

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DİYOT LAZER KULLANIMININ ORTODONTİK DİŞ HAREKETİ
HIZI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN DENEYSEL OLARAK
İNCELENMESİ

BURCU KOÇOĞLU ALTAN

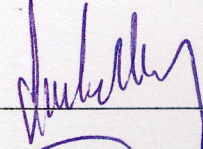
DOKTORA TEZİ

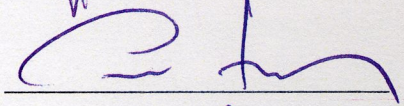
ORTODONTİ ANABİLİM DALI

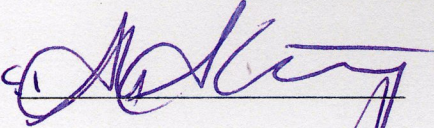
TEZ DANIŞMANI
YRD.DOÇ.DR. ORAL SÖKÜCÜ

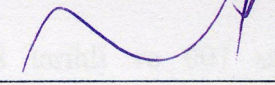
SİVAS
2010

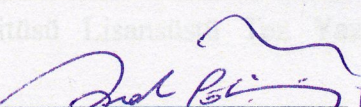
Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Fen/Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Ortodonti Anabilim Dalı'nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan Doc. Dr. Siddik MALKOC 

Üye Doc. Dr. Cenk DORUK 

Üye Doc. Dr. Ali Altuğ BİÇAKCI 

Üye Yrd. Doc. Dr. Hüseyin KÖZGER 

Üye (Danışman) Yrd. Doc. Dr. Oral SÖKÜCÜ 

ONAY

Bu tez çalışması 11/01/2010 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Tijen KAYA TEMİZ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRÜ

ÖZET

DİYOT LAZER KULLANIMININ ORTODONTİK DİŞ HAREKETİ HIZI ÜZERİNE ETKİLERİNİN DENEYSEL OLARAK İNCELENMESİ

Burcu KOÇOĞLU ALTAN

Doktora Tezi, Ortodonti Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Oral SÖKÜCÜ

2010, 124 sayfa

Ortodontik anomalilerin dişsel tedavisi ortodontik diş hareketleri ile sağlanmaktadır. Ortodontik diş hareketi için dişlere mekanik ve fizyolojik kuvvetler uygulanmaktadır. Kısa süre içerisinde daha fazla diş hareketi elde etmek için kuvvetin şiddetinin artırılması dişte ve dişi çevreleyen dokularda patolojik oluşumlara yol açtığından diş hareketini hızlandırmak için alternatif metod arayışları sürmektedir. 1971 yılından bu yana ağrı kontrolünden kemik kırıklarının tedavisine kadar çok çeşitli alanlarda biyostimülan etkilerinden faydalanılan düşük doz lazer terapisinin ortodontik diş hareketi üzerinde de stimülan etkileri olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızın amacı diyot lazer kullanımının ortodontik diş hareketi hızı üzerine olan etkilerini metrik ve histolojik olarak değerlendirmektir.

Çalışmamızda 38 adet Wistar ratı kullanılmıştır. Denekler, 3 çalışma grubunda 11'er ve kontrol grubunda 5 adet rat olacak şekilde ayrılmıştır. İlk gruptaki deneklerin maksiller kesici dişlerine ortodontik kuvvet uygulayacak zemberek takılarak ortodontik diş hareketi elde edilmiştir. İkinci gruptaki deneklere zemberek takılmış ve sağ üst kesici dişlerine üst üste 3 gün, 9 dk. süresince 54 J lazer enerjisi verilmiştir. Üçüncü gruptaki deneklere ise zemberek takıldıktan sonra sağ üst kesici dişlerine üst üste 3 gün, 2.5 dk. süresince 15 J lazer enerjisi verilmiştir. Kontrol grubundaki deneklere herhangi bir uygulama yapılmamış; deney süresi boyunca diğer deneklerle eş şartlarda yaşatılmışlardır. Uygulama yapılan gruptaki 11 adet denekten dörder tanesi deney sürecinin 3. gününün sonunda immunohistokimyasal değerlendirme için sakrifiye edilmiştir. Gruplardaki diğer 7 denek ve kontrol grubundaki 5 denek 8 günlük deney sürecinin sonunda sakrifiye edilmiştir.

Elde edilen metrik ölçüm bulgularına göre ortodontik diş hareketi miktarı II. Grup'ta daha fazla olmasına rağmen gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. 3. günün sonunda sakrifiye edilen deneklerden elde edilen mikrografların histolojik değerlendirmesinde osteoklast sayısı, basınç tarafında kapiller vaskülarizasyon ve enflamatuar yanıtta II. Grup'ta anlamlı oranda artış gözlenirken osteoblast sayısı açısından gruplar arasında fark bulunmamıştır. Değerlendirilen histolojik parametrelerdeki artışın, III. Grup'ta (II. Grup'tan düşük olmakla beraber) I. Grup'tan daha fazla olduğu gözlenmiştir. Deney sürecinin sonunda sakrifiye edilen deneklerden elde edilen mikrografların histolojik değerlendirmesinde ise osteoklast ve osteoblast sayısı, kapiller vaskülarizasyon ve enflamatuar yanıt II. Grup'ta anlamlı oranda artış göstermiştir. Osteoklast sayısı, kapiller vaskülarizasyon ve enflamatuar yanıtta artış III. Grup'ta I. Gruba göre daha fazla bulunurken; osteoblast sayısı açısından Grup III ve Grup I arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Yapılan immunohistokimyasal değerlendirme sonucu RANKL immunoreaktivitesinin II. Grup'ta daha fazla artış gösterdiği; OPG immunoreaktivitesinin ise gruplar arasında farklılık göstermediği saptanmıştır. İmmunohistokimyasal değerler III. Grup'ta II. Grup'tan düşük olmakla beraber I. Gruba göre artış göstermiştir.

Çalışmamızda incelenen parametrelerin, lazer uygulanan iki grupta da sadece aparey uygulanan gruba göre artış göstermiş olması düşük doz lazer terapisinin ortodontik diş hareketini stimüle ettiğini ortaya koymuştur. II. ve III. Grup arasındaki farklılık ise düşük doz lazer terapisinin biyostimulan etkilerinin doza bağımlı olarak ortaya çıktığını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Ortodontik diş hareketi, RANKL/OPG, düşük doz lazer terapisi

ABSTRACT

EFFECTS OF DIODE LASER ON ORTHODONTIC TOOTH MOVEMENT RATE

Burcu KOÇOĞLU ALTAN

Doctoral Thesis, Department of Orthodontics

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Oral SÖKÜCÜ

2010, 124 pages

Treatment of orthodontic malocclusions are obtained by orthodontic tooth movement. For this purpose, physiological and mechanical forces are applied to the teeth. It could be thought that increasing the degree of force would cause more tooth movement and solve the problem in a shorter time. Unfortunately excessive forces cause pathological reactions in the teeth and surrounding tissues. Low level laser therapy has been used since 1971 for biostimulation of several disorders. It was thought that orthodontic tooth movement also, could be stimulated by low level laser therapy.

The aim of this study was to investigate the effects of diode laser on orthodontic tooth movement rate both metrically and histologically.

For this experiment, 38 Wistar rats were used. There were 11 rats in each of the experimental groups (Group I, II, and III) and 5 rats in the control group (Group IV). In the first group, orthodontic spring was placed for orthodontic tooth movement. In the second group, spring was placed and right maxillary incisor was irradiated for 9 minutes and 54 J laser energy was given to the tissue. In the third group, spring was placed and right maxillary incisor was irradiated for 2,5 minutes and 15 J laser energy was given to the tissue. Laser irradiation was performed on the first, the second and the third day of the experiment. In the control group, nothing was done. Four of the rats in Groups I, II and III were sacrificed on the third day of the experiment for immunohistochemical assessment. Other seven rats in these groups and the five rats in the IVth group were sacrificed on the 8 th day of the experiment.

According to the metrical findings, no statistical difference was found in tooth movement rates of both the study and control groups. In the histological assessment of the third day micrographs, increase in the number of osteoclasts, capillary

vascularization and inflammation were observed in Group II, while there were no difference between the groups, with regards to the number of osteoblasts. When Group I and Group III were compared, the increase in the parameters above was found higher in Group III than in Group I. According to the assessment of the micrographs taken at the end of the experiment, it was observed that increase in the number of osteoclasts and osteoblasts, capillary vascularization and inflammation was more in Group II than in other groups. While the increase in the number of osteoclasts, capillary vascularization and inflammation was higher in Group III than in Group I; increase in the number of osteoblasts showed no difference between Group I and Group III neither on the 3rd nor on the 8th day of the experiment. Immunohistochemical staining findings showed that RANKL immunoreactivity was more in Group II than in other groups. As to OPG immunoreactivity, no difference was found between the groups. Immunohistochemical parameters were higher in Group III than in Group I, while they both were lower than in Group II.

All of the parameters exhibited more increase in the irradiated groups, revealing that low level laser therapy stimulates orthodontic tooth movement. The difference between Group II and Group III showed that the stimulatory effects of the low level laser therapy are dose-dependent.

Key words: Orthodontic tooth movement, RANKL/OPG, low level laser therapy

TEŞEKKÜR

Tezimi hazırlamamda gösterdiği çabaları için danışmanım Yrd.Doç. Dr. Oral SÖKÜCÜ'ye, araştırmamın histolojik değerlendirmelerini yapan ikinci danışmanım Prof. Dr. Sevinç İNAN'a, istatistik bilgisini ve deneyimlerini esirgemeyen Yrd.Doç.Dr. Ziyet ÇINAR'a, çalışmamda emeği geçen veteriner hekim Yücel YALMAN'a ve Deney Hayvanları Laboratuvarı sorumlusu Seyfettin ŞENER'e, bölüm arkadaşlarım ve bölüm çalışanlarına teşekkür ederim. Ayrıca tezimi hazırlarken yararlandığım kaynakların bir kısmını temin eden Sayın Enver ATALI'ya çok teşekkür ederim.

Ortodonti eğitimim boyunca öğrendiklerimi borçlu olduğum değerli hocalarım Doç.Dr. Cenk DORUK'a, Doç.Dr. Hasan BABACAN'a ve Doç.Dr. Altuğ BIÇAKÇI'ya teşekkür ederim.

Sevgileri ve bana duydukları güvenle beni bugünlere getiren aileme ve varlıklarıyla bana güç veren eşime ve oğluma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
1 GİRİŞ VE AMAÇ	1
2 GENEL BİLGİLER	4
2.1 Ortodontik Diş Hareketi	4
2.1.1 Basınç-Gerilim Kuramı	6
2.1.2 Kemik-Eğilme Teorisi	6
2.1.3 Biyoelektrik Sinyaller	7
2.1.4 İmmun Sistem Yanıtı	9
2.1.5 Henneman'ın Teorisi	13
2.2 Lazer	18
2.2.1 Lazer Işığı Eldesi	20
2.2.2 Lazer Sınıflandırması	22
2.2.3 Lazer Çeşitleri	22
2.2.4 Lazerin Biyolojik Dokular Üzerindeki Etkileri	26
2.2.4.1 Fotobiyokimyasal Etkiler- Biyostimülasyon	30
2.2.4.2. Fototermal ve Fotoiyonizan Etkiler	32
2.2.5 Düşük Doz LAzer Terapisi ile İlgili Çalışmalar	34
3 MATERYAL-METOD	38
3.1 Çalışmada Kullanılan Malzemeler	38
3.1.1 Araştırmanın Deney Safhasında Kullanılan Malzemeler	38
3.1.2 Araştırmada Kullanılan Farmakolojik Ajanlar	38
3.1.3 Histolojik Değerlendirmede Kullanılan Malzemeler	38
3.2 Çalışma Gruplarının Tanımlanması	39
3.3 Aparey ve Uygulama Şekli	41
3.4 Lazer Uygulaması	43
3.5 Değerlendirme Yöntemleri	46
3.5.1 Ratlar ve Kullanılan Apareyle İlgili Gözlemsel Değerlendirmeler	46

3.5.2 Ortodontik Diş Hareketinin Metrik Ölçümü	46
3.5.3 Histolojik ve Histometrik Değerlendirme	46
3.5.4 İstatistiksel Değerlendirme.....	50
4 BULGULAR	51
4.1 Ratlar ve Kullanılan Apareyle İlgili Gözlemsel Bulgular	51
4.2 Ağırlık Ölçümleriyle İlgili Bulgular.....	52
4.3 Ortodontik Diş Hareketinin Metrik Ölçüm Bulguları	53
4.4 Histolojik ve İmmunohistokimyasal Bulgular.....	57
4.4.1 1. Alt Gruplara (A) Ait Bulgular	57
4.4.1.1 Grup I-A.....	57
4.4.1.2 Grup II-A.....	57
4.4.1.3 Grup III-A.....	58
4.4.2 2. Alt Gruplara (B) Ait Bulgular	59
4.4.2.1 Grup I-B.....	59
4.4.2.2 Grup II-B.....	59
4.4.2.3 Grup III-B.....	60
4.4.3 Kontrol Grubuna Ait Bulgular	61
4.4.4 Histolojik ve İmmunohistokimyasal Bulguların İstatistiksel Değerlendirmesi.....	80
4.4.4.1 1. Alt Gruplara (A) Ait Bulguların Değerlendirmesi.....	80
4.4.4.2 2. Alt Gruplara (A) Ait Bulguların Değerlendirmesi.....	85
5 TARTIŞMA.....	90
6 SONUÇLAR.....	105
KAYNAKLAR.....	107
ÖZGEÇMİŞ.....	124

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	RANK/RANKL/OPG mekanizması.....	13
Şekil 2.2	Lazer Kaynağı.....	21
Şekil 2.3	Lazer Çeşitleri.....	26
Şekil 2.4	Lazer ışını- Doku etkileşimleri (Glinkowski ve Pokora, 2001).....	27
Şekil 2.5	Bazı doku komponentlerinin lazer radyasyonu absorpsiyon karakteristikleri (Glinkowski ve Pokora, 2001).....	27
Şekil 2.6	Dalga boyuna göre ışığın derinin katmanlarında transmisyon miktarı (Glinkowski ve Pokora, 2001).....	28
Şekil 2.7	Dokuda derinlere inildikçe lazer radyasyonunun etkilediği alan genişlerken, radyasyonun yoğunluğu azalmakta (Glinkowski ve Pokora, 2001).....	29
Şekil 2.8	Stimulan ışığın gücüne göre oluşan reaksiyon miktarı.....	32
Şekil 2.9	İrradyasyon süresi ve biyolojik dokuda ısı artışı arasındaki ilişki (Glinkowski ve Pokora, 2001).....	33
Şekil 2.10	Uygulama süresi ve güç yoğunluğuna bağlı olarak ışınların biyolojik dokuda ortaya çıkan etkileri (Glinkowski ve Pokora, 2001).....	34
Şekil 2.11	Yara iyileşme sürecinin lazer ışınlarıyla stimülasyonu (Glinkowski ve Pokora, 2001)	35
Şekil 3.1	Aparey uygulanan rat keser dişlerinin genel görünümü.....	40
Şekil 3.2	Ortodontik kuvvet uygulamak için kullanılan aparey.....	41
Şekil 3.3	Separe ile retansiyon oluklarının hazırlanması.....	42
Şekil 3.4	Apareyin yerleştirilmesi.....	42
Şekil 3.5	Apareyin yerleşmiş hali.....	43
Şekil 3.6	Lazer uygulaması.....	44
Şekil 3.7	Ortodontik diş hareketi sonrası (Grup I).....	45
Şekil 3.8	Ortodontik diş hareketi sonrası (Grup II).....	45
Şekil 3.9	Ortodontik diş hareketi sonrası (Grup III).....	46
Şekil 4.1	Deneklerin değişik zamanlarda ölçülen kilolarının grafiksel karşılaştırması.....	53
Şekil 4.2	Tüm gruplara ait deney sürecinin ilk 3 gününde ölçülen diş hareketi miktarlarının grafiksel karşılaştırması.....	54
Şekil 4.3	B gruplarına ait deney süresince ölçülen diş hareketi miktarlarının grafiksel karşılaştırması.....	56
Şekil 4.4	Grup I-A'ya ait H.E. ile boyanan mikrograflar.....	65
Şekil 4.5	Grup I-A'ya ait, anti-RANKL primer antikoru ile boyanan mikrograflar.....	65
Şekil 4.6	Grup I-A'ya ait, anti-OPG primer antikoru ile boyanan mikrograflar.....	66
Şekil 4.7	Grup I-A'ya ait, anti-PCNA primer antikoru ile boyanan mikrograflar.....	66
Şekil 4.8	Grup II-A'ya ait, H.E. ile boyanan mikrograflar.....	67
Şekil 4.9	Grup II-A'ya ait, anti-RANKL primer antikoru ile boyanan mikrograflar.....	67
Şekil 4.10	Grup II-A'ya ait, anti-OPG primer antikoru ile boyanan mikrograflar.....	68
Şekil 4.11	Grup II-A'ya ait, anti-PCNA primer antikoru ile boyanan mikrograflar.....	68
Şekil 4.12	Grup III-A'ya ait, H.E. ile boyanan mikrograflar.....	69
Şekil 4.13	Grup III-A'ya ait, anti-RANKL primer antikoru ile boyanan mikrograflar.....	69
Şekil 4.14	Grup III-A'ya ait, anti-OPG primer antikoru ile boyanan mikrograflar.....	70

Şekil 4.15	Grup III-A'ya ait, anti-PCNA primer antikoru ile boyanan mikrograflar...	70
Şekil 4.16	Grup I-B'ye ait, H.E. ile boyanan mikrograflar.....	71
Şekil 4.17	Grup I-B'ye ait, anti-RANKL primer antikoru ile boyanan mikrograflar...	71
Şekil 4.18	Grup I-B'ye ait, anti-OPG primer antikoru ile boyanan mikrograflar.....	72
Şekil 4.19	Grup I-B'ye ait, anti-PCNA primer antikoru ile boyanan mikrograflar.....	72
Şekil 4.20	Grup II-B'ye ait, H.E. ile boyanan mikrograflar.....	73
Şekil 4.21	Grup II-B'ye ait, anti-RANKL primer antikoru ile boyanan mikrograflar..	73
Şekil 4.22	Grup II-B'ye ait, anti-OPG primer antikoru ile boyanan mikrograflar.....	74
Şekil 4.23	Grup II-B'ye ait, anti-PCNA primer antikoru ile boyanan mikrografla.....	74
Şekil 4.24	Grup III-B'ye ait, H.E. ile boyanan mikrograflar.....	75
Şekil 4.25	Grup III-B'ye ait, anti-RANKL primer antikoru ile boyanan mikrograflar..	75
Şekil 4.26	Grup III-B'ye ait, anti-OPG primer antikoru ile boyanan mikrograflar.....	76
Şekil 4.27	Grup III-B'ye ait, anti-PCNA primer antikoru ile boyanan mikrograflar....	76
Şekil 4.28	Grup IV'e ait, H.E. ile boyanan mikrograflar.....	77
Şekil 4.29	Grup IV'e ait, Anti-RANKL primer antikoru ile boyanan mikrograflar.....	78
Şekil 4.30	Grup IV'e ait, Anti-OPG primer antikoru ile boyanan mikrograflar.....	78
Şekil 4.31	Grup IV'e ait, Anti-PCNA primer antikoru ile boyanan mikrograflar.....	79
Şekil 4.32	3. günün sonunda 1. alt gruplara ait osteoklast sayılarının grafiksel karşılaştırması.....	81
Şekil 4.33	3. günün sonunda 1. alt gruplara ait basınç tarafındaki kapiller sayılarının grafiksel karşılaştırması.....	82
Şekil 4.34	3. günün sonunda 1. alt gruplara ait gerilim tarafındaki kapiller sayılarının grafiksel karşılaştırması	82
Şekil 4.35	3. günün sonunda 1. alt gruplara ait osteoblast hücre sayılarının grafiksel karşılaştırması.....	84
Şekil 4.36	3. günün sonunda 1. alt gruplara ait enflamatuar hücre sayılarının grafiksel karşılaştırması.....	84
Şekil 4.37	8 gün sonunda 2. alt gruplara ait osteoklast sayılarının grafiksel karşılaştırması.....	86
Şekil 4.38	8 gün sonunda 2. alt gruplara ait basınç tarafındaki kapiller sayılarının grafiksel karşılaştırması.....	87
Şekil 4.39	8 gün sonunda 2. alt gruplara ait gerilim tarafındaki kapiller sayılarının grafiksel karşılaştırması.....	87
Şekil 4.40	8 gün sonunda 2. alt gruplara ait osteoblast hücre sayılarının grafiksel karşılaştırması.....	88
Şekil 4.41	8 gün sonunda gruplara ait enflamatuar hücre sayılarının grafiksel karşılaştırması	89
Şekil 4.42	8 gün sonunda 2. alt gruplara ait yeni oluşan kemik miktarının grafiksel karşılaştırması.....	89

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1	Çalışma gruplarının tanımlanması.....	40
Çizelge 3.2	Parafin takip protokolü.....	49
Çizelge 3.3	Hematoksilen-eozin boyama protokolü.....	49
Çizelge 3.4	Avidin-biyotin peroksidaz yöntemiyle indirek-immunohistokimya boyama protokolü.....	50
Çizelge 4.1	Çalışma gruplarının tanımlanması.....	51
Çizelge 4.2	Çalışmaya dahil edilen ratların değişik zamanlarda ölçülen kilolarının istatistiksel karşılaştırması.....	52
Çizelge 4.3	1., 2. ve 3. günlerde elde edilen diş hareketi miktarlarının grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması (A ve B grupları birarada).....	54
Çizelge 4.4	4., 5., 6., 7. ve 8. günlerde elde edilen diş hareketi miktarlarının grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması.....	55
Çizelge 4.5	Kontrol grubuna ve 1. alt gruplara ait histolojik değerlendirme sonuçları.....	62
Çizelge 4.6	2. alt gruplara ait histolojik değerlendirme sonuçları.....	63
Çizelge 4.7	Gruplara ait anti-RANKL, anti-OPG ve anti PCNA primer antikörleri ile yapılan immunoreaktivite sonuçları.....	64
Çizelge 4.8	3. günün sonunda 1. alt gruplara ait osteoklast, basınç tarafındaki ve gerilim tarafındaki kapiller sayılarının istatistiksel karşılaştırılması.....	81
Çizelge 4.9	3. günün sonunda 1. alt gruplara ait osteoblast ve enflamatuar hücre sayılarının istatistiksel karşılaştırılması.....	83
Çizelge 4.10	8 gün sonunda gruplara ait osteoklast, basınç tarafındaki ve gerilim tarafındaki kapiller sayılarının istatistiksel karşılaştırılması.....	86
Çizelge 4.11	8 gün sonunda gruplara ait osteoblast ve enflamatuar hücre sayılarının ve yeni oluşan kemik miktarlarının istatistiksel karşılaştırılması.....	88

KISALTMALAR DİZİNİ

1,25- (OH) ₂ D ₃	1,25 Dihidrokokaleksiferol
PEMF	Pulsed Electromagnetic Field (Atımsal Elektromanyetik Saha)
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
PTH	Parathormon
PDL	Periodontal Ligament
GCF	Gingival Crevicular Fluid (Dişeti Oluğu Sıvısı)
ATP	Adenozin-5' - trifosfat
GTP	Guanozin-5' - trifosfat
AMP	Adenozin 3',5'-monofosfat
cAMP	siklik AMP
GMP	Guanozin 3',5'-monofosfat
cGMP	siklik GMP
PI	Fosfatidil İnositol
ECM	Extra Cellular Matrix (Hücre Dışı Matris)
IL-1	İnterlökin-1
IL-2	İnterlökin-2
IL-3	İnterlökin-3
IL-6	İnterlökin-6
IL-8	İnterlökin-8
TNF- α	Tümör Nekrotizan Faktör- α
IFN- γ	γ -interferon
ODF	Osteoclast Differentiating Factor (Osteoklast Farklılaşma Faktörü)
M-CSF	Macrophage Colony-stimulating Factor (Makrofaj Koloni-stimulan Faktör)
RANKL	Receptor Activator of Nuclear Factor-Kappa Ligand
RANK	Receptor Activator of Nuclear Factor-Kappa
OPG	Osteoprotegrin
NO	Nitrit Oksit
OPN	Osteopontin
MMP	Matrix Metalloproteinase
TGF- β	Transforming Growth Factor- β
LASER	Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation
nm	Nanometre
GaAlAs	Galyum-Aliminyum-Arsenik
Nd: YAG	Neodmium: Yttrium-Aliminyum-Granat
Er:YAG	Erbium: Yttrium-Aliminyum-Granat
Ho: YAG	Holmium: Yttrium-Aliminyum-Granat
PDT	Photo Dynamic Therapy
FDA	Food and Drug Administration

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Ortodonti dişlerin, çenelerin ve orofasiyal yumuşak dokuların gelişimsel, pozisyonel ve patolojik anomalileri ile ilgilenen bir bilim dalıdır.

Ortodontik tedavilerin amacı ortodontik anomalinin meydana gelmesini engellemek veya meydana gelmiş anomaliyi tedavi ederek iyi bir fonksiyon ve estetik sağlamaktır (Ülgen, 1986).

Ortodontik anomaliler iskeletsel, dişsel veya her iki anomalinin kombinasyonundan oluşabilen düzensizliklerdir. İskeletsel anomalilerin tedavisi için ortopedik veya cerrahi uygulamalar gerekse de temel olarak tüm ortodontik düzensizlikler diş hareketleri ile çözülmektedir. Ortodontik diş hareketi sağlamak için dişlere mekanik ve fizyolojik kuvvetler uygulanmaktadır. Uygulanan kuvvetler sonucunda periodonsiyumda, dişlerde ve çevre dokularda birtakım değişiklikler gözlenmektedir (Salzmann, 1974).

Ortodontik tedavi gören hastaların çoğunun tedaviyle ilgili ana şikâyeti tedavi süresinin uzunluğudur (Lew, 1991; Goulart ve Nouer, 2006). Bunun sebebi tedavi esnasında uygulanan kuvvetlerin fizyolojik sınırlar içerisinde olması gerekliliğidir. Kısa süreler içerisinde daha fazla diş hareketi elde edilebilmesi için kuvvetin şiddetinin artırılması periodontal membranın basınç bölgesinde kan akımının durmasına neden olur ve hyalinizasyon denilen patolojik olaylar gelişir (Gianelly ve Schnur, 1969; Khouw ve Goldhaber, 1970; Furstman vd., 1971; Burch vd., 1977; Işimer, 1984; Rygh vd., 1986; Engstrom vd., 1988). Bu nedenle diş hareketinin hızlandırılabilmesi için uygulanan kuvvetin şiddetinin artırılması doğru bir yöntem değildir.

Bugüne kadar diş hareketini hızlandırmak için braketerler, ark telleri ve diğer aksesuarlarla ilgili birçok araştırma yapılmıştır. Bazı araştırmacılar ise ortodontik kuvvetlere bağlı olarak meydana gelen hücresel düzeydeki cevapları ve değişimleri inceleyerek daha hızlı veya fazla diş hareketi elde etmek için çözümler üretmeye çalışmışlardır. Literatürde, diş hareketini kimyasal olarak hızlandırmak amacıyla prostaglandin (Goodson vd., 1974; Dewhirst vd., 1983; Yamasaki vd., 1984; Chao vd., 1988; Lee, 1990; Brudvik ve Rygh 1991), 1,25-(OH)₂D₃ (Gray vd., 1974; Weishaar ve Simpson, 1987; Collins ve Sinclair, 1988; Baran, 1992; Yamamoto vd., 1992), parathormon (Gianelly ve Schnur, 1969; Engström vd., 1988; Soma vd., 1999), aspirin (Karadede, 1992; Wong vd., 1992) ve diazepam (Burrow vd.,1986) kullanılan

çalışmalar bulunmaktadır. Bazı araştırmacılar ise elektrik akımı (Davidovitch vd., 1980a,1980b) ve atımsal elektromanyetik saha (PEMF) (Stark ve Sinclair, 1987) uygulamalarıyla diş hareketinin fiziksel olarak hızlandırılabilirdiğini ortaya koymuştur. Ancak bu tip uygulamaların birtakım yan etkileri olduğu saptanmıştır. PGE₂ (Brudvik ve Rygh, 1991) enjeksiyonu lokal ağrıya ve kök rezorpsiyonuna sebep olurken; 1,25-(OH)₂D₃ ve PTH sistemik olarak istenmeyen etkiler yaratmaktadır.

Günümüzde hızla ilerleyen teknoloji sadece endüstriyel alanda sınırlı kalmayıp diş hekimliğinde teşhis yöntemlerini kolaylaştırıcı ve tedavi imkânlarını zenginleştirici etkileri ortaya çıkmaya başlamıştır. Bu yeni gelişmelerin kullanılması hem hasta hem de hekimlere birçok açıdan kolaylıklar getirmiştir (Darı, 2002). Lazer teknolojisi de tıbbın birçok dalında kendine yer bulan ve etkin kullanılan enstrümanlardan biri olmuştur.

Lazer ışınlarının dokularda yaratabileceği etkiler çeşitlidir. Bunlar; biyostimülasyon, fotodinamik reaksiyon, termik reaksiyonlar, fotoablasyon, vaporizasyon, koagülasyon, fotodistrupsiyon, mikroeksplzyon olarak söylenebilir.

1971 yılından bu yana düşük doz lazerin çeşitli biyostimülatör etkileri üzerinde çalışılmaktadır. Biyostimülan lazerler anestezi etkileri sayesinde protetik stomatopati, paradontal abseler, ödem, aft, oral herpes ve pulpitis gibi birçok rahatsızlığın tedavisinde; ayrıca çekim veya frenektomi gibi cerrahi müdahalelerden sonra iyileşmeyi hızlandırmak amacıyla kullanılabilir. Lazer radyasyonunun stimülan etkileriyle mikrosirkülasyon, hücre beslenmesi ve rejenerasyonu artmaktadır. Uygun enerji dozu protein sentezini stimüle etmektedir. Lazer radyasyonunun biyostimülan mekanizmaları aktive etmesiyle fibroblast ve kollajen liflerinin büyümesi, kan damarlarının rejenerasyonu ve nöronların büyümesi aktive edilebilmektedir. Lazer uygulanan tüm vakalarda tedavi prosedürlerinin etkisi artırılır, enfeksiyon riski azaltılır ve hasarlı dokuların rejenerasyonu hızlandırılır.

Çeşitli araştırmacılar, düşük doz lazer ışınları ile yara iyileşmesi (Mester vd., 1985), ağrı kontrolü, fibroblast (Boulton ve Marshall, 1986; Van ve Bar, 1992) ve kondrosit proliferasyonu (Schultz vd., 1985), kollajen sentezi (Abergel vd., 1984; Balboni vd., 1986), sinir rejenerasyonu (Anders vd., 1993), ve kemik hücrelerinin farklılaşması ve çoğalmasının (Chen ve Zhou, 1989; Nagasawa vd., 1991; Arisu ve Türköz, 2006; Ueda ve Shimizu, 2001; Glinkowski ve Pokora, 2001).

Son zamanlarda lazer uygulaması ile kemik ve kırıkta rejenerasyonunun hızlandırılması araştırmacıların dikkatini çekmektedir (Chen ve Zhou, 1989; Nagasawa

vd., 1991; Arisu ve Türköz, 2006; Ueda ve Shimizu, 2001; Glinkowski ve Pokora, 2001).

Arisu ve Türköz (2006) yaptıkları çalışmada 1,064 nm Nd: YAG lazer kullanımı ile insan osteoblast hücrelerinde yaşama kapasitesi ve proliferasyonun stimüle edildiğini bildirmişlerdir.

Ueda ve Shimizu (2001), düşük doz lazer radyasyonun anabolik etkilerinin yanı sıra kemik formasyonu üzerindeki etkilerinden bahsetmişlerdir. Araştırmacılar, sıçanlar üzerinde kesikli ve sürekli radyasyonun hücresel proliferasyondaki ve kemik yapısındaki etkilerini incelemek amacıyla düşük doz Ga-Al-As lazer (830 nm., 500 mW) kullanmışlardır. Kesikli ve sürekli radyasyon uygulaması ile kontrol grubu karşılaştırmalarında kemik formasyonunun önemli ölçüde stimüle edildiğini; alkalen fosfataz seviyesinin önemli ölçüde arttığını, kesikli lazerin devamlı lazere göre stimulan etkisinin daha belirgin olduğunu bildirmişlerdir.

Ortodontik diş hareketi alveoler kemiğin 'remodelling'i ile gerçekleştiğinden düşük doz lazerin diş hareketi hızı üzerine etkileri de yeni bir araştırma konusu olmuştur. Ancak bu konuda yapılmış çalışmalar sayıca yetersiz olmakla birlikte dozaj ve sonuçlar konusunda fikir birliği oluşmamıştır.

Bu çalışmadaki amacımız, diyot lazer kullanımının ratlarda ortodontik diş hareketi hızı üzerine olan etkilerini değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Ortodontik Diş Hareketi

Ortodontide dişsel düzensizliklerin tedavisi, ortodontik diş hareketi olarak adlandırılan ve uygulanan mekanik kuvvetlere karşı periodonsiyumda meydana gelen bir takım biyolojik olayların bir sonucu olarak, dişlerin alveol kemiği içinde bir yerden başka bir yere hareket ettirilmesiyle gerçekleştirilmektedir (Çağlaroğlu, 2006). Bu süreçte diş hareketinin yanı sıra diş destekleyen dokularda minör düzeyde geri dönüşebilir hasarlar da meydana gelmektedir (Wise ve King, 2008).

Dişlerin yer değiştirmelerine neden olan doku değişiklikleri diş üzerine gelen basınç kuvvetinden kaynaklanıp (Ülgen, 1986); dental pulpa, periodontal ligament, alveol kemiği ve dişeti gibi dental ve paradental dokularda remodeling değişimleriyle karakterizedir. Bu dokular değişen büyüklükte, sıklıkta ve sürede mekanik kuvvetlere maruz kaldığında makroskobik ve mikroskobik değişiklikler sergilerler. Uygulanan kuvvetin yarattığı gerilim, periodontal ligamentin damarlanmasını ve buradaki kan akımını değiştirir. Bu durum nörotransmitterler, sitokinler, büyüme faktörleri, koloni stimulan faktörler ve araşidonik asit metabolitleri gibi çeşitli anahtar moleküllerin salınımıyla sonuçlanır. Bu moleküller diş ve etrafındaki çeşitli hücrelerin çeşitli şekillerde tepkimesine sebep olarak çevre dokuda rezorbsiyon veya depozisyon süreçlerini başlatırlar (Davidovitch vd., 1988; Davidovitch, 1991).

İstenilen diş hareketinin elde edilmesinde uygulanan kuvvetin büyüklüğü çok önemlidir. Bu açıdan ortodontik kuvvetleri hafif ve ağır şeklinde ayırmak mümkündür. Hafif kuvvetlerin daha nazik ve fizyolojik olduğu düşünülmektedir. Schwarz (1932), 'optimum' kuvveti dokuya kapiller kan damarı basıncına eşit (20-25 g/cm²) düzeyde basınç uygulayan kuvvet' şeklinde tanımlamıştır. Diğer bir deyişle kökte, periodontal ligamentte ve alveoler kemikte minimal geri dönüşümsüz hasar yaratarak maksimum diş hareketi sağlayan kuvvet *optimum* olarak değerlendirilmektedir. Bu değer her diş ve birey için farklıdır. Klinik açıdan ortodontik kuvvetin büyüklüğü ile diş hareketi hızı arasındaki ilişki optimal kuvvetin belirlenmesinde yol göstericidir (Krishnan ve Davidovitch, 2006).

Schwarz (1932)'a göre optimumdan daha düşük şiddetteki kuvvetler dokuda hiçbir değişiklik yaratmazken şiddetli kuvvetler nekroza sebep olarak alveoler kemiğin frontal rezorbsiyonunu engellemektedir. Ancak Burstone (1962) ortodontik kuvvetlerin

PDL'de eşit olarak dağılmadığını, Storey (1973) ise ortodontik apareylerle uygulanan kuvvet hafif bile olsa mutlaka bir miktar travma oluşturduğunu belirtmiştir. Hangi yöntemle olursa olsun diş ve köküne uygulanan kuvvetin büyüklüğünü kesin olarak belirlemek imkânsızdır.

Von Böhl vd. (2004a, 2004b) ağır kuvvetlerin hafif kuvvetlere oranla daha fazla hyalinizasyon alanları yarattığını bildirmişlerdir. Hyalinizasyon alanlarının kuvvetin büyüklüğüyle ilgisi varken; diş hareketi hızı/oranı ile ilişkisi yoktur. Bu araştırmacılara göre aşağıda anlatılacak olan ikinci safhadan sonra diş hareketi başladığında, kemik 'remodelling'i (yeniden şekillenmesi) belirgin bir hızda, kuvvetten bağımsız olarak devam etmektedir. Owman-Moll vd. (1996) ile Van Leeuwen vd. (1999) bu bulguları desteklemektedir.

Literatürde ortodontik diş hareketi genellikle üç safhaya ayrılarak incelenmiştir (Burstone, 1962; Rygh, 1973; Okumura, 1982; Brudvik ve Rygh, 1994; Nakamura vd., 2001). Bu safhalar:

1. Başlangıç Safhası: Kuvvet uygulandıktan hemen sonra hızlı hareket ile karakterizedir. Bu hareket dişin periodontal ligament boşluğu kadar yer değiştirmesiyle meydana gelir.

2. Gecikme Safhası: Bu safhada çok az miktarda diş hareketi olur veya hiç olmaz. Bu duraksamaya sıkışma alanında periodontal ligamentin hyalinizasyonunun sebep olduğu (Rygh, 1973; Brudvik ve Rygh, 1994) ve alandaki nekrotik dokular ortadan kaldırılmadan diş hareketinin gerçekleşmeyeceği düşünülmektedir (Okumura, 1982; Nakamura vd., 2001).

3. Gecikme Sonrası Safha: Diş hareketi gitgide veya aniden hızlanır.

Diş hareketi sırasında meydana gelen histolojik değişiklikleri incelemek amacıyla yapılan deneysel çalışmalar, 1904 yılında Sandstedt'in köpekler üzerinde yaptığı çalışma ile başlamıştır. Sandstedt, bu çalışmasında dişin hareket yönünde periodontal ligamende bir sıkışma olduğunu ve bunu takiben alveol kemiğinde rezorbsiyon meydana geldiğini; hareket yönünün tersinde ise periodontal ligamentin gerilimi sonucu alveol kemiğinde *apozisyon* oluştuğunu bildirmiştir.

Ortodontik diş hareketinin biyolojik temelleri 19. yüzyılda yaygın oranda araştırılmaya başlanmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda diş hareketinin temel mekanizmalarını açıklayan çeşitli kuramlar geliştirilmiştir.

2.1.1 Basınç-Gerilim Kuramı

Sandstedt (1904), Oppenheim (1911) ve Schwarz (1932) yaptıkları çalışmalarda diş hareketi esnasında hareket yönünde basınç; aksi yönde ise gerilim bölgeleri oluştuğunu bildirmişlerdir. Bu hipoteze göre basınç tarafında PDL’de düzensizlik ortaya çıkmakta; vasküler daralmaya bağlı olarak hücre replikasyonu ve fiber üretimi azalmaktadır. Gerilim tarafındaysa PDL fiber demetlerinin gerilmesiyle oluşan stimülasyona bağlı olarak hücre replikasyonu artmakta; artan proliferatif aktivite fiber üretiminde artışa yol açmaktadır (Baumrind, 1969).

PDL genişliğinde değişim olduğunda hücre popülasyonu da değişmekte ve hücresel aktivitede artış görülmektedir. PDL’deki kollajen liflerde oluşan belirgin kopukluklar hücre ve doku hasarını yansıtmaktadır. Hyalinizasyonun ilk sinyali hücrelerde piknotik nükleidlerin ortaya çıkmasıdır. Bunu takiben hücresiz alanlar görülmektedir. Problemin çözülebilmesi için hasar görmemiş komşu dokulardan makrofajlar, dev hücreler ve osteoklastlar nekrotik alana invaze olurlar. Nekrotik dokuyla beraber, nekrotik PDL bölgesine komşu kemiğin alt tarafı da bu hücrelerce rezorbe edilir. Bu sürece ‘indirekt’ veya ‘undermining’ rezorbsiyon denilmektedir (Yee vd., 1976; Kardos ve Simpson, 1980).

Reitan, minimal kuvvet uygulansa bile hyalinize bölgenin oluştuğunu ve diş devrilme hareketine zorladığını; diş kökünün kısa olduğu durumda hyalinizasyonun daha fazla olduğunu, translasyon hareketi esnasında ise çok az hyalinizasyon görüldüğünü bildirmiştir (Reitan, 1957, 1960).

Baumrind (1969) PDL’in hidrostatik bir sistem olduğunu, kuvvete maruz kaldığında kuvvetin tüm bölgelere eşit olarak dağıtılacağını öne sürmüştür; kuvvete maruz kalan periodontal ligamentte Pascal Yasası’nın geçerli olduğunu belirtmiştir.

2.1.2 Kemik-Eğilme Teorisi

Alveoler kemiğin ortodontik diş hareketinde önemli rol oynadığını belirten ilk araştırmacı Farrar (1888)’dir (Krishnan ve Davidovitch, 2006). Bu hipotez daha sonra Baumrind (1969) ve Grimm (1972)’in çalışmalarıyla da desteklenmiştir. Bu araştırmacılara göre dişe uygulanan kuvvet komşu bölgelere yayılmakta, kemikte, dişte ve PDL’in katı kısımlarında bükülme yaratmaktadır. Kemik dokusunun diğer dokulara oranla daha elastik olduğu, bu nedenle daha kısa sürede eğildiği belirtilmiştir. Kemik eğilmesini takiben kemikte ‘turn-over’ ile hücresel ve inorganik yapılar

yenilenmektedir. Kemik deforme halde durmaya devam ettikçe bu süreçler hızlanmaktadır. Yazarlar, reorganizasyonun sadece lamina durada değil, kemik korpusundaki tüm trabeküllerin yüzeyinde de olduğunu belirtmişlerdir. Dişe gelen kuvvet, stres çizgilerinin oluşmasıyla dağıtılmaktadır. Hücrelerin değişen aktivitesi kemiğin şeklini ve internal organizasyonunu modifiye etmektedir.

Bassett ve Becker (1962), Zengo vd. (1974) ve Pollack vd. (1984), köpek mandibulasında yaptıkları çalışmalarda kanin dişin ortodontik olarak devrilmesinin alveoler kemiği bükerek, kemikte konkav ve konveks yüzeyler yarattığını belirtmişlerdir. PDL'in gerildiği bölgeye komşu kemik konkavlaşmakta; PDL'in sıkıştığı bölgeye komşu kemikse konveksleşmektedir. Ardından konveks yüzeyde rezorbsiyon, konkav yüzeyde ise depozisyon görülmektedir.

2.1.3 Biyoelektrik Sinyaller

Piezoelektrisite, kristal yapıdaki birçok materyalde gözlenen bir durumdur. Kristal yapıda meydana gelen deformasyon, elektronların yer değiştirmesi sonucu elektrik akımı oluşmasına sebep olur. Organik kristallerin de piezoelektrisite gösterdiği bulunmuştur. Piezoelektrisite fenomenini ortodontik diş hareketini açıklamak için kullanan ilk araştırmacı DeAngelis (1970)'tir. Araştırmacı, basıncın ve gerilimin alveoler kemikte birbirine tamamen zıt iki hücrel aktiviteyi (*apozisyon-rezorbsiyon*) başlatabilmesinin ve periodontal ligamente temas etmeyen kemik yüzeylerinin de ortodontik kuvvetten etkilenmesinin basınç-gerilim teorisiyle değil; kemiğin piezoelektrik özelliği ile açıklanabileceğini belirtmiştir (Kale, 2002).

Piezoelektrisite hipotezine göre, kemiğin yapısındaki hidroksiapatit ve kollajen kristal yapıların deformasyonu, elektron migrasyonunu başlatarak lokal elektrik alanı oluşturabilmektedir. Dişe uygulanan mekanik kuvvet komşu alveol kemiğine iletildiğinde kemikte hafif bir bükülme ve kemiğin kollajen yapılarında distorsiyon meydana gelmektedir. Bu distorsiyon yüzeysel elektrik yükünün değiştirilmesi ile sonuçlanmaktadır (Kale, 2002).

Bassett ve Becker (1962) uygulanan mekanik kuvvetlere karşı dokuda elektrik potansiyeli oluştuğunu bildirmişlerdir. Zengo vd. (1974) mekanik olarak yüklenmiş köpek alveoler kemiğindeki elektrik potansiyelini değerlendirdikleri çalışmalarında, kemiğin konkav yüzünün elektronegatif yüklü ve osteoblastik açıdan aktif olduğunu, konveks yüzünün ise elektropozitivite veya elektriksel nötralite ile artmış osteoklastik

aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Epker ve Frost (1965) ve Davidovitch vd. (1980) kemiğe 5-20 mikroamperlik elektrodlar yerleştirildiğinde katot çevresinde osteogenesis olurken anot çevresinde kemik rezorpsiyonu olabileceği bildirmişlerdir. Ayrıca ortodontik kuvvetle beraber uygulanan eksojen elektriksel akımların PDL'de hücrel enzimatik fosforilasyon aktivitesini arttırdığını ve alveoler kemikte *turn-over*'i dolayısıyla diş hareketini hızlandırdığını belirtmişlerdir (Davidovitch vd.,1980).

Borgens (1984) yaptığı deneysel araştırmada piezoelektriksel etkinin kemik kırığı iyileşmesine etkisi olmadığını; elektrik akımının lezyon içerisinde dağılımının tahmin edilemediğini belirtmiştir. Ancak bütünlüğü bozulmuş, zedelenmiş fare kemiğinde endojen iyonik akımların oluştuğunu söylemiş; piezoelektrik akım kavramı yerine bu akımları *streaming potansiyeller* ve *stress-generated potansiyeller* olarak sınıflandırmıştır. *Streaming potansiyeller*, hidrate dokularda elektrik yüklü bir yüzeyin üzerindeki çift elektriksel alanın interstisyel sıvı hareket ettiğinde yer değiştirmesi ile meydana gelen elektrokinetik etkileşimler olarak tanımlanmaktadır (Zengo vd., 1974; Mostafa vd., 1983; Sandy vd., 1993). Piezoelektriksel akımın aksine streaming potansiyelleri uzun sürede sıfırlanırlar. Borgens (1984), buradan yola çıkarak matriksin değil mekanik yüke maruz kalan kemik hücrelerinin elektrik akımının kaynağı olduğunu öne sürmüştür. Pollack (1984) da bu hipotezi desteklemektedir.

Davidovitch vd. (1980a, 1980b) piezoelektriksel potansiyellerin kollajen, hidroksiapatit, kemik hücresi yüzeyi gibi periodonsiyumun bazı kısımlarının distorsiyonu sonucu oluştuğunu, ancak hidrate dokularda hücreler arası sıvı yer değiştirdikçe streaming potansiyellerin hâkim olduğunu bildirmişlerdir.

Günümüzde diş hareketinin biyolojik mekanizmasının işleyişi konusundaki tartışmalar hala devam ettiğinden konuyla ilgili hipotezlerin hiçbirinin son noktayı koyamadığı açıktır. 20. ve 21. yy da yapılan histolojik, histokimyasal ve immunhistokimyasal çalışmalar fizyolojik ve biyolojik birçok fenomenin diş hareketinde rol oynadığını ortaya koymuştur. Hücrelerin, PDL'in hücre dışı matriksinin ve alveol kemiğinin uygulanan mekanik kuvvete verdiği yanıtlar dokunun yeniden şekillenmesiyle sonuçlanmaktadır (Davidovitch, 1991).

2.1.4 İmmün Sistem Yanıtı

Diş hareketinin erken safhalarında PDL sıvıları yer değiştirmekte; bu durum hücre ve matriksinde deformasyona sebep olmaktadır. Bu fizyokimyasal olaylara yanıt olarak sitokinler, büyüme faktörleri, koloni-stimulan faktörler ve vazoaaktif nörotransmitterler salınmakta ve remodeling aktivitesi başlamaktadır.

Ortodontik diş hareketinin erken safhasında periodontal vazodilatasyon ve lökositlerin kapiller dışına göçüyle karakterize akut enflamatuvar yanıt oluşmaktadır. Bu göç hücreleri çeşitli sitokinler ve lokal biyokimyasal sinyal molekülleri üreterek paradental hücrelerin tümüyle etkileşime girerler. Parakrin veya otokrin olarak etki gösteren sitokinler, sistemik ve lokal sinyal molekülleriyle birlikte prostaglandin, büyüme faktörleri ve diğer sitokinlerin salınmalarına neden olurlar. Plazma ve kapillerlerden çıkan lökositlerle bu süreç çoğunlukla eksüdatiftir. Bir veya iki gün sonra olay hafifler ve fibroblastlar, endotel hücreleri, osteoblastlar ve kemik iliği hücreleriyle karakterize kronik bir hal alır. Bu safhada da lökosit göçü devam eder ve yeniden şekillenme sürecini düzenler. Kronik enflamasyon, sonraki seansta yeni kuvvet yüklenene kadar devam eder. Aktivasyondan sonra yeniden akut enflamasyon dönemi başlar. Hasta açısından akut enflamasyon dönemi ağrılı olabilir. Oluşan ağrıya bağlı olarak hasta çiğnemekten kaçınacaktır. Bu dönemde dişeti oluğu sıvısı (GCF) incelendiğinde sitokin ve prostaglandin gibi enflamatuvar mediatörlerde belirgin artış görülmektedir. Ortodontik diş hareketinin daha iyi açıklanabilmesi için bazı metabolitler, sitokinler, sinyal molekülleri ve sistemlerinden bahsedilecektir.

Prostaglandinler: Von Euler (1934) ilk defa insan semeninde rastladığı bu maddenin prostat bezinden salgılandığını düşündüğü için bu ismi vermiştir. Harell vd. (1977) prostaglandinlerin mekanik stresin önemli mediatörleri olduğunu belirtmişlerdir. Yamasaki vd. (1984) paradental dokulara prostaglandin enjeksiyonunun osteoklast sayısını arttırdığını bildirmişlerdir. Chumbley ve Tuncay (1986), çalışmalarında deneklere anti-enflamatuvar etkili endometazin verdiklerinde prostaglandin sentezinin baskılandığını ve diş hareketinin yavaşladığını gözlemlemişlerdir. Bazı çalışmalarda büyüme faktörleri, hormonlar (parathormon), interlökinler veya diğer sitokinlerin de PGE₂ sentezini tetiklediği belirtilmiştir (Kale vd., 2004).

Araşidonik Asit Metabolitleri: Hücre membranı fosfolipidlerinin ana komponenti olan bu madde fosfolipaz enzimlerinin aktivasyonuna bağlı olarak salınır. Bu moleküller iki yoldan metabolize edilebilir. Bunlar siklooksijenaz ve lipooksijenaz yollarıdır.

Siklooksijenaz yolunda siklooksijenaz enzimleriyle prostaglandin ve tromboksan ortaya çıkarken; lipooksijenaz yolunda lökotrienlerin ve hidroksi-araşidonik asit salınımıyla metabolizasyon gerçekleşir (Sandy ve Meikle, 1993).

Uygulanan kuvvetin etkisiyle parodontal dokular gerildikçe buradaki hücreler immün ve sinir sistemi hücrelerinin salgılarına maruz kalırlar. Salgılanan sinyal moleküllerinin hücre membranı reseptörlerine yapışmasıyla sitoplazmik ATP ve GTP enzimatik olarak adenosin 3',5'-monofosfat (siklik AMP, cAMP) ve guanosin 3',5'-monofosfat (siklik GMP, cGMP)'a dönüşür. Bu moleküller hücre içi ikincil mesajcılardır.

Hücre İçi İkincil Mesajcı Sistemler: İkincil mesajcı hipotezi, hücrelere dışarıdan kimyasal veya fiziksel uyarı geldiğinde membrana bağlı moleküllerin hücre içi enzimlerin fosforilasyonunu arttıran türevlerine dönüştüğünü ileri sürmektedir. Bu kavramı 1958 yılında Sutherland ve Rall öne sürmüştür. Birinci mesajcı (hormon veya başka bir uyarıcı ajan) hücre membranında spesifik bir reseptöre bağlanmakta ve hücre içi ikincil mesajcı üretilmesini sağlamaktadır. Bu ikincil mesajcı hücrel enzimlerle etkileştiğinde protein sentezi veya glikojen yıkımı gibi bir yanıt ortaya çıkmaktadır. Günümüzde kabul edilen iki ana ikincil mesajcı sistemi vardır; bunlar siklik nükleotid yolu ve fosfatidil inositol (PI) dual sinyal sistemidir (Sandy ve Farndale, 1991). Bu sistemler internal kalsiyum depolarını harekete geçirmekte ve protein kinaz C aktivasyonu sağlanmaktadır. Spesifik protein kinazların aktivasyonu hücre içi kalsiyum konsantrasyonlarının artışıyla beraber birtakım protein fosforilasyon olaylarını tetikleyerek hücrel cevaba sebep olabilmektedir. Bu cevap motilite, kontraksiyon, proliferasyon, sentez ve sekresyon olaylarını içerebilir.

PI Dual Sinyal Sistemleri: Ortodontik diş hareketiyle ilişkili ikincil mesajcı sistemlerindedir (Berridge, 1987). Hokin ve Hokin'in 1953 yılında hücre membranı fosfolipidlerine fosfat geçişindeki artışı göstermesiyle bu sistem dikkati çekmiştir. Hücre yüzeyindeki reseptörlerin aktivasyonuna yanıt olarak PI 4,5 bifosfonatın hidroliziyle inositol trifosfat formasyonu gerçekleşmektedir. Bu reaksiyon hücre içi depolardan kalsiyum iyonlarının salınmasına yol açar. Sonrasında kalsiyum kanallarından plazma membranına kalsiyum geçişini kontrol eden inositol trifosfatın fosforilasyonu ile *Ins (1,3,4,5) P4* sağlanır. İnositol trifosfat mekanik olarak deforme olan dokularda DNA sentezini arttırarak mitozda aracılık yapar (Sandy ve Meikle, 1993).

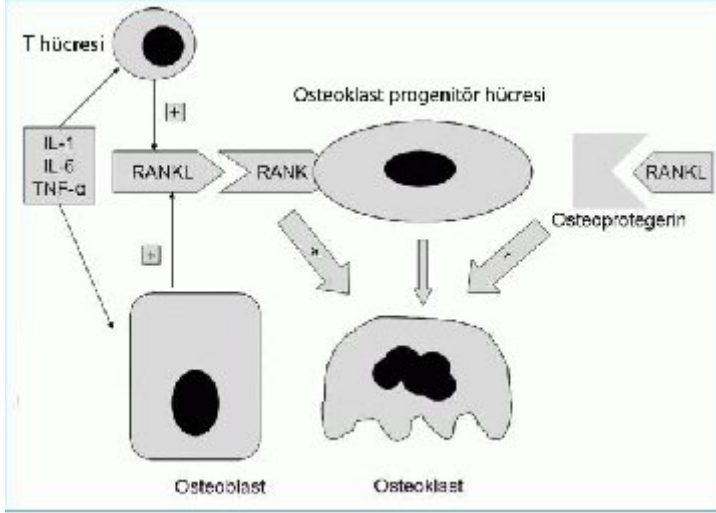
cAMP Yolu: İnternal sinyal sistemleri birçok eksternal stimulusu internal sinyale veya ikincil mesajcılara çevirirler (Sandy ve Meikle, 1993). cAMP ve cGMP kemik remodelingiyle ilişkili ikincil mesajcılardır. Kemik hücreleri mekanik ve hormonal uyarılara yanıt olarak cAMP üretir. cAMP seviyesindeki değişimlerin polyamın, nükleik asit ve protein senteziyle ve bazı hücrel ürünlerin salgılanmasıyla ilişkili olduğu bilinmektedir. Bunun aksine, cGMP endokrin ve endokrin olmayan mekanizmaların hücre içi düzenlenmesinden sorumludur (Davidovitch, 1995). cGMP spesifik substrat proteinlerinde cGMP bağımlı protein kinazlar aracılığıyla iş görür. Bu sinyal molekülü nükleik asit ve protein sentezinde anahtar rol oynar.

Hücre iskeleti – Hücre dışı Matriks (Extracellular matrix) Etkileşimleri: Mekanik kuvvetlere karşı dental ve paradental dokularca verilen yanıt hücre içi ve dışı yapısal elemanların biyokimyasal mesajcılarla etkileşimi sonucu oluşmaktadır. Uygulanan kuvvetler gerilen hücre dışı matriksten (*ECM*) yüzey proteinlerince hücre iskeletine geçirilir. Hücre iskeleti hücrenin şeklini, esnekliğini ve hareketini sağlayan demet ya da ağ şeklindeki filamentler topluluğudur. Bu sürece katılan hücre dışı matriks proteinleri kollajen, proteoglikan, laminin ve fibronektin içermektedir. Transdüksiyon, hücre dışı matriksin hücre adezyon moleküllerine (integrinler) ve diğer yüzey reseptörlerine bağlanmasıyla gerçekleşmektedir. Hücre dışı matriksin bu reseptörlere adezyonu hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi, depolanmış sitokinlerin sekresyonu, ribozomal aktivasyon ve gen transkripsiyonuna sebep olabilir (Sandy, 1998; Kerrigan vd., 2000). Yapılan güncel bir çalışmada osteoklastlarda integrin (özellikle $\alpha V\beta 3$) salınımının kemik rezorpsiyonuyla; odontoklastlarda salınımının ise kök rezorpsiyonuyla ilişkili olduğu bulunmuştur (Talic vd., 2004).

Sitokinler: Sitokinler, iki hücre arasında otokrin ve parakrin biçimde iletişimde görevli hücre dışı sinyal proteinleridir. Kemik metabolizmasını dolayısıyla ortodontik diş hareketini etkileyen sitokinler arasında IL-1 (*interleukin 1*), IL-2 (*interleukin 2*), IL-3 (*interleukin 3*), IL-6 (*interleukin 6*), IL-8 (*interleukin 8*), TNF- α (*tumor necrosis factor- α*), IFN- γ (*γ -interferon*), ve ODF (*osteoclast differentiation factor*) bulunmaktadır. Bunlar arasında osteoklastlar tarafından salınan IL-1 en etkin olanıdır. IL-1, tip 1 reseptörü ile osteoklast fonksiyonunu direkt stimüle eder. IL-1 salınımı nörotransmitterler, bakteriyel ürünler, diğer sitokinler ve mekanik kuvvetler gibi çeşitli uyarılarca tetiklenir (Davidovitch, 1995). İnterlökinler, kemik rezorpsiyonunu başlatmak ve kemik formasyonunu inhibe etmek için lökositleri çeker; fibroblastları,

endotel hücrelerini, osteoklastları ve osteoblastları stimüle ederler (Sabatini vd., 1988). Osteoblastlar, osteoklastlara kemiği rezorbe etmeleri mesajını taşıdıklarından IL-1 için hedef teşkil ederler (Davidovitch, 1995). Tuncer vd. (2005), PDL'in gerilen tarafında IL-8 seviyesinin arttığını ve bu durumun kemiğin yeniden şekillenmesini tetiklediğini belirtmişlerdir. Pro-enflamatuar sitokinlerden bir diğeri, TNF- α akut ve kronik enflamasyon yaratır; kemik rezorpsiyonunu stimüle eder. Bazı çalışmalarda (Davidovitch vd., 1988; Saito vd., 1990; Alhashimi vd., 2000, 2001) TNF- α 'nın M-CSF (macrophage colony-stimulating factor) varlığında osteoklast progenitör hücrelerinin osteoklastlara dönüşümünü direkt olarak stimüle ettiği bildirilmektedir. Davidovitch vd. (1988) ve Saito vd. (1990) kedilerde ortodontik diş hareketi esnasında alveoler kemikte ve PDL hücrelerinde IL-1 ve TNF- α seviyelerinde belirgin artış olduğunu bulmuşlardır. Alhashimi vd. (2000,2001) IFN- γ 'nın ortodontik diş hareketi esnasında IL-1 ve TNF- α gibi sitokinlerin sentezine neden olduğunu; ayrıca effector T hücrelerinin apoptozuyla kemik rezorpsiyonuna sebep olabileceğini belirtmişlerdir.

RANK/RANKL/OPG sistemi: Yakın geçmişte RANK/RANKL/OPG sisteminin kemik remodelinginin başlatılmasındaki rolü tanımlanmıştır (Drugarin vd.,2003). TNF ailesinden RANKL (*receptor activator of nuclear factor-Kappa ligand*) ve iki reseptörü RANK ve OPG (osteoprotegrin) remodeling sürecinde oldukça etkilidir. RANKL, osteoklast formasyon ve aktivasyonunun regülatörüdür. Kemik sisteminde osteoblastlarda, odontoblastlarda ve PDL hücrelerinde oluşur ve osteoklast kök hücrelerindeki RANK reseptörüyle birleşerek etkisini gösterir (Ogasawara vd.,2004). Bu birleşme hematopoetik osteoklast öncüllerinin hızla farklılaşmasına yol açar. RANK'ın ise çok çekirdekli osteoklastlarda ve tek çekirdekli mezenşim hücrelerinde bulunduğu bildirilmiştir (Ogasawara vd.,2004). Bazı araştırmacılar osteoklastların da RANKL salgıladığını saptamıştır (Kartsogiammis vd.,1999; Romas vd., 2000). Bu yüzden osteoklastların otokrin RANK/RANKL mekanizmasına sahip olduğu düşünülebilir (Ogasawara vd.,2004). OPG osteoblastlar, odontoblastlar ve PDL hücreleri tarafından üretilen tuzak reseptördür; RANKL ile birleşmek için RANK ile yarışır. OPG'in, osteoklast farklılaşmasının son aşamalarının inhibe edilmesi; matriks osteoklastlarının aktivasyonunun baskılanması ve apoptozun başlatılması gibi biyolojik etkileri vardır. Dolayısıyla kemik remodelingi RANK-RANKL birleşmesi ve OPG üretimi arasındaki dengeye bağlıdır.



Şekil 2.1 RANK/RANKL/OPG mekanizması

2.1.5 Henneman vd.'nin Teorisi

Henneman vd. (2008) ise dişe kuvvet uygulandıktan sonra ortaya çıkacak hareketin oluşum mekanizmasını açıklayan başka bir kuram geliştirmişler ve bu biyolojik süreci dört aşamaya ayırmışlardır:

- *Matriks deformasyonu ve sıvı akışı:* Kuvvet uygulandıktan hemen sonra PDL matriksinde ve alveol kemiğinde ortaya çıkan deformasyona bağlı sıvı akışı
- *Hücre deformasyonu:* Matriks deformasyonu ve sıvı akışı yüzünden hücreler deforme olur.
- *Hücre aktivasyonu ve diferansiyasyonu:* Deformasyona yanıt olarak PDL'deki fibroblastlar ve osteoblastlar ile kemikteki osteositler aktive olur.
- *Remodeling:* PDL'de remodeling ve alveoler kemikte lokal apozisyon ve rezorbsiyon olayları sonucu diş hareketi başlar.

1. Matriks Deformasyonu ve Sıvı Akışı:

Kuvvet uygulandıktan hemen sonra diş, soket içerisinde bir miktar hareket eder. Hareket miktarı PDL'in genişliğine ve biyomekanik özelliklerine bağlıdır. Bu hareket, gelecekte apozisyon olacak taraftaki PDL'de gerilime bağlı deformasyon yaratır (Reitan, 1951) ve dişi kemiğe bağlayan kollajen lifler gerilir (Rygh vd., 1986, Melsen, 1999). PDL'in karşı, yani ilerde rezorbsiyon gelişecek tarafında ise basınca bağlı deformasyon oluşur (Reitan, 1951) ve fibriller gevşer (Melsen, 1999; Binderman vd., 2002). Deformasyon PDL'in yapısal özelliklerine ve uygulanan kuvvete bağlıdır.

Bazı araştırmacılar (Weinbaum vd., 1994; Cowin vd., 1995; Mak vd., 1997) tarafından ortaya atılan teoriye göre kemiğin deformasyona tepkisi sıvı akışının kemik hücreleri üzerindeki etkisiyle ilgilidir. Bu ‘sıvı kayma gerilimi’ teorisi kemikte laknelerde bulunan osteositleri temel almaktadır. Bu hücreler kemik içerisinde kanaliklilerle birbiriyle bağlantılıdır. Kemikteki deformasyona bağlı olarak kanaliklilerde sıvı akışı meydana gelerek osteositler üzerinde ‘kayma gerilimi’ oluşur ve bu hücreler aktive olur. Burger vd. (2003) ve Tan vd. (2006) kanaliküler sıvı akışının azaldığı alanlarda osteositlerde apopitoz görüldüğünü ve buna bağlı olarak osteoklastların bu alana geldiğini belirtmişlerdir. Bu durum ortodontik diş hareketinde dişin hareket yönünde yani rezorbsiyon tarafında kemiğin serbestleşmesiyle sıvı akışının azalması yüzünden ortaya çıkabilir. Aguirre vd. (2006), farelerde kemiğin serbestleştirilmesiyle oluşan osteosit apozisyonunu ve takiben gelişen kemik rezorbsiyonunu deneysel olarak ortaya koymuşlardır. Bu teoriyi destekleyen başka hayvan çalışmaları da mevcuttur (Pitsillides vd., 1995; Turner vd., 1995; Knothe Tate vd., 2000). Ayrıca osteositlerin kanaliküler sıvı akışına karşı mekanik duyarlılıkları *in vitro* alışmalarla da desteklenmektedir (Klein-Nulend vd., 1995c; Ajubi vd., 1996; Owan vd., 1997; Westbroek vd., 2000; Tan vd., 2006). Sıvı akış teorisine alternatif iki açıklama getirilmiştir. Birincisine göre, kemiğe dışarıdan kuvvet uygulanması buradaki hücreler için direkt mekanik stimlus oluşturur (Kimmel, 1993; Mullender ve Huiskes, 1995). Bu direkt yüklenme etkisi *in vitro* alışmalarla desteklenmektedir. Ancak bu çalışmalarda uygulanan basınç, gerçekte kemikte oluştuğu sanılan değerden çok yüksektir (Harter vd., 1995; Brand vd., 2001). Yapılan bazı *in vitro* alışmalarda (Owan vd., 1997; You vd., 2000) insan osteositlerine *in vivo* alışmalarda ölçülen düzeyde basınç uygulandığında hücrelerde hiçbir reaksiyon oluşmadığı saptanmıştır. Diğer teori ise kemikte oluşan mikro çatlaklara dayandırılan mikro-hasar teorisidir. Mikroçatlaklar kemikteki başlangıç hasarı yansıtılmaktadır. Domuzlarda ortodontik diş hareketinin başlangıç safhasında rezorbsiyon bölgesinde çok sayıda mikro-çatlaklar geliştiği gözlenmiştir (Verna vd., 2004). Bu teoriye göre kemikte oluşan mikro-hasar, hücresel yanıtı doğurmaktadır (Mori ve Burr, 1993; Taylor ve Lee, 2003). Bu da, çatlakların etrafında osteositlerin apopitozuna ve osteoklastların alanı istilasına yol açabilir (Noble vd., 1997; Noble 2005). Bu durumda sadece sıvı akışının azalması değil, mikro-çatlak oluşumu da osteositlerin apopitozuna yol açabilmektedir. Sonuç olarak, dişe kuvvet uygulanması PDL matriksinde deformasyon ve dokuda sıvı akışı yaratır. Sıvı akışı

teorisine göre kemikteki deformasyon eş zamanlı olarak kanaliküler sıvı akışını tetikler ve osteositler üzerinde kayma gerilimi oluşur. Ayrıca kuvvet uygulanmasıyla kemikte oluşan mikro çatlaklar da bu duruma eşlik eder.

2. Hücre Deformasyonu:

Yaratılan baskının, hücre-matriks bağlantılarıyla PDL hücrelerine iletilmesiyle hücrelerde direkt deformasyon (Beertsen vd., 1997), sıvı akışı ile de indirekt deformasyon ortaya çıkar (Davidovitch, 1991). Hücre-matriks bağlantıları hücre dışı integrin alanlarının ECM proteinleriyle bağlanmasıyla oluşur. İntegrinler hücre içi ve dışında bulunan transmembran proteinleridir. Hücre içinde integrinlerin sitoplazmik formları, multiprotein kompleksi aracılığıyla hücre iskeleti ile bağlanır (Goldmann, 2002). Bu fokal adezyon kompleksi, matriksteki basıncı hücre iskeletine aktarmanın yanı sıra çeşitli hücre içi sinyal yollarını uyaran protein kinazları da aktive eder (Hynes, 1992; Wang ve Thampatty, 2006). Hücre iskeletinin muhtemel katılımına rağmen sıvı akışıyla indirekt deformasyonun ardından sinyal transdüksiyonun nasıl gerçekleştiği halen tam olarak açıklanamamıştır. Alternatif olarak, hücre yüzeyinde spesifik akış reseptörleri olduğu öne sürülmüştür (Cherian vd., 2005; Wall ve Banes, 2005). Sonuç olarak mekanizma ne olursa olsun PDL hücrelerinin mekanik stimülusa karşı çok hassas olmaları gerekmektedir. Bu varsayım, PDL fibroblastlarının direkt deformasyona sitokinleri ve kollajeni çözen matriks-metaloproteinazlarını (MMPs) üreterek yanıt verdiğini gösteren in vitro çalışmalarla desteklenmektedir (Von den Hoff, 2003; Yamaguchi vd., 2004; Snoek-van Beurden ve Von den Hoff, 2005). Ortodontik kuvvetin yarattığı mekanik stimulus PDL'de interlökinler gibi mediatörlerin seviyelerini arttırmaktadır (Davidovitch vd., 1988; Alhashimi vd., 2001). Fibroblastların yanı sıra PDL'deki osteoblastlar da mekanik stimuluslara karşı çok hassaslardır. Bakker vd. (2003), Mullender vd. (2004) ve Tang vd. (2006) insan osteoblastlarının direkt ve indirekt deformasyona karşı prostaglandin gibi sinyal molekülleri saldıgını, yani bu hücrelerin de mekano-sensitif olduğunu ortaya koymuştur. Duncan ve Turner (1995)'a göre mekanik sinyal, spesifik reseptörler veya hücre iskeletinin deformasyonu ile osteositlere aktarılıyor olabilir. İn vitro şartlarda, osteositler sıvı akışına prostaglandin ve nitrik oksit (NO) gibi bazı mediatörleri üreterek tepki vermişlerdir (Klein-Nulend vd., 1995b; Westbroek vd., 2000). Sonuçta kuvvet uygulandıktan sonra oluşan matriks deformasyonu ve PDL ile kemikteki sıvı akışı, hücrelerin deformasyonuna sebep

olmaktadır. İntegrin sinyalleşmesi ve diğer transdüksiyon mekanizmalarıyla çeşitli tipte hücrelerin aktivasyonunu sağlayacak mediatörler üretilmektedir.

3. Hücre Aktivasyonu ve Diferansiyasyonu:

Mekanik stimülasyonla, PDL ve kemik hücrelerinin mediatörleri sentezlemesiyle bu bölgelerdeki hücreler aktive olmaktadır. PDL'deki öncül hücreler, aktive olan osteositlerce üretilen faktörlerle osteoblastlara dönüşmeleri için stimüle edilirler (Dereka vd., 2006). Kemik morfojenik proteinleri (2, 6, 9) ve platelet türevi büyüme faktörü bu stimülasyonda etkili faktörlerdendir (Cheng vd., 2003; Singhatanadgit vd., 2006). İn vitro ortamda osteositler de baskıya sitokin, nitrik oksit (NO), prostaglandin ve TNF- α üretimiyle yanıt verirler (Klein-Nulend vd., 1995a, 1995b; Ajubi vd., 1996; Westbroek vd., 2000; Kurata vd., 2006). Bu çalışmalar osteositlerin ürettiği bazı sitokinlerin rezorbsiyon tarafındaki PDL'de osteoklast öncül hücrelerini aktive ettiği teorisini desteklerken; Yoo vd. (2004) ratlarda NO'in apozisyon tarafında osteoklastların aktivasyonunu inhibe ettiğini bulmuşlardır. Osteoklast öncül hücrelerinin aktivasyonu ve osteoklastlara dönüşmesi, PDL hücrelerinin ürettiği faktörlerce sağlanmaktadır. Nomura ve Takano-Yamamoto (2000), Zhao vd. (2002), Kurata vd. (2006)'nin çalışmalarında rezorbsiyon alanında koloni-stimulan faktör, RANKL, osteoprotegerin ve kemik morfojenik proteinleri gibi çözünebilir faktörlerin osteoklast farklılaşmasını düzenlediği *in vitro* olarak; Shiotani vd. (2001)'nin çalışmasında ise ratlarda *in vivo* olarak ortaya konmuştur. Bu faktörler alveol kemiğinde bulunan osteoblastlar ve PDL'de bulunan fibroblastlar tarafından üretilmektedir (Oshiro vd., 2002). Kemiğin rezorbsiyonundan önce osteoblastların kemik morfojenik proteinleriyle (BMPs) osteoid dokunun mineralize olmayan tabakasını çözmeleri gerekmektedir. Ardından farklılaşan osteoklastlar kemik yüzeyine tutunabilir (Birkedal-Hansen vd., 1993). Bu tutunma spesifik integrinler ($\alpha\beta3$) ile sağlanır (Gay ve Weber, 2000); osteoblast ve osteoklastların ürettiği osteopontin (OPN) ile stimüle edilir. Terai vd. (1999), ortodontik diş hareketi esnasında rezorbsiyon tarafında yüksek seviyede OPN bulunduğunu bildirmişlerdir.

Kemiğin apozisyon tarafındaki formasyon, hücre dışı matriks sentezi ve mineralizasyon ile gerçekleşir. Yapılan *in vitro* çalışmaların bazılarında PDL hücreleri kuvvete maruz kaldığında alkalın fosfataz, osteokalsin ve diğer matriks proteinlerinin üretiminin arttığı bulunmuştur (Matsuda vd., 1998; Ozaki vd., 2005; Yang vd., 2006). Bu faktörler PDL'deki öncül hücreleri farklılaşmaları için stimüle edip; kemik

depozisyonuna yol açabilirler. İn vitro ortamda mekanik stimülasyondan sonra osteoblastlar kemik formasyonu mediatörlerinden olan NO üretirler (Owan vd., 1997, You vd., 2000, Burger vd., 2003, Mullender vd., 2004). PDL fibroblastları ve osteoblastları mekanik strese prostaglandin gibi enflamatuar sitokinlerin ve hücre dışı matriksin degradasyonunu sağlayan MMP (matrix metalloproteinase) ve katepsin gibi enzimlerin salınımıyla cevap verirler (Owan vd., 1997; Howard vd., 1998; You vd., 2000; Yamaguchi vd., 2004). Ortodontik kuvvetin ardından periodontal dokuda hücre dışı matriksin degradasyonu, hücreler hem yüklendiğinde hem de serbestleştiğinde ortaya çıkmaktadır. MMP seviyesinin hem rezorbsiyon hem de apozisyon tarafında artması da bu bulguyu desteklemektedir (Apajalahti vd., 2003; Takahashi vd., 2003,2006; Ingman vd., 2005). Periodontal dokularda remodelling esnasında hücre dışı matriks degradasyonunun yanı sıra yeni hücre dışı matriks de sentezlenmektedir. Aktive edilen PDL ve kemik hücrelerince üretilen çeşitli mediatörler hücre dışı matriks sentezini stimüle eder ve degradasyonunu azaltır. TGF- β üst ailesi bu mediatörlere örnek olarak gösterilebilir (Nahm vd., 2004). Sonuç olarak ortodontik diş hareketi esnasında PDL ve kemik remodelingi fibroblastlar, osteoblastlar, osteositler, osteoklastlar ve bu hücrelerin sentez ürünlerinin oluşturduğu kompleks bir sistem ile düzenlenmektedir.

4. Remodeling:

Fizyolojik şartlar altında doku homeostazını sağlamak için periodontal yapıların sentezi ve degradasyonu düşük seviyede devam eder. Dışarıdan kuvvet uygulanmasıyla bu denge bozulur ve PDL ile kemiğin artan remodelingi diş hareketine yol açar. Rezorbsiyon tarafında hareket edecek dişe yer yaratmak için PDL ve kemik eritilir. Ataşmanı korumak için simültane olarak yeni PDL şekillenir. PDL matriksinin artan remodelingi, bölgedeki fibroblastların aktivasyonundan sonra ortaya çıkar. Bu esnada osteoklast öncül hücreleri kemiğe göç eder ve osteoklastlara dönüşürler. Ardından aktive olan osteoklastlar spesifik integrinlerle kemik yüzeyine tutunurlar (Gay ve Weber, 2000). Kemiğe yapışan osteoklastlar morfolojik değişime uğrayarak spesifik fonksiyonel karakteristikler geliştirirler. Hyalinize alan, kemik yüzeyini hapsederek kemiğin çevreyle olan ilişkisini keser. Osteoklast hücresi kapsamlı bir lizozomal sistem içerir ve rezorbsiyon hücrenin tırtıklı kenarlarınca gerçekleştirilir (Hill, 1998). Osteoklastlar, tırtıklı kenarlarında inorganik matriksi çözen hidrojen iyonları salarlar. Katepsin ve MMP'lerce organik matriks rezorbe edildikten sonra PDL ile kemik

arasındaki temel fibrillerle sağlanan bağlantı kaybolur (Teitelbaum vd., 1997; Phan vd., 2004). Temelde tip I kollajen içeren fibriller çözünürler ve temelde tip III kollajen içeren gevşek bağ dokusuyla yer değiştirirler (Pilon, 1996). Apozisyon tarafında temel fibriller gerilir ve PDL remodelingi olur. Aktive olan osteoblastlar, öncelikle hücre dışı matriks üretilir, ardından bu dokuyu tek yönde mineralize ederek yeni kemik oluştururlar. Sonraki safhada, yeni kemik tabakası kalınlaştığında bazı osteoblastlar kemikte hapsolür ve osteositlere dönüşürler. PDL'in temel fibrilleri de yeni oluşan kemikte hapsolarak Sharpey liflerini oluştururlar. Bu arada PDL kalınlığını ve dış-kemik bağlantısını korumak amacıyla yeni PDL matriksi oluşturulur.

2.2 Lazer

Lazer, 'Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation' kelimelerinin baş harflerinden oluşan bir kısaltmadır (Sandallı, 1989; Midda ve Renton Harper, 1991; Myers, 1991; Türkmen, 1996; Prause, 2000). İfadenin Türkçe sözlük karşılığı 'Uyarılmış ışımaya yoluyla ışık genliğinin yükseltimi' dir. Bu ifade Einstein'ın 1917 yılında ortaya attığı bir postulatın adı olup; lazer ışığının elde edilme teorisini tanımlamaktadır (Atalı, E. 2007).

Tıp alanında lazer kullanımı yaklaşık 30 yıl öncesine dayanmakla beraber, bu alanda ışık tedavisi uygulamalarına çok eski yıllarda başlanmıştır. İlk olarak yaklaşık 4000 yıl önce Mısır'da cilt hastalıklarının tedavisinde solar ışınların kullanıldığı bilinmektedir. Sonrasında 19. yüzyılda dermatopatiler, Ricketts hastalığı ve tüberküloz tedavisi amacıyla ışık tedavisi kullanılmaya başlanmıştır. Danimarkalı bir fizikçi olan Dr. Niels Ryberg Finsen, tüberküloz lezyonlarının kış mevsimi boyunca daha sık ortaya çıktığını fark ederek o zamanlar özellikle İskandinavya'da sık olarak görülen çiçek hastalığı, tüberkülozun kütanöz formları, lupus vulgaris gibi hastalıklarda ışığın etkilerini araştırmaya yönelmiştir (Finsen, 1901). Araştırmacı, güneş ışığından ve elektrik arkı lambasından ultraviyole spektrumdaki ışığı kullanmış ve böylece fototerapinin temellerini atmıştır. 1903'te çalışmasından dolayı Fizyoloji ve Tıp dalında Nobel ödülü almıştır (Finsen, 1901, Sun ve Tunér, 2004). Ardından 'Finsen Terapisi' olarak bilinen ve dünyadaki birçok şehir hastanesinde, özellikle Kopenhag'da (Danimarka), kendisinden sonra 'The Medical Light Institute' (Medikal Işık Enstitüsü) adını alan ışık tedavisi bölümleri kurulmuştur (Vergnon vd., 2006).

İlk lazer cihazı 1960 yılında Amerika'da Theodore Harold Maiman tarafından sentetik bir yakut çubuk kullanılarak 'ruby lazer' adıyla icat edilmiştir (Midda ve Renton Harper, 1991; Önal, 1993; Atalı, 2007).

İlk lazer cihazının yapımından 9 yıl sonra lazer ışını ilk defa non-invaziv olarak terapi amaçlı kullanılmıştır. Lazer terapisi ile ilgili literatür tarandığında karşımıza çıkan ilk isim Dr. Endre Mester'dir. Dr. Mester, 1969 yılında düşük doz lazer ışınlarını metabolizmanın biyostimulasyonu amacıyla kullanmaya başlamıştır. O zamandan itibaren düşük veya orta dozda lazerlerle uygulanan ışın tedavisine 'Düşük Doz Lazer Terapisi' (Low Level Lazer Therapy) denilmektedir (Glinkowski ve Pokora, 2001).

Lazeri diş hekimliği pratiğinde ilk defa kullanan ise 'lazerin babası' ünvanlı, Amerikalı Tery Myers'dır. Lazer ışınları, diş hekimliğinde öncelikle yumuşak doku uygulamalarında kendine yer edinmiş; 1970'li yılların medikal olarak popüler cerrahi lazer cihazı olan karbondioksit lazerler ağız içi cerrahisinde de kullanılmaya başlanmıştır. Bu yıllarda sert dokular üzerinde yapılan çalışmalarda başarılı sonuçlar alınmadığından, diş tedavisinde sadece yumuşak doku uygulamaları ve diş beyazlatma ile ilgili çalışmalar yapılabilmektedir. 1983 yılında ruby lazer ile mine ve dentin üzerinde çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Diş hekimlerinin esas olarak lazer cihazlarıyla ilk tanışması, 1989 yılında Amerika' da yayınlanan 'Dentistry Today' dergisi aracılığıyla olmuştur. Sert dokularda etkin kesim yapabilme ve termal hasar oluşturmadan doku aşındırma konularındaki zorluklar, 1990'lı yılların başlarında geliştirilen 'Erbium' esaslı lazerler ile bir ölçüde aşılabilmiş ve ilk jenerasyon sert doku lazerleri piyasaya çıkmıştır. Sert doku uygulamalarının yaygınlaşması ise 1997 yılında geliştirilen, optimum su ve hidroksiapatit absorbans karakteristiklerine sahip olan Er, Cr: YSGG lazerlerin piyasaya çıkması ile olmuştur. Bugün diş hekimliğinde kullanılan lazer cihazları yumuşak doku lazerleri (Nd: YAG ve Diyot lazer) ve sert doku lazerleri (Er:YAG ve Er:SYGG) olarak iki grupta değerlendirilmektedir. Lazer cihazlarına eklenen yeni özellikler sayesinde yeni uygulama alanlarının diş hekimliğini daha ileriye taşıyacağı kuşkusuzdur (Gökner, 2007).

Son zamanlarda yapılan bilimsel kongrelerde yansıtılan verilere göre sağlık alanında lazer kullanımıyla ilgili 750.000' den fazla makale yayınlanmıştır. Yayınlanan makalelerin % 15 'i biyostimulasyon terapisiyle ilgilidir (Glinkowski ve Pokora, 2001).

Lazer ışınlarının biyostimülasyon etkisi düşük veya orta güçteki lazer cihazlarıyla elde edilebilmektedir. Bu tip lazerlerin çalışma mekanizma ve teknikleri

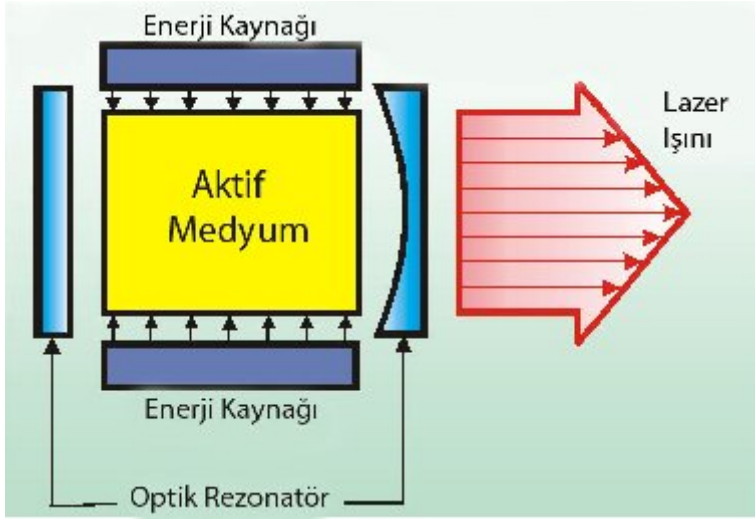
farklıdır; anlaşılması zordur. Bu konuda yayınlanmış birçok makale olmasına rağmen ancak düşük ve orta güç lazerlerin kullanım metotları ve doz aralığı konusunda bir standardizasyon sağlanamamıştır.

2.2.1 Lazer Işığı Eldesi

Lazer ışığı üretmek için aktif medyum (lasing medium) denilen güçlendirici ortama, enerji kaynağına (pompalama mekanizması) ve optik rezonatöre ihtiyaç vardır. Bütün lazerler, güçlendirici ortam denilen, içinden geçen ışığın gücünü ve şiddetini arttıran enerji yüklü bir ortam veya madde kullanırlar. Bu madde katı, likit veya gaz olabilir. Bu amaçla kullanılan katı maddeler, silindirik veya kübik çubuk şeklinde özel sentetik kristallerdir (örn: ruby, aleksandrit, garnet). Likit maddeler (örn: etilen glikol, etanol) ise kübik cam veya kuars tablalar içinde yer almaktadır. Gaz halindeki maddeler (örn: karbondioksit, helyum-neon) için silindirik formlu cam, seramik veya metal tüpler kullanılmaktadır. Her ne formda olursa olsun, bu ortamın içinde yüksek oranda enerjiyi depolayabilen ve daha sonra ışık olarak salabilen atom, molekül veya iyonların olması gerekmektedir. Ortam tarafından ışığın şiddetinin güçlendirilme katsayısı 'kazancı' olarak tanımlanır. Kazancın büyüklüğü ortama gönderilen ışığın dalga boyu, şiddeti, kullanılan ortamın uzunluğu ve kullanılan ortama uygulanan enerji miktarına göre değişir. Güçlendirici ortam olarak kullanılan materyalin cinsi doğrudan oluşacak radyasyonun dalga boyunu etkilemektedir (Glinkowski ve Pokora, 2001).

Güçlendirici ortama gelen ışığın şiddetini arttırmak için bu ortama ilave enerji yüklenmesi gerekmektedir. Güçlendirici ortamın enerjilendirilmesi lazer terminolojisinde 'pompalama' (pumping) olarak tanımlanmaktadır. Pompalama, optik, elektriksel veya kimyasal yollarla yapılabilir. Örneğin katı güçlendirici ortamın iki yanına flaş tüpleri eklenip bütün düzenek parlak metal yüzeyleri olan bir ortamın içine konularak pompalama sağlanabilir ki buna optik pompalama denmektedir. Daha çok gaz ve semikonduktör tip lazerlerde kullanılan elektriksel yöntemde elektronlar çarpıştırılarak elektrik akım pasajı oluşturulur ve pompalama sağlanır. Kimyasal olarak pompalama ise çeşitli kimyasalların oluşması veya bozulması ile sağlanmaktadır. Güçlendirici ortam enerji aldıkça atomlar sadece belli bir frekansta ışık çıkarmaya başlarlar. Bir atomdan çıkan ışın komşu atoma çarptığında onu da ışımaya zorlar. Böylece oluşan zincir etkisi artarak çok sayıda atomun aynı anda ve aynı frekansta ışımaya neden olur. Çıkan ışınların lazer tüpü içerisinde ileri geri yansıtılarak

biriktirilmesi gerekmektedir. Bu amaçla optik rezonatörlerden faydalanılmaktadır. Fotonlar, rezonans odasının bir duvarını oluşturan % 100 yansıtıcı aynadan yansıtılarak rezonans odasındaki diğer atomları etkilerler ve yeni bir emisyon meydana getirirler. Işık genliği yeteri kadar büyüdüğünde yarı yansıtıcı aynadan geçerek aygıt dışına çıkar. Bu olay bir lazer pulsu oluşumudur.



Şekil 2.2 Lazer Kaynağı

Lazer ışığı elde edilmiş biçiminden kaynaklanan bazı özellikleriyle normal ışıklardan ayrılır. Lazer ışığının özgün birçok özelliği olmakla beraber en önemlileri şunlardır:

- tek renkli olması (monokromatik)
- doğrusal olması (collimated)
- ışığı oluşturan fotonların aynı fazda olması (koherens)

Tüm bu özelliklerin getirdiği sonuç ise güçlü ve kontrol edilebilen bir ışıktır. Lazer ışığının bu özelliklerinin her biri farklı uygulamalarda kolaylık sağlamaktadır. Örneğin ışınların saçılmadan doğrusal hareket etmesi özelliğinden mesafe ölçümlerinde, optik ayarların yapılmasında, nişan almak amacıyla veya survey cihazlarında faydalanılmaktadır. Işığın aynı fazda fotonlardan oluşması sayesinde hologram eldesinde veya biyostimulasyon amacıyla lazerler kullanılabilir. Tıpta ve diş hekimliğinde kullanılmasını sağlayan esas özelliği ise ışınlarının tek renkli olmasıdır. Bu sayede lazer ile hedeflenen dokuların irradyasyonunda çevre doku tahribatı

minimum düzeyde olabilmektedir. Buna lazerin doku selektif özelliği denmektedir (Atalı, 2007).

2.2.2 Lazer Sınıflandırması

Lazer aktif maddelerine göre;

- Katı maddeler
- Gazlar
- Yarı iletken çubuklar (Semiconductor)
- Likit maddeler

Işınların hareketlerine göre;

- Devamlı ışın verenler (cw: continuous wave)
- Nabız şeklinde ışın verenler (p: pulsed)
- Dalgalı akım olarak ışın verenler (Q-switching)

Dalga boylarına göre;

- X-ray
- Ultraviyole
- Görünür ışık
- İnfrared
- Mikrodalga

Işın enerjilerine göre;

- Soft lazer
- Mid lazer
- Hard lazer

2.2.3 Lazer Çeşitleri

Argon (KTP) Lazerleri:

Argon lazerleri 1970'lerden beri oftalmatoloji alanında 'fotokoagulasyon' uygulamaları için kullanılmaktadır. 1990'ların başında hava soğutmalı tiplerin piyasaya çıkmasıyla ağız içi kullanımında da yer edinmiş ve diş hekimliğinde ilk kullanılan lazerlerden biri olmuştur. Özellikle dişeti cerrahisinde kanama kontrolünde, diş dolgularında kompozit malzemelerin polimerizasyonunda ve diş beyazlatmasında kullanılmıştır. Günümüzde

diyot lazerler ve led cihazları, teknolojilerindeki gelişmelerle bu lazerlerin yerini almışlardır. Argon lazerleri için aktif madde argon gazı dolu bir tüp olup, cihaz 488-532 nm'lik mavi-yeşil dalga boyuna sahiptir. Bu dalga boyu hemoglobinin tarafından soğurulmaktadır. Bu sayede argon lazer buharlaştırmada veya çeşitli yumuşak dokuların koagülasyonunda kullanılabilir. Işıklar su tarafından absorbe edilmediği için ıslak veya sulu bir ortamda hemoglobinin bakımından zayıf bir dokuyu bile buharlaştırmak mümkün olabilmektedir. Bu lazerler sürekli veya darbeli dalga modunda çalışabilirler; dokuyu etkili bir biçimde ısıtmak için kömürleşme etkisini kullanırlar. Bu lazerlerin en sık karşılaşılan problemi belli bir süre kullanımdan sonra lambaların ve lazer aktif ortamının değiştirilmesi gerekliliğidir (Gökner, 2007).

Erbium (Er:YAG) Lazerleri:

Günümüz dişhekimliğinde en yaygın kullanılan lazerler olan Erbium lazerleri, Erbium (Er^{+3}) iyonları ile katılandırılmış, YAG (Yttrium-Alüminyum-Granat) ana kristalinden oluşmaktadır. Erbium iyonları, YAG içinde olduğunda 2936 nm dalga boyunda lazer emisyonu gerçekleştirmektedir. Lazerin dalga boyu hem dokunun su bileşenleri, hem de inorganik matriks ve hidroksiapatit bileşenleri tarafından çok güçlü bir şekilde emilmektedir. Bu tip lazerler ilk defa 1980'lerin sonlarına doğru bilimsel araştırmalar ve uygulamalar için üretilmeye başlanmıştır. Dr. Myers Wolbarsht gibi bazı biyomedikal araştırmacılar, bu lazerlerin dalga boyunun suda emiliminin çok fazla olduğu fikrinden yola çıkarak bu lazerin özel bir cerrahi kapasitesi olduğunu fark etmişlerdir (Gökner, 2007). Geliştirilen fiber taşıma sistemleri ve uçları ile ışınların tüm dokulara ulaştırılabilmesi mümkündür. Bu lazerler ile ortalama 20-30 W güç elde edilebilmesine karşın FDA, Er:YAG lazerlerle diş hekimliğinde 5-10 W güçte çalışmasını önermektedir. Darbeli Er:YAG lazerleri dokuyu mükemmel bir hassasiyette kesebilmektedir. Bu lazerler ile yapılan kesikler neredeyse tüm cerrahi yöntemlerden daha çabuk iyileşme göstermektedir. Bunun temel sebebi ise yumuşak dokuda hemostaz sağlanması ve yumuşak dokuya termal olarak çok az hasar vermesidir. Kullanım esnasında ısı artışı çok az olduğundan koagülasyona sebep olmaz. Tedavi esnasında ortamda ısı ve mekanik etkinin olmaması tedavilerin anestezisiz yapılmasına olanak sağlar. Yüzeysel penetrasyon derinliği ve yüksek pik gücü, erbium lazerlerin diş, kemik, tartar gibi sert yüzeylerde ablasyon yapmasını sağlar (Gökner, 2007). Bu lazer Black V tipi çürüklerde, süt dişi çürüklerinde ve küçük fissür çürüklerinde de kullanılabilir (Prause, 2000).

Excimer Lazer:

Bu lazerin ışınları ultraviyole spektruma dâhildir. Lazer aktif maddesi asal gaz (Xenon) ve halojen (flor) içerir. Bu iki maddenin molekülleri arasında kimyasal bir bağ oluşur ve halojenüriler meydana gelir. Bunların ömürleri çok kısa olup birbirinden ayrılırken eksojen bir reaksiyon meydana getirirler. Bu şekilde elde edilen ışınlar bir kısım maddeyi yakmadan ana kitleden ayırabilir (Önal, 1993).

Bahsedilen diğer lazer sistemlerinin aksine bu lazer tipi kesin bir dalga boyuna sahip olmayıp ultraviyole kısımda etkilidir. Excimer lazerin emisyonu 157 ile 357 nm arasında olup kullanılan aktif medyum cinsine (Argonflorid Kriptonflorid veya Xenonflorid) göre değişmektedir. Bu lazerin absorpsiyon oranı düşük olduğundan etkisi mine ve dentin tabakasında yüzeysel kalmaktadır (Prause, 2000).

Oftalmatoloji ve anjioplastide rutin olarak kullanılan bu lazer dişhekimliğinde endodonti ve restoratif dişhekimliğinde de kullanılmakta ve oldukça iyi sonuçlar vermektedir (Önal, 1993).

Holmiyum YAG (Ho: YAG)Lazerleri:

Katı maddeler grubuna dâhil olan bu lazerin dentin ve pulpadaki etkisi Nd:YAG lazerinkine çok benzemektedir (Önal, 1993). Diş hekimliğinde sadece in vitro olarak denenmiştir. Ho:YAG lazeri 2050 nm dalga boyunda olup; infrared bölümde etkilidir. Bu yüzden özellikle cerrahi endikasyonlarda kullanılır. Endoskopik cerrahide kullanılabilir. Ayrıca Er:YAG lazeri gibi hücre içi ve dışı doku sıvılarını vaporeze edip, kanamasız doku ensizyonu sağlamaktadır (Prause, 2000).

Karbondioksit Lazerleri:

1960'larda bulunup, 1970'lerde medikal ürün olarak piyasaya sunulan karbondioksit lazerlerindeki aktif madde CO₂, He ve N gazlarının bir karışımıdır. Ortam, aktif madde içinden elektrik akımı geçirilerek güçlendirilir. Bu lazer türünün dalga boyu sürekli ve 10.600 nm ile ışık spektrumunda kızıl ötesi alandadır. Şu an piyasadaki bütün karbondioksit lazerleri sürekli dalga lazerleridir. Bazı dental ürünler 'süper darbeli' emisyon modu içerirler ve alınması düşünülen CO₂ lazer için aranması gereken en önemli özellik budur. Bu mod yumuşak dokuyu buharlaştırırken kömürleşmeyi azaltır. Tüm cerrahi disiplinlerde kullanılmaktadır. Buna ağız yumuşak doku cerrahisi, hemostaz ve buharlaştırma da dâhildir. Sulu ortamda çalışabilir. Sert dokudaki ablasyonu yüksektir (Gökner, 2007). CO₂ lazer uygulaması esnasında ağrı oluşabileceğinden her girişimde lokal anestezi gereklidir. Bu lazer sistemi için geçerli

endikasyonlar; gingivektomi ve gingivoplastik operasyonlar, mukozada oluşan patolojik değişimler, submüköz apselerin drenajı, preprotetik cerrahi işlemler ve frenektomi olarak belirtilebilir (Prause, 2000).

Neodim YAG (Nd:YAG) Lazerler:

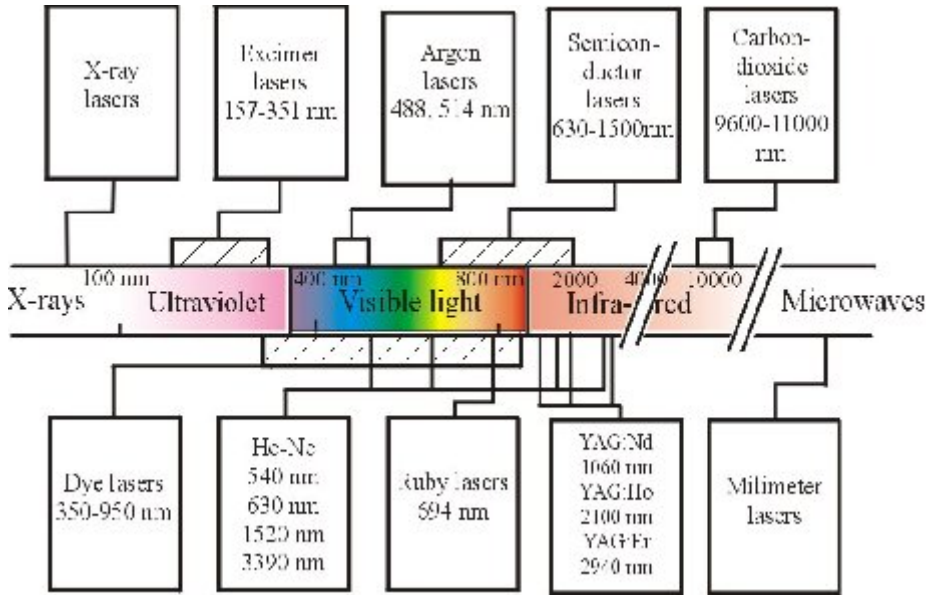
İlk üretilen ve diş hekimliği pratiğinde ilk kullanılmaya başlayan lazer sistemidir. Bu lazerde aktif parça YAG (Yttrium-Aliminyum-Granat) ana kristali içine neodimyum (Nd^{+3}) iyonlarının eklenmesiyle oluşturulmuştur. Bu lazer ile 1064 nm, 1320/1340 nm ve 1444 nm olmak üzere üç farklı dalga boyunda emisyon yapılabilmektedir. Günümüzde sadece 1064 nm dalga boyunda çalışan modeller kullanılmaktadır. Bu lazerlerden elde edilen güç 1000-10.000 W arası değişmektedir. Nd:YAG lazerler en çok fototermal etkileri yüzünden kullanılmaktadır. 1064 nm dalga boyu, sert ve yumuşak dokuda 5 mm ve üzeri penetrasyon derinliğine sahiptir. Bu durum diş kenarında çalışırken kemik, periodontal ligament ve pulpa için potansiyel risk yaratmaktadır (Gökmar, 2007). Küçük cerrahi işlemlerde kullanımında ufak dozlarda da olsa anesteziye ihtiyaç vardır (Prause, 2000).

Yarı İletken Diyot Lazerleri:

1980'lerde diyot lazerlerin bulunmasından sonra medikal alanda lazer uygulamaları büyük gelişim göstermiştir. Özellikle 1989'dan sonra tüm branşlar için yeni uygulama alanları açılmıştır. Dünyada ilk cerrahi diyot lazer 1992 yılında kullanılmıştır. Diyot lazer, yarı iletken kristalinden yapılan bir katı hal lazeridir. Bu lazer türü bilinen LED cihazları gibi çalışır; içinden elektrik geçince ışık verir. Aliminyum-galyum-arsenik (AlGaAs) içeren diyotlar 810 nm; İndiyum-galyum-arsenik (InGaAs) içerenleri 980 nm dalga boyunda emisyon yapar. 412 -1550 nm dalga boyu arasındaki yarı iletken lazerler tüm yumuşak doku işlemlerinde kullanılabilir. Ancak terapötik amaçlar için 800-830 nm olanları tercih edilmektedir. Bu tip lazerlerin penetrasyon derinliği 2-3 cm'dir. Uygulamaları arasında ağız içi dokularda polimerizasyon, terapi, koagülasyon, dezenfeksiyon ve yumuşak doku cerrahileri önde gelmektedir. Klinik veriler 810 nm diyot lazerin 1064 nm Nd:YAG lazer ile aynı cerrahi keskinliği ve hemostazı sağladığını belirtmektedir. Günümüzde cerrahi diyot lazerleri Nd:YAG lazerlerin kullanım alanlarının tamamında yer edinmiştir. Ayrıca Nd:YAG lazer ışınları diyot lazer ışınlarına göre dokuda üç misli derine penetre olduğundan dişeti dokusunda çalışırken altındaki sement ya da kemik dokusu tarafından emilmekte ve yüksek ısı ortaya çıkarmaktadır. Oysa diyot lazerler bu seviyede derine nüfuz etmemekte ve ısı

artışı olmamaktadır. Bu nedenlerden dolayı diyot lazerlerin gelişimiyle Nd:YAG lazerler artık birçok ülkede kullanılmamaktadır (Göknar, 2007).

Bu lazerler sürekli dalga lazeri olmakla beraber atımlı olarak da kullanılabilir. Ancak bu durumda çıkış gücünün yaklaşık yarısı kaybedilmektedir (Glinkowski ve Pokora, 2001).

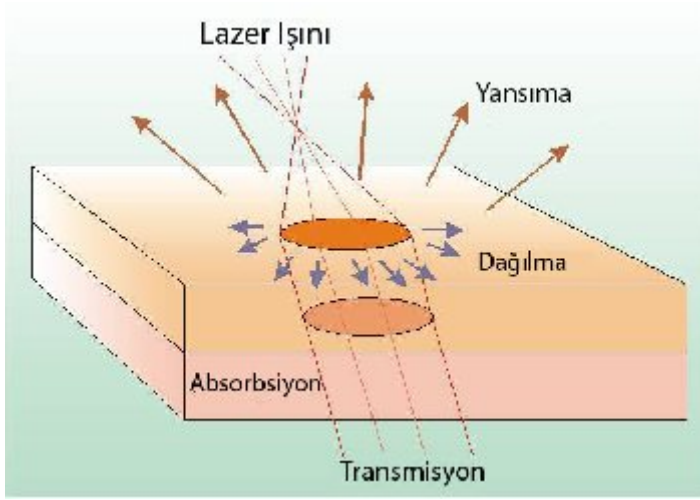


Şekil 2.3 Lazer çeşitleri (Glinkowski ve Pokora, 2001)

2.2.4 Lazerin Biyolojik Dokular Üzerindeki Etkileri

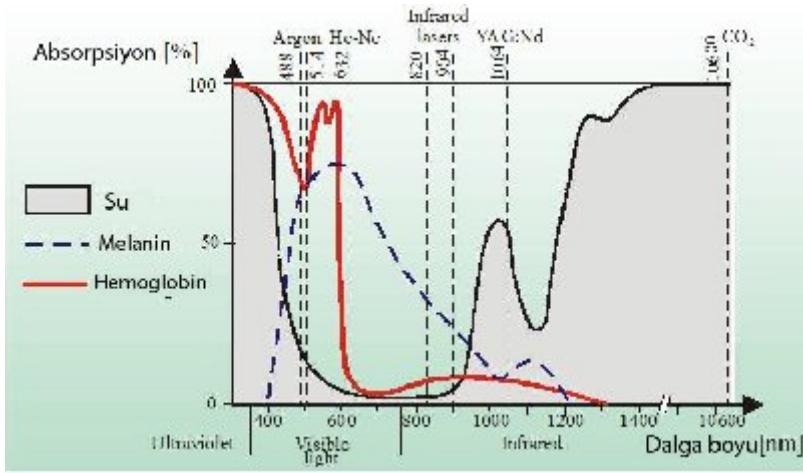
Lazer ışınlarının dokuları etkilemesinde optik kanunları geçerlidir. Işın kısmen yansıtılır, dağılır, absorbe edilir ve doku içine penetre olabilir.

Lazer terapisi konusunda en önemli problem, radyasyon dozunun dokunun istenen derinliğine ulaştırılabilmesi ve lazer ışını enerjisinin biyolojik veya kimyasal enerjiye dönüştürülebilmesidir. Etkif biyoenerjetik lazer işlevi, spesifik dalga boyundaki lazer radyasyon enerjisinin istenen dokuya etkin absorpsiyon ve penetrasyonu ile sağlanır. Biyolojik dokular homojen olmadığından ışığın dokulara penetrasyonu karmaşıktır. Işın-doku ilişkisi ışığın dalga boyuna, radyasyonun enerji miktarına ve uygulama süresine bağlıdır. Işık, üstteki katmanlardan geçerken yansıtılır, dağılır ve kısmen emilir. Bu olayların miktarı radyasyona uğrayan dokunun türüne de bağlıdır. Lazer ve biyolojik dokular arasındaki ilişkileri belirleyebilmek için ışık dalgasının fiziksel parametrelerinin yanı sıra hedef dokunun özelliklerinin de bilinmesi gerekmektedir.



Şekil 2.4 Lazer ışını – doku etkileşimleri (Glinkowski ve Pokora, 2001)

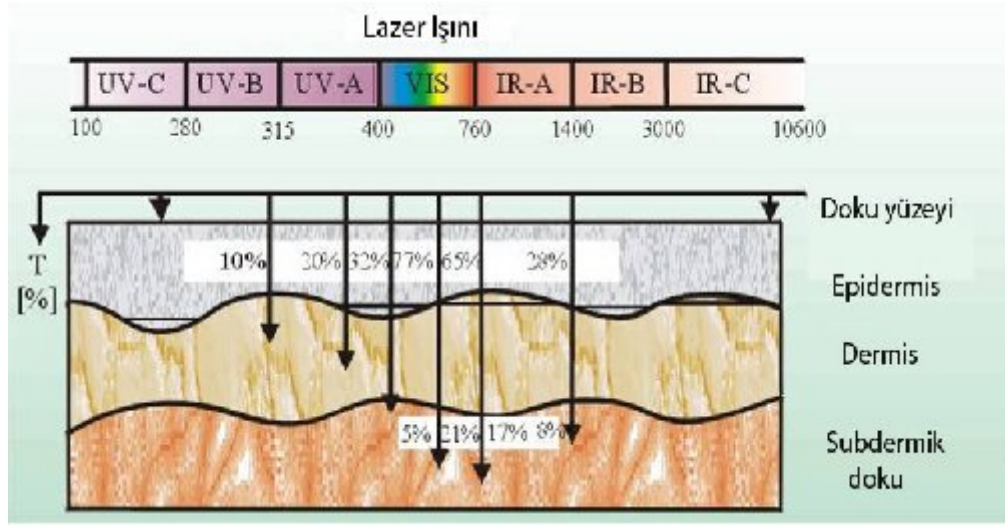
Tüm bunlardan anlaşılacağı üzere, elde edilecek etkiyi belirleyen ana faktör istenen doku derinliğinde transmisyon ve absorpsiyon süreçlerinin yüzde bakımından nasıl dağılım göstereceğidir. Bu, lazerin dalga boyuna ve dokudaki su, hemoglobin ve melanin gibi fotoakseptörlerin miktarına bağlıdır.



Şekil 2.5 Bazı doku componentlerinin lazer radyasyonu absorpsiyon karakteristikleri (Glinkowski ve Pokora, 2001)

Lazer ile kesme veya koagülasyon yapmak için dokuda ışın absorpsiyonunun baskın olacağı dalga boyu (lazer çeşidi) gerekirken; biyostimülan etkiler yaratmak için radyasyon transmisyonunun baskın olacağı optik aralıktaki dalga boyu seçilmelidir.

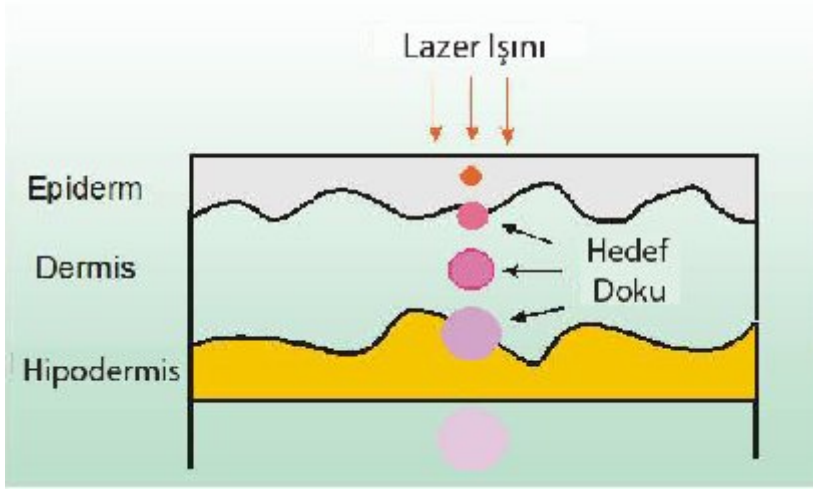
Biyostimulasyon için en uygun dalga boyu 550-950 nm. arasıdır. Bu aralığın üzerindeki dalga boyları, dokunun yüzeysel tabakalarınca absorbe edilir ve derin dokular stimüle edilemez.



Şekil 2.6 Dalga boyuna göre ışığın derinin katmanlarında transmisyon miktarı (Glinkowski ve Pokora, 2001)

İrradyasyonda lazer cihazının çıkış gücü (output power) önemli faktörlerden biridir. 1-2 mW'lık bir lazerle elde edilebilecek biyostimulan etkileri 100 kat güçlü bir lazerle elde etmek çok daha kolaydır. Yüksek güçlü lazerlerin yeterli enerjiyi daha derin dokulara taşıyabildiği düşünülmektedir. Tedavi süresinin artırılmasıyla enerji yoğunluğunun yetersizliği maalesef kompanse edilememektedir. Ayrıca aynı miktar enerjinin farklı enerji yoğunluklarıyla ($W \times sn$) dokuya verilmesi her zaman aynı biyolojik yanıtı oluşturmamaktadır (Tuner ve Hode, 2002).

İrradyasyon esnasında istenen doku seviyesine ulaşılırken enerji kaybı meydana gelmektedir. Verilen radyasyon enerjisinin % 50 sinin ulaştığı doku derinliğine 'yarı penetrasyon derinliği' denilmektedir. Ancak lazer dalgasının son fotonunun absorbe edildiği derinlikte bile biyostimulasyon provoke edilebilir. 'Tek foton teoremi' ne göre, uygun dokuda uygun süre için bulunan tek bir foton bile bir hücre veya biyoenerjetik süreci stimüle edebilmektedir. Ancak derinlere indikçe, dokunun çeşitli tabakalarında biriken enerji katlanarak azalır.



Şekil 2.7 Dokuda derinlere inildikçe lazer radyasyonunun etkilediği alan genişlerken radyasyonun yoğunluğu azalmakta (Glinkowski ve Pokora, 2001)

Lazer radyasyonu uygulanan enerji gücüne göre biyolojik dokuda 3 farklı etki yaratabilir. Radyasyonun dokular üzerindeki fotobiyolojik etkileri;

- fotobiyokimyasal etkiler
- fototermal etkiler
- fotoiyonizan etkiler olarak sınıflandırılmaktadır.

Fotobiyokimyasal etkiler, fotoindüksiyon (fotostimülasyon), fotorezonans ve fotoaktivasyondan ibarettir. Düşük ve orta güçteki lazerlerin kullanımıyla elde edilen bu etkiler *biyostimulan* süreci oluştururlar. Fotobiyokimyasal etkiler, 'fotodinamik' etkiler denilen bir alt grup içerirler. Tıpta fotodinamik süreçlerden neoplazmaların diağnoz ve tedavisinde yararlanılmaktadır. Bu metoda 'PDT' (Photo Dynamic Therapy) denilmektedir.

Radyasyon dozunun artırılmasıyla dokuda termal etkiler ortaya çıkar. Fototermal etkiler, optik radyasyonun dokuların koagülasyonu, buharlaşması veya karbonizasyonuna yol açacak ısı enerjisine dönüşmesinden kaynaklanmaktadır.

Kısa pulslu, oldukça yüksek güçte enerji verildiğinde ise dokuda fotoablasyon veya fotodisintegrasyon gibi termal olmayan, tahrip edici süreçlerden ibaret fotoiyonizan etkiler ortaya çıkmaktadır.

Çalışmamızın konusu lazerin biyostimülasyon etkisine dayandığından fotobiyokimyasal etkilerden detaylı bir şekilde bahsedilecektir.

2.2.4.1 Fotobiyokimyasal Etkiler – Biyostimulasyon

Lazer ışınlarının dokuda en fazla 1°C'lik ısı artışı yaratarak oluşturduğu etkilere 'biyostimulan etkiler' denmektedir. Böylesi etkiler düşük ve orta güçteki lazerlerle elde edilmektedir. Bu tip lazerler kullanıldığında dokularda oluşan değişimler makroskobik olarak fark edilemeyebilir; hatta çoğu zaman mikroskobik olarak bile gözlenemeyebilir. Lazer radyasyonunun bu tip etkileri ancak bazı hücre organel fonksiyonlarındaki değişimleri gözlemleyerek tespit edilebilir.

Lazer radyasyonunun bir yapı, doku veya partikül tarafından emilimiyle partikülün elektronları daha yüksek enerji seviyesine transfer olur. Ancak emdiği fazla enerjiyi kaybetmek isteyen molekül bu seviyede kısa süre kalarak fazla enerjiyi ısı olarak veya fotokimyasal metabolizmayla salabilir; bu da fotobiyolojik (biyokimyasal, biyoelektriksel ve biyoenerjetik) etkilere yol açacaktır. Biyokimyasal etkiler histamin, serotonin, prostaglandin, bradikinin veya endorfinler gibi biyolojik olarak aktif maddelerin salınımını stimüle ederler. Ayrıca ATP-asidin enzimatik reaksiyonlarını stimüle veya inhibe edebilirler. ATP-asit sekresyonu mitoz sürecini hızlandırabilir. Biyoelektriksel etki ise membran potansiyelini normalize eder. Normalde her hücre pozitiften çok negatif yüklüdür ve potansiyel değeri -60 / -90 mV arası değişmektedir. Ancak patolojik durumlarda pozitif yüklemeler sonucu (örn: hücreye Na⁺ penetrasyonu) potansiyel değeri azalır. Bu süreci tersine çevirmek için hücrenin enerjiye ihtiyacı vardır; bu enerji ATP-asidin hidroliziyle karşılanabilir. Biyoenerjetik etki hücre beslenmesini ve büyümesini stimüle eden, hücre içi olayları kontrol eden bir faktördür.

Dokusal ve takiben oluşacak sistemik reaksiyonlar doku katmanlarının fotonları tamamen soğurmasına bağlıdır. Foton emiliminin miktarı katmanların kalınlığına, kan damarı ağlarının yoğunluğuna, dokudaki su içeriğine ve pigmentlerin varlığına bağlıdır.

Mikroskalada incelendiğinde, foton soğurumu primer olarak aminoasitler, nükleik asit, melanin, hemoglobin, bilirubin, porfirin, NAD, riboflavin, quinonlar, betakaroten, rodopsin ve diğer fotoakseptörlerce belirlenir.

Lazer radyasyonunun biyostimulan etkisi fotoreseptörlerin ışık fotonlarını soğurmasıyla başlar. Işığın, respiratuar siklusun komponentleri (sitokrom, NAD) tarafından emilimiyle oksidasyon durumunda, mitokondri ve sitoplâzmadaki değişimler ortaya çıkar. Hücre membranının geçirgenliği etkilenir; Na⁺/K⁺ oranı değişir ve ATP aktivitesi artar. Lazer ışığı fotonlarının enzimleri doğrudan stimüle etmesiyle sodyum ve potasyum iyonlarının hücre membranından aktif transportu artar. Sodyum-potasyum

pompasının aktivitesinde artış birçok biyokimyasal değişimin hücre içi transmitteri olan Ca^{++} iyonlarının içeriye akışını stimüle eder; ATP sentezi arttırılır. Hücre içi proteinlerin oksidatif fosforilasyonu DNA ve RNA sentezinin modülasyonuna yol açar ve sonraki safhada hücrelerin proliferasyonu başlar.

İnfrared radyasyonun tetiklediği reaksiyonlar çoğunlukla hücre membranı seviyesinde başlamaktayken, görünür ışıktan kaynaklanan değişimler mitokondri bölgesinde başlamaktadır. İrradyasyon işlemi esnasında hücrenin fiziksel durumunun fotoreaksiyon yoğunluğu üzerinde etkisi olduğunun vurgulanması gereklidir. Zayıf beslenen hücreler yeterli beslenenlerden daha fazla fotosensitivite gösterirler.

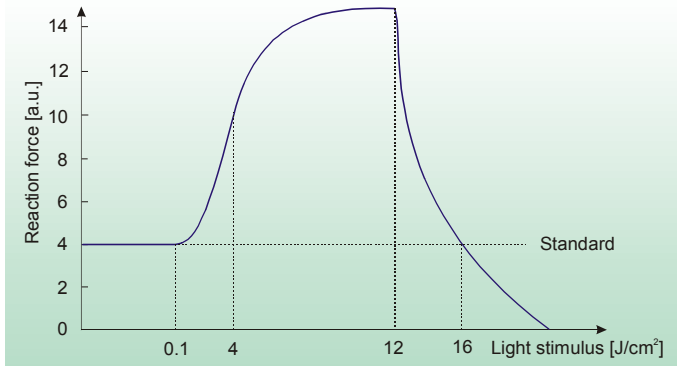
Lazer biyostimülasyonu için enzimlerin fotoaktivasyonu çok önemli bir mekanizmadır. Bunun sebebi biyokimyasal olayları katalize eden enzimlerin, stimülasyon etkisini çoğaltmasıdır. Sadece bir ışık fotonunun bir enzim partikülünü aktive etmesiyle binlerce yeni partikülün oluşması sağlanabilmektedir. Böylesi bir aktivasyon biyokimyasal reaksiyonların başlatılması açısından önemlidir. Önemli olan, stimülasyonu başlatarak terapötik etki yaratan hedef enzimin stimülasyonu için gerekli foton sayısı ve dalga boyunun belirlenmesidir.

Fotobiyolojik etkiler direkt ve indirekt olarak ikiye ayrılmaktadır. Direkt etkiler irradyasyondan birkaç saniye veya dakika sonra ortaya çıkmaktayken indirekt etkiler irradyasyondan birkaç saat veya gün sonra ortaya çıkmaktadır. İndirekt etkiler çoğunlukla 'de nova' senteziyle bağlantılıdır. Günümüzde değişik dalga boylarıyla ışın uygulandıktan sonra oluşan etkiler benzer veya aynı olsa da fotobiyoaktivasyon mekanizmalarının farklı olduğuna düşünölmektedir.

Gözlenen hücrenel etkiler hiç şüphesiz fotobiyokimyasal değişimlerden kaynaklanmaktadır. Ancak hücre yanıtı doku reaksiyonunu ve sistemik etkiyi de etkilemektedir. Tüm bu etkiler direkt olarak hedef dokuda ortaya çıkarken lazer irradyasyonunun birde sekonder etkileri vardır. Sekonder etkiler hedef dokuyla beraber komşu dokularda da ortaya çıkarlar. Bunlar biyostimülasyonun yanı sıra analjezik ve anti-enflamatuar etkilerdir.

Biyolojik dokuların radyasyonla stimülasyonunda kullanılan parametrelere göre elde edilen etkiler değişmektedir. Ortaya çıkan etkilerdeki farklılıklar Arndt ve Schultz'un geliştiren, Ohshiro'nun modifiye ettiği yasalarla genellenmiştir (Calderhead ve Ohshiro, 1991). Literatürde bu kurala 'Arndt-Schultz kanunu' denilmektedir. Bu kanuna göre zayıf uyaranlar fizyolojik aktiviteyi stimüle ederken, orta güçteki uyaranlar

stimülasyona yardımcı olmakta, güçlü uyarılar biyolojik aktiviteyi geciktirmekte, çok güçlü uyarılar ise aktiviteyi inhibe edebilmektedir.



Şekil 2.8 Stimulan ışığın gücüne göre oluşan reaksiyon miktarı

Bu grafikten anlaşılacağı üzere en pozitif biyostimülasyon sonuçları 0.1-12 J/cm² enerji yoğunluğuna sahip radyasyon uygulandığında elde edilmektedir.

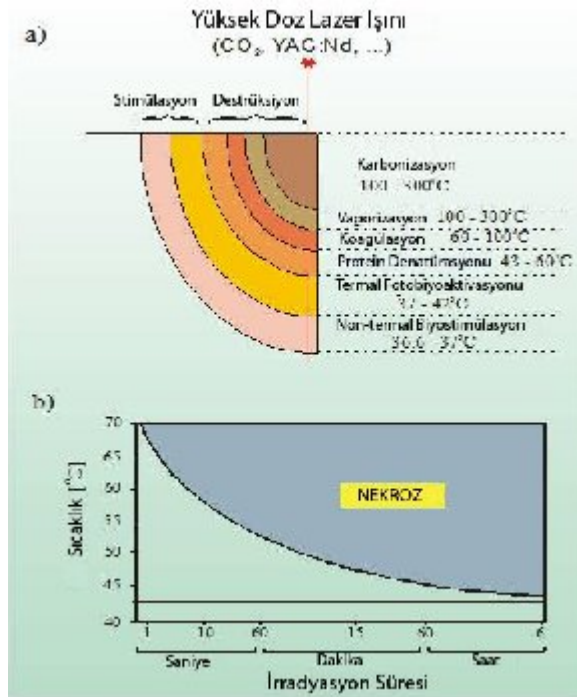
Lazer ışınlarının biyostimulan etkilerinden faydalanılarak yapılan tedavilere ‘Düşük Seviyeli Lazer Terapisi’, ‘fotobiyostimülasyon’, ‘fotobiyomodülasyon’ veya ‘lazer biyoaktivasyonu’ denilmektedir. Bu terapi şekli ilk olarak Mester vd. (1971) tarafından yara iyileşmesini hızlandırmak için kullanılmaya başlanmıştır. Bugüne kadar bu konuda yüzlerce literatür yayınlanmasına rağmen hala tam olarak oturmuş bir tedavi yöntemi değildir (Aras ve Güngörmüş, 2008). Özellikle Japonya (Ando vd., 1985) ve Avrupa’da (Cordioli vd., 1985) bu terapi yıllardır kullanılmaktadır. Ayrıca Rus literatüründe (Prokhonchukov, 1995) 30 yıldır kullanıldığına dair bilgiler vardır (Aras ve Güngörmüş, 2008). Günümüzde düşük seviyeli lazer terapisinin çeşitli tedavilerde kullanımı FDA (Food and Drug Administration) tarafından onaylanmıştır (Piccione, 2004, Aras ve Güngörmüş, 2008).

2.2.4.2 Fototermal ve Fotoiyonizan Etkiler:

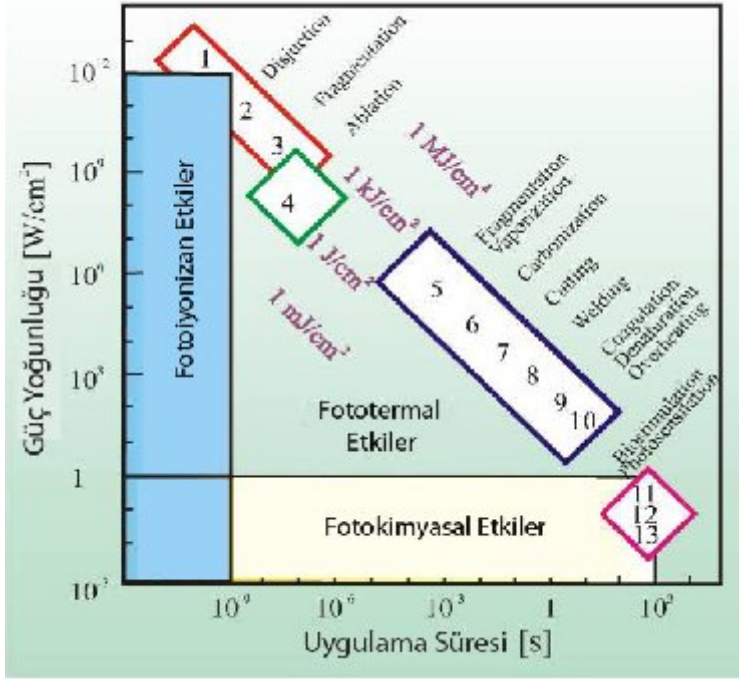
Fototermal etkiler irradyasyon süresinin azaltılması ve radyasyon gücünün artırılması ile ortaya çıkar. İrreversibl değişimler 43-50°C arasında olduğundan radyasyon uygulanan alandaki ısı 42°C’yi geçmediği sürece dokuda herhangi bir irreversibl etki ortaya çıkmaz. Doku lazer ile birkaç sn için 60°C’ye kadar ısıtıldığında koagülasyon oluşmaktadır (Örn; protein denaturasyonu). Böylesi bir ısı dokuyu kısa süreli etkilediğinde dokunun çabuk soğumasıyla değişimler geri dönüşebilir. Ancak eşik değer

geçildiğinde protein denaturasyonu geriye dönüşsüzdür ve soğutmanın faydası olmaz. 60-100°C arasında doku yüzeyinde suyun buharlaşması indüklenir ve bir zaman sonra doku kuruyarak büzülür. Sıcaklık 150°C'ye ulaştığındaysa karbonizasyon ortaya çıkar. 300°C'de doku tamamen buharlaşır (Glinkowski ve Pokora, 2001).

Lazer uygulama süresi, enerji dozunun ve termal etkinin belirlenmesinde çok önemli bir parametredir. Birkaç saat gibi uzun süreli bir uygulamada ısı kısmen düşük olsa bile (45°C) doku nekrozu ortaya çıkabilir. Radyasyon gücü yoğunluğu 10^6 W/cm²'yi geçtiğinde uygulama süresi 10^{-6} sn.den kısa bile olsa fotoiyonizan etkiler gözlenebilir. Böylesine yüksek güç yoğunluğunda lazer radyasyonu güçlü bir elektrik alanı oluşturur; bu da dokunun iyonize olmasına ve ayrışmasına sebep olur (Glinkowski ve Pokora, 2001). Fotoiyonizan olaylarda elektrik alanı yoğunluğu cm² için milyon voltlara ulaşır (Berlien ve Müller, 1989). Işık enerjisi organik partiküllerin atomları arasındaki kimyasal bağlantıları direkt ve hızlıca bozan kinetik enerjiye dönüştürülür. Bu süreç o kadar hızlı gelişir ki, irradyasyon alanında lokal sıcaklık yüksek olmasına rağmen komşu dokulara ısı iletimi yoktur. Büyük organik doku zincirlerinin uçucu bileşenlere ayrılmasına dokunun 'fotoablasyonu' veya 'mikroeksplozyonu' denmektedir. Daha yüksek güç yoğunluklarında dokuda 'fotospallation' ve 'fotodisruption' görülmektedir. Bu tip etkiler biyostimulan lazerler ile oluşturulamaz (Glinkowski ve Pokora, 2001).



Şekil 2.9 İrradyasyon süresi ve biyolojik dokuda ısı artışı arasındaki ilişki (Glinkowski ve Pokora, 2001)

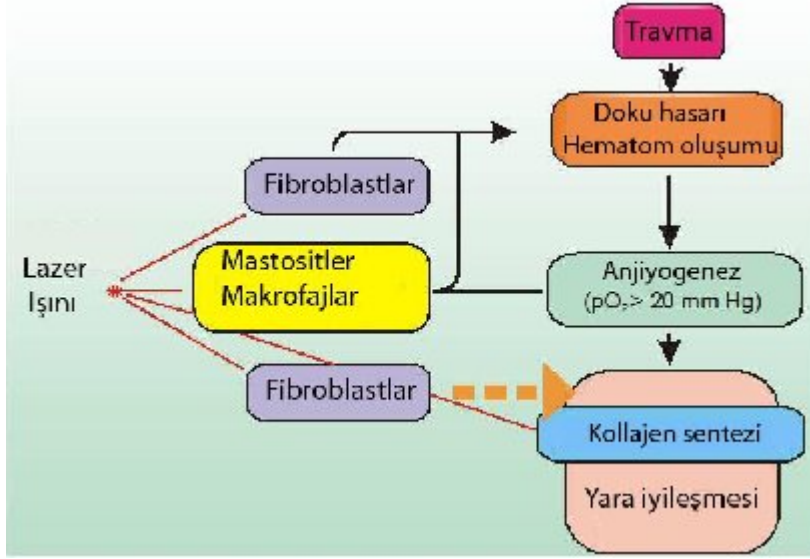


Şekil 2.10 Uygulama süresi ve güç yoğunluğuna bağlı olarak ışınların biyolojik dokuda ortaya çıkan etkileri (Glinkowski ve Pokora, 2001)

2.2.5 Düşük Doz Lazer Terapisiyle İlgili Çalışmalar

1971 yılından bu yana düşük doz lazerin çeşitli biyostimülasyon etkileri üzerinde çalışılmaktadır. Lazer ışınları ile mikrosirkülasyon, hücre beslenmesi ve protein sentezi artmakta; kollagen sentezi, kan damarları ve sinir rejenerasyonu, kemik tamiri ve yara iyileşmesi gibi birçok süreç stimüle edilebilmektedir. Uygun dozda lazer uygulanan tüm vakalarda tedavi prosedürlerinin etkisi artırılır; enfeksiyon riski azaltılır ve hasarlı dokuların rejenerasyonu hızlandırılır.

Kert ve Rose (1989) düşük doz lazerin etkilerini inceledikleri çalışmalarında hücre büyümesinde stimülasyon ve hücre rejenerasyonunda artış olduğunu; hücresel aktivitede anti-enflamatuvar etkilerin ödemi azalttığını; tekrar kanlanmayı sağladığını ve sinir dokularında rejenerasyonun sağlandığını bildirmişlerdir.



Şekil 2.11 Yara iyileşme sürecinin lazer ışınlarıyla stimülasyonu
(Glinkowski ve Pokora, 2001)

Dişhekimliğinde de, oral mukozadaki aft ve ülseratif lezyonların tedavisi, radyasyona bağlı oluşan mukositis tedavisi (Bensadoun vd., 1999), implant sonrası osteointegrasyonun hızlandırılması ve stabilitenin artırılması (Khadra vd., 2005, Kim vd., 2007a, Kim vd., 2007b); ayrıca fibroblast (Boulton ve Marshall, 1986, Van ve Bar, 1992), kondroblast (Schultz, 1985) ve osteoblast proliferasyonu gibi konularda biyostimülasyondan faydalanılabilmektedir.

Spivak ve Grande (1992)'nin çalışmasında düşük doz Nd:YAG lazer kullanılmış ve uygulamanın kıkırdak matriks sentezini belirgin ölçüde stimüle ettiği bulunmuştur.

Baumann ve Jörgensen (2006), kondrosit kültürlerine farklı dalga boyu ve farklı enerji yoğunluğundaki lazerleri ışınlama sürelerini de değiştirerek uygulamışlardır. Araştırma sonucunda 60 sn., 120 J, 16 W/cm²lik Nd:YAG lazer radyasyonunun kıkırdak matriks sentezini arttırdığını bulmuşlardır.

Son zamanlarda lazer uygulaması ile kemik rejenerasyonunun hızlandırılması birçok araştırmacının dikkatini çekmektedir (Chen ve Zhou, 1989; Nagasawa vd., 1991). Örneğin Arisu ve Türköz (2006) çalışmalarında 1064 nm Nd:YAG lazer ışınlarıyla insan osteoblast hücrelerinin yaşama kapasitesi ve proliferasyonunun stimüle edilebildiğini bildirmişlerdir.

Ueda ve Shimizu (2001) ise düşük doz lazer radyasyonunun anabolik etkilerinin yanısıra kemik formasyonu üzerindeki etkilerinden bahsetmişler; lazer ışınlarıyla kemik

formasyonunun önemli ölçüde stimüle edildiğini ve alkalen fosfataz seviyesinin önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir. Glinkowski ve Pokora (2001) kemik dokusuna uygulanan biyostimulan lazerin makrofaj migrasyonunu hızlandırarak fagositozu ve sitokin (IL-1) ve prostaglandinlerin sentezini arttırdığını, BMP aktivasyonu sağladığını, TGF- β seviyesini arttırarak kemik metabolizmasını ve rezorpsiyonu arttırdığını, mikrosirkülasyonda akışı ve neoanjyogenezi geliştirdiğini bildirmişlerdir. Düşük doz lazer ışınları, enflamatuar durumlarda makrofajları tetikleyerek makrofajların prostaglandin sentezi, anjyogenez (IL-1, M-CSF ve GM-CSFleri arttırarak) ve fibroblastların kollajen sentezi üzerindeki stimülatif etkilerini arttırmaktadır.

Bu gibi çalışmalardan yola çıkılarak ortodontide diş uygulanan mekanik kuvvet sonrasında oluşan enflamatuar sürecin ve kemik remodelinginin yani diş hareketinin stimüle edilebileceği düşüncesi doğmuştur.

Bu konuyla ilgili literatür taraması yapıldığında, düşük doz lazer terapisinin diş hareketi hızını olumlu etkilediğini belirten çeşitli çalışmalar olduğu görülmüştür. Örneğin Kawasaki ve Shimizu (2000), deneysel diş hareketi sürecinde 13 defa 54 J/cm²lik lazer uygulamışlar ve lazer grubunda diş hareketinin 1.3 kat daha hızlı olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca çalışma ve kontrol grupları arasında kemik formasyon miktarı, gerilen taraftaki hücresel proliferasyon miktarı ve sıkışan taraftaki osteoklast sayısındaki artış bakımından istatistiksel düzeyde önemli farklılık olduğu saptanmıştır.

Youssef vd. (2008) çalışmalarında kanin distalizasyonu esnasında düşük doz lazer uygulamasının ortodontik diş hareketi üzerindeki etkisini 15 hasta üzerinde değerlendirmişlerdir. Hastalara distalizasyonun 0., 3., 7. ve 14. günlerinde, kanin dişin bukkal ve lingual periodontal ligamentlerine, servikal-orta-apikal olmak üzere üç bölgeden 809 nm dalga boyunda 100 mW'lık lazer radyasyonu uygulanmıştır. Çalışma sonucunda düşük doz lazer, diş hareketi hızını arttırma açısından etkin bir yöntem olarak kabul edilmiştir.

Cruz ve ark. (2004) premolar çekim endikasyonu konulan ve üst kanin distalizasyonu yapılması gereken 11 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada hastalara 780 nm dalga boyunda diyot (GaAlAs) lazer kullanarak 10 defa, 10 sn. süresince, 20 mW, 5 J/cm² yoğunluğunda lazer radyasyonu uygulamışlardır. Distalizasyon mekaniği ayda 1 kere aktive edilmiş ve lazer uygulaması her ay 4 kere yapılmıştır. Çalışma sonucunda lazer uygulamasının ortodontik diş hareketini önemli ölçüde hızlandırdığı ve tedavi süresinin kısaltıldığı bildirilmiştir.

Goulart ve Nouer (2006) yaptıkları çalışmada GaAlAs (780 nm) lazer cihazı ile düşük dozda lazer uygulamış; köpeklerin premolar dişlerinin hareket hızını değerlendirmişlerdir. 18 adet köpek iki gruba ayrılmış; haftada 1 kere olmak üzere toplam 9 defa I. gruptaki köpeklere 3 sn. boyunca 5.25 J/cm^2 , II. gruptaki köpeklere 25 sn. boyunca 35.0 J/cm^2 dozda lazer uygulanmıştır. Çalışma sonucunda 5.25 J/cm^2 lazer uygulanan grupta diş hareketinin hızlandığını; 35.0 J/cm^2 lazer uygulanan grupta diş hareketinin yavaşladığı saptanmıştır.

Sun ve Zhu (2001) tarafından 42 beyaz tavşan üzerinde yapılmış olan bir çalışmada ise lazer uygulanan gruptaki deneklerde diş hareketi miktarının ve osteoklast - osteoblast aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla arttığı bulunmuştur.

Yamaguchi vd. (2007) 50 Wistar ratı üzerinde yürüttükleri deneysel çalışmalarında GaAlAs (810 nm) lazer cihazı ile 54 J lazer uygulamış; ortodontik diş hareketinin hızlandığını gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar lazer uygulanan grupta mCSF salınımının arttığını belirtmişlerdir.

Fujita vd. (2008) tarafından yine ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise 54 J lazer uygulanan gruptaki deneklerde diş hareketi miktarının ve RANKL immunoreaktivitesinin kontrol grubuna kıyasla arttığı bulunmuştur.

Ancak bu konuda zıt yönde sonuç bildiren çalışmalarda mevcuttur. Limpanichkul vd. (2006) 12 hastada, uyguladıkları 860 nm dalga boyunda 25 J/cm^2 lik radyasyonun diş hareketi hızı üzerine hiçbir etkisi olmadığını; uygulanan enerji yoğunluğunun diş hareketi hızındaki artma veya azalmayı yansıtmak için çok düşük olduğunu belirtmişlerdir.

Seifi ve Shafeei (2007) 18 Yeni Zelanda tavşanı kullanarak farklı dalga boylarında (850 nm , 5 mW - 630 nm , 10 mW) düşük doz lazerin diş hareketi üzerindeki etkilerini karşılaştırmışlardır. I. grupta 9 gün 850 nm lazer 100 nsn.lik atışlar halinde toplam 3 dk. uygulanmıştır. II. grupta ise 630 nm lazer 5 dk. boyunca aralıksız uygulanmıştır. Sonuç olarak her iki lazer grubunda da kontrol grubuna göre diş hareketinin yavaşladığı; lazer uygulanan gruplar arasında hız açısından anlamlı bir fark olmadığı belirtilmiştir. Buna rağmen araştırmacılar, bu çalışmanın sonuçlarına dayanarak düşük doz lazerin diş hareketi hızını yavaşlattığı kanısına varılamayacağını; teorik olarak uygulanan enerji miktarının çok etkili olduğunu, dolayısıyla insanlar için önerilen dozların tavşanlar için uygun olmayabileceğini bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOD

Çalışmamız Cumhuriyet Üniversitesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarından temin edilen; ortalama ağırlıkları 175 ± 10 g arasında değişen; 10 haftalık (genç) 38 adet erkek Wistar rat üzerinde yürütülmüştür (5 Mart 2009, 302 sayılı Deneysel Hayvanları Etik Kurul izni). Deneyler C.Ü. Deneysel Hayvanları Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir; doku kesitleri Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalında hazırlanmış ve değerlendirilmiştir. Çalışmamız bulgularının istatistiksel değerlendirmesi C.Ü. Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalında yapılmıştır.

3.1.1 Araştırmanın Deneysel Safhasında Kullanılan Malzemeler

- 0.012 " ortodontik tel (Dentaurum; 530-035-00, Germany)
- Tweed pensi (Dentaurum; 012-351-00, Germany)
- Bird Beak pens (Dentaurum; 004-139, Germany)
- Kesici pens (Dentaurum; 016-153-00, Germany)
- Portegü (Dentaurum; 000-030-00, Germany)
- .25 mm ligatür teli (Dentaurum; 751-001-00)
- Asma motor ve klinik piyasemen
- Piyasemen için çelik separe
- 820 nm. terapötik diyet lazer (CTL-1106MX, Doris)
- 6 mm / 2 mm çaplı, 8 cm uzunluğunda eğik fiber uç (CTL-2214)
- 0.01 hassasiyetinde dijital kompas
- Dijital tartı
- Fotoğraf makinesi (Olympus, Camedia CD 5060)

3.1.2 Araştırmada Kullanılan Farmakolojik Ajanlar

- Ketamin hidroklorür (Ketalar-Eczacıbaşı)
- Xylazine (Rompun-Bayer)
- Sodyum pentobarbital (Petothal, Abbot, ABD)

3.1.3 Histolojik Değerlendirmede Kullanılan Malzemeler

- %10' luk formalin (Merck)
- EDTA solüsyonu

- Hematoksilen-eozin (Surgipath, Peterborough/UK)
- Dako pen (Dako, S 2002, Glostrup/Denmark)
- Tripsin (Zymed, 00-3008, Ca/USA)
- Hidrojen peroksidaz (Dako, TA-015-HP, Glostrup/Denmark)
- Monoklonal mouse anti- PCNA (Santa Cruz, sc-56, Ca/USA)
- Monoklonal goat anti-osteoprotegerin (OPG) (Santa Cruz, sc-8468, Ca/USA)
- Monoklonal goat anti- RANKL (Santa Cruz, sc-7628, Ca/ USA)
- Sekonder Antikor ABC staining system (Santa Cruz, sc-2023, Ca/USA)
- Mayer's hematoksilen (Richard-Allan Scientific, Ca/USA)
- UltraMount (Labvision, Ta-060-UM, Ca/USA)
- Işık mikroskobu (Olympus BX40)

3.2 Çalışma Gruplarının Tanımlanması

Denekler 4 çalışma grubuna ayrılmıştır. Kemik yıkımında önemli rol alan RANKL/OPG seviyelerindeki değişimler erken dönemde ortaya çıktığından 1.,2. ve 3. gruplar kendi içinde iki alt gruba ayrılmış; 1. alt gruplar (A) deneyin 3. gününün sonunda, 2. alt gruplar (B) ise deneyin 8. gününün sonunda sakrifiye edilmiştir.

Grup 1: 11 adet rattan oluşmaktadır. Ratların üst kesici dişlerine 20 g kuvvet uygulayacak zemberekler yerleştirilmiştir. Bu grup, sadece mekanik kuvvet uygulandığında dokularda meydana gelen histolojik değişiklikleri tespit etmek amacıyla hazırlanmıştır. 8 günlük deney sürecinin sonucunda ratlar sakrifiye edilmiştir.

Grup 2: 11 adet rattan oluşmaktadır. Ratların üst kesici dişlerine 20 g kuvvet uygulayacak zemberekler yerleştirilmiş ve sağ üst kesici dişlerin distobukkal, distopalatinal ve distal aproksimal alveol kemiğine 9 dk. (54 J) lazer radyasyonu uygulanmıştır. Lazer uygulaması deneyin ilk gününden itibaren üst üste üç gün yapılmıştır. 8 günlük deney sürecinin sonucunda ratlar sakrifiye edilmiştir.

Grup 3: 11 adet rattan oluşmaktadır. Ratların üst kesici dişlerine 20 g kuvvet uygulayacak zemberekler yerleştirilmiş ve sağ üst kesici dişlerin distobukkal, distopalatinal ve distal aproksimal alveol kemiğine 2.5 dk. (15 J) lazer radyasyonu uygulanmıştır. Lazer uygulaması deneyin ilk gününden itibaren üst üste üç gün yapılmıştır. 8 günlük deney sürecinin sonucunda ratlar sakrifiye edilmiştir.

Grup 4 (Kontrol Grubu): 5 adet rattan oluşmaktadır. Herhangi bir kuvvet ya da lazer radyasyonu uygulanmamıştır. Bu grup, ratların dentoalveoler yapılarının normal

histolojik özelliklerinin belirlenmesinde referans oluşturması için çalışmaya dâhil edilmiştir. Ratlar 8 gün boyunca diğer gruplarla aynı şartlar altında, C.Ü. Deney Hayvanları Laboratuvarında tutulduktan sonra sakrifiye edilmiştir.

GRUPLAR	N	Kuvvet	Lazer Uyg.	Deney Süresi
GRUP I				
Grup I A	4	20 g	-----	3 gün
Grup I B	7	20 g	-----	8 gün
GRUP II				
Grup II A	4	20 g	54 J	3 gün
Grup II B	7	20 g	54 J	8 gün
GRUP III				
Grup III A	4	20 g	15 J	3 gün
Grup III B	7	20 g	15 J	8 gün
GRUP IV	5	-----	-----	8 gün

Çizelge 3.1 Çalışma gruplarının tanımlanması

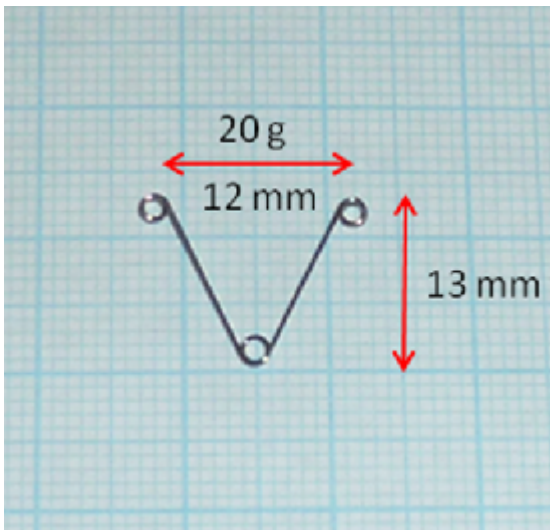


Şekil 3.1 Aparey uygulanan rat keser dişlerinin genel görünümü

3.3 Aparey ve Uygulama Şekli

Ratların dentoalveoler yapısı belirlendikten sonra üst kesici dişlere ortodontik kuvvet uygulanmasına karar verilmiştir (Şekil 3.1). Deneysel ortodontik diş hareketi oluşturmak için kullanılan aparey, Storey (1973), Stark ve Sinclair (1987), Baran (1992) ve Karadede (1992)'nin kullandıkları aparey rehber alınarak hazırlanmıştır. Aparey 0.012" ortodontik telden milimetrik kâğıt üzerinde hazırlanarak, zembereğin heliksi tweed pensinin kalın ucu ile tek sarımlı olarak şekillendirilmiştir. Zembereğin heliksi 2 mm çapında olup; dış kolları arasındaki mesafe 12 mm ve kol ile heliks arasındaki mesafe 13 mm'dir (Şekil 3.2). Aparey, heliksin iç kısımları birbirine değdirildiğinde 20 g kuvvet uygulayacak şekilde hazırlanmıştır. Bu apareyi kullanan çeşitli araştırmacılar çalışmalarında zembereği yerleştirmek için üst kesicilerin kronlarına elmas frezle bukkopalatinal yönde delikler açmışlardır. Ancak yaptığımız ön çalışmada bu işlem teknik açıdan istenilen şekilde yapılamamış; aparey yerleştirildikten sonra birkaç gün içinde kesici dişlerin bazılarında kırıklar oluşmuştur. Bu nedenle yöntem modifiye edilmiş ve çelik separe ile kesici dişlerde dişetin 1mm aşağısında, distalden vestibüle doğru oluklar oluşturulmuştur (Şekil 3.3). Dişlere apareyi yerleştirebilmek için aparey de modifiye edilmiş; zembereğin serbest sonlanan kısımlarında dışa doğru çift sarımlı heliksler oluşturulmuştur. Bu helikslerin arasına yerleştirilen ligatür teli, kesici dişlerin etrafından geçirilerek oluklara oturtulmuş ve sabitlenmiştir (Şekil 3.4, Şekil 3.5).

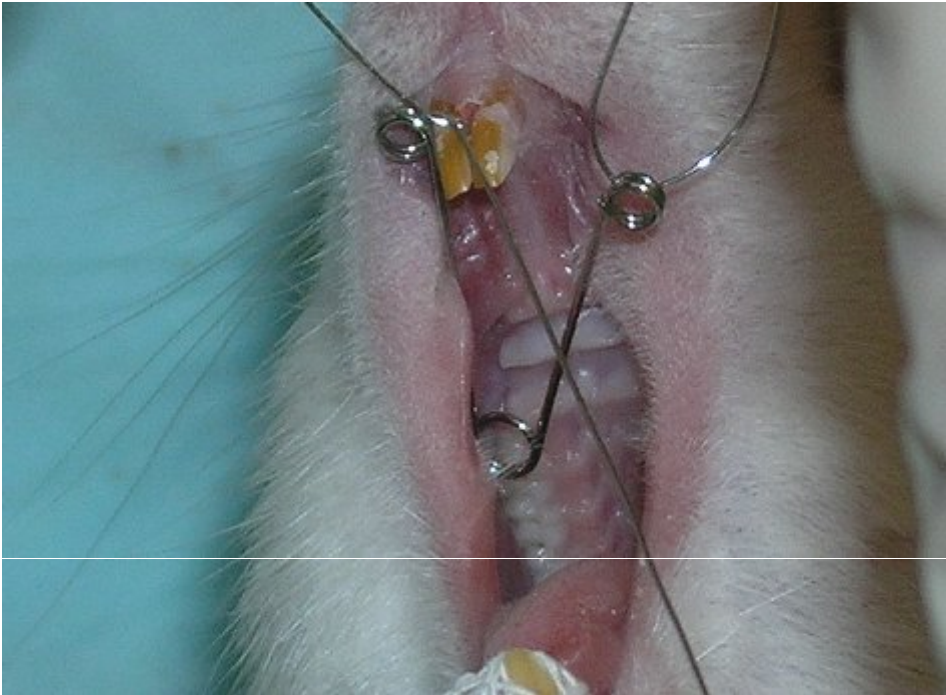
Tüm bu uygulamalar Ketalar (90 mg/kg) ve Rompun (3 mg/kg) ile sağlanan anestezi altında yapılmıştır.



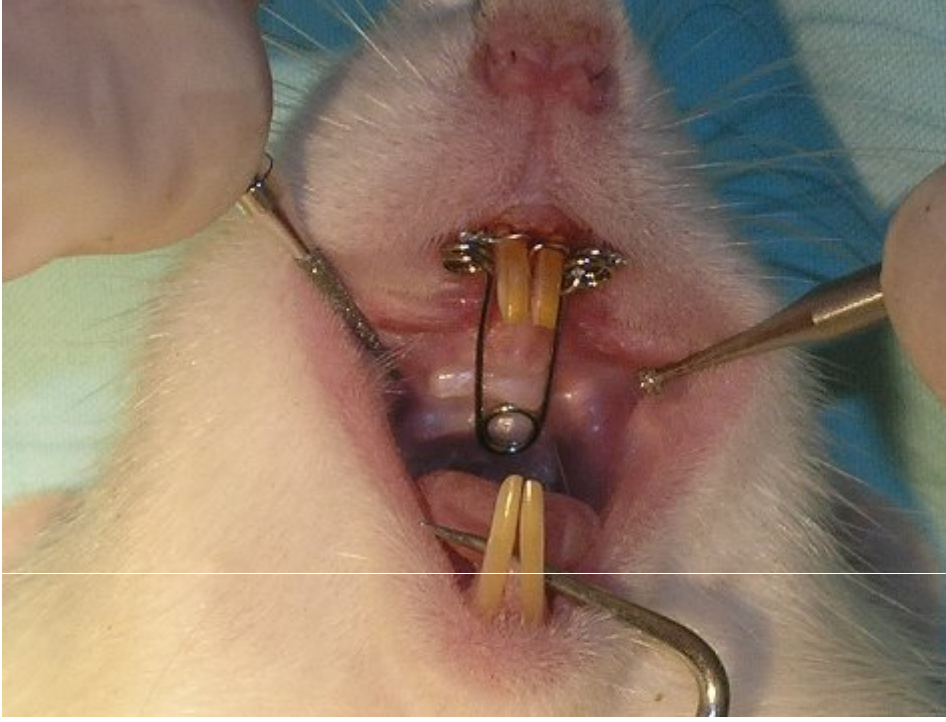
Şekil 3.2 Ortodontik kuvvet uygulamak için kullanılan aparey



Şekil 3.3 Separe ile retansiyon oluklarının hazırlanması



Şekil 3.4 Apareyin yerleştirilmesi



Şekil 3.5 Apareyin yerleşmiş hali

3.4 Lazer Uygulaması

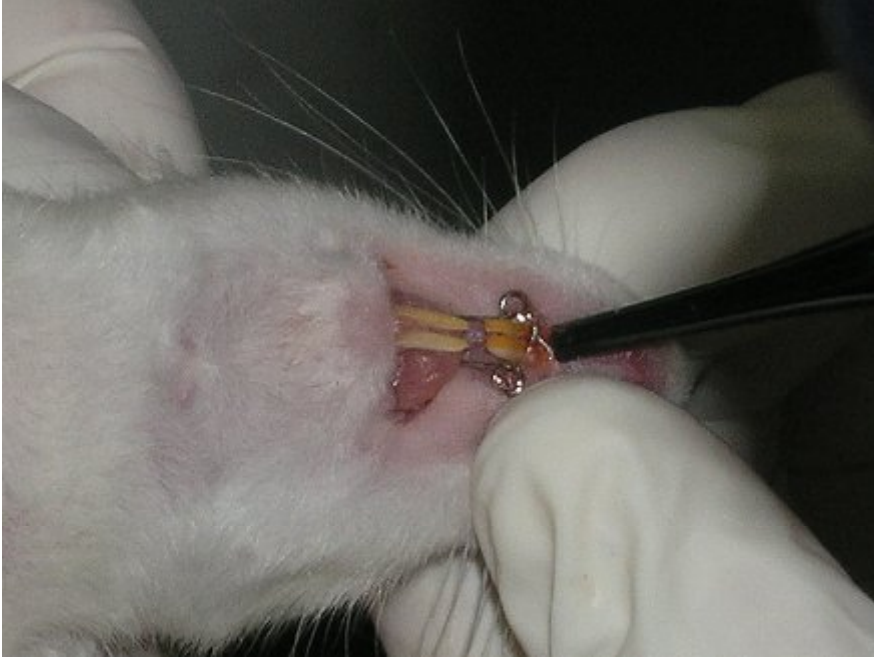
Lazer uygulamasında CTL marka, Doris model (CTL-1106MX) 820 nm. terapötik diyet lazer cihazı ve 6 mm / 2 mm çaplı, 8 cm uzunluğunda eğik fiber uç (CTL-2214) kullanılmıştır. Apareyin yerleştirilmesinin ardından 2. ve 3. gruptaki deneklere lazer uygulanmıştır. İrradyasyon fiber uç mukoza ile in- kontakt olacak şekilde yapılmıştır (Şekil 3.6).

2. grupta 9 dk.lık uygulama, sağ kesici dişin alveol kemiğinin distovestibüler, distopalatinal ve distal okluzal kısımlarından üçer dk. olacak şekilde yapılmıştır.

3. grupta 2.5 dk.lık uygulama aynı bölgelerden ellışer sn. olacak şekilde yapılmıştır.

Deneklerin distovestibüler ve distopalatinal alveol kemiğine lazer uygulanırken fiber uç gingiva kenarından kök ucuna doğru mukozayla temas halinde gezdirilmiştir.

İrradyasyon, apareyin yerleştirildiği gün, ertesi gün ve deneyin 3. gününde yapılmıştır. İrradyasyon için deneklerin genel anesteziye alınması gerekmiştir.



Şekil 3.6 Lazer uygulaması

Denekler deney süresince oda ısısında gündüzleri loş, geceleri karanlık bir ortamda tutulmuştur. Apeylerin yerinden çıkması ve dişlerin kırılması ihtimali dikkate alınarak, yem peletleri su ile yumuşatılmış ve ratlar hergün düzenli olarak denetlenmiş, kilo takibi yapılmıştır.

8 günlük deney süreci sonunda denekler 200 mg/kg sodyum pentobarbital (Petotal, Abbot, ABD) ile sakrifiye edilmiştir. Ardından deneklerin premaksillaları diseke edilerek fiksasyon için % 10'luk formalin solusyonuna konmuştur. Diş hareketinin nüks etme olasılığını engellemek için apeyler fiksasyon işlemi tamamlandıktan sonra çıkartılmıştır.



Şekil 3.7 Ortodontik diş hareketi sonrası (Grup I)



Şekil 3.8 Ortodontik diş hareketi sonrası (Grup II)



Şekil 3.9 Ortodontik diş hareketi sonrası (Grup III)

3.5 Değerlendirme Yöntemleri

3.5.1 Ratlar ve Kullanılan Apeareyle İlgili Gözlemsel Değerlendirmeler

Her gün yapılan ağız içi muayenelerde apareylerin tutuculuğu, stabilitesi, yumuşak dokularda irritasyon olup olmadığı, ratların gıda tüketiminde bir azalma olup olmadığı takip edilmiştir.

3.5.2 Ortodontik Diş Hareketinin Metrik Ölçümü

Deney süresince her gün tüm deneklerin üst keser dişleri arasındaki mesafe dijital kumpas ile diş eti hizasından ölçülmüştür.

3.5.3 Histolojik ve Histometrik Değerlendirme

Gruplardan elde edilen maksilla örnekleri % 10'luk formalin solüsyonu içinde 48 saat tespit edildi. Örnekler EDTA (ethylenediaminotetra-acetic acid) solüsyonu içerisinde (100 ml 0.1 M fosfat tamponda çözünmüş pH: 7.1) 2 günde bir değiştirilerek, +4°C'de 3 hafta süreyle, kontrol edilerek dekalsifiye edildiler.

Distile su ile yıkanan örnekler, derecesi giderek artan alkol serileri ile dehidratasyonu takiben, ksilen ile şeffaflaştırma işlemi uygulanarak parafine gömülerek parafin bloklar elde edildi. Uygulanan parafin doku takip protokolü Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Bloklardan alınan 5 µm kalınlıktaki seri kesitler histolojik değerlendirme için 1 gece 60° etüvde ve iki değişim ksilende 1 saat bırakılarak deparafinize edildikten sonra, derecesi giderek azalan alkol serilerinden geçirilerek rehidratasyon işlemi uygulanarak hematoksil-eosin (Surgipath, 01562E, 01602E, Peterborough, UK) ile boyandı. Uygulanan hemotoksilen-eozin boyama protokolü Çizelge 3.3’de gösterilmiştir.

Aynı dokulardan alınan seri kesitler avidin-biyotin peroksidaz yöntemi ile indirek immunohistokimyasal boyamak üzere seçildi. İndirek immunohistokimyasal boyama protokolü Çizelge 3.4’de gösterilmiştir. İmmunohistokimyasal yöntemle boyanacak preparatlar 60°C’lik etüvde 1 gece; iki değişim ksilende 1 saat bırakılarak deparafinizasyon işlemi tamamlandı. Kesitler derecesi giderek azalan alkol serilerinden geçirilerek distile su aşamasına getirildi. Kesitler önce dako pen ile çevrelenerek havuzcuklar oluşturuldu ve tripsinize edilerek PBS (Fosfat tampon Solüsyonu) ile yıkanan dokulara, dokuda bulunan endojen peroksidaz aktivitesini inhibe etmek için % 3’lük hidrojen peroksidaz uygulandı. PBS ile yıkanan kesitler 1 saat ‘non-immun blocking’ solüsyonunda tutulduktan sonra anti-RANKL, anti-OPG ve anti-PCNA primer antikorları ile (1/100 dilüsyonlarında) 18 saat + 4°C’de nemli ortamda inkübe edildi. Sekonder kit olarak avidin-biotin-peroksidaz sistemi kullanıldı. PBS ile yıkanan kesitler biotinle işaretlenmiş hidrojen peroksidaz sekonder antikoruna 30 dakika inkübe edildi. PBS ile yıkanan kesitlere 30 dakika streptavidin uygulandı. İmmunoreaktivitenin görünür hale gelebilmesi için DAB (di amino benzidine) uygulanan kesitler, Mayer’s hematoksil ile artalan boyaması yapılarak kapatma mediumu ile kapatıldı.

İmmunoreaktivitelerin spesifik olup olmadığını test etmek amacı ile birer kesit kontrol boyaması için ayrıldı ve primer antikor ile aynı olan IgG, primer antikor uygulanmadan boyama gerçekleştirildi.

Histokimyasal ve immunohistokimyasal yöntemlerle boyanan kesitler, Olympus BX40 marka ışık mikroskobu altında X4, X20 ve 40 objektifler ile incelendi. Fotoğraflar Nikon digital fotoğraf makinesi ile çekildi ve orjinal büyütme (objektif büyütmesi X okuler büyütmesi) kullanılarak X 40, X 200, X 400 olarak belirtildi.

Bu çalışmada, kontrol, aparey uygulanan (I), aparey ve 54 J laser uygulaması yapılan (II), aparey ve 15 J laser uygulaması yapılan (III) gruplar olmak üzere 4 grup altında rat üst çene örnekleri incelenmiştir. Dekalsifikasyon işleminin ardından, rutin parafin doku takibi prosedürüne göre izlenen ve parafin bloklar halinde elde edilen örneklerden 5 µm’lik seri kesitler alınmıştır. Kontrol ve deney gruplarına uygulanan lazer

etkilerini değerlendirmek üzere sağ üst dişlerin medialindeki ve lateralindeki periodontal ligament ile alveol kemik arasındaki alan Hematoksilen-Eosin boyama sonucu histolojik olarak değerlendirilmiştir. Tüm gruptan elde edilen seri kesitler osteoklast, osteoblast, kapiller ve Howship lakunaları yönünden değerlendirildi. Grupta aktif rezorbsiyon yapan kenarları trtkl, Howship lakunas içinde yerleşmiş, sitoplazması eosinofilik kemik yüzeyindeki hücreler osteoklastlar olarak sayld. Aktif oval, bazofilik sitoplazmalı osteoblastlar sayld. 1-10 arasındaki osteoblastlar: 1, 10-20 arasındaki osteoblastlar: 2, 20'den fazla olanlar: 3 olarak skorlanmştır. Kemik rezorbsiyon belirtisi olarak kabul edilen ilerinde kan elemanları bulunan endotel ile çevrili alanlar kapiller olarak kabul edilerek saylmştır.

Aynı zamanda osteogenezi değerlendirmek amacıyla, tanımlayıcı olarak kullanılan anti-RANKL, anti-OPG ve hücre çoğalmasını gösteren anti-PCNA primer antikorları kullanılarak, avidin-biyotin peroksidaz tekniği ile indirekt immuno-histokimyasal yöntemle boyanarak, immunoreaktivite dağılımları değerlendirilmiştir.

Gruplara ait histolojik değerlendirme sonuçları izelge 4.5 ve 4.6'da, anti-RANKL, anti-OPG ve anti-PCNA primer antikorları ile elde edilen immunoreaktiviteler izelge 4.7'de belirtilmiştir.

İŞLEM	MADDE	SÜRE
A. TESPİT	% 10 FORMALİN	48 SAAT
B. DEKALSİFİKASYON	EDTA 0.1 M	3 HAFTA
B. DEHİDRATASYON	% 50 ALKOL	½ SAAT
	% 60 ALKOL	½ SAAT
	% 70 ALKOL	½ SAAT
	% 80 ALKOL	½ SAAT
	% 90 ALKOL	1 SAAT
	% 95 ALKOL	1 SAAT
	% 100 ABSOLÜ ALKOL	1 SAAT
C. ŞEFFAFLAŞTIRMA	ALKOL: KSİLEN (1:1)	½ SAAT
	KSİLEN	1 SAAT
	KSİLEN	1 SAAT
D. İNFİLTASYON (60°C ETÜVDE)	KSİLEN-PARAFİN (1:1)	½ SAAT
	PARAFİN	1 SAAT
	PARAFİN	1 SAAT
E. GÖMME	PARAFİN	

Çizelge 3.2 Parafin takip protokolü

İŞLEM	MADDE	SÜRE
DEPARAFİNİZASYON	60°C etüvde	1 GECE
DEPARAFİNİZASYON	KSİLEN	30 DAKİKA
	KSİLEN	30 DAKİKA
REHİDRATASYON	% 95 ALKOL	2 DAKİKA
	% 80 ALKOL	2 DAKİKA
	% 70 ALKOL	2 DAKİKA
	% 60 ALKOL	2 DAKİKA
YIKAMA	AKAR SU	5 DAKİKA
BOYAMA	HEMATOKSİLEN	3 DAKİKA
YIKAMA	AKAR SU	5 DAKİKA
DİFERANSİYASYON	ASİT-ALKOL	1-2 SANİYE
YIKAMA	AKAR SU	5 DAKİKA
BOYAMA	EOZİN	2 DAKİKA
YIKAMA	AKAR SU	5 DAKİKA
	% 80 ALKOL	1 DAKİKA
	% 95 ALKOL	1 DAKİKA
	KSİLEN	1 SAAT
KAPAMA	ENTELLAN	

Çizelge 3.3 Hematoksilen- eozin boyama protokol

İŞLEM	MADDE	SÜRE
DEPARAFİNİZASYON	60°C etüvde	1 GECE
DEPARAFİNİZASYON	KSİLEN	1 SAAT
REHİDRATASYON	% 95 ALKOL	2 DAKİKA
	% 80 ALKOL	2 DAKİKA
	% 70 ALKOL	2 DAKİKA
	% 60 ALKOL	2 DAKİKA
YIKAMA	DİSTİLE SU	10 DAKİKA
	FOSFAT TAMPON SOLÜSYONU (PBS)	10 DAKİKA
HAVUZCUK OLUŞTURMA	DAKO PEN	
	TRİPSİN 37°C etüvde	10 DAKİKA
YIKAMA	PBS	3×5 DAKİKA
PEROKSİDAZ BLOK	% 3 HİDROJEN PEROKSİT	5 DAKİKA
YIKAMA	PBS	3×5 DAKİKA
BLOCKING	Non-immun blocking solution	1 SAAT
PRİMER ANTİKORLAR	anti-RANKL, anti-OPG, anti- PCNA	18 SAAT +4°C nemli
YIKAMA	PBS	3×5 DAKİKA
SEKONDER ANTİKOR	BIOTINLE İŞARETLİ SEKONDER ANTİKOR	30 DAKİKA
YIKAMA	PBS	3×5 DAKİKA
	STREPTAVİDİN	30 DAKİKA
YIKAMA	PBS	3×5 DAKİKA
BOYAMA	DAB (diamino benzidine)	10 DAKİKA
YIKAMA	DİSTİLE SU	3×5 DAKİKA
ARTALAN BOYAMA	MAYER'S HEMATOKSİLEN	3 DAKİKA
YIKAMA	DİSTİLE SU	10 DAKİKA
KAPAMA	KAPATMA MEDYUMU	
İNCELEME	OLYMPUS MARKA IŞIK MİKROSKOBU	

Çizelge 3.4 Avidin-biyotin peroksidaz yöntemi ile indirek-immunohistokimya boyama protokolü

3.5.4 İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmamızın verileri SPSS (ver: 14.0) programına yüklenerek verilerin değerlendirilmesinde Kruskal Wallis testi, Mann Whitney-U testi, Friedman testi ve Wilcoxon testi kullanılmıştır. Verilerimiz tablolarda aritmetik ortalama \pm standart sapma şeklinde belirtilip; yanılma düzeyi 0.05 olarak alınmıştır.

4. BULGULAR

4.1 Ratlar ve Kullanılan Apareyle İlgili Gözlemsel Bulgular

Çalışmada kullanılan apareyin tutuculuğunun ve doku uyumunun deney süresince istenen düzeyde olduğu gözlenmiştir. Ratların dişetlerinde kullanılan apareye bağlı eritem, ödem veya enflamasyon bulgularına rastlanmamıştır.

Deney süresince bir ratın kesici dişlerinden birisi kırılmış, bir diğer ratın ise bukkal mukozasında enflamatuvar reaksiyon gözlenmiştir. Bunların yerine aynı kilo ve yaşta, daha önce çalışılmamış iki rat çalışmaya dâhil edilmiştir.

İlk 24 saatte ratların gıda tüketiminde ve vücut ağırlıklarında bir azalma olmuş ancak daha sonra düzelmiştir.

Ortodontik diş hareketi miktarı, histolojik ve histometrik bulgular belirtilmeden önce çalışma gruplarının açılımı Çizelge 4.1’de hatırlatılmıştır.

GRUPLAR	N	Kuvvet	Lazer Uyg.	Deney Süresi
GRUP I				
Grup I A	4	20 g	-----	3 gün
Grup I B	7	20 g	-----	8 gün
GRUP II				
Grup II A	4	20 g	54 J	3 gün
Grup II B	7	20 g	54 J	8 gün
GRUP III				
Grup III A	4	20 g	15 J	3 gün
Grup III B	7	20 g	15 J	8 gün
GRUP IV	5	-----	-----	8 gün

Çizelge 4.1 Çalışma gruplarının tanımlanması

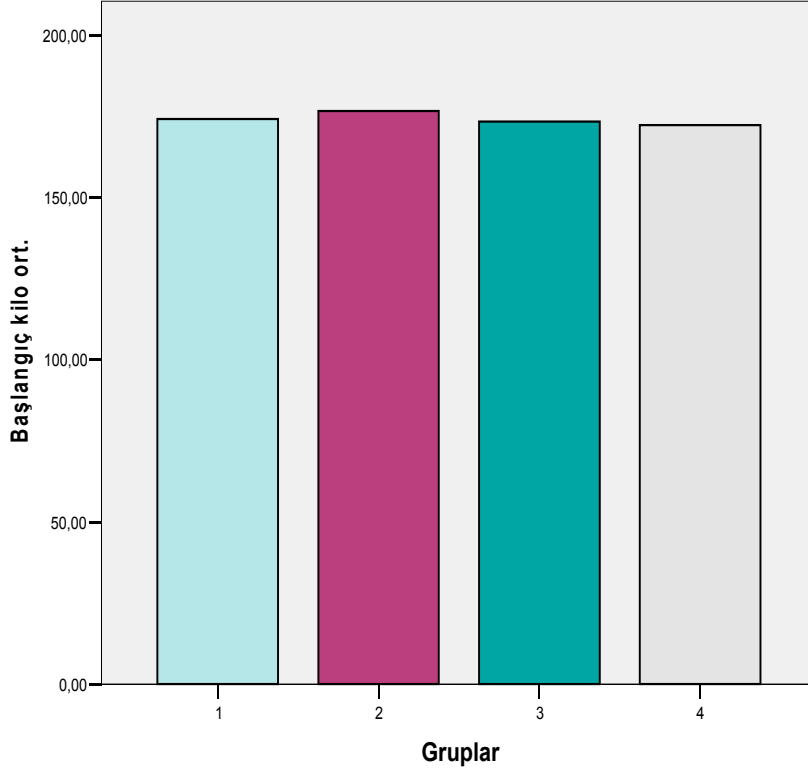
4.2 Ağırlık Ölçüleriyle İlgili Bulgular

Ratların deney başlangıcında, 2. ve 3. günlerinde ölçülen ağırlıklarının istatistiksel değerlendirilmesi yapılmış ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

Her üç gruptaki ratların 1., 2. ve 3. günlerdeki vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunurken ($p>0.05$), 2. günkü kilo değerleri arası farklılık önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Kilo değerleri ikişerli karşılaştırıldığında Grup I ile Grup II, Grup I ile Grup III arasında fark bulunurken ($p<0.05$); Grup II ile Grup III arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). Tüm gruplarda değişik günlerde elde edilen ağırlık değerleri grup içinde karşılaştırıldığında ölçümler arası farklılık önemli bulunmuştur. Ölçümler grup içinde ikişerli olarak karşılaştırıldığında tüm gruplar için 1. gün ile 2. gün, 1. gün ile 3. gün, 1. gün ile 4. gün değerleri arasındaki farklılık önemli bulunurken ($p<0.05$); 2. gün ile 3. gün, 2. gün ile 4. gün, 3. gün ile 4. gün değerleri arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$) (Çizelge 4.2).

GRUPLAR	1. Gün (g)	2. Gün (g)	3. Gün (g)	SONUÇLAR
GRUP I	174.18 ± 5.74	158.48 ± 6.94	161.00 ± 11.48	X ² : 19.10 p: 0.001
GRUP II	176.72 ± 7.76	167.54 ± 5.93	170.45 ± 8.43	X ² : 16.90 p: 0.001
GRUP III	173.45 ± 6.43	166.09 ± 7.32	167.54 ± 6.72	X ² : 13.91 p: 0.003
SONUÇLAR	KW: 1.89 p: 0.387 p > 0.05	KW: 8.69 p: 0.013 p < 0.05	KW: 4.20 p: 0.122 p > 0.05	

Çizelge 4.2 Çalışmaya dahil edilen ratların değişik zamanlarda ölçülen vücut ağırlıklarının istatistiksel karşılaştırması



Şekil 4.1 Deneklerin deney başlangıcındaki vücut ağırlıklarının grafiksel karşılaştırması

4.3 Ortodontik Diş Hareketinin Metrik Ölçüm Bulguları

Ölçüm sonucu elde edilen bulgular karşılaştırılmış ve aşağıda sıralanan sonuçlar elde edilmiştir.

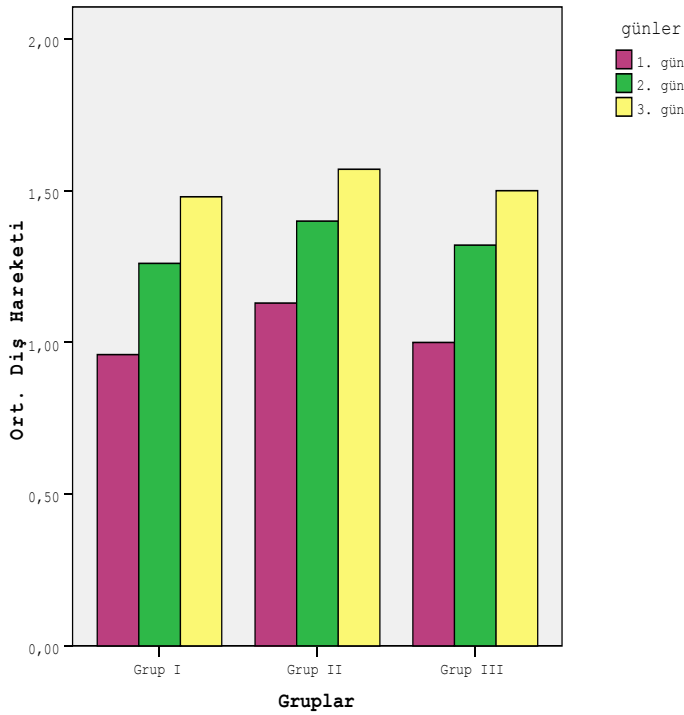
Her üç grup arasında 1., 2. ve 3. günlerdeki distalizasyon değerleri karşılaştırıldığında farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). Tüm gruplarda değişik günlerde elde edilen distalizasyon miktarları grup içinde ikişerli karşılaştırıldığında tüm ölçümler arası farklılık önemli bulunmuştur ($p< 0.05$) (Çizelge 4.3, Şekil 4.2).

Her üç grupta 4., 5., 6., 7. ve 8. günlerdeki distalizasyon değerleri karşılaştırıldığında farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). I. grupta ardışık günlerde elde edilen distalizasyon miktarları karşılaştırıldığında 4. ve 5. gün, 5. ve 6. gün, 6. ve 7. gün değerleri arası farklılık önemli bulunurken ($p< 0.05$); 7. ve 8. gün değerleri arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p> 0.05$). II. Grupta 4. ve 5. gün, 5. ve 6. gün, 7. ve 8. gün değerleri arası farklılık önemli bulunurken ($p< 0.05$); 6. ve 7. gün değerleri arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p> 0.05$). III. Grupta 4. ve 5. gün, 6. ve 7.

gün değerleri arası farklılık önemli bulunurken ($p < 0.05$); 5. ve 6. gün, 7. ve 8. gün değerleri arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p > 0.05$) (Çizelge 4.4, Şekil 4.3).

GRUPLAR	1.Gün Dist. (mm)	2. Gün Dist. (mm)	3. Gün Dist. (mm)	SONUÇLAR
GRUP I	0.96 ± 0.22	1.26 ± 0.36	1.48 ± 0.24	$X^2: 32.72$ $p: 0.001$
GRUP II	1.13 ± 0.26	1.40 ± 0.29	1.57 ± 0.29	$X^2: 33.00$ $p: 0.001$
GRUP III	1.00 ± 0.21	1.32 ± 0.19	1.50 ± 0.14	$X^2: 32.72$ $p: 0.001$
SONUÇLAR	KW: 2.10 $p: 0.349$ $p > 0.05$	KW: 0.51 $p: 0.772$ $p > 0.05$	KW: 0.38 $p: 0.827$ $p > 0.05$	

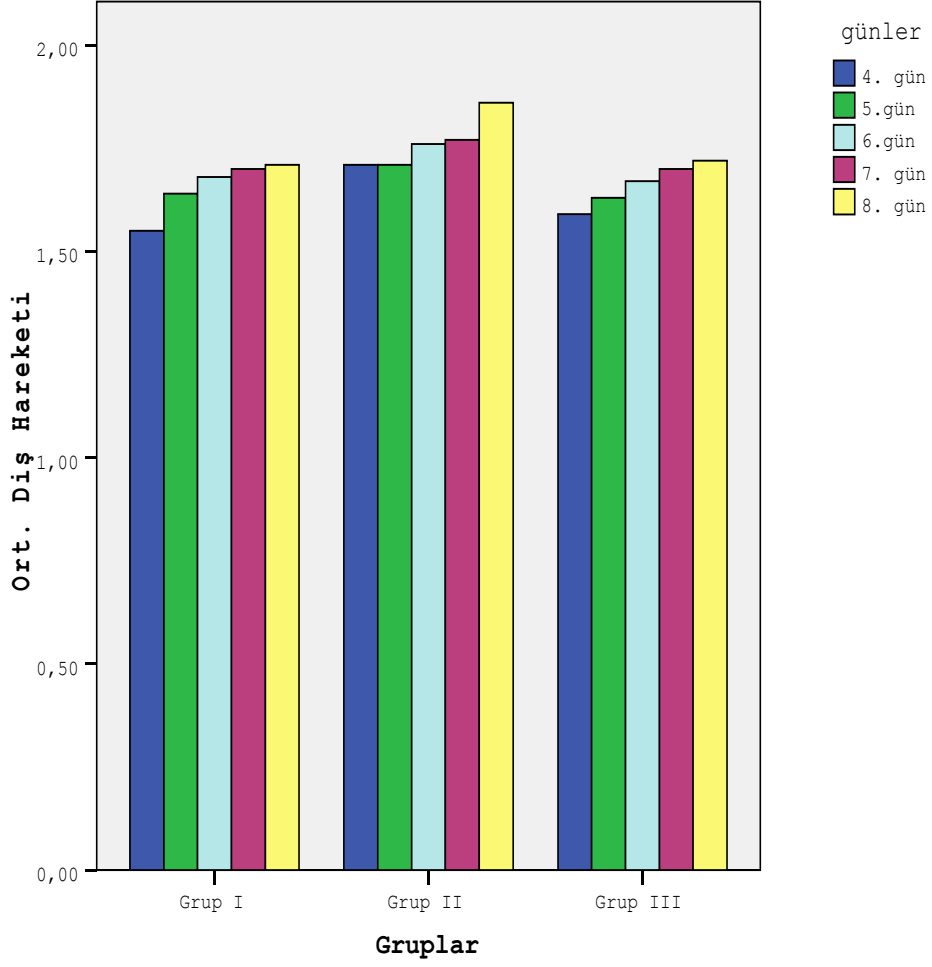
Çizelge 4.3 1., 2. ve 3. günlerde elde edilen diş hareketi miktarlarının grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması (A ve B alt grupları birarada)



Şekil 4.2 Tüm gruplara ait, deney sürecinin ilk 3 gününde ölçülen diş hareketi miktarlarının grafiksel karşılaştırması

Çizelge 4.4 4., 5., 6., 7. ve 8. günlerde elde edilen diş hareketi miktarlarının grup içi ve gruplar arası karşılaştırması

GRUPLAR (8 günlük)	4. Gün Dist. (mm)	5. Gün Dist. (mm)	6. Gün Dist. (mm)	7. Gün Dist. (mm)	8. Gün Dist. (mm)	SONUÇLAR
GRUP I-B	1.55 ± 0.23	1.64 ± 0.17	1.68 ± 0.16	1.70 ± 0.16	1.71 ± 0.15	X ² : 48.73 p: 0.001
GRUP II-B	1.71 ± 0.29	1.71 ± 0.29	1.76 ± 0.34	1.77 ± 0.34	1.86 ± 0.51	X ² : 48.73 p: 0.001
GRUP III-B	1.59 ± 0.16	1.63 ± 0.10	1.67 ± 0.34	1.70 ± 0.14	1.72 ± 0.17	X ² : 48.51 p: 0.001
SONUÇLAR	KW: 2.19 p: 0.334 p > 0.05	KW: 1.27 p: 0.528 p > 0.05	KW: 2.70 p: 0.259 p > 0.05	KW: 2.17 p: 0.337 p > 0.05	KW: 2.83 p: 0.242 p > 0.05	



Şekil 4.3 B gruplarına ait deney süresince ölçülen diş hareketi miktarlarının grafiksel karşılaştırılması

4.4 Histolojik ve İmmunohistokimyasal Bulgular

4.4.1 1. Alt Gruplara (A) Ait Bulgular

4.4.1.1 Grup I - A

Aparey uygulanarak ortodontik diş hareketi sağlanan bu gruptaki deneklerden 3 günlük deney süresinin sonunda elde edilen, H.E. ile boyanan preparatların değerlendirilmesinde, periodontal ligamentte yer alan kollajen liflerin devamlılığında bozulmalar ve yer yer ayrılmalar olduğu gözlemlendi. Periodontal ligamente komşu alveol kemiği boyunca sıralanmış kontrol grubuna göre artmış sayıda, tırtıklı kenarları olan büyük, çok çekirdekli osteoklastlar ve kemikte rezorbsiyon, kan damarlarında genişlemeler saptandı (Şekil 4.4 A-B, Çizelge 4.5).

Bu gruptan elde edilen, anti-RANKL primer antikoru ile boyanan mikrograflarda, periodontal ligamentte bulunan fibroblastlarda (+/++), oval aktif osteoblast ve sayıca artmış osteoklastlarda (++) immunoreaktivite izlendi (Şekil 4.5 A-B, Çizelge 4.7).

Anti-OPG primer antikoru ile boyanan mikrograflarda, periodontal ligamentte bulunan fibroblastlarda (+), oval aktif osteoblast ve sayıca artmış osteoklastlarda (+/++) immunoreaktivite izlendi (Şekil 4.6 A-B, Çizelge 4.7).

Anti-PCNA primer antikoru ile boyanan mikrograflarda, periodontal ligamentte yer alan fibroblastlar arasında, periosta yakın osteoblastlar ve osteoklastlar arasında kontrol grubuna göre artmış hafif artmış (+) immunoreaktivite izlendi (Şekil 4.7 A-B, Çizelge 4.7).

4.4.1.2 Grup II – A

Aparey ve 54 J lazer uygulanan bu gruptaki deneklerden 3 günlük deney süresinin sonunda elde edilen, H.E. ile boyanan mikrograflarda, sadece aparey uygulanan gruba göre daha fazla olmak üzere, periodontal ligamenti oluşturan kollajen liflerin devamlılığında bozulmalar, ayrılmalar, kan damarlarında sayıca artma ve genişleme, staz ve enflamasyonda artış izlendi. Periodontal ligamente komşu alveol kemiği boyunca sıralanmış kontrol ve aparey uygulama gruplarına göre artmış sayıda, geniş Howship lakunalarında yerleşmiş, büyük aktif, çok çekirdekli osteoklastlar ve kemikte rezorbsiyon gözlemlendi (Şekil 4.8 A-B, Çizelge 4.5).

Bu gruptan elde edilen, anti-RANKL primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (+/++), oval aktif

osteoblastlarda (+++) ve sayıca artmış aktif osteoklastlarda kontrol ve aparey uygulama gruplarına göre artmış (+++) immunoreaktivite gözlemlendi (Şekil 4.9 A-B, Çizelge 4.7).

Anti-OPG primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (+), oval aktif osteoblast ve sayıca artmış osteoklastlarda (++) immunoreaktivite gözlemlendi (Şekil 4.10 A-B, Çizelge 4.7).

Anti-PCNA primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periosta yakın osteoblastlarda (+/++) immunoreaktivite izlenirken, aktif osteoklastlarda (+++) ve periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (++) PCNA immunoreaktivitesi izlendi (Şekil 4.11 A-B, Çizelge 4.7).

4.4.1.3 Grup III – A

Aparey ve 15 J lazer uygulanan bu gruptaki deneklerden 3 günlük deney süresinin sonunda elde edilen, H.E. ile boyanan mikrograflarda, kontrol grubuna göre daha fazla, 54 J lazer uygulanan gruba göre daha az olmak üzere, periodontal ligamenti oluşturan kollajen liflerin devamlılığında bozulmalar, kan damarlarında genişlemeler, staz ve enflamasyon izlendi. Periodontal ligamente komşu alveol kemiği boyunca sıralanmış; kontrol grubu ve 1. gruba göre artmış; 2. gruba göre daha az sayıda, geniş Howship lakunalarında yerleşmiş; büyük, aktif, çok çekirdekli osteoklastlar ve kemikte rezorbsiyon gözlemlendi (Şekil 4.12 A-B, Çizelge 4.5).

Bu gruptan elde edilen, anti-RANKL primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (+/+++), oval aktif osteoblastlarda (++) ve sayıca artmış aktif osteoklastlarda (++) immunoreaktivite gözlemlendi (Şekil 4.13 A-B, Çizelge 4.7).

Anti-OPG primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (+), oval aktif osteoblastlarda (++) ve sayıca artmış osteoklastlarda (++) immunoreaktivite gözlemlendi (Şekil 4.14 A-B, Çizelge 4.7).

Anti-PCNA primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periosta yakın osteoblastlarda (+/++) immunoreaktivite izlenirken, aktif osteoklastlarda (++) ve periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (++) PCNA immunoreaktivitesi izlendi (Şekil 4.15 A-B, Çizelge 4.7).

4.4.2 2. Alt Gruplara (B) Ait Bulgular

4.4.2.1 Grup I – B

Aparey uygulanarak ortodontik diş hareketi sağlanan bu gruptaki deneklerden 8 günlük deney süresinin sonunda elde edilen, H.E. ile boyanan kesitlerin değerlendirilmesinde, periodontal ligamentte fibroblastların ve kollajen sentezinin artmış olduğu, enflamasyonun ve kan damarlarının orta derecede artmış olduğu; alveolar lakunada kemik rezorpsiyonunun varlığı ve yeni kemikleşmenin düzensiz olarak bulunduğu izlendi. Periodontal ligamente komşu kemik alanında bazofilik sitoplazmalı oval aktif osteoblastlar izlendi ve bu alanda yeni kemik yapımının belirginleştiği izlendi (Şekil 4.16 A-B, Çizelge 4.6).

Bu gruptan elde edilen, anti-RANKL primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (++), yeni kemikleşme alanındaki oval aktif osteoblastlarda ve osteoklastlarda (++/+++) immunoreaktivite gözlemlendi (Şekil 4.17 A-B, Çizelge 4.7).

Anti-OPG primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (+/+), oval aktif osteoblastlarda (++) ve osteoklastlarda (+/++) immunoreaktivite gözlemlendi (Şekil 4.18 A-B, Çizelge 4.7).

Anti-PCNA primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamente komşu, periostun altında yer alan osteoblastlarda (++) immunoreaktivite izlenirken, aktif osteoklastlarda (++) ve periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (++) PCNA immunoreaktivitesi izlendi (Şekil 4.19 A-B, Çizelge 4.7).

4.4.2.2 Grup II – B

Aparey ve 54 J lazer uygulanan bu gruptaki deneklerden 8 günlük deney süresinin sonunda elde edilen, H.E. ile boyanan kesitlerin değerlendirilmesinde, periodontal ligamentte, kemiğe komşu alanda kan damarlarının ve genişliğinin, enflamasyonun ve yeni oluşan kemik dokunun 1. gruba göre artmış olduğu izlendi. Periodontal ligamente komşu kemik alanında çok sayıda aktif osteoklastlar ve bu alanda yeni kemik yapımında yer alan bazofilik sitoplazmalı oval aktif osteoblastlar, periodontal ligamentte fibroblastların ve kollajen sentezinin artmış olduğu izlendi (Şekil 4.20 A-B, Çizelge 4.6)

Bu gruptan elde edilen, anti-RANKL primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (++) , yeni kemikleşme alanındaki oval

aktif osteoblastlarda ve osteoklastlarda (+++/++++) immunoreaktivite gözlendi (Şekil 4.21 A-B, Çizelge 4.7).

Anti-OPG primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (++) , oval aktif osteoblastlarda (++) ve osteoklastlarda (+/++) immunoreaktivite gözlendi (Şekil 4.22 A-B, Çizelge 4.7).

Anti-PCNA primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamente komşu, kemik matrikste bulunan oval, aktif osteoblastlarda (+++) immunoreaktivite izlenirken, aktif osteoklastlarda (++) ve periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (++) immunoreaktivite izlendi (Şekil 4.23 A-B, Çizelge 4.7).

4.4.2.3 Grup III – B

Aparey ve 15 J lazer uygulanan bu gruptaki deneklerden 8 günlük deney süresinin sonunda elde edilen, H.E. ile boyanan kesitlerin değerlendirilmesinde, periodontal ligamente komşu kemik alanında yeni oluşan kemik dokusunda yer alan, bazofilik sitoplazmalı oval aktif osteoblastlar ve aktif osteoklastlar izlendi. Enflamasyon ve kan damarlarının genişliğinin, periodontal ligamentte fibroblastların ve kollajen sentezinin orta derecede artmış olduğu gözlendi (Şekil 4.24 A-D, Çizelge 4.6).

Bu gruptan elde edilen, anti-RANKL primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (++) , yeni kemikleşme alanındaki oval aktif osteoblastlarda ve osteoklastlarda (+++) immunoreaktivite izlendi (Şekil 4.25 A-B, Çizelge 4.7).

Anti-OPG primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda ve oval aktif osteoblastlarda (++) ve osteoklastlarda (+/++) immunoreaktivite izlendi (Şekil 4.26 A-B, Çizelge 4.7).

Anti-PCNA primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamente komşu kemik matrikste bulunan oval, aktif osteoblastlarda (+++) immunoreaktivite izlenirken, aktif osteoklastlarda (++) ve periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (++) PCNA immunoreaktivitesi izlendi (Şekil 4.27 A-B, Çizelge 4.7).

4.4.3 Kontrol Grubuna Ait Bulgular

Aparey uygulanmamış kontrol grubundan elde edilen Hematoksilen-Eosin ile boyanmış kesitlerde, sağ üst kesici diş ile etrafında yer alan periodontal ligament ve alveolar kemiğin normal histolojik yapıda olduğu izlendi. Periodontal ligamentin sıkı bağ dokusu yapısında olup, başlıca aynı yönde yerleşmiş fibroblastlar ve kollajen liflerden oluştuğu ve az sayıda kan damarı içerdiği izlendi. Periodontal ligamentin normal genişlikte olup, periodontal ligamente komşu alveolar kemikte periosta yakın yerleşmiş oval, bazofilik sitoplâzmalı osteoblastlar ve az sayıda Howship lakunalarında yerleşmiş çok çekirdekli asidofilik sitoplâzmalı osteoklastlar görüldü. Alveol kemik içinde osteositler kemik matriks içinde normal yapılarında gözlendi (Şekil 4.28 A-C, Çizelge 4.5).

Kontrol grubundan elde edilen kesitlerin anti-RANKL primer antikoru ile indirek immunohistokimyasal yöntemle değerlendirilmesinde, periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (+), oval aktif osteoblast ve osteoklastlarda +/++ immunoreaktivite izlendi (Şekil 4.29 A-B, Çizelge 4.7).

Kontrol grubundan elde edilen kesitlerin anti-OPG primer antikoru ile indirek immunohistokimyasal yöntemle değerlendirilmesinde, periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (-/+), oval aktif osteoblast ve osteoklastlarda (+) immunoreaktivite izlendi (Şekil 4.30 A-B, Çizelge 4.7).

Kontrol grubundan elde edilen kesitlerin anti-PCNA primer antikoru ile indirek immunohistokimyasal yöntemle değerlendirilmesinde, çoğalan hücrelerin oldukça az sayıda olduğu, periodontal ligamentte PCNA ile pozitif boyanan birkaç çoğalan hücre gözlendi (Şekil 4.31 A-B, Çizelge 4.7).

GRUPLAR	Howship lakunasında Osteoklast sayısı Min-max	Ostoblast Sayısı 1-10 :1 10-20 :2 >20 :3	Basınç alanında kapiller sayısı Min- max	Gerilim alanında kapiller sayısı Min- max	Enflamatuvar hücre + : az ++ : orta +++ : artmış
	KONTROL	0-2	1	5-6	4-6
1	1	1	4	5	+
2	2	1	6	4	+
3	1	1	5	6	+
4	0	1	5	4	+
5	1	1	6	5	+
GRUP I-A	5-7	1	7-10	6-7	++
1	5	1	7	6	++
2	7	1	7	6	++
3	6	1	9	7	++
4	5	2	10	7	++
GRUP II-A	12-15	1	24-30	13-15	+++
1	12	1	26	13	+++
2	14	1	28	14	+++
3	15	1	30	15	+++
4	12	2	28	15	+++
GRUP III-A	7-12	1-2	18-25	7-8	++
1	8	1	18	7	++
2	7	1	20	8	++
3	10	2	19	7	++
4	12	2	25	8	++

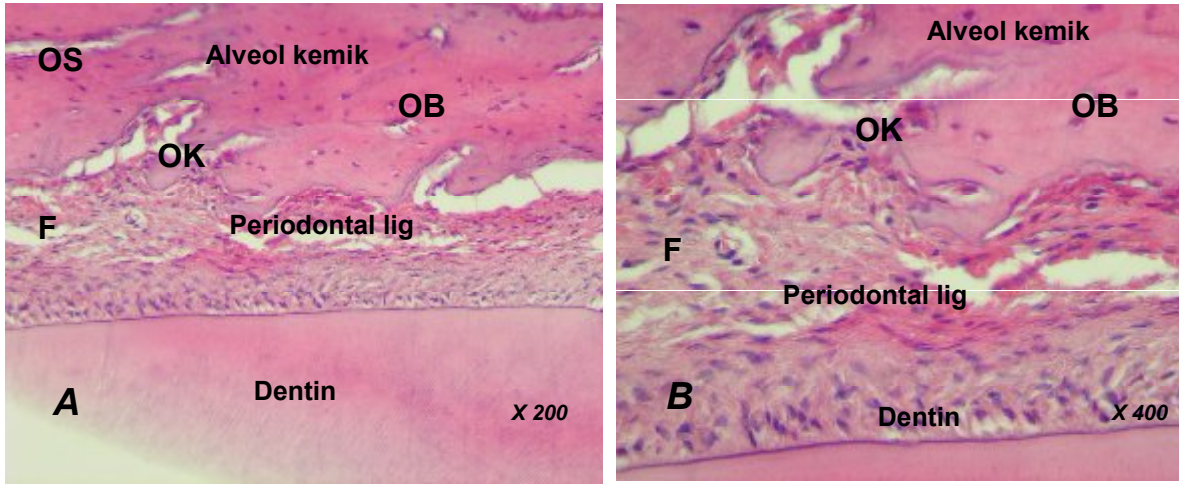
Çizelge 4.5 Kontrol grubuna ve 1. alt gruplara ait histolojik değerlendirme sonuçları

GRUPLAR	Howship lakunasında Osteoklast sayısı Min-max	Osteoblast Sayısı 1-10 :1 10-20 :2 >20 :3	Basınç alanında kapiller sayısı Min- max	Gerilim alanında kapiller sayısı Min- max	Enflamatuvar hücre + : az ++ : orta +++ : artmış	Yeni kemik oluşumu -/+ : az ++ : orta +++ artmış
GRUP I-B	6-9	2	12-14	8-12	+ / ++	+
1	7	2	12	8	+ / ++	+
2	7	2	12	10	+ / ++	+
3	8	2	13	9	+ / ++	+
4	9	2	14	12	+ / ++	+
5	6	2	12	12	+ / ++	+
6	8	2	14	9	+ / ++	+
GRUP II-B	14-18	3	17-23	10-14	++ / +++	+++
1	14	3	17	10	++ / +++	+++
2	15	3	22	14	++ / +++	+++
3	18	3	19	12	++ / +++	+++
4	18	3	21	10	++ / +++	+++
5	17	3	23	12	++ / +++	+++
6	17	2	20	11	++ / +++	+++
GRUP III- B	8-13	2-3	15-18	9-10	++	++
1	8	2	15	9	++	++
2	12	2	16	9	++	++
3	13	3	18	9	++	++
4	10	3	16	10	++	++
5	8	2	16	10	++	++
6	10	3	18	10	++	++
7	8	2	15	10	++	++

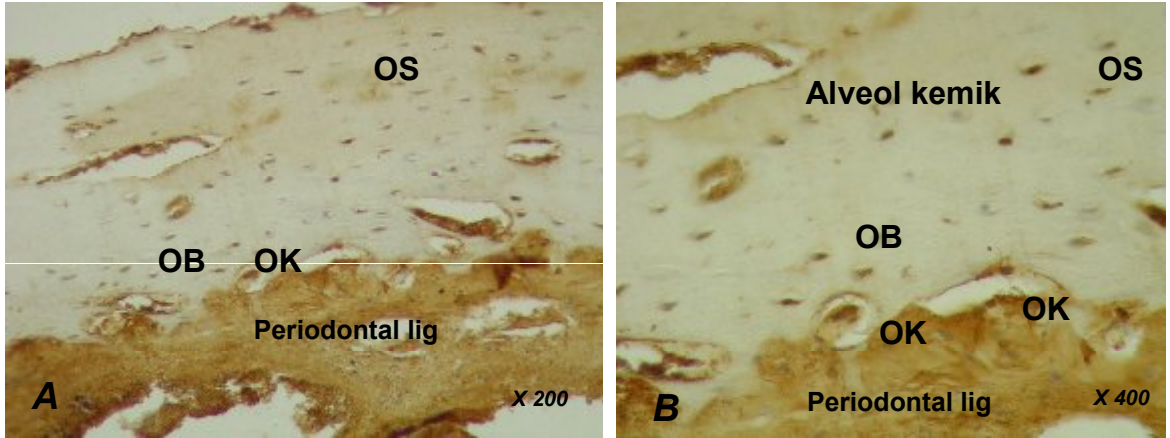
Çizelge 4.6 2. alt gruplara ait histolojik değerlendirme sonuçları

		OB	OK	F
KONTROL				
GRUBU	RANKL	+ / +++	+ / +++	+
	OPG	+	+	- / +
	PCNA	-	-	Az
OB OK F				
GRUP I - A	RANKL	++	++	+ / +++
	OPG	+ / +++	+ / +++	+
	PCNA	+	+	+
OB OK F				
GRUP II - A	RANKL	+++	+++	+ / +++
	OPG	++	++	+
	PCNA	+ / +++	+++	++
OB OK F				
GRUP III - A	RANKL	++ / +++	++ / +++	+ / +++
	OPG	++	+ / +++	+
	PCNA	+ / +++	++	+ / +++
OB OK F				
GRUP I - B	RANKL	++ / +++	++ / +++	++
	OPG	++	+ / +++	+ / +++
	PCNA	++	++	++
OB OK F				
GRUP II - B	RANKL	+++ / ++++	+++ / ++++	++
	OPG	++	++	+ / +++
	PCNA	+++	++	++
OB OK F				
GRUP III - B	RANKL	+++	+++	++
	OPG	++	++	+ / +++
	PCNA	++ / +++	++ / +++	++

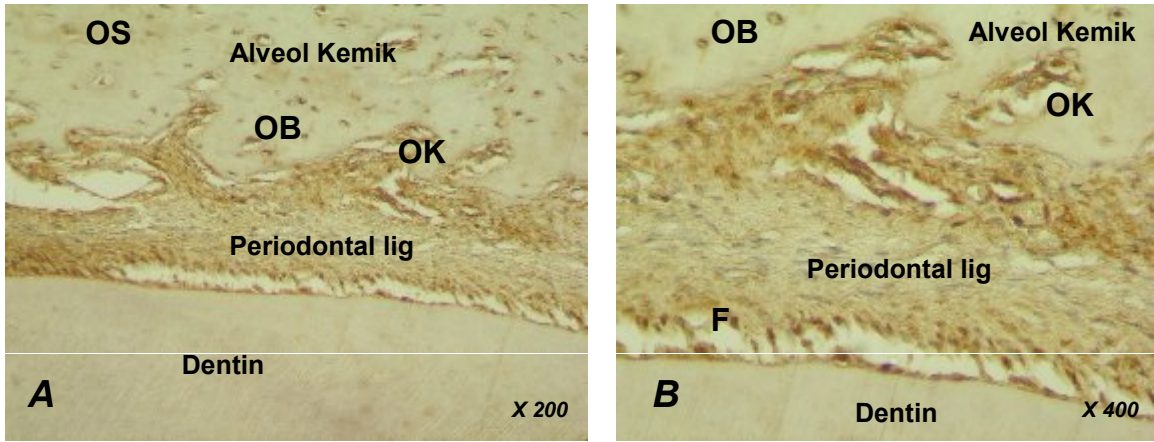
Çizelge 4.7 Gruplara ait anti-RANKL, anti-OPG ve anti PCNA primer antikolları ile yapılan immunoreaktivite sonuçları (OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast; - / + : çok hafif immunoreaktivite, + : hafif immunoreaktivite, ++ : orta şiddette immunoreaktivite, +++ : şiddetli immunoreaktivite, ++++ : çok şiddetli immunoreaktivite)



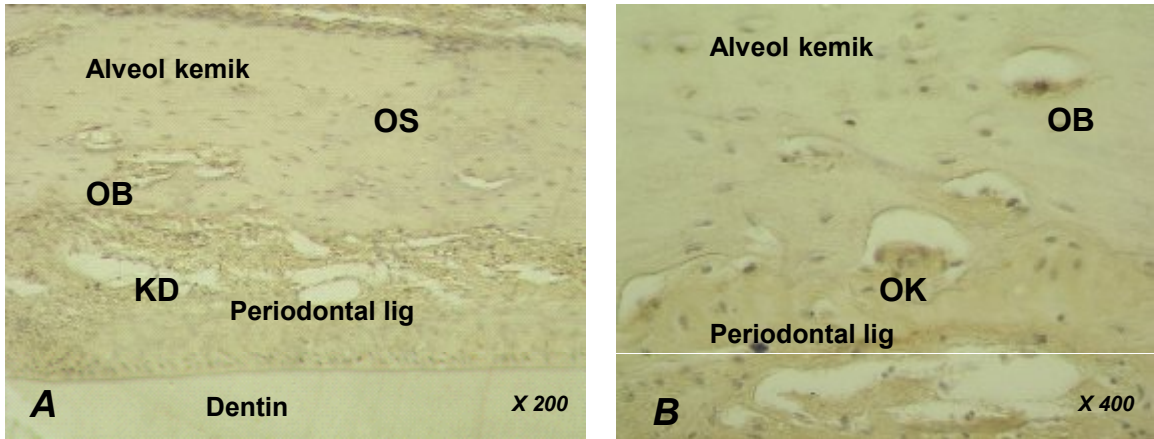
Şekil 4.4 Grup I-A'ya ait H.E. ile boyanan mikrograflarda, periodontal ligamenti oluşturan kollajen liflerin devamlılığında bozulmalar; periodontal ligamente komşu alveol kemiği boyunca sıralanmış kontrol grubuna göre artmış sayıda, tırtıklı kenarları olan büyük, çok çekirdekli osteoklastlar ve kemikte rezorpsiyon izlenmektedir (OS: osteosit, OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast) (A: $\times 200$ B: $\times 400$).



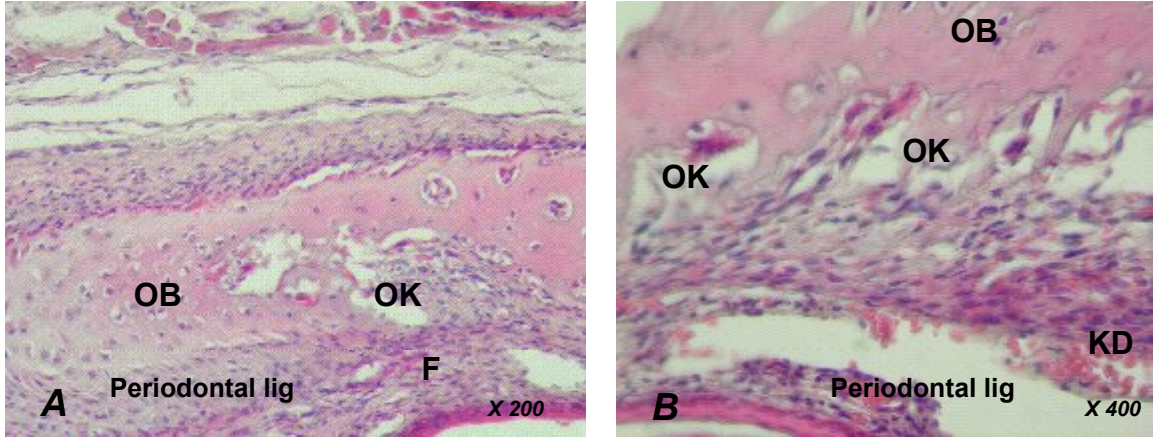
Şekil 4.5 Grup I-A'ya ait, anti-RANKL primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamente yer alan fibroblastlarda (+/+), oval aktif osteoblast ve artmış osteoklastlarda (++) immunoreaktivite izlenmektedir (OS: osteosit, OB: osteoblast, OK: osteoklast) (A: $\times 200$ B: $\times 400$).



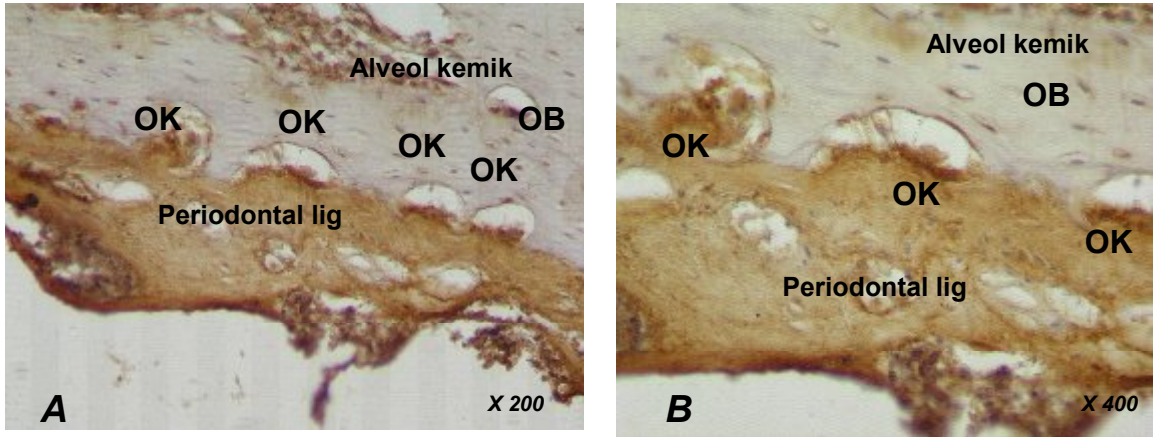
Şekil 4.6 Grup I-A'ya ait, anti-OPG primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (+), oval aktif osteoblast ve sayıca artmış osteoklastlarda (+/++) immunoreaktivite izlenmektedir (OS: osteosit, OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast) (A: $\times 200$ B: $\times 400$).



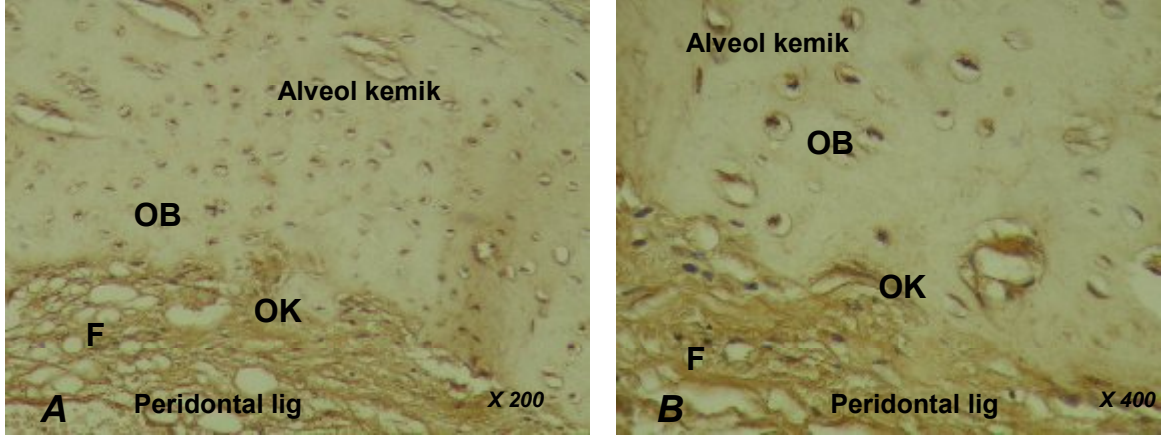
Şekil 4.7 Grup I-A'ya ait, anti-PCNA primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periosta yakın osteoblastlar, osteoklastlar ve periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (+) immunoreaktivite izlenmektedir (OS: osteosit, OB: osteoblast, OK: osteoklast, KD: kapiller damar) (A: $\times 200$ B: $\times 400$).



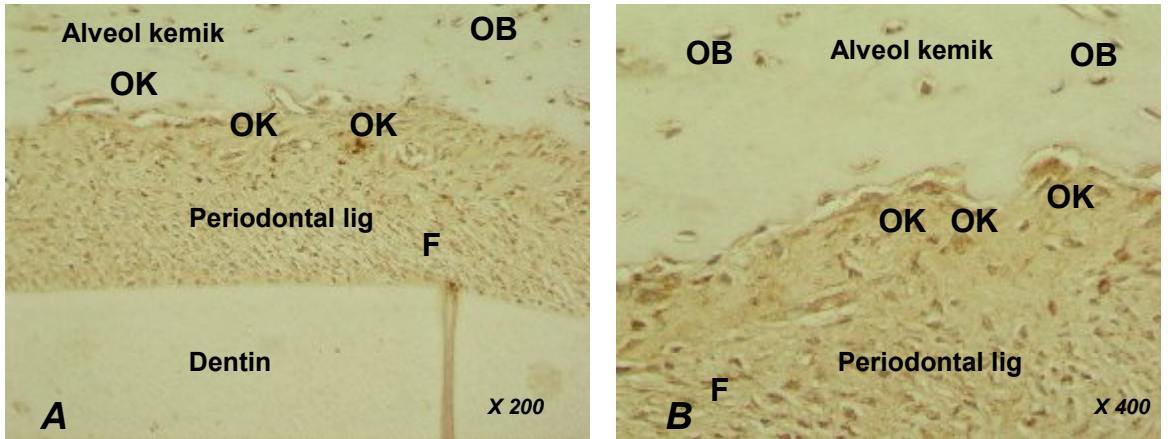
Şekil 4.8 Grup II-A'ya ait, H.E. ile boyanan mikrograflarda, kollajen liflerin devamlılığında bozulmalar, kan damarlarında genişlemeler, enflamasyon ve staz izlenmektedir. Periodontal ligamente komşu alveol kemiği boyunca sıralanmış kontrol grubu ve Grup I-A'ya göre oldukça artmış sayıda, geniş Howship lakunalarında yerleşmiş, aktif, büyük, çok çekirdekli osteoklastlar ve kemikte rezorbsiyon gözlenmektedir (OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast, KD: kapiller damar) (A: $\times 200$ B: $\times 400$).



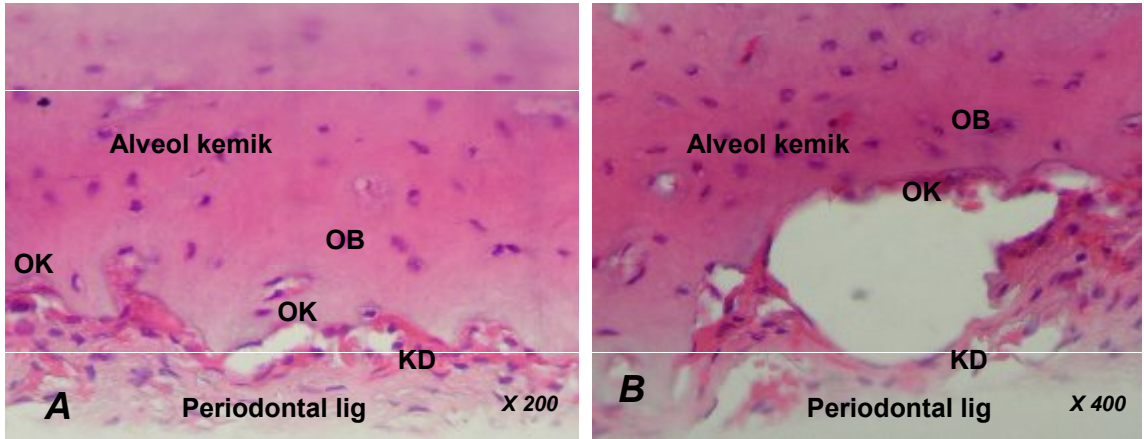
Şekil 4.9 Grup II-A'ya ait, anti-RANKL primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamente yer alan fibroblastlarda (+/+), oval aktif osteoblastlarda (+++) ve sayıca artmış aktif osteoklastlarda kontrol ve aparey uygulama grupların göre belirgin derecede artmış (+++) immunoreaktivite gözlemlendi (OB: osteoblast, OK: osteoklast) (A: $\times 200$ B: $\times 400$).



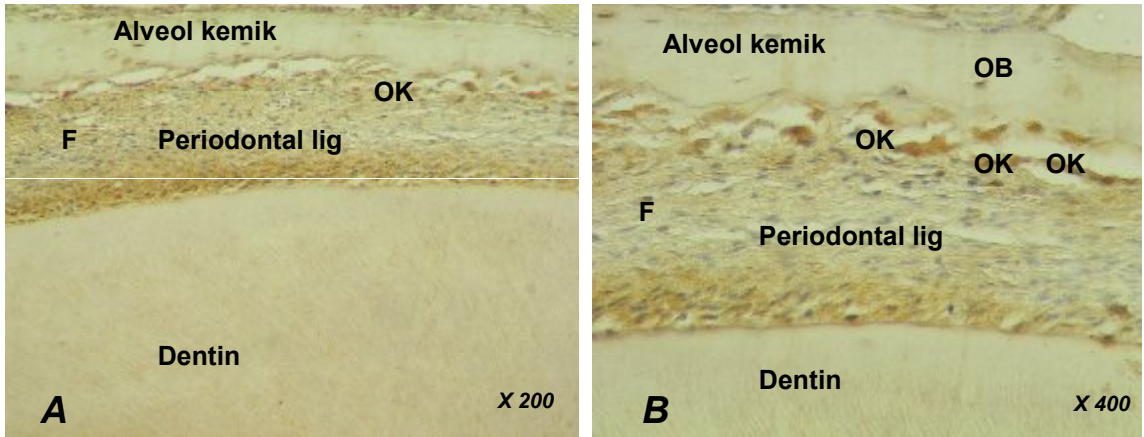
Şekil 4.10 Grup II-A'ya ait, anti-OPG primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamette yer alan fibroblastlarda (+), oval aktif osteoblast ve artmış osteoklastlarda (++) immunoreaktivite gözlenirken, osteositlerde (+) immunoreaktivite izlenmektedir (OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast) (A: ×200 B: ×400).



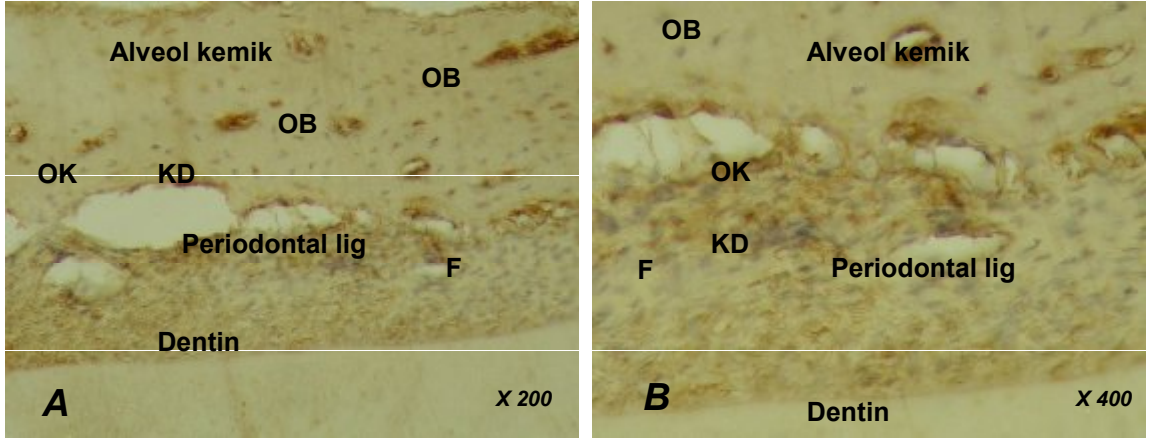
Şekil 4.11 Grup II-A'ya ait, anti-PCNA primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periosta yakın osteoblastlarda (+/++) immunoreaktivite izlenirken, aktif osteoklastlarda (+++) ve periodontal ligamette yer alan fibroblastlarda (++) immunoreaktivite izlenmektedir (OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast) (A: ×200 B: ×400).



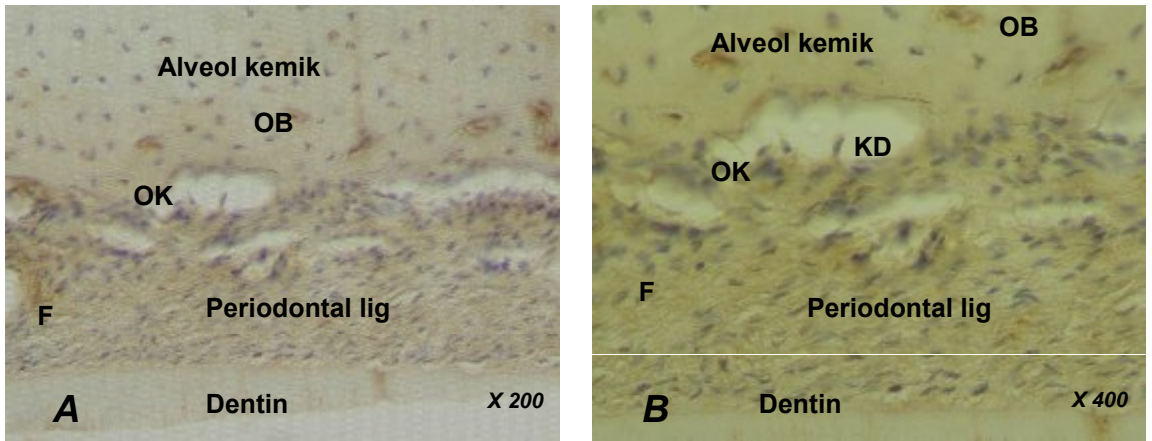
Şekil 4.12 Grup III-A'ya ait, H.E. ile boyanan mikrograflarda, Grup II-A'ya göre daha az olmak üzere, periodontal ligamenti oluşturan kollajen liflerin devamlılığında bozulmalar, kan damarlarında genişlemeler, staz ve enflamasyon izlendi. Periodontal ligamente komşu alveol kemiği boyunca sıralanmış kontrol grubu ve Grup I-A'ya göre artmış, Grup II-A'ya göre daha az sayıda, geniş Howship lakunalarında yerleşmiş; büyük, aktif, çok çekirdekli osteoklastlar ve kemikte rezorbsiyon gözlenmektedir (OB: osteoblast, OK: osteoklast, KD: kapiller damar) (A: $\times 200$ B: $\times 400$).



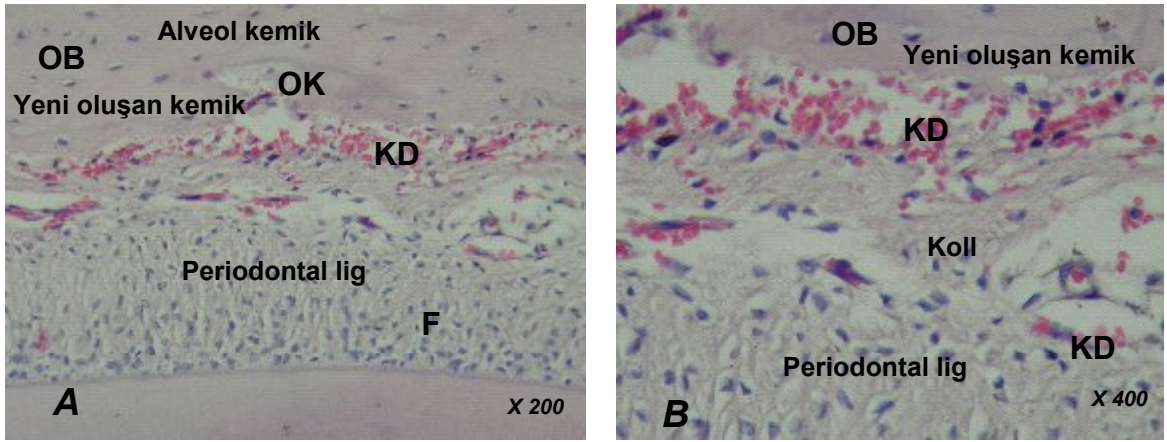
Şekil 4.13 Grup III-A'ya ait, anti-RANKL primer antikoruna ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamente yer alan fibroblastlarda (+/+), oval aktif osteoblastlarda (++) ve sayıca artmış aktif osteoklastlarda (++) immunoreaktivite gözlenmektedir (OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast) (A: $\times 200$ B: $\times 400$).



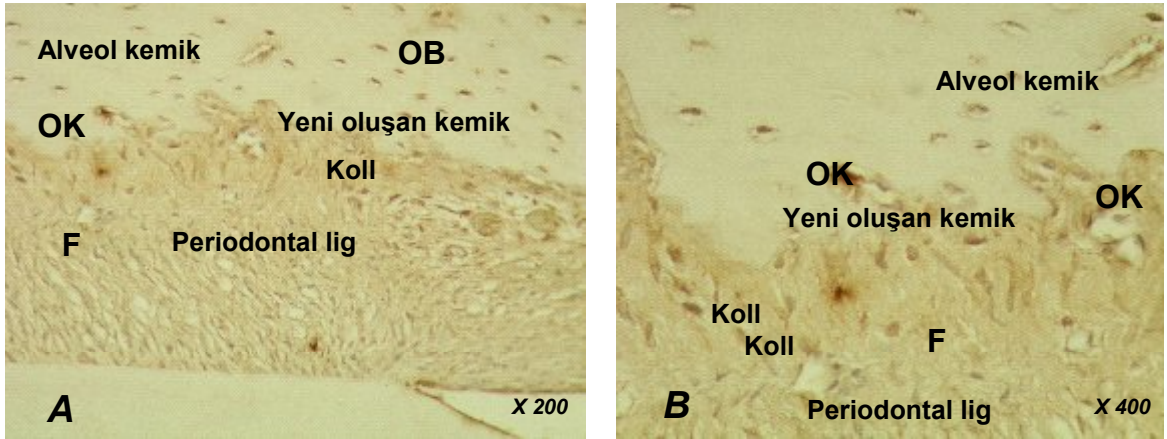
Şekil 4.14 Grup III-A'ya ait, anti-OPG primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamette yer alan fibroblastlarda (+), oval aktif osteoblastlarda (++) ve artmış osteoklastlarda (+/++) immunoreaktivite gözlenmektedir (OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast, KD: kapiller damar) (A: $\times 200$ B: $\times 400$).



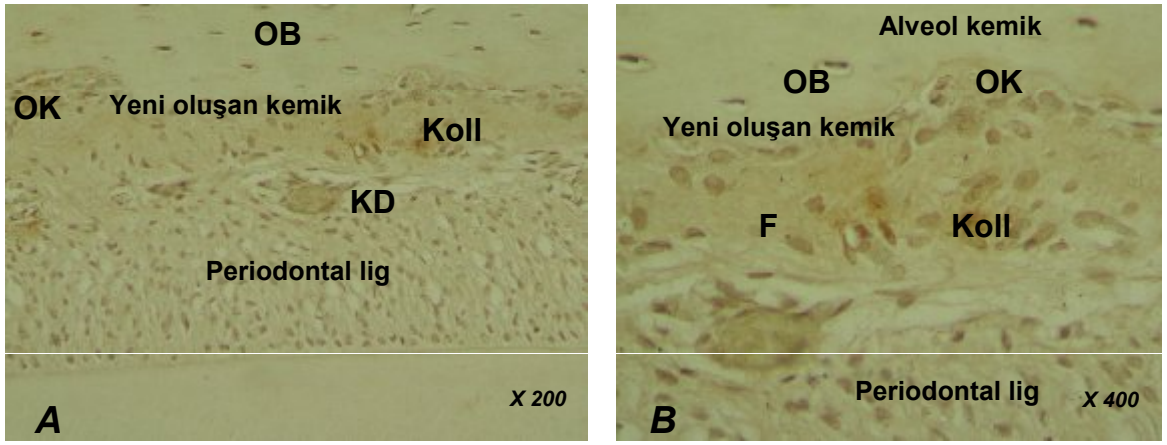
Şekil 4.15 Grup III-A'ya ait, anti-PCNA primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periosta yakın osteoblastlarda (+/++) immunoreaktivite izlenirken, aktif osteoklastlarda (++) ve periodontal ligamette yer alan fibroblastlarda (+/++) immunoreaktivite izlenmektedir (OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast, KD: kapiller damar) (A: $\times 200$ B: $\times 400$).



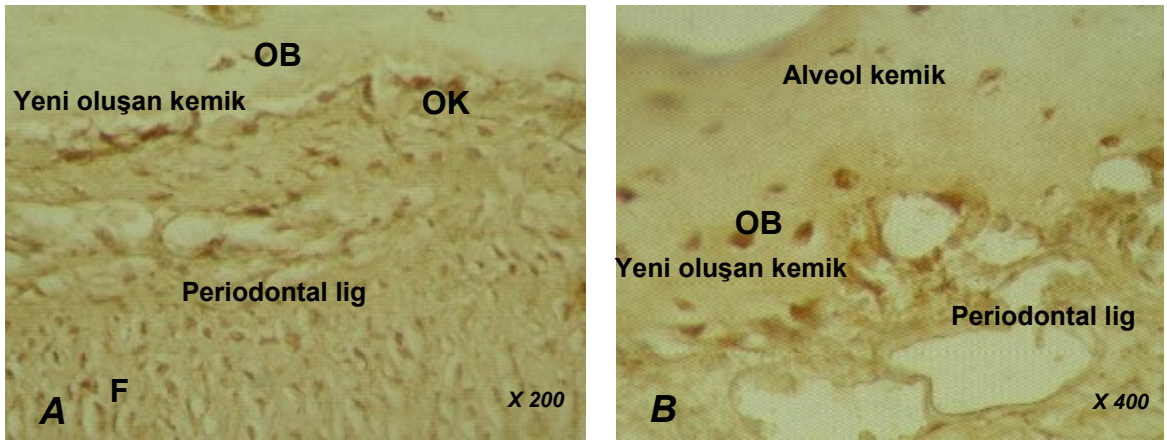
Şekil 4.16 Grup I-B'ye ait, H.E. ile boyanan kesitlerin değerlendirilmesinde periodontal ligamentte fibroblastların ve kollajen sentezinin artmış olduğu, enflamasyonun ve kan damarlarının orta derecede artmış olduğu, alveolar lakunada kemik rezorpsiyonunun varlığı ve yeni kemikleşmenin düzensiz olarak bulunduğu izlenmektedir. Periodontal ligamente komşu kemik alanında bazofilik sitoplazmalı oval aktif osteoblastlar ve bu alanda yeni kemik yapımının belirginleştiği izlenmektedir (OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast, KD: kapiller damar) (A: ×200 B: ×400).



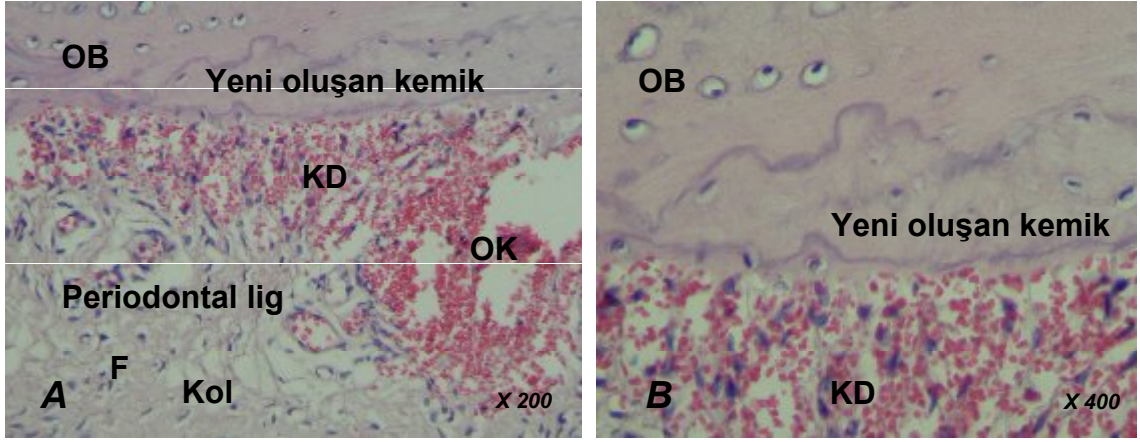
Şekil 4.17 Grup I-B'ye ait, anti-RANKL primer antikoruna boyanan mikrograflarda periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (++) , yeni kemikleşme alanındaki oval aktif osteoblastlarda ve osteoklastlarda (++/+++) immunoreaktivite izlenmektedir (OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast, Koll: kollajen lifler) (A: ×200 B: ×400).



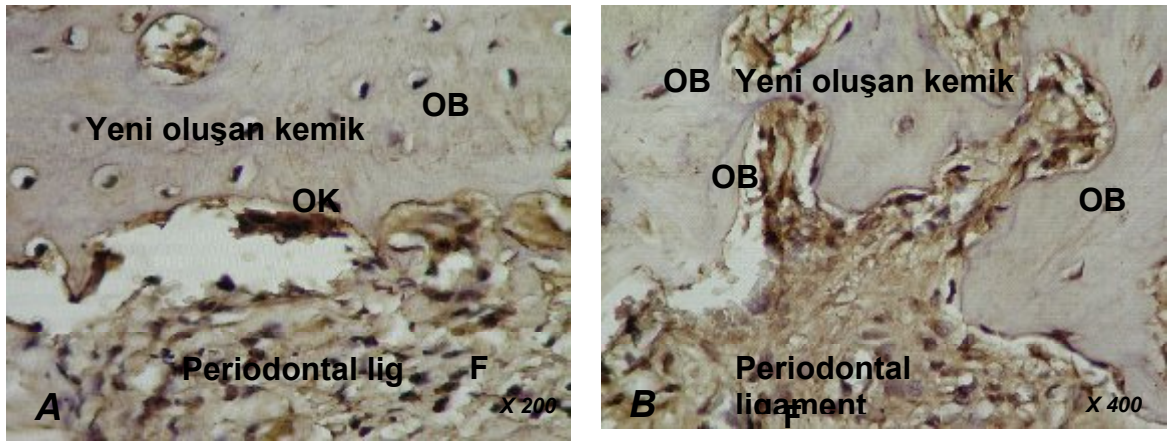
Şekil 4.18 Grup I-B'ye ait, anti-OPG primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (+/+), oval aktif osteoblastlarda (++) ve osteoklastlarda (+/+) immunoreaktivite izlenmektedir (OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast, KD: kapiller damar, Koll: kollajen lifler) (A: $\times 200$ B: $\times 400$).



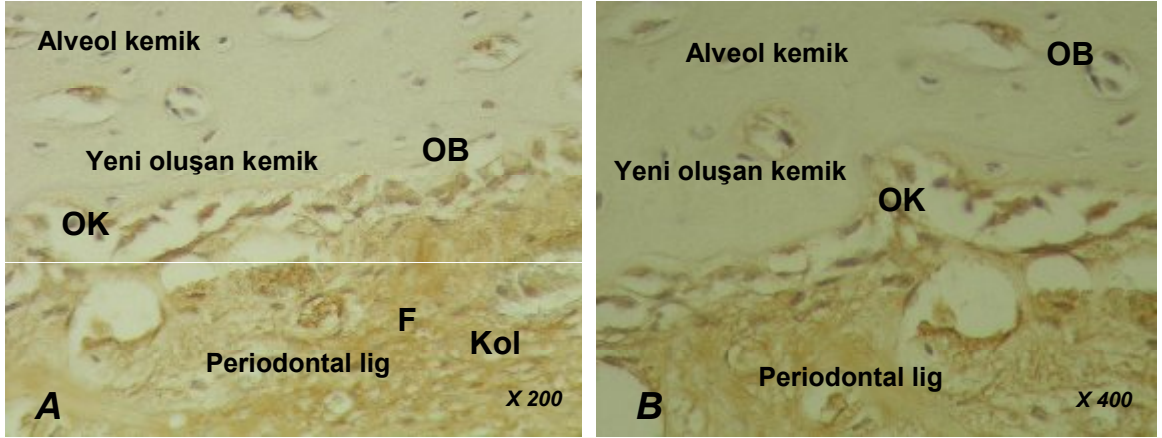
Şekil 4.19 Grup I-B'ye ait, anti-PCNA primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamente komşu, periostun altında yer alan osteoblastlarda (++) immunoreaktivite izlenirken, aktif osteoklastlarda (++) ve periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (++) immunoreaktivite izlenmektedir (OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast) (A: $\times 200$ B: $\times 400$).



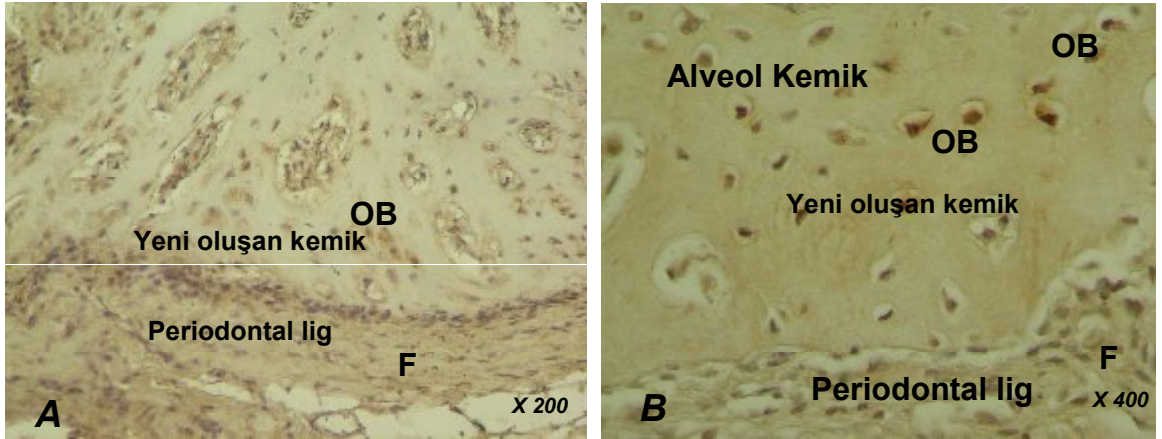
Şekil 4.20 Grup II-B'ye ait, H.E. ile boyanan mikrograflarda kan damarlarının genişliğinin, enflamasyonun ve yeni oluşan kemik dokunun Grup I-B'ye göre artmış olduğu izlenmektedir. Periodontal ligamente komşu kemik alanında çok sayıda aktif osteoklastlar, bu alanda yeni kemik yapımında yer alan bazofilik sitoplazmalı oval aktif osteoblastlar izlenmektedir (OB: osteoblast, OK: osteoklast, KD: kapiller damar) (A: $\times 200$ B: $\times 400$).



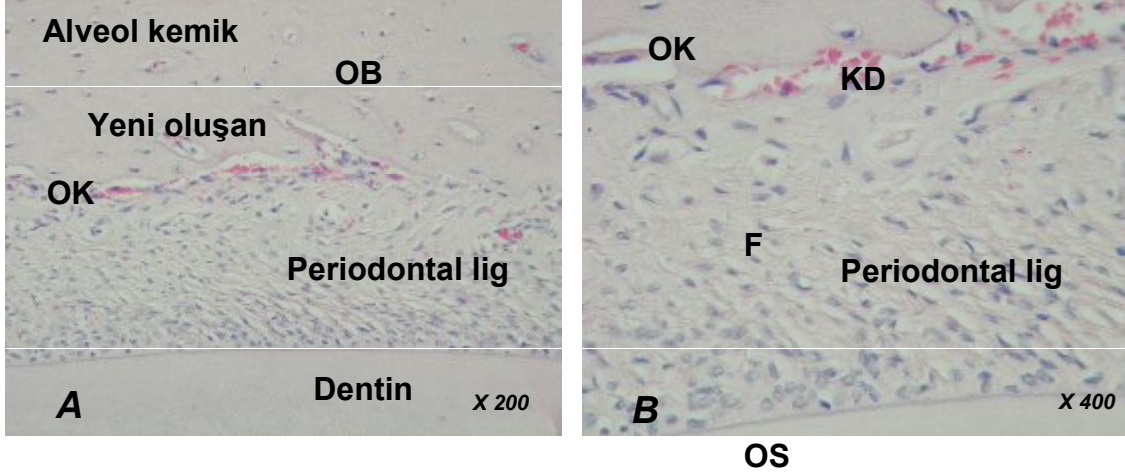
Şekil 4.21 Grup II-B'ye ait, anti-RANKL primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamente yer alan fibroblastlarda (++) , yeni kemikleşme alanındaki oval aktif osteoblastlarda ve osteoklastlarda (+++ / +++) immunoreaktivite izlenmektedir (OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast) (A: $\times 200$ B: $\times 400$).



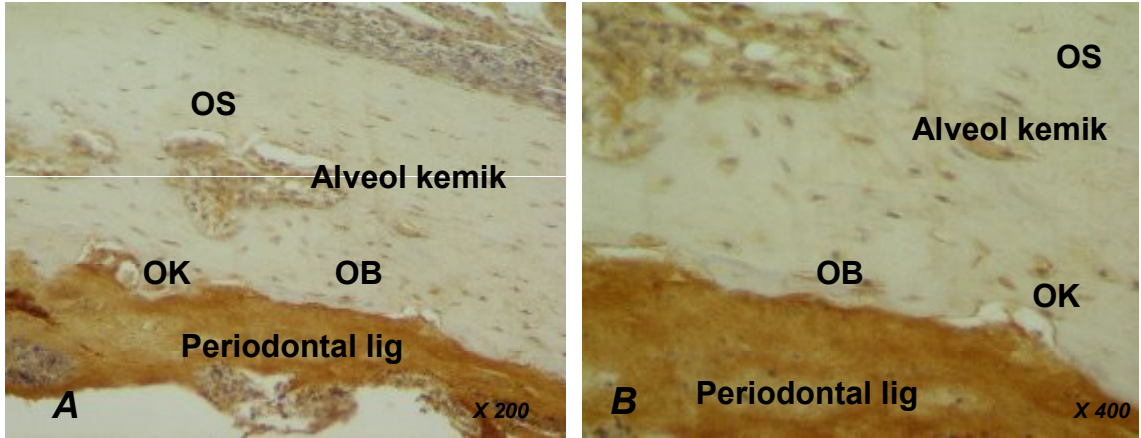
Şekil 4.22 Grup II-B'ye ait, anti-OPG primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamente yer alan fibroblastlarda (++/+++), oval aktif osteoblastlarda (+++) ve osteoklastlarda (++/+++) immunoreaktivite izlenmektedir (OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast, Koll: kollajen lifler) (A: $\times 200$ B: $\times 400$).



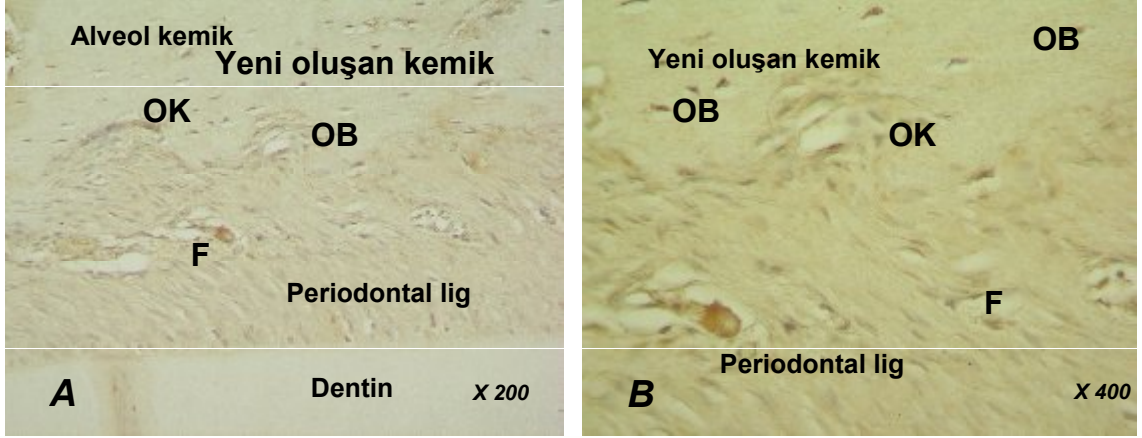
Şekil 4.23 Grup II-B'ye ait, anti-PCNA primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamente komşu, aktif, kemik matrikste bulunan oval, aktif osteoblastlarda (+++) immunoreaktivite izlenirken, aktif osteoklastlarda (++) ve periodontal ligamente yer alan fibroblastlarda (++) PCNA immunoreaktivitesi izlenmektedir (OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast) (A: $\times 200$ B: $\times 400$).



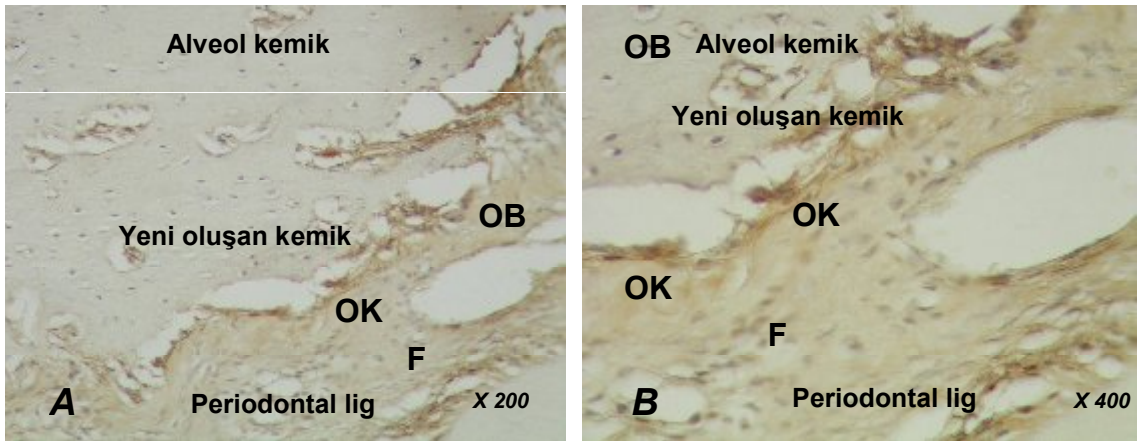
Şekil 4.24 Grup III-B'ye ait, H.E. ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamentte fibroblastların ve kollajen sentezinin artmış olduğu, enflamasyonun, kan damarlarının genişliğinin ve yeni oluşan kemik dokunun orta derecede olduğu izlenmektedir. Periodontal ligamente komşu kemik alanında aktif osteoklastlar ve bu alanda yeni kemik yapımında yer alan bazofilik sitoplazmalı oval aktif osteoblastlar izlenmektedir (OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast, KD: kapiller damar) (A: ×200 B: ×400).



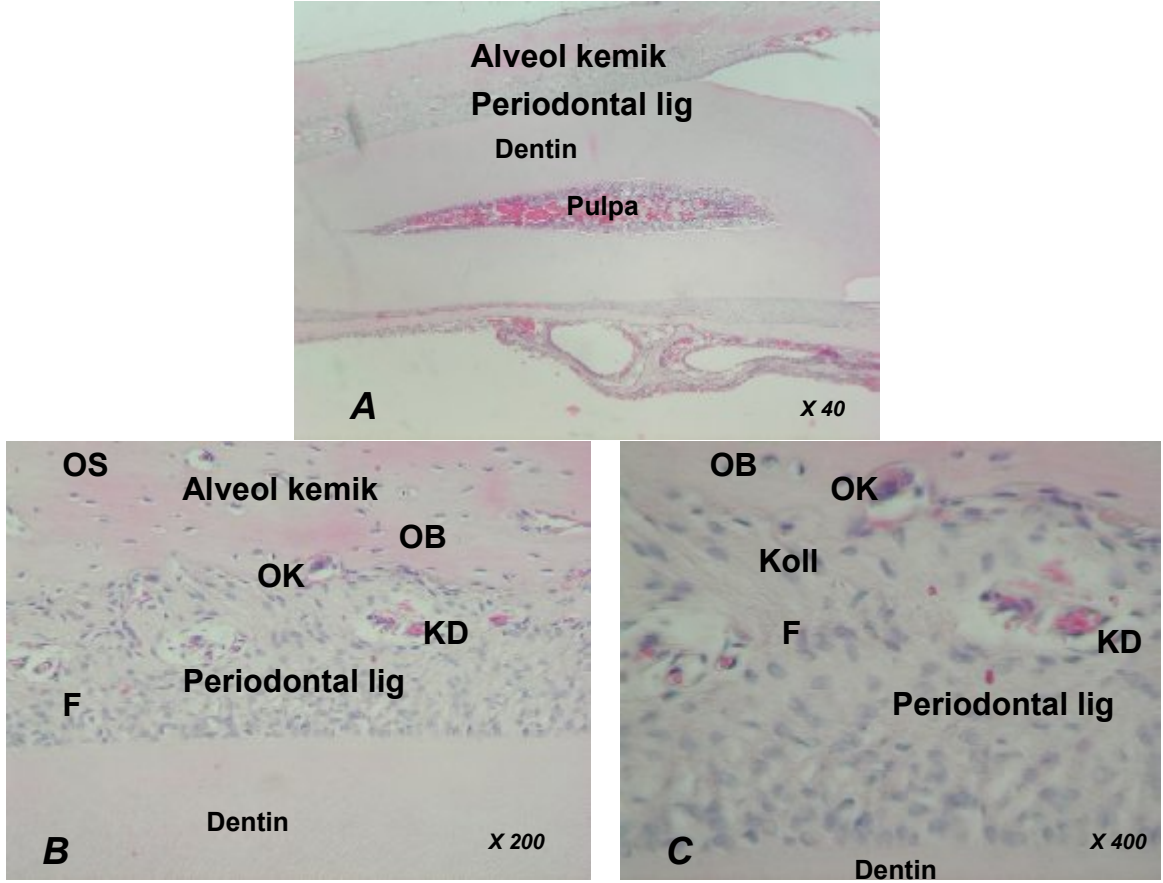
Şekil 4.25 Grup III-B'ye ait, anti-RANKL primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamentte yer alan fibroblastlarda (++/+++), yeni kemikleşme alanındaki oval aktif osteoblastlarda ve osteoklastlarda (+++) immunoreaktivite izlenmektedir (OS: osteosit, OB: osteoblast, OK: osteoklast) (A: ×200 B: ×400).



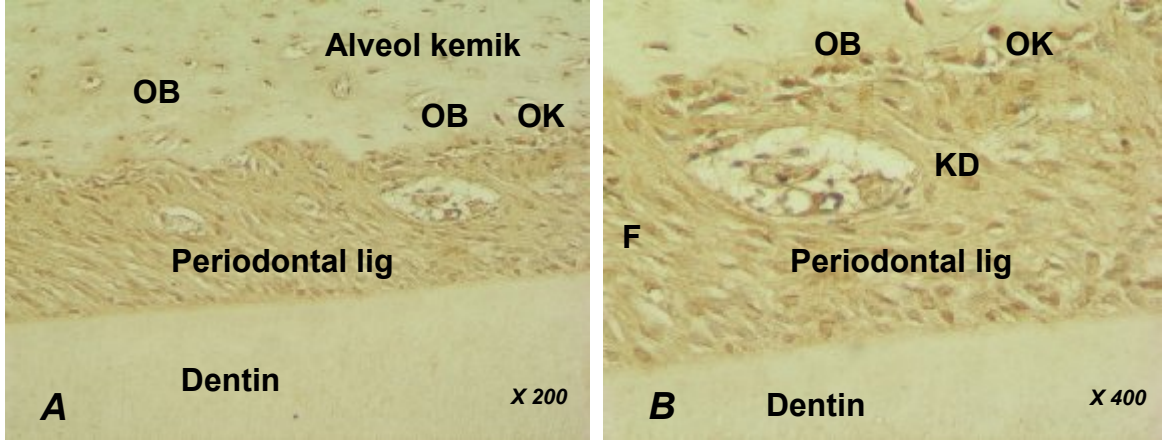
Şekil 4.26 Grup III-B'ye ait, anti-OPG primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamante yer alan fibroblastlarda ve oval aktif osteoblastlarda (++) ve osteoklastlarda (+/++) immunoreaktivite izlenmektedir (OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast) (A: $\times 200$ B: $\times 400$).



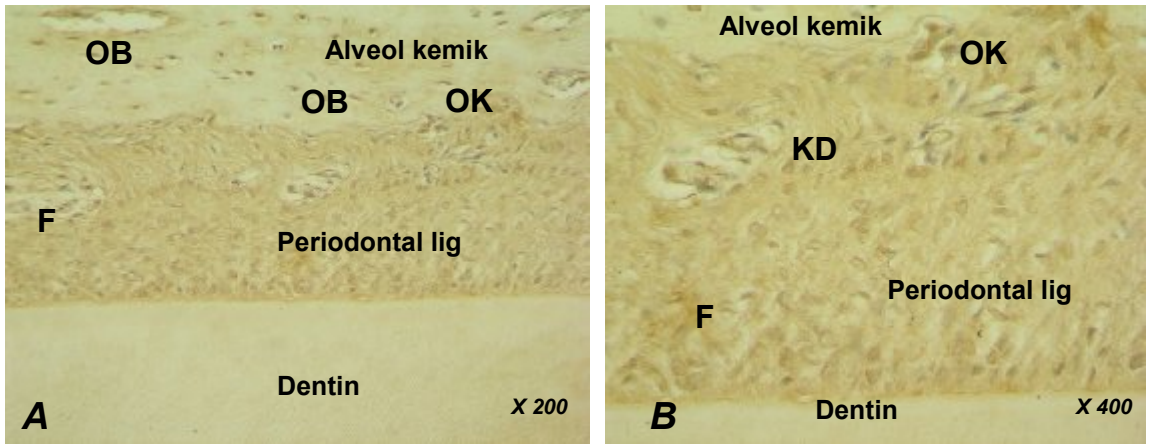
Şekil 4.27 Grup III-B'ye ait, anti-PCNA primer antikoru ile boyanan mikrograflarda periodontal ligamante komşu, aktif, kemik matrikste bulunan oval, aktif osteoblastlarda ve aktif osteoklastlarda (++) ve periodontal ligamante yer alan fibroblastlarda (++) PCNA immunoreaktivitesi izlendi (OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast) (A: $\times 200$ B: $\times 400$).



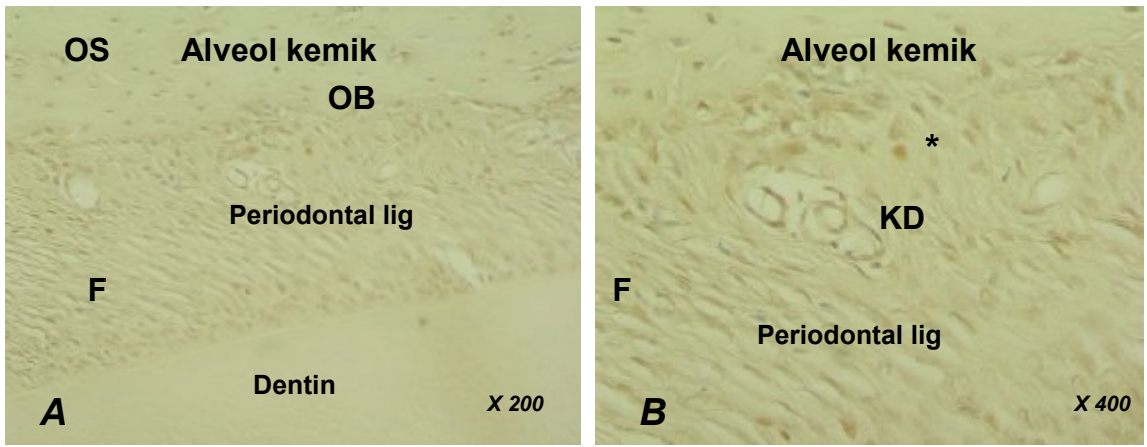
Şekil 4.28 Kontrol grubundan elde edilen H.E. ile boyanan mikrograflarda dişin normal histolojik yapıda olduğu, periodontal ligamentin sıkı bağ dokusu yapısında olup, başlıca fibroblastlar (F), kollajen lifler (Koll) ve az sayıda kan damarları (KD) içerdiği izlenmektedir. Periodontal ligamentin lateralinde yer alan alveolar kemikte periosta yakın kısımlarda oval bazofilik sitoplazmalı osteoblastlar (OB), Howship lakunasında yerleşmiş çok çekirdekli az sayıda asidofilik sitoplazmalı osteoklastlar (OK) ve kemik matriks içinde lakunalarında yerleşmiş osteositler (OS) izlenmektedir (A: $\times 40$ B: $\times 200$ C: $\times 400$).



Şekil 4.29 Anti-RANKL primer antikoru ile yapılan immunohistokimyasal boyamada periodontal ligamante yer alan fibroblastlarda (+), oval aktif osteoblast ve osteoklastlarda (+/++) immunoreaktivite izlenmektedir (OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast, KD: kapiller damar) (A: $\times 200$ B: $\times 400$).



Şekil 4.30 Anti-OPG primer antikoru ile yapılan immunohistokimyasal boyamada periodontal ligamante yer alan fibroblastlarda (-/+), oval aktif osteoblast ve osteoklastlarda (+) immunoreaktivite izlenmektedir (OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast, KD: kapiller damar) (A: $\times 200$ B: $\times 400$).



Şekil 4.31 Anti-PCNA primer antikoru ile yapılan immunohistokimyasal boyamada periodontal ligamentte az sayıda hücrede pozitif immunoreaktivite (*) izlenmektedir (OS: osteosit, OB: osteoblast, OK: osteoklast, F: fibroblast, KD: kapiller damar) (A: $\times 200$ B: $\times 400$).

4.4.4 Histolojik ve İmmunohistokimyasal Bulguların İstatistiksel Değerlendirmesi

4.4.4.1 1. Alt Gruplara Ait Bulguların Değerlendirmesi

Gruplara ait osteoklast sayıları karşılaştırıldığında farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Gruplara ait osteoklast sayıları ikişerli olarak karşılaştırıldığında Grup I ile Grup II, Grup I ile Grup III, Grup II ile Grup III arasındaki farklılık önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.8, Şekil 4.32).

Gruplara ait basınç tarafındaki kapiller sayıları karşılaştırıldığında farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Gruplara ait basınç tarafındaki kapiller sayıları ikişerli olarak karşılaştırıldığında Grup I ile Grup II, Grup I ile Grup III, Grup II ile Grup III arasındaki farklılık önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.8, Şekil 4.33).

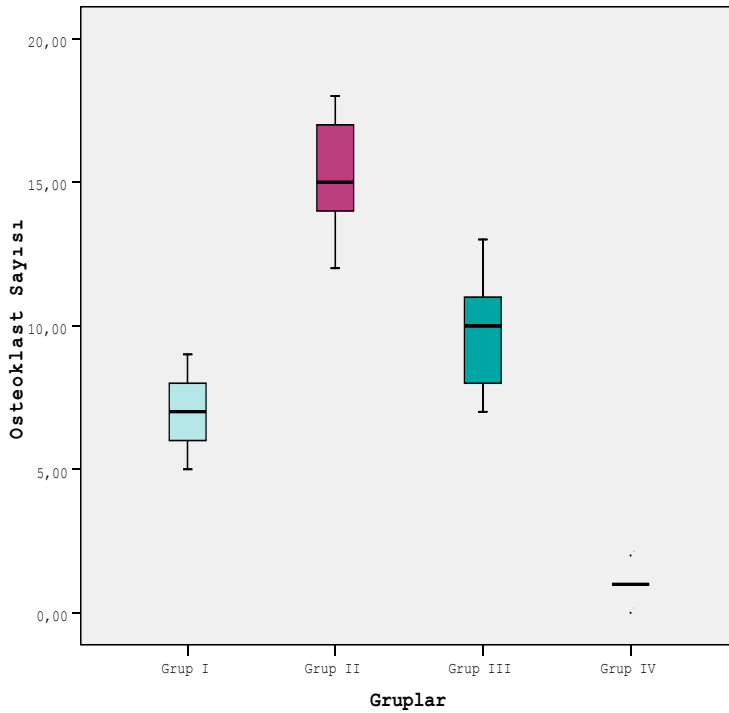
Gruplara ait gerilim tarafındaki kapiller sayıları karşılaştırıldığında farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Gruplara ait gerilim tarafındaki kapiller sayıları ikişerli olarak karşılaştırıldığında Grup I ile Grup II, Grup II ile Grup III arası farklılık önemli bulunurken ($p < 0.05$); Grup I ile Grup III arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur ($p > 0.05$) (Çizelge 4.8, Şekil 4.34).

Gruplara ait osteoblast sayıları karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p > 0.05$) (Çizelge 4.9, Şekil 4.35).

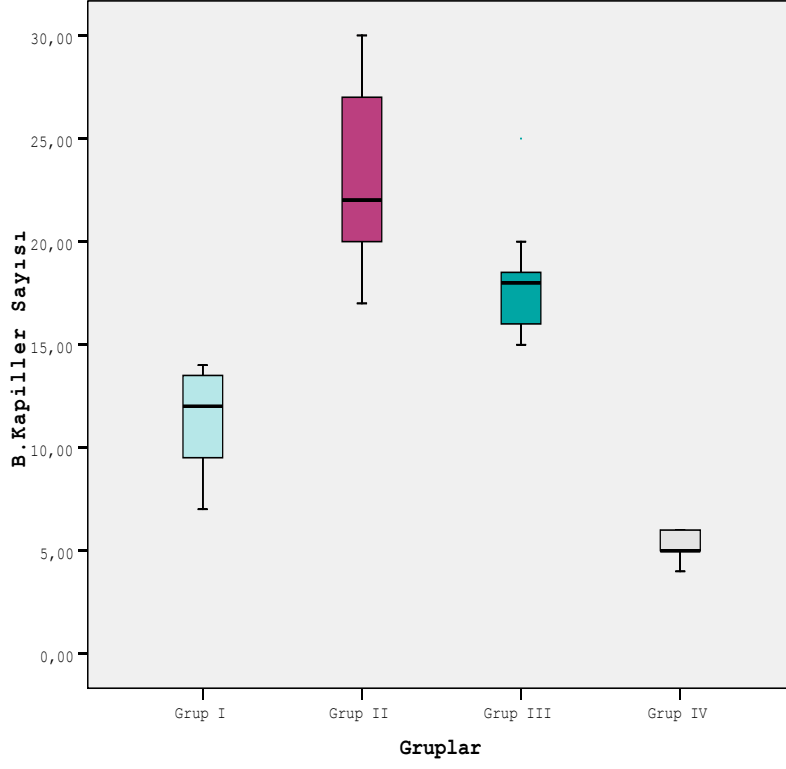
Gruplara ait enflamatuar hücre sayıları karşılaştırıldığında farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Gruplara ait enflamatuar hücre sayıları ikişerli olarak karşılaştırıldığında Grup I ile Grup II, Grup I ile Grup III, Grup II ile Grup III arası farklılık önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.9, Şekil 4.36).

GRUPLAR (3 günlük)	OSTEOKLAST X ± S	KAPİLLER (Basınç Tarafı) X ± S	KAPİLLER (Gerilim Tarafı) X ± S
GRUP I-A	6.90 ± 1.30	11.27 ± 2.64	8.63 ± 2.11
GRUP II-A	15.36 ± 2.20	23.09 ± 4.27	12.54 ± 1.8
GRUP III-A	9.13 ± 2.01	17.81 ± 2.89	8.81 ± 1.16
SONUÇLAR	KW: 24.62 p: 0.001 p < 0.05	KW: 25.57 p: 0.001 p < 0.05	KW: 17.11 p: 0.001 p < 0.05

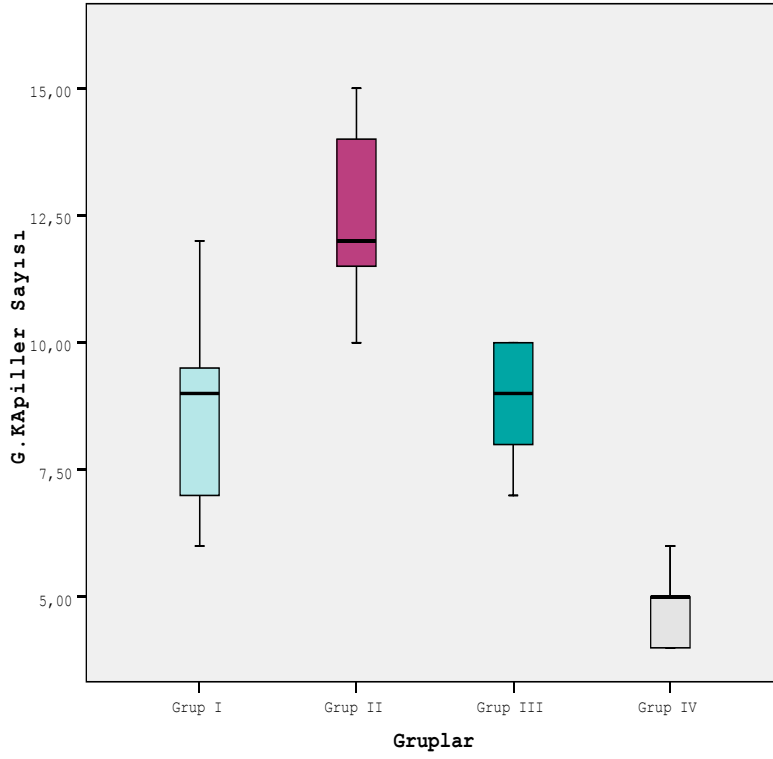
Çizelge 4.8 3. günün sonunda 1. alt gruplara ait osteoklast, basınç tarafındaki ve gerilim tarafındaki kapiller sayılarının istatistiksel karşılaştırması



Şekil 4.32 3. günün sonunda 1. alt gruplara ait osteoklast sayılarının grafiksel karşılaştırması



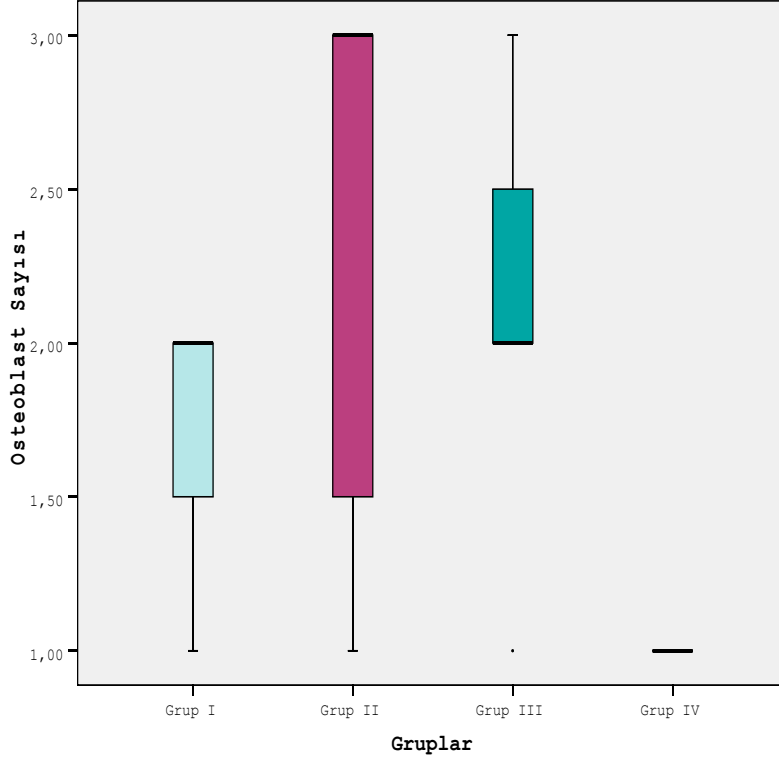
Şekil 4.33 3. günün sonunda 1. alt gruplara ait basınç tarafındaki kapiller sayılarının grafiksel karşılaştırması



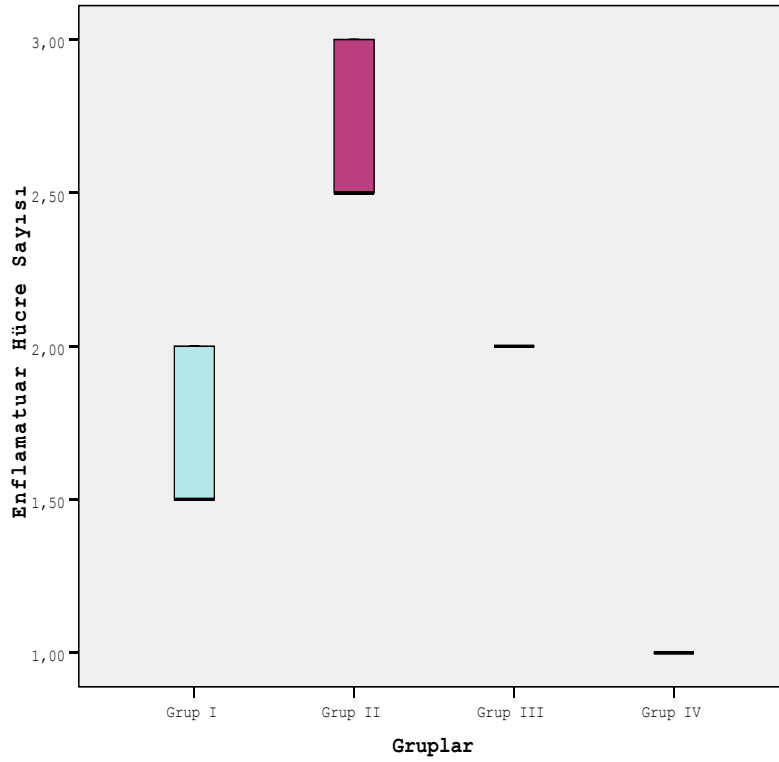
Şekil 4.34 3. günün sonunda 1. alt gruplara ait gerilim tarafındaki kapiller sayılarının grafiksel karşılaştırması

GRUPLAR (3 günlük)	Osteoblast X ± S	Median	Enflamatuar Hüc. Say. X ± S	Median
GRUP I-A	1.72 ± 0.46	2.00	1.68 ± 0.25	1.50
GRUP II-A	2.27 ± 0.90	3.00	2.68 ± 0.25	2.50
GRUP III-A	2.09 ± 0.70	2.00	2.00 ± 0.00	2.00
SONUÇLAR	KW: 3.31 p: 0.190 p > 0.05		KW: 27.35 p: 0.001 p < 0.05	

Çizelge 4.9 3. günün sonunda 1. alt gruplara ait osteoblast ve enflamatuar hücre sayılarının istatistiksel karşılaştırması



Şekil 4.35 3. günün sonunda 1. alt gruplara ait osteoblast hücre sayılarının grafiksel karşılaştırması



Şekil 4.36 3. günün sonunda 1. alt gruplara ait enflamatuvar hücre sayılarının grafiksel karşılaştırması

4.4.4.2 2. Alt Gruplara Ait Bulguların Değerlendirmesi

Gruplara ait osteoklast sayıları karşılaştırdığında farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Gruplara ait osteoklast sayıları ikişerli olarak karşılaştırıldığında Grup I ile Grup II, Grup I ile Grup III, Grup II ile Grup III arasındaki farklılık önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.10, Şekil 4.37).

Gruplara ait basınç tarafındaki kapiller sayıları karşılaştırıldığında farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Gruplara ait basınç tarafındaki kapiller sayıları ikişerli olarak karşılaştırıldığında Grup I ile Grup II, Grup I ile Grup III, Grup II ile Grup III arasındaki farklılık önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.10, Şekil 4.38).

Gruplara ait gerilim tarafındaki kapiller sayıları karşılaştırıldığında farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Gruplara ait gerilim tarafındaki kapiller sayıları ikişerli olarak karşılaştırıldığında Grup I ile Grup II, Grup I ile Grup III arası farklılık önemsiz bulunurken ($p > 0.05$); Grup II ile Grup III arasındaki farklılık önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.10, Şekil 4.39).

Gruplara ait osteoblast sayıları karşılaştırıldığında Grup I ile Grup II arası farklılık önemli bulunurken ($p < 0.05$); Grup I ile Grup III, Grup II ile Grup III farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p > 0.05$) (Çizelge 4.11, Şekil 4.40).

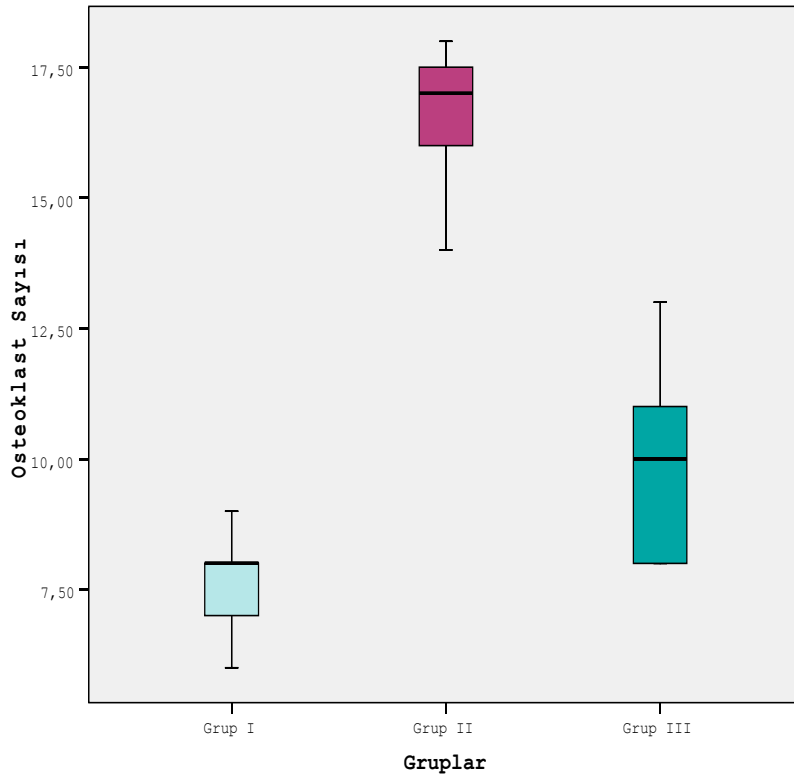
Gruplara ait enflamatuar hücre sayıları karşılaştırıldığında farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Gruplara ait enflamatuar hücre sayıları ikişerli olarak karşılaştırıldığında Grup I ile Grup II, Grup I ile Grup III, Grup II ile Grup III arası farklılık önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.11, Şekil 4.41).

Gruplara ait yeni oluşan kemik miktarları karşılaştırıldığında farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Gruplara ait değerler ikişerli olarak karşılaştırıldığında Grup I ile Grup II, Grup I ile Grup III, Grup II ile Grup III arası farklılık önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.11, Şekil 4.42).

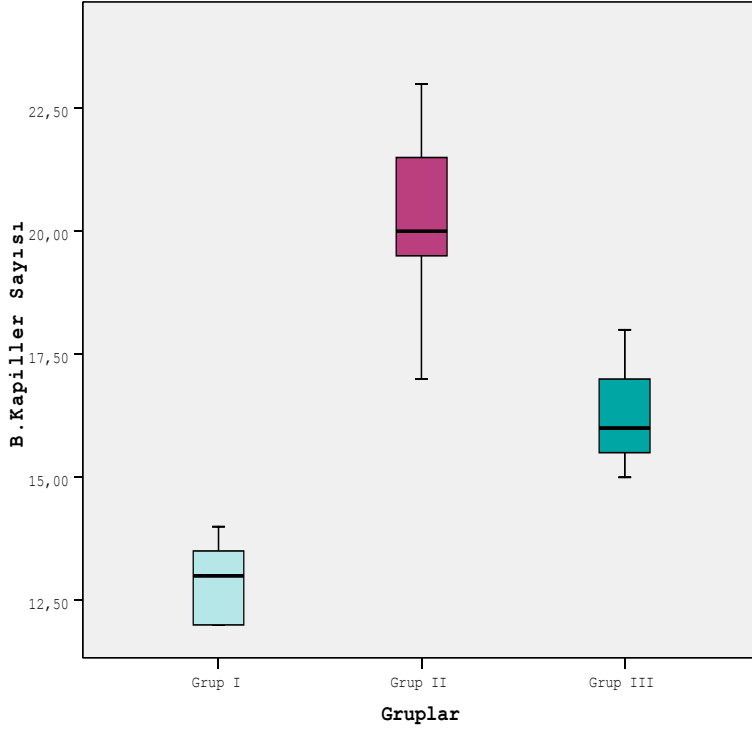
GRUPLAR (8 günlük)	OSTEOKLAST X ± S	KAPİLLER (Basınç Tarafı) X ± S	KAPİLLER (Gerilim Tarafı) X ± S
GRUP I-B	7.57 ± 0.97	12.85 ± 0.89	10.00 ± 1.52
GRUP II-B	16.57 ± 1.51	20.28 ± 1.97	11.57 ± 1.39
GRUP III-B	9.85 ± 2.03	16.28 ± 1.25	9.57 ± 0.53

SONUÇLAR	KW: 15.94 p: 0.001 p < 0.05	KW: 17.26 p: 0.001 p < 0.05	KW: 7.28 p: 0.001 p < 0.05
----------	-----------------------------------	-----------------------------------	----------------------------------

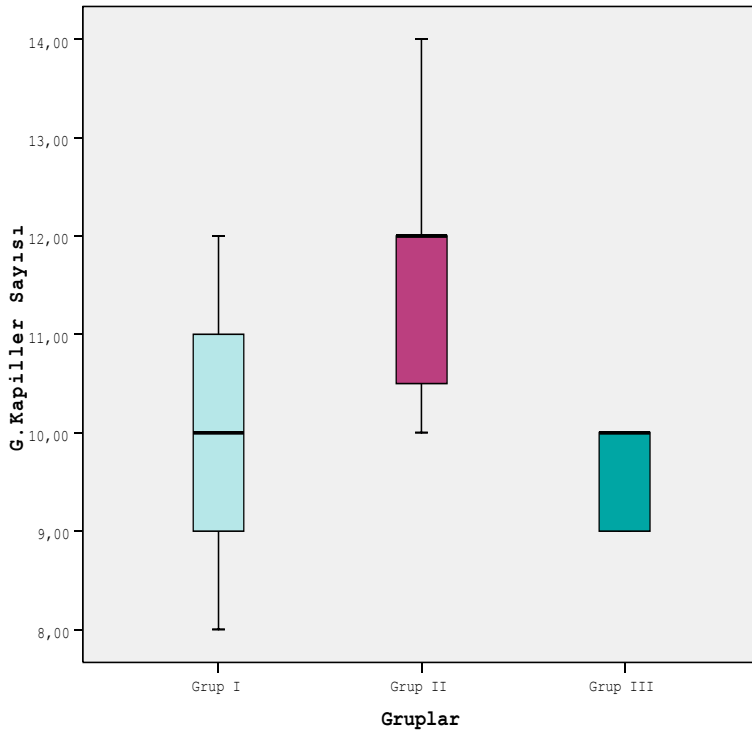
Çizelge 4.10 8 gün sonunda gruplara ait osteoklast, basınç tarafındaki ve gerilim tarafındaki kapiller sayılarının istatistiksel karşılaştırması



Şekil 4.37 8 gün sonunda 2. alt gruplara ait osteoklast sayılarının grafiksel karşılaştırması



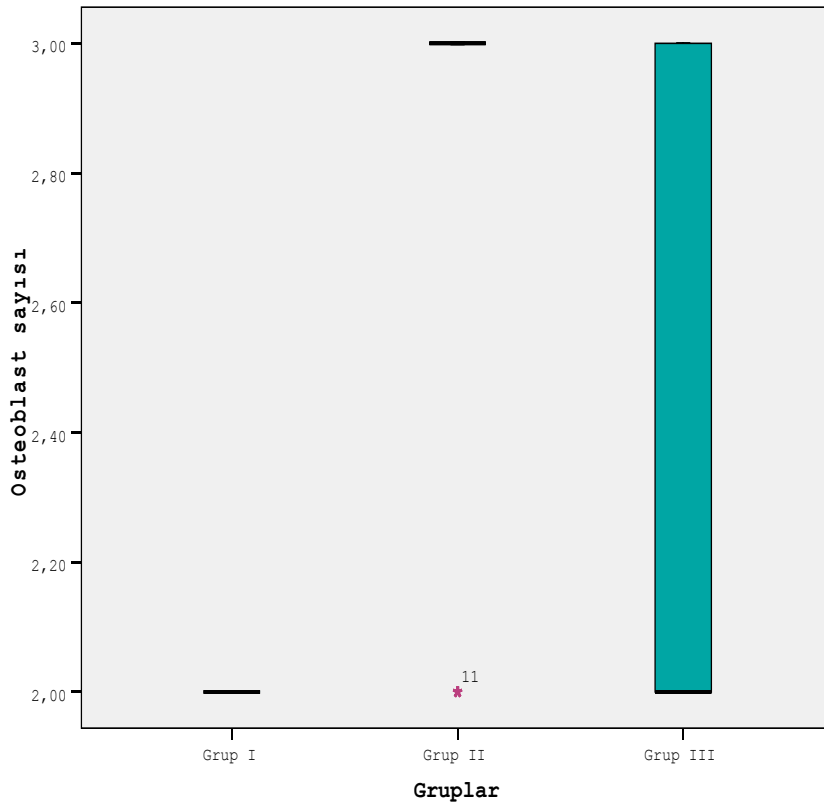
Şekil 4.38 8 gün sonunda 2. alt gruplara ait basınç tarafındaki kapiller sayılarının grafiksel karşılaştırması



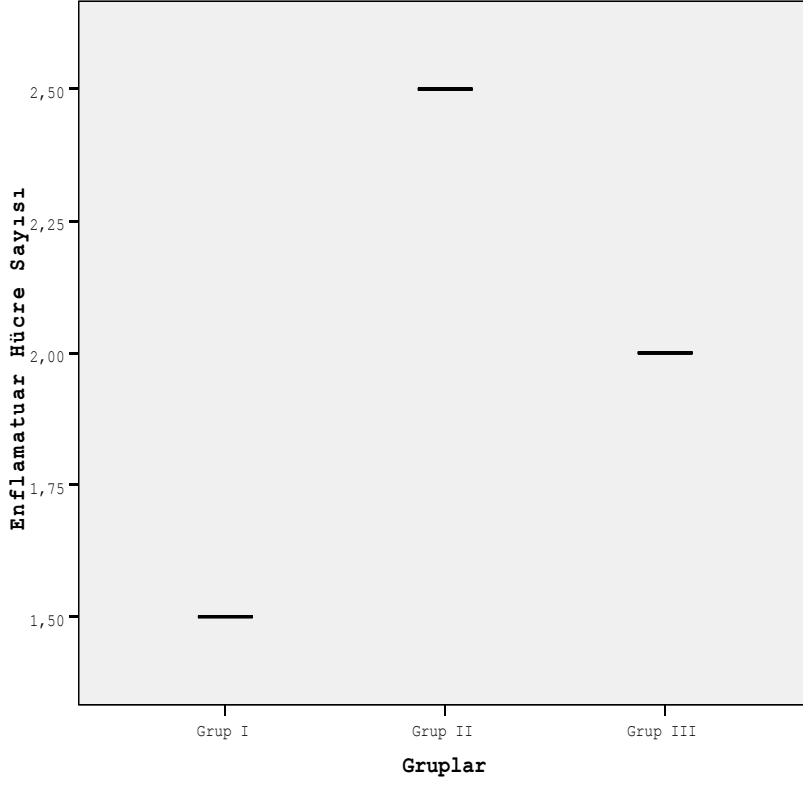
Şekil 4.39 8 gün sonunda 2. alt gruplara ait gerilim tarafındaki kapiller sayılarının grafiksel karşılaştırması

GRUPLAR (8 günlük)	OSTEOBLAST X ± S	Med.	Enf. Hüc. Say. X ± S	Med.	Yeni Kemik X ± S	Med.
GRUP I-B	2.00 ± 0.00	2.00	1.50 ± 0.00	1.50	1.00 ± 0.00	1.00
GRUP II-B	2.85 ± 0.37	3.00	2.50 ± 0.00	2.50	3.00 ± 0.00	3.00
GRUP III-B	2.42 ± 0.53	2.00	2.00 ± 0.00	2.00	2.00 ± 0.00	2.00
SONUÇLAR	KW: 10.00 p: 0.007 p > 0.05		KW: 20.00 p: 0.001 p < 0.05		KW: 22.00 p: 0.001 p < 0.05	

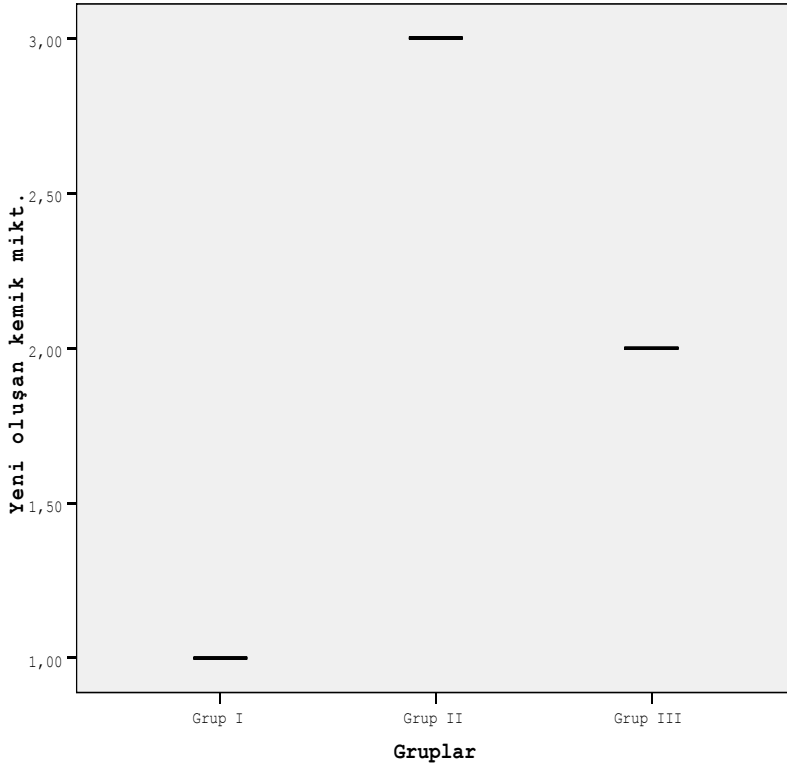
Çizelge 4.11 8 gün sonunda gruplara ait osteoblast ve enflamatuar hücre sayılarının ve yeni oluşan kemik miktarlarının istatistiksel karşılaştırması



Şekil 4.40 8 gün sonunda 2. alt gruplara ait osteoblast hücre sayılarının grafiksel karşılaştırması



Şekil 4.41 8 gün sonunda gruplara ait enflamatuar hücre sayılarının grafiksel karşılaştırması



Şekil 4.42 8 gün sonunda 2. alt gruplara ait yeni oluşan kemik miktarının grafiksel karşılaştırması

5.TARTIŞMA

Ortodontik tedavilerde hedeflenen diş hareketlerinin sağlanması kemiğin remodeling süreci yüzünden uzun zaman almakta; dolayısıyla genel tedavi süresi uzamaktadır. Bu sürenin uzaması hasta kooperasyonunu azaltmakta ve daha da önemlisi ortodontik tedavi merkezlerinin mevcut hasta potansiyeline cevap verememesine sebep olmaktadır. Dişin alveol kemiği içindeki hareket hızının artırılması dolayısıyla tedavi süresinin kısaltılması amacıyla çeşitli mekaniklerin, yeni tel ve braket sistemlerinin kullanılmasının yanı sıra kemik rezorpsiyon ve depozisyon süreçlerini hızlandırmak için de araştırmalar yapılmaktadır. Ortodontik diş hareketini hızlandırmak için kullanılan çeşitli yöntemlerin istenmeyen yan etkileri olduğundan günümüzde de arayışlar devam etmektedir.

Sanayi sektöründe uzun yıllardır kullanılan lazer sistemleri, 1980 li yıllardan bu yana medikal alanda da yaygın yer edinmiştir. Çeşitli invaziv uygulamaların yanı sıra son zamanlarda lazerin biyostimulan etkilerinden de birçok alanda faydalanılmaya başlanmıştır. Lazer biyostimulasyonu ile kemik remodelingi hızlandırılabilirdiğinden ortodontik diş hareketi esnasında lazer uygulaması konusu merak uyandırmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, düşük doz lazer terapisinin deneysel ortodontik diş hareketi üzerindeki etkilerini makroskobik ve histolojik düzeyde değerlendirmektir.

Günümüzde deney hayvanları etik kurulları, kullanılan denekler birbirlerine biyolojik olarak çok benzediğinden ve uygulanan girişimlere birbirlerinininkine çok benzer biyolojik yanıtlar verdiklerinden, çalışmalarda kullanılacak denek sayısının mümkün olduğunca az tutulmasını uygun görmektedir. Bunun yanı sıra histokimyasal araştırmalarda, değerlendirme yapabilmek için gruplarda en az dörder denek bulunması istenmektedir. Bu sebeplerden, sadece immunohistokimyasal değerlendirme yapılacak olan 1. alt gruplarda dörder, histokimyasal değerlendirmenin yanı sıra diş hareketinin metrik takibinin de yapılacağı 2. alt gruplarda yedişer olmak üzere 1., 2. ve 3. gruplardaki denek sayısı 11 olarak belirlenmiştir. Kontrol grubunda ise 5 denek kullanılmıştır.

Günümüze kadar ortodontik diş hareketiyle ilgili yapılan çalışmalarda, maymun (Khouw ve Goldhaber, 1970; Yamasaki vd., 1982; Wennstrom vd., 1987), kedi (Furstman vd., 1971; Davidovitch ve Shanfeld., 1975; Davidovitch vd., 1980a; 1980b; Davidovitch vd., 1984; Burrow vd.,1986; Shanfeld vd., 1986; Chumbley ve Tuncay,

1986; Collins ve Sinclair, 1988), köpek (Khouw ve Goldhaber, 1970; Chambers, 1980), kobay (Stark ve Sinclair, 1987), tavşan (Storey, 1973; van de Velde vd., 1988; Ashcraft vd., 1992; Roche ve Cisneros, 1997; Sun vd., 2001) gibi çeşitli hayvanların kullanımına karşın, ekonomik ve kolay temin edilebilir olmaları nedeniyle daha sıklıkla ratların tercih edildiği görülmüştür (Baumrind ve Buck, 1970; Brune vd., 1978; Rygh vd., 1986; Bridges vd., 1988; Aras, 1996). Ratlar, mekanik uyarılara bağlı meydana gelen iskeletsel adaptasyonların incelenmesi için uygun deney hayvanlarıdır (Jee vd., 1991). Ratlarda, periodontal ligament ve alveol kemiğinde mekanik uyarılara karşı oluşan biyolojik yanıtın hücresel seviyede insanlardakine çok benzediği ve daha hızlı geliştiği bildirilmiştir (Michaeli vd., 1985; Steigman vd., 1987; Steigman vd., 1991). Storey (1973), maymun ve kedi dokularının birçok özelliğinin insana çok benzediğini ancak ortodontik kuvvet uygulandıktan sonra meydana gelen değişikliklerin en iyi ratlarda takip edilebildiğini belirtmiştir. Bu nedenle çalışmamızda deney hayvanı olarak ratların kullanımına karar verilmiştir.

Hücre dışı uyarıların etkisini hücresel cevaba dönüştüren cAMP seviyesi genç ratlarda daha yüksektir (Davidovitch vd., 1980b; Mostafa vd., 1983; Bridges vd., 1988). Buna bağlı olarak ortodontik diş hareketi gençlerde daha hızlı meydana gelmektedir (Reitan, 1954; Bridges vd., 1988). Ayrıca periodontal ligament (Kyomen ve Tanne, 1997) ve alveol kemiğindeki (Jager, 1996) proliferatif aktivitenin yaşla orantılı olarak düşük olması nedeni ile yetişkinlerde diş hareketinin daha yavaş olduğu bildirilmiştir (Verna vd., 2000). Bu sebeplerle çalışmamızda kullanılan ratlar genç olarak değerlendirilen 70 ± 3 günlük ratlardan seçilmiştir.

Literatürde, üst çenede diş hareketlerinin daha hızlı meydana geldiği, üst çenedeki alveol kemiği ve çevre dokuların hücre dışı uyarılara daha hızlı cevap verdiği rapor edilmiştir (Furstman vd., 1971; Davidovitch vd., 1989). Ayrıca bu uyarıların etkisini hücresel cevaba dönüştüren cAMP ve cGMP seviyelerinin üst çenede alt çeneye oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Davidovitch vd., 1980; Mostafa vd., 1983; Davidovitch vd., 1989). Bu nedenlerle çalışmamızda apareyin üst çenede kullanılmasına karar verilmiştir. Uygulamanın alt çenede yapılmamasının bir diğer nedeni de ratların anatomik yapılarından kaynaklanmaktadır. Ratlarda alt çene kemiğinin sağ ve sol kısımları birbirlerine fibröz bağlarla bağlı olduğundan, kesici dişlere uygulanan ortodontik kuvvetler direkt alt çene segmentlerine iletilip onları

birbirinden ayıracak; ortaya çıkan etki ortopedik olduğundan gerçek diş hareketi hesaplanamayacaktır (Griffith ve Machella, 1942).

Deney hayvanı olarak ratların kullanıldığı ortodontik diş hareketi çalışmalarında kuvvet elemanı olarak elastik rondeller (De Angelis, 1970; Yamasaki vd., 1980; Yamasaki vd., 1982; Lee, 1990), simante edilen apareyler (Otero vd., 1973; Rygh, 1976; Bridges vd.,1988; Kvinnsland vd., 1989; Inubushi, 1990), kapalı yaylar (Saito vd.,1991; Melsen, 1999; Verna vd.,2000; Sekhavat vd., 2002; Yamaguchi vd.,2007; Fujita vd., 2008) ve tellerden bükülerek hazırlanan zemberekler (Storey, 1973; Boisson ve Gianelly, 1981; Karadede, 1992; Aras, 1996; Atay, 1999; Kale, 2002; Ersöz, 2004) kullanılmıştır. Oldukça sık kullanılan yöntemlerden biri olan elastik rondel yönteminde üst birinci ve ikinci azı dişlerinin arasına elastikler yerleştirilerek birinci azı dişine mezial yönde kuvvet uygulanmıştır. Uygulama kolaylığı bu yöntemin avantajıdır; ancak kısa sürede kuvvet ortadan kalktığından ve lastik yerinden çıktığından bu yöntem kısa süreli deneyler için yararlıdır ve diş hareketinin erken dönemleri ile ilgili bilgi vermektedir. Diğer bir yöntem ise üst kesici diş ile üst birinci azı dişi arasına yerleştirilen kapalı yay ile azı dişine mezial yönde 25-60 g kuvvet uygulamaktadır. Bu yöntemin avantajı uzun süreli çalışmalara olanak sağlamasıdır. Ancak apareyin tutuculuğunu sağlamak için azı dişlerine oluklar hazırlama aşamasının, ratların sınırlı ağız açma kapasiteleri ve ağız boşluklarının darlığına bağlı olarak oldukça travmatik olacağı ve yumuşak dokularda enflamasyonu uyaran zedelenmeler meydana getirebileceği bildirilmiştir. Ayrıca, kapalı yayların palatal mukozayı irrite ettiği, gıda retansiyonuna neden olduğu, bazen de yayları dişlere bağlayan ligatür tellerinin bukkal mukozayı zedeleyerek travmatik lezyonlar oluşturduğu bildirilmiştir (Leiker vd., 1995). Tüm bu faktörler göz önünde bulundurularak, çalışmamızda üst keserleri distal yönde hareket ettirecek eşit ve zıt yönlü bir kuvvet uygulayan, Karadede (1992) tarafından modifiye edilen, Ersöz (1992), Aras (1996), Atay (1999), Kavuklu (1999) ve Çağlaroğlu (2006) tarafından da hiçbir olumsuzluk oluşturmaksızın diş hareketi yaptırdığı bildirilen, damağa doğru uzanan heliksli bir zemberek kullanılmasına karar verilmiştir. Aparey, hayvanların fizyolojik fonksiyonlarını engellememesi, herhangi bir retansiyon oluşturmaması ve uyguladığı kuvvetin rahatça ölçülebilmesi yönüyle oldukça tatmin edici bulunmuştur. Bu tip zembereklerin kullanıldığı çalışmalarda zembereği dişe tutturmak amacıyla dişlere vestibulopalatinal yönde retansiyon delikleri hazırlanmaktadır. Ancak Baran (1992), Karadede (1992) ve Kavuklu (1999) bazı

ratlarda zembereklerin düştüğünü veya dişlerde kırıklar meydana geldiğini bildirmişlerdir. Bu çalışma için yapılan ön çalışmada da üst kesici dişlerin mezyodistal boyutlarının yetersizliği nedeniyle retansiyon deliklerinin hazırlanması çok zor olmuş; dişlerin çoğu kırılmıştır. Bu nedenle yöntem değiştirilerek, retansiyon amacıyla kesici dişlere dişetin 1 mm aşağısında distopalatinalden vestibül yüze uzanan çentikler açılmıştır. Ardından, hazırlanan zemberekler içlerinden geçirilen ligatür telleri çentiklere oturtularak sağ ve sol kesici dişlere bağlanmıştır. Bu modifikasyondan sonra sadece bir deneğin dişi kırılmıştır. Deneklerin birinde deneyin 2. günü, bir diğerinde deneyin 4. günü ligatür teli koptuğu için apareylerin tek tarafı serbest kalmış; ligatür tellerinin yenilenmesi gerekmiştir. Apareyler deney sonuna kadar ağızda kalmış; diş hareketi başarıyla gerçekleştirilmiştir.

Doku hasarı meydana getirilmeden dişleri etkin bir şekilde hareket ettirecek optimal kuvvet büyüklüğü hakkında kesin bir bilgi bulunmamaktadır (Aras, 1996). 0,5 g.dan 560 g.a kadar değişen aralıkta kuvvetler uygulanarak deneysel diş hareketi oluşturulabilmiştir (Utley, 1968; Storey, 1973a; 1973b; Ersöz, 2004; Mitsui vd., 2005).

Sandstedt (1904), ortodontik diş hareketi amacıyla uyguladığı zayıf kuvvetlerin alveoler kemikte rezorbsiyon yarattığını, ağır kuvvetlerin ise ‘hyalinizasyon’ dokusu oluşmasına sebep olduğu belirtmiştir (Utley, 1968). Utley (1968), 40 gram ile 560 gram arasında değişen kuvvetler uyguladığı deney sonucunda diş hareketinin, alveolar kemiğin uygulanan kuvvete karşı oluşturduğu bireysel yanıt olduğunu, ancak kuvvetin büyüklüğünden bağımsız geliştiğini bildirmiştir. Storey (1973a), 25 g. ile 100 g.lık kuvvet arasında doku yanıtı açısından fark olmadığını, ancak 5 g ile 35 g.lık kuvvet arasında belirgin dokusal yanıt farklılığı oluştuğunu bildirmiştir. Aynı araştırmacı (1973b), ratlarda ağır kuvvetlerle elde edilen diş hareketlerinin daha hızlı oluşmasının bir yanığı olduğunu, çünkü bu hareketin premaksiller kemik segmentlerinin yanlara doğru ayrılmasından kaynaklandığını belirtmiştir. Southard ve Forbes (1988) ’un çalışma sonuçları Storey’in bulgularını desteklemektedir. Smith ve Storey (1952), maksimum diş hareketi elde edebilmek için optimum düzeyde kuvvet uygulanması gerektiğini belirtmişlerdir. Hermanson (1972) ise ‘optimum kuvvet’ kavramının bireysel farklılığa göre değişeceğini belirtmiştir. Stark ve Sinclair (1987), 12 gram’lık kuvvetin diş hareketinde belirgin fark yarattığını savunmuştur. Işimer (1984), Baran (1992), Karadede (1992), Atay (1999), Kavuklu (1999) ve Kale (2002)’nin çalışmaları da göz önüne alınarak çalışmamızda, periodontal ligamentte yoğun hyalinize alanlar

yaratmadan ve premaksiller suturda ayrılmaya neden olmadan, sadece diş hareketi elde edebilmek amacıyla üst keser dişlere ratlarda fizyolojik olarak kabul edilen 20 g.lık kuvvet uygulanmasına karar verilmiştir.

Çalışmamızın deney süresini belirlemek için literatür taraması yaptığımızda, ratlarda 5 dakika (Collins ve Sinclair, 1988) ile 3 ay (Steigman vd., 1987) arasında süren çalışmalara rastlanmıştır (Otero vd., 1973; Rygh, 1973; Storey, 1973; Yamasaki, 1983; Engström ve Thilander, 1985; Michaeli vd., 1985; Engström ve Noren, 1986; Rygh vd., 1986; Bridges vd., 1988; Engström vd., 1988; Southard ve Forbes, 1988; Kvinnsland, 1989; Inubushi, 1990). Macapanpan vd. (1954) ile Reitan ve Kvam (1971) rat dişlerinde ilk hyalinizasyonun 6 saat içinde meydana geldiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılara göre ratların alveol kemiğindeki hücreler, mekanik uyarılara daha çabuk reaksiyon vermekte ve 'remodelling' daha hızlı oluşmaktadır. Otero vd. (1973) ratlar üzerinde yaptıkları araştırma sonucunda 36 saatten sonra diş hareketi oluşmadığını, 48.saatte hyalin dejenerasyonu meydana geldiğini, osteoklast sayısının maksimum değerinin % 25'ine ve rezorptif alanların maksimum seviyeye ulaştığını belirtmişlerdir. 84.-108. saatler arasında hem rezorbsiyon alanlarında hem de osteoklast sayısında önemsiz bir azalma olduğu saptanmıştır. Bridges vd. (1988) ise genç ratlarda diş hareketi siklusunun 7 gün olduğunu bildirmişlerdir. Lee (1990), mekanik kuvvet uygulandıktan 6 saat sonra basınç tarafında periodontal membran genişliğinin azaldığını, fibroblastlarda deformasyon görüldüğünü ve Howship lakünlerinin sayısının arttığını bildirmiştir. Aynı çalışmada hyalinizasyonun 3. günde ortadan kalktığı belirtilmiştir. Radunoviç vd. (1997), en aktif 'remodelling' cevabının kuvvet uygulandıktan sonra 7. günde görüldüğünü bildirmişlerdir. Diğer yandan ratların üst keser dişlerine uygulanan uzun süreli kuvvetlerin premaksiller suturda ayrılmaya neden olduğu rapor edilmiştir (Storey, 1973a; 1973b; Weeks vd., 1982; Engström ve Noren, 1986; Engström vd., 1988). Araştırmamızın amacı salt ortodontik diş hareketi elde etmek olduğundan, daha önceden yapılan araştırmalar da göz önünde bulundurularak deney süresi 8 gün olarak belirlenmiştir.

Ratların kesici dişleri sürekli olarak erüpsiyon halindedir. Bu nedenle bu dişlerin periodontal dokularında fizyolojik bazda bir 'remodelling' ve osteoklastik hücre aktivasyonu mevcuttur (Scott ve Symons, 1977, Steigman vd., 1987, Binderman vd., 1988). Mekanik kuvvetler sonucu oluşan 'remodelling' olaylarını incelerken periodontal dokulardaki bu aktivitenin yanıtıcı olmasını engellemek için hiçbir işlem

uygulanmamış grup ile sadece aparey uygulanmış gruplar kontrol grupları olarak değerlendirilmiştir. Böylece üst kesici dişlerin periodontal dokularının normal histolojik yapıları, uygulanan mekanik kuvvetin tek başına oluşturduğu doku cevabı ve lazer etkisi ile meydana gelen doku cevabı birbiriyle karşılaştırılabilmektedir.

Çalışılacak doku ve elde edilmek istenen etkiye göre lazer cihazı seçilmektedir. Biyostimulasyon için en uygun dalga boyu 550-950 nm arasındadır. Bu aralığın üzerindeki dalga boyları dokunun yüzeysel tabakalarınca absorbe edilir ve derin dokular stimüle edilemez (Glinkowski ve Pokora, 2001). Çalışmamızda kullandığımız diyot lazer cihazı, 820 nm lik dalga boyu ile elektromanyetik dalga spektrumunda infrared bantta yer almaktadır. İnfrared ışınların hemoglobin ve su tarafından absorpsiyonu düşük olduğundan, bu aralıktaki dalga boyuna sahip ışınların dokuya penetrasyon derinliği yüksektir. Çalışmamızın amacı yumuşak dokunun altında bulunan kemik hücrelerini stimüle etmek olduğundan infrared dalga boyuna sahip bir lazer cihazı seçilmiştir.

Yapılan çeşitli düşük doz lazer terapisi çalışmalarında 0.27-2500 mWlık çıkış gücü tercih edilmiştir (Basford vd., 1987; Jensen vd., 1987; Lundeberg vd., 1987; Taube vd., 1990; Masse vd., 1993; Mulcahy vd., 1995; Yamamoto vd., 2001; Torricelli vd., 2001; Guzzardella vd., 2002). Düşük doz lazer terapisinin ortodontik diş hareketi hızı üzerine etkilerini değerlendiren çalışmalarda ise 5-100 mW gücünde lazerler kullanılmıştır (Kawasaki ve Shimizu, 2000; Cruz vd., 2004; Goulart ve Nouer, 2006; Limpanichkul vd., 2006; Seifi vd., 2006; Yamaguchi vd., 2007; Fujita vd., 2008; Youssef vd., 2008). Tuner ve Hode (2002), 1-2 mW çıkış gücüne sahip bir lazerle de biyostimulan etkiler elde edilebileceğini, ancak aynı etkileri 100 kat güçlü bir lazerle elde etmenin çok daha kolay olduğunu bildirmişlerdir. Güç miktarına göre tedavi süresi değiştirilerek eşdeğer miktarda enerji uygulanabilmektedir. Ancak güç miktarı arttırıldıkça dokunun daha derinlerine yeterli enerjinin aktarılabildiği düşünüldüğünden, tedavi süresinin uzatılması düşük güç yoğunluğunu kompanse edememektedir (Tuner ve Hode, 2002; Kim vd., 2009). Çalışmamızda kullanılan lazer cihazı ağız içi probuyla en fazla 100 mWlık güçte kullanılabildiğinden deney sürecinde 100 mW gücünde irradyasyon yapılmıştır.

Bilindiği üzere düşük doz lazer terapisinin etkinliği uygulanan doza ve dokunun yapısına bağlıdır. Oluşacak etki doku yanıtına bağlı olarak ortaya çıktığından çalışmalarda kullanılan deneklerin farklılığı ortak bir kanıya varılmasını engellemektedir. Ayrıca yapılan hücre kültürü çalışmalarında etkin doz kolaylıkla

saptanabilirken, in vivo çalışmalarda uygun dozu belirlemek o kadar basit değildir. Proben yüzey alanına (cm^2) göre yüzeye verilen enerji net olarak hesaplanabilirken, 3 boyutlu (cm^3) olarak düşünüldüğünde dokuya etkiyen gerçek doz tam anlamıyla hesaplanamamaktadır. Ayrıca ışınların dokuda yayılım sınırları da tam olarak belirlenememektedir. Yapılan çeşitli çalışmalar sonucunda periodontal dokuların ve kemiğin stimülasyonu için optimal doz tam olarak saptanamamıştır. Bazı araştırmacılar (Luger vd.,1998; Kim vd., 2009) lazer uygulanırken oluşan dağılmanın ışınların enerjisini azalttığını, bu yüzden istenenden fazla yoğunlukta enerji verilmesi gerektiğini belirtmektedirler. Yamagishi vd. (1994), insan mandibuler kortikal kemiğinde 1mm derinliğe diyet lazer ışınlarının ancak % 50'sinin ulaşabildiğini bildirmiştir. Luger vd. (1998) ise dağılma sonucu cilde uygulanan lazer enerjisinin sadece %3-6'sının etkili olduğunu belirtmiştir. Bu nedenle biyostimülasyon için ideal doz aralığı olarak belirtilen $2-19 \text{ J/cm}^2$ 'nin yetersiz kalacağı düşünülmüştür.

Ortodontik diş hareketinin düşük doz lazer terapisi ile stimülasyonunu konu alan toplam sekiz hayvan çalışması bulunmaktadır (Kawasaki ve Shimizu, 2000; Sun vd., 2001; Zhu vd., 2002; Goulart vd., 2006; Seifi vd.,2007; Yamaguchi vd.,2007; Fujita vd., 2008; Kim vd., 2009). Bu çalışmalardan sadece üç tanesinde Wistar albino ratlar kullanılmış; bu çalışmalarda aynı diyet lazer cihazıyla aynı dozda enerji verilmiştir (Kawasaki ve Shimizu, 2000; Yamaguchi vd.,2007; Fujita vd., 2008). Her ne kadar bu çalışmalarda kullanılan doz (54 J) kabul edilen biyostimülasyon doz aralığını ($2-19 \text{ J/cm}^2$) aşmış olsada her üç çalışmanın sonucunda da uygulanan lazer enerjisinin diş hareketini hızlandırdığı bulunmuştur. Bu konuda yapılan diğer hayvan çalışmaları kullanılan deneklerin türü, uygulanan doz ve elde edilen sonuçların farklılığı açısından bu çalışma için referans olarak kullanılmamıştır. Bu çalışmada düşük doz lazer terapisinin etki mekanizmaları ön plana çıkarılmak istendiğinden daha önceden ratlar üzerinde yapılan çalışmalarda belirtilen parametreler kullanılmıştır.

Yapılan lazer-biyostimülasyon çalışmalarında uygulama sıklığı konusunda farklı yaklaşımlar görülmektedir. Pourreau- Schenider vd. (1989) lazerin fibroblast büyümesi veya kemik formasyonuna olan etkisinin tek dozluk uygulamadan ziyade erken ve çoklu uygulamalarla ortaya çıktığını belirtmişlerdir. Saito ve Shimizu (1997) ve Ozawa vd. (1998), tekrarlayan uygulamaların düşük doz lazer terapisinin biyostimulan etkilerini

ikiye katladığını belirtmişlerdir. Bu nedenle çalışmamızda çoklu uygulama tercih edilmiştir.

Bazı araştırmacılar (Kawasaki ve Shimizu, 2000; Seifi vd.,2007; Yamaguchi vd.,2007; Fujita vd., 2008; Kim vd., 2009) uygulamaların üst üste birkaç gün yapılmasını önerirken, bazıları (Tuner ve Hode, 2002; Goulart vd., 2006) lazer enerjisinin kümülatif olduğunu ve birkaç gün aralıklarla tekrarlanması gerektiğini savunmaktadır. Bu çalışmada, Wistar albino ratlar kullanılarak yapılan ve ortodontik diş hareketinin stimülasyonu ile sonuçlanan araştırmalar (Kawasaki ve Shimizu, 2000; Yamaguchi vd.,2007; Fujita vd., 2008) örnek alınarak üst üste 3 gün irradyasyon yapılmıştır.

Radyasyonun etkinlik derinliği dalga boyu, güç ve irradyasyon tekniği ile düzenlenebilmektedir. Radyasyon teknikleri 'in-kontakt' ve 'non-kontakt' olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Non-kontakt teknikte ışık dalgasının yansıması ve doku yüzeyine yayılmasıyla çok miktarda enerji kaybı olmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda in-kontakt uygulama yapılmıştır.

Çalışmamızda ortodontik diş hareketini hızlandırmak amacıyla üst kesici dişin hareket tarafındaki yani distalindeki alveol kemiğine lazer uygulanması planlanmıştır. Ancak ratlarda üst kesici dişlerin distal aproksimal yüzeyleri arası mesafe 3-4 mm ile sınırlıdır. Dolayısıyla bir tarafa verilen enerjinin doku içinde yayılarak diğer taraftaki dişi de bir miktar etkileyeceği düşünülmüş; bu durum tek tarafa verilen net dozun saptanmasını imkansız kılacağından ve planlanandan daha fazla radyasyon verilmesine yol açacağından deneklerin sadece sağ üst kesici dişlerinin distal alveol kemiğine lazer uygulanmıştır.

Ortodontik diş hareketi miktarı kompas yardımıyla ağız içerisinde ölçülmüştür. Bu yöntemin en büyük üstünlüğü kısa sürede kolayca yapılabilmesi ve güvenilir olmasıdır. Bazı araştırmacılar indirekt yöntemle röntgenler üzerinde kompas ile diş hareketinin metrik ölçümünü yapmışlar; ancak direkt ağız içi ölçümleriyle arada istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır (Baran vd., 1992; Karadede, 1992; Akın, 1997). Ayrıca diş hareketi sonucu ratların keserlerinin mobilitesi oldukça arttığından filmin ağza yerleştirilirken dişlerde konum değişikliği olabileceği; ışın kaynağı ile diş arasındaki mesafenin tam olarak ayarlanamadığı bildirilmiştir (Baran vd., 1992).

Ortodontik kuvvet uygulandıktan sonra özellikle ilk saatlerde çok hızlı diş hareketi oluşması diğer araştırmacıların (Storey,1973; Bridges vd., 1988; Van de Velde vd., 1988) bulguları ile uyumludur. Bu durumun dokuların viskoelastik yapısından kaynaklandığı belirtilmiştir.

Deney sürecinin 3. ve 8. günlerinin sonunda yapılan ölçümlerde ortodontik diş hareketi miktarının Grup II' de en fazla olduğu görülmüş; ancak gruplar arası farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Bu bulgu ratlarda ortodontik diş hareketinin düşük doz lazer terapisiyle stimüle edildiğini bildiren Kawasaki ve Shimizu (2000), Yamaguchi vd. (2007) ve Fujita vd. (2008)'nin bulgularıyla ters düşmektedir. Ortaya çıkan farklı sonuçların çalışmamızdaki gruplardaki denek sayısının az olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Ortodontik kuvvet uygulanan gruplarda premaksiller suturda belirgin genişleme olmaması, gerilim tarafındaki dokularda kistik oluşumlara rastlanmaması Engström ve Storey'in de belirttiği gibi uyguladığımız kuvvetin fizyolojik limitler içerisinde olduğunu göstermektedir (Storey, 1973; Engström ve Thilander, 1985). Dolayısıyla elde edilen diş hareketi ortopedik etkiden çok ortodontik etkiyle meydana gelmiştir.

Aparey uygulanmamış kontrol grubundaki çok çekirdekli osteoklastlar ve Howship lakünalarının varlığı genç rat keserlerinin alveoler kemiğinde ortodontik kuvvet uygulamadan da aktif remodelingin sürdüğünü göstermektedir.

Ortodontik kuvvet uygulanan grupların hepsinde çok çekirdekli osteoklastlar, kemik rezorpsiyonu ve Howship lakünaları artmış olarak bulunmuştur. Bu bulgu Oppenheim vd. (1944), Reitan vd. (1967), Otero vd. (1973), Mostafa vd. (1983), Yamasaki (1983), Chao vd. (1988) ve Engström vd. (1988)'nin bulguları ile uyumludur.

Çalışmamızda II. grubun hem A hem de B alt gruplarında osteoklastlar istatistiksel olarak anlamlı oranda artmış bulunmuştur. III. grupta da bu değerlerin I. gruptan yüksek bulunması, düşük doz lazer enerjisinin diş hareketinin erken dönemlerinden itibaren osteoklastik aktiviteyi stimüle ettiğini göstermektedir. Bu bulgu lazer uygulamasının çok çekirdekli osteoklastları sayıca arttırdığını bildiren Yamaguchi vd. (2007) ve Fujita vd. (2008)'nin bulgularıyla uyumludur. Aihara vd. (2006) de düşük doz lazerin osteoklastların farklılaşmasını ve aktivasyonunu hızlandırdığını belirtmiştir.

Nicolau vd. (2003) lazer ışınlarının osteoklastları direkt etkileyerek osteoklast yüzey alanını arttırdığını gözlemlemişlerdir. Çok çekirdekli hücreler olan osteoklastlarda çok sayıda aktif mitokondri bulunmaktadır (Schenk, 1994). Karu

(1999)'ya göre mitokondriyal sitokromlar foton enerjisini absorbe etmekte ve sonuçta ATP sentezi ve hücrelerin potansiyel aktivitesi artmaktadır. Dolayısıyla bol mitokondri içeren osteoklastların lazer ışınlarından daha fazla etkilendiği düşünülebilir. Ayrıca artan osteoklast aktivitesinin takip eden osteoblastik aktiviteyi etkileyebileceği belirtilmiştir (Bergmann, 1989; Mac Donald ve Gowen, 1993).

Bilindiği üzere osteoklastlar monosit/makrofaj ailesine ait olup hematopoetik öncül hücrelerden farklılanmaktadır (Roodman, 1996). Histolojik çalışmalarda osteoklastları tanımlamak için genellikle TRAP (Tartrate-resistant acid phosphatase) salınımı incelenir (Roodman vd., 1985). İn vitro çalışmalarda osteoklast aktivitesi kemik veya dentin dokusunda kavitasyon oluşumu gözlenerek değerlendirilebilir ve bu yöntem olgun, aktif osteoklastları net olarak tanımlar (Chambers vd., 1984). Güncel olarak bu yöntemlere osteoklast farklılaşma faktörü olarak tanımlanan RANKL salınımının değerlendirilmesi eklenmiştir.

Ogasawara vd. (2004) ortodontik diş hareketi esnasında osteoblastlarda ve PDL hücrelerinde RANKL bulunduğunu saptamışlar; kemik 'remodellinginde' RANKL-OPG iletişiminin ve bunların salınımının düzenlenmesinin çok önemli olduğunu belirtmişlerdir (Thomas vd., 2001; Hasegawa vd., 2002). Kawasaki vd. (2006) yaptıkları çalışmada insanlarda dişe ortodontik kuvvet uygulanmasının ardından 24. saatte RANKL/OPG oranının anlamlı artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Soedarsono vd. (2006) RANK/RANKL/OPG sisteminin osteoklast farklılaşmasında ve fonksiyonunda kritik rolü olduğunu belirtmişlerdir. Blair vd. (2007) RANKL ve OPG'in osteoklastlarda RANK aktivasyonunu pozitif veya negatif olarak yönlendirerek kemik rezorpsiyonunu düzenlediklerini bildirmişlerdir. Çalışmamızda düşük doz lazerin diş hareketi esnasında oluşan osteoklastik aktiviteyi ne şekilde veya hangi yoldan etkilediğini ortaya koymak için RANKL/OPG değişimlerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Nishijima vd. (2006) kanin retraksiyonu esnasında dişeti oluğu sıvısındaki RANKL düzeyinin anlamlı artış, OPG düzeyinin önemli oranda düşüş gösterdiğini saptamışlardır. Ayrıca bu değişimlerin kuvvet uygulandıktan 24 saat sonra belirgin hale geldiğini ve 168 saat sonra anlamlı farklılık kalmadığını bildirmişlerdir. Fujita vd. (2008) RANK salınımının diş hareketinin erken dönemlerinde (2-3. günler) ortaya çıktığını; daha sonra gruplar arası farklılığın önemini yitirdiğini bildirmişlerdir. Dolayısıyla çalışmamızda düşük doz lazerin RANK-OPG salınımı üzerine etkilerini

yansıtabilmek için her gruptan dörder hayvanın deneyin 3. gününün sonunda sakrifiye edilmesine karar verilmiştir.

Çalışmamızda lazer uygulanan gruplarda (Grup II ve III) sadece aparey uygulanan gruba (Grup I) oranla RANKL salınımının arttığı gözlenmiştir. Ayrıca Grup II'de Grup III'den daha fazla immunoreaktivite görülmesi RANKL salınımının lazer enerjisinin dozuna göre değişiklik gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu bulgular, Aihara vd. (2006) ve Fujita vd. (2008)'nin bulgularıyla uyumludur.

Gruplar OPG salınımı açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında farklılık saptanmamıştır. Kanzaki vd. (2002) ve Fujita vd. (2008) çalışmamızla benzer sonuçlar bildirmişlerdir. Nishijima vd. (2006) ise diş hareketi esnasında RANKL seviyesinin yükseldiğini; OPG seviyesinin ise düştüğünü belirtmiştir. Ancak, kontrol mekanizması olarak tuzak protein olan OPG de belirgin farklılık görülmemekle beraber, artan RANKL nedeniyle RANKL/OPG oranı yine de yüksek kalmaktadır. Çalışmamızda OPG düzeylerinin azalmamış olarak gözlenmesinin, artan osteoklast aktivitesinin daha fazla doku yıkımı yapmasının engellenmesi sonucunda oluştuğu düşünülmüştür.

Dişler kemik içerisinde hareket ettirildiklerinde periodontal ligamente komşu kemik yüzeyinde rezorpsiyon meydana gelmektedir. Bu durumda basınç bölgesindeki osteoklastik aktivite ile gerilim bölgesindeki osteoblastik aktivitenin birbirleriyle uyumlu olması fizyolojik diş hareketine benzer bir 'remodelling' siklusu oluşmasını sağlamaktadır (Vignery ve Baron, 1980). Diş hareketi sırasında basınç bölgesindeki alveolün periodontal ligamente komşu yüzeylerinde rezorpsiyon sürerken eş zamanlı olarak dış yüzeylerde de apozisyon meydana gelmesi, alveolün dışın hareket ettiği yöne doğru taşınması ile sonuçlanmaktadır. Bu, dışın alveol kemiğinin orijinal sınırları dışına hareket ettirilebilmesine olanak vermektedir (Melsen, 1999). Bizim çalışmamızda da ortodontik kuvvet uygulanan grupların tümünde hem gerilim bölgesinde hem de basınç bölgesinde alveol kemiğinin dış yüzeyinde osteoblast hücrelerinin sayısında artış olduğu belirlenmiştir. Ancak kemik yapımı izlenebilmesine rağmen yıkım kadar belirgin değildir. Bu bulgu rezorpsiyon periyodunun apozisyon periyoduna oranla daha kısa olmasına bağlanabilir (Jaworski, 1971).

Bu çalışmada gruplar osteoblast hücre sayısı açısından karşılaştırıldığında deneyin 3. gününde gruplar arasında fark bulunamazken; deneyin 8. gününde II. Grup ile diğer gruplar arasında anlamlı oranda fark olduğu saptanmıştır. Ortodontik diş hareketinde önce osteoklastik aktiviteyle yıkım süreci başlayıp yapım süreci daha geç

geliştiğinden deneyin 3. gününde osteoblast sayısının gruplar arasında farklılık göstermediği düşünölmüştür. Deneyin 8. gününde saptanan farklılık ise çeşitli araştırmacıların düşük doz lazer enerjisinin osteoblastik aktivite üzerinde stimölatif etkisi olduğu yönündeki bulgularıyla uyumludur (Yamada, 1991; Barushka vd., 1995; Yaakobi vd., 1996; Saito ve Shimizu, 1997; Ozawa vd., 1998; Gravello-Freitas vd., 2003; Darı, 2002; Nicolau vd., 2003; Kim vd., 2009). Lazer radyasyonu osteoblastların maturasyonu için gerekli stimölasyon gücüne sahiptir; osteoblastik aktiviteyi arttırarak organik matriks oluşumunu ve mineralizasyonu hızlandırır (Kim vd., 2009). Kawasaki ve Shimizu (2000) ise lazer radyasyonuyla hücrel stimölasyon sonucu gerilim tarafında kemik formasyonunun; basınç tarafında ise osteoklast sayısının artmasıyla ortodontik diş hareketinin hızlandırıldığını bildirmiştir. Deney sürecinin sonunda osteoblast hücre sayısının Grup II'de anlamlı artış gösterirken; Grup I ile Grup III arasında farklılık göstermemesi uygulanan lazer enerjisinin yetersiz kaldığını ortaya koymuştur.

Çalışmamızda gruptaki osteoblast, osteoklast ve fibroblast hücrelerinin proliferasyonunu değerlendirebilmek amacıyla anti-PCNA (Proliferatif Hücre Çekirdek Antijeni) antikörları kullanılmıştır. Anti-PCNA primer antiköru ile yapılan boyama sonucunda Grup II-A'da osteoklast hücrelerinin; Grup II-B'de ise osteoblast hücrelerinin proliferasyonunun daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu bulgular, düşük doz lazer uygulamasıyla PCNA pozitif hücre sayısının 1.3 kat arttığını bildiren Kawasaki ve Shimizu (2000)'nun ve % 45.52 ± 1.56 artış saptayan Kim vd. (2009)'nin bulgularıyla uyumludur.

Lazer uygulanan grupta osteoblast sayılarının sadece aparey uygulanan gruptakinden fazla olması, osteoklastların kemik rezorpsiyonuna yol açan ajanlar tarafından aktivasyonunun osteoblastlar tarafından düzenlendiğini öneren hipotetik model ile açıklanabilir (Vaes, 1988). Bu hipoteze göre; osteoklastların rezorptif ajanlara cevabı, bazı osteoblastik fonksiyonlara ve osteoblastların aktivite bölgesine yakınlıklarına ve bu bölgedeki yoğunluklarına bağlıdır. Hipotez, rezorpsiyon ajanlarına ait spesifik reseptörlerin osteoblastlarda osteoklastlardan daha yüksek oranda bulunmasına; osteoblastların bazı aktivitelerinin osteoklastların etkinliklerini arttıracak özellikte olmasına dayanmaktadır (Vaes, 1988).

Yukarıdaki bilgiler ışığında 8 günlük deney sürecinin sonunda elde edilen preparatlar karşılaştırıldığında beklendiği üzere lazer uygulanan grupta yeni kemik

oluşumunun daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu konuda Grup II'deki artışın Grup III'ten daha fazla olması stimülasyonun doza bağımlı oluştuğunu ortaya koymaktadır. Bu bulgular, Ozawa vd. (1998), Yaakobi vd. (1996) ve Gravello-Freitas vd. (2003)'nin bulgularıyla uyumludur. Ozawa vd. (1998) düşük doz lazer terapisi sayesinde rat kalvaryal osteoblastları tarafından oluşturulan kalsifiye kemik nodüllerinin sayısında anlamlı bir artış tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Yaakobi vd. (1996) çalışmalarında kalsiyum akümülyasyon hızını değerlendirmişler; lazer uygulanan kültürlerde hızın % 50 artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Gravello-Freitas vd. (2003) ise tibialarına düşük doz lazer uygulanan ratlarda yeni oluşan kemik trabeküllerinin daha kalın olduğunu; doku metabolizmasının hızlandırıldığını; intertrabeküler kemik iliğinde hücre sayısının (aktif osteoblastlar ve göç eden enflamatuar hücreler) arttığını gözlemlemişlerdir.

Basınç ve gerilim yüzeyindeki kapiller vaskülarizasyon, aparey uygulanmış tüm gruplarda artış göstermiştir. Ortodontik kuvvet uygulamasını takiben osteoklastik aktivite ve kemik rezorpsiyonundaki artışa paralel olarak basınç bölgesinde vaskülarizasyonun arttığına dair bulgular diğer araştırmacılar tarafından da tespit edilmiştir (Yamasaki vd., 1984; Rygh vd., 1986; Kvinnsland vd., 1989; Sato ve Grasser, 1990; King vd., 1997; Vandevska-Radunovic vd., 1997). Ayrıca Khouw ve Golhaber (1970), Yamasaki vd. (1982) ve Inubushi (1990)'nin de belirttiği gibi basınç bölgesinde kapillerlerin genişlemesi uygulanan kuvvetin hafif olduğunu ve direkt kemik rezorpsiyonunun meydana geldiğini göstermektedir.

Çalışmamızda lazer uygulanan gruplarda kapiller vaskülarizasyonun anlamlı oranda artış gösterdiği bulunmuştur. Grup II ile Grup III arasındaki farklılık ise bu artışın doza göre değiştiğini göstermiştir. Kapiller vaskülarizasyonun osteoklastik aktivite ve kemik rezorpsiyonundaki artışa paralel olarak geliştiği göz önüne alındığında, lazer uygulanan gruplardaki vaskülarizasyon artışının osteoklastik aktivite; dolayısıyla ortodontik diş hareketi artışıyla ilgili olduğu düşünülmüştür. Çalışmamız bulgularıyla uyumlu olarak, Glinkowski ve Pokora (2001) da düşük dozda lazer ışınlarının dokuda mikrosirkülasyonu ve anjiyogenezi arttırdığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda lazer uygulanan II. ve III. gruplarda enflamasyon, I. gruba kıyasla anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. Ortodontik diş hareketinin enflamatuar yanıtla geliştiği düşünüldüğünde bu bulgu düşük doz lazer enerjisinin stimülatif etkisi olduğu görüşünü desteklemektedir. II. ve III. gruplar arasındaki farklılık ise değişimlerin doz-bağımlı olduğunu göstermektedir.

Shimizu vd. (1995) lazer uygulaması sonucu PGE₂ ve IL1- β sentezinin inhibe edildiğini belirtmişlerse de Fujita vd. (2008) sitokinlerin baskılanmasının ortodontik diş hareketini yavaşlatacağını belirtmiştir. Glinkowski ve Pokora (2001) ise kemik dokusuna uygulanan biyostimülan lazerin makrofaj migrasyonunu hızlandırarak fagositozu ve sitokin (IL-1, TGF- β) ve prostaglandinlerin sentezini arttırdığını bildirmişlerdir. Bu bulgular çalışmamız bulgularını desteklemektedir.

Çalışmamızda düşük doz lazer terapisinin uygulanan ortodontik kuvvete karşı verilen enflamatuvar yanıtı şiddetlendirerek osteoklastik aktiviteyi arttırdığı saptanmıştır. Enflamatuvar sitokinler osteoklast hücre aktivitesinin düzenleyicilerinden olan RANKL salınımını tetiklemektedir. Ayrıca enflamatuvar durumlarda osteoblastların yanı sıra savunma sistemi hücrelerinden de RANKL salınmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda RANKL salınımının arttığı düşünülmüştür. Düşük doz lazer terapisi dokuda gelişen biyolojik yanıt ne ise, o süreci stimüle etmektedir. Lazer ışınları osteoklastik aktivite varken bu süreci, osteoblastik aktivite ortaya çıktığında ise osteoblastları stimüle etmektedir. Deney sürecinin 3. günü henüz osteoblastik aktivite için erken olduğundan gruplar arasında fark çıkmamıştır. Deney sürecinin sonunda ise bir miktar diş hareketinin ardından kemik yapımı başladığından lazer uygulanan gruplarda stimülasyonla osteoblast hücre sayısı artışı daha fazla olmuştur. Osteoblast hücre sayısının Grup III'te Grup II'den düşük olmakla birlikte Grup I'e göre daha fazla olması biyostimülasyonun doza bağlı ortaya çıktığını göstermiştir.

Bilindiği üzere Arndt-Schultz kanununa göre dokuya gerekenden fazla dozda ışın uygulandığında dokuda stimülasyon yerine inhibisyon ortaya çıkmaktadır. Çalışmamızda kullanılan enerji dozu literatürde düşük doz lazer terapisi için uygun olduğu belirtilen dozlara göre yüksek olmasına rağmen diş hareketi stimüle edilebilmiştir. Grup III'teki deneklere Grup II'dekilere göre daha düşük dozda enerji verilmesine rağmen diş hareketi miktarı Grup II'de daha fazladır. Bu da Grup III'te kullanılan dozun (literatürde belirtilen dozlara göre yüksek olmasına rağmen) stimülasyon için yetersiz kaldığını göstermektedir. Histolojik ve immunokimyasal bulgular da bu sonucu desteklemektedir. Enerji dozu konusundaki farklılıkların ışınların dokuda dağılması yüzünden ortaya çıktığı düşünülmektedir. Ayrıca Tuner ve Hode lazer cihazlarının uygulanan dozu yanlış gösterebileceğini; bu yüzden dokuya verilen gerçek dozu saptayabilmek için dozometre kullanılması gerektiğini bildirmişlerdir. Çalışmamız

bulguları ışığında stimülasyon için uygun dozu belirlemek amacıyla yapılacak çalışmalarda dozometre kullanılmasının aydınlatıcı olacağı düşünülmüştür.

Çalışmamızda ortodontik diş hareketi miktarı açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamaması denek sayısının az olmasına bağlanmıştır. Ortodontik diş hareketi stimülasyonu için gereken etkin dozun belirlenebilmesi için daha fazla sayıda denek kullanarak ve doz çeşitliliği artırılarak yapılacak çalışmaların metrik ve histolojik takibine ihtiyaç vardır.

6.SONUÇLAR

Ortodontik diş hareketi esnasında uygulanan düşük doz lazer terapisinin ortodontik diş hareketi hızı üzerine etkilerinin incelendiği bu çalışmada bulguların değerlendirilmesiyle şu sonuçlara varılmıştır:

1. Uygulanan zemberek ile rat keserlerinde ortodontik diş hareketi başarıyla sağlanmıştır.
2. 8 günlük deney sürecinin sonunda ortodontik diş hareketi miktarları karşılaştırıldığında en fazla diş hareketi 54 J lazer uygulanan II. Grup'ta olmasına karşın; gruplar arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.
3. Histolojik incelemede deney sürecinin 3. gününün sonunda osteoklast sayısı, kapiller vaskülarizasyon ve enflamatuar yanıtta 54 J lazer uygulanan II. Grup'ta diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak önemli oranda artış saptanmıştır. Sadece aparey uygulanan I. Grup ile 15 J lazer uygulanan III. Grup karşılaştırıldığında ise osteoklast sayısı, kapiller vaskülarizasyon ve enflamatuar yanıtta ait parametrelerin III. Grup'ta istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksek olduğu görülmüştür.
4. Histolojik incelemede deney sürecinin 3. gününün sonunda osteoblast sayısı açısından gruplar arasında fark bulunmamıştır.
5. Gruplara ait deney sürecinin sonunda elde edilen mikrograflar, osteoklast ve osteoblast sayısı, kapiller vaskülarizasyon ve enflamatuar yanıt açısından karşılaştırıldıklarında 54 J lazer uygulanan II. Grup'ta tüm değerlerde istatistiksel olarak önemli oranda artış gözlenmiştir. Osteoklast sayısı, kapiller vaskülarizasyon ve enflamatuar yanıtta ait parametreler III. Grup'ta I. Gruba oranla yüksek bulunurken; osteoblast sayısı açısından iki grup arasında fark bulunmamıştır.
6. Yapılan immunohistokimyasal değerlendirmeler sonucunda RANKL immunoreaktivitesinin II. Grup'ta daha fazla artış gösterdiği saptanmıştır. I. Grup ile III. Grup karşılaştırıldığında ise immunreaktivitenin III. Grup'ta daha fazla olduğu gözlenmiştir.
7. Yapılan immunohistokimyasal değerlendirmeler sonucunda OPG immunoreaktivitesinin gruplar arasında farklılık göstermediği görülmüştür.

Çalışmamızda, her ne kadar gruplar arasında ortodontik diş hareketi miktarı açısından fark bulunamamış olsada; histolojik ve immunohistokimyasal değerlendirmeler ışığında düşük doz lazer terapisinin uygulanan dozla bağıntılı olarak ortodontik diş hareketi üzerinde biyostimülan etkisi olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Aguirre, J. I. (2006). Osteocyte Apoptosis is Induced by Weightlessness in Mice and Precedes Osteoclast Recruitment and Bone Loss, *Journal of Bone and Mineral Res.*, 21, 605 - 615.
- Aihara, N., Yamaguchi, M. and Kasai, K. (2006). Low Energy Laser Stimulates Formation of Osteoclast-like Cells via RANK Expression *in vitro*, *Lasers Med. Sci.*, 21, 24-33.
- Ajubi, N. E., Klein-Nulend, J., Nijweide, P. J., Vrijheid-Lammers, T., Alblas, M. J. and Burger, E. H. (1996). Pulsating Fluid Flow Increases Prostaglandin Production by Cultured Chicken Osteocytes-a Cytoskeleton-Dependent Process, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 225, 62 - 68.
- Akın, E. (1997). Nitrik Oksit’ in Ortodontik Diş Hareketlerinde Osteoklast Aktivitesi Üzerine Olan Etkilerinin Deneysel Olarak Araştırılması, GATA Dişhek. Fak., Doktora Tezi, Ankara.
- Alhashimi, N., Frithiof, L., Brudvik, P. and Bakhiet, M. (2000). Orthodontic Movement Induces High Numbers of Cells Expressing Interferon γ at mRNA and Protein Levels, *J. Interferon Cytokine Res.*, 20, 7-12.
- Alhashimi, N., Frithiof, L., Brudvik, P. and Bakhiet, M. (2001). Orthodontic Tooth Movement and *de novo* Synthesis of Proinflammatory Cytokines, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 119, 307 - 312.
- Alhashimi, N., Frithiof, L., Brudvik, P. and Bakhiet, M. (2004). CD 40-CD 40L Expression During Orthodontic Tooth Movement in Rats, *Angle Orthod.*, 74, 100-5.
- Ando, T., Noguchi, I., Satoh, Y., Fuse, S., Hayama, S., Takahashi, M., Yamada, M., Kawaguchi, T., Inaba, H. and Sayama, K. (1985). Use of Soft Lasers in Dentistry, *Shikai Tenbo*, 66, 1265-1268.
- Apajalahti, S., Sorsa, T., Railavo, S. and Ingman, T. (2003). The *in vivo* Levels of Matrix Metalloproteinase-1 and -8 in Gingival Crevicular Fluid During Initial Orthodontic Tooth Movement, *J. Dent. Res.*, 82, 1018 - 1022.
- Aras, E. (1996). Deneysel Ortodontik Diş Hareketleri Üzerine Düşük Doz Asetilsalisilik Asit Uygulamasının Zaman ile İlişkisi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
- Aras, M.H. ve Güngörmüş, M. (2008). Düşük Seviyeli Lazer Terapisi, *Türk Dişhekimliği Dergisi*, 72, 98-101.
- Arisu, H.D., Türköz, E. ve Bala, O. (2006). Effects of Nd:YAG Laser Irradiation on Osteoblast Cell Cultur, *Lasers Med. Sci.*, 21, 175-180.
- Ashcraft, M.B., Southard, K.A. and Tolley, E.A. (1992). The Effect of Corticosteroid-induced Osteoporosis on Orthodontic Tooth Movement, *Am. J. Orthod.*, 102, 310-319.
- Atalı, E. (2007). Lazer Nedir?, *Dentiss*, 1(2), 22-25.
- Atay, S. (1999). Ortodontik Diş Hareketlerinde PGI₂ ve TxA₂ ‘nin Osteoklast Aktivitesi Üzerine Olan Etkilerinin Deneysel Olarak Araştırılması, Genelkurmay Başkanlığı Gülhane Askeri Tıp Akademisi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Bakker, A. D., Joldersma, M., Klein-Nulend, J. and Burger, E. H. (2003). Interactive Effects of PTH and Mechanical Stress on Nitric Oxide and PGE₂ Production by Primary Mouse Osteoblastic Cells, *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*, 285, E608 - E613.

- Baran, S. (1992). Sıçanlarda Lokal Uygulanan 1,25 Dihidroksikolekalsiferolün İki Farklı Dozunun Deneysel Ortodontik Diş Hareketlerine Etkilerinin Araştırılması, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Diyarbakır.
- Baran, S., Soydan, N., Akalar, M. ve Karadede, İ. (1992). Sıçanlarda Deneysel Ortodontik Diş Hareketi Eşliğinde Lokal Uygulanan 1,25 Dihidroksikolekalsiferol'ün Howship Lakünalarına Etkisinin Araştırılması, D.Ü. Dişhek. Fak. Der., 3(1-2), 92-96.
- Barushka, O., Yaakobi, T. and Oron, U. (1995). Effect of Low Energy Laser (HeNe) Irradiation on the Process of Bone Repair in the Rat Tibia, Bone, 16, 47-55.
- Basset, C.A.L. and Becker, R.O. (1962). Generation of Electric Potentials by Bone in Response to Mechanical Stress, Science, 137, 1063-5.
- Basset, C.A.L., Pilla, A.A. and Pawluk, R.J. (1977). A Non-Operative Salvage of Surgically –Resistant Pseudoarthroses and Non-Unions by Pulsing Electromagnetic Fields, Clin. Orthopae. Relat. Res., 124, 128-143.
- Baumann, M., Jörgensen, B., Rohdec, E., Bindig, U. and Mu, G. (2006). Influence of Wavelength, Power Density and Exposure Time of Laser Radiation on Chondrocyte Cultures – An in-vitro Investigation, Med. Laser Application, 21, 191-198.
- Baumrind, S. (1969). A Reconsideration of the Property of the Pressure Tension Hypothesis, Am. J. Orthod., 55, 12-22.
- Baumrind, S. and Buck, D.L. (1970). Rate Changes in Cell Replication and Protein Synthesis in the Periodontal Ligament Incident to Tooth Movement, Am. J. Orthod., 57(2), 109-131.
- Beertsen, W., McCulloch, C. A. and Sodek, J. (1997). The Periodontal Ligament: a Unique, Multifunctional Connective Tissue, Periodontology 2000, 13, 20-40.
- Bergmann, P. (1989). Controle Local du Remaniement Osseux, Rev. Med. Brux., 10, 419-423.
- Bensadoun, R.J., Franquin, J.C., Ciasis, G., Darcourt, V., Schubert, M.M. and Viot, M. (1999). Low-energy He-Ne Laser in the Prevention of Radiation-Induced Mucositis: A Multicenter Phase III Randomized Study in Patients with Head and Neck Cancer, Support Care Cancer, 7, 244-252.
- Berlien, H.P. and Müller, G. (1989). Angewandte Lasermedizin, Lehr und Handbuch für Praxis und Klinik, Herausgegeben von Laser-Medizin-Zentrum Berlin, Ecomed Berlin.
- Berridge, M.J. (1987). Inositol Triphosphate and Diacylglycerol: Two Interacting Second Messengers, Ann. Rev. Biochem, 56, 159-93.
- Binderman, I., Zor, U., Kaye, A.M., Shimsoni, Z., Harell, A. and Somjen, D. (1988). The Transduction of Mechanical Force into Biochemical Events in Bone Cells May Involve Activation of Phospholipase A₂, Calc. Tissue Int., 42, 261-266.
- Binderman, I., Bahar, H. and Yaffe, A. (2002). Strain Relaxation of Fibroblasts in the Marginal Periodontium is the Common Trigger for Alveolar Bone Resorption: a Novel Hypothesis, Journal of Periodontology, 73, 1210-1215.
- Birkedal-Hansen, H., Moore, W.G., Bodden, M.K., Windsor, L.J., Birkedal-Hansen, B., DeCarlo, A. and Engler, J.A. (1993). Matrix Metalloproteinases: a Review, Critical Reviews in Oral Biology and Medicine, 4(2), 197-250.
- Blair, J.M., Zheng, Y. and Dunstan, C.R. (2007). RANK Ligand, Int. J. Biochem. Cell Biol., 39, 1077-81.
- Boisson, M. and Gianelly, A. (1981). Collagen Synthesis in Rat Gingiva During Tooth Movement, Am. J. Orthod., 80, 289-99.

- Borgens, R.B. (1984). Endogenous Ionic Currents Traverse Intact and Damaged Bone, *Science*, 225, 478-82.
- Boulton, M. and Marshall, J. (1986). He-Ne Laser Stimulation of Human Fibroblast Proliferation and Attachment in vitro, *Lasers Life Sci.*, 1, 125-134.
- Brand, R. A., Stanford, C. M. and Nicoletta, D. P. (2001). Primary Adult Human Bone Cells Do Not Respond to Tissue Level Strains, *Journal of Orthopaedic Science*, 6, 295-301.
- Bridges, T., King, G. and Mohammed, A. (1988). The Effects of Age on Tooth Movement and Mineral Density in the Alveolar Tissues of the Rat, *Am. J. Orthod.*, 93(3), 245-250.
- Brudvik, P. and Rygh, P. (1991). Root Resorption After Injection of Prostaglandin E₂ During Experimental Tooth Movement, *Eur. J. Orthod.*, 13, 255-263.
- Brudvik, P. and Rygh, P. (1994). Multi-nucleated Cells Remove The Main Hyalinized Tissue and Start Resorption of Adjacent Root Surfaces, *Eur. J. Orthod.*, 16, 265-273.
- Brune, K., Glatt, M., Kalin, H. and Peskar, B.A. (1978). Pharmacological Control of Prostaglandin and Thromboxane Release from Macrophages, *Nature*, 274, 261-263.
- Bumann, A., Carvalho, R. S., Schwarzer, C. L. and Yen, E. H. (1997). Collagen Synthesis from Human PDL Cells Following Orthodontic Tooth Movement, *Eur. J. Orthod.*, 19, 29-37.
- Burch, J. W., Stanford, N. and Majerus, P.W. (1977). Inhibition of Platelet Prostaglandin Synthetase by Oral Aspirin, *J. Clin. Invest.*, 61, 314-319.
- Burger, E. H., Klein-Nulend, J. and Smit, T. H. (2003). Strain-derived Canalicular Fluid Flow Regulates Osteoclast Activity in a Remodelling Osteon – a Proposal, *J. Biomechanics*, 36, 1453-1459.
- Burrow, S.J., Sammon, P.J. and Tuncay, O.C. (1986). Effects of Diazepam on Orthodontic Tooth Movement and Alveolar Bone cAMP Levels in Cats, *Am. J. Orthod.*, 90(2), 102-105.
- Burstone, C.J. (1962). *The Biomechanics of Tooth Movement*, Vistas in Orthodontics, Lea & Febiger, Philadelphia.
- Calderhead, R.G. and Ohshiro, T. (1991). *Progress in Laser Therapy*, John Wiley & Sons, Chichester.
- Cattaneo, P. M., Dalstra, M. and Melsen, B. (2005). The Finite Element Method: a Tool to Study Orthodontic Tooth Movement, *J. Dent. Res.*, 84, 428-433.
- Chambers, T.J. (1980). The Cellular Basis of Bone Resorption, *Clin. Orthopae. Relat. Res.*, 151, 283-291.
- Chao, C.F., Shih, C., Wang, T.M. and Lo, T.H. (1988). Effect of Prostaglandin E₂ on Alveolar Bone Resorption During Orthodontic Tooth Movement, *Acta Anat.*, 132, 304-309.
- Chambers, T.J., Revell, P.A., Fuller, K. and Athanasou, N.A. (1984). Resorption of Bone by Isolated Rabbit Osteoclasts, *J. Cell Sci.*, 66, 383-399.
- Chen, J.W. and Zhou, Y.C. (1989). Effect of Low Level Carbon Dioxide Laser Irradiation on Biochemical Metabolism of Rabbit Mandibular Bone Callus, *Laser Ther.*, 1, 89-93.
- Cheng, H., Jiang, W., Phillips, F.M., Haydon, R.C., Peng, Y., Zhou, L., Luu, H.H., An, N., Breyer, B., Vanichakarn, P., Szatkowski, J.P., Park, J.Y. and He, T.C. (2003). Osteogenic Activity of the Fourteen Types of Human Bone Morphogenetic Proteins (BMPs), *Journal of Bone and Joint Surgery*, 85A, 1544-1552.

- Cherian, P. P., Siller-Jackson, A.J., Gu, S., Wang, X., Bonewald, L.F., Sprague, E. and Jiang, J.X. (2005). Mechanical Strain Opens Connexin 43 Hemichannels in Osteocytes: a Novel Mechanism for The Release of Prostaglandin, *Molecular Biology of the Cell*, 16(7), 3100-3106.
- Chumbley, A.B. and Tuncay, O.C. (1986). The Effect of Indomethacin (an aspirin-like drug) on the Rate of Orthodontic Tooth Movement, *Am. J. Orthod.*, 89(4), 312-314.
- Collins, K.M. and Sinclair, M.P. (1988). The Local Use of Vitamin D₃ to Increase the Rate of Orthodontic Tooth Movement, *Am. J. Orthod.*, 94(4), 278-284.
- Cordioli, G.P., Favero, G.A. and Frezzato, A. (1985). Use of 904 nm Laser in Dentistry: 1st Clinical Experience, *G. Stomatol. Ortognatodonzia*, 3, 87-89.
- Cowin, S.C., Weinbaum, S. and Zeng, Y. (1995). A Case For Bone Canaliculi As The Anatomical Site of Strain Generated Potentials, *J. Biomechanics*, 28, 1281-1297.
- Cruz, D., Kohara, E., Riberio, M. and Wetter, N. (2004). Effects of Low-Intensity Laser Therapy on the Orthodontic Movement Velocity of Human Teeth: A Preliminary Study, *Lasers Surg. Med.*, 35, 117-120.
- Çağlaroğlu, M. (2006). Farklı Yöntemlerle Uygulanan Prostaglandin E₂'nin Diş Hareketi ve Kemik Metabolizması Üzerine Etkilerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Erzurum.
- Darı, O. (2002). Sıçanlarda Midpalatal Ekspansiyon Uygulamasında Düşük Doz Laser Etkilerinin İncelenmesi, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Diyarbakır.
- Davidovitch, Z. and Shanfeld, J.L. (1975). Cyclic AMP Levels in Alveolar Bone of Orthodontically Treated Cats, *Arch. Oral Biol.*, 20, 567-574.
- Davidovitch, Z., Finkelson, M.D., Steigman, S., Shanfeld, J.L., Montgomery, P.C. and Korostoff, E. (1980). Electric Currents, Bone Remodeling, and Orthodontic Tooth Movement I- The effect of Electric Currents on Periodontal Nucleotides, *Am. J. Orthod.*, 77(1), 14-32.
- Davidovitch, Z., Finkelson, M.D., Steigman, S., Shanfeld, J.L., Montgomery, P.C. and Korostoff, E. (1980). Electric Currents, Bone Remodeling, and Orthodontic Tooth Movement II- Increase in Rate of Tooth Movement and Periodontal Cyclic Nucleotide Levels by Combined Force and Electric Current, *Am. J. Orthod.*, 77(1), 33-47.
- Davidovitch, Z., Shanfeld, J.L., Montgomery, P.C., Lally, E., Laster L., Furst, L. and Korostoff, E. (1984). Biochemical Mediators of the Effect of Mechanical Forces and Electric Current on Mineralized Tissues, *Calcif. Tissue Int.*, 36(1), 86-97.
- Davidovitch, Z., Nicolay, O.F., Ngan, P.W. and Shanfeld, J.L. (1988). Neurotransmitters, Cytokines and the Control of Alveolar Bone Remodeling in Orthodontics, *Dent. Clin. North Am.*, 32, 411-35.
- Davidovitch, Z., Nicolay, O.F., Alley, K.E., Zwilling, B.S., Lanese, R.R. and Shanfeld, J.L., (1989). Biochemical Mediators of the Effect of Mechanical Forces and Electric Current on Mineralized Tissues, *Calcif. Tissue Int.*, 36, 586-597.
- Davidovitch, Z. (1991). Tooth Movement, *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 2, 411-450.
- Davidovitch, Z. (1995). Cell Biology Associated with Orthodontic Tooth Movement, In: Berkovitz BB, Moxham BJ, Newman HN, editors. *The periodontal ligament in health and disease*. St Louis: Mosby.

- De Angelis, V. (1970). Observations on the Response Of Alveolar Bone to Orthodontic Force, *Am. J. Orthod.*, 58(3), 284-294.
- Dereka, X. E., Markopoulou, C. E. and Vrotsos, I. A. (2006). Role of Growth Factors on Periodontal Repair, *Growth Factors*, 24, 260-267.
- Dewhirst, F.E., Moss, D.E., Offenbacher, S. and Goodson, J.M. (1983). Levels of Prostaglandin E₂, Tromboxane, and Prostacyclin in Periodontal Tissue, *J. Periodont. Res.*, 18, 156-163.
- Drugarin, M., Negru, S. and Cioace, R. (2003). RANK-RANKL/OPG Molecular Complex – Control Factors in Bone Remodeling, *TMJ*, 53, 296-302.
- Duncan, R. L. and Turner, C. H. (1995). Mechanotransduction and The Functional Response of Bone to Mechanical Strain, *Calcified Tissue International*, 57, 344-358.
- Engström, C. and Thilander, B. (1985). Premature Facial Synostosis: The Influence of Biomechanical Factors in Normal and Hypocalcemic Young Rats, *Eur. J. Orthod.*, 7, 35-47.
- Engström, C. and Noren, J.G. (1986). Effects of Orthodontic Force on Enamel Formation in Normal and Hypocalcemic Rats, *J. Oral Pathol. Med.*, 15, 78-82.
- Engström, C., Granstrom, G. and Thilander, B. (1988). Effect of Orthodontic Force on Periodontal Tissue Metabolism, *Am. J. Orthod.*, 93(6), 486-494.
- Epker, B.N. and Frost, H.M. (1965) Correlation of Bone Resorption and Formation with the Physical Behavior of Loaded Bone, *J. Dent. Res.*, 44, 33-41.
- Ersöz, M. (2004). Ortodontik Diş Hareketi Süresince Kemik Rezorpsiyon ve Depozisyonunda Rol Alan Hormonlarda Meydana Gelen Değişimler, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Erzurum.
- Farrar, J.N. (1888). Irregularities of the Teeth and Their Correction, New York: DeVinne Press, 1, 658.
- Finsen, N.F. (1901). Phototherapy, Arnold, London.
- Fujita, S., Yamaguchi, M., Utsunomiya, T., Yamamoto, H. and Kasai, K. (2008). Low-Energy Laser Stimulates Tooth Movement Velocity Via Expression of RANK and RANKL, *Orthod. Craniofac. Res.*, 11, 143-155.
- Furstman, L., Bernic, S. and Aldrich, D. (1971). Differential Response Incident to Tooth Movement, *Am. J. Orthod.*, 59(6), 600-608.
- Garavello-Freitas, I., Baranauskas, V., Joazeiro, P.P., Padovani, C.R., Dal Pai Silva, M. and Cruz-Höfling, M.A. (2003). Low-Power Laser Irradiation Improves Histomorphometrical Parameters and Bone Matrix Organization during Tibia Wound Healing in Rats, *J. Photochem. Photobiol.*, 70, 81-89.
- Gay, C.V. and Weber, J. A. (2000). Regulation of Differentiated Osteoclasts, *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, 10, 213-230.
- Gianelly, A.A. and Schnur, R.M. (1969). The Use of Parathyroid Hormone to Assist Orthodontic Tooth Movement, *Am. J. Orthod.*, 55(3), 305.
- Glinkowski, W. and Pokora, L. (2001). Lasers in Therapy, Warsaw.
- Goldmann, W. H. (2002). Mechanical Aspects of Cell Shape Regulation and Signaling, *Cell Biology International*, 26, 313-317.
- Goodson, J.M., McClatchy, K. and Revell, C. (1974). Prostaglandin Induced Resorption of the Adult Rat Calvarium, *J. Dent. Res.*, 53, 670-677.
- Goulart, C., Nouer, P.R.A., Mouramartins, L., Garbin, I.U. ve Lizerelli, R.D.Z. (2006). Photoradiation and Orthodontic Movement: Experimental Study with Canines, *Photomed. Laser Surg.*, 24(2), 192-196.
- Göknaar, Y. (2007). Dişhekimliğinde Lazer Uygulamaları, *Dentiss*, 1(2), 28-32.

- Gray, R.W., Weber, H.P., Dominguez, J.H. and Leamann, J. (1974). The Metabolism of Vitamin D₃ and 25-Hydroxyvitamin D₃ in Normal Anephric Humans., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 39, 1045-1056.
- Griffith, J.Q. and Machella, T.E. (1942). *The Rat in Laboratory Investigation*, J.B. Lippincott Comp., USA.
- Grimm, F.M. (1972). Bone Bending, a Feature of Orthodontic Tooth Movement, *Am. J. Orthod.*, 62, 384-93.
- Hasegawa, T., Yoshimura, Y. and Kikuri, T. (2002). Expression of Receptor Activator of NF-kappa B Ligand and Osteoprotegerin in Culture of Human Periodontal Ligament Cells, *J. Periodont. Res.*, 37, 405-411.
- Harell, A., Dekel, S. and Bindermen, I. (1977). Biochemical Effect of Mechanical Stress on Cultured Bone Cells, *Calcif. Tissue Res.*, 22 (Suppl), 202-7.
- Harter, L.V., Hruska, K.A. and Duncan, R.L. (1995). Human Osteoblast-like Cells Respond to Mechanical Strain with Increased Bone Matrix Protein Production Independent of Hormonal Regulation, *Endocrinology*, 136, 528-535.
- Henneman, S., Von den Hoff, J. W. and Maltha, J. C. (2008). Mechanobiology of Tooth Movement, *Eur. J. Orthod.*, 30, 299-306.
- Hentunen, T.A., Cunningham, N.S., Vuolteenaho, O., Reddi, A.H. and Väänänen, H.K. (1994). Osteoclast Recruiting Activity in Bone Matrix, *Bone Miner.*, 25, 183-198.
- Hermanson, P.C. (1972). Alveolar Bone Remodeling Incident to Tooth Movement, *Angle Orthod.*, 42(2), 107-115.
- Hill, P. A. (1998). Bone Remodelling, *British Journal of Orthodontics*, 25, 101-107.
- Hokin, M.R. and Hokin, L.E. (1953). Enzyme Secretion and the Incorporation of ³²p into Phospholipids of Pancreas Slices, *J. Biol. Chem.*, 203, 967-77.
- Howard, P.S., Kucich, U., Taliwal, R. and Korostoff, J.M. (1998). Mechanical Forces Alter Extracellular Matrix Synthesis by Human Periodontal Ligament Fibroblasts, *J. Periodont. Res.*, 33, 500-508.
- Hynes, R.O. (1992). Integrins: Versatility, Modulation, and Signaling in Cell Adhesion, *Cell*, 69, 11-25.
- Ingman, T., Apajalahti, S., Mantyla, P., Savolainen, P. and Sorsa, T. (2005). Matrix Metalloproteinase-1 and -8 in Gingival Crevicular Fluid During Orthodontic Tooth Movement: a Pilot Study during 1 Month of Follow-up after Fixed Appliance Activation, *Eur. J. Orthod.*, 27, 202-207.
- Inubushi, T. (1990). Relationship Between Initial Blood Flow Changes and Histological Changes in Periodontal Tissue During Tooth Movement, *J. Osaka Dent. Univ.*, 24, 33-62.
- Işımer, Y. (1984). Ortodontik Diş Hareketlerinde Prostaglandin ve Tromboksan A₂'nin Etkilerinin Araştırılması, Genelkurmay Başkanlığı Gülhane Askeri Tıp Akademisi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Jager, A. (1996). Histomorphometric Study of Age-Related Changes in Remodelling Activity of human Desmodontal Bone, *J. Anat.*, 189, 257-264.
- Jaworski, Z.F. (1971). Some Morphologic and Dynamic Aspects of Remodelling on the Endosteal, Cortical and Trabecular Surfaces, *Calcified Tissue, Structural and Metabolic Aspects*, New York Academic Press, 159-160.
- Jee, W.S.S., Li, X.J. and Ke, H.Z. (1991). The Skeletal Adaptation to Mechanical Usage in the Rat, *Cells Mater.*, 1, 131-142.
- Jones, D.B. and Bingmann, D. (1991). How Do Osteoblasts Respond To Mechanical Stimulation? *Cells Mater.*, 1, 329-40.

- Jones, D.B., Nolte, H., Scholubbers, J.G., Turner, E. ve Veltel, D. (1991). Biochemical Signal Transduction of Mechanical Strain in Osteoblast-like cells, *Biomaterials*, 12, 101-10.
- Kale, S. (2002). 1,25-Dihidroksikolekalsiferol ve PGE₂ 'nin Ortodontik Diş Hareketi Üzerindeki Etkilerinin Deneysel Olarak Karşılaştırılması, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
- Kale, S., Kocadereli, İ., Atilla, P. ve Aşan, E. (2004). Comparison of the Effects of 1,25 Dihydroxycholecalciferol and Prostaglandin E₂ on Orthodontic Tooth Movement, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 125, 607-14.
- Kanzaki, H., Chiba, M., Shimizu, Y. and Mitani, H. (2002). Periodontal Ligament Cells Under Mechanical Stress Induce Osteoclastogenesis by Receptor Activator of Nuclear Factor κ B Ligand Up-Regulation Via Prostaglandin E₂ Synthesis, *J. Bone Miner. Res.*, 17, 210-220.
- Kanzaki, H., Chiba, M., Takahashi, I., Haruyama, N., Nishimura, M. and Mitani, H. (2004). Local OPG Gene Transfer to Periodontal Tissue Inhibits Orthodontic Tooth Movement, *J. Dent. Res.*, 83, 920-5.
- Karadede, M.İ. (1992). Düşük Doz Aspirinin Deneysel Ortodontik Diş Hareketleri Üzerine Olan Etkisinin Sıçanlarda İncelenmesi, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Diyarbakır.
- Kardos, B.T. and Simpson, L.O. (1980). A New Periodontal Membrane Biology Based on Thixotropic Concepts, *Am. J. Orthod.*, 77, 508-15.
- Kartsogiammis, V., Zhou, H. and Horwood, N.J. (1999). Localization of RANKL mRNA and Protein in Skeletal and Extraskeletal Tissues, *Bone*, 25, 525-534.
- Karu, T. (1999). Primary and Secondary Mechanisms of Action of Visible to Near- IR Radiation on Cells, *J. Photochem. Photobiol. B.*, 49, 1-17.
- Kavuklu, İ. (1999). Sodyum Pamidronat'ın Ortodontik Diş Hareketi Üzerindeki Etkisinin Deneysel Olarak Araştırılması, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
- Kawasaki, K. and Shimizu, N. (2000). Effects of Low-Energy Irradiation on Bone Remodelling During Experimental Tooth Movement in Rats, *Lasers Surg. Med.*, 26, 282-291.
- Kawasaki, K., Takahashi, T., Yamaguchi, M. and Kasai, K. (2006). Effects of Aging on RANKL and OPG Levels in Gingival Crevicular Fluid During Orthodontic Tooth Movement, *Orthod. Craniofac. Res.*, 9(3), 137-42.
- Kehoe, M.J., Cohen, S.M., Zarrinnia, K. and Cowan, A. (1996). The Effect of Acetaminophen, Ibuprofen, and Misoprostol on Prostaglandin E₂ Synthesis and the Degree and Rate of Orthodontic Tooth Movement, *Angle Orthod.*, 66, 339-49.
- Kerrigan, J.J., Mansell, J.P. and Sandy, J.R. (2000). Matrix Turnover, *J. Orthod.*, 27, 227-33.
- Kert, J. and Rose, L. (1989). Clinical Laser Therapy, *Scandinavian Medical Technology*, 1482, 29.
- Khadra, M., Lyngstadaas, S.P., Haanes, H.R. and Mustafa K. (2005). Effect of Laser Therapy on Attachment, Proliferation and Differentiation of Human Osteoblast-like Cells Cultured on Titanium Implant Material, *Biomaterials*, 26, 3503-3509.
- Khouw, F.E. and Goldhaber, P. (1970). Changes in Vasculature of the Periodontium Associated with Tooth Movement in the Rhesus Monkey and Dog, *Archs. Oral Biol.*, 15, 1125-1132.

- Kim, J.W. and Lee, J.O. (1998). Double Blind Croos-Over Clinical Study of 830 nm Diode Laser and 5 Years Clinical Experience of Biostimulation in Plastic Surgery & Aesthetic Surgery in Asians, *Lasers Surg. Med.*, 10, 59.
- Kim, Y.D., Kim, S.S. and Hwang, D.S. (2007a). Effect of Low-level Laser Treatment after Installation of Dental Titanium Implant- Immunohistochemical Study of RANKL, RANK, OPG: An Experimental Study in Rats, *Lasers Surg. Med.*, 39, 441-450.
- Kim, Y.D., Kim, S.S. and Hwang, D.S. (2007b). Effect of Low-level Laser Treatment after Installation of Dental Titanium Implant- Immunohistochemical Study of Vascular Endothelial Growth Factor: An Experimental Study in Rats, *Laser Phys. Lett.*, 4, 681-685.
- Kim, S.J., Moon, S.U., Kang, S.G. and Park, Y.G. (2009). Effects of Low-Level Laser Therapy after Corticision on Tooth Movement and Paradental Remodeling, *Lasers Surg. Med.*, Jul 28, Epub ahead of print.
- Kimmel, D.B. (1993). A Paradigm for Skeletal Strength Homeostasis, *Journal of Bone and Mineral Research*, 8(2), 515-522.
- King, G.J., Latta, L., Rutenberg, J., Ossi, A. and Keeling, S.D. (1997). Alveolar Bone Turnover and Tooth Movement in Rats after Removal of Orthodontic Appliance, *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.*, 111, 266-275.
- Klein-Nulend, J., Roelofsen, J., Sterck, J.G., Semeins, C.M. and Burger, E. H. (1995a). Mechanical Loading Stimulates the Release of Transforming Growth Factor-beta Activity by Cultured Mouse Calvariae and Periosteal Cells, *Journal of Cellular Physiology*, 163, 115-119.
- Klein-Nulend, J., Semeins, C.M., Ajubi, N.E., Nijweide, P.J. and Burger, E.H. (1995b). Pulsating Fluid Flow Increases Nitric Oxide (NO) Synthesis by Osteocytes but not Periosteal Fibroblasts - Correlation with Prostaglandin Upregulation, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 217, 640-648.
- Klein-Nulend, J., van der Plas, A., Semeins, C.M., Ajubi, N.E., Frangos, J.A., Nijweide, P.J. and Burger, E.H. (1995c). Sensitivity of Osteocytes to Biomechanical Stress in vitro, *The FASEB Journal*, 9(5), 441-445.
- Knothe Tate, M.L., Steck, R., Forwood, M.R. and Niederer, P. (2000). *In vivo* Demonstration of Load-induced Fluid Flow in The Rat Tibia and Its Potential Implications For Processes Associated With Functional Adaptation, *Journal of Experimental Biology*, 203, 2737-2745.
- Kurata, K., Heino, T.J., Higaki, H. and Vaananen, H.K. (2006). Bone Marrow Cell Differentiation Induced by Mechanically Damaged Osteocytes in 3D Gelembded Culture, *Journal of Bone and Mineral Research*, 21, 616-625.
- Kvinnsland, S., Heyeras, K. and Ofjord, E.S. (1989). Effect of Experimental Tooth Movement on Periodontal and Pulpal Blood Flow, *Eur. J. Orthod.*, 11, 200-205.
- Kyomen, S. and Tanne, K. (1997). Influence of Aging Changes in Proliferative Rate of PDL Cells During Experimental Tooth Movement in Rats, *Angle Orthod.*, 67, 67-72.
- Langholz, O., Röckel, D., Mauch, C., Kozłowska, E., Bank, I., Krieg, T. and Eckes, B. (1995). Collagen and Collagenase Gene Expression in Three-Dimensional Collagen Lattices are Differentially Regulated by $\alpha 1 \beta 1$ and $\alpha 2 \beta 1$ integrins, *Journal of Cell Biology*, 131, 1903-1915.
- Lee, W. (1990). Experimental Study of the Effect of Prostaglandin Administration on Tooth Movement with Particular Emphasis on the Relationship to the Method of PGE₁ Administration, *Am. J. Orthod.*, 98(3), 231-241.

- Leiker, B.J., Nanda, R.S., Currier, G.F., Howes, R.I. and Sinha, P.K. (1995). The Effects of Exogenous Prostaglandins on Orthodontic Tooth Movement in Rats, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 108, 380-388.
- Lew, K.K. (1991). Attitudes and Perceptions of Adults towards Orthodontics Treatment in an Asian Community, *Commun. Dent. Oral Epidemiol.*, 21, 31-35.
- Limpanichkul, W., Godfrey, K., Srisuk, N. and Rattanayatikul, C. (2006). Effects of Low Level Laser Therapy on The Rate of Orthodontic Tooth Movement, *Orthod. Craniofac. Res.*, 9, 38-43.
- Luger, E.J., Rochkind, S., Wollman, Y., Kogan, G. and Dekel, S. (1998). Effect of Low-Power Laser Irradiation on the Mechanical Properties of Bone Fracture Healing in Rats, *Lasers Surg. Med.*, 22, 97-102.
- Macapanpan, L.C., Weinmann, J.P. and Brodie, A.G. (1954). Early Tissue Changes Following Tooth Movement in Rats, *Angle Orthod.*, 24, 79-95.
- Mac Donald, B.R. and Gowen, M. (1993). The Cell Biology of Bone, *Baillières Clin. Rheumatol.*, 7, 421-443.
- Mak, A.F., Huang, D.T., Zhang, J.D. and Tong, P. (1997). Deformation-induced Hierarchical Flows and Drag Forces in Bone Canaliculi and Matrix Microporosity, *Journal of Biomechanics*, 30, 11-18.
- Matsuda, N., Morita, N., Matsuda, K. and Watanabe, M. (1998). Proliferation and Differentiation of Human Osteoblastic Cells Associated with Differential Activation of MAP Kinases in Response to Epidermal Growth Factor, Hypoxia, and Mechanical Stress *in vitro*, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 249, 350-354.
- Melsen, B. (1999). Biological Reaction of Alveolar Bone to Orthodontic Tooth Movement, *Angle Orthod.*, 69, 151-158.
- Mester, E., Mester, A.F. and Mester, A. (1985). The Biomedical Effects of Laser Application, *Lasers Surg. Med.*, 5, 31-39.
- Mester, E., Spiry, T., Szende, B. and Tota, J.G. (1971). Effect of Laser Rays on Wound Healing, *Am. J. Surg.*, 122, 532-535.
- Michaeli, Y., Steigman, S. and Harari, D. (1985). Recovery of the Dental and Periodontal Tissue of the Rat Incisor Following Application of Continuous Intrusive Loads: A Long Term Study, *Am. J. Orthod.*, 87(2), 135-143.
- Midda, M. and Renton Harper, P. (1991). Laser in Dentistry, *Dental Technology, British Dental Journal*, 11, 343-346.
- Mitsui, N., Suzuki, N., Maeno, M., Mayahara, K.I., Yanagisawa, M., Mori, S. and Burr, D.B. (1993). Increased Intracortical Remodeling Following Fatigue Damage, *Bone*, 14, 103-109.
- Mostafa, Y.A., Weeks-Dybvig, M. and Osdoby, P. (1983). Orchestration of Tooth Movement, *Am. J. Orthod.*, 83(3), 245-250.
- Mullender, M.G. and Huijkes, R. (1995). Proposal for the Regulatory Mechanism of Wolff's Law, *Journal of Orthopaedic Research*, 13, 503-512.
- Mullender, M., El Haj, A.J., Yang, Y., van Duin, M.A., Burger, E.H. and Klein-Nulend, J. (2004). Mechanotransduction of Bone Cells *in vitro*: Mechanobiology of Bone Tissue, *Medical & Biological Engineering & Computing*, 42, 14-21.
- Myers, M.L. (1991). The Effect of Laser Irradiation on Oral Tissues, *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 66, 395-397.
- Nagasawa, A., Kato, K. and Negishi, A. (1991). Bone Regeneration Effect of Low Level Lasers Including Argon Laser, *Laser Ther.*, 3, 59-62.

- Nahm, D.S., Kim, H.J., Mah, J. and Baek, S.H. (2004). *In vitro* Expression of Matrix Metalloproteinase-1, Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 and Transforming Growth Factor-beta1 in Human Periodontal Ligament Fibroblasts, *Eur. J. Orthod.*, 26, 129-135.
- Nakagawa, M., Kukita, T., Nakasima, A. and Kurisu, K. (1994). Expression of The Type I Collagen Gene in Rat Periodontal Ligament During Tooth Movement As Revealed by *in situ* Hybridization, *Arch. Oral Biology*, 39, 289-294.
- Nakamura, K., Sahara, N. and Deguchi, T. (2001). Temporal Changes in the Distribution and Number of Macrophage-lineage Cells in the Periodontal Membrane of the Rat Molar in Response to Experimental Tooth Movement, *Arch. Oral Biology*, 46, 593-607.
- Nicolau, R., Jorgetti, V., Rigau, J., Pacheco, M., Reis, L.M. and Zangaro, R. (2003). Effect of Low-Power GaAlAs Laser (660 nm) on Bone Structure and Cell Activity: an Experimental Animal Study, *Lasers Med. Sci.*, 18, 89-94.
- Nishijima, Y., Yamaguchi, M., Kojima, T., Aihara, N., Nakajima, R. and Kasai, K. (2006). Levels of RANKL and Crevicular Fluid During Orthodontic Tooth Movement and Effect of Compression Force on Releases From Periodontal Ligament Cells in Vitro, *Orthod. Craniofacial Res.*, 9, 63-70.
- Noble, B. (2005). Microdamage and Apoptosis, *Eur. J. Morph.*, 42, 91-98.
- Noble, B.S., Stevens, H., Loveridge, N. and Reeve, J. (1997). Identification of Apoptotic Changes in Osteocytes in Normal and Pathological Human Bone, *Bone*, 20, 273-282.
- Noble, B.S., Peet, N., Stevens, H.Y., Brabbs, A., Mosley, J.R., Reilly, G.C., Reeve, J., Skerry, T.M. and Lanyon, L.E. (2003). Mechanical Loading: Biphasic Osteocyte survival and Targeting of Osteoclasts for Bone Destruction in Rat Cortical Bone, *American Journal of Physiology, Cell Physiology*, 284(4), C934-943.
- Nomura, S. and Takano-Yamamoto, T. (2000). Molecular Events Caused by Mechanical Stress in Bone, *Matrix Biology*, 19, 91-96.
- Ogasawara, T., Yoshimine, Y., Kiyoshima, T., Kobayashi, I., Matsuo, K., Akamine, A. and Sakai, H. (2004). In Situ Expression of RANKL, RANK, Osteoprotegerin and Cytokines in Osteoclasts of Rat Periodontal Tissue, *J. Periodont. Res.*, 39, 42-9.
- Okumura, E. (1982). Light and Electron Microscopic Study of Multinucleated Giant Cells Related with the Resorption of Hyalinized Tissues, *Nippon Kyosei Shika Gakkai Zasshi*, 41, 531-555.
- Oppenheim, A. (1944). A Possibility for Physiologic Orthodontic Movement, *Am. J. Orthod.*, 30, 227-328.
- Oshiro, T., Shiotani, A., Shibasaki, Y. and Sasaki, T. (2002). Osteoclast Induction in Periodontal Tissue during Experimental Movement of Incisors in Osteoprotegerin-deficient Mice, *The Anatomical Record*, 266, 218-225.
- Otero, R.L., Parodi, R.J., Libios, A.M., Carranza, J.R. and Cabrini, R.L. (1973). Histologic and Histometric Study of Bone Resorption After Tooth Movement in Rats, *J. Periodont. Res.*, 8, 327-333.
- Otsuka, K. and Shimizu, N. (2005) Optimal Compressive Force Induces Bone Formation via Increasing Bone Sialoprotein and Prostaglandin E₂ Production Appropriately, *Life Sci.*, 77, 3168-3182.
- Owan, I., Burr, D.B., Turner, C.H., Qiu, J., Tu, Y., Onyia, J.E. and Duncan, R.L. (1997). Mechanotransduction in Bone: Osteoblasts are More Responsive to Fluid Forces than Mechanical Strain, *American Journal of Physiology*, 273, C810-5.

- Owman-Moll, P., Kurol, J. and Lundgren, P. (1996). Effects of Doubled Orthodontic Force Magnitude on Tooth Movement and Root Resorption, *Eur. J. Orthod.*, 18, 141-50.
- Ozaki, S., Kaneko, S., Podyma-Inoue, K.A., Yanagishita, M. and Soma, K. (2005). Modulation of Extracellular Matrix Synthesis and Alkaline Phosphatase Activity of Periodontal Ligament Cells by Mechanical Stress, *J. Periodont. Res.*, 40, 110-117.
- Ozawa, Y., Shimizu, N., Kariya, G. and Abiko, Y. (1998). Low-Energy Laser Irradiation Stimulates Bone Nodule Formation at Early Stages of Cell Culture in Rat Calvarial Cells, *Bone*, 22, 347-354.
- Önal, B. (1993). Diş Sert Dokularında Laser Kullanımı, *Dişhekimliğinde Klinik Dergisi*, 2, 61-64.
- Phan, T.C., Xu, J. and Zheng, M.H. (2004). Interaction between Osteoblast and Osteoclast: Impact in Bone Disease, *Histology and Histopathology*, 19, 1325-1344.
- Piccione, P.J. (2004). Dental Laser Safety, *Dent Clin North Am*, 48, 795-807.
- Pilon, J.J. (1996). Orthodontic Forces and Tooth Movement, an Experimental Study in Beagle Dogs, Thesis, University of Nijmegen.
- Pilon, J.J., Kuijpers-Jagtman, A.M. and Maltha, J.C. (1996). Magnitude of Orthodontic Forces and Rate of Bodily Tooth Movement: an Experimental Study in Beagle Dogs, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 110, 16-23.
- Pitsillides, A.A., Rawlinson, S.C., Suswillo, R.F., Bourrin, S., Zaman, G. and Lanyon, L.E. (1995). Mechanical Strain-induced NO Production by Bone Cells: a Possible Role in Adaptive Bone (Re)modeling?, *The FASEB Journal*, 9, 1614-1622.
- Pollack, S.R., Salzstein, R. and Pienkowski, D. (1984). The Electric Double Layer in Bone and It's Influence on Stress Generated Potentials, *Calcif. Tissue. Int.*, 36 (Suppl), 77-81.
- Pourreau-Schneider, N., Soudry, M., Remusat, M., Franquin, J.C. and Martin, P.M. (1989). Modifications of Growth Dynamics and Ultrastructure after Helium-Neon Laser Treatment of Human Gingival Fibroblasts, *Quintessence Int.*, 20(12), 887-893.
- Prause, M.A. (2000). Dişhekimliği ve Laser Sistemleri, *Dişhekimliğinde Klinik Dergisi*, 13, 2.
- Prokhonchukov, A.A. (1995). 30 Years of Experience in Using Lasers in Dentistry, *Stomatologiya (Mosk)*, 74, 68-73.
- Reitan, K. (1951). The Initial Tissue Reaction Incident to Orthodontic Tooth Movement As Related to The Influence of Function; an Experimental Histologic Study on Animal and Human Material, *Acta Odontologica Scandinavica*, 6, 1-240.
- Reitan, K. (1954). Tissue Reactions as Related to the Age Factor, *Dental Record*, 74, 271-279.
- Reitan, K. (1957). Some Factors Determining the Evaluation of Force in Orthodontics, *Am. J. Orthod.*, 43, 32-45.
- Reitan, K. (1960). Tissue Behavior During Orthodontic Tooth Movement, *Am. J. Orthod.*, 46, 881-90.
- Reitan, K. (1964). Effect of Force Magnitude and Direction of Tooth Movement on Different Alveolar Bone Type, *Angle Orthod.*, 34, 244-255.
- Reitan, K. (1967). Clinical and Histological Observations on Tooth Movement During and After Orthodontic Treatment, *Am. J. Orthod.*, 53, 721-745.

- Reitan, K. and Kvam, E. (1971). Comparative Behaviour of Human and Animal Tissue During Orthodontic Tooth Movement, *Am. J. Orthod.*, 41(1), 1-4.
- Roberts, W.E., Epker, B.N., Burr, D.B., Hartsfield, J.K. and Roberts, J.A. (2006). Remodeling of Mineralized Tissues, Part II: Control and Pathophysiology, *Semin Orthod*, 12, 238-253.
- Roche, J.J., Cisneros, G.J. and Acs, G. (1997). The Effect of Acetaminofen on Tooth Movement in Rabbits, *Angle Orthod.*, 67, 231-236.
- Roodman, G.D. (1996). Advances in Bone Biology: The Osteoclast, *Endocr. Rev.*, 17, 308-332.
- Roodman, G.D., Ibbotson, K.J., MacDonald, B.R., Kuehl, T.J. and Mundy, G.R. (1985). 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ Causes Formation of Multinucleated Cells with Several Osteoclast Characteristics in Cultures of Primate Marrow, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82, 8213-8217.
- Rygh, P. (1973). Ultrastructural Changes in Pressure Zones of Human Periodontium Incident to Orthodontic Tooth Movement, *Acta Odontologica Scandinavica*, 31, 109-122.
- Rygh, P. (1976). Ultrastructural Changes in Tension Zones of Rat Molar Periodontium Incident to Orthodontic Tooth Movement, *Am. J. Orthod.*, 70(3), 269-281.
- Rygh, P., Bowling, K., Hovlandsdal, L. and Williams, S. (1986). Activation of the Vaskuler System: A Main Mediator of Periodontal Fiber Remodelling in Orthodontic Tooth Movement, *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.*, 89(6), 453-468.
- Sabatini, M., Boyce, B., Aufdemorte, T., Bonewald, L. and Mundy, G.R. (1988). Infusion of Recombinant Human Interleukin 1- α and 1- β Cause Hypercalcemia in Normal Mice, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85, 5235-9.
- Saito, S., Ngan, P., Saito, M., Kim, K., Lanese, R. and Shanfeld, J. (1990). Effect of Cytokines of Prostaglandin E and cAMP in Human Periodontal Ligament Fibroblasts in vivo, *Arch. Oral. Biol.*, 35, 387-95.
- Saito, M., Saito, S., Ngan, P.W., Shanfeld, J. and Davidovitch, Z. (1991). Interleukin 1-beta and Prostaglandin E are Involved in the Response of Periodontal Cells to Mechanical Stress in Vivo and in Vitro, *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.*, 99, 226-40.
- Saito, S. and Shimizu, N. (1997). Stimulatory Effects of Low-Power Laser Irradiation on Bone Regeneration in mid-Palatal Suture During Expansion in The Rat, *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.*, 111, 525-532.
- Sandalli, P. (1989). Dişhekimiğinde Laser, *Oral*, 6, 64-66.
- Sandstedt, C. (1904). Einige Beiträge Zur Theorie der Zahnregulierung, *Nord. Tandl. Tidskr.*, 5, 236.
- Sandy, J.R. and Farndale, R.W. (1991). Second Messengers: Regulators of Mechanically Induced Tissue Remodeling, *Eur. J. Orthod.*, 13, 271-8.
- Sandy, J.R., Farndale, R.W. and Meikle, M.C. (1993). Recent Advances in Understanding Mechanically Induced Bone Remodeling and Their Relevance to Orthodontic Therapy and Practice, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 103, 212-22.
- Sandy, J.R. (1998). Signal Transduction, *British Journal of Orthodontics*, 25, 269-74.
- Sato, M. and Grasser W. (1990). Effects of Biphosphanates on Isolated Rat Osteoklasts as Examined by Reflected Light Microscopy, *J Bone and Mineral Research*, 5, 31-40.
- Schenk, R.K. (1994). Bone Regeneration: Biologic Basis, eds Guided Bone Regeneration: in *Implant Dentistry*, Quintessence Publishing, Chicago, 49-100.

- Schultz, R.J. (1985). Effects of Varying Intensities of Laser Energy on Articular Cartilage, *Lasers Surg. Med.*, 5, 577-588.
- Schwarz, A.M. (1932). Tissue Changes Incident to Orthodontic Tooth Movement, *Int. J. Orthod.*, 18, 331-52.
- Scott, J.H. and Symons, N.B.B. (1977). *Introduction to Dental Anatomy* London, Churchill, Livingstone Ltd., 373-376.
- Seifi, M., Shafeei, H.A. and Daneshdoost, S. (2007). Effects of Two Types of Low-Level Laser Wave Lengths (850 and 630 nm) on the Orthodontic Tooth Movements in Rabbits, *Lasers Med. Sci.*, 22(4), 261-4.
- Sekhavat, A.R., Mousavizadeh, K., Pakshir, H.R. and Aslani, F.S. (2002). Effect of Misoprostol, a Prostaglandin E₁ Analog, on Orthodontic Tooth Movement in Rats, *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.*, 122, 542-7.
- Shanfeld, J., Jones, J., Laster, L. and Davidovitch, Z. (1986). Biochemical Aspect of Orthodontic Tooth Movement, *Am. J. Orthod.*, 90(2), 139-147.
- Shimizu, N., Yamaguchi, M., Goseki, T., Shibata, Y., Takiguchi, H. and Iwasawa, T. (1995). Inhibition of PGE₂ and IL-1 β Production by Low-Power Laser Irradiation in Stretched Human Periodontal Ligament Cells, *J. Dent. Res.*, 74, 1382-1388.
- Shiotani, A., Shibasaki, Y. and Sasaki, T. (2001). Localization of Receptor Activator of NF κ B ligand, RANKL, in Periodontal Tissues During Experimental Movement of Rat Molars, *Journal of Electron Microscopy*, 50, 365-369.
- Singhatanadgit, W., Salih, V. and Olsen, I. (2006). Up-regulation of Bone Morphogenetic Protein Receptor IB by Growth Factors Enhances BMP₂-induced Human Bone Cell Functions, *Journal of Cellular Physiology*, 209, 912-922.
- Smith R. and Storey, E. (1952). The Importance of Force in Orthodontics, *Australian J. Dent.*, 56, 291.
- Snoek-van Beurden, P.A. and Von den Hoff, J.W. (2005). Zymographic Techniques for the Analysis of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors, *BioTechniques*, 38, 73-83.
- Soedarsono, N., Rabello, D., Kamei, H., Fuma, D., Ishihara, Y., Suzuki, M., Noguchi, T., Sakaki, Y., Yamaguchi, A. and Kojima, T. (2006). Evaluation of RANK/RANKL/OPG Gene Polymorphisms in Aggressive Periodontitis, *J. Periodont. Res.*, 41, 397-404.
- Soma, S., Iwamoto, M., Higuchi, Y. and Kurisu, K. (1999). Effects of Continuous Infusion of PTH on Experimental Tooth Movement in Rats, *J. Bone Miner. Res.*, 14(4), 546-54.
- Southard, K.A. and Forbes, D.P. (1988). The Effects of Force Magnitude on a Sutural Model: A Quantitative Approach, *Am. J. Orthod.*, 91(6), 450-466.
- Spivak, J.M., Grande, D.A., Ben-Yishay, A. and Menche, D.S. (1992). The Effect of Low-Level Nd:YAG Laser Energy on Adult Articular Cartilage in vitro, *Arthroscopy*, 8(1), 36-43.
- Stark, T.M. and Sinclair, P.M. (1987). Effect of Pulsed Electromagnetic Fields on Orthodontic Tooth Movement, *Am. J. Orthod.*, 91(2), 91-104.
- Steigman, S., Michaeli, Y. and Weinreb, M. (1987). Structural Changes in the Dental and Periodontal Tissue of the Rat Incisor Following Application of Orthodontic Loads, *Am. J. Orthod.*, 91(1), 49-55.
- Steigman, S., Michaeli, Y., Yitschaky, M. and Schweizer, B. (1991). Dynamics of Tissue Changes Found After Mechanical Loading of the Rat Incisor, *Am. J. Orthod.*, 99(6), 533-541.

- Storey, E. (1973). The Nature of Tooth Movement, *Am. J. Orthod.*, 63(3), 292-314.
- Storey, E. (1973). Tissue Response to the Movement of Bones, *Am. J. Orthod.*, 64, 229-247.
- Sun, G. and Tunér, J. (2004). Low-level Laser Therapy in Dentistry, *Dent. Clin. North Am.*, 48, 1061-1076.
- Sun, X., Zhu, X., Xu, C., Ye, N. and Zhu, H. (2001). Effects of Low Energy Laser on Tooth Movement and Remodeling of Alveolar Bone in Rabbits, *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.*, 19(5), 290-336.
- Sutherland, E.W. and Rall, T.W. (1958). Fractionation and Characterization of a Cyclic Adenine Ribonucleotide Formed by Tissue Particles, *J. Biol. Chem.*, 232, 1077-91.
- Takahashi, I., Nishimura, M., Onodera, K., Bae, J.W., Mitani, H., Okazaki, M., Sasano, Y. and Mitani, H. (2003). Expression of MMP-8 and MMP-13 Genes in the Periodontal Ligament During Tooth Movement in Rats, *J. Dent. Res.*, 82(8), 646-651.
- Takahashi, I., Onodera, K., Nishimura, M., Mitnai, H., Sasano, Y. and Mitani, H. (2006). Expression of Genes For Gelatinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases in Periodontal Tissues During Orthodontic Tooth Movement, *Journal of Molecular Histology*, 37, 333-342.
- Talic, N., Evans, C.A., Daniel, J.C., George, A. and Zaki, A.M. (2004). Immunohistochemical Localization of $\alpha v \beta_3$ Integrin Receptor During Experimental Tooth Movement, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 125, 178-84.
- Tan, S.D., Kuijpers-Jagtman, A.M., Semeins, C.M., Bronckers, A.L., Maltha, J.C., Von den Hoff, J.W., Everts, V. and Klein-Nulend, J. (2006). Fluid Shear Stress Inhibits TNF α -induced Osteocyte Apoptosis, *J. Dent. Res.*, 85(10), 905-909.
- Tang, L., Lin, Z. and Li, Y.M. (2006). Effects of Different Magnitudes of Mechanical Strain on Osteoblasts *in vitro*, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 344, 122-128.
- Taylor, D. and Lee, T.C. (2003). Microdamage and Mechanical Behaviour: Predicting Failure and Remodelling in Compact Bone, *Journal of Anatomy*, 203(2), 203-211.
- Teitelbaum, S.L., Tondravi, M.M. and Ross, F.P. (1997). Osteoclasts, Macrophages, and the Molecular Mechanisms of Bone Resorption, *Journal of Leukocyte Biology*, 61, 381-388.
- Terai, K., Takano-Yamamoto, T., Ohba, Y., Hiura, K., Sugimoto, M., Sato, M., Kawahata, H., Inaguma, N., Kitamura, Y. and Nomura, S. (1999). Role of Osteopontin in Bone Remodeling Caused by Mechanical Stress, *Journal of Bone and Mineral Research*, 14(6), 839-849.
- Theoleyre, S., Wittrant, Y., Tat, S.K., Fortun, Y., Redini, F. and Heymann, D. (2004). The Molecular Triad OPG/RANK/RANKL: Involvement in The Orchestration of Pathophysiological Bone Remodeling, *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 15, 457-475.
- Thomas, G.P, Baker, S.U., Eisman, J.A. and Gardiner E.M. (2001). Changing RANKL/OPG mRNA Expression in Differentiating Murine Primary Osteoblasts, *J. Endocrinol.*, 170, 451-460.
- Tuncer, B.B., Ozmeric, N., Tuncer, C., Teoman, I., Cakilci, B. ve Yucel, A. (2005) Levels of Interleukin-8 During Tooth Movement, *Angle Orthod.*, 75, 539-44.
- Tuner J. and Hode, L. (2002). Laser Therapy: Clinical practice and scientific background, Prima Books AB, Sweden.

- Turner, R.T., Evans, G.L. and Wakley, G.K. (1995). Spaceflight Results in Depressed Cancellous Bone Formation in Rat Humeri, *Aviation, Space, and Environmental Medicine*, 66, 770-774.
- Türkmen, C. (1996). Sorularla Laserin Pratikteki Yeri, *Dışhekimliğinde Klinik Dergisi*, 9(4).
- Ueda, Y. and Shimizu, N. (2001). Pulse Irradiation of Low Power Laser Stimulates Bone Nodule Formation, *J. Oral Sci.*, 43(1), 55-60.
- Utley, R.K. (1968). The Activity of Alveolar Bone Incident to Orthodontic Tooth Movement as Studied by Oxytetracycline-Induced Fluorescence. *Am. J. Orthod.*, 54(3), 167-201.
- Vaes, G. (1988). Cellular Biology and Biochemical Mechanism of Bone Resorption. A Review of Recent Developments on The Formation, Activation, and Mode of Action of Osteoclasts, *Clin. Orthop. Relat. Res.*, 231, 239-71.
- Van Breugel, H. and Bar, P.R.D. (1992). Power Density and Exposure Time of He-Ne Laser Irradiation are More Important Than Total Energy Dose in Photobiomodulation of Human Fibroblasts in vitro, *Lasers Surg. Med.*, 5, 528-537.
- Van de Velde, J.P., Kuitert, R.B., van Ginkel, F.C. and Prahl-Andersen, B. (1988). Histologic Reactions in Gingival and Alveolar Tissues During Tooth Movement in Rabbits, *Eur. J. Orthod.*, 10, 296-308.
- Vandevska-Radunovic, V., Kvinnsland, S. and Kvinnsland, I. (1997). Effect of Experimental Tooth Movement on Nerve Fibers Immunoreactive to Calcitonine Gene-Related Peptid, Protein Gene Product 9.5 and Blood Vessel Density and Distribution in Rats, *Eur. J. Orthod.*, 19, 517-529.
- Van Kooten, C. and Banchereau, J. (1996). CD40-CD40 Ligand: a Multifunctional Receptor Ligand Pair, *Adv Immunol*, 61, 71-77.
- Van Leeuwen, E.J., Maltha, J.C. and Kuijpers-Jagtsman, A.M. (1999). Tooth Movement with Light Continuous and Discontinuous Forces in Beagle Dogs, *Eur. J. Oral Sci.*, 107, 468-74.
- Vergnon, J.M., Huber, R.M. and Moghissi, K. (2006). Place of Cryotherapy, Brachytherapy and Photodynamic Therapy in Therapeutic Bronchoscopy of Lung Cancers, *Eur. Resp. J.*, 28, 200-218.
- Verna, C., Dalstra, M. and Melsen, B. (2000). The Rate and Type of Orthodontic Tooth Movement is Influenced by Bone Turnover in a Rat Model, *Eur. J. Orthod.*, 22, 343-352.
- Verna, C., Dalstra, M., Lee, T.C., Cattaneo, P.M. and Melsen, B. (2004). Microcracks in the Alveolar Bone Following Orthodontic Tooth Movement: a Morphological and Morphometric Study, *Eur. J. Orthod.*, 26, 459-467.
- Verstappen, J. and Von den Hoff, J.W. (2006). Tissue Inhibitors of Metalloproteinases (TIMPs): Their Biological Functions and Involvement in Oral Disease, *J. Dent. Res.*, 85, 1074-1084.
- Vignery, A. and Baron, R. (1980). Dynamic Histomorphometry of Alveolar Bone Remodelling in The Adult Rat, *Anat. Rev.*, 196, 191-200.
- Von Böhl, M., Maltha, J.C., Von den Hoff, H. and Kuijpers-Jagtman, A.M. (2004). Changes in the Periodontal Ligament after Experimental Tooth Movement Using High and Low Continuous Forces in Beagle Dogs, *Angle Orthod.*, 74, 16-25.
- Von Böhl, M., Maltha, J.C., Von Den Hoff, J.W. and Kuijpers-Jagtman, A.M. (2004). Focal Hyalinization During Experimental Tooth Movement in Beagle Dogs. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 125, 615-23.

- Von den Hoff, J.W. (2003). Effects of Mechanical Tension on Matrix Degradation by Human Periodontal Ligament Cells Cultured in Collagen Gels, *J. Periodont. Res.*, 38, 449-457.
- Von Euler, U.S. (1934). Contributions to the Understanding of the Pharmacologic Effect of Secretions and Extracts from Secondary Male Sex Glands, *Naunym-Schmeideberg's Archiv fur Experimental Pathologie und Pharmakologie*, 175, 78-84.
- Waddington, R.J. and Embery, G. (2001). Proteoglycans and Orthodontic Tooth Movement, *J. Orthod.*, 28, 281-90.
- Wall, M.E. and Banes, A.J. (2005). Early Responses to Mechanical Load in Tendon: Role for Calcium Signaling, Gap Junctions and Intercellular Communication, *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions*, 5, 70-84.
- Wang, J.H. and Thampatty, B.P. (2006). An Introductory Review of Cell Mechanobiology, *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 5, 1-16.
- Wang, L.L., Zhu, H. and Liang, T. (2000). Changes of Transforming Growth Factor β -1 in Rat Periodontal Tissue During Orthodontic Tooth Movement, *Chinese Journal of Dental Research*, 3, 19-22.
- Weaks-Dybvig, M., Sanavi, F., Zander, H. and Experimental Periodontitis, *J. Periodont. Res.*, 17, 90-100.
- Weinbaum, S., Cowin, S.C. and Zeng, Y. (1994). A Model for the Excitation of Osteocytes by Mechanical Loading-Induced Bone Fluid Shear Stresses, *Journal of Biomechanics*, 27, 339-360.
- Weishaar, R.E. and Simpson U.R. (1987). Vitamin D₃ and Cardiovascular Function in Rats, *J. Clin. Invest.*, 79, 1706-1712.
- Wennstrom, J.L., Lindhe, J., Sinclair, F. and Thilander, B. (1987). Some Periodontal Tissue Reactions to Orthodontic Tooth Movement in Monkeys, *J. Clin. Periodont.*, 14, 121-129.
- Westbroek, I., Ajubi, N.E., Alblas, M.J., Semeins, C.M., Klein-Nulend, J., Burger, E.H. and Nijweide, P.J. (2000). Differential Stimulation of Prostaglandin G/H Synthase-2 in Osteocytes and Other Osteogenic Cells by Pulsating Fluid Flow, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 268(2), 414-419.
- Xu, J. and Clark, R.A.F. (1996). Extracellular Matrix Alters PDGF Regulation of Fibroblast Integrins, *Journal of Cell Biology*, 132, 239-249.
- Yaakobi, T., Maltz, L. and Oron, U. (1996). Promotion of Bone Repair in the Cortical Bone of the Tibia in Rats by Low Energy Laser (HeNe) Irradiation, *Calcif. Tissue Int.*, 59, 297-300.
- Yamada, K. (1991). Biological Effects of Low Power Laser Irradiation on Clonal Osteoblastic Cells (MC3T3-E1), *J. Jpn. Orthop. Assoc.*, 65, 787-799.
- Yamagishi, H., Shinohara, C., Saito, S., Sasaki, H., Kanegae, H. and Shibasaki, Y. (1994). A Basic Study on the Use of Semiconductor Laser of Penetrative Sensitivity on Living Tissue, *J. Jpn. Soc. Laser Dent.*, 5, 13-22.
- Yamaguchi, M., Ozawa, Y., Nogimura, A., Aihara, N., Kojima, T., Hirayama, Y. and Kasai, K. (2004). Cathepsins B and L Increased during Response of Periodontal Ligament Cells to Mechanical Stress *in vitro*, *Connective Tissue Research*, 45(3), 181-189.
- Yamaguchi, M., Fujita, S., Yoshida, T., Oikawa K., Utsunomiya, T., Yamamoto, H. and Kasai, K. (2007). Low-Energy Laser Irradiation Stimulates the Tooth Movement Velocity Via Expression of M-CSF and c-fms, *Orthodontic Waves*, 66, 139-148.

- Yamamoto, T., Kawakami, M. and Kobayashi, Y. (1992). The Effect of Local Application of 1,25 Dihydrocholecalciferol on Osteoclast Numbers in Orthodontically Treated Rats, *J. Dent. Res.*, 71, 53-59.
- Yamasaki, K., Miura, F. and Suda, T. (1980). Prostaglandin as a Mediator of Bone Resorption Induced by Experimental Tooth Movement in Rats, *J. Dent. Res.*, 59, 1635-42.
- Yamasaki, K., Shibasaki, Y. and Fukuhara, T. (1982). Behavior of Mast Cells in Periodontal Ligament Associated with Experimental Tooth Movement in Rats. *J. Dent. Res.*, 61, 1447-1450.
- Yamasaki, K., Shibata, Y. and Fukuhara, T. (1982). The Effect of Prostaglandins on Experimental Tooth Movement in Monkeys, *J. Dent. Res.*, 61(12), 1444-1446.
- Yamasaki, K. (1983). The Role of cAMP, Calcium and Prostaglandins in the Induction of Osteoclastic Bone Resorption Associated with Experimental Tooth Movement, *J. Dent. Res.*, 62(8), 877-881.
- Yamasaki, K., Shibata, Y., Imai, S., Tani, Y., Shibasaki, Y. and Fukuhara, T. (1984). Clinical Application of Prostaglandin E₁ upon Orthodontic Tooth Movement, *Am. J. Orthod.*, 85(6), 508-518.
- Yang, Y.Q., Li, X.T., Rabie, A.B., Fu, M.K. and Zhang, D. (2006). Human Periodontal Ligament Cells Express Osteoblastic Phenotypes under Intermittent Force Loading *in vitro*, *Frontiers in Bioscience*, 11, 776-781.
- Yee, J.A., Kimmel, D.B. and Jee, W.S.S. (1976). Periodontal Ligament Cell Kinetics Following Orthodontic Tooth Movement, *Cell Tissue Kinet.*, 9, 293-302.
- Yoo, S.K., Warita, H. and Soma, K. (2004). Duration of Orthodontic Force Affecting Initial Response of Nitric Oxide Synthase in Rat Periodontal Ligaments, *Journal of Medical and Dental Sciences*, 51, 83-88.
- You, J., Yellowley, C.E., Donahue, H.J., Zhang, Y., Chen, Q. and Jacobs, C.R. (2000). Substrate Deformation Levels Associated with Routine Physical Activity are Less Stimulatory to Bone Cells Relative to Loading-Induced Oscillatory Fluid Flow, *Journal of Biomechanical Engineering*, 122, 387-393.
- Young, S.R., Dyson, M. and Bolton, P. (1990). Effect of Light on Calcium Uptake by Macrophages, *Laser Therapy*, 2(2), 53-57.
- Youssef, M., Ashkar, S. and Hamade, E. (2008). The Effect of Low Level Laser Therapy During Orthodontic Movement: a Preliminary Study, *Lasers Med. Sci.*, 23(1), 27-33.
- Zengo, A.N., Bassett, C.A., Pawluk, R.J. and Prountzos, G. (1974). In Vivo Bioelectric Potentials in the Dentoalveolar Complex, *Am. J. Orthod.*, 66, 130-9.
- Zhao, S., Zhang, Y.K., Harris, S., Ahuja, S. S. and Bonewald, L.F. (2002). MLO-Y4 Osteocyte-Like Cells Support Osteoclast Formation and Activation, *Journal of Bone and Mineral Research*, 17, 2068-2079.
- Zhu, X., Chen, Y. and Sun, X. (2002). A Study on Expression of Basic Fibroblast Growth Factors in Periodontal Tissue Following Orthodontic Tooth Movement Associated with Low Power Laser Irradiation, *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.*, 20(3), 166-8.

ÖZGEÇMİŞ

12.08.1979 tarihinde Ankara’da doğdu. Öğrenim hayatına Ankara Mimar Kemal İlkokulunda başladı. Orta ve lise eğitimini Sivas Selçuk Anadolu Lisesinde tamamladı. 1997 yılında Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi’nde yüksek öğrenimine başladı ve 2003 yılında mezun oldu. 2003 yılının Ekim ayında gönüllü öğrenci olarak çalışmaya başladığı Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalı’nda 2004 yılının Şubat ayında doktora öğrencisi olarak eğitime başladı. Halen aynı bölümde araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.