eder ve dış yüzeyde yayılırlar (Junqueira L.C., 1998).

2.1.1.2.2. Endosteum

Endosteum, kemiğin içindeki bütün boşlukları örten ve tek kat yassı osteoprojenitör hücreler ile çok az miktarda bağ dokusundan oluşur. Bu yüzden endosteum periosteumdan oldukça incedir. Periosteum ve endosteumun temel işlevleri, kemik dokusunun beslenebilmesi, büyüebilmesi ve onarımı için gerekli olan yeni osteoblastları aralıksız olarak sağlamaktır. Bu nedenle kemik cerrahisinde periosteum ve endosteumun korunmasına çok dikkat edilir (Allen et al., 2004). Periosteum ayrıca bazı ligament, tendon ve eklem kapsüllerinin kemiğe tutunmasına yardımcı olur.

2.1.3 Kemik Yapımı ve Kemik İyileşmesi Mekanizmaları

Kemik oluşumu, kıkırdak dokudan farklılaşma yoluyla (endokondral kemikleşme), kıkırdak doku olmaksızın organik matriks üzerinde kalsifikasyonun oluşması şeklinde (intramembranöz kemikleşme) ya da mevcut kemiğin üzerine yeni kemiğin birikmesi (appozisyonel kemikleşme) mekanizmaları ile gerçekleşir. Her üç tip kemikleşme de hayat boyunca meydana gelen incinme, hastalık ya da iskeletsel deformite tamiri sonucu olabilir.

2.1.3.1 Endokondral Kemik Yapımı

Bu tip kemikleşme, kıkırdağımsı matriks salınımı yapan ve ileride kondrositlere dönüşecek olan differansiye olmamış mezenşimal hücrelerin kemik yapım sahasında birikmesi ile başlar (Lynch, 1999).

Bu tür kemikleşme modelindeki gelişim aşamaları şu şekilde gerçekleşir (Gökçimen, 2006). Kıkırdak modeli; embriyonik dönemde, ilk aşamada ileride oluşacak kemiği anımsatan küçük bir hiyalin kıkırdak modeli gelişir. Periosteum kemik zarfı; kılcal damarlar perikondriyumu geçerler ve bunun iç yüzünde yer alan

mezenkimal hücreler, osteoprojenitör hücrelere dönüşür. Çoğalm; periostal kemik zarfı meydana gelirken kıkırdak modelinde bazı yapısal ve işlevsel değişiklikler olur. Diyafizin üst ve alt bölgelerinde periosteum zarfına yakın yerleşimde bulunan kondrositler, hızla çoğalmaya başlar ve kemiğin uzun eksenine paralel izogen gruplar ortaya çıkar. Hipertrofi; kondrositler, diyafiz bölgesinde meydana gelen kemik manşetten dolayı yeterince beslenemedikleri için, hızlı bir şekilde geniş ve yuvarlak hücrelere dönüşüp değişirler. Kalsifikasyon; hipertrofi süreci ilerlerken tüp şeklindeki süper lakünalar arasındaki kıkırdak matriksi kalsifiye olmaya başlar. Birincil kemik boşluğunun oluşumu; ölü hücreler ve kalsifiye kıkırdak matriksinin bir bölümü kondroblast denilen büyük ve çok çekirdekli hücreler tarafından ortadan kaldırılır. Periosteum tomurcuğu; periosteumda birincil kemik iliği boşluğunu delip geçen bir grup kan damarından ve bunların etrafındaki dokudan oluşmuştur. Kemikleşme; osteoprojenitör hücreler, bölünüp osteoblastlara farklılaşır. Osteoblastlar, kemik matriksini üretilen salgılar ve birincil kemik dokusu ortaya çıkar. Daha sonra, birincil kemik dokusu ve geriye kalan kalsifiye kıkırdak erir ve bunların yerini ikincil kemik dokusu alır. İkincil kemik dokusunun meydana gelmesinde ve daha sonra da yaşam boyu büyümesinde, osteoblastlarla osteoklastlar arasında bir yapım-yıkım dengesi devam eder.

2.1.3.2 İntramembranöz Kemikleşme

Bu kemikleşmede herhangi bir kartilaj çatı oluşumu görülmeden, farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin birikimi ve fonksiyonları ile kemik yapımı görülmektedir. Farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin osteoblastlara dönüşümü ile süreç başlamaktadır. Osteoblastlar, kemik matriksini oluşturmak için, kollajen ve proteoglikanları üretirler. Kemik matriksinin artmasıyla birlikte osteoblastlar birbirlerinden uzaklaşmaya başlarlar ve bazıları kemik matriksi içerisinde osteositlere dönüşürler. Mezenkim hücreleri bölünerek osteoblast oluşturmaya devam ederler, böylece kemikleşme merkezleri artar. Bu merkezler birbirleriyle birleşir, birleşme alanlarında bağ dokusu yer alır. Kemik matriksinin mineralizasyonu ile membranöz kemik kalsifiye olmaya başlar (Lynch, 1999).

2.1.3.3 Appozisyonel Kemikleşme

Bu kemikleşme türünde ise kemiklerin dış yüzünü örten periosteum tabakasının kalınlaşması ve ortopedik kemik yapım şekillenmesi esnasında oluşur. Endokondral ve intramembranöz kemikleşmeden farklı olarak bu kemikleşme türünde mevcut olan kemik yüzeyinde osteoblastların birikmesi ile osteogenez başlar. Bu hücreler ileride kemik dokusuna dönüşecek olan bağ dokusu niteliğinde olan “osteoid” dokuyu sentezlerler, böylece tabakalar halinde lameller kemik oluşur.

2.1.4 Kemik İyileşmesi Safhaları

Kemikte meydana gelen herhangi bir hasar sonucunda, kemik iliği boşluğu, korteks, periosteum ve kemiği saran yumuşak dokularda farklı reaksiyonlar meydana gelir. Hasarın tipine, lokalizasyonuna ve tedavi metoduna bağlı olarak bu reaksiyonlar aynı anda veya ilerleyen dönemlerde gelişebilir.

Kemik iyileşmesi çeşitli biyolojik ve mekanik faktörlerden etkilenir. Kemik kan akımı kemik iyileşmesinin ana belirleyicisidir (Zhang et al., 2005). Kemik kan akımı; besinleri kemik yaralanması olan yere getirir. Hasar bölgesinde oluşan damar yaralanmasına bağlı olarak gelişen ilk tepki kemik kan akımında bir azalmanın oluşmasıdır. Saatler ya da günler içinde kemik kan akımı artar. İkinci haftada kan akımı miktarı zirve yapar ve 3-5 ayda normale döner (Junqueira L.C., 1998).

Kemikte hasar oluşur oluşmaz, kemik iliği yapılarının normal yapısı bozulur. Kallus dokusu çevresindeki kan damarları kaybolur, kemik iliği hücresel içeriği yeniden organize olur. Yüksek hücresel yoğunluğa sahip alanlarda endotelial hücreler polimorfik hücrelere dönüşürler ve bu hücreler 24 saat içerisinde osteoblastik özellik göstererek yeni kemik üretmeye başlarlar.

2.1.4.1 Hematom Oluşumu (1-6 gün)

Kemikte meydana gelen hasar sonucunda, bölgedeki kan damarları zarar görür ve kanama oluşur. Hasar oluşumundan hemen sonra periosteum, çevre kaslar

ve damarlar yırtılır ve kan, lenf ve doku sıvılarından oluşan sıvı karışımı bölgede hematoma oluşturur. Oluşan hematoma, kemik iyileşmesinde kritik öneme sahip hücresel faaliyetlerin başlamasını sağlayan sinyal veren moleküller içerir. Örnek olarak interleükinler ve sitokinlerin salgılanmasını sağlayan inflamasyon hücreleri kemik iyileşmesinin erken fazının düzenlenmesinde önemli yere sahiptir (Hall and Miyake, 1995). Bunun dışında bu safhada aktive olmuş trombositler, mezenşimal hücrelerin bölgeye göç etmesini sağlayan dönüştürücü büyüme faktörü beta (transforming growth factor beta-TGF- β) ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (platelet derived growth factor-PDGF) gibi sinyal veren moleküllerin salınımını gerçekleştirirler. Bu tip sitokinlerin salınımlarının devam etmesi defekt alanında kemik köprünün oluşumunu sağlayan fibroblastların, endotelial hücrelerin ve osteoblastların bölgede faaliyetlerinin başlamasını sağlarlar.

2.1.4.2 Fibrokartilaj Kallus Oluşumu (7-12gün)

Kemik hasarının olduğu bölgede, angiogenezin başlaması ile küçük kapiller damarların pıhtıyı sarmasıyla granülasyon dokusu oluşur. Bu dokunun içindeki makrofajlar oluşan debris temizlemeye yardım ederler. Granülasyon dokusu makrofajların rezorbe ettiği sahalara doğru yayılır. Periosteum ve endosteumdan gelişen fibroblastlar bölgeye göç ederler. Fibroblastlar kemik uçlarını birleştirecek olan kollajen fibrilleri salgırlar. Bazı fibroblastlar ise kondroblastlara farklılaşarak bölgeye kartilaj sentezleyip fibrokartilaj bir yapı oluştururlar. Hücre farklılaşması sonucunda fibroblastlar osteoblastlara dönüşür ve yeni kemik dokusu oluşmaya başlar.

2.1.4.3 Osteoid Doku Oluşumu (12-21 gün)

Yukarıdaki fazları takiben, osteoblastlar arasında yarı katı bir madde olan osteoid dokusu oluşmaya başlar. Bu yarı katı maddeye kalsiyum tuzlarının çökmesiyle geçici kallus meydana gelir. Bunun sonucunda defekt hattının hareketliliği azalır ve kemik sahasında şişkinlik oluşur.

2.1.4.4 Geçici Kallusun Kalsifikasyonu (21. günden sonrası)

Kalsiyum tuzları, osteoid dokunun üzerine tam olarak çöker ve lameller doku oluşmaya başlar. Bu dönemde hareketlilik azalmıştır. Bölge daha sonra periosteum ile kaplanır ve tamir işlemi tamamlanmış olur. Bundan sonra kemikte remodelling meydana gelir. Kallusun yerleşimine göre kansellöz veya kompakt kemiğe dönüşür.

2.1.5 Kemik Belirteçleri ve Kemik Döngüsü

İskelet kemik miktarı doğumdan itibaren artmaya başlayarak hayatın 3 veya 4. dekatlarında maksimuma ulaşır ve izleyen yıllarda azalır. Yaşam süresi boyunca kemik dokunun canlılığını sağlayan ve birbirini takip eden, rezorbsiyon, formasyon ve mineralizasyon döngüsüdür. Kemik dokusu aktif ve dinamik bir doku olarak sürekli dönüşüm gösterir. Erişkin insanda iskeletin boyutunda herhangi bir azalma ya da artış meydana gelmez. Buna rağmen kemik dokusu devamlı olarak yıkılır ve yapılır. Diğer bir ifade ile kemik rezorbe eden hücrelerin net aktivitesi kemik yapıcı hücrelerin net aktivitesine eşittir. Sağlıklı bir erişkinde rezorbsiyon (osteoklastik aktivite) ve formasyon (osteoblastik aktivite) birbirine sıkıca bağlıdır. Kemik kaybı bu iki sürecin bozulması veya dengesiz hale gelmesi ile oluşur (Gürer, 2005).

Kemik kütlelerinin genetik ve çevresel faktörler tarafından nasıl etkilendiğini anlamak için iskeletin yeniden şekillenmesi (remodeling) olayı hakkında bilgi sahibi olmak gerekir. Yeniden şekillenme, büyümenin durması ile başlar. Önce kemik yıkımı ve rezorpsiyonu daha sonra yeni kemik oluşumu meydana gelir. Kemiğin yeniden yapılanması çeşitli evrelerden geçerek gerçekleşir. İskeleti oluşturan kemiklerin tümü aynı anda yeniden yapılanmaz. Belli bir sürede, kemiğin sadece bir kısmı yenilenir. Rezorpsiyon fazında osteoklastlar kansellöz kemiğin yüzeyi üzerinde 20 mikrometre/gün'e kadar ulaşan bir çukur açarlar. 4-12 gün içinde 40-60 mikrometre derinliğinde bir erozyon kavitesi açılır. Ardından, multinükleer hücreler kaybolur ve yerini mononükleer hücreler alır. Bu hücreler çok az rezorpsiyon yapma yeteneğinde olup rezorpsiyon kavitesinin yüzeyini düzleştirirler. Daha sonraki 7-10

gün boyunca proteoglikanlar, glikoproteinler ve asit fosfatazdan zengin ancak kollajenden fakir bir semen maddesi depolanır (Vesper, 2004).

Bu faz geri dönüşüm fazı olarak adlandırılır ve osteoklastik kemik rezorpsiyonunun bitmesi ile kemik formasyonu arasındaki zaman aralığını ifade eder. Bu işlemin başlangıcında kemik matriksinin bazı parçaları uzaklaştırılarak yerine yeniden yapılanma üniteleri yerleşir. Kemik yıkımını sağlayacak osteoklast hücrelerini oluşturacak monosit ve makrofojlara, yıkımın yapılacağı yerde toplanır ve bunların birbirleriyle kaynaşmasıyla osteoklast hücreleri oluşur. Oluşan osteoklastlar, kemiğin mineral matriksini eritir. Organik matriksi enzimlerle hidrolize eder. Rezorpsiyona uğrayan kemik boşluklarına (Howship lakünaları) preosteoblast hücreleri birikir ve bunlar osteoblast hücrelerine dönüşür. Bu arada osteoblastlar kemik matriksini oluşturmaya başlar. Yıkılan kemik dokunun yerine yenisi yapılır. Bu olaylar zincirine eşleme denir. Yeni yapılan kemik kısım, yapıştırıcı bileşiklerle yanındaki yenilenmeyen kemik parçasıyla birleştirilir. Osteoblastlar, kemik lamellerinin birleşmesiyle meydana gelen osteonları oluşturmak için organik matriksin (osein-osteoid) sentezini tamamlarlar. Kemik yıkımının başlamasından 25 gün sonra sünger doku, 35 gün sonra da sert kemik dokunun matriksinde mineralizasyon gerçekleşir. Kemik yıkımı ve yapımı farklı yaşlarda, farklı hızlarda gerçekleşerek yaşam boyu devam eder (Taşan, 1999).

Kemiğin yeniden yapılanmasındaki artış zararlıdır. Çünkü tabakalarda yıpranmaya ve trabeküler kemikte trabeküle kaybına sebep olmaktadır. Ama yeniden oluşan kemikte daha az mineralleşme olmaktadır. Yeniden yapılanma fokal alanlarda zayıflığa sebep olmaktadır, böylece bu durum için birçok sebep oluşabilmektedir. Bu demek değildir ki, kemik döngüsü yararlı değildir, kemik döngüsü kemiklerin kullandıkları alanlara uyum sağlamasına yardımcı olur.

Güncel yaklaşımlar klinik pratikte kırık riskinin ve kemik metabolizmasının belirlenmesi için kemik mineral yoğunluğunun (bone mineral density-BMD) ölçülmesini önermektedir. Günümüzde BMD ölçümü için dual enerji-X ışını absorpsiyometri (DEXA) altın standart olarak kabul edilmektedir (Barou et al.,

2002). Son yıllarda BMD'nin kırık riskini belirlemede tek faktör olamayacağı ve kemiğin mikromimarisindeki bozulmanın da kırık riskine katkıda bulunduğu gösterilmiş ve bu birçok araştırmaya konu olmuştur (Hunter and Sambrook, 2000). Kemik döngüsünün biyokimyasal göstergeleri de dolaylı yoldan kemik kaybının hızı hakkında fikir vermekte ve böylece risk tayininde, tedavi seçiminde, kemik kaybının ve tedavinin etkinliğinin takibinde faydalı olmaktadır. Bu amaca yönelik olarak kemik kökenli moleküllerin serum veya idrardaki miktarlarının tespiti çalışmaları yoğun olarak kullanılmaktadır. Bunlardan özellikle osteokalsin, alkalen fosfataz (ALP), tartarata dirençli asit fosfataz (TRAP) ve tip I kollajen telopeptidler (NTX, CTX) sıklıkla çalışılan moleküllerdir (Dalle Carbonare et al., 2005) (tablo 1)(tablo 2).

Osteoblastlar tarafından yeni kemik yapımı, osteoklastlar tarafından ise hasarlı kemiğin yıkılması kemik döngüsünü belirler. Bu iki aktivite yeniden yapılanma ünitesi içinde birbiri ile sıkı sıkıya bağlantılıdır. Yeniden yapılanma üniteleri içinde; yıkım ve yapım arasındaki denge ve belirli bir kemik yüzeyinde belirli bir zaman dilimi içinde aktive olan yeniden yapılanma ünite sayımı kemik kütlesini etkileyen en önemli iki faktördür. Kemik matriksinin oluşum ve yıkım oranı, hem kemiğin oluşumuna hem de yıkımına yol açan hücrelerin, alkalen ve asit fosfatazlar gibi enzimatik aktivitelerinin ölçümüyle değerlendirilebilir. Kemik yapım ve yıkımı enzimatik aktiviteler yanında, kemik oluşumu ve yıkımı sırasında dolaşıma salınan kemik matriks komponentlerinin ölçümleri ile de değerlendirilebilir (Delmas, 1995).

Bu belirteçler, farklı duyarlılık ve özgüllüğe sahiptirler (Tablo 1)(Tablo 2). Bu göstergelerden hiçbiri hastalığa özgü değildir, fakat bu göstergelerden biri, metabolik bir kemik hastalığındaki kemik döngüsünü değerlendirmede diğerinden daha değerli olabilir. Örneğin osteokalsin, osteoblastlar tarafından sentezlenen kemik matriksin kollajen olmayan en önemli proteinlerinden olup kemik doku ve dentin için spesifiktir. Serum osteokalsini osteoporozda kemik oluşumlarındaki değişiklikleri değerlendirmede serum alkalen fosfatazdan daha değerli olabilir. Aksine, Paget hastalığında bunun tersi doğrudur. İdrarda piridinolin atılımının artması, son zamanlarda kemik yıkımının önemli bir göstergesi olarak kullanılmakta olup

özellikle metabolik kemik hastalıklarının klinik araştırılmasında yararlı olmaktadır (Swaminathan, 2001).

Tablo 1. Kemik yapım belirteçleri

Marker	Doku	Örnek	Üretimi
Ostaz (kemik alkalin fosfataz)	Kemik	Serum	Osteoblast hücrelerinin spesifik ürünü
Osteokalsin	Kemik	Serum	Osteoblast hücrelerinin spesifik ürünü

Tablo 2. Kemik yıkım belirteçleri

Marker	Doku	Örnek	Üretimi
Hidroksi prolin	Kemik, kıkırdak, deri, kan, yumuşak doku	İdrar	Bütün kollojenler ve kollajenöz proteinlerde bulunur
Piridinolin	Kemik, kıkırdak, tendon, kan damarları	İdrar	Kemikte kıkırdakta en çok
deoksipiridinolin	Kemik, dentin	İdrar	kemik
Tip 1 kollogen amino terminal çapraz bağ telopeptidi	Kemik, deri	İdrar	Tip 1 kollogenler en fazla kemikte
Tip 1 kollogen karboksi terminal çapraz bağ telepeptidi	Kemik, deri	Serum	Tip 1 kollogenler en fazla kemikte

2.1.6 Kemik İyileşmesini Hızlandırmak Amaçlı Yapılan Tedaviler

2.1.6.1 Fiziksel Tedaviler

Son yıllarda kemik iyileşmesini hızlandırmak veya kaynaşmamış kemik kırıklarının tedavileri için birçok fiziksel uygulama geliştirilmiştir. Kullanılan her yöntemde de öne sürülen mekanizmalar farklı olsa da sonuç olarak kemik oluşumunu tetikleyici kimyasal ajanların salınımını sağlamak hedeflenmektedir.

2.1.6.1.1 Elektrik ve Elektromanyetik Tedavi

1792 yılında Luigi Galvani isimli araştırmacının kurbağa kas uçlarının uyarılması sırasında elektriksel aktivitenin oluştuğunu tespit etmesi ile hayvanların ve insanların endojen kaynaklı elektrik sinyalleri 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 belirtilmiştir. Çeşitli hastalıkların tedavisinde elektrik stimülasyonu kullanımı, 1800'lü yılların ortalarında başlamıştır (Isaacson and Bloebaum, 2010).

Kemik dokusu da diğer tüm dokular gibi elektriksel özelliklere sahiptir. Uzun kemiklerin diyafizleri dinlenme halindeyken pozitif yüklüdür. Kırık bölgeleri ve büyümekte olan kemikler ise negatif yüklüdürler. Aynı zamanda kemik üzerine uygulanan yükler de elektriksel değişiklikler yaratmaktadır. Bu tip yükler sonucu oluşan potansiyeller iki tiptir. Birincisi; kollajen matriks üzerindeki baskıya bağlı deformasyon sonucu oluşan piezoelektrik potansiyel, ikincisi ise; yük taşıyan kemiklerdeki sürekli iyon akışından kaynaklanan elektriksel potansiyeldir (Isaacson and Bloebaum,2010). Kemikteki mekanik güçlere bağlı gelişen elektriksel değişiklikler ve kuru kemikteki piezoelektrik etki ilk defa Fukada ve Yasuda tarafından açıklanmıştır (Fukada E., 1957). Araştırmacılar ilk defa strese maruz kalan kemiklerde konkav taraftan konveks tarafa doğru gelişen bir elektrik potansiyeli tarif etmişlerdir. Friedenbergl ve Brighton bu teoriyi geliştirmişler ve kemiğin üzerine gelen yükler ile yeniden şekillendiğini savunan Wolff kuralı ile ilişkilendirmişlerdir.

Sonuç olarak kemik iyileşmesini hızlandırmak amacıyla elektriksel uyaran kullanılmaya başlamıştır.

Tüm elektromanyetik kemik stimülasyonu cihazları kemiğe bir miktar elektriksel uyarı verir, ancak bu etkiyi sağlamanın çeşitli yolları tarif edilmiştir. Direk stimülasyon bir pile bağlanmış katot ve anodun kemik uçlarına uygulanması ile gerçekleştirilir. Bu yöntem kemik içerisine elektrotların implantasyonunu gerektirdiğinden invaziv bir metot olarak kabul edilmektedir. İndirek stimülasyonda elektrik akımı kırık yüzeyine temas eden ve bir bobini içeren bağlantı parçası aracılığıyla iletilir. Bobin içerisinden geçen elektrik, ortamda bir elektromanyetik alan yaratır. Verilen elektrik dozları zaman zaman değiştirilerek sürekli ya da kesikli elektromanyetik alan yaratılabilmektedir (Erdoğan, 2007). İndirek elektromanyetik stimülasyonun kemik iyileşmesi üzerine farklı etkileri gösterilmiştir. Kesikli elektromanyetik alan uygulanan kemiklerde parathormon ve osteoblast aktive edici faktörlerin bloke olduğu gösterilmiştir (Luben et al., 1982). Kesikli elektromanyetik alan aynı zamanda endotel hücre proliferasyonlarını ve kapiller oluşumunu arttırmakta, BMP 2, BMP 4 ve IGF salınımlarını tetiklemektedir. Bu etkiler kemik iyileşmesinin tüm fazlarında rol oynamakta ve kemik iyileşmesi hızlanmaktadır (Bodamyali et al., 1998).

Kesikli elektromanyetik alan tedavisinin çene yüz kemiklerine olan etkileri ile ilgili çalışmalar literatürde kısıtlıdır. Ratların premaksiller bölgesinde oluşturulan defektlere demineralize kemik matriksi yerleştirilen ve deney grubundaki ratları 100 Hertz operasyon frekansına sahip, 10 milisaniye uzunluğunda 100 mikrosaniye aralıklı elektromanyetik alana yerleştirilerek 35. gün içindeki kemikleşmenin sonuçlarını inceleyen bir çalışmada, araştırmacılar osteoblastik aktivede artış ve kemik matrikste kalsifikasyon artışı sağladığını bildirmişlerdir (Takano-Yamamoto et al., 1992). Bir başka çalışmada çene yüz bölgesinde yapılan distraksiyon osteogenezisi, kırık iyileşmesi, doku rejenerasyonu ve implant cerrahisi işlemlerinin elektromanyetik alan uygulaması gibi biyofiziksel uyarılara karşı, kemik formasyonunda artış meydana getirerek etki edebileceği belirtilmiştir (Meyer et al., 2006).

2.1.6.1.2 Hiperbarik Oksijen Tedavisi

Hiperbarik oksijen terapisi medikal tedavinin birçok alanında kullanılmaktadır. Hiperbarik oksijen terapisinin etki mekanizmaları gaz kanunları ve hiperoksinin fiziksel, biyokimyasal etkileri üzerine kurulmuştur. Normal atmosferde, hava basıncı santimetre kareye 1 kg (1 atm) ve oksijen konsantrasyonu %20 iken, hiperbarik oksijen tedavisinde %100 oksijen 2,5 atm'ye kadar basınçlarda verilmektedir. Normal basınç altında solunum sırasında, arteriyel oksijen basıncı 100 mmHg ve doku oksijen basıncı 55 mmHg iken 3 atm basınçtaki %100 oksijen ortamında arteriyel oksijen basıncı 2000 mmHg'ya ve doku oksijen basıncı ise 500 mmHg'ya yükselmektedir (Gill and Bell, 2004).

Hiperbarik oksijen terapisi, bakteriyel metabolik fonksiyonları inhibe eden oksijen serbest radikallerinin üretimini artırmaktadır. Aynı zamanda bazı antibiyotiklerin oksijene bağımlı bakteri hücre duvarı geçişini geliştirmektedir. Yara iyileşmesinde ise periferik iskemik yara yüzeyleri boyunca oksijen miktarını artırarak anjiyogenez için gerekli olan oksijene bağımlı kollojen formasyonunu organize etmektedir. Sonuç olarak hiperbarik oksijen tedavisi, iskemik olaylar sırasında oluşan ATP üretimi azalmasını engelleyerek ve iskemik dokulardaki laktat birikimini azaltarak etki göstermektedir (Gill and Bell, 2004). Kemik iyileşmesi açısından hiperbarik oksijen tedavisinin önemi, biyolojik etkileri artmış hücresel aktivite ve yeni kemik yapımında artış ayrıca yaralanmış dokularda damarların tekrar oluşumunu sağlamasıdır (Muhonen et al., 2002).

2.1.6.1.3 Düşük Enerjide Lazer Uygulaması

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. En önemli etkisi, kan dolaşımını artırarak etki ettiği doku ve hücrelerin daha fazla oksijen ile beslenmesini sağlaması yol açar böylece hasarlı kısımların iyileşmesini hızlandırmasıdır. Kliniksel ve cerrahi amaçlı lazer kullanımı genellikle yüksek enerjili dozları içermektedir. Düşük enerjili lazer terapisinin deneysel araştırmaları ile kliniksel tedavide kullanımı önem kazanmaya başlamıştır. Son zamanda taramalı elektron mikroskobu ile yapılan araştırmalarda düşük enerjili lazer (He-Ne) uygulamasının kemik iyileşmesi sırasında kemik konsolidasyonunu hızlandırdığı gözlenmiştir. Rat tibialarına cerrahi olarak defekt oluşturulan bir çalışmada, lazer uygulaması operasyondan 24 saat sonra başlamış ve 7 veya 14 gün süreli 2 grup olarak uygulanmıştır. Sonuçlar, trabeküler alanda kemik yapımının lazer uygulanan grupta daha fazla stimule edildiğini göstermiştir (Garavello-Freitas et al., 2003).

2.1.6.1.4 Ekstrakorpeal Şok Dalgası Uygulaması

Şok dalga tedavisi (ossa-terapi, ekstrakorpeal şok dalga tedavisi), yüksek güçte ses dalgalarının vücudun istenen bölgesine odaklanması ve orada tedavi sağlaması esasına dayalı yeni bir ortopedik tedavi yöntemidir. 1970'lerde şok dalgalarının ürolojide kullanılmaya başlanmasından sonra yapılan deneysel çalışmalarda, alt üreter taşlarının kırılması sırasında iliumda değişikliklerin görülmesi ile kemik doku üzerine çalışmalar yapılmaya başlanmıştır (Baloğlu İ., 2005). Şok dalgaları, elektrik jeneratörleri tarafından üretilir ve dalga oluşumu için elektroakustik konvertör ve bir eliptik odaklayıcıya ihtiyaç duyarlar. Sesi yaratan jeneratörün tipine göre elektrohidrolik, elektromagnetik ve piezoelektrik olmak üzere üç farklı sistem bulunmaktadır. Dalgaları su gibi sıvı bir ortam içinde yaratılır ve biyolojik dokulara geçişini kolaylaştırmak için jel kullanılır (Bulut O., 2002).

Şok dalgalarının kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir tavşan deneyinde, tavşan femurlarında kırık oluşturulmuştur. Çalışmada 16 hayvan kullanılmış, denekler şok dalgası uygulanan grup ve deney grubu olarak 2 grupta incelenmiştir. Denekler 12 hafta sonunda sakrifiye edilmiş ve örnekler histomorfometrik ve immunohistokimyasal analiz için laboratuara gönderilmiştir.

Sonuç olarak şok dalgası uygulanan grupta daha çok kortikal kemik yapımı, daha çok kan damarı ve angiojenik ve osteojenik parametreler olan VEGF, BMP-2 immunohistokimyasal boyamada tespit edilmiştir (Wang et al., 2008). Tavşan tibialarında oluşturulan kırık üzerinde yapılan bir başka çalışmada, şok dalgası uygulamasının kırık iyileşmesinin erken döneminde etkili olduğu ancak daha uzun sürelerdeki etkinliğinin araştırılması için başka çalışmalara ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir (Hsu et al., 2003).

2.1.6.1.5 Kemiğin Mekanik Stimulasyonu

Bir kemiğin anatomik modele göre gelişmesi veya kırılan, hasar gören kemiğin iyileşmesi ve yeniden şekillenmesi, kemiği uzun ekseni istikametinde etkileyen stress kuvvetlerinin yarattığı elektromanyetik alan sayesinde olur. Bu kural Wolff kanunu olarak bilinmektedir. Bu kuraldan yola çıkarak, kontrollü şekilde uygulanan dış yüklerin kemik iyileşmesini hızlandıracağı ve mekanik özellikleri daha güçlü bir kemik yapısının oluşumunu sağlayacağı öne sürülmüştür (Chen et al., 2010).

Mandibulasında skuamoz hücreli karsinom teşhis edilen ve tedavi olarak radyasyon tedavisi uygulanmış bir hastada distraksiyon işlemini kademeli sıkma-genişletme şeklinde uygulayarak kemik iyileşmesini önemli ölçüde hızlandırılmıştır. Araştırmacılar kemikte oluşan bu etkiye kallus masajı adını vermişlerdir (Lazar et al., 2005). Koyunlarda yapılan bir çalışmada ise tibia kemiklerinde, osteotomi sonrasında 3 mm aralık kalacak şekilde deneysel kırık oluşturulmuş ve uygulanan mekanik stimulasyonun miktarına göre koyunları gruplara ayırmışlardır. Yazarlar fragmanlar arasında 0,5 mm'lik mikro hareketler uygulanan kemiklerde en fazla miktarda kallus dokusunun oluştuğunu ancak bunun kemiğin mekanik özelliklerini arttırmadığını bildirmişlerdir (Wolf et al., 1998). Çene yüz kemiklerinde mekanik stimuluslar ile kemik iyileşmesini hızlandırma çalışmalarının sayısı son derece azdır. Tavşanların mandibulasına yapılan distraksiyon osteogenezisi ile ilgili bir

araştırmada, deney grubundaki tavşanlara günlük kompresyon ve distraksiyon uygulayarak mekanik stimulasyon oluşturulmuş ve sonuç olarak distraksiyon aralığında yeni oluşan kemiğin mekanik, radyolojik ve histolojik özelliklerinde artış olduğunu bildirmişlerdir (Mofid et al., 2002).

2.1.6.1.6 Kemik İyileşmesinde Ultrason Kullanımı

Ultrason yüksek frekanslı ses dalgasıdır. Normal koşullarda kulak saniyede 16000 Hz ila 20000 Hz frekansındaki sesleri duyabilir. İnsan kulağının duyamadığı 20 KHz frekansın üstündeki ses dalgalarına ultrason denir. Ultrason dalgaları pratikte çok farklı amaçlarla; imalat sektöründe, denizcilikte ve tıbbın değişik alanlarında kullanılırlar. Ultrasonun tıp alanında kullanımını tanısıl veya tedavi amaçlı olabilmektedir. Tıpta tedavi ve teşhis amaı ile kullanılan ultrason cihazlarında yüksek frekanslı ses dalgaları piezo-elektrik kristallerle elde edilir. Ses dalgaları, tiplerine içinde seyrettikleri ortama ve ortamın ısısı gibi bazı diğer fizik durumlarına bağlı olarak belirli bir hızda yayılırlar. Havada 340 m/sn, suda 1500 m/sn, kas dokusunda 1560 m/sn, kemikte 3000 m/sn, cam ve çelikte 5000 m/sn hızla yayılır. Diğer dalga Őekillerinde olduğu gibi, ses dalgaları da yansıma, kırılma, yayılma ve ortamdaki geerirken zayıflama gibi fiziki durumlar gösterirler (Ziskin, 1993).

Ultrasonun keşfi, 1880 yıllarında Jacques ve Pierre Curie kardeşlerin kristal materyallerin üzerine değişik açılarda uygulanan basınç altında elektrik ürettiğini 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 kullanımını 1900'l yılların ortalarında başlamıştır. Alman bilim adamı Pohlman (1938) teorisinde bütün hastalıkların kökeninin metabolizmada meydana gelen bir stazdan meydana geldiğini savunmuştur. Bu oluşan stazların dokuya uygulanan ultrason dalgaları ile oluşturulan mekaniksel impulslar ile elimine edilebileceğinden bahsetmiştir. Daha sonra bir ultrason cihazını dizayn ederek hastalara 10 gün boyunca günde 10 dakika olmak üzere uygulamış ve miyaljide, ağrıda, nraljide azalma olduğunu göstermiştir. 1950'li yıllara kadar ultrason uygulaması birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. Ancak o dönemdeki genel düşünce, kemik dokusunun

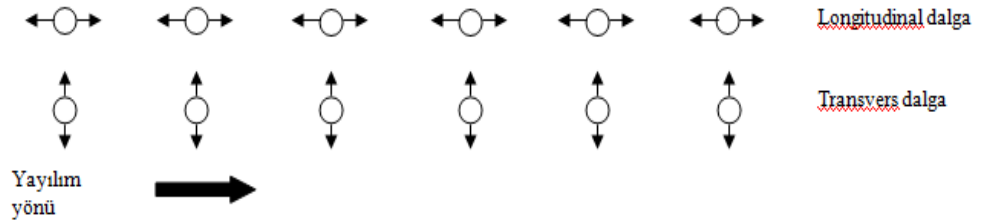
ultrason enerjisinden zarar göreceği bu nedenle kemik dokunun ultrason dalgalarından uzak tutulması gerektiği yönünde idi. 1950 yılında Maintz ilk defa ultrason ve kemik iyileşmesi üzerine bir araştırma yapmıştır. Tavşanlarda oluşturulan kırıkta ultrasonun osteogeneziz üzerine etkisini araştırmış ve periosteal kemik yapımına ultrasonun olumlu etkisi olduğunu kanıtlamıştır. Ultrasonun kemikte yarattığı ısıl zararın azaltılması için Shiro, ultrason yoğunluğun azaltılması ve kesikli şekilde uygulanmasını gündeme getirmiştir. Araştırmacı, genç tavşanlarda tibia kemiklerine 0,2 W/cm² yoğunlukta kesikli ultrason uygulamış ve deney grubundaki hayvanlarda artmış osteoblastik-kondroblastik aktivite gözlemlediğini 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 göstermişlerdir. 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 (Schortinghuis et al., 2003).

2.1.6.1.6.1 Ultrason Dalgalarının Fiziksel Özellikleri

Ultrason cihazlarında temel prensip olarak piezoelektrik olay adı verilen bir elektriksel etkileşimden faydalanılır. Piezoelektrik kristal adı verilen bazı kristallerin ses enerjisini elektrik enerjisine çevirme özelliği vardır. Bu olay tersine çevrilecek olursa yüksek frekanslı elektrik akımlarından yüksek frekanslı ses dalgaları elde edilebilir. Ultrason cihazlarının temel işleyiş mekanizması bu şekilde elektrik enerjisinin mekanik enerjiye çevrilmesine dayanır. Bir ultrason cihazının düzeneğinde iki temel kısım bulunmaktadır. Birincisi, şehir akımını istenilen frekansta alternatif akıma dönüştüren yüksek frekanslı akım üreticisidir. İkinci bölüm, bu akımı, mekanik enerjiye yani maddesel titreşime dönüştüren piezoelektrik kristalden oluşur. US cihazlarında genellikle kuvartz ya da baryum titanat kristalleri kullanılmaktadır. Yüksek frekanslı akımın her fazında kristalin kalınlığı değişir ve sonuçta kristal titreşir. Bu olay ortama yayılan mekanik titreşimlere sebep olur. Kristalin titreşimi maruz kaldığı frekansa eşittir ve iletildiği ortamda da aynı kalır.

Ultrason dalgaları ses dalgalarının fiziksel özelliklerine sahiptir. Ses dalgaları, periyodik olarak ortaya çıkan basınç dalgalarıdır. Basınç uygulaması esnasında ortamı oluşturan yapılarda sıkışma ve basınç ortadan kalktığına da gevşeme meydana gelir ve bu basınç değişikliği dalgalar halinde yayılır. Ultrasonik dalgalar da ses dalgaları gibi katı, sıvı, gaz ortamlarda yayılırlar ve içinden geçtikleri ortamın özelliklerine göre hızları değişir. Ultrasonik dalgaları elektromanyetik dalgalardan ayıran özellikleri; mekanik titreşimler olmaları, longitudinal yayılım göstermeleri, hızlarının düşük olması ve boşlukta yayılmamalarıdır. Ses dalgaları transvers ve longitudinal yönde yayılım göstermektedir (Şekil 1).

Şekil 1. Ses dalgalarının transvers, ultrason dalgalarının longitudinal yayılımı



Ses dalgaları yansımaya kurallarına uyar. Bir ortamın ses dalgalarına geçirgenliği akustik impedans olarak adlandırılır. Ortamın yoğunluğunun ses hızı ile çarpımı ortamın akustik impedansı verir. Akustik impedansları farklı olan dokuların ara yüzeylerinde ultrasonik dalgalar yansımaya uğrar. Örneğin; hava ile karşılaştığında ultrason dalgalarının çoğu yansımaktadır. Bu nedenle ultrason uygulaması sırasında yansımayı azaltmak için tedavi başlığı ile tedavi uygulanan alan arasında boşluk kalmamasına dikkat edilmelidir. Yağ dokusu, kas dokusu ve yumuşak dokuların akustik empedansları arasındaki fark çok azdır ve çok az yansımaya olur. Ancak kas ve kemik doku arasındaki akustik empedans farkı oldukça fazladır ve çok fazla yansımaya olur. Bu noktalarda ısı artışı oluşabilir. Yine dalgalar iki doku arasında kesişme yerlerinde yansımaya uğrar. Gelen dalgalar ne kadar yüzeye dik olursa yansımaya da o kadar az olacaktır. Cilt ve hava arasındaki impedans farkı çok

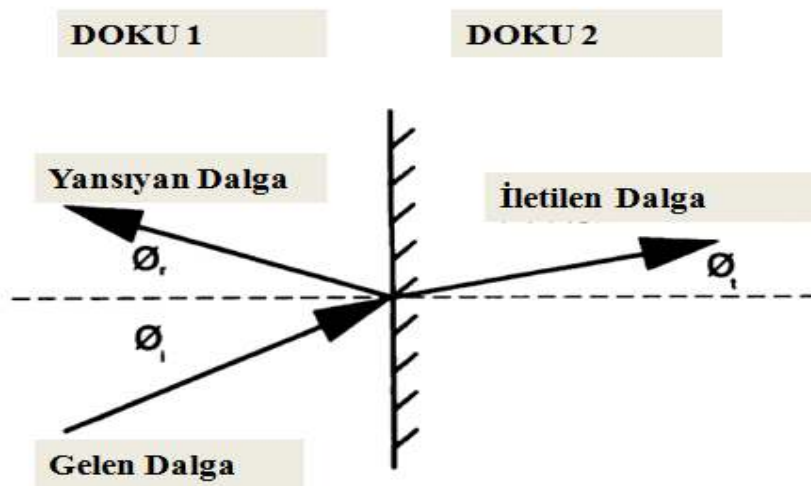
büyük olduğundan bir ara madde kullanılmadığı takdirde bütün akustik sinyal yansiyacaktır. Ara madde etkinliğinde 3 faktör rol oynamaktadır; ultrason dalgalarının ara madde tarafından absorbe edilme oranı ultrason dalgalarının gücünü belirler, ara madde ile ultrason cihazının başlığı arasındaki impedans farkı cihaza geri yansıyan dalga miktarını belirler, ara madde ile vücut dokuları arasındaki impedans farkı geri yansıyan dalga miktarını belirler. İdeal ara madde dokularla benzer akustik impedansa sahip olmalıdır. Sıklıkla gazı giderilmiş su ara madde olarak kullanılır. Böylece cilt yüzeyinde kabarcık oluşmaz. Musluk suyunu bir gece bekletmek gazın giderilmesi için yeterlidir. Ticari olarak temin edilebilen mineral yağları da, standart distile gazsız su ile benzer özelliklere sahiptir. Silikon jel açık yaralar, düzensiz yüzeyler ve hassas cilde uygulamada kullanılabilir. Tuz içeren solüsyonlar ultrason cihazının başlığına hasar verebileceğinden ara madde olarak kullanılmaz (Docker et al., 1982).

Ultrasonik dalgalar doku içinde çeşitli oranlarda absorbe olurlar. Moleküller düzenli hareketlerini kaybedip düzensiz oynamalar yapmaya başlar ve sonuç olarak dokuda ısınma meydana gelirken ultrason enerjisinde azalma gözlenir. Ultrasonik dalgaların yağ dokuda absorpsiyonu azdır, en fazla kemik dokusu tarafından absorbe edilir. Kas dokusunda da iyi absorbe edilir, ancak yüksek oranda vaskülarize olmaları nedeniyle bu dokularda ısı hızla kaybedilir. Sonuç olarak ultrason uygulaması ile kemik, eklem, kapsül ve tendonlar iyi ısıtılabilir. Ultrason dalgalarının, dokularda absorpsiyona ve aynı zamanda dokular arasında yansımaya uğrayarak başlangıçtaki yoğunluğu giderek azalır. Yoğunluğun yarıya düştüğü derinlik kritiktir ve buna yarı değer adı verilmektedir. Frekans arttıkça yarı değer derinliği azalır. Örneğin yapılan bir çalışmada 1 MHz'de frekanslı ultrason dalgalarında 4-6.5 cm iken, 3 MHz frekansta bu değer 1.5-3 cm olduğu bulunmuştur. 3 MHz'lik ultrason uygulamasının 0.5 cm'lik derinlikte diğer yöntemlere göre daha fazla ve kısa sürede ısı oluşturduğu gösterilmiştir. (Hayes et al., 2004) Bu özellik obezite gibi durumlarda göz önünde bulundurulması gereken bir özelliktir. Başlıktan çıkan ses demeti bir süre silindirik şekilde ilerler daha sonra belli bir açı ile birbirinden ayrılarak yayılır. Bu açı başlığın çapına ve sesin dalga boyuna bağlıdır. Başlık ne kadar büyükse ses demeti o

kadar uzak bölgeye silindirik şekilde ulaşacaktır. En çok ses yoğunluğunun olduğu bölgeye yakın alan adı verilir. Genel olarak; güç çeviricinin yarıçapı ve ses frekansı ne kadar büyükse yakın alan o kadar uzundur.

Ultrason dalgaları doku içinde ilerledikçe enerjilerinin bir kısmını kaybeder, bu olaya güç azalması denilmektedir. Doku içinde güç azalması, absorpsiyon, yön değiştirme ve dalgaların interferansı gibi çeşitli mekanizmalarla oluşur. Ultrasonun gücünün zayıflamasının en büyük nedeni absorpsiyon mekanizmasıdır. Ultrason enerjisi, yukarıda da bahsettiğimiz gibi, doku tarafından absorbe edilip, ısıya dönüştürülür. Bu ultrasonun dokular üzerinde oluşturduğu en major etkidir. Ultrasonun dokuya penetrasyonu bir dizi faktöre bağlıdır. Özellikle ultrasonun etki ettiği derinlik frekans arttıkça azalır (Hayes et al., 2004). Daha düşük frekanslarda ultrason dalgaları derine penetre olur. Dokunun tipi de önemlidir. Kasta penetrasyon en fazla, yağda en azdır. Uygulama yönü de penetrasyonu etkileyen faktörlerdendir. Ultrason başlığı dik konumdayken, transvers konuma göre dokularda daha derinlere etki etmektedir. Ultrason dalgalarının frekansı arttıkça dalgaların birbirinden uzaklaşması azalır, daha yüksek frekanslarda dalgaların bir noktaya odaklanması artar. Dalgaların yön değiştirmesi kırılma, yansıma ve dağılma sonucudur (Şekil 2).

Şekil 2. Gelen, iletilen ve yansıyan dalgaların şematik görünümü



Kırılma, ultrason dalgasının 2 farklı ortam arasındaki geçiş esnasında yayılım yönündeki sapmadır. Ultrason dalgaları deriye geliş açısı ile çarpıp, kırılma açısı ile devam ederler. Geliş açısı 15 derece olduğu zaman kırılan dalgalar geliş açısından büyük bir açı ile ara yüzeye paralel olarak ilerler. Böylece penetrasyon olmaz, derinde bir etki oluşturmaz ve tedavide etkisiz sonuçlar alınır. Dalgaların ultrason başlığından vücuda tam transmisyonu için geliş açısı 0 derece olmalı yani ultrason başlığı 90 derecelik bir açı ile uygulanmalıdır. Yansıyan dalganın açısı gelen dalganın açısına eşittir. Yansıyan dalganın büyüklüğü ise yansıtan yüzeyin iki tarafı arasındaki dokuların akustik impedansına eşittir.

2.1.6.1.6.2 Ultrason Dalgalarının Etkileri ve Etki Mekanizmaları

Ultrason dalgaları dokular üzerinde biyolojik, fizyolojik ve piezoelektrik etki göstererek değişiklik meydana getirmektedir. Fizyolojik etkileri ısıya bağlı ve ısıya bağlı olmayan değişiklikler olmak üzere etki göstermektedir.

2.1.6.1.6.2.1 Biyolojik Etkileri

Ultrason enerjisinin vücut sıvılarında oluşturduğu tek yönlü hareket, özellikle hücre zarında daha belirgindir. Tek yönlü harekete bağlı olarak protein sentezinde ve rejenerasyon süreçlerinde hızlanmalar olur (Dinno et al., 1989). Uygulama alanında belirgin ağrı azalması görülür. Analjezi öncelikle termal etkiye bağlanmakla birlikte, duyuşal afferentlerin uyarılmasıyla omuriliğin arka boynuzunda kapı kontrol mekanizmasının devreye girmesiyle gerçekleştiği de ileri sürülmektedir. Terapötik ultrasonun biyolojik etkilerinin olmasından dolayı kırık tedavisinin birçok alanında kullanılmaktadır. TGF- β kemik iyileşmesinde ve yapım aşamasında önemli rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada insan osteoblast hücrelerinden ultrason uygulamasını tabiken sentezlenen TGF- β miktarı araştırılmıştır. TGF- β 1 ve TGF- β 2 de ultrason uygulamasının bir saat sonrasında önemli derecede artış olduğu ancak TGF- β 2 de herhangi bir değişim olmadığı tespit edilmiştir (Harle et al., 2005).

Prostaglandin E₂ (PGE₂) salgısının kemik kırıklarının iyileşmesinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Fareler üzerinde yapılan bir araştırmada fare osteoblast hücrelerinden ultrason uygulamasını takiben salgılanan PGE₂ miktarı değerlendirilmiştir. Siklooksijenaz-2 (COX-2) enzimi PGE₂ salınımı için önemli bir enzimdir. COX-2 değerleri ultrason uygulaması sonrasında değerlendirildiğinde ultrason grubunda önemli derecede artış meydana getirdiği görülmüştür (Kokubu et al., 1999). Başka bir çalışmada 4 farklı hücre kültürü çalışmasında düşük yoğunlukta kesikli ultrasonun insan mandibuler osteoblast ve fibroblastları üzerine etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar, uygulamanın hücrelerin proliferasyonunu arttırdığını, interlökin-8 ve fibroblast büyüme faktörü (fibroblast growth factor) (FGF) gibi sitokinlerin sentezini hızlandığını, mekanik stimülasyon yolu ile artan kemikleşmede rol oynayan mediatörler olan nitrik oksit ve prostaglandinE₂ sentezini arttırdığını ve damarlanmayı hızlandığını bildirmişlerdir (Doan et al., 1999, Reher et al., 1999).

Hücrenel mekanizmada meydana gelen değişimlerin yanında ultrasonun damarsal yapıların şekillenmesinde de rol oynadığı görülmüştür. Damarlanmadaki artış kemik ve kırık iyileşmesinin hızlanması için kritik değer taşımaktadır. Bilindiği üzere kemik iyileşmesinin inflamatuvar fazında temel olarak yaralanmış bölgeye kan akımının ulaşması sağlanmaktadır (Lu et al., 2006). Yapılan bir çalışmada köpek ulna kemiklerinde yapılan osteotomi sonrası 10 gün boyunca uygulanan düşük yoğunlukta kesikli ultrasonun, sahada vaskularite artışı sağladığını bildirmişlerdir (Rawool et al., 2003).

2.1.6.1.6.2.2 Fizyolojik Etkileri

Dokuya ultrason uygulandığı zaman hücreler ve hücreler arası sıvılar ve hücre zarı gibi dokularda titreşimler oluşturmaktadır. Örnek olarak 1.5 MHz, 150 mW/cm² 'lik ultrason dokulardaki partikülleri yaklaşık 4.6 nm hareket ettirmektedir. Partiküller saniyede 1,5 milyon kez yönlerini değiştirecek şekilde titreşirler. Dokularda oluşturduğu bu yüksek miktardaki titreşimler nedeni ile ultrason tedavisi dokularda bir çeşit mikro doku masajı yapmaktadır (Schortinghuis et al., 2003).

Titreşimler sonucu dokularda meydana gelen değişiklikler ısısal ya da ısısal olmayan değişiklikler olarak sınıflandırılabilir.

2.1.6.1.6.2.2.1 Isısal Değişimler

Ultrason enerjisi doku tarafından absorbe edilirken ısı enerjisi açığa çıkar. Ultrason uygulaması ile dokularda ısınma iki yolla gerçekleşir: Birinci şekil, ultrason enerjisinin doku tarafından absorbe edilerek ısıya dönüşmesi şeklindedir. Absorbsiyon dokunun içerdiği protein oranına ve dokuların akustik empedansına göre değişir. Isınmada ikinci yol mekanik etkileşimdir. Özellikle birbirine komşu dokuların temas ettikleri yüzeylerde, ultrason enerjisi etkisiyle sıkışma ve genişleme hareketleri meydana geldiğinden ısınmayla birlikte mikromasaj etkisi oluşur. Hücrelerarası sıvı değişiminin hızlanması ve emilmenin artmasıyla hücre geçirgenliğinde de artış olur. Kan hücrelerindeki geçirgenliğin artmasıyla birlikte çevresel damarlarda da genişleme olacağından, bölgesel kanlanma artar (Johns, 2002).

2.1.6.1.6.2.2.2 Isısal Olmayan Değişimler

Ultrason uygulamasında biyolojik zarların geçirgenlik değişiklikleri yalnızca ısı etkisine bağlanamaz. Ultrason tedavisi akustik yayılma ve kavitasyon gibi etkilerin bir kombinasyonu şeklinde termal olmayan etkilerini gösterir. Akustik yayılma, iyonların ve küçük moleküllerin yer değiştirme gücünü etkileyen sesin fiziksel bir etkisi olarak tanımlanır (Johns, 2002).

Termal olmayan etkilerden biride kavitasyon etkisidir. Kavitasyon ses alanında gaz kabarcıklarının üretilmesidir. Bu kabarcıklar ses dalgasının değişen sıkışma ve esnemeleri ile genişleyebilir ve kontrakte olabilir. Ultrason uygulanan dokuda oluşan basınç değişiklikleri ile erimiş halde bulunan gazlar küçük kavitasyonlar oluşturabilir. Stabil kavitasyon, ultrason enerjisine bağlı sıvılar içerisinde gaz kabarcıklarının oluşmasını ifade eder. Bu kabarcıklar dalgaların tipine göre farklı büyüklükte ve şekilde olabilirler ve titreşimler ile beraber sıvılarda lokal

hareketlerin oluşmasına sebep olur. Sıvılar içerisindeki bu hareketlenmelere mikro dalgalanma “microstreaming “ adı verilir. Yapılan bir çalışmada 1,5 MHz frekansında 150 mW/cm² yoğunluğundaki ultrasonun domuzların vücut sıvılarında 10µm’den daha büyük kabarcıkların oluşturduğunu göstermişlerdir (ter Haar et al., 1982). Akustik akıcılık, ultrasonik alandaki kinetik enerjinin sıvılar tarafından absorbe edilmesini ve sıvıların dalgalı olarak hareket etmesini ifade eder. Bu mekanizma, hücre içindeki ve dışındaki iyon ve metabolitlerin hareketleri ve transferlerini sağlar. Hücreler arası sıvı ve iyon akımlarındaki artışlar, hücre zarlarının geçirgenliklerinde farklılıkları meydana getirerek zarın elektrofizyolojik özelliklerinde değişikliklere neden olur. Yapılan bir çalışmada kurbağa derilerine 1 Mhz frekansında sürekli akımda US uygulamışlar ve epiderminin tabakaları arasındaki elektrik ve potansiyelinde artış, iyon iletkenliğinde %20–220 arasında artış sağladığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar sonuç olarak ultrason uygulamasının sodyum-potasyum kanallarında kullanılan ATP ihtiyacını azalttığını bildirmişlerdir (Dinno et al., 1989).

2.1.6.1.6.2.3 Piezoelektrik Etkiler

Kemik dokusu üzerine yük uygulandığı zaman elektrik potansiyelinde değişimler meydana gelmekte ve bu etki de piezoelektrik etki olarak adlandırılmaktadır. Piezoelektrik etki, kemik yapımı ve yıkımı için düzenleyici rol oynamaktadır ve Wolff kanunlarında ifade edilen “kemik üzerine gelen yüklere ve meydana gelen fonksiyona göre yeniden şekillenir” ifadesi için açıklık getirmektedir (Fukada E., 1957). Yapılan bir çalışmada 3 haftalık tavşan tibia kırığında 800 KHz frekansında ve 100 mW/cm² yoğunlunda ultrason uygulamasının kallus dokusu elektrik potansiyelinde 0,9 mV’luk artış sağladığını bildirmişlerdir. Ancak, ultrasonun potansiyel elektrikte meydana getirdiği bu değişiklik miktarı, kas aktivitesinin kemikte yarattığı 100 mV’a kadar çıkan potansiyel artışı göz önüne alındığı zaman oldukça düşük bir artış olduğu görülmüştür. Bu nedenle piezoelektrik etkinin kemik iyileşmesinde oynadığı rol daha detaylı bir şekilde araştırılmalıdır (Schortinghuis et al., 2003).

Oral ve maksillofasiyal bölgesi operasyonları çoğu kez kemik dokusunu ilgilendirmektedir. Kemik iyileşmesini stimule edici çalışmalar sadece çene-yüz kemikleri travmaları değil aynı zamanda ilgili kemiklerde yapılan onkolojik rezeksiyon ve rekonstrüksiyon ameliyatları, implant osseointegrasyonu, sert doku greftlemeleri, ortognatik cerrahi sonrası iyileşme dönemi ve distraksiyon osteogenesi alanda önemli yere sahiptirler. Maksillofasiyal cerrahide yetersiz kemik veya rezeksiyonlar sonucunda kaybedilen kemik dokusunun rekonstrüksiyonunda birçok greft materyali kullanılmaktadır.

2.1.7 Oral Cerrahide Kullanılan Greft Materyalleri

Hasara uğrayan bir dokunun tedavisi için hasar bölgesine yerleştirilen maddeler “greft” olarak adlandırılır. Oral ve maksillofasiyal cerrahide, kemik grefti denince, tedavi amacıyla kemik defektinin içine yerleştirilen maddeler anlaşılır. Bu maddelerin, dokunun osteojenik sürecine herhangi bir şekilde katkıda bulunmaları gerekir. Kemik greftlerinin genel tıpta kullanımı 19.yy’ın sonlarına uzanır. Senn 1889’da aseptik dekalsifiye allojenik kemik greftlerini osteomiyelit ve başka kemik deformitelerinin tedavisi amacıyla kullanmaya başlamıştır. Farklı greft maddeleri farklı mekanizmalar ile kemik iyileşmesine katkıda bulunurlar. Bu mekanizmaları üç başlık altında toplamak mümkündür (Glowacki, 1992)(Tablo 3).

Tablo 3. Kemik iyileşmesi mekanizmaları

Tip	Fizyolojik Prensi	Örnekler
Osteogenezis	Canlı osteoblast ve preosteoblastların transplantasyonu	Kanselloz kemik, ilik, periosteum ve damarlı greftler
Osteokondüksiyon	Defektin kenarlarından greftin içine doğru kemik oluşumu ve greftin tedrici olarak	Kortikal kemik, allojenik ve heterojenik kemik

	rezorpsiyonu	
Osteoindüksiyon	Mezenkimal hücrelerin fenotipik değişimle kemik hücrelerine dönüşmesi	Demineralize kemik ve dentin

Osteogenesis; canlı kansellöz kemik, kemik iliği ve periostal greftler içerdikleri osteoblast ve preosteoblastlar ile doğrudan yeni kemik oluşumunu (osteogenesis) başlatırlar. Osteokondüksiyonda ise bazı greft maddeleri, mevcut defektin kenarlarından oluşacak yeni kemik dokusu için bir yapı iskelesi (çatı) oluştururlar. Bu tür greft maddelerinin bir kısmı yeni kemik oluşumuyla eş zamanlı olarak rezorbe olurlar ve zamanla tümüyle ortamdan uzaklaşırlar. Osteoindüksiyon da ise, bazı greft maddeleri mezenkimal doku hücrelerinde fenotipik değişikliğe neden olarak onların kemik dokusu oluşturmasını sağlarlar (Newman, 2002).

Konuyla ilgili literatür incelendiğinde bu özelliklerin tümünü birden taşıyan, ideal bir greft maddesinin henüz mevcut olmadığı görülmektedir. Günümüze kadar, birçok greft maddesi oral kemik defektlerinin tedavisinde değişen başarı düzeyleri ile kullanılmıştır. Oral ve maksillofasial cerrahide kullanılan greft maddelerini şu şekilde sınıflamak mümkündür: Otogreft, Allogreft, Heterogreft (Ksenogreft) ve Alloplastik (Sentetik).

2.1.7.1 Otogreftler

Bireyin kendisinden elde edilen kemik greftidir. Canlı osteoblast ve osteoprojenitör ana hücreler içerdikleri için osteogenezis ile iyileşirler. Alıcı dokuyla uyumludurlar, hastalık transferi riski yoktur. Uygulama sonrasında osteoprojenitör hücreler veya preosteoblastlar çoğalarak greft ile alıcı kemik arasındaki boşluğu doldururlar. Otogreft iyileşmesinin erken aşamasında, yeni kemik oluşumu greft içinde canlılığını koruyan bu osteoprojenitör hücrelerden kaynaklanır. Daha ileriki aşamalarda ise indüklenen alıcı kemik dokusundan kaynaklanır (Freihofer,2000).

Otojen kemik greftlerindeki kemik gelişme mekanizması 3 faz içermektedir. Greftin kansellöz parçasında primer olarak bulunan yaşayan transplante hücreler

etraftaki damarsal dokulardan beslenerek 3-4 gün ayakta kalırlar. Transplantasyon işleminden arda kalan kemik trabekülleri içindeki osteositler, yeni osteoid doku oluşumu ve proliferasyonundan sorumludur. Bu osteojenik aşama faz 1 yapım aşaması olarak adlandırılır. Kan damarları, fibröz doku ilerleme hızında greft sahası içine doğru ilerleyebilir, bu da yaklaşık 1 mm civarındadır. Greftin başarısı bu yüzden erken damarlanmaya bağlıdır. Bu aşama 4 hafta içinde azalmaktadır. Transplante kemik hücreleri öldükçe, konağın kemik hücreleri rezorpsiyon ile grefti yeniden şekillendirmektedir. İndüktif proteinler ve büyüme faktörleri transplante hücreler tarafından salınarak faz 2 osteoindüktif fazı başlatır. Bu faz yaklaşık greftlemeden sonra 6. haftada başlar ve 6 aya kadar gelişebilir. Kortikal kemik morfojenik proteinlerin başlıca kaynağıdır. Kortikal kemik sahada osteokondüktif etki sağlayarak çatı görevi de görmektedir. Bu faz 3. faz olarak sayılmaktadır. Kalın kortikal kemik içeren greft kullanımı bir bariyer görevi yaparak epitel infiltrasyonunu ve bağ dokusu istilasını önlemektedir. Bu yüzden otojen kemik greftleri 3 fazıda içerdiği için, greftleme teknikleri içinde altın standart olarak kabul görmektedir (Jensen, 2000, Misch, 2003).

Otogreftler verici bölgeye göre iki gruba ayrılır: (Misch, 2003)

a. Ağız içi kaynaklı otogreftler

Bu tür greftler için ağız içinde çeşitli verici bölgeler vardır:

- Üst çene tüberler bölgesi,
- Dişsiz bölgeler,
- Kökler arasındaki alveol kemiği,
- Ekzostozlar,
- İyileşmekte olan (8-12 haftalık) çekim yerleri,
- Osteoplasti ve osteoektomi sırasında çıkarılan kemik,
- Çene ucu bölgesi

b. Ağız dışı kaynaklı otogreftler

- Fibula
- Tibia
- Kranial kemik
- İlium

2.1.7.2 Allogreftler

Aynı türün aralarında genetik benzerlik bulunmayan bireyleri arasında insandan insana yapılan greft uygulamalarıdır. Kadavralardan elde edilen kemik dokusu çeşitli işlemlerden geçirildikten sonra kullanıma hazır halde bulundurulur. Ototreftlerdeki sınırlamalar allogreftlerin kullanımını gündeme getirmiştir. Ototreftlere göre, uygulama kolaylığı ve ikinci bir operasyon bölgesine ihtiyaç göstermemeleri gibi avantajları vardır. Ayrıca otogreftlerdeki gibi miktar sınırlaması da yoktur (Freihofen, 2000).

Esas olarak üç tip allogreft söz konusudur: (Nasr et al., 1999)

- a) Dondurulmuş kemik allogreftleri
- b) Dondurulmuş-kurutulmuş kemik allogreftleri
- c) Demineralize dondurulmuş-kurutulmuş kemik allogreftleri

a. Dondurulmuş Kemik Allogrefti

Dondurulmuş kemik allogreftleri antijenik özelliklerinin eliminasyonundaki güçlükler ve hastalık transferi riski nedeniyle oral cerrahide fazla kullanılmamaktadır (Nasr et al., 1999).

b. Dondurulmuş-Kurutulmuş Kemik Allogreftleri (DKKA)

Dondurularak kurutma işlemi, taze dondurulmuş kemikteki antijenik etki ve hastalık transferi gibi riskleri önemli ölçüde ortadan kaldırır. Aynı zamanda, DKKA ile yeni kemik oluşumu açısından tatmin edici sonuçlar alınmıştır.

c. Demineralize Dondurulmuş-Kurutulmuş Kemik Allogreftleri (DDKKA)

Hidroklorik asit ile demineralizasyon işlemi inorganik kemik matriksi içindeki kemik oluşumunu uyarıcı proteinlerin açığa çıkmasını sağlar. Kemik oluşumunu uyaran bu proteinlerin tümü birden kemik morfojenik proteini (bone

morphogenetic protein) (BMP) olarak adlandırılabilir. DDKKA'ların iyileşmesi konusunda tartışma vardır. Bazı yazarlar bu tür greftlerin osteoindüksiyon ile iyileştiklerini ileri sürerler. Bu süreç greftin yerleştirildiği alıcı doğal kemikten kaynaklanan çok potansiyelli hücreleri kapsar. Bölgeyi dolduran bu hücreler farklılaşarak osteoblastlara dönüşürler. Zamanla allogreft alıcı kemik tarafından rezorbe edilir ve bu rejeneratif sürecin BMP ve muhtemelen allogreft içindeki diğer büyüme faktörleri tarafından indüklendiği düşünülmektedir (Nasr et al., 1999).

2.1.7.3 Heterogreftler

Ksenogreft olarak da adlandırılırlar. Değişik türlerden (hayvanlardan) elde edilen greft maddeleridir. Günümüzde kullanılmakta olan iki tip heterogreft vardır: (Nasr et al., 1999)

- a) Sığır kaynaklı hidroksiapatitler : Sığır kemiklerinin tam olarak deproteinize edilmesi ile elde edilirler.
- b) Mercan kaynaklı kalsiyum karbonatlar : Mercanların, kalsiyum karbonat yapısında olan dış tabakası "aragonit" adı verilen kireçli bir madde salgılar. Fiziksel yapısı porludur. Por çapları ortalama 100-200µm'dir ve porlar birbirleriyle bağlantılıdır. Bu yapı hem damarlanma hem de hücre göçü için önemli bir özelliktir. Porlu yapısı yüzey alanını genişletir. (Newman, 2002)

2.1.7.4 Alloplastikler

Sentetik greft maddeleri olarak da adlandırılan alloplastik greft maddeleri şu şekilde sınıflandırılabilir: (Cila, 2004)

A. Bioseramikler

1. Trikalsiyum fosfatlar
2. Hidroksiapatitler (HA)
 - 2a. Yoğun, poröz olmayan, rezorbe olmayan HA
 - 2b. Poröz, rezorbe olmayan (heterogreft) HA
 - 2c. Düşük ısıda üretilen rezorbe olan HA

B. Bioaktif Camlar

C. Polimerler

A. Bioseramikler : Hidroksiapatit tozlarının yüksek ısı ve basınç altında birbirleriyle kaynaştırılması (sinterizasyon) ile elde edilirler. Kalsiyum fosfat greft maddeleri olarak da adlandırılırlar (Newman, 2002).

B. Bioaktif Camlar: Bioaktif camlar esas olarak silikon dioksit, sodyum oksit, kalsiyum oksit ve fosfor oksitten ibarettir. Biyoaktif özellikleri olan bu materyallerin osteojenezisi yönlendirip artırarak hızlı yeni kemik oluşumuna neden olduğu ileri sürülmektedir. Ayrıca, alıcı bölgede oluşan yeni kemikle doğrudan bir bağlantı sağladıkları da ifade edilmektedir (Cila, 2004).

C. Polimerler:

Polimetilmetakrilat, polihidroksietilmetakrilat ve kalsiyum hidroksit'den meydana gelen doku uyumlu, mikroporöz bir greft maddesidir. Alveol kemiği ile yakın temasta olduğunda yeni kemik oluşumu için bir yapı iskelesi görevi gördüğü ve osteokondüktif etki gösterdiği anlaşılmaktadır (Freihofer, 2000).

Araştırmamızda, rat femurlarında oluşturulan bir tanesi boş bırakılmış, diğeri ise otojen blok kortikal kemik grefti ile doldurulmuş defektlerin iyileşmesinde, düşük yoğunlukta kesikli ultrason uygulamasının kemik üzerindeki etkilerinin, DEXA ve biyokimyasal analizler ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Deney Hayvanları

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Destekleme Protokolü tarafından desteklenmiştir. Araştırmamız Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından hayvan etiği açısından uygun görülmüştür (Ek. 1). Çalışmamızda kullanılacak 24 adet iskeletsel gelişimini tamamlamış, 8 aylık erkek, min:341, mak:374, ort:352,9 gram ağırlığında Wistar Albino rat cinsi deney hayvanı Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı Başkanlığından temin edilmiştir. Çalışmamızda kullanılan deney hayvanlarının ameliyatları Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır.

Ratlar, her bir kafeste 12 adet olmak üzere tabanı talaş ile kaplı Eurotype 4 polikarbon kafeslere (Radon®, Ankara, Türkiye) yerleştirildi. Araştırma, 21 ± 1 °C sıcaklıkta; %55 bağıl nem oranı; 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ışık periyodu standardını sağlayacak ortamda gerçekleştirildi (Resim 1). Araştırma süresince deney hayvanları standart pelet formundaki sıçan yemi (Poyraz Zirve® S-2, Kütahya, Türkiye) ve musluk suyu ile beslenmiştir.

Resim 1: Deney hayvanlarının kafesleri



3.2 Gruplar

Deney hayvanları her grupta 12 sıçan olacak şekilde rastgele iki (2) gruba dağıtılarak kontrol ve deney grupları oluşturuldu (Tablo 4). Deney ve kontrol grubunda bulunan tüm deneklerin sağ ve sol femurları genel anestezi altında açıldı, trefin frezler yardımı ile iki adet defekt oluşturuldu. Defektlerden biri boş bırakıldı, diğer defekte ise trefin frezler ile elde edilen blok otojen kortikal greftler yerleştirildi. Deney grubunda yer alan deneklere cerrahi operasyon sonrasında 3. günde başlamak üzere 15 gün boyunca sağ femur kemiklerine günde 20 dakika olmak üzere ultrason uygulandı. Kontrol grubunu oluşturan ikinci grupta yer alan deney hayvanlarına ise cerrahi işlem sonrasında her iki bacaklarına da ultrason uygulanmadı.

Tablo 4. Araştırma gruplarını oluşturan kontrol ve deney grupları

Gruplar	N	Ultrason uygulaması	Ultrason uygulaması
Deney grubu	12	+	+
Kontrol grubu	12	-	-

3.3 Cerrahi Girişim

Ameliyat öncesi ratlar tartılarak kiloları kaydedildi ve genel anestezi için kullanılması gereken ilaç miktarları hesaplandı (ketamin hidroklorür ve ksilazin hidroklorür). Verilen anestetik maddelerden ketamin hidroklorür (Ketasol®, Richterpharma, Avusturya) 90 mg/kg, ksilazin hidroklorür (Alfazyne®, Alfasan, Hollanda) 10 mg/kg olarak intraperitoneal (IP) olarak enjekte edilerek genel anestezi sağlandı (Resim 2).

Resim 2. Genel anestezi için kullanılan ilaçlar



Ratların sağ ve sol üst bacak üst yüzeyleri traşlandıktan sonra %10'luk povidon iyot solüsyonu (Poviiodeks®, Kimpa, Türkiye) ile silinip dezenfeksiyonu sağlanarak cerrahi girişime hazır hale getirildi (Resim 3).

Resim 3. Operasyon alanının traşlanarak tüylerden arındırılması



Cilt kesisi yapıldıktan sonra (Resim 4) künt disseksiyonla cilt ve cilt altı yumuşak dokular (fasiya, kas) ve periosteum geçilerek femura ulaşıldı (Resim 5). Femuru çevreleyen kas ve periosteum tamamen diseke edildikten sonra osteotomi alanını bu dokulardan izole hale getirmek için araya periost elavatörü yerleştirildi. Femurda otojen greft elde etmek için 3mm çapında trefin frez kullanıldı. Femurun üst kısmına aralarında yaklaşık olarak 3 mm boşluk kalacak şekilde iki adet trefin frez yardımı ile osteotomi yapıldı. (Resim 6) Bu işlem çift taraflı olarak sağ ve sol femur kemiklerine uygulandı. Her iki tarafta da alt kısımda oluşturulan 3mm'lik defektler boş bırakıldı. Üst kısımda oluşturulan defektlere ise trefin frezler ile elde edilen otojen kortikal blok greft kemikler (Resim 7) yerleştirilerek rezorbe olabilen suturlar ile femura sabitlendi (Resim 8).

Resim 4. Cilt kesisi



Resim 5. Femur kemiğinin açığa çıkarılması



Resim 6. Femur kemiğine 3mm'lik trefin frezler ile kesilerin yapılması



Resim 7. 3mm'lik trefin frezle elde edilen otojen greft



Resim 8. Açılan iki defektin üst kısmına otojen greftin yerleştirilmesi, alt defektin boş bırakılması



Greftlerin yerleştirilmesi sonrası cerrahi alan serum fizyolojik ile yıkanarak atık dokular uzaklaştırıldı. Kemik yüzeyinden dissekte edilen kaslar 3/0 katgüt suture (Doğsan®, Trabzon, Türkiye), cilt ise 3/0 ipek suture kullanılarak (Doğsan®, Trabzon, Türkiye) primer dikiş ile suture edildi (Resim 9).

Resim 9. Operasyon alanının dikiş ile kapatılması



Deney hayvanları cerrahi girişimi takip eden 18. günde sakrifiye edildi.

3.4 Postoperatif Takip

Ameliyat sonrası üç (3) gün süreyle tüm ratlara enfeksiyon kontrolü için intramuskuler (IM) 5 mg/kg amikasin sülfat/gün (Amikozit® 500 mg flakon, Eczacıbaşı, Türkiye) antibiyotik ve ağrı kontrolü için de IP 1 mg/kg/gün tramadol hidroklorür (Contramal® 100mg ampul, Abdiibrahim, Türkiye) analjezik verildi (Resim 10).

Resim 10. Postoperatif uygulanan amikasin sülfat ve tramadol hidroklorür



İlki ameliyat öncesi olmak üzere, postoperatif dönemde ve ratların sakrifiye edildiği 18. günde deney hayvanlarının ağırlıkları kaydedildi. Kayıt döneminde hiçbir hayvanda çalışma dışı bırakılma kriteri olan ağırlığın %20'sinden fazla kilo kaybı izlenmedi. Gün içerisinde yapılan kontrollerde sıçanların genel sağlık durumları (genel güçsüzlük, yem ve su alımında azalma, dispne, cilt ve tüy değişikliği vs.) takip edildi.

3.5 Ultrason uygulaması

Deney grubundaki hayvanların sağ femur kemikleri üzerine postoperatif 3. günden başlayarak düşük yoğunlukta kesikli ultrason uygulaması yapıldı. Ultrason uygulaması zamanlaması literatüre uygun şekilde yapıldı (Pounder, 2008). Uygulama

15 gün boyunca her gün, günde 1 defa olmak üzere 20 dakika süreyle yapıldı. 15 günlük uygulama ultrasonun kemik iyileşmesi üzerindeki etkisini erken dönemde gösterdiği için seçilmiştir. Uygulama için havyanlar, hareketlerini kısıtlayan, ratlar için özel olarak imal edilmiş iki tarafında vidalı kapıları olan silindirik plastik kutulara yerleştirildi. Hayvanlar, silindirik kutulara yerleştirilirken sağ femur kemiklerinin (operasyon sahasının) olduğu bölgeye ultrason sensörünün hayvanların vücutları ile temasta olması için açılan pencerelere göre yerleştirilerek hareketsiz kalmaları sağlandı. Sensörün tam operasyon bölgesi üzerinde konumlandırılmasına dikkat edildi. Ultrason jeli sensör yüzeyi ile cilt arasına sürüldükten sonra cihaz aktive edildi (Resim 11).

Resim 11. Deney hayvanlarına ultrason uygulanması



Uygulama sırasında hayvanlara sedatif ajan verilmedi. Tüm uygulama boyunca bir gözlemci uygulamanın yapıldığı odada bulundu ve işlemin kesintisiz şekilde ilerlemesini sağladı. Ultrason cihazı, doku ile teması her hangi bir nedenle kesildiği zaman sesli uyarı vermektedir. Kullanılan ultrason cihazından iletilen dalgalarının fiziksel özellikleri aşağıda verilmiştir (Resim 12).

Resim 12. Ultrason cihazı ve jeli



- Ultrason Frekansı: 1,5 MHz
- İletilen sinyal genişliği: 200 μ sn
- BNR: 4,0 (Sensörden yayılan dalgaların maksimum yoğunluğunun ortalama yoğunluğa olan oranıdır. Bu oran, birçok ultrason cihazı için 4–6 arasında değişmektedir. Tedavi edici ultrason için istenilen BNR değeri 4,0 tür.)
- Kesikli sinyallerin atım aralığı: 1 KHz (1 saniyede 1000 sinyal) (Tedavi edici ultrason kullanımı için kabul edilen, dalgaların kesikli şekilde gönderilmesidir. Bu şekilde ultrasonun termal etkileri kabul edilebilir düzeye tutulurken, dokulardaki uyarı derecesi artmaktadır.)
- Sensörün etkin olduğu alan: 3.88 cm²
- Sensörden çıkan ortalama güç: 117 mW

Ultrason uygulaması hayvanların sakrifiye edildikleri 18. güne kadar devam etti. Uygulamadan kaynaklanabilecek farklılıkların önlenmesi için kontrol grubundaki hayvanlar da deney grubundakiler ile aynı işlemlere tabii tutuldu ancak ultrason uygulanmadı.

3.6 DEXA Analizi

Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nükleer Tıp Anabilim Dalında tüm femur ve operasyonun yapıldığı femur bölgesi kemik densitometresi alınması

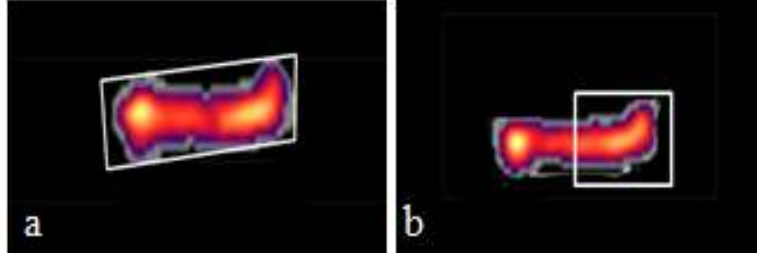
için toplam 16 denek ve 32 femur kemiği çalışmaya dahil edilmiştir. Deneklerin küçük deney hayvanları için yüksek çözünürlüklü görüntüleme özelliği olan Norland XR-46 marka DEXA cihazı ile kemik mineral yoğunluğu (BMD) ve kemik mineral içeriği (BMC) ölçümleri yapılmıştır (Resim 13).

Resim 13. DEXA cihazı ile femur ölçümlerinin yapılması



DEXA analizi yapılırken iki tarama bölgesi seçilmiştir. Büyük alan olarak seçilen bölgede, tüm femurun içine alındığı kemik kitlesinin ölçümleri yapılmıştır (Şekil 3.a). DEXA analizi yapılırken, defekt ve otojen kemiğin içine yerleştirildiği bölgenin alanının küçük olmasından cihazın kalibrelerinin bu kadar küçük alanlarda ölçüm yapamamasından dolayı ölçüm alanının sınırları femur başı ve defektlerin alt kenarı olarak belirlenerek bu alana küçük alan denilmiştir (Şekil 3.b). Küçük alan, DEXA cihazının sınırlı alanlarda işlem görmesinden dolayı defektlerin oluşturulduğu femur kemiklerinin üst kısmı ve ikinci defektin alt kenarı ile sınırlandırılarak oluşturulmuştur. Ultrasonun her iki alanda da etkilerini görebilmek için büyük ve küçük alanlarda DEXA analizleri yapılmıştır.

Şekil 3. a) DEXA taraması yapılırken tüm femurun analizinin yapıldığı büyük alan taraması b) femur başından, defekti ve otojen greft yerleştirilen defekti içine alındığı bölgenin analizinin yapıldığı küçük alan taraması



3.7 Biyokimyasal Değerlendirme

15 günlük ultrason uygulamasını takiben hayvanlara sakrifikasyon işlemi yapılmıştır. Sakrifikasyon işlemi genel anestezi altında hayvanlardan fazla miktarda kan alınarak uygulanmıştır. Alınan numunelerin biyokimyasal değerlendirme işlemleri SDÜ Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yapıldı. Ratlardan elde edilen kanlar +4°C'de bir süre bekletildikten sonra 400 Rpm (revolution per minute)'de 8–10 dk santrifüj edilerek (Rotanta 460, Hettich Zentrifugen, Almanya) serumlarına ayrıldı ve ependorf tüplere yerleştirilerek -20°C'de dondurularak saklandı. Değerlendirme yapılması için serumlar dolaptan çıkarıldı ve oda sıcaklığında çözümleri sağlandı. Serum alkalen fosfataz ve kalsiyum düzeyi Elecsys 2010 (Roche, Chiba, Japonya) cihazında Eclia yöntemi (Elektrokemiluminesansimmünassay) kullanılarak tespit edildi. Bu tespit için N-Mid (Roche, Mannheim, Almanya) kitleri kullanıldı.

3.8 İstatistiksel Değerlendirme

Araştırmada istatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for Social Science) 15.0 yazılım paket programı kullanılarak yapıldı. Verilerin değerlendirilmesinde her bir gruptaki örnek sayısı az olduğu ve varyanslar farklı olduğu için nonparametrik istatistik yöntemi tercih edildi. Gruplar arası DEXA ve biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılmasında Wilcoxon testi uygulandı. Analiz sonuçları ortalama \pm standart sapma olarak verildi ve $p \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi

BULGULAR

DEXA ve biyokimyasal analiz sonuçları Tablo 5’te gösterilmiştir.

Tablo 5. Deney ve Kontrol grubu hayvanların DEXA ve biyokimyasal verileri

		BMD (g/cm ²)	BMC (g)			BMD (g/cm ²)	BMC (g)
Deney 1	sağ	0,1407	0,5178	Kontrol 1	sağ	0,1259	0,2950
	sol	0,1268	0,3600		sol	0,1252	0,3594
Deney 2	sağ	0,1315	0,4646	Kontrol 2	sağ	0,1344	0,4629
	sol	0,1281	0,2832		sol	0,1329	0,5307
Deney 3	sağ	0,1445	0,6021	Kontrol 3	sağ	0,1278	0,4103
	sol	0,1271	0,3804		sol	0,1240	0,4177
Deney 4	sağ	0,1393	0,5139	Kontrol 4	sağ	0,1138	0,2580
	sol	0,1210	0,3926		sol	0,1248	0,4602
Deney 5	sağ	0,1438	0,5720	Kontrol 5	sağ	0,1153	0,2818
	sol	0,1300	0,3434		sol	0,1131	0,3326
Deney 6	sağ	0,1386	0,4615	Kontrol 6	sağ	0,1176	0,3446
	sol	0,1311	0,3541		sol	0,1115	0,2802
Deney 7	sağ	0,1376	0,3130	Kontrol 7	sağ	0,1288	0,4499
	sol	0,1302	0,3986		sol	0,1316	0,4794
Deney 8	sağ	0,1347	0,4369	Kontrol 8	sağ	0,1244	0,3755
	sol	0,1301	0,4604		sol	0,1150	0,2287
		Ca (mg/dl)	ALP (u /L)			Ca (mg/dl)	ALP (u /L)
Deney 1		9.18	243	Kontrol 1		8.21	193
Deney 2		9.07	255	Kontrol 2		8.00	257
Deney 3		8.98	209	Kontrol 3		8.74	200
Deney 4		8.69	315	Kontrol 4		8.59	232
Deney 5		9.23	257	Kontrol 5		8.49	206
Deney 6		8.45	180	Kontrol 6		8.06	200
Deney 7		9.15	230	Kontrol 7		7.77	226
Deney 8		10.26	314	Kontrol 8		8.15	279

Deney Hayvanları

Araştırmaya dahil edilen 24 adet sıçanın 3 adedi genel anestezi komplikasyonu, 5 adedi (kontrol grubu= 3, deney grubu=2) ise postoperatif femur fraktürü nedeni ile çalışma dışı bırakıldı. Operasyon sonrasında ve sakrifikasyon işlemine kadar hiçbir denekte osteomyelit, abse formasyonu, yara yüzünde açılma veya enfeksiyon görülmemiştir (Tablo 6). Kırık oluşan femurların tamamında ameliyat sırasında oluşturulan defektler arasında 3 mm'den az mesafe bırakıldığı, normal iyileşme gösteren femurlarda 3 mm ve daha fazla mesafe bırakıldığı tesbit edildi. Kırık oluşan femurlar çalışma dışı bırakıldı. Sonuç olarak kontrol grubunda sekiz (8), ultrason uygulanan deney grubunda ise sekiz (8) olmak üzere 32 femur çalışmaya dahil edildi.

Tablo 6. Çalışma dışı bırakılan sıçanlar ve femurların gruplara göre dağılımı (Deney hayvanı veya femur sayısı (n))

	Anesteziye			
	Bağlı ölen	Femur Kırığı	Çalışmaya Dahil	
	Deney	Oluşan Denek	Edilen Denek	
	Hayvanları			
				Toplam
Kontrol Grubu	1	3	8	12
Ultrason Grubu	2	2	8	12

Deney Hayvanı Ağırlığı

Gruplar içerisinde preoperatif ve sakrifikasyon işlemi sonrasında deney hayvanlarının ağırlıkları ölçülerek değişimler istatistiksel olarak değerlendirildi. Elde edilen sonuçlara göre her iki grupta da sakrifikasyon öncesinde ölçülen deney hayvanı ağırlığında preoperatif ölçülen deney hayvanı ağırlığına göre istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edildi.

Hayvan ağırlıkları ameliyat öncesi deney ve kontrol grupları Wilcoxon testi ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır (Tablo 7) ($Z=0.210$, $P=0.833$).

Tablo 7. Deney öncesi ve sakrifikasyon işlemi öncesinde hayvan ağırlıkları

	N	Ortalama(gr)	Standart sapma	Minimum(gr)	Maximum(gr)
Kontrol Grubu	8	352,75	7,04	342,0000	362,0000
Deney Grubu	8	353,12	10,78	341,0000	374,0000

$P=0.833$

Hayvan ağırlıkları ameliyat sonrası deney ve kontrol grupları Wilcoxon testi ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. (Tablo 8) ($Z=0.701$, $P=0.483$)

Tablo 8. Ameliyat öncesi grupların hayvan ağırlıkları bulguları

	N	Ortalama(gr)	Standart sapma	Minimum(g r)	Maximum(gr)
Kontrol Grubu	8	347,12	7,33	336,0000	358,0000
Deney Grubu	8	350,25	10,89	338,0000	371,0000

$P=0.483$

Kontrol grubundaki hayvan ağırlıklarının ameliyat öncesi ve sonrası kontrol grubunda Wilcoxon testi ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 9) ($Z=2.536$, $P=0.011$).

Tablo 9. Kontrol grubu ameliyat öncesi ve sonrası hayvan ağırlıkları bulguları

	N	Ortalama(gr)	Standart sapma	Minimum(g r)	Maximum(g r)
Kontrol Grubu					
Operasyon Öncesi	8	352,75	7,04	342,0000	362,0000
Kontrol Grubu					
Operasyon Sonrası	8	347,12	7,33	336,0000	358,0000

$P=0.011$

Deney grubundaki hayvan ağırlıklarının ameliyat öncesi ve sonrası deney grubunda Wilcoxon testi ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 10) ($Z=2.379$, $P=0.017$).

Tablo 10. Deney grubu ameliyat öncesi ve sonrası hayvan ağırlıkları bulguları

	N	Ortalama(gr)	Standart sapma	Minimum(gr)	Maximum(gr)
Deney Grubu					
Operasyon Öncesi	8	353,12	10,78	341,0000	374,0000
Deney Grubu					
Operasyon Sonrası	8	350,25	10,89	338,0000	371,0000

$p=0.017$

Biyokimyasal Analizler

Deney hayvanlarından alınan kan örnekleri Ca ve alkalin fosfataz miktarlarının değerlendirilmesi için biyokimyasal analizlerle test edildi. İstatiksel analizlerde, deney grubu kalsiyum değerleri ile kontrol grubu kalsiyum değerleri Wilcoxon testi ile karşılaştırıldığında aralarında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 11) ($Z=2.380$, $P=0.017$). Deney grubu alkalin fosfataz sonuçları ile kontrol grubu sonuçları Wilcoxon testi ile karşılaştırıldığında da istatiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 12) ($Z=2.521$, $P=0.012$).

Tablo 11. Deney ve kontrol grubu Ca değeri bulguları

			ortalama		Minimum	Maximum	
			N	(mg/dl)	Standart sapma	(mg/dl)	(mg/dl)
Deney	Grubu	Ca	8	8,94	,27	8,4700	9,2300
Değeri							
Kontrol	Grubu	Ca	8	8,25	,32	7,7700	8,7400
Değeri							

p=0.017

Tablo 12. Deney ve kontrol grubu ALP değeri bulguları

			ortalama	(u	Minimum	Maximum	
			N	/L)	Standart sapma	(u/L)	(u/L)
Deney	Grubu	ALP	8	252,75	32,85	209,0000	315,0000
Değeri							
Kontrol	Grubu	ALP	8	176,00	36,59	103,0000	206,0000
Değeri							

p=0.012

DEXA Bulguları

DEXA bulgularında kemik mineral yoğunluğu (BMD) ve kemik mineral içeriği (BMC) analiz edilmiştir. Bu analizlerde tüm femur taraması (büyük alan) ve femur başından her iki defekti de içine alacak şekilde ikinci defektin alt kenarına kadar olan alanın (küçük alan) taraması yapılmıştır. Deney ve kontrol gruplarının, büyük alanda ve küçük alanda, sağ ve sol femur kemiklerinin BMD ve BMC değerleri istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Büyük alanda deney grubundaki deneklerin sağ ve sol femur kemikleri değerlendirilmesinde, sağ ve sol tüm femur BMD değerleri Wilcoxon testi ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuş, (Tablo 13) (Z=2.521, P=0.012) aynı şekilde sağ ve sol tüm femur BMC değerleri Wilcoxon testi ile karşılaştırılmasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 14) (Z=2.100, P=0.036).

Tablo 13. Büyük alanda deney grubu sağ ve sol femur kemikleri BMD bulguları

Deney Grubu	N	Ortalama(g/cm ²)	Standart sapma	Minimum(g/cm ²)	Maximum(g/cm ²)
BMD Sağ Femur	8	,1388	,0043	,1315	,1445
BMD Sol femur	8	,1280	,0032	,1210	,1311

p=0.012

Tablo 14. Büyük alanda deney grubu sağ ve sol femur kemikleri BMC bulguları

Deney Grubu	N	Ortalama(cm ²)	Standart sapma	Minimum(cm ²)	Maximum(cm ²)
BMC Sağ Femur	8	,4852	,0894	,3130	,6021
BMC Sol Femur	8	,3715	,0509	,2832	,4604

p=0.036

Benzer şekilde büyük alanda kontrol grubundaki deneklerin sağ ve sol femur kemikleri değerlendirilmesinde, sağ ve sol tüm femur BMD değerleri Wilcoxon testi ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamış (Tablo 15) ($Z=0.840$, $P=0.401$), sağ ve sol tüm femur BMC değerleri Wilcoxon testi ile karşılaştırılmasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 16) ($Z=0.911$, $P=0.362$).

Tablo 15. Büyük alanda kontrol grubu sağ ve sol femur kemikleri BMD bulguları

Kontrol Grubu	N	ortalama(g/c m ²)	Standart sapma	Minimum(g/c m ²)	Maximum(g/c m ²)
BMD Sağ Femur	8	,1235	,0072	,1138	,1344
BMD Sol Femur	8	,1222	,0082	,1115	,1329

p=0.401

Tablo 16. Büyük alanda kontrol grubu sağ ve sol femur kemikleri BMC bulguları

Kontrol Grubu	N	ortalama(cm ²)	Standart sapma	Minimum(cm ²)	Maximum(cm ²)
BMC Sağ Femur	8	,3597	,0778	,2580	,4629
BMC Sol Femur	8	,3861	,1039	,2287	,5307

p=0.362

Deney grubunda, küçük alanda yapılan incelemelerde büyük alandaki gibi benzer sonuçlar ortaya çıkmıştır. Sağ ve sol femur kemiklerinin BMD ve BMC değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 17,18) ($Z=2.240$, $P=0.025$).

Tablo 17. Deney grubu küçük alanda BMD bulguları

Deney Grubu			N	ortalama(g/c m ²)	Standart sapma	Minimum(g/c m ²)	Maximum(g/c m ²)
BMD Alan	Sağ	Küçük	8	,2053	,03656	,1344	,2515
BMD Alan	Sol	Küçük	8	,1531	,02023	,1193	,1834

p=0.025

Tablo 18. Deney grubu küçük alanda BMC bulguları

Deney Grubu			N	ortalama(cm ²)	Standart sapma	Minimum(cm ²)	Maximum(cm ²)
BMC Alan	Sağ	Küçük	8	,2464	,04387	,1613	,3019
BMC Alan	Sol	Küçük	8	,1848	,02481	,1432	,2201

p=0.025

Küçük alanda, kontrol grubunda yapılan ölçümlerde BMD değerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır, (Tablo 19) (Z=1.260, P=0.208) BMC değerleri arasında da anlamlı fark tespit edilememiştir (Tablo 20) (Z=0.911, P=0.362).

Tablo 19. Kontrol grubu küçük alanda BMD bulguları (P=0.208)

Kontrol Grubu			N	Ortalama(g/c m ²)	Standart sapma	Minimum(g/c m ²)	Maximum(g/c m ²)
BMD Alan	Sağ	Küçük	8	,1549	,0274	,1175	,1926
BMD Alan	Sol	Küçük	8	,1633	,0312	,1331	,2185

Tablo 20. Kontrol grubu küçük alanda BMC bulguları

Kontrol Grubu	N	ortalama(cm ²)	Standart sapma	Minimum(cm ²)	Maximum(cm ²)
BMC Sağ Küçük Alan	8	,3597	,0778	,2580	,4629
BMC Sol Küçük Alan	8	,3861	,1039	,2287	,5307

p=0.362

Çalışmamızda büyük alanda deney grubu ve kontrol grubu sağ femurları BMD ve BMC değerleri analiz edildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ortaya çıkmıştır (Tablo 21) (BMD için $Z=2.380$, $P=0.017$, BMC için $Z=1.960$, $P=0.050$).

Tablo 21. Büyük alan deney ve kontrol gruplarının sağ femurları BMD (gr/cm²) ve BMC (gr) bulguları

Büyük Alan	N	Ortamalam	Standart sapma	Minimum	Maximum
BMD Sağ Deney	8	,1388	,0043	,1315	,1445
BMD Sağ Kontrol	8	,1235	,0072	,1138	,1344
BMC Sağ Deney	8	,4852	,0894	,3130	,6021
BMC Sağ Kontrol	8	,3597	,0778	,2580	,4629

BMD p=0.017, BMC

p=0.05

Küçük alanda deney ve kontrol gruplarının sağ femurları BMD ve BMC değerleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 22) (BMD için $Z=1.960$, $P=0.050$, BMC için $Z=1.960$, $P=0.050$).

Tablo 22. Küçük alan deney ve kontrol gruplarının sağ femurları BMD (gr/cm²) ve BMC (gr) bulguları

Küçük Alan	N	Ortalama	Standart sapma	Minimum	Maximum
BMD Sağ Deney	8	,205338	,0365630	,1344	,2515
BMD Sağ Kontrol	8	,154975	,0274581	,1175	,1926
BMC Sağ Deney	8	,2464	,0438	,1613	,3019
BMC Sağ Kontrol	8	,1860	,0329	,1411	,2312

BMD,

BMC p=0.05

Deney grubu ve kontrol grubu sol femurların büyük alanda BMD ve BMC değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (Z=1.960, P=0.050) (Tablo 23).

Tablo 23. Büyük alan deney ve kontrol gruplarının sol femurları BMD (gr/cm²) ve BMC (gr) bulguları

	N	ortalama	Standart sapma	Minimu m	Maximum
BMD Sol Deney	8	,1280	,0032	,1210	,1311
BMD Sol Kontrol	8	,1222	,0082	,1115	,1329
BMC Sol Deney	8	,205338	,0365630	,1344	,2515
BMC Sol Kontrol	8	,154975	,0274581	,1175	,1926

p=0.050

Deney grubu ve kontrol grubu sol femurların küçük alanda BMD ve BMC değerleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 24) (Z=0.507, P=0.612).

Tablo 24. Küçük alan deney ve kontrol gruplarının sol femurları BMD (gr/cm²) ve BMC (gr) bulguları

	N	ortalama	Standart sapma	Minimum	Maximum
BMD Sol Deney	8	,1531	,0202	,1193	,1834
BMD Sol Kontrol	8	,1633	,0312	,1331	,2185
BMC Sol Deney	8	,1848	,0248	,1432	,2201
BMC Sol Kontrol	8	,1960	,0375	,1598	,2623

p=0.612

TARTIŞMA

Günümüzde oral ve maksillofasiyal cerrahide greft kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Greft materyalleri birçok kemik defektinin onarımında, kapsamlı çene rezeksiyonlarından sonra rekonstrüksiyon amacıyla kullanılabildiği gibi, pratikte uygulanan minör cerrahi işlemlerde de sıklıkla kullanılır hale gelmiştir. Yalnız greftlerin artan kullanımı değil, kemiği de içeren cerrahi işlemleri takiben normal hayata dönüş süresini kısaltma isteği, kemik iyileşmesini tetikleyen ve hızlandıran yöntemlerle ilgili arayışları da arttırmıştır. Bu araştırmada, bu yöntemlerden biri olan düşük yoğunlukta kesikli ultrason uygulamasının blok otojen kortikal kemik grefti ve boş bırakılan defekt iyileşmesi üzerine etkisi deneysel olarak incelenmiştir. Bu amaçla; deney grubundaki deneklerin femur kemikleri üzerinde oluşturulan defektlere ultrason uygulanmış, kontrol grubundaki deneklerin femurlarında oluşturulan defektlere ise ultrason uygulamayarak düşük yoğunlukta kesikli ultrason uygulamasının kemik iyileşmesi üzerindeki etkisi incelenmiştir.

Deneysel araştırmamızda deney hayvanı olarak sıçan seçilmiştir. Menstruel döngü ve östrojen salgılarının kemik iyileşmesine olan etkilerinden dolayı dişi sıçanlar çalışmaya alınmamıştır (Yingling et al., 2009). Çalışmada kullanılan 16 sıçanın vücut ağırlığı, beslenmeleri ve genel sağlık durumları her gün kontrol edilmiş ve işlem sonuna kadar herhangi bir problemle karşılaşmamıştır.

Ratların çene ve yüz bölgesi cerrahi çalışmaları çeşitli zorlukları içermektedir. Mandibula kemiğinin ağız boşluğu ile yakınlığı nedeni ile kemik yarasının ağız ortamıyla ilişkisi durumunda enfeksiyon riski artmaktadır. Sıçan çenelerine yapılan operasyonlar sonrasında ağrı ve cerrahi bölgeye verilebilecek zarar riski nedeni ile hayvanların diyetlerinde zorunlu olarak değişiklik yapmak gerekmektedir. Bu nedenlerden dolayı operasyon alanı olarak femur kemiği düşünülmüştür. Çene kemiklerinin oluşumu ve kemik defektlerinin iyileşmeleri genel olarak intramembranöz kemikleşme yoluyla gerçekleşmektedir. Kemikleşme tipleri birbirinden farklı olsa da yapılan araştırmalar sonucu vücudun herhangi bir bölgesindeki kemik dokusunun iyileşmesi ile ilgili elde edilen bulguların başka bir bölgedesindeki kemik iyileşmesi için de geçerli olabileceği ortaya konmuştur (Dziedzic-Goclawska et al., 1988, Hall and Miyake, 1995). Ancak araştırmamızda

kemik modeli olarak çene yüz bölgesi kemikleri yerine femuru tercih etmemizin nedenlerini, birden fazla defekt oluşturma zor olması, sağ ve sol kemik örneklerinin birbirine çok yakın olmasından dolayı ultrason dalgalarının her iki yüzeye de etki edebileceği düşüncesi ve ultrason aпаратыnın manipulyasyon gücü olarak sayabiliriz. Bunun yanı sıra çene yüz bölgesine uygulanacak cerrahi işlem, ciddi bir beslenme zorluğuna yol açarak hayvanlarda genel güçsüzlüğe neden olabilmektedir (Erdogan et al., 2006). Ayrıca postoperatif dönemde operasyon bölgesinin herhangi bir nedenle ağız ortamı ile ilişkili hale geçmesi durumunda, ağız florasında bulunan yüksek miktarda mikroorganizma bölgede enfeksiyon gelişme riskini ortaya çıkarmaktadır (Altundal et al., 2007). Uzun kemiklerin manipulyasyonlarının kolay olması ve postoperatif dönemde iyileşmenin daha az riskli olması gibi avantajlarından dolayı araştırmamız sıçan femurlarında gerçekleştirilmiştir.

İşlem esnasında deney hayvanlarında anesteziye bağlı üç adet ölüm olmuştur. Rat tibiasında yapılan bilateral metafiziyal osteotomi çalışmasında 30 sıçanda 2 adet anesteziye bağlı, bir adet de postoperatif ölüm bildirilmiştir (Stuermer et al.,2010). Ratların mandibulası üzerinde oluşturulan 5 mm'lik defektlerde kemik iyileşmesini mikroradyografiler üzerinden ölçümler yapılarak incelendiği çalışmada 72 sıçandan 1 tane deneğin öldüğünü rapor edilmiştir (Schortinghuis et al., 2004). Bu çalışmalarda hayvan ölümleri çoğunlukla yüksek doz anesteziye bağlanmıştır. Bu çalışmalar ile karşılaştırıldığında çalışmamızdaki hayvan ölüm oranı kabul edilebilir bir oran olarak değerlendirilebilir.

Operasyon öncesinde ve operasyondan 18 gün sonra ağırlıkları ölçülen deney hayvanlarının ağırlıkları değerlendirildiğinde, vücut ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma kaydedildi (Tablo 9, Tablo 10). Araştırmada yer alan deney ve kontrol gruplarında görülen bu azalma yapılan cerrahi işlem nedeniyle sıçanların genel vücut direncinin zayıflamasına bağlı kilo kaybı şeklinde yorumlanmıştır. Elde edilen bulgular Stuermer et al.'in 2010 yılında yaptığı araştırma bulguları ile uyumludur. Bu araştırmada sağlam ve overektomili sıçan tibiasına bilateral osteotomileri takiben ameliyat sonrası ilk haftada tüm gruplarda ölçülen deney hayvanı ağırlığında azalma kaydedilmiş, benzer sonuçlar Moon et al. (2011)'in sıçan mandibulasında distraksiyon osteogenezisi uyguladığı tüm gruplarda deney hayvanı

ağırlıklarında azalma olduğunu bildiren çalışmada da izlenmiştir. Araştırmacılar (Stuermer et al. 2010, Moon et al. 2011) deney hayvanı ağırlığındaki azalmanın cerrahi girişim ile ilişkili olabileceğini bildirmiştir. Bizim araştırmamızda postoperatif 18. günde ölçülen deney hayvanı ağırlığı ile preoperatif ağırlık ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. ($z=2.379$, $p=0.017$) Araştırmamızda kullanılan ratların, cerrahi işleme bağlı olduğunu düşündüğümüz preoperatif ve postoperatif ağırlıkları arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farkın bu bulgularla örtüştüğü düşüncesindeyiz.

Çalışmamızda ultrason uygulaması sırasında hayvanlara anestezi veya sedasyon uygulanmamıştır. Sıçanlar, özel olarak hazırlanmış, çift taraflı kilitli kapıları bulunan polistiren plastik kutular içersine yerleştirilerek işlem boyunca bir gözlemci tarafından tedavinin devamlılığını kontrol etmek amacıyla takip edilmiştir. Ultrason sensörünün, doku ile teması her hangi bir nedenle kesildiği zaman sesli uyarı vermektedir. 20 dakikalık ultrason uygulaması esnasında hayvanların hareketleri kutu tarafından kısıtlandığı için sensörü yerinden oynatma problemine rastlanmamış ve ratların özel kutulara yerleştirilmesi sırasında herhangi bir zorlukla karşılaşılmamıştır. Ultrason uygulaması esnasında anestezi veya sedasyon uygulaması bakımından çalışmamız literatürdeki birçok çalışma ile farklılık göstermektedir. Handolin et al. (2007) ratların distal femur bölgesine ultrason uygulamasından önce 0.15 mg/kg medetomidine (Domitor, Orion-Pharmos, Finland) ile sedasyon uygulamıştır. Aynı şekilde Chan et al. (2006) distraksiyon osteogenezisi sonrasında ultrason uygulaması için ketamin/ksilazin (0.25 ml/kg, i.m.) ile sedasyon uygulamışlardır. Her iki çalışmada da sedasyona bağlı hayvan ölümleri görülmüştür. Ayrıca sedasyon dozunun ve uygulama sıklığının bazı inflamatuvar ajanların çalışmasında antagonist etki göstermesinden dolayı kemik iyileşmesi aşamasında bu ajanların etkinliğini değiştirerek iyileşmeyi etkileyebilmektedir (Sezer et al.,2010, Boehm et al.,2010). Bizim çalışmamızda olduğu gibi deneklere sedasyon uygulamayan çalışmalar da mevcuttur (Ding et al., Erdogan et al., 2006, Gebauer et al., 2002). Araştırmamızda ultrason tedavisinin 15 gün boyunca her gün tekrarlanmasından dolayı hayvanlarda tekrarlanan enjeksiyonlar ve sedatif ilaca bağlı gelişebilecek komplikasyonların önlenmesi amacıyla sedasyon uygulanmamış,

denekler için özel olarak üretilmiş ve hayvan hareketlerini kısıtlayan kutular kullanılmıştır.

Sunulan araştırmada deney hayvanlarının sakrifikasyonu sonrasında kemik örneklerini toplama aşamasında bazı femurlarda kırık meydana geldiği görüldü (Tablo 6). Femurda meydana gelen bu patolojik bulgunun ortaya çıkış nedeni incelendiğinde trefin frez ile oluşturulan defektler arasında 3mm'den daha az boşluk bırakıldığı tespit edildi. Bir çalışmada, ratların femur kemikleri üzerinde 3mm'lik trefin frez ile oluşturulan defekten elde edilen otojen greft, aynı femur üzerinde ilk defekten 5mm uzağa aynı trefinle açılan defekte yerleştirilmiş ve postoperatif dönemde ilgili bölgede greft rezorbsiyonunu engellemek amacıyla alendronat enjekte edilmiştir (Altundal et al., 2007). Postoperatif dönemde ve hayvanların sakrifikasyonu sonrasında femur kemikleri üzerinde herhangi bir kırık meydana gelmediği ve bu yüzden defektler arasında bırakılan 5mm'nin yeterli olduğu rapor edilmiştir. Araştırmamızda ultrason dalgalarının açılan defektlere etkin olarak ulaşması düşüncesiyle trefin frezlerle açılan defektlerin mümkün olduğunca birbirlerine yakın oluşturulmasına çalışılmıştır. Genellikle defektler arasında 2,5 ila 3mm arasında boşluk bırakılmıştır. Ancak elde edilen bulgular, 3 mm'den az mesafe bırakılan femurlarda sıçanların arka bacaklarına binen kuvvetler karşısında direncinin azaldığını ve kırık oluştuğunu, 3 mm ve daha fazla mesafe bırakılanlarda ise kuvvetlere karşı kemiğin dirençli olduğu ve dolayısıyla daha sağlıklı kemik iyileşme ortamı sağlanıldığı düşünülmektedir.

Ultrasonun kemik iyileşmesi üzerine etkisini araştıran çalışmaların sayısı oldukça fazladır. Daha çok kırık iyileşmesi, distraksiyon osteogenesi, kemik defekti ve çeşitli (allogreft, trikalsiyum fosfat, hidroksi apatit) (Santoni et al., 2008, Walsh et al., 2008, Iwai et al., 2007, ZHUO Xiang-long, 2010) greft materyalleri iyileşmesi üzerine ultrasonun etkileri araştırılmıştır. 2002 yılında El-Bialy et al. tarafından yayınlanan araştırmada yazarlar 21 tavşanda premolar dişlerin hemen ön kısmında yaptıkları çift taraflı osteotomiler sonrasında mandibuler distraksiyon yapmışlar ve ultrason uygulama protokolüne göre hayvanları 3 gruba ayırmışlardır. 1. gruptaki hayvanların her iki tarafına, 2. gruptakilere tek taraflı 1,5 MHz frekansında 30 mW/cm² yoğunluğunda düşük yoğunluklu kesikli ultrason uygulamışlar. Histolojik, mekanik, foto densitometrik ve vibrasyon testleri sonucunda uygulamanın

mandibular distraksiyon osteogenesisinde kemikleşmeyi arttırdığını bildirmişlerdir. 2000 yılında Shimazaki et al. 70 tavşan tibiası üzerine distraksiyon uygulamış ve kemik mineral yoğunluğu (DEXA) sonuçlarında, mekanik teste ve histolojik analizlerde ultrason uygulamasının kemik maturasyonunu hızlandırdığını rapor etmişlerdir. Başka bir distraksiyon osteogenezi çalışmasında da ultrasonun, konsolidasyon evresinin ilk aşamalarında etkinliğini gösterdiği belirtilmiştir (Chan et al., 2006b).

Kırık ve kemik iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalarda da ultrasonun iyileşmede önemli rol oynadığı belirtilmektedir. Kemikte meydana gelen defekt veya kırık oluşumundan sonra iyileşme inflamasyon, yumuşak kallus formasyonu, sert kallus formasyonu ve remodeling olmak üzere dört grupta gerçekleşmektedir (Pounder and Harrison, 2008). Azuma et al. 2001 yılında ultrasonun iyileşmenin tüm safhalarında etkili olduğunu ratlar üzerinde yaptıkları araştırmada belirtmişlerdir. Ratları dört gruba ayırmışlar, deneklerin sağ ve sol femurlarında kırık oluşturarak sağ femura ultrason uygulamışlar sol tarafı ise kontrol grubu olarak ayırarak 25. günde hayvanları sakrifiye etmişlerdir. Yazarlar ultrasonun, inflamatuvar faz, angiogenezis, intramembranöz kemikleşme, enondral kemikleşme ve remodeling gibi iyileşmenin tüm safhalarında hücresel reaksiyonları tetiklediğini rapor etmişlerdir. Diğer bir *in vivo* çalışmada ise ultrasonun, inflamasyon ve yumuşak kallus fazında pozitif etkisinin olduğunu ancak remodeling fazında herhangi bir etkisinin olmadığını belirtmişlerdir (Rawool et al., 2003). Rawool et al. (2003) gibi birçok çalışma da ultrasonun remodeling safhasında etkili olmadığını daha erken dönemlerde etkinliğini gösterdiğini rapor etmişlerdir (Yang et al., 2005, Hantes et al., 2004).

Düşük yoğunlukta kesikli ultrason uygulamasının greft materyallerinin iyileşmesi üzerinde etkisinin araştırıldığı çalışmalar oldukça azdır. Walsh et al. (2008) tavşanların ulnalarında oluşturdukları 1,5 cm'lik defektlere β -trikalsiyum fosfat greft materyali koyarak defekt üzerine ultrason uygulamışlardır. Denekleri dördüncü ve onikinci haftalarda sakrifiye etmişlerdir. DEXA analizlerinde dördüncü haftada anlamlı fark bulunurken onikinci haftada bir fark bulunamamıştır. Histolojik analizlerde ve VEGF salınımında ultrason grubunda kontrol grubuna göre önemli farklar tespit edilmiştir. Başka bir araştırmada 15 adet köpek ulnasına allogreft uygulayarak ultrasonun iyileşme üzerindeki etkileri araştırılmış ve ultrasonun greft

vaskularizasyonunda ve allogreft kaynaşmasında olumlu etkileri olduğu rapor edilmiştir (Santoni et al., 2008). Iwai et al. (2007) ratların femurlarına yerleştirdikleri pöröz hidroksiapatit seramik grefti üzerine 2 hafta boyunca düşük yoğunlukta kesikli ultrason uygulamışlar ve deney sonunda operasyon sahasında osteoblast sayısının, mineralize doku hacminin ve içeriğinin anlamlı derecede arttığını belirtmişlerdir. Blok pöröz hidroksiapatit greftlerin tavşanlar üzerine implante edildiği bir başka çalışmada ultrasonun trabeküler kemik formasyonunda, BMP-2, TGF- β 1 salınımında artışa ayrıca osteoblast benzeri hücrelerin sayısı üzerinde kontrol grubuna göre anlamlı farklar tespit edilmiştir ($p<0,05$) (ZHUO Xiang-long, 2010). Literatürde otojen greftler üzerinde düşük yoğunlukta kesikli ultrason uygulamasının etkilerinin incelendiği çalışma sayısı oldukça azdır. Köpeklerin medial femoral kondili arasında oluşturulan 1,5 mm'lik boşluklara otojen osteokondral greftler yerleştirilmiş, 6 ve 12 haftalık terapi sonrasında artiküler yüzeyler arası histolojik olarak incelenmiştir (Cook et al., 2008). Sonuç olarak ultrasonun kartilaj tamiri üzerinde olumlu etkilerinin olduğu belirtilmiştir. Literatürde düşük yoğunlukta kesikli ultrason uygulamasının çeşitli kemik yüzeylerinde oluşturulan defektler üzerinde de etkili sonuçlar verdiği gösterilmiştir. Hasuike et al. (2011) ratların kalvaryalarında oluşturdukları 2,7 mm'lik defektlere ultrason uygulamışlar, mikro-CT ve histolojik analizle sonuçlarını değerlendirmişlerdir. 2 hafta içinde ultrason grubunda defekt yüzeyinde %7 reossifikasyon gözlenirken, kontrol grubunda bu oran %3,6 olarak tespit edilmiştir. Bir başka çalışmada köpeklerin ulnalarında oluşturulan büyük ve küçük defektler üzerine ultrason uygulanmış ve ultrasonun yeni kemik formasyonunda artışa neden olduğu rapor edilmiştir (Yang and Park, 2001). 72 rat mandibulasında oluşturulan 5 mm'lik defektler üzerinde ultrason uygulanan çalışmada ise ikinci ve dördüncü haftalar sonunda defektlerden alınan mikroradyografilerden ölçülen defekt kapanma oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır (Schortinghuis et al., 2004). Bu sonucun nedeni olarak kullanılan mikroradyografinin erken dönem kemikleşmeyi tespit edememiş olması sayılabilir. Yapılan literatür incelemesinde hem defekt hem de blok kortikal otojen greftle doldurulmuş defekt alanını inceleyen bir araştırmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda biyokimyasal analiz ve DEXA yöntemi kullanılarak, defekt ve blok

kortikal otojen greft doldurulmuş defekt alanlarına düşük yoğunlukta kesikli ultrason uygulamasının kemik iyileşmesini hızlandırdığı ortaya konmuştur.

Birçok çalışmada düşük yoğunluklu kesikli ultrason uygulamasının olumlu etkileri görülse de distraksiyon osteogenesis ve kemik defekti iyileşmesinde olumsuz raporlar da yayınlanmıştır. Schortinghuis et al. (2004) rat mandibulasında yaptıkları kemik defekti çalışmasında ultrasonun kemik iyileşmesinde herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Tis et al. (2002) tavşan tibiasındaki distraksiyon osteogenesisi çalışmasında hayvanların yarısına postoperatif 17. günden başlayarak 37. güne kadar ultrason uygulaması yapmış ve sonuçları radyolojik, DEXA, biyomekanik ve histomorfometrik inceleme teknikleri ile karşılaştırmışlardır. Yazarlar ultrasonun distraksiyon osteogenesisinde olumlu etki yaratmadığını bildirmişlerdir (Tis et al., 2002). Kemik iyileşmesi üzerindeki bu çelişkili sonuçların farklı sebepleri olabilir. Ultrason uygulamasının doku perfüzyonu zayıf olan iskemik dokularda yeni damarların oluşumunu hızlandırdığı ve kanlanmayı arttırdığı düşünülmektedir. Baş boyun bölgesinde damarsal yapıların zenginliği bu bölgede yara iyileşmesinin hızlı olmasını sağlamaktadır. Düşük yoğunluklu kesikli ultrason uygulaması etkinliğinin hızlı yara iyileşmesi potansiyeline sahip olan bu bölgede daha az fark ediliyor olması söz konusu olabilir (Khanna et al., 2009). Ancak kemik iyileşmesinde damarsal yapıların fazlalığı dışında, diğer faktörler de rol oynamaktadır. Ultrasonun mikro ve makro düzeyde fiziksel, biyolojik ve piezoelektriksel etkileri göz önüne alındığında, kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerinin sadece anjiogenezisi artırma hipoteziyle açıklanamayacağı anlaşılmaktadır. Ultrasonun biyolojik etkilerini inceleyen bir çalışmada insan osteoblast hücrelerinden ultrason uygulamasını tabiken sentezlenen ve kemik iyileşmesinin inflamatuvar aşamasında önemli rol oynadığı belirtilen TGF- β miktarı araştırılmıştır. TGF- β 1 ve TGF- β 2 de ultrason uygulamasının bir saat sonrasında önemli derecede artış olduğu gözlenmiştir (Harle et al., 2005). Ayrıca kemik iyileşmesinde önemli rol oynadığı bildirilen COX-2' nin ultrason uygulaması sonrasında kontrol grubuna göre önemli artış meydana getirdiği rapor edilmiştir (Kokubu et al., 1999). Ultrason dokulara uygulandığı zaman hücreler, hücreler arası sıvılar ve hücre zarı gibi dokularda titreşimler oluşturarak dokularda mikro doku masajı meydana getirerek, ultrason fiziksel etkisini göstermektedir (Schortinghuis et

al., 2003). Böylelikle hücrelerarası sıvı değişiminin hızlanması ve emilmenin artmasıyla hücre geçirgenliğinde artış meydana gelmekte, hücrelerdeki geçirgenliğin artmasıyla birlikte çevresel damarlarda da genişleme olacağından, bölgesel kanlanmanın artacağı belirtilmiştir (Johns, 2002). Bu çalışmada da düşük yoğunlukta kesikli ultrasonun kemik iyileşmesinin erken safhasında olumlu etki oluşturduğu görülmüştür.

Densitometrik ölçümler için tarif edilen yöntemlerden birisi dual-enerji x-ray absorpmetri (DEXA)'dır. Bu mikroradyografi tekniğinde filtreleme işlemleri ile düşük kilovoltaj ve miliampere sahip X-ışınlarının uzun süre ekspozu ile yüksek çözünürlükte radyolojik görüntüler elde edilmektedir. DEXA yöntemi günümüzde osteoporoz tanısında rutin olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde farklı enerji seviyelerindeki fotonların emilme miktarlarına göre kemiklerin mineral densiteleri ölçülebilmekte ve bölgedeki yumuşak dokuların etkisi arındırılabilir. DEXA, kemik yoğunluğunu ölçmek için kullanılan en yararlı ve invaziv olmayan bir yöntem olarak kabul edilmektedir (Libouban et al., 2001). Kemik matriksi iki fazdan oluşmaktadır. Bunlar, organik faz (kollajenler, kollajen olmayan proteinler, glikozaminoglikanlar...) ve kalsifiye fazdır. (mineraller, kalsiyum, hidroksiapatit kristalleri) DEXA analizi ile kemik mineral yoğunluğu (BMD)(minerallerin gram olarak ifadesi) ve kemik mineral içeriği (BMC)(minerallerin birim alandaki miktarı) analiz edilebilmektedir (Genant et al., 1996). Kemik mineral yoğunluğu (BMD) testi, kalsiyum ve diğer minerallerin seçilen bir kemik bölümündeki yoğunluğunu ölçmektedir. Kemik mineral içeriği (BMC) ise seçilen kemik alanında santimetreye düşen kalsiyum ve diğer minerallerin oranını göstermektedir. Bu testler ile kemik kırıkları riskinin tahmini, erken dönem kemikte meydana gelen değişimlerin tespiti, osteoporoz tespit etmek için ve kemik yapım yıkım oranlarının belirlenmesinde kullanılmaktadır. BMC ve BMD değerlerindeki azalış kemik kırılabilirliğinde artma, osteoporoz riski ve kemik yıkımı düşündürebilirken bu değerlerdeki artış ise kemik kırılabilirliğinde azalma ve kemik yapımı ve direncinde artış olarak analiz edilebilmektedir (Clasey et al., 1997).

Kemik kütlesini değerlendirmek için kullanılan bir başka yöntem ise kemik hacim parametrelerinin ölçüldüğü histomorfometridir. Birçok çalışmada histomorfometrik sonuçları ile DEXA değerleri karşılaştırılmıştır. Libouban et al. (2001) 144 adet dişi rat üzerinde osteoporoz oluşturularak yapılan bir çalışmada, deney hayvanları 2, 4, 8 ve 16. haftalarda sakrifiye ederek tibiaları DEXA ve histomorfometri ile analiz etmişlerdir. Araştırmacılar her ne kadar DEXA ile kemik mineral içeriği değişimlerini daha hızlı ve invaziv olmayan bir yöntemle değerlendirilebileceğini rapor etseler de, hayvanlarda uzun süreli kemik kaybı değişimlerin tanısında histomorfometrinin altın standart olduğunu belirtmişlerdir. Aynı şekilde Rosen et al. (1995) ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada 11 hafta sonra rat tibialarını DEXA, histomorfometri ve bilgisayarlı tomografi ile analiz etmişler trabeküler alanda tüm analiz yöntemlerinde kontrol grubuna göre azalma tespit edilmiş ancak en fazla değişimin bilgisayarlı tomografide tespit edildiğini rapor etmişlerdir. Barou et al. (2002) osteoporoz oluşturulan ratlar üzerinde kemik kaybı ve değişimlerinin erken teşhisi için yüksek çözünürlüklü üç boyutlu mikro-bilgisayarlı tomografiyi (3D- μ CT) ile diğer iki kemik değişim parametrelerinin ölçüldüğü DEXA ve histomorfometri ile karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak DEXA ve 3D- μ CT'nin erken dönem kemik kaybı tespitinde histomorfometriye göre daha etkin olduğunu ve erken dönem kemik kayıplarını 13. günde tespit edilebildiğini rapor etmişlerdir. 3D- μ CT tekniği her ne kadar güvenilir sayısal veriler sağlasa da pahalı bir tekniktir. Ayrıca ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada, trabeküler kemik yoğunluğunun DEXA, histomorfometri ve bilgisayarlı tomografi (BT) ile değerlendirildiğinde DEXA ve BT sonuçları ile histomorfometri bulguları arasında önemli oranda fark ortaya çıkmıştır. Bunun nedeni olarak DEXA ve BT'nin kortikal ve kanselöz kemiğin ölçümünü birlikte yaparken histomorfometrinin ise sadece trabeküler kemiğin ölçümünü yapması olarak açıklamışlardır (Rosen et al., 1995). Histomorfometride görülen bir başka sorun ise numunelerden kesit alınırken, erken dönem kemik iyileşmesi örneklerinde yeni kemik ve mevcut kemik alanlarının tam olarak tespit edilememesidir (Kahraman, 2010, Nonaka et al. 2006, Parfitt, 1988). Bu verilerde de belirtildiği gibi kemik iyileşmesinin erken döneminde sonuç alabilmek, hem kortikal hem de kanselöz kemik miktarındaki değişimi incelemek için ve histomorfometride kesit alımı yapılırken yeni kemik ve mevcut kemiğin

sınırların belirlenememesi gibi zorluklardan dolayı çalışmamızda DEXA yöntemi kullanılmıştır.

Araştırmamızda ultrason uygulanan hayvanların sağ ve sol femurlarının, ayrıca deney ve kontrol gruplarının femurlarının BMD ve BMC değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir (Tablo 13,14). Bu anlamda deney hayvanlarına 15 gün süreyle günde 20 dakika olmak üzere ultrason uygulaması yapılan grupta kemik iyileşmesinin kontrol grubuna göre farklılık gösterdiği ve düşük yoğunlukta kesikli ultrason uygulamasının sıçanların femur kemiğinde trefin frezle oluşturulan defekte ve aynı defekte konulan otojen kemik grefti iyileşmesi üzerinde olumlu etkisinin olduğu düşünülebilir. Bu sonuçlar, ultrason uygulamasının DEXA parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı fark ortaya koyması Shimazaki et al. (2000) tarafından yapılan bir başka araştırma bulguları ile uyumlu görülmektedir. Tavşanlarda tibia kemiklerinde oluşturulan osteotomi sonrasında distraksiyon osteogenezisi modelinde 64 adet tavşana normal distraksiyon protokolü uygulanmış, 6 tavşana ise hızlı distraksiyon protokolü uygulanmıştır. Cerrahi operasyonlardan sonra 35 deneğe ultrason verilmiş, diğer 35 deneğe ise kontrol grubu olarak distraksiyon protokolü dışında hiçbir işlem uygulanmamıştır. İşlemden 21 gün sonra alınan DEXA parametrelerinde 7. ve 14. günlerde kontrol grubuna göre deney gruplarında anlamlı fark bulunmuş fakat 21. günde alınan değerlerde ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. ($p < 0.01$) Bu verilerde ultrasonun erken dönemde etkinliğini göstermektedir. Bir başka çalışmada Walsh et al. (2008) 18 tavşana unilateral 1,5 cm çapında ulna defekti oluşturarak içlerini β -trikalsiyum fosfat ile doldurmuş ve hayvanların yarısına ultrason uygulamışlardır. 4. ve 12. haftalarda denekleri sakrifiye etmişler ve DEXA sonuçlarında 4. hafta sakrifiye edilen grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulurken, 12. hafta sonuçlarında fark bulamamışlardır. ($p < 0.05$) Düşük yoğunlukta kesikli ultrason uygulamasının distraksiyon osteogenezisi işleminin 4 haftalık konsolidasyon safhasındaki etkinliğinin araştırıldığı bir başka çalışmada kontrol grubuna göre BMD ve BMC değerlerinde anlamlı farklar tespit edilmiştir (Chan et al., 2006b). Fakat konsolidasyon evresinde ultrason uygulanan bir başka çalışmada DEXA skorları arasında deney ve kontrol grupları arasında anlamlı fark bulunamamıştır (Tis et al., 2002). Bunun nedenleri, farklı deney hayvanları

kullanmak, deneklerin farklı bölgelerini operasyon sahası olarak kullanmak ayrıca ultrason uygulama süresi ve ultrason uygulamasına başlama zamanındaki farklılıklar olarak sayılabilir. Mevcut çalışmamızın sonuçları, 15 günlük düşük yoğunlukta kesikli ultrason uygulamasının boş defekt ve blok kortikal otojen kemik grefti ile doldurulmuş defekt iyileşmesine olumlu etki yaptığını ortaya koymuştur.

Farklı ultrason uygulama sürelerinin hızlı distraksiyon yapılan tavşan tibialarındaki etkilerinin araştırıldığı çalışmada, 20 ve 40 dakikalık ultrason uygulama grupları ve ultrason uygulanmayan grup DEXA skorları açısından değerlendirilmiştir (Chan et al., 2006a). Ultrason uygulanan iki grupta da kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmuş ayrıca 40 dakika uygulanan grupta 20 dakika uygulanan gruba göre de istatistiksel olarak anlamlı fark rapor edilmiştir. Bu çalışmada da görüldüğü gibi uzun süreli ultrason uygulaması kemik iyileşmesini olumlu etkilediği görülmektedir ancak bazı çalışmalarda bu sürenin uzaması ultrasonun termal etkilerini arttırdığı için tavsiye edilmemektedir (Johns, 2002). Bu yüzden bizde çalışmamızda düşük yoğunlukta kesikli ultrason uygulamasını günde 20 dakika uygulayarak uzun süreli ultrason kullanımına bağlı termal etki komplikasyonu ile karşılaşmadık.

Ultrason cihazının sensörünün etki alanı $3,88 \text{ cm}^2$ olarak belirtildiği için sağ ve sol femurlarının yakınlığı göz önünde bulundurularak çalışmamızda ultrason uygulanmayan ayrı bir grup oluşturulmuştur. Azuma et al. (2001) rat femur kemiklerinde sağ ve sol olmak üzere çift taraflı oluşturdukları kırıkların sağ tarafına ultrason uygulamış, sol tarafı ise kontrol grubu olarak kullanmışlardır. Denekleri ultrason uygulanan günlere göre 4 gruba ayırmışlardır (birinci gruba; 1 ila 8. gün, ikinci gruba; 9 ila 16. gün, üçüncü gruba; 17-24. gün, dördüncü gruba ise 1 ila 24. günler olarak ultrason verilmiştir.). Bütün gruplarda da BMC değerleri ultrason uygulanan tarafta kontrol tarafına göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Çalışmamızda deney grubunun ultrason uygulanmayan sol femurları ile kontrol grubunun sol femurları BMD ve BMC değerleri büyük alanda istatistiksel olarak değerlendirildiğinde deney grubunda anlamlı bir fark bulunmuştur (Tablo 23). Bu öngörü ile, çalışmamızda ayrı bir kontrol grubu oluşturularak, ölçümlerin güvenilir olması hedeflenmiştir. Bu veriler ile düşük yoğunlukta kesikli ultrason

uygulanmasının dar alanlarda uygulanması sırasında diğer bölgelerinde etki altında kalabileceği sonucuna varılmıştır.

Kemik iliği kök hücre farklılaşması kemik yenilenmesine yönelik anahtar süreçlerinden birisidir. Alkalen fosfataz (ALP) aktivitesi, kök hücrenin osteoblast fenotipine farklılaşmasının belirlenmesi için önemli bir biyokimyasal belirteç olduğu bildirilmiştir (Marom et al., 2005) ve kemik rejenerasyonu belirlemede önemli bir faktör olarak kabul edilmiştir (Stucki et al., 2001). Kemikğin yeniden şekillenmesi sürecinde kemik yapımı yeni kemik matriksinin oluşumu ve mineralizasyonu ile başlar. Bu dönem primer mineralizasyon dönemidir. Kemik matriksinin kalsifikasyonu için yeterli miktarda kalsiyum (Ca) ve fosfor deposuna ihtiyaç duyulmaktadır. Kemikğin temel yapısal birimlerinin yani trabeküler kemik ve kortikal kemik osteonlarının tamamının primer mineralizasyonunun tamamlanmasıyla sekonder mineralizasyon başlar. Sekonder mineralizasyon döneminde primer evrede depolanmış mineral içerik olgunlaşarak hidroksiapatit kristallerinin sayısı ve büyüklüğünde artışı sağlar (Marks and Popoff, 1988). Araştırmamızda 18. günde sakrifiye edilen deneklerin kanlarında Ca ve ALP oranları incelenmiş, deney ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Bu sonuçlara göre, ultrason uygulanan deneklerde kemik rejenerasyonunda ve primer mineralizasyon safhasındaki Ca miktarında artış olduğu düşünülebilir. Bir çalışmada kemik dönüşümü sırasında BMD ve BMC değerleri ile biyokimyasal bazı verilerin (osteokalsin, alkalen fosfataz, Ca) arasındaki korelasyon incelenmiş ve sonuç olarak DEXA verileri ile biyokimyasal verilerin birbirleri ile paralellik gösterdiği belirtilmiştir (Melton et al., 1997). Bu değerler ile biyokimyasal sonuçlar bu çalışmada önemli referans sağlamıştır. Benzer sonuçlar Suzuki et al. (2009) ratlar üzerinde yaptığı çalışmada da rapor edilmiştir. Yedinci günde ölçülen ALP değerleri ultrason grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ancak ondördüncü günden sonra ALP miktarı kontrol grubu ile benzer çıkmıştır. Bizim çalışmamızda da DEXA ve biyokimya sonuçları paralellik göstermiştir.

Oral ve maksillfasial cerrahi operasyonları çoğu kez kemik dokusunu ilgilendirmektedir. Kemik iyileşmesini stimule edici çalışmalar sadece çene-yüz kemikleri travmaları değil aynı zamanda ilgili kemiklerde yapılan onkolojik rezeksiyon ve rekonstrüksiyon ameliyatları, implant osseointegrasyonu, sert doku

greftlemeleri, ortognatik cerrahi sonrası iyileşme dönemi ve distraksiyon osteogenesi alanda önemli yere sahiptirler. Araştırmamızın bulguları, düşük yoğunlukta kesikli ultrason uygulamasının iyileşmekte olan rat femur defektinde ve femura yerleştirilen blok kortikal otojen greftin iyileşmesini hızlandığını Ca ve ALP analizlerinin karşılaştırılmasıyla gösterilmiştir. Aynı şekilde DEXA ölçümleri de, ultrason uygulanan deneklerin femurlarının kemik mineral yoğunluğu ve kemik mineral içeriğinin anlamlı şekilde artmış olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, araştırmamızın verileri düşük yoğunlukta kesikli ultrason uygulamasının boş defektlerde ve blok kortikal otojen greft uygulanmış defektlerde kemik iyileşmesini hızlandığını ortaya koymuştur.

SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Uygun ekipman kullanımı ile sedasyon uygulanmadan ultrason tatbiki mümkün olabilir. Böylece denek ölümleri ve sedasyon için kullanılan ilaçların, sonuca etki ihtimali kaldırılabilir.

2. Sunulan araştırmada sıçan femurlarında otojen kemik elde etmek ve kemik defeti oluşturmak için 3 mm çapında trefin frez ile açılan kaviteler arasında 3 mm'den daha az mesafe bırakmanın femurlarda kırığa neden olduğu görülmüştür. Bu nedenle sıçanların arka ayaklarına binen kuvvetleri karşılayabilmesi için defektler arasında 3 mm'den fazla aralık bırakmanın kırık riskini daha da düşüreceği sonucuna varılmıştır.

3. Ultrason uygulamasının planlandığı küçük alanlı çalışmalarda ultrasonun etki alanı göz önüne alınarak kontrol grubu olarak ayrı bir denek grup oluşturulmasının çalışmanın güvenilirliği açısından önemli olduğu vurgulanabilir.

4. Düşük yoğunlukta kesikli ultrason uygulaması deney hayvanları femurları üzerinde oluşturulan defektlere ve bu defektlere yerleştirilen blok kortikal otojen greftlerde kemik iyileşmesini hızlandırdığı görülmüştür.

5. DEXA analizi ve biyokimya kolay uygulanabilen yöntemler olup, 15 günlük ultrason uygulaması gibi kısa süreli uygulamalar sonucunda erken dönem kemikteki değişimlerin tespit edilmesi mümkündür.

6. Düşük yoğunlukta kesikli ultrason uygulamasının, kemik defekti onarımı, yetersiz alveoler kemik miktarının artırılması ve implant cerrahisi gibi maksillofasiyal cerrahi pratiğinde rutin yapılan işlemlerdeki etkinliğini araştırmak için klinik çalışmalar önerilebilir.

ÖZET

Düşük Yoğunlukta Kesikli Ultrason Uygulamasının Otojen Kemik Grefti İyileşmesi Üzerine Etkisi

Kesikli ultrason dalgalarının kemiklerin iyileşmesini hızlandığı birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı düşük yoğunlukta kesikli ultrason uygulamasının kortikal blok otojen greft ve defektlerin iyileşmesi üzerine etkisini araştırmaktır.

Çalışmada 16 adet iskeletsel gelişimini tamamlamış Wistar Albino sıçanlar kullanıldı. Hayvanların femur kemiklerine trefin frezler ile 3mm çapında iki adet defekt oluşturulup bu defektlerden birine elde edilen kortikal blok otojen greftler yerleştirilmiştir. Deney grubundaki hayvanlara 15 gün boyunca, her gün 20 dakika süreli ultrason uygulaması yapıldı. 1.5 megahertz frekansında ultrason sinyalleri, 200 mikro saniye aralıklı kesikli tipte, 30 miliwatt/santimetrekare ortalama yoğunlukta iletildi. Kontrol grubundaki hayvanlara sahte ultrason tedavisi yapıldı. Tüm hayvanlar 18. postoperatif günde sakrifiye edildi. Kemik iyileşmesinin değerlendirilmesi için çıkartılan femur kemiklerinde DEXA analizi ve biyokimyasal değerlendirmeler yapıldı. Veriler istatistiksel olarak analiz edildi.

DEXA analizleri sonucunda ultrason uygulamasının femur kemiklerinin iyileşmesini hızlandığı gözlemlendi. Bu sonuçlar biyokimyasal bulgular ile desteklendi.

Bu çalışmanın sonuçları, düşük yoğunlukta kesikli ultrason uygulamasının boş defektlerde ve blok kortikal otojen greft yerleştirilmiş defektlerde kemik iyileşmesini hızlandığını göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Ultrason, otojen greft, DEXA

SUMMARY

Effects of Low Intensity Pulsed Ultrasound on Autogenous Bone Graft Healing

Pulsed ultrasonic waves have been shown to accelerate bone healing . The aim of this study was to evaluate the effects of low-intensity pulsed ultrasound on healing of bone defects and block cortical autogenous bone graft.

Sixteen skeletally mature male Wistar Albino rats were used. Two defects were produced to the femoral bones of animals with a 3 mm diameter trephine burs and then autogenous cortical grafts were placed in one of that defects. The animals in the experiment group received daily ultrasound treatment, 20 min/day, for 15 days. Ultrasound signals consisted of a 1.5-MHz pressure wave administered in pulses of 200 microseconds with an average intensity of 30 mW/cm². Animals in the control group were received the same protocol without ultrasound application. All of the subjects were sacrificed at 18nd postoperative day. DEXA and biochemical analysis were made for evaluation of bone healing. The data were statistically analyzed.

The comparison of DEXA analysis of the experimental and control groups showed that low intensity pulsed ultrasound accelerated early bone healing in the experimental group and this was supported by biochemical findings.

Keywords: Ultrasound, autogenous graft, DEXA

KAYNAKLAR

Allen, M. R., Hock, J. M. & Burr, D. B. Periosteum: biology, regulation, and response to osteoporosis therapies. *Bone* 2004; 35, 1003-12.

Altundal, H., Sayrak, H., Yurtsever, E. & Goker, K. Inhibitory effect of alendronate on bone resorption of autogenous free bone grafts in rats. *J Oral Maxillofac Surg* 2007; 65, 508-16.

Ataoglu T., G. M. *Periodontoloji* 1999 Bahçivanlar Yayınevi. s:9-12.

Azuma, Y., Ito, M., Harada, Y., Takagi, H., Ohta, T. & Jingushi, S. Low-intensity pulsed ultrasound accelerates rat femoral fracture healing by acting on the various cellular reactions in the fracture callus. *J Bone Miner Res* 2001, 16, 671-80.

Baloğlu İ., Ö. H. Ortopedi ve Travmatolojide Şok Dalga Tedavisi. *TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi* 2005.

Barou, O., Valentin, D., Vico, L., Tirode, C., Barbier, A., Alexandre, C. & Lafage-Proust, M. H. High-resolution three-dimensional micro-computed tomography detects bone loss and changes in trabecular architecture early: comparison with DEXA and bone histomorphometry in a rat model of disuse osteoporosis. *Invest Radiol* 2002, 37, 40-6.

Bodamyalı, T., Bhatt, B., Hughes, F. J., Winrow, V. R., Kanczler, J. M., Simon, B., Abbott, J., Blake, D. R. & Stevens, C. R. Pulsed electromagnetic fields simultaneously induce osteogenesis and upregulate transcription of bone morphogenetic proteins 2 and 4 in rat osteoblasts in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1998, 250, 458-61.

Boehm, C. A., Carney, E. L., Tallarida, R. J. & Wilson, R. P. Midazolam enhances the analgesic properties of dexmedetomidine in the rat. *Vet Anaesth Analg* 2010, 37, 550-6.

Bulut O., E. M. Ortopedi ve Travmatolojide Extrakorporeal Şok Dalga Tedavisi Uygulamaları. *C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 2002.

Chan, C. W., Qin, L., Lee, K. M., Cheung, W. H., Cheng, J. C. & Leung, K. S. Dose-dependent effect of low-intensity pulsed ultrasound on callus formation during rapid distraction osteogenesis. *J Orthop Res* 2006a, 24, 2072-9.

Chan, C. W., Qin, L., Lee, K. M., Zhang, M., Cheng, J. C. & Leung, K. S. Low intensity pulsed ultrasound accelerated bone remodeling during consolidation stage of distraction osteogenesis. *J Orthop Res* 2006b, 24, 263-70.

Chen, J. H., Liu, C., You, L. & Simmons, C. A. Boning up on Wolff's Law: mechanical regulation of the cells that make and maintain bone. *J Biomech* 2010, 43, 108-18.

Cıla, A. S. G. Ç. E. Kemik Greftleri ve Kemik Greftlerinin Yerini Tutabilecek Maddeler. *TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi* 2004.

Clasey, J. L., Hartman, M. L., Kanaley, J., Wideman, L., Teates, C. D., Bouchard, C. & Weltman, A. Body composition by DEXA in older adults: accuracy and influence of scan mode. *Med Sci Sports Exerc* 1997, 29, 560-7.

Cook, S. D., Salkeld, S. L., Patron, L. P., Doughty, E. S. & Jones, D. G. The effect of low-intensity pulsed ultrasound on autologous osteochondral plugs in a canine model. *Am J Sports Med* 2008, 36, 1733-41.

Dalle Carbonare, L., Valenti, M. T., Bertoldo, F., Zanatta, M., Zenari, S., Realdi, G., Lo Cascio, V. & Giannini, S. Bone microarchitecture evaluated by histomorphometry. *Micron* 2005, 36, 609-16.

Delmas, P. D. Biochemical markers of bone turnover. *Acta Orthop Scand Suppl* 1995, 266, 176-82.

Ding, Y., Li, G., Ao, J., Zhou, L., Ma, Q. & Liu, Y. 99mTechnetium-methylene diphosphonate bone imaging using low-intensity pulsed ultrasound: promotion of bone formation during mandibular distraction osteogenesis in dogs. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 48, 94-9.

Dinno, M. A., Dyson, M., Young, S. R., Mortimer, A. J., Hart, J. & Crum, L. A. The significance of membrane changes in the safe and effective use of therapeutic and diagnostic ultrasound. *Phys Med Biol* 1989, 34, 1543-52.

Doan, N., Reher, P., Meghji, S. & Harris, M. In vitro effects of therapeutic ultrasound on cell proliferation, protein synthesis, and cytokine production by human fibroblasts, osteoblasts, and monocytes. *J Oral Maxillofac Surg* 1999, 57, 409-19; discussion 420.

Docker, M. F., Foulkes, D. J. & Patrick, M. K. Ultrasound couplants for physiotherapy. *Physiotherapy* 1982, 68, 124-5.

Dziedzic-goclawska, A., Emerich, J., Grzesik, W., Stachowicz, W., Michalik, J. & Ostrowski, K. Differences in the kinetics of the mineralization process in endochondral and intramembranous osteogenesis in human fetal development. *J Bone Miner Res* 1988, 3, 533-9.

El-bialy, T. H., Royston, T. J., Magin, R. L., Evans, C. A., Zakı Ael, M. & Frizzell, L. A. The effect of pulsed ultrasound on mandibular distraction. *Ann Biomed Eng* 2002, 30, 1251-61.

Erdogan, O., Esen, E., Ustun, Y., Kurkcu, M., Akova, T., Gonlusen, G., Uysal, H. & Cevlik, F. Effects of low-intensity pulsed ultrasound on healing of mandibular fractures: an experimental study in rabbits. *J Oral Maxillofac Surg* 2006, 64, 180-8.

Frehofer, H. P. M. Autogenous Bone and Bovine Bone Mineral as Grafting Materials in Maxillofacial Surgery. *College of Dental Science, University of Nijmegen, The Netherlands* 2000.

Fukada E., Y. I. on the piezoelectric effect of bone. *journal of the physical of japan* 1957, vol: 12 no: 10.

Garavello-freitas, I., Baranauskas, V., Joazeiro, P. P., Padovani, C. R., Dal Pai-silva, M. & Da Cruz-hofling, M. A. Low-power laser irradiation improves histomorphometrical parameters and bone matrix organization during tibia wound healing in rats. *J Photochem Photobiol B* 2003, 70, 81-9.

Gebauer, G. P., Lin, S. S., Beam, H. A., Vieira, P. & Parsons, J. R. Low-intensity pulsed ultrasound increases the fracture callus strength in diabetic BB Wistar rats but does not affect cellular proliferation. *J Orthop Res* 2002, 20, 587-92.

Genant, H. K., Engelke, K., Fuerst, T., Gluer, C. C., Grampp, S., Harris, S. T., Jergas, M., Lang, T., Lu, Y., Majumdar, S., Mathur, A. & Takada, M. Noninvasive assessment of bone mineral and structure: state of the art. *J Bone Miner Res* 1996, 11, 707-30.

Gill, A. L. & Bell, C. N. Hyperbaric oxygen: its uses, mechanisms of action and outcomes. *QJM* 2004, 97, 385-95.

Gökçimen, D. D. A. *Genel tıbbi histoloji* 2006, S.D.Ü Yayın Evi.

Gürer, N. Kemik Mineral Yoğunluğu ile Kemik Döngüsünün Biyokimyasal Göstergelerinin İlişkisi. *Türk Fiz Tıp Rehab. Dergisi* 2005.

H. N. Rosen, S. T., R. Balena, V. L. Middlebrooks, W. G. Beamer, L. R. Donohue, C. Rosen, A. Turner, M. Holick And S. L. Greenspan, Differentiating between orchietomized rats and controls using measurements of trabecular bone density: A comparison among DXA, Histomorphometry, and peripheral quantitative computerized tomography. *Calcified Tissue International* 1995, 57, 35-39.

Hall, B. K. & Miyake, T. Divide, accumulate, differentiate: cell condensation in skeletal development revisited. *Int J Dev Biol* 1995; 39, 881-93.

Handolin, L., Partio, E. K., Arnala, I., Pajarinen, J., Patiala, H. & Rokkanen, P. The effect of low-intensity pulsed ultrasound on bone healing in SR-PLLA rod fixed experimental distal femur osteotomy in rat. *J Mater Sci Mater Med* 2007, 18, 1239-45.

Hantes, M. E., Mavrodontidis, A. N., Zalavras, C. G., Karantanas, A. H., Karachalios, T. & Malizos, K. N. Low-intensity transosseous ultrasound accelerates osteotomy healing in a sheep fracture model. *J Bone Joint Surg Am* 2004, 86-A, 2275-82.

Harle, J., Mayia, F., Olsen, I. & Salih, V. Effects of ultrasound on transforming growth factor-beta genes in bone cells. *Eur Cell Mater* 2005, 10, 70-6; discussion 76.

Hasuike, A., Sato, S., Udagawa, A., Ando, K., Arai, Y. & Ito, K. In vivo bone regenerative effect of low-intensity pulsed ultrasound in rat calvarial defects. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 111, e12-20.

Hayes, B. T., Merrick, M. A., Sandrey, M. A. & Cordova, M. L. Three-MHz Ultrasound Heats Deeper Into the Tissues Than Originally Theorized. *J Athl Train* 2004, 39, 230-234.

Hsu, R. W., Tai, C. L., Chen, C. Y., Hsu, W. H. & Hsueh, S. Enhancing mechanical strength during early fracture healing via shockwave treatment: an animal study. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 2003, 18, S33-9.

Hunter, D. J. & Sambrook, P. N. Bone loss. Epidemiology of bone loss. *Arthritis Res* 2000, 2, 441-5.

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.

Iwai, T., Harada, Y., Imura, K., Iwabuchi, S., Murai, J., Hiramatsu, K., Myoui, A., Yoshikawa, H. & Tsumaki, N. Low-intensity pulsed ultrasound increases bone ingrowth into porous hydroxyapatite ceramic. *J Bone Miner Metab* 2007, 25, 392-9.

Jensen, O. T. *The Sinus Bone Graft* 2000, Quintessence books.

Johns, L. D. Nonthermal effects of therapeutic ultrasound: the frequency resonance hypothesis. *J Athl Train* 2002, 37, 293-9.

Jones, A. L. Recombinant human bone morphogenic protein-2 in fracture care. *J Orthop Trauma* 2005, 19, S23-5.

Junqueira L.C., C. J. *Temel Histoloji* 1998.

Kahraman, H. Trombositten Zengin Plazma Kullanımının Monoblok İnceley Otoplast İyileşmesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi. *Sağlık Bilimleri Enstitüsü* 2010. Isparta, Süleyman Demirel Üniversitesi. (Prof.Dr. Şenol TÜZÜM)

Khanna, A., Nelmes, R. T., Gougoulas, N., Maffulli, N. & Gray, J. The effects of LIPUS on soft-tissue healing: a review of literature. *Br Med Bull* 2009, 89, 169-82.

Kokubu, T., Matsui, N., Fujioka, H., Tsunoda, M. & Mizuno, K. Low intensity pulsed ultrasound exposure increases prostaglandin E2 production via the induction of cyclooxygenase-2 mRNA in mouse osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 1999, 256, 284-7.

Lazar, F. C., Klesper, B., Carls, P., Siessegger, M., Hidding, J. & Zoeller, J. Callusmassage. A new treatment modality for non-unions of the irradiated mandible. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2005, 34, 202-7.

Leisner, S., Shahar, R., Aizenberg, I., Lichovsky, D. & Levin-Harrus, T. The effect of short-duration, high-intensity electromagnetic pulses on fresh ulnar fractures in rats. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2002, 49, 33-7.

Lıbouban, H., Moreau, M. F., Legrand, E., Basle, M. F., Audran, M. & Chappard, D. Comparison insight dual X-ray absorptiometry (DXA), histomorphometry, ash weight, and morphometric indices for bone evaluation in an animal model (the orchidectomized rat) of male osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 2001, 68, 31-7.

Lu, C., Marcucio, R. & Miclau, T. Assessing angiogenesis during fracture healing. *Iowa Orthop J* 2006, 26, 17-26.

Luben, R. A., Cam, C. D., Chen, M. C., Rosen, D. M. & Adey, W. R. Effects of electromagnetic stimuli on bone and bone cells in vitro: inhibition of responses to parathyroid hormone by low-energy low-frequency fields. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1982, 79, 4180-4.

Lynch, S. E. (Ed.) *Tissue Engineering ' applications in maxillofacial surgery and periodontics* 1999.

Marks, S. C., JR. & Popoff, S. N. Bone cell biology: the regulation of development, structure, and function in the skeleton. *Am J Anat* 1988, 183, 1-44.

Marom, R., Shur, I., Solomon, R. & Benayahu, D. Characterization of adhesion and differentiation markers of osteogenic marrow stromal cells. *J Cell Physiol* 2005, 202, 41-8.

Melton, L. J., 3rd, Khosla, S., Atkinson, E. J., O'fallon, W. M. & Riggs, B. L. Relationship of bone turnover to bone density and fractures. *J Bone Miner Res* 1997, 12, 1083-91.

Meyer, U., Kruse-Losler, B. & Wiesmann, H. P. Principles of bone formation driven by biophysical forces in craniofacial surgery. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2006, 44, 289-95.

Misch, C. E. *Contemporary Implant Dentistry* 2003, Mosby.

Mofid, M. M., Inoue, N., Atabey, A., Marti, G., Chao, E. Y., Manson, P. N. & Vander Kolk, C. A. Callus stimulation in distraction osteogenesis. *Plast Reconstr Surg* 2002, 109, 1621-9.

Moon, H. S., Kim, H. J., Teribish, M., Park, J. T. & Cha, J. Y. Development of distraction osteogenesis model of the inferior mandibular border and alveolar bone. *J Craniofac Surg*, 22, 715-9.

Muhonen, A., Muhonen, J., Lindholm, T. C., Minn, H., Klossner, J., Kulmala, J. & Happonen, R. P. Osteodistraction of a previously irradiated mandible with or without adjunctive hyperbaric oxygenation: an experimental study in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002, 31, 519-24.

Nasr, H. F., Aichelmann-Reidy, M. E. & Yukna, R. A. Bone and bone substitutes. *Periodontol 2000* 1999, 19, 74-86.

Newman, M. G. *Carranza's Clinical Periodontology* 2002 W.B.Saunders C.

Nonaka, K., Fukuda, S., Aoki, K., Yoshida, T. & Ohya, K. Regional distinctions in cortical bone mineral density measured by pQCT can predict alterations in material property at the tibial diaphysis of the Cynomolgus monkey. *Bone* 2006, 38, 265-72.

Parfitt, A. M. Bone histomorphometry: proposed system for standardization of nomenclature, symbols, and units. *Calcif Tissue Int* 1988, 42, 284-6.

Pounder, N. M. & Harrison, A. J. Low intensity pulsed ultrasound for fracture healing: a review of the clinical evidence and the associated biological mechanism of action. *Ultrasonics* 2008, 48, 330-8.

Rawool, N. M., Goldberg, B. B., Forsberg, F., Winder, A. A. & Hume, E. Power Doppler assessment of vascular changes during fracture treatment with low-intensity ultrasound. *J Ultrasound Med* 2003, 22, 145-53.

Reher, P., Doan, N., Bradnock, B., Meghji, S. & Harris, M. Effect of ultrasound on the production of IL-8, basic FGF and VEGF. *Cytokine* 1999, 11, 416-23.

Rosen, H. N., Tollin, S., Balena, R., Middlebrooks, V. L., Beamer, W. G., Donohue, L. R., Rosen, C., Turner, A., Holick, M. & Greenspan, S. L. Differentiating between orchietomized rats and controls using measurements of trabecular bone density: a comparison among DXA, histomorphometry, and peripheral quantitative computerized tomography. *Calcif Tissue Int* 1995, 57, 35-9.

Rubin C, B. M., Ryaby JP, Hadjiargyrou M. The use of low-intensity ultrasound to accelerate the healing of fractures. *J Bone Joint Surg Am* 2001, 83, 259-270.

Santoni, B. G., Ehrhart, N., Turner, A. S. & Wheeler, D. L. Effects of low intensity pulsed ultrasound with and without increased cortical porosity on structural bone allograft incorporation. *J Orthop Surg Res* 2008, 3, 20.

Schortinghuis, J., Ruben, J. L., Raghoobar, G. M. & Stegenga, B. Ultrasound to stimulate mandibular bone defect healing: a placebo-controlled single-blind study in rats. *J Oral Maxillofac Surg* 2004, 62, 194-201.

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.

Sezer, A., Memis, D., Usta, U. & Sut, N. The effect of dexmedetomidine on liver histopathology in a rat sepsis model: an experimental pilot study. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2010, 16, 108-12.

Shimazaki, A., Inui, K., Azuma, Y., Nishimura, N. & Yamano, Y. Low-intensity pulsed ultrasound accelerates bone maturation in distraction osteogenesis in rabbits. *J Bone Joint Surg Br* 2000, 82, 1077-82.

Stewart, K. J., Lvoff, G. O., White, S. A., Bonar, S. F., Walsh, W. R., Smart, R. C. & Poole, M. D. Mandibular distraction osteogenesis: a comparison of distraction rates in the rabbit model. *J Craniomaxillofac Surg* 1998, 26, 43-9.

Stucki, U., Schmid, J., Hammerle, C. F. & Lang, N. P. Temporal and local appearance of alkaline phosphatase activity in early stages of guided bone regeneration. A descriptive histochemical study in humans. *Clin Oral Implants Res* 2001, 12, 121-7.

Stuermer, E. K., Komrakova, M., Werner, C., Wicke, M., Kolios, L., Sehmisch, S., Tezval, M., Utesch, C., Mangal, O., Zimmer, S., Dullin, C. & Stuermer, K. M. Musculoskeletal response to whole-body vibration during fracture healing in intact and ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int* 2010, 87, 168-80.

Suzuki, A., Takayama, T., Suzuki, N., Sato, M., Fukuda, T. & Ito, K. Daily low-intensity pulsed ultrasound-mediated osteogenic differentiation in rat osteoblasts. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2009, 41, 108-15.

Swaminathan, R. Biochemical markers of bone turnover. *Clin Chim Acta* 2001, 313, 95-105.

Takano-Yamamoto, T., Kawakami, M. & Sakuda, M. Effect of a pulsing electromagnetic field on demineralized bone-matrix-induced bone formation in a bony defect in the premaxilla of rats. *J Dent Res* 1992, 71, 1920-5.

Taşan, E. Normal Kemik Yapım-Yıkım Döngüsü ve Osteoporozun Patogenezi. *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri ; Osteoporoz Sempozyumu* 1999, s. 17-32.

Ter Haar, G., Daniels, S., Eastaugh, K. C. & Hill, C. R. Ultrasonically induced cavitation in vivo. *Br J Cancer Suppl* 1982, 5, 151-5.

Tis, J. E., Meffert, C. R., Inoue, N., Mccarthy, E. F., Machen, M. S., Mchale, K. A. & Chao, E. Y. The effect of low intensity pulsed ultrasound applied to rabbit tibiae during the consolidation phase of distraction osteogenesis. *J Orthop Res* 2002, 20, 793-800.

Topçu, Ö. Menopozun ve Tibolon Kullanımının Kemik Döngüsü Belirteçleri Üzerine Etkisi *Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü* 2007. Ankara.

Vesper, H. Application of Biochemical Markers of Bone Turnover in the Assessment and Monitoring of Bone Diseases; Approved Guideline. *NCCLS* 2004, Volume 24 Number 22.

Walsh, W. R., Langdown, A. J., Auld, J. W., Stephens, P., YU, Y., Vizesı, F., Bruce, W. J. & Pounder, N. Effect of low intensity pulsed ultrasound on healing of an ulna defect filled with a bone graft substitute. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2008, 86, 74-81.

Wang, C. J., Wang, F. S. & Yang, K. D. Biological effects of extracorporeal shockwave in bone healing: a study in rabbits. *Arch Orthop Trauma Surg* 2008, 128, 879-84.

Warden, S. J., Bennell, K. L., Mcmeeken, J. M. & Wark, J. D. Acceleration of fresh fracture repair using the sonic accelerated fracture healing system (SAFHS): a review. *Calcif Tissue Int* 2000, 66, 157-63.

Wolf, S., Janousek, A., Pfeil, J., Veith, W., Haas, F., Duda, G. & Claes, L. The effects of external mechanical stimulation on the healing of diaphyseal osteotomies fixed by flexible external fixation. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 1998, 13, 359-364.

Yang, K. H. & Park, S. J. Stimulation of fracture healing in a canine ulna full-defect model by low-intensity pulsed ultrasound. *Yonsei Med J* 2001, 42, 503-8.

Yang, R. S., Lin, W. L., Chen, Y. Z., Tang, C. H., Huang, T. H., LU, B. Y. & FU, W. M. Regulation by ultrasound treatment on the integrin expression and differentiation of osteoblasts. *Bone* 2005, 36, 276-83.

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.

Zhang, X., Naik, A., Xie, C., Reynolds, D., Palmer, J., Lin, A., Awad, H., Guldberg, R., Schwarz, E. & O'keefe, R. Periosteal stem cells are essential for bone revitalization and repair. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2005, 5, 360-2.

Zhuo Xiang-Long, L. H.-B., Xu Da-Qi, Liu Bin Effects of low-intensity pulsed ultrasound stimulation on porous hydroxyapatite blocks for posterolateral fusion of lumbar spine in rabbits. *Trans. Nonferrous Met. Soc. China*, 1921-1927.

Zıskın, M. C. Fundamental physics of ultrasound and its propagation in tissue. *Radiographics* 1993, 13, 705-9.

ÖZGEÇMİŞ

Isparta'nın Senirkent ilçesinde 20.01.1983 tarihinde doğdum. İlkokulun ilk iki sınıfını Senirkent Turan İlkokulu'nda, geri kalan ilkokul eğitimini Isparta Ülkü İlkokulu'nda devam edip 1994 yılında mezun oldum. Isparta Anadolu Lisesi'nden 1998 yılında mezun oldum. Liseyi Isparta Fen Lisesi'nde 2001 yılında bitirerek aynı yıl Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ni kazandım. Lisans ve yüksek lisans eğitimimi 2006 yılında tamamlayarak 2007 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı'nda doktora eğitimime başladım.