

T.C
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

TESTİS TORSİYONUNDA İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINI ÖNLEMEDE
OKSERUTİN'İN ETKİNLİĞİ

TEZ YÖNETİCİSİ
Yrd. Doç. Dr. Bülent ALTUNOLUK

Dr. Ahmet Bora GÜL
UZMANLIK TEZİ

KAHRAMANMARAŞ/2009

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca değerli bilgi ve becerisini hiçbir zaman esirgemeyip ufkumu açan; asistanlığını yapmış olmaktan her zaman gurur duyacağım tez hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Bülent ALTUNOLUK'a,

Çalışma hayatımda her zaman değerli desteklerini gördüğüm, olumlu yönlendirmeleriyle bugüne gelmemde büyük emek sahibi olan Sayın Doç. Dr. Sefa RESİM'e,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlanma fırsatı bulduğum, derin hoşgörü, anlayışı ve deneyimi ile eğitimimi yönlendiren, iyi bir hekim olarak yetişmem için gayret gösteren hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Tayfun ŞAHİNKANAT'a,

Hayatımın en önemli dönemlerinden birini paylaştığım sevgili asistan arkadaşlarıma,

Bugünlere gelmemde büyük pay sahibi olan, desteklerini hiçbir zaman benden esirgemeyen annem ve babama, asistanlığım süresince ve tezimin oluşumu aşamasında her zaman yakın ilgi ve desteğini gördüğüm sevgili eşime,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLolar LİSTESİ	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ	V
KISALTMALAR LİSTESİ	VI
ÖZET	VII
ABSTRACT	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Testis Ve Epididimisin Anatomisi	2
2.1.1. Testis	2
2.1.1.1. Testiküler-skrotal arter sistemi	4
2.1.1.2. Testiküler-skrotal venöz sistem	5
2.1.2. Epididim	7
2.2. Testis Torsiyonu	8
2.2.1. Klinik Bulgular	10
2.2.2. Tanı	11
2.2.3. Ayırıcı tanı	11
2.2.4. Tedavi	11
2.2.5. Prognoz	12
2.3. İskemi Ve Reperfüzyon	12
2.3.1. İskemi/reperfüzyon hasarında serbest oksijen radikalleri	13
2.3.2. İskemi/reperfüzyon hasarında lökositlerin rolü	14
2.3.3. İskemi/reperfüzyon hasarında komplemanın rolü	14
2.3.4. İskemi/reperfüzyon hasarı ve no-reflow fenomeni	14
2.3.5. İskemik Testis Dokusunda Patolojik Değişiklikler	15
2.4. Antioksidan Ajanlar Ve Antioksidan Savunma	15
2.4.1. Serbest oksijen radikali (SOR) tanımı	15
2.4.2. SOR sınıflandırılması	16
2.4.2.1. Radikaller	16
2.4.2.2. Radikal olmayanlar	16
2.4.2.3 Tekli oksijen (O ₂)	16

2.4.3 SOR kaynakları	16
2.4.3.1. Normal biyolojik işlemler	16
2.4.3.2. Oksidatif stres yapıcı durumlar	16
2.4.4. Antioksidan savunma	17
2.4.4.1. Süperoksit dismutaz (SOD)	17
2.4.4.2. Katalaz	18
2.4.4.3. Glutasyon redüktaz ve glutasyon peroksidaz	18
2.5. Okserutin	20
3. MATERYAL VE METOD	21
3.1. Cerrahi İşlemler Ve Hayvan Seçimi	21
3.2. Çalışma Grupları	21
3.3. Testiküler Dokuların Hazırlanması	22
3.4. Biyokimyasal Değerlendirme	22
3.5. Histopatolojik Değerlendirme	23
3.6. İstatistiksel Değerlendirme	23
4. BULGULAR	24
4.1. Biyokimyasal Bulgular	24
4.2. Histopatolojik Bulgular	26
5. TARTIŞMA	27
6. SONUÇ	36
7. KAYNAKLAR	37

TABLULAR LİSTESİ

Tablo No:	Sayfa No:
Tablo I: Literatürde testis torsiyonu çalışmaları ve kullanılan maddeler	19
Tablo II: Dokuda CAT aktivite tayini için kuvars küvetlerinin hazırlanışı	23
Tablo III: Sham ve T/D grubunun ortalama MDA, CAT, SOD, GSH-Px ve NO seviyeleri	25
Tablo IV: T/D ve T/D + Okserutin grubunun MDA, CAT, SOD, GSH-Px ve NO seviyeleri	25
Tablo V: Sham ve T/D + Okserutin grubunun MDA, CAT, SOD, GSH-Px ve NO seviyeleri	26

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No:	Sayfa No:
Şekil 1: Sağ testisin (orchis) ve epididimin dış taraftan görünüşleri	2
Şekil 2: Testis (orchis) ve epididimden geçen uzunlamasına kesit	3
Şekil 3: Testis ve epididimin beslenmesini sağlayan damarların şematik resmi	6
Şekil 4: Testis (orchis), epididimin ve duktus deferensin başlangıç bölümü	8
Şekil 5: Superoksit dismutaz tepkimesi	17
Şekil 6: H_2O_2 konsantrasyonuna bağlı olarak katalazın katalizlediği tepkimeler	18
Şekil 7: Okserutin'in ana moleküler yapısı	30

KISALTMALAR LİSTESİ

- TT:** Testis torsiyonu
İ/R: İskemi reperfüzyon
MDA: Malondialdehit
CAT: Katalaz
SOD: Süperoksit dismutaz
NO: Nitrik oksit
GSH-Px: Glutasyon peroksidaz
SOR: Serbest oksijen radikalleri
RNS: Reaktif nitrojen türevleri
ATP: Adenozintrifosfat
AMP: Adenozin monofosfat
O₂⁻: Süperoksit anyonu
H₂O₂: Hidrojen peroksit
OH⁻: Hidroksil radikali
ONOO⁻: Peroksinitrit
LOO⁻: Peroksil radikal
HOCl: Hipoklorik asit
MPFF: Mikronize saflaştırılmış flavonoid fraksiyonu
AO: Antioksidan
KVY: Kronik venöz yetmezlik

ÖZET

Testis torsiyonu, nadir görülen ancak tedavi edilmediği takdirde fertilité açısından geriye dönüşümsüz değişikliklere yol açabilen acil ürolojik bir patolojidir. Testis koruyucu yaklaşımlara rağmen testis torsiyonlu hastaların uzun dönem takiplerinde subfertilité oranları yüksek seyretmektedir.

Bu çalışmada mikronize saflaştırılmış flavonoid fraksiyonu olan ve Okserutin içeren Venoruton'un testis torsiyonu ardından gelişen iskemi-reperfüzyon (İR) hasarı üzerine olan etkisini araştırmayı amaçladık.

Çalışmada incelenecek toplam 24 Sprague-Dawley cinsi erkek rat, üç gruba randomize olarak ayrıldı. Grup 1: Sham grubu, Grup 2: 2 saat torsiyon ardından 4 saat detorsiyon uygulanan (T/D) grubu, Grup 3: Detorsiyondan 30 dakika önce orogastrikten Okserutin verilen (T/D + Okserutin) grubu. 6 saatin sonunda tüm gruplardaki ratlara sağ orşiektomi yapıldı ve testisleri biyokimyasal ve histopatolojik incelemeler için çıkarıldı. Biyokimyasal incelemeler amacıyla malondialdehit (MDA), katalaz (CAT), superoksit dismutaz (SOD), nitrik oksit (NO), ve glutasyon peroksidaz (GSH-Px) düzeyleri ölçüldü.

Ortalama MDA değerleri T/D grubunda 4 nmol/mg prt olup, Sham grubunda 1,78 nmol/mg prt, T/D + Okserutin grubunda ise 1,72 nmol/mg prt idi. Ortalama testis SOD ve CAT düzeyleri sırasıyla T/D grubunda 70,91 U/mg prt ve 70,20 U/mg prt; T/D + Venoruton grubunda ise 93,96 U/mg prt ve 98,15 U/mg prt idi.

T/D ve Sham grubuna ait değerler istatistiksel olarak karşılaştırıldığında MDA, CAT, SOD ve NO düzeyleri arasında anlamlı farklar bulundu ($p<0,05$), GSH-Px düzeyleri arasında ise anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,082$).

T/D + Okserutin ve T/D grupları doku MDA, SOD, CAT, GSH-Px ve NO değerleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, iki grup arasında MDA, CAT ve SOD düzeyleri arasında anlamlı farklar bulundu ($p<0,05$); ancak GSH-Px ve NO düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=1,0$ ve $p=0,18$ sırasıyla).

Sonuç olarak; antioksidan özellikleri de bulunan venoprotektif bir ajan olan Okserutin'in detorsiyondan önce uygulanmasının, testis dokusunda reperfüzyon esnasında oluşan serbest oksijen radikallerinin yaptığı hasarı önlediği ve antioksidan savunma sistemini güçlendirdiği bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Okserutin, İskemi reperfüzyon, MDA, SOD, Testis torsiyonu

ABSTRACT

Testicular torsion is an urologic emergency pathology; seems rarely but if not treated, it can lead to irreversible changes in terms of fertility. Despite the testes protective approaches, long-term follow-up of patients with testicular torsion subfertility rates are high.

In this study, we aimed to investigate the effect of Venoruton which was micronized pure flavonoid fraction and contains Oxerutin on the ischemia-reperfusion injury developed after testicular torsion.

Total of 24 Sprague-Dawley type male rat which will be examined in this study were randomized into three groups: Group 1: Sham group, Group 2: 2 hours torsioned then applied 4 hours detorsion (T / D) group, Group 3: 30 minutes before the detorsion, Oxerutin was given from the orogastric way (T / D + Oxerutin) group. At the end of six hours, in all groups right orchiectomy was performed to all rats and their testes were extracted for biochemical and histopathological examinations. For the biochemical analysis malondialdehyde (MDA), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), nitric oxide (NO), and glutathione peroxidase (GSH-Px) levels were measured.

The average MDA value in the T/D group was 4 nmol/mgprt in Sham group 1,78 nmol/mgprt and in T / D + Venoruton group it was 1.72 nmol / mgprt.

In T/ D group the average testes SOD and CAT levels were respectively 70.91 U/mg prt and 70.20 U/mg prt; in the T/D + Oxerutin group they were 93.96 U/ mg prt and 98.15 U/mg prt .

If the values which belongs to T/D and Sham group were statistically compared; expressive difference was found between the MDA, CAT, SOD and NO levels ($p < 0.05$), but no meaningful difference was found between the GSH-Px levels ($p = 0,082$).

When the T/D + Oxerutin and T/D group's tissue MDA, SOD, CAT, GSH-Px and NO values were statistically compared; meaningful differences were found between the two group's MDA, CAT, SOD levels ($p < 0,05$); merely the difference between the GSH-Px and NO levels were statistically not meaningful ($p = 1.0$ and $p = 0,18$ respectively).

As a result; it was found that venoprotective agent Oxerutin which also has antioxidant properties prevents free oxygen radicals damage and strengthened antioxidant defense system when applied before detorsion.

Key words: Oxerutin, ischemia-reperfusion, MDA, SOD, testicular torsion

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Testis torsiyonu ürolojik bir acildir. İlk kez 1840 yılında tanımlanmış, fakat 1907 yılında Rigby ve Howard tarafından popülerize edilmiştir (1). Genelde adölesan ve çocukluk döneminde sık görülür. 25 yaşın altındaki erkeklerde görülme sıklığı yaklaşık 1/4000 olarak bildirilmiştir. Pediatrik dönem akut skrotal hastalıkların ise %25-35'ini oluşturur. Tanı geciktiği zaman testiste fonksiyon kaybına ve infertiliteye yol açar. Testiküler torsiyon-detorsiyon (T/D) nedeniyle oluşan iskemi ve reperfüzyon (İ/R) testiküler hasara neden olmaktadır. İskemi sırasında oksijen miktarının metabolik ihtiyaçlara oranla düşük seviyede olması, hücresel enerji depolarında azalma ve toksik metabolitlerin birikimine bağlı olarak germ hücre ölümü gerçekleşir (2). Reperfüzyon safhasında hem reaktif oksijen radikalleri (ROS) (başlıca hidroksil radikalleri ve süperoksit anyonları olmak üzere) hem de reaktif nitrojen türevlerinde (RNS) (başlıca nitrik oksit (NO) ve onun peroksinitrit gibi toksik metabolitlerinde olmak üzere) ciddi artış olur (3). Bu serbest radikaller mitokondri ve hücre membranındaki lipidlerin peroksidasyonu yoluyla membran geçirgenliğinde artışa veya membran bütünlüğünde bozulmaya neden olur (4).

İskemi-Reperfüzyon (İ/R) hasarının, SOD gibi enzimler, steroid gibi metabolizanlar, allopurinol ve oksipurinol gibi antioksidan ajanlarla engellendiği gösterilmiştir. Aynı zamanda barsak, barsak mezenterisi, kalp, karaciğer, böbrek, akciğer, testis ve beyin gibi organlarda antioksidan tedavi, İ/R hasarını önleme amacıyla başarılı bir şekilde kullanılmıştır (5).

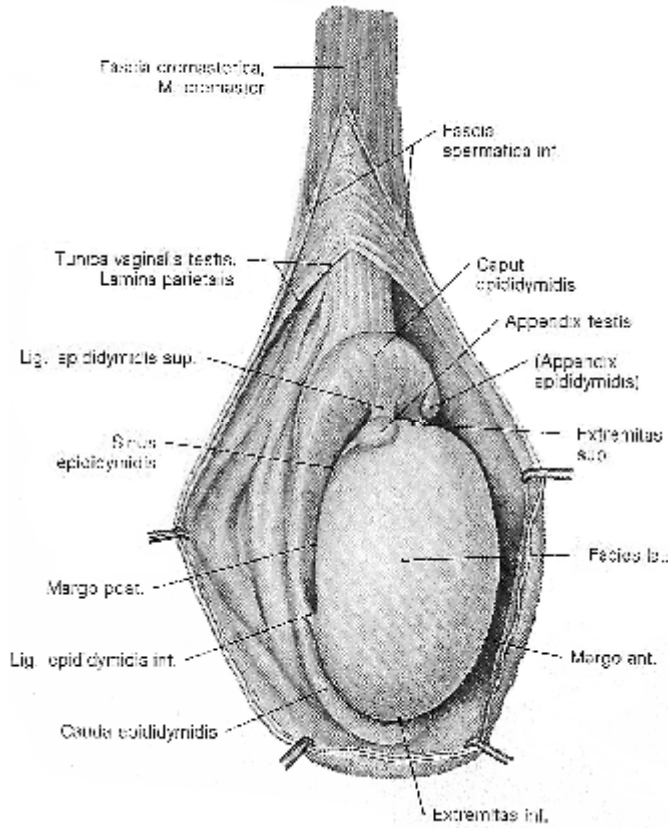
Çalışmamızın amacı tek doz Okserutin tedavisinin testisteki İ/R hasarını önlemede etkinliğini belirlemek ve ortaya koymaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Testis Ve Epididimin Anatomisi

2.1.1. Testis

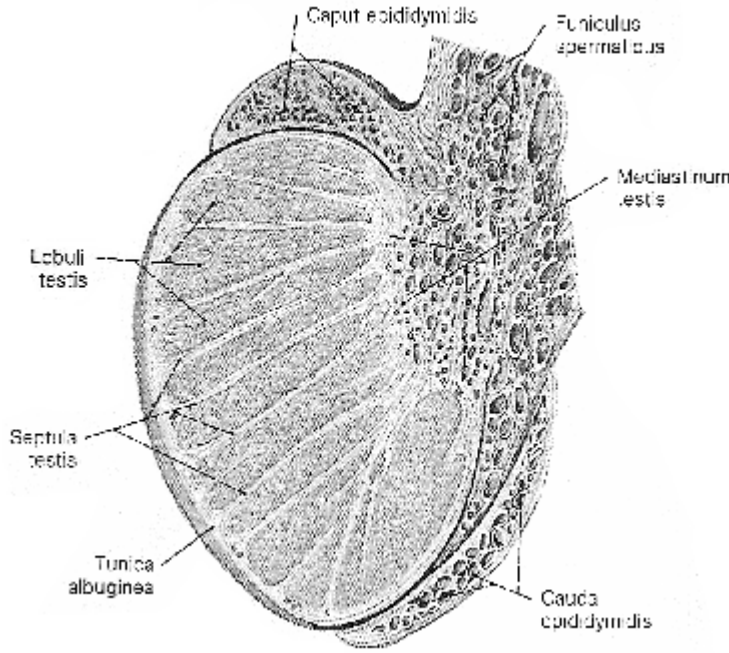
Sağlıklı genç bir erkekte, oval şeklindeki testis 15–25 ml hacminde ve longitudinal olarak 4.5–5.1 cm boyutlarındadır. Testis parankimi, üç tabakadan oluşan bir kapsül ile çevrilidir: dışta tunika vaginalisin visseral yaprağı ortada tunika albuginea ve içte tunika vasküloza. Tunika albuginea, esas olarak kollajen doku içine dağılmış çok sayıda, dallanmış, düz kas hücrelerini içerir. Bu düz kas hücreleri insan testis kapsülüne kontraktil bir kapasite verir (Şekil 1).



Şekil 1: Sağ testisin (Orchis) ve epididim'in dış taraftan görünüşleri. Lamina parietalis tunika vaginalis testis de dahil olmak üzere, testis kılıfları açılıp yana çekilmişlerdir.

İnsanlarda ve diğer birçok türlerde, kapsüler düz kas tonusu ve kontraksiyonları testiste kan akımını ayarlayabilir, çünkü testiküler arter oblik bir açı ile kapsülden geçer. Testiküler arterler tunika albugineayı penetre ettikten sonra, dalları ön tarafa testis parankimi üzerinden transvers olarak geçecek şekilde, testis parankimi arka yüzünde aşağıya doğru seyrederek. Testisin medial ve lateral bölgeleri, anterior ve inferior bölgelerine oranla daha az damar içermektedir (6).

Kalın fibröz bir kılıf olan tunika albuginea testis içine yolladığı septalarla birçok kompartmanlar oluşturur (Şekil 2). Böylece oluşan yaklaşık 400 lobülün her birinde, en az 2 tubuli seminiferi kontorti yer alır. Septalar üst pole yakın bölümde birbirine yaklaşarak mediastinum testisi oluşturur. Tubuli seminiferiler mediastene yaklaştığında kıvrımlarını kaybedip düzelirler ve duktuli rekti olarak mediastende rete testisi oluştururlar. Mediastenden yine düz olarak çıkan duktuli efferentesler epididim başına girerler.



Şekil 2: Testis (orchis) ve epididimden geçen uzunlamasına kesit.

Seminifer tubuli, testis kitesinin %85-90'ını oluşturur. Seminifer tubuli içinde germinal hücreler ve sertoli hücreleri yer alır. Sertoli hücreleri sabit sayıda, çoğalmayan hücrelerdir. Seminifer tubuli bazal membranına oturmuş ve sıkı eklemlerle birbirine bağlanmıştır. Lümene sitoplazmik uzantılar verirler ve peritübüler kontraktıl hücrelerin (myoid hücreler) katılmasıyla kan-testis bariyerini oluştururlar. Bu bariyer spermatogenetik hücrelerin immün sistemle karşılaşmasını yani immünolojik bir infertiliteyi önler. Sertoli hücreleri bir taraftan gelişen germ hücrelerini beslerken, bozulanları ve diğer yabancı artıkları fagosite eder. Ayrıca androjen bağlayıcı protein (ABP) ve inhibin üretir, androjen ve östrojenlerin katabolizmasını sağlar ve FSH reseptörleri taşır.

Tubuli seminiferi içinde spermatogenetik hücreler bazalden lümene doğru giderek olgunlaşmış şekillerde bulunurlar. İnterstisyumda bulunan Leydig hücreleri LH etkisiyle kolesterolden testosteron sentez ederler (7).

Kapsül aracılığı ile testis septalar ile ayrılmış kompartmanlara bölünür. Her bir septum, interstisyel doku kadar, gelişmekte olan germ hücreleri içeren özel bir seminifer tübül ve en az bir sentrifugal arter içerir. İnterstisyel doku sinir, kan ve lenfatik damarlar ile birlikte Leydig hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlardan meydana gelir. İnsanlarda, interstisyum total testis volümünün %20-30'unu oluşturur. İnsan testisinde bulunan 600-1200 arasındaki tübüllerin toplam uzunluğunun 250 m olduğu tahmin edilmektedir. Rete testis, testiküler sıvı ve spermatozoanın epididim baş kısmına aktarılmasında rol oynayan 6-12 adet efferent kanalcığının birleşmesiyle oluşur.

Testisin somatik innervasyonu yoktur. Fakat esas olarak intermezenterik sinirler ve renal pleksustan otonom sinirleri alır. Bu sinirler testis içine testiküler arterler çevresinden girer.

İnsan testis parankimi dakikada 100 mg doku için yaklaşık 9 ml kan ile beslenir. Fritjofsson ve arkadaşları, insanlarda sağ testis kan akımının 3.2-38.5 ml/100mg/dk olmasına rağmen, sol testisin kan akımının 1.6-12.4 ml/100mg/dk olduğunu belirtmişlerdir. Testiküler kan akımındaki bu farklılığın önemi bilinmemektedir (6).

2.1.1.1. Testiküler-skrotal arter sistemi: Testisler, vazal ve kremasterik arterlerin katkılarıyla esas olarak testiküler arter tarafından kanlanmaktadır. Üç ayrı arteriyel sistem tarafından emniyet altına alınmıştır.

1. İnternal spermatik (Testiküler) arter
2. Eksternal spermatik (Kremasterik) arter
3. Deferenşiyel (Vazal) arter

İnternal spermatik (Testiküler) arter: Ana testiküler arterdir, testis kan akımının 2/3'ünü sağlar. Abdominal aortadan, renal arterin hemen altından anterolateral yüzden çıkar, posterior olarak periton dış yüzünde ilerler, üreter ve eksternal iliak arterin alt kısmını çaprazlayarak inguinal kanal iç halkasında spermatik korda katılır. Kordda internal spermatik fasya içinde seyreder, testise girmeden önce skrotal seviyede yüksek oranda kıvrılma ve dallanma gösterir ve epididimal dalları verir. Testis orta polde, posteriorda, epididimin altında tunikayı oblik olarak geçerek testise girer. Tunika albuginea kontraktıl yapısının testis kan akışı üzerine rolü olup olmadığı açık değildir (Şekil 3).

İnternal spermatik arter testise girdikten sonra subtunikal olarak testiküler parankimin posterior yüzeyi boyunca anteriora uzanan transvers dallar vererek aşağıya doğru iner, alt pol üzerinde öne doğru ilerler, daha sonra parankimal dalları vererek ön yüzey boyunca yukarı doğru seyreder ve üst polde end arter özelliği göstererek sonlanır. Bu traseyi gösteren major süperfisial bir arterin %98 oranında bulunduğu ortaya konmuştur.

İnternal spermatic arter alt polde deferensiyel ve kremasterik arterlerle, üst polde deferensiyel arterlerle anastomoz yapar (8).

Eksternal spermatic (Kremasterik) arter: Testis kan akımının 1/6'sını sağlar, esas olarak tunika vajinalisi besler. A. iliaka eksterna'nın dalı olan a. epigastrika inferior'dan internal inguinal ring içinde ayrılır, testiküler mediastinumda internal spermatic ve deferensiyel arterlerle anastomoz yapar, tunika vaginalis üzerinde ağ yaparak sonlanır.

Deferensiyel (Vazal) arter: Testisin kan akımının 1/6'sını sağlar, a. iliaka interna'nın uç dalı olan a. vezikalis superior veya inferior'dan çıkar, vaz deferens ve epididimin globus minör'ünü besler, testise yakın yerde internal spermatic arterle anastomoz yapar. İnternal spermatic arter bağlanırsa kremasterik arterinde katkısıyla testis kan akımını artırarak regülasyon sağlar. Bu regülasyon testisi atrofiden korumak için yeterli olsa bile spermatogenezi desteklemek için yeterli olmayabilir.

2.1.1.2. Testiküler-skrotal venöz sistem: Testiküler venöz drenaj dört ayrı sistemle olmaktadır.

1. İnternal spermatic (Testiküler) ven
2. Eksternal spermatic (Kremasterik) ven
3. Deferensiyel (Vazal) ven
4. Gubernakuler ven

İnternal spermatic (Testiküler) ven: İnternal spermatic artere eşlik eder, solda renal vene dik olarak, sağda v.cava inferiora oblik olarak açılır. İnce duvarlı ve zayıf muskülerize olduğu için durgunlaşma eğilimi gösterir. Sol internal spermatic ven daha yüksek konumu ve sol testisin daha aşağı pozisyonu nedeniyle sağdakinden 8-10 cm daha uzundur. İnterior vena cava'nın daha fazla akmasıyla olan bir çekiş etkisiyle sağdaki drenajı arttırdığı düşünülmektedir (9).

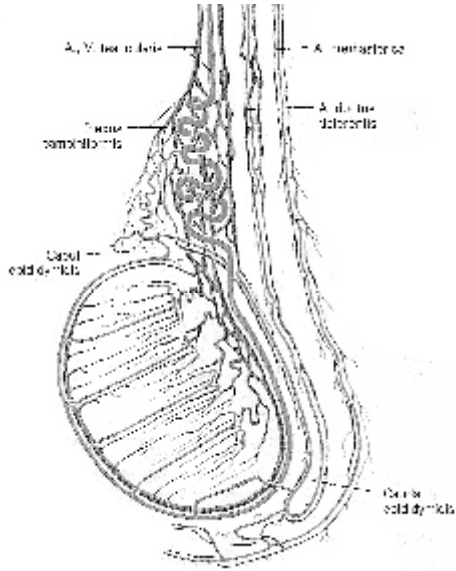
Eksternal spermatic (Kremasterik) ven: Spermatic kordun posteriorunda yer alır, eksternal inguinal ring bölgesinde yüzeysel ve derin inferior epigastrik venlere ve yüzeysel eksternal ile derin pudental venler yoluyla eksternal iliak vene açılır.

Deferensiyel (Vazal) ven: Vaz deferense eşlik eder, superior-inferior vezikal venler yoluyla internal iliak vene dökülür.

Gubernakular ven: Eksternal pudental ven, safen ven yoluyla eksternal iliak vene dökülür.

İntratestiküler küçük venler, testis yüzeysel venlerine ve rete testiste hiler venlere açılırlar, daha sonra testis ve epididimden kaynaklanan venler, mediastinumdan çıkar ve duktus deferens önünde ve testiküler arter çevresinde 8-12 venden oluşan bir ağ halinde serbest anastomoz yapan 3 ayrı ven grubu pampiniform pleksusu oluşturur.

Pampiniform pleksustaki vasküler yapı, bazı alanlarda sadece damar duvarlarının kalınlığıyla ayrılan karşılıklı arter ve venlerle, ısının ve küçük moleküllerin değişimini kolaylaştırır (10). Testosteron, konsantrasyon gradientine göre pasif difüzyonla venden artere taşınır (11). Spermatik kortda, ısının karşılıklı akımla değişimi, normal bireylerde rektal ısıdan 2-4 C° daha düşük olan testise kan sağlayarak ısı regülasyonuna katkıda bulunur (12). Pampiniform pleksus, epididim ve skrotal duvarın drenajını sağlayan kremasterik pleksus ve deferensiyel ven sistemi arasında, skrotum ve inguinal kanal seviyesinde birbirleriyle anastomozlar vardır, pleksuslar tekrar kendi aralarında birleşerek venleri oluştururlar. Böylece deferensiyel ve kremasterik gruplar, internal spermatik ven grubunun ligasyonundan sonra testisten venöz dönüş için kollateral yol sağlamış olur (Şekil 3).



Şekil 3: Testis ve epididimin beslenmesini sağlayan damarların şematik resmi. Arteria testicularis ve arteria duktus deferentis'in, arteria cremasterica'nın dalları ile anastomozlarına dikkat ediniz (M. Hundeiker 1971).

Venöz sistem anastomozları: Venöz drenaj iki anastomatik sistem yoluyla meydana gelmektedir. Bunlar testiküler, kremasterik, deferensiyel, skrotal, gubernakular, superfisial epigastrik, eksternal pudental, superfisial circumfleks, safenöz, femoral venler yoluyla olan bir yüzeyel sistem ve penil, krural, üreteral, obturator, renal kapsüler, kolonik, lumbal venler yoluyla olan bir derin sistemden oluşmaktadır. Ayrıca sağ-sol arasında üreterik (L3-5), spermatik, skrotal, retropubik, sakral seviyelerde anastomozlar oluşmaktadır (13).

Detaylı anatomik çalışmalar, sağ ve solda tek bir gövde olan spermatik venlerin L4 seviyesinde medial ve lateral bölümlere ayrıldığını ortaya koymuştur. Medial parça, sağda

vena cava inferiora, solda renal vene açılır, medialde üreteral venlerle anastomoz yapar ve kontralateral spermatik venlerle L3 seviyesinde çapraz ilişki kurar (%55). Lateral parça, kolonik venlerle (%76), renal kapsüler venlerle (%100) anastomoz yapar ve perinefrik yağlı dokuda sonlanır. Ana trunkus bifurkasyonu L4 seviyesindedir.

Pampiniform pleksustan ayrılan ve testisin mediastinal yüzüne yayılan spermatik arter testise girmeden önce aşırı kıvrımlı bir hal alır ve dallanır. Özellikle, internal spermatik arter ile deferensiyel arter arasındaki yoğun bağlantılar, bazı erkeklerde internal spermatik arterin kesilmesinden sonra bile testisin canlılığını devam ettirmesine izin verir. Kormanov ve Suranta (1971), 78 otopside yaptıkları testis arterial çalışmada, %56 oranında tek bir testiküler arter, %31 oranında 2 arter ve %13 oranında 3 ya da daha fazla arterin girdiğini saptamışlardır. Yüzden fazla spermatik kordu içeren bir intraoperatif diseksiyon çalışmasında, x10 ile x15 büyütme altında spermatik kordun %50'sinde tek, %30'unda iki ve %20'sinde üç spermatik arter saptanmıştır. Testiküler arter parankimi penetre eden santrifugal arter serilerine ayrılır. Sonraki dallar, özel olarak intertübuler ve peritübuler kapillerleri besleyen bir çift arteriole ayrılır. Seminifer tubüller yanında ip merdiveni şeklinde uzanan kapillerler, peritübuler kapillerler olarak adlandırılırken, interstisyum kolonları içinde uzanan kapillerler intertübuler kapillerler olarak adlandırılır.

Testis venlerinin, uygun intratestiküler arterler ile seyretmemesi sıktır. Parankimdeki küçük venler, testisin yüzeysel venlerine ya da rete bölgesine doğru ilerleyen mediastinuma yakın bir grup ven içine dökülür. Bu iki grup ven pampiniform pleksusu oluşturmak üzere deferensiyel venler ile birleşir. Ishigami ve arkadaşları (1970), venöz sistem duvarının ince ve zayıf kas dokulu olduğunu; inferior vena cava ya da renal vene açılma noktaları dışında etkili bir kapak mekanizması olmadığı için bu venöz sistem içinde kanın durgunlaşmasına neden olduğunu belirtmişlerdir. Bu nokta halen tartışmalıdır (6).

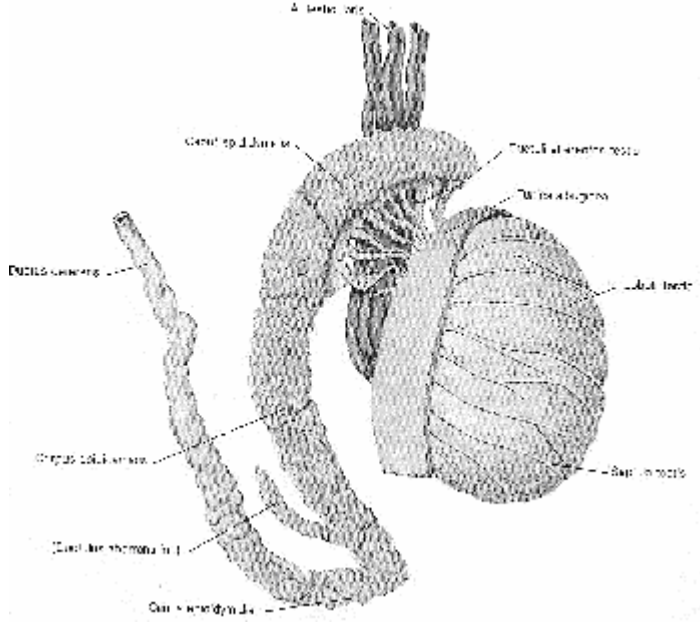
Venler testisin etrafında pleksus pampiniformisi oluştururlar ve buradan çıkan vena spermatika interna solda vena renalis, sağda vena cava inferiora dökülür (14).

Testiste spermatik kord içinde önemli lenfatik kanallar vardır. İntertübuler aralıklardan orjin alan bu lenfatik kanallar lenfatik kapillerleri oluştururlar ve seminifer tubüllere geçmezler. Lenfatikler, lomber lenf nodülleri yoluyla mediastinal nodüllere kadar uzanır.

2.1.2. Epididim

Epididim baş, gövde ve kuyruk olmak üzere üç bölümdür. Baş, testisin üst kutbunda, gövde ve kuyruk arka kısmında yer alır. Epididim gövde ve kuyruğu kıvrımlı tek bir kanaldan oluşmuştur. Rete testisten çıkan 8-20 adet duktuli efferentes epididim baş kısmına girerek

epididim lobüllerini oluştururlar. Her lobül 15-20 cm boyunda, kıvrımlı tek bir tubulusdan oluşur. Bunların tümü birleşerek, kıvrımlı bir epididim kanalı oluştururlar. Altı metre boyunda olan bu kanaldan kuyruğa doğru ilerledikçe çapı ve kalınlığı artarak duktus deferens meydana gelir. Epididim sperm depolanması, taşınması ve olgunlaşması için gerekli bir organdır (7). (Şekil 4)



Şekil 4: Testis (orchis), epididim ve duktus deferensin başlangıç bölümü. Testis kanalcıklarının açılıp düzeltilmesi halinde 5-6 metrelik bir uzunluk ortaya çıkar (Bu uzun kanal sisteminde spermiumlar olgunluklarına erişir).

2.2. Testis Torsiyonu

Testis torsiyonu bir ürolojik acildir. TT çocukluk ve gençlik çağlarındaki erkeklerde akut skrotumun ana nedenlerinden biridir. 25 yaşındaki genç erkeklerde insidansı 1/4000'dir (15). Başarılı bir cerrahi girişime karşın bu hastaların %40-60'ında testiküler atrofi ve infertilite gelişmektedir (16).

TT ilk defa 1840 yılında Delasiauve tarafından tanımlanmıştır. Genellikle yenidoğan ve adölesan dönemlerinde sık görülür. Yenidoğan döneminde TT'nun sık görülmesi yenidoğanlardaki testosteron düzeylerinin puberte dönemi hariç, diğer dönemlere göre daha yüksek düzeylerde olmasından kaynaklanır. Puberte döneminde daha sık görülmesinin nedeni ise; artan testosteron düzeyine bağlı olarak oluşan testis elevasyonu ve rotasyonudur (17).

Üç tip torsiyon oluşur:

1. Ekstravajinal torsiyon
2. İntravajinal torsiyon
3. Testis eklerinin torsiyonu (Appendiks testis ve epididim torsiyonu)

Ekstravajinal torsiyon: Tunika vajinalislerin spermatik korda bağlantı noktalarının proksimalinden gelişir. Kord birçok kez kendi etrafında torsiyone olur. Torsiyon inguinal kanal seviyesinde olabileceği gibi daha distalde de gelişebilir. Ekstravajinal torsiyonlar doğum öncesi veya doğum sonrası ilk 30 günlük dönemde gelişir. Tanı ancak doğum sonrası konulabildiğinden intrauterin torsiyonlarda testisin kurtarılabilmesi mümkün olmaz. Skrotumda şişlik tanı koydurabilecek en önemli semptomdur. İntrauterin torsiyonlar monoorsidizmin en önemli nedenlerindedir. Genelde tek taraflı gelişir. Çift taraflı olgularda ise vanishinge yol açabilir. Tedavi mutlaka cerrahidir. Ekstravajinal torsiyon genelde inguinal kanal seviyesinde olur ve sıklıkla inguinal herni de olaya eşlik eder. Cerrahi yaklaşım intrauterin torsiyonlarda da hayatın ilk günlerinde önerilmektedir. Erken müdahalede amaç karşı taraftaki testisin torsiyon riskine karşı fikse edilmesi gerekliliğidir.

İntravajinal torsiyon: Spermatik kordun, tunika vajinalise yapıştığı noktanın distalinde torsiyone olmasıdır. İntravajinal torsiyona neden olan predispozan faktörler arasında tunika vajinalislerin normale oranla spermatik korda daha proksimalde yapışmasının önemli rolü olduğu bildirilmektedir. Kasların kontraksiyonu ile sağ testis saat yönünde, sol testis ise saat yönünün tersine torsiyone olur (18). İntravajinal torsiyonla daha sık karşılaşılır (%90). İntravajinal torsiyon, tunika vajinalise göre spermatik kordun anormal yüksek yerleşimi ile karakterizedir.

Tunika vajinalis spermatik korda olması gereken yerden daha yukardan tutunur, testisin tunika vajinalis içinde bir çan tokmağı şeklinde asılı durmasına yol açar. “Clapper-bell” deformitesi adı verilen bu durum torsiyon için temel neden kabul edilir ve spermatik kordun hareketlerle veya kremasterik kontraksiyonlarla rahatça dönmesine neden olur. Ekstravajinal torsiyon daha az sıklıkla görülür (%10), yenidoğan döneminde görülen torsiyon tipidir. Gonadal dokuların skrotumla olan bağlantılarının yokluğu ya da yetersizliği sonucu oluştuğu sanılmaktadır (19). Diğer etyolojik faktörler ise; hipermobil testis, testis ekleri arasındaki zayıf ve anormal bağlantı ve poliorkidopatidir. Kriptorşidizm, testis tümörü, spermatosel, spermatik kord eklerinde anomali, kısa kord torsiyonu, “Clapper-bell deformitesi” torsiyon için predispozan faktörlerdir. Torsiyon riskini artırabilen diğer faktörler ise; pampiniform pleksus venlerinin trombozu, vaz deferensin aşırı mobilitesi, hiperaktif kremaster refleksi, gelişmemiş gubernakulum, vasküler hamartom, geçirilmiş skrotal cerrahi ve orşiopeksi olarak

sıralanabilir. Bunun dışında; yüzme, kayak sporu, cinsel aktivite, kalçaların ani fleksiyonu, ağırlık kaldırma gibi durumların da torsiyonu presipite ettiği bildirilmiştir. Ayrıca, soğuk havalarda (özellikle 15 C°'nin altında) torsiyon riski daha fazladır. Yaz aylarında torsiyon riski azalır (20).

Testis eklerinin torsiyonu (Appendiks testis ve epididim torsiyonları): Appendiks testis ve epididimlerin üst kısımlarında bulunan embriyolojik kalıntıların torsiyonu ile gelişen patolojilerdir. Uzun appendikslerin torsiyonu sonrası gelişen enflamasyon kliniği belirler. Genelde 16 yaş sonrası erkeklerde gözlenir. Şiddetli, ani bir testiküler ağrı ile olay başlar ardından testisin veya epididimin üst bölümünde kitle ele gelmesi patognomiktir. Appendiks torsiyonunda skrotum cildinde mavi-nokta bulgusu (Blue dot sign) gözlenirken palpasyonda appendiks ödemli ve şiş, testis ise normal palpe edilir. Tedavide analjezik ve skrotal destek önerilir. Eğer testis torsiyonu ile ayırıcı tanısı yapılamazsa hasta operasyona alınabilir. Operasyon yapılan hastalarda appendiks eksize edilebilir. Opere edilmeyen olgularda ise ağrı ve skrotal ödem 5-7 günde kaybolur (18).

Torsiyonun başlangıcında önce venöz akım bozulur, 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. Ashcraft'a göre 8 saatlik torsiyondan sonra testis atrofisi gelişmektedir (17). Rat ve köpek testislerindeki deneysel çalışmalarda, germinal ve tübüler hücreler için güvenli sürenin 4 saatten daha kısa olduğu bildirilmiştir (21). Deneysel çalışmalarda 720° torsiyonda, kan akımının irreversible olarak kesildiği ve tam bir iskemi olduğu gösterilmiştir (22).

2.2.1. Klinik Bulgular

Testis torsiyonu adölesan dönemde daha sık olarak görülür. Genel olarak görüldüğü dönemler erken yenidoğan dönemi ve 13 ila 16 yaş arasındaki puberte dönemidir. Genç bir erkek hastada tek testiste aniden şiddetli bir ağrı, devamında testisin şişmesi, skrotum cildinin kırmızıya dönmesi ve alt abdominal ağrıyla beraber olan bulantı ve kusma bize testis torsiyonunu düşündürmelidir. Fizik muayenede genelde şişmiş, gergin bir testis korddaki volvulusun sebep olduğu kısalmadan dolayı yukarı çekilmiş olarak saptanır. Torsiyona meyilli olan testisler skrotumda horizontal yerleşimlidirler. Bu anormallik geçmişte intermittant testis ağrısı yaşamış olan bir çok erkek çocuğunda farkedilmiş olup, spontan detorsiyone olan torsiyon episodlarını yansıtır (23). Testis ve epididimde nekroz gelişmediği müddetçe ağrı vardır. Testisin yukarı doğru kaldırılması vasküler oklüzyonu ve ağrıyı arttırır; buna prehn bulgusu denir. Torsiyonun oluşumuyla birkaç saat içerisinde lökositöz gelişebilir,

tedavi edilmez ise testiste infarktla birlikte skrotumda mavimsi bir renk değişimi ortaya çıkar. Tunikadaki ödem sıvısının effüzyonundan kaynaklanan reaktif bir hidrosel, fizik muayene bulgularını maskeleyebilir. Erken safhalarda epididim önde palpe edilerek teşhise gidilebilir. Fakat birkaç saat sonra tüm gonadın şişmesinden dolayı palpasyon ile epididim ile testis ayrımı yapılamaz. Appendiks testis torsiyonunda ağrının derecesi daha az olmasına rağmen bulgular hemen hemen aynıdır. Testisin üst kutbunda mavimsi bir siyah nokta görülür, buranın palpe edilmesi şiddetli bir ağrıya, testisin palpe edilmesi ise hafif bir ağrıya neden olur. Skrotumda inflamasyon ve ödem ortaya çıkınca testis torsiyonu ile apendiks testis torsiyonunu ayırmak zor olabilir (22). Ani başlayan karın ağrısı ile birlikte kasıkta kitlesi ve boş skrotumu olan olgularda inmemiş testise bağlı testis torsiyonu düşünölmelidir (24).

2.2.2. Tanı

Akut skrotum bulguları olan bir hastada mutlaka testis torsiyonu olabileceği düşünölererek testisteki kan akımı Doppler ultrasonografi ve/veya sintigrafik yöntemlerle tespit edilmelidir (25). Arteriyel akımın azalması torsiyon için tipiktir. Hipervaskölarite inflamatuvar hadiseleri düşöndürür. Klinik tablo ile birlikte değerlendirildiğinde Tc 99m Pertechnetate teşhiste %90-100 sensitiviteye sahiptir. Testiköler tümörler vaskölaritede artış gösterir, travmada ise damarlanmada azalma saptanır (23). Doppler ultrasonografinin, testis torsiyonundaki kan akımını değerlendirmede olguların %30'unda yanıtıcı olduğu bildirilmiştir (26). Puberte çağındaki adölesanlarda radyoizotopik scan ve Doppler ultrasonografi gibi testler daha yararlıdır. Çünkü testisin boyutları sonucun doğru çıkmasına yeterince izin verecek büyüklöktedir. Appendiks testis torsiyonunda ise testisin üst kutbunda preoperative yumuşak mavi noktanın gösterilmesi ile tanı konulur (22).

2.2.3. Ayırıcı tanı

Ayırıcı tanıda akut epididimit, akut orşit ve travma düşünölmelidir. Puberteden önce epididimit görülmesi oldukça nadirdir ve beraberinde pyüri vardır. Kabakulak orşiti de puberteden önce nadirdir ve sıklıkla parotitis ile beraberdir (23). Epididimoorşitte testis yukarı doğru kaldırılınca ağrı azalır (Prehn bulgusu negatifliği).

Strangöle inguinal herni, akut hidrosel, travmatik hematoma, idiyopatik skrotal ödem, skrotal yağ nekrozu, piyosel, testis tümörleri, testisin lösemik infiltrasyonu ayırıcı tanıda yer alan diğer hastalıklardır (17). Bununla birlikte tüm çocuklar torsiyon elimine edilinceye kadar testis torsiyonu varmış gibi tedavi edilmelidir (22).

2.2.4. Tedavi

Torsiyon tedavisinde ilk olarak manuel detorsiyon denenebilir. Kieslinger ve arkadaşları (27) testisin kaudalden kraniyale ve medialden laterale doğru detorsiyone edilmesi gerektiğini

belirtmişlerdir. Detorsiyone olan testiste ağrı geçer, testis skrotum içine gelir ve kord gevşer ama yine de sonraki torsiyon ihtimalini önlemek için cerrahiye ihtiyaç duyulabilir. Manuel detorsiyon başarısız olursa vakit kaybedilmeden cerrahi eksplorasyon yapılması önerilmektedir (28). Eksplorasyonda appendiks testis torsiyonu tanısı konya bile bu durumun cerrahi tedavisinin hastanın ağrısını gidermede daha başarılı olduğu gösterilmiştir.

Önce etkilenen taraf incelenir. Testise kan akımının başlaması için testis detorsiyone edilir. Testisin kan akımı hakkında, doppler ultrasonografi ile ameliyat anında bilgi edinilebilir. Canlılığı şüpheli olan testislerin eksize edilip edilmemesi tartışmalıdır. Testiste oluşan iskemiyin kan-testis bariyerini hasara uğrattığı ve çocukta kendi spermatogoniasına karşı potansiyel otoimmunizasyon riski oluşturduğuna ilişkin önemli kanıtlar vardır. Adölesan dönemde iskemik testis fiks edilirse erişkin dönemde spermatogenesis ile ilgili sorunlar ortaya çıkabilmektedir. On yaşından küçük çocuklarda, spermatogenesis henüz oluşmadığından ve kan-testis bariyeri olmadığından dolayı iskemiye bağlı otoimmunizasyon riski düşüktür. Bu nedenle 10 yaşından küçük çocuklarda şüpheli testisler yerinde bırakılabilir. On yaşından büyük iskemik testisi olan çocuklarda ise orşiektomi önerilir (22). Testis nekroze ise orşiektomi yapılır. Eğer testis nekroze değil ve korunacaksa, mümkünse tespit sütürü konmadan oluşturulmuş olan dartos poşuna yerleştirilir. Belingie ve arkadaşları (29) testis tunika albugineasına sütür koymanın oluşturabileceği lokal reaksiyonların testise zarar verebileceğini göstermişlerdir. Eğer sütür fiksasyonu yapılacaksa ince absorbe olabilen ve non-reaktif sütürler tercih edilmelidir. Mutlaka karşı skrotum aynı seansta incelenmelidir. Karşı testislerin tümünde neredeyse “Clapper-bell” deformitesi mevcuttur. Bu nedenle karşı testiste mutlaka tespit edilmelidir. Eksplorasyonda epididimit tanısı konursa hasta immobilize edilmeli, spor, hareket kısıtlanmalı, antibiyotik ve anti-inflamatuvar tedavi başlanmalıdır. Birkaç günlük istirahatten sonra hastaların genelde skrotal şişliği iner.

2.2.5. Prognoz

Semptomların başlangıcından itibaren 6 saat içerisinde ameliyat edilen olgulardan iyi sonuç alınmıştır (30). Şüpheli durumlarda da eksplorasyon en uygun yaklaşımdır. Dört saatlik iskemiden sonra ağır sertoli hücre hasarı görülürken, leydig hücre hasarı 10-12 saatlik iskemiden sonra ortaya çıkar. Torsiyonun süresi 6 saatten kısa ise testislerin %85 ile 97’si, 6-12 saat arasında ise %55 ile 85’i, 12-24 saat arasında ise %20 ile 80’i kurtulur. Testis torsiyonu 24 saatten uzun sürerse, kurtulma şansı %10’un altındadır (24).

2.3. İskemi ve Reperfüzyon

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, hücrel oksidatif fosforilasyonu azaltır ve adozintrifosfat (ATP), fosfokreatin gibi enerjiden zengin fosfat depolarında yetmezlik oluşur (31). İskemide enerji eksikliğine bağlı olarak; asidoz, ATP yıkım ürünlerinin birikmesi, makromolekül sentezinin durması, iyon dengesinde bozulma gibi olaylar gelişir. İskemi proinflatuar durumu uyararak lökosit adezyon molekülleri, sitokinler, endotelin, tromboksan A2 gibi mediatörlerin salınmasına neden olur (31,32).

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.

2.3.1. İskemi/reperfüzyon hasarında serbest oksijen radikalleri

İskemik dokunun reperfüzyonu sonucunda nitrik oksit (NO^-), süperoksit anyonları (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH^-) gibi toksik serbest oksijen radikalleri oluşur (33). NO^- , damar endoteli ve bazı başka dokularda L-arginin aminoasitlerinden üretilir. Süperoksit ile reaksiyona girerek oluşturduğu kuvvetli bir oksidan olan peroksinitrit (ONOO^-) ile dokulara direkt olarak ve ayrıca oluşturduğu hidroksil radikali ile dolaylı olarak hasar vermektedir. OH^- ise canlı hücrelerde, deoksiribonükleik asit (DNA), membran lipidleri, karbonhidratlar, aminoasitler gibi makro moleküllerle hızlı bir şekilde reaksiyona girerek doku hasarı oluşturmaktadır (34).

İskemi sırasında hücrel ATP hipoksantinden indirgenmektedir, normalde hipoksantin, ksantin dehidrogenaz ile ksantine oksitlenir (35). İskemi sırasında ise ksantin dehidrogenaz, ksantin oksidaza çevrilir. Ksantin oksidaz iskemi sırasında hipoksantinden ksantine dönüşümü katalizleyemez ve dokularda aşırı hipoksantin birikir. Reperfüzyon sırasında ortama yeniden giren oksijen ve ksantin oksidaz, aşırı hipoksantin ile birlikte toksik serbest oksijen radikalleri oluşturur (35,36).

Serbest oksijen molekülleri, hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna neden olarak direk hücrel membran yaralanması yapan potent okside ve redükte edici maddelerdir. Lipid peroksidasyonu sonucu membranların geçirgenliği değişmekte, membrana bağlı enzimler azalmakta ve protein sentezi inhibe olmaktadır. Lipid peroksidasyonu yeni oksijen radikallerinin oluşmasına da yol açmaktadır. Lizozom ve mitokondri gibi organellerin membranlarının bozulması ile içerdikleri enzimler hücre içine salınmakta ve böylece hücreler ölmektedir (35,37).

Serbest reaktif oksijen molekülleri, araşidonik asitten oluşan fosfolipaz A2’yi aktive ederek lökosit aktivasyonunu ve kemotaksisini stimüle ederler (38).

Ksantin oksidaz reaksiyonu sırasında ortaya çıkan süperoksit radikali nötrofillerin infiltrasyonuna neden olmaktadır (38,39).

Normal koşullarda mitokondrial elektron zincirinde de oksijen parsiyel indirgenmesi sonucu %1–5 oranında serbest oksijen molekülleri oluşmaktadır. Reperfüzyon ile gelen yüksek konsantrasyondaki moleküler oksijen, iskemi sırasında birikmiş olan indirgen moleküller (NADH, FADH₂) ile indirgenerek serbest oksijen radikali oluşturur (35).

Sonuçta reperfüzyonda çok çeşitli hücreler (vasküler endotel, kan hücreleri), organeller (mitokondri, lizozom) ve enzimler (nitrik oksit sentetaz) serbest oksijen radikali kaynağı olabilmektedir (34).

2.3.2. İskemi/reperfüzyon hasarında lökositlerin rolü

İskemi/reperfüzyon sonucunda lökosit aktivasyonu meydana gelir (31,38). Reperfüzyon ile birlikte sırasıyla kemotaksis, 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, trombozis ve parankimal hücre ölümüne neden olurlar (40).

2.3.3. İskemi/reperfüzyon hasarında komplemanın rolü

İskemi/reperfüzyon sonucunda birçok proinflamatuvar mediatör oluşur ve kompleman aktivasyonu yapar. C5a lökosit aktivasyonunu ve kemotaksisi uyarır. Monosit kemoatraktan protein 1, intelökin 1 (IL-1), interlökin 6 (IL-6) ve tümör nekrozis faktör (TNF) oluşumunu sağlayarak inflamatuvar yanıtı artırır (41).

C3b ve C5b–9 vasküler hemostazisi değiştirirler. C5b–9 endotelial interlökin 8 (IL–8) ve monosit kemoatraktan 1 sekresyonu ile lökosit aktivasyon ve kemotaksisini artırır. Endotelial siklik guanozin monofosfatı azaltarak ve endotel bağımlı relaksasyonu baskılayarak vasküler tonusu etkiler. Endotelden lökosit adezyon molekülü transkripsiyonu ve salınmasını aktive eder (41,42).

Komplemanlar lökosit endotelial yapışmasını artırarak ve vasküler hemostazisi değiştirerek iskemik organa kan akımını azaltırlar (41,42).

2.3.4. İskemi/reperfüzyon hasarı ve no-reflow fenomeni

Reperfüzyon sırasında ortaya çıkan serbest oksijen molekülleri lökositleri aktive ederek, lökositlerin damar endoteline yapışmasına neden olmaktadır. Bu lökosit-endotel yapışması sonucu kapiller yatakta tıkaçlar oluşarak dolaşım bozulmaktadır. Bu nedenle reperfüzyon sonrası kapillerin bir kısmı perfüze olamamaktadır. İskemi/reperfüzyon sonrası kapillerin bir kısmında perfüzyon geri dönmemesi “no-reflow fenomeni” olarak adlandırılmaktadır (40).

Aktive olan nötrofiller, salgıladıkları proteaz, elastaz, jelatinaz gibi enzimler ile endotel hücrelerin 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 intersitisyel alana sıvı kaybına neden olmaktadır. İntersitisyel alana sıvı kaybı sonucu gelişen hemokonsantrasyon ve interstisyel ödem, kapiller lümenin daralmasına neden olmaktadır (38,43).

Nötrofiller arasıdonik asite metabolite olan lökotrien B₄'ü salgılayarak, süperoksit radikali oluşmasına ve nötrofil kemotaksisine neden olmaktadır. Böylece pozitif feedback mekanizması ile, aktive olmuş ve tıkaç oluşturmuş olan nötrofiller yeni serbest oksijen radikalleri oluşturmaya bu da nötrofil infiltrasyonuna neden olmaktadır (38).

Serbest oksijen radikalleri hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna neden olarak hücre membranlarının geçirgenliğini artırmakta, lizozom ve mitokondri gibi organellerin membran bütünlüğünün bozulmasıyla hücre içine salınan enzimlerle de hücreler ölmektedir (40,44).

2.3.5. İskemik testis dokusundaki patolojik değişiklikler

İskemi sonrası iki saat içerisinde dokuda kanama, ödem ve germinatif hücrelerde dejenerasyon oluşur. Ancak ilerleyen saatlerde bu ödem ve kanamanın daha fazla artmadığı ancak dejenerasyonun arttığı bildirilmiştir (45). İskemi süresi 24 saati bulunca; sperm ve spermatid sayısı oldukça azalarak nekroz ortaya çıkar (46). Kontralateral testislerde ise en sık gözlenen histolojik değişiklikler, fokal organizasyon yetersizliği ve lümende immatür germ hücrelerinin görülmesidir. Ayrıca germ hücreleri tümü ile yoksa ağır hasar var demektir.

2.4. Antioksidan ajanlar ve antioksidan savunma

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya da antioksidan savunma denir. Belirli bir düzeye kadar olabilen oksidan molekül artışı yine vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidanlar tarafından etkisiz hale getirilmektedir (47).

2.4.1. Serbest oksijen radikali (SOR) tanımı:

Atomlarda elektronlar orbita adı verilen uzaysal bölgede çiftler halinde bulunurlar. Atomlar arasında etkileşim ile bağlar meydana gelmekte ve moleküler yapı oluşmaktadır. Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş tek elektron bölümlerine verilen isimdir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere oksidan moleküller veya serbest oksijen radikali SOR'da denilmektedir (48).

2.4.2. SOR sınıflandırılması:

Organizmada pek çok türde SOR oluşabilir. Ancak en sık olarak lipid yapılarla oluşur. SOR 'leri radikaller, radikal olmayanlar ve tekli oksijen şeklinde üç gruba ayrılır:

2.4.2.1. Radikaller:

Süperoksit radikal (O_2^-)

Hidroksil radikal (OH^-)

Alkoksil radikal (LO^-)

Peroksil radikal (LOO^-)

2.4.2.2. Radikal olmayanlar:

Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Lipid hidroperoksit ($LOOH$)

Hipoklorik asit ($HOCl$)

2.4.2.3. Tekli oksijen (O_2)

Doymamış yağ asitlerinin alil grubundan bir hidrojen çıkarsa lipid radikali meydana gelir. Oluşan lipid radikali oksijen ile reaksiyona girer ve lipid peroksi radikalini oluşturur. Lipid peroksi radikali diğer lipidlerle zincir reaksiyonu başlatır ve lipid hidroperoksitler oluşur. Ortamda bulunan demir ve bakır iyonları lipid peroksidasyonunu hızlandırır (49). Lipid radikaller yüksek derecede sitotoksik ürünlere de dönüşebilir. Bunlar arasında en çok bilinen ürün aldehit grubundan MDA'dır.

Hidrojen peroksit membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik rollere sahip olabilir, fakat çiftlenmemiş elektrona sahip olmadığından radikal olarak adlandırılmaz. Bu nedenle SOR, süperoksit gibi radikallerle hidrojen peroksit gibi radikal olmayanlar için ortak olarak kullanılan bir terimdir (50). Oksijen molekülü, orbitalinde çiftlenmemiş elektron taşıyorsa süperoksit radikali olarak adlandırılır. Diğer SOR grubunda ise normal oksijenden çok daha hızlı bir biyolojik molekül olan tekli oksijen bulunmaktadır. Tekli oksijen molekül yapısında iki adet çiftlenmemiş elektron taşır. Tekli oksijen hücre membranındaki poliansatüre yağ asitleriyle doğrudan reaksiyona girerek lipid peroksitlerin oluşumuna yol açar (48).

2.4.3. SOR kaynakları:

2.4.3.1. Normal biyolojik işlemler

Oksijenli solunum

Katabolik ve anabolik işlemler

2.4.3.2. Oksidatif stres yapıcı durumlar

İskemi – hemoraji – travma – radyoaktivite – intoksikasyon

Ksenobiyotik maddelerin etkisi

İnhale edilenler

Alışkanlık yapan maddeler

İlaçlar

Oksidan enzimler (Ksantan oksidaz, İndolamin dioksijenaz, Triptofan dioksijenaz, Triptofan dioksijenaz, Galaktoz oksidaz, Siklooksijenaz, Lipooksijenaz, Monoamino oksidaz)

Stres ile artan katekolaminlerin oksidasyonu

Fagositik enflamasyon hücrelerinden salgılanma (nötrofil, monosit, makrofaj, eozinofil, endotelyal hücreler)

Uzun süreli metabolik hastalık

Diğer nedenler: Sıcak şoku, güneş ışını, sigara

2.4.4. Antioksidan savunma

Hücrelerde oksidatif hasarı önleyen, yok eden veya kısmen azaltan bazı mekanizmalar bulunmaktadır. Direk etki ile oksidanları inaktive hale getiren maddelere antioksidanlar adı verilmektedir. Enzimler oksidanları tutarak daha zayıf bir moleküle dönüştürmektedirler. Vitaminler ve flavanoidler gibi bileşikler, oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirebilmektedirler. Antioksidan moleküller doğal antioksidanlar ve ilaçlar olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır.

Oksijenin hidrojen perokside dismutasyonunu superoksit dismutaz (SOD), hidrojen peroksidin dismutasyonunu ise katalaz katalizlemektedir. Glutasyon peroksidaz ise hidrojen peroksid ve lipid peroksidlerini indirgemektedir. Yükseltgenmiş glutasyonun (GSSG), indirgenmiş glutatona (GSH) dönüşümünü sağlayan glutasyon redüktaz, indirek yolla antioksidan etki göstermektedir. Enzimatik savunma sistemleri arasında NDH peroksidaz ve oksidaz ile sitokrom c oksidaz da yer almaktadır.

2.4.4.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

Oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunan SOD, süperoksidin hidrojen perokside dismutasyonunu katalizleyen bir metalloenzimdir (Şekil 5). Süperoksit anyonu serbest radikallerin yer aldığı zincir tepkimesinin kuvvetli bir tetikleyicisi olduğundan SOD, oksidatif strese karşı primer savunma mekanizmasını oluşturur.

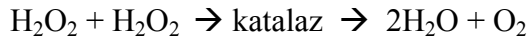
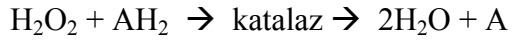


Şekil 5: SOD tepkimesi

Bugüne kadar dört farklı şekli bulunmuştur. Bu enzimin önemli örneği sığır ve insan eritrositlerinde bulunan eritrokupreindir. Sıçan karaciğerinde primer olarak sitoplazmik yerleşimli olduğu gösterilen CuZn-SOD, mitokondri ve peroksizomlarda ise eser miktarda bulunmaktadır. Lizozomlarda saptanan CuZn-SOD ise sitoplazmadan geçmektedir.

2.4.4.2. Katalaz

Yapısal olarak bir hemoprotein olan katalazın molekül kütleinin 248 kDa olduğu ve kovalent olmayan bağ ile bağlı protoporfirin IX Fe (hem) grubu içerdiği ortaya konmuştur. Kan, kemik iliği, müköz membranlar, karaciğer ve böbrekte yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Düşük hızlarda hidrojen peroksidin olduğu durumlarda veya ortamda yüksek miktarda elektron alıcısı bulunduğunda peroksidatif, hidrojen peroksid oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik tepkimeyle hidrojen peroksidi suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırmaktadır (Şekil 6).



Şekil 6: H_2O_2 konsantrasyonuna bağlı olarak katalazın katalizlediği tepkimeler

Enzimler arasında en yüksek katalitik dönüşüm hızına sahip olduğu bilinen katalazın aktivitesi için demir gereklidir.

2.4.4.3. Glutasyon redüktaz ve glutasyon peroksidaz

Glutasyon peroksidaz, glutasyon ile hidrojen peroksid veya lipid peroksidlerinin indirgenmesinde, glutasyon redüktaz ise glutasyondan oluşan disülfid bağlarının indirgenmesinde görev yapmaktadır. Hücrenin yükseltgenme-indirgenme dengesini koruyan önemli bir indirgen ve antioksidan olan glutasyon, hücreleri endojen ve eksojen kaynaklı oksidanların zararlı etkilerinden korumaktadır. Proteinlerdeki -SH gruplarının korunması ve aminoasidlerin hücre içine taşınmasında rol oynamaktadır. Glutasyon (GSH), selenyum içeren glutasyon peroksidaz ile yükseltgenmektedir.

Oksijen kaynaklı SOR'nin neden olduğu reperfüzyon hasarını engellemek için katalaz, glutasyon peroksidaz, süperoksit dismutaz gibi enzimler; askorbik asit, folik asit, verapamil, 6-hidroksidopamin ve allopurinol gibi antioksidan ajanlar kullanılmıştır (51).

Verapamil gibi kalsiyum kanal blokerleri, intraselüler sitozolik kalsiyumu azaltıp, ksantin dehidrojenazın ksantin oksidaza dönüşümünü azaltarak ve son olarak da SOR'nin üretimini

azaltarak etki eder. Detorsiyon ile birlikte antioksidan madde verilmesi ratın testis parankim fonksiyonunun düzelmesine yardımcı olur.

SOD, SOR'ni ortadan kaldırarak reperfüzyon injürisini önler. Allopurinol ve oksipurinol gibi allopurinol metabolitleri, ksantin oksidazı inhibe edip, hücredeki SOR'i azaltarak hücre reperfüzyon hasarını engellerler. İntraperitoneal olarak verilerek 6-hidroksidopamin ile oluşturulan kimyasal sempatektomi, torsiyondan sonra hipoksik ürünlerin artışı önlemiştir. Hem torsiyone testisi hem de karşı taraf testisi korumaya yönelik çok sayıda deneysel çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar; testise soğuk uygulama, reperfüzyon hasarını azaltıcı tedaviler, immüniteye bağlı gelişen hasarı önleyici tedaviler ve karşı testiste vazokonstrüksiyonu önleyici kimyasal sempatektomi olarak özetlenebilir. Testiste İ/R hasarını önlemek için yapılan deneysel çalışmaların bir kısmı ve kullanılan maddeler tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1: Literatürde testis torsiyonu çalışmaları ve kullanılan maddeler

Yazarlar

Etensel ve ark, *Pediatr Surg Int*, 2007
Guimareas ve ark, *Nutrition* 2007
Yagmurdur, *Acta Anesthesiol Scan* 2006
Özen ve ark, *Eur Surg Res* 2006
Görür ve ark, *Pharmacol Res* 2006
Sun ve ark, *Urol Int* 2006
Dökmeci ve ark, *Cell Bioch Func* 2006
Somuncu ve ark, *Int J Urol* 2006
Zhao ve ark, *Acto Pharmacol Sin* 2006
Gezici ve ark, *Ped Surg Int* 2006
Çay ve ark, *J Surg Res*, 2006
Öztürk ve ark, *Ped Surg Int* 2006
Salmasi ve ark, *Urology* 2005
Uguralp ve ark, *Eur J Ped Surg* 2005
Minutoli ve ark, 2005
Tunçkırın ve ark, *Fertil Steril* 2005
Anim ve ark, *Urol Int* 2005
Özkürkçügil ve ark, *BJU Int* 2004
Lysiak ve ark, *J Androl* 2002
Sarıoğlu ve ark, *BJU Int* 2001
Shiraisi ve ark, *Biol Reprod* 2001
Shiraisi ve ark, *Biol Reprod* 2001

Kullanılan Maddeler

Dekspantenol
Alfa-lipoik asit
Thiopental, propofol
Mexiletine
Caffeic acid phenetyl ester (CAPE)
Salvia Miltiorrhiza
L-carnitine
Trapidil
Sulfasalazine
Gabexate
N-asetil sistein
PAF antagonisti (BN-52021)
Morphine
Rosveratrol
MAPK inh. ü (PD98059)
VEGF
Asetil salisik asit, SOD, Allopurinol
Insulin-like growth factor-1
SOD, CAT, M40403
Afferent sinir blokörü (Capsaisin)
İNOS inhibitörü
Calpain inhibitörü

2.5. Okserutin

Venoruton, saflaştırılmış mikronize flavonoid fraksiyonu (MPFF) olan okserutin içerir. Okserutin'in primer farmakolojik etkisi, kapiller damarlardan suyun filtrasyon hızını ve proteinler karşısındaki mikrovasküler geçirgenliği azaltmaktır. Bu özellik, çeşitli deney hayvanlarında ve ayrıca da kronik venöz yetmezlik, idiopatik ödem, karaciğer sirozu ve diyabetik retinopati gibi çeşitli klinik endikasyonlarda gösterilmiştir. Mikrovasküler fonksiyon üzerindeki bu etki, endotel hücreleri arasındaki yarıkların azalmasıyla, endotel hücreleri arasındaki lif matriksinde değişiklik meydana gelmesiyle ve endotel hücrelerinin mikrovasküler duvara daha fazla yapışmasıyla açıklanmaktadır.

Yiyeceklerin hazırlanması ve tüketilmesi esnasında ortaya çıkan major değişikliklerden birisi de oksidasyondur. Beslenme sisteminde diğer değişiklikleri başlatan lipid oksidasyonu, besinlerin kalitesi, besleyiciliği, rengi, kokusu, yapısı ve güvenilirliğini etkiler. Antioksidanlar diyetin temel bir maddesi olan lipidlerin oksidatif bozulmasını önleme yoluyla gıda kalitesini korurlar.

Flavonoidler ve diğer bitki fenoliklerinin süperoksit (O^-), lipid alkoksil (RO^-) ve peroksil (ROO^-), nitrik oksit (NO) radikal temizleme, demir ve bakır şelasyonu, α -tokoferol rejenerasyonu fonksiyonlarına ek olarak; vazodilatatör, immünstimülan, antiallerjik, östrojenik, antiviral (HSV, HIV, influenza ve rhinovirüslere karşı) etkileri de söz konusudur (52). Fosfolipaz-A2, siklooksijenaz, lipooksijenaz enzimlerinin inhibisyonu ile antiinflamatuvar özellik gösterirler (53). Flavonoidlerin geniş bir farmakolojik kullanım alanları vardır, özellikle de mikrovasküler bozukluklarda kullanılırlar; çünkü kapiller rezistansta ve permeabilitede iyi dökümente edilmişlerdir (54). Flavonoidler kapiller rezistansı arttırmaları ve ödem oluşumunu önlerler. MPFF, noradrenalinin ven duvarındaki aktivitesini güçlendirir ve venöz kapasitansı, venöz boşalma süresini, venöz stazı ve ödemi azaltır. MPFF uygulanmasından sonra venöz tonusun artmasıyla venöz staz azalır bu da venöz dönüşün gelişmesine ve ödemin azalmasına yol açar. MPFF oral plebotropik ve vasküler koruyucu ajandır ve venöz tonusu ve lenfatik drenajı artırır, kapiller hiperpermeabilityyi ve ödem oluşumunu; mikrosirkülasyonu inflamatuvar proseslerden ve protozisden koruyarak engeller. MPFF'nin mikrosirkülasyon üzerine olan olumlu etkileri sayısız çalışmada gösterilmiştir (55,56).

3. MATERYAL VE METOD

Çalışmamız yerel etik kurul onayı alındıktan sonra ‐Laboratuvar hayvanları araştırma laboratuvarı usul ve işleyiş esasları‐ yönergesine uygun olarak, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.1. Cerrahi İşlemler Ve Hayvan Seçimi

Çalışmaya ortalama ağırlığı 75–80 gram olan 1–2 aylık prepubertal erkek Sprague-Dawley cinsi ratlar alındı. Ratlar ortalama sıcaklığı 22–24 °C ve ortalama nem oranı %50 olan gün ışığı kontrollü (12 saat karanlık, 12 saat aydınlık) bir odadaki kafeslere yerleştirildi. Tüm kafeslerin yapısı ratların devamlı olarak suya ve yeme ulaşabilmelerine olanak sağlayacak şekilde idi. Ratların suları günlük olarak değiştirildi ve kafes zeminine temiz bir ortam sağlamak amacıyla haftada 3 kez değiştirilen odun talaşı serildi. Ratlar her grupta eşit sayıda rat olacak şekilde üç gruba ayrıldı. Grup 1, Sham; Grup 2, Torsiyon/Detorsiyon (T/D); Grup 3, T/D + Okserutin.

Cerrahi işlem öncesi ratların genital bölgeleri traş edilerek sulandırılmış zefiran ile yıkandı. Ameliyat sahasının temizliği ise povidine iodine ile yapıldı. Anestezi için intraperitoneal tek doz 30 mg/kg ketamin kullanıldı. Cerrahi işlem için orta hat skrotal insizyon yapıldı. Skrotum katları açılıp sağ testise ulaşıldı. Grup 1’deki ratlara sham operasyonu uygulandı. Grup 2; T/D grubundaki ratlara 2 saat süreyle tek taraflı torsiyon yapıldıktan sonra testis detorsiyone edildi ve 4 saat beklendi. Bu gruba hiç ilaç uygulanması yapılmadı. Grup 3; T/D + Okserutin grubundaki ratlara torsiyon işlemi uygulandıktan sonra detorsiyondan 30 dakika önce nazogastrikten 500mg/kg dozunda okserutin (Venoruton, Novartis) verildi. T/D ve T/D + okserutin grubundaki ratlarda orta skrotal hattan yapılan vertikal kesi ile sağ testis dışarı alınıp gubernakulum kesildi. Testis saat yönünde 720° döndürüldükten sonra tunika albugineadan geçilen dikişlerle skrotuma tespit edildi. Daha sonra testis tekrar skrotuma yerleştirilip tabakalar kapatıldı. İki saatlik torsiyon sonrası skrotum tekrar açılarak testis detorsiyone edildi ve tekrar skrotuma yerleştirildi. Sham grubundaki ratlara ise T/D hariç yukarıda bahsedilen cerrahi işlemin aynısı uygulandı.

3.2. Çalışma Grupları

Denekler 3 gruba ayrıldı:

1. Sham grubu (n=8): Sağ testis skrotum dışına alındı, 5 dakika sonra tekrar skrotuma yerleştirilip kapatıldı ve 6 saat sonra sağ orşiektomi yapıldı.
2. Torsiyon/Detorsiyon grubu (n=8): Sağ testise saat yönünde 720° torsiyon uygulandı, 2 saat sonra detorsiyone edildi. Detorsiyondan 4 saat sonra sağ orşiektomi yapıldı.

3. Torsiyon/Detorsiyon + Okserutin grubu (n=8): Sağ testise saat yönünde 720° torsiyon uygulandı, 2 saat sonra detorsiyone edildi ve detorsiyondan 30 dakika önce okserutin verildi. Detorsiyondan 4 saat sonra sağ orşiektomi yapıldı.

3.3. Testiküler Dokuların Hazırlanması

Çalışma sonucunda ratlara sağ orşiektomi yapıldı. Elde edilen dokular iki parçaya bölündü. Birinci parça derhal sıvı nitrojen ile işlem edilerek donduruldu ve biyokimyasal incelemeler yapılana kadar -80 °C'de saklandı. İkinci parça histolojik inceleme için alındı ve Bouin solüsyonunda 24-48 saat tutularak tespit edildi.

3.4. Biyokimyasal Değerlendirme

MDA (Malondialdehit): Lipid peroksidasyonunun sekonder ürünü olan MDA'nın aerobik şartlarda pH 3,4'de tiyobarbitürik asit (TBA) ile, 90–95°C'de inkübasyonu ile pembe renkli kompleks oluşturma esasına dayanır. Oluşan renk şiddeti ortamdaki MDA konsantrasyonu ile doğru orantılıdır; 532 nm'de spektrofotometrik olarak değerlendirilir (57).

Çalışmada 50 µl süpernatant üzerine 750 µl % 20'lik asetik asit, 100 µl % 8,1'lik SDS, 350 µl saf su ve 750 µl TBA ekleyip karıştırdıktan sonra 45 dakika kaynar suda tutuldu. Daha sonra 1/15 oranında hazırladığımız Pyridin-Butanol karışımından 2,5 ml ve deiyonize sudan da 0,5 ml eklendi. Soğutmalı santrifüjde (+4 °C 4000 rpm'de 14 dakika) santrifüj edildikten sonra 532 nm'de fotometrik olarak okutuldu.

Testiste nitrit oksit miktarı ölçümü Griess yöntemine göre nitrit seviyeleri değerlendirilerek yapıldı. (58).

Dokuda SOD tayini: 10 µl süpernatant 240µ SOD fosfat tamponu eklendi ve bundan 25 µl alınarak üzerine 125 µl ksantin oksidaz (XO) ve 850 µl mikssubstrat solüsyonu eklenerek Shimatsu UV.1601 spektrofometresinde 505 nm'de kinetik olarak çalışıldı. Sonuçlar U/mg protein olarak hesaplandı.

GPX aktivitesi süpernatant ve hemolizatta Beutler yöntemiyle saptanmıştır. Reaksiyon karışımı 1 ml'lik total volümde 100µl 1M Tris-HCl pH 8,0 tampon, 20µl 0.1 M GSH, 100µl 10 U/ml GR, 100µl 2mM NADPH ve belirli miktarda saf su ve enzim içeren hemolizat ya da süpernatant, 37 °C'de 10 dakika inkübe edildi, 10µl 7 mM t-butil hidroperoksit konulduktan sonra başlatıldı. Tepkime 37°C'de enzim tarafından oksitlenen 1µmol NADPH'ın 340 nm dalga boyunda ışık yolu 1 cm olan kuvars küvetlerde 10 dakika süreyle her 5 dakikadaki absorbans değişimi izlenerek gerçekleştirildi (59).

CAT aktivite tayini için, doku süpernatantı 1:50 oranında saf su ile sulandırıldı ve 1 ml'sine 20 µl saf etanol gelecek şekilde ilave edildi, karıştırıldı ve aktivite tayini yapana kadar

tüplerin ağzı kapalı bekletildi. Deneye başlamadan önce, günlük olarak hazırlanan 10 mM H₂O₂ konsantrasyonunun doğru ayarlanıp ayarlanmadığı fosfat tamponu ile kontrol edildi. Bunun için fosfat tamponu 1:10 oranında saf su ile sulandırıldı, 1ml'lik küvete 900 µl konup ve havaya karşı 230 nm dalga boyunda okunarak absorbansı kaydedildi (OD₁).

Ölçülen fosfat tamponun içine hazırlanan 10 mM'lık peroksitten konuldu ve havaya karşı aynı dalga boyunda okunarak absorbansı kaydedildi (OD₂). Sonuç OD₂-OD₁=0.071 olduğunda, hazırlanan peroksitin konsantrasyonu tam 10 mM'dır denildi ve deneye aşağıda gösterilen prosedürde başlandı (Tablo II).

Tablo II. Dokuda CAT aktivite tayini için kuvars küvetlerinin hazırlanışı

	Kör (µl)	Numune (µl)
1 M Tris HCl, 5 mM Na ₂ , EDTA, pH 8.0	50	50
10 mM H ₂ O ₂	-	900
Saf Su	930	30
37°C'de 10 dakika inkübe edilir		
Örnek (sulandırılmış)	20	20

Oluşan tepkime 1 cm ışık yolu kuvars küvetlerde, 37°C'de 230 nm'de 0., 2.5., 5. dakikalardaki absorbans değerleri ölçülerek izlenildi. Doğrusal artış gösteren zaman aralığındaki optik dansite (OD) değerleri kullanılarak CAT enzim aktivitesi ölçüldü (59).

3.5. Histopatolojik Değerlendirme

Testis doku örnekleri parafine yatırıldı ve her bloktan elde edilen 5 mikronluk kesitler hemotoksilen-eosin (H-E) ile boyandı. Tüm kesitler yapılan işlemler hakkında bilgisi olmayan aynı patolog tarafından incelendi.

3.6. İstatistiksel Değerlendirme

Veri analizleri Windows için düzenlenmiş SPSS 'in 11.5 versiyonu ile yapıldı. Değerler ortalama +/- standart sapma olarak verildi. Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal wallis testi kullanılarak yapıldı. Kruskal Wallis testinden elde edilen p değerleri istatistiksel olarak anlamlı çıktığında multiple karşılaştırma testleri kullanılarak hangi grubun diğerinden farklı olduğu tespit edildi. Grup içi karşılaştırmalar Wilcoxo Sign Rank testi kullanılarak yapıldı. p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

Ortalama MDA değerleri Sham grubunda 1,78 nmol/mg prt (Tablo III), T/D grubunda 4,00 nmol/mg prt, T/D + Okserutin grubunda ise 1,72 nmol/mg prt bulundu (Tablo IV). Ortalama MDA düzeyi T/D grubunda Sham grubuna göre anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0,05$). Ortalama MDA düzeyi T/D + Okserutin grubunda T/D grubuna göre anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0,05$) (Tablo IV). Ortalama MDA seviyesi bakımından T/D + Okserutin grubu ile Sham grubu arasında belirgin fark bulunmadı ($p=0,43$) (Tablo V).

Ortalama katalaz seviyesi Sham grubunda 114,37 U/mg prt, T/D grubunda 70,20 U/mg prt bulundu (Tablo III). Ortalama katalaz seviyesi T/D grubunda Sham grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0,05$). Ortalama katalaz seviyesi T/D + Okserutin grubunda 98,15 U/mg prt olup T/D grubuyla kıyaslandığında anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p<0,05$) (Tablo IV). Sham ile T/D + Okserutin grubu ortalama CAT seviyesi bakımından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,17$) (Tablo V).

Ortalama SOD seviyesi Sham grubunda 110,46 U/mg prt, T/D grubunda ise 70,91 U/mg prt bulundu (Tablo III). Ortalama SOD seviyesi T/D grubunda Sham grubuna kıyasla anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0,05$). Ortalama SOD seviyesi T/D + Okserutin grubunda 93,96 U/mg prt olup, T/D grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p<0,05$) (Tablo IV). Sham grubu ile T/D + Okserutin grubu SOD seviyeleri arasında anlamlı fark bulunmadı. ($p=0,13$) (Tablo V).

Ortalama GSH-Px düzeyi Sham grubunda 0,26 U/mg prt, T/D grubunda 0,18 U/mg prt, T/D + Okserutin grubunda ise 0,018 U/mg prt bulundu. Sham grubu ile T/D grubu karşılaştırıldığında ortalama GSH-Px düzeyi açısından anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0,082$). T/D grubu ile T/D + Okserutin grubu karşılaştırıldığında ortalama GSH-Px düzeyi açısından anlamlı bir fark bulunamadı ($p=1,0$) (Tablo IV). Sham ve T/D + Okserutin grubu arasında ortalama GSH-Px seviyeleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı. ($p=0,08$) (Tablo V).

Ortalama NO düzeyi Sham grubunda 3,01 U/mg prt, T/D grubunda 1,87 U/mg prt bulundu (Tablo III). Ortalama NO seviyesi T/D grubunda Sham grubuna kıyasla anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0,05$). Ortalama NO seviyesi T/D + Okserutin grubunda 2,33 U/mg prt olup, T/D grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0,18$) (Tablo IV). Ortalama NO seviyesi bakımından Sham grubuyla T/D + Okserutin grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak Sham grubunda ortalama NO düzeyi daha düşük bulundu. ($P=0,05$) (Tablo V).

Tablo III: Sham ve T/D grubunun ortalama MDA, CAT, SOD, GSH-Px ve NO seviyeleri

	SHAM				T/D GRUBU				P değeri
	Min.	Maks.	Ort.	SD	Min.	Maks.	Ort.	SD	
MDA	1,53	2,17	1,78	0,23	2,72	4,99	4,00	1,01	0,04
CAT	96,95	137,06	114,37	14,56	44,35	92,66	70,20	20,27	0,04
SOD	102,68	118,15	110,46	5,77	64,69	79,96	70,91	5,71	0,04
GSH-Px	0,02	0,03	0,26	0,0054	0,01	0,02	0,18	0,004	0,082
NO	2,59	3,96	3,01	0,57	1,36	2,45	1,87	0,44	0,04

Tablo IV: T/D ve T/D + Okserutin grubunun MDA, CAT, SOD, GSH-Px ve NO seviyeleri

	T/D GRUBU				T/D + OKSERUTİN GRUBU				P değeri
	Min.	Maks.	Ort.	SD	Min.	Maks.	Ort.	SD	
MDA	2,72	4,99	4,00	1,01	1,32	2,88	1,72	0,60	0,04
CAT	44,35	92,66	70,20	20,27	79,94	119,74	98,15	15,33	0,041
SOD	64,69	79,96	70,91	5,71	73,03	120,84	93,96	17,0	0,009
GSH-Px	0,01	0,02	0,18	0,004	0,01	0,02	0,018	0,004	1,0
NO	1,36	2,45	1,87	0,44	1,97	3,56	2,33	0,60	0,18

Tablo V: Sham ve T/D + Okserutin grubunun MDA, CAT, SOD, GSH-Px ve NO seviyeleri

	SHAM				T/D + OKSERUTİN GRUBU				P değeri
	Min.	Maks.	Ort.	SD	Min.	Maks.	Ort.	SD	
MDA	1,53	2,17	1,78	0,23	1,32	2,88	1,72	0,60	0,43
CAT	96,95	137,06	114,37	14,56	79,94	119,74	98,15	15,33	0,17
SOD	102,68	118,15	110,46	5,77	73,03	120,84	93,96	17,0	0,13
GSH-Px	0,02	0,03	0,26	0,0054	0,01	0,02	0,018	0,004	0,08
NO	2,59	3,96	3,01	0,57	1,97	3,56	2,33	0,60	0,05

4.2. Histopatolojik Bulgular

Sham grubundaki ratlarda anlamlı hemoraji bulgusu veya konjesyon gözlenmedi. Seminifer tübüller, germ hücreleri, sertoli ve leydig hücreleri tamamen normal idi. Germinal hücreler, spermatogenezisin değişik evrelerini yansıtacak şekilde düzenli olarak sıralanmışlardı.

Testis torsiyonu oluşturulmasından sonra histopatolojik görünümde T/D grubunda Sham grubuna kıyasla ödem, konjesyon ve hemorajide kısmen artış izlendi. Ancak histopatolojik olarak T/D ile T/D + Okserutin gruplarında testislerde iskemi bulgusu olarak yaygın nekrozlar izlenmemekle birlikte erken dönem iskemik değişiklikler olarak primer spermatositlerde nükleuslarda dejeneratif değişiklikler saptandı.

T/D grubunda testiste hücre değişiklikleri daha belirgin olup spermatidlerde multinükleer görünüm saptanırken; sertoli ve leydig hücrelerinde ise herhangi bir histopatolojik değişiklik mevcut değildi. T/D grubu T/D + Okserutin grubuyla kıyaslandığında iskemik bulguların daha belirgin olduğu saptandı.

Çalışmamızda dört saatlik reperfüzyonu takiben yapılan erken dönem orşiektomi sonrası histopatolojik incelemede erken iskemi bulguları izlenmiştir. Bu histopatolojik bulgular bize erken dönemde Okserutin'in antioksidan etkisinin başladığını düşündürmüştür.

5.TARTIŞMA

Testis torsiyonu, erkeklerde testisin iskemik kalmasına neden olabilen ürolojik bir acil durumdur. Her ne kadar bu patolojinin genelde çocuk ve adölesanlarda görüldüğü düşünülse de torsiyon gözlemlenen tüm olguların yaklaşık %39'u erişkin yaşlardadır (60). Testis torsiyonuna bağlı oluşan geçici iskemi, testis dokusunda geri dönüşümsüz hasar yapabilir ve sonuçta testis atrofi gelişebilir. Bu durumda bazen orşiektomi gerekebilir. Uzun dönemde ise infertilite testiküler torsiyonun istenmeyen yan etkilerinden en önemlisidir. Bu hastalardaki fertilitte bozukluğu iskeminin derecesine ve diğer testisteki hasara bağlıdır (61). Testis torsiyonunun hızlı ve non-invaziv olarak değerlendirilmesi klinisyenler ve radyologlar için hala bir tartışma konusudur. Testis torsiyonunda tedavinin başarısı ağrının süresi ve tanının gecikmesi ile ters orantılıdır. Klinik olarak ağrı süresi, bulantı ve kusmanın eşlik etmesi ve daha önce intermittant torsiyon atakları geçirmesi torsiyon tanısının konmasına kesin olarak olmasa da kısmen yardımcı olur. Ağrı süresi tanı için önemli bir faktördür. Ağrı süresinin 6 saatten az olması tanıyı testis torsiyonuna yaklaştırır da kesin olarak tanı koydurmaz. Fizik muayenede önemli noktalardan bir tanesi kremaster refleksinin olmamasıdır. Bu önemli bulgu dışında testisin yer değiştirmesi ve yukarıda olması, skrotal eritemin eşlik etmemesi, kıvamının yumuşak olması önemli fizik muayene bulguları olarak gösterilmiştir.

Renkli doppler ultrasonografi birçok merkezin testis torsiyonu değerlendirilmesinde benimsediği temel radyolojik tetkiklerden bir tanesidir. Torsiyon tanısında en önemli kriter testise gelen kan akımında azalma ya da kaybolmanın saptanmasıdır. Öykü ve fizik muayenede testis torsiyonundan şüphe edildiğinde vakit kaybedilmeden cerrahi eksplorasyon yapılması önerilmektedir (28,62). Testis torsiyonunun cerrahi tedavisi sonrası gözlemlenen İ/R hasarı nötrofillerin infiltrasyonu ve SOR/RNS'lerin ortaya çıkmasına bağlanmaktadır. İnflamatuar dönemde, fagositik hücrelerin stimülasyonu ile süperoksit anyon radikali gibi oksijen radikalleri ortama çıkar (63). Bu ürünler hücre membran lipidlerinin peroksidasyonu ile çeşitli hücresel komponentlerde hasar oluştururlar. Malondialdehit, lipid peroksidasyonu sırasında oluşan bir İ/R hasar ürünüdür ve dokudaki birikimi lipid peroksidasyonun derecesi ile orantılıdır (64). Yapılan bir çalışmada testiküler dokudaki MDA seviyesinin reperfüzyon başladıktan dört saat sonra arttığı rapor edilmiştir (65).

Torsiyon, etkilenen testiste perfüzyonun azalmasına yol açar. Reperfüzyonun ardından ortamda oluşan serbest oksijen radikalleri nedeniyle gelişen iskemi reperfüzyon hasarı ise testiküler doku yıkımının daha da artmasına neden olabilmektedir (65).

Torsiyon sonucu hipoksi oluşmasıyla laktik asit, hipoksantin ve lipit peroksidazların doku hasarı oluşmasında önemli rol oynadığı bildirilmektedir (66). Bununla birlikte testis torsiyonunun cerrahi olarak düzeltilmesi sonucu, artan doku kan akımının da doku hasarında önemli rol oynadığı klinik ve deneysel çalışmalarla belirlenmiştir (66,67). Reperfüzyon hasarı olarak adlandırılan bu doku hasarında özellikle serbest oksijen radikallerinin önemli rol oynadığı saptanmıştır (46,68). Serbest radikaller bir veya daha fazla sayıda çiftleşmemiş elektron içeren oldukça reaktif ve toksik bileşiklerdir. En önemli radikaller oksijenden türetildiği için serbest oksijen radikalleri olarak adlandırılırlar. Hücre içinde oksijenin metabolize olduğu her yerde, oksijen ara metabolitlerini azaltmak için çalışan SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan savunma sisteminin major enzimleri vardır. Yine membranda oluşan lipofilik radikallerle savaşan vitamin E ve β -karoten, hücre dışında bulunan düşük molekül ağırlıklı birçok molekül de (ürük asit, bilirubin, haptoglobulin, askorbik asit v.b. gibi) antioksidan olarak görev yapar. SOR'nin özellikle iskemi-reperfüzyon hasarındaki rolü son yıllarda en çok çalışılan konular arasına girmiştir. İskeminin neden olduğu patolojik olaylar, özellikle hayatı tehdit eden iskemik kalp hastalığı, serebral iskemi gibi sık karşılaşılan durumlar ve bunlara karşı geliştirilen tedavi yöntemleri ile iskemik dokunun reperfüzyonunun ciddi bir doku hasarı oluşturduğu saptanmıştır (69). Özellikle süperoksit ve hidroksil radikallerinin reperfüzyon sırasında oluştuğu gösterilmiştir. Reperfüzyon hasarında adenosin trifosfat (ATP) ve adenosin difosfat (ADP) gibi yüksek enerjili fosfatlar birkaç dakika içinde yıkılmakta ve hücrede protonlar ve inorganik fosfatlar birikmektedir. Bu olay Adenosin-5'-trifosfataz (ATPaz) enzim sistemi gibi hücre içi iyon dengesini sağlayan pompaların bozulmasına neden olmaktadır (70). Reaktif oksijen metabolitlerinin oluşumu ile ortadan kaldırılması arasındaki denge, antioksidan savunma sistemi tarafından düzenlenir. Bu denge radikal oluşumu yönünde bozulunca, oksidatif stres denilen ve hücre nekrozu ve ölümü ile sonuçlanabilen olaylar zinciri oluşur.

Torsiyone testisin detorsiyonla tedavisinden sonra testiste zararlanma görülebilir. Geri dönen kan akımı ve oksijen ile ksantin oksidaz enzimi varlığında hipoksantin, ürik aside dönüşür. Bu dönüşme sırasında serbest oksijen radikalleri üretilir. Bu serbest radikaller hücre ve mitokondrial membrandaki lipidler ile reaksiyona girerek lipid peroksidleri oluştururlar. Membrandaki lipidlerin peroksidasyonu membran permeabilitesini değiştirir, dolayısıyla hücrenin bütünlüğü bozulur. Bu duruma reperfüzyon hasarı denir (39). Bu durum iki saatten

daha uzun süren torsiyon olgularında karşı taraftaki testisi de etkileyebilir. Sempatik orşiopatinin fizyopatolojide rolü olabilir. Genitofemoral sinirden sempatik deşarj oluşmakta ve 15 dk süre ile katekolaminlerde %21 oranında artış olmaktadır (71). Bu sonuçlar karşı testiste kan akımının azalmasında otonomik sinir sisteminin rol aldığını göstermektedir.

Arteriyel kan akımı ve venöz dönüşün durması için gerekli torsiyon derecesi 720°'dir (72,73). Kalp ve deri gibi organlarda tam bir iskemiden sonra serbest radikal avcıları, reperfüzyon hasarlanmasını önlemede etkilidir. Ancak barsakta bu avcılar, zararlanmayı önlemede yeterli olmazlar. Parsiyel iskeminin kısa periyodlarında zararlanmayı önleyebilirler. İskemiye cevap açısından testis ve barsaklar birbirlerine benzerlik gösterirler. Bu yüzden iskeminin, testis ve barsak canlılığına olumsuz etkisi daha fazladır (39).

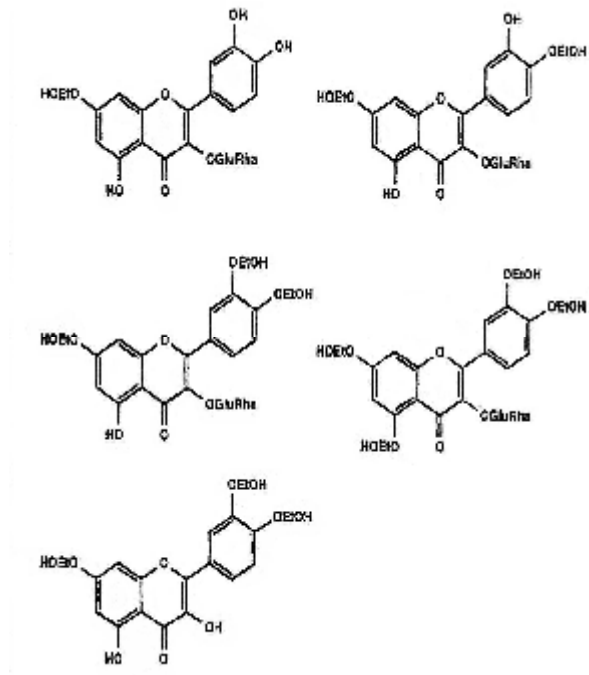
Reperfüzyon sırasında ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri lökositleri aktive ederek, lökositlerin damar endoteline yapışmalarına neden olmaktadır. Bu lökosit endotel yapışması sonucu kapiller yatakta tıkaçlar oluşarak dolaşım bozulmaktadır. Bu nedenle reperfüzyon sonrası kapillerin bir kısmı perfüze olamamaktadır. İskemi/reperfüzyon sonrası kapillerin bir kısmında perfüzyonun geri dönmemesi "no-reflow fenomeni" olarak adlandırılmaktadır (38). Testis torsiyonunda fertilitateyi etkileyecek testiküler hasarın önlenmesinde veya azaltılmasında en etkin tedavi şekli, en kısa sürede uygulanacak cerrahi tedavidir (74). Bununla birlikte iskemi sonucu oluşan doku hasarında tek etkili faktör azalmış kan akımı değildir (75). Özellikle reperfüzyon hasarında olduğu gibi pek çok immünolojik ve biyokimyasal mediatörler de bu süreçte etkili olmaktadır. Bu mediatörler her iki testisi de etkilemektedir. Bundan dolayı testis torsiyonunun tedavisinde, testiküler kan akımının artırılması yanında, iskemik hasarda etkili mediatörlere yönelik medikal tedavilerin de uygulanması doku hasarını ve geriye dönüşümsüz değişiklikleri azaltacaktır. Biz bu amaçla sentetik bir flavonoid olan Okserutin'i yeterli plazma konsantrasyonuna ulaşabilmesi için detorsiyondan 30 dk önce orogastrik yoldan ratlara verdik.

Yiyeceklerin hazırlanması ve tüketimi esnasında ortaya çıkan major değişikliklerden birisi de oksidasyondur. Antioksidanlar; diyetin temel bir maddesi olan lipidlerin oksidatif bozulmasını önleme yoluyla gıda kalitesini korur. Fenolik bileşikler ve onların bazı türleri otooksidasyonun önlenmesinde çok etkilidirler. Tüm flavonoidler, 3'-4' dihidroksi konfigürasyonu ile antioksidan(AO) aktiviteye sahiptir.

Ortalama yiyeceklerle flavonoid alımının 26 mg/gün olduğu belirlenirken, predominant flavonoidin kuarsetin olduğu saptanmıştır. Alınan esas kaynakları; çay (%61), soğan (%13) ve elma (%10) oluşturmaktadır. Soya fasulyesi, yer fıstığı, hardal, pirinç, susam, zeytin, patates, yulaf, zeytin gibi sık tüketilen gıdalarda flavonoid içerik gösterilmiştir. Adaçayı, kekik,

biberiye, karabiber ve karanfil gibi baharatların güçlü antioksidan etkiye sahip oldukları uzun süredir bilinmekte ve gıda korunmasında yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Sarmısak vitaminden zengin bir AO'dur. Kardiyoprotektif etkisinin lipid ve kan basıncını düşürmesi, antiplatelet, AO ve fibrinolitik etkileri ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Çay yapraklarından izole edilen kateşin ve türevlerinin AO etkinlikleri bilinmekle birlikte düşük dozlarda prooksidan etkilerinin olabileceği de bildirilmiştir. Sentetik bir flavonoid olan İpriflavon 1960'ların sonlarında üretilmiş ve hayvan besinlerine karıştırıldığında kemikte total Ca^{+2} seviyesini arttırdığının gösterilmesi sonucu osteoporoz tedavisinde kullanımı gündeme gelmiştir (76).

Flavonoidler doğal olarak oluşan fenolik bileşiklerdir. Hem demir şelasyonu hem de serbest radikal kurtarma özellikleri vardır (77). Standartize edilmiş flavonoid karışımı olan Okserutin 0-(β -hydroxyethyl)-rutoside vasküler hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Okserutin'in ana ögelerini 7-monoHER, 7,4-diHER, 7,3,4-triHER, 5,7,3,4-tetraHER ve 7,3,4 trihydroxylquaracetin oluşturur (Şekil 7).



Şekil 7: Okserutin'in ana moleküler yapısı

Okserutin, flavonoid sınıfına ait olan bir bileşiktir. Geniş yayımları biyokimyasal özelliklerini araştırmayı uyarmıştır. Bunun sonucu olarak oxide-redükte özellikleri aydınlatılmıştır. Okserutin Saphora Japonica adlı geleneksel Çin tıbbında kullanılan bir bitkiden elde edilen bir flavonoid olan rutinlerin türevi olan standart mono-di-tri ve tetra hydroxyethyl rutoside karışımıdır (78). Okserutin'in en önemli farmakolojik etkisi; kimyasal

veya termal çok çeşitli hasar sonucu oluşan ödem oluşumunu, mikrovasküler geçirgenlik üzerine olan inhibitör etkisiyle azaltmasıdır (79,80). Bu etki hayvanlarda ve insanlarda, hem sağlıklı gönüllülerde hem de kronik venöz yetmezlikli (KVY) hastalarda kontrollü, çift kör klinik çalışmalarla gösterilmiştir (81). Floresan paternlerinin değerlendirilmesiyle Okserutin'in hedef dokularından birisinin de venöz endotel olduğu gösterilmiştir (82). Okserutin'in farmakolojik etkisi doz bağımlıdır. Yüksek dozlar toplam farmakolojik etki süresini değiştirmeden, etki başlangıcının daha hızlı gerçekleşmesini sağlar (83). İkinci farmakodinamik etkisi eritrosit zarlarının esnekliğini düzenlemesidir (84). Kırmızı hücre agregasyonunu in vivo (85) ve invitro olarak ayrıca eritrosit deformasyonu yayılımını (86) olumlu etkiler. Üçüncü farmakolojik etkisi ise venöz endotele nötrofil ve platelet adhezyonunu engellemesidir. Okserutin, hücre hasarı arttıran ve inflamatuvar reaksiyonu uzatan serbest radikallerin antagonisti ve interreceptörü olarak davranır. Okserutin'in endotel zarı (87) ve lipooksijenaz üzerine inhibitör etkisi (77,88) ödem oluşumunun azalmasıyla birlikte kapiller geçirgenlikte azalma, serbest radikaller tarafından oluşturulan bölgesel hücre hasarının azalması ve venöz endotele granülosit ve platelet adhezyonunun azaltılmasıyla sağlanır. Bundan dolayı Okserutin'in endotel seviyesindeki etkisi venöz tonusu geliştirmektedir.

Bu bileşiğin etkisi mikrosirkülatuar sistem ve venöz yetmezlikte kapiller filtrasyonda anormal artışa neden olması, etkinlik ve tolerabilite çalışmalarında iyi dökümente edilmiştir (86). Hem mikrosirkülasyon hem de kapiller kan yapısı üzerine iyileştirici etkisi, klinik ve deneysel çalışmalarda rapor edilmiştir. Okserutin klinikte iyi etkinlik, komplians ve yan etkisiz kullanılmaktadır. Son on yılda serbest radikaller üzerine önemli etkisi de gösterilmiştir (89).

Vincenzo Petruzzelis ve ark tarafından Okserutin'in kronik venöz yetmezlikli hastalarda etkinliği randomize-çift kör çalışmayla 2002 yılında araştırılmıştır. Venöz yetmezlik hastalarında venöz tonusu hava-pletismografi ile değerlendirmişler. Kapilloskopi ile okserutin ile tedavi edilen hastalarda iyileşme saptamışlardır. Sonuç olarak Okserutin'in venöz yetmezlikte ve venöz kapasite ve volüm gibi fizyolojik parametreler üzerine klinik etkisini desteklediğini göstermişlerdir. Venöz kapasite ve volüm gibi bu fizyolojik parametrelerin ödem, şişme ve venöz mikroanjiopatiye neden olan mikrosirkülatuar bozukluklarla ilişkili venöz hipertansiyondan etkilendiğini belirtmişlerdir (90).

Okserutin'in (0-(β -Hhydroxyethyl)-rutoside), Cis-Diamminedichloroplatinum II/Hipertermi tedavisinde böbrek hasarına karşı koruyucu etkinliği, Joan M ve arkadaşları tarafından araştırılmıştır. Transplante edilen fibrosarkom tümörlü ratlara kombine tüm vücut hipertermisi

ve kemoterapisi (Cisplatin) verilmiş. Bir bioflavonoid olan Okserutin'in bu kombine tedavide teropatik indeksi etkileyip etkilemediği araştırılmıştır. Okserutin'in kombine rejimin antitümör etkisini bloke etmeden, böbrek hasarını etkili olarak durdurduğu saptanmıştır. Araştırmacılar daha önce Cisplatin'in neden olduğu yapısal ve fonksiyonel böbrek hasarına karşı bir bioflavonoid olan Okserutin'in koruyucu etkisi olduğunu göstermişlerdir (91). Bu çalışmalarında ise Okserutin'in etkinliğini genişletmeyi amaçlayarak; kombine tedavi rejiminde antitümör yanıtı etkilemeden doku koruyucu özelliğini göstermeyi amaçlamışlardır. Okserutin kronik venöz yetmezlikte vasküler permeabilityyi azaltmada (92) ve termal hasar sonucu plasma volüm kaybını azaltmada (93) etkindir. Okserutin'in kırmızı kan hücresi deformabilitesine karşı koruyucu (94), RBC azalması ve platelet agregasyonunu azaltıcı (95), endotel stabilizasyonunu artırıcı etkisi (96) ve lizozomal membran stabilizasyonunu sağlayıcı etkisi de vardır (97). Okserutin'in farmakolojik etkisinde kesin dökümente edilenler: kapiller permeabilitede azalma sağlanması ve sonuç olarakta deneysel oluşturulan çok çeşitli ödem formunda azalma sağlanmasıdır (92,96). Sugihara ve ark. (98,99) Cisplatin'in oluşturduğu oksijen radikallerinin böbrekte proksimal tübüllerde lipid peroksidasyonu yoluyla hasara neden olduğunu göstermişlerdir. Mc Ginnes ve ark., serbest radikal temizleyicilerinden SOD'un, Platinum'un neden olduğu böbrek hasarına karşı kısmi koruyucu olduğunu göstermişlerdir (100). Okserutin'in rapor edilen antiperoksidative etkisi, Platinum kaynaklı serbest radikal hasarına karşı olan koruyucu etkisinden sorumlu olabilir (101). Sonuç olarak araştırmacılar; çok çeşitli vasküler bozuklukların tedavisinde kullanılan Okserutin'in Cisplatin ve tüm vücut hipertermisi kombine tedavisinde, böbrek hasarını önlemede faydası olan ilk ilaç olduğu sonucuna varmışlardır.

Saskia ve ark. doxorubicin ile tedavi olan farelerde Okserutin'in kardiyoprotektif etkisini araştırmışlardır (102). Flavonoidler doğal olarak oluşan fenolik bileşiklerdir, hem demir şelasyonu hem de serbest radikal kurtarma özellikleri vardır (81,103). Bundan dolayı doxorubicin'in indüklediği kardiyotoksistide olası düzenleyici rolü olabilir tezinden yola çıkan araştırmacılar; çalışma sonunda standardize flavonoid karışımı olan Okserutin'in kalbi doxorubicin'in indüklediği bazal frekansta artış ve isoprenaline yanıtsızlıkta azalmaya karşı koruduğu sonucuna varmışlardır. Karışımın düşük toksisitesi vardır; farelere 5 gr/kg/gün dozunda 1 yıl süreyle verilmesi durumunda bile önemli bir toksik etki görülmez (104). Farelerde doxorubicin'le olan akut toksisite çalışmaları Okserutin'in beraber uygulanmasının yaşam süresini önemli oranda arttırdığını göstermiştir (105). Aynı zamanda Okserutin tedavisi doxorubicin'in sitotoksik etkisini azaltmamaktadır (105,106).

V.K. Shukla ve ark. insan nötrofillerinden salınan oksijen serbest radikallere ve farelerde hipoksik stresin indüklediği nörotoksisiteye karşı Okserutin'in etkisini araştırmışlardır (107). Okserutin'in farelerde Adriamycin'in indüklediği kardiyak toksisiteye karşı koruyucu etkisi vardır (101). Adriamycin'in in vivo olarak lipid peroksidasyonuna neden olduğu ve oksijen serbest radikal oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir (108). Bu gibi çalışmalar Adriamycin'in neden olduğu toksisiteye karşı; Okserutin'in koruyucu etkisinin altında, serbest oksijen radikali oluşumunu inhibe etmesinin yattığını göstermektedir. Yakın zamanlarda ilacın neden olduğu katotoniye karşı Okserutin'in antikatatonik etkisi rapor edilmiştir ve bu etkinin Okserutin'in superoksit oluşumu üzerine olan inhibitör etkisinden kaynaklanabileceği speküle edilmiştir (109). Serbest oksijen radikali oluşumunu inhibe eden ilaçların hipoksiye karşı koruyucu etkilere sahip olduğu rapor edilmiştir (110). Bu çalışmada Okserutin'in insan nötrofil hücrelerinde chemiluminescence tekniği (Fromtling ve Abruzzo 1985) uygulayarak serbest radikal oluşumunu önleyip önleyemeyeceği araştırılmıştır. İnsan nötrofillerinin chemiluminescence yanıtı üzerine Okserutin'in inhibitör etkisi lineer doz bağımlı olup, 20 $\mu\text{g}/10^6$ hücre konsantrasyonuna kadar uzanmaktadır. Buna rağmen chemiluminescence yanıtına maksimum inhibitör etki 140 $\mu\text{g}/10^6$ hücre dozunda bulunmuştur. Bu çalışmada nötrofillerin chemiluminescence yanıtı ile Okserutin konsantrasyonu arasında negatif bir korelasyon saptanmıştır. Chemiluminescence yanıtının nötrofillerden salınan oksijen serbest radikallerin miktarıyla direk olarak orantılı olduğu gösterilmiştir (111). Okserutin'in serbest oksijen radikali oluşumundaki in vitro inhibitör etkisi, hipoksik stresin neden olduğu nörotoksisiteye karşı koruyucu etkisi fikrini desteklemektedir.

Bugüne kadar yapılan deneysel çalışmalarda testiste oluşturulan İ/R hasarını önlemek için; allopurinol, oksipurinol, SOD, PRG (polietilen glikol)-SOD, katalaz, kafeik asit, fenetil ester, diltiazem, verapamil, desferoksamin, vitamin E gibi antioksidan maddeler kullanılmıştır (112). Bu maddeler İ/R hasarından sonra, SOR'nin etkisini azaltmak için değişik şekillerde etki gösterirler. Allopurinol ve oksipurinol ksantaz oksidaz enzimini inhibe ederler (35). SOD, süperoksit anyonunun hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Aynı zamanda indirekt olarak süperoksit anyonundan ve hidrojen peroksitten, hidroksil radikali ve hidroksil anyonunun oluşumunu da baskılar (113). Antioksidan maddelerin reperfüzyondan önce verilmesinin nedeni, SOR'nin ortaya çıkmadan önce plasmada yeterli konsantrasyona ulaşması içindir. Biz de çalışmamızda Okserutin'i reperfüzyondan 30 dk önce verdik. TT'nda öncelikle venlerin strangüle olması ile venöz dönüş bozulmaktadır. Ardından arterlerde ve kapillerde hem mekanik hem de İ/R hasarı sonucu parsiyelden totale kadar uzanan trombozlar oluşmaktadır. Akhter ve ark. 1 saatlik TT'

ndan sonra oluşturulan reperfüzyon hasarına tek doz oksipurinol ve PEG-SOD'ın histopatolojik olarak etkili olduğunu bildirmişler (114). Prillaman ve Turner ise 1 ve 2 saatlik TT'ndan sonra reperfüzyon hasarı oluşturdular. Tedavide antioksidan madde olarak SOD, katalaz, verapamil ve allopurinol kullandılar (112). Bu yazarlar 1 saatlik torsiyondan sonra tek doz SOD ve katalazın etkili olduğu, verapamil ve allopurinolün ise etkili olmadığını tespit ettiler. Ancak iki saatlik torsiyondan sonra oluşturulan reperfüzyon hasarına kullandıkları antioksidan maddelerin hiçbirinin etkili olmadığını gösterdiler. Kan akımının ve perfüzyon basıncının önemli bir düzenleyicisi olan NO, vasküler sistemi uygun fizyolojik uyarılara hazırlayarak etki gösterir (115). Bu madde birçok organ üzerinde düzenleyici etkisi olan yüksek oranda reaktif serbest radikaldır ve düzensiz NO sentezi birçok patolojik duruma yol açabilir (116). NO sentezi, endotelial e(NOS), nöral n(NOS) ve indüklenebilir NO i(NOS) sentetazlar tarafından gerçekleştirilmektedir. Testiküler inflamasyon bölgesinde SOR ürünlerinin yanısıra başlıca NO ve peroksinitrite olmak üzere RNS türevleri de oluşur (117). Yapılan çalışmalarda NO'in testiküler İ/R hasarında önemli bir rolü olduğu belirtilmesine karşın bu rolün ne olduğu belirsizdir. Yüksek konsantrasyonlarda NO, oksijen ve süperoksit molekülü ile etkileşime girerek DNA deaminasyonu, oksidasyon ve nitrasyonuna yol açar (118). Buna karşın, yapılan bazı çalışmalarda NO miktarının iskemi safhasında biraz artarken reperfüzyon safhasında azaldığını ortaya koymuştur (118,119). Dahası, Can ve ark. NO seviyesinin hem iskemi hem de reperfüzyon safhasında azaldığını rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise NO seviyeleri hem T/D hem de T/D + Okserutin grubunda Sham grubuyla kıyaslandığında daha düşük bulundu ($p<0,05$). Reperfüzyon safhasındaki NO seviyesinin düşmesinin nedenleri açık olmasa da bu durum NO'in süperoksit radikalleri ve hemoglobin ile reaksiyonuna bağlı olabilir (119). Ayrıca, reperfüzyon safhasında tunika albugineanın baskısı nedeniyle mekanik olarak kan akımının azalması testiküler NO seviyesinde düşmeye neden olabilir (118). Peroksinitrit, tirozin rezidülerinin nitrasyonunu artırır ve bu durum NO'deki azalmanın bir başka nedeni olabilir (120).

Aksoy ve ark. Dehydroepiandrosterone tedavisinin İ/R hasarına karşı etkili olup olmadığını araştırmışlar. DHEA uygulanmasının T/D ve T/D + Vehicle grubuyla karşılaştırıldığında testis MDA seviyesini belirgin olarak azalttığını saptamışlardır ($p<0,01$). Sham grubuyla karşılaştırıldığında aynı taraftaki CAT aktivitelerini T/D grubundan önemli olarak daha düşük, MDA seviyelerini ise belirgin olarak daha yüksek saptamışlardır ($p<0,05$ hepsi için). T/D + DHEA grubunda ipsilateral CAT ve SOD aktivitelerini T/D grubuna göre belirgin olarak daha yüksek bulmuşlardır ($p<0,05$ her ikisi içinde). T/D + DHEA grubunda ipsilateral CAT, SOD aktiviteleri ve MDA seviyelerini ise Sham grubuna benzer

saptamışlardır. Sonuç olarak; TT ile oluşturulan oksidatif stresin testislere verdiği biyokimyasal ve histopatolojik değişikliklere karşı DHEA'nun koruyucu bir ajan olarak görev yaptığını göstermişlerdir (121).

Gürdal ve ark. torsiyone rat testisinde gelişen İ/R hasarında Pentoksifilin'in antioksidan etkisini araştırmışlar. Bir saat boyunca 720° uygulanan torsiyon sonrası pentoksifilin verilen ratlarda malondialdehit düzeylerinin iskemik kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bularak; pentoksifilin antioksidan olarak etkili olduğunu göstermişlerdir. Histopatolojik bulgular sonucunda erken dönemde pentoksifilin antioksidan etkisinin başladığını belirtmişlerdir (122).

Bizim çalışmamızda ise T/D grubu Sham ile karşılaştırıldığında lipid peroksidasyon ürünü olan MDA anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p<0,05$). Antioksidan savunmada rol alan CAT, SOD ve NO seviyeleri ise T/D grubunda Sham'a göre anlamlı olarak daha düşük ($p<0,05$ her üçü içinde), GSH-Px seviyesi de T/D grubunda Sham grubuna kıyasla daha düşük bulundu; fakat fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı. Okserutin uygulanmasının T/D grubuyla karşılaştırıldığında iskeminin oluşturduğu yüksek MDA değerlerini anlamlı olarak düşürdüğünü saptadık ($p<0,05$). T/D + Okserutin grubu, T/D grubuyla kıyaslandığında CAT ve SOD değerleri anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p<0,05$). GSH-Px ve NO seviyeleri arasında ise iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p=1.0$ ve $p=0.18$ sırasıyla)

Histopatolojik değişikliklerin gelişmesi için gereken süre ve verilen maddenin iyileşme sürecinde etkili olup olmadığı konusunda tam bir fikir birliği yoktur. Bazı araştırmacılar histopatolojik hasarın gelişmesi ve antioksidan etkinliğin değerlendirilmesi için en az 15 gün sürenin geçmesi gerektiğini belirtse de, 3 saatlik torsiyon sonrası 14. günde histolojik hasarın geliştiğini ve hasarın bu sürede uzun etkili polietilen glikol süperoksit dismutaz ile dahi önlenemediğini belirten yazarlar da vardır (112,123).

Bizim çalışmamızda dört saatlik reperfüzyonu takiben yapılan erken dönem orşiektomi sonrası histopatolojik incelemede erken iskemi bulguları izlendi, ancak histopatolojik olarak T/D ve T/D + Okserutin grubu arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Her iki grupta da iskemik bulgular birbirine yakın seviyede bulundu.

6. SONUÇ

Bir flavonoid olan Okserutin'in iskemik şartlarda profilaktik olarak uygulanması; deneysel testis torsiyonunda reperfüzyon hasarını serbest oksijen radikali ve lipid peroksidasyonunu inhibe ederek önlemektedir. Okserutin'in T/D hasarından sonra testis fonksiyonlarının düzeltilmesinde, venöz endotele nötrofil ve platelet adhezyonunu engellemesi, hücresel hasarı arttıran ve inflamatuvar reaksiyonu uzatan serbest radikallerin antagonisti olarak davranması yatmaktadır. Buna rağmen histopatolojik hasarlanmaya karşı koruyucu etkisinin olup olmadığının araştırılması için uzun süreli araştırmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- 1- Rigby HM, Howard RJ: Torsion of the testis. Lancet 1907; 1: 1415-1421.
- 2- Mogilner JG, Lurie M, Coran AG, Nativ O, Shiloni E, Sukhotnik I: Effect of diclofenac on germ cell apoptosis following testicular ischemia-reperfusion injury in a rat. Pediatr Surg Int 2006; 22: 99-105.
- 3- Lysiak JJ, Nguyen QA, Turner TT: Peptide and non-peptide reactive oxygen scavengers provide partial rescue of the testis after torsion. J Androl 2002; 23: 400-409.
- 4- Akgül FM, Kılınç K, Tanyel FC, et. al: Ipsilateral and contralateral testicular biochemical acute changes after unilateral testicular torsion and detorsion. Urology 1994; 44: 413-418.
- 5- Telang VM, Stahl RE, Clark DA: Ischemic injury to rabbit ileum: Protective role of vitamin E (alpha-tocopherol: T). Pediatr Res 1986; 20: 577.
- 6- Walsh P, Retik A, Vaughan D, Wein A: Erkek reproduktif fizyolojisi içinde: Campbell Üroloji (Eds Anafarta K, Yaman Ö), Ankara, Güneş Kitabevi, 2005; 1441-1444.
- 7- Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N: Ürogenital organların anatomik ve histolojik yapısı içinde: Temel Üroloji (Eds Anafarta K), Ankara, Güneş Kitabevi, 2007; 16-17.
- 8- Jarow JP: Intratesticular arterial anatomy. J Androl 1990; 11 (3): 255-259.
- 9- Shafik A, Moftah A, Olfat S, et. al: Testicular veins: anatomy and role in varicocelegenesis and other pathologic conditions. Urology 1990; 35(2): 175-82.
- 10- Harrison RG: The comparative anatomy of the blood supply of the mammalian testis. Proc Zool Soc London 1949; 119: 25-344.
- 11- Bayard F, Boulard PY, Huc A, et al: Arterio-venous transfer of testosterone in the spermatic cord of man. J Clin Endocrinol Metab 1975; 40: 345.
- 12- Agger P: Scrotal and testicular temperature: Its relation to sperm count before and after operation for varicocele. Fertil Steril 1971; 22: 286-297.
- 13- Turek PJ, Lipshultz LI: The varicocele controversies. I. Etiology and pathophysiology. AUA update series, Vol 14, Lesson 13. Baltimore, American Urological Association 1995; 106-111.
- 14- Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N: Ürogenital Organların Anatomik ve Histolojik Yapısı içinde: Temel Üroloji (Eds Anafarta K), Ankara, Güneş Kitabevi, 2007; 17.
- 15- Barada JH, Weingarten JL, Cromie WJ: Testicular salvage and age-related delay in the presentation of testicular torsion. J Urol 1989; 142: 746-748.
- 16- Krarup T: The testes after torsion. Br J Urol. 1978; 50, 43-46.

- 17- Leape LL: Testicular torsion.: Pediatric Urology (Eds Ashcraft KW). Philadelphia, W.B.Saunders, 1990; 1556-1558.
- 18- Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N: Ürogenital Sistemin Acil Yaklaşım Gerektiren Hastalıkları içinde: Temel Üroloji (Eds Anafarta K), Ankara, Güneş Kitabevi, 2007; 960-961.
- 19- Murphy JP: The acute scrotum: Operative Pediatric Surgery (Eds Ziegler MM, Azizkhan RG, Weber TR). McGraw-Hill Companies, New York, 2003; 563-568.
- 20- Pentyala S, Lee J, Yalamanchili P, et. al: Testicular torsion: A review. J Low Urin Tract Dis 2001; 5(1): 38-47.
- 21- Kallerhoff M, Gross AJ, Bötöfür IC, et. al: The influence of temperature on changes in pH, lactate and morphology during testicular ischaemia. Br J Urol 1996; 440-445.
- 22- Hutson JM: Undescended testis, torsion, and varicocele.(Eds O'Neill JA, Rowe MI, Grosfeld JL, Fonkalsrud EW, Coran AG). Pediatric Surgery Volume Two. 5th ed, London, Mosby-Year Book Inc 1998; 1099-1101.
- 23- Tanagho E, W.McAninch J: In the disorders of the testes, scrotum and spermatic cord: Smith's General Urology (Eds Foltin J, Lebowitz H, Roche J). USA, Lange Medical Books/McGraw-Hill Companies 2000; 687.
- 24- Noseworthy J: Testicular Torsion. (Eds Ashcraft, Murphy, Sharp, Sigalet, Snyder). Pediatric Surgery 3rd Edition. United States of America: W.B Saunders Company 2000: 674-80.
- 25- Melloul M, Paz A, Lask D: The value of radionuclide scrotal imaging in the diagnosis of acute testicular torsion. Br J Urol 1995; 72: 628-631.
- 26- Mevorach RA, Lerner RM, Greenspan BS, et. al: Color doppler ultrasound compared to a radionuclide scanning of spermatic cord torsion in a canine model. J Urol 1991; 14: 428-433.
- 27- Keislinger VJ, Schroder DE, Paulijev P, Hull J: Spermatic cord bloc and manual reduction: primary treatment for spermatic cord torsion. J Urol 1984; 132: 921-923.
- 28- McAndrew HF, Pemberton R, Kikiros SC, et. al: The incidence and investigation of acute scrotal problems in children. Pediatric Surg Int 2002; 18,435-437.
- 29- Bellinger MF, Abramovitz H, Brantley S, et. al: Orchiopexy: an experimental study of the effect of surgical technique on testicular histology. J Urol (1989); 142: 553-555.
- 30- Shealdon CA: Undescended testis and testicular torsion. Surg Clin N Am 1976; 65: 465-468
- 31- 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.

- 32- Vedder NB, Fouty BW, Winn RK et. al: Role of neutrophils in generalized reperfusion injury associated with resuscitation from shock. *Surgery* 1989; 106: 509-516.
- 33- Clark IA: Tissue damage caused by free oxygen radicals. *Pathology* 1986; 18: 181-186.
- 34- Gutteridge JMC: Iron and oxygen radicals in brain. *Ann Neurol* 1992; 32: 516-521.
- 35- Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB: Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg* 1991; 161: 488-503.
- 36- Bulkley GB. Free radical-mediated reperfusion injury: a selective review. *Br J Cancer* 1987; 55: 63-66.
- 37- White BC, Grossman LI, Krause GS: Brain injury by global ischemia and reperfusion a theoretical perspective on membrane damage and repair. *Neurol* 1993; 43: 1656-1665.
- 38- 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.
- 39- Akgür FM, Kılınç K, Aktug T: Reperfusion injury after detorsion of unilateral testicular torsion. *Urol Res* 1993; 21: 395.
- 40- Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB et. al: Ischemia/Reperfusion injury. *J Surg Res* 2002; 105: 248-258.
- 41- Welbourn CRB, Goldman G, Peterson IS et. al: Pathophysiology of ischemia reperfusion injury: Central role of the neutrophil. *Br J Surg* 1991; 78: 651-655.
- 42- Granger DN, Korthuis RJ: Physiologic mechanisms of postischemic tissue injury. *Annu Rev Physiol* 1995; 57: 311-332.
- 43- Eppihimer MJ, Granger N: Ischemia/reperfusion induced leukocyte- endothelial interactions in postcapillary venules. *Shock* 1997; 8: 16-25.
- 44- Childs EW, Udopi KF, Wood JG, et al: In vivo visualization of reactive oxidants and leukocyte-endothelial adherence following hemorrhagic shock. *Shock* 2002; 8: 16-25.
- 45- Cosentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, Cockett ATK: Histological changes occurring in the contralateral testes of prepubertal rats subjected to various durations of unilateral spermatic cord torsion. *J Urol* 1985; 133: 906-911.
- 46- Choi H, Choo MS, Kim KM et. al: The alterations of cellular metabolism in the contralateral testis following spermatic cord torsion in rats. *J Urol* 1993; 150: 577-580.
- 47- Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T: Reactive oxygen particles and antioxidant defence. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* .Office Journal of the Turkish Nephrology, Association 1997; 3:4, 92–95.
- 48- Halliwell B: Drug antioxidant effects. *Drugs* 1991; 42(4): 569-605.

- 49- Kour H, Perkins MJ: The free radical chemistry of food additives. (eds Arvoma O.I, Halliwell B). Free radicals and food additives, New York, 1991.
- 50- McCord J: Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993; 26, 351-357.
- 51- Miguez JM, Recio J, Vivien-Roels B, Pevet P: Diurnal changes in the content of indoleamines, catecholeamines, and methoxyindoles in the pineal gland of the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*): Effect of photoperiod. *J Pineal Res* 1996; 21: 7-14.
- 52- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G: Structure-antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids. *Free Radic Biol Med* 1996; 20(7): 933-956.
- 53- Cao G, Sofic E, Prior RL: Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine* 1997; 22(5): 749-760.
- 54- Galley P, Thiollet M: A double-blind, placebo controlled trial of a new venoactive flavonoid fraction (S5682) in the treatment of symptomatic capillary fragility. *Int Angiol* 1993; 12: 69-72.
- 55- Lyseng-Williamson KA, Perry CM: Micronised purified flavonoid fraction: A review of its use in chronic venous insufficiency, venous ulcers and haemorrhoids. *Drug* 2003; 63: 71-100.
- 56- Bouskela E, Cyrino FZ, Lerond L: Leukocyte adhesion after oxidant challenge in the hamster cheek pouch microcirculation. *J Vasc Res* 1999; 36(suppl):11-14.
- 57- Ohkawa H, Ohishi N, Tagi K: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
- 58- Cortas NK, Wakid NW: Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990; 36: 1440-1443.
- 59- Beutler E: Red Cell Metabolism. A manual of biochemical methods. 2nd edition, Grune and Stratton Inc. New York; 1984.
- 60- Cummings JM, Boullier JA, Sekhon D et. al: Adult testicular torsion. *J Urol* 2002; 167: 2109-2010.
- 61- Baker LA, Turner TT: Leyding cell function after experimental testicular torsion despite loss of spermatogenesis. *J Androl* 1995; 16: 12-17.
- 62- Kadish HA, Bolte RG: A retrospective of pediatric patients with epididymitis, testicular torsion and torsion of testicular appendages. *Pediatrics* 1998; 102: 73-76.
- 63- Kladna A, Aboul-Enein HY, Kruk I, et. al: Scavenging of reactive oxygen species by some nonsteroidal anti-inflammatory drugs and fenofibrate. *Biopolymers* 2006; 82: 99-105.

- 64- Draper HH, Hadley M: Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990; 186: 421-431.
- 65- Ozturk H, Buyukbayram H, Ozdemir E, et al: 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.
- 66- Hirashima Y, Endo S, Otsuji T, et al: Platelet activating factor and cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1993; 78: 592-597.
- 67- Nagler HM, White RD: The effect of testicular torsion on the contralateral testis. *J Urol* 1982; 128: 1343-1348.
- 68- Kızılcın F, Bernay I, Tanyel FC, et al: Ipsilateral and contralateral testicular blood flows during unilateral testicular torsion by ¹³³Xe clearance technique. *Int Urol Nephrol* 1992; 24: 515-520.
- 69- McCord J.M: Oxygen- derived free radicals in postischemic tissue injury: In *Mechanisms of disease*. (Eds Epstein F.H). The N. England, J Med 1985; 159-163.
- 70- Rangan U, Bulkley G.B: Prospects for treatment of free radikal mediated tissue injury.(Eds Cheeseman KH, Slater T.F). *Free radicals in Medicine*. British Medical Bulletin. London. 1993; 700-717.
- 71- Otçu S, Durakoğulugil M, Orer H, et al: Tek taraflı testis torsiyonunda karşı genitofemoral sinirden olan sempatik deşarj değişiklikleri. 20. Çocuk Cerrahisi Kongresi 2002; (SB 13) October 15-19.
- 72- Cosentino MS, Robinowitz R, Valvo SR: The effect of prepubertal spermatic cord torsion of subsequent fertility in rats. *J Androl* 1984; 5: 93-96.
- 73- Turner TT, Howard S: Acute experimental testicular torsion no effect on the contralateral testes. *J Androl* 1985; 6: 65-69.
- 74- Haynes BE, Bessen HA, Haynes VE: The diagnosis of testicular torsion *JAWA* 1983; 249: 2522-2527.
- 75- Palmer JS, Cronie WJ, Plzak LF, et al: A Platelet activating factor antagonist attenuates the effects of testicular ischemia. *J Urol* 1997; 158: 1, 86-90.
- 76- Çimen B: Flavonoidler ve antioksidan özellikleri. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* 1999; 19: 5.
- 77- Rekka E, Kourounakis P.N: Effect of hydroxyethyl rutosides and related compounds on lipid peroxidation and free radical scavenging activity. Some structural aspects. *J Pharmacol*. 1991; 43: 486-491.

- 78- Wermeille M, Chollet D: 0-(β -hydroxyethyl)-rutosides: Chemical aspects. *Int J Microcirc Clin Exp* 1992; 11 (suppl 1) 170.
- 79- Hilton JG : Effects of 0- β -hydroxyethyl-rutosides (HR) administered post burn after thermal injury induced plasma volume loss in the nonresuscitated dog. *Burns* 1982; 8: 391-394.
- 80- Gerdin B, Svensjoe E: Inhibitory effect of the flavonoid 0-(β hydroxyethyl)-rutosides on increased microvascular permeability induced by various agents in rat skin. *Int J Microcirc Clin Exp* 1983; 2: 39-46.
- 81- Timeus C: The effect of oral 0-(β -hydroxyethyl)-rutoside (HR) versus placebo on vessel wall permeability and selective permeability in the microcirculation of the skin in healthy volunteers. In *Phlebology* 85, (Eds Negus D), London. J Libbey & Co Ltd, 1986; 825-830.
- 82- Roland IH, Bougelet C, Ninane N, et al: Effect of hydroxyethylrutosides on hypoxia-induced neutrophil adherence to umbilical vein endothelium. *Cardiovasc Drugs Ther* 1998; 12: 375-381.
- 83- Nocker W, Diebschlag W: An investigation of dosage effects with drinking solutions of 0-(beta-hydroxyethyl)- rutosides (Translation from German). *VASA* 1987; 16: 365-369.
- 84- Schmid-schoenbein H, Volger E, Weiss J, et al: Effect of 0-(β -hydroxyethyl)-rutosides on the microrheology of human blood under defined flow conditions. *VASA* 1975; 4: 263-270.
- 85- Van Haeringen NJ, Glasius E, Ten Cate JW, et al: Effect of 0-(β -hydroxyethyl)-rutoside on red cell and platelet functions in man. *Bibl Anat* 1973; 12: 459-464.
- 86- Sonnenfeld T, Ekestroem S, Koul BL: Hydroxyethyl rutosides during extracorporeal circulation: Effect on erythrocyte deformability. *Scand J Thorac Cardiovasc Surg* 1985; 19: 85-87.
- 87- Nees S: Evidence for antioxidative endothelium protective effects of bioflavonoid 0-(β -hydroxyethyl)-rutosides (HR). 16th World Congress of International Union of Angiology Paris 1992; 320.
- 88- Robak J, Duniec Z, Rzadkowska-Bodalska H, et. al: The effect of some flavonoids on nonenzymatic lipid oxidation and enzymatic oxidation of arachidonic acid. *Pol J Pharmacol Pharm* 1986; 38: 483-491.
- 89- Alcaraz MJ, Ferragravendiz ML: Modification of arachidonic metabolism by flavonoids. *J Ethnopharmacol* 1987; 21: 209-229.
- 90- Nicolaidis AN: Investigation of chronic venous insufficiency: A consensus statement. *Circulation* 2000; 102: 126-163.

- 91- Dobyan D.C, Bull J.M, Strebel F.R, et. al: Protective effects of (0-(β -hydroxyethyl)-rutoside] on cisplatin-induced acute renal failure in the rat. *Lab Invest* 1986; 55: 557-563.
- 92- Bergqvist D, Hallbook T, Umilimi B, et. al: A double-blind trial of [0-(β -hydroxyethyl)-rutoside] in patients with chronic venous insufficiency. *VASA* 1981; 10: 253-260.
- 93- Hilton J.G: Dose-related inhibition by intravenous hydroxyethyl rutosides of plasma volume loss after thermal injury. *R. Soc Med* 1980; 42:15-25.
- 94- Lukjan H, Rose D, Chyzy R, et. al: The effect of HR [0-(β -hydroxyethyl)-rutoside], Venoruton, on the deformability of erythrocytes in patients with arteriosclerosis obliterans of lower limbs. *Folia Haematol (Leipz.)* 1985; 12: 191.
- 95- Hladovec J: Antithrombotic effects of some flavonoids alone and combined with acetyl salicylic acid. *Arzneim Forsch* 1977; 27: 1989-1992.
- 96- Gerdin B, Svensjo E: Inhibitory effects of the flavonoid [0-(β -hydroxyethyl)-rutoside) on increased microvascular permeability induced by various agents in the rat skin. *Int J Microcirc Clin Exp* 1983; 2: 39-46.
- 97- Rao C.N, Rao V.H, Verbruggen L, et. al: Effect of bioflavonoids on lysosomal acid hydrolases and lysosomal stability in adjuvant induced arthritis. *Scand J Rheumatol* 1980; 9: 280-289.
- 98- Sugihara K, Gemba M: Modification of cisplatin toxicity by antioxidants. *Jpn J Pharmacol* 1986; 40: 353.
- 99- Sugihara K, Nakano S, Kata M, et. al: Stimulatory effect of cisplatin on production of lipid peroxidation in renal tissues. *Jpn J Pharmacol* 1987; 43: 247-252.
- 100- McGinness J.E, Proctor P, Demopoulos H.B: Amelioration of cisplatin nephrotoxicity by orotate superoxide dismutase. *Physiol Chem Phys* 1978; 10: 267-277.
- 101- Gulanti O.P, Nordmann H, Aellig A, et. al: Protective effects of [0-(β -hydroxyethyl)-rutosides] (HR) against Adriamycin- induced toxicity in rats. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1985; 273: 323-334.
- 102- Saskia A, Emile E.Voest, Dolf B, et. al: Cardioprotective properties of 0-(β -Hydroxyethyl)-rutosides in Doxorubicin-pretreated BALB/c Mice. *Cancer Research* 1993; 53: 4603-4607.
- 103- Ekstroem S, Welti R: The affinity of hydroxyethylrutosides for the venous wall and its efficacy in preventing early occlusions of aorto-coronary vein bypass grafts. *Phlebology* 1990; 5 (supp 11): 41-48.

- 104- Roland IH, Bougelet C, Ninane N, et al: Effect of hydroxyethyl-rutosides on hypoxia-induced neutrophil adherence to umbilical vein endothelium. *Cardiovasc Drugs Ther* 1998; 12: 375-381.
- 105- Nocker W, Diebschlag W: An investigation of dosage effects with drinking solutions of 0-(beta-hydroxyethyl)-rutosides (Translation from German). *VASA* 16 1987; 365-369.
- 106- Schmid-schoenbein H, Volger E, Weiss J, et al: Effect of 0-(beta-hydroxyethyl)-rutosides on the microrheology of human blood under defined flow conditions. *VASA* 4 1975; 263-270.
- 107- Shukla V.K, Sethi A.K, Garg S.K, et. al: Effect of Venoruton on hypoxic stress-induced neurotoxicity in mice and oxygen free radical generation by human neutrophils. *Arch Int Pharmacodyn* 1989; 299, 127-133.
- 108- Yamanaka N, Kato T, Nishida K, et. al: Elevation of serum lipid peroxide level associated with doxorubicin toxicity and its amelioration by (dl)-alpha-tocopheryl acetate or coenzyme Q10 in mouse. *Cancer Chemother. Pharmacol* 1979; 3: 223-227.
- 109- Aley K.O, Kulkarni S.K: Anticatatonic effect of venoruton. *Meth Find Exp Clin Pharmacol* 1988; 10: 263-265.
- 110- Suzuki J, Imaizumi S, Kayama T, et. al: Chemiluminescence in hypoxic brain: The second report in cerebral protective effect of mannitol, vitamin E and glucocorticoid. *Stroke* 16 1985; 695-700.
- 111- Allen R.C, Loose L.D: Phagocytic activation of a luminol dependent chemiluminescence in rabbit alveolar and peitoneal macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1976; 69: 245-252.
- 112- Prillaman HM, Tuner TT: Rescue of testicular function after acute experimental torsion. *J Urol* 1997; 157: 340-345.
- 113- Ceballos-picot I, Trivier JM, Nicole A: Age correlated modifications of copperzinc superoxide dismutase and glutathione related enzyme activities in human erythrocytes. *Clin Chem* 1992; 38: 66-70.
- 114- Akhter S, Sridher S.S, Katlowitz N.M, et. al: Immune response to testicular ischemia and reperfusion. *J Urol* 1990; 143: 262.
- 115- Rodeberg DA, Chaet MS, Bass RC, et. al: Nitric oxide: An overview. *Am J Surg* 1995; 170: 292-303.
- 116- Moncada S, Palmer RM, Higgs EA: Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109-142.

- 117- Miyasaka N, Hirata Y: Nitric oxide and inflammatory arthritides. *Life Sci* 1997; 61: 2073-2081.
- 118- Kono T, Saito M: Real-time monitoring of nitric oxide and blood flow during ischemia-reperfusion in the rat testis. *Mol Cell Biochem* 2006; 286: 139-145.
- 119- Koltuksuz U, Irmak MK, Karaman A ve ark: Testicular nitric oxide levels after unilateral testicular torsion/detorsion in rats pretreated with caffeic acid phenethyl ester. *Urol Res* 2000; 28: 360-363.
- 120- Nakagawa H, Komai N, Takusagawa M, et. al: Nitration of specific tyrosine residues of cytochrome C is associated with caspase-cascade inactivation. *Biol Pharm Bull* 2007; 30,15-20.
- 121- Aksoy H, Yapanoglu T, Aksoy Y ve ark: Dehydroepiandrosterone treatment attenuates reperfusion injury after testicular torsion and detorsion in rats. *J of Pediatric Surgery* 2007; 42, 1740-1744.
- 122- Gürdal M, Tekin A, Erol A, et. al: Antioxidant effect of Pentoxifylline in ischemia-reperfusion injury in torsioned rat testes. *Türk Üroloji Dergisi* 2002; 28 (3): 260-263.
- 123- Greenstein A, Smith-Harrison LI, Wakely PE: The effect of polyethylene glycol-superoxide dismutase administration on histological damage following spermatic cord torsion. *J Urol* 1992; 148: 639-641.