

Diplomarbeit

**Hyperbare Oxygenierung  
Wirkung und Mechanismen**

eingereicht von

**Ivan Lucic**

Mat.Nr.: 0310047

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor der gesamten Heilkunde**

**(Dr. med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt am

**Institut für Physiologische Chemie**

unter der Anleitung von

**Ao.Univ.-Prof. Mag. Dr.rer.nat. Karl Öttl**

Graz, im November 2009

## **Eidesstattliche Erklärung**

*Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwende habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.*

*Graz, am 03.11.2009*

## Danksagung

Ich möchte mich hiermit bei allen bedanken, die mich während meiner Ausbildung und bei der Erstellung dieser Diplomarbeit unterstützt haben.

Ganz besonderer Dank gilt:

Ao.Univ.-Prof. Mag. Dr.rer.nat. Karl Öttl, für sein reichhaltiges Engagement in der fachlichen Betreuung der Diplomarbeit.

Univ.-Prof. Dr.med.univ. Freyja-Maria Smolle-Juettner, meiner Zweitbetreuerin.

Meiner Familie, die mich ständig unterstützt hat.

Meiner Freundin Sandra, für die Tipps in der Textverarbeitung.

## Zusammenfassung

Die hyperbare Oxygenierung (HBO) wird zunehmend in einer Vielzahl medizinisch-therapeutischer Bereiche verwendet. Sie ist definiert als die Inhalation von 100%igem Sauerstoff in einer Kammer in der ein Druck von mehr als einer Atmosphäre herrscht. Das Ziel dieser Diplomarbeit war es bekannte Erklärungsmodelle und Theorien über die Wirkmechanismen der HBO zusammenzufassen, um einen Überblick über die Auswirkungen der HBO auf den menschlichen Organismus zu schaffen. Dabei wurden aktuelle Studien und Reviews unterschiedlicher Datenbanken wie ‚pubmed‘ und ‚cochrane library‘ sowie Bücher zur HBO und zur Biochemie als Literaturlbasis verwendet.

Die HBO gilt im Allgemeinen als eine sichere Behandlungsform mit niedrigem Nebenwirkungsprofil. Die einzige absolute Kontraindikation ist der unbehandelte Pneumothorax. Um Nebenwirkungen zu vermeiden sollte die HBO dem individuellen Risikoprofil angepasst werden.

Die primären Wirkmechanismen der HBO beinhalten die physikalischen und chemischen Einflüsse auf den Organismus, wie die Verkleinerung von Gasbläschen oder die erhöhte Lösung vom Sauerstoff im Blut, mit der Folge einer mehr oder minder erythrozytenunabhängigen Sauerstoffversorgung, erhöhtem Diffusionsgradienten oder die Verdrängung des Kohlenmonoxids vom Hämoglobin. Damit kann bei der Anämie oder bei Endstrombahnen, die die Erythrozyten nicht erreichen können, eine Sauerstoff-Versorgung gewährleistet werden.

Die sekundären Wirkmechanismen stellen physiologische und pathophysiologische Veränderungen durch die HBO dar. Zu diesen gehören u. a. die Einflüsse auf Gefäße, Thrombozyten, Leukozyten, Wechselwirkungen mit Antibiotika, Infektionen, Stammzellen, den oxidativen Status, Enzyme, ICAMs, die CD-18 Polarisation, Apoptose, Interferone, Interleukine, ROS, das Cytochrom-C, Caspasen, BCL-2, Fas-Protein, HO-1, HIF, VEGF, APO-1 und -2, MMPs, TNF- $\alpha$ , DDR, SOD, Katalase, Glutathion und Membranpotentiale.

Verschiedene Publikationen liefern teilweise widersprüchliche Ergebnisse über die Wirkmechanismen der HBO, andere stimmen überein. Generell kann man sagen, dass die Wirkungsmechanismen äußerst vielfältiger Natur sind und Kenntnisse darüber bei Weitem nicht so vollständig sind, dass man verlässliche Vorhersagen über etwaige Wirkungen machen könnte.

## **Abstract**

HBO is being used in an increasing number of medical areas. HBO is defined as the inhalation of 100% oxygen in a chamber containing an air pressure higher than one atmosphere. The aim of this diploma project was to summarize known theories about the mechanisms of action of the HBO on human bodies. For that reason several databases like 'pubmed', 'cochrane library' and books about HBO and biochemistry were used. HBO is considered to be a safe form of treatment with low profile of side effects. The only absolute contraindication is the untreated pneumothorax. To prevent side effects HBO should be adapted to the individual risk profile. The primary mechanisms of action include physical and chemical effects on the organism as the diminishment of gas bubbles, the elevated solution of oxygen in blood, resulting in a more or less erythrocyte-independent oxygen supply, raised gradient of diffusion or the replacement of CO from haemoglobin. Consequently an oxygen supply is guaranteed at anaemia or areas of terminal pathways which cannot be reached by erythrocytes.

Secondary mechanisms of action are represented by physiological and pathophysiological effects of the HBO. These include the effects on blood vessels, thrombocytes, leukocytes, interaction with antibiotics, infections, stem cells, oxidative status, enzymes, interleukins, interferons, ROS, ICAMs, CD-18-polarisation, apoptosis, cytochrom-C, caspases, BCL-2, Fas-protein, HO-1, HIF, VEGF, APO-1 and APO-2, MMPs, TNF-  $\alpha$ , DDR, SOD, catalase, glutathione und membrane potential.

Various publications show partly contradictory results related to the effects of the HBO, others agree. In general it can be said that there are many different effects of HBO and known theories are not completed enough to make a reliable predict about the mechanisms of the HBO.

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	1
1.1	Definition der HBO-Therapie .....	1
1.2	Therapieformen mit ihren Vor- und Nachteilen.....	1
1.3	Indikationen .....	2
1.4	Kontraindikationen.....	4
1.5	Wechselwirkungen mit Medikamenten, Enzymen und Substanzen .....	5
1.6	Physikalische, chemische und physiologische Basis der HBO Therapie .....	9
1.6.1	Primäre positive Effekte.....	9
1.6.2	Sekundäre positive Effekte.....	11
1.6.3	Negative Effekte und Komplikationen.....	13
2	Material und Methoden .....	21
3	Wirkmechanismen .....	22
3.1	Auswirkungen auf das Immunsystem.....	23
3.1.1	Einfluss auf Leukozyten.....	25
3.1.2	Einfluss auf die Apoptose .....	27
3.1.3	Rolle des nukleären Faktors kappa $\beta$ und der NOS .....	29
3.2	Auswirkungen auf die Wundheilung .....	31
3.2.1	Auswirkungen auf das Zellwachstum .....	32
3.2.2	Effekte auf die Plättchenaggregation.....	38
3.2.3	Effekte bei der Ischämie und Hypoxie .....	39
3.2.4	Erhöhung der Toleranz gegen oxidativen Stress.....	42
3.2.5	Einfluss auf den Glucosestatus .....	45
3.2.6	Einfluss auf die Atherosklerose .....	46
4	Darstellung einiger Wirkungen an bestimmten Organen.....	47
4.1	Einsatzgebiete in der Augenheilkunde .....	47
4.1.1	Vaskuläre Erkrankungen der Retina.....	48
4.1.2	Sklerale Schmelzung und Nekrose.....	49
4.1.3	Infektionen des Auges .....	50
4.2	Einige Wirkungen auf das Zentralnervensystem .....	50

4.2.1	Einfluss auf den zerebralen Metabolismus .....	50
4.2.2	Auswirkungen auf die Substanz P beim Cluster-Kopfschmerz.....	51
4.2.3	Einfluss auf CO <sub>2</sub> /H <sup>+</sup> -sensitive Neurone in Stammzellen und auf die neuromuskuläre Erregbarkeit .....	52
5	Diskussion .....	55
	Lebenslauf.....	63

## Glossar, Abkürzungen und Symbole

↑	wird erhöht, stimuliert
↓	wird gesenkt, gehemmt
7-AAD	7-Aminoactinomycin
APO	Angiopoietin
atm	1,01325 bar, der Druck einer Atmosphäre
bzw.	beziehungsweise
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
CK	Clusterkopfschmerz
CO	Kohlenmonoxid
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
CP	Zerebralparese
d. h.	das heißt
DDR	Discoidin-Domänen-Rezeptor
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EPZ	endotheliale Progenitorzellen
FGF	Fibroblastenwachstumsfaktor
GH	Wachstumshormon
GPx	Glutathionperoxidase
H <sup>+</sup>	Wasserstoffion
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
HBO	Hyperbare Oxygenierung
HBOT	Therapie durch Hyperbare Oxygenierung
HIF-1	Hypoxie-induzierbarer-Faktor-1
HO-1	Hämoxygenase 1
HSP70	Hitzeschockprotein 70
ICAM	intrazelluläres Adhäsionsmolekül
IGF	Insulinähnlicher Wachstumsfaktor
IF	Interferon
IL	Interleukin
LA	alpha-Liponsäure

LPS	Lipopolysaccharide
MMPs	Matrixmetalloproteinasen
MPO	Myeloperoxidase
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
MsrA	Methionin-Sulfoxid-Reduktase A
NADPH	Nikotinamidadenindinukleotidphosphat
NF-κB	nukleärer Faktor kappa B
NO	Stickstoffoxid
NOS	Stickstoffoxidsynthase
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
PDGF	Blutplättchen-abgeleitete-Wachstumsfaktor
pH	pondus Hydrogenii
pO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
RNA	Ribonukleinsäure
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
RONS	reaktive Stickstoffspezies
SH	Sulfonylharnstoffgruppe
SOD	Superoxiddismutase
SZ	Stammzellen
Tab.	Tabelle
TGF β	Transformierender-Wachstumsfaktor-β
TNF-α	Tumor Nekrose Faktor alpha
Trx	Thioredoxin
u. a.	unter anderem
v. a.	vor allem
VEGF	vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor
z. B.	zum Beispiel
ZNS	Zentralnervensystem

## **Abbildungsverzeichnis**

Abb. 1: HBO-Toxizität an der DNA .....	19
Abb. 2: ROS-Abwehr der Leukozyten .....	25
Abb. 3: Nukleärer Faktor kappa B .....	30
Abb. 4: Wirkung der HBO auf das APO-2 .....	35

## **Tabellenverzeichnis**

Tab. 1: Vor- und Nachteile der Ein- und Mehrpersonenkammer .....	2
Tab. 2: HBO-Indikationen nach der European Conference on Hyperbaric Medicine .....	4
Tab. 3: Kontraindikationen für die HBO Therapie .....	5
Tab. 4: Verstärkende Einflüsse auf die HBO-Toxizität .....	8
Tab. 5: Einfluss der Hyperoxie auf einige Enzyme .....	9
Tab. 6: Einfluss der HBO auf bestimmte Substanzen und Zellen .....	23
Tab. 7: Indikationen für die HBOT in der Augenheilkunde .....	48

# 1 Einleitung

Die hyperbare Oxygenierung (HBO) hat viele therapeutische Einsatzgebiete, deren genaue Wirkmechanismen nicht bzw. ungenügend geklärt sind. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit den Wirkmechanismen sowie einigen Wirkungen der HBO.

## 1.1 Definition der HBO-Therapie

Die HBOT ist definiert als die Inhalation von 100%-igem O<sub>2</sub> in einer Kammer, in welcher ein Druck von mehr als einer Atmosphäre herrscht (2).

## 1.2 Therapieformen mit ihren Vor- und Nachteilen

Die HBOT kann in einer Kammer, mit einer oder mehreren Personen, mit dem Endotrachealtubus, mit der Maske oder über eine festsitzende Kopfbedeckung durchgeführt werden. Die Sitzungen dauern meist zwischen 45 und 90 Minuten und finden aus Kostengründen in einer Mehrpersonenkammer statt. Je früher im Verlauf der Erkrankung mit der Behandlung begonnen wird, desto bessere Erfolge können erzielt werden (4).

Die Vor- und Nachteile der Ein- und Mehrpersonenkammer sind in der Tab. 1 angeführt.

<b>Einpersonenkammer</b>
<b>Vorteile</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Transportfähigkeit</li><li>• patientInnenspezifische Behandlung</li><li>• geringere Anschaffungskosten</li><li>• keine Gefahr einer iatrogenen Dekompressionserkrankung</li></ul>
<b>Nachteile</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• klaustrophobische Umgebung</li><li>• limitierte Patientenzahl</li><li>• erhöhte Feuergefahr, da die gesamte Kammer hyperbaren O<sub>2</sub> beinhaltet</li><li>• limitierte Druckkapazitäten von drei atm</li></ul>

<b>Mehrpersonenkammer</b>
<p><b>Vorteile</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• reduzierte Feuergefahr durch festsitzende Masken mit Sauerstoffzufuhr</li> <li>• Möglichkeit für Bedienstete während der Therapie rein- und rauszugehen um akute Probleme der Patienten zu behandeln</li> <li>• größerer Druckbereich</li> <li>• Möglichkeit der Nutzung verschiedener elektrischer Signale</li> </ul>
<p><b>Nachteile</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Gefahr der gegenseitigen Infektion der Patienten</li> <li>• höhere Laufkosten</li> <li>• unsichere Sauerstoffversorgung mit der Maske</li> <li>• erschwerte Beatmung bei ernsthaften Kopf- oder Nackenbeschwerden</li> </ul>

**Tab. 1: Vor- und Nachteile der Ein- und Mehrpersonenkammer (4)**

### **1.3 Indikationen**

Indikationen für die HBOT sind u. a. Kohlenmonoxidvergiftungen (CO-Vergiftungen), Dekompressionserkrankungen, Gasembolien, das Kompartmentsyndrom, schlecht heilende Wunden, nekrotisierende Weichteilinfektionen, Gasbrand (1, 2, 11, 21, 30), akute Blutverluste, intrakranielle Abszesse, Spätschäden bei Strahlung, hartnäckige Osteomyelitiden, Quetschwunden, gefährdete Hauttransplantate und thermale Verbrennungen (4, 5, 11, 30).

Die akute CO-Intoxikation stellt die häufigste Vergiftungsursache in Europa und Nordamerika dar. CO führt zur Bildung von Carboxyhämoglobin und blockiert des Weiteren die mitochondriale Cytochromoxidase mit der Folge zellulärer Asphyxie. Symptome wie Kopfschmerzen, Übelkeit, Schwindel, Krampfanfälle, respiratorische Störung und Myokardinfarkte konnten durch die HBO verbessert werden. Bei der Dekompressionserkrankung entstehen Inertgasbläschen aus dem Stickstoff, der sich im Gewebe mit viel Fettanteil, wie Nervengewebe festsetzt und schließlich zu Embolien führen kann. Weiters kommt es durch Thrombozytenaggregation, Leukozyten- und Komplementaktivierung zu einer Eiweißkomplexbildung um die Inertgasbläschen herum. Schließlich kommt es zu Ödemen und zur Gewebshypoxie. Durch die HBO konnte bei diesen Krankheitsbildern in retrospektiven Studien

in 90% eine Restitutio ad integrum erzielt werden. Die clostridiale Myonekrose wird mit der HBO, Chirurgie und Antibiotika behandelt. HBO unterdrückt die Exotoxinproduktion und wirkt bakterizid (21).

Laufende Forschungen untersuchen die Vorteile der hyperbaren Oxygenierung bei Sepsis. Der Einsatz der HBO bei Leukämie als zusätzliche Behandlung wird diskutiert (1). Positive Effekte sind bei Hydrogensulfid-Vergiftungen, Frakturen, akuten Quetschverletzungen, neurologischen Erkrankungen wie Paralysen, Hirnödemen, fokalen Ischämien und Schlaganfällen und hämatologischen Erkrankungen wahrscheinlich. Neuere Berichte zeigen eine Mobilisierung von endothelialen Progenitorzellen aus dem Knochenmark. Diese können die Heilung in chronischen, nicht heilenden Wunden und peripheren arteriellen Erkrankungen fördern. Weiters könnte die HBOT bei Myokardinfarkten zur Besserung führen (4).

Im Gastrointestinaltrakt hat die HBO ihre Indikationen auch bei schweren Infektionen, der Hyperbilirubinämie, Morbus Crohn und Colitis Ulcerosa (12).

Die Indikationen nach der European Conference of Hyperbaric Medicine sind in der Tab. 2 angeführt.

Nachdrücklich empfohlen

- Dekompressionskrankheit
- Arterielle Gasembolie
- CO-Intoxikation
- nekrotisierende Weichteilinfektion
- Weichteil-/Osteoradionekrose
- Zahnextraktion in bestrahltem Areal/bei Osteomyelitis

Empfohlen

- Crush-Verletzung/Reperfusionssyndrom
- kritisches Haut-/Myokutantransplantat
- akute Hörminderung
- therapierefraktäre ischämische Läsion (Ulkus/Gangrän)
- chronisch refraktäre Osteomyelitis
- Osteomyelitis des Craniums/Sternums

#### Weitere Indikationen

- Reperfusionssyndrom nach Gefäß-OP
- Re-Implantation traumatisch amputierter Gliedmaßen
- zerebrale Anoxie
- Verbrennungen
- akute ophthalmologische Ischämie
- spinale/intestinale Radionekrose

**Tab. 2: HBO-Indikationen nach der European Conference on Hyperbaric Medicine (21)**

## 1.4 Kontraindikationen

Die einzige absolute Kontraindikation für die HBO ist der unbehandelte Pneumothorax. Eine chirurgische Therapie des Pneumothorax vor der HBO macht die Behandlung wieder möglich. Weitere Kontraindikationen sind relativ zu betrachten. Eine Infektion der oberen Atemwege prädisponiert zum Ohr- und Sinusbarotrauma. In diesen Fällen sollte die HBO verschoben oder ein dekongestives Medikament wie Oxymetazolin verabreicht und der Druck langsam aufgebaut werden. Des Weiteren können PatientInnen mit einem Emphysem bei einer Kohlendioxid-(CO<sub>2</sub>)-Retention einen Pneumothorax durch die HBO wegen der Ruptur der Emphysemlase entwickeln. Ein überhöhter Druck kann zur Lungenzerreißung mit der Folge einer Luftembolie, eines mediastinalen Emphysems oder Spannungspneumothorax führen. Deswegen sollte vor der HBO ein Thoraxröntgen zum Ausschluss derartiger Erkrankungen gemacht werden. Die HBO sollte auch dann nicht durchgeführt werden, wenn die im Thoraxröntgen gefundenen Läsionen asymptomatisch sind. Schließlich sollten Operationen am Ohr oder Thorax vor der HBOT evaluiert werden.

Unkontrolliert hohes Fieber prädisponiert zu Krämpfen und sollte daher vor der HBO-Therapie gesenkt werden. Eine weitere Kontraindikation ist die Schwangerschaft. Experimente an Tieren zeigten, dass die HBO in frühen Stadien der Schwangerschaft zu erhöhten Raten an kongenitalen Malformationen führt. Die HBO scheint in späteren Stadien der Schwangerschaft keine negativen Effekte hervorzurufen. Bei PatientInnen mit Erkrankungen des Zentralnervensystems kann es unter der HBO selten zu Krämpfen kommen (30). Andere Studien zeigten,

dass Tiere bei einer HBO mit Drücken von mehr als 2,8 atm Krämpfe aufgrund der Bildung von ROS und der Lipidperoxidation erleiden (35).

Allerdings hilft die HBO die Krämpfe zu mildern, wenn sie durch Hypoxie oder zerebrale Kreislauferkrankungen hervorgerufen wurden. Eine Studie an 100 Kindern mit Epilepsie konnte eine Kontrolle der Krämpfe in 68% und eine Besserung kognitiver Funktionen mit einem Anteil von 38% aller PatientInnen zeigen. Außerdem konnte die Dosis der Antiepileptika reduziert werden. Es steht noch zur Diskussion ob die HBO zu erhöhtem Tumorwachstum führt (30).

<b>Absolute Kontraindikationen für die HBOT</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• unbehandelter Pneumothorax</li></ul>
<b>Relative Kontraindikationen für die HBOT</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Infektion der oberen Atemwege</li><li>• Emphysem mit CO<sub>2</sub> Retention</li><li>• asymptomatische pulmonale Läsionen im Röntgen</li><li>• Zustand nach Thorax- oder Ohroperationen</li><li>• unkontrolliert hohes Fieber</li><li>• Schwangerschaft</li><li>• Klaustrophobie</li><li>• Anfallsleiden, Krampfleiden</li></ul>

**Tab. 3: Kontraindikationen für die HBO Therapie (30)**

## **1.5 Wechselwirkungen mit Medikamenten, Enzymen und Substanzen**

Die HBO gilt per definitionem als ein Medikament. Sie kann mit anderen Medikamenten wechselwirken. ZNS-Stimulantien wie Amphetamine und übermäßiger Kaffeekonsum prädisponieren zu negativen Effekten der HBO, wie dem der O<sub>2</sub>-Toxizität. Ein weiteres Beispiel zeigt eine Wechselwirkung mit Ethanol, wobei es zu verlängerten Schlafzeiten bei Mäusen kommt.

Narkosemedikamente senken den Atemantrieb durch eine verminderte Reaktivität der Zentren der Medulla auf  $\text{CO}_2$ . Zusammen mit der HBO kann es zu einem  $\text{CO}_2$ -Anstieg kommen mit der Folge einer Vasodilatation und erhöhter  $\text{O}_2$ -Toxizität.

Die HBO kann außerdem die Wirkung des Anästhetikums Phentobarbital aufheben. In weiteren Studien konnte eine veränderte Pharmakokinetik des Medikaments als Ursache ausgeschlossen werden.

Eine weitere interessante Wirkung der HBO ist die Erhöhung der Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke. Dadurch können Antibiotika diese Barriere leichter passieren und sind effektiver in der Therapie der Meningitis.

$\text{O}_2$  bewirkt zudem bei 2,2 atm eine Verminderung der minimalen hemmenden Konzentration von Natriumsulfisoxazol auf ein Fünftel bis ein Zehntel und die des Trimethoprim auf die Hälfte. Bei 3,2 atm waren jeweils eine 25-fach und eine zehnfach geringere Dosis notwendig, um die Bakterien am Wachstum zu hemmen (30). Andererseits können durch die HBO anaerobe Bakterien wie das Clostridium perfringens beseitigt und vermehrt ROS durch Leukozyten gebildet und damit die Bakterizidie und Phagozytose verbessert werden. Weiters konnte die alpha-Toxin-Produktion von Clostridien reduziert und ein bakteriostatischer Effekt auf Escherichia Coli und Pseudomonas nachgewiesen werden, abhängig von angewandtem Druck und der Expositionsdauer (21, 30).

Andere Medikamente wie das Sulfamylon, ein Karboanhydrasehemmer, bewirken einen  $\text{CO}_2$ -Anstieg und eine Vasodilatation. Sie sollten daher vor der HBO pausiert oder abgesetzt werden.

Studien zeigten eine herabgesetzte Toxizität und verstärkte Wirkung von Adriamycin bei gleichzeitiger HBO-Behandlung. Die HBO erhöhte den chemotherapeutischen Effekt von Doxorubicin. Eine andere Studie zeigte einen verminderten Misonidazol-Metabolismus mit der Folge erhöhter Anreicherung beim Tumor und damit auch erhöhter Radiosensitivität.

Die HBO kann zu einer deutlichen Reduktion hypotensiver Wirkungen von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Blockern, Ganglionblockern und der Elimination von zentralen Adrenomimetika führen. Die kardiotropen Wirkungen der  $\beta$ -Adrenoblocker und die blutdrucksteigernden Eigenschaften der  $\alpha$ -Adrenomimetika werden potenziert. Deswegen sollten diese Medikamente nach der HBOT und nicht davor gegeben werden. Die HBO scheint darüber hinaus die Wirkung und die Toxizität der Herz-Glykoside herabzusetzen.

In weiteren Studien konnte die HBO die Wirkung des Nifedipins reduzieren, die negative Chronotropie und Inotropie des Propanolols potenzieren und hatte keinen hämodynamischen Einfluss auf den Effekt des Glycerol-trinitrats.

Bei gleichzeitiger Verwendung des Heparins und der HBO, kann es einerseits durch pulmonale Läsionen, die durch die HBO entstehen, und andererseits durch die gerinnungshemmende Wirkung des Heparins, zu pulmonalen Blutungen kommen. Schließlich kann auch die Dosis des Insulins bei gleichzeitiger HBO-Behandlung herabgesetzt werden. Reserpine und Guanethidine interagieren unvorteilhaft mit der HBO. ES konnte gezeigt werden, dass der Abbau von Salizylat bei Hunden bei einem Druck von 2,8 atm erhöht wurde.

Einige Medikamente erhöhen die O<sub>2</sub>-Toxizität. Dazu zählen Acetazolamid, ZNS-Stimulantien, Disulfiram und schilddrüsenstimulierende Extrakte. Acetazolamid ist ein Karboanhydrasehemmer, der den Blutfluss während der HBO erhöht und der O<sub>2</sub>-induzierten Vasokonstriktion entgegenwirkt. Daher ist dessen Verwendung bei Drücken über zwei atm zu meiden.

Disulfiram wird bei der Therapie vom Alkoholabusus verwendet. Zusammen mit der HBO bei zwei atm und für eine Dauer von 12h kam es bei einer Studie an Ratten in 30% zu Todesfällen. In der Kontrollgruppe blieben alle Ratten am Leben. Als Ursache wird die Reduktion des Disulfirams zum Diethyldithiocarbamat mit der Folge der SOD-Hemmung vermutet. Schilddrüsenstimulierende Extrakte konnten bei Studien an Tieren durch eine erhöhte Metabolisierung zu einer Steigerung der O<sub>2</sub>-Toxizität führen.

Es gibt schließlich auch Medikamente die die O<sub>2</sub>-Toxizität hemmen. Dazu zählen Phenothiazine, Propanolol, Vitamin E, Phenytoin und Diazepam. Sie verhindern die Entstehung von Krämpfen. Diazepam kann allerdings auch zur Atemdepression führen. Weitere Substanzen, die die O<sub>2</sub>-induzierte Toxizität mindern sind Cytochrom-P450-mono-oxygenase-2-E1-Hemmer und Diethyldithiocarbonat. Ihre Wirkung stammt größtenteils aus antioxidativen Effekten.

Magnesium wirkt antioxidativ, vasodilatativ und hemmt dadurch die O<sub>2</sub>-Toxizität. Vitamin E hat durch antioxidative Eigenschaften einen Benefit bei der Therapie (30).

Einige Substanzen oder Krankheiten, die die O<sub>2</sub>-Toxizität erhöhen sind in der Tab. 4 angeführt:

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gase CO<sub>2</sub>, CO</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Neurotransmitter Epinephrine und Norepinephrine</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hormone Insulin, Schilddrüsenhormone adrenokortikale Hormone</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Medikamente Acetazolamid, Dextroamphetamin, NH<sub>4</sub>Cl, Paraquat, Aspirin, Disulfiram, Guanethidin</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Krankheiten Fieber, Vitamin-E-Mangel, kongeniale Sphärozytose</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Erhöhter Metabolismus Physikalisches Training, Hyperthermie, Tauchen</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Metalle Eisen, Kupfer</li> </ul>	

**Tab. 4: Verstärkende Einflüsse auf die HBO-Toxizität (30)**

Grundsätzlich wird aufgrund von Studien an Nagetieren vermutet, dass eine erhöhte Luftfeuchtigkeit die O<sub>2</sub>-induzierte Toxizität verstärkt. Diese äußert sich mit Krämpfen und Lungenschädigung. Körperliche Betätigung wirkt diesen Nebenwirkungen entgegen (30).

Die Hyperoxie hat sowohl einen hemmenden als auch einen stimulierenden Einfluss auf verschiedene Enzyme.

Jene Enzyme, welche bei Hyperoxie und einem Druck zwischen 1-5 atm gehemmt werden, sind in der Tab. 5 dargestellt:

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Embden-Meyerhof-Signalweg Phosphogluko-kinase, Phosphogluko- mutase, Glycerinaldehyd-phosphat-de- hydrogenase*</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Trikarbonsäurezyklus Succinat-dehydrogenase*, α- Ketoglutarat-dehydrogenase*, Malat- dehydrogenase*</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Konversion vom Pyruvat zu Acetyl- CoA Pyruvat-oxidase</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Membrantransport Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Neurotransmittersynthetisierende En- zyme Glutamatsäure-dekarboxylase, Cholin- acetylase, Dopa-dekarboxylase, Serotonin-dekarboxylase, Phenylala- nin-hydroxylase, Tyrosin-hydroxylase</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Elektronentransport DNPH-dehydrogenase*, Laktat-de- hydrogenase*, Xanthin-oxidase, D- Aminosäure-oxidase, Succinat-de- hydrogenase*, Malat-dehydroge- nase*, Glycerinaldehyd-phosphat-de- hydrogenase*</li> </ul>

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Proteolyse und Hydrolyse Kathepsin, Papain, unspezifische Proteasen und Peptidasen, Arginase, Urease, Ribonuklease</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reduktionswege des molekularen O<sub>2</sub> Na<sup>+</sup>-, K<sup>+</sup>-ATPase</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Andere Acetat-kinase, Zerebrosedase, Cholin-oxidase, Fettsäuren-dehydrogenase, Glutamat-dehydrogenase, Glutamat-synthetase, Glyoxylase, Hydrogenase, Isozitat-Lyase, Malat-synthase, Myo-kinase, Phosphat-transacetylase, Transaminase, Aldolase</li> </ul>	

**Tab. 5: Einfluss der Hyperoxie auf einige Enzyme (30)**

\*Sterne deuten auf Moleküle mit Sulfonylharnstoffgruppen hin, die durch Oxidation inaktiviert werden.

## **1.6 Physikalische, chemische und physiologische Basis der HBO Therapie**

In folgenden Kapiteln werden die grundlegenden Effekte der HBO beschrieben.

### **1.6.1 Primäre positive Effekte**

Die primären Effekte der HBOT im Blut sind z. B. die Hyperoxygenierung und die verkleinerte Größe der Gasblasen. Letzteres wird z. B. bei der Dekompressionserkrankung ausgenutzt, bei der es nach der Dekompression zur Blasenbildung kommt (4). Zugeführtes O<sub>2</sub> verdrängt inerten Stickstoff aus den Bläschen und als Folge des O<sub>2</sub>-Verbrauchs werden die Gasblasen kleiner (21). Weiters beinhaltet die Einatemluft üblicherweise ungefähr 21% O<sub>2</sub>, während bei der HBO eine O<sub>2</sub>-Konzentration von bis zu 100% verwendet wird. Der atmosphärische Druck ist bei dieser Therapieform bis zum dreifachen des vorherrschenden Luftdrucks auf Seehöhe erhöht. Bei der Kohlenmonoxidvergiftung bietet die HBOT eine alternative O<sub>2</sub>-Versorgung des Gewebes durch den im Plasma gelösten O<sub>2</sub> einerseits und erleichtert andererseits die Dissoziation von Kohlenmonoxid vom Hämoglobin (4).

Unter physiologischen Bedingungen bindet 1g Hämoglobin 1,34 ml O<sub>2</sub>. Bei einem Hämoglobingehalt von 15g/dl können somit ca. 200 ml O<sub>2</sub> pro Liter Blut aufgenommen werden. Bei 37°C, normobarem Druck und einem arteriellen O<sub>2</sub>-Partialdruck von 100 mmHg werden 3,1 ml O<sub>2</sub> pro Liter Blut physikalisch gelöst (21).

Die HBOT erhöht bei einem Umgebungsdruck von drei Atmosphären und 100%-iger O<sub>2</sub>-Konzentration den Anteil des physikalisch gelösten O<sub>2</sub> im Blut mit einem resultierenden Partialdruck von ungefähr 2000 mmHg (4). Somit kann eine erythrozytenunabhängige O<sub>2</sub>-Versorgung gewährleistet werden. Der Anteil physikalisch gelösten O<sub>2</sub> liegt dabei bei etwa 62 ml/l Blut (21). Der O<sub>2</sub>-Partialdruck im Gewebe wird auf 400 mmHg erhöht. Die Hyperoxie ist der Hauptmechanismus bei der Behandlung von schwerem Blutverlust, dem Kompartmentsyndrom, Wundheilungsstörungen, bei der Prävention und Behandlung der Osteoradionekrose, bei nicht heilenden Diabeteswunden und Ulzera (4).

Beim Gasbrand wird durch die HBO ab einer Gewebs-O<sub>2</sub>-Spannung von 60 mmHg die Toxinproduktion gehemmt. Die Clostridien werden dabei ab einem Druck von 250 mmHg am Wachstum gehemmt. Durch die HBO kommt es zu einer Demarkierung zwischen nekrotischem und vitalem Gewebe. Bei einem O<sub>2</sub>-Partialdruck von 900 mmHg kommt es zu einer Wachstumshemmung und bei 1800 mmHg zu einem fungiziden Effekt bei Infektionen mit *Candida Albicans*.

Anaerobe Erreger können durch den O<sub>2</sub> geschädigt werden. Fakultativ anaerobe Erreger wie *Borrelia Burgdorferi* werden bei einem Druck von 200 mmHg lysiert.

Studien deuten auf den Nutzen der HBO bei Infektionen mit *Nocardia Asteroides*, Tuberkulose, Borreliose, Lepra und nosokomialen Infektionen. Auch bei AIDS kommt es zu einer Reduktion der Viruslast, der AIDS-Enzephalopathie und sekundärer Infektionen (30).

Da das Gewebe mehr O<sub>2</sub> zur Verfügung hat, ist dessen Kapazität zur Wiederherstellung erhöht. Der Wert der Therapie ist von den physikalischen Eigenschaften des O<sub>2</sub> abhängig. Laut dem Gesetz nach Boyle ist das Volumen eines Gases invers proportional zum Druck, dem es ausgesetzt ist (30, 37). Bei 300 kPa sinkt das Volumen einer O<sub>2</sub>-Blase auf ein Drittel und gelangt in kleinere Gefäße, wo sie den extravaskulären Schaden mindert (30). Laut dem Gesetz nach Dalton übt in einem gemischten Gas jedes Element einen Druck aus, der proportional zum Anteil im Gesamtgasvolumen ist. Schließlich besagt das Gesetz nach Henry, dass

die Menge gelöster Gase in Flüssigkeiten direkt proportional zum Partialdruck des Gases ist, welches in Kontakt mit der Flüssigkeit steht (37).

### **1.6.2 Sekundäre positive Effekte**

Es ist bekannt, dass die HBO verschiedene zelluläre Effekte einschließlich der Hemmung der Freisetzung von Interferon- $\gamma$ , von Interleukin-1  $\beta$  und dem Tumornekrose-Faktor- $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ), eine vorübergehende Abnahme des CD4- zu CD8-Lymphozyten Verhältnisses, eine Erhöhung der Interleukin-2 Rezeptoren, eine Senkung der  $\alpha\beta$ -T-Zell Rezeptoren, eine Induktion der DNA-Schädigung mit entsprechender Erhöhung der kompensatorischen Hämoxxygenase-1 (HO-1), eine Hemmung der Lymphozytenproliferation und eine Hemmung der Brustepithelproliferation bewirkt. Damit scheint die HBO zumindest bei Nagetieren einen allgemein antientzündlichen Effekt zu haben, da sie die Anfälligkeit gegenüber Atemwegsinfektionen erhöht und die Abstoßung von allogenem Transplantat verzögert (1).

Die sekundären Effekte der HBOT sind des Weiteren die Steigerung der Fibroblastenproliferation (5), Hemmung von Toxinen und Synergismus mit Antibiotika wie Fluoroquinolon, Amphotericin B und Aminoglykosiden (4).

Interessanterweise ist das Bakterienwachstum bei einer HBO mit Drücken von 0,6-1,3 atm erhöht. Erst bei Drücken über 1,3 atm kommt es zeitabhängig zu einer bakterio-statischen Wirkung. Das Mykobakterium Tuberkulosis ist das einzige bekannte medikamentenresistente Bakterium, welches einer HBO-induzierten Synergie zugänglich ist. Dabei wird das Wachstum des Erregers verzögert.

Studien zeigten, dass die normobare Oxygenierung infektiöse Nekrosen ähnlich einer prophylaktischen Antibiotikatherapie zu vermeiden vermag. Mit Hilfe der HBO kann die Mortalität beim Fournierschen Gangrän, der Peritonitis und dem Diabetes Mellitus deutlich gesenkt werden (30).

Die HBO bewirkt eine hyperoxische Vasokonstriktion gesunder Gefäße mit Umverteilung des O<sub>2</sub> in mangelversorgte Areale, einen antiödematösen Effekt durch die Verschiebung des Filtrations-Reabsorptions-Verhältnisses aufgrund arteriolärer Vasokonstriktion, eine Aktivierung von Leukozyten und Makrophagen und eine Stimulation der Osteoneogenese und Bakterizidie (5, 21).

Andere Studien beschreiben, dass die HBO bei einer vierstündigen Ischämie an der Skelettmuskulatur eine arterielle Vasokonstriktion mit einer Dauer von bis zu

einer Stunde bewirkt. Dieser Effekt konnte in Studien durch Hyperoxie oder hyperbare Normoxie allein nicht erzielt werden (12).

Die HBO potenziert den Nutzen der Strahlentherapie. In manchen Fällen führte die HBO zu einer Verkleinerung von Tumoren, sodass eine anschließende chirurgische Therapie weniger radikal verlief (30). Die HBO hat einen hemmenden Effekt auf das Tumorwachstum eines oralen Karzinoms (induziert durch Dimethylbenzathracen) während der Induktionsphase, wobei sie stimulierend auf die proliferative Phase wirkt.

Es bestehen zudem andere prospektive, randomisierte klinische Studien an osteointegrierten Implantationen, therapieresistenten Strahlenzystitiden nach Bestrahlungen des kleinen Beckens sowie in der Weichteilchirurgie in vorbestrahlten Gebieten, die eine Verbesserung der Wundheilung und Verringerung der Osteoradionekrose zeigen (21).

Bei der CO-Vergiftung kommt es neben primären Effekten auch zur Hemmung der Lipidperoxidation und verbessertem oxidativen Metabolismus der Mitochondrien. Die letztgenannten Mechanismen werden in diesem Fall für den Nutzen der HBO verantwortlich gemacht (30).

Oxidantien können als zelluläre Botenstoffe die Heilung fördern. Studien an Ratten, bei denen eine Proteinurie und oxidativer Stress im Rahmen einer Glomerulosklerose durch Adriamycin ausgelöst wurde, konnten eine Verbesserung der SOD, GPx, Proteinurie und des Proteincarbonyl durch die HBO in Kombination mit Simvastatin, einem Statin, und Cilazapril, einem Angiotensin-Konversionsenzym-Hemmer, zeigen. Adriamycin führt in diesem Fall zur Bildung von ROS durch Anthracyclin. In der Histologie zeigte sich ebenfalls eine Verbesserung. Dabei wird durch die antioxidative Wirkung der HBO Einfluss auf die renale Hämodynamik, Entzündung, Permeabilität, Zellwachstum und Apoptose genommen.

In Kombination mit der HBO konnten die Serumtriglyzeride und das Gesamtcholesterol deutlicher gesenkt und die Albumin- und Proteinlevel erhöht werden. Bei der Therapie wurden 100% O<sub>2</sub> und ein Druck von 2,8 atm für zehn Minuten verwendet. Die HBO alleine konnte die GPx, aber nicht die SOD, Proteinurie und die Höhe des Proteincarbonyl signifikant beeinflussen. Ähnliche Ergebnisse konnten auch bei einer Kombination mit einem Angiotensinrezeptorblocker erreicht werden mit reduzierter Proteinurie und oxidativer Schädigung. Damit scheint die HBO eine gute Methode zur Behandlung von glomerulären Erkrankungen der Niere zu sein.

Ratten wiesen vermehrt Appetit und weniger Ödeme v. a. im Augenbereich auf (25).

Rattenversuche zeigten eine verbesserte renale Funktion bei Sepsis durch die Erhöhung der antioxidativen Kapazität. In weiterer Folge zeigte das Immunsystem keine Verschlechterung. (4).

In tierexperimentellen Studien konnte die Infarktgröße unter adjuvanter HBO signifikant reduziert werden. Eine randomisierte Studie an PatientInnen zeigte eine Reduktion der Kreatinin-Kinase-Spiegel sowie eine schnellere ST-Strecken-Normalisierung im Elektrokardiogramm und eine raschere Schmerz-Abnahme unter der Lyse mit anschließender HBO gegenüber alleiniger Lyse (21). Die Gewebsfibrosierung wurde nach einem Infarkt der linken Herzkammer vermindert und die Wanddicke wurde normalisiert. HBO führte in einer Kombination mit thrombolytischen Substanzen zu einer reduzierten Kreatin-Phosphokinase-Aktivität, einem reduzierten kardialen Schmerz und erhöhter Ejektionsfraktion des Herzens (32).

Andere Autoren beschreiben hemmende Effekte der HBOT auf den  $\text{Na}^+$ -Transport auf isolierter Haut der *Bufo marinus* Kröte. In diesem Fall wurde die Entstehung freier Sauerstoffradikale durch die HBO für die Hemmung im Natriumfluss diskutiert.

Experimentell konnte weiters durch die HBOT bei Meerschweinchen mit allergischer Enzephalomyelitis eine Hemmung der Entzündung und eine verminderte Entstehung der Arthritis erzielt werden. Andererseits zeigte die HBOT keine Vorteile bei PatientInnen mit Multipler Sklerose (4).

Die HBO hilft bei paralytischem Ileus und Stressulzera, reduziert die hypertrophe Narbenbildung und senkt den Bedarf für eine chirurgische Intervention und die Dauer der Hospitalisation (30).

### **1.6.3 Negative Effekte und Komplikationen**

In folgenden Kapiteln wird auf die Nebenwirkungen der HBO näher eingegangen.

Hoher Druck verursacht hauptsächlich Schäden physikalischer Natur, während der  $\text{O}_2$  alleine oder in Kombination mit hohem Druck in erster Linie zu pathophysiologischen und biochemischen Veränderungen führt. Einige Nebenwirkungen treten nur in Kombination von hohen  $\text{O}_2$ -Konzentration und hohem Druck auf.

### 1.6.3.1 Symptome druckinduzierter Nebenwirkungen

Grundsätzlich führt die HBO zu keinen ernsthaften Komplikationen, allerdings werden manche Nebenwirkungen durch Vorerkrankungen begünstigt (30).

Die häufigsten unerwünschten Nebenwirkungen der HBOT sind das Ohr- und Sinusbarotrauma, welche in 52 von 10 000 Fällen auftreten (21). Andere Quellen beschreiben ein Auftreten von Ohrenschmerzen oder anderen Ohrenbeschwerden in mehr als 17% der Fälle. Dabei kam es zu einer vorübergehenden Dysfunktion der eustachischen Tube. Ein unausgeglichener Mittelohrdruck kann zu permanentem Hörverlust und Schwindel führen (30). Haben pneumatische Räume des Körpers keine Verbindung zur Umgebung, kann es durch Druckunterschiede zu Gewebszerstörung kommen (21).

Das Valsalvamanöver oder eine Parazentese können ein Barotrauma vermeiden (21, 30). Bei PatientInnen mit otolaryngologischen Erkrankungen kam es laut einer Studie von Clemens *et al.* (1998) nach einer Parazentese bei 13 von 45 PatientInnen zu Otorrhoe und bei 7 PatientInnen zu persistenter tympanischer Membranperforation. Somit können Vorerkrankungen, wie auch der Diabetes Mellitus, zu erhöhten Komplikationsraten führen. Hierbei zeigte sich eine verkürzte Dauer der HBOT als vorteilhaft.

In einer anderen prospektiven Studie entwickelten 15 von 33 PatientInnen eine Dysfunktion der eustachischen Tube und alle empfanden ein Füllegefühl im Ohr. 13 PatientInnen erlitten eine Otitis media serosa und sieben von 33 PatientInnen erwarben tympanostomische Tuben. Eine weitere Nebenwirkung der HBO ist die Sinusblockade, die zu starken Schmerzen insbesondere im frontalen Sinus führen kann (30).

Ebenfalls beschriebene Nebenwirkungen sind Thoraxschmerzen, Husten, eine reduzierte Vitalkapazität, Schwindel, Tinnitus, Dysphorie, erhöhter Blutdruck, erhöhter peripherer Widerstand, eine Reduktion des kardialen Outputs um bis zu 20%, Gesichtsfeldeinschränkungen, Halluzinationen, Chemose, eine bilaterale retinale Netzhautablösung, eine Hemmung der Natrium-Kalium-ATPase, Schädigung der unreifen Retina durch Vasokonstriktion, retrolentale Fibroplasie, Glaskörpertrübungen, kornealer Endothelschaden, Schädigungen der epithelialen Linse, Konjunktivitis, Iritis und Hypotonie (31).

Weitere genannte aber seltene Nebenwirkungen sind Traumata der Lunge mit Parenchymschädigung, bei der proliferativen Phase eine Lungenfibrose, eine zentra-

le arterielle Gasembolie, Pneumothorax, Verminderung des Surfactant mit Atelektasebildung und die Blockade der Synthese verschiedener Neurotransmitter, darunter auch GABA und Dopamin. Klinisch kommt es zu atemabhängigen retrosternalen Schmerzen und zur Verminderung der Vitalkapazität. Standard Therapie-schemata gelten allerdings als sicher (21).

Die Inzidenz der Dekompressionserkrankung in Mehrpersonenkammern wird auf 1 zu 10 000 geschätzt (5). Sie tritt auf wenn hohe Drücke verwendet werden und eine plötzliche Dekompression passiert (30).

Feuerentwicklungen in Kammern ereignen sich ungefähr einmal jährlich weltweit. Einige PatientInnen mit kongestiver Kardiomyopathie bekommen nach der HBOT eine verschlechterte kardiale Funktion. Um dem vorzubeugen werden PatientInnen mit einem kardialen Auswurf von weniger als 35% nicht mit der HBO therapiert (5).

Normobarer 100%-iger O<sub>2</sub> induzierte keine Erhöhung freier Radikale, aber eine HBO bei einem Druck von 2,5 atm schon (30). Dieser Effekt der HBO konnte durch die SOD, aber nicht durch die Katalase reduziert werden (24).

Es bestehen psychogene Reaktionen auf geschlossene Räume, die unterschiedlich ausgeprägt sein können, wie die Klaustrophobie und angstausslösende Reaktionen auf die Umgebung (21, 30).

### **1.6.3.2 Symptome O<sub>2</sub>-induzierter Toxizität**

O<sub>2</sub> ist ungefähr fünffach höher fettlöslich als wasserlöslich (12). Das könnte unter anderem ein Grund für dessen ZNS-Toxizität sein.

Im Folgenden werden die Symptome der O<sub>2</sub>-induzierten ZNS-Toxizität aufgelistet.

- Gesichtsblässe
- Krämpfe
- Ängste
- Unbeholfenheit
- Klopfgeräusch
- Gezappel
- schwere Übelkeit
- Euphorie
- Schwitzen
- Selbstlosigkeit
- Schwindel
- epigastrische Verspannung
- Verhaltensänderungen
- Klingelgeräusch
- Synkope
- Bradykardie
- Verwirrung
- Depression
- Einatemdominanz
- Erstickungsgefühle

- Diaphragmaspasmen
- Geschmackseignisse
- Verlust der Sehschärfe
- Palpitationen
- Schnaufen
- Einschränkung des Gesichtsfelds
- Geruchseignisse
- spastisches Erbrechen
- Schläfrigkeit
- Seitenneigung
- Schluckauf
- Kraftminderung

Die O<sub>2</sub>-Toxizität im Zentralnervensystem (ZNS) zeigt sich als Bradykardie, Dyspnoe, veränderte neuronale Atemreflexe bis hin zum Grand Mal Anfall. (22).

Um die negativen Effekte zu minimieren sollten die PatientInnen bei der HBOT monitorisiert werden (5). In diesem Zusammenhang konnte eine Verminderung der Ölsäure in Erythrozyten gefunden werden. Die Ölsäure scheint bei der Pathogenese beteiligt zu sein und könnte für das Monitoring der HBO vom Nutzen sein (30). Es wird diskutiert, dass NO ebenfalls ein nützlicher Parameter bei der Dosierung der HBO zu sein scheint (15).

Weiters wird empfohlen bei Drücken über 2,4 atm nach allen 30 Minuten HBOT fünf Minuten Luft zu atmen (5, 15). Dadurch können v. a. Nebenwirkungen, wie die der Sauerstofftoxizität, Krampfanfälle, visuelle Störungen, Kurzatmigkeit und Brustschmerzen vermieden werden (15).

Ein Lungenröntgen, ein Lungenfunktionstest und eine Beurteilung des Trommelfells sollten vor der HBO durchgeführt werden (30).

Viel versprechende Medikamente gegen genannte Nebenwirkungen sind Antioxidantien. Weiters wirkt Magnesium als Vasodilatator, krampflösend und als Kalziumblocker, womit es die Zellen schützt.

Studien an neugeborenen Ratten zeigten, dass die HBO zu einer persistenten zerebralen Vasokonstriktion führte, gleichzeitig mit einer Reduktion der Ventilation. In weiterer Folge entstand eine erhöhte Toleranz für die O<sub>2</sub>-Toxizität in der Lunge und im ZNS. Schließlich entwickelte sich eine hypoxisch-ischämische Umgebung. Dadurch kann es zu neurologischen Schäden kommen (30).

HBOT assoziierte Krämpfe treten bei einem von 10 000 Fällen auf (5). Diesbezüglich wurden 28 700 PatientInnen bei 2,4 atm untersucht. (30). Diese Nebenwirkungen sind nicht lebensbedrohlich. Der Krampfanfall lässt bald nach Beendigung der HBO nach und hinterlässt weder bleibende Schäden noch ein Wiederholungspotential (21).

Negative Effekte können weiters durch Zytokine und vermehrt anfallendes NO erklärt werden, sowie z. B. auch die HBO-induzierte Gehirnschädigung (15).

$O_2^-$  und Lipidperoxide lockten polymorphkernige Zellen an, die wiederum ROS und Proteasen produzieren und freisetzen, welche ihrerseits zur Gewebsschädigung führen (24).

Eine Serie von 15 HBO Behandlungen erhöhte auch den Malondialdehyd, einen Marker für die Lipidperoxidation und reduzierte die SOD und die Katalase (1).

Ein anderer negativer Effekt der entstehen kann ist die Myopie, welche auch mehrere Wochen nach der Behandlung bestehen kann (5, 30, 31). Sie resultiert aus einer Erhöhung des Refraktärisindex der Augenlinse (21, 31).

Ein Katarakt kann nach einer Langzeitbehandlung auftreten (30). Als Ursache dafür wird eine vermehrte Oxidation der Linsenmembran und des Kerns vermutet.

Dabei kommt es zu einer Entfernung von Zellen vor allem an der ‚Y‘ Verbindung dreier benachbarter Zellen, zur Formdestabilität und einer Erhöhung unlöslicher Proteine. Dafür wird folgende Reaktion, die vor allem im Linsenkern stattfindet, von manchen Autoren verantwortlich gemacht (12):



$O_2$  reagiert nicht spontan mit Thiolgruppen in der Abwesenheit von Metallen.

Andere Autoren sehen die Bildung gemischter Sulfide als eine Reserve für GSH und einen Schutz gegen oxidativen Stress, thermale Verbrennungen und Strahlenschäden (12).

Einige Autoren beschreiben, dass die Korrektur der Sauerstoffkonzentration in Wunden die Makrophagen vermindert dazu bewegt den vaskulären endothelialen Wachstumsfaktor (VEGF) zu produzieren, mit der Folge der Heilungsverzögerung. Allerdings schadet die lang anhaltende Hypoxie im Allgemeinen mehr. Ein weiterer Punkt ist die Entstehung reaktiver Sauerstoffspezies, welche zwar als Botenstoffe dienen, aber im Übermaß ebenfalls zu einer Verzögerung der Wundheilung führen. Auch die Aktivierung von Matrixmetalloproteinasen durch Wachstumsfaktoren

wird von manchen Autoren für den übermäßigen Abbau von extrazellulärer Matrix verantwortlich gemacht (4).

Eine Studie an Hasen zeigte, dass bei einer HBO mit einem Druck von 2,5 atm für eine Dauer von einer Stunde täglich über einen Zeitraum von 28 Tagen, die Aktivität antioxidativer Enzyme und die Resistenz des Gewebes gegenüber der Lipidperoxidation gesenkt wurde. Dabei kam es auch zur Oxidation des mitochondrialen NADH mit gestörter Energieproduktion. Einige der Folgen waren eine Beeinträchtigung der kontraktile Funktion des Herzens und nekrotische Bezirke im Myokard. Die HBO könnte indirekt eine hypoxische Ischämie, Azidose, Anämie und Hyperbilirubinämie verursachen. Die frühen Effekte der HBO sind reversibel (30).

Bei einer Studie an Ratten verursachte die HBO bei 2 atm und 100 % O<sub>2</sub> eine sukzessive Schädigung der Lunge, wobei die endothelialen Zellen als erste betroffen zu sein schienen, gefolgt von den Typ 1 Pneumozyten und unelastischen Fasern. Es kam zum Lungenödem. In der Pleuraflüssigkeit wurde nach zehn Stunden eine Erhöhung des Volumens, der Anzahl polymorphkerniger Zellen, des Malondialdehyds, der Lipidperoxide und der Proteinkonzentration gefunden (24, 30). Die Aktivität der Phospholipase A2 war auf fast unmessbare Werte gesunken (24). Eine längere Anwendung führte zur Proliferation von Typ 2 Epithelzellen und Fibroblasten gefolgt von Kollagenablagerungen. Fibrosen und Emphyseme könnten als Folgeschäden bestehen bleiben. Andere Studien machten die Stimulation der Thromboxansynthese durch die HBO für Lungenschäden verantwortlich (30).

### **1.6.3.3 DNA-Schädigende Effekte**

Eine Studie an Hamsterzellen mit HBO bei 3 atm, 37° C, 98% O<sub>2</sub> und 2% CO<sub>2</sub> für zwei Stunden zeigte gentoxische Effekte. Die Zellüberlebensrate sank um 40% und die Mutationsrate betrug das Dreifache im Vergleich zur Kontrollgruppe. Dabei entstanden prämutagene Produkte wie 8-Oxoguanin, weiters große Deletionen, genetische Rearrangements und chromosomale Mutationen (18). Andere Studien zeigten sogar bei einer HBO mit 1,5 atm für 40 Minuten täglich über zehn Tage eine signifikante Erhöhung chromosomaler Aberrationen. Diese werden u. a. als eine Anpassung an die HBO bewertet (30).

Weiters konnten oxidierte Basen, ein- oder doppel-DNA-Strang-Abbrüche und abasische DNA-Seitenstränge beobachtet werden (19). 8-Oxoguanin wird als biolo-

gisch relevanteste Basenmodifikation betrachtet, da sich dieses Produkt mit Adenin verbindet und dadurch zu GC → TA Transversionen führt. Diese Veränderung konnte am ras- und p53-Gen beobachtet werden, sowohl in Hamsterzellen als auch in Mäuselymphomzellen.

Die Anzahl genetischer Veränderungen, aber nicht die der Punktmutationen, wuchs mit der Dauer der HBO. Genannte Effekte konnten bei hyperbarer 21%-iger Sauerstoffbehandlung nicht beobachtet werden, was darauf hinweist, dass diese Prozesse sauerstoffabhängig sind. Minimale Schäden an der DNA konnten sogar bei 1,5 atm bei einer Stunde Behandlungszeit eruiert werden (18). Als Ursache wird u. a. ein ausgedehnter Verlust der funktionellen Thymidin-Kinase-Sequenz durch ROS-Schädigung an der DNA vermutet (18, 19). Die Entstehung der ROS konnte durch die Elektrosinresonanzspektroskopie bestätigt werden (19).

Die ROS könnten durch eine Lipidperoxidation der Membran, Enzymhemmung und Enzymmodulation von v. a. jenen Enzymen mit einer Sulfonylharnstoffgruppe zu sauerstoffinduzierter ZNS-Schädigung führen (Abb. 1, Tab.5).

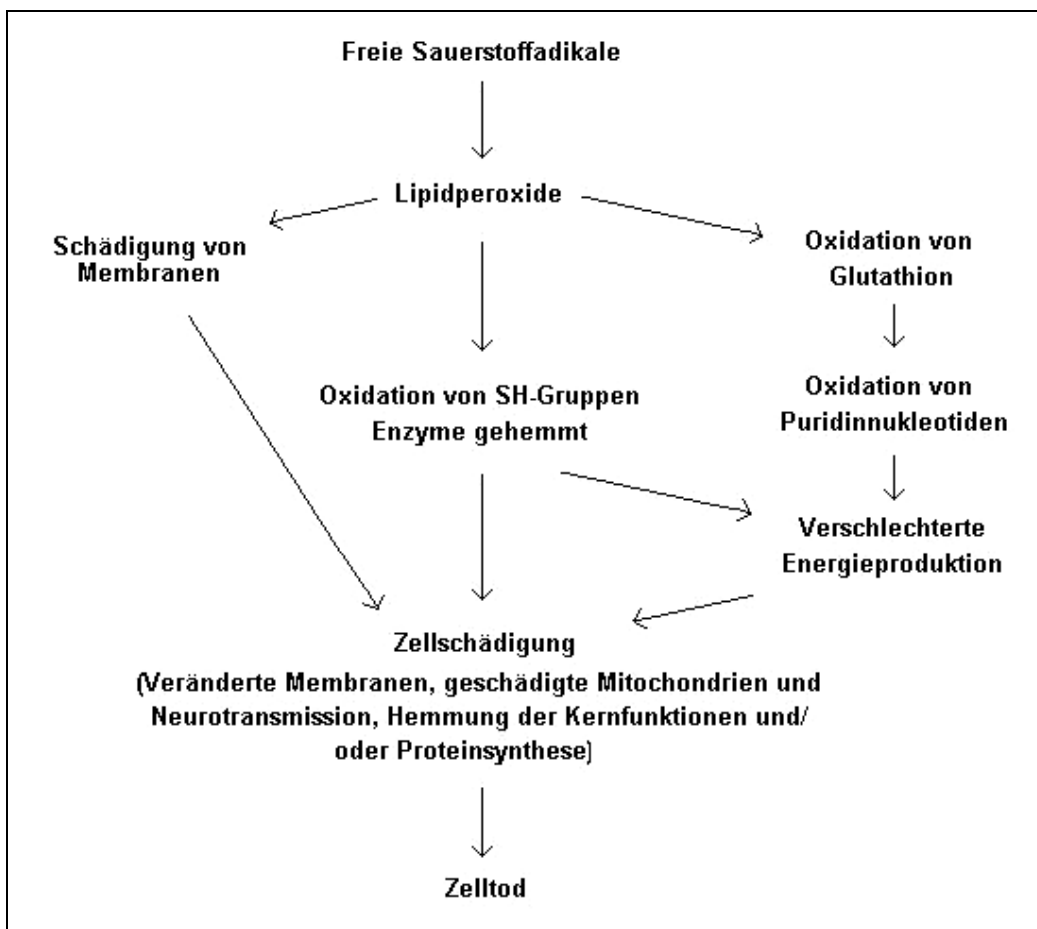


Abb. 1: HBO-Toxizität an der DNA (30)

Die HBO führt weiters über zytosolische Enzyme und subzelluläre Organellen zur Bildung von  $O_2^-$  und  $H_2O_2$ . In Verbindung mit Übergangsmetallen kann es zur Produktion von Hydroxylradikalen ( $OH^\cdot$ ) kommen, die mit fast jedem Substrat reagieren können (24, 27, 30). Die meisten Folgeschäden, die dadurch an der DNA entstehen, können durch Basenexzision oder Nukleotidexzisionen repariert werden, bevor die Zellen die S-Phase durchlaufen und chromosomale Schäden produziert werden (19). Schließlich konnte nach 6-24 Stunden als Folge der Reparaturmechanismen an der DNA keine Veränderung und sogar ein antioxidativer Schutz, z. B. gegen  $H_2O_2$  für länger als die nächsten zwei Tage festgestellt werden.

Eine Studie an jungen Männern mit der HBO bei 2,5 atm, 100%  $O_2$  für drei mal 20 Minuten mit fünf Minuten Luftatmung dazwischen, zeigte bei allen Probanden genetische Schäden in der Mehrzahl der venös entnommenen Leukozyten. Interessanterweise war dieser Effekt nur nach der ersten und nicht nach weiteren Behandlungen zu beobachten. Die Rolle des 8-Oxoguanin bei genetischen Schäden durch ROS kann nicht ausgeschlossen, allerdings auch kein signifikanter Zusammenhang dargestellt werden. Es konnte nur eine DNA-Kurzkettenmutation gezeigt werden. Trotz klarer DNA-Schädigung beim Comet-Test, konnten weder chromosomale Aberrationen, noch genetische Mutationen bei Lymphozyten gesunder Probanden entdeckt werden.

Bei Studien mit menschlichen Leukozyten mit einer HBO bei 2,5-4,0 atm und 98 %  $O_2$ , einer Behandlungsdauer von bis zu drei Stunden und bei denen antioxidative Mechanismen überfordert sind, konnten mit dem Comet-Test im Blut genotoxische Effekte beobachtet werden. Die größten Unterschiede im Vergleich zu in vivo Studien lagen darin, dass keine Luftatempausen vorlagen und höhere Drücke verwendet wurden. Die Zellen zeigten vermehrte genetische Mutationen, chromosomale Brüche und Mutationsfrequenzen, allerdings keine Punktmutationen. Die in vivo Studien zeigten stärkere Veränderungen an der DNA als die in vitro Studien. Normobare Hyperoxie führte zu DNA-Strang-Brüchen, chromosomalen Deletionen und Rekombinationen und langsam wachsenden Thymidin-Kinase-Mutationen durch die erhöhte Sauerstoffspannung. Die Hyperoxie muss im Vergleich zur HBO länger bestehen um ähnliche Effekte zu bewirken. Durch eine unter 20 Minuten dauernde HBO mit 2,5 oder weniger atm können genotoxische Mechanismen re-

duziert werden (18). Die Zellen konnten des Weiteren nicht durch die HBO gegen  $\gamma$ -Strahlung geschützt werden (20).

## **2 Material und Methoden**

Diese Diplomarbeit ist auf einer Literaturrecherche aufgebaut. Die verwendeten Quellen stammten hauptsächlich aus den Datenbanken wie Pubmed und der Cochrane Library sowie Büchern zur HBO und Biochemie. Dabei wurde v. a. auf aktuelle Studien und Berichte eingegangen. Die Texte waren mit wenigen Ausnahmen in englischer Sprache verfasst. Die verwendeten Suchbegriffe waren: ‚hyperbaric oxygenation‘, ‚HBO‘, ‚HBO side effects‘, ‚HBO effects‘, ‚HBO mechanism‘, ‚HBO mechanism of action‘, ‚HBO NF- $\kappa$ B‘, ‚HBO apoptosis‘, ‚HBO hemoxygenase‘, ‚HBO TNF‘ und ähnliche. Nach diesen Begriffen wurde im Zeitraum vom Jänner 2009 bis August 2009 recherchiert. Die Diplomarbeit wurde in die drei Hauptkapitel ‚Einleitung‘, ‚Wirkmechanismen‘ und ‚Darstellung einiger Wirkungen an bestimmten Organen‘ unterteilt.

Im Kapitel ‚Darstellung einiger Wirkungen an bestimmten Organen‘ wurde auf die Verwendung in der Augenheilkunde und auf Wirkungen auf das ZNS näher eingegangen. Das Kapitel Auge wurde gewählt, da sich Druck- und Gefäßveränderungen am Augenhintergrund relativ einfach beobachten lassen und daraus leichter Schlüsse auf die Auswirkungen der HBO gezogen werden können. Das ZNS im Zusammenhang mit der HBO ist insofern interessant, als dass es bei gewissen Nebenwirkungen wie Anfällen und Krämpfen beteiligt ist und teilweise anders als die Peripherie auf die HBOT reagiert, z. B. bezogen auf die VEGF-Expression, Adhäsion neutrophiler Granulozyten, Aufnahme von Medikamenten (Blut-Hirn-Schranke), die Apoptose bei ischämischer Gehirnschädigung oder die BCL-2 Expression.

### 3 Wirkmechanismen

Die Wirkmechanismen der HBO sind vielfältig. Das Resultat ist oft von der Dosis und der Applikationszeit abhängig. In den folgenden Kapiteln werden unterschiedliche Mechanismen der HBO nach dem Wirkort und den Ansatzpunkten gegliedert. Dabei sind zwei große Kapitel mit den Auswirkungen der HBO auf das Immunsystem einerseits und deren Einfluss auf die Wundheilung andererseits entstanden. Im ersten großen Kapitel wird auf die Effekte der HBO auf die Leukozyten, die Apoptose, den NF-κB und die NOS näher eingegangen. Das zweite große Kapitel bezieht sich auf die Effekte der HBO auf die Wundheilung, gegliedert in die Kapitel zum Thema Zellwachstum, Plättchenaggregation, Ischämie und Hypoxie, Toleranz gegen oxidativen Stress, Einfluss auf den Glucosestatus und den Einfluss auf die Atherosklerose.

Bestimmte Themen werden kapitelübergreifend aufgegriffen, da sie für verschiedene Mechanismen von Bedeutung sind. In der folgenden Tabelle ist beispielhaft der Einfluss der HBO auf gewisse Ziele bei therapeutischen Drücken und wiederholter Anwendung dargestellt. Biochemische Ergebnisse stammen aus Daten zu den Zellen und dem Serum. Die Erklärungen dazu und entsprechende Quellen sind im weiteren Text angegeben. In der ersten Spalte wird der Einfluss der HBO auf das jeweilige Protein oder die Zellen dargestellt.

<b>Einfluss der HBO auf</b>	<b>Induktion, Substrat / Hemmung</b>	<b>induziert, bildet / hemmt</b>	<b>Physiologische Bedeutung der HBO</b>
<b>NADPH-Oxidase</b> ↑	NADPH, O <sub>2</sub>	O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Lipidperoxidation, aktive Aldehyde, Degranulation, Substrat für die MPO, Lysozyme, kationisches Protein ↑
<b>Adhäsion neutrophiler Granulozyten</b> ↓	Zytoskelett, CD18-Polarisation, β <sub>2</sub> -Integrin, binden an ICAMs	Immunantwort, ROS, Proteasen	ICAMs ↓, CD18-Polarisation ↓, Gewebnekrosen ↓, Vasodilatation ↓, Ödeme ↓, Lipidperoxidation ↓
<b>Caspase-3</b> ↑	Caspase -8 und -9	BCL-2, Caspase-9, ROS, MAP-Kinase	Membranpotential ↓, Fas-Ligand ↓, Apoptose ↑

<b>HO-1</b> ↑	Hämoglobin	baut Häm zum Biliverdin, CO und Eisen ab, letzteres kann an Ferritin gebunden werden oder mit H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> zur OH <sup>-</sup> -Bildung führen	antioxidativ, PCNA <sup>+</sup> - und BrdU <sup>+</sup> - positive Zellen ↑, hepatische Regeneration ↑, Bilirubin als lipophiles Antioxidans ↑
<b>NF-κB</b> ↓	Hypoxämie, Zytokine, ROS, RONS, bakterielle LPS, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / IκBα, LA	bindet an DNA, Entzündung, VEGF-R2, MMP-9, kit-Ligand / NOS, MPO	neutrophile Granulozyten ↓, Progenitorzellen aus dem Knochenmark, Entzündungsprozesse ↑
<b>NOS</b> ↑	Phosphorylierung, Ca <sup>2+</sup> -Calmodulin, O <sub>2</sub> , NADPH, O <sub>2</sub> -Glukose-Entzug, volatile Anästhetika, bilaterale Arteria-communis-Okklusion, LPS / NF-κB	oxidiert L-Arginin zu Zitrullin und NO, bindet an HSP-90, VEGF ↑, EPZ ↑, CD31 <sup>+</sup> -Zellen ↑, APO-2 und APO-2-mRNA ↑, Mn-SOD ↑, Katalase ↑, BCL2 ↑	Zellproliferation, Eisen-Hämkonvertierung, Vasodilatation ↑, neurologische Verbesserung, Cytochrom C, Caspase 3 und 9, Apoptose ↓, Ras-ERK 1/2, damit auch Mn-SOD, zerebraler Blutfluss ↑
<b>Stammzellen</b> ↑	Differenzierung durch IL-3, GM-CSF, M-CSF, G-CSF, EPO TPO (41),	CD29 <sup>+</sup> -, CXCR4-, VEGF-R2-, Connexin 43-Expression, Troponin T, NO	Angiogenese, Einnistung von Stammzellen, Proliferation ↑, Infarktgröße ↓, elektrophysiologische Normalisierung (QRS-Restoration)

**Tab. 6: Einfluss der HBO auf bestimmte Substanzen und Zellen**

Bedeutung der Symbole:

↓ wird gehemmt, gesenkt

↑ wird stimuliert, erhöht

### 3.1 Auswirkungen auf das Immunsystem

Im ersten großen Kapitel über die Wirkmechanismen der HBO werden die Effekte auf die Leukozyten, die Apoptose, den NF-κB und die NOS näher beschrieben.

Die Kapazität der Leukozyten Erreger abzuwehren ist zu einem großen Teil vom O<sub>2</sub>-Angebot abhängig. Besonders in der zweiten Phase der bakteriellen Abwehr kommt es zur Bildung von ROS durch die Immunzellen. Das Immunsystem wird bei Drücken bis zu 2,5 atm stimuliert, während es bei höheren Drücken zu immun-

suppressiven Effekten kommt. Die HBO liefert den Leukozyten durch das erhöhte  $O_2$ -Angebot ein Substrat zur Energiebereitstellung, z. B. über den Hexosemonophosphatshunt (30).

Die HBO wirkt hemmend auf die Adhäsion neutrophiler Granulozyten. Dabei spielt die Hemmung der CD-18 Polarisation (7) und der ICAMs (7, 16, 40) eine wichtige Rolle.

Schließlich können Substanzen, wie die alpha Liponsäure (LA), die Effekte der HBO beeinflussen. Durch die Kombination der LA mit der HBO kommt es z. B. zu einer Verminderung des Monozytenlockproteins (MCP-3) durch die MMP2, die entzündungshemmend wirkt (13).

Das Kapitel 2.1.2 bezieht sich auf den Einfluss der HBO auf die Apoptose (auch programmierter Zelltod genannt) und diese Effekte sind laut Studien unterschiedlich. In Zellen einer lymphoblastischen Leukämie konnte eine Senkung der BCL-2-Aktivität gefunden werden, mit der Folge erhöhter Apoptose. Die BCL-2 Proteinfamilie und das Fas Protein sind unter anderem durch die Aktivierung von Caspasen, Cytochrom C und APAF-1 in der Lage eine Apoptose zu beeinflussen. Dabei spielt auch der MAP-Kinase-Signalweg eine wichtige Rolle (1). Eine andere Studie beschreibt eine Erhöhung der SOD, der Katalase und des BCL-2 mit der Folge verminderter Apoptose in der grauen Substanz nach einer HBO (33).

Das Kapitel 2.1.3 bezieht sich auf den NF- $\kappa$ B und die NOS. NF- $\kappa$ B ist ein ubiquitärer Transkriptionsfaktor, welcher z. B. durch bakterielles LPS (12), die Hypoxie (16) und RONS (24) aktiviert wird und zu einer Induktion der NOS (12) führt. Daher wird in diesem Kapitel auch auf die physiologische Bedeutung der NOS eingegangen. Der NF- $\kappa$ B kann durch die LA (13) und I $\kappa$ B $\alpha$  (16) gehemmt werden. Die HBO führt zur Hemmung des NF- $\kappa$ B mit der Folge verringerter ROS-Bildung, einer Hemmung der Aktivität neutrophiler Granulozyten und der MPO-Aktivität (12). Die MPO wird hauptsächlich von neutrophilen Granulozyten produziert und wird in geringeren Mengen auch in Makrophagen und Monozyten gefunden (12, 30).

Die NOS spielt in diesem Zusammenhang eine wichtige Rolle bei der Freisetzung von NO und der Zellproliferation (28).

### 3.1.1 Einfluss auf Leukozyten

Im folgenden Kapitel wird auf die Rolle der HBO bei der Energiebereitstellung, der Bildung von ROS zur Immunabwehr, der Hemmung der Adhäsion neutrophiler Granulozyten und die Liponsäure eingegangen.

Die Energie für den oxidativen Abwehrmechanismus stammt u. a. aus dem Hexosemonophosphat-Shunt. Dabei wird durch die NADPH-Oxidase (primäre Oxidase) mit Hilfe des  $O_2$  das NADPH von der reduzierten in die oxidierte Form übergeführt und über das Hexosemonophosphat wieder zu NADPH regeneriert. Aus dem  $O_2$  entstehen dabei  $O_2^-$  und weitere reaktive Spezies. Der Hauptverlust oxidativer Immunabwehr entsteht bei einem Sauerstoffpartialdruck ( $pO_2$ ) unter 30 mmHg (30).

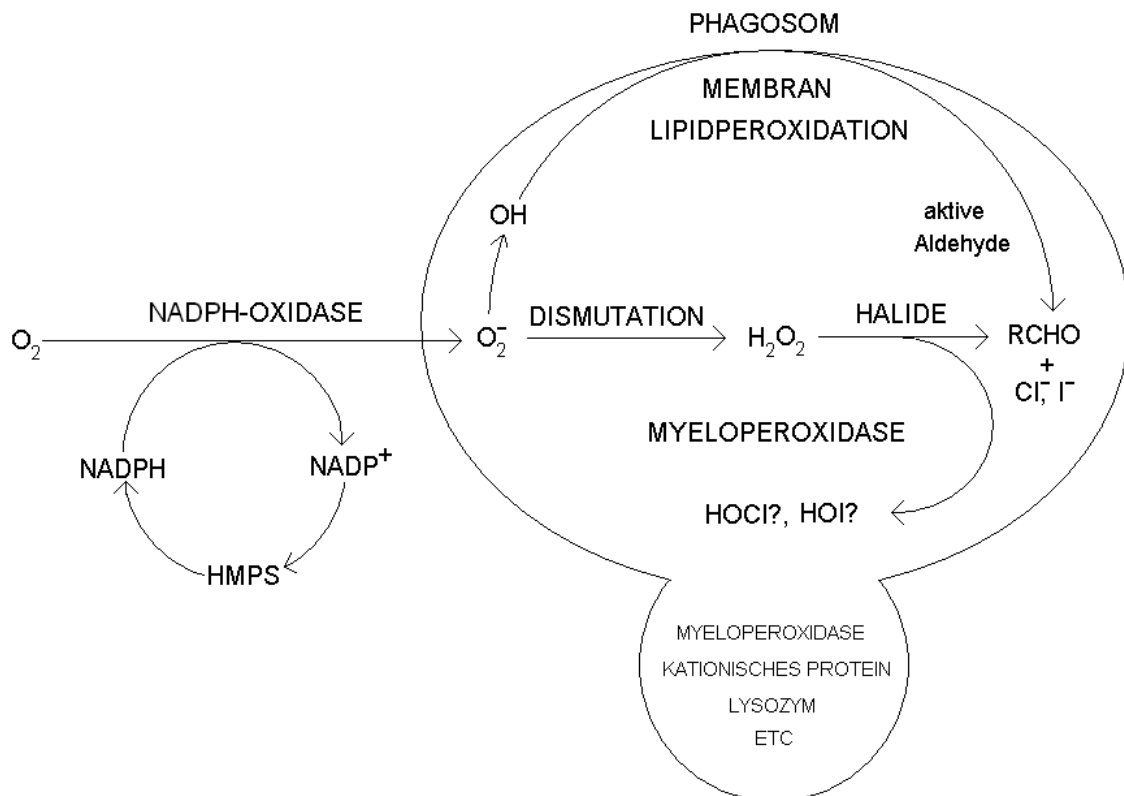


Abb. 2: ROS-Abwehr der Leukozyten (30)

$O_2$  wird zur Oxidantienherstellung verwendet und nutzt bei der Erregerabwehr durch oxidative Mechanismen der Leukozyten. Neutrophile Granulozyten sind unwirksam unter hypoxischen Bedingungen (5).

Die Adhäsion neutrophiler Granulozyten spielt eine bedeutende pathophysiologische Rolle bei einer ischämischen Reperfusion. Letztere wird begleitet von einer Hypoxie, der Produktion von Oxidantien, der Komplementaktivierung, Leukozytenadhäsion, Plättchenaggregation, erhöhter mikrovaskulärer Permeabilität und verminderter endothelialer Relaxation (7). Nach initialer Vasodilatation kommt es zu einer massiven arteriellen Vasokonstriktion und einer metabolischen Entgleisung mit der Folge von Ödemen und Nekrosen. Ursache dafür ist u. a. die erhöhte Adhäsion neutrophiler Granulozyten an das beta-2-Integrin und dessen Freisetzung von Proteasen und ROS. Der genannte Mechanismus führt auch zur Lipidperoxidation bei Kohlenmonoxidvergiftungen und damit zu neuronalen Schäden (21). Die HBO senkt in diesem Fall die Adhäsion neutrophiler Granulozyten am Endothel von Venen mit der Verringerung genannter Schäden (7, 21). Der Wirkmechanismus stützt sich auf die Hemmung der CD18 Oberflächenpolarisation von Neutrophilen und benötigt eine HBO des Plasmas. In vivo konnte an der Skelettmuskulatur mit der Hilfe einer Videomikroskopie eine Abnahme von adhärenenten Leukozyten am Endothel von Venen von Wistar-Ratten durch die HBO bei einer vierstündigen Ischämie beobachtet werden. Dabei wurden 100% O<sub>2</sub> und ein Druck von 2,5 atm während der letzten 90 Minuten der Ischämie verwendet. Anderson et al. brachten das Zytoskelett mit der Aktivierung von CD18-positiven Neutrophilen in Verbindung, während andere Autoren die Kolonisation von Adhäsionsmolekülen und zytoskelettale Proteine in Lymphozyten und Neutrophilen beobachtet haben (7). In vitro konnte weiterhin nachgewiesen werden, dass die HBO die Expression des intrazellulären Adhäsionsmoleküls (ICAM) verringert (7, 40).

Neutrophile Granulozyten, die einem ischämischen Reperfusionsplasma ausgesetzt wurden, gingen häufiger eine Bindung mit ICAMs ein (7). Eine Übermäßige Ansammlung von Granulozyten wird für den Stopp der Heilungsphase im Entzündungsstadium verantwortlich gemacht, da diese die extrazelluläre Matrix durch Enzyme abbauen (5).

Andererseits konnte gezeigt werden, dass die Adhärenz neutrophiler Granulozyten an zerebralen Gefäßen durch die HBO verbessert wurde (30).

Verschiedene Substanzen sind in der Lage die Effekte der HBO zu beeinflussen. Eine davon ist die alpha Liponsäure (LA). Die LA beschleunigt die Wundheilung bei PatientInnen die zusätzlich mit der HBO behandelt werden. Der Wirkmechanismus spielt sich in antioxidativer und immunmodulierender Weise ab. Beispielswie-

se erhöhte die HBO initial die Entzündungszytokine, die einen Einfluss auf die MMP-Expression und die Adhäsionsmoleküle haben. Die HBO alleine erhöhte die aktive Form und die Konzentration von MMP9, VEGF- $\beta$ , b-FGF und IL-6 und hemmte die MMP3 und MMP2. Der Zusatz von LA bewirkte eine Erhöhung der MMP2, PDGF-BB, IL-1 $\beta$ , IL-8 und senkte VEGF- $\beta$ , IL-6, MMP3- und -9. Die MMP2 wirkt durch die Inaktivierung eines MCP3, welches für die Leukozytenchemotaxis bedeutend ist, entzündungshemmend und ist für strukturelle Veränderungen und Zellmigration von Bedeutung. Die MMP9 wird in Keratinozyten gebildet und aktiviert das IL1 $\beta$  und IL-8, was eine Entzündung und Leukozytenansammlung zur Folge hat. IL-8 spielt eine Rolle bei der Leukozyteninfiltration, Epithelialisierung und Angiogenese. Genannte Effekte der LA wirken entzündungshemmend, hemmend auf Adhäsionsmoleküle und fördern somit die Wundheilung. Als Resultat zeigen sich also positive Effekte bei einer LA-Supplementierung zur HBO (13).

### **3.1.2 Einfluss auf die Apoptose**

Die Apoptose aktiviert im Gegensatz zur Nekrose einen Signalweg in den Zellen der zum kontrollierten Zelltod führt. Dadurch können geschädigte oder überflüssige Zellen entfernt werden. Im Prinzip kann die Apoptose durch einen extrinsischen Todesrezeptor oder einen intrinsischen mitochondrialen Weg initiiert werden. Beim extrinsischen Signalweg binden Liganden an den Todesrezeptor und aktivieren somit die Caspase-8, welche ihrerseits durch Spaltung die Caspase-3 aktiviert.

Der mitochondriale Mechanismus der Apoptose beinhaltet die Wirkung der Bcl-2-Proteinfamilie mit ihrer pro- und antiapoptotischen Proteinkontrolle, die die Freisetzung von Cytochrom C, APAF-1 und der Caspase-9, welche die Caspase-3 aktiviert, fördert. Letztere wurde durch die HBO um das 1,61-fache erhöht und führte schließlich zur Apoptose (1).

Eine Studie konnte zeigen, dass die HBO die Apoptose in Jurkat-T-Zellen mittels eines mitochondrialen Wirkungswegs einleitete. Diese Zellen entstammen aus einer akuten lymphoblastischen Leukämie einer menschlichen Zellreihe und wurden nach vierstündiger HBO mit dreifachem atmosphärischem Druck untersucht.

Dabei kam es zur Apoptose der Lymphozyten, die zu immunsuppressiven Effekten beitragen kann. Diese sind bei zwei bis drei atm signifikant, einem Bereich der im Allgemeinen zur Behandlung verwendet wird.

Die Bcl-2-Funktion in Jurkat-T-Zellen wurde bei einmaliger HBO antagonisiert, was zur Einleitung der Apoptose führte. Dabei könnte die lokale Reduktion der aktiven Lymphozyten das verlängerte Überleben von allogenen Transplantat erklären.

Im Gegensatz dazu wurde das Fas-Protein durch die HBO herunterreguliert. Dadurch wirkt die HBO antiapoptotisch und hat eine protektive Zellantwort bei Stress. Die proapoptotischen Faktoren führten oft zu einem Abbau des Membranpotentials, welches von der Bcl-2 Proteinfamilie und der Caspase-9-Aktivität beeinflusst wird. Die wiederholte HBO erhöhte das hippocampale Bcl-2, welches u. a. auch für die mitochondriale Integrität zuständig ist.

Während die Apoptose bei ischämischer Gehirnschädigung und der Wundheilung durch die HBO gehemmt werden kann, wahrscheinlich durch die Verzögerung der Gewebshypoxie, wurde eine Aktivierung der Apoptose u. a. bei Mäusefibroblasten, HL-60-Zellen (Zelllinie einer akuten promyelotischen Leukämie, 43), Masthymuszellen und NCI-H929-Zellen (menschliche Zelllinie eines mycoepidermoiden pulmonalen Karzinoms, 44) bei einmaliger HBO Behandlung beobachtet. Der dazu führende Mechanismus schließt die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies ein. Des Weiteren wurde eine Aktivierung des p38-MAP-Kinase-Signalwegs beobachtet. Die Caspase-3-Aktivität wurde dabei ab ungefähr 30 Minuten HBO relevant erhöht (1). Eine andere Studie bestätigte diese Ergebnisse. Dabei konnte an Versuchen mit Ratten gezeigt werden, dass die HBO zu einer Erhöhung der SOD, der Katalase, von BCL-2 als einem antiapoptotischen Protein, und NO führte. Schließlich wurden die ROS, das Cytochrom C im Zytosol, die Aktivität der Caspasen 3 und 9 und somit auch die Apoptose der grauen Substanz gesenkt (33).

Die Caspase-8-Hemmung blockierte nicht die HBO-induzierte Caspase-3 Aktivierung. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass die erhöhte Caspase-3-Aktivität nach einer HBO über einen anderen Signalweg erhöht wurde. Die HBO führte zu keiner relevanten Erhöhung von 7-Aminoactinomycin (7-AAD), einem Marker für die Nekrose.

Die Hyperoxie alleine führte zu keiner Steigerung der Apoptose, ebenso wenig die Normoxie mit einem Druck von drei atm. Die Apoptose stieg dabei mit der Dauer

der HBO und letztere setzte die Expression von Fas herab, während der Fas-Ligand nicht signifikant beeinflusst wurde (1).

### **3.1.3 Rolle des nukleären Faktors kappa $\beta$ und der NOS**

Der nukleäre Faktor-kappa B (NF- $\kappa$ B) ist ein ubiquitärer Transkriptionsfaktor, welcher z. B. durch bakterielles LPS aktiviert wird und zu einer Induktion der NOS und schließlich über Kaskaden zu einem Entzündungsprozess führt, weswegen er als potentiell therapeutisches Ziel bei Sepsis und Multiorganversagen gesehen wird (12). Eine Hypoxämie (16),  $H_2O_2$  (28) und RONS sind weitere Faktoren, die die Freisetzung des NF- $\kappa$ B fördern (24). Die Liponsäure wirkt laut einer Studie antiproliferativ und antiapoptotisch, was auf die Reduktion von NF- $\kappa$ B zurückzuführen war (13). Die HBO erzielt in diesem Fall positive Effekte durch die Hemmung des NF- $\kappa$ B.

In einer Studie wurden z. B. männliche Ratten mit Lipopolysacchariden (LPS) von *Escherichia coli* über einen intraperitonealen Zugang behandelt und schließlich eine Gruppe davon einer HBO ausgesetzt. Dabei wurden Drücke von 2,5 atm, eine Sauerstoffsättigung von 90% für eine, drei fünf und sieben Stunden verwendet. Dadurch wurde die Überlebensrate um ca. 25% erhöht und die MPO- und NOS-Aktivität, die Nitrit/Nitrat-Konzentration und der Gewebsschaden vermindert. Die HBO kann somit durch den Einfluss auf NF- $\kappa$ B die ROS-Überproduktion, die Aktivität der neutrophilen Granulozyten und die MPO-Aktivität senken (12). Schließlich konnte die Ansammlung von neutrophilen Granulozyten durch die HBO gesenkt werden (12, 16).

Ein anderes Beispiel zeigt eine Studie über die Wirkung der HBO bei akut nekrotisierender Pankreatitis an Mäusen. Diese hatten einen erhöhten NF- $\kappa$ B und ein reduziertes I $\kappa$ B $\alpha$  in den neutrophilen Granulozyten. In unbehandelten Zellen bindet I $\kappa$ B $\alpha$  den NF- $\kappa$ B im Plasma und verhindert dessen Eintritt in den Zellkern. Im Fall einer nekrotisierenden Pankreatitis wird der I $\kappa$ B $\alpha$  nach einer HBO in den Zellen durch Kinasen phosphoryliert und durch Proteasomen abgebaut. Das freie NF- $\kappa$ B wandert in den Kern und bindet an Promotorregionen der DNA. Die Entzündungszytokine korrelierten positiv mit der NF- $\kappa$ B-Konzentration. Beide sanken nach der HBO und I $\kappa$ B $\alpha$  wurde erhöht (16).

Im Folgenden wird auf die Rolle der NOS eingegangen, die im Zusammenhang mit erhöhtem NF- $\kappa$ B steht. Die NOS katalysiert die schrittweise Oxidation von L-Arginin zu Zitrullin und NO. Bekannt sind die neuronale, mitochondriale, induzierbare und die endotheliale NOS. Die endotheliale NOS spielt eine Rolle bei der Zellproliferation und Freisetzung von VEGF, endothelialen Progenitorzellen (EPZ) und Endothelzellen. Genannte Zelltypen sind u. a. durch die Expression vom CD31, VEGF-R2, vaskulärem endotheliale Cadherin und vom von-Willebrand-Faktor charakterisiert. Die endotheliale und die neuronale NOS werden u. a. durch Kalzium/Calmodulin und diverse Phosphorylierungen beeinflusst.

Der NF- $\kappa$ B wirkt auch auf die Angiogenese durch den Einfluss auf Angiopoietine (APOs), ROS (24) und VEGF (28). Der NF- $\kappa$ B-Signalweg induziert die Expression von VEGF-R2. Die Folge ist die Stimulierung von NOS, Produktion von NO und schließlich die Aktivierung der MMP-9 mit der Freisetzung des löslichen Kit-Liganden und Progenitorzellen aus dem Knochenmark (28). Der Kit-Ligand ist eine Tyrosinkinase (auch stem cell factor genannt), der die Proliferation der Zellen in den frühen Reifungsstufen beeinflusst (41). Schließlich wird durch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> die VEGF-A Expression gesteigert (28).

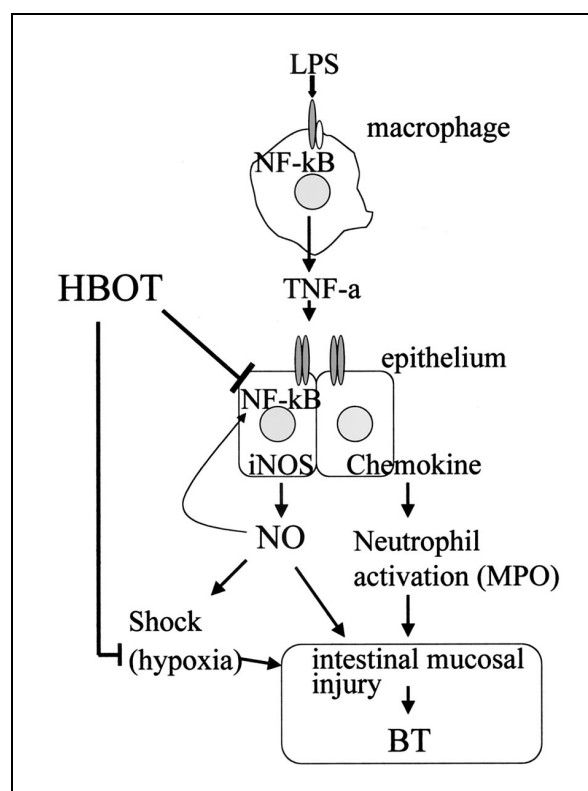


Abb. 3: Nukleärer Faktor kappa B (12)

## 3.2 Auswirkungen auf die Wundheilung

In folgenden Kapiteln werden unterschiedliche Wirkmechanismen dargestellt, die eine Bedeutung in der Wundheilung und bei chronischen Schäden haben. Sie beziehen sich auf die Effekte der HBO zum Thema Zellwachstum, Plättchenaggregation, Ischämie, Hypoxie, Toleranz gegen oxidativen Stress, Einfluss auf den Glucosestatus und den Einfluss auf die Atherosklerose.

Das Kapitel zum Thema Zellwachstum geht vor allem auf das Fibroblastenwachstum, die Angiogenese, das Wachstum von Stammzellen und das Knochenwachstum ein.

Das Fibroblastenwachstum wird nach einer HBO v. a. durch die Faktoren PDGF, TGF, ROS, TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B und MMPs beeinflusst.

Wichtige Faktoren der Angiogenese sind u. a. der VEGF, HIFs, APOs, ROS, MMPs, DDRs, SDF-1, FGF, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  und der NF- $\kappa$ B. Die HBO fördert das Wachstum von Stammzellen. Die dazu führenden Mechanismen werden z. B. über ROS, VEGF, Thioredoxin, HIF, Laktat, IL-8 und NO vermittelt.

Die meisten Studien beschreiben eine Hemmung der Plättchenaggregation durch die HBO. Die dazu führenden Mechanismen laufen über Faktoren wie z. B. das 14-3-3-Zeta-Protein, das  $\alpha$ 2-Makroglobulin, die Proteinkinase-C, GPIb-IX, den von Willebrand-Faktor und das cGMP (40).

Die positiven Effekte der HBO bei der Hypoxie, Ischämie und oxidativem Stress werden v. a. durch die Faktoren wie HSP70, HO-1, HIF, VEGF, EPO, NO, SOD, GPx und Ferritin vermittelt.

Schließlich wird der Glucosestatus nach einer HBO v. a. durch IGF, GH, IL-8, NO, Insulin und Leptin beeinflusst.

Die positiven Effekte der HBO auf die Atherosklerose werden durch eine erhöhte Paraoxonase, Arylesterase, NOS, HIF und die Glutathion-S-Transferase vermittelt. Wunden sind im Allgemeinen hypoxisch, azidotisch, hyperkapnisch und weisen hohe Konzentrationen von Laktat und Kalium sowie niedrige Konzentrationen von Glukose auf (21).

### **3.2.1 Auswirkungen auf das Zellwachstum**

In folgenden Kapiteln wird auf den Einfluss der HBO auf die Angiogenese und auf das Wachstum von Fibroblasten, Knochen- und Stammzellen eingegangen.

#### **3.2.1.1 Einfluss auf Fibroblasten**

Die HBO hat laut Studien unterschiedliche Effekte auf das Fibroblastenwachstum. Fibroblasten spielen eine wichtige Rolle in der Wundheilung. Sie können durch einen von Blutplättchen abgeleiteten Wachstumsfaktor (PDGF) stimuliert werden und produzieren Kollagen als einen Hauptbestandteil der extrazellulären Matrix (5, 15). Dabei ist z. B. die Umwandlung von Prolin zu Hydroxyprolin ein sauerstoffabhängiger Prozess, der die Dreifachhelixform der Peptide ermöglicht (5, 21). Im neuen Granulationsgewebe kann sich schließlich ein Gefäßnetzwerk ausbreiten.

Die Fibroblasten produzieren weitere Wachstumsfaktoren wie den VEGF und TGF  $\beta$ . VEGF wird sowohl bei hypoxischen als auch bei hyperoxischen Bedingungen freigesetzt (5). ROS können ebenfalls die Expression von VEGF und Kollagen induzieren (17). Durch genannte Faktoren werden Keratinozyten angelockt und proliferieren. Letztlich bilden sie eine Epithelschicht, die die Wunde bedeckt (5, 15). FGF steigt deutlich nach Verletzungen, sinkt allerdings nach drei Tagen auf den Ausgangswert, also einige Tage vor dem Beginn der Angiogenese und scheint damit auf diese keinen Einfluss zu haben (23).

In einer Studie mit Hautfibroblasten konnte eine reduzierte Proliferation, Wundheilung und erhöhte Zelltodesrate bei erhöhten Glukosekonzentrationen nachgewiesen werden (17). Weiters beeinflussen eine Vielzahl von Faktoren, wie Medikation, Stress, Ernährung, Alter und Depression die Wundheilung. Dabei werden verschiedene Heilungsphasen durchlaufen, nämlich die Phase der Hämostase, Entzündung, Proliferation und Umformung (5, 13). Hierbei gibt es sauerstoffabhängige Vorgänge. Die HBO bewirkt dabei eine Gefäßproliferation und eine Proliferation von Fibroblasten, die in der Wundheilung eine sensible Phase darstellen (5).

Gegensätzliche Ergebnisse erzielte eine andere Studie an Hautfibroblasten in einem 25-millimolaren und einem 50-millimolaren Glukosemedium, die zeigte, dass die HBO synergistisch mit dem Glukosemedium wirkte. Die Zellen wurden mit einem Druck von 2,5 atm bei 100% O<sub>2</sub> für 90 Minuten an je drei Tagen behandelt. Danach sank die Fibroblastenproliferation und die Zellenzahl wurde vermindert.

Diese Veränderung wurde bei normobarer Hyperoxie nicht beobachtet und es fand sogar eine leichte Erhöhung der Proliferation statt. Als Ursache wurden eine übermäßige Erhöhung der ROS und eine Störung der Fibroblastenteilung vermutet.

Studien konnten zeigen, dass eine kurzzeitige HBOT das Wachstum von kultivierten Fibroblasten förderte und die Langzeitbehandlung sie daran hinderte zu wachsen. Als Erklärung für die Stimulation des Wachstums der Fibroblasten wird eine geringfügige ROS-Erhöhung und für dessen Hemmung die erhöhte Sauerstoffspannung verantwortlich gemacht. Der genaue Wirkmechanismus ist nicht bekannt (17).

Andere Autoren beschreiben, dass die HBO die Differenzierung von Fibroblasten zu Myofibroblasten fördert und diese führen schließlich zu einer Kontraktion der geformten extrazellulären Matrix (5,15).

Immunzellen haben schließlich auch einen O<sub>2</sub>-abhängigen Einfluss auf das Fibroblastenwachstum. Z. B. verbrauchen Makrophagen und neutrophile Granulozyten vermehrt O<sub>2</sub> bei Entzündungen, was als oxidativer Burst bezeichnet wird. Dabei entstehen oxidative Spezies wie Superoxid und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Diese können die Fibroblastenmigration und Proliferation fördern (5, 17).

Als Nebenprodukt entsteht dabei Laktat und dieses gilt als Mediator bei der Hypoxie, womit weitere Wachstumsfaktoren freigesetzt werden, die die Kollagensynthese und Angiogenese stimulieren (5, 21). Hypoxie und Laktat triggern die gerichtete Gefäßeinsprossung und Migration beteiligter Zellen (21). Die mesenteriale Laktatkonzentration kann dabei durch LPS erhöht werden. Dieser Vorgang wurde durch die HBO gesenkt (12).

Wie im Kapitel 2.1.3 gezeigt werden konnte, senkt die HBO den NF-κB und könnte somit die MMP2- und MMP9-Aktivität hemmen. MMP2 und MMP9 sind z. B. für den Abbau von Kollagen IV verantwortlich.

Neben dem NF-κB stimulieren auch IL-1, IL-8 und TNF-α die MMP2- und MMP9-Aktivität (39). Die Rolle des TNF-α in diesem Signalweg ist nicht ganz geklärt.

Die Studien zum Thema ‚TNF und HBO‘ zeigen unterschiedliche Ergebnisse. Es zeigte sich entweder eine Erhöhung (6, 39), keine Veränderung (12, 13) oder eine Senkung des TNF-α (1, 38). TNF-α und MMP2 führen beide zur NO Freisetzung. Der TNF-α spielt bei der Bildung neuer Gefäße, Entzündung, Zytotoxizität, bis hin zur Kachexie, Schock und Tod eine Rolle. Studien konnten zeigen, dass TNF-α die Kollagensynthese in dermalen Fibroblasten senkt (39).

### 3.2.1.2 Einfluss auf die Angiogenese

Die Funktion vieler Faktoren, die die Angiogenese beeinflussen, ist vom O<sub>2</sub> abhängig. Einige davon sind VEGF, HIF, der Stromazell-Faktor-1 $\alpha$  (SDF1- $\alpha$ ) und die Angiopoietine (APOs). Die Wirkmechanismen spielen sich teilweise über die NOS, ROS, MMPs, den TIE-2 Rezeptor, NF- $\kappa$ B, Ubiquitin-Proteasen und Tyrosinkinase ab.

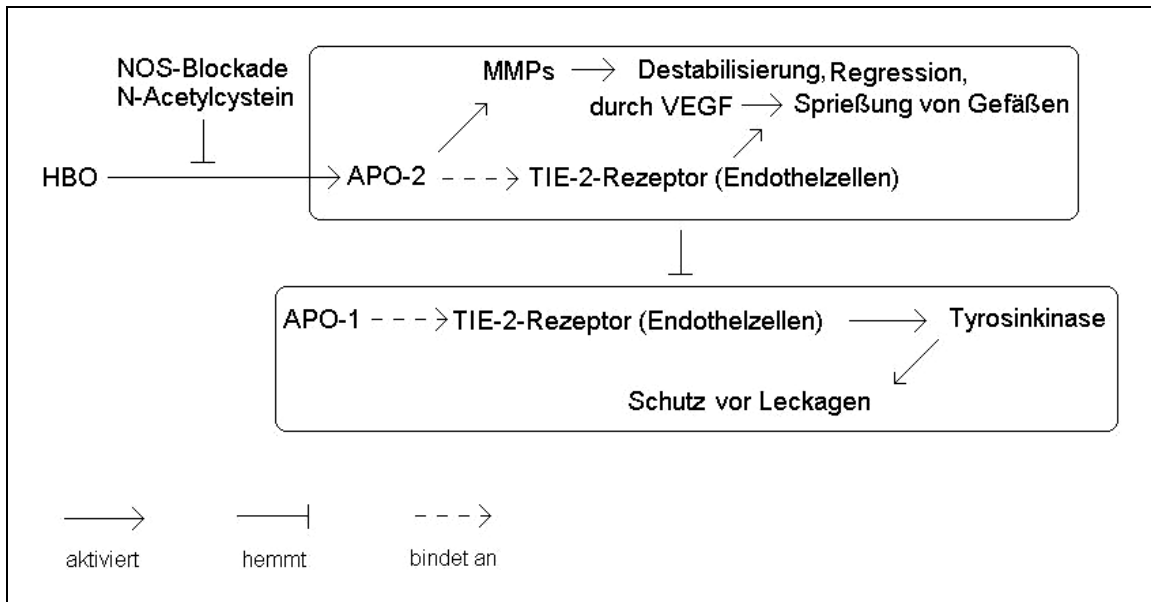
Die HBO hat laut den meisten Studien einen positiven Einfluss auf die Angiogenese. Der VEGF spielt dabei und auch in der embryonalen Entwicklung eine Schlüsselrolle und wird v. a. durch die Sauerstoffspannung gesteuert (23).

Der ‚Hypoxie induzierbare Faktor‘ (HIF) wird bei Hypoxie freigesetzt, bindet an die DNA und erhöht dadurch die Expression von VEGF (5, 15). HIF-1 und -2 sind durch die Regulation von Transkriptionsfaktoren bei der Angiogenese beteiligt. Sind die Zellen mit O<sub>2</sub> gesättigt kann es zur Degradation von HIF- $\alpha$  kommen. Dies geschieht durch eine Ubiquitylierung und anschließenden Abbau in Proteasomen, welche durch Eisen und die O<sub>2</sub>-abhängige Prolyl-Hydroxylase aktiviert wird (27).

APOs sind u. a. für den Schutz vor Gefäß-Leckagen und die Sprießung von Gefäßen verantwortlich. Die Subtypen APO-1 und APO-2 binden beide primär an einen Tie2-Rezeptor, welcher fast ausschließlich von Endothelzellen gebildet wird (Abb. 4). Schließlich wird die Tyrosinkinase durch das APO-1, aber nicht durch das APO-2 aktiviert. Über diesen Signalweg schützen APO-1 und Tie-2 die Gefäße vor Leckagen. APO-2 antagonisiert diesen Prozess und führt in Verbindung mit Tie-2 zu einer Destabilisierung der Gefäßwand, mit der Folge einer Regression oder einer Sprießung der Gefäße unter VEGF. APO-1 und -2 haben eine ähnliche Affinität zum Tie-2-Rezeptor. APO-2 ist in der Lage die Expression von MMPs zu aktivieren.

Eine Studie an Endothelzellen von menschlichen Nabelvenen versuchte die Rolle der HBO auf die APOs zu verdeutlichen. Dabei konnte eine Erhöhung der Expression des Angiopoietins-2 (APO-2), aber keine Erhöhung des VEGF, des Angiopoietin-1 oder Tie-2 nachgewiesen werden. Die Zellen wurden mit 98% O<sub>2</sub> und 2% CO<sub>2</sub> bei einem Druck von einem oder 2,5 atm für 90 oder 180 Minuten behandelt. Eine Hemmung der NOS stoppte die durch die HBO hervorgerufene Expression von APO-2 und der APO-2-Messenger-RNA (mRNA), während die APO-2-Produktion dadurch bei Hypoxie nicht blockiert werden konnte. Somit scheint APO-2 bei

Hypoxie durch andere Mechanismen gesteuert zu werden. N-Acetylcystein führte als eine Substanz, die in der Lage ist freie Radikale abzufangen, zu einer Blockade der durch die HBO induzierten APO-2-Produktion. Damit scheint dieser Wirkmechanismus über ROS und die NOS abzulaufen (24).



**Abb. 4: Wirkung der HBO auf das APO-2**

Des Weiteren spielen die Matrixmetalloproteinasen (MMPs) eine wichtige Rolle in der Angiogenese. MMPs verdauen die Basalmembran und erlauben es den Endothelzellen sich aus der Begrenzung ihrer Muttergefäße zu befreien. Sie verlängern ihre Form und bilden einen kapillären Keim fern von ihrem Muttergefäß (5,15).

Eine andere Studie bestätigte genannte Wirkmechanismen der HBO auf MMPs. Dabei wurde an Mäusen mit Hautwunden am Ohr und entfernten Makrophagen die MMP1, MMP2, MMP9 und die TNF- $\alpha$ -Konzentration am Tag zwei und sieben nach einer HBO bei 2,4 atm und 100% O<sub>2</sub> und einer Behandlungsdauer von 90 Minuten gemessen. Auch hier kam es zur erhöhten Epithelialisierung und Neovaskularisierung. Die MMP2-Konzentration ist dabei konstant geblieben, während die TNF- $\alpha$ -, MMP9- und TIMP-1-Konzentration erhöht wurden. Die MMP9-Konzentration war am zweiten und die TIMP-1-Konzentration am zweiten und siebten Tag der Behandlung erhöht (39).

Werden zusätzlich zu einer HBO Substanzen zugeführt, können die Ergebnisse variieren. In einer Studie wurden z. B. PatientInnen doppel-blind in zwei Gruppen

geteilt, in eine Placebogruppe und eine Gruppe, die LA erhielt. Anschließend wurden beide Gruppen mit HBO bei 100% O<sub>2</sub> und 2,5 atm für drei mal 25 Minuten mit drei Minuten Luftatmung zwischendurch behandelt. Nach einer Biopsie wurde das genetische Profil für die Expression von MMPs und die Angiogenese untersucht.

Die LA Supplementierung reduzierte die VEGF- $\beta$ -, b-FGF und IL-6-Expression. Die HBO alleine erhöhte dabei die Faktoren VEGF-  $\beta$ , b-FGF und IL-6. Unverändert in beiden Gruppen blieben TNF- $\alpha$  und IL1 $\beta$  (13).

Das IL-8 ist in der Lage die Angiogenese zu stimulieren (28). VEGF wurde durch TGF, EGF, TNF- $\alpha$  und die Hypoxie erhöht, durch Proteasen beschädigt und verbesserte durch seine Wirkung die Wundheilung (13).

Die HBO führt über einen p38 MAP-Kinase-Signalweg zu einer Erhöhung der Konzentration des Discoidin-Domain-Receptors-2 (DDR-2).

DDR1 und DDR2 spielen durch Einflüsse auf das Kollagen und die MMPs eine Rolle in der Angiogenese. Sie sind Kollagenrezeptoren, wobei DDR1 hauptsächlich aus epithelialen Zellen und DDR2 aus mesenchymalen Zellen stammt. Der DDR2 reguliert den Kollagenumsatz über eine Tyrosinkinase, welcher z. B. von glatten Muskelzellen bei Atherosklerose und obstruktiven Erkrankungen vermittelt wird. Eine mechanische Dehnung der glatten Muskelzellen reguliert ebenfalls den DDR2. In weiterer Folge führt der DDR2 zu einer Erhöhung der MMP1- und MMP2-Aktivität. MMPs könnten eine wichtige Rolle bei der Tumormetastase spielen. Es zeigten sich bei der HBO keine signifikanten Effekte auf den DDR1. Der Effekt der HBO auf den DDR wird mit folgenden Studien beispielhaft dargestellt.

Dabei wurden Zellen von Ratten unter einer HBO einem Druck von 2,5 atm ausgesetzt. Darauf folgte eine Erhöhung des DDR2 Proteins und jener mRNA, die zur weiteren Bildung dieses Proteins führte. Nach der HBO wurde der DDR2 phosphoryliert. Dafür wird der p38 MAP-Kinase Signalweg verantwortlich gemacht, da dessen Blockierung die DDR2-Expression am meisten senkte. Bei 2,5 atm führte die HBO zu einer Phosphorylierung von p38. Weiters erhöht die HBO die DNA-Proteinbindungsaktivität von Myc-Max, einem Onkoprotein welches Gene sowohl aktivieren als auch blockieren kann und ein Bestandteil des DDR2-Bildungsenzyms ist. Doch beim Zusatz eines TNF- $\alpha$ -Antikörpers verschwand dieser Effekt. Es zeigte sich eine Erhöhung des TNF- $\alpha$  in den glatten Muskelzellen bei der Verwendung der HBO. Folglich erhöhte eine exogene TNF- $\alpha$  Zufuhr die DDR2 Protein Expression, wobei auch dieser Effekt nach der Zugabe von TNF- $\alpha$ -Antikörpern ver-

schwand. Durch genannte Mechanismen erhöht die HBO die Wanderung und Proliferation glatter Muskelzellen als wichtige Mechanismen in der Gefäßneubildung (6).

### **3.2.1.3 Einfluss auf Stammzellen**

Die HBO bewirkt eine Mobilisation von SZ aus dem Knochenmark und verbessert das klonale Zellwachstum (28). Die dazu führenden Mechanismen werden z. B. über ROS, VEGF, Thioredoxin, HIF, Laktat, IL-8 und NO beeinflusst.

Bei einer Vorbehandlung mit der HBO konnte nachgewiesen werden, dass die Einnistung der Stammzellen, die myokardiale und elektrophysiologische Funktion und die Angiogenese verbessert wurden und die Infarktgröße verkleinert wurde.

Dazu wurde eine Studie an Ratten durchgeführt und durch die Ligatur der linken vorderen absteigenden Koronararterie ein Infarkt induziert. Schließlich wurden mesenchymale Rückenmarksstammzellen in das Herz eingepflanzt. In weiterer Folge wurde eine HBO mit 100% O<sub>2</sub> und 2 atm für 90 Minuten täglich, drei Tage vor der Transplantation und zwei Wochen lang nach einer Heilungsphase angewendet. Danach kam es zu einer Vermehrung von Stammzellen, einer erhöhten Freisetzung vom gap-junction Protein, welches für die elektrophysiologische Balance wichtig ist, von Troponin T, einem kontraktilen Protein, welches bei Ischämie gesteigert ist und von VEGF (32).

Eine andere Studie an Mäusen mit einer HBO bei 2,8 atm und 100% O<sub>2</sub> für eine Dauer von 90 Minuten bestätigte die Auswirkungen auf das Wachstum von Stammzellen. In diesem Fall wurden die ROS als ein Stimulus für das Wachstum von SZ verantwortlich gemacht. Dabei erhöht Laktat das NADH durch die Laktatdehydrogenase und das NADH steigert in weiterer Folge die ROS-Produktion durch die Aktivierung der NADPH-Oxidase. Einerseits wird die Freisetzung von SZ aus dem Knochenmark durch die ROS gefördert und andererseits werden antioxidative Vorgänge stimuliert. Dabei bewirken die ROS die vermehrte Ausschüttung von Thioredoxin-1, welches wiederum HIF-1 freisetzt. Thioredoxine (Trx) sind ubiquitäre Oxidoreduktasen die zusammen mit der GPx wirken. Es kam auch zu einer Verschiebung des GSH/GSSG-Verhältnisses als Zeichen vermehrter Glutathion-synthese. In Zellen konnte auch eine erhöhte Produktion von Katalasen gefunden werden. Andere Quellen bestätigen, dass die ROS das Wachstum von embryona-

len Stammzellen, endothelialen Progenitorzellen (EPZ), Skelettalen- und Herzmuskellvorläuferzellen fördert.

IL-8, welches durch die HBO erhöht wird, ist in der Lage CD34<sup>+</sup>-Zellen zu rekrutieren. CD34<sup>+</sup> wird sowohl von hämatopoetischen als auch endothelialen Progenitorzellen exprimiert. Diese Zellen spielen bei der Angiogenese eine wichtige Rolle. Nach 18 Stunden waren mehr als 90% der Zellen CD34 positiv. Die HBO verdoppelte die Zahl der CD34<sup>+</sup>-Zellen und erhöhte deren Anzahl zusammen mit Laktat um das 5,5-fache. Damit scheinen Laktat und die HBO synergistisch zu wirken (28).

Ein anderer Effekt auf Stammzellen wirkt über das NO. Es gilt als gesichert, dass die HBO die NO-Produktion im zerebralen Kortextgewebe, perivaskulären Lungengewebe und neutrophilen Granulozyten durch die NOS vorantreibt. Das NO ist schließlich in der Lage, EPZ aus dem Knochenmark freizusetzen (28, 30).

#### **3.2.1.4 Einfluss auf das Knochenwachstum**

Die HBO führt zur Osteogenese und auch zu erhöhter Osteoklastenaktivität um den geschädigten Knochen zu ersetzen. Die Knochen zeigten laut Studien einen deutlichen Rückgang im Ausmaß der Schädigung durch die HBO im Vergleich mit den Ergebnissen mit normobarer Oxygenierung. Nach sechs Wochen erschienen die Knochen in ihrer Struktur gewoben und nach zwölf Wochen lamellär (30).

Eine andere Studie bestätigte die positiven Effekte der HBO. Dabei wurde eine HBO bei Schäden am Schlüsselbein von Hasen durchgeführt und ein erhöhtes VEGF eruiert. Die Knochen wurden dabei einem Druck von 2,4 atm für 90 Minuten je fünf Tage die Woche und für insgesamt vier Wochen behandelt. Der Effekt der VEGF-Erhöhung blieb sogar für zwei Wochen nach der Behandlung erhalten, mit dem Höchstwert nach einer Woche, dem ungefähren Zeitpunkt des Beginns der Angiogenese (23).

#### **3.2.2 Effekte auf die Plättchenaggregation**

Die HBO senkt die Plättchenaggregation. Dafür wird u. a. die Erhöhung des 14-3-3-Zeta-Proteins und des NO verantwortlich gemacht. Das Protein 14-3-3-Zeta

hemmt die Proteinkinase-C, reguliert somit den Arachidonstoffwechsel in Plättchen und wird durch thrombin-aktivierte Plättchen stimuliert.

Eine Studie untersuchte die Auswirkungen der HBO bei 97,7% O<sub>2</sub> und einem Druck von 2,2 atm für eine Dauer von 90 Minuten auf die Aggregation von Blutplättchen und die Freisetzung von 14-3-3-Zeta und  $\alpha$ -2-Macroglobulin. 14-3-3-Zeta führt durch die Hemmung der Filopodia-Produktion zur Inaktivierung kollagen-induzierter Plättchenaggregation. Das Protein bindet schließlich an GPIb-IX und reguliert somit die Freisetzung des von Willebrand Faktors, was als therapeutisches Ziel bei Thrombosen vorgeschlagen wird.

Eine andere Studie konnte zeigen, dass Hasen bei einer HBO mit 2,4 atm eine erniedrigte ADP- und kollagen-induzierte Plättchenaggregation aufwiesen. Dabei führt die NO-Freisetzung zur Hemmung der Plättchenaggregation mit reduzierter Thrombusgefahr.

Murayama konnte diese Effekte bereits bei einem Druck 0,5 atm nachweisen.

Interessanter Weise wirkt das NO biphasisch auf die Plättchenaktivität. Zunächst kommt es durch ein erhöhtes zyklischen Guanosinmonophosphat (cGMP) zu einer Stimulierung der Plättchensekretion und schließlich zu dessen Inaktivierung durch eine Hemmung der Proteinkinase. Erhöhtes Kollagen stimuliert die Plättchenaggregation. Bei einer HBO an Fibroblasten mit einem Druck von 2 atm kommt es zu erhöhter bFGF- und bei 2,2 atm zur Plättchenprotein-Freisetzung (40).

### **3.2.3 Effekte bei der Ischämie und Hypoxie**

Die HBO zeigt positive Effekte beim Einsatz in ischämischen, hypoxischen, reperfundierten und minderdurchbluteten Gebieten. Die HBO kann eine ischämische Toleranz im Rückenmark und im Gehirn induzieren. Die dazu führenden Wirkmechanismen werden u. a. über HSP70, HO-1, HIF, VEGF, EPO und NO vermittelt.

Im Folgenden werden die Wirkmechanismen beispielhaft durch Studien beschrieben, die zu diesen Ergebnissen gekommen sind.

Der Schaden bei einer massiven Hepatektomie ist v. a. auf die Ischämie, die Reperfusionsschädigung, einer für den nötigen Metabolismus zu kleinen Leber und einer Hyperzytokinämie zurückzuführen. Viele Faktoren, wie Superoxid, die Endotoxine, der Zytokinanstieg im Blut und die Apoptose sind bei diesen benachteiligt.

genden Prozessen involviert. Im Fall der Hepatektomie wird die Erhöhung der HSP70s- und der HO-1-Konzentration (siehe Kapitel 2.2.4) durch die HBO für den Benefit verantwortlich gemacht. Diese Reaktion scheint vom endoplasmatischen Retikulum auszugehen. Dabei wird die Expression verschiedener Gene wie auch die des HSP-Gens eingeleitet. Die HSPs spielen eine wichtige Rolle bei der Protein-Hämostase und der Reparatur von Proteinschäden. Uwagawa et al. berichteten von einer kompensatorischen Lebervergrößerung durch den Hepatozyten-Wachstumsfaktor nach einer HBO. Weitere Studien zeigten eine verbesserte ATP-Regeneration und Mikrozirkulation der Leber durch die HBO (8).

Die HBO hat auch einen positiven Effekt auf die Schäden im neuronalen System, die durch Hypoxie bedingt sind. Die normobare Oxygenierung zeigte bereits in der frühen Phase positive Ergebnisse. Einige Studien ergaben einen Schutz vor Apoptose, weiters eine Hemmung der Neuroinflammation und die Schädigung der Blood-Hirn-Schranke bei der Behandlung mit der HBO (9). Von mehr als 400 PatientInnen, die nach einem zerebralen ischämischen Insult mit der HBO behandelt worden sind, kam es bei etwa in der Hälfte aller Fälle zu einer Verbesserung des neurologischen Status (21). Zwei weitere Studien bestätigten eine Hemmung der Apoptose durch die HBO im ischämischen Wundgebiet. Das geschieht einerseits durch die Hemmung des HIF (9) und andererseits durch die Erhöhung der BCL-2-Konzentration (33). Der Einfluss der HBO auf den VEGF ist laut Studien unterschiedlich.

Dazu wurden u. a. Versuche an Mäusen mit zerebralem Mittelarterienverschluss für 120 Minuten gemacht. Die Mäuse wurden nach der Läsion mit 100% O<sub>2</sub> bei drei atm 95 Minuten behandelt. Der HIF-1 wurde bei dadurch entstandener Ischämie vermehrt aufgefunden und schnell durch Proteasomen unter Normoxie abgebaut. HIF-1 wird während der Ischämie in den Zellkern transloziert und führt zur Expression von mehr als 100 Genen, u. a. auch von VEGF und Erythropoietin. Zellen die zu sehr geschädigt wurden zeigten keine Expression von HIF-1. HIF-1 kann den Entzündungsprozess beschleunigen und proapoptotisch wirken. Die HBO führte durch die Senkung des HIF-1 dementsprechend zu einer verminderten VEGF Expression. Genannte Effekte resultierten mit Signifikanz auch bei normobarer Oxygenierung, allerdings zeigten sich keine Unterschiede beim HIF-1 im Vergleich zur Luftatmung. Die Verminderung des VEGF könnte eine bedeutende protektive Rolle bei der Blut-Hirn-Schranke und Ödemen spielen (9).

Versuche an Ratten konnten zeigen, dass die HBO-Vorbehandlung bei einer Schädigung des Rückenmarks die Zellen durch die Hemmung der frühen Apoptose schützt. Dabei wurden vier Zyklen mit der Dauer von je einer Stunde in einem Intervall von zwölf Stunden, mit einem Druck von 2,5 atm und 100% O<sub>2</sub> angewendet. Die Ischämie wurde durch eine Okklusion der thorakalen absteigenden Aorta in Kombination mit systemischer Hypotension mit weniger als 40 mmHg Druck hervorgerufen. Klinisch resultierte im Vergleich zum Normkollektiv ein verbessertes neuronales Verhalten. Durch den Zusatz von L-nitroargininmethylester konnte die vorteilhafte Funktion des NO unterbunden werden, womit viele positive Effekte ausfielen und die Bedeutung des NO verdeutlicht wurde. Des Weiteren werden bei der Reperfusion die Thiolgruppen der Adeninnukleotidtranslokase oxidiert, mit der Folge einer erhöhten mitochondrialen Membranpermeabilität. Als Folge davon triggert die Cytochrom-C-Ausschüttung ins Zytosol die Apoptose. Das BCL-2 stabilisiert in diesem Fall die mitochondriale Membranpermeabilität und neutralisiert das Zusammenwirken von Bax (proapoptotisches Protein) und der Adeninnukleotidtranslokase (33).

Der Einfluss der HBO auf den Blutfluss und die Kontraktilität des Herzens ist laut den verschiedenen Studien unterschiedlich.

Whalen et al. und Kioschos et al. konnten zeigen, dass der kardiale Auswurf bei Freiwilligen und bei Hunden durch die HBO gesenkt wurde. Dabei wurde eine HBO mit Drücken von 2,36-5 atm verwendet. Es kam zu einer Reduktion des zerebralen Blutflusses, des Schlagvolumens, der myokardialen Kontraktilität, einer Bradykardie und erhöhtem peripheren Widerstand durch die Vasokonstriktion, welche vermutlich durch die Wirkung des O<sub>2</sub> auf Chemorezeptoren entstanden ist.

Studien von Stuhr et al. ergaben allerdings, dass die HBO den systolische linksventrikulären Blutdruck, die Flussgeschwindigkeit und die Kontraktion und Relaxation des linksventrikulären Myokards erhöht. Weaver et al. Fanden ihrerseits heraus, dass durch die HBO der Blutfluss in der Niere, Leber und Nebennieren unverändert blieb, mit gesteigerter Fließgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen.

Interessanterweise konnte gezeigt werden, dass der zerebrale Blutfluss nach einer HBO in beschädigten Bereichen erhöht und in gesundem Gewebe erniedrigt wurde, was bei ischämischer und traumatischer Gehirnschädigung von Vorteil ist. Ein weiterer nennenswerter Effekt ist dabei die Erhöhung des systolischen arteriellen Blutdrucks bei gleich bleibendem mittlerem arteriellem Blutdruck.

Studien mit der HBO bei zerebraler Ischämie, Kopfverletzungen, CO-Vergiftungen und hämorrhagischem Schock zeigten jeweils eine Verbesserung im Elektroenzephalogramm, einen normalisierten zerebralen Druck, geringere Infarktgröße und normalisierten neurologischen Status. Postischämisch wurde das Adenosintri-phosphat erhöht und die Laktatakkumulation gesenkt (36).

### 3.2.4 Erhöhung der Toleranz gegen oxidativen Stress

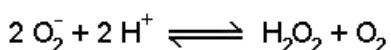
Die meisten Studien zeigen positive Effekte auf den Redoxstatus nach dem Einsatz einer HBO. Eine Vorbehandlung mit der HBO kann ebenfalls vor oxidativem Stress schützend wirken (10). Zwar kommt es teilweise anfänglich zu einer erhöhten Bildung von ROS, da nach der HBO in Mitochondrien das  $O_2^-$  und in weiterer Folge das  $H_2O_2$  gebildet wird (26), diese rufen aber schließlich eine Zellantwort herbei, die gegen oxidativen Stress schützend wirkt (10). Eine Studie beschrieb gegenteilige Resultate. Bei diesem Studienmodell wurde allerdings die Methionin-Sulfoxid-Reduktase A entfernt.

Die positiven Effekte werden u. a. durch die HSP-70, HO-1, SOD, ROS, Ferritin und die GPx vermittelt.

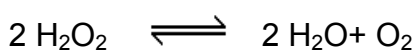
Entstehungsorte der ROS sind u. a. die NADPH-Oxido-Reduktase, Xanthinoxidase, NOS, Cyclooxygenase, Lipoxygenase, mitochondriale Oxidation und Autooxidation von Gewebismetaboliten (11). Superoxid kann spontan  $H_2O_2$  bilden, wobei diese Reaktion durch die SOD beschleunigt wird. Wasserstoff- und Lipidperoxide werden schließlich durch die Katalase oder GPx reduziert. Die HBO erhöht antioxidative Enzyme und senkt damit die Lipidperoxidation (24).

Die enzymatische Entfernung der Sauerstoffradikale erfolgt durch das Zusammenwirken von SOD, Katalase und GPx (41):

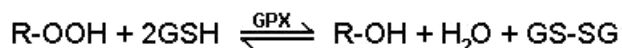
Superoxiddismutase:



Katalase:



Glutathionperoxidase:



Im Folgenden werden die Wirkmechanismen der HBO die zu antioxidativen Effekten führen durch Studien beispielhaft dargestellt.

In einer Studie wurden Ratten in vier Gruppen eingeteilt mit einer Kontrollgruppe, und je einer Gruppe mit ein-, drei- und fünftägiger HBO-Behandlung, für eine Stunde täglich und bei einem Druck von zwei atm. Daraufhin wurden die Konzentrationen der HSP70s, der HO-1 und das Leber-zu-Körper-Gewichtsverhältnis evaluiert. Als Ergebnis stellte sich heraus, dass die HSP70-mRNA und die HO-1 bei der Gruppe, die an drei Tagen behandelt wurde, mit einem Faktor von 1,67 signifikant höher waren als bei der Kontrollgruppe. Des Weiteren sanken die Transaminasen wie AST, ALT, Gesamtbilirubin und die Hyaluronsäure. Das Gewicht der Leber stieg im Verhältnis zum Körper der Ratten signifikant an. (8). Auch andere Studien an menschlichen Lymphozyten mit einer HBO bei 1,5 atm für eine Dauer von einer Stunde bestätigten die Erhöhung der HO-1. Die HO-1 wirkt antioxidativ und somit auch schützend auf die DNA. Die HO-1 ist eines der zwei Isoenzyme, welches zelluläres Häm zu Biliverdin, Kohlenmonoxid und freiem Eisen katabolisiert, wobei Bilirubin als Zwischenprodukt im Hämabbau ein potentes Antioxidans darstellt. Interessanterweise konnte der antioxidative Status bei HBO-adaptierten Lymphozyten nicht alleinig durch die Erhöhung bekannter antioxidativ wirkender Enzyme erklärt werden. Auch die DNA-Reparaturmechanismen wie die apurinische Endonuklease und Polymerase- $\beta$  sind konstant geblieben. Die HO-1-Erhöhung wurde bereits nach vier Stunden der HBO nachgewiesen und wirkt zumindest 18 Stunden lang (20).

Eine weitere Studie bestätigte die Erhöhung der HO-1. Dabei wurden Rückenmarksneurone mit der HBO behandelt und schließlich Wasserstoffperoxid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ausgesetzt.  $\text{H}_2\text{O}_2$  bewirkte schwere Zellschäden und eine herabgesetzte Zellvitalität. Durch eine einmalige HBO Behandlung (3,5 atm, 98%  $\text{O}_2$ , 37 °C, 2 h) konnten die Zellen vor  $\text{H}_2\text{O}_2$  weitgehend geschützt werden. Dieser Effekt resultierte vier Stunden nach der Behandlung, hatte die höchste Wirkung nach 12 Stunden und dauerte zumindest 24 Stunden an. Die Zellen produzierten die HO-1 vermehrt, so-

wohl das Protein als auch die mRNA. HO-1-lose (knock out) Mäuse hatten eine reduzierte Abwehr gegen oxidativen Stress. Die SOD-Konzentration blieb in dieser Studie anfänglich konstant. Allerdings zeigte sich eine Erhöhung nach mehreren HBO-Behandlungen. Die Erhöhung der antioxidativen Enzyme wird als Reaktion auf die HBO-induzierten nicht letalen reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) betrachtet (10). Andere Faktoren wie die Phosphatidylinositol-3-kinase, NF- $\kappa$ B und die Proteinkinase-C können durch ROS aktiviert werden und spielen eine indirekte Rolle im Redoxstatus. Durch die HBO generierte ROS könnten aufgrund der Hemmung von Phosphatasen und oxidantienbedingter Ascorbatverminderung den HIF aktivieren (28).

Die Induktion des Ferritins, welches als ein Resultat der Eisenfreisetzung beim Hämabbau entsteht, könnte dabei ebenfalls involviert sein. Freies Eisen kann mit  $H_2O_2$  durch die Fenton-Reaktion toxische Hydroxylradikale entstehen lassen. Allerdings kann Ferritin das freie Eisen binden und dadurch die Fentonreaktion unterbinden (10, 20).

Ein weiterer wichtiger antioxidativer Faktor ist die GPx. Die selenabhängige GPx-1 wird durch die HBO erhöht. Eine zehnwöchige HBO-Behandlung senkte oxidiertes Glutathion, während reduziertes Glutathion, die Glutathion-Reduktase, Glutathiontransferase und die Katalase signifikant erhöht wurden (11). Die Niere hat die höchste Seleniumkonzentration unter allen Organen und trägt damit sehr viel zum antioxidativen System bei. Des Weiteren wird die Plasma-GPx hauptsächlich in den Nierentubuli gebildet (25). Yassar et al. wiesen eine Verbesserung des Glutathionperoxidase- und des SOD-Status in Erythrozyten und im Pankreas nach (16). Andere Studien bestätigten die Erhöhung von Glutathion und energiereicher Phosphate durch die HBO in postischämischem Gewebe (21). Bei einer weiteren Studie wurden Ratten mit nekrotisierender Enterokolitis bei einem Druck von 2,8 atm für 90 Minuten über drei Tage mit der HBO behandelt. Dabei kam es ebenfalls zu einer Erhöhung der SOD, der GPx, erniedrigten TNF- $\alpha$  Werten, zu einer Gewichtszunahme, zur Bildung von NOS, ROS, Vasokonstriktion und verminderten Ödemen und Nekrosen. Weiters wurde die Aktivität weißer Blutkörperchen und die Verformbarkeit roter Blutkörperchen verbessert (38).

Eine Studie zeigte gegenteilige Effekte der HBO im Hinblick auf den Redoxstatus, allerdings nur bei Mäusen, denen die Methionin-Sulfoxid-Reduktase A (MsrA) fehlte. Die MsrA repariert das oxidierte Cytochrom-C-Methionin und stellt die Cyto-

chrom-C-Oxidase-Aktivität wieder her mit reduzierter Cytochrom-C-Peroxidase-Aktivität. Das Ergebnis ist eine verlängerte Lebensdauer der Zellen, eine Erhöhung des Membranpotentials und verminderte ROS. Das Cytochrom C wirkt als Elektronenträger in der Transportkette der Mitochondrien und führt bei seiner Freisetzung ins Zytosol zu einer Apoptose. Die Tiere wurden 100-mal einer HBO mit 100% O<sub>2</sub> bei 2,75 atm für eine Dauer von drei Stunden ausgesetzt. In weiterer Folge kam es zu oxidativem Stress und damit auch zu erhöhter Lichtstreuung der Linse bei Mäusen. Ohne der MsrA kann es zu einer erhöhten Anhäufung von oxidiertem Cytochrom-C mit der Folge von erhöhten ROS, Katarakt und Apoptose bei der HBOT kommen. Die Mitochondrien halten die O<sub>2</sub>-Spannung in der Linse durch den Verbrauch von 90% des in die Zellen kommenden O<sub>2</sub> niedrig. Die HBO führte in diesem Beispiel zu oxidativem Stress bei fehlender MsrA, wobei deren Anwesenheit nach einer HBO keine Veränderung im Vergleich zum Normkollektiv hervorrief (34).

### **3.2.5 Einfluss auf den Glucosestatus**

Die HBO könnte einen positiven Effekt auf den Glucosestatus haben. Als Wirkmechanismen werden Signalwege, die über die ‚insulin like growth factors‘ (IGFs), growth hormone (GH), IL-8, NO und Insulin ablaufen, vermutet. Aktuellen Berichten zufolge hat der IGF-1, ein Faktor, der die Heilung und das Gewebewachstum moduliert, einen Einfluss auf den Glukosestoffwechsel bei Diabetes-Typ-II-PatientInnen. Weiters hat Leptin Auswirkungen auf den Fettstoffwechsel, die periphere Insulinsensitivität und damit auch auf den Glukosestatus. Eine Studie untersuchte an Diabetes-PatientInnen den Einfluss der HBO auf GH, IGF-I, IGF-II, IGF-Bindungsprotein-1 und -3, IL-8, NO und Leptin hinsichtlich einer heilungsfördernden Wirkung und den Glukosestatus. IL-8 ist bei DiabetespatientInnen erhöht und das Serum-NO erniedrigt. Die HBO wurde mit 100% O<sub>2</sub> und bei 2,5 atm für 90 Minuten pro Tag über drei Tage verabreicht. Dabei zeigten sich keine Veränderungen bezogen auf das Insulin. Es konnte eine positive Korrelation zwischen dem NO und IL-8 einerseits und NO und Insulin andererseits gezeigt werden (15).

IGF-1 vermittelt in weiterer Folge das GH und beeinflusst somit gemeinsam mit dem NO die Perfusion, Neovaskularisation und die Gewebsheilung (15, 28). Die

HBOT konnte allerdings keine signifikante Veränderung im GH/IGF-1 Verhältnis oder in der Leptinkonzentration bewirken, sei es durch die Kürze der Behandlung oder dadurch, dass die HBO nicht auf diese Faktoren wirkt. Die Insulinkonzentration wurde beim gesunden Normkollektiv nach der dritten HBO-Behandlung nicht signifikant um verringert. Als Ursache für dieses Ergebnis wird die erhöhte Insulinsensitivität vermutet. Weiters scheint das NO auch durch Insulin gesteuert zu werden. Durch Insulin erhöhtes NO fördert die Wundheilung bei diabetischen Fuß-Ulzera (15).

### **3.2.6 Einfluss auf die Atherosklerose**

Die HBO scheint einen positiven Einfluss auf die Atherosklerose zu haben. Die verantwortlichen Wirkmechanismen scheinen u. a. über die Paraoxonase, die Arylesterase, reduzierte Antikörper gegen oxidiertes LDL, NOS, HIF und die Glutathion-S-Transferase zu laufen.

Dazu wurden in einer Studie apoE-negative Mäuse in Gruppen geteilt und täglich einer HBOT für eine Dauer von je fünf und zehn Wochen ausgesetzt mit 100% O<sub>2</sub>, 2,4 atm und 90 Minuten. Danach wurden die Komponenten der antioxidativen Abwehr und des Redoxstatus im Blut, in der Leber und in aortalen Gefäßen bestimmt und mit nicht behandelten apo-negativen Mäusen verglichen. Das Ergebnis war ein reduziertes aortales Cholesterin und reduzierte Fettstreifen. Das Plasmacholesterin und das Körpergewicht blieben unverändert, das Gewicht der Milz wurde erniedrigt und die Plasma-Paraoxonase-1- und Arylesterasekonzentrationen wurden erhöht. Eine erniedrigte Paraoxonase-1-Konzentration wird im Allgemeinen für die Hypercholesterinämie verantwortlich gemacht. Die Reduktion des aortalen Cholesterins und der Fettstreifen waren u. a. auf reduzierte Antikörper gegen oxidativ modifiziertes LDL zurückzuführen, sowohl das oxidierte LDL als auch MDA-LDL (11).

Die NOS, welche durch die HBO erhöht wird, wirkt vasodilatatorisch und antiinflammatorisch und die SOD bietet einen antioxidativen Schutz. Damit wirken sie antiatherogen (42).

Ähnliche Effekte ergaben sich auch im aortalen Gewebe. Somit scheint der durch die HBO induzierte antioxidative Mechanismus eine wichtige Rolle in der antiathe-

rogenen Schutzfunktion zu spielen. Weiters vermindert die HBO die Immunantwort, welche ursächlich bei dieser Erkrankung von Bedeutung ist. Die Atherosklerose selbst wird durch chronische immunmodulierte Entzündungsprozesse mit Schädigung der arteriellen Intima ausgelöst. Dabei werden u. a. die ROS, die durch Schertraumen oder Ischämien entstehen verantwortlich gemacht. In der Folge können dadurch und durch die Senkung des HIF gefäßbedingte Nierenschäden vermieden werden. Die Glutathion-S-Transferase erleichtert die Ausscheidung von oxidierten Lipiden und anderen modifizierten Biomolekülen und schützt somit vor Zelltoxizität (11).

## **4 Darstellung einiger Wirkungen an bestimmten Organen**

In folgenden Kapiteln wird auf einige Auswirkungen der HBO auf das Auge und das ZNS eingegangen.

Das Kapitel Auge wurde gewählt, da hier die Veränderungen der HBO relativ deutlich gezeigt werden konnten und umfangreiche Studien zu finden sind. Dabei sind die Einsatzgebiete und Wirkungen der HBO vielfältig (Tab. 7). Davon wurde der Einfluss auf die Gefäße, die sklerale Schmelzung und Nekrose und Infektionen des Auges näher beschrieben.

Das ZNS spielt vor allem bei O<sub>2</sub>-induzierten Nebenwirkungen eine Rolle und zeigt teilweise unterschiedliche Reaktionen verglichen mit peripheren Organen unter einer HBOT. Aus diesem Grund wird auch auf die Wirkungen der HBO im ZNS eingegangen. Auch hier greift die HBO an unterschiedliche Ansatzpunkte an. Dabei wurde der Einfluss auf die Gefäße, die Substanz P, CO<sub>2</sub>/H<sup>+</sup>-sensitive Neurone in Stammzellen und auf die neuromuskuläre Erregbarkeit beispielhaft dargestellt.

### **4.1 Einsatzgebiete in der Augenheilkunde**

Die HBOT als Primärtherapie in der Augenheilkunde ist wichtig, ebenso im Kontext zum Erfolg konventioneller Behandlungsmethoden (4). Primäre und alternative Einsatzgebiete der HBOT sind in der Tab. 7 angeführt.

<b>HBO als primäre Therapie empfohlen</b>	<b>HBO Empfohlen als Zusatztherapie</b>
Okklusive Vaskulopathie, retinaler Zentralarterienverschluss, Seitenarterienverschluss	Proliferative Vitreoretinopathie wegen Sickle-Zell Erkrankung
Zystisches Makulaödem vaskulärer Genese, retinaler Zentralvenenverschluss, retinaler Seitenastvenenverschluss, Retinitis Pigmentosa	Primäres Offenwinkelglaukom
Sklerale Nekrose nicht-vaskulärer Genese, sklerale Ausdünnung nach Pterygium Operation	Gesichtsfelddefekt nach totaler Makulaoperation
Augeninfektionen durch Pilze und Anaerobier, rhino-orbito-zerebrale Mucomycosis	Makulaablösung
Nicht heilendes Kornealödem	Optische Neuropathie vaskulärer Genese
Anteriore Segmentischämie	

**Tab. 7: Indikationen für die HBOT in der Augenheilkunde (4)**

Weitere Indikationen sind u. a. die arterielle Gasembolie, chirurgische Eingriffe, durch Strahlung und durch Mitomycin bedingte sklerale Nekrosen.

Schließlich gibt es Berichte mit Benefit zu Anwendungen der HBO z. B. bei diabetischer Retinopathie, okulärer Manifestation von Multipler Sklerose, Retinitis Pigmentosa, Netzhautablösung, Uveitis, Glaukom und alkalischer Schädigung der Kornea. (31).

#### **4.1.1 Vaskuläre Erkrankungen der Retina**

Es gibt Berichte zum Nutzen der HBO in der Behandlung retinaler Gefäße. Nach zehn Minuten der HBOT kommt es zur signifikanten Vasokonstriktion (4, 31). Dieser Effekt ist wahrscheinlich eine direkte Wechselwirkung zwischen freien Sauerstoffradikalen und dem NO, zusammen mit der Autoregulation bei dieser Art der Behandlung. Andererseits werden das NO und die  $O_2^-$  schnell abgebaut und als Resultat kommt es zur Vasodilatation der retinalen Gefäße am Ende der Behandlung. Trotz Vasokonstriktion kommt es zum Anstieg der Sauerstoffkonzentration um bis zu 23% im Zielgebiet und die Retina wird dabei nicht beschädigt (4). Ande-

re Quellen beschreiben allerdings, dass bei der HBO der  $O_2$  zum Verschluss unreifer Gefäße und schließlich zur retrolentalen Fibroplasie führen kann (30).

Bei der Therapie des zentralen arteriellen Verschlusses durch die HBO ist ein intakter choroidealer Kreislauf notwendig. Die HBO erleichtert die Phagozytose, korrigiert die Azidose und fördert die vaskuläre Invasion und Kollagenformation. Bei einem venösen Infarkt kann  $O_2$  vom getrennten choroidealen Kreislauf in die Retina diffundieren. Die HBO senkt zudem den venösen retinalen Druck (31).

Die HBOT verbesserte das Sehvermögen bei PatientInnen mit retinaler Venenobstruktion und bei PatientInnen, die zusätzlich ein Ödem hatten, wurden das Ödem und die visuelle Aktivität verbessert. Das zystische Makulaödem, welches nicht auf herkömmliche Therapien reagierte, zeigte ebenfalls bei der HBO Behandlung eine Verbesserung der Sehschärfe. Berichte zeigten positive Effekte der HBOT bei diabetischer Retinopathie. So besserte sich die retinale Blutbarriere bei PatientInnen mit Diabetes. Studien zeigten auch eine Verminderung der Dicke der Fovea durch die Vasokonstriktion und durch erhöhtes  $O_2$ -Angebot (31). Diese Effekte resultieren aus der Hyperoxie und makulärer Oxygenation, besonders in den Bereichen mit Ödemen und insuffizienter Perfusion (4).

Studien an Tieren mit normobarem 70%-igem  $O_2$  zeigten einen reduzierten Zelluntergang im Rahmen einer Netzhautablösung und eine Hemmung der Proliferation und Hypertrophie von Müller-Zellen, die für die proliferative Vitreoretinopathie verantwortlich sind. Dazu gibt es aber keine Studien an Menschen (31).

#### **4.1.2 Sklerale Schmelzung und Nekrose**

Die  $\beta$ -Strahlung wird u. a. auch gegen das erneute Auftreten vom Pterygium verwendet (4). Ein Pterygium ist eine dreiecksförmige und gefäßreiche Bindehautverdickung im meist nasalen Lidspaltenbereich, die auf die Hornhaut überwächst (29). Das kann dazu führen, dass die Sklera dünn oder nekrotisch wird. Ebenso durch die Behandlung mit Mitomycin C, einem antimetabolischen Agens. Die Folgen können eine Endophthalmitis, eine Perforation und vollständiger Sehverlust sein. Die HBOT erlaubt eine Besserung des skleralen Blutflusses und der skleralen Dicke. Die Wirkmechanismen die dazu führen scheinen die Induktion der Angiogenese und die Fibroblastenproliferation zu sein. Somit wäre das Nutzen-Risiko-Verhältnis bei einer HBO-Behandlung hoch (4).

### **4.1.3 Infektionen des Auges**

Mucoracea, eine Pilzspezies, verursacht eine rhino-cerebelläre Mucormycosis bei immunsupprimierten PatientInnen. Der Wirkmechanismus bei der HBOT dieser Erkrankung ergibt sich in erster Linie aus der leukozyten-vermittelten oxidativen Zerstörung gewisser Anaerobier (4, 31). Die konservative Therapie ist die Gabe von Amphotericin B und das Ausschneiden des nekrotischen Gewebes. Trotzdem kommt es zu hohen Sterblichkeitsraten. Die HBOT verhindert pathophysiologisch zweierlei, einerseits die durch den Pilz verursachte Hypoxie und andererseits das Besiedeln der Pilzhyphen in den Blutgefäßen. Diese Wirkung wird durch die erhöhte Sauerstoffsättigung erzeugt. Ähnliche Studienmodelle widerlegten diese Theorie und Vergleiche der genannten Therapieformen durch Yohai et al., zeigten wiederum einen Vorteil der HBOT. Die HBO kann als Therapie der Wahl bei periorbitären Infektionen und Infektionen durch Anaerobier angesehen werden (4).

## **4.2 Einige Wirkungen auf das Zentralnervensystem**

Die folgenden Kapitel zeigen einige beispielhafte Effekte der HBO auf das Zentralnervensystem.

### **4.2.1 Einfluss auf den zerebralen Metabolismus**

Der oxidative Metabolismus des Gehirns wird bei Drücken bis zu sechs atm nicht beeinflusst. Bei Versuchen an Gehirnzellen von Ratten konnte bei derart hohen Drücken eine zeitabhängige Erhöhung der Laktatdehydrogenase gefunden werden. Die Zellen hatten eine reduzierte Überlebensrate. Das Resultat wurde auf eine Aktivierung von NMDA-Rezeptoren (ionotroper Glutamatrezeptor) und die Produktion von NO-Molekülen zurückgeführt. HBO senkte schließlich auch die Aktivität der Neurotransmitter herab.

Bei Studien an Ratten mit einer HBO wurden vereinzelt ausgelöste Krämpfe auf die Akkumulation von Ammoniak und die Veränderungen bei den Aminosäuren im Striatum zurückgeführt. Diese Effekte wurden als eine oxidative Desaminierung o-

der als Defekte der Glia die Aminosäuren einzufangen betrachtet. Ein Zusammenhang zwischen elektrischer Aktivität und Krämpfen konnte beobachtet werden. Antikonvulsive Medikamente wie Carbamazepin und Vigabatrin können therapeutisch verwendet werden, deren Einsatz ist aber nicht üblich. Auch die Akupunktur scheint durch eine Erhöhung der Gamma-Aminobuttersäure (GABA) schützend gegen Krämpfe zu sein. Die Krämpfe treten üblicherweise am Ende der HBOT während der Dekompression auf. In dieser Phase sollte die Dekompression angehalten werden um eine Ruptur der Lungenalveolen zu verhindern (30).

#### **4.2.2 Auswirkungen auf die Substanz P beim Cluster-Kopfschmerz**

Die Stimulation primär nozizeptiver Rezeptoren durch Faktoren wie die Substanz P könnte beim Cluster-Kopfschmerz (CK) ursächlich beteiligt sein (14). Die Substanz P ist ein zu den Neurotransmittern gehörendes Peptid, das eine Blutdrucksenkung durch eine Vasodilatation und erhöhte Kapillarpermeabilität bewirkt. Des Weiteren ist diese Substanz ein Botenstoff für die Schmerzleitung (29).

In einer Studie wurden PatientInnen mit CK mit einer HBO bei 100% O<sub>2</sub> und 2,5 atm für 30 Minuten behandelt und die nasale Mukosa auf die Substanz P hin untersucht. Dabei konnte eine signifikante Reduktion der Substanz P bei mit HBO behandelten PatientInnen festgestellt werden. CK ist durch eine Serie von plötzlichen einseitigen Kopfschmerzattacken, die 30 Minuten bis zwei Stunden dauern und einseitigen Symptomen wie Lakrimation, Rinorrhoe, lokales Schwitzen, Lidödem, und partielles oder komplettes Hörner-Syndrom charakterisiert. Es konnte gezeigt werden, dass die HBO den CK unterbrechen und für die nächsten zwei bis drei Tage verhindern kann. Als Wirkmechanismen werden die Vasokonstriktion, die antiödematöse Wirkung der HBO, die herabgesetzte Immunoreaktivität der Substanz P und das vermehrte Sauerstoffangebot vermutet.

Dauert die aktive Phase des CK länger als ein Jahr und 14 Tage ohne Remission, handelt es sich um die chronische Form. Seit kurzem wird vermutet, dass die Trigeminalneurone, genauer die C-Fasern, in der Entstehung des CK beteiligt sind (14). HBO induzierte Gehirn-Läsionen zeigten elektronenmikroskopisch zwei Arten von Veränderungen an Nervenzellen. Bei einer davon zeigten sich eine Verdichtung und Hyperchromatose der Nervenzellen, Vakuolisierung des Zytoplasmas

und eine simultane Schwellung der perineuralen Glia. Die andere Art von Läsionen war charakterisiert durch eine Lyse im Zytoplasma und Kernzerfall (30). Beim CK kommt es zu einer neurogenen Entzündung mit Freisetzung von Substanz P, Calcitonin, Neurokinin A und dem gen-related Peptid. Diese Neuropeptide wirken u. a. viszeromotorisch und vasodilatatorisch. Damit lassen sich zentrale und periphere Symptome des CK erklären. Die genauen Wirkmechanismen der HBOT sind in diesem Fall nicht vollständig geklärt (14).

#### **4.2.3 Einfluss auf $\text{CO}_2/\text{H}^+$ -sensitive Neurone in Stammzellen und auf die neuromuskuläre Erregbarkeit**

Hyperoxie und oxidativer Stress stören die Stammfunktionen des Gehirns durch eine Erhöhung von ROS. Dabei kommt es vermutlich zur Oxidation von Zystein und Methionin in zellulären Proteinen und Veränderungen in der  $\text{K}^+$  und  $\text{Cl}^-$  Leitfähigkeit.  $\text{CO}_2/\text{H}^+$ -chemosensitive Zellen wurden bei Hyperkapnie und Azidose vermehrt stimuliert, vermutlich aufgrund geringerer  $\text{K}^+$ -Leitfähigkeit bei vermindertem pH. ROS haben eine kurze Lebensspanne und eine kurze Diffusionsstrecke. Die HBO initiiert anfänglich eine Hyperventilation, wobei eine kardiorespiratorische Störung auftreten kann (22). Beim Ischiadicusnerv konnte durch die HBO eine erhöhte Überleitungsgeschwindigkeit festgestellt werden. Auch dieser Mechanismus scheint über ROS und Lipidperoxidation zu laufen (35).

In einer Studie wurden intrazelluläre Analysen an Rückenmarkszellen von Ratten bei einer HBO mit 2-3 atm durchgeführt. Die HBO führte zu einer erhöhten Impulsrate in 38% der Neuronen und erhöhte deren Eingangssignalresistenz. Beide Effekte konnten durch Oxidantien (N-Chlorosuccinimid, Chloramin-T) hervorgerufen und durch Antioxidantien (Trolox) blockiert werden.

Die Hyperkapnie stimulierte 32 von 60 Neuronen. 90% der HBO-sensitiven Neurone waren auch  $\text{CO}_2/\text{H}^+$ -chemosensitiv. Daher entstand die Annahme, dass die HBO die Membranleitfähigkeit senkt und die  $\text{CO}_2/\text{H}^+$ -rezeptorpositiven Neurone durch die Entstehung von ROS stimuliert werden. Der Effekt ist abhängig von der Dauer der HBO und der Sauerstoffspannung. Die Nebenwirkungen können entsprechend reversibel sein bis hin zu irreversiblen motorischen Schäden und Tod führen. Paradoxe Weise führt die HBO trotz Dämpfung der peripheren Chemore-

zeptoraktivität, welche bei Hypoxie aktiviert wird und die Ventilation vorantreibt, zu einer erhöhten Ventilation. Dieser Effekt konnte durch eine Deafferentation der Karotiden beibehalten und durch die Anästhesie blockiert werden. Daraus lässt sich schließen, dass die Hyperoxie einen Effekt in einem vorgeschalteten Zentrum auslöst. Genannte Mechanismen konnten bereits bei einer Sauerstoffkonzentration von 30% und normobarer Atmung beobachtet werden. Bleibt die CO<sub>2</sub>-Konzentration gleich, so korreliert die Hyperventilation mit der Dauer HBO, der Höhe der Drücke und der Sauerstoffkonzentration positiv, bis diese zur Dyspnoe führt. In einer weiteren Studie wurden Zellen der dorsalen Medulla oblongata, v. a. die des Nucleus tractus solitarius, die die kardiorespiratorische Vorgänge steuern und CO<sub>2</sub>/H<sup>+</sup>-chemosensitiv sind, untersucht. Die Zellen wurden normobarer Hyperkapnie, einer HBO und einer HBO mit Hyperkapnie ausgesetzt.

Es wurde beobachtet, dass die Neurone bei Drücken  $\leq 4$  atm, die mit Helium erreicht wurden, eine erhöhte Stimulationsrate und einen erniedrigten Eingangswiderstand hatten. Die HBO erreichte eine erniedrigte Membranleitfähigkeit und eine Membrandepolarisation. Diese Effekte konnten durch Trolox gesenkt und im Gegenzug durch N-Chlorosuccinimid und Chloramin-T signifikant verstärkt werden. (22).

In einem Reviewartikel wurden mehrere Studien zum Thema ‚neuromuskuläre Erregbarkeit‘ zusammengefasst. Dabei wurde eine erhöhte Überleitungsgeschwindigkeit des Ischiadicus-Nervs bei fünfständiger HBO mit 0,9 atm beschrieben.

Andere Studien des Reviews konnten bei 0,4 atm eine erhöhte Aktivität der Gruppe-IV-Muskel-Afferenzen darstellen. Der vermutete Wirkmechanismus beruht auf der Bildung von ROS mit konsekutiver Lipidperoxidation und Freisetzung von Entzündungsmediatoren. Bei einer Studie wurden diesbezüglich 17 Soldaten mit einer HBO bei 1,15-2,7 atm für sechs Stunden behandelt und die M-Welle, die die evozierte Muskelpotentiale darstellt, gemessen. Die Amplitude der M-Welle war bei der HBO höher als bei der hyperbaren Normoxie. Eine gesteigerte neuromuskuläre Erregbarkeit war nach der 90. Minute zu beobachten. Die Dauer der M-Welle und deren Überleitungsgeschwindigkeit waren unter der HBO verkürzt mit der Folge erleichterter Erregung und Kraftentwicklung als Antwort auf ein zentrales motorisches Kommando. Nach 30 Minuten sanken die Werte wieder in den Normbereich. Die HBO-induzierten Veränderungen der M-Welle bezüglich der Dauer und Überleitungszeit korrelierten ab einem Druck von 1,5 atm negativ mit dem inspira-

torischen Sauerstoffpartialdruck. Damit wurde gezeigt, dass die HBO durch Veränderungen der Überleitungszeit zu einer erhöhten neuromuskulären Erregbarkeit führt.

Es konnte zeigen, dass die Leistung der Probanden bei konstantem Umgebungsdruck aber steigendem O<sub>2</sub>-Partialdruck (von 0,39-1,0 atm) höher wurde, während eine andere Studie bei gleich bleibendem O<sub>2</sub>-Partialdruck und stetig steigendem Umgebungsdruck eine Verminderung der Leistung verzeichnete. Weitere Studien deuteten darauf hin, dass die Überleitungsgeschwindigkeit peripherer Nerven mit erhöhten Umgebungsdrücken sinkt. Eine Studie ergab eine erniedrigte neuronale Toxizität bei einer HBO mit 2,8 atm mit einer erhöhten Schwelle für Epileptische Anfälle, während andere Autoren bei Drücken über 4 atm eine Sensibilisierung für Krämpfe beobachteten (35).

Studien an Astrozyten, Gliomzellen und kardialen Myoblasten zeigten die Entstehung intrazellulärer Azidose aufgrund reduzierter Glykolyse und erhöhter ATP-Hydrolyse. Die Azidose kann weiters Eisen vom Transferrin freisetzen und damit die Katalyse von Superoxid und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> zu Hydroxyradikalen fördern und einen Einfluss auf Reduktions-Oxidationsvorgänge nehmen. Eine Hemmung der NO-Synthase erhöht die Überlebensrate von Gehirnzellen von Ratten. NO ist verantwortlich für den erhöhten zerebralen Blutfluss und damit für das exzessive O<sub>2</sub>-Angebot. Diejenigen Zellen, welche nicht auf die HBO ansprachen, reagierten zumeist auch nicht auf die Hyperkapnie. Damit scheinen CO<sub>2</sub> und HBO ähnliche Mechanismen zu beeinflussen und bei der Entstehung von ROS beteiligt zu sein. Allerdings senkte Trolox die Stimulationsrate bei der HBO aber nicht bei Hyperkapnie.

Schließlich können durch die Hyperkapnie und Azidose ROS gebildet werden. Eine hyperkapnische HBO erzielte deutlichere Ergebnisse als die Summe aus HBO und Hyperkapnie allein. Letztere verschlechtert die ZNS-O<sub>2</sub>-Toxizität mit Auftreten von Anfällen und verminderter Überlebenszeit. CO<sub>2</sub> führt zu einer Vasodilatation und führt vermehrt hyperoxisches Blut ins Gehirn (22).

## 5 Diskussion

Im Allgemeinen gilt die HBO als eine sichere Behandlungsmethode, da sie bei adäquater Anwendung ein niedriges Nebenwirkungsprofil zeigt. Dabei gilt grundsätzlich, dass die Therapie besser wirkt, wenn sie frühzeitig angewendet wird. Die einzige absolute Kontraindikation ist der unbehandelte Pneumothorax.

Die primären Effekte der HBO gelten aufgrund physikalisch-chemischer Gesetze als gesichert und geklärt (30, 37), während die sekundären Wirkmechanismen nicht vollständig verstanden sind und die Studien liefern dazu unterschiedliche Ergebnisse. Die Ergebnisse sind u. a. vom Therapieschema, dem zu untersuchendem Gewebe oder Zellen und zugefügten Substanzen abhängig.

Studien ergaben zum Teil geschlechtsspezifische Unterschiede unter der HBOT, wobei sowohl die Basiswerte als auch das Ausmaß der Veränderung gewisser Faktoren, wie NO oder Leptin unterschiedlich waren (15). Es gibt auch unterschiedliche Effekte der HBO auf verschiedene Organe. Ein Beispiel dafür ist der Einfluss der HBO auf das VEGF im Gehirn im Vergleich mit anderen Organen. Die HBO senkt die Adhäsion neutrophiler Granulozyten bei ischämischen Reperfusionsschäden in der Peripherie, während sie an zerebralen Gefäßen erhöht wird (30).

Bedeutsam ist auch der Unterschied zwischen systemischer und nichtsystemischer Anwendung der HBO. So konnte bei systemischer Behandlung die CD18 Polarisation von neutrophilen Granulozyten vermindert werden, während dieser Effekt bei der Anwendung an isolierten Granulozyten ausblieb (7).

Interessanterweise hat auch die Zellinkubationszeit Einfluss auf die Ergebnisse. Zellen die kürzer inkubiert wurden, zeigten deutlichere DNA-Schäden nach einer H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Behandlung im Comet-Test. Wahrscheinlich resultiert dieser Effekt aus einer Anpassung der Zellen an die 21%-ige O<sub>2</sub>-Umgebung.

Viele Effekte ergeben sich nur in der Kombination von Hyperoxie und erhöhtem Umgebungsdruck. Ein Beispiel dafür ist die Apoptose in Jurkat-T-Zellen, die die HBO mittels eines mitochondrialen Wirkungswegs einleitet (1).

Durch Zugabe von verschiedenen Substanzen, z. B. LA, kann das Ergebnis der HBO im Bezug auf gewisse Moleküle, z. B. MMP2, beträchtlich verändert werden. Ähnliches gilt auch für VEGF und FBGF (13).

Der TNF- $\alpha$  wurde unter einer HBO entweder erhöht (6, 39), blieb unverändert (12, 13) oder wurde gesenkt (1, 38). Ebenfalls waren die Ergebnisse bezüglich des VEGF uneinheitlich mit einer Erhöhung (5, 13, 15, 17, 23), keiner Veränderung (24) oder einer Senkung des VEGF (9, 31). Die Einleitung der Apoptose mit reduzierter SOD, Katalase, BCL-2-, Caspase-3- und Caspase-9-Aktivität wurde beschrieben (1), ebenso wie der gegenteilige Mechanismus genannter Effekte (33). In anderen Bereichen stimmen die Ergebnisse aber überein und deuten auf anerkannte Wirkmechanismen hin.

Primäre Effekte der HBO sind u. a. die Verkleinerung der Gasblasen, die vermehrte Lösung von O<sub>2</sub> im Blut, die Erhöhung des Diffusionsgradienten und die Verdrängung des CO vom Hämoglobin (4, 30). Sekundäre Effekte beinhalten z. B. die Synergismen mit bestimmten Antibiotika, die Vasokonstriktion, die Fibroblastenproliferation, eine Aktivierung der SOD, Katalase, der GPx, der Leukozyten, der Osteogenese, der NOS, NO, die Erhöhung der Zellpermeabilität und eine Hemmung von Clostridien-Toxinen, Ödemen und Entzündungen (30). Des Weiteren kommt es zu einer Verminderung der CD-18-Polarisation (7), verminderter Adhäsion neutrophiler Granulozyten (7, 21), erniedrigtem NF- $\kappa$ B (4,16), Senkung der ICAM-Expression (7, 40) und Fas-Expression, erniedrigtem Interferon- $\gamma$  und IL-1, erhöhter Apoptose durch eine BCL-2 Inaktivierung (1), erhöhtem IL-2, erhöhter HO-1 durch Aktivierung des p38-Map-Kinase-Signalwegs, einer Aktivierung der Katalase (10,20) und erhöhtem APO2 (24). Die Beeinflussung der HBO reicht bis zur veränderten Gentranskription mit dem Einfluss auf Signalwege wie z. B. Myc/ Max, p38-Map (6), Ras-Raf-Mek1-Erk1/2 (28), p53 (18), Bax (33) TRAIL 12 (1) und BCL-2 (1, 33).

Bei Drücken über 2,5 atm kommt es zu immunsuppressiven und unter 2,5 atm zu immunstimulierenden Einflüssen der HBO. Einerseits wirkt die HBO bei drücken von mehr als 1,3 atm bakteriostatisch und andererseits wird bei einem Druck zwischen 0,6-1,3 atm das Bakterienwachstum gefördert (30). Es kommt zu einer Proliferation von Fibroblasten (5,17), Stammzellen (28, 30, 32), zu einer Angiogenese (5, 15, 17, 21, 24, 28), verminderten Plättchenaggregation (40) und verringerten Atherosklerose (11).

Es gibt eine Vielzahl von Einflüssen der HBO auf die Enzyme (Tab. 5).

Interessanterweise konnte die HBO positive Effekte bei der Sepsisbehandlung haben, einem Syndrom mit 40-60% Letalität. Die HBO führt dabei selbst zur Apoptose als einen Kernpunkt der Immunsuppression während der Sepsis (12).

Gewisse Effekte, wie die Einleitung des DDR 2 fanden erst ab einem Druck von 2,0 atm und einer Behandlungsdauer von einer Stunde statt, wobei dieser Effekt nach vier bis sechs Stunden verschwand. Der Zeitpunkt kann demnach auch bei der HBO entscheidend für den Therapieerfolg sein (6). Ein ähnliches Beispiel zeigt auch die HBO bei der Hepatektomie, wobei hier jene Gruppe, die drei Tage mit der HBO behandelt wurde höhere Unterschiede beim HSP70 und HO-1 zum Normkollektiv zeigte, als jene Gruppe, die fünf Tage behandelt wurde. Letztere Gruppe hatte sogar eine niedrigere HSP70 Konzentration als das Normkollektiv zu verzeichnen (8). Weiters nutzt die HBO nach einer ischämischen Reperfusion mehr als während der Ischämie (9).

Studien mit der HBO sind oft aufgrund der Vielzahl beeinflussender Faktoren schwierig zu beurteilen. Die Ergebnisse ähnlicher Studienmodelle können unterschiedlich ausfallen, allein durch die Wahl von verschiedenen Geweben einer Spezies oder die Durchführung von in vivo oder in vitro Studienmodellen. Es gibt zu vielen Wirkmechanismen der HBO keine Studien an Menschen. Die Übertragbarkeit und die Deutung der Ergebnisse von Tierversuchen auf Menschen sind aufgrund genannter Faktoren zusätzlich erschwert.

## Literaturverzeichnis

- 1 Weber SU, Koch A, Kankeleit J, Schewe JC, Siekmann U, Stüber F, Hoefft A, Schroeder S. Hyperbaric oxygen induces apoptosis via a mitochondrial mechanism. *Apoptosis*. Springer Verlag. 2008: 14(1): 97-107.
- 2 McDonagh MS, Morgan Der, Garson S, Russman BS. *Development Medicine and Child Neurologie*. 2007: 49:942-947.
- 3 Daniels S. *Undersea and Hyperbaric Medical Society*. 2008: 35(1): 11-17.
- 4 Oguz H, Sobaci G. *Survey of Ophthalmology*. The use of Hyperbaric Oxygen Therapy in Ophthalmology. 2008: 53 (2): 112-118.
- 5 Jennifer A., Thackham, D. L. Sean McElwain, Robert J. Long. The use of hyperbaric oxygen therapy to treat chronic wounds. *Wound Repair and Regeneration*. 2008: 16: 321-330.
- 6 Kou-Gi Shyu, Bao- Wei Wang, Hang Chang. Hyperbaric oxygen activates discoidin domain receptor 2 via tumor necrosis factor- $\alpha$  and p38 pathway to increase vascular smooth muscle cells migration through matrix metalloproteinase 2. *Clinical Science*. 26. Sept. 2008: Accepted Manuscript.
- 7 Kayvan T. Khiabani, Seth A. Bellister, Sarah S. Skaggs, Linda L. Stephanson, M. T., Chandra Nataraj, Weiz Z. Wang, William A. Zamboni. Reperfusion-Induced Neutrophil CD18 Polarisation: Effect of Hyperbaric Oxygen. *Journal of Surgical Research*. 2008:150: 11-16
- 8 Hiroki Mori, Hisamitsu Shinohara, Yusuke Arakawa, Hirofumi Kanemura, Tet-suya Ikemoto, Satoru Imura, Yuji Morine, Toru Ikegami, Tomoharu Yoshizumi, Mitsuo Shimada. Transplantation. Beneficial Effects of Hyperbaric Oxygen Pretreatment on Massive Hepatectomy Model in Rats. 2007: 84 (12): 1656-1661.
- 9 Li Sun, MD; Hugo H. Marti, MD; Roland Veltkamp, MD. *Stroke*. Hyperbaric Oxygen Reduces Tissue Hypoxia and Hypoxia-Inducible Factor-1 Expression in Focal Cerebral Ischemia. 2008: 39: 1000-1006
- 10 Qingbo Li, Jinsheng Li , Lifan Zhang , Bairen Wang , Lize Xiong. Preconditioning with hyperbaric oxygen induces tolerance against oxidative

injury via increased expression of heme oxygenase-1 in primary cultured spinal cord neurons. *Life Sciences*. 2007: 1087–1093

- 11 Bhalchandra J. Kudchodkar, Anson Pierce, Ladislav Dory. Chronic hyperbaric oxygen treatment elicits an anti-oxidant response and attenuates atherosclerosis in apoE knockout mice. *Atherosclerosis*. 2007: 193: 28–35
- 12 Masahiko Sakoda, Shinichi Ueno; Kenji Kihara; Kazuhiro Arikawa, Hiroshi Dogomori, Kensuke Nuruki, Sonshin Takao, Takashi Aikou. A potential role of hyperbaric oxygen exposure through intestinal nuclear factor- $\kappa$ B. *Critical Care Medicine* 2004: 32:8.
- 13 Renata Alleva, Marco Tomasetti, Davide Sartini, Monica Emanuelli, Emanuele Nasole, Ferruccio Di Donato, Battista Borghi, Lory Santarelli, and Jiri Neuzil. Alpha-Lipoic Acid Modulates Extracellular Matrix and Angiogenesis Gene Expression in Non-Healing Wounds Treated with Hyperbaric Oxygen Therapy. *Molecular Medicine*. 2008: 14 (3 - 4): 175-183.
- 14 Francesco Di Sabato, Mario Giacobozzo, Giovanni Cristalli, Monica Rocco; Bruno M. Fusco. Effect of Hyperbaric Oxygen on the Immunoreactivity to Substance P in the Nasal Mucosa of Cluster Headache Patients. *Headache*. 1996: 36: 221-223
- 15 Shih-Jen Chen, Chen-Tung Yu, Ya-Ling Cheng, Shi-Yau Yu, Hui-Chen Lo. Effects of hyperbaric oxygen therapy on circulating interleukin-8, nitric oxide, and insulin-like growth factors in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clinical Biochemistry*. 2007: 40: 30-36.
- 16 X. Yu, Y. G. Li, X. W. He, X. R. Li, B. N. Din, Y. Gan, M. Xu. Hyperbaric Oxygen Reduces Inflammatory Response in Acute Pancreatitis by Inhibiting NF- $\kappa$ B Activation. *European Surgical Research*. 2009: 42:130–135.
- 17 Hen-I Lin; Shi-Jye Chu; Wann-Cherng Perng; Chin-Pyng Wu; Zuei-Yin Lin; Kun-Lun Huang. Hyperbaric oxygen attenuates cell growth in skin fibroblasts cultured in a high-glucose medium. *Wound Rep Reg*. 2008: 16: 513–519.
- 18 Andreas Rothfuss, Oliver Merk, Peter Radermacher, Günter Speit. Evaluation of mutagenic effects of hyperbaric oxygen (HBO) in vitro II. Induction of oxidative DNA damage and mutations in the mouse lymphoma assay. *Mutation Research*. 2000: 471: 87–94.

- 19 Günter Speit, Claudia Dennog, Peter Radermacher, Andreas Rothfuss. Genotoxicity of hyperbaric oxygen. *Mutation Research*. 2002; 512: 111–119.
- 20 Andreas Rothfus, Peter Radermacher und Günter Speit. Involvement of heme oxygenase-1 in the adaptive protection of human lymphocytes after hyperbaric oxygen treatment. *Carcinogenesis*. 2001. 22 (12): 1979-1985.
- 21 C. Haltern, U. P. F. Siekmann, A. F. E. Rump, R. Rossaint. Hyperbare Oxygenationstherapie (HBO): Eine Standortbestimmung. *Anästhesiologie Intensivmedizin Notfallmedizin Schmerztherapie*. 2000;35: 487-502.
- 22 Daniel K. Mulkey, Richard A. Henderson, Robert W. Putnam und Jay B. Dean. Hyperbaric oxygen and chemical oxidants stimulate CO<sub>2</sub>/H-sensitive neurons in rat brain stem slices. *Journal of Applied Physiology*. 2003: 95: 910-921.
- 23 Tommy C. O. Fok, Ahmed Jan, Sean A. F. Peel, A. Wayne Evans, Cameron M. L. Clokie, George K. B. Sándor. Hyperbaric oxygen results in increased vascular endothelial growth factor (VEGF) protein expression in rabbit calvarial critical-sized defects. *Oral and Maxillofacial Surgery*. 2008: 105 (4): 417- 422
- 24 Shankung Lin, Kou-Gi Shyu, Chun-Chung Lee, Bao-Wei Wang, Chih-Chuan Chang, Ya-Chen Liu, Fan-Yen Huang, and Hang Chang. Hyperbaric oxygen selectively induces angiopoietin-2 in human umbilical vein endothelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2002: 296: 710-715.
- 25 Alper Sonmez, Mahmut Ilker Yilmaz, Ahmet Korkmaz, Turgut Topal, Kayser Caglar, Ayper Kaya, Tayfun Eyileten, Mujdat Yenicesu, Yusuf Oguz, Seref Basal, Osman Metin Ipcioglu, Abdulgaffar Vural. Hyperbaric oxygen treatment augments the efficacy of cilazapril and simvastatin regimens in an experimental nephrotic syndrome model. *Clinical experimental nephrology*. 2008: 12: 110-118.
- 26 Cecilia Giulivi, Carla C. Lavagno, Florencia Lucesoli, Maria Jose Novoa, Bermudez, Alberto Boveris. Lung damage in paraquat poisoning and hyperbaric oxygen exposure superoxide-mediated inhibition of phospholipase A<sub>2</sub>. *Free radical biology and medicine*. 1995: 18 (2): 203-213.

- 27 Tatyana N. Milovanova, Veena M. Bhopale, Elena M. Sorokina, Jonni S. Moore, Thomas K. Hunt, Martin Hauer-Jensen, Omaid C. Velazquez, Stephen R. Thom. Hyperbaric oxygen stimulates vasculogenic stem cell growth and differentiation in vivo. *Journal of Applied Physiology*. 20. 11. 2008.
- 28 Zhao-Jun Liu, Omaid C. Velazquez. Hyperoxia, Endothelial Progenitor Cell Mobilization, and Diabetic Wound Healing. *Antioxid Redox Signal*. 2008: 10 (11): 1869-1882.
- 29 *Klinisches Wörterbuch. Pschyrembl. Walter de Gruyter: 260 Auflage.*
- 30 Jain, K.K.; *Textbook of Hyperbaric Medicine. Hofgreffe & Huber Publishers. 2004.*
- 31 F. K. Butler, Jr., C. Hagan, H. Murphy-Lavoie. *Hyperbaric Oxygen Therapy and the Eye. Undersea and Hyperbaric Medical Society. 2008: 35: 5.*
- 32 Khan M, et al. Hyperbaric oxygenation enhances transplanted cell graft and functional recovery in the infarct heart. *J. Mol. Cell. Cardiol*. 2009. doi:10.1016/j.yjmcc.2009.04.005.
- 33 Liping Wang, Wenxian Li, Zhimin Kang, Yun Liu, Xiaoming Deng, Hengyi Tao, Weigang Xu, Runping Li, Xuejun Sun, John H. Zhang. Hyperbaric Oxygen Preconditioning Attenuates Early Apoptosis after Spinal Cord Ischemia in Rats. *Journal of Neurotrauma*. 2009: 26:55-66.
- 34 LA Brennan, W Lee, T Cowell, F Giblin, M Kantorow. Deletion of mouse MsrA results in HBO-induced cataract: MsrA repairs mitochondrial cytochrome c. *Molecular Vision*. 2009: 15: 985-999.
- 35 Yves Jammes<sup>1</sup>, Sandrine Arbogast<sup>1</sup>, Marion Faucher<sup>1</sup>, Alain Montmayeur<sup>2</sup>, Ferdinand Tagliarini<sup>1</sup>, Jean Louis Meliet<sup>2</sup> and Claude Robinet. Hyperbaric hyperoxia induces a neuromuscular hyperexcitability: assessment of a reduced response in elite oxygen divers. *Clin. Physiol. & Func. Im*. 2003: 23: 149–154.
- 36 G. G. Rogatsky, E. G. Shifrin, A. Mayevsky. Physiologic and biochemical monitoring during hyperbaric oxygenation: a review. *Undersea Hyperbaric Medicine* 1999. 26 (2): 111-122.

- 37 A. L. Gill, C. N. A. Bell. Hyperbaric oxygen: its uses, mechanisms of action and outcomes. *Q J Med.* 2004; 97: 385-395.
- 38 Ahmet Guven, Gokhan Gundogdu, Bulent Uysal, Hakan Cermik, Mustafa Kul, Suzi Demirbag, Haluk Ozturk, Sukru Oter. Hyperbaric oxygen therapy reduces the severity of necrotizing enterocolitis in a neonatal rat model. *Journal of perdiatric surgery.* 2009; 44: 534-540.
- 39 Anna L. Sander, Dirk Henrich, Claus M. Muth, Ingo Marzi; John H. Barker, Johannes M. Frank. In vivo effect of hyperbaric oxygen on wound angiogenesis and epithelialization. 2009; 17: 179-184.
- 40 Frances L. Shaw, Paul G. Winyard , Gary R. Smerdon , Philip J. Bryson, A. John Moody, Paul Eggleton. Hyperbaric oxygen treatment induces platelet aggregation and protein release, without altering expression of activation molecules. *Clinical Biochemistry.* 2009; 42: 467-476.
- 41 Georg Löffler, Petro E. Petrides, Peter C. Heinrich, *Biochemie und Pathobiochemie.* Springer. 8 Auflage. 2007.
- 42 Walter Siegenthaler, Huber E. Blum. *Klinische Pathophysiologie.* Thieme. 9 Auflage. 2006.
- 43 Baxter SS, Carlson LA, Mayer AM, Hall ML, Fay MJ. Granulozytic differentiation of HL-60 promyelotic leukaemia cells is associated with increased expression of Cul5. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2009 Mai-Jun; 45 (5-6) 264-274. Epub 2009.
- 44 Suil Kim, Aaron J. Scein, and Jay A. Nadel. E-cadherin promotes EGFR-mediated cell differentiation and MUC5AC mucin expression in cultured human airway epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 29. 07. 2005.

# Lebenslauf

## Persönliche Angaben

Name: Ivan Lucic  
Geburtsdatum, -ort: 1. Juli 1984, Bugojno  
Staatsangehörigkeit: Kroatien  
Adresse: Wiener Straße 189, 8020 Graz  
E-Mail: i.lucic@gmx.at

## Schulische und akademische Ausbildung

1991: 1. Klasse Volksschule in Bugojno (Bosnien)  
1992: 2. Klasse Volksschule in Celje (Slowenien)  
1993: 1. Halbjahr der 3. Klasse Volksschule in Baska Voda (Kroatien)  
1993-1994: 2. Halbjahr 3. Klasse und 4. Klasse Volksschule in Schörfling (OÖ)  
1995-2003: 1.–8. Klasse BRG Schloss Wagrein (Vöcklabruck, OÖ)  
seit Herbst 2003: Studium der Medizin an der Medizinischen Universität (Graz)

## Famulaturen

### *Universitätsklinik Graz*

04.07.–15.07.2005: Allgemeine Innere und Gastroenterologische Abteilung  
15.08.–26.08.2005: Allgemeine Innere und Rheumatologische Abteilung  
03.07.–14.07.2006: Fachabteilung für Nuklearmedizin, Magnetresonanz  
14.08.–25.08.2006: Chirurgie  
23.07.–03.08.2007: Ultraschall, CT, Vaskuläre und Interventionelle Radiologie  
13.08.–24.08.2007: Fachabteilung für Neurologie  
22.10.–02.11.2007: HNO  
04.02.–15.02.2008: Dermatologie

## Sprachkenntnisse

Kroatisch (Muttersprache), Deutsch (fließend), Englisch (erweiterte Grundkenntnisse)

## Hobbys und Interessen

Vielfältige Sportarten, Computertechnik

## EDV-Kenntnisse

Microsoft Word, Excel, Powerpoint