

Ozon tedavisinin gingivektomi operasyonları sonrası yara iyileşmesi üzerine etkileri: kontrollü klinik çalışma

The effects of ozone therapy on wound healing after gingivectomy operations: a controlled clinical study

Zekeriya Taşdemir^{1*}, Özge Köy¹, Merve Nur Oskaybaş¹, Damla Soydan²

¹Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi , Periodontoloji AD, Kayseri

²Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi , Oral Radyoloji AD, Kayseri

Atıf/Citation: Taşdemir, Z., Köy, Ö., Oskaybaş, M.N. & Soydan, D. (2019). Ozon tedavisinin gingivektomi operasyonları sonrası yara iyileşmesi üzerine etkileri: kontrollü klinik çalışma. Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 40(2), 133-140.

ÖZ

Amaç: Bu çalışmanın amacı, ozon tedavisinin, gingivektomi ve gingivoplasti ameliyatları sonrası yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini ikincil yara iyileşmesi modelinde değerlendirmektir.

Metod: Çalışmaya sistemik olarak sağlıklı 23 kişi (12 kadın, 11 erkek) katılmıştır. Gingivektomi ve gingivoplasti işlemleri yapıldı. Bir kadranda ozon tedavisi yapıldı ve kontralateral taraf tüm hastalarda kontrol tarafı olarak kabul edildi. Postoperatif 3 gün sonra, bir plak boyama ajanı uygulandı ve standart fotoğraflar çekildi. Fotoğraflar dijital bir görüntü programında değerlendirildi ve yara alanları milimetre kare olarak ölçüldü. Ameliyat sonrası ağrı, görsel analog skala ile değerlendirildi. Hastalar ameliyat sonrası 3., 7. ve 14. günlerde çağrıldı.

Bulgular: Test tarafları postoperatif 3., 7. ve 14. günlerde kontrol taraflarına göre daha düşük boyalı yüzey alanlar gösterdi. VAS ölçeği sonuçları gruplar arasında ağrı ve rahatsızlık açısından anlamlı farklılıklar göstermiştir. Hastalar postoperatif 3. günde anlamlı olarak daha az ağrı bildirdi, ancak postoperatif 7. ve 14. günlerde anlamlı bir fark yoktu.

Sonuçlar: Bu çalışmanın sınırlılığı dahilinde ozon tedavisi, gingivektomi ve gingivoplasti ameliyatları sonrası yara iyileşme sürecini geliştirmiş ve postoperatif dönemdeki ağrıdaki azalmasını sağlamıştır.

Anahtar kelimeler: Ozon; yara; gingivektomi

ABSTRACT

Objectives: Aim of the present study was to evaluate the effects of ozone therapy on wound healing after gingivectomy and gingivoplasty operations as a model of secondary intention wound healing.

Methods: 23 systemically healthy individuals (12 female and 11 male) participated in this study. Gingivectomy and gingivoplasty procedures were performed. One quadrant received ozone treatment and the contralateral side was considered as control side in all patients. After postoperative 3 days, a plaque disclosing agent was applied and standardized photographs were taken. Photographs were evaluated in a digital image program and wound areas were measured as millimeter squares. Postoperative pain was evaluated via a visual analog scale. Patients were called at 3rd, 7th and 14th days after surgery.

Results: Test sides showed significantly lower stained surface areas compared to the control sides on the postoperative 3rd, 7th and 14th days. VAS scale results showed significant differences between groups in terms of pain and discomfort. Patients reported significantly lower pain on the postoperative 3rd day, however, there were no significant differences in postoperative 7th and 14th days.

Conclusions: Within the limitation of the present study, ozone treatment improved the wound healing process after gingivectomy and gingivoplasty surgeries along with the decrease in postoperative pain.

Keywords: Ozone; wound; gingivectomy

GİRİŞ

Yara iyileşmesi pek çok farklı hücre ve doku tipinin birlikte çalıştığı kompleks bir süreçtir¹. Yaranın iyileşmesi sistemik hastalıklar ve ilaçlar, yaralanmanın sebebi (fiziksel, kimyasal vs.), yaranın boyutu ve yaralanan organ ya da dokunun tipi gibi hasta ilişkili faktörlere bağlıdır². Oral dokular çok sayıda vasküler yapıya bağlı olarak oldukça hızlı iyileşme gösterir. Ancak ortamdaki çok sayıda ve farklı türlerde bakterilerin varlığından dolayı oldukça yüksek enfeksiyon riski bulunmaktadır. Bu yüzden yara iyileşme süresi uzadıkça, iyileşme esnasında komplikasyonların meydana gelme ihtimali artmaktadır.

Yara iyileşmesi esas olarak 3 aşamadan oluşur. İlki, travmadan hemen sonra başlayan ve yaklaşık 6. güne kadar devam eden enflamatuvar safhadır. İkinci olarak proliferatif safha 4. gün başlar ve yaklaşık 14. güne dek devam eder. Ve son olarak matürasyon fazı 7. günden 16. güne dek gerçekleşir². Bu safhalar genelde tahmin edilebilir ve zamanlıdır. Ancak travma, ödem, radyasyon, iskemi, yara kapama tekniği, az oksijen desteği ya da sigara, metabolik hastalıklar, enflamasyon, immünsüpresyon gibi sistemik faktörler yara iyileşmesine zarar verir ve skar formasyonuna sebep olabilir³⁻⁵. Yara kapama şekli, hücre tipi, moleküler ajanlar gibi yapısal elemanların yanısıra yara iyileşmesini etkileyen en önemli faktörlerden biridir⁶⁻⁷.

Periodontal cerrahi sonrası çoğu yaralar yara kenarlarının süturlanmasıyla primer olarak kapatılır. Ancak gingivektomi ve gingivoplasti gibi primer olarak kapatılmayan bazı cerrahi yaralar vardır. Yara iyileşme süresini kısaltmak ve iyileşmeyi geliştirmek için ek uygulamalar gerekli olabilir.

Ozon güçlü bir oksidandır ve vücuttaki oksijen miktarını artırmak için bir ek tedavi olarak kullanılır. Son zamanlarda, bir sistematik yorum ozon tedavisinin yara iyileşmesini iyileştirdiğini ve iyileşme süresini kısalttığını bildirmiştir⁸. Ek olarak, Patel ve ark.⁹, ozon uygulaması sonrasında dişetindeki epitelyal hücrelerde daha iyi iyileşme, daha hızlı keratinizasyon ve daha iyi rejeneratif değişimler bildirmiştir. Ozonun yara iyileşmesi üzerindeki etkileri için önerilen iki esas yolak vardır. İlki, transforme edici büyüme faktörü -1 beta (TGF- β), İnterferonlar, interlökinler ve tümör nekroz faktörünün (TNF- α) artırılmasıyla immün cevaptaki direkt etkidir¹²⁻¹⁵.

Ozon tedavisi tıp bilimlerinde sıklıkla kullanılmasına ve antimikrobiyal, biyoyumlu özellikleri ve iyileştirme etkilerine bağlı olarak popülerleşmesine rağmen, sekonder iyileşmeye bırakılan cerrahi yaralar üzerindeki etkisi çalışılmamıştır. Ozonun antibakteriyel ve konak-

modülatör aktivitesine dair kanıtlara dayanarak, bu çalışmanın hipotezi ozonun oral bölgede yara iyileşmesini geliştireceğidir. Daha önce yapılan araştırmalarda¹²⁻¹⁵ da gösterildiği üzere ozon tedavisi yara iyileşmesi üzerine etkilidir. Özellikle primer olarak kapatılmayan yaralarda yara iyileşmesinin daha geç gerçekleşeceği ve hastaların post-op dönemlerde yaşadıkları sorunların daha fazla olacağı düşünüldüğünde, ozon tedavisinin yara iyileşmesini hızlandırarak hastaların post-op dönemi daha rahat geçirebilecekleri düşünülebilir. Bu yüzden bu çalışmanın amacı, sekonder yara iyileşmesi modeli olarak gingivektomi ve gingivoplasti operasyonlarından sonra ozon tedavisinin yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini değerlendirmektir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma "<http://www.clinicaltrials.gov/> "adresine 29/08/2018 tarihinde kaydedildi ve 'NCT03655158' numarası çalışmaya verildi. Bu çalışma çift-kör, plasebo kontrollü bölünmüş ağız bir çalışma olarak tasarlandı.

Çalışma örneği, kliniğimize Şubat-Kasım 2017 arasında başvuran hastalardan seçildi. Çalışmaya 23 sistemik olarak sağlıklı (12 kadın, 11 erkek) birey katıldı. Dahil edilme kriterleri şu şekilde sıralandı:

- 1) 18-35 yaş arasında,
- 2) Sistemik olarak sağlıklı,
- 3) 6 aydır herhangi bir ilaç kullanmayan,
- 4) Sigara kullanmayan,
- 5) Periodontal cerrahi kontrendikasyonu olmayan
- 6) Hamilelik ya da laktasyon döneminde olmayan
- 7) Alt keser bölgesinde gingivektomi ya da mukogingival cerrahi geçmişi olmayan hastalar çalışmaya dahil edildi.

Çalışma protokolü Erciyes Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından değerlendirildi ve onaylandı (No:2016/408). Tüm hastalardan aydınlatılmış onam formu alındı.

Klinik Prosedürler

Tüm periodontal muayeneler ve ilk muayeneden sonra iki hafta içerisinde yapılan cerrahi olmayan tedaviler aynı deneyimle klinisyen (O.K.) tarafından yapıldı. Hastalara ağız hijyeni talimatları verildi. Ağız hijyeni kontrolü her ziyarette tekrarlandı. İlk olarak hastalara diş taşı

temizliği ve kök düzleştirme yapıldı. Dört hafta sonra, hastalar gingivektomi ve gingivoplasti ihtiyaçları için yeniden değerlendirildi. Gingivektomi ve gingivoplasti ihtiyacı olan hastalara başka bir randevu daha verildi (Kemik kaybı olmamasına rağmen dişeti büyümeleri sebebiyle yalancı cepleri bulunan ve hastaların oral hijyen uygulamalarını zorlaştıran dişeti büyümesine sahip olan hastalar) ve her bir hastadan onam formu alındıktan sonra işlemler gerçekleştirildi. Gingivektomi ve gingivoplasti işlemleri çalışma protokolü hakkında bilgisi olmayan bir başka klinisyen (ZT) tarafından gerçekleştirildi.

Gingivektomi ve gingivoplasti işlemleri sırasında her bir yüzeydeki cepler periodontal sond ile labial yüzeylerde üç yerde incelendi. Eksternal bevel insizyonu #15 nolu bistrü ve bir Kirkland bıçağıyla gerçekleştirildi. Ardından sulkuler insizyon yapıldı ve ek olarak interproksimal alanlarda Orban bıçağı kullanıldı. Devam eden insizyonlarda, büyümüş olan dokular küretlerle alındı. Ardından gingivoplasti gerçekleştirildi. Hemostaz için işlem sahasına bir dakika boyunca gazlı bezle tampon yapıldı.

Tüm katılımcılara ağız gargarası olarak 0.12% klorheksidin (günde 2x1) reçete edildi ve ardından operasyon sonrası bakım talimatları verildi. Hastalara,

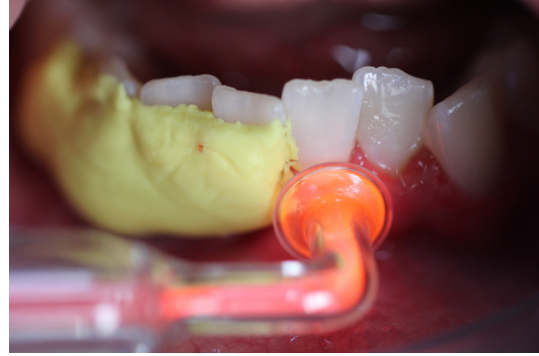
yara bölgesinde travmadan kaçınmak amacıyla bir hafta boyunca diş fırçalamadan kaçınmaları söylendi.

Ozon tedavisi

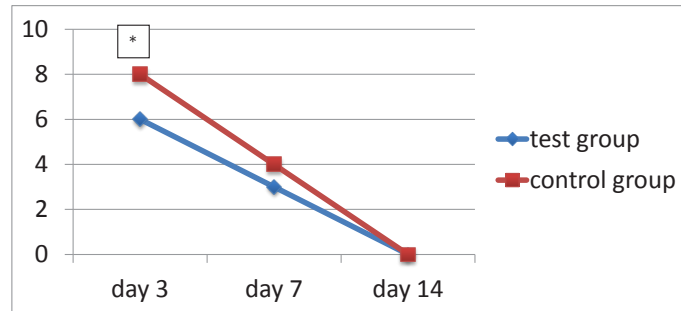
Ozon tedavisi için bir ozon jeneratörü kullanıldı. Ozon tedaviden hemen sonra, cerrahi sonrası 1. gün ve 3.günde olmak üzere 3 kez uygulandı. Ozon jeneratörü, üretici talimatlarına göre 30 saniye boyunca 75% güçle (75 ug/ml) çalıştırıldı. Gingivektomi ve gingivoplasti sonrası, tüm hastalarda cerrahi alanların bir kadranı rastgele (basit randomizasyon yöntemi kullanılmıştır) ozon tedavisi için seçildi ve diğer taraf kontrol bölgesi olarak alındı. Ozon tedavisi de deneyimli bir periodontist (OK) tarafından uygulandı (Figür 2). Plasebo uygulaması olarak, diğer kadranı ozon jeneratörü çalıştırılmadan bölgeye tutuldu. Ayrıca kontrol bölgesinin ozondan etkilenmesini engellemek amacıyla bölge ölçü maddesi ile kapalı tutularak ozon uygulamaya dikkat edildi (Figür 4).

Postoperatif ağrının değerlendirilmesi

Postoperatif ağrı 3., 7. ve 14. günlerde görsel analog skala (VAS) ile değerlendirildi. Skalada, grafiğin sol ucu ağrının yokluğunu temsil ederken (skor 0) sağ ucu en şiddetli ağrıyı temsil etti (skor 10).



Graphic 1. Görsel analog skala bulguları



Yara iyileşmesinin belirlenmesi

Başlangıçta, cerrahi sonrası 3., 7. ve 14. günlerde, cerrahi alan epitelizasyonu gösteren bir plak boyama ajanı ile incelendi (Figür 3). Solüsyon normal dişetini, gingival epitelyumun olmadığı, abraze olduğu yetersiz keratinizasyon olan bölgelerden ayırmak için net bir görüş sağladı. Yaraların epitelizasyon derecesini değerlendirmek için her hastadan standardize fotoğraflar alındı (Figür 1).



Görüntüleri standardize etmek için hastaların başları pozisyonlandı ve panoramik görüntüleme ünitesinde stabilize edildi. Tüm görüntüler standart magnifikasyon ve mesafeye aynı odada ve aynı ışık kaynağıyla elde edildi. Tarafılığı önlemek için kamera ayarlamaları da standardize edildi. Yüzey alanlarının ölçümü için, görüntü analiz yazılımı kullanıldı. 41 nolu dişin gerçek mezio-distal boyutları mini kumpas ile ölçüldü. Gerçek ve fotografik boyut arasındaki oran görüntüleri kalibre etmek için kullanıldı. Yaraların fotoğraflarında renk farklılıkları değerlendirildi ve karanlık olarak boyanmış alanlar yeterli epitelizasyonun eksikliği olarak kabul edildi. Bu ölçümler başlangıçta, cerrahi sonrası 3.,7. ve 14. günde yapıldı. Bu değerlendirmeler test ve kontrol sahaları hakkında bilgisi olmayan kalibre bir gözlemci tarafından yapıldı.

İstatiksel analiz

Benzer bir çalışma dizaynına sahip önceki bir çalışmaya dayanarak power analizi yapıldı¹⁷. İstatistiksel analiz IBM SPSS programıyla yapıldı. Örneklem boyutu 19 hasta olarak hesaplandı. Verilerin normalliğini test etmek için Kolmogorov-Smirnov testi uygulandı. Cinsiyet ve yaş için tanımlayıcı istatistiksel analiz yapıldı. Tekrarlanan ölçümler için, Bonferroni post-hoc testiyle birlikte iki yönlü varyans analizi yapıldı.

BULGULAR

Çalışmaya 23 hasta (12 kadın, 11 erkek) dahil edildi. Hastaların ortalama yaşı 22.4'tü(18-27 yaş arası). Hastaların yaş ve cinsiyet dağılımları Tablo 1'de gösterildi. Tüm hastalar post-operatif randevularına katıldı. Tüm hastalarda iyileşme problemsiz olarak gerçekleşti. Hiçbir hastanın şişlik, enfeksiyon ya da kanama gibi şikayetleri olmadı. Hastalara verilen talimatlara uygun olarak işlemlerden sonra analjezik kullanılmadı.

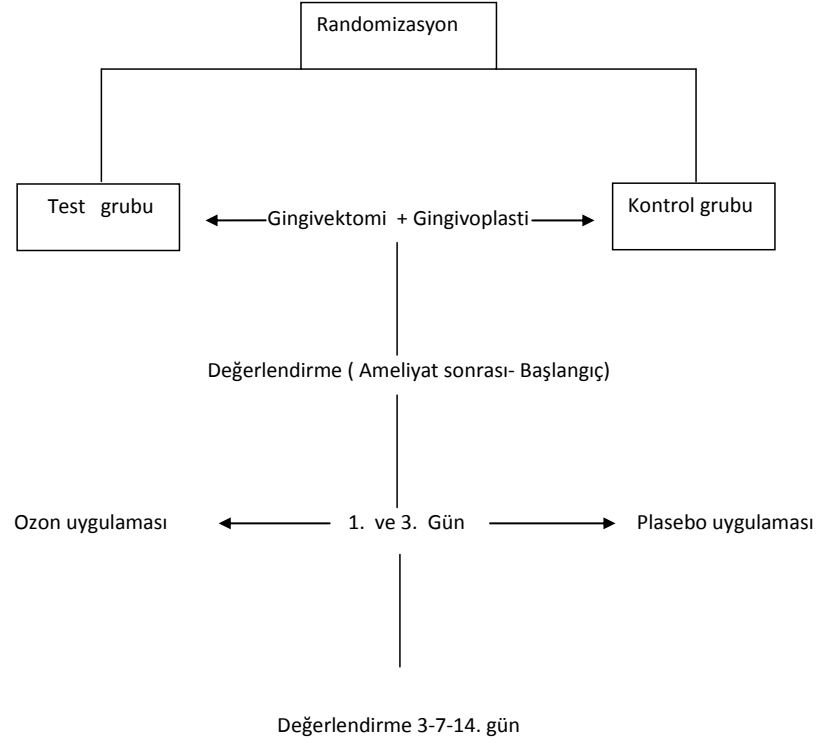
Test ve kontrol bölgelerinde gingivektomi ve gingivoplasti prosedürlerinden hemen sonra, boyanmış yüzey alanı açısından anlamlı farklılık bulunmadı. Test bölgeleri, postoperatif 3., 7. ve 14. Günlerde kontrol tarafına kıyasla anlamlı olarak daha düşük boyanmış yüzey alanı gösterdi ($p<0.05$) (Tablo 2).

Table 1 Çalışma popülasyonunun demografik verileri

Yaş Ort. Min-Max	22.4 18-27
Cinsiyet Kadın % Erkek %	12(52.2) 11(47.8)

Table 2 Yara bölgesi ImageJ ölçümleri

	Test grup(mm ²)	Control grup (mm ²)	p
Başlangıç Median Min-max	2.5 1-3.4	2.6 0.9-3.2	0.45
3.gün Median Min-max	1.67 0.83-2.11	1.89 0.97-2.34	<0.05
7.gün Median Min-max	0.88 0.24-1.67	1.01 0.42-1.89	<0.05
14.gün Median Min-max	0.31 0.16-0.57	0.42 0.19-0.61	<0.05
p	<0.005	<0.005	



Ağrı ve konforsuzluk açısından, VAS bulguları gruplar arasında anlamlı farklılık gösterdi. Hastalar postoperatif 3. günde anlamlı şekilde daha az ağrı bildirdi. Ancak, postoperatif 7. ve 14. günlerde gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı.

TARTIŞMA

Bu çalışma ozon tedavisinin, sekonder yara iyileşmesi modeli olarak gingivektomi sonrası ağrı ve epitelizeasyon üzerinde ozon tedavisinin etkilerini incelemiştir. Bulgular, ozon uygulanan bölgelerde kontrol tarafına göre ozon tedavisinin daha iyi yara iyileşmesi ve epitelizeasyon sağladığını ve post-operatif ağrıyı azalttığını göstermiştir.

Cerrahi tedaviler hastalar için ağrı, şişlik, rahatsızlık ve yara iyileşmesi için gereken süre sebebiyle arzu edilmeyen işlemlerdir. Bu yüzden, yara iyileşmesinin hızlanmasına yardımcı olan ve hasta konforunu artıran çalışmaların sayısı artmaktadır. Düşük seviyeli lazer tedavisi, lazer fototerapi, ozon uygulaması, α -bisabolol gargaralar, plateletten zengin plazma uygulaması, topikal antosiyanin kompleks uygulaması vs. yara iyileşmesini geliştirmek için son dönemde tercih edilen tedavilerdir¹⁷⁻²².

Ozon tedavisi antibakteriyel, antioksidan ve konak modülatör özellikleri sebebiyle öne çıkmaktadır^{8,9,12,14,15,22-26}. Bu özellikleri destekleyecek

şekilde, elimizdeki sonuçlar ozon uygulanan bölgelerde kontrol tarafıyla kıyaslandığında yara iyileşmesinin daha iyi olduğunu göstermiştir. Daha önce yapılan bir çalışmada, deepitelyalize dişeti greft işlemleri sonrası erken iyileşme döneminde ozon tedavisinin kan perfüzyonunu dolayısıyla revaskülarizasyonu artırıp yara iyileşmesini teşvik ettiğini gösterdik²⁶. Son dönemlerde, ozonun fibronektin, vimentin, N-cadherin,, matriks metalloproteinaz-2 (MMP-2), MMP-9, insuline-like growth factor binding protein-3 (IGFBP)-3, IGFBP5 ve IGBF6'nın in vitro olarak bağ doku metabolizmasını modüle ettiği gösterilmiştir²⁷. Ozonun iyileşme üzerine olan etkilerinin kısmen enflamatuar sitokinlerdeki azalmadan kaynaklandığı Şahin ve ark. Tarafından gösterilmiştir²⁸. Ozon, aynı zamanda in vitro olarak keratinositlerin proliferasyonunu ve VEGF-aracılı neovaskülarizasyonu da artırmaktadır^{29,30}. Al-Omiri ve ark., ozon uygulamaları sonrasında klinik olarak anlamlı şekilde iyileşmiş ülser yaralarını bildirmiştir²². Ozon VEGF, TGF- β ve PDGF seviyelerini artırmış ve en şiddetli yara tiplerinden olan diyabetik ayak ülserlerinde dahi yara iyileşmesini geliştirmiştir¹⁰. Ağız dokularıyla ilgili olarak Patel ve ark., topikal ozon uygulamasından sonra palatal dokudaki yara iyileşmesi ve dişeti sağlığının anlamlı şekilde geliştiğini bildirdi⁹. Az sayıda da olsa, ozonun yara iyileşmesi üzerinde herhangi bir etkisi olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur. Bayer ve ark., güçlü iyileşme indikatörleri olarak düşünülen ozon tedavisinin fibroblast büyüme faktörü, TGF- β ya

da platelet kaynaklı büyüme faktörünü artırmadığını bildirdi²⁵. Ek olarak, Mutluoğlu ve ark. kronik yaralarda ozon tedavisi sonrası iyileşme olmadığını bildirdi³¹. Bu çalışmalar göz önüne alındığında, ozon tedavisinin iyileşme süreci üzerine olan olumlu etkilerini gösteren pek çok kanıt vardır.

Bu çalışma, gingivektomiye bir sekonder iyileşme modeli olarak kullanan split-mouth bir dizayna sahiptir. Split-mouth dizayn bireysel faktörlerin (yaş, cinsiyet, sistemik durum gibi) iyileşme üzerine etkisini azaltarak daha iyi bir karşılaştırmaya izin verir. Bu çalışmada gingivektominin seçilmesinin sebebi, sekonder yara iyileşmesi gerektiren, en sık yapılan periodontal cerrahi olmasıdır. Plak boyama ajanı dişeti yaralarının yüzeyini değerlendirmek için kullanıldı. Plak boyama ajanının yanısıra, iyileşme indeksi, biyokimyasal parametreler, fotoğrafların morfometri ve/veya bilgisayar destekli değerlendirilmesi, büyümeyle değerlendirme ve histolojik tetkik de iyileşmenin değerlendirilmesi için kullanılabilir^{9,17,32-37}. Bu çalışmada yara fotoğrafları plak boyama ajanı uygulandıktan sonra yaraların fotoğrafları alındı ve değerlendirme için bir dijital görüntü programı kullanıldı. Önceden bahsedilen metodların en büyük problemi objektivitenin eksik olmasıydı. Ancak, standartize görüntülerin dijital bir program yardımıyla değerlendirilmesi subjektiviteyi minimize eder ve yara alanının morfolojik değerlendirilmesi için güvenilir bir metod olarak kabul edilebilir^{9,17,35,36,38}.

Ağrı da yara iyileşmesinin önemli bir kısmıdır.

Yara iyileşme ne kadar iyiye ağrı oluşma ihtimali o kadar az olmaktadır. Bu yüzden, cerrahi sonrası ağrının değerlendirilmesi iyileşme süreci için belirleyici olabilir. Ancak, ağrı subjektif bir konsepttir ve katılımcılar arasında postoperatif ağrı değişimlerinin değerlendirilmesi fiziksel ve fizyolojik özellikler sebebiyle değişiklik gösterebilir^{26,39}. Ağrı ölçümü için çeşitli metodlar bulunmaktadır. Bunlardan en sık tercih edilen VAS'tır^{17,26,34,37-39}. Bu çalışmada postoperatif ağrı VAS ile değerlendirildi. 3. gün sonuçları ozonun cerrahi sonrası erken dönem ağrısı azalttığını gösterdi. Ancak, ardışık ölçümlerde gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı. Bu sonuçlara benzer olarak, Kazancıoğlu ve ark. ozon tedavisinin hem postoperatif ağrısı hem de liken planus ilişkili ağrısı azalttığını bildirdi^{23,24}. Sivalingam ve ark. da üçüncü molar cerrahisinden sonra ozonun ağrı dindirici etkisini bildirdi⁴⁰. Ozonun bu etkisi aftöz stomatit gibi şiddetli ağrılı lezyonlarda da belirgin bulundu²².

Bu çalışmanın sınırları içerisinde, ozon tedavisinin gingivektomi ve gingivoplasti cerrahileri sonrası yara iyileşmesini geliştirdiği ve 3. Günde ozon grubunda postoperatif ağrısı azalttığı söylenebilir. Ancak bu çalışmada bazı kısıtlamalar bulunmaktadır. İlk olarak, katılımcı sayısı artırılabilir. İkinci olarak çalışmada yalnızca bilgisayar destekli yara fotoğrafları ve VAS parametre olarak kullanılmıştır. Ozonun etki mekanizmalarıyla ilgili histolojik ve biyokimyasal değerlendirmelerin yapıldığı daha ileri çalışmalar yapılması önerilmektedir.

REFERANSLAR

1. Eming SA, Martin P, Tomic-Canic M. Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. *Sci Transl Med.* 2014;6:265sr266-265sr266.
2. Janis J, Attinger C. The basic science of wound healing. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117:12S-34S.
3. Guo Sa, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res* 2010;89:219-229.
4. Schultz G, Clark W, Rotatori DS. EGF and TGF- α in wound healing and repair. *J Cell Biochem.* 1991;45:346-352.
5. Midwood KS, Williams LV, Schwarzbauer JE. Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004;36:1031-1037.
6. Mutsaers SE, Bishop JE, McGrouther G, Laurent GJ. Mechanisms of tissue repair: from wound healing to fibrosis. *Int J Biochem Cell Biol.* 1997;29:5-17.
7. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *J Int Med Res.* 2009;37:1528-1542.
8. Fitzpatrick E, Holland OJ, Vanderlelie JJ. Ozone therapy for the treatment of chronic wounds: A systematic review. *Int Wound J.* 2018.
9. Patel PV, Kumar V, Kumar S, Patel A. Therapeutic effect of topical ozonated oil on the epithelial healing of palatal wound sites: a planimetric and cytological study. *J Investig Clin Dent.* 2011;2:248-258.

10. Zhang J, Guan M, Xie C, Luo X, Zhang Q, Xue Y. Increased growth factors play a role in wound healing promoted by noninvasive oxygen-ozone therapy in diabetic patients with foot ulcers. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;2014.
11. Valacchi G, Zanardi I, Lim Y, et al. Ozonated oils as functional dermatological matrices: Effects on the wound healing process using SKH1 mice. *Int J Pharm*. 2013;458:65-73.
12. Zeng J, Lu J. Mechanisms of action involved in ozone-therapy in skin diseases. *Int Immunopharmacol*. 2018;56:235-241.
13. Song M, Zeng Q, Xiang Y, et al. The antibacterial effect of topical ozone on the treatment of MRSA skin infection. *Mol Med Rep*. 2018;17:2449-2455.
14. Boch T, Tennert C, Vach K, Al-Ahmad A, Hellwig E, Polydorou O. Effect of gaseous ozone on *Enterococcus faecalis* biofilm—an in vitro study. *Clin Oral Investig* 2016;20:1733-1739.
15. Hayakumo S, Arakawa S, Takahashi M, Kondo K, Mano Y, Izumi Y. Effects of ozone nano-bubble water on periodontopathic bacteria and oral cells-in vitro studies. *Sci Technol Adv Mater*. 2014;15:055003.
16. Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods* 2012;9:671.
17. Ozcelik O, Cenk Haytac M, Kunin A, Seydaoglu G. Improved wound healing by low level laser irradiation after gingivectomy operations: a controlled clinical pilot study. *J Clin Periodontol* 2008;35:250-254.
18. Amora-Silva BF, Ribeiro S, Vieira C, et al. Clinical efficacy of new α -bisabolol mouthwashes in postoperative complications of maxillofacial surgeries: a randomized, controlled, triple-blind clinical trial. *Clin Oral Investig* 2018:1-8.
19. Felipe-de Souza Matos F-d, Godolphim J, Ricardo-Luiz-Cavalcanti Albuquerque-Júnior L, Paranhos R, Sigmar-de Mello Rode C-A, Carvalho T. Laser phototherapy induces angiogenesis in the periodontal tissue after delayed tooth replantation in rats. *J Clin Exp Dent* 2018;10:e335.
20. Merigo E, Oppici A, Parlato A, et al. Platelet-Rich Plasma (PRP) Rinses for the Treatment of Non-Responding Oral Lichen Planus: A Case Report. *Biomedicine* 2018;6:15.
21. Limsitthichaikoon S, Khampaenjiraroach B, Damrongrungruang T, Limphirat W, Thappasaphong S, Pripem A. Topical oral wound healing potential of anthocyanin complex: animal and clinical studies. *Ther Deliv*. 2018;9:359-374.
22. Al-Omiri MK, Alhijawi M, AlZarea BK, Ra'ed S, Lynch E.. Ozone treatment of recurrent aphthous stomatitis: a double blinded study *Sci Rep*. 2016;6:27772.
23. Kazancioglu H, Kurklu E, Ezirganli S. Effects of ozone therapy on pain, swelling, and trismus following third molar surgery. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2014;43:644-648.
24. Kazancioglu HO, Erisen M. Comparison of low-level laser therapy versus ozone therapy in the treatment of oral lichen planus. *Ann Dermatol* 2015;27:485-491.
25. Bayer S, Kazancioglu HO, Acar AH, Demirtas N, Kandas NO. Comparison of laser and ozone treatments on oral mucositis in an experimental model. *Lasers Med Sci*. 2017;32:673-677.
26. Taşdemir Z, Alkan BA, Albayrak H. Effects of Ozone Therapy on the Early Healing Period of Deepithelialized Gingival Grafts: A Randomized Placebo-Controlled Clinical Trial. *J Periodontol* 2016;87:663-671.
27. Xiao W, Tang H, Wu M, et al. Ozone oil promotes wound healing by increasing the migration of fibroblasts via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Biosci Rep*. 2017;37:BSR20170658.
28. Sahin H, Simsek T, Turkon H, et al. The acute effects of preoperative ozone therapy on surgical wound healing. *Acta Cir Bras* 2016;31:472-478.
29. Valacchi G, Sticozzi C, Zanardi I, et al. Ozone mediators effect on “in vitro” scratch wound closure. *Free Radic Res*. 2016;50:1022-1031.
30. Krkl C, Yigit MV, Özeran IH, Aygen E, Gültürk B, Artas G. The Effect of Ozonated Olive Oil on Neovascularization in an Experimental Skin Flap Model. *Adv Skin Wound Care*. 2016;29:322-327.
31. Mutluoglu M, Karabacak E, Karagöz H, Uzun G, Ay H. Topical ozone and chronic wounds: improper use of therapeutic tools may delay wound healing. *N Am J Med Sci*. 2012;4:615.

32. Debnath K, Chatterjee A. Clinical and histological evaluation on the application of platelet concentrates on depigmented gingival epithelium. *J Indian Soc Periodontol.* 2018;22:150.
33. Rauten AM, Silosi I, Stratul SI, et al. Expression of pentraxin 3 and thrombospondin 1 in gingival crevicular fluid during wound healing after gingivectomy in postorthodontic patients. *J Immunol Res.* 2016;2016.
34. Kumar P, Rattan V, Rai S. Comparative evaluation of healing after gingivectomy with electrocautery and laser. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2015;5:69-74.
35. Beltran SR, Svoboda KK, Kerns DG, Sheth A, Prockop DJ. Anti Inflammatory Protein Tumor Necrosis Factor- α -Stimulated Protein 6 (TSG-6) Promotes Early Gingival Wound Healing: An In Vivo Study. *J Periodontol* 2015;86:62-71.
36. Cáceres M, Oyarzun A, Smith P. Defective wound-healing in aging gingival tissue. *J Dent Res.* 2014;93:691-697.
37. Giannelli M, Formigli L, Bani D. Comparative Evaluation of Photoablative Efficacy of Erbium: Yttrium-Aluminium-Garnet and Diode Laser for the Treatment of Gingival Hyperpigmentation. A Randomized Split-Mouth Clinical Trial. *J Periodontol* 2014;85:554-561.
38. Hegde R, Padhye A, Sumanth S, Jain AS, Thukral N. Comparison of surgical stripping; erbium-doped: yttrium, aluminum, and garnet laser; and carbon dioxide laser techniques for gingival depigmentation: a clinical and histologic study. *J Periodontol* 2013;84:738-748.
39. Jensen MP, Karoly P, Braver S. The measurement of clinical pain intensity: a comparison of six methods. *Pain* 1986;27:117-126.
40. Sivalingam VP, Panneerselvam E, Raja KV, Gopi G. Does Topical Ozone Therapy Improve Patient Comfort After Surgical Removal of Impacted Mandibular Third Molar? A Randomized Controlled Trial. *J Oral Maxillofac Surg.* 2017;75:51. e51-51. e59.