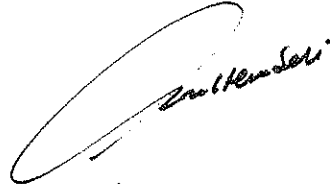


T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**PREPUBERTAL SIÇANLARDA  
OLUŞTURULAN TESTİS TORSİYONUNDA,  
HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİNİN  
İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINA ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. MELTEM SELİ**



**İstanbul - 1997**

12.12.1997

Sevgili aile,  
Özellikle Tuzi tın çalışma  
larında, Terim dışında tın  
buralım zamanlarında, abuk sabuk  
sözleriyle seninle hersey daha  
kolay oldu. Hepsi tın teşekkürler.  
İki pıs sözler olarak, en yakın zamanda  
Avrasya, güzel bir yemek yemeliyiz. Terimden  
Amerika'da!!!

Sevgiler  
Meltem

<b>GİRİŞ</b> .....	2
<b>GENEL BİLGİLER</b> .....	4
A. İNSANDA TESTİS EMBRİYOLOJİSİ VE HİSTOLOJİSİ .....	4
B. TESTİS TORSİYONU .....	7
C. İSKEMİ VE REPERFÜZYON HASARI.....	10
D. HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİ.....	14
E. HBO TEDAVİSİNİN PEDİATRİDE KULLANIMI.....	15
F. HBO TEDAVİSİ VE İSKEMİ - REPERFÜZYON HASARI .....	16
G. SIÇANLARDA DENEYSEL TORSİYON MODELLERİ .....	17
<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	19
A. GRUPLAR.....	19
B. CERRAHİ YÖNTEM.....	20
C. HİPERBARİK OKSİJEN UYGULANMASI .....	23
D. TESTİKÜLER AĞIRLIKLAR .....	24
E. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME .....	24
F. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME .....	25
G. FERTİLİTE DEĞERLENDİRMESİ.....	25
H. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME.....	25
<b>BULGULAR</b> .....	26
TESTİS AĞIRLIKLARI .....	27
MDA DEĞERLERİ .....	30
HİSTOPATOLOJİK SINIFLAMAYA GÖRE TESTİS HASARI.....	33
FERTİLİTE DEĞERLENDİRİLMESİ.....	38
<b>TARTIŞMA</b> .....	41
<b>SONUÇLAR</b> .....	47
<b>KAYNAKÇA</b> .....	49

## GİRİŞ

Testis torsiyonu istatistiksel verilere göre genç erkeklerdeki en sık ikinci cerrahi acil girişim nedenidir (4).Torsiyonun erkek infertilitesi başlığı altında önemli rol oynadığı görülür. Birkaç saat içinde nekroz ile kaybedilen testis ve henüz tam açıklanamayan mekanizmalarla oluşturduğu oligoazospermi, seçilmesi gereken tanı, tedavi ve cerrahi yöntemin subjektif kriterlere bağlı olması, cerrahların güncel sorunlarındanır.

Bugün sahip olduğumuz bilgiler eşliğinde patoloji iki faz halinde değerlendirilir. Testiste değişiklikler ilk faz olan iskemi başlar, eğer patoloji zamanında fark edilir, uygun yöntemle detorsiyon sağlanırsa, ikinci faz olan reperfüzyon fazı başlar. İskemi ve reperfüzyon hasarı günümüzde en çok ilgi çeken araştırma konularındandır. Testis torsiyonu modellerinde de bu konuda çeşitli çalışmalar yapılarak hem patofizyolojinin aydınlatılması amaçlanmış, hem de iskemi reperfüzyon hasarının en aza indirilmesinin yolları araştırılmıştır. Tüm çabalara rağmen sonuçta ek tedavi modalitesi olarak kabul edilebilecek, klinik adaptasyonu kolay ve anlamlı bulgu veya yöntemler elde edilememiştir.

İskemi ve reperfüzyon hasarını önlemeye ya da etkilerini azaltmaya yönelik araştırma konusu yöntemlerden biri de hiperbarik oksijen (HBO) tedavisidir. Daha önce farklı organ ve sistemler üzerinde sınırlı olarak denenen ve olumlu sonuçları gözlenen HBO tedavisi, testis torsiyonu üzerinde bugüne kadar denenmemiştir. Bu nedenlerle HBO tedavisinin testis torsiyonu sırasında oluşan iskemi-reperfüzyon hasarı üzerindeki etkilerinin araştırılması amacı ile bir deneysel model tasarlanmıştır.

Sıçanlarda oluşturulan tek taraflı testis torsiyonu ve bunu izleyen detorsiyonu takiben, önceden belirlenmiş olan tedavi protokollerine göre HBO tedavisi uygulanmış olan bu çalışmada:

- HBO tedavisinin iskemi reperfüzyon hasarı üzerine olumlu etkisinin olup olmadığının erken dönemde histopatolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirilmesi,
- Uzun dönemde testis torsiyonu yapılmış, tedavi verilmiş ve verilmemiş hayvanlarda fertilité değerlendirilmesinin yapılıp, aradaki farkın anlamlılığının araştırılması,
- Tek taraflı testis torsiyonunda, karşı taraf testisin etkileşimi ile ilgili patofizyolojinin irdelenmesi amaçlanmıştır.

## GENEL BİLGİLER

### A. İNSANDA TESTİS EMBRİYOLOJİSİ ve HİSTOLOJİSİ

İnsanlarda cinsiyetin belirlenmesinin dört aşamadan geçtiği kabul edilir (12). Buna göre birinci aşama olan genetik cinsiyet, fertilizasyon sırasında belirlenir. İkinci aşama olan gonadal cinsiyet, genetik cinsiyet tarafından belirlenir. Cinsel farklılaşma, gonadlar ve salgıladıkları hormon ve faktörler sayesinde başlar. İnternal ve eksternal genitalya gelişerek üçüncü aşama olan fenotipik cinsiyeti oluşturur. Ergenlik ve sonrası döneme kadar geçen süre içerisinde de psikolojik cinsiyet yani dördüncü aşama determinasyon tamamlanır.

Y kromozomu üzerindeki SRY faktörünün ("sex-determining region of the human Y chromosome") gonadal farklılaşmanın testis yönünde olmasını sağladığı gösterilmiştir (12). Bu farklılaşmada etkin olan, henüz belirlenememiş başka genetik faktörlerin de varlığını işaret eden çalışmalar devam etmektedir.

Embriyoda, gonadal farklılaşma sürecinde gonadal taslaktan testis oluşumu, gonadal taslaktan over oluşumunun tersine hızla gerçekleşir. 5 haftalık embriyoda mezonefros kenarlarında farklılaşmamış gonadal çıkıntılar görülür. 6 hafta civarında primordial germ hücreleri ameboid hareketlerle mezenterden gonada doğru göç etmeye başlarlar. Testiküler farklılaşmaya paralel olarak hormonal sentez de başlayarak erkek fetusu aneden gelecek dişilik hormonlarının feminizan etkisine karşı korur. Testiküler doku olmaması durumunda her fetus dişi yönünde farklılaşacaktır.

Testiküler taslakta, histopatolojik olarak ilk seçilebilen primitif seminifer tübüllerdir. Bunlar çoğaldıkça medulla içine doğru ilerleyip, ince bölmelerden oluşan ilkel rete testisi oluştururlar. Gelişme ile birlikte testisin yüzey epiteli ile aradaki ilişki kaybolur ve dışarıda oluşan fibröz bağ dokusu tunika albugineayı oluşturur.

Sertoli hücreleri 6-7 hafta civarında gelişerek Müller kanalını inhibe edici faktör (MIF) salgılamaya başlarlar. Bu faktör ile Müller kanalı regrese olarak iç genitalyanın erkek yönünde farklılaşması başlar.

Spermatik kordlar arasında, gonadal mezenkimden kaynaklandığı düşünülen Leydig hücreleri 8.hafta civarında görülür. Leydig hücreleri testosteron üretimine başlayarak Wolf kanalının gelişmesini, iç ve dış genital organların erkek yönünde şekillenmesini sağlar. Leydig hücre sayısı gebelikte plasental HCG ile paralel olarak giderek artar. 14-18.haftalarda en üst düzeyine erişir. 18.haftadan sonra hücreler seyrekleşmeye başlar. Doğumdan 2-3 ay sonra normal testiste Leydig hücreleri geri plandadır. Histolojik ve fonksiyonel olarak püberte çağında yeniden ön plana çıkan Leydig hücreleri, testosteron üretimi ile pübertyi ve sekonder seks karakterlerinin gelişimini sağlar. Mezonefrik kanaldan ise testosteron etkisi ile epididim, seminal veziküller, duktus deferens farklılaşarak dördüncü ay sonunda testis taslağı yapısal olarak tamamlanır (52).

12-15.haftalarda böbrek lojunda yerleşmiş olan testisler aşağıya doğru inmeye başlarlar. Gestasyon ortalarında internal inguinal kanal ağzında, son trimesterde de skrotal yerleşimlidirler. Bu iniş sırasında endokrin ve mekanik faktörlerin ortaklaşa rol oynadığı bugün kabul gören teoridir (48).

Gubernakulum: Testiküler iniş mekanizması ile ilgili teorilerin başından beri odak noktasını gubernakulum oluşturmuştur. Testiküler iniş sırasında gubernakulum hızla büyüyerek testis boyutlarına ulaşır. İnguinal kanalı genişletip, testisin kolayca skrotuma inmesini sağladığı düşünülür. Testis inguinal kanala girdikten sonra ise küçülerek testise skrotum içinde yer açar. Daha önceleri testis üzerinde yarattığı traksiyon ile inişi kolaylaştırdığı düşünülürken, daha sonra bu teoriden vaz geçilmiştir. Gubernakulumun yapısında ekstrasellüler matriksten zengin, farklılaşmamış iğsi hücreler mevcuttur, kas lifleri içermez. Ayrıca, gubernakulum en az gelişmekte olan fetus kadar hızlı büyür (48).

Intraabdominal basınç: Bu teoriye göre açık olan prosessus vaginalis nedeniyle artan karın içi basıncı testiküler inişi başlatır.

Epididimal etki: İnmemiş testis olgularının %17-21'inde epididimal anomali mevcuttur. Epididimal etki teorisine göre, normal gelişmiş bir epididimal lümen testosteronun testis çevresine diffüzyonunu sağlamaktadır. Ancak epididimal malformasyonların daha çok inguinal herni olgularına eşlik ettiği gösterildiğinden, bu etkinin testiküler iniş üzerinde belirgin olmadığı düşünülmüştür.

Genitofemoral sinir ve çekirdeği: Sıçanlarda genitofemoral sinir gelişiminin, dolayısıyla kalsitonin genine bağlı peptit (CGRP) salgılanmasının testosteron tarafından

düzenlendiği gösterilmiştir. CGRP etkisini kas hücreleri üzerinde gösterdiğinden ve insan gubernakulumunun kas hücresi açısından fakir olması nedeniyle, bu modelin insanlara uygulanabilir olmadığı düşünülmektedir.

Androjenler: 1931 yılında normal testiküler gelişme olması için, hipotalamo-pitüiter - gonadal aksın normal olarak çalışması gerektiği ifade edilmiştir. Daha sonraki yıllarda anti-androjen uygulamalarla deney hayvanlarının %50'sinde testiküler inişin engellendiği gösterilmiştir. Anti-androjen uygulamaya yanıtın parsiyel olması ve tek taraflı inmemiş testis olgularının varlığı nedeniyle, androjenlerin testiküler iniş üzerine etkili faktörlerden bir tanesi olduğu, fakat etkili başka faktörlerin de varlığı kabul görmektedir.

Mülleryen inhibe edici faktor: MİF eksikliği olan hastalarda karakteristik olarak intraabdominal yerleşimli testisler mevcuttur. Bu bulgu eşliğinde MİF'in intraabdominal iniş sırasında rol oynadığı düşünülmüştür. Daha sonraları ise bu gruptaki hastalarda asıl etkenin, persiste eden Mülleryen kanal artıklarının, mekanik olarak inişi engellemesi olduğu fikri ön plana çıkmıştır.

Desendin: Testis tarafından sentezlenen, spesifik olarak gubernakulum üzerinde lokal etki göstererek, hücresel gelişmeyi arttıran bir faktördür. Bu faktör ile ilgili ön bilgiler orşiyektomili hayvanlarda yapılan çalışmalar ile sınırlıdır. Bu sınırlı bilgiler ışığında desendin eksikliğinin gubernakulum gelişimini bozacağı ve inişin etkileneceği düşünülmektedir.

Östradiol: Östrojenlerin androjenlerden bağımsız olarak etkilerini göstererek gubernakular gelişmeyi engellediği ve Mülleryen kanalların persiste etmesine sebep olduğu düşünülmektedir. Bu etkileri ile maternal östrojenlerin testiküler inişi engelleyen faktörler içinde yer aldığı görüşü mevcuttur. Her ne kadar tam mekanizma açıklanamadıysa da, Bernstein ve arkadaşlarınca yüksek serbest östradiol düzeyli seyreden gebeliklerde, daha yüksek sıklıkta inmemiş testis olgusu gösterilmiştir.

'Epidermal growth factor': Androjenlerin yokluğunda bile EGF'nin Wolf kanalının persiste etmesini sağladığı bilinmektedir. Ayrıca EGF plasenta üzerinden testosteron üretimini artırır. Sıçan deneylerinde maternal EGF'nin fetal testis üzerinden de testosteron sentezini arttırdığı gösterilmişse de insan fetuslarıyla korrelasyonu sağlanamamıştır. Bu ön bilgiler eşliğinde EGF'nin testiküler iniş üzerinde etkili faktörlerden olduğu düşünülmektedir (48).



Bütün bu gelişim sürecinde testisin yanlış lokalizasyonu ve fiksasyon kusuru doğum sonrası çeşitli klinik ve fonksiyonel sorunlara yol açmaktadır. Bu kusurlar testis torsiyonu etyolojisinde önde gelen faktörlerden kabul edilmektedir. Tek taraflı ya da çift taraflı inmemiş testis olgularında ise infertilite önemli bir sorun oluşturmaktadır. Bu konuda yapılan ayrıntılı çalışmalarda özellikle tek taraflı inmemiş testis olgularında karşı taraf testisindeki hasarın, otoimmün mekanizma ile gerçekleştiğini gösteren bulgular mevcuttur (53).

## ***B. TESTİS TORSİYONU***

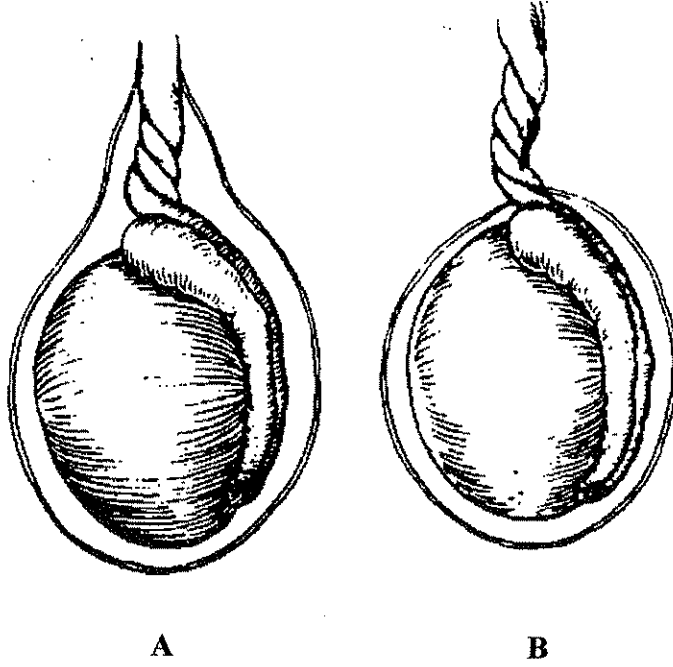
Testis torsiyonu, spermatik kord ve damarların testiküler eksen çevresinde dönüp, testiküler ve epididimal kan akımının bozulması halidir. Torsiyon 360 ile 720 derece arasında görülebilir. Torsiyonun derecesi, süresi ve daha önce yineleyen torsiyonların olup olmaması testiküler hasar üzerinde belirleyici rol oynar.

Anatomik sınıflamada intravajinal ve ekstravajinal olmak üzere iki tip mevcuttur:

1. Ekstravajinal torsiyon: Perinatal dönemde görülen torsiyon tipidir. Anatomik olarak predispozan bir faktör yoktur. Testis ve tunika vajinalis arasındaki olması gereken bağlantı mevcuttur. Torsiyon tunika vajinalisin yapıştığı yerin hemen üzerinden, testisin longitudinal aksı boyunca olur (Şekil 1). Tablo intrauterin dönemde, doğumdan hemen sonra ya da sağlıklı yenidoğanda akut olarak görülebilir. İntrauterin torsiyonlar "vanishing testis" sendromundan sorumlu tutulmaktadır (18). Bu grupta hasar ağır olup sıklıkla testis kaybolmuştur. Doğum sırasında fark edilen torsiyone testisler için de durum çok farklı olmadığından, elektif şartlarda orşiyektomi ve kontralateral testisin fiksasyonu önerilmektedir. Kontralateral fiksasyon ile ilgili karşıt gruplar mevcutsa da (17), çeşitli serilerde bilateral senkron ekstravajinal torsiyon ya da ekstravajinal torsiyonu izleyen intravajinal torsiyon görülmesi nedeniyle, ayrıca perinatal dönemde az da olsa intravajinal torsiyon görülmesi nedeniyle kontralateral fiksasyon önerilmektedir (18,39,19,34). Doğumda testisleri normal olan bir yenidoğanda sonradan gelişen akut skrotum ve testiküler torsiyon şüphesi gerçek bir cerrahi acil durumdur. En kısa zamanda yapılacak eksplorasyon ile patolojinin aydınlatılması ve kontralateral fiksasyon yapılması önerilmektedir (19,39).

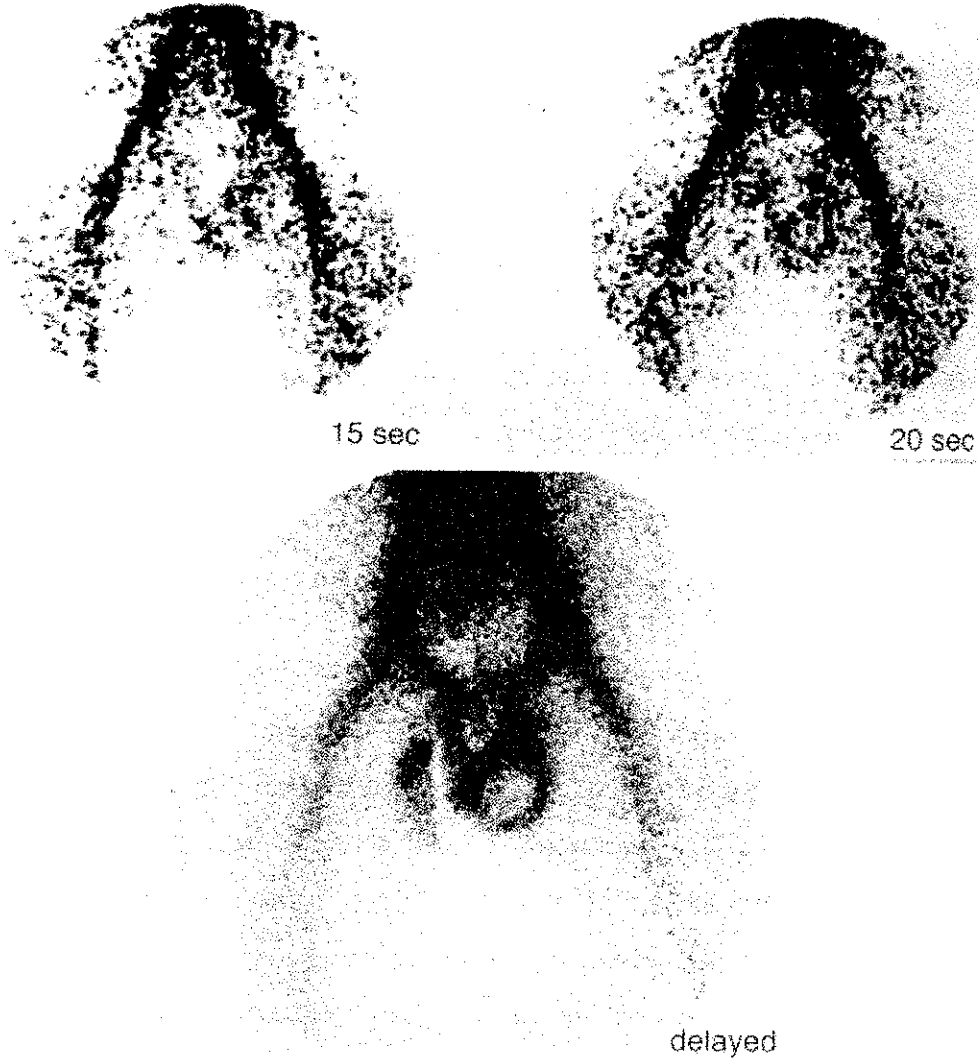
2. Intravajinal torsiyon: Nadiren perinatal dönemde görülse de (19,34,39), sıklıkla peripübertal yaş grubunda rastlanır. Ekstravajinal torsiyondan farklı olarak anatomik predispozan yapı mevcuttur. "Bell-clapper" deformitesi olarak adlandırılan bu anatomide,

tunika vajinalise yapışmamış olan testis serbest bir şekilde asılı durmaktadır (Şekil 1). Anatomik yapının çoğunlukla bilateral olması nedeniyle bu grup hastada rutin kontralateral fiksasyon önerilmektedir.



Şekil 1: Testis torsiyonu; A: İnvajinal, B: Ekstravajinal

Klinik olarak en belirgin yakınma aniden başlayan ağrıdır. Ağrıya bulantı, kusma gibi nonspesifik gastrointestinal yakınmalar eşlik edebilir. Fizik muayenede testis büyük, hassas ve üst skrotal yerleşimlidir. Epididim normal lokalizasyonundan farklı yerde palpe edilebilir. Anatomik muayene sıklıkla akut gelişen hidrosel, ağrı ve ödem nedeniyle ayrıntılı olarak yapılamaz. Hastaların yarısı daha önce benzer ataklar geçirdiklerini ve bu semptomların kendiliğinden geçtiğini ifade ederler (45). İdrar tahlilinde özellik saptanmaz. Piyüri daha çok epididimit tanısını destekler. “B-scan USG” ile ayırıcı tanıya katkı sağlanabilir. USG’de ilk saatlerden itibaren büyümüş ve hipoekojen testis görülür. Semptomlar başladıktan 6 saat sonra deneyimli ellerde sonografik olarak normal bir testis görülüyorsa testis torsiyonu ekarte edilir (49). Tanıda yardımcı olabilecek daha güvenilir iki tetkik mevcuttur. Bunlardan birincisi renkli Doppler ile testiküler kan akımının değerlendirilmesidir, ikincisi ise testiküler sintigrafidir. Sintigrafi uygun zamanlama ile yapılabildiği takdirde en doğru sonuçları vermektedir. Erken fazda (ilk 6 saat içinde) normal ya da daha sıklıkla azalmış akım bulgularına rastlanır. Daha sonraki saatlerde patognomonik olan halo görünümü elde edilir.



**Resim 1:** Testis torsiyonunda sintigrafik görünüm

Burada soğuk bir merkezi çevreleyen hafif artmış aktivite tutulumu görülür (Resim 1). Testis torsiyonu tanısında yardımcı tetkiklere başvurulurken, aradan geçecek olan süre, tetkiklerdeki doğruluk payı ve tetkiklerin maliyeti sorgulanmalı, yarar ve zarar dengesi iyi ayarlanmalıdır. Bu nedenle bir çok ekip radyolojik tanı yöntemlerine başvurmaksızın ayrıntılı klinik değerlendirme ile cerrahi eksplorasyona gitmektedir (8,45,51).

Testis torsiyonunun tedavisi cerrahidir. Semptomlar başladıktan sonra 6 ile 12 saat arasında yapılacak detorsiyon işlemi ile testisin canlılığının korunması mümkün olabilmektedir. Daha uzun süreli torsiyonlarda ağır hasar nedeniyle orşiyektomi oranı artmaktadır. Cerrahi öncesi sedasyon ile manuel detorsiyon denenebilir. Testis laterale doğru

iki ya da üç kez detorsiyone edilir. Başarının en önemli göstergesi ağrının kaybolması ve testisin serbest bir şekilde skrotuma yerleşmesidir. Bu vakalarda da elektif şartlarda bilateral testiküler fiksasyon yapılmalıdır. Yenidoğan döneminde eşlik edebilecek herni kesesi nedeniyle seçilen insizyon inguinaldır. Çocukluk çağında inguinal ya da skrotal insizyon kullanılabilir. Detorsiyonu takiben testis viabilitesi kontrol edilip, uygun vakalarda skrotuma dört noktadan tespit edilmelidir (45). Karşıt görüşler olmasına rağmen (17), günümüzde aynı seansta kontralateral fiksasyon önerilmektedir (8,18,19,34,39,51).

Bu genel tedavi yaklaşımı torsiyona ikincil iskeminin düzeltilmesini sağlayabilmekte, fakat reperfüzyonun etkilerini değiştirmemektedir. Testis torsiyonuna bağlı operasyon geçiren hasta gruplarında, olay tek taraflı da olsa çeşitli düzeylerde fertilité sorunlarının görülmesi, araştırmacıların ilgisini bu konuya çekmiştir.

Testis torsiyonuna bağlı oluşan testis hasarından ön planda iskemi sorumlu tutulmaktadır. Hasarın iskemi sırasında mı, yoksa iskemi izleyen dönemde oluşan reperfüzyon sırasında mı oluştuğu günümüzün tartışma konularındandır (11). Yapılan çalışmalarda reperfüzyonu izleyen biyopsilerde saptanan hasarın, pür iskemi izleyen biyopsilere göre daha ağır ve farklı olduğu gösterilmiştir (11,27). Hatta iskemi süresi değişmeksizin reperfüzyon süresi uzatılan gruplarda da belirgin histopatolojik değişiklikler saptanmıştır (6). Bu bilgiler ışığında testis torsiyonundaki histopatolojik değişikliklerden, iskemiye ek olarak, iskemi sonrası reperfüzyon sırasında açığa çıkan serbest radikallerin de sorumlu olduğu sonucu çıkmaktadır.

### **C. İSKEMİ ve REPERFÜZYON HASARI**

Arteriyel ya da venöz dolaşımın kesildiği dönemleri izleyen reperfüzyonun mikrovasküler alanda hasara yol açması ve hücre ölümüne neden olması iskemi ve reperfüzyon hasarı (İRH) olarak isimlendirilir. Bu hasardan reperfüzyon sırasında açığa çıkan serbest oksijen radikalleri sorumlu tutulur. Değişik dokuların iskemiye gösterdiği yanıtlar farklı olsa da İRH'nın ortak yol olarak sonlandığı düşünülmektedir (25).

Reperfüzyon hasarı ile ilgili çalışmaların çoğunda amaç, reaktif oksijen radikallerinin açığa çıkmasını engellemek ve dolayısıyla hasarın minimize edilmesini sağlamak olmuştur (33,38,55,59). Reaktif oksijen radikalleri dış halkalarında eşlenmemiş bir elektron içeren, ileri derecede kararsız moleküllerdir. Süperoksit radikali ( $O_2^-$ ) ve türevleri olan hidroksil

radikali ( $\text{OH}^-$ ), hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) bu başlık altında toplanan oksiradikallerdir. Bu moleküller bütün biyolojik yapılara toksik etkilidir. Hücre membranları ile reaksiyona girip, lipid peroksidasyonu ile hücre ölümüne sebep olurlar. Ayrıca bu sırada bol miktarda yeni reaktif oksijen radikali de açığa çıkar ve hasar büyüterek sürer.

Serbest oksijen radikallerinin açığa çıkışından sorumlu tutulan beş ana mekanizma mevcuttur (36):

1. Ksantin oksidaz yolu
2. NADPH oksidaz yolu
3. Mitokondrial sitokromlardan sızıntılar
4. Araşidonik asit metabolizması
5. Katekolaminlerin otooksidasyonu

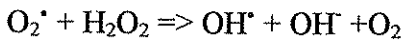
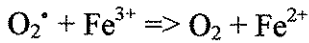
Bunlardan en ayrıntılı olarak ksantin oksidaz ve NADPH oksidaz mekanizmaları incelenmiştir (13,25,33,36,41,47,55,59).

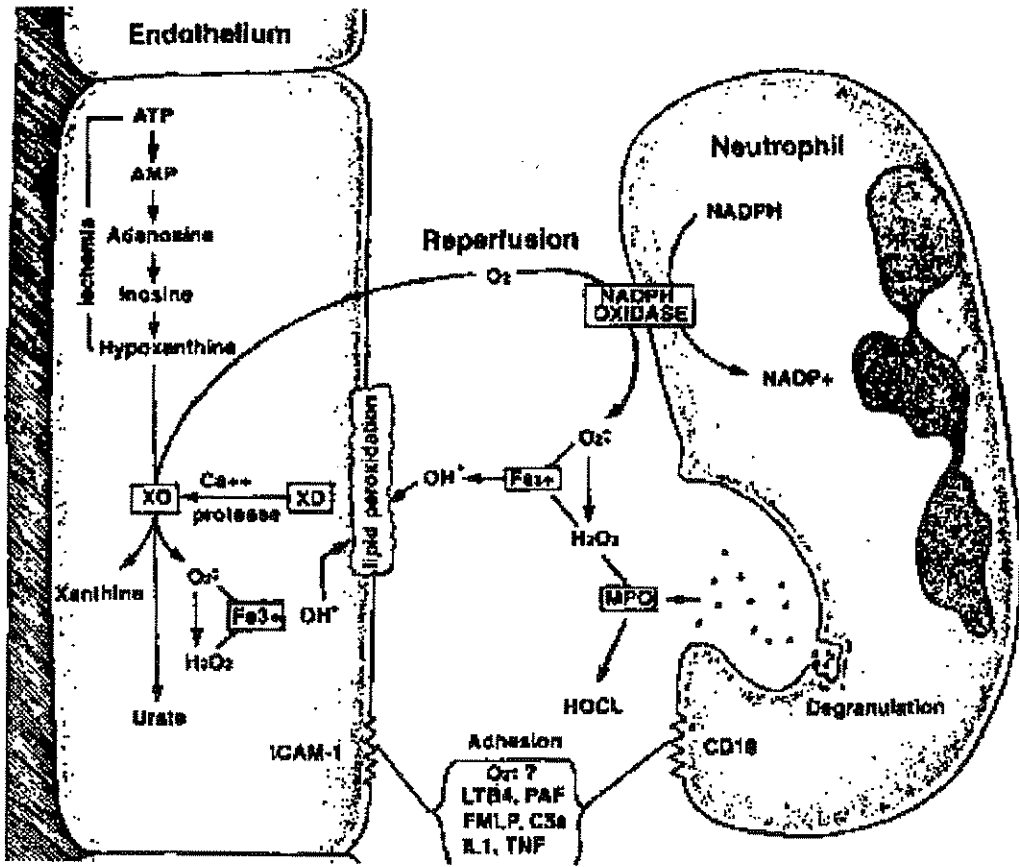
**Ksantin oksidaz:** İskemi uzadıkça anareobik metabolizma baskınlaşır, artan sitozolik  $\text{Ca}^{2+}$ 'un da etkisi ile ATP hipoksantine katabolize olur.



Ksantin dehidrojenaz mikrovasküler endotelial hücrelerde bol bulunan bir enzimdir. İskemi ile bozulan membran pompası nedeniyle artan hücre içi  $\text{Ca}^{2+}$  intrasellüler proteazları aktive ederek ksantin dehidrojenazdan, ksantin oksidaz oluşumuna sebep olur. Ksantin oksidaz ortamdaki hipoksantinden ksantin ve superoksit radikali sentezler.

Süperoksit radikali ( $\text{O}_2^-$ ) Fe ile reaksiyona girerek en güçlü sitotoksik oksijen radikali olan hidroksil radikalini ( $\text{OH}^-$ ) oluşturur.





Şekil 2: İskemi-reperfüzyon hasarında hücresel mekanizmalar (25)

**NADPH Oksidaz:** Reperfüzyon hasarında nötrofillerin ön planda rol oynadığı görüşü son yıllarda ağırlık kazanmaktadır (25,33,36,37,55). Nötrofiller hücre membranında bulunan NADPH oksidaz enzimi ile ekstraselüler süperoksit ( $O_2^-$ ) oluşumuna neden olurlar. Süperoksit, hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve ferritin ile reaksiyona girerek hidroksil ( $OH$ ) radikali oluşturur (Şekil 2). Ayrıca nötrofilik  $H_2O_2$  miyeloperoksid enzimi ile reaksiyona girerek hipoklorus asit oluşumuna sebep olur. Hipoklorus asit güçlü oksidan etkili olmasının yanısıra elastaz, kollajenaz ve jelatinaz gibi proteazları da aktifleyerek hücre hasarında rol oynar (25,47).

**Mitokondriyal sitokromlardan sızıntılar:** Hücresel oksidatif reaksiyonların tüme yakını mitokondriyalarda gerçekleşir. Mitokondriyaya giren oksijenin %95'i çeşitli basamaklardan sonra suya dönüşürken, %1-5'i elektron transport zincirinde yerleşik NADH dehidrojenazca süperoksit ( $O_2^-$ ) molekülüne dönüştürülür.

**Araşidonik asit:** Siklooksijenaz ve lipooksijenaz yollarından yan ürünler olarak süperoksit ( $O_2^-$ ) molekülleri oluşur (47).

**Katekolaminlerin otooksidasyonu:** Katekolaminler, pirogallol ve methemoglobin otooksidasyonu sırasında süperoksit ( $O_2^-$ ) molekülleri açığa çıkar (47).

Reperfüzyonu izleyen dönemde ortaya çıkan reaktif oksijen radikalleri, mikrovasküler alanda endotel hücre hasarı ve artmış kapiller geçirgenliğe yol açarlar. Ayrıca ortamdaki artmış  $Ca^{2+}$  molekülü de önemli bir mediatör olarak nonspesifik proteazları ve fosfolipazı aktiflerler. Bu olaylar proinflammatuar mediatör sentezini tetikler. İlk mediatörler, membran fosfolipidlerinin ya da serbest yağ asitlerinin transformasyonundan oluşan, lipid yapıda olan Trombosit aktive edici faktör "platelet activating factor" (PAF) ve eikosanoidlerdir (leukotriene, tromboksan ve prostaglandinler). Daha sonra peptid yapıda olan sekonder mediatörler, sitokinler ve TNF sentezlenir ve aktif inflamasyon başlar (45).

Son yıllarda nötrofil ile endotel hücreleri arasında etkileşen adhezyon moleküllerinin, nötrofil aktif sekestrasyonuna yol açtığı gösterilmiştir. Bu moleküller hem nötrofil hem de endotel hücresinden sentezlenirler. Endoteldeki CD18 ve nötrofildeki CD11/18 reseptörleri, kemotaktik maddeler (LTB<sub>4</sub>, TXA<sub>2</sub>, PAF, C5a, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gibi) ile etkileşerek adhezyonu başlatır. Ayrıca selektin ailesinden granül membran proteini 140 (GMP-140) ve sitokinlerce stimüle edilen, endotelial lökosit adhezyon molekülü-1 (ELAM-1) ve intrasellüler adhezyon molekülü-1 (ICAM-1) de nötrofil sekestrasyonunda önemli rol oynar (12,45). Bu etkileşimler sonucu reperfüzyon bölgesinde aktif nötrofil sekestrasyonu meydana gelerek inflammatuar olay hem akut, hem de kronik fazda artar.

Dokularda, kurtarıcı ("scavengers") enzimler olarak nitelendirilmiş iki ana enzim bulunmuştur: süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) (7,10). Bu iki enzimin reperfüzyon sonrası iskemik dokularda biriken reaktif oksijen molekülleri ile mücadelede önemli rol oynadığını gösteren çalışmalar yapılmış (20,42,58), reperfüzyonu izleyen dönemlerde enzim aktivitelerinde azalma saptanmış, reperfüzyon hasarının, süperoksit radikallerinin enzim aktivitesini inhibe etmesi ile bağlantılı olduğu yolunda sonuçlar bulunmuştur (58). Değişik dokularda, farklı aktivitede SOD ve CAT bulunduğundan, dokuların iskemi ve reperfüzyona olan farklı hassasiyetleri de bu yolla açıklanmaya çalışılmış, iskemi ve reperfüzyon hasarı modellerinde SOD ve CAT kullanılarak hasarın azaldığını gösteren birçok çalışma da (20,26,30,42,58) bu fikri desteklemiştir.

#### **D. HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİ**

Hiperbarik oksijen (HBO) tedavisi, yalıtılmış kapalı bir basınç odasında, 1 atmosferden daha yüksek (1 atm = 760 mmHG) basınç altında %100 oksijen solutulması şeklinde yapılır (28,29,60). 1 atm basınçta %100 oksijen solunması ya da topikal olarak kullanımı HBO tedavisi olarak kabul edilmez (29,60).

HBO uygulamasının organizma üzerindeki etkileri, tüm dokulardaki oksijenizasyonun artmasına bağlı olarak görülür. HBO tedavisi geniş sistemik etkileri nedeniyle giderek artan klinik uygulama alanı bulmaktadır.

HBO tedavisi tek ya da çok bölmeli basınç odalarında yapılır. Gerekli basınç oksijen ile sağlanabiliyor ise hasta oksijeni ortamdaki alabilir. Eğer basınç hava ile sağlanıyorsa o zaman oksijen maske ile, çadırdan ya da endotrakeal tüpten verilebilir. Endikasyon alanına giren hastalıklar için tedavi süresi ve yoğunluğu değişik protokoller şeklinde düzenlenmiştir. Yüksek dozda ya da uzun süreli uygulamalarda toksik etkileri mevcuttur (40).

Normal atmosfer basıncında, hemoglobin tama yakın doymuş olduğundan, hemoglobine bağlı oksijenin artırılması tedavi edici değildir. HBO tedavisi sırasında solunan oksijenin kısmi basıncındaki artış, plazmada çözünen oksijen miktarını artırır. Hava solunurken kanın 100 ml'sinde 1 atm'de 0.3 ml, 2 atm'de 0.8 ml, 3 atm'de 1.3 ml olan çözünmüş oksijen miktarı, %100 oksijen solunduğunda 1 atm'de 2ml, 2 atm'de 4 ml., 3 atm'de 6 ml olarak ölçülmüştür. Artan oksijen, hemoglobinin taşıdığına eklenen ilave oksijendir. Artmış oksijen gereksinimi olan hasta gurubunda bu yoldan yararlanır (29,60).

Hiperbarik oksijenin klinik kullanımı, maksimum 3 atm oksijen basıncı ile sınırlandırılmıştır. Yapılan çalışmalarda bu sınırın aşılmasının önemli bir katkısı olmadığı, tersine belirgin toksik etkilerinin ortaya çıktığı gösterilmiştir. Doz aşımı, diğer ilaçlarda olduğu gibi istenmeyen etkileri ön plana çıkarır.

HBO, doku düzeyinde oksijen basıncını artırınca vazokonstriksiyona yol açar; böylelikle ana sorunun ödem ve ekstrasvazasyon olduğu yanık, gaz embolisi, periferik travmalar gibi pek çok durum ile mücadele edilebilir (28,29,60,61,21).

Dolaşımdaki yetersizlikler ve hipoksi kollajen depolanmasını ve damar gelişimindeki ince dengeyi bozar. Yaralanmış dokular hipoksiktir. Fibroblastlar yeterli oksijen olmaksızın kollajen sentezi yapamazlar. Kollajen sentezi için 30-40 mmHg. oksijen doku kısmi



basıncına gerek vardır. Travmatize ya da enfekte dokularda bu basınç 5-15 mmHg kadar düşüktür. Avasküler alanda kollajen matriks neovaskülarizasyon için temel oluşturur. HBO damar oluşumu için gerekli kollajen matriks birikimine yol açarken, tedavinin verilmediği ara dönemlerde oluşan relatif hipoksi de damarlanmayı uyarır (54). Birebir doku oksijenizasyonunu ilgilendiren durumlarda; diabetik ve varis ülserlerinde, termal yanıklarda, deri greft ve fleplerinde, reperfüzyon hasarında, mikrocerrahi izleyen ve radyasyon sonrası oluşan kemik ve yumuşak doku hasarında, kılcal damarlanmadaki artış ve etkili doku oksijenizasyonu ile yaraların erken kapanması sağlanabilir (54,60).

Polimorf nüveli lökositler ve makrofajlar aktive olabilmek için oksijene gereksinim duyarlar. Hipoksi durumlarında fagositoz işlemi olmakla birlikte , oksijene bağlı aktiviteye oranla daha az etkili ve yavaş gerçekleşir. HBO tedavisi, enfekte dokudaki oksijen basıncını arttırarak hem oksijen radikallerinin etkisini, hem de savunma sisteminin fagositoz yeteneğini artırması ile enfeksiyona karşı da etkisini gösterir (64,65).

### ***E. HBO TEDAVİSİNİN PEDIATRİDE KULLANIMI***

Çocuk yaş grubunda HBO'in kullanımı ve endikasyonları erişkin hastaların endikasyonlarına benzerlik gösterir. Diğer tedavi modalitelerinde olduğu gibi HBO kullanımında da öncelikle iki soruya yanıt vermemiz gerekmektedir: Birincisi, HBO tedavisinin morbidite ve mortaliteyi azaltıp azaltmayacağı, ikincisi ise yan etkiler, riskler ile yararlar karşılaştırıldığında dengenin hangi tarafa doğru kayacağıdır.

Çocuklarda HBO'in endikasyon alanı çok geniştir. Açık kırıkları takiben oluşan osteomyelitte, konjenital immun sistem yetmezliklerinde, malignite ya da transplantasyon sonrası oluşabilecek immunsupresyon durumlarında ortaya çıkan ağır enfeksiyonlarda, purpura fulminans sonrası görülen akut periferik damar hastalıklarında, iyileşmeyen yaralar, sorunlu fleplerde, yanık ve kazalar sonucu oluşan karbonmonoksit zehirlenmelerinde, batın operasyonları sonrası gelişebilen pürülan peritonitte, değişik formlardaki barsak tıkanıklarında kullanım alanı bulmuştur (61).

Çocuklarda 1 atm üzerinde HBO tedavisinin gösterilmiş bir yan etkisi olmamakla birlikte, dikkat edilmesi gereken bazı noktalar vardır. Kulakta barotravmaya neden olmamak için kulak muayenesi, bir konjenital anomaliyi atlamamak için akciğer filminin çekilmesi işlem öncesi yapılacak ve riskleri en aza indirecek rutinlerdir .

Yenidoğan dönemine spesifik üç risk mevcuttur. Bunlardan birincisi prematüre ve SGA bebeklerde oluşabilecek retinopatidir. Bu nedenle tedavi öncesi hastanın retina damar matürasyonunun değerlendirileceği göz dibi muayenesinin yapılmalıdır (40). İkinci risk faktörü ise respiratöre bağlı yenidoğanlarda tedaviye HBO ile devam edilmesinin bronkopulmoner displazi görülmesini artırma olasılığıdır. Üçüncü risk faktörü duktus arteriosusun yüksek oksijen saturasyonları ile kapanmasıdır. Duktusa bağımlı konjenital kalp hastalığı olan hastalarda dekompanseasyon ortaya çıkabilir. Şüpheli hastalarda ayrıntılı kardiak muayene yapılmalı, telegrafi ve EKG çekilmelidir.

#### ***F. HBO TEDAVİSİ ve İSKEMİ - REPERFÜZYON HASARI***

Zamboni ve arkadaşları iskemi ve reperfüzyon hasarı modellerinde HBO uygulamasının hasarı artıracakları ön fikrinden yola çıktıkları ilk çalışmalarında, şaşkıncı sonuçlarla karşılaşmışlardır. Yaptıkları çalışmada iskemik cilt fleplerinde reperfüzyonu izleyen dönemde HBO uygulamasının flep yaşamı üzerinde olumlu etkileri olduğu ortaya çıkmıştır (68). Gerçekten de reperfüzyon hasarının süperoksit radikalleri yoluyla oluştuğu hatırlandığında, artan doku oksijen yoğunluğunun serbest oksijen radikallerini ve dolayısıyla hasarı artıracakları olası görülmektedir. Beklenenin tersine çıkan sonuçlar nedeniyle bu konuda araştırmalara devam edilmiştir. Doppler analizi ile değerlendirildiğinde, HBO tedavisi alan deneklerde iskemik flepteki mikrosirkülasyonun arttığı dikkati çekmiştir (66). Daha sonra değişik gruplarca, HBO tedavisinin çizgili kas (21) ve ince barsak (61,64) gibi değişik organlarda yaratılan iskemi-reperfüzyon modellerinde olumlu etkilerini gösteren çalışmalar yapılmıştır. HBO'in iskemi-reperfüzyon modellerinde:

- Mikrosirkülasyonu artırdığı
- Kapiller basıncı düşürerek, doku ödemi azalttığı
- Damar endoteline yapışan lökositleri azalttığı
- SOD enzimini artırdığı
- Lipid peroksidasyonunu azalttığı gösterilmiştir (54,61,65,67).

Bu çalışmalar ile HBO tedavisinin etki mekanizması aydınlatılmaya başlanmış, uygulama protokolleri ve dozları belirlenmiştir.

## G. SİÇANLARDA DENEYSEL TORSİYON MODELLERİ

Sıçanlarda inguinal insizyon ile oluşturulan ilk deneysel modelde,1879'da Miflet ve arkadaşları tarafından testiküler torsiyon çalışmaları yapılmıştır (57). Daha sonraki yıllarda iskemi mekanizması ve hücre kaybı ile ilgili bilgi değişiklikleri eşliğinde çalışmalar sürmüştür, testiküler germinal epitelin iskemi ve sonuçlarına yanıtı değerlendirilmiştir (23,24). Turner ve arkadaşları testisin longitudinal aksı boyunca 180, 360 ve 720 derecelik torsiyonlar uygulayıp 1, 2 ve 4 saati takiben detorsiyon yapmış, sonuçları patolojik ve fonksiyonel olarak değerlendirmiştir (63). Bu sonuçlara göre 360 derece ve 1 saatlik torsiyon sıçanlarda yalnızca akut vasküler değişikliklere yol açarken, 720 derece ve 4 saatlik torsiyon tam iskeмиyle sonuçlanmaktadır. Blank ve arkadaşları ise prepübertal sıçanlarda testis torsiyonu izleyen detorsiyon sonrası iskemi ve reperfüzyon hasarını araştırmışlardır. Deney gruplarında reperfüzyon hasarını deferoksamin (demir şelatörü) ve diltiazem (Ca kanal blokeri) ile azaltmayı denemişlerdir. Çıkan sonuçlarında reperfüzyonun hasarda önemli rol oynadığı ama biyokimyasal ajanlar ile bu hasarın miktarının azalmadığı görülmüştür (11).

Akgür ve arkadaşlarının oluşturduğu modelde detorsiyonu izleyen reperfüzyon ve hasarın saptanması ise doku düzeyinde lipid peroksid ölçümleri ile yapılmıştır. Reperfüzyonu takiben dokulardaki artmış serbest oksijen radikalleri hücre ve mitokondria duvarındaki lipidlerle reaksiyona girerek, lipid peroksitlerinin artmasına sebep olur. Bu yöntemle 1 ve 2 saatlik 720 derecelik torsiyon sonrasında lipid peroksid düzeylerinde istatistiksel anlamlı sonuçlar elde edilirken, 6 saatlik torsiyon sonrasında istatistiksel fark gösterilememiştir (3). Bu sonuçlarla sıçan modelinde 6 saat ve üzerindeki torsiyonu takiben yapılan detorsiyonda reperfüzyonun olmadığı, iskemik hasar nedeniyle kan akımının dönüşümsüz olarak kesildiği kabul edilmiştir (1,3).

Akut testiküler torsiyonun kontralateral testiste immunolojik mekanizmalar ile hasar oluşturduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda detorsiyonu takiben kontralateral testis incelenmiş, özellikle epididimal sperm konsantrasyonu ve motilitesinde değişiklikler gözlenmiştir (9,22,43). Araştırmaların ortak özelliği, nekrotik testis yaratacağı kesin olan sürelerde (24 saat, 7 ve 9 gün) torsiyon uygulanmış olmasıdır. Turner ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise 1, 2 ve 4 saat gibi kısa süreli torsiyonlarda karşı taraf testis morfolojisi ve sperm içeriğinde bir özellik saptanmamıştır(63). Bu çalışmada savunulan kurtarılabilir derecede iskemik hasara uğramış testislerde karşı taraf testis üzerinde belirgin olumsuz etki görülmediğinden orşiyektominin gereksiz olduğu, ağır nekroz

ile sonuçlanan durumlarda ise doğal olarak orşiyektomi uygulandığından karşı taraf testisi için özel bir değerlendirmeye gerek kalmadığıdır. Yine de immunolojik mekanizma ile oluşan hasarın değerlendirilmesi için daha hassas yöntemler ve histokimyasal markerlar kullanılarak yapılacak çalışmaların, bu konuda ileri bilgilendirme sağlayacağı düşünülebilir (63).

Bu bilgilerin ışığında, daha önce denenmemiş bir tedavi modalitesi olması açısından HBO'in testis torsiyonunda hasarı azaltmadaki etkinliğinin araştırılması hedeflenmiştir.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu deneysel çalışma İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı ile Deniz ve Sualtı Hekimliği Anabilim Dalı'nda 1 Mayıs - 15 Ağustos 1997 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir.

Histopatolojik incelemeler İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda, biyokimyasal değerlendirmeler ise İstanbul Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

Araştırma boyunca 2 aylık, prepubertal, ağırlığı 90-110 gram arasında değişen 70 adet erkek Wistar Albino tipi sıçan ve 34 adet erişkin dişi Wistar Albino tipi sıçan kullanılmıştır.

### A. GRUPLAR

Sıçanlar dört gruba gruba ayrıldı (Tablo 1):

Birinci grup (n=5) kontrol grubu olarak kabul edilerek, cerrahi girişim ya da HBO tedavisi uygulanmadı. Bilateral orşiyektomiye takiben testisler tartılarak, malonildialdehit (MDA) ölçümü ve histopatolojik değerlendirme yapıldı.

İkinci grup (n=10) sham grubu olarak kabul edildi. İnguinal insizyon ile tek taraflı testis manüple edilip skrotuma yerleştirildi ve bir adet sütür ile skrotuma 1 saat tespitlendi. Takiben sütür alınarak, 1 hafta süre ile protokole uygun olarak HBO tedavisi uygulandı. 1 haftanın sonunda bilateral orşiyektomi ile testisler tartılarak, MDA ölçümü ve histopatolojik değerlendirme yapıldı.

Üçüncü grupta (n=16) 20 adet sıçanda tek taraflı 1 saatlik testis torsiyonu yapıldı. Detorsiyonu takiben 1 hafta beklenildi ve HBO tedavisi uygulanmadı. Bekleme süresi içinde ilk gün iki sıçan anestezi komplikasyonu nedeniyle kaybedildi ve değerlendirilmeye alınmadı. Bir hafta sonunda bu gruptan 7 sıçan fertilité çalışması için ayrıldı (Grup 3.B, n=7) ve diğerlerine bilateral orşiyektomi yapıldı. İleri derecede orşit saptanan 2 sıçan değerlendirmeye dahil edilmedi. 9 sıçanın testisleri tartılarak, MDA ölçümü ve histopatolojik değerlendirme yapıldı (Grup 3.A, n=9).

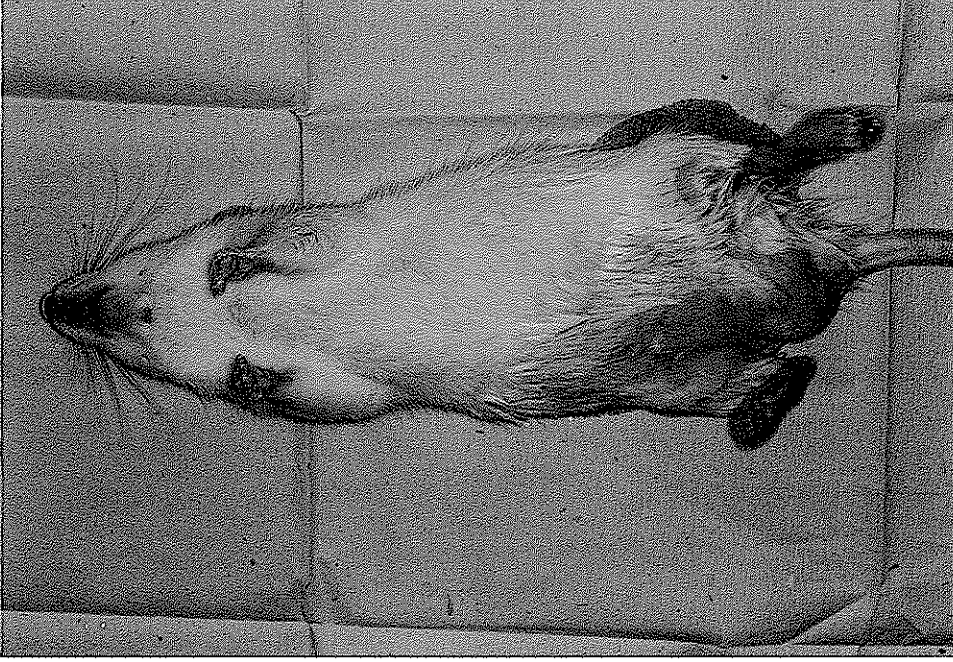
Dördüncü grupta (n=30) 34 adet sıçanda tek taraflı 1 saatlik testis torsiyonu yapıldı. Detorsiyonu takiben 1 hafta boyunca protokole uygun olarak HBO tedavisi verildi. Deney süresi içinde ilk gün üç sıçan anestezi komplikasyonu nedeniyle, 2.gün bir sıçan da barotravma nedeniyle (akciğerlerde yoğun PNL ve eritrosit infiltrasyonu saptandı) kaybedildi ve değerlendirmeye alınmadı. Bir haftalık tedaviyi takiben sıçanların 10 adedi fertilité değerlendirmesi için ayrılarak (Grup 4.B, n= 10), diğerlerinde bilateral orşiyektomi yapıldı (Grup 4.A, n=20). Bir adet sıçan ağır orşit nedeniyle çalışma dışı bırakıldı. Bütün sıçanların testisleri tartılarak MDA ölçümü ve histopatolojik değerlendirme yapıldı.

GRUP	n	İŞLEM
1	5	Kontrol
2	10	Sham (Sağ testis eksplorasyonu, fiksasyonu ve HBO tedavisi)
3	16	Torsiyon (Sağ testis torsiyonu-detorsiyonu ve fiksasyonu
3.A	9	<i>Histopatolojik ve biokimyasal tetkik alt grubu</i>
3.B	7	<i>Fertilité inceleme alt grubu</i>
4	30	Torsiyon ve HBO tedavisi
4.A	20	<i>Histopatolojik ve biokimyasal tetkik alt grubu</i>
4.B	10	<i>Fertilité inceleme alt grubu</i>

**Tablo 1:** Deney grupları

## **B. CERRAHİ YÖNTEM**

Cerrahi uygulanacak sıçanlara sağ arka bacak medial yüzünden Ketamine HCl (Ketalar), 100 mg/kg olacak şekilde İM. uygulanarak anestezi sağlandı. Sıçanların sağ inguinal bölgesi ve skrotumu depilatör ajan ile tüylerinden temizlenip, bölge önce serum fizyolojik, daha sonra da polividon-iyot solusyonu ile silindi. 1cm'lik transverse inguinal insizyon ile katlar geçilerek sağ testis kord ve damarları zedelenmeden dışarı alındı. Gubernakulum bağlanarak kesildi. Serbestleşen testise, saat yönünde 720 derece torsiyon uygulandı ve testis skrotuma yerleştirilerek 3/0 tek ipek sütün ile sabitlendi. İnguinal insizyon steril gaz ile kapatılıp, 1 saat beklendi (Resim 2).

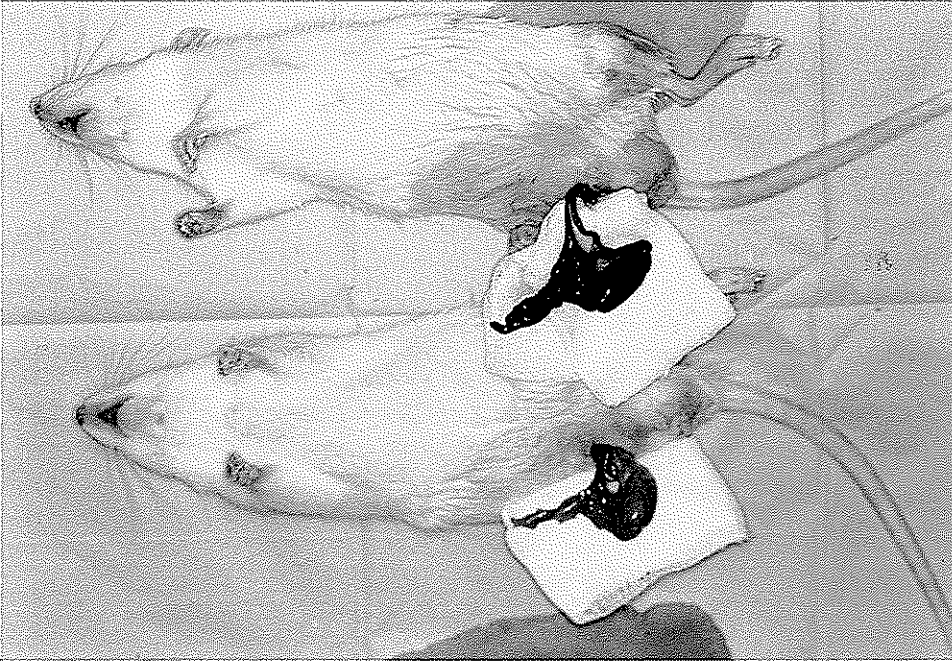


**Resim 2:** Operasyon öncesi görünüm

Bir saat sonunda skrotal sütür kesilerek testis dışarı alındı, makroskopik görünümü kaydedilerek detorsiyone edildi (Resim 3). Ilık serum fizyolojik ile yıkanarak skrotuma yerleştirildi ve 3/0 ipek ile skrotuma tespit edildi. Cild kesisi 2 adet 3/0 ipek ile tam kat kapatılarak, işlem sonlandırıldı (Resim 4).

Tedavi alan (2.ve 4.grup) ve almayan (3.grup) sıçanlarda 1 hafta beklendikten sonra sıçanlar eter anestezisi ile uyutulup, bilateral testisleri alındı ve tartıldı. Takiben sakrifiye edildi.

3.B ve 4.B gruplarındaki sıçanlar (7 ve 10 adet) ayrılarak fertilite çalışması için ayrı kafeslere yerleştirildi.



**Resim 3:** Detorsiyone testisin kontrol grubu ile kıyaslamalı görünümü

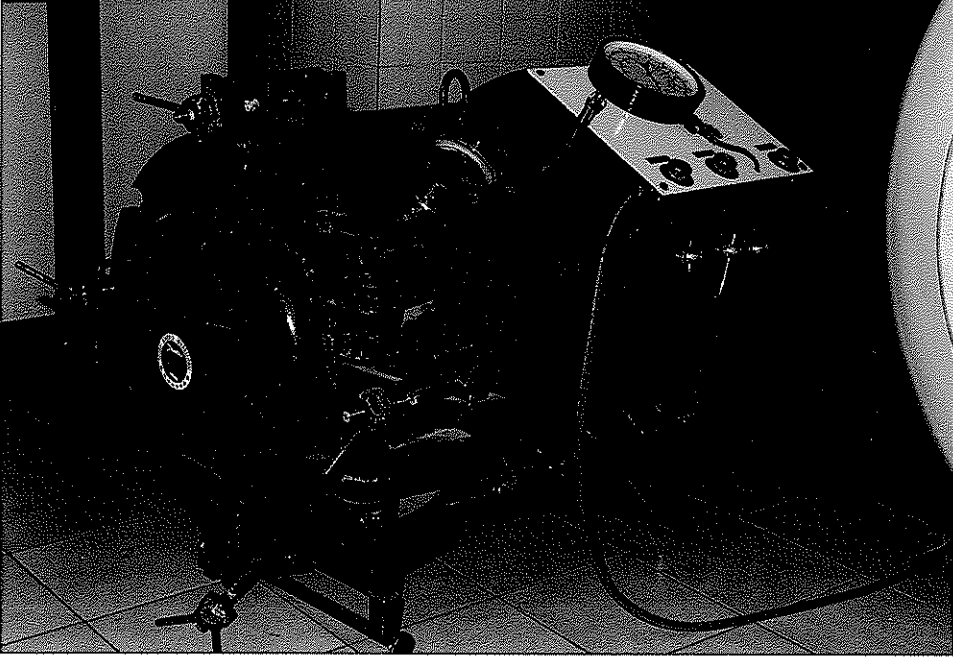


**Resim 4:** Operasyon sonrası görünüm

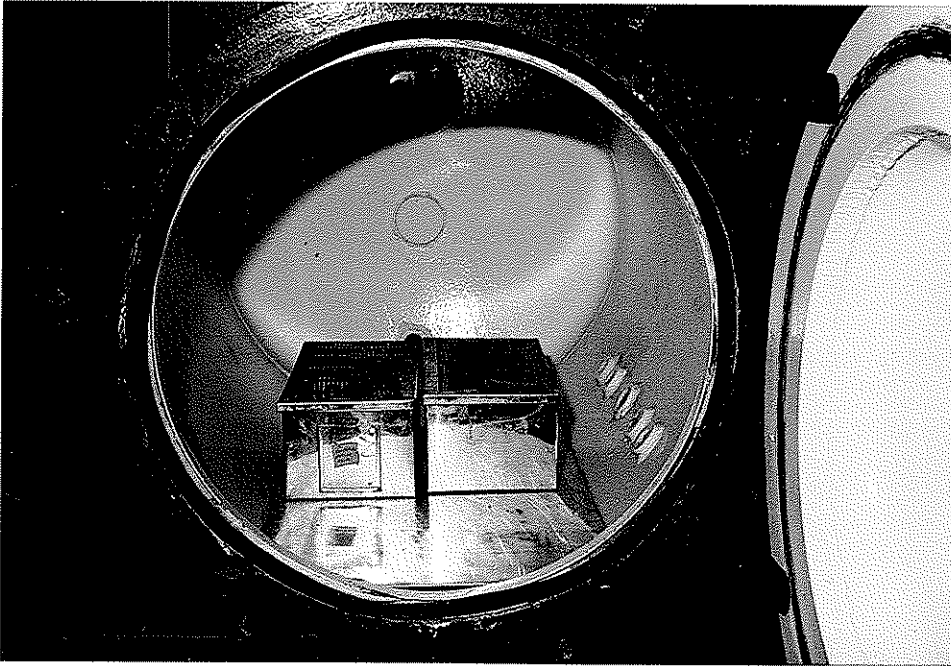


### **C. HİPERBARİK OKSİJEN UYGULANMASI**

2. ve 4.grup sıçan cerrahi girişimi hemen takiben İ.T.F. Deniz ve Sualtı Hekimliği Anabilim Dalı'nda bulunan tek bölmeli, 0.2 m<sup>3</sup> hacminde 10 bar çalışma basıncına sahip, yerli yapım deney basınç odasında HBO tedavisine alındı (Resim 5 ve 6).

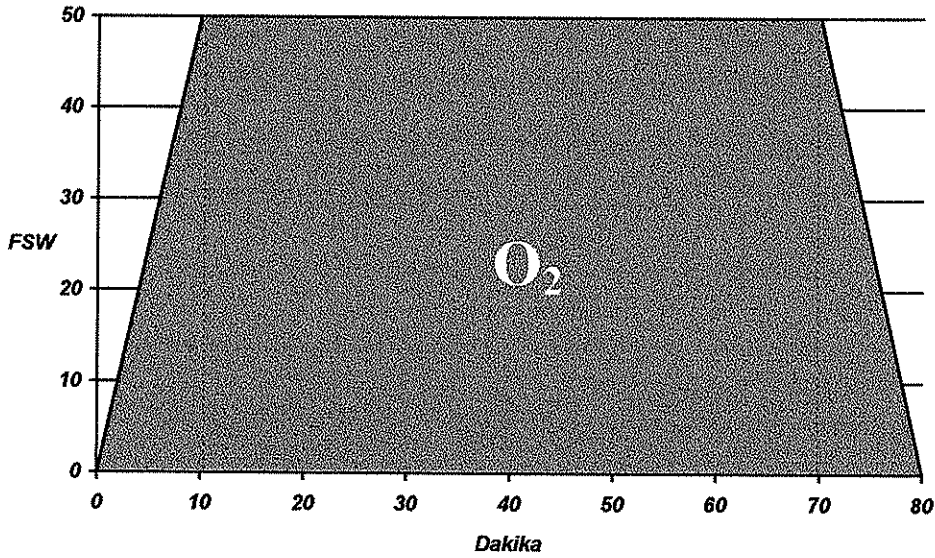


**Resim 5: Basınç odası**



**Resim 6: Basınç odası**

HBO uygulama protokolü şemada gösterilen biçim ve sürede uygulandı (Şekil 3). Uygulama boyunca basınç odası sürekli ventilasyon yolu ile %98'in üzerinde oksijen 2.4 atm'lik basınçla kullanıldı. Bu değerler bir oksijen ölçer ile deney boyunca denetlendi. Cerrahi izleyen iki günde 60 dakikalık 4'er seanstan 8 seans, 3.,4. ve 5. günlerde 60 dakikalık 3'er seanstan 12 seans, 6.ve 7. günlerde 60 dakikalık 2'şer seanstan 4 seans; toplam 24 seans olarak uygulandı.



Şekil 3: Hiperbarik oksijen tedavisi protokolü

#### D. TESTİKÜLER AĞIRLIKLAR

Deneklerin testisleri, deney süresi sonunda çıkartıldı. Kord ve epididim ayrılarak tartıldı. Testiküler tartı ile, akut dönemde ödem, staz ve enflamasyon nedeniyle oluşabilecek tartı artışının karşılaştırılması planlandı.

#### E. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

Biyokimyasal değerlendirme için lipid peroksidasyonu ürünü olan MDA (malonil dialdehit) düzeyi araştırıldı. Torsiyone ve kontralateral testislerden alınmış 0.5 x 0.5 x 0.5 cm ebatlarında dokular hemen serum fizyolojik ile yıkanıp, kurutma kağıdı üzerinde 10

saniye kurutulduktan sonra  $-86^{\circ}\text{C}$ 'de dondurularak saklandı. Tüm örneklemeler bittiğinde İ.T.F. Biyokimya Anabilim Dalı'nda Ohkawa ve arkadaşlarının bildirdiği yöntem (44) ile MDA düzeyleri belirlenerek sonuçlar değerlendirildi.

### **F. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME**

Çıkarılan testislerden MDA çalışması için biyopsi alındıktan sonra kalan testis dokusu longitudinal aksı boyunca kesilerek Boin solüsyonunda fikse edildi. Fiksasyonu takiben dokulardan İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda rutin yöntemlerle parafin bloklar hazırlandı. Bloklardan alınan 3-5 mikronluk kesitler hematoksilen-eozin ile boyandı ve ışık mikroskopunda değerlendirildi. Değerlendirmede Consentino'nun akut torsiyon skorlaması kullanılmıştır (15). Bu değerlendirmeye göre gredelenen her testise histopatolojik yapısına göre 1' den 4' e kadar puan verildi.

- Grade1= Germinal hücrelerin düzenli dizildiği normal testis dokusu ( 1 puan)
- Grade 2= Daha düzensiz ve nonkohezif hücreler içeren testis dokusu (2 puan)
- Grade 3= Düzensiz, dökülmüş epitel, piknotik nükleuslar, belli, belirsiz seminifer tubulus sınırları gösteren testis dokusu ( 3 puan)
- Grade 4= Germ hücrelerinde koagülasyon nekrozu görülen nekrotik testis dokusu (4 puan)

### **G. FERTİLİTE DEĞERLENDİRMESİ**

Değerlendirme için 3. ve 4. gruplardan ayrılmış erkek sıçanlar (Grup 3.B ve 4.B) ayrı kafeslere yerleştirildi. Bir haftalık iyileşme dönemini izleyen günde her erkek sıçanın yanına, bir aydır izole kafeslerde yaşamakta olan ve gebe olmadığı bilinen, erişkin 2'şer adet dişi sıçan yerleştirildi. 2 aylık bekleme döneminde, her haftanın ilk günü dişilere 0.5 cc'lik hasas pipetlerle vajinal lavaj yapılarak, ışık mikroskopunda sperm değerlendirmesi yapıldı. 2 aylık bekleme süresi boyunca gebe kalan dişilerin erkekleri fertil olarak değerlendirilip çalışma sonlandırıldı.

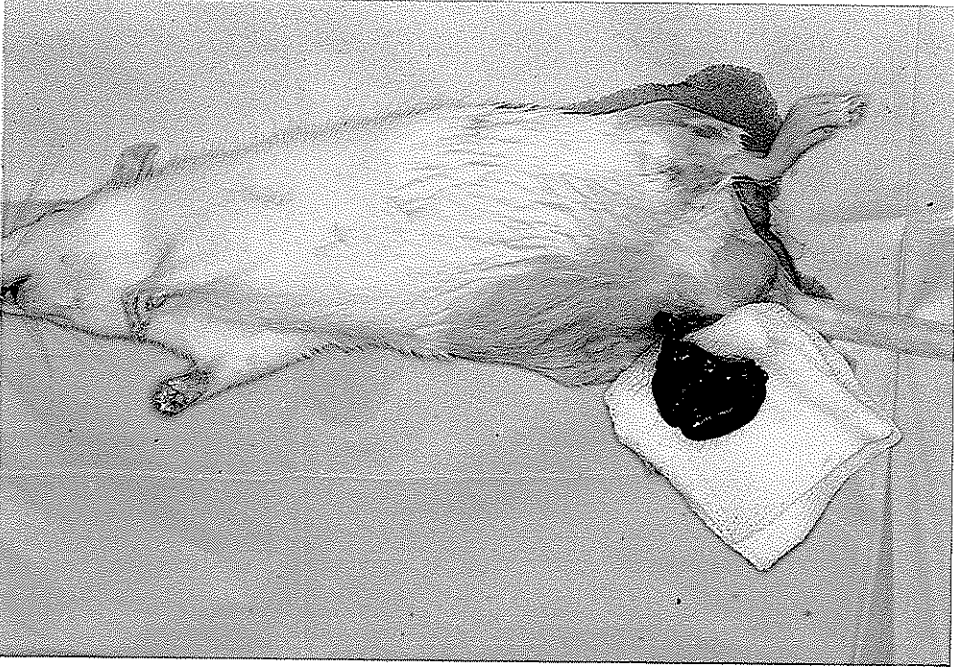
### **H. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME**

İstatistiksel değerlendirme için non-parametrik Kruskal-Wallis tek yönlü Anova yöntemi ve ki-kare testi kullanılmıştır.

## BULGULAR

Torsiyon işlemi uygulandıktan 1 saat geçtikten sonra, detorsiyon için vücut dışına alınan testislerin hepsinde iskeminin makroskopik sonuçları gözlemlendi. Bunlar ödem ve venöz staza bağlı renk değişikliği idi ( Resim 7,8). Detorsiyonu izleyen sürede serum fizyolojik ile yıkanan bütün testislerin renginde düzelme gözlemlendi .

1 haftalık uygulamanın sonunda Grup 3 ve 4' ten fertilité değerlendirilmesi için sırası ile 7 ve 10 adet sıçan ayrıldı. Diğer hayvanların bilateral testisleri çıkarılarak sakrifiye edildi.



**Resim 7:** Bir saatlik torsiyon uygulanmış testis



**Resim 8:** Normal testis ile deyorsiyone edilmiş testisin karşılaştırılması

### **TESTİS AĞIRLIKLARI**

Çıkarılan testisler elektronik terazide kord ve epididimleri ayrılarak tartıldı. Elde edilen sonuçlar gruplar içinde sağ ve sol testis olarak değerlendirildi. Ayrıca total vücut ağırlığı ile birlikte değerlendirilerek, hata payı azaltılmaya çalışıldı (Tablo 2,3,4,5,6).

Testiküler ağırlıklarda gruplar arasında, sağ ve sol testis ağırlıkları arasında anlamlı farklılık saptanmadı (Şekil 4).

**Tablo 2:** Grup 1 deneklerinin testis ve total vücut ağırlıkları

Denek No.	Sağ testis	Sol testis	Total vücut ağırlığı
1	1.20 g	1.15 g	95.00 g
2	1.45 g	1.35 g	112.05 g
3	1.20 g	1.35 g	106.40 g
4	1.50 g	1.40 g	114.85 g
5	1.30 g	1.20 g	104.55 g

**Tablo 3:** Grup 2 deneklerinin testis ve total vücut ağırlıkları

Denek No.	Sağ testis	Sol testis	Total vücut ağırlığı
1	1.25 g	1.25 g	128.70 g
2	1.55 g	1.50 g	131.20 g
3	1.40 g	1.35 g	122.95 g
4	1.15 g	1.20 g	103.85 g
5	1.30 g	1.40 g	114.15 g
6	1.30 g	1.30 g	108.55 g
7	1.35 g	1.45 g	117.20 g
8	1.20 g	1.15 g	104.05 g
9	1.35 g	1.55 g	98.35 g
10	1.60 g	1.65 g	131.60 g

**Tablo 4:** Grup 3A deneklerinin testis ve total vücut ağırlığı

Denek No.	Sağ testis	Sol testis	Total vücut ağırlığı
1	1.35 g	1.65 g	106.50 g
2	1.55 g	1.70 g	11.05 g
3*	2.25 g	1.85 g	120.45 g
4	1.50 g	1.45 g	131.05 g
5*	2.40 g	1.60 g	125.40 g
6	1.05 g	1.20 g	98.25 g
7	1.40 g	1.35 g	126.10 g
8	1.65 g	1.70 g	122.85 g
9	1.35 g	1.55 g	107.55 g
10	1.55 g	1.65 g	116.35 g
11	1.15 g	1.25 g	116.00 g

\* Orşit gelişmesi üzerine değerlendirmeye alınmadı.

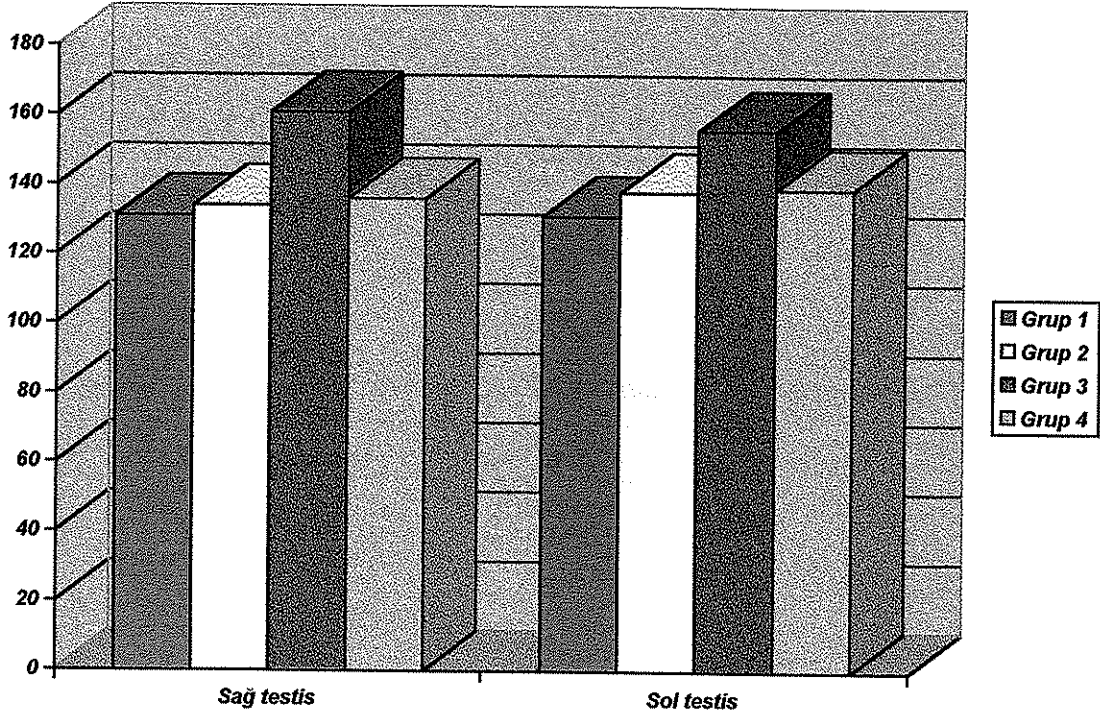
**Tablo 5:** Grup 4A deneklerinin testis ve total vücut ağırlığı

Denek No.	Sağ testis	Sol testis	Total vücut ağırlığı
1	1.20 g	1.35 g	115.15 g
2	1.30 g	1.70 g	122.20 g
3	1.45 g	1.45 g	128.30 g
4	1.30 g	1.55 g	113.65 g
5	1.15 g	1.05 g	94.75 g
6	1.25 g	1.25 g	116.95 g
7	1.10 g	1.05 g	96.30 g
8*	2.60 g	1.55 g	130.05 g
9	1.55 g	1.60 g	129.75 g
10	1.55 g	1.45 g	125.20 g
11	1.25 g	1.35 g	106.35 g
12	1.15 g	1.20 g	108.75 g
13	1.35 g	1.55 g	116.50 g
14	1.50 g	1.65 g	122.65 g
15	1.05 g	1.25 g	104.85 g
16	1.40 g	1.65 g	107.45 g
17	1.55 g	1.40 g	114.50 g
18	1.15 g	1.25 g	119.10 g
19	1.30 g	1.45 g	126.80 g
20	1.20 g	1.15 g	101.55 g
21	1.05 g	1.20 g	103.25 g

\* Orşit gelişmesi üzerine değerlendirmeye alınmadı.

**Tablo 6:** Tüm gruplardaki testislerin ortalama ağırlıkları

	Grup 1	Grup 2	Grup 3A	Grup 4A
Sağ testis	131 g	134 g	161 g	136 g
Sol testis	131 g	138 g	156 g	139 g



**Şekil 4:** Testis ağırlıklarının gruplara göre dağılımı

### ***MDA DEĞERLERİ***

Biyokimyasal olarak hesaplanan MDA değerleri gruplara, sağ ve sol testise göre değerlendirildi (Tablo7,8,9,10,11).

Kontrol grubu ile sham grubu arasında her iki testiste de hesaplamalar sonucunda anlamlı fark görülmezken ( $|R1 - R2| < 11.24$ ), kontrol grubu ile grup 3 ve grup 4 arasında istatistiksel olarak her iki testiste de anlamlı fark saptandı ( $|R1 - R2| > 11.24$ ).

Grup 3A ve 4A arasında ise ortalama değerler olarak belirgin fark görüldüyse de grup 3A daki standart sapma değerinin çok yüksek olması ile birlikte, istatistiksel olarak tedavi alan ve almayan gruplar arası fark gösterilemedi (Şekil 5).



**Tablo 7:** Grup 1 sağ ve sol testis MDA değerleri (pmol/mg doku)

Denek No.	Sağ testis	Sol testis
1	6.7078	7.1641
2	10.5944	9.8536
3	10.0337	10.0053
4	9.1731	9.7640
5	12.5474	11.9052

**Tablo 8:** Grup 2 sağ ve sol testis MDA değerleri (pmol/ mg doku)

Denek No.	Sağ testis	Sol testis
1	19.0381	10.6035
2	7.0168	7.0601
3	22.1197	9.7174
4	11.8616	10.5847
5	6.7804	4.5279
6	10.2864	8.2490
7	9.0370	6.7945
8	12.6301	11.5820
9	9.7740	10.5881
10	14.8922	10.5300

**Tablo 9:** Grup 3A sağ ve sol testis MDA değerleri (pmol/ mg doku)

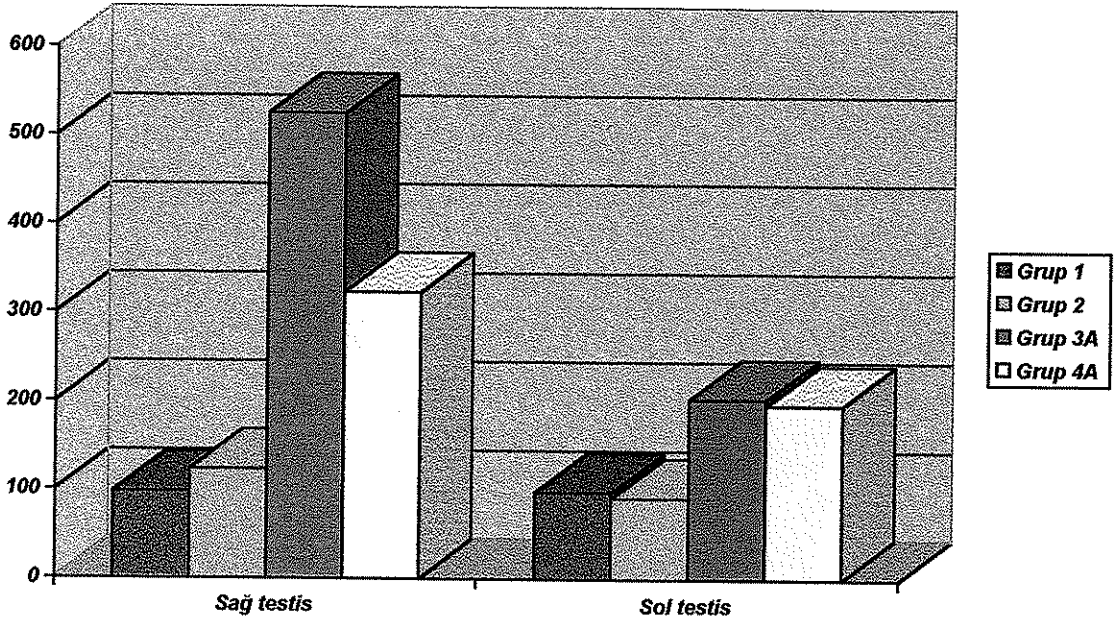
Denek No.	Sağ testis	Sol testis
1	46.4375	20.6230
2	29.2602	20.4939
3	64.2074	21.1772
4	68.2074	10.9000
5	33.0866	21.8894
6	107.1354	22.0098
7	59.4072	19.8760
8	21.0514	14.5600
9	44.0420	26.5470

**Tablo 10:** Grup 4A sağ ve sol testis MDA değerleri(pmol/ mg doku)

Denek No.	Sağ testis	Sol testis
1	28.7773	25.5913
2	18.3380	14.2903
3	54.6022	40.6950
4	18.4533	14.5166
5	64.8562	47.6803
6	52.5179	43.2903
7	55.9599	33.6410
8	44.5368	33.7521
9	41.8831	33.7562
10	24.4864	17.0762
11	26.8308	14.8350
12	28.0944	18.4370
13	26.2177	22.5441
14	25.2244	18.3960
15	33.2197	20.7668
16	21.5356	18.0022
17	27.4828	19.7605
18	12.0487	11.0340
19.	21.4945	16.7084
20.	20.8913	16.7869

**Tablo 11:** Gruplara göre sağ ve sol testis ortalama MDA değerleri (pmol/g doku)

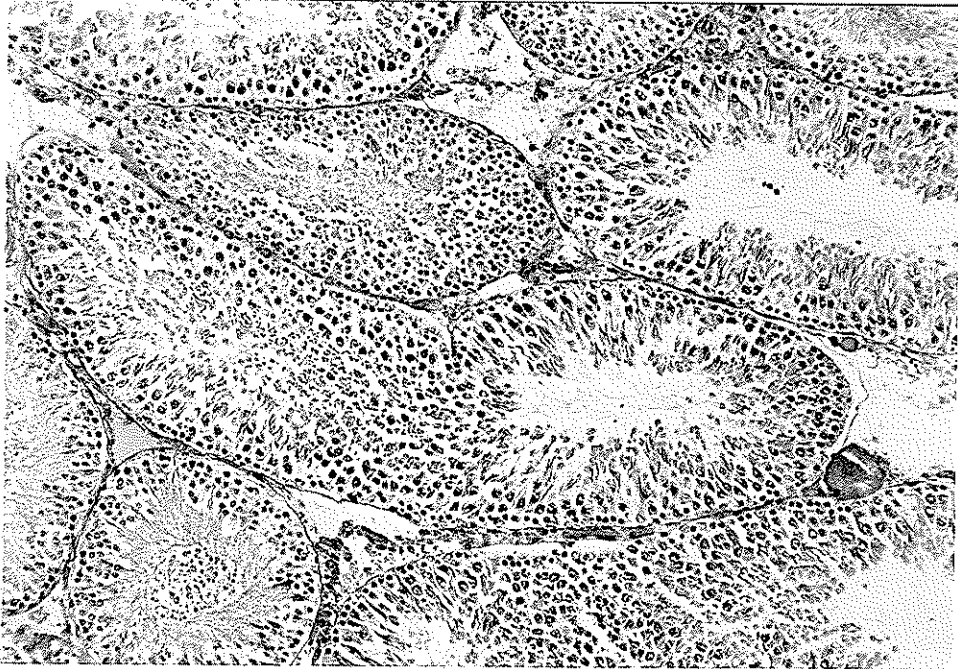
	Grup 1	Grup 2	Grup 3A	Grup 4A
Sağ testis	9.8	12.3	5.25	3.23
Sol testis	9.8	9.1	2.03	1.97



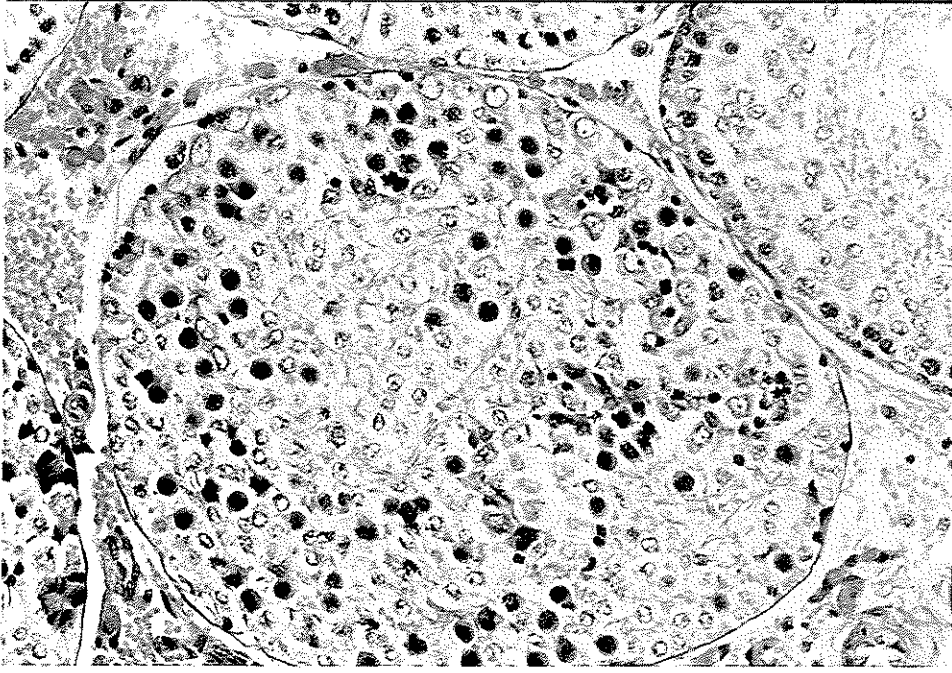
Şekil 5: Gruplara göre sağ ve sol testislerin ortalama MDA dağılımları

### **HİSTOPATOLOJİK SINIFLAMAYA GÖRE TESTİS HASARI**

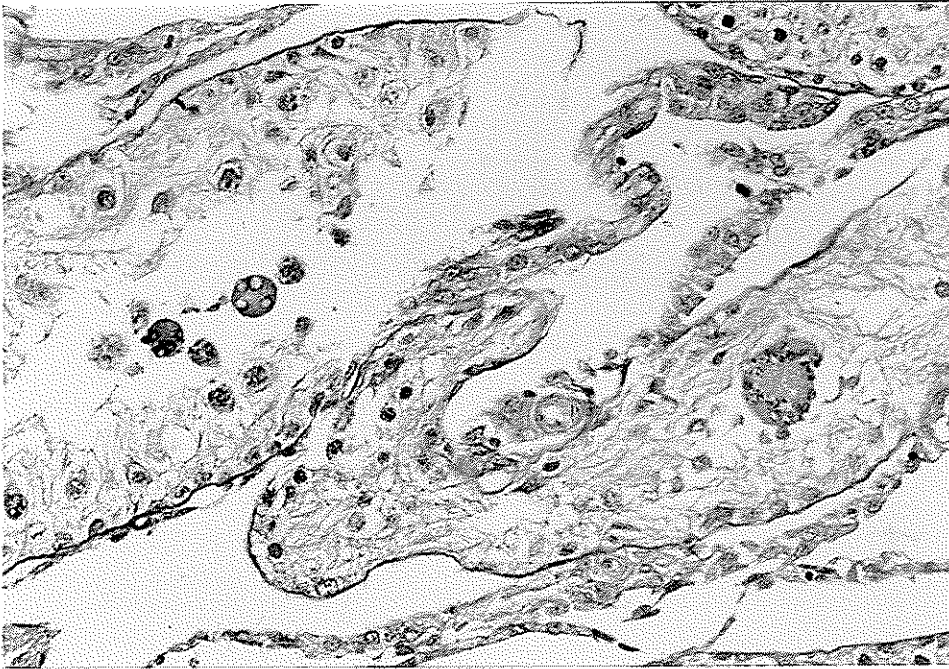
Consentino ve arkadaşlarının akut testiküler hasar skorlamasına uygun olarak değerlendirdiğimiz testisler dört grade altında toplandı (Resim 9,10,11,12).



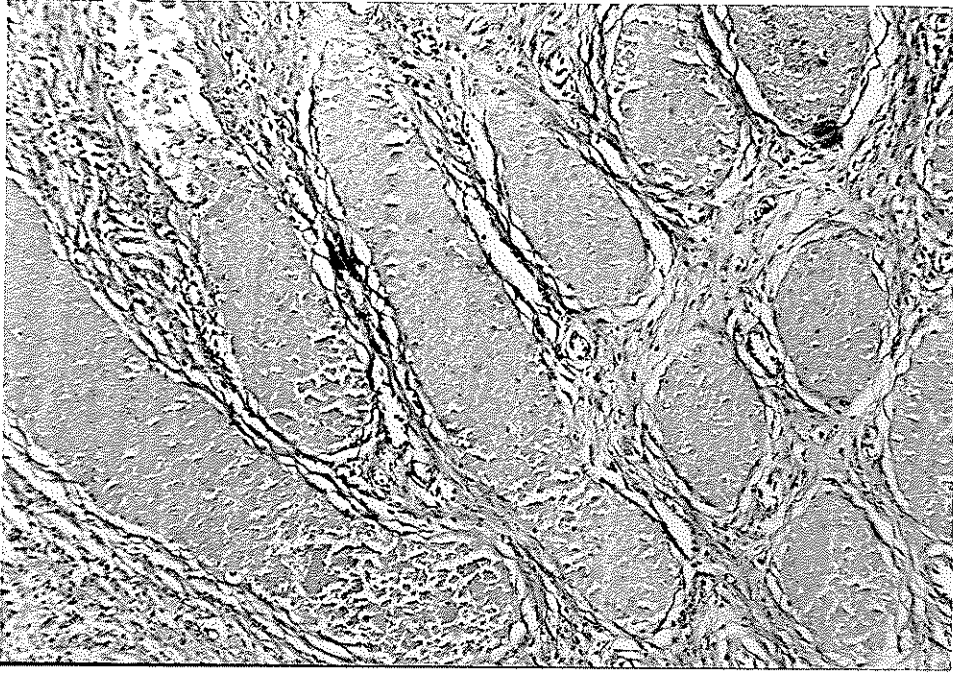
Resim 9: Grade 1 - Seminifer tubuluslarda germ hücrelerinin normal dizilimi



**Resim 10:** Grade 2 - Daha az düzenli, nonkohesif germ hücreleri



**Resim 11:** Grade 3 - Düzensiz deskuame germ hücreleri, lümende dev hücreler, tubulus sınırları daha az belirli.

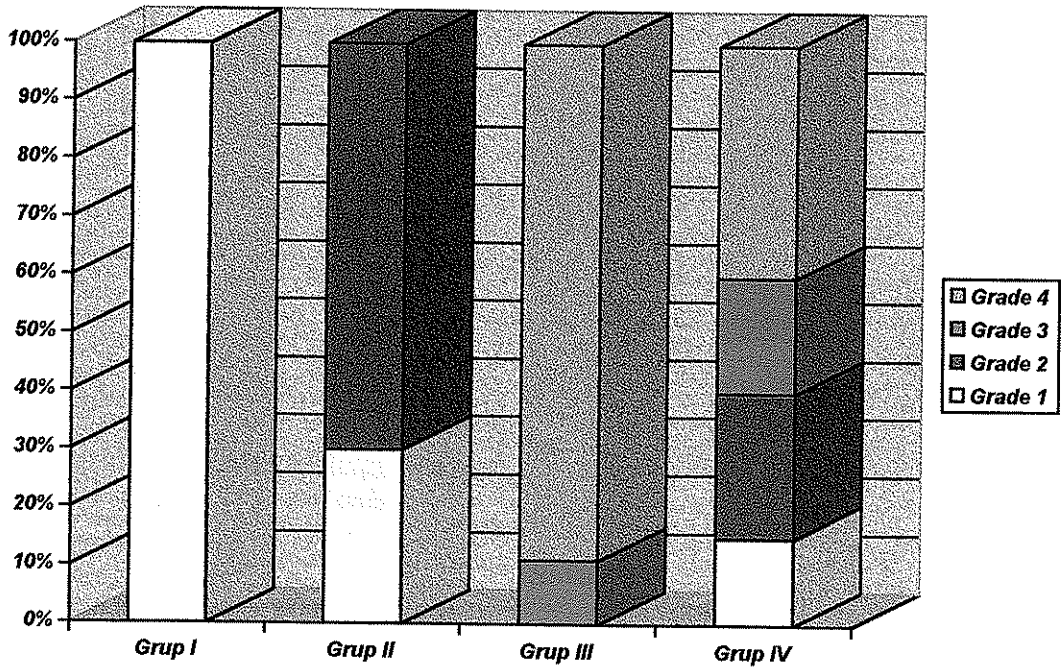


**Resim 12:** Grade 4 - Seminifer tubuluslarda yaygın nekroz

Sonuçlarda testisin minimal manipülasyonunun bile testiste histopatolojik değişikliğe yol açtığı görüldü. Ayrıca torsiyon uygulanmayan karşı taraf testislerde de özellikle tedavi verilmeyen grupta hasar saptandı. İstatistiksel olarak değerlendirilmek üzere gradeler skorlandı. Skorlamada her grade için bir puan kullanıldı. Yapılan hesaplamalar sonucu grup 3A ve grup 4A arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $|R1-R2| > 11.24$ ) (Tablo 12,13,14) (Şekil 6,7,8).

**Tablo 12:** Sağ testislerin gradelerine ve gruplara göre dağılımı

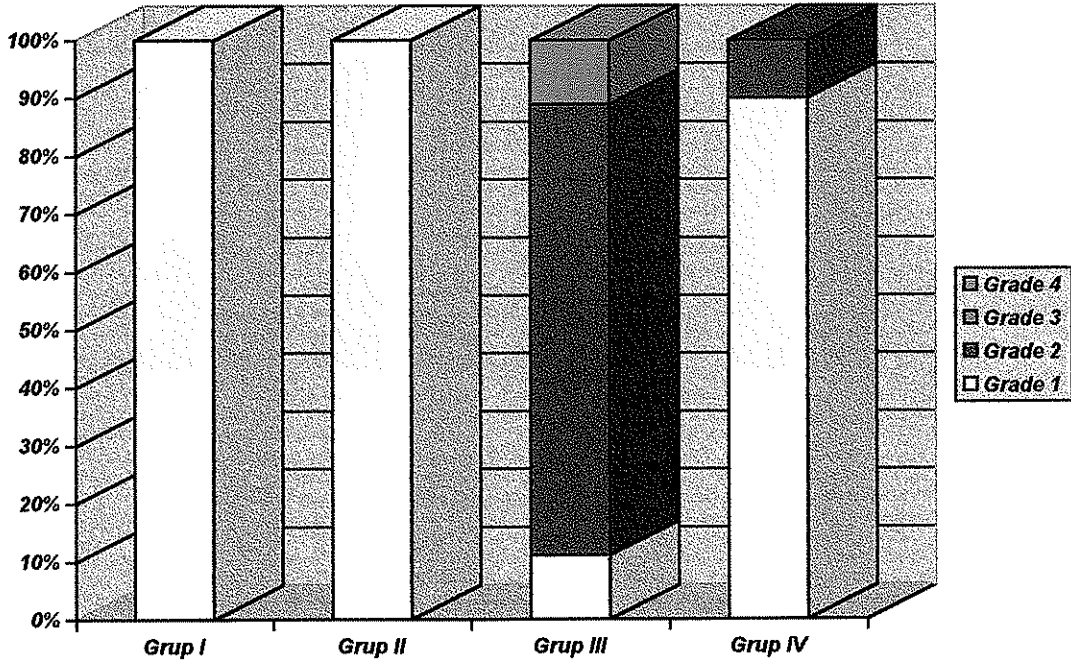
SAĞ testis	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4
Grup I (n=10)	10			
Grup II (n=10)	3	7		
Grup III (n=9)			1	8
Grup IV (n=20)	3	5	4	8
Toplam	16	12	5	16



**Şekil 6:** Sağ testis gradelemesinin gruplara göre dağılımı

**Tablo 13:** Sol testislerin gradelerine ve gruplara göre dağılımı

SOL testis	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4
Grup I (n=10)	10			
Grup II (n=10)	10			
Grup III (n=9)	1	7	1	
Grup IV (n=20)	18	2		
Toplam	39	9	1	

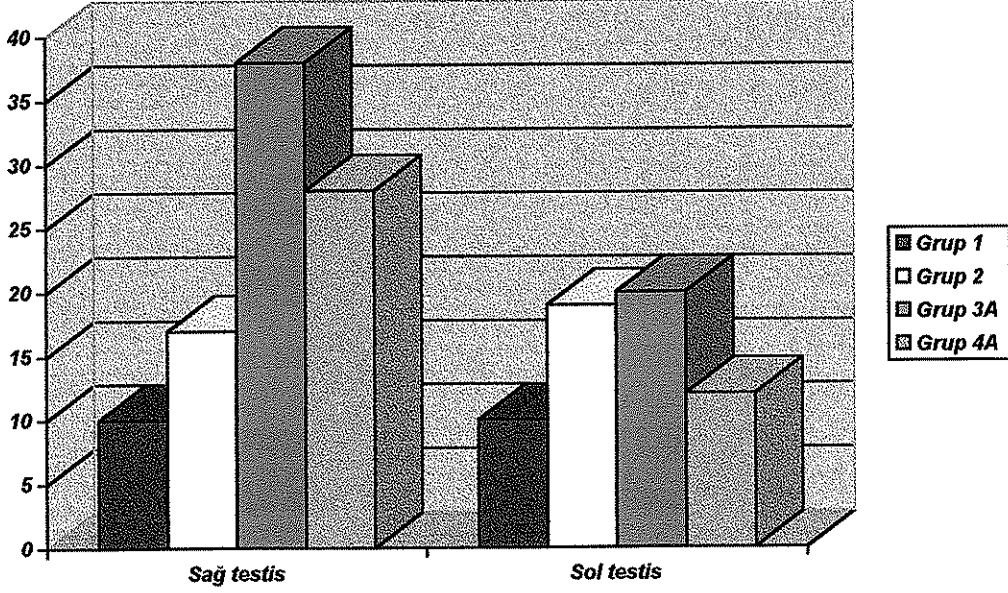


**Şekil 7:** Sol testis gradelemesinin gruplara göre dağılımı



**Tablo 14:** Testislerin puan ortalaması (1.00-4.00 puan)

	Grup 1	Grup 2	Grup 3 A	Grup 4 A
Sağ Testis	1.00	1.70	3.85	2.80
Sol Testis	1.00	1.90	2.05	1.25



**Şekil 8:** Testislerin histopatolojik puan ortalamaları

### ***FERTİLİTE DEĞERLENDİRİLMESİ***

Fertilite değerlendirmesi için ayrı ayrı kafeslere ikişer adet erişkin dişi sıçan ile yerleştirilen erkek sıçanlar 2 ay bekletildi. Bu süre içinde, her hafta bir kez randomize yapılan vajinal lavaj sonuçları değerlendirildi (Tablo 15,16).

Bu bulgular toplu olarak değerlendirildiğinde tedavi alan ve almayan gruplar arasında fertilite açısından anlamlı bir fark bulunmadı. Yalnız tedavi alan grup 4B deneklerinde gebeliğin, dolayısıyla doğumun daha erken gerçekleştiği gözlemlendi (Tablo 17).



**Tablo 15:** HBO almayan grupta lavajda sperm ve yavru değerlendirilmesi

	<i>1.hafta</i>	<i>2.hafta</i>	<i>3.hafta</i>	<i>4.hafta</i>	<i>5.hafta</i>	<i>6.hafta</i>	<i>7.hafta</i>	<i>8.hafta</i>
1-A dişi:	-	-	+	+	+	12 adet yavru doğurdu		
1-B dişi:	-	-	+	+	+	8 adet yavru doğurdu		
2-A dişi:	-	-	-	+	+	+	8 adet yavru	
2-B dişi:	-	-	?	+	+	6 adet yavru doğurdu		
3-A dişi:	-	-	+	+	+	10 adet yavru doğurdu		
3-B dişi:	-	-	+	+	12 adet yavru doğurdu			
4-A dişi:	-	-	-	?	?	-	-	-
4-B dişi:	-	?	-	-	-	-	-	-
5-A dişi:	-	-	+	+	+	11 adet yavru doğurdu		
5-B dişi:	-	?	-	-	-	-	-	-
6-A dişi:	-	+	+	+	12 adet yavru doğurdu			
6-B dişi:	-	?	+	+	11 adet yavru doğurdu			
7-A dişi:	-	-	Erkek sıçan öldü					
7-B dişi:	-	-	Erkek sıçan öldü					

**Tablo 16:** HBO alan grupta lavajda sperm ve yavru değerlendirilmesi

	1.hafta	2.hafta	3.hafta	4.hafta	5.hafta	6.hafta	7.hafta	8.hafta
1-A dişi:	+	+	+	11 adet yavru doğurdu.				
1-B dişi:	+	-	+	8 adet yavru doğurdu				
2-A dişi:	+	+	+	+	+	10 adet yavru doğurdu		
2-B dişi:	-	-	-	?	-	-	-	
3-A dişi:	+	+	+	+	12 adet yavru doğurdu			
3-B dişi:	+	+	+	11 adet yavru doğurdu				
4-A dişi:	+	-	-	+	+	6 adet yavru doğurdu		
4-B dişi:	-	-	-	+	+	+	4 adet yavru	
5-A dişi:	+	+	+	10 adet yavru doğurdu				
5-B dişi:	+	+	+	12 adet yavru doğurdu				
6-A dişi:	?	-	+	+	+	7 adet yavru doğurdu		
7-B dişi:	-	-	+	+	12 adet yavru doğurdu			
8-A dişi:	-	+	+	+	9 adet yavru doğurdu			
8-B dişi:	-	+	+	10 adet yavru doğurdu				
9-A dişi:	+	+	13 adet yavru doğurdu					
9-B dişi:	+	+	+	10 adet yavru doğurdu				
10-A dişi:	+	-	+	+	11 adet yavru doğurdu			
10-B dişi:	-	+	+	8 adet yavru doğurdu				

**Tablo 17:** Gruplara gore yavru sayısı, yavru baba oranı ve doğum haftası

	Yavru sayısı	Yavru/ Baba	Doğum haftası
Grup 3B	90	15.0	6.29
Grup 4B	164	16.4	4.71

## TARTIŞMA

Testis torsiyonu intrauterin dönemden erişkin döneme kadar görülebilen, tamı, tedavi ve sonuçları tartışmalı bir patolojidir. Torsiyon akut olarak testisin longitudinal aksı boyunca gerçekleşir. Torsiyon boyunca testisin ana kan akımını sağlayan testiküler arter, vas deferens ve venöz dönüşü gerçekleştiren testiküler venlerde tama yakın oklüzyon oluşur. Hayvan modellerinde oluşturulan testiküler torsiyonlarda, değişik yöntemlerle ölçülen kan akımları farklı sonuçlar ortaya koymuştur. Doppler ultrasonografi, sintigrafi ve hatta MRI ile yapılan perfüzyon ölçümlerinde farklı derecede iskemi saptanmıştır. Ayrıca oluşturulan deneysel modellerde torsiyon, yarım saat, bir saat, iki saat, hatta altı saat gibi değişik sürelerde gerçekleştirilmiştir. Literatürde standart bir model olmaması ve bildirilen iskemik hasar sonuçlarının farklılık göstermesi nedeniyle (3,16,63) deneysel çalışmamızın başlangıcında amacımıza uygun, standart bir torsiyon modeli yaratma ihtiyacını duyduk. Amacımız, torsiyone testislerde herhangi bir uygulama gerçekleştirmeden önce, kabul edilebilir düzeyde iskemi yaratmak idi. Aynı zamanda, geri dönüşümsüz nekroz gerçekleşmeden torsiyonun sonlandırılması da gerekiyordu. Bir saatlik torsiyon grubunda, bir hafta sonra yapılan değerlendirmede anlamlı hasar saptanmış, aynı zamanda ağır nekroz görülmemesi nedeniyle bu grup ile çalışmanın yürütülmesine karar verilmiştir.

Testis torsiyonu sırasında ilk basamak hasar iskemi ve doku hipoksisine bağlı olarak gelişmekte ve bu süreç içinde iskemik dokularda akut dönemde görülen vasküler yanıt gerçekleşmekte, damar geçirgenliğinin giderek arttığı, buna paralel olarak ekstrasvazasyon ve ödem belirginleşmektedir. Artan ödem nedeniyle dolaşımı tamamen bozulan ve hipoksemik kalan dokuda oksidatif metabolizma, yavaş yavaş yerini hipoksik metabolizmaya bırakmaya başlar. Tüklenen ATP depoları hücresel enerji açığı ortaya çıkarır ve asidoz görülür. Bu basamağa kadar gerçekleşen olaylar testiste hasar yaratmaktadır. Bu hasar, iskeminin oksidatif metabolizmaya bağımlı her dokuda saptanan sonucudur. Asıl tartışma ve ilgi konusu olan, torsiyonu takiben tedavi amacı ile uygulanan detorsiyon sonrasında oluşan hasardır. Yapılan çeşitli çalışmalarda dokularda reperfüzyon süresi ile doğru orantılı hasar saptanmıştır. Bu dokular plastik cerrahide kullanılan cilt ve kas flepleri, transplantasyon için

kullanılan donör organlar ya da amputasyonu takiben yapılan rekonstrüksiyonlarda kullanılan organlardır (13,25,36,38,41,47,58). Bu organlarda saptanan reperfüzyon hasarı, testis torsiyonu ile çalışmalar yapan gruplarca da değerlendirilmiştir. Testis torsiyonunda kısa ve uzun dönemde saptanan hasar üzerinde reperfüzyonun payını inceleyen ve bunu çeşitli ajanlarla azaltmayı amaçlayan araştırmalar yapılmıştır. Sonuçta testiküler hasar üzerinde reperfüzyonun payı olduğu, bunun reperfüzyon süresi ile doğru orantılı olarak arttığı gösterilmiştir. Ama diğer reperfüzyon modellerinde olumlu yanıtlar veren medikasyonların (ksantin oksidaz inhibitörleri, antiinflamatuvar ajanlar, immünoterapi, "scavenger" enzim uygulamaları) testis torsiyonu modelinde belirgin fark ve olumlu etki yaratmadıkları görülmüştür (1,3,11,15,16,27). Bu sonuçlar, araştırmacıları testis kan akımı, metabolizması ve iskemi yanıtını yeniden değerlendirmeye yönlendirmiştir.

Testis, postiskemik hiperemi kapasitesi düşük bir organ ve "first-pass" oksijen emilimi çok yüksek bir doku olduğundan, testisteki reperfüzyon hasarının diğer organlardakinden farklı gerçekleştiği düşüncesi ağırlık kazanmaktadır. Testisin kollateral dolaşımı akut durumlarda minimaldir ve end organ özelliği vardır. Bu nedenle testiküler reperfüzyon hasarına sistemik arteriel yolla etki edecek ajanların uygulanmasının sonuçları değiştirmedeği görülmektedir (11).

Hiperbarik oksijen tedavisi bugüne kadar güvenle değişik hastalık gruplarında kullanılmış, henüz etki alanının sınırları tam belirlenmemiş bir tedavi yöntemidir. Son yıllarda iskemi-reperfüzyon hasarı modellerinde, HBO'in tek başına ya da diğer ajanlarla kombine edilerek kullanıldığı deneysel çalışmalarda başarılı sonuçlar elde edilmiştir (21,26,54,58,64,65,68). Bu çalışmalardan, HBO tedavisinin iskemi ve reperfüzyon hasarında henüz tam açıklanamayan mekanizmalarla, hasarı belirgin olarak azalttığı sonucu çıkmaktadır. İskemi ve reperfüzyon hasarı mekanizmaları ile ilgili bilgilerimiz arttıkça, HBO tedavisinin etki yolu da aydınlanmaktadır. Etki mekanizmaları olarak şunlar belirlenmiştir: iskemik dokularda mikrosirkülasyonun artması (66), kapiller basıncın düşerek doku ödeminin azalması (64,67), tedavi alan gruplarda damar endoteline yapışmış lökositlerde belirgin azalma olması, SOD enziminde artma saptanması lipid peroksidasyonunda azalma görülmesi, ksantin oksidazın sıçan karaciğerinde HBO ile çabucak inaktive edildiğinin gösterilmesi (56). Yapılmış olan histolojik çalışmalarda HBO tedavisinin distal perfüzyonu arttırarak, mikrosirkülasyonu korumakta olduğu gösterilmiştir. HBO'nin etkisi sadece vasküler değildir. Mikrovasküler endoteli, aktive olmuş nötrofillerin yıkıcı etkisinden

koruduğu savunulmaktadır. İskemi sırasında ya da hemen sonrasında verilen HBO l6kosit aktivasyonunu ve yapışmasını engellemektedir. Bu mekanizma ile ilgili en son yaklaşım HBO'nin "beta-2 integrin (CD 18)- induced" n6trofil yapışmasını engellediğinin g6sterildiği 7alışmada Thom ve arkadaşları tarafından ortaya atılmıştır (60). Ek olarak HBO y6ksek enerji fosfatlarını (G6PD) koruyarak postiskemik fazda aerobik metabolizmayı uyardığı, oksidatif fosforilasyon 6zerinden ATP ve fosfokreatinin sentezini arttırdığı, b6ylece h6cre sel b6t6nl6đ6n sağlanmasını kolaylaştırdığı g6sterilmiştir (29). HBO tedavisi hem sistemik dolaşım ile etkilerini g6steren, hem de lokal etkileri ile iskemi reperf6zyon hasarını azaltan bir uygulamadır.

Bu 6n bilgiler eşliğinde testis torsiyonunda g6zlenen ve g6n ge7tik7e diğer dokulardan farklı olduğu konusunda bulgular saptanan reperf6zyon hasarında, HBO tedavisinin etkisini araştırmak amacı ile bu 7alışma d6zenlendi.

Değerlendirmede kullanılan parametreler testik6ler ağırlık, testik6ler dokuda malonildialdehit d6zeyi, testislerin histopatolojik olarak değerlendirilmesi ve skorlanması ile fertilite olmuştur. Testik6ler ağırlık, iskemi sonrası 6dem ve akut inflamasyon nedeniyle değişebileceği i7in bir parametre olarak se7ilmiştir. MDA 6l76m6 reperf6zyon hasarını lipid peroksidasyon 6r6nleri ile değerlendirmek amacıyla bir parametre olarak alınmıştır. Histopatolojik değerlendirmede mikroskopik hasarlar karşılaştırılırken, fertilite ile uzun d6nemdeki testik6ler fonksiyonun değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

7alışmada birinci olarak değerlendirilen parametre, t6m gruplarda yapılan testik6ler ağırlık 6l76m6d6r. Yapılan 6l76mlerin sonu7ları değerlendirildiğinde, torsiyon uygulanan ve tedavi verilmeyen testik6ler ağırlıkların ortalama değerler olarak, diğer gruplardan minimal y6ksek olduğu g6r6lm6řt6r. Ama gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Bu sonu7, torsiyon sırasında oluşan hasar sonucunda testik6ler ağırlıkta anlamlı değişiklik olmadığını desteklemektedir. Ayrıca sı7anların total v6cut ağırlıkları değerlendirildiğinde, gruplar arasında eşit dağılım olduğu ve sonucu etkileyebilecek hata payının anlamlı olmadığı g6r6lm6řt6r.

İkinci olarak değerlendirilen parametre i7in torsiyon uygulanan testik6ler dokularda malonildialdehit (MDA) d6zeyleri 6l76lerek, lipid peroksidasyonu yolu (35) ile reperf6zyon hasarı 6l76m6 yapılmıştır. Sham grubu ve kontrol grubu, torsiyon grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Bu fark torsiyon modeli ile testislerde iskemi reperf6zyon hasarının yaratıldığının kanıtıdır. Torsiyon uygulanan

gruplarda tedavi verilen ve verilmeyen gruplar arasında ise ortalama değer olarak belirgin fark saptanırken, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu çelişki HBO tedavisinin reperfüzyon hasarını sınırlı olarak etkilediği ile açıklanabilir.

Üçüncü olarak değerlendirilen parametre histopatolojik incelemedir. Histopatolojik değerlendirme, tüm gruplardaki testiküler dokular, stromal hücrelerin ve germinal hücrelerin mikroskopik olarak dizilişleri, tübül yapısı ve bütünlüğü dikkate alınarak yapıldı. Cosentino ve arkadaşlarının (15) akut testiküler skorlamasına göre gradelenen testislere daha sonra her grade için 1 puan verildi. Histopatolojik skorlama dikkate alınarak yapılan istatistiksel değerlendirmede sham grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark gösterilemezken, kontrol grubu ile torsiyon uygulanan gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur. Bu da torsiyon modelinin histopatolojik değerlendirmede başarılı olduğunu göstermektedir. Ayrıca torsiyon gruplarında tedavi verilen ve verilmeyen grupların sonuçları karşılaştırıldığında iki grup arasında histopatolojik olarak anlamlı fark mevcuttur. Bu bulgu HBO'in torsiyon nedeniyle oluşan hasarı belirgin olarak azalttığını göstermektedir.

Dördüncü olarak kullanılan parametre ise yalnızca torsiyon uygulanmış sıçanlar arasında yapılan fertilitte değerlendirilmesi olmuştur. Grup 3B ve grup 4B ile aynı kafeste bekletilen dişi sıçanların vajinal "smear"leri değerlendirildiğinde, tedavi uygulanan grupta daha erken dönemde çiftleşmenin gerçekleştiği görülmüştür. Ama sonuç olarak gruplar arasında doğurganlık karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmamıştır. Bu sonuç tek taraflı testis torsiyonunun prepübertal sıçanlarda fertilitteyi anlamlı olarak etkilemediğini göstermektedir

Karşı taraf testisleri değerlendirildiğinde de aynı özellikte sonuçlar elde edilmiştir. Karşı taraf testisleri sham ve kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında histopatolojik olarak yalnızca tedavi uygulanmamış torsiyon-detorsiyon grubunda istatistiksel olarak anlamlı hasar saptanmış, HBO tedavisi alan grup karşı taraf testisinde hasar görülmemiştir. Ama biyokimyasal değerlendirmeye bakıldığında hem tedavi alan hem de tedavi almayan karşı taraf testislerinde anlamlı reperfüzyon hasarı saptanmış, iki grup karşılaştırıldığında ise anlamlı fark görülmemiştir. Bu bulgu da aynı ilk inceleme gibi, HBO tedavisinin tek başına reperfüzyon hasarına sınırlı etkisi olurken, global hasarı karşı taraf testiste de azalttığını göstermektedir. HBO tedavisinin klinikte uygulanabilirliğinin sorgulamasında, yanıtı aranan en önemli soru da budur, çünkü testis torsiyonu vakalarında son yıllarda asıl ilgi alanını karşı taraf testisi ve infertilite sorunu oluşturmaktadır.

Testis torsiyonu sırasında karşı taraf testiste ortaya çıkan hasarın açıklanmasında da izole reperfüzyon hasarına ek olarak, transskrotal geçen inflamatuvar mediatörler sorumlu tutulabilir. Bu mediatörler, vazoaktif ajanlar olup, "thromboxane", "serotonin" ve "leukotrien"lerdir (25). Ayrıca iskemiye bağlı aktiflenen alternatif kompleman sistemi ile nötrofil NADPH oksidazının "platelet activating factor" (PAF) artışına neden olduğu saptanmıştır (36). Kubes ve arkadaşları PAF'in iskemi reperfüzyon hasarından büyük ölçüde sorumlu olduğunu, başlattığı inflamator zincirle, sitokinleri, araşidonik asit metabolitlerini ve endotel hücreleri vazoaktif ürünlerini açığa çıkardığını savunmuşlardır (32).

Torsiyonu takip eden dönemde testiküler eksokrin fonksiyonlar ilk olarak Krarup ve arkadaşları tarafından 1978'de icelenmiştir. İlk çalışmada unilateral testis torsiyonu nedeniyle opere olmuş 19 hastanın sperm sayısı ve morfolojisi değerlendirilmiş, sperm sayıları hastalar arası farklılıklar gösterse de çoğu subfertilite sınırında bulunmuştur. Asıl önemli ve çarpıcı nokta sperm sayıları normale yakın olan hastalarda bile sperm morfolojisinin çok bozuk bulunması olmuştur (31). Daha sonra geniş gruplarda yapılan çalışmalarda elde edilen sayılara göre unilateral testis torsiyonu nedeniyle opere olmuş hastaların %37'sinde 20 milyon/ml 'nin altında düşük sperm sayısı, %56'sında çok az (%40'ın altında) motil sperm ve %53'de anormal şekilli spermatozoa saptanmıştır (4). Bütün bu sonuçlar otoimmün hasar ile açıklanmaya çalışılmıştır.

Puri ve arkadaşları bu yoruma karşı çıktıklarından, yaptıkları bir klinik çalışmada prepübertal hastalardan oluşmuş bir grup değerlendirilmiştir. Grupta testis torsiyonunu takiben yapılan eksplorasyonlarda ağır nekroz saptanan, ama minimal de olsa testiküler fonksiyon göstermesi umuduyla skrotumda bırakılan, testisler puberte çağından sonra muayene edilmiş ve hastalar fertilité açısından değerlendirilmiştir. Sonuçlarda detorsiyone testislerde ağır atrofi görülmüş, sperm incelemelerinde ilginç olarak normal değerler saptanmış ve evli olan hastaların hepsinin baba olabildiği kaydedilmiştir (50). Sonuçta prepübertal testis torsiyonunun puberte sonrası torsiyondan farklı olarak kontralateral testis üzerinde otoimmün yol ile hasar yaratmadığı fikri savunulmuştur.

Anderson ve arkadaşları ise yaptıkları klinik çalışmalarda testiküler torsiyona yatkın testislerde bilateral olan anormal prosesus vaginalis nedeniyle bilateral testislerde daha olay öncesinden spermatogenezde kusur olduğunu savunmuşlardır. Testiküler torsiyonu izleyen dönemde anti-sperm antikor saptanmadan görülen oligoazospermiyi anatomik defekte bağlı, fonksiyonel kusurla açıklamışlardır (4). Otopsi serilerinde yapılan çalışmalarda %75 testis

normal bulunurken, %13 otopside "intermediate" olarak değerlendirilen deformite, %12 testiste ise anatomik olarak "bell-clapper" deformitesi saptanmıştır. "Bell-clapper" deformiteli testislerin %80-85'inde testis torsiyonu gerçekleştiği bilgisi göz önüne alınırsa anatomik defektin oldukça yaygın olduğu dikkat çekicidir (14).

Endokrin değerlendirmelerde ise Anderson ve arkadaşları hipotalamo-gonadal aksın bozulduğunu gösteren, FSH ve LH bazal değerlerinde artış ve GNRH 'a abartılı FSH ve LH yanıtı saptamıştır. Testosteron düzeyleri ise torsiyon öncesi ve sonrası dahil olmak üzere normal değerler içinde kalmış, infertilite nedeni olabilecek belirgin dengesizlik gösterilememiştir (6).

Çalışmada, her ne kadar testis torsiyonlu grupta HBO tedavisi uygulanmamış denek hayvanlarının karşı taraf testislerde histopatolojik anlamlı hasar saptanmışsa da, fertilité çalışmasında gruplar arasında anlamlı bir fark gösterilememiştir. Tedavi uygulanan ve uygulanmayan gruplarda benzer oranda babalık, dişilerde de yakın oranlarda doğurganlık saptanmıştır. Bu sonuçlar Puri ve arkadaşlarının prepübertal torsiyon sonuçlarını desteklemektedir.

Bu çalışma ile testis torsiyonuna bağlı, aynı taraf ve karşı taraf testiste oluşan hasarın mekanizması, HBO tedavisinden etkilenme koşulları ile yeniden değerlendirildiğinde görülen, reperfüzyonun hem aynı taraf hem de karşı taraf testislerinde kaçınılmaz olarak gerçekleştiği ve lipid peroksidasyonunun olduğuudur. En önemli ve istatistiksel olarak anlamlı olan fark ise nihai hasarın hem aynı tarafta, hem de karşı tarafta HBO tedavisi ile azaldığıdır.

Bu sonuçlar ışığında HBO tedavisinin cerrahi izleyen dönemde kalıcı hasarı, özellikle de karşı taraf sağlıklı testiste detorsiyon sonrası gelişen hasarı azaltmada klinikte yardımcı tedavi olarak uygulanmasının yararlı olacağı görülmektedir.



## SONUÇLAR

Bu çalışmada elde edilen bulgular istatistiksel olarak değerlendirildikten sonra sonuçlar alttaki ana başlıklar altında toplandı.

1. Sıçanlarda 1 saat süre ile uygulanan testis torsiyonunun 1 hafta sonrasında yapılan değerlendirmede testiküler ağırlıklar arasında fark saptanmamıştır. Subakut değişikliklerin ağırlık üzerinde etkili olmamıştır.
2. MDA değerleri testis torsiyonu uygulanan gruplarda kontrol gruplarına oranla istatistiksel olarak anlamlı yükselmiştir. Hem torsiyon uygulanan testislerde hem de kontralateral testislerdeki bu anlamlı farklılık MDA'nın iskemi reperfüzyon hasarının iyi bir göstegesi olduğunu ortaya koyar. Ayrıca kontralateral testiste saptanan belirgin artış kontralateral hasarı desteklemekte ve patolojik bulguları kanıtlamaktadır.
3. HBO tedavisi verilen ve verilmeyen gruplar karşılaştırıldığında MDA ortalama değerlerinde belirgin fark saptanmışsa da, hem torsiyone hem de kontralateral testis grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gösterilememiştir. Bu da HBO tedavisinin, reperfüzyon hasarına karşı olan etkisine ilave başka yollar ile testiküler hasarı azalttığını, aslında yalnızca reperfüzyon hasarını belirgin olarak azaltmadığını göstermektedir.
4. HBO tedavisi verilen ve verilmeyen, torsiyon uygulanmış olan testislerin patolojik incelemesinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttur. Bu farklılık HBO tedavisinin testis torsiyonunu izleyen dönemde testiste ortaya çıkan hasarı azalttığını göstermektedir.
5. Tek taraflı testis torsiyonu uygulanan deney hayvanlarının karşı taraf testisi patolojik olarak incelendiğinde, karşı testiste istatistiksel olarak anlamlı hasar saptanmıştır. Bu da prepubertal sıçanlarda bir saatlik tek taraflı testis torsiyonunun kontralateral testiste hasar yarattığını göstermektedir.

6. HBO tedavisi verilen ve verilmeyen deneklerin torsiyon uygulanmayan taraftaki testisleri patolojik olarak incelendiğinde gruplar arasında daha da belirgin istatistiksel fark görülmektedir. HBO tedavisinin karşı taraf testis üzerinde ortaya çıkan hasarı azalttığını göstermektedir.
7. Fertilité çalışması yapılan gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Yalnız HBO tedavisi verilen grupta tedavi verilmeyen gruba oranla daha erken dönemde gebelik görülmüştür. Bu sonuçlar da, sıçan modelinde tek taraflı testis torsiyonunun fertilitéyi etkilemediğini göstermiştir.

## KAYNAKÇA

1. Akgür, F.: Ipsilateral and contralateral biochemical changes after unilateral testicular torsion and detorsion. Urol Res., 24: 595, 1994
2. Akgür, F.: Reperfusion injury after detorsion of unilateral testicular torsion. Urol Res. 21: 395, 1993
3. Akgür, F.: The effect of allopurinol pretreatment before detorting testicular torsion. J. Urol 151: 1715-1717, 1994
4. Anderson, J.B.: Fertility after torsion of the spermatic cord., Br J Urol, 65: 225-230 1990
5. Anderson, J.B.: The fate of the human testes following unilateral torsion of the spermatic cord. Br J. Urol, 58: 698-704, 1986
6. Anderson, M.: Semen quality and endocrine parameters after acute testicular torsion. J. Urol 147: 1545-1550, 1992
7. Arbi, H.: Catalase, Methods of enzymatic analysis. New York/ London, Academic, 1974, p 618
8. Ashcraft, Holder: Pediatric Surgery, 1993, Chapter 50
9. Bartsch, G.: Testicular torsion: Late results with special regard to fertility and endocrine function. J. Urol. 124: 375, 1980
10. Beauchamp, C.: Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels, Anal Biochem., 44: 276, 1971
11. Blank, M.L.: Reperfusion injury following testicular torsion and detorsion in prepubertal rats., Urol. Res. 21: 389-393, 1993
12. Brooke, C. D.: Clinical Paediatric Endocrinology, 1995, Sayfa: 41-51
13. Bulkley, G.B.: Free radical-mediated reperfusion injury: A selective review. Br. J.

- Cancer. 55: 66-73, 1987
14. Caesar, R.E.: Incidence of bell-clapper deformity in an autopsy series. *Urology* 44: 114-116, 1994
  15. Consentino, M.J.: Histopatology of prepubertal rat testis subject to various durations of spermatic cord torsion. *J. Androl* 7: 23, 1986
  16. Costabile, R.A.: Variability of ischemia during spermatic cord torsion in the rat., *J. Urol* 151: 1070-1072, 1994
  17. Duckett, J. W.: Routine contralateral exploration and fixation is unjustified. *Dial. Ped. Urol.*, 14: 7, 1991
  18. Friedman, M.R.: An experimental model of neonatal testicular torsion: Evidence against an exclusively extravaginal etiology. *J. Urol.* 150: 246-248, 1993
  19. Giacomantonio, M. And Lau, H.: Torsion of the testicle in the newborn. *Can. J. Surg.*, 24: 14, 1981
  20. Goossens, D.P.: Superoxide dismutase and catalase in skin flaps during venous occlusion and reperfusion, *Ann. Plast Surg*, 25: 21-25, 1990
  21. Haapaniemi, T.: Hyperbaric oxygen reduces ischemia- induced skeletal muscle injury. *Plast. Reconstr. Surg*, 97: 602-608, 1996
  22. Harrison, R.G.: Mechanisms of damage to the contralateral testis in rats with an ischaemic testis. *Lancet* 723: 725, 1981
  23. Harrison, R.G.: The comparative anatomy of the blood supply of the mammalian testis., *J. Anat.*, 83: 267, 1949
  24. Harrison, R.G.: Vascular patterns of the mammalian testis and their functional significance. *J. Exp. Biol.* 26: 304, 1952
  25. Jain, K.K.: *Hyperbaric Medicine Practice, Ischemia-Reperfusion Injury* 552-564
  26. Izquierdo, R.: Attenuation of reperfusion- induced lipoperoxidation by systemic use of oxygen radical scavengers after pedicle occlusion. *Ann. Plast Surg.* 28: 175-179, 1992
  27. Kaya, M.: An analysis of the effect of ischemia on testicular ultrastructure. *J. Pathol.* 117: 105, 1975

28. Kindwall, E.P.: Hyperbaric Medicine Practice, Best Publishing Company, Arizona Sayfa: 18-32, 1995
29. Kindwall, E.P.: Hyperbaric Medicine Practice, Best Publishing Company, Arizona Sayfa: 124-133, 527-547, 566-579, 1995
30. Koyama I.: The role of oxygen free radicals in mediating the reperfusion injury in cold-preserved ischemic kidneys. *Transplantation*, 40: 590, 1985
31. Krarup, T.: The testes after torsion *Br. J. Urol*, 50: 43-46, 1978
32. Kubes, P.: Platelet-activating factor microvascular dysfunction: Role of adherent leukocytes. *Am. J. Physiology*. 258: G 158, 1990
33. Küçükçelebi, A.: The beneficial effect of cyclosporin-A on the no-reflow phenomenon in rat skin island flaps. *Br. J. Plast Surg*, 45: 512-514, 1992
34. LaQuaglia, M. P.: Bilateral neonatal torsion. *J. Urol.*, 123: 293, 1980
35. Lee, Y.H.: Effect of postischemic reperfusion on microcirculation and lipid metabolism of skeletal muscle. *Microsurgery* 16: 522-527, 1995
36. Lee, C.: Altered neutrophil Function following reperfusion of an ischemic myocutaneous flap. *Plast. Recons. Surg* 89: 916-923, 1992
37. Lee, C.: Neutrophil localization following reperfusion of ischemic skin flaps. *Plast. Reconstr. Surg*. 89: 910-916, 1992
38. Li, X.: Intravascular heparin protects muscle flaps from ischemia/ reperfusion injury. *Microsurgery*. 16: 90-93, 1995
39. Longino, L.A. and Martin, L.W.: Torsion of the spermatic cord in the new born infant. *New Engl. J. Med.*, 253: 695, 1981
40. Lucey, S.F.: A reexamination of the role of oxygen in retroental fibroplasia, *Pediatrics*, 76: 339-344, 1984
41. Manson, P.N.: The role of oxygen-free radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. *Ann. Surg.*, 198: 87-90, 1983
42. Meada, M.: Combined therapy with antithrombotic agents and radical scavengers for reperfusion injury of flaps. *J. Reconstr. Microsurg*, 7: 233, 1991

43. Nagler, H.M.: The effect of testicular torsion on the contralateral testis. *J. Urol.*, 128: 1343- 1348, 1982
44. Ohkawa, H.: Assay for lipid peroxides in animal tissues thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351-358, 1979
45. Oldham : *Surgery of Infants and Children*, 1997, Sayfa: 1552-1553
46. Pang, C.Y.: Ischemia-induced reperfusion injury in muscle flaps: Pathogenesis and major source of free radicals. *J. Reconstr. Microsurg.* 6: 77, 1990
47. Pang, Y.C.: Pharmacologic intervention in ischemia-induced reperfusion injury in the skeletal muscle. *Microsurgery*, 14: 176-182, 1993
48. Peppas, D.: The undescended testis: An update, *Dialogues in Pediatric Urology*, 20: March 1997
49. Pollack.: *Clinical Urography*, 1990, Sayfa: 2215-2219, 551-552
50. Puri, P.: Prepubertal Testicular torsion: Subsequent fertility, *J. Pediatr. Surg*; 20: 598-601, 1985
51. Rowe : *Essentials of Pediatric Surgery*, 1995, Sayfa: 456-459
52. Sadler, F.: *Medical Embryology*, 1990, Sayfa: 260-280
53. Salman, F.T.: Morphologic effects of unilateral cryptorchidism on the contralateral descended testis., *J. Pediatr. Surg* 23: 439-443, 1988
54. Shupak, A.: Hyperbaric oxygenation in acute peripheral posttraumatic ischemia. *J. Hyperbar. Med* 2: 7-14, 1987
55. Sorensen, L.B.: The effects of aprotinin in skin and myocutaneous flaps exposed to ischemia and reperfusion injury. *Annals of Plastic Surgery*, 31: 2-8, 1996
56. Stadie, W.C.: The effect of high oxygen pressure upon enzymes: uricase, xanthine oxidase, and d-amino acid oxidase. *J. Biol. Chem* 161: 181, 1975
57. Steinberger, E.: Spermatogenesis in rat testes after experimental ischemia., *Fertil. Steril.* 20: 639, 1969
58. Steward, R.J.: Effect of free-radical scavengers and hyperbaric oxygen on random-pattern skin flaps. *Arch. Surg.* 129: 982-988, 1994

59. Suzuki, S.: Involvement of reactive oxygen species in post-ischaemic flap necrosis and its prevention by antioxidants. *British J. Plast. Surg.*, 44: 130-134, 1991
60. Thom, S.R.: Hyperbaric oxygen therapy. *J. Inten. Care Med.* 4: 58-74, 1989
61. Tokar, B.: Barsak tıkanıklığında HBO tedavisinin mukoza morfolojisi ve bakteri translokasyonuna etkisi. İ.T.F. Çocuk Cerrahisi, uzmanlık tezi 1996
62. Turner, T.T. and Brown, K.J.: Spermatic cord torsion: Loss of spermatogenesis Despite return of blood flow. *Biol. Rep.*, 49: 401-407, 1993
63. Turner, T.T.: Acute experimental testicular torsion. *J. Androl.* 6: 65, 1985
64. Yamada, T.: The protective effect of hyperbaric oxygenation on the small intestine in ischemia-reperfusion injury. *J. Pediatr. Surg.* 30: 786-790, 1995
65. Yolanda, J.T.: The use of hyperbaric oxygen for preservation of free flaps. *Ann. Plast. Surg.* 28: 284-287, 1992
66. Zamboni, W.A.: The effect of HBO on reperfusion of ischemic axial skin flaps. A laser doppler analysis. *Ann. Plast. Surg.* 28: 339-341, 1992
67. Zamboni, W.A.: Morphologic analysis of the microcirculation during reperfusion of ischemic skeletal muscle and the effect of hyperbaric oxygen. *Plast. Reconstr. Surg.* 91: 1110-1121, 1993
68. Zamboni, W.A.: The effect of acute HBO therapy on axial pattern skin flap survival when administered during and after ischemia. *J. Reconstr. Microsurg.*, 5: 343-347, 1989