

KARBON DİOKSİT TERAPİSİNİN SIÇANDA YARA İYİLEŞMESİNE ETKİSİ

*Ahmet SÖNMEZ, *Meral YAMAN, **Özben YALÇIN, *Nihal DURMUŞ, *Zeynep AKDENİZ, **Aydın SAV

*Marmara Üniversitesi Hastanesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi A.D, İstanbul

**Marmara Üniversitesi Hastanesi Patoloji A.D, İstanbul

ÖZET

Karbondioksit (CO₂) gazının topikal veya transkutan yolla tedavi amaçlı olarak uygulanması uzun yıllardır uygulanan bir yöntemdir. Yapılan çalışmalar CO₂ gazının vazodilatasyon yapıcı ve yeni damarlanmayı artırıcı etkilerini ortaya koymuştur.

Bu çalışmada, sıçanlarda oluşturulan yara modelinde ciltaltı CO₂ gazı uygulamasının yara iyileşmesi üzerinde olumlu etkisi olup olmadığı araştırılmıştır.

Toplam 30 adet sıçanın sırtında 2 cm çaplı cilt defektleri oluşturulmuş, defektlerin alanı hesaplanmıştır. Defekt oluşumunu takip eden 14 gün boyunca; deney grubuna (n=10) günlük olarak ciltaltı CO₂ enjekte edilmiş, sham grubuna (n=10) günlük olarak hava enjekte edilmiş; kontrol grubuna (n=10) ise hiçbir işlem uygulanmamıştır. Onbeşinci gün sıçanlar feda edilmiş, açık yaraların alanları hesaplanmış ve yaralar histolojik incelemeye alınmıştır.

CO₂ enjekte edilen grup ve kontrol grubu arasında iyileşen yara alanı açısından bir fark olmadığı saptanmıştır. Histolojik incelemelerde, CO₂ gazı enjekte edilen grupta yara zeminindeki damar sayısında diğer gruplara göre belirgin artış olduğu; inflamatuvar cevabı gösteren polimorfonükleer lökosit, fibroblast ve mast hücresi sayılarında da kontrol grubuna göre belirgin artış olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmada; sıçanda oluşturulan yara modelinde yara çevresine ciltaltı uygulanan CO₂ gazının yara zemininde damar oluşumunu belirgin olarak arttırdığı gösterilmiş, ancak yara iyileşme süresini hızlandırdığı yönünde bir bulgu elde edilememiştir.

Anahtar Kelimeler: Yara iyileşmesi, karbondioksit terapisi, anjiyojeniz

THE EFFECTS OF CO₂ THERAPY ON WOUND HEALING IN THE RATS

ABSTRACT

Topical or transcutaneous application of carbon dioxide CO₂ gas for therapeutical purposes is known for many years. Vasodilatory and angiogenic effects of CO₂ are described in the literature.

In this study, the effects of subcutaneous injection of CO₂ on wound healing in the rats are studied.

Dorsal skin defects of 2 cm diameters were made on 30 male Sprague Dawley rats, and the area of the defects were measured. Subcutaneous CO₂ was injected to the experimental group (n=10), air was injected to the sham group (n=10) for postoperative 14 days, daily and no intervention was made to the control group (n=10). On the fifteenth day the animals were sacrificed, the areas of the dorsal skin defects were measured and histological sections were made from the wound bed.

No significant difference was demonstrated in healing percentage wound areas between the CO₂ group and the control group. Histologically, significant increases in the number of capillaries were demonstrated in the CO₂ group with respect to the other two groups. Number of polymorphonuclear leukocytes, fibroblasts and mast cells were also higher in the CO₂ group than in the controls.

Subcutaneous insufflation of CO₂ around the wound significantly increases the number of capillaries at the wound bed in the rat. However this was not sufficient to shorten the healing process.

Keywords: Wound healing, carbon dioxide therapy, angiogenesis

GİRİŞ

Karbondioksit (CO₂) gazı solumanın bilinen sistemik etkileri arasında; periferik vasküler direnci düşürmesi ve dolayısıyla kan basıncını düşürmesi, kalp atım hızını düşürmesi, kalbin debisini arttırması sayılabilir.¹⁻³

CO₂ gazının topikal veya transkutan yolla tedavi amaçlı olarak uygulanması karbondioksit terapisi olarak adlandırılmaktadır. CO₂ terapisi kaplıca tedavilerinde uzun yıllardan beri uygulanagelmıştır. İçeriğinde belli



Resim 1: Sıçanda oluşturulan yara modeli

oranlarda CO₂ gazı bulunan kaplıca sularında yapılan terapilerin; hipertansiyon, damar tıkanıklığı, fonksiyonel arteriyel kan akım bozuklukları, mikrodolaşım bozuklukları, gecikmiş yara iyileşmesi ve fonksiyonel kalp bozuklukları olan hastalara fayda sağladığı bildirilmiştir.⁴ CO₂ gazının daha yeni bir uygulama yöntemi ise transkutan yolla cilt altı enjeksiyondur. Selülit tedavisi ve bölgesel yağ dokusunun azaltılması amacıyla giderek yaygın bir şekilde uygulanan bu yöntem çoğunlukla ampirik uygulamalara dayanmaktadır ve bilimsel verileri oldukça sınırlıdır.^{5,6}

CO₂'nin ciltte vazodilatasyon yaptığı bilinmektedir.^{7,8} Ayrıca CO₂ banyosu sonrası farelerde yeni kılcak damar oluşumunun arttığı da bildirilmiştir.⁹ CO₂ gazının uygulandığı bölgede kan dolaşımını ve doku perfüzyonunu arttırdığı bilinmektedir.¹⁰ Bu çalışmada, yukarıda özetlenen bulgulardan yola çıkarak, ciltaltı CO₂ enjeksiyon yönteminin sıçanda yara iyileşmesine etkisi araştırılmıştır.

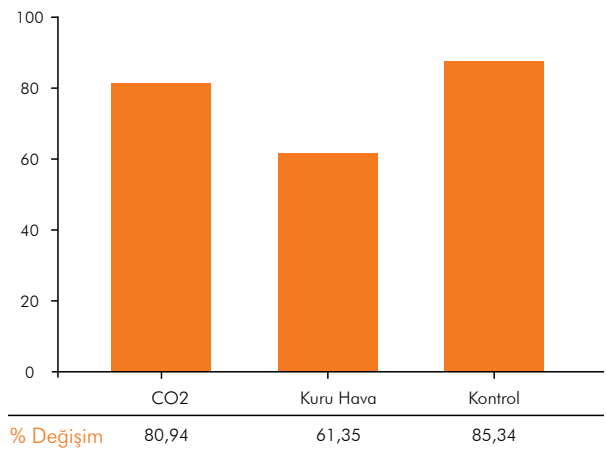
GEREÇ VE YÖNTEMLER

Araştırma protokolü, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Etik Kurulu tarafından onaylandı. (29.Mart.2007). Çalışmada toplam 30 adet 200-250 gr ağırlığında Sprague Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar, eşit olarak üç gruba bölündü. Deney grubuna (n=10); cerrahiye takip eden günden itibaren 14 gün boyunca hergün CO₂ gazı; sham grubuna (n=10); cerrahiye takip eden günden itibaren 14 gün boyunca hergün kuru hava enjekte edildi. Kontrol grubuna (n=10); cerrahiden sonra herhangi bir işlem uygulanmadı, 14 gün boyunca takip edildi. Çalışma boyunca sıçanlar tekli kafeslerde tutuldu, serbest bir şekilde standart sıçan yemi ve çeşme suyuna ulaşımını sağlandı.

Intraperitoneal yolla 90 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin enjekte edilerek anestezi sağlanmasının ardından,

sıçanların sırt bölgesi traşlandı. İnferior sınırı krusta iliaka seviyesinde olacak şekilde, orta hatta 2 cm. çapında cilt ve pannikülüs karnosusu içeren tam kalınlıkta defektler oluşturuldu¹¹ (Resim 1). Defekt alanını hesaplamak için yaranın sınırları şeffaf bir kağıda aktarıldı.

Çalışmada tıbbi kullanım için uygun olan tüplerde ve yüksek basınç altında muhafaza edilen CO₂ ve hava kullanıldı. Tüplerin çıkışında yer alan bir manometre aracılığıyla çıkış basıncı 0.5 bara ayarlandı. Bu manometreye uç-uca bağlanan bir basınç regülatörü (RE-1/4, P: 0-12 bar Vemapnömatik) sayesinde dış ortamdan cilt altına enjeksiyon sırasında direnç değişimine bağlı oluşabilecek basınç salınımları en alt seviyede tutuldu. Regülatörün çıkış noktasında basınç 0.2 bara indirildi. Regülatörün çıkışına takılan kapalı sistem bir hortum ve bunun ucuna eklenen 30 gauge iğne ile enjeksiyonlar yapıldı (Resim 2). Sistem bu şekilde 175 ml/dk akım hızı veriyordu. Yara çevresi dört kadrana bölündü ve saat



Resim 3: Yara alanı küçülme yüzdeleri



Resim 2: Gaz enjeksiyon sistemi

3,6,9,12 hizalarında, yara kenarından yaklaşık 2 cm mesafede beşer saniye süreyle ciltaltı enjeksiyon yapıldı.

Toplam 14 seans enjeksiyon sonrası onbeşinci günde tüm sıçanlar intraperitoneal yolla yüksek doz sodyum pentotal verilerek feda edildiler. Sırttaki iyileşmeyen yara alanını hesaplamak için yaranın sınırları şeffaf bir kağıda aktarıldı. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası yapılan alan ölçümleri bir tarayıcı yardımıyla bilgisayara aktarıldı ve bilgisayar programı yardımıyla (Autocad R.14 version 19.0.79.0, Autodesk Inc.) yara alanlarındaki yüzde değişim farkları hesaplandı.

Tüm sıçanlardan sırtlarındaki yaralar merkezde olacak şekilde 5x5 cm'lik cilt adaları histolojik inceleme için eksize edildi. Yaranın merkezinden geçecek şekilde alınan enine kesitler hematoksilin-eosin ve toluidin mavisi ile boyandı, ışık mikroskopu ile incelendi. İncelemeler çalışma gruplarının kör olan tek bir patolog tarafından yapıldı. Yara zemininde toplam üç büyük büyütme alanında (40X); damar, polimorfonükleer lökosit (PNL), mast hücresi ve fibroblast sayımı yapıldı. İstatistiksel değerlendirmelerde bu üç sayımın ortalaması kullanıldı.

İstatistiksel değerlendirmeler GraphPad InStat3 programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar için örneklerin dağılımı ve varyanslarına göre tek yönlü varyans analizi (ANOVA) veya non-parametrik Kruskal-Wallis testlerinden uygun olanı kullanıldı. İstatistiksel olarak p değeri 0.05'den küçük olduğu durumlar anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışma süresinde kuru hava grubuna ait iki sıçan kaybedildi. Bu nedenle kuru hava grubundaki bulgular ve istatistiksel değerlendirmeler sekiz sıçandan elde edildi. Diğer gruplarda kayıp yoktu. CO₂ enjeksiyonu sonrasında 20-30 dakika içinde gazın büyük oranda rezorbe olduğu, hava enjeksiyonu sonrası bu sürenin çok daha uzun olduğu, hatta bazı hayvanlarda 24 saat sonrasında da ciltaltında hava krepitasyonu alındığı tespit edildi.

Onbeş günlük takip sonucunda hiçbir sıçanda tam yara iyileşmesi olmadığı saptandı. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası yapılan alan ölçümleri üzerinden her grup için ortalama yara iyileşme yüzdeleri hesaplandı (Resim3). Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda CO₂ ve kontrol gruplarının kuru hava grubuna göre daha hızlı iyileştiği (p<0.001), ancak CO₂ grubunda kontrol grubuna göre daha belirgin bir iyileşme olmadığı tespit edildi.

Histolojik inceleme sonucunda her üç gruptaki ortalama damar sayıları, PNL, fibroblast ve mast hücresi sayıları ve gruplar arası istatistiksel değerlendirme Tablo 1'de gösterilmiştir. Bu bulgular ışığında deney grubu olan CO₂ enjeksiyon grubunda damar sayısının diğer iki gruptan anlamlı olarak yüksek olduğu; PNL, fibroblast ve mast hücresi sayılarının ise kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi.

TARTIŞMA

Bu araştırmanın sonucunda; CO₂ gazı enjekte edilen grupta yara zeminindeki damar sayısında diğer gruplara göre belirgin artış olduğu; inflamatuvar cevabı gösteren PNL, fibroblast ve mast hücresi sayılarında da kontrol grubuna göre belirgin artış olduğu saptanmıştır. Ancak damar sayısındaki ve inflamatuvar cevaptaki bu artışın kontrol grubuyla karşılaştırıldığında yara iyileşme hızına etki etmediği tespit edilmiştir.

Literatürde, laser Doppler akım ölçüm metoduyla, topikal uygulanan CO₂ gazının sıçan cildine giden kan akımını arttırdığı bildirilmiştir.⁸ Brandi ve arkadaşları⁵

	CO ₂	Hava	Kontrol	P
Damar	51.6 (8.0)*	35.4 (10.2)	27.3 (6.0)	<0.0001
PNL	60 (9.1)	57.1 (10.4)	20.4 (4.1)*	<0.0001
Fibroblast	28.0 (3.7) [§]	28.4 (10.6)	23.3 (3.5)	0.0374
Mast hücresi	5.9 (3.2) [§]	3.3 (1.6)	2.1 (1.5)	0.0085

Tablo 1: Histolojik değerlendirme bulguları "Büyük büyütme alanında adet (standart sapma)" olarak sunulmuştur.

*Diğer iki gruptan farkı istatistiksel olarak anlamlı

[§]Kontrol grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlı

insanlarda da ciltaltı CO₂ enjeksiyonu sonrasında enjeksiyon bölgesinde kan akımının vazodilatasyon yoluyla arttığını bildirmişlerdir. Irie ve arkadaşları⁹ ise farelerde yaptıkları çalışmada topikal uygulanan CO₂ banyosunun anjiyogenezi arttırdığını bulmuşlardır. Bu bulgulardan yola çıkarak gerçekleştirdiğimiz önceki bir çalışmada ciltaltı CO₂ gazı uygulamasının sıçanlarda dorsal cilt flebinde damar oluşumunu arttırdığını ancak bu artışın canlı flep alanını da arttıracak şekilde perfüzyona etki etmediğini göstermiştik.¹² Anjiyogenez ve vazodilatasyon yara iyileşmesi üzerine olumlu etki ettiği için, mevcut çalışmamızda CO₂ gazının söz konusu etkilerini sıçan yara modelinde ortaya koymayı planladık.

İnsanlarda oluşan kronik yaralara (bası yarası, diyabetik yara gibi) benzerliği açısından bu çalışmada yara defekti modeli tercih edilmiştir. Deney grubunda (CO₂ enjeksiyon grubu) cilt altına iğne batırılması, gaz enjekte edilmesi gibi işlemler tek başına da inflamatuvar cevap oluşturabileceğinden yara iyileşme parametreleri ile etkileşeceklerdi. Bu sebeple çalışmada bir sham grubu kullanmak ve CO₂ gazı dışında bir madde de enjekte etmek gerekiyordu. Bu çalışmada tarif edilen aynı yöntemle hava enjekte edilmiştir. Nitekim, bulgular kısmında belirtildiği üzere hava enjekte edilen grupta PNL sayısı kontrollere göre belirgin olarak artmıştı. Yine bu grupta; damar; fibroblast ve mast hücresi sayıları da istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber kontrol grubundan daha yüksekti. CO₂ grubu ve hava grubu karşılaştırıldığında inflamatuvar hücre artışları benzer oranlardaydı (Tablo1). Ancak asıl üzerinde durulması gereken nokta CO₂ enjekte edilen grupta damar sayısının

sadece kontrol grubuna oranla değil, hava enjekte edilen gruba oranla da belirgin olarak artmış bulunmasıydı. Bu bulgu CO₂ gazının vaskülarizasyonu arttırdığı yolundaki bulguları desteklemektedir.⁹ Çalışmamızda histopatolojik olarak elde edilen bulguların asıl istenen klinik sonuç olan yara iyileşmesini hızlandırıcı yönde etki ettiği gösterilememiştir. Bunun sebebinin iyi vaskülarizasyonun her zaman iyi perfüzyon anlamına gelmemesi olduğunu düşünüyoruz. Hızlı yara iyileşmesi için asıl olan yaranın iyi perfüze olmasıdır.

Bu çalışmada; sıçanda oluşturulan yara modelinde yara çevresine ciltaltı uygulanan CO₂ gazının yara zemininde damar oluşumunu belirgin olarak arttırdığı gösterilmiş, ancak yara iyileşme süresini hızlandırdığı yönünde bir bulgu elde edilememiştir. Bundan sonraki çalışmalarda, CO₂ gazının damarlanmayı arttırıcı etkisinin aynı zamanda dolaşımı (perfüzyonu) da arttıracak şekilde nasıl kullanılabileceği araştırılmalıdır.

DR. AHMET SÖNMEZ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ
PLASTİK VE REKONSTRÜKTİF CERRAHİ A.D.
TOPHANELİOĞLU CAD. NO:13-15
81190 ALTUNİZADE, İSTANBUL
Gsm: 0.532 261 83 37
Faks: 0.216 326 77 22
Tel: 0.216 327 10 10 / 493
e-posta: ahsonmez@yahoo.com

KAYNAKLAR

1. Kittle CF, Aoki H, Brown EB Jr.; The role of pH and CO₂ in the distribution of blood flow; *Surgery*, 1965;57;139.
2. Daugherty RM Jr, Scott JB, Dabney JM, et al.; Local effects of O₂ and CO₂ on limb, renal and coronary vascular resistances; *Am J Physiol*, 1967;213;1102.
3. Toda N, Ayajiki K, Okamura T.; Hypercapnia relaxes cerebral arteries and potentiates neurally induced relaxation; *J Cereb Blood Flow Metab*, 1996;16;1068.
4. Schmidt KL; Carbon dioxide bath (Carbon dioxide spring); Available at: <http://co2kur.com/j101/schmidt0403.pdf>, Accessed October 25;2007.
5. Brandi C, D'Aniello C, Grimaldi L, et al.; Carbon dioxide therapy in the treatment of localized adiposities: clinical study and histological correlations; *Aesth Plast Surg*, 2001;25;170.
6. Brandi C, D'Aniello C, Grimaldi L, et al.; Carbon dioxide therapy: effects on skin irregularity and its use as a complement to liposuction; *Aesth Plast Surg*, 2004;28; 222.
7. Dijji A.; Local vasodilator action of carbon dioxide on blood vessels of the hand; *J Appl Physiol*,14; 414, 1959 8. Teimourian B, Pearlman R. *Surgery for gynecomastia*. *Aesthetic Plast Surg*.1983;7:155.
8. Ito T, Moore JI, Koss MC.; Topical application of CO₂ increases skin blood flow; *J Invest Dermatol*, 1989;93;259.
9. Irie H, Tatsumi T, Takamiya M, et al.; Carbon dioxide rich water bathing enhances collateral blood flow in ischemic hindlimb via mobilization of endothelial progenitor cells and activation of NO-cGMP system; *Circulation*, 2005;111;1523.
10. Özmen S, Demir HY, Yavuzer R, et al.; Alternatif Estetik Uygulamalar II: Karboksiterapi ve Oksiterapi; *Türk Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Dergisi*, 2006;14;29.
11. Nayak BS, Pinto Pereira LM.; Catharantus roseus extract has wound healing activity in Sprague Dawleyrats; *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2006;6;41.
12. Sönmez A, Yaman M, Yalçın Ö, Ersoy B, Serin M, Sav A, Numanoğlu; A. Sıçanda random pediküllü dorsal cilt flebine karbondioksit terapisinin etkisi; *Türk Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Derneği 28. ulusal kongresi özet kitabı*; 2007;102.