

**T.C.**  
**BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**NÜKLEER TIP ANABİLİM DALI**

**RATLARDA DENEYSEL TESTİS TORSİYONUNA BAĞLI**  
**İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINA KARŞI AGMATİN'İN**  
**KORUYUCU ETKİSİNİN Tc99m PERTEKNETAT**  
**SİNTİGRAFİSİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Turgay SOLAK**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Yrd. Doç. Dr. Y. Sami SALİHOĞLU**

**ZONGULDAK 2013**

**T.C.**  
**BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**NÜKLEER TIP ANABİLİM DALI**

**RATLARDA DENEYSEL TESTİS TORSİYONUNA BAĞLI**  
**İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINA KARŞI AGMATİN'İN**  
**KORUYUCU ETKİSİNİN Tc99m PERTEKNETAT**  
**SİNTİGRAFİSİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Turgay SOLAK**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Yrd. Doç. Dr. Y. Sami SALİHOĞLU**

**ZONGULDAK 2013**

## TEZ ONAY TUTANAĞI


**Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte:** Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi

**Tez Başlığı** : Ratlarda Deneysel Testis Torsiyonuna Bağlı İskemi-Reperfüzyon Hasarına Karşı Agmatin'in Koruyucu Etkisinin Tc-99m Perteknetat Sintigrafisi İle Değerlendirilmesi


**Tez Yazarı** : Arş. Gör. Dr. Turgay SOLAK

**Tez Savunma Tarihi:** 25/05/2013

**Tez Danışmanı** : Yrd. Doç. Dr. Yavuz Sami SALIHOĞLU

  
Doç. Dr. Mehmet ÇABUK  
Jüri Başkanı

Yrd. Doç. Dr. Yavuz Sami SALIHOĞLU  


Yrd. Doç. Dr. Rabiye USLU  
Üye  


UYGUNDUR

08/07/2013

  
Prof. Dr. Mustafa AYDIN  
Dekan

## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca mesleki bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Mehmet ÇABUK'a; eğitimimde ve tez çalışmamın yürütülmesindeki değerli katkıları, sabrı ve hoşgörüsü için tez danışmanım değerli hocam Yrd. Doç Dr. Y. Sami SALİHOĞLU'na teşekkür ederim.

Tez çalışmamın yürütülmesi ve yazılması sürecindeki değerli yardımları için Histoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Yrd. Doç. Dr. Meryem AKPOLAT FERAH'a, Yrd. Doç. Dr. Kanat GÜLLE'ye, Üroloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Hüsnü TOKGÖZ'e ve Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Murat CAN'a, istatistik çalışmalarındaki yardımlarından dolayı Öğr. Gör. Mustafa Çağatay BÜYÜKUYSAL'a ve tez konunun belirlenmesi sürecindeki değerli katkılarından dolayı Tıbbi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Hale SAYAN ÖZAÇMAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Birlikte çalışma fırsatı bulduğum kısa sürede bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Rabiye USLU'ya; eğitimimin bir döneminde birlikte çalışmış olmaktan mutluluk duyduğum, bilgi ve deneyimlerinden yararlanma fırsatı bulduğum Uzm. Dr. Kevser KAVAK ve Uzm. Dr. Duygu YÖRÜK ATİK'e; uzmanlık eğitimim boyunca birlikte uyum içinde çalıştığım asistan arkadaşım, değerli dostum Dr. Tarık ELRİ'ye ve anabilim dalımızın diğer tüm pesoneline teşekkür ederim.

Zor zamanlarımda sabır ve desteğini esirgemeyen eşime ve bana sıkıntılarımı unutturana, mutluluk kaynağım olan oğluma ayrıca teşekkür ederim.

## ÖZET

**Solak T, Deneysel Testis Torsiyon-Detorsiyonunda Agmatin'in Koruyucu Etkisinin Tc-99m Perteknetat Sintigrafisi İle Değerlendirilmesi, Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nükleer Tıp Tezi. Zonguldak, 2013.**

**Amaç:** Ratlarda oluşturulan iskemi reperfüzyon hasarına karşı bir iNOS inhibitörü olan Agmatin uygulamasının koruyucu etkisinin sintigrafik, histopatolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirmek.

**Gereç-Yöntem:** 29 winstar albino cinsi rat üç gruba ayrıldı. Birinci gruba (SH n=10), sham operasyonu yapıldı, ikinci gruba (İ/R n=10) torsiyon-detorsiyon işlemi yapıldı, üçüncü gruba (İ/R+Ag n=9) torsiyon ve detorsiyondan 15 dakika önce Agmatin uygulandı. Bütün deney gruplarına reperfüzyondan 24 saat sonra dinamik ve statik testis sintigrafisi görüntüleri alındı. Bilateral orşiektomi yapıldıktan sonra testislerin gama kaunter ile radyonüklid sayımları, doku MDA ve total antioksidan kapasite ölçümleri ile histopatolojik incelemeleri yapıldı.

**Bulgular:** İ/R grubunda histopatolojik hasar skorları ve doku MDA seviyeleri sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ); İ/R+AG grubu ile sham grubu kıyaslandığında anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ). Total antioksidan kapasite değerleri İ/R+AG grubunda sham ve İ/R grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ). Sağ testislerde sham, İ/R ve İ/R+AG grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ). Doku Tc99m perteknetate uptake değerleri yönünden kıyaslama yapıldığında bütün gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ).

**Sonuç:** Testis iskemi-reperfüzyon hasarında Agmatin uygulaması total antioksidan kapasiteyi artırarak oluşacak hasarı azaltmaktadır. Görsel ve kantitatif sintigrafik değerlendirmeler bu etkiyi değerlendirmek için çok faydalı gözükmemektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Agmatine, torsiyon-detorsiyon, Tc-99m perteknetate

## ABSTRACT

**Solak T, Evaluation of Protective Effects of Agmatine in Experimental Testicular Torsion-Detorsion With Evaluation of Tc-99m Pertechnetate Scintigraphy, Bülent Ecevit University, Faculty of Medicine, Thesis in Nuclear Medicine, Zonguldak 2013.**

**Objective:** Purpose of this study was to determine the protective effect of Agmatine against damage from ischemia-reperfusion injury in rats, for which the scintigraphy, biochemical and histopathological methods were used.

**Materials and Methods:** 29 winstar albino rats were divided into three groups. The first group (SH, n = 10), sham-operation, the second group (I / R, n = 10), torsion-detorsion was performed, and the third group (I / R + AG, n = 9) plus agmatine applied torsion-detorsion process. Testicular dynamic and static scintigraphy were performed in all treated groups after 24 hours of reperfusion. Radionuclide gamma counting, MDA and total antioxidant capacity measurement and histopathological examination was performed after bilateral orchiectomy.

**Results:** I/R group, histological injury scores and tissue MDA levels were statistically significantly higher than in sham group ( $p < 0.05$ ); I/R + Ag group compared with the sham group, there was no significant difference ( $p > 0.05$ ). Total antioxidant capacity (TAC) values was statistically significantly higher in the I/R+Ag group compared with other groups ( $p < 0.05$ ). TAC values in without torsion testes, there was no statistically significant difference between the all groups ( $p > 0.05$ ). There was no significant difference compared to the values of tissue uptake of technetium-99m pertechnetate between the groups ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** Testicular ischemia-reperfusion injury reduces the damage by increasing total antioxidant capacity agmatine application. Visual and quantitative scintigraphic evaluation does not seem very useful to evaluate this effect.

**Key Words:** Agmatine, torsion-detorsion, Tc-99m pertechnetate

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ .....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT .....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
ŞEKİL DİZİNİ .....	ix
TABLO DİZİNİ .....	x
GRAFİK DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. Testislerin Anatomisi .....	2
2.2. Rat Testisi Anatomisi .....	6
2.3. Testis Torsiyonu .....	7
2.4. İskemi Reperfüzyon Hasarı .....	9
2.5. Serbest Radikaller.....	14
2.6. Antioksidanlar .....	17
2.7. Agmatin .....	18
2.8. Testis Sintigrafisi.....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	23
3.1. Deney Hayvanları.....	23
3.2. Agmatin ve Serum Fizyolojik Uygulaması .....	23
3.3. Cerrahi İşlemler ve Anestezi Uygulaması.....	23
3.4. Sintigrafik İnceleme .....	24
3.4.1. Radyofarmasötüğün Hazırlanması Ve Uygulanması .....	24
3.4.2. Sintigrafik Görüntüleme .....	24
3.4.3. Sintigrafik Değerlendirme .....	25
3.4.4. Tc-99m Tutulumunun İn Vitro Ölçümü .....	25
3.5. Ratların Sakrifiye Edilmesi, Kan Ve Doku Örneklerinin Alınması .....	25
3.6. Histopatolojik Değerlendirme .....	26
3.7. Biyokimyasal Değerlendirme.....	26

3.8. İstatistiksel Yöntem .....	27
4. BULGULAR .....	28
4.1. Sintigrafik Bulgular .....	28
4.2. Biyokimyasal Bulgular .....	29
4.3. Histopatolojik Bulgular .....	32
5. TARTIŞMA .....	38
6. SONUÇLAR .....	46
7. KAYNAKLAR .....	47
8. EKLER .....	58
Ek 1: Etik Kurul Onayı .....	58



## SİMGELER VE KISALTMALAR

ADC	: Arjinin dekarboksilaz
cpm	: Dakikada sayım miktarı 'count per minute'
cpp	: Piksel başına sayım miktarı 'count per pixel'
CAT	: Katalaz
DAO	: Diamin oksidaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
İR	: İskemi reperfüzyon
İR+AG	: İskemi reperfüzyon+Agmatin
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
eNOS	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
nNOS	: Nöronal nitrik oksit sentaz
LEHR	: Düşük enerjili yüksek çözünürlüklü ' <i>low energy high resolution</i> '
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz
NO	: Nitrik oksid
NOS	: Nitrik oksit sentaz
ODC	: Ornitin dekarboksilaz
PMNL	: Polimorf nüveli lökosit
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RSNA	: Renal sempatik sinir aktivitesi ' <i>renal sympathetic nerve activity</i> '
RNS	: Reaktif nitrojen türevleri
SOD	: Süperoksit dismutaz

## ŞEKİL DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1: Testislerin anatomisi.....	2
Şekil 2: Sham grubuna ait normal morfolojik yapıdaki testis görüntüsü. ....	34
Şekil 3: İskemi-Reperfüzyon grubuna ait hasarlanmış sol testis görüntüsü.....	34
Şekil 4: İskemi-Reperfüzyon grubuna ait, sağ testis görüntüsü .....	35
Şekil 5: İskemi-Reperfüzyon+Agmatin grubuna ait sol testis görüntüsü.....	35
Şekil 6: İskemi-Reperfüzyon+Agmatin grubuna ait, sağ testis görüntüsü .....	36

## TABLO DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
<b>Tablo 1:</b> Cosentino ve ark. (1986) göre, incelenen histolojik parametreler.....	26
<b>Tablo 2:</b> Testislerde doku Tc 99m perteknetate uptake (cpg) değerlerinin istatistiksel analizi .....	29
<b>Tablo 3:</b> Testislerde doku MDA değerlerinin istatistiksel analizi.....	30
<b>Tablo 4:</b> Testislerde doku TAK değerlerinin istatistiksel analizi.....	31
<b>Tablo 5:</b> Cosentino'ya göre, sol testislerdeki histolojik skorların deneklere göre dağılımı.....	37
<b>Tablo 6:</b> Cosentino'ya göre, grupların sol testislerinde seminifer tübüllerin histolojik skorları.....	37
<b>Tablo 7:</b> Cosentino'ya göre, grupların sol testislerinde interstisyumun histolojik skorları.....	37

## GRAFİK DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
<b>Grafik 1:</b> Sham, İskemi-Reperfüzyon ve İskemi-Reperfüzyon+Agmatin gruplarında, sağ ve sol testislerde ortalama Tc 99m perteknetate uptake'inin grafikte gösterilmiştir. ....	29
<b>Grafik 2:</b> Sham, İskemi-Reperfüzyon ve İskemi-Reperfüzyon+Agmatin gruplarında, sağ ve sol testislerde ortalama Doku MDA değerleri grafikte gösterilmiştir. ....	31
<b>Grafik 3:</b> Sham, İskemi-Reperfüzyon ve İskemi-Reperfüzyon+Agmatin gruplarında, sağ ve sol testislerde ortalama Doku TAK değerleri grafikte gösterilmiştir. ....	32

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Testis torsiyonu, spermatik kordun kendi eksenini etrafında dönmesine bağlı olarak, testis ve eklentilerinin kan akımının engellenmesi olarak tanımlanır. Çocukluk ve gençlik çağlarındaki erkeklerde akut skrotumun ana nedenlerinden biridir.

Testis torsiyonu iskemik hasar, detorsiyon ise reperfüzyon hasarı oluşturarak dokuda bir takım değişikliklerin ortaya çıkmasına neden olur. İskemi-reperfüzyon hasarından serbest oksijen radikallerinin (SOR) ve reaktif nitrojen türevlerinin (RSN) zararlı etkilerinin rol oynadığı gösterilmiştir. Bu hasarların azaltılmasında birçok antioksidan özelliği olan maddenin denendiği çalışmalar yapılmıştır. Ancak klinik olarak kullanıma girmiş bir farmakolojik ilaç bulunmamaktadır.

Testis torsiyonunun ayırıcı tanısında testis sintigrafisi uzun süredir kullanılan bir yöntemdir. Ancak reperfüzyon hasarına bağlı oluşan değişiklikleri tespitini değerlendirildiği çok az çalışma bulunmaktadır.

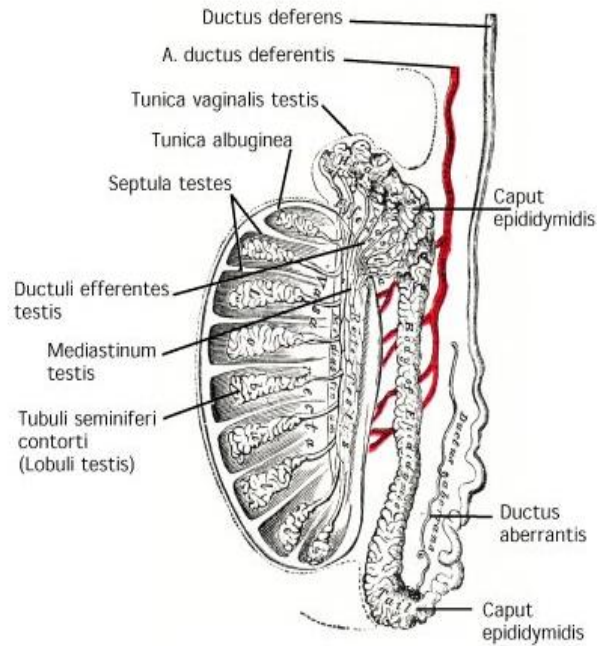
Çalışmamızda oluşturulan testis torsiyon-detorsiyon ile ilgili değişiklikleri göstermede sintigrafik yöntemin rolünü ortaya koymayı amaçladık. Ayrıca başka organlarda meydana gelen reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisi üzerinde çalışılmış olan agmatinin testisteki etkisini göstermeyi hedefledik.

Başarılı bir cerrahi tedaviye rağmen hastaların yaklaşık yarısında testiküler atrofi ve infertilite gelişmektedir. Bu açıdan testiküler iskemireperfüzyon hasarının önlenmesinde etkili olabilecek maddeler üzerinde araştırmalar infertilitenin önlenmesi bakımından önemlidir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Testislerin Anatomisi

Erişkin bir erkeğin testisinin her biri yaklaşık 4x3,5x3 cm boyutlarında, hacmi 15-25 ml kadardır. Testis, fibroblastlar ve kollajenden yoğun bir yapıda olan “tunica albuginea” adı verilen kompakt bağ dokusu ile çevrelenmiştir. Bunun altında nispeten daha gevşek bağ dokusu yapısında “tunica vaskulosa” adı verilen damarsal bir tabaka yer alır. Tunika albuginea testisin arkasında kalınlaşarak mediastinum testisi oluşturur. Burada tunika albugineanın iç yüzünden çıkan fibröz septalar testisi yaklaşık 250 adet, piramit biçimli lobüllere ayırır. Herbir lobülün içinde bir ile dört arasında değişen sayıda kıvrımlı seminifer tübül bulunur. Seminifer tübüller ise “rete testis” diye isimlendirilen kanal ağına açılırlar. Tunika albuginea'nın üzerinde peritonun uzantısı olan “tunica vaginalis” yer almaktadır. Tunika vaginalis, iç kısımda yer alan ve epididimi çevreleyen viseral tabaka ile daha dışta yer alan paryetal tabaka olmak üzere iki yapraklıdır. Bunların da dışında sırasıyla “fascia spermatica interna”, “*musculus cremaster*”, “*fascia spermatica externa*”, “*tunica dartos*” ve cilt yer alır (1).



Şekil 2: Testislerin anatomisi (Gray's anatomi).

Spermatik kordun içine katılan yapılar duktus deferens, duktus deferensin arter ve veni, testiküler arter, “*plexus pampiniformis*”, “*plexus deferentialis*”, “*processus vaginalis peritonei*”, “*musculus cremaster*”, “*arteria cremasterica*”, “*vena cremasterica*”, lenf damarları, ilioinguinal sinir ve genitofemoral sinirin genital dallarından oluşur. Bu yapılar birbirine gevşek bir bağ dokusuyla bağlanmış ve dıştan kas lifleri ile “*fascia spermatica externa*”, “*fascia cremasterica*”, “*fascia spermatica interna*” adı verilen zarlarla çevrelenmiş durumdadır (1).

Testisler, üç arteriyel sistem tarafından kanlanır:

- a) İnternal spermatik (Testiküler) arter
- b) Eksternal spermatik (Kremasterik) arter
- c) Deferenseyel (Vazal) arter

İnternal spermatik (Testiküler) arter: Ana testiküler arterdir, testis kan akımının 2/3'sini sağlar. Abdominal aortadan, renal arterin hemen altından anteriolateral 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 seyrederek, testise girmeden önce skrotal seviyede yüksek oranda kıvrılma ve dallanma gösterir ve epididimal dalları verir. Testis orta polde, posteriorda, epididimisin altında tunikayı oblik olarak geçerek testise girer. İnsan testiküler parankimi 100 mg dokuya yaklaşık 9 ml/dk kan sağlar. Metabolik ihtiyaca göre kan akışı değişkenlik göstermektedir.

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

Deferenseyel (Vazal) arter: Testis kan akımının 1/6'sini sağlar. A. iliaka internanın uç dalı olan a. vezikalıs superior veya inferiordan çıkar. Vaz deferens ve epididimisin globus minorunu besler, testise yakın yerde internal spermatik arterle anastomoz yapar. İnternal spermatik arter bağlanırsa kremasterik arterin katkısıyla testis kan akımını bir miktar korunur. Bu regülasyon testis atrofisini önlemede yeterli olsa bile spermatogenezini desteklemek için yeterli olmayabilir.

Testiküler venöz drenaj dört ayrı sistemle olmaktadır:

İnternal spermatic (Testiküler) ven: İnternal spermatic artere eşlik eder, solda renal vene dik olarak, sağda v. cava inferiora oblik olarak açılır. Sol internal spermatic ven daha yüksek konumu ve sol testisin daha aşağı pozisyonu nedeniyle sağdakinden 8–10 cm daha uzundur.

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

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

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

Pleksus pampiniformis: İntratestiküler küçük venler, testis yüzeyel 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 şebeke halinde serbest anastomoz yapan 3 ayrı ven grubu “*pampiniform pleksusu*” oluşturur. Pampiniform pleksustaki vasküler yapı karşılıklı ısı ve küçük moleküllerin değişimini mümkün hale getirirler. Testosteron, konsantrasyon gradientine göre pasif difüzyonla venden artere taşınır. Spermatic kordonda ısının karşılıklı akımla değişimi, normal bireylerde rektal ısıdan 2–4°C daha düşük olan testise kan sağlayarak ısı regülasyonuna katkıda bulunur. Pampiniform pleksus, epididim ve skrotal duvarın drenajını sağlayan kremasterik pleksus ve deferensiyel ven sistemi arasında, skrotum ve inguinal kanal seviyelerinde karşılıklı anastomozlar oluştururlar. Bu pleksuslar tekrar kendi içlerinde bir araya gelmek sureti ile venöz yapıları meydana getirirler. Bunun sonucu olarak deferensiyel ve kremasterik gruplar, internal spermatic ven grubunun ligasyonundan sonra testisten venöz dönüş için kollateral yol sağlamış olur (2).

Testisin lenfatik drenajı seminifer tübüller etrafındaki lenfatik kapillerlerle interlobüler septadan başlayıp spermatic kordu izleyerek paraaortik, interaortokaval ve perikaval lenf düğümlerine açılırlar.

Testisin sinir innervasyonu asıl olarak sempatik postganglionik ve viseral afferent sinirlerle olmaktadır. Sinirler genelde damarları takip ederek testise ulaşırlar.



Tunica albuginea dışında dallara ayrılan sinirler interstisyuma kan damarları ile birlikte ulaşırlar (1,3).

Testisler hem spermeleri üretir, hem de androjenleri üreterek salgılar. Bu işlevleri göze alındığında testisler bileşik, tübüler, halokrin, iç salgı ve dış salgı bezi gibi düşünülebilir. Bu bakımdan hormonal bir kontrol düzeneği testislerin çalışması için gerekli olmaktadır. Hormonal kontrol düzeneği, hipofiz ile Leydig hücreleri ve Sertoli hücreleri arasındaki düzgün ilişkilerle ayarlanır. Bu ilişkilerde endokrin ve parakrin yollar kullanılır.

Testis tunika albugineanın testis içine uzanan kesintili bağ dokusu ile bölmelere ayrılır. Bu bölümlere lobül denir. Lobüllerin içerisinde seminifer tübüller bulunur. Seminifer tübüller seminifer epitel ile döşeli kanallardır. Seminifer pitelyum iki farklı hücre grubu içerir. Birinci grup hücreler germ hücreleri olan spermatogenetik hücrelerdir. Diğer hücreler ise germ hücrelerine destek olan ve onları besleyen Sertoli hücreleridir. Sertoli hücreleri bazal membrandan tübül lümenine kadar uzanan prizmatik hücrelerdir. Spermatogenetik hücreler ise Sertoli hücrelerinin lateral uzantıları ile oluşan bölmelerde bulunmaktadır. Bu iki hücre grubu arasındaki sıkı bağlantı kompleksleri kantestis bariyerini oluşturur. Seminifer tübüllerin iyon, aminoasit, karbonhidrat ve protein içeriği kan ve lenf içeriğinden oldukça farklıdır. Kan-testis bariyeriyle oluşan bu fark germ hücrelerinin kan yolu ile gelen zararlı maddelere karşı korunmasını da büyük önem taşımaktadır. Spermatogenetik hücrelerin birbiri üzerine sıralanımı farklı gelişim aşamalarını gösterir. Bunlardan bazal membrana en yakın olan spermatogonyumlardır. Lümeneye en yakın bulunan ise spermatidlerdir. Lümeneye ise spermiumlar bulunur. Seminifer tübüllerin enine kesitinde spermatogenetik hücreler temel özellikleri ile birlerinden ayırt edilebilirler. İnsanlarda spermatogenez ve spermiyogenez yaklaşık 9 haftalık bir sürede tamamlanır. Herhangi bir tübülde bu dönemde oluşan bütün aşamaları görmek genellikle mümkün olmaz. Bazal membranın hemen üzerinde yer alan spermatogonyumlar mitoz bölünme ile spermatogenetik hücreleri oluşturan ana hücrelerdir. Spermatogonyum tipA hücreleri heterokromatik veya ökromatik oval nükleuslu hücrelerdir. Spermatogonyum tipA'nın mitoz bölünmesiyle oluşan Spermatogonyum tipB ise kromatini nükleusun periferine itilmiş yoğunlaşmış, yuvarlak nükleuslu, belirgin nükleoluslu hücrelerdir. Her iki spermatogonyum da

soluk boyanan az miktarda sitoplazma bulunur. Heterokromatik nükleuslu tipA spermatogonyumların ana hücreler olduğu düşünülmektedir. Bir seri bölünmeden sonra tipA spermatogonyumlardan tipB spermatogonyumlar oluşur. TipB spermatogonyumların mitoz bölünmesi ile primer spermatositler oluşur. Primer spermatositlerin birinci mayoz bölünmesi ile sekonder spermatositler oluşur. Bu bölünme ile primer spermatositin diploid kromozom sayısı haploide inmiş olur. Sekonder spermatositlerin ikinci mayoz bölünmesi sonucunda ise spermatidler oluşur. Bu hücreler haploid kromozom ve DNA içeriğine sahiptirler. Spermatidlerin farklı olarak hareketli spermatozoonlara (sperm) dönüşmesine spermiyogenez denir. Bu olaylar testislerde gerçekleşir (4).

## 2.2. Rat Testisi Anatomisi

Yeni doğmuş erkek yavruda testisler karın boşluğundadır ve 4-6. haftalık dönemde scrotuma iner. Ergin ratlarda inguinal kanal açıktır. Bu yüzden testisler bazen geri karın boşluğuna dönebilir. Ratlarda penis kemiği (os penis) vardır (5). Yetişkin bir ratta yaklaşık 20 adet seminifer tubul bulunur. Zikzaklı şekilde seyreden tubuller rete testis ile sonlanır. Seminifer tubullerde sırasıyla, spermatogonia, spermatositler ve 1-2 sıralı spermatid yer alır. Sertoli hücreleri tubulün bazalinden lümenine kadar uzanır. Leydig hücreleri intertubuler alanlarda, makrofajlar, damarlar ve diğer intersitisyel hücrelerin arasında bulunurlar (6,7).

Epididimis (Epididimis) Bir çift epididimis kaput, istmus ve kauda bölümlerinden oluşur. Kanalları silyalı epitel ile örtülüdür (6).

*Duktus deferens (Ductus deferens, Vas deferens)* Duvarı silyalı yalancı çok katlı prizmatik epitel hücreleri, kalın bir katman halinde sirküler ve longitudinal seyirli düz kaslar ve adventisyadan oluşur (8).

*Bulboüretal bez (Bulbourethral gland, Glandula Bulbourethralis)* Bir çift eklenik genital bez olarak ratlarda bulunur. Ekskretorik kanalı ampulla üretralise açılır. Beyaz renkli bu bez müköz ve serömüköz salgı yapan tek sıralı bez epitelinden oluşur. Oldukça yüksek yapılı bu hücrelerde sekretorik granüllere de rastlanabilir. Organın tamamı çizgili kaslarla çevrilidir (6).

### 2.3. Testis Torsiyonu

Testis torsiyonu bir ürolojik acildir. Çocukluk ve gençlik çağlarındaki erkeklerde akut skrotumun ana nedenlerinden biridir. 25 yaşındaki genç erkeklerde insidansı 1/4000'dir (9). Başarılı bir cerrahi girişime karşın bu hastaların %40-60'ında testiküler atrofi ve infertilite gelişmektedir (10). Bu açıdan testiküler İ/R'nin tedavisinde etkili olabilecek etken maddeler üzerinde araştırmalar infertilitenin önlenmesi bakımından önemlidir.

Bilateral testis torsiyonu, olguların %2'sinde bildirilmiştir (11,12). Torsiyonun sebebi genellikle bilinmemekte, fakat çeşitli hazırlayıcı etkenlerden söz edilmektedir. Pubertede testis hacminin beş, altı kat artışı, torsiyonun bu dönemde daha fazla görülmesine neden olmaktadır. Travma ya da aşırı egzersiz, torsiyonu başlatan bir etken olabilir. Yine kremaster veya dartos kaslarının kasılması da torsiyonu başlatabilir. Çevre ısısının 2°C'nin altına düştüğü ortamlarda torsiyonun daha sık görüldüğü bildirilmiştir (13). Sol testis daha uzun bir spermatik korda yapısına sahip olduğundan sağ testise oranla iki defa daha sık torsiyone olur. İnmemiş ve retraktıl testislerde torsiyon olasılığı artmıştır (14).

Klinikte iki tip testis torsiyonu ile karşılaşmaktadır.

- a) Ekstravajinal testis torsiyonu.
- b) İnvajinal testis torsiyonu.

Ekstravajinal torsiyonlar doğum öncesi veya doğum sonrası ilk 30 günlük dönemde gelişir. Gonadal dokuların skrotumla olan bağlantılarının yokluğu ya da yetersizliği sonucu oluştuğu tahmin edilmektedir. 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 torsiyon genelde inguinal kanal seviyesinde olur ve sıklıkla inguinal herni de olaya eşlik eder. Tanı ancak doğum sonrası konulabildiğinden intrauterin torsiyonlarda testisin kurtarılabilmesi mümkün olmaz. Skrotumda şişlik tanı koydurabilecek en önemli semptomdur. İntrauterin torsiyonlar monoorşidizmin en önemli nedenlerindedir. Genelde tek taraflı gelişir. Tedavi mutlaka cerrahidir. Cerrahi yaklaşım intrauterin torsiyonlarda hayatın ilk günlerinde önerilmektedir.

Erken müdahalede amaç karşı taraftaki testisin torsiyon riskine karşı fikse edilmesi gerekliliğidir (15).

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. “Clapperbell” deformitesi adı verilen bu durum torsiyon için temel neden kabul edilir ve spermatik kordun hareketlerle veya kremasterik kontraksiyonlarla rahatça dönmesine neden olur (15,16).

Testis eklerinin torsiyonu (Appendiks testis ve epididim torsiyonları): Appendiks testis ve epididimlerin üst kısımlarında bulunan embriyolojik kalıntıların torsiyonunu ifade eden patolojilerdir. Uzun appendikslerin torsiyonu sonrası gelişen enflamasyon klinik bulguları oluşmasında temel nedeni oluşturmaktadır. Genelde 16 yaş sonrası erkeklerde gözlenir. Şiddetli, ani bir testiküler ağrı ile prezente olan daha sonrada testisin veya epididimin üst bölümünde kitle ele gelmesi patognomonik bir bulgu olarak ortaya çıkar. 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 (15).

Kliniginde ani başlangıçlı ve ciddi bir skrotal ağrı torsiyon için özgün bir bulgudur. Skrotal ağrı kasığa ve aynı taraf karın alt kadranına yayılır. Olguların dörtte birinde ağrıya bulantı, kusma gibi diğer sindirim sistemi şikâyetleri eşlik edebilir. Bazı hastalarda skrotal travma ya da skrotumu ilgilendiren başka bir hastalık öyküsü vardır (11, 17). Hastaların yaklaşık %50' sinde daha önce geçirilmiş ve kendiliğinden düzelmiş bir testiküler ağrı (torsiyon ve detorsiyon) hikayesi mevcuttur (18).

Aralıklı testis torsiyon-detorsiyonunun, çoğunlukla spesifik olmayan ve epididimit, apendiks testis torsiyonu gibi diğer skrotal patolojilerde de görülebilecek bulgulara eşlik etmesine karşın, güncel çalışmalar şiddetli, ani başlangıçlı ve kısa süreli skrotal ağrının aralıklı testis torsiyon-detorsiyonununun tipik özelliği olduğunu vurgulamaktadır (19, 20).

## 2.4. İskemi Reperfüzyon Hasarı

İskemi, dokunun oksijen ve yaşam için gerekli diğer maddelere olan ihtiyacı ile sunumu arasındaki dengesizlik halidir. Ayrıca iskemi sürecinde, ortaya çıkan metabolitlerin uzaklaştırılmasında da sorun meydana gelir (21). İskemik dokuya hem hücrenin rejenerasyonu, hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı gerekir. Ancak, iskemik dokunun reperfüzyonu dokuda paradoksal olarak sadece iskemi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara yol açar (22). İskemik dönemde hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücresel oksidatif fosforilasyon azalır ve adenosin 5'-trifosfat ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır (23). Hücrede enerji depolarının boşalması ile hücre zarında bulunan Na-K-ATP az pompası inhibe olur. Sonuçta hücre içinde  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Ca}^+$  iyon konsantrasyonları artar. Hücre içinde  $\text{Ca}^{2+}$  iyon konsantrasyonunun artışı hücre için sitotoksiktir (24). Bu dönemde hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflamatuvar sitokinlerin lökosit adhezyon moleküllerinin yapımında artış, buna karşılık antioksidan enzimlerin oluşumunda azalma olur. Bu durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız kılar. İskemi döneminde ATP üretimi durduğu halde kullanımı devam ettiği için ATP'den AMP ve adenosin oluşur. Adenosin, hızla hücre dışına difüze olur ve inozin ve hipoksantine parçalanır. Dolayısıyla, iskemi sonucu yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin (ATP) yıkımı, dokuda ksantin ve hipoksantin gibi pürin metabolitlerinin birikimine ve ksantin dehidrojenazın (KDH) ksantin oksidaza (KO) dönüşümüne yol açar. Normal şartlarda hipoksantin ürik asite metabolize olur ve bu reaksiyonda elektron alıcı  $\text{NAD}^+$  (nikotinamid adenin dinükleotidin okside formu) dir. Ancak hipoksi ya da iskemi nedeniyle  $\text{KDH} \rightarrow \text{KO}$ 'a dönüştüğünden hipoksantin ürik asite dönüşümü KO tarafından gerçekleşir ve bu reaksiyonda ise elektron alıcı olarak moleküler oksijen kullanılır (25).

İskemik organa kan akımının tekrar sağlanması geri dönüşümsüz hasarı önleyebilir, kaybolan fonksiyonlar geri kazanılabilir. Ancak oluşan serbest oksijen radikalleri ve kanda aktive olmuş hücrelerin neden olduğu "reperfüzyon hasarı" meydana gelir. Reperfüzyon safhasında hem reaktif oksijen radikallerinde (başlıca hidroksil radikalleri ve süperoksit anyonları olmak üzere) hem de reaktif nitrojen

türevlerinde (RNS) (başlıca nitrik oksit (NO) ve onun peroksinitrit türevleri olmak üzere) toksik metabolitlerinde ciddi artış olur. Bu serbest radikaller mitokondri ve hücre membranındaki lipidlerin peroksidasyonu yoluyla membran geçirgenliğinde artışa veya membran bütünlüğünde bozulmaya neden olur. Sonuçta iskemi nedeniyle oluşan germ hücre hasarı daha da artar (26).

İskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarının fizyopatolojisi ile ilgili birbiriyle ilişkileri karmaşık, hücresel ve humoral olaylar serisi olan çeşitli faktörler ileri sürülmüştür.

Bunlar:

- a) Serbest oksijen radikalleri
- b) Polimorf nüveli lökositler (pMNL)
- c) Kompleman sistemi
- d) Endotel hücreleri olmak üzere başlıca dört faktör hasarın nedenleri arasında yer almaktadır (27).

Lökositlerin adezyonu sonucu kapiller içinde tıkaçlar oluşarak dolanım bozulmaktadır. Diğer taraftan, PMNL yüksek miktarda SOR üretme kapasitesine de sahiptir. Oluşan serbest oksijen molekülleri lökositleri aktive ederek, lökositlerin damar endoteline yapışmasına neden olmaktadır (28,29). PMN'lerin aktivasyon ve migrasyonları endotel hücrelerinde ve lökositlerde bulunan adhezyon molekülleri aracılığıyla olur. Selektinler olarak bilinen adhezyon moleküllerinin L, P ve E selektin olmak üzere bilinen üç üyesi vardır. İ/R, endoteldeki P-selektin ekspresyonunu arttırır. Bu molekül, PMNL'lerde bulunan P-selektin glikoprotein 1 (pSGL-1) adlı reseptörü ile etkileşerek düşük afiniteli lökosit endotel bağlantısını oluşturur (lökosit rolling). İkinci aşamada, lökosit beta2 integrinler CD11a/CD18 ve CD11b/CD18) ile endoteldeki interselüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1) arasındaki etkileşim sonucunda lökosit adhezyonu ve agregasyonu gelişir. Üçüncü aşama ile trombosit-endotel hücresi adhezyon molekülü 1 (pECAM-1) ile endotel hücre bağlantıları arasındaki etkileşim ile lökosit transmigrasyonu gerçekleşir. Aktive lökositler damar dışına ulaştınca hasar bölgesine doğru göç etmeye başlarlar (kemotaksis) (30). İskemi reperfüzyon Kompleman sisteminin aktivasyonu sonunda proinflamatuvar komponentler oluşur. Bunlar C3a, C5a, iC3b ve C5b-9'dur. C3a ve C5a anaflatoksinlerdir ve lökositleri aktive ederler. Lökosit aktivasyonu ve kemotaksisin uyarılmasına ek olarak C5a, makrofaj inflamatuvar protein (MIP)-2,

MIP-1a, MIP-1b, monosit kemoatraktan protein (MCP)-1, TNF-a, IL-1 ve IL-6 üretimini uyararak inflamatuvar yanıtı amplifiye eder. Kompleman tarafından sentezi uyarılan lökosit adhezyon molekülleri şunlardır:

- a) Vasküler hücre adhezyon molekülü 1 (VCAM-1)
- b) İnterselüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1)
- c) E-selektin
- d) P-selektin

C5b9 endotelde IL-1a, IL-8 ve MCP-1 salgısını uyararak lökosit aktivasyonu ve kemotaksisi artırır. Aynı zamanda endotel bağımlı vazodilatasyonu inhibe ederek ve endotelde siklik guanozin monofosfatı azaltarak vasküler tonusu bozar (31, 32,33).

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 perfüzyonun geri dönmemesi “no-reflow fenomeni” olarak adlandırılmaktadır (34).

Endotel hücrelerinin İ/R hasarındaki rolü önemlidir. Endotel hücreleri de SOR üretim kaynağıdır. Endotel hücreleri SOR hasarına yanıt olarak interlökin 1, PAF, PGI<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, granulosit-monosit koloni stimüle edici faktör, büyüme faktörleri, ET, NO ve TxA<sub>2</sub> salgılar. Aktive olan endotel hücreleri ek olarak kendi bazal membranlarını hasara uğratan kollajenazları salgılamaktadır (35).

NO siklik guanozin monofosfat (cGMP) üzerinden etki gösteren potent bir periferik vasküler düz kas gevşetici olarak 1979’da tanımlanmıştır. Vücutta birçok dokuda NO sentezlenmektedir. NO, endojen L-argininden nitrik oksit sentaz (NOS) enzim sistemi tarafından sentezlenir. İşlev sonrasında NO hızlı ve kararlı bir şekilde okside edilerek inaktif bileşikler olan nitrit ve nitrat gibi son ürünlere dönüştürür. Hemoglobin NO’yu inaktive eder. Üç farklı NOS formu vardır (36):

- a) Nöronal (nNOS veya NOS-1)
- b) İndüklenebilir (iNOS veya NOS-2)
- c) Endotelyal (eNOS veya NOS-3)

eNOS ve nNOS; asetilkolin ve bradikinin gibi hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu artıran ajanlarca aktifleşir. Makrofajlar ve diğer bağışıklık hücrelerinde bulunan iNOS ise sitokinlerce uyarılır, kalsiyum ve kalmoduline bağımlı değildir ve yeni protein sentezine ihtiyaç duyar. NOS'un üzerinde NADPH, FAD, FMN ve tetrahidrobiopterin gibi kofaktörleri ve prostetik grupları bağlamak için birçok düzenleyici bölümü vardır. Hücrede eNOS esas olarak hücre membranına bağlı bulunurken nNOS sitozolde bulunur. Üç NOS izoformu aminoasit dizilişi bakımından %50 benzerlik gösterir. NOS, N-metil-L-arginin, N-nitro-L-arginin ve N-amino-L-arginin gibi L-arginin analoglarınca inhibe edilebilir (37-39). Vücutta NO konsantrasyonu düzenli olarak düşük seviyelerde dalgalanmalar gösterir ve eNOS ve nNOS tarafından kontrol edilir. Bu iki enzimin sentezi posttranskripsiyonel seviyede kontrol edilirken, iNOS uygun uyarı veya nükleer faktör Kappa B (NF- $\kappa$ B) gibi transkripsiyonel faktörlere cevap olarak sentezlenir (40).

Enfeksiyon, enflamasyon veya vasküler travma durumlarında diğer iki NOS formunun ürettiğinin 100-1000 katı kadar daha fazla NO iNOS tarafından üretilir. Ayrıca iNOS, kalsiyum ve uyarıcı ajanlardan bağımsız çalıştığı için, aktivitesi daha uzundur. Bunlara bağlı olarak, iNOS'un ürettiği NO seviyesi, fizyolojik sınırların oldukça üstündedir. Bu durum, hücrel süperoksit anyon ( $O_2^-$ ) varlığında ileri derecede toksik olan peroksinitrit molekülünün oluşmasına neden olur. Bunun sonucunda da lipid peroksidasyonu, DNA fragmantasyonu, plazma antioksidanlarının azalması, protein hasarı ve endotelial düz kas gevşemesinin engellenmesi gibi nedenlerle hücrel hasar oluşabilir. P eroksinitrit oluşumu; süperoksit ile süperoksit dismutaz (SOD) üretimi ve NO üretimi/harcanması arasındaki dengeye bağlıdır. Tüm bunların sonucu olarak düşük konsantrasyondaki NO, hücrel fonksiyonları pozitif olarak düzenlerken, yüksek konsantrasyonlarda hücre üzerinde toksik etkiler yaratabilir (40).

Testis İ/R hasarında da diğer birçok patolojik süreçlerde olduğu gibi NOS eksprese edildiği gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada deneysel olarak rat testislerinde 1,5 saat torsiyonu takiben yaptıkları detorsiyonu 96 saate kadar izlemişler ve western blot yöntemi ile her üç tip NOS varlığını göstermişlerdir. Germ hücre apoptozu testiküler torsiyon ve reperfüzyondan 24 saat sonra pik yaptığı, reperfüzyondan 48 saat sonra azaldığı görülmüştür. Germ hücre nekrozuna ait ilk



işaretlerin ise I/R dan 24 saat sonra görülüp sonrasında kademeli olarak arttığı saptanmıştır. Programlı hücre ölümü ve nekrozun bu ardışık görünümü apoptozun düşük NO konsantrasyonlarında indüklenmesi ve devamında nekrozun daha yüksek konsantrasyonlardaki NO ile indüklenmesine bağlı olabileceği düşünülmüştür (41).

Diğer yandan, torsiyonun testiküler hasar üzerindeki etkilerini araştıran Shiraishi ve arkadaşları indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ile NO üretiminin sıçanlarda nekrotik veya apoptotik germ hücre ölümüne yol açtığını göstermişlerdir. Ayrıca aşırı İNOS üretimi sonucu testiküler dokuda NO'in toksik düzeylere ulaştığını ve sıçan testisinde apoptotik germ hücrelerine sebep olduğunu saptamışlardır. Benzer şekilde Üstün ve arkadaşları, ipsilateral testiküler dokuda İ/R sonrasında iNOS, endotelial hücre nitrik oksit sentaz (eNOS) ve NO düzeylerinde artışın meydana geldiğini belirlemişlerdir (42, 43).

Torsiyon sonucu testiste oluşan hasar torsiyonun derecesi ve süresine bağlıdır. Tam iskemi oluşturmak için torsiyonun derecesinin 720 derece olması yeterlidir (44-46). Rat testislerinde hasar oluşturmak için minimum süre 1 saattir (47). İki saat süre ile oluşturulan 360 derece torsiyon rat testisinde orta derecede akut vasküler cevap oluşturur. Torsiyone edilen rat testislerinde, germinal ve tubuler epitelyum için güvenli sürenin 4 saatten daha kısa bir süre olduğu belirlenmiştir (48, 49). Ancak 4 saatten daha fazla süre ile 720 derece torsiyone edilen testislerde kan akımı bloke edilerek fokal infarktüsler oluşmaktadır (50, 51).

Tek taraflı testis torsiyonunun karşı taraf testis dokusunu etkileyip etkilemediği halen tartışmalı bir konudur. Yapılan iskemi reperfüzyon çalışmalarında karşı taraf testis dokusunda serbest oksijen radikallerinin iskemik olan taraf kadar olmasa da arttığı gösterilmiştir (46). Testis torsiyonunda karşı testiste hasar oluşabileceğinin bilinmesi üzerine bu konuda birçok araştırma yapılmıştır. Etyoloji tam olarak bilinmesede immünolojik mekanizmalar, gizli intermittan torsiyonların varlığı, konjenital displazi ve refleks vazokonstrüsyon ile karşı testiste hasar olabileceği öne sürülmektedir. Her iki testisin kanlanması farklı olmasına karşın bu hasar ilginç bir durumdur. Testis immünolojik olarak kan testis bariyeri tarafından korunmaktadır. İskemik doku hasarı sonucu bu bariyerde oluşan defekt nedeniyle antijenik yapıların immün sistemi uyarması ile oluşan oto antikorlar bu duruma neden olabilmektedir. Bu durum deneysel çalışmalarla desteklense de insan testisine

bunun uygunluğu tartışmalıdır. Nagler ve ark. Ratlarda testis torsiyonu sonrası orşiektomi ile birlikte antilenfosit globülin ve splenektomi yapmasının karşı testis hasarını önleyebileceğini göstermesi ve immün süpresif ajanların (steroidler, azotiopürin ve siklofosfamid vs) testis torsiyonunda kullanımını araştıran çalışmalarda karşı taraf testisin korunduğunun gösterilmesi immünolojik teoriyi desteklemektedir (52).

## 2.5. Serbest Radikaller

Bunlar orbitalinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron taşıyan molekül veya molekül parçaları olarak tanımlanırlar. Serbest radikaller yani reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) normal hücrenel metabolizma sırasında oluşmaktadır. Bunlar hem zararlı hem de faydalı olabilirler.

Oksijenden oluşan radikaller canlılarda oluşan radikallerin önemli bir kısmını oluşurmaktadır. ROS'un zararlı etkileri yüksek konsantrasyonlarda oluşmaktadır. Lipitleri, membranları, proteinleri ve nükleik asitleri içeren hücre yapılarına zarar vermek suretiyle normal hücrenel fonksiyonları bozmaktadır (53).

Havada molekül olarak açığa çıkan oksijen ( $O_2$ ) moleküler oksijen veya dioksijen olarak bilinmektedir. Dioksijen formuna bir eletron katılması ile süperoksit radikali oluşur ve birincil ROS olarak adlandırılır. İkincil ROS oluşturmak için süperoksit anyonu ya direk yada daha yaygın olarak enzim ve ya metal katalizli reaksiyon ile diğer moleküllerle etkileşir. Memeli hücresinde ATP'nin ana kaynağı mitokondriyal elektron taşıma zinciri (ETZ)'dir. Enerji transdüksiyonu sırasında az sayıda elektron oksijene sızar ve birçok hastalığın patofizyolojisinde rol oynayan "süperoksit" radikali oluşur. Transport zincirindeki tüm elektronların %1-3'ü oksijeni suya indirgemek yerine süperoksit radikali oluşturur. Süperoksit radikali yapısal olarak toksiktir. Proteinlere, nükleik asitlere ve diğer hücre dışı glikozaminoglikanları (Hyaluronik asit) ile etkileşerek bunlara zarar verir. Süperoksitin önemi geçiş metal iyonlarını indirgemesidir (Örneğin,  $Fe^{+3}$ 'ün  $Fe^{+2}$ 'ye indirgenmesi ve  $Fe^{+2}$ 'nin ferritinden salgılanmasına sebep olması). Süperoksitin uzun bir yarı ömrü vardır ve lipofiliktir. Normal şartlarda süperoksit başka bir süperoksit ile birleşerek hidrojen peroksite dönüşür (53,54).

Oksijenin iki elektron alarak indirgenmesiyle peroksit molekülü oluşur. Peroksit molekülü de iki hidrojen iyonu ile birleşerek “hidrojen peroksit” ( $H_2O_2$ ) oluşturur.  $H_2O_2$ 'nin kendisi bir radikal değildir. Ancak aktif metal iyonlarının katıldığı redoks reaksiyonuyla oksijen anyon radikali ile birlikte en reaktif radikal olan hidroksil radikalini oluşturur (55). Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir. Katalizörlü veya katalizörsüz gerçekleşebilen bir reaksiyondur (56). Peroksizom, hücrede oksijen tüketiminin olduğu ve oksijen kullanımının birçok metabolik fonksiyona katıldığı temel alanlardır. Peroksizomlarda oksijen tüketimi  $H_2O_2$  üretimine neden olur. Peroksizom,  $H_2O_2$ 'yi parçalayarak toksik birleşiklerin birikimini engelleyen katalaz enzimi içermektedir. Peroksizomlar hasarlandığında katalaz down-regulasyona uğrar ve sitozole  $H_2O_2$  salgılanarak oksidatif strese neden olur (53).

Hidroksit iyonunun nötral şeklidir “hidroksil radikali” (OH)'dir. Yüksek reaktivitesi ve kısa yarılanma ömrü onu çok tehlikeli bir radikal yapmaktadır.  $H_2O_2$ 'in geçiş metalleri ile indirgenmesi ve süperoksit radikali ile reaksiyonu ile hidroksil radikali meydana gelir. Hidroksil radikali lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve DNA hasarı ile doku hasarına neden olabilmektedir (53).

Hidroksil radikali, membran lipitlerinden poliansatüre yağ asitlerini içeren birçok hücresel içerikle etkileşime girer. OH ve poliansattire yağ asitlerinin etkileşimi alkil radikalini oluşturur. Bu da moleküler oksijen ile birleşerek peroksil ( $ROO^{\cdot}$ ) radikalinin oluşumuna sebep olur.  $ROO^{\cdot}$  radikali, yakınındaki yağ asidinden hidrojen çalarak lipit hidroperoksitin ( $ROOH$ ) oluşumuna yol açar. Böylece zincirleme lipit oksidasyon reaksiyonu başlar. Ayrıca NO ve süperoksitin oluşturduğu peroksinitrit te lipit peroksidasyonunu başlatmaktadır. Lipitlerin peroksidasyonu membran bütünlüğünü hozar, akışkanlığının ve geçirgenliğinin bozulmasına neden olur. Metabolik olaylar inhibe olur ve iyon transportunda değişiklikler oluşur. Lipit peroksidasyonu ile indüklenen mitokondri daha fazla ROT üretimine neden olur. Lipit peroksitler, reaktif aldehit ürünleri olan “malondialdehit” (MDA), 4 hidroksinonenal (HNE) ve akrolein'e indirgenir. Bu aldehitler tiyol gruplarındaki reaksiyonla kovalent olarak proteinlere bağlanırlar ve proteinlerin fonksiyonlarını değiştirirler. Lipit peroksitlerin ve aldehitlerin aşırı üretimi, glutatyon peroksidaz ve glutatyon S-transferaz detoksifikasyon yolu ile glutatyonunun

tüketilmesine neden olur (53). MDA, okside lipitlerin oluşturduğu toksik etkili parçalanma son ürünüdür. İki veya daha fazla metilenle kesilen çift bağ içeren poliansature yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşur. MDA oluşumu ile ilgili üç hipotez vardır. Bunlardan biri siklik endoperoksitlerden üretildikleridir. Diğerleri ise zincirleme hidroperoksit oluşumu ve yağ asitleri zincirinin hidroperoksialdehiti vermek için  $\beta$ -yarıklanması termeline dayanmaktadır. MDA, çeşitli prostoglandinler tarafından enzimatik yolla da oluşmaktadır. Yapılan çalışmalar, MDA'nın DNA ile çapraz bağlarını, önce protein kısım ile reaksiyona girerek oluşturduğunu göstermiştir (57).

Oksidatif ve nitrozatif stres, proteinler üzerine geri dönüşümlü ve dönüşümsüz etkilere neden olabilir (57). Protein oksidasyonu, OH veya  $H_2O_2$  gibi reaktif oksijen türevleri ile direkt olarak veya bunların sekonder türevleri ile indirek olarak indüklenen proteinlerin kovalent modifikasyonu olarak tanımlanmaktadır (58). Aminoasit  $\alpha$  karbonundan hidrojen atomunun OH'ya bağlanarak ayrılması ve  $H_2O$ 'nun açığa çıkması ile reaksiyon başlar. H atomunun ayrılması karbon merkezli radikal oluşumuna neden olur. Oluşan bu radikal  $O_2$  ile peroksil radikale dönüşür. Peroksil radikale protonlanmış oksijenin ( $HO_2$ ) eklenmesi ve diğer bir molekülden H eklenmesi ile alkil peroksit oluşur. Alkil peroksitin protonlanmış oksijen ile reaksiyonuyla alkoksil radikali, alkoksil radikalinin protonlanmış oksijen ile reaksiyonu sonucu da hidroksi türevleri oluşur.  $O_2$  ile ilerleyen bu reaksiyonlar, protonlanmış oksijen yerine metal katalizi ile veya  $O_2$ 'nin olmadığı durumlarda karbon merkezli radikalın diğer bir karbon merkezli radikal ile reaksiyona girip karbon-karbon çapraz bağları oluşumu ile de devam edebilir. ROS ile proteinlerin oksidasyonu peptit bağlarının ayrılmasına ve karbonil grupların ortaya çıkmasına neden olur (59). Okside protein düzeyini protein oksidasyon oranı ve okside protein yıkımı arasındaki denge belirler. Protein oksidasyon oranı; ROS üreten faktörlere ve antioksidanların konsantrasyonlarına, okside proteinlerin yıkımı ise proteolitik aktiviteye bağlıdır. İskemi/reperfüzyon gibi proteolitik aktivitenin azaldığı durumlarda okside proteinler artar. Proteolitik aktivitenin inhibisyonu iki mekanizma gerçekleşmektedir: a) Lipit peroksidasyon ürünlerine uzamış maruziyet sonucu agregre ve çapraz bağlı formdaki proteinler artarak proteazların aktivitesini inhibe eder, b) Serbest radikaller, spesifik proteolitik enzimleri direkt olarak modifiye ederler (56).

Hidroksil radikali, pürin, pirimidin bazları ve deoksiriboz gibi tüm DNA bileşenleri ile etkileşebilmekte ve DNA hasarına yol açmaktadır. DNA'dan endonükleaz tamir enzimleri tarafından kesilen 8 -hidroksi2deoksiguanozin (8 -OHdG) hidroksil radikalının hasarladığı guanin nükleotididir. İnme sonrası artan, 8-OHdG, oksidatif DNA değişikliklerinin belirteci olarak kullanılmaktadır. DNA hasarı apoptozu ve infarktı tetiklemektedir (53).

## 2.6. Antioksidanlar

### 1. Endojen antioksidanlar

- a) Enzim olan endojen antioksidanlar: Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GSHPx), Glutasyon S-Transferaz (GST), Katalaz, Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, Hidroperoksidaz.
- b) Enzim olmayan endojen antioksidanlar: Melatonin, Seruloplazmin, Transferin, Miyogloblin, Hemogloblin, Ferritin, Bilirubin, Glutasyon, Sistein, Metiyonin, Ürat, Laktoferrin, Albümin (53).

### 2. Eksojen antioksidanlar

- a) Vitamin eksojen antioksidanlar: A-tokoferol (vitamin E),  $\beta$ -karoten, Askorbik asit (vitamin C), Folik asit (folat).
- b) İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar: Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten); NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezipler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar); rekombinant süperoksit dismutaz trolox-C (vitamin E analogu); endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein); nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin) (60).

Organizmanın pro-oksidan/antioksidan dengesi sağlıklı bir yaşam sürdürebilmek için çok önemlidir. SOR'ların oluşumunu ve meydana getirdikleri hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere organizmayı koruyan antioksidan savunma sistemi dört yolla etki göstermektedir. Bunlar:

- a) Süpürücü etki: Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma, yok etme. Antioksidan enzimler bu yolla etki gösterirler (61,62).

- b) İnaktif şekle dönüştürücü etki: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler (63).
- c) Zincir kırıcı etki: Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engellemek. Hemoglobın, seruloplazmin ve mineraller (64).
- d) Onarıcı etki: Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması şeklinde gösterirler (65).

## 2.7. Agmatin

İlk kez 1910 yılında Alman bilim adamı Albrecht Kossel tarafından bakteri, bitki ve omurgasızlarda varlığı gösterilen katyonik amin yapısındaki agmatinin fonksiyonel önemi 1980'li yıllara kadar bilinmemekteydi. Sonraki yıllarda, birçok bilimsel çalışma ile agmatinin organizma üzerindeki çeşitli etkileri aydınlatılabildiği görülmüştür. Söz konusu etkiler arasında adipoz dokuda antilipolitik etki, sempatik gangliyon ve retina da nikotinik asetilkolin reseptörleri üzerine blokaj, pankreastan insülin ve adrenal medulladan katekolamin salınımının düzenlenmesi, hipotalamus ve hipofizden luteinize edici hormon salıverici hormon salınımı, gastrik asit sekresyonunun artırılması, vasküler düz kas hücrelerinde proliferasyonun inhibisyonu, böbrekte nöroprotektif etkinlik ve deney hayvanlarında sempatik aktivitenin artırılması gibi etkiler yer almaktadır (66-68). Agmatinin memeli beyininde keşfedilmesi ve klonidini bağlandığı bölgeden uzaklaştırması nedeniyle 'clonidine displacing substance' olarak tanımlanması önemli bir dönüm noktası olmuştur (69).

Agmatin L-arjininden, Arjinin dekarboksilaz (ADC) enzimi aracılığıyla sentezlenmektedir. ADC, memelilerde hücre membranına bağlı olarak bulunur ve özellikle de mitokondri membranında daha yoğundur (69-71). ADC beyinde en fazla striatum ve beyin sapında, en az ise kortekste bulunmaktadır. Memelilerdeki ADC aktivitesi Mg<sup>2+</sup> tarafından artırılmakta, Ca<sup>2+</sup> tarafından inhibe edilmektedir. Kan damarlarında, agmatinin endotel ve düz kas hücrelerinde depolandığı, fakat sadece endotelde ADC eksprese edildiği bilinmektedir. Sinaptozomlarda ADC aktivitesine rastlanılması, agmatinin büyük olasılıkla nöronlarda eksprese edildiğini

düşündürmektedir. Agmatin sentezlendikten sonra nöronal ve glial havuzlar arasında transfer edilmekte ve ayrıca glia hücrelerinde de ADC aktivitesi bulunmaktadır. Diğer transmitterler gibi sinaptozomlardan depolarizasyonla  $Ca^{+2}$  bağımlı olarak salınmaktadır (72,73).

Agmatinin beyindeki biyolojik inaktivasyonu, enzimatik parçalanma ve geri-alınım aracılığıyla gerçekleşir. Agmatin, agmatinaz enzimi ile enzimatik olarak parçalanarak poliamin biyosentezinde önemli bir metabolik prekürsör olan putresin ve üreye dönüştürülür. Putresinden ise sırasıyla spermin ve spermidin meydana gelir. Önceleri bakterilerde tanımlanan bu ana metabolik yolağın memelilerde de benzer olduğu saptanmıştır. Çözünebilir bir enzim olan agmatinazın beyinde en çok hipotalamus ve hipokampusta ve daha az olarak ise korteks ve striatumda varlığı gösterilmiştir. Agmatinin yıkılmasını sağlayan bir diğer enzim ise diammin oksidaz enzimidir. Agmatin bu enzim ile guanido butanoik asite dönüşmektedir (74). Agmatinin poliaminlerin öncüsü olmasına karşın, geri-alınımının poliaminlerden farklı olduğu gösterilmiştir. Ayrıca geri-alınımın noradrenalin, dopamin, serotonin ya da diğer aminoasit taşıyıcılarından ayrı olarak, farklı bir taşıyıcı sistem ile gerçekleştirildiği ortaya konulmuştur (74).

Agmatinin geri-alınımı, sıcaklığa bağlı gerçekleşmekte ve sadece yüksek konsantrasyonlarda doygunluğa ulaşabilmektedir.  $Na^{+}/K^{+}$ -ATPaz inhibisyonu ya da ekstraselüler  $Na^{+}$  replasmanından etkilenmemekte, iyon kanalı modülatörlerinden yalnızca  $Ca^{+2}$  kanal blokerleri ile inhibe edilmektedir. İdazoksan ve fentolamin gibi imidazolin reseptörleri ile etkileşen ilaçlar, geri-alınımın potent yarışmasız inhibitörleridir. Agmatin, hücreye voltaj bağımlı çalışan ligandla kenetli iyon kanalları aracılığıyla girebilir (75).

Agmatin, alfa-2 adrenerjik reseptörlerin tüm alt tiplerine yüksek afinite ile bağlanmasına rağmen alfa-1 ve beta adrenerjik reseptörlere bağlandığı gösterilememiştir (76). Agmatinin transmural sinir stimülasyonu kaynaklı kontraksiyonları inhibe edici etkisinin rovolisin veya idazoksan ile engellenmesi, bu etkinin presinaptik alfa-2 adrenerjik reseptörler aracılığıyla olduğu kanısını uyandırmıştır. Ayrıca, kokain uygulaması ile engellenen transmural sinir stimülasyonu kaynaklı kontraksiyonları artırıcı etkisi agmatinin noradrenalin taşıyıcısı üzerinde inhibitör etkisi olabileceğini düşündürmüştür (77). Glutamaterjik

sistemin reseptörlerinden N-metil-Daspartat (NMDA) alt tipi üzerindeki etkisinin araştırılması önemli sonuçlar vermiştir (78) ve bu reseptörler üzerinde mikromolar konsantrasyonlarda inhibe edici etkisi olduğu gösterilmiştir (79). Agmatin yukarıda sozu edilen reseptörlerin dışında imidazolin reseptörlerinin bütün alt tiplerine (I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub>, I<sub>3</sub>) yüksek afinite ile bağlanır. Ayrıca kolinerjik nikotinik ve serotonerjik 5-HT<sub>3</sub> reseptörleri gibi iyonotropik reseptör kanallarını da bloke ettiği bildirilmiştir (80,81).

Agmatin, nitrik oksit sentaz'ın (NOS) iki izoformu olan indüklenebilir NOS (iNOS) ve nöronal NOS'u (nNOS) inhibe etmektedir. Bu inhibisyon doza bağımlı ve substrat olan L-arjinin ile yarışmalıdır. Afinitesi L-arjininden daha düşük olduğundan, etkili bir yarışma için L-arjininden daha yüksek konsantrasyonlarda bulunması gerekir. Ancak özellikle nNOS sentezleyen nöronların katalitik bölgesinde, agmatin konsantrasyonunun fizyolojik olarak yeterli olduğu gösterilmiştir (82,83). Agmatin ve NOS enziminin hücrel lokalizasyonu, bu aminin NO üretiminin endojen bir modulatörü olduğunu ve agmatinin oluşturduğu birtakım biyolojik etkilerin NO sistemi ile etkileşimle meydana gelme olasılığını güçlendirmektedir (84). İskemik akut böbrek yetmezliği gelişen ratlarda intravenöz agmatin enjeksiyonu iskemi reperfüzyon hasarına bağlı renal disfonksiyonu doza bağımlı olarak önlemiştir (85). İskemi reperfüzyon hasarında iskemik periyotta artış gösteren renal sempatik sinir aktivitesinin (RSNA) İV agmatin enjeksiyonu ile doza bağımlı olarak belirgin şekilde baskılandığı gözlenmiştir (85). Ayrıca iskemi reperfüzyonun indüklediği renal hasarda histopatolojik değişiklikleri de önlediği gösterilmiştir.

Agmatinin intravenöz uygulamasının santral sinir sisteminde olduğu kadar bazı periferik mekanizmalar vasıtasıyla salınan NE yi de baskılandığı belirtilmiştir. Birçok araştırmacı agmatinin her ikisi de sempatik sinir uçlarından NE salınımıyla ilgili olduğu bilinen imidazolin I<sub>1</sub> ve adrenalin alfa<sub>2</sub> reseptörlerine yüksek afinite ile bağlandığını göstermiştir. (69,86) Feng ve ark. yaptığı bir çalışmada, agmatin'in hipoksik-iskemik beyin hasarında NO üretimini baskılayarak hasarı azalttığı ve astrositlerde iNOS'un transkripsiyonu süprese ettiğini saptamışlardır (87,88).

Gilad ve ark. spinal kord iskemik hasarı sonrası sistemik Agmatin uygulamasının motor noron sayısında artışa neden olarak noroprotektif etki



gosterdiğini saptadılar ve yine aynı grubun yaptığı başka bir çalışmada iskemik beyin hasarı sonrasında doza bağımlı olarak noronal olumu azalttığı tespit edildi (89).

İn vitro şartlarda agmatinin İNOS sentezini ve biyoamin sentezinde hız kısıtlayıcı enzim olan ODC yi baskıladığı ve poliamin transportunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Agmatinin ornitin dekarboksilaz (ODC) inhibisyonu ile düz kas hücre proliferasyonu sağlanabilmesi (90,91,92) ve agmatinin inflamatuvar olaylarda NO üretimi ve hücre proliferasyonu üzerine önemli etkileri olabileceğini düşündürmektedir.

## **2.8. Testis Sintigrafisi**

Testis sintigrafisi ilk defa Nadel tarafından 1973 yılında tanımlanmıştır. Basit, güvenli ve noninvaziv bir test olarak testis torsiyonunun tanısı ve diğer patolojilerinden ayrımında kullanılmaktadır.

Testis sintigrafisi için yaygın kullanılan radyonüklid Tc-99m perteknetat'tır. Tc-99m, Mo-99/Tc-99m jeneratöründen sağım yolu ile elde edilir. Jeneratörden elde edilen serbest Tc-99m perteknetate ( $Tc-99m O_4^-$ ) biyolojik olarak iyodin ve perchlorate gibi davranır. Tiroid, tükürük bezleri ve midede tutulur. Bu organların görüntülenmesi ve diğer organların kanlanma durumu (anjiogram) için herhangi bir farmasötiğe bağlanmadan kullanılabilir. Tc-99m radyonüklidi gama ( $\gamma$ ) ışını yayar, düşük enerjilidir (140 keV), yarı ömrü kısadır (6,02 saat). Hipersensitivite reaksiyonu yapmaz ve bilinen kontrendikasyonu yoktur. Rutin görüntülemelerde maruz kalınan radyasyon dozu çok düşüktür. En fazla maruziyet tiroid bezindedir (0.130 rad/mCi). Bu yüzden enjeksiyondan önce potasyum perklorat ile tiroid supresyonu önerilmektedir (93).

Radyonüklidin intravenöz verilmesinden sonra 1-2 dakikalık dinamik anjiyogram fazı görüntülenir. Ardından aralıklı statik görüntüler elde edilir. Düşük enerjili yüksek çözünürlüklü paralel hol kolimatör ile dinamik görüntüler 64x64 matrikste, statik görüntüler 256x256 matriks olarak kaydedilir. Küçük testislerde pinhol kolimatörler kullanılabilir.

Her iki testis bölgesinden manuel olarak ilgi alanı ve buna yakın bölgelerden beckraund aktivite alanı çizilerek zaman aktivite eğrileri ve uptake oranları semikantitatif olarak hesaplanır. Ayrıca vizüal değerlendirme yapılır.

Normal testislerde aktivite tutulumu simetrik olarak izlenmektedir. Testis torsiyonunda sintigrafik bulgular erken, orta ve geç olmak üzere üç döneme ayrılır. Her dönemde patognomonik “Nubbin belirtisi” (obstrüksiyonun proksimalinde arter kan akışının artışı) görülür. Fakat bu belirtinin görülmemesi torsiyonu ekarte ettirmez. Erken dönemde spermatik kordun damarları genelde görülmez. Orta dönemde sintigrafik bulgular arasında pudental damarların perfüze ettiği skrotumun kendisinde ve etkilenmiş testisin etrafında halka şeklinde aktivite artışı (Bulls eye) belirtisi görülür. Bu halka erişkinde ovoid, çocukta yuvarlak olur. İskemi geç faza doğru ilerledikçe pudental akım iyice belirgin hale gelir ve skrotal halo iyice barizleşir. Tedavi edilmediği takdirde bir hafta ile bir ay arasında testis atrofiye olur sintigrafide görülemez. Epididimite virgül şeklinde artmış erken akım görülür. Bu % 75 oranında lateralde % 25 oranında ise medialde belirir. Olay testiside etkilerse testiste artmış radyonüklid aktivite görülür. Travmaya bağlı epididimoorşit enfeksiyona bağlı olandan farklı görüntü vermez. Apendiks testis torsiyonu genellikle sintigrafide normal bulgu verir (94).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için Bülent Ecevit Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 2012 tarih ve 05 sayılı etik kurulu onayı alındı.

#### 3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada her biri 250-300 g ağırlığında olan 29 adet Wistar türü Albino suşu erkek sıçanlar kullanıldı. Denekler Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edildi. Çalışma boyunca sıçanlar 12'şer saatlik ışık/ karanlık esasına göre aydınlatılan, sıcaklık kontrollü ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) standart laboratuvar şartlarında barındırıldı. Standart pelet yemi ve çeşme suyu ile beslendi. Suya serbestçe ulaşabilmeleri sağlandı.

Deney hayvanları rastgele seçilerek aşağıdaki gibi üç gruba ayrıldı:

Grup 1 (n=9): Sham (SH) grubu

Grup 2 (n=10): İskemi/reperfüzyon (İR) uygulanan grup

Grup 3 (n=10): İskemi/reperfüzyon+Agmatin (İR+AG) uygulanan grup

#### 3.2. Agmatin ve Serum Fizyolojik Uygulaması

Çalışmada agmatin (Sigma®) kullanıldı. Çalışmanın birinci günü Grup 3 sıçanlara agmatin (3mg/ml konsantrasyonda 10mg/kg doz) günde bir defa intraperitoneal (İP) enjeksiyon şeklinde uygulandı. Diğer gruplara plasebo olarak, eşit hacimde intraperitoneal serum fizyolojik (%0.9 NaCl) kullanıldı.

#### 3.3. Cerrahi İşlemler ve Anestezi Uygulaması

Cerrahi işlemler, sintigrafik görüntüleme, deneklerin testislerinin çıkarılması ve kan örneklerinin alınması anestezi altında yapıldı. Anestezi 0.15 cc ketamin hidroklorid (Ketalar® 50mg flakon, Pfizer) ve 0.06 cc ksilazin hidroklorid (Rompun® %2 enj. çözelti, Bayer) intramusküler verilerek gerçekleştirildi.

Cerrahi işlem öncesi ratların genital bölgeleri tıraş edilerek sulandırılmış zefiran ile yıkandı. Daha sonra povidine iodine ile ameliyat sahasının temizliği

yapıldı. Orta hat skrotal insizyonun ardından skrotum katları açılıp sol testise ulaşıldı. Grup 1'deki ratlara sham operasyonu uygulandı (torsiyon ve detorsiyon işlemleri yapılmadı). Grup 2'deki ratlara 3 saat süreyle tek taraflı torsiyon yapıldıktan sonra testis detorsiyone edildi. Grup 3'teki ratlara 3 saat süreyle tek taraflı torsiyon işlemi uygulandıktan sonra detorsiyondan 15 dakika önce intraperitoneal (3mg/ml konsantrasyonda 10mg/kg doz) tek doz Agmatin verildi.

Torsiyon işlemi sol testis dışarı alınıp gubernakulum kesildikten sonra testis saat yönünde 720° döndürülüp tunika albugineadan geçilen dikişlerle skrotuma tespit edilmesi şeklinde yapıldı. Daha sonra testis tekrar skrotuma yerleştirilip tabakalar kapatıldı.

Detorsiyon işlemi, torsiyondan üç saat sonra skrotum tekrar açılarak saat ibresinin tersine testisin 720° döndürülmesi şeklinde yapıldı. Detorsiyondan sonra testis tekrar skrotuma yerleştirildi.

### **3.4. Sintigrafik İnceleme**

#### **3.4.1. Radyofarmasötüğün Hazırlanması Ve Uygulanması**

Sintigrafik değerlendirme için Mo-99/Tc-99m jeneratöründen (Ultra-TechneKow ® FM, Covidien, Nepha Tıbbi Cihazlar San. ve Tic. A.Ş. İstanbul, Türkiye) sağım yapılarak elde edilen Tc 99m perteknetat radyonüklidi kullanıldı. Radyonüklidin kalite kontrol işlemleri yapılarak (radyonüklid saflık, kimyasal saflık) uygunluğu görüldükten sonra kullanıldı.

#### **3.4.2. Sintigrafik Görüntüleme**

İlk cerrahi işlemden 24 saat sonra, her üç gruba tekrar anestezi uygulandı. Ardından kuyruk venine takılan 24G kateter yoluyla radyonüklid intravenöz olarak verildi. Enjeksiyondan 15 dakika sonra çift dedektörlü gama kamera (Siemens marka Symbia S model) ile sintigrafik görüntüler elde edildi. Anterior detektöre pinhole, posterior detektöre paralel hole (LEHR) kolimatör takıldı. Ratlar supine pozisyonda sabitlendikten sonra testisler görüntü alanına girecek şekilde gama kamera altına

yerleştirildi. 256x256 matris ve +2 büyütme uygulanarak her bir denekten 5 dakikalık planar imajlar (anterior pinhole ve posterior planar) alındı.

### **3.4.3. Sintigrafik Değerlendirme**

Elde edilen sintigrafik görüntüler üzerinde, gama kameranın iş istasyonundaki software programı vasıtasıyla, testis ve testis dışı (background) ortalama sayımları otomatik olarak hesaplandı. Testislerin radyonüklid tutulumunun değerlendirilmesinde sağ ve sol testislerden ayrı ayrı testis/testis dışı ortalama sayım oranı kullanıldı.

### **3.4.4. Tc-99m Tutulumunun İn Vitro Ölçümü**

Alınan testislerden gamma counter cihazında (LB 2111-LBIS, EG&G Berthold) 140 keV ve %20 pencere aralığında sayım yapıldı. Her bir örnekten 60 sn'lik sayımlar elde edildi. Tüm örneklerin ağırlık ölçümleri hassas bir terazi kullanılarak (High-precision Analytical Electronic Balance, AFR-220CE Vibra, Shinko Denshi, Japan) yapıldı. Elde edilen sayımlar (cpm), dokuların ağırlıklarına bölünerek gram başına dakikalık sayım (cpm/g) hesaplandı. Elde edilen veriler karşılaştırma için kullanıldı.

### **3.5. Ratların Sakrifiye Edilmesi, Kan ve Doku Örneklerinin Alınması**

Sıçanlar anestezi altındayken torakotomi ile göğüs duvarı açılarak intrakardiyak 4-8 ml kan alınıp hipovolemi oluşturularak sakrifiye edildi. Sonrasında skrotumdaki mevcut insizyon hattı açılarak her iki testis cerrahi olarak çıkarıldı. Çıkarılan testisler iki parçaya ayrıldı. Ayrılan parçalardan biri histopatolojik incelemeler için formaldehid solüsyonuna konuldu ve -20 °C'de saklandı. Diğer parça ise biyokimyasal değerlendirme için santrifüj tüplerine yerleştirildi ve -80 derecede analizlerin yapılacağı zamana kadar saklandı. Biyokimyasal çalışmalar için kanlar kuru tüpte -20 °C'de saklandı.

### 3.6. Histopatolojik Değerlendirme

Işık mikroskopik incelemeler için sağ ve sol testis dokusuna ait biyopsi materyallerinin yarısı, Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Rutin Laboratuvarında, %10'luk formol fiksatöründe fiske edilip, parafin inklüzyonu yapılarak bloklandı. Bu bloklardan alınan 5 mikron kalınlığındaki kesitlere, testisin histolojik yapı özelliklerini ortaya koyacak hematoxilen-eozin (H-E) kombine boyası uygulandı. Işık mikroskopunda (Carl Zeiss Axio Lab A1) bulguların fotoğrafları çekildi. Bir morfolojik tarafından sol testis dokusundan elde edilen tüm preparatlar, Cosentino ve ark. (95)'nin yapmış olduğu skorlama yöntemine göre, Tablo 1'de ki kriterler baz alınarak ışık mikroskopunda 0–4 aralığında skorlandı.

**Tablo 1.** Cosentino ve ark. (1986) göre, incelenen histolojik parametreler.

<b>Seminifer Tübüller</b>	<b>İnterstisyum</b>
Spermatozoa ve spermatidlerin kaybı	Leydig hücre proliferasyonu
Germ hücre tabakalarının yokluğu	Ödem
Germ hücre tabakalarının dejenerasyonu	Hemoraji
Germ hücre tabakalarının düzensizleşmesi	Granüloma
Tübüllerin parçalanması	Fibrozis
Parçalanmış tübüllerde Leydig hücre reaksiyonları	
Miyoid hücre tabakasının kalınlaşması	

### 3.7. Biyokimyasal Değerlendirme

Doku MDA düzeyleri yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemiyle (Agilent 1200 marka, HPLC, Münih, Almanya) cihazında Immundiagnostik markalı MDA ticari kitleri (Bensheim, Almanya) kullanılarak çalışıldı. Çalışmanın prensibi derivasyon reaktifi ile yapılan örnek hazırlama işlemi sonucu MDA floresan bir ürüne çevrilmesine dayanır. Floresan ürüne çevrilen MDA içeren 20 ml reaksiyon karışımı 30°C'de reverse faz C18 kolon kullanılarak ayrıştırılması sonrası 515 nm

eksitasyon ve 553 nm emisyonunda florometrik ölçümü yapılır. Yöntemin dedeksiyon limiti 0.15 mmol/L ve linearitesi 100 mmol/L'dir.

Total antioksidan kapasite (TAK) düzeyleri Cayman (Ann Arbor, USA) firmasının ticari antioksidan assay kiti ile çalışıldı. Sonuçlar plak okuyucuda (Biotek, ELx800, Vermont, USA) 405 nm'de ölçülerek değerlendirildi.

### **3.8. İstatistiksel Yöntem**

Çalışmanın istatistiksel analizleri SPSS 13.0 paket programında yapılmıştır. Veri setinde yer alan ölçüm değişkenleri ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum değerleriyle gösterilmiştir. Ölçüm değişkenlerinin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile test edilmiştir. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerin 3 grup karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi, 2 grup karşılaştırmalarında Bonferonni düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Çalışmadaki tüm istatistiksel analizlerde p değeri 0,05'in altındaki karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Sintigrafik Bulgular

Deneklerden elde edilen gama kamera görüntülerinin vizüel değerlendirilmesinde ratların testis bölgesinde kuyruk veninden yapılan enjeksiyon ve gecirilmiş cerrahi poerasyon nedeniyle skrotum bölgesinde yoğun aktivite tutulumunun olduğu görüldü. Bunun sonucu olarak testislerin atenuasyonua uğramış olması nedeniyle görüntülerdem elde edilen verilerin değerlendirmeye elverişli olmadığı, gama counterden her testis için ayrı ayrı doku Tc-99m perteknetate uptake'i değerlerinin hesaplanmasına geçildi.

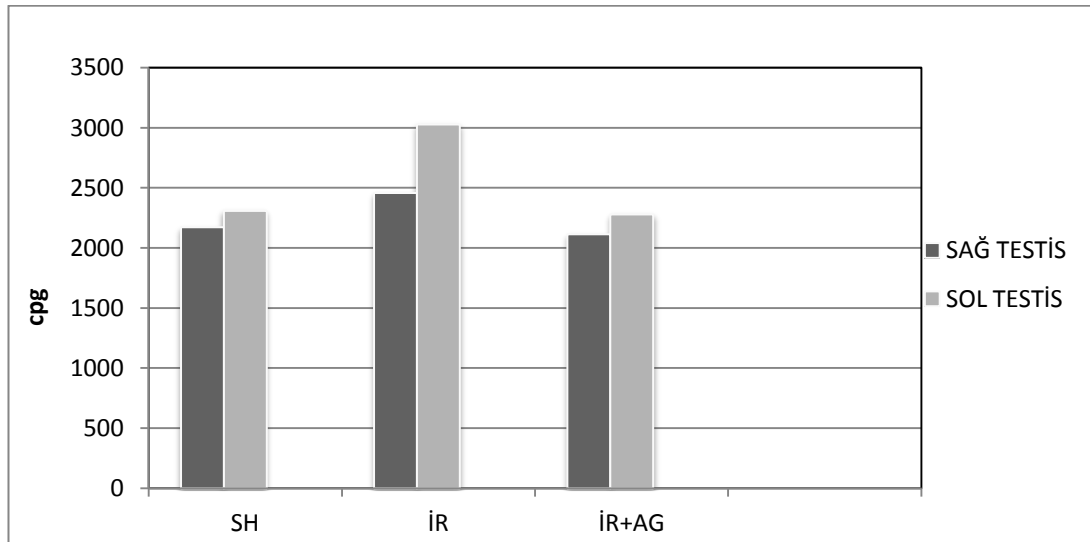
Doku Tc-99m perteknetate uptake'i değerlerinin sağ ve sol testislerdeki ortalamaları ve istatistiksel değerlendirmesi Tablo 2'de gösterilmiştir. Gruplar arasında sağ ve sol testisler için ayrı ayrı değerlendirme yapıldı. Buna göre sağ ve sol testisler yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Sağ ve sol testis için ayrı ayrı ( $p>0.05$ ) olarak saptandı. Sağ testislerde Tc-99m perteknetate uptake'i değerleri Sham, İR ve İR+AG grupları için ortalama değerler sırası ile 2172, 2459 ve 2115 olarak hesaplandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamakla birlikte İR grubunda Tc-99m perteknetate uptake'i değeri sham grubuna göre daha yüksek bulunmuş, Agmatin uygulanan grupta ise Sham grubu seviyelerine gelmiştir. Sol testis için Sham, İR ve İR+AG gruplarında ortalama 2310, 3028 ve 2280 cpg olarak hesaplandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemekle birlikte ( $p>0.05$ ) Tc-99m perteknetate uptake'i İR grubunda belirgin olarak yüksek saptandı. Agmatin uygulanan grupta ise Tc-99m perteknetate uptake'i azalmış fakat Sham grubu sol testis düzeylerinde saptanmıştır (Grafik 1).



**Tablo 2:** Testislerde doku Tc 99m perteknetate uptake (cpg) değerlerinin istatistiksel analizi [medyan (minimum-maksimum)].

Gruplar	Uptake değerleri		p değeri	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol
SH (n=10)	2172 (1280-4326)	2310 (927-3750)	(p>0.05)	(p>0.05)
İR (n=10)	2459 (1815-3047) <sup>a</sup>	3028 (1378-5413) <sup>c</sup>	(p>0.05) <sup>a</sup>	(p>0.05) <sup>c</sup>
İR+AG (n=9)	2115 (1006-3301) <sup>b</sup>	2280 (1225-3593) <sup>d</sup>	(p>0.05) <sup>b</sup> (p>0.05) <sup>ab</sup>	(p>0.05) <sup>d</sup> (p>0.05) <sup>cd</sup>

<sup>a</sup>p>0.05 Sham grubu ile kıyaslandığında, <sup>b</sup>p>0.05 Sham grubu ile kıyaslandığında, <sup>ab</sup>p>0.05 İR grubu ile İR+AG grubu kıyaslandığında, <sup>c</sup>p>0.05 Sham grubu ile kıyaslandığında, <sup>d</sup>p>0.05 Sham grubu ile kıyaslandığında, <sup>cd</sup>p>0.05 İR grubu ile İR+AG grubu kıyaslandığında.



**Grafik 1:** Sham (SH), İskemi-Reperfüzyon (İR) ve İskemi-Reperfüzyon+Agmatin (İR+AG) gruplarında, sağ ve sol testislerde ortalama Tc 99m perteknetate uptake'inin grafikte gösterilmiştir.

#### 4.2. Biyokimyasal Bulgular

Doku MDA değerlerinin sağ ve sol testislerdeki ortalamaları ve istatistiksel değerlendirmesi Tablo 3'de gösterilmiştir. Gruplar arasında sağ ve sol testisler için değerlendirme Kruskal-Wallis Test ile yapıldı. İstatistiksel olarak farklılık saptanan gruplarda, farklılığın hangi gruplar arasında oluştuğunu değerlendirmek için Mann-Whitney U Testi kullanıldı. Buna göre sağ ve sol testislerde MDA değerleri

yönünden fark saptandı ( $p < 0.05$ ). Sağ testisler incelendiğinde, Sham grubunda ortalama MDA değeri 0,65 iken İR+AG grubunda 0,95 olarak ölçüldü. Bu değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0.05$ ) idi. Sol testislerde gruplar arasında fark tespit edildi ( $p < 0.05$ ). Gruplar ikişerli kıyaslandığında Sham ve İR grupları arasındaki fark anlamlı idi ( $p < 0.05$ ). Sham ve İR+AG grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. İR ile İR+AG grupları karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p < 0.05$ ). MDA ortalama değerleri (Grafik 2’de gösterilmiştir) incelendiğinde Sham grubunda 0,66 iken İR grubunda 0,99’ a yükselmiş ve İR+AG grubunda ise tekrar 0,63’e inmiştir.

**Tablo 3:** Testislerde doku MDA değerlerinin istatistiksel analizi [medyan (minimum-maksimum)].

Gruplar	MDA değerleri nmol/mg protein		p değeri	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol
SH (n=10)	0,65 (0,35-0,97)	0,66 (0,48-0,86)	$p < 0.05$	$p < 0.05$
İR (n=10)	0,71 (0,58-0,972) <sup>a</sup>	0,99 (0,72-2,40) <sup>c</sup>	$p > 0.05^a$	$p < 0.001^c$
İR+AG (n=9)	0,95 (0,27-1,16) <sup>b</sup>	0,63 (0,23-1,03) <sup>d</sup>	$p < 0.05^b$ $p > 0.05^{ab}$	$p > 0.05^d$ $p < 0.05^{cd}$

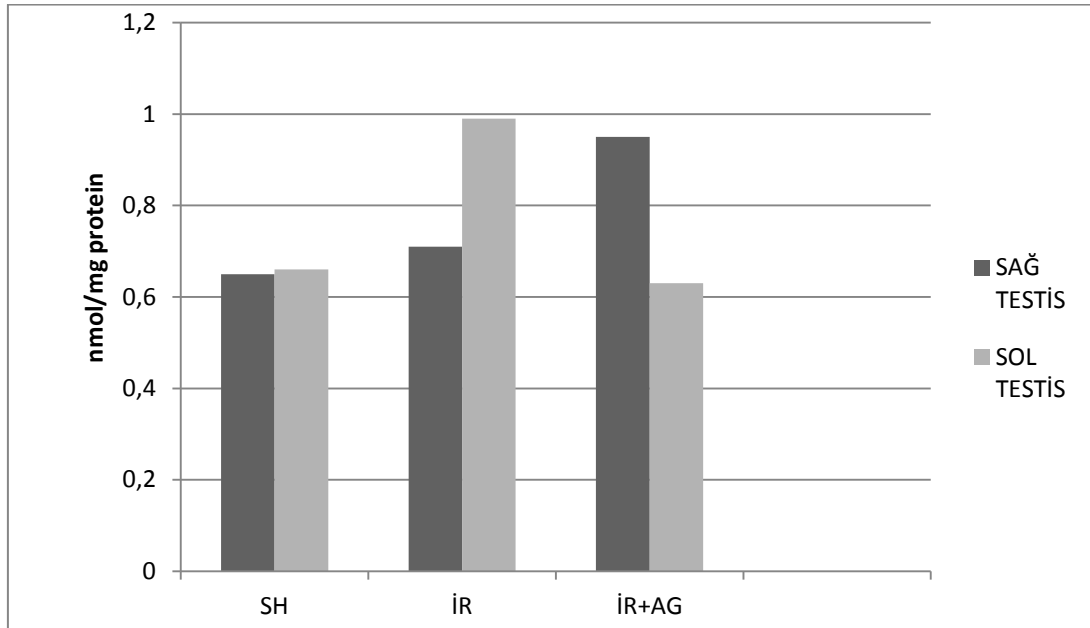
<sup>a</sup> $p > 0.05$  Sham grubu ile kıyaslandığında, <sup>b</sup> $p < 0.05$  Sham grubu ile kıyaslandığında <sup>ab</sup> $p > 0.05$  İR grubu ile İR+AG grubu kıyaslandığında, <sup>c</sup> $p < 0.05$  Sham grubu ile kıyaslandığında, <sup>d</sup> $p > 0.05$  Sham grubu ile kıyaslandığında, <sup>cd</sup> $p < 0.05$  İR grubu ile İR+AG grubu kıyaslandığında.

Doku TAK değerlerinin sağ ve sol testislerdeki ortalamaları ve istatistiksel değerlendirmesi Tablo 4’te gösterilmiştir. Gruplar arasında sağ ve sol testisler için değerlendirme Kruskal-Wallis Test ile yapıldı. İstatistiksel olarak farklılık saptanan gruplarda farklılığın hangi gruplar arasında oluştuğunu değerlendirmek için Mann-Whitney U Testi kullanıldı. Buna göre sağ testisler yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ). Sol testislerde TAK değerleri yönünden fark saptandı ( $p < 0.05$ ). Sol testisler ikişerli gruplar olarak değerlendirildiğinde İR grubu ile İR+AG grubu arasındaki fark anlamlı idi. Sham grubu ile kıyaslandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Ortalama sol testis TAK değerleri (Grafik 3) sham grubunda 74.5 olan değer İR grubunda 70.7’ye düşmüş, İR+AG grubunda ise 81 ‘e yükselmiştir.

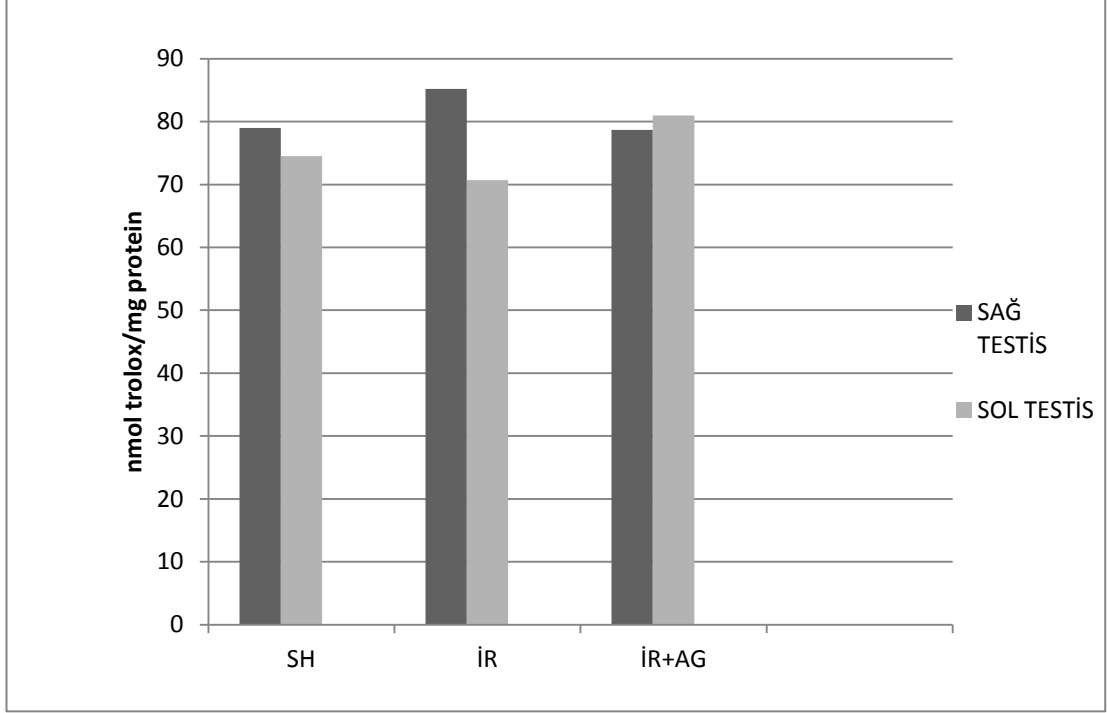
**Tablo 4:** Testislerde doku TAK değerlerinin istatistiksel analizi [medyan (minimum-maksimum)].

Gruplar	TAK değerleri nmol trolox/mg rotein		p değeri	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol
SH (n=10)	79 (66,7-91,7)	74,5 (57,7-101,7)	p<0.05	p<0,05
İR (n=10)	85,2 (67,2-97,4) <sup>a</sup>	70,7 (30,4-78,7) <sup>c</sup>	p>0.05 <sup>a</sup>	p<0.05 <sup>c</sup>
İR+AG(n=9)	78,7 (57,7-97,6) <sup>b</sup>	81 (69,7-98,3) <sup>d</sup>	p<0.05 <sup>b</sup>	p>0.05 <sup>d</sup>
SH (n=10)			p>0.05 <sup>ab</sup>	p<0.05 <sup>cd</sup>

<sup>a</sup>p>0.05 Sham grubu ile kıyaslandığında, <sup>b</sup>p>0.05 Sham grubu ile kıyaslandığında, <sup>ab</sup>p>0.05 İR grubu ile İR+AG grubu kıyaslandığında, <sup>c</sup>p>0.05 Sham grubu ile kıyaslandığında, <sup>d</sup>p>0.05 Sham grubu ile kıyaslandığında, <sup>cd</sup>p<0.05 İR grubu ile İR+AG grubu kıyaslandığında.



**Grafik 2:** Sham (SH), İskemi-Reperfüzyon (İR) ve İskemi-Reperfüzyon+Agmatin (İR+AG) gruplarında, sağ ve sol testislerde ortalama Doku MDA değerleri grafikte gösterilmiştir.



**Grafik 3:** Sham (SH), İskemi-Reperfüzyon (İR) ve İskemi-Reperfüzyon+Agmatin (İR+AG) gruplarında, sağ ve sol testislerde ortalama Doku TAK değerleri grafikte gösterilmiştir.

#### 4.3. Histopatolojik Bulgular

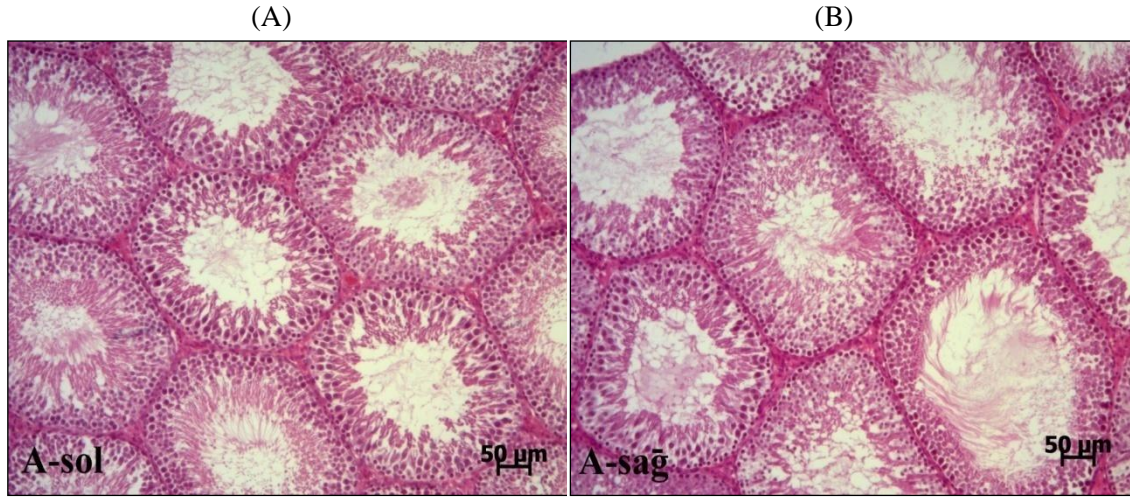
Sham grubu deneklere ait, sağ ve sol testis seminifer tübüllerinin ışık mikroskopik incelemesinde, çok sıralı bir epitel tabakası ile döşeli olduğu gözlemlendi. Seminifer tübül epitelinin, spermatogenetik hücre serileri ile sertoli hücrelerinden oluştuğu görüldü. Sertoli hücreleri soluk boyanan, karakteristik nükleus şekilleri (piramit, armut, üçgen veya oval) ile ayırt edilmekteydi. Bazal lamina üzerine oturan Sertoli hücrelerinin lateral katlantıları arasına yerleşik çok sayıda normal morfolojide, spermatogenetik seri hücreleri bulunmakta idi. Oval biçimli nükleusa sahip spermatogonyumlar bazal laminaya yakın olarak izlendi. Primer spermatositler, spermatogonyumların hemen üzerinde, 4n DNA'ya sahip olmaları nedeniyle daha büyük hacimli nükleusları ile ayırt edildiler. Gelişme evrelerine bağlı olarak sekonder spermatosit ve spermatidlerin daha üst sıralarda yer aldığı görüldü. Spermatidler erken ve geç olmak üzere iki farklı evrede gözlemlendi. Pek çok seminifer tübül lümeninde spermatozalara rastlandı (Şekil 2). Seminifer tübül epitelinin en

dıştan tunika propriya ile sarıldığı görüldü. Miyoid hücreler, tunika propriyanın ortasında, bu dokuya paralel uzanan koyu boyanmış iğ şeklindeki uzun nükleusları ile ayırt edildi. Seminifer tübüller arasındaki interstisyel dokuda; kan damarları etrafında yerleşik, gevşek kromatinli nükleusa sahip, oval ya da yuvarlak şekilli, Leydig hücreleri ile lenf kapillerleri ve bağ doku hücreleri gözlendi (Şekil 2).

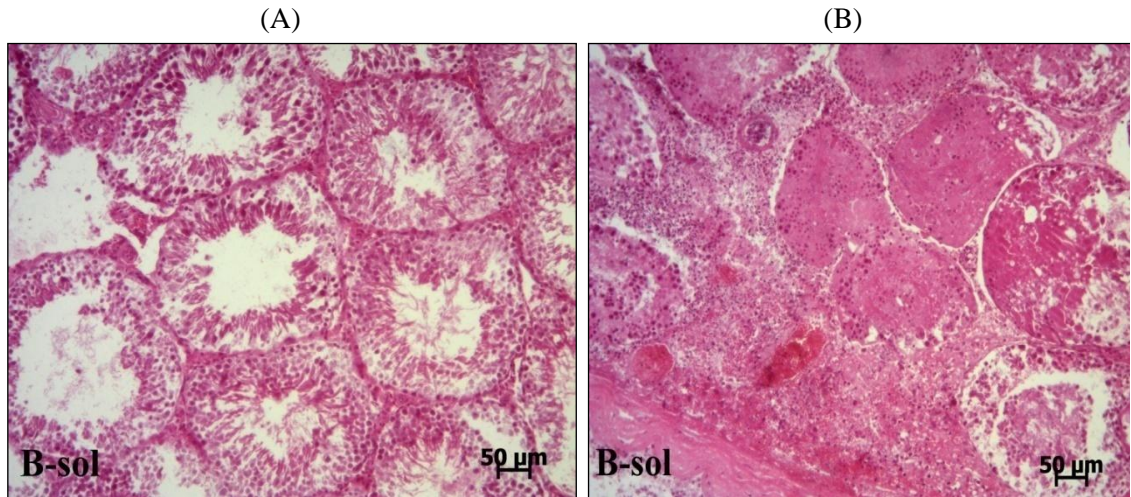
İ/R grubu deneklere ait, sol testis dokusunun ışık mikroskopik incelemesinde, seminifer tübüllerin kontüründe bozulma, spermatogenetik seri hücrelerinin yerleşiminde düzensizlikler, morfolojik yapılarında ciddi dejenerasyon ile birlikte, hücrel kayıplar ve lümene atılmış olgunlaşmamış spermatogenetik seri hücreleri gözlendi. Bazı tübüllerin lümenlerinde, spermatozoların yokluğu, bazılarının da ise spermatozoa miktarındaki ciddi azalma dikkat çekici idi. Ayrıca, tunika albuginea'da kalınlaşma ve kapsül altı bağ dokusunda ciddi ödem ile birlikte hemoraji bu gruba ait en belirgin histopatolojik değişikliklerden idi (Şekil 3). Sağ testis dokusunun ışık mikroskopik düzeyde incelenmesinde interstisyumda hafif ödem ve hemoraji ile birlikte seminifer tübül epitelinde çok belirgin olmayan düzensizlikler gözlendi (Şekil 4).

İ/R+AG grubu deneklere ait sol testis dokusunun ışık mikroskopik incelemesinde; dış kontürü düzenli, çoğunlukla düzenli yerleşim gösteren spermatogenetik seri hücreleri içeren seminifer tübüller görüldü. Bazı tübüllerde ise spermatogenetik seri hücrelerinin yerleşiminde düzensizlikler tespit edildi. Tübül lümenlerinde spermatozoonlara rastlanmakla birlikte yer yer olgunlaşmamış spermatogenetik seri hücrelerinin varlığı da dikkat çekmekte idi. Bunların yanı sıra, interstisyel alanda da hafif ödem ve hemoraji gözlendi (Şekil 5).

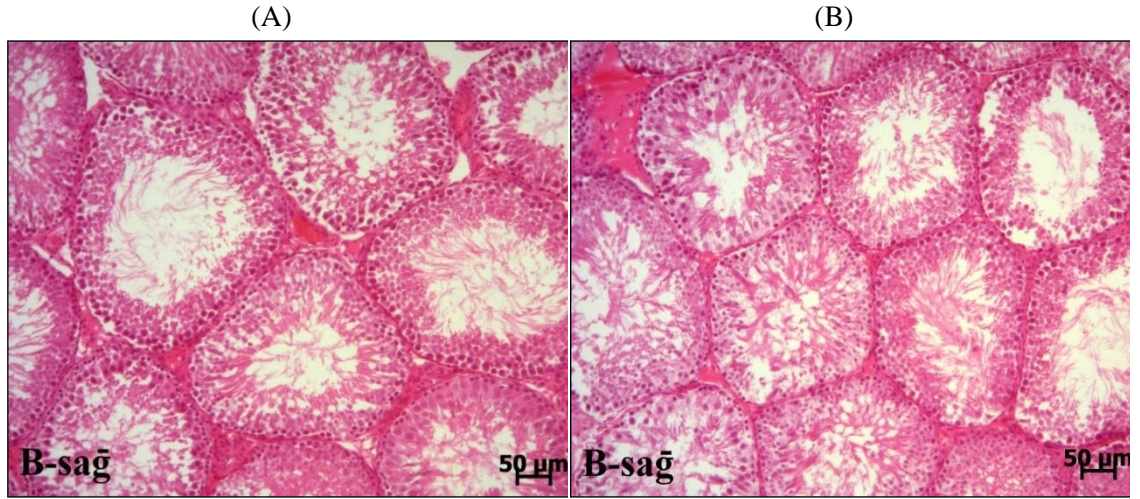
Aynı grubun sağ testis dokusunun ışık mikroskopik düzeyde incelenmesi sonucu, çoğunlukla normal morfolojide lümenlerinde spermatozoonların bulunduğu tübüller görüldü. Nadir olmakla birlikte, bazı tübüllerde, yer yer olgunlaşmadan lümene atılmış spermatogenetik seri hücrelerine de rastlandı (Şekil 6).



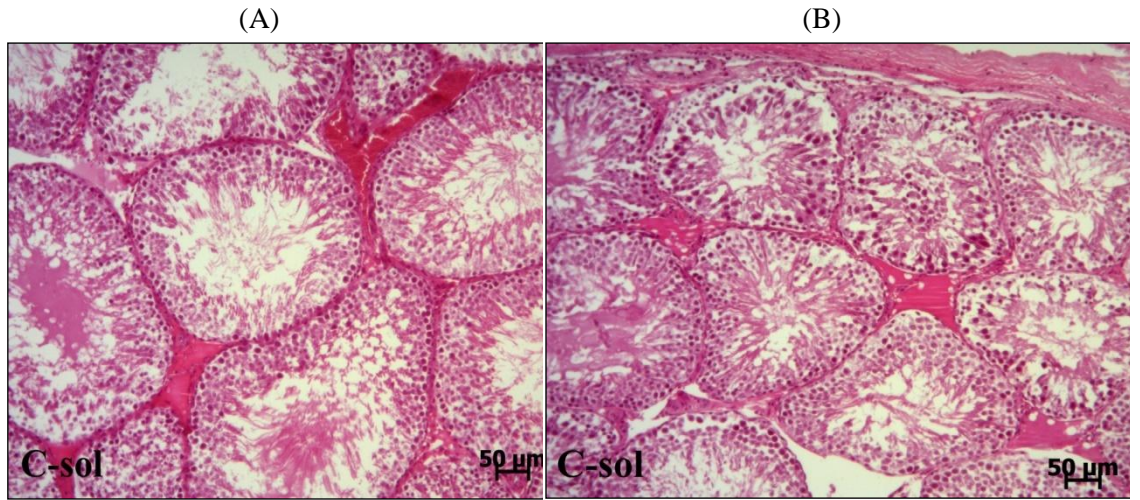
**Şekil 2:** Sham grubuna ait normal morfolojik yapıdaki testis görüntüsü (Hematoksilen-Eozin) (A) Düzgün kontürdeki seminifer tübüller ve düzenli yerleşimli spermatogenetik seri hücreleri izlenmekte. (B) Tübüller arasındaki interstisyel bağ doku normal yapı özellikleri göstermekte.



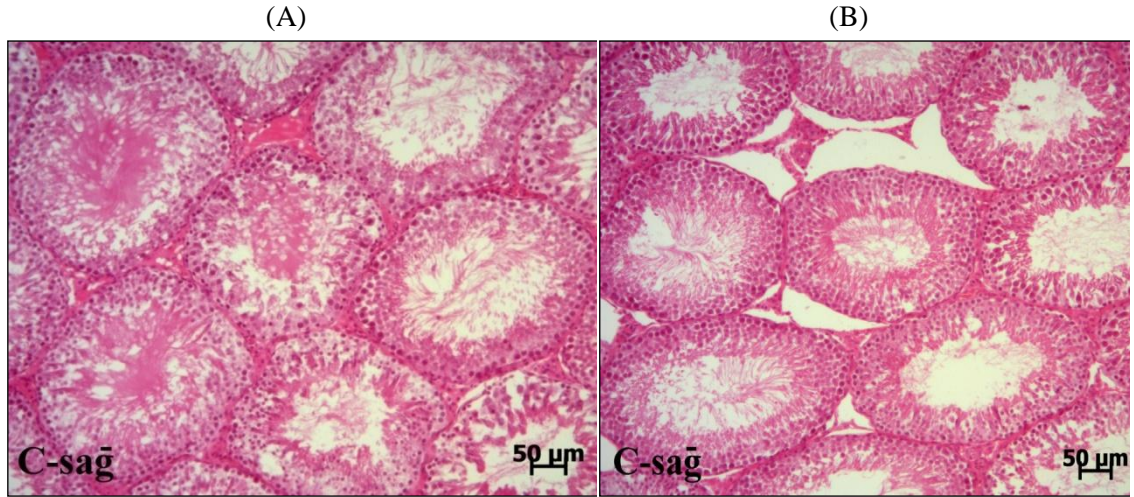
**Şekil 3:** İskemi-Reperfüzyon grubuna ait hasarlanmış sol testis görüntüsü (HE). (A) Seminifer tübüllerin kontüründe bozulma, spermatogenetik seri hücrelerinin yerleşiminde düzensizlikler, hücresel kayıplar, lümeneye atılmış olgunlaşmamış spermatogenetik seri hücreleri izlenmekte. Bazı tübüllerin lümenlerinde, spermatozoonların yokluğu, bazılarının da ise spermatozoon miktarındaki ciddi azalma dikkati çekmekte. (B) Tunika albuginea'da kalınlaşma ile birlikte, kapsül altı bağ dokusunda ciddi ödem ve hemoraji izlenmekte. Seminifer tübüllerin morfolojisindeki ağır bozukluk, spermatogenetik seri hücrelerinin diziliminde ve yapısındaki ciddi dejenerasyon dikkati çekmekte. Tübüllerin lümeninde spermatozoonlara rastlanmamakta.



**Şekil 4:** İskemi-Reperfüzyon grubuna ait, sağ testis görüntüsü (HE).(A) Seminifer tübüllerin arasında yerleşik interstisyel bağ dokusunda hafif ödem ve hemoraji izlenmekte. Tübüllerin dış kontürünün genel olarak normale yakın olduğu, ancak bazı tübüllerde spermatogenetik eri hücrelerinin diziliminde hafif düzensizlikler olduğu gözlenmekte. Çoğunlukla tübül lümenlerinde spermatozoonların varlığı dikkati çekmekte. (B) İskemi-Reperfüzyon grubuna ait, sağ testis görüntüsü. Bazı seminifer tübüllerde yer yer spermatogenetik seri hücrelerinin düzensiz yerleşimi ve interstisyel alanda hafif ödem dikkati çekmekte.



**Şekil 5:** İskemi-Reperfüzyon+Agmatin grubuna ait sol testis görüntüsü (Hematoksilen-Eozin). (A) Dış kontürü düzenli, çoğunlukla düzenli yerleşim gösteren spermatogenetik seri hücreleri içeren seminifer tübüller izlenmekte. Bazı tübüllerde ise, yer yer spermatogenetik seri hücrelerinin yerleşimindeki düzensizlikler dikkati çekmekte. Tübül lümenlerinde spermatozoonlara rastlanmakta. İnterstisyel alanda hafif ödem ve hemoraji görülmekte. (B) Tübüller arası interstisyel alanda yer yer ödem, tübül lümeninde olgunlaşmamış spermatogenetik seri hücrelerinin varlığı dikkati çekmekte.



**Şekil 6:** İskemi-Reperfüzyon+Agmatin grubuna ait, sağ testis görüntüsü (HE) (A) Çoğunlukla normal morfolojide lümenlerinde spermatozoaların bulunduğu tübüller görülmekte. Yer yer olgunlaşmadan lümene atılmış spermatogenetik seri hücrelerine de rastlanmata. (B) İskemi-Reperfüzyon+Agmatin grubuna ait, sağ testis görüntüsü. Çoğunlukla normal morfolojideki seminifer tübüller izlenmete.

Cosentino ve ark. (1986), yapmış oldukları histolojik skorlama yöntemi (Tablo 1) kullanılarak elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde; sol testislerde 0-4'e yapılan skorlamada (Tablo 5), skorların deneklere dağılımı (Tablo 6)'da görülmektedir. En yüksek skorlar İ/R grubu deneklerden elde edildi. Tablo 1'de belirtilen, parametreler göz önünde bulundurularak, seminifer tübüller skorlandığında, 3 saatlik iskemi ve 24 saatlik reperfüzyonun ardından, tüm parametreler açısından skorların kontrole göre anlamlı ( $p < 0.05$ ) düzeyde artmış olduğu gözlemlendi. Benzer şekilde interstisyumun ödem ve hemoraji açısından skorlanması ile iskemi-reperfüzyon grubunda, kontrole göre anlamlı ( $p < 0.05$ ) düzeyde artan skor sonuçları elde edildi (Tablo 7).

Tablo 1'de belirtilen parametreler göz önünde bulundurularak sol testisteki seminifer tübüller skorlandığında; reperfüzyondan 15 dk önce agmatin uygulanması sonucunda (spermatozoa ve spermatid kaybı, germ hücre tabakalarının düzensizleşmesi ve dejenerasyonu, tübüllerin parçalanması ve parçalanmış tübüllerde Leydig hücre reaksiyonları, miyoid hücre tabakasının kalınlaşması açısından) skorların kontrole göre anlamlı ( $p < 0.05$ ) düzeyde yüksek olduğu gözlemlendi (Tablo 6). Benzer şekilde interstisyumun Leydig hücre proliferasyonu ve hemoraji açısından



skorlamaya göre İR+AG grubunda, kontrole göre anlamlı ( $p<0.05$ ) düzeyde artan sonuçları elde edildi (Tablo 7). İR grubu ile İR+AG grubu karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde fark oluşan tek parametre, germ hücre tabakalarındaki düzensizlik idi. Germ hücre tabakalarında meydana gelen düzensizlikleri yansıtan skorun, agmatin uygulaması ile belirgin düzeyde düştüğü görüldü ( $p<0.05$ ) (Tablo 6).

**Tablo 5.** Cosentino'ya göre, sol testislerdeki histolojik skorların deneklere göre dağılımı.

Gruplar	Evre 0	Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4
SH (n=10)	10	-	-	-	-
İR (n=10)	-	4	5	1	-
İR+AG (n=9)	-	7	2	-	-

**Tablo 6.** Cosentino'ya göre, grupların sol testislerinde seminifer tübüllerin histolojik skorları [medyan (minimum-maksimum)].

Seminifer Tübüller	SH (n=10)	İR (n=10)	İR+AG (n=9)	P değeri
Spermatozoa ve spermatidlerin kaybı	0,0 (0-0)	2,0 (1-3) <sup>a</sup>	1,0 (1-3) <sup>b</sup>	<0,001
Germ hücre tabakalarının yokluğu	0,0 (0-0)	1,0 (0-2) <sup>a</sup>	0,0 (0-1)	<0,01
Germ hücre tabakalarının dejenerasyonu	0,0 (0-0)	3,0 (1-4) <sup>a</sup>	1,0 (1-4) <sup>b</sup>	<0,001
Germ hücre tabakalarının düzensizleşmesi	0,0 (0-1)	3,0 (2-4) <sup>a</sup>	2,0 (1-4) <sup>bc</sup>	<0,001
Tübüllerin parçalanması	0,0 (0-0)	2,0 (0-3) <sup>a</sup>	1,0 (0-2) <sup>b</sup>	<0,001
Parçalanmış tübüllerde Leydig hücre reaksiyonları	0,0 (0-0)	1,0 (0-2) <sup>a</sup>	1,0 (0-2) <sup>b</sup>	<0,001
Miyoid hücre tabakasının kalınlaşması	0,0 (0-1)	1,0 (1-2) <sup>a</sup>	1,0 (1-2) <sup>b</sup>	<0,01

<sup>a</sup> $p<0.05$  Sham grubu ile kıyaslandığında, <sup>b</sup> $p<0.05$  Sham grubu ile kıyaslandığında, <sup>c</sup> $p<0.05$  İR grubu ile kıyaslandığında

**Tablo 7.** Cosentino'ya göre, grupların sol testislerinde interstisyumun histolojik skorları [medyan (minimum-maksimum)].

İnterstisyum	SH (n=10)	İR (n=10)	İR+AG (n=9)	P değeri
Leydig hücre proliferasyonu	0,0 (0-0)	0,5 (0-2)	1,0 (0-1) <sup>b</sup>	<0,05
Ödem	0,0 (0-1)	1,5 (1-3) <sup>a</sup>	1,0 (0-3)	<0,005
Hemoraji	0,0 (0-0)	1,0 (1-3) <sup>a</sup>	1,0 (0-2) <sup>b</sup>	<0,001

<sup>a</sup> $p<0.05$  Sham grubu ile kıyaslandığında, <sup>b</sup> $p<0.05$  Sham grubu ile kıyaslandığında

## 5. TARTIŞMA

Skrotumda ani başlayan ağrı ve şişlik ile acil servise başvuran her erkek çocukta testis torsiyonu akla gelmelidir. Testis torsiyonu doku hipoksisine ve germinal hücre nekrozu ile fertilitede azalma ya da infertiliteye neden olur. Akut skrotum bulguları olan bir hastada mutlaka testis torsiyonu olabileceği düşünülerek testislerdeki kan akımı Doppler ultrasonografi ve/veya sintigrafik yöntemlerle tespit edilmelidir. Tedavide testiste kalıcı hasar oluşmadan acil testis detorsiyonu ile testis kan akımının döndürülmesi amaçlanır. Testis torsiyonunu takiben ameliyat veya el ile detorsiyone edilen testislerde detorsiyon sonrası hasarlanma devam etmektedir. Bu durumda testiste oluşan iskemik hasara ek olarak testisin kan akımının yeniden sağlanması sırasında oluşan reperfüzyon hasarı sorumlu tutulmaktadır. Reperfüzyon safhasında hem ROS (başlıca hidroksil radikalleri ve süperoksit anyonları olmak üzere) hem de RNS (başlıca NO ve onun peroksinitrit türevleri olmak üzere) toksik metabolitlerinde ciddi artış olur. Bu serbest radikaller mitokondri ve hücre membranındaki lipidlerin peroksidasyonu yoluyla membran geçirgenliğinde artışa veya membran bütünlüğünde bozulmaya neden olur. Sonuçta iskemi nedeniyle oluşan germ hücre hasarı daha da artar (26).

Testis İ/R hasarında da diğer birçok patolojik süreçlerde olduğu gibi NOS eksprese edildiği gösterilmiştir. Yapılan bir deneysel çalışmada rat testislerinde 1,5 saat torsiyonu takiben yapılan detorsiyonu 96 saate kadar izlemişler ve western blot yöntemi ile her üç tip NOS varlığını ve iNOS seviyesinin detorsiyonun 24-48 saatinde en yüksek seviyeye ulaştığını göstermişlerdir (41).

Özokutan B ve Ark. yaptıkları çalışmada NO prekürsörü olan L arjinin ile testiküler iskemi reperfüzyon hasarı oluşturdukları ratlarda hasarın bir göstergesi olan MDA seviyelerinin ve histopatolojik hasar skorlarının arttığını; daha sonra diğer gruba NO inhibitörü olan (L-NMMA) verdiklerinde MDA seviyesi ve histopatolojik skorların azaldığını gözlemlemişlerdir (96).

Deneysel çalışmalarda arteriyel tıkanıklıkta iki saat, venöz tıkanıklıkta ise altı saat içinde testis nekrozu geliştiği gösterilmiştir (97). Bulguların ortaya çıkması sonrasında ilk 12 saat içinde tedavi edilmeyen olgularda testisin kaybı söz konusu olabilmektedir (12). Ayrıca tek taraflı testis torsiyonu sonrası karşı testiste de ciddi

hasarlanma olduğu bildirilmektedir. (98). Puberte öncesi sıklıkla intravaginal testis torsiyonu görülür (97,99). Torsiyon akut olarak ve testisin longitudinal aksı boyunca oluşur. Heindel ve ark (100) 360° torsiyonun bir değişikliğe yol açmadığını, 720° ve fazlasının fertilitede azalmaya neden olduğunu ileri sürmüşlerdir. Sıçanlarda deneysel ekstravaginal torsiyon modelinde süre ile hasarlanma derecesinin birbirleriyle ilişkili olduğu ve hasarlanma için en az 540° torsiyon gerektiği bildirilmiştir (101). Turner ve ark (102) deneysel çalışmalarında longitudinal aksı boyunca testise 180°, 360° ve 720° torsiyon uygulamışlardır. Torsiyone testis sırasıyla bir, iki ve dört saat sonra detorsiyone edilmiştir. Sonuçta 360° ve bir saatlik torsiyonun yalnızca akut vasküler değişimlere yol açtığı, 720° ve dört saatlik torsiyonun ise tam iskemiyle sonuçlandığı bildirilmiştir. Torsiyon 1080° üzerinde ise arteriyel akım da bozulmaktadır (100).

Biz çalışmamızda iskeminin son 15 dakikasında NOS inhibitörü olan Agmatini uygulayarak; reperfüzyonun 24. saatinde biyokimyasal, histopatolojik ve sintigrafik değerlendirme yaptık. Etkili bir torsiyon oluşturmak fakat testislerde geri dönüşümsüz hücre hasarı olmadan reperfüzyonu sağlamak için torsiyon 720° ve süresini 3 (üç) saat olarak belirledik.

Histopatolojik bulgularımız sol (ipsilateral) ve sağ (kontrolateral) olarak incelendiğinde; sham grubunda her iki testiste normal morfolojik düzgün kontürdeki seminifer tübüller ve düzenli yerleşimli spermatogenetik seri hücreleri izlendi. İskemi reperfüzyon (İR) grubunda sol testis (ipsilateral) incelemesinde; seminifer tübüllerin kontüründe bozulma, spermatogenetik seri hücrelerinin yerleşiminde düzensizlikler, hücresel kayıplar, lümeneye atılmış olgunlaşmamış spermatogenetik seri hücreleri izlendi. Bazı tübüllerin lümenlerinde, spermatozoonların yokluğu, bazılarında ise spermatozoon miktarındaki ciddi azalma görüldü. Sağ testis (kontrolateral) dokusunun ışık mikroskopik düzeyde incelenmesi sonucu, interstisyumda hafif ödem ve hemoraji ile birlikte, seminifer tübül epitelinde çok belirgin olmayan düzensizlikler gözlemlendi. İR+AG grubunda ise sol (ipsilateral) testisin dış kontürü düzenli, çoğunlukla düzenli yerleşim gösteren spermatogenetik seri hücreleri içeren seminifer tübüller izlenmektedir. Bazı tübüllerde ise yer yer spermatogenetik seri hücrelerinin yerleşimindeki düzensizlikler ve tübül lümenlerinde spermatozoonlara rastlanmaktadır. İnterstisyel alanda ise hafif ödem ve hemoraji görülmektedir.

Sağ (konturlateral) testiste ise çoğunlukla normal morfolojide lümenlerinde spermatozoaların bulunduğu tübüller görülmektedir. Yer yer olgunlaşmadan lümene atılmış spermatogenetik seri hücrelerine de rastlanmaktadır. İstatistiksel olarak kontrol grubu ile kıyaslandığında hem İR hemde İR+AG gruplarında sol testislerdeki bulgular anlamlı fark saptandı ( $p<0.05$ ). Sağ (konturlateral) testiste ise histopatolojik olarak fark vizüel değerlendirmede anlamlı düzeyde değildi. İR ve İR+AG gruplarında Agmatin uygulaması ile testisin dış kontür düzeni, spermatogenetik seri hücrelerinin yerleşimindeki düzen ve tübül lümenlerinde spermatozoon bulunması, interstisyel alanda ödem ve hemoraji bulgularında düzeltilmeler izlenmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düzeltilme, germ hücre tabakalarındaki düzensizlikleri yansıtan histopatolojik skorda saptandı.

Testiste hasar oluşumu diğer organlar gibi sadece iskeminin uzunluğuna bağlı değildir. Reperfüzyon süresi de hasarda önemli rol oynar. Zaten asıl tartışma ve ilgi konusu da detorsiyonu takiben oluşan hasardır. Saba ve ark (103) reperfüzyon süresinin karşı taraf dokunun hasarlanmasının göstergesi olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan diğer çalışmalarda da dokulardaki hasarın reperfüzyon süresiyle doğru orantılı olduğu saptanmıştır (104). Azalmış karşı taraf kan akımı tek taraflı testis torsiyonunda karakteristiktir ve günler sonra normale döner (105). Tek taraflı testis torsiyonu sonrası her iki testiküler arterde azalan kan akımının uzun dönem sonuçları testis fonksiyonu ve fertilitiyi etkilemektedir (106,107).

Bazı çalışmalarda tek taraflı testis torsiyonundan karşı testisin etkilendiği bildirilmiştir (10,103,108-110). Buna karşın bu işlemin karşı testiste bir değişime yol açmadığını belirten çalışmalarda mevcuttur (46,111-113) Bizde çalışmamızda karşı testiste istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık.

Doku lipid peroksid içeriği iskemi reperfüzyonun en önemli belirtecidir (114-116). Çalışmamızda reperfüzyon hasarını değerlendirmek amacıyla, etkinliği birçok yayında ortaya konmuş önemli bir belirteç olan MDA düzeyleri araştırıldı. Doku MDA değerleri, sağ testisler incelendiğinde, Sham grubu ile İR+AG grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.05$ ) idi. Sham grubunda ortalama MDA değeri 0,65 iken İR grubunda 0,71 ve İR+AG grubunda 0,95 olarak ölçüldü. Sol testislerde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tesbit edildi ( $p<0.05$ ). Gruplar ikişerli kıyaslandığında Sham ve İR grupları arasındaki fark anlamlı idi

( $p < 0.05$ ). Sham ve İR+AG grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. İR ile İR+AG grupları karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p < 0.05$ ). Sol testis MDA ortalama değerleri (Grafik 4'te gösterilmiştir.) incelendiğinde Sham grubunda 0,66 iken İR grubunda 0,99' a yükselmiş ve İR+AG grubunda ise 0,63'e inmiştir. Sağ ve sol testislerde İR gruplarında doku MDA düzeylerinin sham grubundan yüksek bulunması deneysel tek taraflı testis iskemisi reperfüzyon hasarının her iki testiste serbest radikaller tarafından etkilendiğini ve torsiyon detorsiyon uygulamasının gerçekleşmiş olmasının gösterilmesi yönünden önemli bir bulgudur. Çalışmamızda Agmatin uygulamasının sol testisteki (ipsilateral) hasarlanmayı azalttığı, sağ testiste ise etkili olmadığı sonucuna vardık. Bu bulgu bize iskemisi reperfüzyon hasarı gibi inflamatuvar değişikliklerle birlikte normale göre iNOS ekspresyonunun 100-1000 kat artış gösterebildiğinin biliniyor olmasından dolayı Ağmatinin hasarlı dokularda oluşan iNOS üzerinden etki edebileceğini, hasarlanmamış dokularda ise daha az etki gösterebileceğini düşündürmüştür.

Organizmanın pro-oksidan/antioksidan dengesi sağlıklı bir yaşam sürdürebilmek için çok önemlidir. RNS ve SOR'ların oluşumunu ve meydana getirdikleri hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere canlı organizmayı koruyan birçok enzim ve biyolojik molekül tespit edilmiş ve bunların ölçümü dokunun antioksidan düzeyi ve antioksidan olarak etki ettiği düşünülen ilaçların etki mekanizmasını ortaya koyabilmesi açısından büyük bir öneme sahiptir. Birçok testis İR hasarı çalışmasında biyokimyasal olarak antioksidan enzim düzeyleri bakılmış ancak bu tetkikler hem zaman alıcı hemde pahalı tetkiklerdir. Bunun için antioksidan kapasitenin değerlendirilmesinde kullanılmak üzere hazır kitler üretilmiştir. Bizde çalışmamızda total antioksidan kapasite değerlendirmesini bu şekilde yaptık.

Sağ (konturlateral) testisler arasında istatistiksel olarak anlamlı değişiklik saptanmadık ( $p > 0.05$ ). Sol testislerde gruplar arasında en düşük değer İR grubunda bulundu. Bu bulgu Agmatin uygulanan grup ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p < 0.05$ ). Agmatin uygulaması ile sol testis dokusunda TAK'yi arttırdığımızı gözlemledik.

Erol B. ve Ark. (117) ratlarda testis iskemisi reperfüzyon hasarında Vardenafil'in koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmada 1 saat torsiyon 4 saat

detorsiyon uygulamışlardır. İskemi reperfüzyon grubunu kontrol grubu ve Vardenafil uyguladıkları grup ile karşılaştırdıklarında, daha düşük TAK değerleri tespit etmişler. İskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan gruplarda kontrol grubuna göre yüksek MDA değerleri bulmuşlar. Bu çalışmanın sonuçları hem total antioksidan kapasite hem de MDA değerleri yönünden bizim sonuçlarımız ile benzerdi..

Raju ve Ark (118) bildirdikleri bir çalışmada 1-3 saat torsiyon ve 1-4 saat detorsiyon uyguladıkları ratlarda katalaz, SOD ve MDA düzeylerini araştırmışlardır. Torsiyon ve detorsiyon süreleriyle ilişkili olarak katalaz ve SOD seviyelerinde düşüş ve MDA seviyelerinde de artış saptamışlar. Antioksidan enzim seviyelerinde en fazla düşüşün 3 saat torsiyon 4 saat detorsiyon grubunda olduğunu ve en yüksek MDA değerinin de yine bu grupta ölçüldüğünü bildirmişlerdir. Bu çalışmamızda İ/R uyguladığımız grupta doku MDA düzeylerini kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptadık.

Testis sintigrafisinde kullanılan Tc-99m-pertechnetate organlardaki tutulumu kan akımı ve hücre canlılığı ile orantılıdır. Testis sintigrafisi, testislerin kanlanması değerlendirilmek için noninvaziv, kolay bir test olarak uzun yıllar kullanılmıştır. Testis torsiyonunun değerlendirilmesi, torsiyonun testislerin diğer enfeksiyon nedenli hastalıklarından ayrılmasında kullanılmaktadır. Testis sintigrafisi genellikle torsiyon ile oluşan hemodinamik değişiklikleri değerlendirmek için kullanılmıştır. Reperfüzyon dönemindeki değişiklikleri değerlendiren literatürde çok az çalışma bulunmaktadır.

Reperfüzyon döneminde testislerde oluşan hemodinamik değişikliklerin histopatolojik, Doku MDA, TAK deki değişimlerin testis sintigrafide meydana gelen değişikliklerle korelasyonunu saptamak hemde testis dokusundaki Tc-99m-pertechnetate uptake i'ni gama counter ile kantitatif bir yöntem olarak etkinliğini araştırmayı amaçladık.

Klinik uygulamalarda testis sintigrafisinin birçok nedenden dolayı değerlendirmede karşılaşılan limitasyonları bulunmaktadır. Gama kameraların belli boyutların altındaki lezyonları saptamadaki yetersizliği, skrotumun oluşturduğu atenuasyon ve testis bölgesine uygulanan cerrahi müdahaleler gibi sebeblere bağlı olarak değerlendirme zorlaşmaktadır.

Fischman ve Ark. (119) Yaptıkları rat testis iskemi (spermatik damar ligasyonu yöntemi ile) çalışmasında neonatal ve genç çocukların testis büyüklüklerinin benzer ve küçük olduğunu aldıkları kanlanma ve statik testis görüntülerini değerlendirdiklerinde kontrol gruplarında sağ ve sol testislerde kanlanma fazında %27 ve kan havuzu görüntülerinde %18 oranında asimetri saptamışlardır. Tek taraflı testis iskemisi oluşturdukları grupta ise sırasıyla kanlanma fazında %57 ve kan havuzu görüntülerinde %82 asimetri bulmuşlardır. Bir başka deyişle %18-37 oranında iskemi oluşturmalarına rağmen sağ ve sol testisler rasında simetri saptamışlardır. Aynı araştırmacılar talyum 201 ve Tc-99m-pertechnetate kullanarak gama counter kullanarak yaptıkları kanlanma çalışmasında testisin ve epitidimin kanlanmasını birbirine yakın ancak skrotumun kanlanmasının ise her ikisinde de yüksel olduğunu göstermişlerdir. Bunun sonucu olarak testislerin rat testislerinin sintigrafik olarak değerlendirilmesinin kardiyak output'un 1ml/dk/ per organ gibi düşük seviyede olması ve testislerin küçük olması nedeniyle zorluğundan bahsetmişlerdir. Bizde çalışmamızda aldığımız statik görüntülerinin vizual değerlendirmesinde radyoaktiviteyi kuyruk veninden yapmamıza bağlı olarak testis bölgesindeki atenüasyona, skrotumda yapılan cerrahi prosedüre ve testis torsiyon işlemindeki birtakım güçlüklerle bağlı olduğunu düşündüğümüz nedenlerden dolayı gama kameradan elde ettiğimiz görüntülerde vizüel değerlendirmede ve semikantitatif değerlendirmede testis ilgi alanları arasındaki aktivite tutulumlarında uyumsuzluklar olduğunu gördük.

Muhtemelen biz de testislerin, küçük olması ve çevresindeki dokularından fark edilebilir düzeyde kanlanma göstermemesi nedeniyle sintigrafik görüntülemimin, yeterli katkısını görmedik. Ancak invitro olarak testislerin çevre dokulardan uzaklaştırarak sadece testislerdeki gram başına aktivitenin değerlendirilmesi ile daha optimal bir bulgu elde edeceğimizi düşündük. Böylece elde ettiğimiz gama sayıcı bulgularımız istatistiksel olarak anlamlı olmasada İR grubunun sonuçları diğer gruplardan belirgin olarak farklı idi. Denek sayısının artırılması ile bu yöntemin faydasının daha açık ortaya çıkacağını düşünmekteyiz. Bunun kanıtlanması durumunda, her iki testisi ayrı ayrı değerlendirmesi ile biyokimyasal, daha çabuk sonuç vermesi ile de histopatolojik değerlendirmelere ilave katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

Gama counter ile testislerin değerlendirilmesi ucuz, çabuk sonuç alınabilir ve her iki testisi ayrı ayrı kantitatif değerlendirme imkanı sunabilir.

Turner ve Brown (47) ratlarda gamma counter kullanarak yaptıkları unilateral 720<sup>0</sup> testisin 1/2, 1, 2 ve 4 saat iskemi sonrası reperfüzyonunu 4. Saat, 1- 30 gününe kadar yaptığı takiplerde reperfüzyonun 4. ve 24 saatinde testis kanlanması kontrol grubundan ve konturlateral testisten istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığını, 48. Saatte ise 2 ve 4 saat torsiyon yapılan gruplarda 1 saat torsiyon yapılanlardan daha yüksek olma eğiliminde olduğunu vurgulamıştır. Bizim çalışmamızda bunu destekler nitelikte olup 3 saat 720<sup>0</sup> torsiyon sonrası 24. Saatte gamma counter ile yaptığımız değerlendirmede sağ ve sol testislerde gruplar arasında ortalama testis Teknesyum-99m pertechnetate uptakei yönünden istatistiksel olarak anlamlı değişiklik saptamadık. Fakat I/R grubumuzdaki ipsilateral ortalama değerler kontrol grubundan yüksek idi I/R+Agmatin uyguladığımız grupta kontrol grubuna yakın seviyelerde ölçümler elde ettik. Çalışmamızda İR grubunda ortalama olarak sol testiste yüksek olarak ölçülen değer istatistiksel olarak verilere yansımamış olmasını yaptığımız çalışmada verilerin minimum ve maksimum değerlerinin geniş bir aralıkta olmasına ve bunuda torsiyon uygulamasında bazı ratlarda yeterli torsiyonun oluşmaması olabileceğine bağladık. Yapılan birçok testis İR çalışmasında histopatolojik değişikliklerin ve biyokimyasal markerlerde meydana gelen değişikliklerin farklı zamanlarda ortaya oluştuğu bilinmektedir. Bu nedenle testis İR hasarının erken dönemini değerlendirdiğimiz çalışmamızda histopatolojik değişikliklerin, testislerde meydana gelen hemodinamik ve biyokimyasal bulguların tam olarak korelasyon göstermesinin beklenmemesi gerektiği kanaatindeyiz. Gama counter ile testis İR hasarını değerlendirmede geç dönemleride içine alan çalışmalarla metodun desteklenmesi gerektiğini

Gezici ve Ark (120) ratlarda bir serin proteaz inhibitörü olan gabexate mesilate kullanarak 6 saat 720<sup>0</sup> derece iskemi ve 1 saat reperfüzyon uyguladıkları deneklerde Tc-99m-pertechnetate kullanarak semi kantitatif olarak gama kamera ile testis perfüzyon indekslerini değerlendirmiş, Ayrıca çalışmasında histolojik inceleme biyokimyasal olarak antioksidan enzimler olan superoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve glutathione peroxidaz (GSH-Px) ve MDA düzeylerini değerlendirmiştir. Kontrol grubu ile kıyasladığında iskemi reperfüzyon grubunda perfüzyon indeksinde



antioksidan enzim düzeylerinde azalma, MDA ve histolojik hasar skorlarında ise artış saptamış, gabexate mesilate uygulaması ile perfüzyon indeksinde ve antioksidanlarda artış MDA ve histolojik hasar skorlarında azalma saptamıştır. İskemi reperfüzyon uyguladıkları grupta elde ettikleri biyokimyasal ve histopatolojik bulgular açısından bizim bulgularımızı destekler durumda olmakla birlikte sintigrafik yöntemi olarak rat testislerinde semikantitatif yöntemin kullanılabilirliği ile farklılık arz etmektedir.

## 6. SONUÇLAR

Agmatin ile torsiyon/detorsiyon uygulanan grupta doku MDA seviyesindeki anlamlı düşüş, agmatinin hasarlanmış dokuda daha etkili olduğunu düşünmektedir.

Total antioksidan kapasitede sol testiste istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte düşüş saptandı. Agmatin uygulaması ile total antioksidan kapasitedeki artış anlamlı idi.

Histolojik olarak sol testiste cosantino sınıflamasın göre skorlarda anlamlı artış saptadık Agmatin uygulaması ile bütün parametrelerde düzelme saptadık ancak istatistiksel olarak anlamlı düzelme germ hücre tabakalarının dejenerasyonunda saptadık. Sağ testistede hafif derecede histopatolojik değişiklik izledik ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Ratlarda semikantitatif olarak yapılan sintigrafik değerlendirme efektif bulunmadı. Bunun yerine gama counter ile yapılan kantitatif ölçümler daha efektif görünmektedir. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte torsiyon/detorsiyon uygulanan grupta sol testiste izlenen artmış Teknesyum-99m pertechnetat uptake'inin Agmatin uygulaması ile kontrol grubu düzeyine inmesi bize Agmatin'in sol testiste meydana gelen inflamatuvar yanıtı azaltabileceğini düşündürmüştür.

Agmatin'in testis iskemi reperfüzyon hasarında etkinliğini ve olası mekanizmaları saptamak için daha geniş çapta araştırmaların gerekli olduğuna inanmaktayız.

## 7. KAYNAKLAR

1. Kuran O. Sistematik anatomi. İstanbul: Filiz Kitabevi, 1983:512-4.
2. Gürbüz N., Testisin vasküler anatomisi, Androloji bülteni, 19, (2006), 333 – 336
3. Snell RS. Clinical anatomy. 3rd ed. Boston: Brown and Company, 1986: 168-75.
- 4 . Kadioğlu, A., Çayan, S., Semerci, B., Orhan, İ., Aşçı, R., Yaman, M.Ö., Usta, M.F., ve Kendirci, M., Erkek reproduktif sistem hastalıkları ve tedavisi 1. baskı, Türk Androloji Derneği, Acar matbaacılık, s., 35 – 60.
5. Poyraz, Ö. Sıcakkanlı hayvanlar. In: Poyraz, Ö, editör. Laboratuvar hayvanları bilimi. Ankara: Kardelen ofset; 2000. s. 179-223.
6. McKeever, S. Male reproductive organs. In: Hafez, ESE, editor. Reproduction and breeding techniques for laboratory animals. Philadelphia: Lea & Febiger; 1970. p. 28-73.
7. Russel, LD. In: Mohr, U, Dungworth, DL, Capen, CC, editors. Pathobiology of the Aging Rat. Washington DC: ILSI Pres; 1994. p. 395-405. Washington DC: ILSI Press.
8. Khan, AA, Zaidi, MT, Faruqi, NA. Ductus Deferens, A Comparative Histology in Mammals. J Anat Soc India. 2003;52(2):163-165.
- 9 .Barada JH, Weingarten JL, Cromie WJ. Testicular salvage and age-related delay in the presentation of testicular torsion. J Urol 1989; 142: 746-748.
10. Krarup T: The testes after torsion. Br J Urol. 1978; 50, 43-46.
11. Hutson JM. Undescended testis, torsion and varicocele. In: O'Neill JA, Rowe MI, Grosfeld JL, Fonkalsrud EW, Coran AG (Eds.). Pediatric surgery. vol.2, 5th ed. St. Louis: Mosby-Year Book Inc; 1998. p.1099–101.
12. Prater JM, Overdorf BS. Testicular torsion: a surgical emergency. Am Fam Physician 1991; 44: 834–40.
13. Shukla RB. Association of cold weather with testicular torsion. Br Med J 1982; 285: 1459–60.

14. Fonkalsrud EW. Testicular undescend and torsion. *Pediatr Clin North Am* 1987; 34(5): 1305–17.
15. Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N: Ürogenital Sistemin Acil Yaklaşım Gerektiren Hastalıkları içinde: Temel Üroloji (Eds Anafarta K), Ankara, Güneş Kitabevi, 2007; 960-961.
16. Murphy JP: The acute scrotum: Operative Pediatric Surgery (Eds Ziegler MM, Azizkhan RG, Weber TR). McGraw-Hill Companies, New York, 2003; 563-568.
17. Prater JM, Overdorf BS. Testicular torsion: a surgical emergency. *Am Fam Physician* 1991; 44:834-40.
18. Stillwell TJ, Kramer SA. Intermittent testicular torsion. *Pediatrics* **77**: 908-911, 1986.
19. Eaton SH, Cendron MA, Estrada CR, Bauer SB, Borer JG, Cilento BG, Diamond DA, Retik AB, Peters CA. Intermittent testicular torsion: diagnostic features and management outcomes. *J Urol.* 174: 1532-1535, 2005.
20. Hayn MH, Herz DB, Bellinger MF, Schneck FX. Intermittent torsion of the spermatic cord portends an increased risk of acute testicular infarction. *J Urol.* 180: 1729-1732, 2008.
21. Mitchell RN, Cotran RS (Çeviri: U. Çevikbaş). Hücre zedelenmesi, ölümü ve adaptasyonu. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL (Eds.). Temel patoloji'de. 6. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi (WB Saunders Co. izniyle); 2000. s.3-24.
22. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am* 1992; 72: 65-83.
23. Jennings RB, Reimer KA. The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med* 1991; 42: 225-246.
24. Orrenius S, Burkitt MJ, Kass GE, Dypbukt JM, Nicotera P. Calciumions and oxidative cell injury. *Ann Neurol* 1992; 32 Suppl: 33-42.
25. Parks DA, Williams TK, Beckman JS. Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *Am J Physiol.* 1988 May;254(5 Pt 1):G768-74.

26. Çakan M, Çakan T, Aydos T, Yılmaz D, Ögüş E. ve S Kılınc A. Sıçan testisindeki iskemi reperfüzyon hasarı sonucu oluşan oksidatif stres ve histopatolojik değişiklikler üzerine ketoprofenin koruyucu etkisi, Türk üroloji dergisi, 33,1 2007, 50-55.
27. G Şener, B Ç Yegen. İskemi reperfüzyon hasarı, Klinik gelişim dergisi, 22,3 (2009) 5-13
28. Lopez-Neblina F, Paez-Rollys AJ, Toledo-Pereyra LH. Mechanism of Protection of Verapamil by Preventing Neutrophil Infiltration in the Ischemic Rat Kidney. *J Surg Res* 61(2): 469-472, 1996.
29. Woodfin A, Voisin MB, Nourshargh S. PECAM-1: a multi-functional molecule in inflammation and vascular biology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 27(12): 2514-2523, 2007.
30. Woodfin A, Voisin MB, Nourshargh S. PECAM-1: a multi-functional molecule in inflammation and vascular biology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 2514-2523.
31. Thrane AS, Skehan JD, Thrane PS. A novel interpretation of immune redundancy and duality in reperfusion injury with important implications for intervention in ischaemic disease. *Med Hypotheses* 2007; 68: 1363-1370.
32. Suzuki M, Asako H, Kubes P, Jennings S, Grisham MB, Granger DN. Neutrophil-derived oxidants promote leukocyte adherence in postcapillary venules. *Microvasc Res* 1991; 42: 125-138.
33. Zhang W, Smith C, Shapiro A, Monette R, Hutchison J, Stanimirovic D. Increased expression of bioactive chemokines in human cerebrovascular endothelial cells and astrocytes subjected to simulated ischemia in vitro. *J Neuroimmunol* 1999; 101:148-160.
34. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB et. al: Ischemia/Reperfusion injury. *J Surg Res* 2002; 105: 248-258.

35. Roos A, Bouwman LH, Munoz J, Zuiverloon T, Krol MC- F, van den Houten FC-F, Mohamad N-K, Bouwman LH, Hack CE, Tilanus MG, Daha MR. Functional characterization of the lectin pathway of complement in human serum. *Mol Immunol* 39(11): 655-668, 2003.
- 36 . Nathan C, Xie QW: Nitric oxide synthases. Roles, tolls and controls. *Cell* 1994; 78: 915-918
37. Moncada S: The L-arginine-nitric oxide pathway. *Acta Physiol Scand.* 1992; 145: 201-227
38. F.Moncada S, Higgs A: The L-arginine-nitric oxide pathway. *N. Eng J. Med.*1993; 329: 2002-2012
39. Marsden PA, Heng HH, Scherer SW: Structure and chromosomal localization of human constitutive endothelial nitric oxide synthases gene. *J Biol Chem.* 1993; 15:268 (23): 17478-17488
40. Bivalacqua TJ, Champion HC, Hellstrom WJG: Implications of nitric oxide synthases isoforms in the pathophysiology of Peyronie's disease. *Int J Imp Res.* 2002; 14: 345-352
41. Moon C, Ahn M, Kim S et al. Increased expression of both constitutive and inducible forms of nitric oxide synthase in the delayed phase of acute experimental testicular torsion. *J Vet Med Sci* 2005; 67: 453-6.
42. Üstün H, Akgül KT, Ayyıldız A, Yağmurdur H, Nuhoglu B, Karagüzel E, et al. Effect of phosphodiesterase 5 inhibitors on apoptosis and nitric oxide synthases in testis torsion: an experimental study. *Pediatr Surg Int* 2008; 24(2):205-11.
43. Shiraishi K, Naito K, Yoshida K. Nitric oxide promotes germ cell necrosis in the delayed phase after experimental testicular torsion of rat. *Biol Reprod* 2001;65(2):514-
44. Henderson JA, Smey P. The effect of testicular torsion on the contralateral testicle in prepubertal chinese hamster. *J Pediatr Surg* 1985; 20: 592-7
45. Akgür FM, Kılınç K. Ipsilateral and contralateral testicular biochemical acute changes after unilateral testicular torsion and detorsion. *Urol* 1994; 44: 413-8

46. Akgür FM, Kılınç K. Reperfusion injury after detorsion of unilateral testicular torsion. *Uro Res* 1993; 21: 395-9
47. Turner TT, Brown KJ. Spermatik cord torsion loss of spermatogenesis despite return of blood flow . *Eur J pedtr* ; 159(1-2) 2000: 103-107.
- 48 Kallerhoff M, Gross AJ. The influence of temperature on changes in pH , Lactate and morphology during testicular ischaemia. *Br J Urol* 1996; 440-45.
49. Freedman S, Chehval MJ. Enzymatic changes in experimental testicular torsion. *Invest urol* 1981;19:209-12
50. Cosentio MJ, Nishida M. Histological changes occurring in the contralateral testes of prepubertal rats subjected to various durations of unilateral spermatic cord torsion. *J Urol* 1985; 133: 906-11
51. Jhunjhunwala JS, Sinha hikim AP. Germ cell degeneration in the contralateral testis of the guinea pig with unilateral torsion of the spermatic cord. *J Androl* 1986; 7: 9-17
52. Nagler, H. M., and R. D. White. "The effect of testicular torsion on the contralateral testis." *The Journal of urology* 128.6 (1982): 1343.
53. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39(1), 44-84.
54. Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M. M., Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
55. Gutteridge, J. M. "Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage." *Clinical chemistry* 41.12 (1995): 1819-1828.
56. McCall, J. M., J. M. Braughler, and E. D. Hall. "Lipid peroxidation and the role of oxygen radicals in CNS injury." *Acta Anaesthesiologica Belgica* 38.4 (1987): 373.
57. Del Rio D, Stewart, A. J., Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases*, 15(4), 316-328, 2005.

58. Shacter, E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug metabolism reviews*, 32(3-4), 307-326, 2000.
59. Stadtman ER, Levine, RL. (2003). Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino acids*, 25(3-4), 207-218.
60. Akkuş İ, 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1.Baskı, Mimoza Yayınları, s.1-60.
61. Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidant defense mechanisms in the aging brain. *FASEB J* 1995; 9: 526-533.
62. Karihtala P, Soini Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *APMIS* 2007;115:81-103.
63. Cherubini A, Ruggiero C, Morand C, Lattanzio F, Dell'aquila G, Zuliani G, Di Iorio A, Andres-Lacueva C. Dietary antioxidants as potential pharmacological agents for ischemic stroke. *Curr Med Chem*. 2008; 15: 1236-1248.
64. Mickle DA, Weisel RD. Future directions of vitamin E and its analogues in minimizing myocardial ischemia-reperfusion injury. *Can J Cardiol* 1993; 9: 89-93.
65. Virág L, Szabó C. The therapeutic potential of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. *Pharmacol Rev* 2002; 54: 375-429.
66. Oteka K, Ruggiero DA, Regunathan S, Wang H, Milner TA, Reis DJ. Regional localization of agmatine in the rat brain: an immunocytochemical study. *Brain Res*. 1998;787:1-14.
67. Morgan NG, Chan SL, Mourtada M, Monks LK, Ramsden CA. Imidazolines and pancreatic hormone secretion. *Ann NY Acad Sci*. 1999;881:217-228.
68. Olmos G, Degregorio-Rocasolano N, Regalado MP, Gasull T, Boronat MA, Trullas R, Villarreal A, Lerma J, Garcia JA, Wang G, Gorbatyuk O, Dayanithi G, Ouyang W, Wang J, Milner TA, Regunathan S, Reis DJ. Evidence for endogenous agmatine in hypothalamoneurohypophysial tract and its modulation on vasopressin release and Ca<sup>2+</sup> channels. *Brain Res*. 2002;932:25-36.



69. Li G, Regunathan S, Barrow CJ, Eshraghi J, Cooper R, Reis DJ. Agmatine: an endogenous clonidine-displacing substance in the brain. *Science*. 1994;263(5149):966-969.
70. Li G, Regunathan S, Reis DJ. Agmatine is synthesized by a mitochondrial arginine decarboxylase in rat brain. *Ann NY Acad Sci*. 1995;763:325-329.
71. Lortie MJ. Agmatine, a bioactive metabolite of arginine. *J Clin Invest*. 1996;97:413-420.
72. Regunathan S, Feinstein DL, Raasch W, Reis DJ. Agmatine, decarboxylated arginine is localized and synthesized in glial cells. *Neuroreport*. 1995;6:1987-1990.
73. Sastre M, Regunathan S, Reis DJ. Uptake of agmatine into rat brain synaptosomes: Possible role of calcium channels. *J Neurochem*. 1997;69:2421-2426.
74. Sastre M, Regunathan S, Reis DJ. Agmatinase activity in rat brain: A metabolic pathway for the degradation of agmatine. *J Neurochem*. 1996;67:1761-1765.
75. Reis DJ, Regunathan S. Agmatine: An endogenous ligand at imidazoline receptors may be a novel neurotransmitter in brain. *J Auton Nerv Syst*. 1998;72:80-85.
76. Molderings GJ, Menzel S, Kathman M, Schlicker E, Gothert M. Dual interaction of agmatine with the rat  $\alpha 2D$ -adrenoceptor: competitive antagonism and allosteric activation. *Br J Pharmacol*. 2000;130:1706-1712.
77. Gonzalez C, Regunathan S, Reis DJ, Estrada C. Agmatine is an endogenous modulator of noradrenergic neurotransmission in the rat tail artery. *Br J Pharmacol*. 1996;119:677-684.
78. Yang X, Reis DJ. Agmatine selectively blocks the NMDA subclass of glutamate receptor channels in rat hippocampal neurons. *J Pharmacol Exp Ther*. 1999;288:544-549.
79. Reis DJ, Regunathan S. Agmatine: an endogenous ligand at imidazoline receptors is a novel neurotransmitter. *Ann NY Acad Sci*. 1999;881:65-79.
80. Raasch W, Schafer U, Chun J, Dominiak P. Biological significance of agmatine, an endogenous ligand at imidazoline binding sites. *Br J Pharmacol*. 2001;133:755-780.

81. Reis DJ, Regunathan S. Is agmatine a novel neurotransmitter in brain Trends Pharmacol Sci. 2000;21:187-193.
82. Reis DJ, Yang XC, Milner TA. Agmatine containing axon terminals in rat hippocampus form synapses on pyramidal cells. Neurosci Lett. 1998;250:185-188.
83. Regunathan S, Piletz JE. Regulation of inducible nitric oxide synthesis in macrophages and astrocytes. Ann NY Acad Sci. 2003;1009:20-29.
84. Galea E, Regunathan S, Eliopoulos V, Feinstein DL, Reis DJ. Inhibition of mammalian nitric oxide synthases by agmatine, an endogenous polyamine formed by decarboxylation of arginine. Biochem J. 1996;316:247-249.
85. Sugiura, T., Tsutsui, H., Takaoka, M., Kobuchi, S., Hayahi, K., Fujii, T., Matsumura, Y. Protective effect of agmatine on ischemia/reperfusion- induced renal injury in rats. Journal of cardiovascular pharmacology (2008) 51(3), 233.
86. Piletz JE, Chikkala DN, Ernsberger P. Comparison of the properties of agmatine and endogenous clonidine-displacing substance at imidazoline and alpha-2 adrenergic receptors. J Pharmacol Exp Ther. 1995;272: 581–587.
87. Feng Y, Piletz JE, Leblanc MH: Agmatine suppresses nitric oxide production and attenuates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. Pediatric Research 2002; 52(4):606-611.
88. Reis D, Regunathan S: Is agmatine a novel neurotransmitter in brain? TIPS 2000;21:187-193
89. Gilad GM, Salame K, Rabey JM, Gilad V: Agmatine treatment is neuroprotect.
90. Regunathan S, Youngson C, Raasch W, Wang H, Reis DJ. Imidazoline receptors and agmatine in blood vessels: a novel system inhibiting vascular smooth muscle proliferation. J Pharmacol Exp Ther 1996;276:1272–82.
91. Regunathan S, Reis DJ. Stimulation of imidazoline inhibits proliferation of human coronary artery vascular smooth muscle cells. Hypertension 1997;30:295–300.
92. Babal P, Ruchko M, Campbell CC, Gilmour SP, Mitchell JL, Olson JW, et al. Regulation of ornithine decarboxylase activity and polyamine transport by agmatine in rat pulmonary artery endothelial cells. J Pharmacol Exp Ther 2001;276:372–7.

93. Mettler FA, Guiberteau MJ, Essentials of nuclear medicine imaging .4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1998;6-11;127-8.
94. Lutzker, L.G., Zuckier, L.S.: Testicular Scanning and other applications of Radionuclide Imaging of the Genital Tract. Seminars in Nuclear Medicine, 20: 159, 1990.
95. Cosentino, M. J., Nishida, M., Rabinowitz, R., Cocketh, A. T. (1986). Histopathology of prepubertal rat testes subjected to various durations of spermatic cord torsion. Journal of andrology, 7(1), 23-31.
96. Özokutan, B. Hayri, et al. "The role of nitric oxide in testicular ischemia-reperfusion injury." Journal of pediatric surgery 35.1 (2000): 101-103.
97. Melekos MD, Asbach HW, Markou SA. Etiology of acute scrotum in 100 boys with regard to age distribution. J Urol 1988; 139:1023-5.
98. Kaplan GW. Scrotal swelling in children. Pediatr Rew 2000; 21:311-4.
99. Rabinowitz R, Hulbert WC. Acute scrotal swelling. Urol Clin North Am 1995; 22:101-5.
100. Heindel RM, Pakyz RE, Reinking LN, Cosentino MJ. The effect of various degrees of unilateral spermatic cord torsion on fertility in the rat. J Urol 1990; 144(2):366-9.
101. Janetschek G, SchreckenberG F, Grimm W, Marberger M. Hemodynamic effects of experimental testicular torsion. Urol Res 1987; 15:303-6.
102. Turner TT. Acute experimental testicular torsion: no effect on the contralateral testis. J Androl 1985; 6(1):65-72.
103. Saba M, Morales CR, De Lamirande E, Gagnon C. Morphological and biochemical changes following acute unilateral testicular torsion in prepubertal rats. J Urol 1997; 157(3):1149-54.
104. Chen Y, Miles AM, Grisham MB. Pathophysiology and reactive oxygen metabolites. In: Ahmad S (Ed.). Oxidative stress and antioxidant defences in biology. New York: Chapman and Hall; 1995. p. 630-80.

105. Filho DW, Torres MA, Bordin AL, Crezcynski-Pasa TB, Boveris A. Spermatic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia-reperfusion injury. *Mol Aspects Med* 2004;25(1-2):199-210.
106. Kizilcan F, Bernay F, Tanyel FC, Buyukpamukcu N, Bekdik C, Hicsonmez A. Ipsilateral and contralateral testicular blood flows during unilateral testicular torsion by <sup>133</sup>Xe clearance technique. *Int Urol Nephrol* 1992; 24:515-20.
107. Kolettis PN, Stowe NT, Inman SR, Thomas AJ. Acute spermatic cord torsion alters the microcirculation of the contralateral testis. *J Urol* 1996; 155:350-4.
108. Tanyel FC, Büyükpamukçu N, Hiçsönmez A. Contralateral testicular blood flow during unilateral testicular torsion. *Br J Urol* 1989; 63:522-4.
109. Nagler HM, White RD. The effect of testicular torsion on the contralateral testis. *J Urol* 1982; 128(6):1343-8.
110. Cerasaro TS, Nachtsheim DA, Otero F, Parson CL. The effect of testicular torsion on contralateral testis and the production of anti-sperm antibodies in rabbits. *J Urol* 1984;132(3):577-9.
111. Becker EJ Jr, Turner TT. Endocrine and exocrine effects of testicular torsion in the prepubertal and adult rat. *J Androl* 1995; 16(4):342-51.
112. Akgür FM, Kilinc K, Aktug T. Is ipsilateral testis mandatory for the occurrence of contralateral intratesticular biochemical changes indicative of hypoxia after unilateral spermatic cord torsion? *Eur Urol* 1995; 28(2):143-6.
113. Gürdal M, Tekin A, Erol A, Onmuş H, Konukoğlu D, Şengör F. Torsiyone rat testisinde gelişen iskemi-reperfüzyon hasarında pentoksifilinin antioksidan etkisi. *Türk Üroloji Dergisi* 2002; 28(3):260-3.
114. <http://www.gata.edu.tr/temelbilimler/biyokimya/seminer/OKS%C4%B0DAT%C4%B0F%20STRES.doc>
115. Stewart RJ, Moore T, Bennett B, Easton M, Newton GW, Yamaguchi KT. Effect of free radical scavengers and hyperbaric oxygen on random-pattern skin flaps. *Arch Surg* 1994; 129(9):982-7.

116. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95(2):351-8.
117. Erol B., Tokgoz H., Hanci V., Bektas S., Akduman B., Yencilek F. & Mungan A. (2009). Vardenafil reduces testicular damage following ischemia/reperfusion injury in rats. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 25(7), 374-380.
118. Raju, A. B., Challa, S. R., Akula, A., Kiran, K., & Harinadh, G. B. (2011). Evaluation of Oxidant and Anti-Oxidant Balance in Experimentally Induced Testicular Injury by Ischemia Reperfusion in Rats. *Eur J Gen Med*, 8(2), 117-21.
119. Fischman, A. J., Ahmad, M., Chheda, H., Peto, C. A., Wilkinson, R., & Strauss, H. W. (1990). Reliability of radionuclide scintigraphy for detection of testicular torsion: an animal study. *European journal of nuclear medicine*, 16(8-10), 657-661.
120. Gezici, A., Öztürk, H., Büyükbayram, H., Öztürk, H., & Okur, H. (2006). Effects of gabexate mesilate on ischemia-reperfusion-induced testicular injury in rats. *Pediatric surgery international*, 22(5), 435-441.

## 8. EKLER

### Ek 1: Etik Kurul Onayı



T.C.  
**BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu**



**TOPLANTI TARİHİ** : 30/05/2012  
**TOPLANTI NO** : 2012/05

- 1- B.E.Ü. Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Yavuz Sami SALİHOĞLU'nun 2012-19-25/04 Protokol no'lu "Ratlarda Deneysel Testis Torsiyonuna Bağlı-İskemi- Reperfüzyon Hasarına Karşı Agmatin'in Koruyucu Etkisinin Tc-99m Perteknetat Sintigrafisi ile Değerlendirilmesi" konulu başvurusunun Etik Kurul ilkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

**ASLI GİBİDİR**

**Prof. Dr. Z. Nur BANOĞLU**  
**Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı**