



T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İSKEMİ REPERFÜZFON HASARI SONRASINDA BQ-123'ÜN
TESTİS DOKUSU ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan
Zafer İsmail Karaca

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Danışman
Prof. Dr. Hüseyin Aslan

TOKAT - 2014



T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İSKEMİ REPERFÜZFON HASARI SONRASINDA BQ-123'ÜN
TESTİS DOKUSU ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan
Zafer İsmail Karaca

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Danışman
Prof. Dr. Hüseyin Aslan

TOKAT - 2014

T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Bu belge ile, bu tezdeki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak toplanıp sunulduğunu, bu kural ve ilkelerin gereği olarak, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yaptığımı ve kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

(07/07/2014)

Zafer İsmail Karaca

.....

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen başta Gaziosmanpaşa Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı ve tez danışmanım olan Sayın Prof. Dr. Hüseyin ASLAN olmak üzere, sayın Doç. Dr. Sevil ÇAYLI' ya ve Yrd. Doç. Dr. Fikret GEVREK' e, Anatomi Anabilim Dalı hocalarından sayın Doç. Dr. Ufuk TAŞ ve Yrd. Doç. Dr. Murat UYSAL' a, Üroloji Anabilim Dalı hocalarından sayın Prof. Dr. Fikret ERDEMİR'e, mesai arkadaşım Uzm.Dr.Hakan KESİCİ' ye, Eşim Mehtap OKYAY KARACA' ya ve aileme her türlü destek ve yardımlarından dolayı teşekkür eder, sonsuz şükranlarımı sunarım.

Zafer İsmail KARACA

ÖZET***İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI SONRASINDA BQ-123'ÜN TESTİS DOKUSU ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Testis torsiyonu yeni doğan ve puberte döneminde daha çok görülen acil bir durumdur. Bu olay neticesinde torsiyonun derecesine ve zamanına bağlı olarak testiste iskemiden nekroza kadar ilerleyen histopatolojik değişiklikler oluşur. Torsiyon iskemi dönemini, detorsiyonsa reperfüzyon dönemini oluşturur.

Testisin iskemik hasarında melatonin ve omega-3 gibi birçok koruyucu maddenin etkileri gösterilmiş olmasına rağmen BQ-123 ile ilgili olarak literatürde herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda özellikle çocuklarda çok sık görülen bir patolojik durum olan testis torsiyonu sonrasındaki doku hasarına bu maddenin etkinliğini araştırmayı hedefledik. Araştırmamız stereolojik teknikler de kullanılarak gerçekleştirildiği için farklı bir önem arz etmektedir.

Çalışmamızda, erkek ratlar beşerli üç gruba (Grup I, Grup II, Grup III) ayrıldı. Ratlarda sol inguinokrotal kesi ile funikulus spermatikusa ulaşıldı, sol spermatik kord ve testis serbestleştirildikten sonra I. ve II. gruplarda sol testisler 120 dakika süre ile 720⁰ torsiyone edildi. Grup II deki ratlara detorsiyondan 30 dakika önce tek doz BQ-123 (1,6 mg/kg) kuyruk veninden verildi Bir hafta sonra ratlar sakrifiye edildi. Ratların seminifer tübüllerinde spermatogonium, spermatosit hücrelerine optik fraksiyonlama yöntemi ile bakıldı.

Grupların testis dokusunda seminifer tübüllerde spermatogonyum ve spermatosit hücrelerinin ortalama sayıları karşılaştırıldığında Grup II'de Grup I'e göre artmış olarak bulundu ve bu anlamlı kabul edildi ($p<0.05$). Grup III Grup I ile karşılaştırıldığında ortalama hücre sayısı Grup I'te daha az bulundu ve anlamlı kabul

edildi ($p < 0.05$). Grup III ile Grup II'de ortalama hücre sayıları karşılaştırıldığında Grup III'te hücre sayısı daha fazlaydı fakat anlamlı değildi ($p < 0.05$).

Sonuç olarak, testis torsiyonunda BQ-123 uygulaması ile seminifer tübüllerinde hem spermatosit hemde spermatogonium hücrelerinde hasarının azaldığı gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Testis torsiyonu, BQ-123, ET antagonisti, optik fraksiyonlama

ABSTRACT**INVESTIGATION OF EFFECT OF BQ-123 ON TESTIS IN RATS
AFTER ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY**

Testicular torsion occurs more commonly during puberty newborn and is an emergency situation. As a result of this event, and the time depending on the degree of torsion from ischemia progressing to necrosis, histopathological changes occur in the testis. Torsion, constituting while ischemia period, detorsion, constitutes reperfusion period.

Preservative agents such as melatonin, and omega-3 in the effects of ischemic damage testicle has been shown although there are no studies about BQ-123 in the any literature.

In our study, we aimed to evaluate the effectiveness of BQ-123 on the tissue damage after testicular torsion which is a very common pathological condition especially in children. Since our research conducted using stereological technique, has a different significance.

In our study, male rats into three groups consisting of five rats (Group I, Group II, Group III) were separated. Spermaticus funiculus in rats' has been reached with a cut left inguinoscrotal incision. After the separation of the left spermatic cord and testis in first and second group, the left testis was rotated 720 degrees for 120 minutes. A single dose BQ-123(1.6 mg / kg) were given tail vein 30 minutes before detorsion to the rats of third group. One week later the rats were sacrificed. Spermatogonia and spermatocyte cells which is in the seminiferous tubules of rats, were examined by optical fractionation method.

When we compared spermatogonia and spermatocytes cells in testicular tissue of groups, the average number of cells in the second group were found to be more than the first group and this was considered statistically significant. Group III and Group I in comparison to the average number of cells in Group I and found less was considered significant ($p < 0.001$). Group III and Group II compared to the average number of cells in Group III in cell number was higher but not significantly.

Consequently, testicular torsion applications with BQ-123 in the seminiferous tubules, in the spermatogonia and spermatocytes, and both cells have been shown to reduce damage both.

Keywords: Testicular torsion, BQ-123, ET antagonist, Optical fractionator

İÇİNDEKİLER TABLOSU

1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Testis Torsiyonunun Epidemiyoloji ve Etyolojisi	3
2.2. Testislerin Anatomisi.....	5
2.3. Testis Histolojisi.....	7
2.3.1. Seminifer Tübülleri.....	8
2.3.2. Spermatogenez	10
2.3.3. İnterstisyel Doku	12
2.3.4. Testis Histofizyolojisi	14
2.4. TESTİSLERİN EMBRİYONEL GELİŞİMİ	15
2.5. Testisin Farklılaşması.....	19
2.5.1. Doğumda Testis.....	19
2.6. Kan-Testis Bariyeri.....	20
2.7. Testis Torsiyonu ve Fertilite	22
2.7.1. Testis Torsiyonunda Klinik Bulgular.....	24
2.7.2. Tedavi.....	24
2.8. Endotel Doku.....	24
2.8.1. Endotelinlerin Yapısı ve Sentezi	25
2.8.2. Endotelinlerin Hücresel Etki Mekanizmaları	28
2.8.3. Endotelin Reseptörleri	29
2.8.4. Endotelin Reseptör Antagonistleri:.....	30
2.8.5. BQ-123 ETA Reseptör Antagonisti	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM	34
4. BULGULAR.....	37
5. TARTIŞMA.....	45
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	49
7. KAYNAKLAR	50

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1: Endotelin salınımını uyarıcı ve inhibe eden faktörler	28
Tablo 2: Gruplara göre spermatozoid-spermatogonium sayıları	37
Tablo 3: Gruplara göre spermatozoid ve spermatogonium sayılarının toplamı.....	38

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Testis torsiyonu [11].....	4
Şekil 2: Tunica vaginalis [20].....	6
Şekil 3: Tunica albuginea ve tunica vasculosa'nın makroskopik ve mikroskopik olarak görünümü[20, 21].	7
Şekil 4: Testisteki tübüler yapıların vertikal kesitteki şematik gösterimi [].	8
Şekil 5: Testis parankiminin (A) ve tek bir seminifer tübülün (B) H-E ile boyanmış histolojik görünümleri [26]. S: Seminifer tübül, I: İnterstisyel hücreler	9
Şekil 6: Spermatogenez aşamaları []	11
Şekil 7: H-E ile boyanmış bir kesitte Leydig hücrelerinin görünümü [29]	13
Şekil 8: Testisin venöz kanını taşıyan plexus pampiniformis (mavi renkli damar yapıları) [30].	14
Şekil 9: Intrauterin dönemde testislerin skrotuma inişi [32].....	16
Şekil 10: Testisin skrotuma inişi sırasında spermatik korda ait tabakaların oluşması [34]	17
Şekil 11: İç genital organların erkek ve dişi yönünde farklılaşması [35]	19
Şekil 12: Kan-testis bariyer [37].....	21
Şekil 13: Seminifer tübüllerde KTB ile ayrılmış lüminal ve bazal kompartmanlar [38].	22
Şekil 14: ET-1(1-21) ve ET(1-31) peptidlerinin biyosentezi [58]	27

Şekil 15: ET sisteminin moleküler bileşenleri. [58].	29
Şekil 16: Grup III'de spermatosit-spermatogonium karşılaştırılması.....	39
Şekil 17: Grup I'de spermatosit-spermatogonium karşılaştırılması	40
Şekil 18: Grup II'te spermatosit-spermatogonium karşılaştırılması.....	41
Şekil 19: Seminifer tübüllerde gruplar arası toplam spermatosit sayısının karşılaştırılması	42
Şekil 20: Seminifer tübüllerde gruplar arası toplam spermatogonyum sayısının karşılaştırılması.....	43
Şekil 21: Seminifer tübüllerde gruplar arası toplam spermatogonyum sayısının karşılaştırılması.....	44

KISALTMALAR LİSTESİ

aa	Aminoasit
ABP	Androjen-Bağlayıcı Protein
ANP	Atrial Natriüretik Peptid
BAX	Bcl-2-associated X protein
BCL-2	B-cell lymphoma 2
cAMP	Siklik Adenozin Mono Fosfat
cDNA	Komplementer Deoksiribo Nükleik Asit
cGMP	Siklik Guanozin Monofosfat
DAG	Diacilgliserol
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
ECE	Endotelin Dönüştürücü Enzim
EDRF	Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktörün
ERA	Endotel Reseptör Antagonisti
ET	Endothelin
FLC	Fosfolipaz C
FSH	Folikül Sitümüle Edici Hormon
GHA	Germ Hücre Apoptozu

GOÜ	Gaziosmanpaşa Üniversitesi
GSH-PX	Glutathione Peroxidase
HADYEK	Hayvan Deneyleti Etik Kurulu
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
H-E	Hematoksilen-Eozin
IL-1	İnterlökin 1
IL-1 β	Interleukin-1 beta
IP 30	İnositol 1,4,5 Trifosfat
IR	İskemik Reperfüzyon
JNK	c-jun N-terminal kinaz
KTB	Kan Testis Bariyeri
LH	Lüteinleştirici Hormon
LPS	Lipopolisakkarid
MAPK	Mitojenle Aktive Olan Protein Kinaz
MİF	Müllerian İnhibitör Faktör
mRNA	Mesajcı Ribo nükleik Asit
NIH	National İnstitute Of Health
NO	Nitrik Oksit

PGI ₂	Prostasiklin 2
Prepro ET-1	Preproendotelin-1
SOD	Süper Oksit Dismutaz
SOR	Serbest Oksijen Radikalleri
SRY	Cinsiyet Belirleyici Gen
TGF	Transforming growth factor
TNF- α	Tümör Nekroz Faktör α

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Testis torsiyonu yeni doğan ve puberte döneminde daha çok görülen ciddi ve müdahale edilmesi gereken bir durumdur. Testis torsiyonu neticesinde torsiyonun derecesine ve zamanına bağlı olarak testiste iskemiden nekroza kadar ilerleyen histopatolojik değişiklikler oluşur. Torsiyon iskemi dönemini, detorsiyon ise reperfüzyon dönemini oluşturur [1]. İskemik dönemde hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücresel oksidatif fosforilasyon azalır, hücre içinde Ca^{2+} iyon konsantrasyonu artar ve antioksidan enzimlerde azalma olur. Bu durum hücre için sitotoksik bir süreçtir [2, 3].

Son zamanlarda endotelinin (ET) vasküler etkilerine aracı olan iki endotelin reseptörü olan ET-A ve ET-B bulunmuş olup bunların (Komplementer Deoksiribo Nükleik Asit) cDNA 'ları izole edilmiştir. ET-A antagonistleri; FR-139317 ve BQ-123, ET-B agonisti; sarafatoxin (S6c) ve ortak ET-A, ET-B reseptör antagonisti; RO 47-0203 (bosentan) geliştirilmiş olup, bunlar sayesinde ET'nin hastalıkların patogeneziindeki rolü ve muhtemel terapötik etkileri incelenmeye başlanmıştır [4]. Yine son zamanlarda BQ-123'ün karaciğer ve böbrek gibi hayati organlarda meydana gelen iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisi deneysel araştırmalar neticesinde ortaya konmuştur [5, 6].

Testisin iskemik hasarında melatonin ve omega-3 gibi birçok koruyucu maddenin etkileri gösterilmiş olmasına rağmen BQ-123 ile ilgili olarak literatürde bu konu ile ilgili olarak her hangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Çalışmamızda özellikle çocuklarda çok sık görülen bir patolojik durum olan testis torsiyonu sonrasındaki doku hasarına bu maddenin etkinliğini araştırmayı hedefledik. Araştırmamız stereolojik teknikler kullanılarak gerçekleştirildiği için farklı bir önem arz etmektedir.

Bu çalışmada testis torsiyonu oluşturulan sıçanlarda, testis dokusunda oluşturulan iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine BQ-123' ün koruyucu etkisi stereolojik yöntemler kullanılarak incelendi.

2. GENEL BİLGİLER

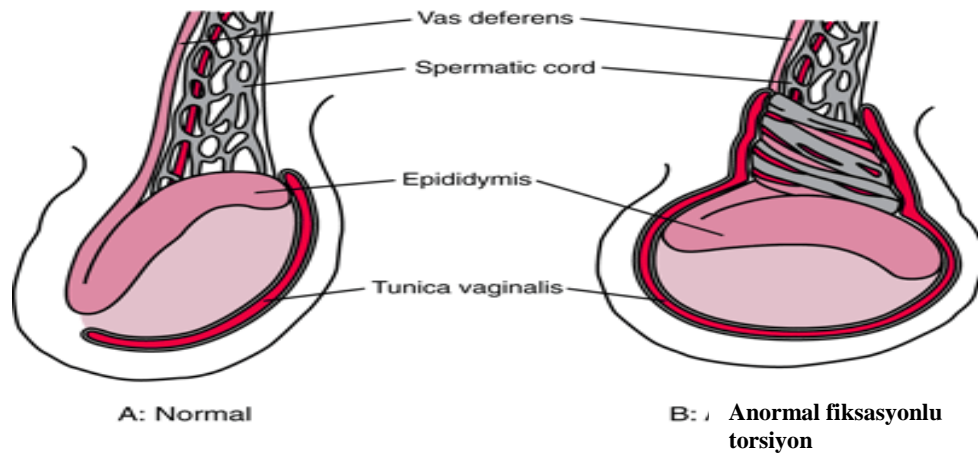
2.1. TESTİS TORSİYONUNUN EPİDEMİYOLOJİ VE ETYOLOJİSİ

İlk olarak 1800'lerde tanımlanmış olan testis torsiyonu, çocukluk çağında akut skrotumun en önemli nedenidir [7]. Pediyatrik akut skrotal hastalıkların %25-35'ini oluşturur. Görülme sıklığı açısından neonatal dönemde ve 13 yaş civarında pik yapmakta olan testis torsiyonunun, 25 yaş altı erkeklerdeki görülme sıklığı yaklaşık 4000'de birdir. Nekroz insidansı yüksek olduğundan cerrahi acillerden biridir ve tanı geciktiği zaman testiste fonksiyon kaybına ve infertiliteye yol açabilmektedir [8, 9, 10].

İnatrunikal veya intravajinal torsiyon daha sıktır ve tunika vajinalisin spermatik kordu anormal olarak yüksekte sarmasına bağlıdır. Normal testiste olduğu gibi dikey olarak fikse olmak yerine uzun, dar mezorşiyum testisin yatay durmasına sebep olur [11]. Normalde, kısa mezorşiyum tüm epididim boyunca tutunur ve tunika vajinalis içinde testis hareketlerine izin verir ancak tam torsiyona izin vermez. Torsiyonda olduğu gibi kord yüksekte sarıldığında ise, testis horizontal durur ve bacak hareketleri veya kremaster kasılmalarıyla testisin hemen dönebilmesine sebep olur. Kremaster kontraksiyonları, testis torsiyonu sonrasında ortaya çıkabildiği gibi kasılmaların kendisi de torsiyona yol açabilmektedir. İnatrunikal torsiyonun nadir bir varyantı da testis ve epididim arasında seperasyon olduğu ve bu yapıların arasında torsiyonun olduğu formudur. Testis torsiyonunun bu formu, genellikle inmemiş testislerde daha sık gözlenmektedir.

Gubernakulum ve testisin skrotuma inişi sırasında bu hareketli yapılar etrafında gevşek bir areolar plan vardır ve tüm testis ve spermatik kordun dönmesine müsaade eder. Bu nedenle ekstratrunikal veya ekstravajinal torsiyon daha nadirdir ve perinatal dönemde görülür [12]. Neonatal torsiyon vakalarının %12-21'i bilateralidir.

Testis torsiyonu insidansının pubertede artması, artan serum testosteron seviyeleriyle birlikte testisin ani büyümesinin predispozan bir faktör olabileceğine işaret eder. Pubertal değişikliklerin yanı sıra testis torsiyonunun etiolojisinde yer alabilecek diğer faktörler; testis ve ekleri arasında zayıf veya anormal bağlantı, poliorşiyopati, kriptorşidizm, testis tümörü, spermatosel ve spermatik kord eklerinde anomalidir. Pampiniform pleksus venlerinin trombozu, vaz deferensin aşırı mobilitesi, gelişmemiş gubernakulum, vasküler hamartom ve geçirilmiş skrotal cerrahi, torsiyon riskini arttırabilen faktörler arasında yer almaktadır [13]. Ayrıca yapılan çalışmalar neticesinde soğuk havalarda özellikle 15°C'nin altında testis torsiyonuna daha sık rastlandığı ortaya konmuştur [14, 15]. Yapılan çalışmalar, normal testislere kıyasla kriptorşid ve retraktıl testislerde, testis torsiyonunun görülme sıklığının daha fazla olduğunu göstermiştir [16].



Şekil 1: Testis torsiyonu [11]

Farklı seviyelerdeki spermatik kord torsiyonları, testiste nekrotik hasara sebep olmakta ve spermatogenezi olumsuz yönde etkilemektedir. Fakat dönme sayısı az ise veya testis spontan olarak detorsiyone olduysa testis torsiyonu her zaman nekrozla

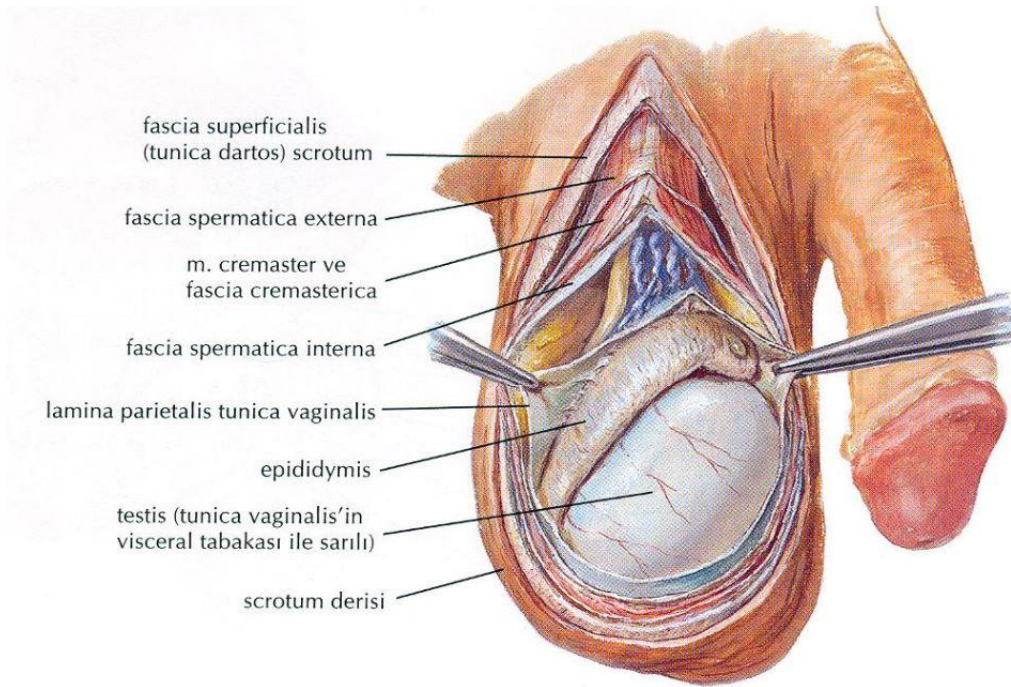
sonuçlanmayabilir. Detorsiyon cerrahisi, torsiyon tedavisinde fertilitenin korunması açısından büyük önem taşıyor olsa da uzun torsiyon periyodlarının, her iki testisin fertilitelerini de olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir. Etkilenen testisin yanı sıra diğer taraftaki testiste de torsiyon sonrası kan akımında azalma, doku hasarı ve serbest oksijen radikallerinin (SOR) fazlaca üretildiği gösterilmiştir [10, 17]. Spermatik kord torsiyonu gibi akut ve kronik epididimit, orşiopeksi, varikosel, vazektomi ve inguinal herni operasyonları da kontralateral testiste hasarlanmaya sebep olması muhtemel patolojik durumlardır [18, 19].

Deneysel testis torsiyonunda, tam iskemi oluşturmak için testislerin 720 derece (2 tur) torsiyone edilmesi gerektiği; hasar oluşturmak için ise minimum sürenin 1 saat olduğu ve ciddi bir iskemi/reperfüzyon hasarı oluşturabilmek için testislerin 4 saatten daha uzun süre 2 tur torsiyone edilmesi gerektiği literatürde belirtilmiştir [8, 9, 10].

2.2. TESTİSLERİN ANATOMİSİ

Testisler skrotum içinde bir çift organ olarak sağlı sollu yerleşmişlerdir. Testis parankimi, dıştan içe doğru sırasıyla tunica vaginalis, tunica albuginea ve tunika vasculosa olmak üzere 3 tabakadan oluşan bir kapsülle sarıdır [20].

Tunica vaginalis, viseral ve pariyetal olmak üzere 2 tabakadan oluşur. Visseral tabaka, testisin ön yüzünde ve her iki yanında bulunurken, pariyetal tabaka ise testisin alt kısmından üst kısmına doğru uzanır. Bu iki tabaka arasında az miktarda seröz sıvının bulunduğu potansiyel bir boşluk vardır.

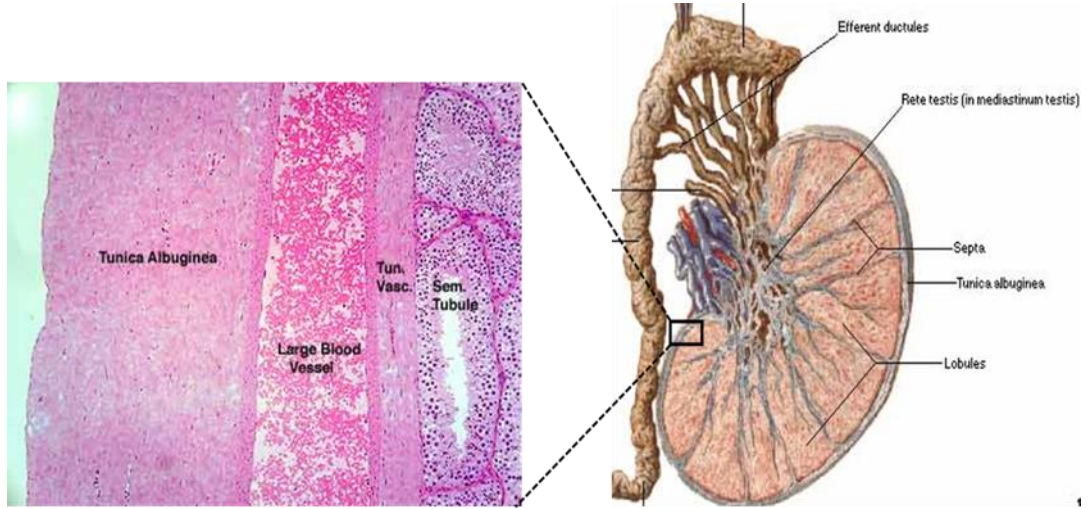


Şekil 2: Tunica vaginalis [20]

Tunica albuginea, tunica vaginalisin altında yer alan kalın, sert ve fibröz bir tabakadır [21]. Yapısında, esas olarak kollajen doku içine dağılmış çok sayıda dallanmış düz kas hücresi bulunur. Bu hücrelerin, otonomik innervasyon sonrasında kasılması neticesinde sperm hücrelerinin efferent duktuslara doğru hareket etmesi sağlanmış olur.

En içte yer alan tunica vasculosa, testisin septumlarının iç yüzünü örtmekte ve bunun bir sonucu olarak testis kompartmanları etrafında da uzanmaktadır [21].

Testis, septalar vasıtasıyla 250-300 kompartmana bölünmüş olup her bir septum ayrı bir seminifer tübül ve en az bir sentrifugal arter içerir. İnterstisyel doku ise sinir, kan ve lenfatik damarlar ile birlikte Leydig hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlardan meydana gelir.



Şekil 3: Tunica albuginea ve tunica vasculosa'nın makroskopik ve mikroskopik olarak görünümü[20, 21].

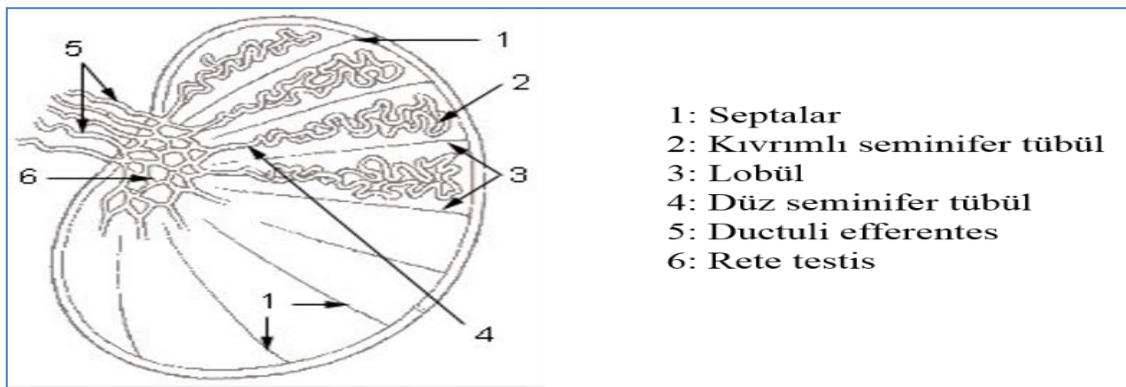
Testisin arteriyel kanlanması, aortadan köken alan testiküler arterler tarafından sağlanır. Testisi drene eden venler ise derin ve yüzeysel venöz şebekeye bağlanırlar. Derin ağ daha fazla aktiftir ve bileşenleri şunlardır; pampiniform pleksus, testiküler, deferansiyel, funiküler, kremasterik venler. Pampiniform pleksusun oluşturduğu venlerden sağdaki inferior vena kavaya, soldaki ise renal vene açılır. Testis ve epididimin lenfatığı, yüzeysel ve derin lenfatik pleksuslarla spermatik kord boyunca yukarı giderek lateral ve preaortik lenf nodüllerine drene olur. Testisin inervasyonu, süperior mezenterik ve renal arter bölgesindeki aortik pleksuslar ve kollateral ganglionlarla ilişkili genel viseral duyu lifleri ve sempatik liflerle sağlanır [22, 23].

2.3. TESTİS HİSTOLOJİSİ

Erkek üreme sistemi testisler, genital kanallar, aksesuar bezler ve penisten oluşur. Testisin ikili fonksiyonu; hormonları ve spermatozoonları üretmektir. Testisi dıştan saran tunica albuginea, testisin arka yüzünde *mediastinum testisi* oluşturmak üzere kalınlaşır, buradan testise penetre olan fibröz septalar uzanır ve yukarıda da

belirtildiği gibi, bezi, *testiküler lobüller* denilen yaklaşık 250 piramidal kompartmana böler [20, 21]. Bu septalar inkomplettir ve lobüller arası iletişime izin verirler. Her lobülde, kan ve lenf damarlarından, sinirlerden ve interstisyal (Leydig) hücrelerinden zengin bir gevşek bağ doku ağıyla sarılı 1-4 adet *seminifer tübül* bulunur. Seminifer tübüller, erkek üreme hücrelerini üretirken, interstisyal Leydig Hücreleri ise testiküler androjenleri salgırlar [24].

2.3.1. Seminifer Tübülleri

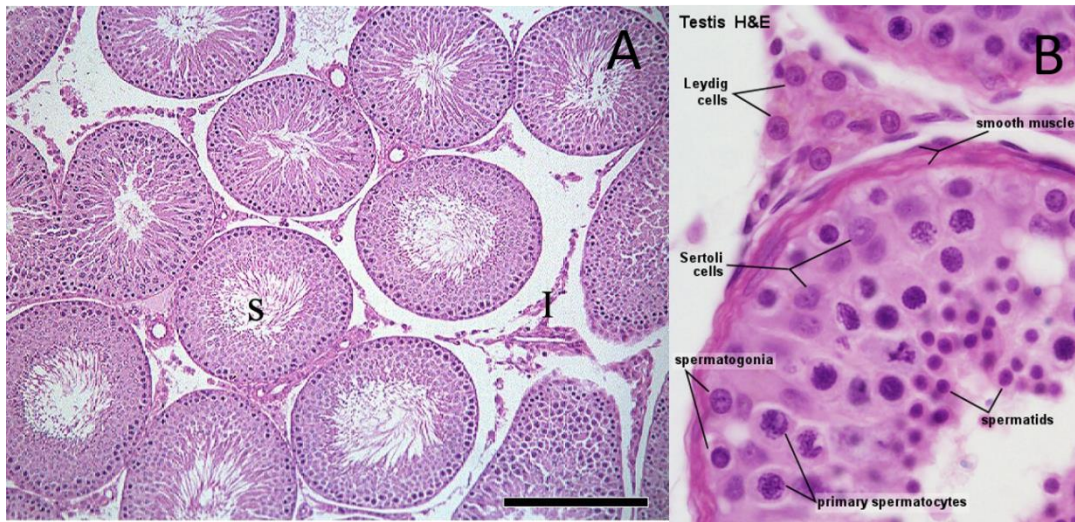


Şekil 4: Testisteki tübüler yapıların vertikal kesitteki şematik gösterimi [25].

Her bir seminifer tübül, 150-250 μm çapında ve 30-70 cm uzunluğunda olup kompleks çok katlı epitelle döşenmiştir. İnsan testisinde yaklaşık olarak 600-1200 seminifer tübül bulunmaktadır ki uç uca eklendikleri zaman toplam uzunlukları 250 metreyi bulmaktadır. *Kıvrımlı tübüller* (*tubuli seminiferi contorti*), başlangıçta her bir tübül ucunun kör olduğu, daha sonra dallandığı bir şebeke oluştururlar. Mediastinum testis yakınlarında tübüllerin lümeni daralır ve kısa segmentler halinde uzanırlar. Bunlara *düz tübüller* veya *tubuli recti* adı verilir ve seminifer tübüllerini, *rete testis* adı verilen epitelle döşeli kanallar labirentine bağlarlar. Rete testis, testiküler sıvı ve spermatozoanın epididimin baş kısmına aktarılmasında rol oynayan 6-12 adet efferent

kanalın birleşmesi ile oluşur. Mediastinumun konnektif dokusunda bulunan rete testis, epididimisin baş kısmına *ductuli efferentes* ile bağlanır [25].

Belirgin bir bazal lamina ve kompleks bir germinal veya seminifer epitelden oluşan seminifer tübüller, dış taraftan fibröz konnektif doku kılıfı ile sarılmış durumdadır. Seminifer tübülleri çevreleyen fibröz tunika propria, birkaç tabaka fibroblasttan oluşur. Bazal laminaya komşu en iç kısmı ise düz kas özelliği gösteren yassılaştırmış myoid hücrelerden oluşur [26].



Şekil 5: Testis parankiminin (A) ve tek bir seminifer tübülün (B) H-E ile boyanmış histolojik görünüşleri [26]. S: Seminifer tübül, I: İnterstisyel hücreler

Epitel iki çeşit hücreden oluşur; Sertoli veya destek hücreleri ve spermatojenik seriyi oluşturan hücreler. Spermatojenik seri hücreleri, bazal lamina ve tübül lümeni arasındaki alanda, 4-8 katman halinde yığılmışlardır. Bu hücreler birçok kez bölünürler ve son olarak spermatozoayı oluşturacak şekilde farklılaşırlar. Spermatogenez adı verilen bu süreç üç faza ayrılabilir; spermatogoniaların bölüdüğü ve spermatositlere dönüşecek yeni nesilleri oluşturduğu spermatositogenez, spermatositlerin iki kez

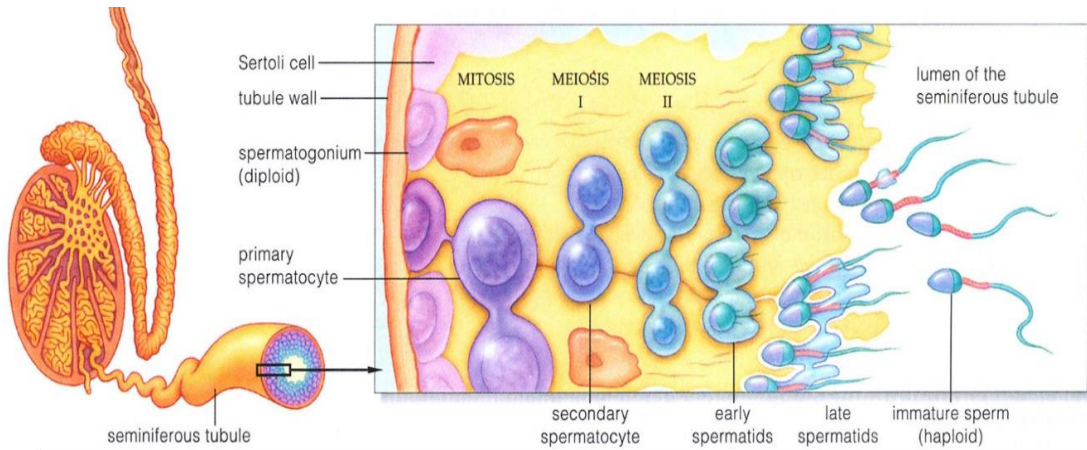
bölünüp hücre başına düşen kromozom sayısının %50 azaldığı ve spermatidlerin oluştuğu mayoz ve spermatidlerin özenle farklılaşarak DNA'yı ovuma taşıyabilecek nitelikte spermatozoonların oluştuğu spermiyogenezdir [27].

2.3.2. Spermatogenez

Spermatogenez, bazal laminanın üzerine yerleşmiş ilkel bir germ hücresi olan spermatogonyum ile başlar. 12 µm çapında ve nispeten küçük bir hücre olan spermatogonyumun nükleusu soluk boyanan kromatin içerir. Seksüel matürite sırasında bu hücre birkaç mitoz geçirir ve yeni oluşan hücreler iki yoldan birini izleyebilirler; mitoz geçirmeye devam ederek tip A spermatogonyaları ya da mitotik sikluslar sırasında farklılaşarak tip B spermatogonyaları oluşturabilirler. Tip A spermatogonyalar, spermatojenik seri için stem hücreleridir. Tip B spermatogonyalar ise primer spermatositlere farklılaşan öncü hücrelerdir. Tip B spermatogonyalardan farklılaşan primer spermatositler, oluşmalarından hemen sonra 1. mayozun profazına girerler. Bu esnada primer spermatositin 46 (44+XY) kromozomu ve 4N DNA'sı vardır. Profazdaki hücre leptoten, zigoten, pakiten, diploten ve diyakinez safhalarından geçer ki kromozomdaki genlerin crossing-over'ı mayozun bu aşamaları sırasında olur. Daha sonra hücre metafaza girer ve kromozomlar anafazda her iki kutba doğru ilerlerler. Bu bölünmenin profazı yaklaşık 22 gün sürdüğünden, incelemeler sırasında hücrelerin çoğu bu fazda görülür. Primer spermatositler, spermatojenik serinin en geniş hücreleridir ve nükleuslarındaki farklı safhalardaki kıvrılma proseslerinin varlığıyla karakterizedirler. İlk mayotik bölünmeden sonra daha küçük olan 23 kromozumlu (22+ X veya 22+ Y) sekonder spermatositler oluşur ve bu esnada hücre başına düşen DNA miktarı 4N'den 2N'e düşer. Sekonder spermatositler, kısa ömürlüdür ve interfazda çok kısa kalmaları nedeniyle hemen ikinci mayoz bölünmeye geçerler. Sekonder spermatositlerin bölünmesi sonucu yine 23 kromozumlu spermatidler oluşur fakat

birinci ve ikinci mayoz bölünmelerin arasında S fazı (DNA sentezi) olmadığından, bu ikinci bölünmede hücre başına düşen DNA miktarı yarıya düşer. İkinci mayoz bölünme, haploid sayıda (23 adet) kromozomu olan hücrelerin oluşmasıyla sonuçlanır. Fertilizasyonla, tekrar normal diploid sayıya (46 adet) ulaşırlar. Böylece canlılarda kromozom sayısının sabit kalmasını sağlayan süreç, mayoz bölünme sayesinde korunmuş olur [27].

Spermatidler, sekonder spermatozoidlerin bölünmesiyle oluşan hücrelerdir. Küçük çaplarıyla (7-8 μm), nükleuslarında yoğun kromatin içeren alanlar olmasıyla ve seminifer tübüllerinde jukstaluminal yerleşmeleriyle tanınırlar. Oluşmalarının ardından spermatidler, spermiyogenez denen farklılaşma sürecinden geçerler. Bu süreç akrozomun oluşması, nükleusun yoğunlaşması ve uzaması, flagellumun oluşması ve sitoplazmanın çoğunun kaybolmasını kapsar. Spermiyogenez sonucunda matür



inifer tübül lümenine salınır [27]

Şekil 6: Spermatogenez aşamaları [28]

Spermatogonyaların bölünmesi sırasında oluşan hücreler tamamen ayrılmazlar, sitoplazmik köprüler ile bağlı kalırlar. Bu hücreler arası köprüler sayesinde tek bir spermatogonyumdan gelişen primer spermatosit, spermatid ve sekonder spermatositler arasındaki iletişim ve hücreden hücreye bilgi aktarımıyla spermatogenez sırasındaki olayların koordinasyonu sağlanır. Spermatogenez tamamlandığında sitoplazma ve sitoplazmik köprülerin, artık cisimcikler olarak dökülmesi ile spermatidler birbirinden ayrılırlar [28].

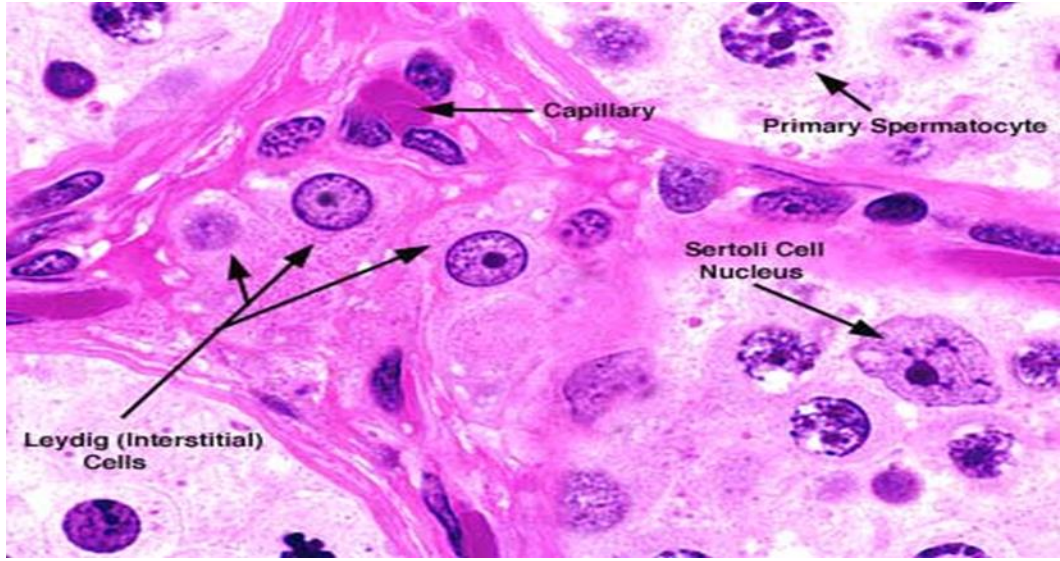
İnsanda spermatogonyum safhası ile spermatozoon oluşumu arasındaki süre yaklaşık 64 gündür. Bu süreç tüm seminifer tübüllerde aynı anda gerçekleşmez. Bu durum seminifer tübüllerin her bölgesinde spermatogenezin farklı bir safhasının izlenmesini ve düzensiz görünümünü açıklar. Germinal epitelyumda belli bir hücre evresinin ardışık iki görünümü arasında oluşan matürasyon değişiklikleri dizisine siklus adı verilir. İnsanda her siklus 16 ± 1 gün sürer ve spermatogenez 4 siklus sonrasında yaklaşık $64\pm 4,5$ günde sona erer.

2.3.3. İnterstisyel Doku

Testisin seminifer tübülleri arasındaki alan bağ dokusu, sinirler, kan ve lenfatik damarlar ile doldurulmuştur. Testiküler kapillerler, endotel hücreleri arasındaki porlar nedeniyle pencere yapıdadır ve kan proteinleri gibi makromoleküllerin serbest geçişine müsaade eder. İntertisyel alandaki lenf damarlarının oluşturduğu yoğun ağ, bu organdan alınan interstisyel sıvı ile lenfin kompozisyonunun benzerliğini açıklamaktadır [27].

Konnektif doku; fibroblastlar, farklılaşmamış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar gibi çeşitli hücreler içerir. Puberte sırasında bir başka hücre tipi belirgin hale gelir; bu, yuvarlak ya da poligonal şekilli ve merkezi bir nukleusu ve

küçük lipid damlacıklarından zengin eozinofilik sitoplazması olan bir hücredir. Steroid salgılayan hücre özelliklerini taşıyan bu hücreler, testisin intertisyel ya da Leydig hücreleridir [29]. Bu hücreler sekonder seks karakterlerinin gelişmesinden sorumlu, erkeklik hormonu testosteronu üretirler. Testosteron, Leydig hücrelerinin mitokondri ve düz endoplazmik retikulumda bulunan enzimlerce sentezlenir [27].

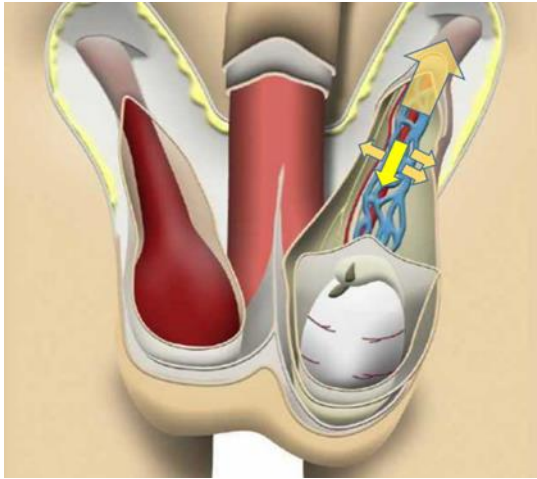


Şekil 7: H-E ile boyanmış bir kesitte Leydig hücrelerinin görünümü [29]

İnterstisyel hücrelerin hem aktiviteleri hem de sayıları, hormonal uyarılara bağlıdır. Hamilelik sırasında plasental gonadotropik hormon, maternal kandan erkek fetusa geçer ve androjenik hormonları üreten fetal testiküler interstisyel hücreleri uyarır. Bu hormonların bulunması erkek genityasının embriyonik farklılaşması için gereklidir. Embriyonik interstisyel hücreler, hamileliğin dördüncü ayına kadar tamamen farklılaşmış olarak kalırlar; daha sonra testosteron sentezindeki azalmayla birlikte gerilerler. Gebeliğin geri kalanı boyunca ve prepubertal periyotta; hipofizden salınan LH uyarısıyla testosteron sentezini yeniden yapmaya başlayana kadar dinlenmede kalırlar [27].

2.3.4. Testis Histofizyolojisi

Spermatogenezin regülasyonunda ısı çok önemlidir. Sağlıklı bir spermatogenez için testisler, spermatik kord ve scrotumlar vasıtasıyla vücut sıcaklığının (37°C) altındaki ısılarda muhafaza edilmektedir. Testiküler ısı yaklaşık 35°C 'dir ve bu durum birkaç mekanizma ile kontrol edilir. Zengin bir venöz pleksus (*pampiniform pleksus*) her bir testiküler arteri sarar ve bu sayede arterle gelen 37°C 'deki kanın, testislere ulaşmadan önce venöz sistem ile geri dönmesini sağlayan ısı değişim sistemi oluşturulur (Şekil 2.3.5.1) [30]. Diğer faktörler; skrotumdan terin buharlaşması ile ısı kaybı ve spermatik korddaki kremaster kaslarının sıcaklıkla gevşemesi ile testislerin ısılarının artacağı inguinal kanallara çekilmesidir [27].



Şekil 8: Testisin venöz kanını taşıyan plexus pampiniformis (mavi renkli damar yapıları) [30].

Spermatogenez üzerinde en önemli etkiyi endokrin faktörler oluşturduğu bilinmektedir. Spermatogenez, hipofizin FSH ve LH hormonlarının testis üzerine etkilerine bağlıdır [31].-LH, intertisyel hücreler üzerine etki ederek spermatojenik seri hücrelerinin normal gelişimi için gerekli olan testosteron üretimini uyarır. Testisteki testosteron düzeylerindeki azalma, spermatogenezin mayoz evresinde takılıp kalmasına

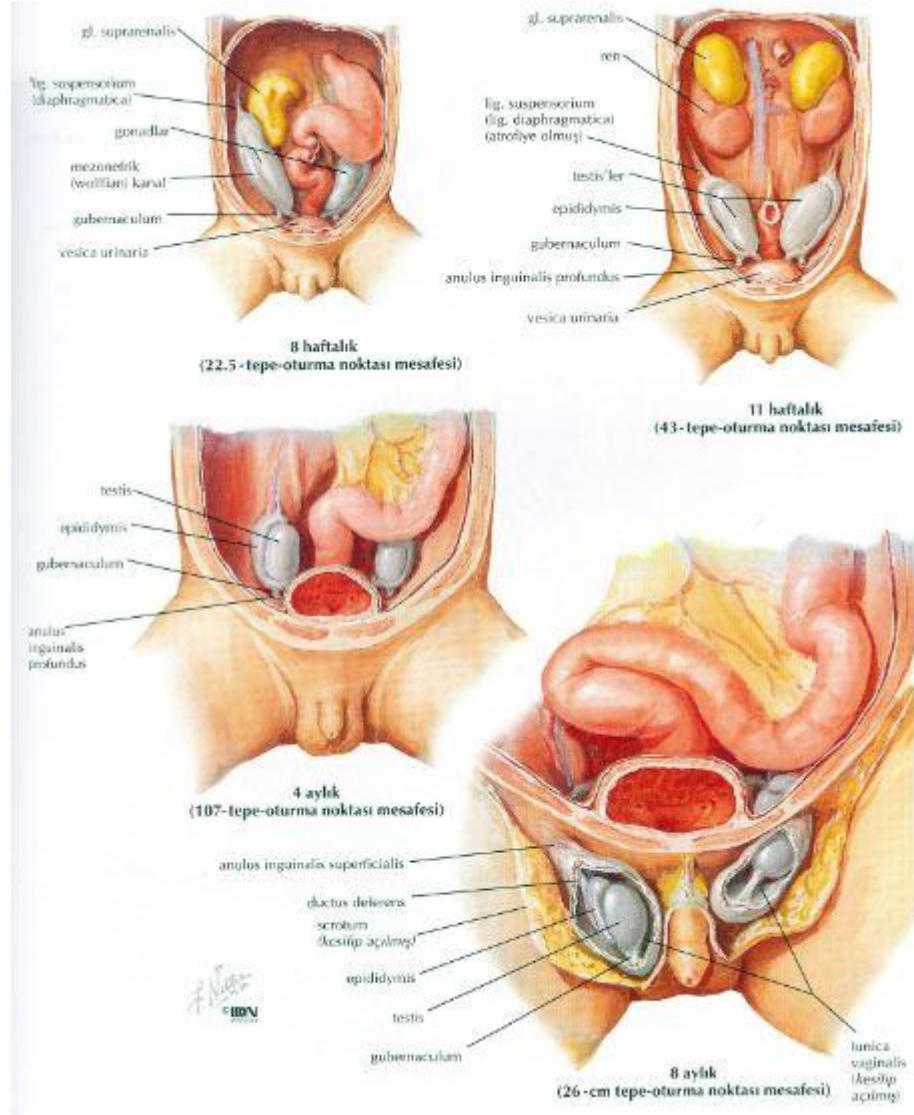
ve infertiliteye yol açabilmektedir. FSH'nin ise sertoli hücrelerini etkileyerek adenilat siklaz yapımını uyardığı, cAMP'nin artışına yol açtığı ve ayrıca androjen-bağlayıcı protein (ABP) sentezi ve sekresyonunu sağladığı bilinmektedir. Bu protein testosteron ile bağlanır ve testosteronu seminifer tübüllerin lümenine geçirir. Spermatogenez testosteron ile uyarılırken, östrojen ve progesteron ise spermatogenez süreci inhibe eder. Spermatozoonlar epididimise, uygun bir ortam olan, sertoli hücreleri ve rete testis tarafından üretilen testiküler sıvı içinde taşınırlar. Bu sıvı steroidler, proteinler, iyonlar ve testosteronla birleşmiş ABP içerir [27].

2.4. TESTİSLERİN EMBRİYONEL GELİŞİMİ

Testisler, abdominal kavitenin arka duvarında retroperitoneal olarak gelişirler. Fetal gelişim süresince göç ederler ve spermatik kordların ucunda skrotum içine sarkan pozisyonlarını alırlar [32]. Her testis kendisiyle birlikte, peritondan türeyen tunica vaginalis adında seröz birer kese taşır. Tunikanın bir dış paryetal yaprağı bir de iç visceral yaprağı bulunur. Epiorşium adı da verilen visceral yaprak, testisin tunica albuginea'sını arka kenarı hariç olmak üzere sararak bu iki oluşumu birbirine bağlar. [33]

Cinsiyet, konsepsiyon ile belirlenir ancak gonadlar 7-8. gestasyonel haftalara kadar morfolojik olarak cinsiyet açısından bir farklılık göstermezler. Gonadlar retroperitoneal alanda böbreğin altında gelişirler. Primitif germ hücreleri, 6. haftanın sonunda yolk kesesinden genital tümseğe ulaşırlar. 7-8. haftalarda muhtemel hormonal etkiyle farklılaşma evresi başlar ve bu evre boyunca testisler mezorşiyumda asılı durumda kalırlar. Mezorşiyum çift kalı bir peritoneal katlantıdır; üst katlantıdan spermatik damarlar geçerken, alt katlantı gubernakulumu oluşturur. Gubernakulum, mezenşimal kaynaklı jelatinöz bir silindir ve testisin skrotuma inişi sırasında klavuz

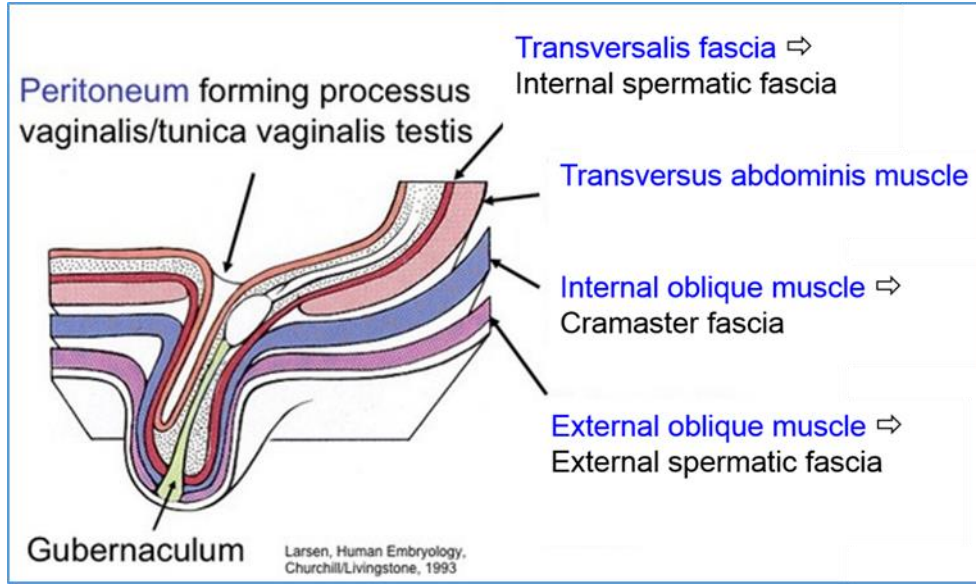
görevi görür. Proksimal kısmı testisin alt kutbuna bağlıdır ve testiküler iniş öncesinde gubernakulumun boyutunun artması, testisin inguinal kanaldan geçebilmesine yardımcıdır [33].



Şekil 9: Intrauterin dönemde testislerin skrotuma inişi [32].

Testisler, skrotuma inişleri sırasında karın ön duvarına ait yapıları da peşi sıra sürükler ve bu esnada spermatik kordu saran tabakalar şekillenir. Bunlar; eksternal oblik kasın fasyası tarafından oluşturulan eksternal spermatik fasya, internal oblik ve [fascia](#)

transversalis kaslarının uzantısı olan kremasterik fasya ve transversalis fasyasından oluşan internal spermatik fasyadır [34]. Bu fasyalar aynı zamanda skrotumun tabakalarının oluşumuna da katılır. Sonuç olarak gebeliğin 32. haftasında testislerin inişi sona ermekte ve inguinal kanaldan geçmeleri sonrasında erişkindeki pozisyonları olan skrotumların içine yerleşmektedir [33].



Şekil 10: Testisin skrotuma inişi sırasında spermatik korda ait tabakaların oluşması [34]

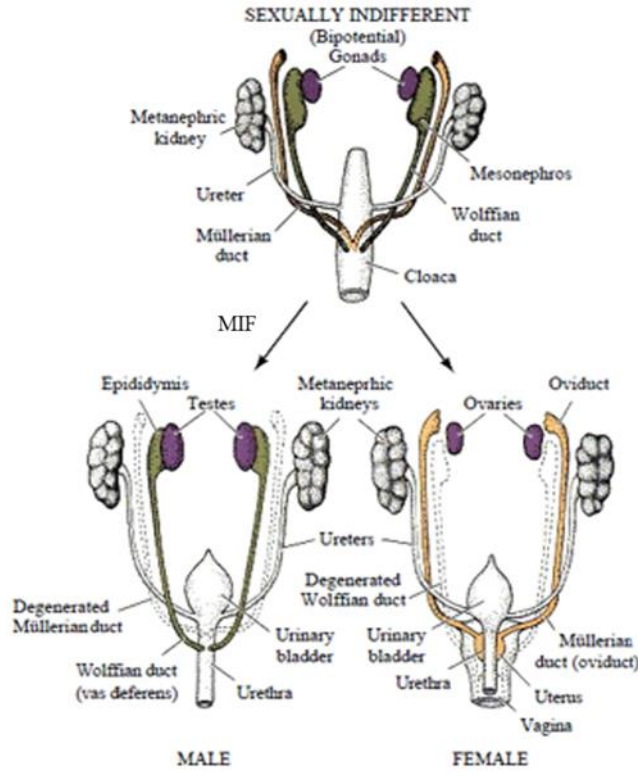
İntrauterin 4. haftada endodermal primordial germ hücreleri, mezonefrozun medialinde, mezotel ve altındaki mezenşimin proliferasyonu ile oluşan genital kabartı (plika genitalis) içine göç ederler. Gestasyonun 4. haftasında primordial germ hücreleri yolk kesesinin kaudal kısmında olup 6. haftada ürogenital kabartıya ulaşır. Yedinci haftada seks belirleyici gen (SRY), SRY proteinini tetikler ve böylece çift potansiyelli gonad, testise dönüşür. Embriyonun cinsiyeti, ovumu dölleyen sperm ile fertilizasyon sırasında belirlenir. Ancak erkek ve dişi yönde morfolojik özellikleri embriyonal dönemin 7. haftasına kadar izlenmez. Testis gelişimi Y kromozomunun kısa kolu üzerindeki SRY geni etkisi ile olur. SRY geni bulunmayan dişilerde ise SRY proteininin indükleyici etkisinin ortadan kalkması sonucu gonadlar ovaryum yönünde farklılaşır

[33].

Farklılaşmamış gonad, dışta korteks ve içte medulladan oluşmaktadır. Embriyo XY seks kromozomuna sahipse medulla testise farklılaşır, bu sırada korteks geriler ve dejenere olur. Testiste primordial seks hücrelerinden spermatogoniumlar gelişirken, plika genitalisdeki mezotelden Sertoli hücreleri ve mezotel altındaki mezenşimden de Leydig hücreleri gelişir. Seminifer tübüller puberteye kadar solid halde kalır, lümenleri ancak puberte döneminde oluşur. Testis içinde Sertoli hücrelerinin oluşmaya başlamasıyla, 8. haftadan sonra Müllerian inhibitör Faktör (MIF) salgılanır. MIF sayesinde Müllerian kanallar dejenere olurken, mezonefrik (Wolffian) kanallar varlığını sürdürmeye devam eder. Erkek iç genital organları (duktuli eferentes, ductus epididimis, ductus deferens ve seminal veziküller), mezonefrik (Wolffian) kanaldan gelişir [35]. Leydig hücreleri, 10. haftada **Cinsiyet farklılaşması** androstenon ve androstenedion salgılamaya başlar ki bu hormonların etkisi ile mezonefrik kanalların ve dış genital organların erkek yönünde farklılaşması sağlanır [33].

Erke

Dişi



Şekil 11: İç genital organların erkek ve dişi yönünde farklılaşması [35]

2.5. TESTİSİN FARKLILAŞMASI

Doğumdan puberteye kadar testis dinamik bir yapıdır. Puberte öncesi tüm testiküler bileşenler dalgalar halinde proliferasyon ve farklılaşma geçirirler. Leydig hücreleri ve germ hücrelerinin proliferasyonu neonatal dönem, infantil dönem ve pubertede olmak üzere üç dalga halinde gerçekleşir. Pubertedeki proliferasyon, spermatogenezin tamamlanmasını sağlar.

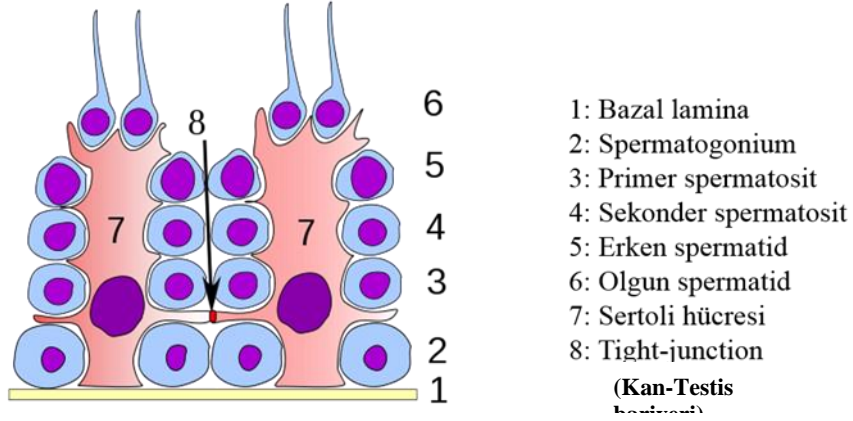
2.5.1. Doğumda Testis

Yenidoğan testisi yaklaşık 0,57 mL volümedir ve intratestiküler septaların çıktığı ince bir tunika albuginea ile sarılmıştır. Bunlar testisi seminifer tübülleri ve testiküler interstisyum içeren lobüllere bölerler. Sertoli ve germ hücreleriyle dolu olan

seminifer túbüller, 60-65 µm çaptadır ve belirgin lümenleri yoktur. Doğumda iki tip germ hücresi mevcuttur; gonositler ve spermatogonia. Testiküler interstisyum ise erişkin Leydig hücrelerine benzeyen ancak Reinke kristaloidleri olmayan fetal Leydig hücreleri içerir. Ayrıca mast hücreleri, makrofajlar ve hematopoietik hücreler mevcuttur. Neonatal dönemde gerçekleşen ilk testiküler gelişme dalgası, germ ve Leydig hücrelerini ilgilendirir. Bu değişikliklere üçüncü postnatal ayda salınımları belirgin şekilde artan FSH ve LH sebep olur. Bu evrede testis volümü ve ağırlığı artar. LH, Leydig hücrelerinden testosteron salınımını arttırırken, testosteron da gonositlerin spermatogonialara dönüşmesini uyarır. Doğumdan altı ay sonra gonositler tamamen kaybolur, dolayısıyla fetal germ hücre belirteçleri (plasental alkalın fosfataz ve c-kit) altıncı aydan sonra testikuler dokuda saptanamazlar.

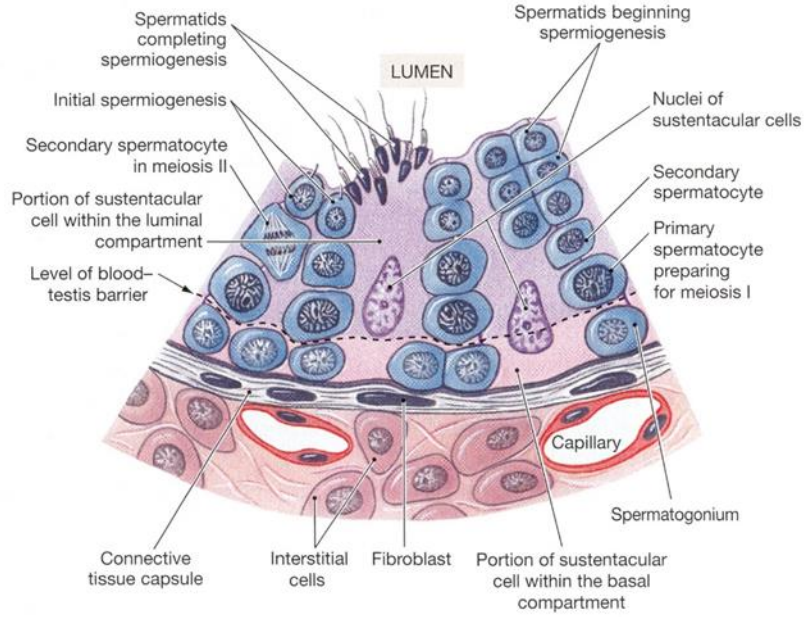
2.6. KAN-TESTİS BARIYERİ

Kan ve seminifer túbüller arasında bir bariyerin olması, kandaki maddelerden çok azının testisküler sıvıda bulunmasını açıklar. Testiküler kapillerlerde pencereler vardır ve büyük moleküllerin geçişine izin verirler. Ancak sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar (tight junctions) geniş moleküllerin transportuna karşı fonksiyonel bir bariyer oluşturur. “Kan-testis bariyeri (KTB)” ya da “sertoli hücre bariyeri” adı verilen bu bariyer, erkek germ hücrelerinin kana karışmış zararlı maddelerden korunması için önemlidir [36]. Sertoli hücreleri arasındaki bağlantılar, spermatogonyumların yukarısında yer almakta ve bu sayede spermatogenezin daha ileri evrelerinde bulunan spermatositler ve spermatidler tüm çevreleri boyunca kuşatılarak tamamen dış ortamdaki izole tutulmaktadır [37]. Testis içindeki kan damarlarının duvarları ve peritübüler miyoid hücrelerin de kan-testis bariyeri fonksiyonuna katkıları bulunur.



Şekil 12: Kan-testis bariyeri [37].

KTB bu şekilde seminifer tubüllerin germ hücreleri ile döşeli duvarını ikiye ayırmış olur: Bazal kompartman ve luminal kompartman. Bazal kompartman içinde spermatogoniumlar ve luminal kompartman da ise spermatozoidler, spermatozoidler ve spermatozoa bulunur [38]. Kan-testis bariyeri pubertede spermatogenez başladığı zaman oluşur. Bu bariyerin önemi germ hücreleri mayoz geçirirken dış etkilere çok hassas oldukları için, bunlara daha düzenli ve spesifik bir ortam sağlamasıdır. Ayrıca, mayoz geçirdikten sonra haploid hale gelen germ hücrelerinin vücut immün sistemi tarafından tanınmaması nedeniyle yıkılmalarına da mani olur. Sertoli hücreleri, kan-testis bariyeri sayesinde luminal kompartmanda bulunan hücreler için dış ortamdan izole, özel bir mikroçevre oluşturmuş olur.



Şekil 13: Seminifer tübüllerde KTB ile ayrılmış lüminal ve bazal kompartmanlar [38].

Spermatogonyal hücrelerin farklılaşması, sperm-spesifik proteinlerin oluşmasına sebep olur. Seksüel matürite, immün-kompetansın gelişmesinden çok sonra tamamlandığından, diferansiye olan sperm hücreleri yabancı olarak algılanabilir ve germ hücrelerine karşı immün yanıt uyarılabilir. Kan-testis bariyeri, gelişmekte olan spermler ve immün sistem arasında oluşabilecek herhangi bir etkileşimi ortadan kaldırır. Bu bariyer, immünglobulinlerin seminifer tübüllere geçmesini engeller ve serumlarında çok yüksek düzeyde sperm antikorları bulunan erkeklerde, herhangi bir fertilitte bozukluğu görülmemesini açıklar. Dolayısıyla kan-testis bariyeri, seminifer epitelin otoimmün reaksiyonlardan korunmasında önemli rol oynar.

2.7. TESTİS TORSİYONU VE FERTİLİTE

Akut skrotum klinik bir sendromdur ve genelde sebebi testis torsiyonudur [39]. Spermatik kord torsiyonu adı da verilen testis torsiyonunda, testisin kendi etrafında dönmesi sonucu kan dolaşımında bozukluk ortaya çıkar. Testis torsiyonu yenidoğanları, çocukları ve adolesanları ilgilendiren cerrahi bir acildir. Eğer ilk 8 saatte tanı konulamaz

ve cerrahi tedavisi yapılamaz ise testisin kanlanması bozularak nekrotik ve apoptotik hücre ölümleri gerçekleşir. Nekroz ve apoptozis, iki farklı hücre ölüm şeklidir. Nekroza birçok ekstrasellüler faktör sebep olabilir; hücre şişmesi, lizisi ve inflamatuvar cevap ile sonlanır. Apoptoz (programlı hücre ölümü) ise inflamatuvar bir cevap oluşmadan intrasellüler nükleer degradasyonla gerçekleşir. Germ hücre apoptozu (GHA), normal spermatogenezde var olan önemli bir olaydır, fakat testis hasarında bu durum oldukça artar. Testis torsiyonunda gözlenen GHA'nun Bcl-2 ailesinden pro-apoptotik bir gen olan Bax geninin uyarılması ile gerçekleştiği gösterilmiştir.

Mitojenle aktive olan protein-kinaz (MAPK)'lar ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz ailesinin bir üyesidir ve sinyal ileti yollarında yaşamsal öneme sahiptirler. MAPK8 ise ultraviyole radyasyona, protein sentezi inhibitörlerine, ozmotik strese ve inflamatuvar sitokinlere cevap olarak aktive olur; testiküler reperfüzyonun erken döneminde rol alır, proinflamatuvar sitokinlerin (TNF- α ve IL-1 β) üretimini başlatarak germinal hücreleri apoptoza sürükler.

Deney hayvanlarında torsiyon/detorsiyon sonrası testiste iskemi/ reperfüzyonuna bağlı doku hasarını gösteren biyokimyasal ve histolojik değişikliklere yönelik birçok yayın mevcuttur [40, 41, 42, 43, 44]. Torsiyon/detorsiyonda TNF- α ve IL-1 β seviyesinde artış olur, stres-bağımlı bir kinaz olan c-jun N-terminal kinaz (JNK) yolağı uyarılır ve bu da endotelden E-selectin salınımına yol açarak nötrofil göçüne, SOR miktarında artışa ve sonuçta germ hücre apoptozunun artmasına yol açar. Torsiyon/detorsiyonda apoptozis baskın olarak spermatositlerde, erken ve geç spermatidlerde ve Sertoli hücrelerinde olur. Ancak spermatogonia, peritübüler konnektif doku hücreleri (fibroblast, miyofibroblast) ve endotelyal hücreler nadiren apoptozise giderler. Leydig hücreleri de spermatositlere göre daha az etkilenirler.

2.7.1. Testis Torsiyonunda Klinik Bulgular

Torsiyon genellikle tek taraflıdır ancak %2 oranında bilateral olabilir. Solda daha sık görülür [45]. Torsiyonun derecesi 180-720° arasında değişir. Ani başlayan skrotal ağrı ve şişme ana bulgulardır. Aynı zamanda abdominal ağrı da olabilir. Bulantı ve kusma sıklıkla eşlik eder. Daha geç dönemde hafif ateş de görülebilir [46].

Muayenede testis hassas ve şiştir. Torsiyone testis retrakte olur, skrotumda yüksek yerleşimlidir ve kalınlaşmış hassas kord hissedilebilir [46]. Testis horizontal yatıyorsa bell clapper deformitesi akla getirilmelidir. Anteriorda hissedilen epididim de sık karşılaşılan bir bulgudur. Kremaster refleksi genellikle kaybolmuştur. Orşitte görülenin aksine testikuler elevasyon ile ağrı azalmaz (Phren bulgusu).

2.7.2. Tedavi

Tedavide acil cerrahi uygulanır. Erken başvuru ve ilk 8 saat içinde acil cerrahi uygulanması ile testisin kan dolaşımını bozan bu durum testisin canlılığı kaybolmadan tedavi edilebilir ve ilgili testis fonksiyonunu sürdürür. Testis ameliyat ile detorsiyone edilir (dönmüş testis normal pozisyonuna geri döndürülür), testis normal pozisyonunda torbaya dikiş ile sabitlenir. Eş zamanlı olarak torsiyon riskini ortadan kaldırmak amacı ile karşı taraftaki testis de torbaya dikiş ile sabitlenir. Ancak başvuruda ya da tanıda gecikme ile ilk 8 saatte acil cerrahi müdahale yapılmaz ise dolaşımı bozulmuş olan testis canlılığını kaybeder, cerrahi girişim yapıldığında canlılığını kaybetmiş testis görülür, nekroze olmuş bu testisin çıkarılması gerekir [47].

2.8. ENDOTEL DOKU

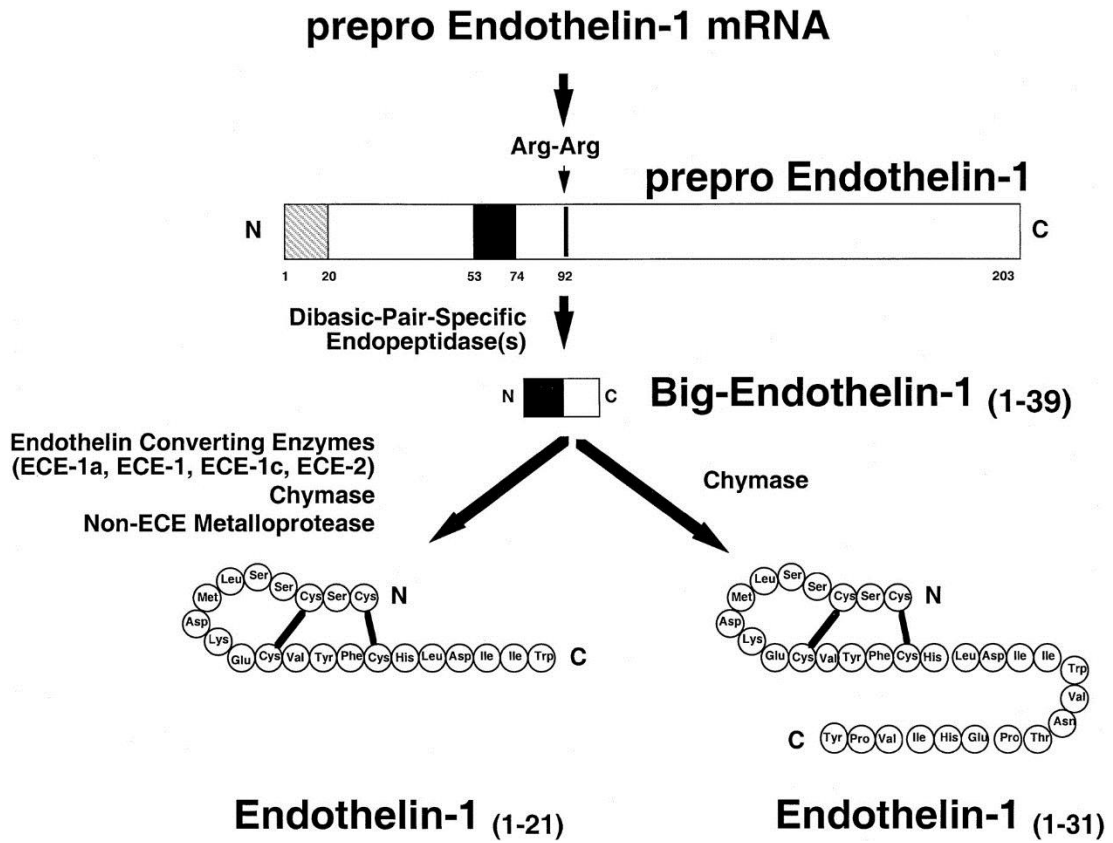
Damar duvarları endotel adı verilen ince bir epitel tabakasıyla kaplıdır. Vazodilatör ve vasokonstriktör substratların yapımında rol oynayarak, vasküler

homeostazın sağlayan minyatür bir endokrin organıdır [48]. Endotel hücreleri; 70 kg'lık bir insanda 6 tenis kortu büyüklüğünde bir alan kaplar. Beş normal kalp büyüklüğünde kitleye sahiptir. Toplam endotel hücre sayısı trilyondur ve 1800 gr ağırlığındadır. Endotel kan akımına karşı tromboresistans bir yüzey görevi görürken, kan ve damar duvarı arasında da makromoleküler bir bariyer vazifesi yapar. Endotel hücreleri morfolojik yapıları ve stratejik anatomik pozisyonları sebebiyle vasküler düz kas hücreleri ile kan dolaşımının komponentleri arasında (platelet, monosit, enzimler, hormonlar v.d) seçici geçirgen bir bariyer oluşturur. [49, 50] Bunun için endotel hücreleri luminal yüzeyde dolaşım için nonadeziv bir yapıda bulunmalıdır. Endotel hücreleri damar tonusunun düzenlemesi, koagülasyon, hücre büyümesi ve ölümü, lökosit migrasyonu gibi çeşitli olaylarda rol oynar [51]. Furchgott ve Zawadzki'nin 1980 yılında endotel kaynaklı bir vazodilatörü bulmasıyla endotelinlerin birçok hastalıktaki önemi keşfedildi [52]. Bu endotel kaynaklı gevşetici faktörün (EDRF) NO olduğu sonradan anlaşıldı [53]. Normal şartlar altında vasküler tonusun belirli bir seviyede sağlanmasını endotelden devamlı salgılanan gevşetici ve kasıcı faktörler sağlar. Ayrıca hormonlar, nörotransmitterler ve nörolojik impulslarla uyarılıp aktive edilen endotelial hücrelerin yaptıkları salgının artması sağlanır.

2.8.1. Endotelinlerin Yapısı ve Sentezi

İki disülfid köprü (Cys1-Cys15 ve Cys3-Cys11) içeren ET, 21 aminoasit (aa)'li lineer bir peptiddir ve konikal spiral bir yapı arzeder. Yapısı diğer memeli peptid gruplarına benzemezken bir grup yılan zehrinin (sarafotoksinler) yapısına benzemektedir. Her iki grup peptidde vazokonstriksiyon, vazodilatasyon ve mitogenez gibi ortak biyolojik etkilere sahiptir. Yapısal ve farmakolojik olarak etkileri farklı olan 3 ET isopeptidi insan ve diğer memelilerde bulunmaktadır [4]. İnsan, fare ve domuz genomlarında farklı kromozomlarda bulunan 3 farklı gen tarafından kodlanan bu

peptidler ET-1, ET-2 ve ET-3 olarak adlandırılır [54]. Endotel hücrelerinde sentez edilen tek ET, ET-1'dir [4]. ET-1 'i kodlayan mRNA yalnızca damar endotel hücrelerinde gösterilmiştir [55]. ET-2'in ET-1'den farkı 2 aa, ET-3' den farkı ise 6 aa dir. [54]. ET-1; vasküler endotelial ve düz kas hücreleri, hava yolu epitelyal hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar, kardiyak miyositler, beyin sinir hücreleri ve pankreatik adacıklar tarafından üretilmektedir. ET-2 ise over ve intestinal epital hücrelerinden sentezlenmektedir. Akciğer alveolarizasyon, termoregülasyon, ovulasyon ve intestinal epitelyal hücre homeostazisinde görev almaktadır. ET-3; endotelial hücrelerde, beyin sinir hücrelerinde, renal tübüler epitelyal hücrelerinde ve intestinal epitelyal hücrelerinde bulunur. NO ve prostasiklin içeren vazodilatörlerin salınımına aracılık etmektedir. [56]. ET-1'in öncü proteini 203 aa' den oluşan preproendotelin-1 (preproET-1)' dir [57]. PreproET-1 proteolizis ile önce bigET-T e (38 aa'li), daha sonra da ET-1' e (21 aa'li) dönüşmektedir. BigET-T in yapısında Trp 21 ve Val 22 arasındaki bağın hidrolizi, bir nötr metallopeptidaz olan ET-Converting Enzyme (ECE) tarafından gerçekleştirilir [54, 58]. ECE-1 ve ECE-2 olmak üzere 2 tipi vardır. ECE-1 çeşitli hücrelerden izole edilmiştir ve 758 aa'lik iç membrana bağlı bir enzimdir. ECE-1 nötral endopeptidazdır ve mRNA' sı en fazla endotelde yapılır, fakat adrenal bezler, akciğerler, böbrekler ve bağırsaklarda da yapılabilir. ECE-1 bigET-1' i ET-2 ve ET-3'den daha etkili parçalar [59]. ECE-2 yapısal olarak ECE-1'e benzeyen membrana bağlı metalloproteazdır ve bigET-1' i ET-2 ve ET-3'den daha etkin bir şekilde parçalar. mRNA' sı belirgin olarak serebral korteks , serebellum ve adrenal medulla gibi dokularda bulunur.



Şekil 14: ET-1(1-21) ve ET(1-31) peptidlerinin biyosentezi [58]

ET-1'in salınım miktarını arttıran ve sitümüle eden ve de mRNA'sını indükleyen etmenler şöyle sıralanabilir; Mekanik stimülasyon trombin, transforming growth faktör P (TGF(3), anjiyotensin II, vazopressin, hemodinamik shear stres, interlökin-1, kalsiyum iyonoforları (A 23187 ve ivonomisin) ve forbol esterleri tarafından artırıldığı bulunmuştur [60, 57]. ET-1'in sentezini inhibe eden maddeler ise; Atrial natriüretik peptid (ANP), prostasiklin 2 (PGI2) ve NO gibi vazodilatörler sayılabilir [54]. Endotel oluşumunun esas düzenlenmesi, transkripsiyon veya translasyon düzeylerinde olur. Veziküllerde depolanmış endotelin bulunamamıştır [58].

Tablo 1: Endotelin salınımını uyaran ve inhibe eden faktörler [54]

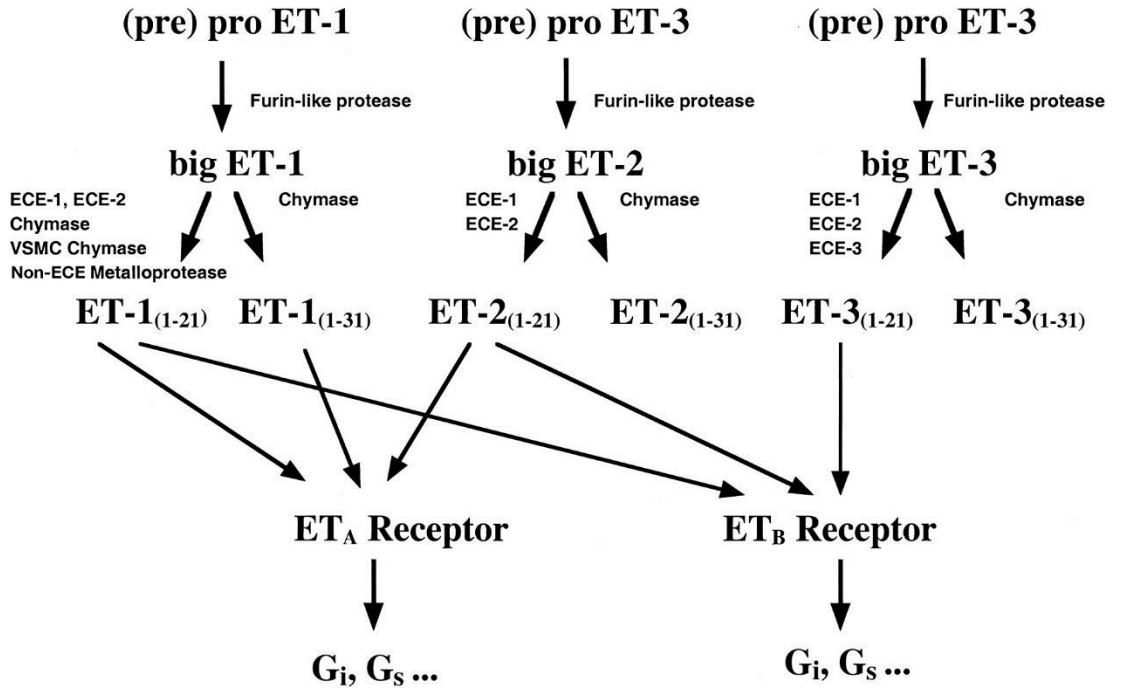
Endotelin salınımını uyaran faktörler		Endotelin salınımını inhibe eden faktörler	
İnsülin	ET-1	ANP	cAMP, cGMP
Anjiyotensin(II)	NF-1	Adrenomedullin	Heparin
Vazopressin	Endotoksin	Yüksek shear stres	Fe ⁺² ve Ca ⁺²
Kortizol	Trombin	NO	şelatörleri ..
IL-1	Düşük shear stres	PGI ₂ ve PGE ₂	
TGF(3)	Glikoz Okside		
Hipoksi	HDL		
Bombesin			

2.8.2. Endotelinlerin Hücresel Etki Mekanizmaları

ET-1 vazokonstriktör etkisini protein kinaz C aktivasyonu ve sitozolik kalsiyum artışı üzerinden gösterir. Reseptör-ET birleşmesini takiben, G proteinlerde reseptöre bağlanarak fosfolipaz C'yi aktiflerler. ET'ler fosfolipaz C' yi aktive ederek fosfotidilin hidrolizine neden olurlar. Hidroliz sonucu; inositol 1,4,5 trifosfat (IP₃) ve diacilgliserol (DAG) oluşur. İlki sitozolik Ca⁺² düzeyini DAG ile proteinkinaz C'yi aktifler. IP₃ sarkoplazmik retikulumdaki depolardan Ca⁺² serbestleştirir. Dihidropiridine duyarlı voltaj bağımlı kanallardan Ca⁺² girişini de kolaylaştırır ve total intrasellüler Ca konsantrasyonu artar. İntrasellüler Ca⁺² artışı kalmodulin artışı ile birliktedir [57, 59]

2.8.3. Endotelin Reseptörleri

ET reseptörleri tüm vücutta yaygın olarak yer alırlar ve ET izopeptidlerine olan afinitelerine göre 3 ana gruba ayrılırlar. Endotelin-A (ETA) reseptörü, ET-1 ve ET-2'ye yüksek afinite gösterirken, ET-3 ise zayıf bir afinite gösterir [55]. Endotelin-B (ETB) ise bu 3 izoforma eşit etki göstermektedir [61].



Şekil 15: ET sisteminin moleküler bileşenleri. [58].

1. ETA afinite sıralaması: ET-1>ET-2>ET-3
2. ETB afinite sıralaması: ET-1=ET-2=ET-3
3. ETC (Endotelin-C) ise ET-3'e yüksek afinite gösterir [62].

Bu reseptörlerin dağılımı, değişik cinslerde ve dokularda büyük farklılıklar göstermektedir [63]. ET_A reseptörü vasküler düz kas hücresi tarafından sentezlenir ve ET-1'in kasıcı etkisinden sorumludur. Vazokonstriksiyon, FLC, IP₃ ve DAG yolağının aktivasyonu ile gerçekleşir [64]. Bu tip reseptörler vasküler düz kas hücresi, böbrek ve

kalpte bulunur [57]. ETb reseptörleri ise. daha yoğun olarak böbrekler, uterus. santral sinir sistemi ve endotel hücrelerinde olmak üzere, geniş bir dağılım gösterirler [65, 66]. ETb reseptörleri, endotel hücresinde NO üzerinden vazodilatasyona neden olurken, vasküler düz kas üzerinde vazokontrüksiyona neden olurlar [64]. ETc reseptörü ise en son keşfedilen reseptör olup endotel hücresinde lokalizedir ancak memeli hücresinde varlığı gösterilmemiştir [57]. ET reseptörleri B1, B2, 5HT1, 5HT2, VI ve V2 reseptörlerini de içeren Rodopsin süper ailesine dahildirler. Bu reseptörlerin yedi adet transmembran segmenti vardır ve etkilerini G proteinleri aracılığı ile gösterirler [59]. G proteinler de reseptöre bağlanarak fosfolipaz C' yi aktiflerler. Aktiflenmiş fosfolipaz C'nin etkisi ile ikinci haberciler olan inozitol 1,4,5-trifosfat ve 1,2-diaçilgliserol sentezlenir [57, 59]. IP3 endoplazmik retikulumdan Ca²⁺ salıverilmesini artırır ve ET-1 daha sonra membran Ca²⁺ kanallarını açarak ekstrasellüler Ca²⁺ un hücreye girişine neden olur ve bunun sonucunda damarlarda yavaş gelişen fakat uzun süren bir vazokonstrüksiyon meydana gelir ve kan basıncı yükselir. ET bilinen endojen vazokonstrüktör maddelerin en güçlüsü olup, gravimetrik etki gücü Anjiyotensin 2'den 10 kat daha fazladır [55].

2.8.4. Endotelin Reseptör Antagonistleri:

Endotelinler, 21 amino asitten oluşan [vazokonstriktör peptidlerdir](#). Başlıca [endotelde](#) üretilirler ve damarların [homeostazının](#) (iç denge) düzenlenmesinde anahtar rol oynarlar. ET-1 güçlü bir vazokonstriktördür ve mitojen olarakta önem arz etmektedir [57]. Endotelinler, embriyonik gelişimde ve fizyolojik koşulların devamında rol almalarının yanı sıra hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği, renal yetmezlik, pulmoner hipertansiyon gibi birçok patofizyolojik durumun oluşumuna ve devamına katılırlar. 1990'lı yılların başında endotelin reseptör antagonistleri bu hastalıklarda kullanılmaya başlanılmış ve bu amaçla ilk olarak ETA reseptör antagonisti BQ-123 denenmiştir. Bu

araştırmaların birçoğu faz II evresine kadar ilerlemiş durumdadır. Non-peptid yapısından dolayı oral olarak kullanılabilen ETA/B reseptör antagonisti Bosentan ise konjestif kalp yetmezliği ve hipertansiyonda Faz III klinik çalışmalarında kullanılmaktadır. Endotelin reseptör antagonistleri üzerindeki yoğun çalışmalar, etkin tedavisi bugün için bulunmayan klinik problemlere gelecekte katkı sağlayabilecekleri için büyük önem taşımaktadır [4]. ET'lerin çeşitli vücut sistemleri üzerine olan önemli etkilerinin anlaşılmaya başlaması ile bunların istenmeyen etkilerini ortadan kaldıracak reseptör antagonistleri üzerinde çalışılmaya başlanmıştır. Bu amaçla, son yıllarda değişik kompetitif ET reseptör antagonistleri tanımlanmıştır [57]. ET'nin tanımlanmasından sadece 2 yıl sonra, endotelin reseptör antagonisinin (ERA) ilk raporu yayınlandı. Bu antagonist, ET-l'in bazı etkilerini bloke etti, fakat özgünlük yönünden eksikti. Bundan kısa bir zaman sonra "*Streptomyces misakiensis*" fermantasyonunun doğal bir yan ürününden kompetitif endotelin antagonisti (BE-18257B) izole edildi [67]. ET reseptör antagonistleri, selektif ETA, selektif ETB ve non-selektif ETA/ETB reseptör antagonistleri olmak üzere sınıflandırıldı. Daha sonra siklik pentapeptid BQ-123 ve modifiye edilmiş linear peptid FR139317' nin gelişimi ile ET alanında önemli bir gelişme yaşandı [67]. Bu her iki reseptör antagonisti, ETA reseptörleri için yüksek ölçüde selektif antagonistlerdir [67]. ETA reseptör antagonists ve ECE inhibitörleriyle tedavinin, insanlarda konjestif kalp yetmezliğinin seyrini olumlu yönde etkileyebildiğine ilişkin erken klinik bulgular vardır. Hayvanlarda ETA ve ETB reseptör blokörü olan ve oral yolla uygulanabilen tek ET reseptör antagonisti olan Bosentanm hipoksi ile uyardan pulmoner hipertansiyonu ve yeni pulmoner arter model oluşumunu önlediği gösterilmiştir [59]. ETA selektif reseptör antagonisti BQ-123 ve nonselektif reseptör antagonisti Ro 47.0203 ile iskemi ve siklosporinlere bağlı akut renal yetersizliğin gerileyebileceği gösterilmiştir. ETA selektif antagonisti, FR 139317'nin

progresif proliferatif renal hastalığı önleyebildiği bildirilmiştir. Tavşan, köpek ve farelerde antikorlar ve BQ- 123'ün akut miyokart enfarktüsü alanını küçültücü etkisi gösterilmiştir [4]. ETA selektif reseptör antagonisti BQ-485 köpeklerde ve non-selektif antagonist Ro 47-0203 tavşanda, serebrovasküler spazmı önlemede etkili olmuşlardır. Tavşan ve farelerde çeşitli antagonistler ile tansiyonun düşürülebileceği ve hipertansiyona bağlı sekonder böbrek hastalığının geriletilebileceği bildirilmiştir [4]. Sonuç olarak ET'lerin vazokonstriksiyon görülen hastalıklardaki rolü gün geçtikçe belirginleşmektedir. Gelecekte reseptör antagonistlerinin ve ECE inhibitörlerinin geliştirilmesi ET'lerin sağlıklı ve hasta kişilerdeki rolünü daha iyi anlamamıza ve de tedavide yeni yaklaşımların ortaya çıkmasına yol açacaktır [4].

2.8.5. BQ-123 ETA Reseptör Antagonisti

ETA reseptörüne karşı seçici bir antagonist olan BQ-123, ilk üretilen endotelin reseptör antagonistlerindedir. ETA reseptörüne karşı seçici bir antagonisttir [57]. BQ-123'ün moleküler yapısı anyonik siklik peptapeptid şeklindedir. BQ-123'ün ETB reseptörüne olan affinitesi ise ETA reseptörüne olan affinitenin yalnızca binde biri kadardır [68]. Bulunan ilk reseptör antagonisti 3 D-aminoasit içeren bir siklik pentapeptid molekülü olan BQ-123 idi. Bu molekül 1991'in başlarında Banvu Pharmaceutical Co. Ltd (Tokyo, Japonya) şirketinde Ihara ve ekibi tarafından bulundu. BQ-123 radyoaktif olarak etkilenmiş ET-1 'i, rekombinant insan ETA ve ETB reseptörlerine sırasıyla 13 nM ve 10 nM' lik bir IC50 ile bağlanarak antagonize ediyor, böylece ETB reseptör tiplerine göre ETA reseptörlerine 1000 kat daha fazla afinite gösteriyordu. İzole edilmiş domuz koroner arterleri kullanıldığında da BQ-123 konsantrasyona bağlı ve kompetitif bir şekilde 7.4 pA²'si üreterek ET-1'in etkisi sonucu meydana gelen kontraktıl tepkileri engelliyor ve benzer sonuçlar ortaya çıkıyordu. BQ-123 ayrıca anestezi edilmiş normotansif sıçan modelinde ve gönüllü normotansif bir

insanda, ET-1 etkisi ile meydana gelen tansiyon artışıını engellemiştir. Ne var ki BQ-123'ün peptid yapısı nedeniyle oral yolla alınamama gibi bir dezavantajı bulunmaktadır [68].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Gaziosmanpaşa Üniversitesi (GOÜ) Hayvan Deneyleti Etik Kurulu tarafından (2011 HADYEK-006) onaylandıktan sonra; GOÜ Deneysel Araştırma Merkezi'nde yürütülmüş ve tüm hayvanlara; Uluslararası Laboratuar Hayvanları Akademisinin ve National Institutes of Health (NIH Publication 85-23, revised 1985)'in tüzüğüne göre davranılmıştır.

Deney sabit sıcaklıkta (22 ± 2 C°), ışık kontrollü (sabah 7 de ışık açıldı akşam 7 de kapatıldı; 12 saat aydınlık 12 saat karanlık siklusu uygulanıldı) odada yapıldı. Çalışmada 15 adet Albino-Wistar cinsi erkek sıçan (200–250 gr) kullanıldı. Hayvanlar her bir grupta 5 adet olmak üzere rastgele 3 gruba ayrıldı.

Grup I- Testis torsiyonu yapılan grup

Grup II- Testis torsiyonu + BQ–123 verilen grup

Grup III- Kontrol grubu olarak belirlendi.

Ratlara 50 mg/kg im ketamin hidroklorür enjekte edildikten sonra sol inguinokrotal kesi ile funikulus spermatikusa ulaşıldı, sol spermatik kord ve testis serbestleştirildikten sonra I. ve II. gruplarda sol testisler 120 dakika süre ile 720 0 torsiyone edildi. Grup II deki ratlara detorsiyondan 30 dakika önce tek doz BQ–123 (1.6 mg/kg) kuyruk veninden verildi. Ratlar bir hafta boyunca hayvan deneyleti laboratuarında yemleri ve suları verilerek gözetim altında tutuldu. Bir hafta sonunda ratlar intrakardiyak reperfüzyon yöntemi uygulandıktan sonra sakrifiye edildi.

Histolojik tetkikler için ayrılan testisler rutin histolojik işlemlerden geçirilerek parafine gömüldü. Parafine gömülen dokulardan rotary mikrotom ile 5 ve 20 mikronluk

(μm) kesitler alındı. Alınan kesitler sistematik rastgele örnekleme yöntemiyle örneklendi. Bunun için; testis dokusu başından sonuna kadar kesildi. Elde edilen tüm kesitlerden sistematik rastgele örnekleme ile en az 10 kesit elde kalacak şekilde örnekleme yapıldı. Örneklemenin sistematikliği belli bir kesit örnekleme aralığında yapılması ile sağlandı. Bu ise şu şekilde belirlendi, diyelim ki elimizde toplam olarak “n” tane kesit olsun. Bu kesitlerden en az 10 tanesi elimizde kalabilmesi için $n/10 = k$ 'dan yola çıkarak her k'ncı kesiti aldığımızda elimizde 10 kesit kalmış olur. Burada “k” kesit örnekleme aralığıdır. Örneklemenin rastgele olabilmesi ise 0 ile k arasındaki örneklenecek ilk kesitin rastgele olarak belirlenmesi temeline dayanır. Bunun için 0 ile k arasındaki (k dahil) kesitlerden biri ya rastgele sayı jeneratörü program ile veya kesit numaralarının her biri ayrı bir kağıda yazılıp içlerinden biri rastgele çekilerek seçilir. 0 ile k arasındaki kesit m'inci kesit olsun. Bu durumda örneklenen kesit numaraları şöyle olur: $\{m, m+k, m+2k, m+3k, \dots, m+9k\}$. Kesitlerin sistematik rastgele örnekleme şeması ile örneklenmesi neticesinde, yapının her yerinin eşit kesilme şansına sahip olması sağlanır.

Testis dokusunda H&E boyaması yapıldı. Dokuda spermatogonium, spermatosit sayıları, seminifer tübüllerin hacmi ve çapı değerlendirildi. Histolojik inceleme için preparatlar PAS boyası ile boyanarak, testis dokusunun seminifer tübül bölgeleri mikroskop altında ayırt edildi. Seminifer tübüllerinde optik parçalama (optical fractionator) yöntemiyle spermatosit ve spermatogonium hücreleri sayılarak toplam hücre sayıları hesap edildi.

Çalışmada elde edilen veriler uygun istatistiksel yöntemler ile değerlendirildi (IBM SPSS istatistik 20, SPSS inc., an IBM Co., somers, NY). Gruplar arasındaki karşılaştırma tek yönlü varyans analizi ile yapıldı. Grup içi ikili karşılaştırmalar ise

Mann-Whitney U testi ile gerçekleştirildi. Ölçülen değişkenlerin normal dağılma uygunluğu Kruskal-wallis testi ile yapıldı.

4. BULGULAR

Gruplara ait rat testisinde seminifer tübüllerde spermatogonyum ve spermatoosit hücrelerinin mikroskopik görüntüsü Şekil 5'te gösterilmiştir. Sterolojik yöntemle hesaplanan ortalama toplam grupların spermatoosit ve spermatogonium sayıları Tablo 1'de verilmiştir. Grupların testis dokusunda seminifer tübüllerde spermatogonyum ve spermatoosit hücrelerinin ortalama sayıları karşılaştırıldığında Grup II'de Grup I'e göre hücre sayısı daha fazlaydı ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi ($p < 0.05$). Grup III Grup I ile karşılaştırıldığında ortalama hücre sayısı Grup I'de daha az bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi ($p < 0.05$) (Tablo 1) (Şekil 4.+) (Şekil 4.5). Grup III ile Grup II'de ortalama hücre sayıları karşılaştırıldığında hücre sayıları arasında anlamlı bir fark yoktu ($p \geq 0.05$).

Tüm grupların grup içi spermatoosit ve spermatogonium toplam hücre sayılarının karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p \geq 0.05$) (Şekil 4.1) (Şekil 4.2) (Şekil 4.3).

Tablo 2: Gruplara göre spermatoosit-spermatogonium sayıları

Gruplar (n=5)	Spermatoosit (ort-SEM)	CV	Spermatogonyum (ort-SEM)	CV	P*
Grup I	10708573	0,04	2544391	0,02	<0.001
Grup II	12826905	0,10	4152959	0,18	<0.001
Grup III	14995270	0,06	4928167	0,15	<0.001

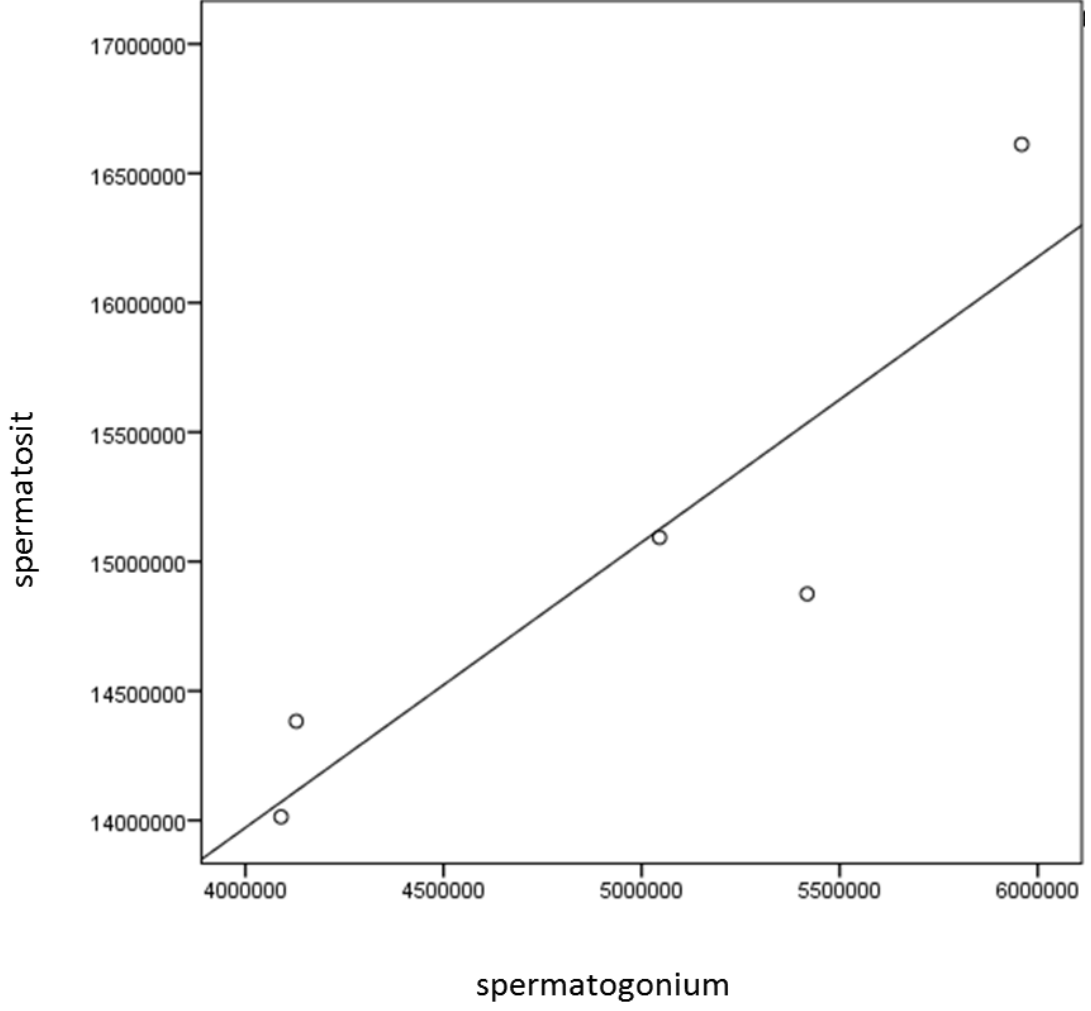
SEM: standart hata, CV: varyasyon katsayısı (Coefficient of variation), Ort: ortalama * : p değeri gruplar arası karşılaştırma için geçerlidir.

Tablo 3: Gruplara göre spermatozoid ve spermatozoid sayılarının toplamı

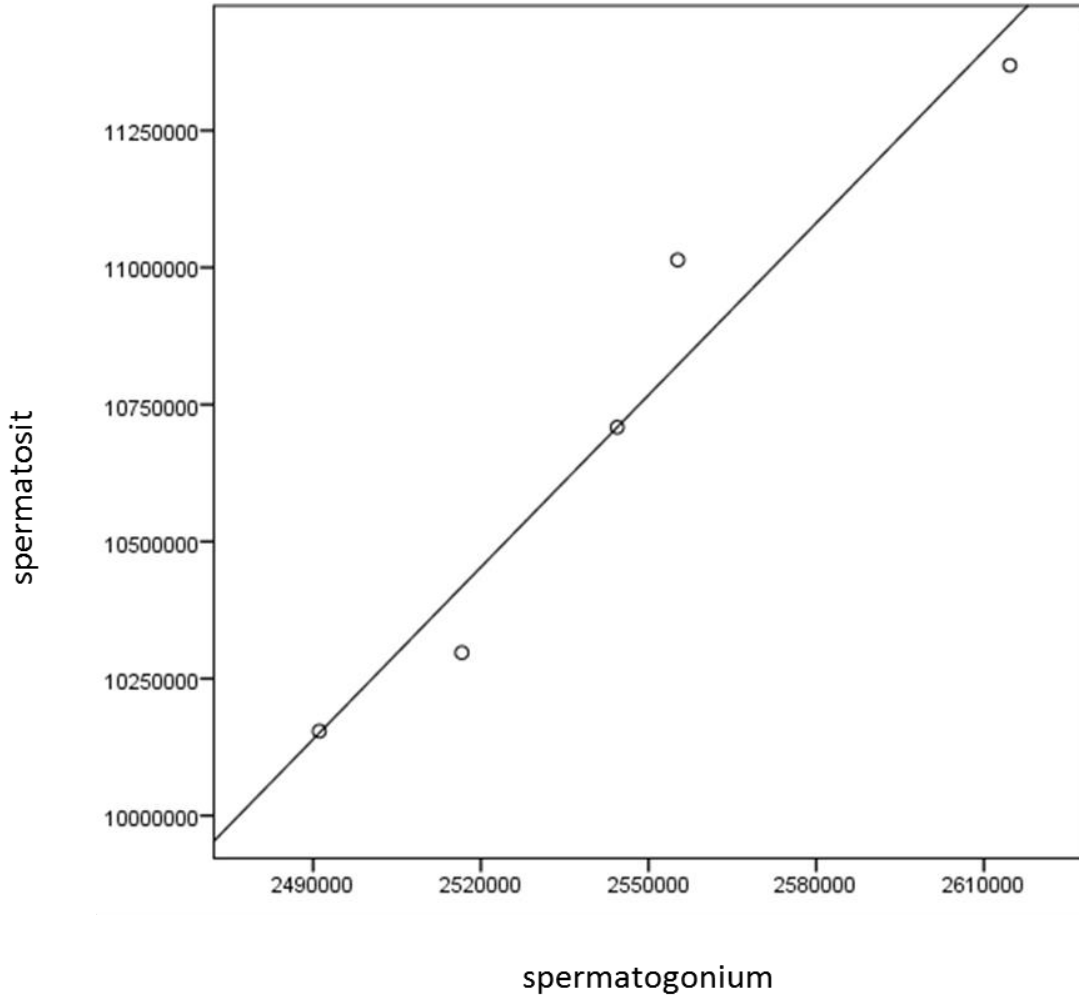
Gruplar (n=5)	Spermatozoid+Spermatozoid (ort-SEM)	CV	P*
Grup I	13252964	0.04	<0.001
Grup II	16979864	0,12	<0.001
Grup III	19923437	0,08	<0.001

SEM: standart hata, CV: varyasyon katsayısı (Coefficient of variation), Ort: ortalama *:

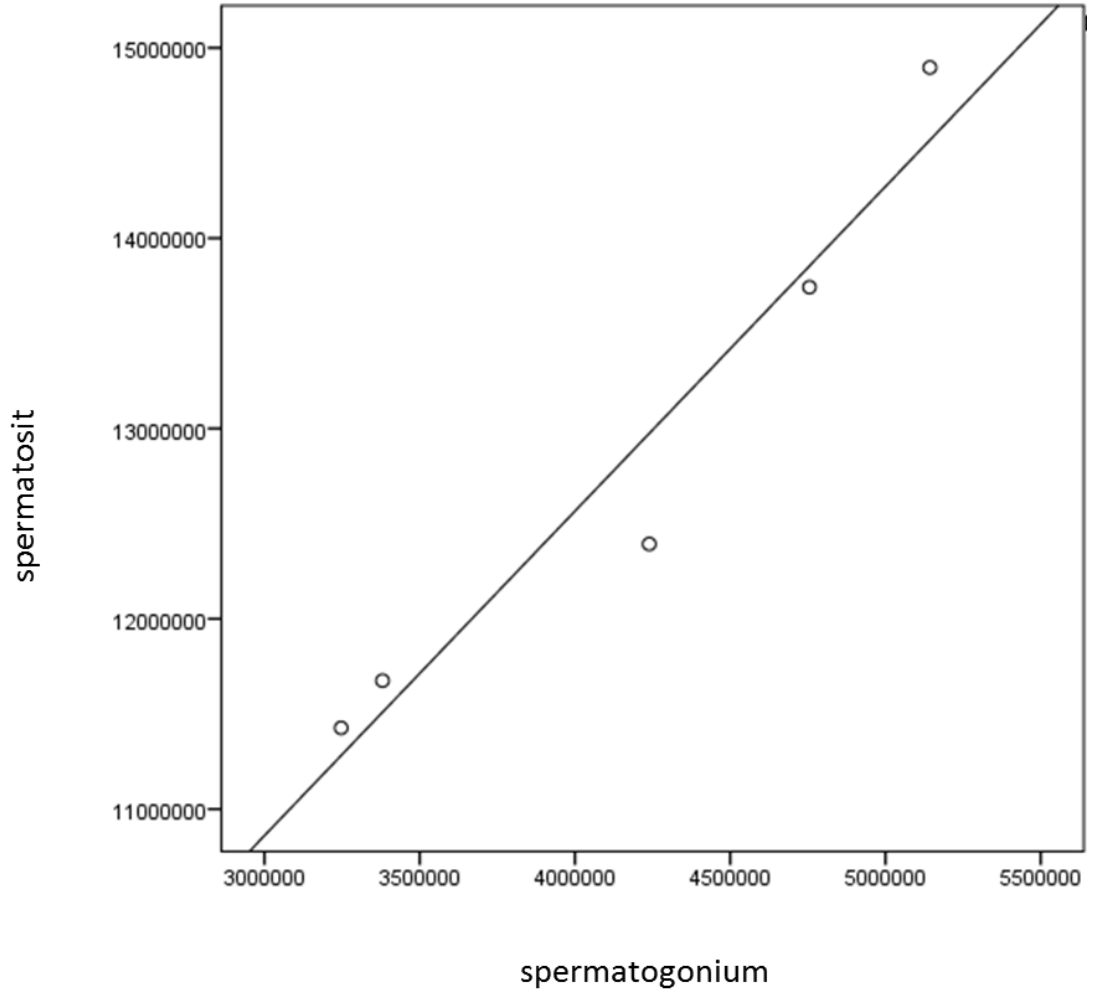
p değeri gruplar arası karşılaştırma için geçerlidir.



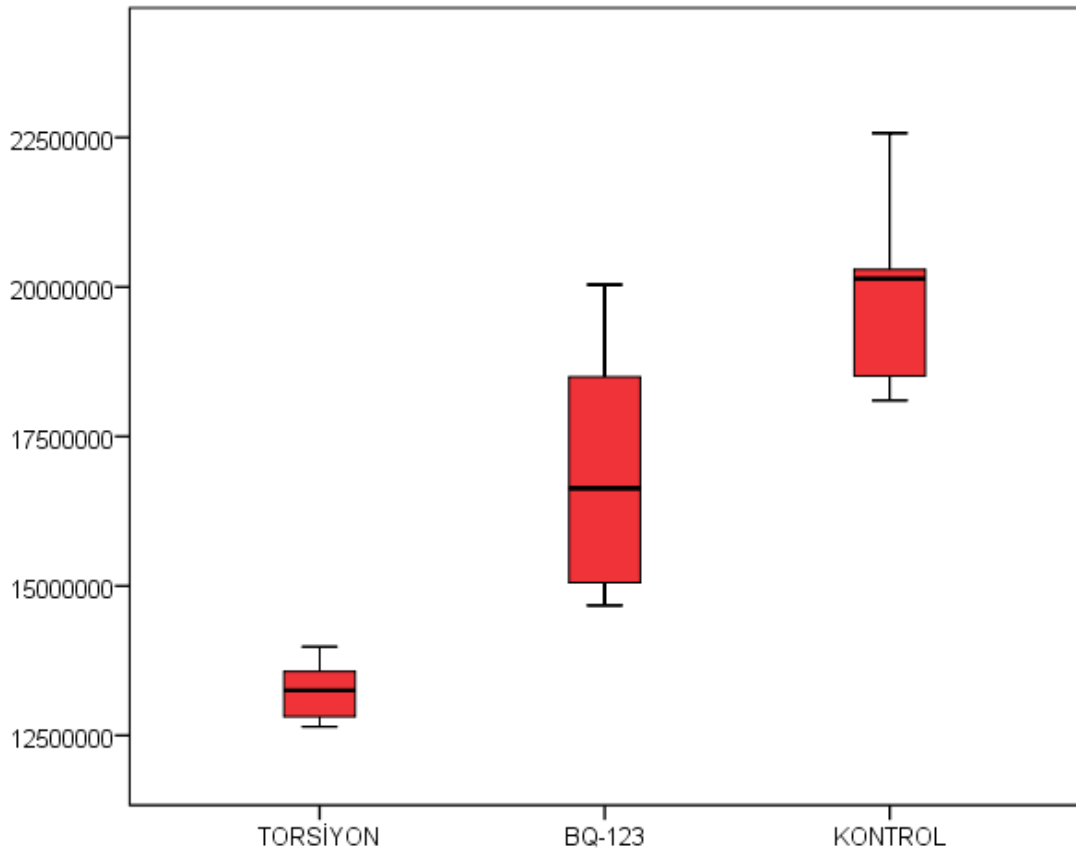
Şekil 16: Grup III'de spermatozoid-spermatogonium karşılaştırılması



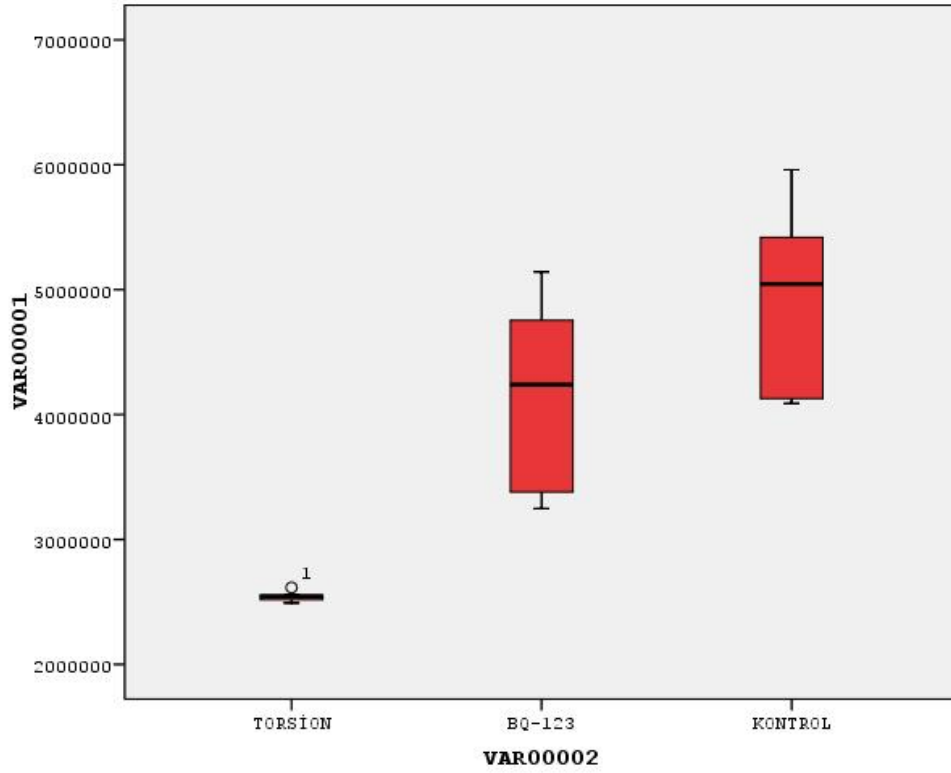
Şekil 17: Grup I'de spermatozoid-spermatogonium karşılaştırılması



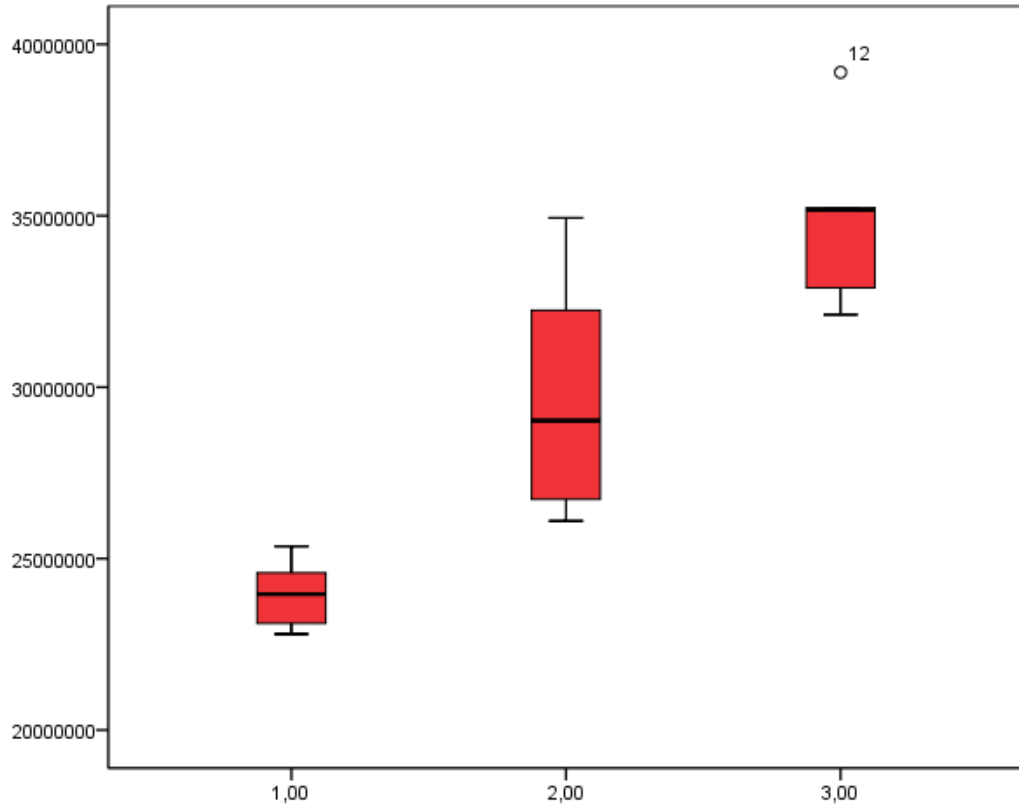
Şekil 18: Grup II'te spermatosit-spermatogonium karşılaştırılması



Şekil 19: Seminifer tübüllerde gruplar arası toplam spermatozoid sayısının karşılaştırılması



Şekil 20: Seminifer tübüllerde gruplar arası toplam spermatogonyum sayısının karşılaştırılması.



Şekil 21: Seminifer tübüllerde gruplar arası toplam spermatogonyum sayısının karşılaştırılması.

5. TARTIŞMA

Testis torsiyonu yeni doğan ve puberte döneminde çok görülen acil bir durumdur. Bu olay neticesinde torsiyonun derecesine ve zamanına bağlı olarak testis de iskemiden nekroza kadar ilerleyen histopatolojik değişiklikler oluşur. Torsiyon iskemi dönemini, detorsiyon ise reperfüzyon dönemini oluşturur (1). Biz farelere 120 dakika torsiyon sonrasında detorsiyon yaptık ve 7 gün boyunca bekledik. Grup II'ye detorsiyondan 30 dk. önce BQ-123'ü kuyruk veninden uyguladık. Çalışmamızda kantitatif bir yöntem olan sterolojik metotlarla seminifer tübüllerde toplam hücre sayısına baktık.

Endotelinler, embriyonik gelişimde ve fizyolojik koşulların devamında rol almalarının yanı sıra hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği, renal yetmezlik, pulmoner hipertansiyon gibi birçok patofizyolojik durumun oluşumuna ve devamına katılırlar. 1990'lı yılların başında endotelin reseptör antagonistleri bu hastalıklarda kullanılmaya başlanılmış ve bu amaçla ilk olarak ETA reseptör antagonisti BQ-123 denenmiştir. Bu araştırmaların birçoğu faz-II evresine kadar ilerlemiş durumdadır.

Çalışmamızda testis dokusunda İ-R hasarını önlemek amacıyla Grup II 'de torsiyon öncesinde tek doz (1,6 mg/kg) BQ-123'ü kullandık ve 7 gün sonra ratları sakrifiye ettik. Grup II'de Grup I'e göre hücre sayısında stereolojik metotlar kullanarak anlamlı fark tespit ettik ($p < 0,05$). Tek doz BQ-123'ün İ-R hasarını azaltarak hücre kaybını azalttığını bulduk. Çalışmamızda spermatosit ve spermatogonyum sayılarına ayrı ayrı bakıldı ve tüm gruplarda grup içi karşılaştırmada anlamlı bir sonuç bulunamadı ($p > 0,05$). Bu sonuç BQ-123'ün spermatosit ve spermatogonyum hücrelerini eşit olarak etkilediğini göstermektedir. İ-R sonrası Grup II'de hücre sayısının fazla olmasının sadece 7 günlük sürede oluşan yeni oluşan hücre sayısına değil, BQ-123'ün lipid

peroksidasyonunu veya serbest oksijen radikallerini azaltmasına bağlı olarak hücre ölümünü engellemesine bağlı olduğunu düşündürmektedir.

Yurtçu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, torsiyon ve detorsiyon sonrası testiste oluşan iskemi-reperfüzyon (İ-R) hasarını önlemek için uygulanan melatonin ve steroidin tek doz ve 7 günlük tedavilerinin etkilerini ve her iki tedavi şeklinden hangisinin daha etkili olduğunu araştırılması amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda testis torsiyonunda İ-R hasarını önlemek için detorsiyondan önce tek doz olarak verilen melatonin ve steroidin biyokimyasal olarak etkili gibi gözükmesine rağmen histopatolojik olarak hiçbir etkisinin olmadığı görülmüş ancak 7 gün süre ile uygulanan melatonin ve steroid tedavisinin İ-R hasarını tam olarak önlediği tespit edilmiştir [1]. Biz tek doz BQ-123 uyguladık ve İ-R hasarını önlemede anlamlı sonuçlar elde ettik. Bu nedenle İ-R hasarını önlemede BQ-123 'ün melatonin ve steroide göre daha kuvvetli bir ajan olduğunu ve daha iyi bir seçenek olabileceğini düşündürmektedir.

Goyal ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ratlarda miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarında BQ-123 kullanımı ile oluşan etkiyi hemodinamik, biyokimyasal, histopatolojik ve elektron mikroskobu düzeyinde incelemişlerdir. Sonuç olarak kardiyak fonksiyonlarda iyileşme, infarkt alanı yüzdesi, azalmış monoaldehit düzeyi, miyokardiyal enzim aktivitesinde anlamlı düzeyde iyileşme olduğunu görmüşler. Histopatolojik ve ultrastrüktürel çalışmalarla BQ-123 'ün koruyucu etkisini teyit etmişler. Sonuçlarıyla BQ-123'ün potansiyel bir kardiyoprotektif etkili ajan olabileceğini belirtmişlerdir [69]. Biz çalışmamızda ratlarda testis dokusunda iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturduk. BQ-123 verilen grupta torsiyon grubuna göre anlamlı düzeyde hücre ölümünün azaldığını stereolojik olarak tespit ettik.

Emre ve arkadaşları iskemi reperfüzyon yolu ile sıçanların karaciğerlerinde

iskemi reperfüzyon hasarı oluşturarak bu hasar üzerinde BQ-123'ün koruyucu etkisinin olup olmadığını incelemişlerdir. Çalışma sonucunda katalaz ve SOD değerlerinin kontrol grubu ile diğer gruplar arasında önemli farklılıklar gösterdiği fakat GSH-PX ve NO değerlerinde gruplar arasında önemli bir farklılık bulunmadığını tespit etmişlerdir. Katalaz ve SOD değerlerindeki değişikliklere rağmen diğer parametrelerde değişikliğin olmamasını deney periyodunun yeterli olmamasına bağlamışlardır [5].

Erdoğan ve arkadaşları sigaraya maruz bırakılan sıçanların böbrek dokusunda güçlü antioksidan melatonin ve Et reseptör antagonisti BQ-123'ün etkilerini değerlendirmişler. Biyokimyasal parametreler spektrofotometrik yöntemle, tübüler hücre sayımları stereolojik metodlardan optik fraksiyonlama yöntemiyle değerlendirilmiş. Lipit peroksidasyon düzeyi sigara grubunda kontrol ve sigara+BQ-123 grubuna göre anlamlı arttığı bulunulmuş. Protein karbonil venitrik oksit düzeyleri ile glutatyon peroksidaz aktivitesinde anlamlı bir farklılık görülmemiş. Tübüler hücre sayıları BQ-123 ve melatonin verilen gruplarda kontrol ve sigara gruplarına göre anlamlı olarak arttığı görülmüş. Sigaranın böbrek dokusunda oluşturduğu hücrel hasarı melatonin ve BQ-123'ün değişik yollarla doz ve süreye bağlı olarak azalttığı sonucuna varmışlardır [6].

Çolak ve arkadaşları çalışmalarında BQ-123'ün miyokard İ/R hasarında apoptotik hücre ölümü üzerine olan etkisini Tünel Boyama Yöntemiyle araştırmışlar, kaspaz-3 ve kaspaz -9 aktivitesini immunohistokimyasal olarak göstermişlerdir. BQ-123 ET-1 ile birlikte veya tek başına lipit peroksidasyonunda ve NO düzeyinde belirli azalmaya neden olmuştur. Ayrıca BQ-123 süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon düzeyinde artışa yol açmıştır. BQ-123'ün iskemi reperfüzyon sonrası apoptotik hücre ölümü ve serbest radikalleri azaltma üzerine olumlu etkileri olduğu kanaatine varmışlardır [70].

Piechota-Polanczyk ve arkadaşları yaptıkları çalışmada lipopolisakkarid (LPS) ile yaptıkları endotoksemi modelinde ET-A(BQ-123 ve BQ-788 ile) ve ET-B reseptör blokerlerinin kan basıncı, plazmadaki serbest radikaller ve TNF-alfa düzeyi üzerine olan etkisini araştırmışlar. Çalışmalarında ET-A veya ET-B reseptör antagonistini LPS uygulamasından 30 dakika önce intravenöz olarak farelere vermişler. Kan basıncı monitorize edilmiş ve başlangıçta, 90. ve 300. dakikalarda kan örneği alınmış. Çalışmada ET-A reseptör blokerlerinin plazma antioksidan durumunu iyileştirdiğini, lipid peroksidasyonu ve TNF-alfa üretimini azalttığını fakat hemodinamik durumu kötüleştirdiği sonucuna varmışlardır. Hemodinamik durumdaki değişikliğin ratların anestezi altında olmasına bağlı olarak etkilenebileceğini düşünmüşler [71]. Bizde çalışmamızda ratlara testiste torsiyon uyguladık ve arkasından detorsiyon yaptık. Torsiyon döneminde BQ-123 uygulaması ile aynı şekilde plazma antioksidan durumunu iyileştirdiğini, lipid peroksidasyonu ve TNF-alfa üretimlerini azalttığını ve böylece spermatosit ve spermatogonyumların ölümünü azalttığını düşünmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda Grup I ve II'de sol testisler 120 dakika süre ile 720⁰ saat yönünün tersine torsiyone edildi. Grup II deki ratlara detorsiyondan 30 dakika önce tek doz BQ-123 (1.6 mg/kg) kuyruk veninden verildi. Her iki grup da bir hafta sonra sakrifiye edildi ve rat testisinde seminifer tübüllerde spermatogonyum ve spermatozoid hücreleri stereolojik yöntemler kullanılarak hesaplanmıştır. Sadece torsiyon yapılan grupta hücre sayısının kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, BQ-123 verilen Grup II'de istatistiksel olarak anlamlı düzeyde iyileşme mevcuttur. Testis torsiyonu ile birlikte BQ-123 verilmesiyle iyileşme, daha fazla denek sayısı, farklı dozda BQ-123 uygulamaları kapsayacak şekilde çalışmalar yapılabilir. Sonuç olarak, çalışmamızda testis torsiyonunda BQ-123 uygulaması ile hücre kaybının azaldığı gösterilmiştir.

7. KAYNAKLAR

-
- ¹ Yurtçu M, Abasıyanık A, Avunduk MC, Karagözoğlu E, Abasıyanık F. Torsiyonundaki İskemi-Reperfüzyon Hasarını Önlemede Melatonin ve Steroidin Tek Doz ve Yedi Günlük Tedavilerinin Etkileri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2005;25(4):496-500.
- ² Sener G, Tuğtepe H, Yüksel M, Cetinel S, Gedik N, Yeğen BC. Resveratrol improves ischemia/reperfusion-induced oxidative renal injury in rats. *Arch Med Res*. 2006;37(7):822-9.
- ³ Kavaklı A, Acet A, Parlakpınar H, Akpolat N, Şahna E. Ratlarda Beyin İskemi–Reperfüzyonu Sonucu Oluşan Morfolojik Değişikliklere Melatonin ve Pinealektomi'nin Etkisi. *F.Ü. Sağ. Bil. Derg.* 2007; 21 (2): 63 – 66.
- ⁴ Gültekin N, Yaldıran A, Özbayrakçı S, Küçüköğlü S, Mutlu H. Endotelin Sistemi. *T Klin Kardiyoloji* 1994, 7.
- ⁵ Emre MH, Erdogan H, Fadillioglu E. Effect of BQ-123 and Nitric Oxide Inhibition on Liver in Rats after Renal Ischemia-Reperfusion Injury. *Gen Physiol Biophys*. 2006 ;25(2):195-206.
- ⁶ Erdogan H, Fadillioglu E, Emre MH. Protection from renal ischemia reperfusion injury by an endothelin-A receptor antagonist BQ-123 in relation to nitric oxide production. *Toxicology*. 2006 7;228(2-3):219-28.

-
- ⁷ Delasiauve L.J.F. Descente tardive du testicule gauche, prise pour une hernie étranglée. *Rev Med Fr Etrang* 1840; 1: 363.
- ⁸ Turner TT, Brown KJ. Spermatic cord torsion: loss of spermatogenesis despite return of blood flow. *Biol Reprod* 1993; 49:401–407.
- ⁹ Casa AS, Cass BP, Veeraraghavan K, 1980. Immediate exploration of the unilateral acute scrotum in young male subjects. *J Urog.* 124, 829- 832.
- ¹⁰ Williamson, R.C.N., 1985. The continuing conundrum of testicular torsion. *Br. J. Surg.* 72, 509-510.
- ¹¹ Last full review/revision December 2012 by Patrick J. Shenot, MD
Content last modified November 2013
- ¹² Van Kerrebroeck P. New insights into perinatal testicular torsion. *Eur J Pediatr.* 2010 Jun;169(6):705-12. Epub 2009 Oct 25
- ¹³ Arce JD, Cortes M, Vargas JC. Sonographic diagnosis of acute spermatic cord torsion. Rotation of the cord: a key to the diagnosis. *Pediatr Radiol.* 2002;32:485–91.
- ¹⁴ Srinivasan AK, Freyle J, Gitlin JS, Palmer LS. Climatic conditions and the risk of testicular torsion in adolescent males. *J Urol.* 2007 Dec;178(6):2585-8.
- ¹⁵ Hoshino H, Abe T, Watanabe H, Katsuoka Y, Kawamura N. Correlation between atmospheric temperature and testicular torsion. *Hinyokika Kyo.* 1993;39:1031-3.

-
- ¹⁶ Singh RD, Singh SK. Torsion of undescended testis in an infant: case for early orchiopexy. *J Indian Med Assoc.* 2011;109(8):593-4.
- ¹⁷ Danilo Wilhelm Filho, Moacir A. Torres, Andre L.B. Bordin, Tania B. Crezcynski-Pasa, Alberto Boveris. Spermatic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia–reperfusion injury. *Molecular Aspects of Medicine.* 2004;25:199–210.
- ¹⁸ Kaya M, Boleken ME, Zeyrek F, Ozardali I, Kanmaz T, Erel O, Yücesan S. Oxidative and antioxidative status in the testes of rats with acute epididymitis. *Urol Int.* 2006;76(4):353-8.
- ¹⁹ Chen JJ, Ahn HJ, Junewick J, Posey ZQ, Rambhatla A, Steinhardt GF. Is the comparison of a left varicocele testis to its contralateral normal testis sufficient in determining its well-being? *Urology.* 2011 Nov;78(5):1167-72.
- ²⁰ Netter Anatomi Atlası, 5. Baskı, Şekil 361
- ²¹ University of New England Slides #76 Histology Lab XVI - Female Reproductive System
- ²² Su B.T. Pham, Matthew K. H Hong et al. Is the testis intraperitoneal? *Pediatr Surg.Int* (2005) 21: 231-239.
- ²³ Skandalakis, J. 2008. *Cerrahi Anatomi. Erkek Genital Organları.* 1379-1475.
- ²⁴ Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO, 1998. *Basic Histology, Lange.* 406-418.
- ²⁵ http://en.wikipedia.org/wiki/Seminiferous_tubules
- ²⁶ © Dr Mark Hill 2015, UNSW Embryology ISBN: 978 0 7334 2609 4 - UNSW CRICOS
Provider Code No. 00098G Original Image Name: tey041he.jpg

²⁷ Carneiro J, Junqueira CL.(2006). Temel Histoloji text &atlas Nobel

yayıncılık, s:431-441.

²⁸http://www.hammiverse.com/instructionalunits/animalrepro_development/lectures/malereproductionlecpt.html

²⁹ University of New England Slides #178 Histology Lab XVI - Female Reproductive System

³⁰ <https://gmep.org/media/12632>

³¹ Jakobovits A. Intrauterine development, functions and diseases of male reproductive organs. *Orv Hetil.* 2010;26;151(39):1573-9.

³² Netter Anatomi Atlası, 5. Baskı, Şekil 360

³³ Moore KL, Persaud TVN. *The Developing Human Clinically Oriented Embryology.* Pennsylvania. Elsevier Science, 2003; 262-271.

³⁴ Larsen, *Human Embryology*, Churchill,1993

³⁵ Gilbert SF. *Developmental biology, sixth edition.* Sunderland, MA: Sinauer Associates, 2000.

³⁶ Mital P, Hinton BT, Dufour JM. The Blood-Testis and Blood-Epididymis Barriers Are More Than Just Their Tight Junctions. *Biol Reprod.* 2011 Jan 5.

³⁷ http://en.wikipedia.org/wiki/File:Germinal_epithelium_testicle.svg

³⁸ <http://os1.amc.nl/celbiologie/20102011/auc/mannelijk/php/010.php>

-
- ³⁹ Williamson, R.C.N., 1977. Death in the scrotum: testicular torsion. *N. Engl. J. Med.* 296, 333-338.
- ⁴⁰ Turner, T.T., 1985. Acute experimental testicular torsion: no effect on the contralateral testis. *J. Androl.* 6, 6572
- ⁴¹ Cerasero et al. 1984. The effect of testicular torsion on the contralateral testis and the production of antisperm bodies in rabbits. *J. Urol.* 132, 577-579.
- ⁴² Akgür et al. 1993. Reperfusion injury after detorsion of unilateral testicular torsion. *Urol. Res.* 21, 395- 399.
- ⁴³ Akgür et al. 1994. The effect of allopurinol pretreatment before distorting testicular torsion. *J. Urol.* 151, 1715-1717.
- ⁴⁴ Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO, 1998. *Basic Histology*, Lange. 406-418.
- ⁴⁵ Marulaiah M1, Gilhotra A, Moore L, Boucaut H, Goh DW. Testicular and paratesticular pathology in children: a 12-year histopathological review. *World J Surg.* 2010 May;34(5):969-74. doi: 10.1007/s00268-010-0459-7.
- ⁴⁶ Tali Beni-Israel MDa,b, Michael Goldman MD. Clinical predictors for testicular torsion as seen in the pediatric ED. *American Journal of Emergency Medicine* (2010) 28, 786–789.
- ⁴⁷ Anderson JB, Williamson RC. Testicular torsion in Bristol: a 25- year review. *Br J Surg* 1988; 75: 988–92
- ⁴⁸ Vane JR, Anggard EE, Botting RM. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med.* 1990 Jul 5;323(1):27-36. Review.

-
- ⁴⁹ Loscalzo J. Nitric oxide and vascular disease. *N Eng J Med* 1995;333:251-253.
- ⁵⁰ Lüscher TF. Endothelial dysfunction in atherosclerosis. *J Myocard*
- ⁵¹ Dzau VJ. Tissue Angiotensin and Pathobiology of Vascular Disease. A Unifying Hypothesis. *Hypertension*. 2001;37:1047-1052.
- ⁵² Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980;288:273-276.
- ⁵³ Furchgott RF, The Discovery of Endothelium derived relaxing factor and its importance in the identification of nitric oxide. *J Am Med Assn*. 1996;276:1186-1188.
- ⁵⁴ Vural P. Endotelinler ve Bazı Deri Hastalıklarındaki Rolü. *T Klin Dermatoloji*. 1999; 9:263-268.
- ⁵⁵ Baykal Y, Pay S, Özet G, Ünal T, Özdemir Ç, Özet A, Kocabalkan F. Endotelin. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*. 1996; 16: 8-12.
- ⁵⁶ Barton M, Yanagisawa M. Endothelin: 20 years from discovery to therapy. *Can J Physiol Pharmacol*. 2008; 86(8): 485-97.
- ⁵⁷ Turgan N, Habif S, Mutaf I. Endotelinler: biyokimyasal özellikleri ve önemi. *Türkiye klinikleri J med Sci*. 1996,16.
- ⁵⁸ Lüscher TF1, Barton M. Endothelins and endothelin receptor antagonists: therapeutic considerations for a novel class of cardiovascular drugs. *Circulation*. 2000 Nov 7;102(19):2434-40.

-
- ⁵⁹ Tokaç M, Korkut B, Gök H, Altınbaş A, Aydın M. Endotelinler ve Kardiyovasküler Sistem. T Klin. Tıp Bilimleri. 1998. 18.
- ⁶⁰ Rubanyi GM, Parker Botelho LH. Endothelins. FASEB J. 1991; 5: 2713-2720.
- ⁶¹ Masaki T. Biochemical characteristics of endothelin Seikagaku. 1993
Oct;65(10):1289-98.
- ⁶² Lüscher TF. Do we need endothelin antagonist? Cardiovasc Res. 1993; 27: 2089-93.
- ⁶³ Bonggwan S, Oemar BS, Siebenmann R, Segesser L, Lüscher TF. Both ETA and ETB receptors mediate contraction to endothelin-1 in human blood vessels circulation. 1994;89: 1203-1208.
- ⁶⁴ Sakurai T, Yanagisawa M, Takuwa Y, Miyazaki H, Kimura S, Goto K, Masaki T. Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor. Nature. 1990; 348(6303): 732-5.
- ⁶⁵ Tamirisa P, Frishman WH, Kumar A. Endothelin and endothelin antagonism: Roles in cardiovascular health and disease. Am Hearth J. 1995; 130: 601-10.
- ⁶⁶ Stevenson LW, Fonarow GC. Endothelin and the vascular choir in heart failure. JACC. 1992; 20: 854-7.
- ⁶⁷ Motte S, Entee K, Naeije R. Endothelin receptor antagonists. Pharmacology&Therapeutics. 2006;110: 386-414.
- ⁶⁸ Ray A, Hagde LG, Chugh A ve ark. Endothelin-receptor antagonists current and future perspectives. Drug Discov Today 2000.5:455-64

-
- ⁶⁹ Goyal SN1, Bharti S, Arora S, Golechha M, Arya DS. Endothelin receptor antagonist BQ-123 ameliorates myocardial ischemic-reperfusion injury in rats: a hemodynamic, biochemical, histopathological and electron microscopic evidence. *Biomed Pharmacother.* 2010 Nov;64(9):639-46. doi: 10.1016/j.biopha.2010.06.001. Epub 2010 Jul 21.
- ⁷⁰ Colak MC, Parlakpınar H, Ermis N, Polat A, Colak C, Mizrak B, Ozdemir R, Acet A. The Effect of Selective Endothelin Receptor Antagonism by Bq-123 on Myocardial Ischemia-Reperfusion Induced Apoptotic Cell Death. *Med-Science.* 2012; 1(4): 254-70doi: 10.5455/medscience.2012.01.8026.
- ⁷¹ Piechota A1, Polańczyk A, Goraca A. Protective effects of endothelin-A receptor antagonist BQ123 against LPS-induced oxidative stress in lungs. *Pharmacol Rep.* 2011;63(2):494-500.