

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN KEMİK
DEFEKTLERİNDE İKİ FARKLI KRİYOJEN MADDE
OLAN SIVI NİTROJEN VE KARBONDİOKSİT GAZI
UYGULAMASININ KEMİK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE OLAN
ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

A.BURAK ÇANKAYA

**DANIŞMAN
PROF.DR. CÜNEYT KORHAN ORAL**

**DİŞHEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
AĞIZ DİŞ ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

İSTANBUL-2006

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Yüksek lisans / Doktora. Tezi olarak kabul edilmiştir.

/ /

Prof.Dr.Emine Kökoğlu
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Program Adı :

Programın seviyesi : Yüksek Lisans () Doktora (X)

Anabilim Dalı : Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi A.D.

Tez Sahibi : A. Burak ÇANKAYA

Tez Başlığı : Deneysel olarak oluşturulan kemik defektlerinde sıvı nitrojen ve karbondioksit gazı uygulamasının kemik iyileşmesi üzerine olan etkilerinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi

Sınav Yeri : Altan Gülhan Özerkan Konferans Salonu

Sınav Tarihi : 22.11.2006 / 10:00

Tez Sınav Jürisi

1.Prof. Dr. Cüneyt Korhan ORAL(Tez Danışmanı), İstanbul Üniv.,Diş Hekimliği Fak., Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi ABD.

2. Prof. Dr. Çetin KASAPOĞLU(Tez İzleme Komitesi), İstanbul Üniv., Diş Hekimliği Fak., Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi ABD.

3. Prof. Dr. Hasan MERİÇ(Tez İzleme Komitesi), İstanbul Üniv., Diş Hekimliği Fak., Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi ABD.

4. Prof. Dr. Cengizhan KESKİN , İstanbul Üniv., Diş Hekimliği Fak., Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi ABD.

5.Prof. Dr. Kamil GÖKER, Marmara Üniv. Diş Hekimliği Fak., Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi ABD.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

A.Burak ÇANKAYA

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, bana her zaman destek olan danışmanım ve sayın hocam Prof. Dr. Cüneyt Korhan ORAL'a ;

Desteklerinden ötürü İ.Ü. Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi A. D. Başkanı Prof. Dr. Cengizhan KESKİN, İ. Ü. Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi öğretim üyesi Prof.Dr. Çetin KASAPOĞLU'na ve sayın hocalarıma;

Tüm çalışmam boyunca hiçbir yardımı esirgemeyen Prof. Dr. Tuncay ALTUĞ'a

İstanbul Üniversitesi. Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Anabilim Dalı'nda doktora bulgularının histopatolojik değerlendirmelerini titizlikle gerçekleştiren Dr. Nihan AKSAKALLI ve Dr. Vakur OLGAÇ'a ;

Doktora çalışmamın istatistiksel değerlendirmesini yapan Dr. Rana KONYALIOĞLU'na;

Gösterdikleri dostluk, yardım ve anlayıştan dolayı Dr. Okhan ORAL, Dr. R. Cem TANYEL, Dt. Mehmet Ali ERDEM, Dt. Cemil İŞLER ve sevgili çalışma arkadaşlarıma;

Fatma BAYINDIR ve Asuman BAYINDIR'a,

Hayatım boyunca hep yanımda olan ve beni destekleyen ailem; Fahrettin ÇANKAYA, İnci ÇANKAYA ve Bahadır ÇANKAYA'ya;

teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN	iii
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xiii
ÖZET	xiv
ABSTRACT.....	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kemik Dokusu.....	4
2.1.1 Kemik dokusunun mikroyapısal bileşenleri.....	5
2.1.1.1. Osteoprogenitör Hücreler	5
2.1.1.2. Osteoblastlar	6
2.1.1.3. Osteositler	8
2.1.1.4. Osteoklastlar	9
2.1.1.5. Kemik yüzeyini döşeyen hücreler.....	10
2.1.1.6. Matriksler.....	10
2.1.1.6.1 Organik matriks.....	11
2.1.1.6.2 İnorganik matriks	12
2.1.1.7. Çözünebilir faktörler	12
2.1.1.8. Periost.....	14
2.1.1.9. Endost.....	15
2.1.1.Kemik dokusunun makroyapısal bileşenleri	15
2.1.2.1. Primer Kemik Dokusu(Woven Kemik).....	15
2.1.2.2. Sekonder Kemik Dokusu.....	16
2.1.2.2.1 Kortikal kemik	16
2.1.2.2.2 Kansellöz kemik.....	17
2.1.3. Kemik dokusu embriyogenezi	18

2.1.3.1 İntramembranöz gelişim	18
2.1.3.2. Endokondral gelişim.....	20
2.1.4. Kemik dokusu iyileşmesi	21
2.1.4.1. Enflamasyon fazı.....	22
2.1.4.2. Onarım (reperasyon) fazı.....	23
2.1.4.3 Yeniden şekillenme(remodeling).....	26
2.1.5. Kemik İyileşmesini Etkileyen Faktörler	27
2.1.5.1. Lokal Faktörler.....	27
2.1.5.2. Genel Faktörler.....	30
2.2. Kriyoterapi	33
2.2.1. Kriyojen maddeler	34
2.2.2. Kriyoterapide kullanılan aletler	36
2.2.3. Kriyoterapide monitorizasyon	39
2.2.4. Kriyobiyoloji.....	41
2.2.5. Kriyoterapinin avantajları.....	44
2.2.6. Kriyoterapi kontraendikasyonları	44
2.2.7. Kriyoterapinin komplikasyonları.....	45
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	46
3.1. Gereç	46
3.2. Yöntem.....	46
3.2.1. Deney hayvanları ve grupları	46
3.2.2. Cerrahi uygulamalar.....	49
3.2.3. Kriyoterapi uygulamaları	52
3.2.4. Işık mikroskopu takibi ve değerlendirme kriterleri.....	53
3.2.5. İstatistiksel değerlendirme yöntemleri	55
4. BULGULAR.....	56
4.1. Işık mikroskopu değerlendirmeleri.....	56
4.1.1 Kontrol grupları	56
4.1.1.1. 3 günlük kontrol grubu	56
4.1.1.2. 7 günlük kontrol grubu	56
4.1.1.3. 14 günlük kontrol grubu	57
4.1.1.4. 21 günlük kontrol grubu	57
4.1.1.5. 28 günlük kontrol grubu	58

4.1.1.6. 45 günlük kontrol grubu	58
4.1.1.7. 60 günlük kontrol grubu	59
4.1.2 Karbokdioksit gazı grubu	59
4.1.2.1. 3 günlük karbokdioksit gazı grubu.....	59
4.1.2.2. 7 günlük karbokdioksit gazı grubu.....	59
4.1.2.3.1.1. 14 günlük karbokdioksit gazı grubu	60
4.1.2.4. 21 günlük karbokdioksit gazı grubu.....	60
4.1.2.5. 28 günlük karbokdioksit gazı grubu.....	61
4.1.2.6. 45 günlük karbokdioksit gazı grubu.....	62
4.1.2.7. 60 günlük karbokdioksit gazı grubu.....	62
4.1.3 Sıvı nitrojen grubu	63
4.1.3.1 3 günlük sıvı nitrojen grubu.....	63
4.1.3.2. 7 günlük sıvı nitrojen grubu.....	63
4.1.3.3 14 günlük sıvı nitrojen grubu.....	64
4.1.3.4. 21 günlük sıvı nitrojen grubu.....	65
4.1.3.5. 28 günlük sıvı nitrojen grubu.....	65
4.1.3.6. 45 günlük sıvı nitrojen grubu.....	66
4.1.3.7. 60 günlük sıvı nitrojen grubu.....	67
4.2 İstatistiksel bulgular.....	68
4.3 İstatistiksel bulguların değerlendirilmesi.....	82
5. TARTIŞMA	93
KAYNAKLAR	112
HAM VERİLER.....	130
ETİK KURUL KARARI.....	137
ÖZGEÇMİŞ	138

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1: Kriyojen maddelerin kaynama dereceleri.....	35
Tablo 3.1: Katı yem içeriği.....	47
Tablo 4.1: Yeni kemik yapımının gruplara ve günlere göre istatistiksel karşılaştırılması.....	68
Tablo 4.2: Yeni kemik yapımının gruplar içinde karşılaştırılması.....	69
Tablo 4.3: Yeni kemik yapımının gruplar içinde günlere göre karşılaştırılması.....	69
Tablo 4.4: Yeni kemik yapımının gruplara ve günlere göre dağılımının grafik olarak karşılaştırılmaları.....	70
Tablo 4.5: Fibrozisin gruplara ve günlere göre istatistiksel karşılaştırılması.....	71
Tablo 4.6: Fibrozisin gruplar içinde karşılaştırılması.....	72
Tablo 4.7: Fibrozisin gruplar içinde günlere göre karşılaştırılması.....	72
Tablo 4.8: Fibrozisin gruplara ve günlere göre dağılımının grafik olarak karşılaştırılmaları.....	73
Tablo 4.9: Nekrozun gruplara ve günlere göre istatistiksel karşılaştırılması.....	74
Tablo 4.10: Nekrozun gruplar içinde karşılaştırılması.....	75
Tablo 4.11: Nekrozun gruplar içinde günlere göre karşılaştırılması.....	75
Tablo 4.12: Nekrozun gruplara ve günlere göre dağılımının grafik olarak karşılaştırılmaları.....	76
Tablo 4.13: İltihabın gruplara ve günlere göre istatistiksel karşılaştırılması.....	77
Tablo 4.14: İltihabın gruplar içinde karşılaştırılması.....	78
Tablo 4.15: İltihabın gruplar içinde günlere göre karşılaştırılması.....	78
Tablo 4.16: İltihabın gruplara ve günlere göre dağılımının grafik olarak karşılaştırılmaları.....	79
Tablo 4.17: Gruplara göre kırık dağılımının istatistiksel değerlendirilmesi.....	80
Tablo 4.18: Gruplara göre primer yara kapanmasının gruplara göre dağılımının İstatistiksel değerlendirilmesi.....	81
Tablo 7.1: 3. güne ait deney grupları ve kontrol gruplarının değerlendirme sonuçları.	130
Tablo 7.2: 7. güne ait deney grupları ve kontrol gruplarının değerlendirme sonuçları.	131

Tablo 7.3: 14. güne ait deney grupları ve kontrol gruplarının değerlendirme sonuçları.....	132
Tablo 7.4: 21. güne ait deney grupları ve kontrol gruplarının değerlendirme sonuçları.....	133
Tablo 7.5: 28. güne ait deney grupları ve kontrol gruplarının değerlendirme sonuçları.....	134
Tablo 7.6: 45. güne ait deney grupları ve kontrol gruplarının değerlendirme sonuçları.....	135
Tablo 7.7: 60. güne ait deney grupları ve kontrol gruplarının değerlendirme sonuçları.....	136

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Kemik hücrelerinin kökeni.....	6
Şekil 2.2: Modern kriyoterapi cihazı ve uygulama ucu.....	37
Şekil 2.3: Farklı tipteki srey uygulama uçları.....	38
Şekil 2.4: Sıvı nitrojen tankları.....	39
Şekil 2.5: TC – pirometre sistemi.....	40
Şekil 3.1: Deneklerde cerrahi için hazırlanmış alan.....	49
Şekil 3.2: Deneklerde tibianın medial yüzeyinin açığa çıkarılması.....	50
Şekil 3.3: Serum irrigasyonu altında kemik defekti açılması.....	50
Şekil 3.4: Defekt bölgesine sıvı nitrojen uygulaması.....	51
Şekil 3.5: Defekt bölgesine karbondioksit gazı uygulaması.....	51
Şekil 3.6: Defekt bölgesinin kapatılması.....	51
Şekil 3.7: Cry-Ac sıvı nitrojen spreyi ve uygulama probu(Brymill, USA).....	52
Şekil 3.8: MC-106 kriyoterapi cihazı ve uygulama probu(Bimed, ANKARA).....	52
Şekil 4.1: Defekt bölgesinde damardan zengin bağ dokusu içinde yeni kemik yapımı.....	56
Şekil 4.2: Defekt bölgesinde kırık ucu altından başlayan yeni kemik yapımı.....	57
Şekil 4.3: Kırık uçları arasında defekt bölgesini büyük ölçüde kapatan köprü biçiminde yeni kemik yapımı.....	57
Şekil 4.4: Kırık uçlarından başlayan yoğun kemik yapımı.....	58
Şekil 4.5: Defekt bölgesini köprü biçiminde kapatan yeni kemik yapımı.....	58
Şekil 4.6: Defekt bölgesinde lameller biçim almış ve arada kemik iliği oluşmuş kemik köprüsü.....	59
Şekil 4.7: Defekt bölgesinde, fibröz doku altında, kırık uçlarından başlayan yeni kemik trabekülleri.....	60
Şekil 4.8: Defekt bölgesinde nekrozun yerini alan fibröz kallus ve çevrede kondral kemikleşme alanı.....	61
Şekil 4.9: Defekt bölgesinde kırık uçlarından gelişen kemik yapımı ve ortada fibröz kallus.....	61
Şekil 4.10: Defekt bölgesini kapatma yönelik kemik köprüsü altında nekrotik	

kemik adacığı.....	62
Şekil 4.11: Defekt bölgesinde yüzeydeki fibrokartilaj doku altında defekti kapatan trabeküler kemik yapımı.....	62
Şekil 4.12: Defekt bölgesinde nekroz alanları ve kemik iliği aralığında kanama alanları.....	63
Şekil 4.13: Defekt bölgesinde geniş koagülasyon nekrozu alanı.....	64
Şekil 4.14: Defekt bölgesi komşuluğunda medüller bölgede fibröz çeper ile sınırlı mikroabse odağı.....	64
Şekil 4.15: Defekt alanı çevresinde nekroz bölgesini sınırlar tarzda kemik yapımı.....	65
Şekil 4.16: Defekt bölgesinde nekrozun yerini alan, fibrin demetleri içeren gevşek yapıda bağ dokusu ve bu alan çevresinde bölgeyi sınırlayan yeni kemik yapımı.....	66
Şekil 4.17: Defekt bölgesini dolduran gevşek yapıda bağ dokusu çevresinde yeni kemik yapımı.....	66
Şekil 4.18: Defekt bölgesi büyük ölçüde dolduran kemik trabekülleri arasında varlığını sürdüren kıkırdak adacığı.....	67

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

- BMP : Bone morphogenetic protein, kemik morfojenetik proteini
IGF : Insuline-like growth factor, insüline benzer büyüme faktörü
TGF : Transforming growth factor, dönüştürücü büyüme faktörü
PDGF : Platelet derived growth factor, trombosit kaynaklı büyüme faktörü
IL : Interleukin, İnterlökin
TNF : Tumour necrosis factor, tümör nekroze edici faktör
PTH: Parathormon
GAG : Glikozaminoglikan
ECM : Extracellular matrix, ekstrasellüler matriks
FGF : Fibroblast growth factor, fibroblast büyüme faktörü
NGF : Nerve growth factor, sinir büyüme faktörü
EGF : Epidermal growth factor, epidermal büyüme faktörü
CDGF : Chondroblast derived growth factor, kondroblast kaynaklı büyüme faktörü
MDGF : Macrophage derived growth factor, makrofaj kaynaklı büyüme faktörü
ECGF : Endothelial Cell Growth Factor, endotelial hücre büyüme faktörü
PMN : Polymorphonuclear leucocyte, polimorfonükleer lökositler
VEGF : Vascular endothelial growth factor, vasküler endotelial büyüme faktörü
ATA : Atmosphere absolute, mutlak atmosfer
MSC : Mesenchymal stem cells, mezenkimal kök hücreler
HA: Hidroksiapatit, hidroksiapatit
TCP : Tricalcium phosphate, trikalsiyum fosfat
CO₂ : Carbon dioxide, karbondioksit
N₂O : Nitrous oxide, nitroz oksit
N₂ : Nitrogen, nitrojen
Ar : Argon, Argon
TC : Thermocouple, soğuga hassas hipodermik iğne

ÖZET

ÇANKAYA, B.A. (2006). Deneysel olarak oluşturulan kemik defektlerinde iki farklı kriyojen madde olan sıvı nitrojen ve karbondioksit gazı uygulamasının kemik iyileşmesi üzerine olan etkilerinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi.

Çalışmamızda iki farklı kriyojen madde olan sıvı nitrojen ve karbondioksit gazının kemik dokusu iyileşmesi üzerine olan etkilerini histopatolojik olarak değerlendirmeyi amaçladık.

Çalışmamızda 126 adet Wistar-Albino cinsi 240 ± 20 g ağırlığında 13 haftalık denek kullanılmıştır. 63 denekten oluşan iki ana grup, sakrifikasyon günleri olan 3, 7, 14, 21, 28, 45 ve 60 olmak üzere 7 alt gruba ayrılmıştır. Deneklerin tamamının sağ ve sol tibialarında 5 mm uzunluğunda, 3 mm genişliğinde, kemiğin kortikal ve kansellöz kısımlarını içeren defektler hazırlanmıştır. Deneklerin sağ ve sol tibialarına kemik defekti açılıp sol tibial defekte sıvı nitrojen, sağ tibial defekte karbondioksit gazı uygulanmıştır. Diğer ana grup kontrol grubu olarak tibialarında defekt yaratılıp doğal iyileşme sürecine bırakılan deneklerden oluşmaktadır. Çalışmamızda, kemik iyileşmesi operasyondan sonraki 3, 7, 14, 21, 28, 45 ve 60. günlerde histopatolojik olarak değerlendirilmiştir.

Histopatolojik değerlendirmeler sonucu elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde sıvı nitrojen ve karbondioksit gazı uygulanan kemik defektlerinde aseptik nekroz alanları görülmüş, bu alanların kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu alanların yeni kemik yapımına engel olmadığı ama kemik iyileşmesinin her iki grupta da kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede uzamasına neden olduğu görülmüştür. Bu bilgiler ışığı altında kriyoterapinin lokal agresif lezyonların sıklıkla görüldüğü maksillofasial bölgede rezidivlerin önlenmesi amacıyla güvenle kullanılabileceğini, bu çalışmanın da ileride yapılacak olan klinik ve deneysel çalışmalara temel oluşturabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler : Kriyoterapi, kemik iyileşmesi, sıçan

ABSTRACT

CANKAYA, B.A. (2006). The histopathological effects of two cryogen agents liquid nitrogen and carbon dioxide on the healing of experimental bone defects.

We aimed to evaluate the histopathological effects of liquid nitrogen and carbon dioxide on the healing of experimental bone defects in our study.

126 Wistar – Albino male rats , weighing 240 ± 20 g were used in this study. Rats were equally divided into two main groups and into 7 sub groups due to the scarification dates respectively 3, 7, 14, 21, 28, 45 and 60 days. 5 mm long and 3 mm wide cortico-cancellous bone defects in both left and right tibia of each rat are done. Liquid nitrogen was applied on the left tibia and carbondioxide on the right side. The other main group is the control group. We evaluated the histopathological effects on the bone at the 3rd, 7th, 14th, 21st, 28th, 45th and 60th days according to the scarification times.

According to the statistically evaluated data from the histopathological findings, there are aseptic necrosis fields in both liquid nitrogen and carbondioxide group and these are significantly much more than the control group. Due to the necrosis amount the healing of bone in each group is significantly delayed in contrast to the control group. Regarding to this findings we suggest that the use of cryotherapy in the maxillofacial region where especially locally aggressive lesions are usually seen can be safely done to avoid the generally seen residives and this study may provide a baseline for further clinical and experimental research.

Key words : Cryotherapy, bone healing, rat

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Biyomekanik ve metabolik yönden vücut için önemli olan iskelet sistemi; kemikler ve onları birbirleri ile bütünleştiren bağ dokusundan oluşmuştur. Kemik, bu sistemin ana bileşenidir; bağ dokusundan sağlamlık ve bütünlük olarak ayrılmıştır. Kemik; bir çatı içerisine entegre hücrelerden oluşmuş, dinamik ve biyolojik yönden aktif bir dokudur. Bu rijit yapı, vücudun şeklini muhafaza etmesini sağlar(101). Bu yapısal bütünlük gençlikten yaşlılığa kadar birçok çevresel etkene maruz kalır. Bu özelliği dikkate alındığında, kemik dokusunda iyileşmenin, çok sayıda biyokimyasal, biyomekanik, hücrenel, hormonal ve patolojik süreçler tarafından etkilendiği bildirilmiştir(14).

Kemik kendi kendini onarabilen, kütlesini, şeklini ve özelliklerini mekanik ihtiyaçlara göre adapte edebilen bir yapıdan oluşmuştur. İskelet sistemini oluşturan kemik dokusunun devamlılığının veya direncinin çeşitli nedenlerden dolayı bozulabileceği belirtilmiştir(6,43,58). Bozulan bu yapının fonksiyon ve estetik olarak eski haline dönüştürülmesi için bir çok yöntem kullanılmıştır(8,34,45). Bu yöntemlerin hepsinin temel amacı; bu bölgenin yeni kemik yapımıyla eski fonksiyon ve estetik yapıya kavuşturulmasını sağlamak olmuş ve bunun için lokal veya sistemik olarak etkili ilaçlar ve materyaller kullanılmıştır(87,174). Lokal olarak kullanılan materyaller kemik greftleri ve biyomateryaller iken sistemik olarak kullanılanlar osteoblastik aktiviteyi artırıp osteoid madde yapımını artıran ilaçlardır(11).

Geniş kemik defektlerinin tedavisinin, altın standart olarak tanımlanan, verici bölgeden alınıp defekt bölgesine yerleştirilen otojen greft materyalleri ile mümkün olabileceği düşünülmüş, verici bölgenin morbiditesi ve alınan materyalin sınırlı miktarda olması araştırmacıları bu tedavinin alternatifini bulmaya yönlendirmiştir(45). İdeal kemik materyalleri güçlü, kolay elde edilebilir, osteokondüktif, osteoindüktif, kolay uygulanabilen ve ucuz olmalıdır. Bunların yanında materyal, üzerine uygulanacak işlemleri tolere edebilmeli, yerleştirilecek hücreler ve mediatörler için iyi bir taşıyıcı olmalıdır. Bu özelliklerin tamamını barındıran bir materyal henüz bildirilmemiştir(6,175).

Modern dişhekimliğinin amacı, stomatognatik sistemi ilgilendiren atrofi, hastalık veya travmanın yol açtığı doku kaybında fonksiyon, konfor, estetik ve sağlığın yeniden yapılandırılarak bireylere iade edilebilmesini başarmaktır. Özellikle 1970’li yılların başından itibaren hekimler hasar görmüş dokuların yapı ve fonksiyonlarını tekrar geri kazandırmak için çok çeşitli teknikler geliştirmişlerdir(8). Bazı durumlarda uygulanan cerrahi müdahaleler sonrasında kalan dokuların rekonstrüksiyonunun hem hekim hem de hasta açısından tatmin edici olmadığı bildirilmiştir(14,93). Marjinal veya geniş rezeksiyonun endike olmadığı ama metastazlar ve tümörün lokal kontrolünde uygulanacak yöntemlerin gerekliliği savunulmuş, bu amaçla marjinal rezeksiyona oranla daha avantajlı, destek kemik dokusunun maksimum düzeyde korunmasını sağlayacak ve operasyon sonrasında uygulanacak olan plastik cerrahi sınırlarını minimuma indirecek tedavi seçenekleri düşünülmüştür(16,75,195). Bunların başında hedeflenen dokuların soğutularak nekroze edilmesi prensibine dayanan, kriyojenik ajanların doku ile direkt veya indirekt olarak temas ettirilmesi suretiyle yapılan kriyoterapi gelir(20,51).

Kriyoterapi, doku nekrozu yaratmak için soğukun teröpatik olarak kullanılmasıdır(52),. Lokal soğuk uygulamasının kullanılmasına dair ilk bildiri değişik doku lezyonlarında tuz-buz karışımının Dr.James Arnott tarafından 1850 yılında yapılmış, bu karışımın belirgin anestetik ve hemostatik etkisi ile kullanımını baş ağrısından serviks kanserlerine kadar önerilmiştir(28,44).

Ralph C. Marcove 1968 yılında primer ve metastatik kemik tümörlerinin tedavisi için ortopedide kriyoterapiyi kullanmaya başlamıştır(111,156,193).

19.yüzyıldan itibaren kriyoterapi nörocerrahi, jinekoloji, üroloji ve oftalmolojide kullanılmıştır. Katı karbondioksit, soğuk hava akımı, nitröz oksit, argon gazı ve sıvı nitrojen değişik birçok malign ve selim lezyonların tedavisinde başarıyla kullanılmıştır(68,74,85,92,151).

Oral cerrahi alanında, ameloblastoma, miksoma, keratokist ve santral dev hücreli granüloma gibi lokal agresif lezyonlar veya eozinofilik granüloma ve fibröz displazi gibi rezidiv ihtimali yüksek tümörlerle sıklıkla karşılaşılır(8,64,179). Bu tip lezyonlarda geleneksel tedavi yaklaşımı küretaj, marjinal rezeksiyon ve gerektiği durumlarda operasyon sonrası uygulanan

kemoterapi ve radyoterapidir. Güncel prensipler içerisinde bu yaklaşımlara ek olarak, lokal uygulanabilen çeşitli tedavi metodlarına yer verilmiş, araştırmacılar tümör yatağına fenol, polimetilmetakrilat, Carnoy solüsyonu, lazer veya kriyoterapi uygulamışlardır(22,60,80,107,113,123)

Bahsedilen bu tedavilerin arasında kriyoterapinin diğer tedavi metodlarına kıyasla sistemik herhangi bir yan etkisinin olmaması, hasta ve hekim için toksik olmaması, etkinliğinin fazla olması ve bunlardan daha önemlisi dozunun ayarlanabilip çeşitli tipteki ve lokalizasyondaki kemik tümörleri için özelleştirilebilir olması gibi önemli avantajlara sahip olduğu bildirilmiştir(55,84,141).

Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda, kriyoterapi sonrası mezenkimal kök hücrelerinin osteojenik potansiyelinin kaybolmadığı, yeni oluşacak kemik için matrisi oluşturacak yapıyı sağlam bıraktığı, bu sebepten dolayı da diğer tedavi prensiplerine oranla benzersiz avantajlara sahip olduğu bildirilmiştir(64,98). Kemik içi lezyonlara uygulandığında kriyojen maddeler kemiği devitalize ederken inorganik bütünlüğünü bozmamaktadır(112). Rejenerasyon Phemister'in belirttiği "creeping substitution" denilen temele göre gerçekleşir(146).

Çalışmamızda lokal olarak uygulanan iki farklı kriyojen madde olan sıvı nitrojen ve karbondioksit gazının deneklerde oluşturulan kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine olan kısa ve orta dönem etkilerini histopatolojik olarak incelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik Dokusu

İnsan vücudu; hareket sisteminin iskeletini oluşturan kemikler ile bu kemikler arasında hareketlerin gerçekleştirildiği eklemler, kaslar ve bunların koordinasyonunu sağlayan kan, sinir, epitel, lenfatik doku, myeloid doku(kemik iliği) ve yağdan oluşur(11). Bu yapılardan kemikler ve eklemler hareketin pasif unsurlarını oluşturdukları halde kaslar, motor yani aktif unsurlarını oluşturur.

Kemik dokusu, yapısında bulundurduğu farklı hücrelerin ve ara maddenin üzerine organik ve inorganik tuzların çökelindiği, bu sayede sağlamlık ve esneklik gibi fiziksel özellikler kazanmış ileri derecede özelleşmiş bir bağ dokusu türüdür(12). Kemik bir kaldıraç sistemi oluşturup , çizgili (iskelet) kas kasılmalarının doğurduğu kuvvetleri arttırarak bunları bedensel hareketlerle dönüştürür(119). Kemik dokusu farklı görevlere sahiptir. Şekilleri, boyutları ve hatta görünümleri bu görevleri yerine getirebilmek için değişiklik gösterir. Yapısal olarak uzun kemikler, kısa kemikler ve yassı kemikler olarak üçe ayrılır(101). Uzun kemikler yapı itibarı ile boylamasına bir eksene sahiptir ve uç kısımları genellikle eklemde oluşur. Femur ve humerus iyi bir örnektir. Kısa kemikler küp veya kutu şeklindedir. El ve ayak bileğindeki karpal ve tarsal kısa kemik örnekleridir. Yassı kemikler kısa, ince ve genellikle kavisli bir yüzeye sahiptir. Kafatasının bazı kemikleri, kaburgalar ve sternum tipik düz kemiklerdendir(163).

Kemik dört mikroyapısal bileşkene bölünebilir(93);

- Hücreler
- Organik matriks
- İnorganik matriks
- Çözünebilen sinyal faktörleri

Mikroyapısal bileşenlere periost ve endost tabakaları da dahildir.

Bu mikroyapısal bileşenler iki farklı makroyapıya dönüşür;

- Kortikal kemik
- Kansellöz kemik

2.1.1 Kemik dokusunun mikroyapısal bileşenleri

Kemiğin mimarı yapısının oluşmasında, rezorpsiyonunda ve bu yapının devamlılığının korunmasında farklı hücreler görev alır. Kemikte herbiri ayrı fonksiyona sahip iki farklı soyda hücre vardır(115);

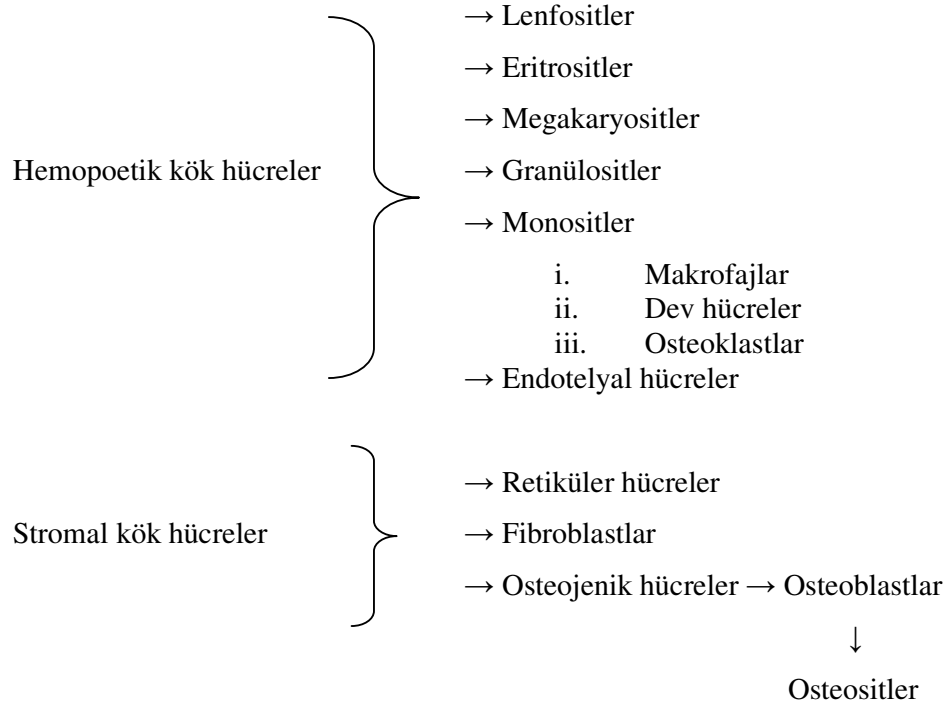
- Osteojenik hücreler
- Osteoklastlar

Osteojenik hücreler kemiğin oluşmasından ve devamlılığının korunmasından sorumlu olan osteoprogenitörler, preosteoblastlar, osteoblastlar, osteositler ve kemik yüzeyini döşeyen hücrelerden oluşur(77,95).

2.1.1.1 Osteoprogenitör Hücreler

Mezenkim kaynaklı ana hücrelerin bir alt grubudur. Mitoz yeteneğine sahip olup, olgun kemik hücrelerine farklılaşma kapasitesine sahiptir(77). Bu hücreler kemik yüzeyinde, periostun iç yüzeyinde, endostta ve kompakt kemiğin vasküler kanallarında bulunur. Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalar sonucunda iki tip osteoprogenitör hücre saptanmıştır. Bunlardan birincisi gelişmemiş endoplazmik retikulum ve az gelişmiş golgi cisimciği ile tanınan preosteoblastlardır. Bu hücrelerden osteoblastlar gelişir. Diğerleri ise belirgin mitokondri ve serbest ribozomları ile tanınan hücrelerdir(159). Bu hücreler ise osteoklastlara öncülük eder. Özelleşmiş kemik hücreleri kemiğin oluşumundan, rezorpsiyonundan ve kemik yapısının devamlılığını sağlamaktan sorumludur(42).

Osteoprogenitör hücreler tüm yaşam boyunca kondroblast, osteoblast ve osteoklastlara farklılaşma potansiyellerini korurlar. Kemik hücrelerinin kökeni sorusu geçmişte tartışılmıştır. Kemikteki iki ana hücre olan osteoklastlar ve osteoblastlar, kaynağını hemopoetik ve stromal hücre sistemi olarak adlandırılan iki farklı hücre soyundan alır(32,35,41)(Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Kemik hücrelerinin kökeni

2.1.1.2. Osteoblastlar

Mezenkimal hücre soyundan gelişir. Differansiyasyona uğramamış mezenkimal hücrelerden son safha osteoblasta geçiş kararlı, osteoprogenitör hücrelerden ve indüklenebilen osteoprogenitör hücrelerden olmak üzere iki farklı yol ile gerçekleşir. Kararlı hücreler hücre yoğunlaşmasından ve embriyonel dönemdeki kemik yapımından sorumlu iken, kırık tamirinde çözünebilen morfojenlere neden olan indüklenebilen osteoprogenitör hücreler görülür(33,153).

Cerrahi müdahale veya travma sonrasında kemik yaralandığında lokalize hücreler embriyojenik safhaları taklit ederek kemiğin formunu ve fonksiyonunu korumaya çalışırlar(125). Lokal hücreler periost, endost ve dura içindeki kararlı osteoprogenitör hücreler ve gelişmekte olan kapiller filizler içinde travma sonrası 3 ila 5. ci günde bölgeye gelen perisit gibi indüklenebilen hücrelerdir. Perisitler ayrıca endojen kemik morfogenetik proteinleri(bone morphogenetic proteins,BMP) ile reaksiyona girerek osteoblastlara dönüşebilir(142).

Kemik iliğindeki mezenkimal kök hücreler de tamir prosesindeki hücrelere yardım eder. Bu multipotansiyel hücreler beslenme, spesifik büyüme faktörleri, damarlanma ve mekanik stabilite gibi çevresel koşullara bağlı olarak kırıkta oluşturacak kondrositlere veya kemik oluşturacak osteoblastlara dönüşebilir(41).

Elektron mikroskopunda osteoblastların çok sayıda girintili çıkıntılı endoplazmik retikulumları, bol serbest ribozom ve poliribozomları olduğu görülür. Golgi bölgesi gelişmiştir ve mitokondriler çok sayıdadır. Geniş ovoid çekirdek dış merkezli olarak yerleşmiştir. Hücre yüzeyinde az miktarda kısa, mikrovilluslar vardır(101).

Osteoblastlar metabolik olarak aktif salgılayıcı hücrelerdir. Osteoblastlar %90 oranında Tip I ve az miktarda Tip V kollajen salgılamalarının yanı sıra kemik mineralizasyonu için önemli olan, kollajen yapıda olmayan proteinler ve sitokinler de salgırlar; çözünebilir sinyal faktörleri(kemik morfogenetik proteini(BMP), dönüştürücü büyüme faktörü(TGF), insülin benzeri büyüme faktörleri (ILGF), interlökin(IL), trombosit kaynaklı büyüme faktörleri PDGF), osteoid(yoğun olarak tip I kollajen içeren organik çözünmeyen yapı). Bu faktörler hücre metabolizmasını düzenler. Sitokinlerin çeşitliliği ve sayısı osteoblast ve osteojenik prekürsörlerinin fizyolojik durumlarına göre değişiklik gösterir. Kemik hücreleri ve prekürsörlerinin artışı büyüme faktörleri ile etkileşimleri ile yakından ilişkilidir(46,115).

Osteoblastların aktif yaşam ömrü 1-10 hafta arasındadır; bazıları kemik yüzeyini döşeyen hücrelere, %15 lik bir kısmı da osteosite dönüşür. Bu dönüşümün nasıl olduğu belirgin değildir(153).

2.1.1.3. Osteositler

Osteoblastlar, kemik trabeküllerinin yüzeyinde yer alarak osteoid sentezlerler. Kemik matriksi olan osteoid kalsifikasyona uğrayarak hidroksiapatit kristallerini oluşturur. Bu süreç sırasında bazı osteoblastlar kemik içinde kalarak osteosite dönüşür(35). Kemik canlılığı ve iç denge için çok kritik olan osteositler, metabolik açıdan osteoblastlara oranla inaktif hücrelerdir. Osteosite dönüşen osteoblastların sayısı kemik oluşum hızına bağlıdır. Oluşum hızı arttıkça bölge hacmi içinde kalan osteosit sayısı da artar(21,163). Genel bir kural olarak embriyonik/ağsı (woven) kemik veya tamir kemiği lameller kemiğe göre daha fazla sayıda osteosit içerir. Oluşumlarının ardından osteositler yavaş yavaş matriks üretme yeteneklerini kaybederler ve boyut olarak küçülürler. Zaman içinde çevrelerindeki matriksi rezorbe ederek osteositik lakünleri oluştururlar. Osteositler matriks lamelleri arasında bulunan lakünalar içerisinde bulunur(93). Her lakünada sadece bir osteosit vardır Osteositler osteoblastlarla kıyaslandığında yassı elips şeklindedir. Küçük çekirdekleri ve az sayıda mitokondrili seyrek sitoplazmaları vardır ve golgi kompleksleri ve endoplazmik retikulumları dikkati çekecek kadar küçülmüştür. Çekirdek kromatinleri daha yoğundur. Bu hücreler kemik matriksinin devamlılığında aktif rol alırlar(125)

Kemiğin canlılığı, kemik içinden geçen ve birbirleri ile ilişki halinde olan kanalikulilerin içinde meydana gelen, osteositik sitoplazmik işlemler bütünlüğü içinde sağlanır. Bu yapı, osteositlerin boşluklar sayesinde birbirleriyle ilişkili olmalarını, osteoblastlara sinyal iletimini ve osteoblastlardan da osteositlere iletimini sağlar(115). Osteosit, osteoblast ve osteoklastların birbirleriyle reaksiyonları tam olarak açıklanamamıştır. Ama bu üç hücre kalsiyum regülasyonunda, kemik homeostazında, şekillenme ve yeniden şekillenme aşamalarında yönetici rol oynarlar(153).

Osteositlerin yaşam ömrü birkaç yıldır. Osteositler son üründür ve yenilenemezler. Popülasyonun devamı osteoblast prekürsor hücrelerinin differansiyasyonu sonucu olur(101).

2.1.1.4. Osteoklastlar

Kemik iliğinde bulunan granülosit-makrofaj prekürsörleri dolaşıma monosit olarak katılırlar ve bazı senkronize olmayan füzyonlar sonucu osteoklast olarak bilinen 100µm'luk çapa kadar ulaşabilen ve yaklaşık 10-12 çekirdek ihtiva eden dev hücrelere dönüşürler. Makrofajlardan farklı olarak kıvrımlı sınırları, kalsitonin reseptörleri vardır ve asit fosfataz üretirler(153).

İnterlökin 1,3,6 ve 11, tümör nekroze edici faktör alfa(tumour necrosis factor, TNF- α) ile birlikte dönüştürücü büyüme faktörü alfa(TGF- α) osteoklast gelişiminde önemli rol oynar. Tam olarak hangisinin veya hangilerinin daha etkin olduğu bilinmemekle birlikte İnterlökin 11'in burada temel faktör olduğu düşünülür(83). Çözünabilen faktörler ile osteoblast ve osteoklast formasyonu arasında bir etkileşim olduğuna dair kanıtlar vardır. 1,25-dehidroksivitamin D₃ osteoblastlara bağlanarak progenitör hücrelerine etkili osteoklast differansiyasyon faktör salınımına neden olur. Bu sebeple osteoblastik hücreler osteoklast formasyonu ve oluşumu için kofaktör yaratan bir kaynak olarak düşünür(11).

Morfolojik olarak çok çekirdekli bir dev hücreyi osteoklast olarak tanımlayabilmek için kemiğe tutunmalı ve kıvrımlı bir sınır göstermelidir(101). Bu yapı altında osteoklast kaynaklı bir rezorpsiyondan bahsedilebilir. Paratiroid hormona cevap olarak osteoblastlar kemik yüzeyinden dağılınca, açığa çıkmış mineralize olan osteoid, osteoklastlara iyi bir tutunma alanı sağlar. Tutunma, yüzey adezyon molekülleri ve proteinler arasında olur. Tutunma çevresi tutunma alanı olarak adlandırılır ve bu bölgede kıvrımlı bir sınır gelişir. Bu yapı geçiş ve iletme olarak verir(100).

Bu kıvrımlı yapı kemik yüzeyinin enzimatik yıkımının gerçekleştiği osteoklastların rezorbe edici alanını oluşturur ve asit fosfataz, aril-sülfataz, b-glukoronidaz, b-gliserofosfatazmetalloproteaz, kollagenaz ve sirtomolizin gibi birçok enzim içeren bir prostestir(119). Kıvrımlı sınır ve kemik yüzeyi arasında kalan bu tutunma alanı, bu alanı etraftan ayırarak karbonik anhidraz gibi ortam pH'ını düşürebilen enzimlerin etkili olmasına ve böylelikle kalsiyum ve fosfattan oluşan inorganik matriksin çözünüp bu proteolitik enzimlerle temasına

olanak verir. Organik bileşenlerin sellüler değişimini takiben howship lakünü olarak bilinen rezorpsiyon kavimleri ortaya çıkar(153).

Bu rezorpsiyon aktivitesi tam olarak açıklanamamış mekanizmalarla kontrol edilmektedir. Ama sellüler aktivasyon, sellüler cevaplar, faktör ekspresyonu, aktivitenin durması ve apoptosisin, osteoblastlar ve osteoklastlar arasındaki dinamik iletişim sayesinde olduğuna dair kanıtlar mevcuttur(109).

In vitro olarak paratiroid hormon(PTH) ve 1,25-dihidroksivitamin D₃ bulunan kültürlerde bu hücrelerin tek başına kemik rezorpsiyonu yapmadıkları lakin ortama ilave edilen osteoblast sonrasında rezorpsiyona neden oldukları bildirilmiştir(coupling mekanizması)(115).

2.1.1.5. Kemik yüzeyini döşeyen hücreler

Osteoblastların, kemik oluşturma işlemlerini gerçekleştirmedikleri zamanlarda istirahat halinde oldukları kabul edilir. Kemik yüzeyini kaplayan yassı, ince ve uzun görünümlü bu hücreler kemik yüzeyini döşeyen hücrelerdir. Erişkin iskeletin büyük bir kısmını örterler(102). Potansiyel osteoblast kaynakları arasında oldukları, kemik ve ekstrasellüler sıvı kompartmanı arasında bariyer oluşturdukları ve kemikte yeni kemik oluşumunun veya rezorpsiyonunun hangi bölgede gerçekleşeceğini düzenledikleri tahmin edilir(71).

2.1.1.6. Matriksler

Organik ve inorganik tuzlardan oluşur. İnorganik maddeler, kemiğin kuru ağırlığının %60'ını oluşturur. İçeriğinde özellikle kalsiyum ve fosfat daha fazla olmakla beraber bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyum bulunur. Röntgen ışını difraksiyon yöntemi ile yapılan çalışmalarda kalsiyum ve fosforun Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ kompozisyonunda birleşerek hidroksiapatit kristallerini meydana getirdiği görülmüştür. Burada önemli miktarda amorf, kristal yapıda olmayan kalsiyum fosfat vardır(81,101). Elektron mikrograflarda

kemik hidroksiapatit kristalleri yaklaşık 40x25x3 nm. boyutlarında plakalar halinde görülür. Hidroksiapatitin yüzeyindeki iyonlar suya doyurulduğu için kristalin etrafı su ve iyonlardan oluşmuş bir tabaka halinde kaplanmıştır. Hidrasyon kabuğu adı verilen bu tabaka vücut sıvıları ile kristal arasındaki iyon alışverişinin gerçekleşmesini kolaylaştırır(45).

Organik madde Tip I kollajenden ve proteoglikan çökeltilerini içeren, kollajen kısımları birbirine bağlayan glikoz aminoglikanlardan oluşur. Kollajen molekülleri 400 Å lık gözenekler oluşturacak şekilde dizilir. İnorganik kısmı meydana getiren tuzlar bu gözeneklerde yer alır(159).

Kemik siyaloproteini ve osteokalsin, kalsiyuma sıkıca bağlanabilmelerini sağlayan ve olasılıkla kemik matriksinin kalsifikasyonunu başlatmaktan sorumlu olan birkaç γ –karboksiglutamik asit kalıntısı içermektedir. Normalde Tip I kollajen içeren diğer dokular kalsifiye olmaz ve bu proteinleri içermez. Kollajenden zengin olduğu için, dekalsifiye edilmiş kemik, kollajen boyaları ile koyu olarak boyanır(130).

Hidroksiapatit ile kollajen lifleri arasındaki ilişki, kemiğin özelliği olan sertliğinden ve dayanıklılığında sorumludur. Kemik dekalsifiye edildikten sonra şeklini korur ancak bir tendon kadar esnek hale gelir. Çoğunluğu kollajenden oluşan matriksin organik kısımlarının ortadan kaldırılması halinde kemiğin orijinal şekli bozulmaz ancak kolayca kırılabilir hale gelir(173).

2.1.1.6.1 Organik matriks

Kemiğin kuru ağırlığının yaklaşık %35'i organik matrikstir. Tip I kollajen ana bileşendir(%90) ve kalanı da(%10) non kollajen bileşenlerdir. Kemik mühendisliği disiplininin gelişmesinde en önemli kısım non kollajen kısım olmuştur. BMP'ler, non kollajen bileşene iyi bir örnektir(100).

Non kollajen bileşenler, proteoglikan ve glikoprotein olarak ikiye ayrılmıştır. Proteoglikanlar, glikozaminoglikanlardan(GAG) oluşur. GAG'lar sülfate olmuş tekrarlayan karbohidrat üniteleridir; kondrotin sülfat, dermatan sülfat, keratan sülfat ve heparin sülfat. Proteoglikanların büyüme faktörleri

regülasyonuna katıldıkları düşünür. Glikoproteinler; osteonektin, fibronektin, vitronektin, fibrilin, osteopontin ve kemik sialoproteindir. Fibronektin temel ekstrasellüler matriks(ECM) adezyon molekülüdür. Osteopontin ise osteoklastların kemik yüzeyine tutunmalarına yardımcıdır(93).

2.1.1.6.2 İnorganik matriks

Kemiğin mineralize kısmıdır. Kemiğin kuru ağırlığının yaklaşık %60-%70'ini oluşturur. İnorganik maddelerin içeriğinde özellikle kalsiyum ve fosfat oranı yüksektir. Ayrıca bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyum da bulunur. Röntgen ışını difraksiyon yöntemi ile yapılan çalışmalarda kalsiyum ve fosforun $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ kompozisyonunda birleşerek hidroksiapatit kristallerini meydana getirdiği görülmüştür(100).

2.1.1.7.Çözünebilen faktörler

Dönüştürücü büyüme faktörü(TGF- β) iltihap ve doku tamirinden sorumludur. Tüm hücreler moleküler formlarının birinde TGF- β oluşturur ve bu faktörün reseptörüne sahiptir. TGF- β kondrosit ile osteoblastlarda sentezlenir ve enondral kemikleşme sırasında hücre dışı matrikste birikir. Onarım zincirinde rol almak üzere trombositlerden de salınır. Makrofajlardan salınan en güçlü kemotaktik ajandır. Hücrenin integrin reseptörlerini uyarmak yoluyla hücre dışı matriks bileşenlerinden olan kollajen, fibronektin ve proteoglikanların oluşumunu artırır. Bağ dokusunda hasara yol açan proteolitik enzimleri baskılar ve granülasyon dokusu oluşumuna yol açar(189)

Fibroblast büyüme faktörü (FGF) ailesi, benzer polipeptit yapıda en az on üye içerir. İnsanda en fazla asidik formu(FGF-1) ile bazik formu(FGF-2) bulunur. FGF monositler, makrofajlar, osteoblastlar ve kondrositler tarafından sentezlenir ve birçok mezodermal ve nöroektodermal hücreyi etkiler. Araştırmacılar FGF-2'nin sistemik olarak verildiğinde kırık iyileşmesini

hızlandırıldığını, lokal uygulananının da kemik rejenerasyonunu stimüle ettiğini bildirmişlerdir(10).

Trombosit kaynaklı büyüme faktörü(PDGF), trombositler, monositler, makrofajlar ve endotelyal hücreler tarafından sentezlenir. Mezodermal hücrelerin DNA sentezini ve hücre replikasyonunu stimüle eder. Bunun yanında özellikle fibroblastlar, monositler ve düz kas hücreleri için kemotaktik etkileri de vardır. Lokal olarak uygulanan PDGF'nin hayvan deneylerinde kemik oluşumu üzerine uyarıcı etkileri gözlenmiştir(11). Bunun yanında ektopik kemik oluşumunu da arttırdığı bilinmektedir. İnsanda da immunhistokimyasal yöntemlerle kırık bölgesinde gösterilmiştir. Fibroblast çoğalmasını, mezenkimal hücre mitozunu, monosit ve makrofajların kırık bölgesine göçüne neden olduğu ve. PDGF uygulamasıyla kallus yoğunluğu ve hacmi arttığı bildirilmiştir. Tüm bu sonuçlar PDGF'nin iyileşme sürecinde önemli bir regülatör olduğunu gösterir(36).

Kemik morfojenetik proteinleri(BMP), geniş bir büyüme faktörü ailesi olan ve kültür ortamında fibroblastları dönüştürme yeteneklerinden dolayı Transforming Growth Factor (dönüştürücü büyüme faktörü) β olarak adlandırılan gruba ait alt üyelerdir. BMP ailesi yakın zamanda ayrıştırılan 20'ye yakın proteini içermektedir(53)

Hücrelerin gelişimini ve embriyodaki doku ve organların organizasyonlarını düzenler. Kemik sayısı ve boyutunu, uzuv gelişimini değiştirerek vucut oluşumunu etkiler. Urist son literatürlerinde BMP lerin rolünü "iskelet sisteminin molekularizasyonu" olarak tanımlamıştır(63).

İnterlökinler(IL), makrofaj ve monosit kökenlidir. IL-I fibroblast çoğalması, kollajenaz ve PGE2 üretimi ile ilgilidir. Ayrıca osteoklastlar üzerine etkileriyle kemik geri emilimini de etkiler(189).

Vücutta pek çok dokuda sentezlenen sinir büyüme faktörü(NGF) periferik sensoryal ve postgangliyonik sempatik sinirlerin gelişimi için son derece önemlidir. Ayrıca lokal uygulananının kırık iyileşmesi üzerine olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir(189).

İnsüline benzer büyüme faktörü(IGF)-I samatomedin, IGF-II ise iskelet büyüme faktörü olarak da bilinmektedir. IGF-II, kemik matriksinde en yoğun konsantrasyonda bulunan büyüme faktörüdür. IGF-I, IGF-II'ye oranla dört ile yedi defa daha güçlüdür. Deneysel çalışmalarda IGF-I'in kemik defektlerinin iyileşmesini hızlandırdığı insanda da IGF-I'in sistemik olarak verilmesinin kemik oluşumunu hızlandırdığı gösterilmiştir(36,115). IGF-II ise insanlarda kırık iyileşmesinin granülasyon evresinde endotelial ve mezenkimal hücrelerde gösterilmiştir(45).

Epidermal büyüme faktörü(EGF), kemik yüzeyinden ayrılan hücrelerin remineralizasyonunu hızlandırır(11).

Kondroblast kaynaklı büyüme faktörü(CDGF) iki tiptir. Tip-II kollajen ve hıyalüronik asit için düzenleyicidir(11).

Makrofaj kaynaklı büyüme faktörü(MDGF), osteoblast ve kondrositler için, endotelial hücre büyüme faktörü(ECGF) de yeni dammar oluşumu için mitojeniktir.(11)

2.1.1.8. Periost

Eklem yüzeyleri dışında kemiğin dış yüzeyini örten bağ dokusu tabakasıdır. Aralarında keskin bir sınır olmayan iki tabakadan meydana gelir; iç tabaka(stratum cambium) ve dış tabaka(stratum fibrosum). Dış tabaka kollajen lifler ve fibroblastlardan oluşmuştur. Yoğun bağ dokusu olup, kan damarları ve lenfotiklere destek sağlar. Demetler halinde kollajen liflerden oluşan sharpey lifleri, matriks içine girerek periostu kemiğe bağlar. Hücreden daha zengin olan periostun iç tabakası bölünüp farklılaşarak osteoblastları oluşturabilme potansiyeline sahip olan yassı hücrelerden yana zengindir. Bu osteoprogenitör hücreler, konumları, yassı şekilleri, çok az miktardaki granüllü endoplazmik retikulumları ve az gelişmiş golgi kompleksleri ile karakteristiktir(45,142).

2.1.1.9. Endost

Kemiğin içindeki bütün boşlukları örter ve tek kat yassı osteoprogenitör hücreler ile çok az miktarda bağ dokusundan oluşur. Bu yüzden endost, periosttan daha incedir. Hem osteojenik, hem de hemopoetik potansiyeli vardır. Büyüme süresince endost aktiftir Osteoklastların kalsiyum gereksinimine bağlı olarak aktivitesi devam eder(142).

Periost ve endostun temel işlevleri; kemik dokusunun beslenebilmesi, büyüebilmesi ve onarımı için gerekli olan yeni osteoblastları aralıksız olarak sağlamaktır(46). Bu nedenle kemik cerrahisinde periost ve endostun korunmasına çok dikkat edilmelidir.

2.1.1. Kemik dokusunun makroyapısal bileşenleri

2.1.2.1. Primer Kemik Dokusu(Woven Kemik)

Primer kemik, embriyolojik gelişim sürecinde kırık ve diğer nedenlerle ilişkili onarım işlemlerinde ilk ortaya çıkan kemik türüdür. Embriyonik iskeleti oluşturur ve çoğunlukla 4 yaşından sonra normal kemikte görülmez. Geçicidir ve yetişkinlerde, kafadaki yassı kemik eklemleri, diş alveolleri ve tendonların kemiğe tutunduğu yerler gibi birkaç yer dışında yerini sekonder kemiğe bırakır(163).

Oldukça hızlı(günde 30-50 μm) oluşur. Hücrece zengindir ve yeni şekillenmiş düzensiz, rastgele ve değişik yönlere dağılmış ince kollajen lifler içerir. Bu lifler çevre dokulardan kemiğe penetre olur. Woven kemik oldukça az mineral içerir ve mekanik direnci azdır. Lamel içermez ve sekonder kemik dokusuna oranla daha fazla osteosit içerir(130). Olgunlaşmamış yapıdaki bu doku implant iyileşmesinin ilk safhasında oldukça önemlidir(115).

2.1.2.2. Sekonder Kemik Dokusu

Sekonder kemik dokusu genellikle yetişkinlerde bulunur. Kollajen lifler tipik olarak 3-7 μm kalınlığında birbirine paralel ya da vasküler bir kanal etrafında dairesel olarak yerleşmiş lameller şeklindedir(131).

Kan damarlarını, sınırları ve gevşek bağ dokusunu içeren bir kanal etrafını saran, dairesel lamellerin meydana getirdiği bütünlüğe Havers sistemi yada osteon denir. Osteositleri içeren lakünalar, lamellerin arasında ve seyrek olarak da içinde bulunur. Her lamelde kollajen lifler birbirlerine paraleldir. Her Havers sisteminin etrafı birkaç kollajen lif ve mineralize amorf matriksten oluşan yapıştırıcı madde ile çevrelenir(45). Lameller kemik yetişkin kemiğinde kortikal(kompakt) kemik ve kansellöz(spongiöz yada trabeküler) kemik olarak iki farklı yapıdadır.

2.1.2.2.1 Kortikal kemik

İskelet sisteminin %80'inini oluşturur; kemiklerin dış ve iç tabakalarını meydana getirir. Kortikal kemik vital organları korur, biyofonksiyonel kuvvetlere direnç gösterir, harekete olanak verir ve iç denge için uygun bir kaynak oluşturur(131). Kortikal kemikteki haversian sisteminin(osteon) fonksiyonu biyofonksiyonel kuvvetlere cevap vermek için dahice düzenlenmiştir. Hızlılama diafize paraleldir. Ayrıca santral kanaldan santrifuj doğrultusunda ilerlersek her konsantrik lamel bileşeni ters doğrultuda spiral yapar; saat yönünde ve sonra saatin aksi istikametinde ve böylelikle de baskı ve torsiyon kuvvetlerine en dirençli hale gelir(45).

Her havers sistemi uzun, sıkça dallanan ve diyafizin uzun eksenine paralel olan bir silindir şeklindedir. Bir haversian sistemi yaklaşık 4 ila 20 çevreleyen halkadan meydana gelir ve santral kanalı 22 ila 110 μm 'lik çaplarda lameller çevrelerler. Havers sistemleri, dış dairesel lameller, iç dairesel lameller ve interstisyel lamellerden ibaret tipik bir düzenlenim gösterir. Endost ile örtülü her kanal içinde kan damarları, sinirler, ve gevşek bağ dokusu bulunur. Havers

kanalları, yatay yada oblik seyreden Volkman kanalları aracılığı ile kemik iliği boşlukları, periosteum ve kendi aralarında iletişim kurmaktadır. Volkman kanallarının dairesel lamelleri yoktur, lamelleri delerek geçerler(93).

Havers sistemi polarize ışıkla incelendiğinde, parlak anizotropik tabakalar ile karanlık izotropik tabakaların değişimli bir sıra izledikleri görülür. Kollajen liflerin, uzun eksenlerine dik açıyla gelen polarize ışıkta incelendiğinde çift kırıcı(anizotropik) oldukları görülür. Parlak ve karanlık tabakaların birbirleriyle değişimli oluşu kollajen liflerin lameller içindeki yönlerine bağlıdır. Her lamelde lifler birbirlerine paraleldir ve sarmal şeklinde seyrederek. Bununla birlikte sarmalın açıklığı her lamelde farklıdır, bu şekilde komşu iki lamelin lifleri birbirlerine yaklaşık olarak dik açıyla keser. Her lameller halkada bir miktar osteosit bulunur. Bu osteositler aynı lamel içinde kanalikuli denilen çok geniş bir ağ sistemi ile diğer osteositlerle ilişki halindedir. Ayrıca Volkman kanalları kortikal kemiğe oblik bir pozisyonda penetre olurlar ve haversian sistemle anastomozlar yapar. Böylelikle metabolik alışveriş, hormonlar gibi çözünebilen sinyaller için vasküler-lenfatik kanallar yaparlar. Kemikte hiç bir hücre herhangi bir damardan 300µm'den daha fazla uzakta bulunamaz ve bu da kemiğin vaskülarizasyonunu gösterir(115).

2.1.2.2 Kansellöz kemik

İki kortikal kemik arasında sıkışmış süngerimsi kemiktir. Üç boyutlu trabeküler kafes bu yapının temelini oluşturur. Genel olarak trabeküllerin uzaysal yönlenmesi rastgeledir. Bu aslında kortikal kemiğin biyofonksiyonel yükleme potansiyeli altında beklenmedik birşey değildir. Bazı anatomik bölgelerde mesala iliak kemiğin uç kısmında trabeküller yüklemeye uygun biçimde hizalanmışlardır. Trabeküler kemik yüklemeye göre gelişmesede fizyolojik uyarılara çok çabuk yanıt verir. Bunun sebebidir kansellöz kemikteki yüzey alanının 20 kat daha fazla olması ve birim alandaki hücre yoğunluğundandır(130,163).

2.1.3. Kemik dokusu embriyogenezi

2.1.3.1 İntramembranöz gelişim

İntramembranöz kemik oluşumu, mezenkim kökenli yoğun embriyonel bağ dokusunun içinde gerçekleşir. Frontal ve pariyetal kemiklerin tamamı, oksipital ve temporal kemikler, mandibula ve maksillanın bazı kısımları intramembranöz kemikleşme ile meydana gelir. İntramembranöz kemikleşmenin kısa kemiklerin büyümesinde ve uzun kemiklerin kalınlaşmasında da rolü vardır(42).

İntramembranöz kemikleşmenin meydana geleceği bölgelerdeki mezenkim hücrelerinde fibroblastlar oluşur. Fibroblast hücreleri kollajen fibrilleri yapar ve membran şeklinde bağ doku alanları meydana getirir. Bu zar oluşumunu takiben yine etraftaki mezenkim hücreleri, kemik hücrelerinin ana hücresi olan osteojenik ve osteoprogenitör hücrelerine dönüşür. Mezenkim yoğunlaşması içinde kemikleşmenin başladığı ilk noktaya primer kemikleşme merkezi denir. Osteojenik ve osteoprogenitör hücreler genişleyip, polihedral bir yapı gösterir ve sitoplazmaları daha bazofilik olur ve artık bunlar osteoblast olarak tanımlanır. Yeni kemik matriksinin oluşmasını kalsifikasyon takip eder, bunun sonucunda bazı osteoblastların etrafları sarılır ve daha sonra bu hücreler osteosit haline gelir. Gelişmekte olan bu kemik adacıklarına histolojik kesitlerdeki görüntülerinden ötürü spikül(iğnecik) adı verilir. Spiküller, aralarında kapillerleri, kemik iliği hücrelerini ve farklılaşmamış hücreleri içeren boşluk uzantılarını saran duvarların kesitleridir. Kemikleşme merkezinde hemen hemen aynı zamanlarda böyle birkaç grup ortaya çıkar ve bunlar birleşerek, zamanla süngerimsi yapıyı meydana getirirler. Kemik spikülleri arasındaki bağ dokusuna, kan damarları ve kemik iliği hücrelerini oluşturacak olan fazla sayıda farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin girmesi ile kemik iliği hücreleri meydana gelir(130).

Mezenkimal doku yoğunlaşması içindeki hücreler bölünerek, kemikleşme merkezinin devamlı olarak büyümesinden sorumlu olan, daha fazla sayıda osteoblastı meydana getirir. Birkaç kemikleşme merkezi ışınsal olarak

büyüyüp birleşerek başlangıçtaki orijinal bağ dokusunun yerini alırlar. Bebeklerdeki bingıldaklar (fontaneler) buna bir örnektir. Bunlar bağ dokusundan oluşan, kafatasının henüz kemikleşmemiş yumuşak bölgelerine karşılık gelmektedirler(115).

Özellikle doğumdan sonra kafatasının yassı kemiklerinin gerek iç gerekse dış yüzeylerindeki intramembranöz kemik yapımı, kemik yıkımına nazaran belirgin bir üstünlük kazanır. Kafatası gelişime paralel olarak genişlemek zorundadır. Bu nedenle kafatası kemikleri devamlı olarak iç yüzeylerinden osteoklastlar tarafından yıkılmakta, dış yüzeylerinde osteoblastlar tarafından yeni kemik lamelleri eklenmekte ve gelişme sona erdiğinde kompakt kemik şekillenmektedir. Böylece iki tabaka kompakt kemik(iç ve dış tabakalar) ortaya çıkar ama merkezi kısım süngerimsi yapısını korur(131).

Bağ dokusunun kemikleşmeye katılmayan bölümleri ise intramembranöz kemiğin periost ve endostunu meydana getirir.

Mandibula (koronoid prosesin bir bölümü ve midsemfiz bölgesi dışında), kranyum kubbesi(supraparietal sırttan oksipital perotubercula'ya kadar), parietal kemikler, oksipital ve temporal kemiklerin squama kısımları, squama frontalis, sfenoidin büyük kanadının bir kısmı, ilium, skapula ve klavikulanın intramembranöz kemikleşme geçirir. 7.haftaya kadar klavikula in utero hayatta mineralize olan ilk kemiktir ve hemen bunun ardından mandibula mineralize olur(115).

2.1.3.2. Endokondral gelişim

Embriyojenik yaşamda iskeletin büyük bir kısmı kıkırdaktan oluşur. Bu doku daha sonra rezorbe olur ve kemik ile yer değiştirir. Bu olaya endokondral kemikleşme adı verilir. Bu olay doğum öncesi başlar ve büyüme tamamlanıncaya devam eder(21,36,39,89).

Appendiküler bölgede (kol, bacak, pektoral ve pelvik kemerleri) ve vertebrada hücreler, endokondral kemikleşme için toplanır. Primordial hücrelerin osteojenik bir proses yerine niye endokondral bir büyüme yaptıkları tam belirgin değildir. Bunun nedeninin farklı konsantrasyonlardaki BMP ve lokalize sentezlenen anjiyojenik ve antianjiyojenik faktörler olduğu düşünülür(63,163).

Mezenkimal hücreler vaskülarizasyondan yoksun uzuv merkezlerinde kondrojeniktirler. Embriyogenez sırasında kondrojenik yapıdaki hücreler primer olarak tip II kollagen içeren kıkırdak bir yapı üretir. Çok az miktarda Tip I kollagen (özellikle kemikle ilgilidir), Tip IV kollagen (özellikle endotelyal bazal lamina) ve Tip X kollagende (hipertrofik kondrositler ve kalsifiye olmakta kıkırdak) ortamda bulunur(39). Embriyolojik gelişimin uygun zamanında kıkırdak yapı kondrolizi takiben kalsifikasyonun habercisi olarak damarlanır. Kıkırdak alanlarda bulunan antianjiyojenik faktörler damarlanmayı engelledikleri için kıkırdak hücrelerinin ve matriksin kondroliz esnasından ortadan kaldırılması, FGF'lerin preosteojenik bölgelerde yarattığı damarlanmaya meyilli bölge ortamının bir benzerini yaratır. İnterlökin gibi sinyal moleküller sonucu osteoklastik differansiyasyon ve bunu takiben rezorpsiyon başlar. Mineralize kıkırdağın rezorpsiyonunu takiben hematopoietik kemik iliği gelişir ve bu kaviteyide daha sonra kemik formasyonu çevreler(45,81). Vaskülarizasyon ve kalsifikasyonla ilgili hala birçok cevaplanmamış soru bulunmaktadır(71,89).

2.1.4. Kemik dokusu iyileşmesi

Kemik iyileşmesindeki dönemler embriyonel gelişmeyi anımsatır. Rejenerasyon, embriyogenezi hatırlatan kemiğin klasik bir özelliğidir. Bu hasarlı bir kemik dokusunun skar oluşmadan iyileşmesidir. Embriyolojik gelişim ve yara iyileşmesi birçok ortak noktaya sahiptir. Bu sebeple teröpatik yaklaşımlar embriyolojik iyileşmeyi andıran bileşenler içermelidir(71).

Kemik büyümesi, daha önce oluşmuş kemik dokusunun bir bölümünün yıkılırken aynı anda başka bir bölümünün yapımı ile gerçekleşir. Sağlıklı bireylerde kemik yapım hızı kemik yıkım hızından fazladır. Böylece kemik büyürken şekli de korunur. Çocuklarda kemik süratle yeniden şekillenir; yetişkinlere oranla yenilenme 200 kat daha hızlı olabilir. (14).

Dıştan veya içten gelen zorlamalarla kemiğin anatomik bütünlüğünün bozulmasına kırık denir. Fizyolojik reaksiyonlar, bozulan kemik bütünlüğünün yeniden sağlanmasına yöneliktir. Kemik, skar dokusu oluşturmaz ve yeniden şekillenme ile iyileşir. Kırık iyileşmesi kırık olduğu andan itibaren başlar, düzenli kemik dokusu ile kırık uçları birleşinceye kadar devam eder. Bir kırıktaki hücreler ve sinyal faktörleri embriyojenik kemik formasyonundakilerle aynıdır (21).

Cruess ve Dumont'a göre sekonder kırık iyileşmesinin üç evresi vardır(46);

- Yangı(Enflamasyon) fazı
- Onarım(Reperasyon) fazı
- Yeniden şekillenme (Remodeling) fazı

2.1.4.1. Enflamasyon fazı

Bu faz, vazokonstriksiyon, vazodilatasyon, pıhtı oluşumu(hemostaz), fagositoz(lökositöz), yeniden damarlanma ve granülasyon dokusunun sentezini içerir(46).

Bir kemik kırığı matrikste hasara, hücrelerde ölüme, periost ve endosta yırtıklara ve kırık kemik uçlarında yer değişimine neden olur. Travmanın şiddetine bağlı olarak, kırık uçları komşuluğundaki periost ve çevre yumuşak dokular yırtılarak, damarlar yaralanır. Kırık uçlarını karşılıklı çaprazlayan kan ve lenf damarlarının yaralanmasıyla bu uçlar arasındaki kemik iliğinde ve etrafında kan ve lenf sıvısı toplanır. Bu sıvı birikerek periostu kaldırır. Kanamanın pıhtılaşması ile kırık uçları arasında, periost altında ve periost yırtılmışsa bunun etrafında hematom oluşur. Hematom, sağlam yumuşak dokular tarafından sarılır. Hücreler arası iletişim başlar. ECM'nin proteolitik yıkımı sonucu kemotaktik kalıntılar monositleri ve makrofajları yara yatağına doğru çeker. Aktive olan makrofajlar FGF'yi salgılar. Endotelial hücreler plazminojen aktivatör ve prokollagen sentezler. Degranülasyona uğramış trombositlerin alfa granüllerinden salgılanan büyüme faktörleri polimorfonükleer lökositler(PMN), lenfositler, monositler ve makrofajlar için yol göstericidirler(102).

Bu dönemde oksijen seviyesinde ve pH derecesinde bir azalma olur, makrofajların ve PMN'lerin görev yapabilecekleri bir ortam yaratılır. PMN'ler mikrobiyal istilayı ve mikrodebrisi uzaklaştırırken makrofajlar birleşerek çok çekirdekli dev hücreler oluşturur. Ayrıca makrofajlar sellüler aktiviteyi, mitozu arttıracak faktörlerin salınmasına neden olurlar(46).

Büyük kırıklarda makrofaj monositler, bütün vücudu etkileyen bir sitokin olan IL-1 salgılar. IL-1 yaralanma bölgesinde lenfositlerin göçünü, kemik geri emilimini sağlar ve orta beyin aracılığıyla ateş meydana getirebilir(115).

Enflamatuar dönem günlerce devam eder, bu sürede hematom organize olur, fagositler ve lizozomal mekanizma ile nekrotik dokular uzaklaştırılır. Fibroblastların bölgeye gelmesi ile onarım fazı başlar(130).

2.1.4.2. Onarım (reperasyon) fazı

Onarım evresi kırık iyileşmesinin en önemli kısmıdır. Kırığı takiben 3 ila 5. günlerde yeni kan damarlarından, kolagen izotiplerinden, ve hücrelerden (fibroblast,makrofaj) oluşan bir tamir dokusu(granülasyon) gelişir(179). Yaklaşık 18 tip kollagen vardır; tip I kemikte, tip II kırıkta, III ve V granülasyon dokusu ile, IV ve VI endotelyal matriksle, tip X da hipertrofik kırıkta ilgilidir(163). Büyüme faktörlerinin kollagene selektif bağlanması büyüme faktörlerinin hücre-faktör iletişimini optimum hale getirmek için lokalize olmasını ve hatta korunmasını sağlar. Bu sebeple tamir dokusunun kollagen bileşeni TGF-B, FGF, PDGF ve BMP'ler gibi moderate eden faktörler için bir anahtar rol oynar(189).

Bu kollagen yapı farklı sellüler tutunma yerleri ve hücrel iletişimi sağlar. Ayrıca kırık sonrasında periost ve endosta bulunan osteoprogenitör hücreler kemotaktik sinyaller sonucu kırık bölgesine gider, granülasyon dokusu kollagenine tutunur ve BMP gibi sinyal molekülleri sonucu kondrositlere veya osteoblastlara dönüşür(70).

Hücrelerin farklılaşması, hücrelerin salgıları ile haftalar sonunda ekstrasellüler matriksin olgunlaşması ile kallus oluşur. Kallus bileşenleri vasküler elementler, stromal ürünler, kırıkta ve hücrelerdir. Kırıkta, woven kemik ile yer değiştirir. Woven kemik daha sonra kemik segmentelerini güçlendirmek üzere kemik yaprakları gibi tabakalardan oluşan lameller kemiğe dönüşür(45).

Kırık bölgesinde mezenkimal hücre çoğalması ilk 16 saatte saptanmıştır. Bu çoğalma, kırık sonrası 32 saatte en üst düzeye çıkar. Oluşmaya başlayan kan damarları 2-3 günde ışık mikroskopik düzeyde görünür hale gelirler ve birinci haftada belirginleşirler. Kırık iyileşmesinin ilk dönemlerinde periosteal damarlar, geç dönemde ise besleyici damarlar, kılcak damar tomurcuklanmasına yardımcı olurlar. Fakat kılcak damar gelişimi osteojenik hücre çoğalması kadar hızlı olmadığından, beslenmenin daha iyi olduğu kemiğe yakın seviyedeki hücreler, osteoblastlara dönüşür. Kemiğe yakın olmayan, granülasyon dokusu kuşağının üzerinde yerleşen hücreler dolaşım yönünden fakirdir. Bu bölgedeki

kılcal damarların gelişim hızı, hücre çoğalmasının hızına uyum gösteremediğinden, hücreler kondroblast ve kondrosite farklılaşarak kıkırdak dokuyu oluşturur(21)

Osteoprogenitör hücreler ve fibrin matriksten kaynaklanan kıkırdak dokusu hücreleri prekondroblast, kondroblast, kondrosit ve hiperkondrosit evreleriyle çoğalıp olgunlaşırlar. Kondrositler kollajen II ve proteoglikanların hakim olduğu kıkırdak matriksi yaparlar. Böylece osteoblast ve kondrositler tarafından yapılan osteoid doku ve kıkırdak matriks bir sonraki faza mineralizasyon için hazırlanır(32)

Osteoblast haline gelen kanlanmanın yeterli olduğu bölgelerdeki hücreler ise trabekülleri oluştur. Böylece en dış tabakada kıkırdak dokunun üstünü örten periostun derin tabakasından çoğalan osteojenik hücreler, orta tabakada kıkırdak doku, daha derinde ise kemik trabekülleri bulunur. Zamanla her iki kırık parçası da ucunda oluşan yakalılık tarzındaki kitle birleşerek, kırığa bütünlük sağlayan dış kallusu oluşturur. Dış kallusun devam eden gelişimi esas olarak kemik hücrelerinin çoğalmasına ve kıkırdak dokudaki(orta tabakada) interstisyel büyümeye bağlıdır. Aynı şekilde ilik boşluğunda da aynı olaylar birbirini takip eder. Endost ve iliğin osteojenik hücresinden gelişen trabeküllerle, iliğin köprülenmesi oluşur ve iç kallus meydana gelir. İlk 7-12 günün sonrasında yumuşak kallus kitlesi, fibröz doku ve kıkırdaktan oluşmuştur ve kıkırdak sahasını çevreler(152)

Onarım evresinin ilk zamanlarında kıkırdak oluşumu(kıkırdak kallus) belirginleşir. Damar yenilenmesi, mevcut kan damarlarında tomurcuklanmayla olur ve kanla beslenme yeterli olursa osteoblastlar kallus içinde normal kemik gelişimine elverişli matriksi sağlamış olurlar. Hücre düzeyinde yapılan çalışmalara göre, damar endoteli sialik aside bağlı olarak, kıkırdak doku da proteoglikanlardan zengin olduğu için negatif yüklüdür. Yeni damarlanmayla kıkırdak doku arasındaki bu itme kuvveti nedeniyle, damarlanma engellenmektedir. Kalsiyum bu negatif yükü pozitifçe çevirerek, yeni damarların kıkırdak dokuya yönelimini sağlamaktadır. Dolayısıyla sert kallus(kemik kallus) dokusu gelişimi için damarlanma, bunun sağlanabilmesi içinse osteoidin mineralizasyonu gereklidir(125)

Mineralizasyonda ortak teori; osteoiddeki matriks vezikülleri varlığıdır. Bu veziküller, yüksek konsantrasyonda Ca ve PO₄, CAMP, ATP, adenozintrifosfataz, alkalen fosfataz, piro fosfataz, Ca bağlayan protein ve fosfoserin içerirler. Matriks vezikül membranı, Ca iyonlarını veziküle taşıyan çok sayıda Ca pompasına sahiptir. Vezikül içindeki iyon konsantrasyonu arttığında, kristalizasyon oluşur ve büyüyen kalsiyum hidroksiapatit kristal parçaları membranı delip matriks vezikülünü patlatarak içeriğini salar. Piro fosfataz enzimi, kalsifikasyonu önleyen piro fosfatları parçalar. Alkalen fosfataz ise fosfat esterlerinden fosfat iyonunu serbestleştirerek kalsiyumun çökmesini sağlar. Matriks veziküllerine salınan kalsiyum hidroksiapatit kristalleri kristalizasyon kaynağı olarak hareket eder. Kristalizasyonun çevresindeki iyonların yüksek konsantrasyonu, kalsifikasyon faktörlerinin varlığı ve kalsiyum bağlayan proteinler, matriks kalsifikasyonunu teşvik ederler. Alkalen fosfataz salgılanır. Kondrositlerden kırıkta matriks vezikülleri de atılmaya başlar. Kırıkta matriks kalsifiye olur. Kalsifiye doku içinde kalan kondrositler difüzyonla beslendiğinden ölür ve buldukları yerde lakünalar meydana gelir. Kondroklastik faaliyette geri emilim artar ve lakünalar genişler. Bu süreç devam ederken, laküner boşluklara kılcal damarlar ve kemik hücreleri girmeye başlarlar. Zira kalsifikasyon olmaksızın damarlanma ilerleyemez. Parçalanmış kalsifiye kırıkta yerini almak için damarlı doku ve osteoblastlar gerekli mekanik uyarılarla kemik yapımına başlarlar.(84).

Nekrotik kırık uçları dolaşımdan yoksundur ve ortadan kaldırılması gerekir. Kırık iyileşmesinde gerekli olan bu fonksiyonun, nasıl başladığı kesin olarak bilinmemektedir fakat kırık bölgesinde önemli miktarda tespit edilen proteoglikanların yeri osteoklast oluşumuyla mevcut osteoklast aktivitesinde artışa neden olduğu düşünülür. Osteoklastlarla meydana gelen rezorbsiyon boşluklarını osteoblastlar sararak canlı kemik gelişmesini sağlarlar. Neticede nekrotik bölgenin tümü canlı kemikle yer değiştirir(159).

Kırık kemik uçları, iç ve dış kallus gelişimi ile çok sağlam bir yapıya kavuşur. Kallus oluşumu, yetişkinlerde çocuklardan ve kompakt kemikte trabeküler kemikten daha yavaş meydana gelmektedir. Yaralanmadan sonra kallus oluşması ve mineralizasyonu 4-16 hafta arasında zaman gerektirir. Kallus

oluşumuyla beraber kaynamanın oluştuğu söylenebilir. Bununla beraber, kaynama henüz son noktasına ulaşmış değildir, onarım evresinin ortasında, kallusun gereksiz ve etkisiz kısımlarının geri emilimi ve trabeküler kemiğin stres çizgileri boyunca uzanması ile yeniden şekillenme evresi başlar(142).

2.1.4.3 Yeniden şekillenme(remodeling)

Kemik tamiri ve hemostazı için gerekli olan tüm dinamik olaylar topluluğudur. Bu evre güçlü ama düzensiz sert kallusun, normal veya normale yakın güçteki daha düzenli lameller kemiğe dönüşümüdür. Onarım evresinin ortasında başlayıp normalde insanlarda 4-16 hafta sürerken, yıllar boyunca da devam eder(12).

Tüm bu reaksiyonlar aktivasyon-rezorpsiyon-formasyon olarak bilinir. Osteoblastlar sinyal faktörleri(PTH) ile aktive olurlar ve bir kemik bölgesini boşaltırlar; osteoklastlar stimule olurlar ve osteoblastların açığa çıkardığı alana tutunup rezorpsiyona başlarlar(13). Daha sonra da henüz tanımlanamamış bir sinyal ile rezorpsiyon durur ve tutunma yerlerinden ayrılırlar. Osteoklastik rezorpsiyon alanları(howship's lakünleri) daha sonra osteoblastlar tarafından doldurulur ve daha sonra kalsifiye olup kemik oluşturacak osteoid salgırlar(97).

Wolff kanunu günümüzde kemiğin yeniden şekillenmesinde de temel bir kural olarak kabul edilmektedir. Mekanik strese maruz kalan kemiğin konveks yüzü pozitif, konkav yüzü ise negatif elektrikle yüklendiğinden, osteoklastik aktivitenin hakim olduğu konveks yüzeyde geri emilim ve osteoblastik aktivitenin hakim olduğu konkav yüzeyde ise yeni kemik yapımı olmaktadır. Yani "kırığın konkav tarafında kemikleşme, konveks tarafında ise rezorpsiyon" olur. Bunun sonucu olarak da kemik kırık öncesi orjinal şeklini alır(72)

İnsanlarda aktivasyon-rezorpsiyon-formasyon prosesi 3-6 ay sürer ve bu süre sigma olarak bilinir. Sigma köpeklerde 3 ay, tavşanlarda ise sadece 6 haftadır (115).

2.1.5. Kemik İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Kırık iyileşmesi fazları mediatör mekanizmaların kontrolü altındadır. Lokal ve sistemik olarak bilinen ve şu anda bilinmeyen faktörlerle bu mekanizmalar etkilenir, kırık iyileşmesi iyi veya kötü yönde kontrol edilir. Dokuların iyileşme süreci üzerine etki eden pek çok değişken vardır. Bunları lokal ve genel faktörler olarak iki ana başlık altında toplanır(11,14,21,31).

2.1.5.1. Lokal Faktörler

Travmanın şiddeti iyileşmeyi geciktirir. Kemik ve yumuşak doku kaybı olabilir. Bu da kırık iyileşmesi üzerine olumsuz etki yapar. Bunun nedeni artan nekrotik doku miktarının çok yönlü farklılaşma potansiyeline sahip mezenkimal hücre göçüne ve vasküler invazyona engel olmasıdır(11).

Kırık uçları birbirinden uzaksa, iyileşme güçleşir. Bunun nedeni de temelde, kanla beslenmenin bozulmasıdır. Kırık uçları arasındaki kallusun beslenmesi granülasyon dokusu ve kırık bölgesine gelen kan damarlarıyla olur. Bu dolaşımının bozulması kırık iyileşmesini birinci derecede bozan nedendir(14).

Spongiöz ve kortikal kemik kırıklarının iyileşmesi yüzey alan farklılıkları, hücresel zenginlik ve vaskülarite gibi nedenlerden dolayı farklılıklar gösterir. Karşılıklı gelen spongiöz kemik uçları kortikal kemiğe oranla daha süratle kaynar, çünkü kan ve hücreden zengindir ve birim alana düşen kemik temas yüzeyi daha fazladır. Kortikal kemikte ise birim temas yüzeyi daha az ve kanlanma daha zayıftır(131).

Genellikle enlemesine kırıklara göre kaymamış veya az kaymış spiral ve oblik kırıklarda iyileşme daha iyi olur. Spiral ve oblik kırıklarda her iki fragmanın daha eğri ve geniş olan kırık yüzeylerindeki damarlanma, kırık iyileşmesine yardım eder, enlemesine kırıkta damarlar aynı düzeyde kesilmiştir. Aynı nedenle, birbiriyle devamlılığı kalan parçalı kırıklarda, birçok parça olmasına karşın kırık iyileşmesi iyidir(14).

Kırık bölgesinde, cilt veya mukozanın da yaralanmasıyla oluşan açık kırıklarda kallus ve kırık iyileşmesi için osteoblastik faaliyetle yatak görevi yapacak olan kırık hematomu dışarıya boşalmıştır. Ayrıca dış ortamdan gelen bakteriler sonucu enfeksiyon gelişebilir, kırık iyileşmesi geç olur, bazen de hiç olmaz(45).

Kırık bölgesinde, yumuşak doku yaralanması meydana geldiğinde damarlarla beslenme bozulur ve yeni kemik dokusu gelişimi mezenkimal hücrelerden kaynaklanamaz. Ayrıca, kırık fragmanlarını yerinde tutacak olan yumuşak dokuların yaralanması kırık tespiti ve dolaylı olarak kırık iyileşmesini bozar(11).

Enfeksiyon, kırık yerindeki granülasyon ve kemikleşme dönemindeki dokuları harap eder, fibröz doku ve nedbe dokusu geliştirerek kırık iyileşmesini bozar(45).

Dejeneratif, metabolik, tümoral, enfeksiyon, veya radyoterapi gibi nedenlerle lokal direnci azalan kemikler ufak bir travma ile kırılabilir. Malign tümörler ve enfeksiyonlar varlığında, kırık bölgesinin kanserli veya iltihaplı hücrelerle dolu olması nedeniyle, sağlıklı bir biçimde kaynama olamaz. Dolayısıyla, bu gibi durumlarda altta yatan neden tedavi edilmeden sağlıklı bir kırık kaynaması elde edilemez. Tutulan kemiğin miktarı ve hastalığın agresifliğine bağlı olarak değişmekle birlikte malign olmayan lezyonlar ve Paget gibi hastalıklarda mezenkim hücrelerinin diferansiyasyon yetmezliğine bağlı olarak kapiller gelişim azlığı sebebiyle kırık iyileşmesi yavaşlar veya hiç olmaz. Osteoporozun ise kırık kaynaması üzerine olumsuz bir etkisi yoktur ancak temas eden yüzey miktarı düşük olduğundan, mekanik olarak kırık bölgesinin sağlamlaşması daha uzun zaman alır(71). Radyoterapi uygulanmış kemikler kolay kırılabilirdiği gibi iyileşme yavaştır veya hiç olmayabilir. Işınlama yapılan yerde hücre ölümü, damarlarda tromboz , kemik iliğinde fibrozis nedeniyle kemikleşme için gerekli yeni kapillerlerin ilerlemesi olanak dışıdır ve onarım gecikir(145).

Kırıkların gerektirdiği tespit şekline uyulmazsa kırık uçlar hareket ederek kırık bölgesindeki yeni damarlar parçalanır veya tıkanır, sonuçta kırık kemik onarımı bozulur. Redüksiyon ve manipulasyon denemelerinin tekrarlanması ve

zorlanması da kırık iyileşmesini geciktirir. Kırık uçları arasındaki damarlanma, granülasyon dokusunu ve yeni kemikleşme için ön koşul olan fibrinli yapıyı bozarak onarımı zorlaştırır. Değişik aralarla yapılan redüksiyon denemelerinin her tekrarlanışında yeni bir kanama ve aşırı bir kallus gelişimi olur ve iyileşme gecikir(130).

Lokal olarak uygulanan elektriksel yaklaşımlar tedaviye cevabı zayıf olan kırığın iyileşmesini stimüle edebilir. Elektrik alanları, hücre proliferasyonu ve sentez fonksiyonu hızlandırarak kırık iyileşmesi üzerine olumlu etki yaparlar(21).

Kırık bölgesinde herhangi bir sinirin zarar görmesi sonucu iyileşme bozulduğu bildirilmiştir(11).

Düşük kuvvette lazer uygulamasının hayvan deneylerinde morfolojik, biokimyasal, radyolojik ve ultrastrüktüel olarak kırık iyileşmesi üzerine hızlandırıcı etkisi olduğu gösterilmiştir(140).

Deneyel ve klinik araştırmalar düşük şiddette ses dalgalarının uzun kemiklerde kırık iyileşmesini hızlandırdığını göstermiştir. Bu olumlu etki taze kırıklarda olduğu kadar psödoartroz veya kaynama gecikmelerinde de gözlenmiştir. Ancak etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır(11).

Günde yaklaşık iki saat, 2-3 atmosfer basınç altında oksijen uygulanmasının kırık iyileşmesine yardım ettiği gözlenirken, günde altı saatlik dozda uygulamaların kırık iyileşmesini geciktirdiği izlenmiştir(143).

2,8 ATA basınç altındaki bir basınç odasında saf oksijen soluyan bir insanda oksijen basıncı normalin 1013 katına kadar çıkmakta, plazmada %6 volüm oksijen çözünmektedir. Kısaca plazma, dokulara hemoglobine gerek duymadan oksijen taşıyacak duruma gelmekte, venöz kanda bile hemoglobin süperoksüre bulunmaktadır. Böylece hastanın fizyolojik veya patofizyolojik durumuna göre organlarda ve yapılarda şu etkiler oluşabilmektedir; lökositlerin fagositoz etkinliğinin artması, kapiller duvarlarına lökositlerin yapışmasının azalması, normal damarlarda vazokonstriksiyon, fibroblastların çoğalmasının ve kollajen proliferasyonunun düzenlenmesi, adenozin trifosfatın hücre

membranında korunması ile doku ödeminin sekonder olarak azalması, bazı immün reaksiyonların suprese olması, kapiller proliferasyon(172).

İyi redükte ve tespit edilmiş kırık kemiklere erken fonksiyon ve kontrollü yük verilmesinin kemik gelişimini uyardığı bildirilmiştir. Bunun nedeni PGE2 miktarının artması ve dolaşıma olan etkisidir(11).

Saflaştırılmış ve kültür ortamında çoğaltılmış mezenkimal kök hücrelerin(MSC) in vivo implantasyonları sonucu ektopik osteokondrojenik potansiyelleri bildirilmiştir(41).

Ayrıca kriyoterapi sonrası bile MSC'lerin osteojenik potansiyelinin kaybolmaması MSC'leri kemik rejenerasyonu için oldukça uygun olduğunu gösterir(177).

2.1.5.2. Genel Faktörler

Hastanın yaşı kırık iyileşme hızını doğrudan etkiler. Çocuklarda, kemik onarımı için gerekli yeni damarlanma ve mezenkimal hücre farklılaşması çok hızlıdır. Yeni doğan ve süt çocuklarında iyileşme büyük çocuklara göre, büyük çocuklarda iyileşme erişkinlere göre daha hızlıdır(109).

Diyabet, anemi, tüberküloz, raşitizm gibi hastalıklar ve beslenme bozuklukları kırık iyileşmesini geciktirir. İltihabi olaylar (tüberküloz, kronik hastalıklar), hiperemi nedeniyle kalsiyum tuzlarının çözülmesini etkiler. Artan lökositlerin proteolitik enzimleri matriksin bozulmasına neden olur ve osteoid oluşumunu engeller. Dolaşım sistemi hastalıklarındaki hiperemi kemikleşmenin azalmasına ve osteoporozu neden olur(109).

Parathormonun, osteoklast sayısını artırıcı, kemiğin yeniden şekillenmesini uyarıcı ve osteositleri uyarak osteolizi hızlandırıcı etkileri vardır. Paratiroid hormonun kemik üzerine net etkisi kemik rezorpsiyonunu arttırmak iken iskelet yapıya etkisi karışıktır. Paratiroid hormon osteoklastik aktiviteyi zaten var olan osteoklastların aktivitesini arttırarak ve ayrıca yeni osteoklastların oluşmasını sağlayarak stimüle eder. Bu gelişmeler, paratiroid

hormonun osteoklastlar üzerine direkt bir etkisi olmadan gerçekleşmektedir. İzole osteoklastlar üzerinde yapılan çalışmalarda, osteoklastların paratiroid hormona direkt yanıt vermedikleri veya üzerlerinde spesifik bir paratiroid hormon reseptörü bulunmadığı görülmüştür. Bu sinyali iletecek ayrı bir hücreye ihtiyaç vardır ve bu hücre osteoblasttır. Paratiroid hormon inaktif halde bekleyen yüzeydeki osteoblastlara da etkilidir. Bu hücrelerin retraksiyonuna ve böylelikle osteoklastların kemik yüzeyine ulaşmasına neden olurlar(97).

Kalsitonin, PTH'nın antogonistidir. Hem kompakt hem de trabeküler kemik yapımını arttırır. Kalsitonin dozu ve yeni kemik oluşumu arasında doğru orantı vardır. Farmakolojik dozlarda verildiğinde in vitro olarak osteoklastik aktiviteyi ve böylelikle normal ve anormal kemik rezorbsiyonunu engellediği belirtilmektedir(189). Bu etkiler kısa sürelidir ve gerçekten kemik turnover mekanizmasında önemli bir rol oynayıp oynamadığı bilinmemektedir.(94)

Diabetes mellitus varlığı kırık iyileşmesi için olumsuz bir faktördür. Hayvan deneylerinde diyabetin encondral kemikleşme sırasında mezenkimal hücre proliferasyonunu inhibe ettiği ve kırık oluşumunu geciktirdiği bildirilmiştir. İnsülinin kemikteki kollajen sentezi üzerindeki stimülan etkisi son derece önemlidir. Diyabetteki kırık iyileşmesinin gelişmesinde Tip X kollajen sentezinde bir azalmanın rol oynayabileceği hayvan deneylerinde gösterilmiştir(11).

Büyüme hormonu ve diğer anabolizan hormonlar, proteine bağlı kalsiyum artışını etkileyerek, kırık iyileşmesine yardımcı olur. Büyüme hormonu kallus hacminde artışa sebep olur(53). Kemik üzerine etkisi direkt (osteoblastlar üzerindeki reseptörlere etki ederek) veya indirekt (karaciğerden somatomedin salınımını arttırarak) yollardan olmaktadır(45).

Kortikosteroidler, mezenkimal hücrelerden osteoblast gelişimi ve matriks oluşumu için gerekli yapı taşlarının sentezini yavaşlatarak kırık iyileşmesini geciktirirler. Kallus oluşumunu azaltırlar ve bunun yanında somatomedin sentezini de inhibe ederler. FDGF, EGF ve PDGF üzerine antagonist etki yaparak kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkilerler(25,86,120,164).

Gonodal steroidler, gelişim esnasında, ergenlikte ve daha sonrasında iskelet sisteminin bütünlüğünde etkilidirler. Menopoz döneminde görülen,

östrojenin azalması kemik rezorbsiyonu oranında bir artışa neden olur. Bu etkiler engellenebilir veya bir dereceye kadar östrojen uygulanmasıyla geri döndürülebilirler. Mekanizması tam olarak açıklanamamakla birlikte osteoklastlar üzerinde az miktar da olsa östrojen reseptörleri bulunmuş ve bu eylemde osteoblastların bir rolü olduğu düşünülmüştür. Yapılan çalışmalarda androjenlerin erişkin iskelet sistemi üzerine anabolik etkilerinin olduğu bulunmuştur(94).

Kalsitriolün esas görevi gastrointestinal sistemden kalsiyum geri emilimini arttırmaktır. Osteoblast aktivitesi kalsitriol tarafından direkt stimüle edilir. Etkisi osteoblastların bölünmesi ve diferansiasyonunadır(153).

A vitamini, normal dozda mezenkimal hücre farklılaşmasını uyararak kırık iyileşmesine yardım eder. Eksikliğinde osteoblast düzenlenmesinde ve osteoklast aktivitesinde bozulma olur ve kemik oluşumu engellenir. A vitamini fazlalığında ise hücre çoğalmasının olmamasıyla birlikte kırıkta kolonlarında erozyon meydana gelir. Osteoklastlara farklılaşma uyarılır ve kırık iyileşmesi gecikir(11).

C vitamini, kollajen yapıya desteğinden ötürü kemik iyileşmesini olumlu etkiler(21).

İnsanda, kırık iyileşmesi sırasında kan 24,25-OH-vitamin D₃ düzeyinin yükseldiği gözlenmiştir. Eksojen D₃ vitaminin erişkin sağlam hayvan modelinde kırık iyileşmesi üzerine olumlu etkileri hem ultrastrüktüel hem de biomekanik olarak gösterilmiştir. D vitamini eksikliğinde kalsiyum düzeyi düşer ve kemik kalsifikasyonu zayıflar. Kalsiyumun kemikten kana geçişi yanında, kemik hücrelerinde sitrat üretimini artırır. D vitamini normal dozda kemik iyileşmesini hızlandırırken, toksik dozda olumsuz etki eder(36).

B6 vitamini eksikliği ve K vitamini antagonistleri kırık iyileşmesini olumsuz etki ederler(36).

Antikoagülanlar kırık iyileşmesini, mekanik olarak pıhtı oluşumunu engelleyerek ya da bölgedeki hücre sayısını değiştirip aktivitelerini etkileyerek geciktirirler(14).

Nonsteroid antienflamatuarlar; prostoglandin inhibisyonu sonucunda lokal kan akımını yavaşlatarak veya primitif osteoblastların fonksiyonunu engelleyerek ossifikasyonu geciktirirler(78).

Antibiyotikler, hücrel ve matriks dejenerasyonunu azaltır, kollajen yapımını etkiler ve bunun sonucu olarak da bükme kuvvetlerine karşı dirençte azalma meydana getirir(78).

Deneyel çalışmalarda L-Dopa'nın büyüme hormonunu arttırarak kırık iyileşmesini olumlu etkilediği görülmüştür(139).

2.2. Kriyoterapi

Bir biyolojik sistemden ısının çekilerek doku hasarı meydana getirilmesi işlemine kriyoterapi denir. Kriyoterapi, Yunanca Cryos (buz gibi donmuş) ve therapy(tedavi) kelimelerinden oluşur(195). Kriyoterapide amaç hedeflenen dokuların soğutularak nekroze edilmesidir. Bu işlem, kriyojenik ajanların doku ile direkt veya indirekt olarak temas ettirilmesi suretiyle yapılır. Tıbbın birçok dalında geniş bir kullanım alanına sahiptir(113).

Mısırlılar M.Ö. 2500'te travma ağrısını dindirmek için soğuk ajanlar kullanmışlardır. M.Ö 5. yy'da Hipokrat, travma veya kemik hastalıklarından kaynaklanan ağrının giderilmesinde soğuk uygulamasının önemine değinmiştir. Hipokrat'tan sonra geçen yirmi yüzyıl içerisinde soğuk uygulaması sadece anestezi olarak kullanılmıştır(88).

Dr. James Arnott kontrollü doku yıkımında aşırı soğuk tatbikini uygulayan ilk hekim olmuştur. 1851 ağrı ve hemorajiyi lokal olarak kontrol etmek amacıyla -24°C 'ye kadar soğutulmuş tuz-buz karışımı kullanmıştır(44,76).

Dr. Cambell White 1889 yılında sıvılaştırılmış havayı lupus eritematozus, herpes zoster, verruka, nevi ve küçük hemanjiyomların tedavisinde kullanmıştır(76).

Irvine ve Turnacliffe karbondioksit karı bulunana kadar sıvılaştırılmış havayı sebaroik keratoz, liken ve dermatit ve herpes zoster tedavisinde başarıyla yıllarca uygulamışlardır(28).

Dr.Carpenter 1942 yılında deri bir torba içinde toplanan ve çubuk şeklinde sıkıştırılarak kullanılabilen taşınabilir bir karbondioksit karı geliştirmiştir(28).

Bu ajanların tamamı sıvı nitrojenin kullanılmaya başladığı, yani bir anlamda modern kriyoterapinin başladığı tarih olan, 1960'lı yıllara kadar uygulanmıştır(44,76).

Irwing S Cooper ve Lee 1961 yılında dokuları birkaç santimetre derinliğine kadar etkileyebilen bir kapalı sistem likit nitrojen (sıvı azot) cihazı geliştirdiklerini bildirmişlerdir(15,51,141,157).

Douglas Torre 1965 yılında , Cooper'in geliştirdiği alete bir sprey sistemi eklemiş, 1967 yılında da Zacarian sistemi elde taşınabilir ve uygulanabilir boyutlara getirerek popülaritesini arttırmıştır(51,88).

1968 yılında Ralph C. Marcove 1968 yılında primer ve metastatik kemik tümörlerinin tedavisi için ortopedide kriyoterapiyi kullanmaya başlamıştır(76).

Bu gelişmeler sonunda daha derin doku tahribi oluşturmak mümkün olmuştur. Böylece benign lezyonlar yanında malign lezyonlar da kriyoterapinin kullanım alanına dahil olmuştur.

2.2.1. Kriyojen maddeler

Kriyoterapi, hücre içindeki ve dışındaki saf suyu buz kristalleri haline getirerek hücre ölümü yaratır(1,2,3). Bu amaç için kaynama derecesi çok düşük olan maddelere gereksinim vardır. Spesifik olarak düşük sıcaklık yaratmakta kullanılan maddelere kriyojen denilir(20,113). Kriyoterapide hedeflenen dokulara soğukluğun iletilmesinde kriyojen maddenin seçimi çok hassas bir konudur. Kullanılan kriyojenlerin çoğu sıvı fazdadır ve gaz faza geçerken sabit

bir soğuklukta kalarak buharlaşma yoluyla sıcaklık uzaklaştırırlar. Florokarbon spreyleri, katı karbondioksit, nitroz oksit, argon ve sıvı azot en çok kullanılan kriyojen maddelerdir(Tablo 2.1)(111).

	Florokarbon	CO ₂	N ₂ O	N ₂	Ar
Kaynama nok.	-30-60 °C	-79°C	-89°C	-196°C	-186°C

Tablo 2.1: Kriyojen maddelerin kaynama dereceleri

Bunlardan florokarbon gazları, nitroz oksit ve katı karbondioksit çubukları, benign ve prekanseröz lezyonların tedavisinde yeterli soğutma sağlarken, sıvı azot ve argon malignitelerinin tedavisinde tek seçilecek kriyojenlerdir(48,55,60,192).

Florokarbonların avantajları arasında kolay elde edilebilmeleri ve taşınabilir olmaları yer alır. Yetersiz soğutma kapasiteleri, inhalasyon yapıldığında toksik olmaları ve ozon tabakasına olumsuz etkileri nedeniyle artık kullanılmamaktadırlar(111).

Karbon dioksit kolaylıkla bulunabilir ve -79° C'lere kadar soğutma sağlayabilir(152)

Nitroz oksit yüksek basınçlı silindirlerde oda sıcaklığında sıvı halde saklanabilen kolay bulunabilen ve ucuz bir kriyojendir. Termal izolasyon gerektirmeyen metal veya plastik bir kılıf ile sarılı kapiller tüpler vasıtası ile -89° C'lere kadar soğutma sağlayabilir. Sıvı nitrojenin temin edilemediği yerlerde, nitroz oksit aperiyeleleri kullanılabilir. Nitroz oksidin çok uzun süre bozulmadan saklanabilmesi avantajına karşın toksik olması, hava ile temasında kristalizasyon meydana gelmesi ve kaynama noktasının -89° C derece olması nedeniyle malign lezyonların tedavisinde kullanılmayışı dezavantajlarıdır(60)

Son yıllarda argon gazıda kriyoterapide kullanılmakta ve -186° C'lere kadar soğutma sağlamaktadır(92).

Sıvı nitrojen günümüzde en sık kullanılan, kolay bulunabilen ve ucuz bir kriyojenik ajandır. -196°C'lere kadar soğutma sağlamaktadır. Dezavantajları

arasında vakumlu izole bir kaptaki saklanması gerekliliği ve prob kullanıldığı takdirde diğer ajanlara oranla daha yavaş bir soğutma sağlamasıdır(112,113).

Kriyojen maddenin dokuda hasar meydana getirebilmesi şu faktörlere bağlıdır(17,29,88):

1. Kriyojen maddenin kaynama noktası
2. Kullanılan probun yüzeyi veya spreyin ağız açıklığı
3. Dondurulacak doku veya tümörün derinliği, hacmi
4. Dokunun ısı iletkenliği
5. Doku veya tümörün hücresel ve stromal yapısı
6. Dokunun vaskülarite ve perfüzyon oranı
7. Dondurma hızı

2.2.2. Kriyoterapide kullanılan aletler

Kriyoterapi uygulaması için bir kriyojen madde ve bu maddenin dokuya iletilmesini sağlayacak bir düzeneğe ihtiyaç vardır. Bu düzenekler açık ve kapalı sistem olarak iki prensibe dayanır(20,113).

Açık sistem genellikle bir pamuk veya bağıet yardımı ile veya da sprey veya huni ile kriyojen maddenin dokulara iletilmesi prensibine dayanır(111).

Pratikte, kriyojen maddeleri en basit uygulama yöntemi "pamuk uçlu aplikatör"dür. Bu yöntemde, bir çubuğun ucuna sarılan pamuk, termos içinde saklanan sıvı azot içine batırılır ve lezyon üzerine uygulanır. Özellikle dermatolojide verruka, soler keratoz, liken planus ve seboreik keratoz gibi birçok yüzeysel deri lezyonlarda kullanılabilir. Günümüzde bunu yapan modern aletler kullanılmaktadır(48,66,73)(Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Modern kriyoterapi cihazı ve uygulama ucu

Ayrıca ortopedide geniş lezyonlarsa sıvı nitrojen bir huni yardımı ile patolojik dokuya açık teknik ile uygulanabilir. Ama uygulama esnasında oldukça tehlike sonuçlar doğurduğu ve komplikasyon olasılığı çok fazla olduğu için günümüzde kabul edilir bir yöntem olmaktan uzaklaşmıştır.

Kapalı teknik üç farklı prensibe göre çalışabilir(7,88);

1. Termo elektrik sistem; boyut olarak büyüktürler ve oldukça verimsizdirler.
2. Evaporatif sistem; kriyojen maddelerin kontrollü buharlaştırılmasıdır.
3. Joule-thomson etkisi; ince bir borunun içinden basınçlı gaz dolaştırılmasıdır.

Bu teknikte kriyojen maddenin dokulara daha düzenli ve kontrollü iletilmesini sağlamak amacıyla sprej uçları ve probalar kullanılır. Sprej, genellikle yüzeyi düzensiz, çapları 0,5-1 cm'den büyük olan lezyonlarda kullanılır. Özelliği yüzeysel bir donma sağlaması ve dondurucunun sprejin başlığından hedef bölgeye doğrudan uygulanmasıdır(111). Lezyonun çapına uyacak bir dağılım sağlayacak sprej başlığı seçilir. Sprej lezyonun ortasına hedeflenir. Sprej başlığı hedeften ortalama 1 cm. uzakta tutulmalıdır. Uygulama esnasında önemli olan çevredeki sağlam dokuların korunmasıdır. Uygulama gerekli görüldüğü sürece devam ettirilir. Burada klinisyenin tecrübesi önemlidir (88). İkinci bir donma halkası oluşacaksa bunu çözülmenin hemen ardından uygulamak gerekir. Bu durum genellikle

maligniteler için geçerlidir. İyi huylu tümörler veya prekanseröz oluşumlar için çoğu kez tek donma halkası yeterlidir(187).

Açık sprej metodunun lateral yayılımını önlemek, kriyojenin sadece lezyon üzerine uygulanmasını sağlamak ve çok küçük lezyonları da sprej metodu ile tedavi edebilmek için "kapalı sprej(cone sprej)" yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntemde,alt uçları değişik boyutlarda kesilmiş neopren koniler veya otoskop konileri kullanılır(111,150,151)(Şekil 2.3)



Şekil 2.3: Farklı tipte sprej uygulama uçları

Prob tekniğini geliştiren Zacarian'dır. Yüzeyi düzenli lezyonlarda uygulanır. Spreye kıyasla dondurma hızı daha yavaş bir tekniktir. Elde edilen soğukluk dereceleride spreje oranla daha azdır(195,192).

Özellikle mukozalarda veya yaş yüzeylerde yerleşen tümörlerde probu önceden soğutmak gerekir. Böylece ucun lezyona yapışması önlenir. Lezyona uyan tip ve boyutta prob seçilir. Prob hedef dokuya sıkıca bastırılır. Basıncın arttırıldığı ölçüde donma derinleşir. İşlemin yeterli olup olmadığına donma halkasının boyutuna bakılarak karar verilir. Prob çözüldükten sonra uygulama yüzeyinden uzaklaştırılır. Gerekirse aynı işlem tekrarlanır(88,150). Özellikle probun lezyon yüzeyi ile tam olarak temas etmediği durumlarda kavite soğuşu yetri kadar iletirme potansiyeli olma bir madde ile tamamen doldurulur ve bu ara madde soğutulularak lezyonun tamamının eşit ve kontrollü olarak soğutulması sağlanır(151).

Basit bir termos içerisinde sıvı azotun saklanma süresi ancak 6-8 saattir. Sıvı azotu daha uzun süreler saklayabilmek için vakumla yalıtılmış 15-25 litre kapasiteli tanklar kullanılır. Stabil olmayan sıvı azot, bu tanklarda,60-90 gün korunabilir ve gerektiği zaman daha küçük kapasiteli cihazlara aktarılabilir(111)(Şekil 2.4)



Şekil 2.4: Sıvı nitrojen tankları

Taşınabilir sıvı azot sprej üniteleri (handheld unit) basit, etkili ve standardize olmaları yanı sıra, benign ve malign tümörleri tedavi edebilme yeteneklerinden dolayı muayenehanelerde kullanım için uygundur. Bunların hem sprej hem de prob uç takılabilenleri tercih edilmelidir. Hastahaneler için, üzerine monitörizasyon cihazları monte edilmiş daha büyük aletler imal edilmiştir . Daha çok malign tümör tedavisinde kullanılırlar. Bu aletlerin neredeyse tamamı günümüzde joule-thompson etkisi prensibiyle çalışmaktadır(55).

2.2.3. Kriyoterapide monitorizasyon

Kriyoterapinin uygulanması esnasında , ulaşılan sıcaklık derecesini ölçmek, dokuda yaratılan hasarın derinlik ve yaygınlığını saptayabilmek ve gerekli görüldüğü taktirde işlemi tekrarlamak amacıyla çeşitli yöntemler kullanılmıştır(141,181). Thermocouple (TC = soğuğa hassas hipodermik iğne) - Pirometre (soğukluk ölçen alet) monitörizasyon sistemi, bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans görüntüleme ve ultrason bunlardan birkaçıdır(111).

Dondurma süresi, tümörün genişliği ve derinliğine göre değişir. Dondurma süresini belirleyen yöntemler şunlardır:

1. Torre metodu : Deney hayvanları üzerinde yapılan araştırmalarla saptanmış, klinik ve ampirik bir metod olan Torre metodu, buz küresinin lateral yayılımı ile ilgilidir .Örneğin, sprey metodunda 60-90 sn içerisinde kenarlarda 5 mm donuk halkası oluşturmakla yaklaşık 3mm derinlikte lethal sınır elde edilir . Fakat otörler arasında dondurma süresine ilişkin ortak bir kanı yoktur(158).

2. Thermocouple (TC)- Pirometre Sistemi: Sistem, iğne şeklinde TC ile 0° C derecenin altındaki sıcaklıkları ölçebilen pirometreden ibarettir. TC'ler, uygulamasından önce dondurulması hedeflenen dokunun 7-10 mm etrafına dairesel olarak yerleştirir. Tedavi başladıktan sonra TC'lerin ölçtüğü sıcaklık pirometreden okunur ve uygulama istenilen derecede kesilir.(88) (Şekil 2.5).



Şekil2.5: TC-Pirometre sistemi

3. Doku direnci ölçümü: Kriyoterapi uygulanan dokuda, su ve elektrolitler tecrit edildiğinden dolayı, doku, elektrik akımını iletme özelliğini yitirir. Rezistans ölçen bir ohmmetre yardımıyla, elektrik akımının ölçülemediği nokta lethal nokta olarak belirlen. İki elektrod tümörün ortasına ve kenarına 5 mm batırılır. İki elektrod arasındaki direncin bir megaohm olması $-25(-30)^{\circ}$ C ye , beş megaohm olması -60° C dereceye eşittir(88) .

2.2.4. Kriyobioloji

Kriyoterapi uygulamasında ortaya çıkan biyolojik değişiklikler dokunun donmasına bağlıdır. Isı transferinin hızı, doku ile çevre arasındaki sıcaklık farkının bir fonksiyonudur. Kriyoterapi sırasında, çok düşük sıcaklıklar kullanıldığı için, hızlı bir ısı akışı ortaya çıkar. Baget ve açık sprey gibi, sıvı nitrojenin lezyona direkt olarak temas ettiği teknikler kullanıldığında, kaynama ısı transferi olur. Soğutulmuş bir metal probun lezyona temas ettiği kapalı tekniklerde ise iletim tipi ısı transferi olur(5). Prob, ısı transferine karşı bir direnç oluşturduğu için, bu tip ısı transferi daha yavaştır(20).

Dokunun dondurulması ile oluşan hasarın iki mekanizması vardır(51,67,91):

- Hücreler üzerine direkt etki
- Dondurma işleminden sonra gelişen indirekt etkiler

Vasküler etkiler

İmmünolojik etkiler

Sıcaklığın düşmesiyle birlikte hücrenin fonksiyonlarında ve yapısında özellikle yağ ve protein komplekslerinde ciddi değişiklikler görülür. Isı düşmeye devam ederse metabolizma yıkıma uğrar. Eğer bu düşme devam ederse hücre ölümü kaçınılmaz olur.

Dondurma esnasında dokuda oluşan esas değişiklik intraselüler ve ekstraselüler suyun buz haline gelmesidir. Yavaş soğutma ekstraselüler buz oluşumuna neden olur (4,136). Ama amaç hücre içi hasar yaratmaktır. Bu nedenle soğüğün hızla düşürülmesi ve hücre içi suyun kristalize olması amaçlanır. Böylelikle hiperozmotik bir hücre dışı alan yaratılmış olur. Bu da suyun hücre dışına çıkmasına yol açar.. Dondurma işleminin dolaşım üzerine etkisi de hasarın artmasına katkıda bulunur. Meydana gelen vazokonstriksiyon, kan akımında azalma ve vasküler hücrelerin kesin olarak

tahrip olmasını sağlar(106). Tekrarlayan dondurma-çözünme siklusları ile maksimum tahrip edici etki elde edilir(48,79,157,186).

Son yıllarda üzerinde en çok durulan konulardan biri "kriyoimmünoloji"dir. Bilindiği gibi kriyoterapinin etkisi, tümörü "in-situ" parçalayarak yok etmektir. Hücrenin parçalanması sonucunda, hücre içinde kalmış tümör antijenleri ortaya çıkmaktadır. H-Timidin ve radyoaktif karbon ile yapılan bir çalışmada, kriyoterapi yapılan doku kitlesinin 72 saat süreyle kan dolaşımı bağlantılı olduğu gösterilmiştir(111). Özellikle, antitümöral hücrel immün yanıtın, bu süre içerisinde maksimal etkinliğe ulaştığı sanılmaktadır(77).

Hücre ölümüne muhtemel patogenezi şöyledir(29,91,135):

1. Ekstrasellüler (hücre dışı) buz oluşumu
2. İntrasellüler (hücre içi) buz oluşumu
3. Hücre içindeki elektrolitlerin anormal konsantrasyonu.
4. Elektrolitlerin kristalleşmesi
5. Hücrenin büzülmesi ve piknotik değişmelere yol açan hücrel dehidratasyon
6. Hücre membranının yırtılması
7. Isı şoku
8. Lipo-protein kompleksinin orijinal yapısının bozulması
9. İskemi oluşması

Kriyoterapinin ilk uygulanmasında meydana gelen buz kristallerinin mekanik olarak hücre ölümüne yol açtığı düşünülmektedir. In-vitro çalışmalarda, ilk olarak ekstrasellüler buz kristallerinin oluştuğu ve kristallerin hücreleri sıkıştırdığı gözlenmiş fakat hücre membranlarının bu yolla yırtıldığını göstermek mümkün olamamıştır. Ekstrasellüler donmanın tek başına hücre hasarını gerçekleştirilemeyeceği açıktır. Çünkü, pratik uygulamada dondurma sürecinin çok hızlı olması nedeniyle intra ve ekstrasellüler kristalizasyon çok

az zaman farkı ile oluşur(1). Ekstraselüler buz kristalizasyonu sonrasında, ekstraselüler suda azalma, buna bağlı olarak ozmotik farklılık, hücre içindeki elektrolitlerin hızla hücre dışına çıkmasına neden olur. Bunun sonucunda da oluşmakta olan ekstrasellüler buz kristalleri daha da büyür. Hücre küçülür, hücre mebranı ve içeriği hasara uğrar. Yeterli zaman verildiği takdirde artmış olan elektrolit konsantrasyonu hücrenin ölümü için yeterli olacaktır(2).

Ekstraselüler buz kristalizasyonu ve duyarlanma hasarı ancak yavaş dondurma yapıldığı zaman gerçekleşir. Oysa kriyoterapi işlemi hızlı dondurma prensibine dayanır ki hızlı dondurmada intraselüler buz kristallerinin oluşumu diğer olaylarla simültane sayılabilecek çabukluktadır. Donma hızı süratli olduğunda, -80°C nin üzerinde intrasellüler buz kristalleri oluşur, intrasellüler mekanizmanın bozulması sonucu hücre harabiyeti meydana gelir. Hücre içi buz kristallerinin oluşması ile mitokondrium ve endoplazmik retikulum gibi hücre içi organelleri hasar görür. Oluşan buz kristallerinin boyutları da hasarın büyüklüğünde önem taşır. Özellikle hücre içi kristallerin hücre yaşamı için daha zararlı olduğu kabul edilir(1,2,3,4,136).

Özellikle erime sırasında buz kristalleri daha büyük kristaller oluşturmak üzere birleşirler. Bu olaya ikinci kristalizasyon denir. Bu da hücre membranları için yıkıcı bir ortam hazırlar. Ayrıca buz erirken ekstrasellüler ortam hipotonik olur ki su hasar görmüş olan dokuya girer, hücre hacminin artmasına ve hücre membranının yırtılmasına neden olur(1,2).

Hücre duvarındaki fosfolipidlerin, ısınma fazında "duyarlanma" nedeniyle parçalandığı öne sürülmekteyse de kanıtlanamamıştır. Canlı hücrelerin değişmez bir komponenti olan lipid-protein kompleksinin atomik bağları zayıftır, bu nedenle termal değişiklikler, özellikle de soğutma sırasında oluşan fizik değişikliklerle kolayca ayrılır(88).

Donma küçük damarlarda endotelial hasarlara neden olur. Bu hasar kapiller duvarlarında artmış geçirgenliğe, ödeme, trombosit agregasyonuna, mikrotrombus oluşumuna ve sonuçta dolaşımda durmaya neden olur. Bir çok küçük damar 4 saat kadar sonra tamamen staza uğrarken, daha büyük damarlardaki stazlar 24 saat kadar sonra görülebilir. Kan kaynağının kesilmesi hücrelerin olası yaşama şanslarını tamamen ortadan kaldırır ve uniform bir

ölüme yol açar. Ayrıca kriyoterapi sonucunda bir immunolojik reaksiyonun gerçekleştiği, bu yüzdende malign hastalıkların tedavisinde önemli bir yeri olduğuna dair görüşler vardır(111).

2.2.5. Kriyoterapinin avantajları

Kriyoterapinin avantajları; hospitalizasyon gerektirmeyen, düşük riskli bir metod olması, yüzeysel deri lezyonlarında genel anestezi gerektirmemesi , zaman kaybettirmeyen hızlı bir metod olması, bir seansta birden fazla tümör tedavi edilebilmesi, postoperatif kanamanın yok denecek kadar az olması, komplikasyon riski oldukça az olması, deri lezyonlarında kozmetik sonuçlar genellikle çok iyi olması, maliyetinin az olması, dondurulmuş dokulardan biyopsinin kolaylıkla alınabilmesi ve özellikle deri lezyonlarında nadiren lokal anestezi gerektirmesidir(49,88).

2.2.6. Kriyoterapi kontraendikasyonları

Kriyoterapi için kesin bir kontrendikasyon yoksa da belirtilen durumlarda kriyoterapi yapılmaması önerilmektedir(49,50).

1. Agammaglobulinemi
2. Bilinmeyen orijinli kan diskrazileri
3. Soğuk intoleransı
4. Soğuk ürtikeri
5. Kollojen ve otoimmün hastalıklar
6. İmmünosupresif ilaç kullanan hastalar
7. Böbrek diyalizine giren hastalar
8. Trombositopeniler ve trombosit fonksiyon bozuklukları
9. Reynaud hastalığı

2.2.7. Kriyoterapinin komplikasyonları

Her tedavi yönteminde olduğu gibi kriyoterapininde bir takım komplikasyonları vardır. Spesifik komplikasyonlar uygulanan yonteme, uygulama süresine, lezyonun büyüklüğü ve lokalizasyonuna göre değişiklik gösterir(38,49,50,90).

1. Ağrı
2. Venöz gaz embolisi
3. İntradermal hemoraji
4. Ödem
5. Postoperatif enfeksiyon
6. Sistemik febril reaksiyon
7. Hemoraji
8. Hiperpigmentasyon
9. Hipertrofik skar
10. Nöropati (His kaybı)
11. Kemik nekrozu ve sökestr

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Çalışmamızda:

- 240±20 gr ağırlığında 13 haftalık erkek 126 adet Wistar-Albino sıçan
- Ketanest® flakon (Ketamin HCl, Parke Davis,Almanya)
- Rompun® flakon (Xylazin hidroklorid, Bayer Türk Kimya Sanayi Limited Şirketi, Türkiye)
- Ameliyat seti
- Tur motoru ve piyasemen
- 3 mm çapında yuvarlak uçlu paslanmaz çelik frez
- İnsülin enjektörü
- Formaldehit çözeltisi(%10)
- 3-0 yarım yuvarlak (.) 20 mm ipek dikiş ipliği(Doğsan Tıbbi Malzeme Sanayi A.Ş., Türkiye)

kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Deney hayvanları ve grupları

Çalışmamızda deney hayvanlarının ameliyatlarını İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında , kemik dokularının histopatolojik incelemelerini İstanbul Üniversitesi. Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Anabilim Dalı`nda gerçekleştirdik.

Çalışmamızda 126 adet Wistar Albino cinsi 240 ± 20 g ağırlığında 13 haftalık erkek denek, deney süresi boyunca 21 ± 1 C sıcaklıkta, bağıl nem oranı %40-60, ışık periyodu 12 saat aydınlık 12 saat karanlık standardını sağlayacak şekilde otomatize edilmiş olan ortamda, metal kafesler içerisinde muhafaza edilmişlerdir. Denekler normal su (çeşme suyu) ve İstanbul Yem Sanayii tarafından hazırlanan yemlerle beslenmiştir (Tablo 3.1).

Ham protein	En az	% 24
Ham selüloz	En az	% 7
HCl'de çözülmeyen kül	En çok	% 2
Kalsiyum	En az-en çok	% 1- % 2.8
Fosfor	En az	% 0.9
Sodyum	En az	% 0.5- % 0.7
Sodyum klorür	En çok	% 1
Lizin		% 1
Metiyonin	En az	% 0.6
Enerji	2650 kcal/kg	

Tablo 3.1; Katı yem içeriği

Çalışmamızda kullanılan tüm deneklerin sağ ve sol tibiaları ve kontrol grubu deneklerinin sağ tibiaları deney protokolüne dahil edilmiştir. Araştırmamız 2 ana grup ve 3., 7., 14., 21., 28., 45. ve 60. günlerde sakrifikasyon dönemlerine göre düzenlenmiş 7 alt grup içermektedir.

Belirlenen ana ve alt gruplar aşağıdaki gibidir;

Ana gruplar

- 1. grup; Sağ ve sol tibialarına kemik defekti açılıp sol tibial defekte sıvı nitrojen, sağ tibial defekte karbondioksit gazı uygulanan grup
- 2. grup; Sağ tibialarında kemik defekti açılıp sağ tibial defekti kontrol olarak izlenen grup.

Alt gruplar :

1.Grup

63 denekten oluşan bu grupta, deneklerin sağ ve sol tibialarına kemik defekti açılıp sol tibial defekte sıvı nitrojen, sağ tibial defekte karbondioksit gazı uygulanmıştır. Sakrifikasyon günlerine göre 7 alt gruba ayrılmıştır;

- a. Kemik defekti yapıldıktan sonra 3. günde sakrifiye edilen denekler
- b. Kemik defekti yapıldıktan sonra 7. günde sakrifiye edilen denekler
- c. Kemik defekti yapıldıktan sonra 14. günde sakrifiye edilen denekler
- d. Kemik defekti yapıldıktan sonra 21. günde sakrifiye edilen denekler
- e. Kemik defekti yapıldıktan sonra 28. günde sakrifiye edilen denekler
- f. Kemik defekti yapıldıktan sonra 45. günde sakrifiye edilen denekler
- g. Kemik defekti yapıldıktan sonra 60.günde sakrifiye edilen denekler

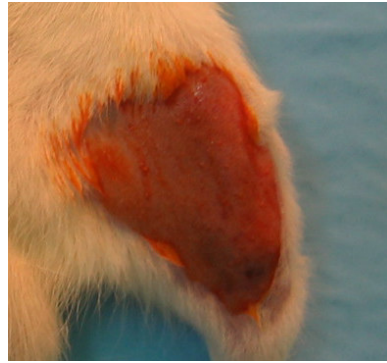
2.Grup

63 denekten oluşan bu grupta, deneklerin sağ tibialarına kemik defekti açılıp doğal iyileşmeye bırakılmıştır. Sakrifikasyon günlerine göre 7 alt gruba ayrılmıştır.

- a. Kemik defekti yapıldıktan sonra 3. günde sakrifiye edilen denekler
- b. Kemik defekti yapıldıktan sonra 7. günde sakrifiye edilen denekler
- c. Kemik defekti yapıldıktan sonra 14. günde sakrifiye edilen denekler
- d. Kemik defekti yapıldıktan sonra 21. günde sakrifiye edilen denekler
- e. Kemik defekti yapıldıktan sonra 28. günde sakrifiye edilen denekler
- f. Kemik defekti yapıldıktan sonra 45. günde sakrifiye edilen denekler
- g. Kemik defekti yapıldıktan sonra 60.günde sakrifiye edilen denekler

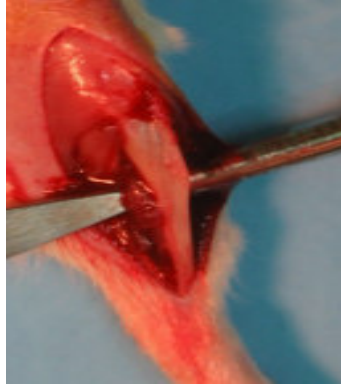
3.2.2. Cerrahi uygulamalar

Deneklere, 5 mg / kg Xylazin hidroklorid ve 6 mg / kg Ketamin HCL karışımının periton içine enjeksiyonu ile genel anestezi uygulanmıştır. Standart postürde sabitlenen deneklerin sağ ve sol arka bacaklarının medial yüzeyleri temizlenerek cerrahi saha povidon iyot çözeltisi ile silinmiştir(Şekil 3.1).



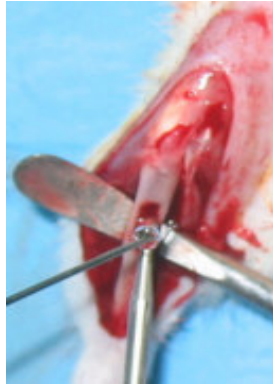
Şekil 3.1: Deneklerde cerrahi için hazırlanmış alan

Sağ ve sol bacaklar fleksiyon pozisyonuna getirilerek tibiaların medial yüzeylerine ulaşmak amacıyla 20-25 mm unluğunda longitudinal yönde cilt, cilt altı ve periost kesisi yapılmıştır. Künt diseksiyonla tibiaların medial yüzeyleri açığa çıkarılıp yumuşak dokular ekarte edilmiştir(Şekil 3.2).



Şekil 3.2: Tibianın medial yüzeyinin açığa çıkarılması

Tur motoruna bağlı piyasemene takılan 3 mm çapındaki yuvarlak uçlu paslanmaz çelik frezle, steril serum fizyolojik çözeltisi irrigasyonu altında 5 mm uzunluğunda 3 mm genişliğinde, kemiğin korteks ve medulla tabakalarını içine alan kemik defektleri oluşturulmuştur(Şekil 3.3).



Şekil 3.3: Serum irrigasyonu altında kemik defekti açılması

Kriyoterapi uygulamaları(Şekil 3.4 ve 3.5) tamamlandıktan sonra defekt çevresindeki yumuşak dokular serbestlenip ameliyat sahası ipek dikişlerle, dikiş araları eşit olacak biçimde kapatılmıştır(Şekil 3.6). Denekler kontrol edilip yara bakımı yapıldıktan sonra kafeslere yerleştirilmiştir.



Şekil 3.4: Defekt bölgesine sıvı nitrojen uygulaması



Şekil 3.5: Defekt bölgesine karbondioksit gazı uygulaması



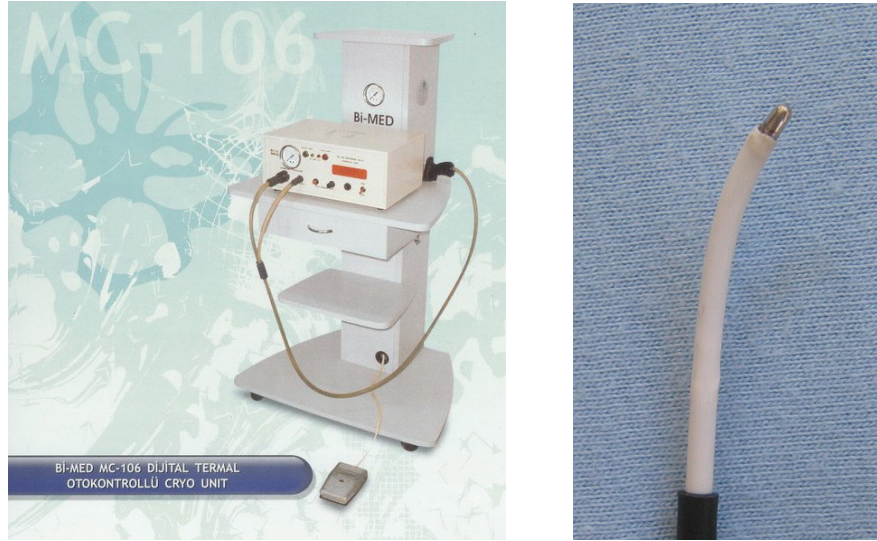
Şekil 3.6: Defekt bölgesinin kapatılması

3.2.3. Kriyoterapi uygulamaları

Soğutma için defekt bölgesine sıvı nitrojen kullanan açık sistem esasına dayanan Cry-ac(Brymill, USA)(Şekil 3.7) ve karbondioksit gazı kullanan MC-106(Bimed,TÜRKİYE) isimli cihazı uyguladık(Şekil 3.8). Tedavi protokolü her biri 1 dakika süren soğutma prosedürünün ardından kendi kendine erime periyodunu takip eden 1 dakikalık ikinci bir soğutma-erime döngüsüdür.



Şekil 3.7: Cry-Ac sıvı nitrojen spreji ve ucu(Brymill, USA)



Şekil 3.8: MC-106 kriyoterapi cihazı ve ucu(Bimed, ANKARA)

Cry-ac(Brymill, USA) cihazı elektriğe bağımlı olmayan elle manipüle edilebilen, çift cidarlı, emniyet valfi sayesinde içeride oluşan basınç hemen tahliye edilebilen ve açık sistem prensibi ile çalışan bir el ünitesidir.. Sıvı nitrojeni yaklaşık 20 saat statik olarak bozulmadan tutabilme kapasitesine sahiptir.

MC-106(Bimed,TÜRKİYE) dijital termal otokontrollü kriyo cihazı 220 volt şehir cereyanı ile çalışmaktadır. Sistem, hekimin çalışmak istediği derecelerin ayarlanabileceği bir gösterge paneline sahiptir. Sisteme yüklenmek istenen derece girilir ve ayak pedalına basılı tutulduğu sürece istenen derecelere otomatik olarak iner ve hafızaya yüklenilmiş olan derecede otomatik olarak durur. Maksimum -5°C sapma ile çalışmaya devam eder ve ayak pedalı bırakıldığında termal sistem devreye girer. Proben defrost işlemi başlar. Kriyo cihazı minimum 750 PSI CO₂ gazı ile çalışır. CO₂ tüpü ile cihaz arasındaki gaz taşıyıcı hortum bükülebilir, esnek, anahtar kullanmadan cihaz ve regülatör üzerine vidalı bir sistem ile kolaylıkla bağlanabilmektedir. CO₂ gazını tüpten cihaza aktarmak için yüksek basınç regülatörü kullanılmıştır.

3.2.4. Işık mikroskopu takibi ve değerlendirme kriterleri

Yüksek dozda dietil eter anestezisinin irreversibl dönemdeki letal etkisi görüldükten sonra tüm deney ve kontrol gruplarının sakrifikasyon işlemleri tamamlandı. Sakrifikasyonun ardından sıçanların arka bacaklarında ameliyat bölgelerinin bulunduğu kısımlar çıkartıldı. %10' luk formol çözeltilisine alınan parçalar daha sonra yumuşak dokulardan temizlenerek defekt sahaları açığa çıkartıldı. Kemikler formik asit-sodyum nitrat çözeltilisine yerleştirildi ve 11-14 gün beklenerek dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyon süresince üç günde bir çözeltiler yenilendi. Daha sonra defekt sahalarını içine alacak biçimde kesilerek biçimlendirilen parçalar rutin takip yöntemleri ile işlem gördükten sonra enine kesit alınabilecek şekilde parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 5-7 µ kalınlığında seri kesitler alınarak lam üzerine yerleştirildi ve 70°C sıcaklıktaki etüvde deparafinize edildi. Daha sonra hematoksilin eosin(H&E) boyası ile boyandı ve ışık mikroskopunda farklı büyütmelemlerde incelendi.

Bütün gruplardan 3., 7., 14., 21., 28., 45., ve 60. günlerde elde edilen kesitler aşağıdaki değerlendirme kriterlerine göre sınıflandı;

- İltihap
- Fibröz doku oluşumu
- Nekroz
- Yeni kemik yapımı

Trabeküler kemik : Yeni kemik yapımı alanları

%0 - %5 arası alanı kaplıyorsa (0)

%5 – %30 arası alanı kaplıyorsa (1),

%30 – %60 arası alanı kaplıyorsa (2)

%60'tan fazla alanı kaplıyorsa (3) olarak değerlendirildi.

İltihap

%0 - %5 arası alanı kaplıyorsa (0)

%5 – %30 alanda ise (1),

%30– %60 arasında ve 1-2 mikro abse odağı içeriyorsa (2),

%60'in üzerinde / çok sayıda mikro abse odakları içeriyorsa(3) olarak değerlendirildi.

Nekroz

%0 - %5 arası alanı kaplıyorsa (0)

%5 – %30 arası (1),

%30 – %60 arası (2),

%60'tan fazla ise (3) olarak değerlendirildi.

Fibrozis

%0 - %5 arası alanı kaplıyorsa (0)

%5 – %30 arası (1),

%30 – %60 arası (2)

%60'tan fazla ise (3) olarak değerlendirildi.

3.2.5. İstatistiksel değerlendirme yöntemleri

Bu çalışmada istatistiksel analizler GraphPad V.3 paket programı ile yapılmıştır. Nitel verilerin karşılaştırmalarında ki-kare ve Fisher gerçeklik testi kullanılmıştır. Sonuçlar, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Işık mikroskobu değerlendirmeleri

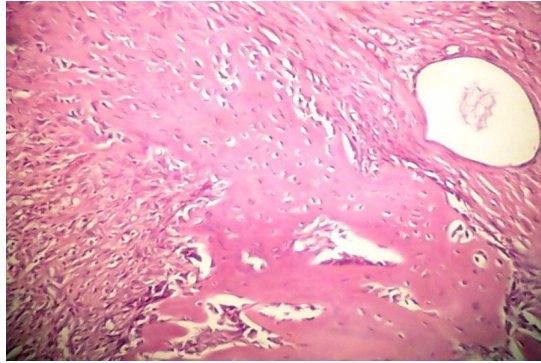
4.1.1 Kontrol grupları

4.1.1.1. 3 günlük kontrol grubu

Defekt bölgesinde taze kanama alanları arasında damardan zengin, gevşek yapıda bağ dokusu izlendi. Bağ dokusu içinde lenfosit, plazmosit ve nötrofil polimorf infiltrasyonu saptandı. Çevrede nekrotik kemik parçacıkları görüldü.

4.1.1.2. 7 günlük kontrol grubu

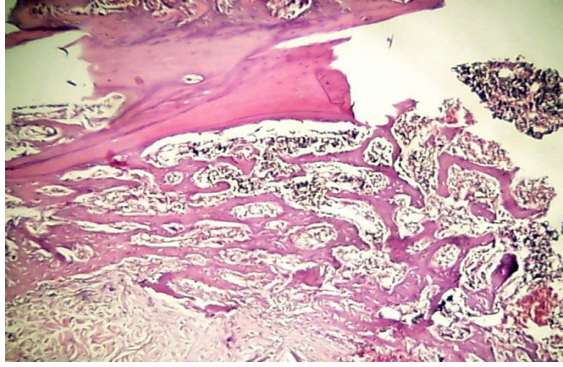
Defekt bölgesinde hücreden ve damardan zengin doku içinde ortalama %40'a varan alanlarda yeni kemik trabekülleri saptandı. Çevrede küçük nekrotik artıklar ve hafif lenfoplazmositer hücre infiltrasyonu görüldü(Şekil 4.1).



Şekil 4.1: Defekt bölgesinde damardan zengin bağ dokusu içinde yeni kemik yapımı görülmektedir. (H&EX100).

4.1.1.3. 14 günlük kontrol grubu

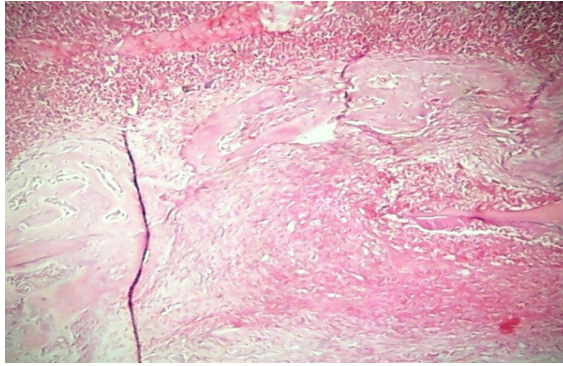
Defekt bölgesini dolduran granülasyon dokusu içinde % 50- 60'a varan alanlarda yeni kemik yapımı ve hafif mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu izlendi(Şekil 4.2).



Şekil 4.2: Defekt bölgesinde kırık ucu altından başlayan yeni kemik yapımı (H&EX40).

4.1.1.4. 21 günlük kontrol grubu

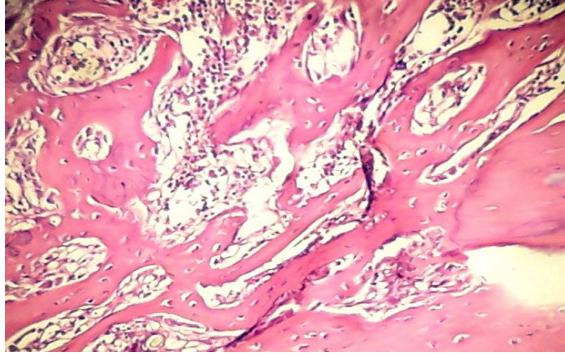
Defekt bölgesinde aktif fibrosit, fibroblast ve genç mezenkim hücreleri arasında %70 alanda yeni kemik trabekülleri görüldü(Şekil 4.3).



Şekil 4.3: Kırık uçları arasında defekt bölgesini büyük ölçüde kapatan köprü biçiminde yeni kemik yapımı (H&EX40).

4.1.1.5. 28 günlük kontrol grubu

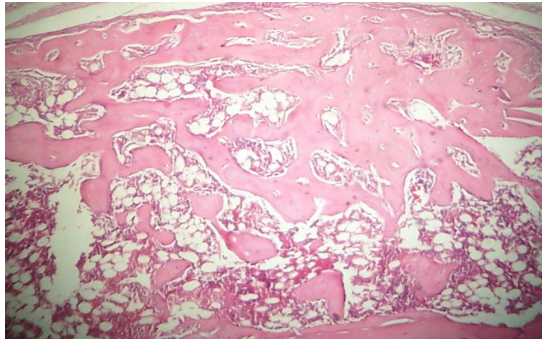
Defekt bölgesinde, burayı kapatan, trabeküler yapıda yeni kemik dokusu saptanmaktaydı. Bunun altında aktif bağ dokusu içinde geniş alanlarda yeni kemik trabekülleri görülmekteydi(Şekil 4.4).



Şekil 4.4: Kırık uçlarından başlayan yoğun kemik yapımı (H&EX100).

4.1.1.6. 45 günlük kontrol grubu

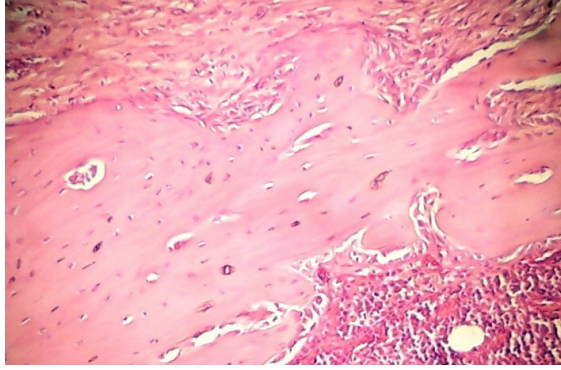
Defekt bölgesinde trabeküler kemik köprüsü geniş alanlarda lameller kemiğe dönüşmüştü. İki olgu dışında ince fibröz doku altında doğal yapıda kemik iliği vardı(Şekil 4.5).



Şekil 4.5: Defekt bölgesini köprü biçiminde kapatan yeni kemik yapımı (H&EX40)

4.1.1.7. 60 günlük kontrol grubu

Defekt bölgesi lameller kemik dokusu ile kapanmıştı. Medüller alanda doğal yapıda kemik iliği saptanmaktaydı(Şekil 4.6).



Şekil 4.6: Defekt bölgesinde lameller biçim almış ve arada kemik iliği oluşmuş kemik köprüsü (H&EX100).

4.1.2 Karbokdioksit gazı grubu

4.1.2.1. 3 günlük karbokdioksit gazı grubu

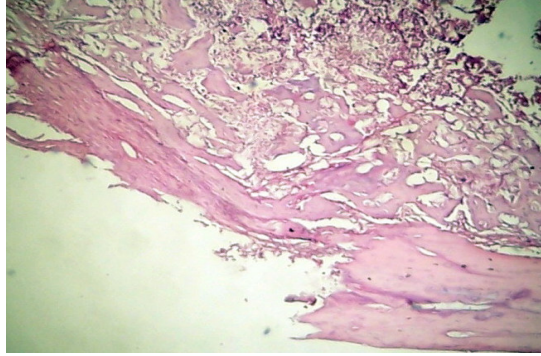
Defekt bölgesinde taze kanama ve nekroz alanları arasında gevşek yapıda, damardan zengin bağ dokusu içinde yoğun lenfosit, plazmosit, az sayıda nötrofil polimorf içeren infiltrasyon saptandı. Çevrede nekrotik kemik parçacıkları görüldü.

4.1.2.2. 7 günlük karbokdioksit gazı grubu

Kırık fragmanları arasında damardan zengin, fibrosit ve fibroblastlardan oluşan doku içinde yaklaşık %20- 30'a varan alanlarda yeni kemik trabekülleri saptandı. Çevrede nekroz alanları ve orta derecede lenfosit, plazmosit infiltrasyonu vardı.

4.1.2.3.1.1. 14 günlük karbokdioksit gazı grubu

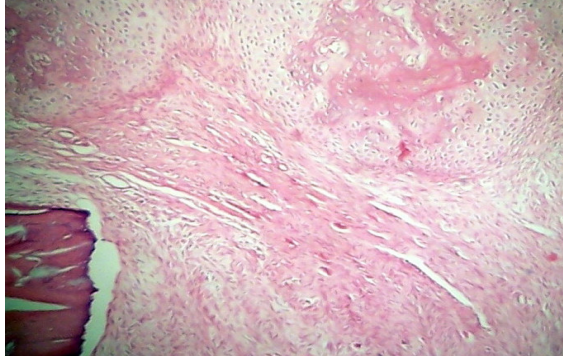
Fragmanlar arasında hafif derecede lenfosit, plazmosit, az sayıda nötrofil polimorf infiltrasyonu, fibroblast, fibrosit ve yoğun kollagen fibriller, yaklaşık %40- 50'a varan alanlarda yeni kemik yapımı görülmekteydi(Şekil 4.7) .



Şekil 4.7: Defekt bölgesinde, fibröz doku altında, kırık uçlarından başlayan yeni kemik trabekülleri (H&EX40).

4.1.2.4. 21 günlük karbokdioksit gazı grubu

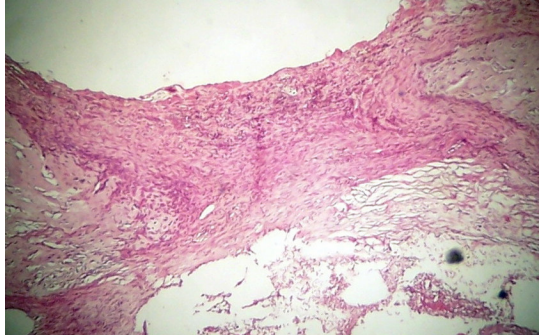
Defekt bölgesinde lenfosit, plazmosit, nötrofil polimorf infiltrasyonu, aktif fibrosit, fibroblast ve genç mezenkim hücreleri, yoğun kollagen lifler görülmekteydi. Bir olguda defekt bölgesinde aktif bağ dokusu içinde kırıldak adacıkları saptanmaktaydı. Bir olguda ise defekt alanında geniş nekroz ve abse odakları görülmekteydi(Şekil 4.8).



Şekil 4.8: Defekt bölgesinde nekrozun yerini alan fibröz kallus ve çevrede kondral kemikleşme alanı (H&EX100)

4.1.2.5. 28 günlük karboksit gazı grubu

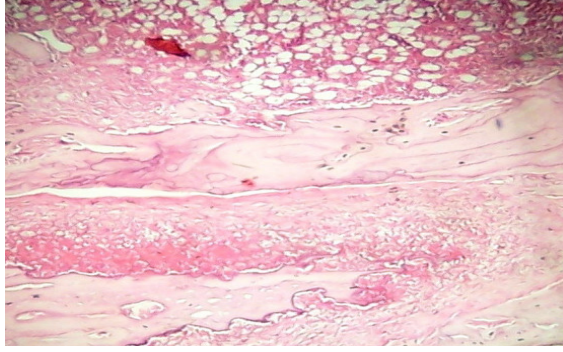
Defekt bölgesini kapatan ince, trabeküler kemik köprüsü oluşmuştu. Altındaki aktif bağ dokusu içinde yeni kemik trabekülleri görülmekteydi(Şekil 4.9).



Şekil 4.9: Defekt bölgesinde kırık uçlarından gelişen kemik yapımı ve ortada fibröz kallus. (H&EX40)

4.1.2.6. 45 günlük karbokdioksit gazı grubu

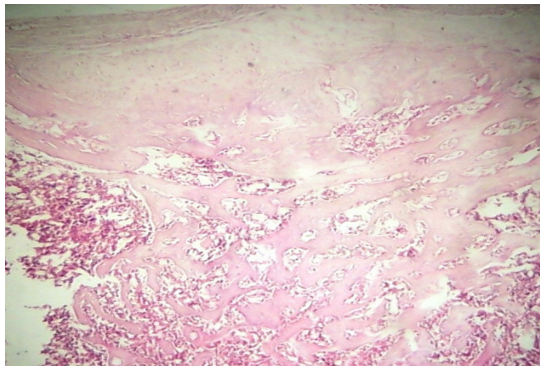
Defekt bölgesini beş olguda lameller kemik dokusu, diğerlerinde trabeküler kemik dokusu doldurmaktaydı. Bir olguda %60'a varan alanda fibröz doku varlığını sürdürmekteydi. Aynı olguda bu doku içinde iltihap hücresi infiltrasyonu saptanmaktaydı, diğerlerinde doğal yapıda kemik iliği izlendi(Şekil 4.10).



Şekil 4.10: Defekt bölgesini kapatma yönelik kemik köprüsü altında nekrotik kemik adacığı (H&EX40).

4.1.2.7. 60 günlük karbokdioksit gazı grubu

Defekt bölgesi lameller kemik dokusu ile kapanmıştı. Medüller alanda doğal yapıda kemik iliği saptanmaktaydı(Şekil 4.11).

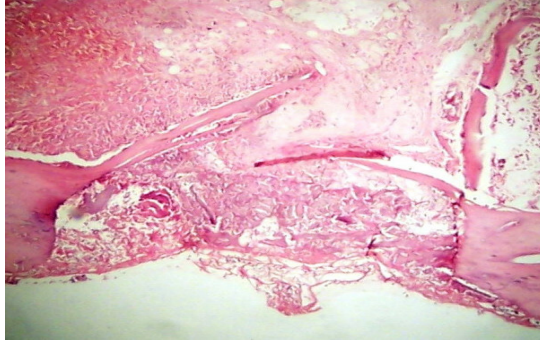


Şekil 4.11: Defekt bölgesinde yüzeydeki fibrokartilaj doku altında defekti kapatan trabeküler kemik yapımı (H&EX40).

4.1.3 Sıvı nitrojen grubu

4.1.3.1 3 günlük sıvı nitrojen grubu

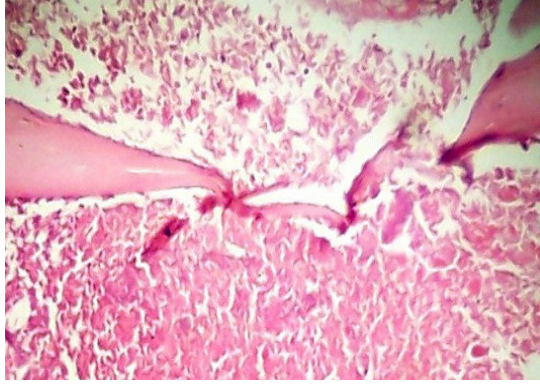
Defekt bölgesinde geniş nekroz alanları izlendi. Buralarda birkaç küçük alanda yoğun lenfosit, plazmosit ve nötrofil polimorf infiltrasyonu içeren granülasyon dokusu görüldü. Birkaç alanda mikroabse odakları saptandı(Şekil 4.12).



Şekil 4.12: Defekt bölgesinde nekroz alanları ve kemik iliği aralığında kanama alanları(H&EX40)

4.1.3.2. 7 günlük sıvı nitrojen grubu

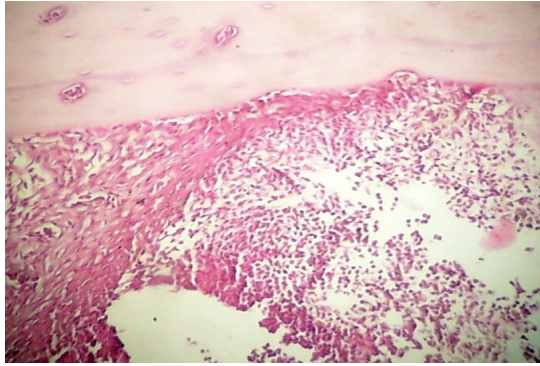
Defekt bölgesinde geniş nekroz alanları arasında fibrosit ve fibroblastlardan oluşan damardan zengin bağ dokusu içinde %10- 20'lara varan alanlarda yeni kemik trabekülleri saptandı. Çevrede yoğun lenfosit, plazma hücresi, nötrofil polimorf infiltrasyonu izlendi. Birkaç alanda mikroabse odakları görüldü(Şekil 4.13).



Şekil 4-13: Defekt bölgesinde geniş koagülasyon nekrozu alanı (H&EX100).

4.1.3.3 14 günlük sıvı nitrojen grubu

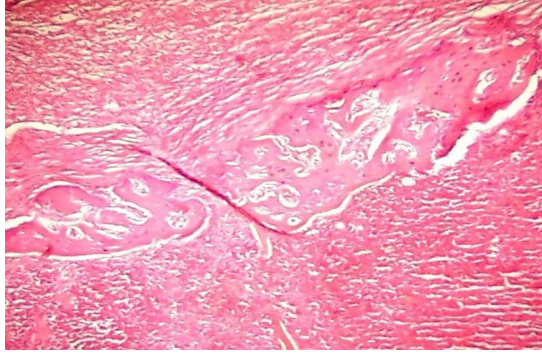
Fragmanlar arasında yoğun lenfosit, plazmosit, nötrofil polimorf infiltrasyonu, geniş abse odakları ve nekroz alanları, fibrozis, %30- 50'ye varan alanda, bu alanı sınırlar tarzda yeni kemik yapımı izlenmekteydi(Şekil 4.14).



Şekil 4.14: Defekt bölgesi komşuluğunda medüller bölgede fibröz çeper ile sınırlı mikroabse odağı.(H&EX100).

4.1.3.4. 21 günlük sıvı nitrojen grubu

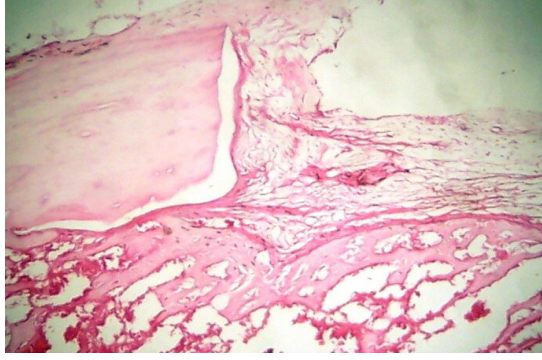
Olguların tümünde yoğun iltihapsal hücre infiltrasyonu, geniş nekroz alanları ve abse odakları saptanmaktaydı. Defekt bölgesini distal ve proksimalden sınırlar tarzda, medüller kanalı kapatan kemik oluşumları görülmekteydi(Şekil 4.15).



Şekil 4.15: Defekt alanı çevresinde nekroz bölgesini sınırlar tarzda kemik yapımı.H&EX100)

4.1.3.5. 28 günlük sıvı nitrojen grubu

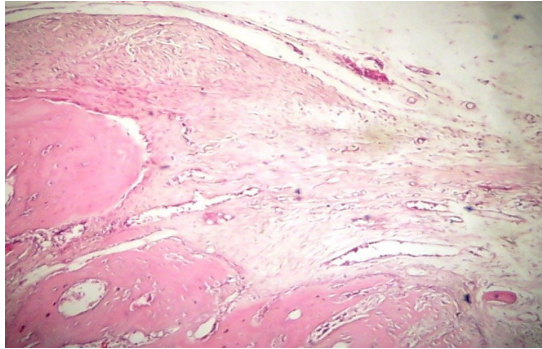
Defekt bölgesinde görülen geniş nekroz alanları yerlerini aktif bağ dokusuna bırakmaktaydı. Bağ dokusu içinde yeni kemik trabekülleri izlenmekteydi(Şekil 4.16).



Şekil 4.16: Defekt bölgesinde nekrozun yerini alan, fibrin demetleri içeren gevşek yapıda bağ dokusu ve bu alan çevresinde bölgeyi sınırlayan yeni kemik yapımı (H&EX40)

4.1.3.6. 45 günlük sıvı nitrojen grubu

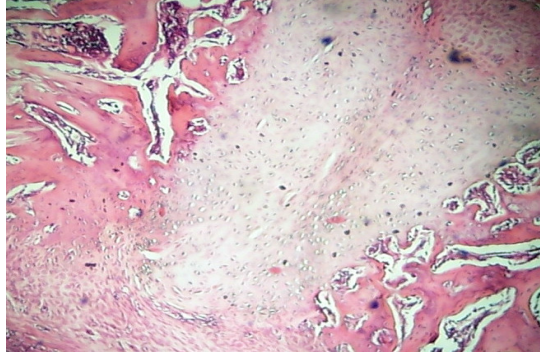
Defekt bölgesinde aktif bağ dokusu, kıkırdak adacıkları, nekroz odakları, yeni kemik trabekülleri görülmekteydi. Bu bölge distal ve proksimalden kalın trabeküler kemik dokusu ile sınırlanmaktaydı(Şekil 4.17).



Şekil 4.17: Defekt bölgesini dolduran gevşek yapıda bağ dokusu çevresinde yeni kemik yapımı (H&EX100).

4.1.3.7. 60 günlük sıvı nitrojen grubu

Defekt bölgesinde fibröz doku içinde yeni kemik trabekülleri saptanmaktaydı. Bir olguda bu trabeküller köprü oluşturmaktaydı. Bu olgu dışındaki tüm olgularda nekroz alanları, iltihapsal hücre infiltrasyonu içeren bağ dokusu ile defekt alanı dolmuştu. Defekt alanı distal ve proksimalde yeni kemik dokusu ile sınırlanmıştı(Şekil 4.18)



Şekil 4.18: Defekt bölgesi büyük ölçüde dolduran kemik trabekülleri arasında varlığını sürdüren kıkırdak adacığı. (H&EX40).

4.2 İstatistiksel bulgular

Yeni Kemik Yapımı	CO ₂ Grubu	Nitrojen		Kontrol		χ^2 :3,86	p=0,145
		Grubu	Grubu	Grubu	Grubu		
3.Gün	%0 - %5	6	66,7%	9	100,0%	6	66,7%
	%5 - %30	3	33,3%	0	0,0%	3	33,3%
7.Gün	%0 - %5	0	0,0%	2	22,2%	0	0,0%
	%5 - %30	6	66,7%	5	55,6%	4	44,4%
	%30 - %60	3	33,3%	2	22,2%	5	55,6%
14.Gün	%5 - %30	0	0,0%	2	22,2%	0	0,0%
	%30 - %60	5	55,6%	6	66,7%	7	77,8%
	> %60	4	44,4%	1	11,1%	2	22,2%
21.Gün	%0 - %5	0	0,0%	1	11,1%	0	0,0%
	%5 - %30	1	11,1%	1	11,1%	0	0,0%
	%30 - %60	4	44,4%	6	66,7%	7	77,8%
	> %60	4	44,4%	1	11,1%	2	22,2%
28.Gün	%5 - %30	0	0,0%	1	11,1%	0	0,0%
	%30 - %60	0	0,0%	8	88,9%	0	0,0%
	> %60	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%
45.Gün	%30 - %60	1	11,1%	8	88,9%	0	0,0%
	> %60	8	88,9%	1	11,1%	9	100,0%
60.Gün	%30 - %60	6	66,7%	7	77,8%	0	0,0%
	> %60	3	33,3%	2	22,2%	9	100,0%

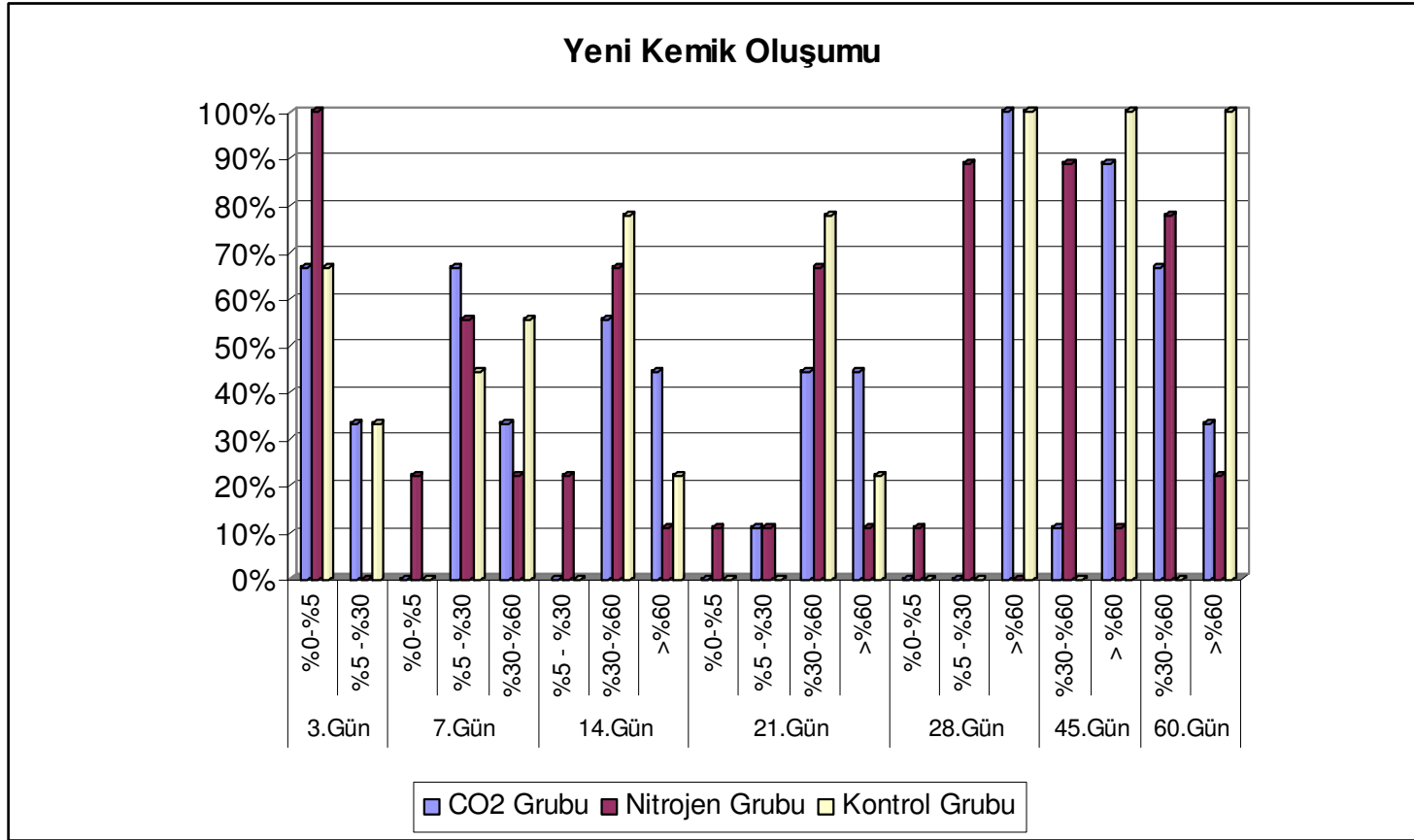
Tablo 4.1: Yeni kemik yapımının gruplara ve günlere göre istatistiksel karşılaştırılması

	28.Gün	45.Gün	60. Gün
CO2 / Nitrojen	0,0001	0,003	0,998
CO2 / Kontrol		0,998	0,009
Nitrojen / Kontrol	0,0001	0,0004	0,002

Tablo 4.2: Yeni kemik yapımının gruplar içinde karşılaştırılması

	CO2	N	Kontrol
3.Gün / 7.Gün	0,007	0,003	0,004
3.Gün / 14.Gün	0,008	0,0001	0,0001
3.Gün / 21.Gün	0,002	0,002	0,0001
3.Gün / 28.Gün	0,0001	0,0001	0,0001
3.Gün / 45.Gün	0,0001	0,0001	0,0001
3.Gün / 60.Gün	0,0001	0,0001	0,0001
7.Gün / 14.Gün	0,005	0,09	0,042
7.Gün / 21.Gün	0,021	0,112	0,042
7.Gün / 28.Gün	0,0001	0,016	0,0001
7.Gün / 45.Gün	0,001	0,009	0,0001
7.Gün / 60.Gün	0,007	0,008	0,0001
14.Gün / 21.Gün	0,574	0,721	0,998
14.Gün / 28.Gün	0,009	0,445	0,001
14.Gün / 45.Gün	0,04	0,319	0,001
14.Gün / 60.Gün	0,772	0,3	0,001
21.Gün / 28.Gün	0,031	0,515	0,001
21.Gün / 45.Gün	0,127	0,515	0,001
21.Gün / 60.Gün	0,462	0,492	0,001
28.Gün / 45.Gün	0,303	0,318	
28.Gün / 60.Gün	0,003	0,216	
45.Gün / 60.Gün	0,016	0,527	

Tablo 4.3 : Yeni kemik yapımının gruplar içinde günlere göre karşılaştırılması



Tablo 4.4: Yeni kemik yapımının gruplara ve günlere göre dağılımının grafik olarak karşılaştırılmaları

Fibrozis	CO ₂ Grubu	Nitrojen		Kontrol				
		Grubu	Grubu	Grubu	Grubu			
3.Gün	%0 - %5	0	0,0%	3	33,3%	2	22,2%	$\chi^2:5,94$
	%5 - %30	9	100,0%	5	55,6%	7	77,8%	p=0,203
7.Gün	%30 - %60	0	0,0%	1	11,1%	0	0,0%	
	%5 - %30	1	11,1%	1	11,1%	0	0,0%	
14.Gün	%30 - %60	6	66,7%	6	66,7%	9	100,0%	$\chi^2:3,86$
	> %60	2	22,2%	2	22,2%	0	0,0%	p=0,426
21.Gün	%0 - %5	1	11,1%	0	0,0%	0	0,0%	
	%5 - %30	4	44,4%	0	0,0%	0	0,0%	
28.Gün	%30 - %60	3	33,3%	7	77,8%	9	100,0%	$\chi^2:14,95$
	> %60	1	11,1%	2	22,2%	0	0,0%	p=0,021
45.Gün	%5 - %30	2	22,2%	0	0,0%	0	0,0%	
	%30 - %60	3	33,3%	6	66,7%	6	66,7%	$\chi^2:5,4$
60.Gün	> %60	4	44,4%	3	33,3%	3	33,3%	p=0,249
	%0 - %5	2	22,2%	0	0,0%	5	55,6%	
3.Gün	%5 - %30	6	66,7%	0	0,0%	3	33,3%	
	%30 - %60	1	11,1%	4	44,4%	1	11,1%	$\chi^2:24,43$
7.Gün	> %60	0	0,0%	5	55,6%	0	0,0%	p=0,0001
	%0 - %5	6	66,7%	0	0,0%	9	100,0%	
14.Gün	%5 - %30	1	11,1%	0	0,0%	0	0,0%	
	%30 - %60	0	0,0%	6	66,7%	0	0,0%	$\chi^2:25,2$
21.Gün	> %60	2	22,2%	3	33,3%	0	0,0%	p=0,0001
	%0 - %5	0	0,0%	1	11,1%	9	100,0%	
28.Gün	%5 - %30	1	11,1%	0	0,0%	0	0,0%	
	%30 - %60	1	11,1%	1	11,1%	0	0,0%	$\chi^2:24,6$
45.Gün	> %60	7	77,8%	7	77,8%	0	0,0%	p=0,0001

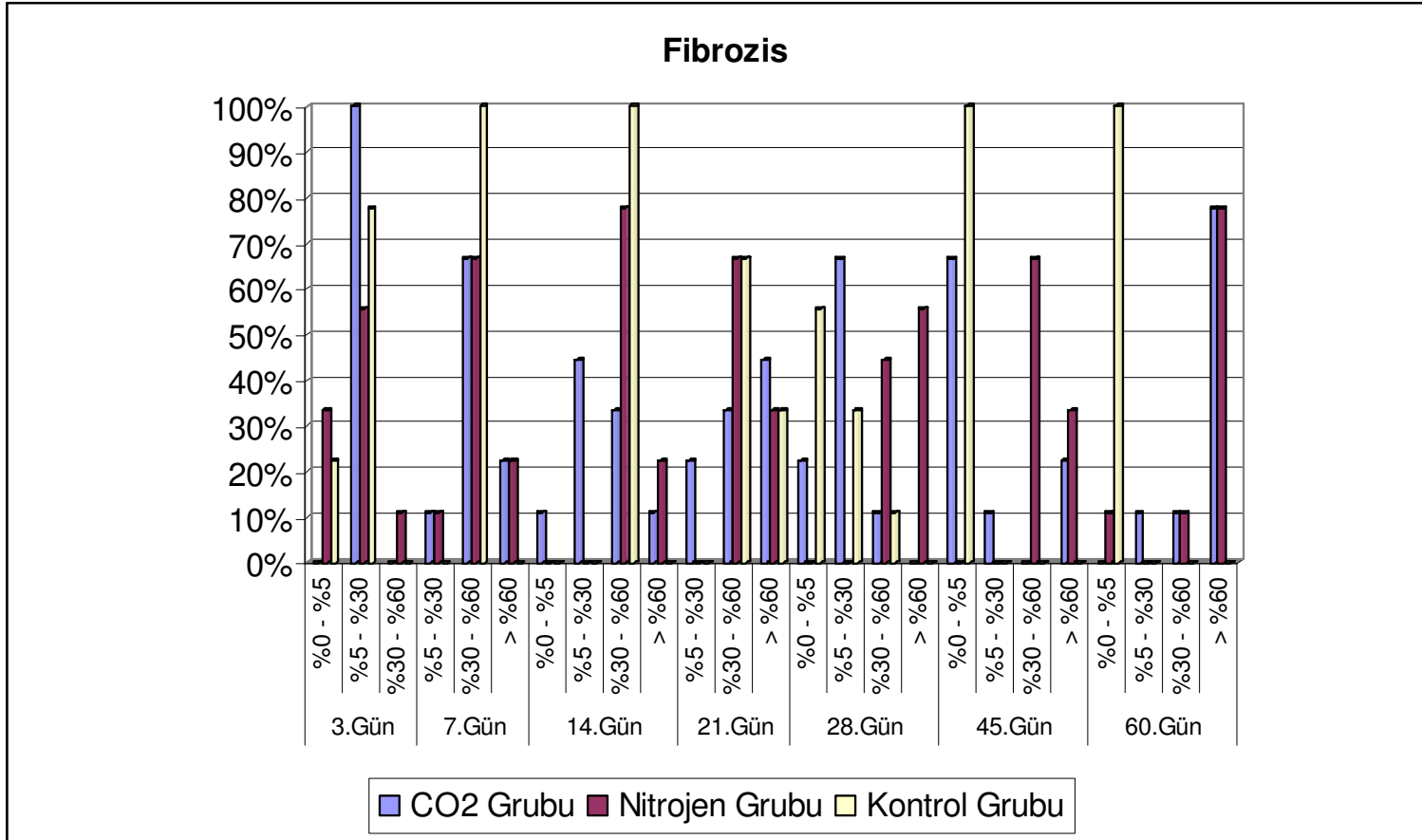
Tablo 4.5: Fibrozisin gruplara ve günlere göre istatistiksel karşılaştırılması

	14.Gün	28.Gün	45.Gün	60. Gün
CO2 / Nitrojen	0,07	0,002	0,004	0,532
CO2 / Kontrol	0,02	0,318	0,105	0,0004
Nitrojen / Kontrol	0,131	0,002	0,0001	0,0007

Tablo 4.6: Fibrozisin gruplar içinde karşılaştırılması

	CO2	N	Kontrol
3.Gün / 7.Gün	0,001	0,011	0,0001
3.Gün / 14.Gün	0,07	0,002	0,0001
3.Gün / 21.Gün	0,003	0,002	0,0001
3.Gün / 28.Gün	0,165	0,002	0,143
3.Gün / 45.Gün	0,001	0,002	0,001
3.Gün / 60.Gün	0,001	0,005	0,001
7.Gün / 14.Gün	0,247	0,584	
7.Gün / 21.Gün	0,368	0,549	0,058
7.Gün / 28.Gün	0,011	0,261	0,001
7.Gün / 45.Gün	0,007	0,549	0,0001
7.Gün / 60.Gün	0,04	0,039	0,0001
14.Gün / 21.Gün	0,325	0,599	0,058
14.Gün / 28.Gün	0,425	0,147	0,001
14.Gün / 45.Gün	0,03	0,599	0,0001
14.Gün / 60.Gün	0,06	0,016	0,0001
21.Gün / 28.Gün	0,029	0,343	0,002
21.Gün / 45.Gün	0,019	0,998	0,0001
21.Gün / 60.Gün	0,341	0,046	0,0001
28.Gün / 45.Gün	0,036	0,343	0,07
28.Gün / 60.Gün	0,006	0,209	0,07
45.Gün / 60.Gün	0,021	0,046	

Tablo 4.7: Fibrozisin gruplar içinde günlere göre karşılaştırılması



Tablo 4.8: Fibrozisin gruplara ve günlere göre dağılımının grafik olarak karşılaştırılmaları

Nekroz	CO ₂ Grubu	Nitrojen		Kontrol				
		Grubu	Grubu	Grubu	Grubu			
3.Gün	%5 - %30	1	11,1%	0	0,0%	5	55,6%	
	%30 - %60	8	88,9%	0	0,0%	4	44,4%	$\chi^2:33$
	> %60	0	0,0%	9	100,0%	0	0,0%	p=0,0001
7.Gün	%0 - %5	0	0,0%	0	0,0%	4	44,4%	
	%5 - %30	5	55,6%	0	0,0%	5	55,6%	
	%30 - %60	3	33,3%	0	0,0%	0	0,0%	$\chi^2:33,6$
	> %60	1	11,1%	9	100,0%	0	0,0%	p=0,0001
14.Gün	%0 - %5	0	0,0%	0	0,0%	4	44,4%	
	%5 - %30	5	55,6%	0	0,0%	5	55,6%	
	%30 - %60	4	44,4%	1	11,1%	0	0,0%	$\chi^2:34,2$
	> %60	0	0,0%	8	88,9%	0	0,0%	p=0,0001
21.Gün	%0 - %5	2	22,2%	0	0,0%	6	66,7%	
	%5 - %30	4	44,4%	0	0,0%	3	33,3%	
	%30 - %60	2	22,2%	2	22,2%	0	0,0%	$\chi^2:23,46$
	> %60	1	11,1%	7	77,8%	0	0,0%	p=0,001
28.Gün	%0 - %5	4	44,4%	0	0,0%	9	100,0%	
	%5 - %30	4	44,4%	3	33,3%	0	0,0%	$\chi^2:21,96$
	%30 - %60	1	11,1%	6	66,7%	0	0,0%	p=0,0001
45.Gün	%0 - %5	8	88,9%	2	22,2%	9	100,0%	
	%5 - %30	1	11,1%	4	44,4%	0	0,0%	$\chi^2:15,73$
	> %60	0	0,0%	3	33,3%	0	0,0%	p=0,003
60.Gün	%0 - %5	7	77,8%	2	22,2%	9	100,0%	
	%5 - %30	1	11,1%	4	44,4%	0	0,0%	
	%30 - %60	0	0,0%	3	33,3%	0	0,0%	$\chi^2:17,53$
	> %60	1	11,1%	0	0,0%	0	0,0%	p=0,008

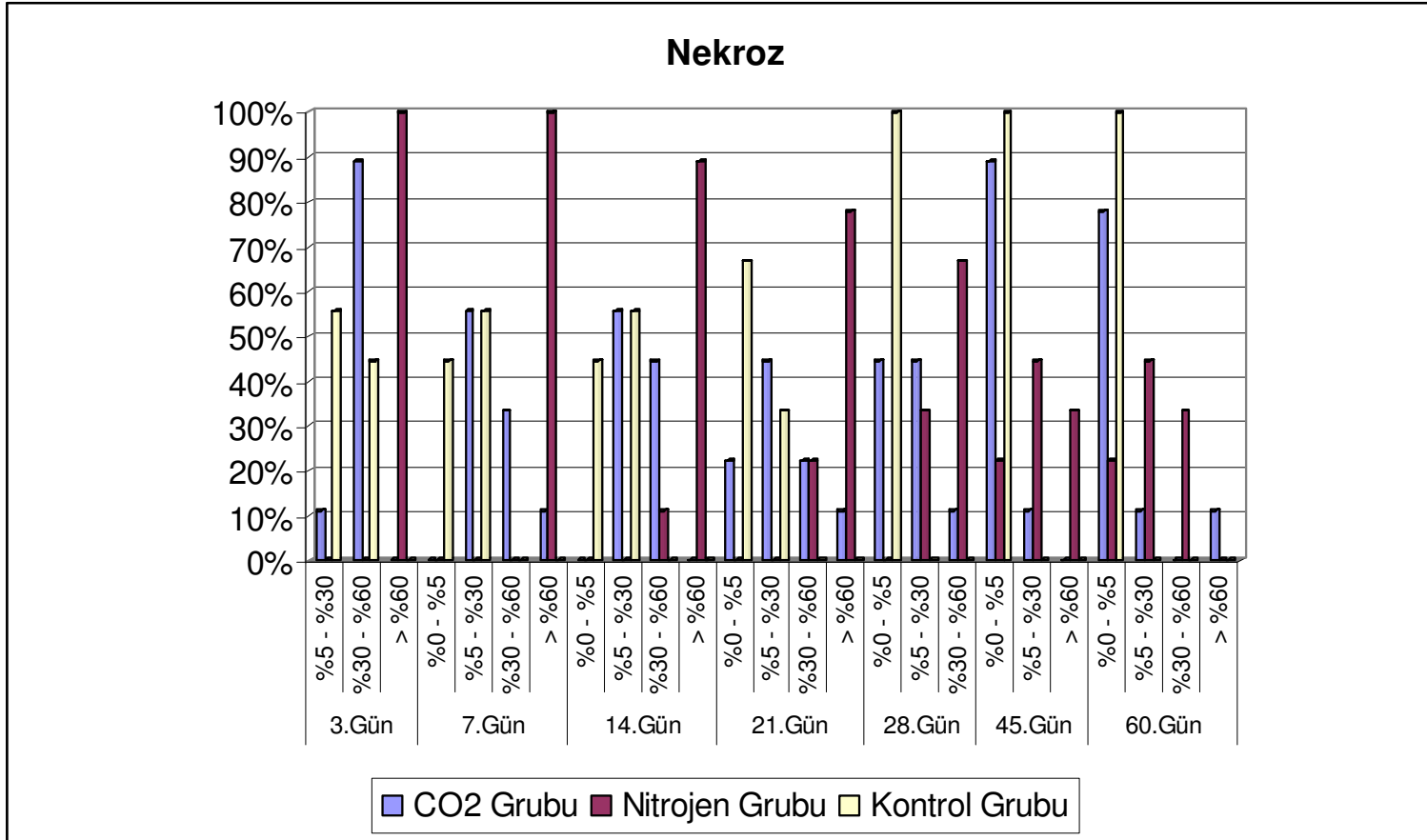
Tablo 4.9: Nekrozun gruplara ve günlere göre istatistiksel karşılaştırılması

	3.Gün	7.Gün	14.Gün	21.Gün	28.Gün	45.Gün	60. Gün
CO2 / Nitrojen	0,0001	0,0007	0,0006	0,014	0,021	0,015	0,035
CO2 / Kontrol	0,04	0,04	0,018	0,161	0,031	0,3	0,324
Nitrojen / Kontrol	0,0001	0,0001	0,0004	0,0004	0,0001	0,003	0,003

Tablo 4.10: Nekrozun gruplar içinde karşılaştırılması

	CO2	N	Kontrol
3.Gün / 7.Gün	0,051		0,018
3.Gün / 14.Gün	0,046	0,3	0,018
3.Gün / 21.Gün	0,038	0,134	0,005
3.Gün / 28.Gün	0,004	0,0001	0,0001
3.Gün / 45.Gün	0,0001	0,0001	0,0001
3.Gün / 60.Gün	0,001	0,0001	0,0001
7.Gün / 14.Gün	0,565	0,303	0,998
7.Gün / 21.Gün	0,51	0,134	0,343
7.Gün / 28.Gün	0,106	0,0001	0,009
7.Gün / 45.Gün	0,002	0,011	0,009
7.Gün / 60.Gün	0,005	0,0001	0,009
14.Gün / 21.Gün	0,286	0,527	0,343
14.Gün / 28.Gün	0,052	0,001	0,009
14.Gün / 45.Gün	0,001	0,026	0,009
14.Gün / 60.Gün	0,003	0,002	0,009
21.Gün / 28.Gün	0,572	0,002	0,058
21.Gün / 45.Gün	0,038	0,022	0,058
21.Gün / 60.Gün	0,08	0,004	0,058
28.Gün / 45.Gün	0,127	0,011	
28.Gün / 60.Gün	0,202	0,208	
45.Gün / 60.Gün	0,587	0,112	

Tablo 4.11: Nekrozun gruplar içinde günlere göre karşılaştırılması



Tablo 4.12: Nekrozun gruplara ve günlere göre dağılımının grafik olarak karşılaştırılması

İltihap	CO ₂ Grubu		Nitrojen Grubu		Kontrol Grubu			
3.Gün	%5 - %30	0	0,0%	5	55,6%	4	44,4%	
	%30 - %60	9	100,0%	1	11,1%	5	55,6%	$\chi^2:17,07$
	> %60	0	0,0%	3	33,3%	0	0,0%	p=0,002
7.Gün	%0 - %5	1	11,1%	1	11,1%	0	0,0%	
	%5 - %30	1	11,1%	7	77,8%	6	66,7%	$\chi^2:10,52$
	%30 - %60	7	77,8%	1	11,1%	3	33,3%	p=0,033
14.Gün	%5 - %30	7	77,8%	0	0,0%	8	88,9%	
	%30 - %60	1	11,1%	3	33,3%	1	11,1%	$\chi^2:18,06$
	> %60	1	11,1%	6	66,7%	0	0,0%	p=0,001
21.Gün	%0 - %5	1	11,1%	0	0,0%	6	66,7%	
	%5 - %30	4	44,4%	0	0,0%	2	22,2%	
	%30 - %60	2	22,2%	1	11,1%	1	11,1%	$\chi^2:23,76$
	> %60	2	22,2%	8	88,9%	0	0,0%	p=0,001
28.Gün	%0 - %5	9	100,0%		0,0%	8	88,9%	
	%5 - %30	0	0,0%	2	22,2%	1	11,1%	
	%30 - %60	0	0,0%	6	66,7%	0	0,0%	$\chi^2:24,59$
	> %60	0	0,0%	1	11,1%	0	0,0%	p=0,0001
45.Gün	%0 - %5	7	77,8%	1	11,1%	9	100,0%	
	%5 - %30	0	0,0%	5	55,6%	0	0,0%	
	%30 - %60	2	22,2%		0,0%	0	0,0%	$\chi^2:26,12$
	> %60	0	0,0%	3	33,3%	0	0,0%	p=0,0001
60.Gün	%0 - %5	1	11,1%	1	11,1%	9	100,0%	
	%5 - %30	6	66,7%	6	66,7%	0	0,0%	
	%30 - %60	1	11,1%	2	22,2%	0	0,0%	$\chi^2:21,64$
	> %60	1	11,1%		0,0%	0	0,0%	p=0,001

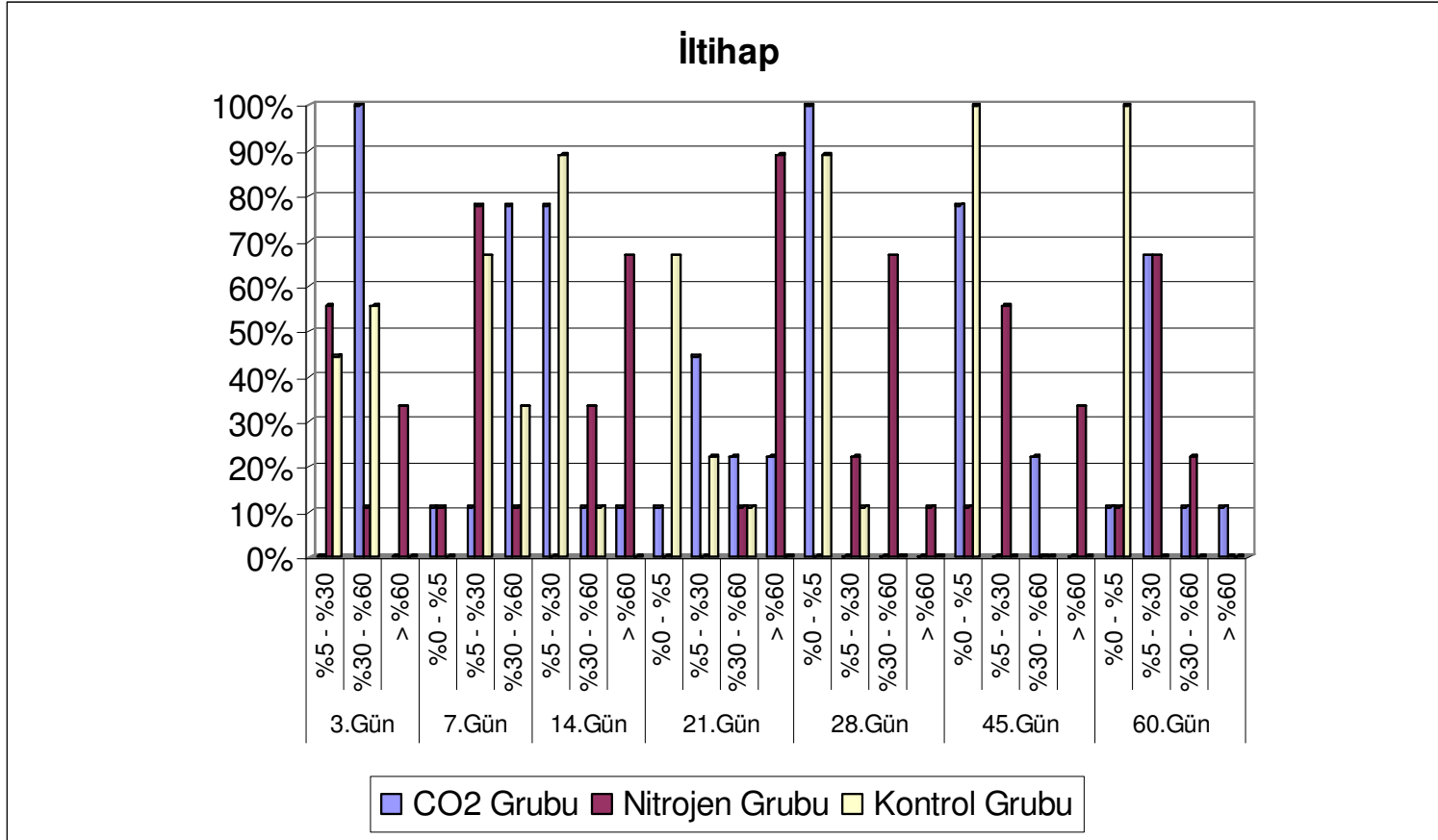
Tablo 4.13: İltihabın gruplara ve günlere göre istatistiksel karşılaştırılması

	3.Gün	7.Gün	14.Gün	21.Gün	28.Gün	45.Gün	60. Gün
CO2 / Nitrojen	0,0007	0,011	0,003	0,03	0,0004	0,0023	0,721
CO2 / Kontrol	0,02	0,04	0,586	0,08	0,303	0,13	0,0024
Nitrojen / Kontrol	0,055	0,354	0,0006	0,001	0,0016	0,0007	0,0007

Tablo 4.14: İltihabın gruplar içinde karşılaştırılması

	CO2	N	Kontrol
3.Gün / 7.Gün	0,325	0,228	0,343
3.Gün / 14.Gün	0,001	0,03	0,046
3.Gün / 21.Gün	0,01	0,026	0,009
3.Gün / 28.Gün	0,0001	0,053	0,001
3.Gün / 45.Gün	0,001	0,572	0,0001
3.Gün / 60.Gün	0,002	0,219	0,0001
7.Gün / 14.Gün	0,012	0,002	0,257
7.Gün / 21.Gün	0,08	0,001	0,011
7.Gün / 28.Gün	0,001	0,039	0,001
7.Gün / 45.Gün	0,016	0,288	0,0001
7.Gün / 60.Gün	0,02	0,815	0,0001
14.Gün / 21.Gün	0,478	0,257	0,008
14.Gün / 28.Gün	0,0001	0,037	0,001
14.Gün / 45.Gün	0,002	0,019	0,0001
14.Gün / 60.Gün	0,734	0,004	0,0001
21.Gün / 28.Gün	0,002	0,004	0,445
21.Gün / 45.Gün	0,015	0,026	0,0165
21.Gün / 60.Gün	0,785	0,002	0,165
28.Gün / 45.Gün	0,134	0,026	0,303
28.Gün / 60.Gün	0,002	0,112	0,303
45.Gün / 60.Gün	0,008	0,165	

Tablo 4.15 : İltihabın gruplar içinde günlere göre karşılaştırılması



Tablo 4.16: İltihabın gruplara ve günlere göre dağılımının grafik olarak karşılaştırılmaları

Kırık		CO ₂ Grubu		Nitrojen Grubu		Kontrol Grubu		
3.Gün	yok	9	100,0%	9	100,0%	9	100,0%	
7.Gün	yok	9	100,0%	9	100,0%	9	100,0%	
	var	0	0,0%	1	11,1%	0	0,0%	$\chi^2:2,08$
14.Gün	yok	9	100,0%	8	88,9%	9	100,0%	p=0,354
	var	0	0,0%	2	22,2%	0	0,0%	$\chi^2:4,32$
21.Gün	yok	9	100,0%	7	77,8%	9	100,0%	p=0,115
	var	0	0,0%	2	22,2%	0	0,0%	$\chi^2:4,32$
28.Gün	yok	9	100,0%	7	77,8%	9	100,0%	p=0,115
	var	1	11,1%		0,0%	0	0,0%	$\chi^2:2,08$
45.Gün	yok	8	88,9%	9	100,0%	9	100,0%	p=0,354
60.Gün	yok	9	100,0%	9	100,0%	9	100,0%	

Tablo 4.17: Gruplara göre kırık dağılımının istatistiksel değerlendirilmesi

Primer	Kapanma	CO ₂ Grubu		Nitrojen Grubu		Kontrol Grubu		
3.Gün	var	9	100,0%	7	77,8%	8	88,9%	$\chi^2:2,25$
	yok	0	0,0%	2	22,2%	1	11,1%	p=0,325
7.Gün	var	9	100,0%	8	88,9%	8	88,9%	$\chi^2:1,08$
	yok	0	0,0%	1	11,1%	1	11,1%	p=0,583
14.Gün	var	9	100,0%	5	55,6%	8	88,9%	$\chi^2:6,38$
	yok	0	0,0%	4	44,4%	1	11,1%	p=0,041
21.Gün	var	7	77,8%	5	55,6%	9	100,0%	$\chi^2:5,14$
	yok	2	22,2%	4	44,4%	0	0,0%	p=0,076
28.Gün	var	9	100,0%	8	88,9%	9	100,0%	$\chi^2:2,08$
	yok	0	0,0%	1	11,1%	0	0,0%	p=0,354
45.Gün	var	9	100,0%	8	88,9%	9	100,0%	$\chi^2:2,08$
	yok	0	0,0%	1	11,1%	0	0,0%	p=0,354
60.Gün	var	8	88,9%	9	100,0%	9	100,0%	$\chi^2:2,08$
	yok	1	11,1%	0	0,0%	0	0,0%	p=0,354

Tablo 4.18: Gruplara göre primer yara kapanmasının dağılımının istatistiksel değerlendirilmesi

4.3 İstatistiksel bulguların değerlendirilmesi

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 3.gün yeni kemik oluşumu dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (p=0,145).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 7.gün yeni kemik oluşumu dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (p=0,215).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 14.gün yeni kemik oluşumu dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (p=0,176).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 21.gün yeni kemik oluşumu dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (p=0,443).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 28.gün yeni kemik oluşumu dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir (p=0,0001). CO₂ grubunda yeni kemik oluşumunun deneklerin tümünde >%60 düzeyinde olduğu, nitrojen grubunda ise %88,9'unun %30 - %60 düzeyinde olduğu gözlenmiş, bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p=0,0001). Nitrojen grubunun yeni kemik oluşumunun deneklerin %88,9'unda %30 - %60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunun ise tümünün > %60 düzeyinde olduğu gözlenmiş, bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p=0,0001). CO₂ ve kontrol grubunun yeni kemik yapımı dağılımı aynı bulunmuştur.

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 45.gün yeni kemik oluşumu dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir (p=0,0001). CO₂ grubunun yeni kemik oluşumunun deneklerin %88,9'unda >%60 düzeyinde olduğu, nitrojen grubunda ise %88,9'unun %30 - %60 düzeyinde olduğu gözlenmiş, bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p=0,003). Nitrojen grubunda yeni kemik oluşumunun deneklerin %11,1'inde >%60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise tümünün >%60 düzeyinde olduğu gözlenmiş, bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p=0,0004).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 60.gün yeni kemik oluşumu dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir (p=0,002). CO₂ grubunun yeni kemik oluşumunun deneklerin %66,7'sinde %30 - %60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise tümünün > %60 düzeyinde olduğu gözlenmiş, bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p=0,009). Nitrojen grubunda yeni kemik oluşumunun deneklerin %22,2'sinde > %60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunun ise tümünün >

%60 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,002$).

Karbondioksit grubunda deneklerin yeni kemik yapımı dağılımında 3. gün ile 7. günler arasında($p=0,007$), 3. gün ile 14. günler arasında($p=0,008$), 3.gün ile 21.günler arasında($p=0,002$), 3.gün ile 28.günler arasında($p=0,0001$), 3.gün ile 45.günler arasında($p=0,0001$), 3.gün ile 60. gün arasında($p=0,0001$), 7.gün ile 14.günler arasında($p=0,005$), 7.gün ile 21.günler arasında ($p=0,021$), 7.gün ile 28.günler arasında($p=0,0001$) ve 7.gün ile 45.günler arasında($p=0,001$), 7.gün ile 60.günler arasında($p=0,007$), 14.gün ile 28.günler arasında($p=0,009$), 14.gün ile 45.günler arasında($p=0,04$),21.gün ile 28.günler arasında($p=0,031$), 28.gün ve 60.günler arasında($p=0,003$) ve 45.gün ile 60.günler arasında($p=0,016$) istatistiksel olarak anlamlılık bulunurken, 14.gün ile 21.günler arasında($p=0,574$), 14.gün ile 60.günler arasında($p=0,772$), 21.gün ile 45.günler arasında($p=0,127$), 21.gün ile 60.günler arasında($p=0,462$) ve 28.gün ile 45.günler arasında($p=0,303$) istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır.

Nitrojen grubunda deneklerin yeni kemik yapımı dağılımında 3. gün ile 7. günler arasında($p=0,003$), 3. gün ile 14. günler arasında($p=0,0001$), 3.gün ile 21.günler arasında($p=0,002$), 3.gün ile 28.günler arasında($p=0,0001$), 3.gün ile 45.günler arasında($p=0,0001$), 3.gün ile 60. gün arasında($p=0,0001$), 7.gün ile 28.günler arasında($p=0,016$), 7.gün ile 45.günler arasında ($p=0,009$) ve 7.gün ile 60.günler arasında($p=0,008$) istatistiksel olarak anlamlılık bulunurken, 7.gün ile 14.günler arasında($p=0,09$), 7.gün ile 21.günler arasında($p=0,112$), 14. gün ile 21.günler arasında($p=0,772$), 14.gün ile 28.günler arasında($p=0,445$), 14.gün ile 45.günler arasında($p=0,319$), 14.gün ile 60.günler arasında($p=0,3$), 21.gün ile 28.günler arasında($p=0,515$), 21.gün ile 45.günler arasında($p=0,515$), 21.gün ile 60.günler arasında($p=0,492$), 28.gün ile 45.günler arasında($p=0,318$), 28.gün ve 60.günler arasında($p=0,216$) ve 45.gün ile 60.günler arasında($p=0,527$) istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır.

Kontrol grubunda deneklerin yeni kemik yapımı dağılımında 3. gün ile 7. günler arasında($p=0,004$), 3. gün ile 14. günler arasında($p=0,0001$), 3.gün ile 21.günler arasında($p=0,0001$), 3.gün ile 28.günler arasında($p=0,0001$), 3.gün ile 45.günler arasında($p=0,0001$), 3.gün ile 60. gün arasında($p=0,0001$), 7.gün ile 14.günler arasında($p=0,042$), 7.gün ile 21.günler arasında ($p=0,042$), 7.gün ile 28.günler

arasında(p=0,0001), 7.gün ile 45.günler arasında(p=0,0001), 7.gün ile 60.günler arasında(p=0,0001), 14.gün ile 28.günler arasında(p=0,001), 14.gün ile 45.günler arasında(p=0,001), 14.gün ile 60.günler arasında(p=0,001), 21.gün ve 28.günler arasında(p=0,001), 21.gün ile 45.günler arasında(p=0,001) ve 21.gün ve 60.günlerde(p=0,001) istatistiksel olarak anlamlılık bulunurken, 14.gün ile 21.günler arasında(p=0,998) istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır.

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 3.gün fibrozis dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (p=0,203).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 7.gün fibrozis dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (p=0,426).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 14.gün fibrozis dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir (p=0,021). CO₂ grubunda fibrozis dağılımının deneklerin %33.3'ünde %30 - %60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin tümünde %30 - %60 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p=0,02).

Nitrojen grubu ile CO₂ grubunun fibrozis dağılımı arasında 14. günde anlamlı bir fark gözlenmemiştir(p=0,07). Nitrojen grubu ile kontrol grubunun fibrozis dağılımı arasında 14. günde anlamlı bir fark gözlenmemiştir(p=0,131).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 21.gün fibrozis dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (p=0,249).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 28.gün fibrozis dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir (p=0,0001). CO₂ grubunda fibrozis dağılımının deneklerin %66.7'sinde %5 - %30 düzeyinde olduğu, nitrojen grubunda ise deneklerin %55,6'sında > %60 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p=0,002). Nitrojen grubunda fibrozis dağılımının deneklerin %55.6'sında > %60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin %55,6'sında %0 - %5 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p=0,002). CO₂ grubu ile kontrol grubunun fibrozis oluşumu arasında 28. günde anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p=0,318).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 45.gün fibrozis dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir (p=0,0001). CO₂ grubunda fibrozis dağılımının deneklerin %66.7'sinde %0 - %5 düzeyinde olduğu, nitrojen grubunda ise deneklerin %66,7'sinde %30 - %60 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel

olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,004$). Nitrojen grubunda fibrozis dağılımının deneklerin %66.7'sinde %30 - %60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin tümünde %0 - %5 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,0001$). CO₂ grubu ile kontrol grubunun fibrozis oluşumu arasında 45. günde anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p=0,105$).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 60.gün fibrozis dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p=0,0001$). CO₂ grubunda fibrozis dağılımında deneklerin %77.8'inde >%60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin tümünde %0 - %5 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,0004$). Nitrojen grubunda fibrozis dağılımında deneklerin %77.8'sinde %60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin tümünde %0 - %5 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,0007$). CO₂ grubu ile nitrojen grubunun fibrozis oluşumu arasında 60. günde anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p=0,532$).

Karbondioksit grubunda deneklerin fibrozis dağılımında 3. gün ile 7. günler arasında($p=0,001$), 3. gün ile 21. günler arasında($p=0,003$), 3.gün ile 45.günler arasında($p=0,001$), 3.gün ile 60.günler arasında($p=0,001$), 7.gün ile 28.günler arasında($p=0,011$), 7.gün ile 45. gün arasında($p=0,007$), 7.gün ile 60.günler arasında($p=0,04$), 14.gün ile 45.günler arasında ($p=0,03$), 21.gün ile 28.günler arasında($p=0,029$) ve 21.gün ile 45.günler arasında($p=0,019$), 28.gün ile 45.günler arasında($p=0,036$), 28.gün ile 60.günler arasında($p=0,006$) ve 45.gün ile 60.günler arasında($p=0,021$) istatistiksel olarak anlamlılık bulunurken, 3.gün ile 14.günler arasında($p=0,07$), 3.gün ile 28.günler arasında($p=0,165$), 7.gün ile 14.günler arasında($p=0,247$), 7.gün ile 21.günler arasında($p=0,368$), 14.gün ile 21.günler arasında($p=0,325$), 14.gün ile 28.günler arasında($p=0,425$), 14.gün ile 60. günler arasında($p=0,06$) ve 21. gün ile 60.günler arasında($p=0,341$) istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır.

Nitrojen grubunda deneklerin fibrozis dağılımında 3. gün ile 7. günler arasında($p=0,011$), 3. gün ile 14. günler arasında($p=0,002$), 3.gün ile 21.günler arasında($p=0,002$), 3.gün ile 28.günler arasında($p=0,002$), 3.gün ile 45.günler arasında($p=0,002$), 3.gün ile 60. gün arasında($p=0,005$), 7.gün ile 60.günler arasında($p=0,039$), 14.gün ile 60.günler arasında ($p=0,016$), 21.gün ile 60.günler arasında($p=0,046$) ve 45.gün ile 60.günler arasında($p=0,046$) istatistiksel olarak

anlamlılık bulunurken, 7.gün ile 14.günler arasında($p=0,584$), 7.gün ile 21.günler arasında($p=0,549$), 7.gün ile 28.günler arasında($p=0,261$), 7.gün ile 45.günler arasında($p=0,549$), 14.gün ile 21.günler arasında($p=0,599$), 21.gün ile 28.günler arasında($p=0,343$), 21.gün ile 45. günler arasında($p=0,998$), 28. gün ile 45.günler arasında($p=0,343$) ve 28.gün ile 60.günler arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır.

Kontrol grubunda deneklerin fibrozis dağılımında 3. gün ile 7. günler arasında($p=0,0001$), 3. gün ile 14. günler arasında($p=0,0001$), 3.gün ile 21.günler arasında($p=0,0001$), 3.gün ile 45.günler arasında($p=0,001$), 3.gün ile 60.günler arasında($p=0,001$), 7.gün ile 28. gün arasında($p=0,001$), 7.gün ile 45.günler arasında($p=0,0001$), 7.gün ile 60.günler arasında ($p=0,0001$), 14.gün ile 28.günler arasında($p=0,001$) ve 14.gün ile 45.günler arasında($p=0,0001$), 14.gün ile 60.günler arasında($p=0,0001$), 21.gün ile 28.günler arasında($p=0,002$), 21.gün ile 45.günler arasında($p=0,0001$) ve 21.gün ile 60.günler arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunurken, 3.gün ile 28.günler arasında($p=0,143$), 7.gün ile 21.günler arasında($p=0,058$), 14.gün ile 21.günler arasında($p=0,058$), 28.gün ile 45.günler arasında($p=0,07$) ve 28.gün ile 60.günler arasında($p=0,07$) istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır.

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 3.gün nekroz dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p=0,0001$). CO₂ grubunda nekroz dağılımında deneklerin %88,9'unda %30 - %60 düzeyinde olduğu, nitrojen grubunda ise deneklerin tümünde >%60 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,0001$). CO₂ grubunda nekroz dağılımının deneklerin %88,9'unda %30 - %60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin %55,6'inde %0 - %5 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,04$). Nitrojen grubunda nekroz dağılımında deneklerin tümünün >%60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin %55,6'inde %30 - %60 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,0001$).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 7.gün nekroz dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p=0,0001$). CO₂ grubunda nekroz dağılımının deneklerin %55,6'sında %5 - %30 düzeyinde olduğu, nitrojen grubunda ise deneklerin tümünde >%60 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı

olduğu bulunmuştur ($p=0,0007$). CO₂ grubunda nekroz dağılımının deneklerin hiçbirinde %0 - %5 düzeyinde iken, kontrol grubunda deneklerin %44,4'ünde %0 - %5 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,04$). Nitrojen grubunda nekroz dağılımının deneklerin tümünde >%60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin %55,6'sında %5 - %30 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,0001$).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 14.gün nekroz dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p=0,0001$). CO₂ grubunda nekroz dağılımının deneklerin %55,6'sında %5 - %30 düzeyinde olduğu, nitrojen grubunda ise deneklerin %88,9'unda >%60 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,0006$). CO₂ grubunda nekroz dağılımının deneklerin hiçbirinde %0 - %5 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin %44,4'ünün %0 - %5 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,018$). Nitrojen grubunda nekroz dağılımının deneklerin %88,9'unda >%60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin %55,6'inde %5 - %30 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,0004$).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 21.gün nekroz dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p=0,001$). CO₂ grubunda nekroz dağılımının deneklerin %44,4'ünde %5 - %30 düzeyinde olduğu, nitrojen grubunda ise deneklerin %77,8'sinde >%60 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,0014$). Nitrojen grubunda nekroz dağılımının deneklerin %77,8'sinde >%60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin %66,7'sinde ise %0 - %5 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,0004$). CO₂ grubu ile kontrol grubu arasında 21. günde nekroz dağılımları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,161$).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 28.gün nekroz dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p=0,0001$). CO₂ grubunda nekroz dağılımının deneklerin %44,4'ünde %5 - %30 düzeyinde olduğu, nitrojen grubunda ise deneklerin %66,7'sinde ise %30 - %60 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,021$). CO₂ grubunda nekroz dağılımının deneklerin %44,4'ünde %0 - %5 düzeyinde iken, kontrol grubunda ise deneklerin

tümünde %0 - %5 düzeyinde olduğu gözlenmiş, bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p=0,031). Nitrojen grubunda nekroz dağılımının deneklerin %66,7'sinde %30 - %60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin tümünde %0 - %5 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p=0,0001).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 45.gün nekroz dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir (p=0,003). CO₂ grubunda nekroz dağılımının deneklerin %88,9'unda %0 - %5 düzeyinde olduğu, nitrojen grubunda ise deneklerin %44,4'ünde %5 - %30 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p=0,015). Nitrojen grubunda nekroz dağılımında deneklerin %44,4'ünde %5 - %30 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin tümünün %0 - %5 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p=0,003). CO₂ grubu ile kontrol grubu arasında 45. günde nekroz dağılımları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır(p=0,3).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 60.gün nekroz dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir (p=0,008). CO₂ grubunda nekroz dağılımlarının deneklerin %77,8'inde %0 - %5 düzeyinde olduğu, nitrojen grubunda ise deneklerin %44,4'ünde ise %5 - %30 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p=0,035). Nitrojen grubunda nekroz dağılımının deneklerin %44,4'ünde %5 - %30 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin tümünün %0 - %5 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p=0,003). CO₂ grubu ile kontrol grubu arasında 60. günde nekroz dağılımları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır(p=0,324).

Karbondioksit grubunda deneklerin nekroz dağılımında 3. gün ile 14. günler arasında(p=0,046), 3. gün ile 21. günler arasında(p=0,038), 3.gün ile 28.günler arasında(p=0,004), 3.gün ile 45.günler arasında(p=0,0001), 3.gün ile 60.günler arasında(p=0,001), 7.gün ile 45. gün arasında(p=0,002), 7.gün ile 60.günler arasında(p=0,005), 14.gün ile 45.günler arasında (p=0,001), 14.gün ile 60.günler arasında(p=0,003) ve 21.gün ile 45.günler arasında(p=0,038) istatistiksel olarak anlamlılık bulunurken, 3.gün ile 7.günler arasında(p=0,051), 7.gün ile 14.günler arasında(p=0,565), 7.gün ile 21.günler arasında(p=0,51), 7.gün ile 28.günler arasında(p=0,106), 14.gün ile 21.günler arasında(p=0,286), 14.gün ile 28.günler arasında(p=0,052), 21.gün ile 28. günler arasında(p=0,572), 21. gün ile 60.günler

arasında($p=0,08$), 28.gün ile 45.günler arasında($p=0,127$),28.gün ile 60.günler arasında($p=0,202$) ve 45.gün ile 60.günler arasında($p=0,587$) istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır.

Nitrojen grubunda deneklerin nekroz dağılımında 3. gün ile 28. günler arasında($p=0,0001$), 3. gün ile 45. günler arasında($p=0,0001$), 3.gün ile 60.günler arasında($p=0,0001$), 7.gün ile 28.günler arasında($p=0,0001$), 7.gün ile 45.günler arasında($p=0,011$), 7.gün ile 60. gün arasında($p=0,0001$), 14.gün ile 28.günler arasında($p=0,001$), 14.gün ile 45.günler arasında ($p=0,026$), 14.gün ile 60.günler arasında($p=0,002$) ve 21.gün ile 28.günler arasında($p=0,002$), 21.gün ile 45.günler arasında($p=0,022$), 21.gün ile 60.günler arasında($p=0,004$) ve 28.gün ile 45.günler arasında($p=0,011$) istatistiksel olarak anlamlılık bulunurken, 3.gün ile 14.günler arasında($p=0,3$), 3.gün ile 21.günler arasında($p=0,134$), 7.gün ile 14.günler arasında($p=0,303$), 14.gün ile 21.günler arasında($p=0,527$), 28.gün ile 60.günler arasında($p=0,208$) ve 45.gün ile 60.günler arasında($p=0,112$) istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır.

Kontrol grubunda deneklerin nekroz dağılımında 3. gün ile 7. günler arasında($p=0,018$), 3. gün ile 14. günler arasında($p=0,018$), 3.gün ile 21.günler arasında($p=0,005$), 3.gün ile 28.günler arasında($p=0,0001$), 3.gün ile 45.günler arasında($p=0,0001$), 3.gün ile 60. gün arasında($p=0,0001$), 7.gün ile 28.günler arasında($p=0,009$), 7.gün ile 45.günler arasında ($p=0,009$), 7.gün ile 60.günler arasında($p=0,009$) ve 14.gün ile 28.günler arasında($p=0,009$), 14.gün ve 45.günler arasında($p=0,009$) ve 14.gün ile 60.günler arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunurken, 7.gün ile 14.günler arasında($p=0,998$), 7.gün ile 21.günler arasında($p=0,343$), 14.gün ile 21.günler arasında($p=0,343$), 21.gün ile 28.günler arasında($p=0,058$), 21.gün ile 45.günler arasında($p=0,058$) ve 21.gün ile 60.günler arasında($p=0,058$) istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır.

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 3.gün iltihap dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p=0,002$). CO₂ grubunda iltihap dağılımının deneklerin tümünde %5 - %30 düzeyinde olduğu, nitrojen grubunda ise deneklerin %55,6'sında %5 - %30 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,0007$). CO₂ grubunda iltihap dağılımının deneklerin tümünde %30 - %60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin %55,6'sında %30 - %60 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı

olduğu bulunmuştur ($p=0,02$). Nitrojen grubu ile kontrol grubu arasında 3.günde iltihap dağılımında anlamlı bir fark bulunmamıştır($p=0,055$).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 7.gün iltihap dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p=0,033$). CO₂ grubunda iltihap dağılımının deneklerin %77,8'inde %30 - %60 düzeyinde olduğu, nitrojen grubunda ise deneklerin %77,8'inde %5 - %30 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,011$). CO₂ grubunda iltihap dağılımının deneklerin %77,8'inde %30 - %60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin %66,7'inde %5 - %30 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,02$). Nitrojen grubu ile kontrol grubu arasında 7.günde iltihap dağılımında anlamlı bir fark bulunmamıştır($p=0,345$).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 14.gün iltihap dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p=0,001$). CO₂ grubunda iltihap dağılımının deneklerin %77,8'inde %0 - %5 düzeyinde olduğu, nitrojen grubunda ise deneklerin %66,7'sinde >%60 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,003$). Nitrojen grubunda iltihap dağılımının deneklerin %66,7'sinde >%60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin %88,9'unda %0 - %5 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,0006$). CO₂ grubu ile kontrol grubu arasında 14.günde iltihap dağılımında anlamlı bir fark bulunmamıştır($p=0,586$).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 21.gün iltihap dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p=0,001$). CO₂ grubunda iltihap dağılımının deneklerin %44,4'ünde %5 - %30 düzeyinde olduğu, nitrojen grubunda ise deneklerin %88,9'unda >%60 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,03$). Nitrojen grubunda iltihap dağılımının deneklerin %88,9'unda >%60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin %66,7'sinde %0 - %5 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,001$). CO₂ grubu ile kontrol grubu arasında 21.günde iltihap dağılımında anlamlı bir fark bulunmamıştır($p=0,08$).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 28.gün iltihap dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p=0,0001$). CO₂ grubunda iltihap dağılımının deneklerin tümünde %0 - %5 düzeyinde olduğu, nitrojen grubunda ise deneklerin %66,7'sinde %30 - %60 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel

olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,0004$). Nitrojen grubunda iltihap dağılımının deneklerin %66,7'sinde %30 - %60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin %88,9'unda %0 - %5 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,0007$). CO₂ grubu ile kontrol grubu arasında 28.günde iltihap dağılımında anlamlı bir fark bulunmamıştır($p=0,303$).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 45.gün iltihap dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p=0,0001$). CO₂ grubunda iltihap dağılımının deneklerin %77,8'inde %0 - %5 düzeyinde olduğu, nitrojen grubunda ise deneklerin %55,6'sında %5 - %30 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,0023$). Nitrojen grubunda iltihap dağılımının deneklerin %55,6'sında %5 - %30 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin tümünün %0 - %5 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,0007$). CO₂ grubu ile kontrol grubu arasında 45.günde iltihap dağılımında anlamlı bir fark bulunmamıştır($p=0,13$).

CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 60.gün iltihap dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p=0,001$). CO₂ grubunda iltihap dağılımının deneklerin %66,7'sinde %5 - %30 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin tümünün %0 - %5 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,0024$). Nitrojen grubunda iltihap dağılımının deneklerin %66,7'sinde %5 - %30 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin tümünün %0 - %5 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,0007$). CO₂ grubu ile nitrojen grubu arasında 14.günde iltihap dağılımında anlamlı bir fark bulunmamıştır($p=0,721$).

CO₂ grubunda deneklerin iltihap dağılımında 3. gün ile 14. günler arasında($p=0,001$), 3. gün ile 21. günler arasında($p=0,01$), 3 gün ile 28. günler arasında($p=0,0001$), 3.gün ile 45. günler arasında($p=0,001$), 3. gün ile 60. günler arasında($p=0,002$), 7.gün ile 14.günler arasında($p=0,012$), 7.gün ile 28.günler arasında($p=0,001$), 7.gün ile 45.günler arasında($p=0,016$), 7.gün ile 60.günler arasında($p=0,02$), 14.gün ile 28. gün arasında($p=0,0001$), 14.gün ile 45.günler arasında($p=0,002$), 21.gün ile 28.günler arasında($p=0,002$), 21.gün ile 45.günler arasında($p=0,015$), 28.gün ile 60.günler arasında($p=0,002$) ve 45.gün ile 60.günler arasında($p=0,008$) istatistiksel olarak anlamlılık bulunurken, 3.gün ile 7.günler arasında($p=0,325$), 7.gün ile 21.günler arasında($p=0,08$), 14.gün ile 21.günler

arasında($p=0,478$), 14.gün ile 60.günler arasında($p=0,734$), 21.gün ile 60.günler arasında($p=0,785$), 28.gün ile 45.günler arasında($p=0,134$) istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır.

Nitrojen grubunda deneklerin iltihap dağılımında 3. gün ile 14. günler arasında($p=0,03$), 3. gün ile 21. günler arasında($p=0,026$), 7.gün ile 14.günler arasında($p=0,002$), 7.gün ile 21.günler arasında($p=0,001$), 7.gün ile 28.günler arasında($p=0,039$), 14.gün ile 28. gün arasında($p=0,037$), 14.gün ile 45.günler arasında($p=0,019$), 14.gün ile 60.günler arasında ($p=0,004$), 21.gün ile 28.günler arasında($p=0,004$), 21.gün ile 45.günler arasında($p=0,026$), 21.gün ile 60.günler arasında($p=0,002$) ve 28.gün ile 45.günler arasında($p=0,026$) istatistiksel olarak anlamlılık bulunurken, 3.gün ile 7.günler arasında($p=0,228$), 3.gün ile 28.günler arasında($p=0,053$), 3.gün ile 45.günler arasında($p=0,572$), 3.gün ile 60.günler arasında($p=0,219$), 7.gün ile 45.günler arasında($p=0,228$), 7.gün ile 60.günler arasında($p=0,815$), 14.gün ile 21. günler arasında($p=0,257$), 28. gün ile 60.günler arasında($p=0,112$), 45.gün ile 60.günler arasında($p=0,165$) istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır.

Kontrol grubunda deneklerin iltihap dağılımında 3. gün ile 14. günler arasında($p=0,046$), 3. gün ile 21. günler arasında($p=0,009$), 3.gün ile 28.günler arasında($p=0,001$), 3.gün ile 45.günler arasında($p=0,0001$), 3.gün ile 60.günler arasında($p=0,0001$), 7.gün ile 21. günler arasında($p=0,011$), 7.gün ile 28.günler arasında($p=0,001$), 7.gün ile 45.günler arasında ($p=0,0001$), 7.gün ile 60.günler arasında($p=0,0001$), 14.gün ile 21.günler arasında($p=0,008$), 14.gün ile 28.günler arasında($p=0,001$), 14.gün ile 45.günler arasında($p=0,00001$), 14.gün ile 60.günler arasında($p=0,0001$) ve 21.gün ile 45.günler arasında($p=0,0165$) istatistiksel olarak anlamlılık bulunurken, 3.gün ile 7.günler arasında($p=0,343$), 7.gün ile 14.günler arasında($p=0,257$), 21.gün ile 28.günler arasında($p=0,445$), 21.gün ile 60.günler arasında($p=0,165$), 28.gün ile 45.günler arasında($p=0,303$), 28.gün ile 60.günler arasında($p=0,303$) istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır.

Karbondioksit, nitrojen ve kontrol gruplarında sakrifikasyon günlerine kadar kırık dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Karbondioksit, nitrojen ve kontrol gruplarında sakrifikasyon günlerinde kadar primer yara kapanmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

5. TARTIŞMA

Tıp dünyasında gerçekleştirilen deneysel çalışmalarda hayvan modelleri büyük önem taşır. Stevenon ve ark. hayvan modellerinin seçiminde, çalışmanın gerektirdiği koşullara uygunluk ve konuyla ilgili yeterli kaynak bulunmasının belirleyici etkenler olduklarını bildirmişlerdir(175). Bu çalışmadaki hayvan modelinin seçiminde şu temel hususlar dikkate alınmıştır:

- Yeterli sayıda ve deney koşullarına uygun nitelikte denek elde edilebilmesi
- Çalışılacak bölgede deneklerin yaşamsal önem taşıyan yapılarının olmaması
- Cerrahi yöntem açısından kolay çalışılabilmesi
- Planlanan ölçüm parametrelerinin basit ve hassas bir şekilde uygulanabilir olması
- Deneklerin genel fizyoloji ve dokularının iyileşmesi hakkında yeterli kaynak bulunması

Kemik bütünlüğünü bozan etkenlerin başında benign ve malign kemik lezyonları ile travmalar gelir. Benign kemik lezyonlarının tedavisi intralezyonel cerrahi iken malign lezyonların tedavisinde marjinal rezeksiyon tercih edilir. Bu tedavilerin amacı lezyonun lokal kontrolünün sağlanması, bu sağlanırken de fonksiyon ve estetiğin korunmasıdır(110).

Lewandrowski ve ark. 2000 yılında yaptıkları bir çalışmada başta travma cerrahisi ve tümör rezeksiyonları olmak üzere, dünyada yılda yaklaşık 2.2 milyon cerrahi girişimde farklı tipte kemik greftleri kullanıldığını ve en çok otojen kemik greftlerinin tercih edildiğini bildirmişlerdir(118).

Vaccaro ve ark. ise otojen kemik greftlerinin osteojenik potensiyellerinin yüksek olmasına rağmen elde edilen miktarlarının yetersiz olması, greft alınan bölgenin morbiditesi gibi klinik sorunlar nedeniyle yapay greft materyallerine gereksinim duyulduğunu belirtmişlerdir(182). Allogreftler ve ksenogreftler, immunolojik red, infeksiyöz hastalıkların transmisyonu ve erken rezorpsiyona uğramaları nedeni ile sınırlı olarak kullanılmıştır. Peptidlerle desteklenmiş greftler (bone morfojenik proteinler, BMP), demineralize kemik tozları ise miktar olarak çoğu zaman yeterli olmamıştır. Biouyumlu kemik materyallerinin ise infeksiyona yatkınlıkları ve osteoindüktif etkilerinin yetersizliği neticesinde tedavinin başarısını olumsuz yönde etkiledikleri bildirilmiştir (175).

Geniş kemik defektlerinin tedavisinde altın standart olarak tanımlanan, verici bölgeden alınıp defekt bölgesine yerleştirilen otojen greft materyalleri kullanılmıştır(45). Verici bölgenin morbiditesi ve alınan materyalin sınırlı miktarda olması araştırmacıları bu tedavinin alternatifini bulmaya yönlendirmiştir(184).

Ralph C. Marcove 1968 yılında primer ve metastatik kemik tümörlerinin tedavisi için ortopedide kriyoterapiyi kullanmaya başlamıştır(111,156,193). Daha sonraları kemik tümörleri ile uğraşan birçok uzman bu alanda değişik çalışmalar yapmış ve teknikler geliştirmiştir. Bu uygulamaların amacı destek kemik dokusunun maksimum düzeyde korunması ve operasyon sonrasında uygulanacak olan plastik cerrahi sınırlarının minimuma indirmek olmuştur(110). Benign ve düşük gradlı tümörlerde, hatta sekonder kemik metastazlarının tedavisinde küretaja ilave olarak bu sınırların genişletilmesinde ek tedavi protokolleri uygulanmıştır. Protokollerin ortak amacı lezyon etrafında kalmış olan epitel artıklarının elimine edilmesi olmuştur. Bu amaçla yıllar içinde sistemik olarak kemoterapi ve radyoterapi, lokal olarak fenol, polimetilmetakrilat, Carnoy solüsyonu gibi kimyasal ajanlar ve kriyoterapi ek tedavi protokolleri olarak uygulanmıştır(61,116,110).

Kemoterapi ve radyasyonun özellikle mitotik olarak aktif hücreler üzerine etkili olduğu, benign kemik tümörleri üzerine etkilerinin neredeyse olmadığı ve yan etkilerinden dolayı uygun olmadıkları belirtilmiştir. Benign

kemik tümörleri radyoterapi ile tedavi edilebilselerde özellikle cerrahi olarak zor ulaşılabilen ve sonrasında radyoterapi uygulanan bölgelerde metastaz ihtimali bulunduğu bildirilmiştir(111).

Fenolün selektif olmayan sitotoksik bir ajan olduğu ve kürete edilmiş kemik tümörü yüzeyine direkt olarak uygulandığında doku hücrelerini protein denatürasyonu sonucunda öldürdüğü görülmüştür(54). Çalışmalar sonucu kemik dokusu penetrasyon derinliğinin yaklaşık 1 mm olduğu bildirilmiştir(61). Benign kemik tümörlerinin küretajından sonra ek olarak fenol uygulanmasını takiben lezyonların tekrarlama oranları konusunda kesin bir fikir birliği oluşmamıştır.

Schiller ve ark. 1989 yılında lokal fenol uygulamış malign olmayan kemik lezyonlarında rezidiv oranını % 9.7 olarak bildirirken(166), Trieb ve ark. 2001 yılında dev hücreli granülomu olan 40 hasta üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında fenol uygulanmış ve uygulanmamış olguların rezidiv oranında anlamlı bir farklılık bulamamışlar, tümör dokusunun tamamen çıkartılmasının daha etkili olacağını düşünmüşlerdir(128)

Lokal fenol uygulamalarının güvenilirliği de değerlendirilmiştir. Lokal fenol uygulamalarında %5 ile %7 oranında değişen farklı konsantrasyonlar bildirilmiştir, daha yüksek konsantrasyonlarda fenolün kalp, böbrek ve karaciğer üzerine olan potansiyel toksik etkilerinin görülmüştür(154).

Polimetilmetakrilat kullanımının sebebi polimerizasyon sonucu oluşan ısı ve içinde bulunan monomerin tümorisidal etkileri olmuştur. Çeşitli çalışmalarda sitotoksik etki için minimal 50°C'lik bir ısının gerekli olduğu bildirilmiş, materyalin kendi içinde oluşan ısının yeteri kadar fazla ama polimetilmetakrilat ile kansellöz kemik arayüzündeki ısının ise çok daha az olduğunu görülmüştür(123,124). Polimetilmetakrilat sonucu ortaya çıkan ısının maksimum kemik penetrasyonu kansellöz kemikte 2.5mm olabilirken kortikal kemikte sadece 0.5 mm olarak bulunmuştur(110).

Carnoy solusyonu, 6mL saf alkol, 3 mL kloroform, 1 mL glasiyal asetik asit ve 1g ferik kloritten oluşan bir doku fiksatifidir. İnorganik matriksi denatüre ettiği ve kemik dokusunun hem osteojenik hem de osteokondüktif özelliklerini bozduğu bildirilmiştir(157). Yaklaşık 1 mm'lik kemik penetrasyon derinliği olduğu görülmüştür (111).

Bahsedilen bu tür tedavilerin yanında kriyoterapinin uygulama sonrasında kemik dokusunda kalan inorganik yapının osteokondüktif bir çatı oluşturması, sistemik herhangi bir yan etkisinin olmaması, hasta ve hekim için toksik olmaması, etkili olması ve bunlardan daha önemlisi dozunun ayarlanabilmesi, ve böylelikle çeşitli tipteki ve lokalizasyondaki kemik tümörleri için özelleştirilebilir olması gibi önemli avantajları bildirilmiştir(49,88). Ayrıca yapılan çalışmalarda görülen aseptik kemik nekrozu alanının kullanılan kriyojen maddeye bağlı olarak 7 -12 mm' ye kadar çıkabildiği ve bunun da yeterli bir nekroz alanı olduğu bildirilmiştir(111). Çalışmamızda özellikle kriyoterapiyi tercih etmemizin sebebi oral cerrahide rezidiv oranı yüksek lokal agresif lezyonlarda ek bir tedavi protokolü olarak kullanılabilirliğini değerlendirmektir.

Araştırmacılar dokuları soğutarak nekroze etmenin en iyi yolunun tekrarlayan seanslar halinde uygulanan hızlı soğutma ve yavaş ısınma olduğunu ve hızlı soğutma için ;

- Yeterli soğutma kapasitesi olan ve aynı zamanda yeterli miktarlarda bulunabilen lezyon için uygun kriyojen madde
- Güvenilir, toksik olmayan, yanmayan, saklanması ve taşınması kolay olan ve ucuz bir kriyojen madde
- Lezyon ve kriyojen madde arasında hızlı ısı transferine yardımcı olabilecek mümkün olduğu kadar fazla kontakt yüzeyi'

nin gerekli olduğu belirtilmiştir(60,113).

Günümüzde kullanılan kriyojen maddeler florokarbon spreyleri (özel olarak üretilmiş -30 °C ve -60 °C), karbondioksit gazı (-79°C), nitroz oksit (-89°C), argon(-186°C) ve sıvı azot(-196°C) en çok kullanılan kriyojen maddelerdir(92,23,104,111). Kriyojen maddenin seçimi her hastalık için farklı olmalıdır. Özellikle kanser olgularında yeterli soğukluklara ulaşmak için en soğuk olan kriyojen madde kullanılmalıdır. Sıvı nitrojen -190°C' lere kadar donma sağlayabilir. Nitroz oksit veya argon gibi Joule-Thomson tekniğini kullanan kriyojenlerin çok çabuk soğumaya neden oldukları ama yeterli soğukluğa ve yeterli donmuş doku hacmine yol açamadıkları görülmüştür(112).

Bunlar arasında günümüzde klinik çalışmalarda en çok tercih edilen kriyojen maddeler olmaları sebebiyle ve haklarında çok fazla sayıda deneysel çalışma olmamasından dolayı çalışmamızda sıvı nitrojen ve karbokdioksit gazını tercih ettik.

Kriyoterapi uygulamalarında açık ve kapalı sistem olarak iki ayrı teknik bildirilmiştir. Bu iki tekniğinde amacı kriyojen madde ile tümör kavitesinin dış yüzeyi arasında en yakın temasın sağlanması olmuştur. Bu nedenle açık teknik, kapalı prob tekniğine oranla daha efektiftir. Ama doku kontürlerine dikkatlice uygulanmış bir probunda oldukça tatminkar sonuçlar verebileceği belirtilmiştir(150,151). Bir başka teknikte lezyon boşluğunu, ısıyı dokulara aktaracak suda çözünebilen bir iletken ile doldurup probu daha sonra bölgeye uygulamaktır. Böylelikle iletken önce donacak ve mükemmel uyumlu bir prob elde edileceği görülmüştür. Bu iki yöntemden birini seçerken özellikle tümör dokusunun şekli ve boyutları belirleyici faktörler olmuştur(20). Çoğu kemik lezyonunun küretajı sonucunda büyük ve düzensiz sınırlara sahip bir kavite ile karşılaşılır ve bu durumda açık teknik seçimi uygun olacağı, sprej tekniğinin ise dökme tekniğinin anatomik koşullar nedeniyle uygulanamadığı durumlarda rahatlıkla kullanılabilceği bildirilmiştir. Problar, küçük ve düzenli lezyonlarda kullanıldıklarında ise iyi sonuçlar alınmıştır(111). Bizde çalışmamızda özellikle daha düşük ısılara ulaşılabilceği için sıvı nitrojeni, oluşturduğumuz kemik defektinin küçük ve sınırları düzenli olmasından dolayı defekte uyumunun neredeyse tam olduğu karbokdioksit gazı kullanan problu kapalı sistemi tercih ettik.

Bir probun soğutma kapasitesinin ısı tranferinin oluşacağı yüzey alanına, probun ısı iletkenliğine ve uç kısmındaki ısıya bağlı olduğu bildirilmiştir. 3-4 mm'lik sıvı nitrojen kullanan bir probun 50°C/dakika'lık bir soğutma oranı ile -175°C'lere ulaşabilip 20 dakika içinde 4 cm'lik, 8 mm'lik sıvı nitrojen kullanan bir probun da 100°C/dakikalık bir soğutma oranı ile -190°C'lere ulaşabilip 20 dakika içerisinde 7 cm çapında donmuş bir doku oluşturabileceği gösterilmiştir(9,37). Doku iletkenliğinin ise çoğunlukla göz ardı edilebileceği, bunun sebebinde çoğu hücrenin yüksek oranda su içermesi ve bu hücrelerinde suyun ısı iletkenliği ile benzer iletkenliklere sahip olduğu gösterilmiştir. Yağ

hücreleri çok az su içerdiklerinden akciğerlerde da hava bulunduğundan iletkenlikleri iyi olmayan dokular olarak bildirilmiştir(117). Isı iletkenlikleri kötü olan bu iki doku haricinde doku iletkenliğinin, kullanılan aletlerin soğutma kapasitelerinin yeterli olmasından dolayı pratikte çok etkili olmadığı görülmüştür.

Erimenin hemen ardından kemik dokusu normal bir doku görüntüsüne sahiptir ve hasarın boyutları bu görünüşten kesinlikle tahmin edilemez. Kriyojenik lezyonun merkezi tamamen nekrotiktir. Merkezin yaklaşık 2-5 mm etrafında ise kısmen hasara uğramış dokular bulunur(91). Günümüzde ultrasonla yapılan çalışmalar sonucunda, görülen nekrotik doku miktarının, dondurulan dokudan her zaman daha küçük olduğu bildirilmiştir(181). Perifer kısımda hem ölü hem de canlı hücrelerin olduğu, bu sınırdaki hücrelerin intrasellüler donmaya neden olacak kadar soğüğün erişemediği bölgede bulunduğu görülmüştür. Ayrıca bu bölgedeki osmotik ve hipotermik etkilerin uniform bir hücre ölümü için yeterli olmadığı bildirilmiştir ama bu alanlarda daha sonra apoptosisler görülmüştür(18,29,180).

Nage ve ark. sıvı nitrojen ile yaptıkları deneylerinde hamsterların kültüre edilen hücreleri üzerinde yaptıkları çalışmalarında hücrelerin kriyoterapiden günler sonra da ölebileceği görmüşler, bunun sebebinde apoptosis olduğunu bildirmişlerdir(138). Bizde çalışmamızda 7 ve 14 günlük hem sıvı nitrojen hem de karbondioksit gazı kullanılan gruplarda özellikle aseptik nekrotik alanın bittiği alanlarda apoptosise uğrayan hücreler gördük.

1960'lı yıllarda Cooper ve ark. dokularda nekroz yaratmak için sıcaklığın yaklaşık 1 dakika – 20°C' de tutulmasının yeterli olacağını bildirmiştir(45). Cooper bu sonuca kendi yapmış olduğu deneysel çalışmalar ve o güne kadar topladığı veriler ile ulaşmıştır. O dönemde bu bilgiyi destekleyecek herhangi bir in vivo çalışmada olmadığı için de daha sonraki birkaç yıl içinde literatürlerde – 20°C' nin, hücreler için öldürücü etkiye sahip olduğu kabul edilmiş ve bu sıcaklığa ulaşılmaya çalışılmıştır. 1960'lı yılların ortalarına doğru kriyoterapinin temelleri olan hızlı dondurma, yavaş erime ve bu donma-erime döngüsünün tekrarlanması bildirilmiştir(187). O zamandan bugüne kriyoterapinin etki mekanizması birçok çalışmanın temel konusu olmuştur(133,134).

Kriyoterapide, dolaşımın kaybı ve hücrel iskeminin, dokularda hasar meydana getiren temel mekanizma olduğu düşünülür. İn vivo yapılan çalışmalarda donmuş olan dokunun ısınması esnasında mikrodolaşımında hızlı bir biçimde staz gelişir(65). Mikrodolaşımındaki bu değişimler mesenter veya yanak mukozası gibi ince ve ışık geçirgenliği olan dokularda incelenmiştir. Hamster yanak mukozası, sıçan karaciğeri ve guinea domuzları gibi farklı dokularda yapılan çalışmalarda vasküler değişikliklerin -20°C 'lerde ortaya çıktığı bildirilmiştir(19,24,26,106).

Dokularda ilk tepki vazokonstriksiyon ve kan akımında bir azalmadır. Doku ısındıkça ve ısı 0°C üzerine çıktıkça dolaşım geri gelir ama damarlar vazodilatasyona uğrar. Birkaç dakika içerisinde artmış vasküler geçirgenlik ve birkaç saatte de ödem görülür. 30-45 dakika içerisinde kapiller damarların geçirgenliğinde artma, ödem, trombosit agregasyonu, mikrotrombus formasyonu ve sonuç olarak dolaşımında durma bildirilmiştir(155). Küçük damarlarda yaklaşık 4 saat daha büyük damarlarda bu duruma yaklaşık 24 saat içinde ulaşılmıştır. Kan akımının durması, dokunun donan bölümünün periferi hariç hücrelerin yaşama şansını ortadan kaldırır ve tek biçimli(uniform) bir nekroza neden olduğu gösterilmiştir(56). Bizde çalışmamızda 3 günlük ve 7 günlük günlük gruplarımızda sıvı nitrojen grubunda daha belirgin olmak üzere karbondioksit grubunda da vasküler yapılarda staz ve kazeifikasyon nekrozları gördük.

Kriyoterapide amaç özellikle neoplazmalarda tümör hücreleri için ölümcül olan soğukluk derecelerine ulaşmaktır. Kritik değerler -5°C ve -50°C arasında değişmektedir(176,190,191).

Cooper ise daha sonra buna dayanarak nekroz yaratmak için -20°C ' de 1 dakikalık sürenin yeterli olacağını savunmuştur(45). Ama tüm bu verilere kanser hücrelerinden ziyade soğumaya daha dirençli olan normal hücrelerle yapılan çalışmalar sonucu varılmıştır. Kas hücreleri ve melanositler soğuğa çok hassasken keratinin daha dayanıklı olduğu görülmüştür. Daha sonraki yıllarda deri ve mukozada nekroz oluşturmak için tek ve kısa süreli dondurma işleminin vaskülarizasyona etkilerini araştırmak için bir çok deneysel çalışmalar yapılmıştır(106).

Yavaş erime hasar mekanizmasında başlıca doku hasarına neden olan etkendir. Erime süresi hızlı olmamalıdır. Hızlı erimenin, hücrelerin canlılıklarını korumalarına neden olduğu vurgulanmıştır. Yavaş erime sonucunda buz kristallerinin maksimal büyümesi ve artmış çözünmüş maddelerin etkileri ile hücreler üzerine hasarın en fazla olduğu yapılan çalışmalarda görülmüştür(132). Büyük kristal yapıların abrasiv etkilerinin olduğu ve hücreler üzerinde böylelikle mekanik bir bozulmaya neden olduğu bildirilmiştir. Kristal büyümesinin özellikle -20°C ila -25°C olmak üzere 0°C ile -40°C arasında en fazla olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir(1,2,3,4). Ayrıca hızlı soğumadan çok yavaş erimenin hücre ölümünde daha etkili olduğu vurgulanmıştır(52). Bizde çalışmamızda dokuların kendi kendine erimesini bekleyerek etkinin en üst seviyede olmasını amaçladık.

Kriyoterapi ile ilgili ilk bildirilerde tekrarlayan dondurma-erime döngülerinin önemine değinilmiştir. Tekrarlayan döngüler sonucunda hücrelerin yıkıcı fiziksel ve kimyasal etkilerle daha fazla ve kesin bir hasara maruz kaldıkları vurgulanmıştır. Her başarılı döngüde doku soğumasının daha hızlı, soğuyan doku miktarının daha fazla ve hasara uğrayan doku miktarının periferde daha da yaklaştığı, bunun da sebebinin ikinci döngüde oluşan buz kristallerinin daha büyük olması olduğu bildirilmiştir. Ayrıca ikinci döngüdeki ısı iletimindeki artıştan ilk döngü sonucu görülen hücre membranlarının ve içeriğinin yıkımı sorumlu tutulmuştur(187). Bu döngülerin tekrarlanmasının oluşacak nekroz miktarını belirgin oranda arttıracacağı ve hatta daha önce dondurulan dokunun %80'ini kapsayacağı düşünülmüştür(158). Biz çalışmamızda tekrarlayan 1 dakikalık iki adet soğuma-erime döngüsü kullandık.

Kemik dokusunda kriyoterapi uyguladığında defekt bölgesinde buz kristallerinin görüldüğü bildirilmiş, erimenin ardından ise kemiğin normal görüntüsüne döndüğü vurgulanmıştır(93,94,96). Bizde çalışmamızda sıvı nitrojen uygulanan grupta daha belirgin olmak üzere her iki deney grubunda da buz kristalleri gördük.

Daha sonra yapılan histopatolojik incelemelerde kortikal kemikte kriyoterapinin ilk belirtileri birinci haftanın sonuna doğru görülür.Biz 3 günlük

grubumuzda sıvı nitrojen grubu ağırlıklı olmak üzere her iki grupta nekroz odakları gördük. Osteositler kaybolmaya başlamışlardı. 3 günlük grupta sıvı nitrojende daha fazla olmak üzere büyük ve trombose olmuş damarlar gördük. Bu şekilde dolaşımın bozulmaya başladığını düşündük. 7 günlük grubumuzda donmuş olan kemik yüzeyinden her iki grupta periostun kalktığını gördük. Nekroz alanları çok daha belirgin hale gelmişti. CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 7.gün nekroz dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir (p=0,0001). CO₂ grubunda nekroz dağılımının deneklerin %55,6'sında %5 - %30 düzeyinde olduğu, nitrojen grubunda ise deneklerin tümünde >%60 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p=0,0007). CO₂ grubunda nekroz dağılımının deneklerin hiçbirinde %0 - %5 düzeyinde iken, kontrol grubunda deneklerin %44,4'ünde %0 - %5 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p=0,04). Nitrojen grubunda nekroz dağılımının deneklerin tümünde >%60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin %55,6'sında %5 - %30 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p=0,0001). Bunun mikrodolaşımın bozulmasından kaynaklandığını düşündük. Apoptosise uğrayan hücreler perifer kısımda soğutmanın etkilerinin görülmeye başladığını düşünmemize yol açtı. Kemik iliğinde büyük bir yıkım vardı. 14. günde sıvı nitrojen grubunda abse odakları gözlemledik. Bu grupta ayrıca primer doku kapanmasında problemler yaşadık. Bunun sıvı nitrojenin yumuşak dokulardaki yıkıcı etkisinden olduğunu düşünmekteyiz. Aynı duruma karbondioksit grubunda bazı deneklerde rastladık. Ama ikisi arasında anlamlı bir fark bulamadık. CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 14.gün iltihap dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir (p=0,001). CO₂ grubunda iltihap dağılımının deneklerin %77,8'inde %0 - %5 düzeyinde olduğu, nitrojen grubunda ise deneklerin %66,7'sinde >%60 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p=0,003). Nitrojen grubunda iltihap dağılımının deneklerin %66,7'sinde >%60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunda ise deneklerin %88,9'unda %0 - %5 düzeyinde olduğu gözlenmiş ve bu dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p=0,0006). CO₂ grubu ile kontrol grubu arasında 14.günde iltihap dağılımında

anlamli bir fark bulunmamıştır($p=0,586$). 21 günde kontrol grubundaki defekt %70 oranında kapanırken karbondioksit grubunda ve sıvı nitrojen grubunda bu oran anlamli olarak daha az idi. Distal kısımdan “creeping substitution” prensibine göre yeni kemik yapımı görölmekteydi. 28. günde sıvı nitrojen grubundaki nekrotik alanlar artık yerine damardan zengin bağ dokusu göröldü. Karbondioksit grubunda ise trabeküler kemik köprüsü artık oluşmaktaydı. CO₂, nitrojen ve kontrol gruplarının 28.gün yeni kemik oluşumu dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p=0,0001$). CO₂ grubunda yeni kemik oluşumunun deneklerin tümünde >%60 düzeyinde olduğu, nitrojen grubunda ise %88,9’unun %30 - %60 düzeyinde olduğu gözlenmiş, bu dağılımın istatistiksel olarak anlamli olduğu bulunmuştur ($p=0,0001$). Nitrojen grubunun yeni kemik oluşumunun deneklerin %88,9’unda %30 - %60 düzeyinde olduğu, kontrol grubunun ise tümünün > %60 düzeyinde olduğu gözlenmiş, bu dağılımın istatistiksel olarak anlamli olduğu bulunmuştur ($p=0,0001$). CO₂ ve kontrol grubunun yeni kemik yapımı dağılımı aynı bulunmuştur. 45. günde karbondioksit grubunda lameller kemik oluşumu görölürken, sıvı nitrojen grubunda defekt bölgesinin hem proksimalinde hem de distalinde trabeküler kemik defekti sınırlandırmakta idi. 60 günde kabondioksit grubu ve kontrol grubunda defektler lameller kemik ile kapanmışken sıvı nitrojen grubunda defektin daha sonra organize olacak bağ dokusu ile dolduğu göröldü.

Schargus ve ark. 1975 yılında tavşanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında sıvı nitrojenin kemik iyileşmesi üzerine etkilerini araştırmışlardır(165). Açık metod uygulayarak sıvı nitrojenin kemik ile teması sağlanmış ve iyileşme histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. 1. haftanın sonunda geniş nekrozlar görölmüş ve tam iyileşmenin üç ayı bulduğu bildirilmiştir. Biz de çalışmamızda ikinci ayın sonunda karbondioksit grubunda tamamen bir iyileşme, sıvı nitrojen grubunda da tüm deneklerde %60’dan daha fazla bir iyileşme gördük.

Kuylenstierna ve ark. 1980 yılında tavşanlarda sıvı nitrojen kullanarak yapmış oldukları deneysel çalışmalarında mandibuladaki dolaşımı incelemişlerdir(141). Deneklerin mandibulalarının sol tarafına sıvı nitrojen uygulanmış, sağ taraf ise kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. 48 saat sonra sakrifiye edilen deneklerin tamamında sıvı nitrojen uygulanan alanlarda

dolaşımın tamamen durduğu bildirilmiştir. Bizde çalışmamızda 3. günlük deney gruplarımızda trombose olmuş damarlar gördük. 7. günde ise bu alanlar tamamen nekroze olmuşlardı.

Pogrel ve ark. 2002 yılında minipigler üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında mandibulanın sağ ve sol taraflarında 3 cmlik defektler yaratıp sol defekt bölgesine sıvı nitrojen uygulamışlardır. Denekler 3.gün ve 90.günlerde sakrifiye edilmişlerdir. 3 günlük grupta sıvı nitrojen uygulanan alanlarda geniş nekrozlar görülmüştür. 90. günün sonunda defekt bölgesinde henüz tam bir iyileşme görülmemiştir(148).

Kriyoterapide dikkat edilmesi gereken bir başka konuda doku nekrozunun boyutlarının tespiti. Maksillofasiyal bölgedeki rezidiv olasılığı yüksek patolojik oluşumlarda, epitel artıklarının ve hücrelerin ana lezyonun hemen yanında olduğu, enükleasyon ve agresiv küretaj sonrasında uygulanan kriyoterapi ile 2 – 3 mm'lik canlı kemiğin yıkımı yeterli olacağı bildirilmiştir(111). Biz de çalışmamızda bu yıkıma çok kolaylıkla ulaşan sıvı nitrojen ve karbondioksit gazı ile tekrarlayan iki soğuma-erime döngüsünü tercih ettik.

Sıvı nitrojen sprey veya bir huni yardımı ile tümör kavitesine döküldüğünde erime ısısı -196°C olduğundan oda sıcaklığında gaz kabarcıkları hızlıca oluşur. Genel olarak bir gaz vücutta herhangi bir boşlukta oluştuğunda özellikle basınçlı ortamlarda intravasküler yapılarla teması sonucunda emboli ve bunu takip eden hemodinamik komplikasyonlar görülebilir(50).

Dwyer ve ark. bir anda artan sıvı nitrojen basıncı sonucunda gaz embolisi yaşadıklarını ama bunun herhangi bir hemodinamik sonuca neden olmadığını bildirmişlerdir(62).

Schreuder ve ark. bozulmuş pulmoner dolaşımı bildirmişler kriyoterapi uygulamasının bitiminden hemen sonrada bu tarz belirtilerin kaybolduğunu belirtmişlerdir(168). Kriyojen maddeyi uygular uygulamaz hızlıca meydana geldiği içinde venöz gaz embolizmi olduğunu düşünmüşlerdir.

Sıvı nitrojen spreyinin ikinci veya üçüncü uygulamasında yüzey alanı zaten oldukça soğuk hale geldiği için daha sonraki uygulamalarda buharlaşma çok fazla olmamaktadır. Hatta kemik iliği artan sıvı nitrojeni içindeki küçük

trabeküler alanlara çeker ve hapseder. Erime esnasında bu hapsolmuş nitrojen erir ve buharlaşıp büyük alanlarda ciddi basınçlara neden olur. Bu koşullar altında sıvı veya gaz halindeki nitrojenin venöz dolaşıma itilme ihtimali vardır. Özellikle damardan zengin alanlardaki uygulamalarda kemik giriş kavitesinin ağzı kesinlikle kapatılmamalıdır(111). Meydana getirdiğimiz kemik defektinin küçük olması nedeniyle hapsolmuş sıvı nitrojen miktarının az olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda, deneklerde uygulama sonrasında herhangi bir embolizasyon sonucu ölüme rastlamadık.

Kriyoterapi klinik uygulamalarda en çok keratokistlerde, ameloblastomalarda, dev hücreli granulomalarda, anevrizmal kemik kistlerinde, kondroblastomalarda, fibröz displazilerde, eozinofilik granülomalarda, enkondromlarda, miksomalarda ve bazı fibroosöz lezyonlarda kullanılmıştır(30,40,96,100,108,124,127,148,170,183,186,187,188,191).

Anevrizmal kemik kisti nedeni tam bilinmeyen kemiğin nadir görülen benign bir lezyonudur. Tedavi prensipleri küretaj, küretaj ve radyoterapi, küretaj ve kriyoterapi ve marjinal rezeksiyondur(111).

Campanacci ve ark.1988 yılında anevrizmal kemik kistinin tedavisi üzerine yapmış oldukları çalışmalarında 15 olguda küretaj ve radyoterapi, 47 olguda marjinal rezeksiyon, 91 olguda da sadece küretaj ve kemik grefti uygulaması yapmışlardır. Olguların yaklaşık 84 aylık takipleri sonucunda küretaj ve radyoterapi uygulanan olguların 3'ünde, marjinal rezeksiyon yapılan olguların hiçbirinde, sadece küretaj ve kemik grefti uygulanan lezyonlarında 19'unda rezidiv görülmüştür(40).

Ruiter ve ark. anevrizmal kemik kistinin tedavisi üzerine yapmış oldukları çalışmalarında 2 olguda küretaj ve radyoterapi, 17 olguda marjinal rezeksiyon, 82 olguda da sadece küretaj ve kemik grefti uygulaması yapmışlardır. Olguların yaklaşık 24 aylık takipleri sonucunda küretaj ve radyoterapi uygulanan olguların hiçbirinde, marjinal rezeksiyon yapılan olguların 4'ünde, sadece küretaj ve kemik grefti uygulanan lezyonlarında 28'inde rezidiv görülmüştür(156).

Vergel De Dios ve ark. 1992 yılında anevrizmal kemik kistinin tedavisi üzerine yapmış oldukları çalışmalarında 12 olguda küretaj ve radyoterapi, 124

olguda küretaj ve kemik grefti uygulaması yapmışlar, olguların yaklaşık 47 aylık takip sonucunda küretaj ve radyoterapi uyguladıkları olguların 2'sinde, küretaj ve kemik grefti uyguladıkları 27 olguda da rezidiv görmüşlerdir(185).

Marcove ve ark. 1995 yılında anevrizmal kemik kistinin tedavisi üzerine yapmış oldukları çalışmalarında 11 olguda küretaj ve radyoterapi, 44 olguda sadece küretaj ve kemik grefti uygulaması, 51 olguda da küretaj ve kriyoterapi uygulamışlardır. Olguların yaklaşık 85 aylık takipleri sonucunda küretaj ve radyoterapi uygulanan olguların 1'inde, küretaj ve kemik grefti uygulanan olguların 26'sında, küretaj ve kriyoterapi uygulanan lezyonların 9'unda rezidiv görülmüştür.(128).

Schreuder ve ark. 1997 yılında anevrizmal kemik kistinin tedavisi üzerine yapmış oldukları çalışmalarında 27 olguda küretajı takiben kriyoterapi uygulamışlar ve ortalama 47 aylık takip sonucunda 1 olguda rezidiv görmüşlerdir(169).

Anevrizmal kemik kistlerinin sadece küretaj ve kemik grefti uygulaması sonucunda rezidiv oranı %30.8 gibi yüksek bir oranda iken küretaj ve kriyoterapi uygulanan olgularda bu oran %12.8' lere kadar düşmüştür(111). Bu bilgiler ışığında kriyoterapinin anevrizmal kemik kistlerinin tedavisinde başarı ile kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Dev hücreli granülom benign bir lezyondur ama klinik olarak hem kemik hem de yumuşak dokuda yıkıma yol açabilen agresif bir yapıda da olabilir.Tedavi prensipleri arsında küretaj, küretaj ve kriyoterapi uygulaması veya marjinal rezeksiyondur(111).

Khalil ve ark. dev hücreli tümörü olan 52 hastayı içeren çalışmalarında, tedavi seçeneklerini tümörün boyutu ve yumuşak doku bileşeni olup olmamasına göre küretaj, küretaj ve kriyoterapi, rezeksiyon ve amputasyon olarak belirlemişlerdir. Sadece küretaj yapılan olgularda %50'lik bir rezidiv oranı bildirmişlerdir(108).

Persson ve ark. dev hücreli granulomlarda rezidiv oranını %40, Khan ve ark. ise bu oranı %17 olarak bildirmişlerdir. Küretaj sonrasında uyguladıkları kriyoterapi sonrasında ise bu oran %18'lere kadar düşmüştür(145).

Marcove ve ark. 1973 yılında dev hücreli granülomu olan 25 hastada küretaj ve kriyoterapi uygulamışlar bu olguların dokuzunda rezidiv görmüşlerdir. 1978 yılındaki 27 olguluk serilerinin sadece 3'ünde rezidive rastlamışlardır. Yaklaşık %15 oranında bir rezidiv bildirilmiştir(129).

Jacops ve ark. 1985 yılında dev hücreli granülomu olan 12 hastaya kriyoterapi uygulamışlar ve 2 olguda rezidiv görmüşlerdir(99).

Malawer ve ark. 1991 yılında 14 hastalık dev hücreli granulom serilerinde kriyoterapi uygulamışlar ve olguların sadece birinde rezidiv görmüşlerdir(121). 1999 yılında bildirdikleri kriyoterapi yapılan 86 olguda sadece 2 rezidiv bildirilmiştir(122).

Literatürde sadece küretaj yapılan dev hücreli granulom olgularında rezidiv oranı %40 iken küretaj sonrası kriyoterapi yapılan olgularda bu oran %14'lere kadar düşmektedir(111). Dev hücreleri granüloomlarda kriyoterapinin başarı ile kullanılabilceğini düşünmekteyiz.

Schreuder ve ark. 1997 yılında yapmış oldukları çalışmalarında basit kemik kisti olan 42 hastada kriyoterapi ile rezidiv oranını %12 olarak bulmuşlardır(111).

Marcove ve ark. ise basit kemik kisti olan 23 hastada %9' luk bir rezidiv oranı bildirmişlerdir(129). Basit kemik kistlerinin tedavisinde fenol ve steroid enjeksiyonlarında kullanılmıştır. Fenol uygulamalarında rezidiv oranı % 20 iken steroid enjeksiyonlarında bu oran % 25'lere kadar yükselmiştir. Steroid enjeksiyonunun sürekli yapılmasının gerekliliği, tedavinin uzun süreli olması ve gerçekten tamamen iyileşmiş bir dokunun kesin olarak bildirilmemesi dezavantajları arasında yer alır(111).

Eozinofilik granülom langerhans hücrelerinin granulomatosisis olarak bilindir ve normal dokuda langerhans tipindeki histiositlerin proliferasyonu sonucunda görülür. Bu proliferasyonlar Hand-Schüller-Christian hastalığı ve Letterer-Siwe hastalığının bir parçasıda olabilir. Tedavisinde kemoterapi, cerrahi ve radyoterapi uygulanmaktadır. Ayrıca intralezyonel steroid enjeksiyonunda iyi sonuçlar verdiği bildirilmektedir. Lezyonun büyüklüğü, şekli veya anatomik

yapılara yakınlığı ve steroid tedavisinde uzun sürmesinden dolayı kriyoterapi bu lezyonların tedavisinde düşünülmüştür(191).

Fibröz displazi olgunlaşmamış fibröz bağ dokusunun benign lezyonudur. Kemiklerin yapısal bütünlüklerini etkilediği, spontan kırıklara neden olduğu veya iskeletsel bozukluklar yaratabileceği belirtilmiştir. Cerrahi müdahalenin dahada büyük iskeletsel problemlere neden olabileceği durumlarda kriyoterapi iyi sonuçlar vermektedir(111).

Ameloblastomalar tüm çene kistlerinin %1' ini, odontojenik tümörlerinde %10'unu oluşturur. Yavaş büyümesi, kemiğe ve yumuşak dokuya lokal invazyonlarından dolayı yeterli tedavi edilmediklerinde yüksek rezidiv oranları görülür(162). Tedavi seçenekleri arasında yer alan enükleasyon ve küretaj sonrasında Sehdev ve ark. mandibulada %90, maksillada ise %100' lere varan rezidiv oranları bildirilmiştir(170). Aynı çalışmada blok rezeksiyon uyguladıkları hastalarda tümörü %80 oranında kontrol etmişlerdir.

Shatkin ve ark. ise 20 olguluk ameloblastom serilerinde sadece küretaj yapılan olgularında %86, rezeksiyon olgularında ise %14 oranında rezidiv bildirmişlerdir(171).

Müller ve ark. ise 84 hastada gerçekleştirdikleri 186 operasyon sonucunda konservatif tedavi seçeneklerini uyguladılarında hastalarda % 52, radikal cerrahi uyguladıkları hastalarda ise % 25 oranında rezidiv bildirmişlerdir(137).

Marciani ve ark. 1977 yılında iki olguda kriyoterapi uygulamışlar ve herhangi bir rezidiv bildirmemişlerdir(126).

Curi ve ark. 1997 yılında çenelerinde ameloblastom olan ve sıvı nitrojen uyguladıkları 36 hastayı değerlendirmişler %30.6 oranında oldukça kabul edilebilir bir rezidiv oranı bulmuşlardır(47).

Keratokistlerin tedavisinde % 62.5' lere varan rezidiv oranlarından dolayı farklı tedavi seçenekleri bildirilmiştir(111).

Brannon ve ark.' nın 312 olguluk araştırmaları sonucunda dental lamina artıklarının ve de özellikle uydu kistlerinin muhtemel rezidiv nedenleri olduğunu düşünmüşlerdir(27). Woolgar ve ark. ise 139 odontojenik keratokistin %25' inde

uydu kistlerin bulunduğunu bildirmiştir(188). Marsupiyalizasyon, enükleasyon ve küretaj uyguladıkları hastalarında %25 oranında rezidive rastlamışlardır.

Voorsmit ve ark. ise 52 adet olguda sadece enükleasyon, 40 olguda ise marsupiyalizasyon ve Carnoy solusyonu uygulamışlardır. Rezidiv oranları %13.5'tir(186).

Pindborg ve Hansen marsupiyalizasyon veya enükleasyon uyguladıkları 16 olguda %62.5(147), Brannon enükleasyon uyguladığı 312 olguda %12(27), Vedtofte ve Praetorius enükleasyon ve marsupiyalizasyon uyguladıkları 72 olguda %51 oranında rezidive rastlamışlardır(183).

Schmidt ve ark. 2001 yılında değerlendirdikleri keratokisti olan 26 hastada enükleasyonu takiben uyguladıkları kriyoterapi uygulaması ile rezidiv oranının %11.5 olduğunu bildirmişlerdir(167).

Marciani ve Bowden 1975 yılında köpeklerde yaptıkları çalışmalarında deney grubunda rezeke ettikleri mandibulayı 10 dakika sıvı nitrojende, kontrol grubunda ise mandibulayı serum fizyolojik içinde 10 dakika bekletmişler ve daha sonrada aynı bölgeye implante etmişlerdir. Bir yıl sonraki kontrollerinde serum fizyolojik içerisinde bekletilen kontrol tarafındaki mandibula ile sıvı nitrojen içerisinde bekletilen mandibulanın reimplante edildikleri mandibulanın kalan dokusuyla histopatolojik olarak iyileşmelerinde anlamlı bir fark bulamamışlardır(126).

Popescu ve ark. 1980 yılında mandibuda tümörü olan 4 hastada tümörlü alanı rezeke etmişler, tümörün küretajını takiben rezeke edilen alanı 10 dakika sıvı nitrojende bekletmişler ve tekrar yerine osteosentez teller ile fikse etmişlerdir. Olguların 3 yıllık takibinde, olguların üçünde de implante edilen mandibulanın belirli bölgelerinde enfeksiyon ve sökestr görülmüştür. Sökestrin uzaklaştırılmasını takiben defektler iyileşmişler ve sonrasında rezidive rastlanmamıştır(149).

Salmassey ve ark. 1995 yılında mandibulada lokalize olmuş agresiv tümörü olan 20 hasta değerlendirmiştir. 20 hastanın tamamında lezyonlar kürete edilmiş ve sıvı nitrojen uygulanmıştır. Bu hastaların 10' unda bölgeye kemik grefti uygulanmış 10'unda ise kemik grefti uygulanmamıştır. Kemik grefti

uygulanan olgularda herhangi bir sorun ile karşılaşılmazken kemik grefti uygulanmayan ve 4 cm'den daha büyük çaplı lezyona sahip olan 2 mandibulada patolojik fraktür meydana gelmiştir. Ayrıca greftlenen mandibulaya daha sonra 15 adet implant uygulanmış ve kayıp bildirilmemiştir(160).

Dong ve ark. 1996 yılında manbibulalarında kist ve tumor olan 31 hastanın rezeke ettikleri lezyolu parçaları sıvı nitrojene batırılmışlar ve reimplante etmişlerdir. 26 olguda herhangi bir problem olmaz iken 2 olguda enfeksiyon gelişmiş ama antibiyotik terapisi ile sorun çözülmüştür. 3 olguda ise implante edilem mandibulalar ciddi enfeksiyon gelişmesi nedeniyle çıkartılmıştır. 4 yıllık takip sonucunda 28 olguda herhangi bir rezidiv rastlanmamıştır(57).

Özellikle rezidiv ihtimali yüksek lezyonlarda yapılmış olan çalışmalarda, geleneksel cerrahi uygulamaları sonrasındaki rezidiv oranları ile cerrahi uygulama sonrası ek olarak kriyoterapi uygulanmış olgulardaki rezidiv oranlarını karşılaştırdığımızda kriyoterapinin bu oranları düşürdüğünü görmekteyiz. Bunun sebebinin oluşan aseptik nekroz alanları olduğunu ve bu sonuçların da çalışmamız ile uyumluluk gösterdiğini düşünmekteyiz.

Dışlerin kriyoterapiye tepkileri değişkendir.

Gordon ve Laskin 1979 yılında köpeklerde yapmış oldukları çalışmalarda kriyoterapi sonucunda diş germi gelişiminin inhibe olduğunu görmüşlerdir(82).

Dowden ve ark. 1983 yılında maymun dişlerine 1, 2 ve 3'er dakika süreyle sıvı nitrojen içeren pro bile dokunmuşlardır. Periodontal ve kök dokusunda hasar gözlemlenmişler ama pulpa canlılığını devam ettirmiştir(59).

Gecikmiş yara iyileşmesi, devam eden süpürasyon, yüzeysel veya derin enfeksiyonlar kriyoterapi uygulanan lezyonların %4' ünde görülür(111). Kriyoterapi uygulanan kemik üzerindeki yumuşak dokunun primer kapatılması gerekmektedir. İn situ olarak devitalize olmuş kemik kolaylıkla enfekte olabilir ve sökestr görülebilir. Sıvı nitrojen spreyi dikkatlice bölgeye doğrultulmalı, komşu dokular yeterince korunmalıdır. Tahta dil basacakları, kuru gaz tamponlar gibi ısı iletkenlikleri kötü olan materyaller kullanılabilir. Özellikle yumuşak doku flepleri korunmadığı takdirde ilerleyen günlerde flep nekrozu ve

bunu takiben altta bulunan ölü kemiğin açığa çıkması görülebilir. Bunun önlenmesi için postoperatif geniş spektrumlu antibiyotik uygulamaları, kemik üzerindeki flebin ve çevre dokuların post operatif dönemde yumuşak doku nekrozuna maruz kalmaması için korunması ve kemiğin tamamen kapatılması, kriyoterapi bölgesinde görülen reaktif kan akımı sonucunda ortamda oluşabilecek ve enfekte olabilecek hematoma ortamdaki uzaklaşmasının sağlanmasına dikkat edilmelidir(105). Çalışmamızda karbondioksit, nitrojen ve kontrol gruplarında sakrifikasyon günlerinde kadar primer yara kapanmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Bazı çalışmalar kemiğin zayıflığı ilk dönemlerde osteogenez için erken bir uyarı yaratmak için kriyoterapi uygulanmış olan büyük alanların kemik greftleri ile doldurulabileceğini savunmuşlardır(105). Patolojik fraktür ihtimalini ortadan kaldırmak için araştırmacılar 4cm'den büyük lezyonlarda kemik grefti uygulamasının gerekli olduğu sonucuna varmışlardır(161).

Kemiğin yapısı ve bütünlüğü lezyon nedeniyle bozulmuştur. Kriyoterapi sonrasında oluşan kemik nekrozu kemiği zayıflatır, hem klinik hemde deneysel çalışmalarla gösterilmiş patolojik fraktür riski artar(111). Ayrıca kriyoterapi uygulanan bölgelerde sökestr oluşma ihtimalide unutulmamalıdır. Çalışmamızda Karbondioksit, nitrojen ve kontrol gruplarında sakrifikasyon günlerine kadar kırık dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Fisher ve ark. 1978 yılında kemiğin yapısındaki zayıflığı araştırmışlar, sıçanların mandibulalarında yaptıkları bir çalışmada kriyoterapi sonrasında 8. haftada mandibulanın gücünde %30 oranında bir azalma bildirmişlerdir(69). Bunu radyografik bulgularda desteklemişlerdir. 4. aydan sonra kemik eski gücünü kazanmaya başlar. Literatürde görülen kırıklar genellikle kriyoterapiyi takip eden 4. ile 8. haftalarda görülmekle beraber 8 ay sonra görülen kırıklarda bildirilmiştir(69). Bizim çalışmamızda da özellikle 3. haftada en fazla olmak üzere 8 sıçanda kırık oluşmuştur. Bu diğer sakrifikasyon günleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bunu oluşturduğumuz kemik defektinin küçük olmasına, postoperatif dönemde deneklerin travmaya maruz kalmamaları amacıyla 5' erli gruplarda korunmasına bağlamaktayız.

Çalışmamızda iki farklı kriyojen madde olan sıvı nitrojen ve karbondioksit gazının kemik dokusu üzerindeki etkilerini histopatolojik olarak değerlendirmeyi amaçlanmıştır. Kemik defekti yapılmış kontrol grubu ile defekt bölgesine sıvı nitrojen ve karbondioksit gazı uygulanmış deney gruplarını karşılaştırdığımızda kriyojenik madde uygulanan alanlarda aseptik nekrotik alanları saptanmıştır. Bu alanlar, kontrol grubuna oranla deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla bulunmuştur. Nekroz alanlarının, erime noktası daha yüksek olan sıvı nitrojen uygulanan deney grubunda, karbondioksit gazı uygulanan gruba oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla olduğu izlenmiştir. Deney grubundaki yeni kemik yapımının, bu gruptaki nekrotik alanların daha fazla olmasından dolayı kontrol gruplarına oranla istatistiksel olarak da anlamlı derecede gecikmiş olduğunu gördük. Bu bilgiler ışığı altında kriyoterapinin lokal rezidiv oranı yüksek lezyonların sıklıkla görüldüğü maksillofasiyal bölgede güvenle kullanılabilceğini, bu çalışmanın da ileride yapılacak olan klinik ve deneysel çalışmalara temel oluşturabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Acer J.P., McGann E.L. Protective effect of intracellular ice during freezing. *Cryobiology*. 2003;46:197-202.
2. Acker J.P., McGann E.L. Cell-cell contact affects membrane integrity after intracellular freezing. *Cryobiology*. 2000;40:54-63.
3. Acker J.P., McGann E.L. Membrane damage occurs during the formation of intracellular ice. *Cryo-Lett*. 2001;22:241-154.
4. Acker J.P., Larese A., Yang H. et al. Intracellular ice formation is affected by cell interactions. *Cryobiology*. 1999;38:363-371.
5. Adrian B. Heat transfer. Wiley, 1993.
6. Aichelmann-Reidy M.E., Yukna R.A. Bone replacement grafts. The bone substitutes. *Dent Clin North Am*. 1998; 42 : 491-503.
7. Amoils SP. The Joule Thomson cryoprobe. *Arch Ophthalmol* 1967; 78: 201 -7.
8. Archer. W.H. Oral and maxillofacial surgery. Philadelphia: W.B.Saunders, 1975, 1512-1526.
9. Augustinowicz S., Gage A. Temperature and cooling rate variations during cryosurgical probe testing. *Int. J. Refrig*. 1985;8:198-208.
10. Aybar B. Periapikal lezyonlarda prostoglandinler (PGE 2, PGF 2) ve bazı biyokimyasal parametrelerin incelenmesi.1997. Tez. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
11. Ballı, B. Kemik iyileşmesi ve iyileşmeyi etkileyen faktörler. Bitirme tezi. İ. Ü. Dişhekimliği Fakültesi. İstanbul; 2004.
12. Baron, R. Anatomy and ultrastructure of bone, in Primer on the Metabolic Bone Disease and Disorder of Mineral Metabolism. 4.ed. Favus, M.1., Ed. Lippincottwilliams & Wilkins, 1999, chap.1.

13. Baron T, Tran Van P, Vignery A. Local control of bone remodelling: a suggested role for receptor mediated endocytosis. New York, *Excepta Medica* 1982; 123-127. 8-6.
14. Bassett CAL, et al. Biophysical principles of affecting bone structures. *The Biochemistry and Physiology of Bone*. G. H. Bourne (Ed.), Acad. Press, Inc. New York. 1971: 1-76.
15. Baust J.J., Chang Z. Underlying mechanisms of damage and a new concept in cryosurgical instruments. In "Cryosurgery: Mechanism and applications". IIR, 1995.
16. Baust J., Gage A.A., Ma H., Zhang C. Minimally invasive cryosurgery-technological advances. *Cryobiology*. 1997;34:373-384.
17. Baust J.G., Gage A.A. The molecular basis of cryosurgery. *BJU International*. 2005; 95: 1187-1191.
18. Baust J.G., Hollister W., Mathews A., van Buskirk R. Gene-regulated cell death follows cryosurgery. *Cryobiology*. 1997; 35; 322.
19. Bellman S., Ray J.A. Vascular reactions after experimental cold injury. *Angiology*. 1956; 7: 339-367.
20. Bereiter-Hahn J., Anderson O.R., Reif W.E. *Cryomechanics*. Springer –Verlag, Berlin/Heiderberg, 1987.
21. Bernard G.W. Healing and repair of osseous defects. *Dent Clin North Am*. 1991; 35: 469-477.
22. Bickels J, Meller I, Shmookler BM, Malawer MM. The role and biology of cryosurgery in the treatment of bone tumors. A review. *Acta Orthop Scand*. 1999 Jun;70(3):308-15.
23. Bickels J, Kollender Y, Merimsky O, Isaakov J, Petyan-Brand R, Meller I. Closed argon-based cryoablation of bone tumours. *J Bone Joint Surg Br*. 2004 Jul;86(5):714-8.

24. Bischof J.C., Smith D., Pazhayannur P.V., Manivael C., Hulbert J., Roberts K.P. Cryosurgery of Dunning AT-1 rat prostate tumor: thermal, biophysical, and viability response at the cellular and tissue level. *Cryobiology*. 1992; 34: 42-69.
25. Boden SD, Hair G, Titus L, et al. Glucocorticoid-induced differentiation of fetal rat calvarial osteoblasts is mediated by bone morphogenetic protein-6. *Endocrinology* 1997; 138: 2820-2828.
26. Bowers W.D., Hubbard R.W., Daum R.C. et al. Ultrastructural studies of muscle cells and vascular endothelium immediately after freeze-thaw injury. *Cryobiology* 1973; 10: 9-21.
27. Brannon RB. The odontogenic keratocyst. A clinicopathologic study of 312 cases. Part I. Clinical features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1976 Jul;42(1):54-72.
28. Bracco D. The historic development of cryosurgery. *Clin Dermatol*. 1990; 8:1-4.
29. Breitbart E.W., Sahaes G. Electron microscopic investigations of the cryolesion. *Clin Dermatol* 1990;8:30-38.
30. Brondum N, Jensen VJ. Recurrence of keratocysts and decompression treatment. A long-term follow-up of forty-four cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1991 Sep;72(3):265-9.
31. Brownell A.G. Osteogenesis inhibitory protein. A preview. *Connect Tiss Res* 1990; 24:13.
32. Bruder S.P., Fink D.J., Caplan A.I. Mesenchymal stem cells in bone development, bone repair, and skeletal regeneration therapy. *J Cell Biochem* 1994; 56:283.
33. Bruder S.P., Caplan A.I. First bone formation and the dissection of an osteogenic lineage in the embryonic chick tibia is revealed by monoclonal antibodies against osteoblasts. *Bone*. 1989; 10: 359.

34. Buckwalter J.A., Einhorn T.A., Simon S.R., Eds., Orthopaedic Basic Science: The Biology and Biomechanics of the Musculoskeletal System. 2nd Edition. Rosemont, Illinois, 2000, chap. 8.
35. Buckwalter J.A., Glimcher M.J., Cooper R.R., Recker R. Bone biology. Part 1. Structure, blood supply, cells, matrix and mineralization. *J Bone Joint Surg Am.* 1995; 77A: 1256.
36. Buckwalter J.A., Einhorn A.T., Bolander E.M., Cruess L.R. Healing of the musculoskeletal tissues. In “Rockwood and Gren’s Fractures in Adults. 4th edition.” Rockwood A.C., Gren P.D., Bucholz W.R., Heckman D.J. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996, chap. 5.
37. Budman H., Shitzer A., Giudice S.D. Investigation of temperature fields around embedded cryoprobes. *Trans. ASME.* 1986;108:42-48.
38. Burge S.M., Bristol M., Millard P.R. et al. Pigment changes in human skin after cryotherapy. *Cryobiology.* 1994;23(5):422-32.
39. Campell J.T., Kaplan F. The role of morphogens in endochondral ossification. *Calcif Tissue Int.* 1992; 50: 283.
40. Campanacci M, Baldini N, Boriani S, Sudanese A. Giant-cell tumor of bone. *J Bone Joint Surg Am.* 1987 Jan;69(1):106-14.
41. Caplan A.I. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res* 1991; 9: 641.
42. Caplan A.I., Pechak D. The cellular and molecular biology of bone formation. In: Peck W.A.(Ed). *Bone and Mineral Research.* New York: Elsevier, 1987:117.
43. Carranza F.A. Bone loss and patterns of bone destruction in: Newman M.G., Takei H.H., Carranza F.A.(eds). *Carranza’s Clinical Periodontology.* 9. ed. W.B. Saunders Publishing, Philadelphia, 2002; 354-358.
44. Cooper S.M., Dawber R.P.R. The history of cryosurgery. *J R Soc. Med.* 2001; 94 : 196-201.
45. Cowin, S. C. *Bone Mechanics Handbook.* 2nd edn. Boca, Raton, London, New York, Washington: CRC Press. 2001; Bölüm 1: 1-68, Bölüm 2: 1-24.

46. Cruess RL. Healing of bone, tendon and ligament. Fractures 2nd ed. Philadelphia, Lippincott Co, 1984; 1: 147-167.
47. Curi MM, Dib LL, Pinto DS. Management of solid ameloblastoma of the jaws with liquid nitrogen spray cryosurgery. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1997; 84: 339-44.
48. Dachow-Siwiec E. Technique of cryotherapy. Clin Dermatol 1985;3;185-88.
49. Dawber R.P.R. Some indications and contraindications for cryosurgery in the treatment of facial malignancy, dermatology in five continents. Proceedings of the XVII. World Congress of Dermatology, Berlin. May 24-29,1987. Edited by: Orfonas C.E., Steadler R., Gollnick H., Springer – Verlag, 1988.
50. Dawber R.P.R. Cryosurgery; complications and contraindications. Clin Dermatol 1990;23(5):422-432.
51. Dawber R.P.R, Colver G., Jackson A. Historic and scientific basis of cryosurgery. In: Cutaneous Cryosurgery. Principles and Practice. London: Martin Dunitz, 1997:15 -26.
52. Dawber R.P.R. Cold kills. Clin Exp Dermatol. 1988; 13(3):137-150.
53. Dedeoğlu RK. DBM Beta-Trikalsiyum fosfatın deneysel kemik defektlerinde ayrı ayrı ve birlikte kullanıldıklarında iyileşme üzerine olan etkilerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,Doktora Tezi 2004; İstanbul.
54. Deichmann WB, Keplinger ML (1981) Phenols and phenolic compounds. In: Fassett DW, Irish DD (eds) Toxicology, Vol. 2A. (Industrial hygiene and toxicology, 3rd edn) Interscience,New York, pp 2567 2584.
55. Diller K.R. Engineering-based contributions in cryobiology. Cryobiology.1997;34:304-314.
56. Diller K.R. Quantative low temperatures optical microscopy of biological systems. J. Microsc. 1982;126:9-28.

57. Dong YJ, Zhang GZ, Wang SP, Li Z. The use of immediate frozen autogenous mandible, for benign tumour mandibular reconstruction. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1996 Feb;34(1):58-61.
58. Dorfman H.D., Czerniak B. Bone cancers. *Cancer* 1995;5:203-10.
59. Dowden WE, Emmings F, Langeland K. The pulpal effect of freezing temperatures applied to monkey teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1983 Apr;55(4):408-18.
60. Drake L.A., Ceilley R.I., Cornelison R.L. et al. Guidelines of care for cryosurgery. *J Am Acad Dermatol.* 1992;26(4):629-31.
61. Durr H.R., Maier M., Jansson V., Baur A. et al. Phenol as an adjuvant for local control in the treatment of giant cell tumour of bone. *Eur J Surg Oncol.* 1996; 25: 610-18.
62. Dwyer D.M., Thorne A.C., Healey J.H. Liquid nitrogen instillation can cause venous gas embolism. *Anesthesiology.* 1990; 73: 179-181.
63. Einhorn, T. A.: Clinical Applications of Recombinant Human BMPs: Early Experience and Future Development. *J. Bone Joint Surg.* 2003; 85A(Suppl. 3):82-88.
64. Enneking W.F. *Musculoskeletal Tumor Surgery*, Churchill Livingstone, New York (1983).
65. Elton R.F. The course of events following cryosurgery. *The Journal of Dermatologic Surgery and Oncology.* 1977;3:403-407.
66. Epstein L.J. Cryosurgery of benign and precancerous disorders of the oral cavity. *Cryosurgery for skin cancer and cutaneous disorders.* St Louis CV Mosby Comp, 1987.
67. Evans E.A., Skalak R. *Mechanics and thermodynamics of membranes.* CRS Press, Boca Raton, FL, 1980.
68. Ferris D.G., Ho J.J. Cryosurgical equipment: A critical review. *J Fam Pract.* 1992;35(2):185-93 .
69. Fischer A.D., Williams D.F., Bradley P.F. The effect of cryosurgery on the strength of bone. *Br J Oral Surg.* 1978; 15: 215-22.

70. Freidenberg Z, Brighton C, Michelson J, et al. The effects of demineralized bone matrix and direct current on an in vitro culture of bone marrow cells. *J Orthop Res* 1989; 7: 22-27. 15-27.
71. Frost H.M. The biology of fracture healing and over view for clinicians part I. *Clin. Orthop Rel Res* 1979; 248: 283-293.
72. Frost H.M. Skeletal structural adaptation to mechanical usage(SATMU): 2. Redefining Wolff's law: the remodelling problem. *Anat Rec.* 1990; 226 : 414-22.
73. Gage A.A, Cryosurgery for skin disease, variants in technique, controversies in dermatology. Ervin Epstein Ed. Saunders Comp. Philadelphia, 1984.
74. Gage A.A. History. In "Cryosurgery: Mechanisms and applications". IIR, 1995.
75. Gage A.A., Baust J.G. Cryosurgery for tumors. *Technol Cancer Res Treat.* 2004;3:187-99.
76. Gage AA. History of cryosurgery. *Semin Surg Oncol* 1998;14:99-109.
77. Garant, P. R. Oral Cells And Tissues. Quintessence Publishing Co. Inc. Illinois: 2003 Chapter 7-8.
78. Gerstenfeld, L. C. and Einhorn, T. A.: COX Inhibitors and Their Effects on Bone Healing. *Expert Opin. Drug Saf.* 2004; 2:131-136.
79. Gill W., Fraser J., Carter D.C. Repeated freeze-thaw cycles in cryosurgery. *Nature.* 1968; 219: 410-13.
80. Gitelis S., McDonald D.J., Adjuvant agents and filling materials. In: M.A. Simon and D. Springfield, Editors, *Surgery for Bone and Soft-Tissue Tumors*, Lippincott-Raven, Philadelphia (1998), pp. 159–165.
81. Gordon, Breach. *The Chemistry and Biology of Mineralized Tissue.* New York: Gordon and Breach, 1988, chap.2.
82. Gordon NC, Laskin DM .The effects of local hypothermia on odontogenesis. *J Oral Surg.* 1979 Apr;37(4):235-44.

83. Gorski, J. P. Is all bone the same? Distinctive distributions and properties of noncollagenous matrix proteins in lamellar and woven bone imply the existence of different underlying osteogenic mechanisms. *Crit Rev. oral Biol*, 1998; 9, 201.
84. Graham G.F. Cryosurgery. *Clin Plast Surg*. 1993;20(1);131-47.
85. Graham G.F. Advances in cryosurgery during the past decades. *Cutis*. 1993;52(6): 365-72.
86. Gronowicz GA, McCarthy MB. Glucocorticoids inhibit the attachment of osteoblasts to bone extracellular matrix proteins and decrease integrin levels. *Endocrinology* 1995; 136: 598-608.
87. Gupta M.C., Maitra S. Bone graft substitutes; Past, present, future. *J Postgrad Med*. 2002; 48 : 142-148.
88. Gürel S. Dermatolojide Kriyoterapi Uygulamasi.(Uzmanlik Tezi) 1990.
89. Hall B.K. The embryonic development of bone. *Am Sci* 1988; 76: 174.
90. Heidenheim M., Jemec G.B. Side effects of cryotherapy. 1991;24(4):653.
91. Helpap B. Morphologic and cell kinetic investigations of the cryolesion. *Clin Dermatol* 1990;8:69-79.
92. Hewitt P.M., Zhao J., Akhter J., Morris D.L. A comparative laboratory study of liquid nitrogen and argon gas cryosurgery systems. *Cryobiology*. 1997;35:303-308.
93. Hollinger J.O., Buck C.D., Bruder P.S. Biology of Bone Healing: Its Impact on Clinical Therapy. In "Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics". Lynch S.E., Genco R.J., Marx, R.E. 1st edition Quintessence Publishing, 1999, chap 1.
94. Horowitz, M.C., Cytokines and estrogen in bone: anti-osteoporotic effects. *Science* 1993; 260, 626-627.

95. Hussar P., Piirsoo A., Martson A., et al. Bone healing models in rat tibia after different injuries. *Ann Chir Gynaecol* 2001; 90 ; 271-279 .
96. Huvos P.A. Bone tumors: Diagnosis, treatment and prognosis. W.B. Saunders Company, 1991.
97. Isogai Y, Akatsu T, Ishizuya T, Yamaguchi A, et al. Parathyroid hormone regulates osteoblast differentiation positively or negatively depending on the differentiation stages. *J Bone Miner Res* 1996; 11:,1384-1393.
98. Jacob Bickels, Cynthia K. Robert, Isaac Eller and Martin M. Malawer Cryosurgery in the treatment of bone tumors *Operative Techniques in Orthopaedics*, Volume 9, Issue 2, April 1999, Pages 79-83.
99. Jacobs PA, Clemency RE Jr. The closed cryosurgical treatment of giant cell tumor. *Clin Orthop Relat Res*. 1985 Jan-Feb;(192):149-58.
100. Jee, W~ S. S., Structure and function of bone tissue, in *Orthopaedics, Principles of Basic and Clinical Science*, Bronner, F. and Worrell, R. V., Eds., CRC Press, Boca Raton, FL, 1999, chap. 1.
101. Junguiera, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O. *Temel Histoloji*. 8.Baskı. İstanbul : Barış Kitabevi Ltd. Şti. 1998; 132-151.
102. Kalfas H.I. Principles of Bone Healing. *Neurosurg Focus*. 2001; 10(4); 1-4.
103. Karlsson J.O.M., Cravalho E.G., M. Toner. Intracellular ice formation: causes and consequences. *Cryo-Lett*. 1993;14:323-334.
104. Keijser L.C.M., Schreuder H.W.B., Buma P. et al. Cryosurgery in long bones : an experimental study of necrosis and revitalization in rabbits. *Arch Orthop Traum Surg*. 1999;119:440-44.
105. Keijser LC, Schreuder HW, Boons HW, Keulers BJ, Buma P, Huiskes R, Veth RP. Bone grafting of cryosurgically treated bone defects: experiments in goats. *Clin Orthop*. 2002;396:215-22.
106. Kelly, P. I., Montgomery, R. J., and Bronk, J. T., Reaction of the circulatory system to injury and regeneration, *Clin. Orthop* 1990; 254-275.

107. Kerschbaumer F., Russe W., Wisser G., Bauer R. Cryolesion of bone. An experimental study. Part 1: Examination in technique of controlled cryolesion on bone. Arch Orthop Trauma Surg. 1980; 96: 5-9.
108. Khalil el SA, Younis A, Aziz SA, El Shahawy M. Surgical management for giant cell tumor of bones. J Egypt Natl Canc Inst. 2004 Sep;16(3):145-52.
109. Kılıçoğlu SS. Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. Ankara Üniv. Tıp Fakültesi Mecmuası 2002; 55: 143-150.
110. Kollender Y., Meller I., Bickels J. Role of adjuvant cryosurgery in intralesional treatment of sacral tumours. Cancer 2002; 97: 2830-38.
111. Korpan N.N.(ed) Basics of Cryosurgery. Springer-WienNewyork, 2001.
112. Koushafar H., Pham L., Lee C., et al. Chemical adjuvant cryosurgery with antifreeze proteins. J Surg Oncol. 1997; 66: 114-21.
113. Kuflik E.G. Cryosurgery updated J Am Acad Dermatol 1994;31:925-44.
114. Kuylenstierna R., Lundquist P.G., Nathanson A. Early morphological cahanges in rabbit mandible after cryogenic application. Arch Otorhinolaryngol 1980;226:35-43.
115. Langer R., Vacanti J.P. Tissue engineering. Science. 1993; 260: 920-926.
116. Lang S, Lack W, Brand G, Salzer-Kuntschik M. Devitalizing effects of phenol on bone marrow cells. Acta Orthop Scand 1991; 62: 4.
117. Lentz C.P. Thermoconductivity of meats, fats, gelatin gels and ice. Food Technol. 1961;15:243-247.
118. Lewandrowski K.U.,Gresser J.D., Wise D.L., Trantol D.J. Bioresorbable bone graft substitutes of different osteoconductivities: A histological evaluation of osteointegration of poly(propylene glycol-co-fumaric acid)-based cement implants in rats. B.omaterials 2000; 21: 757-64.

119. Lian, J. B., Stein, G. S., Canalis, E., Gehron-Robey, P., and Boskey, A. L., Bone formation: osteoblast lineage cells, growth factors, matrix proteins and the mineralization process, in *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed., Favus, M. 1., Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 1999, chap. 3

120. Lukert BP, Kream BE. Clinical and basic aspects of glucocorticoids on bone, in *Principles of Bone Biology*, Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA, Eds. Academic Press, San Diego, 1996, chap. 38.

121. Malawer M.M., Bickels J., Meller I. et al. Cryosurgery in the treatment of giant cell tumour. A long term follow-up study. *Clin Orthop*. 1999; 79: 963-74.

122. Malawer M.M., Bickels J., Meller I., Buch R.G., Henshaw R.M., Kollender Y. Cryosurgery in the treatment of giant cell tumor. A long-term followup study, *Clin Orthop* 1999; 359: 176–188.

123. Malawer M.M., Dunham W. Cryosurgical and acrylic cementation s surgical adjuncts in the treatement of aggressive(benign) tumors. Analysis of 25 patients below the age of 21. *Clin Orthop*. 1991;262:42-57.

124. Malawer M.M., Marks M.R., McChesney D., Piasio M., et al. The effect of cryosurgery and polymethylmethacrylate in dogs with experimental bone defects cpmparable to tumor defect. *Clin Orthop*. 1988; 226: 299-310.

125. Marie ,P.J. Celluler and moleculer alterations of osteoblasts in human disorders of bone formation. *Histol. Histopathol*,1999; 14, 525.

126. Marciani RD, Bowden CM Jr. Reimplantation of freeze-treated mandibular bone. *J Oral Surg*. 1975 Apr;33(4):261-7.

127. Marcove R.C., Sheth D.S., Brien E.W., Huvos A.G., Healey J.H. Conservative surgery for giant cell tumours of the sacrum. The role of cryosurgery as a supplement to curettage and partial excision. *Cancer*. 1994; 74: 1253-60

128. Marcove R.C., Sheth D.S., Takemoto S., Healey J.S. The treatment of aneurismal bone cyst. *Clin Orthop*. 1997; 17: 814-20.

129. Marcove R.C., Weis L.D., Vaghaiwalla M.R. and Pearson R., Cryosurgery in the treatment of giant cell tumors of bone a report of 52 consecutive cases, *Clin Orthop*. 1978; 134 : 275–289.
130. Marks S.C., Popoff S.N. Bone cell biology: The regulation of development , structure, and function in the skeleton. *The American Journal of Anatomy* 1988; 183: 1-44.
131. Martin, R.B. Burr, D.B., Mechanical adaptation, in *Structure, Function and Adaptation Of Compact Bone*. Raven Press, New York, 1989, chaps.2,4,7 and 8.
132. Mazur P. Freezing of living cells:Mechanisms and implications. *Am J Physiol*. 1984; 143: 125-142.
133. McGrath J.J. and Diller K.R. Low temperature biotechnology: emerging applications and engineering contributions. ASME, New York, 1988
134. Moses M.A., Langer R. Inhibitors of angiogenesis. *Biotechnology*. 1991; 9: 630.
135. Muldrew K., McGann L.E. The osmotic rupture hypothesis of intracellular freezing injury. *Biophys J*. 1994; 66: 532-541.
136. Muldrew K, McGann. Mechanisms of intracellular ice formation. *Biophys. J*. 1990;57:525-532.
137. Muller H, Slootweg PJ. The ameloblastoma, the controversial approach to therapy. *J Maxillofac Surg*. 1985 Apr;13(2):79-84.
138. Nagle W.A., Bernard L., Soloff A., Moss A.J et al. Cultered Chinese hamsters cells undergo apoptosis after exposure to cold but nonfreezing temperatures. *Cryobiology*. 1990; 27: 439-451.
139. Oral O. L-Dopa'nın allojenik kemik grefti uygulanan ve uygulanmayan kemik defektlerinde iyileşme üzerindeki etkilerinin incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora, 2000.
140. Oral O. Laser'in Ağız Cerrahisi Girişimlerinde İyileşme Üzerine Etkilerinin Deneysel Araştırılması, Doktora, 1987.

141. Orpwood R, D. Biophysical and engineering aspects of cryosurgery. *Phys. Med. Biol.* 1981;26:555-575.

142. Ozaki A. Role of fracture hematoma and periosteum during fracture healing in rats. Interaction of fracture hematoma and the periosteum in the initial step of the healing process. *J Orthop Sci* 2000; 5(1): 64-70.

143. Özyuvacı, H., Fırat, D., Soydan, N., Aktaş, Ş., Oğuz, N., Doğan, Ö., Yaltırık, M., Ilıcalı, A. Deneysel kemik defektlerine yerleştirilen iki farklı kemik greft materyalinin radyoterapi ve radyoterapi+hiperbarik oksijen uygulaması sonrası dokuda meydana getirdiği reaksiyonların histopatolojik yönden incelenmesi (deneysel çalışma) *Oral İmp Der* 1997; 2: 60-64.

144. Pegg D.E. Mechanisms of freezing damage. In “ Temperature and animal cells”. *Soc.for Exp. Biol.* , Cambridge, 1987.

145. Persson BM, Ekelund L, Lovdahl R, Gunterberg B. Favourable results of acrylic cementation for giant cell tumors. *Acta Orthop Scand.* 1984 Apr; 55(2):209-14.

146. Phemister DB. Repair of bone in the presence of aseptic necrosis resulting from fractures, transplantations, and vascular obstruction.1930. *J Bone Joint Surg Am.* 2005 Mar; 87(3): 672.

147. Pindborg J.J, Hansen J. Studies on odontogenic cyst epithelium. 2. clinical and roentgenologic aspects of odontogenic keratocysts. *Acta Pathol Microbiol Scand.* 1963; 58:283-94.

148. Pogrel MA., Regezi JA., Fong B, et al. Effects of liquid nitrogen cryotherapy and bone grafting on artificial bone defects in minipigs: a preliminary study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002 Jun; 31(3): 296-302.

149. Popescu V., Spirescu E.I. Bone resection, extra-corporal cryotherapy and immediate re-implantation in the treatment of mandibular tumors. *J Max. Fac. Surg.* 1980; 8: 8-16.

150. Popken F, Land M, Bosse M, Erberich H, Meschede P, König DP, Fischer JH, Eysel P: Cryosurgery in long bones by means of a new miniature cryoprobe: An experimental in vivo study of the cryosurgical temperature field in sheep. *Eur J Surg Oncol* 2003; 29(6): 542-547.

151. Popken F, Bertram C, König DP, Rütt J, Land M, Hackenbroch MH: The cryosurgical ablation of bone tissue by means of a new miniature cryoprobe adaption of the method for an in-vitro and in-vivo application to bone. *Arch Orthop Trauma Surg* 2002; 122(3):129-133.
152. Pusey W. The use of carbon dioxide snow in the treatment of naevi and other lesions of the skin. *JAMA*1935; 49: 1354 -6.
153. Puzas, F. J. and Lewis, G. D., Biology of osteoclasts and osteoblasts, in *Orthopaedics. Principles of Basic and Clinical Science*, Bronner, F., and Worrell, R. V., Eds., CRC Press, Boca Raton, FL, 1999, chap. 3.
154. Quint U., Muller R.T., Muller G. Characteristics of phenol. *Arch Orthop Trauma Surg*. 1980; 117: 43-46.
155. Rabb JM., Renaud ML., Brandt P.A. Effect of freezing and thawing on the microcirculation and capillary endothelium of the hamster cheek pouch. *Cryobiology*. 1974;11:508-18.
156. Ruitter D.J., van Rijssel ThG., Takemoto S.,Healey J.H. The treatment of aneurismal bone cyst. *Clin Orthop*. 1995;311: 157-163.
157. Robinson D., Yassin M., Nevo Z. Cryotherapy of musculoskeletal tumors-from basic to clinical results. *Technol Cancer Res Treat*. 2004;3:371-76.
158. Robinson D., Halperin N., Nevo Z. Two freezing cycles ensures interface sterilization by cryosurgery during bone tumour resection. *Cryobiology*. 2001; 43: 4-10.
159. Rubin E, Farber J.L. *Pathology*. Philadelphia: JB Lippencott, 1988.
160. Saliken J.C., Cohen J., Miller R., Rothert M. Laboratory evaluation of ice formation around a 3 mm accuprobe. *Cryobiology*. 1995; 32: 285-295.
161. Salmassy DA, Pogrel MA. Liquid nitrogen cryosurgery and immediate bone grafting in the management of aggressive primary jaw lesions. *J Oral Maxillofac Surg*. 1995 Jul;53(7):784-90.

162. Sampson DE, Pogrel MA. Management of mandibular ameloblastoma: the clinical basis for a treatment algorithm. *J Oral Maxillofac Surg.* 1999 ; 57(9):1074-7.

163. Sandy C. Marks, J.R. and Steven N. Popoff: Bone cell biology: The regulation of development, structure and function in the skeleton. *The American Journal Of Anatomy* 1988; 1 83: 1-44.

164. Scaglietti O., Marchetti P.G., Bartolozzi P. Final results obtained in the treatment of bone cysts with methylprednisolone acetate (depo-medrol) and a discussion of results achieved in other bone lesions. *Clin Orthop.* 1982: 165: 33-42.

165. Schargus G., Winckler J., Schroder F., Schafer B. Cryosurgical devitalization of bone and its regeneration. An experimental study with animals. *J Maxillofac Surg.* 1975;3:128-31.

166. Schiller C.H., Ritschl P., Windhager R. et al. Frequency of recurrence in phenolized and nonphenolized bone cavities following intralesional excisions of nonmalignant bone tumours. *Z orthop.* 1989;127:398-401.

167. Schmidt BL, Pogrel MA. The use of enucleation and liquid nitrogen cryotherapy in the management of odontogenic keratocysts. *J Oral Maxillofac Surg.* 2001 Jul;59(7):720-5.

168. Schreuder H.W.B., van Been H.B.H., Veth R.P.H. Venous gas embolism during cryosurgery for bone tumours. *J Surg Oncol* 1995; 60: 196-200.

169. Schreuder H.W., Veth R.P.H., Pruszczynski M., Lemmens J.A.M., et al. Aneurysmal bone cysts treated by curettage, cryotherapy and bone grafting. *J Bone Joint Surg.* 1997; 79: 20-5.

170. Sehdev MK, Huvos AG, Strong EW, Gerold FP, Willis GW. Proceedings: Ameloblastoma of maxilla and mandible. *Cancer.* 1974 Feb;33(2):324-33.

171. Shatkin S, Hoffmeister FS. Ameloblastoma: a rational approach to therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1965 Oct;20(4):421-35.

172. Şirin Y.S. Deneysel olarak meydana getirilen kemik defektlerine yerleştirilen farklı tipteki yapay kaynaklı greft materyallerinin kemikleşmesinde hiperbarik oksijen uygulamasının etkilerinin incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi 2005; İstanbul.

173. Song WJ et al. Peripheral tissue freezing in cryosurgery. *Cryobiology* 1988;25(2):153-63.

174. Spector M. Basic Principles of Tissue Engineering. In "Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics". Lynch S.E., Genco R.J., Marx, R.E. 1st edition Quintessence Publishing, 1999, chap 1.

175. Stevenson S., Emery S.E., Goldberg V.M. Factors affecting bone graft incorporation. *Clin Orthop Relat Res.* 1996; 324: 66-74.

176. Takmatsu H., Rubinsky B. Viability of deformed cells. *Cryobiology.* 1999;39:243-251.

177. Tanyel C.R. Ksenogreft kemik esaslı greft materyalinin deneysel kemik defektlerine kemik iliği ve mononükleer hücre ile birlikte uygulanmasının iyileşme üzerine olan etkilerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi 2005; İstanbul.

178. Trieb K., Bitzan P., Lang S., Dominkus M., Kotz R. Recurrence of curetted and bone-grafted giant-cell tumours with and without adjuvant phenol therapy, *Eur J Surg Oncol* 27 (2001), pp. 200–202.

179. Treueta J. A theory of bone formation. *Acta Orth Scand* 1962; 32: 190.

180. Tomkinson, A., Reeve ,I., Shaw ,R.W., Noble ,B.S. The death of osteocyte by apoptosis in human bone is observed following estrogen withdrawal by GnRH analog. *J.C/in . Endocrinol. Metab* 1997; 82, 3128.

181. Torre D. Cryosurgical instrumentation and depth dose monitoring. *Clin Dermatol.* 1990;8:48-60.

182. Vaccaro A.R. The role of the osteoconductive scaffold in synthetic bone graft. *Orthopedics* 2002; 25 : 757-64.

183. Vedtofte P, Praetorius F. Recurrence of the odontogenic keratocyst in relation to clinical and histological features. A 20-year follow-up study of 72 patients. *Int J Oral Surg*. 1979 Dec;8(6):412-20.
184. Veth R., Schreuder B., Beem H., Pruscynski M., Rooy J. Cryosurgery in aggressive, benign, and low-grade malignant bone tumours. *Lancet Oncol*. 2005;6:25-34.
185. Vergel De Dios AM, Bond JR, Shives TC, McLeod RA, Unni KK. Aneurysmal bone cyst. A clinicopathologic study of 238 cases. *Cancer*. 1992 Jun 15;69(12):2921-31.
186. Voorsmit RA, Stoelinga PJ, van Haelst UJ. The management of keratocysts. *J Maxillofac Surg*. 1981 Nov;9(4):228-36.
187. Woelders H., Chaverio A. Theoretical prediction of optimal freezing programmes. *Cryobiology*. 2004;49:258-271
188. Woolgar JA, Rippin JW, Browne RM. A comparative study of the clinical and histological features of recurrent and non-recurrent odontogenic keratocysts. *J Oral Pathol*. 1987 Mar;16(3):124-8..
189. Wozney J.M., Rosen V, Byrne M, et al. Growth factors influencing bone development. *J Cell Sci Suppl*. 1990; 13: 149.
190. Yang W., Peng H., Chang H., et al. An in vitro monitoring system for simulated thermal process in cryosurgery. *Cryobiology*. 2000;40:159-170.
191. Yasko A.W., Fanning C.V., Ayala A.G., Carrasco C.H., Murray J.A. Percutaneous techniques for the diagnosis and treatment of localized Langerhans-cell histiocytosis (eosinophilic granuloma of bone), *J Bone Joint Surg Am* 80 (1998), pp. 219–228.
192. Zacarian S.A. Cryogenics. The cryolesion and the pathogenesis of cryonecrosis in Zacarian S.A. ed. *Cryosurgery for skin cancer and cutaneous disorders*. St Lois CV Mosby Comp, 1987.

193. Zacarian S.A. Cryosurgery of tumour of the skin and oral cavity. Springfield- Illionis, Charles C. Thomas Publisher, 1973.
194. Zacarian S.A. Complications in Cryogenics. The cryolesion and the pathogenesis of cryonecrosis in Zacarian S.A. ed. Cryosurgery for skin cancer and cutaneous disorders. St Lois CV Mosby Comp, 1987.
195. Zacarian S.A. The art and science of cryosurgery. The Journal of Dermatologic Surgery and Oncology. 1977;3:401-402.

HAM VERİLER

3. GÜN	Yeni Kemik Yapımı	Fibrozis	Nekroz	İltihap	Kırık	Primer Yumuşak doku Kapanması
CO ₂ 1	1	1	2	2	yok	var
CO ₂ 2	0	1	2	2	yok	var
CO ₂ 3	0	1	1	2	yok	var
CO ₂ 4	1	1	2	2	yok	var
CO ₂ 5	0	1	2	2	yok	var
CO ₂ 6	0	1	2	2	yok	var
CO ₂ 7	0	1	2	2	yok	var
CO ₂ 8	1	1	2	2	yok	var
CO ₂ 9	0	1	2	2	yok	var

N 1	0	1	3	1	yok	var
N 2	0	1	3	1	yok	var
N 3	0	1	3	2	yok	var
N 4	0	1	3	1	yok	var
N 5	0	0	3	1	yok	var
N 6	0	0	3	3	yok	yok
N 7	0	1	3	1	yok	var
N 8	0	2	3	3	yok	var
N 9	0	0	3	3	yok	yok

K 1	0	1	1	1	yok	var
K 2	0	1	2	2	yok	var
K 3	1	1	1	2	yok	var
K 4	0	1	1	2	yok	var
K 5	0	0	2	1	yok	var
K 6	1	0	2	2	yok	var
K 7	1	1	1	1	yok	var
K 8	0	1	2	1	yok	yok
K 9	0	1	1	2	yok	var

Tablo 7.1: 3. güne ait deney grupları ve kontrol gruplarının değerlendirme sonuçları

7. GÜN	Yeni Kemik Yapımı	Fibrozis	Nekroz	İltihap	Kırık	Primer yumuşak doku kapanması
CO ₂ 1	1	2	1	0	yok	var
CO ₂ 2	1	2	1	2	yok	var
CO ₂ 3	1	2	1	1	yok	var
CO ₂ 4	2	3	2	2	yok	var
CO ₂ 5	2	2	2	2	yok	var
CO ₂ 6	1	1	3	2	yok	var
CO ₂ 7	2	3	1	2	yok	var
CO ₂ 8	1	2	1	2	yok	var
CO ₂ 9	1	2	2	2	yok	var

N 1	1	2	3	0	yok	var
N 2	0	2	3	2	yok	yok
N 3	1	2	3	1	yok	var
N 4	1	3	3	1	yok	var
N 5	1	2	3	1	yok	var
N 6	2	1	3	1	yok	var
N 7	0	2	3	1	yok	var
N 8	2	2	3	1	yok	var
N 9	1	3	3	1	yok	var

K 1	1	2	1	1	yok	var
K 2	1	2	1	1	yok	var
K 3	2	2	1	1	yok	var
K 4	1	2	1	1	yok	var
K 5	2	2	0	1	yok	var
K 6	1	2	0	2	yok	var
K 7	2	2	1	1	yok	var
K 8	2	2	0	2	yok	yok
K 9	2	2	0	2	yok	var

Tablo 7.2: 7. güne ait deney grupları ve kontrol gruplarının değerlendirme sonuçları

14. GÜN	Yeni kemik yapımı	Fibrozis	Nekroz	İltihap	Kırık	Primer yumuşak doku kapanması
CO ₂ 1	2	1	2	1	yok	var
CO ₂ 2	2	1	2	2	yok	var
CO ₂ 3	3	1	1	1	yok	var
CO ₂ 4	3	1	1	1	yok	var
CO ₂ 5	3	0	2	1	yok	var
CO ₂ 6	2	2	1	1	yok	var
CO ₂ 7	2	2	2	1	yok	var
CO ₂ 8	2	3	1	3	yok	var
CO ₂ 9	3	2	1	1	yok	var

N 1	1	2	3	2	yok	var
N 2	2	2	3	2	yok	var
N 3	2	2	3	2	yok	var
N 4	1	2	3	3	var	yok
N 5	2	3	3	3	yok	var
N 6	3	2	3	3	yok	yok
N 7	2	3	2	3	yok	yok
N 8	2	2	3	3	yok	var
N 9	2	2	3	3	yok	yok

K 1	3	2	0	1	yok	var
K 2	2	2	0	1	yok	var
K 3	2	2	1	1	yok	var
K 4	3	2	1	2	yok	yok
K 5	2	2	0	1	yok	var
K 6	2	2	1	1	yok	var
K 7	2	2	1	1	yok	var
K 8	2	2	1	1	yok	var
K 9	2	2	0	1	yok	var

Tablo 7.3: 14. güne ait deney grupları ve kontrol gruplarının değerlendirme sonuçları

21.GÜN	Yeni kemik yapımı	Fibrozis	Nekroz	İltihap	Kırık	Primer yumuşak doku kapanması
CO ₂ 1	3	3	1	2	yok	var
CO ₂ 2	3	3	2	1	yok	var
CO ₂ 3	1	3	1	0	yok	var
CO ₂ 4	2	2	3	3	yok	yok
CO ₂ 5	3	1	1	1	yok	var
CO ₂ 6	3	1	0	1	yok	var
CO ₂ 7	2	2	2	3	yok	yok
CO ₂ 8	2	3	1	2	yok	var
CO ₂ 9	2	2	0	1	yok	var

N 1	2	3	3	3	yok	var
N 2	3	3	2	3	yok	var
N 3	2	3	2	2	yok	var
N 4	2	2	3	3	yok	var
N 5	2	2	3	3	yok	var
N 6	0	2	3	3	var	yok
N 7	2	2	3	3	yok	yok
N 8	1	2	3	3	var	yok
N 9	2	2	3	3	yok	yok

K 1	2	2	0	0	yok	var
K 2	2	2	0	0	yok	var
K 3	3	2	0	1	yok	var
K 4	3	3	0	1	yok	var
K 5	2	2	1	0	yok	var
K 6	2	3	0	0	yok	var
K 7	2	2	1	0	yok	var
K 8	2	3	1	2	yok	var
K 9	2	2	0	0	yok	var

Tablo 7.4: 21. güne ait deney grupları ve kontrol gruplarının değerlendirme sonuçları

28. GÜN	Yeni kemik yapımı	Fibrozis	Nekroz	İltihap	Kırık	Primer yumuşak doku kapanması
CO ₂ 1	3	2	1	0	yok	var
CO ₂ 2	3	1	1	0	yok	var
CO ₂ 3	3	0	0	0	yok	var
CO ₂ 4	3	1	1	0	yok	var
CO ₂ 5	3	0	1	0	yok	var
CO ₂ 6	3	1	0	0	yok	var
CO ₂ 7	3	1	0	0	yok	var
CO ₂ 8	3	1	2	0	yok	var
CO ₂ 9	3	1	0	0	yok	var

N 1	2	3	2	2	yok	var
N 2	2	3	2	2	yok	var
N 3	2	3	2	2	var	var
N 4	1	3	2	2	var	var
N 5	2	3	2	2	yok	var
N 6	2	2	1	2	yok	var
N 7	2	2	1	3	yok	var
N 8	2	2	2	1	yok	var
N 9	2	2	1	1	yok	yok

K 1	3	2	0	0	yok	var
K 2	3	1	0	0	yok	var
K 3	3	1	0	0	yok	var
K 4	3	0	0	1	yok	var
K 5	3	0	0	0	yok	var
K 6	3	0	0	0	yok	var
K 7	3	1	0	0	yok	var
K 8	3	0	0	0	yok	var
K 9	3	0	0	0	yok	var

Tablo 7.4: 28. güne ait deney grupları ve kontrol gruplarının değerlendirme sonuçları

45. GÜN	Yeni kemik yapımı	Fibrozis	Nekroz	İltihap	Kırık	Primer yumuşak doku kapanması
CO ₂ 1	3	0	0	0	yok	var
CO ₂ 2	3	0	0	0	yok	var
CO ₂ 3	3	0	0	0	yok	var
CO ₂ 4	3	0	0	0	yok	var
CO ₂ 5	3	0	0	0	yok	var
CO ₂ 6	3	0	0	0	yok	var
CO ₂ 7	2	3	0	2	var	var
CO ₂ 8	3	1	0	0	yok	var
CO ₂ 9	3	3	1	2	yok	var

N 1	2	2	0	1	yok	var
N 2	2	3	3	3	yok	var
N 3	2	2	1	1	yok	var
N 4	3	2	0	0	yok	var
N 5	2	2	1	1	yok	var
N 6	2	2	1	1	yok	var
N 7	2	3	3	3	yok	yok
N 8	2	3	3	3	yok	var
N 9	2	2	1	1	yok	var

K 1	3	0	0	0	yok	var
K 2	3	0	0	0	yok	var
K 3	3	0	0	0	yok	var
K 4	3	0	0	0	yok	var
K 5	3	0	0	0	yok	var
K 6	3	0	0	0	yok	var
K 7	3	0	0	0	yok	var
K 8	3	0	0	0	yok	var
K 9	3	0	0	0	yok	var

Tablo 7.5: 45. güne ait deney grupları ve kontrol gruplarının değerlendirme sonuçları

60. GÜN	Yeni kemik yapımı	Fibrozis	Nekroz	İltihap	Kırık	Primer yumuşak doku kapanması
CO ₂ 1	2	3	0	1	yok	var
CO ₂ 2	2	3	0	1	yok	var
CO ₂ 3	3	2	0	1	yok	var
CO ₂ 4	3	1	0	0	yok	var
CO ₂ 5	3	3	3	3	yok	yok
CO ₂ 6	2	3	0	1	yok	var
CO ₂ 7	2	3	0	1	yok	var
CO ₂ 8	2	3	0	1	yok	var
CO ₂ 9	2	3	1	2	yok	var

N 1	2	3	2	1	yok	var
N 2	2	3	1	1	yok	var
N 3	2	3	1	1	yok	var
N 4	2	3	2	1	yok	var
N 5	3	2	1	2	yok	var
N 6	2	3	0	1	yok	var
N 7	2	3	2	2	yok	var
N 8	2	3	1	1	yok	var
N 9	3	0	0	0	yok	var

K 1	3	0	0	0	yok	var
K 2	3	0	0	0	yok	var
K 3	3	0	0	0	yok	var
K 4	3	0	0	0	yok	var
K 5	3	0	0	0	yok	var
K 6	3	0	0	0	yok	var
K 7	3	0	0	0	yok	var
K 8	3	0	0	0	yok	var
K 9	3	0	0	0	yok	var

Tablo 7.6: 60. güne ait deney grupları ve kontrol gruplarının değerlendirme sonuçları

ETİK KURUL KARARI



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
DEKANLIĞI



Sayı : 30827
Konu :

İstanbul, / /
29 Kasım 2006

İstanbul Üniversitesi Rektörlüğü
Personel Daire Başkanlığına

İLGİ: 13.11.2006 tarihli, 29059 sayılı yazınızı:

İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Ağız-Diş-Çene Hastalıkları Anabilim Dalında görevli **Dr.BURAK ÇANKAYA** yürütücülüğünde, **Prof.Dr.CÜNEYT KORHAN ORAL**'ın danışmanlığında planlanan "Deneysel olarak oluşturulan kemik defektlerinde sıvı nitrojen ve karbondioksit gazı uygulamasının kemik iyileşmesi üzerine olan etkilerinin histopatolojik olarak karşılaştırılması başlıklı çalışma hakkında ilgi yazınız ve ekleri **14 Kasım 2006** tarihinde toplanan Fakültemiz Deneysel Hayvanları Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup, katılanların oy birliği ile çalışmanın başlamasına karar verilmiştir.

Bilgilerinizi, durumun adı geçen Fakülte Dekanlığına bildirilmesini saygılarımla rica ederim.

Eki
1 dosya

Tuncay Altuğ
Prof.Dr.Tuncay ALTUĞ
Deneysel Hayvanları Etik
Kurul Başkanı

Prof.Dr. ÖNER SÜZER
Farmakoloji Anabilim Dalı

Prof.Dr. SERGÜLEN DERVİŞOĞLU
Patoloji Anabilim Dalı

Prof.Dr. PERVİN BOZKURT
Anesteziyoloji Anabilim Dalı

Prof.Dr.HAKKI OKTAY SEYMEN
Fizyoloji Anabilim Dalı

Prof.Dr. METİN CANER
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Prof.Dr. AHMET DİRİCAN
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Doç.Dr. FADIL AYAN
Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Doç.Dr. HATUN HANZADE AKDENİZ DOĞAN (DERSTE)
Deontoloji ve Tıp Tarihi

Yard.Doç.Dr. SERDAL UĞURLU
Veteriner Hekim

İST. Ü. REKTÖRLÜĞÜ	
Personel D. Başkanlığına Genel Sekreterlik	Yazı İşleri ve Genel Evrak Md. Gözetim Evrak 55361 Sayı :
30.11/2006	

11046-207

İST. ÜNİ. PERSONEL DAİRE BAŞKANLIĞI
01 Aralık 2006
Sayı: 35735

Belenat

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Abdülkadir Burak	Soyadı	Çankaya
Doğ.Yeri	Beyşehir/KONYA	Doğ.Tar.	03.07.1977
Uyruğu	TC	TC Kim No	
Email	burakcankaya@yahoo.com	Tel	05327654857

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İ.Ü.Diş Hekimliği Fakültesi	2006
Yük.Lis.	İ.Ü.Diş Hekimliği Fakültesi	2000
Lisans	İ.Ü.Diş Hekimliği Fakültesi	2000
Lise	Kadiköy Anadolu Lisesi	1995

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Araştırma görevlisi	İ.Ü.Diş Hekimliği Fakültesi	2000-2006
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	86	
Almanca	Orta	Zayıf	Zayıf		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Word	iyi
Excel	iyi
Powerpoint	iyi