

HİPERBARİK OKSİJENİN SIÇAN SOLUNUM SİSTEMİNDE OLUŞTURDUĞU DEĞİŞİKLİKLERDE VİTAMİN E VE C KOMBİNASYONUNUN ETKİSİ

Erkan KIBRISLI*
Erdal KARAÖZ**
Münire GÖKİRMAK***
Murat YAĞMURCA****
M. Kemal IRMAK****

*Ankara Hastanesi, Aile Hekimliği Servisi, ANKARA
**Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fak. Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, ISPARTA
***İnönü Üniversitesi Tıp Fak. Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, MALATYA
****İnönü Üniversitesi Tıp Fak. Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, MALATYA

Yazışma Adresi

Doç. Dr. M. Kemal IRMAK
İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı,
MALATYA
Tel: 0 422 336 45 49
e-posta: k.irmak@usa.net

Oksijen organizmada canlılığın devamı için tüm hücrelerin vazgeçilmez gereksinimidir. Hiperbarik oksijen (HBO) uygulaması, son yıllarda kullanılmaya başlanan bir tedavi şekli olup, deniz seviyesindeki atmosferik basınçtan daha yüksek basınçlarda oksijen kullanımını kapsayan bir tedavi yöntemidir. Yakın zamanda ülkemizde de bazı merkezlerde kullanım alanına girmiştir. Ancak, olumlu veya olumsuz etkileri henüz yeterince bilinmemektedir. Bununla birlikte, HBO'nun akciğer, karaciğer ve merkezi sinir sisteminde lipid peroksidasyonuna bağlı toksik etkiler oluşturduğu belirlenmiştir.¹⁻³ Oksidan strese karşı, organizmanın koruyucu mekanizmaları vardır. Oluşan oksijen radikalleri, ilk aşamada antioksidan enzimlerle

Amaç: Bu çalışmada, sıçan solunum sisteminde hiperbarik oksijen (HBO) uygulamasıyla oluşan yapısal değişiklikler ve bu değişikliklere E ve C vitaminlerinin etkileri araştırıldı.

Materyal ve Metot: Otuz yetişkin sıçan, kontrol, HBO ve HBO+Vit grupları şeklinde üç ayrı grupta incelendi. HBO ve HBO+Vit gruplarına 45 gün süreyle HBO uygulandı; HBO+Vit grubuna ise ek olarak intraperitoneal yoldan E ve C vitaminleri verildi.

Bulgular: HBO grubuna ait dokuların histolojik incelemelerinde, trakeada epitel kalınlaşması, akciğerde ise alveoler septumda kalınlaşma, amfizem ve mononükleer hücre infiltrasyonları izlendi. HBO ile beraber vitamin uygulamasının trakea ve akciğerde oluşan olumsuz etkileri azalttığı gözlemlendi.

Sonuç: E ve C vitamin kombinasyonunun HBO'ya bağlı gelişen trakea ve akciğer doku hasarını azaltmada etkili olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: HBO, akciğer, trakea, antioksidan tedavi.

The effects of vitamin E and C combination on hyperbaric oxygen-induced lung toxicity in rats

Objectives: We examined the histopathological changes in the respiratory system of the rats induced by hyperbaric oxygen (HBO) administration and the effects of vitamin E and C on these alterations.

Materials and Methods: Thirty adult rats were divided into three groups as control, HBO and HBO+Vit groups. Twenty animals in HBO and HBO+Vit groups were exposed to HBO on a daily basis for 45 days. Additionally, vitamin E and C were administered to the rats in the HBO+Vit group intraperitoneally during HBO exposure.

Results: Histologic examination in HBO group demonstrated epithelial thickening in the trachea, increase in the thickness of alveolar septae, emphysema and mononuclear cell infiltration in lung tissue. Vitamin administration in addition to HBO seemed to reduce the negative effects of HBO on the trachea and lungs of the rats.

Conclusions: It is concluded that vitamin E and C have positive effect on limiting the tissue damage caused by HBO.

Key words: HBO, lung, trachea, antioxidant treatment.

ortadan kaldırılmaktadır. Antioksidan savunmanın çok önemli ikinci kısmını, lipid peroksidasyon zincirlerini kıran antioksidan maddeler oluştururlar. E ve C vitamini bunlardan en güncel olanlarıdır.^{4,5} Bu çalışma, yüksek basınçlı oksijene maruz bırakılan sıçanların trakea ve akciğer dokularında meydana gelebilecek değişiklikleri ve bunun üzerine E ve C vitamini kombinasyonu uygulamasının etkilerini göstermek amacıyla planlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, ağırlıkları 180-270 gr. arasında değişen, erkek Wistar Norvegicus cinsi albino sıçanlar kullanıldı (n=30). Çalışmada kullanılan hayvanlar üç eşit gruba ayrıldı; Grup I (kontrol), Grup II (HBO) ve Grup III

(HBO+Vit.). Grup II ve III'deki sıçanlara 45 gün süreyle günde 60 dakika 3 Mutlak Atmosfer Basıncında (ATA) HBO uygulandı.

HBO Düzenegi: Çalışmada, uzunluğu 38 cm, iç çapı 24,5 cm olan silindir şeklinde bir basınç odası kullanıldı. Yüksek basınçlı oksijen, ticari amaçla doldurulmuş tüplerden sağlandı. Düzenek içerisindeki oksijen basıncı, seans başlangıcında göreceli olarak artırılarak 10 dakika sonunda 3 ATA'ya ayarlandı. 45 dakika süreyle basınç sabit tutulup, çalışma bitiminde yine göreceli olarak azaltılarak beş dakika sonunda normobarik şartlara döndü. Ventilasyon sonucunda birikecek karbondioksiti tutmak amacıyla soda-lime, nemi absorbe edebilmek amacıyla silika jeli kullanıldı. Grup III'deki sıçanlara, HBO uygulamalarından üç gün öncesinden başlayarak deney süresince haftada üç defa E vit. (alfa-tokoferol asetat; 40 mg/kg) ve C vit. (sodyum askorbik asit; 200 mg/kg) intraperitoneal (i.p.) olarak enjekte edildi. Kontrol grubu hayvanlara, deney süresince aynı sürelerde normobarik atmosfer havası uygulandı. Bunun için, sabit akım pompası ile solunum havası verildi. Ayrıca, eşit hacimlerde serum fizyolojik i.p. olarak uygulandı. Deney sonunda formalinle perfüze edilen hayvanların trakea ve akciğer dokuları çıkartılarak parafin blokla için rutin takipleri yapıldı. Elde edilen parafin kesitler (4-6 mikrometre) hematoksilin-eozin ve toluidin mavisi ile boyanarak ışık mikroskopik incelemeye alındı.

BULGULAR

Kontrol grubundaki hayvanlara ait trakea ve



Şekil 1. Deney süresince günde 60 dakika süreyle 3 ATA'lık HBO uygulanmış gruba ait trakea görüntüsü. Solunum epitelinde yer yer kalınlaşmalar (oklar), bazı bölgelerde ise dökülmeler izleniyor (Toluidin mavisi; x48).

akciğer dokularının mikroskopik incelemelerinde, bu organlara özgü normal yapılar izlendi. Deney süresince her gün 60 dakika süreyle 3 ATA'lık HBO uygulanan sıçanların trakea ve akciğer dokularında ise önemli yapısal değişiklikler saptandı. Trakea dokusunda; epitelde yer yer kalınlaşmalar, bazı epitel hücrelerinde dökülmeler ve lamina propria da diffüz lenfoid infiltrasyonlar izlendi (Şekil 1).

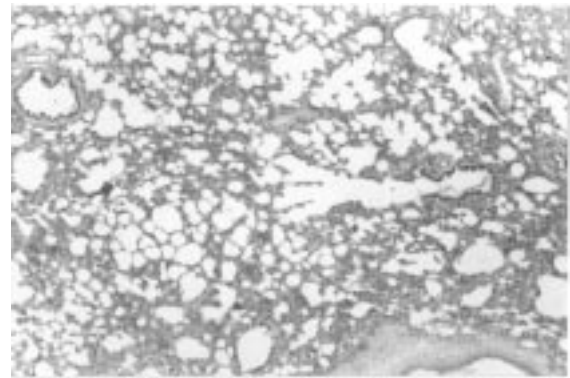
Akciğer dokusunda ise, alveoler duvar kalınlaşması, amfizematöz değişiklikler, perivasküler-peribronşiyal alanlarda ve alveoler septumlarda mononükleer hücre infiltrasyonları gözlemlendi (Şekil 2).

HBO ve intraperitoneal antioksidan vitamin uygulanan grupta ise, HBO'ya bağlı olarak ortaya çıkan histopatolojik tablonun tüm deneklerde önemli oranda azaldığı saptandı. Trakeada yer yer epitelyal düzensizlikler görülmesine rağmen, kalınlaşma ve sil dökülmeleri gözlenmedi. Bununla birlikte, hafif düzeyde de olsa diffüz lenfoid infiltrasyonlara rastlandı (Şekil 3).

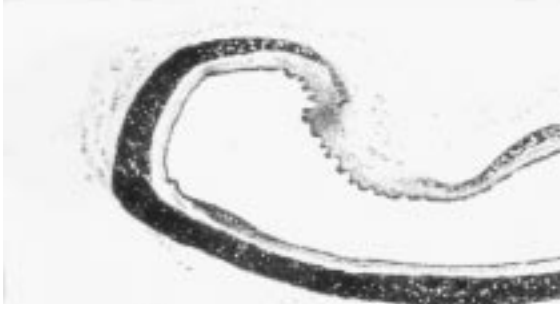
Akciğer dokusunda ise, önceki deney grubunda gözlenen tüm yapısal değişikliklerin daha hafif şiddette olduğu belirlendi (Şekil 4).

TARTIŞMA

Hiperbarik oksijen (HBO) uygulaması, periferel vasküler iskemi, karbonmonoksit zehirlenmesi ve lokalize anaerobik enfeksiyonlar başta

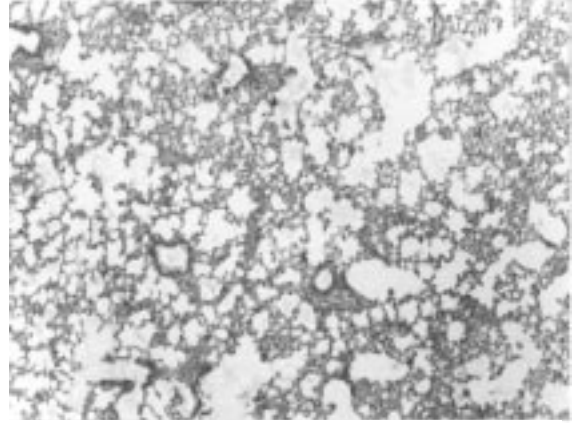


Şekil 2. Yalnız HBO uygulanmış deney grubunda, alveollerde genişlemeler ve yer yer alveol duvar kalınlaşmalarıyla karakterize ileri derecede hasarlanmış akciğer dokusu izlenmektedir (H&E; x48).



Şekil 3. Deney süresince HBO ve antioksidan vitamin tedavisi uygulaması yapılmış gruba ait trakea dokusunun görünümü. Epitelde kalınlaşma ve dökülmeler izlenmemektedir (Toluidin mavisi; x48).

olmak üzere bir çok olgunun tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak HBO, uygulama süresine bağlı olarak, karaciğer, beyin ve akciğer dokusunda toksisiteye neden olmaktadır. Merkezi sinir sistemi toksisitesi konvülsiyonla, akciğer toksisitesi hemoraji ve atalektazi ile karakterizedir¹⁻³. Fischer ve ark.⁶, 6-11 saat süreyle 2 ATA'lık oksijen soluyanlarda akciğer dinamiklerinin %15 azaldığını bildirmiştir. Başka bir çalışmada, 90 dakika süreyle 3 ATA'lık oksijen solutulan deneklerin akciğer fonksiyonlarında azalma saptanmıştır.⁷ Araştırmacılar, bu değişikliklerin ortadan kaldırılabilmesi için oksijen uygulama dönemleri arasında 36 saatlik dinlenme periyotları önermişlerdir. Diğer taraftan, üç ay süreyle haftada iki-üç kez 90 dakikalık süreyle 2,4 ATA'lık HBO uygulandığında, geçici akciğer fonksiyon bozuklukları saptanmıştır.⁸ Davis ve ark.⁹, hiperoksiye bağlı insan alveoler yapılarındaki erken geçici değişiklikleri tanımlamışlar ve %95'lik oksijeni 17 saat süreyle soluyanlarda anlamlı bir alveoler kapiller sızıntı tespit etmişlerdir. Bu değişikliklerin, fibrozis ile sonuçlanabilen değişiklikleri başlatabileceği düşünülmüştür. HBO uygulamasıyla oluşan akciğer dokusundaki değişikliklerin, HBO uygulama süresine ve düzeyine bağlı olduğu rapor edilmiştir¹⁰. Tüm bu çalışmaların sonuçları, bizim sonuçlarla uygunluk göstermektedir. HBO uygulamalarında akciğer dokusunda, endotel ve epitel geçirgenliğindeki artış, interstisyel ve alveoler ödem ve hemorajiye neden olmaktadır.^{11,12} Son yıllarda, HBO uygulamalarına bağlı olarak gelişen akciğer toksisitesinin mekanizmasıyla ilgili olarak çeşitli görüşler ileri sürülmüştür. HBO'nin büyük oranda sürfaktan sentezi üzerine olan etkisinden söz edilmiştir. Hiperbarik oksijenin, sürfaktan sentezinde rol



Şekil 4. E ve C vitamin kombinasyonu ile tedavi edilmiş grupta, amfizematöz değişiklikler dışında diğer bulguların önemli oranda azaldığı gözleniyor (H&E; x48).

oyunayan enzimleri ve sürfaktanın alveollere taşınmasını inhibe ettiği ileri sürülmüştür¹³. Ayrıca, oluşan akciğer hasarında, serotonin klirensinde ve prostaglandin metabolizmasında düşüşler söz konusudur.¹⁴ Hiperoksinin bu metabolik etkileri akciğer hasarının büyük belirtilerinden önce oluşmakta ve akciğerin oksijen toksisitesine ait hassas bir göstergesi olabilmektedir. Yakın zamanda gerçekleştirilen ve HBO'nin neden olduğu toksisitenin mekanizmasını açıklamaya yönelik birçok araştırmanın sonuçları, serbest oksijen radikal teorisi üzerinde yoğunlaşmıştır.¹⁵⁻²² HBO'ya bağlı oksijen toksisitesinin gelişiminde serbest oksijen radikalleri ya da reaktif oksijen metabolitlerinin rolleri birkaç şekilde gösterilmiştir. Hiperoksiye maruz bırakılan deney hayvanlarının akciğerlerinde süperoksit iyonları, hidrojen peroksit ve lipid peroksitlerinin arttığı gösterilmiştir¹¹. Hiperoksik şartlarda, sıçan akciğer dokusunda antioksidan savunma elemanları olan glutasyon, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, glutasyon redüktaz, glutasyon peroksidaz ve süperoksid dismutaz (SOD)'ın hiperoksiye yanıt olarak arttığı saptanmıştır^{16,22}. Glutatyondan yoksun bırakılan farelerde hiperoksiye bağlı ölüm oranının arttığı gözlenmiştir.²¹ HBO'ya bağlı akciğer hasarının, katalaz ve SOD ile tedavi edilmiş sıçanlarda önemli oranda azaldığı ve ortalama yaşam sürelerinin de arttığı bildirilmektedir.^{16,22} HBO uygulaması yapılmış deney hayvanlarında, SOD'ın inhibe edilmesiyle konvülsiyon artışı ve ortalama yaşam sürelerinde azalma saptanmıştır. SOD ve katalaz ön-tedavisi yapılmış sıçanlarda ise

bu durumun önemli oranda düzeldiği saptanmıştır²³. İlaveten, Puglia ve ark.²⁰, bir SOD inhibitörü olan dietilditiokarbamatın, HBO'ya bağlı olarak gelişen merkezi sinir sistemi toksisitesini artırdığını göstermişlerdir. HBO uygulamalarının, yalnızca akciğer ve beyin dokularında değil, diğer organ ve dokularda (kan, kas, karaciğer gibi) da serbest oksijen radikal düzeylerini artırdığı ve buna bağlı olarak antioksidan savunma enzim düzeylerini düşürdüğü gösterilmiştir.^{1,2,18,19,24} Yine bu çalışmalarda, HBO uygulamasıyla beraber antioksidan vitamin (E ve C vitaminleri) uygulamalarının HBO'nun neden olduğu radikal toksisitesini önlediği saptanmıştır. Boadi ve ark.¹⁵, HBO'nun sıçan akciğerinde neden olduğu biyolojik oksidatif hasara karşı E vitamini, riboflavin ve selenyum gibi antioksidanların çeşitli kombinasyonlarının etkilerini araştırmış ve sonuç olarak, kullanılan bu kombinasyonların tümünün HBO'nun neden olduğu hasara karşı önemli oranda koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir. Bu antioksidan tedavi, özellikle potent antioksidan enzim sentezini artırmış ve oksitlenme sonucu ortaya çıkan hidrojen peroksit ve lipid peroksitlerini suya ve toksik olmayan lipid hidroksitlere dönüştürmüştür. Bizim çalışmamızda, 45 gün süreyle günde 60 dakika 3 ATA'lık HBO'ya maruz bırakılan sıçanların trakea ve akciğer dokularının histolojik incelemelerinde, önceki çalışmalara benzeyen bulgular gözlemlendi. Trakea epitelindeki kalınlaşma, yüksek basınçlı oksijene maruz kalan epitel hücrelerindeki proliferasyondan kaynaklanıyor olabilir. Vitamin grubundaki epitel kalınlığının HBO grubuna nazaran daha az bulunması da vitaminlerin HBO toksisitesini azalttığını gösterebilir. Akciğerdeki en belirgin özellikler ise alveoler septum kalınlaşması, amfizematöz değişiklikler ve mononükleer hücre infiltrasyonlarıydı. Akciğer hasarına yol açan mekanizmalardan biri, bölgeye gelen lökositlerden açığa çıkan reaktif oksijen metabolitlerinin toksik etkisidir. Özellikle, HBO uygulamasında, oksijenin akciğerlerde yüksek oranda bulunması, bu hücrelerin toksik etkilerini daha da artırıyor olabilir. Vitaminler de, etkilerini bu metabolitlerin toksik etkilerini gidererek gösteriyor olabilir. Sonuç olarak, çeşitli organ ve dokularda oksidatif hasara neden olduğu bilinen HBO'nun, bu çalışmada da solunum

sisteminde önemli toksik etki gösterdiği saptandı. İlaveten, bu çalışmada tedavi amaçlı kullanılan antioksidan vitamin kombinasyonunun HBO'ya bağlı toksisiteyi önemli oranda azalttığı gösterildi. Bu ve diğer çalışmaların sonuçlarına dayanarak, tedavi amaçlı HBO uygulaması yapılan bireylerde düzenli antioksidan vitamin tedavisinin yararlı olabileceği sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

1. Bertelli A, Cerrati A, Giovannini L, Mian M. Hyperbaric oxygen- and ethanol- induced infiltration of rat hepatic triglycerides and the protective action of coenzyme A. *Int J Tiss Reac* 1990; 12:359-62.
2. Bertelli A, Cerrati A, Giovannini L, Mian M. Protective action of L-carnitine and coenzyme Q10 against hepatic triglyceride infiltration induced by hyperbaric oxygen and ethanol. *Drugs Exptl Clin Res* 1993; 19:65-8.
3. Deneke SM, Fanburg BK. Oxygen toxicity of the lung. An update. *Br J Anaesth* 1982; 54:737-49.
4. Irmak MK, Etlik Ö, Dalgık H, Özcan O, Tomur A, Köksal V. Effects of Vitamin E on the sulphur dioxide toxicity in the respiratory tract of guinea pigs. *Turkish J Med Sci* 1996; 26: 171-5.
5. Packer L, Landvik S. Vitamin E: Introduction to biochemistry and health benefits. *Ann NY Acad Sci* 1989; 570:1-21.
6. Fisher AB, Hyde RW, Puy RJM. Effects of O₂ at two atmospheres on the pulmonary mechanics of normal man. *J Appl Physiol* 1968; 24:259-66.
7. Gerbershagen HV, Kuffner H, Rocker H. Lungenmechanik und pulmonaler Gasaustausch nach hyperbarer oxygenierung. *Anaesthesist* 1977; 26:433-52.
8. Adamiec L, Kaminski B, Kwiatkowski H. Hyperbaric oxygen in treatment of acute carbon monoxide poisoning. *Anaesth Res Int Ther* 1975; 3:305-13.
9. Davis WB, Rennard SI, Bitterman PB. Pulmonary oxygen toxicity: early reversible changes in human alveolar structures induced by hyperoxia. *N Engl J Med* 1983; 209:878-83.
10. Bokerya LA, Doroshevich VN, Rabalov AG. On the pathogenesis of structural lung changes in normobaric and hyperbaric oxygenation. *Anesteziol Reanimatol* 1977; 1:53-9.
11. Harabin AL, Braisted JC, Flynn ET. Response of antioxidant enzymes to intermittent and continuous hyperbaric oxygen. *J Appl Physiol* 1990; 69:328-35.
12. Jain KK. Hyperbaric chambers, equipment, technique, and safety. *Textbook of Hyperbaric Medicine*, Hogrefe-Huber publishers, 1990: 77-93.
13. Gilder H, McSherry CK. Mechanism of oxygen inhibition of pulmonary surfactant synthesis. *Surgery* 1974; 76:72-9.
14. Said SI. Environmental injury of the lung. Role of mediators. *Federation proceedings*, 1988; 37:2504-7.
15. Boadi WY, Thaire L, Kerem D, Yannai S. Effects of dietary supplementation with vitamin E, riboflavin and selenium on central nervous system oxygen toxicity. *Pharmacol Toxicol* 1991; 68:77-82.
16. Crouch LS, Prough RA, Kennedy KA, Snyder JB. Rat lung antioxidant enzyme activities and their specific proteins during hyperoxia. *J Appl Physiol* 1988; 65:797-804.
17. Lutz J, Stark M. Administration of perfluorochemicals under hyperbaric oxygen pressure and treatment with free oxygen radical scavengers. *Biomater Art Cell Ard Org* 1988; 16:395-402.
18. Nishiki K, Jamieson D, Oshino N, Chance B. Oxygen toxicity in the perfused rat liver and lung under hyperbaric conditions. *Biochem J* 1976; 160:343.
19. Nylander G, Otamiri T, Lewis DH, Larsson J. Lipid peroxidation products in posts ischemic skeletal muscle and after treatment with hyperbaric oxygen. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1989; 23:97-103.
20. Puglia CD, Loeb GA. Influence of rat brain superoxide dismutase by inhibition by diethyldithiocarbamate upon the rate of

- development of central nervous system oxygen toxicity. Toxicol
21. Purucker E, Lutz J. Effect of hyperbaric oxygen treatment and perfluorochemical administration on glutathione status of the lung. Oxygen transport to tissue XIV. New York: Plenum Press, 1992.
22. Turren JF, Crapo JD, Freeman BA. Protection against oxygen toxicity by intravenous injection of liposome trapped catalase and superoxide dismutase. J Clin Invest 1984; 73:87-95.
23. Yusa T, Crapo JD, Freeman BA. Liposome-mediated augmentation of brain, SOD and catalase inhibits CNS oxygen toxicity. J Appl Physiol 1984; 57:1641-81.
24. Marubayashi S, Dohi K, Ochi K, Kawasaki T. The role of free radicals in ischemic rat liver cell injury: Prevention of damage by alpha-tocopherol administration. Surgery 1986; 99:184-191.
- Appl Pharmacol 1984; 75:258-64.

