T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
GÜLHANE DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI

TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN VE DÜŞÜK DOZ LAZER TERAPİNİN RATLARDA DİŞ ÇEKİMİ İLE OLUŞTURULAN YARA BÖLGESİNDE KEMİK OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Ömer Orkun CEVİZCİOĞLU

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

ANKARA
2017

T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
GÜLHANE DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI

TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN VE DÜŞÜK DOZ LAZER TERAPİNİN RATLARDA DİŞ ÇEKİMİ İLE OLUŞTURULAN YARA BÖLGESİNDE KEMİK OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Ömer Orkun CEVİZCİOĞLU

Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Gülhane Diş Hekimliği Fakültesi'nin
Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Programı için öngördüğü
UZMANLIK TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

DANIŞMAN
Prof. Dr. Metin ŞENÇİMEN

ANKARA
2017

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığı'na;

"Trombositten zengin fibrin ve düşük doz lazer terapinin ratlarda diş çekimi ile oluşturulan yara bölgesinde kemik oluşumu üzerine etkisinin değerlendirilmesi" konulu bu çalışma jürimiz tarafından Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nda Diş Hekimliğinde Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Metin ŞENÇİMEN
Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi A.D. Bşk.

Üye: Prof. Dr. Umut TEKİN
Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi A.D. Öğ. Üy.

Üye: Doç. Dr. Hasan Ayberk ALTUĞ
Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi A.D. Öğ. Üy.

ONAY: Dt. Ömer Orkun CEVİZCİOĞLU'nun 20.11.2017 tarihinde savunduğu bu tez Akademi Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Prof. Dr. N. Işıl SAYGUN
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Gülhane Diş Hekimliği Fakültesi Dekan V.

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 10.04.2015 tarih ve 15/47 sayılı kararı gereği Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanlığında yapılmıştır.

Bu çalışmada trombositten zengin fibrin ve düşük doz lazer terapinin ratlarda diş çekimi ile oluşturulan yara bölgesinde kemik oluşumu üzerine etkisinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi alanında ufkumu genişleten ve uzmanlık tezimin her aşamasındaki katkılarından dolayı tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Metin ŞENÇİMEN'e, teşekkür ederim. Çalışmamda bana her türlü yardım ve desteklerini sağlayan Sayın Doç. Dr. Hasan Ayberk ALTUĞ'a teşekkürü borç bilirim. Tezimin deney aşamasında yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden faydalanma fırsatı bulduğum Sayın Uzm. Dr. Aydın ÖZKAN 'a ve Sayın Uzm. Dr. Abdullah Tuğrul ÇOŞKUN'a, acı tatlı anıları birlikte paylaştığımız, tez çalışmam boyunca birlikte çalışmaktan keyif aldığım değerli asistan arkadaşlarım Dilber ÇELİK ve Alpaslan GÜNDÜZ'e, patolojik değerlendirme aşamasında yardımlarını esirgemeyen Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Emre BARIŞ 'a, teşekkür ederim. Uzmanlık eğitimim süresince tanışmaktan ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Ağız Diş ve Çene Cerrahisi A.D. Öğretim üyelerine, uzmanlarına ve asistanlarına teşekkür ederim.

Hayatım boyunca benden desteklerini esirgemeyen annem, babam ve ağabeyime, sabır, anlayış ve desteklerinden dolayı sevgili eşim Buket CEVİZCİOĞLU'na ve hayatımı anlamlı kılan biricik oğlum Çınar CEVİZCİOĞLU'na sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışması GATA Araştırma Bilimsel Kurulunca 27.11.2015 tarih ve AR-2015/20 nolu araştırma fonu tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

Trombositten Zengin Fibrin ve Düşük Doz Lazer Terapinin Ratlarda Diş Çekimi ile Oluşturulan Yara Bölgesinde Kemik Oluşumu Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi

Bu çalışmanın amacı, diş çekimi yapılmış deneklerde trombositten zengin fibrinin ve düşük doz lazer terapinin yeni kemik oluşumu üzerine etkilerinin araştırılmasıdır.

Çalışmamızda bir kontrol grubu (K), üç deney grubu ve her grubun 7, 10 ve 14 günlük sakrifikasyon sürelerine göre ayarlanmış üç alt grubu olmak üzere 72 adet wistar rat kullanıldı. Deney grupları, düşük doz lazer terapi (DDLT) uygulanan L grubu, trombositten zengin fibrin (TZF) uygulanan T grubu ve DDLT/TZF kombine uygulanan LT grubu olarak isimlendirildi. Tüm gruplardaki hayvanların üst keser dişlerinden biri çekildi. DDLT, InGaAsP (940 nm) diyot lazer ile diş çekimini takiben işlemin yapıldığı gün dahil üç günde bir aynı saatte, günlük doz yaklaşık 4 J/cm^2 (100 mW gücünde, 5 sn süreyle, 0.1256 cm^2 uygulama alanına) olacak şekilde intraoral olarak uygulandı. Histopatolojik inceleme için rutin Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanan kesitler, ışık mikroskobunda histolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirildi. Çekim soketleri, oluşan yeni kemik miktarı ve iyileşme süresince gözlenen enflamatuar hücre sayısı yönünden incelendi. Bu çalışmada elde edilen veriler ANOVA, Shapiro Wilk's ve Kruskal Wallis-H Testi kullanılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

LT grubunun 7. ve 14. gün yeni kemik miktarı K grubuna göre, 10. gün yeni kemik miktarı ise K ve T gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

L grubunun 7. gün ortalama nötrofil sayısı T grubuna göre; K grubunun 7. gün ortalama nötrofil sayısı ise T ve LT gruplarına göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$). L grubunun 10. gün ortalama nötrofil sayısı K grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$). LT grubunun 14. gün ortalama nötrofil sayısı K grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

K grubunun 7. gün ortalama lenfosit sayısı L grubuna göre, 10. gün ortalama lenfosit sayısı ise LT grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$). LT grubunun 14. gün ortalama lenfosit sayısı K grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

Bu sonuçlar göz önüne alındığında TZF ve DDLT'nin birlikte kullanımının diş çekimi yapılan ratlarda yeni kemik oluşumunu arttırdığı düşünülmektedir. Literatürde TZF ve DDLT'nin farklı uygulama yöntemleriyle ayrı ayrı değerlendirildiği birçok çalışma mevcuttur. Ancak TZF ve DDLT'nin kombine kullanımının farklı cerrahi teknikler ile değerlendirildiği daha çok çalışmanın yapılması gerektiği kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Trombositten zengin fibrin, düşük doz lazer terapi, alveolar kemik iyileşmesi, rat.

Destekleyen Kurumlar: GATA Araştırma Bilimsel Kurulu tarafından AR-2015/20 proje numarası ile desteklenmiştir.

Yazar: Dt. Ömer Orkun CEVİZCİOĞLU

Danışman: Prof. Dr. Metin ŞENÇİMEN

ABSTRACT

Evaluation of platelet rich fibrin and low level laser therapy on alveolar bone healing after tooth extraction in rats.

Experimental researches have shown that low level laser therapy (LLLT) has a positive local biostimulative effect in the early stage of alveolar bone healing. Platelet rich fibrin (PRF) also has been shown to be effective in the preserve of extraction sockets.

The aim of this study is to investigate the effect of the platelet rich fibrin and low level laser therapy on alveolar bone healing after tooth extraction in rats.

In our study, 72 female Wistar rats were used. One of the maxillary incisor of the animals was extracted. The animals were divided into 4 groups and each group was than divided into 3 subgroups. The control group which was neither subjected to any laser irradiation nor filled with platelet rich fibrin (PRF) (group K); Sockets were filled with PRF (group T); Sockets were subjected to low level laser therapy (LLLT) for biostimulation (group L); Sockets were subjected to LLLT for biostimulation then were filled with PRF (group LT). The laser treatment was applied with a continuous diode laser (InGaAsP, 940 nm), 100mW, spot size 0,1256 cm^2, at a dose of 4 J/cm^2 for 5 s, immediately after extraction and then every 3 days. Subjects were sacrificed on days 7, 10 and 14. Histological assessments of the four groups were done using a hematoxylin and eosin stain and newly formed bone area measurements were performed by binocular light microscopy using grid analysis. Also, inflammatory cells were counted. Statistical analysis was done using ANOVA, Shapiro Wilk's and Kruskal Wallis-H tests for comparisons between the four groups.

The histological examination showed that the new bone area of the 7th and the 14th days of the group LT was significantly higher than the group K ($p<0,05$). Also, the new bone area of the 10th day of the group LT was significantly higher than the group K and the group T ($p<0,05$).

The mean number of neutrophils was significantly lower in group L than in group T at 7 day, and higher in group T and group LT than in group K at 7 day

($p<0,05$). Also, the mean number of neutrophils was significantly lower in group L than in group K at 10 day, and higher in group K than in group LT at 14 day ($p<0,05$). The mean number of lymphocytes was significantly lower in group K than in group L at 7 day, higher in group LT than in group K at 10 day, and lower in group LT than in group K at 14 day ($p<0,05$).

Considering the results of this study, PRF combined with LLLT have a positive effect on alveolar bone healing after tooth extraction. In addition we suggest further studies should be done combining the PRF with LLLT by different methods, dosages and exposure times.

Key Words: Platelet rich fibrin, low level laser therapy, alveolar bone healing, rat.

Supported by: GMMA, Center of Research and Development (AR-2015/20)

Author: DDS, Omer Orkun CEVIZCIOGLU

Counsellor: Prof. DDS. Phd. Metin SENCİMEN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

TEŞEKKÜR ..... **v**

ÖZET ..... **vi**

ABSTRACT ..... **viii**

İÇİNDEKİLER ..... **x**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **xiii**

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **xvi**

TABLOLAR DİZİNİ ..... **xix**

1. GİRİŞ **1**

2. GENEL BİLGİLER **3**

2.1. KEMİK DOKUSU 3

2.1.1. Kemiğin Yapısı 3

2.1.2. Kemik Hücreleri 4

2.1.2.1. Osteoprogenitör hücreler 5

2.1.2.2. Osteoblastlar 5

2.1.2.3. Osteositler 6

2.1.2.4. Osteoklastlar 7

2.1.3. Periosteum ve Endosteum 8

2.1.4. Kemik Matriksi 9

2.1.5. Kemik Oluşumu (Osteogenezis) 10

2.1.6. Kemik iyileşmesi 12

2.1.7. Diş Çekim Soketinin İyileşmesi 14

2.1.7.1. İnternal Değişiklikler 14

2.1.7.2. Eksternal Değişiklikler 15

2.2. LAZER 16

2.2.1. Tanım ve Tarihçe 16

2.2.2. Lazerin Çalışma Sistemi 17
2.2.3. Lazer Işınının Özellikleri 18
2.2.4. Lazer Doku Etkileşimi 20
2.2.5. Lazerlerin Sınıflaması 22
2.2.6. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Lazer Kullanımı 23
2.2.7. Düşük Doz Lazer Terapisi (DDLT) 26
2.2.8. DDLT'nin Etki Mekanizması 29
2.2.9. DDLT'nin Klinik Etkileri 31
2.2.10. Dozaj ve Hesaplaması 33
2.3. TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN (TZF) 34
2.3.1. Trombositten Zengin Ürünler ve Tarihçe 34
2.3.2. TZF'nin Özellikleri 38
2.3.3. Trombosit Büyüme Faktörleri 41
2.3.3.1. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (TKBF) 41
2.3.3.2. Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta (DBF- β) 42
2.3.3.3. Epidermal Büyüme Faktörü (EBF) 42
2.3.3.4. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEBF) 42
2.3.3.5. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IBF) 43
2.3.3.6. Fibroblast Büyüme Faktörü (FBF-α ve FBF-β) 43
2.3.4. TZF Hazırlanması 43
2.3.5. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide TZF Kullanımı 46
3. GEREÇ VE YÖNTEM 49
3.1. Deney Hayvanları ve Grupları 49
3.2. Deney Hazırlığı 51
3.3. Diş Çekimi 51
3.4. Lazer Uygulaması 54
3.5. TZF Uygulaması 56

3.6. Çalışmanın Sonlandırılması ve Maksiller Kemik Blokların Elde Edilmesi 58
3.7. Histolojik Değerlendirme 59
3.8. İstatistiksel Değerlendirme 60
4. BULGULAR 61
4.1. Histolojik Bulgular 61
4.2. Yeni Kemik Oluşumunun ve Enflamatuar Hücre Sayılarının İstatistiksel Değerlendirmesi 85
5. TARTIŞMA 98
6. SONUÇLAR 111
KAYNAKLAR 113

SİMGELER VE KISALTMALAR

µm	**:**	Mikrometre
nm	**:**	Nanometre
mm^2	:	Milimetrekare
ml	**:**	Mililitre
j	**:**	Joule
sn	**:**	Saniye
J/cm^2	**:**	Joule / santimetrekare
mW	**:**	Miliwatt
kHz	**:**	Kilohertz
ns	**:**	Nanosaniye
π	**:**	Pi sayısı
r	**:**	Dairenin yarıçapı
f	**:**	Fotonun frekansı
E	**:**	Enerji seviyesi
h	**:**	Planck sabiti
FDA	**:**	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
CO_2	**:**	Karbondioksit
He-Ne	**:**	Helyum-Neon
Nd:YAG	**:**	Neodymium-doped yttrium aluminum garnet
Er:YAG	**:**	Erbiyum yttrium aluminum garnet
Ho:YAG	**:**	Holmium yttrium aluminum garnet
DDLT	**:**	Düşük doz lazer terapisi
GaAs	**:**	Galyum-Arsenid
GaAlAs	**:**	Galyum-Alüminyum-Arsenid

RNA : Ribonükleik asit

ATP : Adenozin trifosfat

DNA : Deoksiribonükleik asit

Na : Sodyum

H : Hidrojen

Ca : Kalsiyum

K : Potasyum

TME : Temporomandibuler eklem

TZP : Trombositten zengin plazma

TZF : Trombositten zengin fibrin

P-TZP : Saf trombositten zengin plazma

L-TZP : Lökosit ve trombositten zengin plazma

P-TZF : Saf trombositten zengin fibrin

L-TZF : Lökosit ve trombositten zengin fibrin

T-TZF : Titanyum destekli trombositten zengin fibrin

A-TZF : Geliştirilmiş trombositten zengin fibrin

I-TZF : Enjekte edilebilen trombositten zengin fibrin

TKBF : Trombosit kaynaklı büyüme faktörü

DBF-β : Dönüştürücü büyüme faktörü beta

EBF : Epidermal büyüme faktörü

VEBF : Vasküler endotelyal büyüme faktörü

IBF : İnsülin benzeri büyüme faktörü

TKEBF : Trombosit kaynaklı epidermal büyüme faktörü

TKAF : Trombosit kaynaklı anjiogenezis faktörü

TF-4 : Trombosit faktör 4

IL-1β : İnterlökin-1 beta

IL-6 : İnterlökin-6

TNF-α : Tümör nekroze edici faktör-alfa

IL-4 : İnterlökin-4

FBF : Fibroblast büyüme faktörü

MRONJ : Çenelerde ilaç kullanımına bağlı gelişen osteonekroz

InGaAsP : Indiyum-Galyum-Arsenid-Fosfid

G : Gauge

HE : Hematoksilen eozin

HA : Hyalüronik asit

DBM : Demineralize kemik matriksi

β-TCF : Beta-trikalsiyum fosfat

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 2.1. Zar içinde kemik apozisyonu sırasında ortaya çıkan olaylar 6

Şekil 2.2. Kemik dokusunu rezorbe eden osteoklastlar. 7

Şekil 2.3. İntramembranöz kemikleşme 10

Şekil 2.4. Hiyalin kıkırdak model üzerinde bir uzun kemiğin meydana gelişi 12

Şekil 2.5. Lazer ışınının temel özellikleri 19

Şekil 2.6. Sık kullanılan lazer dalga boyları 22

Şekil 2.7. Arndt-Schultz Eğrisi 27

Şekil 2.8. TZF hazırlanması sırasında santrifüj sonrası tüpte oluşan tabakalar 44

Şekil 2.9. TZF katmanlarının şematik görünümü 45

Şekil 3. 1. Wistar Rat. 50

Şekil 3.2. Rat kafatası anatomisi. 51

Şekil 3.3. Genel anestezi uygulaması 52

Şekil 3.4. Diş çekiminin aşamaları 53

Şekil 3.5. Çekilen maksiller keser diş 54

Şekil 3.6. Çalışmada kullanılan InGaAsP diyot lazer cihazı. 54

Şekil 3.7. Lazer ışınının standardizasyonu için kullanılan aparat. 55

Şekil 3.8. Lazer uygulaması. 56

Şekil 3.9. TZF için kan alımı ve santrifüj işlemi. 57

Şekil 3.10. Santrifüj sonrası elde edilen TZF 57

Şekil 3.11. T ve LT grubundaki deneklere TZF uygulanması. 58

Şekil 3.11. Maksiller kemik blok. 59

Şekil 4.1. Alveol kret tepesinden itibaren çekim soketini dolduran yüzeyde nötrofilden, soket tabanında ise lenfositten zengin enflamasyon. 62

Şekil 4.2. Soket tabanındaki fibrovasküler granülasyon dokusu ve alveoler kemiğe komşu yeni kemik trabekülleri. 62

Şekil 4.3. Soket tabanında yer alan yeni kemik trabekülleri. 63

Şekil 4.4. Soket tabanındaki fibrovasküler granülasyon dokusu ve alveoler kemiğe komşu yeni kemik trabekülleri. 64

Şekil 4.5. Soket içini dolduran fibrovasküler bağ dokusu ve alveoler kemiğe komşu yeni kemik trabekülleri 65

Şekil 4.6. Soket içini dolduran fibrovasküler bağ dokusu ve alveoler kemiğe komşu yeni kemik trabekülleri. 66

Şekil 4.7. Alveol kret tepesinden itibaren çekim soketini dolduran yüzeyde nötrofilden zengin soket tabanında ise lenfositten zengin enflamasyon ve granülasyon dokusu. 67

Şekil 4.8. Soket tabanına yakın alanlarda lenfositik infiltrasyon, fibrovasküler bağ dokusu ve yeni kemik trabekülleri. 68

Şekil 4.9. Soket içini dolduran fibrovasküler bağ dokusu ve alveoler kemiğe komşu yeni kemik trabekülleri. 69

Şekil 4.10. Soket içini dolduran fibrovasküler bağ dokusu ve alveol kemiğe komşu yeni kemik trabekülleri. 70

Şekil 4.11. Alveol kret tepesine yakın bölümde lenfositten zengin fibrovasküler bağ dokusu ve alveoler kemiğe komşu yeni kemik trabekülleri…….. 71

Şekil 4.12. Soket tabanını dolduran fibrovasküler bağ dokusu ve alveoler kemiğe komşu yeni kemik trabekülleri. 72

Şekil 4.13. Alveol kret tepesine yakın bölümde fibrin zemin üzerinde nötrofiller ve lenfositten zengin granülasyon dokusu. 73

Şekil 4.14. Soket tabanına yakın bölümde lenfositten zengin granülasyon dokusu ve alveoler kemik komşuğulunda yeni kemik trabekülleri. 74

Şekil 4.15. Alveol kret tepesine yakın bölümde fibrin zemin üzerinde nötrofiller…..... 75

Şekil 4.16. Soket tabanına yakın bölümde lenfositten zengin granülasyon dokusu ve alveoler kemik komşuluğunda yeni kemik trabekülleri. 76

Şekil 4.17. Tabandan başlayarak soket boşluğunun büyük bölümünü dolduran granülasyon dokusu ve yeni kemik trabekülleri. 77

Şekil 4.18. Soket tabanını dolduran granülasyon dokusu ve yeni kemik trabekülleri…... 78

Şekil 4.19. Alveol kret tepesine yakın bölümde birbirlerinden epitel ile ayrılmış nötrofil toplulukları ve çekim soketini dolduran lenfositten zengin granülasyon dokusu. 79

Şekil 4.20. Soket tabanını dolduran lenfositten zengin granülasyon dokusu ve yeni kemik trabekülleri. 80

Şekil 4.21. Soket tabanına yakın bölümde fibrovasküler granülasyon dokusu ve yeni kemik tarabekülleri..... 81

Şekil 4.22. Soket tabanına yakın bölümde fibrovasküler granülasyon dokusu ve yeni kemik tarabekülleri..... 82

Şekil 4.23. Alveol kret tepesine yakın bölümde sınırlı bir alanda lenfositten zengin granülasyon dokusu ve bu zeminde alveoler kemiğe komşu yeni kemik trabekülleri. 83

Şekil 4.24. Soket tabanında alveoler kemiğe komşu yeni kemik trabekülleri. 84

Şekil 4.25. 7. gün kemik miktarı bakımından gruplara göre dağılım grafiği..... 90

Şekil 4.26. 10. gün kemik miktarı bakımından gruplara göre dağılım grafiği..... 90

Şekil 4.27. 14. gün kemik miktarı bakımından gruplara göre dağılım grafiği..... 91

Şekil 4.28. Kemik miktarı bakımından gruplara göre dağılım grafiği..... 91

Şekil 4.29. Ortalama nötrofil sayısı bakımından gruplara göre dağılım grafiği. ... 94

Şekil 4.30. Lenfosit sayısı bakımından gruplara göre dağılım grafiği..... 97

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 2.1. Tedavi amaçlı kullanılan bazı lazer türleri, dalga boyları ve spektrumdaki yerleri. 23

Tablo 2.2. Lazerlerin oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanım endikasyonları. 25

Tablo 2.3. Trombositten zengin ürünler ve sınıflaması 36

Tablo 2.4. Yara iyileşmesinde rolü olan ve trombositlerden salınan başlıca faktörler. 39

Tablo 3.1. Çalışmanın şematik olarak gösterimi. 50

Tablo 4.1. Kontrol grubunun 7. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları. 61

Tablo 4.2. Kontrol grubunun 10. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları. 63

Tablo 4.3. Kontrol grubunun 14. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları. 64

Tablo 4.4. Lazer grubunun 7. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları. 66

Tablo 4.5. Lazer grubunun 10. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları. 68

Tablo 4.6. Lazer grubunun 14. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları. 70

Tablo 4.7. TZF grubunun 7. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları. 72

Tablo 4.8. Trombositten zengin fibrin grubunun 10. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları. 74

Tablo 4.9. Trombositten zengin fibrin grubunun 14. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları. 76

Tablo 4.10. Lazer + Trombositten zengin fibrin grubunun 7. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları. 78

Tablo 4.11. Lazer + Trombositten zengin fibrin grubunun 10. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları. 80

Tablo 4.12. Lazer + Trombositten zengin fibrin grubunun 14. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları. 82

Tablo 4.13. Kemik miktarı bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskal Wallis H Testi sonucu. 85

Tablo 4.14. 7. Gün Kemik Miktarı Bakımından Gruplar Arasındaki Farklılığa İlişkin Kruskal Wallis H Testi Sonucu. 86

Tablo 4.15. 10. Gün Kemik Miktarı Bakımından Gruplar Arasındaki Farklılığa İlişkin Kruskal Wallis H Testi Sonucu. 86

Tablo 4.16. 14. gün kemik miktarı bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskal Wallis H Testi sonucu. 87

Tablo 4.17. Kontrol grubunda kemik miktarları bakımından zamanlar arasındaki farklılığa ilişkin Friedman's Two Way ANOVA Testi sonucu……. 87

Tablo 4.18. Lazer grubunda kemik miktarları bakımından zamanlar arasındaki farklılığa ilişkin Friedman's Two Way ANOVA Testi sonucu. 88

Tablo 4.19. Trombositten zengin fibrin grubunda kemik miktarları bakımından zamanlar arasındaki farklılığa ilişkin Friedman's Two Way ANOVA Testi sonucu. 88

Tablo 4.20. Lazer + Trombositten zengin fibrin grubunda kemik miktarları bakımından zamanlar arasındaki farklılığa ilişkin Friedman's Two Way ANOVA Testi sonucu. 89

Tablo 4.21. Ortalama nötrofil sayısı bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskal Wallis H Testi sonucu. 92

Tablo 4.22. Gruplarda ortalama nötrofil sayıları bakımından zamanlar arasındaki farklılığa ilişkin Friedman's Two Way ANOVA Testi sonucu……..... 93

Tablo 4.23. Ortalama lenfosit sayısı bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskal Wallis H Testi sonucu. 95

Tablo 4.24. Gruplarda ortalama lenfosit sayıları bakımından zamanlar arasındaki farklılığa ilişkin Friedman's Two Way ANOVA Testi sonucu……. 96

1. GİRİŞ

Dişler, çenelerde kemik doku bütünlüğünün korunmasında önemli bir role sahiptir. Periodontal harabiyet, çürüğe bağlı aşırı madde kaybı gibi çeşitli nedenlerden kaynaklanan diş kayıplarının yanı sıra travma veya periapikal lezyon nedeniyle de dişleri taşıyan çenelerde vertikal ve horizontal yönde doku kayıpları meydana gelmektedir. Bu kayıplar öncelikle fonksiyon kaybına, ardından da estetik ve fonasyon problemlerine neden olmaktadır. Bu fonksiyonların geri kazanımı için en ideal restoratif tedavi seçeneği dental implant uygulamalarıdır. İmplantlar, proteze gelen çiğneme yüklerini karşılamak ve kemiğe dağıtmakla yükümlüdür. İmplantların yerleştirilebilmesi için de ideal kemik varlığı çok önemlidir. İmplantın yerleştirileceği bölgede yeterli hacimde sağlıklı kemik olmadığı durumlarda implantasyon öncesi doku greftlemesi kaçınılmazdır.

Kemik defektlerinin onarımı ve kemik iyileşmesini hızlandırmak amacıyla kemik greftleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Greftlerin elde edilmesi sırasında gözlenebilen donör bölge morbiditesi, kan kaybı ve greftlerin sınırlı miktarda elde edilmeleri gibi sorunları çözebilmek için çalışmalar devam etmektedir. Günümüz diş hekimliği cerrahisinde çeşitli greft materyallerinin yanı sıra veya greft materyalleriyle kombine olarak trombositten zengin fibrin (TZF) de kullanılmaktadır. TZF matriksi içerisinde yara iyileşmesinde önemli görevleri olan çeşitli büyüme faktörleri ve aynı zamanda lökositler tarafından salgılanıp enflamasyon kontrolünde görev alan sitokinler bulunmaktadır. Matriks içindeki sitokinlerin remodeling aşamasında yavaş salınım yaparak uzun dönemde etkili oldukları bildirilmektedir. TZF'nin osteojenik hücrelerin proliferasyonunu arttırarak kemik formasyonu ve rejenerasyonu üzerinde güçlü bir stimülatör olabileceği düşünülmektedir. TZF kanamanın azaltılmasına, yumuşak ve sert doku iyileşmesinin hızlandırılmasına yardımcı olur. Büyüme faktörleri sayesinde vaskülarizasyonun hızlandırılması, hastanın kendisinden alındığında allerjik reaksiyonlara sebep olmaması, kısa sürede ve kolayca hazırlanması, hastalık transfer riskinin bulunmaması, içindeki lökosit ve bunlar tarafından salgılanan sitokinler sayesinde enflamasyonun kontrol edilmesi ve enfeksiyonun baskılanması gibi birçok avantajı vardır.

Diş hekimliğinde tedavi başarısını ve hasta konforunu arttırmak amacıyla birçok yeni gelişme uygulama alanı bulmaktadır. Bu amaçla düşük doz lazer terapisi (DDLT) uygulamaları da ağız, diş ve çene cerrahisi alanında yaygın olarak yer alabilmektedir. Dokuları uyarıcı, rejeneratif, analjezik ve antienflamatuar etkiye sahip olan lazer sistemleri, immün ve hematolojik sistemleri de aktive etmektedir.

Modern diş hekimliğinin en önemli problemlerinden biri olan kemik dokusu kayıplarının yapısal ve mekanik restorasyonu sağlandığında iyi bir rejenerasyon yapılmış olur. Bu amaçla yapılan uygulamalar, zayıf kan akımı, mekanik stabilite yokluğu ve diğer dokuların daha aktif çoğalması nedeniyle zordur. Son yıllarda lazerle biyostimulasyon uygulaması kemik defektlerinde iyileşmeyi uyarmak amacıyla rejeneratif metodlarla kombine olarak uygulanmaktadır.

Çalışmamızda diş çekimi yapılmış deneklerde, trombositten zengin fibrinin ve düşük doz lazer terapinin yeni kemik oluşumu üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KEMİK DOKUSU

Yetişkin iskeletinin ana yapısını oluşturan kemik dokusu, yumuşak yapıları destekler, kafatasının üst kısmı ve göğüs kafesi boşluklarında olduğu gibi, hayati önem taşıyan organları korur ve kan hücrelerini yapan kemik iliğini barındırır. Kaslarla beraber vücudun hareketini sağlar. Kemik ayrıca kalsiyum, fosfat ve diğer iyonlara ait bir depo olarak iş görür ve bu önemli iyonların vücut sıvılarındaki derişimlerini sabit tutabilmek için, kontrollü olarak salıverilmesini ya da tutulmasını sağlar (1).

2.1.1. Kemiğin Yapısı

Kemik, mineralize olmuş kollajen matriksten oluşan bağ dokusudur. Kemik matriksi, %35 oranında organik ve %65 oranında inorganik yapıdan oluşmaktadır. Organik kısım, yeni kemik oluşumu ve kemik onarımı için gerekli olan Tip I kollajen, proteoglikan, proteinler, büyüme faktörleri ve sitokinlerden oluşmaktadır. Kemiğin inorganik kısmı ise hidroksiapatitten oluşmakta, kemiğe sertlik ve direnç kazandırmaktadır. Vücuttaki kalsiyum, fosfor, sodyum ve magnezyumun büyük çoğunluğu kemiklerde depolanmaktadır (2).

Kemik makroskobik olarak süngerimsi (spongiyöz) ve sert (kompakt) kemik olmak üzere ikiye ayrılır. Kompakt kemik, makroskobik düzeyde bakıldığında homojen görünümlü, mikroskobik düzeyde ise enine ve boyuna kanal kesitleri içeren kemik dokusudur. Kompakt kemik dokusu içerisinde kemiğin uzun eksenine ve birbirlerine paralel uzanan Havers kanalları adı verilen kanallar bulunur. Havers kanallarında yer alan damarlar çoğunlukla kapillerler ve postkapiller venüller olup, nadiren arterioller de bulunabilir. Bir Havers kanalı ve bunun etrafındaki 4-20 adet lamelin oluşturduğu silindirik yapıya Havers sistemi veya osteon denir. Bu sistem, sert kemik yapısının temel birimidir. Kemiğin dış yüzünde periosteumun altından başlayarak, kemiğin uzun eksenine dik ya da oblik yönde uzanan ve Havers kanallarını birbirlerine bağlayan Volkmann kanalları bulunur (3). Volkmann kanalları Havers kanallarını besleyen damarları ihtiva eder. Bu kanallar haricinde kompakt kemik dokusunu oluşturan kemik matriksi içersinde birbirlerine paralel yönde seyreden 3–7

μm kalınlığında lameller bulunur. Bu lameller 4 tiptir ve Havers lamelleri, ara lameller, dış esas lameller, iç esas lameller olarak sınıflandırılmıştır (4).

Spongiyöz kemik, birbirlerine bağlanarak üç boyutlu ağ yapan kemik trabeküllerinden oluşmuş sünger yapısındaki kemik dokusudur. Kompakt kemiğin kabuk şeklinde sardığı tüm kemiklerin iç yüzeylerinde bulunur. Temel olarak kompakt kemik dokusu ile aynı kemik matriksine sahiptir ancak kütlesel olarak aynı hacimli kompakt kemiğin dörtte biri ağırlığındadır. Bu tip kemik dokusu içersinde Havers ve Volkmann kanalları çok nadir olarak seyreder. Genel olarak bağımsız trabeküller arasında kemik iliği boşluğu bulunmaktadır (4).

Kemik mikroskobik olarak incelendiğinde woven, kompozit, lamellar ve bundle olarak dört farklı yapı ortaya çıkar.

Woven kemik iyileşme mekanizmasında önemli rol alır. Hızlı şekilde oluşur ve organize olmamış yapıdadır. Oldukça yumuşak ve dayanıksızdır. Kemik iyileşmesinde woven bone görüldüğü aşama iyileşmenin 1. fazı olarak düşünülür ve hızlı şekilde rezorpsiyonu ile olgun lameller kemik ile yer değiştirerek 2. faz iyileşmeye geçilmiş olur.

Kompozit kemik, wowen kemik ile lameller kemik arasındaki geçiş döneminde görülür. İyileşen kemik kafesinin lameller kemik ile dolmaya başladığı dönemdeki kemik dokudur.

Lameller kemik olgunlaşmış, sert ve yük taşıma özelliği kazanmıştır. Yavaş oluşur ve mineralize, oldukça organize kollajen protein yapıdadır.

Bundle kemik ligamentler ve eklem bölgeleri arasında bulunan kalın kollajen demetlerin osteositlerle beraber paralel bir yapıda dizildiği olgunlaşmamış kemiktir. Histolojik olarak alveolar prosesin dişleri saran periodontal ligamentle bütünleşmiş parçası olarak tanımlanır (5).

2.1.2. Kemik Hücreleri

Kemik dokusu, osteoprogenitör hücreler, osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlar olmak üzere dört çeşit kemik hücresinden oluşmaktadır. Osteoprogenitör

hücreler, osteoblastlar ve osteositler mezenkimden gelişir ve bu hücrelerin biri diğerine dönüşebilir. Aynı hücre tipinin farklı işlevsel evreleri olarak tanımlanabilir. Osteoklastlar ise dolaşımda bulunan monositlerin birbirleriyle birleşmeleri ve değişime uğramaları sonucu oluşur.

2.1.2.1.Osteoprogenitör hücreler

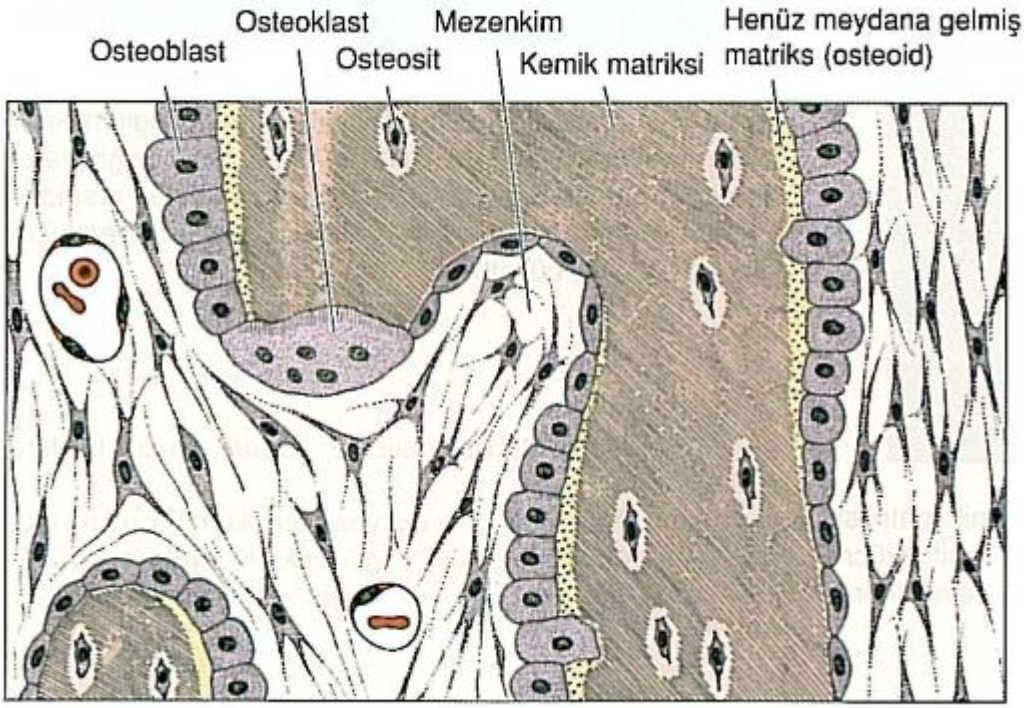
Osteoprogenitör hücreler, kemik hücresi olma yönünde koşullanmış mezenkim hücreleridir. Kemiğin dış tabakasını oluşturan periostun derin tabakasında, internal medular yüzey boyunca uzanan endosteumda, Havers ve Volkmann kanallarının örtüsünde ve büyüyen kemiklerin metafizindeki kıkırdak matriksinin trabeküllerinde bulunurlar.

Kemiklerin normal büyümesi sırasında osteoprogenitör hücreler aktiftirler. Erişkinlerde bulundukları bölgelerde inaktif dururken; kemikte yaralanma, kırık gibi durumlarda, kırıkların iyileşme bölgelerinde ve kemiğin içten yeniden düzenlenmesi sırasında aktifleşerek mitozla bölünüp çoğalırlar. Çoğalan bu hücrelerin bir bölümü kemiği oluşturan osteoblastlara dönüşür. Osteogenez durduğunda osteoblastlar da morfolojik olarak osteoprogenitör hücrelerden ayırt edilemeyen kemik hücrelerine dönüşürler (2).

2.1.2.2. Osteoblastlar

Osteoblastlar kemik matriksinin organik kısımlarının üretilmesinden (Tip I kollajen, proteoglikanlar ve glikoproteinler) sorumludurlar. Osteoblastlar özellikle kemik yüzeylerinde, yan yana, tek katlı epiteli andıracak şekilde bulunurlar. Osteoblastlar, aktif olarak matriks sentezi ile uğraşırken kübik şekilden prizmatiğe kadar değişik şekle ve bazofilik sitoplazmaya sahiptirler. Bu hücrelerin üretim işlevleri azalmaya başladığında yassılaşırlar ve sitoplazmalarındaki bazofilik özellik azalmaya başlar.

Bazı osteoblastlar yeni meydana gelmiş matriks ile kuşatılarak osteosit haline gelirler. Bu işlem sırasında *laküna* adı verilen boşluklar oluşur. Lakünaların içinde osteosit, osteositlerin uzantıları ve az miktarda da kireçlenmemiş matriks vardır.



Şekil 2.1. Zar içinde kemik apozisyonu sırasında ortaya çıkan olaylar (1).

Matriks sentezi esnasında osteoblastlar, aktif protein sentezi yapıp salgılayan hücrelerin ince yapısına sahiptir. Osteoblastlar kutuplaşmış hücrelerdir. Daha önceden sentezlenen kemik matriksi ile temas halindeki hücre yüzeylerinden salgılanan matriks elemanları, osteoblastlar ile daha önce meydana gelmiş kemik arasında *osteoid* adı verilen yeni (ancak henüz kireçlenmemiş) matriks tabakasını oluşturur. Kemik apozisyonu adı verilen bu işlem, yeni oluşmuş matriks üzerine kalsiyum tuzlarının tortulanmasıyla tamamlanır (1)(Şekil 2.1).

2.1.2.3. Osteositler

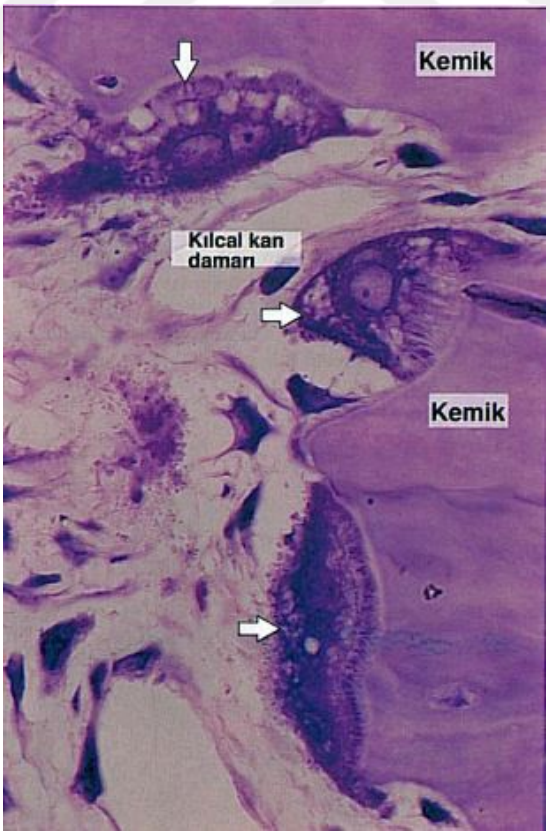
Osteositler, osteoblastlardan türerler ve matriksin kanalcıkları arasındaki lakünalarda bulunurlar. Her laküna içinde bir osteosit bulunur. İnce silindirik matriks kanalcıklarında osteosit uzantıları bulunmaktadır. Komşu hücre uzantıları hücreler arası bağlantılarla ve birbirleriyle ilişkiyi sağlar. Bu yapılar aracılığı ile moleküller hücreden hücreye geçer. Osteositler ile kan damarları arasındaki bazı moleküler değişimler, osteositlerin uzantıları ile kemik matriksi arasında bulunan az miktardaki

hücreler arası madde aracılığıyla da yapılabilmektedir. Bu değişim yaklaşık 15 hücre zincirini besler.

Osteoblastlar ile karşılaştırıldığında, yassı, badem şeklindeki osteositler epeyce azalmış granüllü endoplazmik retikulumu, golgi ve daha koyulaşmış kromatin sergilerler. Bu hücreler aktif olarak kemik matriksinin bakımından sorumludurlar ve öldüklerinde matriks erimesi görülür (1).

2.1.2.4. Osteoklastlar

Osteoklastlar çok büyük, dallanmış ve hareket edebilen hücrelerdir. Genişlemiş hücre gövdesinde 5-50 arasında değişen çekirdeği vardır (Şekil 2.2). Osteoklastlar, kemiğin eritilerek emildiği yerlerde enzimler ile oyulmuş *Howship lakünası* adı verilen çukurlara yayılırlar. Bu hücreler kemik iliğinden elde edilen hücrelerin kaynaşması ile ortaya çıkarlar.



Şekil 2.2. Kemik dokusunu rezorbe eden osteoklastlar (oklar) (1).

Aktif osteoklastlarda kemik matriksine bakan yüzey, çoğu kez tekrar bölünen uzantılı kıvrımlar ile düzensiz katlanarak büzgülü kenarı meydana getirir. Büzgülü kenarı hücre organlarını içermeyen, aktin filamanlarından zengin bir sitoplazma kuşağı (saydam kuşak) çevreler. Bu kuşak osteoklastların kemik matriksine yapıştığı yerdir ve kemik erimesinin meydana geldiği mikro çevreyi yaratır.

Osteoklastlar bölgesel kollajen sindirimini ve kalsiyum tuz kristallerinin eritilerek emilmesini başlatan kollajenaz ve diğer enzimleri salgılarlar. Ayrıca protonları hücre altındaki mikro çevreye pompalarlar. Osteoklastların işlevleri sitokinler ve hormonlar ile kontrol edilir. Osteoklastların tiroid bezinden salgılanan bir hormon olan kalsitonin için reseptörleri olmasına rağmen paratiroit hormonu reseptörleri yoktur. Bununla birlikte osteoblastlarda paratiroit hormon reseptörü vardır ve bu hormon ile uyarıldıklarında osteoklast uyarıcı faktör denen sitokini üretirler (1).

2.1.3. Periosteum ve Endosteum

Bütün kemiklerin iç ve dış yüzeyleri, kemik yapan ve tamir eden hücreleri içeren, iç yüzeylerde endosteum, dış yüzeylerde periosteum olarak adlandırılan doku tabakaları ile örtülüdür (1).

Periosteum birkaç istisna dışında tüm kemiklerde görülmektedir. Eklem kıkırdaklarıyla örtülü olan kemiklerin uç kısımlarında, tendon ve ligamentlerin kemiğe bağlantı bölgelerinde periosteum örtüsü bulunmaz. Periosteumun bulunmadığı yerlerde, kemik yüzeyi ile ilişkili bağ dokusu osteojenik potansiyelini yitirerek kemik kırık veya defeketlerinin iyileşmesine de katkıda bulunmaz. Periost kollajen lifleri ve fibroblastlardan oluşan dış tabakadan ibarettir. Periostun kollajen lif demetlerinden oluşan Sharpey lifleri, matriks içine girerek periostu kemiğe bağlar. Periostun hücreden daha zengin iç tabakası, fibroblastlara benzeyen, bölünüp farklılaşarak osteoblastları meydana getirme potansiyeline sahip osteoprogenitör hücrelerden oluşmaktadır. Osteoprogenitör hücreler kemik büyümesinde ve onarımında önemli rol oynarlar.

Endosteum kemik içindeki bütün boşlukları döşer ve tek tabaka halinde yassılaşmış osteoprogenitör hücreler ile çok az miktardaki bağ dokusundan oluşur.

Periosteumun ve endosteumun temel işlevi kemik dokusunun beslenmesi ve devamlı olarak yeni osteoblast sağlanarak, kemik büyüme ve onarımının gerçekleştirilmesidir (1,2).

2.1.4. Kemik Matriksi

Lameller kemik incelendiğinde kemik dokusunun hacimsel olarak %90'ından fazlasını kemik matriksinin oluşturduğu görülür (3). Kemik matriksi organik ve inorganik bileşenlerden oluşmuştur.

İnorganik kısım yaş kemik ağırlığının yaklaşık olarak %65'ini oluşturur (3). Temel olarak kalsiyum fosfat ve kalsiyum karbonattan oluşur. Ayrıca az miktarda kalsiyum florid ve magnezyum florid içerir. Kalsiyum fosfat kemikte ilk olarak şekilsiz olarak depolanır, daha sonra hidroksiapatit kristalleri [$Ca_{10}(PO_4)6(OH_2)$] halinde yeniden şekillenir. İnorganik matriks iyon rezervuarı olarak görev yapar, kemiğin dayanıklılık ve sertliğini sağlar (3,4).

Organik kısım temel olarak kemiğe şeklini veren ve elastisite sağlayan kollajenden meydana gelir. Kemikteki kollajen, bağ dokusundakine benzer ve çoğunlukla Tip I kollajendir. Bunun yanında az miktarda tip V ve Tip XII kollajen bulunur (4). Organik matrikste osteokalsin, osteonektin, proteoglikanlar, sialoproteinler ve fosfoproteinler gibi kollajen olmayan proteinler de bulunur. Organik matriks aynı zamanda büyüme faktörleri de içerir. Ancak bu faktörlerin kemik içinde sentezlenip sentezlenmediği henüz kesinlik kazanmamıştır (3,4).

Kemiğin sertliği inorganik bileşenlerine, dayanıklılığı ve esnekliği ise başta kollajen olmak üzere organik matrikse bağlıdır. Her ikisinin katkısıyla, kimyasal ve mekanik işlevlerini düzenli bir şekilde yerine getiren, yüksek organizasyon seviyesinde dayanıklı bir doku olan kemik dokusu meydana gelir (2).

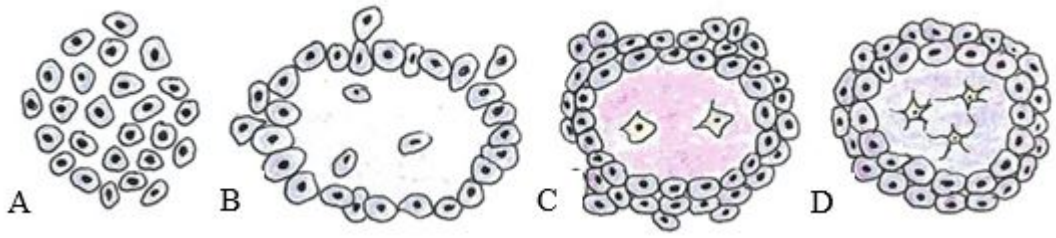
Minerallerin kollajen liflerle ilişkisi, kemik dokusunun sertliği ve direncinden sorumludur. Kemiğin kalsiyumu ortadan kaldırıldığında şeklini korur, ancak tendon kadar esnek bir hale gelir. Büyük çoğunluğu kollajenden oluşan matriksin organik kısımları çıkarıldığında, kemik yine özgün şeklini korur ama kırılgan hale gelir, dokunulduğunda kırılır ve ufalanır (1).

2.1.5. Kemik Oluşumu (Osteogenezis)

Kemik oluşumu prenatal dönemde başlayan ve erişkin dönemde devam eden bir süreçtir. İntramembranöz ve endokondral kemikleşme olarak iki farklı şekilde meydana gelmektedir.

Kemik oluşumu, osteoblastlar tarafından salgılanan matriksin mineralizasyonu ile oluşuyorlarsa buna intramembranöz ossifikasyon (zarlar arası kemikleşme), daha önceden bulunan kıkırdak matriksi üzerine kemik matriksinini birikmesi ile oluşuyorsa buna da endokondral ossifikasyon (kıkırdak içi kemikleşme) adı verilir (2)(Şekil 2.3).

İntramembranöz veya endokondral kemikleşme ile ortaya çıkan ilk kemik, birincil veya örgü kemiktir. Birincil kemik geçici bir dokudur ve kısa sürede lameller veya ikincil kemikle yer değiştirir. Kemiğin büyümesi sırasında, birincil kemik alanları, rezorpsiyon bölgeleri ve ikincil kemik alanları yan yana görülür. Kemiğin sentezlendiği ve ortadan kaldırıldığı bu bileşim (remodeling), büyüyen kemiklerin yanı sıra yetişkinlerin kemiklerinde de hayat boyu meydana gelir ancak yetişkinlerdeki hızı oldukça yavaştır (1).

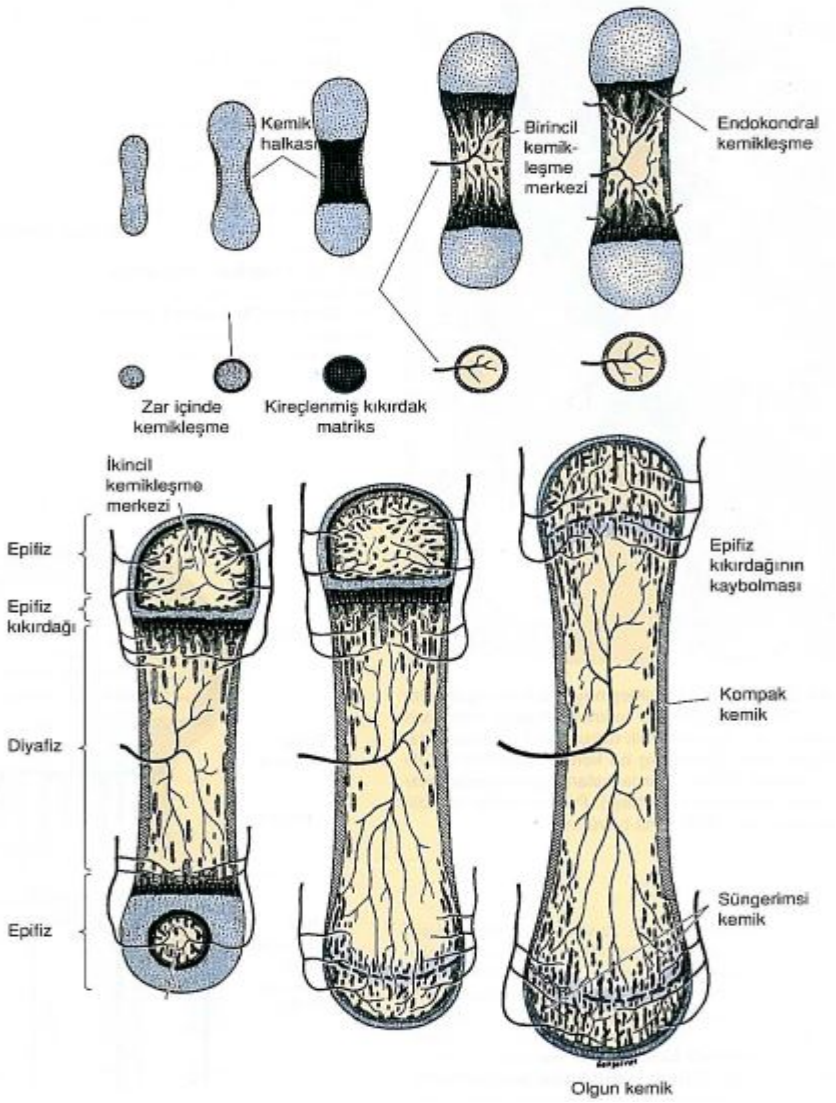


Şekil 2.3. İntramembranöz kemikleşme: A. Osteoprogenitör hücrelerin toplanması. B. Şekilsiz temel maddelerin ve kollajen ağın hücrelerin arasında ve merkezde toplanması. C. Mezenşimal kök hücelerin osteoblastlara dönüşümü ve salgıladıkları osteoid içinde yer almaları. D. Yeni oluşan kemik dokusu ve osteoblastların osteositlere dönüşümü (6).

İntramembranöz kemikleşme frontal, parietal, oksipital ve temporal kemikler gibi kafatasının bazı yassı kemikleri ile maksilla ve mandibulanın bazı kısımlarında görülmektedir. Bu tip kemikleşmenin olduğu sahalarda kıkırdak yapı oluşmaksızın

kemik yapımı olur. Farklılaşmamış mezenşimal hücreler kemik yapım sahasına tabakalar halinde birikir (3). Bu hücreler kan damarları, fibroblastlar ve osteoprogenitör hücreleri içeren bir gevşek organik matriks oluşumunu sağlarlar. Osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşürler ve organik matriks üzerinde mineralizasyonu sağlarlar (4). Subperiosteal kemikleşme, bir intramembranöz kemikleşmedir ve kırık iyileşmesi sırasındaki periosteal iyileşme bu mekanizma ile gerçekleşir (3).

Endokondral kemikleşme kafatasının alt kısmı, omurga, pelvis, kol ve bacaklardaki kemikler ile mandibulanın bazı kısımlarında görülmektedir. Bu tip kemikleşme, kıkırdağımsı matriks salınımı yapan ve ileride kondrositlere dönüşecek olan differansiye olmamış mezenşimal hücrelerin kemik yapım sahasında birikmesi ile başlar. Hyalin ve hyaline benzer yapıdaki kıkırdağın oluşmasından sonra, kıkırdağın bazı bölgeleri kalsifiye olur, kondrositler büyür, damarsal yapılar kıkırdak dokunun içerisine ilerler, kartilaj dokunun içerisine yerleşen hücreler dokuda rezorpsiyon yaratarak kemik iliği boşluklarını oluştururlar. Damarsal yapılar ile beraber sahaya ulaşmış olan osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşürler ve kalsifiye kartilaj ve olgunlaşmamış kemik üzerinde kemik matriksinin oluşmasını sağlarlar. Olgunlaşmamış kemik ya da örgü kemik diye adlandırılan bu kemik farklılaşarak lameller kemiğe dönüşür (3)(Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Hiyalin kıkırdak model üzerinde bir uzun kemiğin meydana gelişi. Hiyalin kıkırdak noktalı, kalsifiye kıkırdak siyah ve kemik dokusu yatay çizgilerle gösterilmiştir. Orta sıradaki beş küçük çizim, üst sırada gösterilen şekillerin ortalarından geçen kesitleri göstermektedir (1).

2.1.6. Kemik iyileşmesi

Kemik dokusunda yaşam boyu hücre yapımı ve yıkımı bir denge içindedir. Kemik iyileşmesi, yaralanmayı takiben skar dokusu oluşturmadan rejenerasyon yeteneği bulunan osseöz dokuda gelişen dinamik ve önemli bir süreçtir.

Kemikte meydana gelen travma ile yaralı bölgede genel doku tepkimeleri görülür. Bunlar esas olarak travma bölgesindeki kanamayı takiben granülasyon dokusunun oluşturulduğu pıhtılaşma olaylarıdır. Granülasyon dokusu vücutta bir yabancı cisme, harabiyete, yaralanmaya veya enfeksiyonlara karşı savunma tepkimesi esnasında oluşan özellikle makrofaj ve lenfositlerden meydana gelen bir dokudur. Pıhtılaşma sürerken granülasyon dokusu daha yoğun bağ dokusu haline dönüşür. Burada, yapısında bol miktarda kollajen fibrilleri bulunduran kıkırdak dokusu gelişmeye başlar. Böylece bağ doku ve kıkırdaktan meydana gelen bir doku oluşur. Daha sonra osteoprogenitör hücrelerin aktivasyonuyla kemik doku oluşmaya başlar. Böylece periosteumun altındaki trabeküllerin ağsı yapısı oluşur (2).

İyileşme sürecinde kan pıhtısı, hücreler ve hasar gören kemik matriksi makrofajlar tarafından ortadan kaldırılır. Kırık etrafındaki periosteum ve endosteum hızlı ve yoğun hücre çoğalması ile yanıt vererek kırığı saran bir doku hazırlar ve kırığın uçları arasına göç eder. Endokondral ve intramembranöz kemikleşme yoluyla birincil kemik meydana gelir. Birincil kemikten oluşmuş düzensiz şeritler, geçici olarak kırık uçlarını birleştirerek hızlı bir şekilde kemik kallusunu oluşturur.

Kemik onarımı sürecinde ve hastanın giderek daha fazla hareket etmesi sırasında kemik üzerine uygulanan kuvvetler kemik kallusunun yeniden şekillendirilmesine yarar. Eğer bu kuvvetler kemik büyümesi sırasında gerçekleşen ve dolayısıyla kemiğin yapısını etkileyen kuvvetlerle aynıysa kallusun birincil kemik dokusu kademeli biçimde eritilip emilerek ikincil doku ile yenilenir.Böylece kemik yeniden şekillendirilerek ilk yapısına tekrar kavuşur (1).

Kemiğin içinde veya kenarında bulunan kemik defektlerinin yeni kemikle dolması beklenmektedir. Ancak iyileşme mekanizmalarının yetersiz kaldığı, konjenital veya travmaya bağlı olarak ortaya çıkan deformitelerin ve kemik patolojilerinin cerrahi eksizyonu sebebiyle meydana gelen geniş kemik defektlerinin tedavisinde yeni kontur sağlanması ve kemik iyileşmesinin desteklenmesi amacıyla çeşitli kemik greft matreyallerinin kullanımı gerekmektedir (2).

2.1.7. Diş Çekim Soketinin İyileşmesi

Çekim soketinin iyileşmesi; soket içinde kemik oluşumuna sebep olan internal değişiklikler ve alveoler kretin genişliğinde ve uzunluğunda kayıplara neden olan eksternal değişiklikler olarak tanımlanmaktadır (7,8).

Çekim soketinin iyileşmesi sırasında oluşan olaylar:

1. Kan pıhtısının oluşumu ve matürasyonu,
2. Pıhtının ortadan kalkması için fibroblastların infiltrasyonu ve
3. Kemik doku oluşumunu sağlayan geçici matriksin oluşumudur (9).

Çekim soketinin iyileşmesi sırasında görülen olaylarla uzun kemiklerin fraktürlerinin iyileşmesi sırasında görülen olaylar arasında benzerlikler mevcuttur (9).

Ağız, diş ve çene cerrahisinin en geniş ilgi alanını oluşturan diş çekimi, yara çeşidi bakımından hem yumuşak hem de sert dokuyu ilgilendirdiği için basit bir yara tipi olmayıp karmaşık bir yara olmaktadır. Büyük miktarda doku kaybı olan çekim yarasında sekonder bir yara iyileşmesi söz konusudur (10).

2.1.7.1. İnternal Değişiklikler

Dişin soketten uzaklaştırılmasının ardından hemoraji oluşmaktadır. Soket, çeşitli damarlardan gelen proteinleri ve hasarlı hücreleri içeren kanla dolar. Hemorajiyi takiben bu hücreler fibrin ağı oluşumunu sağlayan bir seri olayları başlatır, bunun yanında plateletler ilk 24 saatte tüm soketi kaplayan bir kan pıhtısı oluştururlar. Bu durum granülasyon dokusu oluşturmak için hücrelerin toplanmasını uyaran bir enflamatuar reaksiyondur. Pıhtı, fiziksel bir matriks gibi davranarak mezenşimal hücreleri de içeren hücrelerle birlikte büyüme faktörlerinin hareketlerini yönlendirir. Önce nötrofiller, daha sonra da makrofajlar yara yerine girerek yarayı sterilize etmek için bakterileri ve doku artıklarını parçalarlar. Nötrofiller ve makrofajlar büyüme faktörlerini ve sitokinleri salgılayıp mezenşimal hücrelerin pıhtı içine migrasyonunu başlatır ve arttırır. Çekimden sonraki 48-72 saat içinde granülasyon dokusu özellikle soket tabanından pıhtı içine infiltre olmaya başladığı için pıhtı bozulmaya (fibrinolisis) başlar (7,11). Ağız içinde enfeksiyöz materyaller bulunduğu için granülasyon dokusu, soketin koronal kısmında bir bariyer oluşturup soketin daha apikaldeki kısımlarını

korur. Bu tez, soket çekimden 1 ay sonra mukoza ile örtüldüğünde enflamatuar hücrelerin ve vasküler yapıların sayısının azalmasıyla da desteklenmektedir (9). Dört günde soket çevresi boyunca epitel prolifere olur ve immatür bağ doku görülür. Yedi gün sonra granülasyon dokusu tamamen infiltre olur ve pıhtı ile yer değiştirir (7).

Birinci haftanın sonunda vasküler ağ oluşur ve iki hafta sonunda çekim soketinin marjinal kısmı damardan ve enflamatuar hücrelerden zengin genç bağ dokusu ile kaplanır (11). Bu aşamada osteoid, kalsifiye olmamış kemik spekülleri şeklinde soketin tabanında belirginleşir. Sonraki 2-3 haftanın ardından (çekimden 3-4 hafta sonra) osteoid soket tabanından koronale doğru mineralize olmaya başlar. Bu olay çekimden 6 hafta sonra tüm soketi kaplayacak olan reepitelizasyon ile birlikte devam eder. Maksimum radyografik yoğunlukla birlikte kemiğin dolması 100 gün içinde gerçekleşir. Kemiğin hiçbir zaman komşu dişlerin seviyesine kadar rejenere olmayacağı, yani %100'lük bir kemik dolumu olmayacağı unutulmamalıdır (7,8).

Soketin iyileşmesini birkaç faktör etkileyebilmektedir. Soketin boyutu önemlidir; geniş soketlerde dar soketlere nazaran defekti onarmak için daha fazla zamana gerek vardır. Tek köklü bölgelere göre molar bölgesinde kemik oluşumu daha uzun zaman almaktadır. Horizontal kemik kaybı olan dişlerin soketleri daha çabuk iyileşmektedir (7,8).

2.1.7.2. Eksternal Değişiklikler

Çekim sonrası ilk 8 haftada kret tepesinde lingual ve bukkal duvarlarda rezorpsiyonla sonuçlanan osteoklastik aktivite göze çarpar. Bukkal duvarda daha fazla yükseklik kaybı olurken, bukkal ve lingual duvarların her ikisinde birden horizontal kayıp görülür. Bu önemli bir bulgudur; çünkü optimal implant estetiği için bukkal kemiğin genişliğinin ve yüksekliğinin yeterli olması önemlidir. Bukkal kemikteki kayıp kötü ve yetersiz estetiğe neden olmaktadır (7,8).

Sokette sağlıklı bir iyileşme gerçekleşmediği takdirde yetersiz kemik dolumu ile birlikte ağrı görülebilir. Sekel, iyileşmenin bozulduğu zamana göre hemoraji, dry soket, supüratif veya nekrotizan osteitisten fibröz iyileşmeye kadar çeşitlilik gösterebilir. Enflamasyon sadece kemik dolumunda kayba değil aynı zamanda

sekestrasyona da neden olabilir. Kötü iyileşme implant yerleştirilmesini engelleyebilir (8).

Son zamanlardaki bazı çalışmalarda, diş ve çevresine DDLT uygulamalarının kemik oluşumunu stimüle ettiği sonucuna varılmıştır. Yapılan araştırmalar, DDLT'nin osteoblastları stimüle ettiğini ve kemik mineralizasyonunu arttırıcı etkisi olduğunu göstermiştir.

2.2. LAZER

2.2.1. Tanım ve Tarihçe

LASER "Radyasyonun uyarılmış emisyonu ile ışığın güçlendirilmesi" anlamına gelen, *"Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation"* kelimelerinin baş harflerinden oluşan bir sözcüktür (12-17). Lazer ışığı, çeşitli kristallerin ve aktive olmuş doğal elementlerin, moleküllerin, gazların etkileşimi ile yüksek yoğunlukta, paralel hareket eden, aynı dalga boyundaki elektromanyetik radyasyondan oluşan ışıktır (14).

Lazer prensiplerini oluşturan kuantum kavramı, 1917 yılında Albert Einstein tarafından ortaya konulmuş ve bu konu ile ilgili Nobel ödülüne layık görülmüştür. Einstein, kuantum mekaniği ile ışığın korpusküler yayılım teorisine dalga teorisinin eklenmesiyle lazer kavramının temellerini atmıştır. 1954-1958 yılları arasında Charles Townes ve Arthur Schawlow tarafından, bir maddenin uyarılarak radyasyon yayılımı yapabileceği kavramı esas alınarak ABD Massachusetts Teknoloji Enstitüsünde MASER (*Microwave Amplification by Stimulated Emision of Radiation*) aygıtı üretilmiştir. 1960 yılında da Amerikalı fizikçi Dr. Theodore Harold Maiman tarafından ABD Hughes Aircraft kuruluşunda kromiyum oksit ile kaplı alüminyum oksitten yapılmış sentetik bir ruby barı (yakut kristali) kullanılarak ilk lazer aygıtı laboratuvarda deneysel olarak üretilmiştir (15,18,19).

Ruby lazeri takiben 1961 yılında He-Ne (Helyum-Neon) ve Nd:Yag (Neodymium-doped yttrium aluminum garnet) lazerler, 1962 yılında argon lazer ve 1964 yılında da CO_2 (Karbondioksit) lazerler ortaya konulmuştur (12).

Lazer ışını tıpta ilk kez dermatolog Dr. Leon Goldman tarafından 1962 yılında dövme silmede kullanılmıştır. 1963 yılında ise oftalmolojistlerin kullanmaya başlaması ile tıpta çeşitli dallarda uygulanmaya başlanmıştır. 1968 yılında Mester ve arkadaşları düşük şiddetteki görünmeyen zararsız lazer ışığının biyolojik sistemde uyarıcı etkisinin olduğunu, ağrıyı hafiflettiğini ve doku tamirini desteklediğini göstermişlerdir. Mester ve arkadaşlarının (20), fareler üzerinde yaptıkları yara tedavisi deneylerinde konvansiyonel tedavilerin başarısız olduğu açık yaraların iyileşmesinde lazer tedavisi ile %85 daha hızlı iyileşme olduğu bildirilmiş ve hızlı iyileşmenin kan mikro dolaşımındaki artışa bağlı olduğu öne sürülmüştür. Ayrıca, cerrahide kullanılmak üzere noktasal ısı kaynağı olarak lazerlerin kullanımı gündeme gelmiştir (16).

Diş hekimliği alanında ilk lazer uygulamaları 1964 yılında diş sert dokularında yakut lazerin kullanımı ile gerçekleştirilmiştir (16). Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılmaya başlanması ise 1970 yıllarının sonunda gerçekleşmektedir. 1974 yılından sonra lazer ışınının, metabolik aktiviteyi arttırdığı, hücre bölünmesini hızlandırdığı, analjezik etki sağladığı ve yara iyileşmesi üzerine olumlu etkilerinin olduğu araştırmacılar tarafından saptanmış ve çalışmalar daha da geliştirilmiştir (12). Zharikov tarafından 1975 yılında ER:YAG (Erbiyum yttrium aluminum garnet) lazer ortaya konulmuştur. 1979 yılında ise Horch, ilk kez kemik kesisinde frez yerine lazeri kullanmıştır. 1980'lerin sonlarına kadar yüksek güçlü fototermal lazerler yumuşak doku kesisi ve koagülasyonda kullanılmış, sert dokularda kullanılmaları ise lazer teknolojisinin gelişmesiyle başlamıştır (19,21). 1985 yılında Nd:YAG lazerler in vivo olarak diş çürüklerinin temizlenmesinde kullanılmıştır. İlerleyen yıllarda Nd:YAG lazerin yumuşak doku cerrahisinde kullanımı da gerçekleştirilmiştir. Sert doku lazerleri ise 1997'de diş hekimliği alanında kullanılmaya başlanmıştır (16).

2.2.2. Lazerin Çalışma Sistemi

Lazerin temeli atom veya molekül enerji düzeyleri arasındaki elektron geçişlerine dayanır. Bir atomun iki enerji düzeyi E_2, E_3 olsun ve $E_3 > E_2$ farz edelim. Minimum enerji ilkesine göre atom veya moleküller düşük enerji seviyesinde olmak istediklerinden E_3 seviyesindeki atom kendiliğinden E_2 seviyesine inecektir. Ama bu sırada enerjisi $E_3 - E_2 = h.f$ olan bir foton salar. Burada " f " fotonun frekansı, " h "

Planck sabitidir ($h=6,626x10^{-34}$ j.s). Eğer atom bu salınımı kendiliğinden yaparsa salınan fotonun yönü tamamen rastgeledir. Ancak eğer E_3 düzeyindeki atom E_3-E_2 enerjisindeki başka bir fotonla etkileşerek E_2 düzeyine inerse bu şekilde salınan fotonun frekansı ve fazı geçişe etki eden fotonla aynı olacaktır. Bu ikinci geçiş biçimine uyarılmış salınım (*stimulated emission*) denir ve lazerin çalışmasının temelini oluşturur. Çok sayıda atomdan oluşan bir sistem ele alınırsa; başlangıçta atomlar en alt enerji düzeyinde bulunduklarından, atomların E_3 düzeyine çıkarılması gerekir. Bu olay, pompalama denilen işlemle gerçekleştirilir. Ayrıca E_3 ve E_2 arasındaki geçişten lazer ışığı elde edebilmek için atomların E_3 düzeyinde kalma süreleri E_2 düzeyinde kalma sürelerinden uzun olmalıdır. Ancak bu şekilde E_3 düzeyinde bulunan atomların sayısı daima artacaktır (13).

Bir atom, alabileceği enerjiyle tamamen dolunca daha fazla enerji alamaz. Böyle bir atom kendi enerjisine eşit enerjide bir ışık dalgasıyla çarpışınca, zorunlu olarak enerjisini ışık dalgası olarak verir ve çarpıştığı dalga ile aynı frekans ve seviyede iki ışık dalgası yayar. Çarpışmaların sayısını yükseltebilmek için, yani daha çok ışık kazanabilmek için, lazerin karşılıklı iki kenarına paralel iki ayna yerleştirilir. Aynalardan birine rastlantısal olarak dik bir açıyla çarpan ışık dalgası, karşıdaki aynaya yansıtılır ve ardından ışık sürekli iki ayna arasında gidip gelir, dışarı çıkamaz. Işık parçacıkları, lazerin yapımında kullanılan malzemenin içinden geçerken, yolunun üzerinde enerji dolu diğer atomlarla karşılaşırlar ve onları da depolamış oldukları enerjiyi ışık olarak açığa çıkarmaları için zorlarlar. Böylece "parlayan" (ışıldayan) atomların sayısı ve bununla birlikte ışığın miktarı sürekli artar. Lazere (radyasyonun uyarılmış emisyonu ile ışığın güçlendirilmesi) ismini bu süreç verir. İki ayna arasında tutsak olduğu sürece giderek yoğunlaşan ışınla bir şey yapmak mümkün değildir. Bu nedenle, bu iki yansıtıcıdan biri yarı geçirgen özelliğe sahiptir. Yarı geçirgen yansıtıcı aracılığıyla dışarıya çıkan ışığa lazer ışığı denir (13).

2.2.3. Lazer Işınının Özellikleri

Lazer ışını normal ışıktan farklı olarak, aktive olmuş doğal gazların, elementlerin, moleküllerin ve çeşitli kristallerin etkileşimi ile yüksek yoğunlukta, paralel hareket eden, aynı dalga boyundaki elektromanyetik radyasyondan oluşan ışıktır. Normal ışık, görünür spektrumdaki çok sayıda rengi (lacivert, mavi, yeşil, sarı,

turuncu ve kırmızı) yapısında barındırırken, lazer ışını ise tek renk yani monokromatiktir (Şekil 2.5). Lazer ışınının belirli bir dalga boyu vardır ve rengi, oluşturulduğu dalga boyuna bağlıdır (15).



Şekil 2.5. Lazer ışınının temel özellikleri (12).

Kolimasyon kavramı, lazer ışınının kaynağından çıktığı şeklini sonuna kadar koruduğunu ifade etmektedir (15)(Şekil 2.5). Lazer ışınını oluşturan dalgalar tamamen birbirlerine paralel ilerler. Lazer son derece düzgün bir ışıktır ve çok az sapar. Normal ışık her yöne dağılırken lazer ışını keskin bir şekilde hedeflendirilebilir. Lazer ışını küçük bir yere büyük enerjiler verebilir ve böylece çok ince işler yapılabilir (13). Lazer ışını paralel karakteristiğine rağmen dalgalı doğası nedeni ile yayılma sırasında çok az dereceli bir açılanma oluşturur. Bu nedenle hedef dokuya uzaklık arttıkça çok az da olsa bir genişleme gözlenir (22).

Koherent (uyumluluk), ışığın dalga şeklinin sürekli aynı olmasını ifade eden bir terimdir (Şekil 2.5). Lazer ışını yayılırken dalga şeklinin yüksekliğini ve derinliğini hiç bozmadan ilerler (15). Bu senkronizasyon özelliği sayesinde sistemlerde çok iyi taşınabilir ve kolaylıkla yönlendirilebilir. Lazer ışınları arasında iyi bir faz korelasyonunun olması uzaysal uyum anlamına gelirken, lazer ışınlarının dalga boyunun zamanla değişmemesi zamansal uyumu ifade eder (12).

2.2.4. Lazer Doku Etkileşimi

Lazer ışını dokuya çarptığında emilebilir, yansıyabilir, doku içinde dağılabilir veya dokuda herhangi bir etkiye neden olmadan dokuyu terk edebilir (13). Lazerin hedef dokudaki etkileşimini; ışığın dalga boyu, enerji dansitesi, ekspoz süresi, ışının iletim modu (sürekli veya atımlı), objenin uzaklığı, ışınlanacak alanın boyutu, hedef dokunun özellikleri (pigmentasyonu, dansitesi, su içeriği, mineralizasyon derecesi ve dokunun kalınlığı) etkilemektedir (15).

Lazer ışınlarının enerjisini tamamen aktarabildiği bir molekül (kromofor) yüklendiği enerji sayesinde öncelikle doku içerisindeki titreşim hızını arttırmaya ve ısınmaya başlar. Kan akımı olan dokularda kan akımı bu ısınmayı bir noktaya kadar kompanse etmeye çalışır ancak lazer ışını verilmeye devam ederse ısı artışı verilen enerji miktarı ile orantısal olarak artmaya devam edecektir. Dokuda protein ve enzimlerin 46-47 ^{o}C'de 1 dakikadan fazla kalmaları halinde yapıları bozularak koagülasyon meydana gelir. Lazer ışını aralıksız verilmeye devam ederse 100 ^{o}C'de dokudaki su molekülleri kaynamaya ve buharlaşmaya başlar. Bu olay neticesinde yumuşak dokuların %80-85'inin su olduğu düşünülürse dokunun büyük bir kısmının buharlaşarak (vaporize olarak) yok olacağı anlamına gelir. Bu özellikten dokuların ortadan kaldırılması (ablasyonu) amacı ile yararlanılmaktadır. Buharlaştırılan dokularda ışınlanan bölgede su kaybına bağlı bir krater formunda çöküntü meydana gelir. Lazer ışını daha da devam ettirilirse dokunun kalan organik kısmı yanarak karbon halini alır. Geride ışınlanan doku yüzeyini kaplayan karbon tabakası kalacaktır (23).

Biyolojik etki için emilim gereklidir. Emilim, lazerin dalga boyuna ve dokunun özelliklerine bağlıdır (13). Kromofor denilen doku bileşenleri belirli dalga boyundaki ışınları emerler. Örneğin, dokulara oksijen taşıyan hemoglobinler kırmızı dalga boyunu yansıtırlar ve arterlere rengini verirler ancak mavi ve yeşil dalga boyunu kuvvetli bir şekilde emerler. Venöz kan ise daha az miktarda oksijen içerdiği için daha koyu renkli gözükür ve kırmızı ışığı az da olsa absorbe edebilir. Cilde rengini veren melanin pigmenti kısa dalga boylu ışınları kuvvetli bir şekilde absorbe eder. Su molekülü ise değişik dalga boylarına değişik derecelerde absorbsiyon göstermektedir (15).

Diş yapıları ağırlık bakımından düşükten yükseğe sıralandığında mine %2-3, dentin, kemik, diştaşı, çürük ve yumuşak dokular ortalama %70 oranında su içermektedir. Diş sert dokularının en önemli kristalin yapısı olan hidroksiapatit dalga boyuna bağlı olarak değişik seviyelerde emilim sergiler (15).

Genellikle kısa dalga boylu ışınlar (500-1000 nm) pigmente dokular ve kan elemanları tarafından iyi absorbe edilirler. Diyot ve Nd:YAG lazerler melanin için yüksek emilim gösterirken hemoglobin için düşük emilim gösterirler. Uzun dalga boylu ışınlar su ve hidroksiapatit tarafından daha çok emilim gösterirler. Dalga boyu 3000 nm'nin üstündeki ışınlar (CO_2, Er:YAG) su molekülleri tarafından en yüksek emilim kabiliyetine sahiptir. Dalga boyu 10600 nm olan CO_2 lazer su tarafından iyi absorbe edilirken, diş yapıları için en büyük afiniteyi gösterir (13,15,23).

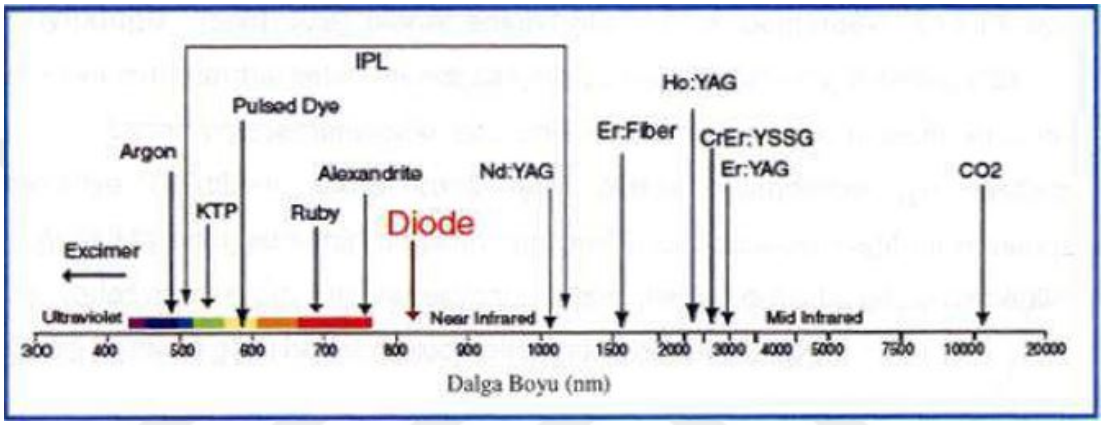
Dokuya iletilen lazer demeti sonrasında normalde % 3 yansıma gerçekleşir (13). Çürük tespitinde kullanılan lazer üniteleri sağlam diş dokusunun belirlenmesinde yansıyan ışınları kullanırlar. Yansıyan ışınlar kolime dar bir ışın demeti ya da daha fazla dağılım gösterebilirler. Bazı lazerlerde yansıyan bu ışın demetlerinin enerjisi 3 metreye kadar etkin olabilmekte ve istemeden göz gibi dokular için tehlikeli olabilmektedir (15).

Lazer ışınının dokuda dağılması ile enerji zayıflar ve faydalı bir biyolojik etki görülmez. Işın demetinden saçılan ışınlar cerrahi sahaya komşu dokulara ısı iletimine neden olarak istenmeyen hasarlara yol açacaktır. Bununla birlikte, bu tarz değişik doğrultuda saçılan ışınlar kompozit rezin polimerizasyonuna yardımcı olmaktadır (15).

Lazer ışınının hedef dokuda herhangi bir etki oluşturmadan direkt geçişi lazerin dalga boyuna bağlıdır. Örneğin su argon, diyot ve Nd:YAG gibi kısa dalga boylu ışınlar için göreceli olarak geçirgendir. Bunun yanında erbiyum ailesi ve CO_2 lazerler dokuların dış yüzeylerindeki doku sıvıları tarafından absorbe edilir ve az miktarda enerji komşu dokulara iletilmiş olur. Erbiyum lazerler yaklaşık olarak 0.01 mm'lik mesafeye penetre olarak yüzeysel doku tabakalarında etkileşim gösterirken, 800 nm dalga boyundaki diyot lazerler ise 100 mm ve üzeri derinliklere kadar iletilmektedir (15).

2.2.5. Lazerlerin Sınıflaması

Lazerin optik odacık içindeki aktif maddesi sıvı, katı, gaz veya yarı-iletken olabilir. Birçok tipte lazer mevcut olup genellikle adlarını ışığı oluşturan kaynak atomun adından almaktadırlar. Lazer dalga boyları genel olarak 300 nm – 10.000 nm aralığındadır (13)(Şekil 2.6). Lazer ışınları dalga boylarına göre bir kısmı görünür ışıkken, geriye kalan kısmı kızılötesi noniyonize kısımda yer alır ve termal ışınım yayar (15)(Tablo 2.1).



Şekil 2.6. Sık kullanılan lazer dalga boyları (300 nm – 10.000 nm).

Yüksek vaporizasyon ve ablasyon özelliklerinden dolayı birçok değişik lazer tipi bulunmuş ve farklı alanlarda kullanılmak amacıyla geliştirilmiştir. Yapılan deneysel çalışmaların geçmişi daha uzun döneme yayılmakla birlikte Amerika'da FDA (U.S. Food and Drug Administration, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından 1980 yılında yumuşak doku lazerlerinin (diyot, Nd:YAG, CO_2 gibi), 1997 yılında da sert doku (erbium) lazerlerinin ağız içi dokularda kullanımına izin verilmiştir (23).

Diş hekimliğinde lazer uygulamaları oral cerrahi haricinde endodontide, periodontolojide, pedodontide, konservatif diş hekimliğinde ve estetik diş hekimliğinde birçok vakada başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Bu yüzden her lazerin kullanım alanı amaca göre değişmektedir (23).

Diş hekimliğinde kullanım yerine göre lazerler genel olarak:

1. Yumuşak ve sert doku uzaklaştırmasında (yüksek enerjili),

2. Fotodinamik terapide (orta enerjili),
3. Diagnozda, biyostimülasyonda, beyazlatmada ve polimerizasyonda (düşük enerjili) kullanılan lazerler olarak gruplandırılabilir (23).

Ancak unutulmamalıdır ki yüksek enerjili lazerler de düşük enerji düzeylerinde kullanıldıklarında dokularda biyostimülasyon etkisi yaratmaktadırlar (23).

Tablo 2.1. Tedavi amaçlı kullanılan bazı lazer türleri, dalga boyları ve spektrumdaki yerleri (13).

Lazer Türü	**Dalga boyu (nm)**	**Renk**
Argon	488	Mavi
Argon	514,5	Yeşil
Helyum-Neon	632,8	Kırmızı
Krypton	647,1	Kırmızı
Nd: YAG	1064	Kızılötesi
KTP (potassium-titanyl-phosphate)	532	Yeşil
CO_2	10600	Kızılötesi
Dye	400-700	Görünen renkler
Diyot	~800	Kırmızı ve kızılötesi
Holmium: YAG	2100	Kızılötesi
Erbium: YAG	2940	Kızılötesi
Excimer	193,248,308,350	Morötesi

2.2.6. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Lazer Kullanımı

Oral ve maksillofasiyal cerrahide ilk başarılı lazer uygulamaları 1980'li yıllarda başlamış olup teknolojik olarak küçük boyutlu ve ağız içinde kullanımı kolay olan lazer cihazlarının geliştirilmesi ile lazer cerrahisi giderek popüler hale gelmiştir.

Oral ve maksillofasiyal cerrahide çeşitli dalga boylarında lazerler (CO_2, Nd:YAG, Er:YAG, diyot, Ho:YAG, Argon) kullanılmaktadır. Uygulanacak tedavinin

başarısında hekimin lazerin karakteristiklerini ve doku ile uyumunu bilmesi önemli rol oynar (17).

CO_2 lazer, suya olan afinitesi nedeni ile tercih edilen bir lazerdir. Yumuşak dokuda koagülasyon özelliğinin iyi olması ve sığ penetrasyon göstermesi ile mukozal lezyonların tedavisinde güvenle kullanılır. CO_2 lazer biyopsilerde, kanamaya yatkın lezyonlarda, aftöz ülserlerde, herpetik lezyonlarda, frenektomi, kron boyu uzatma gibi işlemlerde, gingivektomi ve gingivoplastilerde kullanılır (24).

Nd:YAG lazerin yüzeysel dokularda emilimi minimaldir ve derin penetrasyon özelliği sayesinde derin dokularda hemostaz sağlar. Kesme, koagülasyon ve gingival sulkus debridmanı amacıyla, hemanjioma gibi vasküler lezyonlarda, frenektomi, gingivektomi ve gingivoplastilerde başarıyla kullanılmaktadır. Nd:YAG lazer ayrıca artroskopik temporomandibuler eklem (TME) cerrahisinde de önerilmektedir (25).

Er:YAG lazer ise son yıllarda özellikle implant cerrahisinde ve kozmetik fasiyal cerrahide ön plana çıkmaktadır. Metal yüzeylerden yansıdığı için titanyum implant yüzeyinde istenmeyen bir etkiye yol açmaz. Er:YAG lazerler sert dokuların kesilmesi ve kemiğe yönelik işlemlerde kullanılmakla beraber cildin yüzeysel tabakalarında minimal termal hasar oluşturması nedeniyle cilt yenilenmesi için de önerilmektedir (17).

Oral ve maksillofasiyal cerrahide çok fazla tercih edilmeyen Ho:YAG (Holmium yttrium aluminum garnet) lazerin temporomandibuler ekleme yönelik girişimlerde kullanımı önerilmektedir (17).

Argon lazerler hemoglobinde yüksek emilimi nedeni ile vasküler lezyonların tedavisinde kullanılabilmektedir. Ancak derin ve uygun renkte olmayan bazı lezyonlarda etkin olmadığı belirtilmektedir (26).

Diyot lazer ise kolay taşınabilir ve maliyetinin diğer lazerlere oranla daha düşük olması nedeniyle oral ve maksillofasiyal cerrahide en sık kullanılan lazerdir. Yüzeyel lezyonların tedavilerinde, diş yapıları tarafından düşük absorbsiyon nedeni ile diş yakınındaki yumuşak dokularda çok başarılıdır (17). Diyot lazer ile yapılan insizyon marjinleri diğer lazer sistemlerine göre daha keskin ve düzgündür (27).

Antibakteriyel etkisi ve implant yüzeyinde değişikliğe neden olmaması ile peri-implantitis tedavisinde önerilmektedir (28-30). Diyot lazer biyostimülasyon amacı ile de kullanılmaktadır (31).

Lazerler implantoloji alanında da farklı amaçlar ile kullanılmaktadır. Er:YAG, diyot ve CO_2 lazerler sert ve yumuşak dokuların düzeltilmesi, ikinci aşama cerrahisi ve peri-implantitis tedavisi gibi işlemlerde önerilmektedir.

Literatürde çeşitli çalışmalarda farklı dalga boylarındaki lazerlerin implant yüzeylerine etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmaların hemen hemen hepsinde Nd:YAG lazerin implant yüzeyinde deformasyon ve mikro çatlaklara neden olduğu için implant çevresine uygulanmaması gerektiği belirtilmiştir. Er:YAG, CO_2 ve diyot lazerler ise doğru endikasyon koşulu ile implant cerrahisinin çeşitli alanlarında kullanılabilmektedir (17,28-30).

Lazerler günümüzde diğer tıp alanlarında olduğu gibi oral ve maksillofasiyal cerrahide de bazı durumlarda konvansiyonel cerrahiye alternatif bir uygulama, hatta endikasyona göre üstün bir tedavi seçeneğidir (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Lazerlerin oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanım endikasyonları (17).

Lazer Cerrahisi Endikasyonları	
Frenektomi	Rezidüel kret düzeltmesi
Vestibüloplasti	Apikal rezeksiyon
İnsizyonel/Eksizyonel biyopsi	Gömülü diş cerrahisi
Operkülektomi	Biyostimülasyon
Oral yumuşak doku patolojilerinin tedavisi	Peri-implantitis tedavisi
Yumuşak doku düzeltmeleri	Benign tükrük bezi lezyonlarının tedavisi
Torus uzaklaştırılması	Lazer destekli uvuloplasti
Tüberoplasti	

Tüm tedavilerde olduğu gibi lazer ile tedavinin de avantajları ve dezavantajları vardır.

Oral ve maksillofasiyal cerrahide lazer kullanımının avantajları:

1. Sinir, damar ve lenf kanallarının tamamen yakılması ve kapatılması nedeni ile postoperatif ağrıda azalma,
2. Dokuda minimal travma oluşturması,
3. Operasyon sonrası ödem, iyileşme sırasında kontraksiyon ve skar oluşumunun minimal olması,
4. Yerine göre yara ağızlarında primer kapatmaya gerek duyulmaması,
5. Mükemmel hemostatik özelliği ile net cerrahi görüş alanı sağlaması ve kanama kontrolü rahatlığı,
6. Operasyon alanındaki sterilizasyon özelliği nedeniyle postoperatif enfeksiyon riskinin konvansiyonel cerrahiye oranla daha az olması,
7. Malign tümör eksizyonlarında metastaz olasılığının azalması,
8. Derin anesteziye çoğu kez gereksinim duyulmaması,
9. Konvansiyonel cerrahiye oranla operasyon süresinin çok kısa olması,
10. Uygulama kolaylığı şeklinde sıralanabilir (17).

Dezavantajları ise:

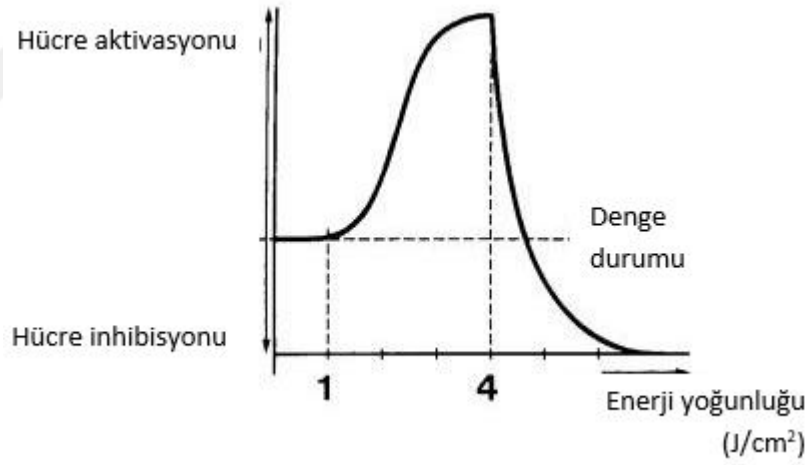
1. Ek güvenlik ekipmanlarına gerek duyulması,
2. Cerrahın dokunma duyusu olmaksızın çalışması,
3. Kişisel korunma yöntemleri gerekliliği,
4. Hasta, hekim ve yardımcı personelin beklenmeyen yaralanmaları,
5. Cihazı kullanacak hekimin özel eğitim alması gerekliliği,
6. Kullanılan cihazın pahalı olması,
7. Özellikle diş ve kemik gibi sert dokularda çalışma süresinin frez cerrahisinden daha uzun olması şeklindedir (17).

2.2.7. Düşük Doz Lazer Terapisi (DDLT)

Düşük seviyeli lazerler fototerapötik özellikleri sebebiyle geliştirilmiş olup, düşük doz lazer terapisi (DDLT) ya da terapötik lazer olarak da adlandırılmaktadır.

DDLT kullanılan lazerler, soft lazer, düşük reaktif lazer, düşük enerjili lazer, düşük yoğunluk seviyeli lazer olarak da bilinmektedir. Bu tedavinin biyostimülasyon ya da biyomodülasyon etkileri vardır (31). Yara iyileşmesini hızlandıran, ödemi, enflamasyonu ve ağrıyı azaltan noninvaziv bir yöntemdir. Bu amaçla 40 yılı aşkın bir süredir tıp, diş hekimliği, fizyoterapi ve veterinerlik alanlarında kullanılmaktadır (18).

DDLT'nin ilk çalışmaları 1960'larda invitro olarak hücre kültürleri üzerinde yapılmıştır. Alınan başarılı sonuçlar nedeniyle 1970'lerde insanlar üzerinde kullanılmaya başlanmıştır (31). İlk çalışmalar sonucunda Arndt-Schultz Kanunu diye adlandırılan bir dozaj formülü ortaya konulmuştur. Bu kanuna göre düşük dozların bir etkisinin olmadığı, terapödik bir doz aralığının mevcut olduğu ve bu doz aralığından daha yüksek dozlarınsa inhibitör etkisinin olduğu belirtilmektedir (Şekil 2.7)(18,32-35). Açık yaralar için önerilen optimum doz 1-2 J/cm^2'dir (18).



Şekil 2.7. Arndt-Schultz Eğrisi (32).

1980'lerde DDLT'nde çıkış gücü 30 mW veya daha altında olan cihazlar kullanılmış, ancak 1990'larda lazerlerin güçleri daha etkili olmaları için arttırılmıştır (18).

Birçok lazer tipi DDLT için çeşitli dalga boylarında 1-500 mW güç aralığında kullanılmaktadır (18). He-Ne lazer, 623 nm dalga boyunda, yaygın olarak kullanılan, ucuz ancak diyot lazerler ile karşılaştığında biraz daha pahalı olan infrared lazer çeşididir (22,31). Çalışmalarda, kollajen ve ribonükleik asit (RNA) sentezini, ekstraselüler komponentleri ve kan akımını arttırarak epitelyal büyümeyi ve periferal sinir sistemi iyileşmesini indüklediğini savunmuşlardır (31).

Argon-İon lazer 458 veya 514 nm'lik dalga boylarında, görünür mavi veya mavi-yeşil ışık yayan, dental tedavilerde 100-400 mW enerji düzeyinde kullanılan gaz lazeridir. Vaskülerize dokular tarafından absorbsiyonu yüksek olduğundan vasküler malformasyonlarda ve oftalmolojide kullanılır (31).

CO_2 lazerler, 10.600 nm dalga boyunda DDLT'nde hedef doku-lazer arası mesafe özel aparatlarla 100-150 cm'ye çıkarılarak, 0,5-1 mW güç aralığında devamlı atım halinde kullanılabilen lazerlerdir. Defokus pozisyonda biyostimülatör olarak derin dokulardaki patolojilerde, örneğin bir tendonitis vakasında kullanılabilirler (31).

Nd:YAG lazer, 1064 nm dalga boyunda infrared ışık yayan, defokus pozisyonda genellikle oftalmolojide terapötik olarak kullanılan bir lazer sistemidir (31).

Diyot lazerler katı aktif ortamı olan, aktif ortamda da yarı iletken kristaller olarak alüminyum veya indiyum, galyum ve arsenid kullanan lazer sistemleridir. Aktif ortamı alüminyum içeren lazer sistemlerinin dalga boyu 800 nm olurken, İndiyum içeren sistemlerde 980 nm olmaktadır. Bu dalga boyları ile diyot lazer sistemleri elektromanyetik spektrumun görünür noniyonize kızılötesi spektrumunun başlangıcında bulunmaktadır. Bu sistemlerde lazer enerjisi fiberoptik kablolar ile devamlı dalga veya atımlı modlarda iletilebilmektedir (15).

GaAs (Galyum-Arsenid) diyot lazer, 904 nm dalga boyunda kullanılan, yarı iletken, 100 mW çıkış gücüne kadar yükseltilebilen bir lazerdir. Subkutanöz dokulara derin penetrasyon gösterir (31).

GaAlAs (Galyum-Alüminyum-Arsenid) lazer 820-830 nm dalga boyunda ve 10-70 mW gücünde kullanılır. Yüksek doku penetrasyonu olan lazer sistemi olarak

bilinir. Dokulara rahat penetre olur, hemoglobin ve su tarafından oldukça az absorbe edilir, oral mukoza ve kemiğin 4-8 mm altında seyreden sinir dokusuna kadar ulaşabilir. Yüksek penetrasyon özelliğinden dolayı GaAlAs diyot lazer, trigeminal sinir parestezisi tedavisinde kullanılabilir (31).

2.2.8. DDLT'nin Etki Mekanizması

DDLT'nin mekanizmasını açıklayan teori, fotokimyasal etkisi üzerinedir. Bu teoriye göre, lazer ışını biyolojik olaylardan sorumlu belli moleküller tarafından emilerek doğruca hücrenin enerjisini üreten mitokondriye iletilir ve dokuda atermik fototerapi etkisi oluşur. Bu moleküller adenozin trifosfat (ATP) üretimini arttıran sitokrom C-oksidaz, endojen porfirinler ve solunum zincirinde rol oynayan moleküllerdir (18).

DDLT'nin hücrelerde biyouyarıcı etkileri olarak; mikrosirkülasyonda artış, ATP, RNA ve DNA sentezinde yüksek üretim gerçekleşir. Bu oluşumlara bağlı olarak, hücresel oksijenlenme, beslenme ve çoğalmada artış meydana gelir. Lazer ışınları mitokondri ya da hücre membranında bulunan kromoforlar tarafından absorbe edilir. Bu kromoforlar ışın demeti ile güçlü etkileşimde bulunurlar ve buna bağlı olarak hücre fonksiyonları ve hücresel çoğalma oranı artmaktadır. Mitokondriler tarafından absorbe olan ışınlar, ATP ve sitoplazmik hidrojen iyonunun konsantrasyonunda artışa yol açan bir dizi reaksiyonu başlatır. Sonuçta hücre zarının iyonlara karşı geçirgenliği değişir. Hücrede, ışının etkisiyle ATP sentezinde meydana gelen artış sonucu Na^+ /H^+ ve Ca^{2+}/Na^+ antiportların aktivasyonu artar. Na^+ /K^+ ATPaz ve Ca^{2+} pompaları gibi çeşitli iyon taşıyıcılar da aktif hale gelmektedir. Bu değişimlerle birlikte, hücre membran geçirgenliği de değişir. Hücrenin aldığı glikoz, oksijen ve aminoasit miktarı artar. Hücre metabolizması hızlanır. Böylece hücre içi enzimlerin moleküler taşıma sistemleri hızlanır, hücre zarının aktif transport yapan enzimleri ışınlardan aldıkları enerji ile daha aktif hale gelirler. Bunun sonucu olarak da kollajen gibi elemanların sentez hızında artış meydana gelir (36).

DDLT'nin etki mekanizmasında rol oynayan bazı önemli parametreler vardır.

Esas parametreler:

1. Dalga boyu,
2. Polarizasyon,
3. Işınlama modu ve profili,
4. Işınlama tipi (sürekli ya da pulsatif) iken,

Yardımcı parametreler:

1. Güç densitesi (doz),
2. Enerji densitesi,
3. Atım genişliği ve tekrarlama zamanı,
4. Işınlama süresi,
5. Terapi aralıkları şeklindedir (31).

DDLT birçok biyolojik etkiye sahiptir. Bunlar:

1. Reseptör sensitivitesini azaltmak,
2. Hücre membran potansiyelini değiştirerek ağrı toleransını arttırmak,
3. Enflamasyon fazını kısaltmak,
4. Kan mikrosirkülasyonunu ve oksijen alımını arttırmak,
5. Kollateral yeni damarların sayısını arttırmak,
6. Ödemin ve doku sertliğinin erken rezolüsyonunu sağlamak,
7. Mikroflora üzerinde bakterisidal etki sağlamak,
8. İmmün reaksiyonu baskılamak,
9. Hücresel aktiviteyi arttırmak ve intraselüler metabolizmayı hızlandırmak,
10. Bağ doku metabolizmasını selektif etkileyerek (fibroblast büyümesi, kollajen formasyonu, odontoblast aktivitesini stimüle etmek) yara iyileşmesini hızlandırmak,
11. Sinir yaralanmalarında skar formasyonunu azaltmak olarak sıralanabilir (31).

DDLT, yan etkileri yok denecek kadar az olan güvenli bir terapötik tedavi modelidir. Düşük dereceli ve atermal yapısından dolayı, yüksek güçlü lazer uygulamalarında görülen doku destrüksiyonu, epitelyal rejenerasyon gecikmesi, iyileşme sırasında küçük bir granülasyon dokusu oluşumu, termal yan etki gibi zararlar görülmez. Tek toksik etkisi, göze lazer ışınının direkt teması ile oküler zarar

oluşturabilmesidir. Kullanılan dalga boyuna özel gözlüklerin hasta ve kullanıcı tarafından kullanılması gerekmektedir. FDA, düşük doz lazer terapisinde kullanılan lazerleri sınıf 3, belirgin risk olmayan medikal cihaz olarak sınıflandırmıştır (18).

DDLT'nin sensitif dokulara (fetüs, gonad, tiroid bezi) ve kanseröz lezyonların üzerine uygulanması kontrendikedir. Bazı çalışmalarda lazerin sadece normal hücreleri değil, tümör hücrelerini de stimüle ettiği gösterilmiştir. Güneş ışığı hipersensitivitesi, enfekte yara ve pace-maker bulunan hastalarda göğüs üzerine uygulanmaması gerektiği, diğer kontrendikasyonlar olarak sayılabilir (31).

2.2.9. DDLT'nin Klinik Etkileri

DDLT'nin yara iyileşmesi üzerine etkisi, lokal ve sistemik yanıtlara, birçok tip hücre, enzim ve büyüme faktörlerine bağlı olduğu için yapılan çalışmalarda en ilgi çeken konulardan birisi olmuştur. Araştırmalarda fibroblastların lazere cevabı, hücre farklılaşmalarında ve kollajen üretiminde artış, dolayısıyla lazerin yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkileri gösterilmiştir (12,14,20,27-38). Saygun ve ark. (37), yaptıkları bir çalışmada DDLT'nin fibroblastların proliferasyonu üzerine stimüle edici etkilerinin olduğunu, fibroblastların büyüme faktörlerinin üretimini arttırdığını ve bunun da yara iyileşmesi üzerinde etkili olabileceğini rapor etmişlerdir.

DDLT'nin ağrı ve enflamasyon üzerine etkisi tam olarak anlaşılamamış olsa da, nöron stimülasyonunda değişiklik, medullar refleksin inhibisyonu, miyelin kılıftaki kromoforların stimülasyonu, bazı nörokimyasal ajanların (seratonin, asetilkolin, histamin, prostoglandin) sentezi, salınımı ve mekanizması üzerine etkili olduğu düşünülmektedir. DDLT, prostoglandin sentezini etkiler, endorfin sentezini arttırır, bradikinin aktivitesini azaltır (31).

DDLT'nin etkisi dokulara penetre olmasına ve doku sıvısına bağlıdır. Lazer enerjisi, sıvı konsantrasyonunun en yüksek olduğu yerde daha fazla absorbe edildiğinden, enflamasyonun ve ödemin yoğunlukta olduğu dokuda kolaylıkla absorbe olur. Bu enerji sayesinde de iyileşme süreci gibi birçok biyolojik reaksiyon stimüle edilmiş olur (31).

DDLT'nin kemik formasyonu üzerindeki mekanizması üzerine farklı hipotezler vardır. En kabul edilebilir olanı, lazer enerjisinin porfirin ve sitokromları etkileyerek selüler aktiviteyi ve bu yolla ATP, alkalen fosfataz ve serbest kalsiyum konsantrasyonlarını arttırmasıdır (39). Bazı çalışmalarda fraktür, kemik defekti, diş çekimi ve dental implant yerleştirme sonrasında DDLT'nin farklılaşmamış mezenşimal hücreleri ve osteoblastların osteosite hızla dönüşmesini biyomodüle ettiği gösterilmiştir (40-43).

Literatürde, DDLT'nin vaskülarizasyonu ve antienflamatuar etkiyi arttırarak kemik matriks üretimini stimüle ettiğini gösteren çalışmalar da mevcuttur. Bu araştırmaların çoğunda, medyatör salınımını ve mikrovaskülarizasyonu arttırarak kemik iyileşmesini hızlandırıcı etkisinden yola çıkarak diş çekimi sonrası iyileşme üzerine DDLT'nin etkileri saptanmaya çalışılmıştır (12,43-48).

Guzzardella ve ark. (41), DDLT'nin implant osteointegrasyonuna etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında, lazer uygulanan grupta kemik mikrosertliğinde ve hidroksiapatit-kemik yüzeyinde yüksek afinite indeksinde anlamlı bir fark olduğunu tespit etmişlerdir. Kemik-implant ara yüzeyindeki reaksiyonu, postoperatif uygulanan DDLT'nin stimüle ettiği bildirilmiştir.

Dörtbudak ve ark. (40), maymunlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında DDLT'nin kemik-implant ara yüzeyinde kemik rezorbsiyonuna ve osteositlere olan etkilerini araştırmışlardır. İmplantasyondan sonra immediat uygulanan lazerin osteositleri anlamlı şekilde stimüle ettiği rapor edilmiştir.

Çene kemiklerinde bisfosfonata bağlı osteonekroz gelişen hastalara cerrahi ya da medikal tedaviye kombine olarak DDLT de uygulanmaktadır. Bazı araştırmacılar, medikal tedaviye ek olarak uygulanan DDLT'nin iyileşmenin hızlanması ve ağrının azaltılması üzerine anlamlı derecede yararlı etkilerinin olduğunu belirtmişlerdir (49,50).

DDLT, oral ülserler, eksüdatif eritema multiforme, periodontitis ve gingivitis gibi yumuşak doku lezyonlarının tedavisinde başarıyla kullanılmaktadır (31). DDLT, gingival dokularda dejeneratif değişikliğe neden olmadan miyofibroblastlardan DNA sentezini stimüle eder, fibroblastların miyofibroblastlara dönüşümünü sağlayarak yara

iyileşmesini hızlandırır. Ayrıca, DDLT'nin ağrı üzerine etkisinden dolayı daha konforlu bir iyileşme süresi geçirilir (51).

DDLT, sinir yaralanmaları sonrasında sinir rejenerasyonunu hızlandırmada perioperatif süreçte kullanılabilen oldukça etkili bir tedavi yöntemidir. Yaralanan periferal sinirde aksiyon potansiyelini düşürür ve skar formasyonunu engeller, vaskülarizasyonu arttırır, çevre kasların dejenerasyonunu azaltır, yaralanan sinirin rejenerasyonuna yardımcı olur (52).

DDLT, analjezik, antienflamatuar ve biyostimülasyon etkisinden dolayı Temporomandibuler eklem (TME) rahatsızlıklarının tedavisinde önerilmektedir. Artrojenik kaynaklı TME düzensizliklerinde eklem bölgesine uygulanırken, miyojenik vakalarda kasın yapıştığı noktalara ve tetik noktalarına uygulanır. Akut rahatsızlıklar kısa sürede tedavi edilirken, kronik sorunlarda tedavi aylarca sürebilir (31).

2.2.10. Dozaj ve Hesaplaması

Lazer terapi için geniş bir terapötik doz aralığı olmasına rağmen önemli olan optimum dozu uygulamaktır. Uygulanacak enerji yoğunluğunu (Joule) hesaplamak için, cihazın gücü (Watt) uygulama zamanı (saniye) ile çarpılır (örneğin; 100 mW × 10 sn = 1000 mJ = 1 J). Uygulanacak dozun hesaplanması ise enerjinin, uygulama alanının cm^2 cinsinden ölçümüne bölünmesi ile yapılır. Örneğin alanın ölçümü 1 cm^2 ise doz 1/1=1 J/cm^2 olur. Eğer alan 0,25 cm^2 ise, doz 1/ 0,25= 4 J/cm^2 olur.

Lazer cihazının ürettiği lazer ışınının cm^2'ye düşen miliwatt (mW) cinsinden güç yoğunluğu, lazer cihazının biyolojik etkisi açısından oldukça önemlidir. Düşük güç çıkışlarının biyolojik etkisi, süreyi arttırmakla kompanse edilemez. Lazer ışınları dokuya ulaştıktan sonra yansıtılır, emilir, iletilir veya dağılır. Lazer probu ile hedef doku arasındaki dokunun kalınlığı ve dokunun türü göz önünde bulundurulmalıdır. Örneğin lazer enerjisi mukoza ve yağ dokusundan kas dokusuna oranla daha kolay geçer. Hemoglobin ve diğer pigmentler lazer ışınını kuvvetli emerler ve bu yüzden dozun yükseltilmesi gerekmektedir. Penetrasyon kabiliyeti, dokuya basınç yapılarak lazerin dokuya yaklaştırılması ve lokal iskemi yaratılarak arttırılabilir. Ayrıca, melaninin ışığı yüksek oranda absorbe etme kabiliyetinden dolayı cildin rengi de göz önünde bulundurulmalıdır.

Temaslı uygulama şekli, biri dışında tüm uygulamalar için önerilir. Açık bir yaranın tedavisinde lazerle yara arasındaki mesafenin 2-4 mm olması gerekir. Ağız içerisinde temaslı şekilde kullanıldığı zaman doku ve prob arasına sıvı veya jel sürülerek enerji kaybı önlenebilir.

Dokulara göre tavsiye edilen bazı dozlar; gingival dokular için haftada iki veya üç kez 2-3 J/cm^2, kas dokusu için haftada iki veya üç kez 4-6 J/cm^2, TME için haftada bir veya iki kez 6-10 J/cm^2 ve diş için doğruca üzerine veya indirekt olarak apeks bölgesi kemik üzerinden 2-4 J/cm^2 uygulanması şeklindedir. Genel kural olarak ağız içi problarla 2 ila 4 J'lük dozlar ağız içi uygulamalarda, 4 ila 10 J'lük dozlar ise ekstraoral uygulamalarda önerilen tedavi dozlarıdır (18).

2.3. TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN (TZF)

2.3.1. Trombositten Zengin Ürünler ve Tarihçe

"Trombositten zengin plazma" terimi ilk olarak Kingsley tarafından 1954 yılında kullanılmıştır. Trombosit konsantrelerinin kan pıhtılaşmasındaki önemini belirtmiştir ve günümüzde kan transfüzyonu biliminde kullanılmaktadır (53,54,55).

Matras ve ark. (54), 1970 yılındaki fibrin yapıştırıcı ile ilgili ilk yayınından birkaç yıl sonra otolog bir karışım olan "trombosit-fibrinojen-trombin" karışımı oftalmoloji, genel cerrahi ve nöroşirurjide kullanılmaya başlanmıştır.

Fischer, 1979 yılında jelatin trombosit (jel foam, gelatin platelet) terimini kullanmıştır. Trombositten zengin olan bu ürün sadece fibrin doku örtücü olarak kullanılmış fakat doku iyileştirici olarak düşünülmemiştir. Trombositler fibrin bağlarını güçlendirme amacıyla kullanılmış ve fibrin yapıştırıcıdan daha etkili olduğu görülmüştür. Büyüme faktörlerinin etkisi göz önünde bulundurulmamıştır (53,54,56).

Knighton ve ark. (57), 1986 yılında trombosit konsantrelerinin klinik olarak yara iyileşmesini stimüle ettiğini bildirmiştir. *"Platelet-derived wound healing factors"* (PDWHF) terimini kullanarak iki basamaklı santrifüj işlemiyle elde ettikleri ürünü 49 hastanın iyileşmeyen kronik ülserinde uygulamış ve iyi sonuçlar elde ettiklerini bildirmişlerdir. Whitmann ve ark. (58), 1997 yılında hematoloji laboratuvarında hücre ayrıştırıcı sistemle elde ettikleri trombosit konsantrelerini ağız,

yüz ve çene cerrahisinde kullanmışlardır. Trombositleri toplama sırasında oluşan ürün için “trombositten zengin plazma” terimini kullanmışlardır fakat oluşan son ürünün fibrin jel olduğu düşünülmüştür. Bu yüzden oluşan son ürün için “platelet jel” terimi daha uygun bulunmuştur. Bu ürünlerde genellikle trombosit içeriği vurgulanmış, lökosit içeriğinden bahsedilmemiştir (53).

Tam olarak trombositten zengin plazma (TZP) teriminin kullanılması, Marx ve ark. (59), maksillofasiyal kemik grefti rekonstrüksiyonunda trombositten zengin ürünlerin kullanılması konulu ilk yayını ile başlamıştır. Klinik sonuçların dikkat çekici olmasıyla bu teknolojinin devamı gelmiştir. Marx ve ark., transfüzyon için kullanılan hücre ayrıştırıcılara benzer bir cihaz kullanarak TZP elde etmiştir. Sığır kökenli trombin kullanılarak aktifleştirilen bu ürüne fibrin jel de denilmektedir. Marx ve ark. (53), tarafından da lökosit içeriğinden bahsedilmemiştir.

Trombositten zengin fibrin (TZF) protokolü ilk defa 2001 yılında Fransa’da Choukroun tarafından tasvir edilmiş ve 2006 yılında da Dohan ve arkadaşları tarafından yayınlanan derleme serisinde tanıtılmıştır. Bu ürünün 2. nesil trombosit konsantresi olduğu bildirilmiştir. Ürünün lökosit içermesinden özellikle bahsedilmektedir. (60-64).

Trombosit konsantrelerinin hazırlanmasında değişik yöntemler mevcuttur. Trombosit elde etmedeki yöntem farklılığı, elde edilen trombosit konsantrelerinin içeriğini de etkilemektedir (Tablo 2.3)(53,54). Trombosit konsantreleri; lökosit ve fibrin içeriklerine göre 2009 yılında Dohan Ehrenfest ve ark. (65) tarafından 4 sınıfa ayrılmıştır:

1. Saf trombositten zengin plazma (P-TZP)
2. Lökosit ve trombositten zengin plazma (L-TZP)
3. Saf trombositten zengin fibrin (P-TZF)
4. Lökosit ve trombositten zengin fibrin (L-TZF).

Tablo 2.3. Trombositten zengin ürünler ve sınıflaması (53).

(AP: Otomatik Prosedür MP: Manuel Prosedür)

Trombosit Konsantre Sınıflaması ve Terminoloji		Üretim Metodu (Jenerik İsmi)
P-PRP (Pure Platelet rich Plasma) Aktivasyon öncesi (P-PRP Jel aktivasyon sonrası)	AP	Hücre Ayrıştırıcı PRP Vivostat(Vivolution, Danimarka)
	MP	Anitua'nın PRGF (Plasma Rich in Growth Factors, BTI Bio Technology Institute, İspanya) Nahita PRP(Nahita, Navarra, İspanya)
L-PRP(Leukocyte Platelet Rich Plasma) Aktivasyon öncesi L-PRP gel aktivasyon sonrası	AP	PCCS PRP (Platelet Concentration System, 3I, Palm Beach Gardens, FL, USA) SmartPReP(Harvest Corp, Plymouth, MA, ABD) Magellan PRP(Magellan Autologous Platelet Seperator, Medtronic, Minneapolis, ABD) Angel PRP(Angel Whole Blood Processing Systems, Sorin Group, Mirandola, Italya)
	MP	Friadent PRP (Friadent-Schütze, Vienna, Avusturya) Curasan PRP(Curasan, Kleinostheim, Almanya) Regen PRP(Regen Labratoury, Mollens, İsviçre) Platelex PRP(Platelex, Prag, Çek Cumhuriyeti) Ace PRP(Surgical Supply and Surgical Science Systems, Brockton, MA, ABD)
P-PRF (Pure –Platelet Rich Fibrin)	MP	Fibrinet PRFM (Cascade Medical, Wayne, NJ, ABD)
L-PRF(Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin)	MP	Chouckroun'un PRF (Process, Nice, Fransa)

1. Saf Trombositten Zengin Plazma (P-TZP): Lökosit içermeyen ve düşük dansitede fibrin ağı içeren ürünlerdir. P-TZP, sıvı solüsyon ya da aktive edilmiş jel formundadır. Enjekte edilebilir ya da deri veya mukoza yaralarında jel formunda kullanılabilir. Bu ürünlerin hazırlanmasında hücre ayırıcıların kullanıldığı birçok yöntem vardır. Bunlardan biri PRGF (Büyüme faktörlerinden zengin plazma ya da EndoRet, Biyoteknoloji

Enstitüsü BTI, Vitoria, İspanya) ticari adıyla bilinen ve ergonomik olmayan bir yöntemken bir diğeri, Vivostat TZF (Vivostat A/S, Alleroed, Danimarka) ticari adını taşıyan, terminolojik olarak "TZF" içeren ancak tamamen bir P-TZP ürünü oluşturan yöntemdir.

2. Lökosit ve Trombositten Zengin Plazma (L-TZP): Lökosit ve düşük dansitede fibrin ağı içeren ürünlerdir. L-TZP, sıvı solüsyon ya da aktive edilmiş jel formunda kullanılabilir. Tıbbın farklı alanlarında birçok ilgi çekici sonuç veren en çok sayıdaki ticari ya da deneysel sisteme sahip ürünlerdir. Spesifik kitler, minimum işleme tabi tutulma ile maksimum standardizasyonda örnekler elde edilmesinde kullanılmaktadır. Antikoagülan içeren tüplere alınan kanın iki aşamalı bir santrifüj protokolüne tabi tutulması sonrasında trombin ve kalsiyum klorid ile karıştırılmasıyla polimerize olan jel formundaki TZP, yüksek konsantrasyonda trombosit ve doğal konsantrasyonda fibrinojen içerir. Hemostatik etkisinin yanı sıra fibroblast proliferasyonunu ve doku vaskülaritesini arttırarak yara iyileşmesini başlatıp idame ettirmektedir.
3. Saf Trombositten Zengin Fibrin (P-TZF): Lökosit içermeyen ve yüksek dansitede fibrin ağı içeren ürünlerdir. P-TZF, sadece güçlü bir şekilde aktive olan jel formunda mevcut olup enjekte edilemez ve geleneksel fibrin yapıştırıcılar gibi kullanılamaz. Ancak güçlü fibrin matriksleri nedeniyle gerçek bir katı materyal gibi uygulanabilir. Bu ailede, ticari adıyla Fibrinet TZFM (Trombositten Zengin Fibrin Matriks, Cascade Medical, Wayne, NJ, USA) olarak bilinen tek bir ürün mevcuttur. Bu ürünü elde etmek için kullanılan teknik, mevcut diğer TZF tekniklerine (L-TZF) göre daha kompleks ve daha pahalıdır.
4. Lökosit ve Trombositten Zengin Fibrin (L-TZF): Lökosit ve yüksek dansitede fibrin ağı içeren ürünlerdir. Bu ürünler de P-TZF gibi jel formunda mevcut olup, enjekte edilemez ancak gerçek bir katı materyal gibi uygulanabilir. Bu trombosit konsantresini elde etmek için kullanılan prosedür, diğer prosedürler içerisinde en basit ve en ucuz olanıdır (66).

Tunalı ve ark. (67), 2013 yılında titanyum destekli trombositten zengin fibrin (T-TZF) olarak adlandırdıkları yeni bir trombositten zengin ürün geliştirmişlerdir. T-TZF fikrinin, titanyumun trombositlerin aktivasyonunda cam tüplerdeki silika aktivatörlerden daha etkili olabileceği hipotezinden doğduğu belirtilmektedir.

Choukroun (68), 2014 yılında A-TZF olarak adlandırılan, klasik TZF' den daha fazla monosit içerdiğini öne sürdüğü gelişmiş bir TZF ve i-TZF olarak adlandırılan enjekte edilebilir bir TZF tanıtmıştır.

2.3.2. Trombositten Zengin Fibrinin (TZF) Özellikleri

TZF doğal kan dokusundan elde edilen, yapısında bol miktarda trombosit ve lökosit içeren fibrin matriks yapısıdır (69). Pıhtı ya da membran formundaki L-PRF, farklı cerrahi tekniklerle birlikte kolaylıkla kombine edilmesi nedeniyle oral ve maksillofasiyal cerrahide en sık kullanılan trombosit konsantresi ürünüdür. 2001 yılında, Fransa'da Choukroun ve arkadaşlarının geliştirdiği TZF, yüksek lökosit içeriği ve güçlü fibrin yapısı ile L-TZF sınıfının tek ürünüdür.

PRF'nin içeriğindeki trombositler, beta-tromboglobulinler gibi trombositlere özgü ya da fibronektin, trombospondin, fibrinojen ve diğer pıhtılaşma faktörleri, büyüme indükleyicileri, fibrinoliz inhibitörleri, immünoglobulinler gibi trombositlere özgü olmayan birçok protein içermektedir (66).

Periferal kandan izole edilen trombositler büyüme faktörlerinin doğal kaynaklarıdır. Trombositler kemik iliğindeki megakaryositlerin sitoplazmik parçalanmasından oluşmaktadır. Dolaşıma katıldıklarında çekirdek içermemektedirler. Bu nedenle sadece 7-10 gün arasında yaşamaktadırlar. Çekirdek içermemelerine rağmen metabolik açıdan oldukça aktif hücreler olan trombositler; lizozomal, yoğun ve alfa (α) olmak üzere 3 tipte granül içermektedir. Lizozomal granüller sindirim enzimleri içerirken yoğun granüller adenozin difosfatın salgılanmasında ve depolanmasında görev almaktadır (70). TZF içinde yoğun olarak bulunan trombositlerin α granülleri ise trombosit kaynaklı büyüme faktörü (TKBF), dönüştürücü büyüme faktörü beta (DBF-β), epidermal büyüme faktörü (EBF), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEBF), insülin benzeri büyüme faktörü I (IBF-I), trombosit kaynaklı epidermal büyüme faktörü (TKEBF), trombosit kaynaklı

anjiogenezis faktörü (TKAF) ve trombosit faktör 4 (TF-4) gibi birçok büyüme faktörü içermektedir (Tablo 2.4)(63). TZF matriksi içerisinde aynı zamanda lökositler tarafından salgılanıp enflamasyon kontrolünde görev alan sitokinler (interlökin-1 beta [IL-1β], interlökin-6 [IL-6], tümör nekroze edici faktör-alfa [TNF-α], interlökin-4 [IL-4]) de bulunmaktadır. Matriks içindeki sitokinlerin remodeling aşamasında yavaş salınım yaparak uzun dönemde etkili oldukları bildirilmektedir (60-63).

Tablo 2.4. Yara iyileşmesinde rolü olan ve trombositlerden salınan başlıca faktörler (70,71).

Büyüme faktörünün ismi	**Yara iyileşmesindeki rolü**
Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF)	Makrofaj ve fibroblastların kemotaksisi ve aktivasyonu
Dönüştürücü Büyüme Faktörü beta (TGF- β)	İmmün yanıtın düzenlenmesi ve fibroblast kemotaksisinin gerçekleşmesi
Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)	Bazal membran hücrelerinin çoğalması ve migrasyonu
Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)	Neovaskülarizasyon, anjiogenezis
İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF)	Epitelyal hücre ve fibroblast proliferasyonu
Trombosit Kaynaklı Epidermal Büyüme Faktörü (PDEGF)	Endotel kemotaksisi, anjiogenez stimülasyonu, kollajenaz sentezini düzenler, epitel ve mezenkimal mitogenezisi stimüle eder
Trombosit Kaynaklı Anjiogenezis Faktörü (PDAF)	Anjiogenez ve damar geçirgenliğini arttırır, endotel hücrelerin mitogenezini stimüle eder
Trombosit Faktör 4 (PF-4)	Nötrofil ve fibroblastlara kemoatraktandır, antiheparin ajanlara etkilidir

Yapılan çalışmalarda TZF uygulamasında enflamatuar sitokinlerin daha fazla salındığı görülmüştür. Bunun nedeni TZF'nin lökositik olmasıdır; yani TZF uygulamasında yavaş kan aktivasyon süreci sonucu lökosit degranülasyonu artmaktadır (62). TZF sadece bir trombosit konsantrasyonu değildir, aynı zamanda defans mekanizmalarını stimüle eden bir immün ağ görevi görür (61). TZF iyileşme ve yumuşak doku maturasyonunun 3 önemli basamağında etkin rol oynar; anjiyogenezis, immun kontrol ve epitelyal kapanma. Anjiyogenezis yara içinde yeni

kan damarlarının formasyonudur. Endotelyal hücrelerin fenotip değişimi, migrasyonu ve divizyonu için ekstraselluler bir matriks gereklidir. Fibrin anjiyogenezis için doğal bir rehber görevi görür. Anjiyogenezis için gerekli büyüme faktörleri (FBFb, VEBF, TKBF) fibrin matriks içinde bulunur. Bazı çalışmalarda bu faktörlerin fibrine yüksek affiniteyle bağlandığı görülmüştür (63).

Fibrin matriks epitelyal hücrelerin ve fibroblastların metabolizmasını etkileyerek dokuların kapanmasına da rehberlik eder. Fibrin, fibronektin, TKBF ve DBF-β fibroblast proliferasyonu ve bu hücrelerin yara içine migrasyonunda önemli etkiye sahiptir. Fibrinin migrasyonu ve degradasyonu sonrasında fibroblastlar kollajen sentezine başlarlar (72).

TZF, fizyolojik fibrin matriks olarak kök hücreleri için, özellikle anjiyogenezisin arttığı safhada, bir ağ gibi işlev görür. Kemik iliğinden köken alan mezenşimal hücreler, kemik hücrelerinin ve birçok farklı dokunun rejenerasyonunu sağlar. Bu farklılaşmamış hücreler kan yoluyla yaralanmış dokulara gelirler ve birçok farklı hücre tipine dönüşürler. Bu ilk farklılaşma safhası için fibrin ve fibronektin tarafından oluşturulmuş bir skar matriksi gereklidir. Bu durum fibrinin neden bu hücreler için gerekli olduğunun kanıtıdır. Birçok araştırmacı fibrin matriksin kemik defektlerinin rejenerasyonunda mezenşimal hücrelere destek bir yapı oluşturduğunu göstermiştir (63).

TZF'nin osteojenik hücrelerin proliferasyonunu arttırarak kemik formasyonu ve rejenerasyonu üzerinde güçlü bir stimülatör olabileceği düşünülmektedir (60-63). TZF kanamanın azaltılmasına, yumuşak ve sert doku iyileşmesinin hızlandırılmasına yardımcı olur. Büyüme faktörleri sayesinde vaskülarizasyonun hızlandırılması, hastanın kendisinden alındığında allerjik reaksiyonlara sebep olmaması, kısa sürede ve kolayca hazırlanması, hastalık transfer riskinin bulunmaması, içindeki lökosit ve bunlar tarafından salgılanan sitokinler sayesinde enflamasyonun kontrol edilmesi ve enfeksiyonu baskılaması gibi birçok avantajı vardır (61-63,65,73,74).

Dohan ve ark. (62), TZF'nin cerrahi sonrası yara bölgesinde meydana gelen enflamasyonun yıkıcı etkilerini azaltarak immün cevabı düzenleyebildiğini, dolayısıyla cerrahi sonrası enfeksiyonları azalttığını öne sürmüşlerdir. Bu özellikleri

göz önünde bulundurulduğunda TZF'nin TZP'ye göre bazı avantajlara sahip olduğu görülmektedir. Bunlar;

1. Kanın herhangi bir biyokimyasal işleme tabi tutulmaması,
2. Basit ve ucuz bir protokol ile elde edilmesi,
3. Sığır trombini ya da antikoagülan gerektirmemesi,
4. Daha organize bir fibrin yapısına sahip olması nedeniyle daha etkili bir hücre migrasyonunu ve proliferasyonunu sağlaması,
5. İmmün sistemi destekleyici etkiye sahip olması şeklinde sıralanabilir (75).

2.3.3. Trombosit Büyüme Faktörleri

2.3.3.1. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (TKBF)

TKBF enflamasyon ve yara bölgesinde nötrofillerin, makrofajların, fibroblastların, düz kas hücrelerinin proliferasyonunu uyarmaktadır (76). Ayrıca makrofajlar tarafından DBF-β sentezlenmesini ve salgılanmasını uyarmaktadır. DBF-β ve TKBF benzer olarak makrofaj kökenli doku artıklarını ve granülasyon dokusu miktarını çoğaltır. TKBF damar matürasyonu için önemlidir. Yapılan çalışmalarda TKBF'nin, perisitlerin kapillerin etrafında toplanmasında ve damar yapı bütünlüğünün sağlanmasında önemli rolü olduğu görülmüştür (77,78).

TKBF ve VEBF'nin kombine kullanıldığı çalışmalarda sadece perisitlerin değil düz kas hücrelerinin de damar yapı bütünlüğüne daha çok katıldığı görülmüştür. TKBF'nin vasküler etkisi fibroblast büyüme faktörüne (FBF) ve VEBF' ye göre daha azdır ve başlangıç kan damar oluşumunda esansiyel rol almamaktadır (79). TKBF, IBF-1 ve trombospondin-1 sentezini arttırarak reepitelizasyonda görev almaktadır (80). IBF-1 keratinositlerin hareketini arttırırken, trombospondin ise proteolitik yıkımı geciktirir ve yara iyileşmesinde proliferatif cevabın oluşumunu sağlamaktadır (81). Ayrıca fibroblastların proliferasyonun arttırılmasında, ekstraselüler matriks oluşturulmasında ve ek olarak fibroblastların myofibroblastlara dönüşümünü indükleyerek kollagen matriks kontraksiyonunda rol almaktadır (82). Doku remodelasyonu süresince eski kollagenin matriks proteinazları tarafından yıkımına yardımcı olmaktadır (83).

2.3.3.2. Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta (DBF- β)

DBF-β, 30'dan fazla üyesi olan çok geni bir ailedir. En çok üretilen izoformu DBF-β1' dir. Trombositlerin α granüllerinde ve hücreler arası iletişimde üretilir. Etkileri, uygulanan miktar, matriks çevresi ve hücre tipine göre değişkenlik gösterir. Örneğin, osteoblastların çoğalmasını arttırdığı gibi kolayca inhibe de edebilir. Tüm sitokinler arasında en kuvvetli fibrozis ajanıdır. Osteoblast ve fibroblastlarda kollajen-1 üretimini arttırır (fibrozis). Fibröz iyileşmeyi tetikleme kapasitesi nedeniyle enflamatuar düzenleyici olarak dikkate alınır (84).

DBF-β pek çok hücrenin büyümesini, proliferasyonunu, adezyonunu ve apoptozisini düzenleyen bir büyüme faktörüdür. DBF-β, epitelyal hücreler, hematopoetik hücreler ve lenfositler gibi pek çok hücrenin büyümesini durdurucu etkiye sahiptir. Bu nedenle mezenşimal hücrelerden matriks sentezinde ve anjiyogeneziste rol oynar. Bununla birlikte immunosupresif etkisi vardır. Tek başına kullanılmaları iskeletsel defektlerde kemik rejenerasyonunu arttırmaz. Hatta farklılaşmamış mezenşimal hücreler üzerindeki bifazik etkisinden dolayı proliferasyonu ve osteoblastik faklılaşmayı baskılar. DBF-β'nın kemik oluşumdaki ana rolü kemik hücrelerinin matriks sentezidir. Düşük doz DBF-β'nın yüksek doz BMP ile birlikte kullanımı kemik oluşumunu arttırıcı etki göstermektedir (85).

2.3.3.3. Epidermal Büyüme Faktörü (EBF)

Etkileri deri ve müköz membranların bazal hücreleri ile sınırlıdır. Bazal membranın spesifik bileşenlerini oluşturmaları için bu bazal hücrelerinin uyarılmasını, replikasyonunu ve migrasyonunu indükler. Bununla birlikte periodontal rejenerasyon ve tamir sırasında proliferasyonu regüle ettiği de düşünülmektedir (86).

2.3.3.4. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEBF)

VEBF bilinen en güçlü ve en yaygın vasküler büyüme faktörüdür. Endotelyal hücrelerin proliferasyonu, migrasyonu ve sağkalımlarını direkt olarak etkiler. Anjiyogenezisin başlamasında ortamda çok az miktarda bulunması bile etkili olur ve birçok izoformunun kombinasyonuyla damar ağının oluşumunu sağlarlar (87).

VEBF fibroblast, enflamatuar ve endotelyal hücre proliferasyonunu ve migrasyonunu stimüle eder ve vasküler geçirgenliği artırır (88). Yara bölgesinde meydana gelen hipoksi VEBF'nin en büyük uyaranıdır. Sonucunda anjiojeniziste artış meydana gelerek doku perfüzyonu tekrar sağlanmış olur.

2.3.3.5. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF)

İnsulin benzeri büyüme faktörleri (IBF I-II) birçok hücre tipinin çoğalması ve farklılaşması için düzenleyici rol olmaktadır. Trombosit degranülasyonu sırasında ve plazmada serbest halde bulunmaktadır (61). IBF-I osteoblastlar üzerine etki ederek matriks sekresyonu ve proliferasyonunu etkilemektedir (89). Fibroblast sistemi üzerinde mitojen etki gösterirler. Pre-osteoblastların hem proliferasyonunu hem de osteositlere farklılaşmasını ve tip I kollajen sentezini stimüle eder (86).

2.3.3.6. Fibroblast Büyüme Faktörü (FBF-α ve FBF-β)

Fibroblastlar, endotel hücreleri, osteoblastlar, kondrositler ve keratinositler üzerinde mitozu arttırıcı etki gösterir, anjiogenezis ve endotelyal hücre göçünde rol oynar, DBF-β'nın dağılımını arttırıcı etki yapar. FBF, yara iyileşmesinde özellikle keratinositlerin proliferasyon ve göçüne neden olur (90).

FBF, anjiogenezin başlaması için gerekli olan fibroblastlardan kollajenaz üretimini ve kapiller endotel hücrelerinin proliferasyonunu sağlar. Granülasyon dokusu oluşumunu başlatmaya yardımcı olur (90).

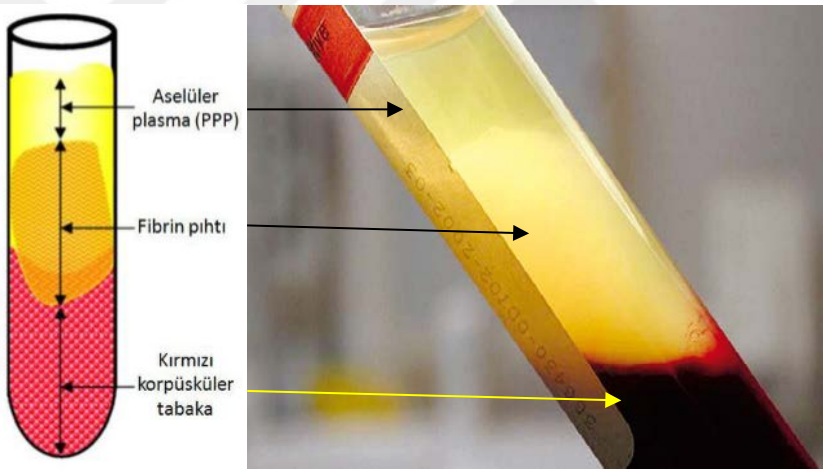
Kemik iyileşmesinde FBF, anjiyogenezi arttırarak, osteoblast diferansiasyon ve proliferasyonunu doz bağımlı uyararak, mekanik dayanıklılığı arttırmaya yardımcı olur (87).

2.3.4. TZF Hazırlanması

Protokol tıbbi bir alete veya özelleşmiş bir makineye bağlı değildir, tüm klinisyenler tarafından kolaylıkla uygulanabilir. Diğer trombositten zengin ürünlerden farklı olarak bu teknikte bir antikoagülana, sığır kaynaklı trombine, kalsiyum kloride veya herhangi bir jelleştirici maddeye ihtiyaç yoktur. Bu nedenle hazırlanması açısından daha basit ve hızlı bir yöntemdir. TZF hazırlanması esnasında trombin

kullanılmaması elde edilen fibrin dokusunun doğal fibrin çatısına sahip olmasını ve büyüme faktörlerinin proteolizinin önlenmesini sağlamaktadır (65,69).

Hastadan alınan venöz kan antikoagülan içermeyen 10 ml'lik cam kaplı plastik veya cam tüplere alınmakta ve bekletilmeden 3000 rpm'de 10 dk veya 2700 rpm'de 12 dk santrifüj edilmektedir (60,91). Tüp içinde antikoagülan madde olmaması nedeniyle birkaç dakika içinde tüpün duvarlarına temas eden trombositler pıhtılaşma faktörlerini salgılamaya başlar ve pıhtılaşma işlemi başlamış olur. Baslangıçta tüpün üst kısmında yoğunlaşmış fibrinojen trombin salınması ile fibrine dönüşmeye başlar. Santrifüj sonunda tüpün tabanında kırmızı kan hücrelerini içeren tabaka, orta kısmında TZF pıhtı, yüzeyinde aselüler plazma oluşmaktadır (Şekil 2.8). Trombositler teorik olarak fibrin ağın içine çekilmiştir (60,61).

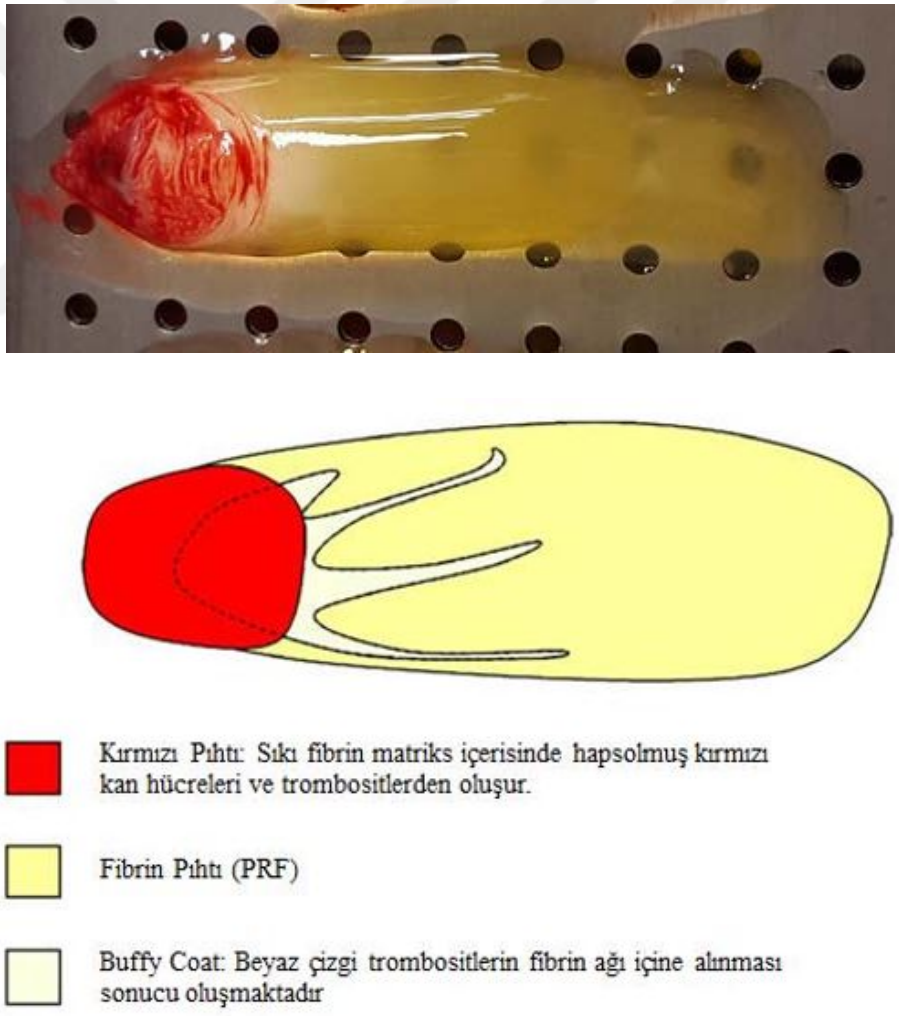


Şekil 2.8. TZF hazırlanması sırasında santrifüj sonrası tüpte oluşan tabakalar (60).

Tüp açıldığında ilk olarak sıvı olan aselüler plazma steril bir enjektör yardımı ile ayrıldıktan sonra bir presel yardımıyla TZF ve kırmızı kan hücreleri tüpten çıkartılır. Bir makas veya bistüri yardımıyla kırmızı kan hücreleri TZF'den kolaylıkla ayrılır. TZF'nin iki steril gaz tampon arasında sıkıştırılmasıyla da fibrin membran elde edilir (63,91).

Bu tekniğin başarısı, kanın alınması ve ardından santrifüje yerleştirilmesine ayrılan zamana bağlıdır. Çünkü kandaki trombositler tüpün duvarı ile temas ettiğinde, antikoagülan olmadığından, trombosit aktivasyonu ve fibrin polimerizasyonu hızla başlar. Kanın alınması için geçen süre ve santrifüje aktarma süresi uzar ise, fibrin dağınık bir şekilde polimerize olur ve kıvamı olmayan az miktarda kan pıhtısı oluştuğu gözlenir (61).

Elde edilen TZF pıhtı çıplak gözle bakıldığında esas gövdeyi oluşturan sarı fibrin kısım, sarımsı pıhtının altında yer alan kırmızı kısım ve bu iki kısım arasında bulunan *"Buffy Coat"* olarak adlandırılan kısımdan oluşmaktadır (Şekil 2.9)(61).



Şekil 2.9. TZF katmanlarının şematik görünümü (61).

2.3.5. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide TZF Kullanımı

TZF, içerdiği immün sistem elemanları ve yüksek trombosit sayesinde maksillofasiyal cerrahide yara iyileşmesini hızlandırmak amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır (63,64).

TZF, yeni kan damarı oluşumunu, fibroblastların ve osteoblastların çoğalmasını ve farklılaşmasını sağlaması ve antienflamatuar özelliği nedeniyle oral ve maksillofasiyal cerrahide soket korumasında, yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda, sinüs tabanı yükseltilmesinde, kemik defektlerinin tedavisinde, kist enükleasyonlarında, gingival çekilmelerde, endodontik cerrahide ve subdermal ogmentasyonda kullanılmaktadır (66).

Diş çekiminden sonra soket içerisine TZF yerleştirilmesi ile nörovaskülarizasyon ve epitelizasyon daha hızlı meydana gelmektedir. Yapılan klinik gözlemlerde TZF'nin soketin daha hızlı iyileşmesini sağladığı, iyileşme esnasında ağrı, alveolit ve enflamatuar komplikasyonların gözlenmediği bildirilmiştir (63,64). Özellikle üçüncü molar dişlerin çekiminde postoperatif ödemi azalttığı için rutin olarak kullanılması da tavsiye edilmektedir (92).

TZF'nin soket korumasında kullanıldığı bazı çalışmalarda kemik formasyonunun daha hızlı oluştuğu gözlenmiş, greft materyalleri gibi yabancı cisim reaksiyonu ve enflamasyon oluşturmadan iyileşmeyi hızlandırdığı ancak alveolar kemiğin genişlik ve yüksekliğinin idamesinde yetersiz olduğu belirtilmiştir (66).

Yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda kemik greft materyalleri ile birlikte kullanılan TZF sıklıkla membran formundadır. TZF yapısı gereği membran olarak kullanılabilecek esnekliktedir. Nemli iki spanç arasında aletler veya parmak basıncı ile sıkıştırılarak inceltilir ve membran olarak kullanılmaya hazır hale getirilir. TZF membranın kullanılması allojenik materyallere karşı gelişebilecek otoimmün reaksiyon ve enfeksiyon riskinin en aza indirgenmesini sağlamaktadır (67). TZF'nin membran olarak kullanıldığı çalışmalarda cerrahi bölgeyi koruduğu, greft materyalinin dağılmasını önlediği, yumuşak dokunun rejenerasyonunu hızlandırıp kalınlığını arttırdığı bildirilmiştir (73,93). Ayrıca greft materyalinin üzerinin fibrin dokusu ile örtülmesi greftin ekspoze olmasını dolayısıyla rezorbsiyonu önlemektedir (94).

TZF'nin parçalara ayrılarak kemik greft materyali ile karıştırılmasıyla biyolojik bir köprü vazifesi görerek yeni damarlanmayı, kök hücrelerin ve osteoprogenitör hücrelerin greftin merkezine göç etmesini sağladığı rapor edilmiştir (95). Bu sonuçlar, TZF'nin kemik greft materyallerinin yerini alamayacağını ancak bariyer membran görevini üstlenebileceğini, periost ve gingiva gibi yumuşak dokuların da iyileşmesini tetikleyebileceğini belirtmektedir (63,66). TZF membranların uygulandıkları bölgede yaklaşık 10 gün içerisinde çözündüğü ve bu sürenin diğer rezorbe olabilen membranlarda en az 4-8 hafta olduğu göz önünde bulundurularak TZF membranın stabilitesini arttırmak amacıyla ısı-kompres tekniğiyle yeni bir TZF membran geliştirilmiştir. Fibrin liflerinin çapraz bağlanmasını arttırıp yüzey alanını azaltmayı amaçlayan bu teknik ile membranın çözünme direnci arttırılıp kollajen depozisyonu ve fibroblast / miyofibroblast proliferasyonu kolaylaştırılmaktadır (96).

TZF'nin maksiller sinüs tabanı yükseltilmesinde kemik greft materyalleri ile birlikte ya da tek başına greft materyali yerine kullanılarak kemik oluşumuna etkisini değerlendiren çalışmalar literatürde mevcuttur. TZF'nin farklı greft materyalleri ile birlikte sinüs tabanı yükseltilmesinde kullanıldığı çalışmalarda, kemik oluşum miktarının kontrol grupları ile kıyaslandığında anlamlı derecede farklı olmadığı ancak kemik oluşumunun daha hızlı gerçekleştiği gözlenmiştir (64,97-99). TZF'nin lateral pencere ya da krestal yaklaşım ile birlikte tek greft materyali olarak kullanıldığı çalışmalarda ise kemik iyileşmesini hızlandırdığı ve diğer greft materyallerinin yerine kullanılabilecek uygun bir materyal olduğu bildirilmiştir (100-102).

Kist enükleasyonundan sonra kist kavitesinde oluşan ve iyileşmeyi başlatan kan pıhtısı içerisindeki büyüme faktörü miktarı TZF'ye oranla çok daha azdır. Bu da kavitenin 6-12 ay içerisinde yüksek bir rezorbsiyonla iyileşmesi anlamına gelmektedir. Kist enükleasyonu sonrası kist kavitesi TZF ile doldurulursa kavitenin 2 ay gibi kısa bir sürede iyileşebileceği literatür bilgisinde yer almaktadır (63,64).

TZF'nin pıhtı ya da membran formunun antikoagülan kullanan hastalarda, çenelerde ilaca bağlı gelişen osteonekrozun (MRONJ) önlenmesinde ve tedavisinde kullanımı ile ilgili yapılan çalışmaların oldukça pozitif sonuçlar verdiği bildirilmiştir (103). Ayrıca tümör rezeksiyonu sonrası oluşan kemik defektlerinin tedavisinde,

TZP’nin aksine katı bir materyal olan TZF’nin tek başına ya da greft materyali ile beraber kullanımının da tatmin edici sonuçları rapor edilmiştir (104).

TZF kullanılarak nazolabial sulkusun ogmente edilmesi ile ilgili yapılan klinik çalışmalarda 2 hafta içerisinde bölgede gözle görünür miktarda belirginleşme gözlenmiştir. Bu teknikte intradermal olarak TZF bölgeye enjekte edilmektedir. Enjeksiyondan sonra bölgede birkaç gün süre ile ekimoz ve ödem gözlenmektedir. Tedaviden 1-2 hafta sonra bölgede ciddi bir kozmetik gelişme olduğu kaydedilmektedir (105,106).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız prospektif, randomize ve kontrollü deney olarak tasarlandı. Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 10 Nisan 2015 tarih ve 15/47 nolu kararı ile etik kurul onayı alındı. Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Bilimsel Araştırma Kurulu'nun 27 Kasım 2015 tarih ve AR-2015/20 nolu kararı ile projelendirildi ve maddi destek sağlandı.

3.1. Deney Hayvanları ve Grupları

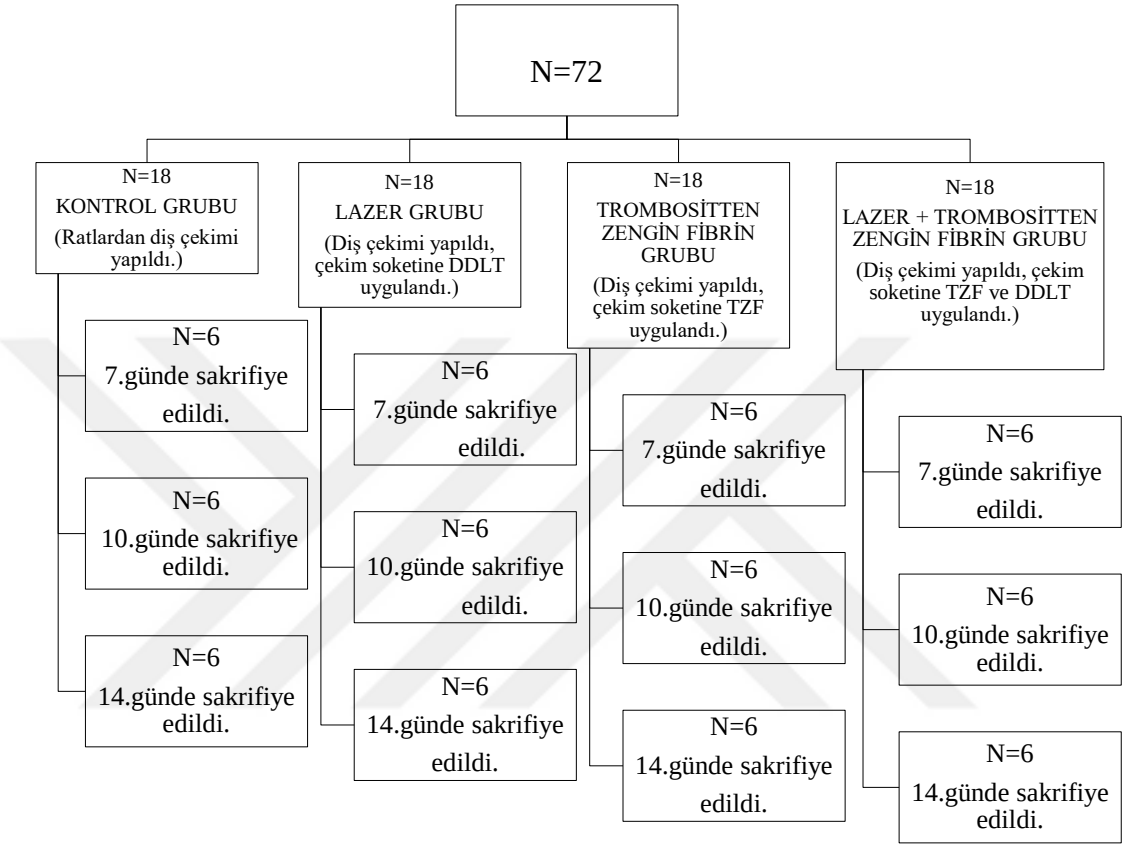
Çalışmamızda toplam 72 adet wistar rat kullanıldı (Şekil 3.1). Power analizi ile deney ve kontrol grubundaki hayvan sayıları tespit edildi. Ağırlıkları 200-300 gr arasında değişen 12 haftalık sağlıklı 72 adet dişi wistar rat, kontrol (K), lazer (L), trombositten zengin fibrin (T) ve lazer-trombositten zengin fibrin (LT) olarak 4 gruba ayrıldı. Her grup 7., 10. ve 14. günlerde sakrifiye edilmek üzere üç alt gruba ayrıldı. İstatiksel olarak her alt grupta 6 hayvan olması planlandı (Tablo 3.1). Çalışmamız süresince deneklere uzman veteriner hekimlerin kontrolünde standart bakım ve besin rejimi uygulandı.

Çalışmamızda kullandığımız 72 adet rat aşağıdaki gibi gruplandırılıp isimlendirilmiştir:

1. K-1: 7. günde sakrifiye edilen kontrol grubu (n=6).
2. K-2: 10. günde sakrifiye edilen kontrol grubu (n=6).
3. K-3: 14. günde sakrifiye edilen kontrol grubu (n=6).
4. L-1: 7. günde sakrifiye edilen ve DDLT uygulanan denek grubu (n=6).
5. L-2: 10. günde sakrifiye edilen ve DDLT uygulanan denek grubu (n=6).
6. L-3: 14. günde sakrifiye edilen ve DDLT uygulanan denek grubu (n=6).
7. T-1: 7. günde sakrifiye edilen ve TZF uygulanan denek grubu (n=6).
8. T-2: 10. günde sakrifiye edilen ve TZF uygulanan denek grubu (n=6).
9. T-3: 14. günde sakrifiye edilen ve TZF uygulanan denek grubu (n=6).
10. LT-1: 7. günde sakrifiye edilen DDLT ve TZF uygulanan denek grubu (n=6).
11. LT-2: 10. günde sakrifiye edilen DDLT ve TZF uygulanan denek grubu (n=6).

12. LT-3: 14. günde sakrifiye edilen DDLT ve TZF uygulanan denek grubu (n=6).

Tablo 3.1. Çalışmanın şematik olarak gösterimi





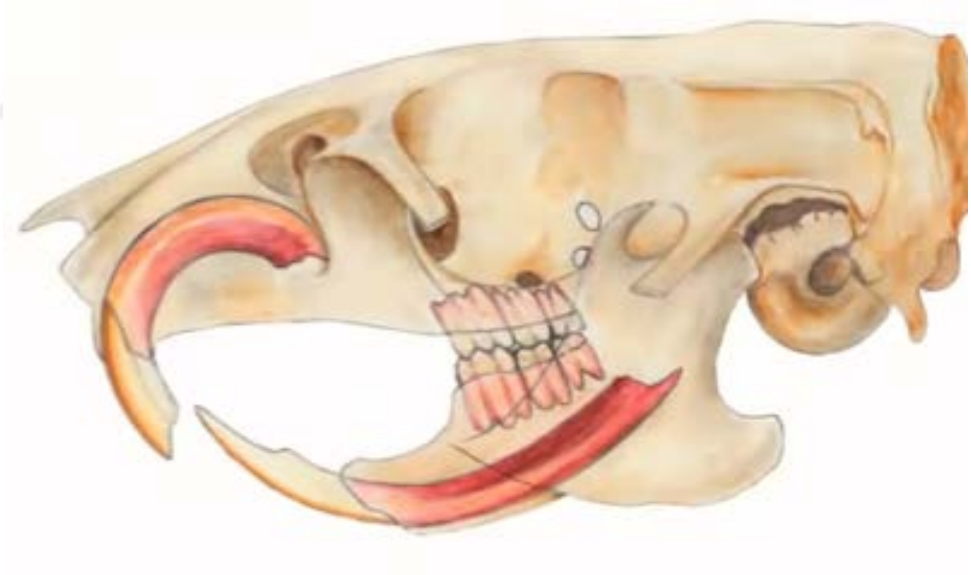
Şekil 3.1. Wistar Rat

3.2. Deney Hazırlığı

Rastgele seçilen ağırlığı 200-300 gr arasında değişen 12 haftalık 72 adet dişi rat, çalışma gruplarına uygun olacak şekilde 6'şarli olarak paslanmaz çelik kafeslere yerleştirildi. Ratlar, %30-70'lik nem koşullarındaki kontrollü odalarda barındırıldı. Denekler, çalışma öncesinde standart ışık (12 saat gün ışığı / 12 saat karanlık) ve sıcaklık (20±2 ºC) koşullarında bekletilip, standart yem ve su ile beslendi. Odanın temizliği günlük, kafeslerin temizliği haftada bir yapıldı. Yeni ortama adaptasyonları sağlamak amacıyla çalışmaya başlamadan önce 1 hafta beklendi.

3.3. Diş Çekimi

Deneklerin 2 üst ve 2 alt olmak üzere 4 adet keser, 6 üst ve 6 alt olmak üzere 12 adet molar dişi, toplamda da 16 adet dişi bulunmaktadır (Şekil 3.2)(107). Ulaşım ve uygulama kolaylığı nedeniyle deneklerin birer adet maksiller keser dişinin çekimine karar verilmiştir.



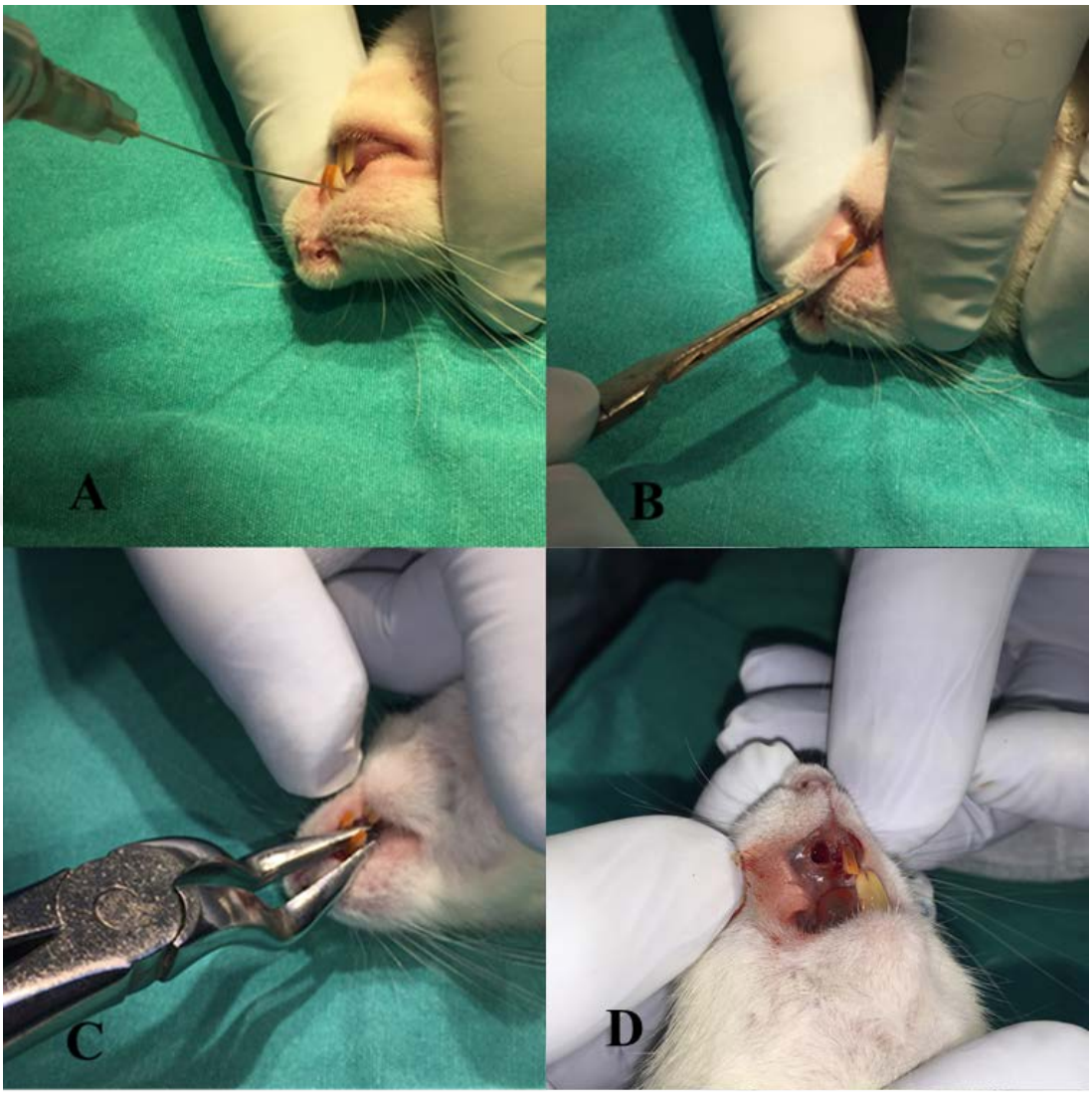
Şekil 3.2. Rat kafatası anatomisi (103).

Çalışmaya K ve L gruplarındaki deneklerin diş çekimleri ile başlanmıştır. T ve LT gruplarındaki deneklerin diş çekimleri, K gruplarındaki denekler sakrifiye edildikten sonra gerçekleştirilmiştir. K gruplarındaki denekler TZF elde etme amacıyla donör olarak kullanılmıştır. Tüm gruplarda yer alan ratların dişlerinin çekimi için ketamin HCI (Alfamine %10) 90 mg/kg I.M. ve xylazin HCl (Alfazyne %2) 10 mg/kg

I.M. enjeksiyonu yapılarak ratlar genel anestezi altına alındı (Şekil 3.3). Hayvanlara 0.1 cc lik artikain HCl (Fullcain Ampul, Onfarma) ile lokal anestezi uygulandı. 15 numaralı bistüri ucu ile üst keser dişler arasına girilip elevasyon yapıldıktan sonra bir bayonet yardımıyla lüksasyon yapılarak diş çekimi gerçekleştirildi (Şekil 3.4, Şekil 3.5). Çekimi tamamlanan deneklerin küçük steril gaz tamponla kanama kontrolü sağlandı. Deneklerin 7., 10., ve 14. günlerde sakrifikasyonları gerçekleştirildi.



Şekil 3.3. Genel anestezi uygulaması. A. Ketamin HCl (Alfamine %10) 90mg/kg ve xylazin HCl (Alfazyne %2) 10mg/kg. B. I.M enjeksiyon.



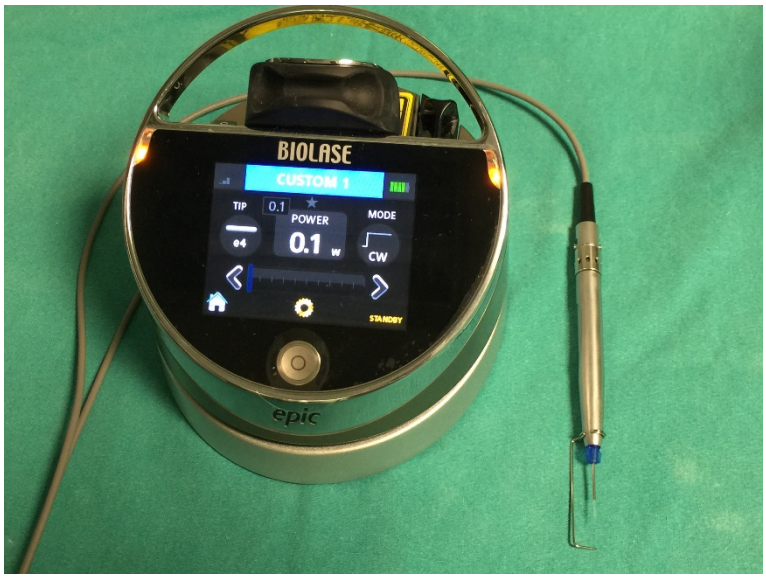
Şekil 3.4. Diş çekiminin aşamaları. A. 0.1 cc lik artikain HCl (Fullcain Ampul, Onfarma) ile lokal anestezi uygulaması. B. 15 numaralı bistüri ucu ile elevasyon yapılması. C. Bayonet yardımıyla lüksasyon yapılarak dişin çekimi. D. Diş çekimi sonrası çekim soketi.



Şekil 3.5. Çekilen maksiller keser diş.

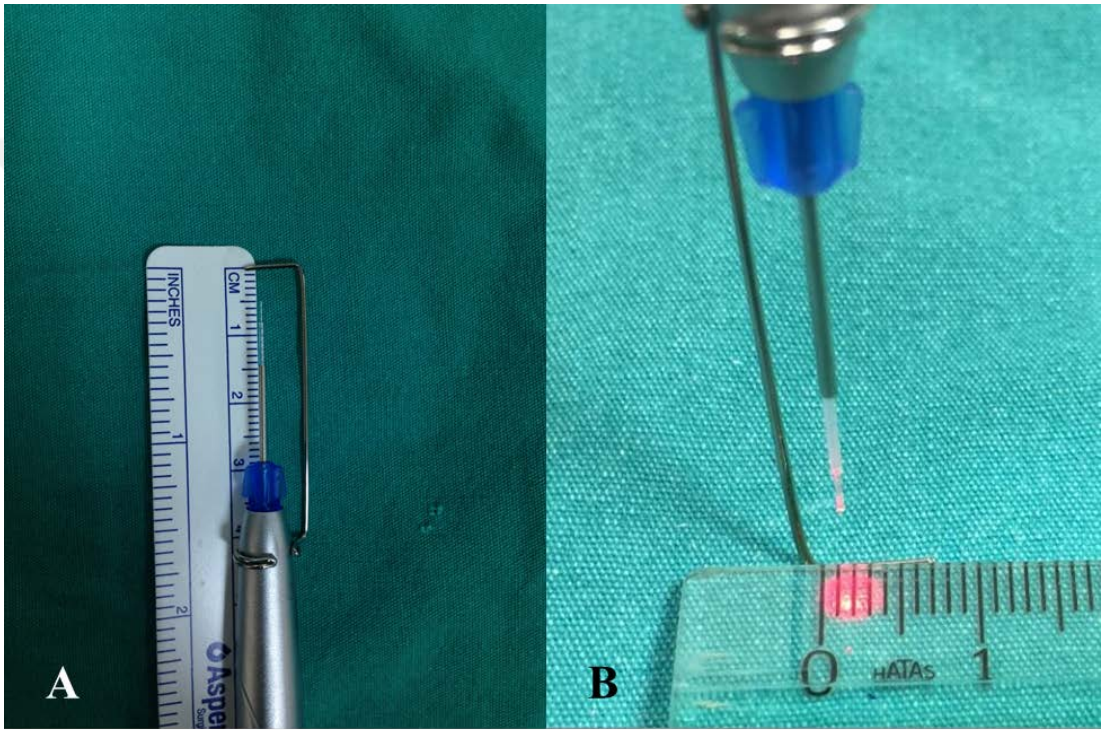
3.4. Lazer Uygulaması

Çalışmada kullanılan Biolase Epic™ 10 (USA) modeli lazer cihazı, 940±10 nm dalga boyunda, elektomanyetik dalga boyu spektrumunun kızılötesi, görünmeyen lazer bölümünde yer alan ve aktif ortamı Indiyum, Galyum, Arsenid ve Fosfor gibi yarı iletken katı maddelerden oluşan InGaAsP diyot lazerdir (Şekil 3.6). Devamlı veya kesintili akım modunda çalışabilmekte ve 10 W güç üretebilmektedir.



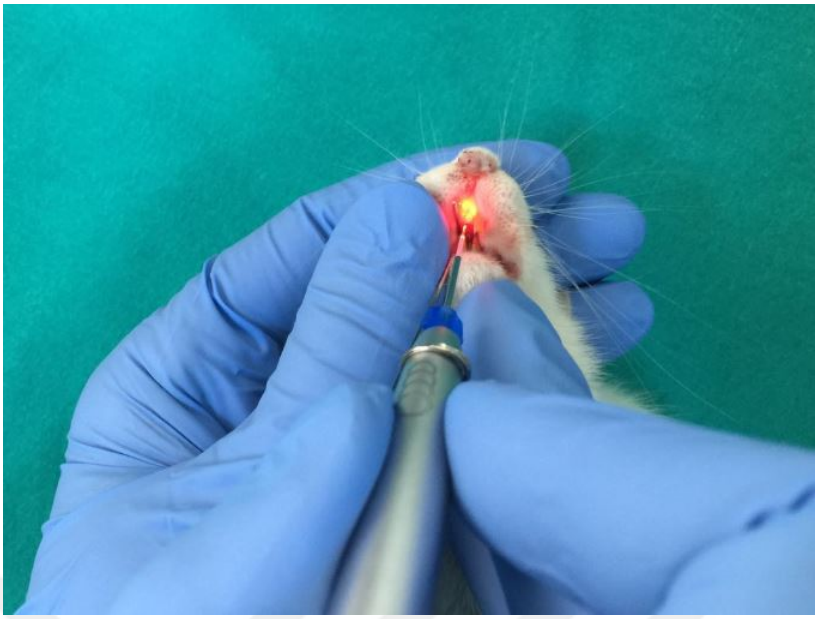
Şekil 3.6. Çalışmada kullanılan InGaAsP diyot lazer cihazı (Biolase Epic™ 10, USA).

Cihazın üzerinde medikal kullanım amacıyla tanımlanmış çok sayıda program bulunmaktadır. Ancak manuel ayarlama fonksiyonu ile istenilen enerji düzeyi ayarlanabilmektedir. Bu çalışmada da manuel ayarlama ile L ve LT grubundaki deneklere 100 mW güçte lazer ışını, devamlı akım modunda 5 sn boyunca, lazer probuna takılan ortodontik telden bükülen bir aparatla çekim soketine 5 mm uzaklıktan 0,1256 cm^2 'lik ışınlama alanı sağlanacak şekilde uygulanmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Lazer ışınının standardizasyonu için kullanılan aparat. A. Lazer uygulanacak alana 5 mm uzaklığın sağlanması. B. 0,1256 cm^2 'lik ışınlama alanı (Işınlama alanı = πr^2, r = 0,2 cm) oluşturulması.

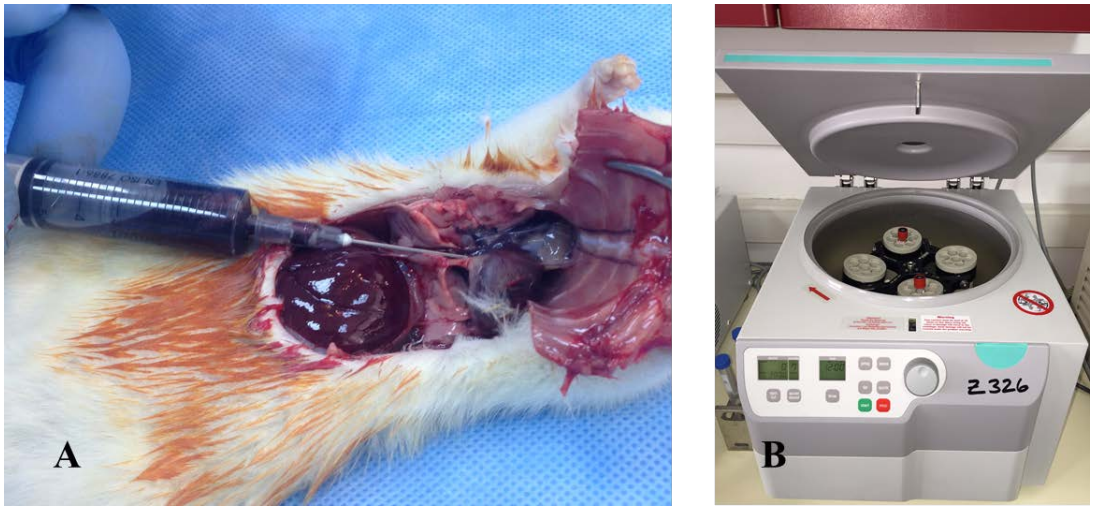
Deneklere lazer uygulaması, diş çekimini takiben işlemin yapıldığı gün dahil üç günde bir (0., 3., 6., 9., 12. günlerde) aynı saatte, günlük doz yaklaşık 4 J/cm^2 (0,1 W x 5 sn / 0.1256 cm^2 = 3,981 J/cm^2), toplam doz ise 12-20 J/cm^2 olacak şekilde intraoral olarak yapılmıştır. Lazer uygulamaları diş çekiminin yapıldığı seans denekler genel anestezi altındayken, sonraki uygulama seansları ise bir yardımcı eşliğinde denekler sabitlenerek gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.8). Lazer uygulaması sonunda denekler 7., 10., ve 14. günlerde sakrifiye edilmiştir.



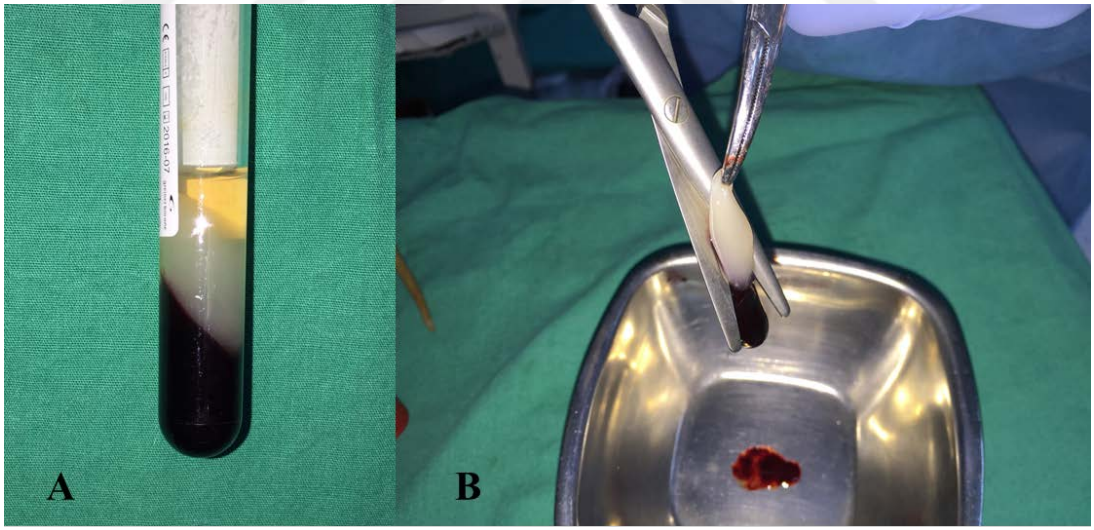
Şekil 3.8. Lazer uygulaması.

3.5. Trombositten Zengin Fibrin Uygulaması

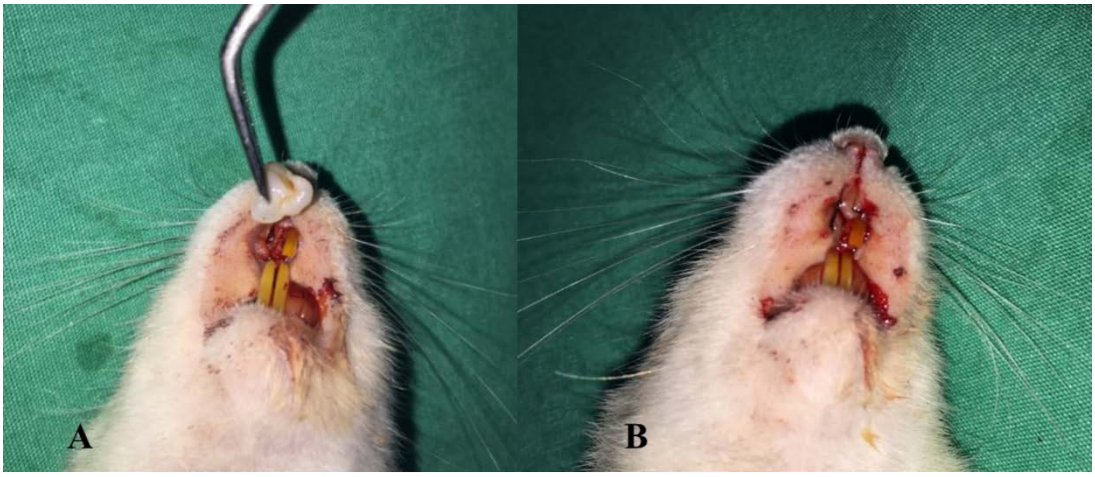
K gruplarındaki deneklerden sakrifikasyon günlerinde alınan intrakardiyak kandan elde edilen TZF, T ve LT gruplarındaki deneklerin çekim soketlerine uygulanmıştır. K gruplarındaki deneklerden sakrifikasyon günlerinde genel anestezi altında 22 G 5 ml'lik enjektörle intrakardiyak 4 ml kan alınmıştır. Elde edilen kan antikoagülan içermeyen 9 ml'lik cam kaplı plastik tüplere alınarak 3000 rpm'de 12 dk Hermle Z 326 (Hermle Labortechnik GmbH, Wehingen, Almanya) cihazı ile santrifüj edilmiştir (Şekil 3.9). Santrifüj sonunda tüpün tabanında kırmızı kan hücrelerini içeren tabaka, orta kısmında TZF pıhtı ve yüzeyinde aselüler plazma gözlenmiştir. Presel yardımıyla fibrin pıhtı tüpten çıkarılarak fibrinin alt kısmına tutunan kırmızı kan hücreleri makas yardımıyla uzaklaştırılmıştır (Şekil 3.10). T grubundaki deneklerin diş çekimi sonrasında, LT grubundaki deneklerin ise diş çekimi ve lazer uygulamaları sonrasında çekim soketlerine vakit kaybetmeden TZF uygulanarak 6/0 ipek sütür (Doğsan, Trabzon, Türkiye) ile stabilizasyonu sağlanmıştır (Şekil 3.11).



Şekil 3.9. TZF için kan alımı ve santrifüj işlemi. A. Genel anestezi altında donör ratlardan 22 G 5 ml'lik enjektörle intrakardiyak 4 ml kan alınması. B. Çalışmada kullanılan Hermle Z 326 (Hermle Labortechnik GmbH, Wehingen, Almanya) santrifüj cihazı.



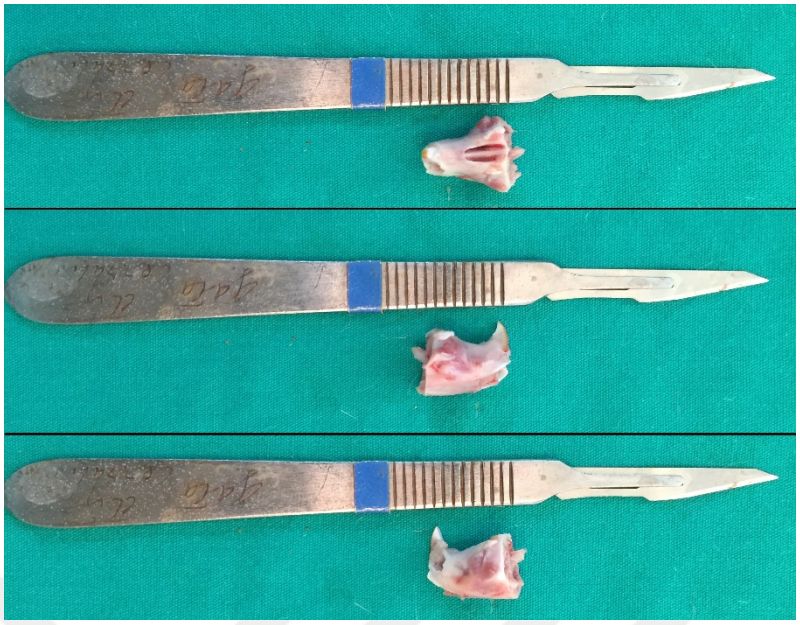
Şekil 3.10. Santrifüj sonrası elde edilen TZF. A. Santrifüj sonunda tüpün tabanında kırmızı kan hücrelerini içeren tabaka, orta kısmında TZF pıhtı ve yüzeyinde aselüler plazma gözlenmiştir. B. Tüpten çıkarılan fibrinin alt kısmına tutunan kırmızı kan hücreleri makas yardımıyla uzaklaştırılmıştır.



Şekil 3.11. T ve LT grubundaki deneklere TZF uygulanması. A. Diş çekimi sonrası soketin ve uygulanacak olan TZF'nin görüntüsü. B. Çekim soketine TZF uygulanarak 6/0 ipek sütür (Doğsan, Trabzon, Türkiye) ile stabilizasyonunun sağlanması.

3.6. Çalışmanın Sonlandırılması ve Maksiller Kemik Blokların Elde Edilmesi

Çalışma sonunda sakrifikasyon günlerine göre gruplandırılan 72 adet rat Ketamin HCl (Alfamine %10) 90mg/kg ve xylazin HCl (Alfazyne %2) 10mg/kg intramusküler yolla genel anestezi altına alındı. İntrakardiyak olarak uygulanan yüksek doz ketamin ile deneklerin sakrifikasyonu gerçekleştirildi. Sakrifikasyon sonrasında, çekim soketlerinin incelenmesi amacıyla kafatasının cilt ve cilt altı dokularının diseksiyonunu takiben açığa çıkarılan maksiller kemikler zigomatik ark önünden elmas separe disk yardımı ile rezeke edildi (Şekil 3.12). Elde edilen kemik bloklar %10'luk formaldehit dolu biyopsi kaplarında muhafaza edildi. Daha sonra kemik örnekleri, çekim soketindeki kemik iyileşmesinin değerlendirilmesi için histolojik incelemeye alındı.



Şekil 3.12. Maksiller kemik blok.

3.7. Histolojik Değerlendirme

Sakrifikasyon sonrası elde edilen örnekler, %10'luk tamponlanmış formalin solüsyonunda (neutral phosphate-buffered formalin) 24–72 saat fikse edildikten sonra %10'luk formik asit içinde dekalsifikasyonları sağlandı. İki günde bir %10'luk formik asit solusyonları değiştirilmek suretiyle, bir haftada dekalsifikasyonları tamamlanan örnekler bir gece boyunca akar suda yıkanıp, rutin doku takip prosedürünü takiben parafin bloklara gömüldü. Dokulardan, adheziv lamlara (Surgipath, X-tra Adhesive Microslides, Illinois, USA) rutin hemotoksilen-eozin boyaması için yaklaşık 4-5 µm kalınlığında, sagital düzlemde kesitler alındı.

Kesitler, 70^{o}C'de etüv içinde bir saat deparafinize edilip, sırasıyla 30'ar dakika ksilol ve alkolde bekletildikten sonra çeşme suyunda yıkanıp boyama işlemine tabi tutuldu.

Histopatolojik inceleme için rutin Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanan kesitler, Leica DM 4000 B (Leica Microsystems GmbH. Wetzlar, Germany) ışık mikroskobunda histolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirildi.

Çekim soketleri, oluşan yeni kemik miktarı ve iyileşme süresince gözlenen enflamatuar hücre sayısı yönünden değerlendirilmiştir. Yeni kemik miktarı semikantitatif yöntemle, 100 birimlik oküler grid kullanılarak x400 büyütmede tüm soketin içinde oluşan yeni kemik miktarı (μm^2) ölçülerek saptanmıştır (108,109). Enflamatuar hücre sayısı hesaplanırken 100 birimlik oküler grid kullanılmıştır. Enflamatuar hücreler x400 büyütme altında 5 büyük büyütme alanında sayılarak ortalamaları hesaplanmıştır (110). Elde edilen veriler grup içi ve gruplar arası birbirleriyle karşılaştırılmıştır.

3.8. İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmada elde edilen veriler IBM SPSS Statistics Version 20 (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, IL) paket programı ile analiz edilmiştir.

Değişkenlerin normal dağılımdan gelme durumları araştırılırken birim sayıları nedeniyle Shapiro Wilk's' den yararlanılmıştır. Sonuçlar yorumlanırken anlamlılık düzeyi olarak 0,05 kullanılmış olup; $p<0,05$ olması durumunda değişkenlerin normal dağılımdan gelmediği, $p>0,05$ olması durumunda ise değişkenlerin normal dağılımdan geldikleri belirtilmiştir.

İkiden çok bağımlı değişkenlerin analizlerinde normal dağılımdan gelmemeleri nedeniyle Friedman's Two-Way ANOVA kullanılmış; anlamlı farklılıkların çıkması durumunda çoklu karşılaştırma testlerinden yararlanılarak birbiriyle farklılık gösteren değişkenler tespit edilmiştir.

Gruplar arasındaki farklılıklar incelenirken değişkenlerin normal dağılımdan gelmemesi durumunda Kruskal Wallis-H Testi'nden yararlanılmıştır. Kruskal Wallis-H Testi'nde anlamlı farklılıkların görülmesi durumunda Post-Hoc Çoklu Karşılaştırma Testi ile aralarında farklılık olan gruplar belirlenmiştir.

Sonuçlar yorumlanırken anlamlılık düzeyi olarak 0,05 kullanılmış olup; $p<0,05$ olması durumunda anlamlı bir ilişkinin olduğu, $p>0,05$ olması durumunda ise anlamlı bir ilişkinin olmadığı belirtilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya K grubunda 18, L grubunda 18, T grubunda 18 ve LT grubunda 18 adet olacak şekilde 72 Wistar rat ile başlanmıştır. Çalışma süresince kontrol grubundan 18 hayvanın 3 tanesi (%16.6), L grubundan 18 hayvanın 3 tanesi (%16.6), T grubundan 18 hayvanın 3 tanesi (%16.6), LT grubundan 18 hayvanın 3 tanesi (%16.6) ölmüştür. 7 denek operasyonu tolere edemediğinden, 5 denek ise beslenme sorunundan dolayı kaybedilmiştir. Çalışmadan çıkarılan rat olmamıştır. Çalışma 60 rat ile tamamlanmıştır. Geriye kalan 60 adet rat cerrahi işlemi iyi tolere etmiştir ve herhangi bir komplikasyon gelişmemiştir. 7., 10. ve 14. günlerde sakrifiye edilecek ratlar rastgele olarak seçilmiştir. Elde edilen materyallerin histolojik ve histomorfometrik bulguları aşağıda yer almaktadır.

4.1. Histolojik Bulgular

4.1.1. Kontrol Grubu Bulguları

4.1.1.1. K1 (7. Gün) Grubu

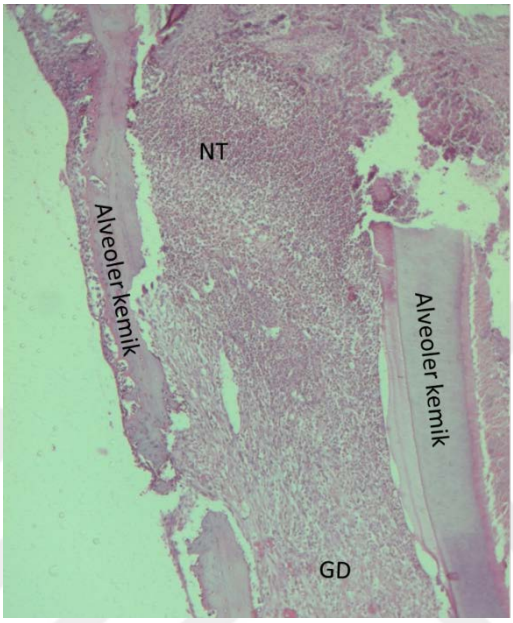
Tablo 4.1. Kontrol grubunun 7. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları.

7. Gün				
Grup	Denekler n=6	Kemik Miktarı (μm^2)	Ortalama Nötrofil Sayısı	Ortalama Lenfosit Sayısı
K1	K1-1	100468,75	53	8
	K1-2	90781,25	53	7
	K1-3	96718,75	50	11
	K1-4	99687,5	47	7
	K1-5	80937,5	49	7
	K1-6	92968,75	49	8

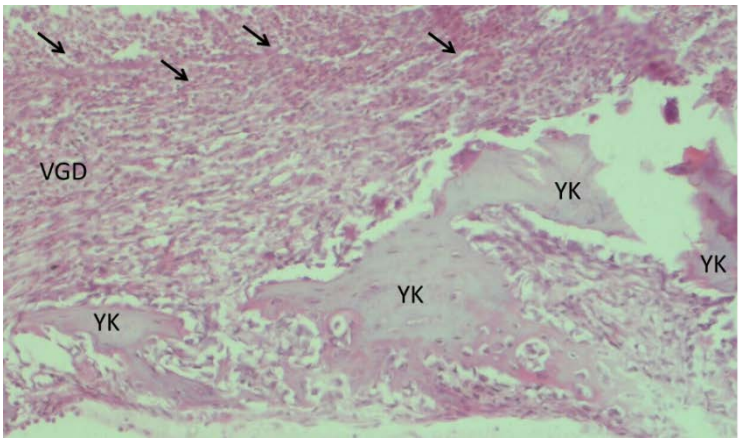
K1 grubundaki deneklerde oluşan yeni kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları Tablo 4.1' de verilmiştir.

Gruptaki örneklerin tamamında çekim kavitesinin ağzının çok katlı yassı epitelle örtülmeye başlandığı izlenmiştir. Çekim soketinin tabanından itibaren %10-

20’ lik bir bölümü fibroblast ve kapiller proliferasyonu ile az sayıda enflamatuar hücre içeren granülasyon dokusu ile dolmuştur. Çekim soketinin alveol kret tepesinden itibaren yaklaşık 2/3 kadarı fibrin zemin üzerinde yoğun nötrofil topluluğundan oluşmaktadır (Şekil 4.1). Örneklerin tamamında çekim soketinin 1/3 tabanından başlayan %5-10’ luk bir bölümde kemik matriks yapımı izlenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.1. Alveol kret tepesinden itibaren çekim soketini dolduran yüzeyde nötrofilden, soket tabanında ise lenfositten zengin enflamasyon (HE x100, NT: nötrofil topluluğu, GD: granülasyon dokusu).



Şekil 4.2. Soket tabanındaki fibrovasküler granülasyon dokusu ve alveoler kemiğe komşu yeni kemik trabekülleri (HE x200, Ok: lenfosit, VGD: vaskülarize granülasyon dokusu, YK: yeni kemik).

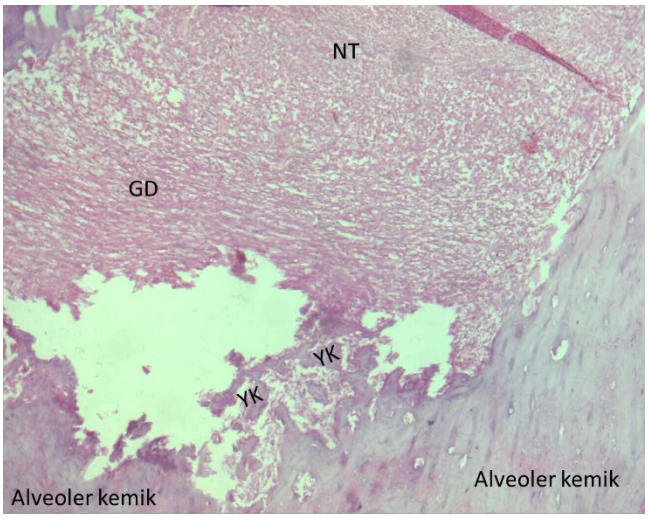
4.1.1.2. K2 (10. Gün) Grubu

Tablo 4.2. Kontrol grubunun 10. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları.

10. Gün				
Grup	Denekler n=5	Kemik Miktarı (μm^2)	Ortalama Nötrofil Sayısı	Ortalama Lenfosit Sayısı
K2	K2-1	100156,25	49	12
	K2-2	100781,25	51	11
	K2-3	90468,75	47	11
	K2-4	128250	45	10
	K2-5	119531,25	45	14
	K2-6	-	-	-

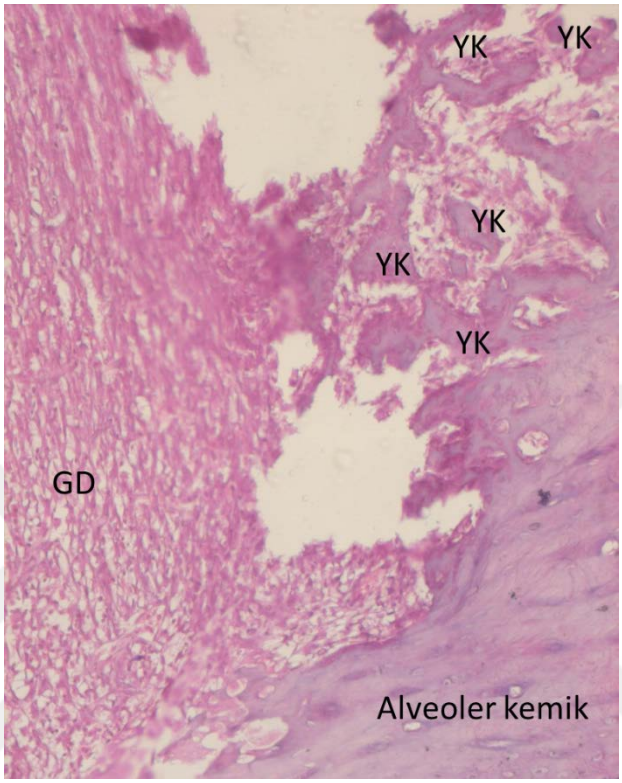
K2 grubundaki deneklerde oluşan yeni kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları Tablo 4.2' de verilmiştir.

Gruptaki deneklerin çoğunda çekim kavitesinin ağzının çok katlı yassı epitelle örtüldüğü izlenmiştir. Çekim soketinin yüzeydeki mukoza epitelinin altından başlayarak tümüyle fibrin zemin üzerinde yoğun nötrofil topluluğuna sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Soket tabanında yer alan yeni kemik trabekülleri. Daha üst bölümlerde ise granülasyon dokusu ve nötrofil toplulukları (HE x100, NT: nötrofil topluluğu, GD: granülasyon dokusu, YK: yeni kemik).

Grubun tamamında çekim soketinin 2/3 tabanından itibaren fibrovasküler bağ doku ile dolu olduğu izlenmiştir. Çekim soketinin 1/3 tabanından başlayan % 20 oranında osteoid formasyonu izlenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Soket tabanındaki fibrovasküler granülasyon dokusu ve alveoler kemiğe komşu yeni kemik trabekülleri (HE x200, GD: granülasyon dokusu, YK: yeni kemik).

4.1.1.3. K3 (14. Gün) Grubu

Tablo 4.3. Kontrol grubunun 14. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları.

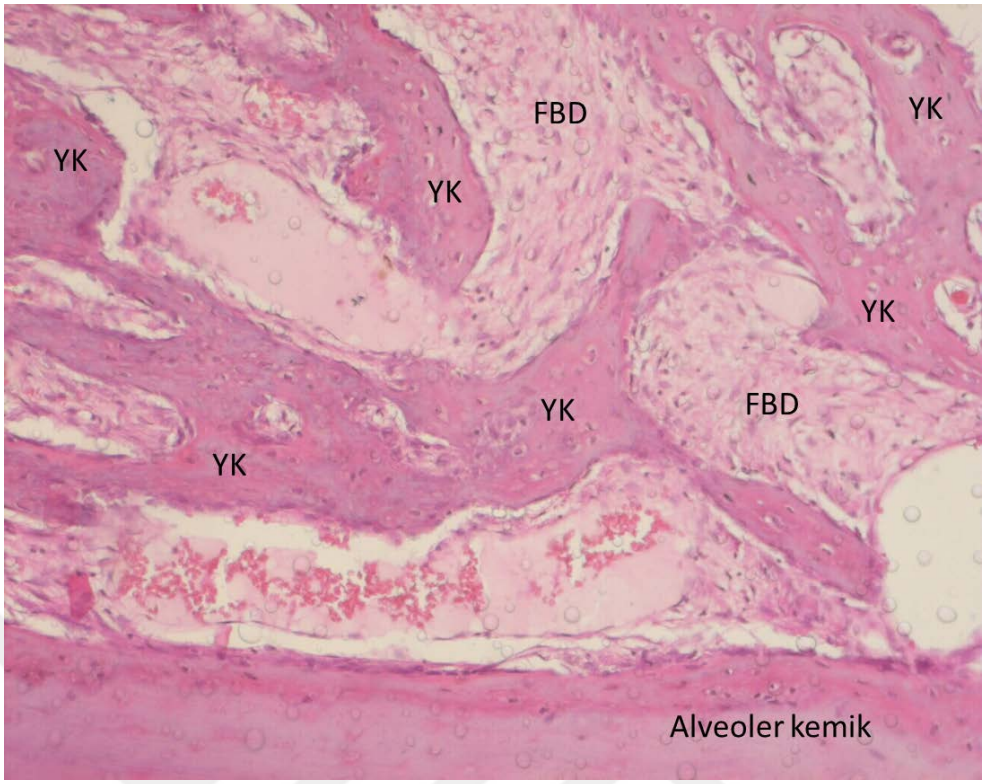
14. Gün				
Grup	Denekler n=4	Kemik Miktarı (μm^2)	Ortalama Nötrofil Sayısı	Ortalama Lenfosit Sayısı
K3	K3-1	227500	39	19
	K3-2	227656,25	41	18
	K3-3	222812,5	35	16
	K3-4	220000	38	17
	K3-5	-	-	-
	K3-6	-	-	-

K3 grubundaki deneklerde oluşan yeni kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları Tablo 4.3' te verilmiştir.

Gruptaki deneklerin tamamında çekim kavitesinin ağzının çok katlı yassı epitelle örtüldüğü izlenmiştir. Grubun tamamında çekim soketinin alveol kret tepesinden itibaren %60 oranında fibrovasküler granülasyon dokusu ile dolu olduğu görülmüştür (Şekil 4.5). Çekim soketinin tabanından başlayan yaklaşık % 40 oranında yeni kemik trabekülleri izlenmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.5. Soket içini dolduran fibrovasküler bağ dokusu ve alveoler kemiğe komşu yeni kemik trabekülleri (HE x100, FBD: fibrovasküler bağ dokusu, YK: yeni kemik).



Şekil 4.6. Soket içini dolduran fibrovasküler bağ dokusu ve alveoler kemiğe komşu yeni kemik trabekülleri (HE x200, FBD: fibrovasküler bağ dokusu, YK: yeni kemik).

4.1.2. Lazer Grubu Bulguları

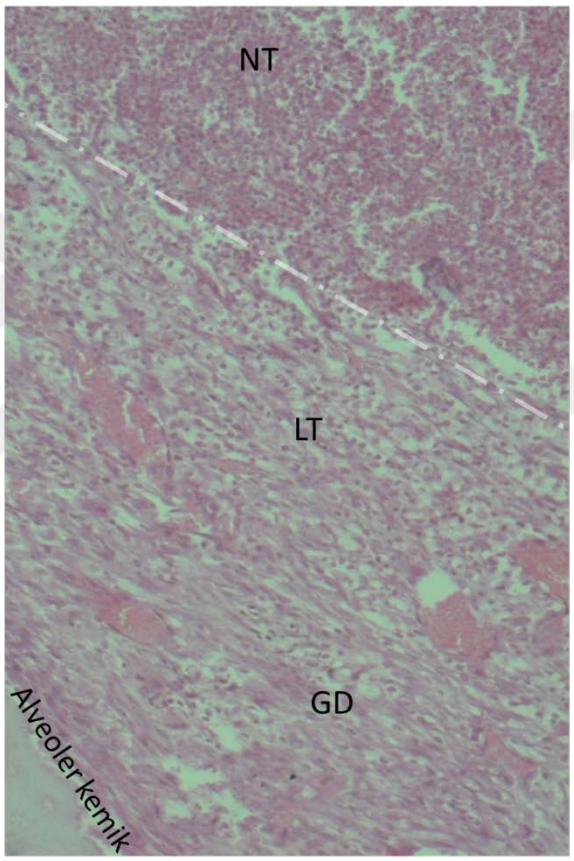
4.1.2.1. L1 (7. Gün) Grubu

Tablo 4.4. Lazer grubunun 7. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları.

10. Gün				
Grup	Denekler n=4	Kemik Miktarı (μm^2)	Ortalama Nötrofil Sayısı	Ortalama Lenfosit Sayısı
L1	L1-1	117968,75	43	10
	L1-2	124843,75	49	11
	L1-3	125937,5	50	11
	L1-4	105000	54	12
	L1-5	-	-	-
	L1-6	-	-	-

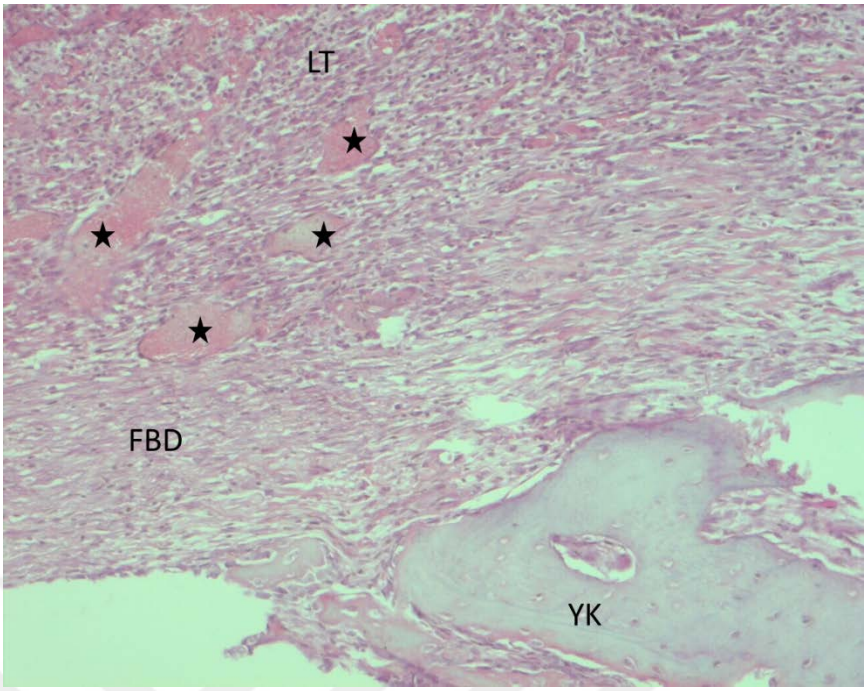
L1 grubundaki deneklerde oluşan yeni kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları Tablo 4.4’ te verilmiştir.

Gruptaki örneklerin tamamında çekim kavitesinin ağzının çok katlı yassı epitelle örtülmeye başlandığı fakat tamamlanmadığı izlenmiştir. Çekim soketinin alveol kret tepesinden itibaren yaklaşık 2/3 kadarı fibrin zemin üzerinde yoğun nötrofil topluluğundan oluşmaktadır (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Alveol kret tepesinden itibaren çekim soketini dolduran yüzeyde nötrofilden zengin soket tabanında ise lenfositten zengin enflamasyon ve granülasyon dokusu (HE x100, NT: nötrofil topluluğu, LT: lenfosit topluluğu, GD: granülasyon dokusu).

Çekim soketinin yaklaşık 1/3 tabanından itibaren granülasyon dokusu ve soket tabanında sınırlı %10-20’lik bölümde kemik trabekülleri izlenmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Soket tabanına yakın alanlarda lenfositik infiltrasyon, fibrovasküler bağ dokusu ve yeni kemik trabekülleri (HE x200, Yıldız: kapiller, FBD: fibrovasküler bağ dokusu, LT: lenfosit topluluğu, YK: yeni kemik).

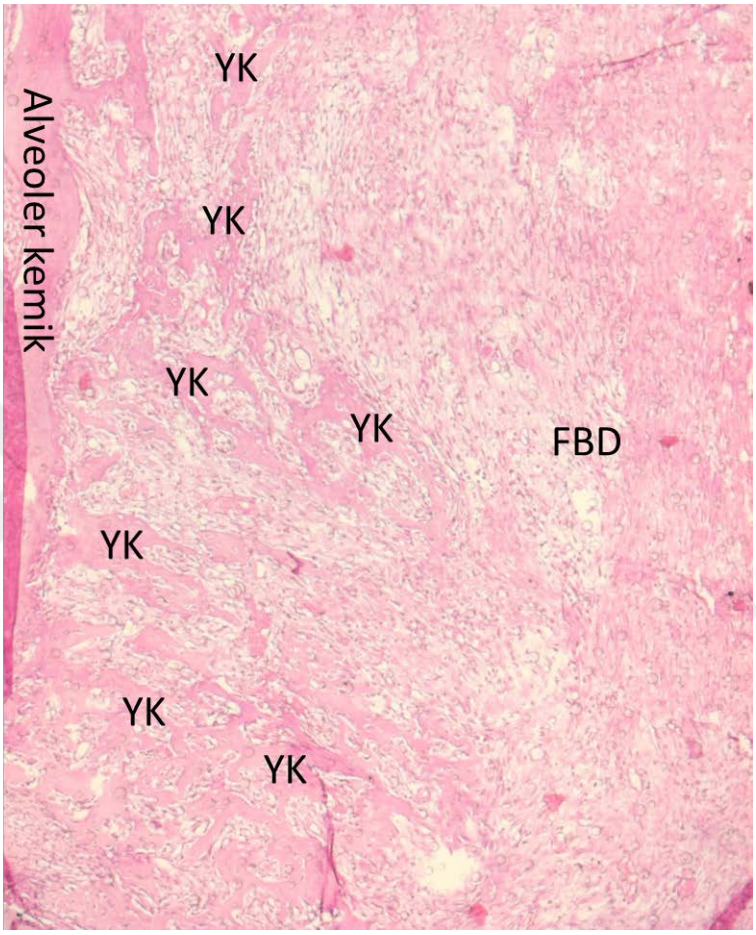
4.1.2.2. L2 (10. Gün) Grubu

Tablo 4.5. Lazer grubunun 10. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları.

10. Gün				
Grup	Denekler n=6	Kemik Miktarı (μm^2)	Ortalama Nötrofil Sayısı	Ortalama Lenfosit Sayısı
L2	L2-1	120937,5	43	14
	L2-2	156406,25	46	15
	L2-3	139062,5	40	12
	L2-4	110156,25	40	13
	L2-5	138437,5	41	15
	L2-6	108437,5	44	15

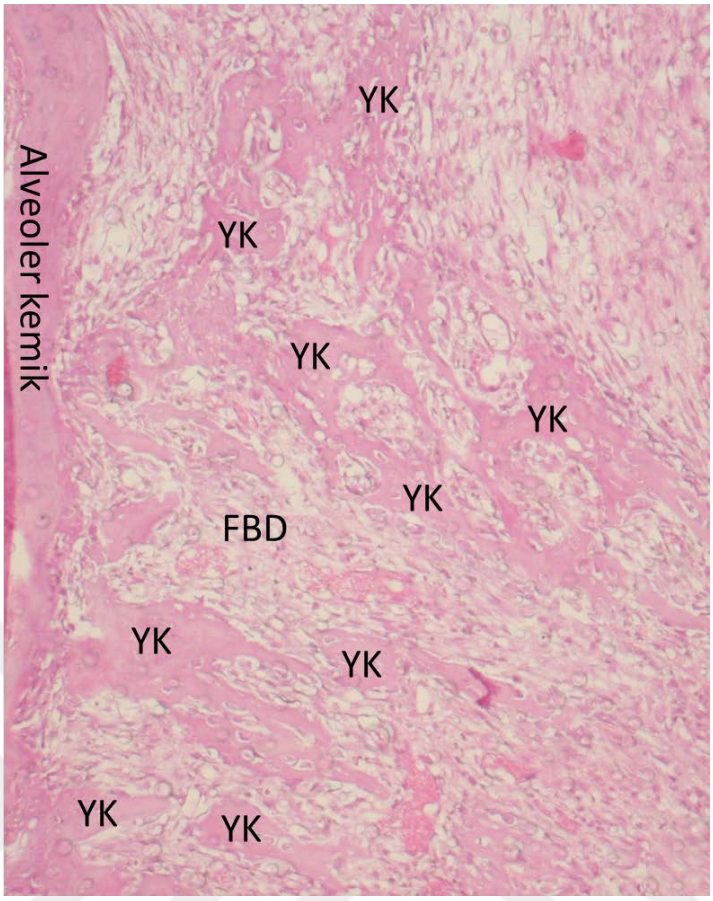
L2 grubundaki deneklerde oluşan yeni kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları Tablo 4.5' te verilmiştir.

Gruptaki deneklerin tamamında çekim kavitesinin ağzının çok katlı yassı epitelle örtüldüğü izlenmiştir. Çekim soketinin tabanından itibaren yaklaşık %50'lik bölümünü fibroblast ve kapiller proliferasyonu ile az sayıda enflamatuar hücre içeren granülasyon dokusu oluşturmaktadır (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Soket içini dolduran fibrovasküler bağ dokusu ve alveoler kemiğe komşu yeni kemik trabekülleri (HE x100, FBD: fibrovasküler bağ dokusu, YK: yeni kemik).

Granülasyon dokusu içerisinde yaklaşık %30 oranında yeni kemik trabekülleri izlenmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Soket içini dolduran fibrovasküler bağ dokusu ve alveol kemiğe komşu yeni kemik trabekülleri (HE x200, FBD: fibrovasküler bağ dokusu, YK: yeni kemik).

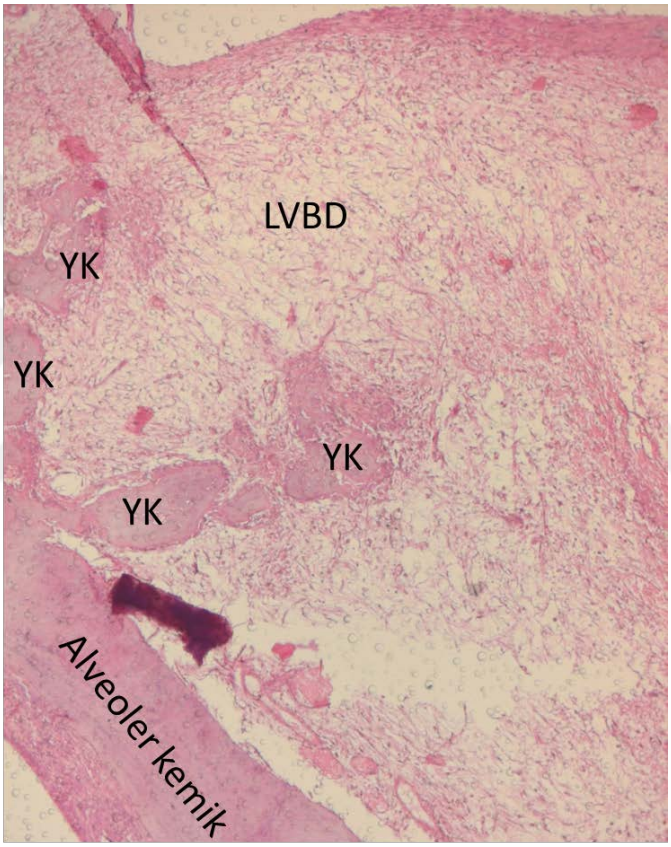
4.1.2.3. L3 (14. Gün) Grubu

Tablo 4.6. Lazer grubunun 14. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları.

10. Gün				
Grup	Denekler n=5	Kemik Miktarı (μm^2)	Ortalama Nötrofil Sayısı	Ortalama Lenfosit Sayısı
L3	L3-1	242343,75	35	15
	L3-2	246250	36	13
	L3-3	252968,75	33	13
	L3-4	238437,5	36	12
	L3-5	244218,75	34	12
	L3-6	-	-	-

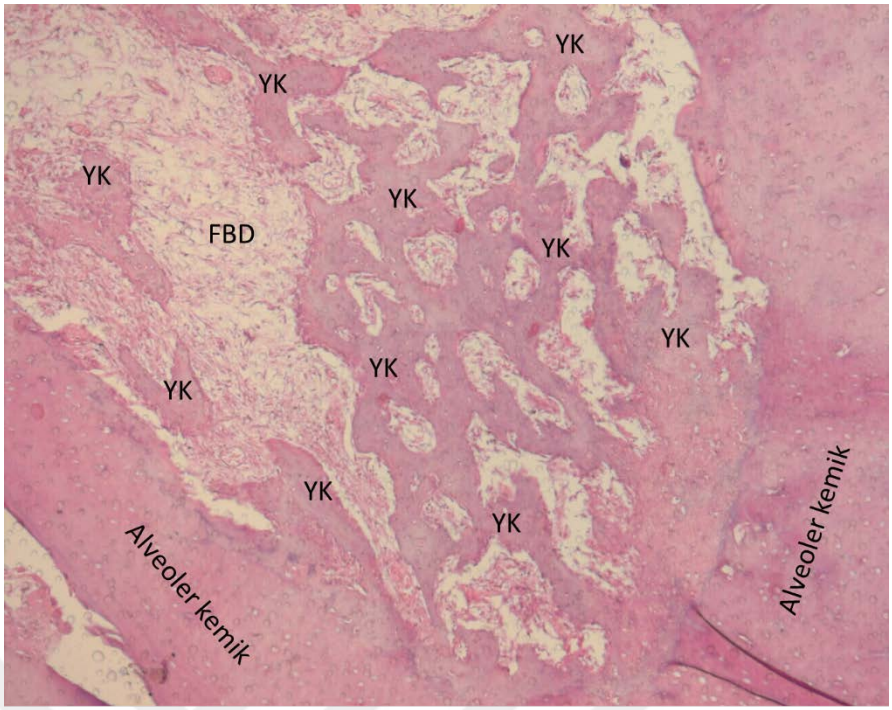
L3 grubundaki deneklerde oluşan yeni kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları Tablo 4.6’ da verilmiştir.

Gruptaki deneklerin tamamında çekim kavitesinin ağzının çok katlı yassı epitelle örtüldüğü izlenmiştir. Çekim soketinin tabanından itibaren yaklaşık %70’ini fibroblast ve kapiller proliferasyonu ile az sayıda enflamatuar hücre içeren granülasyon dokusu oluşturmaktadır (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Alveol kret tepesine yakın bölümde lenfositten zengin fibrovasküler bağ dokusu ve alveoler kemiğe komşu yeni kemik trabekülleri (HE x100, LVBD: lenfositten zengin vaskülarize bağ dokusu, YK: yeni kemik).

Örneklerin tamamında soketin 1/3 tabanından başlayan % 40 oranında yeni kemik trabekülleri izlenmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Soket tabanını dolduran fibrovasküler bağ dokusu ve alveoler kemiğe komşu yeni kemik trabekülleri (HE x200, FBD: fibrovasküler bağ dokusu, YK: Yeni kemik).

4.1.3. Trombositten Zengin Fibrin Grubu Bulguları

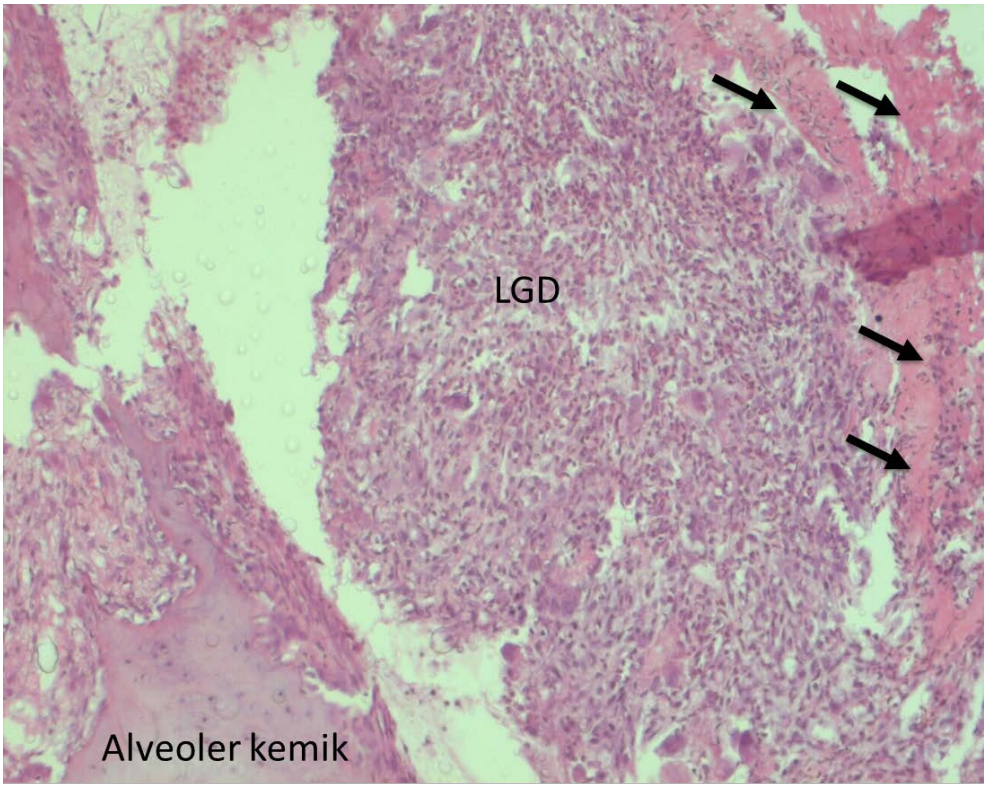
4.1.3.1. T1 (7. Gün) Grubu

Tablo 4.7. TZF grubunun 7. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları.

10. Gün				
Grup	Denekler n=5	Kemik Miktarı (μm^2)	Ortalama Nötrofil Sayısı	Ortalama Lenfosit Sayısı
T1	T1-1	96875	55	9
	T1-2	91875	58	8
	T1-3	90625	55	9
	T1-4	102500	52	9
	T1-5	125625	53	9
	T1-6	-	-	-

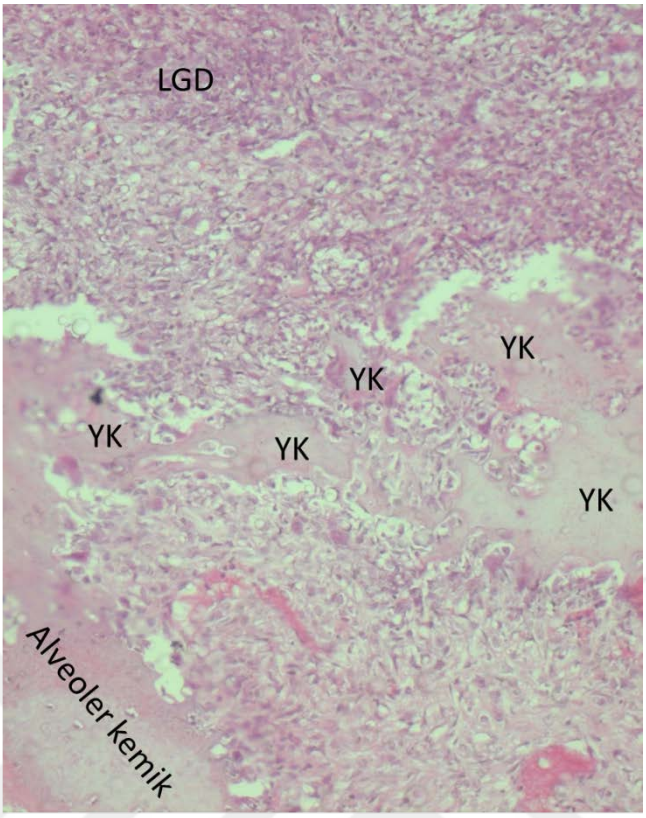
T1 grubundaki deneklerde oluşan yeni kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları Tablo 4.7’ de verilmiştir.

Gruptaki örneklerin tamamında çekim kavitesinin ağzının çok katlı yassı epitelle örtülmeye başlandığı izlenmiştir. Çekim soketinin alveol kret tepesinden itibaren yaklaşık 2/3 kadarı fibrin zemin üzerinde yoğun nötrofil topluluğundan oluşmaktadır (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Alveol kret tepesine yakın bölümde fibrin zemin üzerinde nötrofiller ve lenfositten zengin granülasyon dokusu (HE x100, LGD: Lenfositten zengin granülasyon dokusu, Ok: Fibrin zemin üzerinde nötrofil topluluğu).

Çekim soketinin tabanından itibaren %20-30’luk bir bölümü fibroblast ve kapiller proliferasyonu ile az sayıda enflamatuar hücre içeren granülasyon dokusu ile dolmuştur. Örneklerin tamamında çekim soketinin 1/3 tabanından başlayan %5-10’luk bir bölümde kemik matriks yapımı izlenmiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Soket tabanına yakın bölümde lenfositten zengin granülasyon dokusu ve alveoler kemik komşuğulunda yeni kemik trabekülleri (HE x200, LGD: lenfositten zengin granülasyon dokusu, YK: yeni kemik).

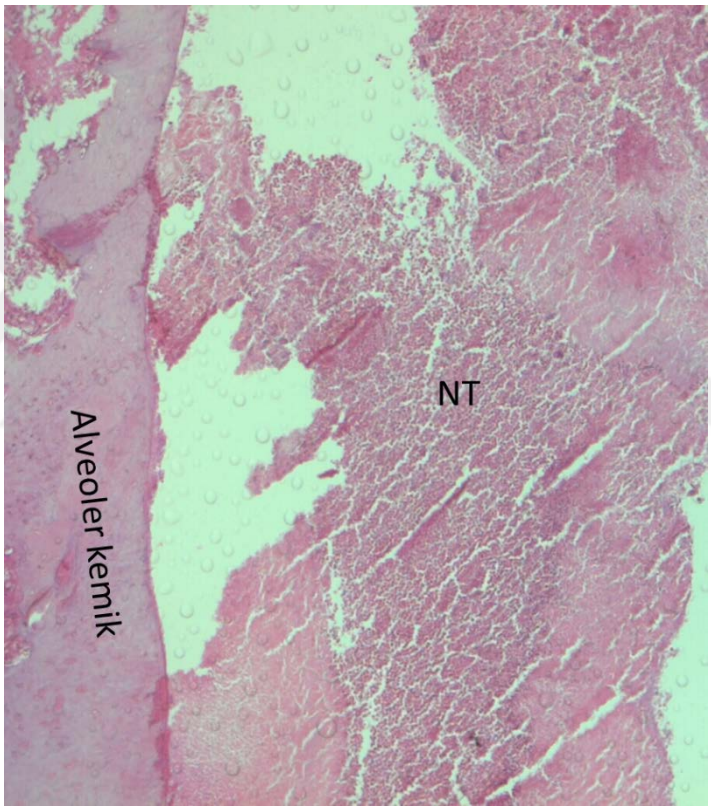
4.1.3.2. T2 (10. gün) Grubu

Tablo 4.8. TZF grubunun 10. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları.

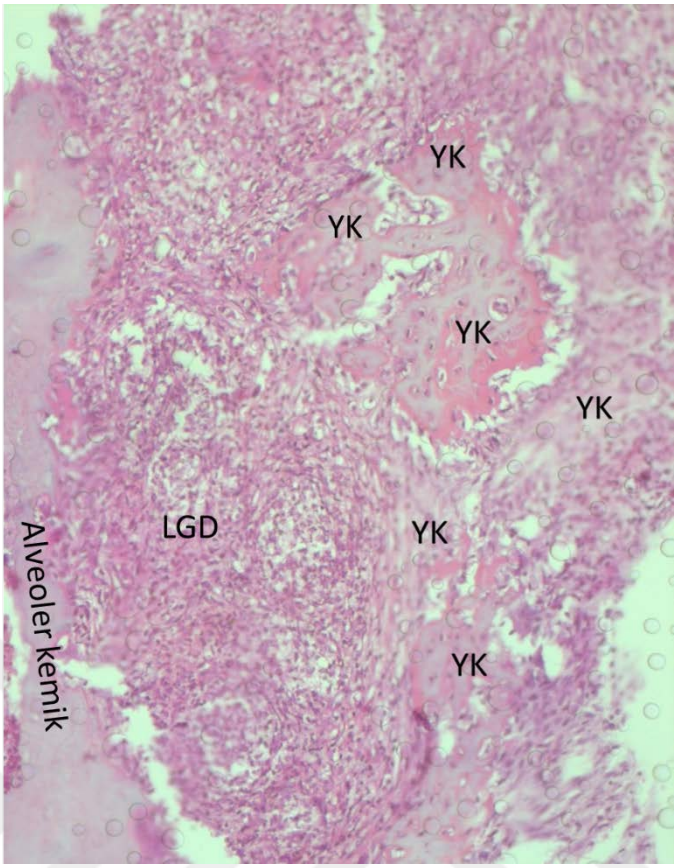
10. Gün				
Grup	Denekler n=5	Kemik Miktarı (μm^2)	Ortalama Nötrofil Sayısı	Ortalama Lenfosit Sayısı
T2	T2-1	120781,25	47	14
	T2-2	118281,25	46	15
	T2-3	105937,5	44	13
	T2-4	117187,5	55	15
	T2-5	134218,75	46	14
	T2-6	-	-	-

T2 grubundaki deneklerde oluşan yeni kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları Tablo 4.8’ de verilmiştir.

Gruptaki deneklerin çoğunda çekim kavitesinin ağzının çok katlı yassı epitelle örtüldüğü izlenmiştir. Grubun tamamında çekim soketi tabanından itibaren yaklaşık %40’lık bölümde fibrovasküler bağ doku ile dolmuştur (Şekil 4.15). Çekim soketinin 1/3 tabanından başlayan % 20-30 oranında yeni kemik trabekülleri izlenmiştir (Şekil 4.16).



Şekil 4.15. Alveol kret tepesine yakın bölümde fibrin zemin üzerinde nötrofiller (HE x100, NT: nötrofil topluluğu)



Şekil 4.16. Soket tabanına yakın bölümde lenfositten zengin granülasyon dokusu ve alveoler kemik komşuluğunda yeni kemik trabekülleri (HE x200, LGD: lenfositten zengin granülasyon dokusu, YK: yeni kemik).

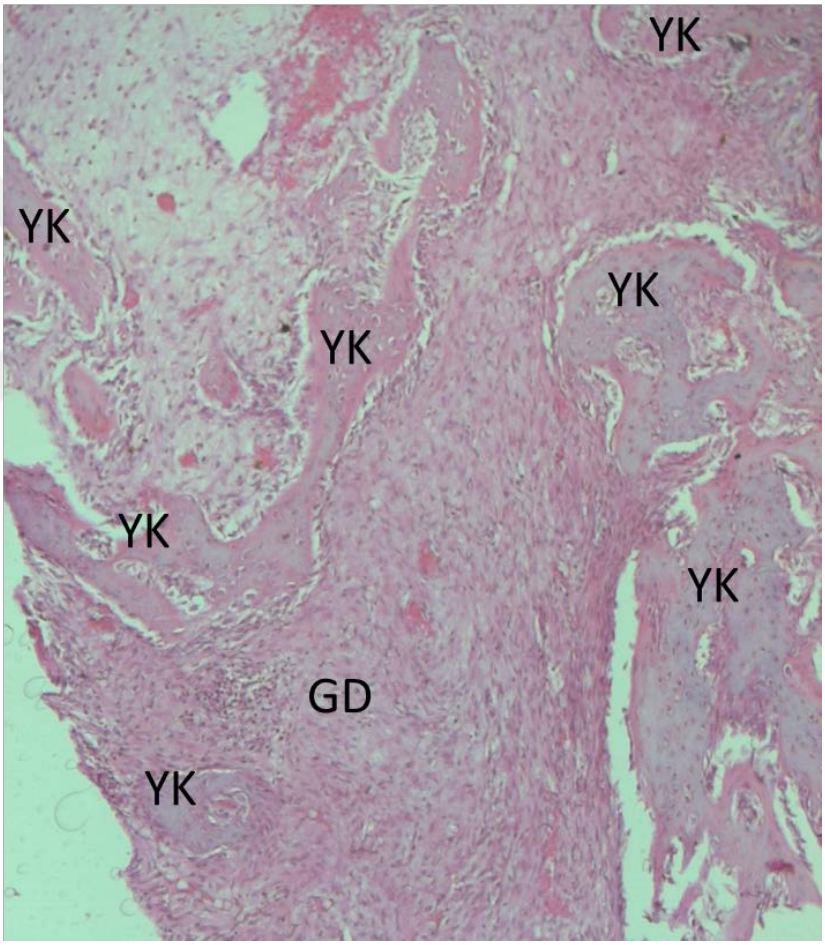
4.1.3.3. T3 (14. Gün) Grubu

Tablo 4.9. TZF grubunun 14. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları.

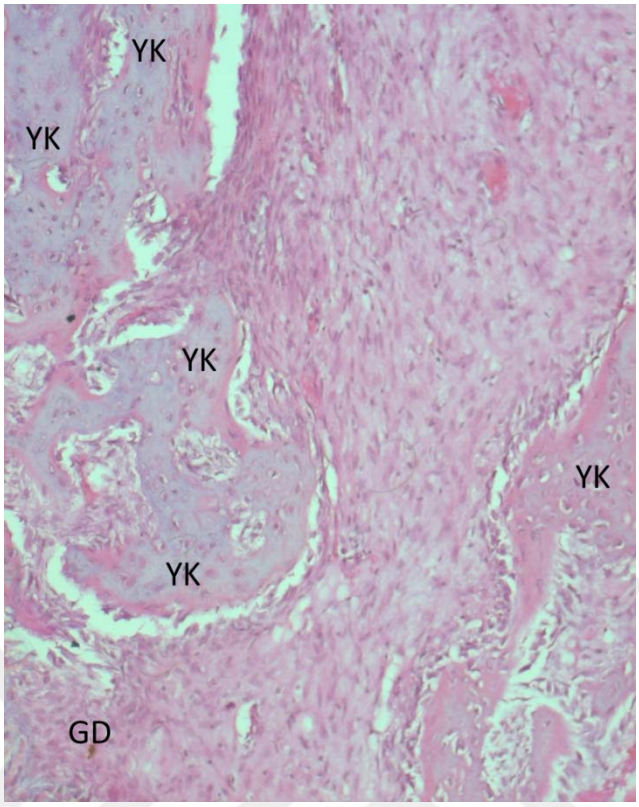
10. Gün				
Grup	Denekler n=5	Kemik Miktarı (μm^2)	Ortalama Nötrofil Sayısı	Ortalama Lenfosit Sayısı
T3	T3-1	244218,75	34	11
	T3-2	243125	33	13
	T3-3	247968,75	35	11
	T3-4	247500	30	12
	T3-5	253125	31	12
	T3-6	-	-	-

T3 grubundaki deneklerde oluşan yeni kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları Tablo 4.9’ da verilmiştir.

Gruptaki deneklerin tamamında çekim kavitesinin ağzının çok katlı yassı epitelle örtüldüğü izlenmiştir. Grubun tamamında çekim soketinin tabanından itibaren %50 oranında fibroblast ve kapiller proliferasyonu ile az sayıda enflamatuar hücre içeren granülasyon dokusu ile dolu olduğu görülmüştür (Şekil 4.17). Çekim soketinin tabanından başlayan yaklaşık % 40 oranında yeni kemik trabekülleri izlenmiştir (Şekil 4.18).



Şekil 4.17. Tabandan başlayarak soket boşluğunun büyük bölümünü dolduran granülasyon dokusu ve yeni kemik trabekülleri (HE x100, GD: granülasyon dokusu, YK: yeni kemik).



Şekil 4.18. Soket tabanını dolduran granülasyon dokusu ve yeni kemik trabekülleri (HE x200, GD: granülasyon dokusu, YK: yeni kemik).

4.1.4. Lazer ve Trombositten Zengin Fibrin Grubu Bulguları

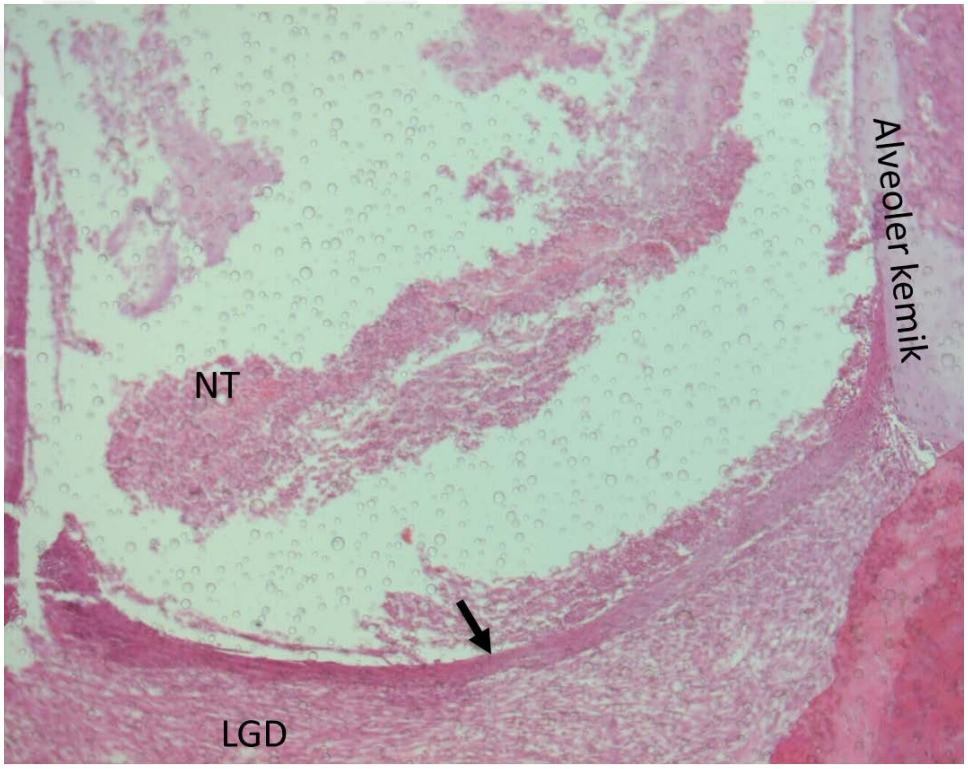
4.1.4.1. LT1 (7. Gün) Grubu

Tablo 4.10. Lazer + TZF grubunun 7. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları.

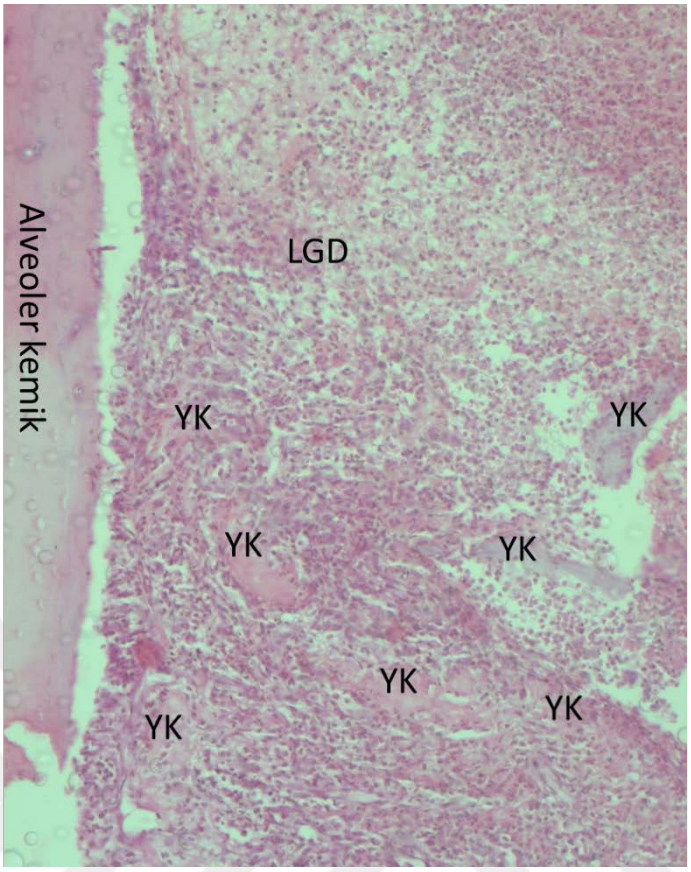
10. Gün				
Grup	Denekler n=5	Kemik Miktarı (μm^2)	Ortalama Nötrofil Sayısı	Ortalama Lenfosit Sayısı
LT1	LT1-1	107656,25	53	11
	LT1-2	126093,75	55	10
	LT1-3	124218,75	52	13
	LT1-4	117968,75	54	10
	LT1-5	118593,75	56	8
	LT1-6	-	-	-

LT1 grubundaki deneklerde oluşan yeni kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları Tablo 4.10’ da verilmiştir.

Gruptaki örneklerin tamamında çekim kavitesinin ağzının çok katlı yassı epitelle örtülmeye başlandığı izlenmiştir. Çekim soketinin alveol kret tepesine yakın bölümlerinde nötrofil toplulukları izlenmiştir. Çekim soketinin tabandan itibaren lenfositten zengin enflamasyon bulunduran granülasyon dokusu ile dolu olduğu görülmüştür (Şekil 4.19). Örneklerin tamamında çekim soketinin 1/3 tabanından başlayan yaklaşık %30 oranında yeni kemik trabekülleri izlenmiştir (Şekil 4.20).



Şekil 4.19. Alveol kret tepesine yakın bölümde birbirlerinden epitel ile ayrılmış nötrofil toplulukları ve çekim soketini dolduran lenfositten zengin granülasyon dokusu (HE x100, NT: nötrofil topluluğu, LGD: lenfositten zengin granülasyon dokusu, Ok: Epitel).



Şekil 4.20. Soket tabanını dolduran lenfositten zengin granülasyon dokusu ve yeni kemik trabekülleri (HE x200, LGD: lenfositten zengin granülasyon dokusu, YK: yeni kemik).

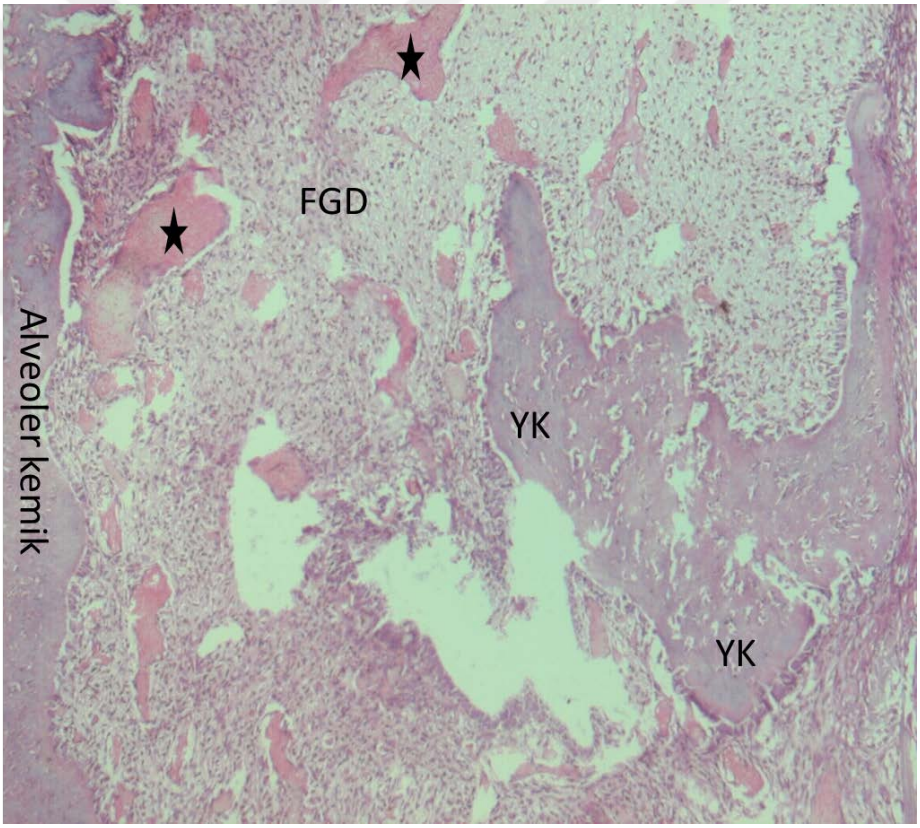
4.1.4.2. LT2 (10. Gün) Grubu

Tablo 4.11. Lazer + TZF grubunun 10. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları.

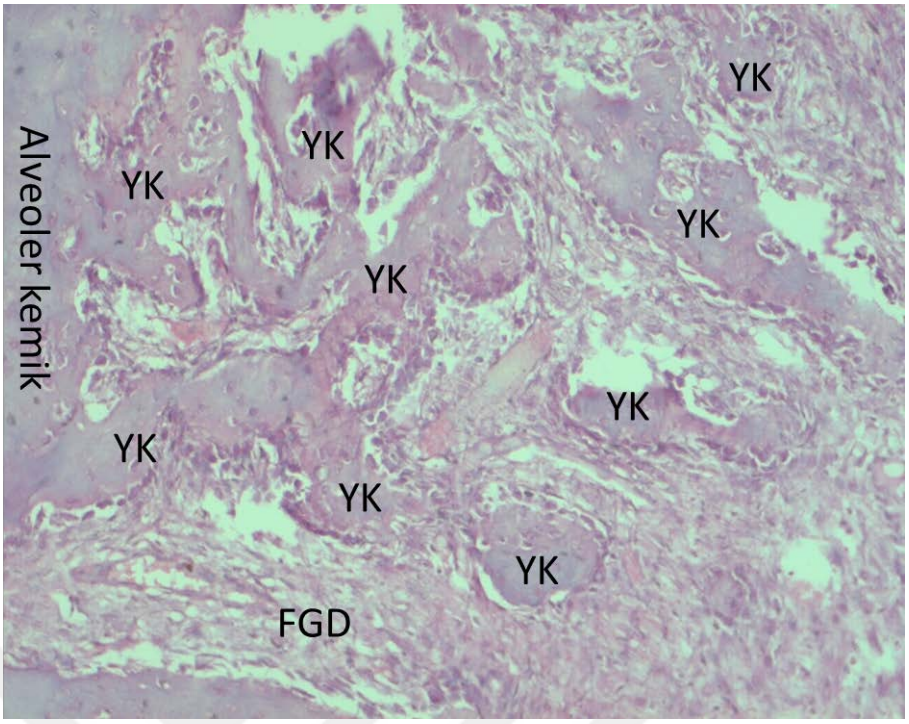
10. Gün				
Grup	Denekler n=6	Kemik Miktarı (μm^2)	Ortalama Nötrofil Sayısı	Ortalama Lenfosit Sayısı
LT2	LT2-1	164531,25	42	16
	LT2-2	165781,25	43	17
	LT2-3	159843,75	47	15
	LT2-4	166718,75	46	19
	LT2-5	156093,75	44	17
	LT2-6	155468,75	44	18

LT2 grubundaki deneklerde oluşan yeni kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları Tablo 4.11’ de verilmiştir.

Gruptaki deneklerin tamamında çekim kavitesinin ağzının çok katlı yassı epitelle örtüldüğü izlenmiştir. Çekim soketinin yüzeydeki mukoza epitelinin altından başlayarak tümüyle fibrin zemin üzerinde yoğun nötrofil topluluğuna sahip olduğu görülmüştür. Grubun tamamında çekim soketinin yaklaşık 2/3 tabanından itibaren fibrovasküler bağ doku ile dolu olduğu izlenmiştir (Şekil 4.21). Granülasyon dokusu içerisinde de yaklaşık %30-40 oranında yeni kemik trabekülleri izlenmiştir (Şekil 4.22).



Şekil 4.21. Soket tabanına yakın bölümde fibrovasküler granülasyon dokusu ve yeni kemik tarabekülleri (HE x100, Yıldız: Kapiller, FGD: fibrovasküler granülasyon dokusu, YK: yeni kemik).



Şekil 4.22. Soket tabanına yakın bölümde fibrovasküler granülasyon dokusu ve yeni kemik tarabekülleri (HE x200, YK: yeni kemik, FGD: fibrovasküler granülasyon dokusu).

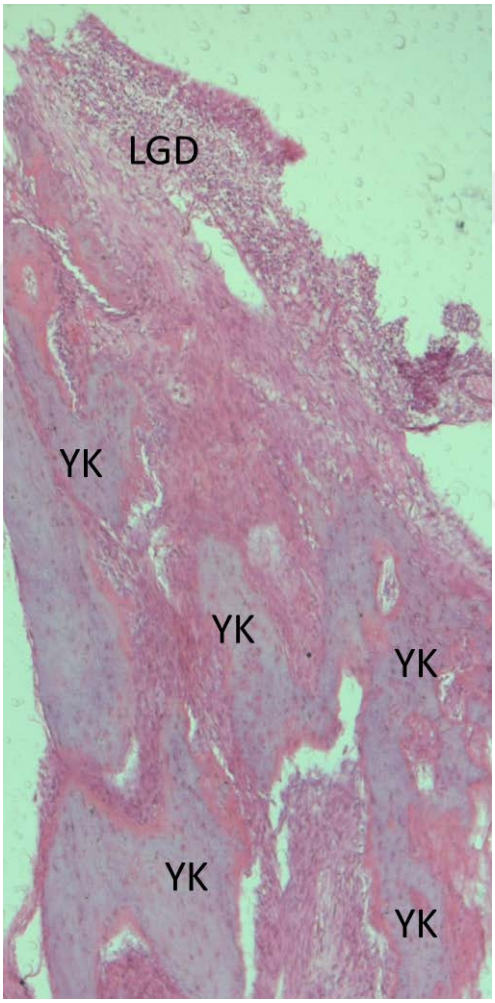
4.1.4.3. LT3 (14. Gün) Grubu

Tablo 4.12. Lazer + TZF grubunun 14. gün kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları.

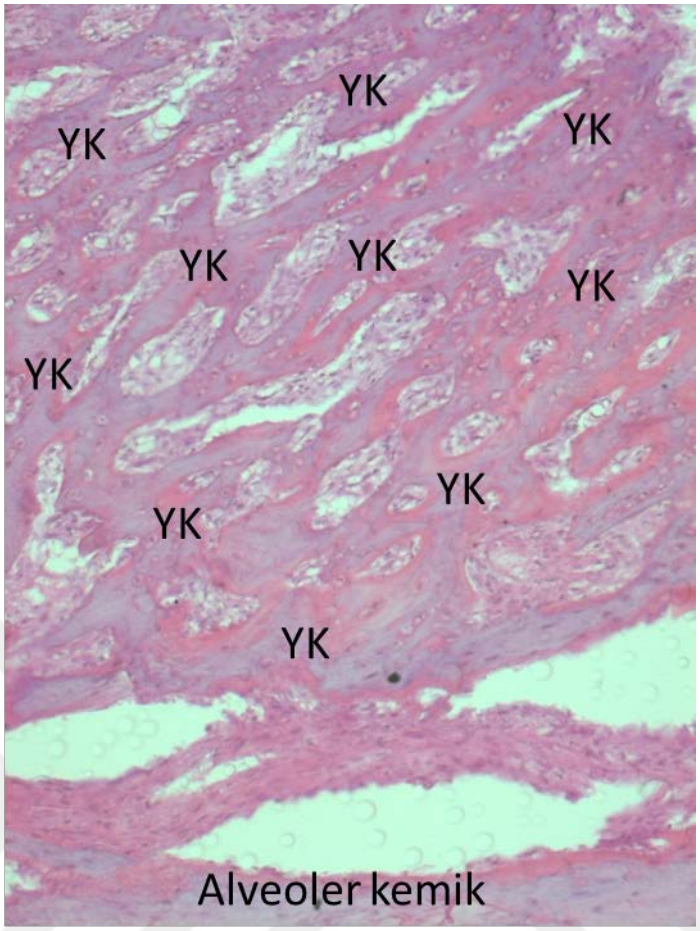
10. Gün				
Grup	Denekler n=4	Kemik Miktarı (μm^2)	Ortalama Nötrofil Sayısı	Ortalama Lenfosit Sayısı
LT3	LT3-1	252312,5	31	10
	LT3-2	256406,25	32	11
	LT3-3	257031,25	30	11
	LT3-4	255468,75	33	11
	LT3-5	-	-	-
	LT3-6	-	-	-

LT3 grubundaki deneklerde oluşan yeni kemik miktarları ve ortalama enflamatuar hücre sayıları Tablo 4.12’ de verilmiştir.

Gruptaki deneklerin tamamında çekim kavitesinin ağzının çok katlı yassı epitelle örtüldüğü izlenmiştir. Alveol kret tepesinde sınırlı lenfositten zengin granülasyon dokusu ile bunun altından itibaren fibrovasküler bağ dokusu ve alveoler kemiğe komşu yeni kemik trabekülleri izlenmiştir (Şekil 4.23). Bu gruptaki örneklerde yaklaşık %50-60 oranında yeni kemik trabekülleri görülmüştür (Şekil 4.24).



Şekil 4.23. Alveol kret tepesine yakın bölümde sınırlı bir alanda lenfositten zengin granülasyon dokusu ve bu zeminde alveoler kemiğe komşu yeni kemik trabekülleri (HE x100, LGD: lenfositten zengin granülasyon dokusu, YK: yeni kemik).



Şekil 4.24. Soket tabanında alveoler kemiğe komşu yeni kemik trabekülleri (HE x200, YK: yeni kemik).

4.2. Yeni Kemik Oluşumunun ve Enflamatuar Hücre Sayılarının İstatistiksel Değerlendirmesi

4.2.1. Yeni Kemik Oluşumunun İstatistiksel Değerlendirmesi

Tablo 4.13. Kemik miktarı bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskal Wallis H Testi sonucu.

		Grup						Kruskal Wallis H Testi		
		n	Mean	Median	Min	Max	ss	Sıra Ort.	H	p
7. gün Kemik miktarı µm²	Kontrol	6	93593,75	94843,75	80937,5	100468,75	7247,6875	5,33	11,076	0,011
	Lazer	4	118437,5	121406,25	105000	125937,5	9627,6875	15,13		
	Trombositten zengin fibrin	5	101500	96875	90625	125625	14276,8125	8,2		
	Lazer + Trombositten zengin fibrin	5	118906,25	118593,75	107656,25	126093,75	7201,0625	15,3		
	Toplam	20	106867,1875	103750	80937,5	126093,75	14554,375	1-4		
10.gün Kemik miktarı µm²	Kontrol	5	107837,5	100781,25	90468,75	128250	15523,1875	5,4	13,915	0,003
	Lazer	6	128906,25	129687,5	108437,5	156406,25	18890,625	11,5		
	Trombositten zengin fibrin	5	119281,25	118281,25	105937,5	134218,75	10109,625	8,4		
	Lazer + Trombositten zengin fibrin	6	161406,25	162187,5	155468,75	166718,75	4960,8125	19,17		
	Toplam	22	130794,0625	124593,75	90468,75	166718,75	24124,4375	1-4 3-4		
14.gün Kemik miktarı µm²	Kontrol	4	224492,1875	225156,25	220000	227656,25	3744,3125	2,5	13,186	0,004
	Lazer	5	244843,75	244218,75	238437,5	252968,75	5377,5625	8,7		
	Trombositten zengin fibrin	5	247187,5	247500	243125	253125	3914,0625	10,7		
	Lazer + Trombositten zengin fibrin	4	255304,6875	255937,5	252312,5	257031,25	2095,625	16		
	Toplam	18	243296,875	245234,375	220000	257031,25	11659,5	1-4		

Üç farklı sakrifikasyon süresince oluşan yeni kemik miktarının gruplar arası istatistiksel olarak dağılımı Tablo 4.13' de verilmiştir.

Tablo 4.14. 7. Gün Kemik Miktarı Bakımından Gruplar Arasındaki Farklılığa İlişkin Kruskal Wallis H Testi Sonucu.

		Grup						Kruskal Wallis H Testi		
		n	Mean	Median	Min	Max	ss	Sıra Ort.	H	p
7. gün Kemik miktarı µm²	Kontrol	6	93593,75	94843,75	80937,5	100468,75	7247,6875	5,33	11,076	**0,011**
	Lazer	4	118437,5	121406,25	105000	125937,5	9627,6875	15,13		
	Trombositten zengin fibrin	5	101500	96875	90625	125625	14276,8125	8,2		
	Lazer + Trombositten zengin fibrin	5	118906,25	118593,75	107656,25	126093,75	7201,0625	15,3		
	Toplam	20	106867,1875	103750	80937,5	126093,75	14554,375	1-4		

7. gün kemik miktarı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Kontrol grubunun 7. gün kemik miktarı Lazer + Trombositten zengin fibrin grubuna göre anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.14, Şekil 4.25).

Tablo 4.15. 10. Gün Kemik Miktarı Bakımından Gruplar Arasındaki Farklılığa İlişkin Kruskal Wallis H Testi Sonucu.

		Grup						Kruskal Wallis H Testi		
		n	Mean	Median	Min	Max	ss	Sıra Ort.	H	p
10.gün Kemik miktarı µm²	Kontrol	5	107837,5	100781,25	90468,75	128250	15523,1875	5,4	13,915	**0,003**
	Lazer	6	128906,25	129687,5	108437,5	156406,25	18890,625	11,5		
	Trombositten zengin fibrin	5	119281,25	118281,25	105937,5	134218,75	10109,625	8,4		
	Lazer + Trombositten zengin fibrin	6	161406,25	162187,5	155468,75	166718,75	4960,8125	19,17		
	Toplam	22	130794,0625	124593,75	90468,75	166718,75	24124,4375	1-4 3-4		

10. gün kemik miktarı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Kontrol ve Trombositten zengin fibrin gruplarının

10. gün kemik miktarı Lazer + Trombositten zengin fibrin grubuna göre anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.15, Şekil 4.26).

Tablo 4.16. 14. gün kemik miktarı bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskal Wallis H Testi sonucu.

		Grup						Kruskal Wallis H Testi		
		n	Mean	Median	Min	Max	ss	Sıra Ort.	H	p
14.gün Kemik miktarı µm²	Kontrol	4	224492,1875	225156,25	220000	227656,25	3744,3125	2,5	13,186	0,004
	Lazer	5	244843,75	244218,75	238437,5	252968,75	5377,5625	8,7		
	Trombositten zengin fibrin	5	247187,5	247500	243125	253125	3914,0625	10,7		
	Lazer+Trombositten zengin fibrin	4	255304,6875	255937,5	252312,5	257031,25	2095,625	16		
	Toplam	18	243296,875	245234,375	220000	257031,25	11659,5	1-4		

14. gün kemik miktarı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Kontrol grubunun 14. gün kemik miktarı Lazer + Trombositten zengin fibrin grubuna göre anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.16, Şekil 4.27).

Tablo 4.17. Kontrol grubunda kemik miktarları bakımından zamanlar arasındaki farklılığa ilişkin Friedman's Two Way ANOVA Testi sonucu.

								Friedman's Two Way ANOVA			Çoklu Karşılaştırma
		n	Mean	Median	Min	Max	ss	Sıra Ort.	Chi Square	p	
Kontrol	7.gün Kemik miktarı µm²	6	93593,75	94843,75	80937,5	100468,75	7247,6875	1,5	6	0,049	1-3 2-3
	10.gün Kemik miktarı µm²	5	107837,5	100781,25	90468,75	128250	15523,1875	1,5			
	14.gün Kemik miktarı µm²	4	224492,1875	225156,25	220000	227656,25	3744,3125	3			

Kontrol grubunda kemik miktarı bakımından zamanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Kontrol grubunda 7. gün ve 10. gün kemik miktarı 14. gün kemik miktarına göre anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.17, Şekil 4.28).

Tablo 4.18. Lazer grubunda kemik miktarları bakımından zamanlar arasındaki farklılığa ilişkin Friedman's Two Way ANOVA Testi sonucu.

								Friedman's Two Way ANOVA			Çoklu Karşılaştırma
		n	Mean	Median	Min	Max	ss	Sıra Ort.	Chi Square	p	
Lazer	7.gün Kemik miktarı µm²	4	118437,5	121406,25	105000	125937,5	9627,6875	1	8	**0,018**	1-3
	10.gün Kemik miktarı µm²	6	128906,25	129687,5	108437,5	156406,25	18890,625	2			
	14.gün Kemik miktarı µm²	5	244843,75	244218,75	238437,5	252968,75	5377,5625	3			

Lazer grubunda kemik miktarı bakımından zamanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Lazer grubunda 7. gün kemik miktarı 14. gün kemik miktarına göre anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.18, Şekil 4.28).

Tablo 4.19. Trombositten zengin fibrin grubunda kemik miktarları bakımından zamanlar arasındaki farklılığa ilişkin Friedman's Two Way ANOVA Testi sonucu.

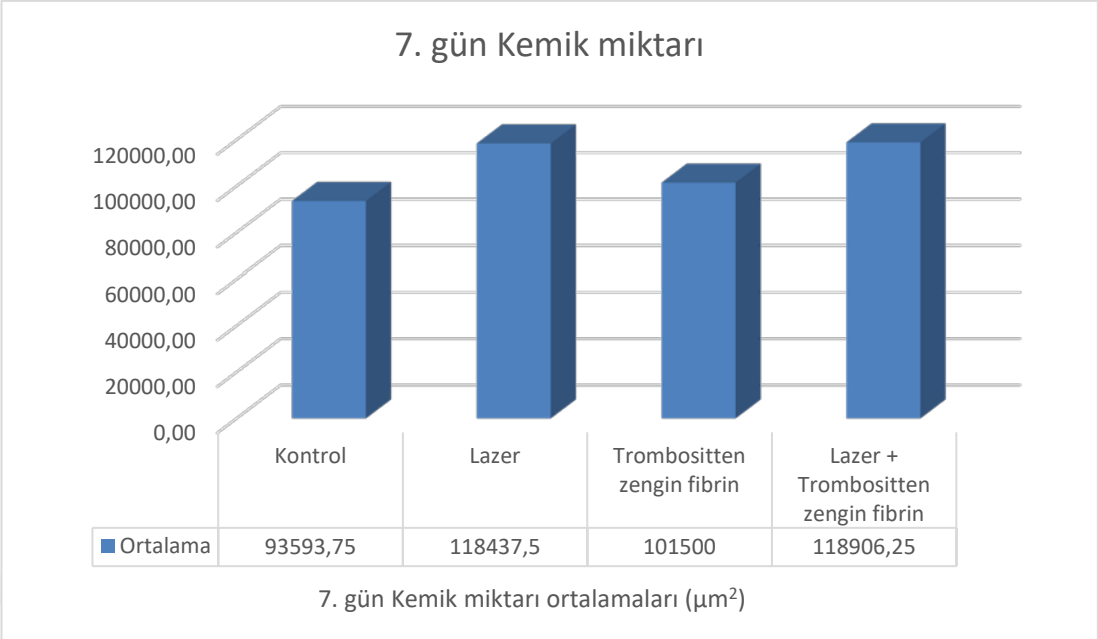
								Friedman's Two Way ANOVA			Çoklu Karşılaştırma
		n	Mean	Median	Min	Max	ss	Sıra Ort.	Chi Square	p	
Trombositten zengin fibrin	7.gün Kemik miktarı µm²	5	101500	96875	90625	125625	14276,8125	1	10	**0,007**	1-3
	10.gün Kemik miktarı µm²	5	119281,25	118281,25	105937,5	134218,75	10109,625	2			
	14.gün Kemik miktarı µm²	5	247187,5	247500	243125	253125	3914,0625	3			

Trombositten zengin fibrin grubunda kemik miktarı bakımından zamanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Trombositten zengin fibrin grubunda 7. gün kemik miktarı 14. gün kemik miktarına göre anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.19, Şekil 4.28).

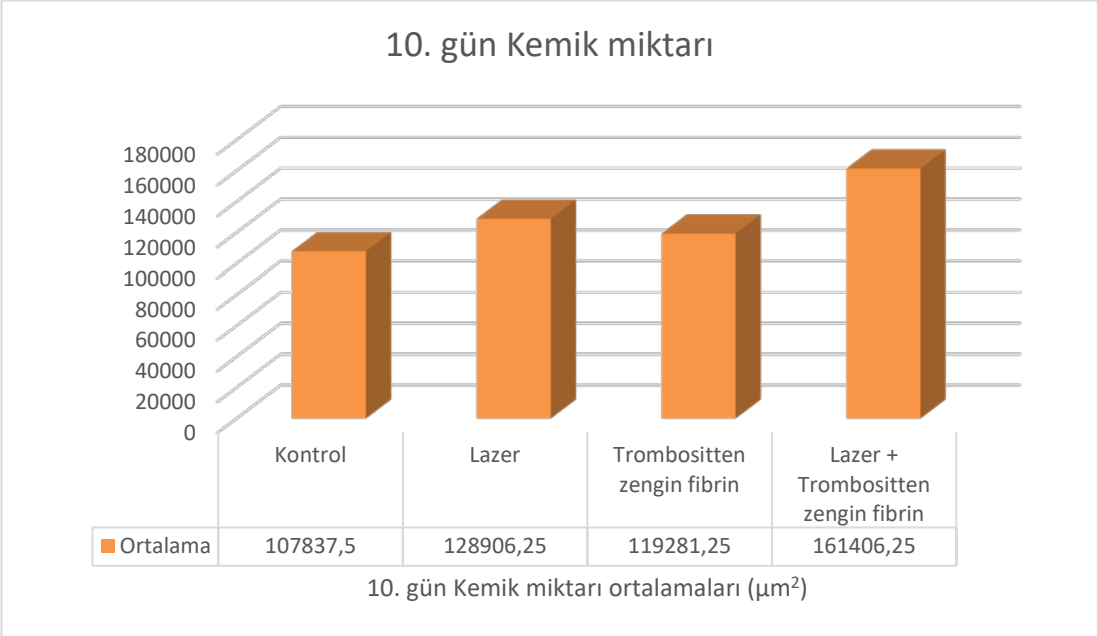
Tablo 4.20. Lazer + Trombositten zengin fibrin grubunda kemik miktarları bakımından zamanlar arasındaki farklılığa ilişkin Friedman's Two Way ANOVA Testi sonucu.

								Friedman's Two Way ANOVA			Çoklu Karşılaştırma
		n	Mean	Median	Min	Max	ss	Sıra Ort.	Chi Square	p	
Lazer + Trombositten zengin fibrin	7.gün Kemik miktarı µm ²	5	118906,25	118593,75	107656,25	126093,75	7201,0625	1	8	**0,018**	1-3
	10.gün Kemik miktarı µm²	6	161406,25	162187,5	155468,75	166718,75	4960,8125	2			
	14.gün Kemik miktarı µm2²	4	255304,6875	255937,5	252312,5	257031,25	2095,625	3			

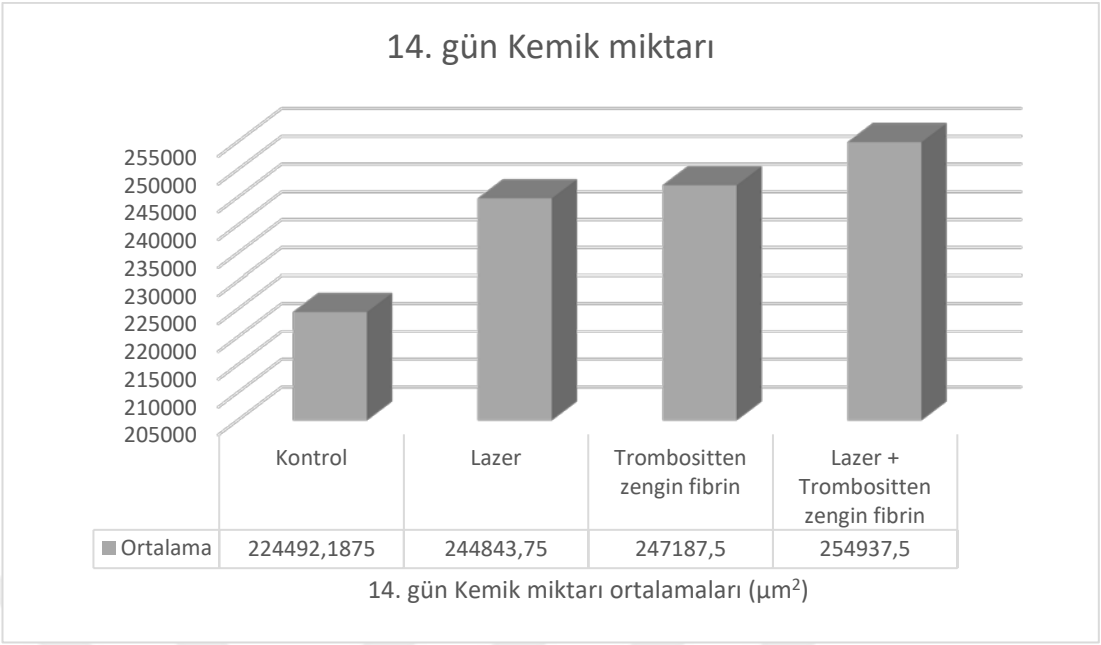
Lazer + Trombositten zengin fibrin grubunda kemik miktarı bakımından zamanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Lazer + Trombositten zengin fibrin grubunda 7. gün kemik miktarı 14. gün kemik miktarına göre anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.20, Şekil 4.28).



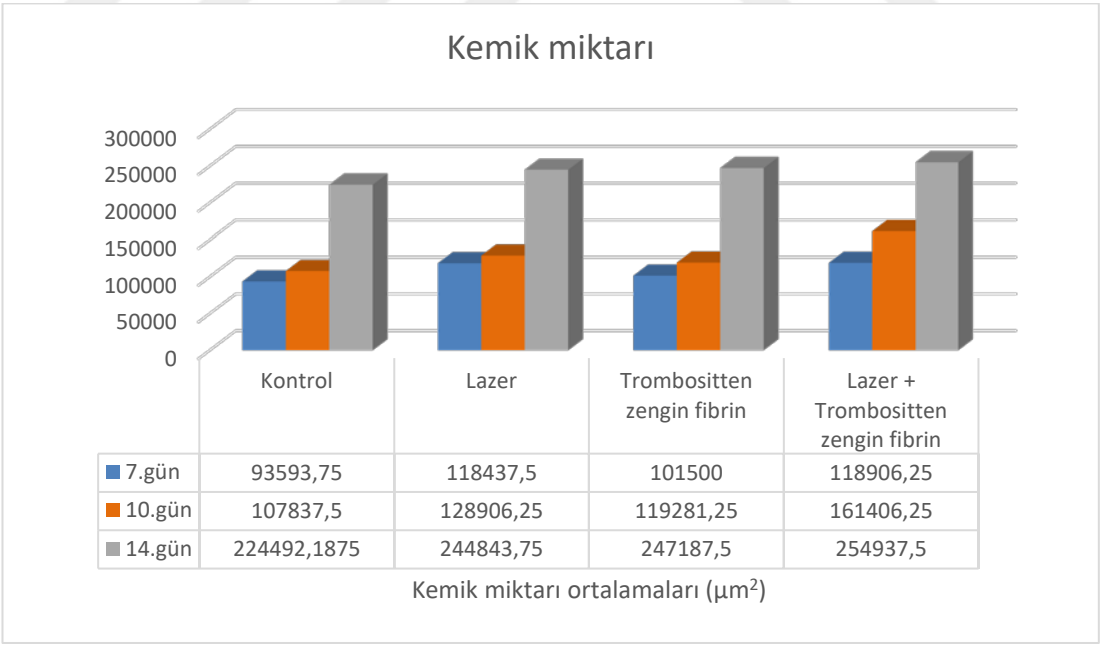
Şekil 4.25. 7. gün kemik miktarı bakımından gruplara göre dağılım grafiği.



Şekil 4.26. 10. gün kemik miktarı bakımından gruplara göre dağılım grafiği.



Şekil 4.27. 14. gün kemik miktarı bakımından gruplara göre dağılım grafiği.



Şekil 4.28. Kemik miktarı bakımından gruplara göre dağılım grafiği.

4.2.2. Enflamatuar Hücre Sayılarının İstatistiksel Değerlendirmesi

Tablo 4.21. Ortalama nötrofil sayısı bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskal Wallis H Testi sonucu.

		Grup						Kruskal Wallis H Testi		
		n	Mean	Median	Min	Max	ss	Sıra Ort.	H	p
7.gün ortalama nötrofil sayısı	Kontrol	6	50,17	49,5	47	53	2,4	6,58	9,095	**0,028**
	Lazer	4	49	49,5	43	54	4,55	6,5		
	Trombositten zengin fibrin	5	54,6	55	52	58	2,3	14,8		
	Lazer+Trombositten zengin fibrin	5	54	54	52	56	1,58	14,1		
	Toplam	20	52	53	43	58	3,49	1-3 2-3 1-4		
10.gün ortalama nötrofil sayısı	Kontrol	5	47,4	47	45	51	2,61	16,4	9,996	**0,019**
	Lazer	6	42,33	42	40	46	2,42	5,75		
	Trombositten zengin fibrin	5	47,6	46	44	55	4,28	15,5		
	Lazer+Trombositten zengin fibrin	6	44,33	44	42	47	1,86	9,83		
	Toplam	22	45,23	45	40	55	3,48	2-1		
14.gün ortalama nötrofil sayısı	Kontrol	4	38,25	38,5	35	41	2,5	15,75	11,571	**0,009**
	Lazer	5	34,8	35	33	36	1,3	11,5		
	Trombositten zengin fibrin	5	32,6	33	30	35	2,07	6,7		
	Lazer+Trombositten zengin fibrin	4	31,5	31,5	30	33	1,29	4,25		
	Toplam	18	34,22	34	30	41	3,04	4-1		

7. gün ortalama nötrofil sayısı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Lazer grubunun 7. gün ortalama nötrofil sayısı Trombositten zengin fibrin grubuna göre; kontrol grubunun 7. gün ortalama nötrofil sayısı ise Trombositten zengin fibrin ve Lazer + Trombositten zengin fibrin gruplarına göre anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.21).

10. gün ortalama nötrofil sayısı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Lazer grubunun 10. gün ortalama nötrofil sayısı kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.21).

14. gün ortalama nötrofil sayısı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Lazer + Trombositten zengin fibrin grubunun 14. gün ortalama nötrofil sayısı kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.21).

Tablo 4.22. Gruplarda ortalama nötrofil sayıları bakımından zamanlar arasındaki farklılığa ilişkin Friedman's Two Way ANOVA Testi sonucu.

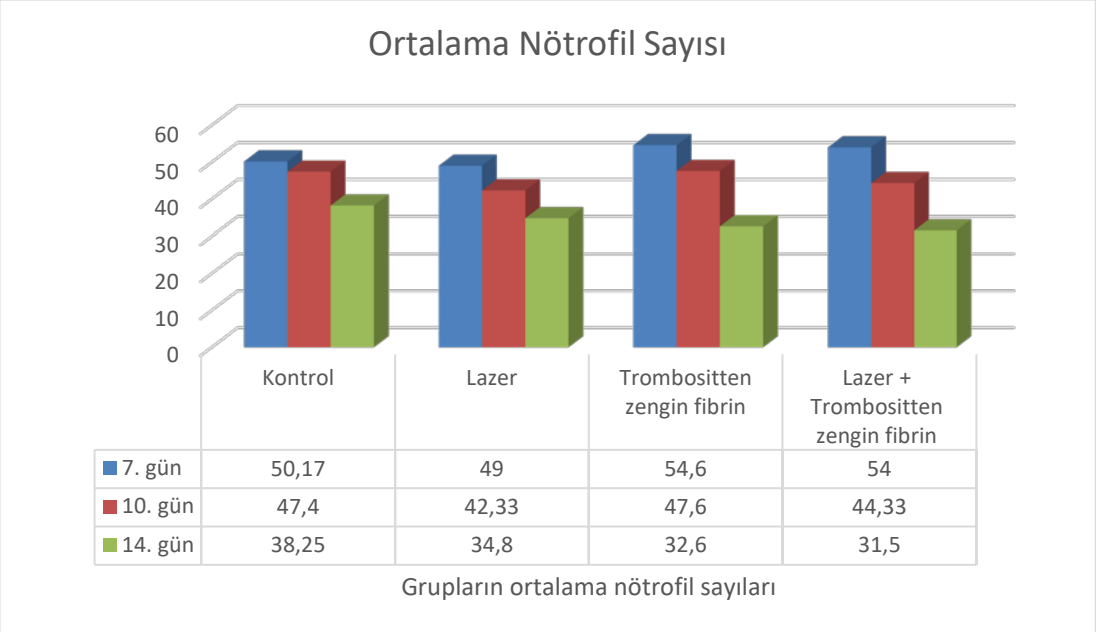
								Friedman's Two Way ANOVA			Çoklu Karşılaştırma
		n	Mean	Median	Min	Max	ss	Sıra Ort.	Chi Square	p	
Kontrol	**7.gün nötrofil sayısı**	6	50,17	49,5	47	53	2,4	3	8	**0,018**	3-1
	10.gün nötrofil sayısı	5	47,4	47	45	51	2,61	2			
	14.gün nötrofil sayısı	4	38,25	38,5	35	41	2,5	1			
Lazer	**7.gün nötrofil sayısı**	4	49	49,5	43	54	4,55	2,88	7,6	**0,022**	3-1
	10.gün nötrofil sayısı	6	42,33	42	40	46	2,42	2,13			
	14.gün nötrofil sayısı	5	34,8	35	33	36	1,3	1			
Trombositten zengin fibrin	**7.gün nötrofil sayısı**	5	54,6	55	52	58	2,3	2,8	8,4	**0,015**	3-1
	10.gün nötrofil sayısı	5	47,6	46	44	55	4,28	2,2			
	14.gün nötrofil sayısı	5	32,6	33	30	35	2,07	1			
Lazer+Trombositten zengin fibrin	**7.gün nötrofil sayısı**	5	54	54	52	56	1,58	3	8	**0,018**	3-1
	10.gün nötrofil sayısı	6	44,33	44	42	47	1,86	2			
	14.gün nötrofil sayısı	4	31,5	31,5	30	33	1,29	1			

Kontrol grubunda ortalama nötrofil sayısı bakımından zamanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Kontrol grubunda 14. gün ortalama nötrofil sayısı 7. gün ortalama nötrofil sayısına göre anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.22, Şekil 4.29).

Lazer grubunda ortalama nötrofil sayısı bakımından zamanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Lazer grubunda 14. gün ortalama nötrofil sayısı 7. gün ortalama nötrofil sayısına göre anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.22, Şekil 4.29).

Trombositten zengin fibrin grubunda ortalama nötrofil sayısı bakımından zamanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Trombositten zengin fibrin grubunda 14. gün ortalama nötrofil sayısı 7. gün ortalama nötrofil sayısına göre anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.22, Şekil 4.29).

Lazer + Trombositten zengin fibrin grubunda ortalama nötrofil sayısı bakımından zamanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Lazer + Trombositten zengin fibrin grubunda 14. gün ortalama nötrofil sayısı 7. gün ortalama nötrofil sayısına göre anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.22, Şekil 4.29).



Şekil 4.29. Ortalama nötrofil sayısı bakımından gruplara göre dağılım grafiği.

Tablo 4.23. Ortalama lenfosit sayısı bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskal Wallis H Testi sonucu.

		Grup						Kruskal Wallis H Testi		
		n	Mean	Median	Min	Max	ss	Sıra Ort.	H	p
7.gün ortalama lenfosit sayısı	Kontrol	6	8	7,5	7	11	1,55	5,58	10,045	**0,018**
	Lazer	4	11	11	10	12	0,82	16,25		
	Trombositten zengin fibrin	5	8,8	9	8	9	0,45	8,7		
	Lazer+Trombositten zengin fibrin	5	10,4	10	8	13	1,82	13,6		
	Toplam	20	9,4	9	7	13	1,73	1-2		
10.gün ortalama lenfosit sayısı	Kontrol	5	11,6	11	10	14	1,52	4	15,421	**0,001**
	Lazer	6	14	14,5	12	15	1,26	10,67		
	Trombositten zengin fibrin	5	14,2	14	13	15	0,84	10,9		
	Lazer+Trombositten zengin fibrin	6	17	17	15	19	1,41	19,08		
	Toplam	22	14,32	14,5	10	19	2,3	1-4		
14.gün ortalama lenfosit sayısı	Kontrol	4	17,5	17,5	16	19	1,29	16,5	14,02	**0,003**
	Lazer	5	13	13	12	15	1,22	11		
	Trombositten zengin fibrin	5	11,8	12	11	13	0,84	7,4		
	Lazer+Trombositten zengin fibrin	4	10,75	11	10	11	0,5	3,25		
	Toplam	18	13,17	12	10	19	2,68	4-1		

7. gün ortalama lenfosit sayısı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Kontrol grubunun 7. gün ortalama lenfosit sayısı Lazer grubuna göre anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.23).

10. gün ortalama lenfosit sayısı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Kontrol grubunun 10. gün ortalama lenfosit sayısı Lazer + Trombositten zengin fibrin grubuna göre anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.23).

14. gün lenfosit sayısı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Lazer + Trombositten zengin fibrin grubunun 14. gün ortalama lenfosit sayısı Kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.23).

Tablo 4.24. Gruplarda ortalama lenfosit sayıları bakımından zamanlar arasındaki farklılığa ilişkin Friedman's Two Way ANOVA Testi sonucu.

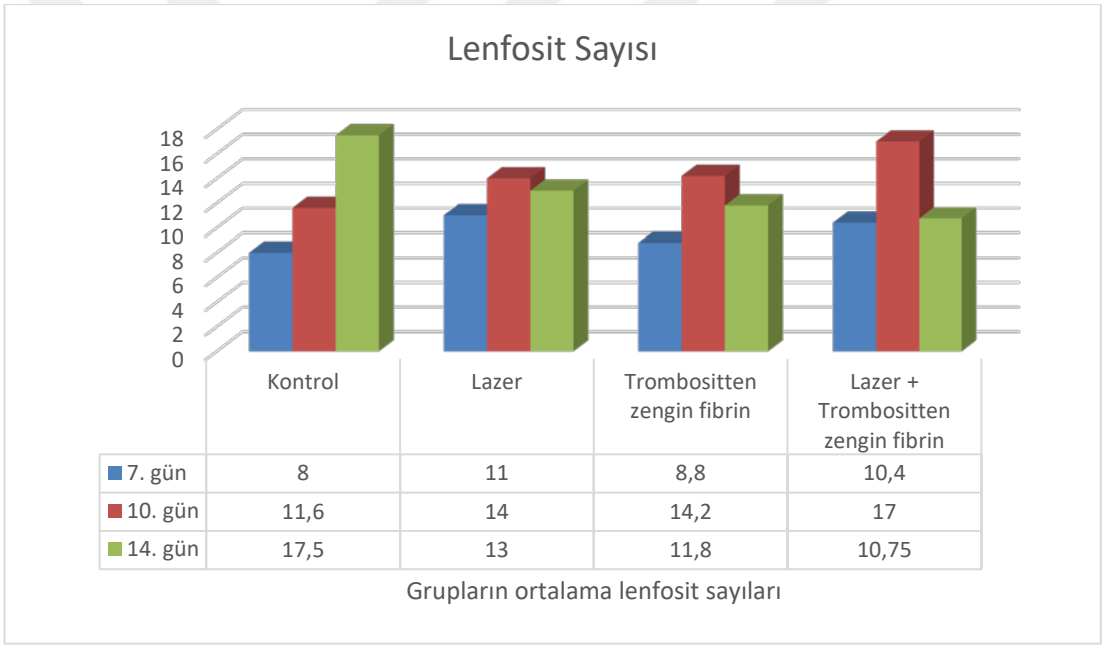
								Friedman's Two Way ANOVA			Çoklu Karşılaştırma
		n	Mean	Median	Min	Max	ss	Sıra Ort.	Chi Square	p	
Kontrol	**7.gün lenfosit sayısı**	6	8	7,5	7	11	1,55	1,13	7,6	**0,022**	1-3
	10.gün lenfosit sayısı	5	11,6	11	10	14	1,52	1,88			
	14.gün lenfosit sayısı	4	17,5	17,5	16	19	1,29	3			
Lazer	**7.gün lenfosit sayısı**	4	11	11	10	12	0,82	1,13	4,933	0,085	
	10.gün lenfosit sayısı	6	14	14,5	12	15	1,26	2,5			
	14.gün lenfosit sayısı	5	13	13	12	15	1,22	2,38			
Trombositten zengin fibrin	**7.gün lenfosit sayısı**	5	8,8	9	8	9	0,45	1	10	**0,007**	1-2
	10.gün lenfosit sayısı	5	14,2	14	13	15	0,84	3			
	14.gün lenfosit sayısı	5	11,8	12	11	13	0,84	2			
Lazer+Trombositten zengin fibrin	**7.gün lenfosit sayısı**	5	10,4	10	8	13	1,82	1,5	6	**0,049**	1-2 3-2
	10.gün lenfosit sayısı	6	17	17	15	19	1,41	3			
	14.gün lenfosit sayısı	4	10,75	11	10	11	0,5	1,5			

Kontrol grubunda ortalama lenfosit sayısı bakımından zamanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Kontrol grubunda 7. gün ortalama lenfosit sayısı 14. gün ortalama lenfosit sayısına göre anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.24, Şekil 4.30).

Lazer grubunda ortalama lenfosit sayısı bakımından zamanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$)(Tablo 4.24, Şekil 4.30).

Trombositten zengin fibrin grubunda ortalama lenfosit sayısı bakımından zamanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Trombositten zengin fibrin grubunda 7. gün ortalama lenfosit sayısı 10. gün ortalama lenfosit sayısına göre anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.24, Şekil 4.30).

Lazer + Trombositten zengin fibrin grubunda ortalama lenfosit sayısı bakımından zamanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Lazer + Trombositten zengin fibrin grubunda 7. gün ve 14. gün ortalama lenfosit sayısı 10. gün ortalama lenfosit sayısına göre anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.24, Şekil 4.30).



Şekil 4.30. Lenfosit sayısı bakımından gruplara göre dağılım grafiği.

5. TARTIŞMA

Ağız, diş ve çene cerrahisi rutininde en çok gerçekleştirilen cerrahi prosedür diş çekimidir. Çürüğe bağlı aşırı madde kaybı, periodontal harabiyet, periapikal lezyon veya travma gibi çeşitli nedenlerle bazen diş ve çevre dokularının kaybı kaçınılmazdır. Diş kayıpları sonrası kemik iyileşmesinin ve yeni kemik oluşumunun arttırılması protetik rehabilitasyon öncesi önemli bir sorundur. Yapılacak ogmentasyonlarla yumuşak ve sert dokuların belli ölçülerde rehabilitasyonu mümkündür fakat ogmentasyon işlemlerinin de birtakım sınırlamaları bulunmaktadır. Bu yüzden öncelikli hedef mevcut sert ve yumuşak dokuların devamlılığının sağlanmasıdır.

Çekim soketi ve defekt alanlarında kemik iyileşmesinin yavaş gelişmesi ile terapötik problemler ortaya çıkmaktadır. Protetik rehabilitasyonun süresi, fonksiyon ve estetiğin iadesi açısından önemli olduğu için çekim soketlerinde iyileşme sürecinin kısalması da aynı öneme sahiptir.

Kemik defektlerinin onarımı ve kemik iyileşmesini hızlandırmak amacıyla çeşitli greft materyallerinin yanı sıra veya greft materyalleriyle kombine olarak trombositten zengin fibrin, trombositten zengin plazma, lazer, ultrason, hiperbarik oksijen, ozon gibi çeşitli materyal ve metodlar kullanılmaktadır.

Prospektif, randomize ve kontrollü hayvan deneyi olarak tasarladığımız çalışmamızda TZF ve DDLT'nin çekim soketindeki yeni kemik oluşumunu arttırıp arttıramayacağının tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla 72 adet dişi Wistar ratta diş çekimi gerçekleştirilmiştir. Cerrahi işlem esnasında operasyonu tolere edemeyen 7 adet rat kaybedilmiştir. Geriye kalan 65 rattan, 5 tanesi de sakrifikasyon gününe kadar olan sürede kaybedilmiştir. Deney grubundaki ratlara diş çekimi sonrasında trombositten zengin fibrin ve lazer uygulanarak 7., 10. ve 14. günlerde sakrifikasyonlar gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızın histopatolojik inceleme sonrasında elde edilen bulguları istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Diş çekimi sonrası kemik iyileşmesi sürecinde, sert doku iyileşme aşamaları olan enflamasyon, granülasyon dokusu oluşumu, anjiyogenez, ekstraselüler matriks depozisyonu ve olgunlaşma aşamaları koordineli bir şekilde izlenebildiği için soket iyileşmesi iyi bir deneysel modeldir (111). Bu yüzden bu çalışmada da TZF ve

DDLT'nin kemik iyileşme sürecindeki etkisinin izlenebilmesi için deneysel model olarak diş çekim yarasının oluşturulması tercih edilmiştir.

Yara iyileşmesi deneysel olarak kobay, köpek, tavşan ve rat gibi birçok farklı hayvan modeli üzerinde gerçekleştirilmiştir (44-46,48,112-114). Arıcı (115), sinüs lift uygulaması yaptığı tavşanlarda greft materyali ile kombine uyguladığı ozon terapisinin yeni kemik oluşumu üzerine etkilerini araştırmıştır. Histomorfometrik ve immunohistokimyasal incelemeleri sonucunda ozonize kanla kombine greft materyalinin yeni oluşan kemik yoğunluğunu ve yeni damar sayısını arttırdığını bildirmiştir.

Coşkun (116), sinüs lift uygulaması yaptığı diyabetik tavşanlarda hiperbarik oksijen tedavisinin yeni kemik oluşumu üzerine etkilerini araştırmıştır. Histomorfometrik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirdiği çalışmasında, hiperbarik oksijen tedavisinin deneklerde yeni kemik oluşumunu arttırdığını ve diyabetin olumsuz etkilerini azalttığını bildirmiştir.

Şahin ve ark. (117), çalışmalarında Wistar rat kullanarak punch biyopsi aleti yardımıyla palatinal mukozada oluşturdukları defektlere klorheksidin diglukonat, oktenidin, poliheksanid solüsyon ve hyaluronik asit uygulamışlardır. Kontrol grubunda irrigasyon için serum fizyolojik kullanmışlardır. Defektlerin oluşturulmasından sonra 3., 7., 14. ve 21. günlerde yara iyileşmesini histolojik olarak incelemişlerdir. Defekt çaplarındaki en fazla azalmayı poliheksanid solüsyon kullanılan grupta gözlemlediklerini rapor etmişlerdir.

Okçu ve ark. (118), hemostatik bir ajanın yara iyileşmesi üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında Wistar ratların sırtlarında oluşturdukları kutanöz insizyonlara, bir grupta FastAct adlı hemostatik ajanı tek başına diğer grupta ise prilokain ile birlikte uygulamış ve yara kenarlarını rezorbe olabilen bir sütur materyaliyle süture etmişlerdir. 7. günde gerçekleşen yara iyileşmesini histolojik olarak değerlendirmiş ve hemostatik ajanın tek başına kullanıldığı grupta yara iyileşmesinin deney grubuna göre daha iyi olduğunu bildirmişlerdir.

Hamad ve ark. (48), diyot lazerin diş çekim yarasının iyileşmesindeki etkilerini inceledikleri çalışmalarında tavşanları kullanmışlardır. Manrique ve ark. (119), Gau ve

ark. (120), Silva ve ark. (121) çalışmalarında ratları kullanmışlardır. Genel olarak diş çekim yarasının iyileşmesiyle ilgili yapılan çalışmaların çoğunda ratlar tercih edilmiştir. Yapılan çalışmalarda ratlarda soket iyileşme sürecinin insanlardaki ile benzer olduğu ve yüksek metabolizma hızları nedeniyle kısa sürede sonuç alınabildiği gösterilmiştir (122). Mevcut literatür bilgileri ışığında bizim çalışmamızda da rat modeli tercih edilmiştir.

Literatüre bakıldığında ratlarda oluşturulan çekim soketlerinin iyileşmesine 1-60 gün arasında değişik sürelerde bakılmıştır. Ratlarda diş çekimi sonrası iyileşme süreci üç aşamada gerçekleşmektedir: kan pıhtısının organizasyonunun tamamlandığı ve soketin epitel ile örtüldüğü erken faz (1-5 gün), kemik oluşum fazı (5-20 gün), immatür kemiğin olgunlaştığı ve alveoler kretin yeniden şekillendiği remodelizasyon fazı (20-60 gün)(123). Ratlarda yapılan diş çekimi çalışmalarında maksiller kesici diş soketinin iyileşmesinin 3-6 hafta arasında tamamlandığı bildirilmiştir (124-126). Çalışmamızın sakrifikasyon süreleri literatür bilgileri dikkate alındığında kemik iyileşmesinin erken dönem bulgularına ulaşmak için 7., 10. ve 14. günler olarak belirlenmiştir.

Çelik (127), siklosporin-A uygulanan ratlarda sistemik melatonin ve D vitamini analogu parikalsitol uygulamalarının diş çekim soketinde gerçekleşen iyileşme üzerine etkilerini 7. ve 14. günlerde histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelemiştir. Melatonin ve parikalsitol uygulamalarının antioksidan enzim aktivitelerini attırdığını ve bu antioksidanların siklosporin-A tedavisinin toksik etkilerini ortadan kaldırmaya katkıda bulunabileceğini bildirmiştir.

Özkan ve ark. (128), sigaranın ratlarda diş çekimi sonrası soket iyileşmesi üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında denekleri 2 ay süreyle günde 4 adet filtreli sigara dumanına maruz bırakmışlardır. Deney 1 grubunda yer alan ratlar, diş çekimi öncesinde ve sonrasında sakrifiye edilecekleri zamana kadar sigaraya maruz bırakılırken, deney 2 grubundaki ratlara sadece diş çekimi öncesinde sigara protokolü uygulanmıştır. Denekler, sağ maksiller kesici dişleri çekildikten sonra postoperatif 3., 7., 15. ve 28. günlerde sakrifiye edilmiştir. Yapılan histolojik incelemeler sonucunda 7. günde sakrifiye edilen deneklerin deney gruplarında kontrol grubuna göre daha az yeni kemik oluşumu gözlendiği bildirilmiştir.

In vivo ve in vitro birçok çalışmada, farklı güç yoğunluklarında kullanılan DDLT'nin kemik iyileşmesini stimüle ettiği bildirilmiştir (129-131). Düşük doz lazer enerjisinin, osteoblastik aktiviteyi ve vaskülarizasyonu uyararak kemik formasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (46,132-134). Bizim çalışmamızda da Wistar ratların çekim soketlerinde kemik iyileşmesi sürecinde DDLT'nin etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Pamuk ve ark. (38), yaptıkları bir çalışmada ratların sağ alt keser diş kronunun yarısını kesmişler ve GaAlAs diyot lazer uygulayarak soket içinde kalan dişin sürme miktarını incelemişlerdir. 830 nm dalga boyundaki GaAlAs diyot lazer ile toplam doz 9 J/cm^2 olacak şekilde 3 gün boyunca günde bir kez 2.5 dakika ışınlama yapmışlardır. Yaptıkları ölçümler sonucunda, lazer grubunun kontrol grubuna göre sürme miktarının daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir.

Park ve ark. (44), GaAlAs (980 nm) diyot lazerin diyabetik ve sağlıklı ratlarda diş çekimi sonrası yara iyileşmesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Tüm ratların sağ ve sol maksiller birinci molarlarını çekip, sol taraftaki çekim soketlerini iyileşmeye bırakırken sağ taraftaki çekim soketlerine ise 3, 5, 7 ve 14 gün boyunca her gün 60 sn süreyle ışınlama dozu 13.95 J/cm^2 olacak şekilde lazer uygulamışlardır. Histolojik incelemeler ve gen ekspresyon analizleri sonucunda, sağlıklı ve diyabetik ratların DDLT uygulanan çekim soketlerinde iyileşmenin ilk basamaklarının daha hızlı gözlemlendiği ve kontrol grubuna göre daha fazla alveoler kemik formasyonunun oluştuğunu rapor etmişlerdir.

Bizim çalışmamızda da 7., 10. ve 14. günlerde elde edilen histolojik bulgulara göre DDLT uygulanan gruplarda kontrol gruplarına göre daha fazla kemik formasyonu gözlemlenmiştir.

Korany ve ark. (46), radyoterapi sonrası diş çekimi gerçekleştirdikleri ratlarda DDLT'nin kemik iyileşmesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Radyoterapi (6 Gray) sonrası 3. günde ratların sağ ve sol mandibular birinci molarlarını çekip, sağ taraftaki çekim soketlerini iyileşmeye bırakırken sol taraftaki çekim soketlerine 75 mW gücünde GaAlAs (830 nm) diyot lazer uygulamışlardır. 3., 7. ve 10. günlerdeki soket iyileşmesini histolojik ve histomorfometrik olarak incelemişlerdir. 3. gün lazer

grubunda soketin merkezinde vasküler fibröz dokudan oluşan granülasyon dokusu varlığını ve soketin tabanında yeni örgü kemik yapısının izlendiğini, lazer uygulanmayan grupta ise soketin immatür kollajen lif demetlerini içeren bağ dokusu ile dolduğunu bildirmişlerdir. 7. gün lazer grubunda soketin büyük kısmının geniş kemik trabekülleri ile dolduğu ve lazer uygulanmayan grupta ise soketin kısmen yeni örgü kemik doku ile dolduğu belirtilmiştir. 10. gün gruplarından lazer grubunda ise örgü kemik yapısının matür kemik yapısına değiştiği belirtilmiştir. Araştırmacılar ayrıca histomorfometrik analizlerinde, 7. ve 10. gün lazer gruplarında lazer uygulanmayan gruplara göre kemik trabekül yüzdesinin arttığını belirtmişlerdir.

Park ve ark. (45), diş çekimi yaptıkları ratlarda GaAlAs (980 nm) diyot lazerin farklı ışınlama sürelerinde kemik iyileşmesine olan etkilerini araştırmışlardır. Sağ ve sol maksiller birinci molarlarını çektikleri ratları 4 gruba ayırmışlardır. Ratlara kontrol grubu hariç her gün 1, 2 ve 5 dakika boyunca lazer uygulamış ve postoperatif 3. ve 7. günde sakrifiye etmişlerdir. GaAlAs (980nm) diyot lazeri, 10 mW gücünde çekim soketinden 5 mm uzakta olacak şekilde 0,043 cm^2' lik alana uygulamış ve 1 dakikalık ışınlama dozunu 13.95 J/cm^2 olarak hesaplamışlardır. Kemik iyileşmesi ile ilgili genlerin ve proteinlerin ekspresyonlarını değerlendirerek ışınlama süresinin çekim soketlerinin iyileşmesi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. DDLT' nin Runx2'yi, tip 1 kollajeni, osteokalsini, trombosit kaynaklı büyüme faktör-B'yi ve vasküler endotelyal büyüme faktörünü arttırdığı sonucuna varmışlardır. Bu etkileri en fazla 7 gün süreyle 5 dakika boyunca uyguladıkları DDLT' nin oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Çırak (12), DDLT'de kullanılan He-Ne ve GaAlAs lazerlerin ratlarda diş çekimi sonrası kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerini incelemiştir. Bu amaçla kullanılan 30 adet wistar ratın maksiller sağ kesici dişlerini çekmiştir. He-Ne ve GaAlAs lazerin 6 J/cm^2 ve 10 J/cm^2 enerji dozlarında uygulandığı dört grup ve lazer uygulanmayan bir kontrol grubu oluşturmuştur. Lazer grubundaki ratlara He-Ne ve GaAlAs lazerleri diş çekimini takiben iki enerji düzeyinde 7 gün boyunca uygulamıştır. Diş çekimini takiben 30 günlük süre sonunda tüm denekleri sakrifiye edip, kemik iyileşmesini histolojik, immünohistokimyasal ve radyolojik olarak değerlendirmiştir. Bu incelemeler sonucunda, 10 J/cm^2 enerji düzeyinde GaAlAs lazer uygulaması ile daha organize ve kompakt görünümlü kemik doku oluştuğu izlenmiştir.

Bu çalışma ile düşük enerji seviyeli lazer uygulamasının kemik iyileşmesinde etkili bir yöntem olduğu görülmüştür.

Gündüz (135), bisfosfonat uyguladığı ratlarda diş çekimi ile oluşturulan yara bölgesinde düşük doz lazer ve ozon terapinin yeni kemik doku oluşumu üzerine etkilerini histomorfometrik olarak incelemiştir. Deney gruplarına 6 hafta boyunca intravenöz zoledronat uygulamış ve tüm gruplardaki ratların birer adet maksiller keser dişini çekmiştir. Deneklere çekim günü dahil olmak üzere 3 günde bir 4 J/cm^2 ışınlama dozunda InGaAsP (940nm) diyot lazer uygulamıştır. Ozon terapi ise, çekim yapılan gün dahil olmak üzere iki günde bir 0.7 mg/kg intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Denekleri 7. ve 14. günlerde sakrifiye etmiştir. Lazer grubunun ve hem lazer hem de ozon uygulanan grubun 7. gün kemikleşme oranları kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. 14.gün kemikleşme oranları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. Çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde, bisfosfonat uygulanan ratlarda lazer ve ozon terapinin kısa dönemde kemik iyileşmesi üzerine olumlu bir etkisinin olmadığı görülmüştür.

Sağlıklı ratlar üzerinde diş çekimi sonrası aynı dozda (4 J/cm^2) ve aynı dalga boyundaki lazeri (940 nm InGaAsP) kullanarak yaptığımız çalışmamızda, kontrol gruplarına göre lazer gruplarında daha fazla yeni kemik trabekülleri görülmüştür.

Noda ve ark. (136), Sprague Dawley ratlarda yüksek frekanslı atımlarla uygulanan diyot lazerin çekim soketindeki yara iyileşmesine olan etkilerini araştırmışlardır. Ratların sağ ve sol maksiller birinci molarlarını çekip, sol taraftaki çekim soketini iyileşmeye bırakırken sağ taraftaki çekim soketine DDLT uygulamışlardır. 910 nm dalga boyuna sahip diyot lazeri, toplam doz 61.2 J/cm^2 (280 mW, 30 kHz, 200 ns atımlı) olacak şekilde her gün 8.74 J/cm^2 olarak uygulamışlar ve ratların sakrifikasyonlarını 0, 3. ve 7. günlerde yapmışlardır. Kontrol grubuyla karşılaştırdıklarında lazer uygulanan soketlerde daha hızlı epitelizasyon gözlemlemişlerdir. Yaptıkları histomorfometrik incelemelerde 7. gün lazer grubunda kontrol grubuna oranla daha fazla olarak, soketin % 30-80’ inde yeni oluşan örgü kemik formasyonu rapor etmişlerdir.

Çalışmamızın 7. gün lazer grubunda toplam doz 12 J/cm^2 olarak uygulanmış ve 7. gün sakrifiye edilen deneklerden elde edilen kesitlerde % 10-20 oranında yeni kemik formasyonu görülmüştür.

Hamad ve ark. (48), tavşanlarda oluşturdukları çekim soketlerinin iyileşmesinde diyot lazerin etkilerini araştırmışlardır. Tavşanların sağ ve sol alt birinci premolarlarını çekip sol taraftaki çekim soketlerini kontrol grubu olarak iyileşmeye bırakmış, sağ taraftaki çekim soketine ise lazer uygulamışlardır. GaAlAs diyot lazeri, 900 mW gücünde 5 dakika boyunca çekim günü dahil 3 günde bir olacak şekilde 12 gün boyunca uygulamışlardır. Denekleri 7., 14., 30. ve 45. günlerde sakrifiye ettikten sonra elde ettikleri kesitleri histolojik ve histomorfometrik olarak incelemişlerdir. Araştırmaları sonucunda, lazer uyguladıkları soketlerde kontrol grubuyla kıyasladıklarında daha hızlı yeni kemik maturasyonu ve histomorfometrik olarak trabeküler kemiğin densite ve hacminde anlamlı derecede artış gözlemlemişlerdir.

Mergoni ve ark. (137), zoledronat ve deksametazon uyguladıkları ratlarda diş çekimi sonrası DDLT' nin kemik iyileşmesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. 10 hafta boyunca zoledronat ve deksametazon uyguladıkları ratların, uygulamadan 9 hafta sonra sol maksiller molar dişlerini çekmişlerdir. Ratların çekim soketlerine Nd:YAG (1064 nm) lazer ile ışınlama dozu 14.37 J/cm^2 olacak şekilde çekim günü dahil postoperatif 2., 4., ve 6. günlerde lazer uygulamışlardır. Diş çekiminden 8 gün sonra sakrifikasyonları gerçekleştirmiş ve Western blot analizi ile alveoler osteopontin ve osteokalsin ekspresyonlarını değerlendirmişlerdir. Araştırmaları sonucunda, lazer uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre daha fazla osteokalsin ekspresyonu gözlemlemişlerdir. Osteopontin ekspresyonunda ise gruplar arasında anlamlı derecede bir faklılık oluşmadığını rapor etmişlerdir.

Silva ve ark. (138), ratların femurlarında oluşturdukları defektlere GaAlAs (830 nm) diyot lazer uygulayarak yeni oluşan kemik miktarını morfometrik olarak değerlendirmişlerdir. Ratların femurlarında frezle 1 cm^2 'lik kemik defektleri oluşturmuşlar ve üzerini sütüre edip 2 gün sonra lazer uygulamaya başlamışlardır. Haftada 3 kez her seans 4,8 J/cm^2 doz uygulamak suretiyle 1. ve 4. hafta sonundaki yeni kemik oluşumunu değerlendirmişlerdir. 4. hafta sonunda lazer uygulanan grupla kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken 1. hafta lazer

uygulanan grupta kontrol grubuna göre daha fazla mineralize kemik alanı ölçmüşlerdir. Araştırmacılar, lazer uygulamasının kemiğin onarım sürecinde erken dönemde etkili olduğu sonucuna varmışlardır.

Haftada 3 kez her seans 4 J/cm^2 doz lazer uyguladığımız çalışmamızda, 7. gün sonunda lazer (L) grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte daha fazla kemik miktarı ölçülmüştür.

Akyol ve Güngörmüş (139), diyabetik ratların femurlarında oluşturdukları kemik defektlerinin iyileşmesinde DDLT' nin etkilerini araştırmışlardır. Diyabetik ratların sağ ve sol femurlarının distal epifizlerinde frezle kemik defektleri oluşturup, sağ taraftaki defektlere lazer uygularken sol taraftaki defektleri kontrol grubu olarak kullanmışlardır. DDLT, GaAlAs (808 nm) diyot lazer ile cerrahiden hemen sonra ve iki günde bir ışınlama dozu 2 J/cm^2 olacak şekilde toplamda 5 seans uygulanmıştır. Deneklerin 10. ve 20. gün sakrifikasyonları gerçekleştirilmiştir. 10. günde diyabetik kontrol grubuna göre sağlıklı ratlardan oluşan kontrol grubu ve lazer uygulanan diyabetik ratlarda spongioz kemiğin biraz daha belirgin olduğunu görmüşlerdir. 20. günde ise lazer uygulanan diyabetik ratlardaki yeni kemik formasyonunun diğer gruplara göre daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, iki gün arayla 5 seans ve toplam doz olarak 10 J/cm^2 uygulanan DDLT'nin diyabetik ratlarda spongioz kemik iyileşmesi üzerine faydalı olabileceği sonucuna varmışlardır.

Markovic ve ark. (140), ratların sağ ve sol femurlarında 3 mm genişlik ve 2 mm derinlikte oluşturdukları kemik defektlerinin iyileşmesinde DDLT'nin etkilerini araştırmışlardır. Ratların sağ femurlarındaki kemik defektlerine lazer uygulamış, sol taraftaki kemik defektlerini ise kontrol grubu olarak kullanmışlardır. DDLT, GaAlAs (673 nm) diyot lazer ile 7 gün süreyle günlük doz 4 J/cm^2 olacak şekilde uygulanmıştır. Postoperatif 2. ve 3. haftada sakrifiye ettikleri denekleri histolojik olarak incelemişlerdir. 2. hafta sonunda lazer uygulanan grupta kontrol grubuna göre daha fazla matür kemik gözlemlemişlerdir. 3. hafta sonunda ise lazer uygulanan deneklerin tamamen spongioz lameller kemik ile dolduğu rapor edilmiştir. Araştırmacılar elde ettikleri bulguları değerlendirdiklerinde, DDLT'nin kemik defektlerinin iyileşmesini önemli ölçüde hızlandırabileceği sonucuna varmışlardır.

Rocha Júnior ve ark. (141), Wistar ratların sırtlarında punch kullanarak oluşturdukları cilt yaralarına günlük doz 3.8 J/cm^2 olacak şekilde GaAs (870 nm) diyot lazer uygulamışlardır. Haftada 3 seans (operasyon günü, postoperatif 2. gün ve 7. gün) DDLT uygulandıktan sonra postoperatif 10. günde denekler sakrifiye edilmiştir. Histopatolojik ve histomorfometrik incelemeler sonucunda, 10. günde lazer grubunda kontrol grubuna göre daha fazla yeni kan damarı oluşumu, fibroblast proliferasyonu ve daha az enflamatuar hücre gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar, DDLT'nin daha hızlı ve daha organize bir iyileşme süreciyle doku onarımında etkili bir yöntem olabileceği sonucuna varmışlardır.

Çalışmamızda, deneklere haftada 3 seans günlük doz 4 J/cm^2 olacak şekilde InGaAsP (940 nm) diyot lazer uygulanmıştır. Elde ettiğimiz bulgular doğrultusunda, 10. gün ortalama nötrofil sayısı lazer (L2) grubunda kontrol (K2) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur.

Kemik defektlerinin tedavisinde ideal ve öngörülebilir sonuçların elde edilmesine yönelik yapılan çalışmalarda TZF ön plana çıkmıştır. TZF kullanımındaki amaç trombositlerdeki büyüme faktörlerinin yara bölgesinde arttırılması ve bu sayede büyüme faktörlerinin iyileşme üzerindeki etkilerinden yararlanılarak iyileşmenin hızlandırılmasıdır (63).

Bugüne kadar TZF kullanılarak çekim soketlerinde yara iyileşmesinin değerlendirildiği birçok çalışma yapılmıştır (142-146). Fakat literatürde, TZF ve DDLT'nin kombine kullanılarak çekim soketlerinin iyileşmesindeki etkilerinin değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır.

Çekim soketinin iyileşmesinde TZF'nin etkisini araştıran Simon ve ark. (142), 4 köpekten 7'şer diş çekerek elde ettikleri 28 çekim soketinde farklı greft ve membranlar kullanmışlardır. İyileşme 10. gün, 2. hafta, 3. hafta, 6. hafta ve 12. haftada değerlendirilmiştir. Greft ve membran olarak TZF'nin kullanıldığı soketler 3. haftada tamamen kemikle dolmuştur. Greft olarak TZF ve membran olarak kollajen membranın kullanıldığı soketler benzer bir iyileşme göstermiştir. Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allografti ve kollajen membran kullanılan soketlerde 12. haftada mikroskobik olarak greft parçaları gözlenmiştir.

Anwandter ve ark. (144), TZF'nin diş çekimi sonrası alveoler krette görülen boyutsal değişikliklere olan etkisini araştırmışlardır. Kliniklerine başvuran sistemik hastalığı bulunmayan hastalarında tek köklü diş çekimleri gerçekleştirip deney grubunda çekim soketlerine TZF uygulamışlardır. Postoperatif 4. ayda oluşan boyutsal değişiklikleri klinik ve radyografik olarak değerlendirmişlerdir. Kontrol grubuyla kıyaslandığında TZF uygulanan grupta kemik iyileşmesi sırasındaki boyutsal değişikliklerin daha az olduğu gözlemlenmiştir. TZF ile yapılan soket korumanın kemik rezorpsiyonunu sınırlama konusunda ümit vaat ettiği sonucuna varmışlardır.

Girish Rao ve ark. (146), TZF'nin diş çekimini takiben kemik iyileşmesine olan etkisini araştırmışlardır. 22 hastada her iki çenede sağ ve sol üçüncü molarların çekimini gerçekleştirip bir taraftaki çekim soketine TZF uygularken diğer taraftaki soketi kontrol grubu olarak kullanmışlardır. Hastaları, postoperatif 1. gün, 1. hafta, 3.ay ve 6. ay kontrole çağırmış ve kemik rejenerasyonunu radyografik olarak değerlendirmişlerdir. Tüm kontrollerde TZF uygulanan soketlerde daha fazla pikselde kemik dolumu kaydetmişlerdir.

Hoaglin ve ark. (147), alt çenede üçüncü molar çekimi sonrası bir grupta çekim boşluğunu boş bırakmış, diğer grupta ise TZF uygulamışlardır. TZF uygulanan grupta, lokalize alveoler osteitis gelişme sıklığının istatistiksel olarak anlamlı oranda daha az olduğunu ve TZF'nin içeriğinde bulundurduğu lökositler ile enfeksiyon önleyici özellik gösterdiğini belirtmişlerdir.

Hauser ve ark. (148), yaptıkları randomize kontrollü bir çalışmada çekim boşluğu bir grupta TZF ile korunmuş diğer grupta ise boş bırakılmıştır. 8 hafta sonra implant yerleştirilmeden önce alınan kemik biyopsisi tomografide incelendiğinde, TZF uygulamasının alveol kemiğinin korunmasına ve yeni oluşan kemiğin kalitesine istatistiksel olarak anlamlı oranda katkı sağladığı belirlenmiştir.

Sindel ve ark. (149), Wistar ratlarda kalvaryal kemik defektleri oluşturmuşlar ve greft olarak kullandıkları putty formundaki demineralize kemik matriksinin (DBM), TZF'nin ve hyalüronik asit jelin (HA) kemik iyileşmesine olan etkilerini karşılaştırmışlardır. TZF grubu için kan alımı ratların ventral kuyruk arterlerinden gerçekleştirilmiştir. Alınan 3.5 ml kan 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek TZF

hazırlanmıştır. Denekler postoperatif 21. günde sakrifiye edilmiş ve yeni oluşan kemik trabeküllerindeki toplam horizontal uzunluk, toplam vertikal uzunluk ve en büyük kemik trabekülü parametreleri histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir. Toplam horizontal uzunluk HA grubu ve kontrol grubuyla kıyaslandığında DBM grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Ayrıca, kontrol grubuyla kıyaslandığında TZF grubunda da toplam horizontal uzunluk istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. HA grubuyla kıyaslandığında TZF grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede büyük kemik trabekülü ölçülmüştür. Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, DBM ve TZF'nin birbirine göre üstünlüğü görülmezken ikisi de kemik rejenerasyonunda hyalüronik asit jele göre daha üstün bulunmuştur. Ayrıca, hyalüronik asit jelin tek başına kullanımının kemik iyileşmesinde etkili bir artış göstermediği sonucuna varılmıştır.

Abdullah (150), ratlarda kalvaryal kemik defektleri oluşturmuş ve bir grupta TZF uygularken diğer grupta TZF ile birlikte beta-trikalsiyum fosfat (β-TCF) uygulamıştır. TZF hazırlamak için ratların orbital sinüslerinden alınan 4 ml kan 3000 rpm'de 12 dk santrifüj edilmiştir. Mikrotomografik olarak değerlendirilen çalışmada ilk 2 hafta sonunda en fazla kemik rejenerasyonu TZF ile birlikte β-TCF uygulanan grupta gözlenmiştir. Ayrıca, kemik hacmi ve densitesi göz önüne alındığında TZF grubu ve TZF ile birlikte β-TCF grubu arasında postoperatif 3., 4., ve 6. haftalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Literatürdeki birçok çalışmada ratlarda TZF elde etmek amacıyla alınan kan örneklerinin 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmesi önerilirken yaptığımız ön çalışmalarda bu parametrelerle TZF elde edilememiştir. Abdullah (150), çalışmasında diğer çalışmalardan farklı olarak 3000 rpm'de 12 dakikalık santrifüj sonrasında TZF elde etmiştir. Bizim çalışmamızda da ratlardan alınan 4 ml kan 3000 rpm'de 12 dk santrifüj edilerek TZF elde edilmiştir.

Dülgeroğlu ve ark. (151), ratlarda açık femur kırıklarına uyguladıkları TZF'nin kemik iyileşmesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Postoperatif 4. haftada radyolojik ve histolojik olarak değerlendirdikleri çalışmalarında, TZF'nin kemik iyileşmesini hızlandırdığı sonucuna varmışlardır.

Can ve Durmuş (152), tavşan tibiasında oluşturdukları kemik defektlerinde TZF uygulamasının kemik iyileşmesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Oluşturulan 24 adet defektin 12 adedi boş bırakılarak kontrol grubu olarak değerlendirilirken, kalan defektler TZF ile doldurulmuştur. Klinik ve radyografik muayeneler operasyondan hemen sonra, 15., 30., 45. ve 60. günlerde gerçekleştirilmiştir. Postoperatif 30. ve 60. günlerde altışar tavşan sakrifiye edilerek histopatolojik incelemeler gerçekleştirilmiştir. Radyolojik ve histolojik değerlendirmeler sonucunda TZF kullanılan defektlerdeki kemik iyileşmesinin daha iyi olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, TZF'nin erken dönem kemik iyileşmesini önemli miktarda arttırdığı, iyi bir greft materyali olarak rahatlıkla kullanılabileceği kanısına varılmıştır.

El-Hayes ve ark. (153), tavşanlarda DDLT ve TZF'nin kombine olarak kullanımının kemik iyileşmesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla tavşan femurlarında kemik kaviteleri oluşturmuşlar ve denekleri, kontrol grubu, DDLT grubu, TZF grubu ve DDLT+TZF grubu olmak üzere 4 gruba ayırmışlardır. DDLT, GaAlAs (808 nm) diyot lazer ile günlük doz 4 J/cm^2 olacak şekilde uygulanmıştır. Denekleri postoperatif 30. günde sakrifiye etmişlerdir. Histolojik olarak değerlendirdikleri çalışmalarında, yeni kemik alanı ölçümü DDLT+TZF grubunda diğer üç grupla kıyaslandığında, DDLT grubunda ise TZF grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Araştırmacılar, DDLT'nin kemik iyileşmesini stimüle ederken TZF'den daha hızlı etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, DDLT ve TZF'nin birlikte uygulandığında tek başlarına kullanımlarına göre kemik iyileşmesini daha fazla stimüle ettiği sonucuna varmışlardır.

Çekim soketindeki kemik iyileşmesini değerlendirdiğimiz çalışmamızda ise, DDLT ve TZF'yi birlikte uyguladığımız gruptaki yeni kemik miktarı 7., ve 14. günlerde kontrol grubuyla kıyaslandığında, 10. günde ise hem kontrol grubuyla hem de TZF grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Nagata ve ark. (154), ratlarda periodontal fenestrasyon defektlerinin iyileşmesinde TZP ve DDLT'nin kombine olarak kullanımının etkilerini araştırmışlardır. 80 adet Wistar ratın mandibulasında fenestrasyon defektleri

oluşturulmuş ve denekler kontrol, TZP, DDLT ve TZP+DDLT grubu olmak üzere 4 gruba ayrılmışlardır. DDLT, InGaAlP (660 nm) diyot lazer ile günlük doz 6 J/cm^2 (0.035 W gücünde, 5 sn süreyle, 0.0283 cm^2 alana) olacak şekilde uygulanmıştır. Denekleri postoperatif 10. ve 30. günlerde sakrifiye etmişlerdir. Yeni kemik yüzdesi, yeni kemik densitesi, yeni sement oluşumu ve kalan defekt alanı histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir. 10. günde TZP grubunda gözlenen kalan defekt alanı kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az bulunmuştur. 30. günde TZP grubunda gözlenen yeni kemik yüzdesi ve densitesi kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla bulunmuştur. Araştırmacılar, DDLT'nin, TZP'nin veya her ikisinin kombinasyonunun fonksiyonel periodontal ligament ile birlikte yeni sement oluşumunu desteklediği sonucuna varırken, TZP ve DDLT kombinasyonunun tek başlarına kullanımlarıyla kıyaslandığında artı bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

6. SONUÇLAR

TZF ve DDLT'nin ratlarda diş çekimi ile oluşturulan yara bölgesinde kemik oluşumu üzerine etkisinin değerlendirilmesini amaçlayan deneysel çalışmamızda aşağıdaki verilere ulaşılmıştır:

1. Ratlarda çekim soketine uygulanan TZF ve DDLT'nin, deneysel yeni kemik oluşumunun değerlendirilmesi için uygun bir model olduğu düşünülmektedir.

2. Çalışmamızda ulaşım kolaylığı nedeniyle maksiller keser diş çekimi tercih edilmiştir. Bununla beraber, araştırma sırasında keser diş morfolojisinden kaynaklanan çekim zorluğunun ratlarda travma ve stres kaynağı oluşturduğu düşünülmektedir.

3. LT grubunun 7. ve 14. gün yeni kemik miktarı K grubuna göre, 10. gün yeni kemik miktarı ise K ve T gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Bu sebeple TZF ve DDLT'nin birlikte kullanımının tek başlarına kullanımlarına göre kemik iyileşmesini daha fazla stimüle ettiği düşünülmektedir.

4. K grubunda 7. günde ve 10. günde görülen yeni kemik miktarı 14. günde görülen yeni kemik miktarına göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. T, L ve LT gruplarında 7. günde görülen yeni kemik miktarı 14. günde görülen yeni kemik miktarına göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

5. L grubunun 7. gün ortalama nötrofil sayısı T grubuna göre; K grubunun 7. gün ortalama nötrofil sayısı ise T ve LT gruplarına göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$). T ve LT gruplarında enflamasyonun erken dönemlerinde ortalama nötrofil sayısının yüksek olmasının, TZF'nin nötrofil kemotaksisini arttırıcı etkisinden ötürü olabileceği düşünülmüştür.

6. L grubunun 10. gün ortalama nötrofil sayısı K grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$). L grubunda enflamasyonun erken dönemlerinde ortalama nötrofil sayısının düşük olmasının, DDLT'nin bakterisidal etkisiyle enflamasyonu diğer gruplara göre daha hızlı kontrol altına alarak bu fazı kısaltmasıyla ilgili olabileceği düşünülmüştür.

7. LT grubunun 14. gün ortalama nötrofil sayısı K grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

8. Tüm grupların 14. gün ortalama nötrofil sayıları 7. gün ortalama nötrofil sayılarına göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

9. K grubunun 7. gün ortalama lenfosit sayısı L grubuna göre, 10. gün ortalama lenfosit sayısı ise LT grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

10. LT grubunun 14. gün ortalama lenfosit sayısı K grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Lenfositlerin deney gruplarında kontrol grubuna göre daha erken ortama hakim olması kronik enflamasyonun deney gruplarında daha kısa sürebileceğini düşündürmektedir.

11. K grubunda 7. gün ortalama lenfosit sayısı 14. gün ortalama lenfosit sayısına göre, T grubunda 7. gün ortalama lenfosit sayısı 10. gün ortalama lenfosit sayısına göre, LT grubunda 7. gün ve 14. gün ortalama lenfosit sayısı 10. gün ortalama lenfosit sayısına göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

Bu sonuçlar göz önüne alındığında TZF ve DDLT'nin birlikte kullanımının diş çekimi yapılan ratlarda yeni kemik oluşumunu arttırdığı düşünülmektedir. Literatürde TZF ve DDLT'nin farklı uygulama yöntemleriyle ayrı ayrı değerlendirildiği birçok çalışma mevcuttur. Ancak TZF ve DDLT'nin kombine kullanımının farklı cerrahi teknikler ile değerlendirildiği daha çok çalışmanın yapılması gerektiği kanaatindeyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Junqueira, L.C. Carneiro, J. Temel histoloji. Bölüm 8 Kemik, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, s.141-155, 2006.
2. Akay MT. Genel Histoloji, Beşinci Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara, 2001.
3. Bostrom MPG, Yang X, Koutras I. Biologics in bone healing. Curr Opin Orthop, 11:403-412, 2000.
4. Nancy A, Whitson SW, Bianco P. Bone. In: Antonio Nanci Ed. Ten Cate's Oral Histology, St. Louis, Missouri: Mosby Inc; 111-145, 2003.
5. Garg Arun K. Bone biology, harvesting, grafting for dental implants. Quintessence Publishing, 2004.
6. Fogelman I. et al. (eds.), Radionuclide and Hybrid Bone Imaging, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2012.
7. Darby I, Chen S, De Poi R. Ridge preservation: what is it and when should it be considered. Australian Dental Journal. 53: 11–21, 2008.
8. Darby I, Chen S, Buser D. Ridge preservation techniques for implant therapy. J Oral Maxillofac. Implants. 24(Suppl):260–271, 2009.
9. Cardaropoli G, Arau´jo M, Lindhe J: Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. J Clin Periodontol. 30:809–818, 2003.
10. Güngör F, Türker M, Güngör N, Erinanç A, et al. Çekim Yaralarında İndometasin'in Lokal ve Sistemik Tatbikinde Prostoglandin Aktivitesinin Deneysel Olarak Saptanması. G Ü Dişhek Fak Der. II(1):133-144, 1985.
11. Irinakis T. Rationale for socket preservation after extraction of a singlerooted tooth when planning for future ımplant placement. J Can Dent Assoc. 72(10):917–22, 2006.
12. Çırak E. Düşük enerji seviyeli lazerlerin diş çekimi sonrasında kemik iyileşmesi üzerine olan etkisinin incelenmesi. Gazi Üniversitesi, Doktora Tezi, Ankara, 2013.
13. Sırav B. Lazer nedir? Fiziği ve doku ile etkileşimi. Türkiye Klinikleri J Dental Sci-Special Topics. 3(2):1-6, 2012.

14. Doğan GE. Furkasyon II kemik defektlerinde düşük doz lazer uygulamasının kemik tamiri üzerine olan etkilerinin laboratuar ve klinik değerlendirilmesi. Atatürk Üniversitesi, Doktora Tezi, Erzurum, 2013.

15. Colluzzi DJ. Fundamentals of dental lasers: Science and instruments. Dent Clin N Am 48:751-770, 2004.

16. Uysal D, Güler Y. Laser in dentistry: a literature review. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi 6:44-53, 2012.

17. Tosun E, Taşar F. Oral ve maksillofasiyal cerrahide lazer kullanımı. Turkiye Klinikleri J Dental Sci-Special Topics. 3(2):26-30, 2012.

18. Sun G, Tuner J. Low-level Laser Theraphy in Dentistry. Dent Clin N Am 48: 1061-76, 2004.

19. Strauss RA, Fallon SD. Lasers in contemporary oral and maxillofacial surgery. Dent Clin N Am 48:861-888, 2004.

20. Mester E, Spiry T, Szende B, Tota JG. Effect of laser rays on wound healing. Am J Surg 122:532-5, 1971.

21. Gerold K, Eyrich H. Laser-osteotomy induced changes in bone. J Med Las Appl 20:25-36, 2005.

22. Baxter GD. Therapeutic Lasers Theory and Practice. Singapore: Longman Singapore Publishers; 1994.

23. Şener BC, Uğurlu F. Diş hekimliğinde kullanılan lazerler. Turkiye Klinikleri J Dental Sci-Special Topics. 3(2):7-12, 2012.

24. Suter VG, Altermatt HJ, Sendi P, Mettraux G, Bornstein MM. CO2 and diode laser for excisional biopsies of oral mucosal lesions. A pilot study evaluating clinical and histopathological parameters. Schweiz Monatsschr Zahnmed. 120(8):664-71, 2010.

25. White J.M, Chaudhry SI, Kudler JJ, Sekandari N, Schoelch ML, Silverman Jr S. Nd: YAG and CO2 laser therapy of oral mucosal lesions. Journal of clinical laser medicine & surgery. 16(6):299-304, 1998.

26. Gaspar L. The use of high-power lasers in oral surgery. J Clin Laser Med Surg. 12(5):281-5, 1994.

27. Romanos G, Nentwig GH. Diode laser (980 nm) in oral and maxillofacial surgical procedures: clinical observations based on clinical applications. J Clin Laser Med Surg. 17(5):193-7, 1999.

28. Hemlata G, Vishal G, Jagadeesh HG, Gaurav B. Peri-implantitis and lasers - a review. Int J Biol Med Res. 3(3):2302-2305, 2012.

29. Natto ZS, Aladmawy M, Levi PA Jr, Wang HL. Comparison of the efficacy of different types of lasers for the treatment of peri-implantitis: a systematic review. Int J Oral Maxillofac Implants. Mar-Apr;30(2):338-45, 2015.

30. Ashnagar S, Nowzari H, Nokhbatolfoghahaei H, Yaghoub Zadeh B, Chiniforush N, Choukhachi Zadeh N. Laser treatment of peri-implantitis: a literature review. J Lasers Med Sci. Fall;5(4):153-62, 2014.

31. Kahraman SA. Düşük seviyeli lazer terapisi. Turkiye Klinikleri J Dental Sci-Special Topics. 3(2):34-42, 2012.

32. Sommer AP, Pinheiro AL, Mester AR, Franke RP, Whelan HT. Biostimulatory windows in low-intensity laser activation: lasers, scanners, and NASA's light-emitting diode array system. J Clin Laser Med Surg. Feb;19(1):29-33, 2001.

33. Ying-Ying Huang, Aaron C.-H. Chen, James D. Carroll, Michael R. Hamblin. Biphasic dose response in low level light therapy. Dose Response. 7(4): 358–383, 2009.

34. Maria Emília de Abreu Chaves, Angélica Rodrigues de Araújo, André Costa Cruz Piancastelli, Marcos Pinotti. Effects of low-power light therapy on wound healing: LASER x LED. An Bras Dermatol. Jul-Aug; 89(4): 616–623, 2014.

35. Jugta Khuman, Jimmy Zhang, Juyeon Park, James D. Carroll, Chad Donahue, Michael J. Whalen. Low-level laser light therapy improves cognitive deficits and inhibits microglial activation after controlled cortical impact in mice. J Neurotrauma. Jan 20; 29(2): 408–417, 2012.

36. AlGhamdi KM, Kumar A, Moussa NA. Low-level laser therapy: a useful technique for enhancing the proliferation of various cultured cells. Lasers Med Sci. Jan;27(1):237-49, 2012.

37. Saygun I, Karacay S, Serdar M, Ural AU, Sencimen M, Kurtis B. Effects of laser irradiation on the release of basic fibroblast growth factor (bFGF), insulin like

growth factor-1 (IGF-1), and receptor of IGF-1 (IGFBP3) from gingival fibroblasts. Lasers Med Sci. Apr;23(2):211-5, 2008.

38. Pamuk K, Okcu KM, Sencimen M, Saritas ZK, Dogan N, Korkmaz M. Investigation of the effect of low-level laser therapy on tooth extension in wistar rats: a preliminary study. Journal of Animal and Veterinary Advances. 8(10):2055-57, 2009.

39. Freitas IG, Baranauskas V, Cruz-Höfling MA. Laser effects on osteogenesis. Applied Surface Science. 154-155:548-54, 2000.

40. Dörtbudak O, Haas R, Mailath-Pokorny G. Effect of low-power irradiation on bony implant sites. Clin Oral İmplants Res. 13(3):288-92, 2002.

41. Guzzardella GA, Torricelli P, Nicoli-Aldini N, Giardino R. Osseointegration of endosseous ceramic implants after postoperative low-power laser stimulation: an in vivo comparative study. Clin Oral İmplants Res. 14(2):226-32, 2003.

42. Pinheiro LB. Recent studies on bone regeneration. International Congress Series. 1248:69-72, 2003.

43. Fernando S, Hill CM, Walker R. A randomised double-blind comparative study of low level laser therapy following surgical extraction of lower third molar teeth. Br J Oral Maxillofac Surg. 31(3):170-2, 1993.

44. Park JJ, Kang KL. Effect of 980-nm GaAlAs diode laser irradiation on healing of extraction sockets in streptozotocin-induced diabetic rats: a pilot study. Lasers Med Sci. 27:223–230, 2012.

45. Park JB, Ahn SJ, Kang YG, Kim EC, Heo JS, Kang KL. Effects of increased low-level diode laser irradiation time on extraction socket healing in rats. Lasers Med Sci 30:719–726, 2015.

46. Korany NS, Mehanni SS, Hakam HM, El-Maghraby EM. Evaluation of socket healing in irradiated rats after diode laser exposure (histological and morphometric studies). Arch Oral Biol. Jul;57(7):884-91, 2012.

47. Romão MM, Marques MM, Cortes AR, Horliana AC, Moreira MS, Lascala CA. Micro-computed tomography and histomorphometric analysis of human alveolar bone repair induced by laser phototherapy: a pilot study. Int J Oral Maxillofac Surg. Dec;44(12):1521-8, 2015.

48. Hamad SA, Naif JS, Abdullah MA. Effect of diode laser on healing of tooth extraction socket: an experimental study in rabbits. J Maxillofac Oral Surg. Sep;15(3):308-314, 2016.

49. da Guarda MG, Paraguassú GM, Cerqueira NS, Cury PR, Farias JG, Ramalho LM. Laser GaAlAs (λ860 nm) photobiomodulation for the treatment of bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. Photomed Laser Surg. May;30(5):293-7, 2012.

50. Shin SH, Kim KH, Choi NR, Kim IR, Park BS, Kim YD, Kim UK, Kim CH. Effect of low-level laser therapy on bisphosphonate-treated osteoblasts. Maxillofac Plast Reconstr Surg. Nov 25;38(1):48, 2016.

51. Cowen D, Tardieu C, Schubert M, Peterson D, Resbeut M, Faucher C, Franquin JC. Low energy Helium-Neon laser in the prevention of oral mucositis in patients undergoing bone marrow transplant: results of a double blind randomized trial. Int J Radiat Oncol Biol Phys. Jul 1;38(4):697-703, 1997.

52. Miloro M, Repasky M. Low-level laser effect on neurosensory recovery after sagittal ramus osteotomy. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. Jan;89(1):12-8, 2000.

53. Dohan Ehrenfest DM, Bielecki T, Mishra A, Borzini P, Inchingolo F, Sammartino G, Rasmusson L, Evert PA. In search of a consensus terminology in the field of platelet concentrates for surgical use: platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), fibrin gel polymerization and leukocytes. Curr Pharm Biotechnol. Jun;13(7):1131-7, 2012.

54. Dohan Ehrenfest DM, Sammartino G, Shibli JA, Wang HL, Zou DR, Bernard JP. Guidelines for the publication of articles related to platelet concentrates (platelet-rich plasma - PRP, or platelet-rich fibrin - PRF): the international classification of the POSEIDO. Periodontology, Oral Surgery, Esthetic & Implant Dentistry Open Journal. 1(1):17-27, 2013.

55. Kingsley CS. Blood coagulation; evidence of an antagonist to factor VI in platelet-rich human plasma. Nature. 173(4407):723-724, 1954.

56. Fischer H. A method of suture-free anastomosis of nerve transplantation is being reported, using facial nerve as the example. Laryngol. Rhinol. Otol. 58(2):154-156, 1979.

57. Knighton DR, Ciresi KF, Fiegel VD, Austin LL, Butler EL. Classification and treatment of chronic nonhealing wounds. Successful treatment with autologous platelet-derived wound healing factors (PDWHF). Ann Surg. Sep;204(3):322-30, 1986.

58. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. J Oral Maxillofac Surg. Nov;55(11):1294-9, 1997.

59. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. Jun;85(6):638-46, 1998.

60. Dohan EDM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. Mar;101(3):e37-44, 2006.

61. Dohan EDM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. Mar;101(3):e45-50, 2006.

62. Dohan EDM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. Mar;101(3):e51-5, 2006.

63. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Dohan DM. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. Mar;101(3):e56-60, 2006.

64. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Dohan DM. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. Mar;101(3):299-303, 2006.

65. Dohan EDM, Rasmusson L, Albrektsson. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (PPRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). Trends in Biotechnology. 27(3):158-167, 2009.

66. Peker E, Karaca İR. Oral ve maksillofasiyal cerrahide trombosit konsantreleri ve kullanım alanları. Turkiye Klinikleri J Oral Maxillofac Surg-Special Topics. 2(2):76-82, 2016.

67. Tunalı M, Özdemir H, Küçükodacı Z, Akman S, Fıratlı E. In vivo evaluation of titanium-prepared platelet-rich fibrin (T-PRF): a new platelet concentrate. Br J Oral Maxillofac Surg. 51: 438-443, 2013.

68. Choukroun J. Advanced PRF and i-PRF: Platelet concentrate or blood concentrate? J Periodontal Med Clin Pract. 1: 3, 2014.

69. Taşkaldıran A, Koçyiğit İD, Tüz H, Tekin U, Atıl F. Trombositten zengin plazma ve trombositten zengin fibrinin ağız, çene ve yüz cerrahisinde kullanım alanı. ADO Klinik Bilimler Dergisi 5(3):947-957, 2011.

70. Bölükbaşı N, Ersanlı S, Özdemir T. Trombositten zengin biyomateryallerin oral implantolojide kullanılması. İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi 43(3-4):99-106, 2009.

71. Yılmaz N, Ünsal HY. Yumuşak doku iyileşmesinde trombositten zengin fibrinin rolü. Turkiye Klinikleri J Oral Maxillofac Surg-Special Topics. 2(3):28-32, 2016.

72. Gray AJ, Bishop JE, Reeves JT, Laurent GJ. A alpha and B beta chains of fibrinogen stimulate proliferation of human fibroblasts. J Cell Sci. 104:409-13, 1993.

73. Yılmaz D. Domuzlarda Oluşturulan Kemik Defektlerinde Trombositten Zengin Fibrin İle Trikalsiyum Fosfatın Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Histolojik Olarak Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Ankara: GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, 2009.

74. Kobayashi M, Kawase T, Horimizu M, Okuda K, Wolff LF, Yoshie H. A proposed protocol for the standardized preparation of PRF membranes for clinical use. Biologicals. 40:323-329, 2012.

75. Toffler M, Toscano N, Holtzclaw D, Corso M, Dohan D. Introducing Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) to the reconstructive surgery milieu. The J Implant Adv Clin Dent 1(6):21-30, 2009.

76. Heldin CH, Westermark B. Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor. Physiol Rev. 79:1283–316, 1999.

77. Lindahl P, Johansson BR, Leveen P, Betsholtz C. Pericyte loss and microaneurysm formation in PDGF-B-deficient mice. Science. 277: 242–5, 1997.

78. Sundberg C, Branting M, Gerdin B, Rubin K. Tumor cell and connective tissue cell interactions in human colorectal adenocarcinoma. Transfer of platelet-derived growth factor- AB/BB to stromal cells. Am. J. Pathol. 151: 479–92, 1997.

79. Uutela M, Wirzenius M, Paavonen K, Rajantie I, He Y, Karpanen T, Lohela M, Wiig H, Salven P, Pajusola K, Eriksson U, Alitalo K. PDGF-D induces macrophage recruitment, increased interstitial pressure, and blood vessel maturation during angiogenesis. Blood. 104: 3198–204, 2004.

80. Rabhi-sabile S, Pidard D, Lawler J, Renesto P, Chignard M, Legrand C. Proteolysis of thrombospondin during cathepsin- G-induced platelet aggregation: functional role of the 165-kDa carboxy-terminal fragment. FEBS Lett. 386: 82–6, 1996.

81. Krishnaswami S, LY QP, Rothman VL, Tuszynski GP. Thrombospondin-1 promotes proliferative healing through stabilization of PDGF. J Surg Res. 107: 124–30, 2002.

82. Rhee S, Grinnell F. P21-activated kinase 1: convergence point in PDGF- and LPA stimulated collagen matrix contraction by human fibroblasts. J Cell Biol. 172: 423–32, 2006.

83. Jinnin M, Ihn H, Mimura Y, Asano Y, Yamane K, Tamaki K. Regulation of fibrogenic/fibrolytic genes by platelet-derived growth factor C, a novel growth factor, in human dermal fibroblasts. J Cell Physiol. 202: 510–7, 2005.

84. Balcı H, Toker H. Trombositten zengin fibrin: özellikleri ve diş hekimliğinde kullanımı. GÜ Diş Hek Fak Derg. 29(3):183-192, 2012.

85. Görmez U. Dental implant çevresinde cerrahi olarak oluşturulan kemik defektlerinde sığır kaynaklı laktoferrinin kemik rejenerasyonuna etkisi. Çukurova Üniversitesi, Doktora Tezi, Adana, 2008.

86. Sezgin Y, Taner İL. Trombositten zengin fibrin ve dental uygulamalarda kullanımı. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Dergisi 22(3),325-333, 2012.

87. Khan SN, Bostrom MP, Lane JM. Bone growth factors. Orthop Clin North Am, 31:375-88, 2000.

88. Ribatti D, Vacca A, Presta M. The discovery of angiogenic factors: a historical review. Gen Pharmacol. 35(5):227-31, 2002.

89. Intini G. The use of platelet-rich plasma in bone reconstruction therapy. Biomaterials. 30:4956-4966, 2009.

90. Nakamura K, Koshino T, Saito T. (1998). Osteogenic response of the rabbit femur to a hydroxyapatite thermal decomposition product-fibrin glue mixture. Biomaterials. 19:1901-7, 1998.

91. Raja VS, Naudi EM. Platelet-rich fibrin: evolution of a second- generation platelet concentrate. Indian Journal of Dental Research. 19(1):42-46, 2008.

92. Ozgul O, Senses F, Er N, Tekin U, Tuz HH, Alkan A, Kocyigit ID, Atil F. Efficacy of platelet rich fibrin in the reduction of the pain and swelling after impacted third molar surgery: randomized multicenter split-mouth clinical trial. Head Face Med. Nov 26;11:37, 2015.

93. Simonpieri A, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. The relevance of Choukroun's platelet-rich fibrin and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part I: a new grafting protocol. Implant Dent. Apr;18(2):102-11, 2009.

94. Şençimen M, Gülses A, Özkaynak Ö, Varol A, Okçu KM, Doğan N. Trombositten zengin fibrin membran kaplı otojen kemik grefti ile tek taraflı alveol yarığı onarımı. HÜ Diş Hek Fak Derg. 33(3):37-42, 2009.

95. Simonpieri A, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. The relevance of Choukroun's platelet-rich fibrin and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part II: implant surgery, prosthodontics, and survival. Implant Dent. Jun;18(3):220-9, 2009.

96. Kawase T, Kamiya M, Kobayashi M, Tanaka T, Okuda K, Wolff LF, Yoshie H. The heat-compression technique for the conversion of platelet-rich fibrin preparation to a barrier membrane with a reduced rate of biodegradation. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. May;103(4):825-31, 2015.

97. Inchingolo F, Tatullo M, Marrelli M, Inchingolo AM, Scacco S, Inchingolo AD, Dipalma G, Vermesan D, Abbinante A, Cagiano R. Trial with Platelet-Rich Fibrin

and Bio-Oss used as grafting materials in the treatment of the severe maxillar bone atrophy: clinical and radiological evaluations. Eur Rev Med Pharmacol Sci. Dec;14(12):1075-84, 2010.

98. Zhang Y, Tangl S, Huber CD, Lin Y, Qiu L, Rausch-Fan X. Effects of Choukroun's platelet-rich fibrin on bone regeneration in combination with deproteinized bovine bone mineral in maxillary sinus augmentation: a histological and histomorphometric study. J Craniomaxillofac Surg. Jun;40(4):321-8, 2012.

99. Yoon JS, Lee SH, Yoon HJ. The influence of platelet-rich fibrin on angiogenesis in guided bone regeneration using xenogenic bone substitutes: a study of rabbit cranial defects. J Craniomaxillofac Surg. Oct;42(7):1071-7, 2014.

100. Mazor Z, Horowitz RA, Del Corso M, Prasad HS, Rohrer MD, Dohan Ehrenfest DM. Sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using Choukroun's platelet-rich fibrin as the sole grafting material: a radiologic and histologic study at 6 months. J Periodontol. Dec;80(12):2056-64, 2009.

101. Simonpieri A, Choukroun J, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Simultaneous sinus-lift and implantation using microthreaded implants and leukocyte- and platelet-rich fibrin as sole grafting material: a six-year experience. Implant Dent. Feb;20(1):2-12, 2011.

102. Toffler M, Toscano N, Holtzclaw D. Osteotome-mediated sinus floor elevation using only platelet-rich fibrin: an early report on 110 patients. Implant Dent. Oct;19(5):447-56, 2010.

103. Simonpieri A, Del Corso M, Vervelle A, Jimbo R, Inchingolo F, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Current knowledge and perspectives for the use of platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in oral and maxillofacial surgery part 2: Bone graft, implant and reconstructive surgery. Curr Pharm Biotechnol. Jun;13(7):1231-56, 2012.

104. Charrier JB, Monteil JP, Albert S, Collon S, Bobin S, Dohan Ehrenfest DM. Relevance of Choukroun's Platelet-Rich Fibrin (PRF) and SMAS flap in primary reconstruction after superficial or subtotal parotidectomy in patients with focal pleiomorphic adenoma: a new technique. Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord). 129(4-5):313-8, 2008.

105. Sclafani AP. Applications of platelet-rich fibrin matrix in facial plastic surgery. Facial Plast Surg. Nov;25(4):270-6, 2009.

106. Sclafani AP. Platelet-rich fibrin matrix for improvement of deep nasolabial folds. J Cosmet Dermatol. Mar;9(1):66-71, 2010.

107. AALAS, Rat and mouse anatomy. https://www.aalas.org/mouse-anatomy#.WTQd7WjyjIU [09.06.2017].

108. Vidal B, Pinto A, Galvão MJ, Santos AR, Rodrigues A, Cascão R, Abdulghani S, Caetano-Lopes J, Ferreira A, Fonseca JE, Canhao H. Acta Reumatol Port. Oct-Dec;37(4):294-300, 2012.

109. Microscopeworld, Measuring with a microscope reticle. https://www.microscopeworld.com/t-microscope_reticle_measuring.aspx [23.07.2017].

110. Agrawal R, Gupta J, Gupta KK, Kumar V. Correlation of mast cells in different stages of human periodontal diseases: pilot study. J Oral Maxillofac Pathol. Jan-Apr;20(1):91-5, 2016.

111. Kanyama M, Kuboki T, Akiyama K, Nawachi K, Miyauchi FM, Yatani H, Kubota S, Nakanishi T, Takigawa M, et al. Connective tissue growth factor expressed in rat alveolar bone regeneration sites after tooth extraction. Archives of Oral Biology 48:723-730, 2003.

112. Asvanund P, Chunhabundit P. Alveolar bone regeneration by implantation of nacre and B-tricalcium phosphate in guinea pig. Implant Dent. Jun;21(3):248-53, 2012.

113. Kim KA, Choi EK, Ohe JY, Ahn HW, Kim SJ. Effect of low-level laser therapy on orthodontic tooth movement into bone-grafted alveolar defects. Am J Orthod Dentofacial Orthop. Oct;148(4):608-17, 2015.

114. Fronza B, Somacal T, Mayer L, de Moraes JF, de Oliveira MG, Weber JB. Assessment of the systemic effects of low-level laser therapy (LLLT) on thyroid hormone function in a rabbit model. Int J Oral Maxillofac Surg. Jan;42(1):26-30, 2013.

115. Arıcı G. Tavşanda ozonize kan ile kombine edilmiş greft materyalinin maksiller sinüs lifting uygulamalarındaki etkinliğinin değerlendirilmesi. Sağlık

Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız, Diş ve Cerrahisi AD. Uzmanlık Tezi. Ankara, 2016.

116. Coşkun AT. Sinüs lift uygulaması yapılmış diyabetik tavşanlarda hiperbarik oksijen tedavisinin yeni kemik oluşumu üzerine etkisi. Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diş Hekimliği Bilimleri Merkezi, Ağız, Diş ve Cerrahisi AD. Uzmanlık Tezi. Ankara, 2016.

117. Şahin S, Saygun I, Kurt B, Çanakçı FC, Akyol M, Altuğ HA, Kurtiş B, Şençimen M. Lokal antimikrobiyal ajanların palatinal bölgeden alınan greft alanındaki doku defektinin iyileşmesi üzerine etkilerinin histomorfometrik yöntemle incelenmesi. Gülhane Tıp Dergisi 51:27-33, 2009.

118. Okcu KM, Doğan N, Şençimen M, Korkmaz C, Altuğ HA, Tayfun İD, Akyol M. The effect of a hemostatic agent (fastact) to wound and tissue repair in a rat model. Trakya Univ Tip Fak Derg 27(3):221-226, 2010.

119. Manrique N, Pereira CC, Garcia LM, Micaroni S, Carvalho AA, Perri SH, Okamoto R, Sumida DH, Antoniali C. Alveolar bone healing process in spontaneously hypertensive rats (SHR). A radiographic densitometry study. J Appl Oral Sci. Mar-Apr;20(2):222-7, 2012.

120. Gau CH, Hsieh YD, Shen EC, Lee S, Chiang CY, Fu E. Healing following tooth extraction in cyclosporine-fed rats. International journal of oral and maxillofacial surgery. 34(7):782-8, 2005.

121. Silva HC, Coletta RD, Jorge J, Bolzani G, De Almeida OP, Graner E. The effect of cyclosporin A on the activity of matrix metalloproteinases during the healing of rat molar extraction wounds. Archives of oral biology. 46(9):875-9, 2001.

122. Elsubeihi ES, Heersche JNM. Quantitative assessment of postextraction healing and alveolar ridge remodelling of the mandible in female rats. Archives of Oral Biology. 49:401-412, 2004.

123. Pietrokovski J, Massler M. Ridge remodelling after tooth extraction in rats. J Dent Res 46(1):222-31, 1967.

124. Okamoto T, Russo MC: Wound healing following tooth extraction. Histochemical study in rats. Rev Fac Odont Araçatuba 2: 153-164, 1973.

125. Santos Jr PV, Melhado RM: Efeitos da estimulação ultra-sônica sobre o processo de reparo em ferida de extração dental: estudo histológico em ratos. Rev Odont UNESP 19: 291-299, 1990.

126. Carvalho TLL, Bombonato KF, Brentegani LG, et al. Histometric analysis of rat alveolar wound healing. Braz Dent J 8:9-12, 1997.

127. Çelik D. İmmünsupresif ratlarda diş çekimi sonrası yara iyileşmesi üzerine melatonin ve D vitaminin etkilerinin değerlendirilmesi. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Diş Hekimliği Fakültesi, Diş Hekimliğinde Uzmanlık Tezi, Ankara, 2017.

128. Ozkan A, Bayar GR, Altug HA, Sencimen M, Dogan N, Gunaydin Y, Ergodan E. The effect of cigarette smoking on the healing of extraction sockets: an immunohistochemical study. J Craniofac Surg. Jul;25(4):e397-402, 2014.

129. Stein A, Benayahu D, Maltz L, Oron U. Low-level laser irradiation promotes proliferation and differentiation of human osteoblasts in vitro. Photomed Laser Surg. May;23(2): 161-166, 2005.

130. Bengtson AL, Bengtson NG, Bengtson CR, Mendes FM, Pinheiro SR. Histological and radiographic evaluation of the muscle tissue of rats after implantation of bone morphogenic protein (rhBMP-2) in a scaffold of inorganic bone and after stimulation with low-power laser light. Indian J Dent Res. Jul-Sep;21(3):420-4, 2010.

131. Weber JB, Pinheiro AL, de Oliveira MG, Oliveira FA, Ramalho LM. Laser therapy improves healing of bone defects submitted to autologous bone graft. Photomed Laser Surg. Feb;24(1):38-44, 2006.

132. Kazancioglu HO, Ezirganli S, Aydin MS. Effects of laser and ozone therapies on bone healing in the calvarial defects. J Craniofac Surg. Nov;24(6):2141-6, 2013.

133. Barbosa D, de Souza RA, Xavier M, da Silva FF, Arisawa EA, Villaverde AG. Effects of low-level laser therapy (LLLT) on bone repair in rats: optical densitometry analysis. Lasers Med Sci. Feb;28(2):651-6, 2013.

134. Acar AH, Yolcu Ü, Altındiş S, Gül M, Alan H, Malkoç S. Bone regeneration by low-level laser therapy and low-intensity pulsed ultrasound therapy in the rabbit calvarium. Arch Oral Biol. Jan;61:60-5, 2016.

135. Gündüz A. Zoledronik asit uygulanan ratlarda ozon ve lazer terapinin diş çekimi sonrası yara bölgesine etkisinin değerlendirilmesi. Sağlık Bilimleri

Üniversitesi, Gülhane Diş Hekimliği Fakültesi, Diş Hekimliğinde Uzmanlık Tezi, Ankara, 2017.

136. Noda M, Aoki A, Mizutani K, Lin T, Komaki M, Shibata S, Izumi Y. High-frequency pulsed low-level diode laser therapy accelerates wound healing of tooth extraction socket: An in vivo study. Lasers Surg Med. Dec;48(10):955-964, 2016.

137. Mergoni G, Vescovi P, Sala R, Merigo E, Passerini P, Maestri R, Corradi D, Govoni P, Nammour S, Bianchi MG. The effect of laser therapy on the expression of osteocalcin and osteopontin after tooth extraction in rats treated with zoledronate and dexamethasone. Support Care Cancer. Feb;24(2):807-813, 2016.

138. Silva Júnior AN, Pinheiro AL, Oliveira MG, Weismann R, Ramalho LM, Nicolau RA. Computerized morphometric assessment of the effect of low-level laser therapy on bone repair: an experimental animal study. J Clin Laser Med Surg Apr; 20(2): 83-7, 2002.

139. Akyol UK, Güngörmüş M. Effect of biostimulation on healing of bone defects in diabetic rats. Photomed Laser Surg. Jun;28(3):411-6, 2010.

140. Markovic A, Kokovic V, Todorovic L. The influence of low-power laser on healing of bone defects: an experimental study. J Oral Laser Applications. 5;(3):169-172, 2005.

141. Rocha Junior AM, Oliveira RG, Farias RE, Andrade LCF, Aarestrup FM. Modulation of fibroblast proliferation and inflammatory response by low-intensity laser therapy in tissue repair process. An. Bras. Dermatol. 81(2):150-156, 2006.

142. Simon B, Zatcoff A, Kong JJ, O'Connell S. Clinical and histological comparison of extraction socket healing following the use of autologous platelet-rich fibrin matrix (PRFM) to ridge preservation procedures employing demineralized freeze dried bone allograft material and membrane. The Open Dentistry Journal. 3:92-99, 2009.

143. Marenzi G, Riccitiello F, Tia M, di Lauro A, Sammartino G. Influence of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) in the healing of simple postextraction sockets: a split-mouth study. BioMed Research International. vol. 2015, Article ID 369273, 6 pages, 2015.

144. Anwandter A, Bohmann S, Nally M, Castro AB, Quirynen M, Pinto N. Dimensional changes of the post extraction alveolar ridge, preserved with leukocyte- and platelet rich fibrin: a clinical pilot study. J Dent. Sep;52:23-9, 2016.

145. Hatakeyama I, Marukawa E, Takahashi Y, Omura K. Effects of platelet-poor plasma, platelet-rich plasma, and platelet-rich fibrin on healing of extraction sockets with buccal dehiscence in dogs. Tissue Eng Part A. Feb;20(3-4):874-82, 2014.

146. Girish Rao S, Bhat P, Nagesh KS, Rao GH, Mirle B, Kharbhari L, Gangaprasad B. Bone regeneration in extraction sockets with autologous platelet rich fibrin gel. J Maxillofac Oral Surg. Mar;12(1):11-6, 2013.

147. Hoaglin DR, Lines GK. Prevention of localized osteitis in mandibular thirdmolar sites using platelet-rich fibrin. Int J Dent. vol. 2013, Article ID 875380, 4 pages, 2013.

148. Hauser F, Gaydarov N, Badoud I, Vazquez L, Bernard JP, Ammann P. Clinical and histological evaluation of postextraction platelet-rich fibrin socket filling: a prospective randomized controlled study. Implant Dent. 22(3):295-303, 2013.

149. Sindel A, Dereci Ö, Toru HS, Tozoğlu S. Histomorphometric comparison of bone regeneration in critical-sized bone defects using demineralized bone matrix, platelet-rich fibrin, and hyaluronic acid as bone substitutes. J Craniofac Surg. Mar 29, 2017.

150. Abdullah WA. Evaluation of bone regenerative capacity in rats claverial bone defect using platelet rich fibrin with and without beta tri calcium phosphate bone graft material. Saudi Dent J. Jul;28(3):109-17, 2016.

151. Dülgeroglu TC, Metineren H. Evaluation of the effect of platelet-rich fibrin on long bone healing: an experimental rat model. Orthopedics. May 1;40(3):e479-e484, 2017.

152. Can HN, Durmuş AS. Trombositten zengin fibrin'in kemik iyileşmesi üzerine etkileri. F.Ü. Sağ. Bil. Vet. Derg. 29 (2): 91 – 95, 2015.

153. El-Hayes KA, Zaky AA, Ibrahim ZA, Allam GFA, Allam MF. Usage of low level laser biostimulation and platelet rich fibrin in bone healing: experimental study. Dent. Med. Probl. 53(3):338–344, 2016.

154. Nagata MJH, Campos N, Messora MR, Pola NM, Santinoni CS, Bomfim SRM, Fucini SE, Ervolino E, Almeida JM, Theodoro LH, Garcia VG. Platelet-rich plasma,

low-level laser therapy or their combination promote periodontal regeneration in fenestration defects: a preliminary in vivo study. J Periodontol. Jun;85(6):770-8, 2014.