

REVISIÓN

Bioquímica de la oxigenación hiperbárica

Biochemistry of hyperbaric oxygenation

Fraga, Pilar María Emilia¹; Jordá-Vargas, Liliana^{1,2*}

¹Asociación Argentina de Medicina Hiperbárica (AAMHEI). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

²Área Microbiología, Centro de Trasplante CRAI-Norte, Centro Único Coordinador de Ablación e Implante Provincia de Buenos Aires (CUCAIBA).

*Contacto: Jordá-Vargas, Liliana. Ceretti 3320 (C.P. 1429), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; liliana.jorda@aamhei.org

Resumen La terapia de oxigenación hiperbárica (TOHB) consiste en la respiración de altas concentraciones de oxígeno presurizado a más de 1 atm de presión, para lograr un estado de hiperoxia. Esto se traduce en un aumento de concentración de oxígeno a nivel sanguíneo y aumento del radio de perfusión del oxígeno desde los capilares hacia los tejidos, que alcanza incluso a oxigenar zonas hipóxicas. TOHB se utiliza en el tratamiento de distintas patologías que impliquen hipoxia. La meta terapéutica de este tratamiento coadyuvante es la reactivación mitocondrial, el efecto antiinflamatorio, antioxidante y analgésico, la regeneración tisular y la rehabilitación neuronal. El conocimiento de los eventos bioquímicos desarrollados permite analizar en el contexto de cada paciente, los beneficios y aplicaciones de la oxigenación hiperbárica. El objetivo de esta revisión es describir la cascada de eventos bioquímicos terapéuticos, desencadenados por la hiperoxia hiperbárica, que se producen gracias al aumento transitorio de la generación de especies reactivas de oxígeno (EROS) y nitrógeno (ERNS). Entre los efectos bioquímicos obtenidos con TOHB, se describe la vasoconstricción no hipoxemiante, la angiogénesis y vasculogénesis, la osteogénesis, el efecto antiinflamatorio y antioxidante, la actividad bactericida, el fortalecimiento del sistema inmune, la neuroprotección y la regeneración axonal periférica. TOHB tiene un efecto antiinflamatorio al disminuir el edema, la producción de algunas citoquinas inflamatorias y la adhesión endotelial leucocitaria. La hiperoxia hiperbárica se indica en muchos trastornos relacionados con hipoxia, para la regeneración de diferentes tejidos y cicatrización de heridas complejas, patologías con dolor crónico o base inflamatoria y rehabilitación neuronal y física.

Palabras clave: oxigenación hiperbárica, cámaras hiperbáricas, bioquímica de la hiperoxia.

Abstract Hyperbaric oxygenation therapy (HBOT) consists in providing high concentrations of pressurized oxygen at more than 1 atm of pressure to achieve a state of hyperoxia. This translates into an increase in the concentration of oxygen in the blood, an increase in the oxygen perfusion radius from the capillaries to the tissues, and the oxygenation of hypoxic areas. HBOT is used in the treatment of different pathologies that involve hypoxia. The therapeutic objective of this adjuvant treatment is mitochondrial reactivation, anti-inflammatory, antioxidant and analgesic effects, tissue regeneration and neuronal rehabilitation. The knowledge of the biochemical events developed allows analyzing the benefits and applications of hyperbaric oxygenation in the context of each patient. The objective of this review is to describe the cascade of therapeutic biochemical events triggered by hyperbaric hyperoxia, which are produced by a transient increase in reactive oxygen and nitrogen species (ROS and RNS). The biochemical effects induced by HBOT include non-hypoxemic vasoconstriction, angiogenesis and vasculogenesis, osteogenesis, anti-inflammatory and antioxidant effects, bactericidal activity, immune system strengthening, neuroprotection and peripheral axonal regeneration. HBOT has an anti-inflammatory effect by reducing edema, the production of some inflammatory cytokines, and the endothelial adhesion of leukocytes. Hyperbaric hyperoxia is indicated in many hypoxia-related disorders, for the regeneration of different tissues and healing of complex wounds, pathologies with chronic pain or inflammation, and neuronal and physical rehabilitation.

Key words: hyperbaric oxygenation, hyperbaric chambers, biochemistry of hyperoxia.

Introducción

La terapia de oxigenación hiperbárica (TOHB) consiste en respirar altas concentraciones de oxígeno presurizado a más de 1 ATA (atmósfera absoluta). Según la ley de Henry, esto genera un aumento de la disolución del oxígeno en el plasma sanguíneo. La concentración de oxígeno sumada a la presión elevada genera hiperoxia y aumento de generación de especies reactivas de oxígeno, lo que se traduce en distintos efectos sobre la fisiología del individuo.¹

TOHB se desarrolló inicialmente, como tratamiento para la enfermedad de descompresión. Posteriormente, se utilizó para potenciar los efectos de la radio-terapia, tratar infecciones por microorganismos anaeróbicos y envenenamiento.¹ Actualmente, se utiliza como tratamiento para diversas patologías en diferentes centros médicos de salud pública y privada.

El mecanismo terapéutico de TOHB consiste en generar hiperoxia y un aumento temporal de la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) y especies reactivas de nitrógeno (ERNs).² De esta manera, resuelve condiciones adversas como la hipoxia y el edema y favorece las respuestas normales o fisiológicas frente a procesos infecciosos e isquémicos.¹

En condiciones controladas (presión y tiempo de exposición), además de generar EROs y radicales libres (RL), TOHB estimula la expresión y actividad de enzimas antioxidantes para mantener la homeostasis del estado “redox” [reductivo/oxidativo] y asegurar la inocuidad del tratamiento.¹⁻³

A nivel celular y en condiciones fisiológicas, el O₂ participa en múltiples procesos y reacciones bioquímicas. La más importante de estas reacciones es la producción de energía, a través de procesos oxidativos, que confluyen en la síntesis de compuestos con enlaces de alta energía, como ATP (Adenosina Tri Fosfato). Todos los procesos vitales requieren de energía para poder ser ejecutados.¹

Los principales efectos beneficiosos producidos por la terapia de oxigenación hiperbárica (TOHB) están relacionados con procesos de transporte de O₂ hemodinámicos e inmunológicos.¹ Cuando se encuentra bloqueada esta producción de energía por falta de transporte o aporte de O₂ a los tejidos (anemias severas, intoxicación con monóxido de carbono), TOHB realiza el aporte, independientemente de la hemoglobina, con el aumento del oxígeno diluido en plasma. Si se necesita un mayor aporte periférico en tejidos isquémicos o en trastornos relacionados con hipoxia, TOHB aumenta la perfusión para llegar a ese tejido isquémico y reactiva la función mitocondrial, disminuyendo la hipoxia e inflamación local.⁴

El objetivo de esta revisión es describir la cascada de eventos bioquímicos terapéuticos desencadenados por la hiperoxia, con base en los efectos fisiológicos que puedan estar involucrados en sus diferentes aplicaciones terapéuticas.

Los efectos bioquímicos más relevantes o más estudiados de la hiperoxia se presentan en la figura 1. A medida que se recaude más evidencia experimental se descubrirán nuevos efectos y potenciales aplicaciones para ser investigadas en ensayos clínicos y ampliar las indicaciones de TOHB.

Materiales y métodos

La búsqueda bibliográfica de los trabajos publicados hasta 2020 se realizó en las bases de datos científicas MEDLINE, EMBASE, Lilacs y Latindex.

Los términos MeSH (*Medical Subject Headings*) utilizados fueron: *Hyperbaric Oxygen Therapy benefits, Hyperbaric Oxygen Therapy effects, Osteogenesis and hyperbaric oxygenation, angiogenesis and HBOT, neurological effects in HBOT, antimicrobial activity of HBOT, antiinflammatory effect of HBOT, oxidative stress and HBOT.*

Los trabajos fueron divididos por efectos. Las autoras estudiaron los trabajos experimentales y realizaron la recopilación de algunos efectos bioquímicos prevalentes en la oxigenación hiperbárica.

Resultados

Vasoconstricción no hipoxemiante

Está demostrado que la TOHB genera vasoconstricción. La vasoconstricción producida se denomina “no hipoxemiante”, ya que no contrarresta el efecto de hiperoxia ni profundiza la hipoxia en tejidos isquémicos o mal perfundidos. Esto se debe a que el oxígeno que alcanza el tejido se encuentra disuelto en la sangre. Está favorecida por el aumento de O₂ disponible en pequeñas arterias y capilares y se produce en tejidos sanos, sin deterioro de la oxigenación, estimulando una redistribución de flujo hacia zonas hipoperfundidas.¹ Estudios llevados a cabo por Saltzman en 1968 evidenciaron en exploraciones fundoscópicas realizadas en medio hiperbárico que, a pesar de la acusada vasoconstricción, la hiperoxigenación se manifestaba.⁵

Este mecanismo también está involucrado en la disminución y el alivio del dolor mediado por la reducción en los niveles del vasodilatador óxido nítrico (NO) en condiciones de hiperoxia.¹⁻³ Además, puede ayudar a vencer mecanismos de resistencia vascular presentes en algunas patologías.³ La hiperoxia incrementa la generación de ATP, lo que previene el metabolismo anaeróbico en las células tisulares y la acidosis en los tejidos, asociados con la aparición del dolor.

También se genera vasoconstricción refleja, mediada por el Sistema Nervioso Central a través de receptores -adrenérgicos, que disminuye hasta 20 % el flujo sanguíneo sin alteración del retorno venoso, lo cual se traduce en un beneficio para la reducción del edema a cualquier nivel.⁶

En individuos sanos, la vasoconstricción está mediada por la liberación de endotelina I y TNF α por parte de distintos tipos celulares.⁷ La vasoconstricción periférica causada por la Oxigenoterapia Hiperbárica es un mecanismo compensatorio frente a la hiperoxia, por lo tanto, solo afecta a los vasos sanguíneos de la microcirculación de los tejidos sanos y en diferente medida. Así, se constituye en la mayor respuesta en vasoconstricción en el cerebro.⁸

Cuando existe un estado de hipoxia local (vasculopatía periférica, síndrome compartimental, edema maligno, trastornos metabólicos), este territorio se beneficia del volumen plasmático de los territorios sanos. Esto quiere decir que el teji-

do sano (el rico en oxígeno) sobrealimenta al hipóxico o pobre (efecto *Robin Hood*).⁵ La condición no hipoxemiante de la vasoconstricción periférica se da principalmente por la cantidad de oxígeno diluido en plasma y contribuye de manera significativa a este efecto *Robin Hood*, además de no ser perjudicial para los tejidos sanos.

Angiogénesis y Vasculogénesis

La hiperoxia estimula la neovascularización o formación de nuevos vasos, a partir de dos procesos: estimula el proceso de manera local (angiogénesis) y estimula la llegada y diferenciación de células madre (vasculogénesis).⁹⁻¹¹ En la zona de neovascularización se genera un estrés oxidativo que hace de estímulo a la producción de mediadores del crecimiento celular.²

A nivel bioquímico, en estos mecanismos participan numerosos factores de crecimiento, factores de transcripción, hormonas y mediadores químicos como, por ejemplo: factor inducible por hipoxia 1 (HIF-1), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) e interleuquinas (IL).¹² En sitios de neovascularización que cursan con hipoxia, la generación de ERO estimula la producción de factores de transcripción (HIF-1: factor inducible por hipoxia)¹¹ a través de la estabilización y dimerización de subunidades HIF-1 α y HIF-1 β .⁹ A su vez, HIF-1 estimula la producción de factores de crecimiento involucrados en neovascularización como FCEV o VEGF (del inglés: *vascular endotelial growth factor*)¹¹, para la migración y diferenciación de células madre a células endoteliales.^{14, 15} Si bien la hipoxia es el principal mecanismo desencadenante de la angiogénesis¹⁶, si esta condición se prolonga en el tiempo, el

proceso de angiogénesis no persiste o se realiza en forma desordenada e inestable (angiogénesis degenerativa).¹¹⁻¹⁵

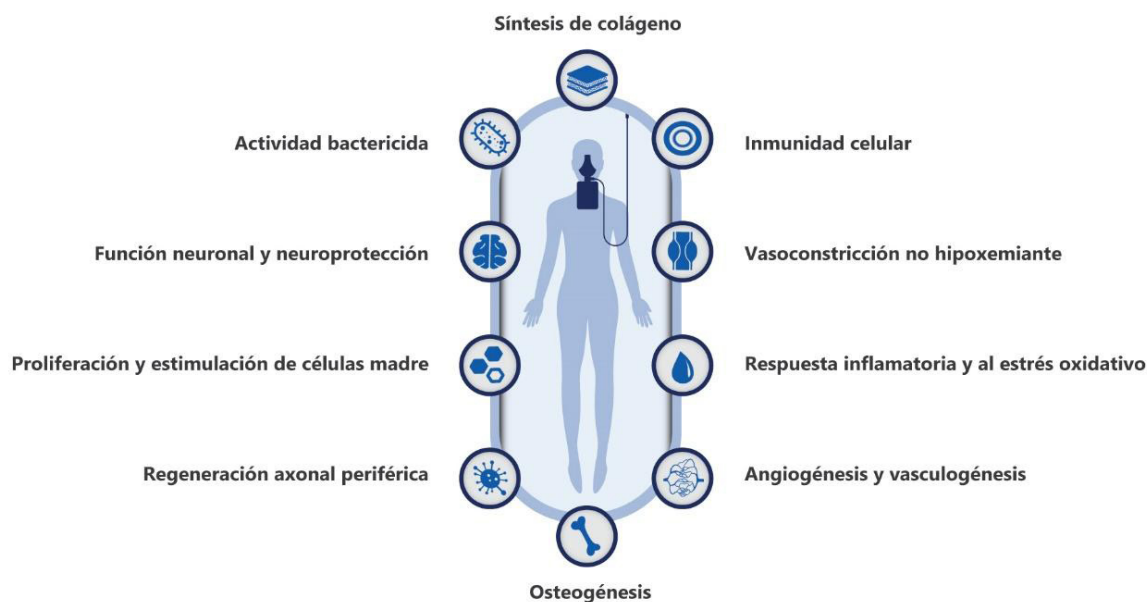
Particularmente, el efecto proangiogénico desencadenado por TOHB está mediado por un aumento sostenido de la producción de VEGF. Esto promueve la formación de nuevos vasos, tras varias sesiones¹⁴, porque, cuando se realiza el tratamiento, se obtienen niveles sostenidos y progresivos de VEGF, lo que provoca angiogénesis efectiva.

Por otro lado, en médula ósea, TOHB tiene efecto sobre la actividad de la enzima óxido nítrico sintasa medular (ONS), que sintetiza óxido nítrico (NO). La movilización de células progenitoras desde la médula ósea a la circulación periférica es un proceso dependiente de NO. La estimulación de la enzima ONS activa una metaloproteínasa-9 que cliva a SCF (*Stem cell factor*) de la membrana plasmática. Esto permite la movilización de la célula y favorece el proceso de neovascularización y cicatrización.^{13,14} Así, la diferencia principal con el oxígeno normobárico en sí es la capacidad de movilizar las células *stem cell* CD34+ CD45^{dim}, progenitoras de células endoteliales^{13,14, 16} que se encuentran fuertemente asociadas con la cicatrización de diferentes heridas como pie diabético y quemaduras.^{17,18}

Respuesta antiinflamatoria

Como se comentó previamente, el oxígeno es un mediador fundamental para la cicatrización y regeneración tisular. Su presencia y, especialmente, su aumento reduce el edema tisular. Existe una relación directa entre los niveles de oxígeno disponibles y la tasa de curación. La vasoconstricción favorece la reducción de la respuesta inflamatoria y, por lo tanto, la reducción de edema¹ presente en procesos isquémicos e hipóxicos en tejidos blandos, hueso y cerebro.^{7,19,20} TOHB reduce la

Figura 1. Efectos fisiológicos principales generados con el tratamiento de oxigenación hiperbárica.



► Fuente: Diseño y gentileza de la Asociación Argentina de Medicina Hiperbárica e Investigación (AAMHEI). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

producción y liberación de citoquinas proinflamatorias por neutrófilos y monocitos.^{1,7,20}

La concentración de oxígeno en los vasos compensa la vasoconstricción periférica. De esta manera, se impide la extravasación de líquido al tejido circundante, lo que disminuye el edema.¹

Hay estudios que revelan los efectos de la oxigenación hiperbárica en la producción de citoquinas.⁷ Esta terapia aumenta la producción de FGF y la síntesis de colágeno, disminuye la interleuquina 1 (IL-1), interleuquina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF alfa). Los efectos del factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF 1) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) son mayores con TOHB.^{7,21}

VEGF, TGFβ1 (factor de crecimiento transformante beta 1), y PDGFβ (factor de crecimiento derivado de plaquetas) presentan patrones de liberación bifásica. Esto quiere decir que se liberan tanto en hipoxia como hiperoxia. Sin embargo, la liberación estimulada por la hiperoxia es mayor.⁷ Los efectos de TGFβ1 y PDGFβ son mayores con TOHB.^{7,17}

En individuos sanos, la TOHB inhibió en un 50 % el interferón gamma (IFN gamma) en los linfocitos, sin alterar la producción de IL1 e IL2, en ausencia de enfermedad.²²

En cultivos *in vitro* de células endoteliales, se evidenció la disminución de interleuquinas proinflamatorias, principalmente en interleuquina 8 (IL8), calreticulina (CALR) y anexina (ANXA), con un mayor efecto antiinflamatorio con el tratamiento de oxigenación hiperbárica a 1,5 atm versus 2,4 atm. En este mismo trabajo, se logra una disminución de endoglin y de las proteínas de apoptosis CASP1 y TP53 solo a 1,5 atm.²³

El TNF α es el principal estímulo que induce la expresión de las moléculas de adhesión en el endotelio activado. Una vez que el endotelio es activado, la extravasación de los leucocitos transita por los cuatro pasos conocidos: adhesión inicial, rodamiento, firme adhesión y migración transendotelial.

Además de disminuir la activación inflamatoria en el endotelio, con TOHB se observa disminución de la expresión de integrinas en leucocitos (CD18), lo que puede contribuir a disminuir la inflamación en el daño por isquemia-reperusión, al reducir la adhesión leucocitaria para reclutamiento de células inflamatorias en el sitio isquémico.^{19,20}

Existen reportes sobre la acción de TOHB en la modulación del estrés oxidativo, disminución de la adhesión leucocitaria y disminución de la inflamación en modelos animales de isquemia-reperusión, que coloca a la oxigenación hiperbárica en una función importante en el precondicionamiento quirúrgico de cirugías cardíacas y trasplantes.^{24, 25} TOHB puede afectar directamente la apoptosis celular, la transducción de señales y la expresión génica en aquellos tejidos que son sensibles al oxígeno o la hipoxia. El precondicionamiento con oxígeno hiperbárico proporciona un reservorio de oxígeno a nivel celular no solo transportado por la sangre, sino también por difusión desde el tejido intersticial, donde alcanza una alta concentración que puede durar varias horas, mejora la función endotelial y la reología y disminuye la inflamación local y el edema. Principalmente, la protección está dada en la *up*

regulation de las enzimas antioxidantes que protegen el efecto deletéreo del aumento de EROs en el tejido injuriado y evita la apoptosis consecuente.^{24,25}

Huang y col. postulan que el aumento de EROs otorgado por TOHB gatilla las cascadas moleculares que conducen a la protección vía inducción de la proteína de choque térmico 32 (HSP32), como se observó en modelos animales de injurias medulares.²⁶

Con respecto al desarrollo de inflamación crónica, la activación del sistema *Toll Like Receptors* (TLR) contribuye al mantenimiento de la respuesta inflamatoria y a la inflamación crónica en muchas situaciones. TOHB protege la neurona después de la injuria traumática cerebral e incluso en la inflamación crónica de grandes quemados. Así, se evidencia una inhibición de los caminos de señalización NF-kB y de la expresión de estas plataformas moleculares en diferentes tejidos, después de la oxigenación hiperbárica.^{27,28}

Osteogénesis

Se ha demostrado en cultivos *in vitro* que la hiperoxia estimula la diferenciación celular, la formación de depósitos minerales y el metabolismo fosfocálcico.²⁹ La función celular y la remodelación ósea llevadas a cabo por las células osteogénicas son dependientes de oxígeno y se ven estimuladas por la producción de factores de crecimiento en condiciones de hiperoxia.

El efecto angiogénico y la producción de óxido nítrico también colaboran con la formación de hueso y la diferenciación celular^{1,29}, a través de la circulación y movilización de células progenitoras.

Por otro lado, TOHB suprime la formación de osteoclastos actuando en los estadios iniciales de diferenciación, disminuyendo la expresión de proteínas como RANK Y RANKL (el sistema intercelular proteico de ligando y receptor activador del factor nuclear kB encargado de la activación y diferenciación de células óseas). Una desregulación en alguno de sus componentes puede generar una disminución en la masa ósea, lo que puede llevar a desarrollar osteoporosis. Por lo tanto, TOHB disminuye la población de osteoclastos y en consecuencia la resorción ósea.³⁰

También impide la progresión de injurias e infecciones ante lesiones que afectan el tejido óseo porque, al disminuir la inflamación y el edema óseo²⁰ y resolver la infección en osteomielitis, favorece la osteogénesis por un mecanismo secundario.

TOHB en la célula ósea promueve una mayor liberación de fosfatasa alcalina ósea, un mayor depósito de calcio y fósforo, una mayor proliferación de osteoblastos y acelera la formación del nódulo óseo.²⁹

Síntesis de Colágeno

La síntesis de colágeno y la formación de la matriz extracelular son producidas por la proliferación de fibroblastos, lo que favorece la formación del tejido cicatrizal y nuevos vasos y conduce a resolver las condiciones de hipoxia y de la injuria del

tejido hipoperfundido. Este efecto es mediado por la síntesis aumentada de los factores de crecimiento, favorecido por la TOHB a través de radicales libres y EROS.¹⁵

El colágeno es una proteína estructural sintetizada por los fibroblastos mediante reacciones químicas complejas, que incluyen la hidroxilación de los aminoácidos prolina y lisina. La reacción de hidroxilación y el entrecruzamiento de las fibras de colágeno son procesos favorecidos en condiciones de hiperoxia (péptidos y propéptidos del colágeno).^{2,15} El oxígeno es necesario para que la enzima hidroxiprolina produzca los entrecruzamientos y pueda formar moléculas de colágeno estables.

Se ha demostrado en modelos animales que TOHB aumenta la expresión de los genes de procolágeno tipo I en la cicatrización del tendón y de ligamentos e inhibe la expresión de las metaloproteasas.^{32,33} EROs activa la expresión de factores de crecimiento para la activación de los fibroblastos³⁴ y resulta en un aumento significativo de la síntesis de colágeno tipo I y tipo III relacionados con un aumento de óxido nítrico local a nivel de la herida en cicatrización. De esta manera, se concluye que el oxígeno no sólo es importante en la maduración del colágeno, necesario para formar un colágeno estable, sino que aumenta la síntesis de los precursores del colágeno.³⁵

Proliferación y Diferenciación de células madre

TOHB moviliza las células madre progenitoras por la estimulación de la síntesis de Óxido Nítrico NO en la médula ósea.^{13,36} La hiperoxia aumenta el NO *in vivo* en la médula ósea y la liberación de las células progenitoras endoteliales a la circulación periférica, asociadas con una recuperación aumentada de la perfusión de oxígeno en los miembros inferiores. Igualmente, fomenta el cierre de las heridas isquémicas, contribuyendo a la oxigenación, vascularización y cicatrización de las heridas.¹⁶

Por otro lado, la modulación con el oxígeno es una variable clave a considerar en el diseño de los protocolos de diferenciación de células beta- pancreáticas y contribuye a futuras estrategias en el trasplante de células beta maduras³⁷ para tratar la diabetes insulino dependiente. La TOHB mejora el trasplante de células en injertos, la recuperación funcional en el infarto cardíaco y la diferenciación de las células madre mesenquimales.^{38,39}

Modelos experimentales demostraron que TOHB promueve la diferenciación de células madre neuronales en neuronas y oligodendrocitos y reduce el número de astrocitos *in vitro*, posiblemente, por la regulación de las vías dependientes de la señalización de la proteína Wnt3, b catenina y la proteína morfogénica ósea 2 BMP2.⁴⁰

Por otro lado, se observa una *up-regulation* de la proliferación de las células neuronales dentro de los nichos neurogénicos en el cerebro adulto. Más aún, TOHB produce la migración de las células madre al área de injuria, como se demostró en modelo animal de lesiones cerebrales isquémicas y traumáticas.⁴¹

Así, no sólo produce movilización de células madre desde médula ósea, sino que se postula para precondicionamiento (porque disminuye la inflamación neuronal) y diferenciación

de las mismas encélulas endoteliales o neuronales. TOHB es una herramienta fundamental en todas las aplicaciones de la medicina regenerativa.^{40,42, 43}

Modulación del estrés oxidativo

La hiperoxia puede, al mismo tiempo, estimular el aumento de los niveles de EROs y de especies antioxidantes enzimáticas y no enzimáticas. El efecto del aumento de producción de ERO dependerá del tipo celular, la concentración de O₂ y la duración de la exposición.^{3,44} Este mecanismo se encuentra regulado, cuando la hiperoxia no se acentúa ni prolonga demasiado en el tiempo como para saturar las defensas antioxidantes en tejidos normales y no causar daño ni disfunción celular. Por ejemplo, TOHB puede inducir la protección contra estímulos oxidantes en células endoteliales, a través de sobreexpresión de genes antioxidantes.^{45,46}

Existe evidencia científica del aumento de la respuesta oxidante, generado por la oxigenación hiperbárica, que implica un aumento de la expresión de los genes antioxidantes y citoprotectores. Entre ellos, la proteína de choque térmico (HSPA1A), hemo oxigenasa 1 (HMOX1) y metalotioneína 1X (MT1X), con un pico de aumento a las 4 horas posteriores a TOHB.⁴⁵ Más aún, las células endoteliales tratadas con TOHB fueron resistentes al estrés oxidativo, cuando se expusieron a un agente oxidante *in vitro* (tButyl peróxido de hidrógeno) con un efecto citoprotector del oxígeno hiperbárico sobre el estrés oxidativo en las células endoteliales.⁴⁵

Esta condición de aumento de las enzimas antioxidantes ante un estímulo de estrés oxidativo se propone como preventivo protector ante la isquemia en la médula espinal y cerebro. Así, TOHB es utilizada como precondicionamiento quirúrgico porque aumenta la tolerancia a la isquemia.⁴⁷

Se evidencia un aumento de la enzima antioxidante superóxido dismutasa (SOD) con TOHB a diferentes presiones en cerebro, pulmón y eritrocitos⁴⁸ y un aumento en la actividad de SOD y glutatión peroxidasa (GSH) en tejido hepático. También se observó la regeneración por aumento de marcadores de índices mitóticos y proliferación celular (MI y PCNA) con una disminución del marcador de estrés oxidativo malondialdeído (MDA) en los hepatocitos de modelos experimentales animales.⁴⁹

Las enzimas glutatión Peroxidasa 4 (GPX4) y lactoperoxidasa (LPO) se hiper- expresaron en la injuria por isquemia-reperusión pulmonar en modelo animal, con reducción de los genes de estrés oxidativo en animales tratados con TOHB.⁵⁰ Se sugirió que, además de regular la inflamación en la injuria por reperusión, TOHB regula el daño producido por las especies reactivas de oxígeno en exceso.

Actividad Bactericida

En la patología infecciosa en general, la hiperoxia generada es activa contra el *biofilm* bacteriano y aumenta la actividad bactericida de muchos antibióticos contra estos microorganismos.^{31,51,52}

Las especies reactivas de oxígeno (EROs) que se generan

a partir de la hiperoxia tienen actividad bactericida *per se*, además de contribuir a aumentar la inmunidad celular por promover la fagocitosis.^{2,31} La combinación de TOHB y el tratamiento antimicrobiano adecuado pueden contribuir a disminuir la resistencia bacteriana que se genera por la exposición a niveles de EROs subletales cuando el tratamiento convencional antibiótico es administrado sin el oxígeno como potente adyuvante activador.^{51,52,53}

Por otro lado, las especies reactivas de oxígeno (producidas por la metabolización del oxígeno principalmente en la mitocondria) tienen actividad bactericida *per se* y tienen acción directa contra los lípidos de la membrana bacteriana, la síntesis de proteína y sobre el ADN microbiano.³¹

Se reconocen cuatro EROS principales: superóxido ($O_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidroxilo ($\bullet OH$) y oxígeno singlete ($1O_2$). Ellos tienen diferentes cinéticas y niveles de actividad.⁵⁴ Los efectos de $O_2^{\bullet-}$ y H_2O_2 son menos agudos que los de $\bullet OH$ y $1O_2$, ya que los primeros son menos activos y pueden ser detoxificados con enzimas endógenas antioxidantes (enzimáticas como catalasa y superóxido dismutasa y no enzimáticas), que son inducidas por el estrés oxidativo. Sin embargo, ninguna enzima puede desintoxicar el radical $\bullet OH$ o $1O_2$. Esto lo hace extremadamente tóxico y letal, agudo para la bacteria⁵⁴, por lo que se considera el aumento temporal de estos EROS y radicales libre con un efecto bactericida directo contra diferentes bacterias, además de contribuir a la capacidad fagocítica de macrófagos y leucocitos e inhibir toxinas bacterianas involucradas en la patogénesis infecciosa.^{31,54}

Respuesta inmune frente a infecciones

En condiciones adversas como la hipoxia (característica en heridas) aumenta la predisposición a infecciones. Algunas células del sistema inmune como los neutrófilos o polimorfonucleares (PMN) responden a la presencia de patógenos y ejercen su acción bactericida a través de la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO), radicales libres y la acción de peroxidasa.^{1,31}

Estos mediadores químicos dañan el ADN y oxidan proteínas y lípidos (lipoperoxidación), inhibiendo el metabolismo bacteriano. En este contexto, se doblega el ataque frente a microorganismos anaerobios, incapaces de producir sus toxinas en condiciones de hiperoxia (α -toxinas producidas por esporas de *Clostridium perfringens*, agente causal de la gangrena gaseosa).^{31,55}

Además, TOHB ejerce acción sinérgica con algunos antibióticos y facilita el transporte dependiente de O_2 a través de la pared celular bacteriana.³¹

Cabe destacar que el efecto de TOHB sobre la inmunidad celular reduce el daño celular mediado por glóbulos blancos en tejidos isquémicos, sin afectar sus funciones inmunes (degranulación, fagocitosis), por lo tanto, no genera compromiso inmune para el paciente.^{1,31} En este contexto, el acondicionamiento o pretratamiento con TOHB protege del daño por reperfusión postisquémica (inhibe la síntesis de 2-integrinas, responsables del secuestro y la adhesión de neutrófilos circu-

lantes a las paredes de los vasos).¹

La acción de TOHB en el fortalecimiento de los efectos antimicrobianos del sistema inmune se produce por una cascada de interleuquinas y balance del mismo. El aumento de los niveles de O_2 durante TOHB causa algunos efectos celulares como la supresión de mediadores proinflamatorios, disminución transitoria en la proporción de células T CD4: CD8 y la aparición de apoptosis de linfocitos y neutrófilos. En general, estos efectos pueden mejorar los mecanismos antimicrobianos del sistema inmunitario y la curación de infecciones.^{1,31}

La respuesta inmune celular adaptativa contra virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) podría ser favorecida con el oxígeno hiperbárico, disminuyendo la carga viral y la replicación en monocitos periféricos en estudios experimentales.⁵⁶

Neuroprotección y regeneración axonal periférica

TOHB favorece la función neuronal, ya que revierte el estado de hipoxia, disminuye el edema, favorece la neuroplasticidad y la elongación axonal.^{1,2} Dentro de los mecanismos involucrados en la neuroprotección por TOHB, cabe destacar la preservación de la producción y las reservas energéticas celulares, la regulación del estrés oxidativo, la disminución de la acumulación y la adhesión de neutrófilos.^{7,19,57} A nivel mitocondrial, es capaz de restaurar la polaridad y permeabilidad de la membrana, mejorando la eficiencia en la producción de energía y la modulación de los niveles de ERO.^{19,58,59}

Además, al favorecer la vasoconstricción y la antiinflamación, TOHB disminuye la presión intracraneal y el volumen del líquido cefalorraquídeo.^{19,60} Sumados a una mejor oxidación tisular y normalización del estado oxidativo a nivel mitocondrial, estos efectos ayudan a preservar la función y actividad neuronal y protegen de la apoptosis en algunas enfermedades neurodegenerativas.^{15,61,62} En el mecanismo de neuroprotección están involucrados fenómenos tales como la proliferación celular. Como vimos anteriormente, TOHB es capaz de movilizar células progenitoras de la médula ósea, que se diferencian en células neurotrópicas⁶³, síntesis de factores neurotrópicos, elongación axonal y mielinización.¹⁹

TOHB también estimula la neuroplasticidad a través de la regeneración axonal periférica. Así, se evidencia crecimiento axonal en los nervios injuriados, estimulando la mitocondria de la placa neuromuscular y la neuroplasticidad.^{63,64} Más aún, la restauración del impulso nervioso de las neuronas periféricas y la estimulación de la mitofagia de las mitocondrias dañadas contribuyen a disminuir el dolor neuropático en diversas patologías.⁶⁴⁻⁶⁷

La neuroprotección se favorece con TOHB por una conjunción de procesos como la angiogénesis, el aumento de la oxigenación y la mejora de la función y metabolismo neuronal. La disminución de la neuroinflamación crónica desencadena en simultáneo proteínas con efectos neuroprotectores, tal como se demostró en modelo animal de enfermedad de Alzheimer^{61,62} que resultó en efecto antioxidante y antiinflamatorio para frenar la progresión de algunas enfermedades neurodegenerativas.

Conclusión

La hiperoxia producida por TOHB genera un aumento transitorio de las especies reactivas de oxígeno. La respuesta fisiológica a este aumento es la modulación del estrés oxidativo, que genera aumento de las enzimas antioxidantes en diferentes órganos.

Por otro lado, TOHB tiene un efecto antiinflamatorio directo al disminuir el edema, la producción de algunas citoquinas inflamatorias y la adhesión endotelial leucocitaria. Este efecto antioxidante y antiinflamatorio, en parte, se debe a la regulación de la actividad mitocondrial en todos los tejidos.

Por otro lado, la activación mitocondrial también genera aumento de elongación axonal y favorece el funcionamiento neuronal.

La respuesta del organismo al oxígeno hiperbárico también resulta en la movilización de células madre, síntesis de colágeno, angiogénesis y vasculogénesis. Por esto, la regeneración de tejidos y su contribución a la cicatrización de heridas crónicas es una de las principales aplicaciones terapéuticas de TOHB.

En conclusión, conocer todos los efectos bioquímicos descritos de TOHB permite influir en las indicaciones médicas para ser estudiadas en ensayos clínicos en diferentes patologías. La meta terapéutica de este tratamiento coadyuvante es la activación mitocondrial, el efecto antiinflamatorio, antioxidante y analgésico, la regeneración tisular y la rehabilitación neuronal.

Referencias bibliográficas

- Gill A, Bell CN. Hyperbaric oxygen: its uses, mechanisms of action and outcomes. *QJM* 2004; 97(7):385-95.
- Thom SR. Hyperbaric oxygen: its mechanisms and efficacy. *Plast Reconstr Surg* 2011; 127(1):131-41.
- Thom SR. Oxidative stress is fundamental to hyperbaric oxygen therapy. *Journal of applied physiology* 2009; 106(3):988-95.
- Cannellotto M, Romero-Feris D, Pascuccio MM, Jordá-Vargas L. Aplicaciones médicas de las cámaras de oxigenación hiperbárica de nueva generación. *Asoc Med Arg* 2019; 131(4):12-20.
- Subbotina N. *Medicina Hiperbárica*. 1a Ed. Buenos Aires, Argentina, Altuna Impresiones. 2006
- Sánchez-Rodríguez EC, García Covarrubias L. Terapia con oxigenación hiperbárica. *Conceptos Básicos*. *Gac Med Mex* 2000; 136(1):23-30.
- Al-Waili NS, Butler GJ. Effects of hyperbaric oxygen on inflammatory response to wound and trauma: possible mechanism of action. *Scientific-WorldJournal* 2006; 3(6): 425-41.
- Sunkari VG, Lind F, Botusan IR, Kashif A, Liu ZJ, Ylä-Herttua S, Brismar K, Velazquez O, Catrina SB. Hyperbaric oxygen therapy activates hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1), which contributes to improved wound healing in diabetic mice. *Wound Repair Regen* 2011; 23(1):98-103.
- Piantadosi CA. Pulmonary Gas Exchange, Oxygen Transport and Tissue Oxigenation. In Neuman TS, Thom SR. *Physiology and Medicine of Hyperbaric Oxygen Therapy*. Saunders. Elsevier.
- Godman CA, Chheda KP, Hightower LE, Perdrizet G, Shin DG, Giardina. Hyperbaric oxygen induces a cytoprotective and angiogenic response in human microvascular endothelial cells. *Cell Stress Chaperones* 2010; 15(4):431-42.
- Hopf HW, Gibson JJ, Angeles AP, Constant JS, Feng JJ, Rollins MD, Zamirul Hussain M, Hunt TK. Hyperoxia and angiogenesis. *Wound Repair Regen* 2005; 13(6):558-64.
- Thackham JA, McElwain DL, Long RJ. The use of hyperbaric oxygen therapy to treat chronic wounds: A review. *Wound Repair Regen* 2008; 16(3):321-30.
- Milovanova TN, Bhopale VM, Sorokina EM, Moore JS, Hunt TK, Hauer-Jensen M, Velazquez OC, Thom SR. Hyperbaric oxygen stimulates vasculogenic stem cell growth and differentiation in vivo. *J Appl Physiol* 2009; 106:711-28.
- Thom SR, Bhopale VM, Velazquez OC, Goldstein LJ, Thom LH, Buerk DG. Stem cell mobilization by hyperbaric oxygen. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290(4):1378-86.
- Sheikh AY, Gibson JJ, Rollins MD, Hopf HW, Hussain Z, Hunt TK. Effect of hyperoxia on vascular endothelial growth factor levels in a wound model. *Arch Surg* 2000; 135(11):1293-97.
- Castilla DM, Liu ZJ, Velazquez OC. Oxygen: Implications for Wound Healing. *Adv Wound Care (New Rochelle)* 2012; 1(6):225-30.
- Banyard DA, Adhuni BO, Melkumyan S, Araniago CA, Widgerow AD. Endothelial progenitor cells and burn injury - exploring the relationship. *Burns Trauma* 2016; 19(4):1-7.
- Thom SR, Hampton M, Troiano MA, Mirza Z, Malay DS, Shannon S, et al. Measurements of CD34+/CD45-dim Stem Cells Predict Healing of Diabetic Neuropathic Wounds. *Diabetes* 2016; 65(2):486-97.
- Nazario J, Kuffler DP. Hyperbaric oxygen therapy and promoting neurological recovery following nerve trauma. *Undersea Hyperb Med* 2011; 38(5):345-66.
- Bosco G, Vezzani G, Mrakic Sposta S, Rizzato A, Enten G, Abou-Samra A, et al. Hyperbaric oxygen therapy ameliorates osteonecrosis in patients by modulating inflammation and oxidative stress. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2018; 33(1):1501-05.
- Yuan LJ, Niu CC, Lin SS, Chan YS, Yang CY, Chen WJ, et al
- Additive effects of hyperbaric oxygen and platelet-derived growth factor-BB in chondrocyte transplantation via up-regulation expression of platelet-derived growth factor-beta receptor. *J Orthop Res* 2009; 27(11):1439-46.
- Granowitz EV, Skulsky EJ, Benson RM, Wright J, Garb JL, Cohen ER, Smithline EC, Brown RB. Exposure to increased pressure or hyperbaric oxygen suppresses interferon secretion in whole cultures of healthy humans. *Undersea Hyperb Med* 2002; 29(3):215-25.
- Kendall AC, Whatmore JL, Winyard PG, Smerdon GR, Eggleton P. Hyperbaric oxygen treatment reduces neutrophil-endothelial adhesion in chronic wound conditions through S-nitrosation. *Wound Repair Regen* 2013; 21(6): 860-68.
- Jones SR, Carpin KM, Woodward SM, Khiabani KT, Stephenson LL, Wang WZ, Zamboni WA. Hyperbaric oxygen inhibits ischemia-reperfusion-induced neutrophil CD18 polarization by a nitric oxide mechanism. *Plast Reconstr Surg* 2010; 126(2):403-11.
- Hentia C, Rizzato A, Camporesi E, Yang Z, Muntean DM, Sndesc D, Bosco G. An overview of protective strategies against ischemia/reperfusion injury: The role of hyperbaric oxygen preconditioning. *Brain Behav* 2018 30; 8(5):e00959.
- Huang G, Diao, J, Yi H, Xu L, Xu, J, Xu, W. Signaling pathways involved in HSP32 induction by hyperbaric oxygen in rat spinal neurons. *Redox Biol* 2016; 10:108-18.
- Meng XE, Zhang Y, Li N, Fan DF, Yang C, Li H, Guo DZ, Pan SY. Hyperbaric Oxygen Alleviates Secondary Brain Injury After Trauma Through Inhibition of TLR4/NF- κ B Signaling Pathway. *Med Sci Monit* 2016; 26; 22:284-8.
- Hentia C, Rizzato A, Camporesi E, Yang Z, Muntean DM, Sndesc D, Bosco G. Early Hyperbaric Oxygen Treatment Attenuates Burn-Induced Neuroinflammation by Inhibiting the Galectin-3-Dependent Toll-Like Receptor-4 Pathway in a Rat Model. *Int J Mol Sci*. 2018; 27: 19(8).
- Wu D, Malda J, Crawford R, Xiao Y. Effects of hyperbaric oxygen on proliferation and differentiation of osteoblasts from human alveolar bone. *Connect Tissue Res* 2007; 48(4):206-13.
- Al Hadi H, Smerdon GR, Fox SW. Hyperbaric Oxygen Therapy Suppresses Osteoclast Formation and Bone Resorption. *J Orthop Res* 2013; 31:1839-44.
- Memar MY, Yekani M, Alizadeh N, Baghi HB. Hyperbaric oxygen therapy: Antimicrobial mechanisms and clinical application for infections. *Biomed Pharmacother* 2019; 109: 440-47.
- Ishii Y, Miyanaga Y, Shimojo H, Ushida T, Tateishi T. Effects of Hyperbaric

- Oxygen on Procollagen Messenger RNA Levels and Collagen Synthesis in the Healing of Rat Tendon Laceration. *Tissue Eng* 1999; 5(3):279-86.
34. Takeyama N, Sakai H, Ohtake H, Mashitori H, Tamai K, Saotome K. Effects of hyperbaric oxygen on gene expressions of procollagen, matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase in injured medial collateral ligament and anterior cruciate ligament. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2007; 15:443–52.
 35. Tandara AA, Mustoe TA. Oxygen in Wound Healing More than a Nutrient. *World J. Surg* 2004; 28: 294–300.
 36. Gurdol F, Cimsit M, Oner-Iydogan Y, Kocak H, Sengun S, Yalcinkaya-Demirsoz S. Collagen Synthesis, Nitric Oxide and Asymmetric Dimethylarginine in Diabetic Subjects Undergoing Hyperbaric Oxygen Therapy. *Physiol. Res* 2010; 59: 423-29.
 37. Goldstein L, Gallagher KA, Bauer SM, et al. Endothelial Progenitor Cell Release into Circulation Is Triggered by Hyperoxia-Induced Increases in Bone Marrow Nitric Oxide. *Stem Cells* 2006; 24:2309–18.
 38. Cechin S, Alvarez-Cubela S, Giraldo JA, Molano RD, Villate S, et al Influence of In Vitro and In Vivo Oxygen Modulation on b Cell Differentiation From Human Embryonic Stem Cells. *Stem cells Translational Medicine* 2014; 3:277-89.
 39. Khan M, Meduru S, Mohan IK, Kuppusamy ML, Wisel S, Kulkarni A, Rivera BK, Hamlin RL, Kuppusamy P. Hyperbaric oxygenation enhances transplanted cell graft and functional recovery in the infarct heart. *J Mol Cell Cardiol* 2009; 47(2): 275–87.
 40. Fu TS, Ueng SW, Tsai TT, Chen LH, Lin SS, Chen WJ. Effect of hyperbaric oxygen on mesenchymal stem cells for lumbar fusion in vivo. *BMC Musculoskelet Disord* 2010; 11:52.
 41. Liska GM, Lippert T, Russo E, Nieves N, Borlongan CV. A Dual Role for Hyperbaric Oxygen in Stroke Neuroprotection: Preconditioning of the Brain and Stem Cells. *Cond Med* 2018; 1(4):151-66.
 42. Yang Y, Wei H, Zhou X, Zhang F, Wang C. Hyperbaric oxygen promotes neural stem cell proliferation by activating vascular endothelial growth factor/extracellular signal-regulated kinase signaling after traumatic brain injury. *Neuroreport* 2017; 28(18):1232-38.
 43. Peña-Villalobos I, Casanova-Maldonado I, Lois P, Prieto C, Pizarro C, Lattus J, Osorio G, Palma V. Hyperbaric Oxygen Increases Stem Cell Proliferation, Angiogenesis and Wound-Healing Ability of WJ-MSCs in Diabetic Mice. *Front Physiol* 2018 Jul 30; 9:995.
 44. Shandley S, Wolf EG, Schubert-Kappan CM, Baugh LM, Richards MF, Prye J, Arizpe HM, Kalns J. Increased circulating stem cells and better cognitive performance in traumatic brain injury subjects following hyperbaric oxygen therapy. *Undersea Hyperb Med* 2017; 44(3):257-69.
 45. Moen I, Stuhr LE. Hyperbaric oxygen therapy and cancer—a review. *Targeted oncology*. 2012; 7(4): 233-42.
 46. Godman CA, Joshi R, Giardina C, Perdrizet G, Hightower LE. Hyperbaric oxygen treatment induces antioxidant gene expression. *Ann NY Acad Sci* 2010; 1197(1):178-83.
 47. Daruwalla J, Christophi C. Hyperbaric oxygen therapy for malignancy: a review. *World journal of surgery* 2006; 30(12): 2112-31.
 48. Nie H, Xiong L, Lao N, Chen S, Xu N, Zhu Z. Hyperbaric oxygen preconditioning induces tolerance against spinal cord ischemia by upregulation of antioxidant enzymes in rabbits. *J Cereb Blood Flow Metab* 2006; 26(5):666-74.
 49. Oter S, Korkmaz A, Topal T, Ozcan O, Sadir S, Ozler M, Ogur R, Bilgic H. Correlation between hyperbaric oxygen exposure pressures and oxidative parameters in rat lung, brain, and erythrocytes. *Clin Biochem* 2005; 38(8):706-11.
 50. Ozden TA, Uzun H, Bohloli M, Toklu AS, Paksoy M, Simsek G, Durak H, Issever H, Ipek T. The Effects of Hyperbaric Oxygen Treatment on Oxidant and Antioxidants Levels during Liver Regeneration in Rats. *Tohoku J Exp Med* 2004; 203: 253-65.
 51. Ikejiri AT et al. Effect of hyperbaric oxygenation on the expression of glutathione peroxidase 4 and lactoperoxidase genes in the lung of isogenic mice after ischemia/reperfusion injury in the small bowel. *Acta Cir Bras* 2018; 33(5):462-71.
 52. Kolpen M, Mousavi N, Sams T, Bjarnsholt T, Ciofu O, Moser C, Kühl M, Hoiby N, Jensen PØ. Reinforcement of the bactericidal effect of ciprofloxacin on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm by hyperbaric oxygen treatment. *Int J Antimicrob Agents* 2016; 47(2):163-7.
 53. Lima FL, Joazeiro PP, Lancellotti M, de Hollanda LM, de Araújo Lima B, Linares E, Augusto O, Brocchi M, Giorgio S. Effects of hyperbaric oxygen on *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility to imipenem and macrophages. *Future Microbiol* 2015; 10(2):179-89.
 54. Jordá-Vargas L. El oxígeno hiperbárico: un aliado de los antimicrobianos. *Boletín de la Asociación Argentina de Microbiología*. 2020; 227: 18-22.
 55. Vatanserver F, de Melo WC, Vecchio D, Sadasivam M, Gupta A, Chandran R, Karimi M, Parizotto NA, Yin R, Tegos GP, Hamblin MR. Antimicrobial strategies centered around reactive oxygen species--bactericidal antibiotics, photodynamic therapy, and beyond. *FEMS Microbiol Rev*. 2013; 37(6):955-89.
 56. El Oumri AA, Badi H, Khaloufi S Hyperbaric Oxygen Therapy: Focus Open J Emerg Med 2018; 6:15-20.
 57. Budiarti R, Kuntaman, Nasronudin, Suryokusumo, Khairunisa SQ. In Vitro Studies on Heme Oxygenase-1 and P24 antigen HIV 1 Level after Hyperbaric Oxygen treatment of HIV-1- infected on peripheral blood mononuclear cells (PBMCS). *Afr J Infect Dis* 2018; 7:12(1):1-6.
 58. Edwards ML. Hyperbaric oxygen therapy. Part 2: application in disease *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)* 2010; 20(3): 289-97.
 59. Efrati S, Ben-Jacob E. Reflections on the neurotherapeutic effects of hyperbaric oxygen. *Expert review of Neurotherapeutics* 2014; 14(3): 233-6.
 60. Rockswold SB, Rockswold GL, Zaun DA, Liu J. A prospective, randomized phase II clinical trial to evaluate the effect of combined hyperbaric and normobaric hyperoxia on cerebral metabolism, intracranial pressure, oxygen toxicity, and clinical outcome in severe traumatic brain injury: clinical article. *J Neurosurg* 2013;118(6):1317-28.
 61. Huang L, Obenaus A. Hyperbaric oxygen therapy for traumatic brain injury. *Medical gas research* 2011; 1(1):1.
 62. Zhao B, Pan Y, Wang Z, Xu H, Song X. Hyperbaric Oxygen Pretreatment Improves Cognition and Reduces Hippocampal Damage Via p38 Mitogen-Activated Protein Kinase in a Rat Model. *Yonsei Med J* 2017; 58(1):131-38.
 63. Zhang LD, Ma L, Zhang L, Dai JG, Chang LG, Huang PL, Tian XQ Hyperbaric Oxygen and Ginkgo Biloba Extract Ameliorate Cognitive and Memory Impairment via Nuclear Factor Kappa-B Pathway in Rat Model of Alzheimer's Disease. *Chin Med J (Engl)* 2015; 20; 128(22):3088-93.
 64. Ince B, Arslan A, Dadaci M, Oltulu P, Bilgen F. The effect of different application timings of hyperbaric oxygen treatment on nerve regeneration in rats. *Microsurgery* 2016; 36(7):586-92.
 65. Ramallo L, Verdini F, Jordá-Vargas L. Terapia de oxigenación hiperbárica en el tratamiento del dolor. *Rev. Hosp. Ital. B. Aires* 2019; 39(3): 81-5.
 66. Liu YD, Wang ZB, Han G, Jin L, Zhao P. Hyperbaric oxygen relieves neuropathic pain through aKT/Tsc2/mTOR pathway activity to induce autophagy. *J Pain Res* 2019;12:443-51.
 67. Zhao B, Pan Y, Xu H, Song X. Hyperbaric oxygen attenuates neuropathic pain and reverses inflammatory signaling likely via the Kindlin-1/Wnt-10a signaling pathway in the chronic pain injury model in rats. *J Headache Pain* 2017; 18(1):1-8.
 68. Li F, Fang L, Huang S, Yang Z, Nandi J, Thomas S, Chen C, Camporesi E. Hyperbaric Oxygenation Therapy Alleviates Chronic Constrictive Injury-Induced Neuropathic Pain and Reduces Tumor Necrosis Factor-Alpha Production. *Anesth Analg* 2011; 10(10):1-8.