

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI

**OZON YAĞININ KAPSÜL FORMASYONU
ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

Dr. Engin ÖCAL

**UZMANLIK TEZİ
olarak hazırlanmıştır.**

ANKARA
2013

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI

**OZON YAĞININ KAPSÜL FORMASYONU
ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

Dr. Engin ÖCAL

**UZMANLIK TEZİ
olarak hazırlanmıştır.**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Emin MAVİLİ**

ANKARA
2013

Bu alışma, jürimiz tarafından Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'nda uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Emin MAVİLİ
(Hacettepe Üniversitesi) İmza

Üye: Prof. Dr. Figen ÖZGÜR
(Hacettepe Üniversitesi) İmza

Üye: Prof. Dr. Tunç ŞAFAK
(Hacettepe Üniversitesi) İmza

Üye: Prof. Dr. Aycan KAYIKÇIOĞLU
(Hacettepe Üniversitesi) İmza

Üye: Prof. Dr. Gökhan TUNÇBİLEK
(Hacettepe Üniversitesi) İmza

ÖZET

Öcal, E., Ozon yağının kapsül formasyonu üzerindeki etkisi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı uzmanlık tezi. Ankara, 2013. Kapsül formasyonu doku içerisine yerleştirilen implant materyallerine karşı gelişen ve subklinik enfeksiyonla daha da belirginleşen yabancı cisim reaksiyonudur. Literatür bilgilerine dayanılarak ozon yağının, kapsül formasyon kalınlığını inceleyeceği ve hücrel aktivitenin azalacağı hipotez edilmiştir. Hipotezi test etmek için rat sırtında kapsül kontraktürü deneysel modeli üzerinde çalışma planlanmıştır. Çalışmada 24 adet Sprague-Dawley rat kullanılmış ve ratlar eşit sayıda (n=6) dört gruba ayrılmıştır. Gruplar kontrol (grup 1), ozon yağı (grup 2), enfeksiyon (grup 3) ve tedavi (grup 4) grubu olarak planlandı. Grup ayırt etmeksizin tüm rat sırtında 1cm'lik cilt insizyonu sonrası *Panniculus Carnosus* kas altı paket oluşturuldu. Grup 1'de submuskuler paket içerisine sadece silikon plaka (10x10x1 mm) yerleştirilmesi, grup 2'de silikon plaka yerleştirilmesi + ozon yağı uygulanması, grup 3'te silikon plaka yerleştirilmesi + standardize *S. epidermidis* suşu ekimi, grup 4'te silikon plaka yerleştirilmesi + standardize *S. epidermidis* suşu ekimi + ozon yağı uygulaması yapıldı. Cerrahi işlem sonrası denekler standart kafeslerde *ad libitum* 4 hafta izlendi. Dördüncü hafta sonunda implant çevresinde oluşan kapsüller fibrozisi incelemek için spesimenler çıkarılıp, histolojik ve sitolojik analiz için %10'luk formal aldehit çözeltisine konuldu. Spesimenler kapsül kalınlığı, inflamasyon türü, inflamasyon derecesi ve damar yoğunluğu yönünden değerlendirildi. Grup 1'de ortalama kapsül kalınlığı (KK) 102µm, grup 2'de ortalama KK 56µm, grup 3'te 231 µm, grup 4'te 112 µm tespit edildi. Histositolojik değerlendirmede ozon yağı uygulanan gruplarda (grup 2ve 4) inflamasyon derecesi göreceli olarak az olduğu, fakat istatistiksel olarak anlamlı farkın olmadığı saptanmıştır. Grup 3'te vasküler yoğunluğun, diğer gruplara göre daha belirgin olduğu fakat istatistiksel anlamlılığın olmadığı gözlemlendi. Ozon yağının yabancı cisim reaksiyonu ve immün cevaba karşı etkisinin incelendiği grup1 ile grup 2'deki bulgular, ozon yağının antifibrotik etkinlik gösterdiğini (p=0.004), subklinik enfeksiyona karşı etkisinin incelendiği grup 3 ile grup 4 karşılaştırmada ise antibakteriyel etkinlik göstererek kapsül kalınlılığını azalttığı (p=0.002) görüldü. Bu veriler, ozon yağının özellikle meme implantlarında görülebilen kapsül kontraktürünün önlenmesinde alternatif bir ürün oluşturabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: yabancı cisim reaksiyonu, subklinik enfeksiyon, kapsül kontraktürü, ozon yağı

ABSTRACT

Öcal, E., The Effect of the Ozonated Olive Oil on Capsule Formation. Thesis in Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery. Ankara, 2013. It is hypothesized that the ozonated olive oil will decrease the cellular activity and the thickness of capsule formation which develops against the tissue implant materials and which is amplified by subclinical infection. An experimental model developing capsular contraction on the back of the rats was designed to test this hypothesis. 24 Sprague-Dawley rats were used in the study. These rats were divided equally (n=6) into four groups. These groups are; the control group (group 1), the ozonated olive oil group (group 2), the infection group (group 3) and the treatment group (group 4). A submuscular pocket under the *Panniculus carnosus* muscle was made on the back of all rats by a 1 cm-incision on the skin without regard to their groups. In group 1, only silicone plate (10x10x1mm); in group 2, silicon plate + ozonated olive oil; in group 3 silicon plate + standardized *S.epidermidis* strain; in group 4 silicon plate + standardized *S.epidermidis* strain + ozonated olive oil were placed into the submuscular pockets. The subjects were followed up *ad libitum* for 4 weeks in standard cages after the surgical procedure. The specimens were taken out and put into 10 % formaldehyde solution for histological and cytological analysis in order to examine the capsular fibrosis formed around the implant, in the end of the fourth week. The specimens were evaluated according to the capsule thickness, the type of the inflammation, the degree of inflammation and the vascular density. The average capsule thickness (CT) was 102 µm in group 1, 56µm in group 2, 231 µm in group 3 and 112 µm in group 4. In ozonated olive oil groups (group 2 and 4), the degree of inflammation were relatively less than unozonated groups (group 1 and 3), however data show no statistical significance. In the group 3, the vascular density were more than the other groups without statistical significance. The effect of the ozonated olive oil against the foreign body reaction and the immune response was examined through the comparison of groups 1 and 2. The results of this comparison showed that the ozonated olive oil had anti-fibrotic activity (p=0.004). The effect of the ozonated olive oil against subclinical infections was examined through the comparison of groups 3 and 4, and this comparison indicated that the ozonated olive oil showed anti-bacterial activity and decreased the capsule thickness (p=0.002). These data suggest that the ozonated olive oil can be used as an alternative product to prevent capsular contraction which is especially seen in breast implant patients.

Keywords: foreign body reaction, subclinical infection, capsular contraction, ozonated olive oil.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER ve KISALTMALAR	vii
RESİMLER.....	ix
TABLolar	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İMPLANT MATERYALLER	3
2.1.1. Alloplastik Materyal Olarak Silikonun Özellikleri	3
2.1.2. Meme büyütülmesi için kullanılan implant çeşitleri	6
2.1.3. Kapsül Formasyonu ve Kapsül Kontraktürü.....	8
2.1.4. Kapsül kontraktürü nedenleri.....	9
2.1.5. Kapsül kontraktürü klinik sınıflandırma ve ölçümü	11
2.1.6. Kapsül kontraktürü oluşumunu önleme ve tedavi.....	12
2.2. OZON.....	13
2.2.1. Tarihçe.....	15
2.2.2. Ozon etki mekanizması	16
2.2.3. Klinik uygulanım yolları	19
2.2.4. Tıbbi ozon ürünleri ve kullanım yolu	20
2.2.5. Ozon terapinin uygulama alanları	22
2.2.6. Ozon terapinin kontrendikasyonları.....	24
2.3. OZON YAĞI.....	24
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	27
3.1. DENEY MODELİNİN OLUŞTURULMASI.....	27
3.2. <i>STAFİLOKOKUS EPİDERMİDİS</i>	27

3.3. SİLİKON İMPLANT	28
3.4. OZON YAĞI.....	29
3.5. ANESTEZİ.....	30
3.6. GRUPLARIN OLUŞTURULMASI VE CERRAHİ İŞLEM	30
3.7. CERRAHİ SONRASI İZLEM.....	32
3.8. ÖTENAZİ	32
3.9. HİSTOLOJİK ANALİZ	33
3.9.1. Işık Mikroskobu İncelemesi.....	33
3.9.2. Taramalı Elektron Mikroskobu İncelemesi.....	34
3.10. İSTATİKSEL ANALİZ	35
4. BULGULAR.....	36
4.1. KLİNİK BULGULAR	36
4.2. HİSTOLOJİK VE İSTATİSTİKSEL ANALİZ BULGULARI.....	36
5. TARTIŞMA	43
6. SONUÇ	48
7. KAYNAKLAR	49

SİMGELER ve KISALTMALAR

%	: Yüzde
cfu/mL	: Koloni oluşturuvcu ünıtelcr/mıllıtrc
cm ⁻³	: Santımetrc
µg	: Mikrogram
µEq	: Mikroekıvalan
gr	: Gram
km	: Kılometrc
mm	: Mıllımetrc
ACE	: Anjıotensın dönüştürü enzım
ATCC	: Amerıkan tıptı kùltür koleksıyonu
ASC	: Askorbat
APX	: Askorbat peroksidaz
CD4 ⁺	: Farklılaşma Grubu-4
COX-2	: Sıklioksijenaz-2
DHA	: Dehidroaskorbat
DHAR	: Dehidroaskorbal Redüktaz
DPG	: Dıfosfoglıseraldehit
DNA	: Deoksırıbonükleıkasıt
EGF	: Epıdermal büyüme faktörü
FGF	: Fıbrolast büyüme faktörü
GSH	: İndırgenmış Glutatyon
GSSG	: Oksıtlenmış Glutatyon
GR	: Glutatyon Redüktaz
HClO	: Hıpoklorıt
H ₂ O ₂	: Hıdrojen peroksit
HO-1	: Hem oksijenaz 1

IκB	: B hücre nükleer faktör inhibitörü
IL	: İnterlökin
KK	: Kapsül kalınlığı
Kcal	: Kilo kalori
LOP	: Lipit oksidasyon ürünü
MDHA	: Monodehidroaskorbal,
MDHAR	: Monodehidroaskorbal Redüktaz,
NADPH	: Nikonamiddifosfat
NF-κB	: B hücre nükleer faktör
NO	: Nitrik oksit
N ₂ O ₂	: Nitrojen dioksit
O ⁻	: Monoatomik oksijen
O ₂	: Oksijen
O ₃	: Ozon
SH	: Sülfidril
SiO ₂	: Silisyum oksit
PCNA	: Proliferatif hücre nükleer antijen
PDGF	: Platelet kaynaklı büyüme faktörü
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asiti
RNA	: Ribonükleikasit
ROS	: Reaktif oksijen türevleri
TGF-1	: Dönüştürücü büyüme faktörü -1
TGF-2	: Dönüştürücü büyüme faktörü -2
TGF-β1	: Dönüştürücü büyüme faktörü –beta1
TNF-α	: Tümör nekroz faktör- α

RESİMLER

Resim 2.1. Silisyum oksit	4
Resim 2.2. Polidimetilsiloksanın yapısı	5
Resim 2.3. Silikon elastomerin makroskopik görünümü	5
Resim 3.1. Slime (+) ATCC 34984 <i>Stafilokokus epidermidis</i> suşu	28
Resim 3.2. Silikon plakanın hazırlanması	28
Resim 3.3. Silikon plaka (1x1x0.1 cm)	29
Resim 3.4. Ozon yağı	29
Resim 3.5. Rat sırtında submusküler paketin oluşturulması	31
Resim 3.6. Silikonun plakanın konulması	31
Resim 3.7. Erken postoperatif görünüm	31
Resim 3.8. Spesimen makroskopik görünüm	34
Resim 4.1. Histojik değerlendirme	41
Resim 4.2. Taramalı Elektron Mikroskobu İncelemesi	42

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Aspartat-Glutatyon Döngüsü.....	17
Şekil 2.2. Oksidatif stres etkisindeki lenfosit sinyal transdüksiyonun şematik görünümü	18
Şekil 2.3. Ozon yağının muhtemel etki mekanizması	25

TABLULAR

Tablo 2.1. Baker Kapsül Kontraktürü Sınıflandırması.....	11
Tablo 2.2. Ozon yağı kullanım metodları.....	20
Tablo 2.3. Ozon yağı endikasyonları.....	23
Tablo 3.1. Deney grupları.....	30
Tablo 4.1. Kapsül kalınlıkları (μm).....	37
Tablo 4.2. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırma	37

1. GİRİŞ

Mastektomi ameliyatları günümüzde meme kanseri hastaları için en çok uygulanan cerrahi işlemlerden olup, hastalarda benlik algısı, seksüalite ve sosyal ilişkileri olumsuz etkilemektedir [1]. Son yıllarda, silikon ve salin protezlerin meme rekonstrüksiyonu amacıyla kullanımı plastik cerrahların en çok uğraş alanlarından biri olmuş ve böylelikle hastaların beden imge algısı ve yaşam kalitelerinde artış gözlemlenmiştir [2].

Meme implantların kullanılması sonrası gelişen komplikasyonlar içerisinde hematom, seroma, enfeksiyon, meme başı duyusunda değişkenlik, meme asimetrisi ve kapsül kontraktürü görülmektedir. Kapsül kontraktürü, meme büyütme veya rekonstrüksiyonları sonrası en sık gelişen komplikasyonlardan olup ağrı, implant distorsiyonu ve meme asimetrisine neden olmaktadır [3]. Literatürde %0.5-45 oranında geniş bir dağılım gösteren kapsül kontraktürü, hasta ve hekim açısından sıkıntılı süreçlerden olup, tedavisinde kapsülotomi, kapsülektomi ve ya implantın çıkarılması gibi ikincil cerrahi girişimlere gereksinim duyulmaktadır [4-6].

Deneysel ve klinik çalışmalar meme kapsülü kontraktürü gelişimini artıran etmenlerin implant tipi, implantın yerleştirildiği yer, implant çevresinde doku sıvısı birikimi, yoğun inflamatuvar cevap, subklinik enfeksiyon, hasta yaşı, yabancı madde reaksiyonu ve implant çevresindeki sellüler ve moleküler değişken mekanizmaların rol aldığını göstermektedir [7-16]. Meme florasında bulunan *S. epidermidis* implanta ulaşarak biofilm oluşturması sonucu periprostetik inflamasyon ve IL-6'yı tetikleyerek fibrozise yol açmaktadır [17]. Estetik amaçlı meme büyütme ameliyatlarında incelenen kapsül kontraktürü dokusunda TGF-1'in periprostetik kapsüler fibrozis ile ilişkili bulunduğu ve normal meme dokusuna göre TGF-1 ve TGF-2'nin yüksek seviyelerde olduğu gözlemlenmiştir [18]. Kapsül kontraktürü mekanizmasıyla ilgili bilgilerin artması tedavi modalitelerinin de gelişimine katkı sağlamıştır. Bu amaçla antibiyotikli yıkamalar [19, 20], intraluminal steroid enjeksiyonları [21, 22], implantın submuskuler plana yerleştirilmesi [23], düşük viskoziteli silikon elastomer

kullanımı [24], salin implant [25, 26], pürüklü yüzeyli silikon implant uygulamaları [27] ve sistemik antibiyotik kullanımı denenmiş fakat halen arzu edilen üstün sonuç alınamamıştır [17, 28-30].

Ozon (O₃), bilinen en güçlü antibakteriyel, antiviral ve antifungal ajanlardan olup günümüzde ampirik olarak özellikle kronik yaralarda kullanılmaktadır [31-34]. Potansiyel etki mekanizmasının bakteriyel enfeksiyonu azaltması ve yara yerinde oksijen konsantrasyonunun artması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir [35, 36]. Ozon terapi sonrası yara iyileşmesinde önemli düzenleyici rolü olan transkripsiyon faktör NF-κB' nin arttığı bildirilmiştir [31, 37, 38]. Ozon terapisi sırasında ana etken maddelerden olan hidrojen peroksitin (H₂O₂) yara iyileşmesinde önemli rolü olan VEGF'ü etkin bir şekilde arttırdığı görülmüştür [39]. Ou Shan-xing ve ark. rat hipertrofik skar deney modelinde ozon gaz enjeksiyonu sonrası kontrol grubuna göre hipertrofik skarın az görüldüğünü, kollajen liflerin daha ince ve kırılmaların daha fazla olduğunu gözlemlemiş, anti-inflamtuar etkinliğe bağlı aşırı kollajen sentezinin engellenmesi olarak TNFα'nın azalması ve temel FGF'ün artması olarak belirtmişlerdir [40].

Öncül veriler ışığında hipotezimiz, silikon implant çevresinin ozon yağı ile kaplanması durumunda antibakteriyel ve inflamatuvar süreç üzerindeki etkilerinden dolayı kapsül kalınlığının azalacağı lehinedir. Hipotezi test etmek amacıyla literatürdeki deneysel çalışmalar baz alınarak, rat sırtında oluşturulan kapsül kontraktürü modeli [3] üzerinde ozon yağının etkisi araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İMPLANT MATERYALLER

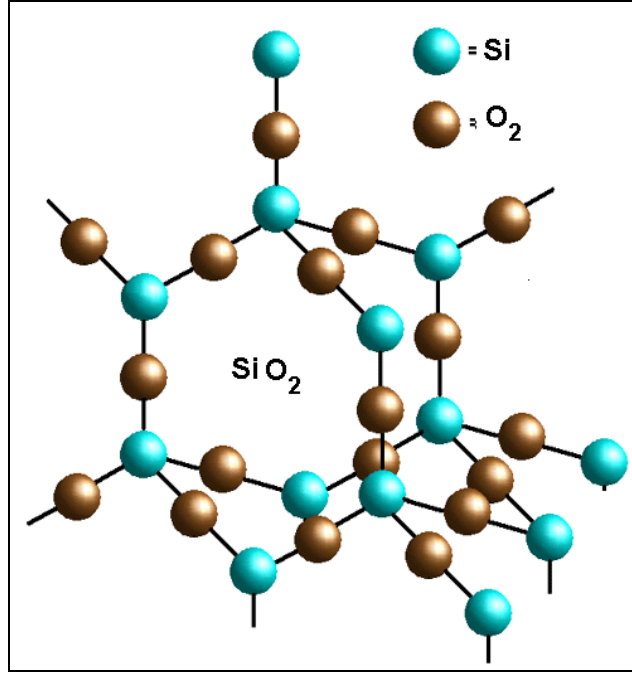
İmplant materyallerinin tıpta kullanımı 5000 yıl öncesine kadar uzanmaktadır. Neolitik Peru kabilelerinin bulunduğu kazılarda özellikle frontal bölgedeki defektlerin altın plakalar ile kapatıldığı görülmüştür [41]. Hansmann 1886'da ilk kez komplike kırıkların tedavisi için nikel telleri kullanmıştır [42]. Modern anlamda implant materyalleri veya alloplastik materyallerin kullanımı II. Dünya Savaşı sonrası gelişen endüstriyel teknolojiye bağlıdır [43]. Önceleri hekimler tarafından çekimser davranılsa da otojen dokuya kıyasla donör sahanın olmayışı, ameliyat süresini ve morbitideyi azaltması, rezorbsiyona daha az uğramaları gibi avantajları nedeniyle zamanla tıpta yaygın kullanım alanı bulmuştur. İdeal bir implantın allerjik, karsinojen ve teratojen olmaması, korozyona dirençli, enfeksiyona dayanıklı, inert, biyouyumlu, gerilme ve dış travmalara dayanıklı, sterilizasyon şartlarına uyumlu, istenilen formda üretilebilmesi ve ekonomik olması arzu edilir [44]. Kimyasal kompozisyonlarına göre implant materyelleri 4 grupta toplanabilir.

1. Metal alaşımlı implantlar
2. Seramik veya cam alaşımlı implantlar
3. Polimerler
4. Biyolojik materyeller

2.1.1. Alloplastik Materyal Olarak Silikonun Özellikleri

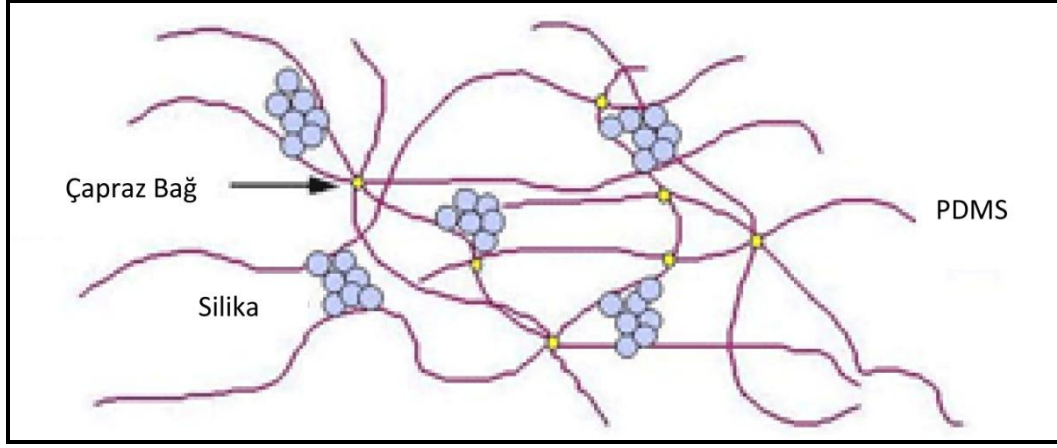
Polimer kökenli implant materyallerinden biri olan silikon, non-allerjen, non-toksik, inert ve biodegradasyona uğramayan sentetik materyaldir [44]. Doğada oksijenden sonra %27.7 oranla bileşikleri en sık bulunan elementtir [45]. Silikon yarı iletken, ve atom yoğunlu 2.3 gr/cm^{-3} olup karbon benzeri özellikler taşır, doğada kum ve kuartz halinde bulunur. İsveçli kimyager Jöns Jacob Berzelius 1824 yılında

silisyum oksit (SiO_2)'i potasyum florür ile birleştirmiş, Deville elde edilen maddeyi eriterek silisyum tozunu oluşturmuştur [46] (Resim 2.1).

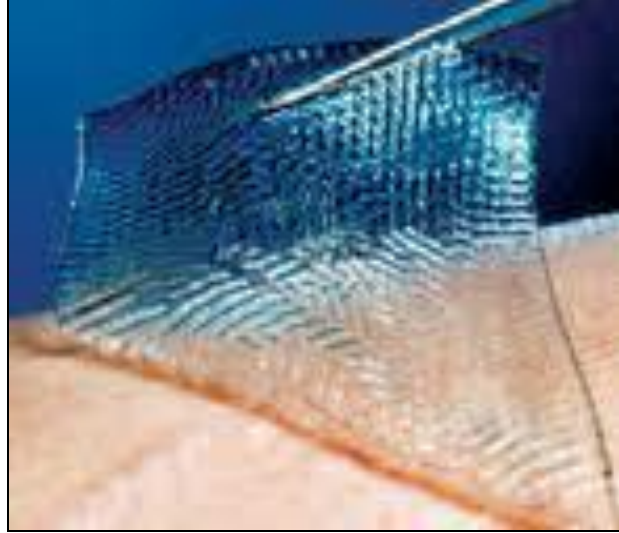


Resim 2.1. Silisyum oksit

Tıbbi amaçlı silikon, dimetilsiloksanın polimerizasyonu ile elde edilir. Polimerizasyon işlemiyle birlikte dimetilsiloksan aralıklarında lineer zincirler oluşur ve bu zincirlerin uzunluğu silikonun akışkanlığını belirler [44, 46]. Kısa polimer zincirler sıvı silikonu oluştururken, zincirlerin uzaması silikona jelöz form kazandırır. Polimerlerin çapraz ve yan bağların artırılması silikonu katı hale getirir. Polidimetilsiloksanın elastikiyet ve dayanıklılığının artırılması için vulkanizasyon denilen işleme tabi tutulur. Bu işlemde polidimetilsiloksan ağı arasındaki boşluklar demir oksit ve benzen peroksit gibi maddelerle doldurulur (Resim 2.2). Medikal kateterler, şant ve drenaj tüpleri, meme protezi yüzeyi, eklem protezleri, penil protezler vulkanizasyon tekniğiyle üretilen yüksek yoğunluklu silikon elastomerleridir [46] (Resim 2.3).



Resim 2.2. Polidimetilsiloksanın yapısı



Resim 2.3. Silikon elastomerin makroskopik görünümü

Meme büyütülmesi amacıyla Uchida [47] ilk kez 1961 yılında memeye sıvı silikon enjeksiyonu gerçekleştirmiş, ancak klinik takiplerde Chaplin 1969 yılında sıvı silikon enjeksiyonların meme nodülleri, kronik inflamasyon, yağ ve cilt nekrozları ve mortaliteye yol açtığını bildirmiştir [48]. Uzun dönem klinik gözlemlerde meme konturu restorasyonu için yapılan silikon sıvı enjeksiyonların “Human Adjuvant Disease” adlı otoimmün hastalığa neden olduğu, yabancı maddenin migrasyonu sonrası yağ dokusunda fibröz kapsül reaksiyonları oluşturduğu bildirilmiş, bu nedenle 1992’den beri kullanımdan çekilmiştir [46, 49].

2.1.2. Meme büyütülmesi için kullanılan implant çeşitleri

Meme implantların kullanılmasıyla beliren komplikasyonlar ve dezavantajlar sonucu istenilen temel kriterler de belirlenmiştir. Buna göre aranan temel iki kriter güvenilirlik ve etkinliktir. İmplant güvenilirliğini toksik, teratojenik, immunojenik, karsinojenik ve mamografi üzerindeki etkisinin olmaması belirlerken, etkinliğini ise kapsüler kontraktür, deflasyon, palpasyonla ele gelmesi ve anatomik paket içerisindeki kıvrılma olasılığının düşük olması belirler [26, 50]. Bu kriterler göz alındığında kullanılan dolgu materyalleri ve implant seçenekleri de zamanla sınırlanmış ve ideal olanları tıpta kullanıma sunulmuştur. Modern anlamda meme büyütme ameliyatı için silikon jel implantların kullanımı ilk kez 1960'da Cronin ve Gerow [51] tarafından tariflenmiş ve ilk kadın hastaya 1962'de implant konulmuştur.

2.1.2.1. Silikon jel implantlar

Havacılık mühendisliğinin 1940'lardan sonra ciddi ilerlemesine paralel olarak silikon materyallerinin özellikleri bir çok sektörde kullanılmaya başlamıştır. Silikonun özellikle inert ve yumuşak oluşu tıpta kullanılmasını cazip hale getirmiştir [52]. Silikonun yanı sıra meme augmentasyonu için alternatif dolgu materyelleri olarak organik polimerler olarak lipidler (trigliseridler, soya yağı, yer fıstığı yağı), hidrojel, polivinilpirolidon, hidroksipropilmetilselüloz, hyalüronik asit, yosun ve kimyasal olarak da polietilenglikoller denenmiştir [53].

İlk nesil implantlar (1962-1970) kalın kılıf (shell), kalın jel ve arka kısmı Dacron yama ile kaplı ve damla (tear drop) şeklindeydiler. Ancak %30-50 oranında kapsül kontraksiyonu geliştiği görülmüştür [46].

İkinci nesil implantlar (1970-1982) daha ince kılıf, ince jel ve yuvarlak yapıya sahiplerdir. Bu dönemde poliüretan kaplanmış silikon jel dolu implantlar geliştirilerek kapsül formasyonu gelişiminin azaltılması amaçlanmıştır. Ancak poliüretanın çevre dokuya sıkıca yapışması ve vücuttaki çözünümü sonucu toluen 2,4 diisosiyanat ve toluen 2,6 diisosiyanat gibi karsinojenik iki ürünün oluştuğunun

saptanması üzerine implantlar A.B.D.de kullanımdan kaldırılmıştır [53, 54]. Buna karşın Latin Amerika ve Avrupa'da poliüretan kaplı protezler yaygın olarak kullanılmakta, uzun dönem sonuçlarının güvenilir olduğu ve kapsül kontraktürünü %0.4'e kadar indirgeyen çalışmalar bildirilmiştir [55].

Üçüncü nesil implantlar 1982'den itibaren halen kullanılmakta, kalın kılıf ve kalıf jel içeren yuvarlak şekle sahiplerdir. Dördüncü nesil implantlar 1986'da kullanıma sunulmuş, üçüncü nesille benzer özellikler taşır fakat implant yüzeyleri kapsül kontraktürün azaltılması amacıyla pürüklü (textured surface) üretilmiştir [56]. Aynı zamanda yuvarlak ve anatomik formları mevcuttur. Beşinci nesil implantlar ise 1993'te piyasaya sürülmüş, anatomik ve yuvarlak şekillere sahip, ana özellikleri pürüklü yüzeyli ve içerisinde koheziv silikon jel ile doldurulmuş olmalarıdır. Yerleştirilen anatomik pakette kaymaması ve kapsül kontraktürün az görülmesi nedeniyle avantajlıdır [52].

2.1.2.2. Şişirilebilir salin implantlar

Arion, 1965 yılında Fransa'da şişirilebilir salin implantların kullanımını bildirmiştir [57]. Ana avantajları implantın küçük bir insizyonla yerleştirilebilir olmasıdır. İçerik olarak serum fizyolojik kullanıldığından silikon jel sızıntısındaki klinik şikayetler gözükmez ve kapsül kontraktürü daha az görülür. Dezavantajı olarak implantın sönmesi (deflation), görünür yüzey kırışıklıklar ve hacminden daha az sıvı verildiğinde boğum benzeri histir. Hacminden daha fazla şişirildiğinde ise balon hissi görünümü yaratabilir, zamanla doku genişletici gibi mekanizma benzeri etkiyle cilt incelik ve yer değişimleri görülebilir [52].

2.1.2.3. Çift lümenli implantlar

Çift lümenli implanları Hartley, kapsüler kontraktürü önlemesi amacıyla 1976'da tanımlamıştır [58]. İç kısımda silikon jel ile doldurulmuş lümen ve dış kısımda ise şişirilebilir salin lümen özelliklerine sahiptir. Aynı zamanda dış lümenin

jel, iç lümenin salin olduğu implantlar da mevcuttur. Buradaki amaç silikon jelin önünde bariyer oluşturulmasıdır. Salin içerisine antibiyotik ve steroid gibi kapsül kontraktürünü azaltan maddeler de eklenebilir. Ellenberg ve Braun, 291 olguda çift lümenli implant ile birlikte intraluminal steroid uygulananın, silikon jel implanta daha üstün olduğunu gözlemlemiştir [59]. Günümüzde mastektomi sonrası meme rekonstrüksiyonu gerektiren ve cildin yetersiz olduğu olgularda kullanılan Becker doku genişletici protezler jel dolu dış lümen ve salin dolu iç lümen formunda tasarlanmış modifiye çift lümenli implantlardır.

2.1.3. Kapsül Formasyonu ve Kapsül Kontraktürü

Kapsül formasyonu, vücudun yabancı materyallere karşı oluşturduğu fibrotik yabancı cisim reaksiyonudur. Bütün cerrahi implantlar bir dereceye kadar enkapsülasyon işlemine uğrar, fakat kapsül kontraktüründe klinik problem bu fibrotik dokunun, yara iyileşmesindeki hipertrofik skar ve keloide benzer aşırı cevabıdır [60]. Kapsül formasyonun istenmeyen bu aşırı şekli kapsül kontraktürü olarak adlandırılır. Normal kalınlığı 1mm'yi geçmez [7] ve yara iyileşmesinin bir parçası olduğu ve implantın yerinde tutulmasını sağladığı savunulur [61, 62]. Silikon tabakalar, doku genişleticiler, temporomandibuler eklem protezleri, çene, yanak ve meme protezleri gibi silikon implantlar rekonstrüktif ve estetik cerrahide sıklıkla kullanılmaktadır. Silikon implant çevresinde kapsül formasyonu sıklıkla gözlenen bir durumdur [63]. Kapsül formasyonu üç tabakadan oluşur [64]:

- 1) İç tabaka: silikon implant bitişiğindeki sinovyum benzeri dokudan oluşur. Kollajen uzanımları ince ve düzenlidir.
- 2) Ara tabaka: gevşek bağ dokusundan oluşur.
- 3) Dış tabaka: kollajen liflerlerden zengin, myofibroblast ve damarlardan oluşan, kontraktüre neden olduğu düşünülen katmandır. Kollajen liflerin düzeni kapsül kalınlığı arttıkça hipertrofik skardaki histolojiye benzer halde değişim gösterir [65].

Kapsülün meydana geliş aşamalarına yönelik yapılmış histolojik incelemelerden elde edilen sonuçlara göre kapsül gelişimi 3 döneme ayrılabilir.

1. Erken dönem: Kapsül oluşumunda hücrel reaksiyon belirgindir. İlk hafta içinde implant çevresinde makrofaj, fibroblast ve lenfositlerden zengin granülasyon dokusu oluşur. Fibroblastlar kollajen, fibronektin, glikozaminoglikan ve kollajenaz salınımdan sorumlu ana hücredir. Wolfram ve ark. implant çevresindeki lenfosit özelliklerini, periferik kan ile karşılaştırdığında $CD4^+$ hücrelerin baskın olduğunu, intrakapsüler T Hücrelerinin IL-17,IL-6, IL-8 ve TGF- β 1 üretiminde artış gösterdiğini belirtmiştir [15]. Dördüncü haftanın sonunda kapsül yapısındaki hücreler giderek azalır, kapsül kollajen liflerin baskın olduğu bir yapıya dönüşür. İkinci aya kadar kollajen sentezi ve birikimi devam eder ve bu süreçten sonra kollajen miktarı azalıp yeni kapiller damarların oluşumu belirginleşir.

2. Ara dönem: 3-24 ay arası dönemdir. Kapsülde yağ hücresi infiltrasyonu başlar. Yara iyileşme sürecine benzer özellikler gösterir.

3. Geç dönem: Gecikmiş yara iyileşme etkenlerinin kronik hal alması sonucu meydana gelir. Kollajen lifler zamanla kalınlaşır [66, 67].

2.1.4. Kapsül kontraktürü nedenleri

Kapsül kontraktürü birçok klinik ve deneysel çalışmalara rağmen nedeni açık şekilde konulmasa da temelde ortaya sürülen iki teori: hipertrofik skar ve subklinik enfeksiyondur [60].

Hipertrofik skarın seroma, hematoma, implant yüzeyi, anatomik lokalizasyon ve silikon jel sızıntısına ikincil olduğu düşünülmektedir. Bu faktörlerden özellikle silikon jel sızıntısı ve mikropartiküllerinin miyofibroblastın aşırı uyarılmasında etken olduğu vurgulanılmaktadır [68-71]. Rudolf [72] ve Piscatelli'nin [73] çalışmaları ise miyofibroblast ile kapsül kontraktürü ve şiddeti arasında net ilişki kurulamadığını göstermektedir. Williams ve ark. deneysel çalışmalarında drene edilmeyen hematomaın aşık olarak kapsül kontraktürüne neden olduğunu belirtse de, klinik

çalışmalarda bu veri doğrulanamamıştır [74]. Ameliyathane arşafı ve spanç iplikleri, toz ve eldiven pudrası gibi yabancı maddeler benzer şekilde inflamatuvar programı tetikleyebilir [60]. Veras-Castillo ve ark. meme implantı sonrası kapsülotomi yapılan hastalarda, kapsül kontraktürünün profibrojenik homozigot TGF-β1 polimorfizm ile kuvvetle ilişkili olduğunu göstermesi otoimmün mekanizmaların da rol aldığını düşündürmektedir [75].

Ersek [76], kollajen liflerin düzensiz yerleşmesine yol açan pürtüklü yüzeyin kapsüler kontraktürü azalttığını vurgularken aksine Fagrell [77], implant yüzey özelliklerindeki farklılığın, kapsüler kontraktür gelişimi üzerinde önemli etkisinin olmadığını ileri sürmüştür. Barnsley [4], yapmış olduğu randomize kontrollü çalışma ile kapsüler kontraktür oranını azaltma yönünden, pürtüklü yüzeyli implantların düz yüzeyli implantlardan daha üstün olduğunu göstermiştir. Dempsey ve Latham, 1968 yılında ilk kez subpektoral implant yerleştirme ile meme büyütme tekniğini tariflemiş [78], kapsül kontraktürün daha az görülmesi, implant kenarının kas dokusu ile belirsizleşmesi, meme konturunda artma, düşük enfeksiyon riski ve meme başı hissinde azami koruma nedeniyle bu teknik daha popüler hale gelmiştir [52].

Subklinik enfeksiyona ikincil kapsül kontraktürü üzerine bir çok çalışma geliştirilmiş ve neden olarak normal cilt florasındaki *S.epidermidis* gösterilmiştir. Tavşan modeli deneysel çalışmada, *S.epidermidis* inokülasyonu yapılan grupta Baker sınıflamasına göre evre 3-4 kapsül kontraktürü geliştiği, kontrol grubuna göre 2-3 kat daha kalın olduğu saptanmıştır [79]. Klinik alışmalarda Virden ve ark. kapsül kontraktürü gelişen implantların %56 (15 / 27)'sında bakteri saptamış ve baskın olan mikroorganizmanın *S.epidermidis* olduğunu belirtmişlerdir [80]. *S.epidermidisin* duktal yolla implanta ulaştığı ve biofilm oluşturarak enflamasyonu tetiklediği yaygın kanıdır.

Sonuç olarak kapsül kontraktürü oluşumu çoklu etmenlere bağlı olup, bu konudaki klinik ve deneysel çalışmalar kontraktürün azaltılması için cerrahi tekniklerin de şekillenmesine yardımcı olmuştur.

2.1.5. Kapsül kontraktürü klinik sınıflandırma ve ölçümü

İnspeksiyon, palpasyon ve ağrı kriterleri göz önüne alınarak Baker'ın [81] 1975'te geliştirdiği kapsül kontraktürü sınıflaması uygulamadaki kolaylık nedeniyle en çok kullanılan klinik sınıflamadır [46] (Tablo 2.1.).

Tablo 2.1. Baker Kapsül Kontraktürü Sınıflandırması

Evre I	Kapsül ele gelmez	Augmente meme yumuşak ve doğal görünümündedir.
Evre II	Hafif düzeyde sertlik	Memenin yumuşaklığı azalmış, implant palpe edilebilir fakat görünmez.
Evre III	Orta düzeyde sertlik	Meme dokusu sertleşmiş, implant kolaylıkla palpe edilebilir ve gözükülebilir.
Evre IV	Şiddetli düzeyde sertlik	Meme dokusu sertleşmiş, gerkin, ağrılı ve soğuktur. Şekil bozukluğu çoğu zaman belirgindir.

Spear ve Baker 1995'te bu sınıflandırmayı modifiye etmiş, Evre I'i ikiye ayırmıştır [82]. Buna göre Evre IA'da augmented meme yumuşak ve doğal görünümlü iken Evre IB'de augmented meme yumuşak fakat implant görülebilir haldedir. Günlük kullanımda sınıflamanın tedavide yol gösterici olması açısından önemlidir.

Baker sınıflandırılmasına göre I ve II. evre kontraktürler kabul edilebilir olarak değerlendirilip, invazif işleme gerek duyulmazken, III. ve IV. evre kontraktürler cerrahi düzeltmeye ihtiyaç duyar.

Kapsül kontraktürü ölçümü amacıyla görüntüleme tekniklerinden özellikle manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve ultrasonografiden yararlanılmıştır [83, 84]. Zahavi ve ark. gözlemlerinde görüntüleme sınır noktasını (cutoff point) 2mm kapsül kalınlığı olarak belirlemiştir [85]. Buna göre ultrasonografide Baker Evre I-II için ortalama 1.14 mm, Evre III-IV için ise 2.39 mm kapsül kalınlığı belirlemiş ve MRG bulgularının da sırasıyla 1.39 ve 2.62 mm ile korele olduğunu bildirmişlerdir.

Memenin kompresyona direnci ve Laplace kanunlarına göre ne kadar sferik şekil aldığıının ölçülmesi de alternatif tekniklerdendir. Bu amaçla kullanılan metodlar [53]:

1. **Kompresometri:** Dinamometre cihazı yardımıyla memenin kompresyon kabiliyetini ölçer.
2. **Aplanometri:** Memenin kompresyon kabiliyetini ölçmede kullanılır. Bu amaçla, üzerinde özel bir skalası olan, saydam ve yeterli ağırlıkta cam veya pleksiglas levha hazırlanmıştır. Ölçüm, meme levha üzerine yerleştirildikten sonra kompresyon kabiliyetinin değerlendirilmesi esasına dayanır.
3. **Tonometri:** Birbiri içinde hareket eden ve ilerleyen iki silindirin memeye bastırılması ile memenin direncini ölçen bir yöntemdir.

2.1.6. Kapsül kontraktürü oluşumunu önleme ve tedavi

Kapsül kontraktürü riskini azaltmak amacıyla implant özellikleri ve cerrahi tekniklerde değişiklikler görülmüştür. Ana değişim pürüklü yüzeyle koheziv jel silikon implantların kullanılmasıyla olmuş ve anatomik lokalizasyon gözetmeksizin subglandüler ya da submusküler konulan ve düşük kapsül kontraktürü gösteren salin implantların önüne geçmiştir [4, 60, 86-89]. Klinik deneyimler retropektoral yerleşimli implantların kapsül kontraktürünü azalttığını göstermesinden sonra cerrahların öncelikli tercihi olmuş ve aynı zamanda subglandüler yerleşimli kapsül kontraktürü tedavisi için de seçenek oluşturmuştur [88, 90]. İmplantın yerleşeceği paketin mümkün olduğunca görülerek açılması, kanama kontrolüne azami önem gösterilmesi hematoma riskini, dolayısıyla kontraktür riskini azaltır.

İnfeksiyöz teori temel alınarak temiz cerrahi saha oluşturma ve implantın yerleşeceği paketin antibiyotikli solüsyonlarla yıkanması önerilmiştir. Povidon iyodin (%5'lik) yıkamanın bakteriyel kolonizasyonu etkili bir şekilde azalttığını bildiren Burkhardt'ın çalışmasına karşın 2000 yılında FDA bu tekniğin implant

kılıfını zayıflattığı ve deflasyona neden olduğunu belirtmiştir [20]. Günümüzde önerilen antibiyotikli solüsyon 50.000 ünite basitrasın, 1gr sefazolin ve 80 mg gentamisinli 500mL serum fizyolojiktir [91]. Mladick'in [92] "No-touch" teknik olarak tariflediği, implantın pudrasız eldiven ile tutulması ve insizyon sahasının yeniden sterilize edilip paket içine yerleştirilmesi yaygın kabul görmüştür.

Klinik çalışmalarda intraluminal steroid kullanımında başlarda iyi sonuçlar alınsa da gecikmiş yara iyileşmesi, implant ekspozisyonu ve dermisin incilmesi gibi steroide ikincil komplikasyonlar nedeniyle terk edilmiştir [25, 93, 94]. Veras-Castillo, Baker Evre III-IV kapsül kontraktürü gelişen 20 serilik hasta grubunda günde 1800 mg oral pifrenidon kullanımıyla kontraktürlerin 12 aylık sürede Evre I-II ye kadar indirildiğini göstermesi cerrahi tedavilere alternatif olarak değerlendirilebilir [75].

Vinnik, hastaların post-operatif dönemde günde iki kez, 15 saniye süreli üç masaj hareketinin (kapsül ekspansiyon egzersizleri) yapılmasıyla kapsül formasyonunun en aza indirgenebileceğini ortaya koymuştur [95]. Ancak bu tip zorlayıcı hareketlerin, silikon jel dolu implantlarda jel sızıntısını artırabileceği ve rüptürlere yol açabileceği için sınırlı kullanım alanı bulmuştur.

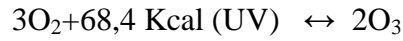
Kapsül kontraktürü geliştikten sonra etkin tedavi yöntemi kapsül bütünlüğünün bozulmasıdır. Günümüzde tercih edilen cerrahi teknikler, internal kapsüller skoring, parsiyel kapsülektomi ve total kapsülektomidir.

2.2. OZON

Ozon stratosferin bilinen en önemli gazlarından biridir. Yeryüzünden 20-50 km yükseklikte bulunan bu katmanın, güneşin zararlı kısa dalgalarını (260-280) absorbe eden kısmı 1g/m³ yoğunlukta olup kalınlığı 2-3mm'yi geçmez [96, 97]. Ozonosfer katmanında ozon yoğunluğunun azalması "ozon deliği" olarak adlandırılır. Biyolojik denge açısından önemli olan bu katmandan ozonun, hava türbülansı ve fırtınalarla çok küçük partiküllerle de olsa biyosfere ulaşması ozonun

keskin kokusunun alınabildiği sis ve duman karışımını (smog) oluşturmaktadır. Atmosferdeki ozonun %90'ına yakını, stratosfer tabakası içinde yer alır. Geri kalan %10'luk ozon miktarı ise 10–15 km'ler arasındaki troposfer tabakası içinde bulunmaktadır [98, 99]. Ozonun stratosferdeki varlığı güneşten gelen ultraviyole B ve C ışınlarını engellediği için hayati iken, yaşanılan hava katmanı olan troposferde bulunması solunum yolları için çok tehlikelidir ve hava kirliliği olarak kabul edilir.

Kararlı oksijen (O₂) elementine karşın, yüksek tepkime gösteren ozon (O₃) güneş ışınlarının değişik dalgalarının absorpsiyonu ile meydana gelir [100]:



Ozon, kararsız, depolanamayan, çok açık mavi renkli, keskin kokulu ve havadan daha ağır bir gazdır. Oksijenden 1,6 kat daha yoğun ve 10 kez daha fazla suda çözünür olan bu gazın yarılanma ömrü 20°C'de 40 dakikadır [98, 101]. Ozonun da dahil olduğu temel oksijen reaktif allotrop formları [96]:

- Monatomik oksijen: yüksek reaktivite ve kararsız form, çift kovalent bağ (-O-) içerir.
- Diatomik oksijen: doğada en çok bulunan ve kararlı formu, serbest bağı (O-O) yoktur.
- Ozon: üçlü oksijen atomundan oluşur, yüksek reaktivite gösteren bir bağ (O₃) içerir.

Ozon gazının organik ve inorganik ürünlerle kolaylıkla oluşturduğu yüksek oksidan özellik nedeniyle 19.yy itibaren petrokimya, gıda endüstrisi, veterinerlik ve tıbbi amaçlı kullanılmıştır. Ozonun özellikle güçlü antiviral ve antibakteriyel etkisi gözetilerek *Siemens* kurumu tarafından 1901 yılında Wiesbaden, Almanya'da kurulan şehir suyu temizleme mekanizması günümüz modern şebeke suyu sterilizasyonun ana mekanizmasını oluşturmaktadır [97].

Keskin kokusu 20-40 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 'te fark edilen ozon gazının, 400 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ve üzeri konsantrasyonlardaki maruziyeti akciğer ve göz için çok toksik kabul edilmektedir [97]. Toksik ve terapötik etkisindeki uç davranışı nedeniyle Bocci, ozonu yüzleri ters yöne bakan çift yüzlü Roma tanrısı olan Janus'a benzetmiştir [102].

2.2.1. Tarihçe

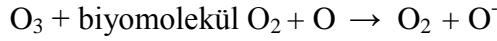
Ozon ilk kez Alman kimyager Christian Friedrich Shönbein tarafından 1839 yılında keşfedilmiştir [103]. Adı, kokusundan dolayı Yunanca "ozein" (koku yayan) kelimesinden türetilmiştir. İlk tıbbi kullanımı Birinci Dünya Savaşı sırasında Alman askerlerinin kangren ve benzeri ciddi yaralanmalarını tedavi eden Dr. Albert Wolff'a dayandırılır. Ozonun tedavi edici bir ajan olarak gündeme alındığı ilk önemli bildiri ise 1935 yılında Berlin'de 59. Alman Cerrahi Birliği kongresinde Dr. Erwin Payr'ın "Cerrahi'de Ozon Uygulamaları" başlığı altında kendi vakalarından oluşan derleme türündeki sunumudur [99]. Wolff'un 1975'te otohemoterapiyi tariflemesinden sonra 1980'li yıllardan itibaren tıbbi amaçla ozon kullanımına yönelik gerek deneysel çalışmalar, gerekse vaka serileri literatürde artmaya başlamıştır.

Uluslararası Ozon Birliğinin 1973'te Amerika'da kurulmasıyla iki yılda bir yapılan konferanslarla ozon gazının tıp, su sterilizasyon endüstrisi, veterinerlik, kimya ve sanayide kullanımı ivme kazanmıştır. Günümüzde Kanada ve Amerikan Sağlık kurumları ozon gazını toksik kabul eder ve hiç bir tedavi modalitesinde kullanılmamasını önermesine karşın, Küba, Rusya, Çin, Japonya, Almanya ve İsviçre'deki ozon merkezlerinden başarılı klinik ve deneysel çalışmalar bulunmaktadır [34, 96].

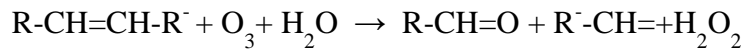
2.2.2. Ozon etki mekanizması

Wolff tekniği ile yapılan ozon terapi uygulaması ile ozon etki mekanizmasının anlaşılması araştırmaları daha açık hale getirmiştir. Bu teknikte bir miktar kan (50–270 ml) vücut dışına alınarak, ozona dayanıklı bir şişede 5-10 dakika oksijen/ozon karışımıyla temas ettikten sonra tekrar aynı kişiye geri verilir (ototransfüzyon) [99].

Böylece ozon gazı su, serum, plazma, lenf ve ve diğer vücut sıvılarındaki biyomoleküllerle reaksiyona girerek ortama reaktif oksijen verir [104]:



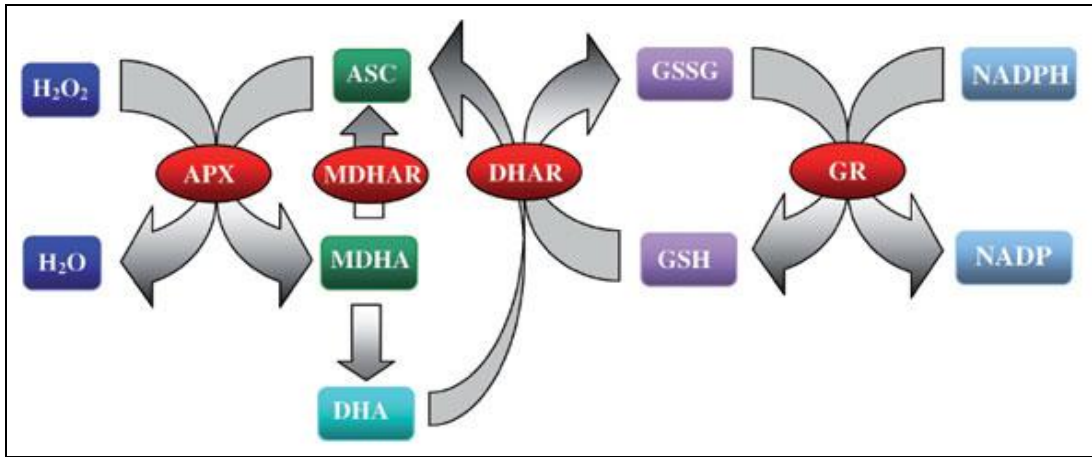
Ozon/oksijen karışımındaki ozon, afinite sırasıyla çoklu doymamış yağ asitleriyle (PUFA), antioksidanlarla ve sistein gibi sülfhidril (SH) grubu taşıyan tiyol bileşikleri ile reaksiyona girer. Ozon miktarına bağlı olarak karbonhidratlar, proteinler (dolayısıyla da enzimler), DNA ve RNA de bu reaksiyondan etkilenebilir. Tüm bu bileşikler ozon karışısında elektron vericisi gibi davranarak oksitlenirler. Sonuçta süperoksit (O_2^{\cdot}), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hipoklorik asit (HClO) gibi reaktif oksijen türevleri (ROS) oluşur. Bu reaksiyonlardan en önemlisi doymamış yağ asitlerinin oksidasyonudur [104]:



Bu reaksiyonda her bir hidrojen peroksit ile birlikte iki de lipit oksidasyon ürünü (LOP) oluşmaktadır [99, 105, 106]. Lipit oksidasyon ürünleri için iyi bilenen örnekler şunlardır; lipoperoksil radikalleri, hidroperoksitler, malondialdehit (MDA), izoprostan, alkenaller ve 4-hidroksi-2,3-transnonenal (HNE) [107]. Ototransfüzyon esnasında oluşun radikal ve aldehitler vücut için zararlı olup, reinfüzyon sonrası ürün, safra ve diğer vücut sıvılarına dağılarak, aldehit dehidrogenaz ve glutatyon transferaz ile metabolize olur [104]. Böylece ozon, çok küçük konsantrasyonlarda kemik iliğine, karaciğere, santral sinir sistemine ve endokrin organlara ulaşıp, hücre

içi sinyal artışına neden olan oksidatif stres oluştururlar [107]. Fizyolojik düzeydeki oksidatif stresin nörohümorale mekanizmayla faydalı olduğu düşünülmektedir [104, 108].

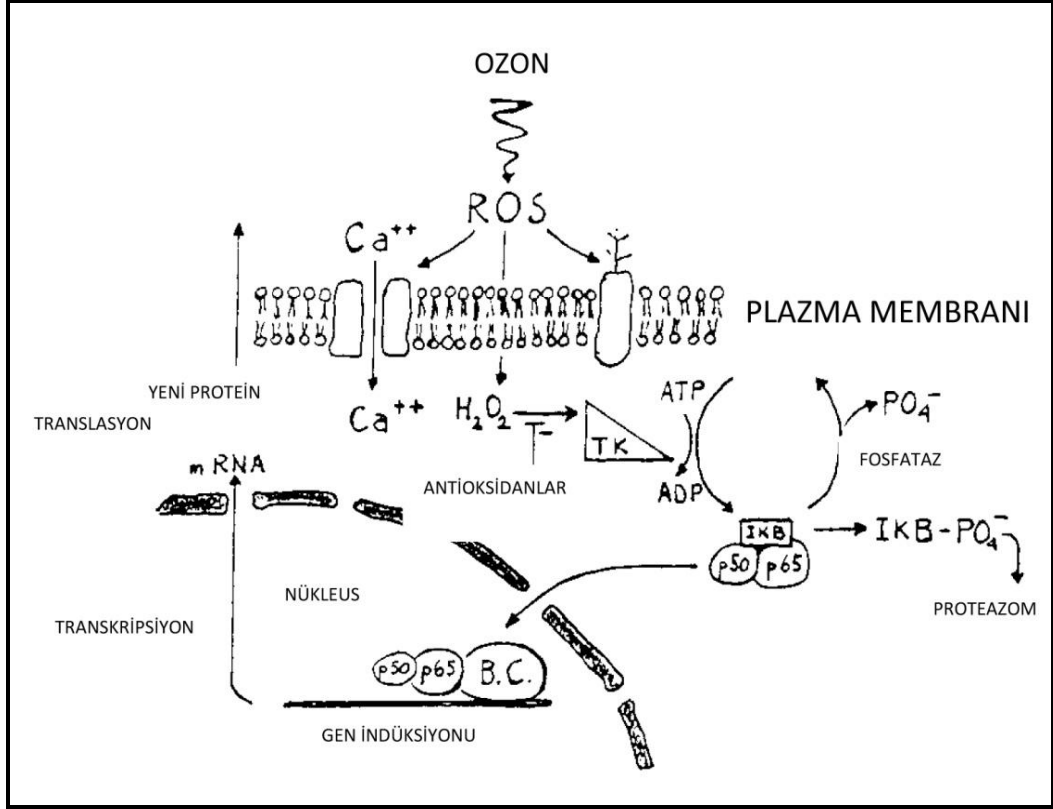
Aerobik canlılar serbest radikallerin toksik etkilerinden korunmak için antioksidan sistemler geliştirmişlerdir. Ototransfüzyonda oluşan radikal ve aldehitlerin yıkımı için ürik asit, askorbik asit, protein (özellikle albumin), protein olmayan tiyoller, vitamin E ve bilirubin gibi non-enzimatik, süperoksit dismutaz, katalaz ile glutatyon peroksidaz glutatyon transferaz, glutatyon ve glutatyon redüktaz gibi enzimatik sistem gelişmiştir. [99, 109] (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Aspartat-Glutatyon Döngüsü

Ozon gazı uygulamaları sonrası oluşan hidrojen peroksidin enzimatik yollar yardımı ile yıkılması. ASC: Askorbat, APX: Askorbat peroksidaz, GSH: İndirgenmiş Glutatyon, GSSG: Oksitlenmiş Glutatyon, GR: Glutatyon Redüktaz, DHA: Dehidroaskorbat, DHAR: Dehidroaskorbal Redüktaz, MDHA: Monodehidroaskorbal, MDHAR: Monodehidroaskorbal Redüktaz, NADPH: Nikotinamid difosfat (Şekil ,Saruhan ve ark. [110] 'dan modifiye edilmiştir).

Plazmadaki tamponlanma sisteminden arta kalan aldehit ve radikaller, hidrojen peroksid ikincil haberci yoluyla hücre içi sinyali tetiklerler [111] (Şekil 2.2). İntraselüler sinyal aktivasyonu sonrası nükleer transkripsiyon faktörü olan NF- κ B uyarımı gen ekspresyonuna neden olur, böylece humoral ve hücreli immün sistem mekanizmalarına aktive eden yeni proteinler üretilmiş olur.



Şekil 2.2. Oksidatif stres etkisindeki lenfosit sinyal transdüksiyonunun şematik görünümü

Nükleer transkripsiyon faktör NF- κ B, p65 ve p50 alt ünitelere sahip bir heterodimerdir. Normal şartlarda inhibitör IKB ile birleşik olup inaktif formdadır. Ozon plazmada ayrışır, H_2O_2 ve ROS yoluyla plazma membranına etki eder. ROS muhtemelen plazma yüzeyindeki lektin uyarımı veya kalsiyum kanallarını açarak protein kinazları aktive eder. IKB kinaz aktivasyonu ile IKB fosforillenir ve NF- κ B üzerindeki inhibitör etkisi kalkar. NF- κ B (p65+p50 heterodimer) sitozolden, hücre içerisine geçip gen ekspresyonunu düzenler. Fosfataz aktivasyonun fazla olması veya antioksidanların yüksek konsantrasyonda olması bu yolu baskılar (Bocci, [111]).

Sonuç olarak ozon terapi sonrası hücresel değişim mekanizmaları özetlenirse:

Eritrosit: H_2O_2 artışı, fosfofruktokinaz aktivasyonunu tetikler ve glikoliz yoluyla ATP ve 2,3-DPG artışı gözlenir [33]. Bohr etkisi ile oksijen eğrisinde sağa kayma ve doku oksijenizasyonunda artış gözlenir. Ozon uygulaması ile hem oksijenaz-1 (HO-1) enziminin de uyarıldığı bildirilmiştir [112]. Bu enzimin artışı gereği ROS, gerekse ılımlı eritrosit hemolizi sorumlu olabilir. HO-1, hem halkasının yıkım yolunda görev alan mikrozomal bir enzimdir ve yapımı oksidatif stres artışı, proinflamatuvar sitokinler ve nitrik oksit (NO) ile uyarılabilmektedir. Bu

enzim hem molekülünü biliverdin ve karbon monoksit (CO) parçalar. Son yıllarda HO-1 ile yapılmış birçok çalışmada bu enzimin; antioksidan antiapoptotik antiinflamatuvar etkilerinin olduğu gösterilmiştir [113]. Ozon uygulaması sonucu görülen en etkin HO-1 artışının aynı zamanda ozonun terapötik doz aralığı olarak da vurgulanan 20-80 µg/ml arasında ortaya çıktığı gösterilmiştir [114].

Lökosit: Nötrofil fagositik aktivasyonunda artış görülür [115]. H₂O₂ artışı, tirozin kinaz aktivasyonu ile fosforillenen IκB'nın stimülasyonu, NF-κB uyarılmasıyla proinflamatuvar süreç ve sitokin salınımına neden olur [116, 117]. İmmünitinin artışıyla antiviral ve antibakteriyel etkinlik oluşur, plazma tamponlama sisteminin çok güçlü olmasından dolayı ozonun direkt olarak *in vivo* antiviral ve antibakteriyel etki edemeyeceği düşünülür.

Trombosit: PDGF-β, TGF-β, IL-8 ve EGF artışı, dolaşım sistemi için faydalı olduğu düşünülüyor [118]. Yüksek doz ozonun eksternal kullanımı, hiperkoagülasyon etkisi oluştururken, parenteral düşük dozu ise trombolitik ve fibronolitik aktivite gösterir [96]. Bu nedenle majör otohemoterapi sırasında antikoagülan kullanılması önerilir.

Endotel: Lipid oksidasyon ürünleri endotel hücrelerinde nitrik oksit (NO) ve karbon monoksit (CO) salınımında artışı ve plazma S-nitrozotiyol ve S-nitrohemoglobin yüksekliği vazodilatasyona neden olur [119].

2.2.3. Klinik kullanım yolları

Ozon reaktif bir molekül olduğu için tıbbi amaçlı kullanımında dikkat edilmesi çok önemlidir. Bildirilen komplikasyonların çoğu yanlış kullanım yolları ile ilişkilidir. Ozon, hiçbir zaman saf olarak verilmemeli ve belli oranda oksijenle karıştırılarak uygulanmalıdır. Karışımda, oksijen %95'den az, ozon %5'ten fazla olmamalıdır [104]. Normal atmosfer havasının bu karışıma girmesi engellenmelidir. Çünkü ozonun reaktif özelliğinden dolayı hava ile teması sonucu toksik bir gaz olan nitrojen dioksit (N₂O₂) oluşabilmektedir. Emboliye sebep olmaması için ozon gazı

doğrudan damar sistemi içerisine verilmemelidir. Tüm işlemler sırasında ozona dayanıklı malzemenin (paslanmaz çelik, nötral cam ve teflon) kullanılması gerekir [99, 104].

Klinik uygulamalardaki temel felsefe ozonun yüksek konsantrasyonlarda dezenfeksiyon amaçlı, düşük konsantrasyonlarda da yara iyileşmesi ve epitelizeasyonun hızlandırılmasında kullanılmasıdır [96]. Ozon solunum yolları haricinde vücuda tüm yollardan verilebilir [96, 104] (Tablo 2.2). İntararteryal uygulamalar emboli ve intaperitoneal uygulamalar fibrosiz riski taşıdığından kullanımı sınırlıdır.

Tablo 2.2. Ozon yağı kullanım metodları

Eksternal:	Parenteral:
<ul style="list-style-type: none">➤ Ozonlanmış antiseptikli serum uygulamaları➤ Ozon yağı ürünlerinin topikal uygulanımı➤ Ozon gazının torba ile basınç altında bölgesel uygulamaları (Gas bags)➤ Balneoterapi	<ul style="list-style-type: none">➤ Ozonize kan ile minor ve majör otohemoterapi➤ Ekstrakorporal plazma ve lenfatik kanal uygulamaları➤ İntravenöz ozonize solüsyon uygulamaları➤ İntramusküler, subkutanöz, intraperitoneal, intraplevral, intra-artiküler, periartiküler, miyofasiyal, intradiskal, intralezyonel (tumor, fistül içerisine)➤ Bölgesel uygulamalar (nazal, tubal, auriküler, oral, vajinal, rektal)

2.2.4. Tıbbi ozon ürünleri ve kullanım yolu

Majör otohemoterapi: Ana tedavi yöntemi olan bu sistemde, heparinize edilmiş özel plastik kap içerisine yaklaşık 50-150 ml hastanın kanı alınır, ozon ile karıştırıldıktan yaklaşık 15 dakika sonra intravenöz yolla geri verilir. Karışıma verilen ozon miktarı klinikler arası farklılık gösterse de Bocci'nin önerdiği 40µg/L güvenilir sınır kabul edilir. Ozon konstantrasyonunda 200 µg/L'ye kadar yükselme

hemolizi %7'ye kadar çıkarabilir [102]. Bu işlem tedavi edilen hastalığa ve hastaya bağlı olarak haftada 2 kez ile günde 3 kez uygulanabilir [104].

Minör otohemoterapi: İmmun sisteminin uyarılması amacıyla uygulanan bu sistemde, 20 ml'lik enjektör içerisine hastadan venöz 5-10 ml kan alınıp, 10-15ml ozon/oksijen karışımı yapılır. 5 dakika içerisinde intramusküler, tercihen gluteal bölgeye enjekte edilir [96].

Ozonla zenginleştirilmiş su: Distile su ile ozon/oksijen karışımı ile oluşturulur. Serum fizyolojik, ozon tepkimesi hipoklorik asit oluşturabileceğinden önerilmez. Karışımda elde edilen maksimum konsantrasyon 18-20µg/L olduğundan doz aşımı olmaz ve yarılanma ömrü kapalı kaptaki buzdolabında 5 güne kadar dayanır [98]. Bu yöntem daha çok cerrahide yıkama solüsyonu olarak kullanılır. Gastroenterolojide içme suyu şeklinde özofajit ve gastrik ülser, diş hekimliğinde dezenfeksiyon amaçlı gargara şeklinde paradontid, stomatid, kontamine yara ve süppüratif dental kanal gibi hastalıklarda kullanılır [96].

Ozon/oksijen gazın doğrudan uygulanımı: Analjezik, anti-inflamatuar ve uyarıcı etki amacıyla kullanılan bu sistemde 10-15µg/L konsantrasyondaki ozon, lokalizasyona göre 1-20ml arasında enjekte edilir. Ağrılı alanlar ve akupunktur bölgelerine subkutan/intrakutanöz 5-10ml, intra-artiküler minor eklemlere 1-3ml, orta eklemlere 5-7ml ve major eklemlere 20ml gaz enjeksiyonu yapılır [96]. Bu yöntem aynı zamanda plastik cerrahide mezoterapi amaçlı kullanılmaktadır.

Rektal ve vajinal uygulanım: İntestinal ve vajinal patolojik mikro organizmaların uzaklaştırılması ve anti-inflamatuar etkinlik amacıyla, 10-60µg/L yoğunlukta ozon karışımı polivinil tüp ve spekulum yardımı ile istenilen bölgeye verilir. Bu yöntemde doktor ve hastanın, gazın toksik etkilerinden kaçınması için vakumlu oda sistemine sahip yerde çalışması gerekir.

Ozon basınçlı plastik alan: Yatak yarası, ağrılı skatriks, yanık, cilt tümörleri ve pürülan yaralar için uygulanan bu yöntemde torba ya da kap yardımıyla kapalı ortam oluşturulur ve içerisine gaz verilir. Ozonun etki etmesi için ortamın ıslak

olması gerekir, bu amaçla kuru yüzeyler su ya da serum ile ıslatılır. Ülsere alanlar için 5-6µg/L konsantrasyonun 15-20 dakika uygulanması önerilir [96].

Ozonla zenginleştirilmiş yağ: İlk kullanım formlarından olan ozonla zenginleştirilmiş yağ ve kremler, ozonun oleik asit benzeri doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan ozonidler üzerinden etki eder. Antibakteriyel ve antifungal etkinlik gösteren ozonidler, cilt irritasyonu yapmadan lezyon içerisine oksijen taşıyabilir [120]. Bu özellikleri nedeniyle kozmetik ve dezenfektan amaçlı kullanılmaktadır. Oda ısısında 4 ay, buzdolabında kapalı kaptaki 2 yıl özelliğini koruyabilir.

Ozon yağı, tez konusu materyali olduğundan ilerleyen bölümde ayrıntılı tartışılacaktır.

2.2.5. Ozon terapinin uygulama alanları

Ozon uygulamaları yara iyileşmesi, yaşa bağlı makuler dejenerasyon [121], iskemik ve enfeksiyöz hastalıklarda yapılan vaka analiz çalışmalarında olumlu etkiler göstermiştir. Basit diş ve ağız enfeksiyonlarından hepatitlere kadar uzanan çeşitli enfeksiyon hastalıklarında etkin olarak uygulanmaktadır [122]. Uygulama alanı hiperbarik oksijen tedavisinin alanına benzerdir (Tablo 2.3).

Martinez-Sanchez ve ark. randomize kontrollü çalışmasında, diyabetik ayak gelişmiş 101 hasta grubunda ozon tedavisinin etkin olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada ozon tedavisi uygulanan hastalarda antibiyotik tedavisi alanlara göre yara iyileşmesinde hızlanma, hastanede kalma sürelerinde kısalma ve glisemik kontrolün daha iyi olduğu gözlemlenmiştir [123]. Ayrıca çeşitli derecelerde artrit ve artroz vakaları ile romatizmal hastalıkları da kapsayan ortopedik hastalıklarda da faydalı etkiler rapor eden araştırmalar ilgi çekicidir. Andreula ve ark. lumbar hernisi olan 300 hastada ozon gazının steroid ile kombine edildiğinde, sadece ozon gazı enjekte edilen gruba göre daha etkin olduğunu göstermiştir [124]. Ozon terapinin lumbar

hernide kullanıldığı başka bir çalışmada Mutu ve ark. 2200 hastada 18 aylık takipte %75 başarılı sonuç elde etmiştir [125].

Tablo 2.3. Ozon yağı endikasyonları

➤ Enfeksiyonlar (viral, bakteriyel, fungal, protozoa)
➤ Kronik yaralar, osteomyelit
➤ Yanıklar
➤ Vasküler iskemik hastalıklar
➤ İnflamatuvar barsak hastalıkları
➤ Onkolojik hastalıklar (Kemoterapiye yardımcı olarak majör/ minör otohemorati)
➤ Kas-iskelet sistemi ağrı ve hastalıkları (fibromiyalji, disk hernileri)
➤ Erişkin maküler dejenerasyon hastalıkları
➤ Serebral dejeneratif hastalıklar
➤ İmmun sistem hastalıkları
➤ Kozmetoloji (sellülit)
➤ Çene ve diş hastalıkları

Turcic, savaş sırasında ateşli silah yaralanması sonucu doku defektlerinin tedavisi için deri grefti + ozon terapi uygulamasında greft başarısını %40'dan %75'e ulaştığını bildirmiştir [126]. Kronik bacak iskemisi yine araştırmacıların geniş uygulama alanlarından olup etkin sonuçlar olduğu bildirilse de hasta gruplarının azlığı düşündürücüdür [127, 128]. İtalyan maksillofasiyal cerrahı olan Agrillo'nun bi-fosfonata sekonder gelişen mandibula avasküler nekrozlu 33 hastayı ozon terapi ile tamamını iyileştirmesi dikkat çekicidir [129].

Sonuç olarak literatürde kür sorunu olan hastalıkların çoğunluğunda ampirik olarak ozon terapi uygulanmıştır fakat çalışmaların konvansiyonel tedaviye üstünlüğü açık değildir.

2.2.6. Ozon terapinin kontrendikasyonları

Ozon tedavisinin yan etkisi yok denecek kadar azdır. Şimdiye kadar bildirilen yan etkiler uygulama hatalarına bağlı lokal komplikasyonlardır. Bazı durumlarda ozon terapisi uygulanması sakıncalı olabilir [130]:

- Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz enzim eksikliği (favizm)
- Özellikle erken dönem olmak üzere hamilelik
- Anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörü tedavisi görenler (ani hipotansiyon yapabilmesi nedeniyle önerilmez.)
- Kontrol altına alınamayan hipertiroidi, kanama bozukluğu, kardiyovasküler hastalıklar
- Ozona reaksiyon gösteren astım hastaları

2.3. OZON YAĞI

Ozon gazının, organik yağlar arasındaki yüksek reaktivite göstermesi nedeniyle petrokimya ve farmasötik endüstride yaygın kullanılmaktadır [131, 132]. Ozon gazının, oleik asit reaksiyonu sonrası kararsız haline ozonid denir. Criegee reaksiyonu olarak tanımlanan bu tepkimede ozonid, trioksolan benzeri karbonil fragmentleri, aldehit ve peroksitlere dönüşür [133]. Topikal olarak ozonoterapinin uygulanmasını kolaylaştıran bu form sayesinde kutanöz ve mukozal kronik enfekte alanlar tedavi edilebilmektedir [31].

Ozon yağının özellikleri pratikte iodin, asit ve peroksit değerleriyle ölçülür. Buna göre [134]:

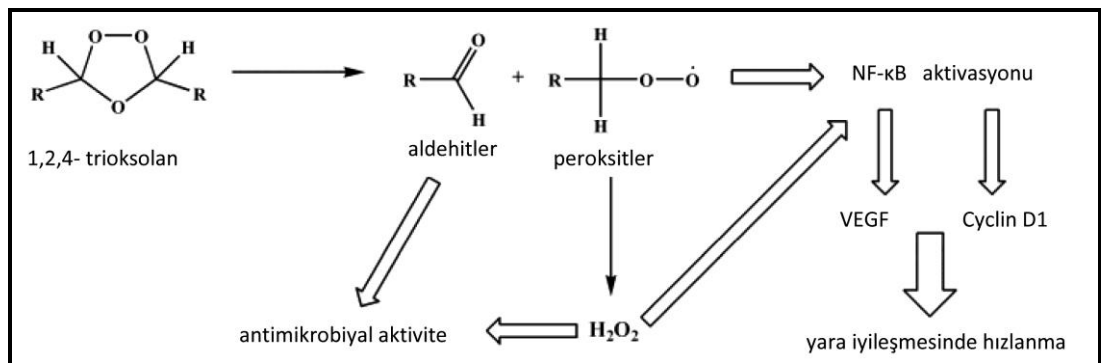
- **İodin değeri (IV):** 1000gr örnek ozon yağında gram cinsinden iodin miktarını ölçer. Ozon yağının tiyosülsat solüsyonu ile titrasyonu sonrası hesaplanan birim değer, trioksolan miktarı hakkında bilgi verir.

- **Asit değeri (AV):** 1 gr örnek ozon yağında potasyum hidroksit ile nötralize olan miktarı belirtir. Miligram birim değer olarak hesaplan bu yöntem daha çok yağın ozonlanması işleminde kullanılır.
- **Peroksit değeri (PV):** 1000 gr ozon yağında oluşabilecek reaktif oksijen miktarını ($\mu\text{Eq/g}$) belirtir. Ticari amaçlı ozon ürünlerin üretiminde en çok kullanılan tekniktir. Üretilen ozon yağında, ozon maruziyeti ne kadar artarsa ozonid miktarı artar ve böylelikle yağ, krem formuna dönüşür.

Bu değerlerin yanı sıra akademik ve ileri düzey araştırmalar için ozon yağı özellikleri, karbon-karbon ve karbon-hirojen içeriği hakkında bilgi veren FT-IR Spektroskopi ile ^1H ve ^{13}C atomlarının çift bağlarda oluşturdukları sinyaller hakkında bilgi veren NMR Spektroskopi gibi sofistike yöntemler de kullanılmaktadır.

Ozon gazının yara iyileşmesindeki faydalı etkisi bakteriyel enfeksiyonu azaltması ve inflamatuvar reaksiyonları düzenlenmesine bağlıdır [35, 36]. Ozon doğrudan hücresel penetrasyon yapamaz fakat doymamış yağ asitleri ile oluşturdukları bileşikler sayesinde hücre içi sinyal sistemine etki edebilir [134].

Potansiyel etki mekanizmasının oksidatif stres sonrası transkripsiyon faktör NF- κB uyarılışı ile reepitelizasyon ve kollajen indüksiyonu sağlayan VEGF ve Cyclin D1'in üretilmesi olduğu düşünülmektedir [135] (Şekil 2.3). Domuz sırtında oluşturulan ülser deney modelinde topikal ozon yağı uygulanan grupta PDGF, VEGF anlamlı artış, TGF- β 'nın göreceli artış ve FGF'nin artmaması ozon yağının akut kutanöz yaralardaki etkinliğini açıklamaktadır [120].



Şekil 2.3. Ozon yağının muhtemel etki mekanizması (Valacchi ve ark. [135])

Ozon yağı, kozmetik amaçlı kullanımının yanı sıra kontamine ateşli silah yaralaları, anaerobik enfeksiyonlar, herpetik enfeksiyonlar, sellülit, apse, anal fissür, dekübit, kronik fistül, mantar enfeksiyonları, gingivit ve vulvovajinit tedavisinde de ampirik olarak kullanılmaktadır [136].

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Laboratuvarında, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulunun 2012-30 sayılı izni ile Deney Hayvanları Sertifikasına sahip araştırmacılar tarafından yapılmıştır.

3.1. DENEY MODELİNİN OLUŞTURULMASI

Deney modelinin oluşturulması amacıyla daha önceden ratlarda yapılan çalışmalarda kullanılan kapsül kontraktürü modeli tercih edilmiştir [3]. Bu amaçla 24 adet 250-300 gr Sprague-Dawley rat sırtı tıraşlanıp, cerrahi sterilizasyon sağlandı. Bir (1) cm cilt insizyonu sonrası oluşturulan submusküler pakete 10x10x1 mmlik silikon implant yerleştirildi. İmplantasyon sonrası değişkenleri oluşturan materyaller olan ozon yağı eklenmesi ve/ ve ya *S.epidermis* suşu inokülasyonu yapıp, 4. hafta sonunda deney sonlandırıldı.

3.2. STAFİLOKOKUS EPİDERMİDİS

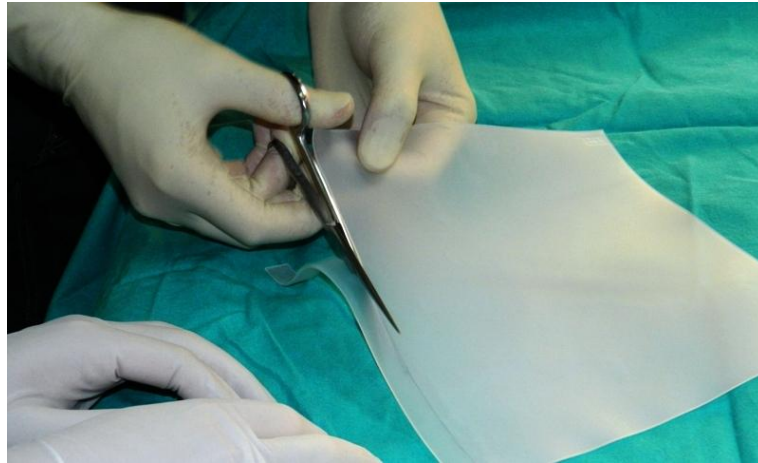
İmplant çevresinde subklinik enfeksiyon oluşturmak amacıyla biofilm özelliğine sahip Slime (+) ATCC 34984 *Stafilokokus epidermidis* suşu kullanılmıştır. Suş, Hacettepe Üniversitesi Klinik Patoloji Laboratuvarı tarafından deneklere uygulama öncesi “brain heart infusion” sıvı besiyerinde 1×10^8 cfu/mL (0.5 Mcfarland) bakteri içerecek şekilde hazırlanmıştır (Resim 3.1).



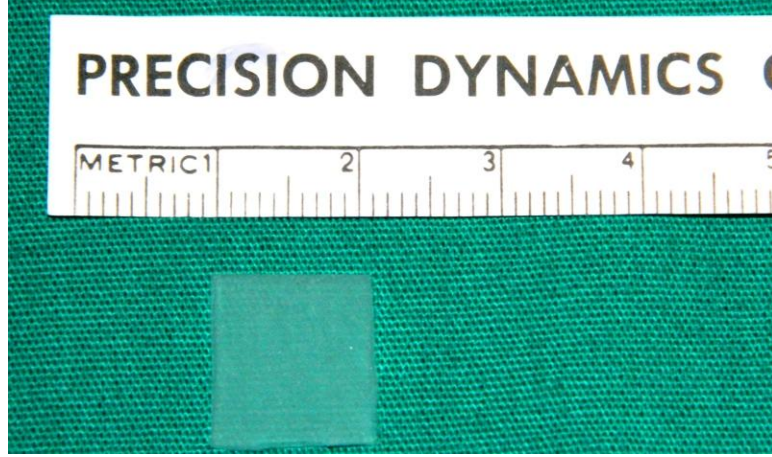
Resim 3.1. Slime (+) ATCC 34984 *Stafilokokus epidermidis* suşu

3.3. SİLİKON İMPLANT

Çalışmada kullanılan silikon plaka (sheet) (SILIMED. Silicone e Instr. Méd. Cirúrgico e Hospitalar Ltda. RJ. Brasileira), cerrahi işlem öncesi steril koşullar altında hazır 20x20x0.1cm'lik olan formu makas ve bistüri yardımı ile 1x1x0.1cm'lik implant olacak şekilde hazırlandı (Resim 3.2 ve 3.3).



Resim 3.2. Silikon plakanın hazırlanması



Resim 3.3. Silikon plaka (1x1x0.1 cm)

3.4. OZON YAĞI

Bu çalışmada ozon yağı olarak insanda kullanımı onaylanmış dermatolojik ve mikrobiyolojik testleri Chelab Kimyasal Lab. (Resana, İtalya) tarafından yapılmış olan Oxizon® (Zorlu Sağlık Hiz. Otomotiv ve Enerji Sist. San. ve Tic. Ltd. Şti.) ürünü kullanılmıştır (Resim 3.4). Ürün saf zeytinyağı ile ozon gazı karışımından oluşmaktadır.



Resim 3.4. Ozon yağı

3.5. ANESTEZİ

Çalışma yapılan tüm ratlarda anestezi, intraperitoneal 10mg/kg ksilazin (Rompun[®], Bayer, Türkiye) ve 30 mg/kg ketamin (Ketalar[®], Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) karışımı ile sağlandı. Anestezi derinliği ekstremitte çekme yanıtı ile değerlendirildi.

3.6. GRUPLARIN OLUŞTURULMASI VE CERRAHİ İŞLEM

Ozon yağının kapsül kontraktürüne etkisini gözlemlemek amacıyla kontrol, ozon yağı, enfeksiyon ve ozon yağı ile tedavi grubu olmak üzere toplam 4 grup oluşturuldu. Her grupta 6 rat (n=6) kullanıldı (Tablo 3.1.)

Tablo 3.1. Deney grupları.

Grup (n=6)	Silikon			
Grup 1 (n=6)	Silikon			Kontrol grubu
Grup 2 (n=6)	Silikon	+ Ozon yağı		Ozon yağı grubu
Grup 3 (n=6)	Silikon	+ <i>S.epidermidis</i>		Enfeksiyon grubu
Grup 4 (n=6)	Silikon	+ <i>S.epidermidis</i>	+ Ozon yağı	Tedavi grubu

Grup 1 (kontrol grubu): Rat sırtında silikon implant yerleştirilmesi sonucu kapsül formasyonun oluşumunu değerlendirmek amacıyla oluşturulan gruptur. Anestezi sonrası, rat sırtı traşlandı. %10'luk povidon iodin ile temizlendikten sonra steril bir şekilde örtülüp, 1 cm cilt insizyonu ile *Panniculus Carnosus* kası altında travmatik yaklaşımla 1x1cm'lik submusküler paket oluşturuldu (Resim 3.5). Kapsül kontraktürünü artıran değişkenlerden olan hematoma oluşmaması için azami özen gösterilip, kanama odakları el koteri yardımı ile durduruldu. Önceden hazırlanan 1x1x0.1cm'lik silikon plakalar submusküler paket içine yerleştirilip 0.1mL serum fizyolojik ilave edildi, insizyon dikiş reaksiyonunun minimal olması amacıyla polipropilen suture ile kapatıldı (Resim 3.6. ve 3.7).



Resim 3.5. Rat sırtında submusküler paketin oluşturulması



Resim 3.6. Silikonun plakanın konulması



Resim 3.7. Erken postoperatif görünüm

Grup 2 (Ozon yağı grubu): Ozon yağının kapsül formasyonundaki inflamatuvar etkisini gözlemlemek amacıyla oluşturulan gruptur. Submuskuler paket oluşturulduktan sonra silikon plakaya ilave olarak PPD enjektörü yardımı ile 0.1mL ozon yağı ilave edilmiştir. Daha önce çalışılan deney modellerinden 0.1mL solüsyonun, tüm silikon plakayı kaplayacağı düşünülmüştür [3].

Grup 3 (Enfeksiyon grubu): Kapsül formasyonu ağız etme amacıyla oluşturulan gruptur. Submuskuler paket oluşturulduktan sonra silikon plakaya ilave olarak 0.1mL 1×10^8 cfu/mL *S.epidermis* ATCC 34984 slime (+) suşu ilave edilmiştir. Bakteri miktarı daha önce yapılan deneysel çalışmalar baz alınarak belirlenmiştir [137].

Grup 4 (Tedavi grubu): Ozon yağının antibakteriyel etkinliğinin kapsül formasyonuna etkisini gözlemlemek amacıyla oluşturulan gruptur. Submuskuler paket oluşturulduktan sonra silikon plakaya ilave olarak 0.1mL ozon yağı + 0.1mL 1×10^8 cfu/mL *S.epidermis* ATCC 34984 slime (+) suşu eklenmiştir.

3.7. CERRAHİ SONRASI İZLEM

Deney hayvanları cerrahi işlem sonrası ayrı standart rat kafeslere konularak *ad libitum* beslendi. Günlük olarak genel durum, vücut ağırlığı ve cerrahi saha enfeksiyonu bulguları değerlendirildi.

3.8. ÖTENAZİ

Deney protokolü bitimi takiben tüm deneklere yüksek doz intraperitoneal ksilazin ve ketamin karışımı ile ötenazi uygulanmıştır.

3.9. HİSTOLOJİK ANALİZ

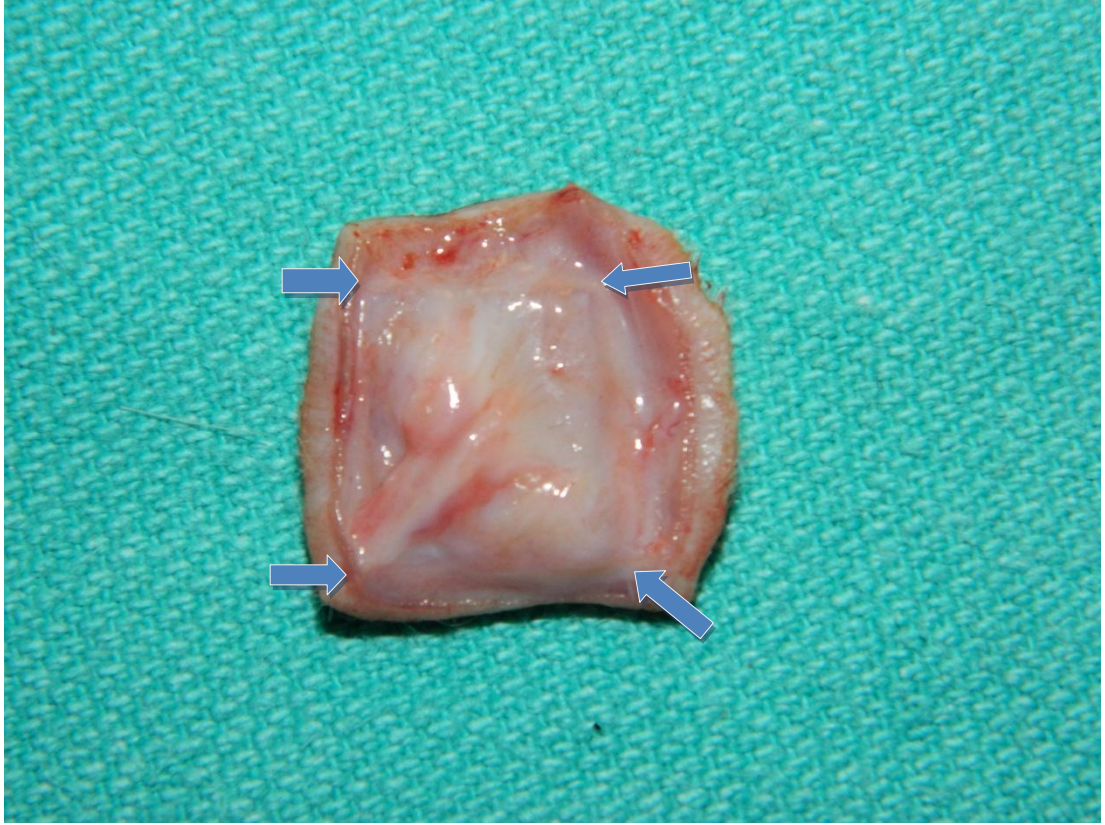
3.9.1. Işık Mikroskobu İncelemesi

Histolojik değerlendirme Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapıldı. İmplant içeren yumuşak doku örnekleri rat sırtında palpasyonla kapsül sınırları belirlenip, 5mm'lik güvenlik sınırı gözetilerek silikon plakanın dahil olduğu çevre dokuyla birlikte eksize edildi (Resim 3.8.). Spesimenler %10'luk nötral tamponlu formalin çözeltilisinde oda ısısında tespit edildikten sonra parafin bloklandı. Bloklardan 3-5 mikrometre kalınlıkta kesitler alınarak genel morfoloj ve hücre içeriğini incelemek için hematoksilin eozinle, kollajen içeriği ve düzeni için Masson trikromla boyandı [138]. Tüm örneklerle ait fotomikrograflar dijital kamera ataşmanlı ışık mikroskobunda (Leica, DMR Model DFC 480, Westlar Germany) bağlantılı görüntü analiz programı (Leica, LAS, Westlar Germany) kullanılarak incelendi. İmplantın yumuşak doku yanıtı literatürden ilgili kantitatif ve semikantitatif skorlama sistemleri kullanılarak incelendi. Buna göre her örneğin implantasyon bölgesine ait en az 10 kesitinde ve her keside ait x400'lük mikroskop büyütmesinde 3 yerde mikrometre cinsinden kapsül kalınlığı ölçülerek ortalamalar hesaplandı [3]. İnflamasyon türü kriteri:

Mononükleer (lenfositler, plazma hücreleri, makrofajlar) (1)

Karışık (mononükleer hücreler ve eozinofiller) (2)

Polimorfonükleer (eozinofiller ve nötrofiller) (3) olarak sırasıyla akut, aktif kronik ve kronik inflamasyon olarak değerlendirildi. Son olarak inflamatuvar infiltrasyon derecesi yok (0), hafif (1), orta (2), ciddi (3) olarak skorlandı. İmplant çevresindeki kan damarı yoğunluğu yok (0), hafif (1), orta (2), çok (3) olarak skorlandı [139].



Resim 3.8. Spesimen makroskopik görünümü

Kapsül kontraktürünün subklinik enfeksiyon olan grup 3'teki makroskopik görünümü, oklar silikon plakanın köşelerini göstermektedir.

3.9.2. Taramalı Elektron Mikroskobu İncelemesi (Scanning Electron Microscopy -SEM)

Elektron mikroskobu düzeyinde kapsüldeki kollagen fibrillerin yönelimi kalitatif olarak incelendi. Bunun için örneklerin birer yarısı 60 dakika süreyle %2.5'lik gluteraldehit çözeltisinde tespit edildi. Dereceli alkollerde dehidratasyon sonrası örnekler altınla kaplandı ve taramalı elektronmikroskobunda (JSM-6400, JEOL) incelenerek bağlantılı dijital kamerada (NORAN 6 X-ray Microanalysis System and Semafore Digitizer) görüntü elde edildi.

3.10. İSTATİKSEL ANALİZ

Çalışmada, elde edilen verilerin değerlendirilmesinde SPSS versiyon 15 paket (Statistical Packages for the Social Sciences) programı kullanılmıştır. Verilerin normallikleri Shapiro-Wilk testi ile incelenmiştir. Buna göre veriler normal dağılım göstermediği ve denek sayısı minimal olduğu için parametrik olmayan testler kullanılmıştır. Bu kapsamda elde edilen verilerin analiz sürecinde; verinin türüne göre tanımlayıcı istatistikler olarak; sayı, yüzde, ortanca ve minimum-maksimum değerler kullanılmıştır. Sayısal verilerde ikiden çok grubun karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi, ikişerli karşılaştırmalarda ise Bonferroni Düzeltmeli Mann-Whitney U testleri ile değerlendirildi. Fark, $p < 0.05$ olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. KLİNİK BULGULAR

Cerrahi işlem sonrası 4 haftalık izlemde mortalite ve otokanabalizm, yara dehisansı ile implant ekspozisyonu benzeri morbitide bulguları görülmedi. *S.epidermidisin* ekildiği grup 3 (enfeksiyon) ve grup 4 (tedavi) 'te implant ile cilt arası subkutan dokunun grup 1 (silikon) ve grup 2 (silikon+ozon yağı)'ye göre daha ince olduğu ve implantın dışarıdan rahatlıkla fark edildiği gözlemlendi. İmplantın çıkarılması esnasında gruplar arasında fark yaratacak kadar kapsüler fibrozis sertliği sadece grup 3 (enfeksiyon)'te hissedildi (Resim 3.8).

4.2. HİSTOLOJİK VE İSTATİSTİKSEL ANALİZ BULGULARI

Tüm deney ve kontrol gruplarında uygulanan silikon implantın her iki yüzünde hafif ile orta derecede fibröz kapsül oluşumu ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlendi. İnflamatuvar hücreler çoğunlukla mononükleer hücreler: lenfositler ve makrofajlardı. Kollagen sentezleyen fuziform biçimli fibroblastlar inflamatuvar hücrelerin arasında homojen olarak dağılmıştı.

Kapsül yapısının ışık mikroskobu incelemesi sonucunda yalnız silikon (grup 1) uygulanan grupta maksimum 146µm, minimum 79µm ve ortalama 102µm tespit edilmiştir. Silikon+ozon yağı (grup 2) uygulanan grupta kapsül kalınlılığı (KK) maksimum 79µm, minimum 36µm ve ortalama 56µm olarak bulundu. Silikon+*S.epidermidis* (grup 3) grupta ise KK maksimum 335µm, minimum 178µm ve ortalama 231µm, silikon+*S.epidermidis*+ozon yağı (grup 4) uygulanan grupta ise maksimum 168µm, minimum 61µm ve ortalama 112µm olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Kapsül kalınlıkları (μm)

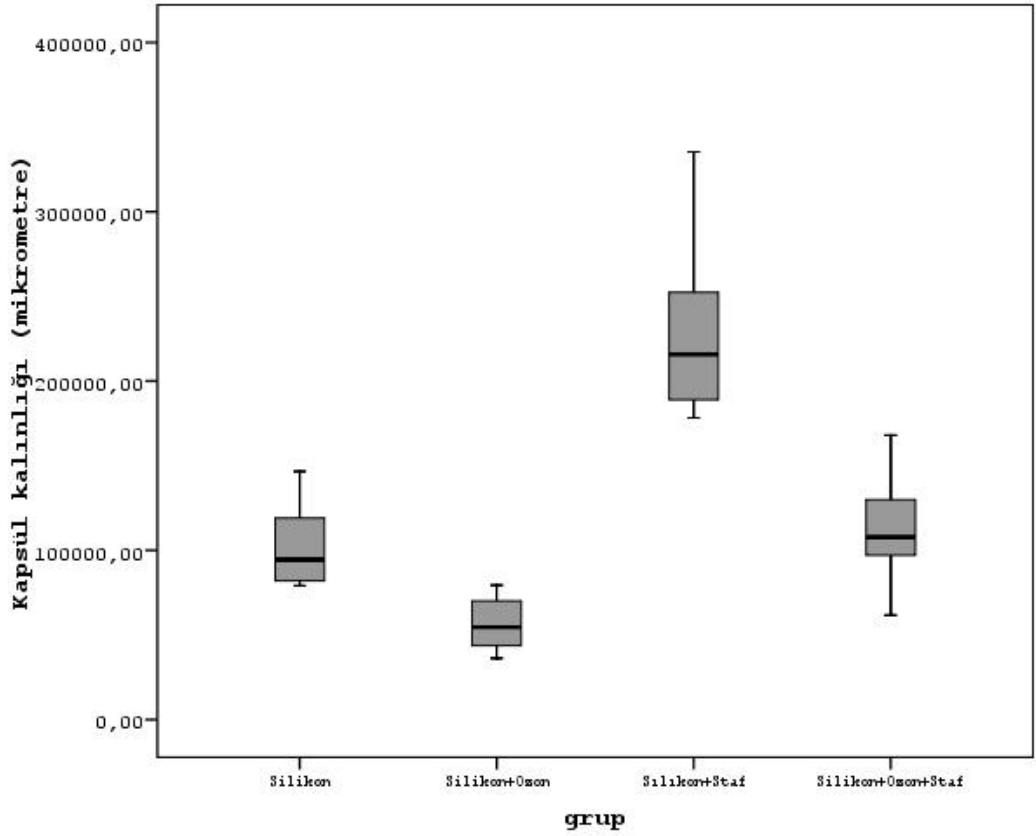
	1	2	3	4	5	6
Grup 1 (silikon)	79	81	119	146	101	87
Grup 2 (sil.+ozon)	36	46	70	43	63	79
Grup 3 (sil.+ S.epi.)	252	225	335	206	178	188
Grup 4 (sil.+ozon+S.epi.)	129	61	97	117	98	168

Yalnız silikon (grup 1) ve silikon+*S.epidermidis* (grup 3) uygulanan gruplar karşılaştırıldığında kapsül kalınlığının mikroorganizma inokülasyonu ile arttığı izlendi ($p=0,002$). Silikon+ozon yağı (grup 2) uygulanan grupta, tek başına silikon (grup 1) ve silikon+*S.epidermidis* (grup 3) uygulanan gruplara göre kapsül kalınlığının istatistiksel olarak anlamlı biçimde azaldığı saptandı (sırasıyla $p=0,004$ ve $p=0,002$). Kapsül kalınlığı silikon+*S.epidermidis*+ozon yağı (grup 4) uygulanan grupta silikon+*S.epidermidis* (grup 3) uygulanan gruba göre anlamlı biçimde daha azdı ($p=0,002$). Sonuç olarak enfeksiyonlu ve enfeksiyonsuz gruplarda ozon yağı uygulamasının çalışılan deney modelinde kapsül kalınlığını azalttığı saptandı (Resim 4.1, Tablo 4.2, 4.3 ve Grafi 4.1).

Tablo 4.2. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırma

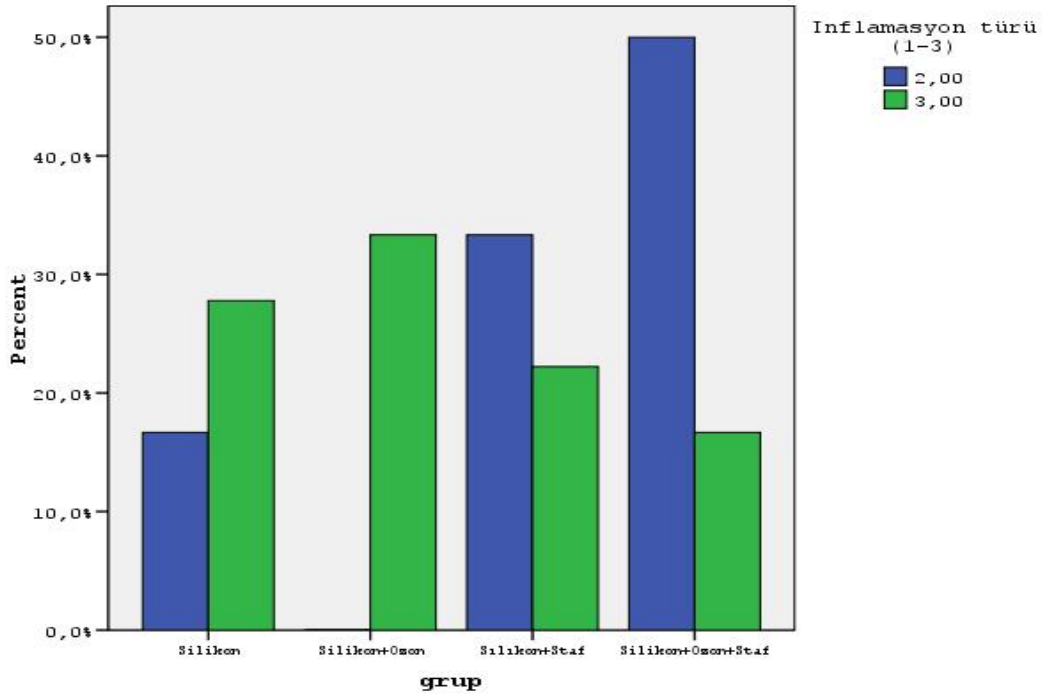
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
Grup1		0.004	0.002	0.699
Grup 2			0.002	0.015
Grup 3				0.002
Grup 4				

Mann-Whitney Test, $p<0.05$ = anlamlı fark

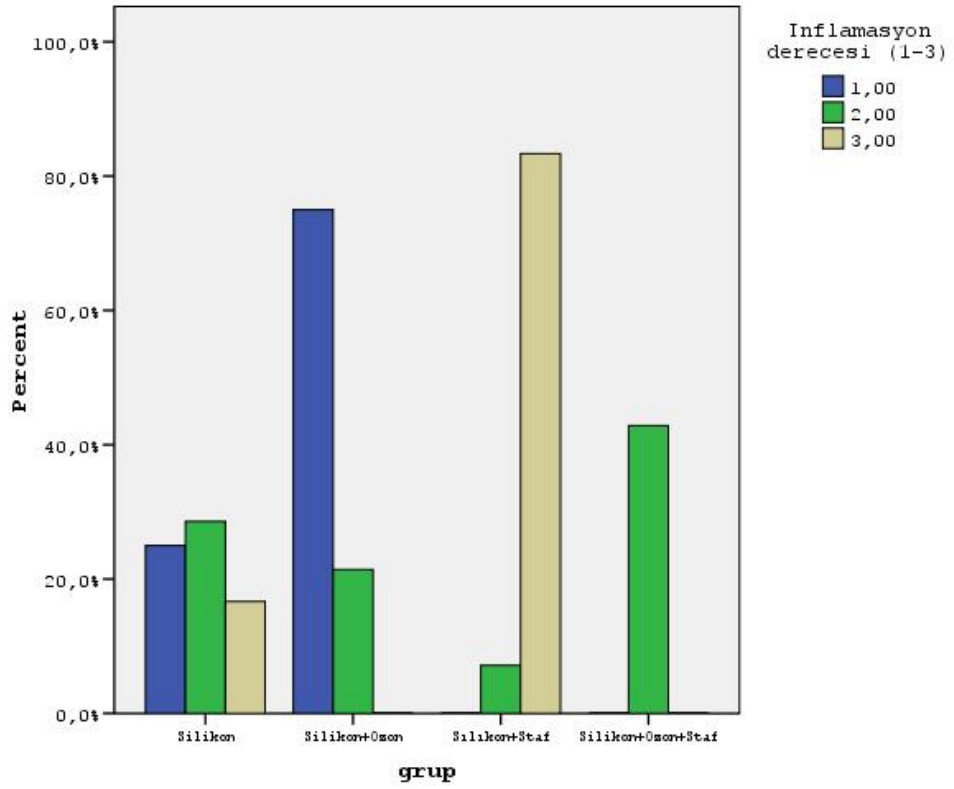


Grafi 4.1. Kapsül kalınlığı istatistiksel analiz

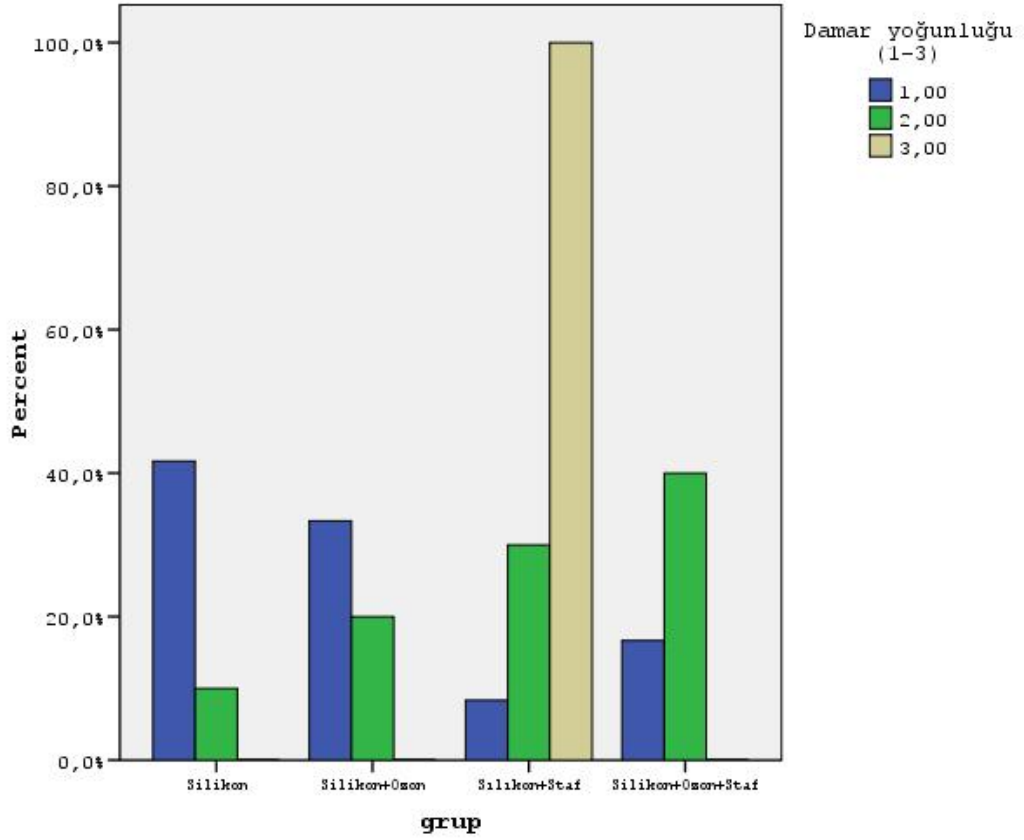
Ozon yağı uygulanan gruplarda (grup 2 ve grup 4) inflamatuvar hücre derecesi (yoğunluğu), silikon (grup 1) ve enfeksiyon (grup 3) gruplarına göre daha fazla görünmekle birlikte; inflamasyon türü ve damar yoğunluğuna dayanan inflamatuvar hücre infiltrasyonu skoru gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi (Grafi 4.2, 4.3 ve 4.4). Enfeksiyon (grup 3) grubunda kapsülün yapısında kistik boşluklar ve dev hücreleri yapmış makrofajların varlığı belirgindi (Resim 4.1).



Grafi 4.2. İnflamasyon türü

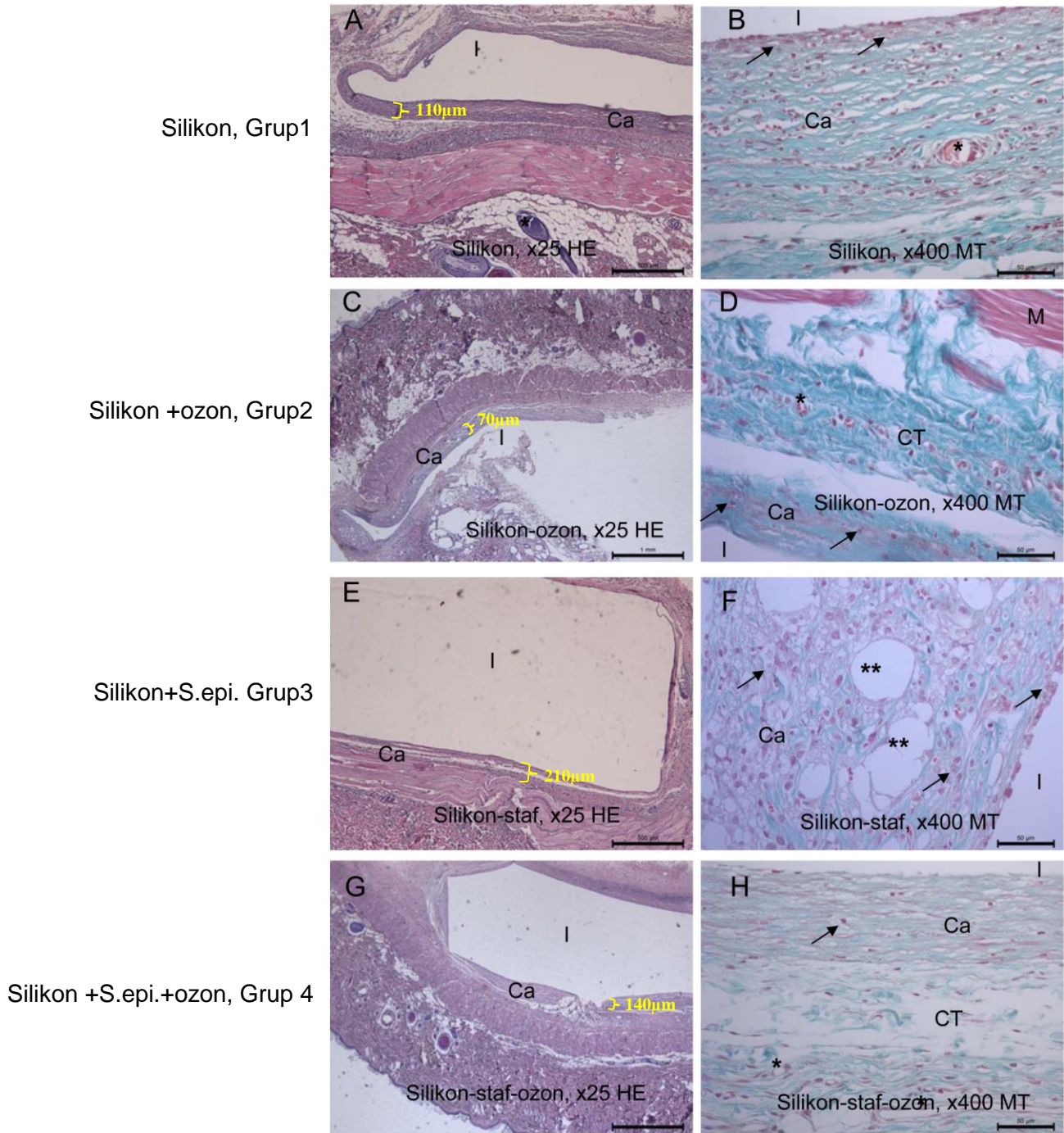


Grafi 4.3. İnflamasyon derecesi



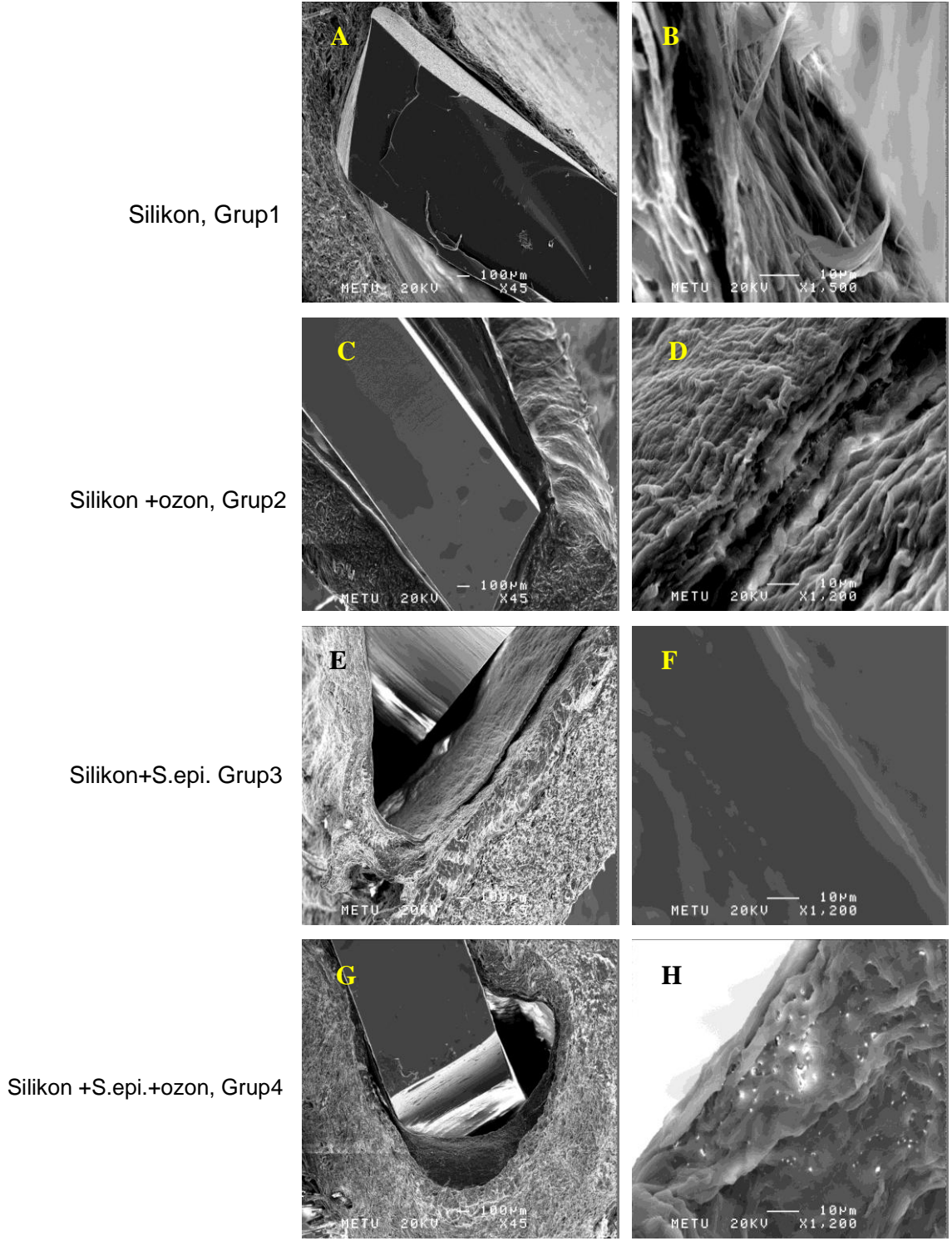
Grafi 4.4. Damar yoğunluğu

Silikon akut rejeksiyona yol açmadığı için erken dönemde biyouyumlu olarak kabul edilse de uygulanan hayvan modelinde 4 haftada yumuşak dokuda kronik kapsül oluşumuna neden oldu. Ultrastrüktürel düzeyde tüm gruplarda enkapsülasyon dokusunda iyi organize olmuş kollajen fibrillerin varlığı dikkati çekti (Resim 4.2).



Resim 4.1. Histolojik değerlendirme

Sol kolonda hematoxilen eozin (HE) ile boyalı küçük büyütme, sağ kolonda Masson trikrom (MT) ile boyalı büyük büyütme mikrograflarda sırasıyla boş olarak implantın (I) bulunduğu kavite ve onu çevreleyen fibröz kapsül (Ca) izlenmektedir. Sağ kolondaki mikrograflarda kapsülün yeşil kollagen fibriller, kılcak damarlar (asterisk), oval çekirdekli fibroblastlar ve genellikle mononükleer inflamatuvar hücrelerden (ok) oluştuğu görülmektedir. Kapsülün D’de en ince ve genellikle fibröz yapıda, F’de en kalın, kistik boşluklar (çift asterisk) ve multinükleer dev fagositleri de içeren inflamatuvar hücrelerden zengin olduğu dikkati çekmektedir. D ve H’de kapsül çevresi gevşek bağ dokusu yapısındadır (CT).



Resim 4.2. Taramalı Elektron Mikroskobu İncelemesi

Sol kolonda X45, sağ kolonda X1200 büyütmedeki elektron mikrograflarda implant çevresindeki kapsülün ince yapısı görülmektedir. Sağ kolonda kollagen fibrillerin genellikle paralel oryantasyon gösterdiği izlenmektedir. F’de oryantasyonun en bozuk olduğuna dikkat ediniz.

5. TARTIŞMA

Estetik ve rekonstrüktif meme cerrahisinde ana hedef; doğal ve simetrik meme görünümü elde etmektir. Bu amaç doğrultusunda en çok gerçekleştirilen cerrahi işlemlerden biri de meme implantasyonudur. Silikon ve salin meme implantasyonu sonrası %0,4-45 [4-6, 55, 76, 140-142] oranında gelişebilen kapsül kontraktürü, ağrı, meme asimetrisi ve sertlik oluşturarak klinik şikayetlere neden olmaktadır ve ikincil cerrahi işlemlere gerek duyulacak kadar şiddetinde artma görülmektedir.

Meme implantı etrafını çevreleyen kapsül formasyonu yabancı cisim reaksiyonuna karşı gelişen yoğun fibrotik dokudur. Yara iyileşmesi temel öğelerinden olan bu fibrotik reaksiyona monosit, makrofaj, miyoplast, miyosit ve yabancı cisim dev hücreleri eşlik eder ve zamanla hipertrofik skar dokusuna benzer şekilde çekinti ve sertlikle sonuçlanan sert fibröz dokuya dönüşür [138]. Vücudun geliştirdiği bu hücrel savunma sistemiyle, kapsül kontraksiyonu ile değişen yüzey alanı / hacim oranı sonucu implant mümkün olan en küçük yüzey alanını kaplamaya yani küresel şekil almaya zorlanır [53].

Kapsül kontraktürü tipik olarak erken postoperatif dönemde belirir, fakat yıllar içerisinde artan insidans ile kendini gösterebilir [22]. Meme implantasyonu sonrası gelişen kapsül kontraktürü birçok deneysel ve klinik çalışmalara rağmen halen histopatogenezi tam açıklanamamıştır. Hipertrofik skar ve enfeksiyon teorisi üzerinde durulan temel hipotezlerdir.

Yara iyileşmesinde kollajen sentezinin aşırı formu olan hipertrofik skar benzeri durumun implant çevresinde de geliştiği vurgulanmıştır [66] fakat bu durumun tek başına etken olmadığı aşıkardır. Enfeksiyon teorisi ise özellikle *S.epidermidisin* suçlandığı subklinik enfeksiyona ikincil enflamasyon sürecinin aşırı uyarılmasına bağlanmıştır [20, 80, 143]. Shah ve ark. 1982'de, tavşan deneysel modelde implant etrafındaki bakteriyel inokülasyonun kapsül kalınlılığını belirgin şekilde arttırdığını

göstermiştir [79]. Viriden ve ark. 1992'deki çalışması, meme kapsül kontraktürün %56 oranında *S.epidermidis* pozitifliği göstermesi dikkatleri enfeksiyon teorisine çekmiştir. Adams'ın "betadine era, post-betadine era" [91, 144, 145] ile Mladick'in [92] "No-touch" tekniği, meme implantı cerrahisinde minimal kontaminasyonu savunan kavramlar olarak günümüzde kapsül kontraktürünün önlenmesinde plastik cerrahlar tarafından yaygın kabul görmüştür.

Son yıllarda literatürde, yabancı cisim reaksiyonu ve immünolojik cevabın kapsül kontraktürü üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalar artmaktadır. Buna göre immünolojik cevap, IL-1,IL-6, TNF- α 'nın ağırlıkta olduğu sitokin ve TGF- β 1 ile PDGF'in öncül olduğu büyüme faktörlerini salınımı ile fibroproliferatif yolağı aktive etmektedir [18, 75, 146, 147]. Wolfram ve ark. 2011'deki peri-kapsüler fibrozis etyopatogenezi üzerine olan çalışmasında, bu olgunun sadece basit yabancı cisim reaksiyonu olmadığı, silikon, silikon biyobozunum ürünleri veya bu ürünlerin otolog proteinlerle olan bileşikleri özgül immün cevaptan sorumlu TH1/TH17 hücresel aktivasyonu tetiklediği gözlemlenmiştir [15]. Buna göre intrakapsüler bölgede TH17 (effektör hücre)'nin, TH1 (düzenleyici hücre)'den daha fazla olması, lokal immün supresyonla baskılanmadığını ve profibrojenik mediatör olan IL-6 ile TGF- β 1 salınımı ile fibrozise neden olduğu düşünülmektedir. Özellikle TGF- β 1 polimorfizmin hepatic [148], pulmoner fibrozis [149] ve hipertrofik skarda [147] tek başına risk faktörü oluşturması etkin tedavi için spesifik antifibrotik ajanların kullanımını düşündürmüştür. Veras-Castillo ve ark. klinikte pulmoner,hepatik ve renal interstisyel fibrozis, peritoneal sklerozis, uterin fibromiyoma ve hipertrofik skar tedavisinde kullanılan pirfenidonu, Baker evre III-IV kapsül kontraktürü olan 17 hastada kullanmış ve 1 yıllık takiplerinde Baker evre I-II'ye gerilediğini göstermiştir [75]. Çalışmanın önemli bir yönü de hastaların %88 'inde (15/17) profibrojenik homozigot TGF- β 1 polimorfizme (kodon 25, genotip Arg25Arg) sahip olması kapsül kontraktürü ile yüksek ilişkisini göstermektedir.

Kapsül kontraktürünü minimize etmek amacıyla yapılan cerrahi tekniklerdeki yaygın görüş: pürüklü yüzeyle silikon kullanımı, implantın subfasyal ya da subpektoral yerleştirilmesi, azami kanama kontrolü ve sterilitte kurallarına uyulmasıdır [4, 60, 86-89]. Bunların yanı sıra klinik ve deneysel olarak triamsinolon

[139], verapamil [63], rifampin [138], mesna [150], mitomisin C [151], zafirkulast [152, 153], halofuginon [154], tetragliserol dipalmitat solüsyonu [155], anti-adhezif bariyer solüsyonu (AABS) [3] ve insan amniyon sıvısının [156] kapsül kalınlığını azalttığı gösterilmiştir. Rifampin, triamsinolon ve lökotrien antagonisti olan zafirlukast dışında bu ürünler klinik uygulamada yaygın kullanılmamaktadır. Zafirlukastın hepatotoksik etkilerinden dolayı da kapsül kontraktürü tedavisinde kullanımı kısıtlıdır [157].

Antiviral, antibakteriyel ve antimikotik özelliğinden dolayı ozon yağı uzun yıllardır ampirik olarak tedavi amacıyla süperfisyal bakteriyel ve fungal enfeksiyonlarda kullanılmaktadır [31, 158]. Önceki çalışmalarda ozonun NF- κ B gen aktivasyonu ile immun cevaptan sorumlu sikliksijenaz-2 (COX-2) ve IL-1, TNF- α benzeri proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu etkilediği görülmüştür [159, 160].

Valacchi ve ark. [160] deneysel çalışmasında ozon maruziyetinin keratinositlerde proliferatif hücre nükleer antijen (PCNA) ve K10 protein [161] ekspresyonu göstermesi, ozonun hücrel differansiyon ve yara iyileşmesinde potansiyel katkısı olabileceğini düşündürmüştür.

Kim ve ark. akut kutanöz yara modelinde, ozon yağı uyguladığı tedavi grubunda 7. günde %83.6 epitelizasyon, sadece yağ uyguladığı grupta ise %74.6 epitelizasyon tespit etmiştir ($p < 0.005$) [120]. Çalışmanın immünohistokimyasal incelemesinde vaskülarite göstergesi PDGF ve VEGF'ün anlamlı artışı, profibrojenik belirteç olan TGF- β 'nın minimal artışı ve FGF'ün değişmemesi ozon yağının yara iyileşmesinde ve kollajen paternin düzenlemesinde olumlu etkisini desteklemektedir.

Çalışmamızda ozon yağının anti-inflamatuar ve antibakteriyel özelliklerinden yararlanılarak, rat deneysel modelinde kapsül kontraktür kalınlığı ve sitolojisi üzerine olan etkisi incelenmiştir. Sadece silikon (grup1,kontrol) implantın olduğu grupta ortalama kapsül kalınlığı (KK) 102 μ m, silikon+ozon yağı grubunda (grup 2) ortalama KK 56 μ m olduğu görüldü ($p=0.04$). Histositolojik incelemede inflamasyon türü, inflamasyon derecesi ve damar yoğunluğu kriterleri gözetildiğinde infalamasyon derecesi göreceli olarak az olduğu, fakat istatistiksel fark olmadığı görüldü.

Hipertrofik skar modeli ve immün cevabın ön planda düşünüldüğü grup1 ve grup2 karşılaştırılmasındaki anlamlı fark, ozon yağının antifibrotik etkinliğini göstermektedir. Bu veriler, Marques ve ark. tavşan deneysel modelde triamsinolonun erken evre meme kapsül formasyonuna olan etkisiyle paralellik göstermektedir [139].

Silikon+S.*epidermidis* grubunda (grup 3) ortalama KK 231µm, silikon+S.*epidermidis*+ozon yağı grubunda (grup 4) ortalama KK 112µm tespit edildi (p=0.002). Bu durum subklinik enfeksiyon oluşturup kapsül kalınlığını arttıran S. *epidermidisin* erken evrede ozon yağı tarafından baskılanmasıyla etkisini azalttığını göstermektedir. Grup 3 ve grup 4 arasında histolojik incelemede, tedavi grubunda göreceli olarak inflamasyon derecesi ve damar yoğunluğu daha az olup, istatistiksel olarak fark saptanmamıştır. Çalışmamızdaki ozon yağının antibakteryel etkinliği, Ünlü ve ark. rifampinin kapsül formasyonu üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmayla benzerlik göstermektedir [138]. Bulgular doğrultusunda, ozon yağının triamsinolon ve rifampin özelliklerini birlikte barındıran bir solüsyon gibi davrandığı düşünülebilir. Valacchi ve ark. deneysel çalışmalarında ortalama 1.500 peroksit değerinin yara iyileşmesinde en uygun düzey olduğunu belirtmiştir [135]. Çalışmamızda kullandığımız ozon yağının anti-inflamatuvar ve antibakteryel göstergesi olan ortalama peroksit değerinin 400-600 olması [162] ve Valacchi ve ark. belirttiği peroksitin değerin altında olmasına karşın olumlu etki göstermesini submuskuler paket içerisinde kullanılmasına bağlanabilir.

Literatür taramasında ozon yağının topikal kullanımı ile ilgili toksikasyona rastlanılmamasına karşın, farelerde tip 4 benzeri hipersensivite bulgularını baskıladığı fakat ozon yağının kendisi kontakt hipersensivite ve kıl kaybına neden olduğu gözlemlenmiştir [163]. Ozon molekülü ile doymamış yağ asitleri arasında bileşiklerin ozonid formda stabilize olması ve +4°C'de 2 yıla yakın niteliklerini koruması, topikal kullanımını kolaylaştırmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda kapsül kontraktüründeki etkisinin incelenmesi için tercih edilen ozon formu, ozon yağı olmuştur. Literatürde deneysel kapsül kontraktürü incelenmesi için standardize bir süre konusunda görüş birliği yoktur [139]. Çalışmamızda erken dönem kapsül kalınlığı değerlendirilmesi için 4 haftalık süre tercih edilmiştir [3]. Ozon yağının

submuskuler paket içerisinde kullanımı literatürde karşılaşılmamıştır. Öncül deneysel çalışmamızda kas altı yağ enjeksiyonun ratlarda klinik semptomlara neden olmadığı ve histolojik olarak hafif inflamasyon varlığı dışında patolojik bulgu saptanmadı. Ozon ve ürünlerinin biyolojik sistemlerdeki etki mekanizmalarının tam aydınlatılmamış olması ve çalışmamızın istatistiksel gücünün denek sayısının asgaride tutulması nedeniyle düşük olması, klinik uygulamaya geçiş ve terapötik dozun belirlenmesi için gelecek çalışmalara mutlak ihtiyaç olduğu göstermektedir.

6. SONUÇ

Ozon yağının antibakteryel, antifungal ve anti-fibrotik etkilerinden yararlanılarak, rat deneysel çalışma modelinde gösterdiğimiz üzere özellikle meme implantasyonu sonrası gelişen subklinik enfeksiyon kaynaklı kapsül kontraktürü azaltılabilir. Plastik cerrahide enfeksiyona ikincil olarak cerrahi işlem gerektiren alloplastik materyaller, osteointegre protezler, temporomandibuler eklem protezleri, doku genişleticiler ve plak-vida benzeri implantların ozon yağı ile kaplanıp kullanımı enfeksiyon ve fibrozis nedeniyle gelişen komplikasyonları azaltabilir. Ozon yağının antibakteryel ve antifibrotik etkinliğinin başka deneysel çalışmalarla desteklenerek klinik çalışmalara geçilmesi önerilir.

7. KAYNAKLAR

1. Sheppard, L.A. and S. Ely, *Breast cancer and sexuality*. Breast J, 2008. **14**(2): p. 176-81.
2. Rowland, J.H., et al., *Role of breast reconstructive surgery in physical and emotional outcomes among breast cancer survivors*. J Natl Cancer Inst, 2000. **92**(17): p. 1422-9.
3. Lew, D.H., et al., *Efficacy of antiadhesion barrier solution on periimplant capsule formation in a white rat model*. Ann Plast Surg, 2010. **65**(2): p. 254-8.
4. Barnsley, G.P., L.J. Sigurdson, and S.E. Barnsley, *Textured surface breast implants in the prevention of capsular contracture among breast augmentation patients: a meta-analysis of randomized controlled trials*. Plast Reconstr Surg, 2006. **117**(7): p. 2182-90.
5. Ersek, R.A., *Rate and incidence of capsular contracture: a comparison of smooth and textured silicone double-lumen breast prostheses*. Plast Reconstr Surg, 1991. **87**(5): p. 879-84.
6. Friemann, J., et al., [*Physiologic and pathologic patterns of reaction to silicone breast implants*]. Zentralbl Chir, 1997. **122**(7): p. 551-64.
7. Siggelkow, W., et al., *Histological analysis of silicone breast implant capsules and correlation with capsular contracture*. Biomaterials, 2003. **24**(6): p. 1101-9.
8. Wolfram, D., et al., *Cellular and molecular composition of fibrous capsules formed around silicone breast implants with special focus on local immune reactions*. J Autoimmun, 2004. **23**(1): p. 81-91.

9. Ulrich, D., et al., *Matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases, aminoterminal propeptide of procollagen type III, and hyaluronan in sera and tissue of patients with capsular contracture after augmentation with Trilucent breast implants*. *Plast Reconstr Surg*, 2004. **114**(1): p. 229-36.
10. Wyatt, L.E., et al., *The influence of time on human breast capsule histology: smooth and textured silicone-surfaced implants*. *Plast Reconstr Surg*, 1998. **102**(6): p. 1922-31.
11. Domanskis, E. and J.Q. Owsley, Jr., *Histological investigation of the etiology of capsule contracture following augmentation mammoplasty*. *Plast Reconstr Surg*, 1976. **58**(6): p. 689-93.
12. Freedman, A.M. and I.T. Jackson, *Infections in breast implants*. *Infect Dis Clin North Am*, 1989. **3**(2): p. 275-87.
13. Wagner, H., F.K. Beller, and M. Pfautsch, *Electron and light microscopy examination of capsules around breast implants*. *Plast Reconstr Surg*, 1977. **60**(1): p. 49-55.
14. Shanklin, D.R. and D.L. Smalley, *The immunopathology of siliconosis. History, clinical presentation, and relation to silicosis and the chemistry of silicon and silicone*. *Immunol Res*, 1998. **18**(3): p. 125-73.
15. Wolfram, D., et al., *T regulatory cells and TH17 cells in peri-silicone implant capsular fibrosis*. *Plast Reconstr Surg*, 2012. **129**(2): p. 327e-337e.
16. Backovic, A., et al., *Identification and dynamics of proteins adhering to the surface of medical silicones in vivo and in vitro*. *J Proteome Res*, 2007. **6**(1): p. 376-81.
17. Tamboto, H., K. Vickery, and A.K. Deva, *Subclinical (biofilm) infection causes capsular contracture in a porcine model following augmentation mammoplasty*. *Plast Reconstr Surg*, 2010. **126**(3): p. 835-42.

18. Kuhn, A., et al., *Periprosthetic breast capsules contain the fibrogenic cytokines TGF-beta1 and TGF-beta2, suggesting possible new treatment approaches*. Ann Plast Surg, 2000. **44**(4): p. 387-91.
19. Schreml, S., et al., *Bacterial colonization is of major relevance for high-grade capsular contracture after augmentation mammoplasty*. Ann Plast Surg, 2007. **59**(2): p. 126-30.
20. Burkhardt, B.R., et al., *Capsular contracture: a prospective study of the effect of local antibacterial agents*. Plast Reconstr Surg, 1986. **77**(6): p. 919-32.
21. Caffee, H.H., *Intracapsular injection of triamcinolone for intractable capsule contracture*. Plast Reconstr Surg, 1994. **94**(6): p. 824-8.
22. Lemperle, G. and K. Exner, *Effect of cortisone on capsular contracture in double-lumen breast implants: ten years' experience*. Aesthetic Plast Surg, 1993. **17**(4): p. 317-23.
23. Vazquez, B., K.S. Given, and G.C. Houston, *Breast augmentation: a review of subglandular and submuscular implantation*. Aesthetic Plast Surg, 1987. **11**(2): p. 101-5.
24. Chang, L., et al., *A comparison of conventional and low-bleed implants in augmentation mammoplasty*. Plast Reconstr Surg, 1992. **89**(1): p. 79-82.
25. Gutowski, K.A., G.T. Mesna, and B.L. Cunningham, *Saline-filled breast implants: a Plastic Surgery Educational Foundation multicenter outcomes study*. Plast Reconstr Surg, 1997. **100**(4): p. 1019-27.
26. Spear, S.L., M. Elmaraghy, and C. Hess, *Textured-surface saline-filled silicone breast implants for augmentation mammoplasty*. Plast Reconstr Surg, 2000. **105**(4): p. 1542-52; discussion 1553-4.
27. Coleman, D.J., I.T. Foo, and D.T. Sharpe, *Textured or smooth implants for breast augmentation? A prospective controlled trial*. Br J Plast Surg, 1991. **44**(6): p. 444-8.

28. van Heerden, J., et al., *Antimicrobial coating agents: can biofilm formation on a breast implant be prevented?* J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2009. **62**(5): p. 610-7.
29. Zimman, O.A., et al., *The effects of angiotensin-converting-enzyme inhibitors on the fibrous envelope around mammary implants.* Plast Reconstr Surg, 2007. **120**(7): p. 2025-33.
30. Adams, W.P., Jr., et al., *A rabbit model for capsular contracture: development and clinical implications.* Plast Reconstr Surg, 2006. **117**(4): p. 1214-9; discussion 1220-1.
31. Valacchi, G., V. Fortino, and V. Bocci, *The dual action of ozone on the skin.* Br J Dermatol, 2005. **153**(6): p. 1096-100.
32. Burgassi, S., et al., *How much ozone bactericidal activity is compromised by plasma components?* J Appl Microbiol, 2009. **106**(5): p. 1715-21.
33. Bocci, V., et al., *The ozone paradox: ozone is a strong oxidant as well as a medical drug.* Med Res Rev, 2009. **29**(4): p. 646-82.
34. Bocci, V.A., *Ozone: a new medical drug* 2011, Dordrecht: Springer, 2011.
35. Lim, Y., et al., *Modulation of cutaneous wound healing by ozone: differences between young and aged mice.* Toxicol Lett, 2006. **160**(2): p. 127-34.
36. Gajendrareddy, P.K., et al., *Hyperbaric oxygen therapy ameliorates stress-impaired dermal wound healing.* Brain Behav Immun, 2005. **19**(3): p. 217-22.
37. Janic, B., et al., *Modulatory effects of ozone on THP-1 cells in response to SP-A stimulation.* Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2005. **288**(2): p. L317-25.
38. Valacchi, G., et al., *Ozone exposure activates oxidative stress responses in murine skin.* Toxicology, 2002. **179**(1-2): p. 163-70.

39. Sen, C.K., et al., *Oxidant-induced vascular endothelial growth factor expression in human keratinocytes and cutaneous wound healing*. J Biol Chem, 2002. **277**(36): p. 33284-90.
40. Ou Shan-xing, L.X.-r., Zhang Li, Yu Zhi-jian *Effect of ozone on hypertrophic scar during the healing of bilateral circular full-thickness skin wounds on the back of rats*. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2012. **16**(15).
41. Longacre, J.J. and G.A. Destefano, *Reconstruction of extensive defects of the skull with split rib grafts*. Plast Reconstr Surg (1946), 1957. **19**(3): p. 186-200.
42. Hansmann, H., *A new method of fixation of fragments in complicated fractures*. Dtsch Gesellschaft Chirurg, 1886. **15**: p. 134.
43. Atagi, T., *Alloplastic materials*, in *Plastic Surgery*, S. Mathes, Editor 2006, Saunders-Elsevier. p. 745.
44. Breitbart, A., *Implant Materials*, in *Grabb & Smith's Plastic Surgery*, C.H. Thorne, Editor 2010, Lippincott Williams & Wilkins. p. 58-65.
45. Nave, R., *Abundances of the Elements in the Earth's Crust*, Georgia State University.
46. Oymak, O., *Silikonun kimyasal yapısı, protez çeşitleri, kapsül*, in *Meme Protezleri ve Silikon* 1992, OPC: İstanbul. p. 9-77.
47. Uchida, j., *Clinical application of crosslinked dimethyl polysiloxane, restoration of breast, cheeks, atropy of infantile paralysis, funnel-shaped chest etc*. Jpn J Plast Reconstr Surg., 1961. **4**: p. 303.
48. Chaplin, C.H., *Loss of both breasts from injections of silicone (with additive)*. Plast Reconstr Surg, 1969. **44**(5): p. 447-50.

49. Mitnick, J.S., et al., *Fine needle aspiration biopsy in patients with augmentation prostheses and a palpable mass*. Ann Plast Surg, 1993. **31**(3): p. 241-4.
50. Yager, J.S. and T. Chaglassian, *Polyester as a bioimplantable material*. Ann Plast Surg, 1998. **40**(5): p. 502-5.
51. Cronin, T., *Augmentation mammoplasty: A new "natural feel" prosthesis.*, in *Transactions of the Third International Congress of Plastic and Reconstructive Surgery*1964, Excerpta Medica: Amsterdam.
52. Ramachandran, K., *Breast augmentation*. Indian J Plast Surg, 2008. **41**(Suppl): p. S41-7.
53. Aydin, E.E., *Alloderm ile sarılı silikon implantlarda radyoterapi sonrası kapsül gelişiminin incelenmesi*, in *Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi AD.2006*, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi: İstanbul.
54. Hester, T.R., Jr., et al., *Measurement of 2,4-toluenediamine in urine and serum samples from women with Meme or Replicon breast implants*. Plast Reconstr Surg, 1997. **100**(5): p. 1291-8.
55. Peña-Salcedo, J.d.l., *Back to the future: a 15-year experience with polyurethane foam-covered breast implants using the partial-subfascial technique*. Aesthetic Plast Surg., 2012. **36**(2): p. 331-338.
56. Ashley, F.L., *Further studies on the natural-Y breast prosthesis*. Plast Reconstr Surg, 1972. **49**(4): p. 414-9.
57. Arion, H., *Retromammary prosthesis*. C.R. Soc Fr Gyneco, 1965: p. 5.
58. Hartley, J.H., *Specific applications of the double lumen prosthesis*. Clin Plast Surg, 1976. **3**(2): p. 247-63.
59. Ellenberg, A.H., *Steroids in breast implants*. Plast Reconstr Surg, 1983. **71**(2): p. 282-3.

60. Maxwell, P., *Breast Augmentation*, in *Plastic Surgery*, S. Mathes, Editor 2006, Saunders-Elsevier. p. 1-33.
61. Embrey, M., et al., *A review of the literature on the etiology of capsular contracture and a pilot study to determine the outcome of capsular contracture interventions*. *Aesthetic Plast Surg*, 1999. **23**(3): p. 197-206.
62. Ersek, R.A., *Firestorm fibrosis: the fast fibrotic phenomenon*. *Ann Plast Surg*, 1991. **26**(5): p. 494-8.
63. Benlier, E., et al., *Effect of verapamil on reduction of peri-implant capsular thickness*. *Aesthetic Plast Surg*, 2009. **33**(4): p. 570-5.
64. Prantl, L., et al., *Clinical and morphological conditions in capsular contracture formed around silicone breast implants*. *Plast Reconstr Surg*, 2007. **120**(1): p. 275-84.
65. Ginsbach, G., L.C. Busch, and W. Kuhnel, *The nature of the collagenous capsules around breast implants; light and electron microscopic investigations*. *Plast Reconstr Surg*, 1979. **64**(4): p. 456-64.
66. Smahel, J., *Histology of the capsules causing constrictive fibrosis around breast implants*. *Br J Plast Surg*, 1977. **30**(4): p. 324-9.
67. Rappard, J.H.A.V., *Capsule formation in controlled tissue expansion In: Controlled tissue expansion in reconstructive surgery*. Experiments in tissue expansion. Vol. 5. 1991.
68. Baker, J.L., Jr., M.L. Chandler, and R.R. LeVier, *Occurrence and activity of myofibroblasts in human capsular tissue surrounding mammary implants*. *Plast Reconstr Surg*, 1981. **68**(6): p. 905-12.
69. Winding, O., et al., *Silicon in human breast tissue surrounding silicone gel prostheses. A scanning electron microscopy and energy dispersive X-ray investigation of normal, fibrocystic and peri-prosthetic breast tissue*. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*, 1988. **22**(2): p. 127-30.

70. Thomsen, J.L., et al., *Histologic changes and silicone concentrations in human breast tissue surrounding silicone breast prostheses*. *Plast Reconstr Surg*, 1990. **85**(1): p. 38-41.
71. Gayou, R.M., *A histological comparison of contracted and non-contracted capsules around silicone breast implants*. *Plast Reconstr Surg*, 1979. **63**(5): p. 700-7.
72. Rudolph, R., et al., *Myofibroblasts and free silicon around breast implants*. *Plast Reconstr Surg*, 1978. **62**(2): p. 185-96.
73. Piscatelli, S.J., et al., *Breast capsule contracture: is fibroblast activity associated with severity?* *Aesthetic Plast Surg*, 1994. **18**(1): p. 75-9.
74. Williams, C., S. Aston, and T.D. Rees, *The effect of hematoma on the thickness of pseudosheaths around silicone implants*. *Plast Reconstr Surg*, 1975. **56**(2): p. 194-8.
75. Veras-Castillo, E.R., et al., *Controlled Clinical Trial With Pirfenidone in the Treatment of Breast Capsular Contracture: Association of TGF-beta Polymorphisms*. *Ann Plast Surg*, 2011.
76. Ersek, R.A. and A.V. Salisbury, *Textured surface, nonsilicone gel breast implants: four years' clinical outcome*. *Plast Reconstr Surg*, 1997. **100**(7): p. 1729-39.
77. Fagrell, D., A. Berggren, and E. Tarpila, *Capsular contracture around saline-filled fine textured and smooth mammary implants: a prospective 7.5-year follow-up*. *Plast Reconstr Surg*, 2001. **108**(7): p. 2108-12; discussion 2113.
78. Dempsey, W.C. and W.D. Latham, *Subpectoral implants in augmentation mammoplasty. Preliminary report*. *Plast Reconstr Surg*, 1968. **42**(6): p. 515-21.
79. Shah, Z., J.A. Lehman, Jr., and J. Tan, *Does infection play a role in breast capsular contracture?* *Plast Reconstr Surg*, 1981. **68**(1): p. 34-42.

80. Virden CP, D.M., Stein P, *Subclinical infection of the silicone breast implant surface as a possible cause of capsular contracture*. *Aesthetic Plast Surg.*, 1992. **16**(2): p. 173-9.
81. Baker, J., *Classification of spherical contractures.*, in *Aesthetic Breast Symposium*1975: Scottsdale , Arizona.
82. Spear, S.L. and J.L. Baker, Jr., *Classification of capsular contracture after prosthetic breast reconstruction*. *Plast Reconstr Surg*, 1995. **96**(5): p. 1119-23; discussion 1124.
83. J Nachbar, W.O., *Validation of quantification of breast implant capsule surface area and volume using magnetic resonance imaging*. *Ann Plast Surg*, 1991. **27**: p. 321.
84. Leibman, A.J., *Imaging of complications of augmentation mammoplasty*. *Plast Reconstr Surg*, 1994. **93**(6): p. 1134-40.
85. Zahavi, A., M.L. Sklair, and D.D. Ad-El, *Capsular contracture of the breast: working towards a better classification using clinical and radiologic assessment*. *Ann Plast Surg*, 2006. **57**(3): p. 248-51.
86. Asplund, O., *Capsular contracture in silicone gel and saline-filled breast implants after reconstruction*. *Plast Reconstr Surg*, 1984. **73**(2): p. 270-5.
87. Gylbert, L., O. Asplund, and G. Jurell, *Capsular contracture after breast reconstruction with silicone-gel and saline-filled implants: a 6-year follow-up*. *Plast Reconstr Surg*, 1990. **85**(3): p. 373-7.
88. Puckett, C.L., et al., *A critical look at capsule contracture in subglandular versus subpectoral mammary augmentation*. *Aesthetic Plast Surg*, 1987. **11**(1): p. 23-8.
89. Biggs, T.M. and R.S. Yarish, *Augmentation mammoplasty: a comparative analysis*. *Plast Reconstr Surg*, 1990. **85**(3): p. 368-72.

90. Biggs, T.M. and R.S. Yarish, *Augmentation mammoplasty: retropectoral versus retromammary implantation*. Clin Plast Surg, 1988. **15**(4): p. 549-55.
91. Adams, W.P., Jr., et al., *Optimizing breast-pocket irrigation: the post-betadine era*. Plast Reconstr Surg, 2001. **107**(6): p. 1596-1601.
92. Mladick, R.A., *"No-touch" submuscular saline breast augmentation technique*. Aesthetic Plast Surg, 1993. **17**: p. 183.
93. Ellenberg, A.H., *Marked thinning of the breast skin flaps after the insertion of implants containing triamcinolone*. Plast Reconstr Surg, 1977. **60**(5): p. 755-8.
94. Carrico, T.J. and I.K. Cohen, *Capsular contracture and steroid-related complications after augmentation mammoplasty. A preliminary study*. Plast Reconstr Surg, 1979. **64**(3): p. 377-80.
95. Vinnik, C.A., *Spherical contracture of fibrous capsules around breast implants. Prevention and treatment*. Plast Reconstr Surg, 1976. **58**(5): p. 555-60.
96. Oleg V. Maslennikov, C.N.K., Irina A. Gribkova, *Ozone therapy in Practice* 2008: Health Manual. - Nizhny Novgorod. p.4-20.
97. Viebahn-Haensler, R., *The Use of Ozone in Medicine* 5 ed 2007, Iffezheim, Germany: Odrei Publishers. p.14-48.
98. Babuçcu, O., *Ozon terapi: Mit ve Gerçek*. Türk Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Dergisi, 2011. **19**(3).
99. Mehmet Özler, Ş.Ö., Ahmet Korkmaz *Ozon Gazının Tıbbi Amaçlı Kullanılması*. TAF Preventive Medicine Bulletin, 2009. **8**(1): p. 59-64.
100. Bocci, V.A., I. Zanardi, and V. Travagli, *Ozone acting on human blood yields a hormetic dose-response relationship*. J Transl Med, 2011. **9**: p. 66.

101. Beck , W., Viebahn-Hänsler, *The current status of ozone therapy empirical developments and basic research*. Forsch Komplementärmed, 1989. **5**: p. 61-75.
102. Bocci, V., *Ozone as Janus: this controversial gas can be either toxic or medically useful*. Mediators Inflamm, 2004. **13**(1): p. 3-11.
103. Rubin, M., *The history of ozone*. Bull Hist Chem, 2001. **26**(1): p. 40-56.
104. Bocci, V.A., *Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art*. Arch Med Res, 2006. **37**(4): p. 425-35.
105. Pryor, W.A., G.L. Squadrito, and M. Friedman, *The cascade mechanism to explain ozone toxicity: the role of lipid ozonation products*. Free Radic Biol Med, 1995. **19**(6): p. 935-41.
106. Di Paolo, N., E. Gaggiotti, and F. Galli, *Extracorporeal blood oxygenation and ozonation: clinical and biological implications of ozone therapy*. Redox Rep, 2005. **10**(3): p. 121-30.
107. Dianzani, M.U., *4-Hydroxynonenal and cell signalling*. Free Radic Res, 1998. **28**(6): p. 553-60.
108. Young, I.S. and J.V. Woodside, *Antioxidants in health and disease*. J Clin Pathol, 2001. **54**(3): p. 176-86.
109. Schaur, R.J., *Basic aspects of the biochemical reactivity of 4-hydroxynonenal*. Mol Aspects Med, 2003. **24**(4-5): p. 149-59.
110. Saruhan, N., et al., *The relationship between leaf rolling and ascorbate-glutathione cycle enzymes in apoplastic and symplastic areas of Ctenanthe setosa subjected to drought stress*. Biol Res, 2009. **42**(3): p. 315-26.
111. Bocci, V., *Ozone as a bioregulator. Pharmacology and toxicology of ozonotherapy today*. J Biol Regul Homeost Agents, 1996. **10**(2-3): p. 31-53.

112. Snyder, S.H. and D.E. Baranano, *Heme oxygenase: a font of multiple messengers*. *Neuropsychopharmacology*, 2001. **25**(3): p. 294-8.
113. Bocci, V., et al., *Ozonation of human blood induces a remarkable upregulation of heme oxygenase-1 and heat stress protein-70*. *Mediators Inflamm*, 2007. **2007**: p. 26785.
114. Bach, F.H., *Heme oxygenase-1: a therapeutic amplification funnel*. *FASEB J*, 2005. **19**(10): p. 1216-9.
115. Volkhovskaya, N.B., S.B. Tkachenko, and A.A. Belopolsky, *Modulation of phagocytic activity of blood polynuclear leukocytes with ozonized physiological saline*. *Bull Exp Biol Med*, 2008. **146**(5): p. 559-61.
116. Sen, R. and D. Baltimore, *Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein Nf-kappa B by a posttranslational mechanism*. *Cell*, 1986. **47**(6): p. 921-8.
117. Baeuerle, P.A. and T. Henkel, *Function and activation of NF-kappa B in the immune system*. *Annu Rev Immunol*, 1994. **12**: p. 141-79.
118. Valacchi, G. and V. Bocci, *Studies on the biological effects of ozone: 10. Release of factors from ozonated human platelets*. *Mediators Inflamm*, 1999. **8**(4-5): p. 205-9.
119. Frehm, E.J., J. Bonaventura, and A.J. Gow, *S-Nitrosohemoglobin: an allosteric mediator of NO group function in mammalian vasculature*. *Free Radic Biol Med*, 2004. **37**(4): p. 442-53.
120. Kim, H.S., et al., *Therapeutic effects of topical application of ozone on acute cutaneous wound healing*. *J Korean Med Sci*, 2009. **24**(3): p. 368-74.
121. Bocci, V.A., *OZONE. A New Medical Durg* 2005, Dordrecht, The Netherlands: Springer.

122. Stubinger, S., R. Sader, and A. Filippi, *The use of ozone in dentistry and maxillofacial surgery: a review*. Quintessence Int, 2006. **37**(5): p. 353-9.
123. Martinez-Sanchez, G., et al., *Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot*. Eur J Pharmacol, 2005. **523**(1-3): p. 151-161.
124. Andreula, C.F., et al., *Minimally invasive oxygen-ozone therapy for lumbar disk herniation*. American Journal of Neuroradiology, 2003. **24**(5): p. 996-1000.
125. Muto, M., C. Andreula, and M. Leonardi, *Treatment of herniated lumbar disc by intradiscal and intraforaminal oxygen-ozone (O-2-O-3) injection*. Journal of Neuroradiology, 2004. **31**(3): p. 183-189.
126. Turcic, J., et al., *Effects of ozone on how well split-thickness skin grafts according to Thiersch take in war wounds. Results of prospective study*. Langenbecks Arch Chir, 1995. **380**(3): p. 144-8.
127. Biedunkiewicz, B., et al., *Clinical efficacy of ozonated autohemotherapy in hemodialyzed patients with intermittent claudication: an oxygen-controlled study*. Int J Artif Organs, 2004. **27**(1): p. 29-34.
128. Tylicki, L., et al., *Beneficial clinical effects of ozonated autohemotherapy in chronically dialysed patients with atherosclerotic ischemia of the lower limbs--pilot study*. Int J Artif Organs, 2001. **24**(2): p. 79-82.
129. Agrillo, A., et al., *Ozone therapy in the treatment of avascular bisphosphonate-related jaw osteonecrosis*. J Craniofac Surg, 2007. **18**(5): p. 1071-5.
130. Bocci, V., *Ozone : A new medical drug*2011: Springer.
131. Sadowska, J., et al., *Characterization of ozonated vegetable oils by spectroscopic and chromatographic methods*. Chem Phys Lipids, 2008. **151**(2): p. 85-91.

132. Sega, A., et al., *Properties of sesame oil by detailed 1H and 13C NMR assignments before and after ozonation and their correlation with iodine value, peroxide value, and viscosity measurements*. Chem Phys Lipids, 2010. **163**(2): p. 148-56.
133. Criegee, R., *Mechanism of ozonolysis*. Angew. Chem. Int. Ed., 1975. **14**: p. 745-752.
134. Travagli, V., et al., *Ozone and ozonated oils in skin diseases: a review*. Mediators Inflamm, 2010. **2010**: p. 610418.
135. Valacchi, G., et al., *Ozonated sesame oil enhances cutaneous wound healing in SKH1 mice*. Wound Repair Regen, 2011. **19**(1): p. 107-15.
136. Bocci, V.A., *Ozone: A New Medical Drug*. 2005, Dordrecht: Springer. 32–5,102–3.
137. Marques, M., et al., *Effects of coagulase-negative staphylococci and fibrin on breast capsule formation in a rabbit model*. Aesthet Surg J, 2011. **31**(4): p. 420-8.
138. Unlu, R.E., et al., *Influence of rifampin on capsule formation around silicone implants in a rat model*. Aesthetic Plast Surg, 2007. **31**(4): p. 358-64.
139. Marques, M., et al., *The impact of triamcinolone acetonide in early breast capsule formation in a rabbit model*. Aesthetic Plast Surg, 2012. **36**(4): p. 986-94.
140. Handel, N., et al., *The fate of breast implants: a critical analysis of complications and outcomes*. Plast Reconstr Surg, 1995. **96**(7): p. 1521-33.
141. Marques, M., et al., *Long-term follow-up of breast capsule contracture rates in cosmetic and reconstructive cases*. Plast Reconstr Surg, 2010. **126**(3): p. 769-78.

142. Rohrich, R.J., J.M. Kenkel, and W.P. Adams, *Preventing capsular contracture in breast augmentation: in search of the Holy Grail*. *Plast Reconstr Surg*, 1999. **103**(6): p. 1759-60.
143. Dobke, M.K., et al., *Characterization of microbial presence at the surface of silicone mammary implants*. *Ann Plast Surg*, 1995. **34**(6): p. 563-9; discussion 570-1.
144. Adams, W.P., Jr., et al., *Optimizing breast pocket irrigation: an in vitro study and clinical implications*. *Plast Reconstr Surg*, 2000. **105**(1): p. 334-8; discussion 339-43.
145. Adams, W.P., Jr., J.L. Rios, and S.J. Smith, *Enhancing patient outcomes in aesthetic and reconstructive breast surgery using triple antibiotic breast irrigation: six-year prospective clinical study*. *Plast Reconstr Surg*, 2006. **118**(7 Suppl): p. 46S-52S.
146. Macias-Barragan, J., et al., *The multifaceted role of pirfenidone and its novel targets*. *Fibrogenesis Tissue Repair*, 2010. **3**: p. 16.
147. Bayat, A., et al., *Genetic susceptibility to keloid disease and hypertrophic scarring: transforming growth factor beta1 common polymorphisms and plasma levels*. *Plast Reconstr Surg*, 2003. **111**(2): p. 535-43; discussion 544-6.
148. Armendariz-Borunda, J., et al., *Fibrogenic polymorphisms (TGF-beta, PAI-1, AT) in Mexican patients with established liver fibrosis. Potential correlation with pirfenidone treatment*. *J Investig Med*, 2008. **56**(7): p. 944-53.
149. Xaubet, A., et al., *Transforming growth factor-beta1 gene polymorphisms are associated with disease progression in idiopathic pulmonary fibrosis*. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003. **168**(4): p. 431-5.
150. Ajmal, N., et al., *The effectiveness of sodium 2-mercaptoethane sulfonate (mesna) in reducing capsular formation around implants in a rabbit model*. *Plast Reconstr Surg*, 2003. **112**(5): p. 1455-61; discussion 1462-3.

151. Frangou, J. and M. Kanellaki, *The effect of local application of mitomycin-C on the development of capsule around silicone implants in the breast: an experimental study in mice*. *Aesthetic Plast Surg*, 2001. **25**(2): p. 118-28.
152. Bastos, E.M., et al., *Histologic analysis of zafirlukast's effect on capsule formation around silicone implants*. *Aesthetic Plast Surg*, 2007. **31**(5): p. 559-65.
153. Spano, A., et al., *Reduction of capsular thickness around silicone breast implants by zafirlukast in rats*. *Eur Surg Res*, 2008. **41**(1): p. 8-14.
154. Zeplin, P.H., A. Larena-Avellaneda, and K. Schmidt, *Surface modification of silicone breast implants by binding the antifibrotic drug halofuginone reduces capsular fibrosis*. *Plast Reconstr Surg*, 2010. **126**(1): p. 266-74.
155. Ruiz-de-Erenchun, R., J. Dotor de las Herrerias, and B. Hontanilla, *Use of the transforming growth factor-beta1 inhibitor peptide in periprosthetic capsular fibrosis: experimental model with tetraglycerol dipalmitate*. *Plast Reconstr Surg*, 2005. **116**(5): p. 1370-8.
156. M, D.N., et al., *Effect of amniotic fluid on peri-implant capsular formation*. *Aesthetic Plast Surg*, 2005. **29**(3): p. 174-80.
157. Gryskiewicz, J.M., *Investigation of accolate and singulair for treatment of capsular contracture yields safety concerns*. *Aesthet Surg J*, 2003. **23**(2): p. 98-101.
158. Sechi, L.A., et al., *Antibacterial activity of ozonized sunflower oil (Oleozone)*. *J Appl Microbiol*, 2001. **90**(2): p. 279-84.
159. Fischer, S.M., *Is cyclooxygenase-2 important in skin carcinogenesis?* *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2002. **21**(2): p. 183-91.
160. Valacchi, G., et al., *In vivo ozone exposure induces antioxidant/stress-related responses in murine lung and skin*. *Free Radic Biol Med*, 2004. **36**(5): p. 673-81.

161. Paramio, J.M., et al., *Modulation of cell proliferation by cytokeratins K10 and K16*. Mol Cell Biol, 1999. **19**(4): p. 3086-94.
162. Lüleci, N., *Uluslararası Medikal Ozon Federasyonu (IMEOF) eş başkanı, kişisel iletişim. nluleci@gmail.com*.
163. Hiromi Kataoka, M.S., *Proinflammatory Event of Ozonized Olive Oil in Mice*. Ozone: Science & Engineering, 2009. **31**: p. 238–246.