



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ  
ANABİLİM DALI

**HASARLI SİNİR DOKUSU VE KIRIK  
İYİLEŞMESİNDE UYGULANAN NGF VE LLL  
TEDAVİSİNİN ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRMALI  
OLARAK İNCELENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Esengül BEKAR**

**Samsun**

**Mart-2015**



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ  
ANABİLİM DALI

**HASARLI SİNİR DOKUSU VE KIRIK İYİLEŞMESİNDE  
UYGULANAN NGF VE LLL TEDAVİSİNİN ETKİLERİNİN  
KARŞILAŞTIRMALI OLARAK İNCELENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Esengül BEKAR**

**Danışman  
Doç. Dr. Nilüfer ÖZKAN**

**Samsun  
Mart-2015**

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini içtenlikle paylaşan ve desteğini hem akademik anlamda hem de manevi olarak hep hissettiğim değerli hocam ve danışmanım Doç. Dr. Nilüfer Özkan'a

Tez sürecindeki desteklerinden dolayı tez izleme jürimdeki Sayın hocalarım Prof. Dr. Süleyman Kaplan'a ve Doç. Dr. İsmail Şener'e

Doktora eğitimime katkılarından dolayı başta Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Mahmut Sümer olmak üzere tüm bölüm hocalarıma,

Çalışmamın gerçekleştirilmesi için destek sağlayan Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü'ne, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Üyelerine ve Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Üyelerine,

Tezimin cihaz tedarik aşamasında destek sağlayan İdealdent Sağlık Ürünleri Sanayi ve Ticaret A. Ş. 'ye,

Tezimin deney sürecine hazırlık aşamasında destek olan OMÜ Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Cenk Soner Bölükbaş'a, Yrd. Doç. Dr. G. Zafer Pekmezci'ye, Yrd. Doç. Dr. A. Tümay Gürler'e,

Tezimin stereolojik, histopatolojik, istatistiksel analizlerinin yapılmasında ve yazım sürecindeki katkılarından dolayı başta OMÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Mehmet Emin Önger'e ve Araştırma Görevlisi Ömür Deniz'e ve Gamze Altun'a,

Tezimin deney aşamasında bana destek olan Dt. Onur Demir, Dt. Sevinç Mayilova'ya, tüm bölüm arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen çok kıymetli aileme,

Teşekkür ederim.

## ÖZET

### HASARLI SİNİR DOKUSU VE KIRIK İYİLEŞMESİNDE UYGULANAN NGF VE LLL TEDAVİSİNİN ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRMALI OLARAK İNCELENMESİ

**Amaç:** Oral ve maksillofasiyal cerrahide kırık oluşumu ve beraberinde veya sonrasında oluşabilecek sinir hasarları hem hekim hem de hasta açısından rahatsızlık vericidir. Sinir büyüme faktörü (NGF), sinir rejenerasyonunda ve devamlılığının sağlanmasında hayati öneme sahiptir. Ayrıca kemik rejenerasyonunda pozitif etkileri de bildirilmiştir. Düşük doz lazer tedavisi (LLLT) maksillofasiyal cerrahi alanında sıklıkla kullanılmaktadır. Düşük doz lazer terapisi genellikle analjezik ve antiinflamatuvar etkileri, yara iyileşmesini ve nöral rejenerasyonu arttırdığı için kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı; ezilme tipi sinir hasarında ve kırık iyileşmesinde NGF ve LLLT'nin etkilerinin incelenmesidir.

**Materyal ve Metod:** Çalışmamız; kontrol, NGF, LLLT ve NGF+LLLT grubu olmak üzere dört grup olmak üzere toplam 28 tavşandan oluşmaktadır. Her grupta mental foramen ile birinci premolar diş arasından vertikal kırık ve mental sinirde ezilme tipi sinir hasarı oluşturulduktan sonra kontrol grubuna 0,02 ml izotonik %0,09 NaCl solüsyonu uygulanmıştır. NGF grubuna 1 µg/0,02 ml h-NGF lokal olarak yedi gün boyunca uygulanmıştır. LLLT grubuna 14 seans 810 nm dalga boyunda GaAlAs lazer operasyon alanına üç dakika süreyle uygulanmıştır. NGF+LLLT grubuna her iki tedavi yöntemi birlikte uygulandı. 28 gün sonra deney hayvanları sakrifiye edilmiştir. Stereolojik, histopatolojik değerlendirme ve istatistiksel analiz yapılmıştır.

**Bulgular:** Elde edilen stereolojik inceleme sonuçlarına göre lazer uygulanan grupta yeni kemik ve yeni oluşan damar hacmi en yüksek bulunmuştur. Sinir dokunun histopatolojik incelenmesi sonucunda NGF grubunda akson sayısının diğer gruplara göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Sonuç olarak çalışmamızda kırık iyileşmesinde LLLT'nin ve ezilme tipi sinir yaralanmasında ise NGF'nin pozitif etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** düşük doz lazer tedavisi, sinir büyüme faktörü, ezilme tipi lezyon, kırık iyileşmesi

**Esengül BEKAR, Doktora Tezi**

**Ondokuz Mayıs Üniversitesi-Samsun, Mart-2015**

## ABSTRACT

### COMPARATIVE ANALYSIS OF THE EFFECTS OF NGF AND LLLT THERAPY ON DAMAGED NERVE TISSUE AND FRACTURE HEALING

**Aim:** In oral and maxillofacial surgery, fractures with nerve injuries leads to disturbing clinical problems both for patients and doctors. Nerve growth factor (NGF) has a vital role in maintenance and regeneration of the nerves and a positive effect on bone regeneration has been showed. Low level laser therapy (LLLT) is usually used in maxillofacial surgery. LLLT is used for its analgesic and antiinflammatory effects and it promotes neural regeneration and wound healing. The aim of this study is to investigate the NGF and LLLT effects on neural regeneration and fracture healing.

**Material and Method:** 28 New Zealand rabbits are divided into four groups: Control (7), NGF (7), LLLT (7) and LLLT+NGF (7). Vertical fracture between mental foramen and first premolar tooth and a crush lesion in mental nerve with a standart clamp is performed in all groups. 0.02 ml 0.09% NaCL isotonic solution was injected to the operation side locally in control group. 1µg/0.02 ml h-NGF was locally injected daily to the operation side in NGF group for seven days. 810 nm wavelength GaAlAs laser (18 J/cm<sup>2</sup>) was applied for 14 sessions to the operation side with 3 minutes application. Both NGF and LLLT is applied as described above in LLLT+NGF group. After 28 days, all the animals were sacrificed.

**Results:** According to the stereological results, angiogenesis and bone regeneration was significantly higher in LLLT group. According to the histopathological examinations in nerve tissue, myelinated axon number was higher in NGF group.

**Conclusion:** As a result, LLLT has beneficial effects on bone regeneration and NGF improves the nerve regeneration in crush lesion.

**Keywords:** Low level laser therapy, nerve growth factor, crush lesion, fracture healing

Esengül BEKAR, PhD Thesis

Ondokuz Mayıs University, Samsun, March-2015

## SİMGELER VE KISALTMALAR

$\beta$	Beta
$\mu$	Mikron
BDNF	Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
bFGF	Temel fibroblast büyüme faktörü
BMP	Kemik Morfojenik Protein
BMU	Temel multiselüler birim
BRC	Kemik remodeling kompartmanları
C(PLC)	Fosfolipaz
CcO	Sitokrom C oksidaz
CIC	Kloridin klorid
CNTF	Silier nörotrofik faktör
Er:YAG	Erbiyum yitrium alimünyum garnet
ERK	Ekstra selüler sinyal regüle kinaz
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
GDF	Büyüme farklılaşma faktörü
Hh	Hedgehog
IAN	İnferior alveoler sinir
IGF	İnsülin büyüme faktörü
Ih	Indian hedgehog
IL	İnterlökin
J	Joule
JNK	Jun N-terminal kinaz
LLLT	Düşük Doz Lazer Tedavisi
MAPK	Ras- mitojen aktive protein kinaz
MCSF	Makrofaj koloni stimüle edici faktör

MSC	Mezenkimal kök hücre
Nd-YAG	Neodmiyum yitriyum alimünyum garnet
NGF	Sinir Büyüme Faktörü
NSAID	Nonsteroid antiienflamatuar ilaç
NT	Nörotrofin
OCIF	Osteogeklastogenezis inhibitör faktör
OPG	Osteoprotegerin
PDGF	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandin E <sub>2</sub>
PI3K-Akt	Fosfatidilinositol 3 kinaz
PTH	Parathormon
RANKL	Nükleer faktör-kappa B ligand
rhBMP	Rekombinant kemik morfojenetik protein
Sh	Sonic hedgehog
SIBLING	Small integrin binding ligand N-linked glikoprotein
TGF	Transforme edici büyüme faktörü
TNF	Tümör Nekrotizan Faktör
TR 1	Reseptör benzeri molekül 1
TrK	Tropomizin kinaz reseptörü
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
W	Watt
WnT	Wingless tip

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	iii
ÖZET .....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	viii
1.GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1.Kemik Dokusu .....	4
2.1.1. Kemik zarları .....	4
2.1.2. Kemik hücreleri .....	5
2.1.3. Kemik tipleri.....	7
2.1.4. Kemikleşme .....	8
2.1.5. Büyüme faktörleri.....	15
2.1.6. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler .....	16
2.2. Sinir Doku .....	19
2.2.1. Temel Sinir Hasarı Tipleri.....	21
2.2.2. Periferik Sinir Hasarı Sınıflaması .....	22
2.2.3. Hasara Karşı Nöral Cevap .....	24
2.2.4. Sinir Büyüme Faktörü (NGF).....	27
2.3. Lazer.....	31
2.3.1. Lazerin Tanımı ve Tarihçesi.....	31
2.3.2. Temel lazer bilimi.....	31
2.3.3. Işık .....	32
2.3.4. Lazer Doku Etkileşimi.....	33
2.3.5. Lazer Sınıflaması.....	35
2.3.6. Diş Hekimliğinde Kullanılan Lazerler .....	36
2.3.6.1. Argon Lazer .....	37
2.3.6.2. Diyet Lazer .....	37
2.3.6.3. Neodmium: YAG (Nd:YAG) Lazer .....	38
2.3.6.4. Erbiyum Lazerler .....	38
2.3.6.5. Karbondioksit (CO <sub>2</sub> ) Lazer .....	39
2.3.7. Lazer Güvenliği .....	39



2.3.8. Düşük Yoğunluklu Lazer Tedavisi (LLLT) .....	41
2.3.8.1. LLLT Tarihi ve Uygulaması .....	42
2.3.8.2. LLLT Mekanizması .....	42
2.3.8.3. LLLT Parametreleri .....	44
<b>3. MATERYAL METOD .....</b>	<b>49</b>
3.1. Cerrahi Prosedür .....	49
3.2. Lazer Cihazının Özellikleri .....	51
3.3. NGF'nin Uygulanması .....	52
3.4. Deney protokolü .....	52
3.5. Histolojik İnceleme .....	53
3.5.1. Stereolojik Analiz .....	53
3.5.2. Elektron Mikroskopik Takip İşlemi .....	54
3.6. İstatistiksel Analiz .....	55
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>55</b>
4.1. Klinik Bulgular .....	56
4.2. Stereolojik Bulgular .....	56
4.2.1. Yeni Kemik Hacmi .....	56
4.2.2. Bağ Doku Hacmi .....	58
4.2.3. Yeni Damar Hacmi .....	61
4.3. Kemik Dokuya Ait Histopatolojik Bulgular .....	62
4.4. Sinir Dokunun Histopatolojik İncelemesi .....	63
4.4.1. Kontrol Grubu .....	63
4.4.2. NGF Grubu .....	64
4.4.3. LLLT Grubu .....	64
4.4.4. NGF+LLLT Grubu .....	65
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>66</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>83</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>84</b>
<b>EK-1 Etik Kurul Onayı .....</b>	<b>144</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>145</b>

## 1.GİRİŞ

Oral ve maksillofasiyal bölge vücudun en korunmasız bölgesi olduğundan sıklıkla yaralanmalara maruz kalmaktadır ve bu yaralanmalar genellikle fizyolojik travmayla ilişkilidir (Oji, 1999; De Sausa, 2008). Travma sonucu maksillofasiyal kırıklar meydana gelebilmektedir.

Kırık iyileşmesi özelleşmiş hücre aktivasyonu ve kemik immobilizasyonu gerektiren önemli bir homeostatik süreçtir (Paterson, 1984; Childs, 2003). Kırık iyileşmesinde redüksiyon ve fiksasyonun yanı sıra yaş, beslenme ve sistemik durum gibi birçok faktör önemli role sahiptir. Günümüze kadar kırık iyileşmesini hızlandırmak amacıyla birçok yöntem uygulanmıştır. Bu çalışmalar genel olarak cerrahi teknik, fiksasyon metotları ve ilaçlar ile ilgilidir (Buckwalter ve ark., 1996; Saleh, 2000). Kemik oluşumunda ve tamirinde, rejenerasyon ve remodelingin sinir sistemiyle ilişkili olduğuna dair çeşitli bulgular mevcuttur (Kottinen ve ark., 1996; Yamashiro ve ark., 2000).

Maksillofasiyal bölgede inferior alveoler sinir (IAN) sıklıkla dentoalveolar cerrahi, tümör cerrahisi, ortognatik cerrahi ve travma sonucu hasara uğramakta ve hastaların önemli bir bölümünde şiddetli disestezi, kalıcı parestezi ve ağrıyı içeren duysal rahatsızlıklar ortaya çıkabilmektedir. Hastalar sinir grefti gibi cerrahi tedavilerden fayda görebilmekle birlikte bunlar zor işlemlerdir ve en yaygın görülen lezyonlardan olan ezilme tipi sinir yaralanmalarında etkisizdirler (Thomas ve ark., 1996; Pogrel 2005).

Nöropeptit içeren sinirler özellikle yeni oluşan kemikte olmak üzere normal kemik dokusunda bol miktarda bulunmaktadır. Dahası sinir hasarı olan hastalarda daha yüksek oranda kırık oluşumu görülmüştür. Ek olarak deneysel olarak denerve edilmiş ratlarda kırık iyileşmesinde değişiklikler ve daha zayıf kırık kallusu oluştuğu görülmüştür (Madsen ve ark., 1998). IAN transeksiyonu yapılan ratlarda alveoler kemik remodelinginin engellendiği rapor edilmiştir (Yamashiro ve ark., 2000). Nörotrofik faktörler arasında yer alan sinir büyüme faktörü (NGF) hasar sonrası periferik sinirlerin rejenerasyonunda kritik role sahiptir. Nöronların proliferasyonunu ve farklılaşmasını arttırmakta ve hasarlı sinirlerin tamirini düzenlemektedir. NGF, duysal ve sempatik sinirlerin rejenerasyonu, gelişimi ve korunmasıyla ilişkili önemli bir

büyüme faktörüdür (Levi-Montalcini, 1987; Wang ve ark., 2006; Savignat ve ark., 2007; 2008; Sun ve ark., 2009; Nakagawa ve ark., 2010). Çeşitli çalışmalarda NGF'nin lokal uygulanmasının sinir iyileşmesini arttırdığı gösterilmiştir (Eppley ve ark., 1991; Wang ve ark., 2006; 2009a; 2009b).

NGF'nin kemik remodelingini arttırdığı ve kırık kemik iyileşmesinde önemli olduğu; insan periodontal hücrelerinde kemik-şemtle ilişkili proteinleri, osteopontin ve alkalın fosfataz ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Rat kırık modelinde NGF'nin lokal uygulanmasının kırık bölgesinde kallusun adrenerjik nöral innervasyonu da dahil olmak üzere katekolamin seviyesini arttırdığı gösterilmiştir (Grills ve ark., 1997).

Bu bulgular NGF'nin hem kırık hem de sinir iyileşmesinde terapötik etkilerinin olduğunu göstermektedir. Bu nedenle çalışmamızda sinir hasarı ve kırık iyileşmesinde NGF kullanılması planlanmıştır.

Oral ve maxillofasial cerrahi uygulamalarda düşük doz lazer tedavisi (LLLT) sıklıkla kullanılmaktadır. LLLT genellikle analjezik ve antienflamatuar etkileri, yara iyileşmesini ve nöral rejenerasyonu arttırdığı için kullanılmaktadır (Buerger ve ark., 2004; Gigo- Benato ve ark., 2005; Camargo ve ark., 2006; Albertini ve ark., 2007; Hoeller ve ark., 2007; Kneebone, 2007; Xuejuan ve ark., 2009).

Teorik olarak LLLT hücre düzeyinde meydana gelen fotokimyasal ve fotobiyolojik etkilerinden dolayı sinir rejenerasyonunda inflamatuvar süreci inhibe etmektedir (Serafim ve ark., 2011). Düşük doz lazerin fizyolojik etkileri hücre düzeyinde oluşmakta ve hücrelerarası iletişimi değiştirerek biyokimyasal ve fizyolojik proliferasyonu stimüle etmekte veya engelleyebilmektedir (Belkin ve Schwartz, 1989; Karu, 1989). LLLT çeşitli büyüme faktörlerinin gen ve/veya proteinlerinin ekspresyonunu önemli oranda arttırarak doku rejenerasyonunu hızlandırmaktadır.

Kırık iyileşmesi ile ilgili ilk çalışmalar 1950'li yılların ortalarında kemik iyileşmesine elektrik stimülasyonunun etkileri incelenerek yapılmıştır. 1970'li yılların başlarında lazerin artan kullanımı ile farklı bağ dokularının iyileşmesine lazer etkilerinin incelenmesi sağlanmıştır. 1971'de Chekurov kemik iyileşmesini hızlandırmada lazerin etkili bir yöntem olduğunu rapor etmiştir (Abergel ve ark., 1984; Trelles ve Mayayo, 1987; Yamada, 1991). Daha sonraki yıllarda lazerin kemik iyileşmesine etkilerini histolojik, radyolojik ve histokimyasal yöntemlerle kullanılarak incelenmiştir. Bu çalışmalarda lazerin kırık iyileşmesine etkileri ile ilgili farklı sonuçlar

ortaya çıkarılmıştır. Yapılan bazı çalışmalarda düşük doz lazerin kırık iyileşmesine önemli bir katkısı olmadığı veya olumsuz etkileri olabileceği bildirilmiştir Ancak kırığın tipi, uygulanan lazerin dozu, uygulama şekli gibi doku iyileşmesini etkileyebilecek faktörler göz önüne alındığında bu konuda daha ileri çalışmaların yapılma gerekliliği ortaya çıkmıştır (Trelles ve Mayayo, 1987; Nagasawa ve ark., 1988; Pourreau-Schneider ve ark., 1989; Yamada, 1991; Gordjestani ve ark., 1994; David ve ark., 1996).

Bu çalışmada oral ve maksillofasiyal cerrahi pratiğinde sık karşılaşılan kemik ve sinir yaralanması tedavisinde NGF ve LLLT uygulamasıyla ilgili yeni bilgi ve görüşlerin ortaya çıkarılması hedeflenmiştir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kemik Dokusu

Kemik doku; mineralize olmuş kollajen matriksten oluşan bağ dokusudur. Kemik matriksi, % 35 oranında organik ve % 65 oranında inorganik olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Organik kısım; kemiğin büyümesi ve tamiri için gerekli olan Tip 1 kollajen, proteoglikan, proteinler, büyüme faktörleri ve sitokinlerden oluşmaktadır. İnorganik kısım ise çoğunlukla hidroksiapatit kristallerinden oluşmakta ve kemiğe sertlik ve direnç kazandırmaktadır. Vücuttaki kalsiyum, fosfor, sodyum ve magnezyumun büyük çoğunluğu kemiklerde depolanmaktadır (Skerry, 1998; Kalfas, 2001; Roberts ve Hartsfield, 2004).

Kemik dokusunun, iskelet oluşturma ve iskelet kaslarına destek sağlama gibi mekanik görevi yanında birçok metabolik görevleri bulunmaktadır. Kas ve tendonların yapışma yeri olan kemikler, hareket etmeye yardımcı olurlar, kendilerine iletilen kuvveti absorbe ederek dağıtırlar ve baş ve göğüs boşluğundaki organların korunmasından sorumludurlar. Bu mekanik işlevlerinin haricinde, organizmanın kalsiyum ve fosfor dengesini sağlamaktadırlar (Meyer ve Wiesmann, 2006).

Kemikler, dış minesinden sonra vücuttaki en sert yapılardır. Dayanıklılığı ve sertliğine rağmen, bireyin ömrü boyunca yıkılıp yeniden yapılan, canlı ve dinamik bir dokudur. Kemiğin kullanılmaması sonucu atrofi, aşırı kullanılması durumunda ise hipertrofi ortaya çıkmaktadır (Erdoğan, 1999; Garg, 2004).

#### 2.1.1. Kemik zarları

Bütün kemiklerin iç ve dış yüzeyleri kemik yapan hücreler ve bağ dokusundan oluşan endosteum ve periosteum olarak adlandırılan tabakalarla örtülmüştür. Endosteum ve periosteumun temel işlevleri kemik dokusunun beslenmesi, onarımı ve büyümesini sağlamaktır.

**Periosteum:** Kollajen lifler ve fibroblastlardan oluşan kemiğin dış tabakasıdır. Kollajen lif demetlerinden oluşan Sharpey lifleri periostu kemiğe bağlamaktadırlar. Periosteumun hücreden zengin iç tabakası kemik büyümesinde ve onarımında önemli rolü olan osteoprogenitör hücreleri içermektedir.

**Endosteum:** Kemik içindeki bütün boşlukları döşemekte ve tek tabaka halinde yassılaştırmış osteoprogenitör hücrelerle, çok az miktarda bağ dokudan oluşmaktadır (Junquera ve Carneiro, 2005).

## 2.1.2. Kemik hücreleri

### Osteoblastlar

Mezenkimal kök hücrelerden köken alan hücrelerdir. Dolaşımdaki hormonlar, lokal olarak salınan sitokinler ve büyüme faktörleri, osteoklast ve osteoblast öncüllerinin çoğalmasını ve farklılaşmasını düzenlemektedirler. Osteoblastların maturasyonu, rezorpsiyon sırasında kemik matriksinden salınan büyüme faktörleri tarafından başlatılır. Osteoblastlar direkt olarak kemik matriksi sentezini ve mineralizasyonunu; indirekt olarak osteoklastlar üzerine parakrin etkileri sayesinde kemik rezorpsiyonunu düzenlemektedirler. Makrofaj koloni stimüle edici faktör (M-CSF), nükleer reseptörün reseptör aktivatörü (NF)- kappa B ligand (RANKL) ve osteoprotegerin (OPG) osteoblastların mezenkimal öncüllerinden salınan lokal faktörlerdir (Rosenberg ve ark., 2013). MCSF, hematopoetik hücrelerin büyümesini, proliferasyonunu ve farklılaşmasını düzenleyen primer büyüme faktörüdür (Stanley ve ark., 1997; Yeung ve Stanley, 2003). RANKL ve OPG, tümör nekrotize edici faktör (TNF) ve TNF reseptör süper ailesinin üyesidirler. Reseptör aktivatör nükleer kappa B liganda (RANK) bağlanmaktadır ve kemik modeling ve remodelingde osteoklast oluşumunu, aktivasyonunu ve devamlılığını sağlamaktadırlar (Silva ve Branco, 2011). Kalsitonin, seks steroidleri, parathormon (PTH), interlökin (IL)-6, insülin büyüme faktörü (IGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF) gibi birçok büyüme faktörü ve hormonların osteoblast üzerine koruyucu anti apoptotik etkileri vardır (Hill ve ark., 1997; Debais ve ark., 2004; Gronowicz ve ark., 2004).

Osteoblast apoptozisi TNF, glukokortikoidler ve kemik morfojenik protein 2 (BMP-2) tarafından, plazma membran reseptörlerinin aktivasyonu yoluyla ve mitokondriden sitokrom C salınımıyla düzenlenmektedir (Jilka ve ark., 1998).

Mezenkimal hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasının ve daha sonra maturasyonu ve proliferasyonu hedgehog (Hh) ve Wingless tip (Wnt) sinyalizasyon yollarıyla düzenlenmektedir. Bu iki sistem sinerjistik etki gösterir. Hh sinyalizasyon yolunun temel rolü; mezenkimal kök hücrelerin (MSC) osteoblastlara maturasyonunun başlamasını indüklemektir (Kangs ve ark., 2007; Day ve Yang, 2008). Wnt protein ailesi hücrelerel yüzey reseptörleriyle standart sitoplazmik sinyalizasyon yoluyla etkileşime girmektedir. Alternatif olarak Wnt yolu, osteoblastların mekanik deformasyonu ile da aktive olabilmektedir (Galli ve ark., 2010).

Bazı osteoblastlar yeni oluşmuş matriks ile kuşatılarak osteosit haline gelirken bir taraftan lakünalar oluşmaktadır. Lakünalar içinde osteosit ve uzantıları, ayrıca az miktarda kireçlenmemiş hücre dışı matriks bulunmaktadır. Osteoblastlar kutuplaşmış hücrelerdir. Daha önceden sentezlenen kemik matriksi ile temas halindeki hücre yüzeylerinden salgılanan matriks elemanları, osteoblastlar ile daha önce meydana gelmiş osteoid adı verilen yeni matriks tabakasını oluşturmaktadır. Kemik apozisyonu denilen bu işlem, yeni oluşmuş matriks üzerine kalsiyum tuzlarının çökmesiyle tamamlanmaktadır. Kemik matriksi sentezlemeyen osteoblastların şekli yassılaşmakta, ancak kolaylıkla aktif sentezleyici durum için tipik kübik biçimlerine dönebilirler (Junquera ve Carneiro, 2005).

### **Osteoklastlar**

Hematopoetik öncü hücrelerden köken alan, çok ve büyük çekirdekli, kemiği rezorbe edebilen tek hücredir. Kemik yüzeyine komşu oluşturdukları asid mikrokompartmentta yaşarlar. Bu asidite V-tip H+adenozin trifosfataz (ATPaz) tarafından yönetilen protonların aktif transportuyla sağlanmaktadır (Baron, 1996). Kloridin, klorid kanalları ile (Cl<sup>-</sup>)-7 pasif transportu elektronötraliteyi korumaktadır. Bunun sonucunda organik matriks proteolitik enzimlere özellikle katepsin K'ye maruz kalmakta ve kemik minerali çözülmetedir. Bilinen tüm uyarılara karşı osteoklast oluşumunu yöneten en önemli faktör, RANKL'dir (Boyle ve ark., 2003; Bruzzaniti ve Baron, 2006). OPG, osteoklastogenezis inhibitör faktör (OCIF), TNF ve reseptör benzeri molekül 1 (TR1) in vivo ve in vitro osteoklast gelişimini inhibe etmektedirler (Suda ve ark., 1999).

**Osteositler:** Osteoblastlardan köken alan hücrelerdir. Kemik formasyonu boyunca mineralize olmayan matriksle çevrenirler. Yetişkin kemik hücrelerinin %90-95'ini oluştururlar (Franz-Odenaal ve ark., 2006).

Osteositlerin ekstraselüler matriksin sentezi için var olan özel kübik formu daha sonra komşu osteositlerle ve kemik yüzeyindeki diğer hücelere bağlanmak için küçük çekirdekli ve çok sayıda uzun, ince uzantılara sahip dendritik hücelere dönüşmektedir (Palumbo, 1986; Doty ve ark, 1990; Palumbo ve ark., 1990).

Kemik dokunun mikroskobik düzeyde en belirgin morfolojik görüntüsünü oluşturan osteositler arasındaki ağ, lakünalar (osteosit hücre gövdelerinin yerleştiği kemik matriksinin içindeki boşluklar) ve kanaliküllerden (osteosit uzantılarını

çevreleyen kemiğin içindeki kanallar) oluşmaktadır. Osteosit oluşum süreci kemik matriksinin mineralizasyonundan önce başlamaktadır. Osteoid mineralize olunca, osteositler geri kalan yaşamları boyunca buldukları bölgede kalırlar. Büyük ölçüde remodellingle turnovera maruz kalmayan kemiğin diğer bölgelerindeki ve hücreler arası lamellerin içindeki osteositler sıklıkla organizmanın yaşamı boyunca canlılıklarını korumaktadırlar. Osteosit hücre gövdeleri ve uzantılarını mineralize kemik matriksinden dar periselüler sıvı ayırmaktadır (Doty, 1981; Paloumbo ve ark., 1990; Bloch, 2012).

Osteositler; osteopontin, osteokalsin, dentin matriks protein 1'i içeren çeşitli nonkollajenöz kemik matriksi proteinlerini, proteoglikanlar ve hyaluronik asit sentezlemektedir (Noonan ve ark., 1996; Thompson ve ark., 2011).

Osteositler kemik yüzeylerinden mineral değişiminden doku modeling/remodelingine kadar iskelet metabolizmasının hemen hemen tümüyle düzenleme kapasitesine sahip multifonksiyonel hücrelerdir. Çevrelerinden hem mekanik hem kimyasal sinyalleri algılayıp birleştirerek efektör hücrelerden (osteoblast, osteoklast, vb.) uygun yanıtları başlatabilirler. Osteositlerin lokal (osteositik osteolizis), rejyonel (modeling, remodeling), ve sistemik (endokrin sinyalizasyonu ile böbrek fonksiyonunun düzenlenmesi) olmak üzere önemli düzenleyici etkileri vardır (Schaffler ve ark., 2014).

### **Osteoprogenitör hücreler**

Embriyonik mezenşimden köken alan, mitozla çoğalabilen ve osteoblastlara farklılaşabilen hücrelerdir. İğsi şekillidirler ve soluk boyanan oval çekirdekleri bulunmaktadır. Periosteumun iç katmanında, endosteumda ve havers kanallarında bulunurlar. Endosteum ve periosttaki osteoprogenitör hücreler iyi vaskülarize bölgelerde osteoblastlara farklılaşırken, iyi vaskülarize olmayan bölgelerde kondroblastlara farklılaşırlar (Cormack, 2001; Gartner ve Hiatt, 2006).

### **2.1.3. Kemik tipleri**

Kemik doku oluşumunda osteoblastlar, kemik matriksinin ana proteini olan tip 1 kollajeni örgü (immatür, woven) ve lameller kemik şeklinde sentezleyerek depolarlar. Örgü kemikte kollajen fibril rasgele dağılmışken, lameller kemikte paralel olarak kümelenmiştir. Lameller kemikte fibriller birbirine ve uzun eksene paralel değıllerdir. Daha çok bitişik katmanlarda ortogonal model denilen longitudinal ve transvers yönlerde birbirini izlemektedir. Bu işlemler normal kemik gelişiminde, kemik



iyileşmesinde ve çeşitli patolojik durumlarda tekrarlanmaktadır (Shapiro, 2008). İmmatür kemik, gelişme süreci boyunca ve kırık tamirinde remodelasyon sırasında lameller kemikle yer değiştirmektedir (White ve Folkens, 2005).

Lameller kemik; kortikal ve spongioz olmak üzere iki tip kemikten oluşmaktadır. Spongioz kemik iskeletin %20 'sini oluşturur. Kortikal kemiğe göre daha poröz yapıya ve daha fazla turnover oranına sahiptir (Baron, 1999). Gevşek bir yapı halinde düzenlenmiş ince plaklar veya trabeküllerden oluşmaktadır. Trabeküller arasındaki boşluğu, kırmızı kemik iliği doldurmaktadır. Spongioz kemik dokuda lameller içeren lakünalar bulunurken havers kanalları bulunmaz. Osteositler besin maddelerini kırmızı kemik iliğinden geçen kan damarlarından kanaliküler aracılığıyla almaktadırlar. Hem kortikal hem de kansellöz kemik aynı hücreler ve aynı ekstraselüler matriks elemanlarından oluşur fakat mimari yapı ve fonksiyonel farklılıklar bulunmaktadır. Yapısal değişiklikler katı madde içeriğine, içeriğindeki boşlukların sayısı ve hacmine bağlıdır. Kompakt kemikte boşluklar küçüktür ve aralarındaki katı madde yoğun iken kansellöz kemikte boşluklar büyüktür ve katı madde içeriği az miktardadır. Fonksiyonel farklılıklar da yapısal farklılıkların sonucunda oluşmaktadır. Kortikal kemiğin yapısal bileşimi temel olarak kemiğin koruyucu ve mekanik fonksiyonunu; trabeküler kemik ise metabolik fonksiyonunu sağlamaktadır (Bronner ve Worrell, 1999).

#### **2.1.4. Kemikleşme**

İskeletsel büyüme sırasında kemiğin şeklinin oluşumu ve devamlılığı, iskeletsel gelişimin başlangıcından iskeletin longitudinal büyümesi tamamlanıncaya kadar yani ikinci dekatın bitimine kadar oluşan kemik modelingine bağlıdır. Modeling remodelingden farklıdır. Modelingde kemik yakın zamanda rezorpsiyona uğramamış kemik bölgelerinde meydana gelir ve böylece kemiğin şeklinde ve makro mimarisinde değişiklik ortaya çıkar. Periosteal yüzeyde kemik oluşumu ve endosteal yüzeyde rezorpsiyon sonucunda uzun kemikler genişler ve medullar kavite gelişir. Remodeling süreci hayat boyu devam eder. Osteoklastlar tarafından rezorbe edilen kemik osteoblast öncüllerinin farklılaşması ve rezorbe edilen kemiğin yerinin doldurulmasıyla devam eder. Remodeling süreci iskeletin anatomik olarak farklı bölgelerinde temel multiselüler birimlerde (BMU) meydana gelir (Frost, 1964). Yetişkin insan kemiğinde rezorpsiyon aktivitesi BMU'da yaklaşık 3 hafta, kemik oluşum cevabı 3-4 ay kadar sürmektedir.

Her yıl iskeletin %5-10 kadarı remodelingle değişime uğrarken, toplam iskelet ise 10 yıl içinde tümüyle yeniden oluşmaktadır (Parfitt,1980).

Remodeling, kalsiyum homeostatik sisteminin tamamlayıcı parçasıdır ve eski kemiğin uzaklaştırılması ve hasarlı kemiğin tamiriyle fiziksel strese adaptasyon için çok önemli bir mekanizmadır. Bu nedenle remodeling iskeletin mekanik bütünlüğünün devamı ve hasarlı kemiğin tamiri için ana unsurdur (Frost, 1964; Parfitt, 1982; Eriksen, 1986; Martin ve ark, 2009).

Remodelingde ilk basamak, hematopoetik öncül hücrelerden aktif osteoklastların oluşumudur. Başlangıç sinyalinin kaynağı farketmeksizin, osteoklastlar kemik iliğindeki prekürsörlerden veya kemik remodeling kompartmanlarındaki (BRC) boşluklarda kemik ara yüzeyindeki kandan toplanabilirler. Bu bölgelerin her birinde rezorbe olan kemik hacmi yerine yeni kemik oluşumu meydana gelir. BMU rezorbe olur ve eski kemikle aynı yerde yer değiştirir. Böylece kemik şeklinde veya büyüklüğünde herhangi bir değişiklik meydana gelmez. Belli miktarda kemik osteoklastik rezorpsiyona maruz kalırken, osteoklastlar ya ölür ya da bölgeden uzaklaştırılırlar. Daha sonra osteoblastlar matriks sentezler ve matriks mineralize olur (Hauge ve ark., 2001; Kristensen ve ark., 2013).

### **İntramembranöz kemikleşme**

Yassı kemiklerin çoğunda görülen intramembranöz kemikleşme, mezenkim dokusunun yoğunlaştığı bölgelerde gerçekteşir. Kafatasının frontal ve parietal kemikleri, oksipital, temporal kemikler, mandibula ve maksillanın bazı kısımlarında intramembranöz kemikleşme görölmektedir.

Kemikleşmenin başladığı noktaya birincil kemikleşme merkezi denir. İşlem bir grup hücrenin osteoblastlara dönüşmesiyle başlar. Osteoblastlar kemik matriksini sentezler, matriks kalsifiye olur ve kalsifiye matriksle çevrili bazı osteoblastlar osteositlere dönüşürler. Gelişen bu kemik adacıkları kılcak kan damarları, kemik iliği hücreleri ve farklılaşmamış hücreleri içeren uzun boşlukların duvarlarını oluşturur. Kemikleşme merkezinde aynı anda ortaya çıkan bu gruplar birleşerek süngerimsi kemiği oluştururlar. Büyüyen kan damarları ve farklılaşmamış mezenkim hücreleri, kemik duvarları arasında kalan bağ doku içine girerek kemik iliği hücrelerini oluştururlar. Kemikleşme merkezleri ışınsal olarak büyür ve sonunda birbirleriyle birleşerek orijinal bağ dokusunun yerini alırlar. Bağ dokusu tabakasının kemikleşmeyen

kısımları zar içinde gelişen kemiğin iç ve dış zarlarını oluştururlar (Junqueira ve Carneiro, 2005).

### **Endokondral kemikleşme**

Endokondral kemikleşmede kemik doku kartilaj modelle yer değiştirir. Yeni oluşacak kemiğin kartilaj modeli, embriyonik mezenkimal hücrelerin kollajen tip 2 ve proteoglikan içeren ekstrasellüler kartilaj matriks komponentlerini salgılayan kondrositlere dönüşmesiyle ortaya çıkar. Kondrosit proliferasyonu ile kartilaj model genişler. Kartilaj modelin ossifikasyonu oluşacak kemiğin orta bölgesinde kondrositlerin hipertrofisinden ve orta bölgeyi çevreleyen farklılaşmış osteoblastlar tarafından periosteal kemik depozisyonundan sonra meydana gelir. Kan damarları, osteoklastlar, kemik iliği ve osteoblast öncül hücreleri daha sonra primer ossifikasyon oluşturmak için kemik yakadan kemik modeline invaze olarak ilerlerler. Primer merkez kartilaj modelin uçlarına doğru genişler. Ekstra sellüler matriks ve osteoblastlar kartilaj kalıntılarının üzerine kemik depolarlar. Ardından uzun kemiklerde ikincil ossifikasyon merkezi kartilaj modelin her iki tarafının sonlarında, kartilaj büyüme tabakasının birincil ve ikincil ossifikasyon merkezleri arasında bırakarak oluşur. Büyüme tabakası kemiklerin longitudinal büyümesinden sorumludur. İskeletsel maturasyon primer merkezle ikinci merkezin buluştukları zamanda oluşur. Endokondral kemikleşme fetal hayatta başlar ve erken yetişkinliğe kadar devam eder. Endokondral kemikleşme bazı hücre tiplerinin toplu aktivitelerine bağlı olmasına rağmen süreci yöneten hücreler kondrositlerdir (Mackie ve ark., 2011).

Erişkin dönemde kemik, devamlı remodeling veya iskeletsel gelişim sırasında ve yaralanmaya cevap olarak rejenerasyon kapasitesine sahiptir. Kemik rejenerasyonu iskeletsel tamiri optimize etmek ve iskelet fonksiyonunu restore etmek amacıyla, farklı hücreleri, intrasellüler ve ekstra sellüler moleküler sinyalizasyon yollarını kapsayan iyi organize biyolojik olaylar serisidir (Einhorn, 1998; Cho ve ark., 2002; Bates ve Ramachandran, 2007). İnsanda herhangi bir dokunun rejenerasyonu için temel ihtiyaçlara gereksinim vardır. Bunlar; progenitör hücrelerin varlığı, bu hücrelerden doku iskelesi veya ekstrasellüler matriksin oluşumu, büyüme faktörlerinin kontrolünde progenitör hücrelerin oluşması istenen hücrelere dönüşmesi (kondrosit, vasküler endotelial hücre, osteoblast, osteoklast), oksijen, besin maddeleri, enerji ve mineralleri sağlayan yeterli kan desteğidir (Sathyendra ve Darowish, 2013).

Klinikte kemik rejenerasyonunun en yaygın görülen formu normal f3tal iskelet oluşumundaki intramembran3z ve endokondral ossifikasyonun tekrarlandığı kırık iyileşmesidir (Ferguson ve ark., 1999). Diğer dokuların aksine kemik kırıklarının çoğunluğu skar bırakmadan ve 3nceki 3zelliklerinin b3y3k kısmını restore ederek iyileşirler. Fakat bazı kırık iyileşme vakalarında 3rneğin tibiada %13'e varan oranda gecikmiş iyileşme veya kaynaşmama gibi kemik rejenerasyonunun bozulduğu durumlar g3r3lebilmektedir (Audig3 ve ark., 2005).

Ayrıca ortopedik cerrahi, oral ve maksillofasiyal cerrahide travma, enfeksiyon, t3m3r rezeksiyonu ve iskeletsel anomaliler sonucu oluşmuş b3y3k kemik defektlerinin rekonstr3ksiyonunda, avask3ler nekroz ve osteoporoz gibi rejeneratif s3recin riske girdiği vakalarda kemiğin normal kendi iyileşme potansiyelinin yanı sıra iyileşmenin desteklenmesine ihtiyaç duyulabilmektedir.

Temelde primer ve sekonder olmak 3zere iki tip kırık iyileşmesi vardır (Canale, 2010).

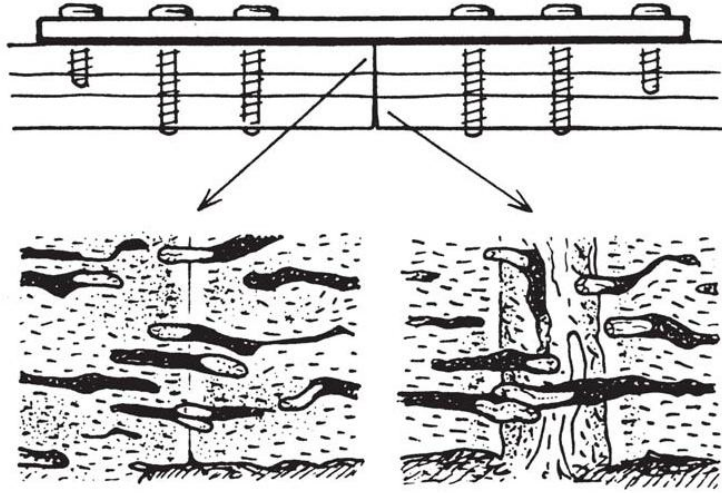
#### **Primer kemik iyileşmesi**

Kemiğin i ve dış kuvvetlerin etkisiyle anatomik b3t3nliğ3n3n ve devamlılığının bozulmasına kırık denir. Kuvvetin derecesine ve kemiğin şoku absorbe etme yeteneğine bağlı olarak ufak bir çatlak veya birçok kemiğin kırılması ve beraberinde yumuşak dokularda yaralanmalar meydana gelebilir (Ellis, 1971; Ozakı ve ark., 2000). Primer kemik iyileşmesi kırık fragmanlar arasında boşluk olmaksızın kırıkların veya osteotomi hatlarının anatomik olarak rijit fikse edildiği durumlarda korteksler arasında oluşan iyileşmedir. Bu iyileşmeye ayrıca kontakt iyileşme de denmektedir. Primer kemik iyileşmesi, kemik h3crelerinin toplanması ve 3rg3 kemik oluşumu, kondrosit apoptozisi, osteoklast toplanması, mineralize kartilaj rezorpsiyonu ve yeniden damarlanmayı içeren osteogenezisin en hızlı olduğu iyileşme şeklidir (Shapiro, 2008).

TNF- $\alpha$ , RANKL ve MCSF artışı mineralize kartilaj rezorpsiyonuyla ilişkilidir ve mezenkimal k3k h3crelerin toplanmasını ve hipertrofik kondrositlerin apoptozisini ind3klemektedir. BMP-3, BMP-4, BMP-7 ve BMP-8 artışı kalsifiye kartilaj rezorpsiyonuyla ilgilidir ve h3crelerin osteoblastlara d3n3şmesini d3zenlemektedir. vask3ler endotelial b3y3me fakt3r3 (VEGF) yeni damar oluşumunu stim3le etmektedir (AI-Aql ve ark., 2008).

Kırık fragmanların erken cerrahi fiksasyonu tamir için stabil bir çevre oluşturduğundan, eksternal kartilaj kallus ihtiyacı ortadan kalkmaktadır. Çok rijit fiksasyonla tüm endokondral iyileşme süreci bypass edilerek kallus oluşmaksızın kemik oluşabilir (Şekil 1). Tamir çevresinin özellikleri kemik iyileşmesinin doğasını belirlemektedir. Anatomik olarak redükte edilmiş ve rijit olarak fikse edilmiş kırıklarda veya osteotomilerde radyograflar, korteksler arasında depo edilmiş tamir kemiği göstermektedir. Radyografik olarak eksternal kallus veya periosteal yeni kemik görünümü olmaksızın primer ve direkt kemik iyileşmesi birbirinin yerine çoğunlukla kemik tamirini tanımlamak için kullanılmaktadır (Shapiro, 2008).

Primer kemik iyileşmesinde onarım havers kanallarındaki osteoprogenitör hücrelerden kemiğin uzun eksenine paralel olarak lameller kemiğin sentezlenmesiyle oluşmaktadır. Rijit stabilizasyon plağı, eksternal kallus ihtiyacını ve kemik iliğinden kan damarlarının ve hücrelerin girişini herhangi bir boşluk olmadığından elimine etmektedir. Tamir için yüzey osteoblastları yeterlidir, osteoprogenitör hücelere gerek yoktur. Kemik iyileşmesinin bu varyantı köpek radiusunda tanımlanmıştır (Perren, 1979; Schenk ve Hunziker, 1994).



**Şekil 1:** Resim, rijid unikortikal kompresyon plağıyla stabil hale getirilmiş osteotomi sonrası oluşan 2 tip kemik iyileşmesini göstermektedir. Sol tarafta kortekste fragmanlar arası boşluğun bulunmadığı, kemik tamiri lameller kemikle primer kemik içi veya kontakt mekanizmasıyla oluşmaktadır. Sağ tarafta ise fragmanlar arası hafif bir aralık bulunmakta ve kemik tamiri boşluk mekanizması aracılığıyla kartilaj safhası olmaksızın meydana gelmektedir. (Shapiro, 2013'dan uyarlanmıştır)

## **Sekonder Kemik İyileşmesi ve Kemik Remodelingi**

Anatomik olmayan redüksiyonlarda ve rijit olmayan fiksasyonlar sonrası oluşan kırık iyileşmesine sekonder iyileşme denir (Canale, 2010).

Kemik iyileşmesi temel olarak 3 fazdan oluşmaktadır (Muller, 2005):

- Enflamasyon
- Proliferasyon
- Remodelasyon

### **Enflamasyon dönemi**

Kırık sonrası ilk birkaç günü kapsar. Hasar sonrası periostun ve komşu yumuşak dokuların yırtılması sonucu kanama meydana gelir. Çevre dokuları da içeren büyük bir hematoma oluşur. Hematom içindeki fibrinöz kan pıhtısı tamir hücrelerinin büyümesi için ortam oluşturur. Trombositler ve makrofajlar kırık bölgesine girerler ve IL-6, IL-1, TNF- $\alpha$ , ve prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) gibi inflamatuvar sitokinler salgılamaya başlarlar (Castillo ve ark., 2005; Tsiridis ve ark., 2007). Bu sitokinler kemik iliği, kas, periferik kan ve periost gibi çeşitli lokasyonlarda bulunan MSC'leri, kondroprogenitör ve osteoprogenitör hücreleri toplarlar. Ek olarak, kırık hematoma kondrositlerin kartilaj iskelesi oluşturmaya başladığı demarkasyon bölgesi olarak işlev görür (Buckwalter ve ark., 2007).

Doğru tamir yanıtı için inflamatuvar fazla ilişkili moleküllerin ve kan pıhtısının oluşumunun gerekli olduğu bilinmektedir. İç kambiyal tabaka tamiri başlatmak ve devam ettirmek için yoğun proliferasyon ve farklılaşmaya uğrarken, periostun dış fibröz tabakası hematoma ve pıhtıyı şekillendirmek için yeniden oluşur. Kemik tamiri eleve edilen periost, intramembranöz örgü kemik üzerinde kortekse karşı, stabil ve tamir bölgesinde hala iyi kanlanan bölgede bulunduğu korteksin periferinden, kırık bölgesinin birkaç santimetre uzağından başlar. Tamir çevresinin rölatif hareketi ve kan akışının bozulmasından dolayı oluşan doku hipoksisi, periostun iç tabakası ve farklılaşmamış mezenkimal hücreler tarafından kartilaj oluşumuna yol açar, korteksin dışındaki eksternal kallus, korteksler içinde internal kallus oluşur. Başlangıçta kartilajenöz ve fibrokartilajenöz olan kallus, kırık bölgesini stabilize etmekle görevlidir. Kanlanma, stabil çevrede artarak kallusun derinlerine kadar ilerler. Tamir kartilajı, endokondral mekanizmayla tamamen kemiğe dönüşüncüye kadar örgü kemik kallusun

kalsifiye kartilaj odakları üzerine hızlıca sentezlenir. Bu daha fazla kırık bölgesini stabilize eder (Shapiro 2008).

Kırık boşluğunun merkezinde artmış gerilimden dolayı yeni kan damarları oluşmaz böylece oksijen yönünden fakir alanlar oluşur. Kemik yüksek gerilimin ve düşük oksijenin olduğu ortamlarda oluşamaz. Böyle alanlarda kartilaj oluşumu görülür (Claes ve ark., 2002). Kallustaki lokal iskemi trombositlerden transforme edici büyüme faktörü b2 (TGF-b2), TGF-b3 ve büyüme farklılaşma faktörü 5 (GDF-5) salınımını başlatır. MSC'ler böylece kondrositlere farklılaşırlar.

Kondrositler tip 2 kollajen ve proteoglikanlar salgılayarak başlangıç hücre iskelesini oluşturmak amacıyla proliferer olurlar. Kırık boşluğu kartilajla dolduğunda mekanik stabilite artar ve kondrositler hipertrofik farklılaşmaya uğrar. Artmış stabilite gerilimi azaltır, VEGF ve diğer anjiyojenik faktörler tarafından düzenlenen yeni damarlanmaya olanak tanır (Glowacki, 1998). Makrofajlar ve osteoklastlar kartilaj matriksin uzaklaştırılması için yumuşak kallusa çekilirler (Castillo ve ark., 2005).

Kondrositlerin hipertrofisinin ardından primer kallus remodelingi başlar. TNF- $\alpha$ , reseptör aktive çekirdekli kinaz, MCSF ve matriks mineralizasyon proteinleri üretilirler ve kallusu rezorbe edecek osteoklastları, makrofajları ve kodroklastları aktive ederler. Bu şekilde kartilaj uzaklaştırılır ve kondrositler apoptozise uğrar (Kon ve ark., 2001; Castillo ve ark., 2005; Dimitriou ve ark., 2005).

Kartilaj kallusun rezorpsiyonuyla koordineli olarak, periferal bölgelerden örgü kemik kallusu oluşmaya başlar ve en sonunda tüm kallusla yer değiştirir. Doğru anatomik şeklin elde edilmesi için örgü kemiğin sekonder remodelingi başlar. Bu işlem kademeli olarak gerçekleşir, sert kallus fazını kapsar ve yıllarca sürebilir. Bu fazda örgü kemik lameller kemikle yer değiştirir. Kallus Wolf kanununa göre remodele olur. Yüksek stres alanlarında artmış kemik oluşumu, düşük stres alanlarında rezorpsiyon görülür (Castillo ve ark., 2005; Kon ve ark., 2005; Buckwalter ve ark., 2007).

Tamir sürecinin bir sonraki aşaması; kırık uçları iyileşme dokusuyla stabilize olduğu ve birbirine bağlandığı için artık ihtiyaç duyulmayan eksternal kallusun rezorbe olarak örgü kemiğin lameller kemiğe dönüşümüdür. Kemik iyileşmesinin bu süreci kırık uçlarının birleştirilmesi için kondrosit hipertrofisi, kartilaj matriks kalsifikasyonu, osteoprogenitör hücreler ve kan damarları tarafından hipertrofik kondrosit lakünalarının invazyonu ve kalsifiye kartilaj çekirdekleri üzerine kemik doku oluşumu yani

endokondral kemik iyileşmesi olarak ifade edilir. Bu mekanizma ile kemik iyileşmesi 1700'lerde tanımlanmıştır. Endokondral kemik iyileşmesiyle ilgili tanımlamalar ve çizimler Urist ve Johnson (1943), Ham ve Harris (1971) ve Ham (1979) tarafından detaylandırılmıştır.

### **2.1.5. Büyüme faktörleri**

Kırık iyileşmesi trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), FGF, IGF-1, Wnt/beta-katenin sinyal ailesi elemanları, PTH ve BMP içeren TGF- $\beta$  süper ailesi gibi büyüme faktörleri tarafından düzenlenmektedir (Bostrom ve ark., 1999; Einhorn ve Lee, 2001; Kwong ve ark., 2008).

#### **FGF**

Kırık oluştuktan hemen sonra, FGF'yi de içeren çok sayıda büyüme faktörü bulunan hematoma şekillenir. FGF'ler anjiyogenezis, osteoblast ve kondrosit proliferasyonu ile ilişkilidir. Birçok çalışmada hayvan modellerinde temel FGF'nin (bFGF) kırık iyileşmesinde ve kallus dayanıklılığındaki temel etkileri incelenmiştir. bFGF'nin kallus boyutunu ve tamir edilen kırığın dayanıklılığını önemli derecede arttırdığı görülmüştür. Ayrıca FGF mezenkimal kök hücrelerin öncül kondrositlere farklılaşmasını indüklemektedir (Bostrom ve ark., 1999; Buckwalter ve ark., 2007).

#### **PDGF**

Kırık iyileşmesinde uyarıcı etkiye sahiptir. Tibial osteotomi modellerinde PDGF ile tedavi edilmiş tavşanlarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında mekanik olarak daha stabil kırık kallusu olduğu gösterilmiştir. Ayrıca kontrol grubuna göre daha olgun osteoblastlar da gösterilmiştir (Buckwalter ve ark., 2007; Bostrom ve ark., 1999).

#### **IGF-1 ve Büyüme Hormonu (GH)**

IGF-1, maksimum iskeletsel büyüme ve normal gelişimde rolü vardır. Bazı çalışmalarda IGF-1 üretimini stimüle eden büyüme faktörünün yüksek dozlarının kırık iyileşmesini stimüle ettiğini, diğer bazı çalışmalarda ise GF'nin enjeksiyonundan sonra kallus boyutunda veya dayanıklılığında önemli bir farklılık olmadığı gösterilmiştir (Bostrom ve ark., 1999; Buckwalter ve ark., 2007). Bu nedenle kırık iyileşmesini hızlandırmak için IGF-1 çok yaygın olarak kullanılmamaktadır.

#### **TGF- $\beta$**

Kırık iyileşmesinde pozitif etkiye sahiptir. Sistemik ve lokal enjekte edilen TGF- $\beta$ 'nin kırık kallusu ve dayanıklılığını arttırabilmektedir. Lind ve ark. (1993) mid tibial



osteotomi uygulanan tavşanlarda TGF- $\beta$ 'nin eğilme dayanımını arttırdığı fakat havers kanalı çapına, kemik mineral içeriğine ve sertliğe bir etkisi olmadığını bulmuşlardır (Bostrom ve ark., 1999; Buckwalter ve ark., 2007).

### **BMP**

BMP'ler ilk olarak Urist tarafından 1965'te tanımlanmıştır (Urist, 1965). O zamandan bu yana BMP'lerin kırık iyileşmesinde ve osteoindüksiyonda uyarıcı etkilerini gösteren birçok çalışma yapılmıştır. Rekombinant BMP'ler (rhBMP-2 ve rhBMP-7) klinikte açık kırıklarda, kırıkların kaynaşmadığı durumlarda ve spinal füzyonlarda başarıyla kullanılmaktadır (Bostrom ve ark., 1999; Gazit ve ark., 1999; Einhorn ve Lee, 2001; Kwong ve Harris, 2008).

Çok sayıda çalışmada hayvan modellerinde BMP-2'nin segmental defektlerde kullanımı araştırılmıştır. Gerhart ve ark (1993) koyun femurunda segmental defekt oluşturmuşlar ve bu defektleri 2 mg BMP-2, 4 mg BMP-2 veya otolog kan içeren polilaktik/glikolik asit kopolimerleriyle tedavi etmişler, BMP-2 ile tedavi edilmiş grupta kırık iyileşmesinin arttığını gözlemlemişlerdir.

### **$\beta$ -Catenin/Wingless-tip sinyalizasyon**

Wnt proteinler normal uzuv gelişimini etkileyen glikoproteinler olarak bilinirler. Son zamanlardaki çalışmalar erken kırık iyileşmesinde rol oynadıklarını göstermiştir. Wnt proteinlerinin çeşitli fonksiyonlarından en iyi bilineni  $\beta$ -kateninlerin stabilize edilmesidir. Wnt/b-catenin sinyalizasyon yolunun net etkisi artmış kemik oluşumudur (Secreto ve ark., 2009).

### **2.1.6. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler**

#### **Hastaya bağlı faktörler**

#### **Non steroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID)**

NSAID'ler siklooksijenaz-2 (COX-2) enzimini inhibe ederek inflamatuvar yanıtın oluşmasını engellerler. Bu da kırık onarımının inflamatuvar safhasında sentezlenen ve hücre göçünde ve farklılaşmasında önemli role sahip prostaglandinlerin, PGE<sub>2</sub> dahil, sentezini azaltmaktadır.

Yapılan çalışmalarda COX-2 engelli farelerde normallere göre önemli oranda gecikmiş kırık iyileşme cevabı gözlenmiştir. Ayrıca kaynaşmayan bölgelerde farklılaşmamış MSC'ler görülmüştür. COX-2 engelli farelerin kemik iliğinden elde

edilmiş MSC'ler in vitro osteoblast oluşturmak için kültüre edildiğinde PGE<sub>2</sub> veya BMP ilavesi kontrol grubundaki MSC'lere göre osteoblastogenezisi stimüle etmiştir (Zhang ve ark., 2002).

Klinik çalışmalarda kırık oluştuktan kısa bir süre sonra NSAID alan hastalarda artmış oranda gecikmiş kaynaşma veya kaynaşmama gözlemlendiği bildirilmiştir (Dimitriou ve ark., 2005; Kwong ve Harris, 2008). Tibial kırık hastalarında tek doz NSAID alımında bile tedavi boyunca NSAID almayan hastalara göre yedi haftalık gecikmiş iyileşme görülmüştür (Butcher ve Marsh, 1996).

### **Sigara kullanımı**

Hem klinik hem de hayvan çalışmalarında sigara kullanımının etkisi araştırılmıştır. Nikotin kartilaj farklılaşmasını yavaşlatarak sert kallus oluşumunda gecikmeye sebep olmaktadır. Açık tibia kırıklarında sigara kullanan bireylerin %37'sinde kırık kaynaşmaması olasılığı yüksek bulunmuştur (Castillo ve ark., 2005). Ayrıca açık tibia kırıklarında sigara içenlerde içmeyenlere göre kırık iyileşmesinde ortalama 4 haftalık uzama görülmüştür (Dimitriou ve ark., 2005; Kwong ve Harris, 2008).

### **Yaş**

Ortalama yaşam süresi uzadıkça yaşlı hastalarda kırık vakaları daha çok görülmektedir. Yaşlı hastalarda kırık oluşumuna neden olacak çok sayıda faktör olmasına rağmen yaş, kırık iyileşmesini geciktiren bağımsız bir faktördür. Ratlardaki çalışmalar, yaşlı ratlarda BMP-2 inhibitörü seviyesinin aynı kalmasına rağmen BMP-2 ekspresyonunun azaldığı göstermiştir. Ayrıca gençlerden alınan serumların osteoblast farklılaşmasında yaşlılardan alınan serumlara göre daha fazla stimulatör olduğu görülmüştür (Macey ve ark., 1989; Kwong ve Harris, 2008).

### **Diyabet**

Macey ve ark. (1989) kırık oluşturulmuş diyabetik ratlarda 2 hafta sonra gerilim kuvvetinde %29, sertlikte %50 azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Kırıktan sonraki ilk 2 hafta boyunca diyabetik ratlarda kontrol grubuna göre kallusta kollajen miktarının yarı yarıya azaldığı gösterilmiştir. İnsülinle tedavi edilmiş ratlarda kontrol grubuna göre kallusun histolojik ve mekanik özelliklerinde düzelme görülmüştür.

Klinik çalışmalarda diyabetik hastalarda kaynaşmama oranında ve iyileşme sũresinde artış gũsterilmiřtir (Loder, 1988; Perlman ve Thordarson, 1999). Bu nedenle kırık iyileşmesinin erken safhalarında kan glikoz seviyesinin kontrolũ yararlıdır.

### **Bifosfonatlar**

Yaşlanan popũlasyonda osteoporotik kırıkların tedavisinde sıklıkla bifosfonatlar kullanılmaktadır. Bifosfonatlar osteoklastik kemik rezorpsiyon oranını azaltırlar. Osteoporoz, paget ve osteogenezis imperfekta tedavisinde kullanılmasına rağmen, osteoklastlar tarafından intramembranũz kemikleşmede kemik tũbũler sistemini ve endokondral iyileşmede remodelingi inhibe ederek kırık iyileşmesini geciktirirler (Dimitriou ve ark., 2005). Yarı ũmũrleri 1,5-10 yıl arası değiştiğinden ilaç alımı durdurulsa bile iskelette uzun zaman kalmaktadırlar (Lin ve Jane, 2003).

## 2.2. SİNİR DOKU

İnsan sinir sistemi milyonlarca nörondan oluşan oldukça karmaşık bir yapıya sahiptir. Her nöron diğer nöronlarla birlikte bir iletişim ağı oluşturur.

Anatomik olarak sinir sistemi beyin ve omurilikten oluşan merkezi sinir sistemi ile sinir lifleri ve küçük sinir kümelerinden oluşan periferik sinir sisteminden oluşur. Sinir doku temel olarak; nöronlar ve nöroglial hücreler olmak üzere iki tip hücreden oluşur. Nöroglial hücreler; nöronları koruyan, destekleyen ve beslenmesi sağlayan hücrelerdir (Junquera ve Carneiro, 2005).

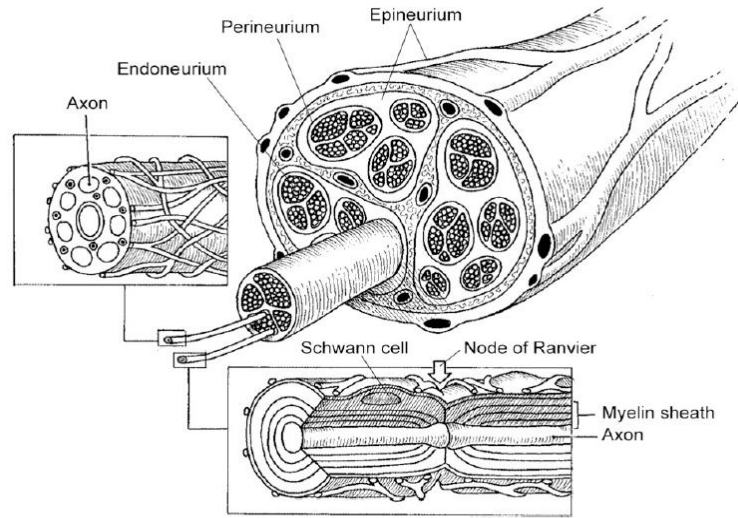
Nöronlar; hücre gövdesi (soma), dendrit ve aksonlardan oluşur.

**Hücre gövdesi:** Nöronun çekirdek ve çevresindeki sitoplazmasını kapsar. Esas olarak beslenmeyle ilgilidir. Birçok sinir hücresi yuvarlak, büyük, belirgin bir çekirdeğe sahip ökromatik bir çekirdek taşır. İki çekirdekli nöronlar sempatik ve duyuşal gangliyonlarda bulunurlar. Hücre gövdesi oldukça kaba endoplazmik retikulum, Nissl cisimcikleri, golgi kompleksi, mitokondri ve nöroflamanlar içerir.

**Dendrit:** Nöronlarda sinyalin alındığı ve işlendiği bölgelerdir. Dendritlerde golgi kompleksi bulunmaz. Dendritlerin dallanması nöronun diğer sinir uçlarından çok sayıda akson ucu almasını ve bütünleştirmesini mümkün kılar. Nöronlara tutunan sinapsların çoğu dendrit dikenlerinde yer alırlar. Dendrit dikenleri, sinapsların ilk işlendiği bölgelerdir.

**Akson:** Nöronların çoğunda tek bir akson bulunur. Nöronun tipine göre uzunluğu ve çapı değişen silindirik yapılardır. Tüm aksonlar perikaryonda bulunan akson tepesi denilen kısa, piramit şekilli bölgeden çıkar. Aksonun plazma zarına aksolemma, içeriğine ise aksoplazma denir. Aksonların çapı sabittir ve çok dallanmazlar. Akson plazmasında mitokondri, mikrotübül, nöroflaman, granülsüz endoplazmik retikulum bulunmaktadır. Poliribozomları ve granüllü endoplazmik retikulumun olmaması aksonun gereksinimleri için perikaryona bağlı olduğunu gösterir (Junquera ve Carneiro, 2005).

Periferik sinirlerin bağ doku stroması epinöryum, perinöryum ve endonöryum olmak üzere 3 tabakadan oluşur. (Şekil 2) (Snell, 1992).



**Şekil 2:** Periferel sinirin kesitsel anatomisinin gösterimi (Lungborg G, 1988)

**Perinöryum:** Periferik sinirleri dıştan kalın fibröz bağ dokusuyla saran ve perinöryumu çevreleyen tabakadır. Endonöryum ve perinöryumdan daha kalın kollajen lifler içerir. Sinirin kalınlığı arttıkça, epinöryumun kalınlığı da artar. İçerisinde yoğun kollajen, fibroblast, kan damarları, adipositler, mast hücreleri, histiyositler ve lenfatikler bulunur. Bu tabaka travmalara karşı önemlidir. Longitudinal ve lateral hareketlere izin verir ve stresleri absorbe eder. Epinöryumun kalın olduğu yerler fazla kuvvete maruz kalan eklem bölgeleridir (Thomas, 1999).

**Perinöryum:** Kollajen ve elastin liflerden oluşan tabakadır. Difüzyonda önemli görevleri vardır. İyon dengesini sağlar, enfeksiyonun yayılmasını önler (Frykman ve ark., 1981). Perinöryum sinir fasiküllerini ve endonöryumla ekstra fasiküler dokular arasındaki ana bariyeri oluşturmak için akson-schwann hücre gruplarını ayırmaktadır (Muona ve ark., 1993; Allt ve Lawrenson, 2000).

Perinöryum, konsantrik perinöral hücre tabakalarından oluşur. Perinöral hücre tabaka sayısı sinirdeki fasiküllerin büyüklüğüne ve sayısına göre değişir. Perinöryumun kalınlığı sinirin periferine doğru azalır (Mizisin ve Weerasuriya, 2011). Komşu perinöral hücre tabakalarının arasında ekstraselüler matriksi içeren cepler mevcuttur. Ekstraselüler matriks, perinöryuma eksternal gerilim kuvvetlerini düzenleme olanağı sağlayan böylece endonöral basıncın düzenlenmesinde etkin olan fibronektin ve fibriller kollajenden oluşmaktadır (Peltonen ve ark., 1990; Muona ve ark., 1993).

Perinöryum ve perinöryumun endonöryuma uzantıları, sinir doku bariyeri ve kan sinir bariyerinin oluşmasında etkilidir (Piña-Oviedo ve Ortiz-Hidalgo, 2008; Mizisin ve Weerasuriya, 2011).

**Endonöryum:** Perinöryum içindeki aksonları saran tabakadır. Elastin lifler içermez. Schwann hücrelerinin oluşturduğu myelinli aksonlardan meydana gelen endonöral tüpün yapısına katılır. Endonöryum ince kollajen fibrillere sahip ve jel kıvamında ekstraselüler matrikse gömülü akson-schwann hücre grupları içerir. Aksonlar schwann hücreleri tarafından kaplanmıştır (Erdoğan, 1993; Peltonen, 2013).

### 2.2.1. Temel Sinir Hasarı Tipleri

Periferal sinir hasara uğradığında, hasarlı dokuyu uzaklaştıracak olan kompleks ve iyi düzenlenmiş bir takım olaylar gerçekleşir. Vücudun diğer kısımlarındaki hasar tamirinin aksine periferal sinir hasarında mitoz ve hücrel proliferasyon meydana gelmez. Son yıllarda hücrel ve moleküler biyolojide ilerlemeler, periferal sinir hasarı rejenerasyonu ile ilgili bilgileri arttırmıştır. Hasara karşı sinir yanıtı sadece hasarın olduğu bölgede değil aynı zamanda spinal korda yerleşmiş hücre gövdelerini ve gangliyonları da içermektedir (Burnett ve Zager, 2004).

Klinikte en çok görülen sinir hasarı türleri arasında gerilimle ilişkili hasarlar en yaygın görülen yaralanmalardır. Periferal sinirler kollajenöz endonöryum nedeniyle kalıtsal olarak esnektir fakat çekme kuvvetleri esneme kapasitesini aştığında hasar oluşmaktadır (Sunderland, 1990). Aşırı kuvvet uygulanırsa devamlılık tamamen bozulabilir. Genellikle sinir devamlılığı bozulmamaktadır. Bu tür hasarlar genellikle izole veya ekstremitte kırıklarıyla birlikte görülmektedir.

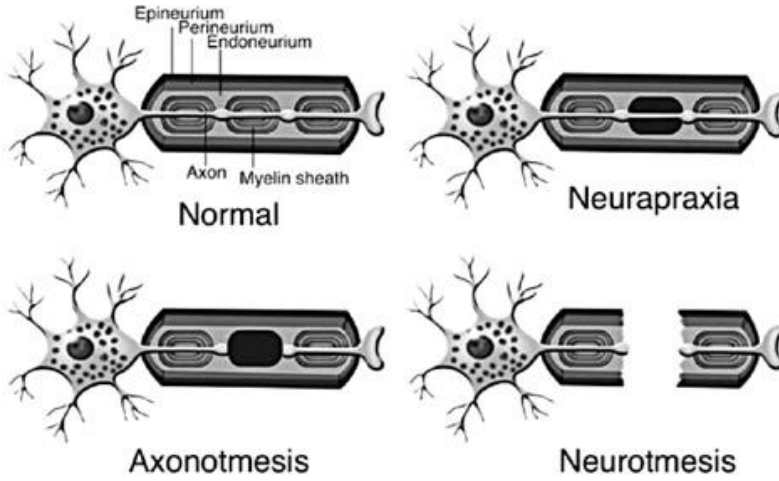
Laserasyonlar, ciddi yaralanmaların %30'unu kapsayan diğer yaygın sinir hasarı tipidir (Jacques ve Kline, 2000).

Kompresyon tipi yaralanmalar sıklıkla görülmektedir. Bütünüyle hem motor hem de duyusal fonksiyon kaybı görülebilir fakat sinir devamlılığı korunduğu için bu hasarın patofizyolojisi tam olarak aydınlatılmamıştır. Mekanik kompresyon ve iskeminin hasarın oluşmasında etkili olduğuna inanılmaktadır. Kısa süreli iskeminin böyle bir iletim bozukluğuna nasıl sebep olduğu tam olarak anlaşılamamıştır. Büyük ve myelinli fibriller, küçük ve myelinsiz fibrillere göre bu hasarın oluşmasına daha yatkındır (Gundersson ve Barret, 1980).

### 2.2.2. Periferik Sinir Hasarı Sınıflaması

Klinik olarak sinir hasarı oluştuktan sonra mikroskopik değişiklikler ve hasta semptomlarıyla uyumlu hasar derecelendirilmesi yapılması yararlıdır. En fazla kabul edilen sınıflandırmalar Seddon (1943) ve Sunderland (1978) tarafından geliştirilmiş sınıflandırmalardır.

Seddon'un sınıflamasına göre sinir hasarları nöropraksi, aksonotmezis ve nörotmezis olmak üzere üçe ayrılmaktadır (Şekil 3) (Campbell, 2008).



Şekil 3. Seddon sınıflamasına göre sinir hasarlarının şematik görünümü (Martins ve ark, 2013)

**Nöropraksi:** En hafif sinir hasarıdır. Segmental demiyelinizasyon sonucu sinir iletiminde geçici blokaj olarak tanımlanır (Grant ve ark., 1999). Büyük fibriller küçüklerden daha fazla etkilenirler. Distal aksonal dejenerasyon olmadığı sürece prognozu iyidir. Remyelinizasyonla blokaj çözülür ve sinir fonksiyonu günler haftalar içinde iyileşir (Campbell, 2008).

**Aksonotmezis:** Aksonal devamlılık bozulmuştur fakat tübüler endonöral yapıyı içeren sinirin bağ dokusu korunmuştur (Grant ve ark., 1999). Nöropraksiden daha ağır bir hasar olmasına rağmen haftalar aylar sonra spontan rejenerasyon oluşmaktadır. Hasarın olduğu bölgedeki sinir segmentinde Wallerian dejenerasyonu meydana gelir. Bu süreçte lezyonun distalinde aksonda parçalanma, dejenerasyon ve Schwann hücreleri ve makrofajlar tarafından miyelin kılıfın fagositozu gerçekleşir. Bu sürecin bir basamağında Schwann hücreleri distal endonöral tübü doldurarak Büngrer'in bandları olarak bilinen tüpün içinde longitudinal hat oluştururlar (Torigoe ve ark., 1996; Schmid ve Salyapongse, 2008).

İyileşme proksimal segmentten lezyon bölgesi geçilerek distal segmente doğru aksonal filizlenmeye bağlıdır. Aksonlar günlük 1-3 mm uzarlar (Hall, 2001; Gordon ve ark., 2009). Bu nedenle iyileşme aylar sürebilir. Nöromusküler birleşmenin tekrar kurulması rejenere olan aksonlarla myofibrillerin bazal membranları arasındaki etkileşime bağlıdır. Aksonlar kas liflerine ne kadar erken ulaşırsa o kadar iyi bir reinnervasyon beklenebilir. Bu nedenle cerrahi mümkün olan en kısa zamanda yapılmalıdır (Robinson, 2000; Campbell, 2008).

**Nörotmezis:** Aksonal devamlılık ve internal sinir bağ dokusunda kaybın yanı sıra epinöryumda yırtık oluşur. Spontan iyileşme görülmez, cerrahi tedavi yapılması gereklidir (Campbell, 2008).

Sunderland sınıflamasına göre beş tip sinir hasarı tipi vardır. Birinci derece hasar, Seddon'un nöropraksi tanımına, ikinci derece hasar aksonotmezise eşittir. Üçüncü derece hasar aksonda bozulmayı ve endonöryumda parsiyel hasarı tanımlar. Bu sınıflamada Seddon'un aksonotmezis ve nörotmezis arasında üçüncü bir derece tanımlar. Endonöral hasara bağlı olarak fonksiyonel iyileşme olabilir. Sunderland, Seddon'un nörotmezis tanımlamasını dördüncü ve beşinci derece olarak ayırmıştır. Dördüncü derecede sinirin epinöryum hariç tüm bölümleri parçalanmıştır. Cerrahi müdahale olmadan iyileşme olanaksızdır. Beşinci derece hasarda sinirin tüm bölümlerinde bozulma mevcuttur (Sunderland, 1978) (Tablo 1)



**Tablo 1.** Sinir hasarı sınıflamasını gösteren tablo (Dillingham 1998'dan alınmıştır)

<b>Sinir Hasarı Sınıflaması</b>			
<b>Seddon sınıflaması</b>	<b>Sunderland sınıflaması</b>	<b>Patoloji</b>	<b>Prognoz</b>
Nöropraksi	1. derece	Myelin hasarı veya iskemi	Aylar içinde iyileşme iyi
Aksonotmezis	2. derece	Akson kaybı Çeşitli stromal bozulmalar Akson kaybı Endonöral tüp bozulmamış Perinöryum bozulmamış Epinöryum bozulmamış	Kasa olan uzaklığa ve çevre dokularla olan bağlantıya bağlı olarak prognoz iyi –zayıf İyi, kasla olan uzaklığa bağlı olarak
	3. derece	Akson kaybı Endonöral tüp yapısı bozulmuş Perinöryum bozulmamış Epinöryum bozulmamış	Zayıf Aksonal yön bozulmuş Cerrahi tedavi gerekebilir
	4. derece	Akson kaybı Endonöral tüp yapısı bozulmuş Perinöryum bozulmuş Epinöryum bozulmamış	Zayıf Aksonal yön bozulmuş Cerrahi genellikle gerekli
Nörotmezis	5. derece	Akson kaybı Endonöral tüp hasarlı Perinöryum hasarlı Epinöryum hasarlı	Spontan iyileşme olmaz Cerrahi tedavi gerekli

### **2.2.3. Hasara Karşı Nöral Cevap**

Sinir dokusunun iyileşmesi eşsizdir, doku tamiri şeklinde olan kutanöz yara iyileşmesinden farklı olarak daha çok hücresel düzeyde olan özel bir süreçtir. Başarılı bir sinir iyileşmesi nöral büyümeyi gerektirir (Donoff, 1995). Rejenerasyon başlamadan

önce birtakım dejeneratif olaylar başlar. Rejenerasyonun başarısı başlangıçtaki hasarın büyüklüğüne ve oluşan dejeneratif değişikliklere bağlıdır. Sadece iletim bloğunun olduğu birinci derece hasarda patolojik değişiklikler hafiftir veya yoktur. İkinci derece hasarda, hasar bölgesinde veya proksimalinde çok az histolojik değişim meydana gelir. Hasarın distalinde ise Wallerian dejenerasyonu oluşur. Wallerian dejenerasyonunda ilk histolojik değişiklik hem akson hem de myelinde hasardan sonraki saatlerde başlar. Nörotübüller ve nörofilamentler bozulur ve damarlardaki ödeme bağlı olarak aksonal kontur düzensizleşir. Hasardan 48-96 saat sonra aksonal devamlılık kaybolur ve impuls iletimi durur (Waller, 1850).

Aksonal rejenerasyonda anahtar yapı Schwann hücreleri ve bazal laminadır (Büngner bandları). Distal sinir segmentinde Schwann hücreleri artış gösterir ve akson filizleriyle karşılaştığında myelin üretimini tetikleyecek bir takım değişiklikler meydana gelir (Pellegrino ve Spencer, 1985). Schwann hücreleri Wallerian dejenerasyonunda önemli bir role sahiptir. Hasardan sonra 24 saat içinde aktive olurlar. Dejenere aksonal ve myelin debrisini uzaklaştırırlar ve bunları makrofajlara iletirler. Makrofajlar kan damarlarından hasar bölgesine göç ederler (Burnett ve Zager, 2004). Schwann hücreleri ve makrofajların rejenerasyon sürecinde sayıları artar. Aynı zamanda IL-1 üreterek rejenerasyon için gerekli NGF ve IGF gibi nörotrofik faktörlerin salgılanmasını sağlarlar (Gregory, 2000).

Schwann hücreleri ve makrofajlar hasar bölgesini temizlemek için birlikte çalışırlar. Endonöral mast hücreleri ilk 2 hafta içinde belirgin şekilde proliferer olurlar. Kapiller permeabiliteyi arttıran ve makrofaj göçünü hızlandıran histamin ve serotonin salgırlar. 5-8 haftada dejenerasyon işlemi genellikle tamamlanır. 3. derece yaralanmalarda daha şiddetli lokal reaksiyonlar oluşur. Hemoraji ve ödem oluşur. Fibroblastlar proliferer olur ve sinir segmentlerinin uçlarında dens, fibröz skar hasarlı dokuda ödeme neden olur. İnterfasiküler skar doku da oluşur ve böylece tüm sinir hattı genişlemiş olur (Burnett ve Zager, 2004).

### **Distal Segmentte Meydana Gelen Değişiklikler**

2. derece hasarlarda, hasarlı segmentin distalinde Wallerian dejenerasyonu meydana gelmektedir. Önemli bir değişiklik intrafasiküler hasarın aksonal rejenerasyonu azaltması ve böylece endonöral tüpün uzun zaman denerve kalmasıdır. Denervasyonla, endonöral tüp hasardan sonra yaklaşık 3-4 ay küçülmeye başlar

(Sunderland, 1950; 1990). Endonöral kılıf kalınlaşmaya başlar. Endonöral tüp rejenerasyon olan bir aksonla karşılaşmazsa, ilerleyici fibrozis endonöral tüpün bozulmasına sebep olur. Schwann hücre kümeleri endonöral tüpü Wallerian dejenerasyonunun geç evrelerinde mikroskopik olarak görünür hale getirir. Büngner bandları reinnervasyon sırasında aksonların uzamasına rehberlik eder. Bu bandlar, Schwann hücrelerinin aksonların yeniden uzamasında hasar sonrası destek olarak görev yaptığını göstermektedir (Burnett ve Zager, 2004).

3. derece hasarda endonöral tüp uzun zaman büzölmeye ve fibroze uğradığında iş göremez hale gelir. Daha sonra tamamen kollajen liflerle yer değiştirir (Burnett ve Zager, 2004).

4. ve 5. derece hasarda, sinir uçları organize olmamış Schwann hücreleri, kapillerler, fibroblastlar, makrofajlar ve kollajen lifler nedeniyle şişkin bir hal alır. Rejenerasyon olan aksonlar proksimal parçanın şişkin bölümüne ulaşırlar. Çoğu akson skar doku içinde halkalar oluşturur veya proksimal segment boyunca geri dönerler. Bazı rejenerasyon olan aksonlar distal köke ulaşırlar ve rejenerasyon tamamlanır. Rejenerasyonun tamamlanması hasarın şiddeti, skar dokunun varlığı, aksonların hasar bölgesine ulaşma süresi gibi birçok faktöre bağlıdır (Burnett ve Zager, 2004).

Duyusal fonksiyonun iyileşmesi motor fonksiyonun iyileşmesinden daha farklı mekanizmalarla gerçekleşir. Aksonal rejenerasyon mekanizmaları motor akson rejenerasyon mekanizmalarına benzemektedir. Önemli bir farklılık periferik organlar kaslarda olduğu gibi 18-24 ay sonra rejenerasyon olmadığından duyu iyileşme daha uzun zaman alabilmektedir (Robinson, 2004).

### **Proksimal Segmentte Meydana Gelen Değişiklikler**

Hasar bölgesinin proksimalinde nöral hücre gövdelerinde ve sinir liflerinde değişiklikler, hasarın şiddetine ve hasarlı segmentlerin hücre gövdesine yakınlığına bağlıdır. Schwann hücreleri hasar bölgesine yakın proksimal segment boyunca zarar görürler ve akson ve myelin çapında görünür bir azalma ortaya çıkar. Bu hasar minimal veya tüm hücre gövdesini içine alacak kadar büyük olabilir. Eğer hücre gövdesi dejenerasyon olursa, tüm proksimal segment Wallerian dejenerasyonuna uğrar ve fagositoz gerçekleşir. Önemli bir hasarı takiben proksimal segment aksonunun çapı küçülür. Sinir iletim hızı düşer. Rejenerasyon ilerleyince akson çapında büyüme oluşur fakat hasar öncesi durumuna hiçbir zaman dönmez. Hücre gövdesi fonksiyonel periferik bağlantılar

kurulmadan tamamen iyileşmez. Hasar oluştuktan sonra 6 saat içinde nükleus hücre periferine göç eder, Nissl granülleri, endoplazmik retikulum zarar görür ve dağılır. Bu olaya kromatolizis denir. Kromatolizisle birlikte perinöral glial hücreler proliferatif bir cevap oluşturur. Glial hücreler etkilenen nöronun sinaptik bağlantılarını keserek nöronu iyileşme fazı için izole ederler (Burnett ve Zager, 2004).

#### **2.2.4. Sinir Büyüme Faktörü (NGF)**

Sinir dokusu iyileşmesinde dejenerasyon ve rejenerasyon sürecinin ilerlemesini sağlamak için hücresel iletişime ihtiyaç vardır. Bu iletişimde etkili olan NGF, beyin kaynaklı nörotrofik faktör, silier nörotrofik faktör ve diğer birçok nörotrofik faktör tanımlanmıştır ve bu faktörlerin sinir onarımında önemli olduğu düşünülmüştür (Seckel, 1990; Yan, 1992; Yin ve ark., 1998)

Nörotrofik faktörler, nöronların yaşaması için gerekli polipeptitlerdir. Embriyonik yaşam boyunca nöronların gelişim ve olgunlaşmalarına katkıda buldukları ve sinir yaralanmalarından sonra da rejenerasyonu ilerlettikleri rapor edilmiştir.

Nörotrofik faktörler 3 ana gruba ayrılmaktadır:

1) NGF, BDNF, NT-3 ve NT-4/5 gibi nörotrofinlerdir. Bunlar trk ailesinin (trk A,B,C) tirozin kinaz reseptörlerine etki eden küçük temel polipeptidlerdir.

2) CNTF ve LIF gibi nörokinlerdir.

3) TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TGF- $\beta$ 3 ve GDNF

(Terenghi, 1999)

Nörotrofinler sinir hasarında morfolojik ve/veya fonksiyonel iyileşmeyi önemli oranda arttırmaktadır (Gravvanis ve ark., 2004). NGF, karakteristik olarak üç disülfid bağıyla spiral oluşumlu yapıda olup sistein knot süper ailesinin bir üyesidir. NGF, nörotrofin ailesinin sinir iyileşmesini arttırıcı büyüme faktörlerindedir. NGF' nin keşfinin ardından nörotrofik faktör hipotezi tanımlanmıştır (Yuen ve ark., 1998). Buna uygun olarak NGF, hedef hücrelerin duyu ve sempatik liflerinde üretilerek, lif terminalleri tarafından alınmakta ve bu nöronların yaşaması ve devamlılığı için nerede ihtiyaç varsa retrograd olarak nöronların gövdesine taşınmaktadır.

1980'li yıllara kadar NGF'nin periferik duyu ve sempatik sistem nöronlarında büyüme, farklılaşma ve yaşamlarını sürdürmeye etkisini incelemeye yönelik birçok araştırma yapılmıştır. Daha sonra yapılan çalışmalar saf NGF'nin direkt olarak

kobayların beyin ventriküllerine verildiğinde hasarlı beyin hücrelerini koruduğunu göstermiştir (Perry, 1990; Cuello ve ark., 1992; Mufson ve ark., 2008). NGF, santral ve periferel sinir sisteminde belirli tip nöronların yaşamasında, büyümesinde ve devamlılığında önemli olan bir büyüme faktörüdür (Levi-Montalcini, 1987)

NGF mRNA düzeyi spinal kordda ve dorsal kök gangliyonda önemli derecede yüksektir. Üst servikal ganglion ve trigeminal dorsal kök, duyuusal nöronlarının gelişiminde, yaşamı ve devamlılığında çok önemlidir (Sobue ve ark., 1998). NGF beyinde korteks ve hipokampüste kolinerjik bazal ön beyin, bazı striatal ve hipokampal nöronlardan üretilir. Yapılan bir çalışmada homozigot NGF eksikliği olan farelerde şiddetli sempatik ve duyuusal yetersizlik nedeniyle doğumdan sonra birkaç haftadan fazla yaşamadıkları görülmüştür (Crowley ve ark., 1994; Huang ve Reichardt, 2001).

1980'lerin başlarında BDNF, NT-3 ve NT-4/5 olmak üzere 3 tane homolog NGF büyüme faktörü tanımlanmıştır. Bunların her birinin periferel ve santral sinir sisteminin geliştirilmesinde ayrı ve birbirleriyle ilişkili aktiviteleri vardır (Barde, 1990). Spesifik hücre reseptörleriyle etkileşerek nöral gen ekspresyonunu düzenleyip morfolojik farklılaşmayı stimüle ederler. Olgun nöronların nöral fonksiyonlarının ve fenotipinin idamesi için gereklidirler (Huang ve Reichardt, 2001).

Nörotrofinler prekürsör proteinlerden büyük olarak sentezlenir ve daha sonra fizyolojik olarak aktif moleküllere bölünürler (Teng ve ark., 2010). NGF'nin olgun formu prekürsör NGF'nin (ProNGF) proteolitik ayrışması ile meydana gelir (Fahnestock ve ark., 2004a, 2004b). NGF tipik bir trozin kinaz reseptörü olan tropomizin kinaz reseptörü A'ya (TrkA) bağlanarak biyolojik aktivitesini gösterir (Huang ve Reichardt, 2003). TrkA/ p75NTR kompleksiyle aktive edilen majör hücre içi sinyaller: Ras-mitojen aktive protein kinaz (MAPK), ekstraselüler sinyal regülekinaz (ERK) fosfotidilinositol 3-kinaz (PI3K)-Akt ve fosfolipaz C(PLC)-g'dir (Klesse ve Parada 1999; Chao ve ark., 2006; Reichardt, 2006). NGF'nin p75NTR'ye bağlanması ile oluşan hücre içi sinyaller hücre yaşamını ve farklılaşmasını organize ederler (Teng ve ark., 2010).

NGF sinyalizasyonu nöronlarda mitokondri yerleşimi ve değişimi açısından önemlidir. Büyüme konisinde daha yüksek ATP talebini karşılamak için hücresele proliferasyon ve hücre korumasını sağlayan sinyal iletimini başlatır. NGF ayrıca mitokondrinin metabolik aktivitesini düzenlemektedir (Chada ve Hollenbeck, 2004).

Sinirlerin terminal kısmında NGF'nin ekzojen alınımı periferel sinir hasarından sonra spinal gangliyon nöronlarını korumakta ve ayrıca NGF, myelinizasyonu ve aksonal büyümeyi arttırmaktadır (Zochodne ve Cheng, 2002). Sinir hasarından hemen sonra aksonal bozulma sonucunda NGF ve hücre gövdesine ulaşan diğer trofik faktörlerin azalması tamir sürecinin başlamasını tetikleyen sinyal olabilir. Bir deneyde nöronlara aksotomi sonrası NGF uygulanmış ve bunun kromatolizisde görülen hücre gövdesinde meydana gelen değişiklikleri tersine çevirdiği gözlenmiştir (Otto ve ark., 1987). Hasardan hemen sonra NGF ve NGF mRNA düzeyleri büyük oranda artmaktadır. İnvaze olan makrofajların IL-1  $\beta$  salınımı üzerinden NGF üretimini stimüle ettiği düşünülmektedir. Bu bulgu makrofajların hem fagositoz hem de rejenerasyonla ilişkili olduğunu göstermektedir. Benzer olarak Schwann hücrelerinin hasar bölgesinde NGF'yi de içeren nörotrofik faktörler ürettiği gösterilmiştir. Hasar sonrası Büngner bandlarını oluşturan Schwann hücrelerinde NGF reseptör konsantrasyonu artmaktadır. Bu reseptörlere bağlanan NGF yeniden büyüyen akson tarafından alınarak retrograd yolla hücre gövdesine aktarılmakta ve büyüme için devamlı uyarı oluşturmaktadır (Tanuichi ve ark., 1988).

Retrograd yolla NGF transportunun olmaması periferel sinirlerde hücre ölümüyle sonuçlanabilecek bir seri dejeneratif değişikliklerin oluşmasına yol açabilir. Bu değişiklikler hasar bölgesine NGF uygulamasıyla tersine çevrilebilir (Rich ve ark., 1987; Holland ve Robinson, 1990; Verge ve ark., 1995; Malcangio ve ark., 1997; Dib-Hajj ve ark., 1998).

Günümüzde NGF'nin sinir rejenerasyonu üzerine etkilerinin yanı sıra diğer fonksiyonları da bilinmektedir. İntradermal olarak verildiğinde termal hiperaljeziye ve insan massater kasına enjekte edildiğinde uzun süren allodini oluşmasına sebebiyet verdiği gözlenmiştir (Andreev ve ark., 1995; McMahon ve ark., 1995; Svensson ve ark., 2003). Ayrıca doku iyileşmesiyle de ilişkili olduğu, yara iyileşmesini ve kırık iyileşmesini arttırdığı gösterilmiştir (Grills ve ark., 1997; Micera ve ark., 2003; Kawamoto ve Matsuda, 2004).

Ekzojen NGF'nin yarılanma ömrü kısadır (2-4 dk), sıcaklık ve pH gibi lokal faktörlerle aktivitesi azalabilir. Bu nedenle ekzojen NGF'nin etkinliğini arttıracak yöntemler araştırılmaktadır (Jubran ve Widenfalk, 2003). De Oliveira Martins ve ark. (2013) lazer tedavisinin IAN'de BDNF ekspresyonunu düzenlediğini göstermişlerdir.

LLLT'nin NGF ve BDNF seviyelerinin arttırarak sinir doku iyileşmesinde etkili olabileceğini savunmuşlar.

Son yıllardaki çalışmalar NGF'nin kutanöz hücrelerde ve görme fonksiyonunda dejenerasyon üzerine etkilerini incelemeye yönelmiştir. İn vivo ve in vitro çalışmalar NGF'nin periferel duyuşal ve sempatik nöronların yaşamını, farklılaşmasını ve fonksiyonunu düzenlediğini göstermiştir. Bu bulgular saf NGF'nin cerrahi travma, HIV enfeksiyonu, cüzzam ve diyabette oluşun sinir dejenerasyonlarını önlemede ve/veya korumada etkin olabileceği hipotezine yol açmıştır (Rask, 1999; Aloe ve Calza`, 2004; Aloe ve ark., 2012). Son yıllarda yapılan deneysel çalışmalar NGF'nin olfaktor yol veya oküler alım yoluyla beyine ulaştığını göstermiştir. Molekül beyindeki NGF hedef hücrelerine kısmen bozulmamış ve biyolojik olarak aktif bir şekilde ulaşır. Bu gözlemler olfaktor ve oküler yolların beyindeki nöronlara NGF'nin iletimi için invaziv olmayan bir yöntem olduğunu göstermiştir (Chen ve ark., 1998; Koevary ve ark., 2003; Zhao ve ark., 2004; DiFausto ve ark., 2007; Lambiase ve ark., 2007).

Birçok çalışmada NGF'nin lokal enjeksiyonunun IAN'nin iyileşmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (Wang ve ark., 2006; 2009a; 2009b). Ancak tekrarlayan lokal NGF enjeksiyonlarının sekonder travma, inflamasyon, enfeksiyon, ağrıya neden olduğu bildirilmiştir (Du ve ark., 2011). NGF'nin kısa ömrü nedeniyle lokal olarak verilmesi problem olsa da hasarlı sinirlere NGF uygulamasının sinir tamirini desteklediği ve böylece sinir hasarını takiben oluşun fonksiyonel hasarın da iyileştiği rapor edilmiştir. Bu nedenle NGF enjeksiyonlarının tekrarlanmasının gerekli olduğu bildirilmiştir. Eksojen NGF'nin mental sinirin ezilme tipi hasarında nöron sayısını arttırdığı bulunmuştur (Savignat ve ark., 2007; 2008; Sun ve ark., 2009; Nakagawa ve ark., 2010; Li ve ark., 2012). Yu ve ark. (2014) rat siyatik sinirinde ezilme tipi hasar oluşturarak kontrollü salınımlı NGF mikro küreciklerinin etkisini araştırmışlar ve NGF mikro küreciklerinin sinir rejenerasyonunda NGF'nin etkisini arttırdığını bulmuşlardır. Cao ve ark. (2012) hNGFβ'nin Col/nHA/Alg hidrojel içinde tek doz enjeksiyonunun tavşan distraksiyon osteogenezisi modelinde distraksiyon periyodu sonunda yeni kemik oluşumunu önemli miktarda arttırdığını bildirmişlerdir.

## **2.3. LAZER**

### **2.3.1. Lazerin Tanımı ve Tarihçesi**

'Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation' kelimelerinin baş harflerinden oluşan LASER, 'Radyasyonun Uyarılmış Emisyonu ile Işığın Güçlendirilmesi' anlamına gelmektedir (Moritz ve ark., 2006)

Işığın tedavi amaçlı kullanımı yüzyıllar öncesine dayanmaktadır. Antik Yunan'da, Çin'de, Mısır'da güneş ışığı raşitizm, cilt kanseri, psikozlar, vitiligo gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır (Miserendino ve Pick, 1995). 19. yüzyılın ilk yarısında lazerin bilimsel temellerinin keşfedilmesiyle ilgili çalışmalar ortaya çıkmıştır. 1917'de Albert Einstein'ın lazerin ilk formu MASER'le (Microwave Amplification by the Stimulated Radiation) ilgili çalışmalar yayınlanmıştır (Einstein, 1916). 1950'lere kadar lazer çalışmaları teorik düzeyde kalmıştır. 1960'da Maiman tarafından yakut kristaliyle çalışan ilk lazer aleti üretilmiştir (Hecht, 1999; Coluzzi, 2004). Aynı yıllarda Peter Sorokin ve Mirek Stevenson (1960) uranyum kullanarak ilk dört seviyeli katı lazeri üretmişler.

İlk gaz lazer, 632,8 nm dalga boyunda He-Ne lazer Ali Javan ve ark. (1961) tarafından üretilmiştir. Görünebilir ışıklı ilk devamlı dalgalı He-Ne lazer 1962'de rapor edildiğinde büyük heyecan yaratmıştır. 1961'de Snitzer ilk neodmiyum lazeri geliştirmiştir. 1970'li yılların sonlarına doğru lazer, oral ve maksillofasiyal cerrahi alanında tedavi amaçlı olarak kullanılmaya başlanmıştır (Pecaro ve Garehime, 1983; England, 1988; Donald ve Coluzzi, 2004; Lewis ve Kuo, 2005).

### **2.3.2. Temel lazer bilimi**

#### **Uyarılmış Emisyon (Yayılm)**

Alman fizikçi Max Planck 1900'de kuantum teorisini tanıtmıştır (Gillispie, 1970). Daha sonra Niels Bohr (1922) bu teoriyi atomik yapıya ilişkilendirerek kavramsallaştırmıştır. Kuantum, enerjinin en küçük birimidir ve bir atom veya molekülün elektronları tarafından absorbe edilir ve kısa bir uyarı oluşur. Doğal ortamda maddeler dinlenme pozisyonunda olduğundan, kuantum spontan emisyonla uğramaktadır.

1916'da Albert Einstein uyarılmış emisyonu tanımlamıştır. Buna göre uyarılmış haldeki bir atoma, dışarıdan eşit enerjili bir fotonun çarpması sonucunda atom aynı özellikli bir foton yaymaktadır. Bu süreç devam ederse çok sayıda atom enerji kazanır,



daha çok aynı fotonlar salınır ve sonrasında uyarıcı dalga oluşur. Bazı noktalarda popülasyonda ters dönmeler yaşanır. Bu aktif ortamdaki atomların çoğunun enerjileri artmıştır. Bu uyarımı devamlı hale getirmek için sabit enerji sağlayıcı bir pompalama mekanizması gereklidir. Aktif ortamdaki fotonlar, uyarılmış emisyonu arttırmak için ileri geri yansıtılır ve aktif ortamdaki başarılı geçişler foton ışınının gücünü artırır ve paralel hale getirir (Coluzzi, 2008).

### 2.3.3. Işık

Işık hem partikül hem de dalga özelliği gösteren elektromanyetik enerjinin bir türüdür. Bu enerjinin temel birimi fotondur (Pittsfield, 2000).

Normal ışıkla lazer ışığı arasında önemli farklılıklar vardır. Genellikle beyaz görünen normal ışık görülebilir spektrumdaki birçok rengin toplamıdır. Fakat lazer ışını monokromatiktir yani tek renk ve tek dalga boyundan oluşmaktadır. Lazer ışını kaynağından çıktıktan sonra aynı yönde hareket eder, tüm dalgalar birbirine paraleldir. Bu özelliği sayesinde küçük alanlara yüksek enerji iletilebilmektedir. Bu özelliğine kolimasyon (doğrusallık) adı verilmektedir (Baxter, 1994; Coluzzi, 2004).

Kohorent özelliği ise ışık dalgalarının yayılırken dalga şeklini, yüksekliğini ve derinliğini daima koruduğunu ifade etmektedir (Baxter, 1994; Clayman ve Kuo, 1997).

Lazer cihazı tarafından oluşturulan dalganın tanımlanmasında 3 önemli özellik daha vardır. Bunlar: ışığın hızı, amplitüdü (dalga yüksekliği) ve dalga boyudur. Amplitüd; vertikal ekseninde dalga salınımının tepe noktası ile tabanı arasındaki toplam yüksekliktir. Lazerin etkinliği amplitüdüyle doğru orantılıdır. Dalga boyu ise dalganın yatay ekseninde kesiştiği iki nokta arasındaki mesafedir. Dalga boyu metre olarak ölçülür ve dış hekimliğinde kullanılan lazerlerin dalga boyu için mikron ( $\mu$ ) veya nanometre (nm) gibi daha küçük ölçü birimleri kullanılır. Dalga boyuyla ilgili diğer bir özellik ise frekanstır, saniyedeki dalga salınımıdır (Coluzzi, 2004; Keleş, 2006).

Ultraviyole bölgede bulunan lazerler (100-380 nm) fotokimyasal desorpsiyon olarak bilinen bir süreçte dokuları iyonize ederler. Daha uzun dalga boylarında, spektrumun kızılötesi bölgesinde (700-10000 nm) önemli oranda dokuda ısınmaya sebep olurlar. Cerrahi lazerlerin çoğu bu grupta yer alır (Deppe ve Horch, 2007).

Lazer cihazında ışının oluşması için cihazın temel bileşenleri optik kavite, pompalama sistemi ve optik parçalardır.

**Optik kavite:** Cihazın merkezinde yer alır. Bu bölümün içinde kimyasal maddelerin ve moleküllerin oluşturduğu aktif ortam bulunur. Aktif madde gaz, sıvı, kristal veya katı halde yarı iletken madde olabilir. Lazerler içerdikleri aktif maddeye göre isimlendirilirler. Aktif madde uyarıldığında spesifik dalga boyları üretirler. Aktif maddesi gaz olan ilk lazer CO<sub>2</sub> lazerdir. Ruby lazer ve gaz lazerlerde optik kavitenin her iki tarafında birbirine paralel aynalar bulunmaktadır. Yarı iletken lazerler de benzer olarak yapılandırılmıştır. Fakat aktif ortam yansıtma için tam olarak cilalanmış kenarlı silikon tabakalar arasında konumlandırılmıştır. Bir levha pozitif diğeri negatif yüklüdür ve akımın birinden diğere deşarjı foton salınımına neden olur. Bu merkezi çevreleyen aktif ortama enerji sağlayan uyarım kaynağı bir flaş lambası veya elektrik alanıdır. Soğutma sistemi, odaklı lensler ve diğere gerekli olan ek parçalardır (Coluzzi, 2004).

#### **2.3.4. Lazer Doku Etkileşimi**

Lazer ışını dokuya çarptığında 4 farklı etkileşim oluşur:

**Transmisyon (geçiş):** İlk etki lazer ışının doku boyunca geçişi yani transmisyonudur. Absorbsiyonun tersidir. Lazerin dalga boyuna bağımlı olarak değişir. Kısa dalga boylu KTP, diyot ve Nd:YAG lazerler oral yumuşak dokulardan kolayca geçebilirler.

**Yansıma:** İkinci etki yansımadır. Hedef dokuda herhangi bir etki olmaksızın ışın doku yüzeyinden yansır. Yansıyan ışın göz gibi hedef olmayan organlar açısından tehlikeli olabilir.

**Saçılma:** Saçılmayı takiben lazer enerjisinde düşüş gözlenir. Cerrahi alanına komşu dokularda saçılma sonrası istenmeyen etkiler görülebilir (Coluzzi, 2004).

**Absorbsiyon (emilim):** Lazer enerjisinin ilk oluşan ve yararlı etkisidir. Transmisyonun tam tersidir. Her dalgaboyu dental yapılarda spesifik absorbsiyon oranına sahiptir. Bazı dalga boyları kan ve doku pigmentleri kromoforları tarafından absorbe edilirken diğere sert dokular tarafından absorbe edilir (Goldman, 1990; Manni,2004).

#### **Lazer Enerjisinin Dokudaki Etkileri**

**Fotokimyasal etki:** Dokuda termal değişiklik meydana gelmeden hücrelerin uyarılması şeklinde ortaya çıkan etkidir. Bu etkiyi oluşturan (biyostimülasyon) lazerler düşük düzeyli lazerler veya yumuşak lazerlerdir (Tunér, 2000; Pinheiro, 2003). Fotodinamik tedavi fotokimyasal etkiye örnek olarak verilebilir (Ackroyd ve ark, 2001). Fotodinamik tedavide kullanılan tolyum klorid görünür kırmızı lazerle aktive edildiğinde hücre membranlarını tahrip eden serbest oksijen radikalleri salınımı

yapmaktadır. Çalışmalarda bu terapinin kök kanallarının dezenfeksiyonunda etkili olduğu gösterilmiştir (Bonsor ve ark, 2006).

**Fototermal etki:** Lazer enerjisinin ana etkisi fototermal etkidir. Dokudaki etkisi sıcaklığın ne kadar yükseldiğine ve hücre içi ve hücreler arası sıvının reaksiyonuna bağlıdır. Sıcaklığın yükselme oranı fototermal etkide önemlidir ve cerrahi alanın soğutulmasına ve komşu dokuların ısıyı dağıtma kapasitesine bağlıdır. Bu işlem için kullanılan emisyon modu, güç yoğunluğu ve ekspozür süresi gibi lazer parametreleri de önemlidir (Coluzzi, 2008).

Lazere maruz kalan dokuda ilk gelişen olay hipertermidir. Doku normal sıcaklığın üzerine çıkar fakat zarar görmez. 50°C’ de sporlu olmayan bakteriler inaktive olur (Russell, 2003). Yaklaşık 60°C’de proteinler denatüre olur ve koagülasyon başlar. 70-80°C’de ısınmayla kollajenin helikal açılımı ve komşu segmentlere geçmesiyle katmanlar birbirine yapışır (Springer ve Welch, 1993). Su içeren hedef doku 100°C’ye kadar ısıtılırsa dokudaki su buharlaşır ve doku ablasyonu oluşur. Yumuşak dokuda eksizyon bu sıcaklıkta oluşurken dental sert dokuda apatit kristallerinde ablasyon oluşmaz. Mineral yapıdaki su buharlaşır, buhar genişler ve diş yapısı patlamayla uzaklaştırılır. Bu arada komşu dokulara minimal ısı transferi gerçekleşir (Rechmann ve ark., 1998). Mikro patlamalarla dokuda meydana gelen mekanik yıkım lazerin fotomekanik etkisini gösterir. 200°C’de dehidrasyon gerçekleşir ve dokuda karbonizasyon oluşur. Lazerin yumuşak dokudaki termal etkisi Tablo 2’de özetlenmiştir. Karbon tüm dalga boylarını absorbe eder. Lazer enerjisi uygulanmaya devam edilirse karbonize yüzey ışını absorbe ederek ısı emici hale gelir. Komşu dokularda sıcaklık artışı meydana gelir ve doku nekrozu ortaya çıkar (Miserendino ve ark., 1995).

**Tablo 2.** Yumuşak dokuda lazerin termal etkisi

<b>Yumuşak Dokuda Lazerlerin Termal Etkisi</b>	
<b>Doku sıcaklığı (°C)</b>	<b>Gözlenen etki</b>
>37	Hipertermi
>50	Sporsuz bakterilerinin inaktivasyonu
>60	Koagülasyon, protein denatürasyonu
70-80	Dokuların kaynaması
100	Buharlaştırma

### **2.3.5. Lazer Sınıflaması**

Ultraviyole bölgedeki 100-380 nm lazerler dokuları iyonize eder. Daha uzun dalga boyları (700-10000 nm) dokuda ısınmaya yol açar. Cerrahi lazerlerin çoğu bu gruba aittir ve termal lazer olarak adlandırılır (Deppe ve Horch, 2007).

#### **Dalga boylarına göre**

**Yumuşak lazerler:** KTP, diyot ve Nd:YAG dalga boylarındaki lazerler yumuşak dokuda, enflamatuvar dokuda ve vasküler dokularda pigment kromoforlarına sahiptir. CO<sub>2</sub> lazerler yumuşak dokudaki serbest su molekülleriyle etkileşime girer, ayrıca patojenlerin hücre içi suyunu da buharlaştırırlar (Coluzzi, 2004).

**Sert lazerler:** Bu lazerler yüksek enerjili lazerlerdir. Tıpta ve diş hekimliğinde en çok kullanılan sert lazerler CO<sub>2</sub>, Nd:YAG ve argon lazerlerdir (Gonzalez ve ark., 1996).

#### **Elde edildikleri aktif ortama göre lazerler**

##### **Katı lazerler**

- Yakut lazer
- Neodmiyum:Yitriyum-Alüminyum-Garnet (Nd:YAG) lazer
- Holmiyum:Yitriyum-Alüminyum-Garnet (Ho:YAG) lazer
- Erbiyum: Yitriyum-Alüminyum-Garnet (Er:YAG) lazer
- Erbiyum, Kromiyum: Yitriyum-Skandiyum-Galliyum-Garnet (Er,Cr:YSGG) lazer

##### **Gaz lazerler**

- Helyum-Neon (HeNe) lazer
- Argon lazer
- CO<sub>2</sub> lazer

- Eksimer lazer

#### **Sıvı lazerler**

- Dye lazer

- Rhodamine lazer

#### **Yarı iletken lazerler**

- Galyum-Arsenid (GaAs) lazer

- Galyum-Alüminyum-Arsenid (GaAlAs) lazer (Clayman ve Kuo, 1997)

### **2.3.6. Diş Hekimliğinde Kullanılan Lazerler**

Birkaç yıl önce lazerin; ortopedi ve diş hekimliği gibi çeşitli tıp alanlarında çokça kullanılan basit ve invaziv olmayan bir teknik olduğu kabul görmüştür (Cobb, 2006). Klinik amaçlı kullanılan birçok lazer tip arasından diyot lazer en fazla kullanılmaktadır. Yüksek ve düşük enerjili lazerler farklı amaçlar için kullanılmaktadırlar (Pearson ve Schuckert, 2003). Yüksek enerjili lazerler termal etkiye sahiptir ve cerrahi işlemler sırasında kesmek ve koagüle etmek için kullanılırlar. Düşük enerji düzeyli lazerlerin termal etkisi yoktur fakat klinisyenler dokuda iyileşme ve rejenerasyon amaçlı biyostimulasyon etkisinden dolayı sıkça bu tür lazerleri kullanılmaktadırlar (Bouvet-Gerbettaz ve ark., 2009).

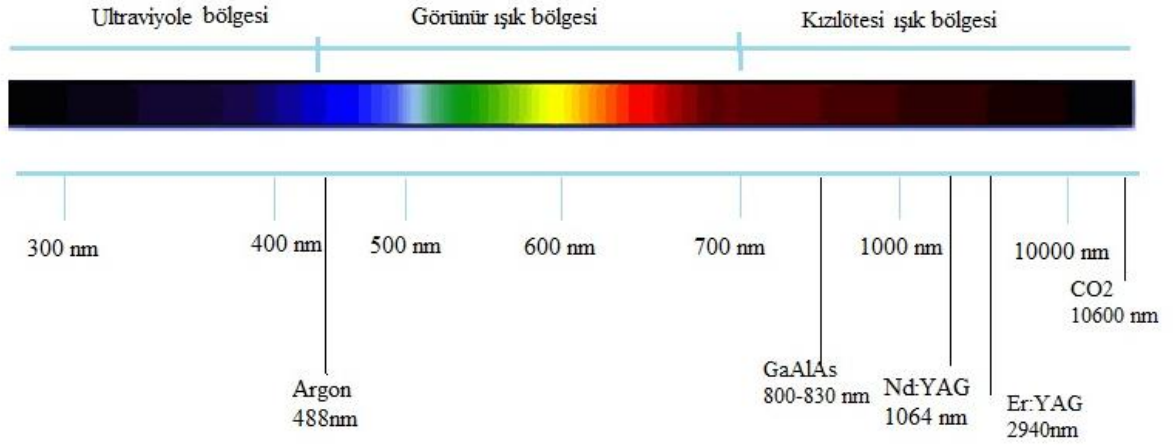
Diş hekimliğinde kullanılan lazerlerin dalga boyları 488-10600 nm arasındadır ve hepsi iyonize olmayan radyasyondur (Şekil 4). İyonize radyasyon hücredeki DNA elementlerine mutajenik etki gösterir (Myers, 1991).

Dört adet dental lazer görünür ışık yaymaktadır. Argon lazer 488 nm dalgaboyunda mavi ışık, 635 nm dalga boyunda düşük doz terapötik amaçla kullanılan Nd:YAG lazer kırmızı ve 532 nm dalga boyundaki Nd:YAG lazer yeşil ışık yayar. Diğer tüm lazer cihazları elektromanyetik spektrumun yakın, orta ve uzak infrared bölümlerinde görünmez ışık yayarlar (Coluzzi, 2008).

Dental lazerlerin temel olarak devamlı dalga ve serbest atımlı olmak üzere iki emisyon modu vardır. Devamlı dalgada lazer cihazı aktif olduğu sürece lazer enerjisi yayılır. CO<sub>2</sub>, argon, diyot ve yarı iletken lazerler bu şekilde çalışır. Serbest atımlı tipte ise lazer cihazından çok kısa atışlı lazer enerjisi yayılır. Nd:YAG, Er:YAG ve Er, Cr:YSGG lazerleri bu şekilde çalışır (Coluzzi, 2008).

Dental lazerlerle anesteziye ihtiyaç olmaksızın tedavi yapılabilmektedir (Komori ve ark., 1997). Çocuklarda yumuşak doku tedavilerinde daha az anestezi

gerektirdiğinden yararlıdır. Lazer kullanımı ile intra ve post operatif kanama azalır, sütür ihtiyacı azalır, yara iyileşmesi hızlıdır ve skar oluşumu azalır (Boj ve ark., 2011).



Şekil 4. Lazer spektrumu (<http://www.cmlaser.com/html/appslab.php>, 2014'den uyarlanmıştır)

### 2.3.6.1. Argon Lazer

Argon lazer elektromanyetik spektrumun görünür ışık kısmında 458-515 nm dalgaboyunda görülebilir mavi yeşil ışık spektrumunda ışık yayar. Yumuşak doku cerrahisinde, diş beyazlatma ve rezin polimerizasyonunda kullanılmaktadır. Hemoglobin tarafından iyi absorbe olduğundan çok iyi hemostaz sağlar (Çelik ve Gülay, 1994).

### 2.3.6.2. Diyot Lazer

Yarı iletken diyot lazerler (GaAs, GaAlAs) taşınabilir, kompakt, etkili ve güvenilir cihazlardır. Ekonomik ve ergonomik sebeplerle dizayn edilmişlerdir ve diğer sert lazer cihazlarına göre daha ucuzdur. 805-980 nm dalgaboyuna sahiptirler. Devamlı veya atımlı modda kontakt veya non kontakt olarak kullanılabilir. 980 nm dalgaboyunda, optik penetrasyonu 1064 nm dalgaboyundaki Nd: YAG lazerden daha azdır. Bu özellik, superfisyel ve interstisyel lezyonların koagülasyonunda etkin olarak kullanılmasını sağlamaktadır (Romanos ve Nentwig, 1999).

Oral kavitede bakterisidal etki gösterir ve periodontal ceplerde genelleksel diş taşı temizliğine göre enflamasyonu azaltır (Moritz ve ark., 1988; 1997).

### **2.3.6.3. Neodmium: YAG (Nd:YAG) Lazer**

Nd:YAG, çoğu uygulama için maksimum 3.0 W güç çıkışlı atımlı lazerdir. Nd:YAG lazerin aktif ortamını neodmiyum takviyeli ytrium-aluminyum-garnet kristali oluşturur. Lazerin atım süresi sinir uyarımı için gerekli zamandan daha kısa olduğu için çoğu uygulama anestezisiz yapılabilir. Uygulama esnasında sıcaklık 600°C-2000°C'ye ulaştığı için kanamasız bir alan sağlanır (Midda, 1992). Nd:YAG lazerlerin dokuda minimal absorpsiyon ve yansıma olmaksızın çeşitli derecelerde optik saçılma ve penetrasyonları mevcuttur. Nd:YAG lazerin yumuşak doku cerrahisi endikasyonları: frenektomi, gingivektomi, koagülasyon, gingival veya diğer oral yumuşak doku tümörlerinin çıkarılması, yumuşak doku kron boyu uzatma işlemleri, aftöz ülserler hemorajik bozuklukları olan hastalarda ve yüksek riskli enfekte hastalarda yumuşak doku cerrahileri gibi uygulamalardır (Romanos, 1994).

### **2.3.6.4. Erbiyum Lazerler**

Erbium lazerler hem apatit kristalleri hem de yumuşak ve sert dokudaki su içeriği tarafından maksimum absorpsiyonu nedeniyle tüm dokularda etkili lazerlerdir. Fakat bu lazerlerin hemostatik özellikleri sınırlıdır. Çünkü hemoglobin tarafından absorbe edilmezler ve çok kısa atım süresine sahiptirler (Coluzzi, 2004).

Er:YAG lazer sert dokuların uzaklaştırılmasında kullanılan 2940 nm dalga boyunda atımlı lazerdir (Keller ve Hibst, 1995). CO<sub>2</sub> lazere göre 10 kat Nd:YAG lazere göre 1500-2000 kat su tarafından daha iyi absorbe edilirler. Sert dokuda suyun buharlaşması sonucu basınç artarak mikropatlamlar oluşur ve doku uzaklaştırılır. Erbiyum lazerler çürüklerin uzaklaştırılmasında, diş preparasyonunda ve kemik cerrahisinde kullanılabilirler (Cobb, 2006).

Erbium lazerle kemik kesisi yapmanın birçok avantajı mevcuttur. Bu avantajlar kontaktsız, kanaması azaltılmış, vibrasyonu azaltılmış cerrahi teknikler, serbest seçimli kesi geometrisi, küçük operasyon alanı ve metal abrazyonunu önlemesidir (Pearson ve Schuckert, 2003; Anic ve ark., 2009). Ayrıca yüksek hızlı dental aletlerin sesinin lazerle kemik kesisi yaparken olmaması ve dental anestezi ihtiyacının az olması diş hekimi korkusu olan hastalarda rahatlatıcıdır (Martin, 2004). Peavy ve ark. (1999) 2,9, 3,0 ve 5,9-6,45 µm dalgaboyunda çalışan lazerlerle kemik ablasyonunda en iyi sonuçların elde edildiğini göstermişlerdir. Bu göz önünde bulundurularak Er:YAG lazer sistemlerinin

mineralize dokuların kesilmesinde uygun olduğu görülmektedir (Bornstein ve Lomke, 2003; Bader ve Krejci, 2006).

Hibst ve Keller (1990;1991;1995) orta infrared lazer sistemlerinin etkili ve temiz termo mekanik ablasyona olanak sağladığını rapor etmişlerdir. Eğer lazer dalga boyu hedef doku tarafından güçlü bir şekilde absorbe edilir ve atım aralıkları dokunun termal rahatlama zamanından kısa olursa ablasyon kabul edilebilir bir termal zararlar gerçekleşir (Spencer ve ark., 1999). Ek su soğutmasıyla doku nekrozu ve yanmaları büyük ölçüde azaltılabilir (Fried ve ark., 2001). Erbiyum lazerler sınırlı hemostaz sağlar (Ishikawa ve ark., 2004; Coluzzi, 2008).

### **2.3.6.5. Karbondioksit (CO<sub>2</sub>) Lazer**

İlk devamlı dalgalı CO<sub>2</sub> lazer 1964'te Patel (1965) tarafından geliştirilmiştir. O tarihten bu yana CO<sub>2</sub> lazer oral ve maksillofasiyal cerrahi alanında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. İntraoral yumuşak doku cerrahisinde kullanımı idealdir. Su tarafından iyi absorbe edilir. Hücre içi su tarafından absorbe edilen CO<sub>2</sub> lazer hücresel kopma, yırtılma ve buharlaşmayla sonuçlanan fototermal etki gösterir. Oluşan ısı komşu dokularda termal hasar bölgesi oluşturur. Bu lateral termal hasar bölgesinde çapı 500 µm'ye kadar olan kan damarlarında koagülasyon meydana gelir ve klinik olarak hemostaz oluşur (Lai ve Poon, 2009).

Dalgaboyu 10600 nm olan aktif maddesi CO<sub>2</sub> olan gaz lazerdir. Devamlı modda çalışır. Su tarafından iyi absorbe edilir (Pang ve ark., 2010). CO<sub>2</sub> lazer, bistüri cerrahisi ve elektrocerrahiyi karşılaştıran araştırmacılar lazerle diğerlerine göre daha az doku hasarı ve bistüri cerrahisine göre cerrahi alanında büyüme faktörlerinde salınımın arttığını göstermişlerdir (Cecere ve Liebow, 1990; Zaffe ve ark., 2004).

### **2.3.7. Lazer Güvenliği**

Lazer uygulaması esnasında doku sıcaklığı 100°C'nin üzerine çıktığında protein bazlı içerik, hidrokarbon ve karbon artıklarına dönüşür. Yanma ve karbonizasyon 200°C'nin üzerinde oluşur ve bu durumdan kaçınılmalıdır. İletim sistemi veya doku yüzeyinde karbon birikirse lazer enerjisinin dokular tarafından absorbe edilmeye devam ederek komşu dokularda termal hasara sebep olur (Miserendino ve ark., 1995; Bornstein, 2004).



Lazer cerrahisi sırasında komşu dokuda hasara neden olmamak için lazer ışını dokuda hareket ettirilerek kullanılmalı, nemlendirilmiş spançla oluşan karbon artıklar alınmalı ve dokunun soğumasına izin verilmelidir. Her bir lazerin özelliklerini iyi bilinmesi komplikasyonları da önler. Tüm dalga boylarının kullanımında önlem alınmalıdır. Çünkü dokudaki etkiler klinisyenin görme ötesinde gerçekleşir. Uygun olmayan parametre seçilirse ödem oluşabilir ve dalga boyuna göre dokuda yüzeysel veya derin olarak şekillenebilir (Parker, 2007).

Lazerle çalışılırken hem sağlık personeli hem de hasta koruyucu gözlük kullanılmalıdır. Yüksek volümlü havalandırma sistemi olmalı, ortamda yanıcı ajanlar bulunmamalı ve hasta kayıtları düzgün tutulmalıdır (Kohn ve ark., 2003; Sweeney, 2008).

Lazer güvenliğindeki en önemli nokta klinisyenin kullandığı lazer hakkında tecrübe kazanmış olmasıdır. 2010'da Kuzey Amerika Derneği'nin Lazer terapisi konferansında lazer güvenliği ve kontrendikasyonları ile ilgili toplantı yapılmış ve ortak bir konsensusa varılmıştır. Temel öneriler aşağıdaki gibidir:

- Lazer ışını göze yöneltilmemeli ve herkes koruyucu gözlük kullanmalı
- Primer karsinoma veya sekonder metastaz bölgelerine lazer uygulanmamalı
- Gelişen fetüs üzerine direkt olarak lazer uygulanmamalı
- Epilepsi hastalarında atımlı görünür ışık epilepsi nöbetini tetikleyebileceğinden dikkatli olunmalıdır (Carroll ve ark., 2014).

Lazerler risk gruplarına göre sınıflandırılırlar. Bu sınıflama gözün ve diğer dokuların lazer ışınına maruz kalmasıyla meydana gelebilecek olası tehlike ve riskleri tanımlar. (Takac ve Stojanovic, 1998; Sliney ve ark., 2005)

2002 'de Avrupa Standart EN 60825-1'e göre maksimum izin verilen ekspozür seviyeleri dikkate alınarak lazer güvenlik sınıflamasında revizyona gidilmiştir.

**Sınıf I.** Çıplak gözle bakıldığında herhangi bir risk oluşturmayan lazerlerdir. Fakat büyüteçle veya optik cihazlarla birlikte kullanıldığında dikkat edilmelidir. Bu lazerlerin maksimum güç çıkışı 40  $\mu$ W (mavi ışık) ve kırmızı ışık emisyonları için 400  $\mu$ W 'dır.

**Sınıf II.** Hem çıplak gözle hem de büyüteçle bakıldığında risk mevcuttur. Lazer pointerlar bunlara örnek olarak verilebilir. Maksimum güç çıkışı 1 mW (Sethi ve ark., 1999; Robertson ve ark., 2005).

**Sınıf III.** Sınıf IIIB lazerlerde maksimum 0,5 W güç çıkışıdır. Yumuşak lazerler buna örnek olarak verilebilir. Lazeri kullanan personel için koruyucu gözlük, çevre kontrolü, lazer güvenlik personeli ve lazer güvenliği eğitimi ihtiyacı bulunmaktadır (Reidenbach ve ark., 2002). Sınıf III lazerlerin risklerine ilave olarak yangın riski vardır. Bu lazerlerde direkt veya yansıyan ve saçılan ışınları korunmayan kişilerde ve hedef dokuda ciddi hasara yol açar (Schuele ve ark., 2005)

### **2.3.8. Düşük Yoğunluklu Lazer Tedavisi (LLLT)**

Düşük doz lazer tedavisi doku tamirini arttırmak, enflamasyonu azaltmak veya analjeziyi sağlamak amacıyla uygulanmaktadır. Diğer lazer tedavilerinin aksine LLLT ısı veya ablyasyon temelli bir tedavi değildir (Bouvet-Gerbettaz ve ark., 2009; De Paula Eduardo ve ark., 2010; Pejic ve ark., 2010). LLLT ayrıca hastalığa sebep olan mikropların öldürülmesinde bakterisidal moleküllerin üretilmesini sağlayan indirekt ışığın uygulanmasına dayanan fotodinamik tedaviden farklıdır. LLLT’de ışık direkt olarak enflamasyonu azaltmak, ağrıyı rahatlatmak ve/veya yara iyileşmesini stimüle etmek amaçlı kullanılır (Mang ve ark., 2012; Gursoy ve ark., 2013).

LLLT’de uygulanan lazerler, 600-1000 nm dalga boyu aralığında gücü 1mW ve 10 W arasında değişen cihazlar tarafından üretilen tipik 5 mW/cm<sup>2</sup>- 5 W/cm<sup>2</sup> enerjiye sahiptir. Tedavi süresi genellikle her nokta için 30-60 saniyedir (Chung ve ark., 2012).

LLLT tıbbın çeşitli alanlarında fotobiyomodülasyon özelliğinden dolayı kullanılmaktadır. LLL’nin etkisi hücresel düzeyde oluşur, hücre içi iletişimi değiştirerek biyokimyasal ve fizyolojik proliferasyon aktiviteleri stimüle veya inhibe eder. Kemik uygun dalga boyundaki ışığa maruz kaldığında ATP düzeyleri ve vaskülarite arttığından organik kemik matriksi oluşumu hızlanır ve osteoblastik aktivite artabilir. Yumuşak dokularda da genç fibroblastların proliferasyonu ve kollajen fibrillerin üretimindeki artış sonucu doku tamir süreci hızlanır (Karu, 2004; Lirani–Galva ve ark., 2006).

Kamali (2007) ve Karu (2004) lazer ışığının kemikte hasar oluştuğunda hücresel biyomodülasyonu stimüle ettiğini, kollajen sentezini artırdığını, kan hücrelerinin, makrofajların, fibroblastların ve kondrositlerin hücresel aktivitelerini artırdığını rapor etmişlerdir. LLLT’nin etkisi doku tamir sürecinin erken safhalarında ortaya çıkmaktadır (Khadra ve ark., 2005; Seibel, 2006).

### **2.3.8.1. LLLT Tarihi ve Uygulaması**

1967'de Macaristan, Budapeşte'de Semmelweis Tıp Fakültesi'nde Dr. Endre Mester (1967) yeni geliştirilen lazerin kanseri indükleyip indüklemediğini araştırmaya başlamıştır. Deneyinde iki grup farenin sırtındaki tüyleri traş ettikten sonra bir grubu kontrol diğer gruba düşük güçte yakut lazer uygulamıştır. Tedavi grubunda tahmin ettiği gibi kanser gelişmemiş ve kontrol grubuna göre lazer grubundaki farelerin tüyleri daha çabuk uzamıştır. Mester bu etkiyi lazer biyostimülasyonu olarak tanımlamıştır. O zamandan bu yana LLLT ve mekanizmasıyla ilgili birçok çalışma yapılmıştır (Chow ve ark., 2009; Haldeman ve ark., 2009; Bisset ve ark., 2011; Favejee ve ark., 2011).

LLLT, post operatif iyileşme artışı ve daha iyi doku remodelinginin yanısıra iğne korkusu olan ve nonsteroid antiinflamatuar ilaçları kullanamayan ağrılı hastalarda kullanışlıdır (Amorim ve ark., 2006; Ozcelik ve ark., 2008; Xiaoting ve ark., 2010; Marcos ve ark., 2011).

### **2.3.8.2. LLLT Mekanizması**

LLLT'nin çoğu etkisi mitokondri tarafından ışık absorpsiyonuyla açıklanabilmektedir (Eells ve ark., 2004; Karu., 2008; 2010). Hücrelerde binlerce mitokondri oksijen ve piruvatlardan hücresel enerji (ATP) üretir. İskemi veya strese maruz kalan dokularda, mitokondri oksijenle yarışan ve oksijenin sitokrom c oksidaza (CcO) bağlanmasını önleyen nitrik oksit (mtNO) sentezler. Bunun sonucunda ATP sentezi azalır ve oksidatif strese artış meydana gelir (Bolanos ve ark., 1994; Cleeter ve ark., 1994; Antunes ve ark., 2004; Palacios-Callender ve ark., 2004; Lane, 2006; Galkin ve ark., 2007; Chen, 2011).

Lazer ışınının fotokimyasal etkileri en az 3 parametrenin birleşimine bağlıdır: Dalga boyu, enerji yoğunluğu ve radyasyon sıklığı

#### **LLLT'nin Hipoksik/Stresli Hücrelerdeki Etkisi**

##### **İlk Etki: Sitokrom c (CcO) oksidaz tarafından absorpsiyon**

CcO kırmızı ve yakın infrared ışığı absorbe eder ve ışığın absorpsiyonuyla birlikte bir dizi olay tetiklenir (Yu ve ark., 1997; Karu ve Kolyakov, 2005; Dyson, 2006; Karu, 2008; Holder ve ark., 2012).

##### **İkinci Etki: ATP, Nitrik Oksit ve reaktif oksijen artıklarının modülasyonu**

CcO tarafından ışığın absorpsiyonuyla ATP, reaktif oksijen artıkları ve nitrik oksitteki değişiklikler doza bağlı olarak oluşur. Hipoksik hücrelerde LLLT

uygulamasıyla CcO'dan nitrik oksit salınır, ATP sentezi artar ve oksidatif stres azalır. (Zhang ve ark., 2009; Servetto ve ark., 2010; De Lima ve ark., 2013; Lim ve ark., 2013)

### **Üçüncü etki: Hücre içi cevap**

LLLT'nin nitrik oksit salınımı, artmış ATP sentezi ve oksidatif streste azalma gibi etkileri hücre tipine bağlıdır. Bu biyokimyasal ürünler sitoplazma ve hücre membranı elemanlarını ve nükleer fonksiyonları direkt veya indirekt olarak etkileyerek proliferasyon, migrasyon, nekroz ve inflamasyon gibi hücresel cevapları düzenlemektedir (Zhang ve ark., 2009; Servetto ve ark., 2010; De Lima ve ark., 2013; Lim ve ark., 2013)

### **Dördüncü Etki: Ekstraselüler, indirekt etki**

Foton absorbe etmemiş dokular, ışık absorpsiyonuyla diğer dokulardan salınan biyoaktif moleküllerden de etkilenebilir (Zhang ve ark., 2009; Servetto ve ark., 2010; Sharma ve ark., 2011; De Lima ve ark., 2013; Lim ve ark., 2013).

### **Ödem/Lenfatik Akış**

LLLT'nin lenfatik akışı arttırdığını gösteren birçok çalışma mevcuttur. Fakat mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır (Stergioulus, 2004; Omar ve ark., 2012; Meneguzzo ve ark., 2013).

### **Analjezi**

Analjezik etkiler artmış ATP/düşük oksidatif stresten kaynaklanan farklı biyolojik mekanizmaların bir sonucu olabilir. Chow ve ark. (2011) nosiseptörler tarafından absorbe edilen lazer ışığının ( $>300 \text{ mW/cm}^2$ ), A sigma ve C tipi liflerde inhibitor etki yaptığını açıklamışlardır. Bu etki geri dönüşümlüdür ve sadece 48 saat sürebilir (Chow ve ark., 2007; Yan ve ark., 2011; Artes-Ribas ve ark., 2013). Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda lazer tedavisinin rejeneratif, antienflamatuar ve analjezik etkileri arttırdığı bildirilmiştir (Pereira ve ark., 2002; Anders ve ark., 2008; Saygun ve ark., 2008; Shen ve ark., 2011). De Oliveira Martins ve ark. (2013) ratlarda yaptıkları bir çalışmada IAN'de ezilme tipi yaralanma oluşturmuşlar, sonrasında 10 seans 904 nm GaAs lazer uygulamışlardır. Sonuç olarak IAN hasarında lazer tedavisinin sinir hasarından sonra oluşabilecek nöropatik ağrının tedavisinde etkili olabileceğini bildirmişlerdir.

### **Myofasiyal Tetik Noktaları**

Myofasiyal tetik noktaları migren, gerilim tipi baş ağrısı, temporomandibular

bozukluklar ve boyun ağrısı gibi çeşitli ağrılı durumlarda nosisepsiyonun lokal kas orijini olarak varsayılmaktadır (Simons 1975). EMG çalışmalarında tetik noktalar üzerinde anormal yüksek elektriksel aktivite olduğu gösterilmiştir. Yapılan klinik çalışmalarda LLLT uygulandıktan sonra elektriksel aktivitenin azalmış ve LLLT'nin ağrının azaltılmasında etkisi olduğu gösterilmiştir (Synder-Mackler ve ark., 1989; Bjordal ve ark., 2003; Chen ve ark., 2008; Carrasco ve ark., 2009)

### **2.3.8.3. LLLT Parametreleri**

LLLT'nin etkili olabilmesi için uygulanan ışın parametrelerinin limitler dahilinde olması gerekir.

#### **Işın parametreleri**

Tedavide yanlış ışın parametreleri yanlış zaman aralığında kullanıldığında tedavi başarısız olacaktır. Örneğin ışın çok düşük veya ekspozür süresi çok kısa ise önemli bir etki sağlanamayacaktır. Eğer ışın miktarı yüksek veya ekspozür süresi çok uzunsa istenmeyen inhibitor etkiler meydana gelecektir (Sommer ve ark., 2001; Huang ve ark., 2009; 2011). Bu parametreler henüz detaylı bir şekilde açıklanamamıştır (Jenkins ve Carroll, 2011).

#### **Doz**

Uygun ışın parametrelerinin yeterli ekspozür süresince uygulanması gerekmektedir. Enerji (J) veya enerji yoğunluğu (fluens) ( $W/cm^2$ ) sıklıkla doz olarak belirtilmektedir.

#### **Penetrasyon derinliği**

Smith ve ark. (1991) tarafından yapılan bir çalışmada 670-900 nm aralığındaki ışınların doku penetrasyonlarının oldukça iyi olduğu, 725 nm ve 810 nm'de penetrasyonun pik yaptığı bildirilmiştir. Benzer çalışmalar ratlarda 810 nm'de doku penetrasyonunun pik yaptığını göstermiştir (Byrnes ve ark., 2005).

#### **LLLT tedavisinde genel klinik hedefler**

1. Hasar bölgesinde, hastalık veya disfonksiyon durumunda iyileşmeyi arttırmak ve enflamasyonu azaltmak (Aimbire ve ark., 2006; Pejicic ve ark., 2010; Iğic ve ark., 2012; Mârt u ve ark., 2012; Kim ve ark., 2013)
2. Ödem ve enflamasyonu azaltmak (Lievens, 1985; Omar ve ark., 2012; Meneguzzo ve ark., 2013)

3. Ağrıları azaltmak (Chow ve ark., 2007; 2011; Esper ve ark., 2011; Arte ve ark., 2013)
4. Hassasiyeti azaltmak ve kasılmış fibrilleri rahatlatmak (Snyder ve ark., 1989; Bjordal ve ark., 2003; Chen ve ark., 2008; Carrasco ve ark., 2009)

Klinikte LLLT, 1-4 J/cm<sup>2</sup> dozunda 10-90 mW çıkış gücünde ağrılı ve enflamatuar durumlarda kullanılmaktadır (Carvalho ve ark., 2006). Doku uzaklaştırması yapılmayan enerji düzeyinde, LLLT olarak bilinen hücrel metabolizmanın uyarılması veya fotobiyomodülasyon (PBM) gözlenebilmektedir (Ohshiro ve Calderhead, 1991; Eells ve ark., 2004; Desmet ve ark., 2006). PBM etkisi mitokondriyi uyararak hücrenin ATP üretimini arttırması şeklinde gözlenir (Tuner ve Hode, 2002; Karu, 2007; Hamblin ve Demidova, 2006; Ross ve Ross, 2008). Bu etki fibroblast proliferasyonu ve kollajen oluşumunu arttırarak yara iyileşmesini hızlandırır. Böylece gingival iyileşme sağlanır, büyüme faktörlerinin salınımında artış gözlenir ve ağrıda rahatlama görülür (Kreisler ve ark., 2003; Qadri ve ark., 2005; Kotlow, 2009; Amorim ve ark., 2006; Hamblin ve Demidova, 2006; San Jose, 2006) Literatürde, PBM'nin görünür ve yakın infrared 633-904 nm dalgaboyunda oluştuğu gösterilmiştir (Tuner ve Hode, 2002).

LLL (galyum-alüminyum-arsenide), sinir iyileşmesinde gelecek vadetmektedir. Bazı çalışmalarda lazer tedavisinin uzun süren hasarlar, ortognatik cerrahiye bağlı IAN parestezisi, ilaç veya cerrahi tedaviye yanıt vermeyen uzamış disestezi gibi zor vakalarda, subjektif ve objektif nörosensör iyileşmede etkili olduğu gösterilmiştir (Khullar ve ark., 1995;1996; Miloro ve Repasky, 2000).

LLLT cerrahi sonrası ödem ve ağrının azaltılmasında ve yara iyileşmesinde etkilidir. Çeşitli sinir hasarlarının tedavisinde LLL kullanımı ilk olarak 1978'de rapor edilmiştir. LLL'nin anterograde dejenerasyonu önlemesi ve organın canlılığını sürdürmesi ile ilgili araştırmalar devam etmektedir. Proksimal ve distal parçaların dejenerasyonunu en aza indirerek sinir rejenerasyonu arttırılabilir. Hasarlı sinirler üzerine LLL'nin etkisinin incelendiği klinik ve deneysel çalışmalarda sinir fonksiyonunda iyileşme, skar formasyonunda azalma, nöronların metabolizmasında artış ve lazer uygulanan hasarlı sinirde myelin üretiminde artmış kapasite gözlenmiştir. LLL, transkutanöz uygulandığında, alttaki periferel sinire ulaşabilmektedir (Rochkind ve ark., 1986).

Khullar ve ark. (1996), Midamba ve Haanaes (1993) LLL'nin sinir hasarından sonra perioral bölgede kullanımını araştırmışlardır. Nöroduyusal hasar olan hastalarda GaAlAs lazer kullanmışlar ve LLL uygulanmayan gruba göre subjektif ve objektif semptomlarda iyileşme olduğunu bildirmişlerdir. LLL invaziv bir yöntem olmaması ve hasarlı siniri uyarabilme yeteneği gibi avantajları vardır. İnvaziv olmayan doğası pozitif klinik sonuçlarla birleştiğinde sinir hasarında umut vadeden yardımcı bir tedavi alternatifi olmasını sağlamaktadır. Son zamanlarda Miloro ve Repasky (2000) sagittal split ramus osteotomisinden sonra LLL uyguladıkları vakalarda nörosensöriyel iyileşmede olumlu etkiler bildirmişlerdir.

Oral ve maksillofasiyel bölgede üçüncü molar çekimi, dental implant uygulaması, ortognatik cerrahi, tümör rezeksiyonu, preprotetik cerrahi ve lokal anestezi nedeniyle trigeminal sinirde hasar meydana gelebilmektedir. Sinir hasarının sekeli olarak tat duyusunda değişim, dil, dişeti, çenede ve dudakta parestezi ve dizestezi oluşabilmektedir. Cerrahinin bu komplikasyonları hasta için büyük problem oluşturabilir ve kalıcı psikolojik sorunlara yol açabilir. Son yıllardaki nöral hasar ve tamir tekniklerindeki ilerlemeler hastalar için medikal veya cerrahi müdahale olmadan nörolojik hasarı tolere edilebilir hale getirmektedir. Sinir hasarı tedavisinde farklı yöntemler değişken başarı oranlarıyla uygulanmaktadır. Literatürde bildirilen araştırmaların çoğu değişik hayvan modellerinde el hasarında motor sinirlerde cerrahi uzmanları tarafından yapılmıştır. Inferior alveoler ve lingual sinirlerin duyusal lifler taşınması ve motor lifler bulundurmaması farklı tedavi metotlarının ve başarı oranlarının karşılaştırılmasında dikkat edilmesi gereken noktalardır (Wessberg ve ark., 1982; Ghali ve Epker, 1989; Zuniga ve La Banc, 1993; Miloro, 1996).

LLL'nin sinir iyileşmesinde kullanımı ile ilgili çok sayıda deneysel çalışma yapılmıştır. Gift tarafından yapılan bir in vitro çalışmada LLL'nin sinir ve perinöral dokunun rejenerasyonunu ve büyümesini arttırdığı gösterilmiştir (Rochkind, 1989; 1990; Khullar ve ark., 1995; Gift, 1996) Lazerin etkisi ile ilgili yapılan klinik ve deneysel çalışmalar sonucunda sinir iyileşmesinde artma, skar formasyonunda azalma, nöronal metabolizmada ve myelin üretim kapasitesinde artış olduğu belirtilmiştir (Bagis ve ark., 2002). Rochkind ve ark (1989;1990) ratlarda sinir hasarında HeNe lazer kullanmışlardır. LLL'nin yararlı etkilerini motor hücre dejenerasyonunu önleme,

yüksek nöral metabolizma, artmış myelinizasyon ve akson rejenerasyonu olarak bildirmişlerdir.

Düşük doz lazer tedavisinin terapötik kullanımı hakkında hala çelişkiler bulunmaktadır ve periferel sinirler üzerine biyomodülasyon etkisi netleşmemiştir. Bazı çalışmalarda pozitif etkiler gözlenirken, bazı çalışmalarda ise lazerin periferel sinirlere herhangi bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir (Walsh ve ark., 2000; Snyder ve ark., 2002). Sinir rejenerasyonunda lazer tedavisinin etkinliğini doğrulayacak moleküler temeller henüz netleşmemiştir. Karu (1988) izole mitokondrinin ışınlandığında hücrenel homeostaste pozitif değişikliklere sebep olduğunu doğrulamıştır. Solunum zincirindeki bazı yapıların (sitokrom, flavinler ve dehidrogenazlar) özel bir dalga boyundaki ışığı absorbe ettiğini söylemiştir. Bu absorpsiyon hücrede hidrojen seviyelerini etkileyerek ve iyonları aktive ederek ATP sentezinde artışla sonuçlanmaktadır.

LLLT, yumuşak ve sert doku iyileşmesini hızlandıran etkili bir yöntemdir. Lazer ışığının yara iyileşmesinde, kollajen sentezinde ve fibroblast proliferasyonunda indükleyici etkileri vardır. Son yıllarda sinir iyileşmesinin yanı sıra, yeni kapiller oluşumunda, RNA ve DNA üretiminde, yeni kemik oluşunda etkili olduğu gösterilmiştir (Conlan ve ark., 1996; Pourzarandian ve ark., 2005; Walsh ve ark., 2006).

Lazer kemik kallusunun sertliğini arttırmaktadır. Bazı yazarlar LLLT'nin osteoblastik aktiviteyi, vaskülarizasyonu, kollajen fiberleri ve ATP seviyesini arttırarak kemik formasyonunu hızlandırdığını göstermişlerdir (Karu ve ark., 1995; Usuba ve ark., 1998; Lirani-Galvão AP Jorgetti ve Lopes da Silva, 2006) . LLLT'nin, yan etki oluşturmaksızın ağrıyı, ödemi azaltarak ve hasarlı dokuların tamirini destekleyerek inflamatuvar olayları hafiflettiği gösterilmiştir (Enwemeka ve ark., 2004; Brignardello-Petersen ve ark., 2012). Yumuşak dokudan kaynaklanan akut ağrıda etkisi ödemin, hemorajinin, nötrofil infiltrasyonunun, inflamatuvar sitokinlerin ve enzimlerin azaltılmasıyla ilişkilendirilebilir (Bjordal ve ark., 2006). LLLT'nin ödemi azaltıcı etkisi lenf damarlarının rejenerasyonunu hızlandırması ve vasküler permeabiliteyi azaltmasıyla ilişkili olabilir (Lievens ve ark., 1991; Honmura ve ark., 1992; Albertini ve ark., 2001).

Literatür incelendiğinde, sinir hasarıyla ilgili çalışmalarda ezilme tipi hasar oluşturulan sinirin genellikle siyatik sinir olduğu görülmüştür. NGF ile ilgili yapılan



Çalışmaların çoğunda sinir iyileşmesi üzerine etkiler araştırılmış, kemik iyileşmesi üzerine etkisi ile ilişkili bilgi sınırlıdır. Ayrıca literatürde hem sinir hem kırık iyileşmesinde etkili olan NGF ve LLLT'nin birlikte incelenerek karşılaştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada amaç hem sinir hem de kırık iyileşmesinde NGF ve LLLT tedavilerinin karşılaştırılarak incelenmesidir.



### 3. MATERYAL METOD

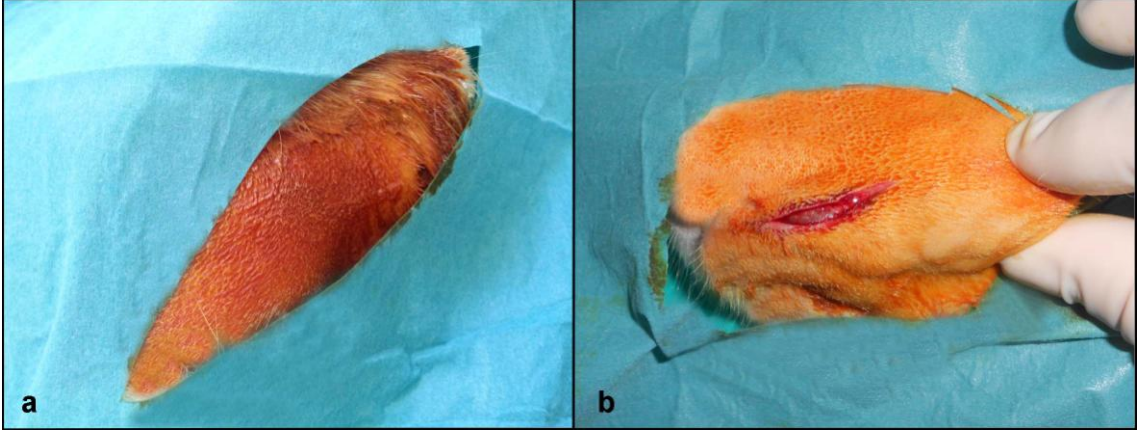
Ondokuz Mayıs Üniversitesi (OMÜ) tarafından PYO.DIS.1904.13.004 proje numarası ile desteklenen bu tez çalışmasının deneysel kısmı OMÜ Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu' nun 11/10/2012 tarihli ve 2012/51 sayılı izniyle, OMÜ Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Bu çalışmada 6 haftalık, ağırlıkları 2,5-3 kg arasında değişen 28 adet dişi Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Osteotominin en iyi şekilde yapılması için iskeletsel olarak olgunluğa erişmiş tavşanlar seçildi.

Tavşanlar aşağıda belirtildiği şekilde gibi 4 grup olarak incelendi:

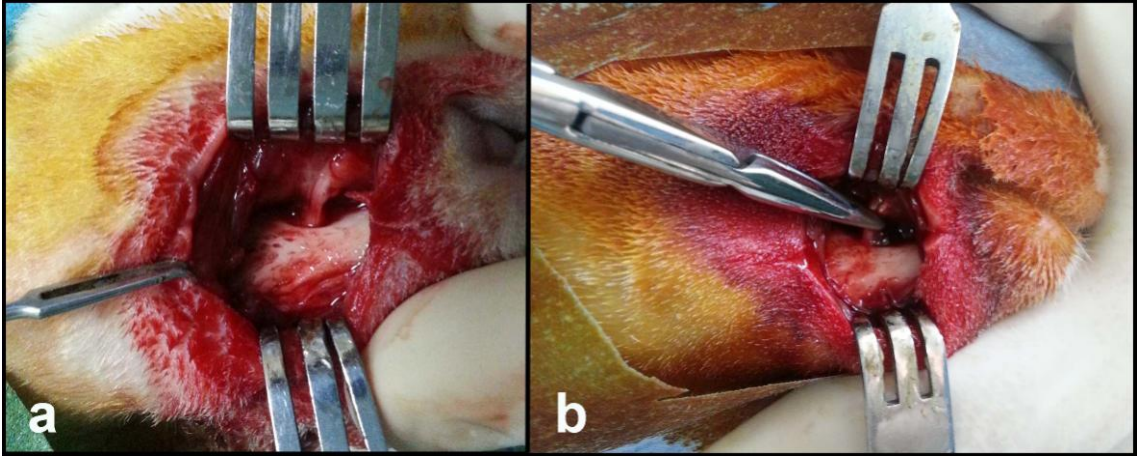
1. Kontrol grubu (7 adet)
2. LLLT uygulanan grup (7 adet)
3. NGF uygulanan grup (7 adet)
4. LLLT+ NGF uygulanan grup (7 adet)

#### 3.1. Cerrahi Prosedür

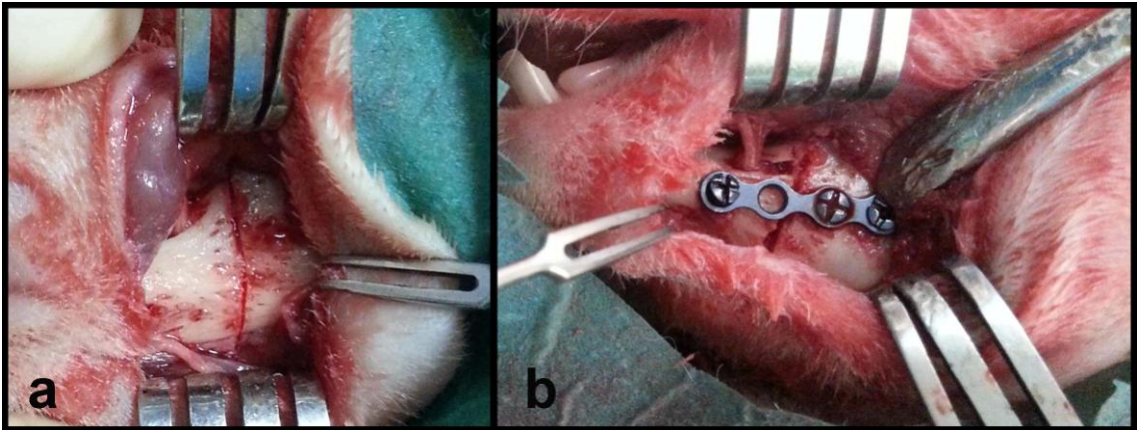
Deney hayvanlarında genel anestezi amacıyla intramüsküler 50 mg/kg ketamin (Ketalar; Pfizer, İstanbul, Türkiye) ve 8mg/kg xylazin (Rompun; Bayer, İstanbul, Türkiye) kullanıldı. Anesteziyi takiben sol alt çene traş edildikten sonra bölgeye povidon-iyodin solüsyonuyla (Poviiiodex®, Kimpa, Türkiye) uygulandı. Operasyon bölgesinin antiseptisini takiben steril cerrahi örtüler kullanılarak cerrahi bölgenin izolasyonu sağlandı (Şekil 5a). Cerrahi bölgeye 0,5 ml 1:200,000 epinefrin içeren artikain solüsyonuyla (Ultracain-DS; Hoechst Marion Roussel, İstanbul, Türkiye) lokal anestezi yapıldı, takiben submandibular insizyon yapıldı (Şekil 5b). Cilt ve cilt altı dokular kaldırılarak kemik dokusu açığa çıkarıldı (Şekil 6a). Birinci premolar diş ile mental foramenin arasından geçecek şekilde serum fizyolojik irrigasyonu altında frez ve osteotomlar yardımıyla kemik kesisi gerçekleştirildi (Şekil 7a). Bu işlem esnasında IAN korundu. Mental sinir standart bir portegü kullanılarak iki diş sıklığında 30 saniye süresince sıkıştırıldı (Şekil 6b). Fraktür hattı dört delikli bir mm kalınlığında miniplak ve vidalarla (7 mm x 1,6 mm) fikse edildi (Şekil 7b). Cilt altı ve cilt dokuları tabakalar halinde 4/0 suturla (Vicryl, Ethicon, Brüksel, Belçika) primer suture edildi.



Şekil 5. a. Operasyon Alanının Hazırlanması b. İnsizyon Hattı



Şekil 6. a. Operasyon alanı b. Sinir hasarı oluşturulması



Şekil 7. a. Kırık hattının oluşturulması b. Mini plak vida uygulaması

Cerrahi sonrası ağrı ve enfeksiyon kontrolü amacıyla analjezik (Tramadol, 1 mg/kg; Contramal, Abdi İbrahim, İstanbul, Türkiye) ve antibiyotik (cefazolinsodium, 500 mg/kg; Sefazol, M Nevzat, İstanbul, Türkiye) günde iki defa olmak üzere dört gün boyunca intramüsküler olarak uygulandı. Hayvanlar ayrı bir kafese konularak bir hafta boyunca yumuşak diyetle beslenmeleri sağlandı. Sonrasında normal diyete geçilerek, hayvanların klinik, ağırlıkları ve beslenme durumları takip edildi.

### 3.2. Lazer Cihazının Özellikleri

Çalışmada GaAlAs lazer (Cheese™, Wuhan Gigaa Optronics Technology Co., Ltd., China) kullanıldı (810 nm, 0,3 W maksimum güç 4 W, 18 J/cm<sup>2</sup>) (Şekil 8, Şekil 9).



Şekil 8. LLLT cihazı (Cheese™, Wuhan Gigaa Optronics Technology Co., Ltd., China)



Şekil 9. LLLT uygulama aparatı (Cheese™, Wuhan Gigaa Optronics Technology Co., Ltd., China)

### 3.3. NGF'nin Uygulanması

Toplam 100 µg hNGF-β (Bio Vision, San Francisco, USA) % 0,9 NaCl solüsyonu içinde çözdürüldü. Daha sonra her biri 1 µg/ 0,2 ml NaCl içeren solüsyonlar tek doz uygulama için hazır hale getirilerek -20°C'de saklandı (Şekil 10).



Şekil 10. Kullanılan hNGF preparatı

### 3.4. Deney protokolü

Birinci grup deney hayvanlarına post operatif 0,2 ml %0,9 NaCl solüsyonu operasyon bölgesine ekstraoral lokal olarak enjekte edildi.

İkinci grup deney hayvanlarına deney hayvanlarına cerrahiye takiben 14 gün boyunca her 48 saatte bir olmak üzere LLLT, 180 sn uygulandı.

Üçüncü grup post operatif günde 1 µg hNGF-β/ 0,2 ml %0,9 NaCl solüsyonu içinde yedi gün lokal olarak ekstraoral uygulandı (Şekil 10).

Dördüncü grup deney hayvanlarına NGF ve LLLT'nin yukarıda açıklandığı gibi birlikte uygulandı.

Post operatif dönem dört hafta sonra deney hayvanları yüksek doz sodyum pentobarbitone (Pental; IE Ulagay, İstanbul, Türkiye) kullanılarak sakrifiye edildi.

### **3.5. Histolojik İnceleme**

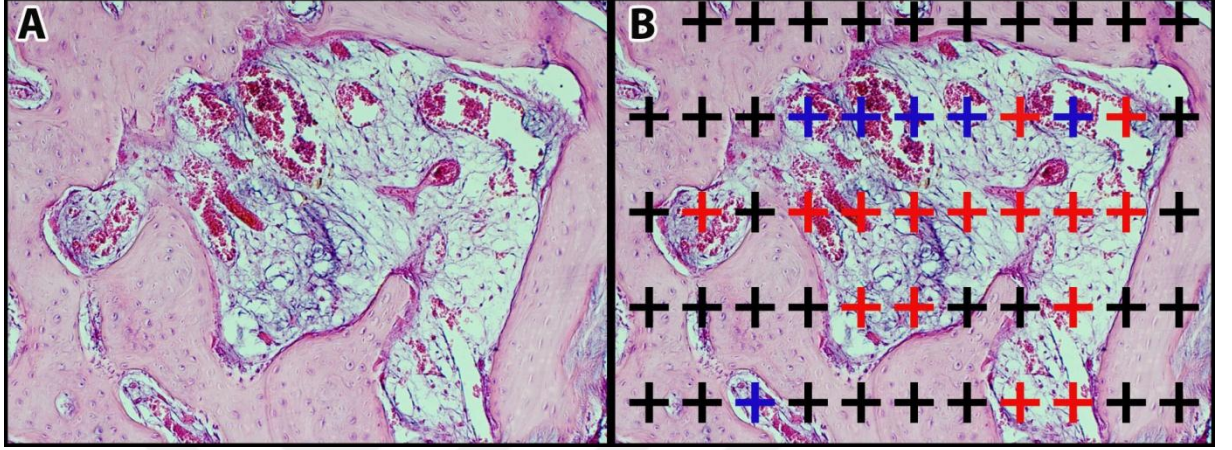
Doku örneklerinin hazırlanmaları stereolojik ve histopatolojik incelemeleri OMÜ Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji A.D. laboratuvarında yapıldı.

#### **3.5.1. Stereolojik Analiz**

Çenelerin üzerindeki yumuşak dokular uzaklaştırıldı ve örnekler kırık hattını tümüyle içerecek şekilde elde edildikten sonra %5 formik asitte 21 gün süreyle dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyondan sonra %10 formaldehitte postfiksasyon işlemi tamamlanan örnekler alkol ile aşamalı olarak dehidrate edildi ve ksilol ile temizlenerek ışık mikroskopunda histolojik incelemeye hazır hale getirildi. Bu amaçla parafine gömülen örneklerden mikrotomla (Leica RM 2135; Leica Instruments, Nussloch, Germany) 7-µm kalınlığında stereolojik metotların ve inceleme yöntemlerinin temelini oluşturan sistematik rasgele örnekleme yaklaşımına göre seri kesitler alındı. Pilot çalışmaya göre uygun sistematik rasgele örnekleme oranı 1/100 olarak belirlendi. Seçilen kesitler hematoksilin-eozin (H-E) ile boyandıktan sonra, kamera ataçmanlı (Olympus DP25) ışık mikroskobu (Olympus BX 50) kullanılarak fotoğraflandı. Elde edilen fotoğraflar üzerinde bilgisayar ortamında, yeni kemik dokusu, yeni bağ dokusu ve yeni damar hacmi stereolojik olarak Cavalier yöntemi kullanılarak hesaplandı (Odaci ve ark., 2003; Altunkaynak ve Altunkaynak, 2007) (Şekil 11). Söz konusu yöntem için seçilen noktalı alan ölçüm cetvelinin içeriği ve nokta yoğunluğu, yine pilot çalışmaya göre kesitlerdeki kırık hattının tamamını kapsayacak şekilde belirlendi. Hesaplamalarda her bir denekteki örneklemin geçerliliği uygun hata katsayısına (HK) göre, her bir gruptaki örneklemin geçerliliği ise Gundersen ve Jensen' in değişim katsayısına (DK) göre belirlendi (Sahin ve ark., 2003). Hacim hesabında aşağıdaki formül kullanıldı;

$$\text{Hacim} = t \times \frac{a}{p} \times \Sigma p$$

(‘t’, kesit kalınlığı; ‘ $\frac{a}{p}$ ’, noktalı alan cetveli üzerindeki her bir noktanın temsil ettiği alan; ‘ $\Sigma p$ ’, kırık alanına denk gelen toplam nokta sayısı).



**Şekil 11.** Nokta sayım metodunun gösterimi **A.** Kesit görünümü **B.** Gridli görünüm, Mavi “+” kan damarlarını, kırmızı ”+” bağ dokuyu, siyah ”+” ise yeni oluşan kemik dokuyu göstermektedir.

### 3.5.2. Elektron Mikroskopik Takip İşlemi

Deneklerin mental sinirleri rezeke edildi.

- %5 glüteraldehit solüsyonu içerisinde 1 saat bekletildi.
- Süre sonunda 4x15 dakika Milloning tamponuyla yıkandı.
- Tamponla yıkamanın ardından %1 osmium tetraoksit içerisinde 1,5 saat karanlık ortamda bekletildi.
- 4x15 dakika Milloning tamponuyla tekrar yıkandı ve dehidratasyon işlemine geçildi.

Dehidratasyon için;

- %50’lik asetonda 15 dakika,
- %75’lik asetonda 15 dakika,
- %95’lik asetonda 15 dakika,
- %100’lük asetonda 20 dakika,
- %100’lük asetonda 20 dakika bekletildi. Devamında;
- Propilen oksitte 20 dakika,
- Propilen oksitte 20 dakika,
- %50 Propilen oksit + %50 Araldit karışımında 1 saat,

- %100 Aralditte 1 saat boyunca infiltrasyon işlemine tabi tutuldu.

Bu süre sonunda silikon gömme kalıbı içerisinde bloklanan dokular 45 °C' deki etüve yerleştirildi ve her 30 dakikada bir 5 °C' lik ısı artışı yapılarak 62 °C'ye ulaşıldı. 62 °C' de 48 saat bekletilerek polimerizasyonu sağlandı. Plastik kesitlerden cam bıçak yardımıyla mikrotomda (Thermo Shandon Finesse E) 500 nm kalınlığında yarı ince kesitler cam lam üzerine alınarak %1'lik toluidin mavisi ile boyandı. Boyanan yarı ince kesitlerde ışık mikroskopunda histopatolojik değerlendirmeler yapıldı.

### **3.6. İstatistiksel Analiz**

Elde edilen veriler istatistik paket programı (IBM SPSS Statistics 21.0 for Mac) kullanılarak analiz edildi. Grupların karşılaştırılmasında One Way ANOVA (Tukey Post-Hoc Test) testi kullanıldı ve 0,05 anlamlılık derecesi (p) baz alındı.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Klinik Bulgular

Cerrahiye takiben 1. haftada kontrol grubundan 1 hayvan aşırı kilo kaybına bağlı olarak kaybedildi. 2. grup ve 4. gruptan birer hayvanda enfeksiyon geliştiğinden bu hayvanlar çalışma dışında bırakıldı. Toplamda 25 hayvan çalışmaya dahil edildi.

### 4.2. Stereolojik Bulgular

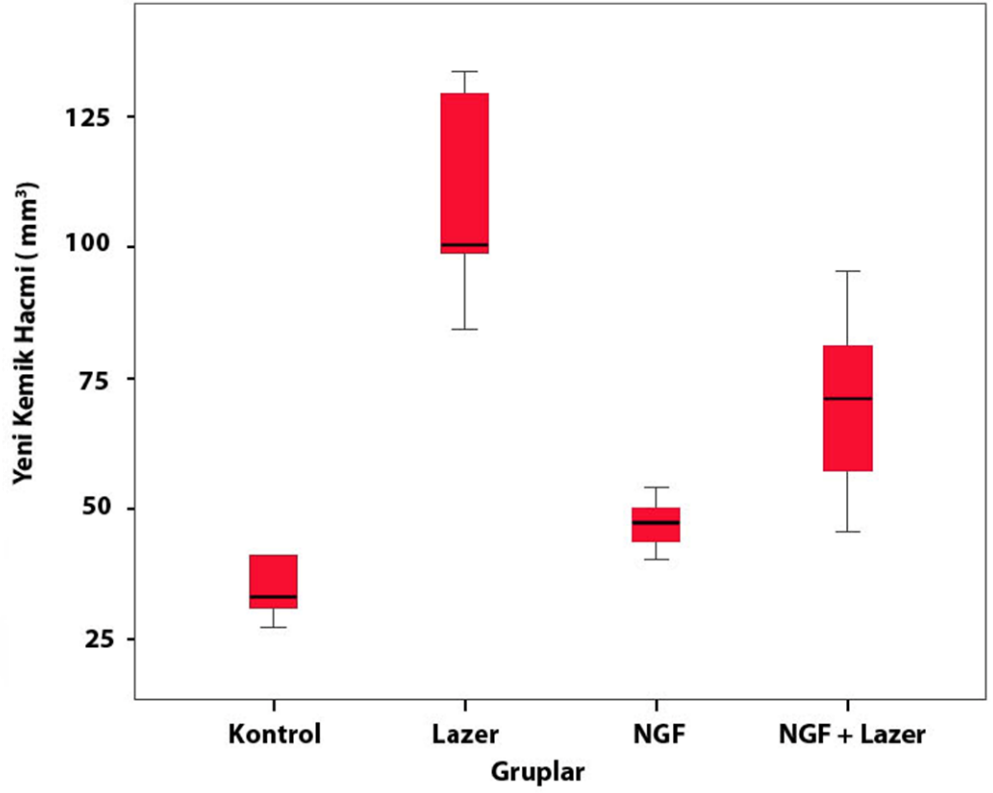
Tüm gruplarda deney süreci tamamlandıktan sonra oluşan yeni kemik, bağ dokusu ve yeni damar hacmi stereolojik yöntemle değerlendirildi, elde edilen bulgular Tablo 3'de ve grupların birbirlerine göre p değerleri Tablo 4, Tablo 5 ve Tablo 6'da özetlendi.

**Tablo 3.** Gruplara göre yeni oluşan kemik, bağ dokusu ve yeni damar hacminin ortalama±standart sapma (Ort±SS) değerleri

	Ortalama ± SS (mm <sup>3</sup> )		
	Yeni kemik hacmi	Bağ Dokusu Hacmi	Yeni Damar Hacmi
<b>Kontrol grubu</b>	34,7 ± 6,2	68 ± 17	0,5 ± 0,3
<b>LLLT grubu</b>	108 ± 19,4	105,2 ± 21,3	4,5 ± 1
<b>NGF grubu</b>	47 ± 5,2	54,4 ± 9	2 ± 0,4
<b>LLLT+NGF grubu</b>	70,2 ± 18	120,3 ± 22	2,2 ± 1,6

#### 4.2.1. Yeni Kemik Hacmi

Yeni oluşan kemik hacmi her bir grup için ayrı ayrı değerlendirildi. Gruplar arasında en yüksek kemik hacmi değeri LLLT grubunda (108 ± 19,4 mm<sup>3</sup>) gözlemlendi. Bu grubu sırasıyla LLLT+NGF (70,2 ± 18 mm<sup>3</sup>), NGF grubu (47 ± 5,2 mm<sup>3</sup>) ve kontrol grubu izlemekte idi (Tablo 3, Şekil 12).



Şekil 12. İstatistiksel analiz sonucu her bir gruptan elde edilen verilere göre yeni kemik doku hacimlerinin gösterimi

Grupların ortalama kemik hacmi değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucu elde edilen p değerleri Tablo 4’de özetlendi. LLLT uygulanan grupta diğer gruplara göre daha yüksek kemik hacmi bulunmuş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p < 0,05$ ). Kontrol grubunda yeni kemik hacmi değeri LLLT ve LLLT+NGF grubuna göre belirgin olarak düşük olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0,05$ ).

NGF uygulanan grupta yeni kemik hacmi, LLLT ve LLLT+NGF’nin uygulandığı gruba göre düşük olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p < 0,05$ ). LLLT+NGF grubunun yeni kemik hacmi değerleri, kontrol ve NGF grubuna göre daha yüksek olup, fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p < 0,05$ ).

**Tablo 4.** Her bir grubun yeni kemik hacmi değerlerinin diğer gruplar ile karşılaştırılması sonucu elde edilen p değerleri

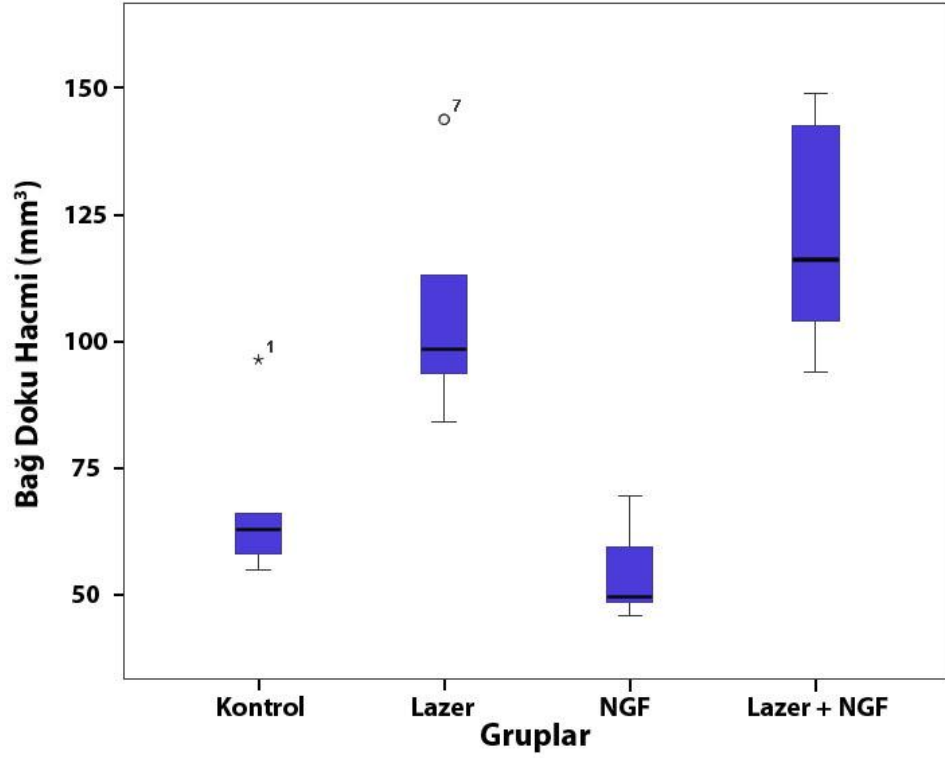
#### YENİ KEMİK HACMİ KARŞILAŞTIRMASI

Gruplar		p
<b>Kontrol</b>	NGF	0,438
	LLLT	0,000
	LLLT+NGF	0,002
<b>LLLT</b>	Kontrol	0,000
	NGF	0,000
	LLLT+NGF	0,001
<b>NGF</b>	Kontrol	0,438
	LLLT	0,000
	LLLT+NGF	0,030
<b>LLLT+NGF</b>	Kontrol	0,002
	LLLT	0,001
	NGF	0,300

#### 4.2.2. Bağ Doku Hacmi

Her bir grup kendi aralarında bağ doku hacmi açısından karşılaştırıldı ve elde edilen veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak belirtildi (Tablo 3).

Gruplar arasında en yüksek bağ doku hacmi LLLT+NGF grubunda ( $120,3 \pm 22$  mm<sup>3</sup>) gözlendi. Bu grubu sırasıyla LLLT grubu ( $120,3 \pm 22$  mm<sup>3</sup>), kontrol grubu ( $68 \pm 17$  mm<sup>3</sup>) ve NGF ( $54,4 \pm 9$  mm<sup>3</sup>) grubu izlemekte idi (Tablo 3, Şekil 13).



**Şekil 13.** İstatistiksel analiz sonucu her bir gruptan elde edilen verilere göre bağ doku hacimlerinin gösterimi

Grupların ortalama bağ doku hacmi değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucu elde edilen p değerleri Tablo 5’de özetlendi. LLLT grubu bağ doku hacmi bakımından kontrol grubu ve NGF grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ( $p < 0,05$ ). LLLT+NGF grubuyla arasında anlamlı farklılık gözlenmedi.

NGF grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında ise LLLT ve LLLT+NGF gruplarına oranla istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ( $p < 0,05$ ).

LLLT+NGF grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında kontrol grubuyla NGF grubu arasında anlamlı farklılık bulundu ( $p < 0,05$ ).

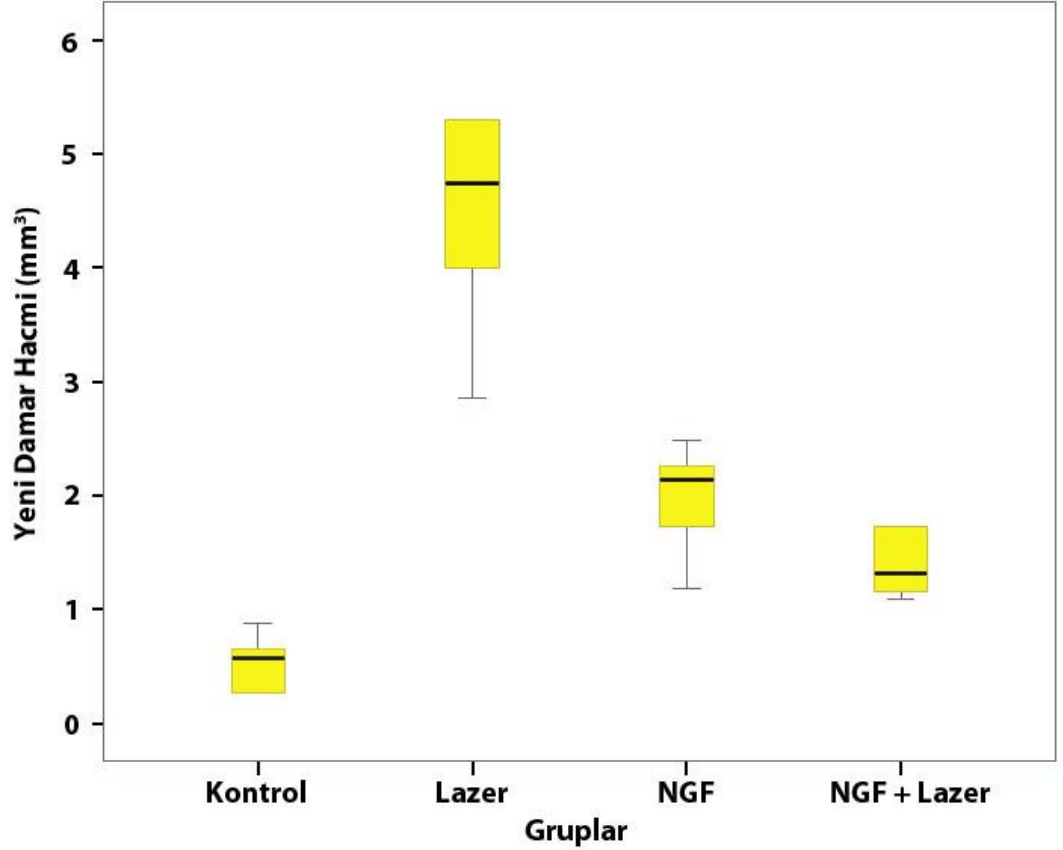
**Tablo 5.** Herbir grubun yeni bağ doku hacmi değerlerinin diğer gruplar ile karşılaştırılması sonucu elde edilen p değerleri

**YENİ OLUŞAN BAĞ DOKU HACMI KARŞILAŞTIRMASI**

<b>Gruplar</b>		<b>p</b>
<b>Kontrol</b>	NGF	0,581
	LLLT	0,010
	LLLT+NGF	0,000
<b>LLLT</b>	Kontrol	0,010
	NGF	0,000
	LLLT+NGF	0,466
<b>NGF</b>	Kontrol	0,581
	LLLT	0,000
	LLLT+NGF	0,000
<b>LLLT+NGF</b>	Kontrol	0,000
	LLLT	0,466
	NGF	0,000

### 4.2.3. Yeni Damar Hacmi

Gruplar kendi aralarında yeni oluşan damar hacmi açısından karşılaştırıldığında en yüksek damar hacmi LLLT grubunda ( $4,5 \pm 1 \text{ mm}^3$ ) bulundu ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p < 0,05$ ) (Tablo 3, Şekil 14).



Şekil 14. İstatistiksel analiz sonucu her bir gruptan elde edilen verilere göre yeni damar hacimlerinin gösterimi

Grupların ortalama yeni oluşan damar hacmi değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucu elde edilen p değerleri Tablo 6'da özetlendi. NGF grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında kontrol grubu ve LLLT grubuyla arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p < 0,05$ ). LLLT+NGF grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında kontrol grubu ve LLLT grubuyla aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p < 0,05$ ).

**Tablo 6.** Her bir grubun yeni oluşan damar hacmi değerlerinin diğer gruplar ile karşılaştırılması sonucu elde edilen p değerleri

### YENİ OLUŞAN DAMAR HACMİ KARŞILAŞTIRMASI

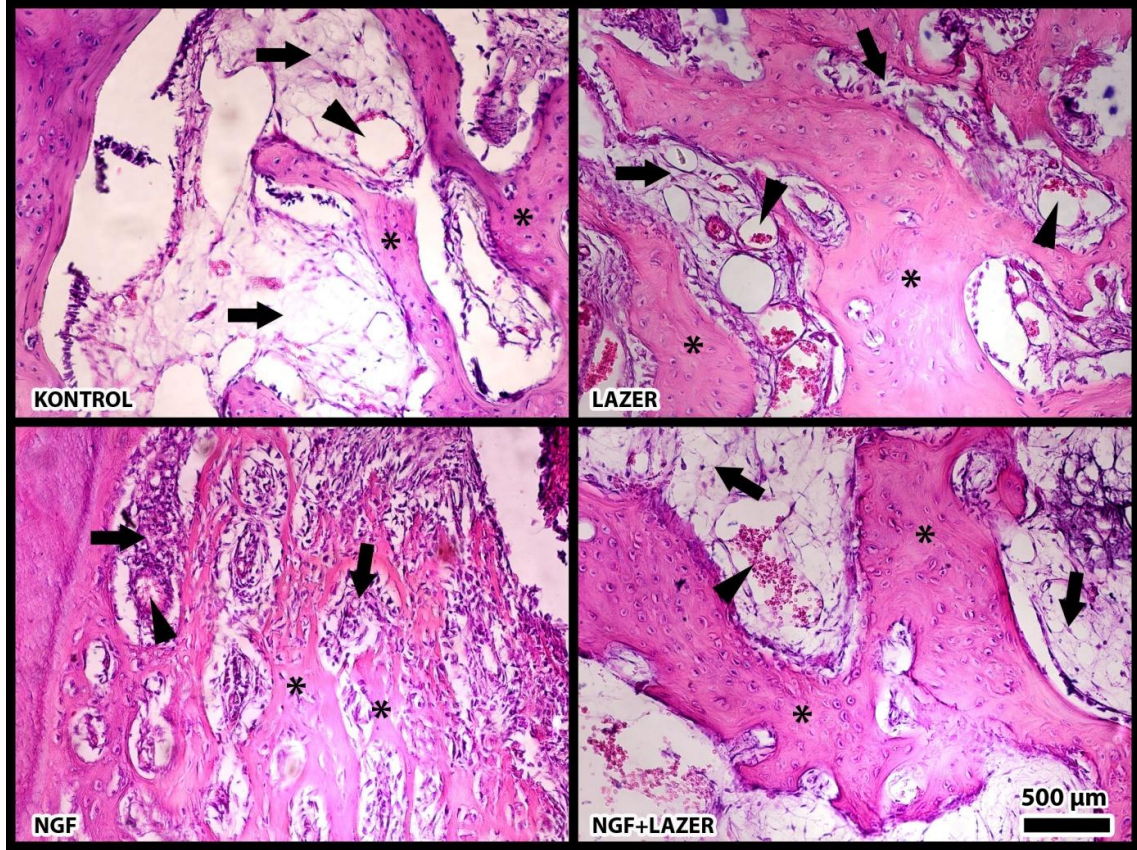
Gruplar		p
<b>Kontrol</b>	NGF	0,002
	LLLT	0,010
	LLLT+NGF	0,090
<b>LLLT</b>	Kontrol	0,000
	NGF	0,000
	LLLT+NGF	0,000
<b>NGF</b>	Kontrol	0,002
	LLLT	0,000
	LLLT+NGF	0,286
<b>LLLT+NGF</b>	Kontrol	0,090
	LLLT	0,000
	NGF	0,286

#### 4.3. Kemik Dokuya Ait Histopatolojik Bulgular

Kemik dokularının gruplara ait örneklerinde ışık mikroskopik incelemesinde; kontrol grubu ile NGF grubuna ait örneklerde yeni kemik alanı açısından gözle görülür bir farka rastlanmadı. LLLT grubunda açık boyanmış alanlar halinde diğer gruplara oranla belirgin yeni kemik alanları izlendi. NGF+LLLT grubunda da yeni kemik alanları kontrol ve NGF grubuna göre daha fazla gözlemlendi. Özellikle bağ doku infiltrasyon alanları içerisindeki yeni kemikleşme olduğunu düşündüğümüz adacıklarda lakünalar içine hapsolmuş osteosit kümeleri dikkati çekmekteydi. Yine bu grupta LLLT grubuna kıyasla kemik adacıkları içerisindeki bu matur osteosit oluşumları yeni kemik oluşumunun yanında kemik maturasyonunun da daha ileri düzeyde olduğuna işaret etmektedir.

Bağ doku infiltrasyonu açısından hem LLLT hem de NGF+LLLT gruplarında belirgin şekilde göze çarpan oluşumlar gözlemlendi. Bu gruplarda rejenerasyon alanında göze çarpan bağ doku oluşumu kontrol ve NGF gruplarındakilere kıyasla daha yoğundu. Ancak LLLT grubuna ait bağ doku alanları içerisinde diğer gruplara kıyasla daha fazla damarlanma göze çarpmaktaydı. Bu durum LLLT uygulamasının tek başına

neojeniyogenezi diğer gruplara kıyasla daha fazla uyardığını düşündürmektedir. Kemik dokuya ait histopatolojik görüntüler gruplara göre Şekil 15’de gösterilmiştir.



Şekil 15. Deney gruplarının histopatolojik görüntüsü.”\*” yeni kemik alanlarını. “ ➡ ” bağ doku alanlarını, “ ▶ ” ise yeni oluşan damarları göstermektedir.

#### 4.4.Sinir Dokunun Histopatolojik İncelemesi

Sinir dokusunun, deney hayvanından eksize edilirken ve elektron mikroskopik takip işlemleri sırasındaki teknik aksaklıklar nedeniyle stereolojik incelemesi yapılamamıştır. Sadece histopatolojik inceleme yapılmıştır.

##### 4.4.1. Kontrol Grubu

Kontrol grubuna ait mental sinir örneklerinin toluidin mavisi ile boyanması sonucu elde edilen yarı ince kesitlerin ışık mikroskopik incelenmesinde, sinir kesitlerinin unifasiküler olduğu izlendi. Unifasiküler yapıdaki sinirin en dışta fibröz bir bağ dokudan oluşan epinöryum adlı bir bağ dokusu ile çevrili olduğu ve bu fibröz bağ dokusu dışında kan damarlarının yanı sıra yağ hücrelerinin varlığı da gözlemlendi. Epinöryumun hemen altında daha ince perinöryum adlı bağ dokusu ayırt edildi. Aksonların etrafında gözlenen endonöryum sağlıklı görünümde idi. Sinir fasikülünde



miyelinli aksonlar dikkati çekti. Aksonları saran Schwann hücreleri, aksonların etrafında soluk mavi renkli sitoplâzmaları, ökromatik çekirdekleri ve belirgin çekirdekçikleri ile ayırt edildi. Aksonlar, Schwann hücrelerinin sitoplazmasına gömülmüş halde, soluk renkli olarak izlendi. Sinir liflerinin aralarında, ince uzun sitoplazmik uzantıları ve heterokromatik çekirdekleriyle karakterize edilen fibroblastların varlığı izlendi. Ayrıca, sinir kesiti içerisinde az sayıda mast hücresi, perinöryum ve endonöryumda yerleşik kapiller damarlar ve başlıca kollajen liflerden oluşan fibröz bağ dokusu sağlıklı görünüşleriyle izlendi.

#### **4.4.2. NGF Grubu**

NGF grubuna ait mental sinirin yarı ince kesitlerinin ışık mikroskopik incelenmesinde, sinirin dıştan epinöryum adı verilen kalın fibröz bir bağ dokusu ile çevrili olduğu izlendi. Epinöryumun altında sinir fasiküllerinin daha ince bir bağ dokusu olan perinöryumla çevrili olduğu görüldü. Perinöryumdan kaynaklanan daha ince bağ dokusu bölmelerinin tek tek sinir liflerini çevrelediği gözlemlendi. Endonöryum olarak adlandırılan bu ince bağ dokusu içerisinde fibroblast ve nörolemmaya ait Schwann hücreleri görüldü. Schwann hücreleri, oval ya da yuvarlak çekirdekleri ile ayırt edildi. Aksonlar, Schwann hücrelerinin sitoplazmasına gömülmüş halde, soluk renkli olarak izlendi. Miyelinli sinir liflerinde, Schwann hücreleri tarafından yapılan ve aksonu çevreleyen miyelin kılıf belirgin olarak izlendi. Sinir liflerinin aralarında, sitoplazmasında fagozomlar bulunan makrofajların varlığı gözlemlendi. Ayrıca; sinir liflerinin rejenerasyonu belirgin olarak görüldü. Sinirin, rejenerasyon alanları içinde muhtemelen miyelinsiz lif kümelerine ait açık renkli alanların çokluğu dikkat çekti. Miyelinli sinir liflerinin çoğu alanlarda rejenerasyon oldukları, kontrol grubuna oranla belirgin şekilde küçülmüş akson çapı ve miyelin kılıf kalınlığı ile normal görünümde oldukları kaydedildi. Bunun dışında, miyelinli sinir liflerinin aralarında; bağ dokusu hücreleri ve kan damarları da ayırt edildi.

#### **4.4.3. LLLT Grubu**

LLLT grubuna ait mental sinirin yarı ince kesitlerinin ışık mikroskopik incelenmesinde, sinirin dıştan epinöryum ve perinöryum ile çevrili olduğu ve unifasiküler olduğu gözlemlendi. Miyelinli aksonların akson etrafında bir miyelin kılıf

içerdikleri saptandı. Miyelinli sinir lifleri, akson ve miyelin kılıf yapıları ile birlikte normal olarak değerlendirilerek miyelinli aksonlarda herhangi bir yapısal bozukluk görülmedi ve çoğu alanlarda, miyelin lamellerinin normal yapılarını korudukları izlendi. Ayrıca; Schwann hücrelerinde herhangi bir sitoplazmik vakualizasyona rastlanmadı. Schwann hücreleri ve aksonların normal yapılarını korudukları dikkat çekti. Özellikle küçük çaplı aksonlarda histolojik yapının korunduğu gözlemlendi.

#### **4.4.4. NGF+LLLT Grubu**

NGF+LLLT uygulanan gruba ait mental sinirin yarı ince kesitlerinin ışık mikroskopik incelenmesinde, sinirin dıştan epinöryum adı verilen kalın fibröz bir bağ dokusu ve altında daha ince perinöryum ile çevrili olduğu görüldü. Perinöryumdan kaynaklanan ince bağ dokusunun içerisinde aksonlar, Schwann hücrelerinin sitoplazmasına gömülmüş halde, soluk renkli olarak izlendi. Miyelinli aksonlarda, Schwann hücreleri tarafından yapılan ve aksonu çevreleyen miyelin kılıf belirgin olarak görüldü. Miyelinli aksonların aralarında kan damarları da ayırt edildi. Miyelinsiz sinir liflerinde aksonların Schwann hücre sitoplazmasına gömülü olarak buldukları ve normal yapılarını korudukları izlendi. Miyelinli sinir liflerinde Schwann hücrelerinin tek bir aksonu sardığı, akson etrafında miyelin kılıf oluşturduğu görüldü. Schwann hücrelerinin oval veya yuvarlak çekirdeğe sahip olduğu ve normal yapılarını koruduğu saptandı.

Histopatolojik yaklaşımla, genel olarak miyelinli akson içeriği açısından NGF gurubunda LLLT ve LLLT +NGF gruplarına kıyasla daha fazla sayıda rejenere akson popülasyonu izlendi. LLLT ve NGF+ LLLT grupları arasında ise miyelinli akson sayısı açısından kayda değer şekilde göze çarpan bir miyelinli akson popülasyon farkı izlenmedi. Miyelin kılıf kalınlığı açısından yer yer dejenere olmuş miyelin kılıflar izlense de; genel olarak NGF, LLLT ve NGF+ LLLT grupları arasında bir fark yoktu ve miyelin yapıları benzer görünüm sergilemekteydi.

## 5. TARTIŞMA

Maksillofasiyal yaralanmalar çene yüz kemiklerinin anatomik yapısının ve fonksiyonunun bozulmasına neden olmakta ve maksillofasiyal cerrahi alanında sık karşılaşılan bir durumdur. Tedavisi, hastanede kalma süresi, iş gücü kaybı düşünüldüğünde ciddi ekonomik ve toplumsal sağlık sorunlarına yol açmaktadır (Boffano ve ark., 2014). Maksillofasiyal kırıkların insidans ve etiyojisi coğrafik bölgeye, nüfus tipine, nüfus yoğunluğuna, sosyoekonomik duruma vb. göre değişiklik göstermektedir. Maksillofasiyal kırıklarla yumuşak doku yaralanmaları, nörolojik travma ve ortopedik yaralanmalar arasında anlamlı bir ilişki mevcuttur (Haug ve ark., 1990).

Mandibular ve mental foramenler arasındaki disloke mandibular kırıklar mandibular sinirde en fazla hasara neden olan kırıklardır ve iyileşme oranları yavaştır, ki kırık nedeniyle IAN'ı taşıyan mandibular kanalın yer değiştirmesi sonucunda bu beklenen bir durumdur (Renzi ve ark., 2004). Periferal sinirlerin travmatik yaralanmaları dünya çapında bilinen bir problemdir ve bu hasarlar büyük ekonomik ve sosyal sorunlara yol açmaktadır (Robinson, 2000; Eser ve ark., 2009).

Maksillofasiyal cerrahi uygulamalar sonrasında sinir hasarı görülebilmektedir. Tüm dünyada oral ve maksillofasiyal cerrahlar tarafından tedavi edilen çok sayıda mandibular kırık olmasına rağmen, iatrojenik IAN hasarı ile ilgili bilgilerimiz sınırlıdır (Dodson ve Kaban, 1997). Trigeminal sinirin (TN) post travmatik periferal duyuşal bozuklukları, hastaların yaşam kalitelerinde düşüşe sebep olmasına karşın literatürde bu durumla ilgili az sayıda bilgi mevcuttur. Posttravmatik TN hipoestezisi sinir demetine indirekt travmatik hasar, yumuşak doku ödemi nedeniyle kompresyon şeklinde görülebildiği gibi direkt hasar nedeniyle kırık hatları arasında dislokasyon, çekme veya gerilmeye bağlı olarak meydana gelebilir (Fridrich ve ark., 1995; Vriens ve Moos., 1995; Jaaskelainen ve ark., 1996; Nagakawa ve ark., 1997; Marchena ve ark., 1998; Schultz-Mosgau ve ark., 2001). Posttravmatik TN hasarında fiksasyon metodu ve cerrahi zamanlaması iyileşmenin yavaş veya hızlı olmasında etkili olan faktörlerdendir.

Yapılan araştırmalarda kırık hatlarının mono kortikal vidalarla rijit fiksasyonunun daha hızlı iyileşmeye sebep olduğu gösterilmiştir (Westermarck ve ark., 1992; Vriens ve Moos, 1995). Mandibular kırıkların cerrahi tedavileri post operatif nörosensöriyel değişikliklere yol açabilir. Bu değişiklikler kırık fragmanlarının neden olduğu doku

diseksiyonu ve retraksiyonu veya plak ve vida uygulaması sonucunda oluşabilmektedir (Seeman ve ark., 2010; Yamamoto ve ark., 2013). Mandibular kırık tedavisinde bikortikal vidalarla yapılan rijit fiksasyonun yüksek oranda IAN hasarına sebep olabileceği bildirilmiştir (Izuka ve Lindqvist, 1991). Miniplak fiksasyonu mandibular kırıkların tedavisinde tüm dünyada düşük morbidite ve düşük komplikasyon oranı nedeniyle popüler hale gelmiştir (Stacey ve ark., 2006).

Oral ve maksillofasiyal kırıkların ve sinir hasarlarının tedavisinde iyileşmeyi arttırmak amacıyla büyüme faktörlerinin uygulanması, LLLT, bitkisel ilaçlar, düşük doz ultrason gibi çeşitli yardımcı tedavi yöntemleri uygulanmaktadır (Seddon, 1943; Solomon ve ark., 1991; Midamba ve Haanes., 1993; Hooward ve Sturtevant, 1998; Luger ve ark., 1998 ; Bouvet-Gerbettaz ve ark., 2009; Wang ve ark., 2009; Bashardoust ve ark., 2010; Du ve ark., 2011; Kan ve ark., 2013; Gothard ve ark., 2014; Mohammed ve ark., 2014; Wang ve ark., 2014b)

Birçok çalışmada lazer uygulamasının kemik oluşumunun ilk safhalarında pozitif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Karu ve ark., 1995; Luger ve ark., 1998; Silva ve ark., 2005; Stein ve ark., 2005; Fukuhara ve ark., 2006; Lirani-Galvão ve ark., 2006).

Yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda lazerin sinir iyileşmesini arttırdığı, skar oluşumunu önlediği, nöral metabolizmayı arttırdığı ve myelin üretim kapasitesini arttırdığı gözlenmiştir (Bağış ve ark., 2002). İnvaziv bir teknik olmadığından hasarlı sinirlere uygulanması oldukça yararlıdır (Carvalho ve ark., 2006). Literatürde sinir hasarının tedavisinde LLLT uygulanması için çoğunlukla siyatik sinir modeli kullanılmıştır (Alcantara ve ark., 2013; Dias ve ark., 2013; Marcolino ve ark., 2013; Shen ve ark., 2013; Wang ve ark., 2014).

Literatürde hem kırık hem sinir iyileşmesinin birlikte incelendiği ve her iki klinik durumun tedavisinde etkili olan tedavi yöntemlerinin birlikte uygulandığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmadaki amacımız oral ve maksillofasiyal cerrahide sıklıkla karşılaşılan sorunlardan biri olan kırık iyileşmesi ve beraberinde veya sonrasında oluşması muhtemel olan sinir hasarı tedavisinde LLLT ve NGF'nin etkisini incelemektir.

Maksillofasiyal bölge ile ilgili deneysel çalışmalarda tavşan modeli, büyüklüğü, elle kolay manipulasyonu, kısa yaşam süresi, satın alınması ve devamlılığının sağlanmasının ekonomik olması gibi özellikleriyle implant dizayn çalışmalarında ilk

seçenek olarak görünmektedir ve primatlar gibi diğer türlerle karşılaştırıldığında daha hızlı iskeletsel değişim ve kemik turn overına sahiptirler. Altı aylıkken seksüel olgunluktan kısa bir süre sonra iskeletsel olgunluğa ulaşırlar (Gilsanz ve ark., 1988). Tavşan hücrelerinin büyük bir kısmı serum, doku yapıları ve organları insan dokularına büyük benzerlik gösterir (Fox, 1984). Bizim çalışmamızda tavşan modeli; manipulasyon kolaylığı, yeterli mandibula hacmi, deney modelinin tavşanda daha kolay uygulanabilir olması ve potansiyel klinik durumun taklit edilebileceği en iyi hayvan modeli olması nedeniyle tercih edilmiştir.

TN hasarı basit bir kontüzyondan veya yaralanmadan tam bir transeksiyona kadar çeşitli derecelerde olabilir. Cerrahi uygulamalarda trigeminal sinir dallarının hasarı sıklıkla gömülü 20 yaş dişi çekimiyle oluşan travma sonucunda ortaya çıkar. Tay ve Zuniga (2007) TN hasarının en yaygın nedenlerini lokal anestezi enjeksiyonları, ortognatik cerrahi ve dental implantların yerleştirilmesi olarak belirtmişlerdir. Yazarlara göre hasarların % 60'ı IAN'de oluşmakta, bunu lingual sinir takip etmektedir. Pogrel (2005) yaptığı bir kadavra çalışmasında sinir hasarına neden olan diğer sebeplerin bistüri bıçağı hasarı, transeksiyon, ezilme ve gerilme yaralanmaları olduğunu bildirmiştir.

Tavşanda deneysel olarak oluşturulan kırık hattı anatomik olarak sinir hasarının komşuluğunda olması amacıyla daha önceki araştırmalarda da uygulandığı gibi mental foramenle birinci molar diş arasında vertikal osteotomi uygulanarak oluşturulmuştur (Wang ve ark., 2006; Busuttill Naudi ve ark., 2012; Fernandez ve ark., 2012). IAN anatomisi göz önüne alınarak cerrahi dikkatli bir şekilde yapılmış, vidalar mandibular kanaldan en az iki mm uzağa yerleştirilmiştir. Cerrahi esnasında direkt olarak IAN'a zarar verilmemiş ve sinir korunmuştur. Histolojik analizlerde mental sinirde görülen hasarın örnek alınırken oluşturulan gerilim ve çekme kuvvetinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Li ve ark (2012) duyuşal sinir modeli olarak IAN' a göre mental sinirin lokalizasyonunun kolay olduğunu belirtmişlerdir. Duyuşal sinir modeli olarak IAN kullanıldığında, IAN kırık hattına yakın olduğundan ve açığa çıkarılabilmesi için çok fazla cerrahi travma oluşma ihtimali olduğundan bu çalışmada IAN yerine mental sinir kullanılmıştır.

Sinir rejenerasyonu amacıyla yapılan deneysel rejenerasyon çalışmalarında çeşitli farmakolojik tedavilerin etkisini incelemek amacıyla ezilme tipi hasar iyi bilinen

aksonometrik modeldir (Algora ve ark., 1996; Al Moutaery ve ark., 1998; Lee ve ark., 2000; Paydarfar ve Paniello, 2001; Gudemez ve ark., 2002; Islamov ve ark., 2002). Ezilme tipi hasarın uygulaması kolay ve ucuzdur, sinir rejenerasyonu kapasitesi ratlar ve primatlarda eşittir (Mackinnon ve ark., 1985). Ezilme tipi hasarda periferel sinirlerde anjiyopatiler gözlenir. Sinirde kan akışı ve endonöral oksijen basıncı azalır, endonöral iskemi ve hipoksi oksidatif strese neden olur (Rydevik ve ark., 1981; Lundborg ve ark., 1983; Wilson ve ark., 2007). Periferel sinirlerin ezilme tipi hasarından sonra spontan rejenerasyon olabileceği gibi geçici veya kalıcı pareteziler ve fonksiyonel bozukluklar ortaya çıkabilmektedir. Bu tip hasarlarda çeşitli farmakolojik ajanlarla tedavi gereksinimi ortaya çıkmaktadır (Thomas ve ark., 1996). Deneysel ezilme tipi sinir hasarında birçok farmakolojik ajan uygulanmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Sunderland, 1990; Lee ve ark., 2000; Al-Bishri ve ark., 2005; Le Prell ve ark., 2007; Subbanna ve ark., 2007). Jang ve ark. (2012), rat fasiyal sinirinde oluşturdukları ezilme tipi hasar sonrası intraperitoneal ginkgo bloba ekstratı uygulayarak dört hafta sonra yaptıkları elektrofizyolojik inceleme sonucunda ginkgo bloba ekstratının fasiyal sinir rejenerasyonunu arttırdığını göstermişlerdir. Al-Bishri ve ark. (2005) rat siyatik sinirinde oluşturdukları ezilme tipi hasar sonrasında subkutanöz perioperatif betametazon uygulamasıyla ikinci haftadan sonra betametazonun rat siyatik siniri iyileşmesinde olumlu etkileri olduğunu gözlemlemişlerdir.

Araştırmacılar nöral rejenerasyonu değerlendirmek amacıyla çeşitli parametreler tanımlamışlardır (Dellon ve Mackinnon, 1989; Shen ve And Zhu, 1995; Kanaya ve ark., 1996). Literatürde çeşitli cerrahi aletler kullanılarak farklı sürelerde ezilme tipi hasar oluşturulması amacıyla çeşitli teknikler geliştirilmiştir (Chen ve ark., 1992; Bridge ve ark., 1994; Kingery ve ark., 1994; Oliveira ve ark., 2001). Varejao ve ark. (2004) ve Wang ve ark. (2014a) rat siyatik sinirinde dişsiz klemple 54 N'luk kuvvetle 3 mm uzunluğunda 30 saniye süreyle sıkıştırma uygulamışlardır. Sener ve ark. (2015) ezilme tipi hasar oluşturmak amacıyla yaklaşık 50 N'luk kuvvette bir dakika süreyle rat siyatik sinirini hemostatla sıkıştırmışlardır. Leman (2007) ratlarda ezilme tipi siyatik sinir hasarı oluşturmak amacıyla Aesculapp 66 hemostat kullanarak 2 diş sıklığında 30 saniye süreyle ezilme oluşturmuşlar. Li ve ark. (2012) rat mental sinirinde ezilme tipi hasar oluşturmak için standart bir portegüyü iki diş sıklığında 30 saniye süreyle sıkıştırarak dört milimetre uzunluğunda ezilme tipi sinir hasarı oluşturmuşlardır.

Literatürde bildirilen çalışmalara benzer şekilde bu çalışmada ezilme tipi sinir hasarı oluşturmak için mental sinir standart bir portegü kullanılarak iki diş sıkılığında 30 saniye boyunca sıkıştırılmıştır.

Sinir sistemi kemik metabolizmasında ve tamirinde önemli role sahiptir (Garcia-Castellano ve ark., 2000). Ayrıca doku tamirinin ve organ oluşumunun da nöral kontrol altında gerçekleştiği gösterilmiştir. Kemiğin innervasyonu olmasına rağmen, kemik metabolizması üzerine sinir sisteminin etkisiyle ilgili bilgilerimiz sınırlıdır (Bjurholm, 1991). Hayvan çalışmalarında fibula kırıklarında periosteal sıyrımayla proprioseptif duyuların kaldırılması sonucunda kırık iyileşmesinin olumsuz etkilendiği gösterilmiştir (Aro, 1985). İnsan çalışmalarında ise gecikmiş iyileşme veya kaynaşmama görülen diyafizeal kırıklarda en dikkat çekici bulgunun periferal innervasyonun yetersizliği veya yokluğu olduğu bildirilmiştir. Dyck ve ark. (1983) nöropatik artropatisi olan hastalarda, ek olarak uzun kemiklerde tekrarlayan kırıklar gözlemlenmiştir. Kırık iyileşmesi mekanizmasındaki farklılık, anormal sinir iletimi olan kırıklarda, yetersiz duyu innervasyon kırığın beklenmedik hareketinin fark edilmemesine sebep olur ve stabil olmayan fiksasyonla sinirler, kemik iyileşmesinde değişiklik olmasına yol açan sinyallerin oluşumuna aracılık edebileceği şeklinde açıklanmıştır. Retief ve Dreyer (1967) değişmiş sinir iletimi olan durumlarda, hasarlı kemikten bağ doku proliferasyonunun osteojenik nitelikte olmadığını ve rat mandibulasında deneysel olarak oluşturulmuş kortikal kemik defektlerinde iyileşmeyi önlediğini bildirmişlerdir.

Sinir sisteminin kemik metabolizması üzerindeki rolü göz önüne alındığında sinirlerin rejenerasyonunda ve devamlılığının sağlanmasında hayati öneme sahip olan NGF'nin kemik metabolizmasına etkisi araştırılmış ve kemiğin proliferatif fazı süresince ve farklılaşmasında NGF düzeyinde artış gözlenmiştir (Levi-Montalcini, 1987; Nakanishi ve ark., 1994) Tavşan IAN defekti modelinde, NGF uygulamasının rejenerasyonun aksonların çevresinde kemik oluşumunu stimüle ettiği gözlenmiştir (Eppley ve ark., 1991). Ayrıca NGF'nin ratlarda kırık iyileşmesine olumlu etkileri gösterilmiştir (Grills ve ark., 1997). Cao ve ark (2012) NGF'nin osteoblastik hücrelerin apoptozisini inhibe ettiği ve osteoblastik hücrelerin farklılaşmasını stimüle ettiğini ve hNGF'nin tek doz olarak verilmesinin kemik formasyonunda sınırlı etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu etkiyi hNGF'nin vücuttan kısa sürede enzimatik yıkımla uzaklaştırılmasına bağlamışlardır. Wang ve ark (2006; 2009) yaptıkları çalışmalarda distraksiyonun

bitimini takiben yapılan tekrarlayan NGF enjeksiyonlarının IAN'de myelinli fibril yoğunluğunu önemli oranda arttırdığını ve tavşan mandibular distraksiyon modelinde kemik konsolidasyonunu arttırdığını gözlemlemişlerdir.

Periferik sinir hasarına sıklıkla nöroartropati gibi osteoporozun eşlik ettiğini gösteren birçok klinik gözlem bulunmaktadır (Anderson ve ark., 2004). Duyusal sinir sonları osteoblast ve osteoklastların metabolizmasını düzenleyen nörotransmitter, nöromodülatör ve hormonlarla ilişkili kalsitonin geniyle ilişkili peptit ve P maddesi salgılamaktadır. NGF, osteoblast ve osteoklastların fonksiyonunu düzenleyen kalsitonin gen ilişkili peptit salınımını stimüle eder. Kalsitonin gen ilişkili peptit TNF  $\alpha$ 'yı inhibe eder fakat IL-6 ve IGF-1 üretimini stimüle eder, osteoklastik kemik rezorpsiyonunu inhibe eder (Lindsay ve Harmar, 1989; Vignery ve McCarthy, 1996; Millet ve Vignery, 1997).

Ayrıca NGF bir anjiyojenik faktördür ve anjiyogenezis kemik formasyonu ve remodelinge yakından ilişkilidir çünkü kan damarları osteoblast öncü hücrelerini kemik remodelasyon bölgelerine taşımaktadır (Eghbali-Fatourehchi ve ark., 2001; Hauge ve ark., 2001; Hausman ve ark., 2001; Dolle ve ark., 2005; Nico ve ark., 2008). İkinci mekanizma osteogenezis üzerine direkt etkilidir. NGF ve reseptörleri kemik oluşturan hücrelerde eksprese edilir ve otokrin ve parakrin mekanizmalar aracılığıyla kemik formasyonunu düzenler (Jehan ve ark., 1996; Asami ve ark., 2000). Daha önceki çalışmalar sonucu elde edilen bulgular NGF'nin periodontal ligament hücrelerinin proliferasyonunu arttırdığını ve osteoblastik hücreleri desteklediğini göstermiştir (Mogi ve ark., 2000; Tsuboi ve ark., 2001). Bu çalışmada NGF, kemik rejenerasyonu üzerine etkilerini incelemek amacıyla kullanılmıştır.

NGF tedavi amacıyla sistemik ve lokal olarak uygulanabilmektedir. Hem deneysel hem de klinik çalışmalarda NGF'nin sistemik verildiğinde santral ve periferik sinir sistemlerinin hasarlarında iyileştirici olduğu gösterilmiştir. Sekonder travma, lokalize fiziksel hasar, inflamasyon, ağrı ve enfeksiyon ihtimali NGF'nin lokal uygulamasının dezavantajlarıdır. Enjekte edilen NGF hızlı bir şekilde metabolize olur ve etki süresi kısadır (Wang ve ark., 2009). Nörotrofik faktörlerin sistemik olarak verilmesi büyük miktarda madde gereksinimi, metabolik yollarının tam olarak bilinmemesi ve sinir lezyonu bölgesinde yeterli konsantrasyona ulaşım ulaşmadığının bilinmemesi nedeniyle değerini kaybetmiştir (Rich ve ark., 1987). Bu nedenle



nörotrofik faktörlerin lokal uygulanması için çeşitli modeller tanımlanmıştır. Wang ve ark. (2009) iki doz şeklinde 40 µg hNGF'yi kallus içine perkütanöz olarak distraksiyondan sonraki birinci ve üçüncü günlerde uygulamışlardır. Yan ve ark. (2010) tarafından yapılan deneysel çalışmada 20 µg/ml rhβ-NGF biyobozunur hidrojellerde topikal olarak klas III furkasyon defektlerine uygulamışlardır. Leman (2007) ratlarda siyatik sinir modelinde ezilme tipi sinir hasarı oluşturduktan sonra 0,3 ml fosfat tamponu içinde 1 µg NGF-β'yı 14 gün boyunca subkutan olarak perioperatif bölgeye uygulamıştır. Bao ve ark. (2010) tavşanlarda implant osteointegrasyonu üzerine NGF etkisini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada deney grubuna 1 µg NGF'yi 7 gün lokal olarak uygulamışlar ve eksojen NGF uygulamasının implantlar çevresindeki trabeküler kemik formasyonunu ve maturasyonunu hızlandırdığını ve osteointegrasyon zamanını kısalttığını göstermişlerdir. Bu nedenle bu çalışmada hNGF etkinliğinin daha fazla olması amacıyla günde bir kez 1 µg/0,02 ml hNGF 7 gün boyunca lokal olarak uygulanmıştır.

Sinir hasarı tedavisi meydana gelen hasar tipine göre değişmektedir. Sinir kesildiğinde sinirin tekrar bütünlüğünün sağlanması için genellikle mikro cerrahi işlemler uygulanır. Sinirin ezilme tipi hasarında mikro cerrahi etkili bir işlem değildir. Bu tür hasardan sonra ilaç tedavisi sinir rejenerasyonunu arttırmada en etkili uygulamadır. NGF sinir hasarı tedavisinde genel olarak kullanılan ve daha önceki çalışmalarda belirtildiği gibi duyuşal ve sempatik nöronların farklılaşmasında, canlılığının devamında ve sinir rejenerasyonunu arttırmada kritik öneme sahip bir büyüme faktörüdür (Skaper, 2001; Aloe ve Levi-Montalcini 2004; Gravvanis ve ark., 2004; Yu ve ark., 2014). NGF, nöronların hedef dokularında sentezlenir. Trigeminal bölgede, dental pulpada ve korneada sentezlendiği gösterilmiştir (Nosrat ve ark., 1998; Woodnutt ve ark., 2000; You ve ark., 2000). Salgılanan NGF retrograd aksonal transportla hücre gövdelerine taşınmakta ve periferel sinir hasarı sonrası bu transportta aksaklık olduğunda hücre ölümüyle de sonuçlanabilecek bir dizi dejeneratif değişikliklere yol açmaktadır (Holland ve Robinson, 1998). Bu değişiklikler nöropeptit ve spesifik sodyum kanal ekspresyonunda meydana gelmekte ve hasar bölgesine NGF uygulamasıyla düzeltilebilmektedir (Verge ve ark., 1995; Malscangio ve ark., 1997; Dib-Hajj ve ark., 1998). Santral dejeneratif değişiklikleri önlemek amacıyla hasarlı sinire eksojen NGF uygulamasının rejenerasyonu arttırdığı bunun sonucunda myelinli

ve myelinsiz sinirlerde başlangıç rejenerasyon hızını, myelinli ve myelinsiz akson sayısını, myelin kalınlığına ve ayrıca akson yoğunluğunu ve sinir çapını arttırdığı gözlenmiştir (Derby ve ark., 1993; Wang ve ark., 1997; Santos ve ark., 1998; Bu ve ark., 1999; You ve ark., 2000; Fine ve ark., 2002; Xu ve ark., 2003). Bu çalışmada NGF uygulanan grupta miyelinli sinir liflerinin çoğu alanlarda rejenere oldukları, kontrol grubuna oranla belirgin şekilde küçülmüş akson çapı ve miyelin kılıf kalınlığı ile normal görünümde oldukları görülmüştür.

Du ve ark. (2011) tavşanlarda yaptıkları bir çalışmada bilateral distraksiyon osteogenezisi sonrası post operatif 20 gün boyunca 0,6 µg/gün intramüsküler NGF uygulamışlar. Distraksiyon sonunda ve konsolidasyondan sonra birinci, ikinci, ve dördüncü hafta sonunda histolojik ve histomorfometrik olarak inceledikleri inferior alveoler sinirde ikinci ve dördüncü hafta sonunda kontrol grubuna göre daha az myelin debris ve daha fazla rejenere akson gözlemlemişlerdir. Myelinize akson yoğunluğunu kontrol grubuna göre büyük oranda yüksek bulmuşlardır. NGF'nin distraksiyon osteogenezisinde IAN iyileşmesini hızlandırdığını bildirmişlerdir. Wang ve ark. (2009) tavşanda distraksiyon osteogenezisinde IAN'a hNGF uyguladıkları grupta histolojik ve histomorfometrik analizde NGF uygulanan grupta kontrol grubuna göre daha az dejenerasyon ve sinir fibrillerinde daha fazla rejenerasyon olduğunu ve myelinli fibril yoğunluğunun önemli miktarda fazla olduğunu gözlemlemişlerdir. Ortalama myelin kalınlığı açısından NGF uygulanan grupla kontrol grubu arasında herhangi bir fark bulunmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmanın en önemli eksikliği sinir dokunun histopatolojik takip işlemleri sırasında sinir dokunun fiksasyonu ile ilgili problemler nedeniyle stereolojik analizinin yapılamamasıdır. Ancak bu çalışmada elde edilen histopatolojik sonuçlar daha önceki çalışmalar ile uyumluydu. Mental sinir örneklerinin histopatolojik analizinde, genel olarak miyelinli akson içeriği açısından NGF grubunda LLLT ve NGF+LLLT gruplarına kıyasla daha fazla sayıda rejenere akson popülasyonu izlenmiştir. LLLT ve NGF+LLLT grupları arasında ise miyelinli akson sayısı açısından kayda değer şekilde göze çarpan bir miyelinli akson popülasyon farkı izlenmemiştir. Miyelin kılıf kalınlığı açısından yer yer dejenere olmuş miyelin kılıflar izlense de; genel olarak NGF, LLLT ve NGF+LLLT grupları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ve miyelin yapılarının benzer görünümde olduğu gözlenmiştir.

Periferal sinir lezyonu duyuşsal ve motor yetersizliklere yol açan zor bir klinik bozukluktur. Periferal sinir sistemi (PNS) belli bir seviyeye kadar ezilmiş veya kopmuş aksonları rejenere etme kapasitesine sahiptir ama rejenerasyon yavaş ve kısmidir. Bu nedenle terapötik müdahale hızlı ve uygun rejenerasyon için gereklidir (Akgul ve ark., 2014). PNS’de herhangi bir hasar oluştuğunda, hasarlı sinirle ilişkili çeşitli yapılar normal fonksiyonlarını değiştirmektedir. Fonksiyonel değişikliklerin yanında hasarlı sinirlerin nöronlarında retrograd dejenerasyon, distal kökte Wallerian dejenerasyonu, proksimal kökte aksonal tomurcuklanma ve kasların deinnervasyonu gibi morfolojik değişiklikler oluşmaktadır (Carlson, 2010). Periferal sinirin rejenerasyon yeteneği olmasına rağmen aksonal rejenerasyon oranı başlangıçta çok yavaştır ve hasardan 3-4 gün sonra günlük 1-3 mm civarındadır. Bu geçici bozulmuş duyuşsal ve motor fonksiyon nöropatik ağrı gibi problemlere neden olabilir. Bu nedenle periferal sinir tamiri için büyüme faktörlerinin uygulanmasının yanı sıra elektriksel stimölasyon, fiziksel aktivite ve cerrahi onarım gibi çeşitli teknikler uygulanmaktadır. Bu yöntemler arasından LLLT 1980’lerden bu yana başarılı bir şekilde uygulanmaktadır (Al-Majed ve ark., 2000; Brushart ve ark., 2005; Gigo-Benato ve ark., 2005; La ve ark., 2005; Asensio-Pinilla ve ark., 2009; Rochkind, 2009; Carlson 2010; Deumens ve ark., 2010)

LLLT, sinir rejenerasyonunu hızlandırmak amacıyla klinik pratikte sıklıkla uygulanmaktadır. Yapılan alışmalarda Schwann hücrelerinin periferal sinir rejenerasyonunu destekleyen nörotrofik faktörler salgıladığı gösterilmiştir (Gravvanis ve ark., 2007; Madduri ve Gander, 2010). Fototerapi schwann hücre proliferasyonunu in vitro koşullarda stimüle edebilir (Van Breugel ve Bar, 1993). İn vivo çalışmalarda rat siyatik sinirine LLLT uygulamasıyla fonksiyonel iyileşme, histolojik ve mikromorfolojik değişiklikler ve elektrofizyolojik ilerlemeler değerlendirildiğinde rejenerasyonda yararlı etkileri olduğu ortaya konmuştur (Bae ve ark., 2004; Barbosa ve ark., 2010; Gigo-Benato ve ark., 2010; Camara ve ark., 2011; Moges ve ark., 2011).

LLLT hasarlı sinirlerde araşidonik asit ailesinden inflamatuvar mediatörlerin üretimini azaltarak hasar sonrası rejenerasyonu arttırmaktadır. LLLT’nin deneysel çalışmalarda hasarlı sinirlerde aksonal büyümei arttırmada etkili olduğu gösterilmiştir (Seddon, 1943; Solomon ve ark., 1991; Midamba ve Haanes., 1993). Birçok deneysel ve klinik çalışmada LLLT’nin periferal sinirlerin tamir sürecine pozitif etkileri gözlemlenmiştir. Hayvan alışmalarında LLLT’nin hasarlı sinirin fonksiyonunun devam

etmesinde koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Hasar bölgesinde skar doku oluşumunu azalttığı, spinal korda ilgili motor nöronların dejenerasyonunu azalttığı, Schwann hücre proliferasyonunu ve aksonal büyümeyi arttırdığı gösterilmiştir (Rochkind ve ark., 1990; Van Breugel ve Bar, 1993; Wollman ve ark., 1996; Shamir ve ark., 2001; Gigo-Benato ve ark., 2004; 2005, 2010; Rochkind, 2009).

Oliveira ve ark. (2012) ratlarda ezilme tipi hasarda LLLT ve ultrasonun etkilerini karşılaştırdıkları çalışmalarında her iki tedavi yönteminin de sinir rejenerasyonu üzerinde olumlu etkileri olduğunu fakat lazerle tedavi edilen grubun sonuçların daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. Yang ve ark. (2013) ezilme tipi sinir hasarı oluşturdukları ratlara cerrahiden 12 saat sonra 660 nm Ga-Al-As diyot lazer (Spot büyüklüğü: 0,2 cm<sup>2</sup>, çıkış gücü: 30 mW/seans zaman: 60 sn 7 gün enerji yoğunluğu: 9 J/cm<sup>2</sup>) uygulamışlar ve LLLT uygulamasının ezilme tipi hasarda vakuol oluşumunu azalttığını ve fonksiyonel iyileşmenin LLLT ile arttığını göstermişlerdir. Daha önceki çalışmalarda benzer şekilde LLLT uygulamasının, myelinize fibrillerin çapında artış ve fonksiyonunda iyileşme sağladığını göstermiştir (Santos ve ark., 2012). LLLT, proinflamatuvar sitokinler ve S100 proteinleri gibi bazı biyokimyasallar düzenleyerek enflamasyonu azaltmakta ve fonksiyonel iyileşmeyi hızlandırmaktadır (Hsieh ve ark., 2012). Anders ve ark. (1993) farklı dalga boylarında uyguladıkları lazerin fasiyal sinir üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında birinci post operatif günden itibaren, günlük, transkutanöz fototerapi uygulamışlardır. Fototerapi uygulanan grupta uygulanmayan gruba göre fasiyal sinir aksonlarının rejenerasyon hızında önemli miktarda artış olduğunu bulmuşlardır.

Bununla birlikte Bagis ve ark. (2002) periferik sinir iyileşmesinde lazer tedavisinin herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Ratların siyatik sinirinde çift taraflı olarak ezilme tipi hasar oluşturmuşlar, bir tarafa 904 nm dalga boyunda farklı dozlarda lazer uygulamışlar ve elektrofizyoloji ve morfolojiyle değerlendirilmişlerdir. Gruplar arasında herhangi bir fark saptamamışlardır. Post operatif lazer tedavisi sonucunda periferik sinirin tam transeksiyonu ve termino-terminal tamirinde sinir rejenerasyonunda artış olduğu gösterilmiştir. Shamir ve ark. (2001) ratlarda siyatik sinirde ezilme tipi hasar oluşturulduktan sonra hasarlı bölgeye HeNe lazer uygulandığında dejenerasyon sürecinde azalma gözlemişlerdir. Bu çalışmada LLLT'nin hasarlı sinir dokusuna etkileri histopatolojik yöntemle incelendiğinde myelinli sinir lifleri, akson ve myelin kılıf

yapıları ile birlikte normal görünümde oldukları ve çoğu alanlarda miyelin lamellerinin normal yapılarını korudukları gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre literatürle uyumlu olarak LLLT'nin sinir rejenerasyonunda olumlu etkilere sahip olduğu söylenebilir.

Yapılan çalışmalarda sinir iyileşmesini stimüle eden LLLT dozu farklı çalışmalarda değişken parametrelerle bildirilmiştir. Farklı çalışmalarda LLLT dozu  $28 \text{ J/cm}^2$ 'den  $140 \text{ J/cm}^2$ 'ye, dakikalarca süren uzun günlük uygulamalardan saniyeler süren daha kısa günlük uygulamalara kadar değişmektedir ve hangisinin daha iyi olduğu konusunda görüş birliği bulunmamaktadır (Cömelekoğlu ve ark., 2002; Bagis ve ark., 2003; Gigo-Benato ve ark., 2004; Sousa ve ark., 2009). Sommer ve ark. (2001) göre çok düşük dozlarda önemli biyolojik etkileri oluşmaz iken, yüksek dozlarda da hücre fonksiyonu inhibe edilebilmektedir.

Lazer ışığının fotokimyasal etkisi dalgaboyu, enerji yoğunluğu ve frekans olmak üzere en az 3 parametrenin kombinasyonuna bağlıdır (Huertas, 2014). Bu parametreler kemik hücrelerinin osteoblastik aktivitesinin artmasında etkili olan stimülasyon ve farklılaşmayı belirlemektedir (Khadra, 2005; Renno ve ark., 2007; Diniz ve ark., 2009; Obradovic ve ark., 2009; Pires-Oliveira ve ark., 2010).  $0,04-50 \text{ J/cm}^2$  dozunda LLLT'nin oral bölgeyi de içeren sert ve yumuşak doku yaralanmalarında biyostimülasyon etkisinin olduğu kabul edilmiştir. LLLT çeşitli alanlarda tedavi amaçlı kullanılmasına rağmen tam olarak mekanizması ve lazer parametrelerinin optimal uygulama oranları halen tartışmalıdır. Biyostimülasyon etkisi nedeniyle LLLT çalışmalarında dalgaboyu, doz, frekans ve lazer ışığının yoğunluğu gibi farklı parametreler kullanılmıştır. Optimal aralığın altında veya üzerindeki parametrelerin negatif sonuçlara sebep olabileceği veya biyostimülasyon etkisini azaltabileceği bildirilmiştir. Park ve ark. (2013) diyabetik ratlarda bir dakika uyguladıkları  $980 \text{ nm}$  GaAlAs diyot lazerin biyostimülasyon etkisini olduğunu bildirmişlerdir. Yedi gün süreyle beş dakika uyguladıkları LLLT'nin alveoler kemik iyileşmesinde kontrol grubuna göre iki kat daha etkili olduğunu göstermişlerdir. LLLT'nin sadece başlangıç iyileşmesinde etkili olmadığını, ayrıca kemik kalsifikasyonunu da hızlandırdığını bildirmişlerdir. Dalga boyu lazer ışığının biyolojik dokuya penetrasyonu ile ilişkili önemli bir faktördür. Nissan ve ark. (2006)  $4 \text{ mW/cm}^2$  ve  $22,4 \text{ mW/cm}^2$  lazer uygulamasını karşılaştırmışlar.  $4 \text{ mW/cm}^2$  güç yoğunluğundaki lazerin post operatif 2. haftada sonra kalsiyum birikimini anlamlı miktarda arttırdığını,  $22,4 \text{ mW/cm}^2$  güç yoğunluğundaki lazer

ışığının ise herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Silva ve ark. (2005) ise yeni oluşan kemik hacminin  $5,1 \text{ J/cm}^2$  lazer ile karşılaştırıldığında  $10,2 \text{ J/cm}^2$ 'de daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Fukuhara ve ark. (2006) Ga-Al-As lazerin sadece kemik oluşumunu hızlandırmakla kalmayıp aynı zamanda yara iyileşmesini de hızlandırdığını bildirmişlerdir.

LLLT'nin biyomodülatör etkisi doza bağlıdır, kemik iyileşmesinin erken safhalarında kısa süreli olarak tekrarlayan dozlar etkili olabilir (Merli ve ark., 2005). LLLT tek doz veya cerrahi sonrası tekrarlayan dozlarda uygulanabilir (Reis ve ark., 2009). Bashardoust ve ark. (2010) yaptıkları meta analiz çalışmasında 14-21 seans LLLT uygulamasının kemik rejenerasyonu açısından istenilen etkilerin ortaya çıkması için gerekli olduğunu rapor etmişlerdir. Lazerin etkisi uygulama metoduna bağlı değişiklik gösterebilmektedir. Lazer ışını hasarlı dokuya direkt olarak transkutanöz veya cerrahi sonrası uygulanabilir (Ng ve ark., 2004). Matsumoto ve ark. (2009) ve Ribeiro ve ark (2008) her 48 saatte bir olmak üzere 7-21 gün aralığında transkutanöz uygulama yapmışlar ( $\lambda=735 \text{ nm}$  ve fluens:  $16 \text{ J/cm}^2$ ). Kim ve ark. (2007) ve Fujita ve ark. (2008) 7 gün LLLT uygulaması yapmışlar ( $\lambda=808 \text{ nm}$  fluens:  $9,6 \text{ J/cm}^2$ ,  $\lambda=810 \text{ nm}$  fluens:  $54 \text{ J/cm}^2$ ). Kan ve ark. (2013) tavşanlarda yaptıkları bir çalışmada distraksiyon periyodunda altı gün boyunca LLLT (GaAlAs, 808 nm, 0,25 W güç çıkışı toplam 45 J, 30s) uygulamışlardır. Mikro bilgisayarlı tomografi ve konvansiyonel radyografik incelemelerde LLLT uygulanan grupta opasite artışı izlemişler; histolojik incelemede ise LLLT grubunda 28. günde kemik iyileşmesinde 56. güne göre artış olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada uygulanan yöntem daha önce bildirilen çalışmalarda uygulanan yöntemler temel alınarak 14 seans LLLT uygulanmıştır ve sonuçlara göre etkili olduğu gözlenmiştir.

LLLT'nin kemik kırıkları ve defektlerinin iyileşmesini hızlandıran çevresel koşulların oluşturulmasına katkı sağladığı görülmektedir, fakat indüksiyon mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır (Hooward ve Sturtevant, 1998). İn vivo ve in vitro çalışmalar ümit verici olsa da kemik iyileşmesinde LLLT etkisi tartışmalıdır (Bouvet-Gerbettaz ve ark., 2009). İki W'den daha yüksek dozlarda kemik hücrelerine kısa dönem direkt yan etki gösterdiğine işaret etmektedir. Kemik dokuya yüksek enerjili dozunda lazer uygulandığında serbest radikaller indüklenir ve hücrel kalsiyum homeostazı bozularak hücre ve doku hasarı meydana gelebilir. Düşük enerji seviyesi ise

hücre hasarına sebep olmadan hücre büyümesini arttırabilir (Dí'az-Rodríguez ve ark., 2012). Fukuhara ve ark. (2006)'nın rat kalvariası osteoblast kültürü kullanarak yaptıkları çalışmada  $3,75 \text{ J/ cm}^2$  fluensin optimal olduğunu belirlemişlerdir. Çünkü daha yüksek ( $6,25 \text{ J/ cm}^2$ ) ve daha düşük ( $1,25 \text{ J/ cm}^2$ ) fluense göre daha büyük kemik nodülleri oluşturduğunu saptamışlar.

Bu çalışmada kullanılan lazer cihazı 810 nm dalgaboyunda, 0,5 Hz-0,5 KHz frekansında ve 0,3 W-4W gücüne sahiptir. Bu çalışmada kullanılan parametrelerle kemik ve sinir iyileşmesinde olumlu etkiler gözlemlenmiştir.

Araştırmacılar lazerin biyostimülasyon etkisinin immatür öncü hücrelerden farklılaşmasının erken ve proliferatif safhalarında seçici olarak oluştuğunu bildirmişlerdir (Pinheiro ve Gerbi, 2006). Ninomiya ve ark. (2007) aktif kemik oluşumunu uyaran osteoblast ve preosteoblastların lazer uygulandıktan 1-3 gün sonra aktive olduklarını rapor etmişlerdir. Ozawa ve ark. (1998) lazer tedavisinin kemik iyileşmesinin başlangıç aşamalarında kullanıldığında etkili olduğunu ve etkisinin hücre proliferasyonunda kemik matriksi maturasyonu ve mineralizasyon fazlarına göre daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Barbosa ve ark. (2013) ise lazer tedavisinin kızılötesi spektrum kullanılarak kırmızı spektrum kullanılmasından daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Kemik tamirinin erken safhalarında, hücre proliferasyon fazında lazer ışını absorpsiyonu daha fazladır, sonraki safhalarda bu etki görülmemektedir (Da Silva ve Camilli, 2006; Pinheiro ve Gerbi, 2006; Weber ve ark., 2006). Fakat bu LLLT'nin kemik tamirinin son safhalarında etkisiz olduğu anlamına gelmemektedir. Bu veri, lazerin erken safhalarda kemik rejenerasyonunu arttırdığını gösterir ve daha sonraki periyotlarda kemik oluşumunun devamlılığında önemli olabilir (Saito ve Shimizu, 1997). Coombe ve ark. (2001) kemik kırığına LLLT uygulamasının iyileşmenin erken safhalarında en etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Kemik oluşumu için kullanılan konvansiyonel lazer sistemleri helyum neon (He-Ne), Ga-As-Al, yarı iletkenler ve devamlı dalgalı, aralıklı dalgalı olan lazerlerdir (Ninomiya ve ark., 2007). 632,8 nm dalga boyundaki He-Ne lazerin in vitro koşullarda insan osteoblastlarında proliferasyon ve farklılaşmayı desteklediği gösterilmiştir. 830 nm dalgaboyundaki Ga-As-Al lazerin osteoblast proliferasyonu üzerine olumlu etkileri vardır (Stein ve ark., 2005). David ve ark. (1996) He-Ne lazerin ratlarda kemik

iyileşmesine etki etmediğini bildirmişlerdir fakat Luger ve ark. (1998) 632,8 nm ve 35 mW He-Ne lazerin kemik iyileşmesini arttırmada önemli role sahip olabileceğini göstermişlerdir. McDavid ve ark. (2001) kemikte lazer uygulamasının kemik iyileşmesi üzerine olumlu etkileri olduğunu gözlemlemişlerdir. Pretel ve ark. (2007) ratlarda mandibulada oluşturdukları defekte kemik iyileşmesinde LLLT'nin etkisini incelemişlerdir. LLLT uygulanmış grupta uygulanmayan gruba göre ilerlemiş doku cevabı gözlenmiştir. Bu sonucu LLLT'nin başlangıç inflamatuvar cevabının hafifletmesine, yeni kemik matriksi oluşumunu desteklemesine bağlamışlardır.

Düşük doz Ga-Al-As uygulamasının yeni kemik oluşum sürecinde kalsiyum transportunu etkileyerek yararlı olduğu bildirilmiştir (Nissan ve ark., 2006). Khadra ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada LLLT'nin post operatif hem 14. ve 28. günde (830nm, 75mW output) kalsiyum, fosfor ve çözünmeyen protein depozisyonunu önemli oranda arttırdığını saptamışlardır. Deney grubunda kalsiyum ve fosfor miktarı post operatif 14. günde kontrol grubunun 28. gününe göre daha fazla bulunmuştur. Bu bulgular LLLT'nin yeni kemik dokunun maturasyonunu hızlandırdığını göstermektedir. Araştırmacılar çalışma sonucunda histokimyasal ve histolojik bulgulara dayanarak LLLT'nin kemik iyileşmesinin erken döneminde metabolizma ve/veya mineralizasyonu arttırdığını savunmaktadırlar. Erken kemik iyileşmesinde LLLT'nin yararlı etkilerini açıklamak için iki temel mekanizma ileri sürülmüştür: Osteoblast öncül hücrelerinin proliferasyonunu, stimülasyonunu ve hücre farklılaşmasını stimüle ederek osteoblastik hücrelerin sayısını arttırmaktadır (Ozawa ve ark., 1998). Bu bilgilerden yola çıkarak LLLT kemik kırıklarının veya perforasyonlarının tamir zamanını azaltmak amacıyla kullanılmıştır (Merli ve ark., 2005; Lopes ve ark., 2007; Obradovic ve ark., 2009).

LLLT etkisi (GaAlAs, 830 nm, 40mW, devamlı mod, ışın çapı 0,6 mm, 16 J/cm<sup>2</sup> bir seanslık) rat femurunda histolojik olarak incelenmiştir. LLLT cerrahi sonrası hemen ve 48 saat aralıklarla 15, 21 ve 30 gün boyunca tekrarlanmıştır. Araştırma sonuçlarına göre 15 günde artmış kollajen sentezi ve 30 gün sonra iyi organize trabeküler kemik görülmüştür. Bu nedenle infrared bölgede ( $\lambda$ : 830 nm) LLLT'nin kemik remodelinginde pozitif etkiye sahip olduğu söylenmiştir (Gerbi ve ark., 2005). Barbosa ve ark. (2014) rat femur kırığı modelinde uyguladıkları iki farklı dalga boyundaki LLLT'nin (660 nm veya 830 nm) 7. günde kontrol grubuna göre kemik rejenerasyonunu arttırdığı, 830 nm GaAlAs lazerin 660 nm lazere göre 14. günde kemik rejenerasyonunda daha etkili



olduğu görülmüştür. Gomes ve ark. (2014) farklı dozlarda uyguladıkları LLLT'nin implant çevresi kemik oluşumuna etkisini inceledikleri çalışmada, stereolojik bulgulara göre 20 J/cm<sup>2</sup> 10 J/cm<sup>2</sup> ve 5 J/cm<sup>2</sup> lazer uygulanan grupta kontrol grubuna göre implant çevresinde istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek miktarda kemik oluştuğunu göstermişlerdir. Peccin ve ark. (2013) He-Ne (632,8 nm, 6 J/cm<sup>2</sup>) lazerin tavşanların tibia ve femurlarında kemik tamirini iyileşmenin erken safhalarında geliştirdiğini göstermişlerdir. De Souza Merli ve ark. (2012) LLLT'nin kemik matriksinde kondroitin sülfat, hyalüronik asit, küçük lösinden zengin proteoglikanlar, SIBLING (small integrin binding ligand N-linked Glycoprotein)'ler, osteonektin ve osteokalsin ekspresyonlarında kalitatif ve kantitatif değişiklikleri arttırdığını, ekstraselüler matriks komponentlerinin ekspresyonlarını değiştirerek ve yeni oluşan kemik alanını artırarak kemik matriksinin dinamiklerini hızlandırdığını göstermişlerdir.

Literatürde kırık iyileşmesi sonrası oluşan yeni kemik dokusunun değerlendirilmesinde bilgisayarlı tomografi, direkt radyografi, histoloji, stereoloji, histomorfometri, immünohistokimya, biyomekanik testler gibi çok çeşitli metotlar kullanılmıştır (Erdogan ve ark., 2006; Lu ve ark., 2008; Son ve ark., 2012; Barbosa ve ark., 2014). Bu çalışmada kemik dokunun incelenmesi amacıyla stereolojik yöntemlerden Cavalieri prensibi kullanılmıştır. Bu prensip kullanılarak biyolojik dokuların hacimsel hesaplamaları yapılmaktadır. Stereolojik inceleme sonucunda kesin ve tarafsız veriler elde edilmektedir (Gundersen ve Jensen, 1987; Pakkenberg ve ark. 1989; Mayhew and Olsen 1991; Mayhew ve Gundersen, 1996). Bu çalışmada nokta sayımı metodu kullanılarak yeni oluşan kemik hacmi, bağ doku ve damar hacmi stereolojik yöntemle değerlendirilmiştir.

Stereolojik inceleme sonuçlarına göre yeni kemik hacmi ( $108 \pm 19,4 \text{ mm}^3$ ) ve damar hacmi ( $4,5 \pm 1 \text{ mm}^3$ ) sadece lazer uygulanan grupta en yüksek bulunmuştur. Daha önce yapılmış çalışmalarda LLLT'nin kemik rejenerasyonunu arttırdığı bulunmuştur (Karu ve ark., 1995; Luger ve ark., 1998; Gerbi ve ark., 2005; Silva ve ark., 2005; Stein ve ark., 2005; Fukuhara ve ark., 2006; Lirani-Galvão ve ark., 2006; Barbosa ve ark., 2014). Ozama ve ark. (1998) ardışık 3 gün 0,5-3 J/cm<sup>2</sup> dozunda lazer uygulamışlar ve kemik proliferasyonunda pozitif etki bulmuşlardır. Bouvet-Gerbettaz ve ark. (2009) de benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Kollajen ve DNA sentezinin artması, nekrotik dokunun daha hızlı uzaklaştırılması, Ca depolanmasının artması, periost

hücrelerinin fonksiyonlarının artması, osteoblast ve osteosit fonksiyonunun artması, yeni damarlanma, endokondral ossifikasyonun stimülasyonu, mezenkimal hücrelerin daha erken farklılaşması, kallus oluşumunu stimülasyonu, preosteojenik hücrelerin artması LLLT'nin kemik iyileşmesi sürecindeki etkisini açıklayabilecek araştırmacılar tarafından rapor edilen bulgulardır (Yamada, 1991; Gordjestani ve ark., 1994). Lazer uygulanan grupta diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı, belirgin olarak yüksek yeni kemik oluşumu saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

Liu ve ark. (2014) radial fraktür oluşturdukları tavşanlarda intraperitoneal NGF uygulaması sonucunda kırıkta BMP ekspresyonunun arttığını böylece NGF'nin kırık iyileşmesinde direkt ve indirekt olarak yararlı olabileceği sonucuna varmışlardır. NGF, interlökin-6 ve IGF-1'in üretimiyle ve osteoklastik kemik rezorpsiyonuyla ilişkili kalsitonin geni ilişkili peptidi stimüle eder (Vignery ve McCarthy, 1996; Millet ve Vignery, 1997). Bei ve ark. (2009) fare femurunda oluşturdukları kırıkta, NGF'nin kallus oluşumunu arttırdığını göstermişlerdir. NGF uygulanan grupta yeni kemik hacminin diğer gruplara oranla daha düşük seviyelerde olması; NGF'nin yukarıda bahsedilen kemik maturasyonunu arttırıcı indirekt etkisinden kaynaklanmış olabilir. NGF, kemik rejenerasyonu ile ilişkili osteoprojenitör hücrelerde eksprese edilir (Grills ve Schuijers, 1998; Asami ve ark., 2000). Daha önceki çalışmalarda NGF'nin rejenere aksonlar etrafında kemik oluşumunu, kırık iyileşmesini ve konsolidasyonu arttırdığı bulunmuştur (Eppley ve ark., 1991; Grills ve ark., 1997; Wang ve ark., 2006; Cao ve ark., 2012).

Her bir grup kendi aralarında bağ doku hacmi açısından karşılaştırılmıştır. Bağ doku hacmi en fazla LLLT ( $105,2 \pm 21,3$ ) ve NGF+LLLT grubunda ( $120,3 \pm 22 \text{ mm}^3$ ) gözlenmiştir. NGF+LLLT grubunda bağ doku hacmi açısından LLLT grubuna göre bir artış gözlenirse de, bu iki grup arasında kendi aralarında istatistiksel açıdan bir fark bulunmamıştır. Lazer uygulamasının olası rejenerasyon sürecinde bağ doku göçünü artırarak kemik rejenerasyonuna olumlu etki yaptığı düşüncesi bu sonuçlarla da desteklenmektedir. Yan ve ark. (2010) iki kontrol grubuna göre sadece rhβ-NGF uygulanan grupta daha yüksek Ca/P oranı ve büyük miktarda yeni oluşan alveoler kemik olduğunu gözlemlemişler. Dahası SEM görüntülerinde rhβ-NGF grubunda rejenere olan dokuda daha büyük çapta kollajen demetleri olduğunu açıklamışlardır. Bu sonuçlara göre rhβ-NGF'nin rejenere olan kemiğin kalitesini arttırabileceği ve kemik

oluşumunu az da olsa uyarabileceğini bildirmişlerdir. Silva ve ark. (2007) epitelyum, kemik ve bağ dokunun LLLT (660 ve 780 nm, 7,5 enerji yoğunluğu, 15 J/cm<sup>2</sup>) uygulaması sonrası histolojik değerlendirmesi sonucunda epitelyal ve bağ dokuda sürekli hücre yenilenmesi olduğunu ve kemik oluşumu gözlemişlerdir.

Gruplar kendi aralarında yeni oluşan damar açısından karşılaştırılmıştır. Lazer grubunda oluşan yeni damar hacmi ( $4,5 \pm 1 \text{ mm}^3$ ) diğer gruplara oranlara en fazla bulunmuştur. Lazer+NGF grubunda oluşan yeni damar hacmini diğer gruplarla arasında anlamlı bir farklılık olmaması lazerin, NGF' nin maturasyon etkisini geciktirdiğini ve uzun dönemde etkisini bastırması olabileceğini düşündürmektedir. Briteño-Vázquez ve ark. (2014) 10 gün boyunca devamlı moda LLLT uyguladıkları rat tibial fraktür modelinde (8 J/cm<sup>2</sup>, 850 nm dalgaboyu ve 100 mW 64 s) histopatolojik değerlendirmede kontrol grubuna göre LLLT uygulanan grupta fibroblast büyümesi ve proliferasyonunda artma, daha fazla kemik matriksi ve yeni oluşan damarlarda artma gözlemişlerdir. Bazı yazarlar ışınlanan dokularda, dokuların tamiri için gerekli oksijeni sağlamak için nitrik oksit salımına bağlı olarak mikro dolaşımda artış olduğunu bildirmişlerdir (Chen ve ark., 2008).

Dias ve ark. (2013) kapiller sayısında sinir hasarından dört hafta sonra bir değişiklik gözlemlememişken sadece sekiz hafta sonra gözlenmiştir. Góralczyk ve ark. (2014) endotelial hücelere uyguladıkları LLLT sonucunda 780 nm, 70 mW güçte ve 35 J/cm<sup>2</sup> dozda cerrahi gününde ve cerrahiden iki gün sonra (660 nm, 40 mW, 5 J/cm<sup>2</sup>) doku iyileşmesinde VEGF ekspresyonunun arttığını gözlemişlerdir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Bu çalışmada hasarlı sinir dokusu ve kırık iyileşmesinde NGF ve LLLT'nin etkileri incelenmiştir.
2. Sonuçlara göre en yüksek yeni oluşan kemik hacmi değeri LLLT uygulanan grupta, en yüksek; yeni bağ doku hacmi, LLLT ve NGF+LLLT grubunda, en yüksek; yeni damar hacmi ise yine LLLT grubunda gözlenmiştir.
3. NGF uygulamasının sinir rejenerasyonu üzerine etkisinin diğer yöntemlere göre daha üstün olduğu bulunmuştur.
4. Elde edilen verilere göre kemik ve sinir iyileşmesi birlikte değerlendirildiğinde LLLT uygulamasının en yararlı yöntem olduğu gözlenmiştir.
5. Klinik uygulamalarda kırık iyileşmesinde LLLT; ezilme tipi hasarı olan sinir dokusunun iyileşmesinde NGF uygulaması önerilebilir.
6. Özellikle ortognatik cerrahi, patolojik lezyonların eksizyonu gibi kemik ve sinir yaralanmalarının eş zamanlı ortaya çıktığı durumlarda LLLT'nin daha kullanışlı bir yöntem olduğu düşünülmektedir.
7. Kullanılan yöntemlerin etki mekanizmalarının in vivo düzeyde ortaya konulması için farklı lazer parametrelerinin ve farklı tedavi protokollerinin uygulandığı daha ileri düzeyde klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

## **KAYNAKLAR**

- Abergel RP, Meeker CA, Lam TS, Dwyer RM, Lesavoy MA, Uitto J: Control of connective tissue metabolism by lasers: recent developments and future prospects. *J Am Acad Dermatol.* 1984, 11(6):1142-50.
- Ackroyd R, Kelty C, Brown N, Reed M. The history of photodetection and photodynamic therapy. *Photochem Photobiol.* 2001;74(5):656-69.
- Al-Aql ZS, Alagl AS, Graves DT, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Molecular mechanisms controlling bone formation during fracture healing and distraction osteogenesis. *J Dent Res* 2008;87: 107–118.
- Aimbire F, Albertini R, Pacheco MT, Castro-Faria-Neto HC, Leonardo PS, Iversen VV, Lopes Martins RA, Bjordal JM. Low-level laser therapy induces dose-dependent reduction of TNF alpha levels in acute inflammation. *Photomed Laser Surg* 2006;24:33–7.
- Akgul T, Gulsoy M, Gulcur HO. Effects of early and delayed laser application on nerve regeneration. *Lasers Med Sci.* 2014;29(1):351-7.
- Al Moutaery K, Arshaduddin M, Tariq M, Al Deeb S. Functional recovery and vitamin E level following sciatic nerve crush injury in normal and diabetic rats. *Int J Neurosci.* 1998, 96, 245–254.
- Albertini R, Villaverde AB, Aimbre F, Salgado MA, Bjordal JM, Alves LP, Munin E, Costa MS. Anti-inflammatory effects of low-level laser therapy (LLLT) with two different red wavelengths (660 nm and 684 nm) in carrageenan-induced rat paw edema. *J Photochem Photobiol B.* 2007;12;89(1):50-5.
- Albertini R, Villaverde AB, Aimbre F, Salgado MA, Bjordal JM, Alves LP, Munin E, Costa MS: Anti-inflammatory effects of low-level laser therapy (LLLT) with

two different red wavelengths (660 nm and 684 nm) in carrageenan induced rat paw edema. *J Photochem Photobiol* 2001, 89:50–55.

Al-Bishri A, Dahlin L, Sunzel B, Rosenquist J. Systemic betamethasone accelerates functional recovery after a crush injury to rat sciatic nerve. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005;63(7):973-7.

Alcântara CC, Gigo-Benato D, Salvini TF, Oliveira AL, Anders JJ, Russo TL. Effect of low-level laser therapy (LLLT) on acute neural recovery and inflammation-related gene expression after crush injury in rat sciatic nerve. *Lasers Surg Med.* 2013;45(4):246-52.

Algora J, Chen LE, Seaber AV, Wong GH, Urbaniak JR. Functional effects of lymphotoxin on crushed peripheral nerve. *Microsurgery.* 1996;17(3):131-5.

Ali Javan, W. R. Bennett Jr., and D. R. Herriott. Population inversion and continuous optical maser oscillation in a gas discharge containing a He–Ne mixture. *Phys. Rev. Lett.* 1961;6(3), 106–110.

Allt G, Lawrenson JG. The blood-nerve barrier: enzymes, transporters and receptors--a comparison with the blood-brain barrier. *Brain Res Bull* 2000;52:1-12.

Al-Majed AA, Neumann CM, Brushart TM, Gordon T Brief electrical stimulation promotes the speed and accuracy of motor axonal regeneration. *J Neurosci.* 2000, 20:2602–2608.

Aloe L, Calzà L. NGF and related molecules in health and disease, Elsevier. 2003;146.

Aloe L, Rita Levi-Montalcini: the discovery of nerve growth factor and modern neurobiology, *Trends Cell Biol.* 2004, 395–399.

- Aloe L, Rocco ML, Bianchi P, Manni L. Nerve growth factor: From the early discoveries to the potential clinical use. *J Transl Med* 2012; 10:239.
- Altunkaynak BZ, Altunkaynak ME. Relationship of body weight and volume of liver. A morphometrical and stereological study. *Saudi Med J*. 2007;28(6):891-5.
- Amorim JCF, de Sousa GR, de Barros Silveira L, Prates RA, Pinotti M, Ribeiro MS. Clinical study of the gingiva healing after gingivectomy and low-level laser therapy. *Photomed Las Surg* 2006;24(5):588-594.
- Anders JJ, Borke RC, Woolery SK, Van de Merwe WP. Low power laser irradiation alters the rate of regeneration of the rat facial nerve. *Lasers Surg. Med.* 1993;13, 72–82.
- Anders JJ, Romanczyk TB, Ilev IK, Moges H, Longo L, Wu X, Waynant RW. Light supports neurite outgrowth of human neural progenitor cells in vitro: the role of P2Y receptors. *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.* 2008;14, 118–125.
- Anderson JJ, Woelffer KE, Holzmann JJ, Jacobs AM. Bisphosphonates for the treatment of Charcot neuropathy. *J Foot Ankle Surg* 2004;43:285–9.
- Andreev NY, Dimitrieva N, Koltzenburg M, McMahon SB. Peripheral administration of nerve growth factor in the adult rat produces a thermal hyperalgesia that requires the presence of sympathetic postganglionic neurones, *Pain*. 1995;63 109– 115.
- Anic I, Miletic I, Krmek SJ, Borcic J, Pezelj-Ribaric S. Vibrations produced during erbium:yttrium-aluminum-garnet laser irradiation. *Lasers Med Sci.* 2009;24(5):697–701.
- Antunes FA, Boveris Cadenas E. On the mechanism and biology of cytochrome oxidase inhibition by nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101:16774–9.

- Aro H. Development of nonunions in the rat fibula after removal of periosteal neural mechanoreceptors. *Clin Orthop Rel Res* 1985; 199:292-9.
- Artes-Ribas M, Arnabat-Dominguez J, Puigdollers A. Analgesic effect of a low-level laser therapy (830 nm) in early orthodontic treatment. *Lasers Med Sci* 2013;28: 335–41.
- Asaumi K, Nakanishi T, Asahara H, Inoue H, Takigawa M. Expression of neurotrophins and their receptors (TRK) during fracture healing. *Bone* 2000;26:625–33.
- Asensio-Pinilla E, Udina E, Jaramillo J, Navarro X. Electrical stimulation combined with exercise increase axonal regeneration after peripheral nerve injury. *Exp Neurol*. 2009, 219:258–265.
- Audigé L, Griffin D, Bhandari M, Kellam J, Rüedi TP: Path analysis of factors for delayed healing and nonunion in 416 operatively treated tibial shaft fractures. *Clin Orthop Relat Res*. 2005;438:221-232.
- Bader C, Krejci I. Indications and limitations of Er:YAG laser applications in dentistry. *Am J Dent*. 2006;19(3):178–186.
- Bae CS, Lim SC, Kim KY, Song CH, Pak S, Kim SG, Jang CH. Effect of Ga-as laser on the regeneration of injured sciatic nerves in the rat. *In Vivo*. 2004;18(4):489-95.
- Bagis S, Comelekoglu U, Coskun B, Milcan A, Buyukakilli B, Sahin G, Ozisik S, Erdogan C. No effect of GA-AS (904 nm) laser irradiation on the intact skin of the injured rat sciatic nerve. *Lasers Med Sci*. 2003;18(2):83-8.
- Bagis S, Comelekoglu U, Sahin G, Buyukakilli B, Erdogan C, Kanik A. Acute electrophysiologic effect of pulsed gallium-arsenide low energy laser



irradiation on configuration of compound nerve action potential and nerve excitability. *Lasers Surg Med.* 2002;30(5):376-80.

Bao YN, Huang F, Tang XF, Wen Y, Shan ZC, Zeng JY. [Effect of nerve growth factor on the early phase of osseointegration around oral implants]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 2010 Nov;45(11):687-90.

Barbosa D, Souza R, Xavier M, Silva F, Arisawa E, Villaverde A. Effects of low-level laser therapy (LLLT) on bone repair in rats: optical densitometry analysis. *Lasers Med Sci* 2013;28(2):651–656.

Barbosa D, Villaverde AG, Loschiavo Arisawa EÂ, de Souza RA. Laser therapy in bone repair in rats: analysis of bone optical density. *Acta Ortop Bras.* 2014;22(2):71-4.

Barbosa RI, Marcolino AM, de Jesus Guirro RR, Mazzer N, Barbieri CH, de Cássia Registro Fonseca M. Comparative effects of wavelengths of low-power laser in regeneration of sciatic nerve in rats following crushing lesion. *Lasers Med Sci.* 2010;25(3):423-30.

Barde YA. 1990. The nerve growth factor family. *Prog Growth Factor Res* 2:237–248.

Baron R. Molecular mechanisms of bone resorption: therapeutic implications. *Rev Rhum Engl Ed* 1996;63:633-8.

Bashardoust Tajali S, Macdermid JC, Houghton P, Grewal R. Effects of low power laser irradiation on bone healing in animals: a meta-analysis. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research* 2010;5:1.

Bates P, Ramachandran M: Bone injury, healing and grafting. In *Basic Orthopaedic Sciences. The Stanmore Guide.* Edited by: Ramachandran M. London: Hodder Arnold; 2007:123-134.

- Baxter G.D. Therapeutic lasers; theory and practice. London: Churchill Livingstone; 1994.
- Bei C, Lin Z, Yang Z, Zhao J, Su W, Sha K, Wei Q, Hua Q, Bo Z. Study of effect of NGF on fracture healing. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi* 2009;23:570–576.
- Belkin M, Schwartz M: New biological phenomena associated with laser radiation. *Health Physics*. 1989, 56:687-690.
- Bisset L, Coombes B, Vicenzino B. Tennis elbow. *Clin Evid* 2011;27:1117.
- Bjordal JM, Couppé C, Chow RT, Tunér J, Ljunggren EA. A systematic review of low level laser therapy with location-specific doses for pain from chronic joint disorders. *Aust J Physiother* 2003;49: 107–16.
- Bjordal JM, Johnson MI, Iversen V, Aimbire F, Lopes-Martins RA: Low-level laser therapy in acute pain: a systematic review of possible mechanisms of action and clinical effects in randomized placebo-controlled trials. *Photomed Laser Surg* 2006, 24:158–168.
- Bjurholm A. Neuroendocrine peptides in bone. *Int Orthop* 1991; 15:325-29.
- Bloch SL, Kristensen SL, Sorensen MS. The viability of perilabyrinthine osteocytes: a quantitative study using bulkstained undecalcified human temporal bones. *Anat Rec* 2012;295:1101–1108.
- Boffano P, Kommers SC, Karagozoglou KH, Forouzanfar T. Aetiology of maxillofacial fractures: a review of published studies during the last 30 years. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2014.

- Boj JR, Poirier C, Hernandez M, Espassa E, Espanya A. Review: laser soft tissue treatments for paediatric dental patients. *Eur Arch Paediatr Dent* 2011;12:100–105.
- Bolanos JP, Peuchen S, Heales SJ, Land JM, Clark JB. Nitric oxide-mediated inhibition of the mitochondrial respiratory chain in cultured astrocytes. *J Neurochem*. 1994;63:910–6.
- Bonsor SJ, Nichol R, Reid TMS, Pearson GJ. Microbiological evaluation of phot-activated disinfection in endodontics (an in vivo study). *Br Dent J*. 2006;200(6):337-341.
- Bornstein ES, Lomke MA. The safety and effectiveness of dental Er:YAG lasers. A literature review with specific reference to bone. *Dent Today*. 2003;22(10):129–133.
- Bostrom MP, Saleh KJ, Einhorn TA. Osteoinductive growth factors in preclinical fracture and long bone defects models. *Orthop Clin North Am*. 1999;30(4):647–58.
- Bouvet-Gerbettaz S, Merigo E, Rocca JP, Carle GF, Rochet N. Effects of low-level laser therapy on proliferation and differentiation of murine bone marrow cells into osteoblasts and osteoclasts. *Laser in Surgery and Medicine*. 2009;41:291–297.
- Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 2003;423:337-42.
- Bridge PM, Ball DJ, Mackinnon SE, Nakao Y, Brandt K, Hunter DA, Hertl C. Nerve crush injuries-a model for axonotmesis. *Exp Neurol*. 1994;127(2):284-90.

- Brignardello-Petersen R, Carrasco-Labra A, Araya I, Yanine N, Beyene J, Shah PS: Is Adjuvant laser therapy is effective for preventing pain, swelling, and trismus after surgical removal of impacted mandibular third molars? A systematic review and meta-analysis. *J Oral Maxillofac Surg* 2012, 70:1789–1801.
- Briteño-Vázquez M, Santillán-Díaz G, González-Pérez M, Gallego-Izquierdo T, Pecos-Martín D, Plaza-Manzano G, Romero-Franco N. Low power laser stimulation of the bone consolidation in tibial fractures of rats: a radiologic and histopathological analysis. *Lasers Med Sci.* 2015;30(1):333-8.
- Bronner F, Worrell RV. *Orthopaedics: Principles of Basic and Clinical Science.* New York, CRC Press, 1999.
- Brushart TM, Jari R, Verge V, Rohde C, Gordon T. Electrical stimulation restores the specificity of sensory axon regeneration. *Exp Neurol.* 2005, 194:221–229.
- Bruzzaniti A, Baron R. Molecular regulation of osteoclast activity. *Rev Endocr Metab Disord* 2006;7:123-39.
- Bu S, Li J, Hu C. [The influence of nerve growth factor on inferior alveolar nerves regeneration in the silicone tubes]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.*1999;34(4):217-9.
- Buckwalter JA, Einhorn TA, Bolander ME, Cruess RL: *Healing of the musculoskeletal tissues. Fractures in adults, 4th edn.* Lippincott Raven, Philadelphia. 1996, 1:261-304.
- Buckwalter JA, Einhorn TA, O’Keefe RJ. *American Academy of Orthopaedic Surgeons. Orthopaedic basic science: foundations of clinical practice.* 3rd edition. Rosemont (IL): AAOS; 2007;331–46.

- Buerger C, Imme JL, Silva ES, Andre' ES. The low-level laser therapy and the regeneration of the peripheral nervous system. *Rev. Fisio. Mov.* 2004;17, 2: 67-74.
- Burnett MG, Zager EL. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurg Focus.* 2004;15;16(5):E1.
- Busuttill Naudi K, Ayoub A, McMahon J, Di Silvio L, Lappin D, Hunter KD, Barbenel J. Mandibular reconstruction in the rabbit using beta-tricalcium phosphate ( $\beta$ -TCP) scaffolding and recombinant bone morphogenetic protein 7 (rhBMP-7) - histological, radiographic and mechanical evaluations. *J Craniomaxillofac Surg.* 2012;40(8):e461-9.
- Butcher CK, Marsh DR. Nonsteroidal antiinflammatory drugs delay tibial fracture union. *Injury*1996;27(5):1.
- Byrnes KR, Waynant RW, Ilev IK, Wu X, Barna L, Smith K, Heckert R, Gerst H, Anders JJ. Light promotes regeneration and functional recovery and alters the immune response after spinal cord injury. *Lasers Surg Med* 2005;36:171-85.
- Cao J, Wang L, Lei DL, Liu YP, Du ZJ, Cui FZ. Local injection of nerve growth factor via a hydrogel enhances bone formation during mandibular distraction osteogenesis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2012;113(1):48-53.
- Câmara CN, Brito MV, Silveira EL, Silva DS, Simões VR, Pontes RW. Histological analysis of low-intensity laser therapy effects in peripheral nerve regeneration in Wistar rats. *Acta Cir Bras.* 2011;26(1):12-8.
- Camargo VM, Costa J, Andre' ES. A comparative study between two types of low-power lasers and their respective effects in peripheral nerve regeneration. *Rev Fisio Mov.* 2006;19, 2: 127-134 .

- Campbell WW. Evaluation and management of peripheral nerve injury. *Clin Neurophysiol* 2008;119:1951-1965.
- Canale TS. Campbell's Operative Orthopaedics 11. Basım Türkçe Basım. Ayrıntı Basımevi, Ankara. 2010;26;88.
- Carlson NR. *Physiology of behavior*. Pearson, Upper Saddle River, NJ, 2010.
- Carrasco TG, Guerisoli LD, Guerisoli DM, Mazzetto MO. Evaluation of low intensity laser therapy in myofascial pain syndrome. *Cranio* 2009;27:243-7.
- Carroll JD, Milward MR, Cooper PR, Hadis M, Palin WM. Developments in low level light therapy (LLLT) for dentistry. *Dent Mater*. 2014;30(5):465-75.
- Castillo RC, Bosse MJ, MacKenzie EJ, Patterson BM; LEAP Study Group. Impact of smoking on fracture healing and risk of complications in limb-threatening open tibia fractures. *J Orthop Trauma*. 2005;19(3):151-7.
- Cecere W, Liebow C. Laser causes greater growth factor release than scalpel. *Lasers Surg Med* 1990;10(Suppl 2):22.
- Chada SR, Hollenbeck PJ. Nerve growth factor signaling regulates motility and docking of axonal mitochondria. *Curr. Biol*. 2004;14, 1272-1276.
- Chao MV, Rajagopal R, Lee FS. Neurotrophin signalling in health and disease. *Clin Sci (Lond)* 2006;110:167-173.
- Chen CH, Hung HS, Hsu SH. Low-energy laser irradiation increases endothelial cell proliferation, migration, and eNOS gene expression possibly via PI3K signal pathway. *Lasers Surg Med* 2008;40(1): 46-54.

- Chen LE, Seaber AV, Glisson RR, Davies H, Murrell GA, Anthony DC, Urbaniak JR. The functional recovery of peripheral nerves following defined acute crush injuries. *J Orthop Res.* 1992;10(5):657-64.
- Chen S. Natural products triggering biological targets – a review of the anti-inflammatory phytochemicals targeting the arachidonic acid pathway in allergy asthma and rheumatoid arthritis. *Curr Drug Targets* 2011;12:288–301.
- Childs SG: Stimulators of Bone Healing. *Biologic and Biomechanical. Orthopaedic Nursing* 2003, 22(6):421-428.
- Cho TJ, Gerstenfeld LC, Einhorn TA: Differential temporal expression of members of the transforming growth factor beta superfamily during murine fracture healing. *J Bone Miner Res.* 2002;17:513-520.
- Chow R, Armati P, Laakso EL, Bjordal JM, Baxter GD. Inhibitory effects of laser irradiation on peripheral mammalian nerves and relevance to analgesic effects: a systematic review. *Photomed Laser Surg* 2011;29:365–81.
- Chow RT, David MA, Armati PJ. 830 nm laser irradiation induces varicosity formation, reduces mitochondrial membrane potential and blocks fast axonal flow in small and medium diameter rat dorsal root ganglion neurons: implications for the analgesic effects of 830 nm laser. *J Peripher Nerv Syst* 2007;12:28–39.
- Chow RT, Johnson MI, Lopes-Martins RA, Bjordal JM. Efficacy of low-level laser therapy in the management of neck pain: a systematic review and meta-analysis of randomised placebo or active-treatment controlled trials. *Lancet* 2009;374:1897–908.
- Chung H, Dai T, Sharma SK, Huang YY, Carroll JD, HamblinMR. The nuts and bolts of low-level laser (light) therapy. *Ann Biomed Eng* 2012;40:516–33.

- Claes L, Eckert-Hubner K, Augat P. The effect of mechanical stability on local vascularization and tissue differentiation in callus healing. *J Orthop Res* 2002; 20(5):1099–105.
- Cleeter MW, Cooper JM, Darley-Usmar VM, Moncada S, Schapira AH. Reversible inhibition of cytochrome c oxidase, the terminal enzyme of the mitochondrial respiratory chain, by nitric oxide. Implications for neurodegenerative diseases. *FEBS Lett* 1994;345:50–4.
- Cobb CM. Laser in periodontics: A review of the literature. *Journal of Periodontology*. 2006. 77, 545–564.
- Coluzzi DJ. Fundamentals of dental lasers: Science and instruments. *Dent Clin N Am*. 2004; 48:751-770.
- Coluzzi DJ. Fundamentals of Lasers in Dentistry: Basic Science, tissue interaction and instrumentation. *J Laser Dent* 2008;16:4-10.
- Conlan MJ, Rapley JW, Cobb CM. Biostimulation of wound healing by low-energy laser irradiation. *J Clin Periodontol* 1996;23:492–496.
- Coombe AR, Ho CT, Darendeliler MA, Hunter N, Philips J R, Chapple CC, Yum LW. The effects of low level laser irradiation on osteoblastic cells. *Clinical Orthodontic and Research*. 2001, 4, 3–14.
- Cormack DH. *Essential Histology*, 2nd Edition, Lippincott Williams & Wilkins, USA. 2001, 179-201.
- Cömelekoğlu U, Bağış S, Büyükakilli B, Sahin G, Erdoğan C, Kanik A. Acute electrophysiological effect of pulsed gallium-arsenide low-energy laser irradiation on isolated frog sciatic nerve. *Lasers Med Sci*. 2002;17(1):62-7.



- Crowley C, Spencer SD, Nishimura MC, Chen KS, Pitts-Meek S, Armanini MP, Ling LH, McMahon SB, Shelton DL, Levinson AD, Philips SH. Mice lacking nerve growth factor display perinatal loss of sensory and sympathetic neurons yet develop basal forebrain cholinergic neurons. *Cell*. 1994;25;76(6):1001-11.
- Cuello AC, Maysinger D, Garofalo L. Trophic factor effects on cholinergic innervation in the cerebral cortex of the adult rat brain. *Mol Neurobiol* 1992;6:451-461.
- Çelik E, Gülay N, Dişhekimliğinde kullanılan lazerler. *Akademik Dental Dişhekimliği Dergisi*. 1994;16:95-100.
- Da Silva RV, Camilli JA. Repair of bone defects treated with autogenous bone graft and low-power laser. *J Craniofac Surg* 2006;17: 297-301.
- David R, Nissan M, Cohen I, Soudry M Effect of lowpower He-Ne laser on fracture healing in rats. *Lasers Surg Med* 1996; 19:458-464.
- Day TF, Yang Y. Wnt and hedgehog signaling pathways in bone development. *J Bone Joint Surg Am* 2008; 90(Suppl 1):19-24.
- De Lima FM, Albertini R, Dantas Y, Maia-Filho AL, Santana Cde L, Castro-Faria-Neto HC, França C, Villaverde AB, Aimbire F. Low-level laser therapy restores the oxidative stress balance in acute lung injury induced by gut ischemia and reperfusion. *Photochem Photobiol* 2013;89:179-88.
- De Paula Eduardo C, Moreira De Freitas P, Esteves-Oliveira M, Corr´ea Aranha AC, Muˆler Ramalho K, Simoˆes A, Tun´er J. Laser phototherapy in the treatment of periodontal disease. *Laser in Medical Science*, 2010;25, 781-792.
- De Sousa A. Psychological issues in oral and maxillofacial reconstructive surgery. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2008;46(8):661-4.

- De Souza Merli LA, de Medeiros VP, Toma L, Reginato RD, Katchburian E, Nader HB, Faloppa F. The low level laser therapy effect on the remodeling of bone extracellular matrix. *Photochem Photobiol.* 2012;88(5):1293-301.
- Debiais G, Lefevre J, Lemonnier S, Le Mée S, Lasmoles F, Mascarelli F, Marie PJ. Fibroblast growth factor-2 induces osteoblast survival through a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent, beta-catenin-independent signaling pathway. *Exp Cell Res* 2004;297:235–46.
- Dellon AL, Mackinnon SE. Selection of the appropriate parameter to measure neural regeneration. *Ann Plast Surg.* 1989, 23, 197–202.
- Deppe H, Horch HH. Laser applications in oral surgery and implant dentistry. *Lasers Med Sci.* 2007;22(4):217-21.
- Derby A, Engleman VW, Friedrich GE, Neises G, Rapp SR, Roufa DG. Nerve growth factor facilitates regeneration across nerve gaps: morphological and behavioural studies in rat sciatic nerve. *Exp Neurol* 1993, 119; 176– 191.
- Desmet KD, Paz DA, Corry JJ, Eells JT, Wong-Riley MTT, Henry MM, Buchmann EV, Connelly MP, Dovi JV, Liang HL, Henshel DS, Yeager RL, Millsap DS, Lim J, Gould LJ, Das R, Jett M, Hodgson BD, Margolis D, Whelan HT. Clinical and experimental applications of NIR-LED photobiomodulation. *Photomed Laser Surg* 2006;24(2):121-128.
- Deumens R, Bozkurt A, Meek MF, Marcus MA, Joosten EA, Weis J, Brook GA (2010) Repairing injured peripheral nerves: bridging the gap. *Prog Neurobiol* 92:245–276.
- Díaz-Rodríguez L, García-Martínez O, Arroyo Morales M, Ramos Torrecilla J, De Luna-Bertos E, Ruiz C. Effect of radial extracorporeal shockwave therapy (r-

ESWT) on different parameters of human osteoblasts (MG63). *Advanced Science Letter*, 2012;5, 1–5.

Dias FJ, Issa JP, Iyomasa MM, Coutinho-Netto J, Calzzani RA, Iyomasa DM, Sousa LG, de Almeida SR, Cury DP, Watanabe IS. Application of a low-level laser therapy and the purified protein from natural latex (*Hevea brasiliensis*) in the controlled crush injury of the sciatic nerve of rats: a morphological, quantitative, and ultrastructural study. *Biomed Res Int*. 2013;2013:597863.

Dib-Hajj SD, Black JA, Cummins TR, Kenney AM, Kocsis JD, Waxman SG. Rescue of  $\alpha$ -SNS sodium channel expression in small dorsal root ganglion neurons after axotomy by nerve growth factor in vivo, *J. Neurophysiol*. 1998;79; 2668–2676.

Dillingham TR. Approach to trauma of peripheral nerves. In: 1998 AAEM Course C: Electrodiagnosis in traumatic conditions. Rochester: American Association of Electrodiagnostic Medicine; 1998. 7–12.

Dimitriou R, Tsiridis E, Giannoudis PV. Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury* 2005;36(12):1392–404.

Diniz JS, Nicolau RA, de Melo Ocarino N, do Carmo Magalhães F, de Oliveira Pereira RD, Serakides R. Effect of low-power gallium-aluminum-arsenium laser therapy (830 nm) in combination with bisphosphonate treatment on osteopenic bone structure: an experimental animal study. *Lasers Med Sci*. 2009; 24:347–352.

Dodson T, Kaban LB: Recommendations for management of trigeminal nerve defects based upon a critical appraisal of the literature. *J Oral Maxillofac Surg* 1997, 55: 1380e1386.

- Dolle' JP, Rezvan A, Allen FD, Lazarovici P, Lelkes PI. Nerve growth factor-induced migration of endothelial cells. *J Pharmacol Exp Ther* 2005;315:1220-1227.
- Donoff BR. Nerve regeneration: Basic and applied aspects. *Crit Rev Oral Biol Ued.* 1995; 6(1):18-24.
- Dos Reis FA, Belchior AC, de Carvalho Pde T, da Silva BA, Pereira DM, Silva IS, Nicolau RA. Effect of laser therapy (660 nm) on recovery of the sciatic nerve in rats after injury through neurotmesis followed by epineural anastomosis. *Lasers Med Sci.* 2009;24(5):741-7.
- Doty SB Morphological evidence of gap junctions between bone cells. *Calcif Tissue Int.* 1981;33:509-512.
- Doty SB, Morey-Holton ER, Durnova GN, Kaplansky AS. *Cosmos 1887: morphology, histochemistry, and vasculature of the growing rat tibia.* *FASEB J.* 1990;4(1):16-23.
- Du ZJ, Wang L, Lei DL, Liu BL, Cao J, Zhang P, Ma Q. Nerve growth factor injected systemically improves the recovery of the inferior alveolar nerve in a rabbit model of mandibular distraction osteogenesis. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2011;49(7):557-61.
- Dyck P, Stevens JC, O'Brien PC, Oviatt KF, Lais AC, Coventry MB, Beabout JW. Neurogenic arthropathy and recurring fractures with subclinical inherited neuropathy. *Neurology* 1983; 33:357.
- Dyson M. Primary, secondary and tertiary effects of phototherapy. In: *Proc. SPIE 6140, Mechanisms for low-light therapy*, 2006; 614005.
- Eells JT, Wong-Riley MTT, VerHoeve J, Henry M, Buchman EV, Kane MP, Gould LJ, Das R, Jett M, Hodgson BD, Margolis D, Whelan HT. Mitochondrial signal

transduction in accelerated wound and retinal healing by near-infrared light therapy. *Mitochondrion* 2004;4(5-6):559-567.

Eghbali-Fatourehchi GZ, Lamsam J, Fraser D, Nagel D, Riggs BL, Khosla S. Circulating osteoblast-lineage cells in humans. *N Engl J Med* 2005;352:1959-1966.

Einhorn TA, Lee CA. Bone regeneration: new findings and potential clinical applications. *J Am Acad Orthop Surg* 2001;9(3):157-65.

Einhorn TA: The cell and molecular biology of fracture healing. *Clin Orthop Relat Res* 1998, 355(Suppl):S7-21.

Einstein A. Strahlungs-emission und -absorption nach der quanten-theorie. *Verh Dtsch Phys Ges* 1916;18:318-323.

Ellis P. Leonard. Bone healing. *Orthopedic Surgery of the Dog and Cat*. W.B.Saunders Company, Second Edition, 1971;10-17,.

Enwemeka CS, Parker JC, Dowdy DS, Harkness EE, Sanford LE, Woodruff LD: The efficacy of low power lasers in tissue repair and pain control: a meta-analysis study. *Photomed Laser Surg* 2004, 22:323-329.

Eppley BL, Snyders RV, Winkelmann TM, Roufa DG. Efficacy of nerve growth factor in regeneration of the mandibular nerve: a preliminary report. *J Oral Maxillofac Surg* 1991;49:61-8.

Erdogan O, Esen E, Ustün Y, Kürkçü M, Akova T, Gönlüşen G, Uysal H, Cevlik F. Effects of low-intensity pulsed ultrasound on healing of mandibular fractures: an experimental study in rabbits. *J Oral Maxillofac Surg*. 2006;64(2):180-8.

Erdoğan D, Genel Histoloji. Türkiye, Hatiboğlu Yayınevi, 1999.

- Erdoğan D. Sinir Dokusu. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Temel Histoloji. İstanbul. Barış/Appleton-Lange. 1993;196-231.
- Eriksen EF. Normal and pathological remodeling of human trabecular bone: three dimensional reconstruction of the remodeling sequence in normals and in metabolic bone disease. *Endocr Rev.* 1986;7:379–408.
- Eser F, Aktekin LA, Bodur H, Atan C. Etiological factors of traumatic peripheral nerve injuries. *Neurol India* 2009;57(4):434–437.
- Esper MA, Nicolau RA, Arisawa EA. The effect of two phototherapy protocols on pain control in orthodontic procedure—a preliminary clinical study. *Lasers Med Sci* 2011;26:653–7.
- Fahnestock M, Yu G, Coughlin MD. 2004a. ProNGF: A neurotrophic or an apoptotic molecule? *Prog Brain Res.* 146:101–110.
- Fahnestock M, Yu G, Michalski B, Mathew S, Colquhoun A, Ross GM, Coughlin MD. The nerve growth factor precursor proNGF exhibits neurotrophic activity but is less active than mature nerve growth factor. *J Neurochem* 2004b;89:581–592.
- Favejee MM, Huisstede BM, Koes BW. Frozen shoulder: the effectiveness of conservative and surgical interventions - systematic review. *Br J Sports Med* 2011;45:49–56.
- Ferguson C, Alpern E, Micalau T, Helms JA: Does adult fracture repair recapitulate embryonic skeletal formation? *Mech Dev* 1999, 87:57-66.
- Fernandez H, Osorio J, Russi MT, Quintero MA, Castro-Núñez J. Effects of internal rigid fixation on mandibular development in growing rabbits with mandibular fractures. *J Oral Maxillofac Surg.* 2012;70(10):2368-74.

- Fine EG, Decosterd I, Papaloizos M, Zurn AD, Aebischer P. GDNF and NGF released by synthetic guidance channels support sciatic nerve regeneration across a long gap. *Eur J Neurosci.* 2002;15(4):589-601.
- Fox RR. The rabbit as a research subject. *Physiologist.* 1984;27:393–402.
- Franz-Odendaal TA, Hall BK, Witten PE. Buried alive: how osteoblasts become osteocytes. *Dev Dyn.* 2006;235:176–190.
- Fridrich KL, Holton TJ, Pandsegrau KJ, Buckley MJ. Neurosensory recovery following the mandibular bilateral sagittal split osteotomy. *J Oral Maxillofac Surg* 1995, 53:1300.
- Fried D, Ragadio J, Akrivou M, Featherstone JD, Murray MW, Dickenson KM. Dental hard tissue modification and removal using sealed transverse excited atmospheric-pressure lasers operating at lambda 9,6 and 10,6 microm. *J Biomed Opt.* 2001;6(2):231–238.
- Frost HM. Dynamics of bone remodeling. *Bone Biodyn* 1964; 315–333.
- Frykman KG, Adams J, Bowen WW. Neurolysis. *Orthop Clin North Am.* 1981;12(2): 325-42.
- Fujita S, Yamaguchi M, Utsunomiya T, Yamamoto H, Kasai K. Low-energy laser stimulates tooth movement velocity via expression of RANK and RANKL. *Orthod Craniofac Res* 2008;11(3):143–155.
- Fukuhara E, Goto T, Matayoshi T, Kobayashi S, Takahashi T. Optimal low-energy laser irradiation causes temporal G2/ M arrest on rat calvarial osteoblasts. *Calcif Tissue Int* 2006, 79:443–450.
- Galkin A, Higgs A, Moncada S. Nitric oxide and hypoxia. *Essays Biochem*

2007;43:29–42.

Galli V, Passeri G, Macaluso GM. Osteocytes and WNT: the mechanical control of bone formation. *J Dent Res.* 2010;89:331–43.

Garcia-Castellano JM, Diaz-Herrera P, Morcuende JA. Is bone a target-tissue for the nervous system? New advances on the understanding of their interactions. *Iowa Orthop J* 2000;20:49–58.

Garg, Arun K. Bone biology, harvesting, and grafting for dental implants: rationale and clinical applications. US, Quintessence Publishing Company, 2004.

Gartner LP, Hiatt JL, *Color Textbook of Histology*, 3rd Edition, Philadelphia, Saunders, 2006 Chapter 7, s.136-156.

Gazit D, Turgeman G, Kelley P, et al. Engineered pluripotent mesenchymal cells integrate and differentiate in regenerating bone: a novel cell-mediated gene therapy. *J Gene Med.* 1999;1(2):121–33.

Gerbi ME, Pinheiro AL, Marzola C, Limeira Júnior Fde A, Ramalho LM, Ponzi EA, Soares AO, Carvalho LC, Lima HV, Gonçalves TO. Assessment of bone repair associated with the use of organic bovine bone and membrane irradiated at 830 nm. *Photomed Laser Surg.* 2005;23(4):382–8.

Gerhart TN, Kirker-Head CA, Kriz MJ, Holtrop ME, Hennig GE, Hipp J, Schelling SH, Wang E. Healing segmental femoral defects in sheep using recombinant human bone morphogenetic protein. *Clin Orthop Relat Res.* 1993;293:317–26.

Ghali GE, Epker BN. Clinical neurosensory testing: practical applications. *J Oral Maxillofac Surg* 1989;47:1074–6.

Gift JJ. Low level laser irradiation of nerve cells in vitro [master's thesis]. Columbus, Ohio: The Ohio State University; 1996.



- Gigo-Benato D, Geuna S, de Castro Rodrigues A, Tos P, Fornaro M, Boux E, Battiston B, Giacobini-Robecchi MG. Low-power laser biostimulation enhances nerve repair after end-to-side neurorrhaphy: a double-blind randomized study in the rat median nerve model. *Lasers Med Sci* 2004; 19: 57–65.
- Gigo-Benato D, Russo TL, Tanaka EH, Assis L, Salvini TF, Parizotto NA. Effects of 660 and 780 nm low-level laser therapy on neuromuscular recovery after crush injury in rat sciatic nerve. *Lasers Surg Med*. 2010;42(9):673-82.
- Gigo-Benato D, Geuna S, Rochkind S. Phototherapy for enhancing peripheral nerve repair: a review of literature. *Muscle Nerve*, 2005; 31, 694–701.
- Gilsanz V, Roe TF, Gibbens DT, Schulz EE, Carlson ME, Gonzalez O, Boechat MI. Effect of sex steroids on peak bone density of growing rabbits. *Am J Physiol*. 1988;255:416–421.
- Glowacki J. Angiogenesis in fracture repair. *Clin Orthop Relat Res* 1998;(Suppl 355):S82–9.
- Gomes FV, Mayer L, Massotti FP, Baraldi CE, Ponzoni D, Webber JB, de Oliveira MG. Low-level laser therapy improves peri-implant bone formation: resonance frequency, electron microscopy, and stereology findings in a rabbit model. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2014; 2. pii: S0901-5027(14)00343-9.
- Gonzalez CD, Zakariasen KL, Dederich DN, Pruhs RJ. Potential preventive and therapeutic hard-tissue applications of CO<sub>2</sub>, Nd:YAG and argon lasers in dentistry: a review. *ASDC J Dent Child*. 1996 ;63(3):196-207.
- Góralczyk K, Szymańska J, Lukowicz M, Drela E, Kotzbach R, Dubiel M, Michalska M, Góralczyk B, Zając A, Roś D. Effect of LLLT on endothelial cells culture. *Lasers Med Sci*. 2014.

- Gordjestani M, Dermaut L, Thierens H: Infrared laser and bone metabolism: A pilot study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 1994, 23(1):54-56.
- Gordon T, Chan KM, Sulaiman OAR, Udina E, Amirjani N, Brushart TM. Accelerating axon growth to overcome limitations in functional recovery after peripheral nerve injury. *Neurosurgery*. 2009;65:132-44.
- Gothard D, Smith EL, Kanczler JM, Rashidi H, Qutachi O, Henstock J, Rotherham M, El Haj A, Shakesheff KM, Oreffo RO. Tissue engineered bone using select growth factors: A comprehensive review of animal studies and clinical translation studies in man. *Eur Cell Mater*. 2014;6;28:166-207; discussion 207-8.
- Grant GA, Goodkin R, Kliot M. Evaluation and surgical management of peripheral nerve problems. *Neurosurgery*. 1999;44:825-840.
- Gravvanis AI, Lavdas AA, Papalois A, Tsoutsos DA, Matsas R. The beneficial effect of genetically engineered Schwann cells with enhanced motility in peripheral nerve regeneration: review. *Acta Neurochir Suppl* 2007;100: 51–56.
- Gravvanis AI, Tsoutsos DA, Tagaris GA, Papalois AE, Patralexis CG, Iconomou TG, Panayotou PN, Ioannovich JD. Beneficial effect of nerve growth factor-7S on peripheral nerve regeneration through inside-out vein grafts: an experimental study. *Microsurgery*. 2004;24, 408–415.
- Gregory RDE. Challenges to nerve regeneration. *Semin Surg Oncol*. 2000; 19(3):312-8.
- Grills BL, Schuijers JA, Ward AR. Topical application of nerve growth factor improves fracture healing in rats. *J Orthop Res* 1997;15:235-42.

- Gronowicz GA, McCatry MB, Zhang H, Zhang W. Insulin-like growth factor-2 induces apoptosis in osteoblasts. *Bone*. 2004;35:621–8.
- Gudemez E, Ozer K, Cunningham B, Siemionow K, Browne E, Siemionow M. Dehydroepiandrosterone As An Enhancer Of Functional Recovery Following Crush Injury to rat sciatic nerve. *Microsurgery*. 2002, 22, 234–241.
- Gundersen HJ, Jensen EB. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microsc* 1987; 147: 229–263.
- Gundersen RW, Barrett JN. Characterization of the turning response of dorsal root neurites toward nerve growth factor. *J Cell Biol*. 1980;87:546–554.
- Gursoy H, Ozcakir-Tomruk C, Tanalp J, Yilmaz S. Photodynamic therapy in dentistry: a literature review. *Clin Oral Investig* 2013;17:1113–25.
- Haldeman S, Carroll L, Cassidy JD, Schubert J, Nygren A. The bone and joint decade 2000–2010 task force on neck pain and its associated disorders: executive summary. *J Manipulative Physiol Ther* 2009;32(2 Suppl.):S7–9.
- Hall S. Nerve repair: a neurobiologist's view. *J Hand Surg (Br)* 2001;26:129-136.
- Ham AW, Harris WR. Repair and transplantation of bone. In: *The Biochemistry and Physiology of Bone*, 2nd ed (Bourne GH, ed) Academic Press, New York. pp. 1971;337-399.
- Ham AW. The healing of a simple fracture of a long bone. In: *Histology*, 8th ed (Ham AW, Crmack DH, eds) Philadelphia, Lippincott. 1979; 450-455.
- Hamblin MR, Demidova TN. Mechanisms of low level light therapy. *Biomedical Optics*. 2006:614001-1 – 614001-12.

- Haug RH, Prather J, Indresano AT: An epidemiologic survey of facial fractures and concomitant injuries. *J Oral Maxillofac Surg* 1990;48:926.
- Hauge EM, Qvesel D, Eriksen EF, Mosekilde L, Melsen F. Cancellous bone remodeling occurs in specialized compartments lined by cells expressing osteoblastic markers. *J Bone Miner Res* 2001;16:1575-1582.
- Hausman MR, Schaffler MB, Majeska RJ. Prevention of fracture healing in rats by an inhibitor of angiogenesis. *Bone* 2001;29:560-564.
- Hibst R, Keller U. Effects of water spray and repetition rate on the temperature elevation during Er:YAG laser ablation of dentine. *Proc SPIE*. 1995;2623:139–144.
- Hibst R, Keller U. Heat effect of pulsed Er:YAG laser radiation. *Laser surgery: advanced characterization of therapeutics and systems*. *Proc SPIE*. 1990;1200:379–386.
- Hill PA, Tumber A, Meikle MC. Multiple extracellular signals promote osteoblast survival and apoptosis. *Endocrinology* 1997;138:3849–58.
- Hoeller AA, Andre' ES. Electromyographic evaluation of the gastrocnemius muscle after low-level laser therapy in rats with sciatic axonotmesis. *Fisio. Brasil*. 2007; 8, 2: 33–41.
- Holder MJ, Milward MR, Palin WM, Hadis MA, Cooper PR. Effects of red light-emitting diode irradiation on dental pulp cells. *J Dent Res* 2012;91:961–6.
- Holland GR, Robinson PP. Cell counts in the trigeminal ganglion of the cat after inferior alveolar nerve injury, *J. Anat.* 1990, 171 179–186.

- Honmura A, Yanase M, Obata J, Haruki E: Therapeutic effect of Ga-Al-As diode laser irradiation on experimentally induced inflammation in rats. *Lasers Surg Med* 1992, 12:441–449.
- Howard G, Sturtevant B. In vitro study of the mechanical effect of shock-wave lithotripsy. *Ultra Medicine Biology*, 1998;23, 1107–1122.
- Hsieh YL, Chou LW, Chang PL, Yang CC, Kao MJ, Hong CZ. Low-level laser therapy alleviates neuropathic pain and promotes function recovery in rats with chronic constriction injury: possible involvements in hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ). *J Comp Neurol*. 2012;520(13):2903-16.
- <http://www.cmslaser.com/html/appslab.php>, 2014.
- Huang EJ, Reichardt LF. TRK receptors: Roles in neuronal signal transduction. *Annu Rev Biochem* 2003;72:609–642.
- Huang YY, Chen AC, Carroll JD, Hamblin MR. Biphasic dose response in low level light therapy. *Dose Response*. 2009;7:358–83.
- Huang YY, Sharma SK, Carroll JD, Hamblin MR. Biphasic dose response in low level light therapy – an update. *Dose Response* .2011;9:602–18.
- Huertas RM, Luna-Bertos ED, Ramos-Torrecillas J, Leyva FM, Ruiz C, García-Martínez O. Effect and clinical implications of the low-energy diode laser on bone cell proliferation. *Biol Res Nurs*. 2014;16(2):191-6.
- Igic M, Mihailovic D, Kesic L, Milasin J, Apostolovic M, Kostadinovic L, Janjic OT. Cytomorphometric and clinical investigation of the gingiva before and after low-level laser therapy of gingivitis in children. *Lasers Med Sci*. 2012;27(4):843-8.

- Ishikawa I, Aoki A, Takasaki AA. Potential applications of erbium:YAG laser in periodontics. *J Periodontal Res* 2004;39(4):275-285.
- Islamov RR, Hendricks WA, Jones RJ, Lyall GL, Spanier NS, Murashov AK. 17 $\beta$ -Estradiol stimulates regeneration of sciatic nerve in female mice. *Brain Res.* 2002, 943, 283–286.
- Izuka T, Lindqvist C: Sensory disturbances associated with rigid internal fixation of mandibular fractures. *J Oral Maxillofac Surg* 1991, 49:1264.
- Jaaskelainen SK, Peltola JK, Lehtinen R: The mental blink reflex in the diagnosis of lesions of the inferior alveolar nerve following orthognatic surgery of the mandible. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1996, 34:87.
- Jacques L, Kline DG: Response of the peripheral nerve to physical injury, Crockard A, Hayward R, Hoff JT (eds): *Neurosurgery: The Scientific Basis of Clinical Practice*, edLondon: Blackwell, 2000, Vol 1, pp 516–525.
- Jang CH, Cho YB, Choi CH. Effect of ginkgo biloba extract on recovery after facial nerve crush injury in the rat. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2012;76(12):1823-6.
- Jehan F, Naveilhan P, Neveu I, Harvie D, Dicou E, Brachet P, Wion D. Regulation of NGF, BDNF and LNGFR gene expression in ROS 17/2.8 cells. *Mol Cell Endocrinol.* 1996;5;116(2):149-56.
- Jenkins PA, Carroll JD. How to report low-level laser therapy (LLLT)/photomedicine dose and beam parameters in clinical and laboratory studies. *Photomed Laser Surg* 2011;29:785–7.

- Jilka RL, Weinstein T, Bellido AM, Parfitt SC, Manolagas SC. Osteoblast programmed cell death (apoptosis): modulation by growth factors and cytokines. *J Bone Miner Res.* 1998;13:793–802.
- Jubran M, Widenfalk J. Repair of peripheral nerve transections with fibrin sealant containing neurotrophic factors. *Exp. Neurol.* 2003;181, 204–212.
- Junqueira CL, Carneiro J. *Basic Histology, Text&Atlas, Eleventh Edition, USA, McGraw-Hill Companies.* 2005; 153-154.
- Kalfas IH, Principles of Bone Healing. *Neurosurg Focus.* 2001;10(4):p. 1-4.
- Kamali F, Bayat M, Torkaman G, Ebrahimi E, Salavati M. The therapeutic effect of low-level laser on repair of osteochondral defects in rabbit knee. *J Photochem Photobiol B.* 2007;88, 11–15.
- Kan B, Tasar F, Korkusuz P, Ersoy O, Cetinkaya A, Gur CZ, Celik H, Meral G. Histomorphometrical and radiological comparison of low-level laser therapy effects on distraction osteogenesis: Experimental study. *Lasers Med Sci.* 2014;29(1):213-20.
- Kanaya F, Firrell JC, Breidenbach WC. Sciatic function index, nerve conduction tests, muscle contraction, and axon morphometry as indicators of regeneration. *Plast. Reconstr. Surg.* 1996, 98, 1264–1271.
- Kang S, Bennet CN, Gerin I, Rapp LA, Hankenson KD, MacDougald OA. Wnt signaling stimulates osteoblastogenesis of mesenchymal precursors by suppressing CCAAT/enhancer-binding protein  $\alpha$  and peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ . *J Biol Chem* 2007;282:14515–24.
- Karu T, Pyatibrat L, Kalendo G Irradiation with He-Ne laser increases ATP level in cells cultivated in vitro. *J Photochem Photobiol B.* 1995, 27:219–223.

- Karu T. Cellular mechanisms of low-power laser therapy. *Lasers Surg. Med.* 2004;34, 298–299.
- Karu T. Ten lectures on basic science of laser phototherapy. Grängesberg, Sweden: Prima Books, 2007.
- Karu TI, Kolyakov SF. Exact action spectra for cellular responses relevant to phototherapy. *Photomed Laser Surg* 2005;23:355–61.
- Karu TI. Mitochondrial signaling in mammalian cells activated by red and near-IR radiation. *Photochem Photobiol* 2008;84:1091–9.
- Karu TI. Molecular mechanisms of the therapeutic effect of low-intensity laser irradiation. *Lasers Life Sci.* 1988; 2(1):53-74.
- Kawamoto K, Matsuda H. Nerve growth factor and wound healing, *Prog. Brain Res.* 2004;146 369– 384.
- Keleş M. Düşük enerji seviyeli lazerin ratlarda yara iyileşmesi üzerine etkisinin histolojik ve deneysel incelenmesi. GATA, Ankara. 2006.
- Keller U, Hibst U. Er:YAG laser effects on oral hard and soft tissues. Chicago: Quintessence. 1995;161-172.
- Khadra M, Kasem N, Haanaes HR, Ellingsen JE, Lyngstadaas SP. Enhancement of bone formation in rat calvarial bone defects using low-level laser therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;97(6):693-700.
- Khadra M, Kasem N, Lyngstadaas SP, Haanæs HR, Mustafa K. Laser therapy accelerates initial attachment and subsequent behavior of human oral fibroblasts cultured on titanium implant material: a scanning electron



microscopic and histomorphometric analysis. *Clin. Oral Impl. Res.* 2005;16, 168–175.

Khullar SM, Brodin P, Messelt EB, Haanaes HR. The effects of low level laser treatment on recovery of nerve conduction and motor function after compression injury in the rat sciatic nerve. *Eur J Oral Sci* 1995;103:299-302.

Khullar SM, Emami B, Westermarck A, Haanaes HR. Effect of low level laser treatment on neurosensory deficits subsequent to sagittal split ramus osteotomy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996;82:132-8.

Kinger WS, Lu JD, Roffers JA, Kell DR. The resolution of neuropathic hyperalgesia following motor and sensory functional recovery in sciatic axonotmetic mononeuropathies. *Pain.* 1994, 58, 157–168.

Kim SJ, Kang YG, Park JH, Kim EC, Park YG. Effects of low-intensity laser therapy on periodontal tissue remodeling during relapse and retention of orthodontically moved teeth. *Lasers Med Sc* 2013;28:325–33.

Kim YD, Kim SS, Hwang DS, Kim SG, Kwon YH, Shin SH, Kim UK, Kim JR, Chung IK. 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* 2007;39(5):441–450

Klesse LJ, Parada LF. Signal transduction and intracellular pathways. *Microsc Res Tech* 1999;45:210–216.

Kneebone, W.J. Basic principles of low-level laser therapy and clinical applications for pain relief. *Dyn Chiropractic.* 2007; 25, 18: 1–7.

- Kohn WG, Collins AS, Cleveland JL, Harte JA, Eklund KJ, Malvitz DM. Guidelines for infection control in dental healthcare settings – 2003. *MMWR Recomm Rep* 2003;52(RR-17):1-66.
- Komori T, Yokoyama K, Takato T, Matsumoto K. Case reports of epulis treated by CO2 laser without anesthesia. *J Clin Laser Med Surg* 1997;14:189–191.
- Kon T, Cho TJ, Aizawa T, Yamazaki M, Nooh N, Graves D, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Expression of osteoprotegerin, receptor activator of NF-kappaB ligand (osteoprotegerin ligand) and related proinflammatory cytokines during fracture healing. *J Bone Miner Res.* 2001;16(6):1004-14.
- Kontinen Y, Imai S, Suda A. Neuropeptides and the puzzle of bone remodeling. State of the art. *Acta Orthop Scand* 1996;67: 632-639.
- Kotlow L. Photobiomodulating lasers and children's dental care. *J Laser Dent* 2009;17(3):125-130.
- Kreisler M, Christofers AB, Willerstaussen B, d'Hoedt B. Effect of low-level GaAlAs laser irradiation on the proliferation rate of human periodontal ligament fibroblasts: An in vitro study. *J Clin Periodontol* 2003;30(4):353-358.
- Kristensen HB, Andersen TL, Marcussen N, Rolighed L, Delaisse JM. Increased presence of capillaries next to remodeling sites in adult human cancellous bone. *J Bone Miner Res.* 2013;28(3):574-85.
- Kwong FN, Harris MB. Recent developments in the biology of fracture repair. *J Am Acad Orthop Surg* 2008;16(11):619–25.
- La JL, Jalali S, Shami SA. Morphological studies on crushed sciatic nerve of rabbits with electroacupuncture or diclofenac sodium treatment. *Am J Chin Med* 2005, 33:663–669.

- Lai JB, Poon CY. Treatment of ranula using carbon dioxide laser--case series report. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2009;38(10):1107-11.
- Lambiase A, Pagani L, Di Fausto V, Sposato V, Coassin M, Bonini S, Aloe L. 2007b. Nerve growth factor eye drop administrated on the ocular surface of rodents affects the nucleus basalis septum: Biochemical and structural evidence. *Brain Res* 1127:45–51.
- Lane N. Cell biology: Power games. *Nature* 2006;443:901–3.
- Le Prell CG, Hughes LF, Miller JM. Free radical scavengers vitamins A, C, and E plus magnesium reduce noise trauma. *Free Radic Biol Med.* 2007;42(9):1454-63.
- Lee M, Doolabh VB, Mackinnon SE, And Jost, S. FK506 promotes functional recovery in crushed rat sciatic nerve. *Muscle Nerve.* 2000, 23, 633–640.
- Leman S. Deneysel siyatik sinir yaralanmasında betametazon ve sinir büyüme faktörünün sinir rejenerasyonuna ultrastrüktürel etkileri. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana, Yüksek Lisans Tezi, 2007; 14.
- Levi-Montalcini R. The nerve growth factor: Thirty-five years later. *Science* 1987;237:1154–1162.
- Li BH, Kim SM, Yoo SB, Kim MJ, Jahng JW, Lee JH. Recombinant human nerve growth factor (rhNGF- $\beta$ ) gene transfer promotes regeneration of crush-injured mental nerve in rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2012;113(3):e26-34.
- Lievens P. The influence of laser irradiation on the motricity of lymphatical system and on the wound healing process. In: *Intl congress on laser in med and surgery.* 1985; 4.

- Lievens PC. The effect of the combined HeNe laser and IR treatment on the regeneration of the lymphatic system during the process of wound healing. *Lasers Med Sci* 1991, 6:193–199.
- Lim W, Kim J, Kim S, Karna S, Won J, Jeon SM, Kim SY, Choi Y, Choi H, Kim O. Modulation of lipopolysaccharide-induced NF-kappa-B signaling pathway by 635 nm irradiation via heat shock protein 27 in human gingival fibroblast cells. *Photochem Photobiol* 2013;89:199–207.
- Lin JT, Lane JM. Bisphosphonates. *J Am Acad Orthop Surg* 2003;11(1):1–4.
- Lind M, Schumacker B, Søballe K, Keller J, Melsen F, Bünger C. Transforming growth factor-beta enhances fracture healing in rabbit tibiae. *Acta Orthop Scand*.1993 ;64(5):553-6.
- Lindsay RM, Harmor AJ. Nerve growth factor regulates expression of neuropeptide genes in adult sensory neurons. *Nature* 1989;337:362-364.
- Lirani-Galvão AP, Jorgetti V, Silva OL. Comparative study of how low-level laser therapy and low intensity pulsed ultrasound affect bone repair in rats. *Photomed. Laser. Surg.* 2006;24, 735–740.
- Lirani-Galvão AP Jorgetti V, Lopes da Silva O. Comparative study of how low-level laser therapy and low-intensity pulsed ultrasound affect bone repair in rats. *Photomed Laser Surg.* 2006, 24:735–740.
- Liu Y, Zhao D, Wang W, Wang B, Liu Z, Zhang Y, Li Z. [Nerve growth factor modulates bone morphogenetic protein expression in rabbit fracture]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2014;17;94(23):1825-8.

- Loder RT. The influence of diabetes mellitus on the healing of closed fractures. *Clin Orthop Relat Res* 1988;(232):210–6.
- Lopes CB, Pinheiro ALB, Sathaiah S, Silva NS, Salgado MAC. Infrared laser photobiomodulation (830 nm) on bone tissue around dental implants: a raman spectroscopy and scanning electronic microscopy study in rabbits. *Photomed Laser Surg*. 2007, 25:96–101.
- Lu C, Hansen E, Sapozhnikova A, Hu D, Miclau T, Marcucio RS. Effect of age on vascularization during fracture repair. *J Orthop Res*. 2008;26(10):1384-9.
- Luger EJ, Rochkind S, Wollman Y, Kogan G, Dekel S. Effect of low-power laser irradiation on the mechanical properties of bone fracture healing in rats. *Lasers Surg Med* 1998, 22:97–102.
- Lundborg G, Myers R, Powell H. Nerve compression injury and increased endoneurial fluid pressure: a “miniature compartment syndrome”, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 1983, 46 1119–1124.
- Macey LR, Kana SM, Jingushi S, Terek RM, Borretos J, Bolander ME. Defects of early fracture-healing in experimental diabetes. *J Bone Joint Surg Am*. 1989;71(5):722-33.
- Mackinnon SE, Hudson AR, Hunter DA. Histologic assessment of nerve regeneration in the rat. *Plast Reconstr Surg*. 1985, 75, 384–388.
- Mackie EJ, Tatarczuch L, Mirams M. The skeleton: a multi-functional complex organ: the growth plate chondrocyte and endochondral ossification. *J Endocrinol*. 2011;211(2):109-21.
- Madduri S, Gander B Schwann cell delivery of neurotrophic factors for peripheral nerve regeneration. *J Peripher Nerv Syst*. 2010;15: 93–103.

- Madsen JE, Hukkanen M, Aune AK, Basran I, Moller JF, Polak JM, Nordsletten L. Fracture healing and callus innervation after peripheral nerve resection in rats. *Clin Orthop Relat Res* 1998;351:230- 240.
- Malcangio M, Garrett NE, Tomlinson DR. Nerve growth factor treatment increases stimulus-evoked release of sensory neuropeptides in the rat spinal cord, *Eur. J. Neurosci.* 1997, 9 1101– 1104.
- Mang TS, Tayal DP, Baier R. Photodynamic therapy as an alternative treatment for disinfection of bacteria in oral biofilms. *Lasers Surg Med* 2012;44:588–96.
- Marchena JM, Padwa BL, Kaban LB: Sensory abnormalities associated with mandibular fractures: Incidence and natural history. *J Oral Maxillofac Surg* 1998, 56:822.
- Mărtu S, Amaşinei C, Tatarciuc M, Rotaru M, Potârniche O, Liliac L, Căruntu ID. Healing process and laser therapy in the superficial periodontium: a histological study. *Rom J Morphol Embryol* 2012;53:111–6.
- Martin E. Lasers in dental implantology. *Dent Clin North Am.* 2004; 48(4):999–1015.
- Martin TJ, Gooi JH, Sims NA. Molecular mechanisms in coupling of bone formation to resorption. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2009;19:73–88.
- Martins RS, Bastos D, Siqueira MG, Heise CO, Teixeira MJ. Traumatic injuries of peripheral nerves: a review with emphasis on surgical indication. *Arq Neuropsiquiatr.* 2013;71(10):811-4.
- Matsumoto MA, Ferino RV, Monteleone GF, Ribeiro DA. Low-level laser therapy modulates cyclo-oxygenase-2 expression during bone repair in rats. *Lasers Med Sci* 2009;24(2):195–201.

- Mayhew TM, Gundersen HJG. 'If you assume, you can make an ass out of u and me': a decade of the disector for stereological counting of particles in 3D space. *J Anat* 1996; 188: 1–15.
- Mayhew Tm, Olsen Dr. Magnetic resonance imaging (MRI) and model-free estimates of brain volume determined using the Cavalieri principle. *J. Anat.* 1991, 178:133–144.
- McDavid VG, Cobb CM, Rapley JW, Glaros AG, Spencer P. Laser irradiation of bone: III. Long-term healing following treatment by CO<sub>2</sub> and Nd:YAG lasers. *J Periodontol.* 2001,72:174–182.
- McMahon SB, Bennett DLH, Priestley JV, Shelton DL. The biological effects of endogenous nerve growth factor on adult sensory neurons revealed by a trkA–IgG fusion molecule, *Nat. Med.* 1 1995; 774–780.
- Meneguzzo DT, Lopes LA, Pallota R, Soares-Ferreira L, Lopes-Martins RA, Ribeiro MS. Prevention and treatment of mice paw edema by near-infrared low-level laser therapy on lymph nodes. *Lasers Med Sci* 2013;28:973–80.
- Merli LAS, Santos MT, Genovese WJ, Faloppa F. Effects of low-intensity laser irradiation on process of bone repair. *Photomed Laser Surg.* 2005, 2:212–215.
- Mester E, Szende B, Tota JG. Effect of laser on hair growth of mice. *Kiserl Orvostud* 1967;19:628–31.
- Meyer U and Wiesmann HP, *Bone and Cartilage Engineering*. NY, Springer 2006.
- Micera A, Puxeddu I, Aloe L, Levi-Schaffer F. New insights on the involvement of nerve growth factor in allergic inflammation and fibrosis, *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003; 14:369–374.

- Midamba Ed, Haanaes HR: Low reactive-level 830 nm Ga Al As diode laser therapy (LLLT) successfully accelerates regeneration of peripheral nerves in human. *Laser Therapy* 1993, 5:125.
- Midda M. The use of lasers in periodontology. *Curr Opinion Dent.* 1992;2, 104-108.
- Millet I, Vignery A. The neuropeptide calcitonin gene-related peptide inhibits TNF- $\alpha$  but poorly induces IL-6 production by fetal rat osteoblasts. *Cytokine* 1997;9:999-1007.
- Miloro M, Repasky M. Low level laser effect on neurosensory recovery following sagittal ramus osteotomy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000;89:12-18.
- Miloro M. Inferior alveolar nerve regeneration through an autogenous vein graft. *J Oral Maxillofac Surg* 1996;54(suppl 3):65-6.
- Miserendino LJ, Levy G, Miserendino CA. Laser interaction with biologic tissues. Chapter 3 in: Miserendino LJ, Pick RM, editors. *Lasers in Dentistry*. Chicago: Quintessence Publishing Co, Inc. 1995:39-55.
- Miserendino LJ, Pick RM. *Lasers in Dentistry*. Chicago, Quintessence Publishing Co. 1995:s.17-71.
- Mizisin AP, Weerasuriya A. Homeostatic regulation of the endoneurial microenvironment during development, aging and in response to trauma, disease and toxic insult. *Acta Neuropathol.* 2011;121:291-312.
- Moges H, Wu X, McCoy J, Vasconcelos OM, Bryant H, Grunberg NE, Anders JJ. Effect of 810 nm light on nerve regeneration after autograft repair of severely injured rat median nerve. *Lasers Surg Med.* 2011;43(9):901-6.



- Mogi M, Kondo A, Kinpara K, Togari A. Anti-apoptotic action of nerve growth factor in mouse osteoblastic cell line. *Life Sci* 2000;67:1197-1206.
- Mohammad S, Pal US, Pradhan R, Singh N. Herbal remedies for mandibular fracture healing. *Natl J Maxillofac Surg.* 2014;5(1):35-8.
- Moritz A, Gutknecht N, Doertbudak O, Goharkhay K, Schoop U, Schauer P, Sperr W. Bacterial reduction in periodontal pockets through irradiation with a diode laser: A pilot study. *J. Clin. Laser Med. Surg.* 1997;15, 33-37.
- Moritz A, Schoop U, Goharkhay K, Schauer P, Doertbudak O, Wernisch J, Sperr W. Treatment of periodontal pockets with a diode laser. *Lasers Surg. Med.* 1988;22, 302-311.
- Moritz A, Beer F, Goharkhay K, Schoop U, Strassl M, Verheyen P, Walsh L.J, Wernisch J, Wintner E. *Oral Laser Application.* Quintessenz Verlags-GmbH, Berlin 2006;38-55.
- Mufson EJ, Counts SE, Perez SE, Ginsberg SD. Cholinergic system during the progression of Alzheimer's disease: Therapeutic implications. *Expert Rev Neurother* 2008;8:1703–1718.
- Muller AM: Overview of the fracture healing cascade. *Injury.* 2005; 5–7.
- Muona P, Jaakkola S, Salonen V, Peltonen J. Expression of glucose transporter 1 in adult and developing human peripheral nerve. *Diabetologia.* 1993; 36:133-40.
- Myers TD. Lasers in dentistry: their application in clinical practice. *J Am Dent Assoc.* 1991;122:46-50.

- Nagakawa K, Ueki K, Matsumoto N, Takatsuka S, Yamamoto E, Ooe H. The assessment of trigeminal nerve paresthesia after bilateral sagittal split osteotomy: Modified somatosensory evoked potentials recording methods. *J Craniomaxillofac Surg.* 1997, 25:97.
- Nagasawa A, Kato K, Takaoka K: Experimental evaluation on bone repairing activation effect of lasers based on bone morphologic protein. *JSLSM.*1988, 9(3):165-168.
- Nakagawa K, Takeda M, Tsuboi Y, Kondo M, Kitagawa J, Matsumoto S, Kobayashi A, Sessle BJ, Shinoda M, Iwata K. Alteration of primary afferent activity following inferior alveolar nerve transection in rats. *Mol Pain.* 2010;6:9.
- Nakanishi T, Takahashi K, Aoki C, Nishikawa K, Hattori T, Taniguchi S. Expression of NGF family neurotrophins in a Mouse osteoblastic cell line. *Bioch Biophys Res Commun* 1994; 198:891-7.
- Navarro X, Kennedy WR. Sweat gland reinnervation by sudomotor regeneration after different types of lesions and graft repairs. *Exp. Neurol.* 1989, 104, 229–234.
- Ng GY, Fung DT, Leung MC, Guo X. Ultrastructural comparison of medial collateral ligament repair after single or multiple applications of GaAlAs laser in rats. *Lasers Surg Med.* 2004, 35:317–323.
- Nico B, Mangieri D, Benagiano V, Crivellato E, Ribatti D. Nerve growth factor as an angiogenic factor. *Microvasc Res* 2008;75:135-141.
- Ninomiya T, Hosoya A, Nakamura H, Sano K, Nishisaka T, Ozawa H. Increase of bone volume by a nanosecond pulsed laser irradiation is caused by a decreased osteoclast number and an activated osteoblasts. *Bone.* 2007,40, 140–148.

- Nissan J, Assif D, Gross MD, Yaffe A, Binderman I. Effect of low intensity laser irradiation on surgically created bony defects in rats. *J Oral Rehabil.* 2006, 33:619–924.
- Noonan KJ, Stevens JW, Tammi R, Tammi M, Hernandez JA, Midura RJ. Spatial distribution of CD44 and hyaluronan in the proximal tibia of the growing rat. *J Orthop Res.* 1996;14:573–581.
- Nosrat CA, Fried K, Ebendal T, Olson L. NGF, BDNF, NT3, NT4 and GDNF in tooth development, *Eur. J. Oral Sci.* 1998, 106 94–99.
- Obradovic RR, Kesic LG, Pesevska S. Influence of lowlevel laser therapy on biomaterial osseointegration: a mini review. *Lasers Med Sci.* 2009, 24:447–451.
- Odaci E, Sahin B, Sonmez OF, Kaplan S, Bas O, Bilgic S, Bek Y, Ergür H. Rapid estimation of the vertebral body volume: a combination of the Cavalieri principle and computed tomography images. *Eur J Radiol.* 2003; 48(3):316-26.
- Ohshiro T, Calderhead RG. Development of low reactive level laser therapy and its present status. *J Clin Laser Med Surg* 1991;9(4):267-275.
- Oji C. Jaw fractures in Enugu, Nigeria, 1985-95. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1999;37(2):106-9.
- Oliveira EF, Mazzer N, Barbieri CH, Selli M. Correlation between functional index and morphometry to evaluate recovery of the rat sciatic nerve following crush injury: experimental study. *J. Reconstr. Microsurg.* 2001, 17, 69–75.
- Oliveira FB, Pereira VM, da Trindade AP, Shimano AC, Gabriel RE, Borges AP. Action of therapeutic laser and ultrasound in peripheral nerve regeneration. *Acta Ortop Bras.* 2012;20(2):98-103.

- Omar MT, Shaheen AA, Zafar H. A systematic review of the effect of low-level laser therapy in the management of breast cancer-related lymphedema. *Support Care Cancer* 2012;20:2977–84.
- Otto D, Unsicker K, Grothe C: Pharmacological effects of nerve growth factor and fibroblast growth factor applied to the transected sciatic nerve on neuron death in adult rat dorsal root ganglia. *Neurosci Lett.* 1987;83:156–160.
- Ozaki A, Tsunoda M, Kinoshita S, Saura R. Role of fracture hematoma and periosteum during fracture healing in rats: interaction of fracture hematoma and periosteum in the initial step of the healing process. *Journal of Orthopedic Science*, 2000;5: 64- 70.
- Ozawa Y, Shimizu N, Kariya G, Abiko Y. Low-energy laser irradiation stimulates bone nodule formation at early stages of cell culture in rat calvarial cells. *Bone.* 1998 22:347–354.
- Palacios-Callender M, Quintero M, Hollis VS, Springett RJ, Moncada S. Endogenous NO regulates superoxide production at low oxygen concentrations by modifying the redox state of cytochrome c oxidase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:7630–5.
- Palumbo C, Palazzini S, Zaffe D, Marotti G Osteocyte differentiation in the tibia of newborn rabbit: an ultrastructural study of the formation of cytoplasmic processes. *Acta Anat.* 1990;137:350–358.
- Palumbo C. A three-dimensional ultrastructural study of osteoid–osteocytes in the tibia of chick embryos. *Cell Tissue Res.* 1986;246:125–131.

- Pang P, Andreana S, Aoki A, Coluzzi D, Obeidi A, Olivi G, Parker S, Rechmann P, Sulewski J, Sweeney C, Swick M, Yung F. Laser Energy in Oral Soft Tissue Applications. *J Laser Dent* 2010;18(3):123-131.
- Parfitt A. Morphological basis of bone mineral measurements: transient and steady state effects of treatment in osteoporosis. *Miner Electrolyte Metab* 1980;4:273–287.
- Parfitt AM. The coupling of bone formation to bone resorption: a critical analysis of the concept and of its relevance to the pathogenesis of osteoporosis. *Metab Bone Dis Relat Res* 1982;4: 1–6.
- Park JB, Ahn SJ, Kang YG, Kim EC, Heo JS, Kang KL. Effects of increased low-level diode laser irradiation time on extraction socket healing in rats. *Lasers Med Sci.* 2013.
- Parker S. Laser-tissue interaction. *Br Dent J* 2007;202(2):73-81.
- Patel CKN, Tien PK, McFee JH. CW high power CO<sub>2</sub>-N<sub>2</sub>-H<sub>3</sub> laser. *Appl Phys Lett* 1965: 7: 290–292.
- Paterson D. Treatment of nonunion with a constant direct current: a totally implantable system. *Orthopedic Clinics of North America* 1984,15(1):47-59.
- Paydarfar JA, Paniello RC. Functional study of four neurotoxins as inhibitors of post-traumatic nerve regeneration. *Laryngoscope.* 2001, 111, 844–850.
- Pearson GJ, Schuckert KH. The role of lasers in dentistry: present and future. *Dent Update.* 2003;30(2):70–74.
- Peavy GM, Reinisch L, Payne JT, Venugopalan V. Comparison of cortical bone ablations by using infrared laser wavelengths 2,9 to 9,2 microm. *Lasers Surg Med.* 1999;25(5):421–434.

- Peccin MS, de Oliveira F, Muniz Renno AC, Pacheco de Jesus GP, Pozzi R, Gomes de Moura CF, Giusti PR, Ribeiro DA. Helium-neon laser improves bone repair in rabbits: comparison at two anatomic sites. *Lasers Med Sci.* 2013;28(4):1125-30.
- Pejcic A, Kojovic D, Kesic L, Obradovic R. The effects of low level laser irradiation on gingival inflammation. *Photomed Laser Surg* 2010;28:69-74.
- Pellegrino RG, Spencer PS. Schwann cell mitosis in response to regenerating peripheral axons in vivo. *Brain Res.* 1985;19;341(1):16-25.
- Peltonen J, Jaakkola S, Hsiao LL, Timpl R, Chu ML, Uitto J. Type VI collagen. In situ hybridizations and immunohistochemistry reveal abundant mRNA and protein levels in human neurofibroma, schwannoma and normal peripheral nerve tissues. *Lab Invest* 1990; 62:487-92.
- Peltonen S, Alanne M, Peltonen J. Barriers of the peripheral nerve. *Tissue Barriers.* 2013;1;1(3):e24956.
- Pereira AN, Eduardo C de P, Matson E, Marques MM. Effect of low-power laser irradiation on cell growth and procollagen synthesis of cultured fibroblasts. *Lasers Surg. Med.* 2002;31, 263 267.
- Perlman MH, Thordarson DB. Ankle fusion in a high risk population: an assessment of nonunion risk factors. *Foot Ankle Int* 1999;20(8):491–6.
- Perren SM. Physical and biological aspects of fracture healing with special reference to internal fixation. *Clin Orthop Rel Res.* 1979; 138: 175-196.

- Perry EK. Nerve growth factor and the basal forebrain cholinergic system: A link in the etiopathology of neurodegenerative dementias? *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 1990;4:1–13.
- Piña-Oviedo S, Ortiz-Hidalgo C. The normal and neoplastic perineurium: a review. *Adv Anat Pathol* 2008; 15:147-64.
- Pinheiro A. Recent studies on bone regeneration. *International Congress Series,* 2003;1248: 69-72.
- Pinheiro AL, Gerbi ME. Photoengineering of bone repair processes. *Photomedicine and Laser Surgery.* 2006, 24, 169–178.
- Pires-Oliveira DAA, Oliveira RF, Amadei SU, Pacheco-Soares C, Rocha RF. Laser 904 nm action on bone repair in rats with osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2010, 21:2109–2114.
- Pittsfield MA. *The photonics dictionary.* 46 th ed, USA, Laurin Publishing, 2000.
- Pogrel MA. Nerve injuries: a cadaveric and histological study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2005:72–73.
- Pourzarandian A, Watanabe H, Ruwanpura SM, Aoki A, Ishikawa I. Effect of low-level Er:YAG laser irradiation on cultured human gingival fibroblasts. *J Periodontol* 2005;76:187–193.
- Pretel H, Lizarelli RFZ, Ramalho LTO. Effect of low-level laser therapy on bone repair: histological study in rats. *Lasers Surg Med* 2007;39(10):788–796.
- Qadri T, Miranda L, Tuner J, Gustafsson A. The short-term effects of low-level lasers as adjunct therapy in the treatment of periodontal inflammation. *J Clin Periodontol* 2005;32(7):714-719.

- Radevik B, Lundborg G. Permeability of intraneural microvessels and perineurium following acute, graded experimental nerve compression. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.* 1977, 11, 179–187.
- Rechmann P, Goldin DS, Hennig T. Er:YAG lasers in dentistry: An overview. *Proc SPIE.* 1998:2-13.
- Reichardt LF. Neurotrophin-regulated signalling pathways. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2006;361:1545–1564.
- Reidenbach H D, Dollinger K, Hofmann J. Field trials with low power lasers concerning the blink refl ex. *Biomed Tech (Berl)* 2002; 47 (Suppl 1): 600-601.
- Renno ACM, McDonnell PA, Parizotto NA, Laakso EL. The effects of laser irradiation on the osteoblast and osteosarcoma cell proliferation and differentiation in vitro. *Photomed Laser Surg.* 2007, 25:275–280.
- Renzi G, Carboni A, Perugini M, Giovannetti F, Becelli R: Posttraumatic trigeminal nerve impairment: a prospective analysis of recovery patterns in a series of 103 consecutive facial fractures. *J Oral Maxillofac Surg* 2004, 62(11): 1341e1346.
- Retief DH, Dreyer CJ. Effects of neural damage on the repair of bony defects in the rat. *Arch Oral Biol* 1967; 12:1035.
- Ribeiro DA, Matsumoto MA. Low-level laser therapy improves bone repair in rats treated with anti-inflammatory drugs. *J Oral Rehabil* 2008;35(12):925–933.
- Rich KM, Luszczunski JR, Osborne PA, Johnson EM. Nerve growth factor protects adult sensory neurons from cell death atrophy caused by nerve injury, *J. Neurocytol.* 1987;16 261– 268.



- Roberts WE, Hartsfield JK Jr. Bone development and function: genetic and environmental mechanisms. *Semin Orthod*, 2004; 10:100–122.
- Robertson DM, McLaren JW, Salomao DR, Link TP. Retinopathy from a green laser pointer: a clinicopathologic study. *Arch Ophthalmol* 2005; 123: 629-63
- Robinson LR. Traumatic injury to peripheral nerve. *Muscle Nerve* 2000;23:863-873.
- Rochkind S, Nissan M, Razon N, Schwartz M, Bartel A. Electrophysiologic effect of HeNe laser on normal and injured sciatic nerve in the rat. *Acta Neurochir (Wein)* 1986;83:125-9.
- Rochkind S, Ruosso M, Villarreal M, Barr-Nea L, Rees DG. Systemic effects of low-power laser irradiation on the peripheral and central nervous system, cutaneous wounds, and burns. *Lasers Surg Med* 1989;9:174-9.
- Rochkind S, Vogler I, Barr-Nea L. Spinal cord response to laser treatment of injured peripheral nerve. *Spine*. 1990; 15: 6–10.
- Rochkind S. Phototherapy in peripheral nerve regeneration: from basic science to clinical study. *Neurosurg Focus*. 2009; 26.
- Romanos G, Nentwig GH. Diode laser (980 nm) in oral and maxillofacial surgical procedures: clinical observations based on clinical applications. *J Clin Laser Med Surg*. 1999;17(5):193-7.
- Romanos GE. Clinical applications of the Nd:YAG laser in oral soft tissue surgery and periodontology. *J Clin Laser Med Surg*. 1994;12(2):103-8.
- Rosenberg N, Rosenberg O, Soudry M. Osteoblasts in Bone Physiology—Mini Review. *Rambam Maimonides Medical Journal*, 2012;3(2).

- Ross G, Ross A. Low level lasers in dentistry. *Gen Dent* 2008;56(7):629-634.
- Russell AD. Lethal effects of heat on bacterial physiology and structure. *Sci Prog* 2003;86(1-2):115-137.
- Rydevik B, Lundborg G, Bagge U. Effects of graded compression on intraneural blood flow. An in vivo study on rabbit tibial nerve, *Am. J. Hand. Surg.* 1981, 6, 3–12.
- Saito S, Shimizu N. Stimulatory effects of low-power laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in the rat. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1997;111:525–532.
- Saleh M: The principles of non-union management. *Orthofix External Fixation in Trauma and Orthopaedics* London: SpringerDe Bastiani G, Apley AG, Goldberg A 2000, 523-536.
- Santos AP, Suaid CA, Xavier M, Yamane F. Functional and morphometric differences between the early and delayed use of phototherapy in crushed median nerves of rats. *Lasers Med Sci.* 2012;27(2):479-86.
- Santos X, Rodrigo J, Hontanilla B, Bilbao G. Evaluation of peripheral nerve regeneration by nerve growth factor locally administered with a novel system. *J Neurosci Methods.* 1998;1;85(1):119-27.
- Sathyendra V, Darowish M. Basic science of bone healing. *Hand Clin.* 2013;29(4):473-81.
- Savignat M, Vodouhe C, Ackermann A, Garza JM, Lavalley P, Libersa P. Rat nerve regeneration with the use of a polymeric membrane loaded with NGF. *J Dent Res* 2007;86:1051-6.

- Savignat M, Vodouhe C, Ackermann A, Haikel Y, Lavallo P, Libersa P. Evaluation of early nerve regeneration using a polymeric membrane functionalized with nerve growth factor (NGF) after a crush lesion of the rat mental nerve. *J Oral Maxillofac Surg* 2008;66:711-7.
- Saygun I, Karacay S, Serdar M, Ural AU, Sencimen M, Kurtis B. Effects of laser irradiation on the release of basic fibroblast growth factor (bFGF), insulin like growth factor-1 (IGF-1), and receptor of IGF-1 (IGFBP3) from gingival fibroblasts. *Lasers Med. Sci.* 2008;23, 211–215.
- Schaffler MB, Cheung WY, Majeska R, Kennedy O. Osteocytes: master orchestrators of bone. *Calcif Tissue Int.* 2014;94(1):5-24.
- Schenk RK, Hunziker EB. Histologic and ultrastructural features of fracture healing. *American Academy of Orthopaedic Surgeons, Rosemont, IL.* pp. 1994; 117-146.
- Schmid DB, Salyapongse N. Nerve injury and repair. *Curr Orthop Pract.* 2008;19:475-480.
- Schuele G, Rumohr M, Huettmann G, Brinkmann R. RPE damage thresholds and mechanisms for laser exposure in the microsecond-to-millisecond time regimen. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46: 714-719.
- Schultze-Mosgau S, Krems H, Neukam FW: A prospective electromyographic and computer-aided thermal sensitivity assessment of nerve lesions after sagittal split osteotomy and Le fort I osteotomy. *J Oral Maxillofac Surg* 2001, 59:128.
- Seckel BR: Enhancement of peripheral nerve regeneration. *Muscle Nerve* 1990;13:785–800.

- Secretó FJ, Hoepfner LH, Westendorf JJ. Wnt signaling during fracture repair. *Curr Osteoporos Rep* 2009;7(2):64–9.
- Seddon HJ: Three types of nerve injury. *Brain*. 1943;66:237–288.
- Seemann R, Schicho K, Wutzl A, Koinig G, Poeschl WP, Krennmair G, Ewers R, Klug C. Complication rates in the operative treatment of mandibular angle fractures: a 10-year retrospective. *J Oral Maxillofac Surg* 2010, 68(3): 647e650.
- Seibel MJ. Clinical application of biochemical markers of bone turnover. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 2006;50, 603–620.
- Sener I, Bereket C, Arslan G, Özkan N, Özdemir M, Mercan U, Ayyildiz M, Agar E. The Effect of Hemostatic Agents and Tissue Adhesive on Injured Peripheral Nerve Healing in Rats–Part I. Electrophysiological Study. *Adv Clin Exp Med* 2015, 24, 1, 23–29.
- Serafim KG, Ramos Sde P, de Lima FM, Carandina M, Ferrari O, Dias IF, Toghinho Filho Dde O, Siqueira CP. Effects of 940 nm light-emitting diode (led) on sciatic nerve regeneration in rats. *Lasers Med Sci.* 2012;27(1):113-9.
- Servetto N, Cremonuzzi D, Simes JC, Moya M, Soriano F, Palma JA, Campana VR. Evaluation of inflammatory biomarkers associated with oxidative stress and histological assessment of low-level laser therapy in experimental myopathy. *Lasers Surg Med* 2010;42:577–83.
- Sethi CS, Grey RH, Hart CD. Laser pointers revisited: a survey of 14 patients attending casualty at the Bristol Eye Hospital. *Br J Ophthalmol* 1999; 83: 1164-1167.
- Shamir MH, Rochkind S, Sandbank J, Alon M. Double-blind randomized study evaluating regeneration of the rat transected sciatic nerve after suturing and

- postoperative low-power laser treatment. *J Reconstr Microsurg.* 2001;17(2):133-7.
- Shapiro F. Bone development and its relation to fracture repair. The role of mesenchymal osteoblasts and surface osteoblasts. *Eur Cell Mater.* 2008;15:53-76.
- Sharma SK, Kharkwal GB, Sajo M, Huang YY, De Taboada L, McCarthy T, Hamblin MR. Dose response effects of 810 nm laser light on mouse primary cortical neurons. *Lasers Surg Med.* 2011;43:851–9.
- Shen CC, Yang YC, Huang TB, Chan SC, Liu BS. Low-Level Laser-Accelerated Peripheral Nerve Regeneration within a Reinforced Nerve Conduit across a Large Gap of the Transected Sciatic Nerve in Rats. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013:175629.
- Shen CC, Yang YC, Liu BS. Large-area irradiated low-level laser effect in a biodegradable nerve guide conduit on neural regeneration of peripheral nerve injury in rats. *Injury* 2011;42, 803–813.
- Shen N, Zhu J. Application of sciatic functional index in nerve functional assessment. *Microsurgery.* 1995, 16, 552–555.
- Silva EM, Gomes SP, Ulbrich LM, Giovanini AF. Avaliação histológica da laserterapia de baixa intensidade na cicatrização de tecidos epitelial, conjuntivo e ósseo: estudo experimental em ratos. *Rev Sul-Bras Odontol* 2007;4:29-35.
- Silva I, Branco JC. Rank/Rankl/opg: literature review. *Acta Reumatol Port.* 2011;36(3):209-18.

- Silva RV, Camilli JA, Bertran CA, Moreira NH. The use of hydroxyapatite and autogenous cancellous bone grafts to repair bone defects in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg.*2005;34:178–184.
- Simons DG. Muscle pain syndromes—Part I. *Am J Phys Med* 1975;54:289-311.
- Skaper SD. Nerve growth factor: A neurokine orchestrating neuroimmune-endocrine functions, *Mol. Neurobiol.* 2001, 183–199.
- Skerry TM. Fracture Healing. *BSAVA Manual of Small Animal Fracture Repair and Management*, 1998;4: 29-34.
- Smith K. The photobiological basis of low level laser radiation therapy. *Laser Therapy* 1991;3:19–24.
- Snell SR. Nerve Fiber and peripheral nerves. *Clinical neuroanatomy for medical students*. Boston. Little, Brown and Company 1992;91-123.
- Snyder SK, Byrnes KR, Borke RC, Sanchez A, Anders JJ. Quantitation of calcitonin gene-related peptide mRNA and neuronal cell death in facial motor nuclei following axotomy and 633 nm low power laser treatment. *Lasers Surg Med.* 2002;31(3):216-22.
- Snyder-Mackler L, Barry AJ, Perkins AI, Soucek MD. Effects of helium–neon laser irradiation on skin resistance and pain in patients with trigger points in the neck or back. *Phys Ther* 1989;69:336–41.
- Sobue G, Yamamoto M, Doyu M, Li M, Yasuda T, Mitsuma T. Expression of mRNAs for neurotrophins (NGF, BDNF, and NT-3) and their receptors (p75NGFR, trk, trkB, and trkC) in human peripheral neuropathies. *Neurochem Res* 1998;23,821–829.

- Solomon A, Lavie V, Ben-Bassat S, Belkin M, Schwartz M: New surgical approach to overcome the inability of injured mammalian axons to grow within their environment. *J Neural Transplant Plast* 1991, 2: 243-248.
- Sommer AP, Pinheiro AL, Mester AR, Franke RP, Whelan HT. Biostimulatory Windows in low-intensity laser activation: lasers, scanners, and NASA's light-emitting diode array system. *J Clin Laser Med Surg*. 2001;19:29-33.
- Son J, Kim YB, Ge Z, Choi SH, Kim G. Bone healing effects of diode laser (808 nm) on a rat tibial fracture model. *In Vivo*. 2012;26(4):703-9.
- Sorokin PP, Stevenson MJ. Stimulated infrared emission from trivalent uranium. *Phys Rev Lett*. 1960;5, 557–559.
- Sousa FFA, Andraus RAC, Barbieri CH, Mazzer N. Influência da irradiação do laser na regeneração nervosa. *Acta Ortop Bras*. 2009; 17(6):331-5.
- Spencer P, Payne JM, Cobb CM, Reinisch L, Peavy GM, Drummer DD, Suchman DL, Swafford JR. Effective laser ablation of bone based on the absorption characteristics of water and proteins. *J Periodontol*. 1999;70(1):68–74.
- Springer TA, Welch AJ. Temperature control during tissue welding. *Appl Optics* 1993;32(4):517-525.
- Stacey DH, Doyle JF, Mount DL, Snyder MC, Gutowski KA: Management of mandible fractures. *Plast Reconstr Surg* 2006, 117(3): 48ee60e.
- Stanley ER, Berg KL, Einstein DB, Lee PS, Pixley FJ, Wang Y, Yeung YG. Biology and action of colony--stimulating factor-1. *Mol Reprod Dev*. 1997;46(1):4-10.

- Stein A, Benayahu D, Maltz L, Oron U. Low-level laser irradiation promotes proliferation and differentiation of human osteoblasts in vitro. *Photomed Laser Surg.* 2005;23:161–166.
- Stergioulas A. Low-level laser treatment can reduce edema in second degree ankle sprains. *J Clin Laser Med Surg.* 2004;22(2):125-8.
- Subbanna PK, Prasanna CG, Gunale BK, Tyagi MG. Acetyl salicylic acid augments functional recovery following sciatic nerve crush in mice. *J Brachial Plex Peripher Nerve Inj.* 2007;4;2:3.
- Suda T, Takahashi N, Udagawa N, Jimi E, Gillespie MT, Martin TJ. Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocr Rev.* 1999;20(3):345-57.
- Sun W, Sun C, Lin H, Zhao H, Wang J, Ma H, Chen B, Xiao Z, Dai J. The effect of collagen-binding NGF-beta on the promotion of sciatic nerve regeneration in a rat sciatic nerve crush injury model. *Biomaterials.* 2009;30:4649-56.
- Sunderland S, Bradley KC. Endoneurial tube shrinkage in the distal segment of a severed nerve. *J Comp Neurol.* 1950;93: 411–420.
- Sunderland S. The anatomy and physiology of nerve injury. *Muscle Nerve* 1990;13:771–784.
- Svensson P, Cairns BE, Wang K, Arendt-Nielsen L. Injection of nerve growth factor into human masseter muscle evokes long-lasting mechanical allodynia and hyperalgesia. *Pain.* 2003;104 241– 247.
- Sweeney C. Laser safety in dentistry. *Gen Dent* 2008;56(7):653-661.



- Şahin B, Emirzeoglu M, Uzun A, İncesu L, Bek Y, Bilgiç S, Kaplan S. Unbiased estimation of the liver volume by the Cavalieri principle using magnetic resonance images. *Eur J Radiol.* 2003;47:164-70.
- Taniuchi M, Clark HB, Schweitzer JB, Johnson EM Jr. Expression of nerve growth factor receptors by Schwann cells of axotomized peripheral nerves: Ultrastructural location, suppression by axonal contact, and binding properties. *J Neurosci.* 1988;8(2):664-81.
- Tay AB, Zuniga JR. Clinical characteristics of trigeminal nerve injury referrals to a university centre. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2007;36:922–927.
- Teng KK, Felice S, Kim T, Hempstead BL. Understanding proneurotrophin actions: Recent advances and challenges. *Dev Neurobiol* 2010;70:350–359.
- Terenghi G. Peripheral nerve regeneration and neurotrophic factors. *J Anat.* 1999; 194: 1-14.
- Thomas DA, Ren K, Besse D, Ruda MA, Dubner R. Application of nitric oxide synthase inhibitor, N omega-nitro-L-arginine methyl ester, on injured nerve attenuates neuropathy-induced thermal hyperalgesia in rats. *Neurosci Lett.* 1996;31;210(2):124-6.
- Thomas MB. Nerve Repair and Grafting. In: Green DP, Hotchkiss RN, Pederson WC, eds. *Green's Operative Hand Surgery.* Philadelphia: Churchill Livingstone.1999;1381-404.
- Thompson WR, Modla S, Grindel BJ, Czymmek KJ, Kirn-Safran CB, Wang L, Duncan RL, Farach-Carson MC. Perlecan/Hspg2 deficiency alters the pericellular space of the lacunocanalicular system surrounding osteocytic processes in cortical bone. *J Bone Miner Res.* 2011; 26:618–629.

- Torigoe K, Tanaka HF, Takahashi A, Awaya A, Hashimoto K. Basic behavior of migratory Schwann cells in peripheral nerve regeneration. *Exp Neurol*. 1996;137(2):301-8.
- Trelles MA, Mayayo E: Bone fracture consolidate faster with low power laser. *Lasers Surgical Medicine*. 1987, 7(1):36-45.
- Tsiridis E, Upadhyay N, Giannoudis P. Molecular aspects of fracture healing: which are the important molecules? *Injury* 2007;38(Suppl 1):S11–25.
- Tsuboi Y, Nakanishi T, Takano-Yamamoto T, Miyamoto M, Yamashiro T, Takigawa M. Mitogenic effects of neutrophins on a periodontal ligament cell line. *J Dent Res* 2001;80:881-886.
- Tuner J, Hode L. *Laser therapy: Clinical practice and scientific back-ground*. Grängesberg, Sweden: Prima Books AB, 2002:40- 44.
- Tunér J. Depth of penetration of laser light in tissue. *Laser Partner, Clinixperience-All Volumes*, Chapter 15, 2000.
- Urist M. Bone Formation by Autoinduction. *Science* 1965; 150(3698) :893-9.
- Urist MB, Johnson RW Jr. Calcification and ossification. IV. The healing of fractures in man under clinical conditions. *J Bone Joint Surg*. 1943;25: 375-426.
- Usuba M, Akai M, Shirasaki Y. Effect of low level laser therapy (LLLT) on viscoelasticity of the contracted knee joint: comparison with whirlpool treatment in rats. *Lasers Surg Med* 1998;22:81–85.
- Van Breugel HH, Bär PR. He-Ne laser irradiation affects proliferation of cultured rat Schwann cells in a dose-dependent manner. *J Neurocytol*. 1993;22(3):185-90.

- Varejão AS, Cabrita AM, Meek MF, Bulas-Cruz J, Melo-Pinto P, Raimondo S, Geuna S, Giacobini-Robecchi MG. Functional and morphological assessment of a standardized rat sciatic nerve crush injury with a non-serrated clamp. *J Neurotrauma*. 2004;21(11):1652-70.
- Verge VMK, Richardson PM, Wiesenfeld-Hallin Z, Hökfelt T. Differential influence of nerve growth factor on neuropeptide expression in vivo: a novel role in peptide suppression in adult sensory neurons. *J Neurosci*. 1995; 15; 2081– 2096.
- Vignery A, McCarthy TL. The neuropeptide calcitonin gene-related peptide stimulates insulin-like growth factor I production by primary fetal rat osteoblasts. *Bone* 1996;18:331-335.
- Vriens JPM, Moos KF: Morbidity of the infraorbital nerve following orbitozygomatic complex fractures. *J Craniomaxillofac Surg*. 1995, 23:363.
- Waller A: Experiments on the section of the glossopharyngeal and hypoglossal nerves of the frog, and observations of the alterations produced thereby in the structure of their primitive fibers. *Phil Trans Roy Soc*. 1850;140:423–429.
- Walsh DM, Baxter GD, Allen JM. Lack of effect of pulsed low-intensity infrared (820 nm) laser irradiation on nerve conduction in the human superficial radial nerve. *Lasers Surg Med*. 2000;26(5):485-90.
- Walsh L, Goharkhay K, Verheyen P, Moritz A. Low level laser therapy (LLLT). In: Moritz A (ed) *Oral laser application*. Berlin, Quintessenz. 2006; 521–539.
- Wang CZ, Chen YJ, Wang YH, Yeh ML, Huang MH, Ho ML, Liang JI, Chen CH. Marcolino AM, Barbosa RI, das Neves LM, Mazzer N, de Jesus Guirro RR, de Cássia Registro Fonseca M. Assessment of functional recovery of sciatic nerve in rats submitted to low-level laser therapy with different fluences. *An*

experimental study: laser in functional recovery in rats. *J Hand Microsurg.* 2013;5(2):49-53.

Wang CZ, Chen YJ, Wang YH, Yeh ML, Huang MH, Ho ML, Liang JI, Chen CH. Low-level laser irradiation improves functional recovery and nerve regeneration in sciatic nerve crush rat injury model. *PLoS One.* 2014a;13;9(8):e103348.

Wang JZ, Bai DC, Rao CM, Li WG, Gao MT, Wang XQ, Wu YJ. Effects of 2.5 s mouse nerve growth factor on regeneration of injured sciatic nerves in mice and rats, *Acta Pharmacol. Sin.* 1997, 18 504–510.

Wang L, Zhao Y, Cheng X, Yang Y, Liu G, Ma Q, Shang H, Tian L, Lei D. Effects of locally applied nerve growth factor to the inferior alveolar nerve histology in a rabbit model of mandibular distraction osteogenesis. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2009;38:64-9.

Wang L, Zhou S, Liu B, Lei D, Zhao Y, Lu C, Tan A. Locally applied nerve growth factor enhances bone consolidation in a rabbit model of mandibular distraction osteogenesis. *J Orthop Res* 2006;24:2238-45.

Wang Y, Chai Z, Zhang Y, Deng F, Wang Z, Song J. Influence of low-intensity pulsed ultrasound on osteogenic tissue regeneration in a periodontal injury model: X-ray image alterations assessed by micro-computed tomography. *Ultrasonics.* 2014b;54(6):1581-4.

Weber JB, Pinheiro AL, de Oliveira MG, Oliveira FA, Ramalho LM. Laser therapy improves healing of bone defects submitted to autologous bone graft. *Photomed Laser Surg* 2006;24:38–44.

Wessberg GA, Wolford LM, Epker BN. Experiences with microsurgical reconstruction of the inferior alveolar nerve. *J Oral Maxillofac Surg* 1982;40:651-5.

- Westermarck A, Jensen J, Sindet-Pedersen S. Zygomatic fractures and infraorbital nerve disturbances. Miniplate osteosynthesis vs. other treatment modalities. *Oral Surg Oral Diagn* 1992, 3:27.
- White TD, Folkens TA. *The human bone manual*. USA, Elsevier Academic Press; 2005;42-8.
- Wilson AD, Hart A, Brännström T, Wiberg M, Terenghi G. Delayed acetyl-L-carnitine administration and its effect on sensory neuronal rescue after peripheral nerve injury. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2007;60(2):114-8.
- Wollman Y, Rochkind S, Simantov R. Low power laser irradiation enhances migration and neurite sprouting of cultured rat embryonal brain cells. *Neurol Res*. 1996; 18: 467–470.
- Woodnutt DA, Wager-Miller J, O'Neill PC, Bothwell M, Byers MR. Neurotrophin receptors and nerve growth factor are differentially expressed in adjacent non-neuronal cells of normal and injured tooth pulp, *Cell Tissue Res*. 2000, 200 225–236.
- Xu X, Yee WC, Hwang PY, Yu H, Wan AC, Gao S, Boon KL, Mao HQ, Leong KW, Wang S. Peripheral nerve regeneration with sustained release of poly(phosphoester)microencapsulated nerve growth factor within nerve guide conduits. *Biomaterials*. 2003;24(13):2405-12.
- Xuejuan, G., Xing, D. Molecular mechanisms of cell proliferation induced by low power laser irradiation. *J. Biomed. Sci*. 2009; 16, 4.
- Yamada K: Biological effects of low power laser irradiation on clonal osteoblastic cells (MC3T3-E1). *The Journal of the Japanese Orthopedic Association*. 1991, 65(9):101-114.

- Yamamoto MK, D'Avila RP, Luz JG: Evaluation of surgical retreatment of mandibular fractures. *J Craniomaxillofac Surg* 2013, 41(1): 42e46,
- Yamashiro T, Fujiyama K, Fujiyoshi Y, Inaguma N, Takano-Yamamoto T. Inferior alveolar nerve transection inhibits increase in osteoclast appearance during experimental tooth movement. *Bone* 2000;26:663-669.
- Yan Q, Elliott J, Snider WD: Brain-derived neurotrophic factor rescues spinal motor neurons from axotomy-induced cell death. *Nature* 1992;360:753–755.
- Yan W, Chow R, Armati PJ. Inhibitory effects of visible 650-nm and infrared 808-nm laser irradiation on somatosensory and compound muscle action potentials in rat sciatic nerve: implications for laser-induced analgesia. *J Peripher Nerv Syst* 2011;16:130–5.
- Yan XZ, Ge SH, Sun QF, Guo HM, Yang PS. A pilot study evaluating the effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 and recombinant human beta-nerve growth factor on the healing of Class III furcation defects in dogs. *J Periodontol.* 2010;81(9):1289-98.
- Yang CC, Wang J, Chen SC, Hsieh YL. Synergistic effects of low-level laser and mesenchymal stem cells on functional recovery in rats with crushed sciatic nerves. *J Tissue Eng Regen Med.* 2013;7.
- Yeung YG, Stanley ER. Proteomic approaches to the analysis of early events in colony-stimulating factor-1 signal transduction. *Mol Cell BiolMCP.* 2003;2(11):1143–55.
- Yin Q, Kemp GJ, Frostick SP: Neurotrophins, neurones and peripheral nerve regeneration. *J Hand Surg Br.* 1998;23:433–437.

- You L, Kruse FE, Voşlcker HE. Neurotrophic factors in the human cornea, *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2000, 41 692– 702.
- Yu H, Liu J, Ma J, Xiang L. Local delivery of controlled released nerve growth factor promotes sciatic nerve regeneration after crush injury. *Neurosci Lett.* 2014;566:177-81.
- Yu H, Liu J, Ma J, Xiang L. Local delivery of controlled released nerve growth factor promotes sciatic nerve regeneration after crush injury. *Neurosci Lett.* 2014;566:177-81.
- Yu W, Naim JO, McGowan M, Ippolito K, Lanzafame RJ. Photomodulation of oxidative metabolism and electron chain enzymes in rat liver mitochondria. *Photochem Photobiol* 1997;66:866–71.
- Yuen EC, Howe CL, Li Y, Holtzman DM, Mobley WC. Nerve growth factor and the neurotrophic factor hypothesis. *Brain Dev.* 1998;18, 362–368.
- Zaffe D, Vitale MC, Martignone A, Scarpelli F, Botticelli AR. Morphological, histochemical, and immunocytochemical study of CO<sub>2</sub> and Er:YAG laser effect on oral soft tissues. *Photomed Laser Surg* 2004;22(3):185-189.
- Zhang R, Mio Y, Pratt PF, Lohr N, Warltier DC, Whelan HT, Zhu D, Jacobs ER, Medhora M, Bienengraeber M. Near infrared light protects cardiomyocytes from hypoxia and reoxygenation injury by a nitric oxide dependent mechanism. *J Mol Cell Card* 2009;46:4–14.
- Zhang X, Schwarz EM, Young DA, Puzas JE, Rosier RN, O’Keefe RJ. Cyclooxygenase- 2 regulates mesenchymal cell differentiation into the osteoblast lineage and is critically involved in bone repair. *J Clin Invest.* 2002;109(11):1405–15.

Zochodne DW, Cheng C. Neurotrophin and other growth factors in the regenerative milieu of proximal nerve stump tips. *J. Anat.* 2002;196, 279–332.

Zuniga JR, LaBanc JP. Advances in microsurgical nerve repair. *J Oral Maxillofac Surg* 1993;51:62-8.





## EK-1 Etik Kurul Onayı



T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
SAMSUN

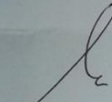
Sayı : B.30.2.ODM.0.20.09.00-050.04 -73  
Konu : Araştırma Projeniz hk.

12/10/2012

Yrd. Doç. Dr. Nilüfer ÖZKAN  
Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Hastalıkları Anabilim Dalı

2012/51 numaralı "Hasarlı Sinir Dokusu ve Kırık İyileşmesinde Uygulanan NGF ve LLL Tedavisinin Etkilerinin Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi" konu başlıklı Projeniz; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 11.10.2012 tarihli toplantısında görüşülmüş, Hayvan Hakları ve Deney Etiği açılarından uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Araştırmanın yürütüldüğü süreç içinde etik kurallar ve hayvan haklarına uygunluk yönünden sorumluluk araştırmacılar ait olmak kaydıyla ve 6 aylık dönemler halinde Çalışma Raporu verilmesi şartıyla çalışmanıza başlamanız uygun görülmüştür.

  
Prof. Dr. Feriät KOLBAKIR  
HADYEK Başkan

Alınan kararlar Kurul kararıdır. Kararla ilgili Kurul üyelerinin aranması etik değildir. İtirazlarınızı yazılı olarak Etik Kurul sekreterliğine başvurmanız gerekmektedir.

## **ÖZGEÇMİŞ**

**Adı Soyadı:** Esengül Bekar

**Doğum Yeri:** Samsun

**Doğum Tarihi:**10.08.1985

**Medeni Hali:** Bekar

**Bildiği Yabancı Diller:** İngilizce

### **Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):**

Atakent İlköğretim Okulu, Samsun (1992-1997)

Huriye Süer Anadolu Lisesi, Samsun (1992-2003)

Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Sivas (2004-2009)

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı (Doktora Programı), Samsun (2010-2015)

### **Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:**

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı (Doktora Programı), Samsun (2010-2015) (Doktora Öğrencisi)

Milano Üniversitesi, San Paolo Hastanesi, Maksillofasiyal Cerrahi Departmanı, İtalya (Nisan-Temmuz 2013) (Gözlemci)

### **E-posta:**

esengulbekar@yahoo.com