

**T.C.
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ KOMUTANLIĞI
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ /SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SUALTI HEKİMLİĞİ VE HİPERBARİK TIP ANABİLİM DALI**

**UZUN DÖNEM HİPERBARİK OKSİJEN
UYGULAMALARININ SIÇAN AKCİĞER DOKUSUNDAKİ
OKSİDAN-ANTIOKSİDAN PARAMETRELER ÜZERİNE
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Kemal ŞİMŞEK
Dz. Tbp. Bnb.

**SUALTI HEKİMLİĞİ VE HİPERBARİK TIP
DOKTORA TEZİ**

Ankara
2009

T.C.
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ KOMUTANLIĞI
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ /SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SUALTI HEKİMLİĞİ VE HİPERBARİK TIP ANABİLİM DALI

UZUN DÖNEM HİPERBARİK OKSİJEN
UYGULAMALARININ SIÇAN AKCİĞER DOKUSUNDAKİ
OKSİDAN-ANTIOKSİDAN PARAMETRELER ÜZERİNE
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Kemal ŞİMŞEK
Dz. Tbp. Bnb.

Gülhane Askeri Tıp Akademisi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'nün
Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp Programı
İçin Öngördüğü
DOKTORA TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

TEZ DANIŞMANI
Hakan AY
Doç. Dz. Tbp. Kd. Bnb.

Ankara
2009

ONAY SAYFASI

GATA Askeri Tıp Fakóltesi Dekanlığına;

“Uzun Dönem Hiperbarik Oksijen Uygulamalarının Sıçan Akciğer Dokusundaki Oksidan-Antioksidan Parametreler Üzerine Etkilerinin İncelenmesi” konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp Anabilim Dalı’nda Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez danışmanı : Doç. Dz. Tbp. Kd. Bnb. Hakan AY

Üye : Prof. Dz. Tbp. Kd. Alb. Zafer KURUMLU

Üye : Prof. Dr. Metin BAŞTUĞ

Üye : Doç. Hv. Tbp. Kd. Bnb. Şükrü ÖTER

Üye : Doç. Hv. Tbp. Yb. Özgür YEŞİLYURT

Üye : Doç. Dz. Tbp. Kd. Bnb. Hakan AY

Üye (yedek) : Doç. Hv. Tbp. Yb. Ahmet KORKMAZ

Üye (yedek) : Prof. Dr. Hakan ERGUN

ONAY :

Dz. Tbp. Bnb. Kemal ŞİMŞEK’ in 01.06.2009 tarihinde savunduğu bu tez, Akademi Kurulu’nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kurulu'nun 08 ŞUBAT 2008 gün ve 188 sayılı oturumunda alınan karar gereğince Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp Anabilim Dalı Başkanlığı'nda yapılmıştır. Bu çalışmada 'uzun dönem hiperbarik oksijen uygulamalarının sıçan akciğer dokusunda oksidan–antioksidan parametreler üzerine etkilerinin incelenmesi' konusu hedeflenmiştir.

Çalışmalarım sırasında her konuda yardım, destek, emek ve hoşgörüsünü asla esirgemeyen ve motivasyonumun her zaman en üst düzeyde tutulmasını sağlayan tez danışmanım Doç. Dz. Tbp. Kd. Bnb. Hakan AY'a, öğrenimim döneminde klinik direktörümüzü yapmış olan değerli hocam; Prof. Dz. Tbp. Kd. Alb. Zafer KURUMLU' ya, tez dönemimin tüm aşamalarında ve her konuda daima yardımcı olan ve yol gösterici tavsiyelerde bulunan GATA Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dz. Tbp. Yb. Şenol YILDIZ'a, aynı zamanda tezimin izleme komitesi üyesi olan ve tecrübelerini benimle paylaşarak çalışma sevincimi çoğaltan Doç. Hv. Tbp. Kd. Bnb. Şükrü ÖTER'e ve Doç. Hv. Tbp. Yb. Özgür YEŞİLYURT'a, eğitimimdeki önemli katkılarından dolayı Doç. Dz. Tbp. Alb. Kadir DÜNDAR'a, çalışmamın özellikle analizlerinde ve diğer aşamalarındaki değerli katkılarından dolayı Doç. Tbp. Bnb. Turgut TOPAL'a, ayrıca benimle bizzat tezimin başından sonuna kadar tüm aşamalarında yanımda bulunan, deneyimlerinden faydalandığım, Uzm. J. Tbp. Yzb. Mehmet ÖZLER'e, biyokimyasal çalışmalarımı beraber yaptığımız Sayın Uzm. Tbp. Tğm. Ali MAGEMİZOĞLU'na ve Svl. Me. Biyolog Serap OBUT SAVAŞÇI'ya, çalışmamda kullandığım deney hayvanlarının temini ve titiz bakımları konusunda yardımlarını esirgemeyen GATA Araştırma ve Geliştirme Merkezi Deney Hayvanları Kısım Amiri Uzm. Vet. Hek. Kd. Alb. Tayfun İDE başta olmak üzere, kısım personeline ve beni desteklemiş olan Anabilim Dalımızdaki değerli tüm çalışma arkadaşlarıma, teşekkür ederim.

Kemal ŞİMŞEK
Dz. Tbp. Bnb.

ÖZET

Uzun dönem hiperbarik oksijen uygulamalarının sıçan akciğer dokusundaki oksidan–antioksidan parametreler üzerine etkilerinin incelenmesi

Hiperbarik oksijenin (HBO) yaygın kullanımına ve bilinen yararlarına rağmen, serbest oksijen radikali üretimini de artırarak vücut dokularında oksidatif strese de neden olabildiği bildirilmektedir. Önceki çalışmalarda, HBO kaynaklı oksidatif stresin, gerek uygulama basıncı gerekse süresi ile doğru orantılı olarak arttığı görülmüştür. Bununla birlikte, bu konuda yapılmış araştırmalar çoğu kez tek seanslık uygulamalar ile gerçekleştirilmiştir. Oysa klinikte HBO kullanımı genellikle daha uzun bir döneme yayılmış uygulamalara dayanmaktadır. Bu çalışmada 5 seanstan başlamak üzere, 40 seanslık ileri örneklere kadar, uzun dönem HBO uygulamasının sıçanların akciğer dokusunda oksidatif stres yönünden ne şekilde etkili olduğunun aydınlatılması amaçlandı. Oksidatif stres göstergeleri olarak lipid peroksidasyonu son ürünü malonildialdehit (MDA), protein karbonilasyonu düzeyi (PCO) ile bunun yanında antioksidan enzimler olan süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri ölçüldü. Doku örnekleri her grup için son HBO uygulamasını takip eden 24. saatte alındı. Ölçülen parametrelerde ilk 15 seansa kadar olan gruplarda hiçbir değişikliğe rastlanmadı. Bunu aşan 20, 30 ve 40 seanslık HBO gruplarının ise hepsinde anlamlı MDA, PCO ve SOD artışı görüldü. Bu bulgular, özellikle uzun süreli HBO tedavisi gerektiren durumlarda tabloya bir oksidatif stresin egemen olmaya başladığını ve bu gibi vakalar için, bizim, profilaktik olarak antioksidan kullanmamızın yerinde olacağını düşündürdü.

Anahtar Kelimeler : Hiperbarik oksijen, Oksidatif stres, Lipid Peroksidasyonu, Protein Oksidasyonu, Antioksidan Enzimler, Sıçan Akciğer Dokusu

Yazar Adı : Dz. Tbp. Bnb. Kemal ŞİMŞEK

Danışman : Doç. Dz. Tbp. Kd. Bnb. Hakan AY

SUMMARY

Investigation of the effects of long-term hyperbaric oxygenation on the oxidative and antioxidant parameters of rats' lung tissue

Despite to its common clinical use and known benefits, hyperbaric oxygen (HBO) is also reported to enhance the production of reactive oxygen species and therefore can cause oxidative stress in several tissues. Previous studies had shown that HBO-induced oxidative stress is directly proportional to both its exposure pressure and duration. Nevertheless, these studies were usually performed with single-session HBO exposures. On the other hand, the clinical use of HBO commonly depends on a long-term exposure period. In this study, it was aimed to enlighten the oxidative effect of HBO in the lung tissue of rats which were exposed to HBO from 5 up to 40 sessions. Malonyldialdehyde (MDA), end product of lipid peroxidation, and carbonylated protein (PCO) levels were determined as measures of oxidative stress, along with the activities of the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase. Tissue specimens were obtained 24 hours after the last HBO session for each study group. For the first 15 sessions, none of the measured parameters represented any changes. But in the 20, 30 and 40-session groups MDA, PCO and SOD were found to be significantly increased. These findings indicate that HBO clearly causes oxidative stress in rats' lung tissue and that the use of antioxidants for prophylaxis is reasonable, in particular for patients with longer exposure procedures.

Keywords : Hyperbaric Oxygen, Oxidative Stress, Lipid Peroxidation, Protein Oxidation, Antioxidant Enzymes, Rat Lung Tissue

Author : Dz.Tbp.Bnb. Kemal ŞİMŞEK

Counsellor : Doç.Dz.Tbp.Bnb. Hakan AY

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Hiperbarik Oksijen	3
2.1.1. Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Tanımı	3
2.1.2. Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Tarihsel Gelişim Süreci	4
2.1.3. Hiperbarik Oksijenin Temel Prensipleri	5
2.1.4. Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Diğer Sistemler Üzerine Etkisi	8
2.2. Serbest Radikaller	15
2.2.1. Kavram Olarak Serbest Radikaller	15
2.2.2. Reaktif Oksijen Türevlerinin Oluşumu	16
2.2.3. Serbest Radikal Reaksiyonları	18
2.3. Antioksidan Savunma Sistemleri	20
2.3.1. İntrasellüler Enzimatik Antioksidan Savunma	21
2.3.2. Nonenzimatik Antioksidanlar	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. Deney Hayvanları	26
3.2. Deney Grupları	26
3.3. Hiperbarik Oksijen Uygulaması	27
3.4. Akciğer Dokusunun Hazırlanması	28
3.5. Biyokimyasal Analizler	29

3.5.1. Akciğerlerin Homojenizasyonu	29
3.5.2. Doku Protein Miktarının Ölçümü	30
3.5.3. Lipid Peroksidasyonu Düzeyinin Ölçümü	30
3.5.4. Protein Karbonil Düzeyinin Ölçümü	31
3.5.5. Total Süperoksit Dismutaz Aktivitesi Ölçümü	32
3.5.6. Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Ölçümü	33
3.6. İstatiksel Analizler	33
4. BULGULAR	34
4.1. Malonildialdehid Düzeyleri	35
4.2. Karbonile Protein Düzeyleri	36
4.3. Süperoksit Dismutaz Aktiviteleri	37
4.4. Glutasyon Peroksidaz Aktiviteleri	38
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	46
7. KAYNAKLAR	48

SİMGELER VE KISALTMALAR

ATA	:Atmosfer Absolute
cAMP	:Siklik Adenozin Monofosfat
CAT	:Katalaz
CO	:Karbon Monoksit
CO ₂	:Karbon Dioksit
CuZn-SOD	:Bakır çinko süperoksit dismutaz
DNA	:Deoksiribonükleik Asit
2,4-DPH	:2,4-Dinitrophenylhydrazine
EDTA	:Etilendiamin tetraasetikasit
EUBS	:European Underwater and Baromedical Society
GATA	:Gülhane Askeri Tıp Akademisi
G-6-PDH	:Glukoz 6-fosfat Dehidrojenaz
GR	:Glutasyon Redüktaz
GSH	:Glutasyon
GSH-Px	:Glutasyon Peroksidaz
GSSG	:Glutasyon Disüfit
H ₂ O ₂	:Hidrojen Peroksit
HBO	:Hiperbarik Oksijen
MDA	:Malonildialdehid
NADP	:Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NE	:Norepinefrin
NO	:Nitrik Oksit
NO _x	:Nitrit-Nitrat
O ₂ ⁻	:Süperoksit Anyonu
OH [·]	:Hidroksil Radikali
PCO	:Protein Karbonil
PUFA	:Poly unsaturated fatty acids
PO ₂	:Parsiyel oksijen basıncı
RNT	:Reaktif Nitrojen Türevleri
RO [·]	:Alkoksi radikali
ROO [·]	:Peroksi radikali
ROT	:Reaktif Oksijen Türevleri

SF	:Serum Fizyolojik
SOD	:Süperoksit Dismutaz
TCA	:Triklorasetik Asit
TBA	:Tiyobarbitürik Asit
UHMS	:Undersea and Hyperbaric Medical Society
VK	:Vital Kapasite
XO	:Ksantin Oksidaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil Adı	Sayfa
Şekil 2.1. Reaktif oksijen türevlerinin oluşumu	17
Şekil 2.2. Serbest radikallerin oluşturduğu hücre hasarı	20
Şekil 2.3. Oluşan çeşitli ROT'lara karşı enzimatik savunma	23
Şekil 3.1. Hiperbarik oksijen cihazı	27
Şekil 4.1. Tüm gruplarda MDA düzeyleri	35
Şekil 4.2. Tüm gruplarda PCO düzeyleri	36
Şekil 4.3. Tüm gruplarda SOD düzeyleri	37
Şekil 4.4. Tüm gruplarda GSH-Px düzeyleri	38

TABLolar DİZİNİ

Tablo Adı	Sayfa
Tablo 2.1. Değişik Basınçlarda Plazmada Çözünmüş Oksijen İçeriği	7
Tablo 2.2. HBO Uygulaması ile Ulaşılan Doku Parsiyel Oksijen Basıncı Düzeyleri (mmHg)	7
Tablo 4.1. Tüm gruplarda oksidatif ve antioksidan parametreler	39

1.GİRİŞ

Hiperbarik oksijen (HBO), günümüz tıbbında artık birçok hastalığın tedavi ve yardımcı tedavisinde yaygın olarak kullanıma girmiş bulunmaktadır. Bu uygulama doku oksijen düzeylerini 10–15 kat artırarak doku iyileşmesine katkıda bulunmaktadır. Refrakter osteomyelit, gazlı gangren, anaerobik mikroorganizmaların da işe karıştığı mikst yumuşak doku enfeksiyonları, akut iskemi ile sonuçlanan travmatik yaralanmalar, çeşitli deri greftleri ve iyileşmeyen yaralar gibi zor vakalar HBO uygulamasından fayda görebilen durumlar arasında yer almaktadır. HBO'nun bu yaygın kullanımına ve bilinen yararlarına rağmen, yer yer serbest oksijen radikali üretimini de artırarak oksidatif strese neden olduğu da bildirilmektedir. Diğer yandan, HBO uygulamalarının vücudun endojen antioksidan savunma sistemini uyardığı ve antioksidan enzim sistemlerindeki olası bir zayıflamayı da önlediği bilinmektedir (1,2).

Aerobik solunum yapan canlılarda metabolik süreçler içinde ve süreç dışındaki etkenlerden (entoksikasyon, hemoraji, iskemi, radyoaktivite, allerji, hava kirliliği, sigara dumanı, karbon monoksit, alkol, insektisidler, enfeksiyon, yaşlanma, stres vb.) kaynaklanan nedenlerden dolayı serbest radikaller oluşmaktadır. Serbest radikaller oluşur oluşmaz başka moleküllerle reaksiyona girme eğilimi gösteren reaktif moleküllerdir (3,4). Bunların bir bölümü oksijen merkezli olup, bunlar serbest oksijen radikali (SOR) veya reaktif oksijen türevleri (ROT) olarak da adlandırılmaktadır. Organizmaya sağlanan yüksek yoğunluktaki oksijen varlığına bağlı olarak, HBO uygulamaları sonucunda birçok dokuda ROT oluşumu ve buna bağlı oksidatif stres görülebilmektedir.

Oksidan-antioksidan dengesinin oksidanlar lehine bozulduğu durumlarda, bu oksiradikallerin intrasellüler sitotoksik düzeyleri hücrenin yapısal organik elemanları olan lipid, protein, karbonhidrat ve DNA'sında harabiyetine neden olabilmektedir. Bu potansiyelden dolayı ROT, değişik sistemlerdeki çeşitli patolojilerden sorumlu tutulagelmiştir: Kanser, ülser, bazı hemolitik hastalıklar (talasemi major, otoimmün hemolitik anemi vb.),

katarakt, iskemi-reperfüzyon hasarı, ateroskleroz, oksijen toksisitesi, klaudikasyo-intermitans etyopatogenezlerinde ROT'un yer aldığı hastalıklara örnek olarak sayılabilir **(5)**.

Hiperbarik oksijenin oksidatif strese neden olduğu bilinmekle birlikte, oluşan bu oksidatif stresin derecesi ve ne ölçüde zararlı olup olmayacağı gibi konular halen yeterince irdelenmemiştir. Ortaya çıkan oksidatif stresin büyük oranda hiperbarik oksijenin uygulanma basıncı **(6)** ve süresi **(7,8)** ile orantılı olduğu ortaya konmuştur. Ancak bu çalışmalar genelde akut ve tek seanslık uygulamalar ile yapılmıştır. Klinikte ise HBO uygulamaları genellikle tek seans olarak değil, uzun döneme yayılmış, çoğu kez 10–20 seanslık, hatta bazı durumlarda 30'u da aşabilen uygulamalar şeklinde kullanılmaktadır. İşte bu çalışmada 2,8 ATA'da 90 dakika sürecek olan ve 5 seanstan başlamak üzere, 10, 15, 20, 30 ve 40 seanslık ileri örneklere kadar, uzun dönem HBO uygulamasının oksidatif stres yönünden ne şekilde etkili olduğunu aydınlatmayı amaçladık.

Vücutta oluşan oksidatif stresin ölçütü olarak en yaygın kullanılan metot, oksidatif stres ile oluşan oksidasyon ürünlerinin doku veya kan düzeylerinin belirlenmesidir. Özellikle lipid ve protein oksidasyonu bu amaçla üzerinde sık durulan süreçler olup, bu amaçla en yaygın olarak ölçülen parametreler lipid peroksidasyonu sürecinde bir son ürün olan malonildialdehidin (MDA) tayini ile protein karbonilasyonu düzeyinin (PCO; protein carbonyl content) belirlenmesidir. Oksidatif stres varlığını araştırmaya yarayan dolaylı ölçütler olarak ise vücutta serbest radikal hasarını azaltmak için savaştan çeşitli antioksidan enzimlerin (süperoksit dismutaz, SOD; glutatyon peroksidaz, GSH-Px gibi) aktivite tayini şeklindedir **(2,9)**. Bu çalışmada da, HBO uygulamasından en çok etkilenen organlardan biri olan akciğer dokusunda MDA, PCO, SOD ve GSH-Px düzeyleri ölçülmüştür. MDA ve PCO ölçümleri ile doğrudan doku oksidasyon ürünlerinin düzeyleri görülmüş, SOD ve GSH-Px enzim aktivitelerinin belirlenmesi yoluyla da organizmada oluşan oksidatif stres reaksiyonlarına karşı endojen antioksidan savunma sistemlerinin durumu ortaya konmaya çalışılmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.HİPERBARİK OKSİJEN

2.1.1. HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİNİN TANIMI

Hiperbarik oksijen tedavisi kapalı bir basınç odasında, 1 atmosferden (atm) daha yüksek basınç altında, maske, başlık veya endotrakeal tüple oksijenin solutulması şeklinde uygulanan bir tedavi yöntemidir **(10, 11, 12)**. Normal atmosferik basınç altında basınçta %100 oksijen solunumu veya oksijenin topikal kullanımı hiperbarik oksijen tedavisi olarak kabul edilmez; hastanın basınç odasında inhalasyonla 1 atm'den (760 mmHg) daha yüksek basınçlar altında oksijen solunması gerekmektedir **(13, 14, 15)**. Uygulama anında, manometreden okunan değer deniz seviyesi değeri olarak kabul edilen 1 atm ile toplanarak gerçek basınç bulunur ve ATA (Atmosphere Absolute; 1 ATA = 1 atm = 760 mmHg) olarak ifade edilir. Her 1 atm'lik basınç artışı deniz seviyesi altına 10 m'lik bir dalış mesafesi olarak kabul edilir (1 atm = 10 m'lik su sütunu yükseliği) ve bu şekilde hiperbarik oksijen uygulamasının bir '*tedavi derinliği*'nden söz edilir.

Tedavi derinliğindeki basınç, hastanın ihtiyacına göre çevremizdeki basıncın 2–3 katına kadar çıkarılmaktadır. Tedavinin uzunluğu, hangi sıklıkta olacağı ve tedavi derinliği gibi parametrelerin ayrıntılı planlaması da yine hastaya ve hastalığa bağlı olarak değişmektedir. İnsanlarda halen %100 oksijen verilerek yapılmakta olan HBO tedavisinde uygulanan maksimum basınç sınırı 3 ATA'dır **(16, 17)**.

Tedavi tek (monoplace) ya da çok (multiplace) kişilik basınç odalarında yapılabilir. Tek kişilik modellerde hasta oksijeni maske ile alabildiği gibi doğrudan ortamdan da soluyabilmektedir. Çok kişilik basınç odalarında ise ortam normal atmosfer havası ile basınç altına alınır, hastalar oksijeni maskeden, başlıktan veya endotrakeal tüpten solurlar **(11, 16, 17)**.

2.1.2.HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİNİN TARİHSEL GELİŞİM SÜRECİ

Hiperbarik sistem ilk olarak 1662 de Henshaw tarafından, "Domicilium" adını verdiği sızdırmaz bir oda, körük düzeneği ve kapaklar kullanılarak kapalı bir ortam içinde hem yüksek hem de alçak basınç sağlamak suretiyle kurulmuştur. Yüksek basınç akut hastalıkların, alçak basınç ise kronik hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır (18).

1775 yılında Priestley tarafından oksijenin keşfiyle birlikte artan hiperbarik uygulamaların komplikasyonları da bildirilmeye başlanmıştır. 1789'da Lavoisier ve Seguin oksijenin çeşitli toksik etkilerinin olduğunu bildirdiler (19). 1830'lu yıllarda Fransa'da Junod, Tabarie, Pravaz adlı araştırmacılar hiperbarik basınç odası sistemi kullanarak 2-4 ATA arasındaki basınçlarda bazı hastalıkları tedavi etmişlerdir. 1841 yılında Triger, Loire nehri yatağı kazılırken çalışan işçilerde disbarik problemlerin oluştuğunu tespit ederek ilk Caisson deneyimini bildirmiştir. 1878 yılı başlarında Paul Bert artırılmış basınçta solunum yaptırıldığında Grand Mal tipte epileptik nöbetlerin oluşabildiğini göstermişti (20).

1879 yılında, Fransız cerrah Fontaine tekerler üzerinde hareket edebilme özelliği olan ve içindeki basıncın artırılabilirdiği bir ameliyat odası inşa etmiş ve bu oda içinde çeşitli cerrahi uygulamalar gerçekleştirmiştir (21). 1891 yılında, spinal anesteziyi ilk uygulayan Dr. J.L. Corning, Birleşik Devletlere "Basıncılı Hava Tedavisi"ni tanıtan ve elektrik enerjisi ile çalışan kompresörü işleten ilk kişi olmuştur (22). J. Lorrain-Smith, 1899 yılında, oksijenin uzun süreli düşük basınçta solutulduğunda pulmoner hasar oluşturduğuna dair bu alanda klasik olmuş makalesini yayınladı (23).

Görülüyor ki, HBO'nun santral sinir sistemi ve pulmoner sistem üzerine olan toksik etkileri daha 19.yüzyılın sonlarında Paul Bert ve Lorrain Smith tarafından tanımlanmıştı.

Bugünkü anlamda HBO tedavisinin kullanılması, 1930'lardan itibaren Amerikan ve İngiliz donanmaları tarafından dekompresyon hastalığının tedavisi için rutin olarak kullanıma sokulmasıyla başlamıştır. Bu amaçla önceleri uzun süren hava tedavisi tabloları kullanılmaktaydı (24). Klinikte

HBO kullanımını ise 1955'de Churchill-Davidson ve Boerema'nın çalışmalarıyla başlamıştır **(25)**. 1961 yılında Boerema ve Brummelkamp'ın HBO'yu gazlı gangren tedavisinde uygulamaya başlamalarını takiben bilim adamları ve klinisyenler tecrübelerini ve çalışmalarını paylaşmak için ilk defa 1963'te Amsterdam'da uluslararası bir toplantıda bir araya gelmişlerdir. Bu tarihten günümüze, oluşturulan uluslararası komiteler (UHMS, Undersea and Hyperbaric Medical Committee; EUBS, European Underwater and Baromedical Society; vb.) her yıl yapılan toplantılarda yeni gelişmeler ışığında HBO tedavisinin esaslarını ve uygulamalarını disipline bağlamaktadır.

2.1.3.HİPERBARİK OKSİJENİN TEMEL PRENSİPLERİ

Hiperbarik oksijenasyonun klinikte uygulanımı ile insan vücudu üzerine iki temel etkisi sözkonusudur: 1) Mekanik etki veya basıncın direkt etkisi 2) vücuttaki tüm dokularda, kanda ve hücrelerde oksijen parsiyel basıncını artırıcı etki.

Basıncın direkt etkisi: Temel gaz kanunlarından Boyle-Mariotte kanununa göre, gazların basınçları ve hacimleri arasında ters bir orantı söz konusudur. Basıncın artışıyla, dolaşımdaki ve dokulardaki gazların hacimleri ve gaz kabarcıklarının çapları küçülür. Ayrıca kabarcıkların yüzey gerilimleri de büyüklükleri ile ters orantılıdır ve büyük kabarcıklar, küçüklerden daha karardır. Kabarcıklar küçüldükçe yüzey gerilimi artacağından, çap belli bir değere düştükten sonra kollabe olup absorbe edilir. Basıncın mekanik etkisi en iyi dekompresyon hastalığı ve iyatrojenik hava embolisi vakalarının tedavisinde görülür. Bu gibi hastalıkların tedavisinde kabarcıkların küçülüp kollabe olması önem taşımaktadır. Böylelikle doku perfüzyonu tekrar sağlanabilmektedir **(26)**.

Artmış oksijen parsiyel basıncı: Normal şartlar altında oksijenin ancak çok az bir kısmı kanda çözünmektedir Hiperbarik ortamda %100 oksijen solunduğunda Henry kanunu gereğince plazmada oksijenin çözünürlüğü artar **(14)**.

Hastanın fizyolojik ve fizyopatolojik koşullarına bağlı olarak, artmış oksijen basıncının etkisi dokularda, biyokimyasal reaksiyonlarda gözlenir. Normalde 1 gr hemoglobin 1,34 ml oksijenle bağlanabilir. 100 ml kanda hemoglobin miktarı 15 gr'dır. Hemoglobin oksijene %100 doyurulduğundan (satürasyon) 100 ml kan 20,1 ml hemoglobinle bağlı oksijen taşımaktadır. Normal atmosfer basıncında hava solunduğunda zaten %97'si oksijene doymuş olan hemoglobinin bu satürasyonunu %100'den daha fazla artırmak mümkün olmayacağından kanda hemoglobine bağlı olarak taşınan oksijen miktarı da artmayacaktır. Hiperbarik koşullarda, solunan oksijen parsiyel basıncındaki artıştan ötürü, plazmada çözünen oksijen miktarı da artar. **Tablo 2.1'** de görüldüğü gibi 1 ATA' da hava solunduğunda kanın 100 ml'sinde 0,3 ml olan çözünmüş oksijen miktarı, 3 ATA'da % 100 oksijen solunduğunda 6,8 ml'ye kadar yükselir **(14, 27)**. Normal atmosfer koşullarında, dinlenim durumunda 100 ml arteriyel kanda bulunan 20,1 ml oksijen venöz kana 14 ml'ye kadar düşerek geçer. Demek oluyor ki, 100 ml kandaki çözünmüş oksijen içeriği 6 ml'yi geçtiğinde oksihemoglobin, arteriyel sistemden venöz sisteme değişime uğramadan geçebilecektir; çünkü plazma içerisindeki erimiş oksijen, hemoglobine bağlı oksijene oranla, çok daha kolay kullanılma olanağına sahiptir **(27)**. Sonuç olarak, HBO tedavisi altında oksihemoglobine gerek kalmaksızın, dokuların ihtiyacını karşılayacak yeterli oksijenasyon mümkündür. Plazmada çözünmüş oksijen hücreye direk utilize olabilmekte ve – aşırı bir söylem ile ifade etmek gerekirse – dinlenim durumunda HBO tedavisi altında yaşamı hemoglobinsiz olarak idame ettirmek mümkündür **(12)**.

3 ATA'da %100 oksijen solunduğunda arteriyovenöz oksijen parsiyel basıncı farkı 350 mmHg'ye kadar çıkabilmektedir. Doku kan akımı yarıya düştüğünde arteriyel ve venöz uçta PaO₂ değerleri sırasıyla 288 ve 50 mmHg olarak alınır (fark 238 mmHg). Arteriyel PaO₂ çok arttığında, efektif hücresel oksijenlenme çok düşük bir kan akımıyla bile sağlanabilmektedir **(27)**. Anlaşılmaktadır ki, 3 ATA'da %100 oksijen kullanarak doku oksijenlenmesini 10–15 kat artırmak mümkün olabilmektedir **(Tablo 2.2) (19)**.

Tablo 2.1. Değişik Basınlarda Plazmada Çözünmüş Oksijen İçeriği (27)

Uygulama Basıncı	Plazmada Çözünmüş Oksijen Miktarı (%ml)	
ATA (mmHg)	Normal Hava Uygulaması	Saf Oksijen Uygulaması
1 (760)	0.32	2.09
1.5 (1140)	0.61	3.26
2 (1520)	0.81	4.44
2.5 (1900)	1.06	5.62
3 (2280)	1.31	6.8
4 (3040)	1.8	3 ATA üzerinde uygulanmamaktadır
5 (3800)	2.3	
6 (4560)	2.8	

Tablo 2.2. HBO Uygulaması ile Ulaşılan Doku Parsiyel Oksijen Basıncı Düzeyleri (mmHg) (19).

	1 ATA (hava)	1 ATA (O ₂)	2 ATA (O ₂)	2.5 ATA (O ₂)
Arteryel PaO ₂	100	600	1400	1800
Transkutanöz PaO ₂	70-75	450-550	1200-1300	1400-1500
Kas PaO ₂ ' si	30-35	60-75	220-300	-
Subkutanöz PaO ₂	30-50	90-150	200-300	300-500
Yara PaO ₂ ' si	5-20	200-400	600-800	800-1100

Hiperbarik oksijen etkisi altında venöz kandaki oksijen saturasyonunu da %100'e ulaştığında oksihemoglobinin hemoglobine indirgenmemiş olur ve ve karbondioksitin (CO₂) plazma içinde çözünmüş olarak taşınma oranı artar. Bu şekilde gelişen CO₂ retansiyonu hidrojen iyonunun hafifçe artmasına sebep olur. Sonuç olarak, venöz hemoglobin oksijen ile %100 doygunluğa ulaştığında venöz sistemdeki parsiyel karbondioksit basıncında 5–6 mmHg'lik bir artış olabilmektedir. Normal bir bireyde, kan akımı sabit kaldığı sürece, CO₂ kanda ve dokularda daha fazla artmamakta ve dolayısı ile ortaya ciddi bir problem çıkmamaktadır (12).

2.1.4.HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİNİN DİĞER SİSTEMLER ÜZERİNE ETKİSİ

Yara iyileşmesine etkisi: 1960'larda yara iyileşmesinde HBO uygulaması, diğer tedavi yöntemlerine yardımcı bir tedavi şekli olarak kullanılmaya başlamıştır. HBO tedavisinin uygulama koşulları (basınç, oksijen konsantrasyonu, sıklık) randomize deneylerle tam tanımlanmamış olmasına rağmen FDA (Food and Drug administration), HBO'nun yara tedavisinde kullanılabilirliğini onaylamıştır **(28)**. Hiperbarik oksijen tedavisinin kullanıldığı iyileşmesi problemlili yara tipleri arasında periferik vasküler yetmezlik ile beraber olan ülserler, venöz staz ülserleri, dekübitüs ülserleri, enfekte yaralar, radyasyon hasarına uğramış dokular, soğuk ısırığı ve hayvan sokmaları sayılmaktadır **(29,30)**.

İyileşmesi problemlili yaralar genellikle hipoksi ile ilişkilidir. Yaralanmış doku hipoksiktir. Birçok klinik gözlem ve bunu destekleyen deneysel çalışma göstermiştir ki hipoksi altında yara iyileşmesi gecikmektedir. Parsiyel oksijen basıncı bu tür yaralarda 5-20 mmHg'ye ve hatta daha da küçük değerlere kadar düşebilmektedir **(31)**. Arteriyel oksijen basıncı yaklaşık 100 mmHg iken bir cilt yarasının periferinde ise 60 mmHg olarak ölçülen PaO₂ yaranın merkezinde 10 mmHg'nin altına inebilmektedir. Sbarra ve Karnosky 1959 yılında lökositlerdeki NADPH oksidazı keşfettikten kısa bir süre sonra Babior NADPH oksidazın reaktif ürünü olan süperoksit radikalinin bakterileri öldürdüğünü buldu **(32,33)**. NADPH oksidaz, yara iyileşmesinin inflamatuvar evresinde yüksek miktarda oksijen tüketerek büyük miktarda ROT oluşturmaktadır. Bu enzim parsiyel oksijen basıncı 40-80 mmHg'de %50 kapasite ile çalışırken, parsiyel oksijen basıncı 400 mmHg'ya çıktığında %90 kapasite ile çalışabilmektedir **(34)**.

Lökositler fagosite ettikleri mikroorganizmayı öldürmek için temel olarak yukarıda adı geçen bu oksijene bağımlı NADPH oksidaz enzim aktivitesinden yararlanırlar. 30 mmHg ve altında lökositlerin fagositoz yetenekleri ve antibakteriyel etkileri azalır. Bu düzeylerdeki oksijen

basınçlarında fagositoz yapılırsa bile oksidatif patlama denilen NADPH oksidaz tarafından süperoksit oluşturulması için yeterli oksijen basıncı gereklidir. Hiperbarik oksijen tedavisi hipoksik yara bölgesinin oksijenlenmesini sağlayarak nötrofillerin bakterileri öldürmesini sağlar (34).

Aynı zamanda yara iyileşmesi için gerekli kollajenin fibroblastlarca sentezlenmesi için en az 30–40 mmHg'lık bir PaO₂ gereklidir. Hiperbarik oksijen ile doku parsiyel oksijen basıncının artırılması, fibroblastik aktivitede artışa ve kollajen matriks birikimine yol açmaktadır (14). Öte yandan, hipoksi de anjioneogenezisi uyaran bir faktördür. Bu şekilde, günde 2–4 saat süreyle uygulanacak HBO, bir yandan yarattığı hiperoksi yoluyla kollajen matriks birikimini uyarırken, diğer yandan uygulama seansları arasındaki “göreceli hipoksi” dönemlerinde ise anjiogenezis yönünde vasküler proliferasyonun gelişimine katkıda bulunmaktadır (35).

Kemik dokudaki bozulmuş iyileşme süreçlerinde de HBO, hipoksiyi ortadan kaldırıp osteogenezisi uyarak iyileşmeyi sağlar ve hızlandırır. Bu etkileriyle HBO'dan diyabet ve varis ülserlerinde, termal yanıklarda, tutması şüpheli deri greft ve fleplerinde, osteoradyonekrozda, osteomyelitte ve mikrocerrahiden sonra yardımcı tedavi olarak yara iyileşmesini hızlandırmak amacıyla faydalanılmaktadır (17).

Damarlar ve miyokard üzerine etkisi: Hiperoksik ortam miyokard hücreleri üzerine doğrudan etkiyle uyarılabilirlik ve iletiyi azaltır. Böylece HBO, bradikardiye bağlı olarak kalp debisinde %10–20 arasında azalmaya neden olabilir. Kan basıncında ise herhangi bir değişiklik olmaz. Diğer yandan, hiperoksinin vazokonstriktif etkisinden dolayı dokulara giden kan miktarı azalır. Örneğin, 2 ATA basınçta oksijen solunduğunda damarlarda vazokonstriksiyon olur ve kas kan akımı %20 kadar düşebilir (11,36). Fakat plazmada artmış olan çözünmüş oksijen nedeniyle akım azaldığı halde dokuların yeterli düzeyde oksijenasyonu sağlanır.

Hiperoksi, CO₂'ye olan solunumsal yanıtı da baskılar; başlangıçta solunumda hafif bir depresyon, sonra ise hiperventilasyon gözlenir. Bu etkinin karotid arterin üzerinde bulunan CO₂ reseptörlerine doğrudan etki ile ortaya

çıkıldığı düşünülmektedir (27). HBO'nun oluşturduğu vazokonstriksiyon, kapiller kan basıncını düşürerek diapedezis ve vasküler permeabilite artışını azaltır. Böylece transkapiller sıvı geçişi değişerek ekstravasküler sıvı rezorpsiyonu hızlanır. İnterstisyel sıvı basıncını düşürerek hipoksi ve iskeminin yarattığı ödemin gerilemesinde yardımcı olmaktadır. HBO'nun bu etkisinden yanıklarda, serebral ve retinal ödemde, periferik travmalarda, kompartman ve crush sendromunda, embolilerde, purpura fulminans tedavisinde yararlanılmaktadır (11,12,26,37,38,39,40).

Antibakteriyel ve antitoksik etkisi: Oksijen için tedavi sınırları oldukça önemlidir. Tedavide amaç; hastaya zarar vermeksizin bakteriyi ortadan kaldırmaktır. Tek hücreli mikroorganizmalar özellikle bakteriler, hiperoksiye bifazik cevap verirler. 1 ATA'da %100 oksijenli ortamda *E.coli*, *P.aeruginosa*, *S.aureus* gibi aerob bakterilerin gelişmeleri hızlıdır. Fakat 1.3 ATA üzerindeki oksijen inhibisyon yapar (41).

Hiperbarik oksijen bakteriyostatik ve bakteriyositik özelliğini ROT aracılığı ile göstermektedir. Serbest oksijen radikalleri membran lipid ve proteinlerini okside edip, DNA'ya hasar vererek mikroorganizmanın büyümesi için temel metabolik fonksiyonları inhibe ederler. Serbest radikaller ve ROT oluşumunu artıran HBO, antioksidan savunma sistemleri olmayan veya sınırlı olan bazı mikroorganizmaların hızla ortadan kaldırılmasını sağlar. Anaerobların serbest radikallere ve diğer oksidanlara karşı savunma mekanizmaları olmadığından, oksijenin öldürücü etkisine duyarlıdırlar. Hiperbarik oksijen infekte ve nekrotik dokulardaki doku onarımı ve rejenerasyonu düzenleyerek, infeksiyonun ilerlemesini indirekt olarak da etkileyebilir (39,41). Antibakteriyel ajan olarak seçici değildir; gram negatifler kadar gram pozitif bakterileride etkileyen, spektrumu geniş bir ilaç olarak düşünülebilir.

Hiperbarik oksijen uygulamaları, toksinlerin direk üretimini inhibe ederek ya da etki metabolizmasını engelleyerek antitoksik etki gösterir. Bunlardan ilkinde örnek; hücre membranını parçalayarak kapiller permeabiliteyi bozan klostridyal alfa toksin ve lesitinaz üretiminin inhibisyonudur. İkinci örnek ise karbonmonoksit (CO) zehirlenmesinde etki

mekanizması üzerinde inhibisyon yaratarak yararlılık göstermektedir. Bilindiği üzere CO, toksik bir gaz olup yangınlarda farkına varılmadan veya intihar amaçlı olarak solunduğunda öldürücü olabilmektedir. Hemoglobine affinitesi oksijene göre 200 kattan daha fazla olduğundan oksihemoglobin yerine karboksihemoglobin oluşturarak kanda yeterli düzeyde oksijen taşınmasını zorlaştırır. Hiperbarik oksijen, bir yandan PaO₂ artışı yoluyla hemoglobine veya sitokroma bağlanmış olan CO'nun eliminasyonunu hızlandırırken, diğer yandan plazmaya yeterli miktarda çözülmüş oksijen sunarak dokuların metabolizmasının ve yaşamasının devamını sağlamaktadır **(17,42,43)**.

Santral sinir sistemine olan etkileri: Hiperbarik oksijenin belki de en önemli etkileri beyinde izlenir. Santral sinir sistemine olan etkilerinin derecesi uygulanan basınca ve uygulama süresine bağlıdır. Bu konudaki araştırmaların çoğu oksijen toksisitesi konusunda yapılmıştır. 3 ATA'nın üzerindeki basınçlarda uzun süre kalındığında oksijen toksisitesi sonucu konvülsiyonlar gözlenmiştir. Oksijen toksitesinin prekonvülsif periyodu ise elektriksel aktivite, kan akımı ve doku PaO₂ ile metabolik aktivitesinde değişikliklerle karakterizedir. Buna karşılık 1,5–2 ATA basınç uygulandığında vazokonstriksiyona ve beyin kan akımında düşmeye dair hiçbir klinik belirti gözlenmemiştir. Hiperbarik oksijenin etkileri hipoksik iskemik beyin bölgelerinde çok daha belirgin olarak ortaya çıkar; serebral ödemi azaltır ve iskemi veya hipoksi nedeniyle inaktive olan nöron fonksiyonlarını yeniden aktive eder. Beyin fonksiyonlarındaki bu düzelme, beynin elektriksel aktivitesindeki iyileşmeyle takip edilebilir **(27)**.

Oksijenin vücuttaki toksik etkileri: Son derece aktif bir molekül olması nedeniyle oksijen, toksik özellik taşımaktadır. Buldukları ortam basıncındaki değişiklikler veya oksijen parsiyel basıncının artışı, ya da her ikisinin birden artması gelişmiş savunma sistemlerinde yetersizliğe yol açma potansiyeli dikkate alınması gereken bir husustur. Bu şekilde, yaşamın olmazsa olmaz elementi olan oksijen toksik hale dönüşebilmektedir. Bugünkü bilgilerimiz, oksijen toksitesinin ROT ile hücrenin organik elemanları arasındaki reaksiyonlara bağlı olduğunu göstermektedir **(44,45)**.

Hücrelerin normal oksiredüktif faaliyeti sırasında da oluşabilen radikallerin üretimi hiperoksi şartlarında belirgin şekilde artar. Bunun sebebi, oksidatif fosforilasyon zincirinde radikal oluşumunun görüldüğü oksijene elektron transferi olayının hiperokside artmasıdır **(44)**. Ancak hemen hatırlamak gerekir ki hipoksik şartlarda da oksidatif dengenin bozulmasına bağlı olarak serbest radikallere bağlı doku hasarı süreci hızlanmaktadır.

Bu şekilde, hiperoksinin insan organizmasının tüm organ ve sistemlerinde oksijen toksisitesi meydana getirebileceği bilinmektedir. Ancak, bu toksisitede bireysel farklılıklar önem arz etmektedir. Özellikle santral sinir sistemi toksisitesinde bireysel oksijen toleransı çok belirleyici olabilmektedir **(46)**. Aslında "oksijen toksisitesi" kavramı sadece hiperbarik değil, normobarik ortamlarda da iyi tanınmaktadır. Klinik uygulamalar açısından HBO'nun üç sistem üzerindeki toksisitesi önemlidir. Bunlar; santral sinir sistemi, solunum sistemi ve vizüel değişikliklerdir.

1) Merkezi sinir sistemi toksisitesi (Paul Bert Etkisi): Oluşum mekanizması halen tam olarak aydınlatılamamış olan merkezi sinir sistemi (MSS) oksijen toksisitesi, kural olarak 2 ATA'nın üzerindeki parsiyel oksijen basınçlarında görülmektedir. Genel görüş olarak, HBO sırasında artan ROT'un membranlarda lipid peroksidasyonu, enzim inhibisyonu veya modulasyonlarına neden olarak enerji metabolizması ve elektrik aktivitesinde değişikliklere yol açmasına bağlı olduğu ileri sürülmektedir **(47)**. Son zamanlarda, HBO uygulaması ile beyinde artan NO'nun da bundan sorumlu olabileceği ortaya atılmıştır **(48)**. Toksikitenin ortaya çıkması açısından uygulama süresi basınç ile ters orantılıdır **(49)**.

Toksite genelde fasiyal pallor, terleme, bradikardi, ekstrasistoller, bulantı, kusma, mimik kaslarında özellikle perioral kaslarda seğirmeler, hıçkırık, öfori, anksiyete, davranış değişiklikleri, vizüel (görme alanında daralma) ve akustik (tinnitus) değişiklikler, vertigo, pareteziler, midriyazis, illüzyon ve halüsinasyonlar, konfüzyon ve hatta senkop gibi ön belirtilerle başlar. Bu belirtiler tek başına veya birlikte olabilmektedir. Nadiren ise konvülsiyon şeklinde ve birdenbire başlayabilir **(50)**. MSS toksisitesini

önlemek üzere, HBO tedavi protokollerinde 20–30 dakikada bir 5–10 dakikalık hava soluma molaları verilmektedir. HBO tedavileri sırasında konvülsiyon görülme oranınının 1.3/10000 olduğu bildirilmektedir **(7)**.

2) Akciğer toksisitesi (Lorrain Smith Etkisi): Pulmoner oksijen toksisitesi olarak da bilinen bu durum, parsiyel basıncı 0,5 ATA'dan daha yüksek olan oksijene uzun süre maruz kalınması sonucunda gelişmektedir. Normal atmosferik basınçta %100 oksijen inhalasyonu yaklaşık 10 saatlik bir süre sonunda trakeobronşiyal irritasyon belirtilerine sebep olmaktadır. Tıpkı MSS toksisitesinde olduğu gibi pulmoner hasarın oluşmasında da şiddet ve süre belirleyici olmaktadır. Bulgular asemptomatik bir latent periyodun ardından başlar; bu dönem basınç arttıkça kısalmır **(50)**. İlk belirtiler trakeal irritasyon hissi şeklindedir. Olayın ilerleyişi ile birlikte, retrosternal ağrı, kontrol edilemeyen öksürük ve dispne ortaya çıkar.

2 ATA'da 3–6 saat %100 oksijen solunması, pulmoner toksisite için yeterli olabilmektedir. Bu şekildeki uzun tedaviler ciddi dekompresyon hastalığı ya da arteriyel gaz embolilerinde uygulanmaktadır. Bunun dışındaki rutin HBO tedavilerinde hava molaları koruyucu bir rol oynadığı gibi, solunum fonksiyon testleriyle de hastayı gözlem olasıdır. Vital kapasitede (VK) HBO öncesine kıyasla %10'luk bir azalma pulmoner oksijen toksisitesinin başladığına işaret eder. %10–20 arasındaki VK azalmaları reversibl, %20 üzerindeki geriyeye dönüşümsüz değişiklik olarak kabul edilir **(16)**.

3) Görme üzerine toksik etkiler: Miyopi, HBO tedavisinin en sık görülen yan etkilerinden biridir **(51, 52, 53)**. Oksijen toksisitesinin vizüel manifestasyonları, oksijen dozu ve uygulama süresinin yanı sıra, tedaviye alınan bireyin yaşına ve bireyde duyarlılığı etkileyen faktörlerin önceden varolup olmadığına bağlı olarak değişmektedir **(50)**.

Diyabetik ayak ülseri, kronik ostomiyelit gibi hastalıkları nedeniyle uzun süre, her gün HBO tedavisine alınan hastaların %20-40'ında, özellikle 50 yaş üzerindeki hastalarda 2-4 hafta sonra başlayan progresif miyopi geliştiği, hipermetrop olanlarda ise kırma kusurunun hafiflediği bilinmektedir. Tedavinin bitiminden itibaren genellikle 6 haftada, nadiren 6-12 ayda geri

dönen bu değişikliklerin nedeni bilinmemekle birlikte, lensin içinde veya metabolizmasında geriye dönüşümlü değişikliklere bağlı olduğu düşünölmektedir. Miyopi çok ender olarak kalıcı olabilmektedir **(54, 55)**. Lens metabolizmasında değişiklik olabileceği ihtimali, özellikle 50 yaşı üzerindeki ve erken evre kataraktı bulunan hastalarda katarakt gelişimine karşı dikkatli olmayı gerektirir. Vizüel fonksiyonlar açısından önemli olan, oksijenin retina üzerindeki vazokonstriktif etkisidir. Deneysel olarak sıçanlarda oluşturulabilen bu etki literatürde myastenia gravis'i olan ve tedavi amacıyla 5 ay boyunca 1 ATA'da %80 oksijen uygulanan bir hasta için de bildirilmiştir **(56, 57, 58)**.

Oksijenin gözdeki toksik etkisi bakımından esas önemli olan retrolental fibroplazi ise, prematüre yeni doğanlarda arteriyel oksijen basıncını normalin üzerine çıkaran uygulamalar sonucunda gelişen özel bir patolojidir. Prematür (30.haftadan önceki) doğum, düşük doğum ağırlığı (<1500 gr), sepsis, intraventriküler hemoraji gibi problemlerin varlığı retrolental fibroplazi riskini artırır. Burada henüz gelişimini tamamlamamış olan retina dolaşımının önce vazokonstriksiyon ve bunu takiben retinal arter endotel hücrelerinin destrüksiyonu nedeniyle ve yaygın proliferasyonu ile vasküler bir fibröz doku kitlesi oluşmakta ve retinayı geriye dönüşümsüz şekilde hasarlayarak kalıcı körlüğe neden olmaktadır. E vitamininin retrolental fibroplaziden korunmada ve tedavisinde yararlı olduğu bildirilmiştir **(55)**.

2.2.SERBEST RADİKALLER

Serbest radikaller, çeşitli patolojik süreçlerin gerek başlatıcısı, gerek ara basamaklarda işe karışabilen, gerekse sonucunda ortaya çıkabilen son derece reaktif maddelerdir. Bunlar, organizmada normal aerobik solunum sırasında oluşabildikleri gibi, hava kirliliği (azot oksitler, ozon, kükürt dioksit, sigara dumanı), çeşitli entoksikasyonlar (karbon monoksit, alkol, insektisidler, çeşitli ilaçlar), hemoraji, iskemi, radyoaktivite, allerji, enfeksiyon, yaşlanma ve stres gibi değişik birçok nedenle de ortaya çıkabilmektedirler **(59,60,61)**.

2.2.1.KAVRAM OLARAK SERBEST RADİKALLER

Bir atomun yapısını incelediğimizde, nötron ve protonları içeren bir çekirdek ile çevresinde dönen elektronlardan oluştuğunu görürüz. Her atomda değişik sayılarda elektron bulunmaktadır. Atomda mevcut elektronlar orbita adı verilen uzaysal yörüngelerde ve çift sayıda bulunurlar. Stabil moleküller, dış yörüngelerinde bu şekilde, biri diğerine zıt yönde dönen, elektron çiftleri bulundurlar **(62)**.

Moleküllerin çoğu bu şekilde çift elektronlu iken, az sayıdaki molekül ise tek, yani eksik, elektronlu olabilmektedir **(63)**.

Bu eksik elektronlu moleküller, karşılaşılabilecekleri herhangi bir molekülden ya bir elektron alır, ya da o moleküle bir elektron verirler; bu özelliklerden dolayı çiftlenmemiş tek elektronlar 'uyarılmış' elektronlar olarak da adlandırılır **(63)**. Yapılarında bulundurdukları uyarılmış elektronlar nedeniyle, kolayca elektron alışverişi yaparak etkileşime girdikleri moleküllerin yapısını bozan moleküllere 'serbest radikaller' denmektedir. Radikal oluşuktan sonra tek elektronunu başka bir moleküle verebilir (redüksiyon), başka bir molekülden elektron alıp çift hale gelebilir (oksidasyon); ya da radikal olmayan bir yapıya eklenebilir; her durumda sonuçta nonradikal yapı radikal hale gelmektedir **(64)**.

Radikal yapılar, devamlı olarak tek elektronlarına bir eş aradıklarından dolayı, yukarıda sözü edilen reaksiyonlara girme eğiliminde olup, dolayısıyla son derece reaktif ancak aynı zamanda da kısa ömürlü bileşiklerdir. Canlı yapılarda yaygın olarak bulunan oksijen ise dış yörüngesinde iki adet eşleşmemiş elektron içermesi nedeniyle bir 'biradikal' olarak da nitelendirilebilmektedir ve organizmada gerçekleşen kimyasal reaksiyonlarda rol alan elementlerin başında gelmesi nedeniyle bir serbest radikale dönüşmeye her zaman aday görünmektedir. Moleküler oksijen üzerindeki değişiklikler ile meydana gelen 'serbest oksijen radikalleri' veya diğer adıyla 'reaktif oksijen türevleri' serbest radikaller içerisinde karşımıza oldukça sık çıkan bir sınıfı oluşturmaktadır **(63)**.

2.2.2.REAKTİF OKSİJEN TÜREVLERİNİN OLUŞUMU

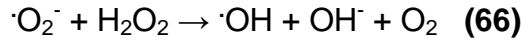
Oksijen molekülü tetravalan indirgenme (yani her iki oksijen atomundan gelen dört eşleşmemiş elektronun da indirgenmesi) sırasında çeşitli reaktif türevlere kayabilmekte; bu türevler de biyolojik sistemlerde hasara yol açabilmektedir **(65)**.

Bu şekilde oluşabilen başlıca ROT, süperoksit anyonu ($\cdot\text{O}_2^-$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikalidir ($\cdot\text{OH}$) **(Şekil 2.1)**. Bu reaksiyonlar ile oluşabilecek radikallerin önüne geçebilmek için çeşitli oksidatif enzimler gelişmiştir; bu enzimler reaktif oksijen türevlerinin yaşayan organizmaya zarar oluşturabilecek miktarlarda oluşmasını engellerler. Hücre metabolizma sırasında dar sınırlarda oluşan ROT bu savunma sistemleri yoluyla etkisiz hale getirilmektedir **(65)**.

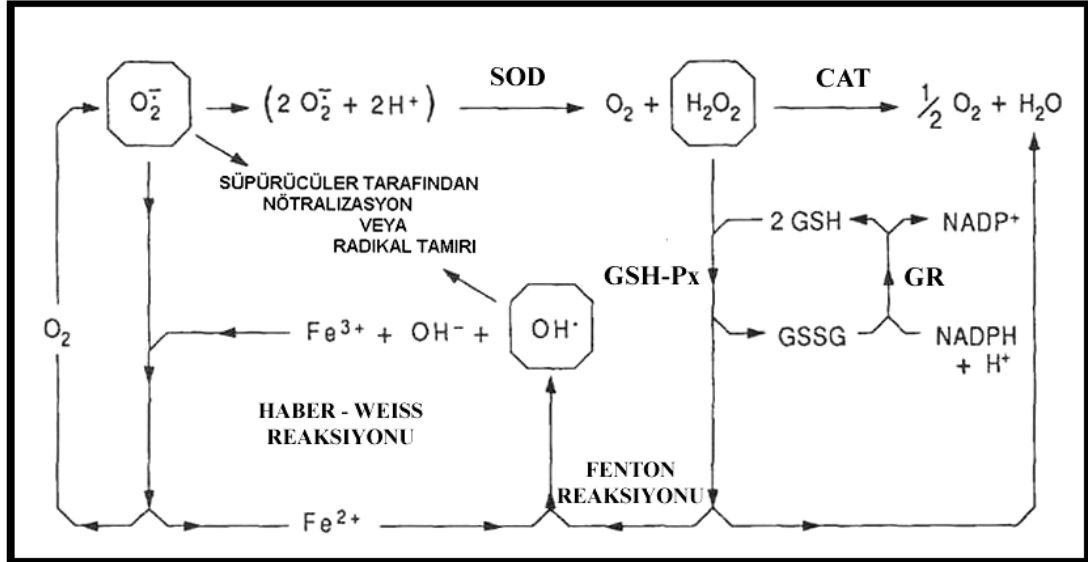
Doğal O_2 molekülünün, çevresindeki herhangi bir molekülden bir elektron almasıyla süperoksit molekülü oluşur. Eşleşmemiş bir elektron içeren süperoksit bütün radikaller gibi kararlı hale geçmeye, yani eşleşmemiş elektronundan kurtulmaya çalışır. Süperoksit, bir serbest radikal olduğu halde çok toksik değildir. Asıl etkisini daha güçlü reaktif oksijen metabolitlerinin açığa çıkmasına yol açarak gösterir. Doğal O_2 , çevresindeki moleküllerden 2 elektron aldığı veya süperoksit molekülüne bir elektron eklendiğinde ise

peroksit molekülü oluşur. Peroksit molekülünün 2 H⁺ atomu ile birleşmesi sonucunda da hidrojen peroksit (H₂O₂) meydana gelir **(66)**.

Oksijen molekülünün yalnızca bir atomu bir H⁺ iyonu ile birleşecek olursa en reaktif, yani en toksik radikal olarak kabul edilen hidroksil radikali ([•]OH) meydana gelir. Süperoksit ve ondan oluşan hidrojen peroksitin hidroksil radikalini meydana getirmesi, demir veya bakırın katalizlediği Haber-Weiss reaksiyonu ile olur. Bu reaksiyon iki basamaklıdır: Birinci basamak ferrik (Fe⁺³) veya kuprik (Cu⁺²) iyonların süperoksit tarafından redüksiyonu, ikinci basamak ise redükte metal iyonlarının (ferröz veya kupröz, Fe⁺² veya Cu⁺¹) hidrojen peroksit ile reaksiyona girmeleri ve hidroksil radikalini oluşturmasıdır (reaksiyonun bu ikinci basamağına Fenton tepkimesi de denir). Bu durumda net Haber-Weiss reaksiyonu şu şekilde gerçekleşmiş olur:



Hidroksil radikali en kısa ömürlü, ancak buna karşılık en reaktif serbest oksijen radikalidir. Süperoksit ile reaksiyona girerek singlet oksijeni (¹O₂) meydana getirebilir; ancak bu reaksiyon hidroksil radikalinin organizmalardaki aşırı reaktivitesi nedeniyle genellikle oluşmaya fırsat bulamaz **(66)**.



Şekil 2.1. Reaktif Oksijen Türevlerinin Oluşumu

2.2.3.SERBEST RADİKAL REAKSİYONLARI

Serbest radikal reaksiyonları genel olarak nonenzimatik zincir reaksiyonlardır. Radikaller, genellikle bu reaksiyon zincirlerinin başlangıç basamak veya basamaklarında oluşmaktadır. Sonraki basamaklarda bir yandan yeni radikaller üretilirken, diğer taraftan serbest radikallerin sayısı korunmaktadır. Son basamakta ise normal şartlarda radikal yapının bozulması beklenir.

Fizyolojik serbest radikal reaksiyonları: Normal şartlar altında, canlı organizmada serbest radikaller kontrol altında kaldıkları birtakım fizyolojik olaylar sırasında meydana gelmekte ve çeşitli işlevlerde önemli görevler almaktadır. Bu şekilde, serbest radikallerin (1) fagositozda, (2) trombosit aktivitesinde, (3) elektron transport zincirinde, (4) önemli biyomoleküllerin sentez veya yıkımında (araşidonik asit metabolizması, adrenokortikal hormon sentezi, melanin ile ilgili fonksiyonlar vb.) ve (5) üreme ve embriyo gelişiminde fizyolojik rolü bilinmektedir **(67)**.

Lipid peroksidasyonu: Lipid peroksidasyonu olayı, biyolojik hasarla karakterize radikal reaksiyonlardan en iyi bilineni olup ağırlıklı olarak membran fosfolipidlerinin yağ asiti yan zincirlerini ilgilendirir. Tüm biyolojik membranlar lipid peroksidasyonuna duyarlıdır. Peroksidasyona en duyarlı olan yapılar çoklu doymamış (poliansatüre) yağ asitleridir. Hidrojen peroksit ya da başka bir radikalden türeyen diğer bir radikal, oksijen varlığında bir lipid çift bağına ulaşabilirse, kararsız lipid peroksitleri ortaya çıkmaktadır ve bir zincir reaksiyonu başlatmaktadır. Lipidlerin otooksidasyonu, fizyolojik şartlarda son derece yavaş bir olay iken, patolojik durumlarda veya metal iyonlarının varlığında çok hızlanabilir. Tüm bu reaksiyonlar organizmanın savunma sistemlerinin kontrolü dışına çıkarsa, çevrelerindeki moleküllere de sıçrayarak hasar görmelerine yol açar **(64)**.

Lipid peroksidasyonu reaksiyonları sonucunda ortaya çıkan lipid hidroperoksitler yüksek derecede toksik ürünler oluşturabilir. Oluşturdukları ürünler arasında en toksik olanları aldehidlerdir, bunların en önemlisi ise malonildialdehid (MDA). MDA, amino asit ve protein oksidasyonu ile çeşitli

çapraz bağlanmalar yoluyla zararlı etkilere yol açarak, doğrudan peroksidatif etkiye maruz kalmayan nonlipid yapıdaki dokuların da hasar görmesine neden olabilmektedir **(64)**.

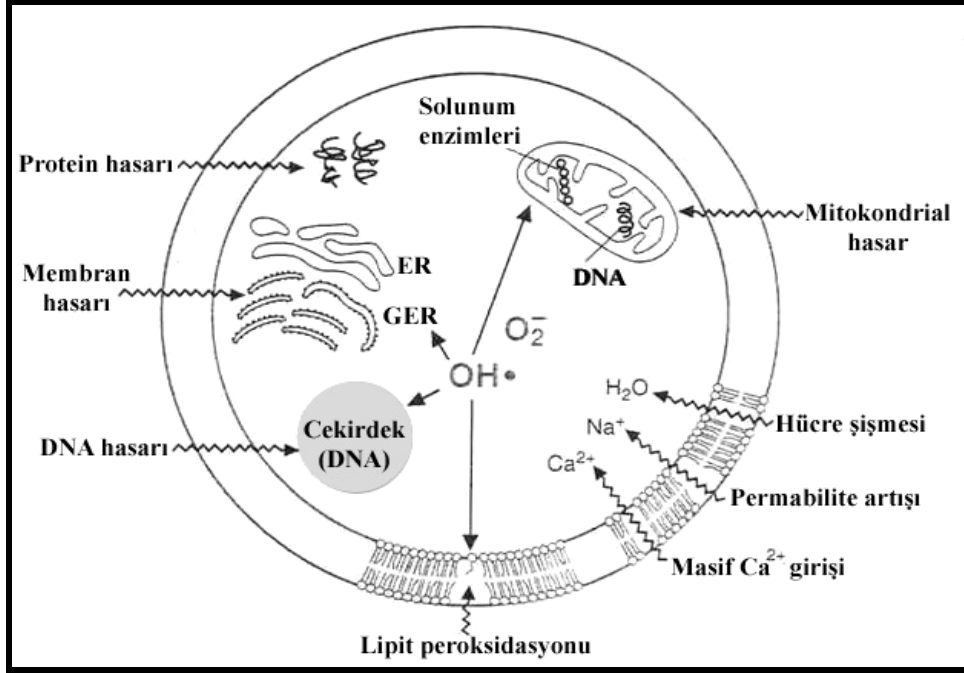
Patolojik serbest radikal reaksiyonları: Bunlar hücre içindeki kontrol dışına çıkmış veya anormal serbest radikal reaksiyonlarını kapsar. Bu, yukarıda kısaca anlatılan fizyolojik serbest radikal reaksiyonlarının organizmanın antioksidan kapasitesini aşması yoluyla meydana gelebileceği gibi, bazı eksojen ajanlar ya da fiziki etkiler (iyonize radyasyon, ultraviyole, bazı plastik implantlar) sonucunda da gelişebilir **(Şekil 2.2)**.

1.Hücre membranı ve organellerinin serbest radikal hasarı: Lipid peroksidasyonu tarafından indüklenen hasarın esas hedefi biyolojik membranlar ve hücre içi organellerdir. Mitokondriyal ve mikrozomal membranların çoklu doymamış yağ asidi (poly unsaturated fatty acids, PUFA) içeriği plazma membranına göre daha fazladır, dolayısıyla da peroksidasyona daha hassastırlar.

2.Protein ve enzimlerin serbest radikal hasarı (protein oksidasyonu): Proteinlerin membran bileşimine giren önemli yapı taşları olmasından dolayı, bu değişiklikler, serbest radikallerin etkisi sonucu gelişen membran hasarında önemli rol oynarlar.

3.Nükleik asitler ve bileşenlerinin serbest radikal hasarı: Hidroksil radikali başta olmak üzere serbest radikaller, nükleik asit bazlarının modifikasyonu ve DNA şerit kırılmasına neden olurlar, DNA polimerazı inhibe ederler. Karsinogenez, hücre yaşlanması ve hücre ölümüne kadar giden süreçleri başlatıp ilerletebilirler. Nükleik asitlerin tüm elemanları serbest radikal hasarına açıktır ve oluşan hasar özel tamir mekanizmaları ile onarılabildiği gibi, kalıcı da olabilmektedir.

4.Karbonhidrat oksidasyonu: Diabet, kanser ve sigara içimi ile birlikte olan kronik hastalıkların patogeneğinde monosakkaridlerin oksidasyonu ile meydana gelen oksialdehitlerin rol oynadığı düşünülmektedir **(68)**.



Şekil 2.2. Serbest radikallerin oluşturduğu hücre hasarı

2.3.ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Organizma, oksidatif harabiyeti önleyen, sınırlayan ya da kısmen tamir eden koruyucu mekanizmalara sahiptir. Memeli hücrelerinde oksidan ürünlere karşı korunma başlıca üç temel mekanizma içinde gerçekleşmektedir:

- 1.Oluşan radikallerin detoksifikasyonu
- 2.Radikal reaksiyonların sona erdirilmesi
- 3.Radikal oluşumunun sınırlandırılması

Antioksidan, düşük konsantrasyonlarda, okside olabilecek bir substratın oksidasyonunu geciktiren veya inhibe eden madde olarak tanımlanmaktadır. Bunlar, ROT'ları çeşitli biyomoleküller üzerinde tahribat yapmadan önce ortadan kaldıracakları veya oksidatif hasarın yayılmasını engelleyen maddelerdir. İnsan vücudunun farklı organ, hücre ve hücre organellerinde farklı ROT'lara karşı etkili, farklı antioksidanlar bulunur **(65)**.

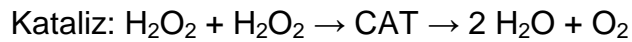
2.3.1.İNTRASSELLÜLER ENZİMATİK ANTİOKSİDAN SAVUNMA

Hücrede oluşan radikallerin detoksifikasyonu başlıca enzimatik olarak gerçekleşir. Enzimatik antioksidanlar aktif merkezlerinde bakır, çinko, mangan, demir, selenyum gibi metaller içerirler. Antioksidan savunmanın önemli bir kesimini süperoksit ve hidrojen peroksiti temizleyen özgün enzimler oluşturur. Bunların başlıcaları olarak SOD, CAT ve GSH-Px sayılabilir (**Şekil 2.3.) (65)**.

SOD, süperoksitin hidrojen peroksite dismutasyonunu katalize eden bir metaloenzimdir: $2\cdot\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{SOD} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$

İnsan vücudunda 3 farklı SOD enzimi vardır. Sitolik SOD bir bakır-çinko enzimidir. Diğer bir CuZnSOD vasküler endotele bağlıdır ve ekstraselüler SOD olarak adlandırılır. Mitokondrial SOD ise mangan (Mn) içerir. Böylece süperoksitin potansiyel substratlarla reaksiyona girmesi önlenir ve daha toksik ürünlerin ($\cdot\text{OH}$ gibi) oluşması önlenmiş olur (**69**). Aynı ve nonenzimatik bir antioksidan olarak seruloplazmin de $\cdot\text{O}_2^-$ ile reaksiyona girebilir, ancak aktivitesi SOD'a göre çok düşüktür (**65**).

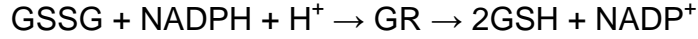
CAT, konsantrasyonu değişmekle birlikte bütün hücre tiplerinde bulunan bir enzimdir. Sitolde ve daha çok peroksizomlarda bulunur. Ekstraselüler mesafede ya çok az bulunur ya da hiç bulunmaz. CAT, kendisi radikal olmasa da en reaktif ROT olarak kabul edilen hidroksil radikalinin öncüsü olan, hidrojen peroksit moleküllerinin suya redüksiyonunu sağladığı için önemlidir. Hidrojen peroksiti, düşük oluşum hızlarında peroksidatik reaksiyonla, yüksek oluşum hızlarında ise katalitik reaksiyonla suya dönüştürerek temizler:



GSH-Px de H_2O_2 'yi katalitik reaksiyonla redükte eder. Bu reaksiyonda redükte glutatyon (GSH) işleme girerek okside glutatyona (glutatyon disülfid; GSSG) dönüşür:



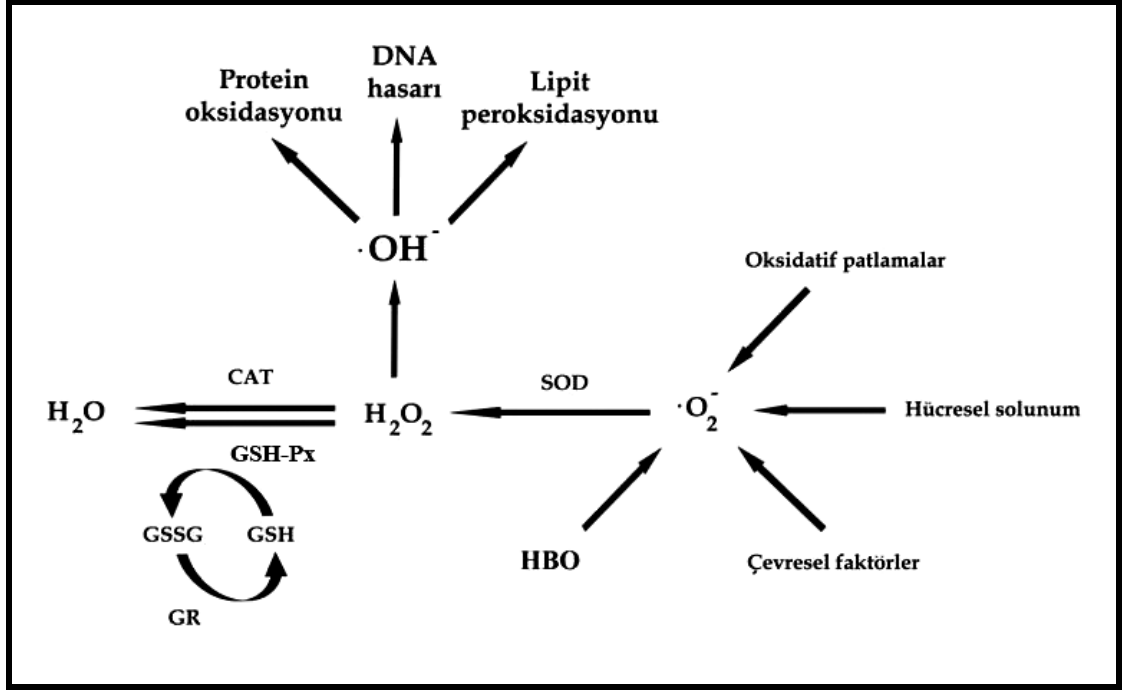
Antioksidan etkinliğinin devam edebilmesi için okside glutatyonun tekrar indirgenmesi gereklidir; bu işlem NADPH bağımlı bir enzim olan glutatyon redüktaz (GR) tarafından yerine getirilir:



NADPH'ın rejenerasyonu için ise glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G-6-PDH) enzimi gereklidir. Sonuçta hücre içi savunmada GSH, GR ve G-6-PDH'in da rolü vardır **(64, 71, 72)**.

Görülüyor ki gerek CAT, gerekse GSH-Px hücre içi H₂O₂ konsantrasyonunun düzenlenmesinde görev alır. Düşük düzeylerde GSH-Px daha etkin iken, H₂O₂ oluşumunun arttığı durumlarda daha çok CAT görev alır. CAT en çok peroksizomlarda, GSH-Px ise sitozol ve mitokondride bulunur. Yeterli GSH seviyesinde, her iki enzimin de H₂O₂'yi redükte etme hızları hemen hemen aynıdır **(65)**. Bunlara ek olarak, GSH'ya dayalı antioksidan savunma yalnızca H₂O₂ detoksifikasyonu ile sınırlı değildir; CAT'dan farklı olarak, GSH-Px hidroperoksitleri de redükte edebilir **(72)**.

Organizmada hidroksil radikali miktarını kontrol eden enzim sistemleri ise bulunmamaktadır. Kuvvetli okside edici potansiyeli nedeniyle hiç bir enzim kendisi oksidatif harabiyete uğramadan bu ürünü detoksifiye edemez. Bunun için hücrelerde temel strateji SOD, CAT ve GSH-Px aracılığıyla ·O₂⁻ ve H₂O₂'yi detoksifiye ederek daha toksik ürünlerin oluşumunu önceden önlemektir. Ekstraselüler alanda ise gerek ·O₂⁻, gerekse H₂O₂ çok sıkı kontrol altında değildir. Plazmada yalnızca çok düşük aktivitede CuZnSOD aktivitesi vardır; ekstraselüler H₂O₂'nin dolaşımdaki eritrositler tarafından metabolize edildiği kabul edilmektedir **(63, 65)**.

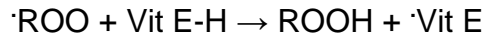


Şekil 2.3. Oluşan çeşitli ROT'lara karşı enzimatik savunma

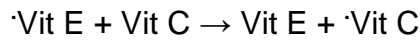
2.3.2. Nonenzimatik Antioksidanlar

Doğal enzim sistemlerinin (SOD, CAT, GSH-Px, GR, sitokrom c oksidaz, hidroperoksidaz) dışında antioksidan etki gösteren başka maddeler de vardır. Bunlar bazı makromoleküller (seruloplazmin, transferrin, hemoglobin, miyoglobin, ferritin), mikromoleküller (vitamin E, C ve A, ürik asit, glutatyon, N-asetil sistein, metionin, kaptopril, ubiquinon, glukoz, bilirubin) ve bazı ilaçlar (rekombinant h-SOD, 21-aminosteroidler, demir şelatörleri, ksantin oksidaz inhibitörleri, mannitol, barbitüratlar) olarak özetlenebilir. Daha çok hücre içinde etkili olan enzimatik antioksidanlara karşılık, nonenzimatik antioksidanlar ekstraselüler mesafede de etkinlik gösterir. Bu antioksidanları, temel olarak yağda eriyenler ve suda eriyenler olarak ikiye ayırabiliriz. Yağda eriyen antioksidanlar membranlarda ve lipoproteinlerde, suda eriyenler ise daha çok ekstraselüler mesafe olmak üzere enzimatik antioksidanlar ile birlikte intraselüler mesafede de etkilidir (65).

Antioksidan savunmanın önemli bir kesimini lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını kıran antioksidanlar oluşturur. Bunlar, peroksi ($\cdot\text{ROO}$) ve alkoksi ($\cdot\text{RO}$) radikaller ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyon reaksiyonlarının ilerlemesini önlerler. Bu savunma başlıca E vitamini (alfa tokoferol) tarafından sağlanır. Alfa tokoferol insanda en fazla bulunan yağda çözünen antioksidandır ve membranlar ile lipoproteinlerdeki zincir kırıcı antioksidan kapasitenin büyük bir kısmını meydana getirir. E vitamini, peroksi radikali ile reaksiyona girerek onu radikal olmayan bir bileşik haline dönüştürürken, kendisi radikal haline gelir. Reaksiyon bir peroksi radikali ile tokoferolün fenolik hidroksil grubunun, organik bir hidroperoksit ve tokoferil radikali meydana getirmesi ile sonuçlanır:



Tokoferil kararlı ve reaktivitesi az olan bir radikaldir; askorbat (C vitamini) veya tiyoller ile reaksiyona girerek elektronunu onlara transfer eder ve kendisi redükte olur:



Siklus, oluşan $\cdot\text{Vit C}$ 'nin (semiaskorbat radikali) semiaskorbat redüktaz tarafından indirgenmesi ile tamamlanır. Böylece, membranlarda zincirleme radikal oluşumuna neden olan peroksil radikali, interselüler mesafenin sıvı ortamına iletilmiş ve membrandan uzaklaştırılmış olur **(73)**.

Antioksidan savunmanın diğer bir kesimini de Haber-Weiss reaksiyonlarını katalize eden metalleri bağlayan bileşikler oluşturur: Bunlar başlıca seruloplazmin, transferrin, haptoglobin ve albumin olup ekstraselüler antioksidanlar olarak da adlandırılırlar. İnsanda plazma antioksidan aktivitesinin büyük kısmı seruloplazmine bağlıdır. Seruloplazmin, demirin transferrine bağlanmasını kolaylaştırarak ve ekstraselüler SOD gibi davranarak etki gösterir. Transferrin demiri, haptoglobin demir gibi davranabilen serbest hemoglobini, albumin ise bakırı bağlayarak antioksidan fonksiyon yapar. Bunlara ilave olarak, beta karoten de, özellikle düşük PaO_2 'de fonksiyon gösteren, lipofilik bir antioksidandır **(63, 65)**.

Gerek ROT'lar, gerekse antioksidanlar, hem klinik biyokimyada rutin olarak kullanılmayacak, hem de klinik temelli antioksidan çalışmalarının yapılmasını engelleyecek kadar nonspesifiktirler. Ancak hastalıkların büyük bir kısmının patogenezi ve tedavisindeki önemi giderek artmaktadır. Sonuçta oksijen radikallerinin kantitatif olarak çalışılmasının zor olması, çeşitli antioksidanların aktivite ve konsantrasyon ölçümleri yoluyla oksidanlarla ilgili dolaylı olarak yorum yapılmasına neden olmaktadır **(74)**.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.DENEY HAYVANLARI

Bu çalışma, GATA Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 21.11.2008 gün ve 8/75 sayılı onayı ile gerçekleştirilmiştir. Deney hayvanı olarak 175–225 gr ağırlıktaki 60 adet yetişkin 'Sprague- Dawley' türü sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar GATA-Araştırma ve Geliştirme Merkezi Deney Hayvanları Bölümü'nden temin edilmiş, çalışma süresince aynı laboratuvar koşullarında tutulmuş, ticari sıçan yemi ve normal musluk suyuyla beslenmişlerdir. Cerrahi protokolün uygulanacağı ana dek hayvanların eşit koşullarda bulunmasına özen gösterilmiştir.

3.2.DENEY GRUPLARI

Her birinde 10'ar adet olmak üzere "basit rastgele örnekleme" yöntemi ile sıçanlar 6 gruba ayrılmıştır. Bu 10'arlık gruplardaki 2'şer hayvan ise kontrol grubu olarak yedinci bir grup oluşturmaktadır. Her çalışma grubundaki 8 sıçan ise günde birer kez aynı saatte olmak üzere 2,8 ATA'lık uygulama basıncında 90 dakika süreli HBO'ya maruz bırakılmışlardır. HBO uygulamaları, tıpkı klinik uygulamalarda olduğu gibi, birbirini günlük olarak takip eden 5 seans (Pazar günü ilk seans, Perşembe günü son seans olacak şekilde) ve sonrasında verilen 2'şer günlük aralarla yürütülmüştür; yani her bir 5 seanslık blok 1 haftalık bir çalışma aralığına yayılmıştır.

Deney gruplarının ayrıntılı dağılımı aşağıdaki şekilde olmuştur:

- 1.Grup; 1 haftalık uygulama olarak 5 seans HBO alan grup (n=8)
- 2.Grup; 2 haftalık uygulama olarak 10 seans HBO alan grup (n=8)
- 3.Grup; 3 haftalık uygulama olarak 15 seans HBO alan grup (n=8)
- 4.Grup; 4 haftalık uygulama olarak 20 seans HBO alan grup (n=8)
- 5.Grup; 6 haftalık uygulama olarak 30 seans HBO alan grup (n=8)
- 6.Grup; 8 haftalık uygulama olarak 40 seans HBO alan grup (n=8)
- 7.Grup; HBO uygulanmayan grup (n=12)

3.3.HİPERBARİK OKSİJEN UYGULAMASI

Hiperbarik oksijen uygulaması için, T.S.K. 800 Ana Depo ve Fabrika Komutanlığında (Etimesgut/Ankara) özel olarak tasarlanıp imal edilen, çapı 40 cm, uzunluğu 60 cm olan, krom, nikel ve çelik karışımı bir gövdeye sahip ve 6 ATA basınca dayanıklılığı test edilmiş silindirik biçimdeki yüksek basınç odası (*'hyperbaric chamber'*) kullanıldı (**Şekil 3.1**). Bu basınç odasının içerisindeki basınç, üzerindeki manometre ile devamlı kontrol edilerek gerektiğinde gazın fazlası otomatik olarak tahliye edilebilmektedir. Basınç odasına GATA-Biyomedikal Klinik Mühendislik Merkezi-Tıbbi Gazlar Bölümünden temin edilen ve yüksek basınç altında saf oksijen içeren tüpler yoluyla 1,5–2 lt/dk akım hızında (**75, 76**) oksijen girişi sağlandı. Daha sonra basınç odası kapatılarak iç basıncın, uygulanacak değere kadar dakikada 0,2 atm basıncı geçmeyecek hızda yükselmesi sağlandı (**77**).



Şekil 3.1. Hiperbarik Oksijen Cihazı

Sıçanlar 8'erli gruplar halinde HBO kabini içerisine yerleştirildikten sonra, hayvanlarda orta kulak basınç uyumsuzluğuna bağlı oluşabilecek ağrılı durumlara ve barotravmaya neden olmamak için, uygulama basıncına 7–10 dk içerisinde çıkılmıştır. 2,8 ATA'lık uygulama basıncına ulaşıldığı anda basınç odasına giren ve çıkan oksijen miktarı sabitlenerek süre tutulmaya başlanmıştır. 90 dakikalık seans bitiminde, yine 10 dk'lık bir süre içerisinde dekompresyon sağlandı. Bu arada, hayvanların ventilasyonu sonucunda ortamda birikebilecek CO₂' yi tutması için, basınç odası içine belli oranlarda sodyum hidroksit, kalsiyum-2-oksit ve kalsiyum hidroksitin karışımından oluşan 'soda lime' olarak adlandırılan absorbe edici granüller konulmuştur **(78)**.

3.4. AKCİĞER DOKUSUNUN HAZIRLANMASI

Amacımız kronik etkiyi ortaya çıkarmak olduğundan, her bir çalışma grubundaki hayvanlar son HBO seansından çıktıktan sonra 24 saat süre ile bekletildi. Bundan sonra ketamin-ksilazin kombinasyonu (20–40 mg/kg / 4-8 mg/kg) ile anesteziye alınan hayvanların akciğerler dokuları çıkarıldı **(79)**. Bu amaçla hayvanlar. küçük deney hayvanları için özel olarak yapılmış bir disseksiyon masasına sırtüstü yatırılarak dört ayağından sabitlendi. Disseksiyona başlamadan, hayvanların ayak parmakları pens ile sıkıştırılarak ağrı duyusunun tam olarak kaybolup kaybolmadığı kontrol edildi. Bu işlemede sıçandan herhangi bir tepki alınmadığı zaman anestezinin yeterli olduğuna karar verildi.

Bundan sonra göğüs boşlukları açılarak öncelikle akciğerlerin ortaya çıkması sağlandı. Enzimatik çalışmalarda doku içerisinde kalabilecek fazla miktardaki kan nedeniyle homojenatta oluşabilen hemolizi önlemek için, akciğerin mümkün olduğu nisbette kansız olarak çıkarılması gerekiyordu. Bundan dolayı bir yandan vena cava inferiordan bir enjektör yardımıyla kan alınırken, bir yandan da sağ ventriküle ince uçlu bir iğne ile +4°C'de izotonik NaCl (serum fizolojik; SF) verildi **(80)**. Bu şekilde hem akciğer içerisinde dolaşımda olan kanın SF ile yer değiştirmesi sağlandı, hem de soğutma

yoluyla akciğer metabolizması yavaşlatılmış oldu. Akciğerlerin renginde gözle görülebilen solma ile beraber kan-SF değişiminin yeterli düzeyde olduğu kanısına varılarak akciğerler çıkarıldı. Çıkarılan akciğer, yine soğuk SF içerisinde yıkanarak dışındaki kan artıklarından arındırıldı. Önceden etiketlenmiş kapaklı plastik ependorf tüpleri içerisine konularak, işlem sonunda -80°C'de saklanmak üzere, sıvı azot tankına konuldu.

3.5.BİYOKİMYASAL ANALİZLER

Oluşan lipid peroksidasyonu düzeyinin tayini için MDA, protein karbonilasyonu düzeyinin tayini için PCO, antioksidan cevabın derecesinin belirlenmesi için ise süperoksit radikale karşı oluşan SOD ve hidrojen peroksit ile savaştan GSH-Px'in akciğer dokusu düzeylerinin ölçümü yapıldı. Bu tetkiklere ait sonuçları sayısal olarak ifade edebilmek için, ek olarak doku protein düzeyleri de hesaplandı.

3.5.1.AKCIĞERLERİN HOMOJENİZASYONU

Tüm bu tetkiklerden önce, eldeki akciğer dokularının analizleri için hazır hale getirilmesi gerektiğinden, dokular derin dondurucudan çıkarılarak çözünmesi sağlandıktan sonra 'fosfat tampon' ile $\frac{1}{9}$ hacim oranında karıştırılarak Retsch marka "Mixer Mill MM 400" model homojenizatör ile homojenize edildi ve bir kısmı MDA bakılması için ayrıldı. GSH-Px ve SOD analizleri sırasıyla süpernatant ve ekstrede bakıldığından, elde edilen homojenatların diğer kısmı, 700 devirde 10 dk santrifüj edilerek süpernatantlar, süpernatantlarında kloroform-etanol (3:5 oranında) karışımı ile santrifüjlerinden ekstreleri elde edildi. Fosfat tampon (50 mM); distile sudaki 6,8 gr/l oranındaki KH_2PO_4 çözeltisi üzerine pH 7,4 olana kadar yine distile suda 7,1 gr/l oranında çözünmüş Na_2HPO_4 ilave edilerek hazırlandı.

3.5.2.DOKU PROTEİN MİKTARININ ÖLÇÜMÜ

Lowry'nin tarif ettiği yöntem kullanılmıştır **(81)**. Protein ölçümleri; MDA ve PCO için homojenatta, GSH-Px için süpernatanda, SOD için ise ekstrede ayrı ayrı yapıldı.

Protein ölçümü için; kimyasal bileşikler olarak CuSO_4 , Na_3Sitrat , Na_2CO_3 , NaOH ve Phenol-Folin-Ciocalteu reaktifleri kullanıldı. Bunlar aşağıdaki oranlarda hazırlanarak A, B, C ve D reaktifleri hazırlandı.

A reaktifi: 0,5 gr $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ve 1 gr Na_3Sitrat (susuz) 100 ml distile suda çözüldü.

B reaktifi: 20 gr Na_2CO_3 ve 4 g NaOH , 1 l distile suda çözüldü.

C reaktifi: 50 ml B çözeltisine, 1 ml A çözeltisi ilave edildi. A ve B reaktifleri hazırlandıktan sonra numune sayısına göre C reaktifi hemen taze olarak hazırlanıp bekletilmeden kullanıldı.

D reaktifi: Phenol-Folin-Ciocalteu reaktifi

Her numuneden 10 μl , distile sudan 490 μl , C reaktifinden 2500 μl alınarak 10 ml'lik cam tüplere alındı ve 10 dk beklendi. Kör tüpüne ise numune konulmayıp distile su ilave edildi. Daha sonra bunların üzerine 250 μl D reaktifi eklenerek vortekslendi. 20-30 dk oda ısısında inkübe edilerek her bir tüpten 300 μl 96'lık boş ELISA plate'i kuyucuklarına pipetlenerek 700 nm'de köre karşı okundu.

3.5.3.LİPİD PEROKSİDASYONU DÜZEYİNİN ÖLÇÜMÜ

Meydana gelen lipid peroksidasyonunun belirlenmesi için MDA ölçümü yapılmıştır **(82)**. Bu amaçla için %10'luk triklorasetik asit (TCA) ve %0,675'lik tiobarbitürik asit (TBA) kullanıldı. Vidalı kapaklı 10 ml'lik deney tüplerine 2,5 ml %10'luk TCA ve bunun üzerine 0,5 ml numune (homojenat) ilave edilerek 3–5 sn vortekslendi. Tüpün ağzı kapatılarak 90°C'de 15 dakika inkübe edildi. Soğuk çeşme suyu ile soğutuldu. 3000 devirde 20 dk santifüj edildi. Bu şekilde elde edilen süpernatandan 2 ml alınarak üzerlerine 1 ml %0,675'lik

TBA eklendi ve tekrar vortekslendi. Tüplerin ağız kapatılarak yeniden 90°C'de 15 dk inkübe edildi. Soğuk çeşme suyu ile soğutulduktan sonra 532 nm'de köre karşı okundu. Hesaplama, TBA-MDA kompleksinin ekstinksiyon katsayısından ($1,56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$) yararlanılarak mmol/gr-protein cinsinden MDA değerleri hesaplandı.

3.5.4.PROTEİN KARBONİL DÜZEYİNİN ÖLÇÜMÜ

Protein karbonilasyonunu Levine ve arkadaşlarının (83) yöntemi ile tayin edildi. Yöntemde aşağıdaki reaktifler kullanıldı:

- 2 M HCl; 50 ml distile suya 8,28 ml HCl eklenerek hazırlandı
- 10 mM 2,4-Dinitrophenylhydrazine (2,4-DPH); 50 ml 2 M HCl çözeltisine 0,09907 gr 2,4-DPH eklenerek hazırlandı
- %20'lik TCA; 100 ml distile suya 20 gr TCA eklenerek hazırlandı
- Etanol-Etil Asetat (1:1); 150 ml etanol ile 150 ml etil asetat karıştırıldı
- 100 mM NaOH; 100 ml ye 0,4 gr NaOH eklenerek hazırlandı

1,5 ml'lik ependorf tüplere 0,5 ml numune ve 0,5 ml TCA (%20) konularak vortekslendi. Bunlar daha sonra 11000 devirde 10 dk santifüj edildi ve elde edilen süpernatant dikkatlice döküldü. Kalan tortunun üstüne, 2 M HCl içinde 10 mM 2,4-DPH'dan 0,5 ml ilave edildi ve tekrar iyice vortekslendi. Oda ısısında her 10–15 dk'da bir vortekslenerek 1 saat bekletildi. Üstüne 0,5 ml %20 TCA ilave edilerek vortekslendi ve 1000 devirde 3 dk santrifüj edilip süpernatant yeniden döküldü. Kalan pellet üstüne (3 defa tekrarlanmak üzere) 1 ml etanol-etil asetat karışımı eklendi ve vortekslenip 10 dk beklendi. Ardından, 11000 devirde 3 dk santifüj edilip elde edilen süpernatant döküldü, alttaki pellet yine korundu. Bu tortunun üzerine 0,6 ml 100 mM NaOH eklendi ve 15 dk 37°C'de çalkalayıcıda çözüldü. Ardından, 11000 devirde 5 dk santifüj ile çözünmeyenler çöktürüldü. Üsteki kısımlardan alınan süpernatantlar ELISA kuyucuklarına 250 µl olarak pipetlenerek ELISA

okuyucuda 360 nm dalga boyunda okundu ve PCO aşağıdaki formül ile hesaplandı:

$$[(\text{Abs}/22000) \times 1000000 \times \text{dilüsyon faktörü}]/(\text{protein mg/ml}) = \text{mmol/gr-protein}$$

3.5.5.TOTAL SÜPEROKSİT DİSMUTAZ AKTİVİTESİNİN ÖLÇÜMÜ

SOD aktivitesi, Sun ve arkadaşları tarafından tanımlanan yöntemle ölçüldü (**84**). Bu yöntem spektrofotometride 560 nm'de mavi renkli formazon oluşumunun belirlenmesi ilkesine dayanır. Bunun için ilk önce 0,3 mmol/l ksantin, 0,6 mmol/l EDTA, 150 µmol/l NBT, 400 mmol/l Na₂CO₃ ve 1gr/l bovine serum albumin (BSA) karışımından oluşan ölçüm reaktifi hazırlandı ve koyu renkli cam bir şişe içinde kullanılmak üzere depolandı.

Daha sonra ise, 0,8 mmol/l CuCl₂, 2M (NH₄)₂SO₄ (Amonyum sülfat) ve amonyum sülfat içinde 167 U/l ksantin oksidaz (XO) hazırlandı. Son olarak, homojenatlar 3220 devirde +6°C'de 30 dk santifüj edilerek süpernatları elde edildi. Süpernatlar ile kloroform-etanol solusyonu cam tüplerde 1:1 oranında karıştırılarak vortekslendi ve 3220 devirde +4°C'de 40 dk santifüj edilerek, elde edilen etanol fazından cam tüpler içine 50'şer µl konuldu. Bunların üzerine yine 1425 µl ölçüm reaktifi ve 25 µl 167 U/l XO ilave edildi. Kör tüpüne ise etanol fazı yerine distile su ilave edilerek, 25°C'de 20 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonunda her bir numuneden 200 µl ELISA kuyucuklarına alınarak üzerlerine 100 µl 0.08 mM/l CuCl₂ eklenerek reaksiyon durduruldu ve distile suya karşı absorbans sıfırlanarak kördan başlanarak numuneler 560 nm'de okundu. Bulunan absorbans değerleri aşağıdaki formüle konarak SOD aktivitesi hesaplandı:

$$[(\text{K}-\text{N}) / \text{N}] \times \text{D} \times 20 / \text{E} = \text{U/gr-protein}$$

Bu formülde: K, körün absorbansı; N, numune absorbansı;

D, dilüsyon miktarı; E, ekstrakt protein miktarı (g/ml)

3.5.6. GLUTATYON PEROKSİDAZ AKTİVİTESİNİN ÖLÇÜMÜ

GSH-Px enziminin aktivitesi, Paglia'nın tarif ettiği yöntem ile hesaplanmıştır (85). Yöntemde, GSH-Px tamponu (pH 7, 50 mM fosfat tamponu + 5 mM EDTA'lı), 3,2 M (NH₄)₂SO₄ (Amonyum Sülfat), 150 mM redükte glutatyon (GSH), 8 mM redükte NADPH, 1 M NaN₃ (Sodyum Azid), GSH-Redüktaz enzimi ve 2 mM H₂O₂ kullanıldı. Her numune için, cam tüplere aşağıdaki miktarlarda olmak üzere, dokulardan elde edilen süpernatant ve kimyasal madde konularak 30 dk oda ısısında inkübe edildi.

İnkübasyon sonunda her bir cam tüpteki numuneler 290 µl olmak üzere ELISA kuyucuklarına pipetlenerek, üzerlerine 10 µl 2 mM H₂O₂ ilave edildi ve dalga boyu 340 nm'ye ayarlanmış ELISA okuyucuda numunelerin absorbans değerleri 5 dk boyunca kaydedildi. Lineer aktivite azalışının olduğu absorbans aralığının 1 dk'lık süresi esas alınarak hesap yapıldı. Değerler U/gr-protein olarak ifade edildi.

3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Önce tüm gruplar arasında "Kruskal Wallis" testi ile varyans analizi yapıldıktan sonra, anlamlı sonuç veren grupların ikişerli olarak karşılaştırılmalarında denek sayısına uygun olarak nonparametrik bir yöntem olan 'Mann Whitney U' testi kullanıldı. 0,05'in altındaki p değerleri bulunduğu anda, sonuç anlamlı olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

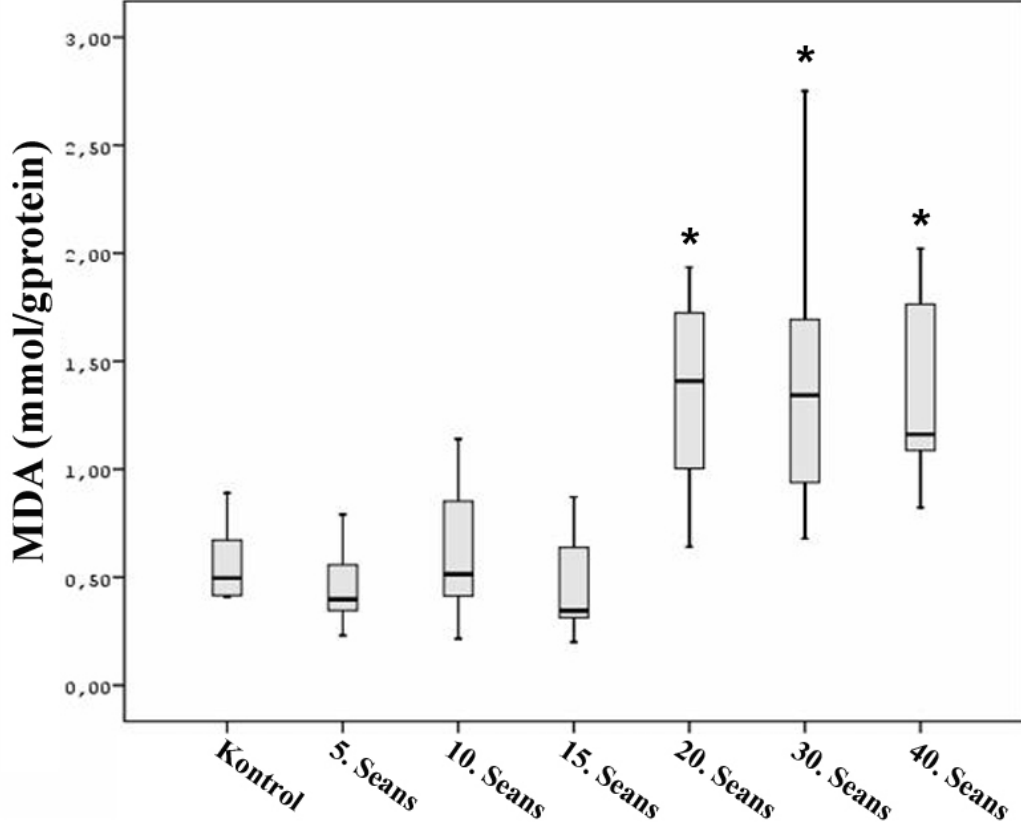
Çalışmada elde edilen rakamsal veriler ayrıntılı olarak ortalama ve standart sapma değerleri şeklinde Tablo 4.1 üzerinde bölüm sonunda gösterilmiştir. Bunun yanında, ölçülen her bir parametreye ilişkin sonuçlar ortanca değerler ile veri dağılımının izlenebildiği grafikler üzerinde irdelenecektir (Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4).

Genel bir değerlendirme yapılacak olursa, çalışmamızda kullanılan HBO prosedürünün ilk 3 haftasına tekabül eden 15 seanslık uygulaması dahil olmak üzere, ne oksidan ne de antioksidan parametreler ile ilgili bir etki görülmemiştir. Ancak bundan sonraki ilk ölçüm noktamız olan 20 seanslık uygulama sonrasında hem lipid peroksidasyonu, hem de protein oksidasyonu yönünden anlamlı artışlar izlenmiştir. Aynı artış takip eden 30 ve 40 seanslık prosedürlerde de ortaya çıkmış, hatta – istatistik olarak anlam kazanamasa da – daha da belirginleşmiştir.

Çalışmamızda ölçümü yapılan antioksidan enzimlerden ise sadece SOD aktivitesinde artış izlenebildi. Bu artış, MDA ve PCO düzeylerindeki artışa eşlik edecek şekilde 4 hafta / 20 seanslık HBO uygulamasından itibaren görülmeye başlandı ve bundan sonraki daha uzun süreli prosedürlerde de devam etti. GSH-Px aktivitesinde ise hiçbir uygulama aralığında anlamlı bir değişiklik izlenmedi.

4.1.MALONİLDİALDEHİD DÜZEYLERİ

15 seanslık HBO uygulaması dâhil olmak üzere, ilk 3 haftalık dönem boyunca akciğer dokusu lipid peroksidasyonu verilerinde kayda değer bir değişikliğe rastlanmadı. Ancak 4 haftalık uygulamanın yapıldığı gruplardan itibaren belirgin MDA artışı izlendi.

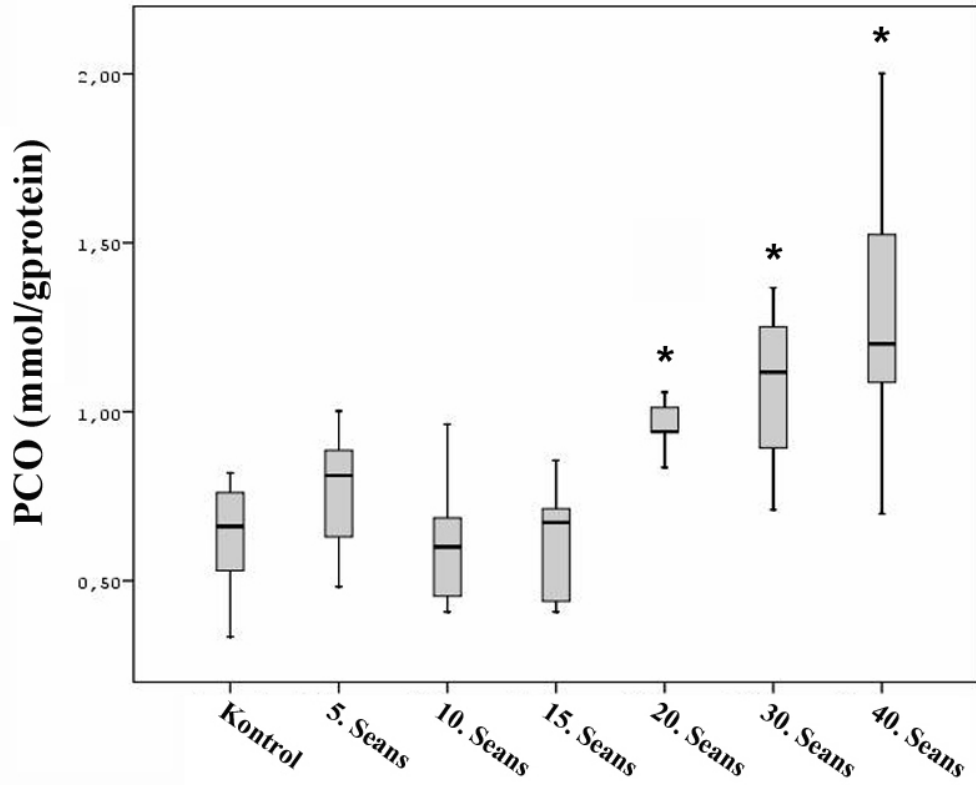


Şekil 4.1. Tüm gruplarda MDA düzeyleri

* Kontrol grubuna göre anlamlı artış (p<0,01)

4.2.KARBONİLE PROTEİN DÜZEYLERİ

MDA'ya benzer şekilde, ilk 15 seans boyunca önemli bir değişiklik görülmeyen PCO düzeylerinde, 20 seanslık HBO uygulamaları ile birlikte anlamlı artışlar izlendi. Farklı olarak, 30 ve 40 seanslık uygulamalar sonrasında da devam eden bir artış eğilimi varmış şeklinde bir izlenim uyanırsa da bu ilave artışın istatistiksel bir değeri bulunamadı.

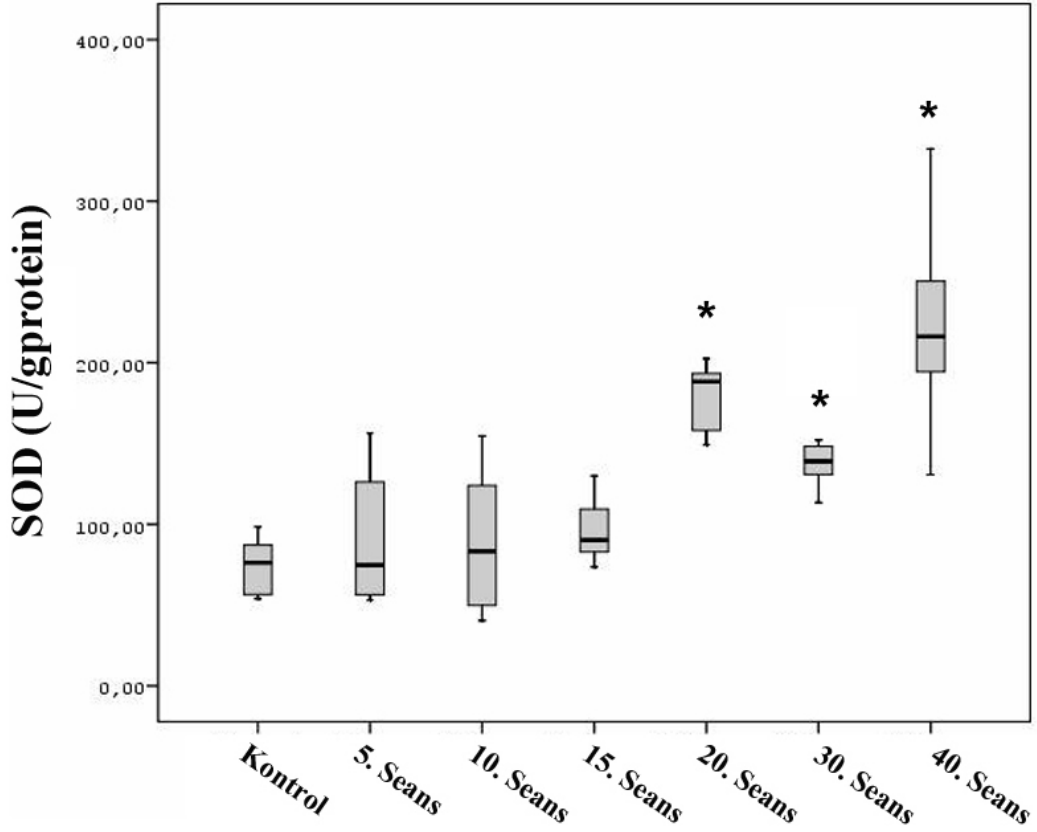


Şekil 4.2. Tüm gruplarda PCO düzeyleri

* Kontrol grubuna göre anlamlı artış ($p < 0,01$)

4.3.SÜPEROKSİT DİSMUTAZ AKTİVİTELERİ

Organizmanın önemli endojen antioksidan savunma enzimlerinden olan SOD aktivitesinin, oksidatif stres göstergeleri olan MDA ve PCO'ya eşlik ettiği görüldü. Buna göre 5, 10 ve 15 seanslık uygulamalar sonrasında ölçülen SOD aktivitesi kontrol düzeylerine yakın olarak sonuç verirken, 20, 30 ve 40 seanslık uygulamalar sonrasında anlamlı düzeyde artmış olarak bulundu. 40 seanslık HBO prosedürü sonunda tüm diğer gruplara göre oldukça daha yüksek olarak izlenen SOD aktivitesinin bu durumu ise istatistik olarak anlam kazanmadı.

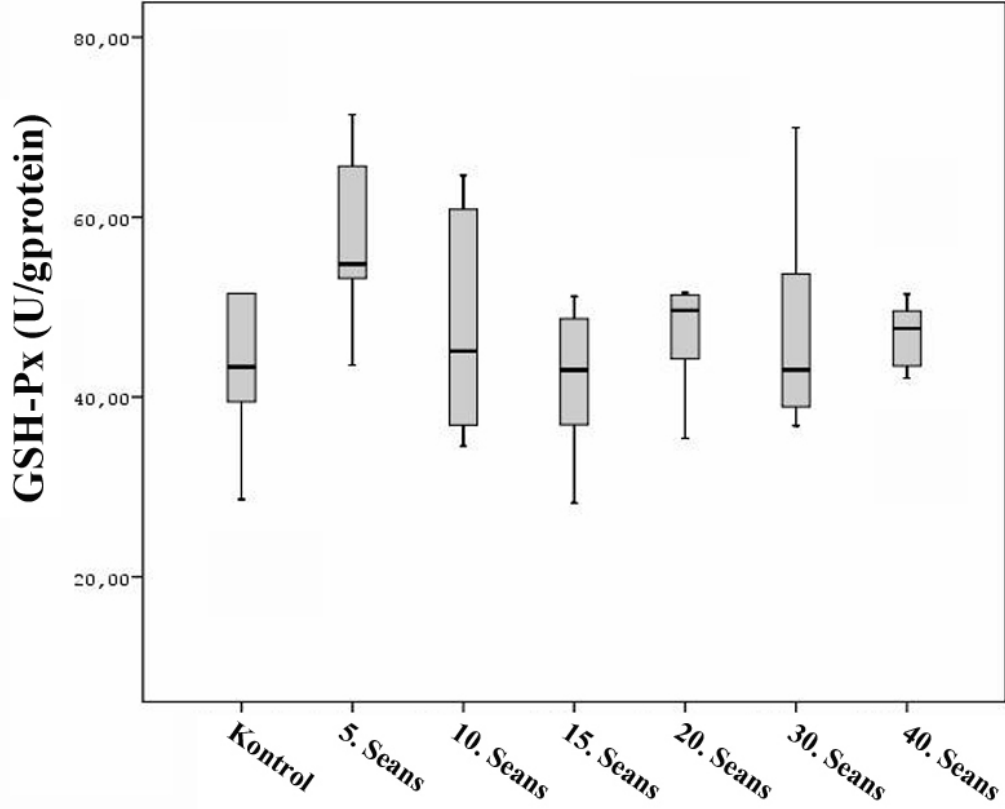


Şekil 4.3. Tüm gruplarda SOD düzeyleri

* Kontrol grubuna göre anlamlı artış (p<0,01)

4.4. GLUTATYON PEROKSİDAZ AKTİVİTELERİ

Çalışmamızda ölçümü gerçekleştirilen diğer 3 parametreden farklı olarak, GSH-Px aktivitesinde anlamlı bir değişiklik izlenmedi. İlginç olarak, 40.seanstan sonra bile hayvanların akciğer dokularında ölçülen GSH-Px aktivitesinin dağılımı kontrol grubundan adeta farksızdı.



Şekil 4.4. Tüm gruplarda GSH-Px düzeyleri

Tablo 4.1. Tüm gruplarda oksidatif ve antioksidan parametreler (Ortalama \pm Standart sapma)

Gruplar	MDA (mmol/g-protein)	PCO (mmol/g-protein)	SOD (U/g-protein)	GSH-Px (U/g-protein)
Kontrol	0,50 \pm 0,17	0,66 \pm 0,17	76,10 \pm 16,55	43,33 \pm 18,18
5 Seans	0,40 \pm 0,18	0,81 \pm 0,17	74,76 \pm 40,69	54,78 \pm 9,25
10 Seans	0,51 \pm 0,31	0,60 \pm 0,18	83,30 \pm 42,78	45,11 \pm 12,59
15 Seans	0,35 \pm 0,25	0,67 \pm 0,17	90,22 \pm 20,35	43,01 \pm 8,35
20 Seans	1,41 \pm 0,50 *	0,94 \pm 0,19 *	188,30 \pm 21,77 *	49,63 \pm 10,83
30 Seans	1,34 \pm 0,72 *	1,12 \pm 0,25 *	139,02 \pm 26,99 *	43,03 \pm 12,22
40 Seans	1,16 \pm 0,46 *	1,20 \pm 0,42 *	216,19 \pm 63,99 *	47,63 \pm 8,21

* Kontrol grubuna göre $p < 0.05$

5.TARTIŞMA

Son 40 yılın popüler tedavi yaklaşımlarından olan ve bu popülaritesi de giderek artan HBO uygulaması, halen dekompresyon hastalığı, hava ve gaz embolisi, karbonmonoksit zehirlenmesi ve duman inhalasyonu durumlarında ana tedavi olarak uygulanmakta ve bu durumlarda hayat kurtarıcı rol oynamaktadır. Ek olarak, iyileşmeyen ülserler, problemlili yaralar, deri greft ve flepleri, ezilmeler, kompartman sendromu ve akut travmatik iskemiler, gazlı gangren/klostridial enfeksiyonlar, nekrotizan yumuşak doku enfeksiyonları, yanıklar gibi akut durumlar ile beraber, radyasyon doku hasarı ve inatçı kronik osteomyelit gibi kronik endikasyonlarda da kullanılan bir tedavi yöntemidir **(86)**.

Temel etki mekanizması olarak gösterilen 'mekanik' ve 'oksijen çözünürlüğünü artırıcı' etkisinin yanında, HBO tedavisinin bazı ikincil etkileri de rapor edilmektedir. Bunlar lökositlerin savunma kapasitesinin artırılması, lökositlerin damar duvarına yapışma özelliğinin azaltılması, fibroblast büyümesi ve kollajen üretiminin artırılması, antioksidan SOD enzimi yapımının uyarılması, hücrede ATP'nin korunması, osteoklast aktivitesinin artırılması, kapiller proliferasyonun artırılması şeklinde sıralanabilecek etkilerdir **(19)**.

HBO'nun tedavi edici etkisi üzerine pek çok bilimsel çalışma vardır. Bunlara çarpıcı birkaç örnek vermek gerekirse, Jiang ve Tyssebotn adlı araştırmacıların gerçekleştirdiği bir deneysel çalışma dizisinde, sol karotid arteri tıkalı bilinci açık sıçanlara uygulanan CO zehirlenmesi modelinde HBO'nun nörolojik morbidite ve mortaliteyi önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir **(87,88)**. Diğer bir çalışmada, Zamboni ve arkadaşları, sıçan gracilis kasının iskemik modelinde 4 saatlik iskemi grubunda, iskemiye takip eden reperfüzyon döneminin başlangıç vazodilatasyonunu 1.saatte şiddetli bir vazokonstriksiyon izlemiştir. Bu çalışmanın iskemi sırasında ya da sonrasında HBO uygulanmış gruplarında 3 saatlik reperfüzyon periyodu boyunca herhangi bir vazokonstriksiyon olmamış, başlangıç vazodilatasyonunun korunduğu gözlenmiştir **(89)**.

Öte yandan, bunun gibi olumlu sonuçların yanında HBO uygulamasının, toksik etkiler de gösterebildiği bilinmektedir. Yapılan çalışmalar HBO uygulamasının ROT oluşumunu artırdığını göstermiştir; 2 ATA basınç altında bile ROT üretiminin arttığı ve buna bağlı oksidatif strese neden olabildiği görülmüştür **(90)**. Mevcut HBO uygulamaları ise genel olarak 2 ATA basınç üzerinde yapılmaktadır. Gülhane Askeri Tıp Akademisi Fizioloji Anabilim Dalı'nda daha önce yapılmış bir tez çalışmasında **(91)**, HBO kaynaklı oksidatif stres konusu irdelenmiş ve sonuçta HBO tedavisinin üst sınırı olan 3 ATA'da 2 saatlik uygulamanın önemli ölçüde oksidatif stres ile sonuçlandığı **(92)**, bu şekildeki akut uygulama yerine daha düşük süre/basınç altındaki seanslarla kronik dönem uygulamalarda oksidatif etkinin derecesinde önemli ölçüde azalma görüldüğü **(93)** ve HBO'nun bu oksidatif etkisinden ise maruz kalınan yüksek basınçtan çok saf oksijen solunumunun sorumlu olduğu ortaya konmuştur **(94)**. Bu bulgular üzerine gerçekleştirilmiş devam çalışmalarında ise akut HBO uygulamasına bağlı olarak ortaya çıkan oksidatif stresin ciddi ölçüde uygulama basıncına (6) ve süresine (7,8) bağlı ve doğru orantılı olduğu görülmüştür.

Tüm bunların yanında, yer yer aksi yönde görüş bildirmiş araştırmacılar da vardır; örneğin, Jamieson **(1)**, HBO uygulanan (%100 O₂; 4,5–6 ATA; 30 dk) farelerde akciğer ve beyin dokularında lipid peroksidasyonu görülmediğini rapor etmiştir. Noda ve McGeer **(95)** ise HBO uygulamasından hemen sonra lipid peroksidasyonunun önemli derecede (%22) arttığını, ancak bu artışın geçici bir durum olduğunu ve HBO'dan 3 saat sonra yapılan ölçümlerde, MDA düzeylerinin eski seviyesine döndüğünü göstermişlerdir. Benzer şekilde, bölümümüzde daha önce yapılmış çalışmalarda HBO kaynaklı oksidatif stresin sıçanların gerek beyin dokusunda **(96)** gerekse akciğerinde **(97)** en geç uygulama sonrasındaki 1,5 saat içinde ortadan kalktığı görülmüştür.

HBO kaynaklı oksidatif stres konusunun bir de paradoksal boyutu vardır: HBO uygulaması ile bir yandan saf oksijen maruziyeti ile birincil olarak etkilenen organlar olan akciğer ve beyinde oksidatif stres oluşturmakta iken, diğer yandan birtakım patolojik süreçler sonunda ortaya çıkmış oksidatif

stresin baskılanabildiği görülmektedir. Literatür, oksidatif stres artışı ile seyreden birçok farklı patolojik durumda, sözgelimi sistit **(98)**, pankreatit **(99)**, sepsis **(100)**, nefrit **(101)**, kolit **(102)** gibi inflamatuvar süreçlerde, HBO'nun faydalı etkiler gösterebildiğine dair örnekler çoktur. Bundan dolayı, HBO ve oksidatif stres konulu bilimsel araştırmalar incelenirken, konunun hem fizyolojik hem de patolojik yönlerden değerlendirilmesi önemlidir.

Bu zamana kadar HBO ile ilgili yapılan araştırmalar ve edinilmiş tecrübeler, bu tedavi yönteminin dekompresyon hastalığı, CO zehirlenmesi gibi bazı patolojik durumlar başta olmak üzere, birçok farklı durumda da yararlı etkilerinin olduğunu göstermesi, tedavide kullanımının gerekli ve hatta yer yer zorunlu olduğu kabulünü yerleştirmiştir. Bu şekilde, önemli bir tedavi seçeneği olduğu genel kabul gören HBO'nun bünyesinde oksidatif stres potansiyelini barındırması ise uygulama sırasında birtakım antioksidan maddelerin verilerek olası oksidatif hasarı önleme yönünde çalışmaların yapılmasına neden olmuştur. Bu amaçla yapılmış araştırmalarda riboflavin, selenyum, E ve C vitaminleri ve melatonin gibi antioksidan özellikli maddelerin HBO ile birlikte uygulandığında lipid peroksidasyonu ve oksidatif hasarı azalttığına dair sonuçlar elde edilmiştir **(77,79,103-105)**.

Yukarıda örnekleri verilen ve HBO sonrasında oksidatif stresin artmış olarak bulunduğunu bildiren araştırmaların hemen hepsi tek seanslık uygulamalar sonrasında ve basınç odasından çıkar çıkmaz yapılan tetkikleri kapsamaktadır. Oysa ki klinik kullanımı yönüyle ele alındığında, HBO'nun bu şekildeki tek seanslık uygulamaları çok nadirdir. Bazen 5, çoğu kez 10–20, yer yer ise bundan daha fazla sayıda seansı kapsayan uygulama prosedürleri söz konusudur. İşte bu tez çalışmasında da, sağlıklı deney hayvanlarına uzun bir döneme yayılmış süreçte uygulanan HBO'nun olası oksidatif stres tetikleme yönündeki etkilerini irdelemeyi amaçladık. Daha önce yine GATA'da, görece uzun dönem olarak uygulanan HBO kaynaklı oksidatif strese karşı antioksidan olarak verilen melatoninin etkilerinin araştırıldığı bir çalışma gerçekleştirilmişti **(106)**. Bu araştırmada 2,5 ATA'da günlük 1'er saatlik ve toplam 10 gün boyunca uygulanan HBO sonucu oksidatif stres verileri olarak MDA ve PCO'da anlamlı artış izlenmiş, antioksidan

enzimlerden SOD de bu artışa eşlik etmiş olarak bulunmuştur. Ancak, yine aynı araştırmada dikkat edilmesi gereken önemli bir nokta deney hayvanlarından doku örneklerinin hemen 10'uncu seansın bitiminde alınmış olmasıdır. Dolayısıyla bu çalışmada HBO kaynaklı oksidatif stres yönünden 10'uncu uygulamanın akut etkisinin toplamdaki 10 seanslık uzun dönem etki ile karışmış olabilir. Bu şekildeki olası bir interferanstan kaçınmak için, araştırma planlamamızda hedeflenen seans sayısına ulaşıncaya doku örneklerinin basınç odasından çıkar çıkmaz değil de, sanki bir seans daha uygulanacakmış gibi, yani 24 saat bekletildikten sonra, alınmasına önem verdik.

Çalışmamızda oksidatif stres göstergeleri olan MDA ve PCO ile antioksidan sistemde görev alan enzimler olan SOD ve GSH-Px'in akciğer dokusundaki aktivitelerini ölçtük. Bu parametreleri tetkik etmek amacıyla akciğer dokusunu belirlemiş olmamızın nedeni, HBO uygulaması sırasında saf oksijene doğrudan maruz kalan ilk doku olarak en önde gelen hedef organı teşkil etmesiydi. Çalışmanın görece daha kısa dönem HBO uygulamalarından oluşan 5, 10 ve 15 seanslık gruplarda, ölçümünü gerçekleştirdiğimiz parametrelerin hiçbiri normal değerlerden farklı bulunmadı. Ancak bundan sonraki ilk aşama olan 20 seanslık HBO uygulaması sonrasında gerek lipid peroksidasyonu gerekse protein oksidasyonu yönünden anlamlı bir yükselme ortaya çıktı. Antioksidan SOD enzimi aktivitesi de bu oksidatif stres göstergelerine paralel olarak artmış bulundu. Takip eden 30 ve 40 seanslık uygulamalar ile de bu tablo değişmedi ve hepsinde de yüksek MDA, PCO ve SOD düzeyleri sebat etti.

Esasen, yaygın kullanımı 40 yılı bulmuş olmasına rağmen, doğrudan HBO uygulamasına bağlı olarak rapor edilmiş ciddi toksisite olayları bulunmamaktadır. Bununla birlikte, HBO tedavisinin oksidan-antioksidan parametreler üzerine etkilerini kapsamlı bir şekilde ortaya koyan klinik çalışma sayısı da çok azdır. Benedetti ve ark., iskemik süreçlere bağlı birtakım sebeplerde dolayı HBO tedavisi alan 12 hastanın 15 seans sonrasındaki kan örneklerinde yaptıkları tetkiklerde ilk seans sonrası değerlerine göre MDA düzeylerinde artış ve SOD aktivitesinde azalma rapor

etmektedir **(107)**. Diğer yandan, yine hipoksi kökenli bazı rahatsızlıklardan dolayı GATA'daki 15 hastalık bir gruba uygulanan 20 seans HBO sonrasında ise bu defa ne MDA, ne de SOD ve GSH-Px düzeylerinde anlamlı bir değişiklik bulunamamıştır **(108)**. Tek seans olarak 2,4 ATA'da 19 sağlıklı bireye uygulanan HBO prosedüründe ise, Bader ve ark., kan antioksidan kapasitesinde azalma ve lipid peroksidasyonunda artış bildirmiştir **(109, 110)**. Görülüyor ki, HBO kaynaklı oksidatif stres üzerine gerçekleştirilmiş bu az sayıdaki insan çalışmasında da birbiriyle çelişir tarzda sonuçlar rapor edilmektedir.

Bu konuda, yine sağlıklı gönüllü denekler üzerinde başlayıp daha sonra hücre kültürü ortamında devam eden bir Alman araştırma grubunun çalışmaları ise dikkate değerdir. Buna göre, HBO'ya maruz bırakılan gönüllülerden alınan kan örneklerinden izole edilen lökositlerde görülen oksidatif DNA hasarı takip eden seanslardan sonra bir daha görülememiştir **(111)**. Ayrıca, ilk HBO seansından sonra görülen DNA zincir kopmalarının hızla tamir edildiğini ve 24 saat sonrasında böyle bir etkinin artık izlenmediği de bildirilmiştir **(112)**. Ekibin bundan sonra devam eden araştırmaları sonucunda, ilk HBO maruziyeti sonucunda birtakım adaptif mekanizmaların harekete geçtiği, antioksidan mekanizmaların uyarıldığı ve bu şekilde sonraki HBO uygulamalarının oksidatif etkisinden korunduğuna dair bir çıkarıma varılmıştır **(113,114)**. Daha ilginç olarak, yaptıkları hücre kültürü çalışmalarında, HBO'nun bu adaptif koruyucu mekanizmaları harekete geçirici etkisinin sadece devam eden HBO maruziyetlerine karşı değil, farklı okside edici ajanlara karşı da ortaya çıkabildiğini göstermişlerdir **(115)**. Bizim çalışmamızın belki de en önemli yönü, bu araştırma dizisi ile ortaya konan adaptif koruyucu mekanizmaların, 15–20 seans aralığında ortaya çıkan bir kırılma noktasından itibaren aksayabileceğini göstermiş olmasıdır. Buna göre, ilk 15 uygulama boyunca hiçbir oksidatif stres parametresi yönünden anlamlı bir etkisi görülmeyen HBO 20.seanstan sonra belirgin bir oksidatif strese neden olmuştur.

Rutin klinik uygulamalarda HBO tedavisine alınan hastalara antioksidan E ve C vitamini verilmesi yaygın bir alışkanlıktır. Bu gibi antioksidanların HBO

kaynaklı oksidatif strese karşı koruyucu olabildiği deneysel çalışmalarda rapor edilmiş olmakla birlikte, yukarıda örnekleri verilen, az sayıdaki insan çalışmasında ciddi bir etkinlikleri gösterilememiştir **(109, 110)**. HBO uygulaması sonucunda birincil olarak artan ROT olan süperoksit radikale karşı savaşım veren SOD'nin bir analogu ile yine sağlıklı gönüllüler üzerinde yapılan bir araştırmada ise daha başarılı sonuçlar alınmıştır. Buna göre, 60 dakikalık tek bir seans için 2,5 ATA'da HBO'ya maruz bırakılan 20 kişinin kanında izlenen oksidatif DNA hasarının SOD analogunu kullananlarda kullanmayanlara göre anlamlı olarak daha az ortaya çıktığı görülmüştür **(116)**. Dikkate alınması gereken önemli bir nokta, gerek vitamin E ve C ile yapılan gerekse SOD analogu kullanılan bu insan çalışmalarının her ikisinin de tek seanslık HBO uygulamalarını kapsamıdır. Bizim araştırmamızda kullandığımız HBO prosedürüne karşılık gelebilecek uygun bir klinik çalışma ise bulunmamaktadır ve araştırmamızın sonuçları özellikle 15 ve üzerinde seanslar şeklinde HBO tedavisine alınacak hastalar için etkili bir antioksidan profilaksinin uygun olacağını düşündürmektedir.

Araştırmamızda ölçümünü gerçekleştirdiğimiz dördüncü bir parametre ise endojen antioksidan savunma reaksiyonları sırasında SOD'dan bir sonraki basamakta işe karışan ve oluşan hidrojen peroksiti ortadan kaldırmaya yarayan GSH-Px aktivitesidir. Çalışmamızda GSH-Px aktivitesi yönünden bir değişiklik izlenmedi. İlk bakışta SOD aktivitesi sonuçları ile çelişir gibi görünen bu durum, önceki çalışmalarda elde edilen paralel bulgular ile karşılaştırıldığında normal karşılanabilmektedir. HBO'nun oksidatif mekanizmaları ne şekilde etkilediği üzerine yapılmış belki de en kapsamlı çalışmada, Harabin ve ark., sıçan ve kobaylara 2,8 ATA basınç altında HBO uygulamış ve akciğer SOD aktivitesinde artış, beyin ve akciğer dokuları CAT ve GSH-Px aktivitelerinde ise azalma rapor etmişlerdir **(2)**. Tıpkı Harabin'in bu çalışması gibi tek seanslık HBO uygulamasına dayanan çoğu deneysel çalışmada bir GSH-Px aktivite artışı bildirilmiştir **(7, 97)**. Ancak HBO'nun uzun döneme yayılmış bir prosedüre dayanarak uygulandığı deneysel **(106)** ve klinik **(107)** çalışmalarda GSH-Px düzeylerinin değişmediği şeklinde bulgular elde edilmiştir. Hidrojen peroksit'e karşı savunmada görev

alan CAT enziminin çalışmamızda ölçülmemiş olması bu yönden bir eksiklik oluşturmakta ve daha ileri yorum yapmamızı engellemektedir. Yine de çalışmamızda, ölçülen diğer antioksidan enzim olan SOD aktivitesinin anlamlı artış düzeyleri ile MDA ve PCO' nun da bu artışa eşlik etmesi, GSH-Px aktivitesinin ise artmamış olsa da normal düzeylerinin de altına düşmemiş olması, organizmanın antioksidan savunma sistemlerinin mevcut stres ile baş etme derecesinin yeterli ve yerinde olduğu izlenimi vermektedir. Çünkü ciddi bir oksidatif stres varlığında çok yüksek MDA ve PCO gibi oksidasyon ürünlerinin yanında, aktiviteleri ileri derecede baskılanmış antioksidan enzim düzeyleri beklenirdi.

Araştırmamızın sonuçlarını bir kez daha toplu halde gözden geçirmemiz gerekirse, sıçan akciğerinde yaptığımız tetkiklere göre; uzun dönem HBO uygulamaları sırasında en azından ilk 15 seanslık süre boyunca, oksidatif strese karşı organizmanın ileri derecede bir uyumunun varlığından söz edilebilmekteyiz. Ancak 20 seansı aşan HBO uygulamalarıyla birlikte sıçanların akciğerinde belirgin bir oksidatif stres izlenmiş olup antioksidan SOD enzim aktivitesinin bu artışa paralel şekilde yükselmiş bulunması; GSH-Px aktivitesinin de normal sınırları içerisinde kalmaya devam etmesi nedeniyle, bu oksidatif stresin endojen antioksidan savunma mekanizmalarının kapasitesini çok zorlamadığı düşüncesi oluşmuştur.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Klinik uygulamalara benzer şekilde tasarlanan ve uzun döneme yayılmış olarak sıçanlara uygulanan günlük 1,5 saatlik 2,8 ATA basınçtaki HBO, en önemli hedef organı olan akciğer dokusunda yapılan tetkiklere göre, oksidatif stres yönünden, ilk 15 seans boyunca görece güvenli bir tedavi modalitesi gibi izlenmektedir. Tedavi prosedürünün bundan daha uzun olarak uygulandığı durumlarda ise hem lipid peroksidasyonu hem de protein oksidasyonu yönüyle artan bir oksidatif stres varlığından söz etmek mümkündür.

Bu oksidatif stres, her ne kadar vücudun antioksidan savunma sistemlerini aşmayan sınırlarda kalmış gibi görünse de, 15 seansın üzerinde planlanmış olan HBO uygulamaları için artmış olan oksidatif stres etkisini azaltmak amacıyla eksojen yoldan antioksidan takviyesinin uygun olabileceği değerlendirilebilir. Bu amaçla ise, yıllardır kullanılıyor olmakla birlikte E ve C vitamini desteğinin çok da etkin olmadığı izlenmektedir **(109, 110)**. Bunun yerine, insanlar üzerinde etkinliği daha önce gösterilmiş, SOD analoglarının **(116)**, ya da gerek tek seans **(105, 117, 118)**, gerekse çok seanslı **(106)** uygulamalarda deneysel olarak etkinliği gösterilmiş ve insanlarda hiçbir yan etkisinin olmadığı bilinen melatoninin kullanıma sokulması önerilebilir. Öte yandan 15 seans sonrası birkaç haftalık tedavi molalarının da verilmesi klinik açıdan oksidatif strese maruz kalma olasılığını elbette azaltacağı apaçıktır. Bununla birlikte, bu tür yaklaşımların daha fazla ve özellikle klinik şartlarda elde edilen, veri ile desteklenmesi gerekmektedir.

Ayrıca bu çalışmanın, akciğer dışında, hiperoksik koşulların taşıyıcı dokusu olan kan (özellikle eritrositler) ve yüksek parsiyel oksijen basıncına bağlı toksik reaksiyonların diğer bir önemli hedefi olan merkezi sinir sistemini (sözelimi beyin korteksi ya da diğer beyin bölümlerini) de içine alacak şekilde genişletilmesi, hiperbarik oksijen tedavisi modaliteleri oluşumuna önemli bir katkı sağlayacaktır. Çalışmada ölçümü yapılan parametrelerin yanında, GSH-Px ile aynı paralelde görev yapan, CAT aktivitesine de bakılması ve GSH döngüsünün diğer bileşenlerinin de analize dâhil edilmesi

konuya çok daha geniş bir bakış açısı kazandıracaktır. Ancak daha önemli olan, bu konuda eksikliği ciddi şekilde hissedilen, klinik çalışmalar üzerinde yoğunlaşılmasıdır.

KAYNAKLAR

i. Dergi Makalesi

1. Jamieson, D.D., Lipid peroxidation in brain and lungs from mice exposed to hyperoxia, *Biochem Pharmacol*, 41, 749–756. 1991.
2. Harabin A.L., Braisted J.C., Flynn E.T., Response of antioxidant enzymes to intermittent and continuous hyperbaric oxygen, *J Appl Physiol*, 69, 328–335. 1990.
3. Del Maestro R.F., An approach to free radicals in medicine and biology, *Acta Physiol Scand*, 492 (suppl), 153-168, 1980.
6. Oter S., Korkmaz A., Topal T., Ozcan O., Sadir S., Ozler M., Ogur R., Bilgic H., Correlation between hyperbaric oxygen exposure pressures and oxidative parameters in rat lung, brain, and erythrocytes, *Clin Biochem* 38, 706–711, 2005.
7. Oter S., Topal T., Sadir S., Ozler M., Uysal B., Ay H., Yaren H., Korkmaz A., Akin A., Oxidative stress levels in rats following exposure to oxygen at 3 atm for 0-120 min, *Aviat Space Environ Med*, 78, 1108–13, 2007.
8. Korkmaz A., Oter S., Sadir S., Topal T., Uysal B., Ozler M., Ay H., Akin A., Exposure time related oxidative action of hyperbaric oxygen in rat brain, *Neurochem Res*, 33, 160–166. 2008.
9. Stadtman E.R., Levine R.L., Protein oxidation, *Ann N.Y. Acad Sci*, 899,191–208. 2000.
12. Pamela S. Grim MD, Lawrence J. Gottlieb MD, Allyn Bodie RN, Eric Batson MD, Hyperbaric Oxygen Therapy, *JAMA*, April 25 (16),263,1990.
17. Çimşit M., Hiperbarik Oksijen Tedavisi, *Sendrom*, (Ed),Yalman A., Sayı: 6, 67-69, 1990.
21. Fontaine, J.A., Emploi chirurgical de l'air comprime, *Union Med*, 28, 445,1879.

- 22.** Corning, J.L., The use of compressed air in conjunction with medicinal solutions in the treatment of nervous and mental affections, beings a new system of cerebrospinal therapeutics, *Med Record*, 40, 225, 1891.
- 23.** Lorrain-Smith, J., The pathological effects due to increase of oxygen tension in the air breathed, *J of Physiology*, 24,19-35, 1898.
- 25.** Churchill-Davidson, I., Sanger C., Thomlinson, R.H., High-pressure oxygen and radiotherapy, *Lancet*, 1,1091-1095, 1955.
- 28.** Artuc, M., Hermes, B., Steckelings, U.M., Grutzkau, A., Henz, B.M., Mast Cells and Their Mediators in Cutaneous Wound Healing Active Participants or Innocent Bystanders. *Exp Dermatol*, 8 (1),1-16, 1999.
- 32.** Babior, B.M., Oxygen-Dependent Microbial Killing By Phagocytes (First Of Two Parts), *N Engl J Med*, 298, (12), 659-68, 1978.
- 33.** Sbarra, A., Karnovsky, M., The Biological Basis of Phagocytosis I, Metabolic Changes During the Ingestion of Particles by Polymorphonuclear Leukocytes, *J Biol Chem*, 234 (6), 1355-1362, 1959.
- 34.** Allen, D.B., Maguire, J., Mahdavian, M., Wound Hypoxia and Acidosis Limit Neutrophil Bacterial Killing Mechanisms, *Arch Surg*, 132, 991-996, 1997.
- 36.** Kindwall, E.P., Gottlieb, L.J., Larson, D.L., Hyperbaric Oxygen Therapy in Plastic Surgery, A Review Article, *Plast Reconst Surg*, 8 (5), 898-908, 1991.
- 37.** Çimşit, M., Hiperbarik oksijenin kullanım alanları, *Tıbbi Ekoloji ve Hidroklimatoloji Dergisi*, Hiperbarik Oksijenasyon özel sayısı, Cilt 2, Sayı 1, 8-15, 1984.
- 38.** Jensen, J.A., Hunt, T.K., Scheuentuhl, H., et al, Effect of lactate, pyruvate and pH on secretion of angiogenesis and mitogenesis factors by macrophages, *Lab Invest* 54, 574-578, 1986.
- 39.** Marks, N., Datte, K., Lahjta, K., Prolidase activity in sciatic nevre, *J Neuro Chem* 17, 53-63, 1970.

- 40.** Nachum, Z., Reissman, P., Dolberg, S., Melamed, Y., Hyperbaric Oxygen for purpura fulminans, Proceedings of the 15th Meeting of the E.U.B.S. Ed: Bitterman, N., Lincoln, N., 251-257, Eilat, 1989.
- 42.** Akpir, K., Karbon monoksit zehirlenmesi ve anaerobik infeksiyonların tedavisinde Hiperbarik oksijenizasyon, Tıbbi Ekoloji ve Hidroklimatoloji Dergisi, Hiperbarik oksijenizasyon sempozyumu özel sayısı, cilt 2, sayı 1, 32-36, 1984.
- 45.** Uysal M., Serbest radikaller, lipid peroksitleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar, Klinik gelişim 11, 336-341, 1998.
- 46.** Harabin A.L., Survanshi S.S., Homer C.D., A test for variations in individual sensitivity to hyperbaric oxygen toxicity, UHM, 21, 403-412, 1994.
- 47.** Torbati D., Church D.F., Keller J.M., et all, Free radical generation in the brain precedes hyperbaric oxygen- induced convulsions, Free Rad Biol & Med, 13,101-106, 1992.
- 48.** Chawko M., Auker C.R., Mc Carron R.M., Relationship between protein nitration and oxidation and development of hyperoxic seizures, Nitric Oxide, 9, (1), 18-23, 2003.
- 51.** Andersson B., "Hyperoxic myopia" Trans Am Ophthalmol Soc, 7, 116-124, 1978.
- 53.** Palmquist B.M., Philippon B. and Barr P.O., "Nuclear cataract and myopia during Hyperbaric Oxygen Therapy" Br J Ophthalmol, 68 (2), 113-117, 1984.
- 55.** Thom S.R., Clark J.M., The Toxicity of Oxygen, Carbon Monoxide and Carbon Dioxide, in Bove A.A., Davies J.C., (eds): Diving Medicine, 2nd Ed, W.B. Saunders Comp, Philadelphia, USA, 82-94, 1990.
- 56.** Penn J.S., Tolman B.C., Henry M.M. Oxygen induced-retinopathy in the rat, Relationship of retinal nonperfusion to subsequent neovaskularization abstract, UHM, 22, 104, 1995.

- 57.** Torbati D., Peymen G.A., Wafapoor H., Shaibani S.B., KhoobebiB, Experimental retinopathy by Hyperbaric Oxygenation, UHM, 22, 31-39, 1995.
- 58.** Kobayashi T., Murakami S., Blindness of an adult caused by oxygen, JAMA, 219, 741-742, 1972.
- 59.** Richter, C., Reactive Oxygen and DNA Damage in Mitochondria, Mutat Res, 275, 249-55, 1992.
- 60.** Roehm, J.N., Hadley, J.G., Menzel, D.B., Wash, R., Oxidation of Unsaturated Fatty Acids by Ozone and Nitrogen Dioxide, Arch Environ Health, 23, 142-148, 1971.
- 63.** Halliwell, B., Reactive Oxygen Species In Living Systems, Am J Med, 91 (3C),14-22, 1991.
- 64.** Basaga, H.S., Biochemical Aspects of Free Radicals, Biochem Cell Biol, 68, 989-98, 1990.
- 65.** Bast, A., Haenen, G.R., Doelman, C.J., Oxidants and Antioxidants, State of The Art, Am J Med, suppl 3C, 2-13, 1991.
- 66.** Pierrefiche, G., Laborit, H., Oxygen Radicals Melatonin and Aging, Exp Gerontol, 30, 213-27, 1995.
- 68.** Farber, J.L., Kyle, M.E., Coleman, J.B.: Mechanisms of Cell Injury by Activated Oxygen Species, Lab Invest, 62 (6), 670-679, 1990.
- 69.** Marklund, S.L., Extracellular Superoxide Dismutase in Human Tissues and Human Cell Lines, J Clin Invest, 74 (4),1398-403, 1984.
- 70.** Fridovich, I., The Biology of Oxygen Radicals, Science, 201,875-880, 1978.
- 71.** Sies, H., Oxidative Stress, From Basic Research to Clinical Application, Am J Med, suppl 3C, 31-38, 1991.
- 72.** Krinsky, N.I., Membrane Antioxidants, Ann NY Acad Sci, 551,17-33, 1988.
- 73.** Frei, B., Reactive Oxygen Species and Antioxidant Vitamins, Mechanisms of Action, Am J Med, 97 (Suppl 3A), 5-13, 1994.

- 75.** Jenkinson, S.G., Jordan, J.M., Lawrence, R.A., BCNU-induced protection from hyperbaric hyperoxia, role of glutathione metabolism, *J Appl Physiol*, 65 (6), 2531-2536, 1988.
- 76.** Weber, C.A., Duncan, C.A., Lyons, M.J., Jenkinson, S.G., Depletion of tissue glutathione with diethyl maleate enhances hyperbaric toxicity, *Am J Physiol*, 258 (6/1),L 308-312, 1990.
- 77.** Boadi, W.Y., Kerem, D., Yannai, S., Effect of dietary factors on antioxidant enzymes in rats exposed to hyperbaric oxygen, *Vet Hum Toxicol*, 33 (2),105-109, 1991.
- 78.** Lutz, J., Stark, M., Administration of perfluorochemicals under hyperbaric oxygen pressure and treatment with free oxygen radical scavengers, *Biomat Art Cells Art Org*, 16, 395-402, 1988.
- 79.** Etlik, O., Tomur, A., Dundar, K., Erdem, A., Gundogan, N.U., The Effect of Antioxidant Vitamins E and C on Lipoperoxidation of Erythrocyte Membranes During Hyperbaric Oxygenation. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 8 (4), 269-277, 1997.
- 80.** Zamboni, W., Wong, H.P., Stephenson, L.L., Effects of hyperbaric oxygen on neutrophil concentration and pulmonary sequestration in reperfusion injury, *Archives of Surgery*, 131 (7), 756-760, 1996.
- 81.** Lowry, O., Rosebrouck, N.J., Farr, A.L., Randal, R.J., Protein measurement with the Folin Phenol reagent, *J Biol Chem*, 193, 265-275, 1951.
- 82.** Hammouda, A.el-R., Khalil, M.M., Salem, A., Lipid peroxidation products in pleural fluid for seperation of transudates and exudates, *Clin Chem*, 41, 1314-1315, 1995.
- 84.** Sun, Y., Oberley, L.W., Li, Y., A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase, *Clin Chem*, 34, 497-500, 1998.
- 85.** Paglia, D.E., Valentine, W.N., Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase, *J Lab Clin Med*, 70 (1),158-169, 1967.

- 86.** Leach, R.M., Rees, P.J., Wilmshurst, P., Hyperbaric oxygen therapy, *BMJ* 317, 1140–1143, 1998.
- 87.** Jiang, J., Tyssebotn, I., Normobaric and hyperbaric oxygen treatment of acute carbon monoxide poisoning in rats, *Undersea Hyperb Med*, 24, 107-116, 1997.
- 88.** Jiang, J., Tyssebotn, I., Cerebrospinal fluid pressure changes after acute carbon monoxide poisoning and therapeutic effects of normobaric and hyperbaric oxygen in conscious rats, *Undersea Hyperb Med*, 24, 245-254, 1997.
- 89.** Zamboni, W.A., Roth, A.C., Russell, R.C., Graham, B., Suchy, H., and Kucan, J.O., Morphologic analysis of the microcirculation during reperfusion of ischemic skeletal muscle and the effect of hyperbaric oxygen, *Plast Reconstr Surg*, 91, 1110-1123, 1993.
- 90.** Monstrey, S.T., Mullick, P., Narayanan, K., Ramasastry, S.S, Hyperbaric oxygen therapy and free radical production, an experimental study in doxorubicin (Adriamycin) extravasation injuries, *Ann Plast Surg*, 38, 163-168, 1997.
- 92.** Öter, Ş., Korkmaz, A., Serdar, M.A., Göksoy, C., Özcelik, F., Bilgiç, H., Hyperbaric oxygen and oxidative stress, a comparative study in rat lung, *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 21, 449-454, 2001.
- 93.** Öter, Ş., Korkmaz, A., Serdar, M.A., Göksoy, C., Bilgiç, H., Kutluay, T., Oksidative stress in rat lung caused by hyperbaric oxygen exposed in different doses, *Türkiye Tıp Dergisi Dahili Tıp Bilimleri*, 9, 30-35, 2002.
- 94.** Öter, Ş., Korkmaz, A., Göksoy, C., Serdar, M.A., Özcelik, F., Bilgiç, H., The contribution of high pressure as an environmental component on hyperbaric oxygen induced oxidative stress, *Medical Network Klinik Bilimler ve Doktor*, 7, 288-292, 2001.
- 95.** Noda, Y., McGeer, P.L., McGeer, E.G., Lipid peroxide distribution in brain and the effect of hyperbaric oxygen, *J Neurochem*, 40, 1329-1332, 1983.

- 96.** Ay, H., Topal, T., Ozler, M., Uysal, B., Korkmaz, A., Oter, S., Ogur, R., Dündar, K., Persistence of hyperbaric oxygen-induced oxidative effects after exposure in rat brain cortex tissue, *Life Sci*, 80, 2025-2029, 2007.
- 97.** Ay, H., Topal, T., Uysal, B., Ozler, M., Oter, S., Korkmaz, A., Dündar, K., Time-dependent course of hyperbaric oxygen-induced oxidative effects in rat lung and erythrocytes, *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 34,787-791, 2007.
- 98.** Korkmaz, A., Oter, S., Deveci, S., Ozgurtas, T., Topal, T., Sadir, S., Bilgic, H., Involvement of nitric oxide and hyperbaric oxygen in the pathogenesis of cyclophosphamide induced hemorrhagic cystitis in rats, *J Urol*, 170, 2498-2502, 2003.
- 99.** Isik, A.T., Mas, M.R., Comert, B., Yasar, M., Korkmaz, A., Akay, C., Deveci, S., Tasci, I., Mas, N., Ates, Y., Kocar, I.H., The effect of combination therapy of hyperbaric oxygen, meropenem, and selective nitric oxide synthase inhibitor in experimental acute pancreatitis, *Pancreas*, 28, 53-57, 2004.
- 100.** Oter, S., Edremitlioglu, M., Korkmaz, A., Coskun, O., Kilic, D., Kisa, U., Yaren, H., Bilgic, H., Effects of hyperbaric oxygen treatment on liver functions, oxidative status and histology in septic rats, *Intensive Care Med*, 31, 1262-1268, 2005.
- 101.** Yılmaz, M.I., Korkmaz, A., Kaya, A., Sönmez, A., Çağlar, K., Topal, T., Eyileten, T., Yenicesu, M., Açikel, C., Öter, S., Yaman, H., Aktuğ, H., Oğuz, Y., Vural, A., İközler, T.A., Hyperbaric oxygen treatment augments the efficacy of a losartan regime in an experimental nephrotic syndrome model, *Nephron Exp Nephrol*, 104, 15-22, 2006.
- 102.** Gulec, B., Yasar, M., Yıldız, S., Oter, S., Akay, C., Deveci, S., Sen, D., Effect of hyperbaric oxygen on experimental acute distal colitis, *Physiol Res*, 53, 493-499, 2004.
- 103.** Stewart, R.J., Moore, T., Bennett, B., Easton, M., Newton, G.W., Yamaguchi, K.T., Effect of free radical scavengers and hyperbaric oxygen on random-pattern skin flaps, *Arch Surg*, 129, 982-988, 1994.

- 104.** Shang, F., Gong, X., Egtesadi, S., Meydani, M., Smith, D., Perrone, G., Scott, L., Blumberg, J.B., Taylor, A., Vitamin C hyperbaric oxygen-induced growth retardation and lipid peroxidation and attenuates the oxidation-induced up-regulation of glutathione in guinea pigs, *J Nutr Biochem*, 13, 307-313, 2002.
- 105.** Pablos, M.I., Reiter, R.J., Chuang, J.I., Ortiz, G.G., Guerrero, J.M., Sewerynek, E., Agapito, M.T., Melchiorri, D., Lawrance, R., Deneke, S., Acutely administered melatonin reduces oxidative damage in lung and brain induced by hyperbaric oxygen, *J Appl Physiol*, 83, 354-358, 1997.
- 106.** Mollaoglu, H., Topal, T., Ozler, M., Uysal, B., Reiter R.J., Korkmaz A., Oter S., Antioxidant effects of melatonin in rats during chronic exposure to hyperbaric oxygen, *J Pineal Res*, 42, 50–54, 2007.
- 107.** Benedetti, S., Lamorgese, A., Piersantelli, M., Pagliarani, S., Benvenuti, F., Canestrari, F., Oxidative stress and antioxidant status in patients undergoing prolonged exposure to hyperbaric oxygen, *Clin Biochem*, 37, 4, 312-317, 2004.
- 108.** Eken A, Aydın A, Sayal A, Ustundag A, Duydu Y, Dundar K. The effects of hyperbaric oxygen treatment on oxidative stress and SCE frequencies in humans. *Clin Biochem*, , 38 (12), 1133-1137, 2005.
- 109.** Bader N., Bosy-Westphal A., Koch A., Rimbach G., Weimann A., Poulsen H.E., Müller M.J., Effect of hyperbaric oxygen and vitamin C and E supplementation on biomarkers of oxidative stress in healthy men, *Br J Nutr* 98 (4),826-833, 2007.
- 110.** Bader N., Bosy-Westphal A., Koch A., Mueller M.J., Influence of vitamin C and E supplementation on oxidative stress induced by hyperbaric oxygen in healthy men, *Ann Nutr Metab*, 50 (3) 173-176, 2006.
- 111.** Dennog C., Hartmann A., Frey G., Speit G.. Detection of DNA damage after hyperbaric oxygen (HBO) therapy, *Mutagenesis*, 11 (6),605-609, 1996.
- 112.** Speit G., Dennog C., Lampl L., Biological significance of DNA damage induced by hyperbaric oxygen, *Mutagenesis*, 13 (1),85-87, 1998.

- 113.** Rothfuss A., Dennog C., Speit G., Adaptive protection against the induction of oxidative DNA damage after hyperbaric oxygen treatment. *Carcinogenesis*, 19 (11),1913-1917, 1998.
- 114.** Speit G., Dennog C., Radermacher P., Rothfuss A., Genotoxicity of hyperbaric oxygen, *Mutat Res*, 512 (2-3),111-119, 2002.
- 115.** Rothfuss A., Speit G., Investigations on the mechanism of hyperbaric oxygen (HBO)-induced adaptive protection against oxidative stress. *Mutat Res*. 508 (1-2),157-165, 2002.
- 116.** Muth C.M., Glenz Y., Klaus M., Radermacher P., Speit G., Leverage X., Influence of an orally effective SOD on hyperbaric oxygen-related cell damage, *Free Radic Res*, 38 (9), 927-932, 2004.
- 117.** Dundar K., Topal T., Ay H., Oter S., Korkmaz A., Protective effects of exogenously administered or endogenously produced melatonin on hyperbaric oxygen-induced oxidative stress in the rat brain, *Clin Exp Pharmacol Physiol*, Nov,32 (11),926-930, 2005.
- 118.** Topal T., Oter S., Korkmaz A., Sadir S., Metinyurt G., Korkmazhan E.T., Serdar M.A., Bilgic H., Reiter R.J., Exogenously administered and endogenously produced melatonin reduce hyperbaric oxygen-induced oxidative stress in rat lung, *Life Sci*, Jun 11, 75 (4) 461-467, 2004.

ii. Kitap

- 4.** Kehrer J.P., Smith C.V., Free radicals in biology, Sources, reactivities and roles in the etiology of human disease, in Frei B (ed), *Natural Antioksidants in Human Health and Disease*, San Diego, Academic Pres, pp, 25-62, 1994.
- 5.** Feher, J., Cosmos, G., Vereche, A., *Free Radical Reactions in Medicine*, 1987.

- 10.** Çimşit, M., Hiperbarik oksijenin kullanım alanları, Tıbbi Ekoloji ve Hidroklimatoloji Dergisi, Hiperbarik Oksijenasyon özel sayısı, Cilt 2, Sayı 1, 8-15, 1984.
- 11.** Myers R.A.M., Hyperbaric Oxygen Therapy, A Committee Report, Undersea and Hyperbaric Medical Society Inc, USA, 1986.
- 14.** Basset B.E., Bennet P.B., Introduction to the Physical Physiological Bases of Hyperbaric Therapy, (ed): Davis JC, Hunt TK, Undersea and Hyperbaric Medical Society Inc, Maryland, 11-24,1977.
- 15.** De Martino G., Luchetti M, De Rosa R.C., Toxic Effect of Oxygen, in Oriani G., Marroni A., Wattel F., (eds), Handbook on Hyperbaric Medicine, Springer-Verlag Berlin, pp: 215-219, 1996.
- 18.** Henshaw, In: (Simpson, A.) Compressed Air as a Therapeutic Agent in the Treatment of Consumption, Asthma, Chronic Bronchitis and Other Diseases, Sutherland and Knox, Edinburg, 1857.
- 19.** Kindwall, E.P., Whelan, H.T., Hyperbaric Medicine Practise, Second Edition Revised, Best Publishing Company, 2002.
- 20.** Bert, P., Barometric Pressure, p 571, Reprinted by the Undersea Medical Society, Bethesda, 1978.
- 24.** Davis, J. C., Hunt, T. K., Hyperbaric Oxygen Therapy, preface and background, Undersea Medical Society Inc, Maryland, 1977.
- 26.** Hammerlund, C., The physiologic effects of hyperbaric oxygen, In: Hyperbaric Medicine Practice Ed: Kindwall E., Best Publishing Company, 17-32, Arizona, 1995.
- 27.** Jain K.K., Physical, physiological and Biochemical Aspect of hyperbaric Oxygenation, Textbook of Hyperbaric Medicine, Eds: Jain K.K., Hogrefe and Huber Publishers, Göttingen,10-19 , 2004.
- 29.** Mader, J.T., Hyperbaric Oxygen Therapy, A Committee Report, Undersea & Hyperbaric Medical Society, Bethesda, 1989.

- 30.** Undersea & Hyperbaric Medical Society, Hyperbaric Oxygen Therapy, A Committee Report, Kensington, 1996.
- 31.** Sheffield P.J., Tissue Oxygen Measurement, Problem Wounds, The Role of Oxygen, Eds: Davis JS, Hunt TK, Elsevier, New York chap, 2, 17-51,1988.
- 35.** Çimşit, M., Hiperbarik Tıp, Teori ve Uygulama. Eflatun Yayınevi, 1. Basım, Hiperbarik Oksijenin Etki Mekanizması, bölüm 1, 35-58. 2009.
- 41.** Park, M.K., Muhvich, K.H., Myers, R.A., Marzella, R., Effects of Hyperbaric oxygen in infectious Diseases, Basic Mechanisms, Hyperbaric Medicine Practice, Ed: Kindwall, E.P., Best Publishing Company, 141-171, Arizona, 1995.
- 44.** Oriani G., Michael M., Marroni A., Longoni C., Physiology and Physiopathology of Hyperbaric Oxygen, in Oriani G., Marroni A., Wattel F. (eds): handbook on Hyperbaric Medicine, Springer Verlag Berlin, pp: 18-34. 1996.
- 49.** Clark J.M., Oxygen toxicity, in Kindwall E.P., (ed): Hyperbaric Medicine Practice, Best Publishing Comp Flagsaff, USA, pp, 33-43, 1994.
- 50.** Çimşit M., "Oksijen Radikalleri ve Hiperbarik Oksijen Tedavisi; korkular ve gerçekler, II. Ulusal Sualtı ve Hiperbarik Tıp Toplantısı, Toplantı Kitabı, 63-72, İstanbul, 1999.
- 52.** Kindwall E. Personnal Communication, 1998.
- 54.** Camporesi E.M., Mascia M.F., Thom S.R., Physiological Principles Of Hyperbaric Oxigenation, in Oriani G., Marroni A., Wattel F. (eds): Handbook on Hyperbaric Medicine, Springer- Verlag, Berlin, pp 35-58, 1996
- 62.** Gündüz, N., Gündüz, T., Özgüner, S., Tüzün, C., Üneri, S., Zeren, A., Temel Kimya, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, Ankara, 1991.
- 67.** Feher, J., Cosmos, G., Vereche, A., Free Radical Reactions in Medicine, 1987.

74. Yalçın, A.S., Oksidan Stres ile İlgili Deneysel Modeller, Hücre-II, Oksidan Stres ve Hücre Hasarı, TürkTabipleri Birliği Tıpta Temel Bilimler Kolu - Sonbahar Okulu, Kızılcahamam, 65-66, 1993.

iii. Kitap Bölümü

13. Guyton A.C., Sualtı Dalış Fizyolojisi ve Diğer Hiperbarik Koşullar, Tıbbi Fizyoloji, 11. basım, bölüm 44, s: 545-550, Nobel Tıp Kitapevleri, 2007.

16. Davis J.S., Dunn J.M., Heimbach R.D., Hyperbaric Medicine, Patient Selection Treatment Procedures and Side Effects, Problem Wounds, The Role of Oxygen, (Eds), Davis J.S., Hunt T.K., Elsevier, New York, chap, 225-235,1998.

43. Meyers, R.A.M., Thom, S.R., Carbon monoxide and cyanide poisoning, In: Hyperbaric Medicine Practice Ed: Kindwal, E., Best Publishing Company, 343-372, Arizona, 1995.

61. Yagi, K., Lipid Peroxides and Related Radicals in Clinical Medicine, In: Free Radicals in Diagnostic Medicine, (Ed) Armstrong, D., New York, Plenum Press, 1994.

83. Levine, R.L., Garland, D., Oliver, C.N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A.G., Ahn, B.W., Shaltiel, S., Stantman, E.R., Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins, In Methods in Enzymology, V 186, Oxygen radicals in biological systems (Packer, L., and Glazer, A.N., Eds.), 464-478 Academic Press, California, 1990.

iv. Tez

91. Öter Ş., Hiperbarik Oksijen Uygulamalarının Sıçan Akciğerinde Oluşturduğu Oksidatif Stresin Belirlenmesi, Fizyoloji Uzmanlık Tezi, GATA Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara, 1998.