

TESTİKÜLER TORSİYONDA HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİNİN ETKİNLİĞİ**HYPERBARIC OXYGEN THERAPY IN TESTICULAR TORTION**

Hakkı UZUN*, Mehmet KALKAN*, Burçin TUNÇ*, Şamil AKTAŞ**, Mehmet ÇETİNKAYA*, Bülent ALICI*

*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

**İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Oksijen Tedavisi Bilim Dalı, İSTANBUL

ABSTRACT

Introduction: Subfertility rates remain high even though testis preserving management had been applied in patients with testicular torsion. The improvement ensured by Hyperbaric Oxygen (HBO) therapy on the injured tissue caused by ischemia-reperfusion mechanism was shown in several different studies. On account of testicular torsion is an ischemia-reperfusion injury model we searched whether Hyperbaric Oxygen as an additional therapy will have a positive impact on testicular histology in experimental testicular torsion.

Materials and Methods: Sprague Dowley rats were divided into 5 groups, including 10 rats each. The right testes of rats were twisted 720 degree manually in a clockwise rotation after opening the scrotum and releasing the spermatic cord. Rats underwent a second surgical operation to provide the reperfusion; under general anesthesia the testes were detorsed manually and placed into their original place after reopening the scrotum. A 4 hour period of ischemia was applied in the ischemia group. In ischemia+reperfusion group a 24 hour period of reperfusion was applied after releasing the ischemia. In another group the rats were also underwent reperfusion after an ischemic phase, but the duration of reperfusion was decided to be prolonged to 1 week instead of a 24 hour period. In HBO group following the ischemic period, rats were anesthetized again and the testes were detorsed manually, thus reperfusion was restarted. Then, rats were taken into rooms used for research studies where pressure was carried out for duration of 1 week. The fifth group is the sham group. Both testes were analyzed histopathologically after the procedures in all groups. Histopathological examination was carried out under light microscopy according to the presumable morphological changes visible in the germinal epithelium and nucleus of germ cells.

Results: In ischemia group a vesicular nuclear shape of spermatocytes was found. In ischemia+reperfusion group germinal epithelium disorganization and giant cells formed from degenerated sperms and spermatocytes were found as additional findings. In the group where reperfusion was prolonged to one week after a 4 hour period of ischemia, no different histopathological finding was noted compared to the ischemia+reperfusion group in which reperfusion was applied only for a 24 hour duration. In the HBO group vesicular nuclear shape of spermatocytes were also found but giant cells were seen rarely. Significant findings due to reperfusion injury were rarely recorded in this group.

Conclusion: HBO treatment is an efficient additional therapy model after testicular preserving management in preventing testicular tissue damage in experimental testicular torsion. Additional studies are needed to put this alternative treatment into clinical practice.

Key words: Testes, torsion, histopathology, Hyperbaric Oxygen

ÖZET

Testis koruyucu yaklaşımlara rağmen testis torsiyonlu hastaların uzun dönem takiplerinde subfertilite oranları yüksek seyretmektedir. Hiperbarik Oksijen (HBO) tedavisinin iskemik-reperfüzyon hasarının yol açtığı doku tahribatlarında iyileştirici etkisi birçok çalışmada gösterilmiştir. Testis torsiyonu bir iskemi-reperfüzyon hasarı modeli olduğundan deneysel testiküler torsiyonunda hiperbarik oksijen tedavisinin detorsiyon sonrası olası pozitif etkinliğini araştırdık.

Çalışmada Sprague Dowley sıçanları 10'arlı 5 gruba ayrıldı. Torsiyon işlemi skrotum açılıp, spermatic kord serbestlendikten sonra sağ testis saatle aynı yönde (clockwise) 720 derece manuel yolla döndürülerek gerçekleştirildi. Reperfüzyon işlemi için sıçanlar yeniden anestezi altına alındı ve skrotal insizyonu takiben testisler manuel olarak detorsiyone edilip skrotuma yeniden yerleştirildi. İskemi grubunda sadece 4 saatlik iskemi uygulanırken, iskemi+reperfüzyon grubunda iskemiye takiben detorsiyon işlemi ile 24 saat boyunca reperfüzyon uygulandı. Diğer bir grupta aynı şekilde iskemi süresini takiben sıçanlar reperfüzyon işlemine alındı. Ancak reperfüzyon süresi 24 saat yerine 1 hafta olarak belirlendi. HBO uygulanan grupta ise iskemi periodunu takiben sıçanlar yeniden anestezi altına alınıp,

detorsiyone edilip reperfüzyon yeniden başlatıldı. Daha sonra araştırma amaçlı kullanılan basınç odasına alınıp 1 hafta süreyle HBO uygulandı. 5. grup sham grubu olup tüm gruplarda işlemlerin sonunda her iki testis histopatolojik olarak incelendi. İnceleme; ışık mikroskopu altında germinal epitelyum ve germ hücre çekirdeklerinde meydana gelebilecek morfolojik değişikliklere göre yapıldı.

İskemi grubunda spermatositlerde çekirdekte veziküler görünüm saptanırken iskemi+reperfüzyon grubunda bu bulgulara ek olarak germinal epitelyumunda disorganizasyon, ayrışma ve lümen dökülme ve dejenere spermlerde ve spermatositlerde dev hücre formasyonu gözlemlendi. Reperfüzyon süresinin 1 hafta olarak belirlendiği grupta 24 saat reperfüzyonun uygulandığı iskemi+reperfüzyon grubundan daha farklı bulgulara rastlanılmadı. HBO uygulanan grupta ise nadir dev hücre formasyonu gözlemlendi. Bu grupta reperfüzyon ile ortaya çıkan ağır histopatolojik özelliklere seyrek olarak rastlanıldı.

Deneyssel torsion modelinde HBO tedavisi testiküler doku hasarını önlemede testis koruyucu girişimler sonrası uygulanabilecek etkili ek bir tedavi yöntemidir. Klinik uygulama için ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Testis, torsiyon, histopatoloji, hiperbarik oksijen

GİRİŞ

Testiküler torsiyon 25 yaş altı erkeklerde 4000'de 1 görülen acil cerrahi girişim nedenidir¹. Eğer bu acil durum 4-6 saat içerisinde düzeltilmezse tam arteriyel oklüzyon durumunda testiküller nekroz gelişecektir^{2,3}. Bu yüzden birçok klinisyen orşiektomi yerine testisi kurtarmaya çalışmaktadır. Bununla birlikte bu hastaların uzun dönem takipleri sonucu %67'sinde testiküler atrofiyle beraber subfertilite saptanmıştır^{2,4}. Hagan ve ark tek taraflı torsiyon geçirmiş 55 hastanın takibinde, sadece 7'sinde spermiogram sonuçlarının normal olduğunu bildirmiştir⁵. Dolayısıyla testis koruyucu cerrahi yaklaşıma rağmen bu hastalarda uzun dönemde morbidite oranı hala yüksek seyretmektedir. Tüm araştırmalara rağmen ek tedavi yöntemi olarak kabul edilebilecek, klinik adaptasyonu kolay ve yararı kanıtlanabilmiş yöntemler elde edilememiştir. Testis torsiyonunda ayrıca kontralateral testiste de zedelenme oluşmakta ve buna bağlı olarak bu testisin fonksiyonlarında azalma meydana gelmektedir⁶⁻⁸. Bu hastalarda spermiyogramda henüz açıklanamayan nedenlerle en sık oligoazospermi görülmektedir.

Bu çalışmanın amacı testis torsiyonunda reperfüzyon işleminden sonra Hiperbarik Oksijen Tedavisi'nin (HBO) iskemik-reperfüzyon hasarı üzerindeki önleyici etkisini araştırmaktır. Bunun için sıçanlarda oluşturduğumuz deneyssel testis torsiyonu modellerine HBO tedavisi uygulandıktan sonra oluşan etkiyi hem ipsilateral hem de kontralateral testiste histopatolojik olarak inceledik.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma ağırlıkları 120-180 gr arasında değişen, 2 aylık, prepubertal 50 adet erkek Sprague Dowley sıçanlarda yapıldı. Torsiyon işlemi sağ

testis saatle aynı yönde (clockwise) 720 derece manuel olarak döndürülerek gerçekleştirildi. HBO tedavisinin etkinliği toplam 5 grupta histopatolojik inceleme yapılarak değerlendirildi.

Sıçanlar 10'arlı 5 gruba ayrıldı. Deney hayvanları aynı ortamda tutuldu ve standart şekilde beslendi. Buna göre gruplar:

Grup 1 (Sham grubu): Skrotal insizyonla tek taraflı sağ testis manipüle edilip skrotuma yeniden yerleştirildi ve bir adet sütürle tespit edildi. 1 saat sonra her iki testise orşiektomi uygulandı.

Grup 2 (İskemi grubu): Bu gruptaki sıçanlara skrotal insizyon yapıldıktan sonra sağ testisleri spermatik kordun longitudinal aksı boyunca saat yönünde 720 derece manuel olarak döndürülerek bir adet sütür ile tespit edildi. Daha sonra katlar kapatılarak sıçan doğal ortamına alındı. 4 saat sonra yeniden skrotal insizyon uygulanarak testis detorsiyone edilmeden orşiektomi uygulandı.

Grup 3 (İskemi+reperfüzyon grubu): Bu grupta iskemi grubundakine benzer şekilde sağ testislere 4 saat boyunca torsiyon işlemi uygulandı. Bu sürenin sonunda yeniden anestezi altında tespit sütürü kesildi ve manuel yolla detorsiyon işlemi uygulanarak testis doğal pozisyonuna getirildi. Testisin tekrar skrotal bölgeye yerleştirilmesini takiben katlar yeniden kapatıldı. Sıçanlar doğal ortamlarına alındı. 24 saat süresince reperfüzyon sonunda sıçanlar sakrifiye edilip iki taraflı orşiektomi uygulandı.

Grup 4: Bu grupta iskemi+reperfüzyon grubunda olduğu gibi testislere iskemi uygulandı. Yalnız 4. saatin sonunda reperfüzyona alınan sıçanlara 1 hafta süreyle reperfüzyon uygulandıktan sonra sakrifiye edildi.

Grup 5 (HBO Grubu): Önceki iki grupta olduğu gibi sağ testis başlangıçta torsiye edilip 4 saat boyunca iskemiye maruz bırakıldı. Bu sürecin sonunda sıçanlar yeniden anestezi altına alınıp, skrotal insizyonu takiben cerrahi sütür kesilerek manuel yolla detorsiyon işlemi uygulandı. Testis doğal pozisyonunda yeniden skrotal boşluğa yerleştirildi. Katlar anatomik plana uygun olarak kapatıldı ve sıçanlar İstanbul Tıp Fakültesi Deniz ve Sualtı Hekimliği Anabilim Dalı'nda deney hayvanları için kullanılan basınç odasına alındı. 1 hafta boyunca HBO tedavisi uygulandı. Bu sürecin sonunda sıçanlar kurban ediliş iki taraflı orşiektomileri gerçekleştirildi.

Cerrahi Yöntem: Anestezi amacıyla intramüsküler Ketalar (100mg/kg) kullanıldı. Sıçanların testisleri palpasyonla sıvazlanarak skrotum cildi altında belirgin hale getirildi. Skrotum cildindeki tüyler temizlenerek bölge önce serum fizyolojik, daha sonra polividon-iyot solusyonu ile silindi. Skrotum cildine 1 cm'lik longitudinal insizyon yapılarak sağ testis kord ve damarları zedelenmeden dışarı alındı. Serbestlenen testise spermatik kordun longitudinal aksı boyunca saat yönünde 720 derece torsiyon uygulandı ve testis skrotuma yerleştirilerek 3/0 plane katgüt ile sabitlendi. İnsizyon hattı aynı şekilde 3/0 plane katgüt ile kapatıldı. İskemi+reperfüzyon ve HBO uygulanan gruplarda skrotum önceki insizyon yerinden tekrar açılarak testis dışarı alındı, detorsiyone edildi ve yeniden yerine yerleştirildi. Orşiektomi işlemi her iki testisin kordlarından tutulup kesilerek gerçekleştirildi. Elde edilen testis dokuları fikse edildi.

HBO grubundaki sıçanlar İ.T.F. Deniz ve Sualtı Hekimliği Anabilim Dalı'nda bulunan ve araştırma amaçlı kullanılan tek bölmeli, 0.28 m³ hacminde 10 bar çalışma basıncına sahip basınç odasına alındı. Sıçanlara detorsiyon işlemi gerçekleştirildikten sonra 7 gün boyunca 2 günde 1 kez HBO tedavisi uygulandı. Kompresyondan önce basınç odası 10 dk boyunca O₂ ile ventile edilerek sıçanların %100 O₂ ile basınç altında kalmaları sağlandı. HBO tedavisi 80 dk boyunca 2.5 ATA'da 10 dakikası kompresyon, 40 dakikası dekompresyon olacak şekilde uygulandı. Seanslar, ilk 2 gün eşit aralıklarla 4 seans (1, 2. gün), ikinci 2 gün eşit aralıklarla 3 seans (3, 4.

gün), sonraki günlerde eşit aralıklarla 2 seans (5, 6, 7.gün) olarak gerçekleştirildi.

Histopatolojik inceleme için testis dokusunun fiksasyonunu takiben dokulardan rutin yöntemlerle parafin bloklar hazırlandı. Bloklardan alınan kesitler hematoksilin-eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda değerlendirildi. Histopatolojik değerlendirme germ hücreleri ve çekirdeklerinde meydana gelen morfolojik değişikliklere, germinal epitelyumda olabilecek disorganizasyonlara ve hücre nükleusu kromatininde meydana gelen değişikliklere göre yapıldı.

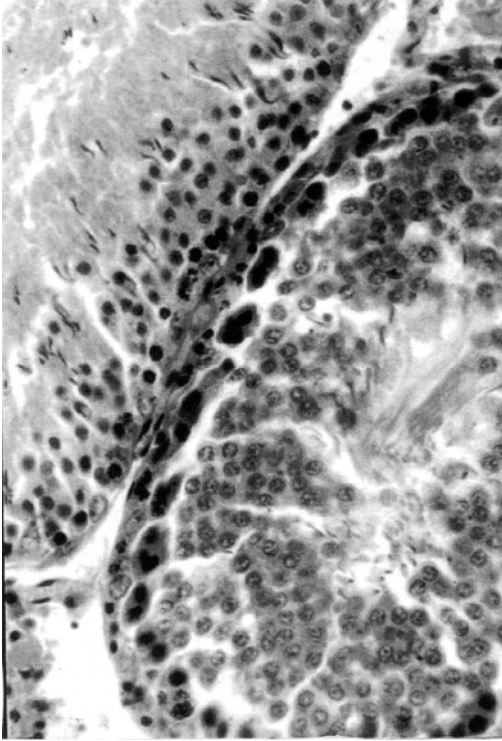
BULGULAR

Deneyel torsiyon işlemi sırasında iskemiye maruz kalan tüm testislerde iskeminin makroskopik sonuçları olarak ödem ve venöz staza bağlı renk değişiklikleri gözlemlendi. Detorsiyon uygulanan testislerde kısa sürede testislerin renginde düzelme saptandı.

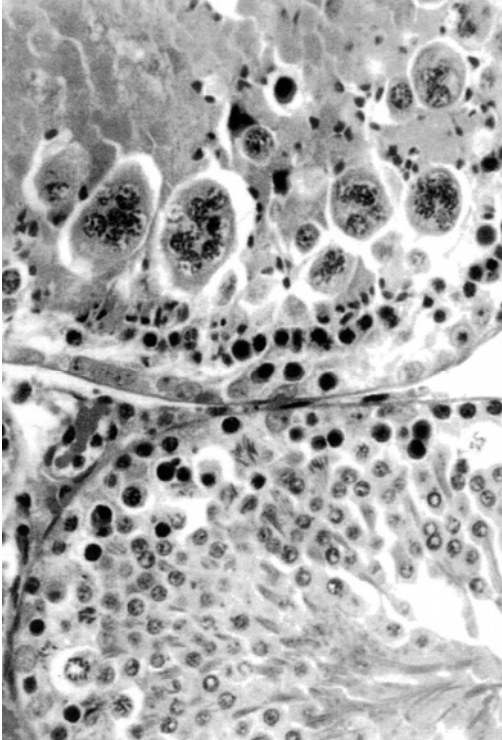
Sham grubunda seminifer tubuluslarda normal dizilimde ve görünümde germ hücreleri bulunduğu gözlemlendi.

İskemi grubunda spermatositlerde kromatinin yoğunlaşma (çekirdekte veziküler görünüm ve küçülme), sitoplazmik eozonofili, sertoli hücrelerinde hafif bazofili, küçük interstisyel kanamalar ve yuvarlak spermatositlerde çekirdek zarı altında kromatin yoğunlaşmasının dikkati çektiği görüldü (Resim 1).

İskemi+reperfüzyon grubunda ise yalnız iskemi uygulanan grupta olduğu gibi spermatositlerde çekirdek kromatininde yoğunlaşma ve küçülme, sitoplazmada eozonofili, ayrıca yuvarlak spermatositlerde kromatin yoğunlaşması gözlemlendi. Bu bulgulara ek olarak spermatositlerin germinal epitelyumunda disorganizasyon, ayrışma ve lümen dökülme ve dejenere spermlerde ve spermatositlerde dev hücre formasyonu gözlemlendi (Resim 2). Bu bulgular reperfüzyonla birlikte histopatolojik hasarda belirgin artış olduğunu göstermektedir. 1 hafta boyunca reperfüzyona maruz bırakılan sıçanların testislerinin histopatolojik incelemelerinde ise 24 saatlik reperfüzyonun uygulandığı gruptan farklı bir bulguya rastlanılmadı. Spermatositlerin germinal epitelyumundaki disorganizasyon ve dev hücre oluşumunda ışık mikroskopunda belirgin bir farklılık gözlemlenmedi.

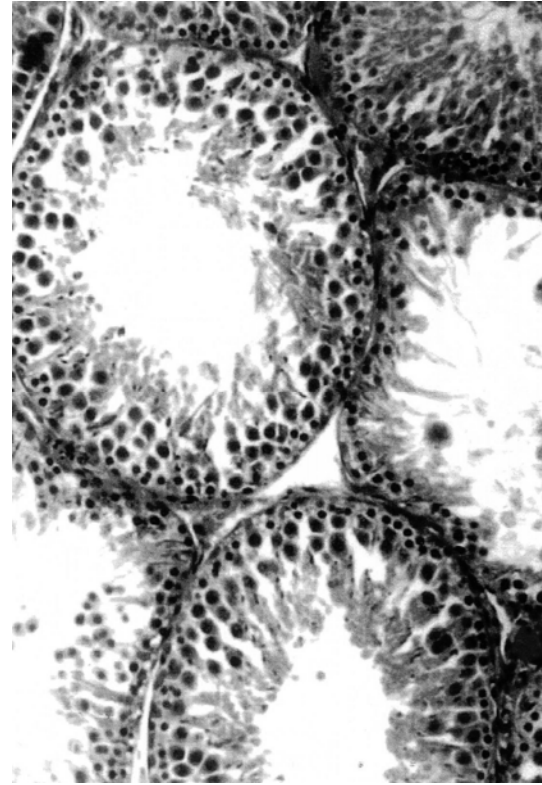


Resim 1. İskemik testis



Resim 2. İskemik+reperfüze testis

HBO tedavisinin uygulandığı grupta spermatositlerde kromatin kümeleşmesi, sitoplazmik eozonofili ve seyrek dev hücre formasyonu görüldü (Resim 3). Bu gruptaki testisler daha çok iskemi grubuna yakın histopatolojik özellikler göstermiş, iskemi+reperfüzyon grubunda görülen ağır histopatolojik bulgular görülmemiştir. HBO grubunda dev hücre formasyonlarının ve germinal epitelyumda dejenerasyonun belirgin olmaması reperfüzyondan sonra beklenen hasar artışının HBO tedavisi ile engellendiğini göstermektedir.



Resim 3. HBO uygulanan testis

Her 5 grupta iskekiye maruz bırakılmayan kontralateral sol testislerin ışık mikroskopik incelemesinde normal dizilim ve morfolojik yapı gösteren germ hücreleri saptandı. Herhangi bir anormal histopatolojik özellik görülmedi.

TARTIŞMA

Reperfüzyon (reoksijenasyon) detorsiyonla beraber O₂ ve besinlerin tekrar dokuya ulaşması demektir. Bu durumda reperfüzyon yararlı bir olaymış gibi gözükmektedir. Ancak 1980'lerin

başlarından itibaren Mc Cord ve ark çalışmaları O₂'nin tekrar dokuya verilmesinin dokuda meydana gelen hasarı arttırdığını gösterdiler⁹. Testis torsiyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda da reperfüzyonu izleyen biyopsilerde saptanan hasarın, sadece iskemiyi izleyen biyopsilere göre farklı ve daha ağır olduğu gösterilmiştir¹⁰. Çalışmamızda da benzer sonuçlar elde edildi ve en fazla hasar iskemiden sonra reperfüzyon uygulanan grupta görüldü. Bu grupta hasarın arttığını gösteren histopatolojik bulgular olarak germinal epitelyumda dejenerasyon ve spermatosit ve spermatidlerde dev hücre formasyonu saptandı. Literatürde ayrıca iske mi süresi değişmeksizin reperfüzyon süresi uzatılan gruplarda dahi belirgin histopatolojik değişiklikler saptandığı bildirilmektedir¹¹. Bu çalışmaya paralel olarak bizim çalışmamızda reperfüzyon süresinin 1 haftaya çıkarıldığı grupta histopatolojik bulgularda bir farklılık gözlenmedi.

Zamboni ve ark iske mi ve reperfüzyon hasarı modellerinde HBO uygulamasının hasarı arttıracığı tezinden yola çıktıkları ilk çalışmalarında, şaşırtıcı sonuçlarla karşılaştılar. Çalışmalarında iskemik cilt fleplerinde reperfüzyonu izleyen dönemde HBO uygulamasının flep yaşamı üzerinde olumlu etkileri olduğu ortaya çıkmıştır¹². Gerçekten de reperfüzyon hasarının süpreoksid radikalleri yoluyla oluştuğu hatırlandığında, artan doku oksijen yoğunluğunun serbest oksijen radikallerini ve dolayısıyla hasarı artıracığı olası görünmektedir. Beklenenin tersine çıkan sonuçlar nedeniyle bu konuda araştırmalara devam edilmiştir. Doppler analizi ile değerlendirildiğinde, HBO tedavisi alan deneklerde iskemik flepteki mikrosirkülasyonun arttığı dikkati çekmiştir¹³. Daha sonra değişik gruplarca HBO tedavisinin çizgili kas ve ince bağırsak gibi değişik organlarda oluşturulan iske mi-reperfüzyon modellerinde olumlu etkilerini gösteren çalışmalar yapılmıştır¹⁴. Testis torsiyonu da bir iske mi-reperfüzyon modeli olduğundan HBO tedavisini reperfüzyon başlangıcından itibaren uygulayarak hasarı azaltıp azaltamayacağını araştırdık.

HBO uygulanan grubunun histopatolojik incelemesinde ağır doku hasarının göstergesi olan germinal epitelde dejenerasyon ve dev hücre oluşumlarına çok daha seyrek rastlanıldı. Bu grupta sıçanların detorsiyon işlemi gerçekleştirildikten

sonra HBO tedavisi uygulanırken aynı anda reperfüzyona da maruz bırakılmalarına rağmen, reperfüzyonun bu ağır sonuçlarından belli bir dereceye kadar korundukları görüldü. HBO uygulanan testislerin histopatolojik incelemeleri yalnızca iskemiyi maruz bırakılan testislere yakın özellikler gösterdi. Bu durum HBO tedavisi ile reperfüzyon hasarının ortaya çıkmasının engellenmiş olabileceğini göstermektedir. Kolski ve ark HBO'nun testis torsiyonu üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında HBO'yu etkili buldular¹⁵. Çalışmalarında histopatolojik kriter olarak seminifer tubul kalınlığını aldılar. Reperfüzyonla beraber HBO tedavisi uyguladıkları grupta hücre kalınlığının sham grubuna yakın olduğu dolayısıyla bizim sonuçlarımızdan farklı olarak testis dokusundaki düzelmenin daha fazla olduğunu bildirdiler. Çalışmamızda ise histopatolojik olarak farklı kriterler alınıp HBO tedavisinin reperfüzyon hasarını sınırladığı saptandı. Bu bulgular testis torsiyonunda detorsiyonla iske minin düzeltilmesi ile beraber HBO tedavisinin klinik uygulamada yararlı olabileceğini göstermektedir.

Reperfüzyon esnasında nötrofiller postkapiller endotele yapışarak vene ve çevredeki interstisyuma zarar verirler^{16,17}. Ayrıca zarar gören postkapiller venüle komşu mikroarteriollerde vazokonstriksiyon gelişir ve iskemik dokuda fonksiyonel kan akımını azaltırlar. Bu da hücre fonksiyonlarının kaybına ve ölümüne yol açmaktadır¹⁶. HBO tedavisi nötrofillerin postkapiller venüllere yapışmasını bloke ederek bu olumsuz sonuçları engelleyici bir işlev görmektedir¹⁶. HBO tedavisi ayrıca mikrosirkülasyonu artırarak, kapiller basıncı düşürüp doku ödemi azaltarak ve lipid peroksidasyonda azalma yaparak reperfüzyon hasarını engelleyici bir işlev görmektedir¹⁷⁻¹⁹. Çalışmamızda torsiyone testiste HBO'nun reperfüzyon hasarını engellemesini bu mekanizmalar ile gerçekleştirdiği düşünülmektedir.

Deneyisel torsion modelinde detorsiyon sonrası HBO tedavisi, testiküler doku hasarını önlemede uygulanabilecek etkili bir yöntemidir. Klinik uygulamada detorsiyon sonrası HBO tedavisinin uygulanabilmesi için klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- 1- Barada JH, Weingarten JL, Cromie WJ, et al: Testicular salvage and age-related delay in the

- presentation of testicular torsion. *J Urol.*, 142 (3): 746-8, 1989.
- 2- **Miller DC, Peron SE, Keck RW, et al:** Effects of hypothermia on testicular ischemia. *J Urol.*, 143 (5): 1046-8, 1990.
- 3- **Smith G:** Cellular changes from graded testicular ischemia. *J Urol* 73: 355, 1955.
- 4- **Krärup T:** The testes after torsion. *Br J Urol* 50 (1): 43, 1978.
- 5- **Hagan P:** Testicular dysplasia causing disturbance of spermiogenesis in patients with unilateral torsion of the testis. *Urol Int.* 49: 154, 1992.
- 6- **Ozkan KU, Kucukaydn M, Miktaroglu S, et al:** Evaluation of contralateral testicular damage after unilateral testicular torsion by serum inhibin B levels. *J Pediatr Surg* 36 (7): 1050-3, 2001.
- 7- **Nguyen L, Lievano G, Ghosh L, et al:** Effect of unilateral testicular torsion on blood flow and histology of contralateral testes. *J Pediatr Surg.*, 34 (5): 680-3, 1999.
- 8- **Hadziselimovic F, Gerato R, Emmons LR, et al:** Increased apoptosis in the contralateral testes of patients with testicular torsion as a factor for infertility. *J Urol*, 160 (3 Pt2): 1158-60, 1998.
- 9- **McCord JM:** Oxygen derived free radicals in postischemic injury. *Mechanisms of disease. Review N Eng J Med.* 17; 312 159-163, 1985.
- 10- **Blank ML, O'Neil PJ, Stiegman CK, et al:** Reperfusion injury following testicular torsion and detorsion in prepubertal rats. *Urol Res.* 21 (6): 389-393, 1993.
- 11- **Andeson M, Dunn JK, Lipshultz LI:** Semen quality and endocrine parameters after acute testicular torsion. *J Urol* 147 (6): 1545-50, 1992.
- 12- **Zamboni WA, Roth AC, Russel RC, et al:** The effect of acute HBO therapy on axial pattern skin flap survival when administered during ischemia. *J Recontr. Microsurg.* 5 (4): 343-7, 1989.
- 13- **Zamboni WA, Roth AC, Russel RC, et al:** The effect of HBO on reperfusion of axial ischemic axial skin flaps. A laser Doppler analysis. *Ann Plast. Surgery* 28 (4): 339-1, 1992.
- 14- **Yamada T, Toguchi T, Hirata Y, et al:** The protective effect of hyperbaric oxygenation on the small intestine in ischemia-reperfusion injury. *J Pediatr. Surg.* 30 (6): 786-790, 1995.
- 15- **Kolski JM, Mazolewski MJ, Shephenson LL, et al:** Effect of Hyperbaric Oxygen therapy on testicular ischemia-reperfusion injury. *J Urol* 160 (2): 601-4, 1999.
- 16- **Zamboni WA, Roth AC, Russel RC, et al:** Morphologic analysis of the microcirculation during reperfusion of ischemiac skeletal muscle and the effect of hyperbaric oxygen. *Plast. Recontr. Surg.* 91 (6): 1110-23, 1993.
- 17- **Strock PE, Magno G:** Microvascular changes in acutely ischemiac rat muscle. *Surg. Gynecol Obstet.* 129 (6): 1213-24, 1969.
- 18- **Shupak A:** Hyperbaric oxygenation in acut peripheral posttraumatic ischemia. *J Hyperbar. Med* 2: 7-14, 1987.
- 19- **Tai YJ, Birely BC, Im MJ, et al:** The use of hyperbaric oxygen for preservation of free flaps, *Ann. Plast. Surg.* 28(3): 284-7, 1992.