

T.C.  
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI  
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ  
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ  
SUALTI HEKİMLİĞİ VE HİPERBARİK TIP  
ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI

**CİLT YOLUYLA NİTROJEN MUSTARDA MARUZ BIRAKILAN SIÇANLARDA  
HİPERBARİK OKSİJENİN VE E VİTAMİNİNİN ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Güenalp UZUN  
Dz.Tbp.Ütğm**

**ANKARA - 2004**

## ÖNSÖZ

Bu tez konusu Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp Anabilim Dalı Başkanlığı'nca 8 Mart 2004 'de sözlü olarak verilmiş ve çalışmaya başlanmıştır.

Bu çalışmada kimyasal savaş ajanı olan nitrojen mustardın sıçanlara cilt yoluyla uygulanması sonrası hiperbarik oksijenin ve E vitamininin etkinliği araştırılmıştır. Kimyasal savaş ajanlarının kolay temin edilebilmesi, depolanmasının kolay olması ve geniş kitlelere zararlar verebilmesi bu ajanlara karşı etkili tedavi yöntemleri geliştirme ihtiyacını doğurmuştur.

Bu çalışmayı gerçekleştirirken, Anabilim Dalı Başkanımız Prof.Dr. L.Esat Üstün ORHON'a, maddi ve manevi desteğini eksik etmeyen tez danışmanım Uzm.Dr. Kadir DÜNDAR'a , ve mesai arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim

Çalışmanın her aşamasında bilgi birikimini benimle paylaşan ve yardımlarını esirgemeyen Uzm.Dr.Turgut TOPAL'a, histolojik değerlendirmeleri yapan Yrd.Doç.Dr. Emin ÖZTAŞ'a biyokimyasal analizleri yapan Biyolog Ayşe EKEN'e teşekkür ederim.

Dr.Güenalp UZUN  
Ankara, 2004

## İÇİNDEKİLER

Bölüm No	Konu	Sayfa No
I	GİRİŞ	1
II	GENEL BİLGİLER	3
A	<i>Nitrojen Mustard</i>	3
1	Nitrojen Mustardın Klinik Kullanımı	4
2	Nitrojen Mustardın Toksik Etkileri	6
3	Nitrojen Mustardın Cilt Üzerine Etkileri	9
B	<i>Hiperbarik Oksijen</i>	10
1	Hiperbarik Oksijenin Tarihçesi	11
2	Hiperbarik Oksijenin Etki Mekanizması	12
3	Hiperbarik Oksijenin Klinik Kullanımı	18
C	<i>E Vitamini</i>	21
III	GEREÇ VE YÖNTEM	24
A	<i>Deney Hayvanları</i>	24
B	<i>Deney Grupları</i>	24
C	<i>Nitrojen Mustard Uygulaması</i>	26
D	<i>Hiperbarik Oksijen Uygulamaları</i>	26
E	<i>E Vitamini Uygulamaları</i>	27
F	<i>Vücut Ağırlığı Takibi</i>	27
G	<i>Histopatolojik Değerlendirme</i>	27
H	<i>Akciğer MDA Ölçümü</i>	27
I	<i>Ortalama Sağkalım Süresinin Hesaplanması</i>	28
J	<i>İstatistiksel Analizler</i>	28
IV	BULGULAR	29
V	TARTIŞMA VE SONUÇ	33
VI	ÖZET	40
VII	İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)	41
VIII	KAYNAKLAR	42

## I - GİRİŞ

Kimyasal silahlar ilk kez I.Dünya Savaşı'nda kullanılmıştır. I.Dünya Savaşında 1 300 000'den fazla kişi kimyasal silahlardan etkilenmiştir ve bunların 90 000'den fazlası ölmüştür. Kimyasal silahların bu yaygın kullanımından sonra kimyasal savaş kınanmış ve yasaklanmıştır. Buna rağmen üretim ve saklanması ucuz olması aynı zamanda büyük hasarlar oluşturabilmeleri nedeniyle özellikle gelişmekte olan ülkeler stoklarında kimyasal silah bulundurmaktadır. Son yıllarda terör örgütleri de kimyasal silahlar kullanarak eylemler yapmaktadır(9,90).

Mustard grubu kimyasallar (sülfür mustard, nitrogen mustard ve türevleri) en sık kullanılan kimyasal savaş ajanlarıdır. Nitrojen mustard (NM) kanser kemoterapisinde sıklıkla kullanılır. Sülfür mustard (SM) ve NM kimyasal olarak benzerdir (50). Benzer yollarla toksik etki gösterirler(11,74). SM daha toksiktir. Hücre üzerine etkileri faz bağımsızdır. Zararlı etkileri, göz ve deri başta olmak üzere, akciğerlerde, sindirim sisteminde, üreme sisteminde ve diğer pek çok sistemde ortaya çıkabilmektedir. DNA hasarı yapma potansiyelinden dolayı maruz kalan vakalarda kanser riski ciddi şekilde artmaktadır(33,67,88).

Toksik etkileri en erken maruziyetten 2-24 saat sonra ortaya çıkar. Asemptomatik dönemin uzun olması maruziyetin geç farkedilmesine ve dekontaminasyonu için geç kalınmasına neden olur. Penetrasyon özellikleri yüksektir. İntakt ciltten ve ince giysilerden geçebilir. Nemli, sıcak ve ince ciltten daha hızlı penetrasyon gösterir. Cilt maruziyeti sonrasında bulgular eritem ile başlar, ödem, vezikül ve bül ile devam eder. Büller ince duvarlıdır ve kolayca patlarlar. Sonra ülserasyon ve nekroz oluşur. Yanıklar genelde tüm cildi tutmaz ama nemli ve sıcak bölgelerde (koltuk altı, kasık) tam kat tutulum olur. Konservatif tedavi ile iyileşmeleri 12 haftayı bulur(73,90).

I.Dünya Savaşı'nda mustard gazı ile zehirlenenlerin sadece %3'ü ölmüştür. Hayatta kalanlarda ciltte, gözde ve solunum sisteminde lezyonlar görüldüğü bildirilmiştir. Geç dönemde ölüm ikincil enfeksiyonlara bağlıdır. Kimyasal savaş riski var oldukça SM ve NM'a bağlı lezyonların tedavisinde etkili yöntemlerin geliştirilme ihtiyacı devam edecektir(28).

Hiperbarik oksijen(HBO) tedavisi özel dizayn edilmiş basınç odalarında deniz seviyesinden daha yüksek basınçlar altında hastaya solunum yoluyla %100 oksijen verilmesidir. Plazmada çözülmüş oksijen konsantrasyonu artırılarak dokulara daha fazla oksijenin ulaşmasını sağlar. Fizyopatolojisinde doku hipoksisinin etken olduğu bir çok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Dekompresyon hastalığı, hava embolisi, karbonmonoksit entoksikasyonu, gazlı gangren, yumuşak dokuların nekrotizan enfeksiyonları, iyileşmeyen yaralar, refrakter osteomyelit, ani işitme ve görme kaybı , termal yanıklar en sık kullanıldığı klinik durumlardır. HBO farklı basınçlarda farklı sürelerde uygulandığı zaman farklı fizyolojik etkiler ortaya çıkarmaktadır. Problemlili yaraların iyileşmesinde fibroblast bölünmesini, kollajen sentezini artırır, neoanjiojenezi hızlandırır, anti-ödem, anti-inflamatuar ve anti-bakteriyel etkinlik gösterir. Bu özelliklerinden dolayı cilt yoluyla NM maruziyeti ile oluşan cilt lezyonlarının tedavisinde etkili olabileceği değerlendirilmiştir. HBO'nun bu lezyonlar üzerinde etkinliği daha önce hiç çalışılmamıştır(14,68,76).

Vücutta artan reaktif oksijen türevleri(ROT)'nin birçok hastalığın patolojisinde etkili olduğu düşünülmektedir. Normal hücre içi metabolizma sırasında ROT üretimi olmakta, hücre içinde ROT'a karşı enzimatik ve non-enzimatik koruyucu mekanizmalar bulunmaktadır. Bu antioksidan koruyucu sistemlerin desteklenmesinin ROT'a bağlı patolojilerde yararlı olacağı düşünülmektedir. E vitamini non-enzimatik bir antioksidandır. Hücre membran fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan bir savunma elemanıdır. NM'in toksik etkilerini ROT ile gösterdiği düşünülmektedir ve cilt yoluyla NM'a maruz kalan sıçanlarda E vitamini uygulamasının yararlı olduğu daha önce yayınlanmıştır(20,35,53,82).

Çalışmamızda cilt yoluyla NM uygulanan sıçanlarda HBO ve E vitamininin vücut ağırlığı, cilt lezyonları, akciğer lipid peroksidasyonu ve ortalama sağkalım süresi üzerine etkileri araştırılmıştır.

## II - GENEL BİLGİLER

### A) NİTROJEN MUSTARD

Mustard bileşikleri vezikan ve alkilleyici ajanlardır(3,7). İlk sentezlenen sülfür mustarddır(7). 1822 de sentezlenen SM'in vezikül oluşturucu ve nekroz yapıcı etkileri kısa zamanda fark edilmiştir. 1917'de Almanlar tarafından ilk kez savaş alanında kullanılmıştır. Daha sonra 1. Dünya Savaşında yaygın olarak kullanılmıştır. 1935'de İtalya Habeşistan'da, Japonya 1936'da Çin'de, Mısır 1960'larda Yemen'de, Irak 1980'lerde İran'da ve Kürtlere karşı Kuzey Irak'ta kullanmıştır(90).

NM'lar ise ilk olarak 1930'ların başlarında geliştirilmiştir. Renksiz ile uçuk sarı arasında, kolay buharlaşan yağlı sıvılardır. Üç farklı NM vardır;  $HN_1$ ,  $HN_2$  ve  $HN_3$ .NM'ların sinonimleri Tablo-1'de verilmiştir.

Bizim çalışmamızda kullandığımız NM  $HN_2$ 'dir. SM'dan direkt türetilir.  $HN_1$  başlangıçta siğil tedavisi için geliştirilmiştir. Sonradan potansiyel kimyasal ajan olarak tanımlanmıştır.  $HN_2$  kimyasal silah olarak geliştirilmiş ama daha sonra kemoterapide kullanılmıştır.  $HN_3$ 'de kimyasal savaş ajanı olarak geliştirilmiş ancak şu ana kadar hiçbir NM savaş alanında kullanılmamıştır(7).

Tablo-1 Nitrojen mustardların sinonimleri(7).

<b><math>HN_1</math></b>	Bis(2-chloroethyl)ethylamine; 2-chloro-N-(2-chloroethyl)-N-ethylethanamine; 2,2'-dichlorotriethylamine; Ethylbis(2-chloroethyl)amine; Ethyl-S
<b><math>HN_2</math></b>	MBA; Mechlorethamine; Mustine; 2,2'-dichloro-N-methyldiethylamine; Dichloren; Caryolysin; Mechlorethanamine; Chlormethine; Bis(2-chloroethyl) methylamine
<b><math>HN_3</math></b>	Tris(2-chloroethyl)amine; 2-chloro-N,N-bis(2-chloroethyl)ethanamine; 2,2',2''-trichlorotriethylamine

Soluk kehribar rengi ile açık sarı arasında bir rengi vardır. Düşük konsantrasyonlarda sabunumsu, yüksek konsantrasyonlarda meyve kokusu verir. Moleküler ağırlığı 156.7 dalton, kaynama noktası 75 °C ve donma noktası -60 °C dir.



Tablo-3 NM Farmakokinetiği(19,27).

<b>Oral emilim</b>	• Dokulara oldukça iritandır.
<b>Dağılım</b>	• Tam aydınlatılmamıştır. Aşırı reaktif bir ilaç olduğundan kandan dakikalar içinde temizlenir. • Kan beyin bariyerini geçip geçmediği bilinmiyor.
<b>Metabolizma</b>	• Aktif forma iyonize olur ve reaktif bileşiklerle birleşir.
<b>Atılım</b>	• İdrarda aktif ilaç bulunmaz. 24 saatte metabolitlerinin %50'si idrarla atılır.

NM'ın klinik kullanımında birçok yan etki görülmektedir. Yan etkiler uygulama sırasında ortaya çıkabileceği gibi yıllar sonra bile ortaya çıkabilir. Bu nedenle NM uygulayan hekimlerin çok dikkatli olması ve hastalarını düzenli aralıklarla takip etmeleri gerekmektedir.

Tablo-4 NM'ın Yan Etkileri(25)

Organlar	Yan etkiler	Ortaya Çıkış
<i>Santral sinir sistemi</i>	• uyku hali, çınlama, işitme kaybı (nadiren)	H
<i>Dermatolojik</i>	• alopesi(haif) • döküntü (nadiren)	E E
<i>Ekstravazasyon</i>	• veziküller ve nekroz	H
<i>Gastrointestinal</i>	• <u>kusma</u> (1-3 saat içinde çıkar, 8 saat sürer) <u>bulantı</u> (24 saat sürebilir) • metalik tat • stomatit (nadiren) • anoreksia • diare	H H E E E
<i>Hematolojik</i>	• <u>myelosupresyon</u> • immunosupresyon	E E
<i>Hipersensitivite</i>	• Tip I (anafilaktoid) (nadiren) • Tip IV (allerjik kontak dermatit)	H E ve G
<i>Enjeksiyon bölgesi</i>	• enjeksiyon yerinde ağrı • kimyasal flebit • venin sklerozu	H H E
<i>Neoplastik</i>	• lökemi, lenfoma, cilt kanseri	G
<i>Renal/metabolik</i>	• hiperürisemi (aktif hücre yıkımını döneminde)	H
<i>Üreme sistemi</i>	• infertilite	G

Tablo-4 NM'ın yan etkiler <H:Hemen(Saatler ile günler arasında ortaya çıkar) E:Erken (Günler ile haftalar arasında ortaya çıkar) G:Geç (Haftalar ile yıllar arasında ortaya çıkar)Doz sınırlayıcı yan etkilerin altı çizilmiştir.>



## 2)NİTROJEN MUSTARDIN TOKSİK ETKİLERİ:

NM'in toksik etkilerinin en sık görüldüğü üç yol inhalasyon ile solunum sistemine olan zarar ve direkt kontaminasyon ile oluşan cilt ve göz yanıklarındır.

**Inhalasyon:** Inhalasyon önemli bir maruziyet yoludur. Bu şekilde akciğer üzerinde toksik etkiler görülür. LC<sub>50</sub> HN<sub>1</sub> ve HN<sub>3</sub> için 1,500 mg-min/m<sup>3</sup>, HN<sub>2</sub> için ise 3,000 mg-min/m<sup>3</sup>'dir(74).

**Göz ve Cilt Kontaminasyonu:** NM buharı ve sıvısı birçok glysiden geçerek cilde ulaşabilir. NM sıvılarda yavaş çözünmesine rağmen sağlam ciltten bile iyi emilir. Penetrasyon nem ve sıcaklık ile artar ve ince cilt bölgelerinde daha fazladır. NM buharının düşük dozlarda bile göz, cilt ve mukoz membranlara teması toksik etkilerin ortaya çıkmasına neden olur.

Sıvı NM ile cilt ve gözün direkt teması yanıklara neden olabilir. Göz için ortalama toksik doz HN<sub>2</sub> için 100 mg-min/m<sup>3</sup> · HN<sub>1</sub> ve HN<sub>3</sub> için ise 200 mg-min/m<sup>3</sup>. Cilde penetre olmaya başlayan NM'in yaklaşık %10'u cilde fikse olur, kalan %90 ise dolaşıma ulaşır ve sistemik olarak dağılır. Başta böbrek, karaciğer, bağırsaklar ve akciğer olmak üzere hemen tüm dokulara dağılır. Dilüsyonel etkilerden ve NM'in kan akışındaki reaksiyonlarından dolayı sistemik etkilerin görülmesi için yüksek dozda cilt maruziyeti gerekmektedir. NM'in dokulara hızlı fiksasyonundan dolayı kontamine olan ciltte gelişen veziküllerin içindeki sıvıda serbest NM bulunmaz. Dolayısıyla sağlık görevlileri için risk oluşturmaz. NM vücutta birçok reaksiyona girer. Bunların bir kısmı enzimlerle olsa da çoğu direkt DNA, RNA, proteinler, hücre membranı komponentleri ve diğer moleküllerle alkillenme yoluyla kovalent bağlar oluşturur. Alkilasyon ürünleri idrar ile elimine edilir.

NM kontaminasyondan sonra birkaç dakika içinde geri dönüşümsüz olarak dokulara bağlanır. Eğer hemen dekontaminasyon yapılmazsa hasar önlenemez. Daha sonra yapılan dekontaminasyon daha şiddetli lezyonlar gelişmesini engelleyebilir. NM'in klinik etkileri geç görülür. Yüksek doz maruziyetten en az iki saat sonra belirti ve bulgular ortaya çıkabilir. Düşük doz NM buharı maruziyetinde bu asemptomatik dönem 48 saate kadar uzayabilir.

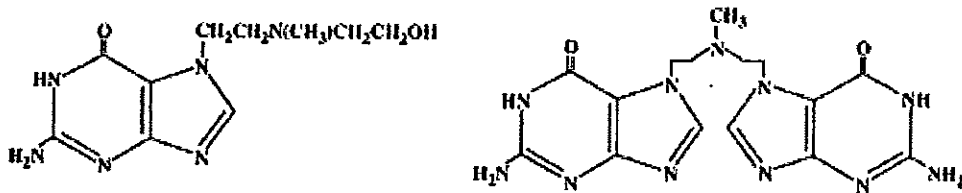
Genellikle belirti ve bulgular 4-8 saat arasında görülür. Belirtilerin bu kadar geç olması maruz kalan şahsın dekontaminasyonu geç yapmasına ve hasarın önlenememesine neden olur. NM'in bir antidotu yoktur. Dekontaminasyon için steril saline solüsyonu, antiseptik solüsyonlar kullanılır(13,31,74).



**Resim-1** İran-İrak savaşında SM buharı maruziyeti ile oluşan lezyonlar.**Sol:**Maruziyetten 48 saat sonra oluşan tipik ince duvarlı bül(Büllerin içinde aktif kimyasal bulunmaz). **Sağ:**Maruziyetten 3-4 gün sonra.Koftukaltı bölgesi daha fazla etkilendiği için ülserasyonun ortasında nekroze alan görülmekte(90).

**Oral yolla alım:** Çok sık görülmemekle birlikte özefagus ve gastrointestinal sistemde yanık gibi lokal etkiler ve absorpsiyon sonucunda sistemik etkiler gösterebilir. Hasta asla kusturulmamalıdır. Aktif kömür kullanımının faydası yoktur(90).

NM kimyasal olarak çok aktif bir bileşiktir. Metilamin grubundaki nitrojen, klorid anyonunun kolay çıkarılması için enerji sağlar(7). Nitrojen atomu aşırı nükleofiliktir. Etil grubunun karbon atomu ile hızla bağlanarak siklik etilen imonyum iyonunu oluşturur. Bu reaksiyon 1.30 dakikada olur. Etilen imonyum iyonu fizyolojik şartlarda etkili alkilleyici formdur, güçlü nükleofilik gruplarla hızla reaksiyona girer. Sonuçta hem DNA hem de RNA'da adenin ve guanin artıklarında alkillenme oluşur(11).



**Resim 2** NM tarafından alkillenmiş guanin artıkları

NM bazal keratinositler, mukoza epitel hücreleri ve kemik iliği öncü hücreleri gibi hızlı bölünen hücrelerin DNA'sında alkilenleme ve çapraz bağlar oluşmasına neden olur. Bu hücrelerin ölümüne, inflamatuvar reaksiyona ve ciltte (hücreleri birbirine bağlayan filamentlerin proteazlarca sindirilmesi ile epidermo-dermal bileşkede ayrılma sonucu) vezikül oluşumuna neden olur(52).

Tablo-5 Nitrojen mustardın toksik etkileri(13,31,74,89)

Organ	Etkiler
<i>Santral Sinir Sistemi</i>	Yüksek doz NM laboratuvar hayvanlarında tremor, nöbet, inkordanisyon, ataksi ve komaya neden olmaktadır.
<i>Solunum Sistemi</i>	Solunum yolu mukoza hasarı saatler içinde başlar ve birkaç gün devam edebilir. Hafif zehirlenmede 12-24 saat içinde burun akıntısı, hapsirme, burun kanaması, boğuk ses, kuru öksürük görülür. Ağır zehirlenmede 2-4 saat içinde üstteki bulgulara ek olarak prodüktif öksürük ve dispne görülür. Pulmoner ödem sık görülmez.
<i>Sindirim Sistemi</i>	Oral olarak NM'ın alımı sindirim sisteminde lokal yanıklara ve kanlı diareye neden olabilir. Bulantı ve kusma oral alım, cilt yada inhalasyon yoluyla olan maruziyetlerin hepsinde görülür.
<i>Göz</i>	NM buharına yada sıvısına maruziyet konjunktival ve skleral inflamasyon, ağrı, şişme, sulanma, fotofobi ve korneal hasara neden olur. Hafif maruziyet 4-12 saat içinde gözlerde sulanma, yanma, kaşıntı, kumlanma hissi görülür. Orta düzey bir maruziyette 3-6 saat içinde üstteki bulgulara ek olarak gözlerde kızarma, göz kapaklarında şişme ve orta derecede ağrı olur. Ağır maruziyette 1-2 saat içinde şiddetli ağrı, göz kapaklarında belirgin şişme, korneal hasar, yanık ve körlük görülebilir.
<i>Cilt</i>	Direkt cilde olan maruziyetler eritem ve vezikül oluşmasına neden olur. 2-24 saat arasında lezyonlar görülür. İlk birkaç saat içinde kızarıklık görülür, 6-12 saat içinde veziküller oluşur. Kızarıklıklar kaşıntılı, yanıcı ve batıcıdır. Daha sıcak, nemli ve ince olan cilt bölgeleri özellikle perine, dış genitaler, aksilla, antekübital fossa ve boyun daha hassastır. Eritemli alanların içinde küçük veziküller oluşur daha sonra bunlar büyüyerek büll formunu alır. Tipik büller kubbe şeklinde, ince duvarlı, sarımsı, translusendir ve etrafı eritemle çevrilmiştir. Uzun süre maruziyet yada yüksek dozda kısa süreli maruziyet 2. ve 3. derece yanıklara neden olabilir. Bu lezyonların iyileşmesi daha uzun zaman alır ve sekonder enfeksiyon açısından yüksek riske sahiptirler.
<i>Hematopoetik</i>	NM'ın sistemik absorpsiyonu kemik iliği süpresyonu, ölümlü sonuçlanabilen enfeksiyon, hemoraji ve anemi riskini artırır.

NM'in sıvı formları kararlı olmadığı için kullanımdan hemen önce çözülmelidir. IV enjeksiyondan sonra hızla kandan temizlenir. NM'nin hücre alımı aktif taşıyıcı gerektiren bir süreçtir. Kolin taşıyıcısını kullanır. Enjeksiyon yerinde lokal ağrı, yanma ve doku nekrozuna neden olur. Bu nedenle oral alımı önerilir. İyonizan radyasyona benzer toksik etkileri olduğu için radyomimetik olarak adlandırılır(31).

### 3) NİTROJEN MUSTARDIN CİLT ÜZERİNE ETKİLERİ

İnsan cildinin NM'a maruziyeti sonrasında ilk bulgu eritem ve kaşıntıdır. Direkt cilde olan maruziyetler eritem ve vezikül oluşmasına neden olur. 2-24 saat arasında lezyonlar görülür. İlk birkaç saat içinde kızarıklık görülür, 6-12 saat içinde veziküller oluşur. Kızarıklıklar kaşıntılı, yanıcı ve batıcıdır. Daha sıcak, nemli ve ince olan cilt bölgeleri özellikle perine, dış genitaler, aksilla, antekübital fossa ve boyun daha hassastır. Eritemli alanların içinde küçük veziküller oluşur. Daha sonra bunlar büyüyerek büll formunu alır. Tipik büller kubbe şeklinde, ince duvarlı, sarımsı, translusendir ve etrafı eritemle çevrilmiştir. Uzun süre maruziyet yada yüksek dozda kısa süreli maruziyet 2. ve 3. derece yanıklara neden olabilir. Bu lezyonların iyileşmesi daha uzun zaman alır ve sekonder enfeksiyon açısından yüksek riske sahiptirler(33,60,89,90).

Lezyonların histopatolojisi vezikasyon öncesi "prevezikasyon" ve "vezikasyon" periyodu olarak ikiye ayrılır. 4-6 saat içinde epidermal ve dermal ödem ile birlikte epidermal bazal hücrelerde harabiyet, hemidesmozomlarda zayıflama ve dermal damarlarda inflamatuvar hücre birikimi görülür. 24 saat sonra dermiste ve deri eklerinin etrafında aşırı miktarda PMNL birikimi olur. Daha sonra epidermal bazal hücrelerde birikteliğin bozulması ile epidermo-dermal bileşkede ayrılma ve içi PMNL dolu mikroveziküllerin oluşumu görülür(33,73,74).

In vivo çalışmalar prevezikasyon safhasında bazal hücrelerde diğer epidermal katman hücrelerinden farklı olarak subsellüler hasar olduğunu göstermiştir. Bu hasar maruziyetten 6 saat sonra ortaya çıkar, nükleer kromatinde kondensasyon, marjinasyon,

nükleer zarfın dilatasyonu, mitokondrial şişme, desmozomların ve hemidesmozomların zayıflaması, tonofilamanların kondensasyonu, hücre içi boşlukların genişlemesi ve plazmalemmal defektlerden oluşur(65). Vezikasyonda sitopatoloji aşırı paranükleer ve sitoplazmik vakuolasyona ilerler. Nükleer piknoz, mitokondrial dansiteler, selüler nekroz ve fragmentasyon suprabazal hücrelere ve stratum spinosumun hücrelerine ilerler. Dermo-epidermal bileşkede maruziyet sonrası 9-12 saatte bazal membranın lamina lucidasında mikroveziküller görülmeye başlanır. Bazal hücre hasarı ve hemidesmozom filamentlerinin zayıflaması ile oluşan mikrovezikül kavitelerini üstte dejenere olan bazal ve epidermis hücreleri, altta ise bazal lamina sınırlar. Mikroveziküller hızla inflamatuvar hücreler, fagositik hücreler, dejenere edici hücreler, hücresel debris ve doku sıvısı ile dolar. Bunlar daha sonra epidermisi dermisten ayıracak olan lüsidolitik mikroblistlerleri oluşturur(65,73,74,90).

## **B) HİPERBARİK OKSİJEN**

HBO artmış çevresel basınç ve yüksek plazma oksijen konsantrasyonu oluşturarak faydalı etkiler gösteren bir tedavi yöntemidir. Tedavi deniz seviyesindeki basınç olan 1 atmosfer (1 atm = 760 mmHg) basınçtan yüksek çevresel basınç altında, %100 O<sub>2</sub>'in solunum yoluyla verilmesiyle uygulanır. Tedavi sırasında basınç odasının manometresinden okunan değer deniz seviyesi değeri olan 1 atm ile toplanarak gerçek basınç bulunur ve ATA (athmosphere absolute) olarak ifade edilir. Rutin tedavilerde 3 ATA üzerinde basınçlar kullanılmaz(15,49).

HBO için belirlenmiş başlıca endikasyonlar olarak hava veya gaz embolisi, karbonmonoksit zehirlenmesi ve duman inhalasyonu, klostridiyal miyonekroz, kompartman sendromu ve diğer akut travmatik iskemiler, dekompresyon hastalığı, problemlı yaraların iyileşmesinin hızlandırılması, nekrotizan yumuşak doku enfeksiyonları, refrakter osteomyelit, radyasyona bağlı doku hasarı, deri greftleri ve flepleri ile termal yanıklar sayılabilir(30,55).

## 1) HİPERBARİK OKSİJENİN TARİHÇESİ:

İngiliz hekim Henshaw basınçlı havayı tıbbi amaçla ilk kullanan bilim adamıdır. 1662'de "domicilum" adını verdiği çeşitli basınçlar ve iklim şartları oluşturabilen bir basınç odası geliştirmiştir. Uyguladığı tedaviler ile ilgili kayıtlar yoktur. Sonraki 200 yıl hiperbarik tıp alanında hemen hemen hiç gelişme olmamıştır. 19.yy.'da bu alana olan ilgi yeniden artmaya başlamıştır. Junod(1834), Pravaz(1837) ve Fontaine(1877) kendi basınç odalarını inşa ederek çeşitli hastalıkların tedavisini yapmaya çalışmışlardır. 19. yy.'ın sonunda önemli Avrupa şehirlerinin hemen hepsinde basınç odaları bulunmaktaydı. Her hekim farklı tedavi şemaları uygulamaktaydı.

Amerika kıtasında ilk basınç odası 1860 da Toronto'da inşa edilmiştir. Daha sonra 20.yy'ın başlarında Cunningham ABD'de hiperbarik tedavi uygulamaları yapmıştır. Bu tarihe kadar hiperbarik tedaviler hava ile yapılmıştır. Oksijenin toksik bir gaz olduğunun 1789'da Lavoisier ve Seguin tarafından ortaya konması yüksek basınçlı ortamlarda kullanılmasından kaçınılmasına neden olmuştur.

Drager 1917'de ilk kez dalış kazalarının tedavisi için oksijen kullanan bir basınç odası tasarlamıştır(48). Ama ilk kez oksijenin hiperbarik tıpta kullanımı yirmi yıl sonra Behnke ve Shaw tarafından gerçekleştirilmiştir. Hiperbarik oksijen tedavisi kısa süre sonra Amerikan ve İngiliz donanmaları tarafından dalış kazalarının tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Hekimlerin tedaviye ilgilerinin artması ile yeni tedavi endikasyonları bulunmuştur. 1942'de End ve Long hayvanlarda deneysel karbon monoksit zehirlenmesinde HBO denemişlerdir. Churchill-Davidson(1950) tarafından tümörlerin radyosensitivitesinin artırılması, Boerema ve Brummelkamp(1961) tarafından gazlı gangren tedavisi, Perrins(1965) tarafından osteomyelit tedavisinde kullanılmıştır. 1963 ilk hiperbarik tıp kongresi yapılmıştır.

Uluslararası Hiperbarik Tıp Topluluğu 1988'de kurulmuştur.Bu topluluk düzenli aralıklarla toplanarak hiperbarik tıp alanındaki yeni gelişmeleri ve yeni endikasyon listelerini yayınlamaktadır(49).

## 2) HİPERBARİK OKSİJENİN ETKİ MEKANİZMASI:

HBO tedavisinin etki mekanizmasını anlamak için basınç ve gazlarla ilgili bazı temel kuralları bilmek gerekir.

**Dalton Kanunu:** Bir gaz karışımında, her gaz karışımındaki yüzdesi ile orantılı olarak basınç yapar.

*bir gazın parsiyel basıncı = toplam basınç x gaz hacminin gaz karışımındaki yüzdesi*

*parsiyel oksijen basıncı (pO<sub>2</sub>) = toplam basınç( 760 mmHg) x %21 = 160 mmHg*

*deniz seviyesinde pO<sub>2</sub> = 160 mmHg*

Toplam basınç arttığı zaman karışımındaki her gazın parsiyel basıncı da aynı oranda artar. Tablo-6'da HBO esnasında pO<sub>2</sub> değişimleri ve hava yada oksijen solunduğunda oluşan alveoler pO<sub>2</sub> (pAO<sub>2</sub>) değişimleri verilmiştir.

Tablo-6 HBO esnasında pO<sub>2</sub>, pAO<sub>2</sub> değişimleri(5)

	pO <sub>2</sub>		pAO <sub>2</sub>		Çözünmüş oksijen içeriği		
	Hava	%100 O <sub>2</sub>	Hava solurken	%100 O <sub>2</sub> solurken	Hava solurken	%100 O <sub>2</sub> solurken	
(ATA)	(mmHg)	(mmHg)	(mmHg)	(mmHg)	(ml/dl)	(ml/dl)	
1	760	159.7	760	102	673	0.32	2.09
1.5	1140	239.4	1140	182	1053	0.61	3.26
2	1520	319.2	1520	262	1433	0.81	4.44
2.5	1900	394.0	1900	342	1813	1.06	5.62
3	2280	478.8	2280	422	2193	1.31	6.80

*pAO<sub>2</sub> = parsiyel alveoler oksijen basıncı pO<sub>2</sub> = parsiyel oksijen basıncı*

**Henry kanunu:** Gazların herhangi bir sıvıdaki çözünürlüğü o gazın parsiyel basıncı ve o sıvıdaki çözünme katsayısı ile orantılıdır.

*çözünen gazın konsantrasyonu = basınç x çözünme katsayısı*

Her gazın çözünme katsayısı sıvının özelliğine ve sıcaklığa bağlı olarak değişir. Havada yüksek miktarda bulunan gazların çözünme katsayıları aşağıdadır. CO<sub>2</sub> 'nin O<sub>2</sub> 'den 20 kat daha fazla çözünebilir olduğu çözünme katsayıları incelendiğinde görülmektedir.

$O_2$  : 0.024 ml  $O_2$  /kan atm  $pO_2$

$CO_2$  :0.5 ml plazma/atm  $pCO_2$

$N_2$  : 0.067 ml/ml plazma / atm  $N_2$

Hiperbarik oksijen tedavisi iki yolla etki yapar. Birincisi çevresel basıncın artışı, ikincisi ise tüm vücut dokularında oksijen parsiyel basıncının artışıdır.

#### a) YÜKSEK BASINCA BAĞLI MEKANİK ETKİLERİ

- **KABARCİK BÜYÜKLÜĞÜ ÜZERİNE ETKİSİ:** İnsan vücudunda gaz içeren kaviteler değişen basıncın mekanik etkilerinin hedefidir. Bu etki Boyle kanununa bağlıdır. Bu kanun mutlak basınç ve hacim arasında ters orantı olduğunu söyler. Sabit sıcaklık altında basınç arttıkça gazın hacmi azalır ve basınç azaldıkça gazın hacmi artar. Dekompresyon sırasında ortakulak sıkışması, sinus sıkışması, akciğer sıkışması ve dekompresyon sırasında nefes tutulursa akciğer patlaması görülebilir(36).

Dekompresyon hastalığında ve hava embolisinde aslında tüm kabarcıklar intravaskülerdir. Nitrojen hücre sitoplazmasından komşu kapillere hızla diffüze olur. Kapiller kan sınırlı bir miktarda inert gaz taşıyabilir. Kanın çözünmüş olarak taşıyabileceğinden fazla gaz kaçınılmaz olarak kabarcık oluşturur. Kabarcıklar oluşunca kan çok büyük miktarlarda gaz taşıyabilir. Kabarcıklar çok büyük hale gelince plateletleri aktive ederek damar duvarına etki etmelerini sağlarlar. Mekanik olarak zararlı kabarcıklar silindirik olanlardır, kan damarlarını tıkamaya eğilimlidirler. 3 atm.'e rekompresyonda bu kabarcıklar boyunun üçte ikisine 6 atm. de ise altıda birine düşer. Bu kabarcık mimarisinde önemli değişikliğe sebep olur ve küresel form alıp hareket etmesini sağlayabilir. Kabarcıklar ya akciğere gelerek difüzyon yoluyla duvardan geçerek elimine edilir yada mikroskobik boyutlara geldikleri zaman yüzey gerilimleri binlerce dyne/cm<sup>2</sup>'ye ulaşır ve bu basınçta kabarcıklar kollabe olur ve kaybolur(36,62).Gazlı gangrende gaz kabarcıkları doku gerilimine neden olduğu için basınç odasında kompresyon kabarcık büyüklüğünü ve doku basıncını azaltacaktır ve perfüzyonun daha iyi olmasını sağlayacaktır(37).



- **CO<sub>2</sub> BİRİKİMİNİN ETKİLERİ:** HBO tedavisi sırasında venöz tarafta hemoglobin tamamen satüre olduğundan hemoglobin tarafından CO<sub>2</sub> taşınımı bloke olur. Venöz karbondioksitin %20'si hemoglobin tarafından taşınmaktadır. Fazlası bikarbonat tarafından tamponlanarak (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/HCO<sub>3</sub>) yada fiziksel olarak plazmada çözünerek taşınır. Bu birikim sadece pH'da asit tarafa hafif kaymaya neden olur(43).

#### b) ARTMIŞ OKSİJEN PARSİYEL BASINCININ ETKİLERİ

Normal atmosferik basınçta oksijenin çok az bir kısmı plazmada çözünür. Kanda taşınan oksijenin %97 'si hemoglobine bağlı olarak taşınır, %3 'ü plazmada çözülmüş haldedir. Hemoglobinin büyük bir çoğunluğu(%97.5) oksijen ile satüre haldedir. Hemoglobin %100 satüre olduğunda kanda taşınan oksijen miktarı ancak %2.5 artar.

Tablo-7 HBO esnasında doku pO<sub>2</sub> değişimleri (43).

	1 ATA (hava)	1 ATA (O <sub>2</sub> )	2 ATA (O <sub>2</sub> )	2.5 ATA (O <sub>2</sub> )
Arteriyel pO <sub>2</sub>	100	600	1400	1800
Transkütan pO <sub>2</sub>	70-75	450-550	1200-1300	1400-1500
Kas pO <sub>2</sub>	30-35	60-75	220-300	Bilgi yok
Subkutan pO <sub>2</sub>	30-50	90-150	200-300	300-500
Yara pO <sub>2</sub>	5-20	200-400	600-800	800-1100

pO<sub>2</sub>:parsiyel oksijen basıncı

Hiperbarik koşullarda 3 ATA da %100 oksijen soluyan bir kişide plazmada çözünen oksijen miktarı vücudun genel ihtiyacını karşılayacak kadar artırılabilir. HBO esnasında kanda ve diğer dokularda çözülmüş oksijen miktarı Tablo-7'de verilmiştir. Boerema domuzlarda kan olmadan HBO ile hayatın devam ettirilebileceğini ispatlamıştır. Plazmada çözülmüş halde bulunan oksijen dokular tarafından doğrudan alınıp kullanılabilir(30,36,43).

- **KARDİYOVASKÜLER SİSTEM:** Oksijen soluma sırasında bacak dolaşımında %20 azalma olur. Ama bu vazokonstriksiyon plazmada çözülmüş oksijen miktarının artması ile iyi kompanse edilir. Normal kapiller muhtemelen oksijen seviyesine bağlı olarak kapanır

ancak hasarlanmış kapillerin benzer yolla reaksiyon verip vermediği tam olarak bilinmemektedir. Yüksek basınç altında miyokard, böbrek, beyin, okuler globe ve splanklik alanlar kan akımında azalma olur.

Molenat ve ark. gönüllüler üzerinde yaptıkları çalışmaların sonucunda hiperbarik hiperoksinin başlangıçta kardiyak outputu değiştirmeden sol ventrikül preloadunu azalttığını, sol ventrikül afterloadunu artırdığını, sol ventrikül sistolik performansını düşürdüğünü buldular. Uzamış maruziyette ise dehidratasyona bağlı olarak sol ventrikül preloadunun azaldığını, vazokonstriksiyona bağlı olarak sol ventrikül afterloadunun arttığını ve sonuç olarak kardiyak outputun azaldığını buldular(61).

Kawamura ve ark. köpeklerde yaptıkları çalışmada hiperoksinin periferik arter sisteminde vazokonstriksiyona neden olduğunu ancak hipoksi varlığında bu etkinin görülmediğini yayınladılar(46).

• **HİPOKSİK YARALARIN İYİLEŞMESİNDE ARTIŞ:** Makrofajların sentezlediği laktat fibroblastların kollajen yapması için temel tetikleyici uyarıdır(14,77,81). Makrofajlar iyi oksijenlenirken laktat salgılayarak kollajen sentezini artırır. Kollajenin fibroblastlarca sentezlenmesi için minimum 30-40 mmHg parsiyel oksijen basıncı gereklidir. Oksijen kollajenin posttranslasyon çapraz bağlarının oluşması için gereklidir ve eksikliğinde fibroblastlar kollajen sentezleyemez. Yaralanmış doku hipoksiktir, parsiyel oksijen basıncı 5-15 mmHg'ya hatta daha düşük değerlere düşebilir. Konak dolaşımı ve besin desteği kesilince kolayca bozulan damar büyümesi ve kollajen birikmesinin hassas bir dengesi vardır. Yara gerimi ve ölü boşluğun kapatılma hızı oksijen miktarından etkilenir(29,41)

HBO ile doku oksijen parsiyel basıncının artırılması, fibroblastik aktivite artışı ve kollajen matris birikimine yol açar. Angiogenezis ise hipoksi ile uyarılır. Böylece günde 2-4 saat süreyle uygulanacak HBO kollajen matris birimini sağlarken geri kalan sürede de hipoksinin angiogenezisi uyarıcı etkisiyle vasküler proliferasyonun gelişimine katkıda bulunur(29,40). HBO iyileşmeyen yaranın santralindeki hipoksik alanlarda bile yüksek oksijenasyon sağlayabilir(40,77).

Normal perfüze olan bir yarada bile inflamasyona bağlı hipoksi olabilir. HBO bu durumda da antiödem etkisi ile hipoksiyi giderebilir. İntermittan olarak yara hipoksisinin düzeltilmesi fibroblast replikasyonunu ve kollajen üretimini artırır. Dokuya yeterli oksijen sağlanması dokuda RNA/DNA oranını yükseltir. Bu da yara bölgesindeki hücrelerin diferansiasyonunu artırdığını gösterir. Doku oksijen basıncının yükselmesi lökositlerin öldürücü kapasitelerini artırır. İyileşen dokuda artan oksijen ihtiyacı HBO ile karşılanır(40,77).

---

**Tablo-8 Hiperoksinin insan vücudu üzerine etkileri (42)**

---

**Oksijen transport ve metabolizması**

- Hemoglobinişn oksijen ve karbondioksit transportundaki rolünün inaktivasyonu
- Normal oksijen metabolizmasının devamı

**Solunum sistemi**

- Karotid ve aortik cisimciklerin supresyonu ile solunumun depresyonu
- N2 temizlenmesi ile akciğer kollapsına artmış yatkınlık

**Kardiyovasküler sistem**

- Bradikardi
- Kardiyak outputta azalma
- Serebral kan akımında azalma
- Kan basıncı çok fazla değişmez

**Perifer damarlar**

- Vazokonstruksiyon
- Artmış periferel rezistans
- Hipoksik dokularda vazokonstruktif etki görülmez
- Alyuvarların elastikiyetini artırır
- Platelet agregasyonunu azaltır

**Metabolik ve biyokimyasal**

- CO ve H artışı ile dokularda pH düşer
  - Hücresel respirasyonun inhibisyonu
  - Enzimatik aktivitelere değişiklikler
    - o Siklooksijenaz aktivitesi ▼
    - o Lestini kolosterol açlı transferaz aktivitezi ▲
    - o Trozin hidroksilaz aktivitesi ▲
    - o Süksinik dehidrogenaz ▲
    - o Sitokrom oksidaz ▲
    - o Glükojen fosforilaz ▲
  - Serbest radikal oluşumunun artışı
-

- **ENFEKSİYONLARA ETKİSİ:** Doku hiperoksisi serbest oksijen radikalleri (SOR) üretiminin artması ile direkt bakteriyostatik ve bakterisidal etkinlik gösterir. SOR membran lipid ve proteinlerini okside edip, DNA'ya hasar vererek mikroorganizmanın büyümesi için temel metabolik fonksiyonları inhibe eder. SOR antioksidan savunma sistemi olmayan ve zayıf olan bakteriler için öldürücüdür. Klinik dozlarda kullanıldığında HBO bakteriyostatiktir. 1.5 ATA'dan düşük dozlarda HBO aerobik bakterilerin büyümesini hızlandırır(29,68).

Nötrofiller mikrobiyal öldürme için oksijene ihtiyaç duyarlar. Fagositoz sonrası oksijen tüketimi 10-12 kat artar. Bu oksidatif öldürme tutulan oksijenin hidroksil radikali, peroksit, ve süperoksit gibi yüksek enerjili radikallere çevrilmesi ile olur. Oksijen miktarı ile üretilen bu toksinlerin miktarı doğru orantılıdır. Hipoksik dokularda bakteri öldürme yetenekleri zayıflar. HBO hipoksiyi gidererek nötrofillerin öldürücü etkinliğini artırır. HBO enfekte ve nekrotik dokularda doku onarımı ve rejenerasyonunu düzenleyerek, enfeksiyonun progresyonunu indirekt olarak da etkileyebilir. Antibakteriyel ajan olarak seçici değildir. Gram negatifler kadar gram pozitif bakterileri de etkileyen, spektrumu geniş bir ilaç olarak düşünülebilir(68).

Oksijen hücre membranlarını parçalayan kapiller permeabiliteyi artıran klostridial alfa toksin ve lesitinazın üretimini inhibe eder. HBO *Clostridium Perfringens* üzerine hem direkt hemde PMNL öldürme yeteneğini artırması ile indirekt etkir(17,68).

- **KARBON MONOKSİT TOKSİSİTESİNİN AZALMASI:** Karbon monoksit(CO) toksik bir gaz olup yangınlarda, farkına varılmadan veya intihar amaçlı solunduğunda öldürücü olabilmektedir. CO'nin hemoglobine afinitesi oksijenden 200 kat daha fazla olduğundan oksihemoglobin yerine karboksihemoglobin oluşturarak kanda yeterli düzeyde oksijen taşınmasını zorlaştırır. CO zehirlenmesine bağlı morbiditede ne kadar serebral hipoksinin yeterli olduğu bilinmemektedir. CO zehirlenmesinde beyin lipid peroksidasyonu artar, 2 ATA'da verilen HBO ile beyin lipid peroksidasyonundan korunur(10,59,78).

HBO 2.5 ATA'da yapıldığında COHb 1.0 ATA'ya göre daha hızlı düşer. 2.5 ATA'da 90 dk tedavi sitokrom redoks durumunu %95 düzeltirken 1.0 ATA da %75 düzelme olur(78). HBO akut CO zehirlenmesi sonrası sitokrom redoks durumunu, pH ve enerji metabolitlerini düzeltebilir. 1.0 ATA'da yapılan tedaviler kandan CO'ı uzaklaştırırsa bile serebral enerji bozukluğuna ve hücrel asidoza neden olabilir. Tedavilerin 2.5 ATA'da 90 dk uygulanması gereklidir(15,78,79).

HBO ile plazmanın oksijenle saturasyonu hayatın devamı için yeterli oksijeni sağlar ve yüksek COHb seviyesine rağmen doku hipoksisini engeller. Yüksek oksijen parsiyel basıncı CO'ı hemoglobinden koparır. Sitokrom oksidazdan CO'ı ayırarak hücre içi enerji metabolizmasının devamını sağlar. Serebral ödem ve beyin lipid peroksidasyonunu engeller. Bu etkiler için HBO'nun 3 ATA'da en az 90 dk yapılması gerekir(59,79).

### 3) HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİNİN KLİNİK KULLANIMI

• **ENDİKASYONLAR:** HBO tedavisinin endikasyonları ülkeden ülkeye değişmektedir. Undersea and Hyperbaric Medical Society'nin 1992 de yayınlamış olduğu liste Tablo-9'da verilmiştir. Bu listede kontrollü deneylerle HBO'nun faydalı etkilerinin ispatlandığı hastalıklar listelenmiştir.

Tablo-9 HBO Endikasyonları (79 )

- Hava ve gaz embolisi
- Karbon monoksit zehirlenmesi ve duman inhalasyonu
- Klostridial miyonekroz (Gazlı gangren)
- Crush injuri, kompartman sendromu ve diğer akut travmatik iskemiler
- Dekompresyon hastalığı
- Problem yaralarda iyileşmenin hızlandırılması
- Kan kaybına bağlı ciddi anemi
- Nekrotizan yumuşak doku (ciltaltı dokusu, kas yada fasya) enfeksiyonu
- Refrakter osteomyelit
- Radyasyon doku hasarı
- Uyuşmuş cilt flep ve greftleri
- Termal yanıklar

Avrupa ülkelerinde UHMS listeleri kabul görmekte birlikte, Eylül 1994'te Fransa'da ve Eylül 1996'da İtalya'da biraraya gelen Avrupa Hiperbarik Tedavi Komitesi (ECHM) HBO endikasyonlarını daha farklı bir yaklaşımla saptamıştır (4).

Tablo-10 HBO endikasyonları(4)

Akut Endikasyonlar	Kronik Endikasyonlar
<ul style="list-style-type: none"><li>• Gaz embolisi</li><li>• Dekompresyon hastalığı</li><li>• CO zehirlenmesi</li><li>• Duman inhalasyonu</li><li>• Gazlı gangren</li><li>• Diyabetik gangren ve yumuşak dokunun karma infeksiyonları</li><li>• Crush Sendromu</li><li>• Kompartman sendromu</li><li>• Termal yanık</li><li>• Anoksik ansefalopati</li><li>• Ani işitme kaybı</li><li>• Oftalmolojik patolojiler (Santral retinal arter oklüzyonu:CRAO)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Problemlili yaralar<ul style="list-style-type: none"><li>◦ Diyabetik</li><li>◦ Arteriyel yetmezlik ülseri</li><li>◦ Venöz staz ülseri</li><li>◦ Dekübitus ülseri</li></ul></li><li>• Radyonekroz<ul style="list-style-type: none"><li>◦ Enterit</li><li>◦ Myelit</li><li>◦ Osteoradyonekroz</li><li>◦ Yumuşak doku nekrozu</li></ul></li><li>• Kronik refrakter osteomyelit</li><li>• Deri greft ve flepleri</li><li>• Kemik iyileşmesi</li></ul>

• **KONTRENDİKASYONLAR:** HBO tedavisi alacak olan hasta mutlaka sistemik muayeneden geçirilmeli ve kontrendikasyon açısından değerlendirilmelidir. Sistemik muayenede akciğer ve kulak zarı muayenesine özel önem verilmelidir. Akciğer grafisi mutlaka değerlendirilmelidir(16).

Tedavi edilmemiş pnömothoraks HBO tedavisinin kesin kontrendikasyonudur. Dekompresyon yapıldığında normal atmosferik basınca yaklaşıldığında plevra içindeki havanın basıncı iki-üç katına çıkar. HBO kontrendikasyonları Tablo-11'de verilmiştir(44).

Gebe hastalar CO zehirlenmesi veya gazlı gangren gibi hayatı tehdit eden hastalıklar olduğunda HBO tedavisi alabilir(44).

Tablo-11 HBO Kontrendikasyonları (44)

*Mutlak*

- Tedavi edilmemiş tansiyon pnömotoraks

*Rölatif*

- Üst solunum yolu enfeksiyonları
- Amfizem
- Akciğer grafisinde asemptomatik lezyon
- Toraks yada kulak operasyonu hikayesi
- Kontrol edilemeyen yüksek ateş
- Hamilelik
- Kloströfobi

*Kontrendike olduğu düşünülen ancak destekleyen bulgu olmayan*

- Malign hastalıklar
- Geçirilmiş nöbet hikayesi

• **KOMPLİKASYONLAR:** HBO tedavisinin en sık görülen komplikasyonu barotravadır. Hastaların kompresyon sırasında orta kulak basıncını dış ortam basıncı ile eşitleyememesinden kaynaklanır. Bu durum hastaların östaki tüplerini açamamasına bağlıdır. Nasal dekonjestan yada distile su spreylerinin tedaviden yarım saat önce uygulanması faydalı olabilir(12). Bilinci kapalı hastalar östaki tüplerini açamayacağı için barotravma kaçınılmazdır. Acil HBO gereken durumlarda östaki disfonksiyonu mevcutsa miringotomi yapılabilir.

Uzun süreli tedavilerde miyopi görülebilir, tedavi kesildikten bir süre sonra düzelir. Kataraktın 150 seans ve üzeri tedavilerde görüldüğü yayınlanmıştır.

Oksijen akciğerlerde sürfaktanın sentezinde görevli enzimleri ve sentezlenen sürfaktanın alveole taşınmasını inhibe eder. Basınçla akciğerlerin aşırı şişmesi rüptüre ve sonuç olarak hava embolisi, mediastinal amfizem ve tansiyon pnömotoraksa neden olabilir. 2.4 ATA'da yapılan tedavilerde oksijene bağlı nöbet geçirme sıklığı %0.01'dir(17,63).

HBO sonrasında alınan periferik kanda yapılan çalışmalarda somatik hücrelerde DNA hasarı görülmüştür.Oluşan DNA hasarı ilk seanstan sonra en fazladır.Daha sonra adaptif mekanizmaların gelişmesi ile hasarlı bölgelerin tamir edildiği düşünülmektedir(34,70,75).

HBO'nun komplikasyonları Tablo-12'de listelenmiştir.

Tablo-12 HBO Komplasyonları (44)

- Orta kulak barotravması
- Sinüs ağrısı
- Miyopi ve katarakt
- Akciğer barotravması
- Oksijene bağlı nöbet
- Dekompresyon hastalığı
- Genetik etkiler
- Klostrorobi

### C) E VİTAMİNİ

Tokoferoller ve tokotrienoller E vitamini olarak bilinmektedirler. Bu moleküller organik peroksil radikalleri ile reaksiyon oluşturabilirler. Bu özellik onların en önemli biyokimyasal fonksiyonları olarak bilinir ve antioksidan aktivitelerini yansıtmaktadır(72).

E vitamininin organik kimyacılar tarafından bir antioksidan olarak kabul edilmesi bu molekülün kolayca okside olabilmemesinden ve diğer hassas moleküllerin istenmeyen oksidasyonunu önleyebilmesinden ileri gelmektedir(84).

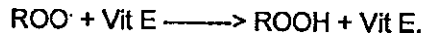
E vitamini kırmızı küre kan hücrelerinde lipidleri peroksidatif hasara karşı koruyan önemli bir yağda çözünen antioksidandır. Gerçekten E vitamini organizmada doku lipidlerini serbest radikal saldırılarından koruyan bir invivo antioksidan olarak fonksiyon görmektedir. Peroksil radikalleri (LOO<sup>•</sup>), membran fosfolipidleri veya lipoproteinlerdeki poliansature yağ asitlerinden hidrojen çekilmesi (inisiyasyon olarak adlandırılır) ve bir oksijen molekülünün eklenmesi ile üretilebilirler. Lipid peroksil radikalleri ile göreceli olarak stabil bir lipid hidroperoksidi ve tokoferoksil radikali oluşturmak üzere reaksiyona giren tokoferoller, radikal



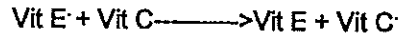
zincir reaksiyonunu kesintiye uğratarak hücre membranında lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağlarlar(72).

Primer antioksidan savunmaya (antioksidan enzimler ve metal iyonları) ilaveten bir de sekonder savunma vardır. Antioksidan savunmanın bu önemli kısmını lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını kıran antioksidanlar oluşturmaktadır. Hücre membranları ve plazma proteinleri lipidlerde çözünebilen, antioksidan fonksiyon gören alfa tokoferol molekülünü içerirler. Alfa tokoferolün hidrofobik yapısında bir OH grubu bulunmaktadır. Buradaki H kolayca ayrılabilir. Lipid peroksidasyonu sırasında peroksil ve alkoksil radikalleri üretilir ve bunlar uygun yağ asidi yan zincirlerinden daha çok öncelikle antioksidanlarla birleşirler. Böylece zincir reaksiyonu sona erer. Bu yüzden ki bunlara zincir kırıcı antioksidanlar denmektedir. Sonuçta alfa tokoferol, tokoferol-O<sup>•</sup> radikaline (tokoferil) dönüşür. Bu radikal zayıf reaktiftir ve yağ asidi zincirlerine zarar veremez. Neticede zincir reaksiyonu durur(26,85).

Yapılan çalışmalara göre, oluşan tokoferol radikali yeniden membran yüzeyine katılabilir ve askorbik asid ile reaksiyona girerek yeniden alfa tokoferole dönüşür. Vit C ve alfa tokoferol, lipoproteinlerdeki ve membranlardaki lipid peroksidasyonunu bu yolla en düşük düzeye indirmektedir. GSH gibi bazı tiyol içeren maddeler de alfa tokoferolün rejenerasyonunda invivo olarak gerekli olabilir(2,39).



Vit E radikali nispeten stabil, reaktivitesi az olan bir radikaldir. Vitamin C tarafından gerçekleştirilen bir tamir süreci ile vitamin E'ye redükte olur.



Siklus Vit C radikalinin (Semiaskorbat radikali) semiaskorbat redüktaz tarafından redüksiyonu ile tamamlanır.

Dolaşımdaki LDL'lerin içindeki alfa tokoferol, bunların lipid peroksidasyonuna olan dirençlerinin belirlenmesine yardımcı olur. Bu nedenle ateroskleroz gelişiminde etkili bir faktör olan lipid peroksidasyonuna karşı, E vitamini koruyucu bir rol oynamaktadır(16).

Bazı kanser türlerinde ve miyokard infarktüsünde artış ile plazma alfa tokoferol ve C vitamini düşüklüğü arasında bir korelasyon bulunmuştur(39).

**Emilimi ve Taşınması:** E vitamini lipitlerle birlikte ince barsaktan emilmektedir. Tokoferol daha sonra lipoprotein ve şilomikronlara bağlanarak lenf sıvısıyla plazmaya taşınır. E vitamininin plazmada yalnızca taşındığı, muhtemelen antioksidatif bir role sahip olmadığı ve aktivitesini hücre zarında gerçekleştirdiği düşünülmektedir(72).

### III - GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, cilt yoluyla NM uygulandıktan sonra HBO ve E vitamini uygulamasının etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

#### A) DENEY HAYVANLARI:

Çalışmada,  $201.5 \pm 7.7$  g ağırlıkta, toplam 65 adet Sprague-Dawley (SD) türü erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar GATA - Araştırma ve Geliştirme Merkezi - Deney Hayvanları Bölümü'nden temin edildi. Sıçanlar uygun laboratuvar koşullarında tutuldu ve yeteri kadar yem ve normal musluk suyuyla beslendi.

#### B) DENEY GRUPLARI:

Vücut ağırlık takibi, akciğer MDA analizi ve histopatolojik değerlendirme için her grupta 8 sıçan olacak şekilde 5 grup oluşturuldu (Grup A-E). Sağkalım süresi hesaplamak için her grupta 5 sıçan olacak şekilde 5 grup daha oluşturuldu (Grup F-J). Sıçanlar 'basit rastgele örnekleme' yöntemiyle gruplandırıldı (Tablo-13).

	Grup A	Grup B	Grup C	Grup D	Grup E	Grup F	Grup G	Grup H	Grup I	Grup J
<i>n</i>	8	8	8	8	8	5	5	5	5	5
<i>Mustard</i>	-	5 mg	5 mg	5 mg	5 mg	-	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg
<i>HBO</i>	-	-	2.8 ATA	-	2.8 ATA	-	-	2.8 ATA	-	2.8 ATA
<i>E vitamini</i>	-	-	-	40 mg/kg	40 mg/kg	-	-	-	40 mg/kg	40 mg/kg

• **VÜCUT AĞIRLIĞI, AKCİĞER MDA, HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME:**

1) (Grup A) **KONTROL GRUBU** : Herhangi bir uygulamanın yapılmadığı grup.

2) (Grup B) **NİTROJEN MUSTARD GRUBU (NM)** : Bu gruptaki sıçanların 24 saat önceden traşlanmış sırt cildine 5 mg/100µL NM uygulandı. NM'in cilt uygulaması sonrası toksik etkilerinin gözlenmesi ve tedavi grupları ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

3) (Grup C) **NİTROJEN MUSTARD VE HBO GRUBU (NM+HBO)** : 24 saat önce traşlanmış ciltlerine 5 mg/100µL NM uygulanan sıçanlar uygulamadan en geç 6 saat içinde HBO'ya alındı. HBO seansları 12 saat ara ile günde iki defa 2.8 ATA'da 90 dk. %100 oksijen verilerek yapıldı. NM maruziyeti sonrası HBO'nun tek başına etkinliğini değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

4) (Grup D) **NİTROJEN MUSTARD + E VİTAMİNİ GRUBU (NM+Evit)** : Bu gruptaki hayvanlara NM uygulamasından sonraki ilk 6 saat içinde intramuskuler E vitamini (40mg/kg) uygulamaya başlandı. E vitamini günde bir defa sabah uygulandı. Bu grupta NM cilt maruziyeti sonrası antioksidan olan E vitamininin nasıl bir etkinlik gösterdiği incelendi.

5) (Grup E) **NİTROJEN MUSTARD +E VİTAMİNİ + HBO GRUBU (NM+HBO+Evit)** : Hayvanlara NM uygulamasından en geç altı saat sonra HBO ve intramuskuler E vitamini tedavisine başlandı. Bu grupta HBO + E vitamini birlikteliğinin NM'in toksik etkileri üzerinde nasıl bir etki gösterdiği incelendi. Bu iki uygulamanın birlikteliğinin sinerjistik bir etki oluşturup oluşturmayacağı araştırıldı.

• **ORTALAMA SAĞKALIM SÜRESİ ÇALIŞMASI:**

1) (Grup F) **KONTROL GRUBU** : Herhangi bir tedavinin verilmediği grup.

2) (Grup G) **NİTROJEN MUSTARD GRUBU (NM)** : Bu gruptaki sıçanların 24 saat önceden traşlanmış sırt cildine 10 mg/µL NM uygulandı.

3) (Grup H) **NİTROJEN MUSTARD VE HBO GRUBU (NM+HBO)** : 24 saat önce traşlanmış ciltlerine 10 mg/µL NM uygulanan sıçanlar uygulamadan en geç 6 saat içinde

HBO'ya alındı. HBO seansları 12 saat ara ile günde iki defa 2.8 ATA'da 90 dk. %100 oksijen verilerek yapıldı.

**4) (Grup I) NİTROJEN MUSTARD + E VİTAMİNİ GRUBU (NM+Evit) :** Bu gruptaki hayvanlara NM uygulamasından en geç 6 saat içinde intramuskuler E vitamini (40 mg/kg) uygulamasına başlandı. E vitamini günde bir defa uygulandı.

**5) (Grup J) NİTROJEN MUSTARD +E VİTAMİNİ + HBO GRUBU (NM+HBO+Evit) :** Sıçanlara NM uygulamasından en geç altı saat sonra HBO ve intramuskuler E vitamini tedavisine başlandı.

### **C) NİTROJEN MUSTARD UYGULAMASI**

NM Sigma-Aldrich (katalog numarası 12-256-4) firmasından alındı. Sıçanların sırt bölgesi uygulamadan 24 saat önce anestezi altında traş edildi. Anestezi ketamine hydrochloride(30 mg/kg) ve xylazine (6 mg/kg) ile yapıldı. İnsan ve sıçan ciltlerinin anatomik olarak farklılığı nedeniyle kimyasalın penetrasyonunun etkileneceği göz önünde bulundurularak insan cildi için vezikan olduğu bilinen dozun (240 µg / cm<sup>2</sup>) dört katı uygulandı. NM etil alkol içinde çözüldü.5 mg NM içeren 100 µL etil alkol anestezi altındaki sıçanların sırt ciltlerine sprey ile püskürtülerek uygulandı. Bu uygulama sırasında koruyucu eldiven ve maske kullanıldı. Ortalama sağkalım süresi çalışmasında 24 saat önce traşlanmış anestezi altındaki sıçanların ciltlerine 10mg/100µL NM uygulandı.

### **D) HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİ UYGULAMALARI**

HBO uygulanan gruptaki sıçanlar kafesleriyle birlikte basınç odasına alındı. Basınç odasının kapağı kapatılarak oksijen girişi açıldı. İç basıncın uygulanacak değere kadar dakikada 0.3 atm basıncı geçmeyecek hızda yükselmesi sağlandı. Hedeflenen basınç değerine ulaşıldığında süre başlatıldı ve 90 dakika boyunca sabit tedavi basıncında kalması cihaz tarafından otomatik olarak sağlandı. Seans bitiminde basınç yine aynı hızda düşürülerek normal atmosfer basıncı ile eşitlendi ve hayvanlar basınç odasından çıkarıldı.

HBO beş gün boyunca sabah ve öğleden sonra olmak üzere günde iki defa uygulandı. Gün içinde seanslar arası süre 12 saat olarak belirlendi. Toplam 10 seans HBO uygulandı.

#### **E) E VİTAMİNİ UYGULAMALARI**

E vitamini olarak Evigen 300mg/2ml Ampul kullanıldı. NM maruziyet sonrası cilt lezyonlarının ortaya çıkması için geçen süre 2-24 saat arasında değişmektedir. Bu nedenle tedavilere uygulamadan ortalama 6 saat sonra başlandı. E vitamini 40 mg/kg olacak şekilde IM uygulandı. E vitamini uygulamaları günde bir kez yapıldı. HBO+Evit grubunda E vitamini uygulaması HBO'dan önce yapıldı.

#### **F) VÜCUT AĞIRLIĞI TAKİBİ**

Grup A-E gruplarındaki sıçanların 1. gün ve 6. gün ağırlıkları ölçülerek kaydedildi.

#### **G) HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME**

Mustard uygulamasından sonra altıncı gün hayvanlar sakrifiye edilerek sırt ciltleri alındı. Örnekler %10 formalin içinde tespit edilerek parafin içine gömüldü. Beş mikrometre kalınlığında kesitler alınarak hemotoksilen-eozin ile boyandı. Subepidermal ayrılma, epidermal nekroz, epidermal ülserasyon, inflamasyon ve hiperkeratoz değerlendirildi ve 0-4 arası skorlandı (0: önemsiz, 1: minimal, 2: hafif, 3: orta, 4: belirgin).

#### **H) AKCİĞER MDA ANALİZİ**

Bu metod bazı lipid peroksidasyon ürünlerinin yüksek ısı ve asit ortamda tiobarbitirik asit (TBA) ile reaksiyonuna dayanır. Oluşan ürünün rengi pembe dir. Spektrofotometrik olarak inceleme yapılır.

250 µl distile su, 500 µl %15'lik trikarboksilik asit (TCA), 500 µl 0.37'lik TBA, 250 µl homojenize edilmiş dokuya ilave edildi (TBA ve TCA solüsyonları 0.25 M HCl içinde

hazırlandı). Örnekler kaynayan sıcak su banyosunda 10 dk. ısıtıldı. Soğutulduktan sonra 4500 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi. 535 nm dalga boyunda ölçümler yapıldı. MDA konsantrasyonu 1,1',3,3'-tetraetoksipropan için hazırlanmış standart eğri kullanılarak hesaplandı.

#### **I) ORTALAMA SAĞKALIM SÜRESİNİN HESAPLANMASI**

Ortalama sağkalım süresi çalışmasındaki sıçanların HBO ve E vitamini uygulamaları her grupta tüm fareler ölene kadar devam edildi. Toplam on gün takip edildi. Graplarda ölen sıçanların öldükleri günler kaydedildi.

#### **J) İSTATİTİKSEL ANALİZ**

Grupların ikişerli olarak birbirleriyle karşılaştırmalarında nonparametrik bir yöntem olan 'Mann Whitney U Test' kullanıldı.

Ortalama sağkalım süresi Kaplan-Meiere yöntemi ile hesaplandı. İstatistiksel analizlerde SPSS for Windows 10.0 programı kullanıldı.

#### IV-BULGULAR

NM grubunda bir, NM+HBO grubunda iki ve NM+HBO+Evit grubunda bir sıçan çalışma sonlanmadan öldü. Ölen sıçanlar çalışmadan çıkarıldı.

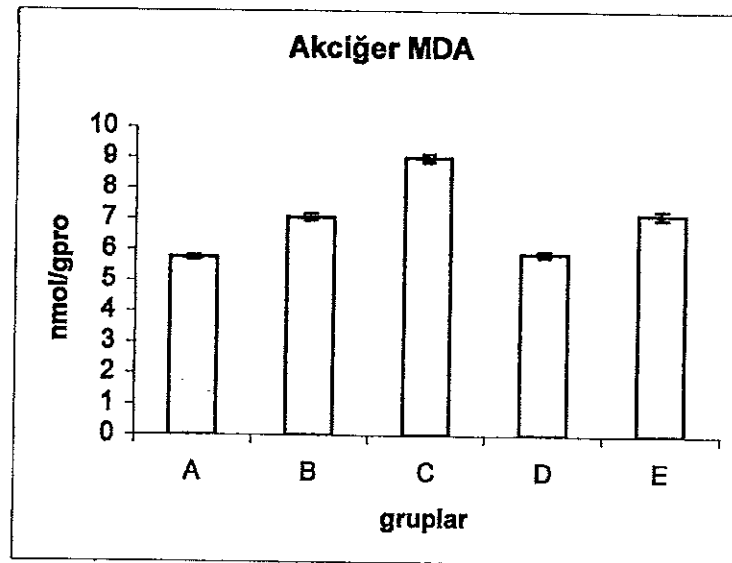
#### A) AKCIĞER MDA DÜZEYLERİ

Akciğer MDA düzeyleri NM , NM+HBO , NM+HBO+Evit gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek çıkmıştır ( $p<0.05$ ). NM+Evit ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). NM+HBO grubunda akciğer MDA düzeyleri NM grubundan anlamlı olarak yüksektir ( $p<0.01$ ). NM+Evit grubunda akciğer MDA düzeyi NM grubuna göre anlamlı olarak düşük çıkmıştır ( $p<0.05$ ).

Tablo-14 Akciğer MDA düzeyleri

Gruplar	n	MDA ( nmol / g pro )
A KONTROL	8	5,75 ± 0,07
B NM	7	7,07 ± 0,11 <sup>a*</sup>
C NM+HBO	6	9,02 ± 0,13 <sup>a**,b**</sup>
D NM+Evit	8	5,89 ± 0,09 <sup>b*</sup>
E NM+HBO+Evit	7	7,17 ± 0,14 <sup>a*</sup>

a Kontrol grubuna göre b NM grubuna göre \*  $p<0.05$  \*\* $p<0.01$





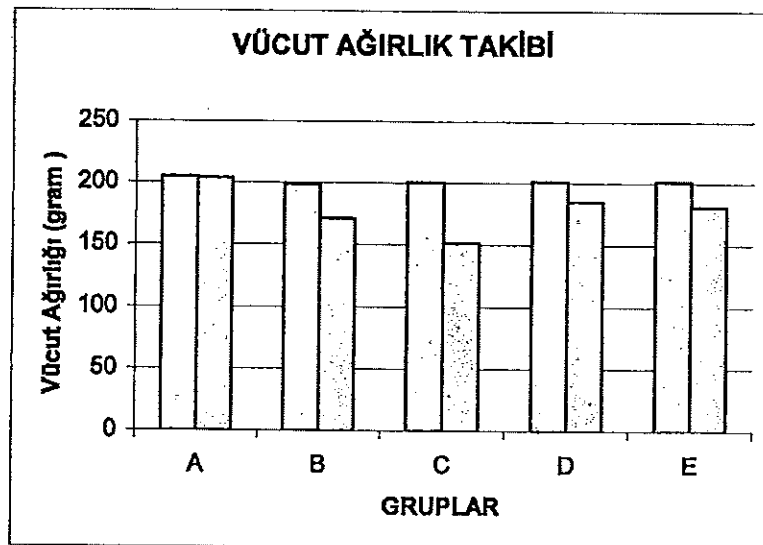
## B) VÜCUT AĞIRLIK KAYBI

NM maruziyeti sıçanlarda vücut ağırlığı kaybına neden oldu. Gruplar arasında 1. gün ağırlıkları açısından anlamlı bir fark yokken 6. gün ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar vardı. Grupların vücut ağırlık kayıpları sırasıyla NM+HBO>NM>NM+HBO+Evit> NM+Evit>kontrol grubu şeklindedir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında diğer dört grubun vücut ağırlık kayıpları istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ( $p<0.01$ ). NM ve NM+HBO grupları arasındaki fark anlamlıydı ( $p<0.05$ ). NM+Evit grubunda vücut ağırlık kayıpları NM grubundan anlamlı derecede düşüktü ( $p<0.05$ ).

Tablo -15 Ağırlık Takibi

Gruplar	n	1.gün	6.gün	Ağırlık Kaybı
A KONTROL	8	204,7±8,3	204,2±6,9	0,5±8,4
B NM	7	198,5±6,3	171,1±5,2	27,4±6,2 <sup>a**</sup>
C NM+HBO	6	200,8±8,2	151,5±5,3	49,3±6,9 <sup>a**b*</sup>
D NM+Evit	8	201,6±7,7	185,0±6,1	16,6±8,2 <sup>a**b*</sup>
E NM+HBO+Evit	7	201,4±8,5	181,2±9,2	20,1±10,1 <sup>a**</sup>

a Kontrol grubuna göre b NM grubuna göre \*  $p<0.05$  \*\* $p<0.01$

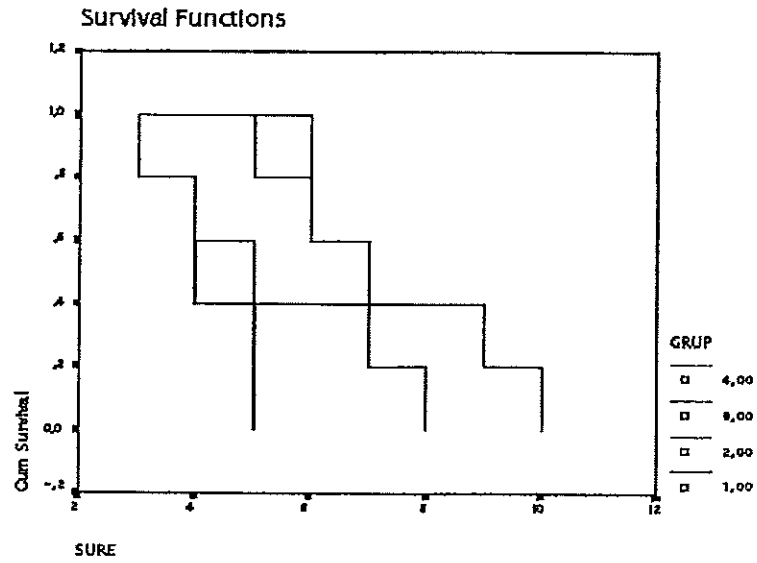
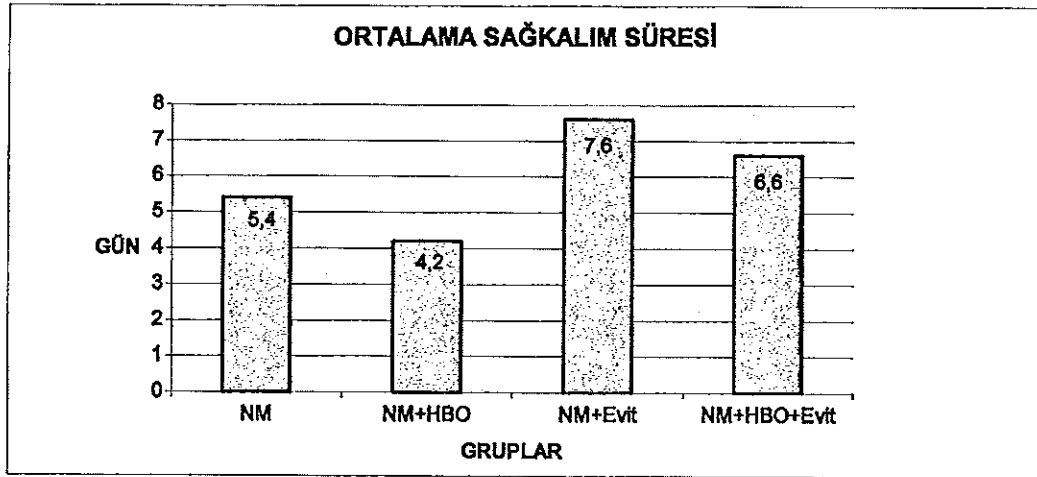


### C) ORTALAMA SAĞKALIM SÜRESİ

NM cilt maruziyeti sonrasında tedaviye HBO eklenmesi ortalama sağkalım süresini kısaltmıştır. Antioksidan E vit eklenmesi hem NM+Evit hem de NM+HBO+Evit grubunda ortalama sağkalım süresini artırmıştır.

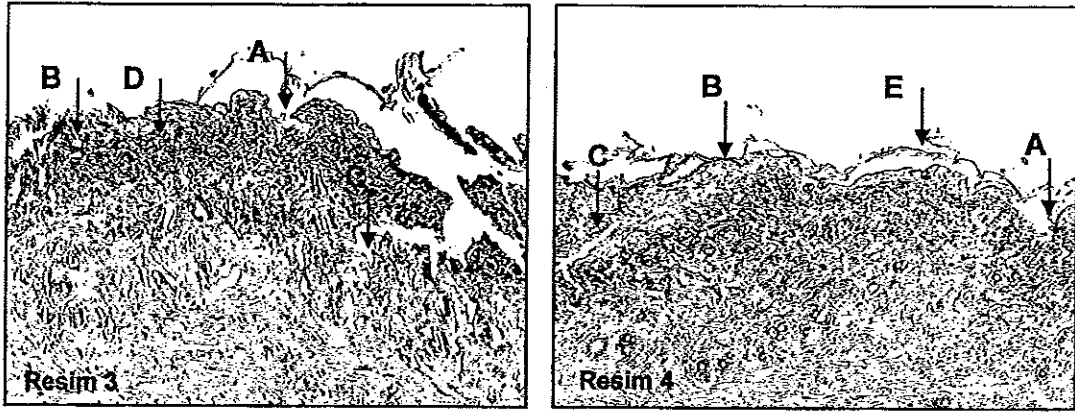
Tablo-16 Ortalama Sağkalım Süresi

Gruplar	n	ORTALAMA SAĞKALIM	%95 GÜVENLİK ARALIĞI
1 NM	5	5,40	3,58-7,22
2 NM+HBO	5	4,20	3,47-4,93
3 NM+Evit	5	7,60	6,01-9,19
4 NM+HBO+Evit	5	6,60	5,60-7,60



#### D) HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

NM sıçan cildinde veziküler lezyonlara neden oldu. Cilt lezyonlarından alınan biyopsiler histopatolojik olarak değerlendirildi. Subepidermal ayrılma, epidermal nekroz, epidermal ülserasyon, inflamasyon ve hiperkeratoz skorlandı. NM, NM+HBO, NM+Evit NM+HBO+Evit grupları arasında subepidermal ayrılma, inflamasyon, hiperkeratoz açısından anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0.05$ ). NM+Evit grubunda epidermal ülserasyon ( $p<0.01$ ) ve epidermal nekroz ( $p<0.05$ ) NM , NM+HBO , NM+HBO+Evit gruplarına göre anlamlı olarak düşük çıktı.



**Resim 3- 4** NM sonrası sıçan cildinde oluşan lezyonların histopatolojik görünümü **A:** Epidermal ülserasyon, **B:** Epidermal nekroz **C:** Subepidermal ayrılma, **D:** İnfiamasyon **E:** Hiperkeratoz

## V-TARTIŞMA VE SONUÇ

NM'in lokal ve sistemik etkilerinin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Alkilleyici ajanlar reaktif maddelerdir. Karboksil, sülfidril, alifatik amino, organik fosfat, inorganik fosfat ve sülfid gruplarıyla reaksiyona girerek iyonizasyona neden olurlar. Maruziyet oluştuktan sonra en kısa sürede dekontaminasyon yapılmalıdır. Dekontaminasyondan başka NM hasarını engellemek için üç strateji vardır. Birincisi NM'ın kritik hedef molekülleri alkillemesinin engellenmesidir; ikincisi, alkilasyon reaksiyonunu oluştuktan sonra geri çevirmeye çalışmaktır; ve üçüncüsü, geri dönüşümsüz hücre ve doku harabiyeti oluşmadan önce hasarın latent fazında oluşan alkilasyonun ikincil biyokimyasal sonuçlarının engellenmesi yada geri döndürülmesidir(53,90).

NM hücre içine kolın taşıyıcısı ile girer. Hücre içinde ya direkt olarak makro molekülleri alkilleyerek yada indirekt olarak ROT yoluyla zararlı etkilerini gösterir. NM'ın hücre üzerine toksik etkilerini açıklayan üç hipotez vardır. Birincisi; hücre içine giren NM biyolojik aktif moleküllerin özellikle nükleik asitlerde ve hücrel enzimlerde (heksokinaz ve adenzin trifosfatazı inaktive ederler) alkil gruplarının yerini alır. DNA'daki pürinlerin alkilenmesi ile apürinik bölgeler oluşur. Apürinik endonükleaz bu bölgelerde DNA'da kırıklar yaparak kromozomal enzim poly(ADP-ribose) polymeraz(PARP)'ın aktivasyonuna neden olur. Bu enzim substrat olarak NAD<sup>+</sup> kullanır ve NM'ın vezikan dozlarında hücrelerin NAD<sup>+</sup> içeriğinde azalmaya neden olur. NAD<sup>+</sup> 'nin azalması glikolizin inhibisyonuna ve sonuçta biriken ara maddelerin NADP<sup>+</sup>-bağımlı heksozmonofosfat şantını (HMS) uyarmasına neden olur. HMS'nin bu şekilde uyarılması DNA hasarı ve proteazların sentez ve salınması ile sonuçlanır. Bu proteazların bazal hücre tabakası ile bazal membran arasında sıvı toplanması ile oluşan subepidermal veziküllerden sorumlu olduğu düşünülmektedir. NAD<sup>+</sup> seviyelerinde düşme lezyonun şiddeti ile doğru orantılıdır(53,58,67,89).

İkincisi; kalsiyum bağımlı proteinlerin sülfidril gruplarının alkilenmesi ile thiol-kalsiyum dengesi bozulur ve hücre içi kalsiyum miktarı artar. Bu artış hücre zarı permeabilitesini artırdığı gibi hücre zarına ve hücre iskeletine zarar veren enzimleri aktive eder. Hücre

iskeletin hasar görmesi hücreleri bağlanma noktalarından kopmaya hassas hale getirir (28,57,71).

Üçüncüsü ise NM'a bağlı indirgenmiş glutatyon (GSH) seviyelerinin düşmesi ve buna bağlı lipid peroksidasyonunun artmasıdır(18,53,60,64). Hücre içinde normal solunum sırasında oluşan indirgenmiş oksijen türleri GSH bağımlı mekanizmalar ile de detoksisifiye edilir. GSH yokluğunda Fenton reaksiyonu ile toksik oksijen radikalleri oluşur. Bu radikaller hücre içinde birçok yapıyı etkiler. NF-kB (nükleer faktör-kappa B) gibi transkripsiyon faktörlerini etkilerler. ROT NF-kB'nin çekirdek translokasyonunu teşvik eder, oysa yüksek miktar ROT NF-kB'nin DNA'ya bağlanma özelliğini inhibe eder. Hücre membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatır ve çoğaltır. Hücre membranlarının akıcılığının değişmesine, membran protein fonksiyonunun kaybına, membran bütünlüğünün bozulmasına neden olur. Mitokondride membran potansiyelinin düşmesi sonucu açılan mitokondrial transiyon deliklerinden proapoptotik özelliklere sahip sitokrom c, ROT ve AIF(apoptozis başlatıcı faktör) gibi komponentlerin salınmasına neden olur. Sitokrom c, dATP, Apaf-1 (apoptozis proteaz aktive edici faktör-1) ve pro-caspase-9' a bağlanarak caspase şelalesinin aktive olmasına sebep olur. Böylece apoptozis geri dönüşümsüz hal alır(1,7,50).

Bu çalışmada sıçanlara cilt yoluyla uygulanan NM'ın toksik etkilerinin tedavisinde HBO ve E vitamininin etkinliği araştırıldı. Oluşturulan gruplar akciğer MDA düzeyleri, vücut ağırlık kayıpları, cilt lezyonları ve ortalama sağkalım süreleri açısından karşılaştırıldı.

Akciğerlerde oluşan oksidatif stres, lipid peroksidasyon belirteci olan MDA ölçülerek değerlendirildi. Cilt maruziyeti sonrası NM akciğerde lipid peroksidasyonunu artırmıştır ( $7,07 \pm 0,11$  nmol/gpro). Bu artışın HBO'nun akciğerde oluşturduğu oksidatif strese bağlı olduğu düşünülmüştür.

HBO dokularda serbest oksijen radikali üretimini ve antioksidan savunma sistemlerini etkiler. HBO'nun oluşturduğu oksidatif stresin zararlı etkiler oluşturacak düzeyde olup

olmadığı konusunda görüş ayrılıkları vardır. Antioksidan desteğinin faydalı olabileceği düşünülmektedir.

NM gibi alkilleyici bir ajan olan N,N-bis(2-chloroethyl)-N-nitrosourea (BCNU) verilerek GSH seviyeleri düşürülen sıçanlara 4 ATA'da %100 oksijen uygulandığı zaman HBO'ya bağlı serebral oksijen toksisitesinin arttığı gösterilmiştir(45).

Başka bir çalışmada doku glutatyon seviyelerini düşüren bir ajan verildikten sonra HBO'ya bağlı oksijen toksisitesinin arttığı ve intraperitoneal GSH replasmanı yapıldığında ise bu etkilerin geri çevrildiği ortaya konmuştur(84).

Öter ve ark.'larının yaptığı çalışmada 3 ATA'da 120 dk. HBO uygulamasının akciğer MDA ve katalaz düzeylerini artırdığı, süperoksit dismutaz seviyelerini değiştirmedeği gösterilmiştir(66).

Etilik ve ark.'larının yaptığı çalışmada HBO'nun günde bir kez, 1 saat süre ve 2.8 ATA basınçta 45 gün boyunca uygulanması ile sıçan eritrosit MDA seviyelerinde iki kata varan artışlar görülmüş ve bu artışın vitamin E+C kombinasyonu ile önleendiği tespit edilmiştir(23).

Sıçanlarda oluşturulan deri fleplerinin iyileşme oranına HBO ve antioksidan vitaminlerin etkileri araştırılmış; HBO'nun vitaminlerin iyileştirici etkisini anlamlı derecede azalttığı ve bu etkinin oksijen radikali oluşumuna bağlı olduğu bildirilmiştir(80).

NM maruziyeti sonrası E vitamini uygulaması akciğer lipid peroksidasyonunu azaltmıştır ( $5,89 \pm 0,09$  nmol/gpro). Bu sonuçlar daha önce yayınlanan literatürlerle uyumludur. NM+HBO grubunda ise akciğer lipid peroksidasyonu artmıştır ( $9,02 \pm 0,13$  nmol/gpro). HBO'ya bağlı oksidatif stresin önlenmesi amacıyla antioksidan vitamin E profilaksisi yapılabileceği bildirilmiştir (54). Benzer olarak NM+HBO+Evit grubunda MDA düzeyi NM+HBO grubuna göre anlamlı derecede düşük çıkmıştır ( $7,17 \pm 0,14$  nmol/gpro).

Cilt altına SM benzeri kimyasal madde uygulanması ile yapılan çalışmalarda beyin böbrek ve akciğerde GSH seviyesinde azalma GSSH seviyesinde ve lipid peroksidasyonda artma gösterilmiştir (22). Bir başka çalışmada cilt altı SM benzeri kimyasal madde uygulaması sonrası akciğer katalaz, glutatyon peroksidaz, superoksit dismutaz, glutatyon

redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz ve glutatyon-s-transferaz enzim aktivitelerinin arttığı gösterilmiştir(21). Bu sonuçlar akciğerde oksidatif stresin arttığını göstermektedir.

Kumar ve ark.'ın yaptığı bir çalışmada cilt maruziyetinden hemen sonra ve sonraki iki gün Trolox (suda çözünen E vitamini analogu, 500 microg/kg), GSH (400 mg/kg) ve quercetin (bioflavonoid, 5 mg/kg) uygulanmış. SM'ın GSH'ı tüketerek lipid peroksidasyonunda artışa neden olduğu görülmüştür. Ayrıca E vitamininin GSH seviyesinde artışa ve lipid peroksidasyonunda ise azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. Antioksidan uygulanan gruplarda ortalama sağkalım SM grubuna göre daha iyi olarak tespit edilmiş, antioksidanların topikal mustard uygulaması sonrası akciğer ve karaciğerde oluşan oksidatif hasarı ve kanda purin metabolit birikimini azalttığı ve sürevi uzattığı gösterilmiştir(53).

Diğer bir çalışmada ise antioksidan kullanımının hücre içi GSH düzeylerini artırmadığı ama MDA düzeylerinde düşüşe neden olduğu tespit edilmiştir. SM'ın cilt uygulaması sonrası flavonoid ve E vitamini kullanımının hayatta kalma oranını artırdığı, bu etkinin flavonoidlerin analjezik, anti-inflamatuar, antihepatotoksik, antihistaminik, mast hücre stabilizasyonu, lipid peroksidasyon inhibisyonu ve ROT temizleyicisi etkilerinin bir veya bir kaçına bağlı olduğu düşünülmüştür(82).

Antioksidan olarak en sık çalışılan ajan N-asetilsistein (NAC)dır. NAC serbest oksijen radikallerini temizler ve glutatyonun hücre içi seviyesini artırır. Intraselüler GSH artışı mustard toksisitesine karşı koruyucudur.Diğer antioksidanlar ile kombinasyonların etkinliğini artırdığı belirtilmiştir(24,31,85).

Antioksidan özelliği olan ebselen NM'a bağlı apoptozisi önlemek amacıyla çalışılmıştır. Ebselen güçlü antioksidan özelliği olan seleno organik bir bileşiktir. Ebselenin non-toksik dozlarının in vitro hücre kültürlerinde NM'a bağlı apoptozisi azalttığı görülmüştür. Bu etkinin mitokondri membran potansiyelinin ve yüksek glutatyon seviyesinin korunması, caspas-3 ve caspas-9 aktivasyonunun blokasyonuna bağlı olduğu değerlendirilmiştir(38).

Nitrojen mustardın hepatositler üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada hepatosit GSH seviyesinin düşmesi sonrası lipid peroksidasyonunun artarak hepatotoksikite

oluşturduğu gösterilmiştir. E vitamini ve desferroksamin verilmesi halinde sitotoksitenin azaldığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada NM'in ortamda hava yerine nitrojen bulunduğu daha az toksik olduğu gösterilmiştir(47).

Çalışmamızdaki grupların ortalama sağ kalım süreleri arasında anlamlı farklar vardı. NM ortalama sağkalım süresini kısalttı (5,4 gün). HBO eklendiğinde ortalama sağkalım süresi NM grubundan bile kısaydı (4,2 gün). E vitamini eklendiği zaman ise ortalama sağkalım süresi belirgin olarak uzamıştır (7,6 gün). NM+HBO+Evit grubunda ortalama sağkalım süresi NM+Evit grubundan kısa ama NM grubundan uzundu (6,6 gün).

Kontrol grubu hariç diğer tüm gruplarda sıçan vücut ağırlıkları belirgin olarak azaldı. En yüksek kayıp NM+HBO grubunda oldu (49,3±6,9 g). NM+Evit grubunda (16,6±8,2 g) kayıp NM grubuna (27,4±6,2 g) göre daha azdı. NM+HBO+Evit grubu 20,1±10,1 g kayıp gösterdi.

Cilt lezyonları değerlendirildiği zaman gruplar arasında önemli tek farkın E vitamini alan grupta epidermal ülserasyon ve epidermal nekrozun diğer NM uygulanan gruplara göre daha az olmasıydı. İnflamasyon, hiperkeratoz ve subepidermal ayrılma açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu. Bunun sebebi tedavilere maruziyetten altı saat gibi uzun bir süre sonra başlanması olabilir. Bu geç başlangıca rağmen NM+Evit grubunda epidermal ülserasyon ve nekroz diğer gruplara göre anlamlı derecede azdı. Daha erken dönemde ve topikal olarak E vitamini uygulamasının koruyucu etkileri çalışılmalıdır.

HBO tedavisi, iyileşmeyen yaralarda doku parsiyel oksijen basıncını( $pO_2$ ) artırarak birçok faydalı etkiler gösterir. HBO vasküler endotelial büyüme faktörü sentezini artırır. Yaranın merkezi ile yaraya komşu doku arasındaki parsiyel oksijen basıncı farkı anjiogenezisi uyarır. Prokollajende prolin ve lizinin hidrokasilasyonu olgun kollajen oluşumu için kritik bir basamaktır. Prolil hidrokasilaz enzimi yüksek  $pO_2$ 'de daha fazla etkinlik göstermektedir.  $pO_2$  150 mmHg olduğunda enzim %90 maksimum hızda çalışır (76). Hücre bölünmesi de oksijen gerektiren bir süreçtir. Fibroblastlar ve damar endotel hücreleri en iyi 40 mmHg  $pO_2$  de çoğalırken, epidermal hücreler en iyi 700 mmHg  $pO_2$ 'de çoğalır. Ayrıca



lökositlerin öldürme yeteneklerini artırdıkları için yara üzerinde sekonder enfeksiyon gelişme riskini azaltır(14).

NM'a cilt maruziyeti sonrası 4-6 saat içinde epidermal ve dermal ödem, inflamatuvar hücrelerde birikme görülür. 24 saat sonra dermiste ve deri eklerinin etrafında aşırı miktarda PMNL birikimi olur. Aseptik bir inflamasyon söz konusudur. Bu inflamasyonu azaltacak tedavilerin faydalı olabileceği değerlendirilmiştir. Antiinflamatuvar ilaçlarla yapılan çalışmalardan olumlu sonuçlar alınmıştır.

Fare kulağı ödem modelinde sülfür mustard ile yapılan çalışmalarda antiinflamatuvar (indometazin, olvanil, hidrokortizon) ilaçların hem topikal hem de sistemik uygulamalarının subepidermal ayrılma ve epidermal ülserasyonu azalttığı gösterilmiştir(3,13)

NM cilt lezyonları tedavisinde sıkça çalışılan povidon iyotun antiinflamatuvar piroksikam ve klobetasol ile kombinasyonu tek başına povidon iyot uygulamasından daha iyi sonuçlar vermiştir(89).

HBO'nun antiinflamatuvar etkinliği vardır. Bu nedenle NM'a bağlı cilt lezyonları üzerinde olumlu etkiler göstereceği düşünülmüştü ancak HBO oksidatif stresi artırarak olumsuz etki göstermiştir. HBO'nun daha az oksidatif stres yapacağı düşük basınçlarda ve daha kısa sürelerde faydalı olup olmayacağı merak edilmektedir.

E vitamininin hem NM hem de HBO'nun oluşturduğu toksik etkilere karşı koruyucu etkinliği daha önceki yayınlarda bildirilmiştir(8,47,51,83)

Malign hücre kültürleri üzerinde yapılan çalışmalarda NM uygulamadan önce, birlikte yada daha sonra HBO uygulamasının sitotoksisiteyi artırdığı sonucu bulunmuştur(87). HBO tedavisinin NM'ın cilt maruziyeti üzerine etkisi daha önce hiç çalışılmamıştır.

Sonuç olarak NM birçok yolla hücreyi ölüme götürmektedir. Bu yolların başında antioksidan savunma sisteminin zayıflaması ile membranlarda lipid peroksidasyonunun artarak membran bütünlüğünün ve fonksiyonlarının bozulması gelir. E vitamini hücre içi antioksidan savunmayı desteklediği için NM'a bağlı toksik etkileri önleyerek hücrelerin yaşayabilirliğini artırmaktadır. NM'ın hücre içi antioksidan molekülleri tüketmesi sonrası hücre

HBO'nun toksik etkilerine daha hassas hale gelir. Bu nedenle NM maruziyeti sonrası akut dönemde HBO uygulaması sakıncalı olabilir. Antioksidan desteği ile hem NM'a bağlı toksik etkiler hem de HBO'ya bağlı toksik etkiler azaltılabilir. Çalışmamız NM, HBO ve antioksidan desteğini konu alan ilk çalışmadır. Bu konuda yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Sonraki alışmalarda NM dozu, HBO ve E vitamini dozu, tedaviye başlama zamanı gibi değişkenlerin etkilerinin araştırılmasının faydalı olacağı dūřunılmektedir.

## VI - ÖZET

Nitrojen mustard (NM) alkilleiyici bir ajandır. Kanser kemoterapisinde kullanılmaktadır. Kimyasal savaş ajanı olan sülfür mustardın kimyasal benzeridir. En sık maruziyet yolları cilt, göz ve akciğerdır. Bu çalışmanın amacı sıçanlarda cilt yoluyla NM uygulaması sonrası hiperbarik oksijenin (HBO) ve E vitamini etkinliğinin araştırılmasıdır. Sıçanlar 5 gruba ayrıldı. (A) Kontrol, (B) NM, (C) NM+HBO, (D) NM + E vitamini, (E) NM + HBO + E vitamini. Bu amaçla sıçanların vücut ağırlık kayıpları, cilt lezyonlarının histopatolojisi, akciğer lipid peroksidasyon düzeyi, ortalama sağkalım süreleri karşılaştırıldı.

Akciğer lipid peroksidasyon düzeyi akciğer dokusunda malondialdehit (MDA) ölçümü ile değerlendirildi. Grup B, C ve E'nin akciğer MDA düzeyleri Grup D ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). Grup C akciğer MDA düzeyleri Grup B'den anlamlı olarak yüksekti ( $p<0.05$ ). Grup D'nin akciğer MDA düzeyi kontrol grubuna göre yüksekti ama bu istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ).

NM uygulanan dört grubun (B,C,D,E) vücut ağırlık kayıpları kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti ( $p<0.01$ ). Gruplarda görülen vücut ağırlık kayıpları sırasıyla C>B>E>D>A şeklindedir. Grup B ve C arasındaki fark anlamlıydı ( $p<0.05$ ) Grup B ve C'nin vücut ağırlık kayıpları Grup D'ye göre anlamlı derecede yüksekti ( $p<0.05$ ).

Ortalama sağkalım süreleri karşılaştırıldığında sıralama Grup A>D>E>B>C şeklindedir. NM+HBO grubunda ortalama sağkalım süresinin anlamlı derecede kısaldığı gözlemlendi.

NM uygulanan gruplar arasında cilt histopatoloji açısından belirgin bir fark görülmedi. Grup D epidermal nekroz ve ülser açısından Grup B, C ve E'den daha iyiydi ( $p<0.05$ ).

NM uygulaması sonrası E vitamini faydalı etkileri daha öncede bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da E vitamini vücut ağırlık kaybını azaltarak, akciğer lipid peroksidasyonunu engelleyerek, ortalama sağkalım süresini uzatarak faydalı etkiler göstermiştir. Bu etkisi NM toksisitesine bağlı hücre içinde artan reaktif oksijen radikallerine karşı antioksidan etki göstermesine bağlanabilir.

HBO'nun akciğer, beyin, karaciğer ve diğer dokularda oksidatif strese neden olduğu bilinmektedir. NM maruziyetinin de hücre içi antioksidan savunma sistemlerini zayıflattığı bildirilmiştir. Bundan dolayı erken dönemde HBO uygulanmasının NM'a bağlı toksik etkileri oksidan stres yoluyla artırdığı düşünülmektedir. E vitamini eklendiğinde HBO'nun toksik etkileri azaltılabilmektedir.

Cilt yoluyla NM maruziyeti sonrası geç dönemde HBO'nun nasıl bir etki ortaya çıkaracağı bilinmemektedir. Antioksidan desteği ile birlikte HBO uygulanmasının NM'a bağlı cilt lezyonları üzerine olumlu etkiler gösterebileceğini düşünüyoruz. Bu konuda ileri çalışmalara gerek duyulmaktadır.

## VII - SUMMARY

Nitrogen mustard (NM) is an alkylating agent. It is used in cancer chemotherapy. However, its chemical composition is similar to that of sulfur mustard which is used as a chemical warfare agent. NM's main toxic effects are on skin, eyes and lungs. The aim of this present research is to analyse effectiveness of hyperbaric oxygen (HBO) and vitamin E over the rats exposed to NM percutaneously. We divided the rats in five groups: Group (A) is Control group, Group (B) is NM group, Group (C) is NM+HBO group, Group (D) is NM+Vitamin E group, and Group (E) is NM+HBO+Vitamin E group. We have compared body weight reduction, histopathology of skin burns, lipid peroxidation level in lungs, and survival of these five groups of rats.

The lipid peroxidation level in lungs was evaluated by measurement of malondialdehyde (MDA) levels in lung tissue. The MDA levels in Group B, C and E were significantly higher when compared with the Group D and the control group ( $p < 0.05$ ). Lung MDA levels of Group C are significantly higher than Group B ( $p < 0.05$ ). MDA level of Group D was higher than that of Group A but this was not statistically significant ( $p > 0.05$ ).

We find that the body weight reduction of the four groups exposed to NM (Group B,C,D,E) was significantly higher than the control group ( $p < 0.01$ ). In terms of body weight reduction of the groups followed this order: C>B>E>D>A. The difference between Group B and Group C was significant ( $p < 0.05$ ). The body weight loss of Group B and C were significantly higher than Group D ( $p < 0.05$ ).

With respect to mean survival time, the groups are lined as Group A>D>E>B>C. Mean survival time in the NM+HBO group was significantly shorter than other groups.

There was no significant difference as regards to skin histopathology between the Groups exposed to NM. However, Group D scored better than Groups B, C and E as regards to epidermal necrosis and ulceration ( $p < 0.05$ ).

The useful effects of vitamin E after exposition to NM is already being known. We also confirmed in this research that vitamin E has beneficial effects as it reduced the body weight reduction, blocked lipid peroxidation in lungs, and lengthened the mean survival time. This consequence can be explained by antioxidant effect of vitamin E against the reactive oxygen species increased in cells as a result of NM toxicity.

HBO causes oxidative stress over the lung, brain, kidney and other tissues. We have been informed that an exposition to NM also weakens antioxidant defence systems in cell. It has therefore been believed that exposition to HBO in early periods increases NM originated toxication through oxidative stress. However, toxic effects of HBO can be reduced by adding vitamin E.

On the other hand, we do not as yet know the effects of HBO in late period after skin exposition to NM. However, although we believe that HBO would have positive effects on skin burns when applied together with antioxidants. There is a need for further study on this subject.

## VIII – KAYNAKLAR

1. Allen, R.T., Cluck, M. W., Agrawal, D. K. : Mechanisms controlling cellular suicide: role of Bcl-2 and caspases. *Cell.Mol. Life Sci.*, 54: 427-445,1998
2. Axfort-Gately, R.A., Wilson, G.J. : Myocardial infarct size reduction by single high dose or repeated low dose vitamin E supplementation in rabbits. *Can. J. Cardiol.* 9:94-98, 1993.
3. Babin, M.C., Ricketts, K., Skvorak, J.P., Gazaway, M., Mitchelltree, L.W., Casillas, R.P.: Systemic administration of candidate antivesicants to protect against topically applied sulfur mustard in the mouse ear vesicant model (MEVM). *J Appl Toxicol.* 2000 Dec;20 Suppl 1:S141-4.
4. Bakker, D. J., Niinkoski, J. : Chronic Hyperbaric Oxygen Therapy Indications Final Report. 1<sup>st</sup> European Consensus Conference on Hyperbaric Medicine. Reports and Recommendations. Ed: Wattel F., Mathieu, D. 71-86, Lille (France),1994.
5. Bassett, B.E., Bennett, P.B. : Introduction To The Physical And Physiological Bases Of Hyperbaric Therapy.In. J.C.Davis&T.K. Hunt (Eds) *Hyperbaric Oxygen Therapy*. Undersea medical Society, Bethesda, 1977, p 11-24.
6. 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.* 2004 Apr; 37(4):312-7.
7. Bischoff, P.L., Holl, V., Coelho, D., Dufour, P., Weltin, D., Luu, B.: Apoptosis at the Interface of Immunosuppressive and Anticancer Activities. *Current Medicinal Chemistry*, vol 7,No:7,700-713,2000.
8. Bishovets, T.F., Saifetdinova, G.A., Okhrimenko, V.O., Kovalenko, V.M., Donchenko, G.I. : Gene protective effect of the short-chain derivative of Vitamin E under the action of alkylating compounds. *Tsitol Genet.* 2001 Jan-Feb;35(1):10-5.
9. Bismuth, C., Borron, S.W., Baud, F.J., Barriot, P. : Chemical weapons: documented use and compounds on the horizon *Toxicology Letters* 149 (2004) 11–18
10. Bitterman, H., Muth, C. : Hyperbaric oxygen in systemic inflammatory response. *Intensive Care Med* 30:1011–1013, 2004.
11. Calvet, J.H., Feumann, M., Llorente, L., Loison, F., Harf, A.,Marano, F.:Comparative Toxicity of Sulfur Mustard and Nitrogen Mustard on Tracheal Epithelial Cells In Primary Culture, *Toxicology In Vitro* 13 , 859-866,1999.
12. Carlson, S., Jones, J., Brown, M. et al :Prevention of hyperbaric-associated ear barotrauma, *Ann Emerg med* 21:1468-1471,1992.

13. Casillas, R.P., Kiser, R.C., Truxall, J.A., Singer, A.W., Shumaker, S.M., Niemuth, N.A., Ricketts, K.M., Mitchelltree, L.W., Castrejon, L.R., Blank, J.A. : Therapeutic approaches to dermatotoxicity by sulfur mustard. I. Modulation of sulfur mustard-induced cutaneous injury in the mouse ear vesicant model. *J Appl Toxicol.* 2000 Dec;20 Suppl 1:S145-51.
14. Cianci, P., Hunt, T.K. : Adjunctive Hyperbaric Oxygen Therapy In Treatment of Diabetic Foot Wounds In: *The Diabetic Foot*, Levin, M.D., Oneal, L.W., Bowker, J.H.(Eds), p 305-321, 1992.
15. Coghlan, J.G., Flitter X.D., Clutton, S.M., Ilsley, D.C., Rees, A., Salter T.F. : Lipid peroxidation and changes in vitamin E levels during coronary artery bypass grafting. *J. Thorax. Cardiovasc. Surg.* 106: 268-74, 1993.
16. Çimşit, M.: Hiperbarik Oksijenin Kullanım Alanları, Tıbbi Ekoloji ve Hidroklimatoloji Dergisi, Hiperbarik Oksijenasyon özel sayısı, Cilt:2, Sayı:1, 8-15, 1984.
17. Davis J.C., Heimbach, R.D., Dunn, J.M. :Hyperbaric medicine, patient selection, treatment procedures and side effects. In *Problem Wounds: The role of oxygen.* Davis J.C., Hunt, T.K. (Eds), Elsevier, New York, p 225-235, 1988.
18. Dorr, R.T., Soble, M., Alberts, D.S. : Efficacy of sodium thiosulfate as a local antidote to mechlorethamine skin toxicity in the mouse. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1988;22(4):299-302.
19. Dorr, R.T., Von Hoff, D.D. : *Cancer chemotherapy handbook*, 2nd ed. Norwalk: Appleton & Lange, 1994:657-63.
20. Eken, A. : Hiperbarik oksijen tedavisi, oksidatif stres ve genetik toksisite arasındaki ilişkinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, Ankara, 2003
21. Elsayed, N.M., Omaye, S.T. : Biochemical changes in mouse lung after subcutaneous injection of the sulfur mustard 2-chloroethyl 4-chlorobutyl sulfide. *Toxicology.* 2004 Jul 1;199(2-3):195-206.
22. Elsayed, N.M., Omaye, S.T., Klain, G.J., Inase, J.J., Dahlberg, E.T., Korte Jr., D.W.: Response of mouse brain to a single subcutaneous injection of the monofunctional sulfur mustard, butyl 2-chloroethyl sulfide (BCS). *Toxicology* 58, 11-20., 1989.
23. Etlik, O., Tomur, A., Dündar, K., Erdem, A., Gündogan, 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):269-77, 1997.
24. Fernandez, A., Kiefer, J., Fosdick, L., McConkey, D.J. : Oxygen radical production and thiol depletion are required for Ca<sup>2+</sup> mediated endogenous activation in apoptotic thymocytes. *J Immunol* 155: 5133-5139, 1995.
25. Fischer, D.S., Knobf, M.T., Durivage, H.J.(Eds). : *The cancer chemotherapy handbook*, 4th ed. St. Louis: CV Mosby 1993:p 142-3.

26. Gey, K.F., Brubacher, G.B., Stahelin, H.B. : Plasma levels of antioxidant vitamins in relation to ischemic heart disease and cancer. *Am. J. Clin. Nutr.* 45: 1368-77, 1987.
27. Gilman, A.G., Rall, T.W., Nies, A.S. (Eds) : *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8th ed. New York: Pergamon Press, 1990.
28. Giuliani, I., Baeza-Squiban, A., Marano, F. : Early Cytotoxic Effects of Mechlorethamine, a Nitrogen Mustard, on Mammalian Airway Epithelium *Toxicology in Vitro* 11 (1 997) 695-702.
29. Gordillo, G.M., Sen, C.K. : Revisiting the essential role of oxygen in wound healing *The Am J of Sur* (186), 259-263, 2003.
30. Grim, P.S., Gottlieb, L.J., Boddie, A., Batson, E.: *Hyperbaric Oxygen Therapy*. *JAMA*, 263:2216, 1990.
31. Gross, C. L., Meier, H. L., Papirmeister, B. Brinkley, F. B., and Johnson, J. B. : Sulphur mustard lowers nicotinamide adenine dinucleotide concentrations in human skin grafted to athymic nude mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 81, 85-90, 1985.
32. Gross, C.L., Innace, J.K., Hovatter, R.C. Meier, H.L., Smith, W.J. : Biochemical manipulation of Intracellular glutathione levels influences cytotoxicity to isolated human lymphocytes by sulphur mustard, *Cell Biol. Toxicol.* (9), 259-267, 1993.
33. Gunhan, O., Kurt, B., Karayilanoglu, T., Kenar, L., Celasun, B. : Morphological and immunohistochemical changes on rat skin exposed to nitrogen mustard. *Mil Med. Jan;169(1):7-10.* 2004.
34. Guskova, S.I.: Genetic Effects Of Hyperbaric Oxygen. *Mutat. Res.*, 24:341-347, 1990.
35. Hallivell, B. : Reactive oxygene species in living systems. *Am. J. Med.* 91 (3C): 14S-21S, 1991. Hennekens C.H. Health promotion and disease prevention: the role of antioxidant vitamins. *Am. J. Med.* 97(3A): 1S-28S, 1994.
36. Hammerlund, C.: The Physiological effects of Hyperbaric medicine. In: *Hyperbaric Medicine Practice*. Ed: Kindwall, E. P., Best Publishing Company. Arizona, 2-16, 1995.
37. Heimbach, R.D. : Gas Gangrene . In: *Hyperbaric Medicine Practice*. Ed: Kindwall, E. P., Best Publishing Company. Arizona, 373-395, 1995.
38. Holl, V., Coelho, D., Silbernagel, L., Keyser, J.F., Waltzinger, C., Dufour, P., Bischoff, P.L. : Prevention of Nitrogen Mustard-Induced Apoptosis in Normal and Transformed Lymphocytes by Ebseien, *Biochemical Pharmacology*, Vol. 60, pp. 1565-1577, 2000.
39. Holvoet, P. : Oxidized lipoproteins in atherosclerosis and thrombosis, *Faseb. J.* 8 (15): 1279-84, 1994.
40. Hunt, T. K., La Van, F. B. : Oxygen and Wound Healing. *Clinics in Plastic Surg.*, Vol 17, No. 3, July 1990.

41. Hunt, T.K. : The Physiology of Wound Healing ,Ann of Emerg. Med. ,1988;17;1265-1273)
42. Jain, K. K. : Oxygen in Phyiology and medicine, Thomas, Springfield, 1989
43. Jain, K. K., Physical, Physiological and Biochemical aspects of Hyperbaric oxygenation. In: Tetbook of Hyperbaric Medicine. (Eds) Jain, K. K., Neabauer, R., Correa, J. G. :Hogrefe and Huber Publ. Toronto, 2.Ed., 11-25, 1996.
44. Jain, K.K.: Contrindications and Complications of HBO. In: Textbook of Hyperbaric Medicine, (Eds) Jain, K. K., Neabauer, R., Correa, J. G. Hogrefe & Huber Publishers,Toronto,2.Ed., 99-107, 1996.
45. Jenkinson, S.G., Jordan, J.M., Lawrence, R.A. : BCNU-Induced Protection from Hyperbaric Hyperoxia: Role of Glutathione Metabolism. J. Appl. Physiol., 65(6):2531-6, 1988.
46. Kawamura, M., Sakakibara, K. : Effect of increased oxygen on peripheral circulation in acute, temporary limb hypoxia. T J Cardiovasc Surg (Torino). 1978 Mar-Apr;19(2):161-8.
47. Khan, S., Ramwani, J.J., O'Brien, P.J. : Hepatocyte toxicity of mechlorethamine and other alkylating anticancer drugs. Role of lipid peroxidation. Biochem Pharmacol. 1992 May 8;43(9):1963-7.
48. Kindwall, E. P.: A history of hyperbaric medicine. In: Hyperbaric Medicine Practice. Ed: Kindwall, E. P., Best Publishing Company. Arizona, 2-16, 1995.
49. Kindwall, E.P., Gottlieb, L.J., Larson, D.L.: Hyperbaric Oyggen Therapy in Plastic Surgery: A Rewiev Article. Plast. Reconst. Surg., 88(5):898-908, 1991.
50. Kisby, G.E., Springer, N., Spencer, P.S. : In Vitro Neurotoxic and DNA-damaging Properties of Nitrogen Mustard J. Appl. Toxicol. 20, S35-S41,2000.
51. Kovalenko, V.M., Byshovets, T.F., Hubskiy, L., Marchenko, O.M., Voloshyna, O.S., Saifetdinova, H.A., Okhrimenko, V.O., Donchenko, H.V. : Correcting influence of vitamin E short chain derivatives on lipid peroxidation, liver cell membrane, and chromatin structure when rats are exposed to embichin Ukr Biokhim Zh. 2000 Mar-Apr;72(2):56-60.
52. Kumar, O., Sugendran, K., Vijayaraghavan, R. : Protective effect of various antioxidants on the toxicity of sulphur mustard administered to mice by inhalation or percutaneous routes Chemico-Biological Interactions 134 (2001) 1-12.
53. Kumar, O., Vijayaraghavan, R. : Effect of sulphur mustard inhalation exposure on some urinary variables in mice, J. Appl. Toxicol. 18 (1998) 257-259.
54. Lau, C.C., Pardee, A.B. : Mechanism by which caffeine potentiates lethality of nitrogen mustard.Proc. Natl Acad. Sci. Vol. 79, pp. 2942-2946, 1982.
55. Lind, F. : Clinical Hyperbaric Medicine: An Introductory Review. EUBS Proceedings, Trendheim, 1993, 110-20.



56. Mader, J.T. : Hyperbaric Oxygen Therapy, A Committee Report. Undersea & Hyperbaric Medical Society, Bethesda, 1989.
57. Mazumder, P. K., Sugendran, K., and Vijayaraghavan, R. : Protective efficacy of calcium channel blockers in sulphur mustard poisoning. *Biomed. Environ. Sci.* 11, 363–369,1998.
58. Meier, H.L., Millard, C., Moser, J. : Poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors regulate the mechanism of sulfur mustard-initiated cell death in human lymphocytes. *J Appl Toxicol.* 2000 Dec;20 Suppl 1:S93-100.
59. 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.
60. Miccadei, S., Kyle, M. E., Gilford, D. and Faber, J. L. : Toxic consequence of the abrupt depletion of glutathione in cultured rat hepatocytes. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 265, 311-320, 1988.
61. Molenat, F., Boussuges, A., Grandfond, A., Rostain, J.C., Sainty, J.M., Robinet, C., Galland, F., Mellet, J.L. : Haemodynamic effects of hyperbaric hyperoxia in healthy volunteers: an echocardiographic and Doppler study. *Clin Sci (Lond).* 2004 Apr;106(4):389-95.
62. Moon, R.E., Gorman, D.F. : *Treatment of Decompression Disorders, The Physiology and Medicine of diving*, Bennett PB, Elliot DH(Eds.) London Saunders,4 Ed,1993, 506-541.
63. Murphy, D.G., Sloan, E.P., Hart, R.G. : Tension pneumothorax associated with hyperbaric oxygen therapy. *Am J Emerg Med* 9:176-179,1991.
64. Naghil, M.R. : Sulfur mustard intoxication, oxidative stress, and antioxidants. *Mil Med.* 2002 Jul;167(7):573-5.
65. Oriani, G. : Acute indications of HBO2 therapy: Final report. 1<sup>st</sup> European Consensus Conference on Hyperbaric Medicine. Reports and Recommendations. Ed: Wattel F., Mathieu D.: 45-55, Lille (France) 1994.
66. Öter Ş. : Hiperbarik Oksijen Uygulamalarının Sıçan Akciğerinde Oluşturduğu Oksidatif Stresin Belirlenmesi, Uzmanlık Tezi, Ankara, 1998.
67. Papirmeister, B., Gross, C. L., Meier, H. L., Petrali, J. P., Johnson J. B. : Molecular basis for mustard-induced vesication. *Fundamental and Applied Toxicology* 5, S134-149,1985.
68. Park, M. K., Muhvich, K. H., Myers, R. A., Marzella, R.: Effects of Hyperbaric oxygen in Infectious Diseases: Basic Mechanisms. :In *Hyperbaric Medicine Practice*, (Ed) Kindwal, E. P., Best Publishing Company, 141- 171, Arizona 1995.
69. Petrali, P.J., Oglesby-Megee, S. : Toxicity of mustard gas skin lesions, *Mic Res Tec* 37:221-228, 1997.

70. Rothfuss, A., Dennog, C., Speit, G. : Adaptive Protection Against the Induction of Oxidative DNA Damage After Hyperbaric Oxygen Treatment. *Carcinogenesis*, 19: 141-56, 1998.
71. Sawyer, T.W., Hamilton, M.G. : Effect of intracellular calcium modulation on sulfur mustard gas cytotoxicity in cultured human neonatal keratinocytes. *Toxicol In Vitro* 2000; 14:149-157
72. Sies, H., Stahl, W., Sundquist, A.R. : Antioxidant functions of vitamins. Vitamins E and C, Beta Carotene, and other carotenoids. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 7-19, 1993.
73. Smith, K.J., Graham, J.S., Moeller, R.B., Okerberg, C.V., Skelton, H., Hurst, C.G. : Histopathological features seen in sulphur mustard induced cutaneous lesions in hairless guinea pigs. *J Cutan Pathol*, 1995, 22:260-268.
74. Smith, K.J., Smith, W.J., Hamilton, T., Skelton, H.G., Graham, J.S., Okerberg, C., Moeller, R., Hackley, B.E. : Histopathological and immunohistochemical features in human skin after exposure to nitrogen and sulfur mustard." *Am J Dermatopathol* Vol 20(1) Feb 1998 :22-28.
75. Speit, G., Dennog, C., Radermacher, P., Rothfuss, A. : Genotoxicity of Hyperbaric Oxygen. *Mutat. Res.* 7691:1-9,2002.
76. Tandara, A.A., Mustoe, T.A., Oxygen in Wound Healing—More than a Nutrient *World J. Surg.* 28, 294–300, 2004.
77. Thom, S.R. : Carbon monoxid mediated brain lipid peroxidation in the rat. *J. Appl. Physiol.* 1990;68(3) :997-1003.
78. Thom, S.R. : Hyperbaric Oxygen Therapy: A committee Report, Bethesda, Undersea and Hyperbaric Medical Society, 1992.
79. Tompach, P.C., Lew, D., Stoll, J.L. : Cell response to hyperbaric oxygen treatment.. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1997 Apr;26(2):82-6.
80. Tomur, A., Etilik, O., Açikel, C., Gündoğan, N.Ü., Bilgiç, H. : Sıçan Epigastrik Ada Fleplerinde Hiperbarik Oksijen ve Antioksidan Vitamin Kombinasyonunun İskemi Reperfüzyon Hasarına Etkisi. *Türk Fizyolojik Bilimler Demeği - 23. Ulusal Kongresi , Bildiri Özetleri, Adana, 1997, 70-71.*
81. Topal, T., Oter, S., Korkmaz, A., Sadir, S., Metinyurt, G., Korkmazhan, E.T., Serdar, M.A., Bilgiç, H., Reiter, R.J. : Exogenously administered and endogenously produced melatonin reduce hyperbaric oxygen-induced oxidative stress in rat lung *Life Sciences* 75 (2004) 461–467.
82. Vijayaraghavan, R., Sugendran, K., Pant, S.C., Husain, K., Malhotra, R.C. : Dermal intoxication of mice with bis(2-chloroethyl) sulphide and the protective effect of flavonoids, *Toxicology* 69 (1991) 35–42.

83. Vojvodic, V., Milosavljevic, Z., Boskovic, B., Bojanic, N. : The protective effect of different drugs in rats poisoned by sulfur and nitrogen mustards. *Fundam Appl Toxicol.* 1985 Dec;5(6 Pt 2):S160-8.
84. 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):L308-12, 1990.
85. Wefers, H., Sies, H. : The protection by ascorbate and glutathione against microsomal lipid peroxidation is dependent on vitamin E. *Eur. J. Biochem.* 174: 353-7, 1988.
86. Weltin, D., Aupeix, K., Iltis, C., Cuillerot, J.M., Dufour, P., Marchal, J., Bischoff, P. : N-acetylcysteine protects lymphocytes from nitrogen mustard-induced apoptosis. *Biochem Pharmacol* 51: 1123–1129, 1996.
87. Wheeler, R.H., Dirks, J.W., Lunardi, I., Nemiroff, M.J. : Effect of hyperbaric oxygen on the cytotoxicity of adriamycin and nitrogen mustard in cultured Burkitt's lymphoma cells. *Cancer Res.* 1979 Feb;39(2 Pt 1):370-5.
88. Wormser, U., Brodsky, B., Green, B.S., Arad-Yellin, R., Nyska, A. : Protective effect of povidone-iodine ointment against skin lesions induced by sulphur and nitrogen mustards and by nonmustard vesicants. *Arch Toxicol* 71:165–170, 1997.
89. Wormser, U., Sintov, A., Brodsky, B., Casillas, R.P., Nyska, A. : Protective effect of topical iodine containing anti-inflammatory drugs against sulfur mustard-induced skin lesions. *Arch Toxicol.* 2004 Mar;78(3):156-66. Epub 2003 Nov 15.
90. Zarchi, K., Akbar, A., Naieni, K.H. : Long-term pulmonary complications in combatants exposed to mustard gas: a historical cohort study. *Int J Epidemiol.* 2004 Jun;33(3):579-81.