

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

**SOL PNÖMONEKTOMİ YAPILAN
RATLARDA OZON TERAPİNİN
KONTRLATERAL AKCİĞER GELİŞİMİ
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Uzmanlık Tezi

Dr. Gün Murat EYÜBOĞLU

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÖNEN

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca yetişmemde büyük emekleri olan, çalışmalarımın planlanması, yürütülmesi ve değerlendirilmesinde ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Nezih Özdemir ve Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Aydın Şanlı' ya,

Bu tezin hazırlanmasında bilgi ve deneyimlerinin yanında, her zaman bana destek olan tez danışmanım Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Ahmet Önen' e,

Hayatın merdivenlerini tırmanırken mantığın, aklın ve sağduyumun sesi olarak bana rehberlik eden babam merhum Av. Can Eyüboğlu'na ve annem Ecz. Duygu Eyüboğlu' na,

Bana benden yakın bir nefes olan ikizim Dt. Tan Fırat Eyüboğlu'na

Tüm sıkıntılarda, gözünü kırpmadan ortağım olan Sayın Gökçe Elif Koç' a,

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

Göğüs Cerrahisi kliniğinde aynı servisi paylaştığım Uzm. Dr. Bekir Sami Karapolat, Uzm. Dr. Volkan Karaçam, Dr. İlknur Ulugün, Dr. Aslı Arslan, Dr. Hasan Ersöz, Dr. İsmail Ağababaoğlu, Dr. Zeynep Bilgi'ye,

Deneyisel çalışmalarım esnasındaki yardımları dolayısıyla Multidisiplin Labaratuvarı çalışanlarına,

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

Dr. Gün Murat EYÜBOĞLU

İzmir 2010

İÇİNDEKİLER:

1.ÖZET	II
2.SUMMARY	III
3.GİRİŞ ve AMAÇ	1
4.GENEL BİLGİLER	3
5.GEREÇ VE YÖNTEM	18
6.BULGULAR	24
7.TARTIŞMA.....	34
8.KAYNAKLAR.....	41

ÖZET:

Sol pnömonektomi yapılan ratlarda ozon terapinin kontrlateral akciğer gelişimi üzerine etkileri

Amaç: Pnömonektomi göğüs cerrahisinin en major ameliyatlarından biri olup artan akciğer kanseri oranları nedeniyle sıkça uygulanmaktadır. Pnömonektomi sonrası kısıtlanan solunum rezervi hasta hayat kalitesini düşüren postoperatif günlük aktivitelere geri dönüş zamanını, hastanede kalış süresini uzatan ve bakım masraflarını arttıran en önemli etkendir. Pnömonektomi sonrası kontrlateral akciğerde volüm, ağırlık, kollajen içeriği, protein ve hücre boyutları artar. Bu durum operasyon öncesi sınırlı solunum rezervine sahip olan hastalar için önemlidir. Rezidü akciğerde boyutsal artış sağlanması solunum fonksiyonlarının düzelmesine katkıda bulunacaktır. Bu amaçla kullanılan bir çok ajanın çok azında olumlu sonuç alınmıştır. Kısıtlı olmakla beraber yapılan çalışmalardan yola çıkarak pnömonektomi yapılmış ratlarda operasyon öncesi ve sonrası rektal yolla uygulancak ozon terapinin kalan akciğer dokusu üzerine etkilerini araştırmak amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada aynı koloniden 21 adet yetişkin, erkek Wistar albino rat kullanılmıştır. Ratlar üç gruba bölünerek vücut ağırlıkları ölçülmüştür (A, B, C.). Grup A, sham grubudur ve sadece posterolateral sol torakotomi yapılmıştır. Grup B ve C'ye posterolateral sol torakotomiyi takiben 4-0 ipek sütür ile hiler yapılar bağlanıp sol pnömonektomi yapılmıştır. Ozon terapi uygulanan tek grup C grubu olup operasyon öncesi 5 gün boyunca hergün 10 µgr/ml ozon 0.36mg/kg dozda, operasyon sonrası 5 gün boyunca hergün 30 µgr/ml ozon 1.1mg/kg dozda intrarektal yoldan uygulanmıştır. Ameliyattan 7 gün sonra ratlar letal dozda ketamin kullanılarak sakrifiye edilip total vücut ağırlıkları ölçülmüş ve sağ akciğer trakea ile birlikte çıkarıldıktan sonra akciğer ağırlığı ölçülmüştür. Akciğer ağırlığı ve volümü sakrifikasyon öncesi vücut ağırlığı ile ayrı ayrı oranlanmış; akciğer ağırlık indeksi ve akciğer volüm indeksi bulunmuştur. Akciğer dokuları histopatolojik olarak incelenmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

SUMMARY:

Effects of Ozone Therapy on the development of contralateral lung in rats that underwent left pneumonectomy

Objective: Pneumonectomy is one of the major surgeries of thoracic surgery and has become frequently used due to the increasing rate of lung cancers. Restricted respiration reserve after pneumonectomy is the most important factor that decreases patient's life quality, extends hospital stay, time of returning back to daily activities and healthcare costs. Volume, weight, collagen content, protein and cellular size of contralateral lung increase after pneumonectomy. This situation is important for patients with preoperatively restricted respiratory reserve. Provision of size increase in residual lung shall contribute to improvement of respiratory functions. Few from many of the agents used for this purpose yielded positive results. In this study it is aimed to investigate the effects of rectally administered preoperative and postoperative ozone therapy in rats to increase the development of the residual lung tissue.

Material and Method: In this study, 21 adult, male Wistar albinor rats of the same colony were used. Rats were divided into three groups and the body weights were measured (A, B, C). Group A is the sham group and underwent only posterolateral left thoracotomy. Group B and C underwent left pneumonectomy after ligation of hilar structures with 4-0 silk-suture following posterolateral and left thoracotomy. C group is the only group that received ozone therapy every day for 5 days preoperatively in 10 µgr/ml, 0.36mg/kg doses and every day for 5 days postoperatively in 30 µgr/ml, 1.1mg/kg doses. Rats were sacrificed 7 days after surgery with ketamine of lethal doses and their total body weights were measured, right lung were extracted with trachea and the right lung weights were measured.. The pulmonary tissues were histologically examined. The lung volume and weight before sacrificing were proportioned with body weight and lung weight and volume indexes were found. The results were statistically assessed.

GİRİŞ VE AMAÇ:

Pnöminektomi göğüs cerrahisinin en major ameliyatlarından biri olup artan akciğer kanseri oranları nedeniyle sıkça uygulanmaktadır (1). Pnöminektomi sonrası kısıtlanan solunum rezervi hastanın yaşam kalitesini düşüren ve postoperatif günlük aktivitelere geri dönüş zamanını uzatan en önemli etkidir. Operasyon sonrası kontrlateral akciğer dokusunda bir miktar büyüme olup volüm, ağırlık, kollajen içeriği, protein ve hücre boyutları artar (2). Ancak bu artış yeterli düzeyde olmayıp özellikle preoperatif kısıtlı solunum rezervi olan hastalarda sıkıntı arz etmektedir. Operasyon sonrası hastanın akciğer kapasitesini arttırmak, solunum sıkıntısını azaltarak hayat kalitesini büyük oranda arttıracaktır.

Ozon oksidan bir ajan olup, uygun dozlarda kullanımı:

(a) kan dolaşımını arttırarak ayrıca NO, CO ve eritrosit içindeki 2,3-DPG' ı arttırarak iskemik dokulara oksijen ulaşmasını kolaylaştırır;

(b) oksijen ulaşımını arttırarak genel metabolizmayı düzenler;

(c) hücre içindeki antioksidan enzimleri düzenler;

(d) immun sistemi aktive ederek büyüme faktörlerinin salınımını arttırır;

(e) topikal kullanımlarda mükemmel bir dezenfektandır;

(f) akut ve geç yan etkileri yoktur;

(g) nöro-endokrin sistem stimülasyonu ile kişinin kendini daha iyi hissetmesini sağlar.

Bu kadar çok ve çeşitli mekanizmalar üzerinden etki eden ozonun, özellikle kronik hastalıklarda hastanın iyileşmesi ve dokuların rejenerasyonu üzerinde etkisi olduğu görülmektedir (3). İlgisizlik ve önyargı nedeniyle hakkında pek araştırma yapılamamakla beraber, ozonun pek çok hastalığın tedavisinde etkisi olduğu bilinmektedir ve yurt dışında sayılı merkezlerde kullanılmaktadır. Periferik damar hastalıkları, kronik enfeksiyöz hastalıklar, yaşa bağımlı maküler dejenerasyon, KOAH tedavisi, astım tedavisi, lomber disk hernisinin tedavisi (3), kemoterapiye bağılı gelişen nefretoksisitelerin tedavisi (4), çoklu anti tüberküloz ilaç rezistansının kırılması (5), yara yeri iyileşmesinin hızlandırılması (6) bu geniş grubun sadece bir kısmını oluşturmaktadır. Akciğer büyümesinde ve olgunlaşmasında önemli bir rol oynayan plateled derived growth factorün (PDGF), ozonlu yağ kullanılarak yara yeri iyileşmesi hızlandırılan domuzlarda arttığı kaydedilmiştir (6). Yine bu çalışmada vasküler endotelyal growth faktörde (VEGF) artış kaydedilmiştir ki bu ajan surfaktan oluşumunda ve neonatal akciğer gelişiminde etkilidir (6,7). Güçlü bir antiviral, antifungal ve antibakteriyel

ajan olan ozon in vivo ortamda bu görevi, ex vivo ortamda olduğu gibi direk temas ile değil, immun stimölasyon ve modölasyon yapmak suretiyle antioksidan sistem regölasyonu üzerinden götürür ve mikrobik bağışıklığı ve genel metabolizmayı düzenleyip rezeksiyon sonrası dokuların rejenerasyonu ve remodelizasyonu için fırsat tanır (3,8).

Bu çalışmada ucuz, ulaşılması kolay, kullanılması basit ve yan etkisi hemen hiç olmayan ozon terapinin sol pnömonektomi uygulanan ratlarda kontrlateral akciğer dokusu gelişimi ve solunum rezervleri üzerine etkileri araştırılacaktır. Rezidü akciğerde boyutsal artış sağlanması solunum fonksiyonlarının düzelmesinde katkıda bulunacaktır. Bu amaçla kullanılan bir çok ajanın çok azında olumlu sonuç alınmıştır. Kısıtlı olmakla beraber yapılan çalışmalardan yola çıkarak pnömonektomi yapılmış ratlarda karşı akciğerin gelişimini arttırmak için operasyon öncesi ve sonrası rektal yolla uygulancak ozon terapinin kalan akciğer dokusu üzerine etkilerini araştırmak amaçlanmıştır. Operasyon sonrası hastanın akciğer kapasitesini arttırmak solunum sıkıntısını azaltarak, hayat kalitesini büyük oranda arttıracaktır.

GENEL BİLGİLER:

Pnöminektomi ile ilgili genel bilgiler

Pnöminektomi, bir hemitoraks içindeki akciğer dokusunun tamamının çıkarılması olarak tanımlanan, major cerrahi bir girişimdir.

Günümüzde en sık olarak bronkojenik karsinom tedavisinde kullanılır. Böyle bir durumda tümör; ya ana bronş sisteminde, ya üst lob bronş ağzı ile komşu olan proksimal intermedial bronşda ya da major fissürü geçmiş durumdadır (9). Pnöminektomi çok seyrek olarak pulmoner metastazlar, inflamatuvar akciğer hastalıkları (akciğer tüberkülozu, fungal enfeksiyonlar, bronşiektazi), travmatik akciğer hasarı, konjenital akciğer hastalıkları, bronşial darlığın eşlik ettiği harap olmuş akciğerde de uygulanır (10).

Pnöminektomide posterolateral torakotomi ile 5. interkostal aralıktan göğüs boşluğuna girilir. Plevral yapışıklıklar ayrılır ve akciğer tamamen serbestleştirilir. Akciğer aşağı çekilip hilusun üst bölümü ortaya konduktan sonra perikard yakınından pulmoner arter diseksiyonuna başlanır. Perivasküler alandan girilip parmak veya geniş açılı klemple künt diseksiyon yapıldıktan sonra arter dönülerek proksimal bölüme bir adet Satinsky klemp yerleştirilir. Distal kısım ise 2/0 ipek ile bağlanır. Arter proksimalden en az yarım santimlik uç bırakılarak kesilir. Güdük 4/0 prolen sütür ile iki kat üzerinden devamlı sütür tekniği ile dikilip Satinsky klemp yavaşça kaldırılır. Alternatif olarak vasküler stapler kullanılabilir. Arter bağlandıktan sonra superior ve inf pulmoner venler bağlanır. Distal ven dalları tek tek diseke edilip döndükten sonra 0 numara ipek sütür ile bağlanır. Proksimal vene satinsky klemp konarak kesilir ve 3/0 prolen ile ve iki kat üzerinden devamlı sütür tekniği ile dikilir. Bronş karınaya kadar diseke edilip karınaya 1 santimden daha uzak olmayacak şekilde kesilir. Bu aşamada bronş stapleri kullanmak hem emniyetli hem pratiktir. Eğer dikiş ile kapama yöntemi seçilecekse distal bronş klempe edilerek proksimali kısmen kesilip 4/0 prolen veya 4/0 vicryl ile tek tek dikilir. Bu dikişler bronşun tek tek ayrılmasına devam eder. Tek akciğer ventilasyonu yapılıyorsa bronş tamamen kesilip ortadan başlayarak yanlara doğru da dikilir. Bronşun devamlı dikiş tekniği ile iki kat üzerinden dikilmesinin daha güvenli olduğunu bildiren cerrahlar bulunmaktadır. Ilık serum fizyolojik ile kavite doldurulup 40-45 cm su basıncı altında bilateral ventilasyon yapılması sonrası bronş güdüğünden tek hava kabarcığı dahi çıkıyorsa onarılması şarttır. Bronş güdüğü daha fazla emniyet için plevra flebi ya da

vasküler pediküllü adele flebi ile desteklenebilir. Plevral kavite yıkanıp kanama kontrolü yapıldıktan sonra bir adet dren konularak ya da hiç konulmadan operasyon sonlandırılabilir. Dren kullanıldı ise vakaların büyük çoğunluğunda ilk 24 saatte çıkarılmaktadır.

Deney hayvanları etik kurallar doğrultusunda opere edilmeli ve bakılmalıdırlar (11, 12). Rat deneylerinde intraperitoneal olarak uygulanan xylazine ve ketamine, hızlı ve etkili anestezi sağlamaktadırlar. Ketamin derin sedasyon sağlar ancak kas gevşetici etkisi zayıf, analjezi düzeyi yüzeysel olup cerrahi müdahaleler için yetersizdir. Xylazine sedasyon sağlamasına karşın tek başına analjezik etkisi çok düşüktür. Her iki ajan birlikte kullanıldığında; ketamine (100mg/kg/intraperitoneal) ve xylazine (5mg/kg/intraperitoneal) yaklaşık 30 dakikalık cerrahi anestezi süresi sağlamaktadır. İndüksiyon süresi ise 10–15 dakika civarındadır. İndüksiyon anesteziinde, cilt ve müköz membranlar için irritan olan eter; solunum sistemi hasarlanması, bronş sekresyonunda artış ve pulmoner ödem yaparak histopatolojik inceleme sonuçlarını etkilediği için kullanılmamalıdır (13). Deney hayvanlarında yapılan toraks cerrahisi sırasında kontrollü mekanik ventilasyon ve kardiyak ve solunum parametrelerinin iyi izlenmesi şarttır. Ratlarda pnömonektomi; açılan trakeostomi ile kontrollü mekanik ventilasyonun sağlanmasını müteakip posterolateral açılan torakotomi ile yapılmaktadır. İntraplevral aralığa 5. İnterkostal mesafeden girilip inferior ligaman serbestleştirilir. Hiler yapılar akciğer kaldırılarak görülür hale getirilir. 4/0 monofilaman sütür veya klip ile hiler yapılar total olarak ligatüre edilir. Akciğer materyali çıkarılıp kanama ve hava kaçağı kontrolü sonrası, katlar anatomik pozisyonda kapatılır.

Ratlarda mediastinal plevra tam gelişmediği için pozitif basınç ile solutulmadan torakotomi yapılırsa her iki hemi toraksta pnömotoraks gelişmektedir (14).

Pnömonektomi sonrası erken dönemlerde, kalan akciğer dokusunun ventilasyonu solunumun kompensatuvar derinlik ve sayısının artışı ile düzeltilebilmektedir. Akciğer dokusu kalınlaşarak total akciğer kapasitesindeki elastik basınç artmaktadır. Solunum işi artar ama diffüzyon kapasitesi azalmaktadır. Akciğer dokusu hiperinflasyona başlayarak vital ve total kapasitelerde %10–30' luk bir artışa neden olur. Preoperatif zorlu vital kapasite, 1. saniye zorlu ekspiratuvar volüm ve karbonmonoksit diffüzyon kapasitesi %35–40 azalır. Postpnömonektomik volüm spirometri sonuçları kalan akciğer dokusunun fonksiyonunun üzerinde olmasına rağmen bir çok vakada küçük düzeyde de olsa solunumsal disfonksiyon tespit edilmiştir. Kompensatuvar akciğer büyümesini birçok faktör etkilemektedir. Ancak en temel stimulus kalan akciğer dokusundaki uzama ve gerilmedir. Puberte öncesi yapılan

pnömonektomi sonrası kalan akciğer dokusunun gelişmesine bağlı olarak diffüzyon kapasitesi değişmez. Pnömonektomi puberte sonrası yapılmışsa diffüzyon kapasitesi azalır. Çocuklarda pnömonektomi sonrası pulmoner hipertansiyon gelişmez ya da çok az oranda gelişir.

Akciğer epitelinde hasarlanma sonucu ilk olaral alveolar tip 2 hücrelerde proliferasyon olmaktadır (15, 16). Kalan akciğer dokusundaki kompensatuvar büyümenin indüklenmesinin nedeni volüm, kompliyans ve kitlede düzeltme yapabilmektir. Protein, deoksiribonükleik asit (DNA), ribonükleik asit (RNA), kollajen ve elastin seviyeleri artar. Postrezeksiyonel akciğer büyümesinde epidermal büyüme faktörü önemli rol oynamaktadır. Bu, kalan akciğer dokusunda büyüme faktör reseptörlerindeki artış ile açıklanmaktadır (17). Bu artış 2 hafta içinde olup, hücresel proliferasyon zamanındaki artış ile koreledir (18).

Pnömonektomi sonrası pulmoner arter basıncı istirahatte normal olmasına rağmen maksimum efor toleransı azalmaktadır. Eforla pulmoner arter basıncı ve pulmoner vasküler direnç artmakta, kardiyak output ve stroke volüm ise azalmaktadır. Bu değişiklikler periferik vasküler direnç ve periferik arteriyal kan basıncında olan artışla birliktedir (19). Oksijen satürasyonunun eforla azalmasının nedeni mutlak diffüzyon kapasitesindeki azalmadır. Pnömonektomi ile vasküler yatağın önemli bir kısmının azalması nedeniyle sağ ventrikül afterloadı arttırmaktadır. Böylece sağ ventrikül end sistolik ve end diastolik basınçları artar. İntraventriküler septumda sola doğru kayma sonucunda kardiyak output azalır (20).

Pnömonektomi sonrası sağ ventrikülün fonksiyonları sağ kalp basınç çalışmaları ve termodilüsyon metotları ile tespit edilebilmektedir. Sağ ventrikül ejeksiyon fraksiyonu azalır, end diastolik volüm indeksi artar, stroke volüm indeksi azalır. Bütün bu değişiklikler postoperatif ilk günde oluşmaktadır. İstirahatta pulmoner arter basıncı, pulmoner vasküler rezistans indeksi, santral venöz basınç, sol ventrikül fonksiyonları etkilenmeden kalmaktadır. Ama egzersiz ile pulmoner arter basıncı ve pulmoner vasküler rezistans indeksi, sağ ventrikül afterloadındaki artış ile yükselir. İstirahatte sağ ventrikül fonksiyonundaki değişiklikler sağ ventrikülde volüm artışı ile kompanse edilirken egzersizde bu olmamaktadır. Pnömonektomi sonrası sağ ventrikül disfonksiyonunun en büyük nedeni interventriküler septumun sola kayması ve sağ ventrikül afterloadındaki artıştır. Natriüretik peptidler vazodilatör hormonlar olup kan basıncı regülasyonu ve volüm hemostazının sağlanmasında rol oynarlar (21). A tipi natriüretik peptid, dilate pulmoner arter düz kası ve pulmoner arter vazokonstriksiyonunda ya da sağ atrial gerilmeye cevap olarak sağ atrial aurikülden salgılanmaktadır. B tipi natriüretik peptid ise kardiyak ventrikülden salgılanıp santral ve periferik damarları aynı A tipi

natriüretik peptid gibi etkilemektedir. Her iki substant da vazodilatör etkiye sahiptir. Pnömonektomi sonrası A tipi natriüretik peptidin plazma ve karşı akciğer dokusundaki seviyelerinde önemli oranda olan artış pulmoner arter basıncındaki yükselme ile beraberdir. Aynı zamanda pulmoner vasküler rezistans da artmaktadır. Postoperatif 3. gündeki total pulmoner vasküler rezistans değeri plazmadaki B tipi natriüretik peptidin seviyesi ile uyumludur. Pnömonektomilerde lobektomiye nazaran 3. ve 7. günlerde A ve B tipi natriüretik peptid oranları çok daha fazla yükselmektedir. Bu iki peptid pnömonektomi sonrası görülen sağ ventrikül disfonksiyonunu efektif olarak kompanse etmektedirler. Ventriküler aktivitede oluşan değişiklikler plazma B tipi natriüretik peptid seviyesi ile birliktedir ve total pulmoner vasküler rezistans pnömonektomi sonrası kardiyopulmoner düzenlemenin belirleyicisidir (22). Pnömonektomi sonrası geç dönemde %75 olguda sinoauriküler taşikardi oluşmaktadır. Hastalarından % 25' inde dakika kardiyak atım sayısı 100 ve üstündedir. Sağ kalp tabanında fonksiyonel kalıcı murmur vakaların % 12' sinde görülmektedir. Sağ kalp yüklenmesi % 6 oranında görülmektedir. Yaşlı hastalarda cerrahi öncesinde mevcut olan kronik tıkalı hava yolu hastalığı fonksiyonel kapasite yetmezliğine sebep olmaktadır. Fonksiyonel kapasite ile pulmoner arter basıncı arasında ters ilişki vardır. Pulmoner arter basıncı arttıkça fonksiyonel rezerv azalmaktadır (23). Fonksiyonel kapasite kalan vasküler yatağın genişleyebilirliği tarafından idare edilir ve sınırlandırılır. Vasküler yatak genişliği limiti aştığı zaman oluşan dirençli pulmoner hipertansiyon kor pulmonaleye neden olur (24, 25).

Pnömonektomi sonrası istirahathte normal olan pulmoner arter basıncı efor sonrasında artar, pulmoner vasküler direnç yükselir ve egzersiz toleransı azalır (26, 27). Operasyon tarafında diyafram eleve olur, interkostal mesafeler daralır ve mediasteninin operasyon tarafına kayması sonucunda hemitoraks küçülür. Boş plevral aralıkta, rezidüel boşluğu doldurmaya yarayan serohemorajik mayi birikir. Mayinin birikmesi ve hapis kalan havanın absorpsiyonu için geçen süre değişken olmakla beraber genelde 3–4 haftayı bulur. Nadiren 1 yıla kadar uzayabilir. Bu sıvının zamanla absorpsiyonu sonrasında fibröz yapılar oluşmaktadır. Kontrilateral akciğer anterior ve posterior alandan herniye olur. Sol pnömonektomi posterior paravertebral herniasyon % 50 oranında iken sağ pnömonektomide kalp nedeniyle olmamaktadır. Anterior herniasyon değişik oranlarda olmaktadır. Tomografik takiplerde vakaların % 30' unda boşluk tam oblitere olmakta ancak mayinin tam absorpsiyonu nadiren olup loküle mayi ile dolu alanlar fibröz duvarlarla çevrelenmiş halde bulunmaktadır (24).

Pnöminektomi sonrası kontrlaterale akciğerde volüm, ağırlık, kollajen içeriğı, protein ve hücre miktarı artar. Ancak bu artışın tatminkâr boyutlarda olmama ihtimali özellikle preoperatif solunum rezervi kısıtlı hastalar için sorun oluşturmaktadır. Rezidü akciğer dokusunda boyutsal artış sağlanması solunum fonksiyonlarının düzelmesine katkı sağlayacaktır. Bu amaçla kullanılan birçok ajanın çok azında olumlu sonuç alınmıştır. Uygun yolla ve dozda kullanıldığında, immunmodülatör ve doku rejenerasyonunda stimulan etkileri olan ozon bunlardan biri olabilir.

Ozon ile ilgili genel bilgiler

Doğada ozon, stratosferde (dünya yüzeyinde 25–30 km yukarıda) UV radyasyon (<183 nm) ile Chapman teorisine uygun olarak oluşmaktadır. Oksijen moleküllerinin parçalanıp 2 reaktif oksijen atomu oluşturması ve bu reaktif atomların bozulmamış oksijen molekülleri ile endotermik reaksiyona girmesi sonucu üç atomlu ozon oluşmaktadır. Ayrıca yıldırım düşmesi sırasında da atmosferdeki oksijenin katalizlenmesi sonucu ozon oluşmaktadır.

Spontan yıkılan bir gaz olarak yarı ömrü 20 °C’ de 40 dakikadır. Saf suda hemen çözünmesine rağmen, biyolojik sıvılarda organik ve inorganik moleküllerle reaksiyona girerek serbest radikallerin oluşumuna neden olur.

Endüstriyel ozon havadan üretilir ancak anında oluşan nitrik oksid çok toksik olacağından medikal ozon sadece medikal oksijenden üretilir (28). Son model ozon jeneratörleri 5–14 kilovolt elektrik voltajını kontrol ederek elektrolar arası oluşan ozon konsantrasyonunu ayarlayabilir. Yine de elde edilen gazdaki son ozon konsantrasyonu içeriğede dakikada 1 ile 10 litre arasında akan oksijen konsantrasyonu ile regüle edilir. Oksijen ne kadar fazla olursa ozon o kadar az olur. En son elde edilen oksijen-ozon karışımında ozon konsantrasyonu % 5’ den fazla olamaz.

Florin ve persulfattan sonra en güçlü 3. oksidan ajan olan ozonun, moleküler ağırlığı 48 olup, açık mavi renkli, keskin kokulu bir gazdır. Suda oksijenden 10 kat daha fazla çözünür. Oksijen molekülü dış ekseninde içerdiği 2 elektron çift değildir. Bu yüzden oksijen bir diradikaldir. Ozon kadar reaktif değildir. Dört elektron ile adımsal indirgenip su oluşturur. Diğer yandan ozon dış ekseninde çiftler halinde elektronlar içerir. Oksijenden çok daha reaktif olup, oksijenin mitokondrial solunumda oluşturduğu radikal oksijen türlerini (radikal oksijen species, ROS) oluşturur. Patojenlerle karşılaşan fagositler miyeloperoksidaz ile katalize

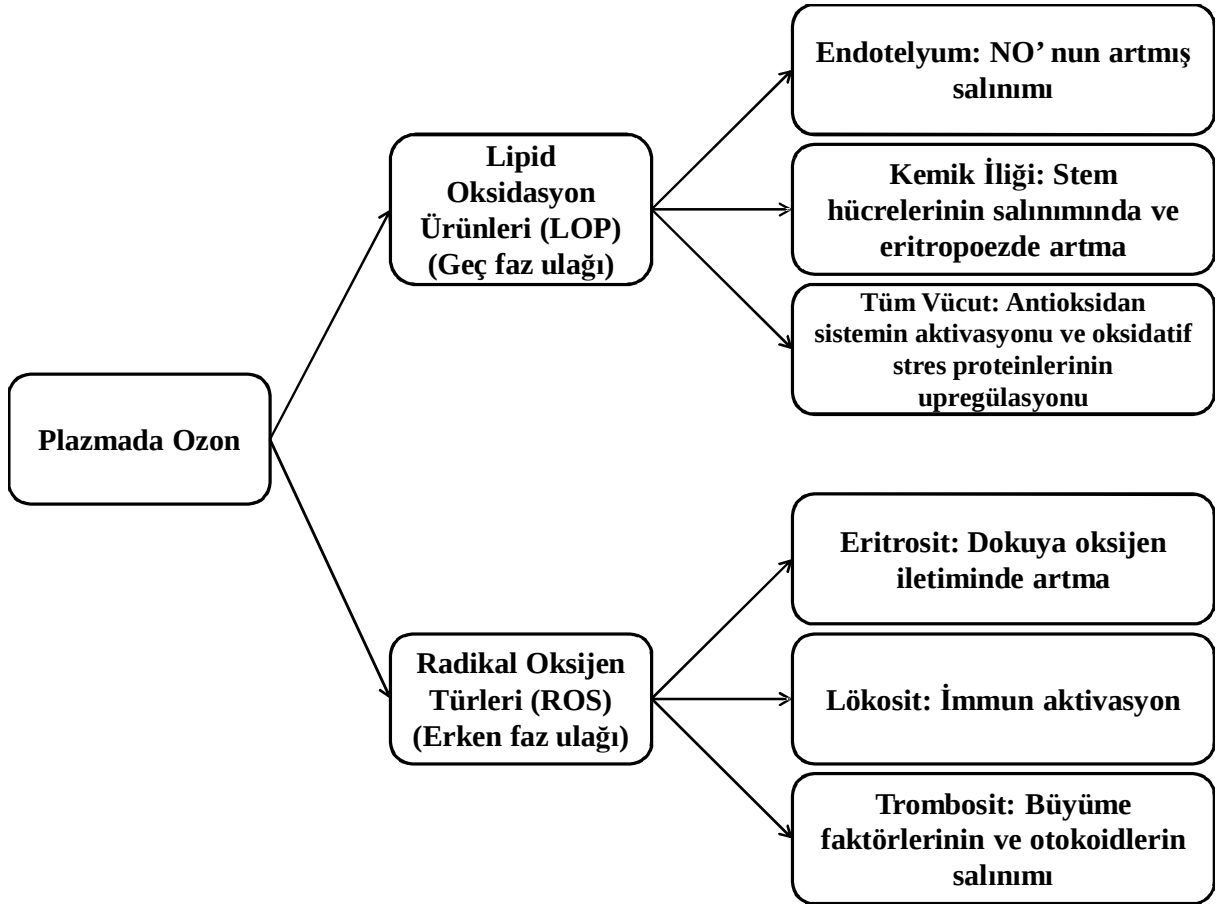
edilen, anion superoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hipoklorik asit ($HClO$) üretirler. H_2O_2 , ayrıca tüm hücrelerde nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADHP) oksidaz izoenzimi ile üretilir ki bu da ROS' un normal organizmada önemine işaret eder. Ozon organik ve/veya inorganik bileşiklerde hemen reaksiyona girip çok çeşitli okside moleküller oluşturarak birkaç saniyede kaybolur (29).

19. yüzyılda ozonun potent bakterisidal etkisi tanımlanmış ve I. Dünya Savaşı' nda anaerobic Clostridium enfeksiyonuna bağlı gazlı gangren olan Alman askerlerin tedavisinde başarıyla kullanılmıştır. İki öncü çalışma ile Stoker Queen Alexandria Askeri Hastanesi' nde ozon ile başarıyla tedavi edilen ilk 21 vakayı sunmuştur (30, 31). Fizikçi Joachim Hansler' ın ilk medikal ozon jeneratörünü icadı ile Dr. Hans Wolff, ex vivo ortamda ozon dirençli cam şişe içinde vücuttan alınan kan ile ozonu karıştırıp tekrar vücuda geri verme yöntemi olan ozon otohemoterapi yöntemi geliştirdi (1968).

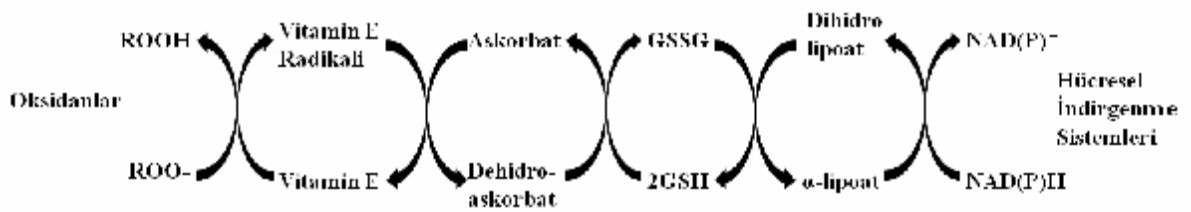
Ozon, fizyolojik ortamda, çoklu doymamış yağ asitleri, proteinler, karbonhidratlar ve eğer ulaşabiliyorsa DNA ve RNA ile hemen reaksiyona girer (32, 33). Böylelikle ROS, lipid oksidasyon ürünleri (lipid oxidation products, LOP) ve çeşitli oranlarda okside antioksidanlar oluşmasına neden olur (34, 35). Ozon uygulanması için kan ideal bir dokudur çünkü plazma ve hücreler özellikle eritrositler ozonun oksidant etkisini kompanse etmek için beraber çalışır (Şekil 1).

Plazmada, askorbik asit, ürik asit, indirgenmiş glutatyon (GSH) gibi birçok hidrofilik indirgen bulunmaktadır. Plazmada bulunan albumin, indirgen -SH grupları açısından çok zengin olup tüm plazmada yaklaşık 112 gr. bulunduğu için en önemli antioksidandır (36). Diğer proteinler olan transferrin ve seruloplazmin de geçiş metalleri olan demir ve bakırı şelatlayarak oksidizan reaksiyonları baskılar. Bu metallerin fazla bulunduğu hastalarda ozonterapiyenin kaçınılmalıdır çünkü H_2O_2 varlığında Fenton reaksiyonu ile ve anion superoksit varlığından Haber-Weiss reaksiyonu ile çok reaktif olan hidroksil radikalini (OH) oluştururlar. OH ' ın yarı-ömrü 1×10^{-9} saniye olmasına rağmen hemen bir molekülle reaksiyona girip yeni radikaller oluşturur.

Kan hücreleri GSH açısından çok zengindir. Ayrıca α - tokoferol, retinol, likofen, ubiquinol, α -lipoik asit gibi lipofilik bileşikler ve tioredoksin beraber çalışarak, okside bileşiklerini indirgeyip antioksidan kapasiteyi yenilerler. Bu hücrelerde bulunan birçok enzim de (Superoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon indirgeme sistemi) simultane ya da beraber çalışarak indirgeme sistemini yenilerler (Şekil 2).



Şekil 1: Ozonun plazmada erken ve geç faz ulakları ve etkileri



Şekil 2: Hücresel indirgenme sistemi

Ozonun standart uygulama prosedürü; 200 mL oksijen-ozon karışımı (oksijen > %95, ozon < %5) 180 mL kan ve 20 mL % 3.8 sodyum sitrat ile vakumlu steril cam şişe içinde dairesel hareketler ile karıştırılması ve kanın intravenöz olarak vücuda geri verilmesi şeklindedir. Beş dakika içerisinde 1,5 mL oksijen ve 2,4 mL ozon kanda çözünür. Oksijen

fiziksel olarak eritrosit içinde çözünüp hemoglobini tam satüre etse de (Hb_4O_8) törepatik etkisinden bahsetmek mümkün olmayacaktır. Çünkü pO_2 maksimum değeri 450mmHg olabilir ve dakikada 5L hızla kalbe doğru akan venöz kanın pO_2 sini (~ 40 mmHg) dakikada 15 mL tam satüre kan ile modifiye etmek mümkün değildir. Ancak ozon plazmada oksijenden çok daha kolay çözünüp anında hidrosolubl antioksidanlar ve albümine bağlı çoklu doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girecektir. Ozonun törepatik doz aralığı her mL kan için 10 $\mu\text{g/mL}$ (0.21 $\mu\text{mol/mL}$) - 80 $\mu\text{g/mL}$ (1.68 $\mu\text{mol/mL}$) gazdır. 100 mL kanda total ozon dozu 1–8 mg arasında değişir. Dozun ayarlanması toksik etkilerden sakınırken birçok biokemikal yollar üzerinden oluşan törepatik etkiyi tetiklemek açısından hayatidir.

Ana ROS bileşiği olan katalaz vücutta ozonun ileticisi olan bir oksidandır. Birçok törepatik ve biyolojik etkiden sorumludur (37, 38). Katalazın her zaman zararlı olduğunu belirten eski konsept tamamen değişmiştir. Fizyolojik miktarlarda katalaz, sinyal iletimini regüle edip immün yanıtta hayati bir rol oynar (39, 40, 41). Ozonlu kanda antioksidanlar ve enzimler katalazı 2 dakikanın altında bir sürede suya indirgedikleri için ölçülmesi mümkün değildir (42). Katalaz hücre membranından kolayca geçmesine rağmen hücre içi konsantrasyonları hücre dışının 1/10' u kadar yükselir (39, 43, 44). Rölatif stabilitesi katalazın plazmada ölçülebilmesine olanak sağlar. Normal vakalarda plazma düzeyi 2.5 μM ' dur (39, 43, 44). Bu durumda hücre içi konsantrasyonu en fazla 0.25 μM olur ki ozon terapi uygulanan hastalarda bu düzey 0.5 – 0.7 μM ' dur (42). Lokal yoğunlaşma ve hücre tipine göre katalaz hücre proliferasyonunu veya hücre ölümünü tetikleyebilir (41, 44, 45, 46). Vasküler esnekliği regüle ederek vazodilatasyon veya vazokonstriksiyon yapabilir.

Kandaki eritrositler H_2O_2 ' yi yok edebilmek için GSH' ı oksidize glutatyon (GSSG) çevirir. Hücre GSH/GSSG oranına çok duyarlıdır ve bu oranı eski seviyesine getirmek için ya GSSG' yi hücre dışına atar ya da NADPH ve askorbatı harcayarak glutatyon redüktaz ile indirger. Oksidize NADP anahtar enzimin glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PDH) olan pentoz fosfat yolunda indirgenir. Ozonterapi ardından ATP üretimindeki artış aktive olan bu pentoz fosfat yolundan mı yoksa fosfofruktokinaz enzim aktivitesindeki artıştan mı halen tartışmalıdır ancak eritrosit içinde pH' nın düşmesi sonucu (Bohr etkisi) ya da 2,3-difosfoglisierattaki artış neticesinde oksijen-hemoglobin disosiyasyon eğrisi sağa kayar ve hemoglobinden dokulara oksijen geçimi kolaylaşır (3). Bu, özellikle iskemik dokulara oksijen taşınmasını ozonun kolaylaştırdığının kanıtıdır.

LOP oluşması plazmada bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunu takip eder. Albümine bağlı çoklu doymamış yağ asitleri ile ozonun reaksiyona girmesi sonucu birçok aldehid oluşur. Bunlar içerisinde en çok oluşan ve en önemlisi 4-hidroksinonenal' nin (4-HNE) bir reseptörü yoktur ama 70'den fazla biokemikal hedef (albumin, enzimler, glutasyon, karnozin ve fosfolipidler) ile reaksiyona girerek deleteryöz etkiler gösterir (47). Kanserde, dejeneratif patolojilerde, aterosklerozda, diabetes mellitusta ve bazı enfeksiyöz hastalıklarda özellikle etkilenen dokularda 4-HNE artışı olmaktadır. Son yapılan çalışmalar (48, 49) ışığında oluşan bu aldehidlerin özellikle 4-HNE' nin çoklu doymamış yağ asitlerine bağlı aynı albüminlerle bağlandığı ve zararsız hale getirildiği yönündedir. Böylelikle kanın ex vivo ozonizasyonu sonrası alıcıya geri verilmesi vasküler sisteme hasar vermemektedir.

Sonuç olarak ex vivo 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.

Ozon gibi potent bir oksidan ajanın, kronik oksidatif stresin yenilmesinde yardımcı olabileceği paradoksu “oksidatif preconditioning (oksidatif ön koşullanma)” fenomeni ile açıklanabilir (50, 51). Bir organizmanın yüksek dozlarda zararlı olan bir ajana, düşük dozlarda maruz kalması faydalı ve intibak edici bir yanıtın oluşmasını sağlar (52, 53). LOP uzak organlara akut oksidatif stres bilgisini taşır. En önemlisi kemik iliğidir. Çünkü eritrogenez sırasında antioksidan enzimleri upregüle edip infarkte organları rejenere edecek staminal hücrelerin salınımından sorumludur. Iles ve Liu 4-HNE' nin γ -glutamate sistein ligaz üzerinden hücre içi GSH düzeylerini arttırdığını ortaya koymuştur (54). Ayrıca LOP hem-oksijenaz 1 (HO-1 ya da HSP-32) ve heat shock protein-70 (HSP-70) isimli oksidatif stres proteinlerini aktive eder. HO-1 içeriğinde bulunan bilirubin çok belirgin bir lipofilik antioksidan ajandır. Yine HO-1 yapısında bulunan karbonmonoksit, nitrik oksit (NO) ile birleşip siklik-GMP üzerinde vazodilatasyonu regüle eder. Sonuç olarak ozon tedavisi ile oluşan LOP bileşiği hücrelerde HSP ve antioksidan enzim sentezinin arttıracak gen ekspresyonuna neden olarak vücudun kronik oksidatif strese olan yanıt kabiliyetini artırır.

Ozon uygulama yolları

Ozon uygulama yolu patolojinin çeşidine, evresine ve hastaya göre şekillendirilmektedir. Dâhili uygulamalar; Major Otohemo Terapi (MOT), Minör Otohemo Terapi (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. Otohemo terapi yöntemi yukarıda tanımlanmış olup, en gelişmiş ve güvenilir yöntemdir (3).

MOT yönteminde kişinin kilosuna göre karar verilen kan miktarı (200–250 ml) ve ozon gazı sodyum sitratlı, vakumlu, steril cam şişe içinde eşit miktarda karıştırılarak kişiye retransfüze edilir. MiOT yönteminde ise 5 ml venöz kan ve 5 ml O₂/O₃ karışımı 1-2 saniye karıştırılıp intramusküler olarak verilir. Başlıca allerji, akne, fronküloz ve malign olguların tedavisinde kullanılır. Rektal insüflasyonun uygulaması kolay ve uygulama süresi 10 dakikanın altında olup parenteral sistemik etkiye de sahiptir. Dolaşım bozuklukları, enflamatuar hastalıklar, hepatitler, gastrik ülser, kolit, proktit, gastro enterit, anal fistül tedavisi ve sistemik immünstimülasyon amacıyla kullanılır (55).

Ozonun biyolojik etkileri ve kullanım alanları

Yukarıdaki bilgiler ışığında ozonun biyolojik etkileri şu şekildedir: (a) NO ve karbonmonoksit üzerinden vazodilatasyon yaparak ve eritrosit içinde ki 2,3-DPG seviyelerini arttırıp hemoglobinden dokuya oksijen geçişini arttırarak kan dolaşımını ve doku oksijenizasyonunu regüle eder; (b) oksijen iletimini arttırarak genel metabolizmayı geliştirir; (c) hücrel antioksidan enzimleri ve HO–1 ve HSP–70' i indükler; (d) hafif düzeyde immun sistemi aktive eder ve büyüme faktörlerinin salınımını arttırır; (e) topikal kullanımda mükemmel bir dezenfektandır bu etki kanın antioksidan kapasitesi nedeniyle dolaşımda ihmal edilebilir düzeydedir; (f) akut ya da geç yan etkileri yoktur; (g) nöroendokrin sistemi uyarak kişinin kendisini iyi hissetmesini sağlar (3).

Bu biyolojik etkilerden yola çıkarak ozonun birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Periferik obstrüktif arterial hastalıkların tedavisinde prostasiklinlere nazaran

daha başarılı olmuş ve hastaların %50' sinde amputasyona gidişi engellemiştir (3). Daha uzun süreli kullanımlarda (> 7 hafta) periferik ülserlerin de iyileştiği görülmüştür (56).

Yaş bağımlı maküler dejenerasyon tedavisinde çok sınırlı etki yapan antioksidanlar ve çinkonun yerine dramatik iyileşmeye neden olan 2 ay boyunca haftada 2 defa 20–60µg/mL ozon terapi 1000 hastanın dörtte üçünde görme keskinliği skalasında 1 ile 2 basamak yukarıyı görebilmelerini sağlamıştır (57).

Ozon topikal kullanımda en iyi dezenfektandır. Çünkü bakteri, virus, mantar ve protozoalar suda serbest olarak bulunduğunda kolayca oksidize olurlar (58, 59). Ancak plazmada bulunan patojenlere ozonun etkimesi albumin, askorbik asid ve ürik asid gibi antioksidanlar nedeniyle çok sınırlıdır (60,61). Yine de metabolizma upregülasyonu ve sitokin aktivasyonu (62) nedeniyle viral (HIV, HCV, HBV, HSV), bakteriyel, mantar enfeksiyonlarında, yanıklarda, abselerde, aftöz ülserlerde ve osteomyelit tedavisinde, diyabetik ayak ülserlerinde, radyodermatitis tedavisinde başarıyla kullanılmaktadır (3). Ozon, gaz karışımı (%4 ozon ve%96 oksijen), ozonlu su ve ya ozonlu yağ olarak topikal kullanılabilir. Ozonlu solüsyonların özelliği yarayı dezenfekte edici ve doku rejenerasyonunu arttırıcı özelliğinin olmasıdır (63).

Kronik obstruktif akciğer hastalığı, amfizem ve astım tedavisinde kullanılan uzun etkili β_2 agonistler, kortikosteroidler ve antibiyotikler bir dereceye kadar fayda sağlamaktadır (64). Hernández Rosales ve arkadaşları 113 astım hastasını 3 gruba ayırıp ilk iki gruba 4 mg ve 8 mg ozon MOT yöntemi ile 3. Gruba 10 mg ozon rektal insuflasyon yöntemi ile 5-6 ay süren 3 siklus halinde yaklaşık 1 yıl boyunca uygulamış. Tedavi başlangıcı ve sonunda ölçülen immunglobülin E, human leukocyt antijen DR (HLA-DR) ve periferik kan mononükleer hücrelerin sayısında düşme, antioksidan sistemde aktivasyon, solunum fonksiyon testlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düzelme ve semptomlarda gerileme görüldüğü kaydedilmiştir (65).

Belianin ve Schmelev uzamış pnömonisi olan 36 hastasını 2 gruba ayırmış ve her iki gruba antibakteriyel tedavi yanı sıra çalışma grubuna 3 hafta boyunca haftada 2 defa 1.6 µgr/ml ozon içeren 400 ml ozonlu salin solüsyonunu intravenöz olarak vermiştir. Kontrol ve çalışma grubu kıyaslandığında direk göğüs grafisinde infiltrasyonlar tüm çalışma grubunda dördüncü haftada tamamen temizlenmişken kontrol grubunun ancak %61.1' inde bu gerçekleşmiştir. Çalışma grubunda balgamin bakterilerden temizlenmesi 2-3 hafta da erken olmuştur. Ozon uygulamasının ilk dozuyla beraber kronik enfeksiyon bulguları olan

düşkünlük halinde azalma, uzamış prodüktif öksürüğün 10 günden kısa süre içinde gerilemesi ve ateşli hasta sayısında azalma gözlenmiştir. Sonuçta kanın ozonlanmasının antibakteriyal etkinliği arttırarak uzamış pnömonilerde tedavi süresini kısalttığı gözlenmiştir (66).

Chernekhovskaia ve arkadaşları üç ay ile birkaç yıl boyunca trakeal kanülü olan 452 hastayı trakeobronkoskopik incelemesinde 35 hastada trakeal ülser 46 hastada eroziv trakeobronşit gözlemlemişlerdir. Ülserler 1 ile 2.5 cm boyutunda olup trakeanın ön duvarında yerleşmiştir. Ülserlere bilateral diffüz bronşit eşlik etmektedir. İki ile 3 ml ozonlu salin 5 mg/L konsantrasyonunda ülser kenarlarına submukozaya enjekte edilmiş ve aynı solüsyondan günde 40–60 ml ile trakeal sanitasyon yapılmış ve 3 ile 4 küratif bronkoskopi sonrasında ülserlerde tam epitelizeasyon ve trakeobronşial ağacın temizlendiği görülmüştür (67).

Belianin ve Schmelev multidrug rezistans gelişen 56 mycobacterium tuberculosis hastasında yaptıkları bir çalışmada, hasta popülasyonunu 2 gruba ayırmıştır. Çalışma grubunda (n=36), %75 hastada mycobacterium tuberculosis, streptomisin, izoniazid, rifampisin ve kanamisinine rezistans göstermektedir. Bu grubun %41.7 si sadece iki tane ikinci sıra %27.8' i üç tane ikinci sıra ilaç tedavisi almıştır. Kontrol grubu (n=20), çalışma grubuyla bakteriyal izolasyon ve ilaç rezistansı açısından karşılaştırılmıştır. Kemoterapiye ek olarak çalışma grubuna haftada iki defa 3 ml ozonlu salin 5 mg/L konsantrasyonunda intravenöz olarak verilmiştir. Total olarak 12 ile 55 arası infüzyon yapılmıştır. Dördüncü ayın sonunda izoniyazide hassasiyet hastaların %38.9' unda, rifampisine %16.7' sinde, kanamisinine %11.2' sinde gelişmiştir. Her üç ilaca olan hassasiyet hastaların %47.2' sinde gerçekleşmiştir (68).

Dobkin ve arkadaşları plevral ampiyemli 55 hastada 10mg/L ozonla içeren oxygen ozon karışımı, furacilinli ozon solüsyonu(1:5000) ve klorheksidinli ozon solüsyonu (%0.05) kullanıp sonuçları ozon tedavisi almayan 59 plevral ampiyemli hastayla karşılaştırıp, ozon tedavisinin 15 günde sanitasyonu sağladığı ve onarım sürecini hızlandırdığı rapor etmişlerdir (69). Pulmoner tüberküloz ve plevral ampiyemli hastaların preoperatif hazırlık döneminde kullanılan ozon terapi, postoperatif pürülan komplikasyonları %30.4' den %17.7' e çektiği, multimodal tedavinin başarısını %15.6 arttırdığı ve mortaliteyi %9.5 azalttığı gözlemlenmiştir. Çalışma grubunda pleuropnöminektomi yapılmış 31 hastanın pürülan bronkoplevral komplikasyonları yine pleuropnöminektomi yapılmış kontrol grubundaki 35 hasta ile karşılaştırılmıştır ve çalışma grubunda komplikasyon oranı %16.1 iken kontrol grubunda %28.6 olarak gözlemlenmiştir. Ayrıca lokal ozon terapi sayesinde cerrahi başarı oranı %13.1 arttığı ve mortalitenin %9.6 düştüğü rapor edilmiştir (69).

Pnömonektomi ve ozon

Akciğer dokusunun kaybı sonrası iki fizyolojik kompanzasyon mekanizması devreye girmektedir. Birincisi kalan akciğer dokusunda difüzyon kapasitesinin artırılması, ikincisi gaz değişiminin yapılabileceği yeni akciğer dokusunun rejenerasyonudur.

Pnömonektomi sonrası bir takım anatomik değişiklikler de meydana gelmektedir. Loblardan bir ve ya daha fazlasının çıkarılması tüm kardiak out put' u kalan loblara yönlendirir. Mediasteninin kayarak, diyaframın yükselerek ve göğüs duvarının kısmen çökerek dolduracağı boşaltılmış bir torasik kompartman meydana gelir. Bu kompartman ayrıca kalan akciğer dokusunun genişlemesinin önünde duran göğüs duvarı ve diğer organların baskılayıcı etkilerinin de ortadan kaldırmış olacaktır. Kalan akciğer dokusunda pnömonektomi öncesi kullanılmayan alveoller artan inflasyon ve inspiryum nedeniyle ventile olmaya başlarlar. Tüm kardiak out put' un kalan akciğer dokusuna yönelmesi nedeniyle doku distansiyonu ve parankim perfüzyonu artar. Bu fizyolojik rezervlerin kullanıma girmesiyle pnömonektomi sonrası yeterli gaz değişim alanı sağlanabilir.

İkinci adaptasyon mekanizması ise pnömonektomi sonrası kalan lobların kompensatuar gelişimidir. Ratlarda sol akciğer tek lobdan oluşmaktadır ve sol pnömonektomi sonrası total akciğer kitlesinin %35' i uzaklaştırılmış olur. Yaklaşık 300gr' lık ratda postoperatif 14. günde kalan akciğer dokusu büyüyerek total akciğer kitlesine ulaşmış olur (70). Total akciğer kitlesine ulaşılan kadar kalan her lob kendi kitlesiyle orantılı olarak büyümeye devam eder (70). Kalan akciğer dokusundaki volüm artışının nedeni halihazırda kapalı bulunan alveollerin solunuma katılması mı yoksa yeni alveollerin oluşumu nedeniyle mi çok sorgulanmıştır. Total protein, DNA, RNA kapasitesinde olan artış kompanzatuvar akciğer gelişiminin hipertrofiden ziyade hiperplazi nedeniyle olduğunu göstermektedir (71). Yine kapiller endotel hücrelerinde, tip 1 ve tip 2 epitelyal hücrelerde, interstisyel hücrelerde ve fibroblastlarda özellikle postoperatif 3. günde pik görülmüştür. Bu sonuçlar ışığında akciğer volümündeki artış kalan hücre popülasyonundaki hipertrofiden ziyade yeni hücre proliferasyonu nedeniyle (72).

Pnömonektomi sonrası kalan akciğer volümündeki hiperplazi ve hipertrofi çeşitli hormonlar, büyüme faktörleri ve sitokinler ile regüle edilmektedir.

Bilateral adrenalectomi ratlarda akciğer gelişimine bir etki etmezken, pnömonektomi sonrası yapıldığında uzamış postoperatif dönemde kalan tüm lobların volümünü arttırdığı gözlenmiştir. Adrenalectomi sonrası alveolar duvar kalınlığının arttığı gözlenmiştir. Bunun

sebebi glukokortikoidlerin kompansevar akciğer gelişiminin süresini regüle ederek, alveoler-kapiller bariyerin uygun mimari yapıda oluşmasına olanak sağlamalarıdır (73).

Büyüme hormonu da akciğer gelişimi üzerine etkilidir. Pnöminektomi sonrası ratlara subkutanöz büyüme hormonu sekrete eden tümör implante edilmiş ve kontrol grubuna göre kalan loblarda büyümenin daha fazla olduğu gözlemlenmiştir (74).

Tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) hücrel proliferasyon ve matriks sentezini uyaran bir sitokindir (75). TNF- α , nuclear factor kappa B' yi (NF- κ B) aktive eder. NF- κ B hücre proliferasyonunu arttıran antiapoptotik uyarıcıdır ve I kappa B' nin (I κ B) sentezini arttırır (76). Postpnöminektomik kompansevar büyümede rol alan altı transkripsiyon faktöründen (Egr-1, Nurr77, tristetraprolin, I kappa B alpha, GKLF, LRG-21) biri de I κ B- α ' dır (77). Ozonun vücuttaki erken faz ulaşığı ROS olup en önemli ürünü, H₂O₂' dir. H₂O₂, NF- κ B' yi en çok tetikleyen bileşiktir (78). Ozonun kendisi TNF- α ' yı bloke eder (79). Ama bunun NF- κ B' nin H₂O₂ ile aktive olmasına engel teşkil etmediği görülmüştür (80).

Pnöminektomi sonrası kalan loblara yönelen kardiak out put damar endoteli üzerine olan stresi arttırarak NO sentezlenmesine neden olur. NO vasküler endotelyal growth faktör tarafından indüklenen anjiogenezin esansiyal mediatörü olup eksikliğinde alveolar yüzey dansitesindeki artış ve hücre proliferasyonu mümkün olmamaktadır (81). Valacchi ve Bocci ozonize ettikleri insan serumunu, insan umbilikal veni endotelyal hücre kültürlerine uygulamış ve ozon dozuyla doğru orantılı olarak artan NO üretimi olduğunu rapor etmişlerdir. NO üretimindeki artış H₂O₂ artışı ile de korele bulunmuştur (80).

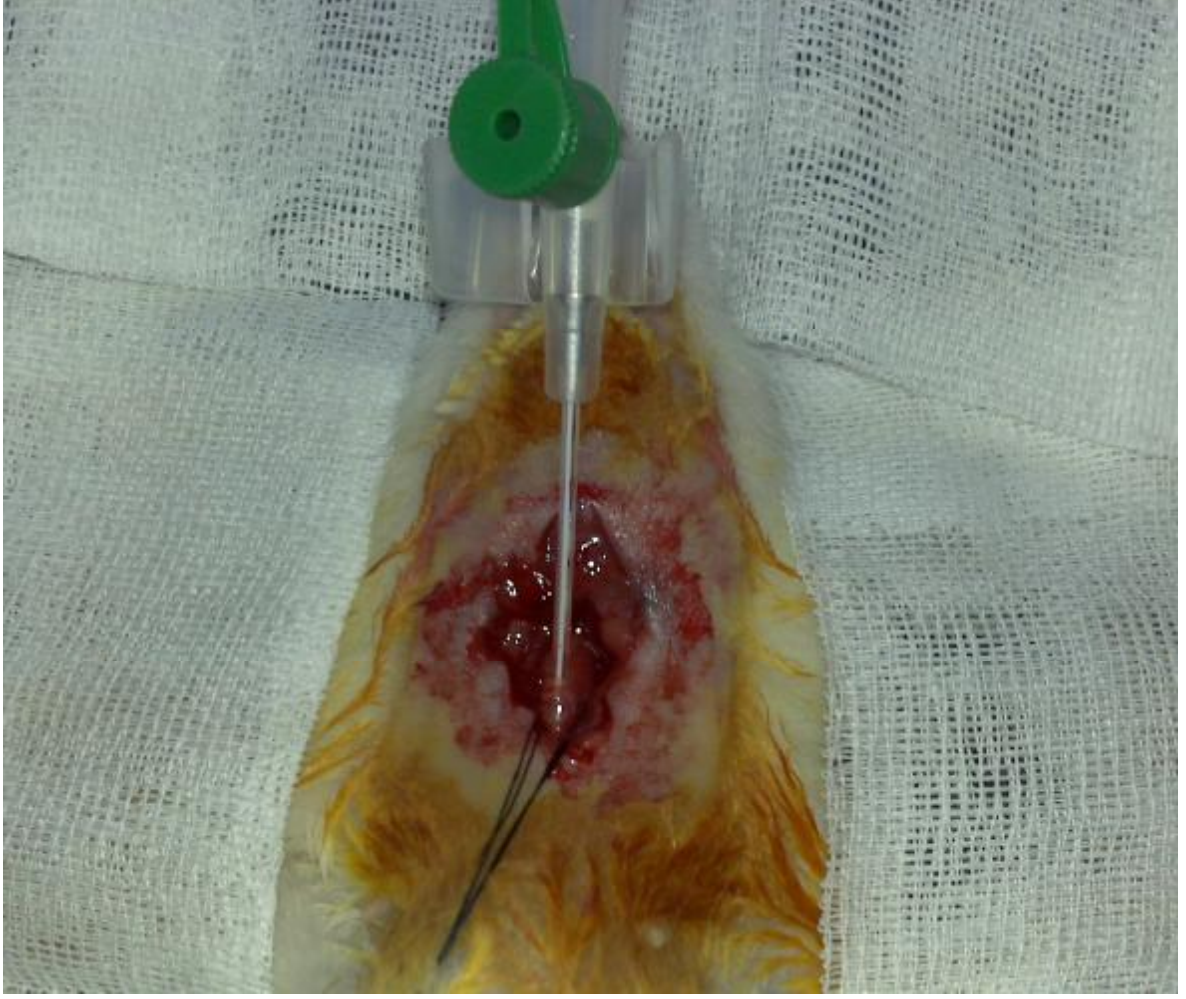
Tumor growth factor- β (TGF- β), hücre proliferasyonu ve farklılaşmasını kontrol eden multifonksiyonel bir peptid olup, yara iyileşmesi ve doku rejenerasyonunda etkili büyüme faktörlerinden biridir. TGF- β 1' nin tip 2 pnömositlerde proliferasyonu tetiklediği bilinmektedir. Bu faktör neonatal dönemde akciğerin dallanması ve alveol oluşumunda etkili olmakla beraber, çok fazla salınımı hipoplaziye sebebiyet vermektedir (82). Pnöminektomi sonrası epidermal büyüme faktörü verilmesi ile bu faktörün reseptörlerinde artış olmakta ve bu otokontrol mekanizması ile akciğerin büyümesi arttırılmaktadır (83). Keratinosit büyüme faktörü pnömosit proliferasyonunu arttırarak akciğer volüm indeksi, akciğer ağırlık indeksi ve alveoler hücre proliferasyon indekslerini arttırır. Yeni alveol oluşumunu indükleyerek alveol yüzey dansitesini ve solunum bölgelerinin total volümünü arttırır (84). Vasküler endotelyal büyüme faktörü endotelyal hücre proliferasyonu yaparak akciğer epitel hücrelerinin de proliferere olmasını sağlamakta ve tip 2 pnömositlerde bolca vasküler endotelyal büyüme

faktörü reseptörü bulunmaktadır (85). Kim ve arkadaşları 16 dişi kobayın cildinde 6 mm biyopsi punchı ile dört adet tam kat cilt yaralanması yapıp bu yaraların 11. gün sonunda iyileşmelerini karşılaştırmıştır. Yaralardan bir tanesine her gün ozonlu zeytin yağı sürülmüş. Bir tanesine her gün saf zeytin yağı sürülmüş ve bir yara da kontrol grubu olarak kendi başına iyileşmeye bırakılmıştır. Onbirinci günün sonunda ozonlu zeytin yağı sürülen yaraların diğer gruplara kıyasla çok daha hızlı bir şekilde kapandığı gözlemlenmiştir. 7 günde yara kenarlarından yapılan immünohistolojik çalışmada ozonlu yağ sürülen grupta fibroblast sayısında ve kollajen fiberlerde istatistiksel olarak anlamlı derece artış gözlemlenmiştir. Ozonlu zeytin yağı kullanılan grupta yara iyileşmesinin artışında hangi büyüme faktörlerinin etkili olduğu anlamak için yapılan immünohistokimyasal analizde fibroblast büyüme faktörü, platelet kaynaklı büyüme faktörü, TGF- β ve vasküler endotelial büyüme faktöründe diğer gruplara kıyasla çok daha fazla artış olduğu saptanmıştır (86).

GEREÇ VE YÖNTEM:

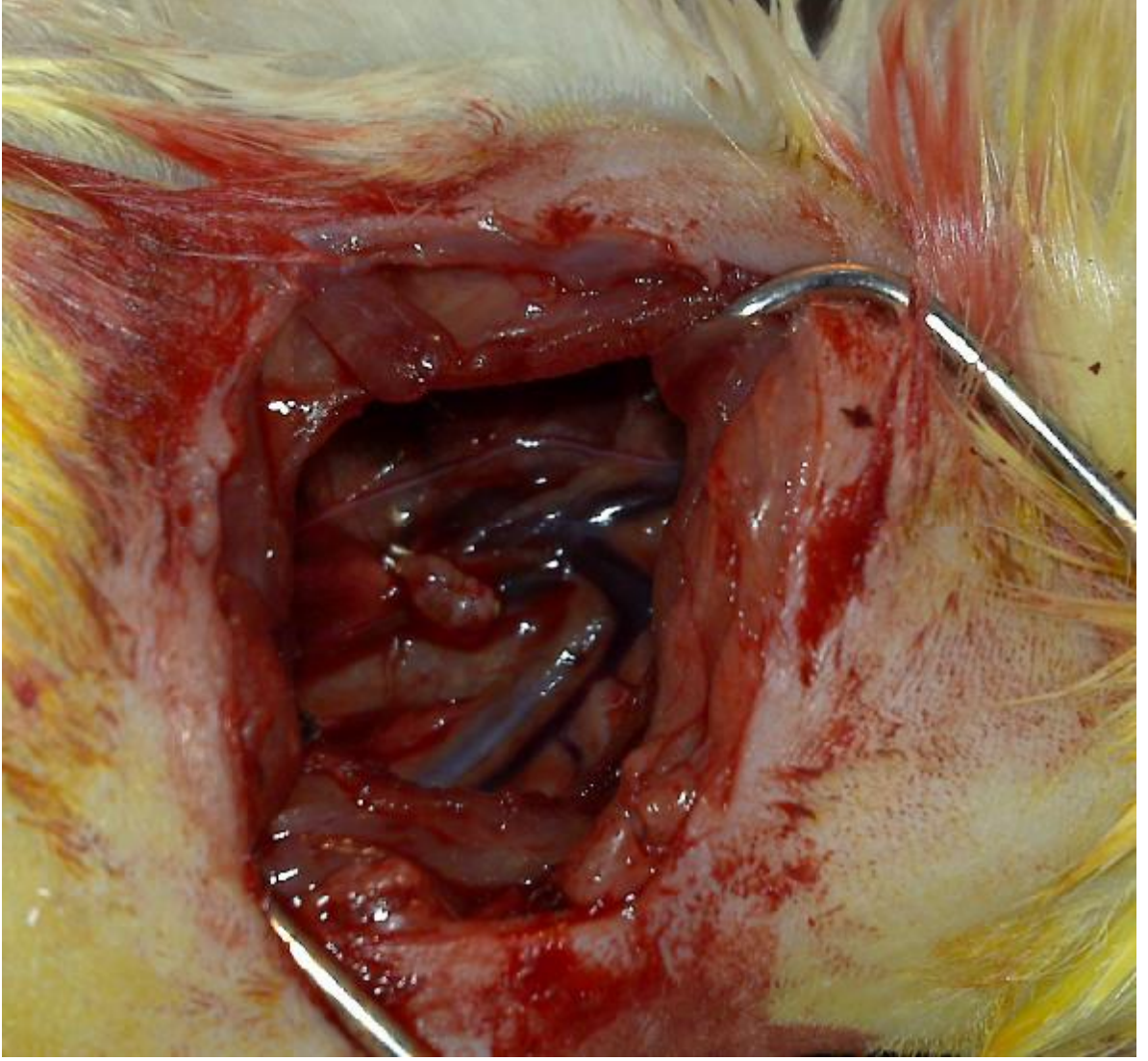
Deney protokolü Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Proje no: 80/2009). Ratlar, Labaratuar Hayvanları Bakım ve Kullanım Rehberine uyularak, Dokuz Eylül Üniversitesi Hayvan Deneyleri Labaratuarında bakılmıştır. Çalışmamızda aynı koloniden 21 adet yetişken erkek ve dişi ortalama 200-290 gr ağırlığında Wistar albino ratlar kullanılmıştır. Ratlar, 21 °C ile 23 °C arasında, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık döngüsünde tutulmuştur. Rat modeli kullanılmasının amacı kolay temin edilebilme, güvenilirlik ve deneyin tekrar edilebilme oranının yüksek olmasıdır (87). Ratlar standart pellet yemlerle beslenmiştir. Cerrahi işlem öncesi yemek ve su serbest bırakılmıştır.

Ratlar randomize olarak üç gruba bölünmüştür (Grup A, B ve C). Bütün denekler Ketamine (100 mg/kg/intraperitoneal) ve Xylazine (5 mg/kg/intraperitoneal) uygulanmasıyla anestezi altına alın, ağırlıkları tartılmış ve sonrasında trakeostomi yapıp 16G plastik kataterle entübe edilmiştir. Operasyon süresince ratlar volüm kontrol modunda oda havası kullanılarak ventilatör desteği almışlardır (Resim 1).



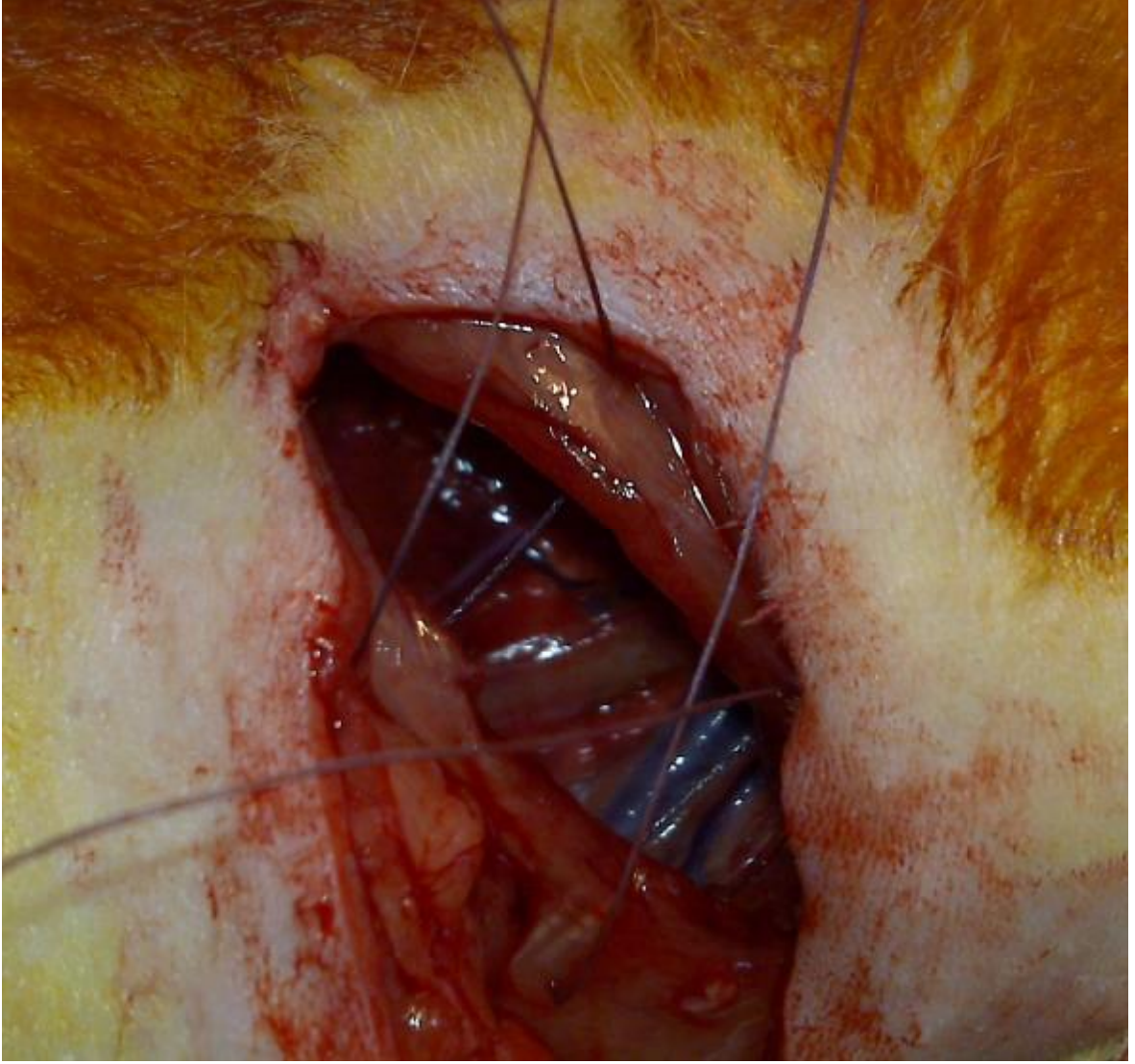
Resim 1. Trakeostomi açılan deneğin ventilatör ile solutulması

Ventilasyonda 90 / dakika solunum sayısı ve 15–20 ml / kg dakika volümü sağlanmıştır (Rodent Ventilator 7025, Hugo Sachs Electronics, Germany). Ratlar sağ dekübit pozisyonunda yatırılmış, bölge traş edilerek temizlenmiş ve povidone iodine kullanılarak dezenfekte edilmiştir. Grup A' da (n = 7) sadece posterolateral torakotomi yapılmış ve kanama kontrolünü takiben tabakalar usulünce kapatılmıştır. Grup B (n = 7) ve C' de (n = 7) ise ratlara posterolateral torakotomi uygulanmış, sol akciğer dokusu serbestlenmiş ve hilustan 4-0 ipek sütürle ligasyon yapıp sol pnömonektomi uygulanmıştır (Resim 2).



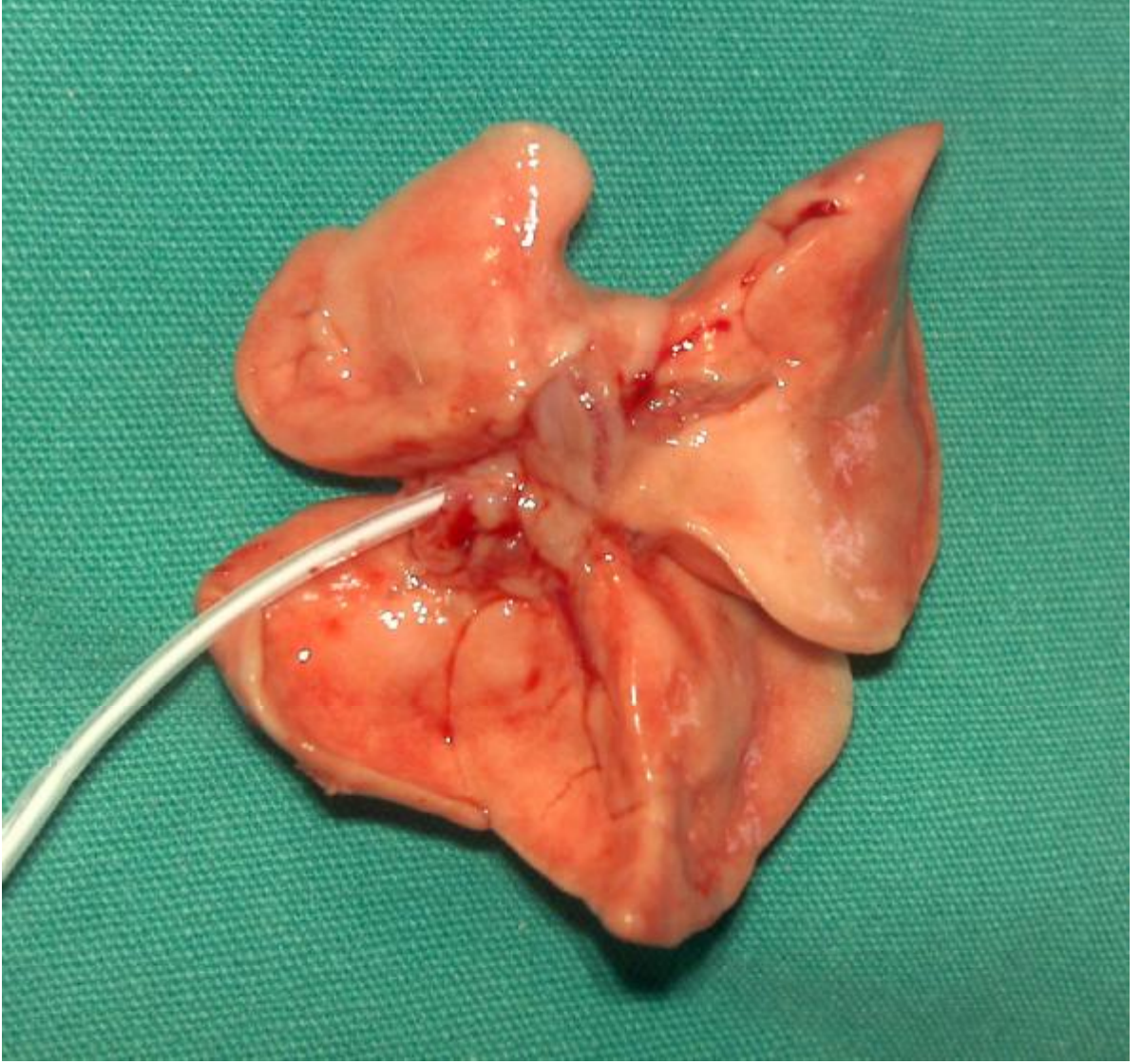
Resim 2. Sol torakotomiyi takiben yapılan sol pnömonektomi sonrası torakal kavitenin ve hiler yapıların görünümü.

Sonrasında kanama ve hava kaçağı kontrolü yapıp, torakotomi usulüne uygun olarak kapatılmıştır (Resim 3).



Resim 3. Sol pnömonektomi sonrası toraksın kapatılması.

Hayvanlar spontan solunumları gelince extübe edilmiş, trakeostomi kapatılmış ve ayrı kafeslerde tutulmuşlardır. Grup A ve B' ye herhangi bir ilaç tedavisi uygulanmamıştır. Grup A sham, Grup B kontrol grubudur. Grup C' de ise operasyon öncesi 5 gün boyunca her gün 10 µgr/ml medikal ozon 0.36mg/kg dozda, operasyon sonrası 5 gün boyunca hergün 30 µgr/ml medikal ozon 1.1mg/kg dozda intrarektal yoldan uygulanmıştır (Ozon Jeneratörü, Ozonlab, Kanada, 2007). Deneklere istedikleri kadar gıda ve su temini sağlanmıştır. Enfeksiyon gelişen denekler deney protokolünden çıkarılmıştır. 7. Günün sonunda ratlar letal dozda ketamin uygulanarak sakrifiye edilmiş, total vücut ağırlıkları ölçülmüş ve sağ akciğer trakea birlikte çıkarılarak ağırlığı ölçülmüştür (Resim 4).



Resim 4. Grup C' de çıkarılan sağ akciğer dokusu.

Sağ akciğer volümü Scherle tarafından tariflenen teknikle hesaplanmıştır (88). Burada trakea bağlı sağ akciğer bronşuna branül yerleştirilip sabitlendikten sonra, 5 milimetrelilik enjektörler ile akciğer iyice ekspanse olana kadar şişirilmiş ve volüm miktarı ölçülmüştür. Akciğer volümü (ml) ve ağırlığı (gr) sakrifiye öncesi vücut ağırlığı ile oranlanmış ve akciğer ağırlık ve volüm indeksleri bulunmuştur.

Akciğer volüm indeksi (AVI) = Akciğer volümü / Total Vücut Ağırlığı (ml / kg)

Akciğer ağırlık indeksi (AAI) = Akciğer ağırlığı / Total Vücut Ağırlığı (gr / kg)

Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Çalışma grubu arasındaki farkları değerlendirmek için Mann Whitney - U testi ve Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Bu testlerde istatistiksel olarak $p > 0.005$ anlamsız, $p < 0.005$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Çıkarılan akciğer dokusu histopatolojik çalışma için %10 tamponlu formalin içine alınıp histopatolojik incelemeye tabi tutulmuştur. Denek akciğerlerden alınan paralel örnekler ayrı ayrı %10 formol-saline ile fixe edilmiş, kademeli alkol serileri yoluyla dehidrate edilerek xylene içinde temizlenmiş ve parafin (erime noktası 56 °C) içine gömülmüştür. 5 µm kalınlığında seri parçalar kesilip hemotoksilen ve eosin ile boyanmıştır. Her ratın ayrı ayrı sağ akciğerinden alınan kesitler histopatolojik değişiklikler açısından değerlendirilmiş ve ikincil krest oluşumu ölçülmüştür. İkincil krest oluşumunun değerlendirilmesi için her rattan alınan histopatolojik preparatta, üst üste binmeyen 10 ayrı mikroskopik alanda ikincil krest oluşumları sayılarak ortalaması alınmıştır. İkincil krestler karakteristik özelliklerine göre (primer alveolar septanın her iki tarafından uzanan küçük sırt şeklinde kabarıklık) tanımlanmış ve sayılmıştır (89).

BULGULAR:

Deneyin başlangıç ve bitiş aşamasında ratların ağırlıkları gram cinsinden ölçüldü. Her denek için vücut ağırlığındaki farklılıklar % olarak hesaplandı. Tablo 1’ de tüm gruplara ait deney bitiş anındaki vücut ağırlık değişikliklerinin yüzde olarak sonuçları görünmektedir. Grup A’ da deneklerde %0.5 ile %1.43 arasında kilo artışı olmuştur (ortalama % 0.75). Grup B’ de %1.07 ile %1.61 arasında kilo artışı olmuştur (ortalama % 1.39). Grup C’ de % 0.76 ile %3.77 arasında kilo artışı olmuştur (ortalama %1.93). Görüldüğü gibi tüm gruplarda deney sonunda kilo alımı olmuştur. En fazla kilo artışı Grup C de gözlenmiştir.

Tablo 1: Tüm gruplarda deney bitiş anında deneklere ait vücut ağırlık değişiklikleri.

Denekler (n=7)	Grup A Vücut ağırlık değişikliği (Deney sonunda %)	Grup B Vücut ağırlık değişikliği (Deney sonunda %)	Grup C Vücut ağırlık değişikliği (Deney sonunda %)
1	0.6	1.45	2.69
2	0.69	1.51	2.29
3	0.51	1.43	0.76
4	0.5	1.46	3.77
5	1.07	1.24	0.18
6	1.43	1.61	3.08
7	0.46	1.07	0.78

Deney bitiş aşamasında ratların sağ akciğer volümleri milimetre cinsinden ölçüldü. Sağ akciğer volümleri Grup A’ da 3.3–4.9 ml (Ortalama 4.12 ml), Grup B’ de 6.1–12.4 ml (Ortalama 10.3 ml) ve grup C’ de 10.1–16.0 ml (Ortalama 13.98 ml) arasında idi.

Sağ akciğer volümleri Grup B’ de Grup A’ ya göre, Grup C’ de ise Grup A ve B’ ye göre daha yüksek olarak bulunmuştur.

Her grup için akciğer volüm indeksleri saptanmıştır. Grup A’ da akciğer volüm indeksleri 16.36–22.53 ml/kg (Ortalama 19.76) arasında, Grup B’ de 27.21–45.87 ml/kg (Ortalama 40.99) arasında, Grup C’ de 43.16–64.52 ml/kg (Ortalama 52.98) arasında

değişmekteydi. Akciğer volüm indeksleri Grup B' de Grup A' ya göre artmış, Grup C' de ise Grup A ve B' ye göre daha artmış olarak bulunmuştur.

Tablo 2: A grubunda deney bitiş anındaki deneklere ait akciğer volüm indeksler

Denekler (n=7)	Sağ akciğer volümü (7. Gün, ml)	Total vücut ağırlığı (7. Gün, kg)	Akciğer Volüm İndeksi (ml/kg)
1	3.3	0.2017	16.36
2	4.9	0.2175	22.53
3	4.5	0.2171	20.73
4	4.2	0.2025	20.74
5	4.6	0.2178	21.12
6	3.5	0.2064	16.96
7	3.9	0.1958	19.92

Tablo 3: B grubunda deney bitiş anındaki deneklere ait akciğer volüm indeksler

Denekler (n=7)	Sağ akciğer volümü (7. Gün, ml)	Total vücut ağırlığı (7. Gün, kg)	Akciğer Volüm İndeksi (ml/kg)
1	6.1	0.2242	27.21
2	10.1	0.2421	41.72
3	9.8	0.2343	41.83
4	10.1	0.2425	41.65
5	12.4	0.2703	45.87
6	9.9	0.2215	44.70
7	10.0	0.2274	43.98

Tablo 4: C grubunda deney bitiş anındaki deneklere ait akciğer volüm indeksler

Denekler (n=7)	Sağ akciğer volümü (7. Gün, ml)	Total vücut ağırlığı (7. Gün, kg)	Akciğer Volüm İndeksi (ml/kg)
1	14.7	0.2670	55.06
2	16.0	0.2900	55.17
3	12.1	0.2650	45.66
4	16.0	0.2480	64.52
5	14.0	0.2820	49.65
6	10.1	0.2340	43.16
7	15.0	0.2600	57.69

Deney bitiş aşamasında ratların sağ akciğer ağırlıkları gram cinsinden ölçüldü. Sağ akciğer ağırlıkları Grup A' da 0.70–1.02 gr (Ortalama 0,85 gr), grup B' de 1.07–1.57 gr (Ortalama 1.28 gr), Grup C' de 1.54–1.93 gr (Ortalama 1.73 gr) arasında idi.

Sağ akciğer ağırlığı grup B' de Grup A' ya göre, Grup C' de ise Grup A ve B' ye göre daha yüksek olarak bulunmuştur.

Her grup için akciğer ağırlık indeksleri hesaplanmıştır. Grup A' da akciğer ağırlık indeksleri 3.22–4.70 gr/kg (Ortalama 4.08) arasında, Grup B' de 4.71–6.47 gr/kg (Ortalama 5.48) arasında, Grup C' de 5.64–8.25 gr/kg (Ortalama 6.62) arasında değişmekteydi. Görüldüğü gibi akciğer ağırlık indeksleri Grup B' de Grup A' ya göre artmış, Grup C' de ise Grup A ve B' ye göre artmış olarak bulunmuştur.

Tablo 5: A grubunda deney bitiş anındaki deneklere ait akciğer ağırlık indeksleri

Denekler (n=7)	Sağ akciğer ağırlığı (7. Gün, gr)	Total vücut ağırlığı (7. Gün, kg)	Akciğer ağırlık indeksi (gr / kg)
1	0.76	0.2017	3,77
2	0.70	0.2175	3,22
3	1.02	0.2171	4,70
4	0.92	0.2025	4,54
5	0.90	0.2178	4,13
6	0.78	0.2064	3,78
7	0.87	0.1958	4,44

Tablo 6: B grubunda deney bitiş anındaki deneklere ait akciğer ağırlık indeksleri

Denekler (n=7)	Sağ akciğer ağırlığı (7. Gün, gr)	Total vücut ağırlığı (7. Gün, kg)	Akciğer ağırlık indeksi (gr / kg)
1	1,15	0.2242	5,13
2	1,22	0.2421	5,04
3	1,33	0.2343	5,68
4	1,57	0.2425	6,47
5	1,38	0.2703	5,11
6	1,38	0.2215	6,23
7	1,07	0.2274	4,71

Tablo 7: C grubunda deney bitiş anındaki deneklere ait akciğer ağırlık indeksleri

Denekler (n=7)	Sağ akciğer ağırlığı (7. Gün, gr)	Total vücut ağırlığı (7. Gün, kg)	Akciğer ağırlık indeksi (gr / kg)
1	1,68	0.2670	6.29
2	1,75	0.2900	6.03
3	1,92	0.2650	7.25
4	1,54	0.2480	6.21
5	1,59	0.2820	5,64
6	1,93	0.2340	8,25
7	1,75	0.2600	6.73

Tablo 8: gruplar arasında vücut ağırlıklarındaki değişim kıyaslanmış ve istatistiksel çalışma sonucu anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.05$, Mann Whitney – U testi). VAD: Vücut ağırlık değişimi

	VAD (Grup A – Grup B)	VAD (Grup A – Grup C)	VAD (Grup B – Grup C)
Z	-3.134	-3.134	-2.047
P	0.002	0.002	0.041

Tablo 9: Deney bitiminde hesaplanan sağ akciğer volümleri gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır (Mann Whitney – U testi).SAV: Sağ akciğer volümü.

	SAV (Grup A – Grup B)	SAV (Grup A – Grup C)	SAV (Grup B – Grup C)
Z	-3.134	-3.134	-2.762
P	0.002	0.002	0.006

Deney bitiminde, gruplar arasında sağ akciğer volümleri kıyaslandığında istatistiksel olarak Grup A-B ($z = -3.1$, $p < 0.05$), Grup A-C ($z = -3.1$, $p < 0.05$) ve Grup B-C ($z = -3.7$, $p < 0.05$) arasında oldukça anlamlı fark vardır.

Tablo 10: Deney bitiminde hesaplanan akciğer volüm indeksleri gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır (Mann Whitney – U testi). AVI: Akciğer volüm indeksi.

	AVI (Grup A – Grup B)	AVI (Grup A – Grup C)	AVI (Grup B – Grup C)
Z	-3.134	-3.134	-2.762
P	0.002	0.002	0.006

Deney bitiminde, gruplar arasında akciğer volümleri indeksleri kıyaslandığında istatistiksel olarak Grup A-B ($z=-3.1$, $p < 0.05$), Grup A-C ($z=-3.1$, $p < 0.05$) ve Grup B-C ($z=-2.7$, $p < 0.05$) arasında oldukça anlamlı fark vardır.

Tablo 11: Deney bitiminde ölçülen sağ akciğer dokusunun ağırlıkları gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır (Mann Whitney – U testi). SAA: Sağ akciğer ağırlığı.

	SAA (Grup A – Grup B)	SAA (Grup A – Grup C)	SAA (Grup B – Grup C)
Z	-3.134	-3.134	-3.009
P	0.002	0.002	0.003

Deney bitiminde, gruplar arasında sağ akciğer ağırlıkları kıyaslandığında istatistiksel olarak Grup A-B ($z=-3.1$, $p < 0.05$), Grup A-C ($z=-3.1$, $p < 0.05$) ve Grup B-C ($z=-3.0$, $p < 0.05$) arasında oldukça anlamlı fark vardır.

Tablo 12: Deney bitiminde hesaplanan akciğer ağırlık indeksleri gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır (Mann Whitney – U testi). AAI: Akciğer ağırlık indeksi.

	AAI (Grup A – Grup B)	AAI (Grup A – Grup C)	AAI (Grup B – Grup C)
Z	-3.130	-3.130	-2.108
P	0.002	0.002	0.035

Deney bitiminde, gruplar arasında akciğer ağırlık indeksleri kıyaslandığında istatistiksel olarak Grup A-B ($z=-3.1$, $p < 0.05$) ve Grup A-C ($z=-3.1$, $p < 0.05$) arasında oldukça anlamlı, Grup B-C ($z=-2.1$, $p < 0.05$) arasında anlamlı fark vardır.

Tablo 13: Tüm gruplarda, deney başlangıcı ve bitiminde vücut ağırlıkları, sağ akciğer ağırlığı, sağ akciğer volümü, akciğer volüm indeksi ve akciğer ağırlık indeksi karşılıklı olarak istatistiksel değerlendirmeye tabi tutulmuş ve istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (Kruskal Wallis Test) VA: Vücut Ağırlığı, SAA: Sağ akciğer ağırlığı, SAV: Sağ akciğer volümü, AVI: Akciğer volüm indeksi, AAI: Akciğer ağırlık indeksi.

	1. gün VA	7. gün VA	SAA	SAV	AVI	AAI
Chi-Square (χ^2)	15,283	15,384	17,485	16,849	16,482	15,384
Df	2	2	2	2	2	2
Asymp. Sig. (p)	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

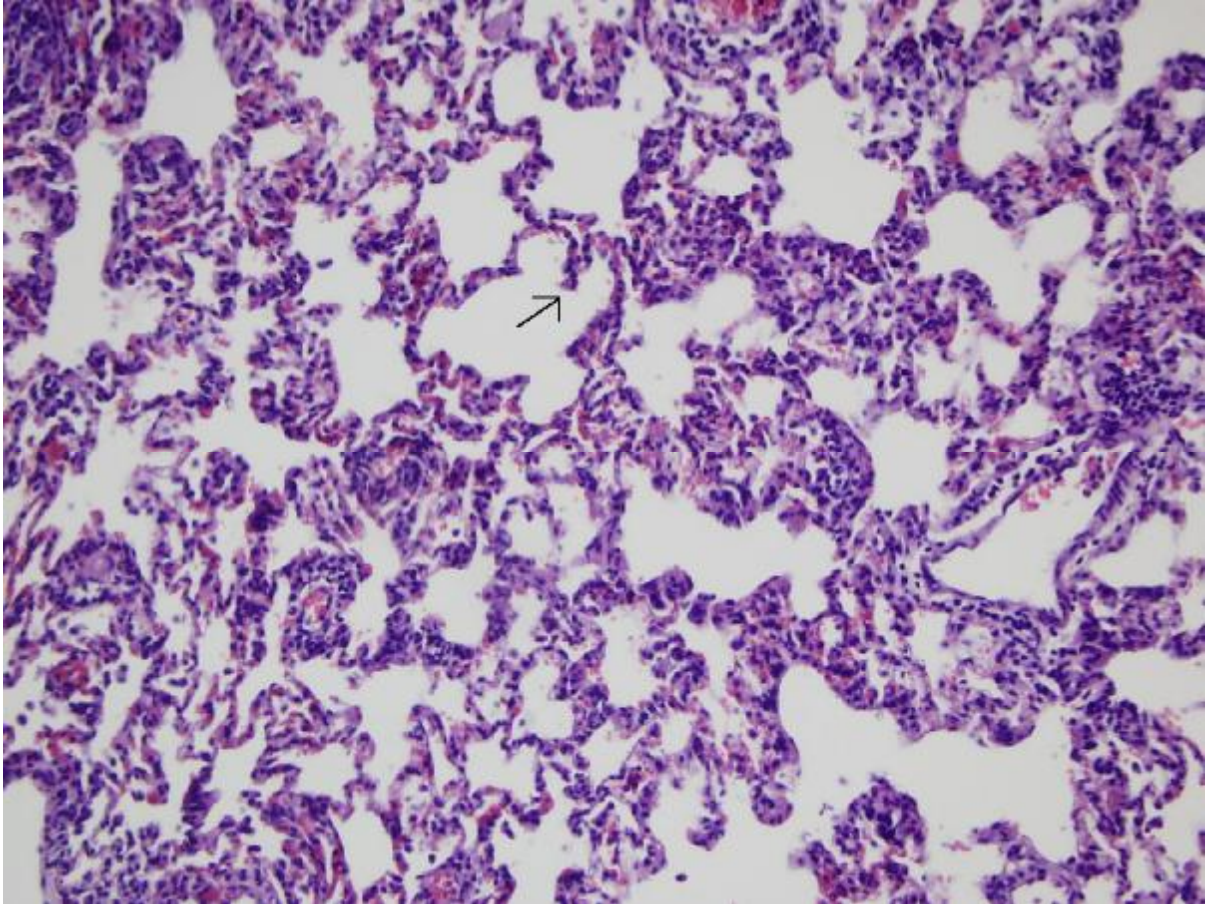
Tüm gruplar göz önüne alındığında, deney başlangıcı ve bitiminde vücut ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($\chi^2=15.3$, $sd=2$, $p < 0.001$). Sağ akciğer ağırlığı ölçümleri sonucu A, B ve C grupları arasında sağ akciğer ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu gözlemlenmiştir ($\chi^2=17.5$, $sd=2$, $p < 0.001$). Sağ akciğer volüm ölçümleri A, B ve C grupları arasında volüm bakımından istatistiksel olarak çok anlamlı bulunmuştur ($\chi^2=17.5$, $sd=2$, $p < 0.001$). A, B, ve C gruplarında ölçülen akciğer volüm indeksleri kıyaslanmış ve istatistiksel olarak oldukça anlamlı fark bulunmuştur ($\chi^2=16.5$, $sd=2$, $p < 0.001$). A, B, ve C gruplarında ölçülen akciğer ağırlık indeksleri kıyaslanmış ve istatistiksel olarak oldukça anlamlı fark bulunmuştur ($\chi^2=15.4$, $sd=2$, $p < 0.001$).

Deney bitiminde her üç gruba ait akciğer dokuları çıkarılıp %10 formalin içinde fiske edildikten sonra histopatolojik incelemeye tabi tutulmuş ve ikincil krest oluşumundaki fark istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

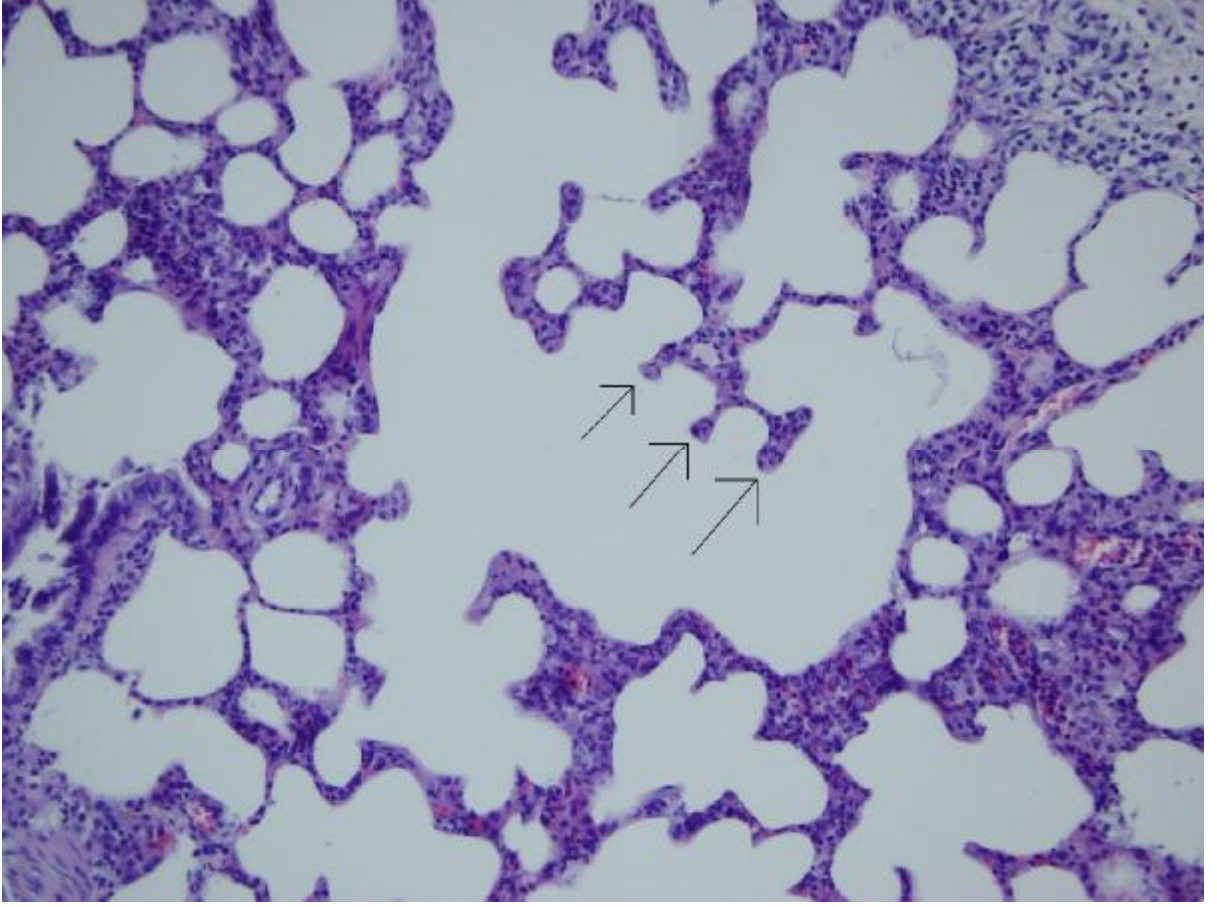
Tablo 14: Deney bitiminde yapılan histopatolojik incelemede, ikincil krest oluşumu gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır (Mann Whitney – U testi). İKO: İkincil krest oluşumu.

	İKO (Grup A – Grup B)	İKO (Grup A – Grup C)	İKO (Grup B – Grup C)
Z	-2.514	-2.611	-2.402
P	0.012	0.009	0.016

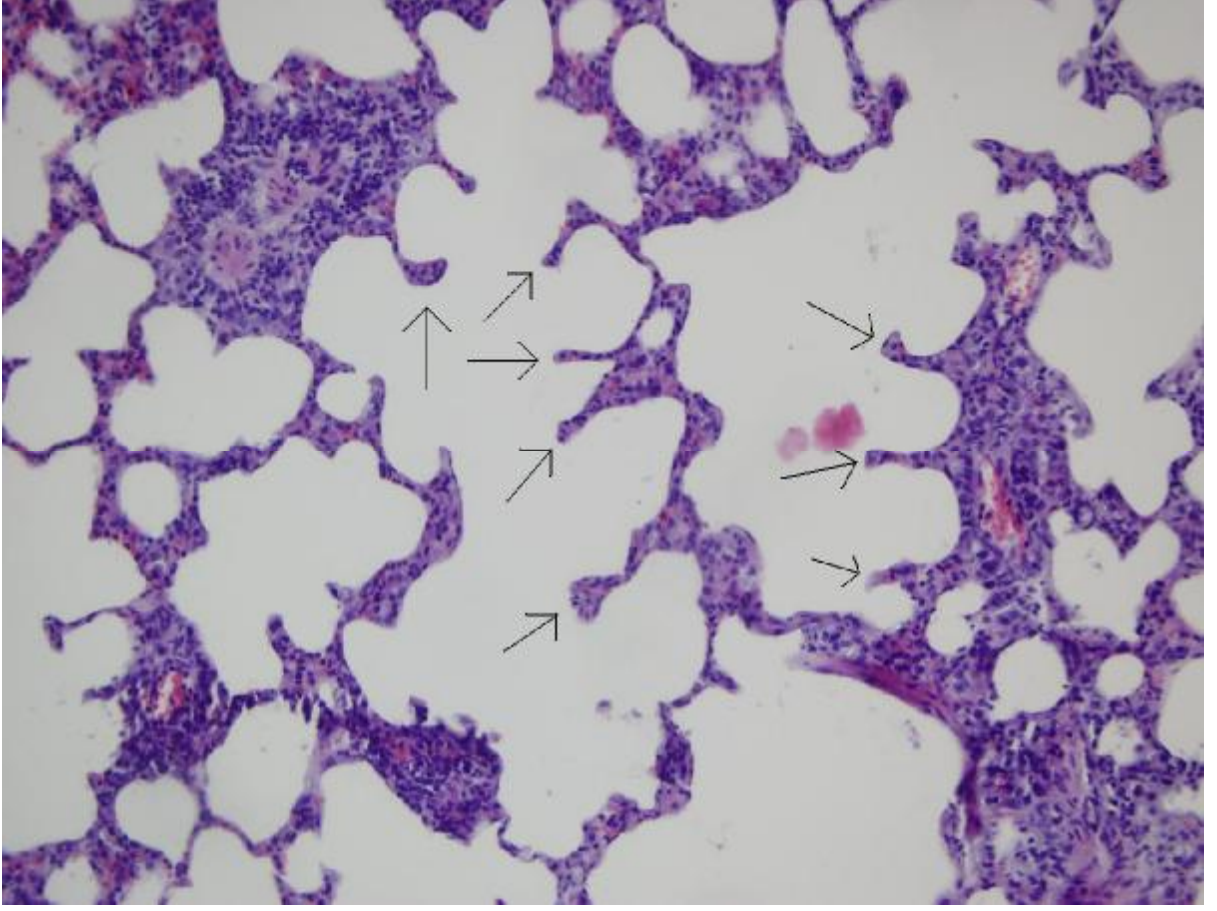
Deney bitiminde yapılan histopatolojik incelemede, ikincil krest oluşumunda Grup A-B ($z=-2.5$, $p < 0.05$), Grup A-C ($z=-2.6$, $p < 0.05$) ve Grup B-C ($z=-2.4$, $p < 0.05$) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.



Resim 5. Sham grubunda (Grup A) sekonder krest oluşumları (ok) çok az görülmektedir (Hemotoksilen & Eosin X 20).



Resim 6. Kontrol grubunda (Grup B) sekonder krest oluşumları (oklar) çalışma grubuna (Grup C) göre daha az görülmektedir (Hemotoksilen & Eosin X 20).



Resim 7. Çalışma grubunda (Grup C) artmış ikincil krest oluşumlar (oklar) gözlenmektedir (Hemotoksilen & Eosin X 20)

TARTIŞMA:

Pnöminektomi, akciğer kanserinde tümörün rezeksiyonu amacıyla veya harap olmuş akciğer olgularında fonksiyon görmeyen ve başta enfeksiyon olmak üzere çeşitli komplikasyonlara yol açabilen destrükte dokunun çıkarılması amacıyla, çok nadir olarak da travma hastalarında aşırı doku kaybı ve önlenemeyen kanama mevcut ise uygulanmaktadır. Bu hasta gruplarının çoğunluğunu akciğer kanseri olguları oluşturmaktadır. Bu hasta grubunda yaş, komorbid hastalıklar ve en önemlisi uzun süre tütün ve tütün mamülleri kullanımına bağlı olarak karşı akciğerin parankim kalitesi de bozulmuştur. Azalmış komplians ve silier fonksiyon, kronik enfeksiyon sekelleri ve esnekliği azalmış, amfizematöz parankim yapısı sıklıkla primer patolojiye eşlik etmektedir. Dolayısıyla operasyon sonrası geri kalan akciğer dokusunun oksijenizasyon problemi yaşanmaksızın solunum fonksiyonunu yerine getirip getiremeyeceği bu hastalarda cevaplanması gereken en önemli sorudur. Her ne kadar preoperatif arteriyel kan gazı, spirometri testi ve kantitatif ventilasyon-perfüzyon sintigrafisi gibi yöntemler ile operasyon sonrası solunum fonksiyonları değerlendirilebiliyor olsa da kalan akciğer dokusunun efor anında solunum işlemini yerine getirmekte zorlanması ve bu durumun hastanın yaşam kalitesini düşürüp günlük aktivitelere geri dönüş zamanını uzatması mümkündür.

Kompansatuvar akciğer gelişimi iki faz halinde ilerlemektedir. Başlangıç fazında septal kalınlaşma ve hava yolunda uzama olmaktadır. Bu dönemde sınırlı fonksiyonel uyum söz konusudur. Geç fazda ise, septalar tekrar şekillenerek normal alveoler yapıyı oluşturmaktadır. Bu faz, solunumda en üst düzede fonksiyonel artış ile birliktedir. Alveoler volüm, kapiller volüm ve kan-gaz bariyeri yüzey alanı kompansatuvar büyüme bittiğinde bundan sonra koruyacağı son durumuna erişmiş olur.

Rezidü akciğer dokusunda boyutsal olarak artış sağlanması solunum fonksiyonlarının gelişmesine katkıda bulunacaktır. Bu amaçla kullanılan bir çok ajanın akciğer gelişimi üzerine olumlu etkileri yapılan çalışmalarda gösterilmekle beraber ulaşılması kolay, kullanılması basit ve yan etkisi hemen hiç olmayan ozonun akciğerin gelişimi üzerine etkilerini ortaya konan bir çalışma henüz literatüre geçmemiştir.

Pnöminektomi sonrası kalan akciğer dokusunun büyümesinde TGF- β , vasküler endotelial büyüme faktörü, keratinosit büyüme faktörü, epidermal büyüme faktörü çok önemli rol oynamaktadır. Kaza AK ve arkadaşları, akciğer gelişimi için epidermal büyüme

faktörü ve keratinosit büyüme faktörü kullanmış ve başarılı sonuçlar elde etmiştir (83. 84). Bu büyüme faktörleri tip 2 pnömositler, epitel hücreleri ve endotel hücrelerde proliferasyonu arttırarak akciğerin gelişmesini sağlamaktadır. Vasküler endotelyal büyüme faktörü kapiller oluşumları arttırarak primer alveolar yapının gelişimine katkıda bulunmaktadır. Uygun dozlarda kullanılan ozon da bu sitokinlerin sentezini arttırarak hücre proliferasyonunu ve intraselüler matriksin sentezini arttırıp iyileşme ve doku rejenerasyonuna katkıda bulunmaktadır (86).

Ayrıca ozon, anjiogenezis yapan vasküler endotelyal büyüme faktörünün en önemli mediatörü olan NO sentezinde artışa neden olmaktadır. NO sentezindeki artış ozonun erken faz mediatörü olan katalaz seviyesindeki artış ile koreledir (80).

Postpnömonektomik kompensatuvar büyümede rol alan transkripsiyon faktörlerinden biri de I κ B- α olup sentezi, hücre proliferasyonunu arttıran bir antiapoptotik uyarıcı olan NF- κ B tarafından uyarılır. Ozonun vücuttaki erken faz ulaşı ROS olup en önemli ürünü, H₂O₂' dir. H₂O₂, NF- κ B' yı aktive ederek hücre proliferasyonunu arttırmaktadır.

Yukarıda sayılan tüm bu yollar ile ozonun, pnömonektomi sonrası rezidü akciğer dokusunda hücre proliferasyonunu tetikleyerek volüm ve ağırlık artışı hipotezine varılabilir.

Bu çalışmada sol pnömonektomi sonrası ratlara intrarektal yoldan ozon gazı insüfle ederek karşı akciğer dokusunda kompensatuvar büyümeyi kontrol ettik. Ozone, Grup C' de operasyon öncesi 5 gün boyunca her gün 10 μ gr/ml medikal ozon 0.36mg/kg dozda, operasyon sonrası 5 gün boyunca hergün 30 μ gr/ml medikal ozon 1.1mg/kg dozda uygulanmıştır. Sonuçların değerlendirilmesinde akciğer volüm indeksi ve akciğer ağırlık indeksi kullanılmıştır. Bu değerler kantitatif olarak hesaplanabilen ve akciğer büyümesi konusunda fikir verebilen değerlerdir.

Deney süresince bütün ratlarda geçen zamanla beraber fizyolojik ağırlık artışı olmuştur. Ozon verilen grupta ağırlık artışı diğer gruplara göre daha fazla olmuştur. Ozonun oksijenin dokulara ulaşımını arttırarak genel metabolizmayı düzenlemesi, immun modülasyon ile organizmanın duyumsadığı stresi azaltması, nero-endokrin stimülasyon ile daha iyi hissetmeyi sağlaması ve büyüme faktörlerini regüle etmesi nedeniyle açıklanabilir. Gruplar arasında kilo alımındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olup ($p < 0.001$) en fazla ozon grubu kilo almıştır.

Sakrifikasyon sırasında akciğer dokusu hem toraks içinde hem çıkarılırken incelenmiştir. Grup C' de daha fazla olmak üzere Grup B ve C' de sağ akciğer dokusunun posterovertebral alandan sol hemitoraksa herniye olduğu gözlenmiştir. Grup C' de bir ratta

akciğer dokusu sol hemitoraksı tamamen doldurmuş diğer ratlarda ise bir miktar serohemorajik mayinin bulunduğu boşluğun kaldığı tespit edilmiştir. Sol pnömonektomi sonrası daha sık görülen posterior herniasyonların Grup C' de daha fazla olması, sağ akciğerdeki büyüme ile orantılı artmış herniasyonu göstermektedir.

Deneyin başlangıcında ve sakrifikasyondan önce ratların ağırlıkları tartılmış ve ağırlık artışları istatistiksel olarak gruplar arasında kıyaslanmıştır. Grup B' de ratların ağırlığındaki artış Grup A' ya göre, Grup C' de ise Grup B ve A' ya göre istatistiksel olarak anlamlı artış bulunmuştur ($p = 0.018$). pnömonektomiye rağmen olan vücut ağırlığındaki bu anlamlı artış preoperatif dönemde uygulanan ozon terapinin immun modülasyon üzerinden postoperatif süreçte duyumsanan stresi azaltmasına bağlıdır. Oksidatif ön koşullanma, ozonun geç dönem mediatörü olan LOP bileşikleri sayesinde uzak organda düşük düzeyde oksidatif stres oluşturarak vücudun antioksidan sistemlerini aktive etmiş ve asıl oksidatif stres kaynağı olan pnömonektomi sonrası vücudun kolayca stres ile başa çıkmasına olanak sağlayarak postoperatif süreçte anabolik faza geçişi hızlandırmıştır.

Sağ akciğer dokuları her üç grupta da sağ ana bronş distalinden dönülmüş, çevresindeki fibrotik yapışıklıklardan çıkarılmış ve ayrılmıştır. Bu aşamada dikkatli diseksiyon yapmak önemlidir. Çünkü oluşabilecek parankim hasarı, hem akciğer ağırlığını etkileyecek, hem de hava kaçağına neden olarak volüm ölçümlerinin yanlış çıkmasına yol açacaktır. Ağırlık ölçümleri hasas terazi kullanılarak gram cinsinden yapılmıştır. Ortalama rat total kuru akciğer ağırlığı kilo yaş ve cinsiyetle değişmekle beraber 5-9 gr arasındadır.

Akciğer ağırlık endeksi kantitatif olarak hesaplanabilen kullanışlı bir parametredir. Elde edilen akciğer dokusunun ağırlığının vücut ağırlığına bölünmesi ile hesaplanır. Payda kısmında vücut ağırlığı olduğu için deneklerin kilo alımı ile negatif yönde etkilenmemektedir. Akciğer ağırlığındaki artış, kilo alımı ile paralel seyrettiğinden ağırlık indeksi bunlardan etkilenmeden sabit kalabilir. Çalışma sonucunda hesaplanan akciğer ağırlık indeksleri Grup B' de Grup A' ya göre artmış, Grup C' de ise hem Grup A hem de Grup B' ye göre artmış olarak bulunmuştur. Grup B' de bu indekste artış % 34 iken Grup C' de ise artış % 62' dir. Yani akciğer ağırlık artışı ozon verilen grupta daha fazla olmuştur. Akciğer ağırlık indeksi vücut ağırlığına göre akciğerlerdeki ağırlık miktarını belirlediği için sadece akciğer büyüklüğü hakkında bilgi verebilir, fonksiyonel bir gösterge değildir.

Akciğerlerin total volüm miktarı ratlarda kilo yaş ve cinsiyetle değişmekle beraber genellikle 10–15 ml arasındadır. Sağ akciğer volümlerinde yapılan ölçümlerde Grup B' de

grup A' ya göre, Grup C' de ise Grup A ve B' ye göre artış bulunmuştur. Ozon alan grupta ortalama akciğer volümü 13 ml nin üzerine çıkmış ve Grup A' ya göre yaklaşık 3.4 kat, Grup B' ye göre 1.4 kat artış kaydetmiştir. Bu durum alveolar genişlemeyi ve buna bağlı olarak oluşan hacim artışını doğrulamaktadır.

Akciğerin volümünün değerlendirilmesinde akciğer volüm indeksi kıymet olarak akciğer ağırlık indeksine benzer ve kantitatif olarak hesaplanabilir. Elde edilen akciğer volümünün vücut ağırlığına bölünmesi ile hesabedilir. Payda kısmında vücut ağırlığı olduğu için deneklerin kilo alımı ile negatif yönde etkilenmemektedir. Ancak kilo alımı ve deneklerin hacimce büyümeleri akciğer dokusunda da bir miktar büyüme yapacaktır. Dolayısıyla bu iki orandaki değişiklikler birbirini dengeleyecek ve sonuçta güvenilir bir değer ortaya çıkacaktır. Çalışmamızda akciğer volüm indeksleri Grup B' de Grup A' ya göre artmış, Grup C' de ise Grup A ve B' ye göre artmış olarak bulunmuştur. Grup C' de indekste olan artış Grup A' nın 2.5, Grup B' nin 1.5 katıdır. Bu durum, kilo alımının Grup C' de en fazla olduğu göz önüne alınırsa ozon uygulanan gruptaki akciğer volüm artışının çok daha fazla olduğunu göstermektedir. Bu volüm artışı indekse de yansımaktadır. Akciğer volüm indeksi vücut ağırlığına göre akciğerlerdeki volüm miktarını belirlediği için sadece akciğer volüm miktarı hakkında bilgi verebilir, fonksiyonel bir gösterge değildir. Yine de bu iki indeks beraber ele alındığında, ozonun akciğer dokusunda gerçek anlamda büyümeye yol açtığını ve doku olarak ağırlığı artan akciğerdeki alveolar yüzeyin genişlediğini, bunun da toplam efektif akciğer volümünde artışla sonuçlandığını göstermektedir. Böylelikle ozon uygulaması ile pnömonektomi sonrası rezidü akciğer dokusunda büyüme bu iki indeksteki yükselmenin de işaret ettiği üzere istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmıştır.

Ozonun, pnömonektomi uygulanacak rata ne zaman, hangi yola, ne dozda ve ne kadar süre kullanılacağı tartışmalıdır. Neticede daha bu sebepten ötürü hastaya ozonterapi uygulanması literatürde rastlanmamıştır. Kaldı ki ozonterapi şemaları bu işin eğitimini almış hekimlerce, hastaya ve hastalığa özel doz ve kullanım süreleri ile şekillendirilmektedir. Ancak ozonun vücutta etkileri moleküler düzeyde incelenecek olursa belli bir şema çıkarmak mümkün olacaktır. Ozon, oksidatif ön koşullanma özelliği nedeniyle preoperatif süreçte mutlaka uygulanmalı hastanın metabolizması operasyon prosedürünün stresine hazırlanmalıdır. Postoperatif süreçte de ozonterapi uygulanarak büyüme faktörleri ve reseptörleri upregüle edilmeli ve rezidü akciğer dokusunun gelişimi için elverişli ortam sağlanmalıdır. González R ve arkadaşları, sisplatinin tetiklediği nefrotoksisiteye ozon

terapinin 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 ozonu sisplatin verilmesi bittikten sonra uygulamıştır. Bu çalışma sonucunda 1.1 mg/kg dozda ozonun diğerk iki dozdan daha etkili olduğunu belirtmişlerdir. Yazarlar ayrıca rektal insüflasyonun ratlar için pratik ve uygulanabilir olduğunu ama insanlarda major otohemoterapinin daha efektif olduğunu belirtmişlerdir (4). Biz çalışmamızda, oksidatif ön koşullanma için preoperatif süreçte 0.36 mg/kg dozda ozonu 5 gün boyunca rektal yoldan uyguladıktan sonra büyüme faktörlerinin aktive olması için postoperatif süreçte ilk 5 gün yine rektal yoldan 1.1 mg/kg dozda ozon uygulamayı uygun gördük. İntrarektal ozon uygulamasının pratik ve yan etkisi az olmasına rağmen ozon dozunun ayarlanması zordur yine de ratlarda en pratik yöntemdir. Major otohemoterapi yöntemi insanlarda en uygun yöntemdir çünkü kan ile ozon arasındaki stekiometrik ilişki bu yolla çok daha fazla olur ve ozonun etkileri çok daha efektif şekilde ortaya konur.

Histopatolojik olarak hücre proliferasyonunun değerlendirilebilmesi amacıyla krest oluşumu ölçülmüştür. Alveoler oluşumun ilk basamağında, alveoler sak ve kanallar, pürüzsüz kalın duvarlardır. Bu duvarların merkezinde her iki tarafındaki kapiller sistem ile desteklenen bağ doku bulunmaktadır ve birincil septa olarak adlandırılır. Bu septalardan çevredeki boşluğa doğru uzanan aynı morfolojik yapıdaki ikincil septaların ucunda elastik lifler bulunmaktadır. Bu elastik lifleri takiben çevresindeki boşluğa doğru büyüyen ikincil septalar ilk aşamada birincil septa üzerindeki bir kambur ya da çıkıntı ya benzer ve krest adını alır. Elastik lifleri takiben büyüyen krestler sonunda birleşerek yeni oluşan alveollerin sınırlarını oluşturur (90). İkincil krest oluşumu, aktif alveolar oluşum sırasında primer olarak gözükmemektedir. Histopatolojik incelemelerde alveol yapılarında görülen kümeleşme nedeniyle alveol sayısının, alveol duvar kalınlığının ve alveol çapının objektif olarak değerlendirilebilmesi mümkün olmamıştır. Bu nedenle Özer ve arkadaşlarının da çalışmalarında değindiği üzere alveolar proliferasyonun belirteci olan ikincil krest oluşumları sayılmıştır (91). Bizim çalışmamızda ikincil krest oluşumunda, Grup B' de Grup A' ya göre, Grup C' de ise Grup A ve B' ye göre artış olduğu gözlenmiştir. Artış istatistiksel olarak anlamlıdır (p = 0.01).

Postoperatif solunum fonksiyonlarındaki % 50' ye yakın azalma bir yana pnömonektomi uygulanmış olan hasta grubunu bekleyen bir çok komplikasyon

bulunmaktadır. Bunlardan en önemlisi de halen mortalitesi % 50' yi bulan postpnömonektomik ampiyemdir. Etken ne olursa olsun ozonlu serum fizyolojik ile modifiye Clagett yönteminde olduğu gibi intraplevral boşluğun yıkanması yanı sıra major otohemoterapi ile immun modülasyon sayesinde çoklu antibiyotiğe direnç gösteren olgularda dahi ampiyem tedavisi mümkün olmaktadır. Modifiye Clagett yöntemiyle postpnömonektomik ampiyemlerde ozonun direk dezenfektan etkisinden faydalanılabilmektedir. Postpnömonektomik ampiyemli olguların %50' sinde bronkoplevral fistül eşlik eder. Bocci V, bilinen en iyi tedavilere direnç geliştirmiş ve 14 aydır ampiyemi olan hastayı major otohemoterapi ve topikal ozon uygulaması ile 2 ay içinde tamamen iyileştirdiğini belirtmektedir (57).

Postpnömonektomik en çok korkulan komplikasyonlardan biri de kalan akciğer dokusunda gelişen enfeksiyonlardır. Hastanın hali hazırda kısıtlanan akciğer rezervleri mevcut enfeksiyon tablosu nedeniyle daha da azalacak ve hayati riskler oluşturacaktır. Cerrahi prosedür ve komorbid hastalıklar nedeniyle postoperatif entübasyon süresi uzayan ve ya yaşam kalitesi iyi olmayan hastalarda hastaneden taburculuk sonrası gelişen pnömoniler morbidite ve mortalite açısından ciddi riskler oluşturmaktadır. Belianin ve Schmelev uzamış pnömonisi olan hastalarda uyguladıkları ozonterapi ile kontrol grubuna göre iyileşmede % 40 düzeyinde bir artış ve balgamin bakteriden temizlenmesinde 2 -3 haftalık bir kısalma elde etmişlerdir (66).

Pnöminektomi genellikle bronşial karsinom nedeniyle yapıldığı ve bu hasta grubunda uzun süre tütün kullanımı hikâyesi olduğu için KOAH' a komorbid hastalıklar grubunda sık rastlanılmaktadır. Hernández Rosales ve arkadaşları ozonterapi ile bu hastaların solunum fonksiyonlarında iyileşme ve semptomlarda gerileme kaydetmiştir (65).

Sonuç olarak, normalde vücudun kendini koruması ve yaşamın devam ettirilmesi adına postpnömonektomik kompensatuvar akciğer büyümesini sağlaması, egsojen olarak verilecek ozon ile hızlandırılıp arttırılabilir. Preoperatif süreçte kullanılan ozon ile antioksidan sistem upregülasyonu sayesinde vücuda oksidatif strese karşı direnç kazandırılarak postoperatif süreçte anabolik faza geçiş kısaltılacaktır. Ozon sadece akciğerin gelişimi ve solunum fonksiyonlarının iyileştirilmesi için değil komplikasyonlar ve sık eşlik eden komorbid hastalıklarla mücadele için de kullanılabilir. Ozonun uygulama yollarındaki kolaylık güvenli doz aralığı, yan etkisi olmaması, ulaşımının kolay ve ekonomik olması kullanımdaki kısıtlamaları ortadan kaldırmaktadır. Böylelikle hastaların hastanede kalış süresi, ilaç

kullanımı, doktor vizit sayısı düşecek ve dış etken ve mikroorganizmalara karşı hastanın direnci artacaktır. Şüphesiz ki rezeke edilen akciğer dokusunun eksikliğinin fonksiyonel olarak tam anlamıyla telafi edilmesi mümkün değildir. Ancak ozon sözü geçen olumlu etkileri sayesinde, kalan akciğer dokusunu büyüterek fonksiyonel kaybın hissedilmesini azaltmakla kalmayıp, mevcut komorbid hastalıklarla ve komplikasyonlarla mücadelede de önemli bir etken olacağı kanısındayız. Bundan sonra yapılacak randomize kontrollü çalışmalar bu konunun daha net aydınlanmasına yardımcı olacaktır.

KAYNAKLAR:

1. Masuyama H, Hiramatsu Y, Kudo T. Effect of retinoids on fetal lung development in the rat. *Biol. Neonate*. 1995; 4: 264–73.
2. Karapolat S, Sanli A, Onen A, Acikel U, Sivriköz O. Effects of retinoic acid on compensatory lung growth. *J Cardiothorac Surg*. 2008 Jun 30;3:37.
3. 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.
4. 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.
5. Belianin II, Shmelev EI. Reduced mycobacterial resistance to antituberculous drugs in the experiment and clinic: immediate and long-term results. *Probl Tuberk Bolezn Legk*. 2007; 2: 31–8.
6. Kim HS, Noh SU, Han YW, Kim KM, Kang H, Kim HO, Park YM. Therapeutic effects of topical application of ozone on acute cutaneous wound healing. *J Korean Med Sci*. 2009 Jun; 24(3): 368–74. Epub 2009 Jun 12.
7. Bhandari V, Choo-Wing R, Lee CG, Yusuf K, Nedrełow JH, Ambalavanan N, Malkus H, Homer RJ, Elias JA. Developmental regulation of NO-mediated VEGF-induced effects in the lung. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2008 Oct; 39(4): 420–30. Epub 2008 Apr 25.
8. León OS, Menéndez S, Merino N, Castillo R, Sam S, Pérez L, Cruz E, Bocci V. Ozone oxidative preconditioning: a protection against cellular damage by free radicals. *Mediators Inflamm*. 1998; 7(4): 289–94.
9. James, TW, Faber, LP. Pneumonectomy for malignant disease. *Chest Surg Clin N Am* 1999; 9: 291.
10. Conlan, AA, Kopec, SE. Pneumonectomy for benign disease. *Chest Surg Clin N Am* 1999; 9: 311.
11. Singh S, Padmanabhan R, Singh G, Kaur G. Effect of maternal hypervitaminosis A during late gestation on pre- & postnatal lung maturation in rat. *Indian J Exp Biol*. 1983; 3: 103-7
12. Sharma HS, Misra UK. Biochemical development of the rat lung: studies on cellular DNA, RNA and protein content in relation to maternal vitamin A status. *Z Ernährungswiss*. 1987; 2: 116-24.

13. Hsia CC, Herazo LF, Fryder-Doffey F, Weibel ER. Compensatory lung growth occurs in adult dogs after right pneumonectomy. *J Clin Invest* 1994; 94: 405-12.
14. Voswinckel R, Motejl V, Fehrenbach A, Wegmann M, Mehling T, Fehrenbach H, Seeger W. Characterisation of post-pneumonectomy lung growth in adult mice. *Eur Respir J* 2004; 24: 524-32.
15. Veness-Meehan KA, Pierce RA, Moats-Staats BM, Stiles AD. Retinoic acid attenuates o₂-induced inhibition of lung septation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 283: L971-80.
16. Dane MD, Yan X, Tamhane RM, Johnson RL, Estrera AS, Hogg DC, Hogg RT, Hsia CW. Retinoic acid-induced alveolar cellular growth does not improve function after right pneumonectomy. *J Appl Physiol* 2004; 96: 1090-96.
17. Liebeskind A, Srinivasan S, Kaetzel D, Bruce M. Retinoic acid stimulates immature lung fibroblast growth via a PDGF-mediated autocrine mechanism. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 1: 81-90.
18. Watkins CA, Burkhardt LR, Rannels DE. Lung growth in response to unilateral pneumonectomy in rapidly growing rats. *Am J Physiol* 1985; 248: 162-9.
19. Yan X, Belleto DJ, Foster DJ, Johnson RL Jr, Hagler HK, Estrera AS, Hsia CC. Retinoic acid induces nonuniform alveolar septal growth after right pneumonectomy. *J Appl Physiol* 2004; 3: 1080-9.
20. Rannels DE, White DM, Watkins CA. Rapidity of compensatory lung growth following pneumonectomy in adult rats. *J Appl Physiol* 1979; 46: 326-33.
21. Willet KE, Jobe AH, Ikegami M, Newnham J, Sly PD. Antenatal retinoic acid does not alter alveolization or postnatal lung function in preterm sheep. *Eur Respir J* 2000; 16: 101-7.
22. Yan X, Belleto DJ, Dane MD, Elmero RG, Johnson RL Jr, Estrera AS, Hsia CC. Lack of response to all-trans retinoic acid supplementation in adult dogs following left pneumonectomy. *J Appl Physiol* 2005; 5: 1681-8.
23. Maden M, Hind M. Retinoic acid in alveolar development, maintenance and regeneration. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2004; 29: 799-808.
24. Mizuuchi T, Kida K, Taguchi T, Seyama Y. Early changes of postpneumonectomy lung growth in premature rats. *Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi* 1991; 1: 11-5.
25. Holmes C, Thurlbeck WM. Normal lung growth and response after pneumonectomy in rats at various ages. *Am Rev Respir Dis* 1979; 5: 1125-36.

26. Massaro GD, Massaro D. Postnatal treatment with retinoic acid increases the number of pulmonary alveoli in rats. *Am J Physiol* 1996; 2: 157-82.
27. Rannels DE, Rannels SR. Compensatory growth of lung following partial pneumonectomy. *Exp Lung* 1988; 2: 157-82.
28. Kogelschatz U, Eliasson B, Hirth M. Ozone generation from oxygen and air: Discharge physics and reaction mechanisms. *Ozone Sci Eng* 1988;10: 367–378.
29. Heng S, Yeung KL, Djafer M, Schrotter J-C. A novel membrane reactor for ozone water treatment. *J Membr Sci* 2007;289: 67–75.
30. Stoker G. The surgical uses of ozone. *Lancet* 1916;188:712.
31. Stoker G. The surgical uses of ozone. *Lancet* 1917;189:797.
32. Cataldo F, Gentilini L. Chemical kinetics measurements on the reaction between blood and ozone. *Int J Biol Macromol* 2005;36: 61–65.
33. Bocci V, Travagli V. How an ill-conceived methodological approach can condemn the medical use of ozone therapy. *Int J Biol Macromol* 2005;37: 287–288.
34. Van der Vliet A, O’Neil CA, Eiserich JP, Cross CE. Oxidative damage to extracellular fluids by ozone and possible protective effects of thiols. *Arch Biochem Biophys* 1995;321: 43–50.
35. Bocci V. The question of balance: The interaction between blood and ozone. In: Valacchi G, Davis P, editors. *Oxidants in biology*. The Netherlands: Springer; 2008. pp 155–165.
36. Larini A, Bocci V. Albumin is the most effective antioxidant during human plasma and blood ozonization. *Rivista Italiana di Ossigeno–Ozonoterapia* 2004;3: 15–24.
37. Halliwell B, Clement MV, Long LH. Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Lett* 2000;486: 10–13.
38. Forman HJ. Hydrogen peroxide: The good, the bad and the ugly. In: Valacchi G, Davis P, editors. *Oxidants in biology*. The Netherlands: Springer; 2008. pp 1–17.
39. Stone JR, Yang S. Hydrogen peroxide: A signaling messenger. *Antioxid Redox Signal* 2006;8: 243–270.
40. Baeuerle PA, Henkel T. Function and activation of NF-kappa B in the immune system. *Annu Rev Immunol* 1994;12: 141–179.
41. Ardanaz N, Pagano PJ. Hydrogen peroxide as a paracrine vascular mediator: Regulation and signaling leading to dysfunction. *Exp Biol Med* 2006;231:237–251.

42. Bocci V, Valacchi G, Corradeschi F, Aldinucci C, Silvestri S, Paccagnini E, Gerli R. Studies on the biological effects of ozone: 7. Generation of reactive oxygen species (ROS) after exposure of human blood to ozone. *J Biol Regul Homeost Agents* 1998;12: 67–75.
43. Antunes F, Cadenas E. Estimation of H₂O₂ gradients across biomembranes. *FEBS Lett* 2000;475:121–126.
44. Stone JR, Collins T. The role of hydrogen peroxide in endothelial proliferative responses. *Endothelium* 2002;9:231–238.
45. Urschel HC. Cardiovascular effects of hydrogen peroxide: Current status. *Dis Chest* 1967;51: 180–192.
46. Lacy F, O'Connor DT, Schmid-Schonbein GW. Plasma hydrogen peroxide production in hypertensives and normotensive subjects at genetic risk of hypertension. *J Hypertens* 1998; 16:291–303.
47. Poli G, Schaur RJ, Siems WG, Leonarduzzi G. 4-Hydroxynonenal: A membrane lipid oxidation product of medicinal interest. *Med Res Rev* 2008;28:569–631.
48. Toyokuni S, Yamada S, Kashima M, Ihara Y, Yamada Y, Tanaka T, Hiai H, Seino Y, Uchida K. Serum 4-hydroxy-2-nonenal-modified albumin is elevated in patients with type 2 diabetes mellitus. *Antioxid Redox Signal* 2000;2:681–685.
49. Aldini G, Vistoli G, Regazzoni L, Gamberoni L, Facino RM, Yamaguchi S, Uchida K, Carini M. Albumin is the main nucleophilic target of human plasma: A protective role against proatherogenic electrophilic reactive carbonyl species? *Chem Res Toxicol* 2008;21:824–835.
50. Kume M, Yamamoto Y, Saad S, Gomi T, Kimoto S, Shimabukuro T, Yagi T, Nakagami M, Takada Y, Morimoto T, Yamaoka Y. Ischemic preconditioning of the liver in rats: Implications of heat shock protein induction to increase tolerance of ischemia-reperfusion injury. *J Lab Clin Med* 1996;28:251–258.
51. Peralta C, Xaus C, Bartrons R, Leon OS, Gelpi E, Rosello´ -Catafau J. Effect of ozone treatment on reactive oxygen species and adenosine production during hepatic ischemia-reperfusion. *Free Radic Res* 2000;33:595–605.
52. Wolff S. Aspects of the adaptive response to very low doses of radiation and other agents. *Mutat Res* 1996;358:135–142.
53. Calabrese EJ. Paradigm lost, paradigm found: The re-emergence of hormesis as a fundamental dose response model in the toxicological sciences. *Environ Pollut* 2005;138:379 411.

54. Iles KE, Liu RM. Mechanisms of glutamate cysteine ligase (GCL) induction by 4-hydroxynonenal. *Free Radic Biol Med* 2005;38:547–556.
55. Dündar İ H. Ozon Tedavisi. Türkiye. Mart Matbaacılık; 2005. pp 20-21
56. 187. De Monte A, van der Zee H, Bocci V. Major ozonated autohemotherapy in chronic limb ischemia with ulcerations. *J Altern Complement Med* 2005;11:363–367.
57. Bocci V. Retinal degenerative disorders. *Ozone. A new medical drug*. Dordrecht, The Netherlands: Springer; 2005. pp 132–144.
58. Carpendale MT, Freeberg JK. Ozone inactivates HIV at noncytotoxic concentrations. *Antiviral Res* 1991;16:281–292.
59. Sechi LA, Lezcano I, Nunez N, Espim M, Dupre` I, Pinna A, Mollicotti P, Fadda G, Zanetti S. Antibacterial activity of ozonized sunflower oil (Oleozon). *J Appl Microbiol* 2001;90: 279–284.
60. Bocci V, Venturi G, Catucci M, Valensin PE, Zazzi M. Lack of efficacy of ozone therapy in HIV infection. *Clin Microbiol Infect* 1998;4:667–669. 676 K BOCCI ETAL. *Medicinal Research Reviews* DOI 10.1002/med
61. Burgassi S, Zanardi I, Travagli V, Montomoli M, Bocci V. How much ozone bactericidal activity is compromised by plasma components? *J Appl Microbiol*, doi:10.1111/j.1365-2672.2008.04141.x.
62. Bocci V, Luzzi E, Corradeschi F, Paulesu L, Di Stefano A. Studies on the biological effects of ozone: 3. An attempt to define conditions for optimal induction of cytokines. *Lymphokine Cytokine Res* 1993;12:121–126.
63. Jordan L, Beaver K, Foy S. Ozone treatment for radiotherapy skin reactions: Is there an evidence base for practice? *Eur J Oncol Nurs* 2002;6:220–227.
64. Barnes PJ. Scientific rationale for inhaled combination therapy with long-acting beta2-agonists and corticosteroids. *Eur Respir J* 2002;19:182–191.
65. Hernández Rosales FA, Calunga Fernández JL, Turrent Figueras J, Menéndez Cepero S, Montenegro Perdomo A. Ozone therapy effects on biomarkers and lung function in asthma. *Arch Med Res*. 2005 Sep-Oct;36(5):549-54.
66. Belianin II, Shmelev EI. Ozone therapy for protracted pneumonias. *Probl Tuberk Bolezn Legk*. 2009;(3):28-33

67. Chernekhovskaia NE, Iarema IV, Shishlo VK, Andreev VG, Khodos DV. Intratracheal lymphotropic ozone therapy in erosive-ulcerous tracheitis. *Vestn Khir Im I I Grek*. 2001;160(1):86-8.
68. Belianin II, Shmelev EI. Changes in drug resistance of *Mycobacteria* in the simultaneous use of chemotherapy and intravenous infusions of dissolved ozone. *Probl Tuberk Bolezn Legk*. 2004;(7):32-5.
69. Dobkin VG, Sadovnikova SS, Kuz'min GP, Bondarev GB. Local ozone therapy in the complex surgical treatment of pulmonary and pleural tuberculosis patients. *Probl Tuberk*. 2001;(7):18-20.
70. Rannels DE, Burkhart LR, Watkins CA: Effect of age on the accumulation of lung protein following unilateral pneumonectomy in rats. *Growth* 1984, 48:297-308.
71. Rannels DE, Stockstill B, Mercer RR, Crapo JD: Cellular changes in the lungs of adrenalectomized rats following left pneumonectomy. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1991, 5:351-362.
72. Brody JS, Burki R, Kaplan N: Deoxyribonucleic acid synthesis in lung cells during compensatory lung growth after pneumonectomy. *Am Rev Respir Dis* 1978, 117:307-316.
73. Rannels DE, Stockstill B, Mercer RR, Crapo JD: Cellular changes in the lungs of adrenalectomized rats following left pneumonectomy. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1991, 5:351-362.
74. Brody JS, Buhain WJ: Hormone-induced growth of the adult lung. *Am J Physiol* 1972, 223:1444-1450.
75. Dubaybo BA, Bayasi G, Rubeiz GJ: Changes in tumor necrosis factor in postpneumonectomy lung growth. *J Thorac Cardiovas Surg* 1995, 110:396-404.
76. Chen G, Goeddel DV. TNF-R1 signaling: a beautiful pathway. *Science*. 2002 May 31;296(5573):1634-5.
77. Landesberg LJ, Ramalingam R, Lee K, Rosengart TK, Crystal RG,. Upregulation of transcription factors in lung in the early phase of postpneumonectomy lung growth. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2001; 5: 1138-49
78. Ginn-Pease ME, Whisler RL. Redox signals and NF- κ B activation in T cells. *Free Rad Biol Med* 1998; 25: 346–361.
79. Zamora ZB, Borrego A, López OY, Delgado R, González R, Menéndez S, Hernández F, Schulz S. Effects of ozone oxidative preconditioning on TNF- α release and antioxidant-

prooxidant intracellular balance in mice during endotoxic shock. *Mediators Inflamm.* 2005 Feb 24;2005(1):16-22.

80. Valacchi G, Bocci V. Studies on the biological effects of ozone: 11. Release of factors from human endothelial cells. *Mediators Inflamm.* 2000;9(6):271-6.

81. Leuwerke SM, Kaza AK, Tribble CG, Kron IL, Laubach VE. Inhibition of compensatory lung growth in endothelial nitric oxide synthase-deficient mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2002; 6: 1272-8

82. Xu C, Liu W, Chen Z, Wang Y, Xiong Z, Ji Y. Effect of prenatal tetrandrine administration on transforming growth factor-beta1 level in the lung of nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia rat model. *J Pediatr Surg.* 2009 Aug;44(8):1611-20.

83. Kaza AK, Laubach VE, Kern JA, Long SM, Fiser SM, Tepper JA, Nguyen RP, Shockey KS, Tribble CG, Kron IL: Epidermal growth factor augments postpneumonectomy lung growth. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000, 120:916-922.

84. Kaza AK, Kron IL, Leuwerke SM, Tribble CG, Laubach VE. Keratinocyte growth factor enhances post-pneumonectomy lung growth by alveolar proliferation. 2002; 106: 120-4

85. Sakurai MK, Lee S, Arsenault DA, Nose V, Wilson JM, Heymach JV, Puder M. Vascular endothelial growth factor accelerates compensatory lung growth after unilateral pneumonectomy. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2007 Mar;292(3):L742-7. Epub 2006 Nov 22.

86. Kim HS, Noh SU, Han YW, Kim KM, Kang H, Kim HO, Park YM. Therapeutic effects of topical application of ozone on acute cutaneous wound healing. *J Korean Med Sci.* 2009 Jun;24(3):368-74. Epub 2009 Jun 12.

87. Van Gijn ME, Blankesteyn WM, Smits JF, Hierek 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.

88. Scherle W. A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology. *Mikroskopie.* 1970; 1: 57-60.

89. Veness-Meehan KA, Bottone FG, Stiles AD. Effects of retinoic acid on airspace development and lung collagen in hyperoxiaexposed newborn rats. *Pediatr Res* 2000;48:434-444.

90. Burri PH. Structural aspects of postnatal lung development - alveolar formation and growth. *Biol Neonate.* 2006;89(4):313-22. Epub 2006 Jun 1. Review.

91. Ozer EA, Kumral A, Ozer E, Duman N, Yilmaz O, Ozkal S, Ozkan H. Effect of retinoic acid on oxygen-induced lung injury in the newborn rat. *Pediatr Pulmonol.* 2005 Jan;39(1):35-40.