

## WPLYW PRZERW W HIPERBARYCZNEJ EKSPOZYCJI TLENOWEJ NA ROZWÓJ ZATRUCIA TLENOWEGO U SZCZURÓW

Bohdan Łokucijewski, Tadeusz Doboszyński

Z Katedry Medycyny Morskiej WAM – Gdynia

### STRESZCZENIE

Toksyczne działanie tlenu w hiperbarii zmusza do szukania środków zapobiegających lub opóźniających rozwój zatrucia. Jednym z takich środków może być zastosowanie ekspozycji przerywanej w której tlen zostaje na krótki okres czasu zastąpiony powietrzem. W celu wyjaśnienia zakresu skuteczności takiego postępowania przeprowadzono badania na 26 szczurach, które poddano nieprzerwanej ekspozycji tlenowej przy ciśnieniu 4 ata przez okres 4 godzin (grupa kontrolna) lub ekspozycji przerywanej wg schematu: 30 tlen – 15 powietrze w okresie 5 godz. 45. Badania przeprowadzono w doświadczalnej komorze hiperbarycznej, w której zwierzęta podlegały stałej obserwacji a skład mieszaniny gazowej był analizowany chromatograficznie. W grupie kontrolnej początkowo objawy zatrucia tlenowego stwierdzono po 2 godzinach, a po 4 godzinach 100% zwierząt uległo zatruciu. Badanie pośmiertne wykazało rozległe zmiany morfologiczne w płucach. W grupie z ekspozycją przerywaną pierwsze objawy zatrucia stwierdzono po 3 godzinach, a po 4 godzinach zostały stwierdzone tylko u 20% zwierząt, przy czym zmiany morfologiczne w ich płucach były niewielkie.

Zwiększenie tolerancji zwierząt na działanie tlenu zależało od doboru schematu przerw w ekspozycji tlenowej przy danym ciśnieniu, obniżającym jego toksyczne działanie działanie układowe (mózgowe lub płucne). Mechanizm ochronnego działania takich przerw nie został ostatecznie wyjaśniony i jest on dyskutowany w pracy. Ważną rolę może tu odegrać okresowe wypełnienie pęcherzyków płucnych azotem przywracające ich czynność wentylacyjną lub przerwa w działaniu tlenu mającym szkodliwy wpływ na prawidłowe napięcie powierzchniowe pęcherzyków płucnych.

+/. „Wpływ przerywanej ekspozycji w hiperbarii tlenu na śmiertelność szczurów”

Słowa kluczowe: ekspozycje przerywane, badania doświadczalne, model zwierzęcy, hiperbaria tlenowa.

### ARTICLE INFO

PolHypRes 2014 Vol. 48 Issue 3 pp. 93 – 100

ISSN: 1734-7009 eISSN: 2084-0535

DOI: [HTTP://DX.DOI.ORG/10.13006/PHR.48.8](http://dx.doi.org/10.13006/PHR.48.8)

Strony: 8, rysunki: 2, tabele: 1.

page **www of the periodical:** [www.phr.net.pl](http://www.phr.net.pl)

Typ artykułu: oryginalny

Zatwierdzono do druku w PolHyp Res.: 2.09.2014 r.

### Publisher

Polish Hyperbaric Medicine and Technology Society

## WSTĘP

W swojej działalności nurkowej, przemysłowej czy podczas terapii różnych schorzeń człowiek często styka się ze stężeniami tlenu wyższymi od normalnie spotykanych w otaczającej go atmosferze. Stężenia te działają toksycznie, mimo że tlen oddziaływanie bez nadciśnienia.

Tym silniejsze jest to działanie w miarę wzrostu ciśnienia otaczającego ustrój, kiedy procent zawartości tlenu w mieszaninie oddechowej ulegnie znacznemu podwyższeniu, a więc kiedy mamy do czynienia z hiperbarią tlenową.

Z warunkami takimi spotykamy się między innymi:

- W leczniczych ciśnieniowych komorach szpitalnych używanych do rutynowego leczenia zatruc CO, zakażeń beztlenowcami i z innych wskazań.
- Podczas nurkowań na mieszaninach helowo-tlenowych.
- Podczas nurkowań w aparatach o obiegu zamkniętym (na tlenie) lub pół-zamkniętych (na mieszaninach azotowo-tlenowych).
- Podczas dekompresji tlenowej.
- Podczas dekompresji leczniczej, kiedy to wg niektórych tabel stosuje się częściowe oddychanie tlenem już od 2,8 ata, czyli stacji 18-metrowej.

Dynamiczny rozwój techniki nurkowania zmierzający do szybkiego opanowania szelfu kontynentalnego, każe zwrócić baczną uwagę na podstawowy składnik każdej mieszaniny oddechowej, jakim jest tlen.

Toksyczne działanie tlenu w hiperbarii znane jest od dawna, ale do dziś nie ustalono z całą dokładnością przedziału bezpieczeństwa zarówno w odniesieniu do płuc, jak i centralnego układu nerwowego.

Ustalone nie tak dawno normy określające przedział  $pO_2$  równy 150-450 mm Hg [6,12] bezpieczne dla dłuższych czasów ekspozycji, szczególnie w odniesieniu do płuc. Część badaczy twierdzi, że nie ma progu toksyczności tlenu i każdy wzrost poza jego normalną zawartość w powietrzu atmosferycznym stanowi potencjalne zagrożenie [9].

Metody farmakologicznej profilaktyki zatrucia tlenowego okazały się mimo pozorów proste i niebezpieczne. Bardzo łatwo bowiem znieść objawy ostrego zatrucia tlenowego w postaci drgawkowej działaniem leków wywołujących blok nerwowo-mięśniowy (kurara) czy opóźnić wystąpienie uszkodzenia płuc podając związki adrenaliny (np. largaktyl) czy anestetyki (np. pentobarbital), eliminując w ten sposób komponentę nerwową w zespole tlenowego uszkodzenia płuc.

Istotą rzeczywistej jednak profilaktyki zatrucia tlenowego jest zapobieganie rozwojowi procesu zatrucia przebiegającego w c.u.n., a którego jedynym objawem, i to dość wczesnym jest zespół drgawkowy. I tu jak dotąd podawanie różnorodnych związków chemicznych – przynajmniej w dawkach nie powodujących znacznych objawów ubocznych – nie przynosi pożądanego efektu.

Jedynym skutecznym sposobem zapobiegania toksycznym wpływom tlenu na ustrój jest unikanie ekspozycji tlenowej i nieznany jest dotąd inny skuteczny sposób całkowitego uniknięcia zatrucia człowieka lub innego ssaka podczas ekspozycji na takie ciśnienie parcjalne tlenu, które mogą działać toksycznie zależnie od czasu.

Jedną z metod mogących rzeczywiście przedłużyć tzw. bezpieczny okres utajenia a tym samym zwiększyć tolerancję ustroju na działanie tlenu, jest przerywanie ekspozycji na wysokie ciśnienie (stężenie) tlenu okresem oddychania powietrzem lub mieszaniną o niskiej czy zbliżonej do atmosferycznej zawartości tlenu. Sposób ten był stosowany u ludzi i zwierząt przy różnych schematach doświadczeń tak przy ciśnieniu atmosferycznym [3,13], jak i w hiperbarii [6,10,11].

Udowodniono w cytowanych badaniach, że czas upływający do rozwoju objawów zatrucia tlenowego, czy też czas przeżycia można wielokrotnie przedłużyć przy umiędzynym wyborze schematu: ekspozycja tlenowa – przerwa. Schemat ten będzie prawdopodobnie różny dla płucnej i mózgowej postaci zatrucia tlenowego, a schemat optymalny tych zmian trzeba ustalić odrębnie dla różnych zależności „stężenie - czas”.

W niektórych krajach zasadę ekspozycji przerywanych wprowadza się do codziennej praktyki nurkowej. W Anglii wszystkie nurkowania tlenowe na głębokości powyżej 7,5 m okresowo przerywa się wracając na głębokość 3 metrów lub nawet na powierzchnię.

Brakuje jednak dokładnych informacji czy i jak można przedłużyć bezpieczny okres ekspozycji przy krytycznych już wartościach 4 ata. Kontynuując nasze prace nad zagadnieniem hiperbarii tlenowej [2,7] staraliśmy się sprawdzić jak wpływa wybrany przez nas schemat na rozwój zatrucia tlenowego u zwierząt doświadczalnych; szczurów.

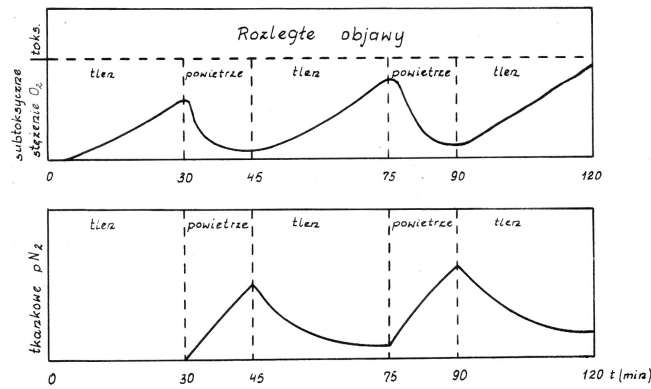
## MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 26 szczurach rasy Wistar, samcach o ciężarze około 200g, żywionych dietą standaryzowaną. 16 zwierząt stanowiło grupę kontrolną, 10 zwierząt grupę badaną.

Badania prowadzono w doświadczalnej komorze ciśnieniowej dla zwierząt o pojemności ok. 30 l, którą napełniano tlenem lub powietrzem wg schematu: 30 minut ekspozycji tlenowej – 15 minut ekspozycji powietrznej (rys.1) aż do łącznego czasu 4 godzin w grupie kontrolnej (stała ekspozycja tlenowa) i 5 godzin 45 minut w grupie z ekspozycją przerywaną.

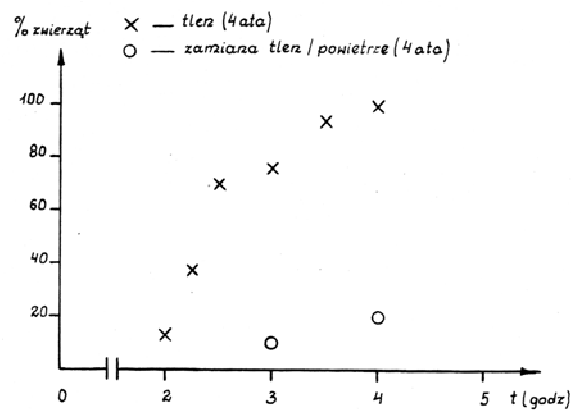
Podczas całego eksperymentu ciśnienie w komorze wynosiło 4 ata; zamiana gazów oddechowych odbywała się bez zmian ciśnienia i trwała zwykle około 2 minut. Po każdej zmianie składu gazów w komorze dokonywano ich analizy metodą chromatografii gazowej [1], jako gazu nośnego używając wodoru.

Zawartość tlenu w okresie ekspozycji tlenowej wynosiła  $90 \pm 3\%$ , w okresie ekspozycji powietrznej  $22 \pm 2\%$ . Pozostałość w głównej mierze stanowił azot. Dwutlenku węgla nie oznaczano, jednak stosowany przepływ gazu w komorze, wynoszący około 10l/min. pozwalał utrzymywać go na wystarczająco niskim poziomie (około 0,5%). Temperatura w komorze wynosiła 23-25°C.



Rys. 1. Schemat doświadczenia (wg Lambertsena w modyfikacji własnej).

Zwierzęta podczas ekspozycji podlegały stałej obserwacji. Notowano czas pojawienia się pierwszych objawów zatrucia tlenowego, ich obraz i natężenie. Rozwój objawów zatrucia u badanych zwierząt ilustruje rys. 2 oraz tab. I.



Rys. 2. Zależność „stężenie – czas” w rozwoju objawów zatrucia tlenowego u badanych zwierząt.

Tab. 1

Rozwój objawów chorobowych u zwierząt oddychających tlenem nieprzerwanie i przy zmianach tlen/powietrze.

Czas++/gaz oddech	2h	2h15,	2h30,	3h	3h30	4h+ /
Tlen	13%	38%	70%	76%	94%	100%
Tlen/powietrze	-	-	-	10%	10%	20%

+ / Doświadczenia nie przedłużano poza 4 godziny.

++/Dla grupy z ekspozycją przerywaną jako „czas” podano okres pobytu na tlenie po odliczeniu przerw powietrznych.

Po zakończeniu eksperymentu zwierzęta usuwano z komory i uśmiercano przez przerwanie rdzenia kręgowego na wysokości  $C_2$ , a następnie wykonywano sekcję i pobierano płuca w celu przeprowadzenia badań histopatologicznych (badania te wykonywał dr med. J. S. Meyer).

## WYNIKI

U zwierząt poddanych nieprzerwanej ekspozycji na hiperbarię tlenową 4 ata pierwsze objawy zatrucia stwierdzono po 2 godzinach, co obserwowano także w badaniach innych autorów [4, 10], a także wcześniejszych badaniach własnych [2]. Objawy te polegały na zmianach w zachowaniu się zwierząt, niepokoju, wreszcie drgawkach, stopniowo nasilających się i obejmujących początkowo kończyny tylne a później tułów i kończyny górne.

W miarę upływu czasu trwania ekspozycji drgawki okresowo ustępowały, jednak ogólny stan zwierząt pogarszał się. Leżały one na boku ciężko dysząc i nie reagowały na bodźce zewnętrzne. W eksperymencie z ciągłą ekspozycją tlenową stan taki dotyczył 100% badanych zwierząt.

W płucach tych zwierząt stwierdzono rozległe zmiany morfologiczne polegające na powstaniu dużych ognisk niedodmy, przekrwień, ognisk obrzęku w pęcherzykach i przegrodach pęcherzykowych oraz wylewów krwawych, zwłaszcza w strefie brzeżnej płatów.

W eksperymencie przerywanym wg schematu: tlen – powietrze, pierwsze zmiany drgawkowe zaobserwowano dopiero po 3 godzinach i dotyczyły one jednego zwierzęcia.

Po 4 godzinach podobne drgawki spostrzeżono u drugiego szczura a stan obu zwierząt w tym okresie był zbliżony do stanu charakteryzującego wszystkie zwierzęta z grupy kontrolnej. Zwierzęta pozostałe po tym okresie zachowywały się aktywnie, reagowały na bodźce płynące z otoczenia i nie obserwowano u nich objawów podobnych do grupy kontrolnej.

Badanie morfologiczne płuc zwierząt tej grupy wykazało niewielkie wynacznienia do światła pęcherzyków bądź przegród pęcherzykowych i nieco płynu obrzękowego w świetle pęcherzyków.

W płucach pozostałych zwierząt tej grupy stwierdzono dobre opowietrzenie płuc, wąskie przegrody międzypęcherzykowe i średnie ukrwienie miąższu. Szczegółowa analiza morfologiczna zwierząt tej grupy stała się tematem odrębnego odniesienia [8].

## DYSKUSJA

Zwiększenie tolerancji zwierząt na hiperbarię tlenową na drodze stosowania ekspozycji przerywanej zależy od właściwego doboru czasu ekspozycji tlenowej i czasu przerwy przy danym ciśnieniu tlenu. Stosowany w obecnej pracy schemat doświadczenia pozwolił na opóźnienie wystąpienia objawów zatrucia tlenowego, znaczne ich złagodzenie i przede wszystkim ograniczył zatrucie tlenowe do 20% badanych zwierząt wobec 100% badanych w grupie kontrolnej przy takim samym ciśnieniu tlenu (patrz tab. I.).

Przyjęcie pewnego schematu ekspozycji i przerw zależy w głównej mierze od stosowanych warunków hiperbarii tlenowej. Wiadomo, że u zwierząt laboratoryjnych tlenowe uszkodzenie płuc (efekt Lorrain Smitha) dominuje w obrazie klinicznym przy niższych ciśnieniach tlenu (najczęściej poniżej 3 ata), natomiast ośrodkowa postać zatrucia tlenowego (efekt Paul Berta) przeważa podczas ekspozycji krótkotrwałych powyżej 4 ata pO<sub>2</sub> [4, 5, 6, 9, 10, 11].

Powyższy podział nie stanowi jednak sztywnego schematu i w granicznych przedziałach ciśnienia tlenu mogą współistnieć różne postaci układowego zatrucia tlenem, a przewaga jednej z nich może zależeć od czynników współistniejących (wysięk fizyczny, temperatura). Odnosi się to zarówno do zwierząt jak i do ludzi, gdyż wg Morgana [9] wprawdzie brakuje wystarczających porównań ale wydaje się, że wahania we wrażliwości gatunkowej ssaków nie są większe niż wahania osobnicze.

Przyjęliśmy ciśnienie 4 ata tlenu ze względu na to, że leży ono blisko linii podziału tych dwóch odmiennych skutków zatrucia tlenowego, licząc na szkodliwy pod każdym względem wpływ tak wysokiego pO<sub>2</sub>.

Podobne ciśnienie stanowi też górną granicę przyjmowaną w medycynie hiperbarycznej, a niewiele niższe ciśnienia stosowane są w praktyce nurkowej podczas dekompresji. Uważa się, że zmiany morfologiczne w płucach szczurów pojawiają się równie wcześnie jak zmiany czynnościowe u ludzi, przynajmniej w zakresie niższych ciśnień parcjalnych tlenu, a zmiany subiektywne zaobserwowano u ludzi już po 3 godzinach pO<sub>2</sub> równego 2 ata.

Wszystko to skłania do poszukiwań sposobów przedłużenia nieszkodliwej ekspozycji na podwyższone ciśnienie tlenu, choć dalecy jesteście od zrozumienia obserwowanych zjawisk.

Przyjęty schemat eksperymentu: 30 minut tlenu – 15 minut powietrze jest zbliżony do schematu Lambertsena [6]: 30 minut tlen – 10 minut 7% O<sub>2</sub> + azot przy 3 ata oraz schematu Penroda [10]: 30 minut tlen – 10 (lub 5) minut powietrze przy 3 atn. Zdaniem Lambertsena polepszenia wyników można oczekiwać już od 10 minut przerwy po ekspozycji 30-minutowej.

Przerwa 15-minutowa przyjęta przez nas miałaby dawać jeszcze lepsze wyniki, co obecne badania raczej potwierdziły przy uwzględnieniu różnic w kryteriach oceny. Wydaje się, że po uwzględnieniu różnych stosowanych schematów [4, 6, 10, 13] można przyjąć uogólnienie, że stosowanie przerw trwających od 30% czasu poprzedzającej ekspozycji tlenowej daje znaczne zwiększenie tolerancji ustroju na hiperbarię tlenową. Obniżenie stężenia tlenu (np. do 7%) w okresie takich przerw wydaje się jeszcze potęgować ten efekt [6].

Odrębnego omówienia wymaga przypuszczalny mechanizm ochronnego działania stosowanych przerw. Stosunkowo długi okres utajenia zatrucia przy umiarkowanej hiperbarii tlenowej, oraz szybki powrót do normy przy obniżeniu pO<sub>2</sub> został wielokrotnie sprawdzony tak w praktyce nurkowej, jak i klinicznej.

Stosowanie przerw w ekspozycji tlenowej miałyby uniemożliwić rozwinięcie się objawów klinicznych zatrucia, gdyż nie zostałaby przekroczona bariera toksyczności wyznaczona przez zależność „stężenie-czas” a ogólny czas ekspozycji uległby znacznemu przedłużeniu (rys.1). Że taka szybka remisja nawet po objawowym zatruciu tlenowym następuje dowodzą wyniki badań u zwierząt cytowane przez Morgana [9].

Zdaniem Penroda [11] duża rola w ochronnym działaniu przerw powietrznych przypada azotowi, który ponownie wypełnia zapadnięte niedodmowo pęcherzyki płucne i na jakiś czas przywraca ich czynność wentylacyjną.

Pogląd ten został zakwestionowany przez Dickersona [13], który uważał, że w obrazie płucnego zatrucia O<sub>2</sub> przeważa nie niedodma obturacyjna, ale uciskowa w wyniku pręśnięcia opłucnowego, co zmniejszałoby ochronną rolę azotu.

Znaczenie azotu w okresie przerw w ekspozycji tlenowej zakwestionował też Wright [13], który poddawał zwierzęta w okresie przerw działaniu czystego tlenu przy ciśnieniu 200 mm Hg powietrza i nie zauważył różnicy w przeżyciu zwierząt.

Wyciągnął z tego wniosek, że sam fakt istnienia okresu z niskim ciśnieniem parcjaldnym tlenu może *per se* działać korzystnie, niezależnie od obecności lub braku azotu. Wydaje się jednak, że wyników tych badań wykonanych w warunkach ciśnienia atmosferycznego nie można przenosić do warunków istniejących w hiperbarii tlenowej.

Zespół Lorraina i Smith`a może być także wynikiem niekorzystnego oddziaływania tlenu w hiperbarii na czynnik utrzymujący prawidłowe napięcie powierzchniowe pęcherzyków płucnych (surfactant).

Czynnik ten będący związkiem tłuszczowo-białkowym wyścięła pęcherzyki płucne w normalnych warunkach i obniża ich napięcie powierzchniowe zapobiegając zapadaniu się przy zmniejszeniu objętości. Obecność azotu obniżającego okresowo stężenie tlenu zawartego w pęcherzykach może wywierać więc korzystne, przeciw-niedodmowe działanie.

Rolę tę może podkreślać fakt, że w obserwowanym przez nas obrazie klinicznym zatrucia tlenowego przeważały objawy niedomogi wentylacyjnej, co także stwierdzał Penrod [11]. Okresowe ekspozycje powietrzne mogły więc zapobiegać postępującemu uszkodzeniu płuc nie tylko dzięki obniżeniu pO<sub>2</sub>, ale także dzięki obecności azotu.

## WNIOSKI

- Stosowanie 15 minutowych przerw powietrznych po 30-min. ekspozycji tlenowej przy 4 ata pozwala opóźnić wystąpienie objawów zatrucia tlenowego i znacznie zmniejszyć zapadalność zwierząt. Zmiany morfologiczne płuc u zwierząt poddanych przerwom w ekspozycji tlenowej są znacznie słabiej wyrażone niż u zwierząt eksponowanych na tlen nieprzerwanie.

## BIBLIOGRAFIA

1. Burchfield H.P., Sorrs E.E. – Biochemical applications of gas chromatography – Academic Press, New York, 1962
2. Doboszyński T, Łokucijewski B. Eksperimentalnoje issledowanije wlijanija vysokogo dawlenija kistoroda. ... Biul.Inst.Med.Mor.V.17,311-20,1966
3. Hiatt E., Wright R., Alden J., Weiss H. – The effect of short periods of air breathing on oxygen toxicity in mice – Physiologist, V.7, 159, 1964.
4. Lambertsen C.J.- Effects of oxygen of high partial pressure Handb.Physiology, sect.3 V.2, 1027-46, Washington 1965.
5. Lambertsen C.J.- Oxygen toxicity – Fund.Hyperberic Med., Washington 1966.
6. Lambertsen C.J.- Limites et progress de l'activite humaine aux profondeurs de la mer – Triangle, V.8, 167-77, 1968.
7. Meyer J.S., Doboszyński T., Lokucijewski B. – Morfologia płuc szczura w doświadczalnej hiperbarii tlenowej. Biul.WAM, V.9,109-16, 1966.
8. Meyer J.S., Doboszyński T., Lokucijewski B. – Morfologia płuc szczura w przerywanej hiperbarii tlenowej. (w przygotowaniu)
9. Morgan A.P.- The pulmonary toxicity of oxygen – Anesthesiology, V.29,570-9,1968.
10. Penrod K.E. – Nature of pulmonary damage produced by high oxygen pressures – J.Appl.Physiol.V.9,1-4,1956.
11. Penrod K.E. – Effect of intermitten nitrogen exposures of tolerance to oxygen at high pressures – Am.J.Physiol.V.186,149-51,1956.
12. Welch B.E., Morgan T.E., Clamann H.G. – Time – concentration effects in relation to oxygen toxicity in man – Fed.Proc.v.22,1053-6,1963.
13. Wright R.A., Weiss H.S., Hiatt E.P., Rustagi J.S.- Risk of mortality in interrupted exposure to 100% O<sub>2</sub>; role of air vs. lowered PO<sub>2</sub>- Am.J.Physiol.v.216,1015-20,1966.