



T.C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ACİL TIP ANABİLİM DALI

**DENEYSEL OLARAK KLOR GAZI İNHALE
ETTİRİLEN RATLARDA N-ASETİL SİSTEİN'İN
TEDAVİ ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr Okhan AKDUR

171982

KAYSERİ -2005



T.C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ACİL TIP ANABİLİM DALI

**DENEYSEL OLARAK KLOR GAZI İNHALE
ETTİRİLEN RATLARDA N-ASETİL SİSTEİN'İN
TEDAVİ ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Erdoğan M. Sözüer

Dr Okhan AKDUR

KAYSERİ -2005

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR.....	III
TABLolar.....	IV
ŞEKİL VE RESİMLER.....	V
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
TOKSİK GAZ İNHALASYONLARI.....	3
KLOR GAZI ZEHİRLENMESİ.....	4
Sıklık	4
Klor gazının kaynakları.....	5
Klor gazı zehirlenmesinde fizyopatoloji.....	6
Klor gazı zehirlenmesinde klinik bulgular.....	9
Klor gazı zehirlenmesi sonrasında görülen fizik muayene bulguları...10	
Klor gazı zehirlenmesinin ayırıcı tanısı.....	10
Klor gazı zehirlenmesinde laboratuvar çalışmaları.....	10
Arteriyel kan gazı analizi.....	10
Görüntüleme yöntemleri.....	10
Diğer testler.....	11
Klor gazı zehirlenmesinde tanı.....	11
Klor gazı zehirlenmesinde tedavi	12
Hastane öncesi tedavi.....	12
Acil serviste tedavi.....	12
Dekontaminasyon	12
O ₂ tedavisi	12
Bronkospazm tedavisi	12
Laringospazm ve solunum yetmezliği tedavisi.....	13
Sodyum bikarbonat ve steroidler	13
Klor gazı zehirlenmesinde hasta takibi.....	15
Klor gazı zehirlenmesini önlemek.....	15
N ASETİL SİSTEİN.....	15

MATERYAL VE METOD	17
Hayvanların hazırlanması.....	17
Klor gazı üretimi ve verilme protokolü.....	18
N asetil sistein ve serum fizyolojik verilmesi.....	20
Kan gazı analizi	20
Histopatolojik analiz.....	20
Akciğer dokusunda glutatyon düzeyinin analizi.....	22
İstatistiksel analiz.....	22
BULGULAR.....	23
Kan gazı ph değerlendirmesi.....	23
Akciğer dokusundaki glutatyon düzeyinin değerlendirilmesi.....	23
Histopatolojik değerlendirme.....	25
TARTIŞMA.....	29
SONUÇLAR.....	38
ÖZET.....	39
ABSTRACT.....	41
KAYNAKLAR.....	43

KISALTMALAR

AAPCC	:Amerikan zehirlenme kontrolü merkezleri birliği
Cl₂	:Klor
DEKAM	:Deneysel ve klinik araştırma merkezi
GSH	:Glutasyon
HCl	:Hidroklorik asit
HOCl	:Hipokloroz asit
H₂O	:Su
IG	:İntragastik
IV	:İntravenöz
NAC	:N-asetil sistein
NaHCO₃	:Sodyum bikarbonat
{O}	:Serbest oksijen radikali
O₂	:Oksijen
PEEP	:Ekspiryum sonu pozitif basınç
ppm	:parts per million
SF	:Serum fizyolojik

TABLO LİSTESİ

Tablo1: AAPCC tarafından 1994 yılında bildirilen klor gazı zehirlenmesi olguları	5
Tablo2: Cl ₂ gazının su (H ₂ O) ile reaksiyonu, ve sonrasında oluşan, HOCl'in reaksiyonları(1,8).....	7
Tablo3: Akciğer dokusundaki hasarın şiddetinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi.....	21
Tablo4: Beyin dokusundaki hasarın şiddetinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi.	21
Tablo5: Kalp dokusundaki hasarın şiddetinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi	21
Tablo 6: Grupların kan gazı ph ve GSH değerlerinin karşılaştırılması.....	24
Tablo7: Grupların histopatolojik değerlendirmelerinin karşılaştırılması.....	26

ŞEKİL VE RESİM LİSTESİ

Şekil 1; Cl ₂ gazı zehirlenmesi sonrasında triaj kılavuzu	14
Şekil 2: N-Asetil-L-sistein'in kimyasal yapısı.....	16
Şekil 3: Cl ₂ gazının elde edildiği düzenek	18
Şekil 4: Anestezi odacığı içerisinde ratlara Cl ₂ gazının uygulanması ve Cl ₂ gazı ölçüm dedektörü.....	19
Şekil 5: Cl ₂ gazı inhalasyonu sonrasında rat akciğer dokusunda bronşiollerde belirgin genişleme, epitelde deskuamasyon, yer yer eozinofil infiltrasyonu, alveollerde konjesyon	27
Şekil 6: Cl ₂ gazı inhalasyonu sonrasında rat beyin dokusunda yer yer nekrotik hücreler	27
Şekil 7: Cl ₂ gazı inhalasyonu sonrasında rat kalp dokusunda disorganizasyon.....	28

GİRİŞ VE AMAÇ

Klor (Cl_2) gazı inhalasyonu sonucu meydana gelen Cl_2 gazı zehirlenmeleri; acil servislerde sık olarak karşılaşılan zehirlenmelerdendir(1, 2).

Cl_2 gazı endüstride kullanılan okside edici bir ajandır(1). Bu nedenle iş kazası şeklindeki Cl_2 gazı zehirlenmeleri sık olarak gözlenmektedir(1,3). Fakat Cl_2 gazı zehirlenmelerinin en sık nedeni; temizlik maddelerinin uygun olmayan şekilde karıştırılmalarıdır(1,4).

Cl_2 gazı zehirlenmesi; mukoza irritasyonundan, bronkospazm, pnömomediastinum ve akciğer ödeme kadar gidebilen klinik etkilere yol açabilmektedir(1). Cl_2 gazının bu etkilerinden, inhalasyon sonrasında akciğer dokusunda oluşan hidroklorik asit (HCl), hipokloroz asit (HOCl), ve serbest oksijen radikali ($\{O\}$) sorumlu tutulmaktadır(1).

Cl_2 gazı zehirlenmesinin tedavisinde O_2 , β_2 - agonistler, nebulize sodyum bikarbonat ($NaHCO_3$) ve steroid kullanılmıştır (5,6,7). Ancak bu tip zehirlenmede patolojik etkiden sorumlu tutulan $\{O\}$ yönelik bir tedavi denenmemiştir

Amerikan zehirlenme kontrolü merkezleri birliğine ait (AAPCC) ulusal bilgi toplama sisteminde 5 yıllık(1988-1992) süreyle toplanan bilgilere göre, 27788 Cl_2 gazı zehirlenme olgusu bildirilmiştir (8).

Glutatyon (GSH), hücreleri oksidan maddelerin zararlı etkilerine karşı koruyan önemli bir ajandır(9-18). N-asetil sistein (NAC) de GSH sentezini artırır(12,13,14,18). $\{O\}$ 'nin rol oynadığı hastalıklarda yararlı etkileri gösterilen NAC, en yaygın olarak kullanılan antioksidanlar arasında yer alır(9,12,13).

NAC ın bir metaboliti olan taurin amino asitinin, {O⁻} ne bağlı olarak oluşan akciğer yaralanmalarında in vivo h¼cre koruyucu etkinliğe sahip olduğu g¼sterilmiřtir(10,11).

NAC ın, deneysel astım, ve çoklu organ yetmezliği modellerinde antiinflamatuvar ve antihiperreaktivite ¼zellikleri olduğuda g¼sterilmiřtir (9,13,15,17).

Bu alışmamızda, Cl₂ gazı inhalasyonuna bağlı olarak gelişen zehirlenmelerde, oluşan hasarın azaltılması veya ¼nlenmesi için etkin bir tedavi y¼nteminin gerekli olduğunu d¼ř¼nd¼k. NAC' ın, doku hasarına yol açan fizyopatolojik olayları azalttığı g¼sterilmiřtir(9,12,14-18). Aynı zamanda; ucuz olması, kolay bulunması ve hali hazırda çeşitli klinik endikasyonlar için yaygın olarak kullanılmasından dolayı, NAC'ın Cl₂ gazı inhalasyonundaki etkisini deneysel olarak incelemeyi amaçladık.



GENEL BİLGİLER

TOKSİK GAZ İNHALASYONLARI

Acil servislerde toksikolojik ajanlara maruz kalmış hastalarla çok sık olarak karşılaşılır(19). Toksikolojik gazlarda, sık görülen toksik ajanlar arasındadır.

Bu gazlar;

1. Basit asfiktanlar
2. Kimyasal asfiktanlar
3. Pulmoner iritanlar olarak sınıflandırılır(2,19)

1. Basit asfiktanlar

Basit asfiktan gazlar, solunan oksijen (O_2) ile yer değiştirerek hipoksemiye neden olurlar. Karbondioksit, metan, helyum, nitrojen, bu sınıf gazlardandır. Klinik düzelme için öncelikle hastanın ortamdaki hızla uzaklaştırılması ve O_2 uygulanması gerekir (19).

2. Kimyasal asfiktanlar

Kimyasal asfiktanlar, mitokondride aerobik metabolizmayı inhibe ederek veya hemoglobinin O_2 taşıma yeteneğini engelleyerek doku oksijenizasyonunu bozarlar. Bu grupta yer alan gazlar karbonmonoksit, siyanit, hidrojen sülfid ve karbon disülfittir(19).

3. İritan gazlar

Suda çözünürlük derecelerine göre sınıflandırılırlar. Suda yüksek çözünürlüğe sahip olanları, daha üst hava yolları sekresyonlarında hızla çözünerek bu

bölgelerde toksisiteye yol açarken, daha az çözünenler üst bölgeleri geçer ve daha alt bölgelerde hasara neden olurlar(19).

Acil servis gözlem ünitelerinde en sık olarak kabul edilen ve takipleri yapılan iki gaz maruziyeti vardır. Bunlar: karbonmonoksit ve Cl₂ gazıdır(19).

Cl₂ GAZI ZEHİRLENMESİ

Sıklık

Amerika birleşik devletlerin'de tek, irritan inhalasyon zehirlenmelerinin en sık görüleni Cl₂ gazı zehirlenmeleridir(8). 1983 yılında yaklaşık olarak 191.000 çalışanın Cl₂ gazı zehirlenme riski taşıdıkları bildirilmiştir(8). Cl₂ gazı popülasyonun yoğun olduğu alanlarda kullanıldığından özellikle kazalarda zehirlenme riski yüksek olabilmektedir(5).

Akut mortalite seyrek olarak bildirilmiştir(20). Yapılan derlemelerde morbiditeyle seyreden bireysel maruziyetlerin sayısının çok fazla olduğu gösterilmiştir(20).

Bin dokuz yüz doksan dört yılında AAPCC zehirlenme raporunun özetinde de Cl₂ gazı içeren zehirlenmelerin sayısı 8913 olarak rapor edilmiştir(20). Bu sayı rapor edilen farmakolojik olmayan ajanlarla meydana gelen tüm zehirlenmelerin %2' sini oluşturmuştur(20).

AAPCC ulusal bilgi toplama sisteminden 5 yıl süreyle(1988-1992) toplanan bilgilerde 27.788 Cl₂ gazı zehirlenme olgusu bildirilmiştir(8). Bu sonuçlardan 21.437 olgu kategorize edilebilmiş, 40 olguda şiddetli (hayatı tehdit eden), 2091 olguda orta (tedavi gerektiren sistemik etkilenme mevcut), 17.024 olguda da hafif (minimal bulgu ve semptomlar mevcut) düzeyde etkilenme görülürken, 2099 olguda hiçbir etki izlenmemiştir. Üç Olguda da ölüm görülmüştür(8).(Tablo 1)

AAPCC raporunda ki bu bilgilerin, klinik deneyimlerden farklı olduğu belirtilmiştir; bu farklılık Cl₂ gazı zehirlenmelerinin en sık ev temizlik ajanlarının uygunsuz karışımı sonucu ortaya çıktığı yönündedir(20).

Tablo1: AAPCC tarafından 1994 yılında bildirilen klor gazı zehirlenmesi olguları (20).

Sonuçlar						
Maddeler	Maruziyet	Etkilenme yok	Hafif	Orta	Şiddetli	Ölüm
Asid-hipoklorit karışımı	749	34	378	130	1	0
Klor:diğer	5312	254	2581	783	18	2
Kloramin	2852	92	1442	382	3	0

Cl₂ gazının kaynakları

Cl₂ gazının, geniş bir kullanım alanı mevcuttur(2). Toplumda, endüstride, evlerde, ve savaş ortamlarında Cl₂ gazı ile karşılaşılabilir(2). Bin yedi yüz yetmiş yılında ilk olarak temizlik ajanlarında kullanılmıştır(20). Cl₂ gazı, savaş gazı olarak 1915 yılında (1. dünya savaşında) Fransa da, ilk kimyasal savaş ajanı olarak kullanılmıştır(1,20). Bin dokuz yüz seksen sekiz yılında Amerika birleşik devletlerinde 12 milyon tondan fazla üretimi yapılmıştır(20).

Klorlama işlemi yüzme havuzlarının ve halkın kullanım suyunun dezenfeksiyonu için en sık kullanılan yöntemdir(21) Akut Cl₂ gazı zehirlenmesi yüzme havuzlarının ve içme suyu sistemlerinin direkt klorlanması için basınçlı Cl₂ gazı kullanıldığı durumlarda görülebilir(1)

Hipoklorit içeren ev temizlik maddeleri ile asit içerikli (Fosforik, hidroklorik, Sülfirik asit) temizlik maddelerinin uygun olmayan karışımları, okullarda kimya deneyleri, endüstriyel ve kimyasal kazalar Cl₂ gazı zehirlenmelerinin kaynaklarını oluşturur(1,2,20,22)

Cl₂ gazı, hala kağıt yapımı, fiberoptik kablo yapımı, zirai ve plastik ürün endüstrisinde kullanılmaktadır(20,3).

Cl₂ gazı sıkıştırılıp sıvı halde araç ve gemi tanklarında taşınabilir (20). Bu yüzden depolama ve taşıma sırasında meydana gelebilecek kazalar, Cl₂ gazı zehirlenmeleri için potansiyel risk taşımaktadır(20).

Cl₂ gazı yüzme havuzlarını klorlamak için kullanılan klor tabletleri tarafından da üretilir(2,20). Cl₂ ile dezenfeksiyon işleminin yanlış yapılması veya su dezenfeksiyon sistemlerindeki kaçaıklardan ortaya çıkan Cl₂ gazının yüksek düzeyleri, özellikle kapalı mekanlarda akut zehirlenmelere yol açar(21,22).

Cl₂ gazı zehirlenmesinde fizyopatoloji

Cl₂ 35.45 atom ağırlığına sahip olan halojen bir elementtir(20). Standart ısı ve basınçta gazdır. Yirmi °C de ki buhar basıncı 4800 mmHg ve rölatif olarak havadan 2,5 kat daha ağırdır(20). Cl₂ gazı, suda orta seviyede çözünür, sarı-yeşil renklidir ve mukoz membranlar için iritan bir gazdır(1,4,8). Oda ısısında ve atmosferik basınçta yanıcı değildir(8).

Cl₂ gazı maruziyetinin etkileri, orta derecede çözünürlüğünden dolayı üst solunum yolları ile alt solunum yollarında görülür(8). Solunum yolları, ağız, göz gibi mukoz membranların ıslak yüzeyleri ile Cl₂ gazının temas etmesi alt ve üst solunum yolları semptomlarının gelişimine yol açar(20). Orta derecede çözünürlüğünden dolayı üst solunum yollarındaki semptomlar birkaç dakika içinde ortaya çıkmayabilir ve buda Cl₂ gazına maruziyetin süresini uzatabilir(8). Diğer taraftan alt solunum yollarına ait semptomlar, suda çözünürlüğü az olan gazlara göre daha az görülür(20). Bununla birlikte yüksek konsantrasyonlu ortamlarda alt solunum yollarında ciddi hasarlar görülür (20).

Cl₂ gazının havadan ağır olması zemine yakın birikimine, dolayısı ile maruziyet süresinin uzamasına neden olur (20)

Cl₂ gazı için koku eşiği yaklaşık olarak 0,3-0,5 part per million (ppm) dir; bununla birlikte, iritatif semptomlar gelişinceye kadar, ortamda ki Cl₂ gazının izin verilebilir düzeyleri ile, toksik düzeyleri arasında ki ayrımı yapabilmek güç olabilir(8).

Cl₂ gazı inhale edildiğinde akciğer sıvısı içerisinde çözünür, HCl ve hipokloroz asit oluşumuna yol açar. HOCl de hızla HCl ve {O⁻}ne yıkılır(1,8). Biyolojik olarak hasara neden olabilir(8). Çiftleştirilemeyen bu {O⁻}ler akciğerde oluşan hasara katkıda bulunurlar(1).

Hücresel hasarın, HOCl ve HCl nin dokudaki su ile reaksiyonu ve {O⁻} oluşumuna bağlı olarak, hücre komponentlerindeki işlevsel grupların oksidasyonu sonucunda meydana geldiğine inanılır(8).(Tablo 2)

Tablo 2: Cl₂ gazının su (H₂O) ile reaksiyonu, ve sonrasında oluşan, HOCl'in reaksiyonları(1,8)

a. Cl ₂ gazından HOCl ve HCl oluşumu $\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{HCl} + \text{HOCl}$
b. Cl ₂ gazının hidrasyonu ile HCl ve {O ⁻ } oluşumu $\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow 2\text{HCl} + \{\text{O}^-\}$
c. HOCl den HCl ve {O ⁻ } oluşumu $\text{HOCl} \leftrightarrow \text{HCl} + \{\text{O}^-\}$

HCl suda yüksek çözünürlüğe sahiptir. Öncelikli hedefi üst solunum yollarının mukozası ve gözde konjunktivanın epitelidir(8).

HOCl de suda yüksek çözünürlüğe sahiptir. HCl ye benzer hasar verici etkileri mevcuttur(8). HCl den daha irritandır(20).

Cl₂ gazı zehirlenmesinde ilk cevap, Cl₂ gazının konsantrasyonuna, maruziyetin süresine, maruz kalan dokudaki su içeriğine, ve bireysel hassasiyete bağlıdır(8).

Cl₂ gazı zehirlenmesinin doğrudan oluşturduğu etkiler; konjunktiva, burun, farenks, larenks, trakea ve bronşların akut enflamasyonunu içerir(8). Hava yolu mukozasının irritasyonu, arteriyel ve kapiller hiperemiye bağlı olarak lokal ödeme yol açar(8).

Patolojik bulgular nonspesifiktir(8). Bu bulgular şiddetli pulmoner ödem, kimyasal pnömoni, hyalen membran oluşumu, multipl pulmoner trombozis, ülseratif trakeabronşit, kimyasal konjunktivit, korneal yanıkları içerir (8,20).

Birinci dünya savaşında Cl₂ gazına maruz kalan olgularda ciddi solunum güçlüğü ve pulmoner ödem ile hızlı ölüm gerçekleşmiştir (23).

Bunlara ek olarak pulmoner hemoraji, amfizematöz alveoller, atellektazi ve üst solunum yolları yaralanmaları gibi bulgularda gözlenir (24).

Cl₂ gazı zehirlenmesi ile ilişkili akciğer hasarının işareti akciğer ödemidir(8). Burada nonkardiyojenik pulmoner ödemin, pulmoner kapiller bütünlük bozulduğu zaman geliştiği düşünülür, ve alveollerin içerisine sıvı geçişi görülür(8).

Bu başlangıç, maruziyetin şiddetine bağlı olarak saatler veya dakikalar içinde meydana gelebilir(8).

Persistan hipoksemi yüksek mortalite ile birlikte dir(8).

Cl₂ gazı zehirlenmesi gözde, nadiren ciddi hasar yaratır(8). Korneal abrazyonlar ve yanıklar meydana gelebilir(8). Cl₂ gazı ile konjunktival mukoz membranlar tarafından oluşturulan asit reaksiyonlar, bu bölgede göz yaşındaki protein içeriği ve göz yaşı tabakası tarafından engellenir(8).

Yeni iş güvenliği ve sağlığı ile ilgili uygulamalarda Cl₂ gazı için sınır değeri 8 saat süre ile 0,5 ppm dir (20). Amerika birleşik devletlerinde işçi sağlığı ve güvenliği açısından kabul edilebilir kanuni limit günde 8 saatin üzerinde ortalama 0,5 ppm, bir sefer 15 dk dan daha fazla süre için ise 1 ppm dir (8).

Dört ile sekiz saat arasında 1 ppm kadar düşük düzeylerde maruz kalındığında irritatif semptomlar ortaya çıkabilmekle birlikte, 30 ppm dakikalar içerisinde şiddetli respiratuar semptomlara yol açabilmektedir(20). Bin ppm düzeyi ani ölümlere neden olur(20).

Cl₂ gazı zehirlenmesinin hayvan modellerinde, 2000 ppm' de ani solunum arresti meydana gelmiştir (8).

Zehirlenen hayvanların %50 si için letal konsantrasyon 800-1000 ppm dir (8). Ratlar ve fareler için LT50 1000ppm 28-53 dakikadır (24).

200 ppm de bronşial daralma, 18 ppm kadar düşük dozlarda silier aktivitede etkilenme söz konusudur (8).

50 ppm'in akut maruziyeti ile 9 ppm kadar düşük konsantrasyonlarda subakut inhalasyonu kimyasal pnömonitis ve bronşiolitis obliteransa neden olduğu kayıt edilmiştir (8).

Alt solunum yolları etkilenmeksizin burunun ve trakeanın hafif fokal irritasyonu 2 ppm de meydana gelir (8).

Cl₂ gazı zehirlenmesi oluşturulan domuzların akciğer mikroskopilerinde kontrol gruplarına göre izlenen en önemli bulgular; bronş ve bronşiolin mukozal yüzeylerinden silier bronşial epitelin deskuame olmasıdır (23). Deskuame olan bu epitel hücrelerinin granulositler ile karışık olduğu görülmüştür (23). Bronşların küçük dalları ve bronşiolin yer yer mukozanın ülser olduğu alanlarda dilate olduğu izlenmiş, hava yollarının dış tarafında nötrofilik ve eozinofilik granulositlerde genel bir artış görülmüştür (23).

Kronik maruziyetler için ratlarda yapılan deneysel çalışmalarda da bronşioler ve alveoller duktuslarda orta düzeyde inflamasyon bulgularına rastlanmıştır(24). Maymunlarda yapılan çalışmada burunun ve trakeanın etkilenen bölgelerinde, goblet hücrelerinin ve sillialarını kaybetmiş olan hücrelerin sayısında artış olduğu izlenmiştir(24).

Kronik maruziyetlerde açık olmamakla birlikte kronik obstruktif akciğer hastalığı oluşabileceği söylenmektedir(24,20).

Cl₂ gazı zehirlenmesinde klinik bulgular:

Cl₂ gazı maruziyeti sonrasında ilk semptomlar; mukozal irritasyon (göz, burun ve boğaz), bronkospazm ve öksürüktür(1,20). Cl₂ gazı zehirlenmelerinin semptom ve bulguları genellikle gözlerde, orofarinksde ve akciğerlerde izlenir(22).

Hafif (minör) bir Cl₂ gazı zehirlenmesi sonrasında hastalar, mukoz membranların irritasyonuna bağlı olarak gözlerinde, ve/veya boğazlarında yanma tarif edebilirler(22).

Biraz daha ciddi olan zehirlenmelerde öksürük, nefes darlığı, göğüste sıkışma ve yanma hissi, dispne, hemoptizi veya senkop ile başvurabilirler(22,20).

Ciddi zehirlenmeler, akciğer ödemi, akut solunum sıkıntısı sendromu, solunum yetmezliği, ve ölümü içeren komplikasyonları içermektedir(1,2).

Non spesifik olarak bulantı, kusma, baş ağrısı, baş dönmesi, soğuk algınlığı semptomları gibi bulgularda rapor bildirilmiştir(20,8).

Vital bulgu değişiklikleri olarak hipoksemi ve/veya pulmoner irritasyona bağlı olarak taşipne, hipoksi, anksiyete, ve ağrıya bağlı olarak taşikardi görülür (22,26). Hafif artmış veya azalmış vücut ısısı izlenebilir(20)

Ciddi zehirlenmesi olan hastaların akciğer muayenesinde hışıltı (wheezing) ortaya çıkabilir(22,20). Akut akciğer hasarına bağlı olarak raller duyulabilir(22).

Birinci dünya savaşındaki kullanımı sırasında nadir olarak ölümle sonuçlanan olgular olmuştur. Postmortem değerlendirmelerde, akut akciğer hasarı ve respiratuar yetmezlik gibi nedenler ileri sürülmüştür(22). Hematolojik bulgular olarak dissemine intravasküler koagülasyon ve pulmoner trombozis işaret edilmiştir. Bununla birlikte Cl₂ gazı toksisitesinde hematolojik olaylar, endotelial hücre ve diğer organların sekonder hasarlanması açık değildir(22). Ölüm, toksik pulmoner ödem ile solunum yetmezliği ve dolaşım kollapsından olmaktadır(5,6).

Cl₂ gazı zehirlenmesi sonrasında görülen fizik muayene bulguları

Solunum ve kardiyovasküler sistem muayenesinde; Solunum seslerinde azalma, taşipne, taşikardi, hışıltı(wheezing), rinore, krepatasyon (pneumomediastinum), interkostal ve subkostal çekilmeler, raller (non kardiojenik pulmoner ödem) ve stridora rastlanılabilir(8).

Bu bulguların yanı sıra zehirlenme olgularında siyanoz, burun kanatlarının solunuma katılması, lakrimasyon, seste boğuklaşma görülebilir(8).

Cl₂ gazı zehirlenmesinin ayırıcı tanısı

Cl₂ gazı zehirlenmesinin akut solunum distress sendromu(ARDS), astım, kronik obstruktif akciğer hastalığı ve amfizem, bakteriyel ve viral pnömoni gibi solunum sıkıntısına yol açan diğer hastalıklar ile ayırıcı tanısının yapılması gereklidir(8).

Bunun yanı sıra özellikle oküler yaralanmada diğer kimyasal ve termal yanıklar yönünden dikkatli olunması gerekir(8).

Kimyasal savaş ajanları, amonyak, karbonmonoksit ve kostik madde zehirlenmeleri, siyanid, hidrojen sülfid, fosjen zehirlenmeleri gibi benzer toksik ajanlara maruziyet ile karışabilir(8).

Cl₂ gazı zehirlenmesinde laboratuvar çalışmaları:

Arteriyel kan gazı

Metabolik asidoz ve hipoksiyi içeren anormallikler izlenebilir(8). Metabolik asidoz anyon açığı olmayan hiperkloremik formda olabilir(8). Bu asidozun nedeni için kabul gören mekanizma Cl₂ gazının su ile reaksiyonu sonucunda ortaya çıkan HCl nin sistemik absorpsiyonudur(8,22). Arteriyel kan gazı analizinde hipoksemi ile birlikte karbondioksit düzeyleri artmış, azalmış, veya normal olabilir (22).

Görüntüleme yöntemleri

Göğüs radyografilerindeki bulgular çoğunlukla normaldir(8) Ancak akciğer ödemi, pnömonitis, ve akut ARDS yi gösterebilir(8,22). Şiddetli olgularda, akut akciğer hasarından dolayı infiltrasyonlar görülebilir(22). Pneumomediastinum rapor edilen olgularda mevcuttur(22).

Ventilasyon perfüzyon incelemelerinde, alt hava yolları yaralanmalarına bağlı xenon gazının anormal tutulumu izlenir. Duman inhalasyonundaki akciğer hasarının ayırımında kullanımı mevcuttur (8).

Diğer testler

Oksijen saturasyon monitörizasyonunda, oksijen saturasyonu düşük ölçülebilir(22).

Akut zehirlenme sonrasında saatler içerisinde obstruktif ve restriktif bozuklukları içeren çeşitli akciğer fonksiyon anormallikleri izlenir(20). Bu yüzden yapılacak olan akciğer fonksiyon testlerinde, hem obstruktif hem de restriktif özellik gözlenebilir(8) Zirve ekspiratuar akım oranı obstruktif hava yolu hastalığının tanısı ve tedaviye yanıtın gösterilmesinde kullanılabilir (8). Ancak akciğer fonksiyon testleri akut zehirlenme olgularında kullanılamamasından dolayı hemen hiç değerlendirilmemiştir(22). Yapılan bazı hayvan deneylerinde akciğer kompliyansında azalma görülmüştür(22). Bu bozukluklar Cl₂ gazının farklı konsantrasyonlarında farklı olarak izlenmiştir (20).

Cl₂ gazı zehirlenmesinde tanı

Cl₂ gazı zehirlenmesi, maruziyetin ayrıntılarından öne sürülen, erken tanımlanan semptom ve bulgular kümesiyle, öncelikle bir klinik tanıdır(20). Laboratuvar değerlendirmeler özgül değildir(20). Sıklıkla lökosit sayısında artış, metabolik asidoz, ve hipoksemi, veya respiratuar alkaloz semptomatik olguların çoğunda açığa çıkmaktadır(20)

Göğüs radyografisinde fokal konsolidasyon alanları, santral pulmoner konjesyon ve diffüz interstisyel işaretlerde artış görülebilir (20). Maruz kalmış bireylerin ön değerlendirme ve yönetiminde pulse oksimetre dışındaki diğer laboratuvar çalışmalarının rolü çok azdır (20). Ayırma işlemi, klinik temelde yerine getirilebilir (20).

Ciddi zehirlenmeler non kardiyojenik pulmoner ödeme neden olabilir (20).

Mevcut bilgilerden, olguların ayırımına yönelik olarak bir algoritim meydana getirilmiştir (20).

1. Hafif maruziyete uğramış olan bireyler, buldukları ortamdan uzaklaştırılmaları ile düzelir. Semptomatik tedavi ile nemlendirilmiş oksijen ve bronkodilatör tedavi yararlı olabilir. Semptomu olmayan bireylerin durumunda kötüleşme olması beklenmez(20).

2. Orta düzeyde etkilenen bireylerde tedavi sonrasında birkaç saatlik dönemde eğer semptom görülüyorsa ani bir kötüleşme olmayacaktır (20). Altta yatan akciğer hastalığı ve atopi durumlarında akut zehirlenmeden haftalar ve aylar

sonrasında reaktif havayolu devam edebilir (20). Nadiren akut zehirlenmeden sonraki birkaç gün içerisinde kimyasal veya infeksiyöz pneumonitis gelişebilir (20).

3. Semptomları erken dönemde ortaya çıkan durumu stabil olan veya durumu kötüye giden ciddi etkilenmesi olan bireylerin; agresif tedavi ile hemen hastaneye yatırımları gerekmektedir (20).

Cl₂ gazı zehirlenmesinde tedavi

Hastane öncesi tedavi

Hastane öncesi bakımda, kurtarıcıya olabilecek kontaminasyonu önlemeye yönelik tedbirlerin alınması gereklidir(8). Ciddi durumlarda (yüksek konsantrasyonda, kapalı ve ciddi solunan alanlarda), kurtarıcının gazı solumasını engelleyecek olan cihazlar ve koruyucu elbiseler yararlı olacaktır (8). Birey zehirli olan alandan derhal uzaklaştırılmalıdır (8). Eğer uygulanabilir ise sebep olan maddenin kutusu alınmalıdır. Böylece tıbbi personel tarafından toksik ajanın ne olduğunun tespiti yapılabilir(8). Eğer gerekliyse (göz ve deri bulguları mevcut ise) hastane öncesi bakımda, birincil dekontaminasyon işlemine başlanmalıdır (8,20). Deri ve göz, bol su ile yıkanmalıdır (20).

Acil serviste tedavi

Dekontaminasyon

Hastane içerisinde de göz ve derinin SF (serum fizyolojik) ile bol irrigasyonu gerekir(8). Gözde hasar düşünülen olgularda bir stripler ile başlangıç Ph'sı saptanır(8). Ph 7,4 e dönünceye kadar %0,9 SF ile sürekli irrigasyona devam edilir(8). Topikal anestetikler yardımı ile ağrının sınırlandırılmasına yardımcı olunur(8). Irrigasyon işleminin ardından florescein boyama, sonrasında yarı ışık ile göz muayenesi gerçekleştirilir(8). Oküler basınç ölçülür(8). Korneal abrazyonlar antibiyotikli pomad ile tedavi edilir(8).

Oksijen tedavisi

İlave O₂ tedavisi ile PaO₂ 60 mmHg veya daha yüksek tutulmaya çalışılır(8).

Bronkospazm tedavisi

İnhale albuterol veya diğer β agonistler etkili olabilir(8) İnhale ipratropiumun rolü iyi tanımlanamamıştır(8). Nebulize albuterole ilave edilen lidokainin (%1 lik solüsyon) analjezik ve öksürüğü baskılayıcı etkisi olmaktadır (8).

Laringospazm ve solunum yetmezliğinin tedavisi

Önemli derecede ödem gelişirse fiberoptik yardımı ile entübasyon gerekebilir(8). Pulmoner temizliğin yapılabilmesi için mümkün olan en büyük numara tüp ile entübasyon gerçekleştirilmelidir(8). Hipoksemik solunum yetmezliği pozitif basınçlı ventilasyon ile tedavi edilir(8). ARDS'de ekspiryum sonu basıncı yüksek ve ventilasyon oranı tersine dönmüş ventilasyon yararlı olabilir(8).

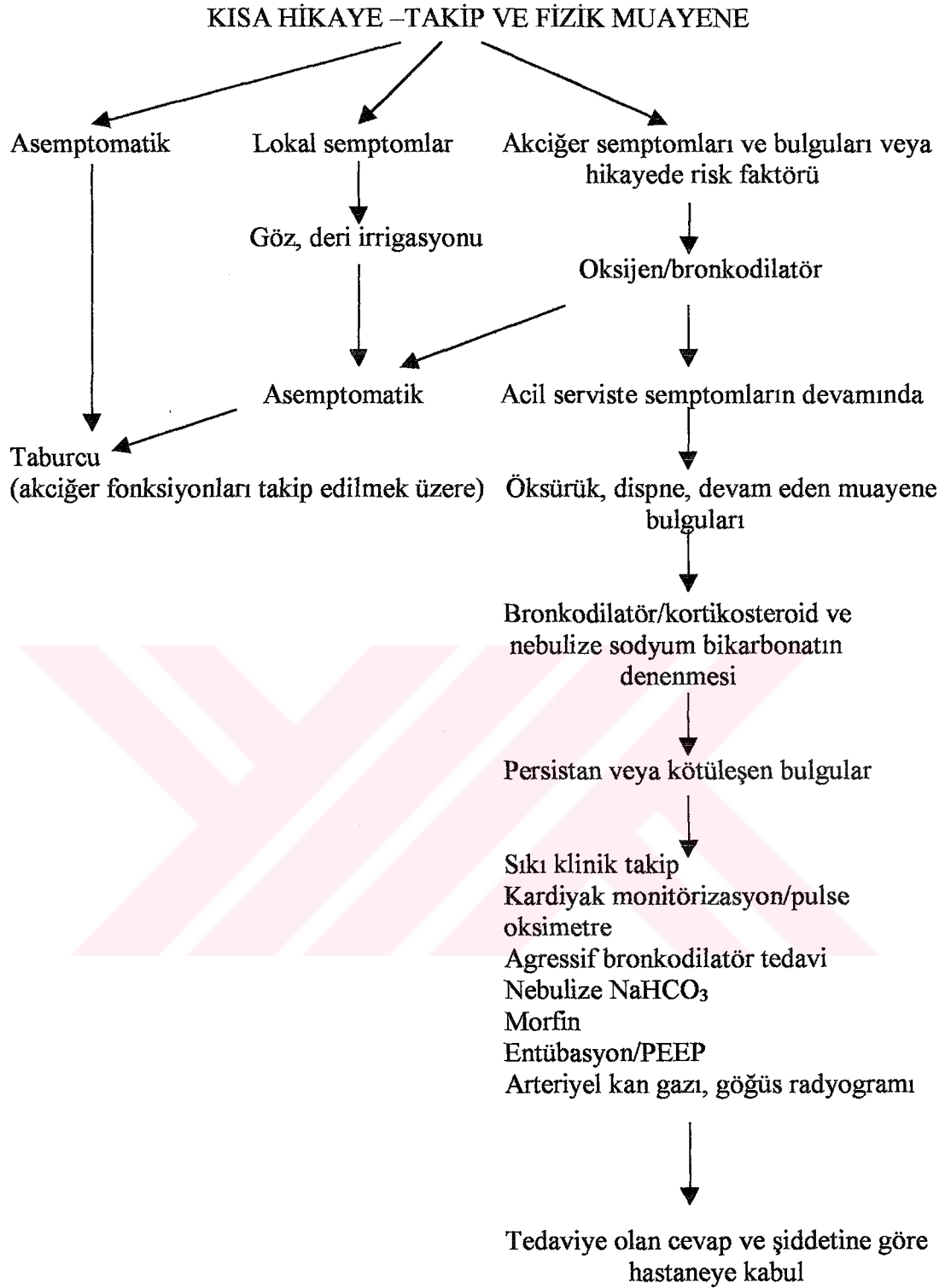
NaHCO₃ ve steroidler

Nebulize NaHCO₃ kullanımı bazı araştırmacılar tarafından kabul ediliyorken, klinik ispatında yetersizlikler olduğu da söylenmektedir(8). Bu durumun etki mekanizması olarak klor gazının su ile temasında ortaya çıkan hidroklorik asidin nötrale edildiği düşüncesidir(8,20).

Bazı araştırmacılar tarafından da hidroklorik asit ile sodyum bikarbonat reaksiyonu sonrasında ekzotermik bir reaksiyon ile ürünlerin ortaya çıkabileceği, bu teorik olasılık nedeniyle klinik denemelerin yetersiz olduğu söylenmektedir(8). Klor gazına bağlı akciğer hasarı bulunan, inhale sodyum bikarbonat ile tedavi edilen ve klinik iyileşme olduğu belirtilen hiçbir ciddi pediatrik ve erişikin olgu raporu mevcut değildir(8).

Bazı yazarlar parenteral steroidlerin kısa dönem reaksiyonları ve uzun dönem sekelleri önlediğini savunurken, bazıları da klinik uygulamaların yetersizliğinden önermemektedir(8). İn hale steroidlerin hedef organları olan, hava yolu ve akciğerleri direkt olarak etkilediği ve akut olmayan semptomları hafiflettiği görölmektedir(8).

Koruyucu antibiyotik tedavisi önerilmemektedir(8). Solunum yetmezliği uzadığında yada hastada ciddi bulgular göröldüğünde, yoğun bakım ile konsülte edilmelidir(8). Oküler bir yanık var ise oftalmologlar ile konsülte edilmelidir(8).



Şekil 1: Cl₂ gazı zehirlenmesi sonrasında triaj kılavuzu (20)

Cl₂ gazı zehirlenmesinde hasta takibi

Tedavi ve gözlem altında bulunan hastalarda, 6 saat sonrasında persistan semptomlar devam ediyorsa, hastada şiddetli maruziyet varlığında, çocuk olguların zehirlenmelerinde, hikayesinde, altta yatan bir kardiyovasküler sistem veya solunum sistemi hastalığı varlığında hastaneye kabul edilerek yatırılmalıdır(8).

Bazı araştırmacılar maruziyetden 24 saat sonra bile akciğer ödeminin gelişebileceğini bu yüzden gözlem süresinin en az 24 saat olması gerektiğini söylemektedir(8). Maruziyetden sonraki 24. saat de asemptomatik olan hastalar hastaneden taburcu edilebilir(8).

Cl₂ gazı zehirlenmesini önlemek

Cl₂ gazı zehirlenmelerine yol açan kazaların sayısı azaltılabilir(8). Yüzme havuzlarındaki klorlama solüsyonlarının uygun kullanımı ve temizlik solüsyonlarının karıştırılmasından sakınılarak kazaların büyük bir kısmı önlenir(8). Ciddi zehirlenmelerin önemli bir kısmını Cl₂ gazının iş ile ilgili kazaları oluşturduğundan uygun metodlar ile eğitim ve denetim önemlidir(8).

N ASETİL SİSTEİN

N asetil-L-sistein (NAC), L-sistein amino asidinin N asetil türevidir (14,15,16) İlk olarak 1960'larda mukolitik bir ajan olarak tanımlanmıştır(25). NAC ın biyolojik aktivitesi sülfidril grubundan kaynaklanmaktadır(26). Amino grubuna bağlı asetil, oksidasyona karşı bu molekülün daha stabil olmasını sağlar(26). Sülfidril gruplarının kaynağı olarak görev yapması GSH sentezini, glutatyon-S-transferaz aktivitesini ve detoksifikasyonu artırır ve serbest oksijen radikallerine direkt olarak etki eder(26).

NAC sadece bir glutatyon prekürsörü değildir, aynı zamanda serbest oksijen radikallerini direkt temizleme kabiliyetine sahip bir ajandır(15,27). NAC en geniş araştırılan antioksidan ajanlardan birisidir(9,28). NAC' ın farmakolojik etkileri, boşalmış olan, indirgenmiş glutatyon depolarını tekrar doldurarak hücrelerin antioksidan potansiyelini yenilemeyi de içerir(29).

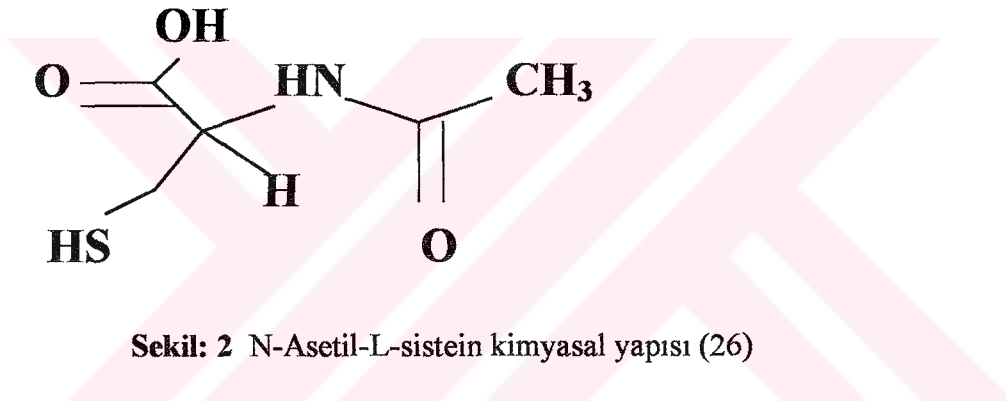
NAC klinik pratikte parasetamol zehirlenmesinin tedavisinde ve kronik bronşitte kullanılır(16). NAC mukolitik bir ajandır(17). Balgam içerisindeki disülfür yapısındaki mukoproteinleri parçalayarak bu etkisini gösterir(30).

NAC' ın terapatik aktivitesi, endotelial ve bronşial epitel hücrelerinde, adhezyon molekülleri ve bazı sitokinlerin üretimini regüle edebilme yeteneğinin bir

sonucu olabilir (17).NAC' ın, pulmoner fibrozis, akut akciğer yaralanması, kronik obstruktif akciğer hastalığı, kistik fibrozis gibi bazı hastalıklarda klinik yararlılıkları görülmüştür (9) .

100-600 mg dozunun oral olarak verilmesinden sonra emilimi oldukça hızlıdır (25,31,32). Oral alım sonrasında yaklaşık 1 saat içerisinde plazma NAC seviyesi maksimuma ulaşır ve 12 saat sonra plazmada tespit edilemez (26). İV uygulamalardan sonra eliminasyon yarı ömrü 2-6 saattir ve dozun %20-30'u 24 içinde değişmeden idrarla atılır (25, 26,31)

NAC'ın hem güçlü antioksidan hem de hücreler üzerindeki protektif etkisinden dolayı Cl₂ gazı zehirlenmesindeki organ hasarlarını azaltıp, bu tip bir zehirlenmenin tedavisinde etkili olabileceğini düşündük.



Sekil: 2 N-Asetil-L-sistein kimyasal yapısı (26)

MATERYAL VE METOD

Bu deneysel çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonunun desteği ile (proje no TT.03.06) Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi (DEKAM), Biyokimya ve Patoloji Anabilim Dalları, Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü İnorganik Laboratuvarlarında etik kurul izni ile yapıldı. Araştırmanın deneysel bölümü aynı araştırmacı tarafından yapıldı. Çalışmada DEKAM tarafından üretilen, ağırlıkları 160-250 gr arasında değişen 50 adet Wistar Albino cinsi dişi rat kullanıldı.

Hayvanların hazırlanması

Çalışma öncesi ratlar standart besinleri ile beslendi. Ratlar randomize olarak aşağıda belirtilen gruplara ayrıldı;

Grup 1 (Sham grubu); 10 adet rat kullanıldı. Cl₂ gazı zehirlenmesi uygulanmadı ve NAC verilmedi. Diğer gruplarla karşılaştırmak için kan ve doku örnekleri alındı.

Grup 2 (6. Saat kontrol grubu); 10 adet rat kullanıldı. Cl₂ gazı verildi. 0. ve 3. saatte SF verilerek, 6. saatte kan ve doku örnekleri alınarak kurban edildi.

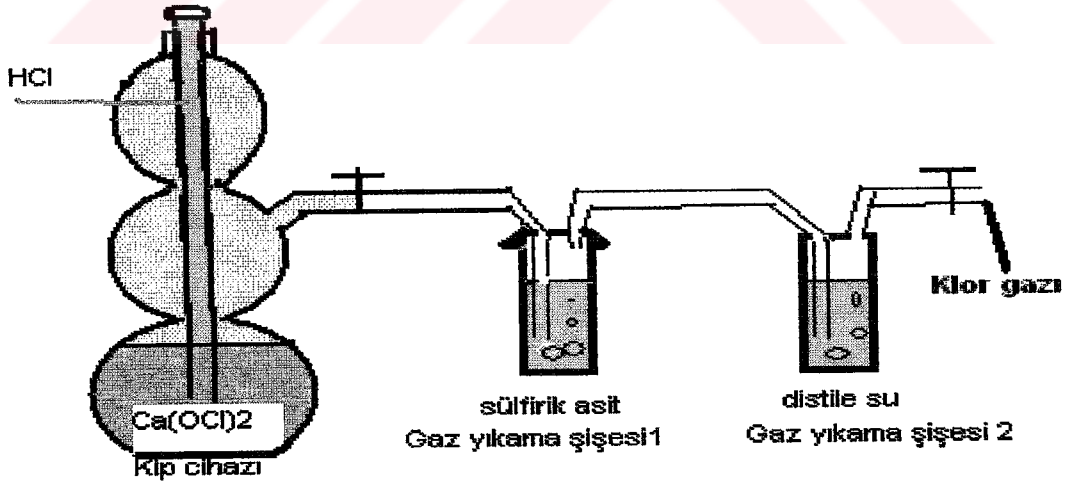
Grup 3 (6. Saat deney grubu); 10 adet rat kullanıldı. Cl₂ gazı verildi. 0 ve 3. saatte NAC verilerek, 6. saatte kan ve doku örnekleri alınarak kurban edildi.

Grup 4 (24. Saat kontrol grubu); 10 adet rat kullanıldı. Cl₂ gazı verildi. 0 ve 3. saatte SF verilerek, 24. saatte kan ve doku örnekleri alınarak kurban edildi.

Grup 5 (24. Saat deney grubu); 10 adet rat kullanıldı. Cl₂ gazı verildi. 0 ve 3. saatte NAC verilerek, 24. saatte kan ve doku örnekleri alınarak sakrifiye edildiler.

Cl₂ gazı üretimi ve verilme protokolü

Cl₂ gazı kip cihazı, gaz yıkama şişeleri, yumuşak bağlantı hortumlarından oluşan kapalı bir düzenek aracılığı ile elde edildi(33). Kip cihazı içindeki katı madde bölümüne kalsiyum hipoklorit (Ca(OCl)₂) (totalchlor chc 90 t20, t100 granule) sıvı madde bölümüne HCl (Hydrochloric acid fuming extrapure Merck KGA® Germany) konuldu. Kip cihazı çıkışı yumuşak bağlantı hortumları vasıtası ile önce birinci gaz yıkama şişesi içindeki H₂SO₄ (sülfirik asit) (Sülfirik acid fumung extrapure Merck® Germany) daha sonrada distile su bulunan ikinci gaz yıkama şişesine bağlandı. Tüm bağlantılar parafilm ve katı vazelin yardımı ile kaçak olmayacak şekilde kapatılarak kapalı bir sistem oluşturuldu(33). Cl₂ gazının uygulanması sırasında gazın zararlı etkilerinden korunmak için ortamdaki havayı sürekli sirküle eden bir çeker ocak kullandık



Şekil 3. Cl₂ gazının elde edildiği düzenek (33,34)

Bu düzenekte kip cihazı içerisinde $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ ile HCl nin reaksiyona girmesiyle oluşan gaz, bağlantı hortumu yardımıyla sülfirik asitin bulunduğu birinci gaz yıkama şişesi içine verildi. Birinci gaz yıkama şişesi içinden çıkan gaz gene yumuşak bağlantı hortumları vasıtasıyla ikinci gaz yıkama şişesinden geçirildi ve Cl_2 gazı oluşturuldu(33).

Cl_2 gazı verilecek ratlar 60x27x27 cm ebatlarında şeffaf plastikten yapılmış bir anestezi odacığı içerisine alındı (anesthesia chamber, Ejaj İnternational INC®.USA). Her seansta on adet rat kap içerisine atıldı. Ratların beş tanesi kontrol grubu diğer beş tanesi de NAC grubu olarak randomize seçildi. Cl_2 gazı, anestezi odacığı içerisine yerleştirilen Cl_2 gazı ölçüm dedektörü(BW Technologies Cl_2 Gas Dedector®-Germany) ile sürekli ölçüm yapılarak verildi. Cl_2 gazı ortam havası içerisinde 200 ppm olacak şekilde 20 dk süreyle verildi. Gözlemler deney boyunca aynı gözlemci tarafından yapıldı.



Şekil 4: Anestezi odacığı içerisinde ratlara Cl_2 gazının uygulanması ve Cl_2 gazı ölçüm dedektörü.

N-asetil sistein ve SF verilmesi

300 mg/3 ml N-asetil sistein içeren solüsyon(Asist® %10) kullanıldı. NAC hem 6 saatlik hem de 24 saatlik gruplara aynı şekilde verildi. Cl₂ gazı uygulamasından hemen sonra 40 mg/kg dan rat'ın karın bölgesinden intraperitoneal olarak uygulandı. Aynı dozda NAC, 3 saat sonra aynı yol ile tekrarlandı.

Kontrol gruplarına aynı saat, aynı miktarda ve aynı bölgeden SF yapıldı.

Kan gazı analizi

Çalışmanın 6. ve 24. saatlerinde ratlar 50 mg/kg IM ketamin(Ketalar® Pfizer) ile sedatize edildi. Batın orta hattın açıldı. Aorta dan kan gazı analizi için heparinli kan alındı. Kan gazında ph değerleri aynı gün rapid lab 865® aleti ile çalışıldı. Kan çekme metodu ile ratlar sakrifiye edildi.

Histopatolojik analiz

Skalp orta hattında, frontalden oksipitale doğru bir insizyon yapıldı. Boyun açıldı. Kaslar kesilerek, ratın kafası gövdeden ayrıldı. Foramen magnumdan bilateral olarak kulaklara doğru kemik ve yumuşak dokular kesildi. Kafa taşı kaldırıldı. Beyin bir bütün olarak ve zedelenmeden çıkartıldı. %10 formol içine konuldu.

Batındaki insizyon toraksa doğru uzatıldı. Toraks açıldı akciğer ve kalp bir bütün olarak çıkartıldı ve %10 formol içerisine konuldu.

Rutin doku takip işlemlerinden sonra bütün dokular parafin ile bloklandı ve 5-8 mikronluk parafin kesitler hazırlandı. Bütün dokular aynı boya ile boyandı. Boyama işlemi hemotoksilen-eozin ile yapıldı. Boyanan preparatlar ışık mikroskobu altında değerlendirildi.

Değerlendirme aynı kişi tarafından yapıldı. Akciğer, kalp ve beyin dokusunun hasar skoru sırasıyla tablo 3,4,5' e göre değerlendirildi.

Tablo 3: Akciğer dokusundaki hasarın şiddetinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi(6).

0: Hasar yok

1: Hafif hasar; Birkaç bronшта hafif genişleme veya az miktarda desquamate epitelyum ve nötrofiller.

2: Orta şiddette hasar; Çoğu bronшта dilatasyon veya orta seviyede epitel desquamasyonu ve nötrofiller.

3: Ağır hasar; Hemen hemen tüm bronşlarda dilatasyon ve çok miktarda epitel desquamasyonu ve nötrofiller.

Tablo 4: Beyin dokusundaki hasarın şiddetinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi(35).

0: Hasar yok

1: Hafif hasar; Nadir nekrotik hücre(%10 dan az)

2: Orta şiddette hasar; orta sıklıkta nekrotik hücre(%10-50)

3: Ağır hasar; çok fazla sıklıkla nekrotik hücre (%50 üzerinde)

Tablo 5: Kalp dokusundaki hasarın şiddetinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi

Aşağıda belirtilen her histopatolojik değişiklik için 1 puan verilerek toplam puanlamaya göre yapıldı.(36)

a. Myokard liflerinde disorganizasyon (+1)

b. Myokard liflerinde nekroz (+1)

c. Myokard liflerinde vakuolizasyon (+1)

d. Myokard liflerinde hiçbir değişiklik yoksa (+0)

Toplam puan:

0 puan: Kardiyomiyopati yok

1 puan: Hafif derecede kardiyomiyopati

2 puan: Orta derecede kardiyomiyopati

3 puan: Ağır derecede kardiyomiyopati

Akciğer dokusunda glutatyon düzeyinin analizi

Parankim dokusu dışındaki trakeobronşial dokular akciğer parankiminden ayrıldı. Bir lob, pH'ı 7,4 olan, 0,16mg/ml heparin içeren soğuk salin ile yıkandı ve tartıldı. Daha sonra -70 C⁰ de doku GSH düzeyi ölçümü için saklandı. GSH ölçümü için gerekli tüm belirteçler Cayman chemical CO.(Glutathione Assay Kit® katalog no:703002) dan temin edildi. Bu kit GSH ölçümü için Ellman'ın belirteci olarak bilinen 5,5¹-dithiobis-2-nitrobenzoik asiti kullanmaktaydı. GSH ölçümü için gerekli tüm adımlar kit içerisindeki kitapçıkta bulunan kurallara uygun olarak gerçekleştirildi. Eksi yetmiş derece de saklanılan dokular pH:6-7 olan 50 mm fosfat ve 1 mM EDTA içeren soğuk tamponun 5 ml ile muamele edilerek homojenize hale getirildi. + 4 C⁰ de 15 dakika süreyle 10.000 devirde santrifüje edildi. Üstte kalan çözelti alınarak -20 C⁰ saklandı. Alınan bu çözelti deproteinizasyon işlemi için 5 gr metafosforik asit 50 ml suda çözünerek aynı miktarda çözelti ile muamele edildi. Oda ısısında 2 dakika 2000 devirde santrifüje edildi. Üstte kalan çözelti alınarak her ml için 4 M hazırlanan trietanolamin çözeltisinden 50 µl eklenerek GSH ölçümü için gerekli işlemler tamamlandı. Ölçümler 405 nm dalga boyunda gerçekleştirildi. GSH düzeyi gr doku başına µmol olarak hesaplandı.

İstatistiksel analiz

Gruplar arası kan pH ve akciğer dokusu GSH değerlerinin karşılaştırılmasında tek yönlü ANNOVA testi kullanıldı. Post hoc değerlendirilmesinde Bonferroni prosedürü tercih edildi. Gruplar arası histopatolojik sonuçların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis varyans analizi kullanıldı. Gruplar arası farklılıklar Mann-Whitney U testi kullanılarak bulundu. p< 0,05 altındaki değerler anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Bu deneysel çalışmada grup 1, grup 2, grup3, grup 4 ve grup 5'den elde ettiğimiz sonuçlar şöyledir:

Kan gazı ph değerlendirmesi

Ph değerleri karşılaştırıldığında grup 1'in değerleri grup 2, grup 3 ve grup 4 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek idi ($p<0,01$).

Grup 4 ile grup 5 arasındaki ph değerleri karşılaştırıldığında grup 4 de ph değeri düşüktü ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p<0,01$). Grup 2 ile grup 3 arasındaki ph değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$).

Ph değeri grup 1 ile grup 5 karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$).

Grup 3 ile grup 5 arasında ph değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0,05$). ph değeri grup 2 ile grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

Akciğer dokusundaki GSH düzeyinin değerlendirilmesi

Grup 2 , grup 3 , grup 4 ve grup 5 akciğer dokusundaki GSH düzeyleri grup 1'in değerleri karşılaştırıldığında azalma olduğu gözlemlendi ve bu azalmada istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0,01$).

Grup 2 ile grup 3 arasındaki GSH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0,05$). Grup 4 ile grup 5 GSH düzeyleri karşılaştırıldığında grup 5 GSH düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı yükselme tespit edildi ($p<0,05$).

Grup 3 ile grup 5 GSH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). Grup 2 ile grup 4 GSH düzeyleri arasında da istatistiksel olarak fark bulunamadı ($p>0,05$).

Tablo 6: Grupların kan gazı ph ve akciğer doku glutatyon düzeylerinin karşılaştırılması

	Ph	GSH
Grup 1 X±SD	7,516±0,14 ^{bcd}	1.025±0,14 ^{bcd^e}
Grup 2 X±SD	7,371±0,04 ^{ac}	0,679±0,09 ^a
Grup 3 X±SD	7,419±0,03 ^a	0,766±0,05 ^{ad}
Grup 4 X±SD	7,386±0,05 ^{ac}	0,630±0,07 ^{acc}
Grup 5 X±SD	7,473±0,05 ^{bd}	0,796±0,06 ^{ad}
F	16,744	28,283
P	p<0,01	p<0,01

p<0,05 olan değerler anlamlı olarak değerlendirildi

a: Grup 1'le olan farkı gösterir. **b:** Grup 2' ile olan farkı gösterir. **c:** Grup 3' ile olan farkı gösterir **d:** Grup 4' ile olan farkı gösterir **e:** Grup 5' ile olan farkı gösterir

Histopatolojik değerlendirme

Akciğer

Grup 2 ve grup 4 ratların akciğer dokusunda hafif ve orta derecede hasar mevcuttu ve bu grup 1 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0,01$). Grup 2 ile grup 4 arasındaki hasar benzerdi ve istatistiksel olarak fark yoktu ($p>0,05$).

Grup 2 ile grup 3 akciğer dokuları karşılaştırıldığında hasarda düzelme mevcut idi, ve bu istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,01$). Grup 4 ile grup 5 karşılaştırıldığında hasarda düzelme mevcuttu, ve bu da istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,01$).

Grup 3 ile grup 5 karşılaştırılmasında akciğer doku hasarı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Grup 1 akciğer doku histopatolojileri ile grup 3 ve grup 5 karşılaştırıldıklarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Beyin

Grup 1 ratların beyin doku histopatolojileri ile grup 2, grup 3 ve grup 5 karşılaştırıldıklarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Grup 4 deki ratların beyin dokusunda hafif ve orta derecede hasar tespit edildi ve oluşan hasar grup 1 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,01$).

Grup 2 ile grup 3 beyin dokusundaki hasar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). Grup 2 ile grup 4 beyin dokusundaki hasar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ve bu hasar grup 4 de daha fazla idi ($p<0,01$).

Grup 4 ile grup 5 beyin dokusundaki hasar karşılaştırıldıklarında grup 4 de hasar daha belirgindi ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p<0,01$). Grup 3 ile grup 5 beyin dokusunda oluşana hasar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Kalp

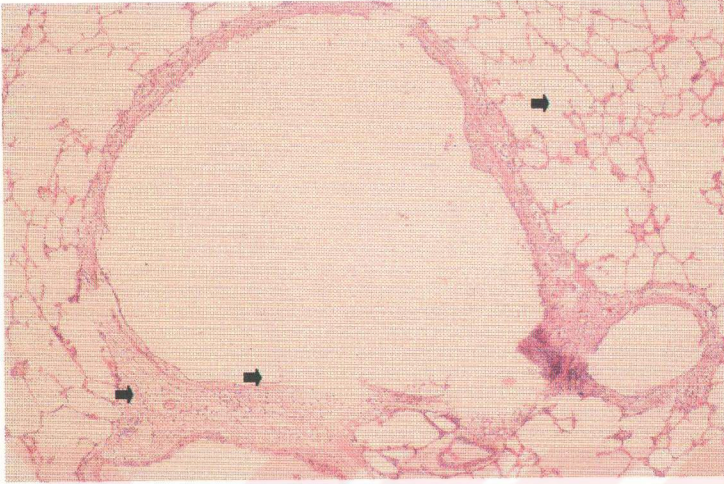
Grup 2, grup 3, grup 4, grup 5 ratların kalp dokusunda sadece hafif derecede hasar tespit edildi. Bu gruplarda oluşan hasar ile Grup 1 karşılaştırıldıklarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0,05$).

Tablo 7: Grupların histopatolojik değerlendirmelerinin karşılaştırılması

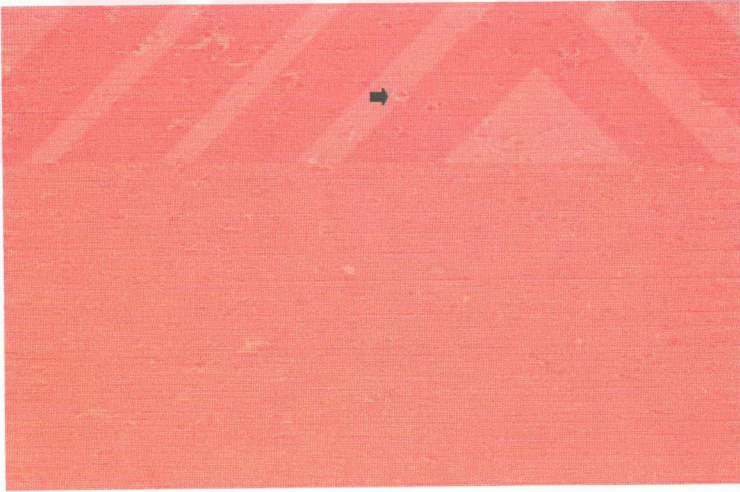
	Akciğer dokusu hasar derecesi	Bein dokusu hasar derecesi	Kalp dokusu hasar derecesi
Grup 1 median(min-max)	0(0-0) ^{bcd}	0(0-0) ^d	0(0-0)
Grup 2 median(min-max)	1(1-2) ^{acc}	0(0-1) ^d	0(0-1)
Grup 3 median(min-max)	1(0-1) ^{abd}	0(0-0) ^d	0(0-1)
Grup 4 median(min-max)	1,5(1-2) ^{acc}	1,5(1-2) ^{abcc}	0(0-1)
Grup 5 median(min-max)	0(0-1) ^{abd}	0(0-1) ^d	0(0-1)
X²	31,858	40,548	4,515
P	p<0,01	p<0,01	p>0,05

p<0,05 olan değerler anlamlı olarak değerlendirildi

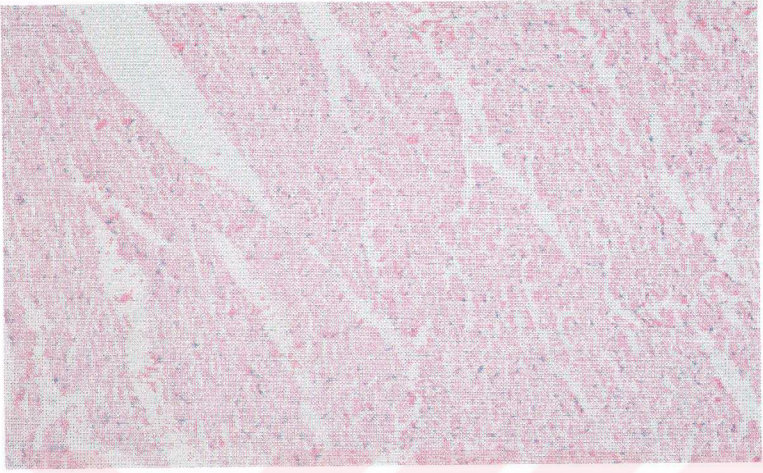
a: Grup 1'le olan farkı gösterir. **b:** Grup 2' ile olan farkı gösterir. **c:** Grup 3' ile olan farkı gösterir **d:** Grup 4' ile olan farkı gösterir **e:** Grup 5' ile olan farkı gösterir



Şekil 5: Cl₂ gazı inhalasyonu sonrasında rat akciğer dokusunda bronşiolerde belirgin genişleme, epitelde deskuamasyon, yer yer eozinofil infiltrasyonu, alveollerde konjesyon (HE, X 200)



Şekil 6: Cl₂ gazı inhalasyonu sonrasında rat beyin dokusunda yer yer nekrotik hücreler (HE, X 200)



Şekil 7: Cl₂ gazı inhalasyonu sonrasında rat kalp dokusunda disorganizasyon (HE, X200)

TARTIŞMA

Cl₂ gazı kendisi irritan olmakla birlikte, hava yolunda çok daha güçlü irritan olan, HCl ve HOCl gibi maddelerin oluşmasına neden olur(3). Bu yüzden, Cl₂ gazına ciddi maruziyeti, önemli akciğer hasarı ve ölüm izleyebilir(20). Oysa günümüzde akut Cl₂ gazı zehirlenmesinde geçerli olan, O₂ ve bronkodilatatörleri içeren semptomatik tedavidir(5). Son yıllarda, az sayıda da olsa, akut Cl₂ gazı zehirlenmesinde ortaya çıkan doku hasarını ve bu hasara neden olan mekanizmaları önlemeye yönelik, etkin olabilecek yeni tedavi yöntemlerinin bulunması için çalışmalar sürmektedir(5,6,7). Biz de bu gayeden yola çıkarak deney modelimizi oluşturduk. Tedavi için son zamanlarda yapılan çalışmalarda, özellikle serbest oksijen radikallerine bağlı olarak gelişen doku hasarını önlemede kullanılan, antioksidan bir ajan olan NAC'ı seçtik.

Deney modelimizi oluştururken NAC'ın etkinliğini kan gazı Ph, akciğer doku GSH düzeyi, ve histopatolojik bulguları içeren parametreler ile belirlemeye çalıştık. Akciğer lezyonlarını histopatoloji, kan gazı ve akciğer glutatyon düzeyi ile araştırdık. Bu arada beyin ve kalp dokusunda meydana gelebilecek olan hasarı histopatolojik olarak inceledik.

Ratlara verdiğimiz Cl₂ gazının üretimini, kimya laboratuvarlarında gaz üretimi için kullanılmakta olan kip cihazı yardımıyla elde ettik(33). Cl₂ gazının ortamdaki miktarını ve uygulama süresini ise daha önce yapılan deneysel çalışmaları örnek alarak belirlemeye çalıştık. Jianpu W. ve arkadaşları Cl₂ gazı zehirlenmesi oluşturdukları iki deneysel çalışmada domuzlara 400 ppm Cl₂ gazını 20 dk süre ile

uyguladıklarında akciğer dokusunda ciddi hasar ve ölümü gözlemlediklerini belirtmişlerdi(5,37). Mats G. ve arkadaşları da domuzlar üzerinde yaptıkları iki çalışmada 110 ve 140 ppm Cl₂ gazını 10 dakika süreyle uygulama sonrasında benzer sonuçları bildirmişlerdi(6,23). Demnati R. ve arkadaşları, ratlar da 5 dk süre ile 1500 ppm de oluşturdukları Cl₂ gazı zehirlenmesi sonrasında yaptıkları değerlendirmede akciğer dokusunda ciddi patolojik ve fonksiyonel anormallikleri gözlemlemişlerdi (38).

Mats G. ve arkadaşları günümüzde yapılan çalışmalar ile Cl₂ gazına karşı türlerin verdiği cevabın bir farklılık içerip içermediğinin hala bilinmediğini vurgulamışlardır(23). Jianpu W. ve arkadaşları da Cl₂ gazı zehirlenmesi için uyguladıkları dozun diğer çalışmalardaki konsantrasyonlardan düşük olduğunu ancak türlerin farklılığının yanı sıra inhalasyon metodunda önemli olanın doku hasarının gösterilmesinin olduğunu belirtmişlerdi(37). Yaptığımız literatür araştırmaları sonrasında deneysel Cl₂ gazı zehirlenmesi oluşturulmasında farklı Cl₂ gazı konsantrasyonları ve yöntemlerinin kullanıldığını gördük(5,6,23,37,38). Bu nedenle bir ön çalışma yaptık. Farklı konsantrasyonlarda Cl₂ gazına maruz bıraktığımız ratların histopatolojik ve kan gazı ph'larını değerlendirerek optimum bir Cl₂ gazı uygulama konsantrasyonu ve süresi belirledik (20 dakika süre ile 200 ppm). İlk 5 dakika içerisinde tüm ratlarda ara sıra kafayı kaldırma ile birlikte etrafı gözleme şeklinde motor hareketler izledik. Yaklaşık 5. dakikadan sonra ise hemen hiçbir motor fonksiyonlarının olmadığını ve ciddi solunum sıkıntılarının geliştiği görüldü. Gaz verilme işlemi kesildikten 30 dakika sonra motor fonksiyonların geri dönmeye başladığını izledik. Ratların 6. saatte ve 24. saatte akciğer histopatolojilerinde ve kan gazı Ph değerlerinde belirgin bozulmanın olduğunu gördük.

NAC dozunu ratlar da doku hasarlarını önlemek için yapılan deney modellerini inceleyerek belirledik. Salvatore C. ve arkadaşları çoklu organ yetmezlikli ratlara, farklı dozlarda NAC uygulamasını karşılaştırmışlardı(13). Çalışmalarında İP, iki kez, 40 mg/kg dan uygulanan NAC'ın, diğer uygulanan dozlardan daha etkin olduğunu vurgulamışlardı(13). Konukoğlu D. ve arkadaşları da ratlarda yanık sonrası NAC'ın akciğer dokusundaki glutatyon düzeyine olan etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında İP, iki kez, 15 mg/kg NAC ile akciğer glutatyon düzeyinde anlamlı yükselme saptadıklarını belirtmişlerdi(12). Ratlarla yapılmış olan başka bir çalışmada da İP tek doz, 50 mg/kg uygulanan NAC'ın akciğer dokusundaki enflamasyonu azalttığı gösterilmiştir(39). Ayrıca Bengt

Sarnstrand ve arkadaşları akciğer hasarı oluşturulan ratlar üzerinde NAC'ın D ve L stereoizomerlerinin etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında L-NAC'ın IV uygulamanın IG uygulamaya göre daha yüksek bir plazma konsantrasyonu oluşturduğunu göstermişlerdi(16). Bizde çalışmamızda ratlara 40 mg/kg, İP N-asetil-L-sistein uygulamayı uygun gördük. NAC'ın plazma yarılanma ömrü yaklaşık (2,15) saat olduğu için tekrar dozu 3. saat de verdik(26).

Jianpu W. ve arkadaşları yaptığı çalışmada Cl₂ gazı inhalasyonu sonrası domuzlarda arteriyel O₂ satürasyonunun hızla düşmeye başladığını ve inhalasyondan sonraki 5. saatte bile düşük seyrettiğini gözlemlemişti(5). Mats G. ve arkadaşları domuzlarda yaptığı iki deneysel çalışmada da inhalasyondan sonraki ilk 1 saat içerisinde arteriyel O₂ satürasyonunda hızlı bir düşmenin olduğunu gösterdi. Aynı çalışmalarda saatlik olarak yapılan O₂ satürasyon ölçümlerinin 6. saate kadar düşük seyrettiğini görmüştü (6,23). Ancak yapılan bu deneysel çalışmalarda kan gazı ph değerlendirmesi yapılmamıştı.

Bizim çalışmamızda hem grup 2 hem de grup 4'ün kan gazı ph değerlerinin grup 1 den istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğunu tespit ettik Yani Cl₂ gazı verilen ratların ph da 6. ve 24.saatte belirgin düşme mevcut idi. Grup 2 ile Grup3 karşılaştırıldığında istatistiksel fark bulunamadı. Bu sonuç uygulanan NAC'ın, 6. saatte kan gazı ph değerlerinde herhangi bir düzelmeye yol açmadığını göstermektedir.Grup 4 ve grup 5 karşılaştırıldığında, grup 5'in ph düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme tespit edildi.Grup 5'in ph değeri ile grup 1 arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı. Bu sonuç NAC verilen ratların Ph düzeyinin 24. saatte düzelmiş olduğunu göstermektedir.

Yapılan klinik gözlemler Cl₂ gazı inhale eden olgularda hipoksi ile birlikte ph değerinde düşme olduğunu göstermiştir(22,40). Ph değerindeki düşme hipoksi ve laktik asidoza bağlanmıştır(41). Bu olgularda karbondioksit düzeylerinin artmış azalmış veya yükselmiş olabileceği söylenmektedir(22). Bunun yanı sıra Cl₂ gazı inhalasyonu sonrasında metabolik asidoz geliştiğini iddia eden yayınlarda mevcuttur (41). Ancak metabolik asidoz gelişimi ile ilgili mekanizmanın tam olarak bilinmediği belirtilmektedir(22,41). Kan gazı parametrelerindeki bu değişikliklerin akut hava yolu obstruksiyonu ile değişen solunum mekaniklerinden kaynaklandığı kabul görmektedir(4). Biz de çalışmamızda gözlemlediğimiz ph değerindeki düşmenin ratlarda gelişen hava yolu obstruksiyonu ve solunum yetmezliğine bağlı olduğunu

düşünmekle beraber daha çok parametreyi içeren çalışmaların planlanması gerekmektedir.

GSH ve GSH ile ilgili enzimler alt solunum yolları epitelinde mevcuttur 49. GSH akciğer dokusunda hasar oluşturabilecek, özellikle oksidatif streslere karşı defansın ilk basamağını oluşturur (42). ARDS, astım, kronik obstruktif akciğer hastalığı, idiyopatik pulmoner fibrozis gibi akciğer hastalıklarında GSH eksikliği gösterilmiştir (42).

Çalışmamızda grup 2 ve grup 4'ün akciğer doku GSH düzeyleri grup 1'e göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu. Grup 2 ve grup 4'ün GSH düzeylerindeki düşme karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Bu sonuçlar Cl₂ gazı inhalasyonunun akciğer dokusundaki GSH depolarını belirgin olarak azalttığını göstermektedir. Ayrıca bu eksiklik 24. saate kadar uzamaktadır. Cl₂ gazı zehirlenmesinde {O⁻}'nin akciğer dokusundaki hasardan sorumlu tutulan mekanizmaların başında geliyor olması bu sonuçlar ile uyumluluk göstermektedir.

Grup 3 GSH düzeyi grup 2 ile karşılaştırıldığında bir miktar yükselme tespit edildi. Ancak bu yükselme istatistiksel olarak anlamlı değildi. Grup 5 GSH düzeyindeki yükselme grup 4 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı idi ve grup 1 ile de istatistiksel olarak fark mevcuttu. Sonuç olarak NAC, Cl₂ gazı zehirlenmesi oluşturulan ratların akciğer doku GSH düzeylerini artırmaktadır. Bu artış 24. saatte, 6. saate göre daha belirgin ortaya çıkmaktadır. Artışın düzeyi grup 1 deki miktara ulaşmamaktadır.

Konukoğlu D. ve arkadaşları yanık sonrası akciğer dokusunda GSH düzeylerinde anlamlı bir azalmanın olduğunu ve bu azalmanın 24. saate kadar devam ettiğini göstermiştir. Aynı çalışma da NAC uyguladığı ratlar da GSH düzeylerindeki artışı istatistiksel olarak anlamlı bulmuştur. NAC sonrasında 1. ve 24. saat GSH değerlerini karşılaştırdıklarında 24. saatte artışın daha belirgin olduğunu vurgulamışlardır(12).

Cortijo J. ve arkadaşları bleomisin ile akciğer hasarı oluşturulan ratlarda GSH düzeylerinde belirgin azalmanın olduğunu ve NAC'ın bu ratlarda GSH düzeyini anlamlı olarak artırdığını tespit etmişlerdir(27).

Shin-Ichi H.ve arkadaşları deneysel akciğer fibrozisinde, aerosol şeklinde tek doz NAC uyguladıkları çalışmalarında bronko alveoler lavaj sıvısında GSH düzeyinin arttığını göstermişlerdir. Aynı zamanda bu tek doz uygulama sonrasında artmış olan GSH düzeyinin 12 saatten fazla sürdüğünü tespit etmişlerdir (15).

Bu çalışmaların sonuçları, çalışma sonuçlarımız ile benzerlik göstermektedir. NAC'ın, Cl₂ gazı zehirlenmesi sonrası azalan GSH düzeylerini artırmak suretiyle doku hasarını azaltmada faydalı olabileceği hipotezimizi desteklemektedir.

Çalışmamızda grup 2 ve grup 4 de bulunan ratların akciğer doku histopatolojilerini inceledik. Bu ratların bronşiollerinde ve küçük hava yollarında belirgin genişleme, epitelde yer yer deskuamasyon, yer yer nötrofil infiltrasyonu, alveoler ödem gibi doku hasarını işaret eden patolojik bulgulara rastladık. Bu bulgular Cl₂ gazı inhalasyonu sonrası oluşan hasarı göstermesi açısından grup1 ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteriyordu. Grup 2 ile grup 3 karşılaştırıldığında grup 2 de ki doku hasarının grup 3 de azalmış olduğunu tespit ettik. Aynı düzelme grup 4 ile karşılaştırıldığında grup 5 de de gözlemlendi. Hem grup 3 hem de grup 5 de izlenen bu düzelme istatistiksel olarak anlamlı idi. Grup 5 deki düzelme daha belirgin olmasına rağmen, hem grup 3 hem de grup 5 de ki değişiklikler grup 1 ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermekteydi. Bu sonuçlar NAC'ın Cl₂ gazı inhalasyonu sonrasında akciğer dokusunda izlenen hasarı hem 6. saatte hem de 24. saatte azalttığını göstermektedir.

Demnati R. ve arkadaşları yüksek konsantrasyonda Cl₂ gazı inhalasyonu sonrasında 90 gün boyunca ratların akciğer dokusundaki patolojik değişiklikleri incelemişlerdir. Çalışmalarında 24. saatte ratların bronşiol epitellerinde, bazal membranda ayrılma ve nekroz gibi ciddi hasarı gösteren bulgulara rastlamışlardır. Epitel rejenerasyonuna ait bulguları 24. saatte gözlemlemişler, bu yenilenmenin 3. günde maksimum seviyeye ulaşmış ve 7. güne kadar sürdüğünü belirtmişlerdir. Bronşiol epitelindeki bu değişikliklerin ilk 3 gün maksimum seviyede olmasının yanı sıra aynı zamanlarda yaptıkları fonksiyonel çalışmaların patolojik bulgularla korele olduğunu göstermişlerdir(38). Bizim çalışmamız, bu çalışma ile 24. saatte akciğer dokusundaki hasarın devam ettiği yönünde benzerlik göstermektedir.

Mats G. ve arkadaşları Cl₂ gazı inhalasyonu sonrasında akciğer dokusunda en çok izledikleri bulguların mukoza yüzeyinden siliyar epitelin ayrılması ile küçük ve orta bronşiollerin belirgin genişlemesi olduğunu bildirmişlerdir (6) Ayrıca bu bulguların bazı bronş ve bronşiolde sınırlı olduğunu diğer bölgelerin normal gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Bu bulgular çalışmamızdaki patolojik bulgular ile benzerdi. Mats G. ve arkadaşları tedavi için nebulize budenosid uyguladıkları domuzlarda bulguların daha silik olduğunu ve alveollerde interstisyel ödem

bulgusuna rastlamadıklarını söylemişlerdir (6). Mats G. ve arkadaşları yaptıkları başka bir çalışmada da benzer sonuçlara ulaşmışlardır(23).

NAC verdiğimiz gruplardaki ratlarda akciğer dokusunda görülen hasarın belirgin olarak azalmasının bu ilacın etki mekanizması ile Cl₂ gazı zehirlenme fizyopatolojisinin belirgin olarak kesişmesinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Cl₂ gazı akciğer dokusundaki hücrelerde işlevsel grupların oksidasyonu sonucu hasar oluşturur (8). NAC ise buna karşılık olarak güçlü antioksidan özelliğe sahiptir (26). Cl₂ gazının akciğer dokusunda hasar oluşturmaya neden olan ajanlardan biriside HOCl'dir(1,8). NAC, HOCl için güçlü bir temizleyicidir(26). NAC sülfidril grupları için önemli bir kaynaktır(26). Sülfidril grupları {O⁻}ne karşı defans için önemlidir(26). NAC hidroksil radikalleri ile hidrojen peroksidi indirgeme kabiliyetine sahiptir(26). Bunun dışında endotelial ve bronşiol epitel hücrelerinde adhezyon moleküllerinin sunumunu ve bazı sitokinlerin üretimini düzenler(15,26). Herbert S. ve arkadaşları insanlarda septik şok sonrasında uyguladıkları NAC infüzyonu ile plazma İL-8 düzeylerinde azalma gözlemlediklerini ve bunun septik akciğer hasarını önlemede NAC'ın protektif etkisine katkıda bulunduğunu belirtmiştir(29). Tüm bu mekanizmalar çalışmamızdaki doku hasarını azaltmada NAC'ın etkinliğini desteklemektedir

Çalışmamızda ratların beyin dokusu histopatolojileri incelendiğinde grup 2 ile grup 1 arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmedi. Bu sonuç beyin dokusunda Cl₂ gazı inhalasyonundan sonra 6. saatte belirgin bir hasar oluşmadığını göstermektedir. Grup 4 de ise hafif ve orta yoğunlukta nekrotik hücrelere rastladık. .Bu bulgular grup 1 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Bu sonuç 6.saatte beyin dokusunda hasar olmamasına karşın, hasarın 24. saatte ortaya çıktığını göstermektedir. Biz 24. saatte ortaya çıkan bu hasarın ratlarda gelişen solunum sıkıntısı ve muhtemel hipoksiye bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Beyin dokusu serbest radikal saldırılarına karşı oldukça hassastır(42). Yapılan bir çalışmada infeksiyon ve çeşitli stresler sırasında beyin dokusunda {O⁻}'nin üretiminde artış olduğu gösterilmiştir(43). Yapılan başka bir çalışmada da hipoksi sonrası ratların beyin dokusunda glutasyon düzeylerinin belirgin olarak azaldığı ve bu azalmanın 14-72. saatlerde en yüksek düzeye ulaştığı gösterilmiştir(44). Gene aynı çalışma da hipoksi de azalan GSH düzeylerinin indirgenme reaksiyonlarının düzenini etkileyerek beyindeki hücrelerin oksidatif streslere karşı daha hassas olmalarına yol açtığını, bunda beyin dokusundaki hasarın patofizyolojisinin de rol oynayabileceği

söylenmiştir(44). Biz de çalışmamızda beyin dokusunda 24. saatte oluşan hasara bu mekanizmanın neden olabileceğini düşünmekteyiz.

Grup 4 ile grup 5 karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. Bu 24. saatte görülen beyin dokusundaki hasarın NAC verdiğimiz ratlarda azaldığını göstermektedir. Grup 5 deki bu düzelme ile grup 1 karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaması düzelmenin tam olduğunu göstermektedir.

Bu düzelmenin temelinde akciğer dokusundaki hasarın NAC ile azaltılmış olmasının yattığını düşünmekteyiz. Akciğer dokusundaki belirgin düzelme muhtemel hipoksi süresini de kısaltarak beyin dokusundaki hasarı da azaltmaktadır.

Çalışmamızda ratların kalp dokularını histopatolojik olarak inceledik. Grup 1 hariç diğer gruplarda myokard liflerinde disorganizasyon bulgusu dışında bir bulguya raslamadık. Grup1 ile grup2, grup3, grup4,ve grup5 karşılaştırıldıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamadık. Yani hem 6. saatte hemde 24. saatte kalp dokusunda anlamlı bir hasar tespit etmedik.

Jianpu W. ve arkadaşları Cl₂ gazı ile yaptıkları 2 çalışmada da benzer olarak inhalasyon sonrasında domuzların kardiyak out-putunun çok az azalmakla beraber istatistiksel olarak bir fark bulamadıklarını belirtmişlerdir(5,37). J. Wang ve arkadaşları kalp doku histopatolojileri çalışmamışlardı.

Mats G. ve arkadaşları da domuzlarda benzer olarak kardiyak out-put da bir miktar azalmanın olduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada pulmoner vasküler rezistans ölçümlerinin inhalasyondan hemen sonra belirgin artmaya başladığını göstermişlerdir. Bu yüzden kardiyak out-put da ki azalmanın şiddetli pulmoner vazokonstriksiyon ile sağ ventrikül yüklenmesine ikincil olarak gelişebileceğini söylemişlerdir. Bu çalışmada da kalp doku histopatolojilerine yer verilmemişti(6).

Kalp fonksiyonlarını içeren bu çalışmalar dikkate alındığında kalp dokusu ile ilgili bulduğumuz veriler literatür ile uyumludur. Akut Cl₂ gazı zehirlenmesi kalp dokusunda histopatolojik bir hasar meydana getirmemektedir.

Akut Cl₂ gazı zehirlenmesinin tedavisine yönelik yapılan deneysel çalışmalar son derece azdır. Bu çalışmalar genellikle NaHCO₃ ve steroid ajanlar üzerinde yoğunlaşmaktadır. Domuzlarda yapılan bir çalışmada nebulize formda 5 dakika ve 2. saatte uygulanan beclometazon-dipropionate'ın Cl₂ gazı inhalasyonu sonrası görülen pulmoner ve sistemik ciddi bozuklukları azalttığı gösterilmiştir (6). Yapılan bir başka çalışmada da, budenosid ile benzer sonuçlar alınmıştır (5).

Yapılan bu iki deneysel çalışmanın da ortak görüşü kortikosteroidlerin iyileşmeyi hızlandırdıkları ancak klinik çalışmalara gereksinim olduğu yönündedir

Cl₂ gazı inhalasyonu sonrası Cl₂ zehirlenmesi oluşturulan koyunlarda yapılan bir çalışmada %4 nebulize NaHCO₃ ile kontrol gruplarına göre daha yüksek PaO₂ ve daha düşük bir PCO₂ düzeyi tespit edilmiştir. Ancak 24. saatte akciğer doku histopatolojisi ve mortalite arasında kontrol grupları ile anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (45).

İnsanlarda NaHCO₃ ile ilgili bilgiler sınırlıdır(22). Üç olguyu içeren bir çalışmada nebulize %3,75 lik NaHCO₃ uygulanmasından sonra olguların bulgularında hızlı bir ferahlama sağlandığı belirtilmiştir. Ancak bu çalışmadaki olguların minör semptomlara sahip olduğu, bronkospazm veya kan gazı anormalliği bulunmadığı vurgulanmıştır(46).

Daha çok olguyu içeren bir çalışmada %4,2 lik NaHCO₃'ın olguların hiçbirinde kötüleşmeye neden olmadığını ve olguların acil servisten taburcu olmalarını kolaylaştırdığını belirtmişlerdir(7). İnsanlarda NaHCO₃ ile yapılan bu çalışmalar kontrol grubu içermediğinden değerli bulunmamıştır(22). Nebulize NaHCO₃'ın hastalarda iyileşmeye yol açtığını, güvenilirliğini veya etkinliğini gösteren çalışmaların yetersiz olduğu düşünülmektedir(22).

Güloğlu C. ve arkadaşları kaza sonrası Cl₂ gazı zehirlenmeli 106 olguyu içeren çalışmalarında 62 olguda orta düzeyde bir klinik etkilenme gözlemlemişler ve ortalama takip sürelerinin 20 saat olduğunu belirtmişlerdir(2). Kliniği daha ağır iki Cl₂ gazı zehirlenmeli olgunun sunulduğu bir çalışmada da olgulardan birinin 4 gün süreyle diğerinin 2 gün süreyle hastanede tedavi edilmek zorunda kaldığı belirtilmiştir(40). On dokuz Cl₂ gazı zehirlenmeli olgu üzerinde yapılan bir başka çalışmada yüksek konsantrasyonda Cl₂ gazı inhalasyonu sonrasında zorlu vital kapasitenin vital kapasiteye oranının 1.günde 10 olguda %75 den az olduğu 10. günde 7 olguda %75'den az bulunduğu gösterilmiştir. Çalışmanın sonucu olarak da uzun süre ve yüksek konsantrasyonlarda maruziyetin, uzun dönem akciğer fonksiyonlarında bozukluklara yol açacağını belirtmişlerdir (47) .

Bizim yaptığımız çalışma sonuçları ile bu sonuçlar dikkate alındığında Cl₂ gazı zehirlenmesi sonrası doku hasarı uzun sürebilmektedir. Bu olguların kliniklerdeki takip süresinin uzun tutulması yararlı olacaktır.

Sonuç olarak, NAC'ın Cl₂ gazı inhalasyonunda oluşan organ hasarlarını azaltmaya yönelik bir ajan olarak akut dönemde kullanılması faydalı olacağı kanaatindeyiz.



SONUÇLAR

1. Cl₂ gazı inhalasyonu sonrasında kan gazı ph değerlerinde düşme olmaktadır. Ph değerindeki bu düşme 24. saatte de devam etmektedir. Ancak klinik değeri için daha geniş kan gazı parametrelerini içeren çalışmalara gereksinim vardır.

2. Cl₂ gazı inhalasyonu sonrasında akciğer dokusunda GSH düzeyinde belirgin azalma olmaktadır. Bu azalma 24. saatte de devam etmektedir. Cl₂ gazı inhalasyonu sonrası akciğer dokusunda oluşan hasarı gidermek için yapılacak olan deneysel ve klinik çalışmalarda bu faktör göz önünde bulundurulmalıdır.

3. Cl₂ gazı inhalasyonu sonrasında akciğer dokusunda hasar ortaya çıkmaktadır. Bu hasar 24. saatte de devam etmektedir.

4. Cl₂ gazı inhalasyonu beyin dokusunda 24. saatte hasar ortaya çıkmaktadır. Ancak 6. saatte herhangi bir hasar görülmemektedir.

5. Cl₂ gazı inhalasyonu sonrasında kalp dokusunda histopatolojik olarak hasar ortaya çıkmamaktadır.

6. NAC 6. saatte kan gazı Ph değerinde bir düzelme yapmamakla birlikte 24. saatte tam bir düzelmeye neden olmaktadır.

7. NAC akciğer dokusundaki GSH düzeyini yükseltmektedir. Bu yükselme 24. saatte daha belirgindir. Ancak GSH ın normal düzeylerine ulaştırılması için farklı dozlarda ve farklı uygulama şekillerini içeren çalışmalara hala ihtiyaç vardır.

8. NAC akciğer dokusunda meydana gelen histopatolojik hasarı hem 6. saatte hem de 24. saatte azaltmaktadır. Ancak düzelme tam olmamaktadır.

9. NAC beyin dokusundaki hasarı tamamen düzeltmektedir.

ÖZET

Klor gazı inhalasyonu sonucu meydana gelen klor gazı zehirlenmeleri, acil servislerde yaygın olarak karşılaşılan zehirlenmelerdendir. Klor gazı zehirlenmelerinin tedavisinde semptomatik yaklaşım dışında, oluşan organ ve doku hasarını azaltmaya yönelik kabul görmüş bir tedavi yaklaşımı yoktur.

Çalışmamızda ratlarda oluşturulan klor gazı zehirlenmesi sonrası antioksidan ve koruyucu özelliği kanıtlanmış olan N-asetil sistein'in bu özelliğinden faydalanarak organ hasarlarını azaltmayı amaçladık.

Ratlar randomize olarak 10'ar rattan oluşan beş gruba ayrıldı. Grup 1'e deney süresince hiçbir şey verilmedi. Grup 2 ve grup 3, 6. saatteki kontrol ve N-asetil sistein grubu olarak alındılar. Grup 4 ve grup 5, 24. saatteki kontrol ve N-asetil sistein grubu olarak alındılar. Ratlara 20 dakika ortam havasında 200 ppm olacak şekilde klor gazı verildi. Klor gazı verildikten hemen sonra intraperitoneal olarak 40 mg/kg dan N-asetil sistein verildi. Aynı dozda N-asetil sistein, 3 saat sonra aynı yol ile tekrar uygulandı. Kontrol grubuna da aynı şekilde ve aynı miktarda Serum fizyolojik verildi. Ratlar sakrifiye edilmeden önce kan gazı alındı. Ratlar sakrifiye edildikten sonra beyin, akciğer, kalp doku örnekleri alındı.

Ratlar da 6. ve 24. saatte ph değerlerinde anlamlı bir düşme tespit edildi. Akciğer doku glutatyon düzeylerinin de benzer olarak 6. ve 24. saatte azalmış olduğu bulundu. Akciğer dokusunda hem 6. saat hem de 24. saatte hasar gözlemlendi. Beyin dokusunda ise sadece 24. saatte hasar mevcuttu. Kalp dokusunda histopatolojik olarak hasar tespit edilemedi.

N-asetil sistein 6. ve 24. saatte kan gazı ph ve akciğer doku Glutasyon düzeylerinde yükselmeye neden oldu. Bu yükselme 24. saatte daha belirgindi.

Histopatolojik olarak N-asetil sisteinin 6. ve 24. saatlerde akciğer dokusunda düzelmeye neden olduğu görüldü. Beyin dokusunda 24. saatte kontrol grubuna göre hasarı tamamen düzelttiği görüldü..

Sonuç olarak klor gazı inhalasyonu sonrasında N-asetil sisteinin ratlardaki organ hasarını azaltmaya yönelik etkili bir ajan olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Asetilsistein, Cl₂, deneysel model, ratlar



The Evaluation of the Treatment Effectiveness of N-Acetylcysteine in Rats, to Whom Chlorine Gas Was Inhaled Experimentally.

Abstract

Cl₂ gas poisoning one of the poisonings commonly encountered in emergency departments. Except for the symptomatic approach, a treatment approach which is accepted to reduce organ and tissue damages is not present in chlorine gas poisoning treatment yet.

The aim of this experimental study is to reduce organ damages after the chlorine gas poisoning in rats by using NAC that has protective and antioxidant features.

Rats were randomly divided into 5 groups, each consisting of 10 rats. Nothing was given to group 1 during the experiment. Group 2 and group 3 were assigned as 6th-hour control and 6th-hour NAC groups. Group 4 and group 5 were assigned 24th-hour control and 24th-hour NAC groups. Cl₂ gas was administered to rats so as to be 200 ppm in 20 minutes. Following this, NAC was administered intraperitoneally from 40 mg/kg dose. After 3 hours NAC was administered again in the same dose and the same way. The control groups received SF in the same dose and the same way. Before the rats sacrificed, blood samples were obtained for the blood gas analysis. After the rats sacrificed; the brain, the lung and the heart tissue samples were obtained.

There was a statistically significant decrease in 6th-hour and 24th-hour pH values in rats. Glutathion levels in the lung tissue, in 6th-hour and 24th-hour were

also decreased. In lung tissue damage was found in 6th- hour and 24th-hour. In brain tissue, damage was found only in 24th-hour. Histopathologically, a damage could not be found in heart tissue.

We observed that NAC has caused a recovery histopathologically in lung tissue in 6th- hour and 24th-hour. Compared to the control group, it was observed that NAC recovered the damage in brain tissue.

We conclude that, NAC can be used as an effective agent to reduce organ damage in rats after the Cl₂ gas inhalation.

Key words: Acetylcysteine, chlorine, experimental model, rats



KAYNAKLAR

1. Lewis S. N. Simple asphyxiants and pulmonary irritants.in Goldfrank, Flomenbaum, Lewin (eds), The Clinical Basis Of Medical Toxicology (sixth edition) Appleton-Lange, U.S.A.1998, pp.1523-1534.
2. Güloğlu C, Kara İ. H, Pakize E. P. G. Acute accidental exposure to chlorine gas in the southeast of Turkey:study of 106 cases. Environ. Res. 2002;88:89-93.
3. Oymak F. S, Çetinkaya F, Gülmez İ, Demir R,Özemsı M. Fiberoptik kablo işçilerinde solunum fonksiyonları. Erciyes Tıp Dergisi 2002;24:76-81.
4. Philip A. E. Irritant Gas Inhalation The Clinical Practice Of Emergency Medicine, (Second Edition) Lippincott-Raven Publisher Philadelphia 1996, pp.1348-1352.
5. Jianpu W, Liming Z, Sten M. W. İnhaled budesonide in experimental chlorine gas lung injury:influence of time interval between injury and treatment, Intensive. Care. Med. 2002;28:352-357.
6. Mats G, Sten M. W, Tomas S, Sten L. Effects of inhalation of corticosteroids immediately after experimental chlorine gas lung injury. J.Trauma. 2000;48(1):101-107.
7. Bose G. M. Nebulized sodium bicarbonate in the treatment of chlorine gas inhalation. J. Toxicol. Clin. Toxicol. 1994;32:233-41.
8. Eli S, Eddy L. Toxicity, Chlorine Gas, e - medicine journal (serial online) 2001 may, available from:URL:www.emedicine.com.
9. Blesa J, Cortua M, Martinez-Losa M. M, et al. Effectiveness of oral n-acetylcysteine in a rat experimental model of asthma, Pharmacol. Res. 2002;45:2:135-140.
10. Waterfield C. J, Timbrell J. A. The biosynthesis of taurine from n acetylcysteine and other precursors in vivo and in rat hepatocytes, Amino Acids. 1996;10:173-185.
11. Stapleton P. P. O, Flaberty L, Redmon H. P, Bouchier-Hayes D. J. Host defense-a rol for the amino acid taurine? J Parenter. Enteral. Nutr. 1998;23:366-367.

12. Konukoğlu D, Çetinkale O, Bulan R. Effects of n acetylcysteine on lung glutathione levels in rats after burn injury. *Burns*. 1997;23:541-544.
13. Salvatore C, Giuseppina C, Emanuel M, Achille P.C. Protective effect of n-acetylcysteine on multiple organ failure induced by zymosan in the rat. *Crit. Care Med*.1999;27:8 :1524-1532
14. Domenighetti G, Peter M. S, Marie-Denise S, Rudolf R, Claude P. Treatment with n-acetylcysteine during acute respiratory distress syndrome:a randomized, double blind, placebo-controlled clinical study. *J. Crit. Care*. 1997;12:177-182
15. Shin-Ichi H, Yoshiki I, Satoshi K. Aerosolized administration of n acetylcysteine attenuates lung fibrosis induced by bleomycin in mice. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2000;162:225-231.
16. Bengt S, Anders T, Karin S, Anders H. Effects of n-acetylcysteine stereoisomers on oxygen-induced lung injury in rats. *Chemical Biological Interactions*. 1995;94: 157-164.
17. Serrano-Mollar A, Closa J. D, Morcillo A. J, et al. P- selectin upregulation in bleomycin induced lung injury in rats:Effect of n-acetyl-l-cysteine. *Thorax*. 2002; 57:629-634.
18. Gordon R. B, Nashville T. N acetylcysteine in experimental and clinical acute lung injury. *Am. J. Med*.1991;91:54-59.
19. Lemke T. W. Emergency department observation for toxicologic exposures. *Emergency Medicine Clinics Of North America* 2001; 19:155-165.
20. Charles A. M, Jonathan B. *Clinical Management Of Poisoning And Drug Overdose* 3 rd edition.W.B. Saunders company, Philadelphia 1998:966-972.
21. Nemery B,. Hoet P. H. M, Nowak D. Indoor swimming pools, water chlorination and respiratory health. *Eur. Respir. J*. 2002;19:790-793.
22. Stephen J. T, Robert S. H, Lewis S. N. Case report and literature review of chlorine gas toxicity. *Vet. Human. Toxicol*. 2002;44:235-239.
23. Mats G, Sten M. W, Tomas S, Gunnar D. B, Sten L. Exposure to chlorine gas: Effects on pulmonary function and morphology in anaesthetised and mechanically ventilated pigs. *J. Appl. Toxicol*. 1998; 18: 249-255.
24. Klönne D. R, Ulrich C. E, Riley M. G. Hamm T. E, Morgan K. T, Barrow C. S. One year inhalation toxicity study of chlorine in rhesus monkeys. *Fundam. Appl. Toxicol*. 1987;9:557-572.

25. Flanagan, R. J, Meredith, T. J. Use of n-acetylcysteine in clinical toxicology. *The Am. J. Med.* 1991;91(suppl 3C):131S-9S.
26. Gregory S, Kelly N. D. Clinical applications of N-acetylcysteine. *Altern. Med. Rev.* 1998;3:114-127 .
27. Cortijo J, Cerda-Nicolas M, Serrano A.G. B, et al. Attenuation by oral N acetylcysteine of bleomycin-induced lung injury in rats. *Eur.Respir.J.* 2001;17:1228-1235.
28. Robert. D. W, Barbarajean M, Michael W. S, Alan D. W. N acetylcysteine reduces methemoglobin in vitro. *Ann. Emerg. Med.* 1996;28: 499-503
29. Herbert S, Haibo Z, Christian D, et al. Does N acetyl-l-cysteine influence cytokine response during early human septic shock? *Chest.* 1998;113:1616-1624.
30. Uçgun İ. Ekspektoran ve antitüssif ilaçlar, *Türkiye Klinikleri Farmakoloji Özel Sayısı* 2003;1: 288-301.
31. Mutimer D. J, Ayres R. C. S., Neuberger J. M. Serious paracetamol poisoning and the results of liver transplantation. *Gastroenterology.* 1994;35:809-811.
32. Jones A. L. Mechanism of action and value of N-acetylcysteine in the treatment of early and late acetaminophen poisoning: A critical review. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 1998;36:277-285.
33. Rıza Kök T. Preparatif anorganik kimya laboratuvarı, Gaz maddeler Erciyes Üniversitesi Yayınları Fen Edebiyat Fakültesi, Kayseri 1988; 3:13-15.
34. Külcü N, Özpozan N. Kimya laboratuvarında çalışma tekniği Erciyes Üniversitesi yayınları, Kayseri 1992;36:139-143.
35. Warner D. S, Godersky J. C. Failure of pre-ischemia lidocaine administration to ameliorate global ischemic brain damage in the rat. *Anesthesiology.* 1988;68;73-78.
36. Narin F, Başarslan F, Akgün H, ve ark. Hipoksi ile oluşturulan myokardiyal hasar üzerine melatonin etkisi. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2004;13:64-72.
37. Jianpu W, Abu F. M. Z. Walther S. M. Effects of prone and supine posture on cardiopulmonary function after experimental chlorine gas lung injury. *Acta Anesthesiol. Scand.* 2002;46:1094-1102.
38. Demnati R, Fraser R, Ghezzi H, Martin J.G, Plaa G, Malo J. L. Time course of functional and pathological changes after a single high acute inhalation of chlorine in rats. *Eur. Respir J.* 1998;11:922-928.

39. Rhoden C. R, Lawrence J, Godleski J. J, Gonzalez-Flecha B. N-acetylcysteine prevents lung inflammation after short term inhalation exposure to concentrated ambient particles. *Toxicol. Sci.* 2004;79:276-303.
40. Brian R. W, John L. C, Blaine E. B. Chlorine inhalation toxicity from vapors generated by swimming pool chlorinator tablets. *Pediatrics.*1987;79:427-429.
- 41 Harold M. S, Irwin S. Hyperchloremic metabolic acidosis after chlorine inhalation. *Am. J. Med.* 1984;77;581-582.
42. Parris M. K. Glutathione systemic protectant against oxidative and free radical damage. *Altern. Med. Rev.* 1997;2:155-176.
43. Adel A. K. E, Tarek K. M, Mohamed Z, Gad-Hanan M. A. E. Protective effect of vitamin e, β -carotene and N-acetylcysteine from the brain oxidative stres induced in rats by lipopolysaccharide *Int. J. Biochem.* 2001;33:475-482.
44. Camilla W, Malgorzata P. S, Henrik H, Stephen G. W, Mats S. Alterations in glutathione and amino acid concentrations after hypoxia-ischemia in the immature rat brain. *Brain Res. Dev. Brain. Res.* 2000;125:51-60.
45. Chisolm C. D, Singelary E. M, Oderberg C. V, et al. Inhaled sodium bicarbonate therapy for chlorine inhalation injures. *Ann. Emerg. Med.*1989;18:466-469.
46. Vinsel P. J. Treatment of acute chlorine gas inhalation with nebulized sodium bicarbonate. *J. Emerg. Med.*1990;8:327-329.
47. Nirmal B. Charan S, Lakshminarayan G, Christopher M, Dorsett D. S. Effects of accidental chlorine inhalation on pulmonary function. *West. J. Med.* 1985;143:333-336.