

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS CERRAHİSİ
ANABİLİMDALI

AKCİĞER KONTÜZYONUNDA OZON TEDAVİSİNİN
İNFLAMATUVAR YANITA OLAN ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr.Fatma İlknur ULUGÜN

TEZ DANIŞMANI

Doç.Dr.Aydın ŞANLI

İZMİR-2012

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS CERRAHİSİ
ANABİLİMDALI

AKCİĞER KONTÜZYONUNDA OZON TEDAVİSİNİN
İNFLAMATUVAR YANITA OLAN ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr.Fatma İlknur ULUGÜN

TEZ DANIŞMANI

Doç.Dr.Aydın ŞANLI

TEŞEKKÜR

Dokuz Eylül Üniversitesi Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimim süresince, sonsuz özveriyle bilgilerini ve tecrübelerini benimle paylaşan, Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Nezih Özdemir ve Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Ahmet Önen'e,

Tezimin hazırlanmasında bilgi ve deneyimlerinin yanında her zaman bana destek olan, hayata bakış ve mesleğim konusunda çok şey öğrendiğim değerli hocam, tez danışmanım Doç. Dr. Aydın Şanlı'ya,

Göğüs Cerrahisi kliniğinde aynı yaşamı paylaştığım araştırma görevlisi arkadaşlarım'a,

Deneyisel çalışmalarında bana destek olan değerli hocam Doç. Dr. Ensari Güneli ve Multidisiplin Laboratuvarı çalışanları'na,

Çalışmamın histopatolojik incelemesinde katkısı bulunan Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Uzm. Dr. Duygu Gürel'e,

Ozon terapi konusundaki bilgi, deneyim ve becerilerini benimle paylaşarak, deney aşamasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. Cemalettin Ekmekçioğlu'na,

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk ve gurur duyduğum tüm klinik çalışanlarına teşekkür ederim.

Dr.Fatma İlknur Ulugün

İZMİR 2012

İÇİNDEKİLER

SAYFA

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	III
ŞEKİL	V
RESİM	VI
TABLO.....	VII
GRAFİK.....	VIII
ÖZET.....	1
ABSTRACT	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ	5
2. GENEL BİLGİLER.....	6
2.1. Tanım ve Epidemiyoloji	6
2.2. Tarihçe	6
2.3. Patoloji ve Histoloji	7
2.4. Akciğer kontüzyonunda akut inflamatuvar yanıt.....	8
2.5. Travmada Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller	9
2.5.1 Serbest Radikal Kaynakları	9
2.5.2 Antioksidan savunma sistemlerinin sınıflandırılması.....	10
2.6. Klinik ve Tanısal Yaklaşım	15
2.7. Ozon ile ilgili genel bilgiler.....	17
2.7.1. Ozonun tanımı	17
2.7.2. Ozonun Tarihçesi	17
2.7.3. Ozonun Elde Ediliş Şekli.....	18
2.7.4. Medikal Ozon ve Etki Mekanizması	19
2.7.5 Ozon uygulama yolları	23
3. GEREÇ ve YÖNTEM	25
3.1. Künt Göğüs Duvarı Travması	25
3.2.Ozon Tedavi Protokolü	26
3.3. Deneysel Dizayn	27
3.4. Histopatolojik İnceleme	27
3.5. İstatistiksel Analiz	29

4. BULGULAR	30
4.1. Makroskopik Bulgular	30
4.2. Histopatolojik bulgular	33
4.2.1. Atelektazinin incelenmesi	33
4.2.2. Hücre yoğunluğunun incelenmesi.....	34
4.2.3. Hücre tipinin incelenmesi.....	34
4.2.4.Perivasküler mononükleer inflamasyonun incelenmesi	34
4.2.5.Bronşial hasarın incelenmesi.....	35
4.2.6. Alveoler ödemin incelenmesi.....	35
4.2.7 Lökositik infiltrasyonun incelenmesi.....	35
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	51
7. KAYNAKLAR	52

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

O₃:Ozon

SOR : Serbest oksijen radikalleri

TNF- α : Tümör nekrosis faktor alfa

IL : İnterlökin

SOD : Superoksit dismutaz

CAT : Katalaz

MDA : Malondialdehid

MPO : Myeloperoksidaz

BT : Bilgisayarlı tomografi

ARDS : Akut respiratuar distres sendromu

İ.V. : İntravenöz

ATLS : Advenced trauma life support

MRG : Manyetik rezonans görüntüleme

pO₂: Parsiyel oksijen basıncı

BAL: Bronkoalveolar lavaj

GSH-Px: Glutasyon peroksidaz

M.Ö: Milattan önce

NADPH : Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

GST : Glutasyon -S- Transferaz

GR : Glutasyon Redüktaz

COX: Sitokrom Oksidaz

NO : Nitritoksit

BAL : Bronkoalveoler lavaj

TLRs : Toll-like reseptörler

UV : Ultraviyole

O2 : Oksijen

µg : mikrogram

CO : karbonmonoksit

2,3-DPG : 2,3-difosfogliserat

H2O2 : Hidrojen peroksit

ROS : Reaktif oksijen radikalleri

LOP : Lipit oksidasyon ürünleri

MOT : Major Otohemoterapi

MiOT : Minör Otohemoterapi

N2O2 : Nitrojen dioksit

HCl : Hidroklorür

HbO2 : Hemoglobin-oksijen

ŞEKİL

SAYFA

Şekil 1. Akciğer kontüzyonunu takiben permeabilite ve inflamasyondaki değişikliğin şeması	13
Şekil 2. Oksijen molekülünün enerji ile oksijen atomuna dönüşümü	18
Şekil 3. Ozon molekül oluşumu	19
Şekil 4. Medikal ozon uygulaması sonrası ortaya çıkan temel biyolojik etkiler	20
Şekil 5. Vücuttaki önemli serbest radikaller ve serbest radikal hasarı sonuçları	22

RESİM	SAYFA
Resim 1. Kontüzyon modeli.....	26
Resim 2: Kontüzyon sonrası uygulanan sakrifikasyon sonucu elde edilen akciğer dokusunun makroskopik görünümü.....	31
Resim 3: Kontüzyondan beş gün sonra yapılan sakrifikasyonda elde edilen akciğer dokusunun makroskopik görünümü	32
Resim 4: Kontüzyon sonrası ozon tedavisi verilip beş gün sonra yapılan sakrifikasyon sonrası akciğer dokusunun makroskopik görünümü	33
Resim 5: H&E x 100 bakıda normal rat akciğer dokusu histopatolojik Görüntüsü.....	41
Resim 6: H&E x 200 bakıda kontüzyon sonrası rat akciğer dokusunda pigment birikiminin histopatolojik görüntüsü	41
Resim 7: H&E x 200 bakıda kontüzyon sonrası rat akciğerinde intraalveolar kanama odakları.....	42
Resim 8: H&E x 200 bakıda kontüzyon sonrası rat akciğerinde intraalveolar makrofajlar.....	42
Resim 9: H&E x 100 bakıda rat akciğer dokusunda parankimde enflamasyon odağı histopatolojik görünümü.....	43
Resim 10: H&E x 200 bakıda rat akciğer dokusunda damar çevresinde lenfoplazmositer hücre infiltrasyonunun histopatolojik görünümü	43
Resim 11: H&E x 200 bakıda kontüzyon sonrası rat akciğeri dokusunda alveol yapısında bozulma.....	44
Resim 12: H&E x 100 bakıda kontüzyon sonrası rat akciğerinde lenfositten zengin infiltrat varlığının histopatolojik görüntüsü.....	44
Resim 13: H&E x 200 bakıda kontüzyon sonrası rat akciğerinde yoğun parankimal kanama odakları.....	45
Resim 14: H&E x 400 bakıda kontüzyon sonrası rat akciğerinde ve bronşiol lümeninde PNL’ den zengin inflamatuvar hücrel infiltratın histopatolojik görüntüsü ...	45
Resim 15: H&E x 200 bakıda kontüzyon sonrası rat akciğeri parankiminde PNL ve MNL’ leri içeren yoğun inflamatuvar infiltratın histopatolojik görüntüsü.....	46
Resim 16: H&E x 100 bakıda kontüzyon sonrası rat akciğeri dokusunda ozon tedavisi sonrası histopatolojik görüntü	46

TABLO**SAYFA**

Tablo 1: Tüm gruplarda histopatolojik değerlendirmedeki ortalama, minimum ve maksimum değerler	36
Tablo 2: Tüm gruplar arası histopatolojik parametrelerin analizi.....	36
Tablo.3: Anestezi grubu ile kontüzyon grubu arasında tüm histopatolojik parametrelerin karşılaştırılması	37
Tablo 4: Anestezi grubu ile kontüzyon yapıp ozon uygulanan gruplar arasında tüm histopatolojik parametrelerin karşılaştırılması.....	37
Tablo 5: Kontüzyon grubu ile kontüzyon yapıp ozon uygulanan gruplar arasında tüm histopatolojik parametrelerin karşılaştırılması.....	37
Tablo 6: Tüm gruplarda hücre tipininin dağılımı	38

GRAFİKLER

SAYFA

Grafik 1: Gruplar arasında atelektazi görülme sıklığına ait grafik	38
Grafik 2: Gruplar arasında hücre yoğunluğunun karşılaştırılmasına ait grafik.....	39
Grafik 3: Gruplar arasında perivasküler mononükleer inflamasyonun karşılaştırılmasına ait grafik	39
Grafik 4: Gruplar arasında bronşial hasarın karşılaştırılmasına ait grafik	40
Grafik 5: Gruplar arasında lökositik infiltrasyonun karşılaştırılmasına ait grafik	40

ÖZET

AKCİĞER KONTÜZYONUNDA OZON TEDAVİSİNİN İNFLAMATUVAR YANITA OLAN ETKİSİ

Dr. Fatma İlknur Ulugün, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi A.D.
fatma.ulugun@deu.edu.tr

Amaç: Çalışmamızda künt toraks travması sonucu oluşan direk mekanik hasar ve hasara ikincil geliştiği düşünülen inflamasyon üzerine ozon tedavisinin etkileri, elde edilen histopatolojik sonuçlar ile değerlendirildi. Çalışmamızda oluşturulan deneysel model ile, künt göğüs travmasının eşlik ettiği ratlarda akciğer kontüzyonunun tedavisinde, pek çok doku üzerinde etkisi daha önceden gösterilmiş olan ozonun inflamasyon üzerine etkili olup olmadığını araştırdık.

Yöntem: Deney protokolü Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Protokol no: 59/2011). Çalışmamızda aynı koloniden 24 adet yetişken erkek ortalama 200-250 gr. ağırlığında Wistar albino ratlar kullanıldı. Ratlar 3 grubu ayrıldı. İlk gruptaki ratlara sadece ketamine HCl/ksilazin ile anestezi verildi. Diğer gruptaki ratlara ise Raghavendran ve arkadaşlarının geliştirdiği izole tek taraflı akciğer kontüzyon modeli ile kontüzyon uygulandı. 3. gruptaki ratlara ise kontüzyon sonrası 5 gün boyunca 30 µgr/ml ozon 1.1mg/kg dozunda intrarektal yoldan uygulandı. Analjezi morfin HCL ile sağlandı. Tüm gruplarda sakrifikasyon, işlemden 5 gün sonra gerçekleştirildi. Sakrifikasyon sonrası histopatolojik değerlendirme yapıldı. Histopatolojik değerlendirmede dört farklı parametre; atelektazi, parankimal inflamasyon, perivasküler mononükleer inflamasyon ve bronşiyal hasarlanma kullanıldı ve tüm parametreler derecelendirildi.

Bulgular: Travma ve ozon gruplarındaki ratların akciğer dokusunda kontrol grubundaki ratların akciğer dokularına göre hücre yoğunluğu, perivasküler mononükleer inflamasyon, ve lökosit infiltrasyonun istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü. Buna karşılık kontrol grubu ile travma ve ozon grupları karşılaştırıldığında alveoler ödem ve bronşiyal hasarlanma açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi. Alt grup analizlerinde ise travma grubu ile ozon grubu karşılaştırıldığında, histopatolojik veriler açısından her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı.

Sonuç: Gruplarımızda inflamatuvar evreler ve hücre dağılımları karşılaştırıldığında travma ve ozon gruplarında inflamasyonun 5. gününde ileri akut inflamatuvar değişiklikler (revaskülarizasyon ve fibroblast aktivasyonu) saptanmıştır. Travma ve ozon gruplarında inflamatuvar yanıt paterni açısından anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Bu durum ozon tedavisinin akut inflamatuvar yanıtı azaltmadığını desteklemektedir. Sonuç olarak, travmanın yarattığı birincil ve ikincil hasarın azaltılmasında ozon tedavisinin akut ve subakut inflamatuvar yanıt üzerine herhangi bir olumlu etkisi gösterilememiştir.

Anahtar Sözcükler: Ozon, kontüzyon, inflamasyon

ABSTRACT

THE EFFECT OF OZONE TREATMENT TO THE INFLAMMATORY RESPONSE IN LUNG CONTUSION

Dr. Fatma İlknur Ulugün, Dokuz Eylül University Faculty of Medicine, Department of Thoracic Surgery

fatma.ulugun@deu.edu.tr

Objective:

The effects of ozone treatment on direct mechanical injury and the inflammation secondary to the injury resulting from blunt thoracic trauma were evaluated with the histopathological results obtained in our study. We have examined whether the ozone whose effect was previously shown on many tissues is effective on the inflammation in the treatment of lung contusion in rats with blunt thoracic trauma with the trial model established in our study.

Method: The trial protocol was approved by the Dokuz Eylül University Faculty of Medicine (Protocol number: 59/2011). 24 adult male Wistar albino rats of the same colony with an average weight of 2000-250 gr were used in our study. The rats were divided into 3 groups. The rats in the first group were anaesthetized with ketamine HCl/xylazine . The rats in the other group were given contusion with isolated unilateral lung contusion developed by Raghavendran et al. The rats in the 3rd group were given 30 µgr/ml ozone at a dose of 1.1mg/kg intrarectally after the contusion for 5 days. Analgesia was maintained with morphine HCL. Sacrification was maintained 5 days after the treatment. Histopathological evaluation was made after the sacrifice. Four different parameters; atelectasis, parenchymal inflammation, perivascular mononuclear inflammation and bronchial injury, were used in histopathological evaluation and all parameters were scaled.

Findings: Cell concentration, perivascular mononuclear inflammation and leukocyte infiltration were seen to be statistically significantly higher in the lung tissues of all the rats in the trauma group compared to the lung tissues of the rats in the anesthesia group. However when the control group and trauma, ozone groups were compared there wasn't a statistically significant difference in terms of alveolar edema and bronchial injury. However in subgroup analyses when the trauma group and the ozone group, there wasn't a statistical significance in both groups in terms of histopathological data.

Conclusion: When inflammatory stages and cell distribution were compared in our groups, advanced acute inflammatory changes (revascularization and fibroblast activation) were found on the 5th day of the inflammation in the both contusion groups and no significant difference was observed in terms of inflammatory response pattern. This situation supports the fact that ozone treatment doesn't decrease the inflammatory response. Consequently no positive effect of ozone treatment was shown on the acute and subacute inflammatory response in decreasing the primary and secondary injury caused by the trauma.

Key words: Ozone, contusion, inflammation

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde travma ile acil servislere başvuran hastalar içerisinde künt toraks travmaları önemli bir yer tutmaktadır. Bütün travmaların yaklaşık %8-10'unu künt göğüs travmaları oluşturmaktadır (1). Akciğer kontüzyonu künt göğüs travması nedeni ile başvuran hastaların yaklaşık üçte birinde saptanan ve en sık görülen yaralanma türüdür (1,2).

Künt göğüs travması sonrası gelişen akciğer kontüzyonu; akut akciğer hasarı ve akut solunum yetmezliği, pnömoni gelişimini kolaylaştırmakta ve bu komplikasyonlar künt göğüs travmalı erişkinlerde %10-25 gibi yüksek oranda mortalite ile seyretmektedir (3,4).

Temel olarak künt göğüs travmasına bağlı ortaya çıkan akciğer kontüzyonu; alveoler konjesyon ve hemoraji, alveoler yapının bütünlüğünün bozulması, ödem ve lökosit infiltrasyonudur. Bu durumun kliniğe yansması hipoksemi, hiperkapni ile ağırlığı ve süresi değişken olabilen artmış solunumsal iş yükü olan klinik bir tablodur. Kontüzyonun temel patofizyolojik mekanizması ventilasyon/perfüzyon defekti, artmış intrapulmoner şant, akciğer sıvı miktarında artış, en az segmental düzeyde akciğer doku hasarı ve kompliyansda azalmadır (3,6,7). Künt göğüs travmasını takiben makrofaj ve nötrofiller aktive olur. Böylece ilerleyici yıkım süreci devreye girer (8). Akciğer kontüzyonu sonrası gelişen akut akciğer hasarı ve akut solunum yetmezliği, pnömoninin önlenemesi, kontüzyon sonrası gelişen inflamatuvar yanıtın etkilerinin ortaya konulabilmesi ve geri döndürülebilmesine bağlıdır (1,9).

Akciğer kontüzyonu ile ilgili bahsedilen bu patofizyolojik mekanizmalardan yola çıkılarak terapötik etkisi olduğu düşünülen pek çok ajan deneysel hayvan modellerinde denenmiş ve oldukça ümit verici sonuçlar yayınlanmıştır (10).

Medikal ozon (O₃) tedavisi antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal etkileri nedeniyle tıpta tedavi amacıyla geniş alanlarda kullanılmaktadır (11). Farmakolojik ilaçlarla tedaviden farklı olarak ozon tedavisi ilaç-reseptör ilişkisi ile değil, vücudun kendi güçlü potansiyelleri olan antioksidan ve antiinflamatuvar yolları kullanarak yarattığı reaksiyon ile vücudu hastalıklar karşısında güçlendiren bir tedavi yöntemidir (12,13).

Bu çalışmada, daha önce pek çok alanda faydalı olduğu ispatlanmış olan ozon tedavisinin akciğer kontüzyonundaki etkinliğinin araştırılması amaçlandı. Tek taraflı akciğer kontüzyon modeli ile oluşturulan akciğer kontüzyonunda ozonun hangi histopatolojik mekanizmalar üzerine etkisi olduğu araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tanım ve epidemiyoloji:

Akciğer kontüzyonu toraks yaralanmalarının %30 ile % 75'inde ortaya çıkan ve en sık görülen yaralanma türüdür (14,15). En sık nedeni künt travmadır. Akciğer kontüzyonunun sebebi travmaya göğüs duvarının direnç göstermesi ve absorbe ettiği kinetik enerjiyi akciğere iletmesidir. Patolojik bulgular, travmanın ağırlığına ve alveolokapiller hasarın derecesine bağlıdır. Hafif yaralanmalarda intraalveoler kanama ve interstisyel ödem lokalize alanlarda görülür. Ağır travmalarda alveoler yırtıklar oluşur. Ödem ve kanama daha yaygındır. Artmış mukus, azalmış sürfaktan, kapiller permeabilite artışı ve bronş içine kan ve ödem sıvısının dolması sonucu komşu akciğer bölgelerinde de konsolidasyon ve atelektazi gelişebilir. Doku ağırlığı artar ve kompliyans azalır. Bunlar yaralanmanın birincil hasarını oluşturur. Birincil hasarı takiben yaralanmanın erken döneminde ikincil hasar ortaya çıkar. İkincil hasara oksidatif stres ve inflamatuvar yanıt neden olur (16).

Günümüzde akciğer kontüzyonu sonucunda ortaya çıkabilecek akut solunum yetmezliği, uzamış mekanik ventilasyon ve pnömoni gibi klinik tabloların semptomatik tedavileri dışında belirlenmiş ve kullanılan bir tedavi yöntemi yoktur. Bu durum hastaların hastanede kalış sürelerini arttırmakta ve hastane maliyetinin yüksek olmasına neden olmaktadır. Morbidite ve mortalite oranlarının yüksek olması, belirgin bir tedavi yönteminin olmaması nedeni ile akciğer kontüzyonu hakkında deneysel ve klinik çalışmalar yapılmaktadır.

2.2. Tarihçe:

Göğüs travmasıyla ilgili en eski bilgi üç olgunun anlatıldığı M.Ö. 3000 yılına ait Smith papirüslerinde yer alır. Burada, antik mısırlılara ait sternum ve kot kırığından bahsedilmiştir (17). Göğüs duvarı travmasının eşlik etmediği ilk akciğer parankim hasarı, 1761'de tanımlanarak Morgagni tarafından bildirilmiş ve ingiliz literatüründe bununla ilgili ilk görüşler R.W. Smith tarafından 1840'da yayınlanmıştır (18). Hareket eden bir at arabasına atlamaya çalışan ve üzerinden tekerlek geçen 16 yaşında bir gencin otopsisinde, eksternal göğüs duvarı travması olmamasına rağmen her iki akciğerde ileri derecede kontüzyon tespit edilmiştir (19). Kemik yapıda yaralanma olmaksızın ortaya çıkan akciğer hasarı, gençlerdeki göğüs duvarının elastikiyeti ile ilişkilendirilmiştir. Savaşlarda etkili patlayıcıların kullanıldığı 20. yüzyıl başlarına

kadar akciğer travması hakkında oldukça az bilgi mevcuttur (20). Savaş süresince yapılan çalışmalar darbe etkisinin en önemli klinik yansıması olarak akciğer kontüzyonunu tanımlamıştır (21). Bu tanımlama 2. dünya savaşı süresince patlayıcılarla farklı mesafelere yerleştirilen hayvanlarla oluşturulan çalışmalar ile teyit edilmiştir. (22).

2.3. Patoloji ve histoloji:

Akciğer kontüzyonunun patofizyolojisi halen daha net bir biçimde ortaya konulamamıştır. Bu durum akciğer kontüzyonu ile ilgili toplanmış veri eksikliğinden kaynaklanmaktadır (15). Akciğer kontüzyonunun patofizyolojisinden inflamasyon, alveolokapiller permeabilite artışı, pulmoner ödem, ventilasyon/perfüzyon uyumsuzluğu, intrapulmoner şant ve azalmış pulmoner kompliyans sorumludur (23). Bu patolojik bulgular göğüs duvarı, diyafragma ve mediastene yakın akciğer kısımlarında daha fazladır. Kontüzyon olmayan komşu akciğer kısımlarında, mukus sekresyonunun artması, bronş ağacının kan ve sıvı ile dolması ve sürfaktan konsantrasyonunun azalmasına bağlı olarak kapiller geçirgenliğin artması nedeni ile konsolidasyon ve atelektazi gelişebilir. Bunun klinik yansıması ise hipoksemi, hiperkapni ile ağırlığı ve süresi değişken olabilen artmış solunumsal iş yükü şeklindedir (3,7). Bu akut ve lokal hasarın yanında akciğer kontüzyonu bölgesel ve sistemik inflamatuvar yanıtı da yol açmakta, ayrıca ortaya çıkan akciğer hasarı nedeni ile oksidatif hasar da diğer taraftan yıkım sürecine katkı sağlamaktadır (3). Akut etkilerden başka, kontüzyondan sonraki geç dönemde bile değişik derecelerde akciğer fonksiyonlarında azalma görülebilmektedir (24). Son yıllarda hayvan modelleri ile yapılan çalışmalar, akciğer kontüzyon hasarının gelişmesinde ayrı ayrı hücre tiplerinin rolü ve akut inflamatuvar mekanizmalar üzerine odaklanmıştır.

Akciğer kontüzyonunun etyolojisinde önemli olan üç temel mekanizma olduğu ifade edilmektedir:

1)Spalling (patlama) etkisi: Aşırı yoğunluk farklılıklarıyla gaz ve sıvı yüzeylerde oluşan kıvrılma veya patlama etkisi nedeniyle oluşur. Bu mekanizma okyanus derinlerinde oluşan şok dalgalarının yüzeye ulaştığında gözlemlenebilir. Akciğer gibi hava iştirakli organlarda şok dalgaları ile ilk temas yüzeyinde spalling etkisi ile alveoler harabiyet oluşabilir.

2)İnertial (eylemsizlik) etkisi: Düşük yoğunluktaki alveoler dokuları değişik hızda hareket eden daha ağır hiler dokulardan ayrılması sonucu olur.

3)İmpulsion (ribaund) etki: Basınç dalgalarının geçmesinin ardından ribaund etki ile veya hava kabarcıklarının aşırı ekspansiyonundan kaynaklanır (25).

Göğüs kafesinin maruz kaldığı basınç ve oluşan hasarın nedeni olan mekanik gücün iletimi nedeniyle akciğer hasarı görülmektedir. Akciğerin direk laserasyonu göğüs duvarının sıkışması veya kot fraktürü nedeniyle olur. Doku içine olan kanama alveoler fonksiyonlarda kayıp ve bronkospazm ile irritasyona sebep olur, klirens azalmasıyla mukus üretimi artar, sürfaktan üretimi azalır ve alveoler kollapsa neden olur (26). Akciğer kontüzyonundaki patofizyolojik değişiklikler kontüzyon sonrasında süre ile bağlantılı olacak şekilde değişiklik göstermektedir.

2.4. Akciğer kontüzyonunda akut inflamatuvar yanıt:

Hem insanda hem de hayvan modellerinde akut akciğer hasarı, akciğer parankiminde meydana gelen çok şiddetli inflamatuvar cevap ile karakterizedir. Direkt ya da dolaylı yollar ile akciğerlere gelerek toplanan lökositler, aktive olmuş doku makrofajları ve kemokin, sitokin, arasıdonik asit metabolitleri, oksijen radikalleri, kompleman komponentleri ile koagülasyon kaskadı gibi üretilen birçok farklı mediyatör ile inflamatuvar cevap meydana gelir (18,19). Travmaya ikincil oluşan akciğer kontüzyonu ile epitelyal ve endotelial hücrelerde bozulma ve alveolokapiller membranın geçirgenliğinde artış olur. Bu sayede alveoler ödem, sürfaktan disfonksiyonu, ventilasyon /perfüzyon uyumsuzluğu, akciğer kompliyansında ve hacminde azalma ve hipoksemi gelişir (18,19).

Raghavendran ve arkadaşları, ratlarda bilateral akciğer kontüzyonu oluşturdukları modellerinde, kontüzyondan sonraki 7 gün içinde ortaya çıkan inflamatuvar değişiklikleri incelediler. Hayvan deneyleri ile oluşturulan akciğer kontüzyonunda akciğerin histopatolojik değerlendirmesini yapan birçok çalışmada kontüzyon sonrası 8. dakika ile 4. ve 12. saatlerde yapılan incelemelerde yaygın intraalveoler hemoraji saptanmıştır. 24. saat incelemelerinde ise ateletazi geliştiği, interstisyum ve alveollerde nötrofilden zengin lökositlerin sayıca artmış olduğu tespit edilmiştir. 48. saatte ise nötrofilik infiltrasyonun devam ettiği, hücre kalıntıları ve alveoler makrofaj infiltrasyonu ile alveol duvarının kalınlaştığı gözlenmiştir (3,45). Akciğer kontüzyonu sonrası 7. günde yapılan incelemede ise özellikle bronşiyollerin çevresinde fibrozis geliştiği saptanmıştır (3).

Knoferl ve arkadaşları ise, basınç dalgası üreten jeneratör kullanarak oluşturdukları hayvan kontüzyon modellerinde, kontüzyona sekonder ortaya çıkan sistemik inflamatuvar yanıtın bir

ürünü olan TNF- α ve IL-6'nın hasardan 180 dakika sonra anlamlı oranda arttığını tespit etmişler ve bu durumun hasarın şiddeti ile yakın ilişki içinde olduğunu belirtmişlerdir (28).

Akciğer kontüzyonun lokal ve sistemik immunolojik değişiklikler ile regüle edilen progresif inflamatuvar cevaba yol açtığı pek çok çalışma ile gösterilmiştir (28,29). Nötrofiller havayolu ve alveoler epitelyum hasarında esas rol alan hücrelerdir (30,31). Nötrofiller tarafınca oluşturulan akciğer hasarının mekanizmasından sıklıkla bozulmuş alveoler transport fonksiyonu ve oksidan maddeler sorumludur (31,32). Alveoler makrofajların, alveollere ulaşan maddelerin temizlenmesinden esas sorumlu hücreler oldukları düşünülür. Alveoler makrofajlar ayrıca akut akciğer hasarının birçok şeklinin patogeneğinde ve ilerleyişinde rol alan antijenleri tanımakla görevli koruyucu hücrelerdir. Akciğer kontüzyonu sonrası ilk 24 saatteki erken lökositik cevapta nötrofiller hakimken 48. saatten sonra monositlerin hakim olduğu gözlenir (28).

2.5. Travmada oksidatif stres ve serbest radikaller:

Sağlıklı bir organizmada serbest radikallerin oluşumu ve ortamda birikim hızı ile bunların antioksidanlar tarafından ortamdan kaldırılma ya da etkisizleştirilme hızı bir denge içerisinde. Bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur ve 'Oksidatif Stres' olarak adlandırılır. Bu durumun nedeni, serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliğin sonucunda organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbonhidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimlerin bozulup doku hasarının oluşmasıdır (33,34).

2.5.1. Serbest radikal kaynakları:

Serbest radikaller yaşam için gereklidir. Elektron transferi, enerji üretimi ve pek çok diğer metabolik işlevde temel oluşturur. Zincir reaksiyonu kontrolsüz bir davranış gösterirse hücrede hasarlara neden olur. Hücre, membranı ve diğer komponentleriyle serbest radikal atakları ve peroksidasyon için potansiyel bir hedeftir. Radikallerin etkisi ile hücrelerde protein komponentlerin denatürasyona ve enzimatik inaktivasyona uğradığı, nükleik asitlerde hidroksilasyon ve çapraz bağlar ve mutasyona maruz kalabildiği, tüm bunların hücresel ölüme öncelikli etkenler olduğu bilinmektedir. Oksidatif stresin bu öldürücü etkilerine, hücreler antioksidan savunma sistemi ile karşı koyabilmektedir (35).

Travma sonrası hücreler oksidan maddelerin saldırıları ile karşılaşılır. Bu saldırıyı nötralize edecek sistemler yetersiz kalırsa, geri dönüşümsüz yıkım ortaya çıkar. Ancak oksidan maddelerin reaksiyonunu kontrol ederek, belli bir düzeyin üstüne çıkmasını engelleyen sistemler bulunmaktadır. Bu sistemlere “antioksidanlar” adı verilir (36).

2.5.2. Antioksidan savunma sistemlerinin sınıflandırılması:

A) Enzimatik antioksidanlar:

1. Süperoksit Dismutaz (SOD)
2. Katalaz (CAT)
3. Selenyum bağımlı Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)
4. Glutasyon -S- Transferaz (GST)
5. Glutasyon Redüktaz (GR)
6. Sitokrom Oksidaz (COX)
7. Glikoz -6-Fosfat Dehidrojenaz
8. UDP-Glukronil Transferaz
9. Fosfoglukonat Dehidrojenaz
10. Epoksit Hidrolaz
11. NADPH-Kinon Hidrolaz
12. Sulfonil Transferaz

B) Enzimatik olmayan antioksidanlar:

- 1- Vitamin C, Vitamin A, Vitamin E
- 2- Flavinoidler
- 3- Melatonin
- 4- Albümin
- 5- Koenzim Q10
- 6- Ürik asit
- 7- Haptoglobulin
- 8- Sistein
- 9- Seruloplazmin
- 10- Transferrin ve Laktoferrin

- 11- Ferritin
- 12- Oksipurinol
- 13- Bilirubin
- 14- Mannitol
- 15- Lipoik asit
- 16- Hemopeksin

Genel olarak enzimatik antioksidanlar hücre içinde, enzimatik olmayanlar ise hücre dışında daha fazla etkilidir.

Antioksidan savunma sistemi başlıca iki şekilde yürür;

1. Serbest radikal oluşumunun önlenmesi
2. Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi

Potansiyel inflamatuvar hücreler olan makrofaj ve nötrofiller künt göğüs travmasını takiben aktive olurlar ve böylece progresif yıkım kaskadı devreye girer. Aktive olan nötrofil ve makrofajlardan salınan sitokinler, reaktif oksijen metabolitleri ve proteolitik enzimler, alveolokapiller membran permeabilitesinde artışa ve mikrovasküler kaçağa neden olur. Ayrıca alveoler ödem sıvısı, proteolitik ve lipolitik enzimler ile reaktif oksijen metabolitlerinin oluşmasına yol açar (8). Alveoler makrofajların superoksit radikalleri adı verilen potent serbest oksijen radikallerini (SOR) ve peroksinitriti üretebildiği ortaya konmuştur (37). Salınan bu serbest oksijen radikalleri, lipid peroksidasyonu yoluyla oksidatif hasara neden olabilmektedir. Lipid peroksidasyonunun en önemli göstergesi ise malondialdehid (MDA)'dır ve artışı serbest oksijen radikallerinin neden olduğu artmış lipid peroksidasyonunu gösterir. İnsan organizması bu serbest oksijen radikallerinin oluşturacağı hasar riskine karşı birtakım koruyucu enzimatik mekanizmaları devreye sokar.

Bunlar arasında superoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) yer almaktadır (24). Akciğer inflamasyonu sırasında nitritoksit (NO) sentezi artar. NO, vasküler düz kaslarda relaksasyona ve aşırı üretildiğinde süperoksit ile reaksiyona girerek sitotoksik bir oksidan olan peroksinitrit oluşumuna neden olur (38). SOD, süperoksidi ortamdan uzaklaştırıp NO ile reaksiyona girmesini engelleyerek peroksinitrit oluşumunu önleyen güçlü bir antioksidandır (39).

Katalaz ve glutatyonperoksidaz (GSH-PX), hidrojen peroksidin suya dönüşümünü katalize eder. Tüm bu antioksidanlar, serbest toksik radikallerin sitotoksik etkisini sınırlar (38). Bütün bu sayılan yıkıcı süreçten sonra akciğer kontüzyonu , lökositlerin yol açtığı ikincil bir inflamatuvar

yanıta yol açar. Bu süreç, kapiller kaçak, interstisyel ödem ve protein ekstrasvazasyonu ile sonuçlanır (22,41). Yapılan çalışmalarda, proinflamatuvar mediyatörler olan tümör TNF ve interlökinlerin alveoler düzeylerinin künt göğüs travmasından sonra artış gösterdiğini ortaya koyulmuştur (42).

Vasküler hasar ve permeabilite artışına neden olan oksidanların ise künt göğüs travması sonrasında oluşan ikincil patojenik mekanizmalarda etkin rolleri olduğu görülmektedir (43).

İnflamatuvar akciğer hasarı mekanizması, hücresel aktivasyona ve kemokin, sitokinleri içeren çözünebilir mediyatörlerin aralarındaki ilişkiye bağlıdır (40,41).

Kemotaksise yol açan sitokinler çeşitli nedenler ile oluşan akut akciğer hasarının başlangıcında, devam etmesinde ve rezolüsionunda önemli etkilere sahiptir (41,42). Yapılan klinik ve deneysel modellerde akciğer kontüzyonunun plazma sitokin mediyatörlerde erken bir artışa neden olduğu, travmatize olan akciğer dokusundan salınan mediyatör salınımının erken dönemde sitokin seviyelerinde artışa neden olduğu ve nihayetinde de kontüzyona cevap olarak artan plazma proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlerin splenik kompartmanda gecikmiş immunsupresyona neden olduğu ortaya konulmuştur (41,44).

Alveoler tip II hücreler akciğer inflamasyonunun düzenlenmesinde ve konak defansında sürfaktan üretimi ve metabolizmasında çok önemli rol oynarlar (43).

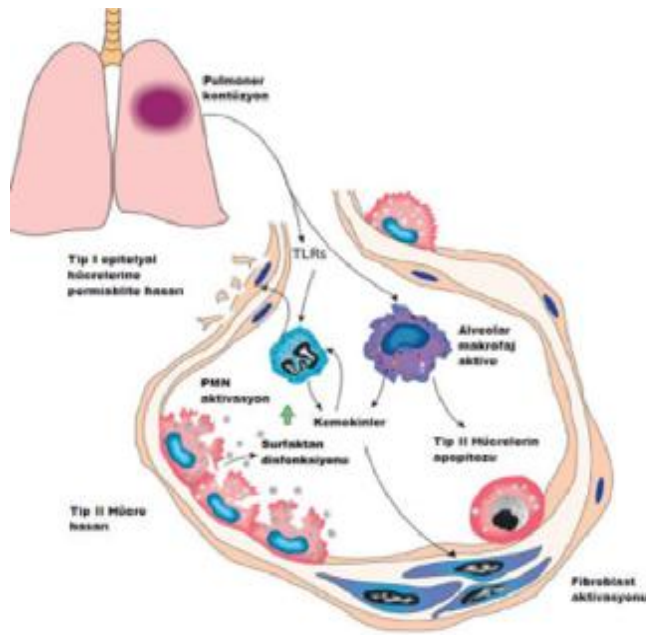
Raghavendran ve arkadaşları künt travma ile oluşturulan akciğer kontüzyonlu ratlardan alınan bronkoalveoler lavajda (BAL) geniş sürfaktan agregatlarının yüzde miktarının ve yüzey aktivitelerinin fonksiyonel olarak önemli derecede azalmış olduğunu göstermişlerdir (3,45). Sonuçlar, akciğer kontüzyonunun 24. saatinde sürfaktan aktivasyon kaybının en üst seviyede olduğunu ve akciğer hasarı parametrelerindeki gelişme ile paralel olarak 48-96. saate doğru normal seviyesine ilerlediğini göstermiştir (3,45).

Akciğer kontüzyon hasarında sürfaktan disfonksiyonunun olmasının bilinmesi sadece patofizyolojik olarak anlaşılmayı kolaylaştırmaz ayrıca akciğer hasarını azaltmak için dışarıdan sürfaktan verilerek potansiyel bir tedavi şekli belirlemeyi de kolaylaştırır (46,47,48). Künt travma ile oluşturulan akciğer kontüzyonlu ratlarda ekzojen trakeal damlatma ile verilen sürfaktanın hasar sonrası 24. saatte akciğer mekaniğini geliştirdiği Raghavendran ve arkadaşları tarafınca gösterilmiştir (3,45).

Akciğerlere direk travma ile başlangıçta inflamatuvar yanıt oluşur ve lökosit aktivasyonu, akciğer doku makrofaj aktivasyonu ve birçok sitokin, kemokin gibi mediyatör üretimi

gerçekleşir. Akciğer kontüzyon hasarı olan inflamasyonlu alanda birçok nötrofil gözlenir. Alveoler epiteldeki TLR 2 ve 4 gibi Toll-like reseptörler aracılığı ile aktive oldukları düşünülür. Toll-like reseptörler (TLRs) dış çevre ile doğrudan ilişkide olması nedeni ile solunum sistemi epiteli ve konak defansının düzenlenmesinde çok önemli rol oynarlar. Ayrıca alveoler epitel hücreesindeki TLRs, patojenleri tanıyarak çeşitli akut faz proteinleri ve sitokinlerin aktivasyonunda rol alırlar (36).

Akciğer kontüzyonunda inflamatuvar mediyatörler alveoler tip II hücreler tarafınca salınırlar. Direkt akciğer kontüzyonunun indüklediği doku hasarı ile oluşan inflamatuvar cevap alveolokapiller membran bütünlüğünü bozar ve epitelyal hücrelerde apoptozis ve nekroza yol açar. Alveollere girerek ödem oluşmasına yol açan plazma proteinleri ve diğer maddeler akciğer sürfaktan sentez ve fonksiyonunu inhibe ederek respiratuvar yetmezliğin şiddetlenmesine yol açar. Akciğer kontüzyonu fibroblast aktivasyonunu ve proliferasyonunu da aktive eder (Şekil 1).



Şekil 1. Akciğer kontüzyonunu takiben permeabilite ve inflamasyondaki değişikliğin şeması.

Akciğer kontüzyonunda akciğer dokusunda birçok lokal değişiklikler olduğu gibi sistemik değişiklikler de mevcuttur.

Akciğer kontüzyonunda patofizyolojik ve histopatolojik değişiklikler;

Lokal etkiler:

- Akciğer dokusunun laserasyonu
- Kan ile alveollerin dolması
- Azalmış ventilasyona yol açan kompliansta azalma
- Şant fraksiyonunda artış ve PO₂'de azalma, alveoloarteriyel oksijen farkında artış
- Artmış pulmoner vasküler direnç
- Pulmoner kan akımında azalma
- Hasarlanmış ve hasarlanmamış akciğer
- Bozulmuş difüzyon ile birlikte kalınlaşmış alveoler septa
- Alveoler çapta azalma
- Akciğer dokusunda vakuolizasyon
- Artmış BAL proteini ve gecikmiş kapiller kaçak
- Akciğer dokusunda nötrofillerin artması

Sistemik etkiler:

- Terminal kompleman komponentinde artış
- Azalmış kompleman aktivitesi

Akciğer kontüzyonunda histopatolojik değişikliklerin travmanın şiddeti ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (28). Travmadan hemen sonraki erken evrede (ilk 1-2 saat) intra-alveoler hemoraji, konjesyon, alveoler bütünlüğün bozulması, alveoler ödem ve interstisyel hemoraji tablonun esas parçalarını oluşturur (49).

Mekanizmada monosit ve nötrofil infiltrasyonu da söz konusu olduğundan kontüzyon sonrasındaki ilk 24 saatte protein, eritrosit sayısı ve yaygın inflamatuvar hücreler birikir ve yaygın ödem histopatolojik açıdan tablonun önemli bir kısmını teşkil eder. Travmadan 48 saat sonra fibrin, hücre artıkları, tip II alveoler hücrelerden salınan granüller, nötrofiller ve makrofajlar devreye girer. Lenfatikler dilate olur ve proteinler ile dolar (3). İzole bilateral akciğer kontüzyonu oluşturulan ratlarda yapılan bir çalışmada göğüs travması oluşturulan deneklerde,

kontüzyondan sonraki 4. ve 12. saatlerde, akciğer dokusunda yaygın intraalveoler hemoraji ve alveoler harabiyet gözlenmiştir. Perihiler dokunun yanında, visseral yüzeylere kadar etkilenmiş parankim alanlarının da olaya eşlik ettiği tespit edilmiştir. Kontüzyondan sonraki 24. saatte alveoler boşluklarda nötrofil hakimiyetinde bir lökosit infiltrasyonu ve önemli düzeyde atelektazi olduğu ifade edilmiştir. 48. saatte ise lökosit infiltrasyonun eşlik ettiği alveoler membranın kalınlaşması ve intraalveoler ödem gözlenmiştir (4). Moseley ve arkadaşları ise köpekte oluşturdukları kontüzyon modelinde, travmadan 7 ile 10 gün sonra tahminen kısmi skarlarla iyileşmenin olduğunu göstermiştir (50).

2.6. Klinik ve tanısal yaklaşım:

Kontüzyonda toraks duvarının absorbe ettiği kinetik enerjinin, akciğere iletilmesi ile oluşan alveolokapiller hasar ana sebeptir. İntraalveoler kanama, interstisyel ödem, alveoler yırtıklar ve alveoler ödem görülmektedir. Doku ağırlığı artar, kompliyans, sürfaktan salınımı ve kan akımı azalır. Pulmoner arteriyel basınç ve pulmoner emboli riski artar. Sonuçta atelektazi ve hipoksi meydana gelir. Fizyopatolojinin temelinde ventilasyon vardır, ancak perfüzyon yoktur. Hemoptizi, dispne, hipotansiyon, siyanoz olabilir. Muayenede kontüzyon bölgesinde solunum sesleri azalmıştır. Travma hastasının klinik değerlendirilmesi ve hemodinamik olarak stabil hale getirildikten sonra yapılan radyolojik incelemeler, hastaya yaklaşımda ve yapılan tedaviye karar vermede önemli role sahiptir (49). Toraks patolojisi düşünülen veya varsayılan hastadaki ilk görüntüleme yöntemi akciğer röntgeni olmalıdır (51). Akciğer kontüzyonunda radyografik değişiklikler kontüzyondan sonraki ilk 4-6 saat içinde belirgin hale gelmeye başlarken hastaların bir kısmında ilk 24 saat içinde belirgin hale gelebilir. Kontüzyona ait değişiklikler sıklıkla ilk 24 saat içinde progresyon gösterir, bu yüzden takip eden saatlerde 6 ila 12 saatlik periyodlarla çekilen kontrol grafileri ve kan gaz analizleri önerilmektedir (43,52).

Akciğer röntgeninde yamalı alveoler infiltrasyon görülebilir. Bunlar birleşerek homojen infiltrasyonları oluşturabilir. Bu homojen infiltrasyonlar bir lobu ya da bütün bir akciğeri tutabilirler. Ayrıca interlober septaya ve peribronşiyal boşluklara kanama nedeniyle perihiler infiltrasyonlar da görülebilir. Yaralanmadan sonraki 6. saatte genellikle intrapulmoner kanama en üst düzeye ulaşır. Bilgisayarlı toraks tomografisi, akciğer kontüzyonunu göstermede rutin filmlerden daha açıklayıcıdır. Toraks tomografisinin travma hastalarındaki akciğer patolojilerini göstermede % 30 ile %60 oranında daha üstün olduğu gösterilmiştir (56,57). Sadece akciğer

kontüzyonu varsa 1 hafta içinde radyolojik olarak düzelme olmaktadır. Konsolidasyonun yaralanmadan hemen sonra görülmesi akut respiratuvar distres sendromu, pnömoni ve atelektaziden ayırımı için önemlidir. Eğer yaralanmadan sonraki 48 saat içinde akciğer kontüzyonu radyografik olarak ilerliyorsa; aspirasyon, bakteri pnömonisi, akut respiratuvar distres sendromu olabileceği akla gelmelidir

Ağır akciğer kontüzyonunda; respiratuvar distres sendromu ve akut solunum yetmezliği görülebilir. Sinsi ve potansiyel ölümcül bir durumdur. Akciğer kontüzyonlu hastalar hızlı bir şekilde kritik hale gelebilirler. Bu hastalar hastaneye yatırılmalıdır. Ciddi akciğer kontüzyonundan neyin kastedildiği çeşitli skorlama sistemleri ile belirlenmiştir. Advanced Trauma Life Support (ATLS) sistemine göre akciğer kontüzyonu olan ve oda havasında $PaO_2 < 60$ mmHg olan hastalar entübe edilmelidir (53). PO_2 'yi 60 mmHg'nın üzerinde tutmak için oksijen desteği verilmelidir. Ağrı kontrolünün sağlanması, sekresyonların temizlenmesi ve atelektaziye engellemek amaçlı solunum fizyoterapisi, gelişen plevral komplikasyonların kapalı tüp torakostomi ile tedavi edilmesi ve makromolekül içeren sıvı replasmanının dikkatli yapılması tedavinin ana prensiplerini oluşturur. Mevcut parankim hasarı aşırı mayi yükü olduğunda akciğer ödemi oluşumunu hızlandıracaktır. Kan kayıpları kan veya kan komponentleri ile replase edilmeli ve verilen kristaloid miktarı minimumda tutulmalıdır. Çünkü yüksek miktarlarda verilen kristaloid solusyonlarının kontüzyonu agreve ettiği bildirilmiştir (54). Dokuların oksijenasyonunu optimal düzeyde tutmak için sıvı replasmanı yapılması şokla mücadele anlamında uygun olan bir seçenektir (1,2,55). Doku oksijenasyonunu sağlamaya yönelik olarak kan ürünleri, kristaloid veya kolloid solusyonlar kullanılarak kan basıncı normal seviyelerde tutulmalıdır (1). Akciğer kontüzyonlu hastaya verilecek olan sıvının tipi ve miktarında tam bir konsensus yerleşmemiş olmasına rağmen saatlik idrar çıkışının kolloid ile yaklaşık olarak 0.5 ml/kg düzeyinde tutulmaya çalışılması önerilmektedir (56). Ciddi hipoksi, eşlik eden tıkaçıcı akciğer hastalığı veya böbrek yetersizliği varsa erken entübasyon gerekmektedir. Yakın ve yoğun yapılan bir takiple hasta kontrol altında tutulmalıdır. Tek taraflı ileri derecede kontüzyonu olan hastaların yoğun bakım ünitesinde kinetik veya rotasyon yapılabilen bir yatağa yerleştirilmesi ile arteriyel desatürasyon minimize edilebilir (57). Aralıklı olarak yatağın hasarsız akciğer için uygun pozisyona döndürülmesi sağlam akciğerde kan akımını artırarak oksijenasyonda artış sağlayacaktır. Fink ve arkadaşları major torasik travma sonrası bu rotasyon yapabilen yatakların kullanımı ile pnömoni sıklığı ve ventilatörde geçen gün sayısında anlamlı bir düşüş olduğunu göstermişlerdir (58).

Akciğer kontüzyonlu hastalarda antibiyotik kullanımını destekleyen çalışmalar mevcut değildir. Bakteriyel direnç gelişmesini sınırlamak için antibiyotik kullanımından uzak durulmalıdır (61).

Eğer kontüzyon masif tarzdaysa veya aspirasyon, enfeksiyon, akut respiratuvar distres sendromu (ARDS) gibi olaylar gelişmişse karbondiyoksit retansiyonu ve respiratuvar asidoz gelişebilir (1). Özellikle travma hastalarında, ARDS %20-50 gibi yüksek mortalite oranına sahiptir ve özellikle akciğer kontüzyonu gibi belli bazı akciğer hasar tiplerinde oldukça sık görülebilir (6,29).

Bu hassas sürecin tüm komponentleri ile yönetilmesi durumunda bu tip hastaların entübasyon gereksinimlerinin % 100 den %23 e gerilediği ve survilerinde % 60'dan % 93.5'e ulaşan bir iyileşme olduğu gösterilmiştir (59).

2.7. Ozon ile ilgili genel bilgiler:

2.7.1. Ozonun tanımı:

Ozon (O₃), oksijenin doğada yüksek enerjili elektrik akımına ve ultraviyole (UV) ışınlarına maruz kalması sonucunda oluşan, üç oksijen atomu taşıyan bir moleküldür. Oda sıcaklığında gaz halinde bulunur. Florin ve persülfattan sonra en güçlü 3. oksidan ajan olan ozonun, moleküler ağırlığı 48 olup, açık mavi renkli, keskin kokulu bir gazdır (12).

Ozon, Yunanca “koklamak” anlamına gelen “ozein” sözcüğünden gelir. İlk defa Alman kimyacı Christian Friedrich Schönbein tarafından, 1840 yılında keşfedilmiştir. Ozon, dünyayı kuşatan stratosfer tabakasındaki en önemli gazlardan birini oluşturur ve güneşten gelen zararlı ultraviyole ışınlarını absorbe eder. Böylelikle yerkürenin biyolojik dengesinin devam etmesinde önemli bir rol oynar (12).

2.7.2. Ozonun tarihçesi:

- 1840 yılında Schönbein kimyasal yollarla ozon üretimini tanımladı.
- 1856 yılında ameliyathane dezenfeksiyonunda kullanılmaya başlandı.
- 1900 yılında Nicola Tesla, ilk ozon jeneratörünün patentini aldı.
- 1902'de H.J. Clarke ozonun anemi, kanser, diyabet, influenza ve morfin zehirlenmesinde kullandı.

- 1915 yılında A.Wollf 1. dünya savaşı yıllarında enfekte ve nekrotik olan yaralar ile kemik kırıklarının ozon uygulaması başarı ile tedavi edildiğini inflamasyon ve abselerin iyileştiğini rapor etti.
- 1926'da Dr. Otto Warburg Berlin'de kanserin hücre düzeyinde, oksijen azlığından meydana geldiğini bildirip, bu saptaması ile 1931 ve 1944 Nobel ödüllerini aldı.
- E. Payr 1935 yılında cerrahide ozon tedavisi çalışması ile bugün bilinen anlamıyla ozon uygulamasının başlangıcını oluşturdu.
- E.A.Fish ozon tedavisinin diş hekimliğince kullanılmasının temellerini atmıştır.
- 1977'de Dr. Renate Viebahn ozonun vücuttaki etkilerini teknik olarak açıkladı.
- J.Hansler ve H.Wolf ozonun tıpta kullanımını geliştirdi ve 'ozonosan' adını verdiği jeneratör ve 1979 yılında da tıbbi ozon başlıklı kitabı ile birlikte modern tıpta ozonun kullanılabilmesinin yolu açıldı. Jeneratör terapötik açıdan değişebilen dozajlarda (konsantrasyonlarda) ozon/oksijen karışımlarının üretilmesine imkân sağladı, bununla birlikte ilk kez olmak üzere ozona dirençli plastik kullanılmaya başlandı.
- Auburg isimli Fransız hekim ise ozon şırıngası ile rektal insuflasyon yöntemini geliştirerek enfeksiyonlu bağırsak hastalıklarında lokal etkisinden faydalanmıştır. Daha sonra Knoch adlı hekim rektal insuflasyonunu proktolojiye dahil etmiştir (27).

2.7.3. Ozonun elde ediliş şekli:

Yüksek enerjiye sahip güneş ışınlarının normal oksijen moleküllerine (O_2) çarpmasıyla ortaya çıkan oksijen atomlarının (O) diğer oksijen molekülleriyle (O_2) birleşmesi sonucunda ozon (O_3) meydana gelir.

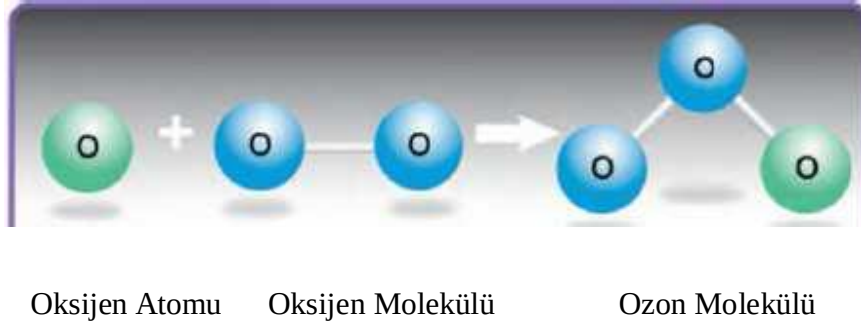


Oksijen Molekülü

Enerji

Oksijen Atomu

Şekil 2: Oksijen molekülünün enerji ile oksijen atomuna dönüşümü



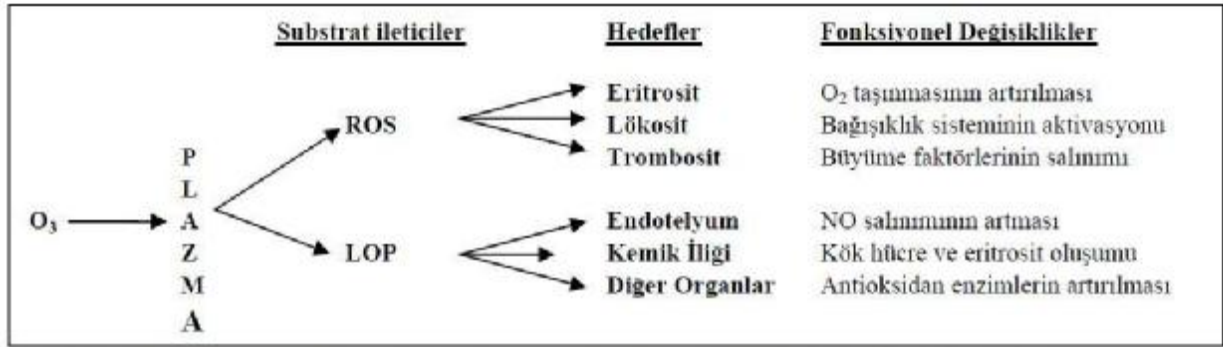
Şekil 3. Ozon molekül oluşumu

2.7.4. Medikal ozon ve etki mekanizması:

Doğal ozon oluşumunda gerekli olan elektrik akımı, çok yüksek enerjiye ihtiyaç duyar. Bu nedenle ozon, sentetik olarak da üretilebilir. Bu amaçla, medikal ozon jeneratörlerinden yararlanılarak μg düzeyinde ozon elde edilir (12). Medikal ozon , saf oksijen ile ozonun belirli oranlarda (%0,05-5 O_3 ; %95-99,95 O_2) karıştırılarak, bu karışımın değişik yöntemlerle hastaya uygulanmasını içeren bir tedavi şeklidir. Ozon, çok yüksek oksidasyon gücüne sahip olduğu için tıpta “aktif oksijen” olarak tanımlanır (12,60,61). Oksijenden çok daha reaktif olup , oksijenin mitokondriyal solunumda oluşturduğu radikal oksijen türlerini oluşturur. Ozon oksidan bir ajan olup uygun dozlarda kullanımı: kan dolaşımını artırır, NO ve karbonmonoksit (CO) üzerinden ve de eritrosit içindeki 2,3-difosfogliseratı (2,3-DPG) artırarak hemoglobinin oksijen taşıma kapasitesini dolayısıyla iskemik dokulara oksijen ulaşmasını kolaylaştırır; o hücre içindeki antioksidan enzimleri düzenler; oksijen ulaşımını artırarak genel metabolizmayı düzenler; immun sistemi aktive ederek büyüme faktörlerinin salınımını artırır, serbest radikal seviyelerinin düşürür. Nöro-endokrin sistem stimülasyonu ile kişinin kendini daha iyi hissetmesini sağlar. Topikal kullanımlarda mükemmel bir dezenfektandır; akut ve geç yan etkileri yoktur. Ozon, güçlü bir oksidasyon oluşturma yeteneğine sahiptir. Bu nedenle, bakterisid, virusid ve fungusid olarak etki gösterir (60,62).

Ozon, organizmada oksidatif bir etki oluşturarak antioksidan enzim sistemlerini faaliyete geçirir. Uygulamayı takiben kanda çözünen ozon, çoklu doymamış yağ asitleri, ürik asit, askorbik asit ve albumin gibi antioksidanlar ile hemen reaksiyona girer. Çok hızlı gelişen bu reaksiyonlar sırasında, ozonun tamamı nötralize edilir. Başta hidrojen peroksit (H_2O_2) olmak üzere, reaktif oksijen radikalleri (ROS) ve lipid oksidasyon ürünleri (LOP) ortaya çıkar. Artan bu serbest

radikallere karşı vücut savunmasını sağlayan antioksidan enzimlerin süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivasyonu artırılmış olur. Böylelikle organizmanın hastalıklara karşı terapötik ve biyolojik cevap oluşturmasını sağlayan endotelial, parankimal ve kan hücrelerinin aktivasyonu sağlanmış olur (Şekil 4) (12,63,62).



Şekil 4. Medikal ozon uygulaması sonrası ortaya çıkan temel biyolojik etkiler (62)

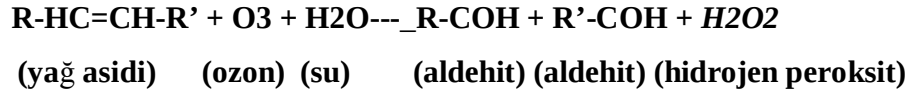
Ozon sağaltımı aynı zamanda, lökositler tarafından interferon ve interlökin gibi sitokinlerin salınımını sağlayarak bağışıklık sistemini uyarmak suretiyle de etki gösterir (60,63).

Ozonun sahip olduğu oksidatif etkisinden ötürü doz hesaplamaları son derece dikkatli bir şekilde yapılmalıdır. Düşük dozlarda uygulanması herhangi bir sağaltıcı etki oluşturmazken, yüksek dozlarda uygulanması toksikasyona yol açar. Oysa ki çok iyi ayarlanmış sağaltıcı dozlarda (10-80 µg/ml) kullanılması halinde, kanda ve diğer dokularda yer alan enzimler, hidrofilik ve lipofilik antioksidan sistemler tarafından tolere edilir ve tedavi edici etkisini ortaya çıkarır. Nitekim ilaç olarak kullanılan çoğu kimyasal bileşik de doza bağlı olarak faydalı ya da toksik etkiler gösterir (62,64,65).

Ozon vücutta plazma, lenf sıvısı veya serum içerisindeki çeşitli biyomoleküller ile hemen reaksiyona girer ve tepkime sonucu moleküler oksijen ve reaktif oksijen atomuna dönüşür.



Ozonun kendisi toksik madde olmayıp etkisini ortaya çıkardığı radikaller üzerinden sağlar, vücut içerisinde çoklu doymamış yağ asitleri ile kısa zaman içerisinde reaksiyona girer ve hidrojen peroksidi oluşturur (66).



Hidrojen peroksit (H₂O₂) düzeyi, ozon tedavisinin etkisini anlamada kritik bir role sahiptir. Hidrojen peroksitin kendisi serbest radikal olmamasına karşın biyolojik zarlara nüfuz edebilmesi ve daha reaktif oksijen türlerinin yapım aşamasında aldığı rolden dolayı önemlidir. Diğer bir önemli işlevi ise hücre içi sinyal molekülü olarak görev yapmasıdır. H₂O₂ sitokin salınımını artıran indüktörlerden en belirgin olanıdır (65).

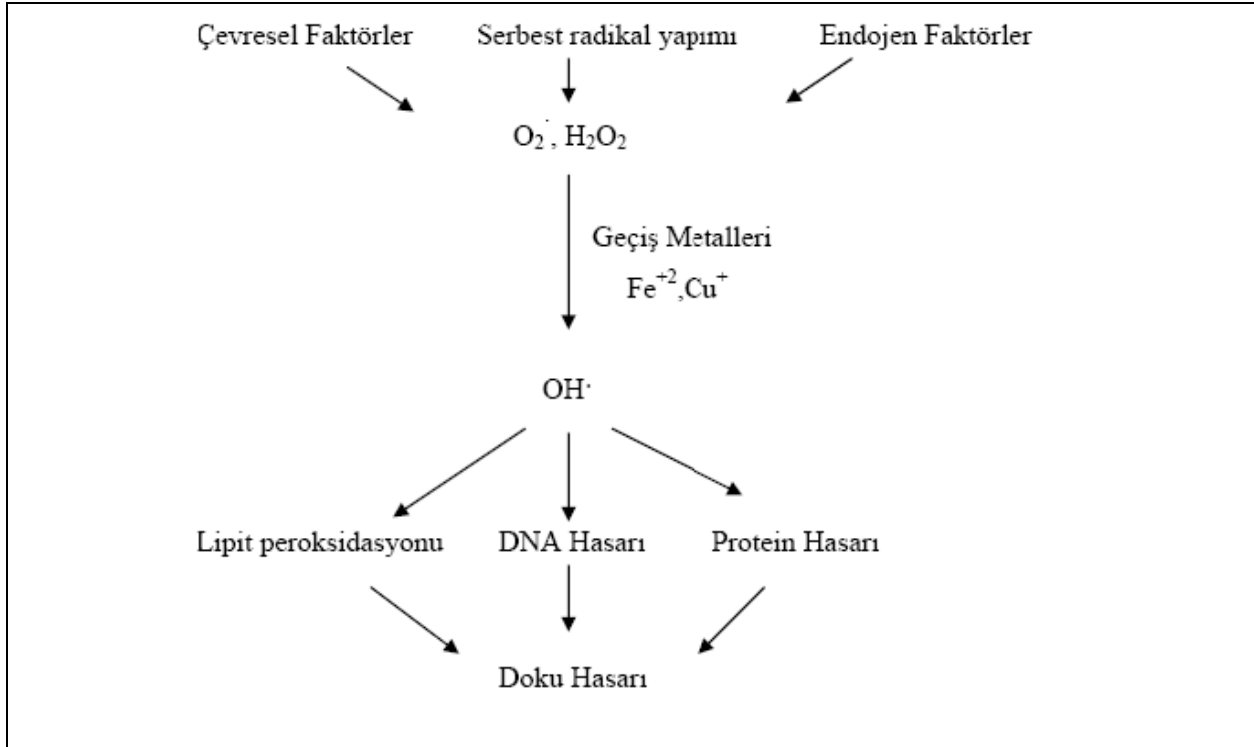
Hidrojen peroksit, eritrositlerde 2,3-difosfoglisarat düzeyini artırma yoluyla hemoglobin-oksijen eğrisinin sağa kaymasına ve böylelikle oksijenin dokulara daha kolay bırakılmasına neden olmaktadır (12). Hidrojen peroksit lökositlerde çeşitli interferon, interlökin, transforme edici büyüme faktörü yapımını artıran uyarıları tetiklemek sureti ile immün sisteme etki etmektedir. Plateletlerde, makrofajlarda, endotelial hücrelerde ve respiratuar epitelyumda ise çeşitli otakoid ve büyüme faktörlerini arttırmaktadır (67). Hidrojen peroksitin yüksek reaktif serbest radikalleri oluşturmaya karşı vücut, savunma sistemi geliştirmiştir. H₂O₂'nin plazma yarı ömrü çok kısa olup (yaklaşık 2,5 dakika) glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz adlı enzimlerce parçalanır (68).

Lipit oksidasyon ürünlerinin ise yarı ömürleri saatlere varabilmekte ve dolayısıyla yarı ömrü çok kısa olan reaktif oksijen türevlerinin ilk etkileri sonrasında ozonun gecikmiş etkilerinden sorumlu tutulmaktadır. Lipit oksidasyon ürünleri oluşuktan sonra serbest radikallerle reaksiyona girerek vücut için toksik olan peroksidasyon ürünlerini oluştururlar. Lipit peroksidasyon ürünlerinin oluşması reaktif oksijen türevlerinin neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir (12,69). Lipit oksidasyon ürünlerinin akut oksidatif stresi vücuttaki tüm hücrelere bildiren ikincil haberciler oldukları düşünülmektedir. Lipid oksidasyon ürünleri endotelyuma etki ederek güçlü bir vazodilatör olan nitrik oksit (NO) salınımını arttırmakta ve nöroimmünomodülatör bir etki ile de ozon tedavi sırasında hastalar tarafından ifade edilen 'kendini iyi hissetme' den sorumlu tutulmaktadır (12,67).

Tıbbi ozon uygulamaları bir akut oksidatif stres ortaya çıkarmakta ve tekrarlayan ozon uygulamaları ile de oksidatif strese karşı adaptasyon gelişmekte, antioksidan enzim ve molekül düzeyleri artmaktadır. Böylelikle organizma oksidatif strese karşı daha dirençli hale gelip

yaşlanma, kronik enfeksiyonlar, diabetes mellitus, ateroskleroz, dejeneratif hastalıklar, kanser ve diğer hastalıklara bağlı gelişen kronik oksidatif stresi tersine çevirebilmektedir (62).

Aerobik metabolizmada denge, serbest radikal oluşumu ve bunların benzer hızla antioksidan sistemler tarafından uzaklaştırılmasıyla karakterizedir. Geri dönüşümsüz oksidatif hasarın birikimi ile önce hücre daha sonra doku ve organ sistemlerinde yapısal ve işlevsel bozukluklar ortaya çıkabilir.



Şekil 5. Vücuttaki önemli serbest radikaller ve serbest radikal hasarı sonuçları

Çevresel bir faktör olarak ozon organizmada özellikle çoklu doymamış yağ asitleri, askorbik asit ve ürik asit, -SH grubu içeren tiol gruplarından sistein, redükte glutatyon ve albumin ile reaksiyona girer. Ozon dozuna bağlı olarak karbonhidratlar, enzimler, DNA ve RNA elektron vericileri olarak oksidasyona uğrarlar (Şekil 5).

Sonuç olarak dışarıda kanın ozonlanmasıyla ROS ve LOP oluşur. ROS, 1 dakika içinde oluşup yıkılan katalaz enzimi ile erken etkilerden sorumlu iken, LOP vasküler yatağa geçip endotel hücreleri ve parankimal hücrelere ulaşarak geç ama daha güçlü olan etkilerden sorumlu olur.

2.7.5. Ozon uygulama yolları:

Ozon uygulama yolu patolojinin çeşidine, evresine ve hastaya göre şekillendirilmektedir. Dâhili uygulamalar; Major Otohemoterapi (MOT), Minör Otohemoterapi (MiOT), kulak, rektal, vajinal insüflasyonları, microdosing (intramuskuler, intra artiküler, intralezyoner), ozonlu su, ozonlu zeytinyağı, nazal inhalasyon, enema ve kolon hidroterapi iken harici uygulamalar; ozonlu su, ozonlu zeytinyağı, cupping (küçük cam kaplar), bagging plastik torbalar, buhar banyosu şeklindedir. Otohemoterapi yöntemi en gelişmiş ve güvenilir yöntemdir (70).

Majör otohemoterapi: Bu yöntemde bir miktar kan (100-200 ml) steril koşullarda hastadan alınarak ozona dayanıklı, sodyum sitratlı bir vakumlu şişeye alınır ve 5-10 dakikalık bir sürede tıbbi ozon jeneratöründen elde edilen oksijen / ozon karışımıyla temas ettirildikten sonra kapalı, steril, basınçsız bir sistemle damla infüzyonu yolu ile aynı kişiye yaklaşık 15 dakikalık bir süre içerisinde geri verilir (70).

Aynı prensibi kullanarak, **minör otohemoterapi** diye adlandırılan yöntemde ise ozonlanmış 3-5 ml kan intramusküler yolla hastaya geri verilir. Bu yöntemle özellikli olmayan bağışıklık sistem aktivasyonu yapılır. Alerjik hastalıklarda ve genel olarak bağışıklık sistemini güçlendirmekte kullanılır.

Eksternal tedavi ozon gazını kapalı bir sistemde özel bir plastik bot (ayaklar ve bacaklar için) içinde dolaştırarak ya da vücudun farklı bölgelerine uygun torbalar, folyolar ile gerçekleştirilir. Bu metod ülserleri, yaraları, açık yaraları, ameliyat sonrası oluşan lezyonları ve enfekte olmuş alanları tedavi etmekte çok etkilidir.

Rektal yolla uygulanmasında: O₃ gazı direkt olarak intestinal mukozası tarafından emilir; Bu metod genelde intestinal sistemin inflamatuvar hastalıklarında endikedir. Laboratuvar bulguları, major ya da minör otohemoterapiye uygun olmayan hastalarda ozon, rektal yol ile uygulanır (70).

Eklem içi enjeksiyonunda: ozon gazı yavaşça eklem içine enjekte edilir. Bu metod ağrılı inflamatuvar hastalığı olan eklem uygulanır (artrit, rekurren artroz, genel patolojik sertliklerde) (70).

Ozon reaktif bir molekül olduğundan tıbbi amaçlı kullanımda dikkat edilmesi gereken bazı şartlar bulunmaktadır. Kullanılan ozon jeneratörü verilen ozon dozunun ayarlanabilmesi için iyi standardize edilmiş bir fotometreye sahip olmalıdır. Ozon hiçbir zaman saf olarak uygulanmamalıdır. Belli oranda oksijenle karıştırılmalıdır. Bu karışımda oksijen % 95'ten az; ozon ise % 5'ten fazla olmamalıdır. Gaz karışımı hava ile temas ettirilmemelidir. Çünkü ozonun reaktif özelliğinden dolayı atmosfer havası ile teması sonucu toksik bir gaz olan nitrojen dioksit (N_2O_2) oluşmaktadır. Oksijen-ozon karışımı, emboliye yol açabileceği için gaz formunda damar içine uygulanmamalıdır (64).

Ozon dozunun ayarlanmasında önerilen method, uygulamaya düşük dozlarda (her ml kan için 10 $\mu\text{g/ml}$ gaz) başlanması ve ozon konsantrasyonunu yavaş yavaş artırarak devam ettirilmesi şeklindedir. Bu sayede, herhangi bir akut ya da kronik toksisite oluşturmaksızın sağaltıma yönelik başarılı sonuçlar elde edilir (64). Ozonun, 10-80 $\mu\text{g/ml}$ doz aralığındaki sağaltıcı oranlarının herhangi bir yan etki oluşturmadığı ayrıca, aynı oranların gerek eritrosit gerekse lökosit fonksiyonları üzerinde de olumsuz etkisinin bulunmadığı bildirilmektedir (62).

Ozon tedavisi gebelik, hipertiroidizm, şiddetli anemi ve aktif hemoraji durumlarında kullanılmamalıdır (60).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Deney protokolü Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Protokol no:59/2011). Ratlar, Laboratuvar Hayvanları Bakım ve Kullanım Rehberine uyularak, Dokuz Eylül Üniversitesi Hayvan Deneyleri Laboratuvarında bakıldı. Çalışmamızda aynı koloniden 24 adet yetişken erkek ortalama 200-250 gr ağırlığında Wistar albino ratlar kullanıldı. Ratlar, 21 °C ile 23 °C arasında, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık döngüsünde tutuldu. Rat modeli kullanılmasının amacı kolay temin edilebilme, güvenilirlik ve deneyin tekrar edilebilme oranının yüksek olmasıdır (71). Ratlar standart pellet yemlerle beslendi ve cerrahi işlem öncesi yemek ve su serbest bırakıldı. Ratların deney öncesinde ağırlıkları tartılarak ketamine HCl (Ketalar, Pfizer Pharma GMBH, Germany) 40-50 mg/kg/intraperitoneal + xylazine (Alfazyne %2, Alfasan International, Holland) 7,5 mg/kg/intraperitoneal yolla uygulanarak anestezi sağlandı. İşlem boyunca ratlar solunumları spontan olarak devam edecek şekilde uyutuldu. Analjezi, intraperitoneal olarak uygulanan 0.05 mg/kg morfin HCL (morphine HCL, Galen İlaç San. ve Tic. A.Ş Kadıköy, İstanbul) ile sağlandı.

3.1. Künt göğüs duvarı travması:

Akciğer kontüzyonu, Raghavendran ve arkadaşlarının tariflediği izole bilateral akciğer kontüzyon modelinin modifiye edilmesi ile oluşturulan tek taraflı akciğer kontüzyon modeli ile oluşturuldu (3). Bu modelde akciğer kontüzyonu, alüminyum metalden imal edilmiş olan silindirik şeklindeki ağırlığın, vertikal olarak platform üzerine monte edilmiş paslanmaz çelik tüpün içinden serbest düşürülmesi ile oluşturuldu. Ağırlığın düştüğü platformun alt noktasına ratın sağ lateral göğüs duvarına değecek şekilde temas sağlandı. Ratın orta aksiller hat ve ksifoid prosesi işaretlenerek standardizasyon ve optimizasyon sağlandı.

Yapılan çalışmalarda ratlarda yaşam ile bağdaşır bir akciğer kontüzyonu oluşturmak için yaklaşık 2.45 joulluk bir travma gerekmektedir (3). Bu mekanizma kullanılarak ortaya çıkan enerji $E = mgh$ formülü (E : enerji, g : yer çekimi; 9,8 m/s², h : yükseklik; 83,3 cm ve m : düşürülen ağırlık; 0,3 kg) ile hesaplandı. Kullanılan ağırlık 300 gr ve yükseklik 83,3 cm olduğundan göğüs duvarına transfer edilen enerji 2,45 joule olarak hesaplandı.



Resim 1. Raghavendran ve arkadaşlarının tariflediği bilateral kontüzyon modelinin tek taraflı kontüzyon oluşturulacak şekilde modifiye edilmiş modeli (3).

Travma sonrası solunumu düzensizleşen ya da mukozalara soluklaşan deneklere hipotansiyon gelişmiş olması nedeni ile 1 ml serum fizyolojik intraperitoneal yol ile uygulandı. Ayrıca hemotoraks ya da pnömotoraks olabileceği düşünülerek 2 lt/dk'lık akım hızı ile oksijen verildi. Travma sonrasında bütün deneklerin solunum, beslenme ve sıvı ihtiyaçları takip edildi. Deney işleminden hemen sonra 5 rat solunum arresti oldu ve deneyden çıkarıldı.

3.2. Ozon tedavi protokolü:

Kontüzyon sonrası 5 gün boyunca 30 µgr/ml ozon 1.1mg/kg dozda intrarektal yoldan uygulandı. Travmadan sonraki 5. günde ratlara ketamin/ksilazin ile anestezi verildi ve göğüs kafesi açılarak hayvanın tüm kanı intrakardiyak alınarak sakrifiye edildi. Çalışmamızda kullanılan ratlarda enfeksiyon gelişmesi, allerjik reaksiyon gelişmesi ve ölüm hali durumunda

Çalışmadan ıkarılacakları kararlaştırıldı. Ozon tedavisi grubunda olan 1 rat tedavinin 4.gününde öldü. Yapılan otopsisinde inflamatuvar barsak hastalığına ait bulgulara rastlandı.

3.3. Deneysel dizayn:

I. Kontrol grubu (n: 8): Diğer gruplarla eşdeğer anestezi süresi uygulanarak ratların mediansternotomi ile sağ akciğerin üst, orta ve alt lobları çıkarıldı. Elde edilen dokular bazal değerlerin elde edilmesi amacı ile kullanıldı.

II. Travma grubu (n=8): Bu gruptaki ratlara anestezi altında 300 gram ağırlığın travma modeline uygun olarak 83,3 santimetre (cm.) yükseklikten serbest düşmeye bırakılması ile yaratılacak 2.45 joule enerji ile travma uygulanarak 5 gün sonra kontrol grubundaki gibi mediansternotomi ile sağ akciğerin üst,orta ve alt lobları çıkarıldı. Bu gruba hiçbir ilaç uygulanmadı.

III. Ozon grubu (n=8): Bu gruptaki ratlara anestezi altında travma uygulandıktan sonra ozon tedavisi 5 gün boyunca 30 µgr/ml ozon 1.1mg/kg dozda intrarektal yoldan uygulandı. Tedavi sonrasında mediansternotomi ile sağ akciğerin üst, orta ve alt lobları çıkarıldı.

3.4. Histopatolojik inceleme:

Sakrifiye edilen ratların çıkarılan akciğer dokusu histopatolojik çalışma için %10 tamponlu formalin içinde sabitlendi. Kademeli alkol serileri yoluyla dehidrate edilip xylene içinde temizlendikten sonra parafin içine gömüldü. 5 µm kalınlığında kesilip hemotoksilen ve eosin ile boyandı.

Histopatolojik değerlendirme 4 farklı parametre ile yapıldı.

1- Atelektazi, konjesyon ve intraalveoler kanama, fokal, yamalı (5 büyük büyütme alanından küçük multifokal odaklar) ve diffüz (5 büyük büyütme alanı boyunca devam eden) olarak değerlendirildi.

2- Parankimal inflamasyon hafif (tek tek duran inflamatuvar hücreler), orta (2-4'lü gruplar halinde) ve ağır (5 hücreden fazla topluluklar halinde) şeklinde derecelendirildi ve inflamasyonun cinsi, nötrofil ağırlıklı, mikst (nötrofiller ve mononükleer hücreler birlikte) ve mononükleer ağırlıklı olmasına göre değerlendirildi.

3- Perivasküler mononükleer inflamasyon hafif (hücreler tek tek), orta (gruplar halinde), ağır (damar etrafında manşon oluşturan şekilde) olarak derecelendirildi.

4- Bronşiyal hasarının derecelendirilmesi ise, fokal epitel hasarı-fokal duvar harabiyeti ve abseleşmelerle giden yoğun bronşiyal destrüksiyon varlığına göre yapıldı.

Bu 4 parametre aşağıdaki gibi derecelendirildi.

Atelektazi/konjesyon ve intraalveoler kanama, alveoler ödem derecelendirilmesi:

Grade 0- yok

Grade 1- fokal

Grade 2- yamalı (5 büyütme alanından küçük odaklar, ancak multifokal)

Grade 3- yaygın (5 büyük büyütme alanı boyunca)

Parankimal inflamasyon derecelendirilmesi: hücre yoğunluğuna ve hücre tipine göre yapıldı.

Hücre yoğunluğuna göre:

Grade 0- inflamasyon yok

Grade 1- hafif inflamasyon / hücreler tek tek duruyor

Grade 2- orta derecede inflamasyon =5-10 hücre arası topluluklar

Grade 3- ağır inflamasyon 10-30 hücreden oluşan topluluklar

Grade 4-çok ağır inflamasyon >30 hücreden oluşan topluluklar

Hücre tipine göre:

0-Normal hücre dağılımı

1-Makrofaj hakimiyeti

2-Nötrofil hakimiyeti

3-PNL- MNL benzer sayıda olduğu

4-MNL hakimiyeti

5-Revaskülarizasyon

6-Fibroblastların görüldüğü evre

Lökositik infiltrasyon: Kontüzyondan kaynaklanan inflamasyon şiddetini göstermede kullanıldı. Her bir bölüm 10 alt bölüme ayrıldı ve lökositik infiltrasyon 400X büyütme ile her bir alt bölümde yapılan şu skora ile belirlendi.

0: Ekstravasküler lökosit yok

1: 10'un altında lökosit

2: 10-45 arası lökosit

3. 45'den fazla lökosit

Perivasküler mononükleer inflamasyon derecelendirilmesi:

Grade 0- yok

Grade 1- hafif (tek tek hücreler)

Grade 2- orta (grup halinde hücreler)

Grade 3- ağır (damar etrafında manşon oluşturan birikim)

Bronşiyal hasarın derecelendirilmesi:

Grade 0- yok

Grade 1- fokal epitel hasarı

Grade 2- fokal duvar harabiyeti

Grade 3- abseleşmelerle bronşiyolde yoğun hasar

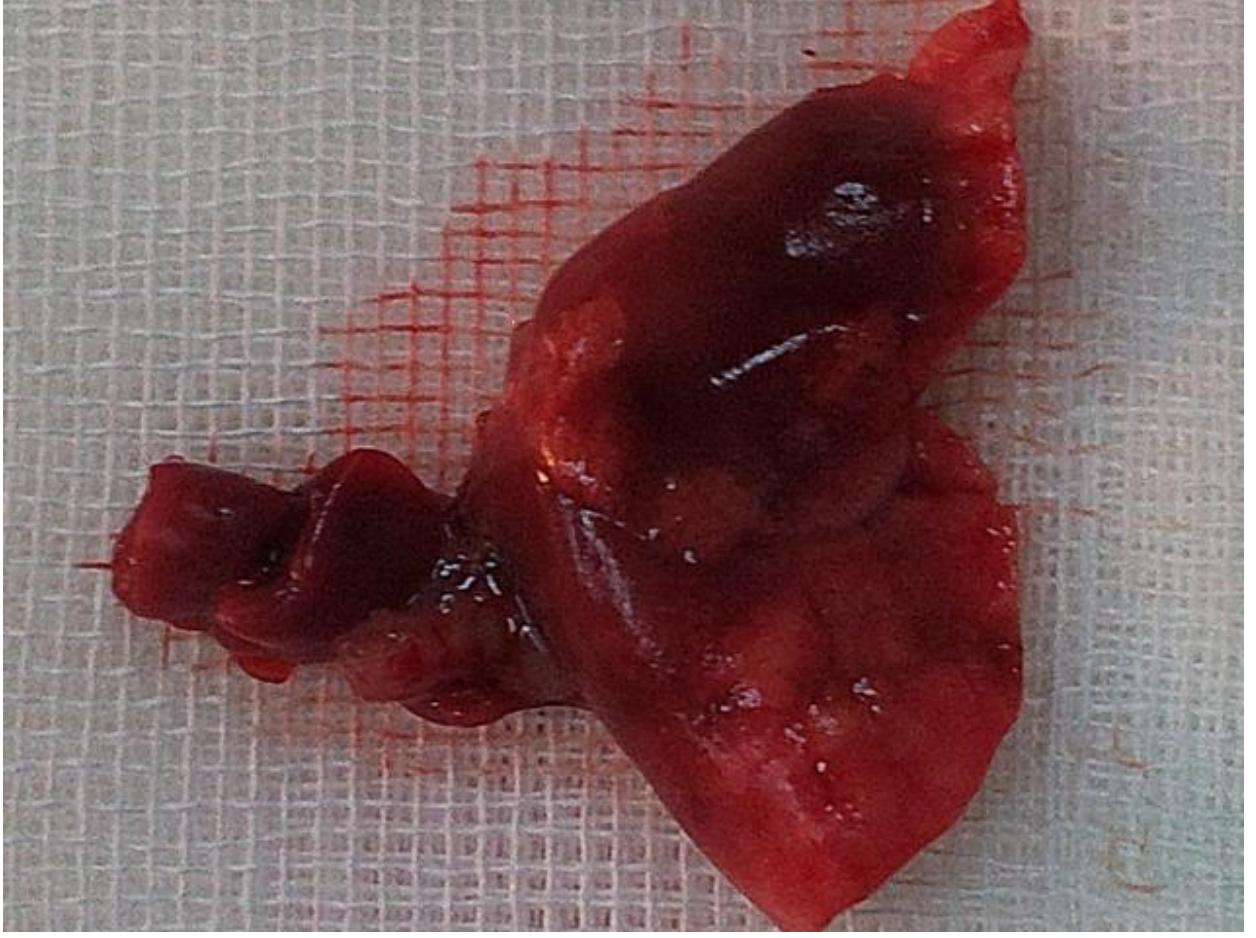
3.5. İstatistiksel analiz:

İstatistiksel değerlendirme için Statistical Package of Social Sciences 15 (SPSS 15,0,Chicago,IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Verilerin analizinde Kruskal-Wallis testi uygulandı. Grupların ikili karşılaştırmaları için Mann-Witney U testi kullanıldı ve tüm değerler median (minimum ve maksimum değerler) olarak gösterildi. İstatistiksel olarak $\alpha=0,05$ olarak belirlenip çift taraflı olarak test edildi $p < 0.05$ olduğu durumlarda gruplar arası fark anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

4.1. Makroskopik bulgular

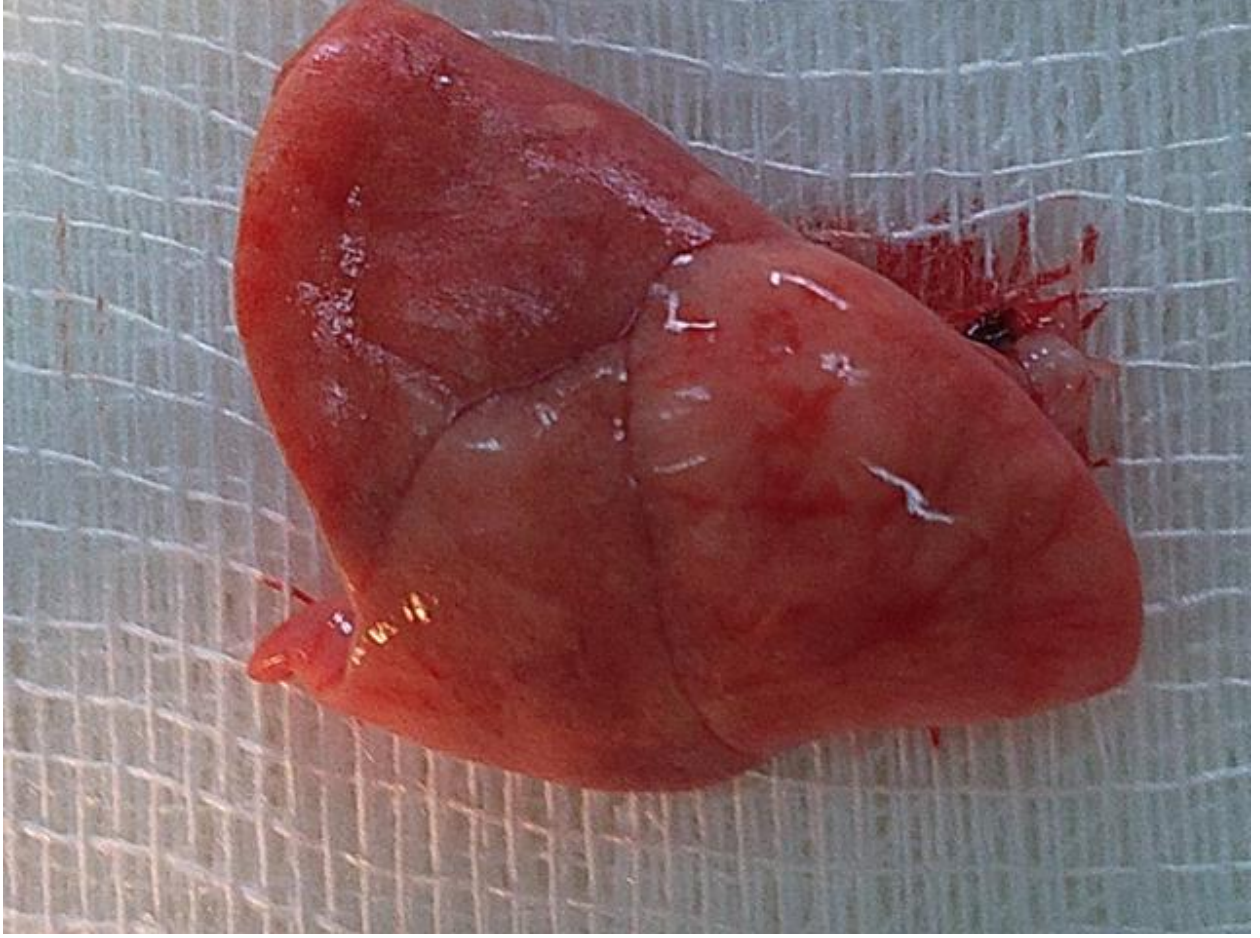
Çalışmamıza toplam 24 rat dahil edildi. Travma grubunda olan 5 ratta kontüzyon oluşturulduktan sonra dakikalar içinde solunum durması, siyanoz ve ölüm gerçekleşti. Yapılan otopsilerinde hemotoraks veya kot fraktürü gözlenmezken, ölüm nedenlerinin travmaya bağlı kardiyak arrest olduğu düşünüldü. Ölen ratların yerine daha önce oluşturulmuş havuzdan 5 rat daha çalışmaya dahil edildi. Kontüzyon sonrası izlem sırasında, kontüzyondan hemen sonra ratlarda akut solunumsal depresyon olduğu, fakat saniyeler içerisinde bu durumun düzeldiği ve normal solunum hareketlerine tekrar kavuştukları gözlemlendi. Sakrifikasyon sonrasında yapılan mediansternotomi sırasında makroskopik olarak ratların sağ akciğerlerinde heterojen tarzda kontüzyonla uyumlu bulgular tespit edildi (**Şekil 4.1 ve Şekil 4.2**). Ozon tedavisinin verildiği ozon grubundaki ratlarda ise makroskopik düzeyde travma grubundakine benzer şekilde makroskopik değişikliklerin sebat ettiği gözlemlendi (**Şekil 4.3**).



Resim 2: Kontüzyon sonrası uygulanan sakrifikasyon sonucu elde edilen akciğer dokusunun makroskopik görünümü.



Resim 3: Kontüzyondan 5 gün sonra yapılan sakrifikasyonda elde edilen akciğer dokusunun makroskopik görünümü.



Resim 4: Kontüzyon sonrası ozon tedavisi verilip beş gün sonra yapılan sakrifikasyonda elde edilen akciğer dokusunun makroskopik görünümü

4.2. Histopatolojik bulgular:

4.2.1. Atelektazinin incelenmesi:

Her 3 grupta akciğer dokusunun histopatolojik incelemesinde, kontrol grubunda 8 ratın 3'ünde fokal atelektazi (grade 1) saptandı. 5 ratta atelektazi izlenmedi. Travma grubunda ise 8 ratın 5'inde yamalı (grade 2), 3 ratta ise yaygın (grade 3) atelektazi alanları izlendi. Ozon tedavisi uygulanan grupta ise 7 ratın 4'ünde yamalı (grade 2), 3 ratta ise yaygın (grade 3) atelektazi alanları saptandı. Tüm gruplar Kruskal Wallis testine göre atelektazi açısından karşılaştırıldığında, anestezi grubunda anlamlı derecede düşüklük saptandı ($p < 0,05$)

(Tablo 1,2 ve Grafik 1).

Gruplar arası 2'şerli karşılaştırmada ise; kontrol grubu ile travma grubu ve ozon verilen grubun karşılaştırmasında, atelektazi, anestezi grubunda anlamlı derecede düşük saptandı. Travma ve ozon grupları arasında ise anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$) (Tablo 3,4,5).

4.2.2. Hücre yoğunluğunun incelenmesi:

Kontrol grubunda 3 ratta hafif inflamasyon (grade 1) saptandı. Travma grubunda ise 3 ratta ağır derecede (grade 3), 5 ratta ise çok ağır inflamasyon (grade 4) mevcuttu. Ozon tedavisi uygulanan grupta ise 4 ratta ağır derecede (grade 3), 3 ratta ise çok ağır düzeyde (grade 4) inflamasyon gözlemlendi. Tüm gruplar hücre yoğunluğu açısından karşılaştırıldığında, kontrol grubundaki farklılık diğer 2 gruptan anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0,05$) (Tablo 1,2 ve Grafik 2).

Gruplar arası 2'şerli karşılaştırmalarda ise; kontrol grubu ile travma grubu ve ozon verilen grubun karşılaştırmasında, hücre yoğunluğu anestezi grubunda anlamlı derecede düşük saptandı ($p<0,05$). Travma grubu ve ozon grubu arasında ise hücre yoğunluğu açısından anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$) (Tablo 3,4,5).

4.2.3. Hücre tipinin incelenmesi:

Kontrol grubunda 3 ratta makrofaj hakimiyeti mevcuttu. Travma grubunda ise 4 ratta revaskülarizasyon, 4 ratta ise fibroblast hakimiyeti izlendi. Ozon tedavisi uygulanan grupta ise 4 ratta revaskülarizasyon saptanırken 3 ratta fibroblast hakimiyeti izlendi (Tablo 6).

4.2.4. Perivasküler mononükleer inflamasyonun incelenmesi:

Kontrol grubunda 2 ratta hafif PMH (grade 1) saptandı. Travma grubunda ise 3 ratta orta derecede PMH (grade 2) saptanırken 5 ratta ağır derecede PMH (grade 3) mevcuttu. Ozon tedavisi uygulanan grupta ise 4 ratta orta derecede (grade 2) 3 ratta ise ağır düzeyde PMH (grade 3) gözlemlendi. Tüm gruplar PMH açısından karşılaştırıldığında, kontrol grubundaki farklılık diğer 2 gruptan anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0,05$) (Tablo 1,2 ve Grafik 3).

Gruplar arası 2'şerli karşılaştırmada ise; kontrol grubu ile travma grubu ve ozon verilen grubun karşılaştırmasında PMH, kontrol grubunda anlamlı derecede düşük saptandı ($p<0,05$). Travma grubu ile ozon grubu arasında ise PMH açısından anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$) (Tablo 3,4,5).

4.2.5. Bronşiyal hasarın incelenmesi:

Kontrol grubunda bronşiyal hasarlanmaya rastlanmadı. Travma grubunda ve ozon grubunda ise 2'şer ratta bronşiyal hasarlanma gözlemlendi. Tüm gruplar bronşiyal hasarlanma açısından karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0,05$) (Tablo 1,2 ve Grafik 4).

Gruplar arası 2'şerli karşılaştırmada ise bronşiyal hasarlanma açısından anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0,05$) (Tablo 3,4,5).

4.2.6. Alveoler ödemin incelenmesi:

Her 3 grupta akciğer dokusunun histopatolojik incelemesinde alveoler ödem saptanmadı.

4.2.7. Lökositik infiltrasyonun incelenmesi:

Kontrol grubunda 2 ratta grade 1 lökositik infiltrasyon saptandı. Travma grubunda ise 3 ratta grade 2, 5 ratta ise grade 3 lökositik infiltrasyon mevcuttu. Ozon grubunda ise 4 ratta grade 2, 3 ratta ise grade 3 lökositik infiltrasyon gözlemlendi. Tüm gruplar lökositik infiltrasyon açısından karşılaştırıldığında, kontrol grubundaki farklılık diğer 2 gruptan anlamlı derecede düşük bulundu ($p < 0,05$) (Tablo 1,2 ve Grafik 5).

Kontrol grubu ile travma grubu ve ozon verilen grubun karşılaştırmasında lökositik infiltrasyon, kontrol grubunda anlamlı derecede düşük saptandı ($p < 0,05$). Travma grubu ve ozon grubu arasında ise lökositik infiltrasyon açısından anlamlı farklılık izlenmedi ($p > 0,05$) (Tablo 3,4,5).

Tablo 1: Tüm gruplarda histopatolojik değerlendirmedeki ortalama (median), minimum ve maksimum değerler

Parametreler		Atelektazi	Hücre Yoğunluğu	PMH derecelendirilmesi	Bronşiyal hasarın derecelendirilmesi	Lökositik İnfiltrasyon
Anestezi	N	8	8	8	8	8
	Mean	0,38	0,38	0,25	0,00	0,25
	Std. Deviation	0,518	0,518	0,463	0,000	0,463
	Median	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Minimum	Grade 0	Grade 0	Grade 0	Grade 0	Ekstravasküler lökosit yok
	Maximum	Grade 1	Grade 1	Grade 1	Grade 0	10'un altında lökosit
Kontüzyon	N	8	8	8	8	8
	Mean	2,38	3,63	2,63	0,25	2,63
	Std. Deviation	0,518	0,518	0,518	0,463	0,518
	Median	2,00	4,00	3,00	0,00	3,00
	Minimum	Grade 2	Grade 3	Grade 2	Grade 0	10-45 arası lökosit
	Maximum	Grade 3	Grade 4	Grade 3	Grade 1	45'den fazla lökosit
Kontüzyon + Ozon	N	7	7	7	7	7
	Mean	2,43	3,43	2,43	0,29	2,43
	Std. Deviation	0,535	0,535	0,535	0,488	0,535
	Median	2,00	3,00	2,00	0,00	2,00
	Minimum	Grade 2	Grade 3	Grade 2	Grade 0	10-45 arası lökosit
	Maximum	Grade 3	Grade 4	Grade 3	Grade 1	45'den fazla lökosit
Total	N	23	23	23	23	23
	Mean	1,70	2,43	1,74	0,17	1,74
	Std. Deviation	1,105	1,619	1,214	0,388	1,214
	Median	2,00	3,00	2,00	0,00	2,00
	Minimum	Grade 0	Grade 0	Grade 0	Grade 0	Ekstravasküler lökosit yok
	Maximum	Grade 3	Grade 4	Grade 3	Grade 1	45'den fazla lökosit

Tablo 2: Tüm gruplar arası histopatolojik parametrelerin analizi

	Atelektazi	Hücre Yoğunluğu	Perivasküler mononükleer inflamasyon derecelendirilmesi	Bronşiyal hasarı derecelendirilmesi	Lökositik İnfiltrasyon
Kruskal-Wallis	16,470	16,514	16,621	2,502	16,621
df	2	2	2	2	2
p değeri	0,000	0,000	0,000	0,286	0,000

Tablo.3:Kontrol grubu ile travma grubu arasında tüm histopatolojik parametrelerin karşılaştırılması

	Atektazi	Hücre Yoğunluğu	Perivasküler mononükleer inflamasyon derecelendirilmesi	Bronşiyal hasarı derecelendirilmesi	Lökositik İnfiltrasyon
Mann-Whitney U	0,000	0,000	0,000	24,000	0,000
Wilcoxon W	36,000	36,000	36,000	60,000	36,000
Z	-3,486	-3,486	-3,520	-1,464	-3,520
p değeri	0,000	0,000	0,000	0,143	0,000

Tablo 4: Kontrol grubu ile ozon grubu arasında tüm histopatolojik parametrelerin karşılaştırılması

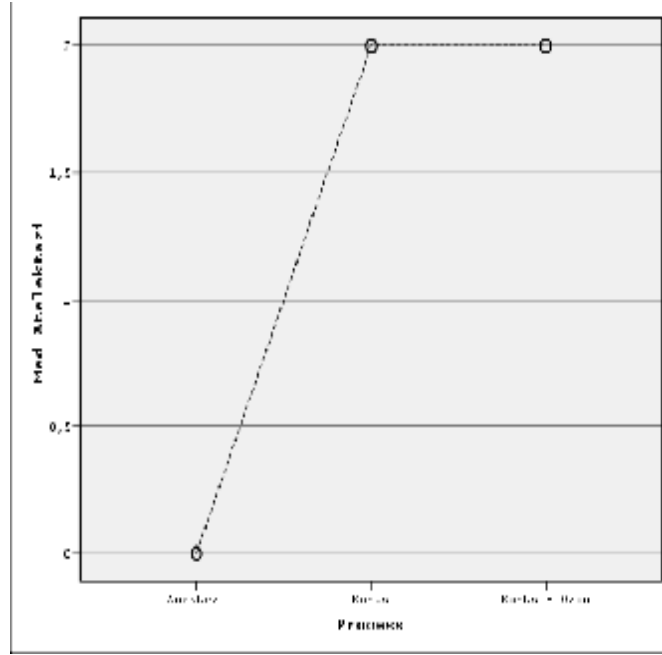
	Atektazi	Hücre Yoğunluğu	Perivasküler mononükleer inflamasyon derecelendirilmesi	Bronşiyal hasarı derecelendirilmesi	Lökositik İnfiltrasyon
Mann-Whitney U	0,000	0,000	0,000	20,000	0,000
Wilcoxon W	36,000	36,000	36,000	56,000	36,000
Z	-3,356	-3,356	-3,395	-1,569	-3,395
p değeri	0,001	0,001	0,001	0,117	0,001

Tablo 5: Travma grubu ile ozon grubu arasında tüm histopatolojik parametrelerin karşılaştırılması

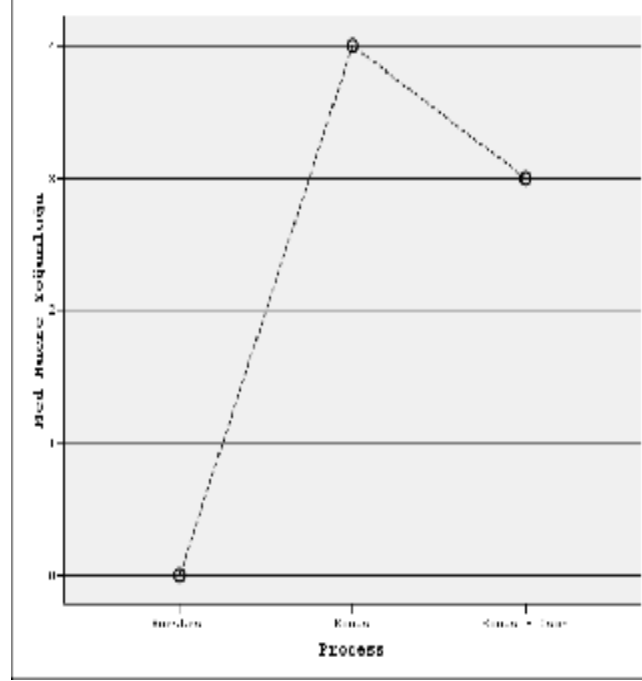
	Atektazi	Hücre Yoğunluğu	Perivasküler mononükleer inflamasyon derecelendirilmesi	Bronşiyal hasarı derecelendirilmesi	Lökositik İnfiltrasyon
Mann-Whitney U	26,500	22,500	22,500	27,000	22,500
Wilcoxon W	62,500	50,500	50,500	63,000	50,500
Z	-0,204	-0,735	-0,735	-0,151	-0,735
p değeri	0,838	0,462	0,462	0,880	0,462

Tablo 6: Tüm gruplarda hücre tipinin dağılımı

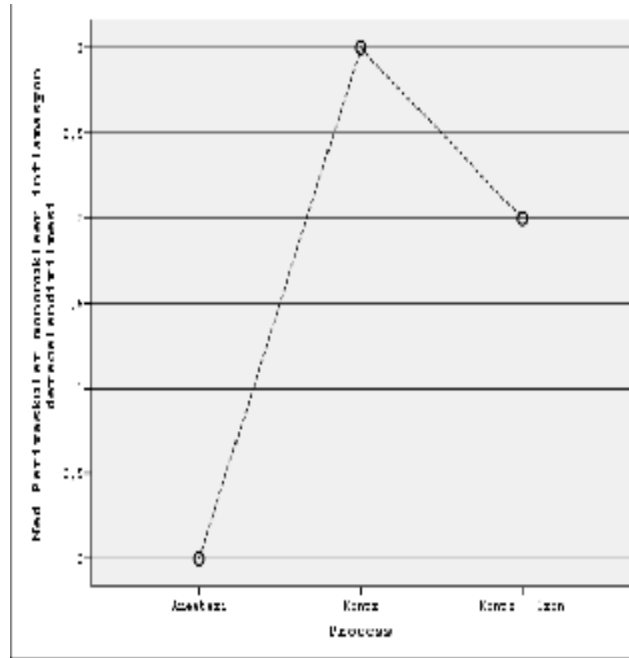
			Gruplar			Toplam
			Anestezi	Kontüzyon	Kontüzyon + Ozon	
Hücre Tipi	Normal hücre dağılımı	Count	6	0	0	6
		Row %	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%
	Makrofaj hakimiyeti	Count	2	0	0	2
		Row %	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%
	Revaskülarizasyon	Count	0	4	4	8
		Row %	0,0%	50,0%	50,0%	100,0%
	Fibroblastların görüldüğü evre	Count	0	4	3	7
		Row %	0,0%	57,1%	42,9%	100,0%
Total		Count	8	8	7	23
		Row %	34,8%	34,8%	30,4%	100,0%



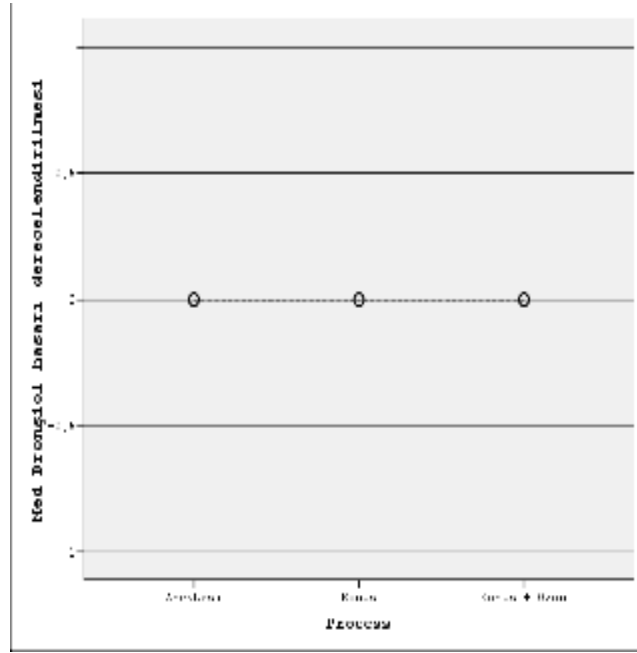
Grafik 1: Gruplar arasında ateletazi görülme sıklığına ait grafik



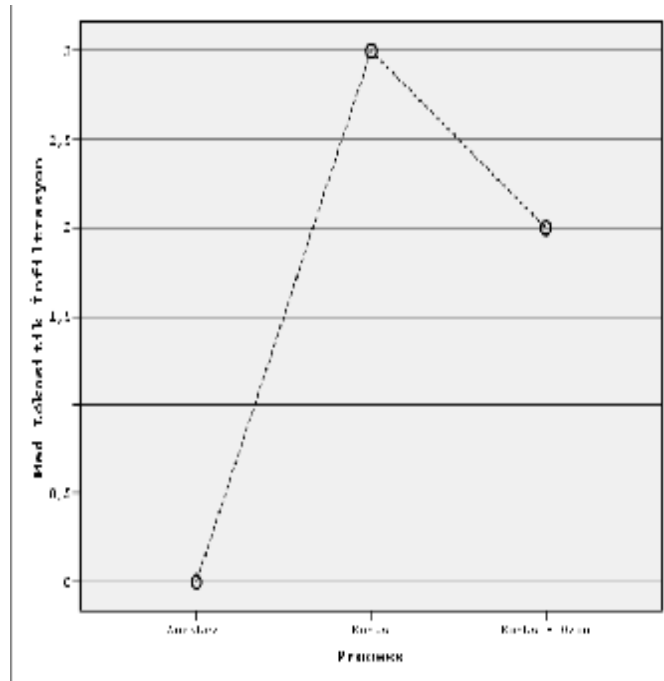
Grafik 2: Gruplar arasında hücre yoğunluğunun karşılaştırılmasına ait grafik



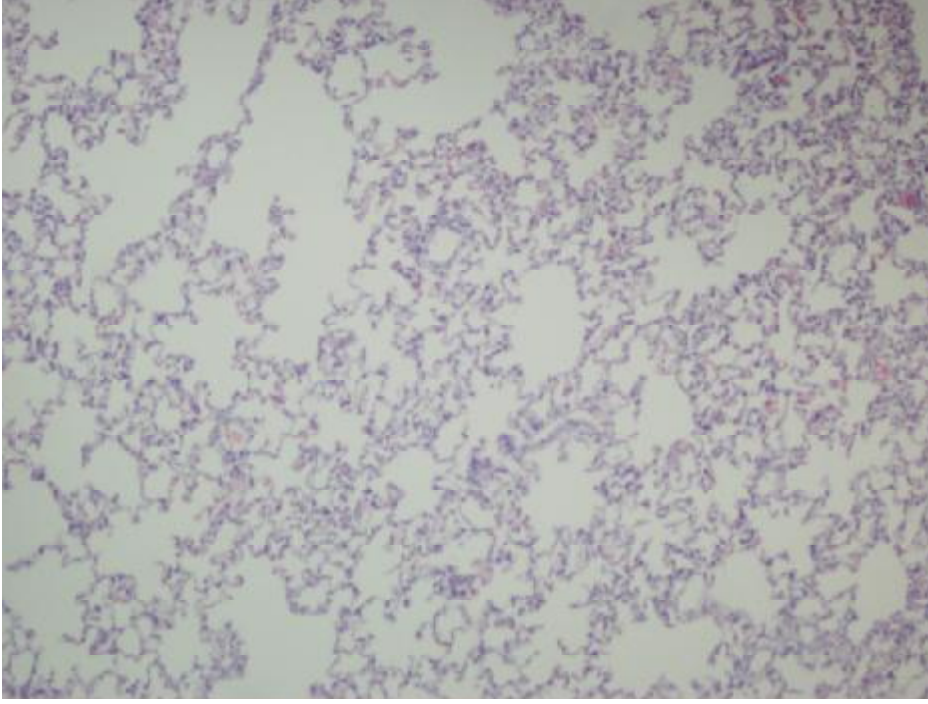
Grafik 3: Gruplar arasında perivasküler mononükleer inflamasyonun karşılaştırılmasına ait grafik



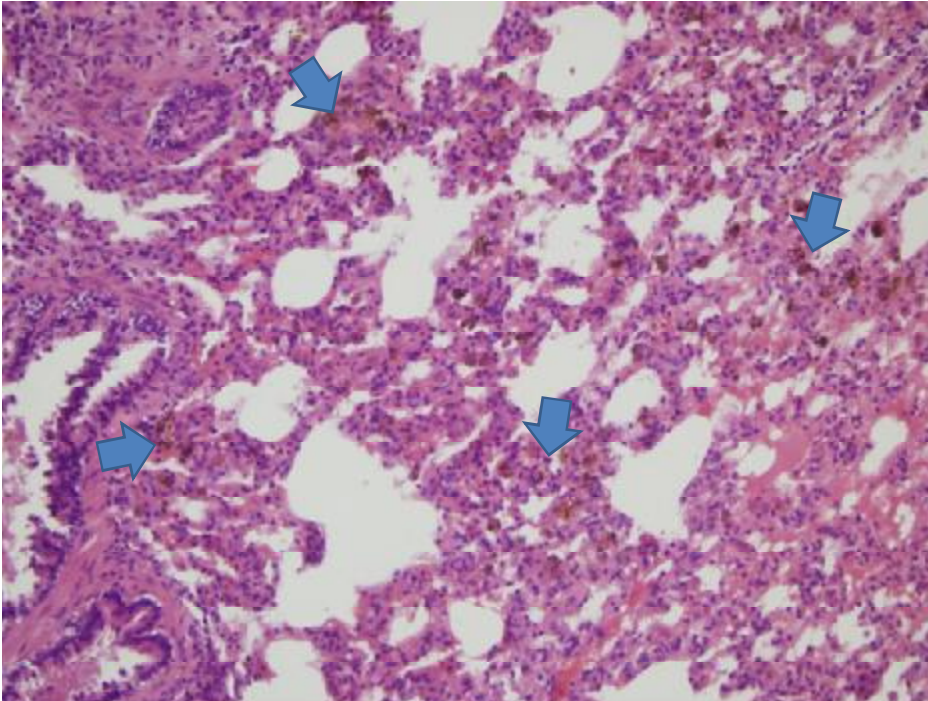
Grafik 4: Gruplar arasında bronşiyal hasarın karşılaştırılmasına ait grafik



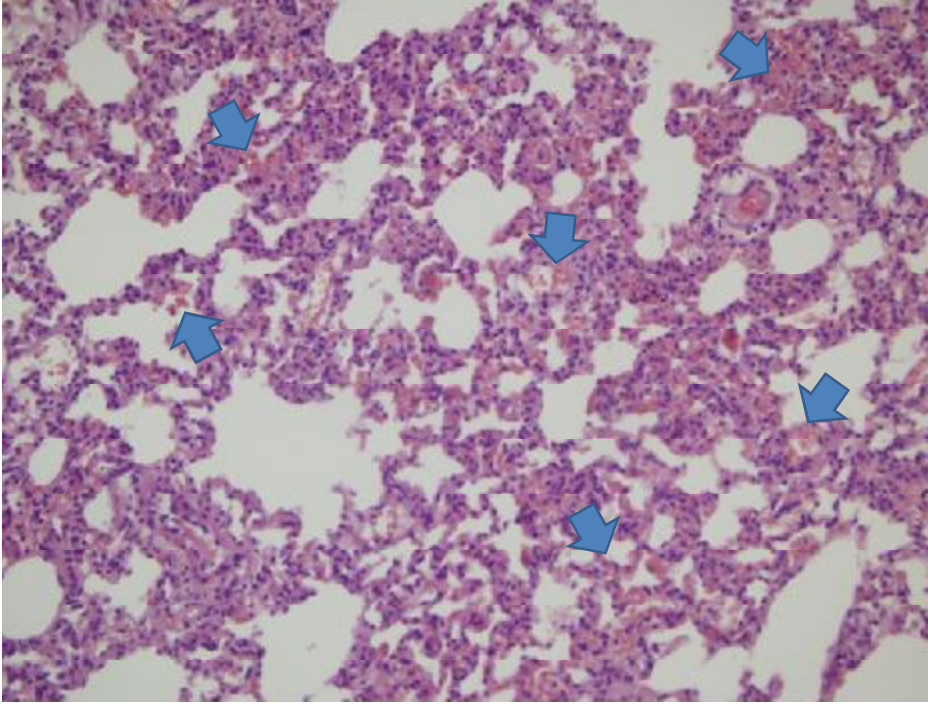
Grafik 5: Gruplar arasında lökositik infiltrasyonun karşılaştırılmasına ait grafik



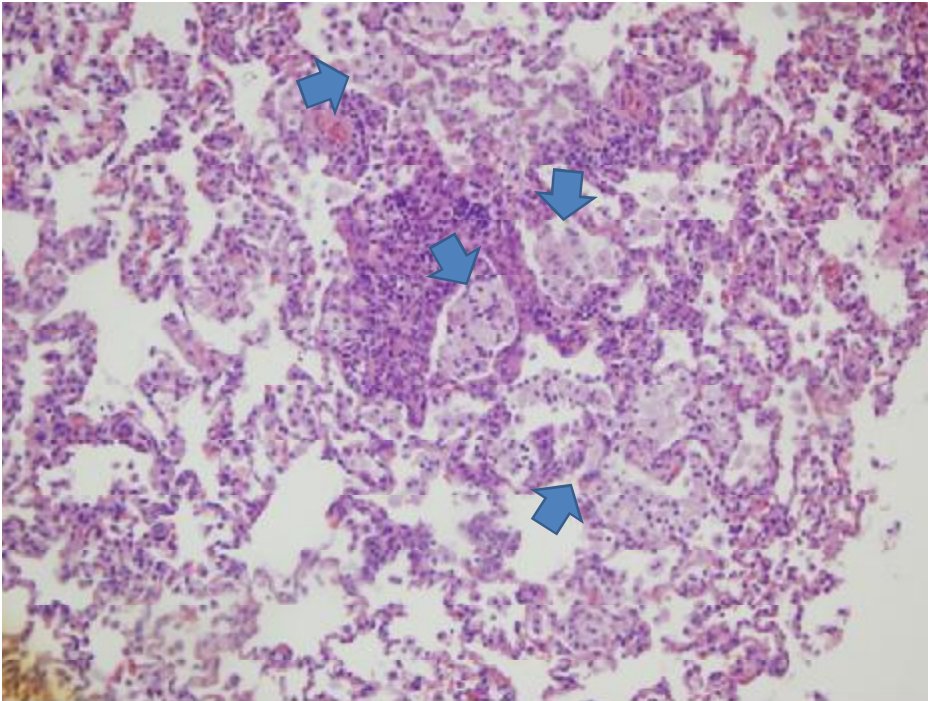
Resim 5: H&E x 100 bakıda normal rat akciğer dokusu histopatolojik görüntüsü



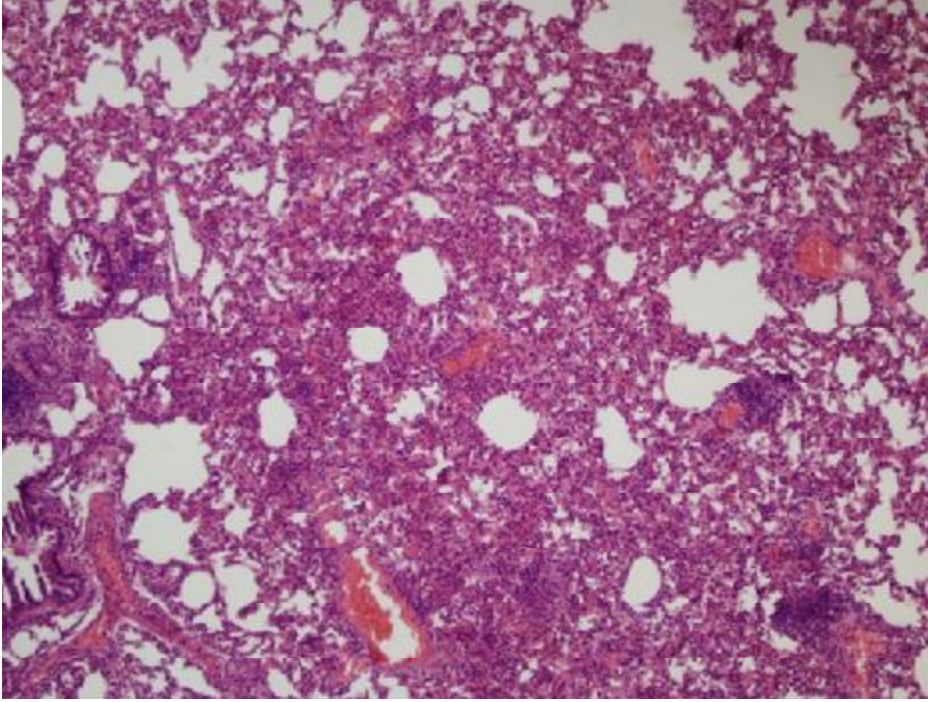
Resim 6: H&E x 200 bakıda kontüzyon sonrası rat akciğer dokusunda pigment birikiminin histopatolojik görüntüsü



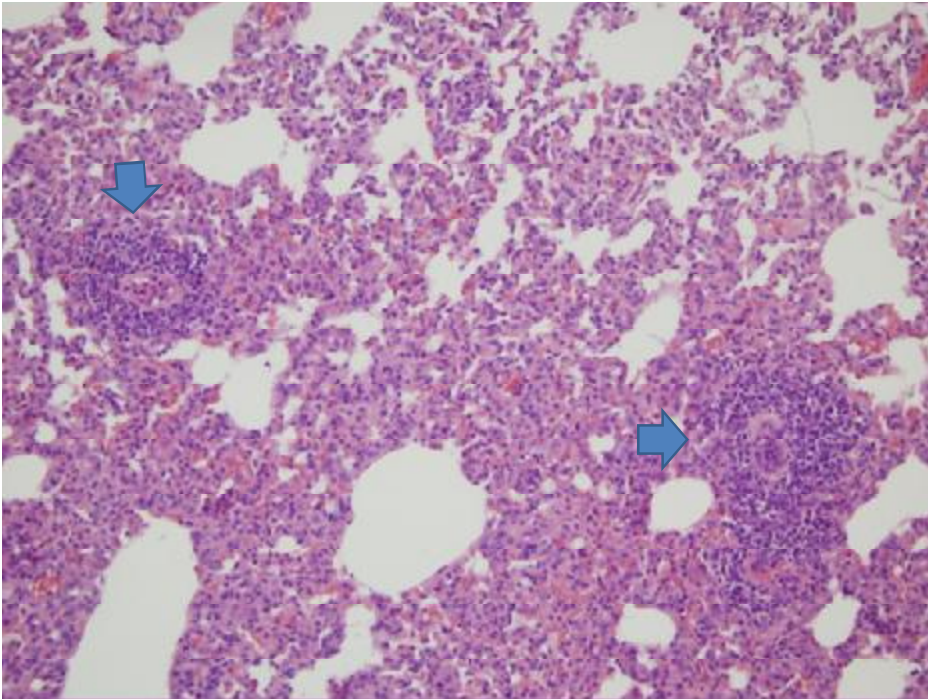
Resim 7: H&E x 200 bakıda kontüzyon sonrası rat akciğerinde intraalveolar kanama odakları



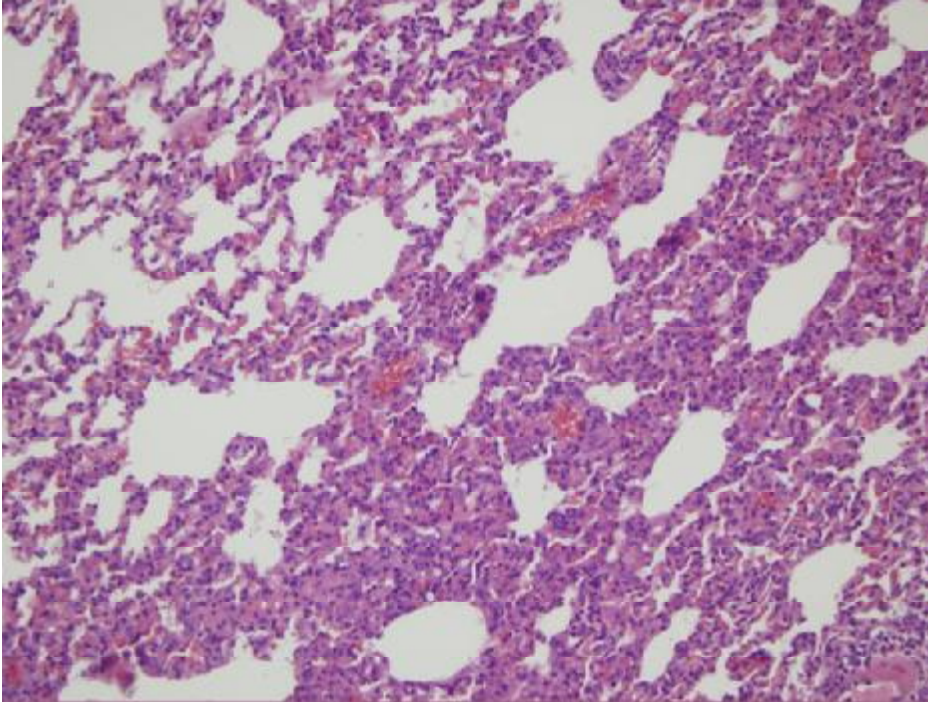
Resim 8: H&E x 200 bakıda kontüzyon sonrası rat akciğerinde intraalveolar makrofajlar



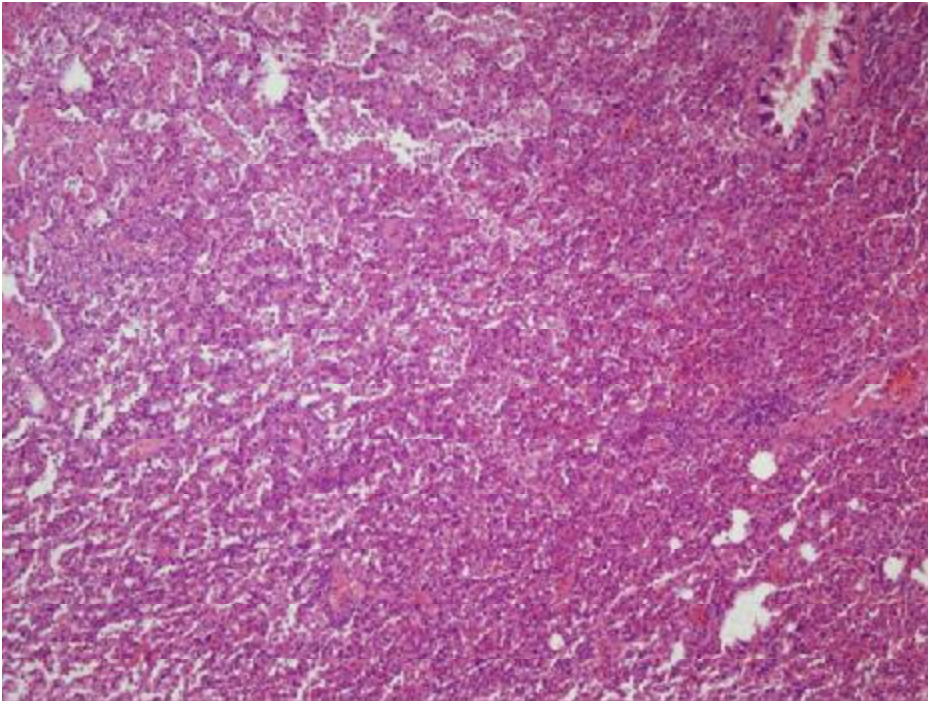
Resim 9: H&E x 100 bakıda rat akciğer dokusunda parankimde enflamasyon odağı histopatolojik görünümü



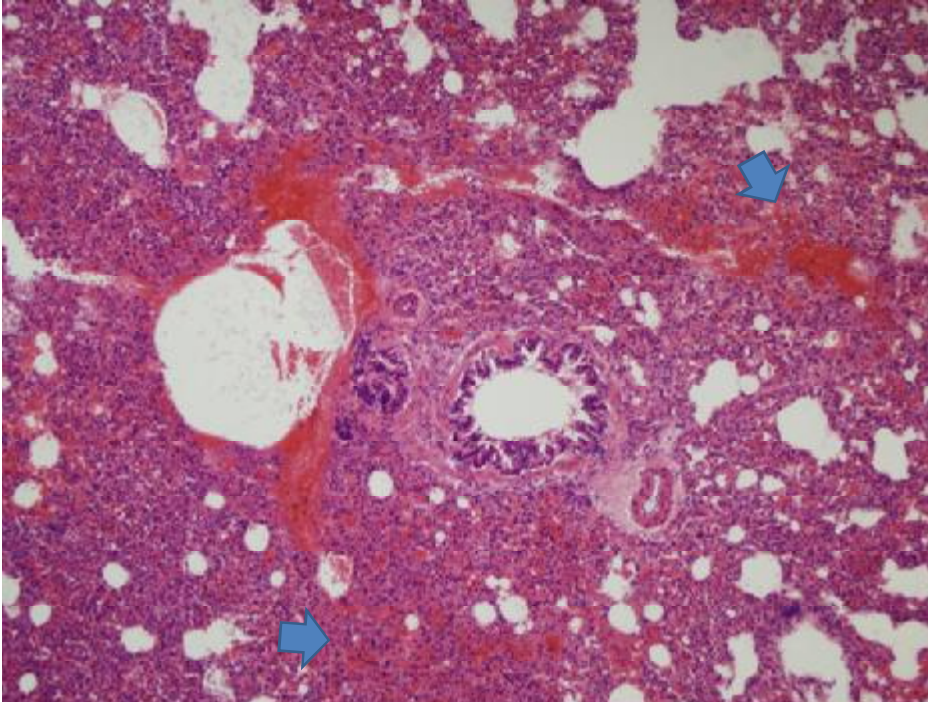
Resim 10: H&E x 200 bakıda rat akciğer dokusunda damar çevresinde lenfoplazmositer hücre infiltrasyonunun histopatolojik görünümü



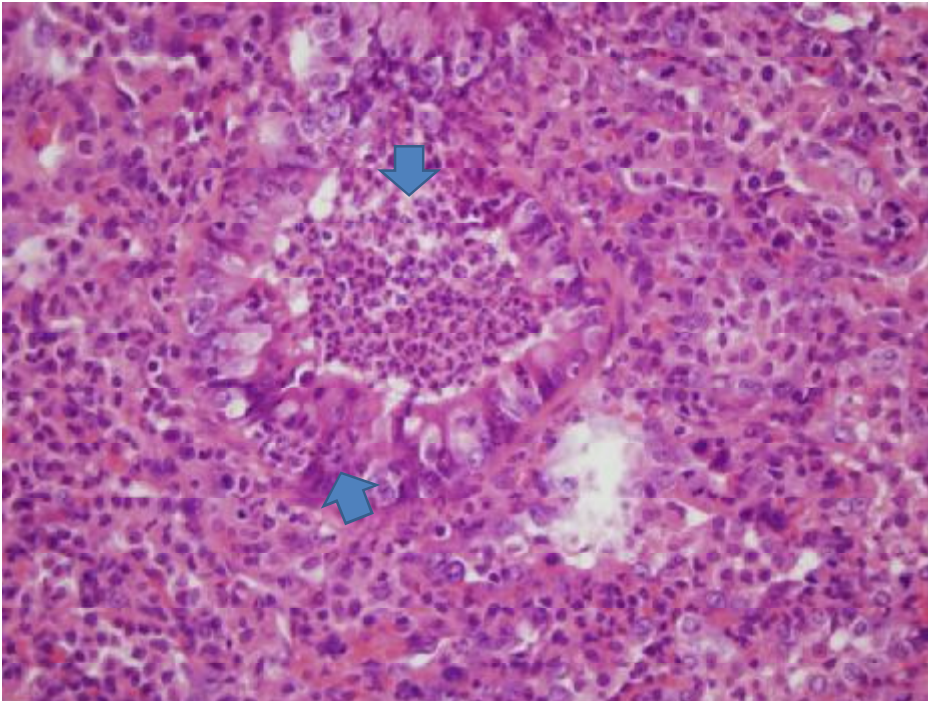
Resim 11:H&E x 200 bakıda kontüzyon sonrası rat akciğeri dokusunda alveol yapısında bozulma



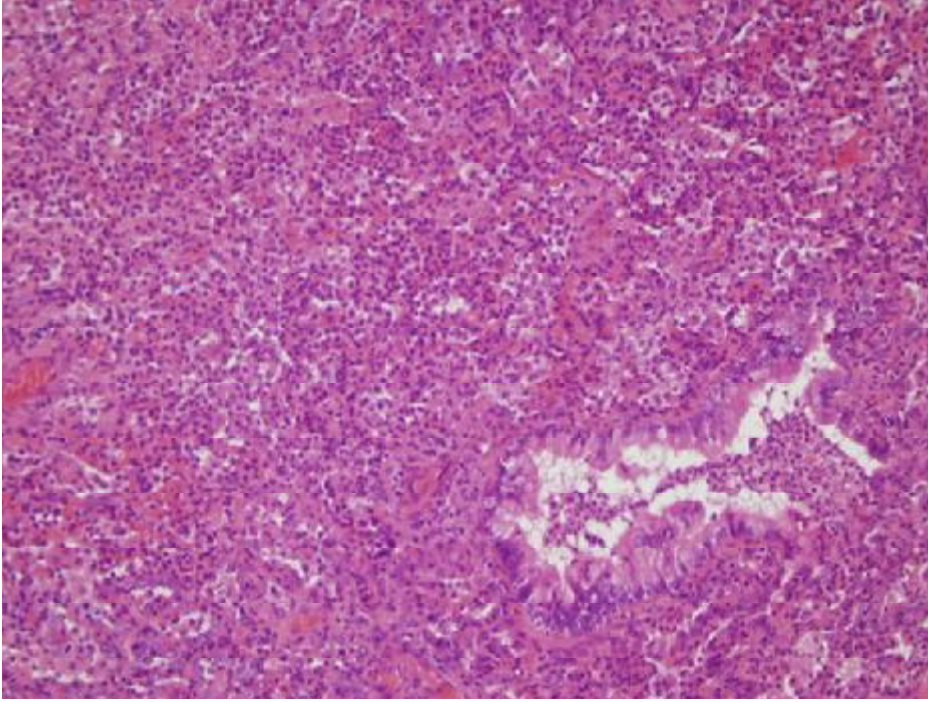
Resim 12: H&E x 100 bakıda kontüzyon sonrası rat akciğerinde lenfositler zengin infiltrat varlığının histopatolojik görüntüsü



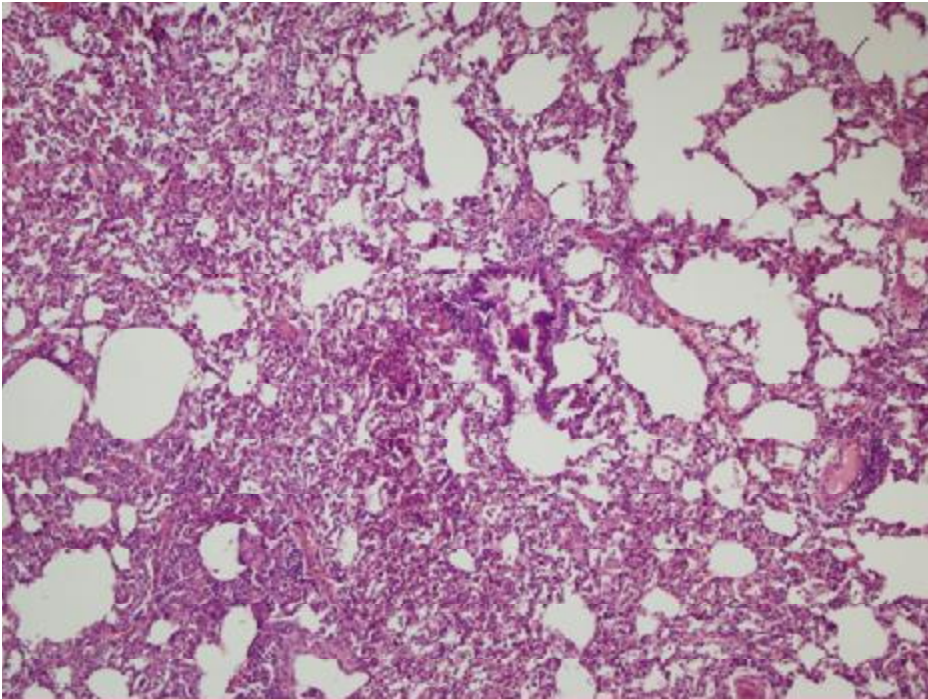
Resim 13: H&E x 200 bakıda kontüzyon sonrası rat akciğerinde yoğun parankimal kanama odakları



Resim 14: H&E x 400 bakıda kontüzyon sonrası rat akciğerinde bronşiol epiteli içerisi ve bronşiol lümeninde PNL' den zengin inflamatuvar hücresel infiltratın histopatolojik görüntüsü



Resim 15:H&E x 200 bakıda kontüzyon sonrası rat akciğeri parankiminde PNL ve MNL' leri içeren yoğun inflamatuvar infiltratın histopatolojik görüntüsü



Resim 16:H&E x 100 bakıda kontüzyon sonrası rat akciğeri dokusunda ozon tedavisi sonrası histopatolojik görüntü

5-TARTIŞMA

Akciğer kontüzyonuna maruz kalan olgularda, travmanın şiddeti ile ilişkili olacak şekilde basit oksijen desteğinden, ciddi mekanik ventilasyon gereksinimine kadar varan değişik tedavi yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Günümüzde, henüz akciğer kontüzyonunda kabul gören ve standardize edilmiş bir tedavi mevcut değildir. Akciğer kontüzyonlu hastaların klinik süreçlerinde direk mekanik yırtılma yaratan birincil hasarın yanında inflamatuvar cevap ve oksidatif stres kaskadının neden olduğu ikincil hasar da etkilidir. Literatürdeki deneysel modellerde, hasar sürecinde rol oynayan patofizyolojik mekanizmaların değişik evrelerine etkili olduğu düşünülen ajanlar kullanılarak değişik tedavi yaklaşımları denenmiştir (14,72,73).

Çalışmamızda ratlarda oluşturulan deneysel model ile, künt göğüs travmasının eşlik ettiği akciğer kontüzyonunun tedavisinde, pek çok doku üzerinde etkisi daha önceden gösterilmiş olan ozonun inflamasyon üzerine etkili olup olmadığını araştırdık.

Çalışmamızda künt toraks travması sonucu oluşan direk mekanik hasar ve hasara ikincil geliştiği düşünülen inflamasyon üzerine ozon tedavisinin etkileri, elde edilen histopatolojik sonuçlar ile değerlendirildi. Deneysel toraks travması modelinde yapılan çalışmalarda travma sonrası akut bir inflamatuvar yanıt geliştiği fakat bu yanıtın zamanla azalarak 7. gün civarında normale döndüğü bildirilmiştir (90). Son dönemlerde yapılan araştırmalar travmayı takiben gelişen sistemik inflamatuvar süreçler, inflamatuvar yanıtların kontrol altına alınması ve vücut savunmasını destekleyen prosedürlerin geliştirilmesi üzerinde yoğunlaşmaktadır. Bu çalışmadaki amacımız travmalarda oluşan sistemik inflamatuvar yanıtlar, akciğer dokusunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler üzerine yapılan araştırmalara katkı sağlamaktır. Bu doğrultuda çalışmamız; künt toraks travması yapılarak oluşturulan akciğer kontüzyona bağlı akciğer hasarının düzeltilebilmesi amacı ile ozon tedavisinin denendiği ve sonuçlarının da birbirleri ile karşılaştırıldığı bir çalışma olması bakımından önemlidir.

Literatürdeki kontüzyon modellerin temel amacı; kontüzyonda tedavi edici veya klinik durumun ağırlaşmasını engelleyici olduğu düşünülen ajanların spesifik bir tedavi modalitesi olarak kullanılabilirliğini araştırmaktır. Bu nedenle yapılmış çalışmalarda bir çok ajanlar denenmiştir. Swennevig ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, metilprednizolonun künt göğüs travmalı ve akciğer kontüzyonlu hastaların mortalite oranlarında azalma ve bazı ciddi hemodinamik etkilerinde düzelme sağladığı bildirilmiştir (72). Rashid ve arkadaşları ise tedavinin 80 kişilik kontüzyon gruplarının %10'unda steroid ve antibiyotiği birlikte kullanmışlardır (74).

Üzerinde sayısız araştırmanın yapıldığı N-asetilsistein (NAC) kullanımının akciğer hasarında koruyucu (antioksidan) etkisinin olduğu da yine birçok çalışmada gösterilmiştir (10,75,76). N-asetilsistein kullanımına ek olarak Alkan ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda akut akciğer hasarında erdostein'in de akciğer dokusunu koruyucu etkisinin olduğu sonucuna varmışlardır (77). Kontüzyon tedavisinde kullanılabilirliği denenen diğer bir ajan ise arginin-vazopressin olmuştur. Feinstein ve arkadaşları ciddi göğüs travmasına maruz kalmış hastalarda erken dönemde AVP kullanımının ihtiyaç duyulan sıvı replasman miktarını azalttığını, mortaliteyi düşürdüğünü ve akciğer fonksiyonlarında iyileşme sağladığını gösterdiler. (78).

Literatürdeki deneysel modellerin temel amacı; belli gruplara belli miktarda travma şiddetini standart olarak uygulayabilmek temeline dayanmaktadır (79, 80, 81). Kullanılan çeşitli modeller mevcuttur. Bizim çalışmamızda künt toraks travması oluşturmak için hazırladığımız model literatür bilgileri ve merkezimizin araştırma olanakları ışığında planlanıp geliştirdiğimiz özgün bir modeldir (Resim1). Bu yaralanma modelinin travma şiddetinin değişkenliğinin ve standardizasyonun kolayca sağlanması, tekrar edilebilme özelliği, uygulamada kolaylık, taşınabilirlik ve son olarak maliyetinin çok uygun olması sayılabilir. Bu model standart travma uygulanabilirliği açısından uygun bir yöntemdir.

Başlıca inflamatuvar değişiklikler ise; inflamatuvar mediyatörlerin artışı, polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu, hakim olan inflamatuvar hücre tipi ile bunlara sekonder gelişebilecek alveoler ödemini içermektedir. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki akciğer yaralanmasının temeli inflamasyona dayanır ve doku hasarına neden olan major etkili hücreler nötrofillerdir (82,83,84)

Literatür verileri ışığında ozon tedavisi etkisini; dezenfektan, immunomodulator, hipoksik dokularda vazodilatasyon ile oksijen sağlanması ve hemoglobin-oksijen (HbO₂) dissosiyasyon eğrisinde sağa kayma, büyüme faktörlerinin salınımı dolayısıyla doku iyileşmesini hızlandırarak, ani hemostatik değişim nedeniyle hormonal salınımına etki ile sağlamaktadır. Bir çok çalışmada görüldüğü üzere ozon, en önemli etkisini antioksidan savunma kapasitesini artırarak, genel ve lokal bir antiinflamatuvar etki ile sağlamaktadır (85,86,87). Bernardino Clavo ve arkadaşları bir olgu sunumunda, ozonun hasarlı dokuda oksidatif hasarı geri çevirerek etki gösterdiğini bildirmişlerdir (88).

Raghavendran ve ark yaptığı çalışmada; akciğer kontüzyonu uygulanan ratların ilk 24 saatte histopatolojik olarak değerlendirilmesinde nötrofil hakimiyeti ve 48 saatte devam eden lenfosit hakimiyeti ve intraalveolar ödem tesbit etmişlerdir. Bu çalışmada travmadan 24 saat

sonra parankimal ve perivasküler nötrofil ve mononükleer hücre infiltrasyonunun başladığı ancak 48 saat sonra anlamlı olarak arttığı saptanmıştır. İnflamasyonun artması ile 48. saatin sonunda bronşiyal hasar geliştiği gözlenmiştir (3,45). Bu çalışmada ayrıca, akciğer kontüzyonunda sürfaktan disfonksiyonu ile atelektatik değişikliklerin ortaya çıktığı da gösterilmiştir. Atelektatik değişiklikler ilk 24 saatte ortaya çıkmakta 48. saatte ise düzelme eğilimi göstermektedir.

Çalışmamızda kontüzyona maruz kalan ratlarda solunum ve kardiyak performans makroskobik olarak yapılan gözlemlerle subjektif olarak değerlendirildi. Tüm ratlarda gözlemlendiğimiz ve künt travmadan hemen sonra ortaya çıkan dikkat çekici bir bulgu akut geçici solunum depresyonu ve hafif siyanoz idi. Ratlarda bu durumun saniyeler içerisinde düzeldiği ve spontan düzenli solunumu idame ettirdikleri gözlemlendi. Künt travma sonrası gözlenen 5 ölüm vakasının da bu akut solunumsal depresyon ile ilgili olduğunu düşünmekteyiz, zira bu ratların otopsisinde herhangi bir kardiyak ya da pulmoner parankimal laserasyon veya hemotoraks tespit edilmedi.

Gonzalez ve arkadaşları, sisplatinin tetiklediği nefrotoksisiteye ozon tedavisinin etkisini araştırmak için 5 gün boyunca her gün, rektal yoldan 3 ayrı rat grubu için 3 ayrı dozda (10 µgr/ml medikal ozon 0.36 mg/kg dozda, 30 µgr/ml medikal ozon 1.1 mg/kg dozda ve 50 µgr/ml medikal ozon 1.8 mg/kg dozda) kullanmış ve ozon tedavisini ise sisplatin verildikten sonra uygulamıştır. Bu çalışma sonucunda 1.1 mg/kg dozda ozonun diğer iki dozdan daha etkili olduğunu belirtmişlerdir. Yazarlar ayrıca rektal insüflasyonun ratlar için pratik ve uygulanabilir olduğunu belirtmişlerdir (89). Bu literatür gözönüne alınarak, çalışmamızda belirtilen dozda ve sürede ozon tedavisi standardize edilmiştir.

Çalışmamızda histopatolojik değerlendirme; hücre yoğunluğu, hücre tipi, perivasküler mononükleer inflamasyon, alveolar ödem, bronşiyal hasar ve lökosit infiltrasyonu açısından yapıldı. Tüm travma grubundaki ratların akciğer dokusunda kontrol grubundaki ratların akciğer dokularına göre hücre yoğunluğu, perivasküler mononükleer inflamasyon, ve lökosit infiltrasyonunun istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görüldü ($p<0,05$).

Buna karşın kontrol grubu ile travma ve ozon grupları karşılaştırıldığında alveolar ödem ve bronşiyal hasar açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,05$). Diğer histopatolojik veriler değerlendirildiğinde ise kontrol grubunda, travma ve ozon gruplarından istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüklük saptandı ($p<0,05$). Bu durum çalışmamızda

istenilen travma modelinin oluşturulduğunu ve travmaya sekonder belirgin bir inflamatuvar yanıt geliştirildiğini desteklemektedir.

Alt grup analizlerinde ise travma grubu ile ozon tedavisi uygulanan gruplar karşılaştırıldı. Histopatolojik veriler açısından her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Bulgularımız ozon tedavisinin inflamasyonun 5. gününde henüz inflamatuvar yanıtı kontüzyon grubuyla kıyaslanabilir düzeyde azaltmadığı yönündedir .

Gruplarımızda inflamatuvar evreler ve hücre dağılımları karşılaştırıldığında travma ve ozon tedavisi uygulanan gruplarda inflamasyonun 5. gününde ileri inflamatuvar değişiklikler (revaskülarizasyon ve fibroblast aktivasyonu) saptanmıştır. Her iki grupta da inflamatuvar yanıt paterni açısından anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Bu durum ozon tedavisinin akut inflamatuvar yanıtı azaltmadığını desteklemektedir. Ancak histopatolojik olarak kronik inflamatuvar bulgulardan olan fibrozise her iki grupta da rastlanmamıştır. Bu nedenle 5 günden daha uzun dönemde gerçekleşmesi beklenen kronik inflamatuvar değişiklikler üzerine ozon tedavisinin etkisi değerlendirilememiştir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- Sonuç olarak, ratlarda lokalize travmanın yarattığı birincil ve ikincil hasarın azaltılmasında ozon tedavisinin akut ve subakut inflamatuvar yanıt üzerine herhangi bir olumlu etkisi gösterilememiştir.
- Ozon tedavisinin antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerinin ; Kronik patolojilerde ve akut patolojilerde ayrı ayrı incelenmesi gerektiğini düşünüyoruz.

7-KAYNAKLAR

- 1.Eren MN, Balcı AE. Toraks Travmaları, Göğüs Cerrahisi, Ankara, Turk Göğüs Cerrahisi Derneği. 661-688İ, 2003.
- 2.Battissella FD, Benfield JR, Blunt and Penetrating Injuries of the Chest Wall, Pleura, Lungs. Genaral Thoracic Surgery, Fifth Edition, Philadelphia. 815-836, 1999.
- 3.Raghavendran K, Davidson BA, Woytash JA, Helinski JD. The evolution of isolated bilateral lung contusion from blunt chest trauma in rats: cellular and cytokine responses. Shock 2005; 24(2):132-138.
- 4.Raghavendran K, Davidson BA, Helinski JD, Marschke CJ. A rat model for isolated bilateral lung contusion from blunt chest trauma. Anesth Analg 2005;101(5):1482-1489.
- 5.Liener UC, Knoferl MW, Strater J, Barth TF, Pauser EM, Nüssler AK et all. Induction of apoptosis following blunt chest trauma. Shock 2003; 20(6):511-516.
- 6.Oppenheimer L, Craven KD, Forkert L. Pathophysioogy of pulmonary contusion in dogs. J Appl Physiol. 47:718, 1979.
- 7.Garzon A, Seltzer B, Karlson KE. Physiopathology and treatment of pulmonary contusions. J Trauma. 10:719, 1970.
- 8.Strohmaier W, Trupka A, Pfeiler C. Bilateral lavage with diluted surfactan improves lung function after unilateral lung contusion in pigs. Crit Care Med; 33:2286–93, 2005.
- 9.Pepe PE, Potkin RT, Reus DH, Hudson CD, CarricaCJ. Clinical predictors of the adult respiratory distress syndrome. Am J Surg 1982;144:124-130.
- 10.Akca T, Canbaz H, Tataroglu C. The effect of N-acetylcysteine on pulmonary lipid peroxidation and tissue damage. J Surg Res. 129(1):38-45, 2005.
- 11.Bocci V. Physical-chemical properties of ozone. Natural production of ozone. The toxicology of ozone. In: Ozone. A new medical drug. Dordrecht: Springer; 2005. vol Chapter 1, p. 5-8.
- 12.Bocci VA. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. Arch Med Res 2006;37(4):425-35.
- 13.Re L, Mawsouf MN, Menendez S, Leon OS, Sanchez GM, Hernandez F. Ozone therapy: clinical and basic evidence of its therapeutic potential. Arch Med Res 2008;39(1):17-26.
- 14.Simon B, Ebert J, Bokhori F. Practice Management Guideline for Pulmonary Contusion- Flail Chest. EAST Practice Management Workgroup for Pulmonary Contusion- Flail Chest, 2006.

15. Miller PR, Croce MA, Bee TK, Qaisi WG, Smith CP, Collins GL, Fabian TC. ARDS after pulmonary contusion: accurate measurement of contusion volume identifies high-risk patients. *J Trauma*. 51(2):223-8, 2001.
16. Yüksel M, Kalaycı G. Künt Göğüs Travmaları Göğüs Cerrahisi 1. Baskı. İstanbul. Merajans Ltd. Şti. 2001 ; 447-464
17. Hoyt DB, Potenza BM, Cryer HG et al. Trauma. In: Greenfield LJ, Mullholland MW, Oldham KT, Zelenock GB, Lilimoe KD eds. *Surgery: scientific principles and practise*. 2nd edn. Philadelphia: Lippincott -Raven 1997, pp. 267-321.
18. Fallon M. Lung injury in intact thorax with report of a case. *Br J Surg*. 28(109):39, 1940.
19. Laurent EA. Rupture of both lungs without external injury. *Lancet*. 2;225, 1883.
20. King JD, Curtis GM. Lung injury due to the detonation of high explosive. *Surg Gynecol Obstet*. 74:53, 1942.
21. Hooker Dr. Physiological effects of air concussion. *Am J. Physiol*. 67:219, 1924.
22. Clark SL, Ward JW. The beffect of rapid compression waves on animals submerged in water. *Surg Gynecol Obstet*. 77:403, 1943.
23. Cohn SM, Zieg PM. Experimental pulmonary contusion: review of the literature and description of a new porcine model. *J Trauma* 1996;41:565-571.
24. Kishikawa M, Yoshioka T, Shimazu T, Sugimoto H, Yoshioka T, Sugimoto T. Pulmonary contusion causes long-term respiratory dysfunction with decreased functional residual capacity. *J Trauma*. 31 (9):1203-8, 1991.
25. Huller T, Bazini Y. Blast injuries of the chest and abdomen. *Arch Surg*. 100:24, 1970.
26. Demling RH, Pomfret EA. Blunt chest trauma. *New Horizons*. 1:402, 1993.
27. Renate Viebahn-Haensler *Ozonun Tıpta Kullanımı*, 2006
28. Knoferl MW, Liener UC, Seitz DH et all. Cardiopulmonary, histological, and inflammatory alterations after lung contusion in a novel mouse model of blunt chest trauma. *Shock* 2003;19:519-525.
29. Kelly ME, Miller PR, Greenhaw JJ. Novel resuscitation strategy for pulmonary contusion after severe chest trauma. *J Trauma*. 55: 64-105, 2003.
30. Knight PR, Rutter T, Tait AR, Coleman E, Johnson K. Pathogenesis of gastric particulate lung injury: a comparison and interaction with acidic pneumonitis. *Anesth Analg* 1993;77:754-760.

- 31.Raghavendran K, Notter RH, Davidson BA et al. Lung Contusion: Inflammatory Mechanisms and Interaction with Other Injuries. *Shock* 2009; 32(2):122-130.
- 32.McAuley DF, Frank JA, Fang X, Matthay MA. Clinically relevant concentrations of beta2-adrenergic agonists stimulate maximal cyclic adenosine monophosphate-dependent airspace fluid clearance and decrease pulmonary edema in experimental acid-induced lung injury. *Crit Care Med* 2004;32:1470-1476.
- 33.Halliwell, B. Reactive oxygen species in living system: source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med* 1991;91:14-21.
- 34.Serafini, M. Del Rio, D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the tool? *Redox Report* 2004;9:145-152.
- 35.Erden, M. Serbest radikaller. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 1992, 12:201-207
- 36.Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 1989;7:320-365.
- 37.Ischiropoulos H, Zhu L, Beckman JS. Peroxynitrite formation from macrophage-derived nitric oxide. *Arch Biochem Biophys*. 298: 446-51, 1992.
- 38.Roth E, Manhart N, Wessner B. Assessing the antioxidative status in critically ill patients. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004;7:161-168.
- 39.Metnitz PGH, Bartens C, Fischer M, Fridrich P, Steltzer H, Druml W. Antioxidant status in patients with acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 1999;25:180-185.
- 40.Clark SL, Ward JW. The beffect of rapid compression waves on animals submerged in water. *Surg Gynecol Obstet*. 77:403, 1943.
- 41.Pperl M, Gebhard F, Bruckner UB, Ayala A, Braumuller S, Buttner C, Kinzl L, Knoferl MW. Pulmonary contusion causes impairment of macrophage and lymphocyte immune functions and increases mortality associated with a subsequent septic challenge. *Crit Care Med*. 33(6):1351-8, 2005.
- 42.Thom SR. Carbon monoxid mediated brain lipid peroxidation in the rat. *J. Appl. Physiol*. 68(3) :997-1003, 1990.
- 43.Moomey CB, Fabian TC, Croce MA. Et al. Cardiopulmonary funtion after pulmonary contusion and partial liquid ventilation. *J Trauma*. 45:283-290, 1998.
- 44.Pperl M, Gebhard F, Knoferl MW. The pattern of performed cytokines in tissues frequently affected by blunt trauma. *Shock*; 19: 299-304, 2003.
45. Raghavendran K, Davidson BA, Knight PR et al. Surfactant dysfunction in lung contusion with and without superimposed gastric aspiration in a rat model. *Shock* 2008;30:508-517.

46. Willson DF, Chess PR, Wang Z, Notter RH. Pulmonary surfactant: biology and therapy. In Wheeler DAWH, Shanley TA (eds). *Pediatric Critical Care Medicine: Basic Science and Clinical Evidence*. London: Springer-Verlag. 2007:453-466.
47. Lockey DJ, Coats T, Parr MJ. Aspiration in severe trauma: a prospective study. *Anaesthesia* 1999;54:1097-1098.
48. Raghavendran K, Huebschmann JC, Helinski JD et al. Superimposed gastric aspiration increases the severity of inflammation and permeability injury in a rat model of lung contusion. *J Surg Research* 2008;1-10.
49. Lomoschitz FM, Eisenhuber E, Linnau KF, Peloschek P, Schoder M, Bankier AA. Imaging of chest trauma: radiological patterns of injury and diagnostic algorithms. *Eur J Radiol*; 48:61-70, 2003.
50. Moseley RV, Vernick JJ, Doty DB. Response to blunt chest injury: a new experimental model. *J Trauma*. 10(8):673-83, 1970.
51. Esme H, Solak O, Yavuz Y, Değirmenci B, Terzi Y. Bilgisayarlı tomografi ile saptanabilen toraks yaralanmalarının tedavi ve mortaliteye etkisi. *Türk Göğ Kalp Damar Cer Derg*. 14(3):222-226, 2006.
52. Bassett BE, Bennett PB. Introduction To The Physical And Physiological Bases Of Hyperbaric Therapy In. J.C.Davis & T.K. Hunt (Eds) *Hyperbaric Oxygen Therapy*. Undersea medical Society, Bethesda. 11-24, 1977.
53. Vidhani K, Kause J, Parr M. Should we follow ATLS guidelines for the management of traumatic pulmonary contusion: the role of non-invasive ventilatory support. *Resuscitation*. 52(3):265-8, 2002.
54. Hoff SJ, Shotts SD, Eddy VA, Morris JA Jr. Outcome of isolated pulmonary contusion in blunt trauma patients. *Am Surg*. 60(2):138-42, 1994.
55. Soysal O. Kunt Göğüs Travmaları, Göğüs Cerrahisi, İstanbul. 441-447, 2001.
56. Hoth JJ, Stitzel JD, Gayzik FS, Brownlee NA, Miller PR, Yoza BK, McCall CE, Meredith JW, Payne RM. The pathogenesis of pulmonary contusion: an open chest model in the rat. *J Trauma*. 61(1):32-44, 2006.
57. Hasan FM, Beller TA, Sobonya RE, Heller N, Brown GW. Effect of positive end-expiratory pressure and body position in unilateral lung injury. *J Appl Physiol*. 52(1):147-54, 1982.
58. Fink MP, Helmsmoortel CM, Stein KL, Lee PC, Cohn SM. The efficacy of an oscillating bed in the prevention of lower respiratory tract infection in critically ill victims of blunt trauma. A prospective study. *Chest*. 97(1):132-7, 1990.

59. Richardson JD, Adams L, Flint LM. Selective management of flail chest and pulmonary contusion. *Ann Surg.* 196(4):481-7, 1982.
60. Nogales, C., Ferrari, P., Kantarovich, E. Ozone therapy in medicine. *The Journal of Contemporary Dental Practice.* 9 (4), 75-84, 2008.
61. Madej, P., Plewka, A., Madej, J., Nowak, M., Plewka, D. Ozonotherapy in an induced septic shock. I. Effect of ozonotherapy on rat organs in evaluation of free radical reactions and selected enzymatic systems. *Inflammation* 30, 52-58, 2007
62. Bocci, V. Is it true that ozone is always toxic? The end of a dogma. *Toxicology and Applied Pharmacology* 216 (3), 493-504, 2006
63. Ohtsuka, H., Ogata, A., Terasaki, N., Koiwa, M., Kawamura, S. Changes in leukocyte population after ozonated autohemoadministration in cows with inflammatory diseases. *Journal of Veterinary Medical Science* 68 (2), 175-178, 2006.
64. Bocci, V. Can ozonotherapy be performed if the biochemistry of the process cannot be controlled? *Archives of Medical Research* 38, 584-585, 2007.
65. Bocci, V. The case for oxygen-ozonotherapy. *British Journal of Biomedical Science* 64(1), 44-49, 2007
66. Valacchi G., Fortino V., V. Bocci. The Dual action of ozone on the skin. *British Association of dermatologists* 2005; 153
67. Di Paolo N, Gaggiotti E, Galli F. Extracorporeal blood oxygenation and ozonation: clinical and biological implications of ozone therapy. *Redox Rep* 2005; 10(3): 121-30.
68. V. Bocci, C. Aldinucci, E. Borelli *Ozone in medicine: ozone science & engineering* 2000; E. Borelli vol 23, 207-217
69. Mustafa MG. Biochemical basis of ozone toxicity. *Free Radical Biol Med* 1990; 9: 245-65.
70. Bocci V, Borrelli E, Travagli V, Zanardi I. The Ozone Paradox: Ozone is a strong oxidant as well as a medical drug. *Med Res Rev.* 2009 Jul; 29(4): 646–82.
71. Van Gijn ME, Blankesteyn WM, Smits JF, Hierck B, Gittenberger-de Groot AC. Frizzled 2 is transiently expressed in neural crest containing areas during development of the heart and great arteries in the mouse. *Anat Embryol* 2001; 3: 185-92.
72. Svennevig JL, Pillgram-Larsen J, Fjeld NB. Early use of corticosteroids in severe closed chest injuries: a 10-year experience. *Injury.* 18(5):309-12, 1987.

- 73.Rogatsky GG, Mayevsky A. The life-saving effect of hyperbaric oxygenation during early-phase severe blunt chest injuries. *Undersea & Hyperbaric Med.* 34(2): 75-81, 2007.
- 74.Rashid MA, Wikstrom T, Ortenwall P. Outcome of lung trauma. *Eur J Surg.* 166(1):22-8, 2000.
- 75.Golowich SP and Kaplan SD. *Methods in Emzimology.* Newyork: Aca. Pres. 769, 1955.
- 76.Weinbroum AA, Kluger Y, Ben Abraham R, Shapira I, Karchevski E, Rudick V. Lung preconditioning with N-acetyl-L-cysteine prevents reperfusion injury after liver no flow-reflow: a dose-response study. *Transplantation.* 27;71(2):300-6, 2001.
- 77.Alkan A, Eroğlu F, Eroğlu E, Ergin C, Cerci C, Alsancak G. Protective effects of N-acetylcysteine and erdosteine on hemorrhagic shock-induced acute lung injury. *Eur J Emerg Med.* 13(5):281-5. 42, 2006.
- 78.Feinstein AJ, Cohn SM, King DR, Sanui M, Proctor KG. Early vasopressin improves short-term survival after pulmonary contusion. *J Trauma.* 59(4):876- 82; discussion 882-3, 2005.
- 79.Wang ND, Stevens MH, Doty DB, Hammond EH. Blunt chest trauma: an experimental model for heart and lung contusion. *J Trauma.*; 54 (4): 744-8, 2003.
- 80.Knofori MW, Liener UC, Seitz DH, Perl M, Bruckner UB, Kinzl L, Gebbari F. Cardiopulmonary, Histological, and İnflammatory Alterations After Lung Contusion in A Novel Mouse Model of Blunt Chest Trauma, Shock.; 19 (6): 519-25, 2003.
- 81.Proctor, Kenneth G. PhD Blood Substitutes and Experimental Models of Trauma, *J Trauma*, Volume 54(5) Supplement pp S106-S109, 2003.
- 82.Lee CC, Maril KA, Carter WA, Crupi RS. A current concept of traumainduced multiorgan failure. *Ann Emerg Med* 38:170-176; 2001.
- 83.Marshal JC. İnflammation, coagulopathy and pathogenesis of multiple organ disfunction syndrome. *Crit Care Med* 29: 99-106; 2001.
- 84.Windsor AC, Mullen PG, Fowler AA. Acute lung İnjury; what have we learned from animal models? *Am J Med SCI* 306; 111-116; 1993.
- 85.Washuttl J, Viebahn R and Steiner I. Immunological examinations in patients with chronic conditions under adnlinistration of ozone/oxygen mixtures. *Ozone Sci&Engin* 1989.
- 86.Bocci V, Paulesu L. Studies on the biological effects of ozone 1. Induction of interferon gamma on human leucocytes. *Haematologica.* 1990 Nov-Dec;75(6): 510-5

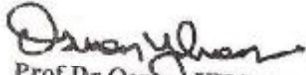
- 87.Biedunkiewicz B, Tylicki L, Rachon D, Hak L, Nieweglowski T, Chamienia A et al. Natural killer cell activity unaffected by ozonated autohemotherapy in patients with end-stage renal disease on maintenance renal replacement therapy. *Int J Artif Organs*. 2004 Sep;27(9):766-71
- 88.Bernardino Clavo et al. Intravesical Ozone Therapy for Progressive Radiation- Induced Hematuria: *The Journal Of Alternative And Complementary Medicine*. Volume 11, Number 3, 2005, Pp. 539–541
- 89.González R, Borrego A, Zamora Z, Romay C, Hernández F, Menéndez S, Montero T, Rojas E. Reversion by ozone treatment of acute nephrotoxicity induced by cisplatin in rats. *Mediators Inflamm*. 2004 Dec;13(5–6) :307–12.
- 90.Ward PA. Acute lung injury: how lung inflammatory response works. *Eur Respir J Suppl* 2003;44:22-23.

Toplantı No : 15/20/2011
Toplantı Tarihi : 28 Ekim 2011

Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanlığı'na

59/2011 Protokol No'lu: Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı Araştırma Görevlilerinden Dr.Fatma İlknur ULUGÜN'ün yürütücüsü olduğu "Akciğer kontüzyonunda ozon tedavisinin inflamatuvar yanıtı olan etkisi" isimli projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

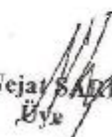

Prof.Dr.Osman YILMAZ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik
Kurul Başkanı

Prof.Dr.A.Necati GÖKMEN
Başkan Yardımcısı
(Topl.katılmadı)

Prof.Dr.Alper SOYLU
Üye(Topl.katılmadı)

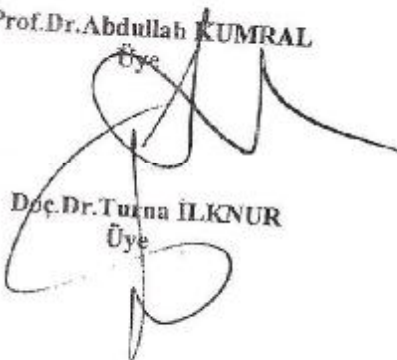
Prof.Dr.Ayşe GELAL
Üye (Topl.katılmadı)


Prof.Dr.Selman SÖKMEN
Üye


Prof.Dr.O.Nejat SALIHOĞLU
Üye

Prof.Dr.Abdullah KUMRAL
Üye

Prof.Dr. Hüseyin BASKIN
Üye (Topl.katılmadı)


Doç.Dr.Tuğra İLKNUR
Üye

Doç.Dr.H.Alper BAĞRIYANIK
Üye (Topl.katılmadı)

Doç.Dr.Tonay İNCEBOZ
Üye(Topl.katılmadı)


Vtr.Hekim Adnan SERPEN
Üye

Ayşe Nur BALIN
Üye

Doç.Dr.Sermin GENC
Üye

NOT: Projede yer alan sonuçların metin içinde **bold** karakter kullanılarak yapılması projenin incelenmesi açısından sağlıklı olacaktır.