

**T.C.**  
**BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA PREOPERATİF OZON TERAPİSİNİN FLEP**  
**YAŞAYABİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİSİ: DENEYSEL ÇALIŞMA**

**Dr. Abdulkerim OLĞUN**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof. Dr. A. Eksal KARGI**

**ZONGULDAK**  
**2015**

**T.C.**  
**BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA PREOPERATİF OZON TERAPİSİNİN FLEP**  
**YAŞAYABİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİSİ: DENEYSEL ÇALIŞMA**

**Dr. Abdulkerim OLĞUN**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof. Dr. A. Eksal KARGI**

**ZONGULDAK**  
**2015**

## TEZ ONAY TUTANAĞI

Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte: Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tez Başlığı : Ratlarda Preoperatif Ozon Terapisinin Flep Yaşayabilirliği  
Üzerine Etkisi:  
Deneysel Çalışma

Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. Abdülkerim OLGUN

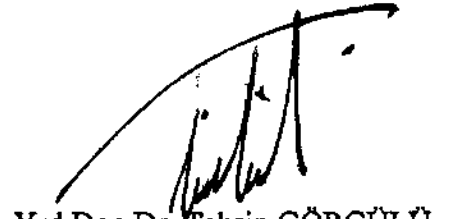
Tez Savunma Tarihi: 05/10/2015

Tez Danışmanı : Prof.Dr. Eksal KARGI

Prof.Dr. Eksal KARGI  
Jüri Başkanı

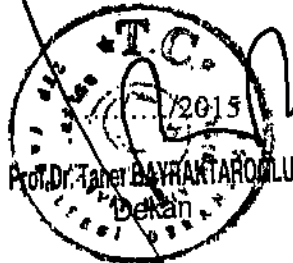


Doç.Dr. Ersoy KONAŞ  
Hacettepe Ü. Tıp Fakültesi  
Plastik Rek. Ve Estetik Cer. AD.  
Öğretim Üyesi



Yrd.Doç.Dr. Tahsin GÖRGÜLÜ  
Plastik Rek. ve Estetik Cer.  
AD. Başkanı

UYGUNDUR



## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi birikimi ve hayat tecrübesinden faydalandığım, engin hoşgörüsü ile her zaman yanımda olan tez danışmanım sevgili hocam Prof. Dr. A.Eksal KARGI'ya.

Eğitim sürecimde bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren değerli hocalarım Prof. Dr. Orhan BABUÇU ve Yrd. Doç. Dr. Tahsin GÖRGÜLÜ'ye .

Asistanlık eğitimim süresince birlikte çalışma şansına eriştiğim sevgili arkadaşlarım Dr. Ayhan BUZ, Dr. Sinan KAYA, Dr. Mehmet Haşim GÜNER, Dr. Ramazan GÜLER ve Dr. Merve TORUN'a, yoğun stres altında bile her zaman anlayışlı olan servisi ve ameliyathanesiyle çalıştığım tüm hemşire ve personele.

Çalışmamın histopatolojik incelemelerinde değerli katkılarından dolayı Doç. Dr. Nilüfer Onak KANDEMİR 'e ve tüm patoloji birimi çalışanlarına.

İstatistiksel analizlerde katkılarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Fürüzan KÖKTÜRK'e

Her zaman bana destek olan ve umut veren sevgili eşime, kızım Emine'ye ve oğlum Mahmut Melikşah'a ve bu seviyeye gelmemde büyük emekleri olan sevgili aileme ve bu zorlu süreci atlatmamda bana desteklerini esirgemeyen tüm arkadaşlarıma,

Teşekkür ederim.

Dr. Abdülkerim OLGUN  
Zonguldak, 2015

## ÖZET

### **Ratlarda Preoperatif Ozon Terapisinin Flep Yaşayabilirliği Üzerine Etkisi, Deneysel Çalışma**

**Giriş:** Literatürde yara iyileşmesi ve flep yaşayabilirliği ile ilgili yapılmış bir çok çalışma mevcuttur. Flep sağkalımını artırmak için önerilen önkoşullanma yöntemlerini de araştırdığımız bu çalışmada, deri flebi sağkalımını artırmak için ozon aracılı önkoşullanma anlayışının literatürde yeteri ölçüde ele alınmadığını görmüş bulunmaktayız. Ozon aracılı önkoşullanma prensibinin organ nakil modellerinde yapılmış deneysel çalışmalarına daha çok rastlamaktayız. Ozon gazının antioksidan, vazodilatör ve immünomodülatör etkinliğinin yanında bir çok büyüme faktörünü de aktive ederek yara iyileşmesini artırdığı birçok çalışmada gösterilmiş olup, başarılı sonuçlar alınmıştır.

**Materyal ve Metod:** Bu amaçla yapılan çalışmada 40 adet sıçan rastgele 4 gruba bölündü; tüm gruplardaki ratlarda dorsal kaudal bazlı 11x3cm lik modifiye Mc Farlane flebi kaldırıldı.

**1.Grup kontrol (n=10):** Herhangi bir ajan cerrahi sonrası uygulanmadı. Bir haftanın sonunda ratlar sakrifiye edildi.

**2.Grup preoperatif rektal ozon alan grup (n=10):** Ameliyattan önce 4 gün boyunca 0,5mg/kg (O3/O2) dozunda günde bir kez olmak üzere rektal ozon uygulaması yapıldı. Ameliyattan sonra herhangi bir ozon uygulaması yapılmayan grupta bir haftanın sonunda ratlar sakrifiye edildi.

**3.Grup preoperatif +postoperatif rektal ozon alan grup (n=10):** Ameliyattan önce 4 gün boyunca 0,5mg/kg (O3/O2) dozunda günde bir kez olmak üzere rektal ozon uygulaması yapıldı. Ameliyattan sonra günlük rektal ozon uygulamasına devam edilen grupta bir haftanın sonunda ratlar sakrifiye edildi.

**4. Grup postoperatif rektal ozon alan grup (n=10):** Postoperatif rektal yoldan 7 gün boyunca, 0,5mg/kg (O3/O2) dozunda günde bir kez olmak üzere rektal ozon uygulaması yapıldı. Bir haftanın sonunda ratlar sakrifiye edildi.

Ratlar, postoperatif 7. günde sakrifiye edildikten sonra makroskopik ve histopatolojik açıdan değerlendirildi.

**Tartışma ve Sonuç:** Bu çalışmanın temel amacı, preoperatif ozon gazının rekonstrüksiyon amaçlı uygulanan fleplerde, flep yaşayabilirliğine etkisini göstermek ve ozon terapisinin deri fleplerinde bir önkoşullanma olarak kullanılabileceğini ortaya koymaktır.

Çalışmanın sonunda, fleplerde yaşayan yüzey alanı ölçümleri yapıldığında; flep sağkalım oranları açısından tüm gruplar kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı ölçüde daha yüksek olup, preoperatif + postoperatif grup ile postoperatif ozon grubu benzer bulundu.

Preoperatif ozon grubunda flep viabilite oranı en yüksek iken kontrol grubunda bu oran en düşük bulunmuştur. Histopatolojik olarak; kronik inflamatuvar yanıt tüm gruplarda gözlenmiş olup, kronik enflamasyon skorları tüm gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Granülasyon dokusunun miktarı tüm gruplarda ve özellikle preoperatif ozon uygulanan grupta kontrol grubuna göre daha yüksek olup bu farklılık istatistiksel anlamlıdır ( $p<0.001$ ). Fibroblast matürasyonu, preoperatif ozon verilen grupta istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Preoperatif +postoperatif ozon verilen grupta kollajen miktarı diğer gruplara göre daha yoğun olarak izlenmiştir.

Reepitelizasyon açısından gruplar arasında istatistiki olarak fark bulunamasa da ( $p=0.083$ ), preoperatif ve preoperatif+postoperatif ozon alan gruplarda reepitelizasyonun daha iyi düzeyde olduğu gözlenmiştir. Neovaskülarizasyon açısından preoperatif ozon verilen grupta yeni oluşan damar sayısının diğer gruplara göre anlamlı ölçüde yüksek olduğu belirlenmiştir. Ülser varlığı ve derinliği açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamasa da ( $p=0.313$ ), kontrol grubunda %40 olguda subkutan doku ve kas tabakasına ulaşan derin ülser varlığı gözlemlenmiş olup diğer gruplarda bu oran %10-20 arasında bulunmuştur.

Sonuç olarak ozon ile önkoşullanma yapılan gruplarda(grup 2 ve grup3) granülasyon dokusu, fibroblast matürasyonu, reepitelizasyon, neovaskülarizasyon, kollojen birikimi önkoşullanma yapılmayan diğer gruplara göre daha belirgin bir şekilde yüksek bulunmuş olup ön koşullanma yapılan gruplarda ülser derinliği daha yüzeysel görülmüştür. Bu yönüyle, çalışmamızda, ozon aracılı önkoşullanma yönteminde sadece makroskobik olarak flep sağkalımlarının arttığı gösterilmemiş olup aynı zamanda histopatolojik seviyedeki faydalı etkileride ortaya konmuştur.

Deri flep cerrahisinde ozon aracılı önkoşullanma konseptini ele alan ve bu uygulama anlayışının gelişmesine ön ayak olacağını düşündüğümüz çalışmamızın olumlu sonuçlarının, plastik cerrahi ilkeleri arasında kısa zamanda yer alacağına inanmaktayız

**Anahtar Kelimeler:** Deri flebi, ozon gazı, ozon aracılı önkoşullanma, rektal ozon terapi.

## SUMMARY

### **Preoperative Ozone Therapy Effect Upon Flap Viability: An Experimental Study**

**Introduction:** In the literature, many studies related to wound healing and flap viability is available. Particularly, in this study we also investigate preconditioning methods proposed to increase flap survival, we have found that ozone-mediated preconditioning approach to improve skin flap survival has not to been addressed sufficiently in the literature. We encounter more to the experimental study of ozone-mediated preconditioning principles of organ transplantation models. In addition to antioxidant, vasodilatory and immunomodulatory effects of ozone gas, it has been shown that ozone gas improve wound healing by activating the many growth factors and found succesful results in may studies.

**Material and Method:** The 40 rats in the study were randomly divided into 4 groups then the rats in all group were undergone modified Mc Farlane flap elevation procedure that was sized 11x3 cm and caudal based in dorsal region of the rats.

**1.Group control (n=10):** Any agent didn't apply after surgery. The rats were killed at the end of a week.

**2.Group preoperative rectal ozone group (n=10):** Rectal ozone was applied once a day for 4 days before surgery in dosage of 0.5 mg / kg (O3 / O2) in accordance with the ratio according to the weight of the animal . After surgery, in the group that any ozone application didn't performe, rats were killed at the end of a week .

**3.Group preoperative +postoperative rectal ozone group (n=10):** Rectal ozone was applied once a day for 4 days before surgery in dosage of 0.5 mg / kg (O3 / O2) in accordance with the ratio according to the weight of the animal . After surgery, in the group that ozone application continued daily with the same dose , rats were killed at the end of a week

**4. Grup postoperative rectal ozone group (n=10):** Ozone therapy applied once a day rectally for 7 days, in dosage of 0.5 mg / kg (O3 / O2) in accordance with the ratio according to the weight of the animal, postoperatively. Rats were sacrificed at the end of a week.

After rats were killed in postoperative 7<sup>th</sup> day, they were assesed macroscopically and histopathologically.

**Discussion and Conclusion:** The aims of this study are to indicate effect of preoperative ozone therapy upon flap viability in flaps those are performed for reconstruction and to demonstrate ozone therapy that will be able to use as a preconditioning.

When living areas of flaps were measured; all other groups were better in comparison to the control group and preoperative + postoperative ozone grup and postoperative ozone group

were similar in terms of flap viability. While the flap viability rate was highest in the preoperative ozone group, this ratio was the lowest in the control group. Histopathologically; chronic inflammatory response was observed in all groups, chronic inflammation scores were significantly higher in all other groups compared to the control group. The amount of granulation tissue especially in preoperative ozone group was higher than the control group, this difference was statistically significant( $p < 0.001$ ). Fibroblast maturation in the preoperative ozone group were statistically significantly higher. The amount of collagen in the preoperative+postoperative ozone group has been seen more intensively than the other groups. Although the statistical difference between the groups in terms of re-epithelialization was not exist( $p = 0.083$ ), re-epithelialization ratio was higher in the preoperative and preoperative+postoperative ozone group. In terms of neovascularization, the number of newly formed vessels in the preoperative ozone group was determined to be significantly higher than the other groups. Although the statistical difference between the groups in terms of presence and depth of ulcer was not exist( $p = 0.313$ ), the presence of deep ulcers were observed in the control group reached the subcutaneous tissue and muscle layers in the case of 40%, this ratio in the other group were found between 10-20%.

Finally, in the ozone preconditioning groups(group 2 and group3), amount of granulation tissue, fibroblasts maturation, re-epithelialization, neovascularization, and collagen deposition were found higher than the other groups, and the ulcer depth was seen more superficial in the groups that preconditioning was performed. In this aspect, it has not only been shown that the ozone-mediated preconditioning method increased flap survival macroscopically, but also it has been demonstrated that beneficial effects of the ozone-mediated preconditioning in the histopathological level.

We believe the positive results of our study that address ozone-mediated preconditioning concept in skin flap surgery and we think it will be pioneer in understanding of of this application will the development of our work, will be located among the principles of plastic surgery in a short time.

**Key words:** Skin flap, ozone, ozone-mediated preconditioning, rectal ozone therapy.



## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEŞEKKÜR.....	İİ
ÖZET.....	İİİ
SUMMARY .....	V
İÇİNDEKİLER .....	Vİİ
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	X
ŞEKİL DİZİNİ .....	Xİİ
TABLO DİZİNİ .....	Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Derinin Yapısı.....	3
2.1.1. Anatomi.....	3
2.1.1.1. Epidermis .....	3
2.1.1.2. Dermis .....	4
2.2. Derinin Beslenmesi.....	5
2.2.1. Derinin Kan Dolaşımı .....	6
2.2.1.1. Derinin mikrodolaşımı .....	7
2.3. Yara İyileşmesi .....	9
2.4. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler .....	11
2.5. Flepler .....	14
2.5.1. Flep nedir? .....	14
2.5.2. Flep cerrahisi tarihçe ve kronolojisi .....	14
2.5.3. Fleplerin sınıflandırılması .....	15
2.5.4. Anjiozom konsepti .....	16
2.5.5. Flep fizyolojisi .....	16
2.5.6. Flep Kaybı.....	17
2.6. Flep Sağkalımını Artırmak İçin Uygulanan Yöntemler .....	19
2.6.1. Flep Geciktirmesi (Delay Fenomeni).....	19
2.6.2. İskemik ön koşullanma .....	21
2.6.3. Uzaktan iskemik önkoşullanma .....	22
2.6.4. Hipertermik önkoşullanma.....	23
2.6.5. Hipotermik önkoşullanma .....	23

2.6.6. Farmakolojik önkoşullanma.....	24
2.6.7 Büyüme Faktörüyle Önkoşullanma .....	26
3. OZON.....	28
3.1. Tanım Ve Tarihçe .....	28
3.2. Ozonun Vücut Sıvılarıyla Etkileşimi ve Metabolizması .....	30
3.2.1. Hücre düzeyi etkileri.....	32
3.3. Ozon Uygulama Yöntemleri.....	33
3.3.1. Majör otohemoterapi (MOH).....	33
3.3.2. Minör otohemoterapi (MIH) .....	33
3.3.3. Lokal tedaviler .....	33
3.3.4. Ozonlu su .....	33
3.3.5. Peroksidik yağlar .....	34
3.3.6. Ozon/oksijen gaz karışımı.....	34
3.3.7. Vücut boşluklarına ozon verme .....	34
3.3.8. Ozon gazı enjeksiyonu .....	35
3.4. Ozonunun Klinik Kullanım Alanları .....	35
3.4.1. Yara iyileşmesi ve kronik yaralar .....	35
3.4.2. Antibakteriyel etki .....	35
3.5. Ozonun Yan Etkileri ve Kontrendikasyonları .....	36
4. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	38
4.1. Denekler.....	38
4.2. Deney .....	39
4.2.1. Ameliyat öncesi hazırlık .....	39
4.2.2. Fleplerin kaldırılması .....	40
4.2.3. Ötenazi işlemi ve örneklerin alınması.....	42
4.2.4. Yüzey Alan Ölçümleri .....	42
4.3. Histopatolojik Değerlendirme Metodu .....	44
4.4. İstatistiksel Analiz .....	45
5. BULGULAR .....	46
5.1. Makroskopik Bulgular .....	46
5.2. Histopatolojik Değerlendirme Bulguları .....	48
5.3. İstatiksel Bulgular .....	53

6. TARTIŞMA .....	59
7.SONUÇ VE ÖNERİLER .....	72
8. KAYNAKLAR .....	73
9. EKLER.....	86
Ek 1: Etik kurul Onayı.....	86

## SİMGELER VE KISALTMALAR

ACE:	Anjiotensin dönüştürücü enzim
ADP:	Adenozin Difosfat
ATP:	Adenozin Trifosfat
BEÜ:	Bülent Ecevit Üniversitesi
bFGF:	Temel Fibroblast Büyüme Faktörü
CAT:	Katalaz
CGRP:	Kalsitonin Gen İlişkili Peptid
CCL <sub>4</sub> :	Karbontetraklorür
cGMP:	Siklik Guanozin Mono Fosfat
DNA:	Deoksi Ribonükleik asit
2,3 DPG:	2,3 Difosfogliserat
EGF:	Epidermal Büyüme Faktörü
EPO:	Eritropoietin
FDA:	Gıda ve İlaç İdaresi(Amerika Birleşik Devletleri)
FGF:	Fibroblast Büyüme Faktörü
GM-CSF:	Granülosit Makrofaj-Koloni Uyarıcı Faktör
GSH-Px:	Glutasyon peroksidaz
GSH-Rd:	Glutasyon redüktaz
GSH-Tr:	Glutasyon Transferaz
G6PDH:	Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz
H&E:	Hematoksilen – eozin
HENE:	4-hidroksi 2,3-transnorneal
HES:	Hidroksi Etil Starch
HO-1:	Hemooksijenaz-1
HSP:	Isı Şok Proteini
IFN:	İnterferon
IL:	Interlokin
I/R:	İskemi/Reperfüzyon
LOPs:	Lipid Oksidasyon Ürünleri
MDA:	Malonil dialdehid

MİH:	Minör Otohemoterapi
mmHg:	Milimetre civa
MOH:	Major Otohemoterapi
NO:	Nitrik oksit
O <sub>2</sub> :	Oksijen
O <sub>3</sub> :	Ozon
PO <sub>2</sub> :	Parsiyel oksijen basıncı
PDGF:	Platelet kökenli büyüme faktörü
PGE 1:	Prostaglandin E1
PGF2 $\alpha$ :	Prostaglandin F2 $\alpha$
PGI <sub>2</sub> :	Prostosiklin
PMNL:	Polimorf nüveli lökosit
ROS:	Reaktif oksijen türleri
RNA:	Ribo nükleik asit
SOD:	Süperoksit dismutaz
Str. :	Stratum
TGF- $\beta$ :	Dönüştürücü Büyüme Faktörü- $\beta$
TNF- $\alpha$ :	Tümör Nekroz Faktör- $\alpha$
USA:	Amerika Birleşik Devletleri
VEGF:	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü
vitA:	A vitamini
vitC:	C vitamini
vitE:	E vitamini

## ŞEKİL DİZİNİ

<u>No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 1.	Epidermisin Yapısı .....	4
Şekil 2.	Dermisin Yapısı.....	5
Şekil 3.	Dermisin Damarsal Ağı.....	8
Şekil 4.	Reperfüzyon aşamasında oksijen radikallerinin oluşumu. ....	18
Şekil 5.	Flep geciktirme (delay) işlemi.....	19
Şekil 6.	Deneklerin dorsal cilt alanlarının elektrikli traş makinası ile traşlanması.....	40
Şekil 7.	Flep dizaynı .....	40
Şekil 8.	Dorsal cilt flebinin panniculus karnosus ile birlikte kaldırılması.....	41
Şekil 9.	Kaldırılan dorsal cilt flebinin 3/0 ipekle yerine sütürasyonu .....	41
Şekil 10.	Flep nekroz alanlarının ölçümü için kullanılan dijital yüzey ölçüm cihazı... ..	42
Şekil 11.	Flep nekroz alanlarının ölçümü .....	43
Şekil 12.	Sınırları çizilmiş flep nekroz alanlarının yüzey ölçümü.....	43
Şekil 13.	Grup 1, ameliyat sonrası 7. günden görünüm.....	46
Şekil 14.	Grup 2, ameliyat sonrası 7.günden görünüm.....	47
Şekil 15.	Grup 3, ameliyat sonrası 7.günden görünüm.....	47
Şekil 16.	Grup 4, ameliyat sonrası 7.günden görünüm.....	48
Şekil 17.	Preoperatif ozon alan gruptan alınan deri-deri altı doku örneklerine ait ışık mikroskopik görüntümler.....	49
Şekil 18.	Preoperatif + postoperatif ozon alan gruptan alınan deri-deri altı doku örneklerine ait ışık mikroskopik görüntümler .....	50
Şekil 19.	Flep kontrol grubundan alınan örneklere ait ışık mikroskopik görüntüler	51
Şekil 20.	Flep postoperatif ozon grubundan alınan örneklere ait ışık mikroskopik görüntüler. ....	52

## TABLO DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 1. İnsanda ozon gazının toksik etkileri. ....	29
Tablo 2. Histolojik parametrelerin skorlanması. BBA: Büyük büyütme alanı.....	44
Tablo 3. Flep viabilite oranlarının istatistiksel dökümü. Preoperatif ozon alan grubun flep sağ kalım oranlarının yüksekliği dikkati çekmektedir. ....	53
Tablo 4. Flep sağkalım oranlarının grafiksel dökümü. Preoperatif rektal ozon alan grupta flep sağkalım oranlarının yüksekliği dikkati çekmektedir. ....	53
Tablo 5. Histopatolojik değerlendirme parametre skorlarının istatistiksel dökümü ....	54
Tablo 6. Kronik enflamasyonun gruplara göre dağılımının grafiksel dökümü .....	55
Tablo 7. Granülasyon doku miktarının gruplara göre dağılımının grafiksel dökümü ....	55
Tablo 8. Granülasyon dokudaki fibroblast maturasyonunun grafiksel dökümü.....	56
Tablo 9. Kollojen birikiminin gruplara göre dağılımının grafiksel dökümü .....	56
Tablo 10. Reepitelizasyonun gruplara göre dağılımının grafiksel dökümü.....	57
Tablo 11. Neovaskülarizasyonun gruplara göre grafiksel dökümü. BBA: Büyük büyütme alanı. ....	57
Tablo 12. Ülser derinliğinin gruplara göre dağılımının grafiksel dökümü .....	58

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bilindiği üzere insan vücudunda çeşitli nedenlerle oluşmuş yaraların tedavisi amacıyla tarih öncesi çağlardan beri, insanoğlu hep bir arayış içerisinde olmuştur. Bu arayışları yaparken gelinen son nokta, topikal uygulanımlı çeşitli farmakolojik ajanlar ve cerrahidir. Yara ve cerrahi ikileminde meseleye bakıldığında, karşımıza flep ve greft ikilemi çıkmaktadır. Herhangi bir yaranın sağaltımında uygulanacak bu iki prosedür, komplikasyonları göz ardı edildiğinde sonuçları itibariyle altın standart diye nitelendirilebilecek makamı hak etmektedir. Ne var ki; bu tarz cerrahilerin uygulandığı hastalarda, önceden var olan diğer morbidite durumlarına birde cerrahiye bağlı morbidite eklenmekte ve sonunda daha uzun hastanede kalım süresi, multisistemik diğer komplikasyonlar, cerrahiye bağlı olarak yara alanının daha da büyümesi ve hatta ölümler yaşanabilmektedir.

Yara tedavilerinde, plastik cerrahların rekonstrüksiyon için uyguladıkları müdahalelerden olan flep cerrahisi tüm dünyada çok sayıda bilimsel çalışmanın konusu olmuştur. Flepler onkolojik cerrahi veya travma vakaları başta olmak üzere çeşitli nedenlerle kaybedilen dokuların rekonstrüksiyonunda sıklıkla kullanılmaktadır. Flep cerrahisi, ameliyat sonrası takip ve tedavisi bakımından çok özel ilgi ve sabır gerektirmekte olup bu konuda ileri araştırmalara ihtiyaç duyulduğu da aşikardır. Flepler, donör sahadan rekonstrüksiyon amaçlı alıcı sahaya aktarıldıklarında kanlanmaları bozulduğundan, ameliyat sonrası flep kayıpları bu tür amelyatların en sık rastlanan komplikasyonudur. Postoperatif dönemde yaşanan flep kayıpları hastanede kalım süresini artırmakta, ikinci ve üçüncü ameliyat ihtiyacını doğurmakta, morbidite ve hatta mortalite oranlarında da ciddi artışa sebep olmaktadır.

Bu nedenle flep cerrahisinde özellikle ameliyat sonrası dönemde flep yaşayabilirliğini artırmak için çeşitli yöntemler çalışılmıştır. Bu yöntemlerin başlıcaları; kan dolaşımını arttıran sempatotik ajan ve direkt vazodilatatör kullanımı, antitrombotik ve antikoagülan ajan kullanımı, antioksidan ilaç kullanılması, delay yöntemi gibi bazı genel yaklaşımlardır (1). Birçok farmakolojik ajanın flep yaşayabilirliği ve perfüzyonunun düzenlenmesine yönelik farklı etkinlik



gösterdiği bildirilmiştir. Çoğu deneysel olarak etkili bulunsa da, öngörülebilir klinik etkileri hala gösterilememiştir.

Artık bir önkoşullama yöntemi olarak da kabul edilen cerrahi geciktirme (delay) işlemi, flep yaşayabilirliğini klinik olarak arttırdığı defalarca gösterilen tek gerçekçi yöntemdir(1). Cerrahi önkoşullanma ya alternatif olarak cerrahi olmayan önkoşullanma teknikleri de literatürde mevcuttur. Bunlardan başlıcaları; hipertermik önkoşullanma, hipotermik önkoşullanma, farmakolojik önkoşullanma sayılabilir (2).

Yukarıda bahsedilen önkoşullanma tekniklerinin ortak özellikleri, kaldırılacak flepte ameliyat sonrası dönemde oluşabilecek oksidatif stress ve iskemi-reperfüzyon hasarının kaldırılan flepte oluşturacağı olumsuz etkilerin önlenmesi için antioksidan sistemlerin aktivasyonudur.

Antioksidan mekanizmaların aktivasyonunda genelde uygulanan yöntem oksidatif stres provakasyonudur. Oksidatif stres provakasyonunda kontrollü oksidatif stres oluşturan yöntemlerden birisi de ozon uygulanımdır (3). Ozon uygulanımdan sonra ortaya çıkan oksidatif stres, antioksidan enzim seviyelerini artırmakta ve buna ilaveten endotel üzerindeki reseptörler aracılığıyla vazodilatasyon yaparak dokuda kanlanmayı artırmaktadır (4). Ozon gazının bu etkisi, flep cerrahisinde bir önkoşullanma etkisinin olabileceğini bizlere düşündürmüştür. Bu amaçla flep cerrahisinde uygulanan önkoşullanma teknikleri arasında hak ettiği yeri alamamış ve bu yönüyle de özgün olduğunu düşündüğümüz ozon aracılı önkoşullanma çalışmamızı Wistar Ratlarda Mac Farlane flebi operasyonunda uyguladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Derinin Yapısı

Deri embriyolojik olarak birbirinden farklı iki orijinden oluşur.

Epidermis ve ekleri (kıllar, tırnaklar, yağ ve ter bezleri) ile sinirler ektodermden köken alırlar.

Dermis ve subkutis ise (bağ dokusu, yağ dokusu, kollajen lifler, elastik lifler, kaslar, lenf ve kan damarları) ise mezodermden köken alırlar(1).

#### 2.1.1. Anatomi

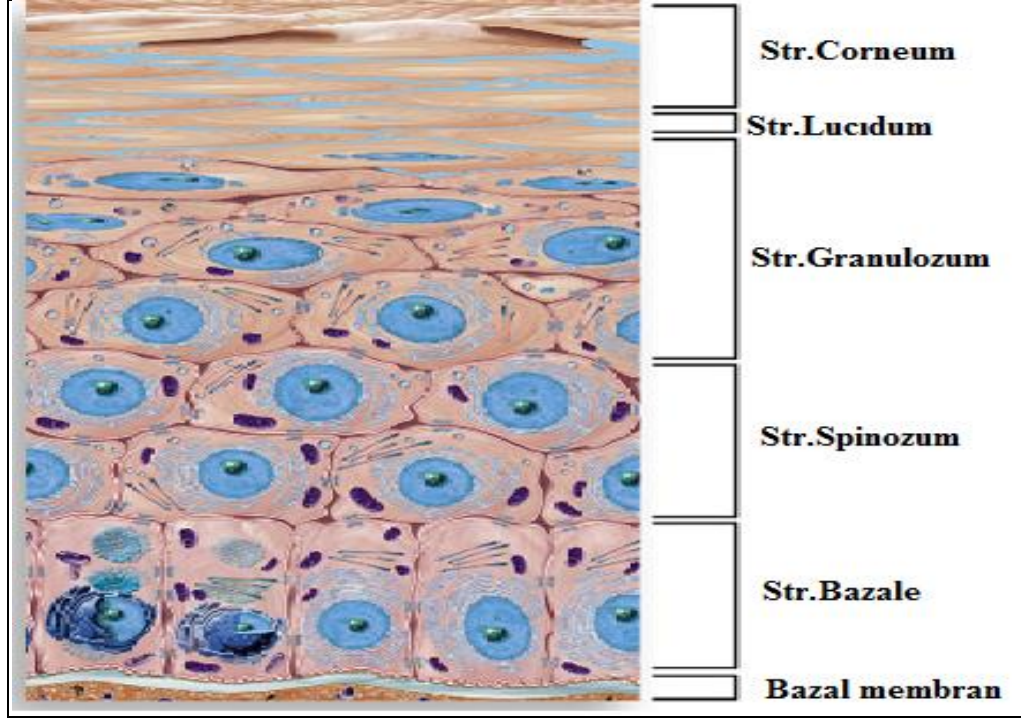
Deri temelde iki katmandan oluşur. En üstteki katmanda giderek yassılaştan ve çekirdeğini kaybeden hücrelerin olduğu epidermis ve epidermisin altında kanlanmanın olduğu, pilosebace gland ve sinir uçları gibi yapısal elemanların olduğu dermis yer alır(1).

##### 2.1.1.1. Epidermis

Epidermis kalınlığı vücudun bölgelerine göre değişir. Palmar bölgede 1. 6 mm, göz kapağında ise 0. 04 mm'dir .

Epidermisin katları; Str. Corneum, Str. Lucidum, Str. Granulosum, Str. Spinosum ve Str. Basale (Germinativum) dir.(Şekil 1).

Str. Lucidum, yalnızca palmar ve plantar bölgede bulunur. Str. Basale'den hareket eden hücreler 14 günde Str. Corneum'a ulaşırlar. Deskuamasyondan önce burada 14 gün kalırlar. Kan damarları bulunmaz. Altındaki dokudan difüzyonla beslenir. Daha çok keratinositlerden oluşan çok katlı yassı epitelden oluşur. Bazal membranla dermisten ayrılır(1).

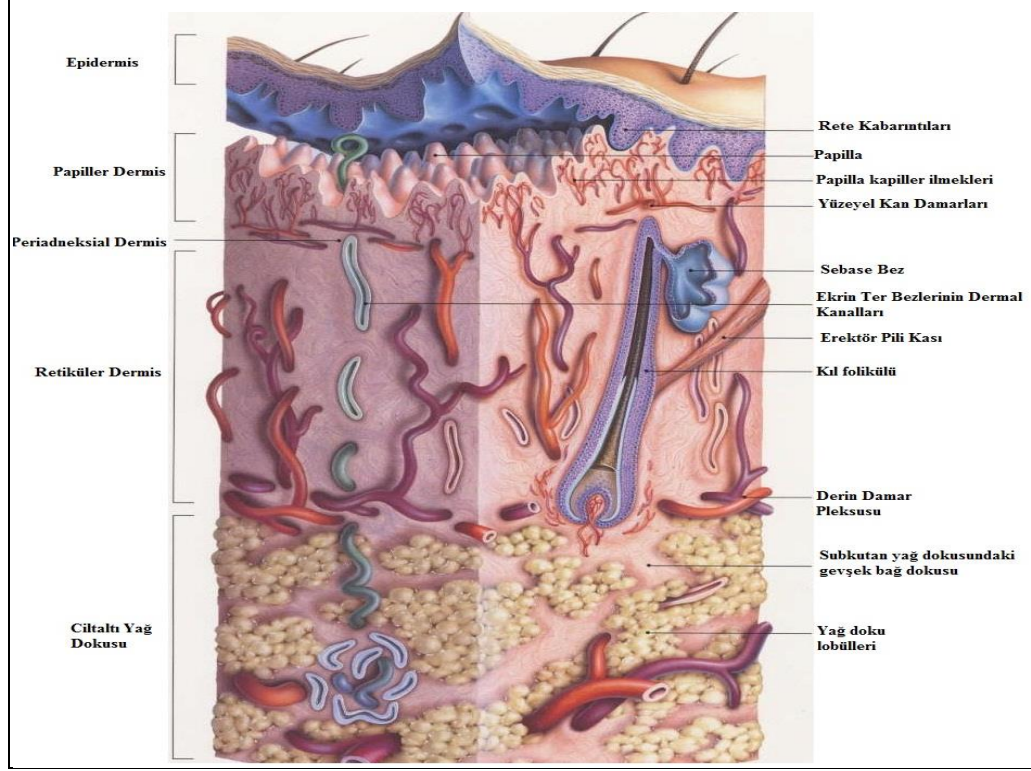


**Şekil 1. Epidermisin Yapısı**

### **2.1.1.2. Dermis**

Dermis tabakası epidermisin hemen altında epidermisi besleyen kan ve lenf damarlarından oluşan içerisinde glandüler yapılar, kıl folikülü kas ve bağdokusu barındıran bir yapıdır. Dermis tabakası 2 temel yapıya ayrılır. Bunlar; papiller dermis ve retiküler dermisdür. Papiller dermis gevşek bağdokusundan oluşmakla birlikte retiküler dermise göre daha incedir. Fibroblast ,mast hücreleri ve makrofajlar gibi immün cevabı yöneten hücrelere sahiptir. Retiküler dermis, papiller dermise göre daha az hücre bulundurmakla beraber, özellikle tip-1 kollojenden zengin düzensiz bağ dokusundan oluşur. Epidermisi besleyen kan ve lenf damar ağı papiller dermiste bulunur. Dermiste parasempatik innervasyonu olmayan sadece sempatik innervasyonlara sahip sinir sonlanmaları mevcuttur. Dermisin yapısında yer alan kıl folikülleri ayak tabanı, el ayası, dudak, glans penis, labium minora ve klitoriste bulunmaz. Kıl folikülleri, kıl büyümesini ve folikülün damar ağını sağlayan dermal papillalara sahiptir. Bu papilla kıl folikülü için hayati öneme sahip olup hasarlandığında kıl folikülü ölür. Yağ bezleri salgıladıkları sebümü genellikle kıl folikülüne aktarırlar ve dolayısıyla en çok yüz alın ve kafa derisinde sayıları daha

çoktur. Ayak tabanı ve el ayası gibi kıl folikülünün olmadığı yerlerde kısa bir kanalla direk deri yüzeyine açılırlar(Şekil 2) (1).



Şekil 2. Dermisin Yapısı

## 2.2. Derinin Beslenmesi

Deri beslenmesinin ana kaynağı aortadan çıkan segmenter damarlardır. Segmenter damarlar derin dokulardan yüzeysel dokulara doğru ilerlerken herbiri vücudun belirli bölgesini besleyen damarlar verirler. Bu damarlar kaslar arasındaki fibröz septaları izleyerek bazıları direkt olarak deriye, çoğu ise kas içine giden dallara ayrılırlar. Direkt olarak deriye giden dallara septokutan damarlar, kaslar içinden geçerek deriye ulaşan damarlara ise muskulokutan damarlar adı verilir. Septokutan damarların bir kısmı deri altında yüzeysel olarak seyrederek. Direkt olarak deriyi besleyen bu damarlar direkt kutanöz damarlar olarak da adlandırılmaktadır. Yüzeysel İnférieur Epigastrik Arter ve Yüzeysel Sirkumfleks İliak Arter bu damarlara örnek olarak verilebilir. Bazı bölgelerde ise septokutan damarlar derinde seyrederek ve yüzeye doğru küçük perforan dallar verirler. Bu tip damarlara örnek Radial Arterdir.

Muskulokutan damarlar kaslar içerisindeki bağ dokularını takip ederek yüzeyelleşir ve üzerlerindeki deriyi beslerler. Deriye verdikleri perforan dalların çapları vücudun çeşitli bölgelerinde farklılıklar taşır. Örneğin Rektus Abdominus kasını besleyen Derin İnferior Epigastrik Arterin, göbek çevresinde perforan dalları nispeten kalın ve belirgindir. Buna karşın, Gracilis kasının üzerindeki deriye verdiği damarlar daha küçük çapta ve çoğu zaman belirsizdir (5,6).

Yukarıda belirtilen ve herbiri vücudun belirli bir bölgesindeki deri ve derin dokuları besleyen ana arterler Ian Taylor tarafından kaynak (source) arterler olarak adlandırılmıştır (5). Kaynak arterler tarafından beslenen her bir bölge bir anjiyozom olarak tanımlanmıştır. Bu anjiyozomları besleyen arterler muskulokutan veya septokutan orijinli olabilir. Komşu anjiyozomlar değişik seviyelerde oluşan anastomozlarla birbiri ile bağlantılıdır. Ian Taylor bu bağlantıları sağlayan damarları “choke” damarları olarak adlandırmıştır. Venöz dolaşım da arteriyel dolaşıma benzer şekilde organize olmuştur ve bir ana ven tarafından drene edilen vücut bölgesine venozom denmektedir. Kan dolaşımının bu şekilde organize olmuş olması tek bir arter ve ven pedikülü üzerinde deri, kas ve kemik gibi çeşitli dokuları barındıran kompozit fleplerin hazırlanmasına olanak vermektedir (5-7).

### **2.2.1. Derinin Kan Dolaşımı**

Deri dolaşımı 3 anatomik seviyede (fasya, subkutan yağ dokusu ve deri) yer alır ve 5 vasküler pleksustan (fasyal, subkutanöz, subdermal, dermal, subepidermal) oluşur .

Fasyal pleksus; özellikle ekstremitelerde olmak üzere kas fasyası önemli vasküler pleksusa sahiptir. Vasküler pleksuslar fasya altında (subfasyal) veya üstünde (prefasyal) yer alır. Prefasyal pleksus baskın dağılım sistemidir ve fasyokutan, septokutan ve bitişikteki muskulokutan arterlerden beslenir.

Subkutanöz pleksus; yüzeyel fasyada yer alan bir damar ağıdır ve subkutan yağ dokusunu yüzeyel (yoğun) ve derin (gevşek) tabakalara ayırır. Bu pleksusu muskulokutan ve septokutan arterler besler.

Subdermal pleksus; derinin primer kan akımını sağlar. Subkutan pleksustan uzanan dallar retiküler dermisle alttaki subkutan yağ arasında bu pleksusu oluşturur. Buradan çıkan dallar altta ve üstte uzanarak deri, adipoz doku ve deri eklerini besler.

Dermal ve subepidermal pleksuslar; bu pleksuslar gerçek deri kan dolaşımını sağlarlar. Arteriyel sistem gittikçe dallanır ve arterlerden (subdermal), arteriollere (dermal) ve kapillerlere (subepidermal) dönüşür(Şekil 3). Subdermal pleksus damarları devamlı arteriyel kas duvarına sahiptir ve primer dağılım görevini üstlenirler. Dermal pleksusta yer alan arterioller izole kas alanlarına sahiptir ve primer olarak termoregulator fonksiyonu vardır. Kapillerler subepidermal pleksusta yer alır ve primer besleyici fonksiyona sahiptir (6).

#### **2.2.1.1. Derinin mikrodolaşımı**

Mikrodolaşım, kan akımının lokal kontrolünü ve dokuların beslenmesini sağlayan damarlardan oluşur (6). Mikrodolaşım, 300µ' dan küçük arteriollerle başlar ve terminal arterioller, prekapiller sfinkterler, kapiller, postkapiller venüller, toplayıcı venüller ve musküler venüllerle devam eder (7,8) .

Arterioller; direkt kutanöz, fasyokutan ve muskulokutan sistemin terminal damarlarından köken alır. Subkutan dokuda ilerleyerek lümen içi çapları 30µ' a düşer. Dallanarak, çapları 10-30µ olan terminal arterioller ve subdermal pleksusu oluştururlar. Prekapiller sfinkterde damar içi çapları 30µ' dan 10µ' a düşer. Burası, kan akımı kontrolünün sona erdiği bölgedir ve damar duvarı innerve düz kas içerir. Kapillerler 3-7µ çapa sahiptir ve endotel, bazal lamina ve perisitleri içerir. Kapillerlerden sonra çapları 8' den 30µ' a değişen postkapiller venüller başlar. Bunlar birleşerek çapları 50µ olan toplayıcı venülleri oluşturur (6-8). Arterioller, prekapiller sfinkterler ve arteriyovenöz anastomozlarda sempatik innervasyon bulunur (6).

Arteriyovenöz anastomozlar, 50µ çapında arteriyel ve venöz dolaşımı birleştiren şantlardır. Sinirsel veya kimyasal uyarana cevap verme yeteneğine sahip zengin bir sinir ağı ile çevrilidir. Bu şantlar yoluyla kan akımı kapiller yatağı atlar ve bir kapillerden 600 kat fazla kan akımına sahiptir (7,8) .

Dermis ve subkutan doku bileşkesinde yer alan mikrodolaşım sistemini yüzeysel, orta ve derin olmak üzere üç damar pleksusu oluşturur. Yüzeysel ve derin pleksusta arterler ve venler, orta pleksusta ise esas olarak venler bulunur. Yüzeysel pleksus ısı değişimi ve beslenme, orta pleksus ısı değişimi ve savunma

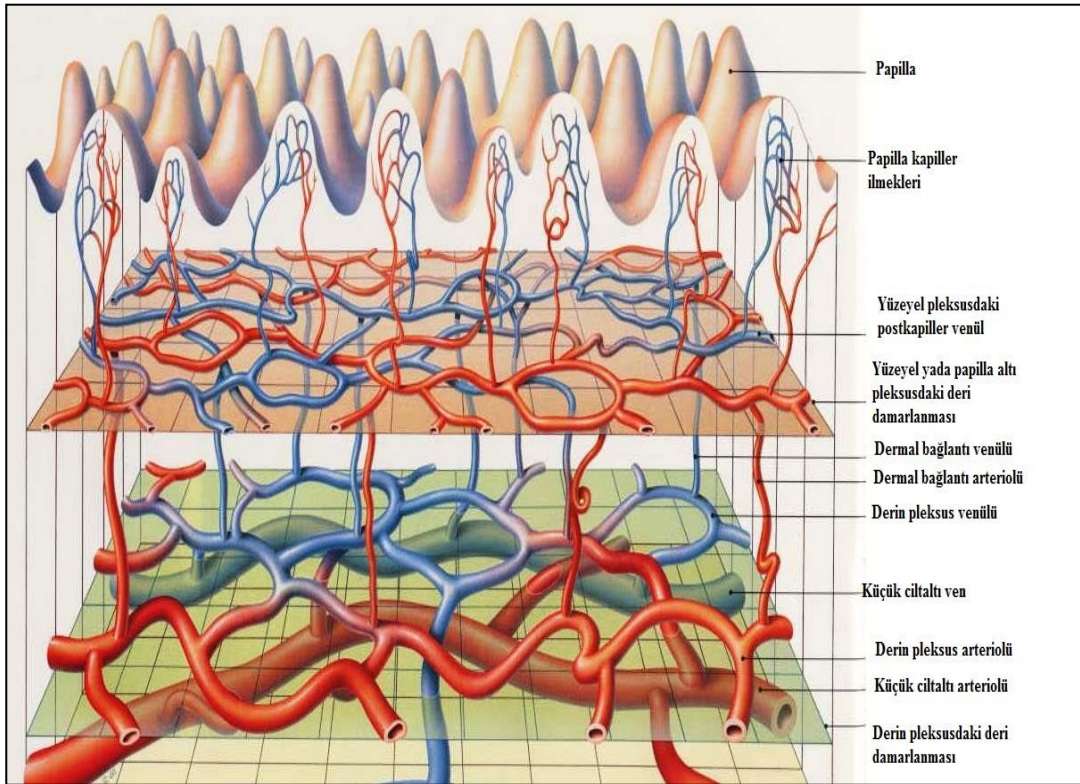
mekanizmaları, derin pleksus ısı korunması ve şant mekanizması fonksiyonlarına sahiptir (7,8) (Şekil 3).

Lenfatik sistem; lenfatik kapiller, toplayıcı lenfatikler ve lenf kanallarından oluşur ve mikrodolaşımın bir alt yapısıdır. Flep kaldırıldığında bu lenfatik kanallar hasara uğrayarak flepte ödem gelişimine yol açabilirler (7,8) .

Derinin normal total kan akımı 20 ml/100gr/dk' dır. Kan akımı, ısı artışı ve akut sempatik blokajla artar. Artmış kan akımı, kapillerleri atlayarak arteriyovenöz anastomozlar yoluyla deriye ulaşır (6) .

Dermal mikrodolaşımın fonksiyonları; termoregülasyon, kan depolanması, savunma mekanizmaları, kan akımı ve transkapiller sıvı değişimidir. Bunlar arasında kan akımı ve transkapiller sıvı değişimi flep fizyolojisinde önemli role sahiptir (7,8) .

Kan akımı kontrolünde myojenik kontrol, vazomotor refleks, sinirsel kontrol ve sıcaklığın etkileri öne sürülmüştür. Transkapiller sıvı değişimi ise mikrodolaşımda dinamik bir role sahiptir. Flep kaldırılması ile hücre içi ve dışı basınçlardaki değişiklikler sonucu oluşan ödem, hücrelerin beslenmesi için gerekli diffüzyonu ve dolaşımı zorlaştırır (8) .



**Şekil 3. Dermisin Damarsal Ağı**

### 2.3. Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi, birbiri içine girmiş dört evreden oluşan dinamik bir süreçtir(9).

Yetişkin bir insanda yara iyileşmesinde yer alan bu evreler:

1-Hemostaz evresi: Yara iyileşmesinin ilk evresi olan bu evre yaralanmadan hemen sonra vasküler kontraksiyon ve pıhtı oluşumuyla başlar. Pıhtı ve etraf yara dokusu, epidermal büyüme faktörü(EGF), fibroblast büyüme faktörü(FGF), platelet kökenli büyüme faktörü(PDGF) ve transforming büyüme faktörü (TGF)- $\beta$  gibi büyüme faktörleri ve inflamasyon öncülü sitokinler salgırlar (9) . Kanama birkez kontrol altına alındıktan sonra, inflamatuvar hücreler yara alanına göç eder ve sırasıyla nötrofil, makrofaj ve lenfosit infiltrasyonunun olduğu inflamasyon fazını başlatırlar (10,11).

2-İnflamasyon evresi: Bu faz klasik olarak kızarıklık, şişlik, ısı artışı ve ağrı ile karakterizedir. Kızarıklık vazodilatasyona bağlıdır. Bu faz sırasında görülen şişliğin nedeni, bütünlüğü bozulmuş damarlardan doku içerisine sızan plazma proteinleridir. Araşidonik asit, PGE1 ve PGE2'nin ısı artışına neden olmalarına karşın yaralanma bölgesindeki lokal ısı artışının asıl nedeni, o bölgedeki metabolik hızın ve kan dolaşımının artmış olmasıdır. Ayrıca PGI2, PGE1 ve PGE2'nin de ağrıyı provoke ettikleri bilinmektedir. Yaralanmadan sonraki birkaç saat içerisinde enflamasyonun hücresel fazı da başlamış olur. Polimorfonükleer lökositler (PMN) ortaya çıkmakta ve 48 saat boyunca ortamdaki dominant hücre olarak kalmaktadır. Bu bağlamda nötrofillerin temel görevleri hücresel debris ve mikroorganizmaları yara alanından temizlemektir (9). PMN'lerden sonra ortama gelen ilk hücreler monositlerdir ve 24 saat içerisinde maksimuma ulaşırlar. Bu hücreler hızla makrofajlara dönüşmektedirler. Makrofajlar ise yara debridmanının ana hücreleridirler. Primer iyileşen yaralarda makrofajlar haftalar boyunca ortamda kalmaktadırlar. Makrofajlar bFGF (Basic Fibroblast Growth Factor) gibi bazı büyüme faktörleri salgırlar. Bu maddeler angiogenezi artırmakta, fibroblast ve endotelial hücreler için ise kemotaktik ve mitojenik etki göstermektedirler (12,13). Makrofajlar, salgıladıkları medyatörlerle inflamatuvar cevap oluşumuna katkı sağlasalar da, makrofajlar aynı zamanda apoptotik hücreleri temizleyerek (nötrofil dahil) inflamasyonun çözülmesine katkı sağlar (9). Şunu özellikle vurgulamak



gerekir ki; yara iyileşmesi esnasında nötrofiller enfeksiyonu azaltmada rol oynasalarda, nötrofillerin yokluğu yara iyileşmesini olumsuz yönde etkilemez. Hatta nötrofillerin yaradaki varlık süresinin uzaması, akut yaranın iyileşmeyen kronik yaraya dönüşmesine neden olur (14). Makrofajların ekstraselüler matriks üretimi, fibroblast maturasyonu ve antimikrobiyal etkinlikleri göz önünde tutulduğunda; nötrofillerin aksine makrofaj ve diğer monositer seri gibi kronik enflamatuar hücrelerin yokluğu yara iyileşmesinin hem enflamatuar fazını hemde diğer yara iyileşmesi fazlarının ilerlemesini olumsuz yönde etkileyeceğinden, kronik enflamatuar hücreler yara iyileşmesinde anahtar role sahiptir(15).

3-Proliferasyon evresi: 5. gün ile 3. haftalar arasındaki süreyi kapsar. Bu dönemde epitel ve konnektif dokuda proliferasyon görülür. Bazal tabakadaki hücrelerdeki differansiyasyon, mitoz ve migrasyon sonucu epitelizasyon süreci devam etmekte ve kontakt inhibisyonla sonlanmaktadır. Temiz, primer suture edilmiş yaralarda epitelizasyon 24-48 saat içerisinde tamamlanmaktadır. Tam kalınlıkta defektin olduğu vakalarda ilk 3-5 gün epitelizasyon minimaldir. Granülasyon dokusu oluşumu ile epitelizasyon da hızlanmaktadır. Proliferatif fazın ikinci önemli olayı kontraksiyondur. Uzun süre açık kalmış yaralarda kontraksiyon daha fazla olmaktadır. Eklem yüzeyindeki kronik yaralar iyileştikten sonra eklemde hareket kısıtlılığına neden olan ve kontraktür olarak bilinen bantlara neden olmaktadır. Yara iyileşmesinin proliferatif fazında, hücresel düzeyde makrofajlar, fibroblastlar, myofibroblastlar ve endotelial hücreler bulunmaktadır. Fibroblastlar, kollajen, peptid büyüme faktörleri ve diğer ekstrasellüler matriks moleküllerini sentezlediklerinden, proliferatif fazda önemli rolleri olan hücrelerdirler. 1970'li yıllarda açık yaralarda bulunan, hem fibroblast hem de düz kas hücre özelliklerini taşıyan hücreler tanımlanmıştır. Bu hücrelere miyofibroblast adı verilmiştir. Yaradaki bu hücrelerin sayısı ile yara kontraksiyonu arasında doğru orantı olduğu gösterilmiştir. Temiz, primer suture edilmiş yaralarda inflamasyon fazının sonu olan 5. -7. günde yara gerim kuvveti, ilerde oluşacak total yara gerim kuvvetinin % 10'udur. Onarımdan 15-20 gün sonra yara normal zorlamalara karşı dayanıklıdır. Gerim kuvveti zaman içerisinde artmaya devam etmektedir. 3. haftanın sonunda kollajen yapım ve yıkımı eşittir. 6. haftada yara gerim kuvveti totalin % 60'ına ulaşır.

Gerim kuvveti 3. -6. aylarda maksimumdur. Ancak hiçbir zaman normal deri gerim kuvvetinin % 70-80'ini geçmez (16).

4-Maturasyon evresi: Bu fazda daha önce sentezlenmiş olan, ancak dağınık duran kollajen lifleri, skar dokusuna uygulanan güçlerin de etkisi ile daha düzgün bir duruma geçerler. Bu olay eski kollajenlerin düzenlenmesi şeklinde değil, eski kollajenlerin yıkılarak yerlerine yeni kollajenlerin sentezlenmesi şeklinde gerçekleşmektedir. Yara iyileşmesinin en uzun fazı olan bu dönem bir yıl sürmekte ve bu süre sonunda skar dokusu düzleşmekte, kızarıklığı ve kaşıntısı da azalmaktadır. Bu olayların gerçekleşmesi, yara iyileşmesinin maksimuma ulaştığını, bundan sonra geçecek sürecin yara iyileşmesi üzerinde hiçbir etkisinin olmayacağı anlamına gelmektedir. Maturasyon fazının sonunda skarda bulunan fibroblastlar da ortamdan çekilirler ve skar dokusu asellüler bir karakter kazanır (1,17).

#### **2.4. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler**

Yara onarım seçenekleri, yara tipleri, yara iyileşme evreleri, cildin anatomi ve fizyolojisinin tam olarak anlaşılması, yara iyileşmesini geciktiren veya komplike hale getiren faktörlerin saptanmasında zorunludur.

Yara iyileşmesi; kuruluk, enfeksiyon yada anormal bakteriyel yük, maserasyon, nekroz, basınç, travma ve ödem gibi yaraya ait lokal faktörlerle gecikebilir.

- **Kuruluk:** Nemli ortamda yara daha ağrısız ve hızlı iyileşir. Çünkü kuru ortamda hücreler dehidrate olur ve ölürlür. Ayrıca oluşacak kabuklanma da yara iyileşmesini engeller. Yara bakımı nemli pansumanlarla yapılır ve yara hidrate tutulursa, epidermal hücre göçü artar ve epitelizasyon iyi bir hal alır.
- **Enfeksiyon ya da anormal bakteriyel yük:** Pürülan akıntı, eritem, ateş gibi enfeksiyonu düşündüren bulgular varsa kültür-antibiyoqram yapılarak uygun antibiyoterapi başlanmalıdır. Yara ortamında bulunan bakteri sayısı ile enfeksiyon olasılığı arasında direkt bir ilişki vardır. Bir gram dokudaki bakteri sayısının 100000'i aşmadığı durumlarda enfeksiyon gelişmez ve yara normal bir şekilde iyileşir. Ancak bu kural beta hemolitik streptokoklar için geçerli değildir. Kemiğe kadar inmiş bir bası yarası yahut herhangi bir

nedenle oluşmuş yara varsa derhal osteomyelit açısından araştırılmalı ve altında yatan neden tedavi edilmelidir(18,19).

- **Maserasyon:** Üriner ve fekal inkontinans deri bütünlüğünü değiştirebilir. Başarılı bir yara ve cilt yönetimi için, bakım personelinin doğru cilt bakımı konusunda eğitimi şarttır.
- **Nekroz:** Ölü, nekrotik dokular iyileşmeyi geciktirir.
- **Basınç:** Yara etrafında kalıcı yada aşırı basınç varlığında, kapiller ağdaki kan desteği bozulur. Bu durum etraf dokuya kan akımını ve yara iyileşmesini engeller.
- **Travma ve ödem:** Sürekli travmaya maruz kalan yada lokal kan akımını engelleyecek ölçüdeki doku ödemi yara iyileşmesini yavaşlatır.

Yara yeriyle çok az yada hiç ilgisi olmayan sistemik faktörler, yara iyileşmesini geciktirebilir. Bunlar: Yaş, vücut tipi, kronik hastalıklar, immünsüpresyon, beslenme durumu, radyasyon terapisi ve vasküler yetmezliklerdir.

- **Yaş:** Yaşlı hastalarda yetersiz beslenme, değişmiş hormonal cevap, kötü hidrasyon, immünite, dolaşım ve solunumsal bozukluklar cilt bütünlüğünü de bozarak yara iyileşmesini geciktirebilir.
- **Vücut tipi:** Obez bir hastada yağ dokusunun kötü kan akımı nedeniyle yara iyileşmesi de bozulabilir. Ayrıca bazı obez hastalardaki protein malnütrisyonu iyileşmeyi engelleyebilir. Bunun tam tersi aşırı zayıf bireylerde oksijen ve nutrisyonel depoların yokluğu yara iyileşmesini etkileyebilir.
- **Kronik hastalıklar:** Koroner arter hastalıkları, periferik vasküler hastalıklar, kanser ve diyabet yara iyileşmesini bozan kronik hastalıklardan birkaçıdır. Kronik hastalıklı hastalar en iyi bakım planı için yakından takip edilmelidirler.
- **İmmünsüpresyon ve radyoterapi:** İmmün sistem süpresyonu (hastalıklar, yaşlılık veya ilaçlarla oluşan) yara iyileşmesini engelleyebilir. Radyasyon terapisi, ya tedaviden hemen sonra yahut tüm tedavi bittikten sonra ülserasyon veya ciltte değişikliklere sebep olabilir.

- **Laboratuvar değerler:** İyileşme değerlendirilirken sadece beslenmeye ait parametrelere bakmak yetersiz kalır. Bu nedenle kanın oksijen taşıma kapasitesini değerlendiren hemoglobın seviyelerine bakmak gerekir. Aynı zamanda hastanın hepatik, renal ve troid fonksiyonları da iyileşme kapasitesi hakkında fikir verir. Hastanın vitA, vitC ve vitE seviyeleride yara iyileşmesi hakkında önemli ipuçları sağlar.

Vitamin A'nın eksikliğinde epitelizasyon, yara iyileşmesi, kollajen sentezi gecikmekte, yeni sentezlenen kollajenler arasında çapraz bağ oluşumu ise bozulmaktadır.

Vitamin C kollajen sentezi sırasındaki prolin ve lizin hidroksilasyonunda kofaktör olarak görev almaktadır. İnsanlarda vitC sentezi yoktur ve mevcut depolar 4-5 ay yetebilmektedir. Yara iyileşmesi için gerekli önemli bir vitamin olmasına karşın aşırı dozları yara iyileşmesinde bir hızlanmaya neden olmamaktadır.

Oksijen yara iyileşmesi için gerekli en önemli faktörlerden birisidir. İyileşmekte olan bir yara normal dokuya göre çok daha fazla oksijen tüketmektedir. İyileşmekte olan bir yaradaki pO<sub>2</sub>'nin 30-50 mmHg olduğu gösterilmiş ancak gerekli olan minimum pO<sub>2</sub> değeri bilinmemektedir. Fibroblast replikasyonu için 30-40 mmHg pO<sub>2</sub> gerektiği gösterilmiş ancak kollajen sentezi için daha yüksek konsantrasyonda pO<sub>2</sub> gerekmektedir(18,19).

- **Beslenme durumu:** Hücre büyümesi için protein gerekli olduğundan, albümin prealbümin seviyeleri total lenfosit sayımı ve transferrin seviyeleri gibi malnutrisyonu gösteren parametreler çalışılmalı ve düzenli olarak takip edilmelidir.
- **Vasküler yetmezlik:** Çeşitli yaralar veya ülserler(diyabetik, arteryal, venöz basınç kaynaklı) alt ekstremiteleri etkileyebilir. Azalmış kan desteği bu ülserlerin en yaygın sebebidir. Bu yüzden doğru bir tedavi için ülserinin tipinin belirlenmesi önemlidir(19).

## 2.5. Flepler

### 2.5.1. Flep nedir?

Flep, kan desteği korunarak verici bir alandan alıcı bir alana aktarılan bir doku ünitesi olarak adlandırılır(20). Çok sayıda flep karakteristikleri ortaya konmuştur. Bunlar doku içeriklerine (kutenöz, muskulokutanöz, osseokutanöz v.b), defekte olan komşuluklarına (lokal, bölgesel yada uzak), kan desteğine (random ,aksiyal) yada flebin hareketine (ilerletme, rotasyon vb.) tanımlanmıştır(20).

### 2.5.2. Flep cerrahisi tarihçe ve kronolojisi

Milattan önce 600'lerde Hindistan'da ceza olarak burunları kesilen savaş esirleri ve fahiselerde alın flebini kullanarak burun rekonstrüksiyonu gösterilmiştir(21). Flep cerrahisi uzunca yıllar durağan dönemine girmiş olsada 1597 de Gaspare Tagliacozzi burun rekonstrüksiyonunda distal pediküllü kol flebini tanımlamıştır. 19.yüzyılda özellikle Hindistan da ki susruthaların keşfiyle alın flebi burun rekonstrüksiyonunda Corpue, Von Graefe ve Dieffenbach tarafından tekrar kullanılmaya başlanmıştır. Alın flebiyle burun rekonstrüksiyonu tarihsel önemine atfen Indian Rhynoplasty olarak isimlendirilmiştir (21).

Sonraki dönemlerde, Bakamjian deltopektoral flep (1965), Mc Gregor ve Jackson groin flebi ile ilgili çalışmalarını yayınlarken, deri fleplerini random veya aksiyel patern olarak sınıflandırmışlar(1972), Daniel ve Taylor tarafından mikroskop kullanarak gerçekleştirilen ilk serbest doku aktarımı bu alanda yeni bir sayfa açmıştır (1973)(1).

1981'de Mathes ve Nahai kas fleplerini vasküler anatomiye göre sınıflamışlardır (18). Taylor ve Palmer anjiozomları tarif etmiştir. Koshima ve Soeda'nın 1989 yılında yaptıkları çalışma sonrasında ilk kez perforatör flep tanımını kullandılar (22). Cormack ve Lamberty, tüm vücutta fasya ve cilde uzanan septalar ile ilgili vasküler anatominin detaylarını tanımlayıp flepleri, kutanöz (aksiyel), muskulokutanöz ve fasyokutanöz perforatörler olarak bilinen üç parçalı bir sistem şeklinde tanımlamışlardır (8).

### 2.5.3. Fleplerin sınıflandırılması

Flepler içerdikleri doku tipine, flebin hareket şekline ve flebin vasküler anatomisine göre sınıflandırılabilirler(18).

A- Kompozisyonuna Göre Flepler: Bu sınıflama altında flepler içerdikleri dokunun tipine göre sınıflandırılırlar.

- Kutanöz flepler,
- Fasiyokutan flepler,
- Kas ve kas-deri flepleri,
- Osseokutanöz flepler,
- Kompozit flepler,
- Duyulanımı olan flepler.

B- Hareket Şekline Göre Flepler:

1) Lokal Flepler:

- Rotasyon Flebi
- Transpozisyon Flebi
- İnterpolasyon Flebi
- İlerletme Flepleri .

2) Uzak Flepler:

- Direkt Flepler
- İndirekt Flepler: Tüp Flepler
- Serbest Flepler

C- Vasküler Anotomiye Göre Flepler:

1) Random Patern Deri Flepleri ( Kutanöz Flepler )

2) Aksiyel Patern Flepleri ( Arteriyel Kutanöz Flepler ) olarak sınıflandırılabilir(18).

#### 2.5.4. Anjiozom konsepti

Angiozom, konsept olarak cildin ana bir vasküler yataktan sonra üç boyutlu olarak bir arter ve ven ile beslenen birimini ifade eder. Bu yapıda herbir anjiozom bir arteriozom ve venozom olarak alt gruba ayrılır(23). Yaklaşık 40 a yakın anjiozom başlangıçta tanımlanmış olsa da daha küçük gruplara ayrılabilen fazla sayıda anjiozom alanları tanımlanabilir(23). Anjiozomlar arasında normalde kapalı olan ve oksidatif stres temelli olgularda açılan ve choke damarlar olarak isimlendirilen vasküler yapılar mevcuttur. Bu durum özellikle cerrahi geciktirme veya önkoşullanma uygulamalarında kullanılmaktadır.

#### 2.5.5. Flep fizyolojisi

Derideki kan akımı temelde arterioler seviyede düzenlenir. Prekapiller sfinkter, arteriol ve arteriovenöz anastomozlarda kan akımı sempatik etkiyle düzenlenir. Sempatik uyarı prekapiller sfinkterin kasılmasını sağlar ve kan doğrudan arteriovenöz anastomoza yönelir (24,25).

100 gr deri dokusu için yaklaşık 20 ml kan akımı oluşur ancak bu miktar metabolik aktivitesi artmış olan kaslarda çok daha yüksek olur. Derideki kan akımı, lokal ve sistemik olmak üzere iki seviyede kontrol edilmektedir.

Sistemik kontrol; nöral ve hormonal kontrol olmak üzere ikiye ayrılır.

**a. Nöral kontrol:** Burada vazokonstrüksiyonu sağlayan sempatik lifler ve vazodilatasyon yapan beta adrenerjik reseptörler etkin rol oynar. Bu nörolojik uyarımlar arteriyol ve arteryovenöz anastomoz seviyesinde damar düz kas tonusuna etki ederek dengeyi sağlar (6,24,26).

**b. Hormonal kontrol:** Hormon aracılı iletim sisteminde spesifik reseptörlerin aktive edilmesiyle kontrol sağlanır.

Sistemik vazokonstriktörlere örnek olarak; serotonin, tromboksan A2 ve prostaglandin F2 $\alpha$  iken sistemik vazodilatörler ise prostaglandin E1, prostaglandin I2 (prostasiklin), histamin, bradikinin ve lökotrien C4 ve D4 ten oluşur. Perfüzyon basıncı ve vazokonstriksiyon da fizyopatolojide etken olarak savunulmuştur (27). Flep kaldırılmasını takiben flebin pedikülündeki akım korunsa bile, flebin ucundaki

akım, ilk 6-12 saatte normalin %20'sinin altına düşer. İlk 12-18 saat süresince; ilerleyen lökosit aracılı endotel hasarı, sempatik vazokonstriktörlerin salınımı ve düşen perfüzyon basıncının kombinasyonu nedeniyle, özellikle flep distal kısımlarında akım dramatik olarak düşer. Uç kısmın yaşayabilmesi için yeterli akım, 6-12 saat devam etmelidir. Nörotransmitterlerin 12-24 saatte ortaya çıkması ve flep yatağından 2-3 gün inoskülasyonun gerçekleşmesiyle perfüzyon dereceli olarak düzelir. Uç kısımlar 6-12 saat süreyle ciddi seviyede iskemide kalırsa, akımın geri dönmesi reperfüzyon hasarına yol açar, mikro damarlar iflas eder ve doku nekrozu olur (28-31).

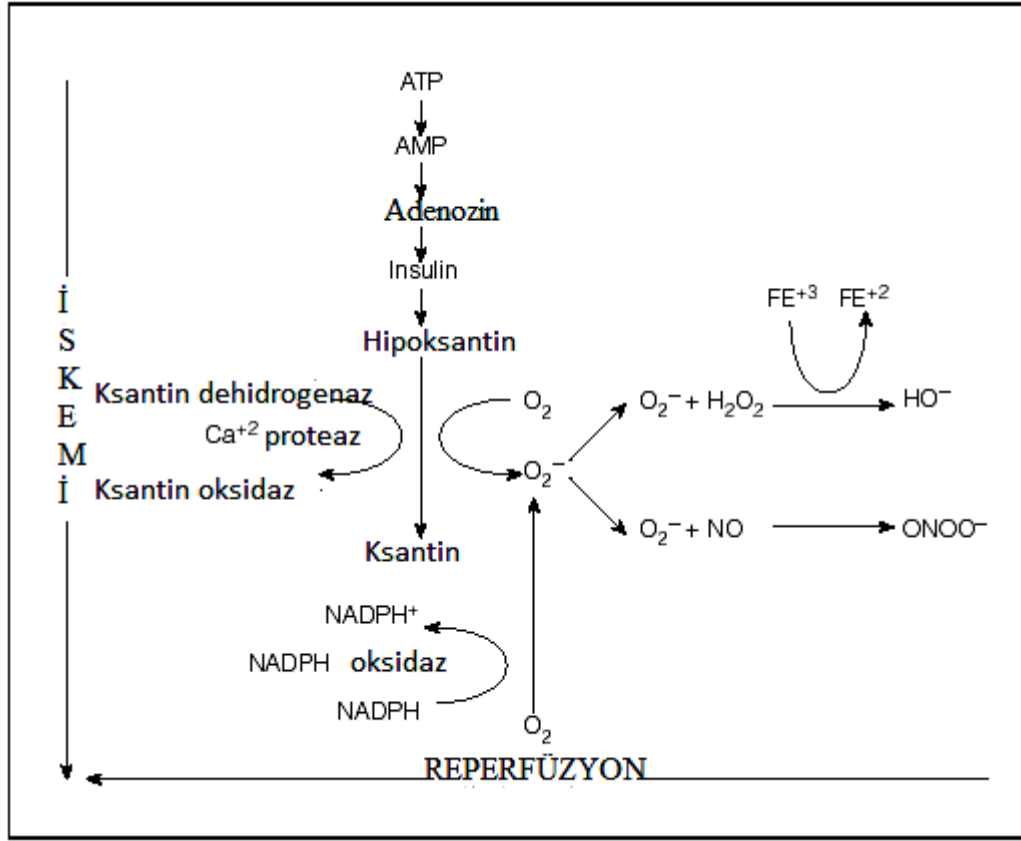
### **2.5.6. Flep Kaybı**

Flep elevasyonu ile birlikte flebin en distal kısmında oluşan iskemi ve dolayısıyla açığa çıkan medyatörler bu bölgede ileri düzeyde vazodilatasyona yol açarlar. Bu durumda flebin proksimalindeki kompanze edilemeyen perfüzyon basıncıyla bir kısır döngü oluşur ve flep kaybı yaşanır (24,31).

Random ve aksiyel kalıplı fleplerde hatalı flep planlaması, mikro dolaşımı etkileyen sistemik faktörler (hipotansiyon, sepsis, sigara kullanımı, vazokonstriktörler) veya flep üzerine fiziksel baskı (hatalı yerleştirme, pedikülde katlanma, hematoma) nedeniyle mikro dolaşım düzeyinde akım yavaşlar ve buna bağlı olarak tromboz oluşur (24,32-36). Hipoksinin neden olduğu iyon hemostaz bozukluğu, ATP/ADP oranının azalması ve mitokondriyal permeabilitenin bozulması gibi olumsuz değişikliklerle reaktif moleküllere karşı hücre savunmasını da zayıflatmaktadır. Bu durumda hipoksi sadece reaktif oksijen üretimini arttırmak yoluyla dahi hücre hasarına yol açmaktadır (28, 37, 38).

Anaerobik metabolizmaya birlikte toksik süperoksit radikallerin üretiminde artış olur. Süperoksit radikal, endotel ile doğrudan etkileşir ve lipid peroksidasyonu, membran proteinlerinde ayrışma, hücre geçirgenliğinde artış, sitoplazmik şişme ve işlev bozukluğuna yol açar (29, 39, 40).





**Şekil 4: Reperfüzyon aşamasında oksijen radikallerinin oluşumu.**

Reperfüzyon ile birlikte primeri süperoksit radikali olan hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri oluşur(Şekil 4). İnvitro ortamda oksijen radikalleri veya endotel hipoksisi nötrofillere etki eden kemoatraktanları artırır. Böylece inflamatuvar nötrofil göçü artar. Hızlı olarak dolaşımda nötrofil artışı perfüzyonda ani azalmaya neden olmaktadır (41). Nötrofiller intravasküler yoğunlaşarak ya kümeler oluşturmakta ve mikrovasküler oklüzyona neden olmaktadır ya da direk olarak endotele zarar vermektedirler(18).

Endotel membranında bulunan lipidler perokside olurken membran proteinleri parçalanır. Sitoplazma bütünlüğü bozulur. İkinci mekanizma da ise oksijen metabolitleri direk kendileri kemoatraktandır. Reperfüze alana nötrofil göçü olur. Nötrofil bu alanda doku parçalanmasına neden olur (41). Dolaşımdaki PMNL'ler yok edilerek iskemi sonrası reperfüzyon hasarının azaltıldığı bilinmektedir(18).

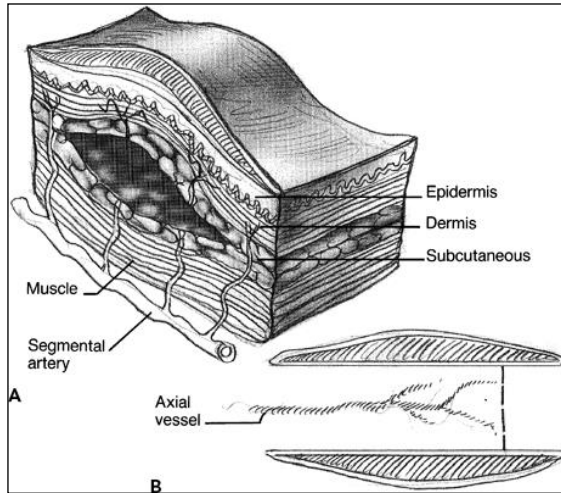
## 2.6. Flep Sağkalımını Artırmak İçin Uygulanan Yöntemler

### 2.6.1. Flep Geciktirmesi (Delay Fenomeni)

Bir flebin elevasyon ve transferinden önce ayrı bir seansta parsiyel olarak kan akımı kesilerek flep yaşayabilirliğinin artırılmasına "delay prosedürü" denir. Bu işlem sonrasında elde edilen kazanç "delay fenomeni" olarak adlandırılır(42). Bu yöntem sayesinde, flebin iskemiye dayanıklılığı artırılarak flep distalinde daha fazla yaşayabilen random cilt adasının elde edilmesi sağlanır.

İlk kez cerrahi flep geciktirmesi 16. yüzyılda Tagliacozzi tarafından koldan kaldırılıp burun rekonstrüksiyonunda kullanılan deri flebinde kullanılmıştır (43).

Braithwaite 1951 de delay işleminin flep damar sayısını artırmadığını ancak özellikle subdermal venlerin çapında genişleme olduğunu savunmuştur(45). Sağlanan bu genişleme geri dönüşümsüzdür ve operasyon sonrası meydana gelen vazokonstriksiyon 3 saatte çözülmektedir. Milton; 1965'de flepte 4 farklı delay yöntemlerinin karşılaştırmalı çalışmasını yapmış ve en etkili yöntemin cilt insizyonları arasında "underminig" yapılarak uygulanan delay olduğunu belirtmiştir (46). Delay tanımlanması ise 1967 yılında Myers ve Chery tarafından yapılmıştır. Klasik cerrahi geciktirme tekniği flep kaldırılacak alana yapılan iki adet paralel insizyonla yapılır. Günümüzde genellikle uygulanan cerrahi geciktirme tekniği ise kaldırılması planlanan flepin distal kısmının önceden kaldırılmasıyla yapılır (Şekil 5).



Şekil 5: Flep geciktirme (delay) işlemi

Callegari'nin 1992'de yaptığı çalışma sonucuna göre göre fleplerdeki cerrahi geciktirme uygulama esaslarını belirtmiştir (47).

- Flebin yaşayabilen uzunluğu perforatörler arasındaki uzunluğa bağlıdır.
- Nekroz bölgesi genellikle “choke” damarların komşu bölge ile yaptıkları anastomoz hattındadır.
- Geciktirme, mevcut damarlarda dilatasyona neden olur ve bu etki komşu anjiozomları birbirine bağlayan "choke arter" lerin bulunduğu bölgede maksimumdur.
- En etkin geciktirme işlemi flebin basamaklar halinde elevasyonu ile elde edilir.
- Doku genişletme işlemi bir tür cerrahi geciktirmedir.
- Benzer değişikliklerle kasta da delay prosedürü uygulanır.

Geciktirme yöntemi (delay fenomeni) birçok teoriyle açıklanmaya çalışılmıştır(1).

İskemiye tolerans teorisinde random deri flebinin periferinde kan akımı kesildiğinde flep pedikülünün aksı boyunca kan akımının güçlendiği ve delay prosedürü sonrasında hücrelerin hipoksik ortama alışmış olduğu, böylece asıl operasyondan sonra doku nekrozu azaldığı belirtilmektedir (6,48).

Sempatektomiye bağlı vazodilatasyon teorisinde prosedür esnasında yapılan kesi sayesinde sempatik lifler flebin sınırından kesilmiş olduğundan vazodilatasyon oluştuğu ve kan desteğinin arttığı belirtilmektedir.

Flep içine şant hipotezi insizyonlar sonrası oluşan sempatektominin A-V anastomozları prekapiller sfinkterlerden daha fazla dilate ettiği varsayımına dayanır. Kapiller yatak “bypass” edilerek sonuçta besleyici olmayan kan akımı artar. Böylece oluşan iskemik duruma doku alışır (49).

Hiperadrenerjik durum teorisine göre cerrahi sonrası adrenalın ve nöradrenalin gibi vazokonstriktör ajanların doku konsantrasyonları artar. Geciktirme prosedüründen sonra kan desteği azalır; fakat doku nekrozuna yol açacak ölçüde değildir. İkinci prosedür öncesine kadar vazokonstriktör maddelerin seviyesi normale

döner. İkinci prosedürde vazokonstriktör maddelerdeki yükselme, geciktirmesiz kaldırılan fleplerdeki kadar değildir. Bu yüzden geciktirme yapılan fleplerde distal nekroz gelişimi daha azdır.

Delay edilmiş bir flepdeki dolaşım değişikliklerinin zamana göre saptanan bulguları şunlardır(6):

- İlk 24 saat: Arteriyel kan akımında azalma, arteriyel ve kapillerler de belirgin dilatasyon
- 1-3 gün: Longitudinal anastomozların genişlik ve sayısında artışla birlikte pedikül içindeki küçük damarların artması
- 3-7 gün: Fonksiyon gören damarların çapı ve sayısında artış. Flebin uzun eksenini boyunca damarların reoryantasyonu
- 7-14 gün: Flep ile yatak arasında dolaşımın sağlanması, vaskülarite artışının durması
- 14-21 gün: Vasküler sistemde ilerleyici regresyon. Flep ve yatak arasındaki anastomozların olgunlaşması
- 21 gün sonrası: Flep dolaşımı olması gerekenin % 90'nına ulaşmıştır.

Yapılan araştırmalarda vasküler pedikülün ligasyonu veya embolizasyonu, flep alanı çevresine sütür atma, flep alanına çeşitli sistemik ve topikal kimyasal ajanlar uygulama, lazer, gibi çeşitli yöntemler denenmiştir (50, 51) .

Yukarıda anlatılan teknikler, her ne kadar cerrahi geciktirme olarak adlandırılrsa da işlemin mantığı, özellikle iskemiye tolerans teoremi göz önüne alındığında aslında bir ön koşul değildir.

### **2.6.2. İskemik ön koşullandırma**

Murry ve arkadaşları ilk defa 1986 da ilk kez, miyokard kasında çok sayıda kısa iskemi episodları ve ardından uzamış iskemi modeli kullanarak, iskemik ön koşullandırmanın koruyucu etkilerini tanımlamışlardır(52). Bu tekniğin uygulandığı modellerde, reperfüzyon döneminden sonra daha küçük enfarkt alanı ve daha az miyokard disfonksiyonu olduğu görülmüştür (53). Monsey ve arkadaşları 1992 de domuz latissimus dorsi flep pedikülüne 4 saatlik iskemiden önce 3 seans 10 ar

dakikalık vasküler bir klemp uygulayarak iskemik ön koşullanmanın kas flebindeki orijinal çalışmasını yaptılar(54).

İskemi reperfüzyon hasarı, deoksijene dokunun resirkülasyonu sırasında oluşan patofizyolojik değişiklikler serisidir. İskemi reperfüzyon hasarının potansiyel mekanizması; hipoksiyi, reperfüzyon ile salınan serbest oksijen radikallerini ve inflamatuvar medyatörleri içermektedir. Primer iskemik hasar; son ürünlerin ve kan akımının azalmasına bağlı oluşan anaerobik metabolizmanın toksik ürünlerinin birikimi sonucunda ortaya çıkmaktadır. Ancak, reperfüzyon hasarında, serbest oksijen radikallerinin, doku hasarına doğrudan kendileri etkiyerek ve hücrel antioksidan sistemleri yetersizleştirmesi yatmaktadır. İskemik ön koşullanmada lokal olarak salınan agonistler; sinyalizasyon yolunu, G proteinine bağlı olan reseptörlerin aktivasyonu yoluyla tetikler. İskemik ön koşullanma yoluyla olan adaptasyon; adozin etkisi ile oluşan, K-ATP (Potasyum-ATP) kanal aktivasyonu tarafından yaratılır(55). Yinede iskemik ön koşullanmanın biyokimyasal temeli tam olarak ortaya konmuş değildir. Ancak birçok çalışmada, letal seviyenin altında uygulanan çok sayıda iskemik epizodun dokunun iskemiye olan dayanıklılığını artırdığı bildirilmiştir(53,54).

### **2.6.3. Uzaktan iskemik önkoşullanma**

Deneysel flep cerrahisinde uzaktan iskemik önkoşullanma kavramı flepten uzak bir yerde oluşturulan iskemi-reperfüzyon olayının flep yaşayabilirliğine olumlu etki etmesi hadisesidir.

Deneklerin arka ayaklarına non-invazif şekilde bağlanan turnike ile oluşturulan iskemik önkoşullanma hem adipokutanöz hem de kas fleplerinde invaziv flep pedikül klempemesi kadar etkil olduğu görülmüştür (56, 57). Bu sonuçlar, domuz arka ayaklarında üç siklüs oklüzyon ve reperfüzyon uygulandıktan sonra kaldırılan latissimus dorsi fleplerinde flep sağkalım oranlarının çok daha iyi olduğu geniş hayvan çalışmalarında da doğrulanmıştır (58).

#### **2.6.4. Hipertermik önkoşullanma**

Hipertermik önkoşullanma da doku 42 °C ye kadar ısıtıldığında ısı şok proteinlerindeki(heat shock protein-HSP) artışla ilintilidir(2). Bu proteinler hücreleri letal olabilen dış etkenlere karşı korur. Bu stres proteinlerinden HSP-70; DNA nın hatalı sarmalanmasını önleyerek defektif proteinlerin sentezlenmesini engeller (59).

Diğer yandan HSP-32, hem katabolizmasında hız kısıtlayıcı enzim olan hem-oksijenaz(HO)-1 olarak bilinir(60). Hem metabolitleri olan biliverdin bir antioksidan, demir ve karbonmonoksit ise birer vazodilatördür(61). Bu HSP' lerin iskemik hasardan koruyucu özellikleri kalp, beyin, karaciğer ve böbrekler gibi çeşitli organ ve dokuda gösterilmiştir (2). Deneysel flep cerrahisinde suprafizyolojik ısıtma ile yapılan önkoşullanmanın flep sağkalımını iyileştirdiğini ilk defa Koenig ve arkadaşları göstermiştir (62). Daha sonra, cerrahiden 6-24 saat önce yapılan hem lokal hemde sistemik ısıtmanın deri flepleri dahil olmak üzere doku sağkalımında önemli ölçüde iyileşme sağlayabildiklerini doğrulamıştır(63-66). Bu çalışmalarda gözlemlenen faydalı etkiler, etki mekanizmaları ispatlanmamış olsa da HSP-70 ve HSP-72'nin hipertermi aracılı upregülasyonuna atfedilmiştir(2).

#### **2.6.5. Hipotermik önkoşullanma**

Hipotermik önkoşullanma dokunun hücresele metabolizmasını yavaşlatarak ve aynı zamanda HSP moleküllerini artırarak iskemi/reperfüzyon(I/R) injurisinden koruyabilir. Organ transplantasyon cerrahisinde soğutmanın iskemi zamanını uzattığı bilinmektedir (2). Rekonstrüktif cerrahide ilk defa Donski ve arkadaşları muskulokutan fleplerde 6-7°C ye kadar yapılan soğutmanın iskemi zamanını artırarak flep sağkalımında faydalı etkilerinin olduğunu bildirmiştir(67).

Soğutmanın deneysel olarak ispatlanmış etkilerine rağmen, bu uygulama kliniklerde rutine girmemiştir (2). Bir klinik çalışmada, 189 mikrovasküler flep soğuk iskemi ve cerrahi sonuçları açısından çalışılmış, ilginç bir şekilde 4 saatlik soğuk iskeminin flep başarısına katkı sağlamadığı görülmüştür. Buna göre, uzamış soğuk iskeminin başarılı bir serbest flep cerrahisinde yeri olmadığı öne sürülmüştür(68).

Hücrel metabolizmanın yavaşlaması ve böylece iskemiye toleransın artmasının yanında, direkt soğutma inflamasyonla ilişkili mikrodolaşım disfonksiyonu ve lökosit yanıtını zayıflatabilir(2). Soğutma flep cerrahisinde mutlaka uygulanmasa da cerrahiden 24 saat önce uygulanabilir. Non spesifik stresör olan hipotermi, özellikle HO-1 olarak bilinen HSP-32 olmak üzere ısı şok proteinlerinin sentezini 24 saat sonra pik seviyeye ulaştırır(69). Böylece, flep elevasyonundan 24 saat önce uygulanan soğutma ile, ısı şok proteinlerinin koruyucu etkilerinden maksimal fayda sağlanabilir(2). Hipotermik önkoşullanmada HO-1(HSP-32) aracılı besleyici kapillerlerin dilatasyonu ile mikrodolaşımın iyileştirilerek pediküllü fleplerde doku nekrozlarını önemli ölçüde azalttığını göstermiş deneysel çalışmalar mevcuttur(69).

#### **2.6.6. Farmakolojik önkoşullanma**

Farmakolojik önkoşullanmanın amacı, kritik iskemi yahut iskemi-reperfüzyona maruz kaldığında flep sağkalımını artıran reaksiyonu indüklemektir. İskemi toleransının indüksiyonu, enflamasyonun inhibisyonu ve mikrodolaşım yetmezliğinin önlenmesinin de dahil olduğu farklı mekanizmaların flep sağkalımını olumlu etkiledikleri söylenebilir. Farmakolojik önkoşullanma da iskemi reperfüzyon injürisine ters etki yapan çok sayıda ilaç fleplerde çalışılmıştır (2). Dextran ve heparin gibi ilaçların iskemik açıdan tehlike altındaki fleplerin sağkalımlarını iyileştirebildikleri açıkça ispatlanmıştır (70-71). Vazodilatör diğer ilaçlar besleyici perfüzyonu artırarak doku nekrozunu azaltırlar (2). Bu ilaçlar; beta-mimetik izoksüpürin, selektif kalsiyum kanal blokörü verapamil, ve nitrik oksit (NO) donörü spermin/NO komplekstir(72-73-74). Aynı zamanda potent antienflamatuar ajan olan adenosinin lokal enjeksiyonu da flep yaşayabilirliğine önemli ölçüde fayda sağlayabilmektedir(75). İskemik nekrozdan benzer şekilde koruyan, deksametazon kadar, ksantin oksidaz inhibitörleri, ksantin analogları, kalsitonin gen ilişkili peptid(CGRP), prostoglandin I<sub>2</sub> analogları, uzun etkili prostoglandin analogları gibi antienflamatuar ilaçlar bildirilmiştir (76-81). Bu maddeler lökosit infiltrasyonunu ve oksijen radikal üretimini azaltarak etki ediyor olabilirler.

Diğer antienflamatuar yaklaşımlarda siklooksijenaz ve lipooksijenaz yolu değerlendirilmiştir(2). Salerno ve arkadaşları, ratların random paternli cilt fleplerinde, non-selektif siklooksijenaz inhibitörü olan indometazin distal nekroz belirtilerini kısmen geri döndürdüğünü göstermiştir(77). Edström ve arkadaşları özel bir tromboksan A<sub>2</sub> sentetaz inhibitörünün sistemik ön tedaviden sonra iskemi riski altındaki dokuda kan akımını artırdığını, böylece iskemik önkoşullanma benzeri etkiyle farmakolojik geciktirme(delay) yaptığını göstermiştir (82). Son olarak lökötirien B<sub>4</sub> te farmakolojik önkoşullanma için hedef olmuştur. Muskulokutan fleplerin çalışıldığı domuz deneylerinde, lipooksijenaz inhibitörü yada bir lökötirien B<sub>4</sub> reseptör antagonistiyle yapılan ön tedaviyle lökosit infiltrasyonu, ödem oluşumu ve doku enfarktının önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir(83). Flep nekrozundan korunmak için immünsüpresif ajanlarda farmakolojik önkoşullanma amaçlı kullanılmıştır. Flep elevasyonundan önce siklosporin A ve takrolimus uygulaması sadece doku nekrozunu azaltmamış aynı zamanda nötrofil birikimini ve yıkımında engellemiştir(84). Antienflamatuar yaklaşımın yanında iskemik önkoşullanma mekanizmasına paralel şekilde, flep elevasyonundan önce uygulanan küçük bir enflamatuar tacizle de farmakolojik önkoşullanma yapılmıştır. Non-toksik endotoksin türevi monofosforil lipid A'nın iskemik önkoşullanmaya benzer şekilde çapraz toleransı indükleyerek besleyici perfüzyonu sürdürüp iskemik açıdan tehlike altındaki dokuda flep nekrozunu azalttığı gösterilmiştir(2,85).

Son zamanlarda eritropoetin(EPO) ile önkoşullanma konsepti kullanıma girmiştir(86). EPO' nun antienflamatuar ve anti-apoptotik ajan olduğuna dair prelinik ve klinik deliller mevcuttur(87-90). Sistolik kan basıncı ve hematokrit değerlerini önemli ölçüde artıran kronik EPO ön tedavileri, flep sağkalımını iyileştirmemiş artmış nekrozlarla sonuçlanmıştır. Aksine kan basıncı ve hematokrit değerlerini etkilemeyen kısa dönem EPO önkoşullanması direkt antienflamatuar, antioksidan, ve anti-apoptotik etkileriyle flep sağkalım oranlarını artırmıştır (91). Bu bakımdan sistemik hematokrit değerlerini artırmayan düşük doz EPO önkoşullanması, kapiller perfüzyon kısıtlılığını ve lökositik enflamasyonu azaltarak flep sağkalımını iyileştirdiği ispatlanmıştır (2).



### 2.6.7 Büyüme Faktörüyle Önkoşullanma

Neovaskülarizasyonu önemli ölçüde indükleyen büyüme faktörleri, alternatif bir önkoşullanma için kullanılabilir. 1989 da Höckel ve arkadaşları, lokal intradermal angiotropin ön tedavisinin anjiogenez indüksiyonuyla yara iyileşmesine katkıda bulunduğunu ve deri flebi nekrozunu engellediğini göstermiştir(92). Bundan birkaç yıl sonra, rekombinant insan temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) pediküllü deri flep modelinde ciltaltı kullanılmış ve bu uygulamanın doz ve zaman bağımlı bir şekilde flep sağkalımını başarılı bir şekilde iyileştirdiği gösterilmiştir(93). Ayrıca Carroll ve arkadaşları platelet kökenli büyüme faktörünü(PDGF) bu amaçla çalışmışlar ve PDGF ön tedavisinin kontrol ve geciktirme (delay) grubuna göre flep sağkalımını önemli ölçüde artırdıklarını göstermişlerdir(94). PDGF öntedavisi kapiller yoğunluğu artırdığı için, yazarlar bu durumu PDGF' nin oluşturduğu faydanın indüklediği anjiogeneze atfetmişlerdir(94). Bu paralellikte, kaldırılan muskulokutan fleplere PDGF ile retroviral olarak enfekte edilmiş fibroblast enjeksiyonunun, enjeksiyon uygulanmamış kontrol grubuna göre pedikül ayrılmasına daha erken izin verdiği gösterilmiştir. Aynı zamanda bu çalışmada, PDGF ön tedavisinin kan damarı sayısını artırarak tedavinin koruyucu mekanizmasının anjiogenik etkiyle olduğu da ortaya konulmuştur(95). Fibroblast enjeksiyon zamanlaması, PDGF ön tedavisinin normoksik dokularda değil sadece iskemik dokularda başarılı olduğu için önem arz etmektedir(96).

Vasküler endotelial büyüme faktörü(VEGF) flep sağ kalımını artıran diğer bir moleküldür. Bu molekülün flep yada alıcı alana lokal uygulanımı kadar sistemik uygulanımının da flep sağ kalımını artırdığı gösterilmiştir (97-99). Molekülün bu koruyucu etkisinin anjiogenik etkisiyle alakalı olduğu düşünülmektedir. Zhang ve arkadaşları VEGF' yi flep kaldırılmasından 7 gün önce donör sahaya uygulamışlar ve VEGF ön tedavisi uygulanan grubun, flep elevasyonu yapıldıktan sonra flep pedikülüne VEGF enjekte edilen gruba göre flep sağ kalımında daha üstün sonuçlar elde etmişlerdir(100).

Tüm bu önkoşullanma yöntemlerine ilaveten flep sağkalımının iyileştirilmesi amacıyla yapılmış ozon aracılı ön koşullanma hususunda literatürde yeterli veri bulunmayışı açıktır. Plastik Cerrahi disiplini içinde özellikle flep sağ kalımını

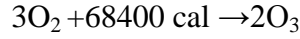
artırmaya yönelik olarak uygulanan önkoşullanma konsepti içersinde ozon hakettiği yeri alamamış olsada başka disiplinlerde flep cerrahisi dışında amaçlarla ozon aracılı önkoşullanma deneysel çalışmaları mevcuttur(101).

Ozon gazının ve ozonun değişik formülasyonlardaki kullanımlarının flep cerrahisinde önemli ölçüde kullanıma gireceğine inanmaktayız. Bu amaçla, çalışmamızda, ozonun önkoşullanma yöntemi olarak deri flebindeki etkinliği araştırılmıştır.

### 3. OZON

#### 3.1. Tanım Ve Tarihçe

Ozon, Yunanca keskin koku yayan manasına gelen doğal fakat kararsız bir moleküldür. Saf gaz formu yumuşak gök mavisi renkte ve keskin kokuludur. Ozon halkasal yapıda üç oksijen atomundan oluşmuş bir gazdır. Medikal ozon, saf oksijenin yüksek voltaj gradyentinden geçirilmesiyle (5-13 mV) üretilir(102). Oksijen molekülünden ozon oluşturulması aşağıdaki reaksiyonda gösterilmiştir.



Christian Friedrich Schonbein (1799-1868) ilk defa oksijen varlığında galvanik kazıklarla çalışırken farkettiği elektrik ve keskin kokulu gaz çıkışını bir çeşit süperaktif oksijen olabileceğini düşündü (103). Bizler bu kokuyu şimşek çaktığında yahut yıldırım düştüğünde bulutlar ve toprak arasında oluşan elektriğin havadaki serbest oksijeni katalizleyerek ozon oluşturduğu için duyarız.

Oksijenin yüksek voltaj gradyentinden geçirilmesiyle ozon üretimi ilk defa Werner von Siemens tarafından tanımlanmıştır (103).

Medikal anlamda ozon, Birinci dünya savaşında Alman askerlerinin posttravmatik gazlı gangrenlerinin tedavisinde kullanılmaya çalışılmış olsa da tıbbi amaçlı ozon üretim cihazını aynı zamanda fizikçi olan Joachim Hansler (1908-1981) icat etmiş ve kullanıma sunmuştur. Geçen yüzyılda ozonun tıpta kullanımı yavaş yavaş gelişmiş ve özellikle bakterisidal yeterli ajanların olmayışıda ozonun dezenfektan olarak kullanımını provake etmiştir (103).

İsviçreli diş hekimi ozonun dezenfektan özelliğini göz önünde bulundurarak E.A. Fisch(1899-1966) ilk defa pratikte pulpit tedavisinde kullanmıştır.

1935'te cerrah olan Dr. E. Payr ilk defa cam şırıngayla gaz formundaki ozonu küçük miktarlarda ve yavaşça intravenöz uygulamıştır.

1936 da Fransa'da Dr. P. Auborg kronik kolit ve fistül tedavisinde oksijen-ozon karışımının rektal uygulanımını önermiştir.

Sonraları ozon tedavisi bu konuda eğitimi olmayan yetersiz insanların elinde kullanılmaya başlamış ve intravenöz ozon tedavisiyle akciğer embolisi ve buna bağlı ölümler oluşunca Amerika Birleşik Devletlerinin(A.B.D) birçok eyaletinde ozon uygulamaları F.D.A tarafından yasaklanmıştır(1984). Ancak bu yasaklar dünyada ozon kullanımını durduramamış ve özellikle üçüncü dünya ülkelerinde kullanılmaya devam edilmiştir(103).

1915'lerde ozonun enfekte yaralarda kullanılması ile başlayan süreç O. Rokitansky (1977) ve H.Werkmeister (1981)in kronik yaraların tedavisinde ozonu kullanmaya başlaması ile yeni bir ivme kazanmıştır. Günümüzde ise İtalyan Fizyolog Bocci ozon tedavisinin önderliğini yapmaktadır.

Ozon, oksijenden 1.6 kat daha yoğun ve suda 10 kat daha fazla çözünebilen bir gazdır(0°C de 100 ml suda 49 ml çözünür)(102). Ozon radikal bir molekül olmamasına rağmen florin ve persulfattan sonra üçüncü oksidan moleküldür. Ozon kararsız bir moleküldür ve 20 °C de yarılanma ömrü 40 dakika olduğundan saklanamaz (102).

Doğada, stratosferde bulunan ozon, zararlı ultraviyole A ve B' yi absorbe ederek faydalı etkileri olmasının yanında çeşitli zararlı etkileride olan tartışmalı bir gazdır. Bu zararlı etkiler doza bağımlı olup doz arttıkça ölüme kadar ilerleyen sonuçlar ortaya çıkabilmektedir(Tablo1) (102).

**Tablo 1. İnsanda ozon gazının toksik etkileri.**

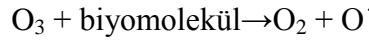
Havadaki ozon konsantrasyonu(ppmv)	Toksik etkiler
0.1	Lakrimasyon ve üst solunum yolu iritasyonu.
1.0-2.0	Rinit, öksürük, başağrısı, bulantı ve öğürme. Yatkın bireylerde astım atağı gelişebilir
2.0-5.0 (10-20 dakika)	İlerleyici dispne, bronşial spazm,retrosternal ağrı.
5.0 (60 dakika)	Akut pulmoner ödem ve solunum felci.
10.0	4 saat içinde ölüm.
50.0	Dakikalar içinde ölüm.

Kandaki durumun aksine, gözler ve akciğerlerin minimal antioksidan ve nötralize edici kapasitelerinden dolayı ozon bu organlarla asla temas etmemelidir. Ancak şu açıktır ki tıbbi amaçlı ozon kullanımında birtakım şartlar yerine getirilip kontrollü bir şekilde ozon kullanılabilirse, bu toksik etkilerde önlenmiş olur. Bunlar ;

- İyi standardize edilmiş, eşzamanlı ozon konsantrasyonunu ölçebilen kusursuz bir ozon jeneratörü kullanımı,
- İstenen volümde ozon gazı toplayabilen iyi bir kollektör ve bu sayede toplam dozun ölçülebilmesi,
- Toksik etkinin oluşmadığı optimum dozun bilinmesidir(102).

### 3.2. Ozonun Vücut Sıvılarıyla Etkileşimi ve Metabolizması

Ozon, oksijenin aksine biyolojik sıvılarda (fizyolojik salin, plazma, lenf, idrar) çözünür çözünmez aşağıda belirtilen şekilde hemen reaksiyona girer.

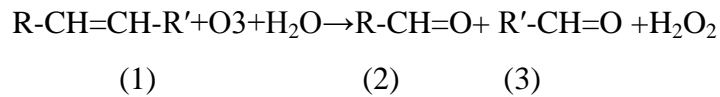


Bu reaksiyon oluşuktan sonra ortamda serbest ozon varlığını kaybeder(102).

Sıvı ortamlarda etki gösteren ozon tüm gazlar gibi Henry yasasına uyar, yani çözünürlüğü gazın basıncına, konsantrasyonuna ve sıcaklığa bağlıdır(102).

Ozon poliunsatüre yağ asitleri, askorbik asit ve ürik asit gibi antioksidanlarla, sistein gibi -SH gruplu tiyol bileşikleriyle, indirgenmiş glutatyon(GSH) ve albüminle reaksiyona girer. Doza bağlı olarak, karbonhidratlar, enzimler, DNA ve RNA da ozondan etkilenebilir(102).

Bütün bu bileşikler elektron vericisi olup aşağıda belirtilen şekilde okside olurlar.



Burada 1 nolu komponent poliunsatüre yağ asitleri, 2 ve 3 nolu komponentler ise okside olmuş yağ asitleridirler. (lipid oksidasyon ürünleri -LOP-) Bu

reaksiyondan ortaya çıkan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) başlıca reaktive oksijen türevidir (reactive oxygen species -ROS-)(104).

Ozonun yağlarla reaksiyonunda her zaman karbon atomları arasındaki çift bağlar etkilenirken, proteinlerle olan reaksiyonunda çoklu amino asit içeren işlevsel yan zincir bağları etkilenir(108).

Temel ROS molekülü, ozonun biyolojik ve terapatik etkilerinden sorumlu olan hidrojen peroksittir(105). Fizyolojik miktarlarda, konak savunması ve immün cevapta ve sinyal iletiminde düzenleyici etkilerinden dolayı ROS'un zararlı olduğu anlayışı değişmiştir.

ROS yarılanma ömrü saniyelerden kısa sürmesine rağmen hücre komponentlerine zarar verebilir ve bu yüzden ROS miktarı istenen biyolojik etkilerini oluşturmak için iyi ayarlanmalıdır. Bu durum kanın ölçülebilen antioksidan kapasitesine karşın ozon dozu ayarlanarakta sağlanabilir (102).

Lipid peroksidasyon ürünlerinin (LOPs) üretimi, plazmadaki poliunsatüre yağ asitlerinin(PUFA) peroksidasyonu ile oluşur. LOPs heterojen olup bunlar; lipoperoksidler ( $LOO\cdot$ ), alkoksil radikalleri ( $LO\cdot$ ), lipohidroperoksitler (LOOH), izoprostanlar, malonildialdehidler (MDA) ve 4-hidroksi-2,3 transnonenal (HNE) lerdir (103). Bu radikaller ve aldehidler toksik olup çok düşük konsantrasyonlarda üretilmelidirler. Bunlar in vitro ortamlarda ROS dan daha kararlıdır ancak intravenöz verildiklerinde dilüe olurlar çeşitli enzimlerle metabolize edilip safra ve idrarla atılırlar. Bu enzimler; redükte glutatyon transferaz(GSH-Tr) ve aldehid dehidrogenazdır. Böylece başta kemik iliği, karaciğer, santral sinir sistemi, endokrin bezler gibi organlarda akut oksidatif stresin sinyal molekülü olarak rol alacak şekilde birçok organa submikromolar seviyede ulaşmış olurlar(106).

Lipid peroksidasyon ürünleri (LOPs) ve reaktif oksijen türleri (ROS), süperoksit dismutaz (SOD), GSH-peroksidaz (GSH-Px), GSH-redüktaz (GSH-Rd) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzimlerin seviyesini artırır. LOPs, HO-1 yada HSP-32 olarak bilinen oksidatif stres proteinlerinin üretimini artırarak hem molekülünü CO ve bilirübine indirgerler. Bilirubin önemli bir lipofilik antioksidan olup CO açığa çıkararak nitrik oksitle birlikte siklik GMP (cGMP) üzerinden vazodilatasyona yol açar. HO-1 oksidatif stresle açığa çıkan ve birçok yayında ispatlanmış en önemli antioksidan enzimdir (102). Ayrıca ozon terapi esnasında

hastalarda LOPs nöromodulatör etkinliğinin ortaya çıktığında gösterilmiştir(102). LOPs yüksek seviyeleri toksik iken, bu maddelerin submikromolar seviyelerinin antioksidan sistemleri uyardığından faydalı olduğu vurgulanmıştır. Birçok deneysel veriye dayanan bu sonuç, optimum ozon dozunun iyi bir terapötik sonuç için önemli olduğunda ortaya koyar (106).

Özetle ozon etkisini;

- 1) İskemik doku kan akımını ve oksijen salınımı artırarak (eritrositlerde 2,3-difosfogliserat düzeyini artırıyor)
- 2) Kronik oksidatif strese bağlı antioksidan sistemin aktivasyonu ve HO-1 (heme oksijenaz-1) miktarını artırarak
- 3) İmmun sistemde aktivasyon sağlayarak
- 4) Nöroendokrin sistem aktivasyonu sonucu kendini iyi hissetme hali oluşturarak gösterir (102,103,107).

Sonuç olarak ozonizasyon işlemi ister kanda ister intervertebral disc içinde ya da kas içinde olsun hemen her zaman oksidatif stres yaratır. Oluşan bu oksidatif stres gerek ROS gerekse LOPs yoluyla antioksidan mekanizmaları uyararak faydalı etkiler oluşturur(102).

### 3.2.1. Hücre düzeyi etkileri

**Kemik iliği**-----→ Kök hücrelerinin kemik iliğinden ayrılması(103)

**Alyuvar** -----→ ATP miktarında artma, hemoglobin oksijen ayrılma eğrisinin sağa kayması ve dokulara oksijen verilmesinde artma(109)

**Endotel hücreleri**--→Vazodilatasyon(4)

**Plateletler**-----→Agregasyonda artma. Ancak bunun tersini savunanlar mevcut olup çalışmalarda anlamlı fark tespit edilmemiştir(110)

**Bağışıklık hücreleri**→ akut faz reaktanları, interlökinler, sitokinlerde (IL-1, IL-2, GM-CSF, IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$ , ve IL-6, IL-8, TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) artma.

Bu artış doza bağlı değildir(111).

### **3.3. Ozon Uygulama Yöntemleri**

Ozon solunum yolu hariç tüm yollardan uygulanabilecek tedavi seçeneğidir.

#### **3.3.1. Majör otohemoterapi (MOH)**

Hastadan 200-270 mL ye kadar kan alınır ve uygun doz ozon gazı aynı kabın içine verilerek kanla 5-10 dakika kadar temas etmesine izin verilir, takiben 15 dakika içerisinde ozonlanmış kan damardan geri verilir. Bir merkez MOH da her mL kana 15µg/mL ile 80 µg/mL arasında ozon miktarı verilmesinin güvenli tedavi penceresi içerisinde olduğu kabul etmekteyken, bir başka merkez ise güvenlik sınırını her mL kan için 10-40 µg önerebilmektedir(112, 113).

#### **3.3.2. Minör otohemoterapi (MİH)**

5-10 ml kan alınır, eşit hacimde ozonla karıştırılır, köpük de dahil olmak üzere hemen gluteal bölgeye intramuskular olarak verilir(103).

#### **3.3.3. Lokal tedaviler**

Birinci Dünya savaşı sırasında ozon/oksijen gaz karışımı yaraların dezenfektasyonu ve kokunun giderilmesinde kullanılmıştır. Günümüzde ise gaz karışımının yanında ozonlanmış damıtık su ve ozonlanmış yağ ve kremler (ozonidler) de çeşitli formlarda kullanılmaktadır(103).

#### **3.3.4. Ozonlu su**

Burada önemli olan distile su kullanmaktır. Serum fizyolojik kullanıldığında oluşan reaksiyonlar sonucunda hipoklorik asit oluşur. Ozon suyun içinde triatomik oksijen olarak durur. 20 °C de, en iyi koşullarda dahi suda sağlayabileceğimiz maksimum ozon saturasyonu 18-20µg ozon/ml suyu geçemez, bu nedenle ozonlu su tedavisinde doz aşımı diye bir şey söz konusu olamaz(103).



### **3.3.5. Peroksidik yağlar**

İçinden ozon geçirilen bitkisel (zeytin) yağda peroksitler ve ozonoidler oluşur. Ozon poliansatüre yağlarda çift bağ içeren karbonlara bağlanır. Açığa çıkan peroksidler antioksidan enzimlerin aktivasyonunda önemli role oynar. Bu uygulamanın gerek yanıklarda gerekse diğer yaralarda iyileşmeyi %40 oranında hızlandırdığı bildirilmektedir (114).

### **3.3.6. Ozon/oksijen gaz karışımı**

Herşeyden önce böyle bir tedavi için yara alanın ıslak olması gereklidir. Tedavi uygulanacak alan gaz kaçmıyacak şekilde bir torba içine alınır ve hacim ozon/oksijen gaz karışımı ile doldurulur (103,115).

### **3.3.7. Vücut boşluklarına ozon verme**

Bu yöntem damar sorunu olan hastalarda yada çocuklarda rektal gaz verme yada vajinal enfeksiyonlarda direk vajinanın içine ozon gazı verme şeklinde uygulanır. Bunların dışında, nazal , tubal, aurikular, üretral, mesane içi verilebilmektedir(102). Yetişkinlerde 10-25 µg ozon/ml oksijen-ozon karışımı, 150-300 ml hacminde; çocuklarda ise 10-20 µg/ml ozon/ml oksijen-ozon karışımı 10-30 ml hacminde rektal tüp vasıtası ile yavaşça verilir. Burada da tedavi bitiminde ozon gazı kontrollü olarak ortamdan uzaklaştırılmalıdır(115). Özellikle rektal ozon terapisinde, ozon gazı rectum lümenindeki sulu ortamda hızla çözünmektedir. Çözünen ozon gazı rektum cidarındaki biyomoleküllerle reaksiyona girerek lipid oksidasyon ürünlerini (LOPs) oluşturur. Oluşan bu ürünler, muskularis mukozayı geçerek lenfatik ve venöz kapiller yoluyla dolaşıma katılırlar. Bu durumda rektal ozon terapisinin sistemik etkinliği major otohemoterapiye denktir. Ancak bu düzeyde etkinliğe ulaşabilmek için, ozon gazının artık feçesle temasını önlemek gerekir. Bunu sağlamada en etkili yol mutlak barsak temizliğidir (103). Bu teori tarafımızca esas alınarak rektal ozon dozu belirlenmiş ve 0.5 mg/kg dozunda verilmiştir.

### **3.3.8. Ozon gazı enjeksiyonu**

Kas ağrıları gibi durumlarda yada belirli bölgelerdeki yağların eritilmesi amacıyla gaz direk doku içine enjekte edilir(115).

## **3.4. Ozonunun Klinik Kullanım Alanları**

### **3.4.1. Yara iyileşmesi ve kronik yaralar**

Minör otohemoterapinin tendon ve ligaman iyileşmesinde proliferatif rejenerasyonunu sağladığını ve klinik uygulamaların çok iyi sonuç verdiğini bildiren, ancak hiçbir bilimsel veri ve yonteme dayanmayan çalışmalar mevcuttur. Ateşli silah yaralanmasına maruz kalan ve deri gerfti konulan hastalarda ozon gazı uygulaması ile greft başarısının %40'dan %75'e çıktığı rapor edilmiştir(116). Bir başka çalışmada ise 200 kronik yaralı hastanın 187 sinin ozon tedavisi sonucunda belirgin iyileşme gösterdiği bildirilmiştir(117).Ozonun sağlıklı bireyler üzerinde yapılan çalışmada TNF $\mu$ , IFN-y ve IL-2 ve diğer interlökin seviyelerinin belirgin bir şekilde yükseldiği gösterilmiştir(118).

Ozon terapinin radyoterapi sonrası oluşan cilt reaksiyonlarında ağrıyı ve cilt reaksiyonlarını azaltmada etkili olduğunu savunan çalışma mevcuttur ancak hasta sayısı sınırlı ve kontrol grubu olmadığından güvenilirliği tartışmalıdır(119). Diyabetin patogenezinde artmış oksidatif stresin ve azalmış antioksidan kapasitenin varlığı kanıtlanmıştır (120). Yara iyileşmesini desteklemesinin ötesinde endotelial seviyede NO/O<sub>2</sub> oranının tekrar dengelenmesini sağlayan ozon terapinin aslında diyabetik ayak oluşumuna giden aşamaları en baştan engellediği iddia edilmektedir(121). Ozon tedavisinin kronik iskemik yaralarda yara iyileşmesini % 40 oranında artırdığını bildiren çalışmalar mevcuttur (122).

### **3.4.2. Antibakteriyel etki**

Ozonun antibakteriyel etkisi bu maddenin ilk kullanım alanıdır. İlk olarak suların sanitizasyonu, ardından besin endüstrisi ve veterinerlikte sıkça kullanılmıştır. Sharma

ve Hudson tarafından yapılan bir çalışmada ortama verilen 25 ppm [part(s) per million] lik bir ozon gazının 20 dakika içerisinde kuru yüzeyler ve gereçler dahil ortamdaki hastane kökenli pek çok bakteri için, ki bunların arasında acinetobacter baumannii, clostridium difficile, ve metisiline rezistans staphylococcus aureusa sayılabilir, bakterisidal olduğu gösterilmiştir(123). Lokal tedavilerde 80 ve 100 µg/ml gibi yüksek konsantrasyonlarda ozon “yarayı temizlediği”, diğer bir deyişle dezenfektan görevi gördüğü, 10-40 µg/mL civarında ise “yarayı iyileştirdiği” ya da epitelizasyonu ve granülasyonu arttırdığı rapor edilmiştir(113).

### **3.5. Ozonun Yan Etkileri ve Kontrendikasyonları**

En sık rastlanılan yan etki hemolizdir, teropatik dozlarda dahi bu oran %0,4 ile % 1.2 arasında tanımlanmıştır ancak bu rakamın ifade edildiği makalede bu oranın “göz ardı edilebilir” olduğu söylenmektedir(3). Yine aynı yazıda bu miktarda bir hemolizin ortama HO-1 verdiğiinden ötürü yararlı ve istenilen bir durum olduğu savunulmaktadır.

Ozonun hemoglobin ve kolesterol molekülleri üzerindeki yıkıcı etkilerini göstermişlerdir. Buna karşılık direk insan kanı üzerinde yapılan benzer çalışmada ise tam aksi sonuca varıldığı iddia edilmiştir(124).

Ozon tedavisinin, özellikle MOH’un kontrendikasyonları net bir şekilde literatürde belirtilmektedir. Ek olarak kronik akciğer patolojisi olan hastalarda ozondan uzak durmak akıllıca olacaktır. Seropozitif hastalarda kullanımı tartışmalıdır(115).

Ozonun özellikle majör otohemoterapinin kontrendike olduğu durumlar

- Ciddi G6PD eksikliği olan hastalar (favizm)
- Hamilelik
- ACE inhibitörü kullanan hastalar
- Hipertiroidizm, trombositopeni ve kalp sorunları olanlar olarak bildirilmektedir (103).

Ozonlu yağ ile yapılan lokal yara tedavilerinde henüz herhangi bir komplikasyon ve dolayısı ile kontrendikasyon bildirilmemiştir (103,115).

Ozonterapi tek başına tedavi yöntemi değildir. FDA (Food and Drug Administration) tarafından toksik kabul edilmekte ve hiçbir tedavi yönteminde kabul edilmemektedir.

## 4. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Deney hayvan modelinde oluşturduğumuz bu deneysel çalışma, Bülent Ecevit Üniversitesi (BEÜ) (önceki adı Zonguldak Karaelmas Üniversitesi) Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan 07/11/2012 tarih ve 2012/09 sayılı toplantı ile BEÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı alınarak başlatıldı. Çalışma BEÜ Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Araştırma Laboratuvarında yapıldı.

### 4.1. Denekler

Çalışmada deney hayvanı olarak 40 adet dişi erişkin, 250-300gr ağırlığında Wistar rat kullanıldı. Ratlar her biri 10'ar adetten rastgele 4 gruba ayrıldılar.

Gruplar, kontrol grubu, preoperatif rektal ozon alan grup, preoperatif ve postoperatif rektal ozon alan grup ve postoperatif rektal ozon alan grup şeklinde oluşturuldu.

#### Gruplar:

##### Grup 1 (n=10): Kontrol grubu

Bu gruptaki ratlarda flep kaldırılıp yerine sütüre edildikten sonra hiçbir işlem uygulanmadı ve herhangi bir ajana maruz bırakılmadan flep yaşayabilirliği takip edildi. Yedinci gün sonunda ratlar sakrifiye edildikten sonra yüzey ölçümlerini takiben, flepler eksize edildi ve patolojik inceleme amaçlı uygun kaplarda saklandı.

##### Grup 2 (n=10): Preoperatif rektal ozon terapisi alan grup

Bu gruptaki ratlar flep kaldırılmadan önce 4 gün boyunca ozon reaktörü ile 10 mg/l(O<sub>3</sub>/O<sub>2</sub>) oranında üretilen ozon gazı, 0,5mg/kg (O<sub>3</sub>/O<sub>2</sub>) dozunda hayvanların ağırlığına uygun olarak rektal yolla uygulandı. Uygulama öncesi ilk olarak metal kanül ile rektal uyarı verilerek, ratların defekasyonu sağlandı. Defekasyon sonrası metal kanül aracılığı ile rektal yoldan deneklere uygun dozda (0,5mg/kg O<sub>3</sub>/O<sub>2</sub>) ozon gazı uygulanarak, sistemik dolaşıma ozon gazının geçmesi sağlandı. Yedinci gün sonunda ratlar sakrifiye edildikten sonra yüzey ölçümlerini takiben, flepler eksize edildi ve patolojik inceleme amaçlı uygun kaplarda saklandı.

### **Grup 3 (n= 10): Preoperatif ve postoperatif rektal ozon terapisi alan grup**

Bu gruptaki ratlar flep kaldırılmadan 4 gün öncesinden başlanarak postoperatif 7. güne kadar ozon reaktörü ile 10 mg/l(O<sub>3</sub>/O<sub>2</sub>) oranında üretilen ozon gazı, 0,5mg/kg (O<sub>3</sub>/O<sub>2</sub>) dozunda hayvanların ağırlığına uygun olarak rektal yolla uygulandı. Uygulama öncesi ilk olarak metal kanül ile rektal uyarı verilerek, ratların defekasyonu sağlandı. Defekasyon sonrası metal kanül aracılığı ile rektal yoldan deneklere uygun dozda (0,5mg/kg O<sub>3</sub>/O<sub>2</sub>) ozon gazı uygulanarak, sistemik dolaşıma ozon gazının geçmesi sağlandı. Yedinci gün sonunda ratlar sakrifiye edildikten sonra yüzey ölçümlerini takiben, flepler eksize edildi ve patolojik inceleme amaçlı uygun kaplarda saklandı.

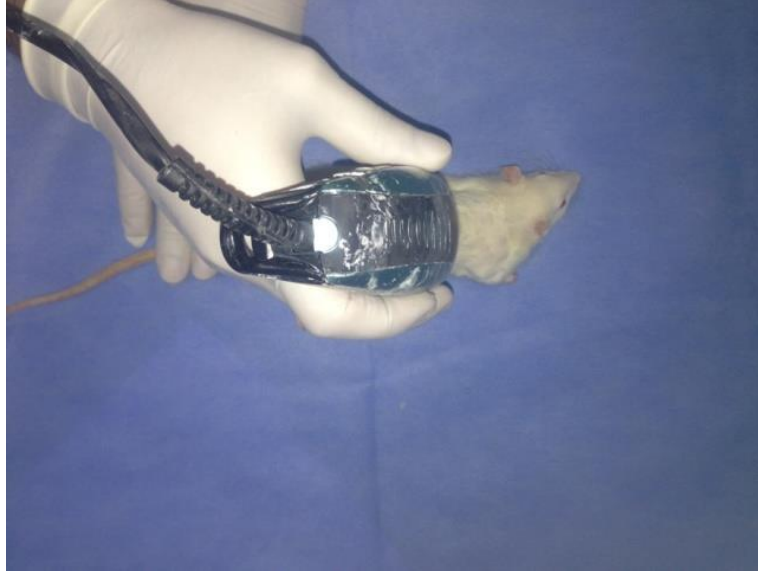
### **Grup 4(n=10):Postoperatif rektal ozon grubu**

Bu gruptaki ratlarda flep kaldırıldıktan sonra 7 gün boyunca ozon reaktörü ile 10 mg/l(O<sub>3</sub>/O<sub>2</sub>) oranında üretilen ozon gazı enjektörde muhafaza edilip, 0,5mg/kg (O<sub>3</sub>/O<sub>2</sub>) oranına uygun olarak hayvanların ağırlığına uygun olarak rektal yolla uygulandı. Uygulama öncesi ilk olarak metal kanül ile rektal uyarı verilerek, ratların defekasyonu sağlandı. Defekasyon sonrası metal kanül aracılığı ile rektal yoldan deneklere ağırlığına uygun dozda (0,5mg/kg O<sub>3</sub>/O<sub>2</sub>) ozon gazı uygulanarak, sistemik dolaşıma ozon gazının geçmesi sağlandı. Yedinci gün sonunda ratlar sakrifiye edildikten sonra yüzey ölçümlerini takiben, flepler eksize edildi ve patolojik inceleme amaçlı uygun kaplarda saklandı.

## **4.2. Deney**

### **4.2.1. Ameliyat öncesi hazırlık**

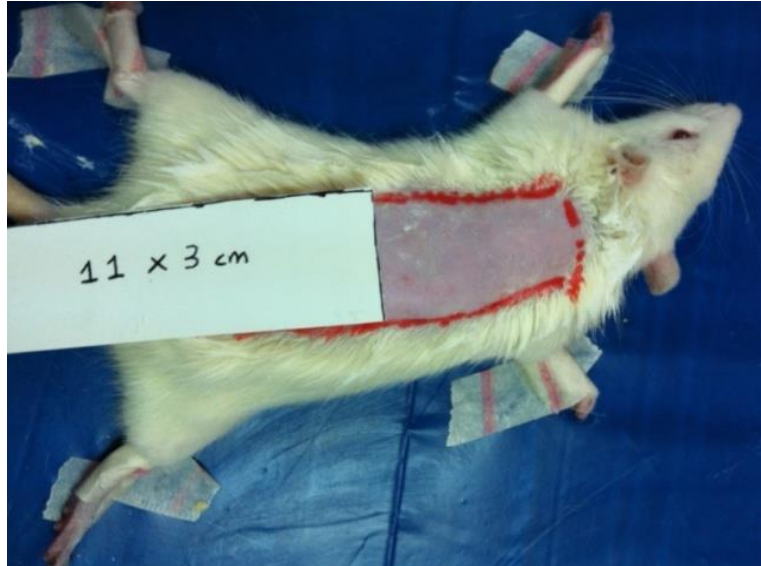
Hayvanlara intraperitoneal 40mg/kg dozunda pental sodyum (İ.E. Ulugay, Türkiye) ve 8mg/kg im. Ketamin (Pfiser, Türkiye) anestezisi yapıldı. Anestezi derinliği çene ve iskelet kas tonusuyla izlendikten sonra, elektrikli traş makinası yardımı ile tüm deneklerin sırt bölgeleri traşlandı (Şekil 6).



**Şekil 6. Deneklerin dorsal cilt alanlarının elektrikli traş makinası ile traşlanması**

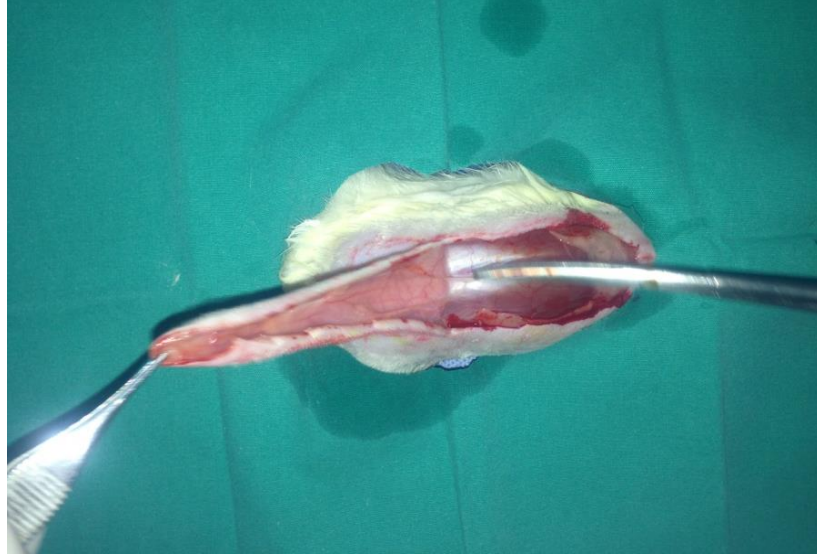
#### **4.2.2. Fleplerin kaldırılması**

Ameliyat öncesi sıçanlara uygulanan anestezi derinliği tekrar kontrol edildi. Modifiye McFarlane flebi kaudal bazlı olarak, 3×11 cm boyutlarında sıçan sırt derisine cilt çizim kalemi kullanılarak işaretlendi (Şekil 7).



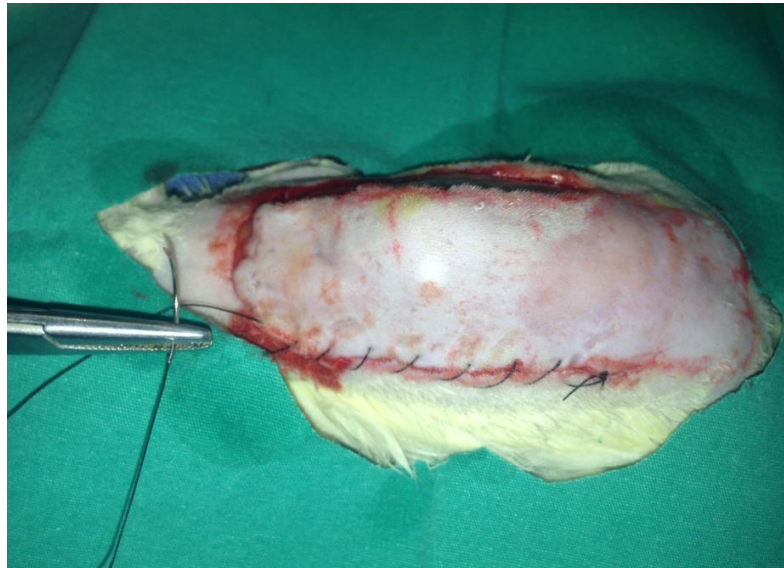
**Şekil 7. Flep dizaynı**

Polivinilpirolidon iyot (batticon sol 1000ml Adeka) ile lokal saha temizliği yapıldıktan sonra bistüri yardımı ile random flep sınırlarından insize edildi. Pannikulus karnosus da dahil edilerek künt diseksiyonla eleve edildi (Şekil 8).



**Şekil 8. Dorsal cilt flebinin panniculus karnosus ile birlikte kaldırılması**

Hemostaz sağlandıktan sonra 3/0 keskin ipek sütün materyali ile flep yerine sütün edildi (Şekil 9).



**Şekil 9. Kaldırılan dorsal cilt flebinin 3/0 ipekle yerine sütünasyonu**



İşlemler sırasında asepsi kurallarına uyuldu. Operasyon sırasında sıçanın idrar ve dışkı çıkarması durumunda uygulanan ilk dozun üçte bir oranında yeniden anestezi ajan verilerek anestezinin devamı sağlandı. Bu işlemlerin hepsi tüm deney gruplarına aynen uygulandı.

#### **4.2.3. Ötenazi işlemi ve örneklerin alınması**

Postoperatif 7. günde, tüm hayvanlar intraperitoneal 40 mg/kg dozunda pentotal enjekte edildikten sonra anestezi altında servikal dislokasyon gerçekleştirildi. Sakrifikasyon sonrası nekroze alanların ölçümleri ve dijital fotoğraflamaları yapıldı. Daha sonra, flepler eksize edildi ve ayrı kaplarda olmak üzere patolojik inceleme amaçlı %10'luk nötral formalin solüsyonunda fikse edildi.

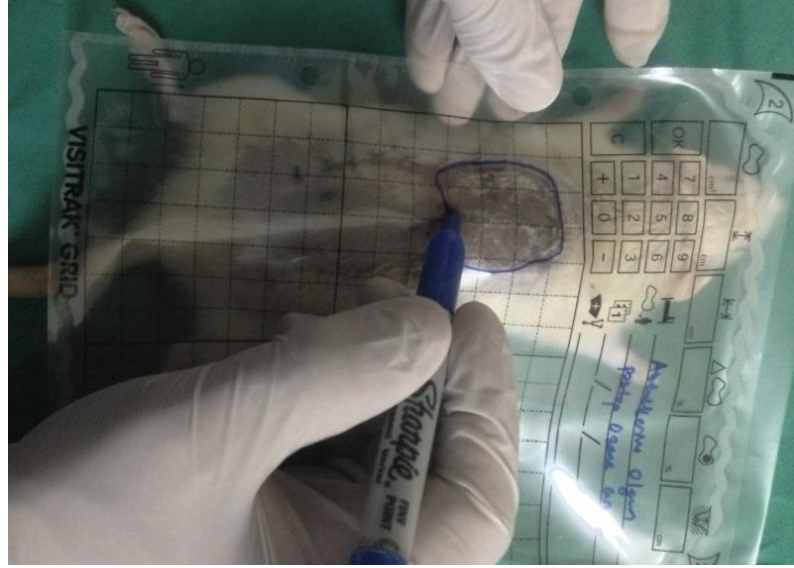
#### **4.2.4. Yüzey Alan Ölçümleri**

Ölçüm için Visitrak dijital ölçüm cihazı (Smith Nephew,Avusturalya) kullanıldı (Şekil 10).

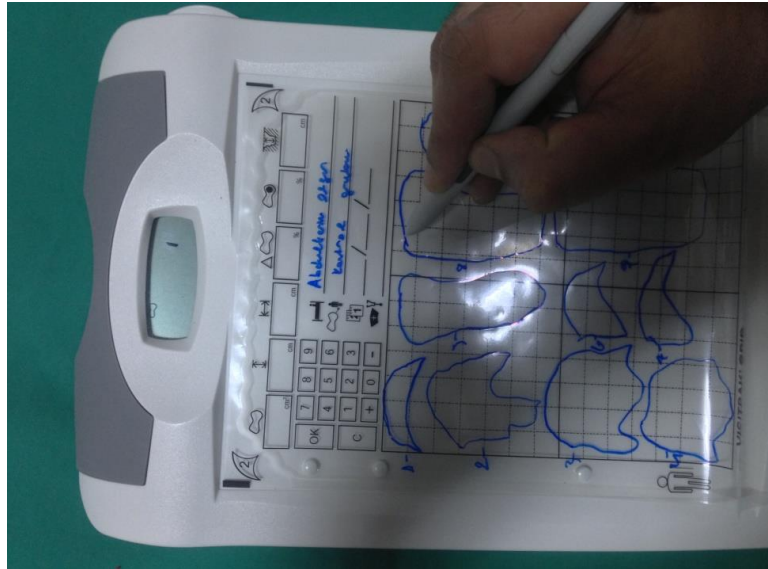


**Şekil 10. Flep nekroz alanlarının ölçümü için kullanılan dijital yüzey ölçüm cihazı**

Yedinci günde flepler eksize edilmeden önce, ötanaziyi takiben nekroze flep alanları çizildi ve ölçüldü (Şekil 11,12).



**Şekil 11. Flep nekroz alanlarının ölçümü**



**Şekil 12. Sınırları çizilmiş flep nekroz alanlarının yüzey ölçümü**

Flepte ki epidermoliz alanları, sonrasında epitelizasyonla iyileştiği için sağlam deri alanları kapsamında değerlendirildi.

### 4.3. Histopatolojik Değerlendirme Metodu

Çalışmada ratların dorsal cildinden kaldırılan fleplerin nekroze kısmı ve sağ kalan kısmının tümünü içerecek şekilde (4 grup, 40 örnek) eksizyonel biyopsi alındı. Ardından flepler inceleme için 2 mm genişliğinde, flep distal ve proksimal uçlarını içerecek şekilde striplere ayrıldı ve % 10 luk nötral formalin solüsyonu ile fiske edildi. Takiben parafin bloklara gömme işlemi yapıldı. Parafin bloklardaki örneklerden mikrotom bıçağı ile kesitler alındı. Her örnek rutin hematoksilin & eozin boyası ile boyandı. Boyanmış hazır preparatlar aynı patolog tarafından ışık mikroskopunda altında x40,x100,x200 büyütme ile incelendi.

Patolojik incelemede flep ve yaralarda akut inflamasyon, kronik inflamasyon, granülasyon dokusu miktarı, fibroblast matürasyonu, kollajen depozitleri, reepitelizasyon, neovaskülarizasyon ve ülser derinliği gibi yara iyileşme parametreleri ile yapıldı. Parametrelerin skorlanması, Abramov ve ark. 2007 yılında yayınlanmış olan ‘tavşan modelinde vajinal ve abdominal cerrahi yaralarının iyileşmesinin histolojik karakteristiği’ nin incelendiği makalesi baz alınarak yapıldı (125). Abramov ve arkadaşları, yayınlanan bu makalesinde Greenhalg ve arkadaşlarının önerdiği skorlama sistemini modifiye etmiş, her bir parametreyi bağımsız olarak incelemiş ve 0 ile 3 arasında skorlar vermişlerdir (Tablo 2).

**Tablo 2: Histolojik parametrelerin skorlanması. BBA: Büyük büyütme alanı.**

Parametre	Skor			
	0	1	2	3
Akut inflamasyon	Yok	Az	Orta	İyi
Kronik inflamasyon	Yok	Az	Orta	İyi
Granülasyon dokusu	Yok	Az	Orta	İyi
Fibroblast matürasyonu	İmmatur	Az matür	Orta matür	Tam matür
Kollajen depozitleri	Yok	Az	Orta	İyi
Reepitelizasyon	Yok	Minimal immatür	Parsiyel immatür	Komplet matür
Neovaskülarizasyon	Yok	BBA da 5 ten az damar	BBA da 6-10 damar	BBA da 10’ - dan fazla damar
Ülser derinliği	Yok	Yüzey epitelyum kaybı	Dermal dokuda sınırlı ülser	Kas dokusuna varan ülser

#### 4.4. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ortanca (minimum-maksimum), kategorik yapıdaki veriler için sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Kategorik değişkenler bakımından (akut inflamasyon, kronik inflamasyon, granülasyon miktarı, granülasyon dokudaki fibroblast maturasyonu, kollojen birikimi, reepitelizasyon, neovaskülarizasyon ve ülser derinliği) gruplar arasındaki farklılıklar Ki-kare testi ile değerlendirildi. Flep viabilite oranı bakımından gruplar arasındaki farklılık Kruskal-Wallis varyans analizi ile incelendi. Kruskal Wallis varyans analizi sonucu anlamlı bulunduğunda grupların ikişerli karşılaştırılması Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Sonuçlar % 95 güven aralığında değerlendirildi ve  $p < 0.05$  değeri anlamlı kabul edildi.





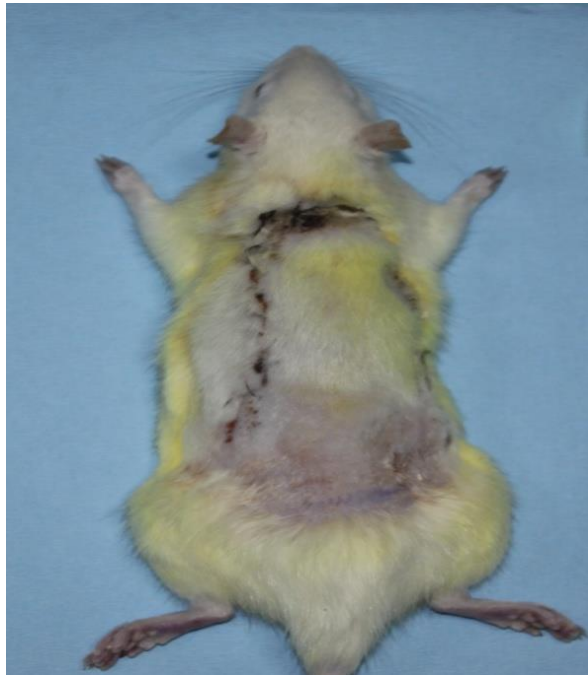
**Şekil 14. Grup 2, ameliyat sonrası 7.günden görünüm**

**Grup 3 (Preoperatif ve postoperatif rektal ozon terapisi alan grup):**

Flebin yaşayan alanları ortalaması: % 90,56

Flebin ölçülen en düşük yaşayan alanı: % 79,4

Flebin ölçülen en yüksek yaşayan alanı: % 98,8 olarak tespit edildi.



**Şekil 15. Grup 3, ameliyat sonrası 7.günden görünüm**

#### **Grup 4(Postoperatif rektal ozon grubu):**

Flebin yaşıyan alanları ortalaması: % **86,04**

Flebin ölçülen en düşük yaşıyan alanı: % **78,8**

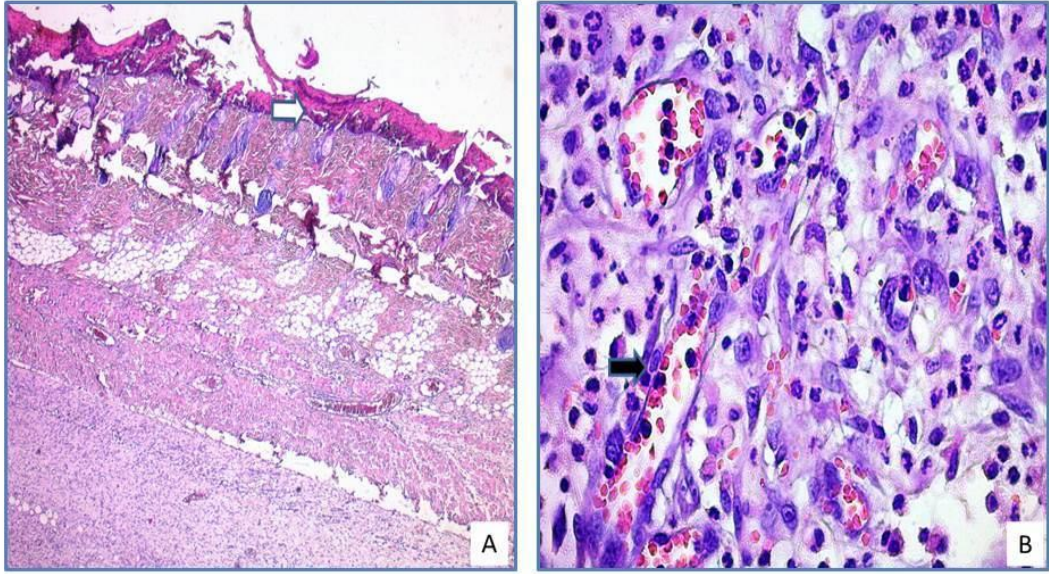
Flebin ölçülen en yüksek yaşıyan alanı: % **97,9** olarak tespit edildi.



**Şekil 16. Grup 4, ameliyat sonrası 7.günden görünüm**

#### **5.2. Histopatolojik Değerlendirme Bulguları**

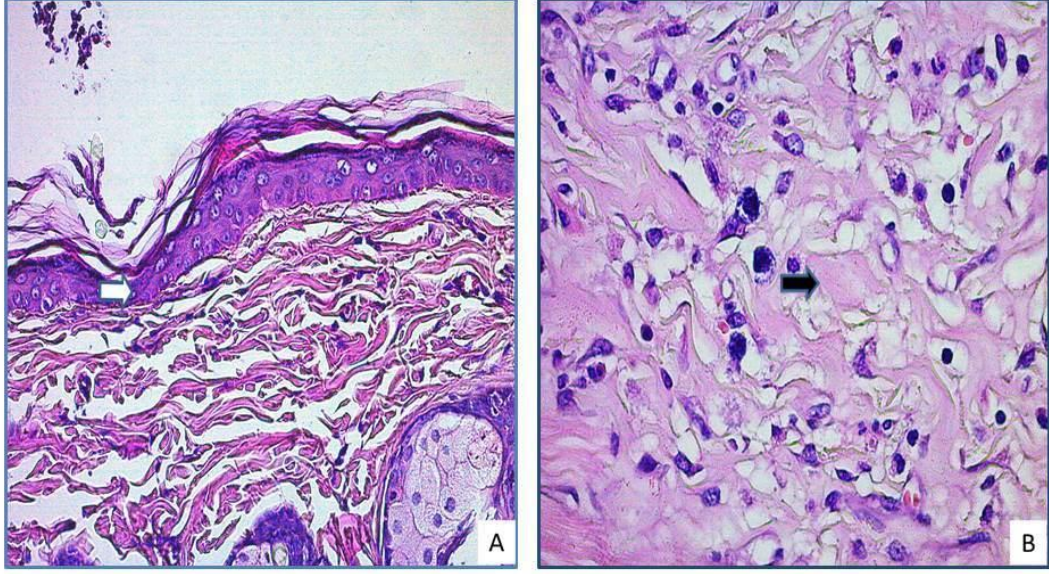
Çalışma kapsamındaki tüm gruplarda değişen derecelerde nötrofil lökositlerin hakim olduğu mikst tipte inflamatuvar yanıt gözlenmiş olup “akut enflamasyon” açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Lenfositlerin hakim olduğu, plazma hücreleri ve histiyositlerin eşlik ettiği kronik inflamatuvar yanıt tüm gruplarda gözlenmiş olup, kronik enflamasyon skorları tüm gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Granülasyon dokusunun miktarı tüm gruplarda kontrol grubuna göre daha yüksek olup bu farklılık istatistiksel anlamlıdır ( $p<0.001$ ). Özellikle preoperatif ozon uygulanan grupta granülasyon dokusunun diğer gruplara göre daha iyi geliştiği dikkati çekmiştir (Şekil 17).



**Şekil 17: Preoperatif ozon alan gruptan alınan deri-deri altı doku örneklerine ait ışık mikroskopik görüntümler (A-B, H&E). A) Epidermiste sınırlı nekroz (beyaz ok) ve subkutan dokuda granülasyon dokusu izlenmektedir (A, x40). B) Granülasyon dokusu içerisinde immatür fibroblastlar ve anjiogenik aktivitede artış (siyah ok) dikkati çekmektedir (B, x1000).**

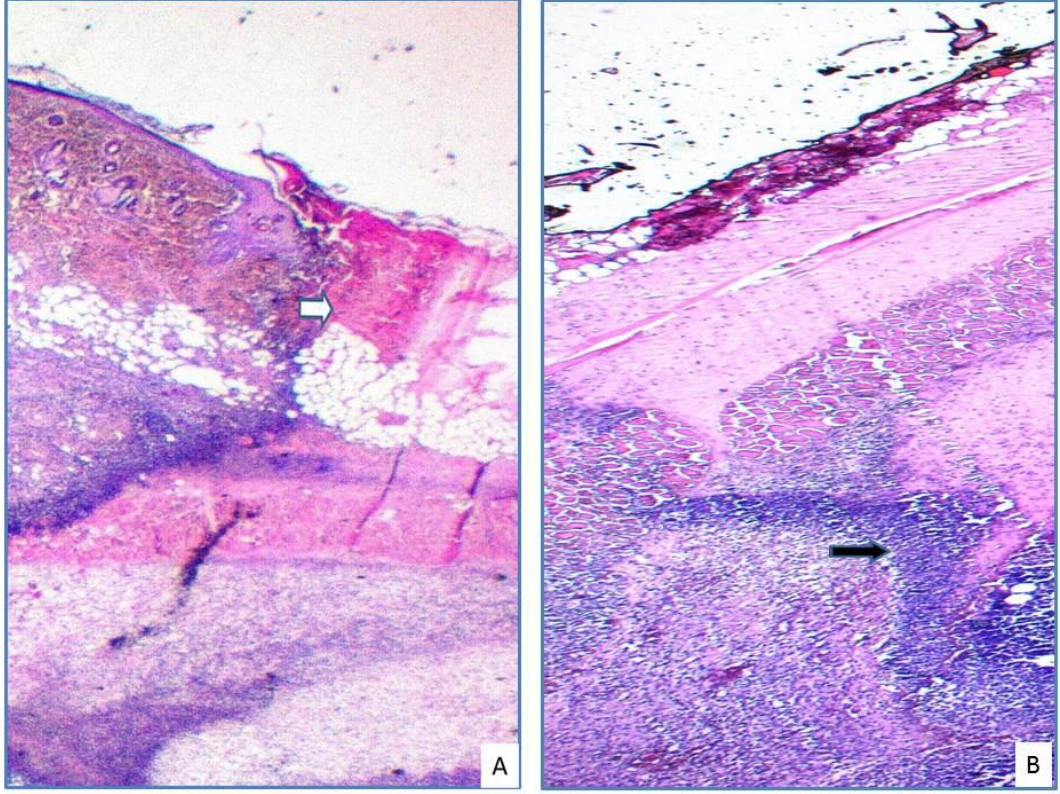
Gruplar fibroblast matürasyonu açısından incelendiğinde, granülasyon dokusu gelişimine paralel olarak preoperatif ozon verilen grupta fibroblastların daha yoğun ve morfolojik olarak matür görünümde olduğu izlenmiş ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur( $p=0.036$ ) (Şekil 17). Preoperatif +postoperatif ozon verilen grupta kollajen miktarı diğer gruplara göre daha yoğun olarak izlenmiştir (Şekil 18).



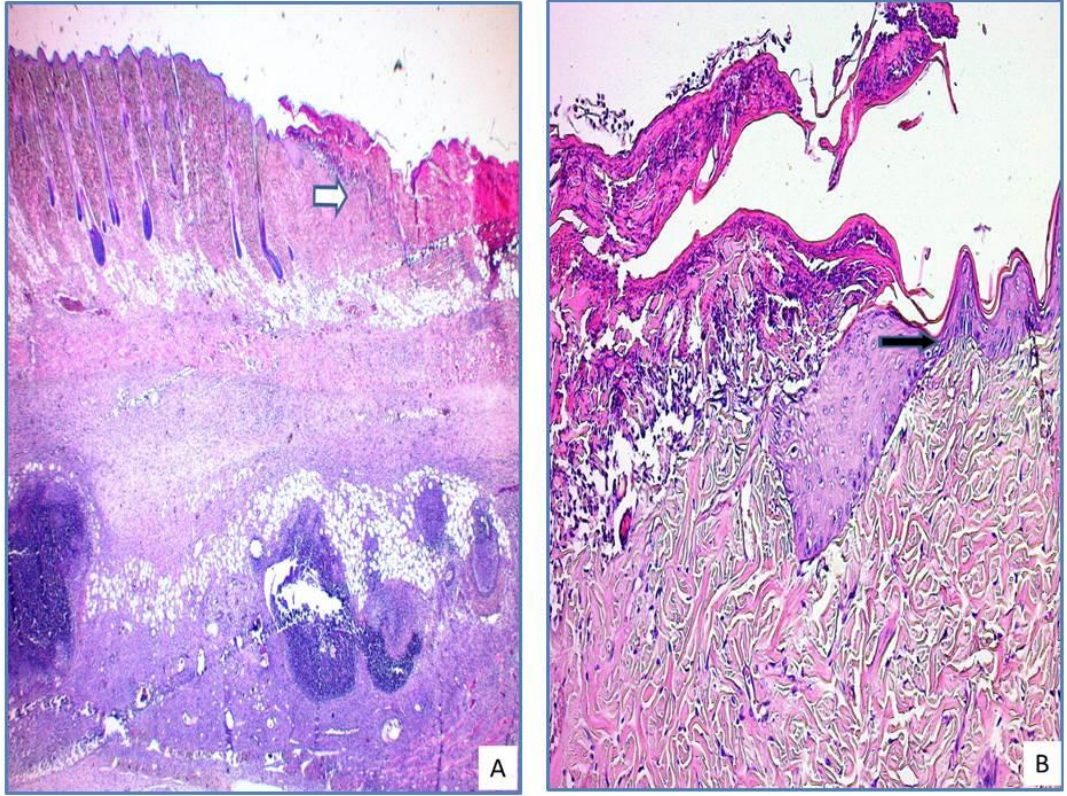


**Şekil 18: Preoperatif + postoperatif ozon alan gruptan alınan deri-deri altı doku örneklerine ait ışık mikroskopik görünümler (A-B, H&E). A) Yüzey epitelinde komplet immatür reepitelizasyon (beyaz ok) görülmektedir (A, x40). B) Granülasyon dokusunda kronik tipte inflamatuvar hücreler, fibroblastlar ve fokal kollajen varlığı (siyah ok) dikkati çekmektedir (B, x1000).**

Reepitelizasyon açısından gruplar arasında istatistiki olarak fark bulunamasa da ( $p=0.083$ ), preoperatif ve preoperatif+postoperatif ozon alan gruplarda %20 oranında minimal-immatür reepitelizasyon ve %80 oranında parsiyel-immatür reepitelizasyon gözlenmiş olup reepitelizasyonun bu gruplarda daha iyi düzeyde olduğu gözlenmiştir. (Şekil 17, 18). Neovaskülarizasyon açısından incelendiğinde tüm grupların birbirinden anlamlı ölçüde farklı olduğu saptanmıştır. İkili karşılaştırmalarda preoperatif ozon verilen grupta yeni oluşan damar sayısının diğer gruplara göre anlamlı ölçüde yüksek olduğu belirlenmiştir ( $p<0.001$ ) (Şekil 17). Ülser varlığı ve derinliği açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamasa da ( $p=0.313$ ), kontrol grubunda %40 olguda subkutan doku ve kas tabakasına ulaşan derin ülser varlığı gözlemlenmiş olup diğer gruplarda bu oran %10-20 arasında değişmektedir.(Şekil 19,20)



**Şekil 19: Flep kontrol grubundan alınan örneklere ait ışık mikroskopik görüntüler (A-B, H&E).** Kesitlerde flepin tüm katlarını tutan iskemik nekroz (beyaz ok) (A,x 40) ve yağlı dokuya uzanan yoğun süpüratif inflamasyon (siyah ok) (B, x100) izlenmektedir.



**Şekil 20: Flep postoperatif ozon grubundan alınan örneklerle ait ışık mikroskopik görüntüler (A-B, H&E). Epidermis ve dermiste nekroz (beyaz ok) yanı sıra subkutan dokuda mikroabse odakları oluşturan akut inflamasyon (A, x40) ve inkomplet reepitelizasyon (siyah ok) (B, x100) görülmektedir.**

Sonuç olarak ozon ile önkoşullanma yapılan gruplarda(preoperatif ozon alan grup ve preoperatif+postoperatif ozon alan grup) granülasyon dokusu, fibroblast matürasyonu, reepitelizasyon, neovaskülarizasyon, kollojen birikimi önkoşullanma yapılmayan diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuş olup ön koşullanma yapılan gruplarda ülser derinliği daha yüzeysel görülmüştür.

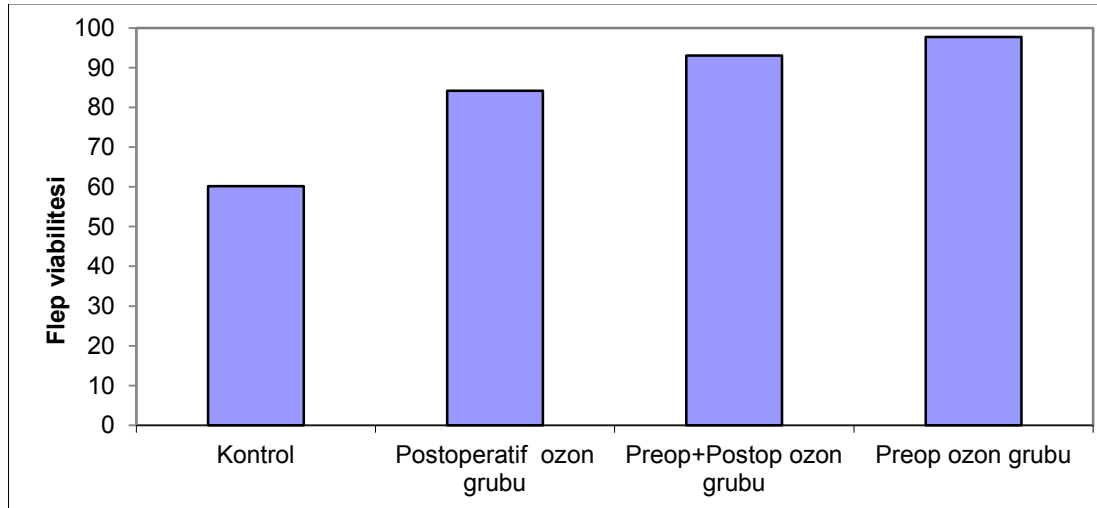
### 5.3. İstatiksel Bulgular

Flep viabiliteeleri açısından tüm gruplar kontrol grubuna göre istatistiki olarak daha iyi olup preoperatif + postoperatif grup ile postoperatif ozon grubu benzer bulundu. Preoperatif ozon grubunda flep viabilite oranı en yüksek iken kontrol grubunda bu oran en düşük bulunmuştur (Tablo 3).

**Tablo 3: Flep viabilite oranlarının istatistiksel dökümü. Preoperatif ozon alan grubun flep sağ kalım oranlarının yüksekliği dikkati çekmektedir.**

Gruplar	n	Mean± Std. Deviasyon
Kontrol	10	49,09±25,98
Postoperatif ozon grubu	10	86,04±7,03
Preoperatif+ Postoperatif ozon grubu	10	90,56±6,90
Preoperatif ozon grubu	10	96,09±3,12
Toplam	40	80,45±23,01

**Tablo 4. Flep sağkalım oranlarının grafiksel dökümü. Preoperatif rektal ozon alan grupta flep sağkalım oranlarının yüksekliği dikkati çekmektedir.**



Histopatolojik çalışmada Abramov ve arkadaşlarının histolojik skorlama sistemi esas alınarak elde edilen sonuçlar istatistiki olarak incelenmiş ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir: (Tablo 5)

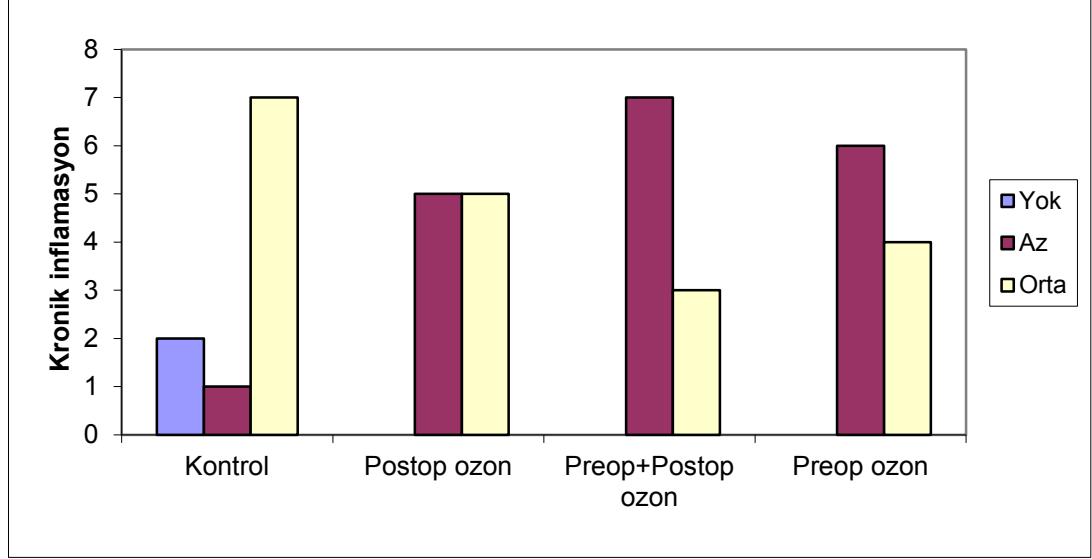
**Tablo 5. Histopatolojik değerlendirme parametre skorlarının istatistiksel dökümü**

Parametreler ve skor		Gruplar				Toplam
		A: Kontrol (n=10)	B: Postop Ozon (n=10)	C: Preop +postop Ozon (n=10)	D: Preop ozon (n=10)	
Akut inflamasyon	Yok	0	0	0	0	0
	Az	0	1	1	1	3
	Orta	4	6	7	8	25
	İyi	6	3	2	1	12
	<b>Toplam</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>40</b>
Kronik inflamasyon	Yok	2	0	0	0	2
	Az	1	5	7	6	19
	Orta	7	5	3	4	19
	İyi	0	0	0	0	0
	<b>Toplam</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>40</b>
Granülasyon miktarı	Yok	2	0	0	0	2
	Az	4	7	0	0	11
	Orta	4	3	10	7	24
	İyi	0	0	0	3	3
	<b>Toplam</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>40</b>
Fibroblast maturasyonu	İmmatür	2	0	0	0	2
	Az matür	6	8	3	4	21
	Orta Matür	2	2	7	6	17
	Tam Matür	0	0	0	0	0
	<b>Toplam</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>40</b>
Kollojen depozitleri	Yok	6	5	0	1	12
	Az	4	3	8	7	22
	Orta	0	2	2	2	6
	İyi	0	0	0	0	0
	<b>Toplam</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>40</b>
Reepitelizasyon	Yok	3	1	0	0	4
	Minimal immatür	3	5	2	2	12
	Parsiyel immatür	4	4	8	8	24
	Komplet matür	0	0	0	0	0
	<b>Toplam</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>40</b>
Neovaskülarizasyon	Yok	2	0	0	0	2
	BBA da 5 ten az damar	4	7	0	1	12
	BBA da 6-10 damar	4	3	8	4	19
	BBA da 10 dan fazla damar	0	0	2	5	7
	<b>Toplam</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>40</b>
Ülser derinliği	Yok	0	0	0	0	0
	Yüzey epitelyum kaybı	0	0	0	0	0
	Dermal dokuda sınırlı ülser/nekroz	6	8	9	9	32
	Subkutan yağlı dokuya ve /veya kas tabakasını ulaşan derin ülser/nekroz	4	2	1	1	8
	<b>Toplam</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>40</b>

1-Akut enflamasyon da gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır (p=0.261).

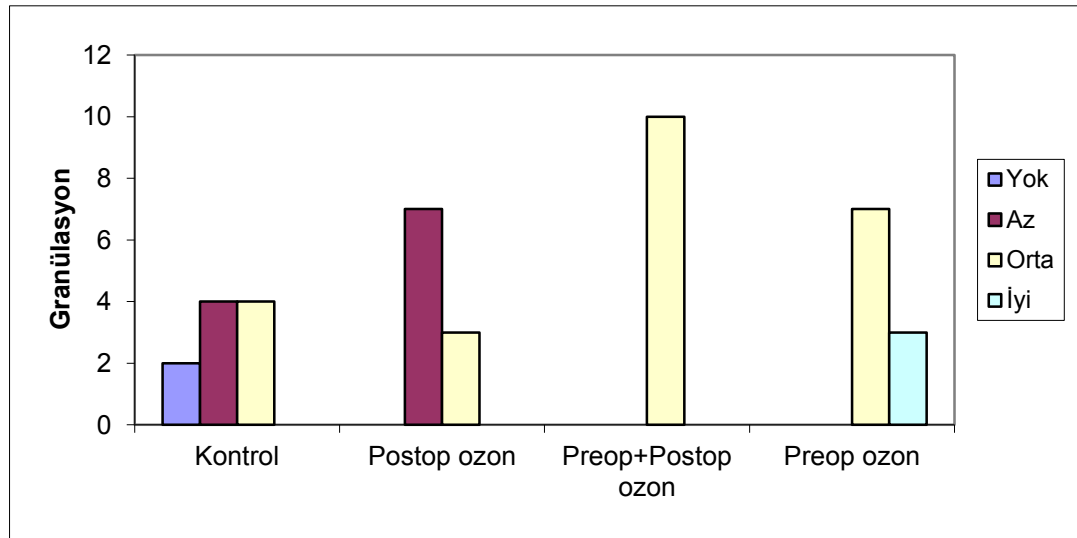
2-Kronik enflamasyon tüm gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur(p=0.043)

**Tablo 6. Kronik enflamasyonun gruplara göre dağılımının grafiksel dökümü**



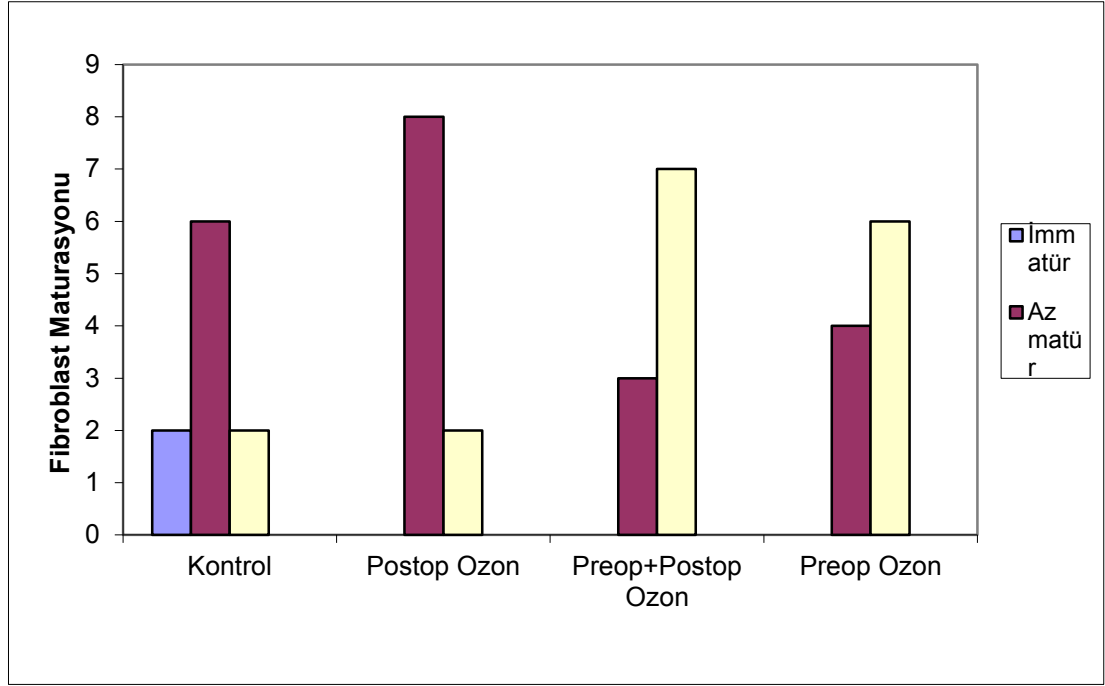
3-Granülasyon doku miktarı tüm gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı bulunmuş olup ikili karşılaştırma testinde preoperatif ozon verilen grupta istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur (p<0.001).

**Tablo 7. Granülasyon doku miktarının gruplara göre dağılımının grafiksel dökümü**



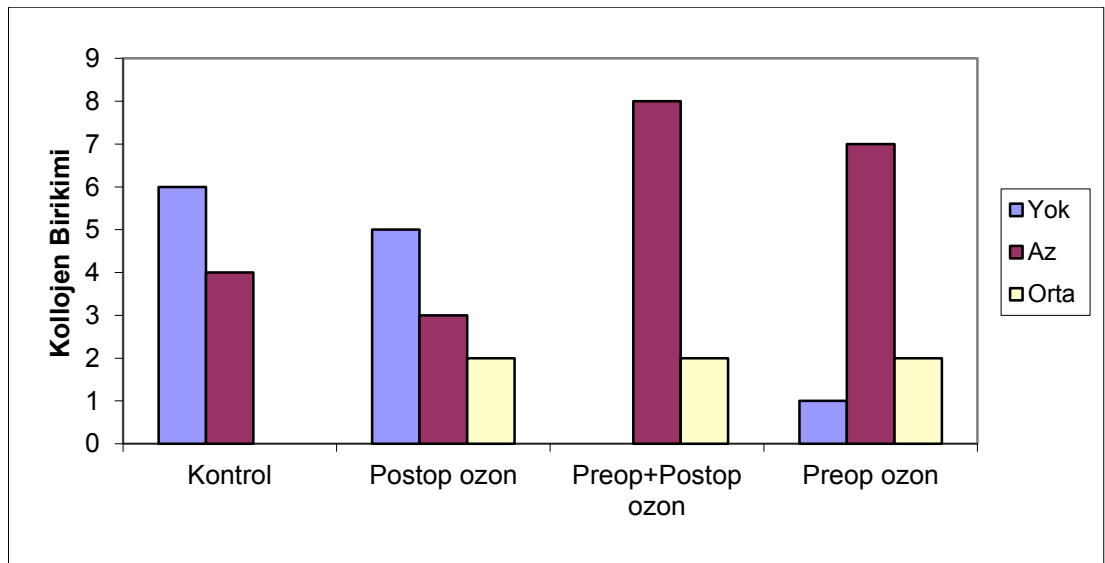
4-Granülasyon dokudaki fibroblast miktarı preoperatif ozon verilen grupta istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur (p=0.036).

**Tablo 8. Granülasyon dokudaki fibroblast maturasyonunun grafiksel dökümü**



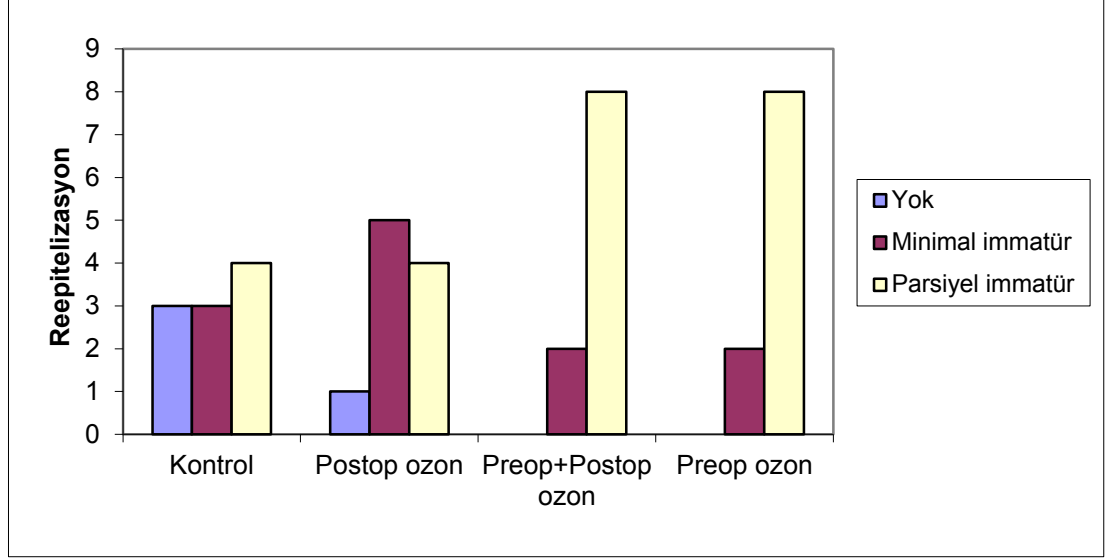
5- Kollojen birikimi diğer gruplara göre preoperatif +postoperatif ozon verilen grupta istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p=0.007).

**Tablo 9. Kollojen birikiminin gruplara göre dağılımının grafiksel dökümü**



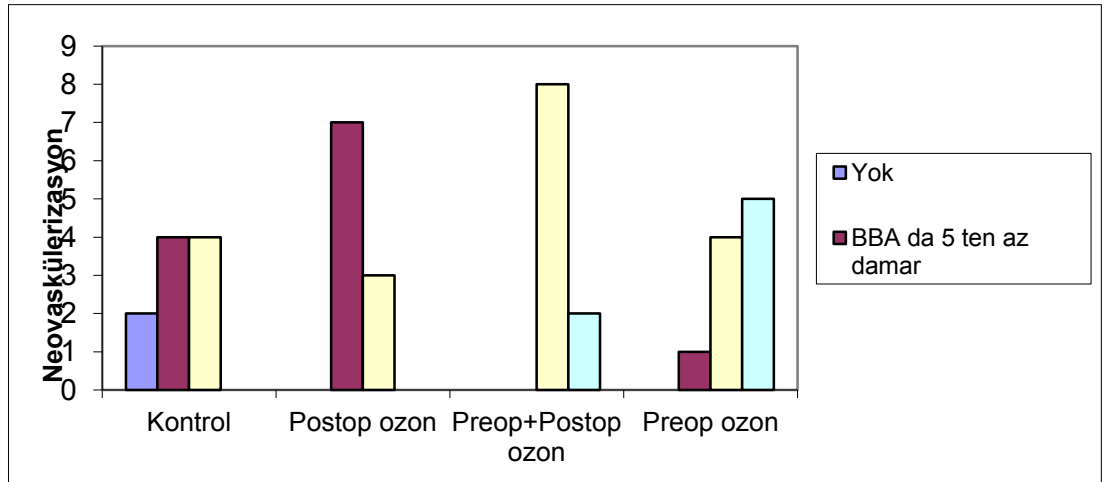
6-Reepitelizasyon açısından gruplar arasında istatistiki olarak fark bulunamasa da ( $p=0.083$ ), preoperatif ve preoperatif+postoperatif ozon alan grupta belirgin ölçüde reepitelizasyonun daha iyi olduğu gözlemlenmiştir.

**Tablo 10. Reepitelizasyonun gruplara göre dağılımının grafiksel dökümü**



7-Neovaskularizasyon açısından tüm gruplar birbirinden anlamlı ölçüde farklı bulundu. İkili karşılaştırma testinde preoperatif ozon verilen grupta neovaskularizasyon istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulundu ( $p<0.001$ ).

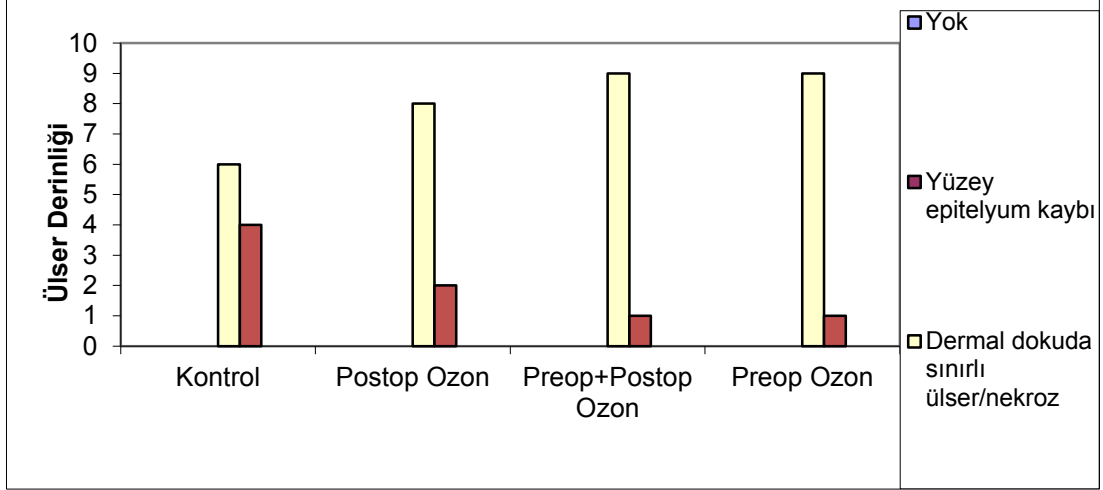
**Tablo 11. Neovaskularizasyonun gruplara göre grafiksel dökümü. BBA: Büyük büyütme alanı.**





8- Ülser derinliği açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamasa da ( $p=0.313$ ), kontrol grubunda diğer gruplara oranla daha fazla sayıda örnekte ülser derinliğinin daha derin olduğu gözlemlenmiştir.

**Tablo 12. Ülser derinliğinin gruplara göre dağılımının grafiksel dökümü**



## 6. TARTIŞMA

Yara, eski çağlardan beri, hemen her zaman deri bütünlüğünün kaybı olarak kabul edilmiş ve bu kaybı yerine koymanın yolları aranmıştır. Yara tedavisi birbirinden çok uzak toplumlarda bile, bugünkü modern rekonstrüksüyon piramidinde ilk sırayı alan sekonder iyileşme konsepti ile başlamıştır. Anadolu halk türkülerinde de yer alan " yaraya merhem " anlayışı, aslında rekonstrüksüyon pramidinde ilk sırayı alan sekonder iyileşme konseptinin tarihsel evrimi hakkında haber vermektedir.

İnsanoğlu yara tedavisinde, bu sekonder iyileşme konseptinin belli bir aşamadan sonra yetersiz olduğunu görmüş ve vücudun başka alanlarından alınan dokunun yaraları kapatabileceğini düşünerek bir takım çareler üretmiştir. Bu amaçla milattan önceki dönemlerde özellikle Hindistan'da uzuv kayıplarının onarımlarında deri fleplerinin kullanımları karşımıza çıkmaktadır (126). Daha sonraları evrimsel gelişimini bugüne kadar sürdüren deri flep cerrahisi, deri greftleriyle kapatılamayacak yaraların tedavisinde kullanılmıştır. Bu flepler, aynı zamanda cilt görünümünü iyileştirmek için cerrahi ya da travmatik nedenlerle oluşmuş skarların onarımlarında da kullanılmıştır.

Flep cerrahisinde, yara etrafındaki deri veya çeşitli dokular yarayı kapatmada kullanılmaktadır. Deri flepleri, yara kapatmak için gereken önemli deri yapılarını içermekle birlikte, iyi renk uyumu da sağlamaktadır. Bu flepler asıl verici alana bağlı kalarak buradan beslenebildikleri gibi, verici alanlarından tamamen ayrılarak alıcı alanın kan damar desteğine bağlanarak ta canlılıklarını devam ettirebilirler. Bu yönüyle tam kalınlıktaki bir deri ve diğer bileşenlerinin yara yahut defekt alanına aktarımlarında çeşitli metodlar ortaya konmuştur. Bu yöntemlere örnek olarak; flep rotasyonu, interpolasyonu, transpozisyonu, ve fleplerin serbest olarak aktarımları sayılabilir.

Günümüz plastik cerrahi uygulamalarında flep cerrahisi için hergeçen gün yeni uygulamalar keşfedilmekte ve uygulamaya konulmaktadır. Özellikle 20. yüzyıl ikinci yarısından sonra ortaya konulan serbest flep aktarım modeli, donör saha morbiditesini önemli ölçüde azaltmış, dahası kapatılması zor yaraların veya onarılması imkansız hale gelmiş kayıpların yerine konulmasında cerrahlara önemli ölçüde farklı seçenekler sunmuştur. Ancak geliştirilen bu serbest flep aktarımı konsepti de operasyonel açıdan bir takım zorlukları ortaya koymuş ve yapılan çalışmalarda flep fizyolojisinin anlaşılması zorunluluğunu gündeme getirmiştir. Flep fizyolojisinin anlaşılabilmesi için özellikle cilt fleplerindeki besleyici unsur olan kan akımının kinematığının anlaşılması öncelikli görülmüştür. Yapılan çalışmalarda derideki kan akımının temelde arterioler seviyede düzenlendiği ve bu seviyede yer alan prekapiller sfinkter, arterioler ve arteriovenöz anastomozlarda ki kan akımının sempatik etkiyle düzenlendiği ve bu sempatik uyarının prekapiller sfinkterin kasılmasını sağlayarak kanın doğrudan arteriovenöz anastomoza yönelttiği ortaya konmuştur (127). Bu sempatik uyarımla oluşan damar düz kas kasılması beta adrenerjik vazodilatasyonla dengelenmektedir(26). Flep elevasyonu ile flepte oluşan kanlanma azlığı ve dolayısıyla bu durumun tetiklediği sempatik aktivasyon ve sonuçta bir kısır döngü oluşur. Bu olayın hemen ardından salınan epinefrin, norepinefrin, serotonin, PGI<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub>α ve tromboxan A<sub>2</sub> ile vazokonstrüksiyonun daha da artması ile flep kan akımı iyice azalır. Bu medyatörler yaklaşık 12-24 saat içinde etkinliklerini kaybederler. Ancak flepte oluşan iskemi 6 saatten fazla devam ederse ve flepte yeniden kanlanma sağlanırsa bu defa reperfüzyon hasarı gündeme gelir(128). Açığa çıkan bu medyatörlerinde etkisiyle oluşan vazokonstrüksiyon en çok flebin distalinde olduğundan nekrozda en çok flep distalinde görülür. Çalışmamıza dahil edilen tüm gruplarda nekrozlar flep distalinde başlamış olup her grubun nekroz alanları bu en distalden flep pedikülüne doğru çeşitli büyüklüklerde oluşmuştur. İskemik şartlarda ihtiyaç duyulan enerji anaerobik şartlarda oluşturulmaya çalışılırken, anaerobik glikozilasyonla bir takım reaktif oksijen radikalleri açığa çıkmaya başlar. Bu oksijen radikalleride lipid perokside edici etkileriyle hücre zarında yapısal değişimlere ve dolayısıyla inflamatuvar sürecin aktive olmasıyla lökositlerin birikimine ve adezyonuna, sonuçta mikrovasküler tıkanmaya yol açacak endotel hasarına neden olurlar(129). Endotel hasarında mikrovasküler

tıkanma yaşanabileceği gibi, damarın permeabilitesini artırarak dokuda ödem ve mikrokanamalar oluşur(130). Dolayısıyla flep elevasyonu ile oluşan iskemik nekrozun patofizyolojisinde oksidatif stresle ortaya çıkan reaktif oksijen radikalleri ve bu radikallerin oluşturduğu lipid peroksidasyonunun rolü açıktır. Bu yüzden önkoşullanma prensibi, flep elevasyonundan önce yaratılan oksidatif stres ortamının operasyona kadarki dönemde aktive edeceği anti oksidan mekanizmalar yoluyla bu oksidatif stresle baş edebilme yöntemidir. Bu ilkelere bağlı olarak yaptığımız çalışmada, ozon aracılı oksidatif stresle oluşturduğumuz ön koşullanma modelleri olan grup 2 ve grup 3 deneklerinde rektal ozon uygulamasını flep elevasyonundan önce 4 gün boyunca ve son ameliyat öncesi uygulamayı da 12 saat öncesinde yaptık. Ameliyattan 12 saat önce uyguladığımız ozon terapisinin yol açtığı oksidatif etkinin, ameliyata kadarki zaman içerisinde yukarıda bahsettiğimiz prensip dahilinde ortadan kalkacağını ve bunun neticesinde aktive olacak anti-oksidan ve diğer mekanizmaların flep elevasyonundan sonra faydalı etkilerinin devam edeceğini öngördük. Uyguladığımız ön koşullanma modelinde flep elevasyonu ile oluşan iskemiye bağlı oksidatif stresle baş edebilen mekanizmaları aktive etmeyi amaçladık. Ancak daha çok serbest flep aktarımlarında görülen iskemik dokuda kan akımının yeniden sağlanması ile ortamda artan oksijen konsantrasyonu ile oluşacak serbest oksijen radikalleri ve buna bağlı olarak zararlı etkilerin olduğu bir reperfüzyon hasarı preoperatif ozon grubundaki deney modellerimizde oluşmamış kabul edilmektedir (128).

Reperfüzyon hasarında; mevcut iskemik dokudaki ATP katabolizma ürünü olan ksantin, reperfüzyonla ortama gelen oksijenle ksantin oksidaz aracılı oksidasyonu ile hipoksantine dönüşmesi temel basamaktır. Burada hipoksantin süperoksit anyonu olduğundan serbest oksijen radikali ve diğer oksijen radikallerinde öncülü olarak davranır. Dolayısıyla allopürinol gibi ksantin oksidaz inhibitörlerinin kullanımı bu reperfüzyon hasarının önlenmesinde etkili bulunmuştur (131). Aslında reperfüzyon hasarındaki ksantin oksidazın bir diğer kaynağı da, hipoksik şartlarda bozulan iyon kanalları nedeniyle hücre içine kalsiyum girişinin artması ve çeşitli sitozolik enzimlerin aktive olmasıdır. Bunun sonucu olarak endotelde hipoksantini redükte eden ksantin dehidrogenaz, ksantin oksidaza dönüşerek hipoksantini okside edip oksijen radikallerini oluşturur(132). Serbest

oksijen radikalleri hücre membranındaki fosfolipidlerle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonu aracılı hücre membranının parçalanmasına ve hücrenin ölümüne yol açarlar. Bu durumda enflamatuvar yol aktive olarak doku hasarına yol açan çeşitli mediatörler ortama çekilmiş olur(133).

İskemik ve iltihabi ortamda damar içindeki lökositler endotele yapışarak buradan dokuya geçip toksik ürünleriyle doku hasarına yol açarlar. Özellikle bir çalışmada lökosit adhezyonunun yuvarlanma aşamasını engelleyen fucoidinin sıçan modelindeki flepte iskemi reperfüzyon hasarını azalttığı gösterilmiştir (134).

Serbest radikal hasarını önlemenin bir diğer yolu da antioksidanlarla serbest radikallerin ortamdaki eliminasyonu edilmesidir. Bu amaçla karnitin, desferoksamin, trimetazidin, koenzimQ, vitamin E, C gibi birçok ajanın antioksidan özellikleri ile flep viabilitesine olan olumlu katkıları gözlemlenmiştir (135).

Kuşkusuz flep sağkalımında önemli görülen faktörlerin başında operasyonun uygun cerrahi koşullarda yapılması söylenebilir. Bunun için alıcı saha da bakteriyel yükün minimizasyonu, alıcı alana iyi bir debridman yapılması, doğru alana doğru flep seçimi ve dizaynı en başta gelen hususlardır(129). Ameliyat sonrası dönemde oluşturulan nemli ortamın iskemik dokunun kaybını azaltmada etkili olduğu, yine postop hipotermi flepte oluşturduğu vazokonstriksiyona bağlı iskemi artırdığı ve lokal ısıtmanın bunu önleyerek kan akışını hızlandırdığı gösterilmiştir(129,136).

Flep yaşamını artırmaya yönelik uygulanan yöntemler arasında antikuagülan kullanımı olmakla beraber bunların etkinliğine dair farklı görüşlerde mevcuttur. Bu amaçla kullanılan volüm genişleticiler (dekstran 40 ve 70, hidroksietil starch-HES) trombosit agregasyonunu engelleyerek etki ederler. Aynı şekilde heparin daha çok intraop yıkama amaçlı ve sülük ameliyat sonrası dönemde venöz staz durumlarında kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemlerin hiç birinin tek başına flep sağkalımını artırdığı ispatlanmış değildir(129,137).

Flep elevasyonu ile birlikte flepte oluşan vasokonstriktörlerin deşarjını önlemek için antiadrenerjik ilaçlar kullanılmıştır. Bu amaçla rezerpin, guanetidin ve fentolaminin flep yaşayabilirliğine faydalı etkileri gösterilmiştir(138, 139, 140). Literatürde flep sağ kalımında uygulanan ve temelde flep kan akımını artırmak için, vazodilatör etkinliğe sahip çeşitli ajanlarla yapılmış başkaca çalışmalarda mevcuttur(129). Çalışmamızda kullandığımız ozonun, daha önceki bölümde

bahsettiğimiz üzere endotelde vazodilatör etkinliği aracılığıyla, flep elevasyonu ile oluşmuş vazokonstriktör deşarjının etkilerini, antagonize ederek flep sağkalımını artırdığına inanıyoruz.

İskemik hasarda etkili olan bir diğer olgu artan hücre içi kalsiyumdur. Hücre içerisindeki artan kalsiyumun olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak için kalsiyum kanal blokörü olan verapamil kullanılmış ve bu bağlamda başarılı sonuçlar elde edilmiştir(128).

Flep sağ kalımında etkili olduğu önesürülen torilerden birisi de kanın reolitik özelliğinin flep sağkalımı için optimize edilmesidir (137). Pentoksifilin, fibrinojen seviyelerini azaltarak kan vizikositesinde azalmaya neden olur. Oral verilen pentoksifilinin flep canlılığını artırdığı görülmüştür. Yine eritrositlerin deforme olma özelliğini artırarak damar endoteline yapışmasını önleyen piracetamında fleplerin distal kısımlarında nekroz oranlarını doza bağımlı olarak azalttığı gösterilmiştir (137,141). Flep sağkalımında önemsenen kanın reolitik özelliği açısından, çalışmamızda kullandığımız ozon için her ne kadar trombosit agregasyonunu artırdığı öne sürülmüşse de bunun tam aksini savunan çalışmalarda mevcuttur(10).

Flep elevasyonu ile birlikte oluşan enflamatuar mediatörler ve hücrelerin ortamda yarattıkları oksidatif yükü azaltmak için çeşitli çalışmalar yapılmış ve çalışmalardan olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Steroidler bu mantıkla kullanılan ajanlardan birisidir. Özellikle oluşturduğu non-spesifik anti enflamatuar etkiyle ortaya çıkan ödem önleyici etki burada etkilidir. Deksametazon, serbest radikal üretimini baskılayarak, lökosit, düz kas ve endotel hücrelerdeki kalsiyum bağımsız indüklenbilir nitrik asit sentaz aktivitesini zayıflatarak, nötrofil birikimi ve ödem oluşumunu azaltarak nekroz gelişimini önlediği bildirilmiştir(142,143,144). Bu çalışmalarda verilen deksametazonun nötrofil birikiminin göstergesi olan miyeloperoksidaz aktivitesini azalttığı gösterilmiştir(145).

Bu bağlamda özellikle Kargı ve arkadaşlarının ratlarda oluşturdukları flep modelinde dexametazonla yaptıkları çalışmalarda kontrol grubuna göre flep sağ kalımında önemli ölçüde artış olduğu görülmüştür (142). Kargı ve arkadaşları bu çalışmalarında aynı zamanda karnitin ve deksametazon ile karnitin kombinasyonunu da çalışmışlar ve flep sağ kalımında karnitin ile deksametazonun dual sinergistik etkinliklerini de ortaya koymuşlardır(142).

Flep nekrozunda görülen temel patofizyolojinin kan akımının azalması ve bunun sonunda oluşan iskeminin olduğunu bilinmektedir (146). Yapılan çalışmalarda, flep elevasyonunu takiben oluşan iskemi-perfüzyon fazına bağlı ortaya çıkan serbest radikallerin hücrel hasar oluşturup flep nekrozu oluşturduğu saptanmıştır (146, 147, 148). Reaktif ve aynı zamanda sitotoksik olan oksijen radikalleri kapiller geçirgenliği artırarak doku ödeme, trombositlerin damar duvarına yapışmasını sağlayarak mikrodolaşımın bozulmasına yol açmaktadır. Bu durum iskemiye ve dolayısıyla serbest radikal oluşumunu daha da artırarak antioksidan mekanizmaların kapasitesini aşan oksidan oluşumu ile doku yaralanmasına yol açmaktadır(149).

Oksidan etkileri ortadan kaldırmaya yönelik bir takım antioksidan maddeler çeşitli çalışmalarda kullanılmıştır. Kargı ve arkadaşlarının yaptıkları başka bir çalışmada da antioksidan vitaminlerden C ve E vitaminleri flep sağ kalımında çalışılmış ve bu çalışmada C vitaminin flep sağ kalımını tek başına artırdığını, E vitaminin ise flep yaşamına etkisinin olmadığını bulmuşlardır (149). Ancak C vitamini E vitamini ile birlikte kullanıldığında C vitamininin flep sağ kalımındaki etkinliğinin artmış olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada flep cerrahisinde oluşan enflamatuar reaksiyonların yol açtığı iskemi ve oksidatif stresi de azaltan ibuprofen çalışılmış ve ibuprofenin tek başına flep sağ kalımını artırdığı gözlemlenmiştir. Aynı zamanda ibuprofen C ve E vitaminleri ile kombine edilerek kullanılmış ve rat flep modelinde flep sağkalımının daha da arttığı bulunmuş olup ibuprofen vitC ve Vit E nin flep sağkalımındaki sinerjistik etkisi ortaya konmuştur (149). Çalışmamızda kullandığımız ozon tedavisi, ön koşullanma ile aktive ettiği antioksidan sistemlerin oksidan yükü baş edebilir seviyeye ulaşmasına katkı sağlayarak, vazodilatör etkinliği ile vazokonstrüktör deşarjının etkilerini antagonize ederek, kandaki eritrositlerde 2,3 DPG seviyesini artırarak oksijenin hemoglobinden dokulara salıverilmesini artırmak suretiyle iskemiye önleyerek flep sağ kalımındaki olumlu etkilerini göstermiştir.

Diğer taraftan flebin iskemiye toleransını artırmaya yönelik yapılan başka çalışmalarda, çeşitli etmenlerle flep elevasyondan önce iskemik hale getirilip iskemiye karşı savunma mekanizmaları yeteri düzeyde aktive edildikten sonra flep kaldırılmış ve sonrasında oluşan iskeminin flep sağkalımına karşı olumsuz etkilerinin

bir kısmının bertaraf edildiği gösterilmiştir. Monsey ve arkadaşlarının 1992 de yaptıkları çalışma iskemik önkoşullanmanın etkinliğini gösterdiğini iddia etse de, yaptıkları çalışmada, domuz latissimus dorsi flep pedikülüne operasyondan sadece 4 saat önce 3 seans 10 ar dakikalık vasküler bir klempfle iskemik flep epizodları oluşturmuşlardır. Ancak bu yöntemde, flepte operasyondan sadece 4 saat önce oluşturulmuş iskemik stresin açığa çıkardığı vazokonstrüktör deşarjının, flep elevasyonu esnasında ve sonrasında da devam edeceği göz önüne alındığında bu ön koşullanma anlayışı bu yönüyle eleştiriyi hak etmektedir. (54,128).

Her ne kadar iskemik ön koşullanmanın biyokimyasal temeli tam olarak ortaya konmuş olmasa da, bir çok çalışmada, letal seviyenin altında uygulanan çok sayıda iskemik epizodun dokunun iskemiye olan dayanıklılığını artırdığı bildirilmiştir(53,54).

İskemik ön koşullanma konseptinde temel prensip kaldırılacak flepte oluşturulan ameliyat öncesi bir oksidatif stres nedeniyle açığa çıkan koruyucu ajanların ameliyat sonrası dönemde flep sağ kalımındaki faydalı etkilerini kullanmak olsada, bu ajanları ameliyat öncesi dönemde operasyon alanından uzak bir anatomik bölgede elde edip sistemik dolaşıma verilmesi yoluyla da ameliyat sonrası dönemde kaldırılmış flepte faydalı etkilerinin gözlemlenmesi mümkündür. Uzaktan iskemik önkoşullanma olarak adlandırılan bu yöntemle alakalı Addison ve arkadaşlarının yaptıkları geniş hayvan çalışması iskemik ön koşullanma modellerinde genel bakış açılarını değiştirmiştir(58).

Ön koşullanma konseptinde diğer bir öngörülen yaklaşımda ameliyat öncesi dönemde bir takım intrinsik antioksidan ve vazodilatör mediatörlerin açığa çıkmasına yönelik müdahalelerdir. Hem metabolizmasında ortaya çıkan biliverdin bir antioksidan, demir ve karbonmonoksidin ise birer vazodilatör olduğunu biliyoruz. Hem metabolizmasının hız kısıtlayıcı enzim olan hem-oksijenaz-1 aslında bir ısı şok proteini olan HSP-32 dir. Isı şok proteinleri hipo yada hipertermi durumlarında salınarak organizmayı bir takım olumsuz etkilerden korumaktadır(59). Bu yönüyle oluşturulan hipo yada hipertermik ortamlarla ısı şok proteinlerinin sentezinin sağlanması ve buna bağlı antioksidan ve vazodilatör etkili hem yıkım ürünlerinin açığa çıkması sağlanabilir. Hipertermik önkoşullanmanın ilk çalışmasını Koenig ve arkadaşları deneysel flep cerrahisinde suprafizyolojik ısıtma ile yapmış ve bu



yöntemin flep sağkalımını iyileştirdiğini göstermişlerdir(62). Bunun tam aksine Donski ve arkadaşları da muskulokutan fleplerde 6-7°C ye kadar yapılan soğutmanın iskemi zamanını artırarak flep sağkalımında faydalı etkilerinin olduğunu bildirmiştir(67). Hipotermik önkoşullanma diye tanımlanmış olan bu yöntemde dokunun hücrel metabolizması yavaşlatılarak ve aynı zamanda HSP molekülleri artırılarak iskemi/reperfüzyon(I/R) injurisinin zararlı etkilerinin bertaraf edilebildiği öne sürülmüştür(2). Çalışmamızda kullandığımız ozon tedavisinde, hipo ve hipertermik önkoşullanmada açığa çıkan ısı şok proteini olan ve aynı zamanda hem yıkımında hız kısıtlayıcı enzim olan HO-1 oluşumunda etkili olduğu bilinmektedir (102,103). Böylece çalışmamızdaki ön koşullanma modelinin organizmada yarattığı etkiler açısından birçok ön koşullanma modelini de kapsadığını görmekteyiz.

Bir kısım farmakolojik ajanlar ön koşullanma amaçlı kullanılmıştır. Saray ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada , kan basıncı ve hematokrit değerlerini etkilemeyen kısa dönem eritropoietin (EPO) ön tedavisiyle, EPO'nun direkt antienflamatuar, antioksidan, ve anti-apoptotik etkileriyle flep sağkalım oranlarını artırdığı gösterilmiştir (91). Bu bakımdan sistemik hematokrit değerlerini artırmayan düşük doz EPO önkoşullanmasının, kapiller perfüzyon kısıtlılığını ve lökositik enflamasyonu azaltarak flep sağkalımını iyileştirdiği ispatlanmıştır(91,156).

Flep sağkalımını artırmak için önerilen tezlerden biriside bir kısım ön koşullanma yöntemleriyle angiogenezi uyaran mediatörlerin açığa çıkmasını sağlamak yerine angiogenezin doğrudan uyarılabileceği ve dolayısıyla flepte elevasyondan sonra oluşacak kan akım yetersizliğinin önüne geçmektir. Bu amaçla angiogenezi uyardığına inanılan bir kısım büyüme faktörü amelyat öncesi verilerek bir önkoşullanma sağlanmıştır. 1989 da Höckel ve arkadaşları, lokal intradermal angiotropin ön tedavisinin anjiogenez indüksiyonuyla yara iyileşmesine katkıda bulunduğunu ve deri flebi nekrozunu engellediğini göstermiştir(92). Platelet kökenli büyüme faktöründe angiogenezi uyardığı düşünülerek Carroll ve arkadaşları platelet kökenli büyüme faktörünü(PDGF) bu amaçla çalışmışlar ve PDGF ön tedavisinin kontrol ve geciktirme (delay) gurubuna göre flep sağkalımını önemli ölçüde artırdıklarını göstermişlerdir(94). Bu paralellikte, vasküler endotelial büyüme faktörü(VEGF) flep sağ kalımını artıran diğer bir moleküldür. Temelde angiogenezi uyatarak flep sağkalımını artırma hedefi olan bu yöntemle Zhang ve arkadaşları

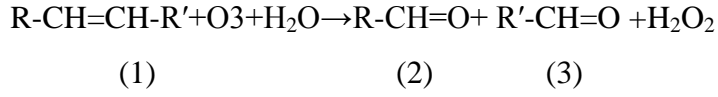
VEGF' yi flep kaldırılmasından 7 gün önce donör sahaya uygulamışlar ve VEGF ön tedavisi uygulanan grubun, flep elevasyonu yapıldıktan sonra flep pedikülüne VEGF enjekte edilen gruba göre flep sağ kalımında daha üstün sonuçlar elde etmişlerdir(2,100).

Tüm bu çalışmalar büyüme faktörleriyle yapılan ön koşullanma modellerinde flep sağkalımının önemli ölçüde artırdığını ispatlamışken, yukarıda bahsi geçen büyüme faktörlerinin, çalışmamızda kullandığımız ozon aracılı aktivasyonla sağlanabileceğini ortaya koyan çalışmalarda mevcuttur. Kim ve arkadaşlarının domuzlar üzerinde yaptıkları çalışmada ozon tedavisi alan grupta VEGF, PDGF ve TGF-beta seviyelerinin anlamlı ölçüde arttığı ve aynı çalışmada, çalışmamızdaki sonuçlarla paralel bir şekilde ozon alan grupta fibroblast maturasyonu ve kollojen birikimlerinin diğer gruplardan anlamlı ölçüde yüksek olup yara iyileşmesinin belirgin ölçüde iyi olduğu gösterilmiştir(157). Yapılan bu çalışma ozon tedavisiyle yukarıda bahsi geçen büyüme faktörlerinin sentezinin artırılacağı ve bu yolla flep sağ kalımında artırılacağı hipotezine ulaşılmaktadır. Hem büyüme faktörlerinin flep sağkalımındaki faydalı etkileri hemde ozon tedavisinin büyüme faktörü sentezini artırdığını ortaya koyan çalışmalar göz önüne alındığında, çalışmamızın sonuçlarının aslında bir tesadüf olmadığı açıkça ortaya çıkmaktadır.

Tüm bu ön koşullanma yöntemlerinde aslında temel prensip organizmayı yaratılan bir stresle, alarm durumuna geçirmek ve oluşacak iskemik duruma flebi hazırlamaktır. Burada en çok kullanılan yöntem, gerek iskemi gerekse başka yöntemlerle olsun sonuçta bir oksidatif stres ortamı ve bunun sonucunda açığa çıkan antioksidan mediatörler ve çeşitli anabolizan faktörlerle flebin canlılığının iskemik şartlarda da devam etmesini sağlamaktır. Bu oksidatif stressörler arasında aslında Plastik Cerrahi disiplininin yakından bildiği ozon gazının flep sağkalımını artırmak için bir önkoşullanmacı olarak etkinliğini çalışmak istedik. Çünkü her ne kadar başka amaçlarla ozon aracılı önkoşullanma çalışmaları yapılmışsa da bu konunun flep cerrahisi için yeteri ölçüde literatürde yer almadığını görmekteyiz.

Ozon florin ve persulfattan sonra bilinen üçüncü oksidan moleküldür(102). Ozonun bu oksidan özelliği bizim ön koşullanma konseptinde aslında temelde aradığımız bir özelliktir. Ozon organizmada biyolojik maddelerle reaksiyona giren ve onları oksitleyen bir moleküldür. Bu biyolojik maddeler; poliunsatüre yağ asitleri,

askorbik asit ve ürik asit gibi antioksidanlarla, sistein gibi -SH gruplu tiyol bileşikleriyle, indirgenmiş glutatyon(GSH) ve albümindir(102). Özellikle ozonun yağ asitleriyle olan tepkimesini ve oluşan ürünleri hatırlayacak olursak;



Burada 1 nolu komponent poliansatüre yağ asitleri, 2 ve 3 nolu komponentler ise okside olmuş yağ asitleridirler (lipid peroksidasyon ürünleri -LOPs-). Bu reaksiyondan ortaya çıkan hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) başlıca reaktive oksijen türevidir (reactive oxygen species -ROS-)(104). Temel ROS molekülünün ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), fizyolojik miktarlarda, konak savunması ve immün cevapta ve sinyal iletiminde düzenleyici etkilerinin olduğu bildirilmiştir(105).

Ozonun biyolojik maddelerle yaptığı reaksiyondan açığa çıkan lipid peroksidasyon ürünlerinin (LOPs), başta kemik iliği, karaciğer, santral sinir sistemi, endokrin bezler gibi organlarda akut oksidatif stresin sinyal molekülü olarak rol alacak şekilde birçok organa submikromolar seviyede ulaştıkları ve böylece reaktif oksijen molekülleriyle birlikte süperoksit dismutaz(SOD), GSH-peroksidaz(GSH-Px), GSH-redüktaz(GSH-Rd) ve katalaz(CAT) gibi antioksidan enzimlerin seviyesini artırdıkları bildirilmiştir(106). Aynı zamanda LOPs, HO-1 yada HSP-32 olarak bilinen oksidatif stres proteinlerinin üretimini artırarak hem molekülünü CO ve bilirübine indirgerler. Bilirubin önemli bir lipofilik antioksidan olup CO açığa çıkararak nitrik oksitle birlikte siklik GMP (cGMP) üzerinden vazodilatasyona yol açar. HO-1 oksidatif stresle açığa çıkan ve birçok yayında ispatlanmış en önemli antioksidan enzimdir(106). Dolayısıyla hipotermik yada hipertermik önkoşullanma yönteminde de belirtilen ortak moleküle ozon uygulamasıyla da ulaşılmış olur. LOPs yüksek seviyeleri toksik iken, bu maddelerin submikromolar seviyelerinin antioksidan sistemleri uyardığından faydalı olduğu vurgulanmıştır(106).

Kaldırılan flepte oluşan iskeminin azaltılması için istenen oksijenin hemoglobinden kolayca dokulara verilebilmesi, damar içi endotelde vazodilatasyon oluşturulup kanlanmanın artırılması ozon uygulamasıyla sağlanabilmektedir(4,109).

Ozonun uygulama metodları arasında, major ve minör otohemoterapiler, peroksidik yağlarla topikal uygulama, direk gaz formunda kas ve subkutan

enjeksiyonları ve gerek aurikular gerekse intravajinal ve rektal uygulama yolları mevcuttur. Çalışmamızda kullandığımız Wistar Albino ratlarda otohemoterapi için damar yolundan günlük kan alıp vermenin uygulanabilir olmadığından, biz önerilen dozda ozon gazını rektal olarak uyguladık. Bu uygulama biçimini özellikle rat gibi deneklerde otohemoterapinin mantıklı bir alternatifi olduğunu düşünmekteyiz.

Ozon gazının yukarıda bahsettiğimiz gibi önemli bir oksidan ajan oluşu, flep cerrahisi için ameliyat öncesi ön koşullanma prensibinde ve özellikle deneysel modellerde iyi bir ajan olduğunu savunmaktayız.

Ozonla yapılmış ön koşullanma çalışmalarının genelde flep operasyonları dışındaki uygulamalar için olduğunu bu konudaki literatür taramalarında tesbit ettik. Borrego ve arkadaşlarının ratlarda yaptığı çalışmada, rektal ozon ön tedavisinin sisplatin aracılı nefrotoksisiteden anlamlı ölçüde koruduğunu aynı zamanda yapılan incelemelerde ozon ön tedavisi almayan gruptaki deneklerde glutasyon peroksidaz seviyelerinin daha düşük olduğunu ve ozon alan gruptaki deneklerin böbreklerinin yapılan histopatolojik çalışmalarında ise ozon ön tedavisi almayan gruptakilere oranla daha minimal toksik etkilere rastlandığı bildirilmiştir(150).

León ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada kolorektal yolla verilen ozon ön tedavisinin ratlarda CCl<sub>4</sub> aracılı hepatoksisiteyi önlediğini ve antioksidan sistemleri aktive ettiğini göstermişlerdir(151). Bizim çalışmamızdaki ozon uygulama yöntemi olan intrarektal ozon terapisinin, serbest doku aktarımlarında dokuyu iskemi reperfüzyon injurisinden, adenozin birikimi yaparak, ksantin/ksantin oksidaz yolağını bloke ederek ve reperfüzyondan sonra ROS üretimini baskılayarak koruduğu bildirilmiştir(151-153). Aynı zamanda intrarektal ozon terapisinin renal ve karaciğer iskemi reperfüzyon modellerinde endojen antioksidan sistemleri aktive ettiği ve ROS üretimini baskıladığı gösterilmiştir(151-153).

Kardiyopatili hastalarda ve iskemi-reperfüzyon deneysel modellerinde ozon ön koşullanmasının SOD ve GSH-Px gibi antioksidan enzim seviyelerini artırdığı ve malondialdehid gibi lipid peroksidasyon ürünlerinin seviyelerini bu yolla azalttığı gösterilmiştir(154,155).

Çalışmamızda elde edilen verilerde özellikle rektal ozon ile önkoşullanma yapılan grup 2 ve grup 3 te elde edilen histopatolojik verilerin önkoşullanma yapılmayan grup 1 ve grup 4'e göre daha iyi yönde olduğu görülmüştür. Bu

histopatolojik verilerin başlıcaları kronik enflamasyon, granülasyon miktarı, fibroblast matürasyonu, neovaskülarizasyon miktarlarıdır. Kontrol grubundaki ülser derinliğinin sayısal verileri ele alındığında diğer tedavi gruplarıyla istatistiki olarak anlamlı farklılığı görülmemiş olmasına rağmen, ozon terapisi almayan kontrol grubundaki örneklerde ülser derinliğinin fazla olduğunu bulduk. Ancak sonuç parametreleri, istatistiksel anlamlılık düzeyinde değerlendirildiğinde sadece preoperatif rektal ozon alan grubun başta neovaskülarizasyon( $p=0.036$ ) olmak üzere, granülasyon miktarı ve fibroblast matürasyonu değerlerinin diğer tedavi alan gruplara göre anlamlı ölçüde yüksek bulunduğunu görmekteyiz( $p<0,001$ ).

Ayrıca flep sağkalım oranları açısından , rektal ozon almış bütün grupların kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde flep sağkalım oranlarının yüksek olması ozonun flep cerrahisindeki faydalı etkilerini net bir şekilde gözler önüne sermektedir. Ancak preoperatif rektal ozon alan grubun flep sağkalım oranının en yüksek olması ozon ile yapılmış ön koşullanmanın flep sağkalımındaki faydalı etkisini ortaya koyarken, postoperatif ve preoperatif+postoperatif rektal ozon alan grupların flep sağ kalım oranlarının istatistiksel açıdan birbirlerinden farklı olmamaları ve preoperatif rektal ozon alan gruba göre flep sağ kalım oranlarının bir miktar azalmış olması, ameliyat sonrası dönemde alınan rektal ozonun oksidatif stresi artırarak flepte artmış viabilite parametrelerini bir miktar bozmuş olabileceği ihtimalini de aklımıza getirmektedir. Aynı durum yukarıda bahsedildiği gibi neovaskülarizasyon, granülasyon dokusu ve fibroblast maturasyonu gibi parametrelerde de gözlemlenmiş olup, önkoşullanmanın histopatolojik seviyede faydalı yönde etkili olduğunu ve bu faydalı etkilerin ameliyat sonrası dönemde devam ettirilen oksidatif stresle değişebileceğini düşündürmektedir. Ancak yinede postoperatif ve preoperatif+postoperatif rektal ozon alan grupların flep sağ kalım oranlarının kontrol grubuna göre yüksek olması, bizlere alınan ozon tedavisinin her durum ve şartta flep sağkalımını artırmış olduğunu göstermektedir.

Yukarıda bahsedilen önkoşullanma prensiplerine bağlı kalınarak çalışmamızda ozon aracılı önkoşullanma için gerekli olan intrarektal ozon tedavisi son olarak ameliyattan 12 saat önce verilmiş, böylece ozonun oksidatif stressör etkisi geçtikten sonra ve in vivo aktive olan ozon aracılı anti-oksidan mediatörlerin ameliyattan sonraki faydalı etkilerinin flep sağkalımında göstermeleri sağlanmıştır.

Çalışmamızda önkoşullanma yapılan grup 2 de ki histopatolojik çalışmalarda neovaskülarizasyonun istatistiki olarak anlamlı ölçüde artmış olması, ozon aracılı ön koşullanmanın angiogenez üzerindeki olumlu etkilerini açıklamaktadır. Angiogenезin bu artmış oranının, ozon aracılı artan VEGF gibi büyüme faktörlerinin bir sonucu olduğunu düşünmekteyiz(157).

Diğer ön koşullanma metodları (klempleyerek iskemik ön koşullanma, büyüme faktörü ile yapılan farmokolojik önkoşullanma v.b) ile kıyaslandığında , invaziv olmayan, ucuz, kolaylıkla uygulanabilir ve etkili olan ozon aracılı ön koşullanma, çalışmamızda sadece makroskobik sonuçlar açısından değil aynı zamanda histopatolojik parametreler açısından değerlendirilmiş ve etkinliği ispatlanmıştır. Deri flep cerrahisinde ozon aracılı önkoşullanma konseptini ele alan ve bu uygulama anlayışının gelişmesine ön ayak olacağına inandığımız çalışmamızın olumlu sonuçlarının, plastik cerrahi ilkeleri arasında kısa zamanda yeralacağına inanmaktayız.

## 7.SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda uyguladığımız ozon aracılı önkoşullanma, deri flep modelimizde beklenen olumlu etkisini göstermiştir. Özellikle önkoşullanma yapılan grup 2 ve grup 3 teki deneklerde, hem flep sağ kalım oranları ve hemde histopatolojik sonuçları itibariyle ozon aracılı önkoşullanma anlayışının dikkate değer olduğunu ortaya koymuştur.

Çalışmamız esnasında ozon ile ilgili olarak yaptığımız araştırmalarda, ozonun aslında deri flebi için yapılmış çalışmalarda faydalı olduğu kanıtlanmış diğer pekçok ajanın yaptığı etkiyi tek başına aktive ettiğini görmekteyiz. Bunlardan bazıları;

- İskemik ön koşullanmalarda oluşan oksidatif stress ürünlerini açığa çıkararak karşıt mekanizmaları aktive eder,
- Endotel üzerindeki vazodilatör etkinliği sayesinde vazokonstrüktör deşarjının olumsuz etkilerini ortadan kaldırır,
- Hipotermik, hipertermik ve büyüme faktörü gibi birtakım farmakolojik ön koşullanma yöntemlerinde dokuda oluşturulmaya çalışılan HSP, VEGF, PDGF gibi mediyatörlerin salınımında aktive eder,
- 2,3 DPG seviyesini artırarak ta flebin oksijenizasyonunu artırır.

Ozon aracılı önkoşullanma ile ilgili daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğu çok net bir gerçektir. Flep cerrahisinden önce, hastaya iskemik önkoşullanma gibi invaziv olmayan, diğer farmakolojik ön koşullanma yöntemleri gibi pahalı olmayan ozon terapisinin, dokularda oluşturduğu etkileri açısından tüm önkoşullanma yöntemlerinin çoğunu kapsadığını bilmek bu alanda çalışma yapmak için oldukça ikna edicidir.

Çalışmamızda kullandığımız deneklerin hemoterapi için uygun olmaması ve deneklerde özellikle büyüme faktörleri, biyokimyasal değişikliklerin analizi ve diğer organ toksisiteleri açısından daha ileri inceleme yapamamız, çalışmamızın sınırlamalarından sadece bir kaçıdır. Ancak buna rağmen çalışmamızla, hem ozon ve ozonun canlıdaki etkileri ortaya konulmuş hemde flep cerrahisinde ozon aracılı önkoşullanma gibi literatürde hakettiği yeri alamamış bir anlayışa önemli ölçüde öncülük edilmiştir.

## 8. KAYNAKLAR

- 1-Arslan A.Diyabetik sıçanlarda karnitinin yara iyileşmesi ve flep yaşayabilirliğine etkisi: Deneysel Çalışma. Tıpta Uzmanlık Tezi, Karaelmas Üniversitesi, Zonguldak,2010.
- 2- Y. Harder, M. Amon, M.W. Laschke, R. Schramm, M. Rücker, R. Wettstein, J. Bastiaanse, A. Frick, H.-G. Machens, M. Küntscher, G. Germann, B. Vollmar, D. Erni, M.D. Menger, An old dream revitalised: preconditioning strategies to protect surgical flaps from critical ischaemia and ischaemia-reperfusion injury. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery* (2008) 61, 503-511.
- 3- Bocci VA. Tropospheric ozone toxicity vs. usefulness of ozone therapy. *Arch Med Res.* 2007;38(2): 265-67.
- 4- Valacchi G, Bocci V. Studies on the biological effects of ozone: Release of factors from human endothelial cells. *Mediat Inflamm.* 2000;9(6):271-6.
- 5- Taylor GI. The blood supply of skin. In *Plastic Surgery* (Chapter 5), Aston SJ, Beasley RW, Thorne CHM (eds). Lippincott - Raven, Philadelphia, 1997; 47 - 59.
- 6- Daniel RK, Kerrigan CL. Principles and physiology of skin flap surgery. In *Plastic Surgery* (Vol 1: General Principles), Mc Carthy JG (ed), W. B. Saunders Company, 1990; 275 - 328.
- 7- Lamberty BGH, Healy C. Flaps: Physiology, principles of design, and pitfalls. In *Mastery of Plastic and Reconstructive Surgery*, Cohen M (ed). Little, Brown and Company, Boston, 1994: 56 - 70.
- 8- Cormack GC, Lamberty BGH. The arterial anatomy of skin flaps. Churchill Livingstone, London, 1986: 16 - 42.
- 9- Guo S, DiPietro LA (2010) Factors affecting wound healing. *J Dent Res.* 89: 219–229.
- 10-Gosain A, DiPietro LA (2004). Aging and wound healing. *World J Surg* 28:321-326.
- 11-Campos AC, Groth AK, Branco AB (2008). Assessment and nutritional aspects of wound healing. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 11:281-288.
- 12- Monaco J, Lawrence W. Acute wound healing: An overview *Clinics in Plastic Surgery* 1-12,2003.



- 13- Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT, Wound repair and regeneration nature 15(45):314-321,2008
- 14- Simpson DM, Ross R. The neutrophilic leukocyte in wound repair: a study with antineutrophil serum. *J Clin Invest.* 1972;51:2009–2023.
- 15- Leibovich SJ, Ross R. The role of the macrophage in wound repair: a study with hydrocortisone and antimacrophage serum. *Am J Pathol.* 1992;78:71–100.
- 16- Mast B, Cohen I. Normal wound healing. Ed: Bruce MA, Eriksson E, Vander C, Robert CR. pp. 37-52, Plastic Surgery: Indications, Operations, Outcomes, 2000.
- 17- Rodrich R, Robinson J. Wound Healing. Selected Readings in Plastic Surgery, 1999.
- 18- Tekerekoğlu B. Mezoterapinin flep yaşayabilirliğine etkisi: Deneysel Çalışma. Tıpta Uzmanlık Tezi, Karaelmas Üniversitesi, Zonguldak, 2008
- 19- Lorenz H, Longaker M. Wound healing: Repair biology and wound and scar treatment. Ed: Mc Carthy J, May J, Litter J, Mathes Plastic Surgery. pp. 209-34, Saunders Elsevier, Philadelphia, USA, 2006.
- 20- Grabb and Smith's Plastic Surgery, Sixth Edition by Charles H. Thorne (2007)
- 21- McGregor IA, Morgan G. Axial and random pattern flaps. *Br J Plast Surg* 26(3): 202-213, 1973.
- 22- Koshima I, Soeda S. Inferior epigastric artery skin flap without rectus abdominus muscle. *Br J Plast Surg.* 42:645, 1989.
- 23- Morris SF, Taylor GI. The time sequence of the delay phenomenon: when is a surgical delay effective? An experimental study. *Plast Reconstr Surg.* 1995; 95(1):526.
- 24- Kerrigan CL. Skin flap failure: pathophysiology. *Plast Reconstr Surg* 72(6): 766-777, 1983.
- 25- Hentz V. Flap physiology. Ed: Mc Carthy J, Mathes Plastic Surgery, Mathes Plastic Surgery. pp. 483-506, Saunders Elsevier, Philadelphia, USA, 2006.
- 26- Taylor GI, Palmer JH. The vascular territories (angiosomes) of the body: Experimental study and clinical applications. *Br J Plast Surg.* 40:113-141, 1987.
- 27- Mathes sj. Flap Physiology. In: Hentz VR, editor. Mathes plastic surgery. Philadelphia. 483-506, 2006.

- 28- Angel MF, Ramasastry SS, Swartz WM, Basford RE, Futrell JW. Free radicals: basic concepts concerning their chemistry, pathophysiology, and relevance to plastic surgery. *Plast Reconstr Surg* 79(6): 990-997, 1987.
- 29- Nathanson SE, Jackson RT. Blood flow measurements in skin flaps. *Arch Otolaryngol* 101(6): 354-357, 1975.
- 30- Bakamjian VY. A two-stage method for pharyngoesophageal reconstruction with a primary pectoral skin flap. *Plast Reconstr Surg* 36: 173-184, 1965.
- 31- Kerrigan CL, Daniel RK. Skin flap research: a candid view. *Ann Plast Surg* 13(5): 383-387, 1984.
- 32- Hashimoto I, Nakanishi H, Shono Y, Yamano M, Toda M. The features of thrombus in a microvessel injury model and the antithrombotic efficacy of heparin, urokinase, and prostaglandin E1. *Plast Reconstr Surg* 111(7): 2307-2314, 2003.
- 33- Hattori R, Otani H, Maulik N, Das DK. Pharmacological preconditioning with resveratrol: role of nitric oxide. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282(6): 88-95, 2002.
- 34- Blaisdell FW. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. *Cardiovasc Surg* 10(6): 620-630, 2002.
- 35- Maeda M, Fukui A, Tamai S. Combined therapy with antithrombotic agents and radical scavengers for reperfusion injury of flaps. *J Reconstr Microsurg* 7(3): 233-243, 1991.
- 36- Olivas TP, Saylor TF, Wong HP, Stephenson LL, Zamboni WA. Timing of microcirculatory injury from ischemia reperfusion. *Plast Reconstr Surg* 107(3): 785-788, 2001.
- 37- Im MJ, Su CT, Hoopes JE, Anthenelli RM. Skin-flap metabolism in rats: oxygen consumption and lactate production. *Plast Reconstr Surg* 71(5): 685-688, 1983.
- 38- Manson PN, Anthenelli RM, Im MJ, Bulkley GB, Hoopes JE. The role of oxygen-free radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. *Ann Surg* 198(1): 87-90, 1983.
- 39- May JW, Jr., Chait LA, O'Brien BM, Hurley JV. The no-reflow phenomenon in experimental free flaps. *Plast Reconstr Surg* 61(2): 256-267, 1978.

40. Calhoun KH, Tan L, Seikaly H. An integrated theory of the no-reflow phenomenon and the beneficial effect of vascular washout on no-reflow. *Laryngoscope* 109(4): 528-535, 1999.
41. Romson JL, Hook BG, Kunkel SL, Abrams GD, Schork MA, Lucchesi BR. Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation*. 67(5):1016-1023, 1983.
42. Pang CY, Forrest CR, Neligan PC, et al. Augmentation of blood flow in delayed random skin flaps in the pig : effect of length of delay period and angiogenesis. *Plast Reconstr Surg* 78:68-74, 1986.
43. Tagliacozzi G. e *Curtorum Chirurgia per Insitionem. Venetiis: G Bindonus, 1597.*
44. Stelnicki EJ, Youg VL, Francel T, Randall P: Vilray P. Blair, his surgical descendants, and their role in plastic surgical development. *Plast Reconstr Surg* 1999; 103:1990.
45. Kayser MRMD. Surgical flaps. *Selected Readings in Plastic Surgery* 1999; 9(2).
46. Milton SH. The effects of "delay" on the survival of experimental pedicled skin flaps. *Br J Plast Surg* 22:244-252, 1965.
47. Callegari PR, Taylor GI, Caddy CM, et al. An anatomic review of delay phenomenon. I. Experimental studies. *Plast Reconstr Surg* 89:397-407, 1992.
48. Karacaoglu E, Yuksel F, Turan SO, Zienowicz RJ. Chemical delay: an alternative to surgical delay experimental study. *Ann Plast Surg* 49(1): 73-80, 2002.
49. Jurell G. Adrenergic nerves and the delay phenomenon. *Ann Plast Surg* 17(6): 493-497, 1986.
50. Hosnuter M, Babuccu O, Kargi E, Altinyazar C. Dual preconditioning: effects of pharmacological plus ischemic preconditioning on skin flap survival. *Ann Plast Surg* 50(4): 398-402, 2003.
51. Smith RJ, Birndorf M, Gluck G, Hammond D, Moore WD. The effect of low energy laser on skin-flap survival in the rat and porcine animal models. *Plast Reconstr Surg* 89(2): 306-310, 1992.
52. Cheng, Ming-Huei MD; Chen, Hung-Chi MD; Wei, Fu-Chan MD; Su, Shang-Wen BS; Lian, Shwu-Hwei BS; Brey, Eric MEng. Devices for Ischemic Preconditioning of the Pedicled Groin Flap. *Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care*. 48 (3):552-557, 2000

53. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986;74:1124–1136
54. Mounsey RA, Pang CY, Boyd B, Forrest C. Augmentation of skeletal muscle survival in the latissimus dorsi porcine model using acute ischemic preconditioning. *J Otolaryngol*.1992;21:315–320
55. İlker Şengül, Demet Şengül. İskemik ön koşullanma ve sonradan koşullanma mekanizmaları olarak intraselüler sinyalizasyon ve adenozin. *Cumhuriyet Tıp Dergisi* 2010; 32: 127-131
56. Küntscher MV, Schirmbeck EU, Menke H, et al. Ischemic preconditioning by brief extremity ischemia before flap ischemia in a rat model. *Plast Reconstr Surg* 2002;109:2398-404.
57. Küntscher MV, Kastell T, Sauerbier M, et al. Acute remote ischemic preconditioning on a rat cremasteric muscle flap model. *Microsurgery* 2002;22:221-6.
58. Addison PD, Neligan PC, Ashrafpour H, et al. Noninvasive remote ischemic preconditioning for global protection of skeletal muscle against infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285:H1435-43.
59. Wynn RM, Davie JR, Cox RP, et al. Molecular chaperones: heat-shock proteins, foldases, and matchmakers. *J Lab Clin Med* 1994;124:31-6
60. Maines MD. Heme oxygenase: function, multiplicity, regulatory mechanisms, and clinical applications. *Faseb J* 1988;2:2557-68.
61. Goda N, Suzuki K, Naito M, et al. Distribution of heme oxygenase isoforms in rat liver. Topographic basis for carbon monoxide-mediated microvascular relaxation. *J Clin Invest* 1998;101:604-12.
62. Koenig WJ, Lohner RA, Perdrizet GA, et al. Improving acute skin-flap survival through stress conditioning using heat shock and recovery. *Plast Reconstr Surg* 1992;90:659-64.
63. Ghavami A, Nutt MP, Hardy SP. Heat shock protein and high-dose aspirin: effects on random skin flap survival in a rat model. *Ann Plast Surg* 2002;48:60-7.
64. Wang BH, Ye C, Stagg CA, et al. Improved free musculocutaneous flap survival with induction of heat shock protein. *Plast Reconstr Surg* 1998;101:776-84.
65. Harder Y, Contaldo C, Klenk J, et al. Improved skin flap survival after local heat preconditioning in pigs. *J Surg Res* 2004;119:100-5.

66. Harder Y, Amon M, Schramm R, et al. Heat shock preconditioning reduces ischemic tissue necrosis by heat shock protein(HSP)-32-mediated improvement of the microcirculation rather than induction of ischemic tolerance. *Ann Surg* 2005; 242:869-78 [discussion: 78-9].
67. Donski PK, Franklin JD, Hurley JV, et al. The effects of cooling on experimental free flap survival. *Br J Plast Surg* 1980;33: 353-60.
68. Shaw WW, Ko CY, Ahn CY, et al. Safe ischemia time in freeflap surgery: a clinical study of contact-surface cooling. *J Reconstr Microsurg* 1996;12:421-4.
69. Kubulus D, Amon M, Roesken F, et al. Experimental cooling-induced preconditioning attenuates skin flap failure. *Br J Surg* 2005;92:1432-8
70. Barker JH, Hammersen F, Galla TJ, et al. Direct monitoring of capillary perfusion following normovolemic hemodilution in an experimental skin-flap model. *Plast Reconstr Surg* 1990; 86:946-54.
71. Miyawaki T, Jackson IT, Elmazar H, et al. The effect of lowmolecular-weight heparin in the survival of a rabbit congested skin flap. *Plast Reconstr Surg* 2002;109:1994-9.
72. Finseth F, Zimmermann J. Prevention of necrosis in island myocutaneous flaps in the pig by treatment with isoxsuprine. *Plast Reconstr Surg* 1979;64:536-9.
73. Stein HJ, Fayman MS, Oosthuizen MM, et al. Verapamil improves survival of rat hyperemic island skin flaps. *Surgery* 1989;106:617-22 .
74. Küntscher MV, Juran S, Menke H, et al. The role of preischaemic application of the nitric oxide donor spermine/nitric oxide complex in enhancing flap survival in a rat model. *Br J Plast Surg* 2002;55:430-3.
75. Matsumura H, Yoshizawa N, Vedder NB, et al. Preconditioning of the distal portion of a rat random-pattern skin flap. *Br J Plast Surg* 2001;54:5-61
76. Frick A, Baumeister RG, Menger MD, et al. Secondary ischaemia in experimental free flap treatment by long acting prostacyclin analogues. *Br J Plast Surg* 1999;52:392-8.
77. Salerno GM, McBride DM, Bleicher JN, et al. Ciprostone and indomethacin partially reverse the mechanisms of distal end necrosis in the rat random skin flap. *Ann Plast Surg* 1992;28:526-33 .

78. Jansen GB, Torkvist L, Lofgren O, et al. Effects of calcitonin gene-related peptide on tissue survival, blood flow and neutrophil recruitment in experimental skin flaps. *Br J Plast Surg* 1999;52:299-303.
79. Armstrong Jr M, Kunar DR, Cummings CW. Effect of pentoxifylline on myocutaneous flap viability in pigs. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1993;109:668-75.
80. Pokorny AT, Bright DA, Cummings CW. The effects of allopurinol and superoxide dismutase in a rat model of skin flap necrosis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1989;115:207-12.
81. Gribbe O, Lundeberg T, Samuelson UE, et al. Dexamethasone increases survival and attenuates induction of inducible nitric oxide synthase in experimental skin flaps. *Ann Plast Surg* 1999;42:180-4.
82. Edström LE, Balkovich M, Slotman GJ. Effect of ischemic skin flap elevation on tissue and plasma thromboxane A<sub>2</sub> and prostacyclin production: modification by thromboxane synthetase inhibition. *Ann Plast Surg* 1988;20:106-11.
83. Kirschner RE, Fyfe BS, Hoffman LA, et al. Ischemia-reperfusion injury in myocutaneous flaps: role of leukocytes and leukotrienes. *Plast Reconstr Surg* 1997;99:1485-93
84. Cetinkale O, Bilgic L, Ayan F, et al. Neutrophil-mediated injury in ischemic skin flaps: amelioration of ischemic injury by cyclosporine in the rat. *Ann Plast Surg* 1996;37:66-74.
85. Yoshida T, Engelman RM, Engelman DT, et al. Preconditioning of swine heart with monophosphoryl lipid A improves myocardial preservation. *Ann Thorac Surg* 2000;70:895-900.
86. Moon C, Krawczyk M, Ahn D, et al. Erythropoietin reduces myocardial infarction and left ventricular functional decline after coronary artery ligation in rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:11612-7.
87. Jelkmann W. Molecular biology of erythropoietin. *Intern Med* 2004;43:649-59.
88. Lappin TR, Maxwell AP, Johnston PG. EPO's alter ego: erythropoietin has multiple actions. *Stem Cells* 2002;20:485-92.
89. Sharples EJ, Patel N, Brown P, et al. Erythropoietin protects the kidney against the injury and dysfunction caused by ischemia-reperfusion. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:2115-24.

90. Villa P, Bigini P, Mennini T, et al. Erythropoietin selectively attenuates cytokine production and inflammation in cerebral ischemia by targeting neuronal apoptosis. *J Exp Med* 2003;198:971-5.
91. Saray A, Ozakpinar R, Koc C, et al. Effect of chronic and short term erythropoietin treatment on random flap survival in rats:an experimental study. *Laryngoscope* 2003;113:85-9.
92. Hoöckel M, Burke JF. Angiotropin treatment prevents flap necrosis and enhances dermal regeneration in rabbits. *Arch Surg* 1989;124:693-8.
93. Uhl E, Barker JH, Bondar I, et al. Improvement of skin flap perfusion by subdermal injection of recombinant human basic fibroblast growth factor. *Ann Plast Surg* 1994;32:361-5
94. Carroll CM, Carroll SM, Schuschke DA, et al. Augmentation of skeletal muscle flap survival using platelet derived growth factor. *Plast Reconstr Surg* 1998;102:407-15.
95. Machens HG, Morgan JR, Berthiaume F, et al. Functional angiogenesis induction in epigastric islet flap rat model after genetic modification of fibroblasts. *Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd* 1998;115:681-7.
96. Machens HG, Morgan JR, Berthiaume F, et al. Platelet-derived growth factor-AA-mediated functional angiogenesis in the rat epigastric island flap after genetic modification of fibroblasts is ischemia dependent. *Surgery* 2002;131:393-400.
97. Kryger Z, Zhang F, Dogan T, et al. The effects of VEGF on survival of a random flap in the rat: examination of various routes of administration. *Br J Plast Surg* 2000;53:234-9.
98. Banbury J, Siemionow M, Porvasnik S, et al. Improved perfusion after subcritical ischemia in muscle flaps treated with vascular endothelial growth factor. *Plast Reconstr Surg* 2000;106:1541-6.
99. Padubidri A, Browne Jr E. Effect of vascular endothelial growth factor (VEGF) on survival of random extension of axial pattern skin flaps in the rat. *Ann Plast Surg* 1996;37:604-11.
100. Zhang F, Fischer K, Komorowska-Timek E, et al. Improvement of skin paddle survival by application of vascular endothelial growth factor in a rat TRAM flap model. *Ann Plast Surg* 2001;46:314-9

101. Ajamieh H, Merino N, Candelario-Jalil E, Mene´ndez S, Martinez-Sanchez G, Re L, Giuliani A, Leon OS. Similar protective effects of ischemic preconditioning and oxone oxidative preconditioning in liver ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Res* 2002;45:333–339.
102. V. Bocci Scientific And Medical Aspect Of Ozone Therapy. State Of The Art Archives of Medical research 2006; 37 425-435
103. Bocci V. OZONE. A New Medical Drug. Dordrecht, The Netherlands: Springer; 2005.
104. Pryor WA, Squadrito GL, Friedman M. The cascade mechanism to explain ozone toxicity: the role of lipid ozonation products. *Free Radic Biol Med* 1995;19:935–941.
105. Halliwell B, Clement MV, Long LH. Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Lett* 2000;486:10–13.
106. Dianzani MU. 4-Hydroxynonenal and cell signalling. *Free Radic Res* 1998;28:553–560.
107. Şahin M. Gökhan. Kompozit greftlerde ozon tedavi prosedürü deneysel çalışma. Uzmanlık tezi. Kayseri – 2009
108. Hernandez, FA. To what extent does ozone therapy need a real biochemical control system? Assessment and importance of oxidative stress. *Arch Med Res.* 2007;38(5): 571-8.
109. Bocci V, Luzzi E, Conradeschi F, Paulescu L, Rossi R, Cardaioli E, et al. Studies on the biological effects of ozone. 4. Cytokine production and glutathion levels in erythrocytes. *J Biol Regul Homeost Agents.* 1993(4); 7:133-8.
110. Tylicki L, Lizakowski S, Biedunkiewicz B, Skibowska A, Neweglowski T, Chamienia A, et al. Platelet function unaffected by ozonated autohaemotherapy in chronically haemodialysed patients. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2004;15(7):619-22
111. Bocci V, Paulesu L. Studies on the biological effects of ozone: 1. Induction of interferon gamma on human leucocytes. *Haematologica* 1990;75(6):510-5.
112. Goldstein BD, Balchum OJ. Effect of ozone on lipid peroxidation in the red blood cell. *Proc Soc Exp Biol Med* 1967; 126(2): 356-8.
113. Beck EG, Wasser G, Viebahn-Hänsler R. The current status of ozone therapy empirical developments and basic research. *Forsch Komplementärmed.* 1989; 5:61-75.



114. Schulz S: Ein neues Tiermodell zur integralen Messung von Heilvorgängen bei kleinen Labortieren am Beispiel von ozoniertem Olivenöl [A new animal model for the integral measurement of healing processes in small laboratory animals with ozonized olive oil as example]. *Dtsch Tierärztl Wochenschr Ger Vet Med Weekly* 1981; 88:60-64.
115. Kaya S. Parsiyel kalınlıktaki termal yanıkların pansumanında gümüş içerikli hidrofiber ile ozonlu yağın karşılaştırılması. Tıpta uzmanlık tezi. Zonguldak-2011
116. Turcic J, Hancevic J, Antoljack T, Zic R, Alfrevic I. Effects of ozone on how well split-thickness skin grafts according to Thiersch take in war wounds. Results of prospective study. *Langenbecks Arch Chir.* 1995;380(3):144-8.
117. Dolphin S, Walker M. Healing accelerated by ionozone therapy. *Physiotherapy.* 1979; 65(3):81-2.
118. Bocci V, Valacchi G, Corradeschi F, Fanetti G. Studies on the biological effects of ozone: 8. Effects on the total antioxidant status and on interleukin-8 production. *Mediators Inflamm.* 1998; 7(5):313-7.
119. Jordan L, Beaver K, Foy S. Ozone treatment for radiotherapy skin reactions: Is there an evidence base for practice? *Eur J Oncol Nurs.* 2002; 6 (4): 220-227.
120. Akkus, I., Kalak, S., Vural, H., 1996. Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin C levels of patients with type II diabetes mellitus. *Clin. Chem. Acta* 344 (2), 221–227.
121. Bocci V, Zanardi I, Huijberts MSP, Travagli V. Diabetes and chronic oxidative stress. A perspective based on the possible usefulness of ozone therapy. *Diab Met Syndr: Clin Res Rev.* 2010 (basımda); 1-5.
122. Tylicki L, Niew GT, Biedunkiewicz B, Burakowski S, Rutkowski B. Beneficial clinical effects of ozonated autohemotherapy in chronically dialysed patients with atherosclerotic ischemia of the lower limbs-pilot study. *Int J Artif Organs.* 2001;24(2):79–82.
123. Sharma M, Hudson JB. Ozone gas is an effective and practical antibacterial agent. *Am J Infect Control.* 2008;36(8):559-63.
124. Agrillo A, Ungari C, Filiaci F, Priore P, Iannetti G. Ozone Therapy in the treatment of avascular bisphosphonate-related jaw osteonecrosis. *J Craniofacial Surg.* 2007;18(5): 1071-75.

125. Abramov Y, Golden B, Sullivan M, Botros SM, Miller J-J R, Alshahrour A, RP Goldberg, Sand PK. Histologic characterization of vaginal vs. abdominal surgical wound healing in rabbit model. *Wound Rep Reg* (2007) 15:80-86.
126. Menick FJ. Nasal reconstruction: forehead flap. *Plast Reconstr Surg*. 2004 May;113(6):100-111.
127. Vedder, N. B., *Flap Physiology*. Mathes Plastic Surgery, 2nd ed., volume 1, Saunders Elsevier, Philadelphia, 2006; 483-506
128. Stein HJ, Fayman MS, Oosthuizen MM, Hinder RA. Verapamil improves survival of rat hyperemic island skin flaps. *Surgery* 1989; 106(4):617-622.
129. Mathes sj. *Flap Physiology*. In: Hentz VR, editör. Mathes plastic surgery. Philadelphia: 2006: 483-506.
130. Wenbo Q, Dun-Xian T, Reiter JR, Seok KJ, Lucien CM, Cabrera J et al. Melatonin reduces lipid peroxidation and tissue eudema in cerulein induced Acute Pancreatitis in rats. *Dig Dis Sci*, 1999; 44: 2257-2262.
131. Im MJ, Manson PN, Bulkley GB, Hoopes JE: Effects of superoxide dismutase and allopurinol on the survival of acute island skin flaps. *Ann Surg*, 1985; 201: 357-359.
132. Işıkdemir A. Pinealektomize Ve Normal Sıçanlarda Melatonin Hormonunun Flep Yaşayabilirliğine Etkisi (Deneysel çalışma) Uzmanlık Tezi 2007
133. Elliott M, Kandaswami C, Theoharides TC: The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*. 2000; Vol 52(4), 673-751.
134. Çetin C, Köse AA, Aral E: Protective effect of fucoidin (a neutrophil rolling inhibitor) on ischemia reperfusion injury: experimental study in rat epigastric island flaps. *Ann Plast Surg*, 2001; 47:540-546.
135. Parke DV. Nutritional antioxidants and disease prevention; mechanism of laction, In: Basu TK, Temple NJ, Garg ML (eds). *Antioxidants in Human Health and Disease*, CABI Publishing, UK 1999; 1-13.
136. Sasaki A, Fukuda O, Soeda S. Attempts to increase the surviving length in skin flaps by a moist environment. *Plast Reconstr Surg*, 1979; 64(4):526-531.
137. Tunç S., Melatoninin ve N-Asetilsisteinin sıçanlardaki Mc Farlane Flepl Beslenmesi üzerine etkileri, Uzmanlık Tezi, Adana 2012

138. Achauer BM, Ericson E, Guyuron B, Coleman JJ, Russell RC, Vander Kolk CA., editör. Flaps. In: Achauer BM, Ericson E, editors. St. Louis: Mosby, 2000: 261-290.
139. Mycek MJ, Harvey RA, Champe PC. Adrenergic antagonists. In: Mycek MJ, Champe PC, editors. Lippincott s Illustrated Reviews: Pharmacology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000: 71-80.
140. Toomey JM, Conoyer JM, Ogura JH. Vasodilating agents in augmentation of skin flap survival. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 1979; 87(6):757-762.
141. Kayser MRMD. Surgical flaps. *Selected Readings in Plastic Surgery*, 1999; 9(2).
142. Kargi E, Deren O, Babuccu O, Hosnuter M, Erdogan B. Dual synergistic effect: the effect of dexamethasone plus carnitine on skin flap survival. *Ann Plast Surg*, 2004;53(5):488-491.
143. Gribbe O, Lundeberg T, Samuelson UE, et al. Dexamethasone increases survival and attenuates induction of inducible nitric oxide synthase in experimental skin flaps. *Ann Plast Surg*. 1999;42:180 –184.
144. Willemart G, Knight KR, Morrison WA. Dexamethasone treatment prior to reperfusion improves the survival of skin flaps subjected to secondary venous ischaemia. *Br J Plast Surg*. 1998;51:624–628.
145. Willemart G, Knight KR, Ayad M, et al. The beneficial antiinflammatory effect of dexamethasone administration prior to reperfusion on the viability of cold-stored skin flaps. *Int J Tissue React*. 1999;21:71–78.
146. Kerrigan CL, Daniel RK. Pharmacologic treatment of the failing skin flap. *Plast Reconstr Surg* 1982;70:541-9.
147. Skolleborg KC, Samdal F. Effect of preoperative inflammation of the wound bed on survival of skin flaps in rats. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 1993;27:167-71.
148. Bilgin-Karabulut A, Ademoglu E, Aydin I, Erer M, Gokkusu C. Protective effects of vitamins A and E pretreatment in venous ischemia/reperfusion injury. *J Reconstr Microsurg* 2001;17:425-9.
149. Kargi E, Babuccu O, Hosnuter M. C vitamini, E vitamini ve ibuprofenin birlikte kullanılmasının flep yaşamına etkisi: Deneysel çalışma. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg* 2005;14(5-6):116-120

150. Borrego A, Zamora ZB, González R. Protection by ozone preconditioning is mediated by the antioxidant system in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Mediators Inflamm.* 2004 Feb;13(1):13-9.
151. León O. S., Menéndez S. , Merino N. , Castillo R. . Ozone oxidative preconditioning: a protection against cellular damage by free radicals. *Mediators Inflamm.* 1998; 7(4): 289–294.
152. Peralta C, León OS, Xaus C, et al. . Protective effect of ozone treatment on the injury associated with hepatic ischemia-reperfusion: antioxidant/prooxidant balance. *Free Radic Res* 1999; 31: 191-196.
153. Peralta C, Xaus C, Bartrons R, León OS, Gelpí E, Rosello'-Catafau J. Effect of ozone treatment on reactive oxygen species and adenosine production during hepatic ischemia-reperfusion. *Free Radic Res* 2000; 33: 595 -605.
154. Barber E, Menéndez S, León OS, et al. . Prevention of renal injury after induction of ozone tolerance in rats submitted to warm ischemia. *Mediators Inflamm.* 1999; 8: 37-41.
155. Hernández F, Menéndez S, Wong R. Decrease of blood cholesterol and stimulation of antioxidative response in cardiopathy patients treated with endovenous ozone therapy. *Free Radic Biol Med* 1995; 19: 115-119
156. Harder Y, Amon M, Matzen A, et al. Recombinant Human Erythropoietin for treatment of critically perfused flaps More than erythropoiesis? *Kongrbd Chir Forum* 2006;35:391-3.
157. Kim HS, Noh SU, Han YW, Kim KM, Kang H, Kim HO, Park YM. Therapeutic effects of topical application of ozone on acute cutaneous wound healing. *J Korean Med Sci.* 2009 Jun;24(3):368-74

## 9. EKLER

### Ek 1: Etik kurul Onayı



T.C.  
**BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu**



**TOPLANTI TARİHİ** : 07/11/2012  
**TOPLANTI NO** : 2012/09

- 2- B.E.Ü. Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2012-37-07/11 Protokol no'lu "Ratlarda Preoperatif Ozon Terapisinin Flep Yaşayabilirliği Üzerine Etkisi : Deneysel Çalışma" konulu çalışmasının BEÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul ilkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

**ASLI GİBİDİR**

**Prof. Dr. Z. Nur BANOĞLU**  
**Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı**