



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI

MEDİKAL OZON TEDAVİSİNİN EPİDURAL FİBROZİS ÜZERİNE TOPİKAL
VE SİSTEMİK ETKİSİ: DENEYSEL ÇALIŞMA

Dr. Rabia Nur BALÇIN

UZMANLIK TEZİ

Bursa-2022



T.C.

BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI

MEDİKAL OZON TEDAVİSİNİN EPİDURAL FİBROZİS ÜZERİNE TOPİKAL
VE SİSTEMİK ETKİSİ: DENEYSEL ÇALIŞMA

Dr. Rabia Nur BALÇIN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Şeref DOĞAN

UZMANLIK TEZİ

Bursa-2022

İÇİNDEKİLER

Özet.....	ii
İngilizce Özet.....	iv
Giriş.....	1
Gereç ve Yöntem.....	6
Cerrahi Prosedür.....	7
Ozonun Hazırlanması.....	9
Histopatolojik Değerlendirme.....	9
Biyokimyasal Analiz.....	12
İstatistiksel İnceleme.....	12
Bulgular.....	14
Histopatolojik Sonuçlar.....	14
Biyokimyasal Sonuçlar.....	20
Tartışma.....	23
Kaynaklar.....	31
Ekler.....	39
EK-1: Kısaltmalar.....	39
Teşekkür.....	41
Özgeçmiş.....	42

ÖZET

Medikal Ozon Tedavisinin Epidural Fibrozis Üzerine Topikal ve Sistemik Etkisi: Deneysel Çalışma

Epidural fibrozis (EF), epidural mesafede adezyonlara yol açarak postoperatif dönemde kronik bel ve bacak ağrısı semptomlarına neden olmaktadır.

Ozon, lomber disk herniasyonu ve bel ağrısı gibi tıbbi durumların tedavisinde uygulanmaktadır. Literatür ozonun abdominopelvik cerrahi sonrası oluşan periton içi adezyonları azaltıcı rolü olduğunu desteklemektedir.

Bu çalışmada, deneysel laminektomi modeli oluşturularak, topikal ve sistemik yolla uygulanan ozonun, EF üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlandı.

Çalışmamızda 47 adet Sprague-Dawley erkek sıçan dört gruba ayrıldı; (1) laminektomi yapıp herhangi bir madde uygulanmayan kontrol grubu (n=12), (2) laminektomi sonrasında 50 ml serum fizyolojik (SF) ile intraoperatif yıkama yapılan SF grubu (n=11), (3) laminektomi sonrasında 50 ml ozonlanmış distile su ile intraoperatif yıkama yapılan topikal ozon grubu (n=12), (4) laminektomi sonrasında postoperatif ardışık 7 gün intraperitoneal yolla ozon (0,7 mg/kg) uygulanan intraperitoneal ozon grubu (n=12). Postoperatif dönemde denekler Basso Beattie Bresnahan lokomotor beceriler skalası ile kontrol edildi. Tüm denekler 4 haftanın sonunda sakrifiye edildi ve vertebral kolon blok halinde çıkarıldı. Dokulardan elde edilen histopatolojik ve biyokimyasal veriler EF açısından incelendi.

EF, medulla spinalis retraksiyonu, enflamasyon ve fibroblast yoğunluğu bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark

saptanmadı (sırasıyla $p=0,728$, $p=0,813$, $p=0,152$, $p=0,226$). Topikal ozon grubunda dokulardan elde edilen hidroksiprolin (HP) düzeyinin, intraperitoneal ozon grubuna göre daha yüksek olduğu belirlendi ($p=0,007$) ancak kontrol ve tedavi grupları arasında HP düzeyi açısından anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

Sonuç olarak; EF'in önlenmesinde intraperitoneal ozon uygulaması topikal uygulamaya üstündür. Ancak, farklı tedavi protokolleri düzenlenerek ileri deneysel çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Adezyon, epidural fibrozis, hidroksiprolin, laminektomi, ozon.

SUMMARY

Topical and Systemic Effect of Medical Ozone Therapy on Epidural Fibrosis: Experimental Research

Epidural fibrosis (EF) causes adhesions in the epidural distance, resulting in chronic low back and leg pain symptoms in the postoperative period.

Ozone is used for medical purposes currently in the treatment of lumbar disc herniation and low back pain. Literature supports mitigatory role of ozone in intraperitoneal adhesions occurring after abdominopelvic surgery.

Current study aimed investigating the effect of ozone administered topically and systemically in an experimental laminectomy model.

Forty seven male Sprague-Dawley rats were divided into four group as follows: (1) control group (n=12) in which laminectomy was performed and no substance was applied, (2) Saline group (n=11) which underwent intraoperative washing with 50 ml saline after laminectomy, (3) topical ozone group (n=12) underwent intraoperative washing with 50 ml ozonated distilled water after laminectomy, (4) intraperitoneal ozone group (n=12) in which ozone was administered intraperitoneally (0.7 mg/kg) for seven consecutive days postoperatively. At the end of 4 weeks, all subjects were sacrificed. Histopathological and biochemical data obtained from the tissues were analyzed in terms of EF.

There was no statistical significance between groups regarding EF, spinal cord retraction, inflammation, and fibroblast density (respectively; $p=0,728$, $p=0,813$, $p=0,152$, $p=0,226$). hydroxyproline (HP) levels of tissues was higher in the topical ozone group compared with the intraperitoneal ozone

group ($p=0,007$); however, there was no statistical significance among other groups ($p>0,05$).

In conclusion, intraperitoneal ozone application is superior to its topical application in the prevention of EF. However, further experimental studies are warranted, using different treatment protocols.

Keywords: Adhesion, epidural fibrosis, hydroxyproline, laminectomy, ozone.



GİRİŞ

Başarısız bel cerrahisi sendromu (BBCS) omurga cerrahisi geçiren bireylerde radiküler ağrı paterni olsun ya da olmasın devam etmekte olan bel ve bacak ağrılarını ifade eden, kabul görmüş bir klinik antitedir (1). Leveque ve ark. (2) BBCS' yi anatomik olarak başarılı lomber cerrahiye rağmen devam eden kalıcı, tekrarlayan bel ve bacak ağrısı olarak tanımlamıştır. BBCS insidansı literatürde %20-40 arasında bildirilmiştir (3).

Epidural fibrozis (EF), cerrahi manipülasyon sonrasında epidural boşlukta oluşan yoğun, fibröz skar dokusudur. Dura mater ve sinir köklerinde yapışıklıklara yol açmaktadır (4). Postoperatif dönemde ağrısız bir süreç sonrasında, bel ve/veya bacak ağrıları zaman içerisinde, yavaş yavaş geliyorsa etyolojide EF akla gelmelidir (5).

EF oluşum mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır. İlk olarak 1948 yılında Key ve Ford (6), tarafından annulus fibrozisin zarar görmesi şeklinde açıklanmıştır. 1974 yılında LaRocca ve Macnab (7), dura komşuluğundaki erektör spina kas kütleindeki travma sonucunda fibroblastların ve rezidü hematoma granülasyon dokusu oluşturduğunu ve EF' ye yol açtığını öne sürmüşlerdir. Fibrinojenin fibrine dönüşümü ile yoğun fibröz doku oluşması, çevre yapıları sıkıştırması, operasyon esnasında bölgede kalan mikroskobik pamuk kalıntılarının fibrinojenik etki oluşturması EF nedenleri arasında gösterilmiştir (8, 9).

EF' ye sekonder skar dokusunun oluşumu 3 aşamada sınıflandırılmıştır. Birinci aşama; hemostaz, pıhtılaşma süreci, kemokinlerin salınımı, makrofagosit, fibroblast agregasyonu ile oluşan lokal enflamatuvar yanıtın oluşması ve postoperatif ilk 3-5 günü içermektedir. İkinci aşama; fibrosit farklılaşması, kollajenöz liflerin oluşması ve granülasyon dokusunun oluşması ile meydana gelir ve 2-3 hafta sürer. Bu aşama transforme edici büyüme

faktörü-beta (TGF- β), interlökin-6 (IL-6) ve fibroblast büyüme faktörü (FGF) gibi sitokinler tarafından düzenlenmektedir. Üçüncü ve son aşama ise aylar ya da yıllar süren fibröz bağ dokusunun ve skar dokusunun oluştuğu rekonstrüksiyon sürecinden oluşur (10).

EF' nin azaltılması ve önlenmesi amacıyla birçok cerrahi yöntem ve tıbbi tedavi denenmiş; deneysel ve klinik çalışma yapılmıştır. Literatür incelendiğinde bunlar; cerrahi teknikler, biyolojik ve doğal polimerik materyeller, hemostatik ajanlar, sentetik polimerik materyeller ve farmakolojik ajanlar olarak sınıflandırılabilir.

1. Cerrahi teknikler: Mikrocerrahi yöntem ile minimal invaziv cerrahi ve postoperatif hematoma oluşumunun önlenmesi (11), spinal cerrahide endoskopik yöntemlerin tercih edilmesi (12), endoskopik/perkütan adezyolizis (9, 13), ses dalgalarından yararlanılan ekstrakorporeal şok dalgası tedavisi (14), pudra ve pamuk gibi yabancı maddelerin salin irrigasyonu ile laminektomi sahasından uzaklaştırılması (15, 16), düşük doz eksternal radyasyon tedavisi (17), cerrahi esnasında bipolar koter kullanımının sınırlandırılması (18), lomber mikrodiskektomi cerrahisinde ligamentum flavumun korunması (19), yapay lamina implantasyonu (20).

2. Biyolojik ve doğal polimerik materyeller: Yağ grefti (21–24), amniyotik membran (25, 26), trombosit zengin plazma (PRP) (27), umbilikal kord mezenchimal kök hücresi (28), tüm omurgalılarda bulunan yüksek molekül ağırlıklı hiyalüronik asit (29), kabuklulardan elde edilen kitosan (30), ipek böceği kozalarından ekstrakte edilebilen polietilen glikol (31), subkutan yağ dokusundan elde edilen adipöz kaynaklı kök hücreler (32).

3. Hemostatik ajanlar ve sentetik polimerik materyeller: Spinal cerrahide hemostaz amacıyla yaygın olarak kullanılan FloSeal (jelatin granülleri ve trombin), Helitene (emilebilir kollajen), Tisseel (fibrin örtücü), Surgicell (oksitlenmiş selüloz polimer) gibi hemostatik matriks ajanları (33), spongostan (34), dekstran sülfat ve jelatin karışımından oluşan ADCON-L (35), polylactic-co-glycolic asit (PLGA) membran (36), polytetrafluoroethylene

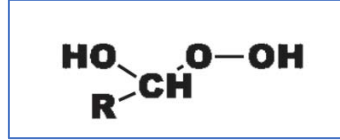
(PTFE) (37), multi-amino acid copolymer (MAACP)/nano-hydroxyapatite (nHA) (10), karboksimetilsellüloz (38) gibi EF oluşumunda biyofiziksel bariyer görevi yapan ve kombine tedavilerde kullanılan sentetik polimerler.

4. Farmakolojik ajanlar ve diğer yöntemler: Antienflamatuar (Deksametazon, metilprednizolon, ibuprofen) (39–41), antikoagülan (42), fibrinolitik (43), antineoplastik ajanlar (44), sitikolin (45), rifampisin, gentamisin (46), borik asit (47), mitomisin-C (48), curcumin (49), interferon-beta-1a (IFN- β -1a) (50).

Yunanca “ozein = koku verici” kelimesinden gelen Ozon (O₃) gazının tıbbi kullanımı giderek yaygınlaşmakta olup, laparotomi (51) ve histerektomi (52) deneysel modellerinde, abdominopelvik cerrahi sonrasında oluşan periton içi yapışıklıkları azaltıcı etkisi gösterilmiştir. 1840 yılında Christian Friedrich Schönbein tarafından suyun elektrolizi ile keşfedilmiş olup, 3 oksijen atomundan oluşan, suda yüksek oranda çözünen, renksiz, keskin kokulu gaz formunda inorganik bir moleküldür (53). Oksijene (O₂) göre 1,6 kat daha yoğundur ve suda oksijenden 10 kat daha fazla çözünmektedir. Stratosferde zararlı B ve C ultraviyole ışınlarını absorbe ederek faydalı olmasına rağmen, ozon inhalasyonu akciğerlere direkt toksik etki göstermektedir (55-56). Bu durum medikal kullanımda tartışmalı bir ajan olmasına yol açmaktadır. Tıbbi ozon, ilk olarak patenti 1896 yılında Nicola Tesla tarafından alınan tıbbi ozon jeneratörü ile saf oksijenin yüksek voltaj gradyanından (5-13 mV) geçirilmesiyle elde edilmiştir (57). “3O₂ + 68.4 Kcal → 2O₃” reaksiyonunun sonunda %95 O₂ ve %5 O₃ ‘ten oluşan gaz karışımı oluşur. Saf oksijen yerine hava kullanılması durumunda nitrojen dioksit (N₂O₂) oluşacağından; tıbbi kullanımda saf oksijenden elde edilmesi zorunludur. Yarı ömrü 20°C’ de 40 dakika; 0°C’ de yaklaşık 140 dakikadır. Bu nedenle hazırlandıktan sonra kısa süre içinde kullanılması gerekmektedir (54, 56, 58).

Ozon, vücut sıvıları ile temas eder etmez reaksiyona girmektedir. Saniyeler içinde çoklu doymamış yağ asitleri, indirgenmiş glutatyon, albümin, tiyol bileşikler, askorbik asit, ürik asit gibi çift bağlı karbon atomu içeren moleküllerle “Criegee mekanizması” denilen iyonik yolla etkileşime gider ve

bu moleküller elektron verici gibi davranarak oksidasyona uğrar. Reaksiyon sonunda fizyolojik koşullarda (pH<7.4) “ozon peroksit” denilen kısa zincirli “hidroksi-hidroperoksit” oluşur ve glutatyon yoluyla farmakolojik etkilerin oluşmasında ikincil haberci rolü üstlendiği düşünülmektedir (Şekil-1) (59–61).



Şekil-1: Hidroksi-hidroperoksit.

Dezenfeksiyon amacının yanısıra diyabetik ayak ülserlerinde (62), yanık yaralarında (63), ağız içi yara iyileşmesinde (64), sinir iyileşmesinde (65), bel ağrısında paravertebral adelelere enjekte edilmek ve lomber disk herniasyonunda disk içine ozon verilmek suretiyle (66, 67) ozon kullanımı son yıllarda giderek yaygınlaşmakta ve bu alanlarda yapılan klinik ve preklinik çalışmalar artmaktadır.

Ozon tedavisinin, COVID-19 tedavisinde, nükleer faktör-eritroid-2 ile ilişkili faktör-2 (NRF-2) yoluyla virüs replikasyonunu önlediği, interlökin-1 beta (IL-1 β) ve interlökin-18 (IL-18) sitokinlerinin üretiminden sorumlu sitozolik bir kompleks olan “NOD-, LRR- and pyrin domain-containing protein 3” (NLRP3) modülasyonu yoluyla antienflamatuar etki ile akciğer enflamasyonunu azaltıcı etkisi olduğu, interferon-gamma (IFN- γ), interlökin-2 (IL-2) ve tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) üretimini artırarak hücrel ve humoral immün sistemi modüle edici etkisi olduğu raporlanmıştır (68–70).

Ozon tedavisinin fibrozisi azaltıcı etkisi; safra yolu tıkanıklığına bağlı hepatik fibroziste (71), TGF- β 1/Smad7 yolunun modülasyonu ile renal fibroziste (72), uterus adezyonlarında (52), periton içi yapışıklıklarda (51) etkinliği gösterilmiştir.

Oksijen, azot protoksit (N₂O), hiperbarik oksijen (HBO) gibi gazlar uzun yıllardır klinisyenler tarafından kullanılmaktadır. Bu çalışmada, ulaşım ve uygulama kolaylığı göz önüne alınarak, klinik rutin kullanıma girme potansiyeli olan ve günümüzde popülaritesi giderek artan ozonun, EF ve dural adezyonlar üzerine olan etkisinin deneysel olarak gösterilmesi amaçlanmıştır. Klinik çalışmalarda ozon tedavisi etkinliği, ağrı skorları, fonksiyonel skalalar ve radyolojik görüntülemeler ile değerlendirilmektedir (73–77). Bu çalışma, ozonun BBCS' nin primer nedenlerinden olan EF üzerindeki etkilerini, histopatolojik ve biyokimyasal veriler ile göstermeyi hedefleyen ilk çalışma olma niteliğine sahiptir.



GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız T.C. Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 05.03.2021 tarih ve 2021-03/10 numaralı kararıyla onaylandı.

Çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi Laboratuvarında yapıldı. Çalışmaya 12 haftalık 250-300 gr ağırlığında, toplam 48 adet, Sprague-Dawley erkek sıçan alındı. Denekler dört gruba ayrıldı:

Grup 1 (n=12) Kontrol Grubu: Laminektomi yapıp mesafeye herhangi bir madde uygulanmayan grup.

Grup 1a: 6 denek biyokimyasal analiz

Grup 1b: 6 denek histopatolojik analiz

Grup 2 (n=12) Serum Fizyolojik (SF) Grubu: Laminektomi yapıldıktan sonra 50 ml %0,9 NaCl ile 5 dakika boyunca intraoperatif yıkama yapılan grup.

Grup 2a: 6 denek biyokimyasal analiz

Grup 2b: 6 denek histopatolojik analiz

Grup 3 (n=12) Topikal Ozon (T-Ozon) Grubu: Laminektomi yapıldıktan sonra 50 ml ozonlanmış distile su ile 5 dakika boyunca intraoperatif yıkama yapılan grup.

Grup 3a: 6 denek biyokimyasal analiz

Grup 3b: 6 denek histopatolojik analiz

Grup 4 (n=12) İntraperitoneal Ozon (İP-Ozon) Grubu: Laminektomi yapıp her hangi bir madde uygulanmadan mesafenin kapatılıp; postoperatif 1. saat başlanarak ardışık 7 gün boyunca intraperitoneal yolla gaz formunda ozon uygulanan grup (0,7 mg/kg).

Grup 4a: 6 denek biyokimyasal analiz

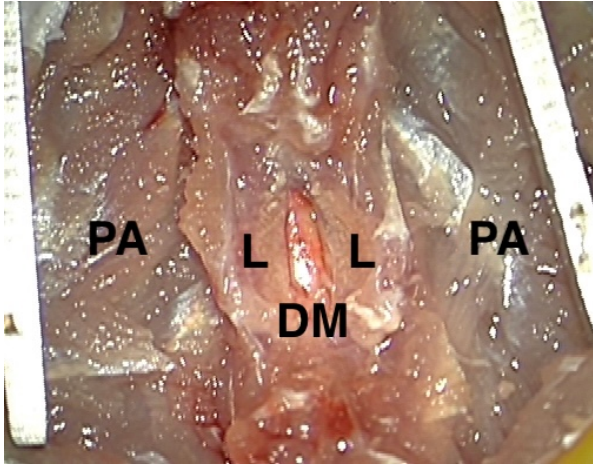
Grup 4b: 6 denek histopatolojik analiz

Cerrahi Prosedür

Cerrahi profilaksi amacıyla her deneğe cerrahiden yarım saat önce 20 mg/kg dozunda sefazolin sodium (Cezol, Deva Holding A.Ş., İstanbul-Türkiye) intraperitoneal yolla uygulandı. İnhalasyon yoluyla sevofluran (Sevorane, Abbott, İngiltere) verilerek genel anestezi sağlandı. Her bir denek operasyon masasına prone pozisyonda sabitlendi. Operasyon sahası %4 klorheksidin Glukonat emdirilmiş cerrahi fırça (Medbar, İzmir, Türkiye) ile 10 dakika fırçalandı ve povidon iyot (Isosol, Merkez-İlaç, İstanbul-Türkiye) ile cerrahi alan temizliği tamamlandı. L6 seviyesini işaret eden iliak krista (İK) palpe edilerek, alt sınırı İK' ye denk gelecek şekilde yaklaşık 4 cm boyutunda orta hat vertikal cilt insizyonu yapıldı. Cilt altı dokular doku makası ile künt diseke edilerek paravertebral fasya ortaya konuldu. L2-6 mesafeleri arasındaki paravertebral fasya ve adeleler kraniyokaudal yönde kesilerek laterallere diseke edildi. Spinöz proçesler ve interspinöz adeleler yüzeysel olarak doku makası ile kesildi. Paravertebral adeleler küçük cilt ekartörü kullanılarak laterallere ekarte edildi. L5-6 seviyesi bulunarak mikroskop altında (Opmi I-DFC, CARL ZEISS, Jena, Almanya) drill yardımıyla (Maestro MT-DM-130A, Almanya) laminektomi yapıldı. Laminektomi esnasında dura mater korundu (Şekil-2). Kontrol ve intraperitoneal ozon gruplarında mesafe laminektomi sonrasında herhangi bir yıkama ve uygulama yapılmadan kapatıldı. SF grubunda mesafe 50 ml %0,9 NaCl ile, topikal ozon grubunda 50 ml ozonlanmış steril distile su (Polifarma,

Türkiye) ile yıkandı. Kanama kontrolü steril gazlar ile tampon yapıp koagülasyon beklenerek yapıldı. Laminektomi sahasının proksimal ve distal sınırları emilmeyen ipek sütürler yardımıyla işaretlendi. Kanama kontrolü sağlandıktan sonra anatomisine uygun olarak; fasya 3/0 poliglactin emilebilen sütür materyeli ile (Vicryl, Ethicon, Somerville, NJ, ABD), cilt stapler ile (Covidien, ABD) kapatıldı. Povidon iyot ile cerrahi yara pansumanı yapıldı. Postoperatif analjezi sağlamak amacıyla tek doz subkutan yolla buprenorfin (0.05 mg/kg) uygulandı.

Tüm denekler kulak işaretlemesi ile numaralandırıldı ve dörderli gruplar halinde kafeslerine alındı. Operasyon sonrasında deneklerin tümü Basso Beattie Bresnahan (BBB) davranış değerlendirme skalası ile lökomotor beceriler açısından kontrol edildi (78, 79). Standart yem ve suyla ad libitum beslenen ve bakımları yapılan denekler 4 hafta yaşatıldı. 4. haftanın sonunda genel anestezi altında servikal dislokasyon uygulanarak sakrifiye edildi. Cilt, cilt altı ve operasyon sahası enfeksiyon açısından kontrol edildikten sonra daha önceden işaretlenen laminektomi sahasını içine alacak şekilde vertebral kolon blok halinde çıkarıldı.



Şekil-2: Mikrocerrahi laminektomi görüntüsü

Tek mesafe laminektomi yapılmış; dura mater görülmekte. **PA:** Paravertebral adeleler, **L:** Lamina, **DM:** Dura mater.

Ozonun Hazırlanması

Ozon, UV spektrofotometri ile ozon konsantrasyonunu ve gazın akış hızını eş zamanlı kontrol eden ozon jeneratörü (Salutem Medikal Ozon Cihazı, Has Medikal, Türkiye) kullanılarak üretildi. Ozon akış hızı, 60 µg/ml konsantrasyonda %97 O₂ /%3 O₃ gaz karışımına karşılık gelen 3 L/dk olarak sabit tutuldu. Gaz formundaki ozon, derinliği yaklaşık 40 cm olan cam fanus içindeki 1 L steril distile su içinden 15 dakika boyunca geçirilerek ozonlanmış distile su elde edildi. Ozon konsantrasyonunun tutarlılığını sağlamak amacıyla oda sıcaklığı 24°C' de sabit tutuldu. Tek kullanımlık silikonla işlenmiş propilen enjektörler ve steril Tygon polimer tüpler (ozona dirençli) kullanıldı. Topikal uygulama ozonlu su hazırlanmasını takiben 10 dakika içinde gerçekleştirildi. Sistemik uygulamada ozon, ozon jeneratöründen tek kullanımlık ozona dirençli enjektör ile gaz formunda çekilerek bekletilmeden deneklere intraperitoneal olarak uygulandı.

Histopatolojik Değerlendirme

Histopatolojik değerlendirme Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı' nda, deney protokolünden bağımsız iki patolog tarafından yapıldı. Blok halinde çıkarılan vertebral kolon %10' luk tamponlu formaldehit solüsyonunda fikse edildikten sonra Decal (eşit miktarlarda %10 formik asit + %8 HCL) solüsyonu içerisine alındı. 3 günün sonunda dekalsifikasyon işlemi tamamlanan materyal spinal korda transvers şekilde 5 mm kalınlıkta dilimlendi ve proksimalden distale doğru sırasıyla kasetlendi. Kasetler akarsuda 3 saat yıkandıktan sonra ototeknikonda rutin doku takip işleminden geçirildi. Parafin bloklardan 3 mikronluk kalınlıkta mikrotom ile (Leica RM 2145, Wetzlar, Almanya) kesitler alınıp hematoksilin eozin (H&E) boyası ile boyandı.

HE boyalı kesitlerin incelenmesi sonucu histokimyasal boyama (masson trikrom) için her olguda lezyon morfolojisini en iyi temsil eden ve değerlendirmeye en uygun preparatlar seçildi. Bu preparatların bloklarından 3 mikrometre kalınlığında kesitler hazırlanarak lamlara alındı ve bu lamlar etüvde bir saat bekletildi. Masson Trikrom (MT) boyası ile boyandı.

Her bir örnek fibrozis yaygınlığı, dural adezyon derecesi, fibroblast hücre yoğunluğu, yabancı cisim reaksiyonu, granülasyon dokusu, enflamasyon ve medulla spinalis retraksiyonu (MSR) açısından ışık mikroskopunda değerlendirildi.

Doku adezyonunun derecesini değerlendirmek için Topsakal ve ark.' ın (80) kullandığı altı parametre (medulla spinalis retraksiyonu, peridural fibrozis, inflamasyon, yabancı cisim reaksiyonu, dural adezyon ve granülasyon dokusu) tüm gruplarda sıralı bir ölçek oluşturularak ve her denek evrelendirilerek incelendi (Tablo-1).

Tablo-1: Adezyon derecesi evrelendirme ölçeği (80).

Evre 0	Yok
Evre 1	Minimum
Evre 2	Orta Derecede
Evre 3	Yoğun

Duradaki fibrozis ve adezyon derecesi He ve ark.' ın (81) tanımladığı sınıflamaya göre derecelendirildi (Tablo-2).

Tablo-2: Fibrozis ve adezyon derecesi evrelendirme kriterleri (81).

Evre 0	Dura materde fibröz doku/ skar dokusu yok.
Evre 1	Dura mater ve fibröz doku arasında ince fibröz bant/bantlar var.
Evre 2	Laminektomi defektinin toplam alanının 2/3' ünden azında yapışıklık mevcut.
Evre 3	Laminektomi defektinin toplam alanının 2/3' ünden çoğunda ve/veya sinir köklerine uzanan yapışıklık mevcut.

Epidural boşluktaki fibroblast ve enflamatuvar hücre yoğunluğu, laminektomi alanının iki sınırında ve merkezinde x400 büyütmede ölçülerek ortalamaları hesaplandı. Hücre yoğunlukları Hinton ve ark.' ın (82) tanımladığı şekilde derecelendirildi (Tablo-3).

Tablo-3: Fibroblast hücre yoğunluğu derecelendirilmesi (82).

Evre 1	100' den az fibroblast
Evre 2	100 – 150 arası fibroblast
Evre 3	150' den fazla fibroblast

Ek olarak her bir denek incelenirken araknoid tutulumun varlığı not edildi.

Biyokimyasal Analiz

Biyokimyasal analiz Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yapıldı.

Kollajen yıkımı sonucu ortaya çıkan bir aminoasit olan hidroksiprolin (HP) fibrozis belirteci olarak kullanıldı. Biyokimyasal analiz, elde edilen dokularda kollajenden hidroliz edilen hidroksiprolin ölçümüne dayandırıldı.

Her bir deneğin laminektomi defektine denk gelen seviyedeki epidural dokusu yaklaşık 0.5x0.5x0.5 cm boyutlarında olacak şekilde çıkarılarak ayrı ayrı Eppendorf tüplere konuldu ve -80 °C' de derin dondurucuda muhafaza edildi. Soğuk zincir ile transport edildi. Dokuların ıslak ağırlıkları hassas terazide tartılarak kaydedildi. Dokular 6N hidroklorik asit (HCl) ile hidroliz tüplerinde homojenize edildi ve ardından 110 °C' de 16 saat boyunca etüvde bekletildi. Homojenatlarda HP ölçümü sıvı kromatografisi-ardışık kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) ile gerçekleştirildi. HP sonuçları miligram doku başına µmol/L cinsinden verildi.

İstatistiksel İnceleme

Çalışmada her bir grupta bulunması gereken denek sayısı kaynak eşitlik yöntemi kullanılarak hesaplandı. Buna göre çalışma tasarımı da dikkate alınarak, iki kademeli olarak yürütülmesi planlanan tez çalışmasında her bir süreçte farklı hayvanın kullanılma kısıtı da göz önünde bulundurularak grup başına düşen birim sayısı 12 ve toplamda ise n=48 hayvan olarak belirlendi (83).

Verilerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler normal dağılıma uygunluk göstermeyenlerde "medyan (min:max)" olarak verildi. Kategorik

değişkenler için tanımlayıcı istatistikler frekans ve yüzde [n(%)] olarak verildi. Sürekli değişkenlerin bağımsız çoklu grup analizlerinde normal dağılıma uygunluk göstermeyenler için Kruskal Wallis H Testi ve altgrup analizleri için de Dunn-Bonferroni testi kullanıldı. Kategorik verilerin karşılaştırmalarında ise Fisher-Freeman-Halton testi kullanıldı. Çalışmanın analizleri SPSS (IBM Corp. Released 2015. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 26.0. Armonk, NY: IBM Corp. ABD) programında yapılmış olup, istatistiksel karşılaştırmalarda tip I hata oranı $\alpha=0,05$ olarak kabul edilmiştir.



BULGULAR

Histopatolojik inceleme esnasında topikal SF uygulanan SF grubundaki 1 denekte dura defekti görülmesi üzerine denek deney dışı bırakıldı. Çalışma 47 denek ile tamamlandı.

Deneyi tamamlayan deneklerin hiçbirinde BBB davranış değerlendirilmesine göre postoperatif dönemde nörolojik defisit gözlenmedi.

4. haftanın sonunda deneklerin sakrifiye edilmesi sonrasında cilt, cilt altı dokular ve cerrahi saha kontrol edildi. Hiçbir denekte enfeksiyon gözlenmedi.

Histopatolojik Sonuçlar

Dekalsifikasyon işlemi sonrasında MT ve HE boyaları ile boyanan tüm kesitler incelendi.

Deneyden bağımsız iki patolog tarafından tüm örneklerin incelenmesini takiben evrelendirme yapıldı.

Kontrol grubunda (Grup 1) epidural fibrozis ve adezyon derecesi 2 denekte evre 2 (%33,3); 4 denekte evre 3 (%66,7) olarak gözlenirken; SF ile irrigasyon yapılan grupta (Grup 2) 1 denekte evre 1 (%20), 2 denekte evre 2 (%40), 2 denekte evre 3 (%40) olarak saptandı (Şekil-3). Laminektomi sahasına topikal ozon uygulanan grupta (grup 3) 2 denekte evre 2 (%33,3), diğer 4 denekte evre 3 (%66,7) fibrozis gözlenirken (Şekil-4); intraperitoneal yolla ozon uygulanan grupta (Grup 4) sadece 1 denekte evre 2 (%16,7); diğer tüm deneklerde (%83,3) evre 3, yoğun epidural fibrozis olduğu görüldü (Şekil-5). Fibrozis/Adezyon derecesi bakımından histopatolojik deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,728$).

Adezyon oluşumuna sekonder oluşan medulla spinalis retraksiyonu (MSR) açısından örnekler karşılaştırmalı olarak incelendi. Kontrol grubunda 2 denekte (%33,3) hiç MSR gözlenmezken; 2 denekte (%33,3) minimal, 1 denekte (%16,7) orta derecede ve 1 denekte (%16,7) yaygın MSR gözlemlendi. SF ile intraoperatif yıkama yapılan grupta 4 denekte (%80) minimum düzeyde

ve 1 denekte (%20) orta derecede MSR olduğu görüldü. Buna karşılık; topikal ozon uygulanan grupta 3 denekte (%50) minimum düzeyde, 2 denekte (%33,3) orta düzeyde, 1 denekte (%16,7) yaygın MSR gözlenirken; intraperitoneal ozon grubunda 2 denekte (%33,3) minimum, 1 denekte (%16,7) orta derecede ve 2 denekte (33,3) MSR gözlemlendi. 1 denekte (%16,7) hiç MSR gözlenmedi. MSR bakımından histopatolojik deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,813$).

Kontrol grubunda 3 denekte (%50) minimal enflamasyon gözlenirken; 2 denekte (%33,3) orta derecede ve 1 denekte (%16,7) yaygın enflamasyon gözlemlendi. SF irrigasyon grubunda ise 2 denekte (%40) minimal, 2 denekte (%40) orta derecede ve 1 denekte (%20) yaygın enflamasyon görüldü. Tedavi gruplarından topikal ozon grubunda 1 denekte (%16,7) minimal enflamasyon görülürken; 5 denekte (%83,3) yaygın enflamasyon görüldü. İntraperitoneal ozon grubunda ise 2 denekte (%33,3) minimal, 4 denekte (%66,7) yaygın enflamasyon görüldü. Enflamasyon açısından da histopatolojik deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,152$) (Şekil-6). Dura materdeki fibrozis, adezyon, medulla spinalis retraksiyonu, peridural fibrozis ve enflamasyon evrelendirme sonuçları ve p değerleri tüm denekler için tablo 4' te verilmiştir.

Tablo 4: Fibrozis, adezyon, medulla spinalis retraksiyonu, peridural fibrozis, enflamasyon sonuçları.

	KONTROL (n=6)	SF (n=5)	T - OZON (n=6)	İP - OZON (n=6)	p değeri*
Fibrozis/Adezyon Derecesi					0,728
Evre 1	0 (%0,0)	1 (%20)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	
Evre 2	2 (%33,3)	2 (%40)	2 (%33,3)	1 (%16,7)	
Evre 3	4 (%66,7)	2 (%40)	4 (%66,7)	5 (%83,3)	
Medulla Spinalis Retraksiyonu					0,813
Minimum	2 (%33,3)	4 (%80)	3 (%50)	2 (%33,3)	
Orta Derece	1 (%16,7)	1 (%20)	2 (%33,3)	1 (%16,7)	
Yoğun	1 (%16,7)	0 (%0,0)	1 (%16,7)	2 (%33,3)	
Peridural Fibrozis					0,226
Minimum	0 (%0,0)	1 (%20)	3 (%50)	1 (%16,7)	
Orta Derece	1 (%16,7)	3 (%60)	2 (%33,3)	3 (%50)	
Yoğun	5 (%83,3)	1 (%20)	1 (%16,7)	2 (%33,3)	
Enflamasyon					0,152
Minimum	3 (%50)	2 (%40)	1 (%16,7)	2 (%33,3)	
Orta Derece	2 (%33,3)	2 (%40)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	
Yoğun	1 (%16,7)	1 (%20)	5 (%83,3)	4 (%66,7)	

Veriler deney hayvanı sayısı frekans-yüzde {n(%)} şeklinde yazılmıştır.

*: Fisher-Freeman-Halton Testi kullanılmıştır.

SF: Serum Fizyolojik (Grup 2).

T – OZON: Topikal Ozon Grubu (Grup 3).

İP – OZON: İntraperitoneal Ozon Grubu (Grup 4).

Yabancı cisim reaksiyonu, dural adezyon ve granülasyon dokusu açısından değerlendirildiğinde de benzer şekilde gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı (sırasıyla p= 0,214; p= 0,120; p= 0,351) (Tablo-5).

Tablo-5: Yabancı cisim reaksiyonu, dural adezyon ve granülasyon dokusu sonuçları.

	KONTROL (n=6)	SF (n=5)	T - OZON (n=6)	İP - OZON (n=6)	p değeri*
Yabancı Cisim Reaksiyonu					0,214
Minimum	2 (%33,3)	4 (%80)	5 (%83,3)	3 (%50)	
Orta Derece	2 (%33,3)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	3 (%50)	
Yoğun	2 (%33,3)	1 (%20)	1 (%16,7)	0 (%0,0)	
Dural Adezyon					0,120
Minimum	0 (%0,0)	2 (%40)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	
Orta Derece	2 (%33,3)	0 (%0,0)	1 (%16,7)	0 (%0,0)	
Yoğun	4 (%66,7)	3 (%60)	5 (%83,3)	6 (%100)	
Granülasyon Dokusu					0,351
Minimum	1 (%16,7)	4 (%80)	1 (%16,7)	1 (%16,7)	
Orta Derece	3 (%50)	1 (%20)	2 (%33,3)	2 (%33,3)	
Yoğun	2 (%33,3)	0 (%0,0)	3 (%50)	3 (%50)	

Veriler deney hayvanı sayısı frekans-yüzde [n(%)] şeklinde yazılmıştır.

*: Fisher-Freeman-Halton Testi kullanılmıştır.

SF: Serum Fizyolojik (Grup 2).

T – OZON: Topikal Ozon Grubu (Grup 3).

İP – OZON: İntraperitoneal Ozon Grubu (Grup 4).

Fibroblast hücre yoğunluğu mikroskop altında ortalama fibroblast sayısına göre belirlenerek evrelendirme yapıldı. Kontrol grubunda 3 denekte (%50) evre 1, 1 denekte (%16,7) evre 2; SF grubunda 1 denekte (%20) evre 1, 3 denekte (%60) evre 2 fibroblast hücre yoğunluğu gözlemlendi. Topikal ozon tedavi grubunda 1 denekte (%16,7) evre 1, 1 denekte (%16,7) evre 2; intraperitoneal grupta evre 1 gözlenmezken, 1 denekte (%16,7) evre 2 düzeyde hücre yoğunluğu olduğu görüldü. Evre 3 fibroblast hücre yoğunluğu ise kontrol grubunda 2 denekte (33,3), SF grubunda 1 denekte (%20); tedavi gruplarında topikal ozon uygulanan grupta 4 denekte (%66,7), intraperitoneal ozon uygulanan grupta ise 5 denekte (%83,3) olduğu görüldü ancak buna rağmen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p= 0,226) (Tablo-6) (Şekil-7).

Tablo-6: Mikroskopik fibroblast hücre yoğunluğunun gruplara göre evrelendirme sonuçları.

	KONTROL (n=6)	SF (n=5)	T - OZON (n=6)	İP - OZON (n=6)	p değeri*
Fibroblast Hücre Yoğunluğu					0,226
Evre 1	3 (%50)	1 (%20)	1 (%16,7)	0 (%0,0)	
Evre 2	1 (%16,7)	3 (%60)	1 (%16,7)	1 (%16,7)	
Evre 3	2 (%33,3)	1 (%20)	4 (%66,7)	5 (%83,3)	

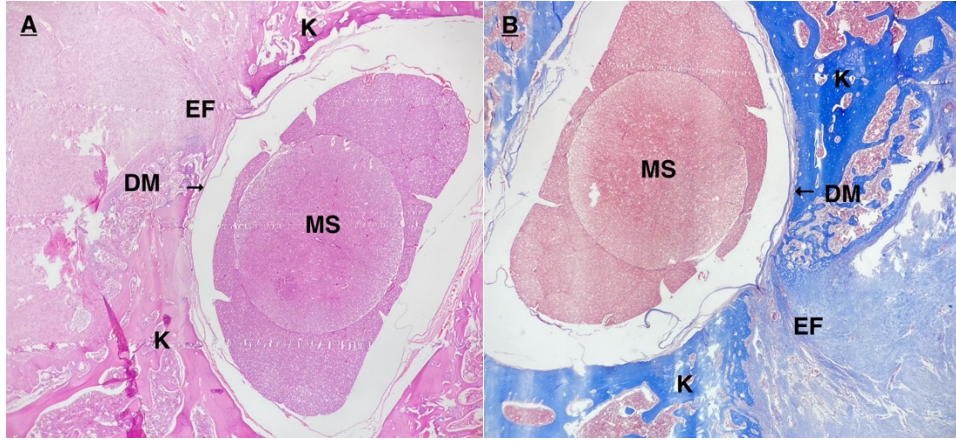
Veriler deney hayvanı sayısı frekans-yüzde [n(%)] şeklinde yazılmıştır.

*: Fisher-Freeman-Halton Testi kullanılmıştır.

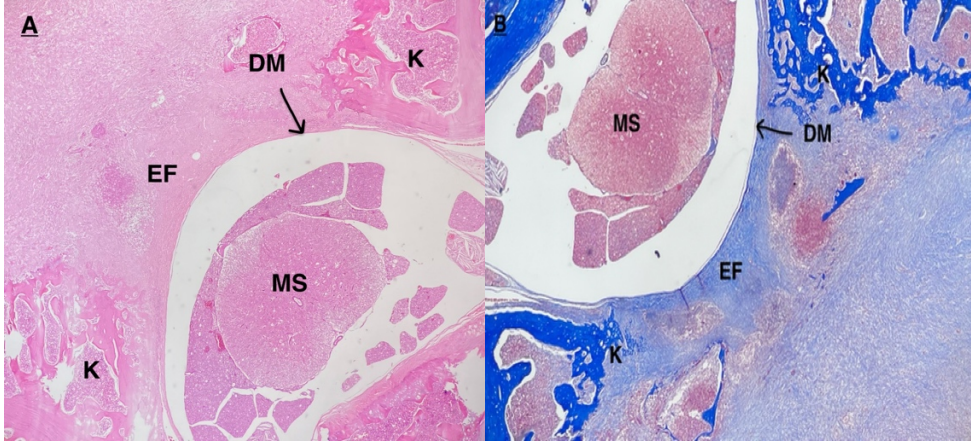
SF: Serum Fizyolojik (Grup 2).

T – OZON: Topikal Ozon Grubu (Grup 3).

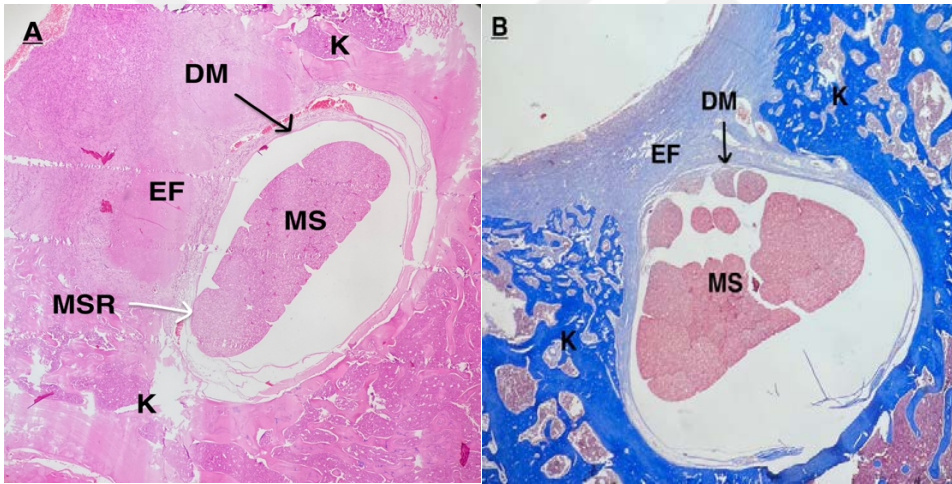
İP – OZON: İntraperitoneal Ozon Grubu (Grup 4).



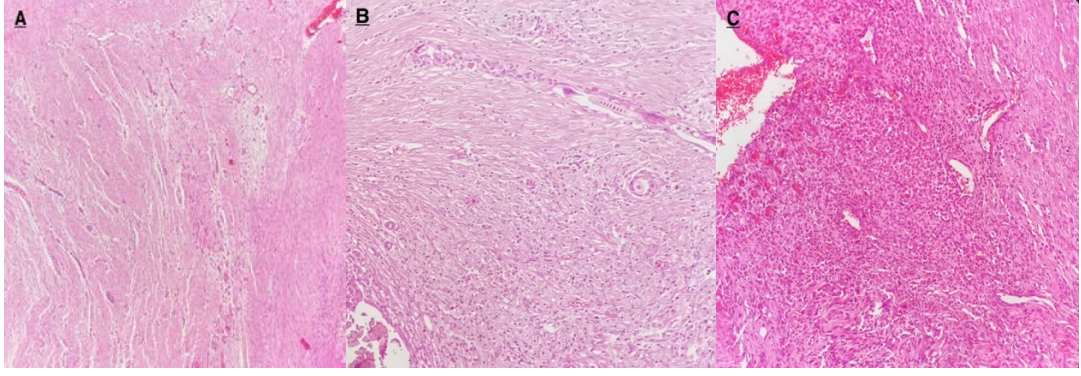
Şekil-3: SF grubunda Evre 1 Epidural Fibrozis ve dural adezyon. Medulla spinalis retraksiyonunun olmadığı görülüyor. **A:** HEX40, **B:** MTX40. **DM:** Dura mater (siyah ok), **K:** Kemik, **EF:** Epidural fibrozis.



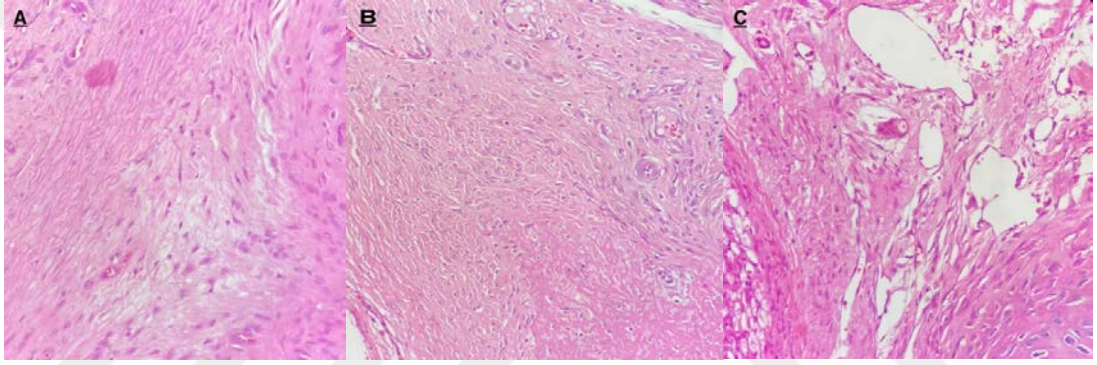
Şekil-4: Topikal ozon grubunda Evre 3 Epidural fibrozis ve dural adezyon. Medulla spinalis retraksiyonu görülüyor. Duranın laminektomi sahası boyunca fibrotik dokularla yapışmış olduğu görülüyor. **A:** HEX40, **B:** MTX40. **DM:** Dura mater (siyah ok), **K:** Kemik, **EF:** Epidural fibrozis.



Şekil-5: İntraperitoneal ozon grubunda Evre 2 epidural fibrozis ve Evre 3 dural adezyon. Medulla spinalis retraksiyonu dikkat çekmekte (beyaz ok). **A:** HEX40, **B:** MTX40. **DM:** Dura mater (siyah ok), **MSR:** Medulla Spinalis Retraksiyonu (beyaz ok), **K:** Kemik, **EF:** Epidural fibrozis.



Şekil-6: A: Grup 2' de Evre 1, B: Grup 3' te Evre 2, C: Grup 4' te Evre 3 enflamasyon görülmekte.



Şekil-7: A: Grup 1' de Evre 1, B: Grup 3' te Evre 2, C: Grup 4' te Evre 3 fibroblast hücre yoğunluğu görülmekte.

Biyokimyasal Sonuçlar

Kollajen yıkım ürünü olan hidroksiprolin (HP) düzeyleri fibrozis belirteci olarak kullanıldı. Medyan HP düzeyleri miligram doku başına; kontrol grubunda 7,70 $\mu\text{mol/L}$ (minimum–maksimum: 3,29–16,39), SF grubunda 4,70 $\mu\text{mol/L}$ (minimum–maksimum: 2,29–16,62), topikal ozon grubunda 16,92 $\mu\text{mol/L}$ (minimum–maksimum: 7,24–34,77), intraperitoneal ozon grubunda 3,87 $\mu\text{mol/L}$ (minimum–maksimum: 1,82–6,14) olarak bulunmuştur (Tablo-7) (Şekil-8).

Tablo-7: Hidroksiprolin düzeyleri.

	KONTROL (n=6)	SF (n=5)	T - OZON (n=6)	İP - OZON (n=6)	p değeri*
Hidroksiprolin Düzeyi [⊥] (μmol/L)	7,70 (3,29 – 16,39)	4,70 (2,29 – 16,62)	16,92 (7,24 – 34,77)	3,87 (1,82 – 6,14)	0,006

Veriler, medyan(minimum:maximum) şeklinde yazılmıştır.

*: Kruskal-Wallis H Test

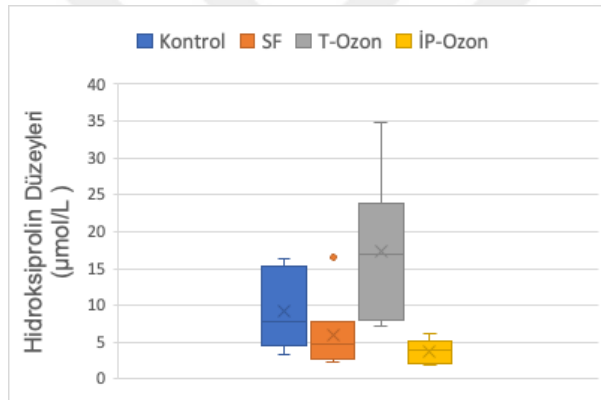
⊥: Hidroksiprolin düzeyleri mg doku başına μmol/L cinsinden verilmiştir.

SF: Serum Fizyolojik (Grup 2).

T – OZON: Topikal Ozon Grubu (Grup 3).

İP – OZON: İntraperitoneal Ozon Grubu (Grup 4).

Şekil-8: Hidroksiprolin düzeylerinin gruplara göre karşılaştırmalı kutu grafiği.



x: Ortalama değer, •: Aykırı değer

SF: Serum Fizyolojik (Grup 2).

T – OZON: Topikal Ozon Grubu (Grup 3).

İP – OZON: İntraperitoneal Ozon Grubu (Grup 4).

Ölçülen HP değerleri belirlenen biyokimyasal deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi. Medyan HP ölçümlerinin gruplar arası farklılık gösterdiğinin ($p=0,006$) belirlenmesi sonrasında farkı oluşturan grup ya da grupları belirlemek amacıyla; gruplar ikiye ayrılarak birbirleri ile karşılaştırılarak posthoc analizleri yapıldı. Altgrup analizlerinde topikal ozon grubunda medyan HP düzeyinin, intraperitoneal ozon grubuna göre daha

yüksek olduğu belirlendi ($p=0,007$) ancak diğer tüm kontrol ve tedavi grupları arasında HP düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo-8).

Tablo-8: Hidroksiprolin karşılaştırılmalı alt grup analizleri.

İkili Gruplar	p değeri*
KONTROL – SF	> 0,99
KONTROL – TOPIKAL OZON	> 0,99
KONTROL – İNTRAPERİTONEAL OZON	0,273
SF – TOPIKAL OZON	0,077
SF - İNTRAPERİTONEAL OZON	> 0,99
TOPIKAL OZON - İNTRAPERİTONEAL OZON	0,007

*: Posthoc analiz Dunn-Bonferroni test

TARTIşMA

Bel ve bacak ağrılarına yönelik omurganın çeşitli patolojileri nedeniyle opere edilen ve laminektomi yapılan olgularda, tekrar eden ve geçmeyen kronik ağrılar için tanımlanan BBCS' nin etyolojisi halen aydınlatılmaya çalışılmakta ve tedavi arayışı devam etmektedir. Tekrarlayan cerrahilerde BBCS nedeniyle başarı oranı giderek azalmakta; komplikasyon oranları artmaktadır (1, 2, 84). Postoperatif doğal iyileşme sürecinin parçası olan EF' nin, BBCS olgularının %20-36' sından sorumlu olduğu tahmin edilmektedir. EF' ye sekonder oluşan adezyonlar, sinir kökünde gerilmelere yol açmakta ve beyin-omurilik sıvısı aracılığıyla beslenmeyi engellemektedir. Epidural boşlukta oluşan skar dokusunun direkt sinir köküne basısı da BBCS kliniğinin oluşumuna katkıda bulunmaktadır (85–87). Ayrıca EF sinir kökünün vasküler beslenmesini bozarak hipoksiye neden olmaktadır (8). EF ve kronik bel ağrısı ilişkisi ilk kez Ross ve ark. (88) tarafından tek seviye lomber diskektomi uygulanan 197 olguda 6. ayda yapılan manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ile gösterilmiştir. Epidural skar dokusu miktarı arttıkça kronik ağrı olasılığının arttığı; skar oluşumu yaygın olan olgularda kronik ağrının 3,2 kat fazla olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde Bosscher ve ark. (89) lomber cerrahi geçiren ve kronik ağrısı olan 78 olguyu epiduroskopi ve MRG ile incelemiş ve olguların %83,3-91' inde şiddetli EF olduğunu bildirmişlerdir.

Günümüzde halen çözümlenememiş bir sorun olmaya devam eden EF oluşumunu azaltmaya yönelik minimal invaziv cerrahi teknikler, çeşitli farmakolojik ve hemostatik ajanlar, doğal ve sentetik polimerler deneysel modellerle kanıtlanmaya çalışılmaktadır (11-50). EF oluşumunun azaltıldığına yönelik olumlu sonuçlar elde edilmiş ancak klinik kullanımda hiçbir yöntem ve ajan yaygın olarak kabul görememiştir.

Minimal invaziv cerrahi tekniklerin tercih edilmesinin, cerrahi manipölasyonun sınırlandırılmasının ve hemostazın sağlanması EF oluşumunu azaltmada etkili olabileceği bildirilmiştir (11). Mirzai ve ark. (90)

prospektif, randomize klinik çalışmalarında cerrahi sahaya dren konulan olgularda daha az epidural hematoma ve daha az EF olduğunu MRG ile göstermişlerdir. Li ve ark. (91) ise ligamentum flavum (LF) korunarak yapılan minimal invaziv yaklaşımla opere edilen olgularda EF' nin daha az olduğunu ve kronik ağrı skorunda olumlu etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Spinal cerrahi esnasında epidural yağ dokusunun korunması ve otojen greft olarak yağ dokusu kullanılması birçok araştırmacı tarafından incelenmiş; bazı kliniklerde rutin kullanıma girmiştir (21–24). Örneğin; Xu ve ark. (32) tavşan dorsal laminektomi deney modelinde deri altı yağ dokusundan elde edilen adipöz kök hücreler ile laminektomi sahasında yağ dokusu oluşumunu indükleyerek, yağ rekonstrüksiyonu yoluyla epidural skar dokusu oluşumunu azalttıklarını bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada (92) ise mikrocerrahi yöntemle diskektomi yapılan ve skar oluşumunu önlemek amacıyla laminektomi sahasına otojen yağ grefti kullanılan bir olguda, 6 yıl sonra siyatalji bulgularının ortaya çıktığı, yeniden operasyona alındığında da yağ greftinin foramen düzeyinde spinal sinir kökünü sıkıştırdığını bildirilmiştir.

Işık ve ark. (93) tarafından yapılan deneysel laminektomi modelinde hiyalüronik asit (HA) ve derive edilmiş yüksek viskoziteli hiyalüronik asitin (HA gel) tedavi gruplarında, fibroblast sayısı ve hidroksprolin değerleri kontrol gruplarına göre anlamlı derecede düşük bulunmuş; HA' nın EF oluşumu üzerinde azaltıcı etkisi olabileceğini bildirmişlerdir.

Taşkapılıoğlu ve ark. (50) yaptıkları çalışmada sitokin salınımını ve otoimmün T hücrelerinin proliferasyonunu azalttığı bilinen, antienflamatuar bir ajan olan IFN-β-1a' nın EF zerindeki etkilerini araştırmış; tedavi gruplarında daha az fibroblast hücre yoğunluğu tespit edilmiş; daha az dural adezyon ve EF oluştuğunu bildirmişlerdir.

Brek ve ark. (94) deneysel laminektomi modelinde hiperbarik oksijen (HBO) tedavisi uygulamış; EF zerine olumlu etkileri olabileceğini göstermişlerdir. Benzer şekilde Lv ve ark. (95) uzun süreli HBO ile tedavi edilen deney grubunda TGF-β, IL-6 düzeylerini daha düşük olarak saptamış; HBO' nun antienflamatuar etki ile kollajen birikimini azalttığını ve EF zerine olumlu etkileri olduğunu bildirmişlerdir.

Doğal bir gaz olan ozon, ozon jeneratörü ile saf oksijenden üretilmekte, uzun yıllardır dezenfeksiyon amacıyla ve çeşitli tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır. Vücut sıvılarıyla temas ettiğinde çift bağlı karbon atomlarıyla reaksiyona giren ozon, reaksiyon sonucunda oluşan 'ozon peroksit' ile temel olarak oksihemoglobin eğrisinin sağa kaymasına neden olmakta ve dokulara oksijen salınımını artırmaktadır. Transkripsiyon faktörleri olan NRF-2 ve Nükleer Faktör kappa B (NFkB) aracılığıyla sırasıyla antioksidan ve immunomodülatör etki göstermektedir (59–61).

Ozon tedavisi klinik uygulamada, lomber disk herniasyonu, kronik bel ağrısı ve BBCS' de günümüzde yaygın olarak kullanılmakta ve literatürde birçok klinik çalışma yer almaktadır (73-77). Lomber disk herniasyonunda seçilmiş vakalarda, dehidratasyon yoluyla disk hacminin azaltılarak spinal sinir kökleri üzerindeki basının ortadan kaldırılması ve kemonükleozis temeline dayanan intradiskal ozon-oksijen karışımı enjeksiyonları son yıllarda giderek yaygınlaşan nörogirişimsel bir tedavi yöntemi olarak uygulanmaktadır. İntraforaminal steroid enjeksiyonları ve mikrodiskektomi yöntemleri ile karşılaştırmalı kohort çalışmaları yapılmıştır (73, 74). Ayrıca oksijen ozon karışımının periganglionik bölgede enflamatuar sitokinleri azaltarak ve prostoglandin oluşumunu düzenleyerek antienflamatuar etkinliği olduğu bildirilmiştir (73). Uygulanan ozon dozunun konsantrasyonuna ilgi çeken Niu ve ark. (75) 80 olguya bilgisayarlı tomografi (BT) eşliğinde intradiskal ozon uygulamış; düşük-orta konsantrasyonda medikal ozonun 6-12 aylık takiplerde serum IL-6, İmmunglobulin G (IgG) ve İmmunglobulin M (IgM) ekspresyonunu azaltarak, antienflamatuar ve analjezik etkisi olduğunu ancak yüksek konsantrasyonlarda proenflamatuar etki gösterebileceğini bildirmişlerdir. Bunun yanında, ozon tedavisi, akut ve kronik bel ağrılarında paravertebral adelelere kas içi enjeksiyon yoluyla uygulanmakta ve birçok yazar tarafından önerilmektedir (67, 76). Barbosa ve ark. (77) tarafından 19 BBCS olgusuna epiduroskopi yöntemiyle medikal ozon uygulanmış; olguların %19,34' ünde ağrı skorunda azalma saptanmış ancak fonksiyonel skalalarda anlamlı bir etki gözlenmemiştir.

Pamuk, steril eldivenlerdeki pudra, pedi gibi yabancı materyallerin ve kan ürünlerinin serum fizyolojik (SF, %0,9 NaCl) ile irrigasyonu ile laminektomi sahasından uzaklaştırılmasının EF oluşumunu sınırlandırmada etkili olduğu düşünülmekte; pratikte nöroşirürji dahil olmak üzere birçok cerrahi branşta operasyon sonunda cerrahi sahanın antibiyotikli ya da antibiyotiksiz SF ile yıkandığı bilinmektedir (15, 16). Örneğin; Dinç ve ark. (96) deneysel laminektomi modeli tedavi grubunda cerrahi sahayı geniş spektrumlu bakterisidal etkinliği bilinen rifamisinli SF ile irrig etmiş; EF oluşumunun azaltılmasında etkin olabileceğini bildirmişlerdir. Laparotomide ve laparoskopik cerrahide de yıkama solüsyonu olarak SF yaygın olarak kullanılmaktadır. Tarhan ve ark. (97) peritoneal adezyon sıçan modelinde, intraabdominal lavajda sık kullanılan SF ve taurolidinin batin içi yapışıklara yönelik etkisini araştırmış; her iki tedavinin de fibrinolitik aktiviteyi değiştirerek adezyon oluşumunu engelleyebileceğini savunmuşlardır. Özmen ve ark. (98) ise ozonlanmış SF' i alternatif periton irrigasyon sıvısı olarak önermişlerdir. Çalışmamızda ozonun antienflamatuar ve antiseptik etkileri göz önüne alınarak alternatif bir yıkama solüsyonu olabileceği hipotezi ile topikal olarak uygulanan ozonlanmış distile su ile cerrahi sahanın yıkandığı tedavi grubu oluşturulmuştur (grup 3). Ozonlu suyun hazırlanmasında Viebahn-Hänsler ve ark. (99) önerileri uygulanmış; ozon SF yerine distile su içinde çözündürüldü. Ozon konsantrasyonu, oda sıcaklığı sabit tutularak ve hazırlanan solüsyon 10 dakika içinde kullanılarak standardize edildi. Yabancı cisimlerin uzaklaştırılması ve maksimum ozon etkinliğini elde etmek amacıyla 50 ml solüsyon 5 dakika boyunca aspire edilerek cerrahi saha yıkandı. Ozonun etkinliğini kıyaslamak amacıyla eşit oranda serum fizyolojik (SF) ile yıkama yapılan SF grubu (grup 2) çalışmaya eklenmiş; SF ile irrigasyonun EF üzerinde azaltıcı etkisinin olup olmadığı da dikkatlice not edilmiştir. Sonuçlarımıza göre SF ile irrigasyon yapılan grupta cerrahi sahaya hiçbir madde uygulanmayan kontrol grubuna göre fibrozis belirteci olan HP düzeyleri düşük bulunmuş ancak ozonlanmış distile su ile intraoperatif yıkama yapılan grupta HP düzeyleri oldukça yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilememiş olsa da HP sonuçları SF ile cerrahi sahanın

irrigate edilerek, kemik tozu, pamuk parçaları gibi maddelerin cerrahi sahadan uzaklaştırılmasının EF oluşumunun sınırlandırılmasında etkin olabileceğini düşündürmüştür. Rutin uygulamamızda cerrahi saha irrigasyonunda SF uygulamamız ve henüz klinik sonuçlarımızı yayınlamamış olsak da enfeksiyon ve fibrozis oluşumunda gözlemlemiş olduğumuz olumlu sonuçlar nedeniyle bu çalışmanın tasarımı, grup 2' de cerrahi kullanımı olmayan distile su yerine SF uygulanmıştır.

Çalışmamızın histopatolojik analizlerinde kontrol ve irrigasyon gruplarında EF ve yabancı cisim reaksiyonu açısından belirgin farklılık olmaması düşündürücüdür. Polubinska ve ark. (100) peritoneal adezyonlara yönelik yaptıkları in vitro çalışmada, %0,9 NaCl solüsyonunun insan periton mezotelyal hücrelerinde sitotoksik etkiyle hücre morfolojisini bozduğunu, fibrinolitik aktiviteyi azaltarak batin içi yapışıklıklara zemin hazırladığını bildirmişlerdir. Çalışmamızın sonuçlarına göre SF irrigasyonu fibroziste artışa neden olmamış ancak sonuçlarımıza göre ozonlu su ile yıkamanın epidural mikroçevreye benzer bir sitotoksik etkiyle fibroziste artışa neden olabileceği düşünülmüştür.

Hedef dokuların farklılığı çalışmamızı batin içi fibrozis/adezyon çalışmalarından ayırmaktadır ancak epidural alanda ve peritoneal alanda oluşan cerrahi yapışıklıkların oluşum mekanizmalarının benzer yanları bulunmaktadır. Peritoneal adezyonların patofizyolojisinde peritonda oluşan mekanik defektten uzak bölgelere uzanan fibrotik bantlar görülmekte olup, bu nedenle oluşum sürecine mezotelyal tabakada oluşan mekanik, lokal bozulmanın yanında EF' nin oluşumuna da katkısı olduğu bilinen hipoksi, enflamasyon, düzensiz pıhtılaşma süreci ve fibrinolizin katıldığı düşünülmektedir (101). Di Flippo ve ark. (51) periton içi postoperatif adezyonlarda ozonun etkinliğini değerlendirmek için sıçan deney modeli oluşturmuş; intraperitoneal yolla verilen %100 oksijen ve oksijen ozon karışımı gruplarını cerrahi yapışıklıklar açısından karşılaştırmışlardır. 0 ve 10. gün periton doku örnekleri değerlendirilmiş ve ozon intraperitoneal yolla cerrahiden 1 saat önce ve sonra bölünmüş 300 µg/kg (3 ml) dozda verilmiştir. Hücre içi protein yollarının düzenleyicisi olan ubiquitin-proteazom sisteminin (UPS)

adezyonların oluşmasında etkinliğini gösterilmiş; ozon tedavisinin UPS' yi düzenleyerek lokal enflamatuvar yanıtı ve periton içi yapışıklıkları azaltabileceğini bildirmişlerdir. Uterus adezyonlarına yönelik Uysal ve ark. (52) tarafından yapılan deneysel çalışmada ozon tedavi grubunda cerrahiden sonra ardışık 3 gün boyunca 60 µg/ml konsantrasyonda, 0.7 mg/kg dozda ozon tedavisi intraperitoneal yolla uygulanmıştır. Cerrahi yapışıklıklarda ozon tedavisinin etkinliğini TNF-α ve oksidan/antioksidan dengesini düzenlemesi yoluyla gerçekleştirdiğini bildirmişlerdir. Abdominopelvik adezyon çalışmalarında (51, 52) farklı doz ve tedavi süreleri tercih edilmiş olması dikkat çekmektedir. Ancak iki çalışmada da ozonun adezyon oluşum sürecine azaltıcı etkisi olduğu bildirilmiştir.

Ozonun nöroprotektif etkileri in vitro beyin iskemi modelinde gösterilmiştir (102). Periferik sinir iyileşmesi deney modellerinde de ozon çalışmaları yapılmıştır. Özbay ve ark. (103) fasial sinir hasarı oluşturdukları deneysel çalışmalarında, ozon tedavisinin fonksiyonel iyileşmede olumlu sonuçları olabileceğini bildirmişlerdir. Siyatik sinir hasarı üzerine çalışan Somay ve ark. (65) ise; ozonla tedavi edilen deney grubunda fibrozis, vasküler konjesyon, ödem ve vokuolizasyon açısından olumlu sonuçlar elde ettiklerini ancak Schwann hücre sayısında anlamlı bir fark bulamadıklarını bildirmişlerdir. Benzer şekilde Öğüt ve ark. (104) siyatik sinir kesisi deney modelinde tedavi grubunda plazma antioksidan düzeylerinin, Schwann hücrelerinin, sitoplazmik organellerin ve myelinize aksonların sayısının arttığını; ozon tedavisinin periferik sinir iyileşmesinde fonksiyonel açıdan da etkili olabileceğini bildirmişlerdir. Somay ve ark. (65) sıçanlara 10 gün süreyle 0,7 mg/kg ozon rektal yolla gaz formunda uygulamış; 4. haftanın sonunda sonuçları değerlendirmiştir; Öğüt ve ark. (104) ise 2 ay boyunca günlük 30-50 µg/ml konsantrasyonda 5 ml ozonu intraperitoneal olarak uygulamıştır. Yazarların farklı veriliş yolları ve dozajları tercih etmiş olmalarına rağmen her iki çalışmada da olumlu sonuçlar elde edildiği görülmektedir.

Gürkan ve ark' ın (105) laminektomi sonrasında cerrahi kliplleme yöntemiyle sıçanlarda medulla spinalis travma modeli oluşturmuş; metilprednizolon, intraperitoneal ozon ve kombine tedavi gruplarında

nöroprotektif etkiyi test etmişlerdir. Ozon, cerrahiden 1 saat sonra 60 µg/ml konsantrasyonda, 0,7 mg/kg dozunda intraperitoneal yolla uygulanmış; 7 günün sonunda kombine tedavi verilen grupta serum IL-6 seviyesinin, sadece ozonla tedavi verilen gruba göre anlamlı derecede düşük olduğunu, oksidan stresini azaltmada ise ozon grubunun üstün olduğunu bildirmişlerdir. Antienflamatuar ve nörodavranışsal iyileşme için ozon ve metilprednizolon kombine tedavisinin daha etkin sonuçlara yol açabileceğini göstermişlerdir. Ancak ozonun tek başına verildiğinde hasarın histopatolojisinde ve klinik gidişatta etkinliği gösterilememiştir. Çalışmamızda sinir hasarı modeli oluşturulmamış; EF' yi değerlendirmek amacıyla laminektomi cerrahi modeli oluşturulmuştur ancak ozonun enflamasyona olan etkisi bakımından Gürkan ve ark.' ın çalışması (105) ile ortak özellikleri bulunmaktadır. Bu nedenle yan etki görülmemiş olması da göz önüne alınarak çalışmamızda ozon dozu mevcut çalışmaya göre belirlenmiştir. Ancak uzun dönemli etkisi araştırıldığından ve pratikte ozon seanslar halinde uygulandığından, tedavi tek sefer değil; 7 seans olarak uygulanmıştır. Klinik kullanıma uyarlanabilirliği bakımından 7 doz ile sınırlandırılmıştır. Çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da sistemik ozon uygulamasının fibrozis oluşum riskini azaltma eğilimi olduğu görülmüştür.

EF' nin değerlendirilmesinde HP düzeylerine bakılmış olması çalışmamızın üstün yanlarından biridir. EF' nin değerlendirildiği daha önceki laminektomi deney modeli çalışmalarında (93, 106, 107) epidural boşluktaki HP düzeyleri spektrofotometri ile değerlendirilmiş olup; ilk kez çalışmamızda LC-MS/MS methodu kullanılmıştır. Bu nedenle HP sonuçlarımız literatürden daha farklı ve daha yüksek bulunmuştur.

Ozon tedavisinin laminektomi deney modelinde EF üzerine etkinliğinin daha önceki çalışmalarda araştırılmamış olması, doz ve tedavi süresinin belirlenmesi bakımından güçlük oluşturmuştur ancak ozon tedavisinin bilinen antienflamatuar ve antifibrotik etkileri göz önüne alındığında farklı doz uygulamaları ve tedavi süreleri ile tedavi protokolü düzenlenmesinde bu çalışmanın literatüre katkısı olabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak; EF oluşumun azaltılmasında sistemik ozon tedavisi tercih edilmelidir. Cerrahi sahanın irrigasyonunda topikal ozon uygulaması önerilmemekte ancak SF irrigasyonu ile intraoperatif irrigasyon umut vaatetmektedir. Farklı tedavi protokolleri düzenlenerek ileri deneysel çalışmalara ihtiyaç vardır.



KAYNAKLAR

1. North RB, Campbell JN, James CS et al. Failed back surgery syndrome: 5-year follow-up in 102 patients undergoing repeated operation. *Neurosurgery*. 1991;28:685–90.
2. Leveque JC, Villavicencio AT, Bulsara KR, Rubin L, Gorecki JP. Spinal cord stimulation for failed back surgery syndrome. *Neuromodulation*. 2001;4(1):1-9.
3. Thomson S. Failed back surgery syndrome – definition, epidemiology and demographics, *Br J Pain*. 2013;7(1):56-9.
4. Geudeke MW, Krediet AC, Bilecen S, Huygen FJPM, Rijsdijk M. Effectiveness of Epiduroscopy for Patients with Failed Back Surgery Syndrome: A Systematic Review and Meta-analysis. *Pain Pract*. 2021;21(4):468-81.
5. Lawson KJ, Malycky JL, Berry JL, Steffee AD. Lamina repair and replacement to control laminectomy membrane formation in dogs. *Spine (Phila Pa 1976)*. 1991;16:S222-6.
6. Key JA, Ford LT. Experimental intervertebral-disc lesions. *J Bone Joint Surg Am*. 1948;30(3):621-30.
7. LaRocca H, Macnab I. The laminectomy membrane. Studies in its evolution, characteristics, effects and prophylaxis in dogs. *J Bone Joint Surg Br*. 1974;56(3):545-50.
8. Jayson MI. The role of vascular damage and fibrosis in the pathogenesis of nerve root damage. *Clin Orthop Relat Res*. 1992;(279):40-8.
9. Urits I, Schwartz RH, Brinkman J et al. An Evidence Based Review of Epidurolysis for the Management of Epidural Adhesions. *Psychopharmacol Bull*. 2020;15;50:74-90.
10. Wang H, Sun W, Fu D et al. Update on biomaterials for prevention of epidural adhesion after lumbar laminectomy. *J Orthop Translat*. 2018;7;13:41-9.
11. Touliatos AS, Soucacos PN, Beris AE. Post-discectomy perineural fibrosis: comparison of conventional versus microsurgical techniques. *Microsurgery*. 1992;13(4):192-4.
12. Choi S, Pophale CS, Patel B, Priyank Uniyal P. Endoscopic Spine Surgery. *J Korean Neurosurg Soc*. 2017;60(5):485-97.
13. Manchikanti L, Soin A, Boswell MV et al. Effectiveness of Percutaneous Adhesiolysis in Post Lumbar Surgery Syndrome: A Systematic Analysis of Findings of Systematic Reviews. *Pain Physician*. 2019;22(4):307-22.
14. Haberal B, Şimşek EK, Akpınar A, Şimşek DT, Şahintürk F. Impact of radial extracorporeal shock wave therapy in post-laminectomy epidural fibrosis in a rat model. *Jt Dis Relat Surg*. 2021;32(1):162-69.
15. Alkalay RN, Kim DH, Urry DW et al. Prevention of postlaminectomy epidural fibrosis using bioelastic materials. *Spine*. 2003;28:1659-65.

16. Temel SG, Ozturk C, Temiz A, Ersozlu S, Aydinli A. A new material for prevention of epidural fibrosis after laminectomy. *J Spinal Disord Tech.* 2006;19:270-75.
17. Bora H, Aykol SA, Akyürek N, Akmansu M, Ataoglu O. Inhibition of epidural scar tissue formation after spinal surgery: external irradiation vs. spinal membrane application. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2001;1;51(2):507-13.
18. Koksall V, Mercantepe T, Tumkaya L, Oktem IS. Less Use of the Bipolar Cautery can Prevent Postlaminectomy Epidural Fibrosis: An Experimental Study in Rats. *Turk Neurosurg.* 2020;30(2):217-24.
19. Özay R, Ogur T, Durmaz HA et al. Revisiting Ligament-Sparing Lumbar Microdiscectomy: When to Preserve Ligamentum Flavum and How to Evaluate Radiological Results for Epidural Fibrosis, *World Neurosurg.* 2018;114:378-87.
20. Zhao Z, Guo L, Zhu Y et al. Clinical Use of a New Nano-Hydroxyapatite/Polyamide66 Composite Artificial Lamina in Spinal Decompression Surgery: More Than 4 Years' Follow-Up. *Clinical Trial Med Sci Monit.* 2018;11;24:5573-79.
21. Görgülü A, Şimşek O, Çobanoğlu S, Imer M, Parsak T. The effect of epidural free fat graft on the outcome of lumbar disc surgery. *Neurosurg Rev.* 2004;27:181-84.
22. Shah S, Mudigonda S, Mitha AP, Salo PS, Krawetz RJ. Epidural fat mesenchymal stem cells: Important microenvironmental regulators in health, disease, and regeneration: Do EF-MSCs play a role in dural homeostasis/maintenance? *Bioessays.* 2021;43(2):200-15.
23. Sobti S, Grover A, John BPS, Grewal SS, George UB. Prospective Randomized Comparative Study to Evaluate Epidural Fibrosis and Surgical Outcome in Patients Undergoing Lumbar Laminectomy with Epidural Autologous Free Fat Graft or Gelfoam: A Preliminary Study. *Int J Appl Basic Med Res.* 2018;8(2):71-5.
24. Cunningham BW, Seiber B, Riggelman JR, Horn MRV, Bhat A. Reconstruction of epidural fat with engineered adipose tissue from adipose derived stem cells and PLGA in the rabbit dorsal laminectomy model. *J Tissue Eng Regen Med.* 2019;13(9):1664-71.
25. Tao H, Fan H. Implantation of amniotic membrane to reduce postlaminectomy epidural adhesions. *Eur Spine J.* 2009;18(8):1202-12.
26. Choi HJ, Kim KB, Kwon YM. Effect of amniotic membrane to reduce postlaminectomy epidural adhesion on a rat model. *J Korean Neurosurg Soc.* 2011;49(6):323-8.
27. Guler S, Akcali O, Sen B et al. Effect Of Platelet-Rich Plasma, Fat Pad and Dural Matrix in Preventing Epidural Fibrosis. *Acta Ortop Bras.* 2020;28(1):31-5.
28. Wang B, Li P, Shangguan L, Ma J et al. A novel bacterial cellulose membrane immobilized with human umbilical cord mesenchymal stem cells-derived exosome prevents epidural fibrosis. *Int J Nanomedicine.* 2018;7;13:5257-73.

29. Lin CY, Peng HH, Chen MH et al. In situ forming hydrogel composed of hyaluronate and polygalacturonic acid for prevention of peridural fibrosis. *J Mater Sci Mater Med*. 2015;26(4):168.
30. Rajiv S, Drilling A, Bassiouni A et al. Chitosan Dextran gel as an anti adhesion agent in a postlaminectomy spinal sheep model. *J Clin Neurosci*. 2017;40:153-56.
31. Wang Y, Liang M, Zheng Z et al. Adhesion Prevention after Laminectomy Using Silk-Polyethylene Glycol Hydrogels. *Adv Healthc Mater*. 2015;4(14):2120-27.
32. Xu J, Chen Y, Yue Y, Sun J, Cui L. Reconstruction of epidural fat with engineered adipose tissue from adipose derived stem cells and PLGA in the rabbit dorsal laminectomy model. *Biomaterials*. 2012;33(29):6965-73.
33. Altun I. An Experimental Study of Histopathologic Effects of Hemostatic Agents Used in Spinal Surgery. *World Neurosurg*. 2016;90:147-53.
34. Lee JY, Ebel H, Friese M et al. Influence of TachoComb in comparison to local hemostyptic agents on epidural fibrosis in a rat laminectomy model. *Minim Invasive Neurosurg*. 2003;46:106-9.
35. Kasimcan MO, Bakar B, Aktaş S, Alhan A, Yilmaz M. Effectiveness of the biophysical barriers on the peridural fibrosis of a postlaminectomy rat model: an experimental research. *Injury*. 2011;42(8):778-81.
36. Li C, Wang H, Liu H et al. The prevention effect of poly (L-glutamic acid)/chitosan on spinal epidural fibrosis and peridural adhesion in the post-laminectomy rabbit model. *Eur Spine J*. 2014;23(11):2423-31.
37. Lladó A, Sologastua E, Guimerá J, Marín M. Expanded polytetrafluoroethylene membrane for the prevention of peridural fibrosis after spinal surgery: a clinical study. *Eur Spine J*. 1999;8(2):144-50.
38. Rodgers KE, Robertson JT, Espinoza T et al. Reduction of epidural fibrosis in lumbar surgery with Oxiplex adhesion barriers of carboxymethylcellulose and polyethylene oxide. *Spine J*. 2003;3(4):277-83;284.
39. Foulkes GD, Robinson JS. Intraoperative dexamethasone irrigation in lumbar microdiscectomy. *Clin Orthop Relat Res* 1990;261:224-28.
40. Cekinmez M, Sen O, Atalay B et al. Effects of methyl prednisolone acetate, fibrin glue and combination of methyl prednisolone acetate and fibrin glue in prevention of epidural fibrosis in a rat model. *Neurol Res* 2010; 32:700-5.
41. Lin CY, Peng HH, Chen MH et al. Ibuprofen-conjugated hyaluronate/polygalacturonic acid hydrogel for the prevention of epidural fibrosis. *J Biomater Appl*. 2016;30(10):1589-600.
42. Temiz C, Temiz P, Sayin M, Ucar K. Effect of cepea extract-heparin and allantoin mixture on epidural fibrosis in a rat hemilaminectomy model. *Turk Neurosurg*. 2009;19(4):387-92.
43. Cekinmez M, Erdogan B, Tufan K et al. Is topical tissue plasminogen activator application effective on prevention of post-laminectomy epidural fibrosis? An experimental study. *Neurol Res*. 2009;31(3):322-6.

44. Wang S, Li X, Yan L et al. Tamoxifen inhibits fibroblast proliferation and prevents epidural fibrosis by regulating the AKT pathway in rats, *Biochem Biophys Res Commun*. 2018;18;497(4):937-42.
45. Savran M, Bekar A, Cansev M et al. Prevention of epidural fibrosis in rats by local or systemic administration of citicoline. *Turk Neurosurg* 2012;22:634-40.
46. Keser N, Is M, Ceman D, Somay A. Locally Used Antibiotics for Spinal Infection Prophylaxis and Their Effects on Epidural Fibrosis: an Experimental Laminectomy Study in Rats Using Rifamycin and Gentamycin. *Inflammation*. 2019;42(2):714-20.
47. Bozkurt H, Bektaşoğlu PK, Borekci A et al. Antifibrotic Effect of Boric Acid in Rats with Epidural Fibrosis. *World Neurosurg*. 2019;122:989-994.
48. Wang S, Li X, Yan L et al. Upregulation of P27 - Kip1 by mitomycin C induces fibroblast apoptosis and reduces epidural fibrosis. *Int J Clin Exp Pathol*. 2017;10(12):11779-88
49. Demirel C, Turkoz D, Yazicioglu IM, Cokluk C. The Preventive Effect of Curcumin on the Experimental Rat Epidural Fibrosis Model. *World Neurosurg*. 2021;145:141-48.
50. Taşkapılıoğlu MÖ, Işık S, Doğan Ş et al. Effects of Systemic and Local Interferon Beta-1a on Epidural Fibrosis. *Asian Spine J*. 2016;10(3):407-13.
51. Di Filippo C, Capuano A, Rinaldi B et al. Intraperitoneal oxygen/ozone treatment decreases the formation of experimental postsurgical peritoneal adhesions and the levels/activity of the local ubiquitin-proteasome system, *Mediators Inflamm*. 2011;2011:606718.
52. Uysal B, Demirbag S, Poyrazoglu Y et al. Medical ozone therapy decreases postoperative uterine adhesion formation in rats. *Arch Gynecol Obstet*. 2012;286(5):1201-7.
53. Suh Y, Patel S, Kaitlyn R et al. Clinical utility of ozone therapy in dental and oral medicine. *Med Gas Res*. 2019;9(3):163-67.
54. Bocci VA. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. *Arch Med Res*. 2006;37(4):425-35.
55. Sokolowska M., Quesniaux VFJ., Akdis CA et al. Acute Respiratory Barrier Disruption by Ozone Exposure in Mice. *Front Immunol*. 2019;13;10:2169.
56. Paolo ND, Bocci V., Gaggiotti E. Ozone therapy. *Int J Artif Organs*. 2004;27(3):168-75.
57. Elvis AM, Ekta JS. Ozone therapy: A clinical review. *J Nat Sci Biol Med*. 2011;2(1):66-70.
58. Paolo ND, Bocci V, Cappelletti F, Petrini G, Gaggiotti E. Necrotizing fasciitis successfully treated with extracorporeal blood oxygenation and ozonization (EBOO). *Int J Artif Organs*. 2002;25(12):1194-8.
59. Viebahn-Haensler R, Fernández OSL. Ozone in Medicine. The Low-Dose Ozone Concept and Its Basic Biochemical Mechanisms of Action in Chronic Inflammatory Diseases. *Int J Mol Sci*. 2021;23;22(15):7890.

60. Sies H. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. *Review Redox Biol.* 2017;11:613-19.
61. Smith NL, Wilson AL, Gandhi J, Vatsia S, Khan SA. Ozone therapy: an overview of pharmacodynamics, current research, and clinical utility. *Med Gas Res.* 2017;17;7(3):212-19.
62. Dhamnaskar S, Gobbur N, Koranne M, Vasa D. Prospective Comparative Observational Study of Safety and Efficacy of Topical Ozone Gas Therapy in Healing of Diabetic Foot Ulcers versus Only Conventional Wound Management. *Surg J (N Y).* 2021;14;7(3):226-36.
63. Karakaya E, Akdur A, Soy EA et al. Effect of Subcutaneous Topical Ozone Therapy on Second-Degree Burn Wounds in Rats: An Experimental Study. *J Burn Care Res.* 2021;24;42(6):1243-53.
64. Acikan I, Sayeste E, Bozoglan A et al. Evaluation of the Effects of Topical Application of Chlorhexidine, Ozone, and Metronidazole on Palatal Wound Healing: A Histopathological Study. *J Craniofac Surg.* 2021;1 (doi: 10.1097/SCS.00000000000008390. Online ahead of print).
65. Somay H, Emon ST, Uslu S et al. The Histological Effects of Ozone Therapy on Sciatic Nerve Crush Injury in Rats. *World Neurosurg.* 2017;105:702-08.
66. De Oliveira Magalhaes FN, Dotta L, Sasse A, Teixeira MJ, Fonoff ET. Ozone therapy as a treatment for low back pain secondary to herniated disc: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Pain Physician.* 2012;15(2):115-29.
67. Paoloni M, Di Sante L, Cacchio A et al. Intramuscular oxygen-ozone therapy in the treatment of acute back pain with lumbar disc herniation: a multicenter, randomized, double-blind, clinical trial of active and simulated lumbar paravertebral injection. *Spine (Phila Pa 1976).* 2009;1;34(13):1337-44.
68. Cattel F, Giordano S, Bertiond C et al. Ozone therapy in COVID-19: A narrative review. *Virus Res.* 2021;2;291:198207.
69. Wang Z, Zhang A, Meng W et al. Ozone protects the rat lung from ischemia-reperfusion injury by attenuating NLRP3-mediated inflammation, enhancing Nrf2 antioxidant activity and inhibiting apoptosis. *Eur J Pharmacol.* 2018;15;835:82-93.
70. Di Mauro R, Cantarella G, Bernardini R et al. The Biochemical and Pharmacological Properties of Ozone: The Smell of Protection in Acute and Chronic Diseases. *Int J Mol Sci.* 2019;1;20(3):634.
71. Kocaman H, Erginel B, Onder SY et al. The Role of Ozone Therapy in Hepatic Fibrosis due to Biliary Tract Obstruction. *Eur J Pediatr Surg.* 2016;26(1):133-7.
72. Wang L, Chen H, Liu XH et al. Ozone oxidative preconditioning inhibits renal fibrosis induced by ischemia and reperfusion injury in rats. *Exp Ther Med.* 2014;8(6):1764-68.
73. Kelekis A, Bonaldi G, Cianfoni A et al. Intradiscal oxygen-ozone chemonucleolysis versus microdiscectomy for lumbar disc herniation radiculopathy: a non-inferiority randomized control trial. *Spine J.* 2022;22(6):895-909.

74. Perri M, Marsecano C, Varrassi M et al. Indications and efficacy of O2-O3 intradiscal versus steroid intraforaminal injection in different types of disco vertebral pathologies: a prospective randomized double-blind trial with 517 patients. *Radiol Med*. 2016;121(6):463-71.
75. Niu T, Lv C, Yi G et al. Therapeutic Effect of Medical Ozone on Lumbar Disc Herniation. *Med Sci Monit*. 2018;3;24:1962-69.
76. Sucuoğlu H, Soydaş N. Does paravertebral ozone injection have efficacy as an additional treatment for acute lumbar disc herniation? A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Back Musculoskelet Rehabil*. 2021;34(5):725-33.
77. Barbosa DC, Dos Ângelos JS, De Macena GMJ, De Oliveira Magalhães FN, Fonoff ET. Effects of ozone on the pain and disability in patients with failed back surgery syndrome. *Rev Assoc Med Bras* (1992). 2017;63(4):355-60.
78. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma* 1995;12:1-21.
79. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. Graded histological and locomotor outcomes after spinal cord contusion using the NYU weight-drop device versus transection. *Exp Neurol* 1996;139: 244-56.
80. Topsakal C, Akpolat N, Erol FS et al. Seprafilm superior to Gore-Tex in the prevention of peridural fibrosis. *J Neurosurg* 2004; 101: 295-302
81. He Y, Revel M, Loty BA. A quantitative model of post-laminectomy scar formation effects of a nonsteroidal anti-inflammatory drug. *Spine* 1995; 20: 557-63.
82. Hinton JL Jr, Warejcka DJ, Mei Y et al. Inhibition of epidural scar formation after lumbar laminectomy in the rat. *Spine (Phila Pa 1976)*. 1995; 20: 564-70;579-80.
83. Arifin WN, Zahiruddin WM. Sample size calculation in animal studies using resource equation approach. *Malays J Med Sci*. 2017;24(5):101-5.
84. Nachemson AL. Evaluation of results in lumbar spine surgery. *Acta Orthop Scand Suppl*. 1993; 251 :130–33.
85. Chan CW, Peng P. Failed back surgery syndrome. *Pain Med*. 2011;12:577–606.
86. Coskun E, Suzer T, Topuz O et al. Relationships between epidural fibrosis, pain, disability, and psychological factors after lumbar disc surgery. *Eur Spine J*. 2000;9(3):218-23.
87. Rydevik BL. The effects of compression on the physiology of nerve roots. *J Manipulative Physiol Ther*. 1992;15:62–6.
88. Ross JS, Robertson JT, Frederickson RC et al. Association between peridural scar and recurrent radicular pain after lumbar discectomy: magnetic resonance evaluation. *ADCON-L European Study Group. Neurosurgery*. 1996;38(4):855-61; discussion 861-3.
89. Bosscher HA, Heavner JE. Incidence and severity of epidural fibrosis after back surgery: an endoscopic study. *Pain Pract*. 2010;10(1):18-24.

90. Mirzai H, Eminoglu M, Orguc S. Are drains useful for lumbar disc surgery? A prospective, randomized clinical study. *J Spinal Disord Tech.* 2006;19(3):171-7.
91. Li J, Ma Q, Wu J et al. Dose preservation of ligament flavum really help prevent postoperative epidural fibrosis and improve outcome in microdiscectomy? *J Clin Neurosci.* 2020;80:331-35.
92. Cobanoğlu S, Imer M, Ozyilmaz F, Memiş M. Complication of epidural fat graft in lumbar spine disc surgery: case report. *Surg Neurol.* 1995;44(5):479-81;481-2.
93. Isık S, Taşkapılıoğlu MÖ, Atalay FO, Dogan S. Effects of cross-linked high-molecular-weight hyaluronic acid on epidural fibrosis: experimental study. *J Neurosurg Spine.* 2015;22(1):94-100.
94. Borcek AO, Borcek P, Civi S et al. Hyperbaric oxygen in epidural fibrosis: is there a potential for treatment? *Turk Neurosurg.* 2013;23(5):607-10.
95. Lv P, Zhao J, Su W, Liang X, Zhang K. An experimental novel study: hyperbaric oxygen treatment on reduction of epidural fibrosis via down-regulation of collagen deposition, IL-6, and TGF- β 1. *Eur J Orthop Surg Traumatol.* 2015;51:53-8.
96. Dinç C, Tuncer C, Türkoğlu ME. Effect of topical rifamycin application on epidural fibrosis in rats. *Turk J Phys Med Rehabil.* 2019;65(1):24-29
97. Tarhan OR, Barut I, Sezik M. An evaluation of normal saline and taurolidine on intra-abdominal adhesion formation and peritoneal fibrinolysis. *J Surg Res.* 2008;144(1):151-7.
98. Ozmen V, Thomas WO, Healy JT. Irrigation of the abdominal cavity in the treatment of experimentally induced microbial peritonitis: efficacy of ozonated saline. *Am Surg.* 1993;59(5):297-303.
99. Viebahn-Hänsler R, León Fernández OS, Fahmy Z. Ozone in medicine: the low-dose ozone concept-guidelines and treatment strategies. *Ozone Sci Eng* 2012;34:408–424 (doi: 10.1080/01919512.2012.717847).
100. Połubinska A, Winckiewicz M, Staniszewski R, Breborowicz A, Oreopoulos DG. Time to reconsider saline as the ideal rinsing solution during abdominal surgery. *Am J Surg.* 2006;192(3):281-5.
101. Kocurkova A, Nesporova K, Sandanusova M et al. Endogenously-Produced Hyaluronan and Its Potential to Regulate the Development of Peritoneal Adhesions. *Biomolecules.* 2021;29;12(1):45.
102. Frosini M, Contartese A, Zanardi I, Travagli V, Bocci V. Selective ozone concentrations may reduce the ischemic damage after a stroke. *Free Radic Res.* 2012;46(5):612-8.
103. Ozbay I, Ital I, Kucur C et al. Effects of ozone therapy on facial nerve regeneration. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2017;83(2):168-75.
104. Ogut E, Yildirim FB, Sarikcioglu L, Aydin MA, Demir N. Neuroprotective Effects of Ozone Therapy After Sciatic Nerve Cut Injury. *Kurume Med J.* 2020;23;65(4):137-44.

105. Gürkan G, Sayin M, Kizmazoglu C et al. Evaluation of the neuroprotective effects of ozone in an experimental spine injury model. *J Neurosurg Spine*. 2020;15;1-9.
106. Wan Q, Chen H, Li X et al. Artesunate inhibits fibroblasts proliferation and reduces surgery-induced epidural fibrosis via the autophagy-mediated p53/p21 waf1/cip1 pathway. *Eur J Pharmacol*. 2019;5;842:197-207.
107. Xie H, Wang B, Shen X et al. MMC controlled-release membranes attenuate epidural scar formation in rat models after laminectomy. *Mol Med Rep*. 2017;15(6):4162-68.



EKLER

EK-1: Kısaltmalar:

ABD:	: Amerika Birleşik Devletleri
BBB	: Basso Beattie Bresnahan
BBCS	: Başarısız Bel Cerrahisi Sendromu
BT	: Bilgisayarlı tomografi
cm	: Santimetre
DM	: Dura mater
EF	: Epidural Fibrozis
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
HA	: Hiyalüronik asit
HA gel	: Derive edilmiş yüksek viskoziteli hiyalüronik asit
HBO	: Hiperbarik oksijen
HCL	: Hidroklorik asit
HE	: Hematoksilen eozin
HP	: Hidroksiprolin
IFN-γ	: İnterferon-gamma
IFN-β-1a	: İnterferon-beta-1a
IgG	: İmmunglobulin G
IgM	: İmmunglobulin M
IL-18	: İnterlökin-18
IL-1β	: İnterlökin-1 beta
IL-2	: İnterlökin-2
IL-6	: İnterlökin-6
İK	: İliak krista
İP	: İntraperitoneal
İP-Ozon	: İntraperitoneal ozon
K	: Kemik
Kcal	: Kilokalori
kg	: Kilogram

L	: Lamina
L6	: 6. lomber vertebra
LC-MS/MS	: Sıvı kromatografisi-ardışık kütle spektrometrisi
LF	: Ligamentum flavum
MAACP/nHA	: Multi-amino acid copolymer/ nano-hydroxyapatite
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
MSR	: Medulla spinalis retraksiyonu
MT	: Masson trikrom
mV	: Milivolt
N₂O	: Azot protoksit
N₂O₂	: Nitrojen dioksit
NaCl	: Sodyum klorür
NFκB	: Nükleer Faktör kappa
NLRP3	: NOD-, LRR- and pyrin domain-containing protein 3
NRF-2	: Nükleer faktör-eritroid-2 ile ilişkili faktör-2
O₂	: Oksijen
O₃	: Ozon
PA	: Paravertebral adeleler
PLGA	: Polylactic-co-glycolic asit
PRP	: Trombositten zengin plazma
PTFE	: Polytetrafluoroethylene
SF	: Serum fizyolojik
SP	: Spinöz proçes
TO	: Tıbbi Ozon
T-Ozon	: Topikal ozon
TGF-β	: Transforme edici büyüme faktörü -beta
TNF-α	: Tümör nekroz faktör-alfa
UPS	: Ubikuitin-proteazom sistemi
UV	: Ultraviyole
μg	: Mikrogram

TEŞEKKÜR

Nöroşirürji eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini aktaran, hayranlık duyduğum, saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Selçuk Yılmazlar, Prof. Dr. Ahmet Bekar, Prof. Dr. Hasan Kocaeli' ne; her daim desteğini gördüğüm tez danışmanım, hocam Prof. Dr. Şeref Doğan' a; tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren hocam, abim Prof. Dr. Mevlüt Özgür Taşkapılıoğlu' na; bana cerrahi ilklerimi yaşatan, her zaman arkamda olduğunu hissettiğim Dr. Öğr. Üyesi Pınar Eser' e; tez çalışmamın patoloji kısmını yürüten Patoloji A. D. Öğretim Üyesi Prof. Dr. Şahsine Tolunay ve Öğr. Gör. Dr. Mine Özşen' e; biyokimya kısmını yürüten Hacettepe ÜTF Biyokimya A.D. Öğretim Üyesi Prof. Dr. İncilay Lay' a; istatistiksel incelemede yardımlarını esirgemeyen hocam, abim Biyoistatistik A.D. Öğretim Üyesi Prof. Dr. Gökhan Ocakoğlu' na; ozonun temin edilmesi ve hazırlanmasında Dr. Tamer Kala' ya; yardımını esirgemeyen Anestezi Tek. Ahmet Sakin' e; bana Nöroşirürjiyi sevdiren, ablam, Op. Dr. Duygu Baykal' a; ikinci ailem olarak gördüğüm başta Uzm. Dr. Oğuz Altunyuva, Dr. Yazan Bany Shamsah ve Dr. Ali İmran Özmarasalı olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma ve kıdemlilerime; poliklinik, klinik, yoğun bakım ve ameliyathanemizde görev yapan hemşire, personel ve sekreter arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım. Tıp fakültesine girişime vesile olan, her daim desteklerini hissettiğim Zekeriya ve Seher Karadoğu' ya; insanlığa hayırlı işler yapmak için beni yetiştiren, her koşulda arkamda olan, beni ben yapan kıymetli anneme ve babama; vizyonumu genişleten, en büyük şansım olan, abim Alper Akbaş' a; mesleki bilgi ve deneyimleriyle öğrencilik yıllarımdan beri yanımda olan, her şeyi başarabileceğime olan inancıyla tez sürecinde de beni hiç yalnız bırakmayan, nöbet ve icaplarımda sabırla beni bekleyen, karakteriyle gurur duyduğum, her daim sevgisini hissettiğim, en büyük desteğim, dostum, sevgili eşim Op. Dr. Özkan Balçın ve onu yetiştiren, çok değer verdiği ailesine sonsuz teşekkürlerimle...

ÖZGEÇMİŞ

tarihinde, doğdum. İlk öğrenimimin ilk beş yılını Ankara' da Atatürk İlköğretim Okulu' nda; sonraki üç yılını İzmir' de Kazımpaşa İlköğretim Okulu' nda tamamladım. 2005 yılında İzmir Bornova Anadolu Lisesi'nde başladığım lise öğrenimimi 2008 yılında tamamladım. Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi' nden 2015 yılında mezun oldum. Yaklaşık 1 yıl süre ile Bursa Dörtçelik Çocuk Hastalıkları Hastanesi' nde acil serviste pratisyen hekim olarak zorunlu hizmetimi yaptım. 2017 yılında Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladım.