

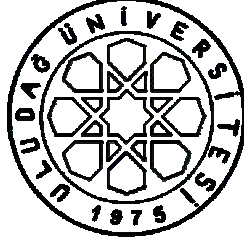
T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
CERRAHİ ANABİLİM DALI

TAVŞANLARDA KIRIK İYİLEŞMESİNDE HELYUM-NEON (HE-NE) VE
GALYUM-ALÜMİNYUM-ARSENİT (GA-AL-AS) LAZERİN KALLUS
FORMASYONU VE MİNERAL YOĞUNLUĞU ÜZERİNE ETKİLERİNİN
DENEYSEL ARAŞTIRILMASI

Aysu ALTIKARDEŞLER İLMAN

(DOKTORA TEZİ)

Bursa-2005



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
CERRAHİ ANABİLİM DALI

**TAVŞANLARDA KIRIK İYİLEŞMESİNDE HELYUM-NEON (HE-NE) VE
GALYUM-ALÜMİNYUM-ARSENİT (GA-AL-AS) LAZERİN KALLUS
FORMASYONU VE MİNERAL YOĞUNLUĞU ÜZERİNE ETKİLERİNİN
DENEYSEL ARAŞTIRILMASI**

Aysu ALTIKARDEŞLER İLMAN

(DOKTORA TEZİ)

Danışman: Prof. Dr. Kemal YANIK

Bursa-2005

İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET.....	II
İNGİLİZCE ÖZET.....	IV
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	7
Kırık İyileşmesi.....	9
Kırık İyileşmesini Olumsuz Etkileyen Faktörler.....	15
Kırık İyileşmesini Olumlu Etkileyen Faktörler.....	15
Tarihçe.....	16
Lazer Işığının Özellikleri.....	17
Medikal Lazerler.....	23
GEREÇ ve YÖNTEM.....	32
İstatistiki Yöntem.....	37
BULGULAR.....	38
Radyolojik Bulgular.....	38
Kanda Ca, P ve ALP Bulguları (Defekt Grubu).....	41
Kanda Ca, P ve ALP Bulguları (Osteosentez Grubu).....	43
Kanda Ca, P ve ALP Bulguları (20'şer Denek).....	44
Histopatolojik İnceleme Bulguları.....	50
Kallus Dokusunda Ca, P ve Ham Kül Bulguları.....	55
TARTIŞMA ve SONUÇ.....	57
EKLER.....	67
KAYNAKLAR.....	75
TEŞEKKÜR.....	82
ÖZGEÇMİŞ.....	83

ÖZET

Bu çalışmada, Helyum Neon (He-Ne) ve Galyum Alüminyum Arsenit (Ga-Al-As) lazerin kırık iyileşmesini hızlandırıcı etkisinin, kırık uçlarının osteojenik tabakasının kaynaşması için gerekli periostal ve endostal kallus oluşumunu erken dönemde sağlayıp sağlamadığının araştırılması ve buna bağlı olarak internal veya eksternal fiksasyonda kullanılan gereçlerin uzaklaştırılması için beklenmesi gereken periyodun kısaltılması ve erken fonksiyon kazandırılması amaçlanmıştır.

Çalışmanın materyalini yaşları ortalama 8-9 aylık, 60 adet beyaz Yeni Zelanda tavşanı oluşturdu. Bu çalışma iki bölüm halinde gerçekleştirildi. Birinci bölümde tibia'da defekt, ikinci bölümde ise deneysel kırık oluşturuldu. Her iki bölümde de n=30'ar adet tavşan uygulama için kullanıldı. Tavşanlar her bölümde Kontrol, He-Ne ve Ga-Al-As Lazer grubu olarak n=10'arlı üç gruba ayrıldı.

Operasyondan bir gün önce ve postoperatif 7., 14., 21. ve 28. günlerde tavşanların tibia'larının Antero-Plantar (A-P) ve Medio-Lateral (M-L) pozisyonlarda radyografileri alındı. Postoperatif radyografiler kırık ve defektli bölgelerdeki kallus formasyonu açısından değerlendirildi. Operasyondan bir gün önce ve postoperatif 7., 14., 21. günlerde kalsiyum (Ca), fosfor (P) ve alkalen fosfataz (ALP) ölçümleri için kan alındı. He-Ne lazer grubunda, operasyon bölgesine He-Ne lazer (632.8 nm) gün aşırı, 1000 Hz dozunda (9J) ve 15 dakika, Ga-Al-As lazer grubunda ise Ga-Al-As lazer (904 nm) gün aşırı, 1000 Hz dozunda (13.5J) ve 15 dakika süre ile toplam 12 seans uygulandı. Postoperatif 14. günde operasyon bölgesinden histopatolojik inceleme için kemik doku örneği alındı. Tüm olguların 35. günde ötenazi yapılmasını takiben, operasyon bölgesinden histopatolojik inceleme ve kemik külünden Ca, P ve Ham kül ölçülmesi amacıyla iki ayrı doku örneği daha alındı. Kandan ölçümleri yapılan Ca, P ve ALP, kemik külünden ölçümleri yapılan Ca, P ve ham kül bulguları istatistiki olarak değerlendirildi.

Tavşanlardaki Ca metabolizmasının farklı olması nedeniyle He-Ne ve Ga-Al-As lazerlerin kan Ca oranları üzerine anlamlı etkileri saptanamadı ($p>0,05$). Histopatolojik inceleme sonucunda He-Ne ve Ga-Al-As lazerin osteoblastik hücre gelişimini ve buna bağlı olarak da kemik rejenerasyonunu destekleyebileceği yönünde bulgular saptandı. Kemikte ham kül değerinin He-Ne lazer grubunda artmış olduğu saptandı ($p<0,05$). Bu artışın, lazerin diğer mineraller üzerindeki pozitif etkilerinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Radyolojik incelemede Ga-Al-As lazer uygulanan olgularda kallus yoğunluğu ve kırık

iyileşmesinin daha iyi olduğu, ALP aktivitesi üzerine ise He-Ne lazerin özellikle erken dönemde daha etkili olduğu saptandı.

Bu çalışmada implantların erken uzaklaştırılmasını ve hastaya erken hareket verilmesini destekleyici kallus formasyonunun ve mineral yoğunluğunun (Ca, P) özellikle tibia'nın kortikal kısmında yeterli olmadığı kanısındayız. He-Ne ve Ga-Al-As lazerlerin hasarlı kemik dokusu onarımını aktive ederek kemik rejenerasyonunu artırdığı görüşlerini destekleyebilecek bulgularımız olsa da, gerçekleri saptamak için, özellikle klinik olgular üzerinde birçok araştırma yapılmasının gerekli olduğu görüşündeyiz.

Anahtar sözcükler: Helyum Neon (He-Ne) lazer, Galyum Alüminyum Arsenit lazer, kırık iyileşmesi, tavşan.

SUMMARY

Experimental Research of the Effects of Helium Neon and Gallium-Aluminium-Arsenide Laser Irradiation on Callus Formation and Mineral Density in Fracture Healing in Rabbits

The aim of the study is to evaluate the effects of Helium Neon (He-Ne) and Gallium Aluminium Arsenide (Ga-Al-As) laser on the promotion of fracture healing and on the early formation of periosteal and endosteal callus formation so as to shorten the replacement period of the tools used for external and internal fixation and to gain earlier function capability.

A total of 60, 8-9 month old New Zealand White rabbits were used for the study. The experimental model was divided into two groups. Standard fixed round holes were created on the tibias in the first group. In the second group the tibias were transversally osteotomized. In both groups 30 rabbits were used. Each group were divided into 3 sub-groups as Control, He-Ne and Ga-Al-As groups each consisted of 10 rabbits.

Radiograms of the tibia were taken in Antero-Plantar (A-P) and medio-lateral (M-L) positions preoperatively and on 7th, 14th, 21st and 28th days postoperatively. Callus formations on the osteotomy sites and on hole defects were evaluated. Blood samples were taken preoperatively and on 7th, 14th and 21st days postoperatively for calcium (Ca), phosphorus (P) and alkaline phosphatase (ALP) analysis. In laser groups a dose of 1000 Hz. were used for both He-Ne (632,8 nm, 9J) and Ga-Al-As (904 nm, 13.5J) groups during 15 minutes at one day intervals for a total of 12 sessions. Postoperatively on the 14th day, bone samples were taken for histopathological analysis. Postoperatively on the 35th day the animals were euthanised and bone samples were taken for both histopathological and bone ash analysis. Blood Ca, P and ALP and also Ca, P and ash content of the total bone ash were statistically analysed.

No significant differences were observed ($p > 0,05$) in blood Ca levels in laser groups which the reason is thought to be the different Ca metabolism in rabbits. Histological analysis showed that He-Ne and Ga-Al-As stimulated the osteoblastic activity in combination with a regeneration in the bone tissue. The bone ash value was found to be higher ($p < 0,05$) in the He-Ne laser group. In the radiological evaluation, fracture healing and callus formation was found to be better in the Ga-Al-As group. For the ALP activity, He-Ne laser was detected to be more effective especially in early period of bone healing.

We believe that the callus formation and mineral intensity of the newly formed bone was not strong enough for the implant extraction or for an early movement capability of the patient. Although we believe that He-Ne and Ga-Al-As lasers stimulated the repair process of injured bone tissue and also activated the regeneration process of bone by the stimulation of ossification; further studies are needed to elucidate the effects of low power laser therapy on bone regeneration process.

Key words: Helium Neon (He-Ne) laser, Gallium Aluminium Arsenide laser, fracture healing, rabbit.

GİRİŞ

LAZER (“LASER”) “Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation” İngilizce sözcüklerin ilk harflerinden oluşmuş bir kısaltmadır. Bu cümlenin anlamı “Radyasyonun uyarılmış yayımı ile ışığın güçlendirilmesi” şeklinde ifade edilmektedir (1-5).

Lazer; elektromanyetik türünde ve fotonik cinsinden bir ışıdamadır. Yani bir ışıktır. Bir atom ile elektromanyetik bir ışımaya arasındaki enerji değiş tokuşları ile elde edilir. Bu enerji değiş tokuşları fotonlar biçiminde gerçekleşir (3, 4, 6, 7).

Lazerin bilimsel olarak keşfedilmesi ve yine bilimsel prensiplerinin saptanmaya başlanması 19. ve 20. yüzyıl başlarına dayanmaktadır. Lazer dalgaları ile ilgili teoriler 1864 yılında Maxwell tarafından, Quantum teorisi 1905 yılında Plank tarafından ve atomik yapı ile ilgili teoriler ise 1913 yılında Bohr tarafından ortaya konmuştur (2, 8).

Lazerin gerçek babası 1917 yılında radyasyonun stimule edilmiş emisyonu teorisini oluşturan Einstein olarak kabul edilmektedir (2, 9). İlk kez Yakut lazerin 1960 yılında T.H. Maiman tarafından geliştirilmesini takiben, lazer sağaltımı tıp ve diş hekimliği alanında geniş ve hızla yayılan kullanım alanı bulmuştur. Maiman, birkaç yıl içinde değişik tür lazerler üzerine de çalışarak 1961’de Helyum Neon (He-Ne) ve Nd:Yag lazeri, 1962’de Argon lazeri ve 1964 yılında da CO₂ lazeri araştırmış ve uygulamaya koymuştur. Böylece He-Ne, Galyum Alüminyum Arsenit (Ga-Al-As), Argon ve CO₂ lazer gibi lazer tipleri farklı dozlarda ve farklı sağaltım prosedürleri çerçevesinde kullanılabilir hale gelmiştir (1, 2).

Veteriner hekimliğinde lazer ışınının sağaltımda kullanılmaya başlanması, insan hekimliğinde kullanılmaya başlanmasından daha sonra olmuştur. İnsan hekimliğinde lazer ışınları 1961 yılının başlarından itibaren yara iyileşmesini hızlandırmada non invaziv bir yöntem olarak kullanılmaya başlanmasına rağmen, veteriner hekimliği alanında ancak 1970’li yılların ortalarına doğru, yine yara sağaltımında kullanılmaya başlanmıştır (1, 4, 10-14). Özellikle 1975-1990 yılları arasında da fiziksel sağaltımın temel taşı haline geldiği belirtilmektedir (3, 15, 16).

Kökene ne olursa olsun lazer görünen veya görünmeyen bir ışıktır. Her ikisi de fotonik kökenlidir. Ancak lazer ışını ile normal ışık arasında gerçek anlamda bazı farklar bulunmaktadır. Örneğin; lazer ışınında fotonlar birbirine uygundur, ışınlar birbirlerine paralel seyrederek, ışın demetlerindeki ışınlar aynı dalga boyuna sahiptir, tek yönlülük, tek

renklilik, parlak ve çok kuvvetli ışıklılık vardır. Normal ışıkta; fotonlar birbirlerine uygun değildir, çok yönlülük, çok renklilik ve zayıf ışıklılık vardır (2, 7, 17-19).

Lazer ışınının başlıca beş biyolojik etkisinin olduğu belirlenmiştir. Bunlar: 1-Isı etkisi, 2-Elektriksel etki, 3-Mekaniksel etki, 4-Foto-kimyasal etki ve 5-Biyo-uyarıcı etkidir. Biyo-uyarıcı etki, düşük enerjili atermik lazer (soft laser, yumuşak lazer) ışımına ilişkin bir özelliktir. Düşük enerjili atermik lazer ışını, hedef olarak seçilen hücrelere fotonik bir enerji bırakır ve bu enerji o hücrelerce emilir. Hedef olarak seçilen hücreler de kendi metabolizması için kabul edilen fotonik enerjiyi kullanırlar. Düşük enerjili olarak isimlendirilmesinin nedeni; lazerin ürettiği enerji yoğunluğunun az, uygulandığı yerde neden olduğu ısı artışının 0.1-0.5° C sınırlarında olmasındandır. Biyolojik etkinin, termal etkiden çok doğrudan doğruya lazer ışınının kendisinden kaynaklandığı belirlenmiştir (20-23).

Artmış sirkülasyona bağlı olarak bölgede 0.5-1° C lokal ısı artışı olacaktır. Fakat biyolojik etkinin bu ısınmayla hiçbir ilgisi yoktur. Düşük enerjili lazer, Low Level Laser (LLL) ile sağaltım uygulanan dokularda bildirilen ısı artışının, doku tipine, dalga boyuna ve lazer cihazına da bağlı olarak 0.1 °C -1° C'ye ulaşabildiği bildirilmiştir (24).

Medikal alanda kullanılmakta olan bir çok lazer tipi vardır. He-Ne, Ga-As, Ga-Al-As, CO₂ ve Excimer lazerler bunlardan en popüler olanlarıdır. Bunlar ayrı ayrı cihazlarda bulunabildikleri gibi, aynı cihaz üzerinde de bulunabilirler (25).

He-Ne lazer ahenkli ışık kaynağının da ilki olmuştur. Kullanımının bu ahenkli ışık kaynağından sağlanması ile birlikte ışığın, kısmen de kırmızı ışığın, stimüle edici etkileri yeniden keşfedilmiştir (17, 18). He-Ne lazer rahatça bulunabilen ilk lazer olduğu için 30 yılı aşkın zamandır, dış hekimliğinde kullanılmaktadır (13, 26, 27).

Düşük enerjili lazerin etki mekanizmasının, hücresel çoğalmayı, kollajen yapımını ve fibroblast aktivitesini stimüle etmek, DNA ve RNA sentezini, doku vaskülarizasyonunu, yara iyileşmesinde keratinosit migrasyon oranını arttırmak ve immun cevabı değiştirmek olduğu belirlenmiştir (2, 3, 7, 20, 24, 28-32). Bunun dışında lazer ışınlarının serotonin, endorfin ve kortizon üretiminde artış gibi endojen kökenli değişimlerle analjezik ve antiinflamatuvar etkilerinin olduğu da edinilen sonuçlar arasında bulunmaktadır (13, 31, 33).

Düşük enerjili lazer ile irradie edilmiş dokularda intraosseöz kan akımının %80 oranında, oksijen birikiminin ise %15 oranında arttığı saptanmış, böylece de düşük enerjili lazer tedavisi, Low Level Laser Therapy (LLLT)'nin aynı zamanda lokal kan akımını

artırdığı, sirkülasyondaki hücrelerin, besinin, oksijenin ve inorganik tuzların kemik defektinde birikimini arttırdığı saptanmıştır (34, 35).

Lazer ile hücre biyostimülasyonu mekanizması hala birçok çalışmanın konusunu oluşturmaktadır. Örneğin RNA sentezini arttırması ile birlikte, respiratuvar zincirin komponentlerinin veya ekstrasellüler komponentlerin aktivasyonu, biyostimülasyonun nedenleri olarak tartışılmaktadır. Bu şekilde lazer sağaltımını takiben ekstrasellüler komponent aktivasyonunun nedeninin serbest bir radikal olan singlet oksijen olabileceği düşünülmektedir. Porfirinler ve sitokromlar hücre içinde yerleşmiş doğal foto akseptörlerdir. Bunlar, lazer ışığının hücre içine absorpsiyonunu sağlamakta ve bu da singlet oksijen üretimi ile sonuçlanmaktadır. Singlet oksijen, mitokondrideki redoks aktivitesini, DNA ve RNA üretimini ve sitoplazma içine Kalsiyum (Ca) girişini stimule ederek, mitozis ve hücre proliferasyonunu sağlamaktadır (24, 34, 36).

Geçtiğimiz yıllarda lazer ışığının, özellikle de düşük enerjili lazerin, yumuşak ve sert dokulardaki etkileri incelenmiştir. Yumuşak dokuda iyi bir iyileşme, hasar görmüş sinirlerde hızlı bir rejenerasyon ve büyüme faktörlerinin salınımına bağlı yeni kapillar oluşumunda artış, hücre nükleusundaki DNA ve RNA sentezinin stimülasyonu ve fibroblastların miyofibroblastlara transformasyonu lazerin olumlu etkileri arasındadır (6, 7, 15, 16, 18, 24, 28, 34, 37-39).

Düşük enerjili atermik lazerlerin en sık; ortopedi ve travmatolojide, romatolojide, dermatolojide, anjiolojide kullanıldığı ve etkilerinin; antifilojistik, spazmolitik, analjezik, hücrel biyo-uyarım ve granülasyonu uyarıcı olduğu saptanmıştır (20, 21, 33, 40, 41).

Genellikle kemiğin iyileşme prosesi yumuşak dokulardan daha yavaş olmaktadır (41). Oysa düşük enerjili lazer sağaltımının deneysel olarak kırık iyileşmesi üzerine pozitif etkilerinin olduğu, kemik rejenerasyonunun düşük enerjili lazer sağaltımı ile hızlandırıldığı saptanmıştır. Bu saptama, morfojenik, biyokimyasal, radyolojik ve elektron mikroskopik ölçümler sonunda gerçekleştirilmiştir ve birçok umut verici sonuçlar sunulmuştur (9, 42-44).

Trelles ve Mayayo (45), fare tibialarında düşük enerjili lazer kullanmışlar ve optik mikroskop kullanarak vaskülarizasyonda artış ve kemiksel doku oluşumunda hızlanma gözlemlemişlerdir.

Ga-Al-As uygulaması ile gerçekleştirilen düşük enerjili lazer sağaltımı sonucu oluşan etkinin, artan metabolik hız ve buna bağlı oluşan hızlı iyileşme prosesi olduğu düşünülmektedir. Düşük enerjili lazerin osteoblastlar ve kalsifikasyon üzerine etkilerinin

araştırıldığı bir çalışmada (1), LLLT'yi takiben gerçekleştirilen X ışığı mikro analizi sonucunda lazer uygulanmış kemiklerde, Ca ve P'da önemli miktarda artış gözlenmiştir. Bu minerallerdeki artış nedeninin ise LLLT'yi takiben osteoblast farklılaşmasındaki artış olduğu kanısına varılmıştır. Böylece düşük enerjili lazer irradyasyonunun kalsifikasyona pozitif etkisinin olduğu sonucuna varılmıştır. Osteoblast proliferasyonu kayıp kemiğin rejenerasyonu için klinik olarak oldukça önem taşıyan bir bulgu olarak kabul edilmektedir. LLLT'nin kollajen üretimini aktive etme ve artırma etkisinin kemik onarımında daha iyi bir kemik matriks üretimine sebep olabileceği düşünülmektedir. Sert doku ile ilgili bir çok araştırma yapılmış, hatta farelerdeki kemik kırıklarında 3 hafta boyunca hergün He-Ne lazer irradyasyonu uygulanmış ve daha sıkı ağ yapısına sahip trabekül oluşumu gösteren kemik dokusunun daha hızlı oluştuğu izlenmiştir (24, 25, 32). Yamada (29) ile Barushka ve arkadaşları (46), He-Ne lazerin osteoblastik hücrelerde proliferasyon ve osteoklast popülasyonunda artışa neden olduğunu, bunların da ALP ve Tartrate-Rezistant Asid Fosfataz değişimleri ile ortaya konarak, differansiyasyon ve kalsifikasyonuna pozitif etki ettiğini saptamışlardır.

LLLT'nin, hücrel biyo-uyarım etkisi sonucunda kemikteki her türlü defektte, erken dönemde uygulandığı takdirde, özellikle osteoblastlar olmak üzere hücrel proliferasyonu stimüle ettiği saptanmıştır (47). Kahadro ve arkadaşları (34) ile Ueda ve Shimizu (48), ALP aktivitesinde irradyasyondan sonraki 12. ve 15. günlerde önemli artışlar saptamışlardır. Yapılan başka bir çalışmada, lazer sağaltımının kırık onarım süresini kısaltmada etkilerinin olduğu fakat kırık oluşumundan sonraki 3., 4. ve 5. haftalar, ALP aktivitesi için geç dönem olarak kabul edildiğinden, ALP cevabında önemli bir değişiklik oluşmadığı saptanmıştır. Nitekim ALP'nin erken dönemlerde arttığı bilinmektedir (49).

Lazer biyostimülasyonunun kartilaj onarımı üzerine etkileri düşük enerjili Ga-Al-As diode lazer kullanımı ile in vitro araştırılmış ve sağaltım sonunda irradiye edilmiş kondrosit canlılığı önemli ölçüde yüksek bulunmuştur (50, 51).

Yüksek dalga boyları, düşüklere oranla yayılmaya daha dirençli olduğundan, deriden daha derin dokulara penetre olabilmektedir. 632,8 nanometre (nm)'lik lazerin, yoğunluğunun %37'sini kaybetmeden önce 0.5-1 mm penetre olabildiği bildirilmiştir (38, 52). Diğer taraftan infrared dalga boyları enerjilerinin bir bölümünü kaybetmeden önce 2 mm penetre olabilmektedirler. Bu da kemik dokuda infrared lazer ışını için endikasyonu çok net açıklamaktadır (24, 38).

Düşük enerjili lazerin kemik rejenerasyonu üzerine etki mekanizması, kemik oluşumunu indükleyen madde olarak kabul edilen Bone Morfogenetik Protein (BMP)

kullanımı ile de araştırılmıştır. Kollajen kökenli BMP pelet, farenin sırt derisi içine subkutan olarak implante edilmiş ardından da bir gruptaki BMP implante edilmiş yaraya düşük enerjili lazer uygulanmıştır. Kemik mineral içeriği ve niceliğinin artması sonucunda lazer grubu, kontrol grubuna göre daha üstün olarak saptanmıştır. Ayrıca lazerin BMP kemik artma sistemini aktive ettiği buna bağlı olarak da kemik rejenerasyonunu aktive ettiği ortaya konmuştur (53).

İrradiye edilmiş sujelelerde büyük miktarda kollajen fibrillerin bulunması lazer gruplarındaki en önemli bulgu olarak kabul edilmektedir ve bu bulgu LLLT'nin kemik onarımı üzerindeki erken etkilerini gösterebilir. Büyük miktardaki kollajen fibrilleri matriks mineralizasyonunun ardından yeni kemik oluşumu artışını göstermektedir. Bu çalışmalarda hem kemik, hem de yumuşak dokularda pozitif etkileri olduğu saptanan 1-5 J/cm² dozlar kullanılmıştır. Literatür, biyomodüler etkilerin doza bağımlı olduğunu göstermektedir (5, 38, 54).

LLLT, büyüme faktörleri ve sitokinlerin dolaşım sistemine salınımını stimüle etmekte ve böylece deneysel sujenin sağaltım görmemiş bölgesinin de etkilenmesini sağlamaktadır. Bu da internal kontrol grubu kullanan çalışmalarda, LLLT'nin faydalı etkilerinin net saptanamamasının bir nedeni olmaktadır (13, 34, 37, 55).

Düşük enerjili lazer ile kemik kırık onarımında dalga boyunun, enerji çıkışının, enerji seviyesinin, yayılan ışığın ve sujeye verilen pozisyonun etkileri henüz netlik kazanmamıştır. Gelişmiş hücre tipi düzeyleri için, dozimetri ve işlevin mekanizması açısından spesifik bir sağaltım prosedürü oluşturulamamıştır (28, 56).

Lazer ışınının penetrasyonunda kesin bir limit bulunmaz. Işın penetre ettiği yüzeyden uzaklaştıkça güçsüzleşir. Işın yoğunluğunun öyle yetersiz olduğu bir limit vardır ki, ışın hiçbir biyolojik etki gösterememektedir. Penetrasyon derinliği aynı zamanda doku tipine, pigmentasyona ve deri üzerindeki kire bağlıdır. Yağ dokusu, kas dokusundan çok daha geçirgen olarak kabul edilmektedir (11).

Düşük enerjili lazer ışın türlerinde frekans olarak 10-60 Hz analjezik etki, 100-800 Hz hücresele uyarı ve 1000-10000 Hz antienflamatuvar etki için kullanılabilir. Enerji yoğunluğu ise W/cm² ve J/cm² olarak kullanılmaktadır. Lazer ışınları hedeflenen kemik üzerine mutlaka dikey olarak yönlendirilmelidir. Eğik olarak uygulandığında ışığın kırılması ve yansımaları oluşur, hedef olarak seçilen hücrelere ulaşamaz (57).

Amaç:

Bu çalışmanın amacı, 1-He-Ne ve Ga-Al-As lazerin kırık iyileşmesini hızlandırıcı etkisinin, kırık uçlarının osteojenik tabakasının kaynaşması için gerekli periostal ve endostal kallus oluşumunu erken dönemde sağlayıp sağlayamadığının araştırılması ve 2-buna bağlı olarak internal veya eksternal fiksasyonda kullanılan gereçlerin uzaklaştırılması için normalde beklenmesi gereken periyodun kısaltılması ve erken fonksiyon kazandırılması olmuştur.

GENEL BİLGİLER

Tüm evcil tavşanların Avrupa vahşi tavşanı olan *Oryctolagus cuniculus*'tan geldiği bilinir. Gözler diğer türlere göre daha lateralde bulunmaktadır. Bu da panoramik görme alanı sağlamaktadır. Kusma yetenekleri bulunmamaktadır. Dişler açık köklüdür ve sürekli gelişirler. Diğer rodentlerden iki çift daha fazla insisiv dişlerinin olması ile ayrılırlar. Vücut ağırlıkları ise ırka göre farklılık göstermekte; 1 kg ile 10 kg arasında değişmektedir (58).

Tavşanlardaki Ca metabolizması diğer memelilerden çok farklıdır. Diğer memelilerdeki hormonal regülasyondan farklı olarak aldıkları diyetteki Ca miktarına göre kan Ca oranında ani dalgalanmalar olabilmektedir. Metabolizmaları hipo ve hiperkalsemiye karşı uyum göstererek iyonize kalsiyum konsantrasyonlarını paratroid hormonu (PTH) sekresyonunda hızlı değişiklikler oluşturarak düzenlemektedir (59).

Kemik dansiteleri çok düşüktür. Karşılaştırma yapmak gerekirse kedininkinin yarısından azdır. Buna bağlı olarak iskeletleri çok narindir ve vücut ağırlığının sadece %7-8'ini oluşturacak kadar hafiftir (Kedide bu oran %13'tür). Uzun kemikler ve bel omurları etrafında güçlü kaslar bulunsa da, kırılmaya oldukça eğilimlidirler (60). Ön ekstremiteleri, arka ekstremitelerin aksine oldukça kısadır. Tibiaları diğer birçok türde olduğu gibi diz ekleminin altından itibaren yoğun bir kas tabakası ile korunmamaktadır. Bu durum, sadece deri ve zayıf bir bağ doku ile örtülü olan medial diafiz ve distal bölümlerin kolayca travmatize olmasına önemli predispozisyon oluşturmaktadır. Yine tibianın distal 1/4'ünde musküler insersiyonlar ve özel periostal vaskülarizasyon bulunmadığından, kemiğin distal diafiz-epifiz birleşme yeri ancak nutritif arterlerin terminal kolları ile beslenebilmektedir. Kemiğin bu kısmındaki beslenmenin yetersiz olması, buna bağlı olarak da kallus oluşumu için gerekli olan hematoma daha zor oluşması nedeni ile tibia, vücutta onarımı en yavaş olan kemiklerden biridir (61-65).

Bilindiği gibi kemik, organik (% 35) ve inorganik (% 65) maddelerden oluşur. Organik kısımda Tip I kollagen (% 90-95), inorganik kısımda başlıca kalsiyum hidroksiapatit [$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$] bulunur. Vücuttaki kalsiyumun hemen hemen tümü, fosfor, sodyum ve magnezyum'un da büyük bir kısmı kemikte bulunmaktadır. Kemikleşme temel olarak, kalsiyum hidroksiapatit'in kemik matriksi üzerine çökmesidir. Kemiklerin mineralizasyonunda D vitamininin önemli rolü vardır. Organik kısım hücrelerden ve proteinlerden oluşur. Başlıca hücreler osteoblastlar, osteositler,

osteoklastlar ve osteoprogenitör hücrelerdir (66, 67). Kemik dokuda bulunan 5 tip hücre olduğu kabul edilmektedir. Osteojenik hücreler, kırıklar gibi travma olaylarında kemik oluşturucu ve kemik yıkımlayıcı hücelere dönüşmektedir. Osteoblastlar kemik yapıcı hücreler olarak bilinirler, mineralize olmamış temel maddeler salgırlar ve kemik içinde yüksek metabolik faaliyete sahip bölgelerde bulunurlar. Osteositler kendi etraflarında kemik doku oluşturabilen osteoblastlar tarafından üretilen matür kemik hücreleridir. Bu hücreler bazı enzimler salgılayarak ve kemik mineral içeriğini kontrol ederek kemik dokusunun canlılığının devam etmesini sağlamaktadırlar. Bunlar aynı zamanda kemik dokusundan kana kalsiyum salınımını kontrol etmektedirler. Osteoklastlar kemik dokusunu yıkımlayan büyük hücrelerdir. Kemik gelişiminde, iyileşmesinde ve remodelizasyonda büyük önem taşımaktadırlar. En son hücre tipi ise bone-lining hücrelerdir. Bu hücrelerin görevlerinin, kemikten içeri ve dışarı Ca ve P alış verişini sağlamak olduğu düşünülmektedir (63, 66-68). Organik bölümdeki proteinlerin büyük çoğunluğunu oluşturan Tip I kollagen, osteoidin de ana maddesidir. Kemikte; osteokalsin, osteopontin ve osteonektin gibi maddeler de bulunur. Kemik matriksinin en önemli non-kollajen komponenti *osteokalsin*' dir. Osteokalsinin serum düzeyi, osteoblastik-osteoklastik aktivitenin derecesini yansıtır. *Osteokalsin ve kemik sialo proteini(BSP)*, osteoblastik farklılaşmanın geç dönemlerinin karakteristik göstergeleri olarak kabul edilir. BSP, matriksin bir proteinidir. Mineralizasyon için temel olarak kabul edilir ve osteogenezisin geç safhalarında saptanmıştır. Her ikisi de embriyonik stem hücre kültüründe 4. haftada identifiye edilmişler ve kültürün bu döneminde identifiye edilen bu hücreler “matür” osteoblastları simgelemiştir. En çok bulunan non kollajen protein *osteonektin*' dir. Gelişmekte olan kemiklerde, odontoblastlarda, testis interstisyel hücrelerinde ve adrenal bezde bulunur. Fosforlu bir glikoproteindir ve kalsiyum iyonlarına bağlanma affinitesi çok yüksektir. Osteojenik gelişmenin erken döneminde osteoblastlar fosforlu bir glukoprotein olan osteopontin salgırlar. Osteopontin, tüm vücuttaki bir çok doku hücresinde bulunmaktadır. Plazma, idrar, safra ve süt gibi birçok vücut sıvısında bulunduğu gibi mineralize dokuya daha yatkındır. Buna göre de kemik oluşumu ve remodelizasyonu ile ilişkilidir. İn vitro çalışmaların bir çoğunda rat osteopontini, hidroksiapatit'e bağlanmış ve kalsiyum iyonlarına affinitesi olduğu saptanmıştır (28, 55, 69).

Kemiklerin genetik olarak kodlanmış olan biçimlerini alma sürecine *modelizasyon*, erişkinlik boyunca görülen ve birbirini izleyen yapım/yıkım sürecine de *remodelizasyon* adı verilir. Normalde, vücuttaki tüm kemikler sürekli bir yapım yıkım durumundadırlar.

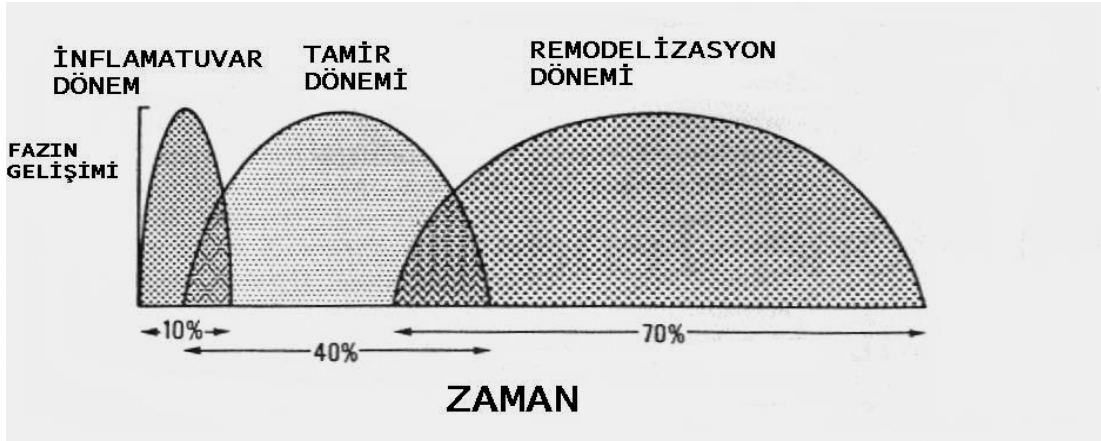
Temel çok hücreli birim tarafından yönlendirilen bu süreç; sistemik hormonal etkilerin yanı sıra, yerel olarak üretilen maddelerin kontrolündedir. Osteoblastik aktivite resorpsiyonu, resorpsiyon da osteoblastik aktiviteyi uyarır. Kemik dokusu kemik mineralizasyonu adı verilen fizyolojik bir mekanizma ile kalsifiye olabilen özelleşmiş bir konnektif dokudur. Kemik metabolizmasındaki en önemli hücre tipleri, osteoblastlar ve hematopoetik osteoklastlardır. Her iki hücre tipi de kemik remodelizasyonu ile ilişkilidir. Yapım yıkım süreci, normal kortikal kemikte ortalama 100 gün, trabeküler kemikte 200 gün sürer. Ekstrasellüler matriks proteinlerinin en sonuncusu, Vitamin K'ye bağımlı karboksiglutamik asit'tir ve osteokalsin içerir. Bu proteinlerin fonksiyonu, osteoklastların devreye girmesini sağlamaktır. Matriks mineralizasyonun membrana bağımlı glikoproteini olan ALP salınımı ile başlatıldığı düşünülmektedir. ALP, osteoblastlar içinde fazla miktarda bulunmaktadır. ALP'nin osteogenezisin erken safhalarında rol aldığı varsayılsa bile, bu enzimin kemik gelişimi üzerine etkisi kesinlik kazanmamıştır. Doku iyileşmesinde, düşük radyasyon dozlarında ışık enerjisinin intrasellüler kromoforlar yani porfirinler ve sitokromlar tarafından absorbe edildiği ve respiratuvar zinciri de kapsayan metabolik enerjiye çevrildiği saptanmıştır. Bu enerji mitokondriden Ca salınımı ve ATP üretimi gibi hücre aktivitesini düzenleyen ve arttıran metabolik proseslere etkir (55, 66, 67, 70).

Kırık İyileşmesi:

Dıştan veya içten etki eden kuvvetlerle, kemik dokusunda oluşan ayrılmaya veya bu nedenlerle kemiğin anatomik bütünlüğünün ve devamlılığının bozulmasına “**Kırık**” denir. Kemikteki kırılma, etki eden kuvvetlerin derecesine ve kemiğin şoku absorbe edebilme özelliğine göre ufak bir çatlaktan bir veya bir çok kemiğin kırılmasına; hatta komşu eklemlerde çıkığın eşlik etmesine kadar değişiklik gösterebilir. Kırığı oluşturan kuvvet sadece kemiği kırmayıp, beraberinde kemiğin etrafındaki kaslar, tendonlar, ligamentler, damarlar, sinirler, komşuluğundaki diğer organları ve deriyi de yaralayabilir (63, 66, 71).

Fizyolojik reaksiyonlar, bozulan kemik bütünlüğünün yeniden sağlanmasına yöneliktir. Kemik, skar dokusu oluşturmaz, yeniden yapılanmayla iyileşir. Kırık iyileşmesi, kırık olduğu andan itibaren başlar, düzenli kemik doku ile kırık uçları birleşinceye kadar devam eder. Cruess ve Dumont'a göre ikincil kırık iyileşmesinin 3 evresi vardır. Bunlar: Yangı (Enflamasyon) evresi, onarım (Reperasyon) evresi, yeniden şekillenme (Remodelizasyon) evresidir (Şekil 1). Bu üç dönem, biri bitmeden diğeri başlayarak devam eder ve en uzun süreni remodelizasyon dönemidir. Histolojik olarak iyileşme

süresindeki evreler birbirinden zaman olarak kesin sınırlarla ayrılamaz ve her evre daima kendinden bir önceki veya bir sonraki evre içinde bulunur. Histolojik görünümüne göre yapılan sınıflamalarda ufak farklılıklar hariç, genel olarak aynı bulgular kabul edilip benzer sıralamalar yapılmıştır (67, 71).



Şekil-1: Cruess ve Dumont'a göre ikincil kırık iyileşmesi (67)

1-Yangı (Enflamasyon) Evresi (1-4 gün):

Bir kemik kırıldığı zaman matriks'te yıkıma, hücrelerde ölüme, periosteum ile endosteumda yırtıklara ve kırık kemik uçlarında yer değişimine neden olur. Tüm doku travmalarında, dolayısıyla kırıklarda, ilk verilen yanıt "enflamasyon" yani "yangı"dır. Travmanın şiddetine bağlı olarak, kırık uçları komşuluğundaki periost, çevre yumuşak dokular ve damarlar hasar görür. Kırık uçlarını karşılıklı çaprazlayan kan ve lenf damarlarının hasar görmesiyle, bu uçlar arasındaki kemik iliğinde ve etrafında, kan ve lenf sıvısı toplanır. Kanamanın pıhtılaşması ile kırık uçları arasında, periost altında ve periost yırtılmışsa bunun etrafında hematom oluşur. Hematom sağlam yumuşak dokular tarafından sarılır. Kırık hematomu, onarım hücrelerinin gücünü kolaylaştıracak fibrinden bir yapı iskeleti sağlamaktadır. Ayrıca kırık hematomunda bulunan trombositler ve diğer hücrelerden, büyüme faktörleri ve bazı proteinler salınır. Bunlar, kırık onarımında yeri olan hücre göçünde, periostal hücre çoğalmasında ve onarım dokusu matriksinin sentezinde araçdırlar (71).

Vazodilatasyon ve plazma eksudasyonuna bağlı olarak, kırık bölgesinde ilk 24 saat içinde ödem oluşur. Polimorf çekirdekli lökositler, monosit ve lenfositleri içeren akut yangı hücreleri ödemli bölgeye doğru göç eder (67, 71).

Hasarlı dokular ve plateletler; vazoaktif mediatörleri, growth faktörlerini ve diğer sitokinleri serbest bırakırlar. Bu sitokinler hücre migrasyonunu, proliferasyonunu, farklılaşmasını ve matriks sentezini etkilerler. Büyüme faktörleri; fibroblastları, mezenşimal hücreleri ve osteoprogenitor hücreleri kırık sahasına toplamaktadırlar (72).

Kemik İyileşmesindeki Önemli Sitokinler (Kemik Uyarıcı Faktörler):

Farklılaşmamış mezenşimal hücrelerin mitozunu destekler ve yeni kemik hücrelerinin oluşumuna yol açarlar (67, 71, 72).

Bone Morphogenetic Protein (BMP):

Osteoinduktif bir sitokindir. Mezenşimal hücrelerin osteoblastlara metaplazisini sağlar. BMP için hedef hücreler farklılaşmamış perivasküler mezenşimal hücrelerdir. Mezenşimal hücrelerin kırıkta ve kemik hücrelerine farklılaşmasına, ektopik kemik uyarımının artmasına neden olduğu ileri sürülmüştür (55, 67).

Transforming Growth Factor beta (TGF- β):

Dönüştürücü büyüme faktörüdür. Enflamasyon ve doku onarımından sorumludur. Ayrıca osteoblastların kollajen üretimini sağlar. En önemli kaynağı kemiğin hücre dışı matriksi ve trombositlerdir. Onarım zincirinde rol almak üzere trombositlerden de salınır. Granülasyon dokusu oluşumuna etki eder (37, 55, 67).

Platelet Derived Growth Factor (PDGF):

Trombosit kaynaklı büyüme faktörüdür. Fibroblast ve kemik hücreleri için mitojeniktir. Kırık sahasında yerel olarak bulunabildiği gibi, kan dolaşımında da bulunmaktadır. Bağ dokusunda kollajen sentezini artırır. Fibroblast çoğalmasını, mezenşimal hücre mitozunu, monosit ve makrofajların kırık bölgesine göçünü artırır (37, 67).

Fibroblast Growth Factor (FGF):

Fibroblast proliferasyonunu stimüle eder. Kırıkta ve fibroblastlar için mitojeniktir. Kırıkta oluşumu aşamasında kallusu genişletir. Yüksek dozda, kemik gerilimini artırır (37).

İnterleukinler:

Makrofaj ve monosit kökenlidirler. IL-1 fibroblast çoğalması, kollajenaz ve prostoglandin E 2 (PGE2) üretimiyle ilgilidir. Ayrıca osteoklastlar üzerine etkisiyle, kemik geri emilimini de etkiler.

Plazma Fibronektini, Somatomedin C, EGF, CDGF, MDGF, ECGF, ECDGF ise kırık iyileşmesi ile ilişkili bilinen diğer sitokinlerdir (37, 67, 72).

2-Onarım (Reperasyon) Evresi :

Onarım evresi (2-40 gün) kırık iyileşmesinde en önemli kısımdır. Yangı hücreleri nekrotik dokuları resorbe ederken fibroblastlar bölgeye gelerek *onarım dönemi*ni başlatırlar (63, 66-68). İlk basamağı, hematoma organize olmasıdır. Lokal aracılı mekanizmalarla hassaslaşan öncü hücreler; yeni damar, fibroblast, hücreler arası madde, destek hücreleri ve diğer hücreleri oluşturmak üzere farklılaşmaya ve düzenlenmeye başlarlar. Kırık hattındaki hücresel aktivitenin başlaması için gerekli uyarım karmaşıktır. Kimyasal, elektriksel ve mekanik faktörler söz konusudur. Onarım için gerekli hücre çoğalmasının oluşumu, muhtemelen travma bölgesindeki elektriksel akımla başlamaktadır. Bu akım kırık alanında en yüksek değerdedir ve daha sonraki 2-3 hafta içinde yavaş yavaş azalır. Onarım evresi, kırık oluşumundan sonraki saatlerde başlasa da, yapısal olarak tipik hale gelmesi 7-12 gün sürer. Onarım döneminde ilk 48 saat içinde periost, endost ve kırığa yakın yerlerdeki havers kanallarının tabakalarından hücre proliferasyonu başlar; kırık hattı boyunca resorpsiyon devam eder. Hücre proliferasyonu sonucu kırık uçlardaki boşluklar hücrelerle dolar. Onarım mekanizmasında rol oynayan hücreler mezenşimal kökenli çok yönlü gelişim gücüne sahip hücrelerdir. Çoğunlukla kırık bölgesindeki granülasyon dokusunun içinden, ayrıca periosteumun osteojenik tabakası ve daha az olarak da, endosteumdan köken alırlar. Bu hücreler farklılaşmaya başladığında, ilk değişikliğe uğrayan hücreler, kılcal damarlarla hematoma içine giren “fibroblastlar”dır. 3. günde, kırık uçlarında mezenşimal hücreler artış gösterir (30, 67, 73). Bu hücreler kırık parçaları arasında yumuşak bir granülasyon dokusu oluşturur. Bu granülasyon dokusu, periostal ve endostal osteojenik hücrelerle, fibrin matriksteki fibroblastların çoğalıp farklılaşması sonucu oluşur. Fibroblastlar kollajen sentezlerken, kondroblastlar, kollajen ve glikozaminoglikan, osteoblastlar ise osteoid sentezlerler. İyileşen kemiğin gerilmeye karşı dayanıklılığı, içerdiği kollajen oranı ile yakın ilişkilidir. Kallusun boyutu kırığın hareket derecesiyle doğru orantılıdır. İleri yaşlarda bu hücrelerin farklılaşma kapasiteleri azalır.

Periosteumun hasar görmesi veya ortamdan uzaklaştırılması, kırık iyileşmesini yavaşlatır (67, 68, 71, 72).

Kırık bölgesinde mezenşimal hücre çoğalması ilk 16 saatte saptanmıştır. Bu çoğalma, kırık sonrası 32. saatte en üst düzeye çıkar. Oluşmaya başlayan kan damarları 2-3 günde ışık mikroskopik düzeyde görünür hale gelirler ve 1. haftada belirginleşirler. Kırık iyileşmesinin ilk dönemlerinde, periostal damarlar; geç dönemde ise, besleyici damarlar, kılcal damar oluşumuna yardımcı olur. Fakat kılcal damar gelişimi osteojenik hücre çoğalması kadar hızlı olmadığından, beslenmenin daha iyi olduğu kemiğe yakın seviyedeki hücreler, osteoblastlara dönüşürler. Kemiğe yakın olmayan hücreler dolaşım yönünden fakirdir. Bu bölgedeki kılcal damarların gelişim hızı, hücre çoğalmasının hızına uyum gösteremediğinden, hücreler, kondroblast ve kondrosit'e farklılaşarak kırıldak dokuyu oluştururlar. Osteoblast haline gelen, kanlanmanın yeterli olduğu bölgelerdeki hücreler ise, trabekülleri oluşturur. Böylece en dış tabakada kırıldak dokunun üstünü örten periostun derin tabakasından çoğalan osteojenik hücreler, orta tabakada kırıldak doku, daha derinde ise kemik trabekülleri bulunur (67, 71).

Zamanla her iki kırık parçasının ucunda oluşan yakalılık tarzındaki kitle birleşerek, kırığa bütünlük sağlayan dış kallusu oluşturur. Dış kallusun devam eden gelişimi, esas olarak kemik hücrelerinin çoğalmasına ve kırıldak dokudaki intersitisyel büyümeye bağlıdır. Aynı şekilde medullar boşlukta da aynı olaylar birbirini takip eder. Endosteum ve medullanın osteojenik hücresinden gelişen trabeküllerle, medullanın köprülenmesi oluşur ve iç kallus meydana gelir. İlk 7-12 günün sonrasında yumuşak kallus kitlesi, fibröz doku ile kırıldaktan oluşur ve kırıldak sahasını çevreler. Onarım evresinin ilk zamanlarında, kırıldak oluşumu belirginleşir (65, 67, 68, 71).

Hücre düzeyinde yapılan çalışmalara göre; damar endoteli, sialik aside bağlı olarak, kırıldak doku da proteoglikanlardan zengin olduğu için negatif yüklüdür. Yeni damarlaşma ile kırıldak doku arasındaki bu itme kuvveti nedeniyle, damarlaşma engellenmektedir. Ca, bu negatif yükü pozitif çevirerek, yeni damarların kırıldak dokuya yönelimini sağlamaktadır. Dolayısıyla sert kallus dokusu gelişimi için damarlaşma, bunun sağlanabilmesi içinse osteoidin mineralizasyonu gereklidir. Mineralizasyon (kalsifikasyon), osteoid'teki "matriks vezikülleri" varlığına dayanır. Bu veziküller, yüksek konsantrasyonda Ca ve PO₄ iyonları, CAMP, ATP, Adenozin Trifosfaz (ATPaz), ALP, pirofosfaz, Ca bağlayan protein ve fosfoerin içerirler. Matriks vezikül membranı, Ca iyonlarını veziküle taşıyan çok sayıda Ca pompasına sahiptir. Vezikül içindeki iyon konsantrasyonu arttığında, kristalizasyon oluşur ve büyüyen kalsiyum hidroksiapatit kristal

parçaları, membranı delip, matriks vezikülünü patlatarak içeriğini salarlar. Pirofosfataz enzimi, kalsifikasyonu önleyen pirofosfatları parçalar. ALP ise fosfat esterlerinden fosfat iyonunu serbestleştirerek kalsiyumun çökmesini sağlar. Kristalizasyonun çevresindeki iyonların yüksek konsantrasyonu, kalsifikasyon faktörlerinin varlığı ve kalsiyum bağlayan proteinler, matriks kalsifikasyonunu teşvik ederler (67).

Kalsifikasyon kemiğin fibrilleri üzerine kalsiyum fosfat biriktiği zaman başlar. Bu olayın, proteoglikanlar ve Ca bağlayan glikoprotein olan *osteonektinle* uyarıldığı bilinmektedir (55). Onarımın bu döneminde kırık uçları arasında kemik miktarı artarak fusiform bir kallus kitlesi ile kırık aralığı örtülür. Kıkırdak dokuda, kondrositler, hipertrofiye kondrositlere dönüştüğünde ALP salgılanır. Kondrositlerden, kıkırdak matriks vezikülleri de atılmaya başlar. Kıkırdak matriks kalsifiye olur. Kalsifiye doku içinde kalan kondrositler, difüzyonla beslendiğinden ölür ve buldukları yerde lakunalar meydana gelir. Bu süreç devam ederken, lakunar boşluklara kılcal damarlar ve kemik hücreleri girmeye başlar. Zira kalsifikasyon olmaksızın damarlaşma ilerleyemez. Parçalanan kalsifiye kıkırdağın yerini almak için damarlı doku ve osteoblastlar gerekli mekanik uyarılarla kemik yapımına başlarlar. En sonunda oluşan trabeküler kemik içindeki trabeküller arasında, kalsifiye kıkırdak artıkları görülebilir. Kıkırdak dokusundan kemik gelişiminde, FGF'nin de rolü olduğu bildirilmektedir (65, 67, 68).

Nekrotik kırık uçları dolaşımdan yoksundur ve ortadan kaldırılması gerekmektedir. Kırık bölgesinde önemli miktarda tespit edilen PG'lerin; yeni osteoklast oluşumuyla, mevcut osteoklast aktivitesinde artışa neden olduğu düşünülmektedir. Osteoklastlarla meydana gelen resorpsiyon boşluklarını, osteoblastlar sararak, canlı kemik gelişmesini sağlarlar. Sonuç olarak nekrotik bölgenin tümü canlı kemikle yer değiştirir. Kırık kemik uçları, iç ve dış kallus gelişimiyle çok sağlam bir yapıya kavuşur. Kallus oluşumu, yetişkinlerde gençlerden daha yavaş ve yine kompakt kemikte, trabeküler kemiğe göre daha yavaş olarak meydana gelir. Yaralanmadan sonra kallus oluşması ve mineralizasyonu, 4-16 hafta arasında zaman gerektirir. Kallus oluşumuyla kaynamanın oluştuğu söylenebilir. Bununla beraber, kaynama henüz son noktasına ulaşmış değildir. Onarım evresinin ortasında, kallusun gereksiz ve etkisiz kısımlarının geri emilimi ve trabeküler kemiğin stres çizgileri boyunca uzanması ile yeniden şekillenme evresi başlar (65, 67, 68).

3- Kemiğin Yeniden Şekillenme (Remodelizasyon) Evresi:

Kemiğin şekillenmesi en uzun evre olup, aylar yıllar sürebilir. Bu evre güçlü ama düzensiz sert kallusun, normal veya normale yakın güçteki, daha düzenli lameller kemiğe dönüşümüdür (60, 63, 68). Onarım evresinin ortasında başlayıp, normalde insanlarda 4-16 hafta sürer. Yeniden şekillenme evresinde 4 olay gerçekleşir:

- Önce kalsifiye kırıkta, osteoid dokuyla değişerek bir çeşit birincil trabeküler doku oluşur.

- Ardından lameller kemik bu dokunun yerini alır.

- Bunu takiben kompakt kemik uçlarındaki kallus, lameller kemikten yapılmış ikincil osteonlara değişir. Lameller kemik, kas kuvveti ve mekanik streslere paralel olarak düzenlenmiş osteonlardan oluşur.

- Son olarak da medullar kanal dereceli olarak yeniden şekillenir. Kanal içindeki kallus, osteoklastlar tarafından geri emilir ve boşluklar yeniden düzenlenir (67).

Kırık İyileşmesini Olumsuz Etkileyen Faktörler:

Yüksek enerjili travmalar ve geniş yumuşak doku hasarı bulunması, kırık uçlarının birbirinden ayrılması, araya yumuşak dokuların girmesi, besleyici damarların hasar görmesi, cerrahi redüksiyon yapılmışsa aşırı disseksiyon ve yumuşak doku hasarı oluşması, kırığın transversal, parçalı veya segmenter olması, açık kırık olması, redüksiyonun başarısızlığı, iyi stabilizasyon yapılmaması, yeterli sürede immobilizasyon sağlanmaması, kırık yerinde infeksiyon olması, hastanın yaşlı olması, eklem içi kırık olması, spongioza ihtiva etmeyen veya kortikal kemik içeriği yüksek kırık olması, beslenme ve sağlıklı metabolizmayı etkileyen diyabet, maligniteler, sistemik enfeksiyonlar, anemiler gibi sistemik hastalıklar, kemoterapi, radyoterapi ve kortikosteroidler kırık iyileşmesini olumsuz etkiler (3, 66, 68, 71, 72).

Kırık İyileşmesini Olumlu Etkileyen Faktörler:

Olumsuz etkileyen faktörlerin tam tersi durumların olumlu etkilemesinin yanı sıra; elektrik akımları, manyetik alan, ultrason, hiperbarik oksijen uygulamaları, düşük enerjili lazer uygulaması, anabolik steroidler, D vitamini, kalsitonin, parathormon, prostoglandinler, BMP, büyüme hormonu, büyüme faktörleri, kemik grefti uygulamaları ve gen sağaltımı kırık iyileşmesini olumlu etkileyen faktörlerdir (3, 43, 44, 72, 74-77).

Kırık iyileşmesi hormonlar, vitaminler, mineraller, lokal damarlaşma, protein diyeti, vücut ağırlığı, ultrason ve elektriksel uyarım gibi bir çok faktörler tarafından

etkilenebilmektedir. Son zamanlarda dikkatler bir başka potansiyel stimüle edici faktör olan LLLT üzerine çekilmiştir (9, 25, 36, 41-44, 78).

Lazer ile hücre biyo-uyarım mekanizması hala birçok çalışmanın konusunu oluşturmaktadır. Örneğin, RNA sentezini artırması ile birlikte, respiratuvar zincirin komponentlerinin veya ekstrasellüler komponentlerin olası aktivasyonu, biyo-uyarımın nedenleri olarak tartışılmaktadır. Bu şekilde lazer sağaltımını takiben ekstrasellüler komponent aktivasyonu nedeninin, serbest bir radikal olan singlet oksijen olabileceği düşünülmektedir. Porfirinler ve sitokromlar hücre içinde yerleşmiş doğal foto akseptörlerdir. Bunlar, lazer ışığının hücre içine absorpsiyonunu sağlamakta ve bu da singlet oksijen üretimi ile sonuçlanmaktadır. Singlet oksijen, mitokondrideki redoks aktivitesini, DNA ve RNA üretimini ve sitoplazma içine Ca girişini stimule ederek, mitozis ve hücre proliferasyonunu sağlamaktadır (24, 34, 36).

Genellikle kemiğin iyileşme prosesi yumuşak dokulardan daha yavaş olmaktadır (7). Oysa düşük enerjili lazer sağaltımının deneysel olarak kırık iyileşmesi üzerine pozitif etkilerinin olduğu, kemik rejenerasyonunun düşük enerjili lazer sağaltımı ile hızlandırıldığı saptanmıştır (1, 6, 12, 13, 26, 30-32, 38, 41, 42, 46-49, 53, 54, 61, 63, 70, 78).

Tarihçe:

Lazerle ilgili ilk teoriler 19. yüzyıl başlarında oluşmaya başlamıştır. Dalga teorisi açıklaması Maxwell tarafından 1864 yılında, Quantum teorisi Planck tarafından 1905 yılında ve atomik yapı Bohr tarafından 1913 yılında ortaya konularak, lazer teknolojisinin temel taşları oluşturulmuştur (2, 8).

Lazerin gerçek babası 1917 yılında radyasyonun stimule edilmiş emisyon teorisini geliştiren Einstein olarak kabul edilmektedir. Onun teorileri 1955 yılında Gordon tarafından “Microwave Amplification of the Stimulated Emission of Radiation (MASER)”lerin gelişmesine öncülük etmiştir (2, 9). Nihayet 1960’ların başlarında Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation kelimelerinin ilk harflerinin bir araya getirilmesiyle tarif edilen LASER ışınını üreten ilk Yakut lazer cihazı Amerikalı fizikçi, Dr. Theodore Maiman tarafından yapılmıştır. Bunu takiben 1961 yılında He-Ne ve Nd:Yag lazerler, 1962 yılında argon lazerler ve 1964’te CO₂ lazerler ortaya konmuştur (2, 9, 79, 80).

Görülebilir kırmızı ışığın gücünün Dr. Maiman tarafından keşfedildiği ve bu keşfin cerrahi prosedürlerde skalpelin, endüstriyel alanda da metali kesici pek çok aletin yerine alacak olan yüksek yoğunluklu lazer (High Intensity Laser) olduğu bildirilmiştir (3, 79).

Yine lazer ile ilişkili yakın tarih incelendiğinde, medikal alanda düşük enerjili lazer kullanılarak ilk deneysel çalışmayı 1968 yılında Macaristan’da Endre Mester gerçekleştirmiş, kronik ülserin sağaltımında, Yakut ve Argon lazerin kullanımından bahsettiği bildirilmiştir. 1973 yılında Dr. Plogg, LLLT’nin akupunktur için kullanılabileceğini ortaya koymuştur. 1974 yılında Kanada’dan Heinrich Plogg iğnesiz akupunktur adlı çalışmasını yayınlamıştır. LLLT’nin medikal teknolojide kullanımı için asıl öncülük eden ve International Laser Therapy Association’ı (ILTA), 1980 Haziran’ında kuran Japon Dr. Toshio Ohshiro olmuştur. Kendisi aynı yıl içinde The International Journal of Low Level Laser Therapy and Photobioactivation’ın basımına öncülük etmiştir. Ga-Al-As lazerin ilk klinik kullanımı ise 1981 yılında kaynaklara geçmiştir. 1991 yılında Kemmotsu ve arkadaşları düşük enerjili lazerin ağrının giderilmesi ve 1994 yılında Eckerdal yara iyileşmesi üzerine etkilerini ortaya koymuşlardır. 1995 yılında ILTA International Society for Low Power Laser Applications in Medicine and Surgery ile birleşerek WALT’ın doğmasına sebep olmuştur (3, 81). LLLT’nin sinir hasar onarımı gibi birçok farklı etkisinin olduğu kanıtlanmıştır (40, 82). Kırık iyileşmesi üzerine düşük enerjili lazerin etkilerinin araştırıldığı ilk çalışmaların 1986 yılında Tang, 1987 de Trelles, yine 1987 de Hernandez Ros tarafından yapıldığı kaydedilmiştir (10). Takiben 1991 de Yamada (29), 1995 de Barushka (46), 1996 da Yaakobi (32), LLLT'nin kemik onarımını hızlandırıcı etkisinin olduğunu kanıtlayan çalışmalar yapmışlardır.

Lazer Işığının Özellikleri:

Lazer, İngilizce "Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation" tanımlamasının, yani "uyartılmış salma ile ışığın güçlendirilmesi" tanımlamasının kısaltılmış halidir (1-5).

LLLT’nin, kırık iyileşmesini nasıl etkilediğinin açıklığa kavuşması ile ilgili teoriler, lazerin çalışma prensiplerinin tam olarak ortaya konmasından sonra oluşmuştur. Bunun için öncelikle lazer cihazının yaydığı, görünen ve görünmeyen ‘renk’, ‘ışık’, ‘dalga boyu’ gibi terimlerin anlaşılması gerekmektedir.

Renk, basit bir tanımlama ile farklı dalga boyları ve frekanslara sahip ışıktır. Işık fotonlardan meydana gelen enerjinin bir formudur. Gözle görebildiğimiz spektrum gökkuşağı renkleridir. Retinalarımız “cone”(kon) formunda 3 tip renk reseptörüne sahiptir. Bu renklerden sadece kırmızı, mavi ve yeşil görülür. Görülen tüm renkler bu üç rengin karışımından ortaya çıkmaktadır. Işığın dalga boyuna ve renk frekansına bağlı olarak görülen renk de değişmektedir (8).

Işık, elektromanyetik radyasyonun çok küçük bir parçasıdır. Elektromanyetik radyasyonun diğer tipleri; radyo dalgaları, infrared radyasyon (ısı), ultraviyole radyasyon, X ışınları ve gamma ışınlarıdır. Radyasyonun her tipi birbirinden dalga boyları ve frekansları ile ayırt edilirler. Işık bir çok frekanstan oluşmaktadır. Renk ise bu frekansların küçük bir parçasıdır (83, 84).

Dalga boyu nanometre (nm) olarak ölçülmektedir. Her bir renk, saniyedeki dalga veya halka üniteleri olarak ölçülür. Bir dalga boyu aynı konumdaki komşu dalgalar arasındaki mesafedir. Rengin frekansı arttıkça enerjinin dalgaları da birbirine yaklaşmaktadır. Yüksek frekanslı renkler, mor, indigo, mavi,. düşük frekanslı renkler ise sarı, turuncu ve kırmızı'dır.

En yüksek dalga boyunda algılayabildiğimiz ışık kırmızı, en düşük dalga boyunda algılayabildiğimiz ışık ise mor'dur. İnsan gözünün algılayabildiği dalga boyları sınırları içerisindeki ışığa görülebilir ışık denmektedir. Görülebilir ışık alanı içindeki en uzun dalga boyundan daha uzun dalga boyuna sahip ışığa infrared, en kısa dalga boyundan daha kısa dalga boyuna sahip ışığa ise ultraviyole ışık denmektedir. İnsan gözü her ikisini de görememektedir (83).

Lazer; elektromanyetik türünde ve fotonik cinsinden bir ışıdamadır. Yani bir ışıktır. Bir atom ile elektromanyetik bir ışımaya arasındaki enerji değiş tokuşları ile elde edilir. Bu enerji değiş tokuşları fotonlar biçiminde gerçekleşir (3, 4, 6, 7). Temel bir kurala göre bir atomun enerjisi devamlı olarak değişmez. Ancak kendine özgü değişik enerji düzeylerine, sadece birbirlerini izleyen aşamalarla ulaşır. Böylece bir atom, E_0 düzeyinden E_1 düzeyine: $E(x) = E_1 - E_0$ formülü ile belirtilen bir enerjiyle geçebilir. Bu kuralın dışında hiçbir değiş tokuşun gerçekleşmesi olası değildir. Dolayısıyla "bir halden başka bir hale geçme mekanizmaları" diye nitelendirilen bu enerji değiş tokuşları üç farklı türde gerçekleşir:

- 1- Soğurma, yani bir nesnenin başka bir nesnece emilmesi.
- 2- Enerjinin emisyonu, yani uyarılmış bir atom kendi doğal durumuna belli bir enerji değerini geri vererek dönmesi.
3. Uyarılmış enerji veya lazer etkisidir (7).

Lazer ışığı doğal ışıktan bir çok açıdan farklıdır. Bunun nedeni bir çok pozitif fotobiyolojik etkiye sahip olmasıdır. Tüm lazerlerin en bilinen özellikleri; monokromatik, ahenkli ve güçlü bir ışık üretiyor olmalarıdır (2, 7, 17-19, 85).

Lazer ışığı monokromatik'tir. Bunun anlamı tüm enerjinin tek bir dalga boyu ve renkte olmasıdır. Yani lazerden çıkan tüm fotonların aynı dalga boyunda olmasıdır. Biyostimüle

edici etki için en uygun dalga boyu, kırmızıdan infrared'e yaklaşan ışık arasında 630 nm'den 850 nm'ye kadar olanıdır (8, 83, 85).

Lazer ışığı ahenklidir, senkronizedir ve düzenli bir sıradadır. Yani lazerden çıkan tüm fotonlar minimal sapmalarla aynı yönde hareket ederler. Lazer ışığının ahenkli olmasının ana nedeni, çoğunlukla monokromatik olmasından kaynaklanır (83, 85). Bir el feneri ve bir "laserpointer" ile bir duvar aydınlatılıp sonra yavaş yavaş arkaya doğru gidildiğinde, lazer ışınının normal ışıktan farkı kolayca seçilebilir. El fenerinin duvarda bıraktığı ışık lekesi, duvardan uzaklaştıkça büyürken, lazerin aydınlattığı nokta ise hep aynı büyüklükte kalır.

Lazer ışığı dağılmadığı için çok hassas işlemlerde rahatlıkla kullanılabilir. Örneğin beyin ameliyatlarında lazer kullanılarak çok küçük hücreler dokulardan ayrılabilir (19, 85).

Lazer ışığı güçlüdür. Bunun anlamı ışığın konsantre ve yüksek yoğunluğa sahip olmasıdır. Normal bir ışık uzaklıklarla parlaklığını çabucak kaybedebilirken; lazer ışığı, çok uzak mesafelerden bile rahatça görülebilmektedir. Normal bir ışık 7 renk veya daha fazla renkten ve farklı dalga boylarından oluşmaktadır. Bu yüzden de ahenkli ve senkronize değildir. Lazer ışığının monokromatik yani tek renk, tek dalga boyu, senkronize ve ahenkli olması hücreler üzerindeki fotobiyolojik stimülasyonunu açıklamaktadır (7, 83, 85).

Lazerin saf olan ışıkları hücrelerde fotokimyasal reaksiyonlara neden olurlar. Lazer ışını, fotonları hücre içinde bulunan antennata pigmentlerince emilir. Böylece hücresel enerji üretimi artar. Takiben hücre fonksiyonu normal seyrinde devam eder. Ağrı kaybı ve iyileşme olur (85, 86).

Fotonlar, deri yüzeyine temas ettiklerinde deri ve altındaki dokular tarafından emilir. Böylece vücutta bir takım değişiklikler oluşmaya başlar. Foton enerjisi DNA tarafından emilir ve onu aktive eder. Hücrenin DNA'sı, bu yeni enerjiyi protein ve kalsiyum transferi yardımı ile hücre duvarlarına iletir. Hücre duvarları, daha sonra kendilerini sağlıklı şekillere dönüştürerek hücrenin tam kapasite ile fonksiyon yapmasını sağlarlar. Işığa maruz kalan dokularda kan akımı artar ve böylece besinler ve vitaminler en çok gerekli oldukları yer olan kırık bölgesine, çevre dokulara zarar vermeden taşınırlar. Artan kan akımı sonucunda toksinler ve diğer metabolik atıklar dokulardan uzaklaştırılır (2, 3, 8).

Işık sağaltımı aynı zamanda fototerapi olarak da adlandırılır. Örneğin görülebilir kırmızı ışık, canlı dokular üzerinde hücresel seviyede pozitif değişikliklere neden olmaktadır. Deri katmanları yüksek kan ve su içerdiklerinden dolayı kırmızı ışığı çok iyi biçimde absorbe etmektedirler (2, 3, 8, 85).

Tıpta özelleşmemiş ışık foto-akseptör moleküller ile ışık absorsiyonu sıkça kullanılmaktadır. Absorbe edici moleküler enerjiyi, diğer bir moleküle transfer eder ve bu aktive edilmiş molekül, çevre dokularda kimyasal reaksiyonlara neden olur (87).

Araştırmacılar (79, 88), lazer ışığını sadece istenilen dalga boyunda üretmekle kalmamışlar, aynı zamanda ultra kısa atımlara (puls) da dönüştürebilmişlerdir. Bu yolla çok büyük enerji açığa çıkartılmıştır. Atımlı (pulsu) lazer ışınları, kromkolkuirit (Chrom-Colquiriit) kristali, neodmiyum-YAG (neodiyum içine yitrium alüminyum garnet yani YAG katkılanmıştır) veya bir titan-safir kristali içinde oluşurlar. Bu maddelerin en önemli özelliği, içlerinde bulunan küçücük boşluklarda ışığın çok hızlı yansması ve bütün farklı frekansların kısacık bir an için senkronize olmasıdır. 1960'lı yıllardan bu yana, ultra kısa atımlı lazerler hızlı bir gelişim göstermişlerdir. Günümüzde, atımlar iyice kısalmış ve yeni kuşak çok yönlü kompakt ultra kısa atımlı lazerler ortaya çıkmıştır. Oda büyüklüğünde, güvenli olmayan ve enerjiye doymak bilmeyen orjinalleriyle karşılaştırıldığı zaman, kompakt ultra kısa atımlı lazerler gerçek bir devrim olarak kabul edilmektedirler.

Enerji bu kadar yüksek düzeyde demetlenebildiği için, ultra kısa atımlı lazerler cerrahi alanında da önemli bir yer edinmişlerdir. Ultra kısa atımlı lazerler kullanılarak tıkanmış damarlar açılabilenekte, en ince damarlar hiç bozulmadan kesilebilmektedirler. Bütün bu işlemleri gerçekleştirirken, çevredeki dokular kesinlikle zedelenmemektedir. Bu özelliği lazeri, göz alanında da "bir numaralı" sağaltım yöntemi haline getirmiştir. Örneğin; retina yırtıklarının onarımında ve miyoplüğün sağaltımında kullanımları oldukça güncel hale gelmiştir (89).

Bugün uygulamada Yüksek Enerjili Lazer (High Power Laser, Hot Laser) ve Düşük Enerjili Lazer (Low Power Laser, Cold Laser) olmak üzere iki tip lazer kullanılmaktadır. Yüksek enerjili lazerler; kesmek, koagule etmek ve dokuları yapıştırmak için kullanılırlar. Genelde bunlar cerrahi lazerlerdir ve skalpelin yerini tutarlar. Yüksek enerjili lazerler termal ısı değişimlerine neden olmakta ve dokulara zarar vermektedirler (84, 90, 91).

Düşük enerjili lazerler hücre fonksiyonunun stimülasyonu için kullanılırlar. Bunlara biyo-uyarıcı lazer de denilmektedir. Fotobiyojik mekanizmaları kapsamaktadırlar. Düşük enerjili lazerler dokularda termal değişikliğe neden olmamaktadırlar, yani biyolojik etki termal değildir. Bu özelliğinden dolayı düşük enerjili lazerler, hücresel ve moleküler biyolojinin araştırılmasında kullanılmaya başlanmıştır (2, 24, 86).

Bir lazer cihazının sıcak veya soğuk olduğunun belirleyicisi cihazdan sağlanan enerjiye bağlıdır. Yüksek enerjili lazerin operatif bir araç olarak tıpta kullanımı esnasında bir ayrıntı göze çarpmıştır. Lazer kullanılarak gerçekleştirilen operasyonlarda diğerlerine

nazaran daha az ağrı ve enflamasyon oluşmuştur. Bu gelişmenin lazerin Gaussian ışık modunda kullanıldığında oluştuğu dikkat çekmiştir. Bu modda ışın, çan şeklinde düşmekte ve lazerin gücü ışının orta bölgesinde en yüksek olurken, periferdeki hasarsız dokulara denk gelen ışının gücü ise en az olmaktadır. Bu fenomene “alpha fenomeni” denmiştir. Böylece yangı ve ağrının azalmasından da, periferde dağılan “düşük güç”, “low power” sorumlu tutularak düşük enerjili lazerle ilgili ilk soru işaretleri oluşmaya başlamıştır. Bu etkiyi bu alanda çalışan işçiler fark etmişlerdir ve böylece cihazlara enerji yoğunluğunu ayarlayabilen aparatlar eklemiştir. Enerji yoğunluğu düşünüldüğünde foto-termal etki görülmezken; foto-ozmotik, foto-iyonik ve foto-enzimatik etkilerin mevcut olduğu saptanmıştır. Böylece “soğuk lazer” veya yumuşak lazer adıyla düşük yoğunluklu lazer, medikal alanda kullanılmaya başlanmıştır (3, 11).

Tıbbi uygulamalarda kullanılan lazerler farklı özelliklerine göre araştırmacılar tarafından aşağıdaki şekilde sınıflandırılmıştır:

a. Elde Edildiği Etkin Maddelere Göre:

Bu sınıflandırma maddelerin katı, sıvı ve gaz hallerine göre olup dört tür lazer tanımlanmıştır (7, 84).

a1. Katı Haldeki Maddelerle Elde Edilen Lazerler: Yakut, Neodium ve YAG (ytrium-aluminium-garnet) gibi yarı iletkenlerle elde edilirler.

Yakut lazer: 694.3 nm dalga boyunda olup, en eski lazer sistemidir. Yavaş ve hantal bir sistemdir. Dermatolojide kullanılmaktadır.

Nd: YAG lazer: 1064 nm dalgaboyunda olup, tracheobronchial, gastrointestinal cerrahide, üroloji alanında ayrıca koagulasyon amaçlı kullanılmaktadır.

Ho: YAG 2 130 nm dalga boyunda olup, diş hekimliği alanında ve cerrahi operasyonlarda koagulasyon amaçlı kullanılmaktadır.

Er: YAG 2 940 nm dalga boyunda olup, diş hekimliği alanında ve cerrahi operasyonlarda koagulasyon amaçlı kullanılmaktadır (92).

a2. Gaz Haldeki Maddelerle Elde Edilen Lazerler: Helyum-Neon, Argon, CO₂ gibi maddelerden elde edilen lazerlerdir.

He-Ne: 633 nm dalga boyunda olup biyo-uyarım amaçlı kullanılmaktadır.

Argon: 350-514 nm dalga boyunda olup dermatoloji, damar cerrahisi ve göz alanlarında kullanılmaktadır.

CO₂: 10 6009 nm dalga boyunda olup otorinolaringoloji, maksillo-fasial ve plastik cerrahi, üroloji, jinekoloji alanlarında kullanılmaktadır.

Excimer: 193, 248, 308 nm dalga boyunda olup göz vasküler cerrahisinde kullanılmaktadır (5, 7, 84, 91).

a3. Sıvı Haldeki Maddelerle Elde Edilen Lazerler: Cumarin ve rhodamine gibi organik boya maddelerinin solüsyon veya süspansiyonlarının birlikte kullanımından elde edilirler.

Dye Laser: Böbrek taşlarında kullanılmaktadır.

Rhodamine: 560-650 nm dalga boyunda olup dermatolojide kullanılmaktadır (84).

a4. Semikondüktör Lazerler: Ga-As gibi semikondüktör materyallerin iki tabaka halinde kullanılmasıyla elde edilirler.

Ga-As: 904 nm dalga boyunda olup biyo-uyarım amaçlı kullanılmaktadır.

Ga-Al-As: 780-904 nm dalga boyunda olup biyo-uyarım ve cerrahi amaçlı kullanılmaktadır (84).

b. Güçlerine Göre:

Bu nitelendirilme onların milliwatt (mW) veya watt (W) güçlerine göre yapılır. Bu özellikteki lazerler; yüksek enerjili lazerler ve düşük enerjili lazerler olarak adlandırılırlar.

Yüksek enerjili lazerlerin gücü 80 mW'tan yüksek olup termal ışıklıdır. Delme, elmas kesme ve cerrahide kullanılırlar. Düşük enerjili lazerlerin gücü en çok 50-80 mW'a kadardır. Termal olmayan bir ışık salarlar. Bunlar dokularda yıkımlanma oluşturmadıkları için tıbbi alanda en sık yara sağaltımında ve fizik tedavisinde kullanılmaktadırlar (7).

c. Lazer Işımının Dalga Boyuna Göre:

Dalga boyu infrarujdan, ultraviyole'ye kadar değişir. Bu özellikteki lazerler; Red lazerler (kırmızıya ışıldayan, görülen ışıklı) ve İnfrared lazerler olarak adlandırılırlar. Tıbbi uygulamalarda en sık kullanılan düşük enerjili Red lazer türü He-Ne lazerdir. Işın dalga boyu 633 nm'dir. İnfrared lazer türü ise Ga-Al-As lazerdir. Işın dalga boyu 904 nm'dir (7, 84).

Medikal Lazerler:

Medikal alanda kullanılmakta olan farklı lazer tipleri vardır. Helyum Neon (He-Ne), Galyum Arsenit (Ga-As), Galyum Alüminyum Arsenit (Ga-Al-As), CO₂ ve Excimer lazerler bunlardan en güncel olanlarıdır. Bunlar ayrı ayrı cihazlar halinde olabildikleri gibi, aynı cihaz üzerinde de bulunabilirler (1, 5, 7, 84, 91).

Ga-As kökenli lazerler etkin gereci katı bir maddeden oluşan yarı iletken bir lazer türüdür. Uygulamada, alüminyum ile etkisi arttırılan Gallium-Aliminium-Arsenide alaşımı kullanılır ve “Ga-Al-As” adı da bu alaşımdan kaynaklanmaktadır. Bu alaşım kesik kesik biçimde yayılan bir ışılda sağlar. Bu lazer türünün ışığı su ve hemoglobin tarafından emilmez (84). “He-Ne” kökenli lazerlerin etkin gereci bir gaz karışımı olan Helyum (% 85) ve Neon (% 15) dur. Lazer ışını etkisi, Helyum ile Neon arasındaki atomik uyarının bir yerden başka bir yere taşınması ile elde edilir. “He-Ne” kökenli bir lazer ışını devamlı modda ışık yaymaktadır. Yaydığı ışık su ve hemoglobin tarafından emilmez (8, 84).

Yayılan enerjili “CO₂“ veya “CO₂ – He-Ne ”kökenli lazerler ise etkin gereci bir gaz karışımı olan lazer ışınlarıdır. CO₂ kökenli lazer ışını, su tarafından tam olarak emilmesine karşın hemoglobin tarafından çok az emilir. Hücreler arası su buharlaşacağından dokular bu ışınla çabuk kesilirler (7).

Lazerin medikal uygulama alanları, lazerin biyolojik etkileriyle doğrudan ilgilidir. Medikal lazerin uygulama alanları enerji kapasitelerine göre belirtilmektedir (84, 91).

Yüksek enerjili termik lazerlerin en sık; göz hastalıkları, dermatoloji ve cerrahide kullanıldığı, etkilerinin ise; koagülasyon, karbonizasyon ve vaporizasyon olduğu bildirilmektedir (5, 85, 89).

Foto-kimyasal etkili lazer ışınları özellikle onkolojide kullanılırlar. Bu tür lazer ışınları çok selektiftir ve kesinlikle hücre içinde temsil edilen bir elemente veya daha önceden enjekte edilen kimyasal, fotosensitiv maddeye ilgi duyar ve ona etki eder (7).

Düşük enerjili lazer ışın türlerinin insan hekimliğinde olduğu gibi veteriner hekimliğinde de benzer olgularda sağaltım amacıyla uygulandığı anlaşılmaktadır. Düşük enerjili lazer türleri bu güne kadar veteriner hekimliği alanında da; yara sağaltımında (4, 7, 75), ağrı sağaltımında (91), seröz, purulent ve romatoid artrit sağaltımında, ülser, fistül ve deri yanıklarının sağaltımında, eksizyon artroplastisi operasyonundan sonra, bazı hastalıklarda fizik tedavi amacıyla (7), kırık iyileşmesini hızlandırmak amacıyla (1, 6, 12, 13, 26, 30-32, 38, 41, 42, 46-49, 53, 54, 61, 63, 70, 78), sinir dokusu lezyonlarında doku rejenerasyonunun sağlanmasında (40, 93), fibroblast ve kondral proliferasyonu ve kollajen

sentezinin araştırılması amacıyla uygulanmıştır (16, 17, 24, 28, 29, 35, 50, 73). Ayrıca He-Ne lazer, 30 yılı aşkın zamandır, diş hekimliğinde kullanılmaktadır (13, 94).

Araştırmacılar (7, 88, 95), değişik tür lazer ışınlarının biyolojik etkilerini, yani canlı dokular üzerindeki “lazer etkisinin” varlığını doğrulamak amacıyla birçok deneysel çalışmalar yapmışlardır. Bu etki “ışınla nesnenin arasındaki etki”nin gerçekleşmesi, yani dokusal (hücreSEL veya moleküler) hedefe lazer ışınlarının taşınması şeklinde olduğu, bu durumun sadece lazer ışını ile hedefin onu emme düzeyi arasındaki değerlerin birbirleriyle tam olarak uyuşmaları koşuluyla gerçekleştiği bildirilmektedir. Bu olay fizikçiler tarafından, “ışının interaksyonu” olarak tanımlanmaktadır.

Kültürdeki ve dokudaki hücrelerin belli bazı dozlardan etkilendiği, çok düşük bir doz hiçbir etki göstermezken çok yüksek bir dozun ise daha az efektif olduğu, dozun daha da yükselmesi sonucunda ise inhibitör etkinin oluştuğu saptanmıştır (24).

Lazer irradyasyonu lenfositleri aktive etmekte ve fibroblastları kemotaksise, haptotaksise, şemogenesis ve agglomerasyona teşvik etmektedir. Aynı zamanda uygulandığı dokuda lökositlerin fagositozu artmaktadır. Düşük enerjili lazerin dokulara direkt ulaşması, sağaltılan bölgedeki mast hücrelerinde azalmaya, buna bağlı olarak da histamin ve prostaglandin salınımına neden olmaktadır. Düşük enerjili lazer intrasellüler mitokondride kendi antenata pigmentleri ile (sitokrom, flavinler) direkt stimülasyonu oluşturmaktadır. Bu da hücrelerde elektrokimyasal potansiyelde artmaya, ATP sentezinde artmaya ve buna bağlı yüksek ATPase aktivitesi ile, hücre membranından hücreye Ca girişinin artmasını sağlamaktadır (96).

He-Ne, Ga-Al-As ve Ar lazerlerin kemik rejenerasyonunu hızlandırıcı etkilerinin olduğu, CO₂ lazerin ise kemik rejenerasyonunu hızlandırıcı etkisinin olmadığı saptanmıştır. Excimer lazer ise kemik onarımını negatif etkilemiştir. Bu sonuçlara göre lazerlerin kemik rejenerasyonu üzerine pozitif etkilerinin tamamen düşük enerjinin biyo uyarımından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kemik lezyonlarının iyileşmesinde lazerin stimülatif etkisinin en önemli histolojik bulguları aktif osteogenesis meydana gelmesi ve osteoklastların sınırlandırılması olmuştur (78, 97).

LLLT'nin kemik dokusunu stimüle ettiği saptanılmış ve bunun nedeni LLLT'nin mitokondrial ATP üretimi ve hücreSEL lipid bi-layer'daki düzenlenme özelliği gibi genel etkilerine bağlanmıştır. Bunlara ek hipotezler ise irradiye olmuş hücrelerin iyon alış-veriş oranlarının düzenlenme kapasitesi ve böylece spesifik enzim ve substratların katalitik özelliklerine etki ediyor olmasıdır (10).

Kemik onarımı üzerine yapılmış araştırmalarda (1, 3, 10), LLLT'nin lenfatik sirkülasyona etki eden özellikleri olduğu ve yine yara iyileşmesinde de etkili olduğu saptanmıştır. Bu iki teoriden yola çıkılarak LLLT'nin kemik stimülasyonu üzerine pozitif etkisi olduğu düşünölmektedir. Aslında düşük enerjili lazer sağaltımının kemik üzerindeki olumlu etkisinin, onun lenfatik sirkülasyon üzerindeki etkisinden kaynaklandığı kabul edilmektedir. LLLT'nin lenfatik sistem üzerindeki etkilerinin kabul edilmesi ile birlikte kemikteki sıvı transportunun bir bütün olarak kabul edilmesi LLLT'nin kemik stimülasyonu üzerine pozitif etkilerini daha da netleştirmiştir.

LLLT'nin bilinen genel etkileri ve lenfatik sistem üzerine olan spesifik etkisi mitokondrial ATP'yi stimüle etmekte, böylece hücrenel ve sirküler motilite ve buna bağlı olarak lenfatik akış direkt olarak artmaktadır. LLLT aynı zamanda intersitisyel doku ve yüzeysel katmanlarda permeabilite artışını geliştirmektedir. Böylece durgunluk ve blokaj azalmaktadır. Tüm bunlar lenfatik akımda ve sonuçta etkilenmiş kemik içi sirkülasyonda da artmaya neden olmaktadır. Düşük enerjili lazer uygulaması ile ilgili teorilerden biri de lenfatik sirkülasyonu lenfatik damar çaplarında artışa yol açarak hızlandırdığı varsayımdır. Çaptaki bu artma normal kemik sirkülasyonunda bulunan ve vasküler sirkülasyona katılmayan büyük çaplı protein hücrelerinin varlığını da açıklamaktadır. Aynı zamanda travmatize alanlardan geçen debris ve daha büyük proteinlerinin atılım prosesinin kolaylaştırılmasında, LLLT stimülasyonunun etkisi olduğu düşünölmektedir (10).

Ga-Al-As lazerin kemik onarımı üzerine etkilerinin hücrenel olarak incelendiği bir çalışmada (6), statik kemik oluşumu için osteoid hacmi, osteoid yüzeyi, osteblast yüzeyi ve osteoid kalınlığı analiz edilmiştir. Lazer uygulanan grupta operasyondan 5 gün sonra kemik hacminde önemli artış saptanmıştır. 15. günde osteblast yüzeyi lazer grubunda önemli derecede yüksek bulunmuştur. Yine 25. günde osteoid hacmi kontrol grubundakilere göre daha yüksek bulunmuştur. LLLT uygulanan grupta 5. günde osteoklast yüzeyi önemli ölçüde yüksek bulunmuştur. Sonuçta bulgulara ilişkin 2 mekanizma düşünölmüştür. Birincisi lazer dalga boyunun direkt olarak osteoklastlar üzerine etkimiş olması, ikinci mekanizma ise, osteoklastların osteoblast aktivitesine etki ediyor olmasıdır. Bu çalışmanın sonucunda Ga-Al-As lazerin hasar bölgesi ve çevresindeki kemik hücrelerini; özellikle de osteoklast aktivitesini arttırdığı ve LLLT'nin, kemik onarım prosesinin yangısal periyodunda kullanıldığında, normal hücre aktivitesini arttırdığı kanısına varılmıştır.

Düşük enerjili lazer sağaltımında olumlu sonuçların büyümenin erken periyodu boyunca sağlanabildiği saptanırken, daha geç dönemde uygulandığı taktirde kemik

rejenerasyonu üzerine etkisinin olmadığı düşünülmektedir. Lazer irradyasyonunun hücre proliferasyonunu sadece gelişme fazında yani hücreler daha farklılaşmamış osteoprogenitor hücreler olarak kabul ediliyorken, hızlandırabildiği saptanmıştır (14, 28, 47, 90).

Yamada (29), LLLT'nin, kolonal osteoblastik hücrelerin proliferasyon, differansiyasyon ve kalsifikasyonuna pozitif etki ettiğini göstermiştir. Trelles ve Mayayo (45), fare tibialarında LLLT uygulamışlar ve optik mikroskop kullanarak, vaskularizasyonda artış ve kemiksel doku oluşumunda hızlanma gözlemlemişlerdir. Barushka ve arkadaşları (46), rat tibialarında oluşturulmuş oyuk hasarlarında He-Ne lazer uygulamasından sonra osteoblast ve osteoklast popülasyonunda artışa neden olduğunu, bunların da ALP ve Tartrate-Rezistant Asid Fosfataz değişimleri ile ortaya konduğunu belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar LLLT'nin, rat tibialarında oluşturulmuş oyuk hasarlarındaki kemik onarım hızında iki kat artışa neden olduğunu saptamışlar, bunu histomorfometrik olarak da kanıtlamışlardır.

Osteoblast proliferasyonu kemiğin rejenerasyonu için klinik olarak oldukça önem taşımaktadır. Sert doku ile ilgili bir çok araştırma yapılmış, hatta farelerdeki kemik kırıklarında 3 hafta boyunca her gün He-Ne lazer irradyasyonu uygulanmış ve daha sıkı ağ yapısına sahip trabekül oluşumu gösteren kemik dokusunun daha hızlı oluştuğu saptanmıştır. Lazer aynı zamanda tavşanların alt çenelerine uygulanan hidroksiapatit implantlarının etrafında, yeni oluşan kemik, yani sert dokuda artışa neden olmuştur (24, 98-100).

Glinkowski ve arkadaşları (101), farelerde deneysel oluşturdukları tibia kırıklarına, düşük enerjili diode lazer uygulayarak kırık bölgesinde yeni oluşan kemik dokusunu radyolojik yönden incelemişler ve lazer dansitometresi kullanılarak kemiğin dansitesini ölçmüşlerdir. Lazer uygulanmış grupta kontrol grubuna oranla daha yüksek optikal dansite oluştuğunu saptamışlardır.

He-Ne lazer ve semikondüktör lazer ışınlarının deriye penetrasyonu deneysel olarak incelenmiş ve granüler dokulardan lazer ışınının geçişinin normal deridekinden 2.5 kat daha yüksek olduğu, 2 cm kalınlığında bir deri örneğinden yaklaşık % 0.3'lük He-Ne lazer ışınının ve % 2.1'lik semikondüktör lazer ışınının penetre olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak derinin optik parametrelerinin bilinmesinin tüm fototerapi tipleri için önemli olduğu ve ışın dozunun seçiminde en önemli faktör olduğu vurgulanmıştır (34, 38, 102,).

LLLT, hücresele biyo-uyarım etkisi sonucunda kemikteki her türlü defekte, erken dönemde uygulandığı takdirde, özellikle osteoblastlar olmak üzere hücresele proliferasyonu

ve Alkalen Fosfataz aktivitesini stimule etmektedir. Farklılaşmış osteoblastik hücrelerin kısa zamanda sayıca artması, yani defektli bölgede osteoblastik aktivitenin artması, kemik formasyonunda bir artışla sonuçlanmaktadır. ALP aktivitesi, kalsifikasyon ile olan korrelasyonundan dolayı kemik formasyonun çok önemli bir belirteci olarak kabul edilmektedir. ALP aktivitesinde irradyasyondan sonraki 12 ve 15. günlerde önemli artışlar saptanmıştır (25, 32, 34, 46-48, 103).

LLLT'nin kollajen üretimini aktive etme ve artırma etkisinin, kemik onarımında daha iyi bir kemik matriks üretimine neden olabileceği düşüncesiyle, lazer biyo-uyarımının kartilaj dokunun onarımı üzerine etkileri düşük enerjili Ga-Al-As diode lazer kullanımı ile in vitro olarak araştırılmış (38, 50, 51) ve sağaltım sonunda irradiye edilmiş kondrosit canlılığı önemli ölçüde yüksek bulunmuştur. İrradiye edilmiş sujelerde büyük miktarda kollajen fibrillerin bulunması lazer gruplarındaki en önemli bulgu olarak kabul edilmektedir ve bu bulgu LLLT'nin kemik onarımı üzerindeki erken etkilerini göstermektedir. Farklı bazı çalışmalar (38, 50, 51, 54, 102), LLLT'yi takiben kollajen üretiminde artış saptamışlardır. Büyük miktardaki kollajen fibrilleri matriks mineralizasyonunun ardından yeni kemik oluşumu artışını göstermektedir. Bu çalışmalarda hem kemik hem de yumuşak dokularda pozitif etkilerinin olduğu saptanan 1-5 J/cm² dozlar kullanılmıştır. Biyomodüler etkilerin doza bağımlı olduğu kanıtlanmıştır.

Lazerin kemik rejenerasyonu üzerine etki mekanizması BMP kullanımı ile de araştırılmıştır. Kollajen kökenli BMP pelet, farenin sırt bölgesine subkutan olarak implante edilmiştir. Bir gruba lazer uygulanmış, diğer grup da kontrol grubu olarak bırakılmıştır. Lazer grubunda kemik formasyonu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kemiğin mineral içeriği ve niceliği bakımında kontrol grubuna göre daha üstün olduğu saptanmıştır. Bu çalışmanın sonucunda lazerin BMP kemik artma sistemini aktive ettiği buna bağlı olarak da kemik rejenerasyonunu hızlandırdığı kanısına varılmıştır (53).

Lazerin kemik üzerinde oluşturduğu etkiden sorumlu ana hücrelerin belirlenmesi ve kemikteki rejenerasyon süresince lazerin bu hücreler üzerinde ne gibi etkilerinin olduğunun araştırılması için çeşitli hücre kültürlerinin hücresel proliferasyon, ALP aktivitesi ve osteokalsin gen ekspresyonu, rat kafatası hücreleri kullanılarak incelenmiştir. Kültürün erken dönemindeki lazer uygulaması hücresel proliferasyonu, ALP aktivitesini ve osteokalsin gen ekspresyonunu kayda değer derecede stimüle ettiği saptanmıştır (25).

Düşük enerjili lazerin, tibia'nın kortikal kısmındaki kemik iyileşmesi üzerine etkisi biyokimyasal ve radyoaktif işaretleme metodlarıyla incelenmiştir. Bu amaçla tibia diyafizinin lateral yüzünde halka şeklinde oyuk oluşturulmuş ve bu defekte,

oluşturulmasından sonraki 5. ve 6. günlerde, He-Ne lazer uygulanmıştır. Defekt bölgesinde osteoblastik aktivitenin artışı ALP artışı ile paralellik göstermiştir (32).

He-Ne lazerin rat tibialarında oluşturulmuş çukur defekti sonrası defekt bölgesindeki osteoblast ve osteoklast aktivitesinin üzerine etkilerinin incelendiği bir araştırmada, ratlara operasyondan sonraki 6 gün boyunca defektli bölgeye direkt He-Ne lazer uygulanmıştır. Sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, osteoblast ve osteoklast hücre popülasyonlarında değişme oluşmuştur. Bununla birlikte ALP enzim aktivitesinde postoperatif 6. günde hızlı bir yükseliş, 12. günde ise az ve yavaş bir yükselme gözlenmiştir. Kalsiyum ise, 12. güne kadar büyük miktarlarda artarak ve daha sonra azalan miktarlarda bir artışla defekt bölgesinde progresif olarak toplanmıştır. Histolojik incelemeler ise, defektli bölgedeki intrameduller kanalın operasyondan 6 gün sonra adeta kemik hücreleri ile örüldüğünü göstermiştir (46).

Düşük enerjili lazer sağaltımının ALP enzim aktivitesi ve kırık kallus maturasyonu üzerine etkisi farelerdeki femur kırıklarında incelenmiştir. Enzim aktivitesi miktarı ölçüldüğünde; kırık sonrası 3. hafta özellikle lazer uygulanmış grupta aktivitenin en yüksek olduğu, 4. ve 5. haftalarda ise aktivitenin azaldığı gözlenmiştir. Kırık oluşturulmasından 3 hafta sonra lazer uygulanmış grupta uygulanmamış olanlara göre kallus oluşumunda 10 kat artış saptanmıştır. Histolojide lazer sağaltımından sonra artmış bir remodelizasyon ile birlikte aktif intrakartilajinöz ve intramembranöz ossifikasyon saptanmıştır. Bu çalışma ile lazer sağaltımının, kırık onarım süresini kısaltmada etkisinin olduğu, fakat kırık oluşumundan sonraki 3., 4. ve 5. haftalar ALP aktivitesi için geç dönem olarak kabul edildiğinden ALP cevabında önemli bir değişiklik olmadığı vurgulanmıştır (49).

İn vitro olarak 6 rat üzerinde yapılan bir çalışmada 12 femurun distal epifizinde standart bir alanda kemik defektleri oluşturulmuş, 6 defekt her gün olmak üzere 10 gün boyunca Ga-Al-As (780nm) lazere tabi tutulmuştur. Geri kalanlar kontrol grubu olarak bırakılmıştır. 21 gün sonra lazer grubunda, ALP ve Ca oranlarında önemli artışlar gözlenmiş ve defektli alanın iyileşme oranı kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (104).

Nippon ve arkadaşlarının çalışmasında (29), He-Ne lazer irradiasyonun osteoblastik hücreler üzerine etkileri incelendiğinde, uzun süreli kültürlerde düşük enerjili lazer irradyasyonu sonunda, Ca akümüasyonu saptanmıştır. Bunun aksine ALP aktivitesinde artış gözlenmemiştir. Bu çalışma sonucunda lazer irradyasyonun osteoblastik hücreleri fotoaktive ettiği, osteoblastik hücre gelişimini ve kalsifikasyonu hızlandırdığı ve buna bağlı olarak da kemik rejenerasyonunu desteklediği düşünülmektedir.

Khadra ve arkadaşları (1), Ga-Al-As lazerin osteoblastlar ve kalsifikasyon üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, Energy- Dispersive X-ray Microanalyzer (EDAX) kullanılarak bölgedeki Ca ve P miktarları ölçülmüştür. Lazer uygulanmış kemiklerde Ca ve P da önemli miktarda artış gözlenmiştir. Bu minerallerdeki artış sebebi ise LLLT sonucunda osteoblast farklılaşmasındaki artış olarak kabul edilmiş ve LLL irradyasyonunun, kalsifikasyona pozitif etkisi olduğu sonucuna varılmıştır.

ALP kemiğin normal gelişme ve tamiri sürecinde kırıkta ve kemiğin kalsifikasyonu için önemli bir enzim olarak kabul edildiğinden, Dickson ve arkadaşları (105), Ga-Al-As lazerin ALP enzim aktivitesi üzerine etkilerini incelemişler ve bu amaçla murine femurlarından alınmış doku örneklerine 10 J/cm² dozda lazer uygulamışlardır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ALP enzim aktivitesi lazer grubundaki kemik örneklerinde daha yüksek bulunmuştur.

Buna benzer olarak Turk (106), düşük frekanslı manyetik alanın kırık onarımı üzerine etkisini kallus yoğunluğu ve ALP enzim aktivitesi ile ölçmek istemiş ve sonuçta da kallus yoğunluğuna baktığında hızlı bir kırık iyileşmesi saptarken, postoperatif ALP değerlerinin preoperatif değerlere göre daha düşük olduğunu belirlemiştir.

He-Ne lazerin ratlarda kırıklar üzerine etkisi; radyolojik, biyomekanik ve histolojik olarak incelenmiştir. 62 adet ratın tibiasında bilateral osteotomi gerçekleştirilerek intrameduller pin ile internal fiksasyon uygulanmıştır. Sağ ekstremitelere 2-6 hafta boyunca 4 J lazer irradyasyonu uygulanırken, sol ekstremiteler kontrol grubu olarak bırakılmıştır. Sonuçta He-Ne'un kemik iyileşme prosesine hiçbir arttırıcı etkisinin olmadığı radyolojik ve histolojik teknikler ile saptanmıştır (30).

LLLT, büyüme faktörleri ile sitokinlerin dolaşım sistemine salınımını stimüle etmekte ve böylece deneysel sujenin sağaltım uygulanmamış bölgesinin de etkilenmesini sağlamaktadır. Bu da internal kontrol grubu kullanan çalışmalarda LLLT'nin faydalı etkilerinin net saptanamamasının bir nedeni olarak kabul edilmektedir (34, 37, 102, 107)

Özellikle ortodontolojide, diş ile birlikte alveolar kemik ve çene kemikleri ile uğraşıldığından, hızlı bir kemik onarımı ortodontistler için de çok önemli bir fenomendir. Ortodontik sağaltımda diş hareketi, uygulanan ortodontik güçlere bağlanmaktadır. Bu güçler periodontal dokuların özellikle de alveolar kemiğin remodelizasyonunu sağlamaktadır. Klasik uygulamalar ile yapılan 2-3 yıllık sağaltım süreleri bazı hastalar için sıkıntı verici olmakta ve bu yüzden de alveolar kemik iyileşmesinin hızlandırılması gerekli olan zamanın kazanılması açısından oldukça önem taşımaktadır. Eğer "lazer sağaltımı kemik remodelizasyonunda hızlanmaya neden oluyorsa ortodontik sağaltım periyodu da

buna bağılı olarak kısılacaktır” varsayımı ile kemik remodelizasyonu üzerine etkisinin araştırıldığı birçok çalışma yapılmıştır (79, 94, 108). Bakılan parametreler; diş hareketinin derecesi, kemik formasyonun durumu, proliferen olmuş hücre-nükleer antijen (PCNA) miktarı, kompresyon bölgesindeki osteoklastların sayısı olmuştur. Sonuç olarak, düşük enerjili Ga-Al-As diode lazer irradyasyonunun alveoler kemik remodelizasyonun hızı ile bağlantılı olan diş hareketini; osteoklast sayıları, periodontal ligament hücrelerinin proliferasyonu ve mineralize olmuş kemik artışları ile göstermek suretiyle stimüle ettiği saptanmıştır.

Garavello-Freitas ve arkadaşları (109), farelerin tibialarında deneysel olarak oluşturulan defekt lezyonlarına 7 gün boyunca He-Ne lazer sağıltımı uygulamışlardır. Çalışmada lazer irradyasyonunun kemik gelişimine stimülatör etkileri ilk hafta artarken, ikinci haftada inhibitör etki izlenmiştir. Rejenere olan defektindeki trabeküler kemiğin hacmi, ALP aktivitesi ve kalsiyum içeriğı, He-Ne lazer grubu tibialarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında özellikle ikinci haftadan itibaren çok daha hızlı azalma göstermiştir. Lazer grubundaki osteoblastlar ve osteositlerde artış saptamışlardır. Bu bulguları doku metabolizmasındaki artışın bir göstergesi olarak vurgulamışlardır.

Luger ve arkadaşları (42) He-Ne lazerin tibial kemik kırıklarının iyileşmesi üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Biyomekanik güç ve kallusun mukavemeti, kemik kırıklarının fonksiyonel onarımında en son gösterge olarak bilindiğinden bu çalışmada LLLT'nin kırık iyileşmesi üzerine etkisi farelerde mekanik parametrelerin sonuçlarını test ederek gerçekleştirilmiştir. Ağırlıkları 400 ± 20 gr olan 50 adet, 4 aylık, erkek Wistar ratı kullanılmıştır. 1.0 mm çaplı bir kirschner pini medullar boşluğa sırası ile deriden ve patellar ligamentten geçerek tibia'nın distal ucuna kadar inmiştir. Ardından tibiada deri üzerinden 0.5 cm longitudinal ensizyon yapılarak kemiğe ulaşılmış ve dental driller kullanılarak tibia'nın orta diafizinde 3 delik açılmıştır. Takiben tibia nazik bir hareketle kırılmıştır. Grup 1'de operasyonu takiben bölgeye 632.8 nm dalga boyunda He-Ne lazer irradyasyonu 20 cm uzaklıktan toplam 30 dk, 14 ardışık gün boyunca uygulanmıştır. Grup 2'ye ise aynı operasyon uygulanmış fakat lazer tutulmamıştır. 4 hafta sonra tibialar alınmış ve kallusların distraksiyona direnci 4. haftada kontrol edilmiştir. Kalluslar neredeyse tam kırık iyileşmesi gibi direnç göstermiştir. Dayanımın tükendiğı noktadaki maksimum güç irradiye edilmiş grupta, non irradiye gruplara oranla önemli derecede yüksek bulunmuştur. Diğer taraftan maksimum kallus alanı irradiye edilmiş grupta daha düşük bulunmuştur. Her iki grubun kallus özellikleri arasındaki fark karşılaştırıldığında; lazer uygulanmamış gruptaki kallus, hacim olarak daha büyük fakat güç olarak daha zayıf

bulunmuştur. Bu farkın lazer uygulanmamış gruptaki kallusun daha fibrokartilajinöz ve daha az ossifiye olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Son yıllarda, düşük enerjili lazerin, gerek kemik implant bölgelerinde, gerekse defektlerindeki osteositler ve kemik resorpsiyonu üzerine etkileri araştırılmıştır. İmplant yerleştirilmesini takiben lazer uygulanan olgularda osteosit canlılığının kontrol grubuna oranla önemli derecede yüksek olduğu saptanmıştır (26, 34, 98).

Tavşanların genu ekleminde deneysel oluşturulan osteokondral lezyonların operatif sağaltımını takiben lazerin etkisi araştırılmış, sol genu eklemindeki tüm lezyonlara Ga-Al-As lazer operasyonu takiben uygulanmış, sağ genu eklemi ise kontrol grubu olarak bırakılmıştır. Lazer uygulanmış kondilusların iyi hücre morfolojisi ve onarım olmuş düzgün osteokartilajinöz doku yapısı gösterdiği saptanmıştır (17).

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada yaşları ortalama 8-9 aylık, canlı ağırlıkları 2 kg olan, erkek, beyaz Yeni Zellenda tavşanı kullanıldı. Çalışma için tavşanların seçilmesinin nedeni, iskelet boyutlarındaki hızlı artış ve normal bir kemik iyileşmesini izleyebilmek için iyi bir model oluşturuyor olmasıdır. Tüm tavşanlar kafeslerine ayrı ayrı yerleştirildikten sonra operasyon gününe kadar 7 gün çevreye uyumları için bekletildi. Tüm tavşanlar standart pelet tavşan yemi ile ve ilaç katılmamış sade su ile beslendi. Hepsini için standart yaşam şartları oluşturulmaya çalışıldı. Buldukları bölgenin sıcaklığı ve nemi, oda sıcaklığı ve neminde tutulmaya çalışıldı (Şekil-2).



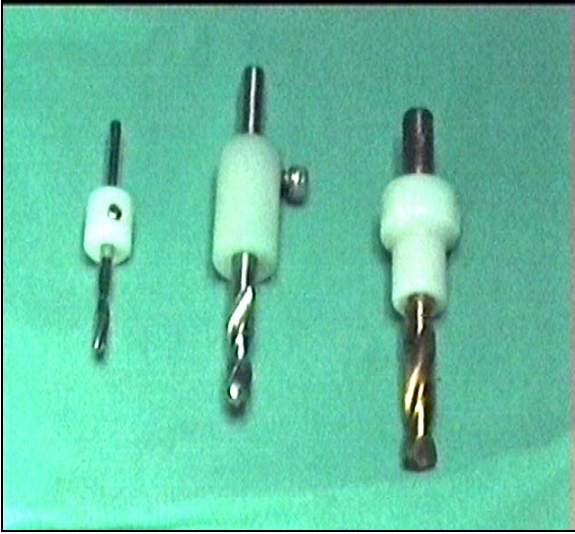
Şekil-2: Tavşanların bulunduruldukları kafes

Çalışma süresi 5 hafta olarak planlandı. Çalışma prosedürünü gerçekleştirmeden önce Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesinden etik kurul oluru alındı (5.11.2002/1). Çalışma süresince tavşanlara gereksiz stres ve rahatsızlık oluşturulmaktan kaçınıldı. LLLT'nin sistemik etkilerinden kaçınmak için ayrı kontrol grubu oluşturuldu.

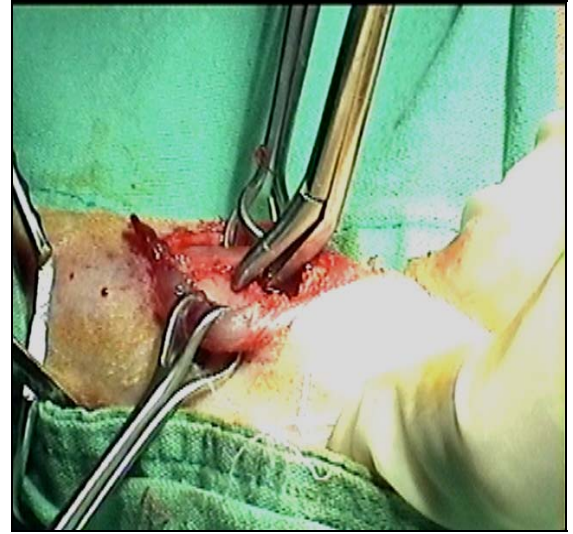
Tavşanların tibia'larında operatif dönemde defekt oluşturmak için 2 mm, 5 mm çaplı dril (Şekil-3A), kırık oluşturmak için Gigly Testeresi, kırığın internal fiksasyonu ve stabilizasyonu için 4 mm çapında full dişli vida (Şekil-4B,H) ve rutin operasyon seti kullanıldı.

Lazer uygulaması için Anabilim Dalımızda bulunan HI-TECH 300 Therapeutic laser cihazı kullanıldı (Şekil-5). HI-TECH 300 Therapeutic lazer cihazı, canon ve scanning sistemli bir başlığa sahiptir. Canon sistemi; 632.8 nm dalga boyunda sadece He-Ne ışın çıkışıdır. He-Ne lazer; sürekli, gözle görülen kırmızı bir ışığa sahiptir. Maksimum gücü 20 mV, nominal gücü 10 mV'tur. Scanning sistemi ise infrared, 904 nm dalga boyunda,

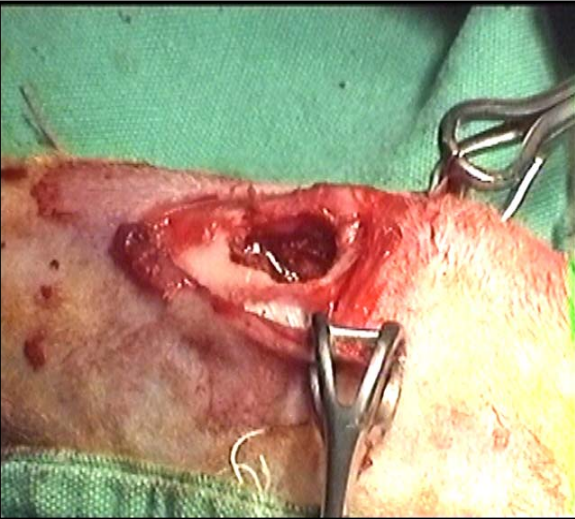
Ga-Al-As ışın çıkışıdır. Maksimum gücü 50-80 mV'dır. Cihazın frekansı 1-9999 Hz=1 MHz ayarlanabilir. Scanning sistemde yatay, dikey, kafes ve nokta ışın verebilme özelliği, bu ışınları genişletme ve hareketlerini sabitleştirme, tarama sistemini ekrandan kontrol etme, dozimetrik sistemde direkt joul (1 dakikalık süre=0.90 J'luk enerji yoğunluğu) olarak uygulamaya girme özellikleri vardır. Ayrıca cihaz aşağıya ve yukarıya doğru otomatik olarak ayarlanabilir. Bütün bilgiler dokunmatik olarak ekrana girilir ve geri sayma gösterme özelliğine sahiptir. Cihaz bir IR akupunktur probuna ve bir de Red el probuna sahiptir.



Şekil-3 A: Kullanılan driller



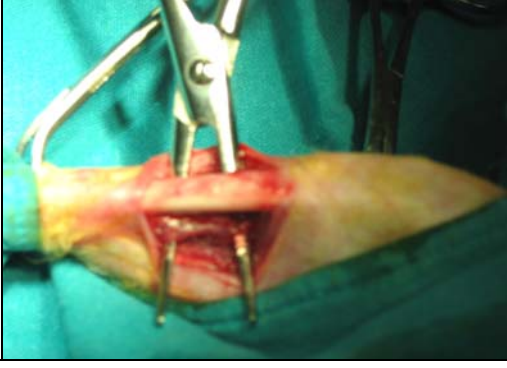
Şekil-3 B: Ronjör yardımı ile defektin genişletilmesi



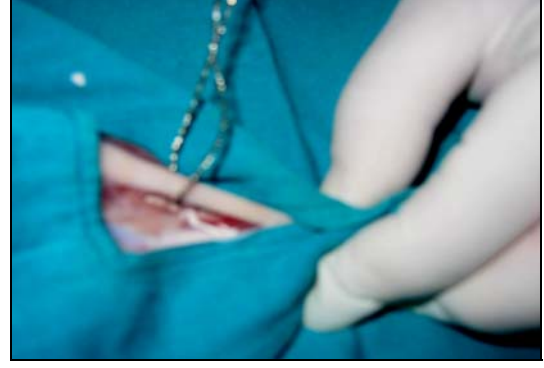
Şekil-3 C: Defektin son görünümü



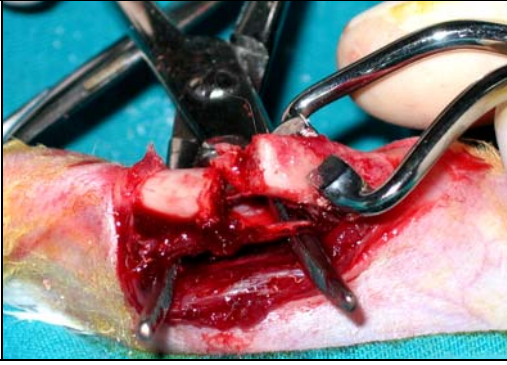
Şekil-3 D: Postoperatif görüntü



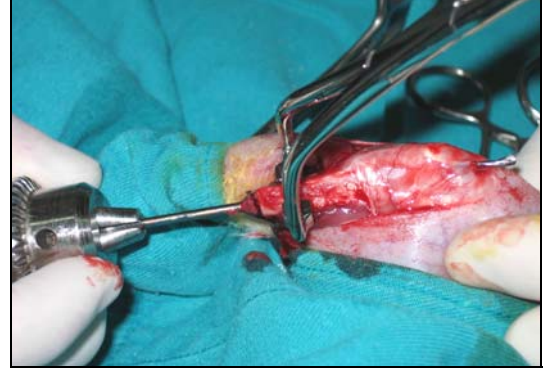
Şekil-4 A: Tibia



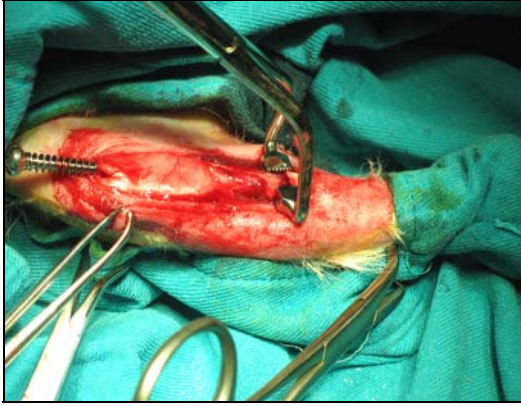
Şekil-4 B: Gigly testeresi ile kırık oluşturulması



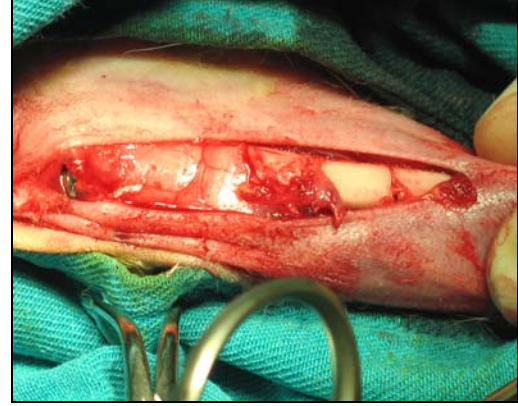
Şekil-4 C: Tibia'da oluşturulan kırık



Şekil-4 D: Dril ile yuva açılması



Şekil-4 E : Medullar kanala vidanın yerleştirilmesi



Şekil-4 F: Vidanın yerleştirilmiş hali



Şekil-4 G: Postoperatif görüntüsü



Şekil-4 H: Kullanılan full dişli vidalar



Şekil-5: HI-TECH 300 Therapeutic laser cihazı

Bu çalışma iki bölüm halinde gerçekleştirildi. Birinci bölümde tibia'da defekt, ikinci bölümde de deneysel kırık oluşturuldu. Her iki bölümde de çalışma materyalini 30'ar adet tavşan oluşturdu. İki bölümde de tavşanlar 10'arlı üç grup halinde: "Kontrol grubu, He-Ne Lazer uygulama grubu, Ga-Al-As Lazer uygulama grubu" olarak ayrıldı. Operasyonlar genel anestezi altında yapıldı. 3-5 mg/kg Alfazin® (Ege Vet)'in i.m. uygulanması ile sağlanan sedasyonu takiben 7,5-15mg/kg miktarında Propofol® (Abbott) i.v. verilerek genel anestezi gerçekleştirildi. Birinci bölümde çalışmanın materyalini oluşturan 30 adet tavşanın tibia'larının üst 1/3'ü medial yüzlerinde 0.5 cm x 2 cm ebadında bir "defekt" oluşturuldu (Şekil-3 B, C, D). İkinci bölümün materyalini oluşturan 30 adet tavşanın tibia'larında diyafizer kırık oluşturuldu. Kırık, tibia diyafizinin üst 1/3'ünün distal ucu düzeyinde Gigly testeresi ile transversal olarak oluşturuldu. Kırığın stabilizasyon ve immobilizasyonu 4 mm çaplı full dişli vidanın anterograd intramedullar uygulanması ile gerçekleştirildi (Şekil-4 A, B, C, D, E, F, G, H).

Her iki bölümün materyalini oluşturan 60 adet tavşanda aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

1. Operasyondan bir gün önce ve operasyonu takip eden 7., 14., 21. ve 28. günlerde tavşanların tibia'larının A-P ve M-L pozisyonlarda radyografileri alındı. Postoperatif radyografiler kırık ve defektli bölgelerdeki kallus formasyonu açısından değerlendirildi.

2. Operasyondan bir gün önce ve operasyonu takip eden 7., 14., 21. günlerde Ca, P ve ALP ölçümleri için kan alındı (Şekil-6 A, B). Glyoxal-bis ve modifiye Youngburg metodları ile Ca ve P ölçümleri U.Ü. Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında yapıldı. ALP ölçümü ise U.Ü. Tıp Fakültesi Klinik Laboratuvarında 'Synchron LX® Systems' cihazı ile gerçekleştirildi.



Şekil-6 A: Kulak venasından kan alınması



Şekil-6 B: Kan örnekleri

3. Lazer uygulamasına operasyonu takiben başlandı. He-Ne LAZER UYGULAMA GRUBUNDA, operasyon bölgesine He-Ne lazer (632.8 nm) canon sistemi kullanılarak gün aşırı, 1000 Hz dozunda (9J) ve 15 dakika süre ile toplam 12 seans uygulandı. Ga-Al-As LAZER UYGULAMA GRUBUNDA, operasyon bölgesine Ga-Al-As diode lazer (904 nm) scanning sistemi kullanılarak gün aşırı, 1000 Hz dozunda (13.5 J) ve 15 dakika süre ile toplam 12 seans uygulandı.

4. Operasyondan sonraki 14. günde operasyon bölgesinden histopatolojik inceleme için kemik doku örneği alındı. Histopatolojik inceleme U.Ü. Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında yapıldı. Bu amaçla dokular dereceli alkol ve ksilolden geçirildikten sonra parafine gömüldü. Parafin bloklardan 5 mikronluk kesitler alınarak Hematoksilen-Eozin ile boyandı ve Entellan ile lameller doku üzerine yapıştırılıp incelemeler gerçekleştirildi.

5. Tüm olgulara 35. günde ötenazi yapıldı. Her olgunun operasyon bölgesinden iki ayrı doku örneği alındı. Bir örnek, U.Ü. Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalına histopatolojik inceleme için gönderildi. Yeni kemik oluşumu hücresel düzeyde değerlendirildi. İkinci doku örneği, U.Ü. Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalına gönderildi. Burada yeni oluşan kemik dokusunda kemik külünden spektrofotometrik yöntem ile, Ca, P ve ham kül ölçüldü ve mineral yoğunluğu değerlendirildi.

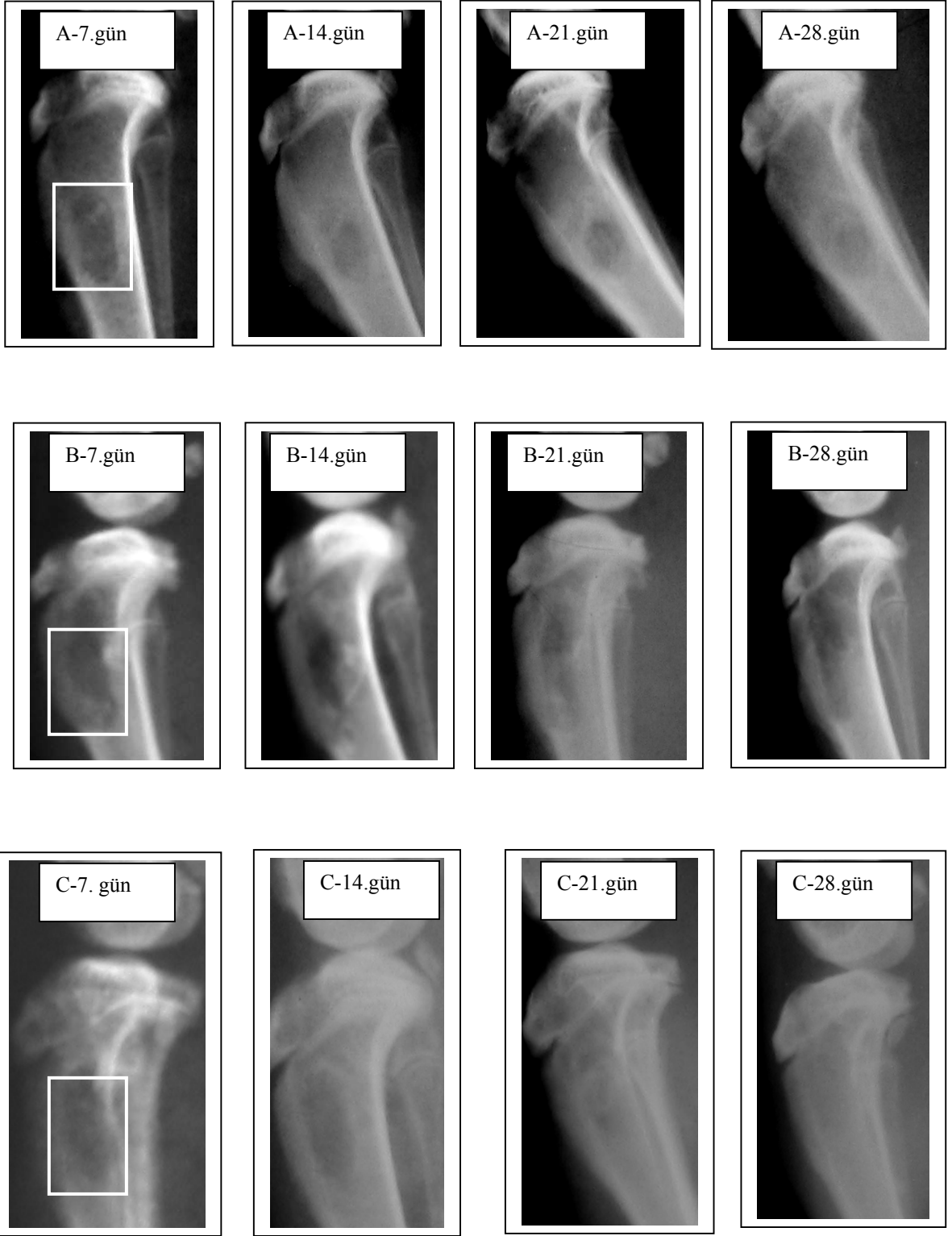
6. **İstatistikî Yöntem:** Kandan ölçümleri yapılan Ca, P ve ALP, kemik külünden ölçümleri yapılan Ca, P ve ham kül bulgularının istatistikî değerlendirmeleri U.Ü.Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalında yapıldı. İstatistikî değerlendirmede veri sayısının az olması nedeni ile Non-Parametrik yöntem tercih edildi. İstatistiksel analizin gerçekleştirilmesi için SPSS 13,0 istatistikî analiz paket programı kullanıldı (110-112). He-Ne, Ga-Al-As ve Kontrol gruplarının karşılaştırılmasında Kruskal–Wallis–h testi (111), gruplar içi; kandaki ALP, Ca, P değerleri ve kemikteki Ca, P ve ham kül değerlerinin karşılaştırılmasında Wilcoxon Signed Ranks Testi kullanıldı (112).

BULGULAR

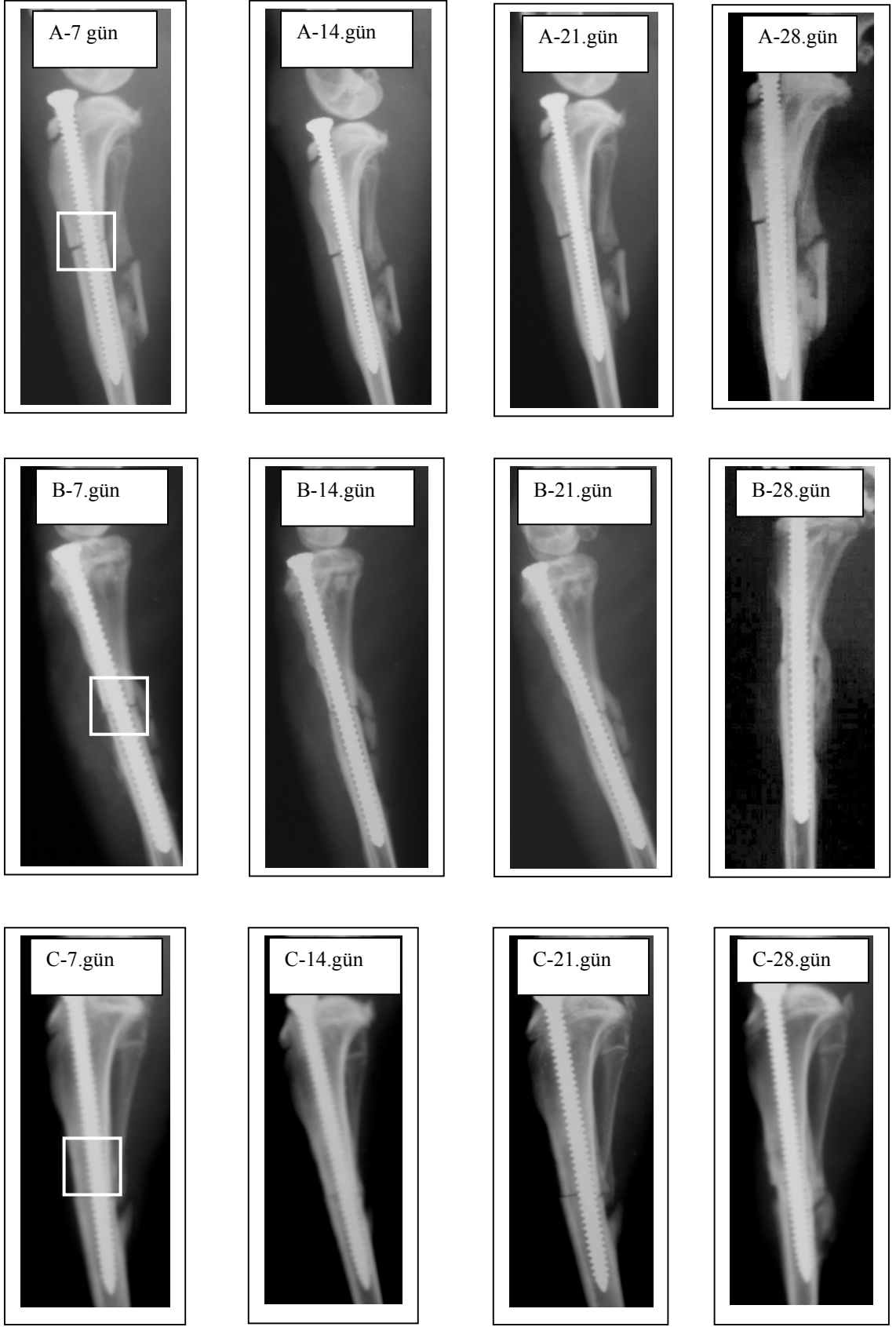
Çalışmada 60 adet tavşan kullanıldı. Operasyonlar genel anestezi altında yapıldı. Anesteziden uyanmalarında herhangi bir sorunla karşılaşılmadı. Operasyon bölgelerinde enfeksiyon olmaksızın iyileşme gerçekleşti. Tüm tavşanların postoperatif dönemde kilo kazanımları normal düzeyde oldu. Kırık oluşturulan grupta ekstremitelere uygulanan bandaj 14. günde uzaklaştırıldı. Takiben bir sorun ile karşılaşılmadı. Olguların klinik iyileşmelerinin iyi olduğu gözlemlendi.

A. Radyolojik Bulgular

Bu çalışmada, radyolojik inceleme direkt radyografi ile gerçekleştirildi. Tüm olgulardan operasyondan sonraki 7., 14., 21. ve 28. günlerde A-P ve M-L pozisyonlarda alınan radyografiler, kırık ve defektli bölgelerdeki kallus formasyonu ve kemik iyileşmesi açısından değerlendirildi. Kallus oluşumu ve kemik iyileşmesi bakımından çalışma grupları ile kontrol gruplarının radyografileri incelendiğinde, defektlerde 7. günlerde defekt sınırlarının belirgin olduğu, 14. ve 21. günlerde her üç grupta da defektin kallusla dolmaya başladığı ve alanlarının küçüldüğü, 28. günlerde ise, sadece Ga-Al-As lazer uygulanan grupta defektin kallus ile tamamen dolduğu, sınırlarının kaybolduğu, kemiksel iyileşmenin iyi olduğu saptandı. Kontrol ve He-Ne gruplarında ise, özellikle He-Ne grubunda defekt sınırlarının daha belirgin olduğu görüldü (Şekil-7). Deneysel kırık oluşturulan ikinci bölümdeki kontrol ve çalışma gruplarının 7., 14. ve 21. günlerde osteotomi hattındaki kırık çizgisinin belirgin olduğu saptandı. Tibia fragmentleri çevresindeki eksternal kallus gelişmesi radyografik olarak saptanamadı. Ga-Al-As lazer uygulanan grubun 28. günlerdeki radyografilerinde, az da olsa kallusun gelişmeye ve kırık çizgisinin silinmeye başladığı, yani kemiksel birleşmenin oluşmaya başladığı saptandı. Kontrol grubundaki osteotomi bölgesinde ise kırık çizgisinin He-Ne grubuna göre biraz daha belirgin olduğu görüldü (Şekil-8). Makroskopik inceleme olanağı bulduğumuz Ga-Al-As grubuna ait ve üç haftasını tamamladıktan sonra ex olan iki olguda kırık fragmentlerinin çevresini bir ceket kolu gibi saran yoğun kemiksel oluşumların gelişmiş olduğu görüldü (Şekil-9). Bu çalışmada, radyografiler incelenirken, tibialarla eşzamanlı kırılan fibulaların kırık bölgelerinde, günlere göre giderek artan miktarlarda bir kallus oluştuğu dikkatimizi çekmiştir. Burada da, kallus yoğunluğunun He-Ne grubunda artmış, ancak kırık çizgisinin belirgin olduğu, Ga-Al-As grubunda ise gelişmelerin iyi ama biraz daha az olduğu, Kontrol grubunda ise en az olduğu saptanmıştır.



Şekil-7 A-B-C: A- Defekt kontrol grubu, B- Defekt He-Ne grubu, C- Defekt Ga-Al-As grubu



Şekil-8 A-B-C: A- Kırık kontrol grubu, B- Kırık He-Ne grubu, C- Kırık Ga-Al-As grubu



Şekil-9: Ga-Al-As lazer uygulanan ve 3. haftada ex olan iki olgunun makroskopik görünümü.

B. Kanda Ca, P ve ALP Bulguları (Defekt Grubu)

Operasyondan bir gün önce ve operasyonu takip eden 7., 14., 21. günlerde Ca, P ve ALP ölçümleri için kan alındı. Ca ve P ölçümleri U.Ü. Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında yapıldı. ALP ölçümü ise U.Ü. Tıp Fakültesi Klinik Laboratuvarında yapıldı.

B1. Grup İçi Değerlendirme

He-Ne Grubunun Grup İçi Değerlendirilmesinde;

Bu gruptaki Ca değerinin, 14. günde başlangıç değerine göre arttığı saptandı ve bu artış istatistiki açıdan $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı kabul edildi.

ALP değerinin 7. günde başlangıç değerine göre arttığı saptandı ve bu artış istatistiki açıdan $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı kabul edildi.

Ga-Al-As grubunun grup içi değerlendirmesinde;

Ca, P ve ALP değerleri bakımından istatistiki anlam saptanamadı.

Kontrol grubunun değerlendirilmesinde;

Bu gruptaki Ca değerinin 7. günde başlangıç değerine göre azaldığı saptandı ve bu azalma istatistiki açıdan $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı kabul edildi.

P değerinin 7. günde başlangıç değerine göre azaldığı saptandı ve bu azalma istatistiki açıdan $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı kabul edildi.

ALP değerinin 7. günde başlangıç değerine göre azaldığı saptandı ve bu azalma istatistiki açıdan $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı kabul edildi.

B2. Yüzde Değer Bulguları

He-Ne, Ga-Al-As ve Kontrol grupları arasında 7. gün Ca değeri, başlangıç değerine göre $p > 0.05$ düzeyinde anlamlı bulundu.

He-Ne, Ga-Al-As ve Kontrol grupları arasında 7. gün P değeri, başlangıç değerine göre $p > 0.05$ düzeyinde anlamlı bulundu.

He-Ne, Ga-Al-As ve Kontrol grupları arasında 7. gün ALP değeri, başlangıç değerine göre $p > 0.01$ düzeyinde anlamlı bulundu.

B3. Gruplar Arası Değerlendirme (Kontrol, He-Ne, Ga-Al-As)

He-Ne ve Ga-Al-As gruplarının gruplar arası değerlendirmesinde istatistiki anlam saptanmamıştır.

Kontrol ve He-Ne gruplarının Ca değerleri bakımından karşılaştırması yapıldığında, başlangıç değerine göre 7. gündeki Ca değeri, He-Ne grubunda daha yüksek bulundu ($p < 0,05$).

P değerleri bakımından yapılan karşılaştırmada, başlangıç değerine göre 7. gündeki P değeri, He-Ne grubunda daha yüksek bulundu ($p < 0,05$).

Kontrol ve Ga-Al-As gruplarının gruplar arası karşılaştırmasında sadece P değeri anlamlı bulundu. Bu değer 7. günde Ga-Al-As grubunda başlangıç değerine göre $p < 0,05$ düzeyinde daha yüksek olduğu saptandı (Tablo 1).

C. Kanda Ca, P ve ALP Bulguları (Osteosentez Grubu)

C1. Grup İçi Değerlendirme

He-Ne Grubunun Grup İçi Değerlendirilmesinde;

P değerinin 7.ve 14. günlerde başlangıç değerine göre kademeli olarak arttığı saptandı, bu artış $p<0.05$ düzeyinde anlamlı olarak kabul edildi.

Aynı gruptaki ALP değerinde 7. günde başlangıç değerine göre $p<0.01$ düzeyinde anlamlı kabul edilen artış saptandı.

Ga-Al-As Grubunun Grup İçi Değerlendirmesinde;

Ca değerinin 21. günde başlangıç değerine göre azaldığı saptandı ve bu artış istatistiki açıdan $p<0.05$ düzeyinde anlamlı kabul edildi.

ALP değerinin 7. günde bir artış gösterdiği ve ardından 14. günde başlangıç değerine göre hızlı bir düşüş gösterdiği saptandı. 14.günde tespit edilen bu düşüş $p<0.05$ düzeyinde anlamlı kabul edildi.

Kontrol Grubunun Değerlendirilmesinde;

Kontrol grubu Ca değeri başlangıç değerine göre 7. günde biraz düştüğü, 14. günde başlangıç değerinin üzerine çıktığı ve 21. günde başlangıç değerine göre yine önemli miktarda azaldığı saptandı. Bu azalma $p<0.01$ düzeyinde anlamlı kabul edildi.

P değeri ise başlangıç değeri olan $5,19 \pm 0,5$ 'e göre düşmeye devam ederek 21. günde $4,56 \pm 0,5$ 'e ulaştı. Başlangıç değerine göre 21. gündeki bu düşüş $p<0.05$ düzeyinde anlamlı kabul edildi.

Kontrol grubunda ALP değeri başlangıç değeri $100,3 \pm 31,2$ olarak bulunurken bu değer 7. günde $105,9 \pm 26,0$ değerine yükseldiği, 14. günde düşmeye başladığı ve 21. günde $82,2 \pm 23,2$ 'ye düştüğü tespit edildi. 0.ve 21. günler arasındaki farklılık istatistiki açıdan $p<0.05$ düzeyinde anlamlı kabul edildi.

C2. Yüzde Değer Bulguları

He-Ne, Ga-Al-As ve Kontrol grupları arasında 7. gün Ca değeri başlangıç değerine göre $p>0.05$ düzeyinde anlamlı bulundu.

He-Ne, Ga-Al-As ve kontrol grupları arasında 21. gün Ca değeri başlangıç değerine göre $p>0.05$ düzeyinde anlamlı bulundu.

C3. Gruplar Arası Değerlendirme (Kontrol, He-Ne, Ga-Al-As)

He-Ne ve Ga-Al-As grupları Ca değerleri bakımından karşılaştırıldığında, 14. ve 21. günlerde Ga-Al-As grubu değerlerinin, He-Ne grubuna göre daha yüksek olduğu saptandı ($p<0,05$).

He-Ne ve Kontrol grupları Ca değerleri bakımından karşılaştırıldığında, 7. ve 21. günde He-Ne grubunun, kontrol grubuna göre daha düşük olduğu saptandı ($p<0,05$).

Ga-Al-As ve Kontrol gruplarının gruplar arası karşılaştırmasında istatistiki açıdan anlam saptanamadı (Tablo 2).

D. Kanda Ca, P ve ALP Bulguları (20'şer Denek)

D1. Grup İçi Değerlendirme

He-Ne Grubunun Grup İçi Değerlendirilmesi:

Ca değeri, 0. günde $10,39 \pm 2,03$ iken, bu değer 14. günde $12,06 \pm 1,4$ 'e yükseldi. Ca değeri bakımından 0. ve 14. günler arasındaki farklılık istatistiki açıdan $p<0.01$ düzeyinde anlamlı kabul edildi.

He-Ne grubunda P değeri 0. günde $5,72 \pm 0,7$ iken, bu değer 7. günde $6,1 \pm 0,56$ 'ya yükseldi. P değeri bakımından 0. ve 7. günler arasındaki farklılık istatistiki açıdan anlamlı kabul edildi ($p<0,05$). Yine P değeri 14. günde 0. güne göre tedrici bir artış göstererek $6,16 \pm 0,4$ 'e yükseldi. He-Ne grubunda P değeri bakımından 0. ve 14. günler arasındaki farklılık istatistiki açıdan anlamlı kabul edildi ($p<0,05$). Bu grupta P değeri 21. günde de 0. güne göre bir düşüş göstererek $5,18 \pm 0,9$ oldu. P değeri bakımından 0. ve 21. günler arasındaki farklılık istatistiki açıdan anlamlı kabul edildi ($p<0,05$).

He-Ne grubunda ALP değeri 0. günde $111,9 \pm 31,5$ olarak saptanırken, bu değer 7. günde $136,8 \pm 39,7$ 'ye yükseldiği saptandı. ALP değeri bakımından 0. ve 7. günler arasındaki farklılık istatistiki açıdan $p<0.01$ düzeyinde anlamlı kabul edildi. 14. gün ise bu değer $100,5 \pm 32,38$ 'e düştüğü belirlendi. ALP değeri bakımından 0. ve 14. günler arasındaki farklılık istatistiki açıdan anlamlı kabul edildi ($p<0,05$). 21. günde ALP değeri

tedrici olarak düşmeye devam ederek ve $93,5 \pm 42,17$ oldu. 0. ve 21. günler arasındaki bu farklılık istatistiki açıdan anlamlı kabul edildi ($p < 0,05$).

Ga-Al-As Grubunun Grup İçi Değerlendirmesi

Ca değeri, 0. günde $11,68 \pm 2,12$ saptanmış iken, bu değer 21. günde $9,3 \pm 2,7$ 'e düştüğü tespit edildi. Ca değeri bakımından 0. ve 21. günler arasındaki bu farklılık istatistiki açıdan $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı kabul edildi.

Yine Ga-Al-As grubunda ALP değeri, 0. günde $100,5 \pm 24,4$ olarak tespit edildi ve bu değer 7. ve 14. günlerde azalmaya devam ederek 21. günde $88,2 \pm 25,34$ 'e ulaştığı belirlendi. Bu grupta ALP değeri bakımından 0. ve 21. günler arasındaki farklılık istatistiki açıdan anlamlı kabul edildi ($p < 0,05$).

Kontrol Grubunun Grup İçi Değerlendirilmesi

Ca değeri, 0. günde $12,08 \pm 2,06$ olarak tespit edildi. 21. güne bakıldığında ise değer $10,3 \pm 1,8$ olduğu saptandı. Kontrol grubunda Ca değerleri bakımından 0. ve 21. günler arasındaki farklılık istatistiki açıdan $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı kabul edildi.

Yine kontrol grubunda P değeri 0. günde $5,6 \pm 0,9$ olarak saptanmış iken, bu değer 7. ve 14. günlerde kademeli olarak düştüğü ve 21. günde $4,9 \pm 0,8$ 'e ulaştığı tespit edildi. P değeri bakımından 0. ve 21. günler arasındaki bu farklılık istatistiki açıdan $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı kabul edildi.

Aynı gruptaki ALP değerine bakıldığında 0. gün bu değer $94,05 \pm 29,4$ olarak saptandı. 7. günde $85,6 \pm 32,67$ ve 14. günde ise $82,1 \pm 26,8$ 'e düştüğü belirlendi. 21. günde $73,4 \pm 27,2$ olarak saptandı. Kontrol grubunda ALP değerleri bakımından 0. ve 21. günler arasındaki farklılık istatistiki açıdan $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı kabul edildi.

D2. Gruplar Arası Değerlendirme - Yüzde Değer

Kontrol, He-Ne, Ga-Al-As grupları arasında 7. gün Ca değeri başlangıç değerine göre istatistiki olarak anlamlı bulundu ($p < 0,01$).

Kontrol, He-Ne, Ga-Al-As grupları arasında 21. gün Ca değeri başlangıç değerine göre istatistiki olarak anlamlılık belirlendi ($p < 0,05$).

Kontrol, He-Ne, Ga-Al-As grupları arasında 7. gün P değeri başlangıç değerine göre istatistiki olarak anlamlılık saptandı ($p < 0,05$).

Kontrol, He-Ne, Ga-Al-As grupları arasında 7. gün ALP değeri başlangıç değerine göre istatistiki olarak anlamlı bulundu ($p < 0,01$).

D3. Gruplar Arası Değerlendirme (Kontrol, He-Ne, Ga-Al-As)

Kontrol ve He-Ne gruplarının gruplar arası P değerleri bakımından karşılaştırması yapıldığında He-Ne grubunun 7. gün P değeri, kontrol grubuna göre yüksek bulundu ve bu fark istatistiki olarak anlamlı kabul edildi ($p<0,01$).

ALP değerleri karşılaştırıldığında, He-Ne grubunun 7. günde kontrol grubuna oranla daha yüksek olduğu saptandı ve gruplar arasındaki $p<0,001$ düzeyindeki bu farklılık anlamlı olarak kabul edildi.

Ca değerleri karşılaştırıldığında, 7. gündeki Ca değeri, kontrol grubunda He-Ne grubuna göre daha yüksek bulundu ($p<0,01$). Aynı değerin 21. günde de kontrol grubunda daha yüksek olduğu saptandı ($p<0,05$).

Kontrol ve Ga-Al-As gruplarının gruplar arası Ca değerleri bakımından karşılaştırması yapıldığında 7. günde Ga-Al-As grubu Ca değerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptandı ($p<0,05$).

Bu gruplar ALP değerleri bakımından karşılaştırıldığında ise, yine 7. günde Ga-Al-As grubunun kontrol grubuna göre $p<0,05$ düzeyinde daha yüksek olduğu saptandı.

He-Ne ve Ga-Al-As grupları Ca değerleri bakımından karşılaştırıldığında 21. günde He-Ne grubu Ca değerinin daha yüksek olduğu tespit edildi ($p<0,05$).

Yine bu iki grubun ALP değerleri bakımından karşılaştırması yapıldığında 7. gün ALP değerinin He-Ne grubunda daha yüksek olduğu saptandı ($p<0,05$). (Tablo 3)

Tablo-1 : Defekt grubunun kan; ALP, Ca ve P bulguları

		0. GÜN	7. GÜN	14. GÜN	21. GÜN
ALP	He-Ne	117,5 ± 35,1 ^a	136,8 ± 39,7 ^b	116,6 ± 32,1 ^{ab}	102,6 ± 54,2 ^{ab*}
	Ga-Al-As	95,9 ± 27,3	100,4 ± 21,4	94,1 ± 16,1	88,0 ± 27,6
	Kontrol	87,8 ± 27,7 ^a	65,3 ± 25,7 ^b	69,7 ± 22,6 ^{ab}	64,6 ± 29,1 ^{ab**}
Ca	He-Ne	10,24 ± 2,8 ^a	9,89 ± 1,6 ^{abA*}	12,89 ± 1,4 ^b	9,97 ± 2,7 ^{ab*}
	Ga-Al-As	10,82 ± 2,3	10,29 ± 1,8 ^{AB}	12,83 ± 2,1	7,92 ± 2,8
	Kontrol	11,73 ± 1,5 ^a	9,84 ± 2,0 ^{Bb}	11,52 ± 2,0 ^{ab}	10,05 ± 2,0 ^{ab**}
P	He-Ne	6,02 ± 0,7	6,08 ± 0,6 ^{A*}	6,20 ± 0,3	5,54 ± 0,9
	Ga-Al-As	5,43 ± 0,8	5,95 ± 0,7 ^{AC*}	5,70 ± 0,4	5,49 ± 1,0
	Kontrol	6,05 ± 1,1 ^a	5,20 ± 0,6 ^{bB}	5,57 ± 0,6 ^{ab}	5,25 ± 0,9 ^{ab*}

* p<0.05

** p<0.01

a, b : Aynı satırdaki farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

A, B, C : Aynı sütundaki farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

Tablo-2 : Osteosentez grubunun kan; ALP, Ca ve P bulguları.

		0. GÜN	7. GÜN	14. GÜN	21. GÜN
ALP	He-Ne	106,2 ± 28,3 ^a	120,1 ± 35,8 ^b	84,4 ± 24,5 ^{ab}	84,5 ± 25,2 ^{ab**}
	Ga-Al-As	105,1 ± 21,6 ^a	108,8 ± 22,1 ^{ab}	84,7 ± 17,3 ^b	88,5 ± 24,3 ^{ab*}
	Kontrol	100,3 ± 31,2 ^a	105,9 ± 26,0 ^{ab}	94,5 ± 25,9 ^{ab}	82,2 ± 23,2 ^{b*}
Ca	He-Ne	10,55 ± 0,9	11,19 ± 1,2 ^{A*}	11,24 ± 1,0 ^{A*}	10,52 ± 1,1 ^{A*}
	Ga-Al-As	12,55 ± 1,6 ^a	12,44 ± 2,5 ^{abAB}	11,91 ± 2,3 ^{abB}	10,86 ± 1,6 ^{bB*}
	Kontrol	12,24 ± 2,3 ^a	11,59 ± 2,3 ^{abB}	13,25 ± 5,2 ^{abAB}	10,78 ± 1,7 ^{bBC**}
P	He-Ne	5,44 ± 0,6 ^a	6,15 ± 0,6 ^b	6,12 ± 0,5 ^{bc}	4,84 ± 0,8 ^{abc*}
	Ga-Al-As	4,95 ± 0,7	4,77 ± 0,7	4,95 ± 0,9	4,60 ± 0,6
	Kontrol	5,19 ± 0,5 ^a	5,00 ± 0,5 ^{ab}	5,10 ± 0,6 ^{ab}	4,56 ± 0,5 ^{b*}

* p<0.05

** p<0.01

a, b, c : Aynı satırdaki farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

A, B, C : Aynı sütundaki farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

Tablo-3 : Osteosentez ve Defekt grubunun (Toplam 60 tavşan) kan; ALP, Ca ve P bulguları

		0. GÜN	7. GÜN	14. GÜN	21. GÜN
ALP	He-Ne	111,9 ± 21,5 ^a	136,8 ± 39,7 ^{bA***}	100,5 ± 32,38 ^{bc}	93,5 ± 42,17 ^{bcd**}
	Ga-Al-As	100,5 ± 24,4 ^a	100,4 ± 21,3 ^{abB*}	89,4 ± 16,98 ^{ab}	88,2 ± 25,34 ^{b*}
	Kontrol	94,05 ± 29,4 ^a	85,6 ± 32,67 ^{abC}	82,1 ± 26,87 ^{ab}	73,4 ± 27,2 ^{b**}
Ca	He-Ne	10,39 ± 2,03 ^a	10,50 ± 1,5 ^{abA**}	12,06 ± 1,4 ^b	10,24 ± 2,00 ^{ab**A*}
	Ga-Al-As	11,68 ± 2,12 ^a	11,36 ± 2,3 ^{abAB*}	12,3 ± 2,1 ^{ab}	9,30 ± 2,7 ^{b**BC}
	Kontrol	12,08 ± 2,067 ^a	10,50 ± 2,4 ^{abBC}	12,8 ± 3,7 ^{ab}	10,3 ± 1,8 ^{b**C}
P	He-Ne	5,72 ± 0,7 ^a	6,10 ± 0,56 ^{bA**}	6,16 ± 0,4 ^{bc}	5,10 ± 0,9 ^{bcd*}
	Ga-Al-As	5,18 ± 0,75 ^a	5,36 ± 0,9 ^{aAB}	5,30 ± 0,8 ^a	5,04 ± 0,9 ^a
	Kontrol	5,60 ± 0,9 ^a	5,10 ± 0,5 ^{abB}	5,30 ± 0,6 ^{ab}	4,90 ± 0,8 ^{b**}

* p<0.05

** p<0.01

*** p<0.001

a, b, c, d : Aynı satırdaki farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

A, B, C, D : Aynı sütündeki farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

E. Histopatolojik İnceleme Bulgularının (14. ve 35. günlerde) Değerlendirmesi:

Kontrol (Defekt) Grubu:

14. günde aktif halde osteoblast oluşumları, trabeküler kemik doku oluşumu, osteoid doku oluşumu (Kollajen iplikleri, bağ doku hücreleri ve kapillar damarlardan oluşmuş fibröz kallus dokusuna ait yapılar), yer yer hyalin kıkırdak oluşumu saptandı (Şekil-10). 35. gün trabeküler kemik oluşumları osteoid doku, kapillar damar (kan-lenf damarı) oluşumları, aktif halde osteoblast oluşumları ve megakaryositler saptandı (Şekil-11).

He-Ne (Defekt) Grubu:

14. günde osteoblastlarda belirgin artış, aktivite artışı saptandı. Yeni trabeküler kemiğe ait yapılar ile ağırlıklı olarak genç kemik dokunun ve kapillar damarların daha iyi oluştuğu geniş osteoid doku oluşumu saptandı (Şekil-12).

35. günde trabeküler kemiğin, kompakt kemik halini aldığı saptandı. Osteositlerin tam olarak yassılaşmamış olduğu gözlemlendi. Trabeküler kemik dokunun kenar kısımlarında aktif halde çok sayıda osteoblast görüldü. Kemik iliğine ait myeloid hücreler saptandı ve kemik iliğinin yer yer oluştuğu gözlemlendi.

Ga-Al-As (Defekt) Grubu:

14. günde çok sayıda aktif osteoblast, bol miktarda osteoid doku, trabeküler kemik oluşumları ve kemikleşmeye başlamış hyalin kıkırdak oluşumları ve yer yer kan damarı oluşumları görüldü. Trabeküller arasında aktif halde osteoblastlar ve kemik trabeküllerinde osteositler görüldü (Şekil-13).

35. günde fibröz doku oluşumlarının, osteoblastik aktivitenin oldukça fazla olduğu görüldü. Kollajen lifleri ile birlikte yer yer düzenli kemikleşmelerin başladığı saptandı. Kan ve lenf damarı oluşumları görüldü. Bazı olgularda osteositler, tam anlamı ile morfolojilerine dönmediği için oluşan kemik dokunun genç kemik dokusu olduğu düşünülüyor. Olguların çoğunda ise kemikleşmenin oldukça iyi olduğu görüldü. Osteoklastik aktivitenin daha az olduğu gözlemlendi. Trabeküler kemik parçalarına ve kemik iliğine ait myeloid hücrelere rastlandı (Şekil-14).

Kontrol (Osteosentez) Grubu:

14. günde aktif osteoblastlar gözlemlendi. Trabeküler kemik, kemik iliği ve myeloid hücreler saptandı.

35. günde olgun kemik dokusu, kemik iliği ve myeloid hücreler gözlemlendi.

He- Ne (Osteosentez) grubu:

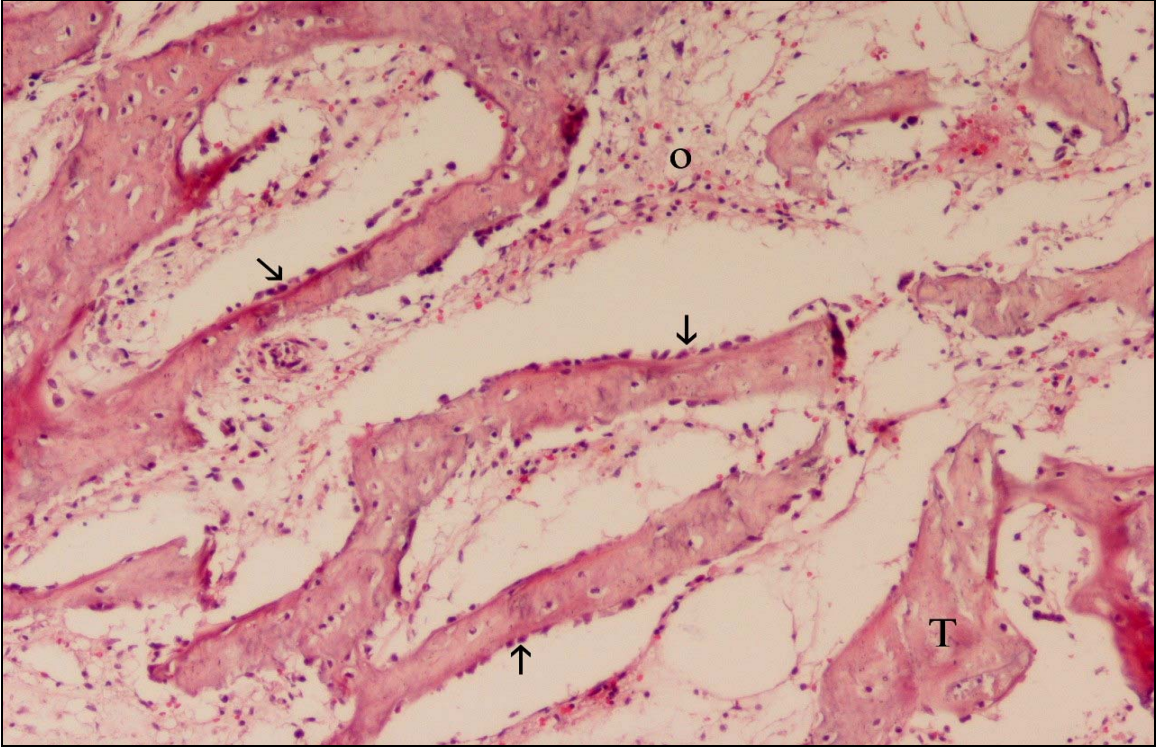
14. günde osteoblastik aktivitenin oldukça fazla olduğu görüldü. Yer yer olgun kemik doku oluşumlarına rastlandı. Az miktarda osteoid doku gözlemlendi.

35. günde ağırlıklı olarak olgun kemik doku oluşumu, az miktarda osteoid doku, kemik iliği ve kemik iliğine ait myeloid hücreler saptandı.

Ga-Al-As (Osteosentez) Grubu:

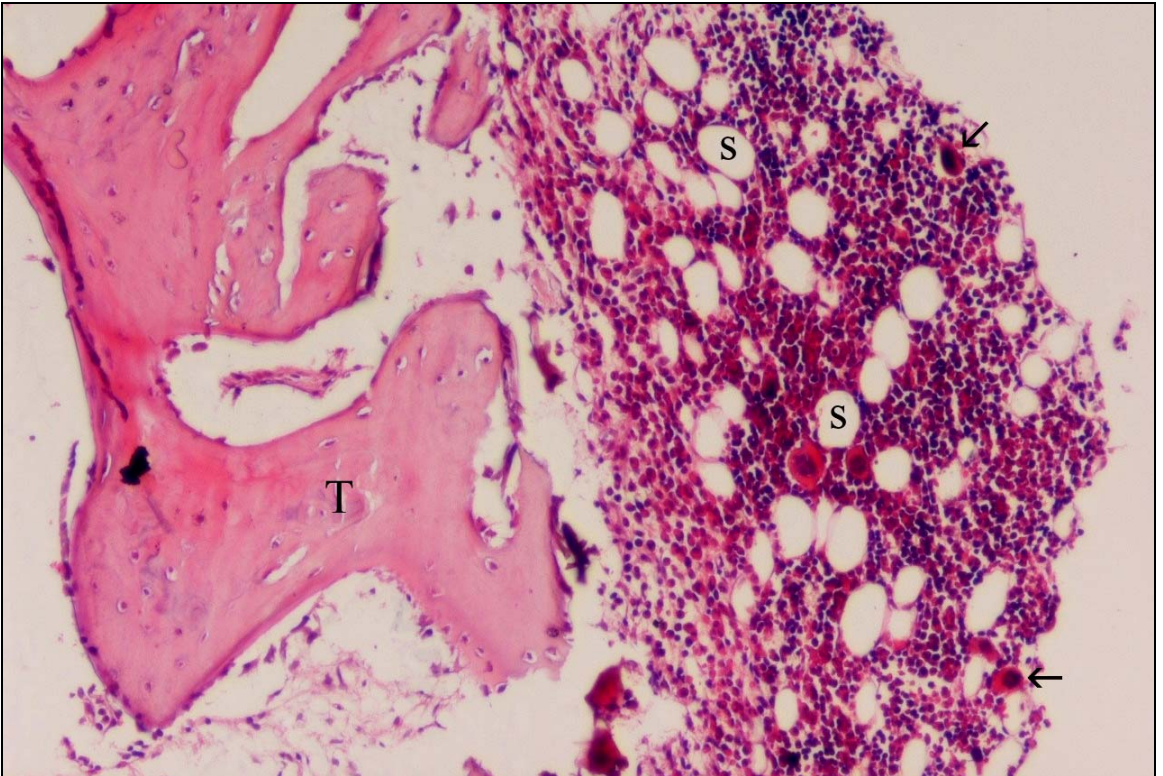
14. gün osteoblastik hücrelerde artış olduğu görüldü. Olgun kemik doku oluşumlarına rastlandı. Az miktarda osteoid doku gözlemlendi. Kemik iliği ve myeloid hücreler saptandı (Şekil-15).

35. günde ağırlıklı olarak olgun kemik doku oluşumu, az miktarda osteoid doku, kemik iliği ve kemik iliğine ait myeloid hücreler saptandı.



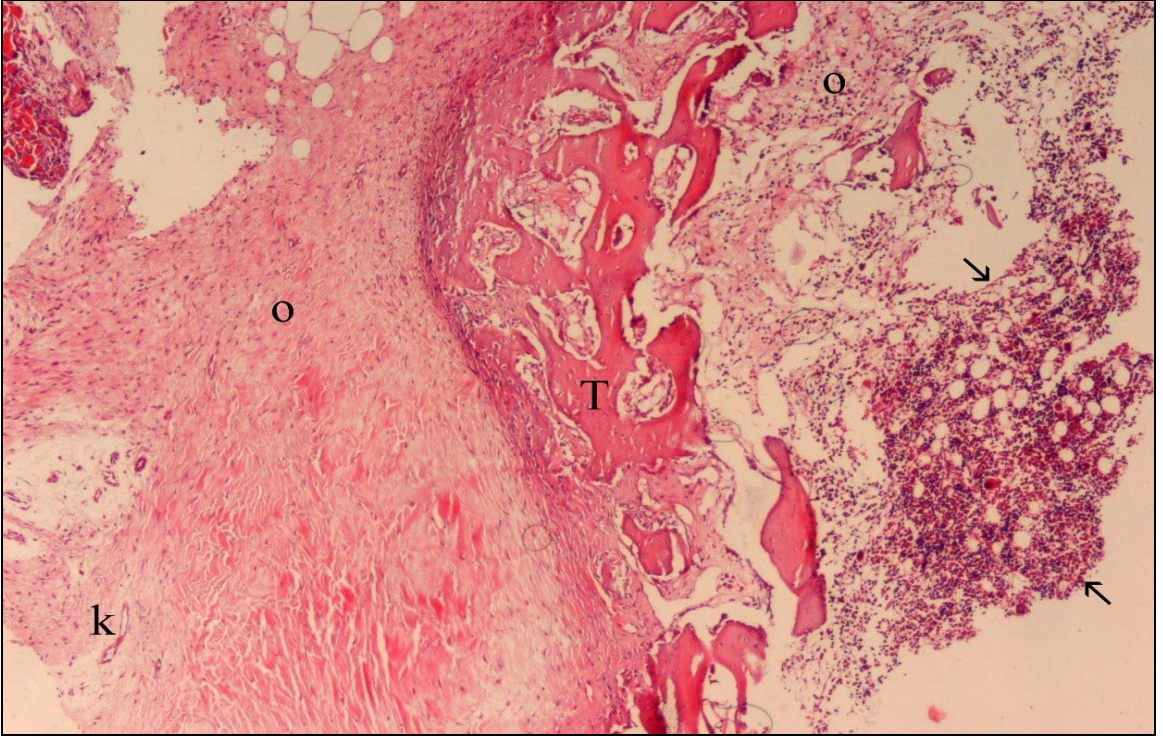
Şekil-10: Defekt kontrol grubuna ait olgunun 14. gün histopatolojik görünümü

T: trabeküler kemik, o: osteoid doku, →: aktif osteoblastlar

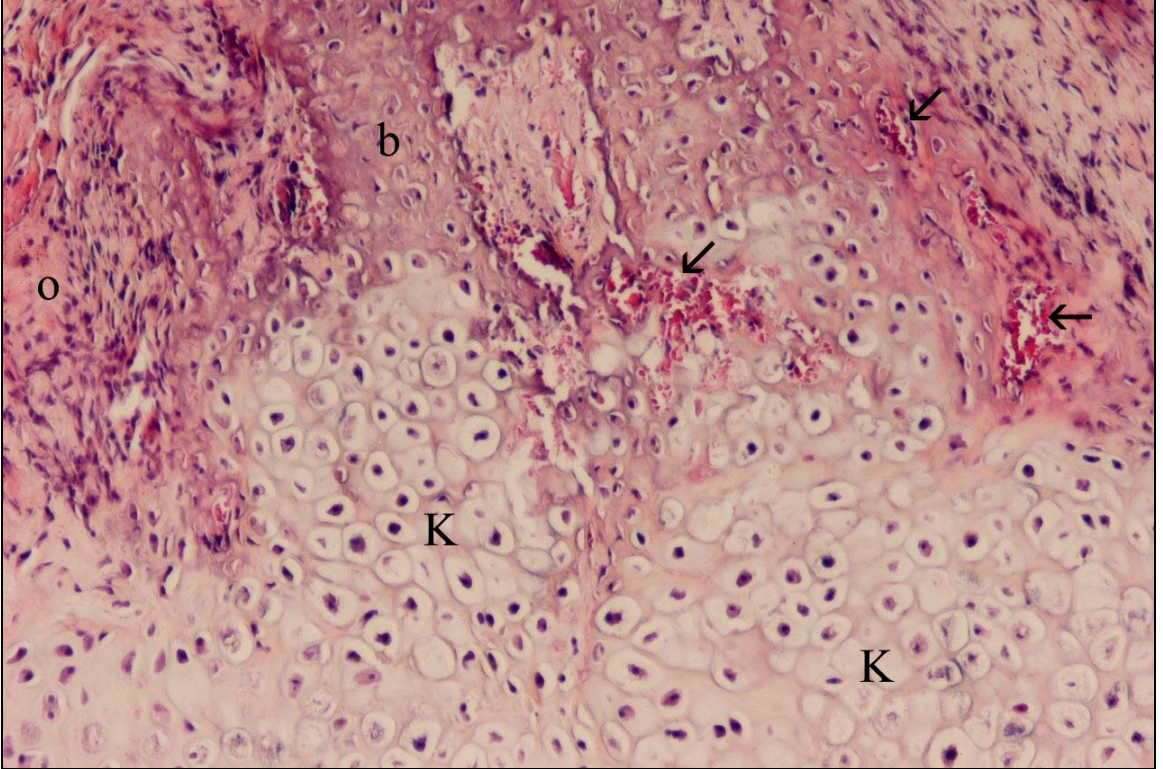


Şekil-11: Defekt kontrol grubuna ait olgunun 35. gün histopatolojik görünümü

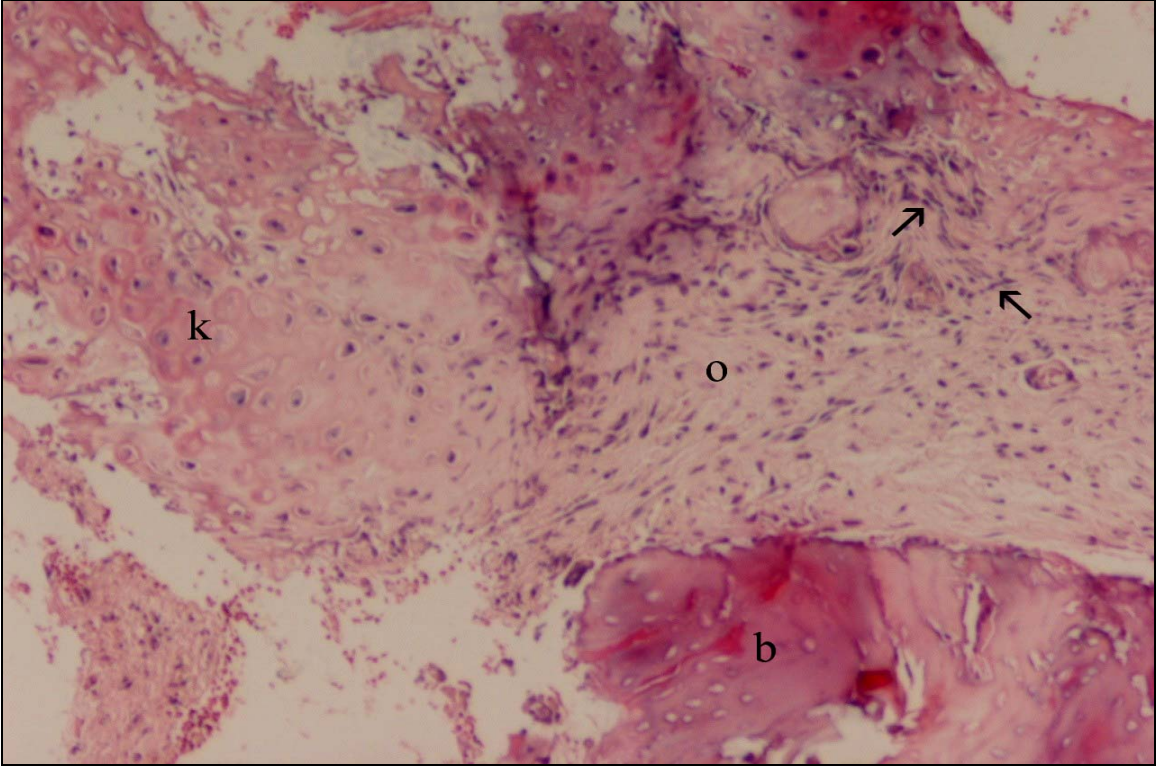
S: sinuzoidler, T: trabeküler kemik, →: megakaryosit



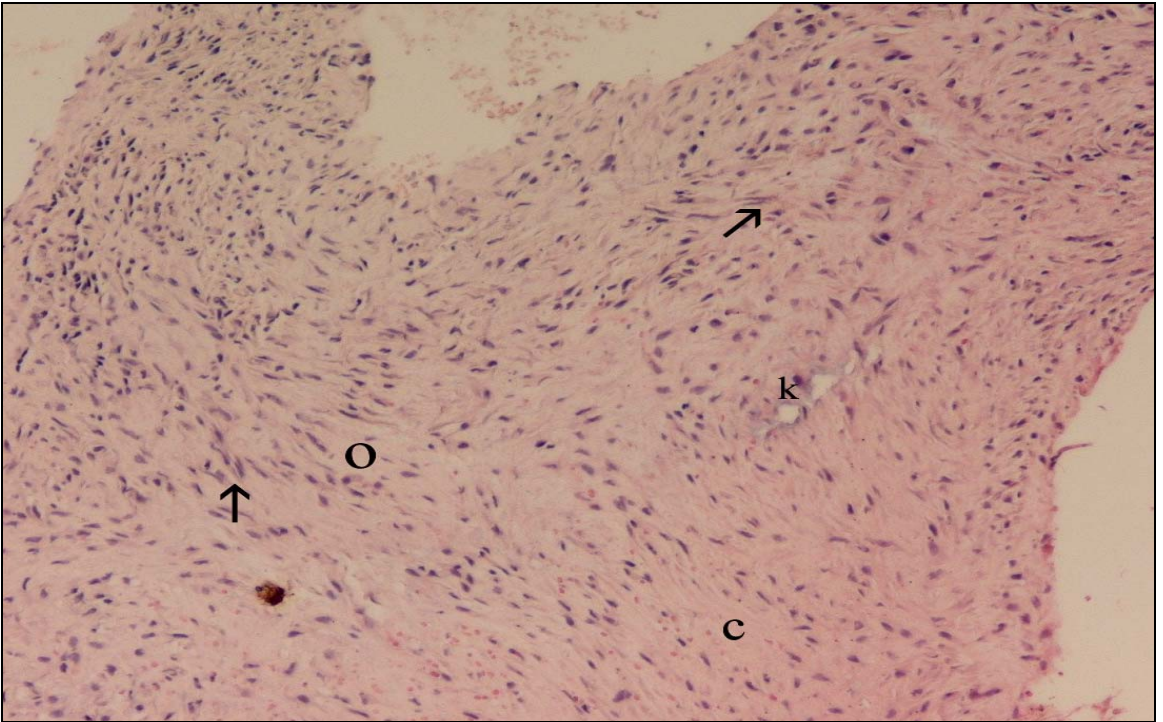
Şekil-12: Defekt He-Ne grubuna ait olgunun 14. gün histopatolojik görünümü
o: osteoid doku, T: trabeküler kemik, k: kapillar damar, →: kemik iliği



Şekil-13: Defekt Ga-Al-As grubuna ait olgunun 14. gün histopatolojik görünümü
o: osteoid doku, K: kıkırdak hücreleri, b: kemikleşmiş kıkırdak hücreleri, →: kan damarları



Şekil-14: Defekt Ga-Al-As grubuna ait olgunun 35. gün histopatolojik görünümü
k: kırıldak hücreleri, o: osteoid doku, b: kompakt kemik doku, →: bağ doku hücreleri ve kollajen doku



Şekil-15: Osteosentez Ga-Al-As grubuna ait olgunun 14. gün histopatolojik görünümü
O: osteoid doku, k: kapillar damarlar, c: kollajen iplikler, →: bağ doku hücreleri

F. Kallus Dokusunda Ca, P ve Ham Kül Bulgularının Değerlendirilmesi:

Tavşanların 35. günde sakrifiye edilmesinin ardından kemikten alınmış örneklerde kemik külünde Ca, P ve ham kül miktarı incelenmiştir (Tablo-4, 5, 6). Bunların değerlendirmesi sonucunda He-Ne, Ga-Al-As ve kontrol grupları arasında değerlendirme yapıldığında, gruplar arasında Ca ve P açısından istatistiki bir anlamlılık saptanmazken; He-Ne ve Kontrol grupları arasında ham kül değişken ortalaması bakımından $p < 0,05$ düzeyinde istatistiki farklılık tespit edilmiştir (Tablo-6).

Tablo-4: Kemik külü defekt grubu

KEMİK DEĞERLERİ DEFEKT		
		35. GÜN
Ca	He-Ne	17,9 ± 1,98
	Ga-Al-As	18,6 ± 2,74
	Kontrol	17,2 ± 1,38
P	He-Ne	10,9 ± 0,53
	Ga-Al-As	10,8 ± 0,51
	Kontrol	11,2 ± 1,44
Ham Kül	He-Ne	66,6 ± 3,65
	Ga-Al-As	65,3 ± 3,23
	Kontrol	63,2 ± 4,52

Tablo-5 : Kemik külü osteosentez grubu

KEMİK DEĞERLERİ OSTEOSENTEZ		
		35. gün
Ca	He-Ne	18,8 ± 2,82
	Ga-Al-As	17,0 ± 0,67
	Kontrol	17,5 ± 1,66
P	He-Ne	11,3 ± 0,66
	Ga-Al-As	11,2 ± 0,54
	Kontrol	12,3 ± 2,17
Ham Kül	He-Ne	67,8 ± 1,86
	Ga-Al-As	67,5 ± 1,76
	Kontrol	64,6 ± 4,50

Tablo-6 : Kemik külü 60 tavşan

KEMİK DEĞERLERİ 60 TAVŞAN		
		35. gün
Ca	He-Ne	18,4 ± 2,4
	Ga-Al-As	17,8 ± 2,09
	Kontrol	17,4 ± 1,5
P	He-Ne	11,1 ± 0,6
	Ga-Al-As	11,0 ± 0,5
	Kontrol	11,7 ± 1,8
Ham Kül	He-Ne	67,2 ± 2,9 ^{A*}
	Ga-Al-As	66,4 ± 2,7 ^{AB}
	Kontrol	63,9 ± 4,4 ^B

* p<0.05

A, B : Aynı sütundaki farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmada 60 adet tavşan kullanıldı. Operasyonlar genel anestezi altında yapıldı. Anesteziden uyanmalarında herhangi bir sorunla karşılaşılmadı. Operasyon bölgelerinde enfeksiyon olmaksızın iyileşme gerçekleşti. Tüm tavşanlarda postoperatif dönemde kilo kazanımları normal düzeyde oldu. Kırık oluşturulan grupta ekstremitelere uygulanan bandaj 14. günde uzaklaştırıldı. Takiben bir sorun ile karşılaşılmadı. Olguların klinik iyileşmeleri iyi olduğu gözlemlendi.

İnceleme olanağı bulduğumuz kaynaklardan, kırık bölgesinde yeni oluşan kemik dokusunu radyolojik yönden kapsamlı olarak Glinkowski ve arkadaşları (101), tarafından incelendiği anlaşılmaktadır. Farelerde deneysel oluşturdukları tibia kırıklarına düşük enerjili diode lazer (830 nm, 904 nm) uygulayarak kırık bölgesinde yeni oluşan kemik dokusunu radyolojik yönden incelemişler ve lazer dansitometresi kullanılarak kemiğin dansitesini ölçmüşlerdir. Lazer uygulanmış grupta kontrol grubuna oranla daha yüksek optikal dansite oluştuğunu, lazer irradyasyonuna bağlı olarak kallus mineralizasyonunda hızlanma olduğunu saptamışlar ve kırık iyileşmesi üzerine düşük enerjili lazer etkisinin lazerin tipine bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

David ve arkadaşları (30), He-Ne irradyasyonunun rat modelindeki kırık iyileşmesi üzerine radyolojik, biyo-mekanik ve histolojik etkilerini incelemişler ve osteotomi alanlarında kemik iyileşme prosesi adına hiçbir stimüle edici veya hızlandırıcı etkinin oluşmadığını saptamışlardır.

Bu çalışmada, radyolojik inceleme direkt radyografi ile gerçekleştirildi. Radyografiler, tüm olgularda operasyondan sonraki 7., 14., 21., ve 28. günlerde alındı. Kallus oluşumu ve kemik iyileşmesi bakımından radyografilerin değerlendirilmesinde, He-Ne, Ga-Al-As lazer sağaltımı uygulanan çalışma grupları ile kontrol grupları karşılaştırıldığında; defekt grubunda Ga-Al-As lazer uygulanan olgularda iyileşmenin diğerlerine göre daha iyi olduğu, bunu kontrol grubunun izlediği, He-Ne gruplarında ise gelişmelerin biraz yetersiz kaldığı kanısına varılmıştır. Yine az da olsa, kırık çizgisinin silinmeye başladığı yani kemiksel birleşmenin oluşmaya başladığı iyileşmeler Ga-Al-As lazer uygulanan gruplarda gözlemlenmiştir. Defekt gruplarında olduğu gibi bunu kontrol ve He-Ne grupları izlemiştir. Osteosentez grubunda çoğu olgularda osteotomi hattındaki kırık çizgisi 28. günde de belirgin olarak saptanmıştır. Osteosentez grubunda çoğu olgularda osteotomi hattındaki kırık çizgisi belirgin olarak görüldü. Buna, “kemiğin testere ile kesilmesinin ve bu nedenle temas yüzlerinin düz olmasının” neden olabileceği kanısındayız. Bu bulgu “kemik

iyileşme prosesi adına hiçbir stimüle edici veya hızlandırıcı etkinin oluşmadığını vurgulayan araştırmacıların (30) bulgularına bir paralellik gösterse de, bu durum sadece osteotomi hattında benzerdir. Ancak bu çalışmada, fragmentlerin çevresini bir ceket kolu gibi saran kemiksel oluşumların varlığı makroskopik olarak saptanmıştır. Ga-Al-As lazer uygulanan olgularda kırık iyileşmesi ve kallus yoğunluğunun daha iyi olması nedeniyle bulgularımız, lazer irradyasyonuna bağlı olarak kallus mineralizasyonunda hızlanma olduğunu ve kırık iyileşmesi üzerine düşük enerjili lazer etkisinin lazerin tipine bağlı olduğunu savunan araştırmacıların (101) görüşleri ile örtüşmektedir.

Kalsifikasyon ile olan korelasyonundan dolayı ALP aktivitesi kemik formasyonun çok önemli bir belirteci olarak kabul edilmektedir (15, 37, 55, 105). Ueda ve Shimizu (48), Barushka ve arkadaşları (46)'nın çalışmaları sonucunda da ALP aktivitesinde irradyasyondan sonraki 12. ve 15. günlerde önemli artışlar saptanmıştır. Düşük enerjili lazer sağaltımının ALP enzim aktivitesi ve kırık kallus maturasyonu üzerine etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada (49) lazer sağaltım uygulamasının kırık onarım süresini kısaltmada etkili olduğu, ALP aktivitesindeki artışın ilk haftalarda olduğu ortaya konmuştur. Kırık oluşumundan sonraki 3., 4. ve 5. haftalarda ALP aktivitesi için geç dönem olarak yorumlanmıştır. Yaakobi ve arkadaşları (32), He-Ne lazerin, kemik iyileşmesi üzerine etkisinin biyokimyasal ve radyoaktif işaretleme metotlarıyla incelenmesi amacı ile tibia diyafizinin lateral yüzünde halka şeklinde oyuk oluşturmuş ve bu defekte, oluşturulmasından sonraki 5. ve 6. günlerde, He-Ne lazer uygulamışlardır. Sonuçta defekt bölgesinde osteoblastik aktivitenin artışının, kanda ALP artışı ile paralellik gösterdiği vurgulanmıştır.

Yine ratlarla yapılan ve düşük enerjili He-Ne lazer uygulaması ile kemik defektlerindeki osteoblast ve osteoklast aktivitesinin incelendiği bir çalışmada (46), ratlara operasyondan sonraki 6 gün boyunca defektli bölgeye direkt He-Ne lazer uygulanmış, sonuçta kontrol grubu ile karşılaştırıldığında osteoblast ve osteoklast hücre popülasyonlarındaki değişimle birlikte, ALP enzim aktivitesinde de önemli ölçüde artış saptanmıştır.

Bu çalışmada defekt ve osteosentez grubunu oluşturan toplam 60 adet tavşan, ALP enzim aktivitesi yönünden değerlendirildiğinde, hem He-Ne ($p<0,001$) hem de Ga-Al-As ($p<0,05$) lazer gruplarında kontrol grubuna göre ALP enzim aktivitesinde artış olduğu saptandı. Ayrıca He-Ne lazer grubundaki 7. gün ALP miktarının, Ga-Al-As lazer grubuna göre daha yüksek ($p<0,05$) olduğu saptandı. Gruplar kendi içinde değerlendirildiğinde ise sadece He-Ne lazer grubunda ilk haftada başlangıç değerine göre artış anlamlı bulundu

($p<0,05$). Yine aynı grupta, kemik iyileşmesi üzerine pozitif etkilerinin olduğunun bir göstergesi olacak şekilde 2. ve 3. haftalarda ALP miktarında başlangıç değerine göre düşüş saptandı ($p<0,05$). Ga-Al-As lazer grubunda ise üçüncü haftaya kadar sürekli bir düşüş saptandı ($p<0,05$).

Osteosentez grubu değerlendirildiğinde, He-Ne ve Ga-Al-As lazer gruplarındaki ALP artışları, kontrol grubuna göre anlamlı bulunmamıştır. He-Ne grubu ALP değerinin 7. günde önemli ölçüde yükseldiği ($p<0,01$) ve takiben düşmeye başladığı saptanmıştır. Ga-Al-As lazer grubundaki değer 14.gün düşmeye başlaması anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).

Defekt grubu değerlendirildiğinde ise, He-Ne lazer grubunda ALP enzim değerinin 7. günde önemli derecede yükseldiği ($p<0,05$), 14. ve 21. günlerde bu değer azaldığı saptanmıştır. Enzim aktivitesindeki erken yükselme ve takiben meydana gelen düşüşü, He-Ne lazerin kemik onarımı üzerine pozitif etki ettiğinin bir göstergesi olarak vurgulayabiliriz.

Bu çalışmanın bulguları, He-Ne lazer sağaltımının ALP enzim aktivitesini ilk haftalarda arttırdığı ve kırık onarım süresini kısaltmada etkilerinin olduğunu savunan araştırmacıların bulgularına paralellik gösterdiği için araştırmacıların (46, 48, 49) görüşlerine katılıyoruz.

Yamada (29), He-Ne lazerin osteoblastik hücreler üzerine etkilerini incelemiş, uzun süreli kültürlerde düşük enerjili lazer irradyasyonu sonunda ALP aktivitesinde artış saptayamamıştır.

Bu çalışma, elde edilen bulgular ışığında, Yamada'nın çalışması ile paralellik göstermemiştir. Araştırmacının ALP aktivitesinde artış saptayamamasının nedeninin, enzimi geç dönemde incelemiş olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ga-Al-As lazerin, hücrel biyo-uyarım etkisi sonucunda kemikteki her türlü defektte, erken dönemde uygulandığı takdirde, özellikle osteoblastlar olmak üzere hücrel proliferasyonu ve ALP aktivitesini stimüle ettiği vurgulanmıştır (47).

Çalışmanın sonucunda, Ga-Al-As lazer grubunda ALP enzim aktivitesinin 7. günde kontrol grubuna göre artmış olduğu saptandı ($p<0,05$). Araştırmacıların (47), Ga-Al-As lazerin erken dönemde uygulandığında ALP enzim aktivitesini arttıracacağı ve kırık onarımı üzerine etkili olabileceği görüşlerine katılıyoruz.

Ga-Al-As lazerin kırık iyileşmesi üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, rat femurlarının distal epifizinde kemik defektleri oluşturularak defektlere 10 gün boyunca Ga-Al-As lazer uygulanmıştır. 7., 14. ve 21. günlerde ALP enzim aktivitesi ölçülmüş, 21.

günde lazer grubundaki ALP enzim aktivitesinde önemli artışlar gözlenmiş ve defektli alanın iyileşme oranı kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (104).

Bu çalışmada da 7., 14. ve 21. günlerde ALP ölçümleri yapılmış ancak Ga-Al-As lazer grubunda ALP enzim aktivitesinde, 21. günde başlangıç değerine göre düşüş olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Bu çalışmanın bulguları araştırmacıların (104) bulgularına paralellik göstermemektedir.

ALP değerleri bakımından yapılan karşılaştırmada He-Ne ve Ga-Al-As lazer gruplarının 7. günde ki değerlerinin, kontrol grubuna göre yüksek olduğu saptandı ($p<0,05$). He-Ne ve Ga-Al-As lazer gruplarının karşılaştırılmasında ise 7. günde He-Ne lazer grubunda ALP değerinin Ga-Al-As'e göre anlamlı derecede artmış ($p<0,05$) olduğu saptandı. Bu bulgulara göre He-Ne lazerin ALP aktivitesi üzerine özellikle erken dönemde daha etkili olduğu kanısına varılmıştır.

Anjiogenezis, kollajen sentezi ve osteogenezis, erken kemik iyileşmesi boyunca en önemli proseslerdir. Ga-Al-As lazerin vaskülarizasyon artışına bağlı olarak kemik matriks üretimini arttırdığı ve kemik iyileşmesini erken dönemde hızlandırdığı saptanmıştır (1, 15, 41, 47).

Kahadro M. ve arkadaşları (34), Ga-Al-As lazerin kemik defekt iyileşmesi üzerine etkisini incelemişlerdir. Histolojik inceleme sonucunda anjiogenezis ve kemik gelişimi, irradiye edilen grupta kontrol grubuna oranla daha yüksek bulunmuştur. Böylece histolojik bulguların, LLLT'nin erken kemik iyileşmesi periyodunda metabolizma ve mineralizasyonu hızlandırdığını vurgulamışlardır.

Bu çalışmada, Ga-Al-As lazer uygulanmış olan defekt ve osteosentez gruplarının histopatolojik incelenmelerinde 14. günde ve özellikle de 35. günde kan ve lenf damarlarını içeren kapillar damar oluşumlarının, kontrol grubundakilere oranla biraz daha artmış olduğu saptandı. Bu nedenle bulguların, araştırmacıların (1, 15, 34, 41, 47) bulguları ile örtüşebildiğini, Ga-Al-As lazerin kemik onarımının erken döneminde vaskularizasyonu hızlandırdığını vurgulayabiliriz.

Farklı bazı çalışmalarda araştırmacılar (5, 17, 38, 50, 54, 102), LLLT'yi takiben kollajen üretiminde artış saptamışlardır. İrradiye edilmiş kemiklerde büyük miktarda kollajen fibrillerin bulunması matriks mineralizasyonunu takiben yeni kemik oluşumu artışını göstermektedir. Bu bulgu Ga-Al-As lazerin kemik onarımı üzerindeki erken etkilerinin bir göstergesidir. Lazer uygulanmış gruptaki onarım prosesi hem kemik formasyonu artışı, hem de erken dönemde artmış kollajen fibril miktarı ile karakterize olmuştur.

Khadra ve arkadaşları (1), kemik implant interaksyonu üzerine yapmış oldukları bir çalışmada Ga-Al-As uygulaması sonucunda lazer grubunda kollajen liflerinde artış saptamışlardır. Ga-Al-As lazerin, kollajen üretimini aktive etme ve artırma etkisinin kemik iyileşmesinde daha iyi bir kemik matriks üretimine neden olabileceğini vurgulamışlardır.

Bu çalışmada, kemik onarımındaki gelişmeyle uyumlu olarak, Ga-Al-As lazer, gruplardaki kollajen fibril organizasyonunu arttırdığı saptanmıştır. Bunun sonucunda da araştırmacıların LLLT'nin kemik iyileşme prosesini olumlu yönde etkilediği görüşlerine katılmaktayız.

Ga-Al-As lazerin, hücrel biyo-uyarım etkisi sonucunda kemikteki her türlü defekte, erken dönemde uygulandığı takdirde, özellikle osteoblastlar olmak üzere hücrel proliferasyonunu stimule etmektedir (1, 12, 25, 32, 53,78, 99, 103, 108).

Merli ve arkadaşlarının (26), yaptığı çalışmada Ga-Al-As diode lazerin kemik onarımı üzerine etkileri incelenmiş ve lazer grubunda kemik oluşum miktarının ve defekt bölgesindeki osteoklast sayısının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli derecede artmış olduğu bildirilmektedir.

Kawasaki ve arkadaşları (13), çalışmalarında Ga-Al-As lazerin alveoler kemikteki remodelizasyon üzerine stimülatör etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak düşük enerjili Ga-Al-As lazer irradyasyonun alveoler kemik remodelizasyon hızını; osteoklast sayıları, periodontal ligament hücrelerinin proliferasyonu ve mineralize olmuş kemik artışları ile göstermek suretiyle stimüle ettiğini saptamışlardır.

Ga-Al-As lazerin kemik onarımı üzerine etkilerinin hücrel olarak incelendiği bir çalışmada (6), Ga-Al-As lazerin hasarlı bölgedeki ve çevresindeki kemik hücrelerini, özellikle de osteoklast aktivitesini arttırdığı saptanmış ve LLLT'nin, normal hücre aktivitesini, kemik onarım prosesinin yangısal periyodunda kullanıldığında artırdığı sonucuna varılmıştır.

Çalışmada, Ga-Al-As lazer uygulanan osteosentez ve defekt gruplarında, 14. günde yapılan incelemelerde çok sayıda aktif osteoblast, bol miktarda osteoid doku, trabeküler kemik oluşumları saptanmıştır. Ayrıca trabeküller arasında aktif halde osteoblastlar ve kemik trabeküllerinde osteositler görüldü. 35. günlerde ise, trabeküler kemik doku oluşumu ve osteoblastlarda belirgin aktivite artışı saptandı. Trabeküler kemiğin kompakt kemik halini aldığı ve olguların çoğunda ise kemikleşmenin oldukça iyi olduğu görüldü. Bölgedeki osteoblastik hücrelerin kısa zamanda sayıca artması kemik formasyonunda da bir artışa neden olmuştur. Bulguların araştırmacıların (6, 13, 26) bulguları ile paralellik

gösterdiği kanısındayız. Bu etkinin, artan metabolik hız ve buna bağlı oluşan hızlı iyileşme prosesi olduğunu savunan araştırmacıların (34, 45), görüşleri ile örtüştüğü kanısındayız.

LLLT'nin yeni kan ve lenf damar oluşumuna neden olduğu ve kemik üzerindeki pozitif etkilerinin, onun lenfatik sirkülasyon üzerine oynadığı rolden de kaynaklandığı kabul edilmektedir. Düşük enerjili lazer uygulamasının lenfatik sirkülasyonu, lenfatik damar çaplarında artışa yol açarak hızlandırdığı saptanmıştır (3, 10, 15, 19, 35).

Trelles ve Mayayo (45), fare tibialarında deneysel oluşturdukları kırıklara He-Ne lazer uygulamışlar, optik mikroskop kullanarak vaskülarizasyonda önemli artış saptamışlardır.

Garavello-Freitas ve arkadaşları (109), 36 wistar ratının tibiasında deneysel oluşturdukları defekt lezyonları üzerinde, 833 nm He-Ne lazerin etkisini incelemişler ve 7 günlük irradyasyon grubunun tibialarında birçok kan damarı oluşumu saptamışlardır. Sonuçta da He-Ne lazer irradyasyonunun bölgede kan damarı oluşumunu erken dönemde etkiyebildiği kanısına varmışlardır.

Bu çalışmada He-Ne lazer uygulanan olgularda 14. günde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kan ve lenf damarlarını içeren kapillar damarların daha iyi olduğu fakat bunların genç kapillarlar olduğu, 35 günde ise damarlaşmanın daha fazla ve damar çaplarının da daha geniş olduğu gözlemlendi. Bu bulgulara bağlı olarak He-Ne lazerin gerek anjiogenezis oluşumunu erken dönemde aktive ederek, gerekse geç dönemde damar çaplarında büyümeye neden olarak yeni kemik dokusunun metabolizmasını hızlandırdığı sonucunu vurgulayan araştırmacıların (3, 10, 15, 19, 35, 45, 109) görüşlerine katılıyoruz.

Osteoklastogenezis ve osteoklastik aktivite, osteoblastik hücrelerce regüle edilmekte ve yeni kemik oluşumu kemik resorpsiyonu ile değerlendirilmektedir. He-Ne lazer irradyasyonun osteoblastik hücreler üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalar (13, 14, 29, 32, 53, 70, 100) sonucunda, lazerin osteoblastik hücreleri aktive ettiği, osteoblastik hücre gelişimini ve kalsifikasyonu hızlandırdığı ve buna bağlı olarak da kemik rejenerasyonunu desteklediği sonucuna varılmıştır.

Trelles ve Mayayo (45), fare tibialarında deneysel oluşturdukları kırıklara He-Ne lazer uygulamışlar ve yoğun bir trabeküler ağa sahip osseöz dokuda önemli artış saptamışlardır.

Dörtbudak ve arkadaşları (24), soft lazer irradyasyonun osteoblastlar üzerine etkisini in vitro araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda He-Ne lazerin kemik matriks üretimi üzerine önemli pozitif biyostimüle edici etkisinin olduğu saptanmıştır.

Yine ratlarda yapılan ve düşük enerjili He-Ne lazer ile kemik defektlerindeki osteoblast ve osteoklast aktivitesinin incelendiği bir araştırmada ratlara operasyondan sonraki 6 gün

boyunca defektli bölgeye direkt He-Ne lazer uygulanmış, sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında osteoblast ve osteoklast hücre popülasyonlarındaki değişimle birlikte yeni oluşan kompakt kemik oranında da önemli ölçüde artış sağlanmıştır (46).

Defekt lezyonları üzerinde 833nm He-Ne lazerin etkisinin incelendiği bir çalışmada (109), osteoblastlar, osteoklastlar ve osteositlerde artış saptanmıştır. Aktif osteoblastların ve yer yer de osteoklastların lazer uygulanmış tibialarda hasar oluşturulmasını takiben ki 8. ve 15. günlerde bir hat oluşturacak tarzda kemik trabekülü periferinde toplandıkları histolojik inceleme ile saptanmış ve sonuçta da He-Ne lazer irradyasyonunun, kemik resorpsiyonunu ve remodelizasyonunu desteklemek için osteoklast aktivitesini stimule ettiğine karar verilmiştir.

Bu çalışmada, He-Ne lazer uygulanan grupta 14. gün yapılan incelemede osteoblastik aktivitenin oldukça fazla olduğu görüldü. Yer yer olgun kemik doku oluşumlarına yeni trabeküler kemiğe ait yapılar ile ağırlıklı olarak da genç kemik doku oluşumlarına rastlandı. 35. günde ise trabeküler kemik dokunun periferinde aktif halde çok sayıda osteoblast ve osteoklast görüldü ve trabeküler kemiğin kompakt kemik halini aldığı saptandı. Ağırlıklı olarak olgun kemik dokunun ve yer yer kemik iliğinin olduğu gözlemlendi. Osteoklastlar trabeküler yapının en fazla olduğu dönemde ortaya çıkmaya başlamış, bu da, osteoblastik aktivitenin pik yaptığı dönem ile aynı zamanda meydana gelmiştir. Böylece, lazerin osteoblastik hücreleri aktive ettiği, osteoblastik hücre gelişimini ve kalsifikasyonu hızlandırdığı ve buna bağlı olarak da kemik rejenerasyonunu desteklediği sonucunu vurgulayan araştırmacıların (13, 14, 24, 29, 32, 45, 46, 53, 70, 100, 109) görüşlerine katılıyoruz.

Garavello-Freitas ve arkadaşları (109), rat tibialarında deneysel oluşturdukları defektlerde He-Ne lazerin kemik matriks organizasyonu üzerine etkilerini incelemiştir. Aynı zamanda matriks kollajen fibrilleri picrosirius polarizasyon tekniği ile saptanmıştır. Lazerin, kemik onarımındaki gelişimle uyumlu olarak, irradiye edilmiş gruplardaki kollajen fibril organizasyonunu arttırdığı saptanmıştır.

Bu çalışmada He-Ne lazer grubunda 14 ve 35. günlerde yapılan histopatolojik incelemelerde osteoblastik aktivite ve anjiogenezis ile uyumlu olarak kollajen fibrillerinde artış olduğu görülmüştür. Lazer uygulanmış kemiklerdeki çok miktardaki kollajen fibrillerin varlığı lazerin kemik onarımındaki erken etkisini göstermektedir. Kollajen, kemik ekstrasellüler matriksinin önemli bir komponenti olduğu için, bu çalışmada artan kollajen miktarı da, He-Ne lazerin kemik üzerine olumlu etkisini savunan araştırmacıların (109) bulguları ile uyum göstermektedir.

Yamada'nın (29) çalışmasında, He-Ne lazer irradyasyonun osteoblastik hücreler üzerine etkileri incelendiğinde, uzun süreli kültürlerde düşük enerjili lazer irradyasyonu sonunda Ca birikiminin olduğu saptanmıştır. Sonuçta lazer irradyasyonun osteoblastik hücreleri fotoaktif ettiği, osteoblastik hücre gelişimini ve kalsifikasyonu hızlandırdığı ve buna bağlı olarak da kemik rejenerasyonunu desteklediği düşünülmektedir.

Khadra ve arkadaşlarının (1), Ga-Al-As lazerin osteoblastlar ve kalsifikasyon üzerine etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, Energy- Dispersive X-ray Microanalyzer (EDAX) kullanılarak bölgedeki Ca ve P miktarlarını ölçülmüştür. Lazer uygulanmış kemiklerde Ca ve P da önemli miktarda artış gözlenmiştir. Bu minerallerdeki artış sebebi Ga-Al-As lazer uygulaması sonucunda osteoblast farklılaşmasındaki artış olarak kabul edilmiştir. Ga-Al-As lazer irradyasyonunun kalsifikasyona pozitif etkisinin olduğu sonucuna varılmıştır.

He-Ne lazerin rat tibialarında oluşturulmuş çukur defekt sonrası defekt bölgesindeki osteoblast ve osteoklast aktivitesinin üzerine etkilerinin incelendiği bir araştırmada (46), ratlara operasyondan sonraki 6 gün boyunca defektli bölgeye direkt He-Ne lazer uygulanmıştır. Defekt bölgesinin 12. günde yapılan histomorfometrik incelenmesinde Ca'un yüksek oranda artmış olduğu ve defekt bölgesinde yeni kemik oluşumunun hızlandığı saptanmıştır.

İn vitro olarak 6 rat üzerinde yapılan bir çalışmada (104), femurun distal epifizinde standart bir alanda kemik defektleri oluşturulmuştur. Çalışma grubunda defekt bölgesine 10 gün boyunca Ga-Al-As (780nm) lazer uygulanmıştır. 21 gün sonra lazer grubunda, Ca'da önemli artışlar gözlenmiş ve defektli alanın iyileşme oranı kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur.

Düşük enerjili lazerin, kemik iyileşmesi üzerine etkisi biyokimyasal ve radyoaktif işaretleme metotlarıyla incelenmiştir. Bu amaçla tibia diyafizinin lateral yüzünde halka şeklinde oyuk oluşturulmuş ve bu defekte He-Ne lazer uygulanmıştır. Defekt bölgesindeki Ca birikimi radyoaktif Ca ile ölçülmüştür. Lazer grubunda bölgedeki Ca oranı kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (32).

Bu çalışmada osteosentez grubunda yeni oluşan kallus dokusundan ve defekt grubunda bölgede biriken yeni kemik dokusundan örnekler, 35. günlerde tavşanların sakrifiye edilmesini takiben alınmış ve kemik külünden spektrofotometrik yöntem kullanılarak Ca, P ve ham kül oranları saptanmıştır. Ham kül, kemiğin yakıldıktan sonra buharlaşıcı, eriyici ve yanıcı yapılarının uzaklaşmasından sonra geriye kalan kısmıdır. Bu kısım büyük oranda mineral maddeleri içermektedir. Bulguların değerlendirilmesi sonucunda He-Ne lazer grubundaki ham kül değişken ortalaması kontrol grubuna göre $p < 0,05$ düzeyinde yüksek

olarak bulunmuştur. Kemik külündeki Ca ve P değerleri osteosentez ve defekt gruplarında, özellikle Ca oranları, He-Ne lazer uygulanan olgularda kontrol grubu olgularına göre biraz daha yüksek bulunmuştur ($p>0,05$) (Tablo-1, 2). Histopatolojik incelemeler sonucunda da 14.günlerde osteoblastik aktivitede artış ve 35. günlerde ise trabeküler kemik yapının olgun kemik dokuya dönüştüğü saptanmıştır. Ham külün içerdiği mineral maddelerdeki artışın nedeninin, osteoblastik aktivitedeki artışa bağlı olabileceği bunun da kalsifikasyonu pozitif etkileyeceği kanısındayız. Bu görüşü savunan araştırmacıların (1, 29, 32, 46, 104) görüşlerine katılmaktayız.

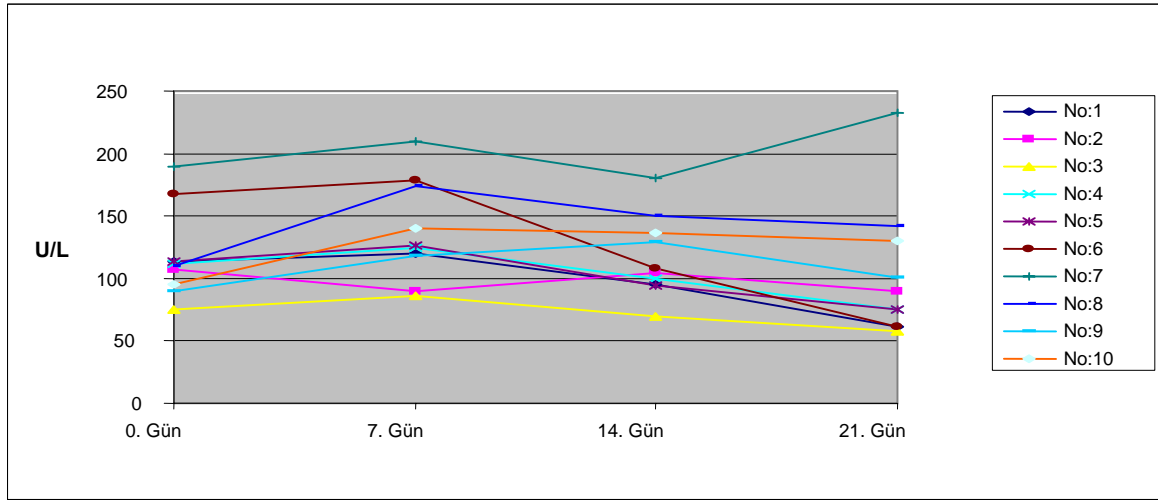
Bu çalışmada, Ca ve P oranlarının saptanması kan serumundan ve kemik külünden elde edilen materyallerden gerçekleştirilmiştir. İnceleme olanağı bulduğumuz kaynaklarda He-Ne ve Ga-Al-As lazer sağıltımına ilişkin yapılan çalışmalarda kan serumundan Ca ve P oranlarının belirlendiği bir kaynağa rastlanılmadı. Gruplar istatistiki bakımdan total olarak değerlendirildiğinde kan serumundaki Ca oranının 7. günde Ga-Al-As lazer grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek ($p<0,05$) olduğu, He-Ne ve Ga-Al-As lazer sağıltım grupları serum Ca oranları bakımından karşılaştırıldığında ise, 21. günde He-Ne grubunda serum Ca oranının daha yüksek ($p<0,05$) olduğu saptandı. Diğer günlerdeki serum Ca oranlarındaki yükselme ve azalmaların istatistiki bakımdan anlamlı olmadığı saptandı. Tablo 1, 2 ve 3 incelendiğinde çalışma süreleri içindeki serum Ca oranlarında yükselme ve azalma yönlerinde bir dalgalanmanın olduğu anlaşılmaktadır. Çalışma bulguları değerlendirildiğinde, araştırmacıların (59), “tavşanlardaki Ca metabolizmasının diğer memelilerden çok daha farklı olduğu, diğer memelilerdeki hormonal regülasyondan farklı olarak aldıkları diyetdeki Ca miktarına göre kan serumu Ca oranında ani dalgalanmaların olabildiği, metabolizmalarının bu dalgalanmaya uyum göstererek iyonize kalsiyum konsantrasyonlarını hipo ve hiper kalsemiye karşı PTH sekresyonunda hızlı değişiklikler oluşturarak sağladıkları” görüşlerine uygun olabileceği kanısındayız. Tavşanlardaki Ca metabolizmasının farklı olması ve hipo ve hiper kalsemiye karşı PTH sekresyonunda hızlı değişiklikler oluşturarak Ca konsantrasyonunu regüle etmesi nedeniyle, He-Ne ve Ga-Al-As lazerlerin kan serumu Ca oranları üzerine anlamlı bir yükseltici veya azaltıcı etkilerinin olduğunu söyleyemeyiz. Ancak, bu konunun aydınlık kazanması için kapsamlı çalışmaların yapılmasının gerekli olduğu kanısındayız.

Gruplar istatistiki bakımdan total olarak değerlendirildiğinde kan serumundaki P oranının kontrol grubunda 21. günde başlangıç değerine göre $p<0,01$ düzeyinde azaldığı, He-Ne lazer grubunun başlangıç değerine göre de 7. ve 14. günlerde arttığı ($p<0,05$), 21. günde ise başlangıç değerine göre azaldığı ($p<0,05$) saptanmıştır. Gruplar arası yapılan

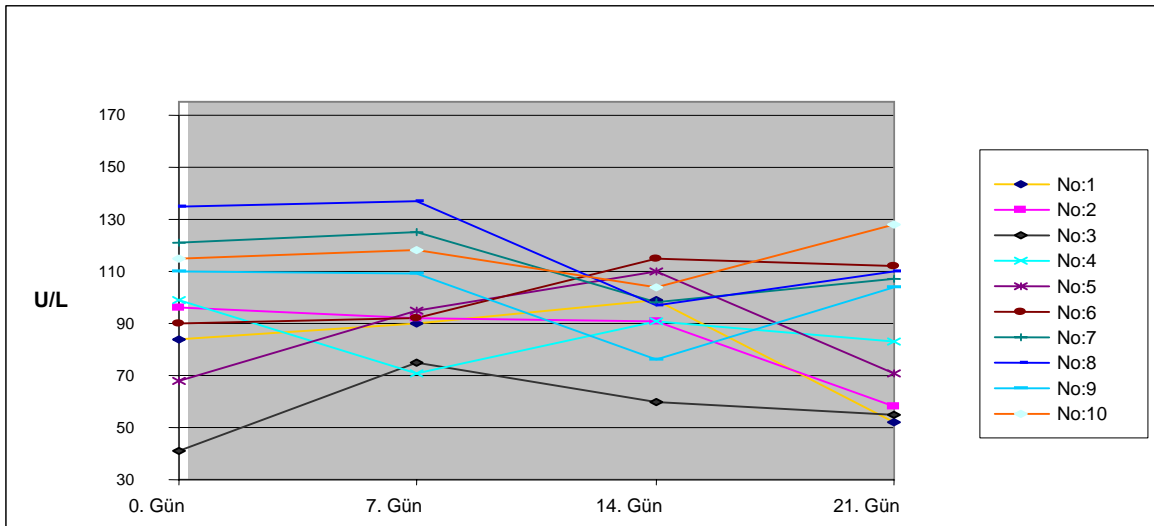
değerlendirmede 7. günde He-Ne lazer grubu P değerinin kontrol grubuna göre daha yüksek ($p < 0,01$) olduğu saptanmıştır. Ga-Al-As lazer grubunda saptanan serum P oranları, Kontrol ve He-Ne lazer grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Tablo 3 incelendiğinde tüm gruplarda 21. günde serum P oranlarında azalma olduğu saptanmıştır. Bu bulgunun tavşanların metabolizması ile ilişkili olabileceği kanısındayız.

Tavşanlardaki Ca metabolizmasının farklı olması nedeniyle He-Ne ve Ga-Al-As lazerlerin kan Ca oranları üzerine anlamlı yükseltici veya azaltıcı etkileri saptanmadı. Histopatolojik inceleme sonucunda He-Ne ve Ga-Al-As lazerin osteoblastik hücre gelişimini tetiklediği ve buna bağlı olarak da kemik rejenerasyonunu desteklediği saptandı. Ham külün içerdiği mineral maddelerdeki artışın nedeninin, osteoblastik aktivitedeki artışa bağlı olabileceği bunun da kalsifikasyonu pozitif etkileyeceği kanısına varıldı. Radyolojik incelemede Ga-Al-As lazer uygulanan olgularda kırık iyileşmesi ve kallus yoğunluğunun daha iyi olduğu, kandan yapılan ALP incemesinde ise He-Ne lazerin ALP aktivitesi üzerine özellikle erken dönemde daha etkili olduğu saptandı.

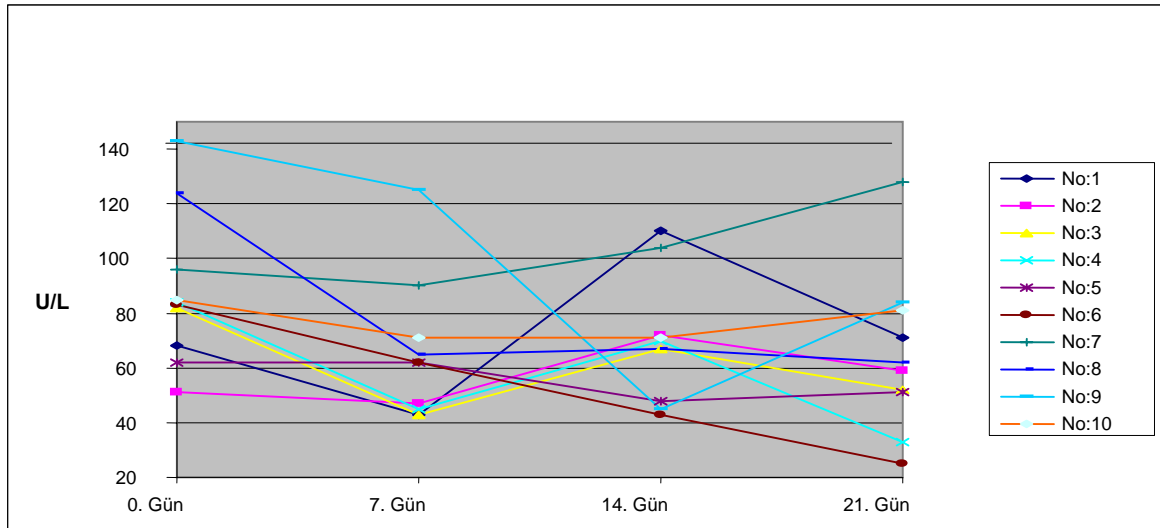
Bu çalışma sonucunda, direkt radyografi bulguları ile hematolojik bulguların istatistiki değerlendirilmeleri fazla anlamlı bulunamadıysa da, histopatolojik incelemeler sonucunda lazer gruplarında 14. günde kontrol grubuna oranla önemli derecede yüksek bulunan hücresel artışların, 7.ve14. günlerdeki ALP artışlarının He-Ne ve Ga-Al-As lazerlerin foto biyolojik uyarım ile, büyük olasılıkla hasarlı dokunun onarımındaki temel mekanizmaya yani başta osteoblastik hücreler üzerine etki ederek hücre gelişimini ve kalsifikasyonu hızlandırmasından kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz. He-Ne ve Ga-Al-As lazerlerin hasarlı kemik dokusu onarımını aktive ederek kemik rejenerasyonunu artırdığı görüşlerini destekleyebilecek bulgularımız olsa da, gerçekleri saptamak için, özellikle klinik olgular üzerinde çok araştırmaların yapılmasının gerekli olduğu görüşündeyiz. Bu çalışmada, implantların erken uzaklaştırılmasını ve hastaya erken hareket verilmesini destekleyici kallus formasyonunun ve mineral yoğunluğunun (Ca, P) özellikle tibianın kortikal kısmında yeterli olmadığı kanısındayız. Çünkü, her üç grupta da kemik iyileşmesi, normal kemik iyileşmesi boyunca beklenen bulgulardan çok önemli derecelerde farklı olmadı. Eğer bir kırık olgusu fizyolojik sağaltım kriterlerine göre sağaltılıyorsa, lazer uygulanmasının ekonomik avantaj sağlamayacağını da vurgulayabiliriz. Bununla birlikte, yukarıda da belirttiğimiz bulgular ışığında He-Ne ve Ga-Al-As lazerlerin kırık onarımı üzerine pozitif klinik yararlarının olabileceği kanısındayız.



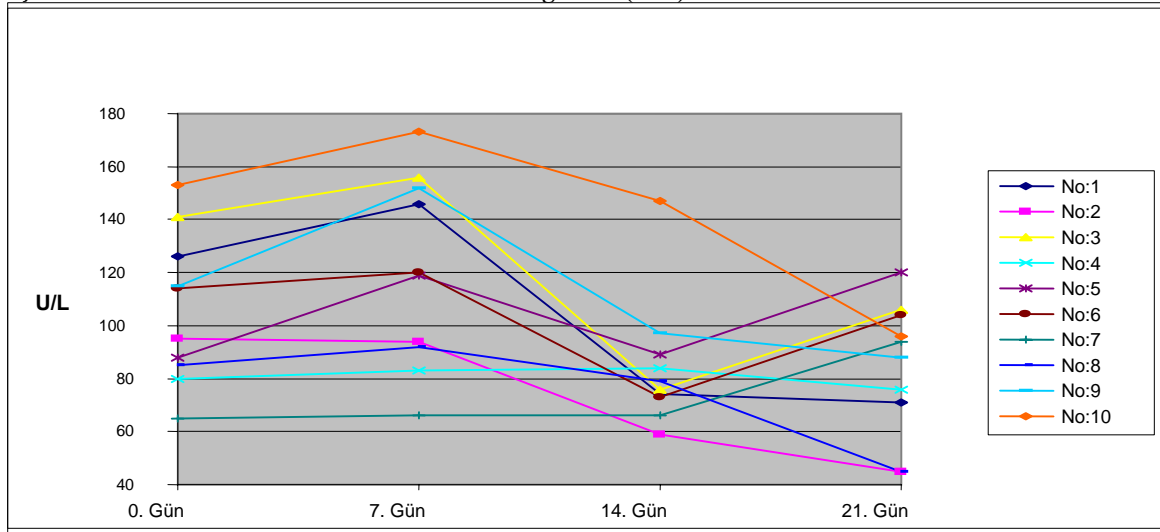
Şekil-16 : Defekt He-Ne Grubu Kan ALP Değerleri (U/L).



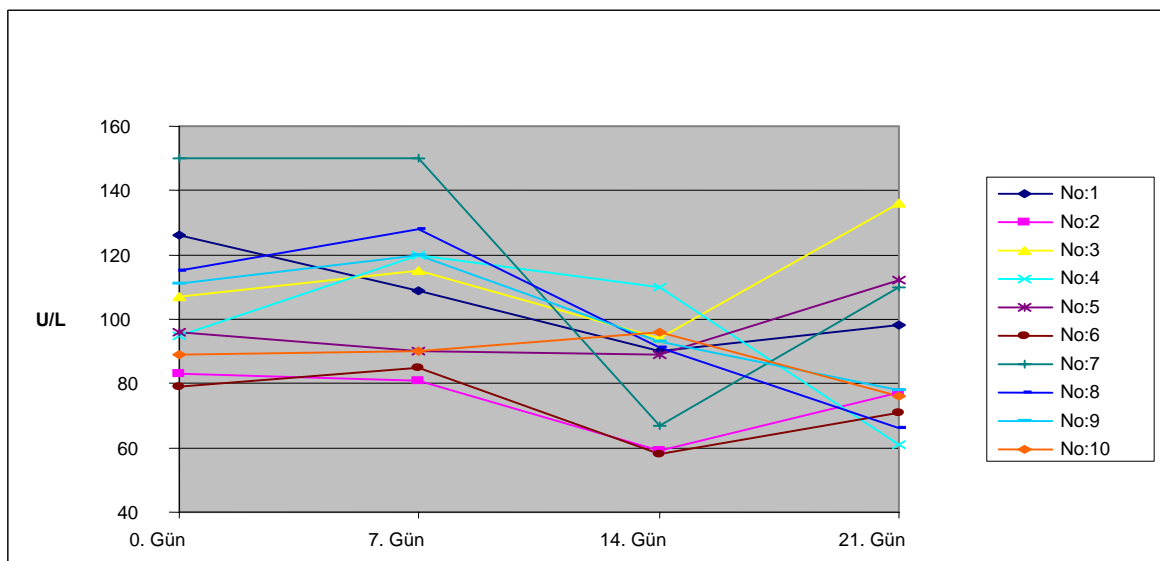
Şekil-17 : Defekt Ga-Al-As Grubu Kan ALP Değerleri (U/L).



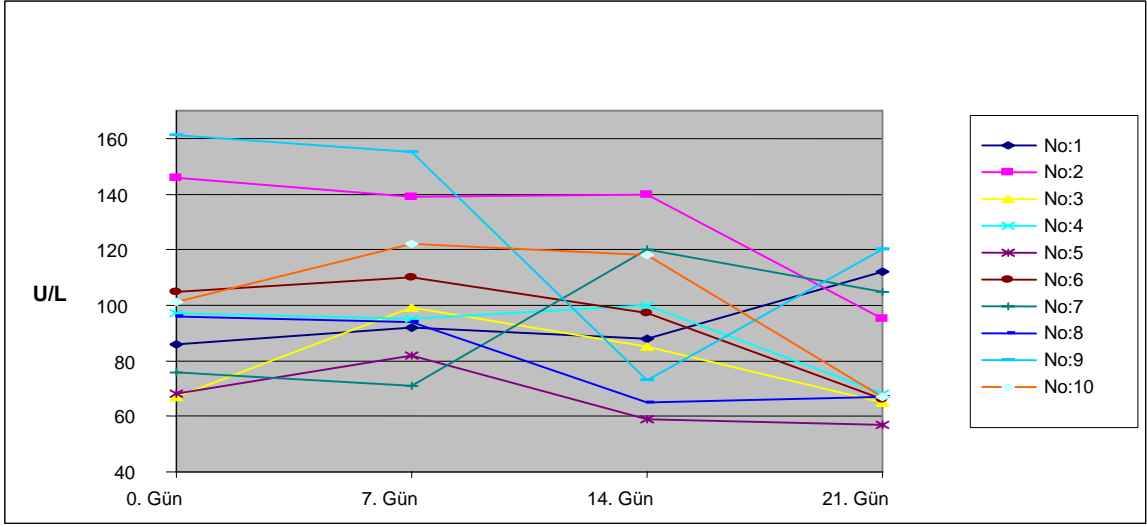
Şekil-18 : Defekt Kontrol Grubu Kan ALP Değerleri (U/L).



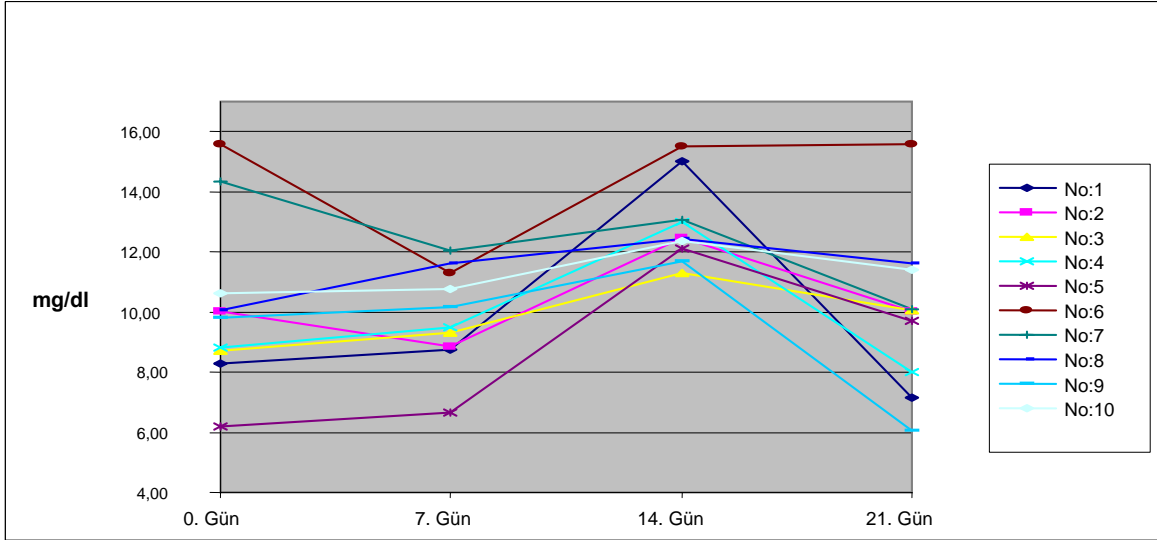
Şekil-19 : Osteosentez He-Ne Grubu Kan ALP Değerleri (U/L).



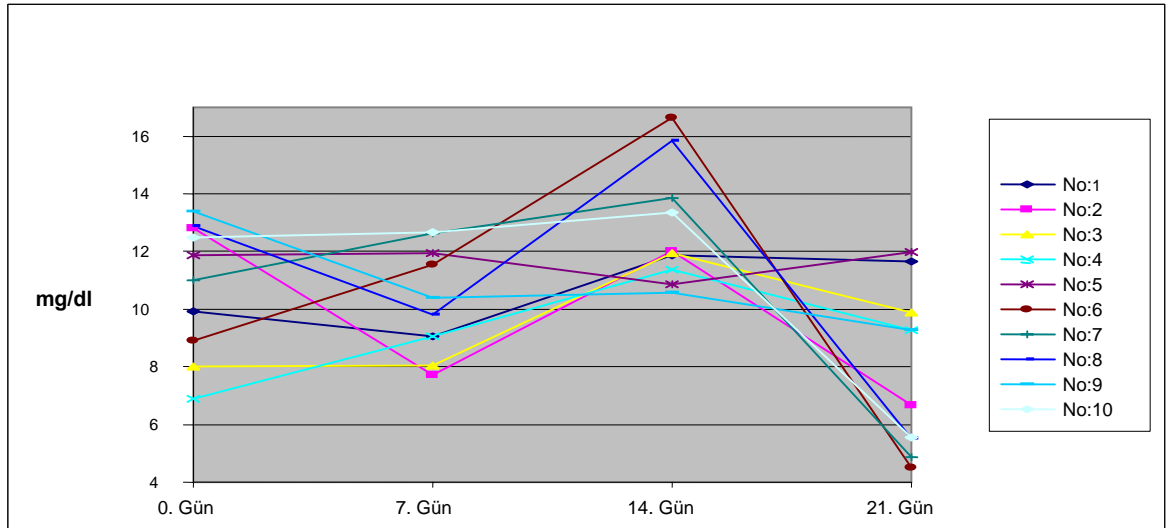
Şekil-20 : Osteosentez Ga-Al-As Grubu Kan ALP Değerleri (U/L).



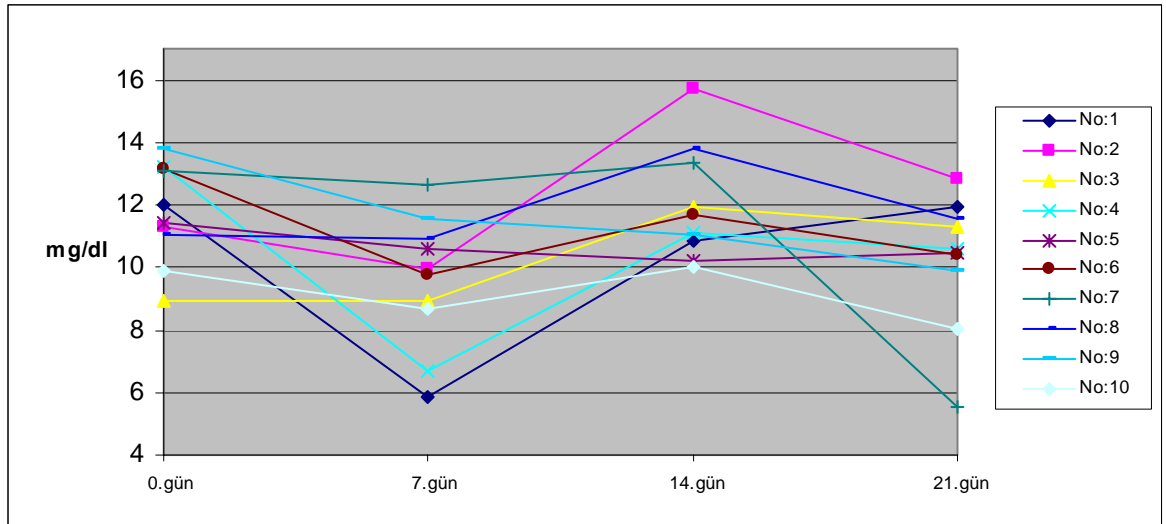
Şekil-21 : Osteosentez Kontrol Grubu Kan ALP Değerleri (U/L).



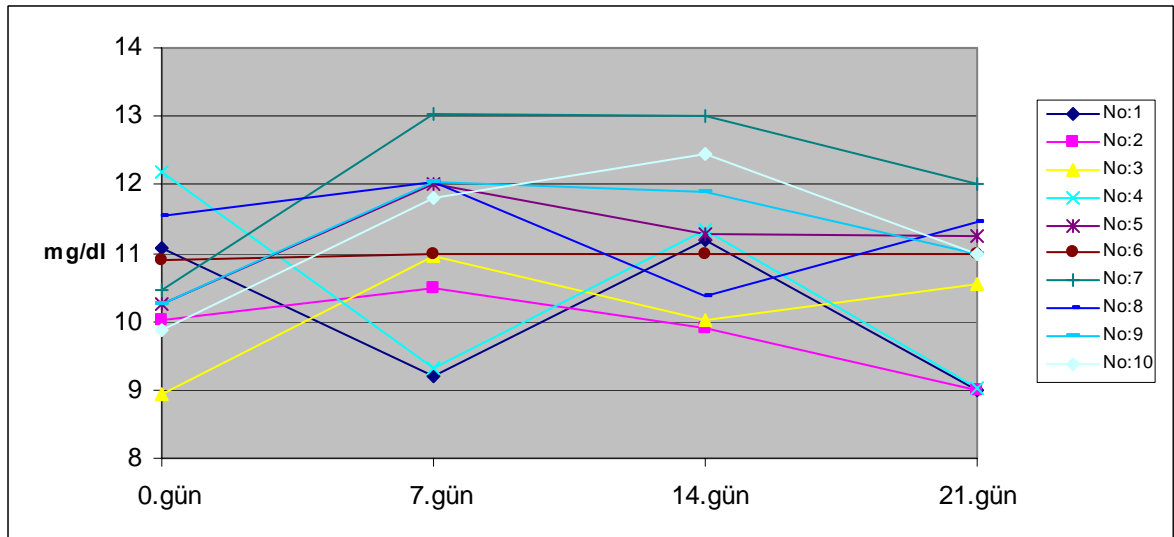
Şekil-22 : Defekt He-Ne Grubu Kan Ca Değerleri (mg/dl).



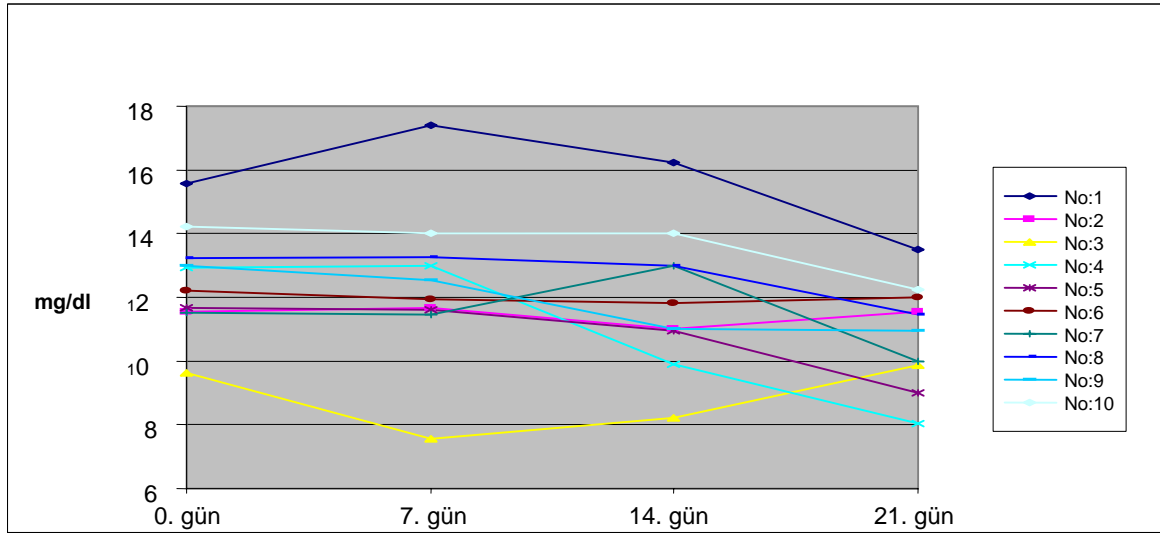
Şekil-23 : Defekt Ga-Al-As Grubu Kan Ca Değerleri (mg/dl).



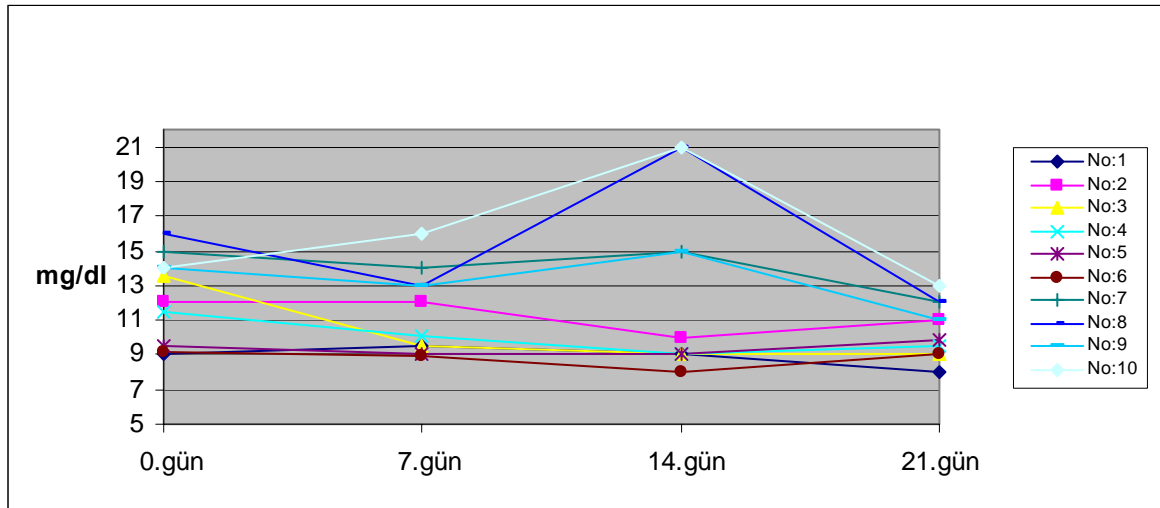
Şekil-24 : Defekt Kontrol Grubu Kan Ca Değerleri (mg/dl).



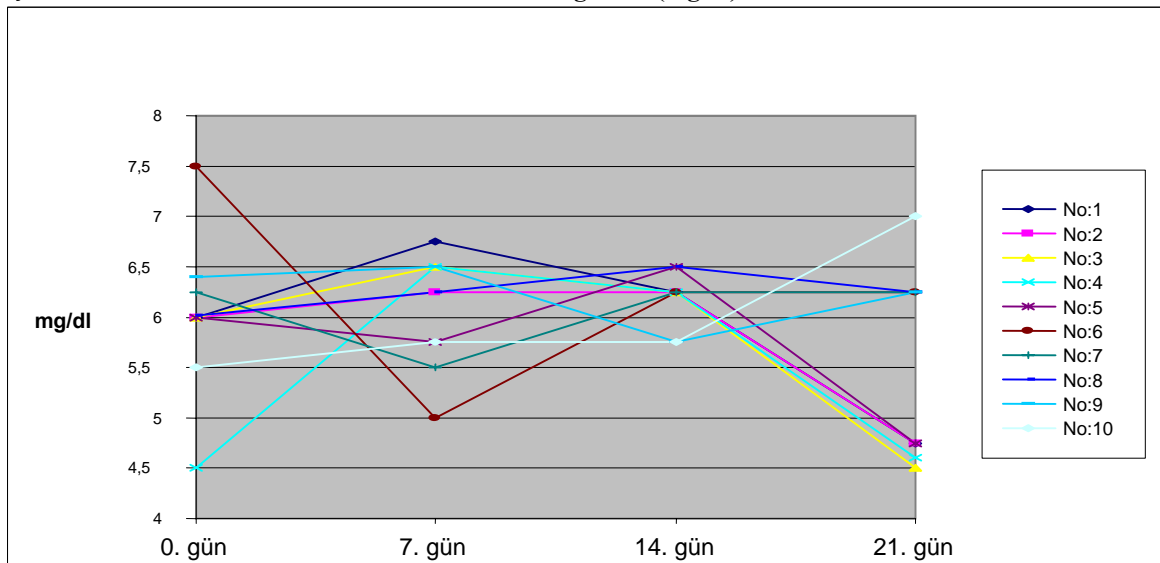
Şekil-25 : Osteosentez He-Ne Grubu Kan Ca Değerleri (mg/dl).



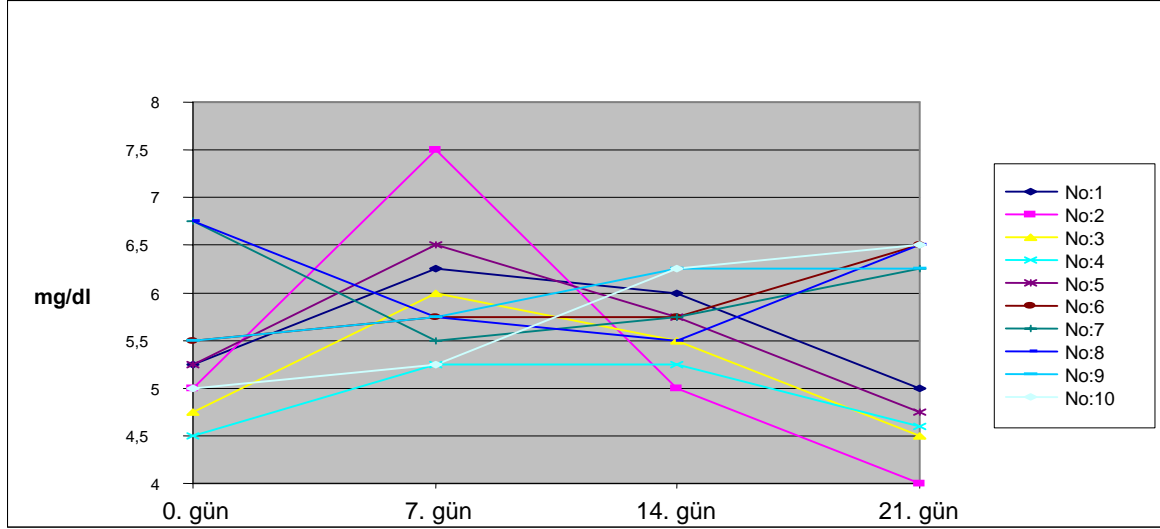
Şekil-26 : Osteosentez Ga-Al-As Grubu Kan Ca Değerleri (mg/dl).



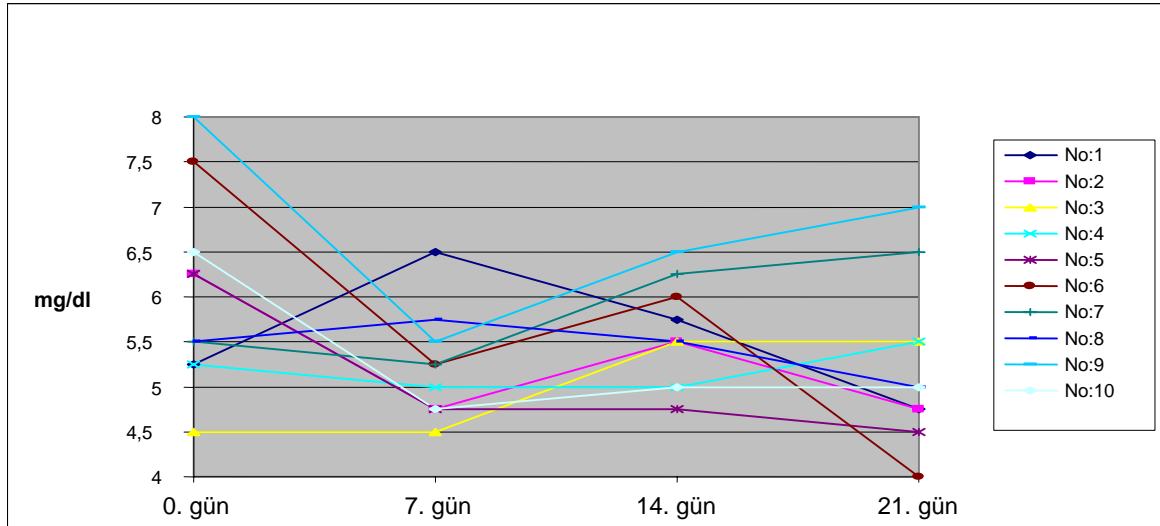
Şekil-27 : Osteosentez Kontrol Grubu Kan Ca Değerleri (mg/dl).



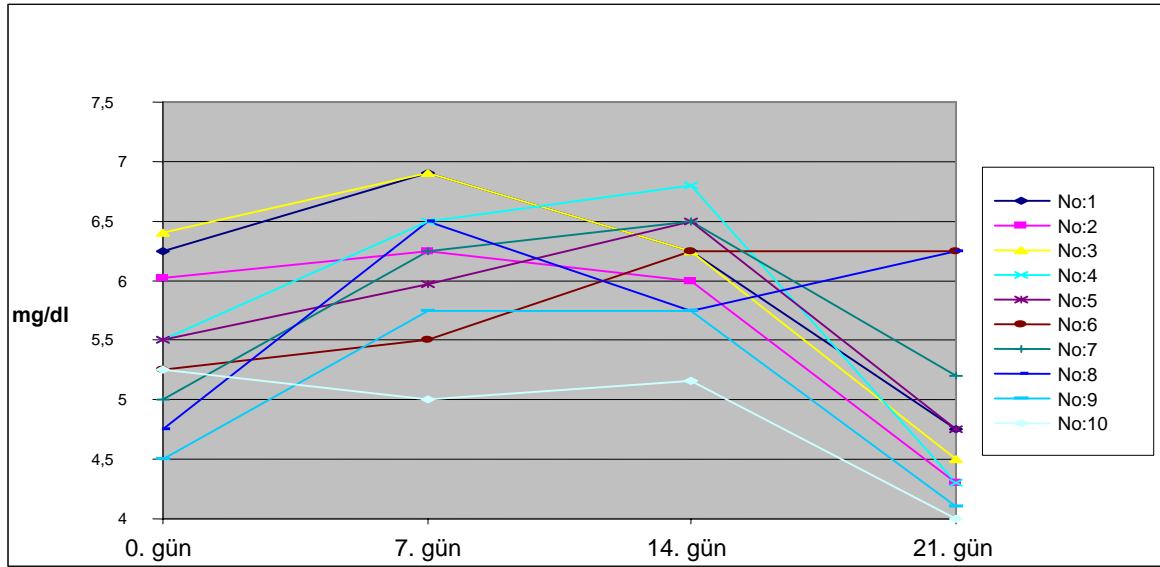
Şekil-28 : Defekt He-Ne Grubu Kan P Değerleri (mg/dl).



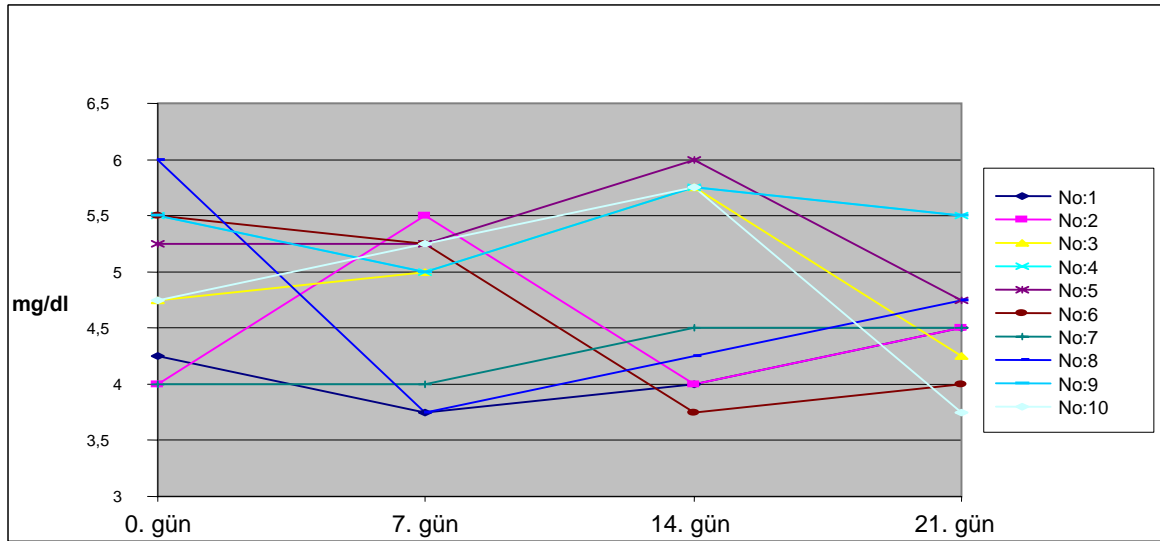
Şekil-29 : Defekt Ga-Al-As Grubu Kan P Değerleri (mg/dl).



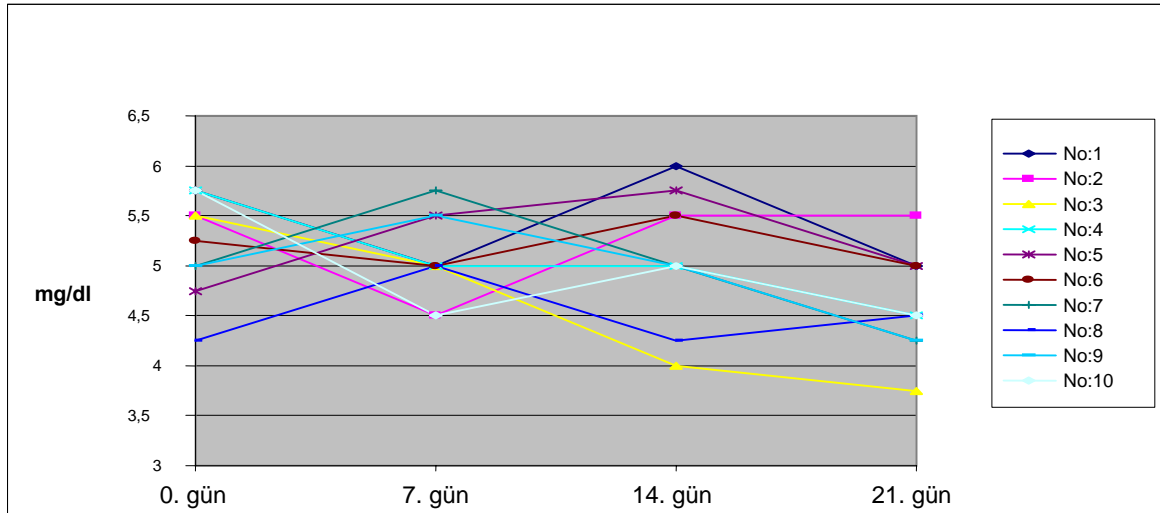
Şekil-30 : Defekt Kontrol Grubu Kan P Değerleri (mg/dl).



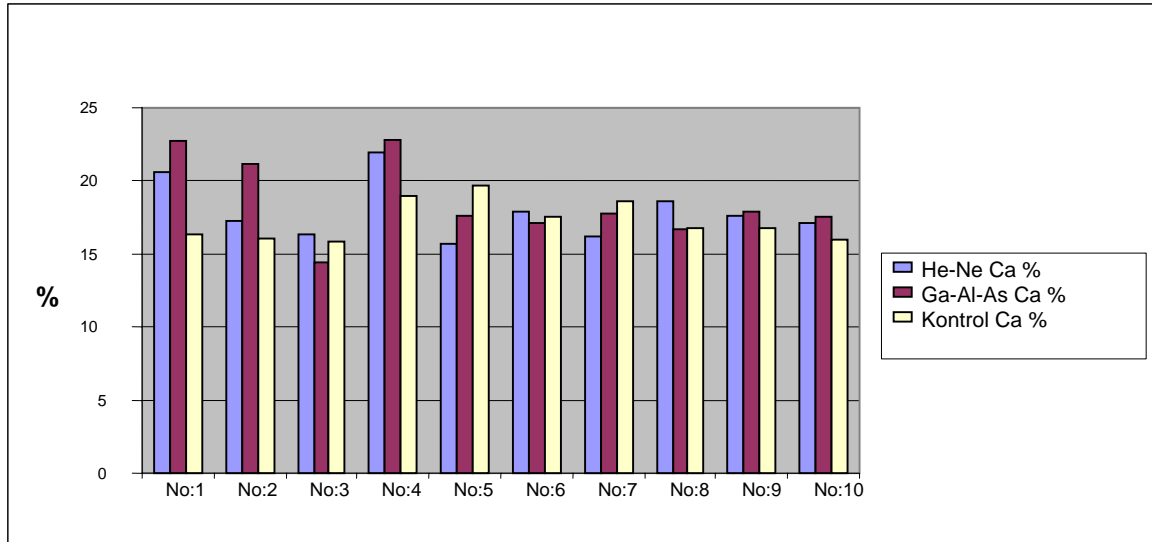
Şekil-31 : Osteosentez He-Ne Grubu Kan P Değerleri (mg/dl).



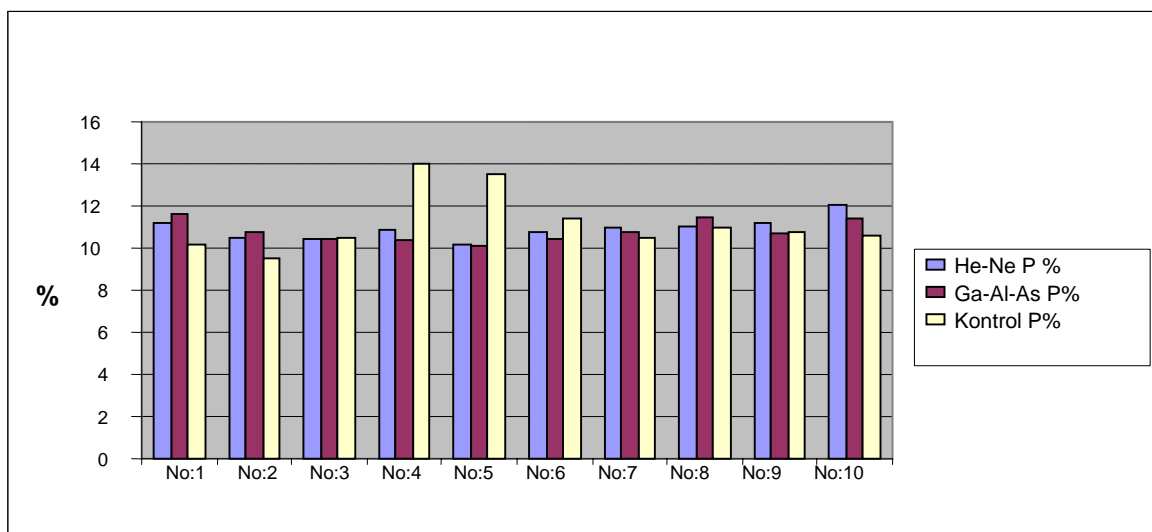
Şekil-32 : Osteosentez Ga-Al-As Grubu Kan P Değerleri (mg/dl).



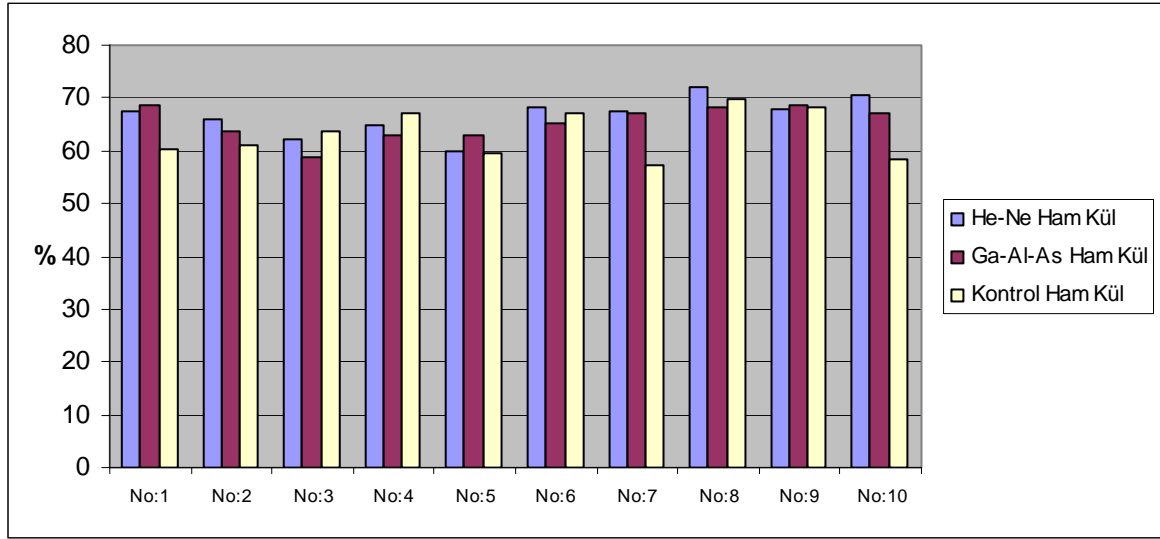
Şekil-33 : Osteosentez Kontrol Grubu Kan P Değerleri (mg/dl).



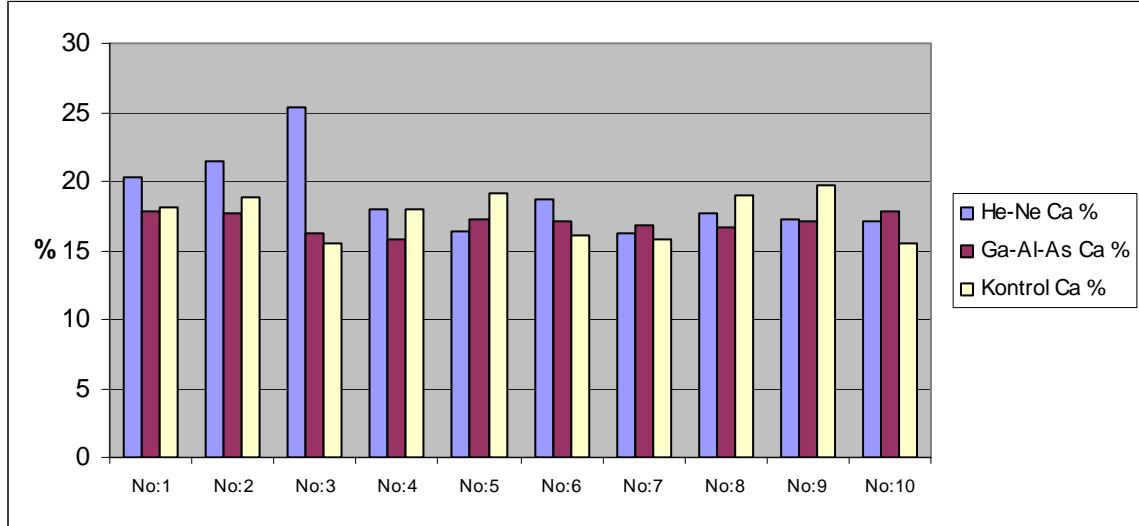
Şekil-34 : Defekt Grubu Kemik Külü Ca Değerleri Karşılaştırmaları (%).



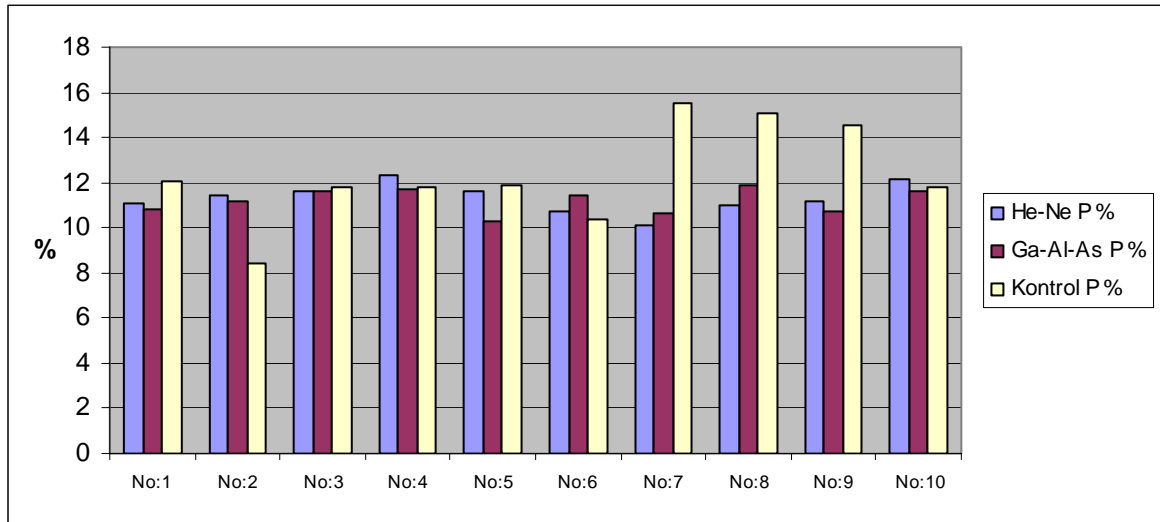
Şekil-35 : Defekt Grubu Kemik Külü P Değerleri Karşılaştırmaları (%).



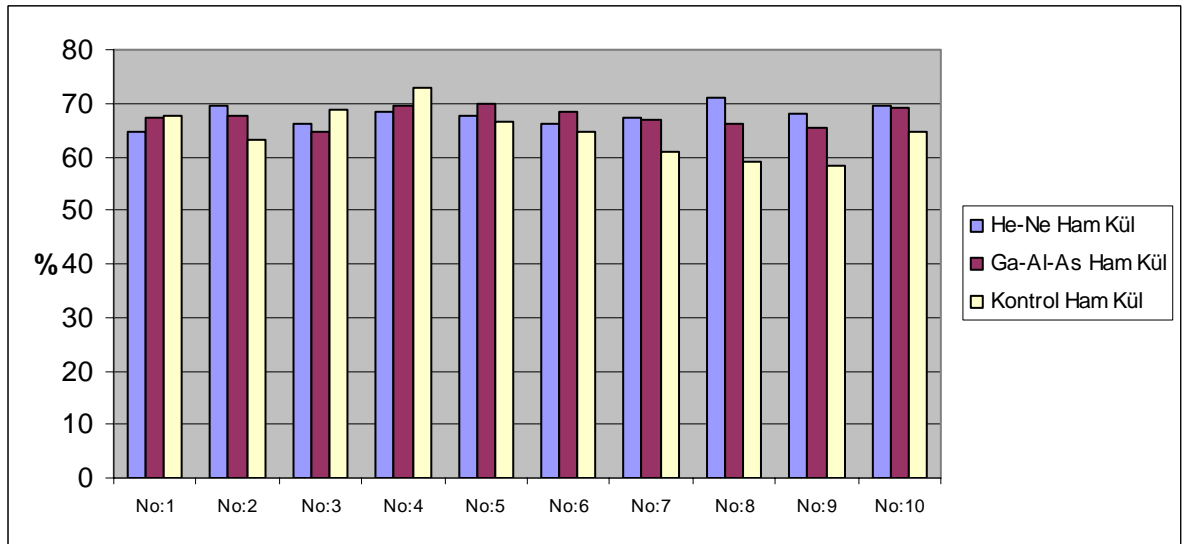
Şekil-36 : Defekt Grubu Kemik Külü Ham Kül Değerleri Karşılaştırmaları (%).



Şekil-37 : Osteosentez Grubu Kemik Külü Ca Değerleri Karşılaştırmaları (%).



Şekil-38 : Osteosentez Grubu Kemik Külü P Değerleri Karşılaştırmaları (%).



Şekil-39 : Osteosentez Grubu Kemik Külü Ham Kül Değerleri Karşılaştırmaları (%).

KAYNAKLAR

1. KHADRA M, RENOLD HJ, LYGSTADAAS S P. Low level laser therapy stimulates bone implant interaction: an experimental study in rabbits. Clinical Oral Implants Research, 15(3): 325, June 2004.
2. WAGNER RF JR, BROWN T, MC CARTHY EM. What is low level laser therapy. Dermatologic Surgery 26(8): 7237, Aug 2000.
3. PINHEIRO A. Recent studies on bone regeneration. International Congress Series, 1248: 69-72, May 2003.
6. NICOLAU RA, JORGETTI V, RIGAU J. Effect of low power Ga-Al-As laser (660 nm) on bone structure and cell activity: an experimental animal study. Lasers in Medical Science, 18: 89-94, 2003.
7. WIEBICKE G. Laser therapy in veterinary medicine. Laser therapie in der Veterinärmedizin. Praktische Tierarzt. 67:11, 958-961, 1986.

8. KARU TI, TIPHLOVA OA, FEDOSEYEVA GE. Biostimulating action of low-intensity monochromatic visible light: is it possible ? *Laser Chemistry*, (5) 19-25, 1984.
9. RUBIN C, BOLENDER M, RYABY J, HADJIARGYROU M. The use of low Intensity ultrasound to accelerate the healing of fractures. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 83: 259, 2001.
10. GABLE P, TUNER J. Bone stimulation by low level laser - a theoretical model for the effects. *Laser Partner, Clinixperience-All Volumes*, Chapter 67, 2003. ISSN 1213-3027.
11. TUNÉR J. Depth of penetration of laser light in tissue. *Laser Partner, Clinixperience-All Volumes*, Chapter 15, 2000.
12. GUZZARDELLA GA, TORRICELLI P, NICHOLI ADLINI N, GIARDINO R. Laser technology in orthopedics: preliminary study on low power laser therapy to improve the bone biomaterial interface. *The International Journal of Artificial Organs*, 24(12): 898-902, Dec 2001.
13. KAWASAKI K, SHIMIZU N. Effects of low energy laser irradiation on bone remodelling during experimental tooth movement in rats. *Lasers in Surgery and Medicine*, 26: 282-291, 2000.
14. STEIN A, BENAYAHU L, MALTZ, ORON U. Low-level laser irradiation promotes proliferation and differentiation of human osteoblast in-vitro. *Photomedicine and Laser Surgery*, 23(2): 161-166 Apr 2005.
15. BARBER A, LUGER JE, KARP F A, SALAME K, KOGAN G, NISSAN M, ROCHKIND S. Advances in laser therapy for bone repair. *Laser Therapy, Special Millenium Edition*, 13: 81-85, 2001.
16. PEREIRA AN, EDUARDO C. Effect of low power laser irradiation on cell growth and procollagen synthesis of cultured fibroblasts. *Lasers in Surgery and Medicine*, 31: 263-267, 2002.
17. MORRONE G, GUZZARDELLA GA, TORICELLI P, ROCCA M, TIGANI D, BRODANO GB, FINI M. Osteocondral lesion reapiir of the knee in the rabbit after low power diode Ga-Al-As laser biostimulation: an experimental study. *Artificial Cells, Blood Substitutes and Immobilization Biotechnology*, 28(4): 321-336, 2000.
18. KARU T. Photobiology of low power laser effects. *Health Physics*, 56(5): 691-704, May 1989.
19. MRSKY N, KRISPEL Y, SHOSHANY Y, MALTZ L, ORON U. Promotion of angiogenesis by low energy laser irradiation. *Antioxidants & Redox Signaling*, 4(5): 785-790, Oct 2002.
20. BRAVERMAN B, MCCARTY RJ, IVANKOVICH AD, FORDE DE, OVERFIELD M, BAPNA MS. Effect of He-Ne and infrared laser irradiation on wound healing in rabbits. *Lasers in Surgery and Medicine*, 9(1): 50-58, 1989.
21. ALLENDORF JD, BESLER M, HUANG J, KATYON ML, LAIRD D, NOWYGRD R, TREAT MR. He-Ne laser irradiation at fluences of 1, 2 and 4 J/cm² failed to accelerate wound healing as assesed by both wound contracture rate and tensile strenght. *Lasers in Surgery and Medicine*, 20(3): 340-345, 1997.
22. BASFORD JR. Low energy laser therapy: controversites and research findings. *Lasers in Surgery and Medicine*, 9(1): 1-5, 1989.
23. GHAMSARI SM, TAGUCHI K, ABE N, ACORDA JA, YAMADA H. Histopathological effect of low level laser therapy on sutured wounds of the teat in dairy cattle. *The Veterinary Quarterly*, 18(1): 17-21, Mar 1996.
24. DORTBUDAK O, HAAS R, MALLOWH-POKORNY, G. Biostimulation of bone marrow cells with a diode soft laser. *Clinical Oral Implants Research*, Volume 11, issue 6, pages 540-545, December 2000.

25. 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*, Volume 22, No 4: 347-354, April 1998.
26. MERLI L A, SANTOS M T, GENOVESEW J. Effect of low intensity laser irradiation on the process of bone repair. *Fotomedicine and Laser Surgery*, 23(2): 212-215, Apr 2005.
27. WALSH LJ. The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 1. Soft tissue applications, *Australian Dental Journal*, 42(4): 247-254, 1997.
28. COOMBE AR, HO CT, DARENDELILER MA, HUNTER N, PHILIPS JR, CHAPPLE CC, YUM LW. The effects of low laser irradiation on osteoblastic cells. *Clinical Orthodontics and Research*, 4: 3-14, 2001.
29. YAMADA K Biological effects of low power laser irradiation on clonal osteoblastic cells. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi*, 65(9): 787-799, Sep 1991.
30. DAVID R, NISAN M, COHEN I, SOUDRY M. Effects of low power He-Ne laser on fracture healing in rats. *Lasers in Surgery and Medicine*, 19(4): 458-464, 1996.
31. ABIKA Y, HIRATSUKA K, HAMAJIMA S, OHTA M, IDE K. GeNome science-based gene experiation monitoring in osteoblasts altered by low level laser irradiation. *International Congress Series*, 1248: 433-436, 2003.
32. YAAKOBI T, MALTZ L, ORAN U. Promotion of bone repair in the cortical bone of the tibia in rats by low energy laser (He-Ne) irradiation. *Calcified Tissue International*, 59: 297-300, 1996.
33. BULOW PM, JENSEN H, DANNESKIOLD-SAMSOE B. Low power Ga-Al-As laser treatment of painful osteoarthritis of the knee. A double-blind placebo-controlled study. *Scandinavian Journal of Rehabilitation Medicine*, 26(3): 155-159, Sep 1994.
34. KAHADRO M, KASEM N, HOONES HR. Enhancement of bone formation in rat calvarial bone defects using low level laser therapy. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 97(6): 693-700, Jun 2004.
35. GARAVELLO I, BARANUSKAS V, DA CRUZ-HOFLING MA. The effects of low laser irradiation on angiogenesis in injured rat tibia. *Histology and Histopathology*, 19(1): 43-48, Jan 2004.
36. KARU TI, PIATIBRAT LV, KALENDOS GS. Radiation-modifying effect of UV and visible laser light. *Radiobiologia*, 27(6): 804-809, Nov-Dec 1987.
37. DEGAT MC, FERREIRA E, LOGEART-AVRAMOPHU D. Use of growth factors in the repair of bone. *Pathologie et Biologie*, 53(3): 131-141, April 2005.
38. PINHEIRO AL, JUNIOR F. Effects of LLLT on the repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone. *Brazilian Dental Journal*, 14(3): 177-181, March 2003.
39. REDERICKS RW, BAKER DJ. Clinical applications of the non-surgical laser. *Proceedings of the Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*, 29, 133-138, 1983.
40. EBERT DW, ROBERTS C. In vitro frog sciatic nerve as a peripheral nerve model for studies of the mechanism of action of low energy lasers: Part one. *Lasers in Surgery and Medicine*, 21(1): 32-41, 1997.
41. PINHEIRO AL, OLIVEIRA M G, MARTINS P, RAMALHO LM. Biomodulatory effects of LLLT on bone regeneration. *Clinical Orthodontics and Research*, 4(1): 3-14, Feb 2001.
42. LUGER EJ, ROCHKIND S, WOLLMAN Y. Effects of low power laser irradiation on the mechanical properties of bone fracture healing in rats. *Lasers in Surgery and Medicine* 22: 97-102, 1998.

43. HOLZER G, MAJESKA R, LUNDY M. Parathyroid hormone enhances fracture healing, a preliminary report. *Clinical Orthopaedics, Related Research*, 366: 258-263, 1999.
44. WANG C J, YANGK D, WANG F S. Shock wave treatment shows dose dependent enhancement of bone mass and bone strength after fracture of femur. *Bone*, 34: 225-230, 2004.
45. TRELLES MA, MAYAYO E. Bone fracture consolidates faster with low-power laser. *Lasers in Surgery and Medicine.*, 7(1): 36-45, 1987.
46. BARUSHKA O, YAAKOBI T, ORON U. Effects of low energy laser (He- Ne) irradiation on the process of bone repair in the rat tibia. *Bone*, 16: 47-55, Jan 1995.
47. SILVA JUNIOR AN, PINHEIRO AL, OLIVEIRA MG, WEISMANN R, RAMALHO LM, NICDAU RA. Computerized morfometric assessment of the effect of low level laser therapy on bone repair. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*, 20(2): 83-7, Apr 2002.
48. UEDA Y. SHIMIZU N. Effects of pulse frequency of low level laser therapy (LLLT) on bone Nodule formation in rat calvarial cells. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*, 21(5): 271-277, Oct 2003.
49. CLINGEN HJ, DICKSON GR. Fracture healing and ALP expression after low energy laser treatment. *Bone*, 19(6): 700-701, Dec1996.
50. TORICELLI P, GIAVARESI G, FINI M. Laser biostimulation of cartilage: in vitro evaluation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 55: 117-120, 2001.
51. MORRONE G, GUZZARDELLA GA, TORRICELLI P, FINI M, GIARDINO R. In vitro experimental research of rabbit condrocytes biostimulation with diode laser Ga-Al-As: a preliminary study. *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Immobilization Biotechnology*, 26(4): 437-439, Jul 1998.
52. KOLAROVA H, DITRICOVA D, WAGNER J. Penetration of the laser light into the skin in vitro. *Lasers in Surgery and Medicine*, 24(3): 231-235, 1999.
53. AKINORI NAGASAWA, KAZUICHI KATOH. Experimental study on mechanism for bone regeneration effect of lasers: approach through bone morphogenetic protein. *The Bulletin of School of High-TechNolgy for Human Welfare Tokai University No 7*, page 225-234, Sept 1997.
54. PINHEIRO AL, JUNIOR FA. Assesment of bone repair following the use of inorganic bone graft genox® inorganic and membrane associated or not with 830-nm laser light. *International Congress Series 1248*: 445-447, May 2003.
55. NIEDEN N I, KEMPKA G, AHR H J. In-vitro differentiation of embryonic stem cells into mineralized osteoblasts, *Differentiation*, 71(1): 18-27, Jan 2003.
56. BAIBEKOV IM, KHANAPIYAEV UK. Healing of bone fractures of rat shin and some immunological indices during magnetic laser therapy and osteosynthesis by the ilizarov method. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 131(4): 399-402, April 2001.
57. VLADIMIROV YA, OSIPOV AN, KLEBANOV GI. Photobiological principles of therapeutic applications of laser radiation. *Biochemistry*, 69(1): 81-90, 2004.
58. HARIS I. The laboratory rabbit. *ANZCCART News* 7(4), December 1994.
59. WARREN HB, LAUSEN NC, SEGRE GV, EL-HAJJ G, BROWN EM. Regulation of calciotropic hormones in vivo in the New Zealand white rabbit. *Endocrinology*, 125(5): 2683-2690, Nov 1989.
60. MARTINIAKOVA M, VONDRAKOVA M. Investigation of the microscopic structure of rabbit compact bone tissue. *Scripta Medica (BRNO) – 76(4)*: 215-220, Sept 2003.
61. NICKEL R, SCHUMMER A, SEIFERLE E. The locomotor system of the domestic mammals. *Hamburg Parey*, page 86-88, 1986.

62. ROBERTS RW, SMITH RK, ZIBERMANN Y, MOZSARY PG, SMITH R. Osseous adaptation to continuous loading of rigid endosseous implants. *American Journal of Clinical Orthodontology*, 86: 95–111, 1984.
63. ELLIS P. LEONARD,. Bone healing. *Orthopedic Surgery of the Dog and Cat*, W.B.Saunders Company, Second Edition, page 10-17, 1971. ISBN 0-7216-5721-4.
64. OWEN M, JOWSEY J, VAUGHAN J. Investigation of the growth and structure of the tibia of the rat, *Journal of Bone and Joint Surgery*, 37-B(2): 324-42, May 1955.
65. CANDAS A, OLCAY B, GURKAN M, SAGLAM M. Evcil Karnivorların Tibia Kırıklarının Onarımı. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 35(1):169-193, Ankara 1988.
66. TIM M. SKERRY. Fracture Healing. *BSAVA Manual of Small Animal Fracture Repair and Management*, 4: 29-34, 1998. ISBN 0 9005214 37 4 Published by: British Small Animal Veterinary Association.
67. KILIÇOĞLU SS. Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 55(2): 143-150, 2002.
68. YANIK K. Kırık İyileşmesi. *Ortopedi ve Travmatoloji*, 2: 40-46, U.Ü. Veteriner Fakültesi Yayınları, Bursa 2004.
69. NEAME PJ, BUTLER WT. Posttranslational modification in rat bone osteopontin. *Connective Tissue Research*, 35(1-4): 145-150, 1996
70. I.G.F.FREITAS, V.BARAN NAUSKAS, M.A.CRUIZ-HOFLING. Laser effects on osteogenesis. *Applied Surface Science*, 154-155: 548-554, 2000.
71. 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*, 5: 64-70, 2000.
72. KHAN SN, BOSTROM MP, JANE JM. Bone growth factors. *The Orthopedic Clinics of North America.*, 31(3): 375-388, 2000.
73. BRIGHTON CT, HUNT RM. Early histologic and ultrastructural changes in microvessels of periosteal callus. *Journal of Orthopedic Trauma* 11(4): 244-253, 1997.
74. WEN-WEI HSU R, TAI C-L, CHEN C. Enhancing mechanical strength during early fracture healing via shockwave treatment: an animal study *Clinical Biomechanics*, 18(6):533-539, July 2003.
75. CARVALHO DC, ROSIM GC, GAMA LO, TAVARES MR, TRIBIOLI RA, SANT IR, CLIQUET A JR. Non-pharmacological treatments in the stimulation of osteogenesis. *Revista de Saude Publica*, 36(5): 647-654, Oct 2002.
76. EGERMANN M, SCHNEIDER E, EVANS CH, BALTZER AW. The potential of gene therapy for fracture healing in osteoporosis. *Osteoporosis International: A Journal Established as Result of Cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 16: 120–128, 2005.
77. FRANCESCHI RT, YANG S, RUTHERFORD RB, KREBSBACH PH, ZHAO M, WANG D. Gene therapy approaches for bone regeneration. *Cells Tissues Organs*, 176(1-3): 95-108, 2004.
78. NAGASHIMA A, KATOH K. Bone regeneration activation effect of lasers. *The Bulletin of School of High Technology for Human Welfare Tokai University*, 6: 245-258, Nov 1996.
79. SULEWSKI JG. Histological survey of laser dentistry. *Dental Clinics of North America*, 44(4): 717-752, Oct 2000.
80. OHSHIRO T, CALDERHEAD RG. Development of low reactive-level laser therapy and its present status. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*, 9(4): 267-275 Aug 1991.

81. BRINKERHOFF Z. World association for laser therapy. A Report on the 2nd Congress of WALT 2-5, Sep 1998.
82. GERRITSEN AA, DE KROM MC, STRUIJS MA, SCHOLTEN RJ. Conservative treatment options for carpal tunnel syndrome: a systemic review of randomised controlled trials. *Journal of Neurology*, 249(3): 272-280, Mar 2002.
83. KARU TI. Molecular mechanism of the therapeutic effect of low-intensity laser radiation. *Lasers in the Life Sciences*, 2(1): 53-74, 1988.
84. TAKAC S, STOJANOVIC S, MUHI B. Types of medical lasers. *Medicinski Pregled*, 51(3-4): 146-150, Mar-Apr 1998.
85. PAYNE J. Surgical lasers and photodynamic therapy in small animal practise. *Waltham Focus*, 6(4): 19-23, 1996.
86. BASFORD JR. Laser therapy. *Scientific Basis and Clinical Role Orthopedics*, 16(5): 541-547, May 1993.
87. TINA KARU. Primary and secondary mechanisms of action visible to near infrared radiation on cells. *Journal of Photocemistry and Photobiology B: Biol.*, 49: 1-17, May 2003.
88. BASFORD JR. The clinical status of low energy laser therapy in 1989. *Journal of Laser Application*, 2(1): 57-63, Jan-Feb 1990.
89. BELKIN M., SCHWARTZ M. Ophthalmic effects of low energy laser irradiation. *Survey of Ophthalmology*, 39(2): 113-22, Sep-Oct 1994.
90. NINOMIYA T, MIYAMOTO Y, ITO T, YAMASHITA A, WAKITA M, NISHISAKA. High-intensity pulsed laser irradiation accelerates bone formation in metaphyseal trabecular bone in rat femur. *Journal of Bone Mineral Metabolism*, 21(2): 67-73, 2003.
91. VIHERKOSKI E. Lasers in medicine. *Annales Chirurgiae et Gynaecologiae*, 79(4): 176-181, 1990.
92. MC DAVID VG, COBB CM, RAPLEY JW, GLAROS AG, SPENCER P. Laser irradiation of bone LLL long-term healing following treatment by CO₂ and Nd:YAG lasers. *Journal of Periodontology*, 72(2): 174-188, Feb 2001.
93. BELKIN M., SCHWARTZ M. Evidence for the existence of low energy laser bioeffects for the nervous system. *Neurosurgery Review*, 17(1): 7-17, 1994.
94. WALSH LJ. The currenty status of low level laser therapy in dentistry. Part 2. hard tissue applications. *Australian Dental Journal*, 42(5): 302-306, 1997.
95. KLEBANOV GI, KREININA MV, POLTANOV EA, KHRISTOFOROVA TV. Mechanism of therapeutic effect of low-intensity infrared laser radiation. *Bulletin Experimental Biology and Medicine*, 131(3): 286-289, March 2001.
96. MOORE K. Lasers and pain treatment. *Laser Partner, Clinixperience-All Volumes Chapter 72*, 2004. ISSN 1213-3027.
97. MESTER E, MESTER A. The biomedical effect of laser application. *Lasers in Surgery and Medicine*, 5(1): 31-39, 1985.
98. DORTBUDAK O, HAAS R, MAILATH-POKORNY G. Effect of low power laser irradiation on bony implant sites. *Clinical Oral Implants Research*, 13(3): 288-292, Jun 2002.
99. SILVA JUNIOR AN, PINHEIRO AL, OLIVEIRA MG. Computerized morphometric assesment of the effect of low-level laser therapy on bone repair: an experimental study. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*, 20(2): 83-7, April 2002.
100. ROCHKIND S, KOGAN G, LUGER EG, SALAME K, KARP E. Moleculer structure of the bony tissue after experimental trauma to the mandibular region followed by laser therapy. *Fotomedicine and Laser Surgery*, 22(3): 249-53, Jun 2004.

101. GLINKOWSKI W, ROWINSKI J. Effect of low incident levels of infrared laser energy on the healing of experimental bone fractures. *Laser Therapy*, 7: 67-70, 1995
102. PINHEIRO AL, LIMEIRA JUNIOR FDE A, GERBI ME, RAMALHO LM, MARZOLA C. Effect of 830-nm laser light on the repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone and decalcified cortical osseous membrane. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*, 21(6): 383-388, Dec 2003.
103. CANE V, BOTTI P, SOANA S. Pulsed magnetic fields improve osteoblast activity during the repair of an experimental osseous defect. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 11: 664-670, 1993.
104. GUZZARDELLA GA, FINI M., TORRICELLI P, GIAVERESI G, GIARDINO R. Laser stimulation on bone defect healing: an in vitro study. *Lasers in Medical Science*, 17(3): 216-20, 2002.
105. DICKSON GR, CLINGEN H, JORDAN GR, LINTON T. The effect of low level laser therapy on alkaline phosphatase expression during fracture repair. *Laser Therapy*, 6: 16, 1994
106. TURK Z. Bone healing and biochemical blood parameters after artificial osteotomy of rabbits' femur treated by low-frequency magnetic field. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 113(3): 47-352, 2001.
107. SOUTHWOOD LL, FRISBIE DD, KAWCAK CE, MCILWRAITH CW. Delivery of growth factors using gene therapy to enhance bone healing. *Veterinary Surgery*, 33: 565-578, 2004.
108. SAITO S, SHIMIZU N. Stimulatory effects of low-power laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in the rat. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 111(5): 525-532, May 1997.
109. GARAVELLO-FREITAS I, BARANOUSKAS V, JOAZERIO PP, PADOVANI CR, DAL PAI-SILVA M, CRUZ-HOFLING M. Low power laser irradiation improves histomorphometrical parameters and bone matrix organization during tibia wound healing in rats. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 70: 81-89, 2003.
110. OZDAMAR K. Paket programlar ile istatistiksel veri analizi-1 (mann-whitney u testi), sayfa 490, 5. baskı, Kaan kitabevi.
111. OZDAMAR K. Paket programlar ile istatistiksel veri analizi-1 (kruskal-wallis h testi), sayfa 494, 5. baskı, Kaan kitabevi.
112. OZDAMAR K. Paket programlar ile istatistiksel veri analizi-1 (wilcoxon signed rank test), sayfa 480, 5. baskı, Kaan kitabevi.

TEŞEKKÜR

Tezimin tüm aşamalarında benden yardımını, desteğini, bilgi ve tecrübesini esirgemeyen, danışman hocam Sn. Prof. Dr. Kemal YANIK'a, doktora eğitimine başladığım ilk günden beri karşılaştığım sorunlarda ve merak ettiğim soruların cevabını bulmamda hep yanımda olup yolumu aydınlatan değerli hocalarım Sn. Prof. Dr. O. Sacit GÖRGÜL'e, Sn. Prof. Dr. Metin KAYA'ya ve Sn. Doç. Dr. Ayşe TOPAL'a teşekkür ederim.

Tezimi oluşturmamda yardımlarından dolayı Sn. Prof. Dr. M. Müfit KAHRAMAN'a, istatistiki değerlendirmelerdeki yardımlarından dolayı İç Hastalıkları A.B.D.'dan Sn. Doç. Dr. Sezgin ŞENTÜRK'e ve Biyoistatistik A.B.D.'dan Araş. Gör. Gökhan ÖZOCAK'a, histopatolojik incelemeler için Araş. Gör. Ahmet AKKOÇ'a, biyokimyasal analizlerdeki yardımlarından dolayı Araş. Gör. Dr. Şule GEZEN'e ve Araş. Gör. Deniz DOĞRUTEKİN'e, tezimin çalışma kısmındaki yardımlarından dolayı sevgili arkadaşlarım Araş. Gör. Dr. Nihal GÜL'e, Araş. Gör. Mustafa TULGA'ya ve veteriner sağlık teknisyeni sevgili Şahabettin AKGÜN'e , ayrıca Cerrahi Anabilim Dalındaki çalışma arkadaşlarıma, teknisyen ve teknisyen yardımcılara teşekkürü bir borç bilirim.

Sevgili ailem ve değerli eşime her şey için teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Bursa'da doğdum. İlk öğrenimimi Bursa Osmangazi İlkokulunda, orta ve lise öğrenimimi ise Bursa Anadolu Lisesinde tamamladım. 1995 yılında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesine başladım. 2000 yılında Veteriner Hekim olarak mezun oldum ve aynı yıl Cerrahi A.B.D'da doktora eğitimime başladım. Halen aynı A.B.D'da araştırma görevlisi olarak görev yapmaktayım.