

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKULTESİ**

**TESTİS İSKEMİ/REPERFÜZYONU OLUŞTURULMUŞ
RATLARDA APOCYNİNİN TESTİS DOKUSU ÜZERİNE
KORUYUCU VE TEDAVİ EDİCİ ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Özkan ÖZBEK
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Ramazan ALTINTAŞ**

MALATYA- 2013

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKULTESİ**

**TESTİS İSKEMİ/REPERFÜZYONU OLUŞTURULMUŞ
RATLARDA APOCYNİNİN TESTİS DOKUSU ÜZERİNE
KORUYUCU VE TEDAVİ EDİCİ ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Özkan ÖZBEK
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Ramazan ALTINTAŞ**

**Bu tez, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim
Birimi tarafından 2012-136 proje numarası ile desteklenmiştir.**

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

İçindekiler	1-III
kısaltmalar.....	IV
tablolar ve şekiller dizini	v
resimler dizini.....	VI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. testis embriyolojisi.....	3
2.2. testis anatomisi.....	6
2.2.1.testis nörovasküler yapıları.....	6
2.3. testis histolojisi.....	8
2.3.1. intersitisyel doku.....	8
2.3.2. seminifer tübüller.....	8
2.4. testis torsiyonun epidemiyoloji ve etyolojisi.....	9
2.4.1. Çocukluk dönemi ve peripubertal torsiyon.....	10
2.4.2. Testis torsiyonunda klinik bulgular	10
2.4.3. Kronik intermitan torsiyon.....	11
2.4.5. Ayırıcı tanı	11
2.4.6. Tanısal testler ve görüntüleme yöntemleri.....	11
2.4.7. Komplikasyonlar.....	12
2.4.8. Tedavi.....	12
2.5. Testis torsiyonu, iskemi/reperfüzyon sonrası oksidatif stres.....	13
2.5.1. serbest radikaller	14
2.5.2. serbest radikallerin lipitlere etkileri.....	15
2.5.3. serbest radikallerin proteinlere etkileri.....	15
2.5.4. Antioksidan Ve Oksidanlar	16
2.5.4.1. Superoksit Dismutaz.....	17
2.5.4.2. Katalaz.....	17
2.5.4.3. Glutatyon.....	18

2.5.4.4 Glutasyon Peroksidaz.....	18
5.4.5. Malonaldehit.....	19
2.5.4.6. Myeloperoksidaz.....	20
25.4.7. Total Oksidan Kapasite.....	20
2.5.4.8. Total Antioksidan Kapasite.....	21
2.5.4.9.Oksidatif Stress İndeksi	21
2.6. NADPH OKSİDAZ.....	21
2.7. APOCYNİN	22
3. MATERYAL VE METOD.....	26
3.1. ratlar	26
3.2. grup dağılımı	26
3.3. cerrahi prosedür	27
3.4. biyokimyasal yöntem.....	29
3.4.1. Analizler.....	29
3.4.2. Dokuların Biyokimyasal Analizlere Hazırlanması.....	29
3.4.3. Malondialdehit Miktarının Ölçümü.....	29
3.4.4. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesi Ölçümü.....	29
3.4.5. Katalaz Enzim Aktivitesi Ölçümü.....	30
3.4.6. Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivite Ölçümü.....	30
3.4.7. Glutasyon Miktarının Ölçümü.....	30
3.4.8. Protein Ölçümü.....	30
3.4.9. Miyeloperoksidaz Enzim Aktivite Ölçümü.....	30
3.4.10. Total antioksidan kapasitesinin (TAK) belirlenmesi.....	31
3.4.11. Total oksidatif durumunun (TOS) belirlenmesi.....	31
3.4.12. Oksidatif stres indeksinin (OSİ) hesaplanması.....	31
3.4.13. Verilerin İstatistiksel Analizi.....	31
3.5. Histolojik Yöntem.....	32
3.5.1. Preparaların Hazırlanması.....	32
3.5.2. Histolojik Değerlendirme.....	32
3.5.3. İstatistiksel Analiz.....	32

4. BULGULAR	33
4.1. BİYOKİMYASAL BULGULAR.....	33
4.2. Histolojik Bulgular.....	34
4.2.1. Sham Grubu.....	34
4.2.2. IR Grubu.....	34
4.2.3. IR+SF Grubu.....	36
4.2.4. IR+Apocynin Grubu.....	38
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ	48
7. ÖZET	49
8. SUMMARY	51
9. KAYNAKLAR	53

KISALTMALAR DİZİNİ

O₂-: Superoksit anyonu

HO-: Hidroksil radikali

H₂O₂: Hidrojen peroksit

SOR: Serbest oksijen radikalleri

CAT: Katalaz

MDA: Malondialdehit

MPO: Myeloperoksidaz

TAS: Total antioksidan seviye

TOS: Total oksidan seviye

GSH: Redükte glutatyon

GPX: Glutatyon Peroksidaz

GSSG: Okside glutatyon

SOD: Superoksitdismutaz

NO: Nitrik oksit

NOS: Nitrikoksit sentaz

NO₂ : Nİtrojen dioksit

ONOO- : Peroksinitrit

NOX: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat Oksidaz

XO: Ksantin oksidaz

RNS: Reaktif nitrojen türleri

ROS: Reaktif oksijen türleri

COX: Sikloksijenaz

RS: Tiyil radikali

SH: Proteindeki serbest tiyol radikali

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1 : Gruplardaki oksidan ve antioksidan parametrelerin değerleri.....	33
Tablo 2: Histolojik skorlama bulguları	40
Tablo 3 : Seminifer tübül çap ortalaması	40

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sekil 1: :testis gelişimi	5
sekil 2: testis anatomisi.....	7
Şekil 3: serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve antioksidan enzimler.....	14
Şekil 4: apocynin'in aktif dimerizasyon oluşumu.....	23
Şekil 5: apocynin'in nadph oksidaz inhibisyonu mekanizması.....	23

RESİMLER DİZİNİ

resim 1: Apocynin cannabium.....	24
resim 2: Picrorhiza curroa.....	24
resim 3:Sham grubu skrotal explorasyon.....	28
resim 4:SF verilen grup torsyon,fiksasyon.....	28
resim 5: IR grubu iskeminin reperfüzyonun 1.saati.....	28
resim: 6:Apocynin uygulanan grup reperfüzyonun 1.saati.....	28
Resim 7. Sham Grubunda Sertoli hücreleri.....	35
Resim 8. I/R Grubunda bağ dokuda izlenen şiddetli hemoraji	35
Resim 9. I/R Grubunda seminifer tübül lümenine dökülen germ hücreleri.....	36
Resim 10. I/R Grubunda çok nükleuslu dev hücrelerin görünümü	36
Resim 11. I/R Grubunda Mayozda duraksamış dejenere hücreler	36
Resim 12. SF Grubunda interstisyel alanda hemoraji	37
Resim 13. SF Grubunda Germ hücre sayısı azalmış tübüller.....	37
Resim 14. I/R + Apocynin grubunda interstisyel alanda hemoraji.....	38
Resim 15. I/R + Apocynin grubunda dev hücre.....	39
Resim 16. I/R + Apocynin grubunda Mayozda duraksamış hücreler.....	39

1-GİRİŞ

Ürolojik acil girişim gerektiren hastalıklar arasında olup testis torsiyonu yirmibeş yaş altındaki erkeklerde 1/4000 oranında görülmektedir (1). Ani başlayan skrotal ağrı en sık rastlanan şikayettir. Doğru tanı konulmaz ve uygun tedavi yapılmaz ise ilk altı saat içinde geri dönüşümsüz iskemiye neden olarak o taraf testisin kaybedilmesi ile sonuçlanabilmektedir. Bu nedenle özellikle ani başlayan skrotal ağrı şikayeti ile başvuran hastada hızlı bir şekilde tanıya gidilmesi ve sonrasında tedavi amaçlı manuel detorsiyon veya cerrahi eksplorasyon yapılması gerekmektedir (2).

Testis torsiyonu esnasında oluşan iskemik hasarın etyolojisinde ortamda bulunan reaktif oksijen radikallerine (ROS) bağlı oksidatif stres ve inflamasyon süreci yer alır. İskemik hasar dönemi olarak adlandırılan bu süreçte testiküler hasar primer olarak oksijen desteğinin azalmasına bağlıdır. Torsiyonun düzeltilmesinden sonra da ROS ürünlerinin oluşmasıyla reperfüzyon hasarı süreci başlar (3).

Apocynin; Apocynum cannabinum bitkisinin köklerinden elde edilen NADPH oksidaz (NOX) inhibisyonu etkisi olan bir maddedir. Geleneksel hint tıbbında kalp hastalıklarında kullanılan apocynin (4-hydroxy-3-methoxyacetophenone) günümüzde, piyasada bulunan en seçkin selektif NOX inhibitörlerinden biridir. NOX süperoksit oluşumunda rol alan bir enzimdir. Apocyninin NOX inhibitörü olarak tedavide kullanılabileceği deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (4). ROS birçok reaksiyon sonucunda ürünler olan hidrojen peroksit (H₂O₂) , peroksi nitrit (ONOO) , Nitrik oksit'e (NO) dönüşür. Apocyninin, antioksidan savunma sistemini ve redükte glutatyon'u (GSH) artırdığı, iskeminin tetiklediği hücrel stresini sınırladığı görülmüştür (5). İskemik korteks doku analizlerinde apocyninin GSH tüketimini, hidrojen peroksit oluşumunu (H₂O₂), ve DNA fragmentasyonunu azalttığı bildirilmiştir (6).

Yapılan deneysel çalışmalarda apocyninin beyin böbrek ve kalp dokusunda iskemiye bağlı hasarı azalttığı vurgulanmıştır (7,71). Yapılacak olan bu çalışmayla

apocyninin iskemi reperfüzyona (I/R) uğramış testis dokusu üzerine koruyucu ve tedavi edici özelliğini araştırmak amaçlanmıştır.

2-GENEL BİLGİLER

2-1 Testis Embriyolojisi

Embriyonun dorsal duvarındaki mezodermal kabartıdan ürogenital sistem gelişir. Bu kabartı intermediate mezoderm olarakta adlandırılır. Embriyonun horizontal düzlemde katlanması ile ürogenital kabarıklık adı verilen longitudinal mezodermal şişkinlikler oluşur.

Genital kabartı içinde germ hücrelerinin oluşması 6. gestasyonel haftada olur. Primordial germ hücreleri yolk kesesinin allantoise yakın endoderm hücrelerinden meydana gelmektedir. Altıncı gestasyonel haftada germ hücreleri son barsağın dorsal mezenteri boyunca ilerleyip genital kabartıya gelirler. Primordial germ hücreleri genital kabarıklığa varmadan önce genital kabartının kolomik epitel proliferer olur ve altında yer alan mezenşimin içine girmeye başlar. Kolomik epitel hücreleri burada primitif cinsiyet kordonları adı verilen düzensiz şekilli kordonları meydana getirirler. Genital kabartı primordial germ hücrelerinin indüklemesi ile over veya testise farklılaşır .

Eğer embriyo erkeğe primordial germ hücreleri XY kromozomunu taşırlar. Y kromozomu üzerindeki testis belirleyici faktörün etkisiyle primitif cinsiyet kordonları çoğalmaya devam eder ve testisin medüller kordonlarını meydana getirmek üzere medullanın içine doğru ilerlerler. Kordonlar sonradan hilusa doğru ince hücre sıralarından oluşan bir ağ meydana getirir. Bu ağdan testis tübüleri meydana gelmektedir.

İlerleyen dönemlerde testis kordonları yüzey epitel ile olan ilişkilerini kaybeder ve testisin yüzeyi tunika albuginea adı verilen fibroz bir bağ dokusu ile epitelten ayrılır. Gestasyonun 16-20. haftaları arasında testis kordonları at nalı şeklini alır ve bu kordonların uçları rete testis olarak devamlılık gösterir. Bu dönemde testis kordonları germ hücreleri ve bezin yüzey epitelinden köken alan sertoli hücrelerinden oluşmaktadır.

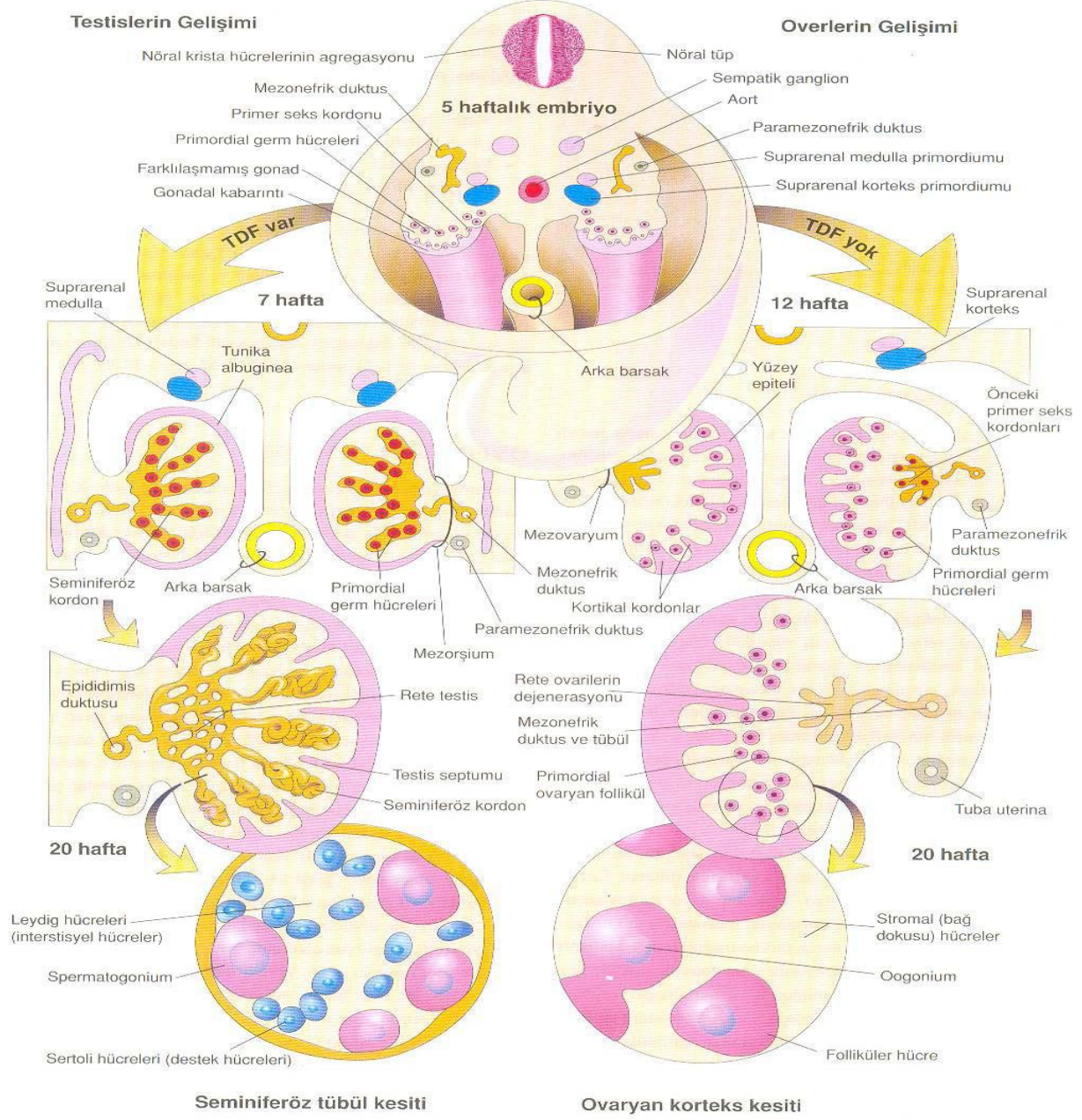
Testis kordonları arasında yer alan interstisyel leydig hücreleri gonadal kabartının orjinal mezenşiminden köken alarak kordonların farklılaşmaya başlamasından sonra ortaya çıkmaktadır. sekizinci haftada leydig hücrelerinde testosteron üretimi başlar ve testisler dış genital organların farklılaşmasını sağlar. Puberteden sonra testis kordonları açılarak seminifer tübüleri meydana getirirler. Seminifer tübüller kanalize olarak rete testis tübüllerine katılır ve sonrasında duktus eferente girerler (Şekil 1) .

Duktus eferentes kanalları rete testis ile mezonefrik kanal arasında ilişkiyi sağlar. Mezonefroz gerilerken epigenital tübüller rete testisin kordonları ile birleşip duktus eferentesleri meydana getirir. Paragenital tübüller ise rete testis kordonları ile birleşmez ve bunların kalıntıları paradidimisi oluşturur. Mezonefrik kanallar ana genital kanalları oluştururlar. Mezonefrik kanallar uzayarak eferent duktusların giriş yerinin hemen altından itibaren duktus epididimi meydana getirirler. Mezonefrik kanal epididimin kuyruk kısmından seminal vezikul tomurcuğuna kadar kalın bir kas kılıfı ile sarılıdır ve bu kısım duktus deferens adını almaktadır. Duktus deferensin seminal veziküllerden sonraki uzantısı ise ejakulatuar kanaldır. Erkeklerde paramezonefrik kanalın kranial ucundaki kısmı dışında tümü dejenere olmaktadır. Dejenere olmayan bölümden ise apendiks testis oluşur.

Testis ve mezonefroz 2. ayın sonunda ürogenital mezenter ile karın arka duvarına bağlanır. Testisin kaudal kutbundan uzanan ekstrasellüler matriksten zengin mezenşimal yapı ise gubernakulumdur. Testisin inferiora inişini tamamlamasından önce gubernakulum inguinal bölgede internal ve eksternal abdominal oblik kaslar arasında son bulur. Testisin skrotum içine inmeye başlaması ile birlikte gubernakulumun ekstraabdominal kısmı oluşur ve inguinal bölgeden skrotal şişliğe doğru büyür. Testis inguinal kanaldan geçerken gubernakulum skrotum tabanına tutunmaktadır. Testisin inişini kontrol eden faktörler tam olarak bilinmemektedir. Bu dönem müllerian inhibe edici faktör (MIF) ve androjen hormonların etkisi altında gerçekleşmektedir.

Kolomik boşluğa ait periton karın ön duvarının her iki yanında vaginal proses adı verilen bir peritoneal cep oluşturur. Musküler ve fasiyal yapılarla birlikte skrotal şişliğe doğru ilerleyen vaginal prosesler inguinal kanalı meydana getirirler. Testisler inguinal kanaldan geçip skrotuma inerler ve sonrasında ise vaginal prosesin katlantısı ile sarılırlar. Testisi saran peritonun iç kısımda kalan parçası tunika vaginalisin viseral

yaprağı, dış tarafta kalan parçası ise pariyetal yaprağıdır. İnternal spermatic fascia fascia transversalisten, kremaster internal oblik kastan ve eksternal spermatic fascia ise eksternal oblik kastan meydana gelir (9).



Şekil 1: Testis gelişimi (8).

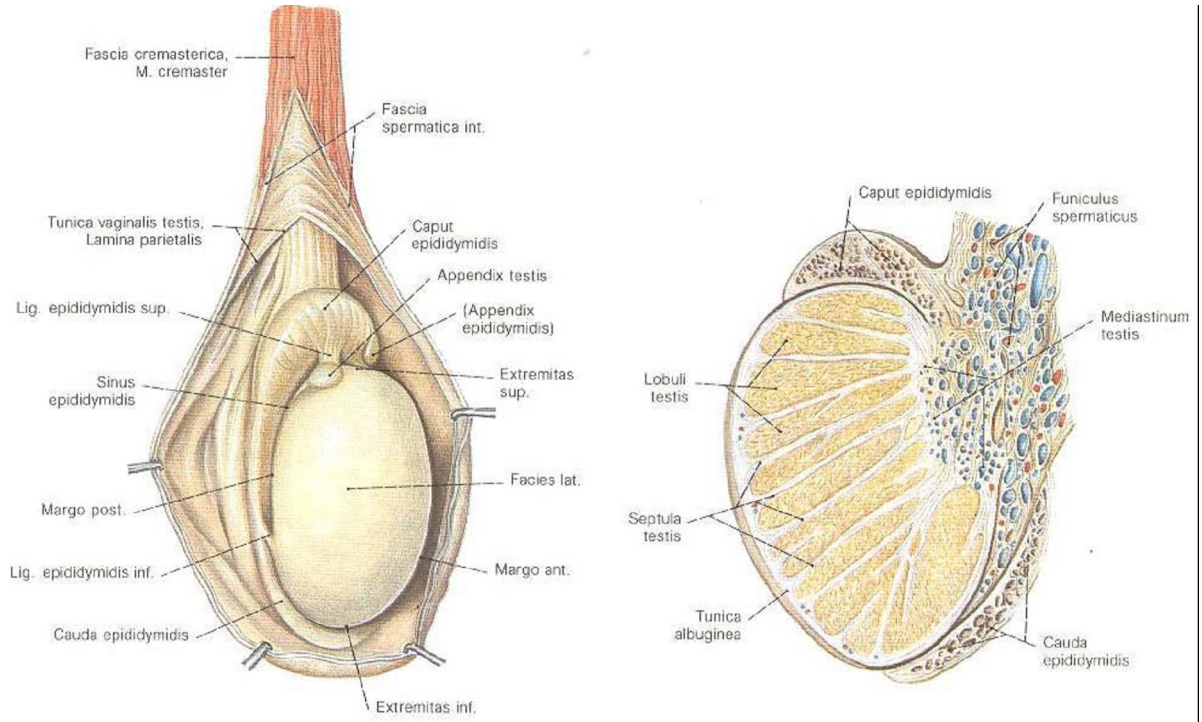
2.2. Testis anatomisi

Testis ortalama 15-20 ml hacminde ve 4×3×2,5 cm boyutlarındadır. Sıklıkla sol testis sağdakine oranla yaklaşık 1cm daha aşağıda bulunmaktadır (10). Testis dıştan içe doğru tunika vaginalis, tunika albuginea ve tunika vaskulosa olmak üzere 3 tabakadan oluşan bir kapsül ile sarılıdır. Tunika vaginalis visseral ve parietal olmak üzere 2 tabakadır (Şekil 2). Bu iki tabaka arasındaki boşlukta seröz sıvı bulunur, bu sıvının artışı ile hidrosel oluşur. Ekstravaginal testis torsiyonu bu boşlukta oluşur (11).

Tunika albuginea testis içeriğini sarar, yapısında kollajen doku içine dağılmış, dallanmış düz kas hücreleri bulunur. Bu lifler ejakülasyonda kasılarak sperm hücrelerinin efferent duktuslara doğru hareket etmesine yardımcı olur. Tunika albuginea septalarla seminifer tübülüsleri 250-300 lobüle böler. Tunika vaskulosa testisin septumlarının iç yüzünü örter. Her bir septum seminifer tübül ve sentrifugal arter içerir. İnterstisyel doku, leydig hücreleri, mast hücreleri makrofajlar, sinir, kan ve lenfatik damarlardan meydana gelir. Seminifer tübüller; iki ucu da rete testiste sonlanan 'V' şeklinde tübüllerdir. Testiste yaklaşık 600- 1200 seminifer tübül bulunur (12). Rete testis 6-12 efferent kanalın birleşmesi ile oluşur, testiküler sıvı ve spermatozoanın epididim baş kısmına aktarılmasını sağlar.

2.2.1. Testisin nörovasküler yapıları

Testis kan akımı 100 mg doku için yaklaşık 9 ml/dk'dır. Testiküler arter abdominal aortadan renal arterin hemen altından çıkar. Kremasterik ve deferential arterler de hipogastrik arterin dallarıdır ve testisin kanlanmasına katkıda bulunur. Testiküler arter testise posteriyordan girer. Tunika albugineayı geçtikten sonra anteriyorda testis parankimi üzerinden transvers olarak geçecek şekilde dallanır, sonra posteriyora ve inferiyora doğru seyrederek. Testisin anterior ve inferior bölgeleri, medial ve lateral bölgelerine oranla daha çok damar içermektedir.



Şekil 2: Testis Anatomisi (12)

Posteriyordan ilerleyen venler, mediastenden gelen küçük venlerle ve vas deferens venleri ile birleşir ve plexus pampiniformisi oluşturur. Plexus pampiniformis spermatic kordun içinde inguinal kanaldan geçerek sağda vena cava inferiora, solda ise renal vene dökülür.

Testisin lenfatik drenajı 4-8 lenfatik damar ile spermatic kord içinden geçerek paraaortik lenf nodlarına dökülür (13).

Testis, medulla spinalisin torakal 10-12 segmentlerinden kaynaklanan sempatik ve nervus vagustan kaynaklanan parasempatik liflerden oluşan plexus testikularis ile innerve edilir. Plexus testikularis sinirler testiküler arter ve deferential arter etrafında testise ulaşır (13).

2.3. Testis Histolojisi

2.3.1. İntertisyel Doku

İntertisyel doku testis dokusunun %30'unu oluşturur. Leydig hücreleri, kan damarları, lenfatikler, sinirler, makrofajlar ve mast hücrelerini içerir. Leydig hücreleri santral konumlu, tek, yuvarlak bir çekirdeğe sahip, testosteron üreten hücrelerdir ve ergenlikte ortaya çıkarlar.

Testosteron, kolesterolden sentezlenir, sekonder seks karakterlerinin gelişmesinden sorumludur. Lüteinizan hormon testosteron salgılanmasını uyarır. Testosteronun %65'i androjen bağlayıcı protein olarak adlandırılan bir beta globüline, %33'ü albümine bağlı, % 2'si ise serbest olarak bulunur.

Spermatogenez, hipofizden salgılanan folikül stimulan hormon ile lüteinizan hormonun testise stimulan etkileriyle başlar. Lüteinizan hormon, Leydig hücrelerine testosteron yapımını uyarır. Folikül stimulan hormon ise sertoli hücrelerini etkileyerek adenilat siklazı, siklik adenzin monofosfat'ı, androjen bağlayıcı protein sentezini artırır. Androjen bağlayıcı protein testosteronu bağlayarak seminifer tübüle taşır. Testosteron spermatogenezini uyarır, östrojen ve progesteron ise spermatogenezini inhibe eder (15).

2.3.2. Seminifer Tübüller

Her testis lobülü 1-4 arasında seminifer tübül içerir. İntertisyumdan miyoid hücreler içeren bazal membran ile ayrılırlar. Seminifer tübül uzunlukları yaklaşık 30-70 cm'dir, germ hücreleri ve sertoli hücrelerini içerirler.

Sertoli hücreleri, seminifer tübülün bazal kısmından lümene doğru uzanan bölünme yeteneği olmayan destek hücreleridir. Seminifer tübüllerdeki hücrelerin %10'unu oluştururlar. Çekirdekleri düzensiz şekilli ve büyüktür.

Pubertede sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantı kompleksleri kan testis bariyerini oluşturur ve kandan gelen maddelerin lümen içerisine geçişini önler.

Spermatogenezin düzenlenmesi, androjen bağlayıcı protein, transferrin, büyüme hormonu, seruloplazmin, inhibin gibi pek çok maddenin sentezini yaptıkları gibi fagositoz işlevleride vardır (15).

Germ hücrelerinin olgunlaşmasını 64 günde tamamlanır. Bazal membrana oturan spermatogonium A kök hücreleri oluştururken, spermatogonium B mitoz ile bölünerek primer spermatositlere dönüşürler ve sonrasında mayoz bölünme ile sekonder spermatositleri oluştururlar. Sekonder spermatositler ikinci bir mayoz bölünme ile haploid spermatidlere dönüşürler. Haploid spermatidler ise, spermatozoonları oluştururlar (16,17).

2.4. Testis torsiyonu epidemiyoloji ve etyolojisi

Testis torsiyonu ilk defa Huntur tarafından etkilenen testiste kalıcı iskemik yaralanmaya sebep olan ürolojik acil durum olarak tanımlanmıştır (3). Yirmibeş yaşın altındaki erkeklerde testis torsiyonu insidansı 1/4000'dir. Cummings ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada hastaların %61'inin 21 yaşından küçük olduğunu bildirmişlerdir (2). Testis torsiyonu birincisi neonatal dönemde ve ikincisi 13 yaş civarında olmak üzere iki kez pik yapmaktadır (5). Testis torsiyonu görülen en yaşlı vaka ise 69 yaşındadır (10).

Tunica vajinalis testisin anterior yüzeyini sarar ve epididim ile spermatik kord üzerinde alanlar oluşturur. Eğer tunika vajinalis korda kadar sararsa testis tunikal kavite içinde serbest olarak hareket eder ve kendi mezenteri etrafında dönebilir. Bu duruma "çan tokmağı" varyantı denilen durum oluşur. Postmortem testislerin %12'sinde görülür. Çocukluk ve adolesan döneminde torsiyonun en sık nedenidir ve sıklıkla bilateraldir (13). Testis skrotumda horizontal bir pozisyonda durur. Neonatal dönemde inmekte olan testis ve testisi saran dokular skrotum içerisinde çok hareketlidir. Bu yaş gurubunda kord ve tunica vajinalis birlikte dönebilir. Bu durum ekstravajinal torsiyon olarak adlandırılır ve küçük yaştaki torsiyonların çoğundan sorumludur. Ancak bu yaşlarda intravajinal torsiyon da görülebilir (14).

2.4.1. Çocukluk dönemi ve peripubertal torsiyon

Torsiyon sıklıkla akut başlayan tek taraflı testiküler ağrı ile kendini gösterir. Skrotal ağrı, kasık, karın veya uyluk ağrısı görülebilir. Travma, egzersiz ve bisiklet sürme torsiyona neden olabilir.

Genel olarak muayeneye normal testisten başlanır, horizontal pozisyondaki testis çan tokmağı deformitesini akla getirmeli ve kontralateral testiste torsiyon olabileceği düşünülmelidir. Etkilenen tarafta testis hassas ve şiştir, skrotumda yüksek yerleşimlidir, kord kalınlaşmış ve hassastır. Sekonder hidrosel bulunabilir, kremaster refleksi görülmeyebilir (18).

İskemik testiküler hasar testisin dönme sayısı ve torsiyon süresiyle ilişkilidir. 360° den fazla ve 24 saatten uzun süren torsiyonlarda testis yerinde bırakılırsa testis atrofisi sonucu ipsilateral testis kaybı gerçekleşir. Dört saatten uzun süren torsiyonlarda da testiste atrofi görülebilir (19).

Tedavi için acil olarak manuel yada cerrahi detorsiyon uygulanması gerekir. Cerrahi işlem sırasında orta hat skrotal insizyon ile testise ulaşılır. Kord düzeltilir ve testis ıslatılmış gazlı bez ile sarılır. Eğer torsiyone testis belirgin olarak siyah ve cansız görülüyorsa çıkartılması uygun olur. Bristol ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda, 12 saatten kısa torsiyone olan testislerin sadece %4'ünün nekrotik olduğu, ancak daha uzun süreli torsiyon gerçekleşmişse %75'ine orşiektomi yapıldığı bildirilmiştir (18).

2.4.2. Testis torsiyonunda klinik bulgular

Hastalar sıklıkla akut başlayan ve gittikçe artan ağrı ile hastaneye başvurur. Aynı zamanda abdominal ağrı da olabilir. Bulantı kusma sıklıkla olur ve hafif ateşte görülebilir. Torsiyon genellikle tek taraflı olup %2 oranında bilateral olabilir. Sol taraf genelde daha sık etkilenir. Palpasyonla testis çok hassastır. Torsiyone testis retrakte olur, skrotumda yüksek yerleşimli ve horizontaldir. Epididimin anteriorda hissedilmesi önemli bir bulgudur. Testiküler elevasyon ile ağrı azalmaz (Phren bulgusu) ve bu durum orşitte görülenin tersidir (20).

2.4.3. Kronik intermitan torsiyon

Kronik intermitan torsiyonda hasta tekrarlayıcı akut tek taraflı skrotal ağrı epizodları tarif eder. Ağrı genelde birkaç saat içinde kendiliğinden kaybolur. Klinik muayene ve radyolojik bulgular hastaneye geldiğinde genellikle normale dönmüş olur (21).

2.4.4. Ayırıcı tanı

Testis torsiyonunun apendiks testis torsiyonu, strangüle herni, orşit, epididimit gibi akut skrotal ağrı yapan hastalıklardan ayırımı yapılmalıdır. Testis torsiyonu ağrısı epididimorşitten daha şiddetlidir (22). Apendiks testis torsiyonu testis torsiyonundan daha yavaş başlar, “mavi nokta” bulgusu ve testisin üst polünde lokalize hassasiyet vardır. Çocuklarda akut skrotal ağrının %35-67’ sinden apendiks testis torsiyonu sorumludur. Kremasterik refleks çoğunlukla mevcuttur. Akut travma öyküsü varsa testis rüptürü ve hematosel ayırıcı tanıda düşünülmelidir. Henoch-Schonlein purpurası ve poliartritis nodoza akut skrotal ağrının diğer nedenleri arasındadır (23).

2.4.5. Tanısal testler ve görüntüleme yöntemleri

Tam kan sayımı ve idrar analizi genellikle normaldir. Ultrasonografik inceleme (USG) testis torsiyonu tanısında en sık tercih edilen radyolojik yöntemdir (20). Tam torsiyonda doppler ultrasonografik görüntülemeye kan akımı tamamen kaybolmuştur. Kısmi torsiyonda kan akımı bazı pollerde görülebilir. Torsiyonun süresine göre USG bulguları değişebilir. Genel olarak etkilenen testis genişlemiş ve heterojen eko yapısı görülür (21). Epididim boyutu artmış ve avaskulerite görülebilir (22).

Manyetik rezonans (MR) görüntüleme de testis torsiyonu tanısında ileri tetkik olarak kullanılabilir (23). Klinik uygulamada pediatrik dönemde anestezi gerekliliğinden dolayı pek tercih edilmemektedir.

İzotop Tc 99’ kullanılarak yapılan sintigrafi de testisin kan akımının değerlendirilmesinde kullanılır. Sintigrafide torsiyone olmuş testisin çevresindeki

dokulara nazaran radyoniklid izotopu daha az tutmasına bağlı olarak halka bulgusu görülür (24).

2.4.6. Komplikasyonlar

Spermatogenez torsiyon geçirmiş hastalarda belirgin olarak bozulmuştur ve bu durum infertiliteye sebep olabilir. Hastaların yaklaşık %35'inde sperm sayısı 15 milyon / ml'nin altındadır (25).

Bazı araştırmalarda testis torsiyonunun kontralateral testiste biyokimyasal değişikliklere neden olduğu bulunmuştur (21). Kontralateral hasara nöro-hormonal yolların yol açtığı düşünülmektedir. Unilateral detorsiyondan sonra pentoksifilin gibi bazı ilaçların her iki testiste de kan akımını arttırdıkları gösterilmiştir (26). Buna rağmen kontralateral hasarın patofizyolojisi henüz tam olarak açıklığa kavuşmamıştır.

2.4.7. Tedavi

Akut hassas skrotal şişliği olan erkekte hikaye, muayene veya görüntüleme yöntemleri ile torsiyon tanısı konulabilir. Manuel detorsiyon, ilk 6 saatte, cerrahi hazırlığın devam ettiği esnada uygulanmalıdır. Manuel detorsiyon kronik intermitan torsiyonlarda da denenmelidir (27). Ağrılı bir prosedür olduğu için sedasyon veya spermatik kord bloğu gereklidir. Genellikle testisler medialden laterale doğru detorsiyone edilir. Başarılı manuel detorsiyonda skrotal ağrının hemen geçmesi gerekir. Detorsiyonun kesin göstergesi ise dopler ultrasonografide kan akımının düzelmesidir (28).

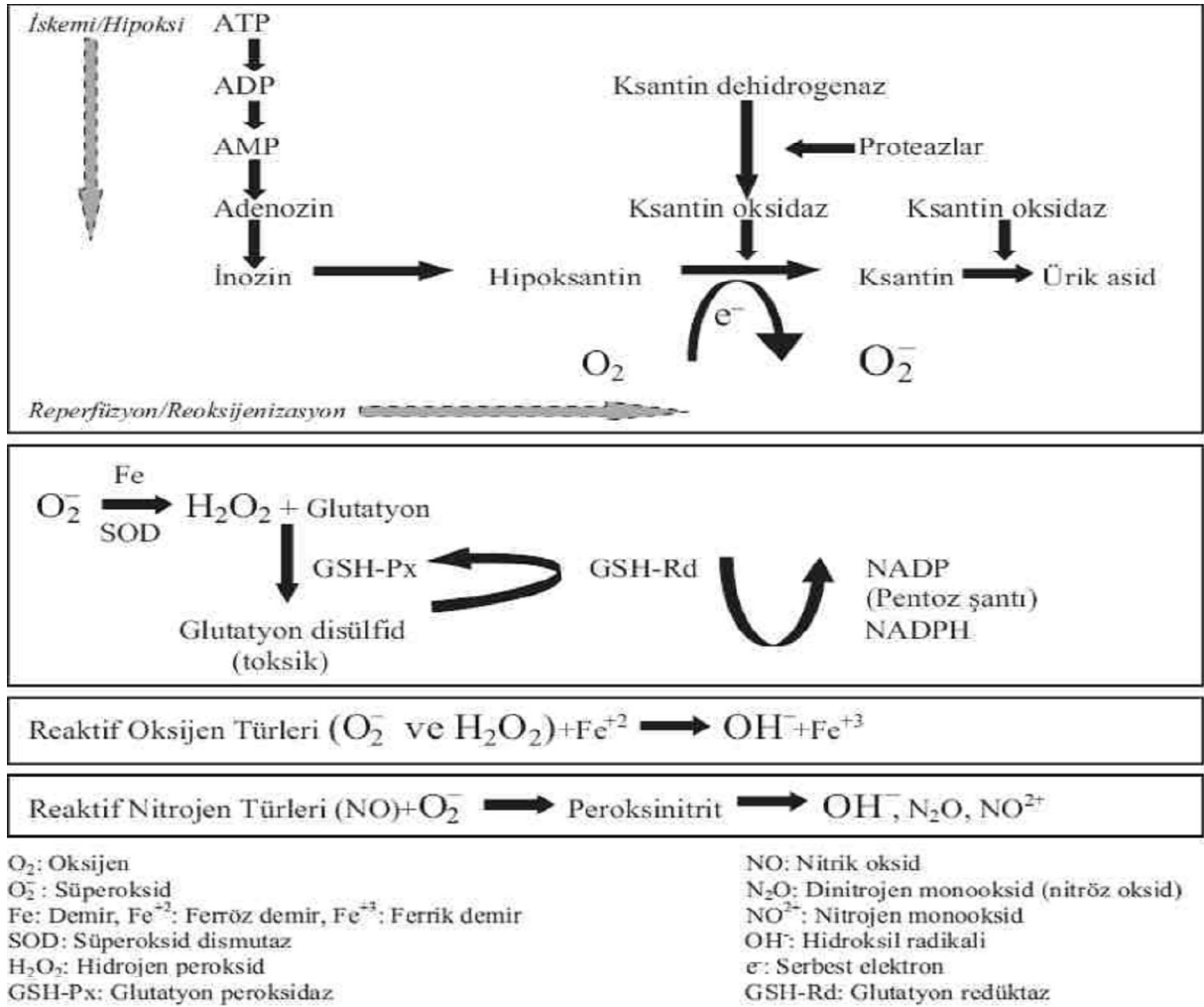
Manuel detorsiyonun başarılı olmadığı hastalarda acil cerrahi müdehale gereklidir. Altı saatten sonra kalıcı iskemi oluşmaya başlar. Cerrahi insizyon için genellikle transskrotal yaklaşım tercih edilir. Eksplorasyon esnasında etkilenen testis ve spermatik kord detorsiyone edilir, testisin canlılığı değerlendirilir. Testis canlılığını yitirmişse veya nekrotikse orşiektomi yapılır. Mümkünse orşiektomi kontralateral orşiopeksi ile beraber uygulanmalıdır. Detorsiyon sonrası testis canlı görülüyorsa bilateral orşiopeksi yapılır. Torsiyon için yapılan orşiopekside testis tunika albugineadan dartosa fikse edilir (29).

2.5. Testis torsiyonu, iskemi / reperfüzyon sonrası oksidatif stres

Testisde iskemi, reperfüzyon hasarının oluşumunda ROS ve RNS'nin aşırı üretimi rol oynamaktadır (30). Moleküler oksijen ve serbest elektron, reperfüzyon fazında hipoksantin, XO sisteminde karşılaşır ve önce O₂- anyonuna, sonrasında SOD aktivitesi ile H₂O₂'ye dönüşür. Dokularda hipoksi ile bir purin metaboliti olan hipoksantin artar, hipoksantin XO sistemi ile temizlenirken oksijen radikalleri oluşur (Şekil 3) (31).

İkinci faz saatler veya günler sürer geri dönüşümsüz doku hasarı ve inflamasyon oluşur. Nötrofil infiltrasyonu ve makrofaj hakimiyeti söz konusudur. Erken reperfüzyon esnasında SOR üretimi nonenzimatik reaksiyonlara olur (32).

Lipid peroksidasyonu, hücre membranındaki ve lipoproteinlerdeki unsature lipid ve kolesterollerin oksidasyonu ile oluşur ve iskemi-reperfüzyonun (I/R) en zararlı sonucu olarak kabul edilmektedir (32). Bazı araştırmacılar rat testisi üzerindeki etkileri sadece iskemiye bağlayıp IR'nin ortak etkisini yok saymıştır(34). MDA I/R hasarının lipid peroksidasyonu esnasında oluşan, sekonder bir üründür. Testis dokusunda, testiküler hasar sonrası MDA seviyesi artar Antioksidan enzimler serbest oksijen radikallerini su ve oksijen haline çevirirler. Bu enzimlerden en iyi bilinenleri süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GPx) ve katalazdır (CAT)' . SOD seviyesi reperfüzyon hasarına bağlı olarak azalır (32).



Şekil 3: Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşumu ve Antioksidan Enzimler (32)

2.5.1. Serbest Radikaller

Serbest radikal, bir ya da daha çok sayıda çiftleşmemiş elektron içeren atom veya atom gruplarıdır. Herhangi bir atom veya molekülün dış orbitallerinde bir veya daha fazla paylaşılmamış elektron bulunmasıyla, kimyasal türün reaktivitesi artar, böylece kararsız hale gelir ve dış yörüngesindeki elektronun ortaklanmasını sağlamak ve kararlı hale gelmek için diğer moleküllerle reaksiyona girebilecek aktif bir yapı gösterir (35).

Ekzojen kaynaklar: doğal zararlı gazlar (ozon, oksijen ve hiperbarik oksijen), iyonize ve non-iyonize radyasyon, ilaçlar, alkol, patojenik bakteri ve virüslerdir (36). Endojen kaynaklar ise mitokondrial elektron transport sistemi,

endoplazmik retikulum fonksiyonları, araşidonik asit metabolizması veya siklooksijenaz (COX) sistemi, redoks döngüsü, fagositik hücreler (monosit, makrofajlar, nötrofil, eozinofil) ve endotelyal hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar, XO, NOX gibi oksidan enzimler ve otooksidasyon reaksiyonlarıdır (37).

Serbest radikaller başta nükleik asitler, lipidler ve proteinler olmak üzere birçok moleküle zarar verir. Reaktif oksijen ürünleri biyolojik sistemde hasara neden olmakta, bu durum da oksidatif veya nitrozaktif stres olarak nitelendirilmektedir. Serbest radikallerin hücrede ilk karşılaştıkları yapı membran lipid komponentleridir (38).

2.5.2. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri

Hücre membranları çoklu doymamış yağ asitleri açısından zengindir. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve zincirleme olarak kendiliğinden süren bir reaksiyon çeşididir. Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikal aracılı oksidasyonu ile lipid hidroperoksitler gibi birincil metabolitler oluşurken daha ileri oksidasyon reaksiyonları sonrası siklik peroksitler gibi ikincil lipid peroksidasyon metabolitleri oluşur (39). Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu, yapılarındaki hidrojen atomunun zincir başlatıcı radikale veya hidroksil radikali gibi kararsız yapılara transferi sonucu pentaenil karbon merkezli lipid radikalinin oluşması ile başlar. Burada karbon merkezli lipid radikali moleküler oksijenle tepkimeye girerek lipid hidroperoksil radikalini oluşturur. Lipid hidroperoksitler bölünüp siklik aldehitlere (4-hidroksinonenal, MDA, 4-hidroksihekzenal) dönüşebilir. Bu aldehitler diğer biyolojik moleküllerle (aminoasitler, proteinler) reaksiyona girerek hücrede sitotoksik, genotoksik hatta proliferatif etki gösterirler (40).

2.5.3. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Proteinlerin oksidasyonu, ROS ile veya diğer oksidan metabolitlerle kovalent modifikasyonu sonucu gerçekleşir. Protein oksidasyonunun biyokimyasal sonuçları enzim aktivitesindeki azalma, protein fonksiyonlarının ve proteaz inhibitor aktivitenin kaybı, protein agregasyonu, artmış ya da azalmış

proteolize yatkınlık, reseptör aracılı endositozun bozulması, gen transkripsiyonundaki değişimler, immunojen aktivitedeki artış olarak sıralanabilir (41). Serbest radikallerin proteinlerdeki tiyol (-SH) gruplarının oksidasyonuna yol ağtığı ve bunun da protein oksidasyonunun en erken gözlenebilen belirtisi olduğu bilinmektedir. Sistein aminoasidinin -SH grubu oksidatif atağa oldukça yatkındır ve -SH gruplarından değişik mekanizmalarla oluşan tiil radikali (-S.) proteinlerdeki disulfid bağlarının oluşumuna öncülük eder. Aynı zamanda -SH grupları oksidasyonu sonucu oksiasit türevleri oluşur (42).

2.5.4. Oksidan Ve Antioksidanlar

Organizmalardaki lipid, protein, nükleik asit ve karbohidratlar oksidatif hasar için hedef moleküllerdir. Vücutta oluşan serbest radikalleri metabolize eden, onların düzeylerini kontrol altında tutan, serbest radikal oluşumunu önleyen, temizlenmesini artıran veya oluşabilecek hasarı engelleyen ve onaran savunma mekanizmaları vardır. Savunmayı yapan bu maddelere antioksidan maddeler denir. Aerobik hücrelerde bulunan antioksidan sistemler endojen veya eksojen olabilir.

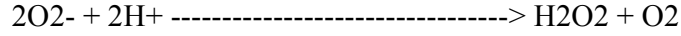
Endojen antioksidanlar; ya enzimatik (glutasyon transferaz, glutasyon redüktaz, mitokondriyal oksidaz sistemi) veya nonenzimatik (bilirubin, albumin, ürik asit, α - tokoferol, serüloplazmin, transferrin, ferritin, glutasyon gibi) maddelerdir. Ekzojen antioksidanlar; C vitamini, E vitamini, folik asit, asetilsistein, allopurinol, mannitol ve demir şelatörleri sayılabilir (43).

Antioksidanlar işlevlerine göre primer, sekonder ve tersiyer olarak üçe ayrılırlar. Primer antioksidanlar yeni ROS oluşumunu önler (Ferritin, serüloplazmin, haptoglobulin, hemopeksin gibi). Sekonder antioksidanlar (vitamin C, vitamin E, bilirubin, β karoten ve ürik asit gibi) zincir kırıcı reaksiyonlar sayesinde serbest radikalleri uzaklaştırırlar. Tersiyer antioksidanlar ise serbest radikaller tarafından hasar gören biyomolekülleri onarırlar (37).

2.5.4.1. SOD

Süperoksit dismutaz ilk olarak 1968 yılında Mccord ve Fridovich tarafından tanımlanmış olup, antioksidan savunmanın ilk basamağı olan süperoksitin H₂O₂'ye ve moleküler oksijene dismutasyonunu katalizler.

SOD

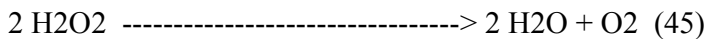


Ökaryotlarda SOD enziminin 3 izoenzimi bulunmaktadır. Bunlar taşıdıkları prostetik grup (metallere) ve lokalizasyonlarına göre adlandırılır. hücre içi sitozolde bulunan Cu-ZnSOD (SOD1), mitokondride bulunan, mangan içeren MnSOD (SOD2) ve Cu-ZnSOD'un hücre dışı formu (SOD3) olmak üzere üç formu bulunmaktadır. Hücrede en çok bulunan izomer SOD1'dir. Mitokondri MnSOD enzimi nükleer DNA tarafından kodlanmakta ve mitokondriye taşınmaktadır. Bunların dışında ökaryotlarda bulunmayıp prokaryotlarda bulunan Fe-SOD mevcuttur (44).

2.5.4.2. CAT

Katalaz; H₂O₂'yi O₂ ve suya yikan enzimdir. Yapısal olarak kovalent olmayan bağ ile bağlı protoporfirin IX Fe (hem) grubu içerir. Hemoprotein olan CAT'ın molekül kütlesi 248 kDa'dur. Yapısında dört hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Kan, kemik iliği, müköz membranlar, karaciğer ve böbrekte yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Hidrojen peroksid oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda katalitik tepkimeyle hidrojen peroksidi suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırmaktadır. Hidrojen peroksid oluşum hızının düşük olduğu durumlarda ise peroksidatif etkisi vardır. Enzimler arasında en yüksek katalitik dönüşüm hızına sahiptir, aktivitesi için demir gereklidir (45).

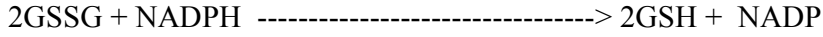
CAT



2.5.4.3. Glutasyon

Glutasyon; sistein, glutamik asit, ve glisinden oluşan düşük molekül ağırlıklı bir tripeptiddir. İntrasellüler tiyol bileşiğidir. Gamma-glutamil köprüsü ve sülfidril grubu şeklinde iki kısımdan meydana gelmektedir. Glutasyon, bazı endojen ve eksojen bileşikler ile konjuge olur. Glutasyonun dokulardaki düzeyi gama glutamil transferaz (GGT) ile ayarlanır. Lipit peroksidasyonu ile GSH konsantrasyonu azalırken, okside glutasyon (GSSG) konsantrasyonu yükselir. Proteinlerdeki –SH gruplarının korunması ve aminoasitlerin hücre içine taşınmasında rol oynamaktadır. Glutasyon, selenyum içeren glutasyon peroksidaz (GPx) ile yükseltgenmektedir. GPx ise GSH'ın indirgenmesinde görev yapmaktadır.

Glutasyon Redüktaz

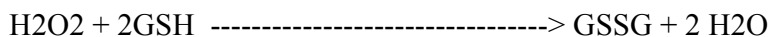


Karaciğer, plazma, kan hücreleri, beyin, akciğer, böbrekler gibi organlarda bulunur. Karaciğer sitozolündeki GSH hızlı bir döngüye sahiptir ve yarı ömrü 2-4 saattir, mitokondride ise yaklaşık 30 saatlik bir yarı ömre sahiptir. Hücreden toksik metabolitleri uzaklaştırır ve indirgenmiş formu sayesinde hücrelerdeki sülfhidril grubunun devamlılığını sağlar. Hücre dışına taşınabilen GSH membranda bulunan GGT enziminin etkisiyle aminoasitlerle birleşip bunların transportunda rol oynamaktadır. GSH'un sisteinin depo ve transport formu olduğu düşünülmektedir (46).

2.5.4.4. GPx

Glutasyon peroksidaz hücrelerin sitozolünde bulunur. Süperoksit dismutaz tarafından oluşturulan H₂O₂ ve yağ asidi peroksitlerini elimine eder. Glutasyon peroksidaz fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlarda rol alır. Fagositoz sırasında oluşan solunum patlaması neticesinde meydana gelen serbest radikal peroksidasyonundan fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller (47). Eritrositlerde oksidan strese karşı en etkili antioksidan GPx'dir. GPx aktivitesi azaldığında H₂O₂ seviyesi artar, bu durum şiddetli hücre hasarına yol açar (48).

GPx



2.5.4.5. MDA

Malonaldialdehit lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesinde MDA seviyesi ölçülür. Enzimatik olmayan oksidatif lipid peroksid parçalanması sonucu oluşur. Doku reaksiyon zincir hızının bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Reaktif oksijen ürünlerinin seviyesinin tesbitinde MDA önemli bir göstergedir. Malonaldialdehit nükleik asitlere, proteinlerin amino gruplarına, fosfolipidlere bağlanarak toksik etkisini gösterir (49).

Lipid peroksidasyonu, bir zincir reaksiyonu olup daha ileri peroksidasyonu başlatan serbest radikaller için sürekli bir kaynak sağlar. Lipid peroksidasyonu; fosfolipid, gliserid, glikolipid, ve steroidlerin yapısında bulunan doymamış yağ asitlerinin oksidan maddeler aracılığıyla aldehit, alkol, hidroksi asit, pentan ve etan gibi ürünlere yıkılmasını kapsayan, potansiyel olarak yıkıcı etkileri olan bir zincir reaksiyondur. Bu şekilde oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Lipid peroksidasyonu, organizmada serest radikal etkisi sonucu, membranın yapısında bulunan doymamış yağ asidi zincirinden bir hidrojen uzaklaştırılmasıyla başlar ve MDA seviyesinin artmasına neden olur (50).

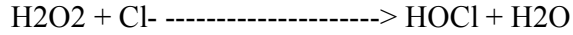
Malonaldialdehit diffüze olabilmekte ve DNA ile reaksiyona girebilmektedir. Bu nedenle MDA mutajenik, karsinojenik ve genotoksik bir bileşiktir. Membrana bağlı reseptörlerin ve enzimlerin inaktivasyonuna, membranın salgılama fonksiyonunun kaybına, transmembran iyon gradiyentini bozarak Ca^{+2} gibi iyonlara karşı nonspesifik permeabiliteyi arttırmaya, mikrozomal enzim aktivitelerinde değişikliklere, hücre içi organellerin (lizozom gibi) bütünlüğünün kaybolmasına yol açar ve mitokondrideki oksidatif fosforilasyonu olumsuz yönde etkiler (50).

2.5.4.6. MPO

Myeloperoksidaz NO metabolizmasında yer alan nitrit, nitrat ve peroksidasyon işlemlerinde rol alan bir enzimdir. Antioksidan kapasitedeki azalmanın yanısıra oksidatif stres düzeyini gösteren bir belirteçtir (51).

Nötrofiller ve monositler bakterilerin öldürülmesi için, hem oksijen bağımlı hem de oksijenden bağımsız mekanizmaları kullanırlar. Oksijen bağımlı mekanizmalar, MPO sistemini ve oksijen türevi serbest radikallerin üretimini sağlayan başka sistemleri içerirler. Polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) azurofil granüllerinde bulunur. Bu yüzden MPO aktivitesinin ölçümü dokuya PMNL toplanmasını göstermekte oldukça yararlıdır (52).

MPO



Nötrofillerin mikrobisid aktivitesi sırasında MPO hidrojen peroksidin varlığında halojenleri oksitleyerek hipohalöz asitleri oluşturur. Halojen olarak Cl, I- ve Br- de kullanılabilir. HOCl asit, Hipoyodit ve hipobromit oluşur. Hipohalöz asitler ve serbest radikaller mikroorganizmalara karşı toksiktir (53).

Enzimin I,II ve III olarak tanımlanmış üç tipi mevcuttur ve MPO I en güçlüsüdür. Halojenler etki sıralamasında, iyodit, bromit ve klorit olarak yer alırlar. En etkili kombinasyon MPO+H₂O₂+I üçlüsüdür (54).

2.5.4.7. Total oksidan seviye (TOS)

Oksidan moleküller endojen üretilbildiği gibi ve çevresel faktörlerle alınabilir. Elektron transport sistemi ve NOX, MPO, XO, glikolat ve MAO gibi oksidatif enzimler, major endojen ROS kaynaklarıdır. Ultraviyole ışınlar, sigara dumanı, zehirli gazlar, radyasyon, bazı ilaçlar, kanserojen maddeler ve pestisitler en önemli eksojen serbest oksijen radikali üretim kaynaklarıdır (55).

2.5.4.8. Total antioksidan kapasite ve Oksidatif stres indeksi (TAK,OSİ)

Organizmada oluşan oksidan moleküller enzimatik ve nonenzimatik antioksidan molekülleri vasıtasıyla önlenir. Antioksidanların serum veya plazma konsantrasyonları laboratuvarlarda ayrı ayrı ölçülebilir. Fakat bu ölçümleri yapmak zaman alıcı, pahalı ve komplike teknikleri gerektirir. Bu nedenle TAK ölçümü yapılması en çok kabul gören yöntemdir

Total antioksidan kapasiteyi ölçmek için genellikle bir tip radikal kullanılır ve radikale karşı oluşan antioksidan örnek ölçülür. En sık kullanılan kalorimetrik metotlar 2,2'-azinobise (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit=ABTS) dayalı metotlardır. Ölçümün temel prensibinde indirgenmiş ABTS renksizdir, oksitlenince mavi-yeşil ABTS+ rengini alır. Renkli ABTS oksitleyici bir ajanla muamele edilince indirgenir ve renksiz ABTS formuna tekrar döner. Oksidatif stres indeksi, TOS'un TAK'a bölünmesi ile hesaplanır (56).

Plazmada bilirubin, serbest demiri toplayan transferrin ve seruloplazmin, ürik asit, E vitamini, C vitamini gibi serbest radikalleri tutan zincir kırıcı antioksidanlar bulunmaktadır. Albumin, ürik asit, askorbik asit insan plazmasındaki TAK'ın %85'inden fazlasını oluşturmaktadır. Kanda bilirubin, glutatyon, alfa tokoferol ve beta karoten gibi antioksidan molekülleri albumin, ürik asit ve askorbik asit seviyelerinden daha azdır. Yenidoğanda en önemli antioksidanlar bilirubin ve ürik asittir. C vitamini, E vitaminide TAK'a önemli katkılar sağlarlar (57).

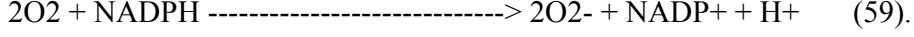
2.6. NOX

NADPH oksidaz yapısı iki membran sınır elemanı (gp91phox ve p22phox), üç sitozolik bileşeni (p67phox, p47phox ve p40phox), ve düşük molekül ağırlıklı G proteininden (rac 1, rac 2) oluşur (58).

NADPH oksidaz sitozoldeki elektronu fagosomdaki oksijen'e nakleden, ayrıca sitozolden fagosoma proton transfer eden apocyninin inhibitörü olduğu enzimdir. NADPH oksidaz mikroorganizmaları öldürmenin dışında optimal pH ayarlaması yapar ve bu yolla lizozomal proteazların salınımını ve aktivasyonunu sağlar. Fagosit

edilmiş bir bakteri patlama ürünlerinin etkisiyle öldürülür. Bu ürünler süperoksit anyonu, H₂O₂ ve hidroksil radikalleridir.

NOX



2.7. Apocynin

Apocynin ilk olarak 1883 yılında Schmiedeberg tarafından tanımlanmış ve apocynum cannabinum bitkisinin özünden elde edilerek (Kanada keneviri), ödem çözücü olarak kalp hastalıklarının tedavisinde kullanılmıştır (Resim 2). Sonraki yıllarda Hindistan, Nepal, Tibet ve Pakistan dağlarında yetiştirilen bir bitki olan Picrorhiza kurroa kökünden izole edilmiştir (Resim 3). Geleneksel Hint tıbbında kullanılmıştır. Apocyninin immünomodülatör etkisi 1990 yılında bulunmuştur (60).

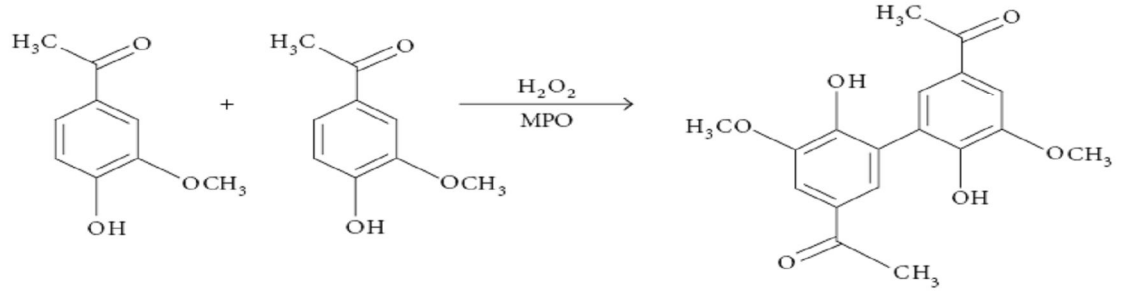
Apocynin hafif bir vanilya kokusuna ve 115 ° C'lik bir erime noktasına sahiptir. Yüzaltmışaltı dalton molekül ağırlığındadır. Beyaz kristalimsi bir yapısı vardır (46).

Apocynin peroksidaz aracılı oksidasyon ile bir dimere dönüşür ve bu form daha aktiftir (Şekil 4). Apocynin hücre içi translokasyon inhibitörüdür. Hücre membranında etkilediği kritik sitozolik komponentler vardır. Apocyninin NOX inhibisyon mekanizması tam bilinmemekle birlikte NOX'un sitozolik bileşenleri olan p47phox ve gp91phox translokasyonlarını önleyerek hareket ettiği düşünülmektedir (Şekil 5). Apocynin NOX aktivitesini selektif olarak inhibe eder. Fogositik ve nonfogositik hücrelerin fonksiyonları ile ilişkilidir. (60).

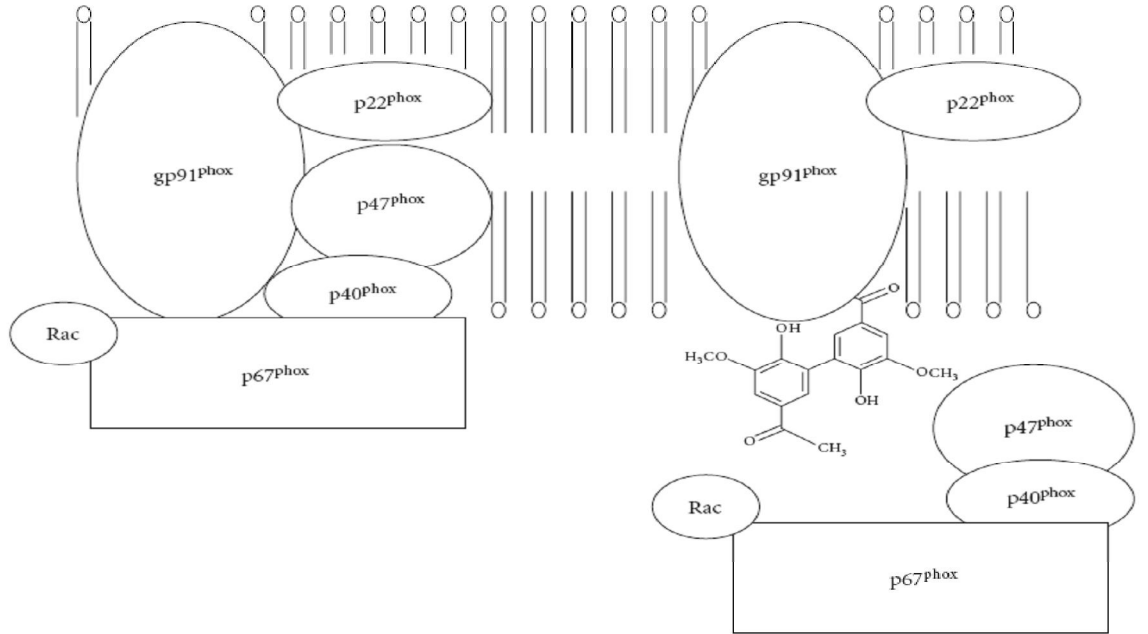
Apocynin inhibitör aktivitesi gecikme sürecinden sonra oluşur. Aktivasyon için MPO gereklidir. Zymosan gibi maddeler apocynin MPO salınımını teşvik eder (60). Apocyninin IP verildikten 20 saat sonra % 80'i idrarda değişmeden atılır. Yan etkileri tam bilinmemekle beraber farelerde oral uygulamadan sonra çok düşük bir toksisiteye sahip olduğu görülmüştür (LD50: 9 g / kg) (61) .

NADPH oksidaz; ROS üretiminden sorumlu enzimdir. Bu enzimin inhibe edilmesi birçok hastalığın tedavisi için terapötik bir hedeftir. Apocyninin GSH'u artırdığı, bu etkisiyle de antioksidan savunma sistemini indüklediği ve iskeminin indüklediği hücresel stresi sınırladığı görülmüştür (62).

Apocyninin NOX inhibisyonu yapabilmesi için; MPO tarafından aktivasyonu gerekir. NADPH oksidaz; NADPH ve elektronlarını kullanır. İskemik korteks doku analizlerinde apocyninin GSH'ı, H₂O₂ oluşumunu ve DNA fragmantasyonunu azalttığı gözlenmiştir. Yapılan deneysel çalışmalarda apocyninin beyin, böbrek ve kalp dokusunda iskemiye bağlı hasarı azalttığı vurgulanmıştır (63).



Şekil 4: Apocyninin aktif dimerizasyonunun oluşumu (64).



Şekil 5: Apocyninin NOX inhibisyonu mekanizması (64).



Resim 1: Apocynin cannabinium (65).



Resim 2: Picrorhiza currorra (65).

Apocynin aktivitesinin MPO'dan başka H₂O₂ ile indüklendiği varsayılır. Tiyol, glutasyon ya da sistein takviyesinin apocyninin NOX inhibitör etkisini önlediği görülmüştür (66).

Apocyninin invitro anti-inflamatuar etkileri arasında; nötrofil aracılı oksidatif hasarı azaltılması, tümör nekroz faktörü ile muamele edilmiş insan umbilikal ven endotel hücrelerinde monositik hücre adezyonunu azaltılması, polimorfonükleer granüosit kemotaksisini azaltılması, ONOO inhibisyonu,

enflamasyon-aracılı kıkırdak hasarının inhibisyonu sayılabilir. Doddo ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada apocyninin koyun akciğerlerinde vasküler permeabilite artışıyla oluşan iskemi ve hasarı önlediği görülmüştür (67).

Apocyninin NOX inhibisyonu ile deneysel iskemik inme modellerinde beyin hasarı azaltabilir. Apocyninin gerbil hipokampusunda global serebral IR'nin indüklediği oksidatif stres ve yaralanmaya karşı koruyucu etkileri olduğu bildirilmiştir. İn vitro apocynin uygulanması ile süperoksit üretimi inhibe olur ve kan-beyin bariyeri bileşenleri iskemi, yaralanma gibi durumlardan korunur (68).

Tang ve arkadaşlarının farelerde apocyninin farklı dozlarda etkilerini araştırdıkları çalışmada apocynin deneysel inmelerde olumlu etkileri olabilir ancak dar bir terapötik pencere kullanılmalıdır (69).

Testis iskemisinde apocyninin koruyucu etkisi için yapılan tek çalışma Zhang GL ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmadır. 17 gün ve günlük 8 saat/gün iskemiye maruz bırakılan rat testislerinde apocynin ve raisanberine verilen grupta diğer gruplara göre seminifer tübüller ve sperm üretimindeki hasarın daha az olduğu izlenmiştir (70).

Apocynin erkek Sprague-Dawley ratlarda NOX inhibisyonu için, aort segmentlerinde p22phox mRNA düzeylerini azaltır, insan endotel hücrelerinde ise p47phox subünütünün membran kompleksine montajı engeller (71,72).

Apocyninin araşidonik asit metabolizmasına etkisi henüz aydınlatılamamıştır. Apocynin oral kullanıldığında nonsteroid anti-inflamatuar olan ibuprofenle benzer COX inhibitör etkisi vardır. Bu nedenle, Apocynin osteoartrit veya romatizmal artrit gibi kronik enflamatuvar eklem hastalıkları tedavisinde kullanılabilir (73).

Apocynin dışında diğer bir NOX inhibitörü diphenylene iodonium XO, NOS ve diğer flavin içerikli oksidazlar gibi ROS üreten enzimlerin etkili bir inhibitörüdür (74).

Apocynin aktivasyonunda H₂O₂ konsantrasyonunun artışı, hücre içi GSH / glutation disülfid oranında azalma önemlidir. Apocynin ile pentoz fosfat yolu ve trikarboksilik asit döngüsü uyarılır (75). Heumuller ve arkadaşları apocyninin radikal tutucu

olduğunu ve damar hücrelerinde ROS bağlı sinyalleri direk inhibe ettiğini göstermişlerdir. (76).

Tang ve arkadaşları apocyninin antiinflamatuvar etkisinin ne dimer ne trimer nede tiyol bileşikleriyle olmadığını, GSH ile konjuge olduktan sonra etkinleştiğini doğrulamışlardır (77). Apocyninin koruyucu etkisi NOX inhibisyonu ile sınırlı değildir. Apocynin akciğerlerde I/R hasarından sorumlu tutulan tromboksan sitokrom P450 ve tromboksan sentazıda inhibe ettiği gösterilmiştir (78).

Klees ve arkadaşlarına göre apocyninin subtoksik konsantrasyonlarda meme kanseri hücre hattı MDAMB-435 migrasyonunu inhibe ederek meme kanseri oluşumunu azalttığını iddia etmişlerdir (79).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Ratlar

İnönü Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı'ndan 2012/A-66 sayılı 18.5.2012 tarihli belgeyle etik kurul onayı alındıktan sonra 250-350 gr ağırlığında 32 adet wistar albino rat deneyde kullanıldı.

3.2. Grup Dağılımı

Çalışmada cinsel olgunluğa erişmiş 32 adet wistar albino rat gelişmiş 4 gruba ayrıldı. Tüm deney hayvanlarına ilk işlemde sol skrotal eksplorasyon uygulandı. Sham grubu hariç, sol testis torsiyon/detorsiyon uygulandı, iskemi sırasında salin uygulanacak gruba, iskeminin 210.dk'sında tek doz 10cc/kg %0.09'lük serum fizyolojik (SF) intraperitoneal uygulandı, apocynin grubuna, iskeminin 210.dk'sında 20 mg/kg apocynin intraperitoneal yolla verildi ve tüm gruplarda 4 saatlik iskemi sonrasında 1 saatlik reperfüzyon uygulandıktan sonra sol orşiektomi işlemi uygulanarak deney sonuçlandırıldı. Tüm deney hayvanlarında üreter anestezisi kullanılarak cerrahi işlemler yapıldı. Gruplar sırasıyla:

1. Sham Grubu; Sol skrotal eksplorasyon yapıldı (n=8)

2.I/R Grubu; Sol skrotal explorasyon yapıp sol testis saat yönünün tersine 720⁰ torsiyone edilerek 4 saat iskemi oluşturulduğu, detorsiyon sonrası 1 saat reperfüzyon uygulanan grup (n=8)

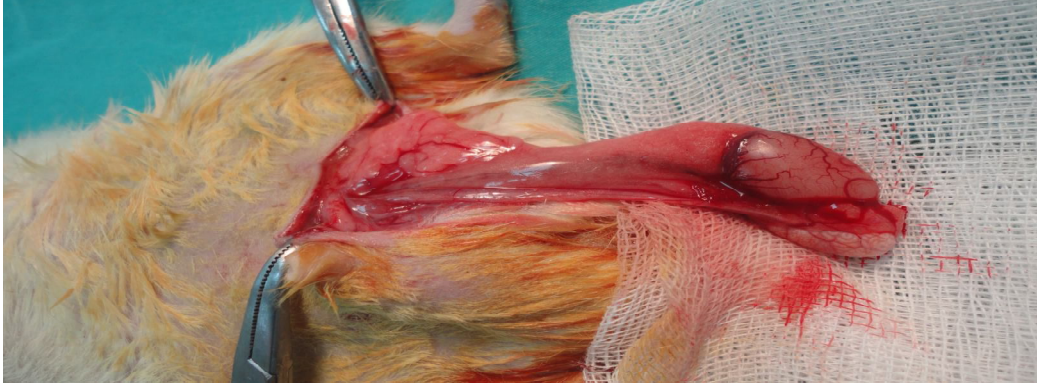
3.İskemi sırasında salin uygulanan Grup; Sol skrotal eksplorasyon yapıp sol testisin saat yönünün tersine 720⁰ torsiyone edilerek 4 saatlik iskemi oluşturuldu ve detorsiyondan 30 dk önce (iskeminin 210.dk'sında) SF uygulanan, detorsiyon yapıp 1 saat reperfüzyon uygulandı (n=8)

4.İskemi sırasında Apocynin uygulanan Grup; Sol skrotal eksplorasyon yapıp sol testisin saat yönünün tersine 720⁰ torsiyone edilerek 4 saatlik iskemi oluşturulduğu ve detorsiyondan 30 dakika önce (iskeminin 210. dk'sında) Apocynin uygulandı, detorsiyon yapıp 1 saat reperfüzyon uygulandı (n=8)

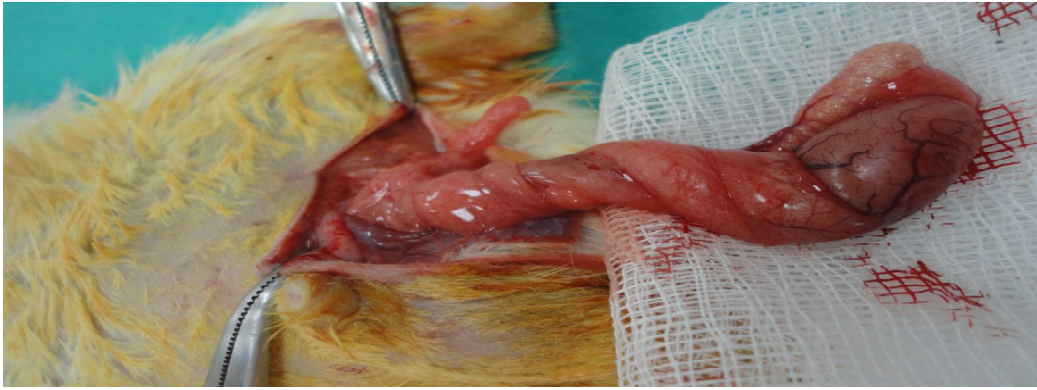
3.3. Cerrahi Prosedür

İntraperitoneal üretan (25mg/kg) ile anestezi uygulandı. Skrotum üzerinden yapılan sol vertikal insizyon ile testise ulaşıldı ve testis vasküler yapılarıyla birlikte doğurtuldu. Grup 1'de testis hemen geri yerleştirilirken grup 2,3, 4 'de sol testis 720 ° saat yönünün tersine torsiyone edildi. Detorsiyone olmaması için 2 adet 4/0 ipek ile testis tunika albugeniasından bilateral dartosa fikse edildi. 2/0 ipek ile skrotum kapatıldı (Resim 4,5,6,7) .

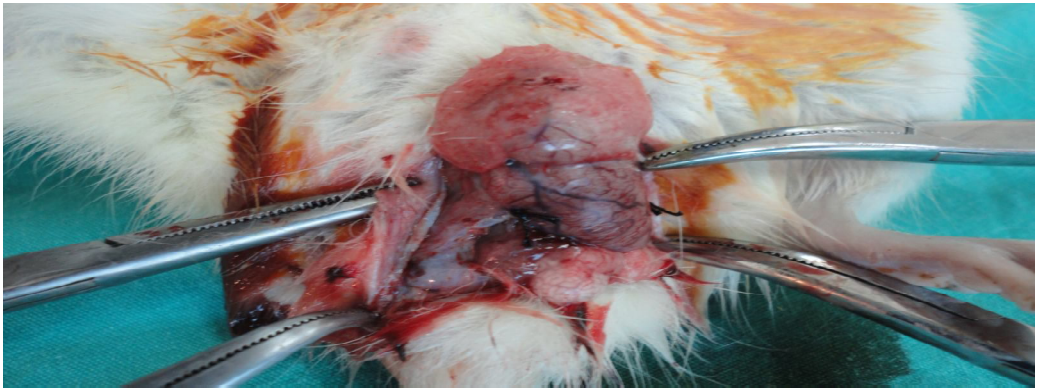
4 saat sonunda örtü kaldırılarak testis detorsiyone edildi ve hipotermiyi engellemek için ılık SF ile ıslatılmış gazlı bezle testis örtüldü, 1 saat reperfüze edildi. Daha sonra sol testise orşiektomi uygulandı. Testisler 2 eşit parçaya bölünerek bir parça histolojik inceleme için alındı, diğer parça biyokimyasal inceleme için petri kaplarında saklandı.Bu sırada işlemlerden sonra ötenazi uygulanarak deneyin cerrahi kısmı sonlandırıldı. Ratlardan intrakardiyak kan alındı.



Resim 3: Sham grubu skrotal explorasyon



Resim 4: I.R. grubu testis torsiyonu oluşturulması



Resim 5: Sf verilen grup testis torsiyonu, skrotal fiksasyon



Resim 6: Apocynin verilen grup iskeminin 4. saati

3.4. Biyokimyasal Yöntem

3.4.1. Analizler

Malonaldehid ve GSH seviyeleri doku homojenatlarında; SOD, CAT, GPx ve MPO enzim aktiviteleri ile TAK, TOS ve OSİ düzeyleri süpernatanda ölçüldü.

3.4.2. Dokuların Biyokimyasal Analizlere Hazırlanması

Derin dondurucuda saklanan testis dokuları analiz günü çıkarılarak tartıldı. Soğuk SF ile dokular yıkandı. Cam tüplere konulan testis dokuları 5 ml Tris-HCl (pH=7,4) tamponunda 16.000 devir/dk hızda 3 dakika homojenize edildi (IKA, Germany). Homojenatların bir kısmı santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi.

3.4.3. MDA Miktarının Ölçümü

Uchiyama ve arkadaşlarının yöntemine göre yapıldı (80). Yöntemin prensibi; MDA'nın 95°C'de tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan pembe renkli ürünün N-butanol fazından alınan süpernatanın spektrofotometre ile 535 ve 520 nm'de ölçülmesine dayanmaktadır. Sonuçlar nmol/g doku olarak ifade edildi.

3.4.4. SOD Enzim Aktivitesi Ölçümü

Süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1) aktivitesi Sun ve arkadaşlarının yöntemine göre tayin edildi (81). Bu yöntemde SOD aktivitesi, ksantin / XO sistemi ile üretilen süperoksidin nitrobluetetrazolium'u (NBT) indirgemesiyle ölçülmektedir. Ortamda SOD enzimi bulunması halinde NBT indirgenmesi gerçekleşmeyip, enzim miktarı ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmaktadır. Enzimin bulunmadığı ortamda ise bu indirgeme meydana gelip mavi-mor renk oluşmaktadır. Sonuçlar U/g protein olarak ifade edildi.

3.4.5. CAT Enzim Aktivitesi Ölçümü

Katalaz (CAT, EC 1.11.1.6) aktivitesi Aebi'nin yöntemine göre ölçüldü (82). Deneyin prensibi H₂O₂'nin parçalanma hız sabitinin (K) tayinine dayanmaktadır. Deney ortamına eklenen H₂O₂, CAT enzimi tarafından su ve oksijene parçalanır. Bu reaksiyon UV spektrofotometrede absorbans azalması şeklinde ortaya çıkar. Aktiviteler K/g protein olarak ifade edildi.

3.4.6. GPx Enzim Aktivite Ölçümü

Glutatyon peroksidaz (GPx, EC 1.11.1.9) aktivitesi Paglia ve arkadaşlarının yöntemine göre ölçüldü (83). Yöntem, ortamda bulunan NADPH'in enzim aktivitesiyle ortamdaki uzaklaştırılması sonucu 340 nm'de absorbansın azalması prensibine dayanmaktadır. GPx enzim aktivitesi U/mg protein olarak ifade edildi.

3.4.7. GSH Miktarının Ölçümü

Testis dokusundaki GSH ölçümü Ellman yöntemine göre yapıldı (84). Doku homojenatları %50 trikloroasetik asitle karıştırıldıktan sonra santrifüje tabi tutuldu. Elde edilen süpernatantlarda ölçüm yapıldı. Sonuçlar mikromol/g doku olarak ifade edildi.

3.4.8. Protein Ölçümü

Modifiye Lowry yöntemi ile ölçüm yapıldı (85).

3.4.9. MPO Enzim Aktivite Ölçümü

Myeloperoksidaz, (EC 1.11.1.7) aktivitesi 510 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü (86). Sonuçlar U/g protein şeklinde ifade edildi.

3.4.10. TAK belirlenmesi

Total antioksidan kapasite düzeyleri ticari kitler kullanılarak spektrofotometrik ölçüm yapıldı (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye). Bu yöntem, daha kararlı bir durumda ve koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikalinin ortamda bulunan antioksidanlarla orantılı olarak renginin kaybolması temeline dayanır. Ortamdaki antioksidanlar arttıkça renk kaybı da artmaktadır. Hesaplamalar hazır standart kite göre yapıldı ve sonuçlar mmol Trolox Eq/L şeklinde ifade edildi (87).

3.4.11. TOS belirlenmesi

Total oksidan seviyesi düzeyleri ticari kitler kullanılarak spektrofotometrik ölçüm yapıldı (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye). Bu yeni yöntem, numunelerdeki oksidan bileşiklerin ferröz iyon-odanisidin kompleksini ferrik iyonla oksitlemesi temeline dayanır. Oluşan rengin koyuluğuna göre spektrofotometrik ölçüm yapılır. Bu ölçüm ortamda bulunan oksidan moleküllerin toplamını yansıtır. Sonuçlar mmol H₂O₂ Eq/L olarak ifade edildi (88).

3.4.12. OSİ hesaplanması

Oksidatif stres indeksi; mmol H₂O₂ Eq/L cinsinden TOS değerinin mmol Trolox Eq/L cinsinden TAK değerine oranıdır (89).

3.4.13. Verilerin İstatistiksel Analizi

Grupların dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile analiz edildi. Gruplar OSİ dışındaki parametreleri yönünden normal dağılım gösterdiğinden One-Way ANOVA testi; posthoc testlerden TOS, GPx, SOD, CAT, MPO, TAK için Tukey testi;, GSH, MDA için Tamhane 2 testi uygulandı. Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edildi.

OSİ yönünden normal dağılıma uyulmadığından dolayı Kruskal-Wallis ve posthoc olarak Bonferroni düzeltmesi ile Mann-Whitney testi yapıldı. Değerler ortanca (minimum-maksimum) şeklinde ifade edildi.

Karşılaştırmalarda p<0,050 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.5. Histolojik Yöntem

3.5.1. Preparatların Hazırlanması

Deney sonunda alınan testis dokuları %10'luk formaldehit içerisinde tespit edildi. Tespit sonunda çeşme suyunda yıkanan dokular, dehidrasyon ve parlatma işlemlerinden geçirilerek parafine gömüldü. Parafin bloklardan 4-5 µm kalınlığında kesitler alındı. Deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden geçirilen kesitlere hematoksilin- eozin (H-E) boyama metodu uygulandı. Boyanan preparatlar Leica DFC-280 araştırma mikroskobu ile incelendi.

3.5.2. HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME

Her preparattan 20'lik büyütmede, 20 tübülün çapı ölçüldü. Tübüllerin sınıflandırılması germ hücrelerinin lümene dökülmesine, çok çekirdekli dev hücre ve dejenere hücrelerinin varlığına göre, her bir preparattan X20'lik büyütmede 10 farklı alan incelenerek yapıldı.

3.5.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analizler, SPSS programı (SPSS for Windows version 17) ve MedCalc (2007, Belçika) istatistiksel yazılım programları ile yapıldı. Bütün veriler aritmetik ortalama \pm SE. olarak ifade edildi. Gruplar arası karşılaştırmalar için Kruskal Wallis varyans analizi ve Mann-Whitney U testi kullanıldı. $P<0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. BİYOKİMYASAL BULGULAR

Malonildialdehit, TOS ve OSİ değerleri IR ve IR+SF grubunda sham grubuna göre anlamlı olarak artmış izlendi (Tablo 1) (p<0,05).

Süperoksit dismutaz, CAT, GPX ve GSH değerleri IR ve IR+SF grubunda sham grubuna göre anlamlı olarak azalmış izlendi (Tablo 1) (p<0,05).

Malonildialdehit, TOS ve OSİ değerleri IR+Apocynin grubunda IR ve IR+SF gruplarına göre anlamlı olarak azalmış, SOD ve CAT değerleri ise anlamlı olarak artmış izlendi (Tablo1) (p<0,05).

Myeloperoksidaz değeri IR+Apocynin grubunda IR ve IR+SF gruplarına göre azalmış , TAK değeri ise IR+Apocynin grubunda IR ve IR+SF gruplarına göre artmış izlense de istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 1) (p<0,05).

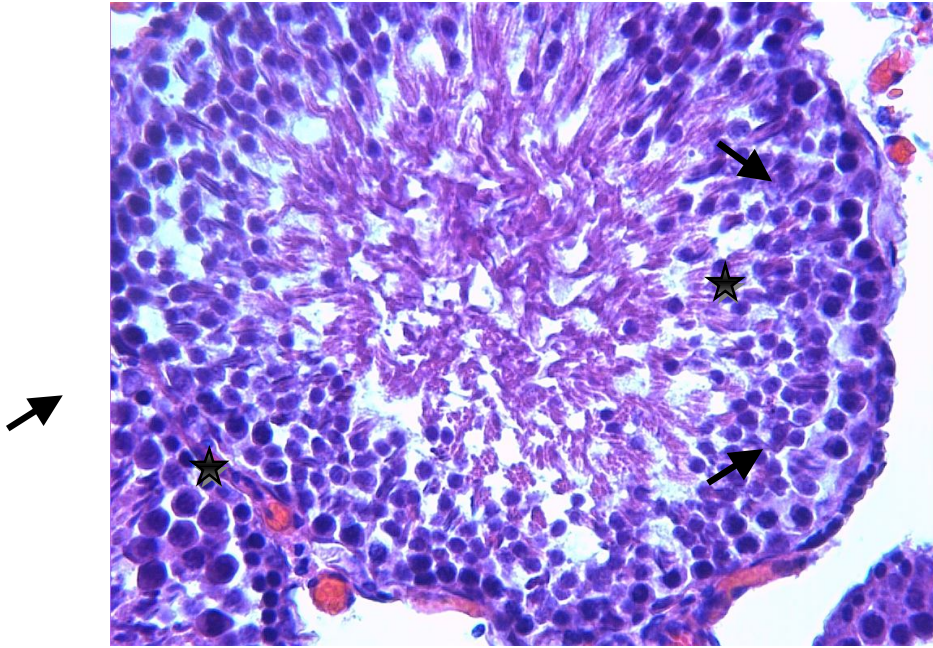
GRUPLAR	MDA	SOD	CAT	GPX	GSH	MPO	TAK	TOS	OSI
	nmol/g doku	U/g protein	K/g protein	U/mg protein	µmol/g doku	U/g protein	Trolox equivale nt/g protein	mmol H ₂ O ₂ equivalent/ g protein	arbitrary unit
Grup 1: Sham (n=7)	84±13	1,42±0,38	70±18	43±16	0,73±0,17	40±12	1,49±0,30	14,2±4,3	8,61 (4,49-16,79)
Grup2:IR (n=8)	155±35 ^a	0,74±0,21 ^a	22±8 ^a	20±9 ^a	0,47±0,08 ^a	56±11	1,20±0,18	23,5±5,8 ^a	18,70 (12,75-37,53) ^a
Grup 3: SF (n=8)	154±39 ^a	0,87±0,12 ^a	23±6 ^a	20±6 ^a	0,43±0,06 ^a	56±15	1,20±0,19	20,9±4,0 ^a	19,09 (10,82-22,68) ^a
Grup 4: Apocynin (n=8)	77±11 ^b	1,47±0,35 ^b	42±11 ^{ab}	27±12 ^a	0,43±0,12 ^a	43±7	1,45±0,27	16,1±4,7 ^b	10,39 (6,73-21,93) ^b

Tablo 1: Gruplardaki oksidan ve antioksidan parametrelerin değerleri. OSI dışındaki tüm değerler Ortalama±Standart sapma şeklinde iken OSI değerleri Ortanca (minimum-maksimum) olarak ifade edilmiştir. Gruplararası karşılaştırmalarda a:Sham grubuna göre, b:IR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı (p<0,05) göstermektedir.

4.2.HİSTOLOJİK BULGULAR

4.2.1. SHAM GRUBU:

Seminifer tübüller bazal laminadan lümeneye doğru yerleşmiş, normal histolojik görünümüne sahip germinal epitelden oluşmaktaydı. Germinal epitelde Sertoli hücreleri ve spermatogenik seri hücreleri belirgin olarak ayırt edilmekteydi (Resim8). Bu grupta seminifer tübül çapı 260.1 ± 2.7 olarak bulundu (Tablo 3).

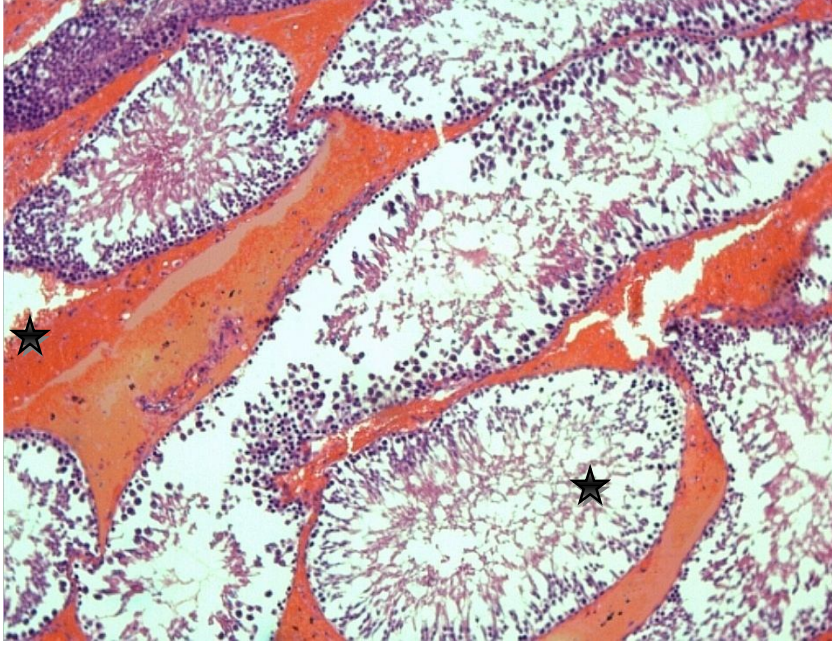


Resim 8. Sham Grubu: Seminifer tübül epitelinde yer alan Sertoli hücreleri (ok) ve farklı gelişim aşamalarında olan spermatogenik hücrelerin (yıldız) görünümü. H-E X40.

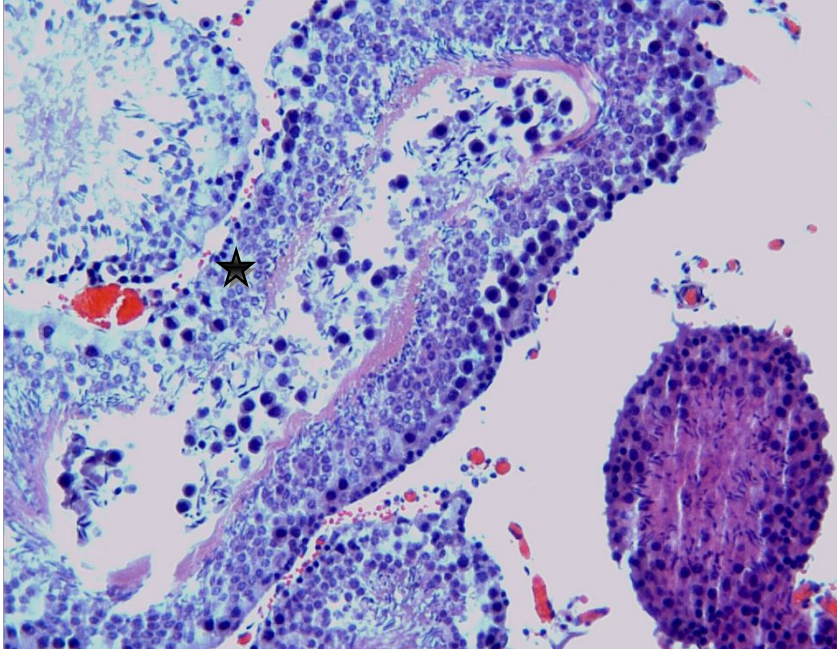
4.2.2. I/R GRUBU

Bu gruba ait kesitlerde, interstisyel alanda ödem ve hemoraji izlenirken (Resim 8), birçok tübülde germinal epitel hücre organizasyonunun bozulduğu ve gelişimini tamamlamamış spermatogenik seriye ait hücrelerin lümen içerisinde biriktiği gözlemlendi (Resim 9). Bazı tübüllerde çok çekirdekli dev hücrelere, mayozun belli aşamalarında duraksamış ve farklı şekillerde izlenen dejenere hücrelere rastlandı (Resim 10 ve 11). Bu gruptaki seminifer tübül çapı 204.5 ± 2.6 olarak tespit edildi (Tablo 3). 20'lik objektifin gördüğü alanda incelenen seminifer tübüllerden 0.25 ± 0.08 'inin dev hücreli, 0.15 ± 0.05 'inin dejenere hücreli, 1.72 ± 0.12 'sinin dökülmüş olduğu saptandı

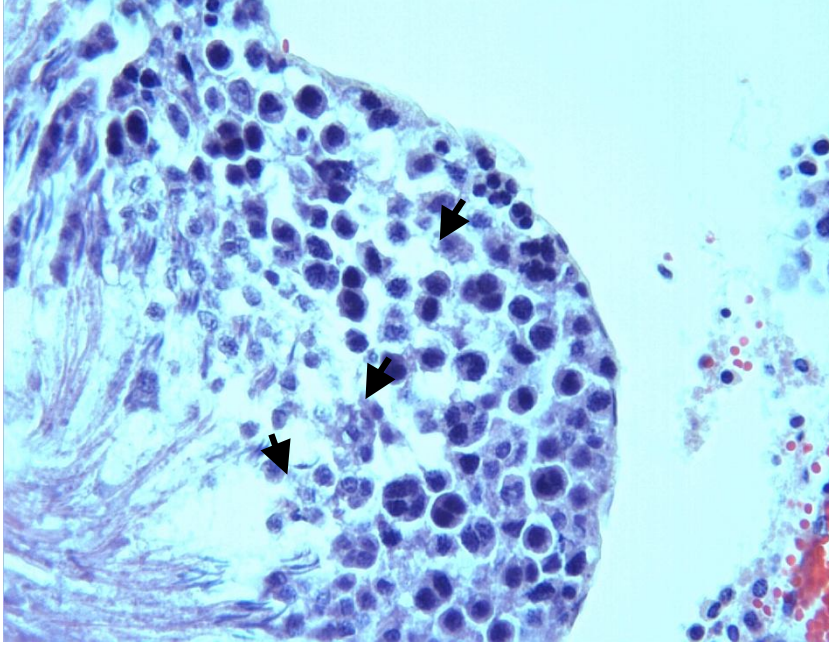
(Tablo 2). Sham grubu ile karşılaştırıldığında bu grupta seminifer tübül çapının istatistiksel olarak önemli derecede azaldığı ($P<0.0001$), diğer yandan dev hücreli ($P=0.001$), dejenere hücreli ($P=0.007$) ve epiteli lümenine dökülmüş ($P=0.000$) seminifer tübül sayısının arttığı tespit edildi (Tablo 2) .



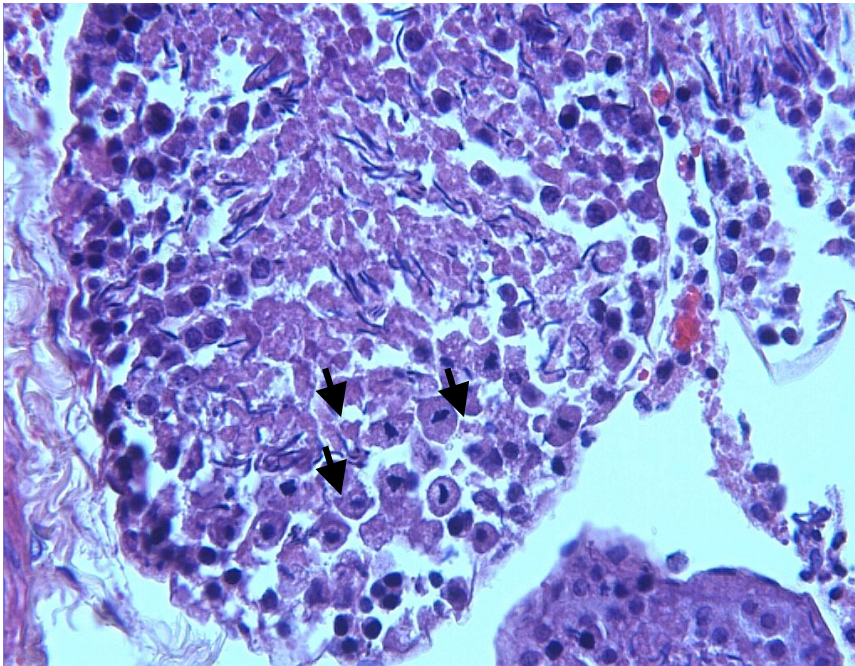
Resim 8. I/R Grubu: Seminifer tübüller arası bağ dokuda izlenen şiddetli hemoraji (yıldız). H-E X10.



Resim 9. I/R Grubu: Olgunlaşmasını tamamlamadan seminifer tübül lümenine dökülen germ hücreleri izlenmekte (yıldız). H-E X20.



Resim 10. I/R Grubu: Germinal epitel içinde çok nükleuslu dev hücrelerin görünümü (oklar). H-E X40.

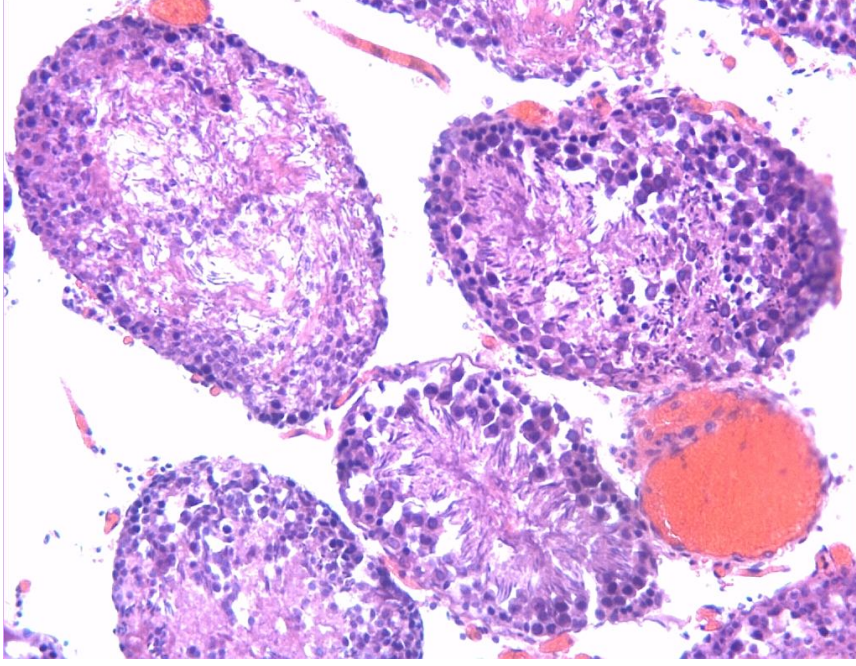


Resim 11. I/R Grubu: Mayozun belli aşamalarında duraksamış dejenere hücreler (oklar). H-E X40.

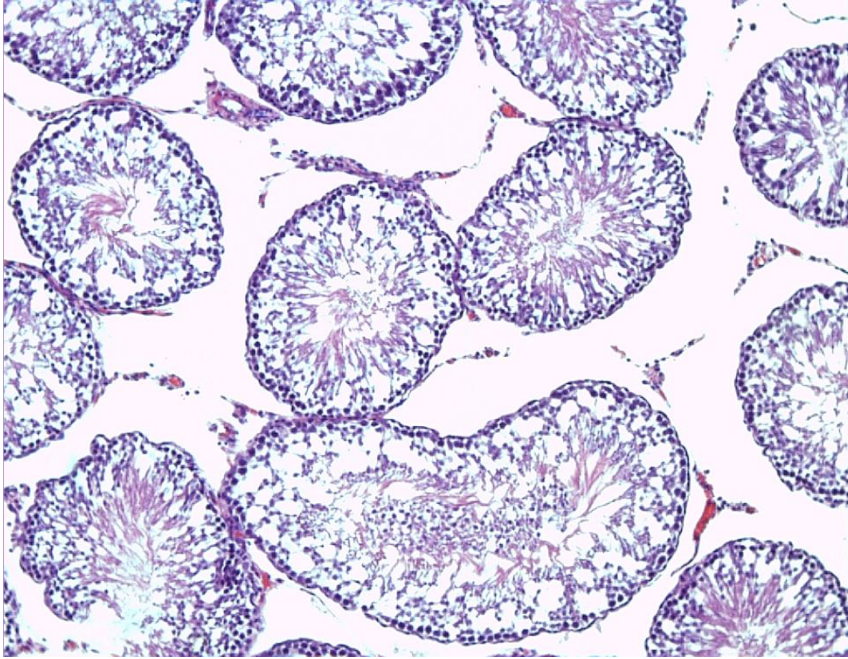
4.2.3. I/R + SF GRUBU

Bu gruba ait kesitlerde, I/R grubunda izlenen tübüller arası interstisyel alanda hemorajinin azaldığı görüldü (Resim 12). Germ hücreleri lümeneye dökülmüş (1.45 ± 0.13) (Resim 13) ve çok çekirdekli dev hücreli (0.03 ± 0.02) tübüllerin sayısı istatistiksel olarak I/R grubuna benzer bulundu ($P > 0.05$) (Tablo2). SF grubunda tespit

edilen seminifer tübül çapının (236.9 ± 2.2) I/R grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı saptandı (Tablo3).



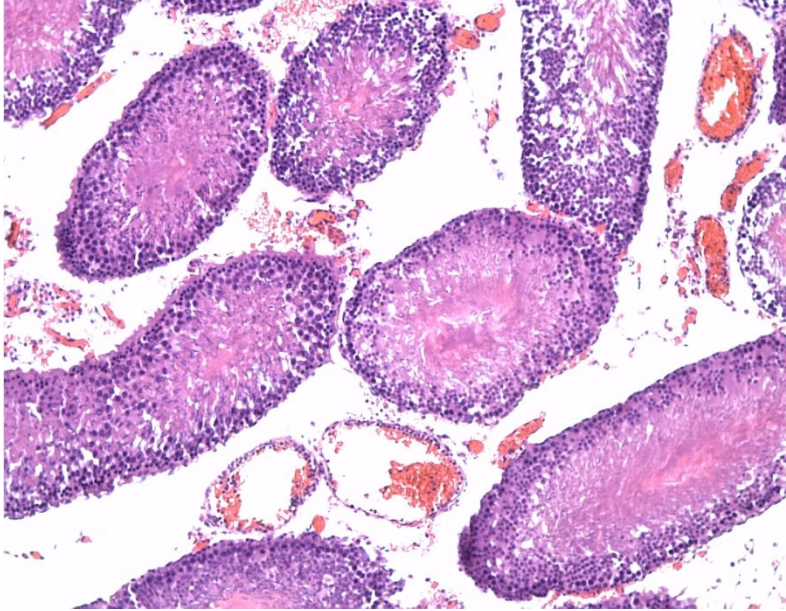
Resim 12. SF Grubu: I/R grubuna göre tübüller arası interstisyel alanda hemorajinin azaldığı izlenmekte. H-E X20.



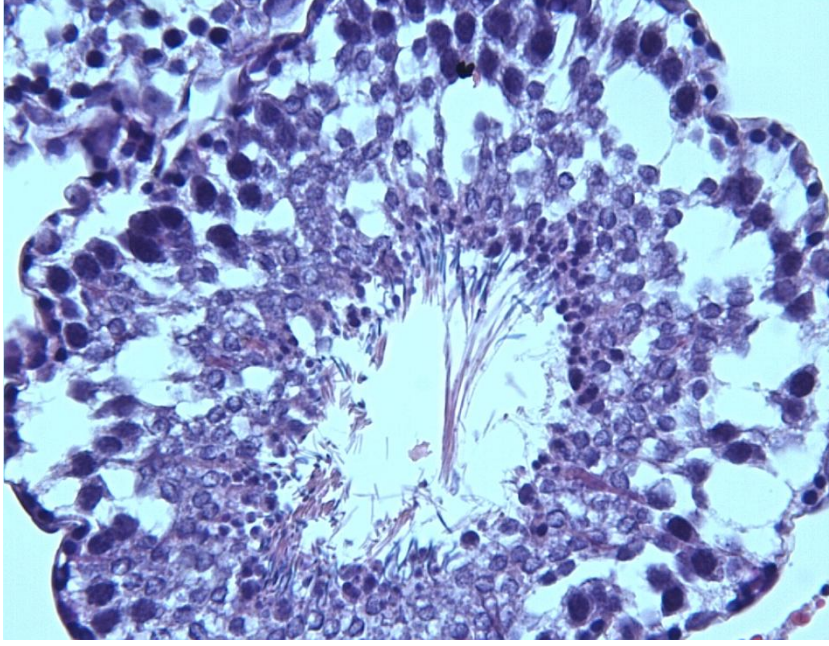
Resim 13. SF Grubu: Germ hücre sayısı azalmış ve lümene dökülmüş seminifer tübüller izlenmekte. H-E X10.

4.2.4. I/R + APOCYNİN GRUBU

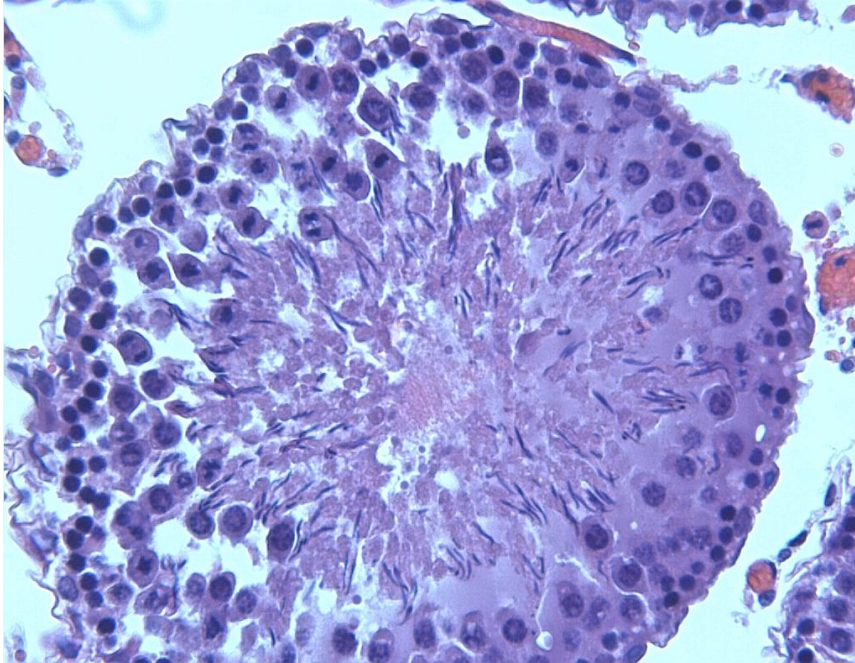
Bu grupta tübüller arası interstisyel alanda gözlenen hemorajinin I/R ve SF + I/R grubuna göre azaldığı izlendi (Resim 14). I/R grubunda görülen çok çekirdekli dev hücreli (Resim 15) ve dejenere hücreli (Resim 16) seminifer tübüllere bu gruba ait kesitlerde de rastlandı. Ancak bu tür hücreleri içeren tübül sayısının, IR grubu ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı tespit edildi (Tablo 2). Bununla birlikte, bu grubun seminifer tübüllerinin ortalama çapının (222.5 ± 2.8) IR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı saptandı (Tablo 3).



Resim 14. I/R + Apocynin: I/R grubuna göre tübüller arası interstisyel alanda hemorajinin azaldığı izlenmekte. H-E X20.



Resim 15. I/R + Apocynin: Birkaç spermatositin bir araya gelerek dev hücreyi oluşturması. H-E X40.



Resim 16. I/R + Apocynin: Mayozun belli aşamalarında duraksamış dejenere hücreler (oklar). H-E X40.

Gruplar	Dev Hücreli	Dejenere Hücreli	Dökülmüş
Sham	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.88 ± 0.07
I/R	0.25 ± 0.08	0.15 ± 0.05	1.72 ± 0.12
I/R + SF	0.03 ± 0.02	0.03 ± 0.02	1.45 ± 0.13
I/R + APO	0.01 ± 0.02	0.02 ± 0.02	1.35 ± 0.14
P Değerleri			
Sham -I/R	0.001	0.007	0.000
Sham - I/R + SF	0,156 (Fark yok)	0.156 (Fark yok)	0.000
Sham - I/R + APO	0.317 (Fark yok)	0.317 (Fark yok)	0.021
I/R - I/R + SF	0.081 (Fark yok)	0.014	0.180 (Fark yok)
I/R - I/R + APO	0.004	0.028	0.044

Tablo 2: Histolojik skorlama bulguları

Gruplar	Tübül Çapı	P<0.0001
1. Sham	260.1 ± 2.7	2, 3, 4
2. IR	204.5 ± 2.6	1, 3, 4
3. I/R + SF	236.9 ± 2.2	1, 2, 4
4. I/R + APO	222.5 ± 2.8	1, 2, 3

Tablo 3: Seminifer tübül çap ortalaması

5.TARTIŞMA

Testis torsiyonu çocuklarda ve adolesanlarda sık görülen, en kısa zamanda müdahale gerektiren ürolojik hastalıklardan biridir. Torsiyon sonucunda oluşan iskemik testiküler hasar; testisin dönme derecesi ve torsiyon süresiyle ilişkilidir. Üçyüzaltmış dereceden fazla ve 24 saatten uzun süren torsiyonlarda testis yerinde bırakılırsa testis atrofisi sonucu ipsilateral testis kaybı gerçekleşir (90). Deneysel çalışmalar 720° torsiyonda, kan akımının geri dönüşümsüz olarak kesildiği ve tam bir iskemi oluştuğunu göstermiştir (91). Bazı araştırmacılar cerrahi eksplorasyon ve testiküler detorsiyon yapılmasının I/R hasarının artmasına yol açtığını öne sürmüşlerdir (92). Süperoksitler gibi SOR'da reperfüzyon esnasında oluşurlar ve plazma membranında lipid peroksidasyonuna ve artmış hücre ölümüne neden olurlar (93).

Testis torsiyonu esnasında oluşan iskemik hasarın etyolojisinde ortamda bulunan reaktif oksijen metabolitlerine bağlı oksidatif stres ve inflamasyon oluşmaktadır (3).

İskemi reperfüzyona bağlı oluşan oksidatif strese bağlı yağ asidi peroksidasyonu ve bunun sonucunda lipid hidroperoksitlerinin oluşumu testis torsiyon/detorsiyon modelinde oksidatif stres bulgusudur (94).

İnflamasyon sonucu nötrofillerdeki respiratuar patlama süperoksit kaynağıdır. Bu respiratuar patlamadan sorumlu enzim NOX'dur. Bu enzim O₂'yi -O₂ anyonuna dönüştürür. İskemi esnasında nötrofillerde oluşan kalsiyum akışı hücrelerde artmış bir NOX aktivitesine neden olur. Bu durum reperfüzyon esnasında -O₂ radikallerinin ortaya çıkmasına yol açar (95).

Oksidatif hasarda diğer bir süreç olan proteinlerin oksidasyonu, ROS türevleri ile kovalent modifikasyonu sonucu gerçekleşir. Protein oksidasyonunun biyokimyasal sonuçları enzim aktivitelerindeki azalma, protein fonksiyonlarının ve proteaz inhibitor aktivitesinin kaybı, protein agregasyonu, artmış ya da azalmış proteoliz yatkınlığı, reseptör aracılı endositozun bozulması, gen transkripsiyonundaki değişimler, immunojen aktivitedeki artış olarak sıralanabilir (96). Serbest radikallerin

proteinlerdeki -SH gruplarında oksidasyona yol açtığı ve bunda protein oksidasyonunun en erken gözlenebilen belirtisi olduğu bilinmektedir (97).

Kontralateral hasarın patofizyolojisi henüz tam olarak açıklığa kavuşmamış bir konudur. Testiküler torsiyon ve detorsiyona bağlı ipsilateral testis hasarı diğer dokularda olduğu gibi kontralateral testis dokusunda I/R hasarını ortaya çıkarır (98). Reperfüzyon döneminde testis dokusunda XO enzim aktivitesine bağlı O₂-ve OH⁻ artar.

Hidrojen peroksit ve ONOO gibi serbest oksijen radikallerinin ve ROS'un artması, testiste başlıca lipid peroksidasyona, protein oksidasyona ve oksidatif DNA hasarı gibi toksik etkilere neden olur.

Reperfüzyon hasarını engelleyebilecek kimyasal maddeler üzerine güncel araştırmalar vardır. Bu bağlamda meloksikam, propofol, rosglitazone, raisanberine, dexpanthenol ile umut verici sonuçlar elde edilmiştir. (99,100,101,102,103). Detorsiyondan sonra pentoksifilin gibi bazı ilaçların her iki testiste kan akımını arttırdıkları gösterilmiştir (104).

Apocynin NOX ailesinin piyasada bulunan en seçkin selektif inhibitörlerinden biridir. NADPH oksidaz orijinal çalışmalarda O₂- oluşumunda rol alan enzimdir. Reaktif oksijen radikalleri birçok reaksiyonla toksik H₂O₂, ONOO, NO'e dönüşür. Apocyninin antioksidan savunma sistemini, GSH 'u arttırdığı ve iskeminin indüklediği hücrel stresini sınırladığı görülmüştür (5).

Literatür tarandığında testis iskemisinde apocyninin koruyucu etkisi için yapılan tek çalışma Zhang ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmadır. Onyedinci günlük 8 saat/gün iskemiye maruz bırakılan rat testislerinde apocynin ve raisanberine verilen grupta diğer gruplara göre seminifer tübüllerdeki ve sperm üretimindeki hasarın daha az olduğu izlenmiştir (70).

Tang ve arkadaşlarının apocynin'in farklı dozlardaki etkilerini araştırdıkları çalışmada farelerde 2 saatlik geçici orta serebral arter tıkanıklığı modeli ve sonrasında 22 saatlik reperfüzyon ile izlendi. Reperfüzyon öncesi 30. dakika 2.5mg/kg dozunda Apocynin verilen farelerde, nörolojik fonksiyonların geri dönüşünün hızlandığı,

infarkt hacmi ve intraserebral hemoraji sıklığında azaldığı görülmüştür. Beş mg/kg gibi daha yüksek dozlarda ise intraserebral hemoraji sıklığının arttığı görülmüştür (69).

Malonoldialdehit lipid peroksidasyonun son ürünüdür. İskemi reperfüzyon hasarı gelişen dokularda artış gösterdiği birçok çalışmada belirtilmiştir (49). Gürdal ve arkadaşları torsiyone rat testisinde gelişen I/R hasarında pentoksifilin antioksidan etkisini araştırmışlar. Bir saat boyunca 720° uygulanan torsiyon sonrası pentoksifilin verilen tedavi gruplarında MDA düzeylerinin IR ve kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bularak; pentoksifilin antioksidan olarak etkili olduğunu göstermişlerdir ($p<0,05$) (105). Hekimoğlu ve arkadaşları ratlarda testiküler I/R uyguladıktan sonra reperfüzyonun 24. saatinde MDA düzeylerinin etkilenmediğini bulmuşlar (106). Ünsal ve arkadaşlarının yaptığı ratlarda testiküler I/R çalışmasında MDA, GSH, CAT seviyeleri ölçülmüş, propofol verilen grupta MDA IR grubuna göre anlamlı olarak daha düşük çıkmıştır ($p<0,05$)(107). Bizim çalışmamızda MDA, değerleri I/R ve I/R+SF gruplarında sham grubuna göre anlamlı olarak artmış, I/R+Apocynin grubunda I/R ve I/R+SF gruplarına göre anlamlı olarak azalmış izlendi ($p<0,05$).

Miyeloperoksidaz, NO metabolizmasında yer alan nitrit, nitrat ve peroksidasyon işlemlerinde rol alan bir enzimdir. Antioksidan kapasitedeki azalmanın yanısıra oksidatif stres düzeyini gösteren bir belirteçtir. Myeloperoksidaz, nötrofiller ve monositlerin aktivasyonu sırasında sekrete edilir. Myeloperoksidaz, ortamdaki H₂O₂'yi kullanarak 2 basamaklı bir reaksiyon sonucunda hipoklorik asit ve tirozin radikallerini oluşturur (51). Wei S. ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada deneysel olarak oluşturulan testis torsiyon/detorsiyon modelinde taurin verilip torsiyone edilen grupta sham ve IR grubuna göre MPO aktivitesi anlamlı olarak daha düşük saptanmış ($p<0,05$) (108). Türkmen S. ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada deneysel olarak oluşturulan testis torsiyon/detorsiyon modelinde N-Asetilsistein verilerek yapılan çalışmada torsiyone edilen testiste MPO aktivitesindeki artış ile histopatolojik hasar skorları arasında anlamlı bir ilişki olduğu görülmüştür (109). Altıntaş ve arkadaşlarının ratlarda böbrek I/R'da apocynin etkisi üzerine yaptıkları bir çalışmada MDA ve MPO düzeyleri I/R grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur, tedavi gruplarında ise MDA ve MPO anlamlı olarak azalmış bulunmuştur ($p<0,05$) (71). Bizim çalışmamızda MPO IR grubunda Sham grubuna

göre artmış, apocynin grubunda ise I/R-IR+SF grubuna göre azalmış bulundu. Fakat bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Süperoksit dismutaz antioksidan savunmanın ilk basamağı olan süperoksitin H₂O₂'ye ve moleküler oksijene çevrilmesini katalizleyen antioksidan enzimlerden biridir (44). Katalaz ise hidrojen peroksiti O₂ ve suya yıkan antioksidan bir enzimdir (45). Aksoy ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada deneysel olarak oluşturulan testis torsiyon/detorsiyon modelinde torsiyone edilen testiste sham grubuna göre CAT aktivitesi anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır (110). Benzer olarak yağmurdur ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada deneysel olarak oluşturulan torsiyon/detorsiyon grubunda kontrol gruplarına göre CAT ve SOD aktiviteleri anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır (p<0,05) (80). Bizim çalışmamızda SOD ve CAT enzimlerini, I/R ve I/R+SF gruplarında sham grubuna göre anlamlı olarak azalmış olduğu görüldü (p<0,05). Prillaman ve Turner'ın yaptıkları testis torsiyonu çalışmasında antioksidan madde olarak SOD, CAT, verapamil ve allopurinol kullanmışlar. Bir saatlik torsiyondan sonra tek doz SOD ve CAT'ın etkili olduğu, verapamil ve allopurinolün ise etkili olmadığını tespit etmişler. Ancak iki saatlik torsiyondan sonra oluşturulan reperfüzyon hasarına kullandıkları antioksidan maddelerin hiçbirinin etkili olmadığını görmüştür (p<0,05) (111). Taati M. Ve arkadaşlarının Ghrelin kullanarak yapmış olduğu çalışmada deneysel olarak oluşturulan testis torsiyon/detorsiyon modelinde ghrelin verilen grupta CAT düzeylerinde anlamlı artış saptanmıştır (p<0,05) (112). Bizim çalışmamızda SOD, CAT değerleri 4 saatlik iskemi sonrası IR grubunda sham grubuna göre anlamlı olarak azalmış, I/R+Apocynin grubunda I/R ve I/R+SF gruplarına göre anlamlı olarak artmış izlendi (p<0,05). Reperfüzyon esnasında artmış oksidatif stres artmış lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır. Bu da CAT, SOD ve GPX gibi antioksidan enzimlerin aşırı tüketimi ve azalmaları ile sonuçlanmaktadır. Apocynin ise bu azalmayı düzeltici yönde etki göstermiştir

Glutasyon; tüm memeli canlı hücrelerinde bulunan, hücreleri serbest radikal ve toksik metabolitlere karşı koruyan bir -SH bileşiğidir. Glutasyon ve diğer -SH içeren bileşikler, kimyasal maddelerin oluşturduğu hücre ve doku hasarına karşı hücrenin canlılığını ve membran stabilitesini korumaktadırlar. Glutasyon kimyasal maddelerin ve çeşitli ilaçların detoksifikasyonunda önemli bir rol oynamaktadır. Glutasyon peroksidaz ise hücrelerin sitozolünde bulunur. Süperoksit dismutaz tarafından oluşturulan H₂O₂ ve yağ asiti peroksitlerini elimine eder. Başta GSH olmak üzere -

SH bileşiklerinin dokular üzerine koruyucu rolü çeşitli araştırmalarla gösterilmiştir (113). Yıldız H. ve arkadaşlarının sildenafil sitrat kullanarak yapmış olduğu çalışmada deneysel olarak oluşturulan testis torsiyon / detorsiyon modelinde IR grubunda GSH ve GPx düzeylerinde anlamlı azalma, sildenafil sitrat verilen grupta GSH ve GPx düzeylerinde anlamlı artış saptanmıştır ($p<0,05$) (114). Altıntaş ve arkadaşlarının yaptığı renal I/R çalışmasında GSH da anlamlı bir fark bulunamamış fakat apocyninin GPX üzerine artırıcı etkisi bulunduğu görülmüştür. (71) Bizim çalışmamızda da GPX ve GSH değerleri I/R ve I/R+SF grubunda sham grubuna göre anlamlı olarak azalmış, apocynin grubunda IR gruplarına göre artış görülsede bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu çalışmalarda göstermişirki iskeminin indüklediği süperoksit radikallerindeki artışının GSH gibi antioksidan etkisi olan tiyollerin ve GPX gibi antioksidan enzimlerin aşırı tüketimi ve azalmasıyla sonuçlanmaktadır.

Organizmada oluşan oksidan moleküller enzimatik ve nonenzimatik antioksidan molekülleri vasıtasıyla önlenir. Antioksidanların serum veya plazma konsantrasyonları da TAK ölçümü ile bulunur. Zhou Y. ve arkadaşlarının Shengmai kullanarak yapmış olduğu çalışmada deneysel olarak oluşturulan testis torsiyon / detorsiyon modelinde Shengmai verilen grupta TAK kapasitesinde ve SOD düzeylerinde IR grubuna göre anlamlı artış saptanmıştır ($p<0,05$) (110). Köksal M. ve arkadaşlarının melatonin kullanarak yapmış olduğu çalışmada deneysel olarak oluşturulan testis torsiyon/detorsiyon modelinde TAK; TOS düzeylerinde değişiklik saptanamamıştır (115). Bizim çalışmamızda TAK değeri IR grubunda sham grubuna göre azalmış, I/R+Apocynin grubunda I/R ve I/R+SF gruplarına göre artmış izlensedede istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Oksidan moleküller endojen üretililebildiği gibi çevresel faktörlerle de alınabilir. Elektron transfer zinciri , NOX, MPO, XO ve MAO gibi oksidatif enzimler, major endojen ROS kaynaklarıdır. Total oksidan seviyenin TAS'a yüzde olarak oranı oksidatif stres indeksini verir. Oksidatif stress hasarında TOS ve OSİ genellikle yükselme eğilimindedirler (55). Ekici ve arkadaşlarının melatonin kullanarak yapmış oldukları çalışmada deneysel olarak oluşturulan testis torsiyon/detorsiyon modelinde melatonin verilen grupta MDA, TOS düzeylerinde anlamlı artış saptanmıştır ($p<0,05$) (116). Bizim çalışmamızda TOS ve OSİ değerleri I/R grubunda sham grubuna göre anlamlı olarak artmış, I/R+Apocynin grubunda ise

I/R ve I/R+SF gruplarına göre anlamlı olarak azalmış izlendi ($p<0,05$). Apocynin kuvvetli antioksidan etkisiyle TOS ve OSİ' yi azaltıcı yönde etki göstermiştir.

I/R uygulanmış testiste meydana gelen histopatolojik değişiklikler; tübül çaplarında azalma, interstisyel alanda ödem ve hemoraji, tübüllerde germinal epitelyum hücre organizasyonunun bozulması, gelişimini tamamlamamış spermatogenik hücrelerin lümen içerisinde birikimi, çok çekirdekli dev hücrelerin, mayozun belli aşamalarında duraksamış ve farklı şekillerde izlenen dejenere hücrelerin görülmesi olarak sıralanabilir. Kanter ve arkadaşları ratlarda testiküler I/R çalışmasında melatonin'in koruyucu etkinliğini histopatolojik değişiklikler üzerine olan etkisini değerlendirmiştir. Burada I/R yapılan grupta seminifer tübül çaplarının anlamlı derecede azaldığı ancak melatonin tedavisi verilen I/R grubunda seminifer tübül çaplarının anlamlı derecede düzeldiğini tespit etmişlerdir (117). Aktoz ve arkadaşları testiküler I/R'da quercetin'in koruyucu etkinliğini histopatolojik olarak göstermek için ve quercetin tedavisi verilen grupta seminifer tübül çaplarının anlamlı derecede düzeldiğini tespit etmişler (118). Ranade ve arkadaşları testiküler I/R sonrası vit. E'nin histopatolojik değişiklikler üzerine olan etkisini değerlendirmişler. Bu çalışmada vit. E tedavisinin seminifer tübül çaplarını düzelttiği saptanmıştır (119). Bizim çalışmamızda apocyninin koruyucu etkinliğini histopatolojik olarak göstermek için tübül çaplarına ilaveten tübüllerin sınıflandırılması germ hücrelerinin lümene dökülmesine, çok çekirdekli dev hücre ve dejenere hücrelerinin varlığına göre değerlendirmeye aldık. Burada I/R yapılan gruplarda tübül çapının azaldığı, ancak I/R yapıp apocynin tedavisi verilen grupta seminifer tübüllerinin ortalama çapının I/R grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı saptandı.

Biz bu çalışmada ratlarda deneysel testis torsiyon / detorsiyon modeli oluşturduk. Testiste oluşan I/R hasarının derecesi histopatolojik olarak ve dokudaki SOD, CAT , GSH, GPx, MDA, MPO, TOS, TAK, OSİ gibi belirteçlerin düzeylerini ölçerek biyokimyasal olarak araştırdık. Apocyninin Testisteki I/R hasarı üzerindeki etkilerini belirledik. Sonuç olarak oksidatif enzimlerde, lipid peroksidasyonda ve protein oksidasyonda artış, antioksidan enzimlerde azalma, testis dokusunda torsiyon sonrasında oksidatif stresin geliştiği görüldü. Apocynin verilen grupta diğer gruplara göre anlamlı olarak histopatolojik hasarın daha az olduğu, biyokimyasal bulgularında diğer gruplara göre belli oranlarda düzeldiği görüldü. Çalışmamızın bulguları ışığında bu tedavi modalitesinin insanlarda rutin kullanıma dahil edilebilmesi için randomize,

prospektif, geniş kapsamlı ve uzun dönem takip sonuçlarına sahip çalışmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ

Rat testisi üzerinde yaptığımız torsiyon / detorsiyon modelinde Apocynin + I/R gruplarında meydana gelen biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikler, sham, I/R, I/R + SF gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Torsiyon sonrasında oksidatif stres belirteci olan MDA, TOS, OSİ seviyelerinde anlamlı olarak azalma, antioksidan enzimler olan SOD, CAT'da anlamlı olarak artış izlendi. İskemi reperfüzyon yapılan gruplarda tübül çapının azaldığı, diğer değerlerin anlamlı derecede arttığı, apocynin verilen grupta hedef dokuda histopatolojik hasarın daha az geliştiğini ortaya koymaktadır.

Bütün moleküler çalışmaların ana amacı verilen tedavinin klinik kullanıma uyarlanabilme potansiyelidir. Biz çalışmamızda bu amaçla dünyada bilinen en güçlü antioksidan moleküllerden biri olan NOX inhibitörü apocynini seçtik. Bulgular ışığında apocynin kullanıldığında esas amacımız olan testisteki oksidatif stresi oldukça azaltabildik. Rat modellerinde birçok torsiyon çalışması olmasına karşın insanlarda bu amaca yönelik çalışma sayısı azdır. İnsanlardaki sonuçları değerlendirmek için randomize, prospektif, geniş kapsamlı ve uzun dönem takip sonuçlarına sahip çalışmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

7. ÖZET

Amaç: Testis torsiyonu çocuklarda ve adölesanlarda sık görülen, kısa zamanda müdahale gerektiren ürolojik acillerden biridir. Bu çalışmada amacımız testis torsiyonu sonrası dokudaki oksidatif stresi biyokimyasal, histopatolojik olarak belirlemek ve apocynin tedavisinin bu hasar üzerindeki etkilerini incelemektir.

Materyal metod: 250-350 gr ağırlığında 32 adet wistar albino rat gelişmiş güzel olarak 4 gruba ayrıldı. 1.grup sham grubu olarak belirlendi. 2. grupta torsiyon + detorsiyon oluşturuldu, 3. grupta 2.gruba uygulanan prosedüre ek olarak torsiyonun (iskemi) 210. dk'sında tek doz salin tedavisi intraperitoneal uygulandı (10ml/kg). 4. grupta 2. gruba uygulanan prosedüre ek olarak iskeminin 210. dk'sında tek doz apocynin tedavisi intraperitoneal uygulandı. (20 mg/kg). Sham grubu hariç diğer gruplara 240 dk 'lık torsiyon sonrasında 60 dk detorsiyon (reperfüzyon) uygulandıktan sonra sol orşiektomi yapıp ratlardan kan örnekleri alınarak ötenazi uygulandı ve işleme son verildi.

Bulgular: MDA, TOS ve OSİ değerleri I/R ve I/R+SF grubunda Sham grubuna göre anlamlı olarak artmış izlendi.

Süperoksit dismutaz, CAT, GPX ve GSH değerleri IR ve IR+SF grubunda Sham grubuna göre anlamlı olarak azalmış izlendi.

Malondialdehit, TOS ve OSİ değerleri I/R+Apocynin grubunda I/R ve I/R+SF gruplarına göre anlamlı olarak azalmış, SOD ve CAT değerleri ise anlamlı olarak artmış izlendi.

Myeloperoksidaz değeri I/R+Apocynin grubunda I/R ve I/R+SF gruplarına göre azalmış, TAK değeri ise I/R+Apocynin grubunda I/R ve I/R+SF gruplarına göre artmış izlense de tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

İskemi reperfüzyon yapılan gruplarda tübül çapının azaldığı, ancak apocynin tedavisi verilen grupta seminifer tübüllerinin ortalama çapının I/R grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı saptandı.

Sonuç: Torsiyon sonrasında oksidatif enzimlerde, lipid peroksidasyonda artış testis dokusunda oksidatif stresin geliştiğini ortaya koymaktadır. Çalışmamızın bulguları ışığında apocyninin testisteki oksidatif stresi azalttığını gözlemledik. Bu tedavi modalitesinin insanlarda rutin kullanıma dahil edilebilmesi için randomize, prospektif, geniş kapsamlı ve uzun dönem takip sonuçlarına sahip çalışmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

8. SUMMARY

8.1. Object:

Testicular torsion is one of the urological urgencies which is frequently seen among children and adolescents. Our target in this study is to find out the oxidative stress on tissue after testicular torsion biochemically and histopathologically as well as to investigate the apocynin treatment over this damage.

8.2. Material and methods:

Thirty two we wistars of the weight between 250-350 grams were Sprague-Dawley rats, divided in to four groups randomly. In the first group, 2 , 3, 4. groups 8 rat were there. The first group was named as sham. In the second group, there become torsion and detorsion. In the third group in addition to the procedure applied in the second group after was conducted at the 210. minutes of (10 ml/day) ischemia. In the fourth group in addition to the procedure applied in the second group after was conducted at the 210. minutes of (20 mg/kg/day IM) the ischemia. Except for the sham group the other groups were applied the torsion process (20 mg/kg/dayIM) group after the applied reperfusion for about 60 minutes. Which was following the conduction of bilateral orchietomy blood samples were picked than the euthanized was done and all was over.

8.3. Results:

Malonoldialdehit, TOS and OSI levels are significantly higher in I/R and I7R SF group than Sham group.

Superoksitdismutaz, CAT, GPX ve GSH levels are significantly lower in I/R and I/R+SF group than Sham group.

Malondialdehit, TOS and OSI levels are significantly lower in I/R + Apocynin group than I/R and I/R+SF group, SOD and CAT levels find significantly higher.

Myeloperoksidaz level was find lower in I/R + Apocynin group than I/R and I/R + SF groups, TAK level was find higher in I/R + Apocynin group than I/R and I/R + SF groups, but didn't find significantly difference for istatisticaly.

In the groups that were applied I/R it was found that the tubule diameters got smaller but other values significantly significantly got higher. However in the ggroup given apocynin treatment the average diameter of seminifer tubules significantly rose and the other values were found when compared to the.

8.4. Conclusion

The raise in the oxidative enzymes, lipid peroxidation and protein oxidation after torsion put forward that the oxidative stres. In the target tissues improved. In the light of the findings of our study it was that the pull down the oxidative stress in the testicle. The include this treaatment modality in to the routine us efor people, we think that it to the some works which have randomized, prospective, comprehensive and long-term follow-up results.

KAYNAKLAR

- 1- H. Yagmurdur, A. Ayyıldız, E. Karaguzel, E. Ogus, H. Surer, M. Caydere, B. Nuhoglu, C. Germiyanoglu. The preventive effects of thiopental andpropofol on testicular ischemia-reperfusion injury
- 2- Cummings JM, Boullier JA, Sekhon D, Bose K. Adult testicular torsion. JUrol 2002; 167: 2109–10.
- 3-Christenson RH, Panigrahi K, Chapman JF, Silverman LM Isoenzymes and isoforms. In: Kaplan LA, Pesce AJ,Kazmierczak SC (eds) Clinical chemistry, theory, analysis and correlation. 3rd (ed) Mosby-Year Book, St. Louis,pp 1996 1077–1085 21:395–399
- 4- Xian N. Tang^{1,2}, Belinda Cairns³, Nick Cairns³, and Midori A. Yenari Apocynin improves outcome in experimental stroke with a narrow dose range Neuroscience. 2008 June 23; 154(2): 556–562.
- 5- Liu PG, He SQ, Zhang YH, Wu J. Protective effects of apocynin and allopurinol on ischemia/reperfusion-induced liver injury in mice. World J Gastroenterol 2008; 14(18): 2832-2837
- 6- Barry J. Connell a, Monique C. Saleh a, Bobby V. Khan a,b, Tarek M. Saleh a, Tucker, Apocynin may limit total cell death following cerebral ischemia and reperfusion by enhancing apoptosis Food and Chemical Toxicology 2011 ; 3063–3069
- 7- Caesar R, Kaplan G. Incidence of the bell clapper deformity in an autopsy series. Urology 1994; 44: 1146
- 8- William J Larsen: Human Embryology. 2nd edition. Churchill Livingstone, 2001.
- 9- Johnson EK. Male Reproductive System: Histology and Embryology. Johnson EK A Wiley Medical Publication, New York (1984) 246 (5 pt 2), 698–704.
- 10- Anafarta K, Baykara M, Baydinç C. Ürogenital organların anatomik ve histolojik yapısı. Temel Üroloji, Ankara: Güneş Kitapevi; 1998. s.1-28.
11. In Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED, Jr, Wein AJ (Eds): Brooks JD. Anatomy of the lower urinary tract and male genitalia. Campbell □s Urology. 8th ed. Philadelphia: WB saunders: 2002. p. 41-80
12. Sobotta İnsan Anatomisi Atlası. Urban & Schwarzenberg, Münih 19. baskı Türkçe çevirisi, Beta Yayınevi, İstanbul. 2. cilt: 224 – 231
13. Lennox B, Ahmad KN. The total length of tubules in the human testis. J Anat 1970;107:191.
- 14.http://www.biologycorner.com/bio3/rat_urogenital.html
- 15- Sadler TW (Çeviri: AC. Başaklar). Langmans medikal embriyoloji. 7. Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 1996:274-5.
- 16- Kayalı H. Özel histoloji. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Film Merkezi, 1989:218
- 17- Netter FH; Atlas of Human Anatomy, 3. Baskı, 2005
- 18- Zilberman D, Inbar Y, Heyman Z et al. Torsion of the cryptorchid testis, can it be salvaged J Urol 2006; 175: 2287–9.
- 19- Ciftci AO, Senocak ME, Tanyel FC, Buyukpamukcu N. Clinical predictors for differential diagnosis of acute scrotum. Eur J Pediatr Surg 2004; 14:333–8.
- 20- Lee SK, Shen CY, Gueng MK, Su YC. Using gray-scale and color Doppler ultrasound for testicular torsion diagnosis and outcome analysis. UltrasoundMed Biol 2006; 32: 230–1.58
- 21- Mernagh JR, Caco C, De Maria J. Testicular torsion revisited. Curr Probl Diagn Radiol 2004; 33: 60–73.
- 22- Nussbaum Blask AR, Rushton HG. Sonographic appearance of the epididymis in pediatric testicular torsion. AJR Am J Roentgenol 2006; 187:1627–35.
- 23- Kaipia A, Ryymin P, Makela E, Aaltonen M, Kahara V, Kangasniemi M. Magnetic resonance imaging of experimental testicular torsion. Int J Androl 2005; 28: 355–9.
- 24- Wu HC, Sun SS, Kao A, Chuang FJ, Lin CC, Lee CC. Comparison of radionuclide imaging and ultrasonography in the differentiation of acute testicular torsion and inflammatory testicular disease. Clin Nucl Med 2002; 27: 4903.
- 25- Visser AJ, Heyns CF. Testicular function after torsion of the spermatic cord. BJU Int 2003; 92: 2003.
- 26- Savas C, Dindar H, Aras T, Yucesan S. Pentoxifylline improves blood flow to both testes in testicular torsion. Int Urol Nephrol 2002; 33: 81–5.

- 27- Johnston BI, Wiener JS. Intermittent testicular torsion. *BJU Int* 2005; 95:933–4.
- 28- Viguera RM, Medina P, Reyes G et al. The effect of naloxone pretreatment before relieving testicular torsion. *Proc West Pharmacol Soc* 1998; 41: 41–2.
- 29- Anderson JB, Williamson RC. Testicular torsion in Bristol: a 25- year review. *Br J Surg* 1988; 75: 988–92
- 30- Cuervo JL, Grillo A, Vecchiarelli C, Osio C, Prudent L. Perinatal testicular torsion: a unique strategy. *J Pediatr Surg* 2007; 42: 699–703.
- 31- Saugstad OD. Hypoxanthine as a measurement of hypoxia. *Pediatr Res* 1975;9: 158-161
- 32- Joannidis, M., Gunther, B., Pfealler, W., 1989. Lipid-peroxidation: an initial event in experimental acute renal failure. *Ren. Physiol. Biochem.* 12, 47–55.
- 33- Prilman HM, Turner TT (1997) Rescue of testicular function after acute experimental torsion. *J Urol* 157:340–
- 34- Abasiyanik A, Dagdonderen L. Beneficial effects of melatonin compared with allopurinol in experimental testicular torsion. *J Pediatr Surg* 2004; 39: 1238–1241.
- 35- Halliwell B, Gutteridge JM. The definition at measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic Biol Med* 1995; 181: 125-6
- 36- Halliwell B, Gutteridge JMc. *Free radical in biology and medicine*. Third ed. Oxford: Oxford University Press; Oxford 160-165.2000
- 37- Akkus I. Serbest radikaller ve fizyolojik etkileri. 723. Konya: Mimoza;1995
- 38- Gutteridge JM, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid eroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci* 1990;15 (4):129-35
- 39- Yin H, Porter NA. News insides regarding the autooxidation of olyunsaturated fatty acids. *Antioxid Redox Signal* 2005 7 (1-2): 170-84
- 40- Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemitry of 4- ydroxynoneal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 991; 11 (1):81-128
- 41- Shacter E. Quantification and significance of protein oxidation in biological amples. *Drug Metab Rev* 2000;32 (3-4):307-26
- 42- Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of adical-mediated protein oxidation. *Biochem J* 1997; 324 Pt 1:1-18
- 43- Naito Y, Lee MC, Kato Y, Nagai R, Yonei Y. Oxidative stress markers. *Anti-Aging Medicine* 2010; 7(5): 36–44.
- 44- Tekkes Y. Streptozotosin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve e vitaminin dokularda lipit peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması. Yüksek lisans tezi. KSGÜ. Fen bilimleri enstitüsü. 2006; syf: 2-26.
- 45- Meister, A., Anderson, M.E., “Glutathione”, *Ann. Rev. Biochem.*, 52: 711-760
- 46- Anderson D, Costas I, Cytochromes P450 Role in the Metabolism and oxicity of Drugs and other Xenobiotics. *Royal Society of Chemistry* 008.s.6–352.
- 47-Naito Y, Lee MC, Kato Y, Nagai R, Yonei Y. Oxidative stress markers. *Anti-Aging edicine* 2010; 7(5): 36–44.
- 48- Zhao J, Liu XJ, Ma JW, at al. DNA damage in healthy term neonate. *Early Hum Dev* 004; 77: 89–98.
- 49-Yarıktaş M, Döner F, Doğru H, Aynalı G, Yönden Z, Delibaş N. Baş-boyun malign tümörlerinde malondialdehit düzeyleri ve antioksidan enzim aktiviteleri. 2003; 10:65
- 50-Deveci HA (2007). Mastitisli (meme iltihabı) ineklerde kan MDA ve GSH düzeylerinin araştırılması, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Kars.
- 51- Zeng J, Fena RE. X-ray crystal structure of canine myeloperoxidase at 3 Å esolution. *J Mol Biol* 1992; 226: 185-207.
- 52-Krawisz JE, Sharon P, Stenson WF. Quantitative assay for acute intestinal nflammation based on myeloperoxidase activity. *Gastroenterology* 1984;87:1344-
- 53- Laine L. Gastrointestinal effects of NSAIDs and Coxibs. *J Pain Symptom Manage* 2003;25:32-40.
- 54- Nauseef WM. Insights into myeloperoxidase biosynthesis from its inherited efficiency. *J Mol Med* 1998; 76: 668-661. 50.
- 55- Halliwell B, Dizdaroglu M. Free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *J Free Radical Res* 1992; 16: 75–87.
- 56- Gitto E, Pellegroni S, Gitto P, Barberi I, Reiter RJ. Oxidative stress of the newborn in the pre- and postnatal period and the clinical utility of melatonin. *J Pineal Res* 2009; 46: 128–139.

- 57- Wijnberger LDE, Krediet TG, Visser GHA, Van Bel F, Egberts J. Early neonatal antioxidant capacity after preexisting impaired placental function. *Early Hum Dev* 2003; 71:
- 58- Yin H, Porter NA. News insides regarding the autooxidation of polyunsaturated fatty acids. *Antioxid Redox Signal* 2005 7 (1-2): 170-84
- 59- S. Hougee, A. Hartog, A. Sanders, et al., "Oral administration of the NADPH-oxidase inhibitor apocynin partially restores iminished cartilage proteoglycan synthesis and reduces inflammation in mice," *European Journal of Pharmacology*, vol.
- 60- Stolk J, Hiltermann TJ, Dijkman JH, Verhoeven AJ. Apocynin tarafından nötrofillerde NADPH oksidaz aktivasyonu, Solunum Hücre ve Moleküler Biyoloji bir metoksi-ikame katekol *American Journal* 1994 inhibisyon Özellikleri; 11 (1) :95
- 61- J. Stefanska and R. Pawliczak Review Article Apocynin: Molecular Aptitudes department of Immunopathology, Medical University of Lodz, 251 Pomorska Street, uilding C5, 92-213 Lodz, Poland
- 62- Liu PG, He SQ, Zhang YH, Wu J. Protective effects of apocynin and allopurinol on ischemia/reperfusion-induced liver injury in mice. *World J Gastroenterol* 2008; 14(18): 2832-2837
- 63- R. Luchtefeld, R. Luo, K. Stine, M. L. Alt, P. A. Chernovitz, and E. Smith, "Dose formulation and analysis of diapocynin," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 56, no. 2, pp. 01–306, 2008. 531, no. 1–3, pp. 264–269, 2006.
- 64- Barry J. Connell a, Monique C. Saleh a, Bobby V. Khan a,b, Tarek M. Saleh a, Apocynin may limit total cell death following cerebral ischemia and reperfusion by enhancing apoptosis Department of Biomedical Science, Atlantic Veterinary College, University of Prince Edward Island, Charlottetown, P.E.I., Canada
- 65- Hindawi Publishing Corporation Mediators of Inflammation Volume 2008, Article ID
- 66- E. van den Worm, C. J. Beukelman, A. J. J. van den Berg, B. H. Kroes, R. P. Labadie, and H. Van Dijk, "Effects of methoxylation of apocynin and analogs on the inhibition of reactive oxygen species production by stimulated human neutrophils," *European Journal of Pharmacology*, vol. 433, no. 2-3, pp. 225–230, 2001.
- 67- J. M. Doddo, L. E. Welsh, J. D. Salazar, et al., "Effect of NADPH oxidase inhibition on cardiopulmonary bypass-induced lung injury," *American Journal of Physiology*, vol. 287, no. 2, pp. H927–H936, 2004.
- 68- A. A. Müller, S. A. Reiter, K. G. Heider, and H. Wagner, "Plant-derived acetophenones with antiasthmatic and antiinflammatory properties: inhibitory effects on chemotaxis, right angle light scatter and actin polymerization of polymorphonuclear granulocytes," *Planta Medica*, vol. 65, no. 7, pp.
- 69- L. L. Tang, K. Ye, X. F. Yang, and J. S. Zheng, "Apocynin attenuates cerebral infarction after transient focal ischaemia in rats," *Journal of International Medical Research*, vol. 35, no. 4, pp. 517–522, 2007.
- 70- Zhang GL, Dai DZ, Zhang C, Dai Y. Apocynin and raisanberine alleviate intermittent hypoxia induced abnormal StAR and 3 β -HSD and low testosterone by suppressing endoplasmic reticulum stress and activated p66Shc in rat testes. College of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China.
- 71- Altıntaş R , Polat A , Vardi N , Oğuz F , Beytur A , Sağır M , Yıldız A , Parlakpınar H . The Protective Effects of Apocynin on Kidney Damage Caused by Renal Ischemia/Reperfusion. *Üroloji Anabilim Dalı 1, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Malatya, Türkiye. J Endourol.* 2013 6 Şubat.
- 72- C. A. Hamilton, M. J. Brosnan, S. Al-Benna, G. Berg, and A. F. Dominiczak, "NAD(P)H oxidase inhibition improves endothelial function in rat and human blood vessels," *Hypertension*, vol. 40, no. 5, pp. 755–762, 2002.
- 73- Riganti, C. Costamagna, A. Bosia, and D. Ghigo, "The NADPH oxidase inhibitor apocynin (acetovanillone) induces oxidative stress," *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 212, no. 3, pp. 179–187, 2006.
- 74- Moulton P, Martin, Ainger A, Phenoxaiodonium ile flavoproteins inhibisyonu, yeni bir analog iodonium. *Eur. J. Pharmacol.* 2000, 401 . :115-120,
- 75- M. Kudo, M. Nishikawa, H. Ikeda, and T. Okubo, "Involvement of superoxide anions in ozone-induced airway hyperresponsiveness in unanesthetized guinea pigs," *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 2, no. 1, pp. 25–30, 1996
- 76- Heumüller Q. Wang, K. D. Tompkins, A. Simonyi, R. J. Korthuis, A. Y. Sun, and G. Y. Sun, "Apocynin protects against global cerebral ischemia-reperfusion-induced oxidative stress and injury in the gerbil hippocampus," *Brain Research*, vol. 1090, no. 1, pp. 182–189, 2006.

- 77- X. N. Tang, B. Cairns, N. Cairns, and M. A. Yenari, "Apocynin improves outcome in experimental stroke with a narrow dose range," *Neuroscience*, vol. 154, no. 2, pp. 556–562, 2008.
- 78- J. Stoll, W. Rossie, and J. H. Dijkman, Apocynin improves the efficacy of secretory leukocyte protease inhibitor in experimental emphysema, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, vol. 150, no. 6, pp. 1628–1631, 1994.
- 79- R. F. Klees, P. C. De Marco, R. M. Salasnyk, et al., "Apocynin derivatives interrupt intracellular signaling resulting in decreased migration in breast cancer cells," *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, vol. 2006, Article ID 87246, 10 pages, 2006.
- 80- Uchiyama M, Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 1978;34:271–8.
- 81- Sun Y, Oberley L, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988;34:497–500.
- 82- Aebi, H. Catalase. In: Bergmeyer HU, editor. *Methods of enzymatic analysis*. New York: Academic Press; 1974. pp. 673–7.
- 83- Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967;70:158–70.
- 84- Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959;82:70–77.
- 85- Lowry O, Rosenbraugh N, Farr L, Rondall R. Protein measurement with the folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;183:265–75.
- 86- Wei H, Frenkel K. Relationship of oxidative events and DNA oxidation in Sencar mice to in vivo promoting activity of phorbol ester-type tumor promoters. *Carcinogenesis* 1993;14:1195–1201.
- 87- Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004; 37: 277–285.
- 88- Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38: 1103–1111.
- 89- Harma M, Harma M, Erel O. Increased oxidative stress in patients with hydatidiform mole. *Swiss Med Wkly* 2003; 133: 563–566.
- 90- H. Yagmurdu, A. Ayyıldız, E. Karaguzel, E. Ogus, H. Surer, M. Caydere, B. Nuhoglu, C. Germiyanoglu. The preventive effects of thiopental and propofol on testicular ischemia-reperfusion injury
- 91- Tryfonas G, Violaki A, Tsikopoulos G et al. Late postoperative results in males treated for testicular torsion during childhood. *J Pediatr Surg* 1994; 29: 553–6
- 92- Savas C, Dindar H, Aras T, Yucesan S. Pentoxifylline improves blood flow to both testes in testicular torsion. *Int Urol Nephrol* 2002; 33: 81–5.
- 93- Yin H, Porter NA. News insides regarding the autooxidation of polyunsaturated fatty acids. *Antioxid Redox Signal* 2005 7 (1-2): 170-84
- 94- Hulya Aksoya, Turgut Yapanoglu, Yilmaz Aksoy, Isa Ozbey, Hamdullah Turhana, Nesrin Gursanc Dehydroepiandrosterone treatment attenuates reperfusion injury after testicular torsion and detorsion in rats *Journal of Pediatric Surgery* (2007) 42, 1740–1744
- 95- Turner TT, Bang HJ, Lysiak JJ. Experimental testicular torsion: reperfusion blood flow and subsequent testicular venous plasma testosterone concentrations. *Urology* 2005; 65: 390–4.
- 96- Amirali Hassanzadeh Salamsi, Azadeh Beheshtian, Seyedmehdi Payabvash, Shadpour Demehri; Mohammed Reza Ebrahimkhani, Motahare karimzadegan, Moslem Bahadori. Parvin Pasalar, and Ahmed reza Dehpour Effect of meorfihine on ischemia- reperfusion injury: experimental study in testikular torsion rat model *UROLOGY* 66: 1338–1342 c 2005 Elsevier Inc.
- 97- Shiraishi K, Naito K, Yoshida Ki. Nitric oxide promotes germ cell necrosis in the delayed phase after experimental testicular torsion of rat. *Biol Reprod* 2001;65:514-21.
- 98- Hutson JM. Undescended Testis, Torsion, and Varicocele. In O'Neill JA, Rowe MI, Grosfeld JL, Fonkalsrud EW, Coran AG. Editors. *Pediatric Surgery Volume Two*. 5th ed. London: Mosby – year Book, Inc, 1998:1099-1101.
- 99- Shacter E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab Rev* 2000;32 (3-4):307-26
- 100- Kehinde EO. Allopurinol provides long-term protection for experimentally induced testicular torsion in a rabbit model. *BJU Int* 2005; 96: 1147–8.
- 101- Salmasi AH, Payabvash S, Beheshtian A et al. Protective effects of sildenafil administration on testicular torsion/detorsion damage in rats. *Eur Urol Suppl* 2006; 5: 302.65

- 102- Runzer TD, Ansley DM, Godin DV, Chambers GK. Tissue antioxidant capacity during anesthesia: propofol enhances in vivo red cell and tissue antioxidant capacity in a rat model. *Anesth Analg* 2002; 94: 89–93.
- 103- Inan M, Basaran U, Dokmeci D et al. Rosiglitazone, an agonist of peroxisome proliferator - activated receptor-gamma, prevents contralateral testicular ischaemia reperfusion injury in prepubertal rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; 34: 457–61.
- 104- Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem J* 1997; 324 Pt 1:1-18
- 105- Unsal A, Devrim E, Guven C, Eroglu M, Durak I, Bozoklu A, Balbay MD: Propofol attenuates reperfusion injury after testicular torsion and detorsion, *World J Urol* 2004 22(6):461-5
- 106- Wei SM, Zhou J, Yan ZZ, Protective effect of rutin on testicular ischemia-reperfusion injury. *J Pediatr Surg*. 2011 Jul;46(7):1419-24. [j.jpedsurg.2010.09.044](https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2010.09.044). Department of Surgery, Zhejiang Medical College, Hangzhou City, Zhejiang Province, 310053, China
- 107- Turkmen S, Mentese A, Karaguzel E, Karaca Y, Kucuk A, Uzun A, Yulug E, Turedi S. A comparison of the effects of N-acetylcysteine and ethyl pyruvate on experimental testicular ischemia-reperfusion injury. *2012 Sep*;98(3):626-31
- 108- Dehydroepiandrosterone treatment attenuates reperfusion injury after testicular torsion and detorsion in rats. Aksoy H, Yapanoglu T, Aksoy Y, Ozbey I, Turhan H, Gursan N. *J Pediatr Surg*. 2007 Oct;42(10):1740-4.
- 109- Hekimoglu A, Kurcer Z, Aral F, Baba F, Sahna E, Atessahin A. Lycopene, an antioxidant carotenoid, attenuates testicular injury caused by ischemia/reperfusion in rats. *Tohoku J Exp Med* 2009;218(2):141-7.
- 110- Köksal M, Oğuz E, F Baba, Eren MA, Çiftçi H, Demir ME, Kurcer Z, G al, Aral F, Ocak AR, Aksoy N, Ulaş T. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2012 Mayıs; 16 (5) :582-8. Melatoninin etkileri testis histolojisi, deney sonrası oksidatif stres ve spermatogenez testis iskemi - reperfüzyonunda sıçan .
- 111- Prillaman HM, and Turner TT: Rescue of testicular function after acute experimental torsion. *J Urol* 157: 340– 345, 1997.
- 112- Taati M, Moghadasi M, Dezfoulian O, Asadian P, Kheradmand A, Abbasi M, Zendeheel M. The effect of ghrelin pretreatment on epididymal sperm quality and tissue antioxidant enzyme activities after testicular ischemia/reperfusion in rats. *J Physiol Biochem*. 2012 Mar;68(1):91-7.
- 113- Abes, M, Sarihan H, Deg̃er O, Uydu HA. The effect of ATPMgCl₂ on prevention of reperfusion injury after unilateral testicular torsion. *Eur J Pediatr Surg* 2001;11:255.
- 114- Yıldız H, Durmus AS, Şimşek H, Yaman M. Dose-dependent protective effect of sildenafil citrate on testicular injury after torsion/detorsion in rats. *2012 May*;44 Suppl 1:300-6. 1439- 2011 Jul 12. [/j.urology.2012.06.049](https://doi.org/10.1016/j.urology.2012.06.049). Epub 2012 Aug 28.
- 115- Gürdal M, Tekin A, Erol A, et. al: Antioxidant effect of Pentoxifylline in ischemiareperfusion injury in torsioned rat testes. *Türk Üroloji Dergisi* 2002; 28 (3): 260-263.
- 116- Ekici S, Doğan Ekici AI, Öztürk G, Benli Aksungar F, Sinanoğlu O, Turan G, Lülecı N. Comparison of melatonin and ozone in the prevention of reperfusion injury following unilateral testicular torsion in rats. *Urology*. 2012 Oct;80(4):899-906. doi: 10.1016108- Kehinde EO. Allopurinol provides long-term protection for experimentally induced testicular torsion in a rabbit model. *BJU Int* 2005; 96: 1147–8.
- 117- Kanter M. Protective effects of melatonin on testicular torsion/detorsion-induced ischemia-reperfusion injury in rats. *Exp Mol Pathol*. 2010 Dec;89(3):314-20. Epub 2010 Jul 27. -
- 118- Aktöz T, Kanter M, Aktas C. Protective effects of quercetin on testicular torsion/detorsion-induced ischaemia-reperfusion injury in rats. *Andrologia*. 2010 Dec;42(6):376-83. doi: 10.1111/j.1439-0272.2010.01044.x.
- 119- Ranade AV, Tripathi Y, Rajalakshmi R, Vinodini NA, Soubhagya RN, Nayanatara AK, Rekha DK, Kumari M. Effect of vitamin E administration on histopathological changes in rat testes following torsion and detorsion. *Singapore Med J*.