

49875

T.C.
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI

**HİPERBARİK OKSİJEN UYGULAMASININ SIÇAN
EMBRİYO GELİŞİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN
IŞIK MİKROSKOBU DÜZEYİNDE İNCELENMESİ**

T 49875

UZMANLIK TEZİ

EMİN ÖZTAŐ
Hv. Tbp. Kd. Ütđm.

T.C. GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
DOKÜMANTEZİSİZ TEZLERİNİN KAYIT VE İZLENME BÜRESİ

ANKARA 1996

ÖNSÖZ

Bu tez konusu, Gülhane Askeri Tıp Akademisi ve Askeri Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanlığının 13 Haziran 1995 gün ve 4033-1-94/21 sayılı yazısı ile verilmiş ve çalışmaya başlanmıştır.

Hiperbarik oksijen (HBO) tedavisi günümüzde, çeşitli olgularda uygulama alanı bulmaktadır. Ancak tedavinin yararları yanısıra istenmeyen etkilerinden de söz edilmektedir.

Hiperbarik oksijen tedavisinin zararlı etkileri serbest radikal oluşumu ile açıklanmaktadır. Bu çalışmada, HBO uygulamasının sıçan embriyoları üzerine etkileri yapısal düzeyde araştırılmıştır.

Uzmanlık eğitimi ve tezin hazırlanmasında her zaman bilgi ve deneyimlerinden yararlanma şansına sahip olduğum değerli hocalarım; Anabilim Dalı Başkanımız Doç.Dr.Osman ÖZCAN'a, ve Doç.Dr.M.Kemal IRMAK'a, istatistiksel verilerin değerlendirilmesi konusunda GATA Halk Sağlığı uzmanlık öğrencisi Dr.Esat Hoşgönül'e, deney hayvanları konusunda yardımlarını esirgemeyen Vet. Bnb.Tayfun İde' ye teşekkür ederim.

Bu çalışma GATA Araştırma Merkezi Başkanlığı tarafından AR:95/15 sayılı proje olarak desteklenmiştir

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
I.GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER	2
A.GAZLARIN TEDAVİ AMAÇLI KULLANIMI	2
B.HİPERBARİK OKSİJEN (HBO) UYGULAMARI	7
C.SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ VE HÜCRE HASARI	8
D.ANTİOKSİDAN SAVUNMA MEKANİZMALARI	9
E.SIÇAN EMBRİYO GELİŞİMİ	10
III. GEREÇ ve YÖNTEM	17
IV. BULGULAR	21
V. TARTIŞMA VE SONUÇ	30
VI. ÖZET	36
VII. YABANCI DİL ÖZET	37
VIII.KAYNAKLAR	38

GİRİŞ

Özel kapalı odalarda normal atmosferik basıncın üzerinde oksijen inhale ettirilmesine Hiperbarik Oksijen (HBO) uygulaması denmektedir. HBO uygulaması, uzun yıllardır kullanılan bir tedavi yöntemi olmasına rağmen, bu yöntemin yan tesirleri hakkında kesin bilgiler yoktur. Son yıllarda başka tedavi yöntemleri ile iyileştirilemeyen birçok hastalığın HBO uygulaması sonucu iyileşmesi, bu metodun klinik önemini artırmıştır. Gebe kadınlar bazı durumlarda HBO'ya maruz kalmaktadır. Özellikle karbonmonoksit (CO) zehirlenmeleri, hava kirliliği zehirlenmeleri, beyin ödemi, dekompresyon hastalığı, hava embolisi gibi durumlarda tedavi seçeneklerinin başında HBO gelmektedir (12, 13, 24, 51, 62). Ancak gebelikte HBO kullanımı tartışmalıdır. Çünkü fetus üzerine muhtemel yan tesirlerinin olabileceği düşünülmektedir. Bundan önce yapılan çalışmalar incelendiğinde, HBO teratojenitesi ile ilgili yayınların oldukça az olduğu görülmektedir. İn-vitro çalışmalarda görülmüştür ki HBO, fetusda mutajeniteye, retinopati ve prematuriteye, kardiyovasküler yan etkilere ve plasenta kan akımı değişikliklerine neden olmaktadır (3, 23, 27, 44, 64). Fakat başka hayvan deneyleri HBO'nun gebelikte güvenilir bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir (18, 42). Ayrıca bazı klinik çalışmalar da gebelikte HBO kullanılabilceğini ortaya koymaktadır. Bu çalışma, HBO' nun sıçan embriyosu üzerine teratojen etkisinin olup olmadığını belirlemek için planlanmıştır. Yüksek basınçlı oksijene maruz bırakılan gebe sıçanların embriyo ve plasentalarında meydana gelebilecek değişiklikler yapısal düzeyde gösterilmeye çalışılmıştır. Embriyolojik araştırmalarda sık karşılaşılan problemlerden olan; embriyo yaşının tayin edilmesi konusu da çalışmamıza dahil edilmiştir. Bu konu, yeni ilaç ve tedavi yöntemlerinin teratojen etkilerinin araştırılmasında embriyolojik çalışma yapacak bilim adamlarına da ışık tutabilecektir.

GENEL BİLGİLER

A. GAZLARIN TEDAVİ AMAÇLI KULLANIMI

Genel olarak tedavi amaçlı kullanılan gazlar; başta oksijen olmak üzere, karbondioksit ve helyumdur (60).

Atmosfer havasında oksijen yaklaşık olarak %20.95, karbondioksit %0.03 oranında bulunur. Karışımdaki gaz konsantrasyonlarını yüzde olarak değil, parsiyel basınç olarak belirtmek daha anlamlı olacaktır. Bir gazın suda dolayısıyla kanda çözünen miktarı, onun karışım içindeki parsiyel basıncı ile doğru orantılıdır.

Oksijenin alveol lümeninden perialveoler kapillere geçişi ve karbondioksitin kapiller içindeki kandan alveol içine atılması pasif difüzyon suretiyle ve konsantrasyon gradiyentine uyan bir hızda olur. Difüzyon bariyeri yaklaşık olarak bir mikrondur. Bu durum verimli ve hızlı bir difüzyona olanak verir.

Alveol çeperinin içindeki, gazlara sağladığı toplam difüzyon yüzeyi, yaklaşık 80 m² dir. Difüzyon sırasında gazlar, alveolün sürfaktan tabakasını, epitel sitoplazmasını, bazal membranı ve kapiller endotel sitoplazmasını aşarlar. Alveollerin görevi, gaz değiş-tokuşunu sağlamalarıdır. Bu olayı etkileyen temel parametre, dakikadaki alveoler ventilasyon hacmi ve alveol çeperinden dakikada geçen kan akımıdır (perfüzyon). Bu iki değer arasındaki oran, alveol fonksiyonun en önemli ölçütüdür ve ventilasyon/perfüzyon (V/P) oranı diye adlandırılır. Normal akciğerin total V/P oranı 0.8'dir, çünkü normal alveoler ventilasyon hacmi 4 litre/dakika ve pulmoner kan akımı 5 litre/dakika'dır. Bu oran, akciğer hastalıklarında önemli ölçüde bölgesel farklılık gösterebilir. Örneğin atelektazili bölgede oran sıfıra düşer ve o bölgede kanın oksijenlenmesi durur. Egzersiz gibi fizyolojik koşullarda, alveol ventilasyon hacmi artarken aynı zamanda kan akımı da artar ve V/P oranı sabit kalır (57).

Alveollerden kana geçen oksijen , iki kompartmanda taşınır:

- 1) Plazma: Oksijeni suda çözülmüş şekilde ve az miktarda taşır.
- 2) Eritrosit hemoglobini: Kandaki oksijenin büyük kısmı bağlanmış (kombine) olarak taşır.

760 mmHg'lik normal atmosferik basınç altında plazmanın her mililitresinde 0.023 ml oksijen çözünür. Bu durumda plazmada çözünmüş oksijen konsantrasyonu, bu durumda %2.3'tür. Hiperbarik oksijen uygulamasında olduğu gibi ortamın gaz basıncı yükselirse çözünen miktar basınçla doğru orantılı bir şekilde artar. Plazmada çözünmüş oksijen konsantrasyonunu oksijen parsiyel basıncı (PO₂) olarak da belirtilir. Parsiyel basıncın her bir mmHg kadar artması çözünen oksijen yüzdesini %0.003 hacim artırır. Oksijen (O₂) konsantrasyonunu gösteren bu iki değer arasındaki ilişki aşağıdaki gibidir:

$$\% \text{ hacim oksijen} = 0.003 \times \text{PO}_2$$

Normal koşullarda, kandaki oksijenin önemli bir kısmı eritrositlerdeki hemoglobin (Hb) tarafından taşınır. Alveol kapillerinden geçerken Hb taşıdığı karbondioksiti alveollere salıverir. Bu durumdaki Hb, alveollerden plazmaya ve oradan eritrositlerin içine difüze olan O₂'le birleşir ve oksihemoglobin haline gelir. Hb'nin O₂ bağlama kapasitesi fazla, fakat sınırlıdır. Hb'nin her bir gramı 1.34 ml O₂ bağlar; bu değer Hb'nin O₂ bağlama kapasitesi olarak adlandırılır. Kanın normal Hb konsantrasyonu 15 g/100 ml olarak kabul edilirse, kanın Hb'e bağlı olarak oksijen taşıma kapasitesi 1.34 x 15 = 20.1 ml/100ml' (% 20,1 ml) dir. Hb'nin taşıdığı gerçek O₂ miktarı onun doygunluk derecesine bağlıdır. Bu parametre Hb'nin taşıdığı O₂ içeriğinin, onun O₂ kapasitesinin yüzdesi olarak değerine eşittir:

$$\text{Doygunluk} = 100 \times \frac{\text{içerik}}{\text{kapasite}}$$

Hb'nin doygunluk derecesi kandaki oksijenin parsiyel basıncına bağlıdır. Dikey ekseninde doygunluk derecesini ve yatay ekseninde PO₂'yi göstermek suretiyle çizilen eğri oksijenin doygunluk eğrisi veya oksijen-hemoglobin disosiyasyon eğrisi diye adlandırılır (11). Çeşitli faktörler Hb'nin O₂'e karşı afinitesini değiştirmek suretiyle oksijen-hemoglobin disosiyasyon eğrisinin eğimini değiştirir. Aşağıdaki faktörler afiniteyi artırırken diğer yandan dokularda O₂'nin extrasellüler sıvıya salıverilmesini azaltırlar:

- 1)Alkaloz,
- 2)Hiperkarpi (CO₂'in artması),
- 3)Eritrositlerde anaerobik glikolizle oluşan difosfogliserat (DPG)'in azalması,
- 4)Hipotermi.

Buna karşılık aşağıdaki faktörler de aksi yönde etki gösterirler:

- 1)Asidoz,
- 2)Hipoksi,
- 3)Hipokarpi,
- 4)DPG'nin artması,
- 5)Ateş veya hipertermi.

İstirahat halinde, arteriyel ve venöz kanın normal oksijen içerikleri Tablo I' de gösterilmiştir (kanın Hb içeriği 15 g/100ml, Hb'nin doygunluğu %97 ve atmosferik basınç 760 mmHg olarak kabul edilmiştir):

Tablo -I: Arteriyel ve venöz kanın oksijen içerikleri

<i>Fraksiyon</i>	<i>Arterial kan(% hacim)</i>	<i>Venöz kan(%hacim)</i>
Hb'ne bağlı (1.34x15xDoygunluk)	19.5	0.1
Plazmada çözünmüş (PO ₂ x0.03)	0.3	14.7
Total içerik	19.8	14.8
PO ₂ (plazma)	100mmHg	40mmHg

Hipoksi Nedenleri:

Dokularda oksijen eksikliğine *hipoksi* denir. İstirahat halinde dokuların bazal oksijen gereksinimi (metabolizma hızı) dakikada kg başına 4 ml kadardır. Ağır bir egzersiz halinde bu 40-50 katına kadar çıkarabilir. Hipoksinin eşlik ettiği klinik durumlar, oksijen tedavisinin ana endikasyonunu teşkil eder.

Hipoksi durumlarında, arteriyel kanın oksijen parsiyel basıncı düşer. PO₂'nin düşmesi hücrelerde glikoliz'i, anaerobik duruma getirir ve glukoz yıkımı laktik asit basamağında durur, vücutta laktik asit birikir. Buna bağlı olarak metabolik asidoz oluşur.

Hipoksiyi, oluş nedenine göre başlıca dört şekilde sınıflandırabiliriz:

1) Hipoksik hipoksi: Ortam havasındaki oksijenin azalması, akciğer ventilasyonunun azalması, gaz difüzyonunun bozulması sonucu ortaya çıkar. Yüksek irtifaya çıkma, solunum yollarında tıkanma veya spazm, solunum kasları perezisi,

ventilasyonu engelleyen mekanik bozukluklar, pnömoni, konjesyon, eksüda ve fibrozis sonucu alveollerde difüzyonun bozulması ve kalbin sağ-sol şantları gibi durumlarda meydana gelen hipoksi şeklidir.

2) Anemik hipoksi: Kanın oksijen taşıma kapasitesinin düşmesi sonucu meydana gelen hipoksi durumudur. Karbon monoksit zehirlenmesi, ilaç ve diğer nedenlere bağlı methemoglobinemi ve sulfhemoglobinemi gibi durumlarda gelişir.

3) İskemik hipoksi: Dokularda kan akımının azalması veya durmasına bağlı olarak gelişen hipoksidir. Konjestif kalp yetmezliği, şok ve benzeri durumlarda vücudun genelinde, damar tıkanmaları gibi durumlarda lokal olarak meydana gelir.

4) Dokularda oksijen utilizasyonunun engellenmesine veya çok artmasına bağlı doku hipoksisi: Dokularda solunum ile ilgili sitokrom enzimlerinin blokajı (örneğin, karbon monoksit zehirlenmesi) nedeniyle oksijenden yararlanamama ve oksidasyon-fosforilasyon reaksiyonlarının bozulması (örneğin, dinitrofenol ve benzeri maddelerle zehirlenme) hipertroidizm, hiperpreksi hallerinde olduğu gibi kanın taşıdığı oksijenin dokularda utilizasyonun aşırı derecede artması sonucu ortaya çıkar (11).

OKSİJEN

125-165 atmosfer basınç altında çelik silindirler içinde sıvılaştırılmış olarak bulunan saf oksijen, tıpta inhalasyon suretiyle kullanılır. Yüz maskesi, oksijen çadırı gibi çeşitli kullanma yöntemleri vardır (45). İn hale edilen havanın içerdiği oksijen %100'e yakın oranda ise, hipoventilasyona neden olur ve arteriel CO₂ düzeyinde hafif bir artma olur. Bu, kemoreseptörler üzerindeki uyarıcı tonusun ortadan kalkmasına bağlıdır. Kan CO₂ düzeyindeki hafif yükselme, başlangıçtaki hipoventilasyonun ortadan kalkmasına yol açar.

O₂, lipofilik bir maddedir; vücutta biyolojik membranları pasif difüzyonla kolayca geçer. Deriden geçemez; ancak premature bebeklerde keratin tabakası tam oluşmadığı için perkütan O₂ inhalasyonu olur. Premature bebeklerin yüksek oksijenli ortamda gereksinmelerinin %20'sini deri yoluyla sağladıkları bulunmuştur (16).

Oksijen, yaygın olarak akut veya kronik akciğer hastalıklarında kullanılır. Ayrıca hipoksik durumlarda da kullanılır. Hipoksiye neden olan primer nedenin düzeltilmesi de ihmal edilmemelidir.

Oksijen, anestezide bazı gazların içine karıştırılır. İleus ve mide atonisine bağlı abdominal distansiyon, pnömotoraks ve hava embolilerinde olduğu gibi, vücutta toplanmış hava hacminin kısa zamanda azaltılması için %100 oksijen inhalasyonu yaptırılır. Bu uygulama sonucu, toplanmış havanın içindeki azot kana geçerek akciğerlerden atılır ve onun yerini oksijen alır; inhalasyon kesilince oksijen toplandığı yerden kolayca absorbe edilir ve distansiyon veya diğer durumlar ortadan kalkar (21).

Oksijen tedavisinin başlıca *yan tesirleri* şunlardır:

1) Pulmoner atelektazi veya vakum oluşması: Bronşun lezyonla kapanması halinde, oksijen çabuk absorbe edilir ve lokal atelektazi oluşur. Aynı durum orta kulak ve paranasal sinüslerde olduğunda, bu boşlukların kapanması ve hapsedilen oksijenin absorpsiyonu sonucu kısmi bir vakum ve buna bağlı bir ağrı oluşur.

2) Oksijen apnesi: Hipoksi hallerinde veya santral sinir sistemini deprese eden (morfin ve benzeri ilaçlar) durumlarda solunum merkezinin, doğal uyaran olan CO₂'e duyarlılığı azalmıştır. Solunumun sürdürülmesi, hipoksiye bağlı olarak artan kemoreseptör stimülasyonu ile refleks olarak sağlanır. Oksijen inhalasyonu PO₂'i yükselterek solunum merkezi üzerindeki refleks stimülasyonunu kaldırır ve solunumun durmasına neden olur. Bu tehlike, hipoksi hallerinde oksijen inhalasyonu için bir kontrendikasyon nedeni değildir. Ancak bu olayı önlemek için oksijen inhalasyonu , ventilatör kullanılarak yapılan mekanik ventilasyonla birlikte uygulanmalıdır.

3) Retrolental fibroplazi: Doğumda ve perinatal dönemde, siyanoz nedeniyle yüksek konsantrasyonda oksijene uzun süre maruz kalan premature yeni doğanlarda nadir görülen retina zedelenmesidir, körlükle sonuçlanabilir. Solunum havasındaki oksijen konsantrasyonu, yenidoğanın asfiksisini düzeltmeye elverişli minimum düzeyde tutulursa, bu komplikasyon büyük ölçüde önlenir. Daha önceden geçirilmiş retina bozukluğu bulunan erişkinlerde de hiperbarik oksijen uygulaması zedelenmeye yol açabilir.

4) Oksijen zehirlenmesi : Oksijen özellikle solunum yolları ve santral sinir sistemi üzerinde toksik etki gösterir. Normal atmosferik basınç altında yaklaşık 12 saatten uzun bir süre solunum havasında %80 veya daha fazla konsantrasyonda oksijen inhale eden hastalarda, üst solunum yollarının tahrişine bağlı burun tıkanıklığı, boğaz ağrısı, trakeo-

bronşit, vital kapasitede azalma, akciğer konjesyonu, alveolit ve atalektazi olabilir, solunum yolları mukozasında mukosilier transport durur (20).

İki atmosfer ve daha yüksek basınçlardaki oksijen inhalasyonu birkaç saat içinde başlayan reversibl santral sinir sistemi bozukluğu belirtilerine neden olur. Erken belirtiler, substernal sıkıntı, ekstremitelerde parestezi, bulantı ve kusma, yorgunluk halidir. İleri dönemlerde bilinç kaybı ve konvülziyonlar görülür. Memeli deney hayvanlarının 2 atmosfer oksijen basıncına sürekli maruz kaldıklarında, 12-24 saat içinde öldükleri görülmüştür. Fakat aynı basınçtaki oksijene, toplam süre aynı olacak şekilde intermitent olarak maruz bırakılma, oksijen toksitesini azaltır. Hiperbarik oksijene intermitent olarak maruz kalmanın, genellikle oksijen toksitesine karşı tolerans oluşumuna yol açtığına inanılmaktadır.

Oksijen zehirlenmesindeki temel mekanizma, dokulardaki oksijen konsantrasyonu artışı (hiperoksi) sonucu, konsantrasyona bağımlı bir biçimde, hücre içinde aşırı miktarda reaktif (serbest) oksijen radikallerinin oluşması ve bunların sitotoksik nitelikleri nedeniyle hücrelerin zedelenmesidir; bu olaya hiperoksik zedelenme denir.

B.HİPERBARİK OKSİJEN (HBO) UYGULAMALARI

Hiperbarik oksijen (HBO) tedavisi geniş kullanım alanı ve başarılı sonuçları olan bir yöntemdir. Bu konudaki ilk çalışmalar 1662 yılında İngiliz doktor Henshaw tarafından basınçlı havanın çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmasıyla başlamıştır. Priestley tarafından 1775 yılında oksijen gazının keşfedilmesi, bu çalışmalara yeni bir boyut getirmiştir. Bu yıldan sonra dünyanın pekçok yerinde HBO tedavi merkezleri açılmıştır (38). Uzun yıllar boyunca pekçok hastalığın tedavisinde kullanılmış olmasına rağmen, yöntemin fayda ve zararları henüz daha yeterince bilinmemektedir. Yüksek basınçlarda kullanılan HBO'in akciğer, karaciğer ve merkezi sinir sisteminde lipid peroksidasyonuna bağlı toksik etkilere neden olduğu belirlenmiştir (8, 9, 10, 40).

HBO uygulaması; deniz seviyesindeki atmosferik basınçtan daha yüksek basınçlarda oksijen kullanımını kapsayan bir tedavi metodudur. Yakın zamanlarda ülkemizde de bazı merkezlerde kullanıma girmiştir. HBO tedavisi için; %100'lük saf oksijen, endotrakeal tüp, maske, solunum başlığı ve 2-3 ATA (Atmosphere Absolute =

Mutlak Atmosferik Basınç)'lık basınca dayanıklı basınç odası gereklidir. Deniz seviyesinde atmosferik basınç 1 ATA'dır ve 760 mmHg basınca eşdeğerdir.

HBO uygulamasında hedef, kandaki eriyik halindeki O₂ 'i artırıp dokuların kolaylıkla O₂ 'den yararlanmasını sağlamaktır.

Hiperbarik oksijen tedavisi konusunda araştırılması gereken en önemli noktalardan birisi, uygulamaların neden olduğu serbest O₂ radikalleri, doku düzeyleri ve etkileşimleridir (17,40).

C.SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ VE HÜCRE HASARI

Oksijenin belirli koşullarda kısmen indirgenmesi sonucu oluşan, çok kısa ömürlü, güçlü oksidan niteliklere sahip ve hiperoksik zedelenmeye yol açan radikallerin başlıcaları şunlardır:

- 1)Hidrojen peroksit (H₂O₂),
- 2)Süperoksit anyonu (O₂⁻),
- 3) Hidroksil radikali ('OH),
- 4)Singlet oksijen.

Bunların en reaktif ve en sitotoksik olanı hidroksil radikaldır. Hidroksil radikali ('OH) ve singlet oksijen radikali, H₂O₂ ve O₂⁻ 'in serbest demir iyonu varlığında birbirleriyle reaksiyona (Haber Weiss reaksiyonu) girmeleri sonucu oluşur. Hidroksil radikalleri, klor iyonları (Cl⁻) ile reaksiyona girerek dokuda diğer bir sitotoksik madde olan hipoklorik asit (HOCl) oluşturabilir. Süperoksit anyonu, damar endotelinde endojen nitrik oksit (NO) ile reaksiyona girerek, daha fazla sitotoksik olan peroksinitrik (ONOO⁻) ve sonra peroksinitröz asit oluşturur. Reaktif oksijen radikalleri, artan oksijen parsiyel basıncı sonucu konsantrasyona bağımlı olarak birçok hücre türünde ve özellikle alyuvarlar, damar endotel hücreleri ve iltihap hücrelerinde yüksek miktarlarda oluşur. Bu maddeler; sitoplazmik membranın ve hücre içi organellerin membran lipidlerinin peroksidasyonuna ve membran permeabilitesinin artmasına, enzimlerin ve yapısal hücre proteinlerinin sülfhidril grublarının oksitlenmesine ve çapraz bağlanmasına, enzimlerin inaktivasyonuna, DNA yapısının bozulmasına ve kırılmasına (mutasyona) neden olur. Ayrıca proteoglikan ve glikozaminoglikan

(GAG) moleküllerinde de oksidatif zedelenme yaparlar. Hücrede transmembranal potansiyel ve iyon transportunu bozarlar. Radikal oluşma hızına, antioksidan savunma mekanizmalarının etkinlik derecesine ve diğer özelliklere göre, hücre türlerinin reaktif oksijen radikallerinin toksisitesine duyarlılığı farklıdır (34).

Serbest oksijen radikallerinin, hücrelerde hiperoksi olmaksızın, fizyolojik ve patolojik olaylar sırasında da meydana geldiği bilinmektedir. Söz konusu radikalleri oluşturan fizyolojik olaylar mitokondriyal ve mikrozomal elektron transport zincirleri ve oksidan enzimlerin (ksantin oksidaz, siklooksijenaz, lipoksijenaz, monoaminamin oksidaz, indolamin ve triptamin dioksijenazlar ve galaktoz oksidaz gibi) katalize ettiği olaylardır. Fagositik hücrelerin mikroorganizmaları fagosite edip yoketmesi (respiratuvar patlama) sırasında bol miktarda radikal oluşur. İnsan fagositlerinde bulunan NADPH oksidaz, güçlü bir süperoksit anyonu üreticisidir. Ayrıca çok sayıda endojen faktörler de hücrelerde serbest oksijen radikali oluşumunu artırır.

D. ANTIOKSIDAN SAVUNMA MEKANİZMALARI

Hücre ve ekstrasellüler sıvıda, sitotoksik oksijen radikallerini daha az zararlı duruma getirmeye çalışan antioksidan savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar normal biyokimyasal olaylar sırasında az miktarda oluşan radikalleri nötralize edebilirler. Ancak hiperoksi, iskemiden sonra perfüzyon, dokularda reaktif oksijen radikallerini oluşturan ksenobiyotiklere (tütün dumanı, ozon, asbest vb.) maruz kalma ve bu radikalleri bol miktarda oluşturan aktive edilmiş nötrofiller ile diğer fagositlerin dokuda toplanması gibi durumlarda oksidan/antioksidan dengesi bozulursa antioksidan mekanizmalar yetersiz kalır ve sonuçta sitotoksik radikal etkinliği artar , hücre zedelenmesi ve hücre ölümü gelişir (34).

Antioksidan savunma mekanizmalarının başlıcaları şunlardır:

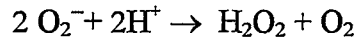
1) Reaktif oksijen radikallerini daha az toksik ürünlere dönüştüren antioksidan enzim sistemleri: katalaz, süperoksit dismutaz ve glutation redoks siklusu enzimleri (glutation peroksidaz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz) gibi,

2) Radikalleri yakalayıp nötralize eden antioksidan maddeler: İnsanda hücre membranında oksidan zedelenmeyi önleyen E vitamini (alfa-tokoferol), hem ekstrasellüler sıvıda ve hem de hücrede antioksidan etkinlik gösteren ve antiproteazların oksidanlarla

inaktivasyonunu önleyen C vitamini (askorbik asit), indirgenmiş glutation (GSH), ürik asit, beta karoten (provitamin A), taurin ve yüksek molekül ağırlıklı antioksidanlar olan mukus ve albumin.

3) Reaktif oksijen radikallerinin oluşmasını ve oluşan radikallerin yayılmasını önleyen sistemler: Ferritin, transferin, laktoferin ve seruloplazmin ile mitokondrionlarda doğal olarak oluşan radikalleri suya indirgeyen mitokondriyal sitokrom oksidazdır. Bunlar, hidrojen peroksit ve süperoksit anyonundan hidroksil radikali oluşmasını katalizler, demir ve bakır iyonunu da bağlarlar.

Savunma mekanizması enzimlerinden süperoksit dismutazın ilaç olarak geliştirilmesine çalışılmaktadır. Bu enzimin katalize ettiği ilk basamaktaki reaksiyon aşağıdaki şekilde gerçekleşir:

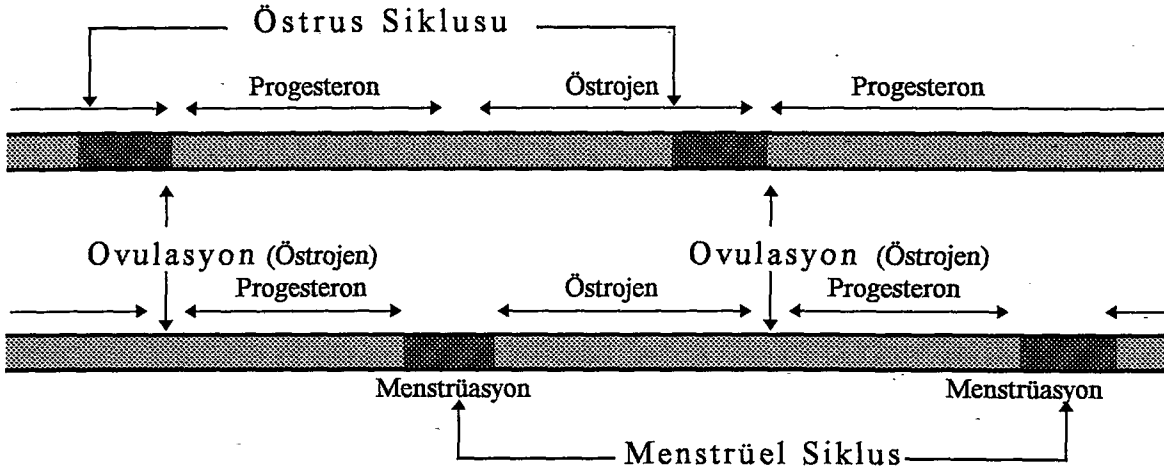


Meydana gelen H_2O_2 , ufak miktarda ise indirgenmiş glutation peroksidaz tarafından suya ve O_2 ' e dönüştürülerek yok edilir ; eğer fazla miktarda oluşmuşsa, daha ziyade katalaz ile ve aynı şekilde yok edilir. Oluşan H_2O_2 , yok edilmezse, vücuttaki demir ve bakır iyonları tarafından hidroksil radikallerine dönüştürülür.

Miyokard infarktüsü sırasında iskemiye ve trombolitik tedavi sırasında reperfüzyona bağlı olarak meydana gelen miyokard zedelenmesinde serbest oksijen radikallerinin yer aldığı bilinmekteydi. DNA rekombinasyon tekniği ile üretilen süperoksit dismutaz enziminin hayvanlardaki deneylerde infarktüs alanını azalttığı ve perfüzyona bağlı bozukluğu düzelttiği bulunmuştur. Bu enzim iltihap dokusunda meydana gelen serbest oksijen radikallerini nötralize ettiği için halen romatoid artrit tedavisinde de denenmektedir.

E:SIÇAN EMBRİYO GELİŞİMİ

Siçanlar doğumdan sonra seksüel olgunluğa iki veya üçüncü aylarda ulaşırlar. Dişi siçanların genital siklusu 4-6 gün sürer ve reproduktif hayatı ortalama 1 yıl kadardır (47). Deney hayvanlarında genital siklusa; östrus siklusu da denilmektedir. Östrus diye tanımlanan dönem ise hayvaların kızgınlık zamanıdır. Östrus zamanının sonunda ovulasyon olmaktadır (Şekil 1).



Şekil-1: Sıçanların östrus ve menstrüel siklusları

Dişi hayvanların ovulasyon zamanının bilinmesi ve uygun zamanda erkek sıçanlarla çiftleştirilmesi gerekmektedir (28). Ovulasyon zamanını tespit etmek için aşağıdaki yöntemler kullanılabilir (2):

- 1) Bazal vücut ısı çizelgesi,
- 2) Vajinal simir yöntemi,
- 3) Serum progesteron seviyesinin ölçülmesi,
- 4) Servikal mukus kalite ve kantite tayini,
- 5) Endometriyal faz (sekretuar faz),
- 6) Ultrasonografik ovulasyon tayini

Bu yöntemlerden en kolay ve güvenilir olanı vaginal simir yöntemidir.

Ovarian siklus ile vaginal siklusun birbirine paralellik gösterdiği ve vaginal simir yöntemiyle ovarian siklusun tayin edilebileceği Long ve Evans tarafından tarif edilmiştir (46).

Dişi sıçanların vaginal simirleri incelendiğinde östrus siklusunun dört dönemden oluştuğu görülür (28). Şekil-2.'de östrus siklusunun dönemleri ve vajinal simirde görülen hücre tipleri gösterilmiştir.

SİKLUS FAZI	VAJİNAL DUVAR	VAJİNAL SİMİR	HÜCRE TİPİ	SÜRE
ÖSTRUS			Kornifiye	12 SAAT
METAÖSTRUS			Kornifiye + Lökosit	21 SAAT
DİÖSTRUS			İntermediyer + Lökosit	57 SAAT
PROÖSTRUS			İntermediyer	12 SAAT

Şekil-2: Östrus siklusunun dönemleri ve görülen hücre şekilleri.

Vajinal simirde görülen hücrelerin özellikleri aşağıda gösterilmiştir:

1. Proöstrus: Bu devrede vajinal simiri meydana getiren hücreler, çekirdekli epitel hücreleri olup, bir kısmı poligonal, bir kısmı yuvarlak görünüşlüdür. Bazılarında değişik büyüklükte vakuoller görülür. Proöstrusun sonlarında az sayıda çekirdeksiz kornifiye olmuş hücrelere de rastlanır. Bu devrede simirde lökositler görülmez.

2. Östrus: Simir materyali yer yer yığınlar halinde çekirdeksiz poligonal şekilli hücreler içermektedir. Bu hücreler, östrus devresinde kornifiye olan yüzeysel vajina epitel hücrelerinin döküntüleridir. Bu devrede lökositler bulunmaz, çekirdekli hücreler de bulunmaz, yalnız östrusun başlangıcında ve sonunda az sayıda çekirdekli poligonal hücrelere rastlanır.

3. Metaöstrus: Bu devrede bol miktarda lökositlerden başka, başlangıçta daha fazla sona doğru daha seyrek olmak üzere çekirdeksiz poligonal hücreler görülür. Arada tek tük çekirdekli poligonal epitel hücreleri de vardır.

4. Diöstrus: Simir materyali çekirdekli, bazıları poligonal bazıları yuvarlak görüşlü epitel hücreleri, bol miktarda lökositler, yer yer mekik şeklinde hücreler ve bol salgı materyalinden oluşmaktadır. Devrenin başlangıcında tek tük görülen çekirdeksiz hücrelere devre sonunda rastlanmaz.

Vaginal simirde görülen hücrelerin %67-97'si kornifiye hücreler ise dişi sıçanların Östrus döneminde oldukları kabul edilir. Bu dişi sıçanlar östrus döneminin gecesinde erkek sıçanların yanına bırakılır ve ertesi gün erkek sıçanların yanından alınır. Bu şekilde kısa süreli çiftleştirmelerde erkek sıçanların yanından alındıkları gün gebeliğin birinci günü kabul edilir (28).

Dişi sıçanlar çiftleştirme sırasında erkek sıçanın kafesine bırakılmalıdır. Yani erkek sıçanların önceden alışmış oldukları kafes ve altlıkları (saman ve artıkları) değiştirilmemelidir. Çifleşme sırasında, sıçanların rahatsız edilmemeleri gerekmektedir.

Deney hayvanlarının östrus siklusları, doğal olmayan laboratuvar koşullarından etkilenir (14). Ayrıca bireysel farklılıkların da (beslenme, kronik hastalıklar gibi) vaginal siklusları değiştirdiği görülmüştür (50).

Sıçan Embriyo ve Plasenta Gelişimi:

Çifleşme sonrası oluşan gamet hücresi, 2-3 gün sonra iki hücreli hale, 5.gün blastokist haline gelir. İmplantasyon 5. günden sonra olur (29).

Ovumun fertilizasyonundan doğuma kadar olan gelişim safhaları 6 dönemde incelenmektedir. İlk dönemler; gametogenezis, fertilizasyon, yarıklanma dönemleridir. Diğer üç dönem ise; gastrulasyon, organogenezis, büyüme ve histolojik farklanmadır.

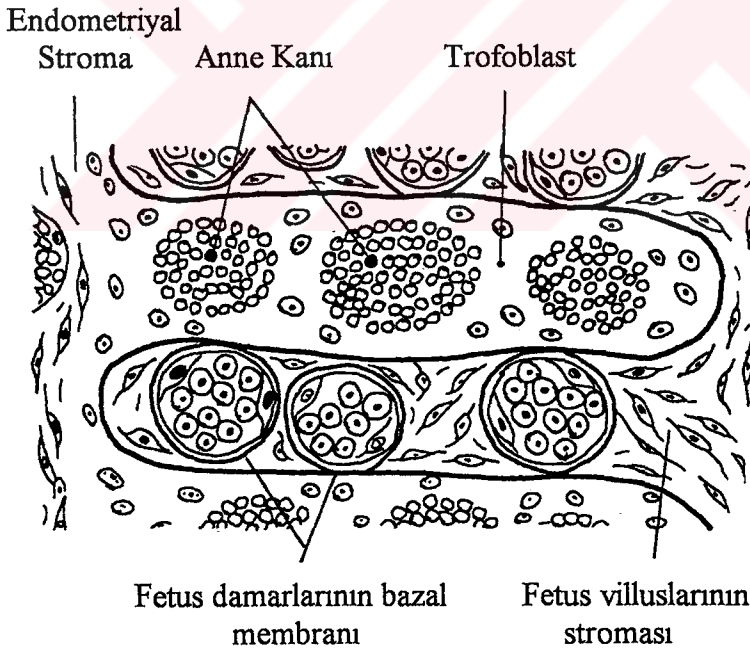
Gastrulasyon; embriyoblast denilen hücre yığınının, 3 germ yaprağına (endoderm, mezoderm, ektoderm) dönüşmesidir. Organogenezisde ise bu üç germ yaprağı daha alt hücre gruplarına bölünür. Bunlardan organ ve organ sistemleri oluşur. Büyüme dönemlerinde hücreler, hem sayı hem de boyut olarak büyür. Farklanma döneminde ise hücreler, yapacakları özel fonksiyonlarına göre kendilerine özgü bir değişim gösterirler.

İmplantasyon sonrası sıçan embriyosunun gelişimi Tablo II.'de gösterilmiştir. (30, 35)

Tablo-II: İmplantasyondan doğuma kadar sıçan embriyo gelişimi

<i>Gebelik Günü</i>	<i>Embriyolojik Karakterler</i>
6	Blastokistin implantasyonu olur, trofoblastik hücreler ve embriyoblast hücreleri endoderm yığını halinde görülür, laminasyon görülmez.
7	Basit koryonik villuslar vardır (firçasız), embriyonik disk belirginleşir. Embriyonik ve ekstra embriyonik bölümlerin farklanması başlar.
8	Trofoblastlar hızla farklırlar, primitif çizgi, primitif düğüm ve kafa bölgesi farklırlar, mezoderm farklılmaya başlar, embriyonun uzun eksenini belirgin hale gelir.
9	Oksipital somitler, nöral plak ve erken nöral kıvrımlar oluşur.
10-10,5	Nöral tüp kapanır, ilk beyin vezikülleri, üst torasik somitler, iki adet visseral yay, kalp, primordiyal göz ve kulak, endoderm farklılanması ile barsak ve primordiyal karaciğer oluşur.
11-11,5	Alt torasik ve lomber somitler, 4 visseral yay, kuyruk tomurcuğu, kol ve bacak tomurcuğu, mezonefrik tübül oluşur. Sefalik ve kaudal kıvrımlarla embriyo C harfi şeklini alır. Mide, safra kanalı ve mesane oluşur. Kulak vezikülü, göz vezikülü, mandibuler yay, hiyoid yay, kalp çıkıntısı, dorsal tarafta konveksite görülür.
12-12,5	Sekonder beyin vezikülleri, sakral ve üst kaudal somitler, maksiller ve frontonasal parçalar, el plağı, kulak tümseğı farklırlar. Mandibuler yay, hiyoid yayı, kalp, ön kollar ve karaciğer çıkıntısı (ön kollar hizasında) görülür.
13-13,5	Kaudal somitler, el ve ayak plakları, fasyal yapı ve yarıklanmalar oluşur. Maksiller yapı, letaral nazal yapılar, mandibuler yay, hiyoid yay, burun, arka ayaklar, ön ayaklar, kuyruk ve kalp çıkıntısı görülür.
14-14,5	Kaudal somitler, vücudun düzleşmesi, kulak tümseğinin belirginleşmesi, pinna oluşumu, mandibula prekartilajı, ön tarafta göz çifti, gonadlarda cinsiyet belirginleşmesi olur. Maksilla üzerinde bıyık papillaları görülür. Parmaklar belirginleşir.
15-15,5	Kaudal somitler, fasyal yarıklanmaların kapanması, diaframın kapanması, ön tarafta gözün tamamen oluşması, iki tane barsak kıvrımı, burun bölgesinde iki sıralı bıyık papillası, dış kulak kepçesi, göz kapakları ve pençeler görülür.
16	Son kaudal somitler, başın göğüs üzerinden kalkması, iskelette osifikasyonların başlaması, bıyıkların 6 sıra olması, parmakların ayrılmaya başlaması, kuyruk gelişmesi ve barsak kıvrımlarının artması görülür.
17	Gövdede kıl papillaları, burundaki kıl papillalarının 7-9 sıralı olması, kulak kepçesi gelişmesi, göz kapaklarının belirginleşmesi, kuyruğun vücuttan ayrılması ve barsak kıvrımlarının gelişmesi görülür.
18	Ön ayakta 4 parmağın ayrılması, palpepral fissurun belirginleşmesi, ayakta terminal uçların belirginleşmesi ve umblikal herninin kapanması görülür.
19	Umblikal herninin tamamen kapanması, kollar ve kuyruğun tamamen belirginleşmesi görülür.
20	Oluşan yapılar olgunlaşmaya devam eder.
21	Doğum gerçekleşir

Sıçanlarda 9-13. günler organların oluştuğu dönemdir (55). Bu dönem plasental gelişim için çok önemlidir. Kemiricilerin plasentaları insanlardan farklıdır (15). Kemiricilerde ters dönmüş kalıcı bir vitellus kesesi plasentası (yolk sak plasentası) primer plasental yapıdır. Bu yapı erken gelişim sonrasında (implantasyondan hemen sonra) görülmeye başlar ve 8. gününden itibaren tüm gebelik boyunca fonksiyonel kalır. Vitellus kesesi duvarında damar oluşumları görülür ve allantoik tomurcuğun koryonla füzyonu ile oluşan koryo allantoik plaseenta gebeliğin 11. gününden itibaren fonksiyonel hale gelir (41). Bu dönemde (11-13. günlerde) uterusu giden total kan akımında belirgin bir düşme olur (15). Bunun sebebi desiduaadaki azalmış kan akımıdır. Yolk sak plasentada anjiogenetik ve allantoik tomurcuğun farklanması sırasında trofoblastlar dolaşan anne kanı ile temas geçerler. Bu da gebeliğin 8. gününde olur. Sıçan embriyosunun plasentası; diskoid yapıda ve hemokoryal tiptedir. Hemokoryal tip plasentada; maternal ve fetusla ilgili dokular birbiri içinde kapalı bir sistem oluşturmuştur. Anne kapillerlerinin endotelleri yok olmuştur ve anne kanı koryon villusları ile direk temas halindedir (32). Yani koryon villusları anne kanı içinde yüzer durumdadır (Şekil-3).



Şekil-3: Sıçan plasentasında anne ve fetus arasındaki ilişkinin şematik görünümü

Sıçan plasentasının transvers kesitleri mikroskopik olarak incelendiğinde belirgin şekilde kan sinüsleri görülür. Plasental bariyer (gaz alış veriş yapılan yer) incelendiği zaman ise 3 ayrı bölge görülür:

1.Labirint bölgesi: Anneye ait kan sinüsleri ve fetusla ilgili trofoblast tüpleri içinde fetusla ilgili kan damarları bulunur.

2.Birleşme bölgesi: Fetusla ilgili damarların daha fazla bulunduğu bölgedir.

3.Trofoblastik dev hücreler bölgesi: Bu bölgede troblastik ait dev hücreler görülür.

Bu yapılar anne ile fetus arasındaki alışverişlerin yapıldığı, plasental bariyeri oluşturan bölgedir (59).

Teratojen Etkiler

Embriyo, çeşitli teratojenlere maruz kalabilir. Embriyonun gelişim evresi, teratojen ajanlara olan hassasiyeti belirler. Prediferansiyasyon devresi (fertilizasyondan bilaminar disk oluşumuna kadar olan devre, 0-8. günler); teratojen ajanlara karşı embriyonun dirençli olduğu dönemdir. Bu dönemde, ajanlara maruz kalırsa embriyo ya ölür ya da etkilenmez (58). Prediferansiyasyon sonrası embriyonik devre başlar. Embriyonik devre (9-13. günler); hücre farklılaşmalarının çok hızlı olduğu ve embriyonun teratojen ajanlara en duyarlı olduğu dönemdir. Meydana gelen malformasyonlar, teratojenik etkinin gerçekleştiği sırada duyarlı olan organlara bağlı ortaya çıkar. Fetusla ilgili evre (14-21.günler); organ sistemlerinin tamamlandığı ve hücrelerin boyutlarının büyüdüğü dönemdir ve embriyonun teratojen ajanlara olan duyarlılığı azdır. Bu dönemdeki teratojen etkiler, fonksiyonel bozukluklara ve küçük malformasyonlara neden olurlar (43).

Teratojenler, hücre fonksiyonları ya da hücre ürünleri üzerine etkilidir. Teratojen ajan; nükleik asit ya da protein sentezini azaltabilir, ekstraselluler matriksi değiştirebilir ve embriyonik hücrenin yapısını olumsuz etkileyebilir (26,58).

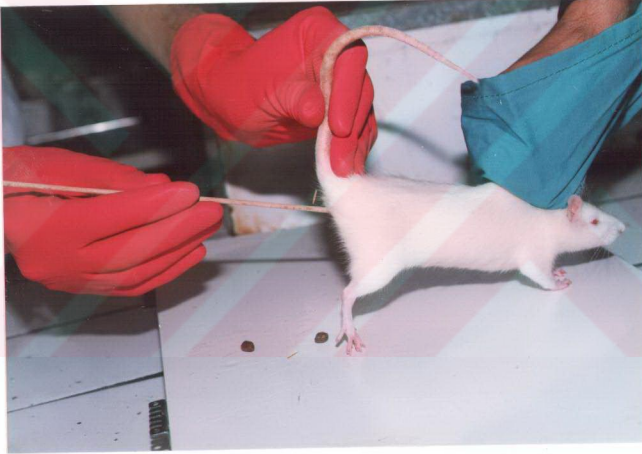
GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, ağırlıkları 180-270 gram arasında değişen, *Rattus Norvegicus* cinsi, albino sıçanlar kullanıldı.

Toplam 120 dişi sıçanın, vajinal simir kontrolünde 39 tanesinin östrus zamanında olduğu tespit edildi. Bunlar birebir eşleme metoduyla erkek sıçanların bulunduğu kafeslere yerleştirildi ve sıçanların 30 tanesi gebe kaldı.

Vajinal Simir Yöntemi ile Ovulasyon Tayini:

"Basit Rastgele Örneklem Metodu" ile seçilen dişi sıçanların vulva etrafı %70'lik alkolle silinip temizlendikten sonra Şekil.-5'de görüldüğü gibi tahta bir çubuk yardımıyla vajina duvarından sürüntü alındı.



Şekil- 5: Dişi sıçanlardan vajinal simir alınması

Alınan sürüntü temiz bir lam üzerine yayıldı, üzerine %70'lik alkol dökülerek tespit edildi. Tespit sonrası metilen mavisi ile boyandı. Mikroskopta incelendikten sonra yaymalarında % 70'den fazla kornifiye hücre görülen dişi sıçanların östrus (kızgınlık) zamanında oldukları kabul edildi.

Östrus zamanında olan dişi sıçanlar aynı günün akşamı erkek sıçanların yanına bırakıldı. Ertesi gün erkek sıçanların yanından alınan dişi sıçanlara tekrar vajinal simir yapıldı. Yaymalarında sperm görülen dişi sıçanların, gebeliğin birinci gününde oldukları kabul edildi.

Bu aşamadan sonra gebe dişi sıçanlar:

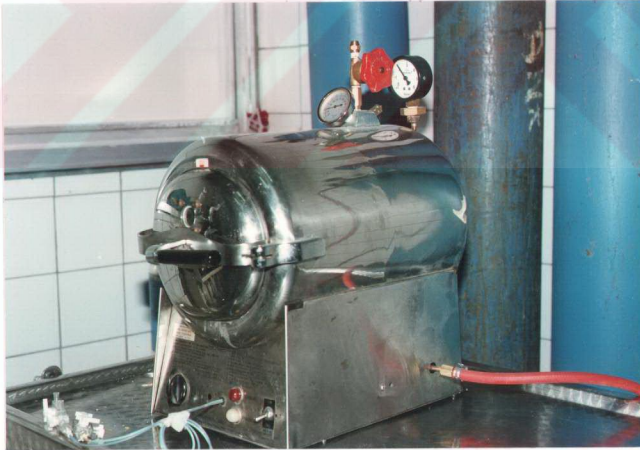
- 1.Kontrol Grubu (Normobarik),
- 2.Deney Grubu (Hiperbarik oksijen uygulanan)

olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Standart diyet ve çeşme suyu ile beslenen deney grubu sıçanlara, gebeliğin 8 ve 12. günleri arasında 5 gün boyunca, her gün aynı saatlerde, 90 dakika HBO uygulandı.

Tablo-III. Deney Planı

Gruplar	Hayvan Sayısı	Doz	Uygulama Süresi	Gün
Kontrol	10	Normobarik	-	Her gün
Deney	20	3 ATA HBO	90 dak./gün	5 gün

HBO Düzenegi: (Şekil-6)



Şekil- 6: HBO uygulama düzenegi

Araştırmada; uzunluğu 38 cm., iç çapı 24.5 cm. olan silindirik bir basınç odası kullanıldı. Basınç odası, kapağı içeri doğru açılan, yanlışlıkla basıncın 5 ATA'nın üzerine çıkması durumunda otomatik olarak içerisindeki gaz karışımını boşaltan, krom-nikel ve elik alaşımından imal edilmiş bir düzenekten oluşmaktaydı.

Ventilasyon sonucunda birikecek CO₂'yi tutmak amacıyla soda-lime, nemi absorbe edebilmek amacıyla da silika jel kullanıldı. Yüksek basınçlı oksijen, ticari amaçla doldurulmuş tüplerden sağlandı. Düzenek içerisindeki oksijen basıncı, seans başlangıcında, yavaş yavaş ve aşamalı olarak artırılarak 10 dakika sonunda 3 ATA'ya fikse edildi. 90 dakika süreyle basınç sabit tutulup, çalışma bitiminde yine aşamalı olarak azaltılarak 5 dakika sonunda normobarik şartlara dönüldü (39, 48).

Kontrol grubu olarak kabul edilen dişi sıçanlara ise gebelikleri boyunca normobarik atmosfer havası solutuldu.

Gebeliğin 20. gününde deney hayvanları Ketalar (Ketamin HCl) ile anestezi edilerek dekapite edildi. Abdominal diseksiyon ile çıkarılan embriyolar %10'luk fosfat tamponlu ntrl form halinde 15 gün süreyle tesbit edildi. Daha sonra doku örnekleri akar suda yıkandı ve aşağıda gösterilen işlemlerden geçirildi.

A-DEHİDRATASYON

<u>Alkol Derecesi</u>	<u>Süre</u>
%30	1 saat
%40	1 saat
%50	1 saat
%60	1 saat
%70	1 gece
%80	1 saat
%90	1 saat
%96	1 saat
%100	1 saat
%100	1 gece

B-ŞEFFAFLANDIRMA

Ksilol	1/2 saat
Ksilol	2 saat

C-İNFİLTASYON

Parafin (60 °C etüvde)	1 saat
Parafin (60 °C etüvde)	1 gece

D-GÖMME

Parafin

Hazırlanan parafin bloklardan Lipshaw tipi kızaklı mikrotom ile 6 µm kalınlığında kesitler alındı. Bu kesitler sırasıyla Hematoxilen-Eozin (H-E.) ve Masson trikrom ile boyandı. BHS-2 tipi Olympus binoküler mikroskopta incelenen kesitlerden mikrofotograflar elde edildi. Aynı mikroskopda oküler mikrometre yardımıyla morfometrik ölçümler yapıldı. Morfometrik çalışmalar için x100 büyütme kullanıldı.

Hücrelerin sayım yapıldığı bölgeler:

- 1.Beyin: Frontal korteksteeki nöronlar,
- 2.Böbrek: Sol böbreğin korteksindeki glomeruler hücreler,
- 3.Karaciğer: Sol lobun ventral yüzünün altındaki hücreler (hepatositler),

Sayım yapılırken her doku için 3 ayrı kesitte, 4 farklı alan tarandı. Sayım sonrası bulunan değerler, milimetre karede hücre sayısı olarak ifade edildi.

Plasenta kalınlığının ölçülmesinde aynı mikroskop oküleri kullanıldı. x4 büyütmede yapılan ölçümler µm (mikrometre) cinsinden ifade edildi.

Embriyo ve plasentaların ağırlık ölçümleri “Ohaus Scala” marka hassas terazi ile gram cinsinden yapıldı.

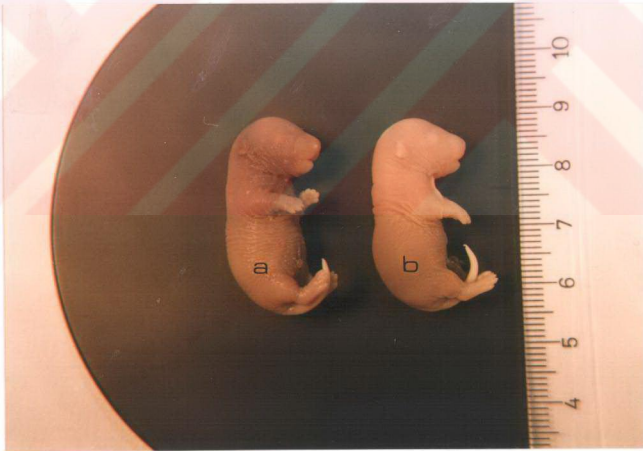
Sonuçlar “ortalama ± standart sapma” olarak verildi. İki grup arasındaki karşılaştırmalar “embriyo ağırlığı”, “plasenta ağırlığı” ve “plasenta ağırlığı/embriyo ağırlığı oranı” kullanılarak yapıldı. Ağırlıkların ve morfometrik ölçüm sonuçlarının karşılaştırılmasında Mann Whitney- U Testi kullanıldı ve p< 0.05 anlamlı olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Siçanların günlük vajinal simir kontrollerinde:

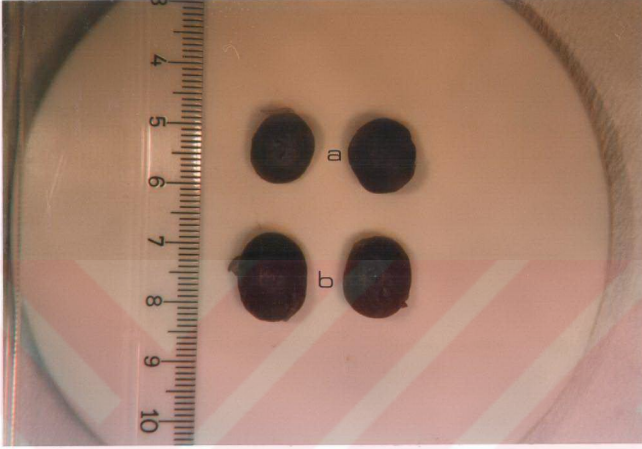
1-Proöstrus, 2-Östrus, 3-Metaöstrus, 4-Diöstrus olmak üzere birbirinden ayrılan dört devre gözledik. Bu devrelerin birinden diğerine geçişi esnasında kısa süren ara devrelerin varlığı dikkati çekmiştir. Çalışmamızda ara devreler, dört esas devre içinde açıklanmıştır. Bu siklus devreleri 4-5 günde bir tekrarlamakta olup bizim üzerinde durduğumuz östrus devresi 12-20 saat sürmüştür. En uzun devrenin diöstrus devresi olduğu gözlenmiştir.

Gebelikleri sırasında HBO'ya maruz bırakılan anne siçanlarda, oksijen toksisitesi bulgularına rastlanmadı. Annelerin 20. gebelik gününde çıkarılan fetuslar incelendiğinde herhangi bir dış gelişim bozukluğuna rastlanmadı (Şekil-7). Yalnız bir tane fetusda umbilikal herni ve anterior nöroporda kapanma defekti tespit edildi.



Şekil-7: Kontrol (a) ve HBO (b) grubu fetusların dış görünümü

Deney ve HBO grubu fetusların plasentalarının dış görünüşü incelendiğinde; HBO grubundakilerin daha büyük olduğu görülmüştür (Şekil-8).



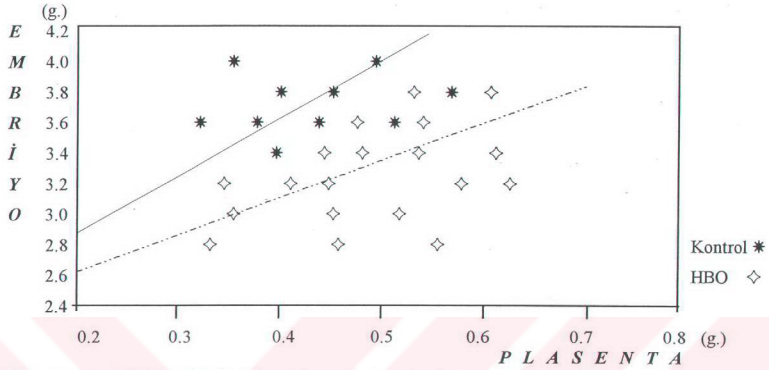
Şekil-8: Kontrol (a) ve HBO (b) grubu plasentalarının dış görünümü

Kontrol grubunda; embriyo ağırlığı $3,625 \pm 0,076$ g., plasenta ağırlığı $0,365 \pm 0,018$ g., plasenta/embriyo oranı $0,101 \pm 0,005$ bulundu. HBO grubunda; embriyo ağırlığı $3,275 \pm 0,064$ g., plasenta ağırlığı $0,510 \pm 0,025$ g., plasenta ağırlığı/embriyo ağırlığı oranı $0,156 \pm 0,007$ bulundu.

İki grup arasında embriyo ağırlığı ortalamaları karşılaştırıldığında; HBO grubunda embriyo ağırlığı ortalaması kontrol grubuna göre daha düşüktü. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,01$).

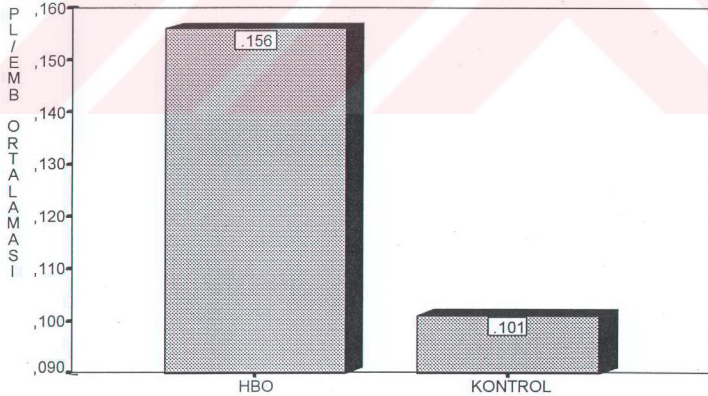
İki grup arasında plasenta ağırlığı ortalamaları karşılaştırıldığında; HBO grubunda plasenta ağırlığı ortalaması kontrol grubuna göre daha fazlaydı. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,01$).

Embriyo ve plasentasının ağırlıkları Şekil-9'de gösterilmiştir. Burada ağırlıkların bulunduğu noktaların değerleri lineer regresyon metodu ile birleştirilmiştir.



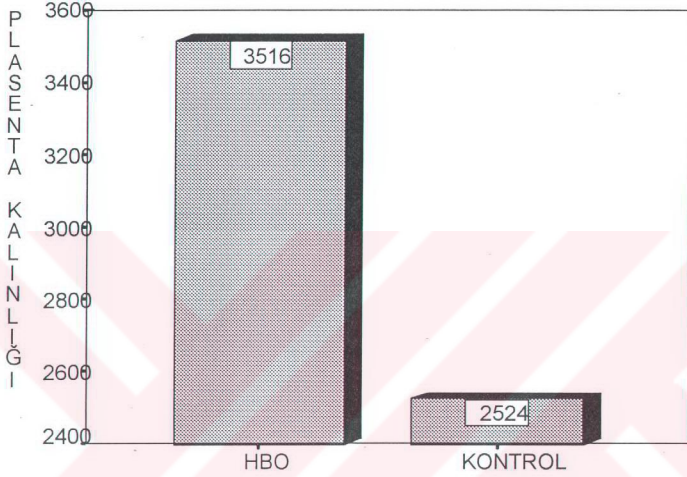
Şekil-9: Kontrol (*) ve HBO (\diamond) grubu embriyo ve plasentalarının ağırlıkları

İki grup arasında plasenta ağırlığı/embriyo ağırlığı oranları (Şekil-10) karşılaştırıldığında HBO grubunda oran yüksekti ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,01$).



Şekil-10: Kontrol ve HBO grubu plasenta ağırlığı/embriyo ağırlığı oranlarının karşılaştırılması

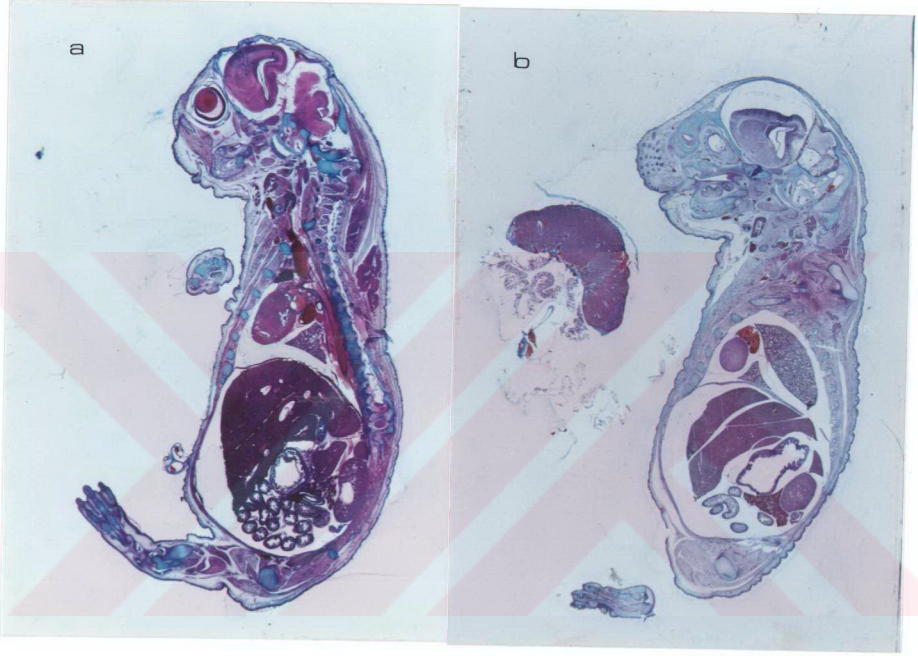
Plasentalarnn, umbilikal damarların bulunduğu yerden enine kesilmesi sonrası kalınlık ölçümleri yapıldı. Kontrol grubunda 2524 ± 147 μm , HBO grubunda 3516 ± 254 μm olarak bulundu. Bu fark anlamlıydı ($p < 0.05$). Şekil-11'de plasenta kalınlıkları grafik halinde gösterilmiştir.



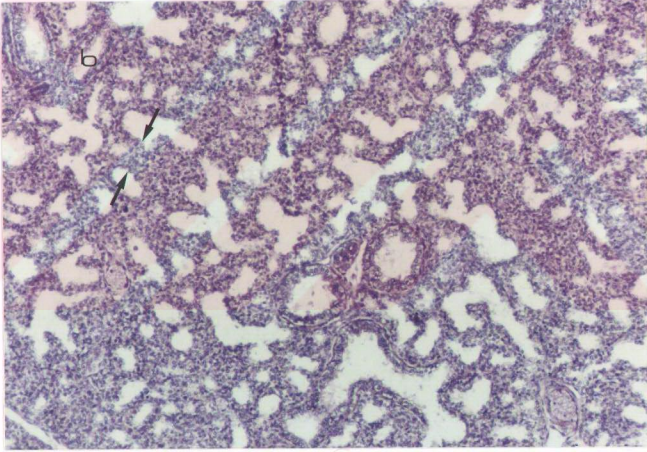
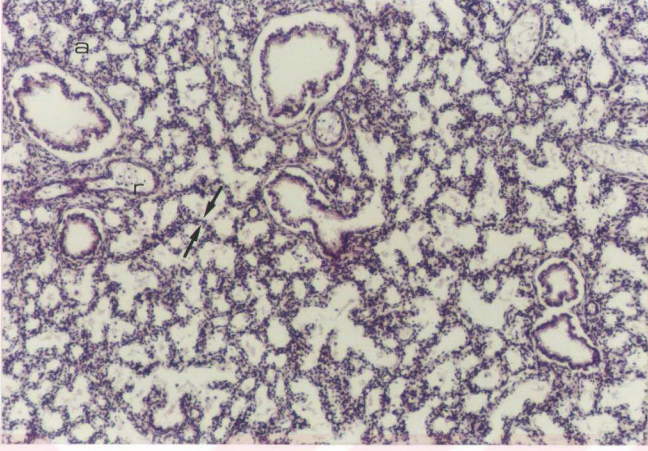
Şekil-11: Kontrol ve HBO grubundaki plasenta kalınlıklarının grafik halinde gösterilmesi

Embriyo kesitlerinin mikroskopik incelenmesinde; kontrol ve HBO gruplarında; organ ve organ sistemlerinin histolojik görünümünün farklı olmadıkları tespit edildi. (Şekil-12).

Yalnız HBO grubuna ait akciğer kesitlerinde, interalveoler septumun kalınlaştığı tespit edildi (Şekil-13).

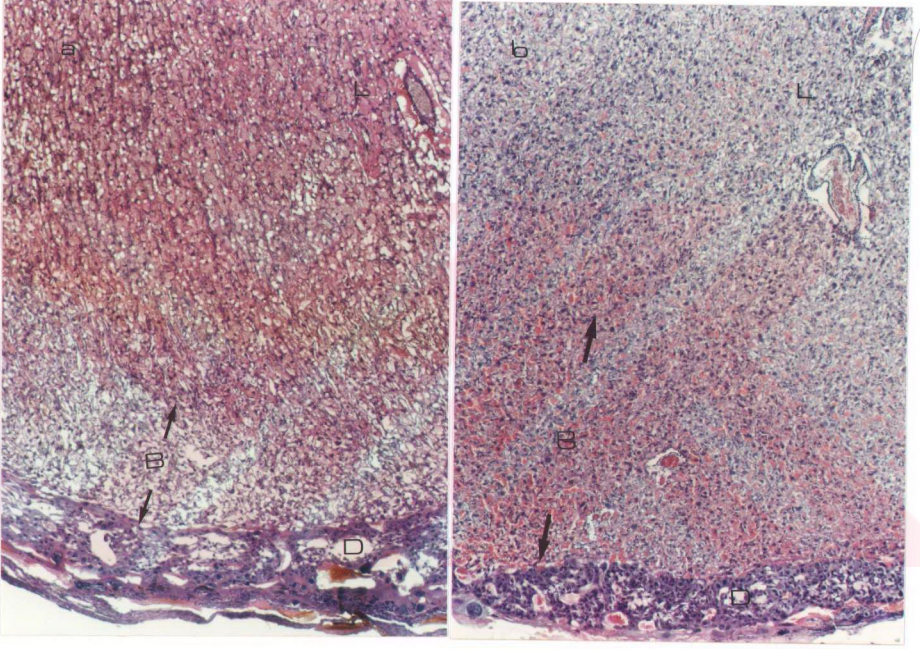


Şekil-12-Kontrol (a) ve HBO (b) grubu sıçan embriyolarının sagittal kesitlerinin panoramik görüntüsü (Masson Trikrom, x1).

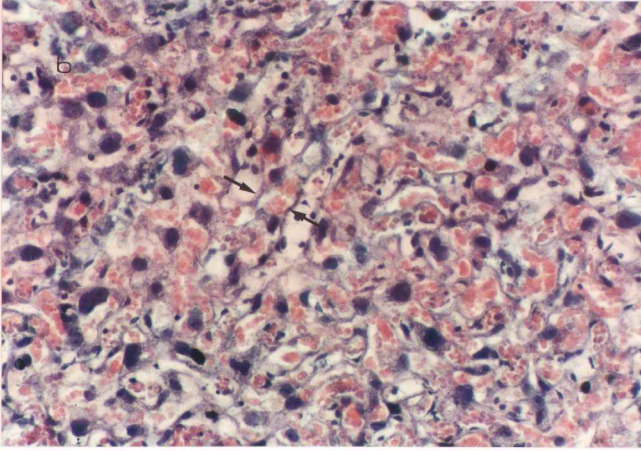
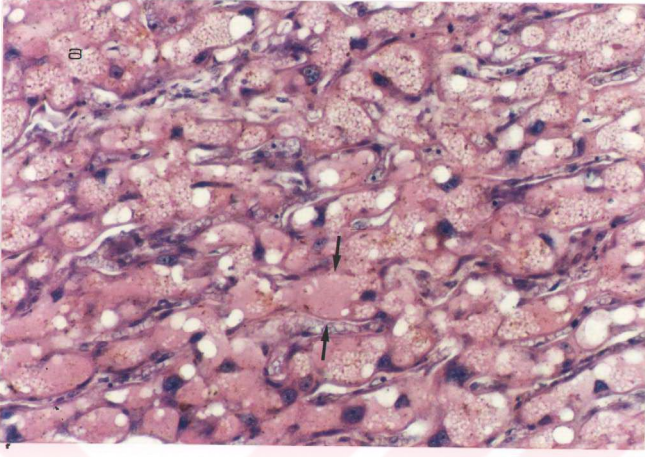


Şekil-13. Kontrol (a) ve HBO (b) grubu sıçan embriolarının akciğer kesitleri. HBO grubunda interalveoler septumun daha kalın olduğu (oklar) izlenmektedir (H-E., x10).

Plasentaların histolojik incelenmesi sonucunda; HBO uygulanan grupta plasenta bariyerinin kalınlaştığı, birleşme bölgesinin genişlediği, labirint bölümündeki sinüslerin çapının azaldığı görüldü (Şekil-14, Şekil-15).

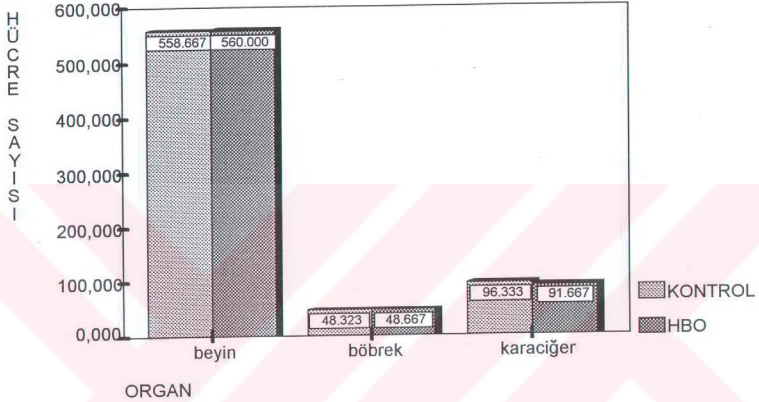


Şekil-14: Kontrol (a) ve HBO (b) grubuna ait plasentaların panoramik görünümü. HBO grubu plasentalarda birleşme bölgesinin genişlemiş olduğu (oklar) izlenmektedir (D: Dev trofoblastik hücreler, B: Birleşme bölgesi, L: Labirint bölgesi), (H-E.,4x).



Şekil-15- Kontrol(a) ve HBO (b) grubuna ait plasentalar izlenmektedir. HBO grubunda labirint bölgesindeki sinüs çapı azalmıştır (oklar) (H-E., x20).

Kontrol grubunda, beyin hücre sayısı; $558.7 \pm 6.1 / \text{mm}^2$, böbrek glomeruler hücre sayısı; $48.4 \pm 1.9 / \text{mm}^2$, karaciğer hücre sayısı ; $96.3 \pm 1.8 / \text{mm}^2$ idi. HBO grubunda ; beyin hücre sayısı $560.0 \pm 3.9 / \text{mm}^2$, böbrek glomeruler hücre sayısı $48.7 \pm 2.4 / \text{mm}^2$, karaciğer hücre sayısı $91.7 \pm 1.8 / \text{mm}^2$ idi. Şekil-16'da beyin, karaciğer ve böbrek glomeruler hücre sayısı gösterilmiştir.



Şekil-16: Beyin, karaciğer ve böbrekte glomeruler hücre sayılarının grafik halinde gösterilmesi.

Her iki grubun hücre sayıları karşılaştırıldığında; karaciğer kesitlerinde; kontrol grubundaki hücre sayısı ortalaması, beyin-böbrek kesitlerinde; HBO'lu grupta hücre sayısı daha fazlaydı. Ancak bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Yeni bulunan tedavi yöntemlerinde, toksik ve teratojen etkilerin bilinmesi önemlidir. Teratojen etkileri ortaya koymak için embriyo deneyleri gerekmektedir. Fakat, embriyolarda çalışma yapmak kolay olmamaktadır. Bu çalışmada; özellikle embriyo yaşının çok kolay bir yöntemle tespit edilebileceği gösterilmiştir.

Günbay ve arkadaşları, sıçanların vajinal kontrollerinde östrus siklusunu dört dönem olduğunu bildirmişlerdi (28).

Çalışmamızda kullandığımız dişi sıçanların vajinal simir kontrolünde, proöstrus, östrus, diöstrus ve metaöstrus olmak üzere dört devre gözlemledik. Bu gözlemlerimiz, literatür bilgileri ile uyumludur.

Simir kontrolü yapılan ve östrus devresinde buldukları tespit edilen dişi sıçanlar, bir dişi bir erkek olacak şekilde kafese bırakılmıştır. Günbay ve arkadaşları, aynı kafes içine dört dişi bir erkek sıçan konularak çiftleştirme yapılmasının, gebe kalma ihtimalini azalttığını göstermişlerdir (28). Bizim çalışmamızda da östrus zamanında olan 39 dişi sıçandan (bir erkek bir dişi metodu ile) 30 tanesinin gebe kalması, Günbay ve arkadaşlarını desteklemektedir. Ayrıca erkek sıçanın kafesine dişi sıçanın bırakılması önemli bir konudur. Erkek sıçan, bulunduğu yerden farklı bir kafese taşındığı zaman, çiftleşme olmamaktadır.

Günlük vajinal simir takibi yapılan, bazı sıçanların östrus siklus ritminin düzenli olmadığını gözlemlendi. Daha önce yapılan çalışmalarda bu konudan söz edilmemişti. Bu ritm bozukluğuna; vajina duvarından sürürnü yapılırken, koitus benzeri bir durum oluşması ve bu yalancı koitus sonrası oluşan hormonal değişikliklerin neden olabileceği düşünüldü. Genital sistemde koitus sonrası oluşan hormonal değişikliklerin, hamileliğe hazırlık için olabileceği düşünüldü. Östrus zamanını tespit etmek amacıyla her gün vajinal simir almak yerine, aynı günün içinde sabah ve akşam (iki defa) yapılan simir kontrolü ile östrus zamanında oldukları tespit edilen dişi sıçanların çalışmaya dahil edilmesinin daha uygun olacağı değerlendirilmektedir.

HBO uygulamasına sekizinci günde başlanmıştır. Gebeliğin ilk gününden bilaminar disk oluşumuna (9. günü) kadar geçen süre içinde, embriyo dış etkenlere karşı oldukça dirençlidir (55). Bilaminar disk oluşuktan sonra embriyo teratojen ajanlara duyarlı hale

gelmektedir (58). Sıçan embriyosunun plasentasında trofoblastların anne kanıyla ilk teması 8. günde olmakta, 9. günde ise embriyo hücreleri farklanmaya başlamaktadır(15 ,41). Bu nedenle erken dönemde plasenta üzerine olan etkileri de incelemek için HBO uygulamasına 8. gün başlanmıştır.

Bu çalışmada HBO uygulaması 8-12 nci günlerde olmuş ve sıçan fetuslarında konjenital malformasyona neden olacak teratojen bir etki görülmemiştir. Bununla beraber fetusla ilgili ağırlık ve plasental ağırlıkta anlamlı değişiklikler olmuştur.

HBO uygulamasında çeşitli doz ve süreler denenmiştir. Ferm, gebe hamsterlere 2 saat süreyle 4 ATA HBO uygulaması, fetusla ilgili rezorbsiyonda artma, umbilikal herni, yarık damak, spina bifida, ayak malformasyonları saptamıştır (22). Fujikara, gebe tavşanlara 15 saat süreyle 1.5 ATA HBO uygulaması, retrolental fibroplazi ve prematüritede artma tespit etmiştir (23). Telford ve arkadaşları, gebe sıçanlara (9. ve 14.günde) 6 saat 2 ATA HBO uygulaması ve fetusla ilgili rezorbsiyonda artma saptamışlardır (61). Aynı çalışmayı Miller ve arkadaşları, 3 ATA 6 saat HBO uygulayarak yapmışlar ve kardiyovasküler malformasyonların arttığını bildirmişlerdir (52). Grote ve arkadaşları, 9. gebelik gününde tavşanlara 2 ATA 5 saat HBO uygulaması ,fetusla ilgili rezorbsiyonun arttığını saptamışlardır (27). Bu çalışmalarda, HBO uygulamasının doz ve süresi, günümüzde uygulanan tedavi dozu ve sürelerinden çok farklıdır. Bu çalışmalarda görülen malformasyonlar, toksik dozda HBO kullanılması sonucu gelişmiş olabilir.

Ferm, gebe hamsterlere terapötik doza daha yakın dozda (3 ATA 3 saat HBO) uyguladığı zaman, hiçbir malformasyona rastlamadığını bildirmiştir (22). Bizde terapötik dozda HBO uygulandığı zaman malformasyonların görülmeyeceğini düşünmekteyiz.

Bu çalışmada uygulanan HBO basıncı insan için kullanılan tedavi basıncıyla aynıdır ve bu miktar sıçanlar için fazla olarak düşünülmüştür. Bu yüksek oksijen basıncında bile sıçan embriyolarında malformasyon oluşmamıştır. Fetusla ilgili anormallik ve varyasyonlar daha önce rapor edilen bilgilerle uyumludur. Bu yaklaşık %0.4-0.8 arasındadır(54).

HBO uygulaması pek çok hastalığın tedavisinde denenmiştir.

Van Hausen ve arkadaşları CO zehirlenmelerinde akut HBO uygulamasının anne ve fetus da meydana gelebilecek ölüm ve deformite riskini azalttığını bildirmişlerdir (62).

Cho ve Yun, gebe sıçanları karbonmonoksit maruz bıraktıktan sonra 3 ATA 20 dakika HBO ile tedavi etmişler ve karbonmonoksit maruz kalmış ama HBO

uygulanmamış grubtaki fetus rezorbsiyonunun, HBO uygulanan gruba göre daha fazla olduğunu bildirmişlerdir (18).

Gilman ve arkadaşları, dekompresyon hastalığına maruz bıraktıkları gebe hamsterlere 2.8 ATA 1 saat HBO uygulamışlar, kontrol grubundaki (dekompresyon hastalığı olup da HBO uygulanmayan) fetuslarla karşılaştırıldığı zaman, iki grub arasında bir fark bulunmadığını bildirmişlerdir (25).

Proshina ve arkadaşları, intrauterin gelişme geriliklerinde HBO uygulamışlar ve fetusun gelişmesini ultrasonografi ile takip etmişler ve bu uygulamayla hipoksik bulguların azaldığını, fetusla ilgili hareketlerin arttığını tespit etmişlerdir. Ayrıca herhangi bir teratojeniteye rastlamadıklarını bildirmişlerdir (56).

HBO tedavisi uteroplasental yetmezlik vakalarında denenmiş ve tam iyileşme saptanmıştır. Düşük tehtidinde de kullanılmış ve bunlarda gebeliğin daha uzun süre devam ettiği saptanmıştır (36).

New ve Cappola sıçan embriyosu kültür ortamına HBO uygulamışlar ve embriyoların gelişiminin hızlandığını tespit etmişlerdir (53).

İnsan gebeliklerinde erken aylarda HBO uygulamasının düşük tehlikesi taşıdığı konjenital malformasyona yol açabileceği düşünülmektedir. Toksik etkiye en hassas organ sinir sistemidir. Ama sinir sistemi malformasyonları hiçbir çalışmada tanımlanmamıştır. Bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Gebelikte HBO kullanımı ile ilgili en geniş çalışma, Rusya'da 700 gebe kadın üzerinde yapılmıştır. Fetusla ilgili hipoksi ve hipotrofi ile komplike hale gelen gebeliklerin tedavisinde HBO kullanılmıştır. 2-3.trimestirde HBO kullanılan komplikasyonlu gebeliklerin durumlarının (maternal kalp hastalığı, anemi, hipertansiyon, nefropati, fetoplasental yetmezlik gibi) kontrol grubundan, yani aynı komplikasyonları olup da HBO ile muamele edilmemiş grubdan daha iyi olduğu gözlenmiştir (1,63).

Ayrıca gebelik toksemisinde (1-3 düzeyinde nefropatisi bulunan) de HBO uygulanmış ve nefropatinin iyileştiği saptanmıştır. Diabetik gebelere HBO uygulandığı zaman; genel bir iyileşme , kan glukoz seviyelerinde düşme ve %92 gebelikte normal sürede (37-38. haftalarda) doğum görülmüştür (36).

Sapuner ve arkadaşları, gebe sıçanlara (8-12. günlerde) 2.8 ATA 1.5 saat HBO uygulamışlar ve fetuslarda herhangi bir toksik ve teratojen etki görmemişlerdir. HBO

uygulanmış grupta, plasenta ağırlığının arttığını, fetus ağırlığının azaldığını tespit etmişlerdir (59). Bizim çalışmamızdaki bulgular, Sapuner ve arkadaşlarını desteklemektedir.

Annenin soluduğu havadaki kısmi oksijen basıncının artması çeşitli etkilere neden olmaktadır Battaglia ve arkadaşları; uterus damarlarında oksijen basıncının artması umbilikal damarlardaki kısmi oksijen basıncının artmasına neden olduğunu fakat buna rağmen fetusla ilgili arteriyal kısmi oksijen basınçlarında nispeten daha az bir artış olduğunu bildirmişlerdir (5). Birkaç insan çalışmasında maternal hiperoksi, fetusla ilgili oksijenizasyonu artırmıştır (44).

HBO grubu plasentalarında, labirint duvar kalınlığı artmış, sinüslerin çapı azalmıştır. Plasental bariyer de kalınlaşmıştır. Bu bulgular; HBO'nun koryoallantoik plasenta gelişimini etkilediğini göstermektedir. Plasental bariyerde görülen histolojik değişiklikler; hiperoksi sonucu gelişen lipid peroksidasyonu ve aktif oksijen radikalleri (süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikali)'nin neden olduğu hücresel değişikliklere bağlı olabilir (6,31).

Hiperoksik şartlarda plasenta ve fetusu çeşitli faktörler etkiler. Aktif oksijen radikalleri, plasental kan akımı, damar sisteminin adaptasyonu, bariyer kalınlığındaki değişiklikler bu konuda etkili olan faktörlerdir(65). İntrauterin hemodinamikler fetusla ilgili oksijenizasyonda önemli bir faktör olarak düşünülmüştür(15).

HBO uygulaması; annede periferik vazokonstrüksiyona, pulmoner vazodilatasyona ve sonuç olarak kanın merkezde toplanmasına neden olur. Bu olaylar, plasentanın büyümesinden, kan akımının azalmasından ve plasental bariyerin kalınlaşmasından sorumlu olabilir. İzole plasental dokularda ve umbilikal damarlarda yapılan çalışmalarda HBO uygulamasının vazokonstrüksiyona neden olduğu gösterilmiştir (22). Hipokside uterin kan akımının artması ve hiperokside bu kan akımının azalması fetusla ilgili dengeyi sağlamak amacıyla olmaktadır . Uterusda artmış kan akımı maternal yaşam için tehlikeli olabilir (49).

Oksijen uygulamasından sonra plasental doku normobarik durumu hipoksik olarak kabul etmekte ve kendisini büyütürken bunu kompanse etmeğe çalışmakta diye düşünülebilir. Sonuçta oluşan plasenta büyüklüğündeki artış, intrauterin büyüme yetersizliğini önleyemeyebilir. Düşük fetusla ilgili ağırlık, HBO uygulamasındaki direkt oksijen toksisitesine de bağlı olabilir. Fakat bu çalışmada bu mekanizmaları ayırt etmek mümkün değildir.

Direk oksijen toksisitesinin de plasenta deęişikliklerine neden olabileceęi dűşünülmektedir. Bu olay bir çeřit korunma mekanizması olabilir. Korunma amacıyla plasental bariyer kalınlařmakta, labirintteki kan sinűslerinin çapı azalmaktadır. Bۆylece plasenta bariyerindeki diffűzyon azalmakta, fetusu ilave oksijenin zararlarından korumak műmkűn olmaktadır.

Son çalıřmalarda akut maternal oksijen inhalasyonu ile uterus kan akımında azalma olmadıęı ve plasental solunum fonksiyonlarını etkilemedięi gűsterilmiřtir (5,49). Sűrekli HBO' ya maruz kalındıęında ise gűzlenen dolařım deęiřiklikleri; kalp hızında azalma, parsiyel CO₂ basıncında hafif azalma, arteriyal basıncıta artma řeklinde (7,49). Kan basıncı ile plasental aęırlık arasında sıkı bir korelasyon vardır. Yani kan basıncı artıkça plasenta bűyűklűęu de artmaktadır. (4).

Őnceki yapılan çalıřmalarda teratojen etkiler, genellikle dıř gűrűnűřűn incelenmesi ile ortaya konulmaya çalıřılmıř, histolojik deęiřiklikler hakkında bilgi verilmemiřtir. Bu çalıřmada, fetusun dıř gűrűnűřű ve aęırlık ۆlűmlerinin yanında histolojik incelenmesi de yapılmıřtır.

Gebe olmayan yetiřkinlerde yapılan çalıřmalarda, yűksek oranlarda HBO uygulamasının akcięer, karacięer ve merkezi sinir sisteminde toksik etkilere neden olduęu bildirilmiřtir(20,8).

Bu çalışmada, deney ve kontrol grubu fetusların akciğer, bűbrek, karaciğer ve beyin dokuları arasındaki farkları ortaya koymak için organlar işık mikroskobu ile incelenmiştir. Daha ۆnce yapılan çalışmalarda bu şekilde histolojik karşılaştırma yapılmamıştır.

Karacięer, bűbrek ve beyin dokusunun histolojik gűrűnűmleri arasında herhangi bir fark gűremedik. Hűcre sayıları karřılařtırıldıęında da anlamlı bir fark bulunamadı. Yalnız akcięer dokusu incelendięi zaman, HBO uygulanan grubta interalveoler septumun kontrol grubuna gűre daha kalın olduęunu gűzlemlendi.

Dawis ve arkadaşları, hiperoksiye bağlı insan akciğer alveoler yapılarında reversibl değişiklikler gűrdűklerini bildirmişlerdir (19). Deneke, yetişkin sıçanlarda yaptığı çalışmalarda interalveoler septumun kalınlaştığını tespit etmiştir (20).

Yetişkinlerde HBO uygulamasının bir yan tesiri olarak ortaya çıkan akciğer belirtilerinin fetusda da görülmesi, fetusun hiperoksiden benzer şekilde etkilenmiş olabileceğini düşündürmektedir.

Daha nceki çalışmalarda, HBO uygulamalarında gelişen akciğer toksisitesinin mekanizması ile ilgili çeşitli görüşler bildirilmiştir. Serotonin ve prostoglandin metabolizmasındaki düşüşler, serbest oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonu gibi olaylar, akciğerlerde meydana gelen değişikliklerden sorumlu olabilir (33,37).

Fetus akciğerlerinde oluşan değişikliklerin, HBO tedavisi sonrasında (doğumdan sonra) akciğer fonksiyonlarını ne şekilde etkilediği bu çalışmada araştırılmamıştır. Doğum sonrası yapılacak çalışmalarla, yavru sıçanlarda kalıcı bir hasarın oluşup oluşmadığı tespit edilebilir.

Yetişkinlerde ortaya çıkan hiperoksi toksisitesinin zararlı etkilerinden korunmak için çeşitli tedbirler alınmaktadır. Baodi ve arkadaşları, HBO'nun neden olduğu hasarlara karşı antioksidan ajanları kullanmış ve koruyucu rolünün olduğunu bildirmişlerdir (10).

Gebelere HBO tedavisi uygulanacaksa, yukarıdaki bilgilerin işığı altında HBO tedavisi ile birlikte antioksidan ajanların (C ve E vitamini gibi) da kullanılmasının, fetusda oluşabilecek hasarları azaltacağı beklenebilir.

Sonuç olarak sıçanlarda HBO uygulaması çok az teratojeniktir. Büyük oranda fetus ve plasenta ağırlıklarını etkilemektedir. Ayrıca fetus akciğerlerinde bazı değişikliklere neden olmaktadır. Oluşan değişikliklerin, doğum sonrası yavrularda kalıcı hasarlara neden olmayacağı kanaatindeyiz. Bu sonuçlar işığı altında gebelerde HBO uygulamasını gerektirecek endikasyonlarda korkmadan uygulanabilir, diyebiliriz.

ÖZET

Bu çalışmanın amacı HBO'nun sıçan embriyosu üzerine toksik etkilerini araştırmaktır. Dişi ve erkek sıçanlar bir gece çiftleştirilmiş ve ertesi gün vajinal simirlerinde sperm tespit edilen dişi sıçanların gebeliğin birinci gününde oldukları kabul edilmiştir. Gebe sıçanlara 8-12. günlerde HBO uygulanmıştır. Kontrol grubu olan sıçanlar normobarik atmosfer havasına maruz bırakılmıştır. Gebeliğin 20. gününde abdominal diseksiyon ile fetuslar çıkarılmış ve yapılan ölçüm ve incelemelerde HBO uygulanan grubtaki embriyoların vücut ağırlığında azalma, plasenta ağırlıklarında artma saptanmıştır. Bu grupta herhangi bir organ ve diş görünüş anomalisi saptanmamıştır. Akciğerlerde ise interalveoler septumun kalınlaştığı gözlenmiştir. Buradan HBO'nun malformasyon oluşturacak güçlü bir teratojen ajan olmadığı ve oluşan değişikliklerin doğum sonrası yada çeşitli anti oksidan ajanların kullanılması ile düzelebileceği kanaatine varılmıştır.

Sonuç olarak günümüzde tedavi amaçlı kullanılan HBO uygulaması terapötik dozların aşılmaması koşuluyla gebe bayanlarda da kullanılabilir.

SUMMARY

The aim of the present study was to investigate the toxic effects of hyperbaric oxygen (HBO) on rat embryos. After overnight pairing of females with males, conception was confirmed by vaginal smears and that day forth. Pregnant rats were exposed to hyperbaric oxygen for 5 consecutive days (8-12 days of gestation).

The control group was exposed to normobaric atmospheric air. On the morning of gestation day 20th, fetuses were removed after abdominal dissection. The fetal body weight was reduced and the placental weight increased in the groups exposed to HBO. The HBO treatment did not induce any embryonic abnormalities. There was a significant increase in the thickness of interalveolar septum in HBO group. These data suggest that HBO is not potent at inducing malformations and that embryotoxic effects could be prevented by using antioxidant agents.

In conclusion, HBO can be safely used for pregnant patients.

KAYNAKLAR

1. Aksenova, A., Proshina, I.V., Smirnova, L.K.: Methods of Prenatal Diagnosis of Fetal Hipoxia and Control of the Effectiveness of it's Treatment with Hyperbaric Oxygen . Akush. Gynecol., 11:15-18, 1979.
2. Asdell, S.A.: Ovulatory Cycles, Patterns of Mammalian Reproduction, Ithaca, New York, Cornell University Press, 1964, 433-436.
3. Assali, N.S., Kirschbaum, T.H.L., Dilts, P.V.: Effects Of Hyperbaric Oxygen on Uteroplacental and Fetal Circulation. Circ. Res.;22:573-588, 1968.
4. Barker, D.J.P., Bull, A.R., Osmond, C., Simmonds, S.J.: Fetal And Placental Size and Risk Of Hypertension in Adult Life. Br. Med. J., 301:259-262, 1990.
5. Battaglia, F.C., Meschia, G.: An Introduction to Fetal Physiology., London, Academic Press Inc., 1986, 34-45.
6. Berger, N.A.: Oxidant-Induced Cytotoxicity: A Challenge for Metabolic Modulation. Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.,4:1-3, 1991.
7. Bergo, G.W., Tyssebotn, I.: Circulatory Changes After Repeated Exposures to 4 Bar Oxygen in Awake Rats. Undersea Biomed. Res., 17(Suppl):63, 1990.
8. Bertelli, A., Cerrati, A., Giovannini, L., Mian, M., Spaggiari, P., Hyperbaric Oxygen- and Ethanol Induced Infiltration of Rat Hepatic Triglycerides and the Protective Action of Coenzyme A, Int. J. Tiss. Reac., XII(6): 359-362 , 1990.
9. Bloom, W., Fawcett, D.W.: Respiratory System, Textbook of Histology, W&B Saunders Comp., 11th Edition, 1986, 731-54.
10. Boadi, W.I., Thaire, L., Kerem, D., Iannal, S.: Effects of Dietary Factors on Antioxidant Enzymes in Rats Exposed to Hyperbaric Oxygen. Vet. Hum. Toxicol., 33 (2) April, 1991.
11. Bolton, M.E., Alamo, A.L.: Lack of Teratogenic Effects of Air at High Ambient Pressure in Rats. Teratology, 24:181-185, 1981.
12. Bolton, M.E.: Scuba Diving and Fetal Well-Being; A Survey Of 208 Women. Undersea Biomed. Res., 7:183-189, 1980 .

13. Brady, P., Myers, R.A.M., Adams Cowley, R.: Orogenital Sex as a Cause of Nonfatal Air Embolism in Pregnancy. *Obstet Gynecol*, 61:653-657, 1983.
14. Branson, F.H.: *Estrus Cycles, Mammalian Reproductive Biology*, The University Of Chicago Press, 1989, 454.
15. Buelke-Sam, J., Holson, J.F.: Blood Flow During Pregnancy in the Rat II. Dynamics of and Litter Variability in Uterine Flow. *Teratology*, 26:279-288, 1982.
16. Cartlidge, P.H.T., Rutter, N.: Percutaneous Oxygen Delivery to the Preterm Infant. *Lancet*, 1:315-318, 1988.
17. Casini, S.H., George, D.: Hyperbaric Oxygen. *Undersea Biomed. Res.*, 9(4):297-304, 1982.
18. Cho, S.H., Yun, D.R.: The Experimental Study on the Pregnancy Wastage of Rats with Acute Carbon Monoxide Poisoning. *Seoul J. Med.*, 23:67-75, 1982.
19. Davis, W.B., Rennard, S.L., Bitterman, P.B.: Pulmonary Oxygen Toxicity Early Reversible Changes in Human Alveolar Structures Induced by Hyperoxia. *N. Engl. J. Med.*, 209:878-883, 1983.
20. Deneke, S.M., Fanburg, B.L.: Normobaric Oxygen Toxicity of the Lung. *N. Engl. J. Med.*, 303:76-79, 1980.
21. Egan, D.F.: *Decompression Disease, Fundamentals of Respiratory Therapy*, 2nd Ed., Mosby, St. Louis, 1973, 45-47.
22. Ferm, V.H.: Teratogenic Effect of Hyperbaric Oxygen. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 116: 975-976, 1964.
23. Fujikura, T.: Retrolental Fibroplasia and Prematurity in Newborn Rabbits Induced by Maternal Hyperoxia. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 90:854-858, 1964.
24. Gilman, S.C., Bradley, M.E., Greene, K.M., Fischer, G.J.: Fetal Development: Effects of Decompression Sickness and Treatment. *Aviat Space Environ Med.*, 54:1040-1042, 1983.
25. Gilman, S.C., Greene, K.M., Bradley, M.E.: Fetal Development: Effects of Simulated Diving and Hyperbaric Oxygen Treatment. *Undersea Biomed. Res.*, 9:297-304, 1983.
26. Grioud, A., Martinet, M.: Action Teratogene De L'hypervitaminose A Chez La Souris En Fonction Du Stad Embryonnaire. *C. R. Soc. Biol, Paris*, 154:1353, 1960.

27. Grote, W., Wagner, W.D.: Fehlbildungen Bei Kaninchen Nach Hyperbarer Oxygenation. *Klin Wochenschr*; 51:248-250, 1973.
28. Günbay, T., Buldan, Z., Korman, E.; Beyaz Sıçanların Vaginal Simir Kontrolü ve Gebeliğin İlk Gününün Tayini. *Ege Ün.Tıp Fak.Dergisi*, 16,4;645-651, 1977.
29. Hafez, E.S.E.: Female Reproductive Organs, Reproducing Breeding Techniques for Laboratory Animals, Lea&Febiger, Philadelphia, 1970, 93.
30. Hafez, E.S.E.: Gestation and Prenatal Development, Reproducing Breeding Techniques for Laboratory Animals, Lea&Febiger, Philadelphia, 1970, 172.
31. Halliwell, B., Gutteridge, M.C.: Oxygen Toxicity, Oxygen Radicals, Transition Metals An Disease. *Biochem. J.*; 219:114, 1984.
32. Hamilton, W.: Human Embryology, Williams&Wilkins, Baltimore, 1962, 165-168.
33. Harabin, A.L., Braisted, J.C., Flynn, E.T.: Response of Antioxidant Enzymes to Intermittent and Continuous Hyperbaric Oxygen. *J. Appl. Physiol.*, 69(1):328-335, 1990.
34. Heffner, J.E., Repine, J.E.: Pulmonary Strategies of Antioxidant Defense. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 140:531, 1989.
35. Irmak, M.K., Özcan, O.: The External Development of the Rat Embryo. *Gazi Medical Journal*, 6:7-11, 1995.
36. Jain K.K.: Neonatology, Textbook of Hyperbaric Medicine, Hogrefe&Huber, 1990, 215-218.
37. Jain K.K.: Hyperbaric Oxygenation and Pulmonary Disorders, Textbook of Hyperbaric Medicine, Hogrefe&Huber, 1990, 337-360.
38. Jain K.K.; Introduction, Textbook of Hyperbaric Medicine, Hogrefe&Huber, 1990, 3-5.
39. Jain, K.K.: Physical, Physiological and Biochemical Aspects of Hyperbaric Oxygenation. *Text Book of Hyperbaric Medicine*, Hogrefe-Huber Publishers, 1990, 11-25.
40. Jain, K.K.: Hyperbaric Oxygen Therapy in Hematology and Immunization Textbook of Hyperbaric Medicine, Hogrefe-Huber Publishers, 1990, 309-317.
41. Jollie, W.P.: Development, Morphology, and Function of the Yolk-Sac Placenta of Laboratory Rodents. *Teratology*; 41:361-381, 1990.
42. Kayaalp, S.O.: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 7.Baskı, Feryal Matbaası, Ankara, 1995, 1603-1614.

43. Keeler, R.F.: Effect of Naturel Teratogens in Poisonous Plants on Fetal Development in Domestic Animals. (Eds) Chemke, J., Klingberg, M., Abramovici, A.: Drugs and Fetal Development, New York, Plenum Press,1972, 107-125.
44. Khazin, A.F., Hon, E.H., Hehre, F,W.:Effects of Maternal Hyperoxia on the Fetus. Am. J. Obstet. Gynecol.; 109:170-174,1971.
45. Lenfant, C.: Twelve or 24 Hour Oxygen Therapy: Why a Clinical Trial. JAMA, 243:551,1980.
46. Long, J.A., Evans, H.M.: The Estrus Cycle in the Rat and Its Assosiated Phenomens, Men.Univ.Calif, 6:1-148,1922. "Farrison,E.J., Griffin J.Q.: Rat in Laboratory Investigation, Philadelphia, (Ed) Cipponcot, 1942,551-672, 'Den Alınmıştır."
47. Lu,K.H.,.Happer, B.R., Varga, T.M.,. Yen, S.S.C.: Chronological Changes in Sex Steroid, Gonodotropin and Prolactin, Biol. Reprod., 27;193-203,1979.
48. Lutz, J., Stark, M.: Administration of Perfluorochemicals Under Hyperbaric Oxygen Pressure and Treatment with Free Oxygen Radical Scavengers. Biomat. Art. Cells. Ard. Org., 16:395-402, 1988.
49. Makowski, E.L., Hertz, R.H., Meschia, G.: Effects of Acute Maternal Hypoxia and Hyperoxia on the Blood Flow to the Pregnant Uterus. Am. J. Obstet. Gynecol.,115:624-631, 1973.
50. Mallerby, J., Dwyer, J.: Effect of Experimental Limbic Epilepsy on The Estrus Cycle, Epilepsia, 34(2) 220-227,1993.
51. Mc Grath, J.J., Barnes, C.D.: Air Pollution-Physiological Effects. New York, Academic Press, Inc. London Ltd., 1982, 82-103.
52. Miller, P.D., Telford, I.R., Hass, G.R.: Effects of Hyperbaric Oxygen on Cardiogenesis in the Rat. Biol. Neonate.,17:44-52, 1971.
53. New,D.A.T.,Coppola, P.T.: Development of Explanted Rat Fetuses in Hyperbaric Oxygen. Teratology, 3;153162, 1970.
54. Nishimura, H., Shiota, K.: Summary of Comparative Embryology and Teratology; (Ed) Clarkfraser, F., Wilson, J.G.: Handbook of Teratology. New York, Plenum Press, 1977, 136.
55. Palmer, A.K.: The Design of Subprimate Animal Studies; (Eds) Clarkfraser, F., Wilson, J.G., Handbook of Teratology. New York, Plenum Press, 1977, 223-224.

56. Proshina, I.V., Kuzmina, N.V., Borisenko, S.S.: Hyperbaric Oxynation in the Prevention and Treatment of Toxemia of Pregnancy and Placental Insufficiency. *Akush. Ginecol.*, 6:20-23, 1983.
57. Rose, G.H.: Oxygen Concentrators in the Home. *Pharmaceut. J.*, 239:776, 1987.
58. Sadler, T.W.: Congenital Malformations, Langman's Medical Embryology, Sixth Edition, Williams & Wilkins, 1990, 122-125.
59. Sapuner, D., Babic, M.S., Peruzovic, M., Marusic, M.: Effect of Hyperbaric Oxygens on Rat Embryos. *Biol Neonate*, 63:360-369, 1993.
60. Smith, T.C.: The Therapeutic Gases-Oxygen, Carbon Dioxide, Helium and Water Vapor. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, (Ed) A.G. Gilman, 6th. Edition, Mcmillan, 1980, 321.
61. Telford, I.R., Miller P.D., Hass, G.R.: Hyperbaric Oxygen Causes Fetal Wastage in Rats. *Lancet*, 2:220-221, 1969.
62. Van Hoesen, K.B., Camporesi, E.M., Moon, R.E., Hage, M.L., Piantadosi, C.A.: Should Hyperbaric Oxygen Be Used to Treat the Pregnant Patient for Acute Carbon Monoxide Poisoning? *JAMA*, 261:1039-1043, 1989.
63. Vanina, L.V., Yefuni, S.N., Beilin, A.L.: Obstetrics Aid in Hyperbaric Conditions, in *Proceedings of The Seventh International Congress on Hyperbaric Medicine, Moscow, 1981: Nauka, 1983, Vol 1, 26-28.*
64. Wilkening, R.B., Meschia, G.: Fetal Oxygen Uptake, Oxygenation and Acidbase Balance as a Function of Uterine Blood Flow. *Am. J. Physiol.*;244:749-755, 1983.
65. Zirakadze, A.N., Makharadze, L.M., Kintraia, P.I., Japashvili, L.Sh., Takadze, F.: Fetal Oxygen Supply; (Ed) Piper J.: *Oxygen Transport to Tissue XII*. New York, Plenum Press, 1990, 8997.