



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA TESTİS İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINDA NİTRİK
OKSİT (L-Arjinin) VE FOSFODİESTERAZ TİP 5 İNHİBİTÖRÜNÜN
(Tadalafil) ETKİSİ

Dr. Çağdaş Gökhan ÖZMERDİVEN

UZMANLIK TEZİ

BURSA – 2015



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA TESTİS İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINDA NİTRİK
OKSİT (L-Arjinin) VE FOSFODİESTERAZ TİP 5 İNHİBİTÖRÜNÜN
(Tadalafil) ETKİSİ

Dr. Çağdaş Gökhan ÖZMERDİVEN

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Hakan KILIÇARSLAN

BURSA – 2015

İÇİNDEKİLER

Özet	ii
İngilizce Özet	iv
Giriş	1
1. Testis Embriyolojisi	2
2. Testis Anatomisi.....	3
3. Testis Histolojisi.....	5
4. TestisTorsiyonu.....	6
5. İskemi-Reperfüzyon Hasarı.....	9
6. Serbest Radikallerin Kaynakları.....	14
7. Lipid Peroksidasyonu	17
8. Anti Oksidan Savunma.....	18
9. Nitrik Oksit.....	19
10. Siklik Guanozin Monofosfat.....	22
11. Tadalafil.....	22
Gereç ve Yöntem	25
Bulgular	32
Tartışma ve Sonuç	40
Kaynaklar	49
Teşekkür	56
Özgeçmiş	57

ÖZET

Çalışmamızda testis torsiyonundan sonra oluşan iskemi/reperfüzyon hasarını önlemede NO prekürsörü L-arginin ve fosfodiesteraz 5 inhibitörü tadalafilin etkisini sıçan modelinde incelemeyi amaçladık.

Kırk adet erkek Sprague Dawley cinsi sıçan randomize bir şekilde 5 gruba ayrıldı. Çalışmaya alınan 40 sıçanın 8'i kontrol grubu, geri kalan 32 tanesi ise çalışma gruplarını oluşturdu. Kontrol grubunda yer alan sıçanlara torsiyon işlemi uygulanmadan testisleri alındı. Çalışma grubundaki sıçanların sol testisinde torsiyon oluşturulduktan sonra, 3 saatlik iskemi oluşturuldu. İkinci gruba ilaç uygulanmadı, 3. gruba detorsiyondan 30 dakika önce intraperitoneal L-arginin, 4. gruba detorsiyondan 30 dakika önce intraperitoneal tadalafil ve 5. gruba detorsiyondan 30 dakika önce hem tadalafil hem de L-arginin birlikte intraperitoneal olarak verildi. Ardından sol testise detorsiyon uygulanarak, 4 saat reperfüzyon için beklenildi. Yedinci saatin sonunda biyokimyasal ve histopatolojik inceleme için bilateral orşiektomi uygulandı. Biyokimyasal olarak dokuda lipid peroksidasyon (LPx) ve glutatyon (GSH) düzeyleri incelendi. Gruplar kendi aralarında ve kontrol grubuyla karşılaştırıldı.

LPx düzeylerine göre incelendiğinde; ipsilateral testiste 2. grubun sonuçları, kontrol ve ilaç verilen gruplardan anlamlı olarak yüksek izlendi. İlaç verilen gruplar arasında anlamlı fark izlenmedi. Kontrol grubu ile 4. ve 5. grup arasından anlamlı fark izlendi. Karşı testis incelendiğinde 2. grubun sonuçları kontrol ve ilaç verilen gruplardan anlamlı olarak yüksek izlendi. Üçüncü ve 4. grup arasında anlamlı fark saptanmazken, 4. grubun sonuçları kontrol ve 5. grubun sonuçlarından anlamlı olarak farklıydı.

GSH düzeylerine göre incelendiğinde; ipsilateral testiste 2. grubun sonuçları kontrol ve 5. grubun sonuçlarından anlamlı olarak farklı iken, diğer ikili karşılaştırmalarda anlamlı fark izlenmedi. Karşı testiste ise, 5. grubun sonuçları kontrol ve diğer gruplardan anlamlı olarak yüksek bulundu. 2. ve 4.

grup arasında anlamlı fark izlenirken, diğer ikili karşılaştırmalarda anlamlı fark izlenmedi.

Histopatolojik olarak incelendiğinde; ipsilateral testiste Johnsen skoruna bakıldığında, kontrol grubunun sonuçları diğer gruplardan anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenirken, 2. grubun sonuçlarının ise diğer gruplardan anlamlı olarak düşük olduğu izlendi. Üçüncü ve 4. grup arasında anlamlı fark izlenmezken, 5. grubun sonuçları 3. ve 4. grubun sonuçlarından anlamlı olarak farklı bulundu. Işık mikroskobu ile yapılan incelemede İkinci grupta yüksek oranda nekroz izlenmiştir. İkinci, 3. ve 4. gruplarda yüksek oranda ödem ve konjesyon izlenmesine rağmen, 5. grupta daha az izlenmiştir. Karşı testiste Johnsen skoruna bakıldığında, kontrol grubunun sonuçları diğer gruplardan anlamlı olarak yüksek ve 2. grubunun sonuçları diğer gruplardan anlamlı olarak düşük olduğu görüldü. Beşinci grup ile 4. grup arasında anlamlı fark izlenmesine rağmen 3. ve 5. grup arasında anlamlı fark izlenmedi. Karşı testiste ışık mikroskobu ile yapılan incelemede 2. grupta yüksek oranda nekroz izlendi. Üçüncü, 4. ve 5. gruplarda benzer oranda ödem ve konjesyon izlendi.

Sonuç olarak; L-arjinin, tadalafil ve her ikisinin kombine kullanımının, hem torsiyone testiste hem de karşı testiste iskemi/reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu görülmektedir.

Anahtar kelimeler: Testis, L-arjinin, iskemi/reperfüzyon hasarı, tadalafil.

SUMMARY

The Effect of Nitric Oxide (L-arginine) and The Phosphodiesterase Type 5 Inhibitor (Tadalafil) in Rats' Testis Ischemia/Reperfusion Injury

In our study, we aimed to examine the effect of NO precursor, L-arginine and the phosphodiesterase type 5 inhibitor, tadalafil in the prevention of ischemia reperfusion injury after testis torsion in rats.

A total of 40 adult, male Sprague Dawley rats were divided into 5 groups randomly. Of these 40 rats, 8 consisted the control group and the remaining 32 consisted the study groups. Rats in control group were performed bilateral orchiectomy without torsion. In study groups left testis of rats underwent three hours of torsion. No drug was applied in the 2nd group, L-arginine was injected intraperitoneally 30 minutes before the detorsion in the 3th group, tadalafil was injected intraperitoneally 30 minutes before the detorsion in the 4th group, L-arginine and tadalafil were injected together intraperitoneally 30 minutes before the detorsion in the 5th group. Then left testis was untwisted for four hours of reperfusion. At the end of 7th hour bilateral testes were removed for histological and biochemical examination. For biochemical examination, lipid peroxidation (LPx) and glutathione (GSH) activities were examined in testicular tissue. Groups were compared with each other and with the control group.

When analyzed according to the LPx level; the results of the second group in ipsilateral testis was observed to be significantly higher than the control and drug treated groups. Among the drug treated groups significant difference was not observed. Control group's results were significantly different than the 4th and 5th group's results. When the contralateral testis was examined, the results of the 2nd group were significantly higher than the control group and drug treating groups. No significant difference between 3rd and 4th groups was seen. The result of the 4th group was significantly different than result of the control and the 5th group.

When analyzed according to GSH levels, in the ipsilateral testis the results of the 2nd group were significantly different from the results of the control group and the 5th group. Significant difference was not observed in other binary comparisons. The results of the 5th group were significantly higher than other groups in the contralateral testis. Significant difference was observed between the 2nd and 4th groups and no significant difference was observed in other binary comparisons.

When examined histopathologically in ipsilateral testis, Johnsen's score of the control group was significantly higher than the other groups and Johnsen's score of the 2nd group was significantly lower than the other groups. No significant difference was seen between Johnsen's score of the 3rd and 4th groups, Johnsen's score of the 5th group was significantly different from Johnsen's score of the 3rd and 4th groups. High rate of necrosis was observed in the 2nd group. High rate of congestion and edema was observed in 3rd and 4th group, but less in 5th group. In contralateral testis, Johnsen's score of the control group was significantly higher than other groups and Johnsen's score of the 2nd group was significantly lower than other groups. No significant difference between the 3rd and 5th groups was seen. Johnsen's score of the 4th group was significantly different than Johnsen's score of the 5th group. In contralateral testis necrosis was seen highly in the 2nd group. Edema and congestion was seen similar rate in the 3rd, 4th and 5th groups.

As a result; L-arginine, tadalafil and combined used of both were protective against the effect of ischemia/reperfusion injury in ipsilateral and contralateral testis.

Key words: Testis, L-arginine, ischemia/reperfusion injury, tadalafil

GİRİŞ

Testis torsiyonu, testis ve spermatik kordun rotasyonu sonucunda oluşan ürolojik acil bir durumdur (1). Testis torsiyonu en sık 12 ve 18 yaşları arasındaki erkeklerde görüldüğü gibi antenatal dönemde ve yenidoğan döneminde de görülmektedir. Yirmibeş yaşından küçük erkeklerde 1/4000 oranında görülmektedir. Testis torsiyonunda 4-6 saat içinde müdahale edilmemesi durumunda germ hücre kaybı görülmektedir (2)

Torsiyon gözlenen testiste, detorsiyon işlemi uygulandıktan sonra hasarlanma devam etmektedir. Bu durumdan testiste oluşan “iskemik hasara” ek olarak testisin kan akımının yeniden sağlanması sırasında oluşan “reperfüzyon hasarı” sorumlu tutulmaktadır (3). Reperfüzyon sırasında ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri, reperfüzyon hasarına neden olmaktadır (4). Hidrojen peroksit, süperoksit anyonları ve hidroksil radikali reperfüzyon sırasında oluşan ve doku hasarlanmasına yol açan önemli oksijen radikalleridir.

İskemi ve reperfüzyon (I/R); hücresel enerjinin tükenmesine, hücre içerisinde sodyum, kalsiyum ve reaktif oksijen radikallerinin birikmesine, proteazları, nitrik oksit sentazları, fosfolipazları ve endonükleazları içeren çok sayıda enzim sisteminin aktive olmasına yol açar; hücre hasarı ve ölümüyle sonuçlanır. Reperfüzyonun kendisi, aktive polimorfonükleer lökositlerin ve trombositlerin dokuyu infiltre etmeleri ile ortaya çıkan akut enflamatuvar yanıtı sekonder olarak lokal hasara yol açar. Doku hasarlanması; sitokinler, endotel hücresi adhezyon molekülleri, trombosit aktive edici faktörler ve serbest radikaller aracılığıyla gerçekleşir (5).

Nitrik oksit (NO), çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlara dahil olan bir anahtar moleküldür. NO'nun hücre fonksiyonları üzerinde düzenleyici, koruyucu ve zararlı etkileri olduğunun anlaşılmasından bu yana, NO donörleri ve antagonistlerinin, I/R hasarını önlenmesi konusunda çalışmalar devam etmektedir. Küçük bir molekül olan NO, L-arginin ve oksijen varlığında nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi yardımı ile oluşmaktadır. Endotel hücresindeki

eNOS ve nöronlardaki nNOS NO üretiminde rol alır. NO, çözümlü guanilat siklaz enzimi üzerinden siklik guanin monofosfat (cGMP) düzeyini artırır (6).

Siklik nükleotid sinyallerinin kontrolü veya sonlandırılması, sitoplazmada bulunan fosfodiesteraz enzimleri ile sağlanmaktadır. Memeli hücrelerinde 11 farklı fosfodiesteraz (FDE) enzimi tanımlanmıştır. FDE 5, 6 ve 9 cGMP'ye özgü çalışmaktadır (7).

NO'nun çeşitli ikincil mesajcı kaskadlar üzerinden etki ettiği gösterilmiştir, ancak etkilerinin çoğu siklik guanozin monofosfat (cGMP) aracılığıyla meydana gelir. cGMP, I/R hasarı sırasında intraselüler kalsiyum düzeylerinin regülasyonunda ve trombosit fonksiyonlarının modülasyonunda önemli bir rol oynar (6,8). Bizde bu çalışmamızda, NO donörleri olan L-arjinin ve tadalafilin, testis iskemisi/reperfüzyon hasarını önlemede rolünü ortaya koymayı amaçladık.

1. Testis Embriyolojisi

Embriyonun kromozomal ve genetik cinsiyeti sekonder oositi döleyen sperm türüne bağlı olarak fertilizasyonda belirlenir (9). İnsan embriyosunun 10-12. dorsal segmentleri arasından primordiyal gonadın mezenkimal kısmı gelişir. Primordiyal germ hücreleri ise gelişimin üçüncü haftasında yolk kesesi duvarında endoderm hücreleri arasında ve allantoise yakın bir yerde belirir. Amibik hareketlerle son barsak mezenterinin dorsali boyunca ilerler, beşinci haftanın başında primitif gonadlara ulaşır ve altıncı haftada genital kıvrımlara tamamen yerleşirler. Böylece henüz farklılaşmamış fetal gonad gebeliğin altıncı haftasında ortaya çıkmış olur (10,11). Gebeliğin yedinci haftasından önce, her iki cinsin gonadları benzerdir ve farklılaşmamış gonadlar olarak adlandırılırlar. Gonadların erkek ya da dişiliğe farklılaşmaları XX, XY kromozom kompleksine bağlıdır ve gebeliğin yedinci haftasında belli olur (9).

Genetik olarak XY olan embriyoda primitif germ kordonları Y kromozomu üzerindeki testis belirleyici faktör etkisiyle gebeliğin yedinci haftasının başında hızla çoğalır. Sonra bu kordonlar testis veya meduller

kordonları oluşturmak üzere gonadın medulla bölgesini doldurur. Bu kordonlar, gonadın hilusunda ince ve daha küçük kordonlara ayrılıp, ağ şekline dönüşerek rete testisi oluştururlar. Gelişim ilerledikçe, testis kordonları yüzey epiteliyle olan ilişkilerini kaybederler. Bu durum, testisin üzerinde yer alan fibröz yapıdaki tunika albuginea sayesinde olur. Kordonlar, puberteye kadar kapalı durumdadır. Bu dönemde lümen oluşarak, seminifer tübüller belirir. Seminifer tübüller, rete testis lümenine bağlanıp sonrasında duktuli efferentes ile devam ederler. Bunlar ise, Wolff kanalına dökülerek duktus deferens oluştururlar (10-12).

Leydig hücreleri, 8-18. haftalar arasında interstisyel dokudaki mezenkimal hücrelerin hızlı değişimi sonucu ortaya çıkar. Gebeliğin ortasına gelindiğinde, testisin %50'sini bu hücreler oluştururken, doğuma doğru sayıları giderek azalır (12).

Başlangıçta lomber bölgede bulunan testisler, üçüncü fetal aydan itibaren skrotuma doğru inişe başlarlar. Hutson (13) hipotezine göre testisin inişinin iki evresi vardır:

İlki transabdominal evredir. Bu evre androjenden bağımsızdır ve iniş anti müllerian hormon etkisiyle olur. Testis karın arka duvarı boyunca inişe geçer, gebeliğin 17. haftasında iç inguinal halka hizasına gelir ve gebeliğin 28. haftasına kadar burada kalır.

İkincisi inguinokrotal evre olarak adlandırılır. Testis bu dönemde inguinal kanal yoluyla karın ön duvarını geçerek skrotuma iner. Testis gebeliğin yedinci ayından sonra inguinal kanalı geçmiş ve doğumdan hemen önce de gelişimini tamamlamış halde, skrotumdaki yerini alır (12,13). Androjenler, gubernakulum, epididim, epidermal büyüme faktörü, desendin, kalsitonin genle ilişkili peptid (CGRP), genitofemoral sinir ve karın içi basıncının inguinokrotal inişte rol oynadığı ileri sürülmektedir (14-16).

2. Testisin Anatomisi

Erişkin bir erkeğin testisi 4x3.5x3 cm boyutlarındadır. Testisler ovoid şekilli gonadlardır. Her birinin hacmi 30 ml kadardır. Testisin anterolateral 2/3

bölümü serbest iken, posterolateral yüzü epididim, bağ dokusu ve damarlarla örtülüdür. “Mediastinum testis” olarak isimlendirilen kranioposterior kısımdan, seminal taşıyıcılar çıkar (17).

Testis, tunika albuginea adı verilen kompakt bağ dokusu ile çevrelenmiştir. Bu tabaka; fibroblastlar ve kollajenden yoğun bir yapıdadır. Tunika albuginea'nın altında nispeten daha gevşek bağ dokusu yapısında, tunika vasküloza adı verilen damarsal bir tabaka yer alır. Tunika albuginea testisin arkasında kalınlaşarak mediastinum testisi oluşturur. Burada tunika albugineanın iç yüzünden çıkan fibröz septalar testisi yaklaşık 250 adet, piramit biçimli lobüllere ayırır. Herbir lobülün içinde bir ile dört arasında değişen sayıda kıvrımlı seminifer tübül bulunur. Seminifer tübüller ise rete testis diye isimlendirilen kanal ağına açılırlar. Tunika albuginea'nın üzerinde peritonun uzantısı olan tunika vaginalis yer almaktadır. Tunika vaginalis iki yapraklıdır. Anteriorda, testise yakın olan ve epididimi çevreleyen kısmına visseral tabaka, daha dışta yer alan kısmına ise pariyetal tabaka adı verilir. Bunların da dışında sırasıyla, “fascia spermatica interna”, “musculus cremaster”, “fascia spermatica externa”, tunika dartos ve cilt yer alır (18).

Spermatik kord; duktus deferens, duktus deferensin arter ve veni, testiküler arter, “plexus pampiniformis”, “plexus deferentialis”, “processus vaginalis peritonei”, “musculus cremaster”, “arteria cremasterica”, “vena cremasterica”, lenf damarları, ilioinguinal sinir ve genitofemoral sinirin genital dallarından oluşur. Tüm bu oluşumlar birbirine gevşek bir bağ dokusuyla bağlanmış ve dıştan kas lifleri ile “fascia spermatica externa”, “fascia cremasterica”, “fascia spermatica interna” adı verilen zarlarla sarılmıştır (18).

Testisin ana damarı aortanın ön yüzünden ve böbrek arterinin yaklaşık iki-üç cm altından çıkan testiküler arterdir. Bu damar iç kasık halkasına kadar retroperitonda ilerleyip spermatik kord yapıları arasına katılır. Tek veya dallara ayrılan testiküler arter, testis arka yüzüne ulaşarak oblik biçimde tunika albugineayı geçer. Sonra ana dallar bölünerek ilerler ve seminifer tübüller arasında yer alan interlobüler arteriollerini oluşturur. Ana damar, testiküler arter olmasına karşın, kremasterik, vazal ve epididimal arterlerle testiküler arter arasında birçok anastomoz görülebilmektedir.

Testisin venöz drenajı kapiler ile başlar ve testis dışında “plexus pampiniformis”i meydana getirirler. Çoğunlukla iç kasık halkası seviyesinde bu venler birleşerek testiküler veni oluştururlar. Sağ testiküler ven, sağ böbrek veninin dört-beş cm kadar altından vena kava inferiora, sol testiküler ven ise sol böbrek venine açılır.

Testisin innervasyonu asıl olarak sempatik postganglionik ve viseral afferent sinirlerle olmaktadır. Sinirler genelde damarları takip ederek testise ulaşırlar. Tunika albuginea dışında dallara ayrılan sinirler interstisyuma kan damarları ile birlikte ulaşırlar.

Testis lenfatikleri, seminifer tübüller etrafında görülmeyen lenfatik kapilerlerle interlobüler septadan başlar. Daha sonra spermatik kordu takip ederek paraaortik, interaortokaval ve perikaval lenf düğümlerine açılırlar (17,18).

3. Testisin Histolojisi

3.1 İnterstisyel Doku

Testis dokusunun %25-30'unu oluşturur. İntertübüler bölgede Leydig hücreleri, kan damarları, lenfatikler, sinirler, makrofajlar ve mast hücreleri bulunur. Leydig hücreleri ergenlikte ortaya çıkarlar. Bunlar, santral konumlu, tek, yuvarlak bir çekirdeğe sahip, görevi testosteron üretimi olan hücrelerdir. Testosteron, kolesterolden sentezlenen, sekonder seks karakterlerinin gelişmesinden sorumlu erkeklik hormonudur. Testosteron salgılanması lüteinizan hormon kontrolündedir. Plazmada testosteronun %65'i androjen bağlayıcı protein olarak adlandırılan bir beta globuline, %33'ü ise albumine bağlı olarak bulunur (19).

Spermatogenez, hipofizden salgılanan folikül stimülan hormon ile lüteinizan hormonun testis üzerindeki etkileriyle ilişkilidir. Lüteinizan hormon, Leydig hücrelerine olan etkisiyle normal spermatogenik hücrelerin gelişimi için gerekli testosteron yapımını uyarır. Folikül stimülan hormon ise Sertoli hücrelerini etkileyerek adenilat siklazı ve sonuçta siklik adenozin monofosfat artışını uyarır. Böylece androjen bağlayıcı protein sentezi ve salgısı artar.

Androjen bağlayıcı protein, testosteronu bağlayarak, seminifer tübül lümenine taşır. Spermatogenez, testosteron ile uyarılır, östrojen ya da progesteronla inhibe edilir (19,20).

3.2 Seminifer Tübüller

Testisin herbir lobülü birbirleri arasında ilişkileri olan bir-dört kadar seminifer tübül içerir. Bunlar, dışta miyoid hücreleri de içeren bağ dokunun çevrelediği, belirgin bir bazal membran ile interstisyumdan ayrılırlar. Seminifer tübüller yaklaşık 30-70 cm uzunlukta olup, Sertoli hücreleri ile germ hücrelerini içerirler. Erişkin testisindeki Sertoli hücreleri, bölünme yeteneği olmayan, seminifer tübülün bazal kısmından lümene doğru uzanan destek hücreleridir. Seminifer tübüllerin hücresel yapısının %10-15'ini oluştururlar. Çekirdekleri düzensiz şekilli ve oldukça büklümlüdür. Sertoli hücreleri, belirgin nükleolusları ile germ hücre elemanlarından ayrılır. Puberte çağında Sertoli hücreleri arasında sıkı bağlantı kompleksleri oluşur. Kan testis bariyerini oluşturan bu kompleksler, kandan gelen maddelerin lümen içerisine geçişini önler. Fagositoz kapasiteleri dışında bu hücreler; spermatogenezin düzenlenmesinde rol alan androjen bağlayıcı protein, transferrin, büyüme hormonu, seruloplazmin ve inhibin gibi pek çok maddenin sentezini de yaparlar (19).

Germ hücreleri, insanda olgunlaşmasını 64 günde tamamlayan ve çoğalabilen hücrelerdir. Bazal membrana oturan spermatogoniumların bir kısmı (spermatogonium A) kök hücreleri oluştururken, bir kısmı da (spermatogonium B) mitoz ile bölünerek lümene doğru göç ederler ve primer spermatozidlere dönüşürler. Bunlar mayoz bölünme ile sekonder spermatozidler oluştururlar. Sekonder spermatozidler ikinci bir mayoz bölünme daha geçirerek haploid spermatidlere dönüşürler. Haploid spermatidler ise olgunlaşarak, spermatozoonları oluştururlar (11).

4. Testis Torsiyonu

Testis torsiyonu, spermatik kord ve yapılarının kendi etrafında dönmesiyle oluşan ve acil cerrahi müdahale gerektiren önemli bir ürolojik

sorundur. Sağlıklı tek testisin bile, fertilizasyon için sorun oluşturmadığı bilindiği halde, tek taraflı testis torsiyonu olgularının uzun süreli takiplerinde, %25 oranında infertilite ve %90'a varan anormal sperm analiz sonuçları izlenmiştir. Buna sebep olarak da, tek taraflı testis torsiyonunun karşı testiste de histolojik ve hemodinamik değişikliklere neden olduğunu düşündürmüştür (21).

Torsiyonun sebebi genellikle bilinmemekte, fakat çeşitli hazırlayıcı etkenlerden söz edilmektedir. Pubertede testis volümünün beş-altı kat artışı, torsiyonun bu dönemde daha fazla görülmesine neden olmaktadır. Travma ya da aşırı egzersiz, torsiyonu başlatan bir etken olabilir. Yine kremaster veya dartos kaslarının kasılması da torsiyonu başlatabilir. Çevre ısısının 2°C'nin altına düştüğü ortamlarda torsiyonun daha sık görüldüğü bildirilmiştir (22). Sol testis daha uzun bir spermatik korda sahip olduğundan sağ testise oranla iki defa daha sık torsiyone olur. İnmemiş ve retraktil testislerde torsiyon olasılığı artmıştır (23).

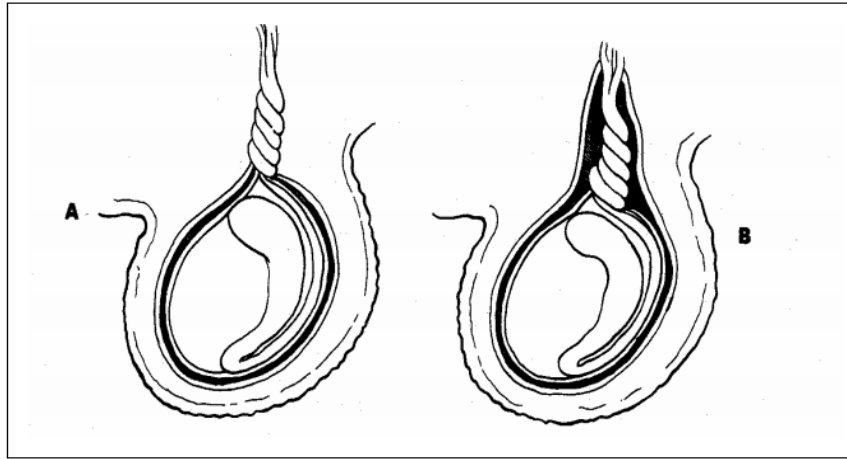
Torsiyonun başlangıç evresinde venöz tıkanıklık oluşur. Bu durum testiste ani başlayan ağrı ve ödeme neden olur. Venöz dolaşımın düzelmemesi arteriyel dolaşımın bozulmasına yol açar. Venöz, arteriyel ve kapiller düzeyde oluşan trombüsler testiste iskemi ve devamında nekroza neden olur. Testis torsiyonunda oluşan doku hasarı torsiyonun süresi ve derecesi ile yakından ilişkilidir. Yapılan çalışmalarda semptomları 6 saatten kısa olan hastaların büyük çoğunluğunda testis morfolojik açıdan normal tespit edilmiş, ancak sürenin uzaması halinde testiste kalıcı hasarlanmanın arttığı görülmüştür (24).

Ani başlangıçlı ve ciddi bir skrotal ağrı, torsiyon için özgün bir bulgudur. Skrotal ağrı, kasığa ve aynı taraf karın alt kadranına yayılır. Olguların dörtte birinde ağrıya bulantı, kusma gibi diğer sindirim sistemi şikayetleri eşlik edebilir. Bazı hastalarda skrotal travma ya da skrotumu ilgilendiren başka bir hastalık öyküsü vardır (25,26). Fizik bakıda testis büyük, hassas ve skrotumun üst kısmına horizontal yerleşmiş halde bulunur ve yukarı kaldırmakla testisteki ağrının artması (Prehn belirtisi) torsiyonu destekler. Skrotumda ödem ve eritem ile birlikte ipsilateral tarafta kremasterik

refleksin kaybolduğu görülür. Pollakiüri, disüri gibi üriner sistem semptomlarının olması ve idrar tahlilinde piyüri görülmesi epididimiti destekler (25,27). Torsiyon düşünölen olgularda yapılacak ultrasonografi, ilk saatlerden itibaren büyümüş ve hipoekojen testisi gösterir.

Tanıda yardımcı olabilecek güvenilir diğer tetkikler, renkli doppler ultrasonografi ile testis sintigrafisidir. Teknesyum-99m ile radyoizotop görüntölemede, karakteristik olarak testiste izotop tutulumunun olmadığı görülür. Enflamatuvar yanıtın göstergesi olarak, tutulum olmayan bölgenin etrafında halka şeklinde skrotal perfüzyonun varlığı, gecikmiş torsiyonu işaret eder. Doppler ile normal kan akımı ve etkilenen tarafta artmış perfüzyon epididimiti ve bazen de appendiks testis torsiyonunu gösterebilir. Tedavisi detorsiyondur. Önce narkotik analjezikler yardımıyla manuel detorsiyon denenebilir (25,27,28). Semptomların başlangıcından sonraki ilk 6-12 saat arasında yapılacak detorsiyon testisi kurtarabilir. Daha uzun süren torsiyonlarda testis ve epididimde nekrotik görünüm var ise, karşı testisi de etkileyebileceğinden orşiektomi gerekir. Torsiyona neden olan fiksasyon anomalisi büyük bir olasılıkla diğer testiste de bulunduğu için karşı taraftaki testisin de skrotum içerisine tespiti aynı seansta yapılmalıdır (25,29).

Testis torsiyonu iki tiptir:



Şekil-1: Testis Torsiyon Tipleri. A:Ekstravaginal B:İntravaginal

4.1.Ekstravaginal Testis Torsiyonu

Tunika vaginalislerin, spermatik korda bağlantı noktalarının proksimalden kordun kendi etrafında torsiyone olmasıdır. Perinatal dönemde görülen torsiyon tipidir. Bu dönemde, testisin skrotuma inişi ile testiküler fiksasyon tamamlanamamış olduğundan torsiyon meydana gelebilir. İntrauterin torsiyonlar “vanishing testis” sendromundan sorumlu tutulmaktadır. Asemptomatik seyrettiğinden sıklığı tam olarak bilinmemektedir. Ekstravaginal testis torsiyonları, genellikle testiküler atrofi ile sonuçlanır. Bu olgularda da erken cerrahi girişim ve kontralateral testisin fiksasyonu önerilmektedir (25).

4.2.İntravaginal Testis Torsiyonu

Çoğunlukla ergenlik öncesi dönemdeki erkek çocuklarında görülür. “Bell-clapper (zil tokmağı) deformitesi” adı verilen anatomik yapı bozukluğunun intravaginal testis torsiyonuna sebep olabileceği ileri sürülmüştür. Bu malformasyonda, periton testise normalde olması gereken yerden daha yukarıda yapışmaktadır. Sonuçta testis daha transvers pozisyonda, serbest bir biçimde tunika vaginalis içinde asılı durmakta ve kolaylıkla torsiyone olmaktadır. Sıklıkla kremasterin kasılması, spermatik kordu kısaltarak, torsiyonu başlatır (25).

5.İskemi ve Reperfüzyon Hasarı

İskemi, herhangi bir nedenle, dokudaki kan akımının, hücresel fonksiyonları karşılamak için gerekli olan düzeyin altına düşmesi durumudur. Aerobik organizmalar canlılıklarını devam ettirebilmek için oksijene gereksinim duymaktadırlar. İskemi, hücresel oksidatif fosforilasyonu azaltır ve adenzin trifosfat (ATP), fosfokreatin gibi enerjiden zengin fosfatların depolarında yetmezlik oluşur. İskemide enerji eksikliğine bağlı olarak; asidoz, ATP yıkım ürünlerinin birikmesi, makromolekül sentezinin durması, iyon dengesinde bozulma gibi olaylar gelişir. İskemi proenflamatuvar durumu uyararak lökosit adezyon molekülleri, sitokinler, endotelin, tromboksan A2 gibi mediatörlerin salınmasına neden olur (30).

İskemik organa kan akımının tekrar sağlanması geri dönüşümsüz hasarlanmayı önler ve kaybolan fonksiyonlar geri kazanılır fakat oluşan serbest oksijen radikallerine ve kandaki aktive edilmiş kan hücrelerine bağlı olarak “reperfüzyon hasarı” oluşur (30).

Dokuda geri dönüşümsüz hasarın ortaya çıkmasına kadar geçmesi gereken iskemi süresine tolerans zamanı denir. Eğer iskemi süresi tolerans zamanını aşarsa, hücre ölümü ve doku nekrozu gelişir. Geri dönüşümsüz hasar oluşmadan önce iskemik doku reperfüze edilirse doku hasarı gerileyebilir. Reperfüzyon sırasında iskemik doku, oluşan serbest oksijen radikallerine bağlı ek zedelenmeye de maruz kalır. İskemik dokunun reperfüzyonu ile oluşan hasar, serbest oksijen radikallerinin vasıtası ile gelişir (31). İskemik dokuda oluşan serbest oksijen radikallerinin ana kaynağının ksantin oksidaz olduğu kabul edilmektedir (32). Ksantin oksidaz, hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunun artışına bağlı olarak, aktive edilen bir proteazdır ve yaygın şekilde bulunan ksantin dehidrogenaz enziminin iskemik dokuda dönüşümüne bağlı oluşur. İskemik dokunun reoksijenizasyonu ile ksantin oksidaz enzimi, moleküler oksijen ve ATP'nin düşük enerji yıkım ürünü olan hipoksantin ile reaksiyonu sonucunda, süperoksit radikali ve hidrojen peroksit radikali oluşur (32).

5.1 Reperfüzyon Hasarının Patofizyolojisi

5.1.1 Lökositler ve Kompleman Sistemi

İskemi/reperfüzyon sonucunda lökosit aktivasyonu meydana gelir (30). Reperfüzyon ile birlikte sırasıyla kemotaksi, lökosit endotel hücre yapışması ve göçü oluşur. Hücre dışı bölgeye ulaşan aktive lökositlerden salınan toksik serbest oksijen radikalleri, proteazlar ve elastazlar mikrovasküler geçirgenlikte artma, ödem, tromboz ve parankimal hücre ölümüne neden olurlar (33).

İskemi/reperfüzyon sonucunda birçok proenflamatuvar mediatör oluşur ve kompleman aktivasyonu yapar. C5a, lökosit aktivasyonunu ve kemotaksisi uyarır. Monosit kemoatraktan protein 1, interlökin 1 (IL-1), interlökin 6 (IL-6) ve tümör nekrozis faktör (TNF) oluşumunu sağlayarak enflamatuvar yanıtı artırır (34,35).

C3b ve C5b-9, vasküler hemostazı değiştirirler. C5b-9, endotelyal interlökin 8 (IL-8) ve monosit kemoatraktan 1 sekresyonu, lökosit aktivasyonunu ve kemotaksisini artırır. Endotelyal cGMP'i azaltarak ve endotel bağımlı relaksasyonu baskılayarak, vasküler tonusu etkiler. Endotelden lökosit adezyon molekülü transkripsiyonu ve salınmasını aktive eder. Komplemanlar, lökositin endotelyal yapışmasını artırarak ve vasküler hemostazı değiştirerek iskemik organa kan akımını azaltırlar (34,36).

Reperfüzyon sırasında ortaya çıkan serbest oksijen molekülleri lökositleri aktive ederek, lökositlerin damar endoteline yapışmasına neden olmaktadır. Bu lökositin endotele yapışması sonucu kapiller yatakta tıkaçlar oluşarak, dolaşım bozulmaktadır. Bu nedenle reperfüzyon sonrası kapillerin bir kısmı perfüze olamamaktadır. İskemi/reperfüzyon sonrası kapillerin bir kısmında perfüzyonun geri dönmemesi "no-reflow fenomeni" olarak adlandırılmaktadır (4,33).

Aktive olan nötrofiller; salgıladıkları proteaz, elastaz, jelatinaz gibi enzimler ile endotel hücrelerinin parçalanmasına, endotel devamlılığının bozulmasına neden olmaktadır. Bu da trombositler ve nötrofillerin kapiller yatağa kemotaksisine yol açmaktadır. Endotelyal devamlılığın bozulması ile ortaya çıkan sitotoksik mediyatörler mikrovasküler geçirgenliği artırmakta ve böylece interstisyel alana sıvı kaybına neden olmaktadır. İnterstisyel alana sıvı kaybı sonucu gelişen hemokonsantrasyon ve interstisyel ödem, kapiller lümenin daralmasına neden olmaktadır (4,37).

5.1.2. Kalsiyum:

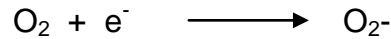
Reperfüzyon sırasında hücre ve organelleri içinde aşırı Ca^{+2} birikimi ciddi doku hasarı gelişiminin en önemli nedenidir. İskemide ortaya çıkan hücre membran hasarı ve gradient farkı nedeniyle Ca^{+2} , hücre içine girer. Aynı zamanda iskem/reperfüzyon sırasında, özellikle süperoksit radikali (SOR) tarafından sodyum-potasyum pompasının bozulmasıyla artan hücre içi sodyum, Ca^{+2} 'u daha da artırır. Dışarıdan Ca^{+2} girişinin yanısıra, endoplazmik retikulumda iskem/reperfüzyon hasarına bağlı membran zedelenmesi sonucu içerdii Ca^{+2} 'u sitoplazmaya bırakır (38).

Normal koşullarda hücre için yararlı olan Ca^{+2} 'un reperfüzyon sonrasında hücre içinde aşırı miktarda birikmesi sonucu ortaya çıkan hasara kalsiyum paradoksu denilmektedir. Artan hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonu ATPaz enziminin inaktivasyonuna neden olur. Böylelikle iskemide zaten azalmış olan ATP depoları daha da boşalır. Hücrede litik görevi olan birçok enzimin Ca^{+2} tarafından aktive edilmesiyle hücre yıkımı başlar. Membran fosfolipidlerinin, aktive olan fosfolipaz tarafından parçalanması sonucu ise hücre bütünlüğü bozulur (38).

5.1.3.Serbest Radikaller

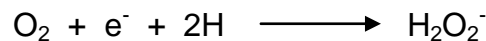
Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren atom veya moleküllerdir. Bu tip moleküller ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler: oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalidir. Bunlardan ilk dördünün çeşitli reaksiyonları ile sonucusu meydana gelir (39).

a) Süperoksit radikali: Hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak, indirgenmesi sonucu serbest süperoksit radikali (O_2^-) meydana gelir.

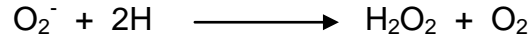


Süperoksit, bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (8).

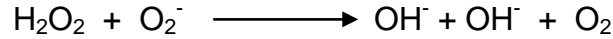
b)Hidrojen peroksit: Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü iki hidrojen molekülü ile birleşerek hidrojen peroksiti (H_2O_2) meydana getirir (39,40).



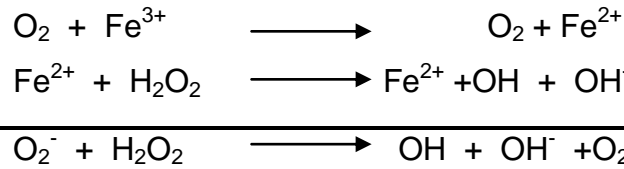
Ancak biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi süperoksidin dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü iki proton alarak, hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Bu reaksiyon spontan oluşabileceği gibi süperoksit dismutaz enzimi ile katalizlenebilir ve radikal olmayan ürünler meydana gelir (39,40).



Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir (32,41).



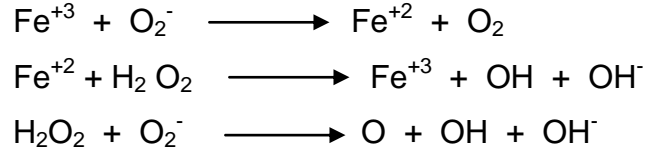
Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu denir. Bu reaksiyon demirle katalizlenir. Önce ferri demir süperoksit (Fe³⁺) tarafından ferro demire (Fe²⁺) indirgenir. Sonra bu ferro demir kullanılarak Fenton reaksiyonu ile hidrojen peroksitten OH ve OH⁻ üretilir (39).



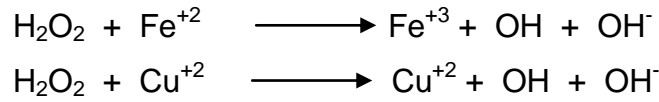
c) Hidroksil radikali: Bu radikal (OH), hidrojen peroksidin geçiş metallere varlığında indirgenmesiyle (Fenton reaksiyonu) meydana gelir (40). Son derece reaktif bir oksijen radikali. Yarılma ömrü çok kısadır. Oluşturduğu yerde büyük hasara neden olur. Tioller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşmasına neden olur (39).

Doğal enzimler ve glutatyon yetersiz düzeyde ise hidrojen peroksit ve süperoksit ayrı ayrı ortamda serbestleşmiş halde bulunan Fe⁺³ veya Cu⁺² ile

reaksiyona girerek sonunda en güçlü radikal olan hidroksil molekülünün oluşacağı bir dizi reaksiyon oluştururlar (42,43).



Hidrojen peroksitin güçlü bir oksidan olan demiroksijen kompleksi (ferrik) oluşturmak için ferröz demir (Fe^{+2}) ile girdiği reaksiyona Fenton reaksiyonu denir. Oluşan ferrik, OH vermek üzere parçalanır. Hidrojen peroksit ferröz demirden daha hızlı olarak bakır (Cu^{+2}) tuzları ile reaksiyona girmektedir (43,44).



d) Singlet Oksijen: Singlet oksijen ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmamasına rağmen çok reaktif olması, üretimi sırasında bazı radikal tepkimeleri oluşturması nedeniyle serbest radikal olarak sayılır. Bu radikalın DNA hasarı oluşturduğu ve mutajenik etkilerinin bulunduğu gösterilmiştir (45,46).

e) Nitrojen Oksitler: Nitrik oksit, serbest radikal olan basit bir gazdır. Memelilerde bulunan en küçük otokoid (30 d) ve haberci moleküldür (45,47). Çok küçük bir molekül olması ve lipofilik olma özelliği, hücre membranlarından kolaylıkla geçmesine izin vermektedir (45,47). NO, protein fonksiyonlarını değiştirir ve hücre hasarına ya da hücrenin korunmasına aracılık eder.

6. Serbest Radikallerin Kaynakları

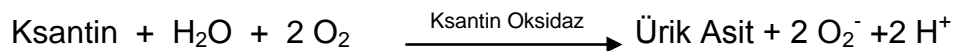
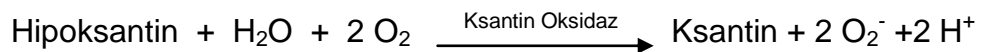
En büyük serbest radikal kaynağı elektron transport zincirinden (ETS) olan elektron sızıntısıdır. Normal oksijen basıncında radikal üretimi

mitokondriyal oksijen tüketiminin %1-2'si kadarken, yüksek O₂ basıncında bu oran artar. Serbest radikallerin kaynakları, biyolojik ve hücre içi olarak ikiye ayrılır. Aktive olmuş fagositlerin, radyasyonun, bağımlılık yapan maddelerin (alkol ve uyuşturucular), antineoplastik ajanların, çevresel ajanların (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, sigara, dumanı) ve stresin (katekolamin artışı ile) etkisi sonucunda oluşan serbest radikaller, biyolojik olanlardır. Küçük maddelerin otooksidasyonu (katekolaminler), enzimler ve proteinler (ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz, hemoglobin), mitokondriyal elektron transportu, endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (Sitokrom P-450), peroksizomlar (oksidazlar), plazma membranı (lipooksijenaz, prostoglandin sentetaz, fagositlerde nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz, lipid peroksidasyonu), oksidatif stres etkenleri (iskemi, travma) ile oluşanlar ise hücre içi kaynaklıdır (5,8).

6.1. Ksantin Oksidaz Sistemi

İskemi (hipoksi) sırasında ATP üretimi durur, ancak kullanımı devam eder. ATP, yüksek enerjili fosfat bağları yıkılarak adenosin monofosfata (AMP), daha sonra hücre dışına difüzyona uğrayarak, burada inozin ve hipoksantine yıkılır. Normalde dokuların iskemik olmadığı durumda hipoksantin, ürik aside ksantin dehidrogenaz tarafından metabolize edilir. Bu reaksiyonda NAD elektron alıcısı olarak görev alır (48).

İskemi esnasında ATP düzeyindeki azalma ile birlikte iyon konsantrasyonlarındaki değişikliklerden en önemlisi, hücre içi Ca⁺² iyonunun derişiminin artmasıdır. Hücre içi Ca⁺²'un yükselmesiyle, Ca⁺² ile aktive olan proteazlar, aktive olarak ksantin dehidrogenazı (D tip), ksantin oksidaz formuna (O tip) dönüştürürler. Oluşan ksantin oksidaz ortamda biriken hipoksantini ürik aside dönüştürürken NAD yerine reperfüzyonla dokulara ulaşan O₂'yi kullanırlar. Sonuçta ürik asitle birlikte O₂⁻ radikalini oluştururlar (49).



6.2. Fosfolipaz Sistemi

İskemi/reperfüzyon hasarında, iskemik dokunun reperfüze olmasından kısa bir süre sonra intrasellüler serbest Ca^{+2} miktarının hızlıca artması ile plazma membranlarında bulunan fosfolipaz A_2 aktive olur. Fosfolipaz A_2 , membran fosfolipidlerinden yağ asitlerini parçalayan hidrolitik bir enzimdir. Bu nedenle araşidonik asit ürünlerinin iskemik dokuda açığa çıkmasına ve nötrofillerden bağımsız olarak endotel hasarlanmasına sebep olur (44,50). Ayrıca reperfüzyon hasarında araşidonik asit ürünleri (lökotrien B_4 ve tromboksan A_2) nötrofilleri etkileyerek oluşan hasarı artırır. Bu üç mekanizma ile olur.

1- Güçlü birer kemoatraktan rolü oynayarak nötrofil akümülyasyonunu sağlarlar ve endotele nötrofillerin adhezyonunu artırır. Lökotrien B_4 (LTB_4) ve tromboksan A_2 (TxA_2)'nin oldukça potent kemoatraktanlar olduğu bilinmektedir (32). Yapılan çalışmalarda LTB_4 ve TxA_2 inhibisyonunun deneysel miyokard enfarktüsü ve ekstremiteye turnike uygulanması sonrasında, nötrofil diapedezini önemli oranda engellediği gösterilmiştir.

2- Araşidonik asit ürünleri, nötrofilleri aktive ederek daha fazla oranda oksijen radikali ve proteolitik enzim üretmelerine neden olurlar. LTB_4 'ün, nötrofillerden H_2O_2 ve elastaz salgılamasında ve nötrofillerin in vitro ve in vivo olarak endotelial geçirgenliğini artırmasında potent bir stimülatör olduğu gösterilmiştir (34,51). TxA_2 ise, iskemi/reperfüzyon sonrasında nötrofilleri aktive ederek H_2O_2 üretmelerini stimüle eder.

3- Lökotrienler ve tromboksanlar, mikrovasküler yatağa doğrudan vazokonstrüktör etki ile reperfüzyon sonrasında bozuk kapiller akıma yol açarlar (44,52).

6.3. Aktive Nötrofiller

Nötrofiller, iskemi sonrası doku hasarını gerek serbest oksijen radikalleriyle gerekse de sitotoksik enzimleri salgılayarak oluştururlar (53). Dolaşımdaki nötrofil aktivasyonunun ya da sayısının azaltılması ile iskemi/reperfüzyon hasarı ile oluşan doku hasarının azaltıldığı görülmüştür. Aynı şekilde lökositlerin endotele adezyonunun önlenmesi de hasarı

azaltabilir (54). Kalp, barsak, iskelet kası, beyin, akciğer ve böbrek gibi pek çok dokuda iskemi/reperfüzyon hasarının oluşumundan aktive lökositler sorumludur.

Lökositlerin oksijen radikallerini üretmek için kullandıkları reaksiyona solunum patlaması (respiratory burst) denir ve burada NADPH oksidaz rol alır. Enzimin aktive olması ile sitoplazmik NADPH'den alınan iki elektron iki molekül oksijene verilerek iki molekül süperoksit açığa çıkarılır.

Nötrofillerde aynı zamanda fagosite edilen mikroorganizmaların yok edilmesinde kullanılan lizozomal myeloperoksidaz sistemi de bulunmaktadır. H_2O_2 , myeloperoksidaz enziminin katalizlemesi ile Br, I ve Cl ile tepkimeye girerek HOCl, HOI, HOBr gibi güçlü asitleri oluşturur (55,56).

7. Lipid Peroksidasyonu

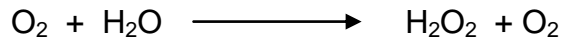
Serbest radikaller; hücrenin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzimleri gibi tüm önemli bileşiklerine etki edebilirler fakat, lipidler en hassas olanlarıdır (39). Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünlerini oluştururlar. Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı, lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve dokuya çok zararlıdır. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Plazma membranı ve organellerin lipid peroksidasyonu, serbest radikal kaynaklarının tümü ile stimüle edilebilir. Üç yada daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malonildialdehid (MDA) meydana gelir, oluşan MDA, membran bileşenlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur, bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. MDA ölçümü lipid peroksit seviyelerinin tespitinde sıklıkla kullanılır. MDA, lipid peroksidasyonunun spesifik bir indikatörü değildir ancak, lipid peroksidasyonunun derecesi ile iyi bir korelasyon gösterir (39,57).

8. Antioksidan Savunma

Hücreler oksijenin serbest radikallerini kontrol altına almak ve zararlarını önlemek için enzimatik ve enzimatik olmayan savunma yollarına sahiptir (54,56).

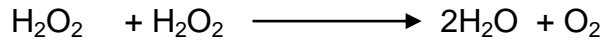
8.1.Enzimatik olanlar:

a) Süperoksit dismutaz:

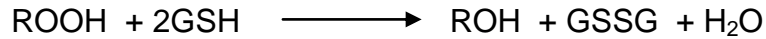


b) Katalaz:

Katalaz %80 peroksisomlarda %20 ise sitoplazmada yer alan bir hem-enzimdir. Katalaz enzimi toksik etkileri nedeniyle radikal olmadığı halde reaktif bir molekül olan hidrojen peroksidin (H_2O_2) doğrudan suya indirgenmesini katalize eder.



c) Glutasyon peroksidaz:



Bu enzimler içinde en önemli olanı redükte glutasyon (GSH) fazlalığında hidrojen peroksidi ortamdan uzaklaştıran glutasyon peroksidazdır.

8.2.Enzimatik olmayanlar:

Bunlar direkt serbest radikal gidericilerdir.

a) Vitamin E: lipid peroksidasyon zincirini kırar.

b) Vitamin C: O_2^- ve OH^- radikalini direkt tutar ve vitamin E'yi rejenere eder.

c) Vitamin A: Peroksitlere etki eder.

d) Seruloplazmin: Demiri okside eder.

e)Albumin: Cu^{+2} bağlar.

f)Glutasyon: Glutasyon hücreleri oksidan hasara karşı koruyan hücre içindeki en önemli antioksidan bileşiktir. Karaciğer başta olmak üzere pek çok dokuda glutamat, sistein ve glisinden sentezlenir. Proteinlerdeki sülfidril gruplarını redükte halde tutar ve oksidasyona karşı korur. Böylece fonksiyonel proteinlerin inaktivasyonunu engeller (58). Testis iskemi/reperfüzyon çalışmalarında da doku antioksidan aktivitelerinin göstergelerinden birisi olarak glutasyon düzeyleri belirlenmiştir (59).

9.Nitrik Oksit

Nitrik oksit (NO) çok sayıda hayati fonksiyonların kontrolünde görev alan bir molekül olup, hücresel fonksiyonların denetiminde otokrin ve parakrin etkilere sahiptir. NO, renksiz bir gaz olup, serbest radikal özelliğine sahip basit bir moleküldür. Diğer radikal türlerinin aksine nitrojen ve oksijen atomları üzerinde delokalize bir şekilde bulunur. NO radikalinin bu özelliği sayesinde kendi reaktivitesini baskılar, stabilitesini artırır ve biyolojik koşullarda sentezlendiği yerden daha uzak mesafelere difüzyonunu kolaylaştırır. NO sentezi için kullanılan öncül biyomolekül arjinin amino asididir. Nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi 2 basamakta arjininden nitrik oksit sentezlerken bir molekül de sitrulin oluşur (46).

Nitrik oksit sentezini katalizleyen NOS enzimlerinin konstitütif (c NOS) ve indüklenebilir (iNOS) olmak üzere iki temel izoformu bulunur. Konstitütif enzimin ayrıca iki formu vardır. Bunlardan biri endotelial NOS (eNOS,NOSIII) olup, ağırlıklı olarak zarsal bir enzimdir ve endotel kaynaklı gevşeme faktörünün sentezinden sorumludur. Konstitütif enzimin ikinci formu ise merkezi sinir sistemi ve nöronlarda haberci molekül olarak kullanılan nitrik oksitin üretiminden sorumlu olup, nöronal NOS (nNOS,NOS I) olarak adlandırılır.

Konstitütif enzimlerin (eNOS ve nNOS) aktiviteleri mutlak olarak Ca^{2+} /Kalmodülün bağımlıdır (46,60,61). NOS enzimlerinin indüklenebilir olan

izoformu (iNOS, NOS II) ise alt birim olarak kalmoduline ihtiyaç duyar (46,60). Aktivitesi için hücrede kalsiyum derişiminin artması gerekli değildir.

9.1. Nitrik Oksitin Biyolojik Sistemlerdeki Etkileri

NO, çok yönlü bir biyolojik haberci molekül olup, farklı konsantrasyonlarda farklı biyolojik etkilere sahip olabilen bir moleküldür. NO'in sinir sisteminde nöronal fonksiyonların modülasyonundan, damar düz kaslarının gevşemesine, lökositlerin endotel hücrelerine yapışması ve enflamatuvar dokuya göç etmesinden, trombosit agregasyonunun inhibisyonuna, damar geçirgenliğinin kontrolünden, penil ereksiyona, immün sistemin fonksiyonlarından, böbrekler ve barsaklarda tuz ve su emilimine kadar birçok fonksiyonu mevcuttur (46,60).

NO'in hücreleri sitotoksik etkilere karşı koruyucu özelliği de tanımlanmıştır. Başta oksijen radikalleri olmak üzere diğer atom merkezli radikallerle tepkimeye girerek, kendisinin ve tepkimeye girdiği radikalın reaktivitesini sonlandırır (46).

Sitoprotektif etkisi apoptozda ve diğer sitokinlerle oluşan doku hasarında, hipervalant metaloprotein bileşikleri ile reaksiyona girmesi ve hücre içine demir (Fe) salınımını kontrol etmesiyle de açıklanmaktadır (60). Yine NO'in lipid peroksitleriyle reaksiyona girerek sitoprotektif etki gösterdiği ortaya konmuştur. Nitrik oksit aynı zamanda lökositlerin hücre yüzeyine tutunmaları ve yapışmalarını inhibe ederek de sitoprotektif etki gösterir .

NO'in regülatör ve koruyucu etkilerinin yanı sıra sitotoksik etkileri de mevcuttur. NO, çeşitli enflamatuvar olaylar ve hastalıklarda sentezi artan ve sonuçta doku hasarına katkıda bulunan etkenlerden biridir. Artrit, ateroskleroz, doku enfarksiyonları, dejeneratif nöronal hastalıklar ve diyabette NO sentezi artar ve üretilen NO doku hasarına doğrudan katkıda bulunur (46).

NO'in sitotoksik etkisi, demir içeren mitokondriyal ve sitozolik enzimlere bağlanarak, sitokromal enzimler ile DNA'da yapısal değişikliğe yol açarak, peroksinitritden OH radikalının oluşumuna neden olarak ortaya çıkmaktadır. NO derişimi arttığında O_2^- ile reaksiyona girerek peroksinitrit ($ONOO^-$) bileşini oluşturur (60).

NO'in sitotoksik etkilerinin glikoliz, sitrik asit döngüsü ve özellikle de mitokondride solunumun inhibisyonundan kaynaklandığı kabul edilmektedir. NO, oksijenle yarışmalı olarak sitokrom oksidaza bağlanıp inhibe eder. Elektron transport sisteminin demir-sülfür (Fe-S) içeren merkezleri (kompleks I ve kompleks III) ve akonitaz enziminin Fe-S merkezleri NO-bağımlı S-nitrozilasyonuna uğrar, demir salınımı gerçekleşir. Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenazın ADP-ribozilasyonu da glikolitik yolun inhibisyonuna neden olur. Görüldüğü gibi NO sentezinin artışı, enerji metabolizmasının her üç yolu üzerinde de inhibitör etkilere sahiptir. Peroksinitrit ve N_2O_3 enerji metabolizmasında görev alan proteinlerde yapısal değişimlere neden oldukları gibi, akonitaz enziminin proteolitik yıkımını da hızlandırırlar. Peroksinitrit protonlanarak nitrat anyonu ve hidrojen katyonu oluşturmak üzere yıkıma uğrar. Nitrat anyonu ise hidroksi radikali vermek üzere yeniden yıkılır. Peroksinitritin ve bunun yıkım ürünlerinin demir (Fe) gerektirmeden de lipid peroksidasyonunu başlatabildiğini öne süren çalışmalar da mevcuttur (60).

Fizyolojik derişiminin üzerinde NO sentezi her üç NOS izoformunda da görülür. Serebral iskemide kontrolsüz artan Ca^{+2} , nNOS'ı aktive ederek beyinde toksik etkilere neden olabilir. Çeşitli anaflaktik reaksiyonlarda aktive olan eNOS vazoaaktif NO sentezini arttırabilir. Çok daha yaygın olarak artan NO sentezinin nedeni iNOS izoformudur. Çünkü bu izoform sentezlendikten sonra aktivitesi kontrol edilemez ve lokal olarak NO derişimini çok arttırabilir (10-100 μM 'a kadar). iNOS'dan kaynaklanan NO, damar geçirgenliğini arttırır ve septik şokta olduğu gibi şiddetli hipotansiyona neden olur. Diyabet, romatoid artrit, enflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda doku yıkımına yol açar (46).

NO, platelet aktivasyonu ve agregasyonunun çeşitli basamaklarında etkili olarak birbirinden farklı mekanizmalarla agregasyonu inhibe eder. Bu etkilerini esas olarak hücre içinde siklik GMP (cGMP) derişimini ve cGMP-bağımlı protein kinazların aktivitelerini kontrol ederek gösterir. Guanilat siklaz inhibitörleri ve cGMP-bağımlı protein kinaz inhibitörleri NO'in antiplatelet

etkilerini azaltırken; cGMP fosfodiesteraz inhibitörleri, arjinin ya da NO vericilerinin NO bağımlı antiplatelet etkilerini güçlendirirler (46).

10. Siklik Guanozin Monofosfat

Çeşitli hormonlar, otokoidler, ilaçlar ve toksinler fizyolojik etkilerinde mesajcı molekül olarak siklik guanozin monofosfat (cGMP) kullanırlar. GTP'den cGMP sentezini katalizleyen guanilat siklaz, enzimi sitoplazmik (çözünür) yada zarsal (partikül fraksiyonda) enzim şeklindedir. Nitrik oksit sitoplazmik guanilat siklaz (sGC) enzimini aktive ederken, peptid hormonları ise zarsal (particulate) guanilat siklaz (pGC) enzimini uyarırlar. sGC enzimi yapısında heme ve bakır içerir. Nitrik oksit heme kısmı ile etkileşerek enzim aktivitesini artırır (62). Artan cGMP'de protein kinaz G enzimini aktive ederek intrasitoplazmik Ca^{+2} düzeyini azaltır (62-65). pGC enzimi ise tek bir polipeptid zincirinden oluşur ve natriüretik peptidlerin membran reseptörleri ile etkileşimi sonucu aktive olur. Üç majör natriüretik peptid vardır: atrial netriüretik peptid (ANP), beyin natriüretik peptid (BNP) ve C-tipi natriüretik (CNP) peptid (62). cGMP'nin etkisine aracılık eden başlıca sistemler: a) cGMP ile kontrol edilen iyon kanalları, b) cGMP ile kontrol edilen fosfodiesterazlar ve c) cGMP bağımlı protein kinazlardır.

Retinal rodların ışığa cevabı, kokuların algılanması, steroidogenez, platelet agregasyonu, böbrek ve barsaklarda iyon transportu, kardiyak ve düz kasların kasılması cGMP ile kontrol edilen önemli fizyolojik olaylardandır (44).

11. Tadalafil

Fosfodiesteraz (FDE); 50 yıl önce, ikincil haberci siklik adenozin 3',5'-monofosfat (cAMP)'ın aktivitesini bloke etmek için hayvan modellerinde keşfedilen bir enzimdir. FDE üst familyası, 21 tek gen üzerindeki FDE1'den FDE11'e kadar olan 11 familyayı içerir. Bunlar; öncelikle vasküler, visseral ve pulmoner düz kas olmak üzere çeşitli dokulara dağılmışlardır ve birçok organ sisteminin fizyolojik fonksiyonlarını düzenlerler. cGMP yıkımını önlemeleri

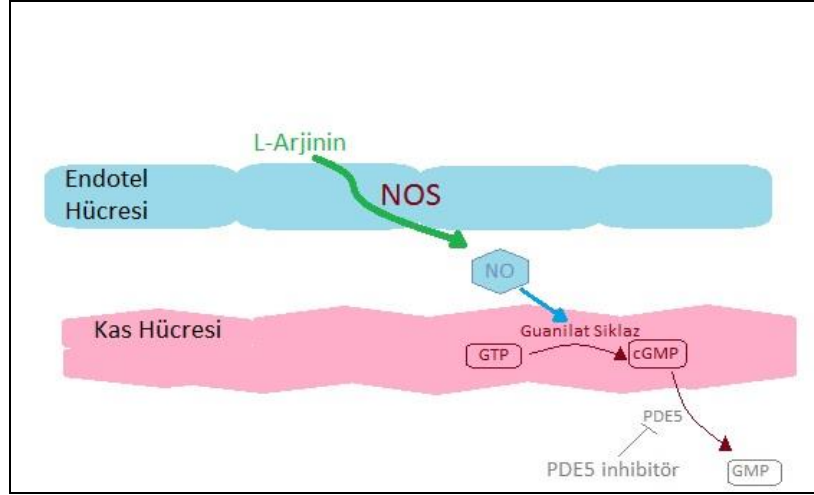
sayesinde, FDE5 inhibitörleri, cGMP'nin biyoyararlanımında artış yaratırlar. Her ikisi de, düz kasın stimülasyon ile NO aracılı relaksasyonunu kolaylaştırır ve potansiyelize eder. Kafein ve teofilin, FDE enzimini inhibe ettiği onlarca yıl önce bulunmuş ilk ilaçlardır. Geçen 30 yıl süresince, çeşitli FDE ailelerinin inhibitörleri bir grup hastalığın tedavisi için geliştirilmiştir. Bunlardan, FDE3 inhibitörü olan milrinon ve amrinon 1980'lerde kalp yetmezliği için, FDE4 inhibitörü olan cilostazol klodikasyon için geliştirilmiştir; anti-platelet etkisi olan dipyridamole'de FDE8, FDE9 ve FDE5'i inhibe eder (66).

Başlangıçta anjina pectoris tedavisi için araştırılan ilk oral FDE5 inhibitörü sildenafilin, çalışmada yer alanlarda ereksiyona yol açtığı rastlantı eseri bulunmuştur. Sonrasında sildenafil 1998'de erektil disfonksiyonun ilk oral tedavisi olarak piyasaya çıkarılmış ve 2003'te yine FDE5 inhibitörü olan iki ilaç, vardenafil ve tadalafil, takip etmiştir (67).

Tadalafilin moleküler yapısı, yapıları birbirine benzer olan sildenafil ve vardenafilden farklıdır. Her üçü de heterosiklik nitrojen-içeren çift halkalı sisteme ve santral halkaya sahiptir. Bu santral halka cGMP analogudur ve ilaçların FDE5'in katalitik bölgesine yarışmalı bağlanmasını sağlar. Tadalafil bir ®-carboline-type FDE5 inhibitörü olarak farklılık gösterir, sildenafilin yapısındaki hidantoin halkasının modifiye bir formu olan piperazinedione halkasına sahiptir (66).

Vasküler sistemdeki bir grup fizyolojik süreç NO/cGMP sinyal yolları ile kontrol edilir. Endotelde lokal olarak üretilen NO, cGMP sentezi ile sonuçlanacak olan çözünebilir guanilil siklaz (sGC) stimülasyonu ile vasküler tonusu düzenler. Sonuç olarak meydana gelen intraselüler cGMP konsantrasyonlarındaki artış; kalsiyum iyon kanal modülasyonu yapma ve vasküler düz kas kontraktıl proteinlerinin kalsiyum duyarlılıklarını azaltma yoluyla vazodilatasyon sağlayacak olan cGMP bağımlı protein kinazları aktive eder. İntraselüler cGMP, siklik nükleotid fosfodiesterazlarının (FDE'ler) aktivitesi ile hızla GMP'ye inaktive edilir. Bu nedenle, düz kas hücreindeki cGMP konsantrasyonu temel olarak; bu ikincil haberci için eşsiz bir yıkım yolağı olan; sGC tarafından yapılan üretim ile FDE'ler tarafından yapılan yıkım arasındaki dengeye bağlıdır. Fosfodiesteraz tip 5 (FDE5) selektif

olarak; cAMP'yi değil; cGMP'yi yıkar ve FDE5 aktivitesi vasküler tonus regülasyonu ile güçlü biçimde ortaya çıkar. Bundan dolayı FDE5 aktivitesinin farmakolojik modülasyonu, bu kontrolü elde edebilmek için etkin bir araç olur (67).



Şekil-2: L-arjininden cGMP'ye kadar uzanan yollar. **NOS:** nitrik oksit sentaz, **NO:** nitrik oksit, **GTP:** guanozin trifosfat, **cGMP:** siklik guanozin monofosfat, **PDE:** fosfodiesteraz, **GMP:** guanozin monofosfat

GEREÇ YÖNTEM

Bu deneysel çalışma, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi tıbbi etik kurulunca 07.05.2013 tarihli 2013–09/01 karar numarası ile onaylanmış olup, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma ve Hayvan Laboratuvarında yapılmıştır. Toplam 40 adet erişkin erkek Sprague Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanların ortalama ağırlıkları 250–300 g idi. Çalışmaya üç aylık sıçanlar dahil edildi, tüm hayvanlar çalışma öncesi sistemik enfeksiyon ve enfestasyon açısından mikrobiyolojik ve biyokimyasal olarak ayrıntılı değerlendirildi. Sıçanlar, ortam sıcaklığı 20-25°C olan hayvan laboratuvarındaki her birinde 8 sıçan olan kafeslere yerleştirildi. Hayvanlar standart diyet ile beslendiler. Giderler için Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında destek sağlandı (Proje No:HDP(T)-2014/1). Deney sonunda çıkartılan dokuların histopatolojisi Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, lipid peroksidasyon ve glutasyon değerleri ise Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı tarafından çalışıldı.

Hazırlık, Anestezi ve Cerrahi İşlemler

Sıçanlara yapılan işlemler sırasında, anestezi sağlamak için 4 lt/dk O2 akımı içerisinde sevofluran (Sevorane, Abbott ABD) % 1-2 volüm konsantrasyonlarında Drager Titus (ABD) marka anestezi cihazı kullanılarak verildi. Sıçanlar, operasyon öncesi 6 saat aç bırakıldı. %5'lik kokospropilen-diamin-guanidin diasetat, fenoksipropanol, benzalkonyum klorür içeren solüsyon kullanılarak, operasyon için gerekli cerrahi aletler en az 30 dakika süre ile dezenfekte edildi. Dezenfeksiyon solüsyonundan çıkarılan cerrahi aletler, distile steril su ile yıkandı. Bu işlemler yapılırken cerraha steril olmayan ikinci bir kişi yardım etti. Yukarıda tarif edildiği şekilde uygulanan anestezi sonrası, sıçanların skrotum tüyleri traş edildi.

%10'luk polivinil piroolidon iyot ile bölge temizliği yapıldıktan sonra, steril şartlar altında gerekli örtüm ve arıtım işlemleri yapıldı (Şekil-3).



Şekil-3: Torsiyon öncesi steril örtülmüş sıçan

Deneklere skrotum orta hat üzerinde, iki cm uzunluğunda vertikal cilt ve ciltaltı kesisi uygulandı. Skrotal boşlukta sol testis tunika vaginalis ve spermatik kord ile birlikte gubernakulumdan künt ve keskin disseksiyonla ayrılarak dışarıya alındı (Şekil-4).



Şekil-4: Skrotal insizyondan sol testisin dışarı alınması

Her işlem sonrasında testis dokusu skrotuma yerleştirildikten sonra 3/0 ipek ile kapatıldı (Şekil-5).



Şekil-5:İnsizyonun kapatılması

Gruplar

İlk grup kontrol (K) grubuydu. Grupta sekiz denek yer alıyordu. Deneklere torsiyon uygulanmadan bilateral orşiektomi uygulandı.

İkinci grup sekiz denekten oluşan iskemi-reperfüzyon (I/R) grubuydu. Bu gruptaki deneklerin sol testisleri kord elemanlarıyla birlikte saat yönünde olacak şekilde 720° döndürülerek deneysel intravajinal testis torsiyonu modeli oluşturuldu. Torsiyone testis 4/0 ipek dikiş ile skrotum iç yüzüne tespit edildi (Şekil-6).



Şekil-6: Sol testisin torsiyone edilip, sabitlenmesi

Üç saatlik torsiyon süresi sonunda detorsiyon gerçekleştirildi. Testis yeniden skrotum içine yerleştirildi ve dört saatlik reperfüzyon sonucunda deneklere bilateral orşiektomi yapıldı.

Üçüncü grup sekiz denekten oluşan arjinin (ARG) grubuydu. Bu gruptaki deneklerin sol testisleri kord elemanlarıyla birlikte saat yönünde olacak şekilde 720° döndürülerek deneysel intravaginal testis torsiyonu modeli oluşturuldu. Torsiyone testis 4/0 ipek dikiş ile skrotum iç yüzüne tespit edildi. Üç saatlik torsiyon süresi sonunda detorsiyon gerçekleştirildi. Detorsiyon öncesi ilaç uygulaması yapıldı. İntraperitoneal 100 mg/kg dozunda L-arjinin (Sigma Chem. Co, St. Louis, ABD) %0.9 izotonik içerisinde çözündürülerek üç saatlik torsiyon süresi sona ermeden 30 dakika önce uygulandı. Testis yeniden skrotum içine yerleştirildi ve dört saatlik reperfüzyon sonucunda deneklere bilateral orşiektomi yapıldı.

Dördüncü grup sekiz denekten oluşan tadalafil (TDF) grubuydu. Bu gruptaki deneklerin sol testisleri kord elemanlarıyla birlikte saat yönünde olacak şekilde 720° döndürülerek deneysel intravaginal testis torsiyonu modeli oluşturuldu. Torsiyone testis 4/0 ipek dikiş ile skrotum iç yüzüne tespit edildi. Üç saatlik torsiyon süresi sonunda detorsiyon gerçekleştirildi. Detorsiyon öncesi ilaç uygulaması yapıldı. İntraperitoneal 5 mg/kg dozunda Tadalafil (Cialis, Lilly, ABD) %0.9 izotonik içerisinde çözündürülerek üç saatlik torsiyon süresi sona ermeden 30 dakika önce uygulandı. Testis

yeniden skrotum içine yerleştirildi ve dört saatlik reperfüzyon sonucunda deneklere bilateral orşiektomi yapıldı.

Beşinci grup sekiz denekten oluşan kombine (KOM) grubuydu. Bu gruptaki deneklerin sol testisleri kord elemanlarıyla birlikte saat yönünde olacak şekilde 720° döndürülerek deneysel intravaginal testis torsiyonu modeli oluşturuldu. Torsiyone testis 4/0 ipek dikiş ile skrotum iç yüzüne tespit edildi. Üç saatlik torsiyon süresi sonunda detorsiyon gerçekleştirildi. Detorsiyon öncesi ilaç uygulaması yapıldı. İntraperitoneal 5 mg/kg dozunda tadalafil (Cialis, Lilly, ABD) ve 100mg/kg L-arjinin (Sigma Chem. Co, St. Louis, ABD) %0.9 izotonik içerisinde çözündürülerek kombine bir şekilde üç saatlik torsiyon süresi sona ermeden 30 dakika önce uygulandı. Testis yeniden skrotum içine yerleştirildi ve dört saatlik reperfüzyon sonucunda deneklere bilateral orşiektomi yapıldı.

Biyokimyasal Değerlendirme

1.Dokuda Lipid Peroksidasyon Tayini

Dokulardaki lipit peroksidlerinin tiyobarbitürik asit (TBA) ile asit ph'da 100°C de oluşturduğu kromojenin, n-butanol ile ekstraksiyonunun 532 nm'de ölçümü yapıldı (68). Her bir örnekten 250 mg alınıp 2,5 ml ye kadar %1,15 KCl eklenerek homojenize edildi. Homojenattan 0,2 ml alınıp, 0,2 ml %8,1 sodyum dodesil sülfat (SDS), 1,5 mL %20 asetik asit (ph3,5) , %0,8'lik TBA ve 0,6 ml distile su eklenerek 60 dk 95°C su banyosunda bekletildi. Her bir tüpe 1 ml distile su ve 5 ml n-butanol:piridin (15:1) eklenerek vortekslendi. 20 dk 3000rpm'de santrifüj edildi. Üst fazın absorbansı 532 nm'de köre karşı okundu. Deneysel çalışmada Perkin Elmer Precisely, Lambda 25, UV/VIS Spectrometer cihazı kullanıldı.

2.Dokuda Glutasyon Tayini

Sedlak ve Lindsay metodu kullanılarak, örnek GSH miktarının 412 nm'de ölçümü yapıldı (69). Her bir örnekten 500 mg alınarak 3 ml'ye kadar %1,15 KCl eklenerek homojenize edildi. Homojenattan 1 ml alınıp, 2 ml EDTA'lı TCA (5 mMol EDTA içeren %10 TCA) eklenmiştir. 10 dk 10.000g 'de

santrifüj edilerek çöktürme işlemi yapıldı. Üst fazdan 0,4 ml alınarak 2,5 ml potasyum fosfat tamponu (ph 8,4) ve 0,1 ml DTNB (5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoik asit) eklendi. 20 dk oda sıcaklığında bekletilip 412 nm'de köre karşı okundu. Deneysel çalışmada Perkin Elmer Precisely, Lambda 25, UV/VIS Spectrometer cihazı kullanıldı.

Histopatolojik Değerlendirme

Her bir örnek makroskopik olarak tariflenip, %10'luk tamponlanmış nötral formalin solüsyonuna alındı ve 24 saat fikse edildi. Tüm parçalar histopatolojik inceleme için rutin otomatik doku takibi işleminden geçirilerek parafine gömüldü. Parafin bloklardan hazırlanan 3 µm kalınlığındaki kesitler hematoksilin-eosin (H&E) ile boyandı. Histopatolojik değerlendirme ışık mikroskobu altında, H&E boyalı kesitler taranarak gerçekleştirildi. Ön incelemede tüm doku kesitleri küçük büyütmede (x40) gözden geçirilerek, testis dokusunun genel morfolojisi (spesmendeki seminifer tübül bazal membran yapısı, interstisyel doku özelliği, Leydig hücreleri, tübüler hyalinizasyon vb.) değerlendirildi. Dokuda bulunan konjesyon, interstisyel ödem ve nekrozun değerlendirilmesi; eğer dokuda yoksa 0 puan, dokuda varsa 1 puan verilerek değerlendirildi. Seminifer tübüllerdeki histolojik bulgular Johnsen skorlama sistemine uygun olarak 0-10 arasında değişen bir skalada skorlandı (70). Kırk büyütmede 10 ardışık alanda bulunan tübüller skorlanarak ortalamaları alındı. Johnsen skorlaması, öncelikle matür hücre tiplerinin kaybı ile germinal epitelin ilerleyici dejenerasyonu ve spermatozoa, spermatid, spermatosit ve son olarak da Sertoli hücrelerinin gözlenememesi ile karakterize, testiküler hasarı temel alan bir skorlamadır (70). Hasar artıkça, skorlamada puan azalır (Tablo 1).

Tablo-1: Testiküler biyopsiler için skortlama sistemi (Johnsen skoru)

Skor	Histolojik Kriterler
10	Tam spermatogenez
9	Hafif zayıflamış spermatogenez, çok sayıda geç spermatid, disorganize epitelyum
8	Her túbülde beşten az spermatozoa, az sayıda geç spermatid
7	Spermatozoa yok, geç spermatid yok, çok sayıda erken spermatid
6	Spermatozoa yok, geç spermatid yok, az sayıda erken spermatid
5	Spermatozoa ya da spermatid yok, çok sayıda spermatosit
4	Spermatozoa ya da spermatid yok, az sayıda spermatosit
3	Sadece spermatogonia
2	Germinal hücre yok, sadece Sertoli hücreleri
1	Seminifer epitel yok

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler, SPSS v.22 (Chicago, Illinois, USA) istatistik programı kullanılarak yapıldı. Normal dağılıma uymayan grupların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testis uygulandı. Gruplar arası farklılık Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. Sağ ve sol testisteki histopatolojik parametreler ki-kare testi ile değerlendirildi. p değerinin <0.05 olması istatistiksel anlamlılık olarak kabul edildi.

BULGULAR

Lipid Peroksidasyonu (LPx)

Deney sonrası elde edilen LPx sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildi. İpsilateral ve kontralateral testisler kendi aralarında karşılaştırıldı. Gruplara göre tanımlayıcı LPx değerlerinin ortalaması±standart sapması ve median değeri (minimum-maximum) Tablo 2 ve 3'te sunuldu.

Tablo-2: İpsilateral testiste Lipid Peroksidasyon değerleri

Gruplar	Lipid Peroksidasyon (nmol/mg)	
	Ortalama±sd	Median (min-max)
1.Grup (Kontrol)	0,058±0,140 ^b	0,06 (0,04-0,08)
2.Grup (I/R)	0,49±0,288 ^a	0,52 (0,12-0,82)
3.Grup (I/R+Arjinin)	0,10±0,070	0,07 (0,03-0,22)
4.Grup (I/R+Tadalafil)	0,112±0,053	0,115 (0,03-0,18)
5.Grup (I/R+Arjinin+Tadalafil)	0,096±0,031 ^c	0,10 (0,04-0,14)

Mann-Withney U testine göre p<0,05 alındı. **I/R:** iskemi/reperfüzyon

a: Grup 1, 3, 4 ve 5'e göre p<0,05 b: Grup 4 ve 5'e göre p<0,05

c: Grup 3 ve 4'e göre p>0,05

Tablo-3: Kontralateral testiste Lipid Peroksidasyon değerleri

Gruplar	Lipid Peroksidasyon (nmol/mg)	
	Ortalama±sd	Median (min-max)
1.Grup (Kontrol)	0,063±0,020 ^b	0,065 (0,03-0,09)
2.Grup (I/R)	0,473±0,263 ^a	0,490 (0,2-0,96)
3.Grup (I/R+Arjinin)	0,105±0,059	0,115 (0,01-0,17)
4.Grup (I/R+Tadalafil)	0,113±0,051	0,135 (0,04-0,19)
5.Grup (I/R+Arjinin+Tadalafil)	0,08±0,0180 ^c	0,075 (0,06-0,11)

Mann-Whitney U testine göre p<0,05 alındı. **I/R:** iskemi/reperfüzyon

a: Grup 1, 3, 4 ve 5'e göre p<0,05 b: Grup 4'e göre p<0,05

c: Grup 4'e göre p<0,05

Çalışmamızda ipsilateral testiste LPx düzeyleri diğer gruplar ile karşılaştırıldığında 2. grupta anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı ($p<0,05$). İkili karşılaştırmalarda ilaç verilen gruplar arasında istatistiksel bir fark görülmedi ($p>0,05$). 1. grup ile 4. ve 5. grup arasında anlamlı fark saptanırken ($p<0,05$), 1. gruba ait değerlerin 3. gruptan istatistiksel anlamda farklı olmadığı ($p>0,05$) görüldü. Kontralateral testise ait LPx değerlerinin tüm gruplarda 2. grup ile kıyaslandığında anlamlı şekilde düşük olduğu görüldü ($p<0,05$). Kontralateral tarafta 4. grubun değerleri ile, 1. ve 5. grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görüldü ($p<0,05$). Diğer ikili karşılaştırmalarda anlamlı fark izlenmedi ($p>0,05$)

Glutasyon

Deney sonrası elde edilen glutasyon sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildi. İpsilateral ve kontralateral testisler kendi aralarında karşılaştırıldı. Gruplara göre tanımlayıcı glutasyon değerlerinin ortalaması±standart sapması ve median değeri (minimum-maximum) Tablo 4 ve 5'de sunuldu.

Tablo-4: İpsilateral testiste glutasyon değerleri

Gruplar	Glutasyon (nmol/g)	
	Ortalama±sd	Median (Min-Max)
1.Grup (Kontrol)	9869±2461 ^b	10105 (6029-14342)
2.Grup (I/R)	6651±1413 ^a	6768 (4668-8353)
3.Grup (I/R+Arjinin)	7696±1557	7432 (5577-9973)
4.Grup (I/R+Tadalafil)	8048±1429	8144 (5599-9752)
5.Grup (I/R+Arjinin+Tadalafil)	8621±1154 ^c	8264 (7690-11253)

Mann-Whitney U testine göre $p<0,05$ alındı. **I/R:** iskemi/reperfüzyon

a: Grup 5'e göre $p<0,05$ b: Grup 2'e göre $p<0,05$

c: Grup 3 ve 4'e göre $p>0,05$

Tablo-5: Kontralateral testiste glutasyon değerleri

Gruplar	Glutasyon (nmol/g)	
	Ortalama±sd	Median (min-max)
1.Grup (Kontrol)	8309±1016 ^b	8636 (6756-9405)
2.Grup (I/R)	7481±1540 ^a	7690 (5184-9459)
3.Grup (I/R+Arjinin)	8276±1668	7948 (5913-10540)
4.Grup (I/R+Tadalafil)	9421±1546	9396 (7223-11523)
5.Grup (I/R+Arjinin+Tadalafil)	11625±1200 ^c	11870 (9796-12842)

Mann-Whitney U testine göre $p < 0,05$ alındı. **I/R:** iskemi/reperfüzyon

a: Grup 4 ve 5'e göre $p < 0,05$ b: Grup 5'e göre $p < 0,05$

c: Grup 3 ve 4'e göre $p < 0,05$

Çalışmamızda ipsilateral testiste glutasyon düzeyleri, 2. grupta diğer gruplardan daha düşük saptandı. İekli karşılaştırmalarda sadece 2. grubun değerleri ile 1. ve 5. grupların değerleri arasında istatistiksel bir fark görüldü ($p < 0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel anlamda fark ($p > 0,05$) görülmedi. Kontralateral testise ait glutasyon değerlerinin tüm gruplarda, 5. grup ile kıyaslandığıında anlamlı şekilde düşük olduğu görüldü ($p < 0,05$). Kontralateral tarafta 1, 2 ve 3. grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmazken ($p > 0,05$), sadece 2. ve 4. grup arasında anlamlı fark saptandı ($p < 0,05$).

Histopatoloji

Testis dokusunda gruplara ait Johnsen skorlarının ortalaması±standart sapması ve median (minimum-maximum) değerleri tablo 6 ve 7'de verilmiştir. Buna göre gruplar arası karşılaştırma yapıldığıında ipsilateral testiste 2. grubun değerleri, diğer grupların değerlerinden anlamlı olarak düşük olduğu belirlendi ($p < 0,05$) ve 1. grubun değerleri, diğer gruplardan anlamlı olarak daha yüksek değerlere sahip olduğu belirlendi ($p < 0,05$). Diğer ikili karşılaştırmalarda 3. ve 4. grup arasında anlamlı bir fark saptanmazken ($p > 0,05$), 5. gruba ait değerlerin 3. ve 4. gruptan istatistiksel

anlamda farklı olduğu ($p<0.05$) görüldü. Kontralateral testiste yine aynı şekilde 2. grubun değerleri diğer grupların değerlerinden anlamlı olarak daha düşük olduğu belirlendi ($p<0.05$) ve 1. grubun değerleri, diğer grupların değerlerinden anlamlı olarak daha yüksek olduğu belirlendi ($p<0.05$). Diğer ikili karşılaştırmalarda 3. ve 4. grup arasında anlamlı bir fark saptanmazken ($p>0.05$), 5. gruba ait değerlerin 4. gruptan istatistiksel anlamda farklı olduğu ($p<0.05$) görüldü.

Tablo-6: İpsilateral testiste Johnsen skor değerleri

Gruplar	Johnsen skoru (Sol testis)	
	Ortalama \pm sd	Median (min-max)
1.Grup (Kontrol)	9,737 \pm 0,130 ^b	9,7 (9,6-10)
2.Grup (I/R)	6,862 \pm 0,531 ^a	6,85 (6,40-8)
3.Grup (I/R+Arjinin)	7,975 \pm 0,260	8,05 (7,50-8,3)
4.Grup (I/R+Tadalafil)	7,825 \pm 0,449	8 (7-8,3)
5.Grup (I/R+Arjinin+Tadalafil)	8,525 \pm 0,416 ^c	8,6 (8-9)

Mann-Whitney U testine göre $p<0,05$ alındı. **I/R:** iskemi/reperfüzyon

a: Grup 1, 3, 4 ve 5'e göre $p<0,05$ b: Grup 3, 4 ve 5'e göre $p<0,05$

c: Grup 3 ve 4'e göre $p<0,05$

Tablo-7: Kontralateral testiste Johnsen Skor değerleri

Gruplar	Johnsen Skoru (Sağ testis)	
	Ortalama \pm sd	Median (min-max)
1.Grup (Kontrol)	9,775 \pm 0,175 ^b	9,8 (9,5-10)
2.Grup (I/R)	7,237 \pm 0,388 ^a	7,3 (6,8-8)
3.Grup (I/R+Arjinin)	8,837 \pm 0,311	8,95 (8,3-9,2)
4.Grup (I/R+Tadalafil)	8,812 \pm 0,269	8,95 (8,40-9,1)
5.Grup (I/R+Arjinin+Tadalafil)	9,120 \pm 0,183 ^c	9,15 (8,9-9,4)

Mann-Whitney U testine göre $p<0,05$ alındı. **I/R:** iskemi/reperfüzyon

a: Grup 1, 3, 4 ve 5'e göre $p<0,05$ b: Grup 3, 4 ve 5'e göre $p<0,05$

c: Grup 4'e göre $p<0,05$

Testis dokusuna ait mikroskopik değerlendirmede gruplar nekroz, konjesyon ve interstisyel ödem olacak şekilde 3 bölümde incelendi. Her bölüm özellik yok (0) ve özellik var (1) şeklinde sınıflandırılarak, istatistiksel değerlendirme yapıldı. İpsilateral ve kontralateral testise ait değerler tablo 8'de verilmiştir.

Tablo-8: İpsilateral ve kontralateral testisteki nekroz, konjesyon ve interstisyel ödem sonuçları

Gruplar		Nekroz		Konjesyon		İnterstisyel ödem	
		Var	Yok	Var	Yok	Var	Yok
1.grup (kontrol)	İpsilateral	0	8	0	8	2	6
	Kontralateral	0	8	0	8	0	8
2.grup (I/R)	İpsilateral	7 ^a	1	8	0	8	0
	Kontralateral	4 ^b	4	7	1	8	0
3. grup (I/R+Arjinin)	İpsilateral	2	6	8	0	7	1
	Kontralateral	1	7	3	5	3	5
4.Grup (I/R+Tadalafil)	İpsilateral	0	8	8	0	8	0
	Kontralateral	0	8	3	5	5	3
5.Grup (I/R+Kombine)	İpsilateral	0	8	4 ^c	4	4	4
	Kontralateral	0	8	2	6	3 ^d	5

Ki kare testine göre $p < 0,05$ alındı. I/R: iskemi/reperfüzyon

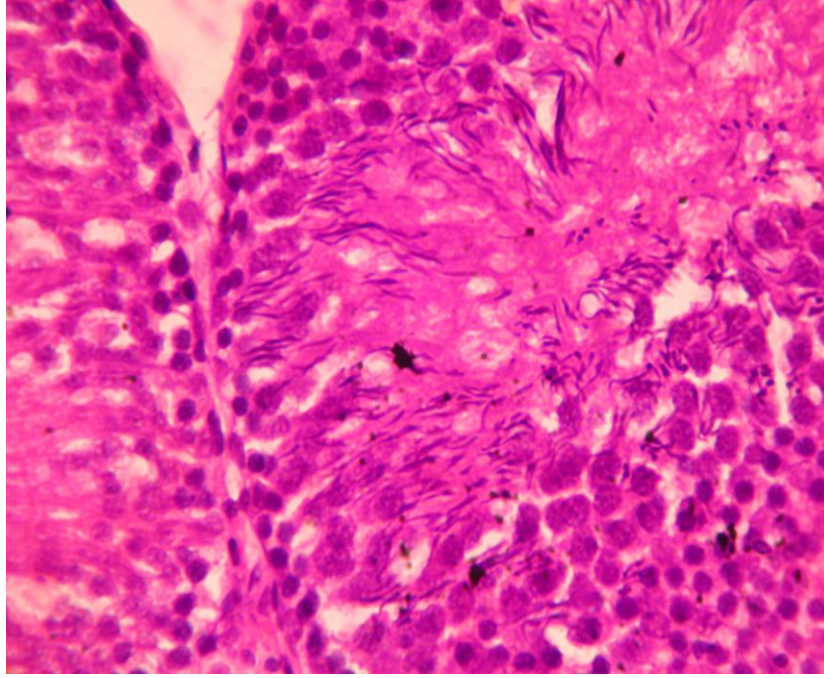
a: Diğer ipsilateral testislere göre $p < 0,05$

b: Diğer kontralateral testislere göre $p < 0,05$

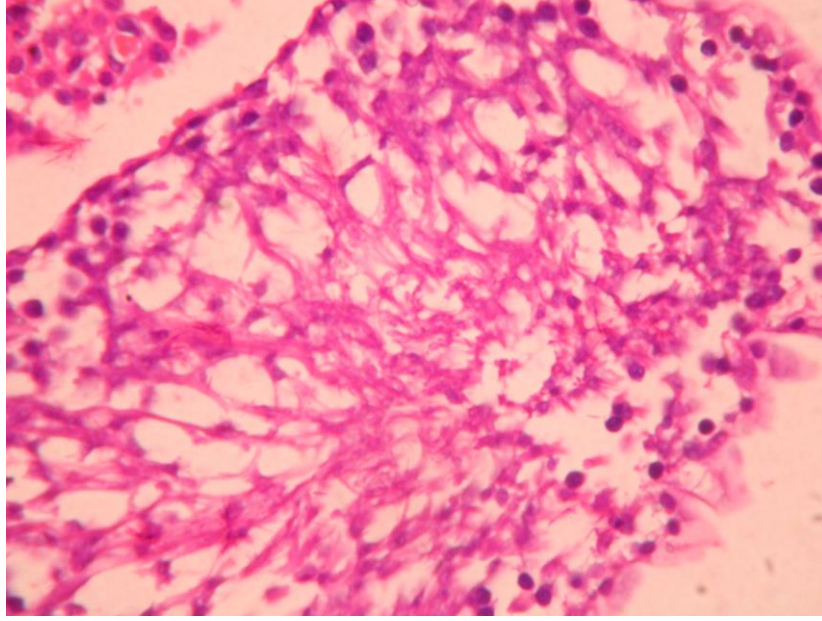
c: İpsilateral testiste 2., 3. ve 4. gruba göre $p < 0,05$

d: Kontralateral testiste 3. ve 4. gruba göre $p > 0,05$

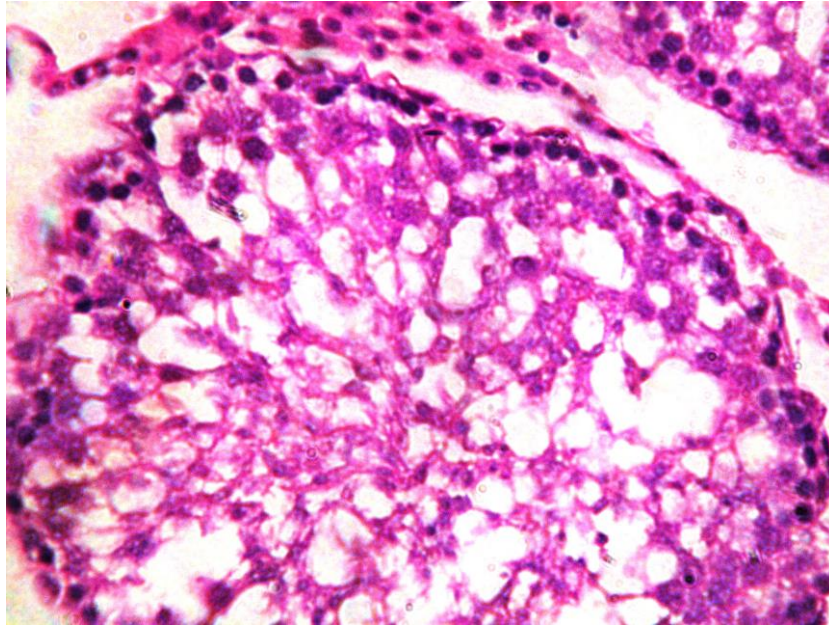
Işık mikroskopuyla yapılan incelemede ipsilateral testiste 1. grupta normal testis histolojisi izlenmekte olup, 2. grupta yüksek oranda nekroz saptandı. İkinci, 3. ve 4. gruplarda yüksek ödem ve konjesyon izlenmesine rağmen 5. grupta azaldığı izlendi. Kontralateral testiste ise, yine 2. grupta nekroz yüksek oranda izlendi. İlaç verilen gruplarda benzer oranda ödem ve konjesyon görüldü.



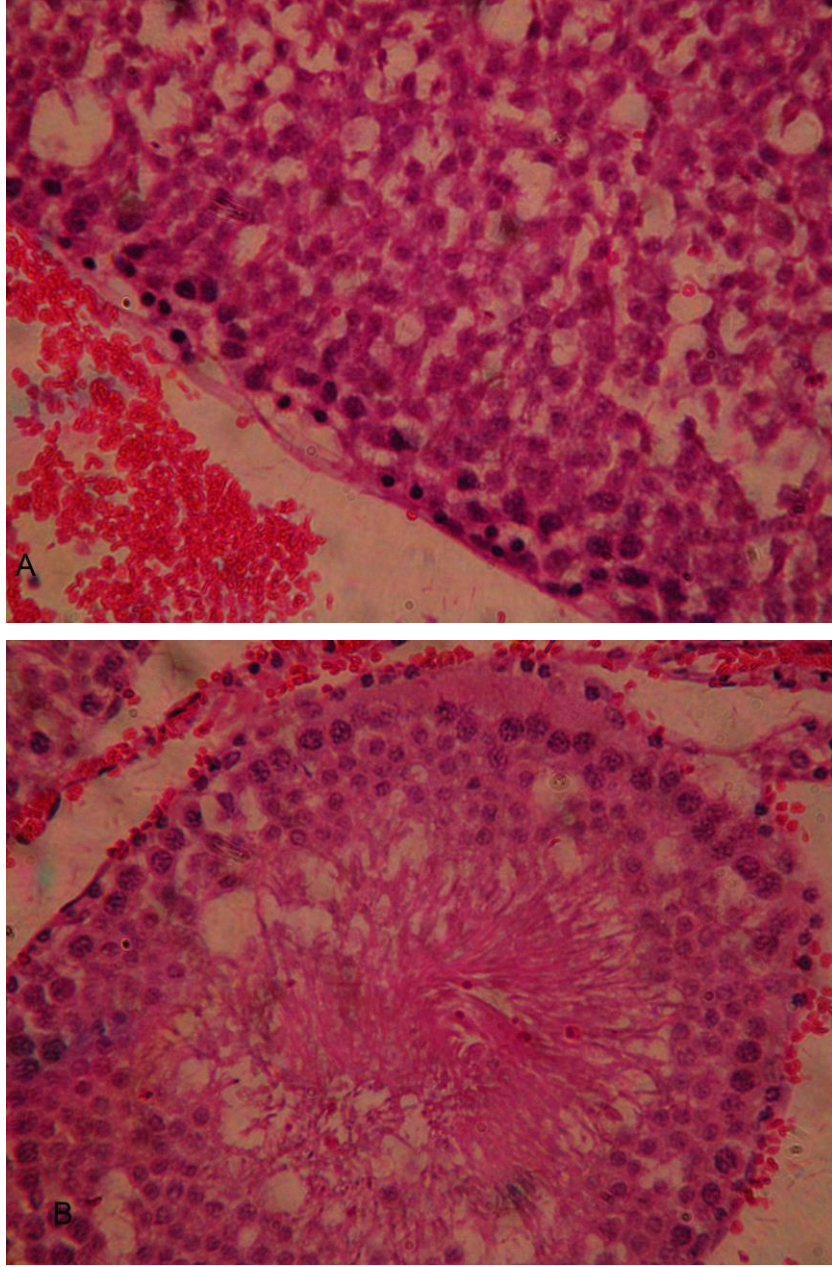
Şekil-7: İpsilateral testisin kontrol grubuna ait ışık mikroskopik görünüm (H&E, x40). Kontrol grubuna ait örnekte spermatogenetik matürasyon mevcuttur ve tübül lümeninde çok sayıda spermatozoa görülmektedir. Sertoli hücreleri sayı ve yapı olarak normaldir.



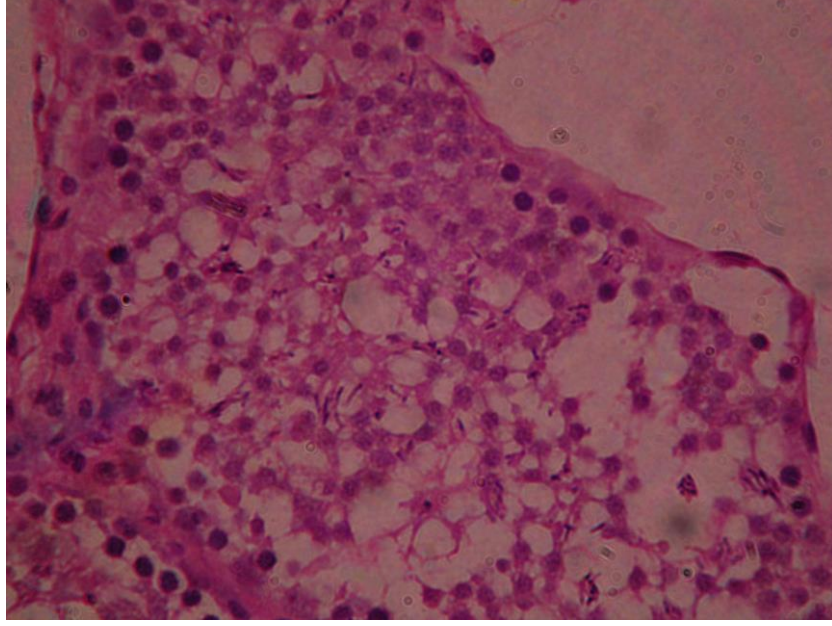
Şekil-8: İpsilateral testisteki iskemi-reperfüzyon (I/R) grubuna ait ışık mikroskopik görünüm (H&E, x40). Düzenleri bozulmuş germ hücreleri ile birlikte, matürasyon arresti ve lümene dökülen germ hücrelerinde koagülasyon nekrozu görülmektedir.



Şekil-9: Kontralateral testisteki iskemi-reperfüzyon (I/R) grubuna ait ışık mikroskopik görünüm (H&E, x40). Düzenleri bozulmuş germ hücreleri ile birlikte, matürasyon arresti görülmektedir.



Şekil-10: İpsilateral testiste Arjinin (A) ve Tadalafil (B) tedavisi uygulanan ışık mikroskopisi görünüşleri (A-B: H&E, x40). Her iki grupta testis dokusunda iskemik değişikliklerin devam ettiği ve matürasyonun durduğu gözlenmektedir. Seminifer tübüllerde periferde immatür spermatogoniyalar ve lümende çok sayıda spermatozoid izlenmektedir. Tübüllerin çevresinde konjesyon ve interstisyel ödem görülmektedir.



Şekil-11: İpsilateral testiste kombine tedavinin uygulandığı ışık mikroskopisi görünümü (H&E, x40). İskemik zedelenmenin etkisinin devam ettiği seminifer tübülüslerde, matürasyonun yeniden başladığı ve lümenlerinde az sayıda spermadlerinde bulunduğu seminifer tübüller izlenmektedir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Skrotumda ani başlayan ağrı ve şişlik ile acil servise başvuran her erkek çocukta, testis torsiyonu akla gelmelidir. Testis torsiyonu doku hipoksisine ve germinal hücre nekrozu ile infertiliteye neden olur. Deneysel çalışmalarda arteriyel tıkanıklıkta iki saat, venöz tıkanıklıkta ise altı saat içinde testis nekrozu geliştiği gösterilmiştir (71). Bulguların ortaya çıkması sonrasında ilk 12 saat içinde tedavi edilmeyen olgularda, testisin kaybı söz konusu olabilmektedir (26). Ayrıca tek taraflı testis torsiyonu sonrası karşı testiste de ciddi hasarlanma olduğu bildirilmektedir (72).

Torsiyon genelde sol testiste görülmesi nedeniyle, deneysel modelde de sıçanın sol testisinde oluşturuldu. Torsiyon sonucu testiste oluşan hasar, torsiyonun derecesine ve süresine bağlıdır. Yapılan çalışmalarda tam iskemi oluşturmak için torsiyonun derecesinin 720 derece olması, yeterli olduğu belirtilmektedir (3,73). Sıçan testislerinde hasar oluşturmak için en az bir saat gereklidir (74). Sıçan testisinde, iki saat süre ile oluşturulan 360 derece torsiyonda orta derecede akut vasküler cevap oluşur. Torsiyone edilen sıçan testislerinde, germinal ve tübüler epitelyum için güvenli sürenin 4 saatten daha kısa bir süre olması gerektiği belirlenmiştir (75,76). Ancak 4 saatten daha fazla süre ile 720 derece torsiyone edilen testislerde kan akımı bloke edilerek infarktüsler oluşmaktadır (77).

Testiküler iskeminin testis histolojisindeki değişimlerini konu alan geniş kapsamlı ilk çalışma 1949'da Harrison ve ark. (78) tarafından yapılmıştır. Sıçanlarda, bir saat süren testis torsiyonunda bozulmanın ilk olarak seminifer tübüllerdeki Sertoli hücrelerinde olduğunu göstermişlerdir. Buna karşın 1969'da Steinberger ve ark. bu değişimleri ancak iki saatlik iskemi sonrasında izleyebilmişlerdir (79). Cosentino ve ark. ise torsiyon sonrası testisleri incelediklerinde en ciddi değişimleri üç saat ve sonrasında bulmuşlardır (77). Çalışmalarda dört saatten daha uzun süren torsiyonlarda, detorsiyondan 24 saat sonrasında dahi ipsilateral testislerdeki kan akımının tam olarak düzelemediği vurgulanmıştır (80,81). Bununla birlikte sekiz saatlik

torsiyon sonrasında kan akımının tamamen düzeldiğini bildiren çalışmalarda mevcuttur (82). Torsiyonun düzeltilmesinden beş dakika kadar sonra kan akımı torsiyon öncesi değerin %70'ine ulaşmaktadır (83).

Testis torsiyonu da iskemi/reperfüzyon formunda bir hasarlanmadır. Testis torsiyonu sırasında ilk hasar iskemi ve doku hipoksisine bağlı olarak gelişir. Bu süreçte önce iskemik dokularda akut dönemde görülen vasküler yanıt gerçekleşir. Damar geçirgenliği artar ve buna paralel olarak ekstrasvazasyon ile ödem belirginleşir. İskemik dokuda oksidatif metabolizma, yerini hipoksik metabolizmaya bırakır. Testiste hasar oluşumu diğer organlar gibi sadece iskeminin uzunluğuna bağlı değildir. Reperfüzyon süresi de hasarda önemli rol oynar. Saba ve ark. (84), reperfüzyon süresinin karşı taraf dokunun hasarlanmasının göstergesi olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan diğer çalışmalarda da dokulardaki hasarın reperfüzyon süresiyle doğru orantılı olduğu saptanmıştır (85,86). Azalmış karşı taraf kan akımı tek taraflı testis torsiyonunda karakteristiktir ve günler sonra normale döner (82). Tek taraflı testis torsiyonu sonrası her iki testiküler arterde azalan kan akımının uzun dönem sonuçları testis fonksiyonu ve fertilitiyi etkilemektedir (87,88). Nagler (89), Saba (84), Tanyel (81), Cerasara (90) ve Krarup (91) karşı testisin tek taraflı testis torsiyonundan etkilendiğini, buna karşın Turner (80), Akgür (3,92) ise bu işlemin karşı testiste bir değişime yol açmadığını belirtmişlerdir. Hatta Turner karşı testiste görülen hasarın ancak skrotumdan yapılan cerrahi girişim sonucu skrotal ödem ve inflamasyona sekonder bir artefakt olabileceğini belirtmiştir. Cosentino ve ark. (93) ise değişik süreler için uygulanan deneysel testis torsiyonu modelinde, torsiyon süresi ne olursa olsun detorsiyondan altı hafta sonra karşı testiste de ciddi dejenerasyonlar görüldüğünü bildirilmişlerdir.

İskemi ya da hipoksiye maruz kalan doku ve hücreler bu duruma artmış damar geçirgenliğiyle birlikte hücre içi ve dışında ödem ile cevap verirler. Testis damar geçirgenliği bir saat torsiyon ve 24 saatlik reperfüzyon sonunda artmaktadır (80). Bir gün süren reperfüzyon sonunda toksik aldehit, hidroperoksit ve peroksilipid düzeyleri, artmış damar geçirgenliği ve antioksidan miktarındaki azalmaya bağlı olarak yükselmekte, bu ise germ

hücrelerinde ölüme kadar giden yıkıma yol açmaktadır. Sonunda hücrede apoptoz ya da nekroz gelişmektedir (94,95). Krarup (91), Nagler (89) ve Barkley (96) tek taraflı testis torsiyonunda karşı testisin ortalama tübül çapında ve spermatogenezde azalma olduğunu bildirmişlerdir. McCord ve ark. (41) yaptıkları klinik çalışmalarda uzamış torsiyon sonrası hastalardan alınan testis biopsilerinde hipoksik ve iskemik süreçler sonunda karşı testis kan akımında yavaşlama ve mikrovasküler tıkanma ile karakterize vasküler hasarı göstermişlerdir. Hadziselimovic ve ark. (97) testis torsiyonu nedeniyle başvuran 38 prepubertal ve adölesan erkek çocuğundan alınan testis biopsilerinde karşı testisin de etkilenmiş olduğunu belirtmişlerdir. Bu yayınlarda karşı taraftaki değişimin iskemi ile değil detorsiyon sonrası reperfüzyon hasarıyla ilgili ve histopatoloji ile uyumlu olduğu gösterilmiştir.

Karşı testis hasarı konusunda iskemi/reperfüzyon teorisinden başka otoimmünizasyon, akrozomal enzimlerin salınımı, torsiyon sırasında bozulmuş nöroendokrin ya da vazomotor cevap üzerinde durulmuştur (82,89). Puri ve ark. (98) prepubertal hastaları konu aldıkları klinik çalışmada ağır nekroz saptanan fakat az da olsa testiküler fonksiyon göstermesi umuduyla skrotumda bırakılan testisleri puberte sonrası muayene ettiklerinde detorsiyone testislerde ağır atrofi görmüşlerdir. Sperm incelemeleri ilginç olarak normal bulunmuş ve evli olanların hepsinin baba olduğu bildirilmiştir. Sonuçta puberte öncesi ve sonrası durumlarda farklı mekanizmaların işlediği ve prepubertal dönemdeki testis torsiyonlarında kontralateral testis üzerinde otoimmün yolla hasar meydana gelmediği fikri savunulmuştur. Cosentino ve ark. (77) antisperm antikörlerin karşı testis hasarından sorumlu olduğunu, Cerasaro ve ark. (90) ise dokuda artmış sitotoksik antitestis antikörlerinin bulunduğunu vurgulamışlardır. Heindel ve ark. (99) karşı testis hasarının hücrel ve humoral immünite ile ilgili olduğunu belirtmişlerdir. Karagüzel ve ark. (100) karşı taraf testis hasarına sempatik aktivitenin neden olabileceğini öne sürmüşlerdir. Stres altında, testis yoluyla sempatik refleksin aktive olması, karşı testis hasarlanmasında etkili bulunmuştur. Deneysel tek taraflı testis torsiyonunda kimyasal sempatektomi uygulamasının karşı taraf testis

dokusunda laktik asit ve hipoksantin seviyelerini yükseltmesi ve histolojik iyileşme sağlaması buna örnektir.

Serbest radikaller güçlü reaktif özellikleri olan moleküllerdir. Hücrenin savunma mekanizmaları ile ortadan kaldırılamazlarsa, hücre hasarıyla sonuçlanan bir dizi reaksiyonu başlatırlar (38). Memeli testisleri serbest radikallerin oksidatif hasarına karşı çok hassastır (101). Reperfüzyonla ATP yıkım ürünü hipoksantin, oksijen sayesinde ve ksantin oksidaz varlığında ürik aside dönüşür. Bu dönüşüm sırasında ciddi miktarda SOR oluşur. SOR hücre membranındaki lipidlerle reaksiyona girerek lipid peroksidleri oluşturmakta, bunlar da membran geçirgenliğinde değişim yaratmaktadır. SOR oluşumu mikrovasküler disfonksiyonun patogenezinde önemli rol oynayabilir. Yine oluşan serbest radikaller mikrosirkülasyonu durdurarak dolaylı hasara sebep olmaktadır (102). Tüm bunlar reperfüzyon hasarı olarak adlandırılmaktadır. Doku lipid peroksid içeriği iskemi reperfüzyonunun en önemli belirteçidir.

Bugüne kadar deneysel çalışmalarda testiste oluşturulan I/R hasarını önlemek için; allopurinol (103), eritropoetin (104), ve melatonin (105) gibi antioksidanlar kullanılmıştır. Bu I/R hasarını azaltmak için kullanılan mekanizmalar, multifaktöriyeldir ve tam olarak açıklanamamıştır. Tadalafil ve L-arjinin, SOR'in etkilerini azaltmak ve kanda yeterli konsantrasyona çıkmasını sağlamak için detorsiyondan 30 dakika önce verilmiştir.

Çalışmamızda torsiyone testiste lipid peroksidasyon düzeyleri I/R grubunda, diğer gruplardan anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı ($p < 0.05$). İkili karşılaştırmalarda ilaç verilen gruplar arasında istatistiksel bir fark görülmedi ($p > 0.05$). Kontrol grubu ile tadalafil verilen grup arasında anlamlı bir fark saptanırken ($p < 0.05$), kontrol grubuna ait değerlerin, diğer ilaç verilen gruplardan istatistiksel anlamda farklı olmadığı ($p > 0.05$) görüldü. Karşı testise ait LPx değerlerinin tüm gruplarda I/R grubu ile kıyaslandığında anlamlı şekilde düşük olduğu görüldü ($p < 0.05$). Karşı testiste tadalafil verilen grubun değerleri, kontrol ve her iki ilacın verildiği kombine gruptan istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görüldü ($p < 0.05$). Torsiyone testislerdeki kadar olmasa da kontralateral testiste I/R grubunun LPx değerlerinin, kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı izlendi. Bu

sonuç testis torsiyonunda iskemi/reperfüzyon hasarının her iki testisi de etkilediği fikrini desteklemektedir. Çalışmamızda lipid peroksidasyonu ilgili elde edilen sonuçlar, I/R sırasında artış gösterdiği ancak I/R'a ilave olarak verilen L-arjinin, tadalafil ve kombine kullanımının artan lipid peroksidasyon seviyelerini azaltmak suretiyle sıçanlarda I/R sırasında artan doku hasarını, önemli oranda azaltabileceğini göstermektedir.

Nitrik oksidin serbest oksijen radikalleriyle etkileşimi ve antioksidan özellikleri ile ilgili araştırmalardan elde edilen sonuçlar çelişkilidir. Süperoksidi bağladığı için NO'nin serbest radikalleri temizleyen, koruyucu bir faktör olduğu düşünülmektedir. Reperfüzyonun başlangıcında serbest bırakılan yoğun reaktif oksijen türlerinin hücre yaralanması ve doku ölümüne neden olduğu belirtilmiştir. Ancak reperfüzyon sırasında salınan NO'nin ön koşullanma mekanizmalarında koruyucu etkiye sahip olduğu da öne sürülmektedir (106). Bunun dışında başka çalışmalarda, süperoksit ile NO reaksiyonunun ürünü olan peroksinitritin (ONOO-) ise güçlü ve yarılanma ömrü uzun bir oksidan olduğu izlenmiş ve bu reaktif nitrojen bileşikler; lipidler, DNA, tioller, amino asitler ve metallerle reaksiyona girebildiği, enzim fonksiyonlarını bozabildiği, membran bütünlüğüne zarar verebildiği ve DNA mutasyonuna neden olabildiği de rapor edilmiştir (107).

NO prekürsörü olan L-arjinin ve NOS aktivitesini inhibe eden NG-nitro-L-arjinin-metil ester (L-NAME) ile yapılan çalışmada, lipid peroksidasyonunun göstergelerinden biri olan MDA, ipsilateral testiste I/R sonrası L-arjinin verilen grupta azaldığı ve I/R sonrası L-NAME verilen grupta ise MDA düzeylerinin arttığı izlenmiştir (108). Hatta başka bir çalışmada I/R sonrası L-NAME verilen grubun MDA değerleri, ilaç verilmeyen I/R grubundan daha yüksek olduğu izlenmiştir. Bu çalışmada NO'nin iskemi/reperfüzyon hasarını önlemedeki olumlu etkilerini, NO'nin nötrofil fonksiyonlarını azaltmasına ve adezyon moleküllerinin salınımında düzenlenmeye bağlamışlardır (109). Bizim çalışmamızda benzer şekilde lipid peroksidasyon değerleri L-arjinin verilen grupta, I/R grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı şekilde düşük bulunmuştur.

Tadalafil selektif FDE5 inhibitörü olup, yarılanma ömrü 17,5 saattir ve 36 saat etkinliği mevcuttur (110). Sildenafil daha selektif olup, benzer farmakokinetik özelliklere sahiptir (111). Perk ve ark. sildenafil sitratın lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzimlere olan etkisi ile ilgili yaptıkları çalışmada, süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (KAT) enzim düzeylerini anlamlı yükselttiği ve MDA düzeyini düşürdüğünü gözlemladiler (112). Deneysel spinal kord yaralanması uygulanan sıçanlarda, tadalafil uygulanmasına takiben, SOD ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktivitesinin arttığı ve lipid peroksidasyon düzeyinin azaldığı bulunmuştur (113). Sıçanlarda over torsiyonu sonrası tadalafil uygulanan grupta SOD ve KAT aktivitelerinin arttığı ve MDA düzeylerinin azaldığı bulunmuştur (114). Karşı testiste düşük doz sildenafil ile yüksek doz sildenafil uygulanmasını içeren çalışmada MDA düzeylerinin düşük doz sildenafilde daha etkin bulunduğu izlenmiştir (115). Kendi çalışmamızda ise, ipsilateral testiste tadalafilin LPx değerlerini azalttığı izlendi, fakat karşı testiste her iki ilacın kombine verildiği grubun LPx değerleri, tadalafil verilen gruptan anlamlı şekilde daha düşük bulundu.

Araştırmamızda antioksidan sistemin göstergelerinden birisi olarak doku glutatyon düzeyleri de değerlendirildi. Glutatyon (GSH), hücreleri oksidan hasara karşı koruyan hücre içindeki en önemli antioksidan bileşiklerden birisidir (58). Çalışmamızda ipsilateral testiste GSH düzeyleri, I/R grubunda diğer gruplardan daha düşük saptandı. İkili karşılaştırmalarda sadece I/R grubunun değerleri ile kontrol ve kombine grupların değerleri arasında istatistiksel bir fark görüldü ($p<0.05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel anlamda fark olmadığı ($p>0.05$) görüldü. Kontralateral testise ait glutatyon değerlerinin tüm gruplarda, kombine grubu ile kıyaslandığında anlamlı şekilde düşük olduğu ($p<0.05$) izlendi. İkili karşılaştırmada I/R ve tadalafil verilen grup arasında anlamlı fark saptandı ($p<0.05$).

Yildiz ve ark. deneysel torsiyon modeli uyguladıkları çalışmada, düşük doz sildenafil sonrası kanda GSH oranlarının I/R grubuna oranla yükseldiği (116), karşı testiste de benzer şekilde düşük doz sildenafil sonrası doku GSH düzeylerinin I/R uygulanan gruba oranla yüksek olduğunu

bulmuşlardır (115). Başka bir çalışmada, 1 saat iskemi/6 saat reperfüzyon ve 3 saat iskemi/6 saat reperfüzyon uygulanan iki grupta, L-alanil-glutamin ve izotonik sonuçları karşılaştırıldığında, GSH düzeyleri, L-alanil-glutamin uygulanan grupta daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (117). Kendi çalışmamızda ise hem torsiyone testiste, hem de karşı testiste, GSH düzeyleri her iki ilacın kombine verildiği grupta, diğer gruplardan daha yüksek bulunmuştur. GSH düzeyleri ele alındığında ilaçların kombine kullanımı, özellikle karşı testiste diğer gruplardan üstün olduğu görüldü.

Çalışmamızda torsiyone testiste Johnsen skorlarını değerlendirdiğimizde, I/R grubunun anlamlı olarak düşük skora sahip olduğu belirlendi ($p<0.05$) ve kontrol grubunun anlamlı olarak en yüksek skora sahip olduğu belirlendi ($p<0.05$). Diğer ikili karşılaştırmalarda tadalafil verilen ve L-arjinin verilen gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmazken ($p>0.05$), kombine grubuna ait değerlerin, diğer ilaç verilen gruplardan istatistiksel anlamda farklı olduğu ($p<0.05$) görüldü. Kontralateral testiste de yine aynı şekilde I/R grubunun anlamlı olarak düşük skora sahip olduğu ($p<0.05$) ve kontrol grubunun anlamlı olarak en yüksek skora sahip olduğu belirlendi ($p<0.05$). Diğer ikili karşılaştırmalarda tadalafil verilen ve arjinin verilen gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmazken ($p>0.05$), kombine grubuna ait skorun, tadalafil verilen gruptan istatistiksel anlamda farklı olduğu ($p<0.05$) görüldü. Kontrol grubunda normal testis histolojisi izlenmiştir. İpsilateral testiste I/R grubunda yüksek oranda nekroz izlenmiştir. I/R grubuyla benzer olmakla beraber tadalafil verilen ve L-arjinin verilen gruplarda da yüksek oranda ödem ve konjesyon izlenmesine rağmen, kombine grupta daha az izlenmiştir. Karşı testiste ise I/R grubunda yüksek oranda nekroz izlendi. İlaç verilen gruplarda benzer oranda ödem ve konjesyon izlendi.

Deneyssel testis torsiyonu sonrası polideoksiribonükleotid (118) ve ebselen (119) uygulanan çalışmalarda torsiyone testiste Johnsen skoru, I/R uygulanan gruba oranla yüksek saptanmış olup, carvedilol (120) uygulanan başka bir çalışmada I/R grubuyla benzer sonuçlar bulunmuştur. Sildenafil ve vardenafilin karşılaştırıldığı bir çalışmada, her iki ilacın spermatik aktiviteyi artırdığı, fakat karşı testiste değişikliğe neden olmadığı belirtilmiştir. Karşı

testiste değişikliğin olmaması, iskemi süresinin 3 saatten az olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir (121). Sildenafil uygulanan başka bir çalışmada, karşı testiste yüksek doz sildenafil ile I/R grubunun spermatik aktiviteye etkisi benzer bulunmuş olup, düşük doz sildenafilin daha etkin olduğu gözlemlenmiştir. Aynı çalışmada ödem ve konjesyon yüksek doz sildenafil uygulanan grupta izlenmiştir (115). Barlas ve ark.'nın 30 dakika iskemi/30 dakika reperfüzyon uyguladığı deneysel torsiyon modelinde L-arjinin verilen grup ile L-NAME verilen grup karşılaştırıldığında L-arjinin grubunda daha az ödem ve konjesyon izlenmiş olup, her iki grupta da nekroz gözlenmemiştir (108). Bizim çalışmamızda daha yüksek ödem, konjesyon ve nekroz izlenmesi iskemi ve reperfüzyon sürelerinin daha uzun olmasından kaynaklanabilir. 6 saat iskemi/21 gün reperfüzyon uygulanan başka bir çalışmada, karşı testiste L-arjinin verilen grupta yüksek spermatojenik aktivite ve daha düşük oranda ödem ve konjesyon izlenmiştir (122). Bizim çalışmamızda da torsiyone testiste ilaç uygulanmasının spermatik aktiviteyi artırdığı izlendi, fakat kombine kullanımının diğer ilaç gruplarından üstün olduğu görüldü. Karşı testiste ise spermatik aktivite, ilaç verilen gruplarda, I/R grubu ile karşılaştırıldığında yüksek izlendi, fakat kombine kullanımının, tadalafil verilen gruptan üstün olduğu izlendi.

Çalışmamızda öncelikle sıçanların testis dokusunda, iskemi/reperfüzyon hasarı oluşturulması planlandı. Araştırmanın bulguları genel olarak değerlendirildiğinde iskemi/reperfüzyon hasarının tam anlamıyla oluştuğu; lipid peroksidasyonu gözlenmesinden, antioksidan sistemin baskılanmasından ve testis histolojisindeki bozulmadan gözlenmektedir. Bunlara ilave olarak çalışmada kullanılan L-arjinin, tadalafil ve ilaçların kombine kullanımı, hem oksidanları baskılayarak hemde antioksidanların etkisini artırmak suretiyle, deneysel iskemi/reperfüzyon hasarında lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etkiye sahip olduğu görülmektedir. Ancak ipsilateral testiste LPx değerlerine bakıldığında istatistiksel anlamda ilaçların birbirlerine üstünlüğü gözlenmemiştir. Antioksidan olan glutatyon değerlerine bakıldığında, ilaç verilen gruplarda I/R grubuna oranla daha yüksek değer izlenmesine rağmen, sadece kombine grubunun değerleri I/R grubundan

anlamli olarak daha yüksek izlendi. Testis dokusunda spermatik aktivite yönünden ilaç verilen gruplar önemli bir etki gstermiŖtir. İlaçların kombine verildiği grubun değerleri, diğer iki ilaç grubunun değerlerinden anlamli olarak yüksek izlenmiŖtir, bu sonuca göre ilaçların kombine verilmesi, torsiyone testiste spermatik aktiviteyi daha fazla koruduğu sonucuna varılmıŖtır. KarŖı testis ele alındığında ilaçların tek baŖına verildiği gruplar karŖılaŖtırıldıđında lipid peroksidasyonunu baskılama, antioksidan olan GSH düzeyini yükseltme ve spermatik aktivite konusunda birbirlerine üstünlükleri olmadığı, fakat kombine kullanımının LPx'i baskılama ve spermatik aktivite yönünden tadalafilden ve GSH düzeyini yükseltme yönünden diğer iki gruptan üstün olduğu izlenmiŖtir. alıŖmada genel olarak bakıldığında, iki ilacın kombine kullanımının özellikle karŖı testiste daha etkin olduğu gzlenmiŖtir, fakat daha fazla deney grupları ile farklı süre ve uygulama Ŗekilleriyle birlikte bu ilaçların verilmesinin oluŖturacađı doku koruyucu etkisinin daha iyi bir Ŗekilde ortaya konulması sağlanabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Pentyala S, Lee J, Yalamanchili P, Vitkun S, Khan SA. Testicular torsion: a review. *J Low Genit Tract Dis* 2001;5:38-47.
2. Ringdahl E, Teague L. Testicular torsion. *Am Fam Physician* 2006;74:1739-1743.
3. Akgür FM, Kılınç K, Aktuğ T. Reperfusion injury after detorsiyon of unilateral testicular torsion. *Urol Res* 1993;21:395-9.
4. Menger MD, Rucker M, Vollmar B. Capillary dysfunction in striated muscle ischemia/reperfusion: On the mechanisms of capillary "no-reflow". *Shock* 1997;8:2-7.
5. Ergün O, Ulman C, Kılıçalp AS. Carnitine as a agent in experimental renal ischemia-reperfusion injury. *Urol Res* 2001;29:186-9.
6. Andersson KE. Pharmacology of erectile function and dysfunction. *Urol Clin North Am* 2001;28:233-47.
7. Eardley I, Ellis P, Boolell M, Wulff M. Onset and duration of action of sildenafil for the treatment of erectile dysfunction. *Br J Clin Pharmacol* 2002;53:61-65.
8. Oruç O, İnci K, Akif T, Zeybek D. Sildenafil attenuates renal ischemia reperfusion injury by decreasing leukocyte. *Acta Histochem* 2009;10:10-6.
9. Şeftalioğlu A (editör). Genel ve özel insan embriyolojisi. 3. Baskı. Ankara: Feryal Matbaası; 1998. 346-50.
10. Moore KL (eds). The developing human. 4th ed. Philadelphia: Saunders Co;1988.262-7.
11. Sadler TW. Langman's medikal embriyoloji. Başaklar AC (editör). 7. Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık;1996.274-5.
12. Petorak İ (editör). Medikal embriyoloji. 2. Baskı. İstanbul: Beta Basım Dağıtım A.Ş.;1986.220-3.
13. Rozanski TA, Bloom DA. The undescended testis. Theory and management. *Urol Clin North Am* 1995;22:107-8.
14. Tanyel FC. A reevaluation of the mechanism of testicular descent: reasons for failed descent or ascent. *J Pediatr Surg* 2000;35:1147-9.
15. Tanyel FC. Testisin inişi, anormal testis yerleşimleri, fıtık ve hidrosel mekanizmalarını açıklamada yeni bir görüş. *Pediatric Cerrahi Dergisi* 2002;16:54-63.
16. Abe T, Hutson JM. Calcitonin gene related peptide injected ectopically alters gubernacular migration in the flutamide-treated rat with cryptorchidism. *Pediatr Surg Int* 1994;9: 551-4.
17. Snell RS (eds). Clinical anatomy. 3rd ed. Boston: Brown and Company;1986.168-75.
18. Kuran O (editör). Sistemik anatomi. 1.Baskı. İstanbul: Filiz Kitabevi;1983. 512-4.
19. Kayalı H (editör). Özel histoloji. 1.Baskı. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Film Merkezi; 1989.218-28.

20. Sternberg SS (eds). Histology for pathologist. 1st ed. New York: Raven Press Lt;1992.731-9.
21. Barada J, Weingarten JLI, Cronie WJ, Testicular salvage and age-related delay in the presentation of testicular torsion. J Urol 1989;142:746-48.
22. Shukla RB. Association of cold weather with testicular torsion. Br Med J 1982; 285:1459-60.
23. Fonkalsrud EW. Testicular undescend and torsion. Pediatr Clin North Am 1987; 34:1305-17.
24. Murphy JP (eds). The acute scrotum. 1st ed. New York: McGraw-Hill Companies; 2003.563-567.
25. Hutson JM (eds). Undescended testis, torsion and varicocele, Pediatric surgery. 5th ed. St. Louis: Mosby-Year Book Inc; 1998.1099-101.
26. Prater JM, Overdoff BS, Testicular torsion: a surgical emergency. Am Fam Physician 1991; 44:834-40.
27. Noseworthy J (eds). Testicular torsion, Pediatric surgery. 3rd ed. Philadelphia: W.B.Saunders Co; 2000. 674-80.
28. Aygün C, Erkan İ. Çocuklarda ürolojik sorunlar ve genitoüriner sistem travması. Katkı Pediatri Dergisi 1998;19: 5-14.
29. Sheldon CA. The pediatric genitourinary examination: Inguinal, urethral and genital diseases. Pediatr Clin North Am 2001; 48:1339-80.
30. Langer JC, Sohal SS, Blennerhasselt P. Mucosal permeability after subclinical intestinal ischemia/reperfusion injury: An exploration of possible mechanisms. J pediatr Surg 1995;30:568-572.
31. Faberowsky N, Stefannsson E, Davidson RC. Local Hypothermia protects the retina from ischemia. Invest Ophthalmol Vis Sci 1989; 30:2309-12.
32. Granger DN, Rutili G, Mc Cord JM. Superoxide radicals in feline intestinal ischemia. Gastroenterology 1981; 81:22-9.
33. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB. Ischemia/Reperfusion injury. J Surg Res 2002;105:248-258.
34. Welbourn CRB, Goldman G, Peterson IS. Pathophysiology of ischemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. Br J Surg 1991;78:651-655.
35. Collard CD, Lekowski R, Jordan JE. Complement activation following oxidative stres. Mol Immunol 1999;36:941-948.
36. Granger DN, Korthuis RJ. Physiologic mechanisms of postischemic tissue injury. Annu Rev Physiol 1995;57:311-332.
37. Eppihimer MJ, Granger N. Ischemia/reperfusion induced leukocyte-endothelial interactions in postcapillary venules. Shock 1997; 8:16-25.
38. Türkyılmaz Z. Karaciğer İskemi-Reperfüzyon Zedelenmesinde Pentoksifilin, Dimetilsülfoksit ve Eksojen Melatoninin Koruyucu Etkilerinin Karşılaştırılması (Uzmanlık Tezi).Edirne: Trakya Üniversitesi;2003.

39. Akkuş İ (editör). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1. Baskı. Konya:Mimoza Yayınları;1995.3-24.
40. Slatter T. Free radicals and tissue injury: Fact and the Fiction. Br J Cancer 1987;55: 5-10.
41. Mc Cord JM. Oxygen derived free radicals in post-ischemic tissue injury. New Engl J Med 1985;312:159-63.
42. Hinder RA, Stein HJ. Oxygen derived free radicals. Arch Surg 1991;126:104-5.
43. Mc Cord JM. Human disease, free radicals and the oxidant-antioxidant balance. Clin Biochem 1993;26: 351-7.
44. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source Biochemistry and role in human disease. The Am J of Med 1991;91:14-22.
45. Garcia FJ, Eleno N. Protective effect of exogenous nitric oxide on the renal function and inflamatory response in a model of ischemia-reperfusion. Transplantation 1998;66:982-90.
46. James TW. Pharmacologic approaches to reperfusion injury. Adv Pharmacol 1997; 9:291-313.
47. Kılınç K, Kılınç A (editörler). Nitrik oksit “biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri”. 1. Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık;2003.1-82.
48. Nalini S, Mathan MM, Balasubramanian KA. Oxygen free radical induced damage intestinal ischemia reperfusion in normal and xanthine oxidase deficient rats. Mol Cell Biochem 1993;123:59-66.
49. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. Surg Cli NA 1992;72:65-9.
50. Weinberg JM. The Cell Biology of ischemic renal injury. Kidney Int 1991;39: 476-500.
51. Carden DL, Smith JK, Korthuis RJ. Neutrophil-mediated microvascular dysfunction in postischemic canine skeletal muscle. Circulation Res 1990; 66:1436-40.
52. Koji H. Activated protein c reduces the ischemia/reperfusion: Induced spinal cord injury in rats by inhibiting neutrophil activation. Ann Surg 2000; 232:272-80.
53. Susman MS, Bulkey GB. Oxygen-derived free radicals in reperfusion injury. Methods Enzymol 1990;186:711-5.
54. Hayashi T, Nagasue N, Kohno H. Beneficial effects of cyclosporine pretreatment in preventing ischemic damage to the liver in dogs. Transplantation 1988;46:923-6.
55. Klebanoff SJ. Oxygen metabolism and toxic properties of phagocytes. Ann Intern Med 1980;93:480-83.
56. Lieberthal W. Biology of ischemic and toxic renal tubular cell injury: Role of nitric oxide and the inflammatory response. Curr Opin Nephrol Hypertens 1998;7:289-9.
57. Candenas E. Biochemistry of oxygen toxicity. Annu Rev Biochem 1989.;58:79-81.
58. Ross D. Glutathione, free radicals and chemotherapeutic agents. Pharmacol Ther 1988;37:231-49.

59. Yıldız H, Durmus AS, Simsek H, Yaman M. Dose-dependent protective effect of sildenafil citrate on testicular injury after torsion/detorsion in rats. *Andrologia* 2011;44:300-6.
60. Sies H. Oxidative stress: From basic research to clinical application. *Am J Med* 1993;91:315-85.
61. Wink DA, Mitchell JB. Chemical Biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic and cytoprotective mechanism of nitric oxide. *Free Radic Biol Med* 1998;25:434-56.
62. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide a physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994;120:227-37.
63. Tefler JF, Itoh H, Thomson AJ. Activity and expression of soluble and particulate guanylate cyclases in myometrium from nonpregnant and pregnant women: down-regulation of soluble guanylate cyclase at term. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:5934-43.
64. Moreland RB, Goldstein I, Tarish A. Sildenafil a novel inhibitor of phosphodiesterase type 5 in human corpus cavernosum smooth muscle cells. *Life Sci* 1998; 62:309-18.
65. Lee MR. Cyclic GMP causes Ca²⁺ desensitization in vascular smooth muscle by activating the myosin light chain phosphatase. *J Biol Chem* 1997;272:5063-8.
66. Cowart RM, Carson CC. Tadalafil in the treatment of erectile dysfunction. *Ther Clin Risk Manag* 2008;4:1315-30.
67. Cleber ET, Fernanda BM, Webb CR. Differential effects of the phosphodiesterase type 5 inhibitors sildenafil, vardenafil, and tadalafil in rat aorta. *J Pharmacol* 2006;316:654-61.
68. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem* 1979;95:351-358.
69. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem* 1968; 25:192-205.
70. Johnsen SG. Testicular biopsy score count - a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones* 1970;1:2-25.
71. Melekos MD, Asbach HW, Markou SA. Etiology of acute scrotum in 100 boys with regard to age distribution. *J Urol* 1988;139:1023-5.
72. Kaplan GW. Scrotal swelling in children. *Pediatr Rev* 2000;21:311-4.
73. Henderson JA 4th, Smey P, Cohen MS. The effect of unilateral testicular torsion on the contralateral testicle in prepubertal Chinese hamsters. *J Pediatr Surg* 1985; 20:592-7.
74. Turner TT, Brown KJ. Spermatik cord torsion loss of spermatogenesis despite return of blood flow. *Eur J pedtr* 2000;159:103-7.
75. Kallerhoff M, Gross AJ. The influence of temperature on changes in pH , Lactate and morphology during testicular ischaemia. *Br J Urol* 1996;78:440-5.

76. Freedmand S, Chehval MJ. Enzymatic changes in experimental testicular torsion. *Invest urol* 1981;19:209-12.
77. Cosentino MJ, Nishida M. Histological changes occurring in the contralateral testes of prepubertal rats subjected to various durations of unilateral spermatic cord torsion. *J Urol* 1985;133:906-11.
78. Harrison RG, Weiner JS. Vascular patterns of the mammalian testis and their functional significance. *J Exp Biol* 1949;26:639-49.
79. Steinberger E, Tjioe DY. Spermatogenesis in rat testes after experimental ischemia. *Fertil Steril* 1969; 20:639-49.
80. Turner TT, Caplis LA, Rhoades CP. Testicular vascular permeability : effect of lesions associated with impaired testis function. *J Urol* 1996;155:1078-82.
81. Tanyel FC, Büyükpamukçu N, Hiçsönmez A. Contralateral testicular blood flow during unilateral testicular torsion. *Br J Urol* 1989; 63:522-4.
82. Filho DW, Torres MA, Bordin AL, Crezcynski-Pasa TB, Boveris A. Spermatic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia-reperfusion injury. *Mol Aspects Med* 2004;25:199-210.
83. Oh SJ, Kwak C, Baek M. Histologic and molecular changes in the ipsilateral and contralateral epididymides of the rat in response to unilateral testicular torsion followed by detorsion. *Fertil Steril* 2004; 81:882-7.
84. Saba M, Morales CR, De Lamirande E, Gagnon C. Morphological and biochemical changes following acute unilateral testicular torsion in prepubertal rats. *J Urol* 1997; 157:1149-54.
85. Lee C, Kerrigan CL, Picard-Ami LA Jr. Cyclophosphamide-induced neutropenia: effect on postischemic skin-flap survival. *Plast Reconstr Surg* 1992;89:1092-7.
86. Stewart RJ, Moore T, Bennett B. Effect of free radical scavengers and hyperbaric oxygen on random-pattern skin flaps. *Arch Surg* 1994;129:982-7.
87. Kizilcan F, Bernay F, Tanyel FC. Ipsilateral and contralateral testicular blood flows during unilateral testicular torsion by ¹³³Xe clearance technique. *Int Urol Nephrol* 1992; 24:515-20.
88. Kolettis PN, S.N., Inman SR, Thomas AJ. Acute spermatic cord torsion alters the microcirculation of the contralateral testis. *J Urol*, 1996. 155: p. 350-4.
89. Nagler HM, White RD. The effect of testicular torsion on the contralateral testis. *J Urol* 1982;128:1343-8.
90. Cerasaro TS, Nachtsheim DA, Otero F, Parson CL. The effect of testicular torsion on contralateral testis and the production of anti-sperm antibodies in rabbits. *J Urol* 1984;132:577-9.
91. Krarup T. The testes after torsion. *Br J Urol* 1978; 50:43-6.
92. Akgur FM, Kilinc K, Aktug T. Is ipsilateral testis mandatory for the occurrence of contralateral intratesticular biochemical changes indicative of hypoxia after unilateral spermatic cord torsion?. *Eur Urol* 1995; 28:143-6.

93. Cosentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, Cockett AT. Histopathology of prepubertal rat testes subjected to various durations of spermatic cord torsion. *J Androl* 1986;7:23-31.
94. González-Flecha BS, Cutrin J, Boveris A. Time course and mechanism of oxidative stress and tissue damage in rat liver subjected to in vivo ischemia-reperfusion. *J Clin Invest* 1993; 91:456-64.
95. Zar HA, Tanigawa K, Young-Myeong K, Lancaster JR Jr. Rat liver postischemic lipid peroxidation and vasoconstriction depend on ischemia time. *Free Radic Biol Med* 1998;25:255-64.
96. Barkley C, York JP, Badalament RA. Testicular torsion and its effects on contralateral testicle. *Urology* 1993;41:192-4.
97. Hadziselimovic F, Snyder H, Duckett J, Howards S. Testicular histology in children with unilateral testicular torsion. *J Urol* 1986;136:208-10.
98. Puri P, Barton D, O'Donnell B. Prepubertal testicular torsion: subsequent fertility. *J Pediatr Surg* 1985;20:598-601.
99. Heindel RM, Pakyz RE, Reinking LN, Cosentino MJ. The effect of various degrees of unilateral spermatic cord torsion on fertility in the rat. *J Urol* 1990;144:366-9.
100. Karaguzel G, Tanyel FC, Kilinc K, Buyukpamukcu N, Hicsonmez A. The preventive role of chemical sympathectomy on contralateral testicular hypoxic parameters encountered during unilateral testicular torsion. *Br J Urol* 1994;74:507-10.
101. Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian tissues. *Physiol* 1979;59:527-605.
102. Savas C, Dindar H, Bilgehan A, Ataoglu O, Yucesan S. entoxifylline attenuates reperfusion injury in testicular torsion. *Scand J Urol Nephrol* 2002;36:65-70.
103. Akgür FM, Kılınç K, Aktuğ T. The effect of allopurinol pretreatment before detorting testicular torsion. *J Urol* 1994;151:1715-1717.
104. Rashed FK, Ghasemi B, Mogaddam HD. The effect of Erythropoietin on Ischemia/Reperfusion Injury after testicular torsion/detorsion: A randomized experimental study. *ISRN Urol* 2013;2013:1-4.
105. Parlaktas BS, Atilgan D, Ozyurt H. The biochemical effects of ischemia-reperfusion injury in the ipsilateral and contralateral testes of rats and the protective role of melatonin. *As J Androl* 2014;16:314–318.
106. Wang CZ, Mehendale SR, Calway T, Yuan CS. Botanical flavonoids on coronary heart disease. *Am J Chin Med* 2011;39:661-71.
107. Eiserich JP, Patel RP, O'Donnell VB. Pathophysiology of nitric oxide and related species: free radical reactions and modification of biomolecules. *Mol Aspects Med* 1998;19:221-57.
108. Barlas M, Hatiboglu C. The effect of nitric oxide in testicular ischemia-reperfusion injury. *Int Urol and Nephrol* 2002;34:81-86.
109. Ozturk H, Buyukbayram H, Ozdemir E. The effects of Nitric Oxide on the expression of cell adhesion molecules (ICAM-1, UEA-1, and

- Tenascin) in rats with unilateral testicular torsion. *J Pediatr Surg* 2003;38:1621-1627.
110. Porst H, Padma-Nathan H, Giuliano F. Efficacy of tadalafil for the treatment of erectile dysfunction at 24 and 36 hs after dosing: a randomized controlled trial *Urology* 2003;62:121-5.
 111. Daugan A, Grondin P, Ruault C. The discovery of tadalafil: a novel and highly selective PDE5 inhibitor. *J Med Chem* 2003;46:4533-42.
 112. Perk H, Armagan A, Naziroğlu M. Sildenafil citrate as a phosphodiesterase inhibitor has an antioxidant effect in the blood of men. *J Clin Pharm Ther* 2008;33:635-40.
 113. Serarslan Y, Yönden Z, Ozgiray E. Protective effects of tadalafil on experimental spinal cord injury in rats. *J Clin Neurosci* 2010;17:349-52.
 114. Arikan DC, Bakan V, Kurutas EB. Protective effect of tadalafil on ischemia/reperfusion injury of rat ovary. *J Pediatr Surg* 2010;45:2203–2209.
 115. Yıldız H, Durmus AS, Simsek H, Yaman M. Protective effect of sildenafil citrate on contralateral testis injury after unilateral testicular torsion/detorsion. *Clinics* 2011;66:137-142.
 116. Yıldız H, Durmus AS, Simsek H, Yaman İ. Effect of sildenafil citrate on torsion/detorsion-induced changes in red blood cell and plasma lipid peroxidation, antioxidants and blood hematology of male rats. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011;159:359-63.
 117. Leitão JP, Santos JM, Vasconcelos RC, Garcia JH. L-alanyl-glutamine dipeptide pretreatment attenuates ischemia-reperfusion injury in rat testis. *Acta Cir Bras* 2011;26:21-5.
 118. Minutoli L, Antonuccio P, Squadrito F, Bitto A. Effects of polydeoxyribonucleotide on the histological damage and the altered spermatogenesis induced by testicular ischaemia and reperfusion in rats. *Int J Androl* 2012;35:133-44.
 119. Rifaioğlu MM, Motor S, Davarci I. Protective effect of ebselen on experimental testicular torsion and detorsion injury. *Andrologia* 2014;46:1134-40.
 120. Erdemir F, Atilgan D, Firat F. The effects of Carvedilol on ischemia-reperfusion injury in the rat testis. *Int Braz J* 2014;40:109-117.
 121. Ustun H, Akgul T, Ayyildiz A. Effect of phosphodiesterase 5 inhibitors on apoptosis and nitric oxide synthases in testis torsion: an experimental study. *Pediatr Surg Int* 2008;24:205-211.
 122. Dokucu AI, Ozturk H, Ozdemir E. The protective effects of nitric oxide on the contralateral testis in prepubertal rats with unilateral testicular torsion. *Br J Urol* 2000;85:767-771.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince klinik bilgi, beceri ve deneyimlerini aktararak mesleki gelişimime büyük katkılar sağlayan değerli hocalarım Prof. Dr. İsmet YAVAŐÇAOđLU, Prof. Dr. Hakan KILIÇARSLAN, Prof. Dr. Hakan VURUŐKAN, Doç. Dr. Yakup KORDAN ve Doç. Dr. H. Serkan DOğAN'a ve tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen Patoloji ABD'dan Doç. Dr. Berna AYTAÇ ve Biyokimya ABD'dan Uz. Dr. Burak Asıltaş'a, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve üroloji çalışanlarına teşekkür ederim.

Hep yanımda olduğunu hissettiğim, destek ve engin sabrından dolayı eşim Gülşah Ece Özmerdiven'e ve bugünlere gelmemde büyük emeğe ve paya sahip olan aileme sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Çağdaş Gökhan ÖZMERDİVEN

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Tekirdağ'da doğdum. İlköğrenimimi Trakya Cam Sanayi 60. yıl İlkokulu'nda, orta ve lise öğrenimimi Lüleburgaz Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 2002-2008 yılları arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yüksek öğrenimimi tamamladıktan sonra 2008 yılında 6 ay süre boyunca Çerkezköy merkez Sağlık Ocağında ve 112 Çerkezköy 1 no'lu Acil Sağlık Hizmetlerinde pratisyen hekim olarak çalıştım. 2009 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım.