



BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL TESTİS TORSİYONU MODELİ OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA, KISA VE UZUN DÖNEM TORSİYONA BAĞLI
HASARDA TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMANIN ETKİNLİĞİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr.Müge SAĞNAK AKILLI

Ankara, 2018



**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL TESTİS TORSİYONU MODELİ OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA, KISA VE UZUN DÖNEM TORSİYONA BAĞLI
HASARDA TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMANIN ETKİNLİĞİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Müge SAĞNAK AKILLI

Tez Danışmanı: Doç.Dr. Tuğba ACER DEMİR

Ankara, 2018

TEŞEKKÜR

Eğitim sürecim boyunca yanında çalışmaktan onur ve gurur duyduğum, iki nesildir eğitimlerimize engin bilgi ve tecrübeleriyle katkıda bulunan değerli hocam Prof. Dr. Akgün HİÇSÖNMEZ'e,

Uzmanlık eğitimim ve iş dışı hayatımla ilgili tüm sorunlarımda yeri geldiğinde birer hoca, yeri geldiğinde birer ağabey ve abla olan, deneyimlerini ve dostluklarını esirgemeyen değerli tez hocam Doç. Dr. Tuğba ACER DEMİR ve değerli hocalarım Yrd. Doç. Dr. L. Hakan GÜNEY, Uzm. Dr. Ender FAKIOĞLU'na,

Aynı klinikte olamasak da, tecrübe ve bilgi birikimlerinden faydalandığım, desteklerini hep hissettiğim değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Selçuk YÜCESAN, Doç. Dr. Abdülkerim TEMİZ, Doç. Dr. Semire S. EZER, Doç. Dr. İbrahim ÖTGÜN, Yrd. Doç. Dr. Emine İNCE, Yrd. Doç. Dr. H. Özkan GEZER ve Uzm. Dr. İsak AKILLIOĞLU'na,

Çalışma hayatımı kolaylaştıran ve güzelleştiren tüm asistan, hemşire, teknisyen, sekreter ve sağlık personeli arkadaşlarıma, bu uzun yolun en başından beri yanımda olan canım dostum Uzm. Dr. Esra Elif ARSLAN başta olmak üzere, Uzm. Dr. Gizem İNAL ASLAN, Ebru YILMAZ, Nur Sema ÇELİK, Selma TÜRKMEN, Aylin TEPE, Sevgi ÖZEL, N. Esin SUNAR, Mahir Ensar DEMİR ve Nilüfer DİK MEN'e,

Tez hazırlık sürecimde heyecanımı paylaşan ve desteklerini esirgemeyerek yol gösteren Deneş Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nden veteriner Dr. Didem BACANLI ve Dr. Evren ÖZDEMİR KOCABAŐ'a, teknisyenlerimiz Sezai KÖLCÜK ve Adem KURTUOĞLU'na, Patoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. B. Handan ÖZDEMİR ve Dr. Duygu TÜRKBEY ŞİMŞEK'e, Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Ersin ÖĐÜŐ ve Dr. Tuğçe ŐENELİKEL'e,

Aldığım her nefes ve attığım her adımda yanımda, arkamda, içimde hissettiğim, bıkmadan her düştüğümde beni ayağa kaldıran, yüreklendiren, bu meslekte koşulsuz bilmem gereken sabrı, sevgiyi ve saygıyı öğrendiğim, çocukluğumdan beri gerek insanlığına, gerekse mesleki etik ve bilimselliğine hayran olduğum biricik annem Dr.

Gülcan SAĞNAK ve biricik babam Dr. Kemal SAĞNAK'a, hiçbir konuda desteğini esirgemeyen sevgili annem Hatice AKILLI, sevgili babam Yılmaz AKILLI ve sevgili ablam Ayşegül AKILLI KAHRAMAN'a, desteğim, ablam, dostum olan sevgili Sadegül CEYLAN'a, mesleki bilgi ve becerisine hep inandığım ve örnek aldığım, ne kadar yorulsa da tüm zorlukları pes etmeden beraber aştığımız hayat ortağım, sevgili eşim Dr. Hüseyin AKILLI'ya, hayatımın en parlak rengi, neşesi, en karanlık günlerimin ışığı, en umutsuz günlerimin umudu, en soluksuz günlerimin nefesi, hayatımın merkezi, varlığına her gün binlerce kez şükrettiğim biricik yavrum Ilgın AKILLI'ya sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Müge SAĞNAK AKILLI

ÖZET

Testis torsiyonu sırasında gelişen iskemik hasar ve detorsiyon sonrasındaki reperfüzyon hasarı testiste ciddi hasarlara sebep olur. Bu çalışmada, sıçanlarda oluşturulan testis torsiyonu modellerinde, 3 ve 5 saatlik farklı torsiyon sürelerinde, endojen bir ajan olan plateletten zengin plazmanın (PRP) intratestiküler uygulanmasının histopatolojik etkilerini araştırdık.

Çalışmada, 35 adet prepubertal erkek *Wistar Albino* sıçan; kontrol, Sham – 3 saatlik torsiyon (SHM-3), Sham - 5 saatlik torsiyon (SHM-5), 3 saatlik torsiyonda PRP uygulanması (PRP-3) ve 5 saatlik torsiyonda PRP uygulanması (PRP-5) grupları olmak üzere 5 gruba ayrıldı. Beş adet sıçan da, PRP hazırlanması amacıyla kan temininde kullanıldı. Testis torsiyonu oluşturulan gruplarda, sağ testis, epididim, spermatik kord serbestleştirilip saat yönünde 720° döndürüldü. SHM-3 grubunda 3 saat sonunda, SHM-5 grubunda 5 saat sonunda detorsiyone edildi. PRP-3 grubunda 3 saatlik torsiyon sonunda, PRP-5 grubunda 5 saatlik torsiyon sonunda detorsiyone edilip intratestiküler 100 µl PRP enjeksiyonu yapıldı. Tüm hayvanlar 28 gün sonra sakrifiye edilerek sağ testiste meydana gelen değişiklikler histopatolojik incelendi.

Testis ağırlığında ve boyutlarında en belirgin azalma PRP-5 grubunda görüldü ($p=0,03$; $p=0,001$). Tübül çapı ve tübül başına düşen Sertoli hücre sayıları açısından anlamlı fark saptanmadı ($p=0,234$; $p=0,124$). PRP-3, SHM-5 ve PRP-5 gruplarının hiçbirinde sperm veya spermatid görülmedi ($p<0,001$; $p<0,001$). PRP-3, SHM-5 ve PRP-5 gruplarının hiçbirinde bazal lamina bütünlüğünün tamamen korunmadığı tespit edildi ($p=0,003$). SHM-5 grubunun tümünde germinal epitelin tamamen döküldüğü saptandı ($p<0,001$). Cosentino sınıflaması ve Johnsen skoru en kötü SHM-5 ve PRP-5 gruplarında tespit edildi ($p<0,001$; $p=0,001$).

Bu bulgular ışığında, 3 saatlik torsiyonun yarattığı hasar uzun dönemde iyileşebilmektedir. İntratestiküler yoldan 100 µl PRP uygulaması, kısa süreli torsiyonlarda hasarı arttırmakta ve olumsuz etkilemektedir. Uzun vadeli torsiyonda hasarın geri dönüşümü olmadığından hem Sham grubu hem PRP grubunda en kötü sonuçlar alınmıştır. Testis torsiyonunda PRP'nin farklı dozlar (hacimler) ve farklı uygulama yolları ile verilerek etkinliğinin daha detaylı olarak çalışılmasını önermekteyiz.

Anahtar kelimeler: Testis torsiyonu, plateletten zengin plazma, oksidatif stres, reperfüzyon hasarı

ABSTRACT

Ischemia during testicular torsion and reperfusion injury after detorsion causes severe damage to the testis. In this study, we investigated the histopathological results of intratesticular administration of platelet-rich plasma (PRP), an endogenous agent, in rat testicular torsion models after different torsion durations of 3 and 5 hours.

In the study, 35 prepubertal male Wistar Albino rats were divided into 5 groups: Control, Sham - 3 hours of torsion (SHM-3), Sham - 5 hours of torsion (SHM-5), PRP application in 3 hours of torsion (PRP-3) and PRP application in 5 hours of torsion (PRP-5). Five rats were used for supplying blood to prepare PRP. In groups with testicular torsion; right testis, epididymis, spermatic cord were released and rotated 720 ° clockwise. Detorsion was performed after 3 hours of torsion in the SHM-3 group and after 5 hours of torsion in the SHM-5 group. Intratesticularly, 100 µL of PRP was injected, following detorsion, after 3 hours of torsion in the PRP-3 group and after 5 hours of torsion in the PRP-5 group. All animals were sacrificed after 28 days and the right testicles were examined histopathologically.

The most significant reduction in testicular weight and size was seen in the PRP-5 group ($p=0,03$; $p=0,001$). There was no significant difference in tubule diameter and number of Sertoli cells per tubule ($p=0,234$; $p=0,124$). No sperm or spermatids were seen in any of the PRP-3, SHM-5 and PRP-5 groups ($p<0,001$; $p<0,001$). None of the PRP-3, SHM-5 and PRP-5 groups were found to have completely preserved basal layer integrity ($p=0,003$). It was found that the germinal epithelium was completely depleted in all of the SHM-5 group ($p<0,001$). The worst Cosentino classification and Johnsen score were determined at the SHM-5 and PRP-5 groups ($p<0,001$; $p=0,001$).

In the light of these findings, long-term recovery is possible for the damage following up to 3 hours of torsion. Intratesticular administration of 100 µl PRP increased the damage and affected the results negatively in short-term torsion cases. Since no recovery was detected after the long term torsion, both the Sham group and the PRP group had the worst results. Further studies focusing on dosing and administration routes are needed to observe effectiveness of PRP in testicular torsion.

Key words: Testicular torsion, platelet-rich plasma, oxidative stress, reperfusion damage

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Teşekkür	iii
Özet	v
Abstract.....	vi
İçindekiler Dizini	vii
Kısaltmalar ve Simgeler Dizini	ix
Şekiller Dizini	xii
Tablolar Dizini	xiv
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Testis	3
2.1.1. Embriyoloji	3
2.1.2. Anatomi ve Fizyoloji	6
2.2. Akut Skrotum.....	9
2.2.1. Testis Torsiyonu.....	10
2.2.2. Epididimit ve Epididimo-Orşit.....	17
2.2.3. Apendiks testis Torsiyonu.....	18
2.2.4. Akut İdiyopatikSkrotal Ödem	19
2.2.5. Henoch-SchönleinPrupurası.....	20
2.3. Oksidatif Stres	20
2.3.1. Reaktif Oksijen Ürünleri	22
2.3.2. Reaktif Nitrojen Ürünleri	23
2.3.3. Serbest Radikallerin Zararlı Etkileri	24
2.3.4. Antioksidan Mekanizmalar	25
2.3.5. Testis Torsiyonunda I/R Hasar Tedavisinde Araştırılmış Yöntemler ..	26

2.4. Plateletten Zengin Plazma	29
2.4.1. Plateletlerin İçerdiği Büyüme Faktörleri ve Etki Mekanizmaları ...	29
2.4.2. PRP Hazırlama Teknikleri	30
2.4.3. Klinikte PRP Kullanım Alanları	32
3. GEREÇ ve YÖNTEM	33
3.1. Deney Hayvanları	33
3.2. Anestezi	33
3.3. Plateletten Zengin Plazma Hazırlanışı ve Platelet Konsantrasyonu	34
3.4. Deney Modeli	36
3.4.1. Kontrol Grubu	37
3.4.2. Deneysel Sham Grubu – 3 Saatlik Torsiyon Modeli Oluşturulması ...	38
3.4.3. Deneysel Sham Grubu – 5 Saatlik Torsiyon Modeli Oluşturulması ...	39
3.4.4. Deneysel PRP Grubu – 3 Saatlik Torsiyon Modeli Oluşturulması	40
3.4.5. Deneysel PRP Grubu – 5 Saatlik Torsiyon Modeli Oluşturulması	40
3.4.6. Deneysel PRP Hazırlama Grubu	41
3.5. Histopatolojik İnceleme	41
3.6. İstatistiksel Analiz	43
4. BULGULAR	45
4.1. Gros Bulgular	45
4.2. Mikroskobik Bulgular	48
5. TARTIşMA	59
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	67
7. KAYNAKLAR	69

KISALTMALAR ve SİMGELER

ACD-A: Antikoagülan Sitrat Dekstroz Fosfat

AMH: Antimüllerian Hormon

ATP: Adenozin Trifosfat

bFGF: Temel Fibroblast Büyüme Faktörü

CAT: Katalaz

CGRP: Kalsitonin Gen Bağımlı Peptit

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid

EGF: Epidermal Büyüme Faktörü

FSH: Folikül Uyarıcı Hormon

GPx: Glutasyon Peroksidaz

Gr: Gram

GR: Glutasyon Redüktaz

GSH: Glutasyon

GSSG: Okside Glutasyon

GST: Glutasyon Transferaz

H₂O₂: Hidrojen Peroksit

HE: Hematoksilen-Eozin

HSP: Henoch-Schönlein Purpurası

I/R: İskemi/Reperfüzyon

IGF: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü

IL: İnterlökin

INSL-3: İnsülin Benzeri Hormon

İYE: İdrar Yolu Enfeksiyonu

K: Kontrol Grubu

Kg: Kilogram

L: Lipid Radikali

Lh: Poliansatüre Yağ Asiti

LH: Luteinizan Hormon

LHRH: Luteinleştirici Hormonu Salgılatan Hormon

LOO: LipidPeroksil Radikali

MDA: Malondialdehit

Mg: Miligram

MIF: Müllerial İnhibitör Faktör

ml: Mililitre

μ l: Mikrolitre

Mm: Milimetre

MPO: Myeloperoksidaz

NADPH: NikotinamidAdeninDinükleotid Fosfat

NO: Nitrik Oksit

NO₂: Nitrojen Dioksit

O₂: Oksijen

$O_2^{\bullet-}$: Süperoksit Anyonu

OH^{\bullet} : Hidroksil Radikali

OH^- : Hidroksil İyonu

$ONOO^-$: Peroksinitrit

$ONOOH$: Peroksinitroz Asit

PAS: Periyodik asit – Schiff Reaksiyonu

PDGF: Platelet Kökenli Büyüme Faktörü

PRP: Plateletten Zengin Plazma

-SH: Sülfidril

SHM: Sham Grubu

SOD: SüperoksitDismutaz

SOR: Serbest Oksijen Radikali

SRY: SexDeterminingRegion

TDF: Testis Belirleyici Faktör

$TGF-\beta$: Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta

TNF: Tümör Nekroz Faktörü

TT: Testis Torsiyonu

USG: Ultrasonografi

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 2.1. Primitif Gonadın Erkek Yönünde Gelişimi	4
Şekil 2.2. Testisin Sektörel İnş Safhaları	5
Şekil 2.3. Testis ve Kanalları	5
Şekil 2.4. Testis Anatomisi	6
Şekil 2.5. SeminiferTübül Duvarında Spermatogenetik Hücreler ve Sertoli Hücrelerinin Yerleşimi	7
Şekil 2.6. Ekstravaginal Testis Torsiyonu.....	12
Şekil 2.7. İnvaginal Testis Torsiyonu.....	12
Şekil 2.8. Testis ile Epididim Arasında İnvaginal Testis Torsiyonu.....	13
Şekil 2.9. Apendiks Testis Torsiyonunda Mavi Nokta Bulgusu	19
Şekil 2.10. Apendiks Testis Torsiyonu.....	19
Şekil 2.11. Reaktif Oksijen Ürünleri, LipidPeroksidasyon Süreci ve Detoksifikasyon.....	23
Şekil 2.12. Tam Kanın Santrifüj Sonrası Ayrışan Katmanları	31
Şekil 3.1. Anestezik İlaçlar	34
Şekil 3.2. Anestezi Uygulaması	34
Şekil 3.3. Santrifüj Öncesi PRP Kitine Alınan Tam Kan	35
Şekil 3.4. Tam Kanda Pıhtılaşmayı Önleyici İlaç	36
Şekil 3.5. Santrifüj Cihazı	36
Şekil 3.6. Santrifüj Sonrası PRP'nin Ayrışması	36

Şekil 3.7. Cerrahi Bölge Hazırlığı	37
Şekil 3.8. Torsiyon Sürecinde Cerrahi Alan	37
Şekil 3.9. Testis Boyut Ölçüm Cihazı	38
Şekil 3.10. Torsiyon Uygulaması	39
Şekil 3.11. Torsiyon Süreci Sonunda Testisin Görünümü	39
Şekil 3.12. Testis Parankimine PRP Enjeksiyonu	40
Şekil 4.1. PRP-3 Grubu Deneği	45
Şekil 4.2. PRP-5 Grubu Deneği	46
Şekil 4.3. Toplam Ağırlık Dağılım Grafiği	46
Şekil 4.4. Testis Boyut Dağılım Grafiği	47
Şekil 4.5. Kontrol Grubu Deneği Mikroskopik Kesiti	49
Şekil 4.6. SHM-3 Grubu Deneği Mikroskopik Kesiti	49
Şekil 4.7. SHM-5 Grubu Deneği Mikroskopik Kesiti	50
Şekil 4.8. PRP-3 Grubu Deneği Mikroskopik Kesiti	50
Şekil 4.9. PRP-5 Grubu Deneği Mikroskopik Kesiti	51
Şekil 4.10. Tübül Çapı Dağılım Grafiği	52
Şekil 4.11. Tübül Başına Düşen Sertoli Hücre Sayısı Dağılım Grafiği	52
Şekil 4.12. Bazal Membran Bütünlüğü Korunan Mikroskopik Kesit	55
Şekil 4.13. Bazal Membran Bütünlüğü Bozulan Mikroskopik Kesit	55

TABLULAR

	Sayfa
Tablo 2.1. Sık Karşılaşılan Radikaller, Simgeleri ve Özellikleri	21
Tablo 4.1. Toplam Ağırlık ve Testis Boyutu	47
Tablo 4.2. Toplam Ağırlık Açısından Çoklu Karşılaştırma	48
Tablo 4.3. Testis Boyutu Açısından Çoklu Karşılaştırma	48
Tablo 4.4. Tübül Çapı ve Tübül Başına Düşen Sertoli Hücre Sayısı	51
Tablo 4.5. Lümen Açıklığı	53
Tablo 4.6. Spermatid Varlığı	53
Tablo 4.7. Germ Hücre Varlığı	54
Tablo 4.8. Bazal Lamina Bütünlüğü	54
Tablo 4.9. GerminalEpitelde Dökülme	56
Tablo 4.10. Sperm Varlığı	56
Tablo 4.11. Cosentino Sınıflaması	57
Tablo 4.12. Cosentino Sınıflaması Açısından Çoklu Karşılaştırma	57
Tablo 4.13. JohnsenTestiküler Biyopsi Skoru	58
Tablo 4.14. JohnsenTestiküler Biyopsi Skoru Açısından Çoklu Karşılaştırma ..	58

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Akut skrotum, skrotal bölgede hiperemi, ödem, ısı artışı ve ağrıyla kendini gösteren bir klinik durumdur. Akut skrotum nedenleri arasında, istirahat ve medikal tedaviyle iyileşebilecek basit bir inflamasyon olan epididimit ile beraber, organ kaybına neden olabilecek testis torsiyonu (TT) da sayılabilir. Testis torsiyonu, akut skrotumun en sık nedeni olmamakla birlikte, komplikasyonları itibariyle en ciddi nedenidir. Torsiyon süresi uzadıkça testis hasarı arttığından, erken tanı ve acil müdahale gerektiren bir durumdur (1,2).

Testis torsiyonu, testisin, spermatik kord ve elemanları etrafında dönüş yapması sonucu dolaşımının bozulmasıdır. Hem çocuk, hem de erişkin yaş grubunda testiste fonksiyon ve dolayısıyla fertilité kaybına yol açabilir. Çocuk yaş grubunda, yıllık insidansı 3,8/100.000'dir (3), en sık ergenlik yaşlarında görülür, en önemli sebebi ise testis hacmindeki ani artıştır. Testis torsiyonu sonrasındaki yirmi yıllık uzun dönem takiplerde atrofi insidansı ise % 27 olarak bildirilmiştir (4). Puri ve ark, ergenlik döneminden önce TT nedeniyle ağır nekroz gelişen ve sadece detorsiyon uygulanan hastaların uzun dönem takiplerinde, ergenlik sonrası dönemde torsiyone testiste ciddi atrofi geliştiğini, ancak sperm analizlerinin normal ve evli olanların hepsinin çocuk sahibi olduğunu bildirilmişlerdir (5).

Testis torsiyonunda olduğu gibi, bir dokunun dolaşımı bozulur ve dokuya kan gitmez ise, doku iskemiye girer. İskemi döneminde oluşan hasar, dokuya gelen kan akımının ve dolayısıyla da oksijenlenmenin azalmasına bağlı gelişir (6). İskemi sonlandıktan sonra, dokuya tekrar kan akımının başlaması ile reperfüzyon dönemi başlar. Bu dönemde, hasarlanmanın devamına yol açan reaktif oksijen radikalleri oluşurlar (2). Sıçanlarda oluşturulan TT modellerinde, detorsiyon sonrası orşiektomi yapılarak testis incelendiğinde, iskemi ve reperfüzyon hasarı sonucu, seminifer tübüllerdeki germinal epitelyum tabakasında dökülme ve düzensiz dizilim gibi dejeneratif değişiklikler olduğu, lümende spermatozoonun yokluğu, spermatogenetik hücre sayılarının azaldığı, bazal laminada ayrılma ve interstisyel alanda vazokonjesyon gibi histopatolojik değişiklikler saptanmıştır (7). İskemiden sonraki dördüncü saatten

itibaren doku nekrozunun arttığı düşünülmektedir (8,9). Süreç, kişiden kişiye değişse de, ilk 4-6 saatte müdahale hasarın geri dönüşümü açısından kritiktir (9).

Testis torsiyonu tedavisinde acil cerrahi detorsiyon esastır. Ancak detorsiyon sonrasında canlılığı geri dönmeyen testise orşiektomi yapılması konusunda fikir ayrılıkları vardır. Amaç; organ kaybını önlenmesi, sonrasında da organ fonksiyonlarının korunmasıdır. Ancak önce torsiyon esnasında gelişen iskemi, sonra da detorsiyon ile başlayan reperfüzyon ile ortaya çıkan mekanizmalar sonucu testis fonksiyonlarında kayıp meydana gelmektedir. İskemi/reperfüzyon (I/R) mekanizması ile oluşan bu hasarı, açığa çıkan oksijen radikallerinin etkilerini ve olası tedavi yöntemlerini araştıran pek çok çalışma olmasına rağmen, bu hasarı istenen düzeyde azaltan ve klinikte kullanılabilir yaygın bir ajan henüz bulunamamıştır (10,11).

Plateletten zengin plazma (PRP), tam kandan hazırlanan, intralezyonel uygulanan otolog kan ürünüdür. Enjeksiyon sonrası plateletlerin degranülasyonu ile platelet kökenli büyüme faktörü (PDGF), transforming büyüme faktörü- β 1 (TGF- β 1), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) salınımı gerçekleşir. Bu faktörler proliferasyon, reepitelizasyon, vaskülogenezis, anjiogenez gibi mekanizmaları destekleyerek doku tamirine olumlu etki ederler (12-15). Otolog olması sebebiyle de %100 biyouyumlu ve güvenilirdir; enfeksiyon ve alerji riski neredeyse yoktur (16).

Sekerci ve ark. sıçanlarda oluşturdukları tek süreli deneysel testis torsiyonu modelinde PRP uygulayarak, PRP'nin uygulanması ile apoptozisin engellendiğini, oksidatif stresin azaldığını ve antioksidan dengelerin olumlu etkilendiğini tespit etmişlerdir (17).

Çalışmamızda, sıçanlarda oluşturulan TT modelinde, 3 ve 5 saatlik farklı torsiyon sürelerindeki geri dönüşümlü/hafif hasar ve geri dönüşümsüz/ağır hasar oluşan testislerde, Johnsen skoru ve Cosentino sınıflaması gibi histopatolojik açıdan standart evreleme yöntemleri kullanılarak, TT tedavisinde endojen bir ajan olan PRP'nin yerini araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Testis

Standart erkek iç genital organlarını, testis, epididim, vas (duktus) deferens, ejakülatör kanal, seminal vezikül, prostat, bulboüretal bezler ve penil üretra oluşturur. Dış genital yapılar ise penis ve skrotumdan meydana gelir.

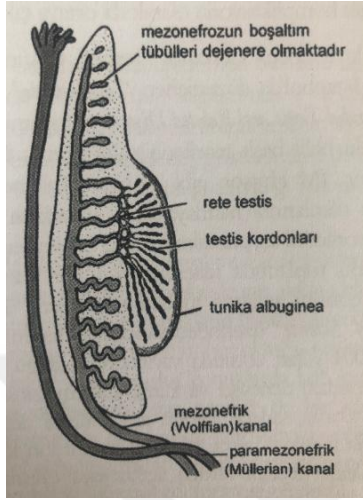
2.1.1. Embriyoloji

Genetik cinsiyet, X kromozomu taşıyan ovumun, X veya Y kromozomu taşıyan sperm ile döllenmesine bağlıdır. Primitif gonadlar, gestasyonun beşinci haftasında mezonefrozun ventromedialinde gonadal kabarıntı şeklinde belirir. XX veya XY kompleksine sahip olan gonadlar, yedinci haftadan önce farklanma göstermezler (18,19).

Seks kromozomunda Y kromozomu bulunan embriyolarda, Y kromozomunun kısa kolundaki Sex Determining Region (SRY) geni, farklanmamış gonadın testis olarak gelişiminde anahtar rol oynar. SRY ekspresyonu, 41. gestasyonel günde başlar (20). Taşıdığı testis belirleyici faktör (TDF) uyarımı ile yedinci haftada primer seks kordonları, seminifer tübüllere farklılaşır ve gonad medullasında birbirleriyle anastomoz yaparak rete testisi oluştururlar. Fibröz kapsül olan tunika albugenia gelişimi, testiküler gelişim için karakteristiktir ve tunika albugenia gelişimi ile seminifer kordonların yüzey epiteliyle bağlantıları kaybolur. Genişleyen testis, mezonefrozdan ayrılır ve mesorchium adı verilen kendi mezenterine asılı hale gelir (18,21).

Seminifer kordonlar, seminifer tübüllere farklılanır. Seminifer tübüller, interstisyel Leydig hücrelerini oluşturan mezenşimden ayrılır. Leydig hücreleri, testosteron ve androstenedion gibi androjenik hormonları, sekizinci haftadan itibaren salgılamaya başlar. Testosteron üretimini, gestasyonun 8-12. haftalarında pik yapan insan koryonik gonadotropin hormonu stimüle eder (18). Bu sayede mezonefrik duktuslar

ve dış genitalya, erkek yönünde farklılaşır. Testosteron sekresyonu ile Wolf kanalı farklılaşarak duktuli eferentes, epididim, vas deferens ve seminal veziküller oluşur (18,21) (Şekil 2.1).



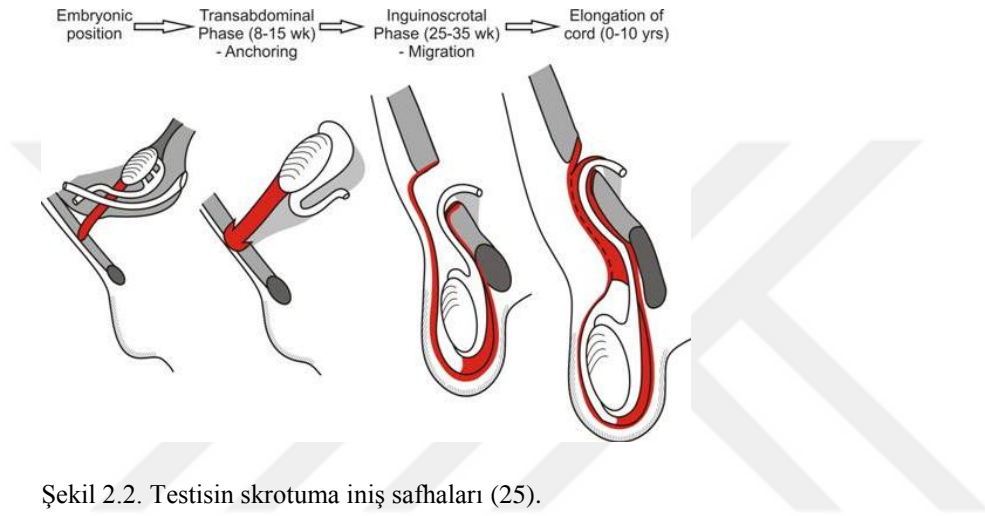
Şekil 2.1. Primitif gonadın, Y kromozomu varlığında gelişimi. Wolf kanalından duktuli eferentes, epididim, vas deferens ve seminer veziküller gelişir. Müllerian kanal ise baskılanır (22).

Testisin yüzey epitelinden gelişen, destek hücreleri olan Sertoli hücreleri tarafından salgılanan antimüllerian hormon (AMH) veya müllerian inhibitör faktör (MIF), dış genital yapı öncülü olan paramezonefrik (müllerian) duktusların gelişimini baskılar ve dış genital yapıların erkek yönünde gelişmesini sağlar. Puberteye dek salınımı devam eder, postpubertal dönemde ise seviyesi azalır (18).

Rete testis, mezonefrik tübüller ile devam eder ve efferent duktulileri oluşturur. Efferent duktuliler, mezonefrik duktus ile bağlandığında duktus epididimis oluşur (23).

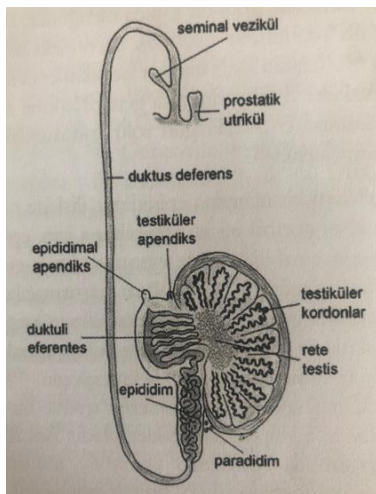
İntrauterin üçüncü ayda, fetüsün hızla uzamasına eşlik edemeyen, testisi karın duvarına sabitleyen gubernakulum nedeniyle testisler inguinal bölgeye inerler. Bu inişte, AMH, androjenler, epidermal büyüme faktörü (EGF), östradiol, kalsitonin gen bağımlı peptid (calcitonin gene-related peptide [CGRP]), insülin benzeri hormon (INSL-3) gibi endokrin faktörlerin gubernakulum üzerindeki etkilerinin de rolü vardır. Testis abdomen alt zarına ulaştığında, testiküler hormonlar ve faktörlerin, gubernakulumun büyümesini ve proliferasyonunu indüklemesiyle, periton boşluğu,

internal halkadan skrotuma uzanan, processus vaginalisi oluşturur ve inguinal kanal dilate olur. Gubernakulum, oluşan inguinal kanal ve processus vaginalis içinden testisin, yeni oluşan skrotuma göçünü sağlar (20). Gubernakulum, processus vaginalisin ön ve lateralinde seyredir. Gonadın varış noktası olan skrotuma inişi genellikle 26. haftada başlar ve yaklaşık 32. haftada tamamlanır. Testisin inişi tamamlandıktan sonra processus vaginalis oblitere olur ve sadece testisi saran tunika vajinalis kalıntısı kalır (18,24) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Testisin skrotuma iniş safhaları (25).

Erkekte Müllerian kanal artıkları; kanalın kranial ucunda apendiks testis, kaudal ucunda prostatik utriküldür (20) (Şekil 2.3).

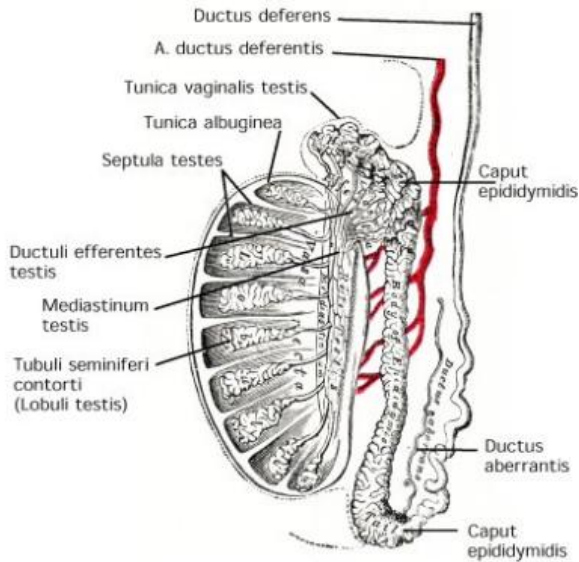


Şekil 2.3. Testis ve kanalları (22).

2.1.2. Anatomi ve Fizyoloji

Testis, skrotum içerisinde yerleşmiş, sperm üretiminden sorumlu bir çift ovoid şekilli gonaddır. Bebeklerde ortalama testis boyutları 16x14 mm'dir. Puberteye kadar büyümesi yavaş seyrederken, spermatogenezin başlaması ile hızla büyür ve 16 yaşında uzun eksenini ortalama 60 mm olur (23). Ucunda testislerin asılı halde bulunduğu spermatik yapılar; vas deferens, spermatik arter ve ven, lenfatik pleksuslardır. Testis, içten dışa tunika vasküloza, tunika albuginea ve tunika vaginalis ile sarılı haldedir.

- *Tunika Vasküloza*; testisin damar ağından meydana gelir.
- *Tunika Albuginea*; kapsülün en kalın katmanıdır. Testis posteriorunda kalınlaşarak mediastinum testisi meydana getirir.
- *Tunika Vaginalis*; embriyonik bir kalıntı olan processus vaginalisin distal kısmıdır. Skrotum iç yüzeyini döşeyen, lamina parietalis ve testisi saran lamina visceralisten oluşan iki yapraklı periton kalıntısıdır (26) (Şekil 2.4).



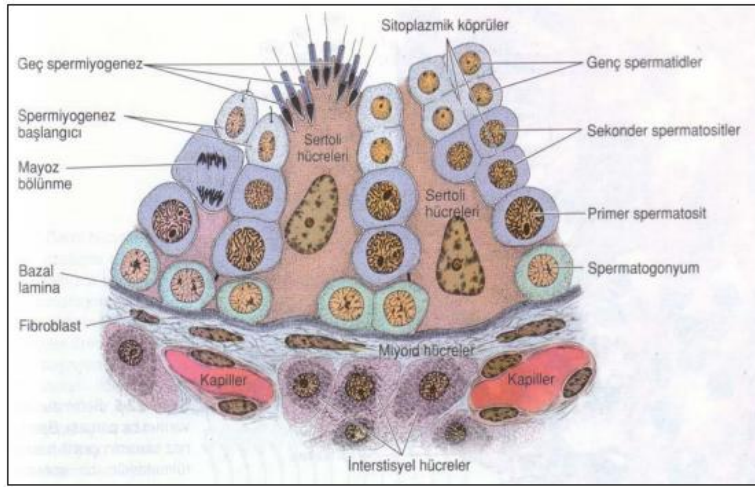
Şekil 2.4. Testis anatomisi (27).

Mediastinum testis; testise damar, sinir, kanal giriş çıkış alanıdır. İçerisindeki bağ doku, tunika albugeniaya uzanıp septumlarla koni şekilli lobüllere ayırır ve her birinin içerisinde 1-4 adet seminifer tübül bulunur. Seminifer tübül içinde destek

hücreleri olan sertoli hücreleri ve spermatogenetik hücreler olan germinal hücreler mevcuttur (28).

Asıl görevi germ hücrelerine destek olmak olan Sertoli hücrelerinden androjen bağlayıcı protein, AMH, Luteinleştirici hormonu salgılayan hormona benzeyen peptit – LHRH like peptit ve inhibin salgılanır. Germinal hücreler, spermatogonyumlardan spermatozoalar oluşana dek görülen hücrelerdir. Sertoli hücreleri, germ hücrelerinin etrafını kuşatarak izole ortam oluştururlar ve birbirleriyle özel bağlantı kompleksleri oluşturup beslenme, hormonal etkileşim fonksiyonlarını gerçekleştirirler. Sertoli hücrelerinin birbirleri ile birleşmesi sonucu kan-testis bariyeri meydana gelir (29).

Seminifer tübüllerde damar bulunmaz ve içerisindeki germinal epitel, perfüzyon yoluyla beslenir. Tübüllerin arasındaki interstisyumda Leydig hücreleri, mast hücreleri, makrofajlar, fibroblastik destek hücreleri ile kan ve lenfatik damarlar bulunur (29) (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Spermatogenetik hücreler ve Sertoli hücrelerinin seminifer tübül duvarındaki yerleşimi (30).

Hipofizden salınan luteinizan hormon (LH), Leydig hücrelerinden testosteron salınımını, bu da sekonder seks karakterlerinin oluşumunu uyarır (18).

Kıvrımlı seminifer tübüller, mediastinumdan sonra düz tübüller olan tübülü rektiye oluşturur. Bu yapılarda spermatozoalar üretilmez. Tübülü rekti, spermatozoaların rete

testise iletiminde rol oynar. Spermatozoalar buradan, ductuli efferenteslerle epididime gelir. Epididim, testisin posterolateralinde uzanan ve baş, gövde, kuyruk olmak üzere üç kısımdan oluşan yapıdır. Sperm maturasyonu ve depolanmasından gövde kısmı sorumludur. Kuyruk kısmı ise vas deferens oluşturur (31).

Vas deferens, spermlerin taşınmasından sorumludur. Duvarında bulunan kalın kas tabakasının kasılmasıyla iletimi sağlar. Bulunduğu anatomik yere göre epididimal, skrotal, inguinal, retroperitoneal ve ampulla olmak üzere beş kısımdan meydana gelir. Spermatic kordun bileşenlerinden biridir. Karın içinde, retroperitondan, üreteri önden çaprazlayarak ilerler. Seminal vezikül kanalı olan ductus efferens ile birleşerek ejakülatör kanalı meydana getirir. Seminal veziküllerden salgılanan alkali sıvıyla, sperm canlılığı ve aktivitesi korunur. Ejakülatör kanal, prostatik üretranın posteriorunda, prostatik utrikülün yanlarında bulunan orifisler aracılığıyla üretraya açılır (23,26).

Germ hücrelerinin gelişimi, üç aşamada tamamlanır. İlk evrede, yaşamın ilk 3-6 ayında pik yapan gonadotropin artışıyla Leydig hücre proliferasyonu olur ve testosteron salgılanır. Gonositler, spermatogoniumlara dönüşür. İkinci evrede spermatogoniumlar, primer spermatozidlere dönüşür ve üç yaş civarında tamamlanır. Çocuğun büyümesiyle birlikte seminifer tübül tabanındaki spermatogoniumlar artar. Son evre olan spermatogenez, pubertede başlar (23).

Arteriyel ve Venöz Dolaşım

Arterleri;

- Abdominal aortanın dalı olan testiküler (internal spermatic) arter (başlıca arteri)
- Hipogastrik arterin dalı olan eksternal spermatic (kremasterik) arter
- İnferior vezikal arterin dalı olan deferensiyel (vazal) arter (32).

Venleri;

- İnternal spermatic (testiküler) ven (Testis posteriorundan çıkıp plexus pampiniformis halinde vas deferensin önünden, inguinal

kanaldan geçip abdomene ulaşır. Sağ testiküler ven, sağ renal venin altından direk olarak vena cava inferiora açılır. Sol testiküler ven ise sol renal vene açılır.)

- Eksternal spermatik (kremasterik) ven (İnferior epigastrik vene, oradan da eksternal iliak vene drene olur.)
- Deferensiyel (vazal) ven (Superior vezikal vene, oradan da internal iliak vene drene olur.)
- Gubernakular ven (External pudental vene, oradan da eksternal iliak vene açılır.) (33).

Bu damarlar spermatik elemanlarla seyrederek, tek bir yapı halinde testise ulaşırlar.

İnervasyon

Testis, intermezenterik sinirler ve renal pleksustan otonomik sinirler alır. Bu sinirler, testiküler arterlerin çevresinden testise girerler. Testisin somatik inervasyonu yoktur (34).

2.2. Akut Skrotum

Skrotal bölgede ağrı, hiperemi, ödem ve ısı artışıyla seyreden klinik tablodur. Akut skrotumun en sık nedenleri;

- Testis torsiyonu
- Epididimit, epididimo-orşit
- Apendiks testis veya apendiks epididimis torsiyonu
- İnkarsere inguinal herni
- Skrotal travma
- Tümör içine kanama
- Akut idiyopatik skrotal ödem
- Henoch-Schönlein purpurası (HSP) (35,36).

Akut skrotumla gelen bir hastada, TT riski nedeniyle hızlı bir şekilde tanı konulmalı ve torsiyon tespit edildiği takdirde, acil cerrahi müdahale yapılmalıdır. Bu hastalıkların ayırımında öykü, klinik, fizik muayene ve görüntüleme yöntemleri birlikte kullanılır.

2.2.1. Testis Torsiyonu

Testis torsiyonu, akut skrotumun en sık nedeni olmamakla beraber, ciddi sonuçları nedeniyle en önemli nedenidir. Normalde testis, testisi önden saran tunika vaginalis ile arkadan yapışık olduğu epididimin skrotum duvarına sabit olması ve postero-inferiorunda gubernakulumun sabitlemesi ile hareketsiz halde bulunur. Bu bağlantıların eksik olması durumunda, testis kendi etrafında dönüp vasküler mezenterini sıkıştırabilir. Bunun sonucunda kan akımının bozulması ile testis torsiyonu meydana gelir.

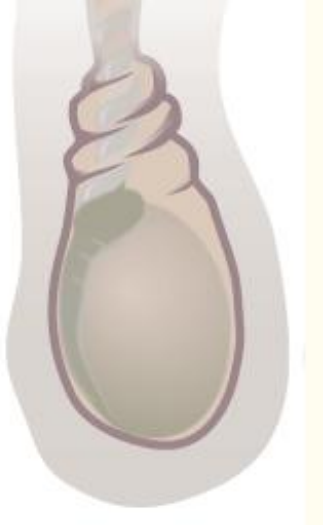
Testis torsiyonu sebepleri arasında; travma, kremaster kontraksiyonları, aşırı aktivite, soğuk hava, pubertede testis dokusundaki değişim, inguinal bölge cerrahisi esnasında iatrojenik torsiyon ve inmemiş testis varlığı sayılabilir. Venöz tıkanıklıkla başlayan torsiyonda, testis tunikasının elastik olmaması nedeniyle, venöz konjesyon arteriyel dolaşımı da bozar. Önce venöz tromboz, sonra arteriyel tromboz ve en son testiküler enfarkt meydana gelir. Gonad canlılığı, torsiyon derecesi ve süresine bağlı olarak değişir. Süre, kişiden kişiye değişebilir de, ortalama ilk 4-8 saat çok önemlidir. 24 saatten uzun olgularda, testis canlılığı %10 civarındadır (37,38). Torsiyonun süresi gibi, derecesi de arttıkça gonad canlılığının azaldığı görülmüştür. Torsiyon derecesi, 360 dereceden fazla ise, arterin tamamen tıkanması söz konusu olduğu için iskemik hasar, daha kısa sürede ortaya çıkabilir (20,37-39). Seminifer tübül epitelyum hücreleri, Leydig hücrelerine göre iskemiye daha dayanıksızdır. 6 saat sonunda spermatogenetik hücreler ve Sertoli hücreleri kaybedilirken, 10 saat sonunda da Leydig hücreleri yok olur (40).

Gonadın çevre dokuları tutunması, skrotuma inişi sırasında meydana gelir. Bu nedenle inmemiş testislerde torsiyon riski daha yüksektir. Testis torsiyonu, her yaşta

görülebilmek ancak iki dönemde görülme oranı pik yapar; en sık pubertede ve ikinci sıklıkta yenidoğan döneminde görülme oranı pik yapar (20,37,39).

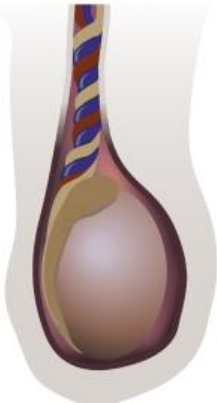
İki tip torsiyon vardır:

- *Ekstravaginal torsiyon*; testis, spermatik kord ve tunika vaginalis hep birlikte döner. Henüz skrotum içine tutunmasını tam olarak gerçekleştiremeyen testiste görülür. Ortak kılıf içinde olmaları nedeniyle tüm yapılar birlikte torsiyone olur (Şekil 2.6). Daha çok yenidoğanlarda (yenidoğan TT'lerinin %92'si ekstravaginal torsiyondur) ve inmemiş testislerde görülen tiptir (20,37-39,41). Tüm TT'lerin %5-10'u oranında görülür. İnmemiş veya inmekte olan testis, fazlaca hareketlidir ve spermatik kord torsiyonu için risk oluşturur. İntrauterin dönemde gerçekleşen testis göçü sırasında, henüz yapıların tutunmamış olması nedeniyle, intrauterin dönemde (yenidoğan döneminde tanı alan TT'lerin %70'i) veya doğumdan sonra (yenidoğan döneminde tanı alan TT'lerin %30'u) meydana gelir. Etiyolojide multiparite, uterusun aşırı baskısı ve güçlü kremaster kasılmaları rapor edilmiştir. Bu hastalar, genellikle kasık veya skrotumda ağrısız, sert kitle ile başvururlar. Bazen skrotum cildi ekimotik ve ödemli olabilir. Bilateral görülme sıklığı, literatürde %5 civarında bildirilmiştir (42,43). Ultrasonografide (USG) parankimde mikst ekojenite ve kalsifikasyon görülür. “*Vanishing testis*” sendromunun başlıca nedeninin intrauterin torsiyon olduğu sanılmaktadır (20,37).



Şekil 2.6. Ekstravaginal testis torsiyonu (44).

- *İntravaginal torsiyon*; tunika vaginalisin içinde, spermatik kord yapılarının torsiyonudur (Şekil 2.7). Testis ve epididimin anatomik lokalizasyonuna fikse olamamasına bağlı, testisin tunika vaginalis içerisinde serbestçe asılı durmasına “*bell-clapper (çan dili) deformitesi*” denir ve testisin skrotumda horizontal durmasına yol açar (20,37). Ergenlik yaş grubunda sık görülen tiptir (20,37,38). Ergenlikte testiküler kitlenin hızlı artışı, testisin dönme riskini artırır (20,37). İntravaginal torsiyon, testis ile epididim arasında, sadece epididimde de oluşabilir (45) (Şekil 2.8).



Şekil 2.7. İntravaginal testis torsiyonu (44).



Şekil 2.8. Testisle epididim arasında oluşan intravaginal testis torsiyonu (37).

Testis torsiyonunda, başvuruda en sık şikayet ani başlayan skrotal ağrıdır (20,37). Ağrı bazen yavaş başlayıp giderek şiddetlenebilir ve bu durum tanıyı geciktirebilir. Öyküde, daha önce de ani başlayıp kısa sürede kendilinden geçen skrotal ağrı tarifliyorsa, kendiliğinden detorsiyone olan inkomplet TT atağı açısından şüphe uyandırmalıdır (46). Bazen de, aynı taraf batın alt kadranda, kasık veya uyluk ağrısıyla başvurabilir. Bulantı ve kusma, hastaların 1/3'ünde eşlik ederken, dizüri gibi üriner semptomlar çok nadirdir (<5%). Öyküde, öncesinde geçirilmiş travma veya egzersiz sorgulanmalıdır (20).

Fizik muayenede, hastanın genel durumu çökkündür. Skrotum palpasyonla ödemli, sert, çok hassas, hiperemik, gecikmiş olgularda ekimotiktir. Testis, skrotumda yüksekte, anormal transvers yerleşimde ve sert kıvamda palpe edilir. Kremasterik reflekslerin yokluğu, ayırıcı tanıda çok önemlidir. Bu reflekse önce normal taraftan bakılmalı, sonra patoloji olan tarafa geçilmelidir. Kremaster refleksi varsa TT aleyhinedir. Akut hidrosel gelişebilir. Ateş genellikle olmaz (20,37).

Akut skrotumla başvuran bütün çocuklara, laboratuvar tetkiki olarak ilk etapta tam kan sayımı ve idrar tahlili istenmelidir. Püyüri varlığı, idrar yolu enfeksiyonu ve epididimite işaret etse de, TT'unda da nadiren benzer bulgular saptanabilir. Tam kan sayımında, lökositöz çok beklenen bir bulgu olmamakla beraber, beyaz küre düzeyinin normal veya yüksek olmasının önemi yoktur. Tam kan sayımında asıl amaç, cerrahi hazırlık sürecinde hemoglobin ve platelet düzeylerinin tespitidir (20,37).

Testis torsiyonu şüphesinde en hızlı ve en non-invaziv tetkik; skrotal renkli Doppler USG'dir. Bilateral testisler değerlendirildiğinde, TT varlığında tek taraflı intratestiküler arteriyel kan akımı azalmış veya tamamen kaybolmuştur. Konvansiyonel skrotal USG de kullanılabilir ancak Doppler USG kadar yardımcı değildir ve kan akımını göstermez (20,37,47).

Kan akımını değerlendirmek için bir başka yöntem, Teknesyum 99m perteknetat sintigrafisidir (20,37,47). Bu tetkik, testise kan yoluyla ulaşan izotopların ölçümüne dayanır ve torsiyone olmuş testiste kan akımı olmadığı için radyoizotoplar, testise ya çok az sayıda ulaşır ya da hiç ulaşamaz. İskemi süresine bağlı olarak değişen görüntüler elde edilebilir; ilk 6 saatte sintigrafik kan akımı normal, sonraki 18 saatte testis ortasında soğuk bölge ve çevresinde artmış aktivite halkası (halo), daha geç dönemdeyse soğuk alanın çevresinde daha belirgin bir aktivite halkası saptanabilir (48). Tetkik süresinin uzunluğu, küçük çocuklarda testis boyutları küçük olduğundan güvenilirliğinin azalması ve nöbet şartlarında uygulama zorluğu nedeniyle pratikte sık kullanılmamaktadır (38).

Bir diğer görüntüleme yöntemi olan Power Doppler USG, kan akımını, akım hızına karşılık kırmızı hücre sayısını saptayarak ölçer (20). Bu yöntemin, küçük çocuklarda, renkli Doppler USG'ye üstün olduğunu savunanlar varsa da (49), hayvan çalışmalarında eşit etkili olduğunu raporlayanlar da mevcuttur (50).

Bu tanı yöntemlerinin uygulanamadığı durumlarda ve ciddi TT şüphesi olan olgularda, zaman kaybını ortadan kaldırmak ve organ kaybını önlemek için acil cerrahi eksplorasyon yapılmalıdır (51).

Testis torsiyonu tanısı konulduktan sonra tek tedavi seçeneği acil cerrahidir. Cerrahinin temel amacı; torsiyone testisi detorsiyone edip orşiopeksi yapmaktır. Sadece skrotal kesi (özellikle intravaginal torsiyonlarda) veya inguinal ve skrotal kesi beraber kullanılabilir. Torsiyone testise ulaşıldıktan sonra detorsiyon işlemi yapılır. Testis, sıcak kompresle sarılıp 15-20 dakika kadar dolaşımının geri dönmesi beklenir. Gereklik halinde tunika albugeniaya ufak bir kesi yapılarak, testisteki

baskı azaltılmaya çalışılır. İlk 4-6 saatte müdahale kritiktir ve atrofi nadir görülürken, özellikle 8 saati geçen torsiyon öykülerinde atrofi sıklığı artar (20,52). Önceki yıllarda, 24 saatten uzun torsiyon öyküsüne sahip, tamamen nekrotik görünümde olan, gözlem süresi sonunda kanlanması geri dönmeyen testislere orşiektomi uygulanırken (20,37,52), son yıllarda atrofik testislerin dahi hormonal fonksiyonlarını devam ettirebileceği görüşü ağırlık kazanmış ve orşiektomi uygulaması azalmaya başlamıştır (5,38,53,54).

Orşiektomi uygulanmayan testisler, nüks riskini azaltmak amacıyla detorsiyon işlemi sonrası tespit edilmelidir. Orşiopeksi için günümüzde, testisin tunika vaginalise birkaç adet tek tek dikişlerle tutturulması yöntemi kullanılmaktadır. Ancak ikinci bir yöntem de, tunika vaginalis eversiyonu veya tunika vaginalise bir pencere açılıp testisin, skrotum duvarına geniş bir yüzeyde temas alanı oluşturulup fibrozisle yapışmasını sağlamaktır (20,37). Bazı cerrahlar, aynı seansta karşı taraf testise de olası torsiyon riski nedeniyle orşiopeksi yapılmasını önerse de (20,55), bazı cerrahlar da karşı tarafa müdahalede bulunmamayı önermektedirler (38).

Akut dönemde cerrahi müdahale gecikecekse, skrotum dışından manüel detorsiyon uygulaması öneren yazarlar, torsiyonun genellikle içe doğru olmasından yola çıkarak, torsiyone sol testisi saat yönünde, torsiyone sağ testisi ise saatin tersi yönünde (her iki tarafta da içten dışa doğru) çevirerek detorsiyon işlemini tariflemişlerdir (56,57). Ancak torsiyonun her zaman aynı yöne olmaması ve torsiyon derecesinin bilinmemesi sebebiyle tam detorsiyone edilip edilemediğinden emin olunamaz, dolayısıyla açık cerrahi kadar güvenilir bir yöntem değildir. Ayrıca, orşiopeksi yapılması için sonrasında yine cerrahi müdahale gerekmektedir.

Tek taraflı yenidoğan torsiyonlarında, etkilenen testis nadiren kurtarılabilir. Doğumda skrotal kitle mevcutsa hemen tüm olgularda testis canlılığını kaybetmiş durumdadır. Eksplozasyonda, tümör ekartasyonu ve bilateral anorşiyi önlemek için karşı testisin değerlendirilmesi esastır. Torsiyone testis detorsiyone edilir, dokunun canlılığına göre orşiopeksi veya orşiektomi yapılır. Orşiektomi materyali, düşük risk de olsa, malignansi açısından mutlaka patolojik incelemeye gönderilmelidir (20,37).

Testis torsiyonunun verdiği hasar açısından bakıldığında çeşitli hayvan deneyi çalışmalarıyla, tek taraflı torsiyonun bilateral testiküler hasarı uyarıp sperm analizlerinde anormal sonuçlara ve dolayısıyla fertilitede azalmaya yol açabileceği ispatlanmıştır (58,59). İmmünolojik reaksiyonlar, refleks vazokonstriksiyon veya konjenital displazi gibi mekanizmalarla bu iki taraflı etkilenme açıklanmaya çalışılmıştır.

➤ *İmmünolojik Reaksiyonlar:* Torsiyonla meydana gelen iskemi ile kan-testis bariyeri zedelenir, testisten salınan antijenlerle uyarılan otoantikolar nedeniyle kişi, kendi spermatogonialarına karşı otoimmünize olur (5,20,37). Sıçanlarda, torsiyone testise uygulanan orşiektomiye ek olarak, eş zamanlı antilenfosit globülin tedavisi ve splenektomi (60) veya steroid, siklosporin gibi immünsüpresan tedavilerle (60,61) kontralateral testis hasarının azaltılabildiği gösterilmiştir. Ancak insanlarda, torsiyon sonrası hastaların sadece %10-20'sinde antitestis antikolar bulunmuş (62,63) ve bunların, infertilite veya testisin ekzokrin ya da endokrin disfonksiyonu ile bağlantısı saptanmamıştır.

On yaşından küçük çocuklarda kan-testis bariyeri gelişmediği ve spermatogenez henüz başlamadığı için otoimmünizasyonun mümkün olamayacağını savunan çalışmalar da vardır (64,65).

➤ *Konjenital Displazi:* Torsiyone olmamış testiste mevcut olan konjenital displazi, tek taraflı TT hastalarındaki anormal semen analizini açıklayan alternatif bir mekanizmadır. Testis detorsiyonu yapılan hastaların, kontralateral testislerinden alınan biyopsilerde germinal epitel dökülmesi, Leydig hücre atrofisi ve %88 hastada spermatoblast malformasyonu gibi anomaliler saptanmıştır (66). Torsiyondan çok kısa süre sonra bu anomalilerin saptanması, kontralateral testiste öncesinde var olan bir patolojiyi düşündürmektedir.

➤ *Refleks Vazokonstriksiyon:* Kontralateral testis hasarını açıklayan en güncel mekanizma, refleks vazokonstriksiyonla oluşan iskemidir. Deneysel hayvan çalışmalarında, bir testiste oluşan torsiyon ile karşı testiste de kan akımı azaldığı ve detorsiyonla birlikte akımın tekrar arttığı gösterilmiştir. Torsiyone olan testis gibi karşı testiste de iskemi – reperfüzyon hasarı olduğu düşünülmektedir (67,68). Yapılan çalışmalara göre, testiste oluşan torsiyon ile birlikte genitofemoral sinirde sempatik deşarj olur ve bu deşarj karşı testisin kan akımını da etkiler (69).

Karşı testisin dışardan soğutulması ile iskemi hasarının birkaç saat geciktirilebildiği, hayvan çalışmaları ile gösterilmiştir (70). Reperfüzyon hasarının önüne geçmek amacıyla hiperbarik oksijen, verapamil, sürfaktan, platelet aktive edici faktör inhibitörleri ve allopurinol (61,71,72), immün yanıt hasarını engellemek amacıyla steroid, azathioprine ve siklosporin (73), vazospazm ve hipoksiyi önlemek amacıyla da capsaicin, guanethidine monosulphate, nitrik oksit ve 6-hydroxidopamine hydrobromide kullanılmış (74,75) ve karşı testis hasarını azalttığı gösterilmiştir.

2.2.2. Epididimit ve Epididimo-Orşit

Testis torsiyonu ile en sık karışan hastalıktır. Genellikle postpubertal dönemde çocuklarda görülen epididim inflamasyonudur ve sıklıkla tek taraflıdır. Prepubertal epididimitlere genellikle altta yatan üriner sistem anomalileri ve buna ikincil idrar yolu enfeksiyonları (İYE) eşlik eder. İdrar tahlili istenmelidir. Epididimitle birlikte İYE varlığında, üriner sistem görüntülemesi yapılmalıdır. Bunun haricinde izole üriner enfeksiyonlar, skrotal travma, üretral kateterizasyona bağlı da gelişebilmektedir (76).

Orşit, testisin inflamasyonudur. Sıklıkla epididimitin lokalize kalmayıp testise yayılması sonucu gelişir ve epididimo-orşit adını alır. İzole orşit çok nadir görülür ve kabakulak, skrotal travma, sistemik enfeksiyonlar nedeni ile olur (37).

Ağrı ve inflamasyon sebebiyle dizüri, pollaküri gibi üriner semptomlar da görülebilir. Skrotal ödem, ısı artışı, ağrı ve hiperemi bulguları, TT ile benzerdir. Skrotumun elevasyonu ile ağrının azalmasına Prehn işareti denir, ancak epididimit için spesifik değildir (37).

Epididimitle birlikte İYE varlığında, idrar kültüründen en çok izole edilen mikroorganizmalar; *stafilokoklar*, *E.coli*, *aerobakter aerogenez* ve *streptokoktur*. Ayrıca *gonokok*, *tüberküloz* ve *sfiliz* epididimitleri de görülebilir (37).

Tedavisinde, yatak istirahati, skrotal elevasyon, antibiyotik, antiinflamatuvar ve analjezik ilaçlar yer alır. Yaklaşık bir hafta sonunda iyileşme beklenir (37).

2.2.3. Apendiks Testis Torsiyonu

Her yaşta görülebilmeye karşın, en sık 6-12 yaş arasında görülür. Testis üzerinde, apendiks testis, apendiks epididimis, Waldeyer paradidimi ve vas apendiks olmak üzere dört adet apendiküler yapı bulunur. Apendiks testis, erkeklerin %90'ında bulunan, testisin üzerindeki, birkaç milimetre uzunluğundaki Müllerian kanal artığıdır. Apendiks epididimis ise epididim başında bulunan bir Wolfian kanal artığıdır. Apendiks torsiyonlarının %92'sini apendiks testis, %7'sini apendiks epididimis torsiyonu oluşturur (77).

Ödem, hiperemi ve ağrı, TT'deki kadar şiddetli değildir. Erken dönemde, "blue dot" adında renk değişikliği görülürken (Şekil 2.9), geç dönemde artan ödemle birlikte renk değişikliği görünmez olur ve muayene bulguları daha çok TT ile karıştırılır.



Şekil 2.9. Beyaz ok; apendiks testis torsiyonunda erken dönemde görülen “mavi nokta” (blue dot) renk değişikliği (36).

Renkli Doppler ultrasonografi (USG), ayırıcı tanıda yardımcıdır. Apendiks genellikle USG ile görüntülenemese de, testis kan akımının görülmesi, TT ekartasyonu için önemlidir. Apendiks testis torsiyonunda, inflamasyon nedeniyle artmış kan akımı görülmesi, çoğunlukla epididimit lehine yorumlansa da, prepubertal artmış kan akımı genellikle apendiks testis torsiyonu nedeniyle olur (37).

Tedavide, epididimite olduğu gibi yatak istirahati, skrotal elevasyon, nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar uygulanır. Medikal tedaviye yanıtız olgularda cerrahi yöntemle nekrotik doku eksize edilebilir (Şekil 2.10). Testis torsiyonu şüphesi kesin olarak ekarte edilemediyse, cerrahi ilk seçenek olarak uygulanır.



Şekil 2.10. Apendiks testis torsiyonu (78).

2.2.4. Akut İdiyopatik Skrotal Ödem

Allerjik kökenli bir anjionörotik ödem tablosudur. Genellikle prepubertal görülür. Sebebi bilinmemekle birlikte %60 çocukta allerji hikayesi vardır (79). Ani skrotal ödem ve hiperemi görülmekle birlikte sıklıkla ağrı yoktur, çünkü testis inflamasyona

dahil değildir. Tedavide yatak istirahati ve skrotal elevasyon uygulanır, gereklilik halinde antihistaminik ilaçlar eklenebilir (37).

2.2.5. Henoch-Schönlein Purpurası (HSP)

Otoimmün sistemik bir vaskülit olan HSP, deride purpura, karın ve eklem ağrısı, mikroskopik hematüri, proteinüri ve nefritle seyreder. Bazen spermatik kord ve testisi de içeren ataklar esnasında, akut skrotal ödem ve ağrı gelişebilir. Diğer sistemik belirtilerle birlikte değerlendirilmek ayırıcı tanıda yardımcı olur (37).

2.3. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasında, serbest radikal üretimi lehine gelişen dengesizlik şeklinde tanımlanabilir (80). Oksidatif hasarlanma ile birlikte açığa çıkan oksijen ve nitrojen ürünleri, dokuda mekanik ve patolojik değişimler ve hücrede sinyal değişiklikleri oluştururlar.

İskemide, hücresel oksidatif fosforilasyonun azalması ile adenosin trifosfat (ATP) üretimi de azalır. Buna bağlı olarak hücre zarındaki ATP bağımlı iyon kanalları etkilenir, hücre içine sodyum ve kalsiyum girişi artar. Hücre içine sodyumla beraber su girişinin de artması sonucu hücreler şişer. Artan hücre içi kalsiyum ise, hücre membranlara zarar veren fosfolipaz enzimini ve hücre içi proteaz enzimlerini aktive eder. Adenin nükleotid katabolizması sonucu biriken hipoksantin, serbest oksijen radikallerine (SOR) dönüşebilme potansiyeline sahiptir. İskemi, reperfüzyonda meydana gelecek hasar açısından, doku hassasiyetini arttıran proinflamatuvar bir zemin oluşturur (81).

Testis torsiyonu ile oluşan iskemik hasar, detorsiyon ile oluşan reperfüzyon hasarı ile beraber dokunun yapısal ve biyokimyasal değişimler göstermesine neden olur. Bu I/R hasarından, hücresel komponentlere, proteinlere, lipidlere ve deoksiribo nükleik

asite (DNA) zarar veren SOR sorumludur (Tablo 2.1). Bu hasarlanma sonrası oluşan immün cevap da hasarı arttırmaktadır (82).

Tablo 2.1. Sık karşılaşılan radikaller, simgeleri ve özellikleri

Hidrojen	H^{\bullet}	Bilinen en basit radikal
Süperoksit	$O_2^{\bullet-}$	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü
Hidroksil	OH^{\bullet}	En toksik (reaktif) oksijen metaboliti radikal
Hidrojen peroksit	H_2O_2	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf
Singlet oksijen	O_2^-	Yarılanma ömrü hızlı, güçlü oksidatif oksijen formu
Perhidroksi radikal	HO_2^{\bullet}	Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırır
Proksil radikal	ROO^{\bullet}	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipidlere lokalize olur
Triklorometil	CCl_3	CCl_4 metabolizması ürünü, karaciğerde üretilen bir radikal
Thyl radikali	RS^{\bullet}	Sülfürlü ve çiflenmemiş elektron içeren türlerin genel adı
Alkoksil	RO^{\bullet}	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti
Nitrojen oksit	NO	L-arginin amino asitinden in vivo üretilir
Nitrojen dioksit	NO_2	NO 'in oksijen de reaksiyonuyla üretilir

Hücrelerimizde, birçok enzimatik veya non-enzimatik olay sonucunda serbest radikal inaktivasyonu gerçekleşmektedir. Hücrelerimizde, oluşan serbest radikalleri uzaklaştırmak amacıyla çalışan çok sayıda antioksidan savunma mekanizması da vardır. Normal şartlarda da dokular tarafından üretilmekte olan SOR'nin konsantrasyonu, üretim ve temizlenme mekanizmaları arasındaki dengeye bağlıdır. SOR, reaktif oksijen ve reaktif nitrojen ürünleri olmak üzere iki grupta tanımlanabilir (83-86).

2.3.1. Reaktif Oksijen Ürünleri

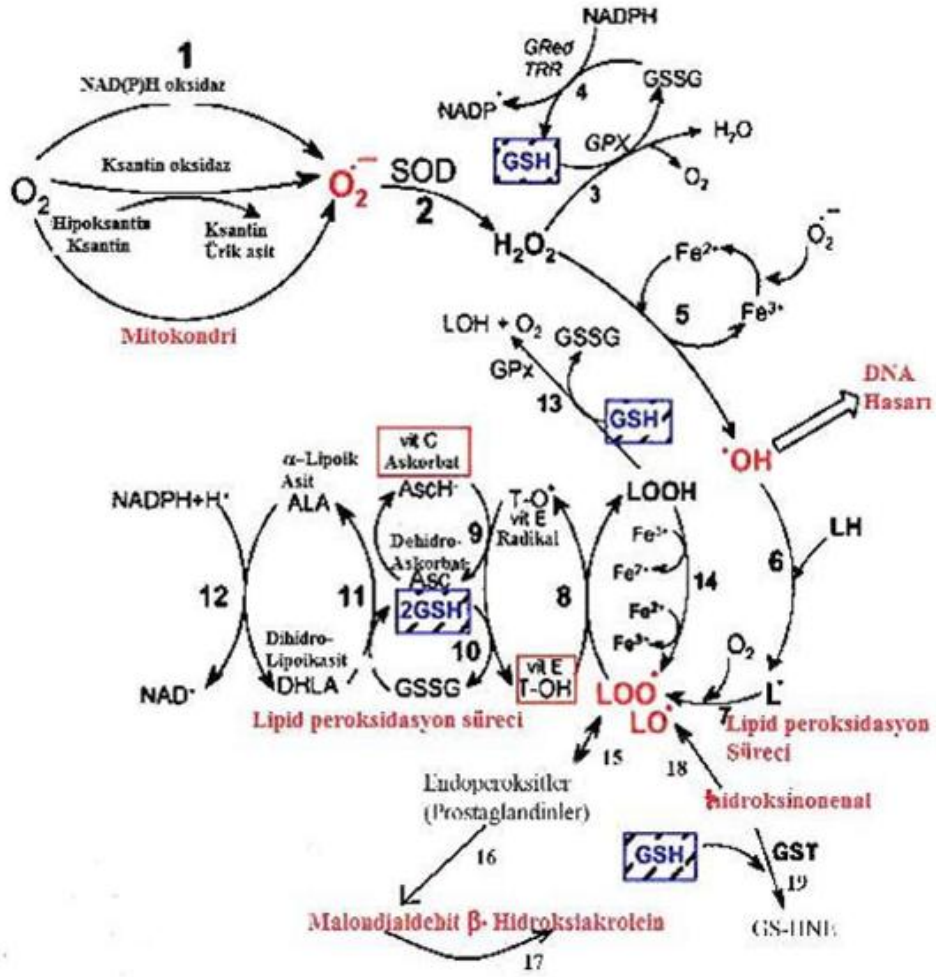
Mitokondrial elektron transportu, peroksizomal yağ asiti metabolizması, sitokrom p-450 reaksiyonları ve nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADPH) oksidaz enzim aktivitesi, reaktif oksijen radikallerini oluşturan dört kaynaktır (86,87).

Oksijenin suya dört elektron redüksiyonu ile oluşan mitokondrial elektron transportu tam gerçekleşmediğinde, bir elektron redüksiyonu ile süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet-}$) açığa çıkar (Şekil 2.10, reaksiyon 1). Bu anyon, geçiş metalleri ve radikallerle kolay reaksiyona girip H_2O_2 ile birlikte “*Haber-Weis*” tepkimesini gerçekleştirir. Bu tepkime sonucunda son derece toksik olan hidroksil radikali (OH^{\bullet}) açığa çıkar (88).



Bu tepkimenin demir iyonları katalizörlüğünde gerçekleşmesine “*Fenton tepkimesi*” denir ve bu olayla reaksiyon yaklaşık 4000 kat hızlanır (89,90) (Şekil 2.11, reaksiyon 5).

Demir, redoks döngüsünde aktifleşir. Demir, demirin büyük molekülleri olan ferritin, transferin, hemoproteinlerden, ayrıca hemoglobinden ve onun protein olmayan türevlerinden, eritrositlerin oksidatif strese maruz kaldığı durumlarda salınır. Salınan demir, zar protein oksidasyonu ve yaşlanmış hücre antijeni oluşumunda rol oynar. İndirgenmiş demir, SOR’un oluşumunda önemli bir etkidir. Demir, SOR oluşumunda rol aldığı gibi, antioksidanların yapısında da bulunurlar. Hem demir hem de bakır, antioksidan enzimler olan süperoksit dismutaz (SOD), serüloplazmin, sitokrom oksidazın yapısında bulunur (91).



Şekil 2.11. Reaktif oksijen ürünleri, lipid peroksidasyonu ve detoksifikasyon.

Reaksiyon 1: Süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet-}$) oluşumu

Reaksiyon 2: Süperoksit dismutaz (SOD) ile hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşumu

Reaksiyon 3: Hidrojen peroksitin, glutatyon (GSH) ve glutatyon peroksidaz (GPx) ile temizlenmesi

Reaksiyon 4: Okside glutatyonun (GSSG), GSH'ye dönüşmesi

Reaksiyon 5: Demir veya bakır varlığında, H_2O_2 ve $O_2^{\bullet-}$ den hidroksil iyonu (OH^-) oluşumu

Reaksiyon 6: Hidroksil iyonu ile poliansatüre yağ asitinden (Lh), lipid radikali (L) oluşumu

Reaksiyon 7: Lipid radikalinin, lipid peroksil radikaline (LOO) dönüşümü. LOO, antioksidanlarla redükte edilemez ise lipid peroksidasyon süreci başlar (15-19. Reaksiyonlar)

Reaksiyon 8-12: LOO'nun GSH, vitamin E ve C yardımı ile indirgenmesi. GSSG, vitamin E ve C'nin rejenerasyonu

Reaksiyon 13: Lipid hidroperoksitlerinin GSH ve GPx yardımı ile indirgenmesi

Reaksiyon 15-17: Prostaglandin sentezi ve malondialdehit oluşumu

Reaksiyon 18, 19: Hidroksinoneal oluşumu ve bunun GSH ve glutatyon transferaz (GST) yardımı ile detoksifikasyonu (90).

2.3.2. Reaktif Nitrojen Ürünleri

Nitrik oksit (NO); vasküler tonus, hücre döngüsü düzenlenmesi, nörotransaminasyon ve inflamasyon gibi birçok fizyolojik aktivitede rol alan bir parakrin mediatördür.

Nitrik oksitin, $O_2\cdot^-$ ile birleşmesiyle, ikincil reaktif nitrojen ürünü olan peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşur ve bu ürünün hücredeki protein, lipid ve DNA'ya toksik etkileri vardır. Peroksinitrit, proton aldığı anda peroksinitroz asid ($ONOOH$) oluşur ve bu da toksik oksijen radikali olan $OH\cdot$ ve nitrojen dioksite (NO_2) parçalanır (84,86).

2.3.3. Serbest Radikallerin Zararlı Etkileri

Oksidatif stress durumlarında, SOR oluşumunun artması ile antioksidan savunma sisteminin dengesi bozulur; artan SOR üretimi, antioksidan kapasitesini aşar ve hücrede ciddi fonksiyonel ve yapısal değişikliklere yol açar. Serbest radikal hasarına en duyarlı olanlar lipidlerdir. Poliansatüre yağ asitleri ve kolesterolden zengin olan hücre membranları, SOR'nden kolaylıkla etkilenir (89). Non-enzimatik oksidatif lipid peroksitlerin bu olay ile parçalanması sonucu oluşan, toksik etkili son ürünlerden biri olan malondialdehit (MDA), uzun ömürlü oluşu ve zarları geçebilme özelliği ile hedef organ etkilerinden sorumludur. Aldehitlerin yüksek konsantrasyonlarda bulunması, mitokondrial ve solunum fonksiyonları, monooksijenaz sistemi ve protein sentezi gibi önemli fonksiyonları inhibe edip hücre ölümüne neden olur (89,90). Uzun ömürlü olması, zarları geçebilmesi nedeniyle MDA seviyesi, lipid peroksit düzeyini saptamada kullanılır (92).

Serbest radikallerin etkileri:

- DNA tahribatı
- Nükleotid yapıli koenzimlerin yıkımı
- Protein ve lipidlerle kovalent bağlanarak yapılarını bozma
- Enzim aktivitesi ve lipid metabolizmasında değişiklikler
- Hücrede tiyol/disülfid dengesinin bozulması, tiyollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarında bozulma
- Mukopolisakkarit yıkımı
- Lipid peroksidasyonu, zar yapısında bozulma
- Zar proteinlerinde tahribat ve taşıma sistemlerinde bozulma
- Protein tahribatı ve proteinlerin döngüsünün artması

- Kollajen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerin oksido-redüksiyon olaylarının bozulması sonucu kapillerlerde aterofibrotik değişiklikler
- Seroid ve yaş pigmenti gibi maddelerin birikimi (87,93).

2.3.4. Antioksidan Mekanizmalar

- Radikal oluşumunun önlenmesi
- Oluşan radikallerin temizlenmesi
- Güçlü radikallerin, metal iyonları yardımıyla zayıf radikallere çevirilmesi
- Hedef dokulardaki antioksidan kapasitesinin artırılması
- Hasarlanan dokuların onarımı

Antioksidanlar, endojen (enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar) ve eksojen (vitamin ve ilaç olarak kullanılan antioksidanlar) olarak iki ana gruptan oluşur.

Enzimatik Endojen Antioksidanlar: Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GR).

Non-enzimatik Endojen Antioksidanlar: Glutatyon (GSH), koenzim Q10, melatonin, selenyum, ürik asit, α -lipoik asit, bilirubin, transferrin, albümin, seruloplazmin.

Vitamin Eksojen Antioksidanlar: α -Tokoferol (Vitamin E), β -karoten (Vitamin A), askorbik asit (Vitamin C), folik asit (Vitamin B9).

İlaç Olarak Kullanılan Eksojen Antioksidanlar: Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten), NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezipler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflatuvar ilaçlar), rekombinant süperoksit dismutaz, Trolox-C (vitamin E analogu), endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein), nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin), demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin), nötrofil adezyon inhibitörleri, sitokinler (TNF ve IL-1), barbitüratlar, demir şelatörleri (94).

SOD enzimi, süperoksit anyonunu H_2O_2 'ye dönüştürür. GPx enzimi, organik peroksitleri detoksifiye eder. CAT enzimi ise, H_2O_2 'yi suya indirger (95).

GSH; glutamat, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptittir. Sentezi, γ -glutamil sentetaz ve GSH sentetaz enzimleri ile iki aşamada gerçekleşir. Önemli bir indirgeyici olan GSH, hücre içinde yüksek konsantrasyonda ve %99'u indirgenmiş formda bulunur. Sistein, oksidatif stres ürünlerinin oluşumunu önlemede kritik rolü olan ve içerdiği sülfidril (-SH) grubu ile tersinir disülfid bağ yapılarına dönüşen, organik tiyol grubu barındırması nedeniyle, tiyol/disülfid dengesinin sürdürülmesinde anahtar rol oynar (96,97).

2.3.5. Testis Torsiyonunda I/R Hasar Tedavisinde Araştırılmış Yöntemler

Testis torsiyonunda gelişen I/R hasarının tedavisinde araştırılan bazı tedavi yöntemleri ve etki mekanizmaları:

- Eritropoetin reseptör agonistleri; anti-apoptotik, anti-oksidan, anti-enflamatuar etkilidir (98).
- Deksmetomidin; anti-enflamatuar, noradrenalin salınımını azaltır (99).
- Morfin; MDA ve peroksinitrit seviyelerini azaltır (100).
- Propofol; lipid peroksidasyonunu engeller (101).
- Alfa-lipoik asit; apoptozu, MDA seviyesini, GPx ve SOD aktivitesini azaltır (102).
- Dimetilsülfoksit; GSH düzeyini artırır (103).
- Ebselenin; sentetik anti-oksidan, oksidatif biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikleri azaltır (104).
- Edaravon; DNA hasar belirteci olan 8-hidroksideoksiguanozin düzeyini azaltır, germ hücrelerini korur (105).
- Mannitol; serbest radikalleri temizler (106).
- Melatonin; antioksidan enzim oluşumunu artırır, MDA düzeyini azaltır (107).
- Selenyum; apoptozu azaltır, glutatyon peroksidaz aktivitesini artırır (108).

- Statinler; atipik anti-enflamatuar etkilidir, kaspaz-3 aktivitesi ve germ hücre apoptozunu azaltır (109).
- Polideoksiribonükleotid; vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) üretimini ve spermatogenik aktiviteyi artırır, anti-apoptotik etkilidir (110,111).
- Vitamin E; lipid peroksidasyonunu azaltır (112).
- Kalsiyum kanal blokörleri; I/R sırasında hücreler arası kalsiyum birikimini azaltarak SOD ve GSH seviyelerini artırır (113,114).
- E-selektin antagonisti; nötrofilleri bağlayarak apoptozu azaltır (115).
- Sivelestat sodyum aminoasetat tetrahidrat ve taurin; nötrofil elastazı inhibe ederek radikal oluşumunu azaltır (116,117).
- Renin-anjiotensin sistem inhibitörleri; serbest radikal oluşumunu azaltır, anti-apoptotik etkilidir (118).
- İnterlökin-10; pro-inflamatuar sitokin üretimini inhibe ederek anti-enflamatuar etkilidir, lipid peroksidasyonunu ve miyeloperoksidaz seviyesini azaltır, GPx seviyesini artırır (119).
- Melanokortinler; anti-enflamatuar etkilidir (120).
- Metformin; anti-enflamatuar etkilidir (121).
- Pirolidin dithiokarbamat; MDA seviyesini düşürür, SOD aktivitesini artırır, anti-apoptotik etkilidir (122).
- Montelukast; nötrofil aktivitesini ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz seviyesini azaltır, anti-apoptotik etkilidir (123).
- Hiperbarik oksijen; oksidatif stresi bloke eder, anti-enflamatuar etkilidir, NO oluşumunu azaltır (124).
- Hipotermi; iskemi esnasında uygulanmasının histolojik hasarı azalttığını gösteren deneysel çalışmalar vardır (125).
- Reperfüzyon hasarını azaltmak amacıyla, reperfüzyonun erken evresinde, kan akımının hızlı aralıklarla kesilmesini esas alan yeni bir cerrahi yöntem mevcuttur (126).
- Apokinin; GSH seviyesini artırır, nötrofil birikimini inhibe eder (127).
- Kafeik asit fenetil ester; indüklenebilir nitrik oksit sentaz ve miyeloperoksidaz seviyelerini azaltır (128).

- 3', 4'-dihidroksiflevonol; lipit peroksidasyonunu azaltır (129).
- Epigallocatechin-3-gallate; anti-apoptotik ve anti-enflamatuar etkilidir (130).
- Genistein; anti-apoptotik etkilidir (131).
- Ginkgo biloba; platelet agregasyonunu inhibe eder, anti-oksidan etkilidir (132).
- Goji meyvesi; anti-oksidan etkilidir (133).
- Likopen; antioksidan etkilidir (134).
- Psoralea corylifolia; serbest oksijen radikallerini azaltır (135).
- Quercetin; anti-enflamatuar etkilidir, serbest radikalleri azaltır (136).
- Resveratrol ve pterostilben; lipit peroksidasyonunu ve DNA hasarını azaltır (137,138).
- Rutin; anti-oksidan ve anti-enflamatuar etkilidir (139).
- Ternatin; lipit peroksidasyonunu azaltır (140).
- Thymoquinon; çok güçlü anti-oksidan, analjezik ve anti-enflamatuar etkilidir (141).
- Platelet inhibitörleri (dipyridamol, asetilsalisilik asit); anti-oksidan ve anti-apoptotik etkilidir (142).
- Dehidroepiandrosteron; oksidatif strese direnci artırır (143).
- Carvedilol; bazı metabolitleri anti-oksidan etkilidir, MDA seviyesini düşürür (144).
- Sildenafil ve udenafil; antioksidan enzim aktivitesini artırır, NADPH oksidaz aktivitesini inhibe eder, MDA düzeyini ve lipit peroksidasyonunu azaltır (145,146).
- Trapidil; SOR oluşumunu azaltır (147).
- Rosiglitazon; karşı testiste endotelial nitrik oksit sentaz salınımını artırıp hasarı önlediği gösterilmiştir (148).
- Plateletten zengin plazma; otolog ve endojen bir ajandır. Bu sebeple yan etki ve allerji riskinin oldukça düşük olması, diğer ajanlara üstünlük sağlar. İçeriğindeki büyüme faktörleri sayesinde doku tamir mekanizmalarında etkili rol oynar (17,149).

2.4. Plateletten Zengin Plazma (PRP)

Plateletler, kemik iliğindeki megakaryositler tarafından üretilir ve sağlıklı bir insanda, kandaki ortalama konsantrasyonu 150,000-400,000 / μ l'dir (150). Koagülasyon kaskadının merkezinde yer alan plateletler, aynı zamanda doku hasarı tamiri, vasküler düzenleme ve organ rejenerasyonunda önemli rol oynayan büyüme faktörleri ve sitokinleri de içerirler. Plateletler içerisinde yer alan Alfa granüller, yaklaşık 30 çeşit inaktif büyüme faktörü ve sitokinin rezervuarıdır. Bunların yanı sıra fibronektin, trombospondin, vitronektin, fibrin, osteokalsin ve osteonektin gibi ekstraselüler matriks komponentlerini de içerirler (151,152). Trombin gibi proteinlerin, plateletleri ayrıştırması sonucunda bu büyüme faktörleri açığa çıkarlar (152,153).

PRP, insan veya hayvanlarda tam kandan elde edilen otolog bir kan ürünüdür. İlk kez 1970'lerin başında, çok bileşimli kan ürünlerinin yan ürünü olarak geliştirilmiş, 1990'larda ise içerdiği bazı elementlerin, doğal iyileşmede görev aldığı, yaraya konsantre bir şekilde uygulandığında iyileşmenin hızlandığı fark edilmiştir (15). Otolog olması nedeniyle alerjik reaksiyon ihtimali çok düşüktür, kolay ulaşılır ve hızlı hazırlanır. Kullanım amacı; fizyolojik konsantrasyonların üstünde büyüme faktörü salınımı gerçekleştirip hasar tamirini direkt ve indirekt yollarla hızlandırmaktır. Ayrıca oksidatif stres ve reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunu azalttığı, çeşitli antioksidan enzimlerin salınımını düzenlediği de bildirilmiştir (16,17,154).

2.4.1. Plateletlerin İçerdiği Büyüme Faktörleri ve Etki Mekanizmaları

Platelet Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF): Embriyonik gelişim, migrasyon, hücre proliferasyonu ve anjiogenez için önemlidir. Fibroblast, düz kas ve gliya hücreleri üzerinde mitojenik etkilidir (155,156).

Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta 1 ve 2 (TGF- β 1 ve TGF- β 2): Yara iyileşmesinin tüm evreleri, anjiogenez, reepitelizasyonda etkilidir (157). Başta PDGF

olmak üzere, büyüme faktörlerinin etkilerini destekler. Undiferansiye mezenkimal hücre proliferasyonunu stimüle eder, ekstraselüler matriks üretimini artırır, endotelial kemotaksisi uyarır, makrofaj ve lenfosit proliferasyonunu inhibe eder (158).

Temel Fibroblast Büyüme Faktörü (bFGF): Endotel hücre proliferasyonu ve migrasyonunu uyararak anjiogeneze etkilidir. TGF- β ve PDGF ile etkileşerek kas kök hücrelerinin artışı destekler (159).

Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF): Anjiogenezin en güçlü stimülatörü olan VEGF, endotel hücre mitogenez ve migrasyonunu, vaskülogenezisi destekler. Vazodilatör ve vasküler geçirgenlik artırıcı etkisi vardır (157,160).

Epidermal Büyüme Faktörü (EGF): Epitelial hücreler ve fibroblastlar üzerinde mitojeniktir, proliferasyonu uyarır, reepitelizasyonda görevlidir. Ayrıca fibronektin, laminin, kollajenler ve glikozaminoglikanların sentez ve dönüşümünde etki gösterir (160).

İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1 ve 2 (IGF-1 ve IGF-2): Osteoblastların büyüme farklılaşmasını uyarır, kondroblastik büyüme ve metabolizmanın düzenlenmesini sağlar (151).

2.4.2. PRP Hazırlama Teknikleri

PRP, hastanın kendi kanından hazırlanan otolog bir kan ürünüdür. İçermesi gereken platelet miktarı konusunda fikir birliği olmasa da genel kanı, etkin bir tedavi için PRP'de 1,000,000 / μ l'den fazla platelet konsantrasyonu olması gerektiğidir (161,162).

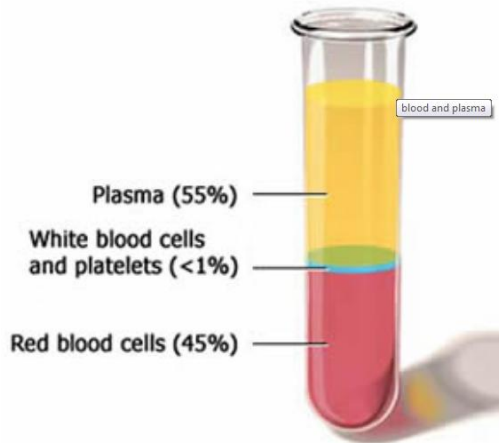
PRP hazırlamak için kullanılabilecek teknikler:

- Laboratuvar koşullarında, kanın santirfüjü sonrası manuel yolla PRP'nin ayrıştırıldığı tek çevirmeli yöntem

- Ticari kitler ile otomasyon makinelerle elde edilen çift çevirmeli yöntem
- Ticari teknolojilerle kanın filtre edilmesi yöntemi

Tek çevirmeli yöntemle, normal platelet konsantrasyonunun 1-3 katı elde edilirken, çift çevirmeli yöntemde 5-8 kat platelet konsantrasyonuna ulaşılabilir. Ayrıca çift çevirmeli yöntemde, tam kanın %10'u kadar platelet konsantrasyonu sağlanabilirken, aynı miktarda PRP elde etmek için tek çevirmeli yöntemde daha fazla tam kana ihtiyaç duyulmaktadır (163).

Santirfüj süresi ve hızı için ortak bir değer yoktur, pek çok yayında pek çok farklı hız ve süre tariflenmektedir. Ortak yöntem; koagülasyonu önlemek amacıyla antikoagülan sitrat dekstroz fosfat (ACD-A) (153) veya sodyum sitrat (164-166) içeren tüplere hastadan tam kan alındıktan sonra, önce düşük devirde daha uzun süre, ikinci aşamada daha yüksek devirde daha kısa süre santirfüj edilmesidir. Eritrositleri ayırmak için yapılan ilk santirfüj sonrası plazmanın tamamı ve buffy-coat toplanıp ayrı bir tüpe ayrılır. İkinci santirfüj sonrası üstte kalan plazma uzaklaştırıldığında, PRP hazır hale gelir (164,166) (Şekil 2.12). Kullanımdan hemen önce, aktivasyon amacıyla %10'luk kalsiyum klorit veya trombin kullanılmasını öneren araştırmacılar var ise de (167) bu konuda da standart bir uygulama yoktur. Uygulamadan hemen önce yapılmasının nedeni, aktivasyon sonrası hazırlanan PRP'nin 1-2 dakika içinde katı jel kıvamına geçerek enjekte edilemez hale gelmesidir (167).



Şekil 2.12. Tam kanın santrifüj edilmesinden sonra; en üstte plateletten fakir plazma, ortada lökosit ve plateletten zengin buffy coat (PRP), en altta eritrositler (168).

2.4.3. Klinikte PRP Kullanım Alanları

- Orto/Spinal cerrahi: Kalça ve diz ameliyatları, spinal füzyon, fiksasyon ameliyatları, laminektomi, el ve ayak cerrahisi (15).
- Fizik tedavi ve rehabilitasyon: Eklem ve kıkırdak onarımı, osteoartrit (169).
- Plastik cerrahi: Deri greft ve flapleri, kemik greftleri, metal implantlar, doku genişletilmesi, diabetik ülser tedavisi (15,170).
- Kozmetoloji: Alopesi (171), kırışıklık tedavisi
- Oral ve maksillofasial cerrahi: Diş implantlarında yapıştırıcı (172), mandibular rekonstrüksiyon, alveolar yarık onarımı, oral-nazal fistül onarımı (173,174).
- Nöroşirurji: İntradural ve dural tümörlerin uzaklaştırılması, omurilik sıvı sızıntısının önlenmesi (15).
- Üroloji: Retropubik prostatektomi, üretra anastomozu ve mesane ameliyatlarında kanama kontrolü (15).
- Kulak-Burun-Boğaz: Boyun diseksiyonları, fasiyal kırık ve rekonstrüksiyon (15).
- Oftalmoloji: Kornea ülseri (175), kuru göz sendromu (176).
- Spor hekimliği: Ligament ve tendon yırtıkları (159,177).
- Veteriner cerrahi: Atlarda tendinit tedavisi, yara iyileşmesini hızlandırıcı etkisiyle de özellikle at ve köpeklerde kullanılmaktadır (15).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylanmış (Proje no: DA17/24) ve Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu'na desteklenmiştir.

3.1. Deney Hayvanları

Deneysel testis torsiyonu modeli için deney hayvanları, Başkent Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Deney grupları için 33 adet sekiz hafta (prepubertal) yaşında, 111 – 183 gram ağırlığında, kontrol grubu için 7 adet yaşları oniki hafta olan, 180 – 231 gram ağırlığında *Wistar Albino* erkek sıçan kullanıldı.

Bütün deney hayvanları, ameliyat öncesi ve sonrası dönemlerde vivaryumda 12 saatlik gece/gündüz döngüsünde, 20 – 24°C oda sıcaklığında ve %50 ± 10 nemli ortamda barındırıldı. Sıçanlar, standart yem ile beslendi. Deney hayvanlarına, yem ve su kısıtlaması uygulanmadı.

Çalışmada kullanılan sıçanlar, rastgele seçilerek beş çalışma ve bir PRP hazırlama grubuna ayrıldı;

- Kontrol Grubu (K, n=7)
- Sham Grubu - 3 Saatlik Torsiyon (SHM-3, n=7)
- Sham Grubu - 5 Saatlik Torsiyon (SHM-5, n=7)
- PRP Grubu - 3 Saatlik Torsiyon (PRP-3, n=7)
- PRP Grubu - 5 Saatlik Torsiyon (PRP-5, n=7)
- PRP Hazırlama Grubu (n=5)

3.2. Anestezi

Deney boyunca, her türlü cerrahi işlem anestezi altında uygulandı. Deney hayvanlarının cerrahi anestezi derinliğine ulaşması amacıyla dissosiyatif anestezik

bir ilaç olan Ketamin Hidroklorür (Ketasol %10, İnterhas Tıbbi ve Kimyevi Ürünler San. ve Tic. A.Ş, Türkiye) 60 mg/kg dozunda ve intraperitoneal (i.p.) yoldan, düz kas gevşetici ve sedatif olarak Xylazin Hidroklorid (Alfazyne %2, Ege Vet Hayvancılık San. Ve Tic. Ltd. Şti, Türkiye) 10 mg/kg dozunda ve i.p. yoldan uygulanmıştır (Şekil 3.1 ve 3.2).



Şekil 3.1. Anestezik ilaçlar.



Şekil 3.2. Sıçanlara i.p. yoldan anestezi uygulaması.

3.3. Plateletten Zengin Plazma Hazırlanışı ve Platelet Konsantrasyonu

Plateletten zengin plazma, insanlarda otolog bir kan ürünü olarak hazırlanır. Ancak sıçanlarda kuyruk veninden alınan kan miktarı, PRP hazırlamak için yetersiz olduğu için Sekerci ve ark'nın (17) uyguladığı yöntemi kullandık. Bu yöntemle aynı cins, cinsiyet ve yaş grubundaki farklı sıçanlardan intrakardiyak yoldan alınan kandan PRP hazırlanmıştır.

Alınan 20 ml kanın 2 ml'si tam kan sayımı için rutin kullanılan etilen diamintetraasetik asit (EDTA) içeren tüpe ayrıldı, ancak deney laboratuvarında tam kan sayımı cihazı bulunmaması nedeniyle, deney sonlandıktan yaklaşık 2 saat sonra sayım yapılabilirdi. Bu süreçte pıhtılaşma olmasına rağmen platelet konsantrasyonu istenen değerlere yakın olarak, 669,000 / μ l olarak saptandı. Örnek alındıktan sonra hemen çalışılmaması nedeniyle, yalancı trombositopeni nedenlerinden biri olan EDTA'lı tüpte bekleme sürecinde trombosit kümelerinin oluştuğu (178,179), kan sayım

cihazının da kümeleri tek trombosit olarak okuduğu bilindiğinden, ölçümün ilk anda yapılması durumunda bulunan değerden yüksek sonuçlanacağı düşünüldü.

Tam kan sayımı için ayrılan kandan geriye kalan 18 ml kan, ticari PRP kitinin (İ-Stem PRP Kit, Intraline Pharma – Health, Türkiye) tek kullanımlık özel dizayn edilmiş PRP hazırlama tüpüne alındı (Şekil 3.3). Ticari kitin hazırlanma talimatlarına göre üzerine pıhtılaşmayı önlemek amacıyla 2 ml ACD-A eklenerek 20 ml'ye tamamlandı (Şekil 3.4). Sistem için uygun cihazda (Model 800D Centrifuge CE, Auger Certification & Testing Cervice LTD, London), 15 dakika 3500 rpm'de santrifüj edildi (Şekil 3.5). Sonrasında en üstte plateletten fakir plazma, ortada lökosit ve plateletlerden oluşan buffy coat (PRP) ve en altta eritrositler olmak üzere üç kısma ayrılan kanın, buffy coat tabakası enjektöre çekilerek kullanıma hazır hale getirildi (Şekil 3.6). Hazırlanan PRP, bekletilmeden detorsiyon işlemi sonrası PRP uygulaması yapılacak sıçanların testis parankimlerine, detorsiyon işleminden hemen sonra uygulandı.



Şekil 3.3. Santrifüj öncesi PRP kitine alınan tam kan.



Şekil 3.4. Pıhtılaşma önleyici antikoagülan sitrat dekstroz fosfat.



Şekil 3.5. Santrifüj cihazı.



Şekil 3.6. Santrifüj sonrası tam kanın katmanlara ayrılması. Siyah yıldız; plateletten fakir plazma, beyaz ok; buffy coat (PRP), beyaz yıldız; eritrositler.

3.4. Deney Modeli

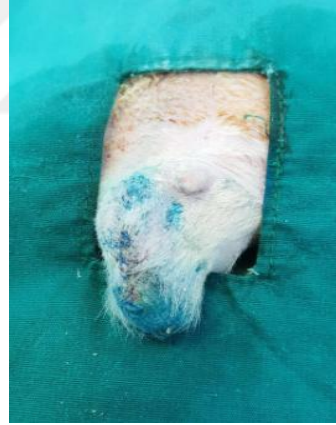
Deney hazırlık sürecinde tüm sıçanlara aynı işlemler uygulandı. Anestezi verildikten sonra skrotal bölge tüyleri tıraş edildi (Şekil 3.7). Sıçanlar, supin pozisyonda dört ekstremiteden tespit edildikten sonra, tıraş edilen bölge %10'luk Polivinilpirolidon iyot (Isosol, Merkez Laboratuvarı İlaç Sanayi, Türkiye) ile dezenfeksiyon yapıldı. Sağ skrotal vertikal 1 cm'lik insizyon ile skrotuma girildi. Sağ testis, epididim, spermatik kord ve elemanları dışarı alındı. Testis posteriorunda bulunan ve testisi sabitleyen

ince yapışıklıklar ayrılarak testis serbestleştirildikten sonra saat yönünde 720° döndürülerek torsiyon oluşturuldu. Testis, skrotum duvarına non-travmatik 5/0 Prolen dikiş ile tespit edilip insizyon kapatılarak belirlenen sürelerde torsiyone halde bekletildi (Şekil 3.8). Bekleme süresi boyunca tüm sıçanlar, i.p. Fentanil (Talinat, Vem İlaç San. Ve Tic. Ltd. Şti, Türkiye) ek dozları (3 x 0,02 mg/kg) ile uyutulmaya devam etti. Süreler dolduktan sonra eski insizyondan girildi, tespit dikişi alınarak detorsiyon işlemi uygulandı. Belirlenen prosedürler uygulandıktan sonra, testisler anatomik pozisyona yerleştirilip skrotum cildi 3/0 ipek sütür ile devamlı kapatıldı. Tüm sıçanlara cerrahi sonrası profilaksi amaçlı Enrofloksasin (Menafloks %10, İ. E. Ulagay, Türkiye) 0,05 mg/kg dozda i.p. uygulandı.

Yirmi sekiz günlük bekleme süresinin sonunda, hayvanların yaşı on iki hafta olduğunda, eski insizyon bölgesinden girildi. Sağ testis, sağ epididim ve sağ spermatik kord total olarak eksize edildi.



Şekil 3.7. Cerrahi bölge hazırlığı.



Şekil 3.8. Torsiyon sonrası bekleme sürecinde cerrahi alan.

3.4.1. Kontrol Grubu (K)

Yaşları 12 hafta olan, 7 adet sıçanın skrotum cildi açıldıktan sonra, sağ testis, sağ epididim, sağ spermatik kord ve elemanları serbestleştirildi. Hiçbir ek işlem uygulanmadan sağ testis, sağ epididim, sağ spermatik kord ve elemanları toplam olarak eksize edildi. Testis boyut (en x boy) (Şekil 3.9), toplam ağırlık ve hacim

ölçümleri alındıktan sonra bekletilmeden %10'luk formaldehit solüsyonu içinde muhafaza edilerek makroskobik ve mikroskobik incelemeye alındı.



Şekil 3.9. Testis boyut ölçümünde kullanılan elektronik hassas ölçüm aleti.

3.4.2. Deneysel Sham Grubu – 3 Saatlik Torsiyon Modeli Oluşturulması (SHM-3)

Yaşları 8 hafta olan, 7 adet sıçanın skrotum cildi açıldıktan sonra, sağ testis, sağ epididim, sağ spermatik kord ve elemanları serbestleştirildi. Saat yönünde 720° döndürüldükten sonra (Şekil 3.10) skrotuma tespit edilip insizyon kapatıldıktan sonra 3 saat boyunca beklendi. Üç saatlik bekleme sürecinde ek anestezi dozları ile sıçanlar uyutuldu. Üç saatlik torsiyonun sonunda tespit dikişi alınıp saatin tersi yönünde, normal aksına dönecek şekilde detorsiyon yapıldı (Şekil 3.11). Yapılar anatomik pozisyonuna yerleştirildikten sonra skrotum cildi kapatıldı.



Şekil 3.10. Saat yönünde torsiyon işlemi uygulaması. Siyah ok; döndürülen kord ve elemanları.



Şekil 3.11. Torsiyon süresi sonunda skrotumun açılması ve testisin görünümü.

3.4.3. Deneysel Sham Grubu – 5 Saatlik Torsiyon Modeli Oluşturulması (SHM-5)

Yaşları 8 hafta olan, 7 adet sıçanın skrotum cildi açıldıktan sonra, sağ testis, sağ epididim, sağ spermatik kord ve elemanları serbestleştirildi. Saat yönünde 720° döndürüldükten sonra skrotuma tespit edilip insizyon kapatılarak 5 saat boyunca beklendi. Beş saatlik bekleme sürecinde ek anestezi dozları ile sıçanlar uyutuldu. Beş saatlik torsiyonun sonunda tespit dikişi alınıp saatin tersi yönünde, normal aksına dönecek şekilde detorsiyon yapıldı. Yapılar anatomik pozisyonuna yerleştirildikten sonra skrotum cildi kapatıldı.

3.4.4. Deneysel PRP Grubu – 3 Saatlik Torsiyon Modeli Oluşturulması (PRP-3)

Yaşları 8 hafta olan, 7 adet sıçanın skrotum cildi aıldıkdan sonra, sağ testis, sağ epididim, sağ spermatik kord ve elemanları serbestleştirildi. Saat yönünde 720° döndürüldükten sonra skrotuma tespit edilip 3 saat boyunca beklendi. Üç saatlik bekleme sürecinde ek anestezi dozları ile sıçanlar uyutuldu. Anestezi sürecinde 1 adet sıçan kaybedildi ve çalışmaya 6 adet sıçanla devam edildi. Üç saatlik torsiyonun sonunda tespit dikişi alınıp saatin tersi yönünde, normal aksına dönecek şekilde detorsiyon yapıldı. Detorsiyon işleminden hemen sonra, sağ testis parankimine, insülin enjektörü ile 100 µl PRP verildi. Yapılar anatomik pozisyonuna yerleştirildikten sonra skrotum cildi kapatıldı.

3.4.5. Deneysel PRP Grubu – 5 Saatlik Torsiyon Modeli Oluşturulması (PRP-5)

Yaşları 8 hafta olan, 7 adet sıçanın skrotum cildi aıldıkdan sonra, sağ testis, sağ epididim, sağ spermatik kord ve elemanları serbestleştirildi. Saat yönünde 720° döndürüldükten sonra skrotuma tespit edilip 5 saat boyunca beklendi. Beş saatlik bekleme sürecinde ek anestezi dozları ile sıçanlar uyutuldu. Beş saatlik torsiyonun sonunda tespit dikişi alınıp saatin tersi yönünde, normal aksına dönecek şekilde detorsiyon yapıldı. Detorsiyon işleminden hemen sonra, sağ testis parankimine, insülin enjektörü ile 100 µl PRP verildi (şekil 3.12). Yapılar anatomik pozisyonuna yerleştirildikten sonra skrotum cildi kapatıldı.



şekil 3.12. PRP-5 grubu, detorsiyon sonrası testis parankimi içine PRP enjeksiyonu.

Sham–3 saat, Sham–5 saat, PRP–3 saat ve PRP–5 saat gruplarında, 28 günlük izlem süresi bitiminde, sıçanların yaşları 12 hafta olduğunda, aynı deney hazırlık işlemleri uygulanarak, eski insizyondan girildi. Sağ testis, sağ epididim, sağ spermatik kord ve elemanları izole edildikten sonra toplam olarak eksize edildi. Testis boyut (en x boy) ve toplam ağırlık ölçümleri alındıktan sonra bekletilmeden %10'luk formaldehit solüsyonu içinde muhafaza edilerek makroskobik ve mikroskobik incelemeye alındı.

3.4.6. Deneysel PRP Hazırlama Grubu

Aynı cins, yaş ve cinsiyetteki 5 adet sıçandan, intrakardiyak yoldan toplam 20 ml kan alındı. Bu kandan 2 ml, platelet konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla tam kan sayımı yapılmak üzere EDTA'lı tüpe alındı. Kalan 18 ml kan, PRP elde edilmesi amacıyla ayrıldı.

3.5. Histopatolojik İnceleme

Histopatolojik incelemeler, başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı tarafınca yapıldı. Her hayvandan elde edilen sağ testis, sağ epididim ve sağ spermatik kord, % 10'luk formaldehit solüsyonu içine alınarak patoloji laboratuvarına gönderildi. Dokuların tamamına aynı noktadan olacak şekilde boyuna kesit uygulandı ve doku takibe alındı. Sonrasında parafin bloğa gömülen dokulardan 5 mikron kalınlığında kesitler alınıp deparafinize edildikten sonra hematoksilin-eozin (HE) ve periyodik asit – Schiff (PAS) boyamaları yapıldı. Histopatolojik değişiklikler, tek ve aynı patolog tarafından, ışık mikroskobu ile değerlendirildi. Kesitler; seminifer tübül çapı, lümen açıklığı, tübül başına sertoli hücre sayısı, spermatid varlığı, germ hücre varlığı, bazal lamina bütünlüğü, germinal epitelde dökülme, testis dokusu içerisinde sperm varlığı açısından incelenerek derecelendirildi. Histolojik değerlendirmede, *Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru* ve *Cosentino Sınıflamasına* göre incelendi. İncelenen parametreler aşağıda verilmiştir.

- Toplam (testis, epididim, spermatik kord) ağırlık (gr)
- Testis boyutu (en x boy) (mm)

- Tübül çapı (mm) (heterojen verilerde ağırlıklı ortalamaları alınarak hesaplandı)
- Tübül başı sertoli hücre sayısı (heterojen verilerde ağırlıklı ortalamaları alınarak hesaplandı)
- Lümen açıklığı:
 - 0: Lümen açıklığı yok
 - 1: Lümen açıkBir kısmı açık olanlarda ise oran verildi (Örneğin; % 70 açıklık varsa 0,7)
- Spermatid varlığı:
 - 0: Yok
 - 1: Az sayıda var
 - 2: Var
 - 3: Çok sayıda var
- Germ hücre sayısı:
 - 0: Yok
 - 1: Minimum var
 - 2: Az sayıda var
 - 3: Yeterli sayıda var
- Bazal lamina bütünlüğü:
 - 0: Bütünlük bozulmuş
 - 1: Bazal lamina korunmuşBir kısmı korunmuş olanlarda ise oran verildi (Örneğin; % 70 korunmuşsa 0,7)
- Germinal epitelde dökülme:
 - 0: Dökülme yok
 - 1: Kısmen dökülme var
 - 2: Dökülme var
 - 3: Hiç epitel kalmamış
- Sperm varlığı:
 - 0: Sperm yok
 - 1: Az sayıda sperm var
 - 2: Yeterli sayıda sperm var

➤ **Cosentino Sınıflaması** (180)

Evre 1: Düzenli sıralı germ hücreleri ile birlikte normal testis dokusu

Evre 2: Daha az düzenli germ hücreler, düzensiz yaklaşmış seminifer tübüller

Evre 3: Düzensiz germ hücreleri, küçülmüş piknotik çekirdek ve sınırları bozulmuş seminifer tübüller

Evre 4: Düzensiz, koagülasyon nekrozu oluşmuş germ hücreleri ile dolu seminifer tübüller

Heterojen veriler bulunan deneklerde ise ağırlıklı ortalamaları alınarak hesaplandı.

➤ **Johsen Testiküler Biyopsi Skoru** (181)

Skor 10: Komplet spermatogenez, lümeninde çok sayıda sperm varlığı, normal ve düzgün yükseklikte germinal epitel, normal çaplı seminifer tübül lümeni

Skor 9: Çok sayıda sperm, disorganize germinal epitel, oblitere tübüler lümen

Skor 8: Tübüler kesit başına 5 ± 10 'dan daha az sperm

Skor 7: Sperm yok, çok sayıda spermatid, spermatosit ve spermatogonia

Skor 6: Sperm yok, 5 ± 20 spermatid, çok sayıda spermatosit ve spermatogonia

Skor 5: Sperm ve spermatid yok, çok sayıda spermatosit ve spermatogonia

Skor 4: Sperm ve spermatid yok, spermatosit 5'den az, fakat çok sayıda spermatogonia

Skor 3: Sadece spermatogonia

Skor 2: Germinal hücreler yok, sadece Sertoli hücreleri var (Sertoli cell only sendromu)

Skor 1: Tübüllerde hiç hücre yok

Heterojen veriler bulunan deneklerde ise ağırlıklı ortalamaları alınarak hesaplandı.

3.6. İstatistiksel Analiz

Çalışma kapsamında elde edilmiş sayısal parametreler için parametrik test varsayımları sağlanıyorsa tanımlayıcı istatistik olarak ortalama \pm standart sapma, sağlanmıyorsa medyan ve minimum-maksimum değerleri; kategorik değişkenler için tanımlayıcı istatistik olarak sayı (n) ve yüzde (%), verilmiştir.

Sayısal parametreler için normallik kontrolü Shapiro-Wilk Normallik testi ile değerlendirilmiştir. Sayısal değişkenlerin gruplarda karşılaştırılmasında parametrik

test varsayımları sağlanıyorsa “Tek Yönlü Varyans Analizi” ve çoklu karşılaştırma Tukey Testi; varsayımlar sağlanmıyorsa “Kruskal-Wallis Testi” ve çoklu karşılaştırma Bonferroni-Dunn Testi kullanılmıştır.

Kategorik verilerin değerlendirilmesinde ise “Fisher-Exact Test” ya da “Genelleştirilmiş Fisher (Fisher-Freeman-Halton) Exact test” kullanılmıştır. Ayrıca gruplar kategorik değişkenler açısından ikili ikili incelendiğinden I. Tip hata üzerinde Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır.

Tüm istatistiksel analizlerde I. Tip hata olasılığı $\alpha=0.05$ olarak belirlenmiş ve analizlerin tamamı SPSS v17.0 (Statistical Package for Social Sciences for Windows version 17.0, Chicago, IL, USA - September 2012 license number:1093910, Baskent University) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

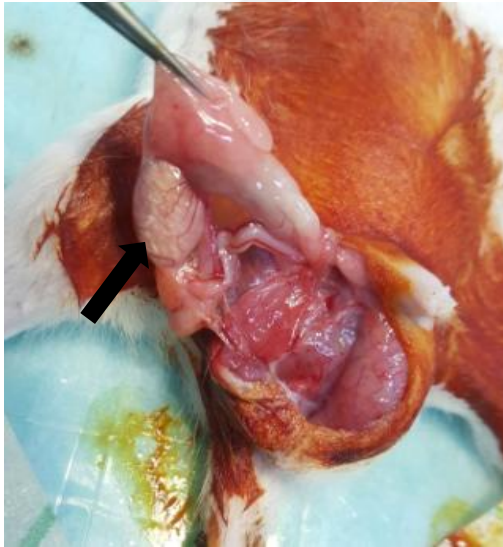
4.1. Gros Bulgular

Kontrol grubunda, orşiektomi öncesi ek cerrahi işlem uygulanmadığı için anormal bulgu saptanmadı.

Sham-3 saatlik torsiyon grubunda, 28 gün sonra deneklerin hiçbirinde testis renk ve boyutlarında belirgin anormallik görülmedi.

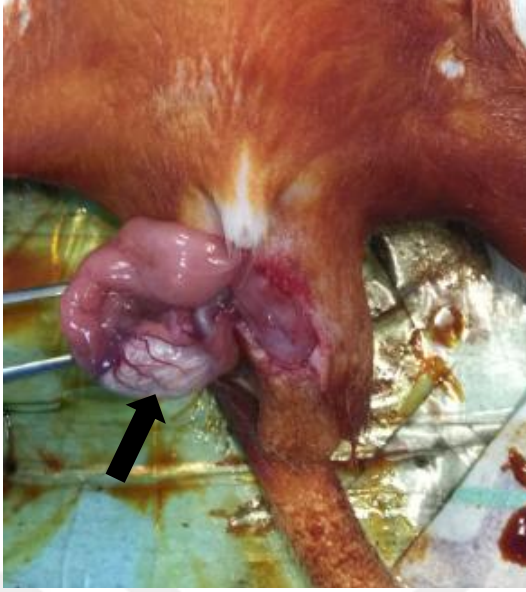
Sham-5 saatlik torsiyon grubunda, 28 gün sonra deneklerin 6 tanesinde testis boyutlarında renk ve boyutlarında belirgin anormallik görülmedi. Sadece 1 denekte testis rengi normal olmasına karşın, boyutlarında belirgin küçülme tespit edildi.

PRP-3 saatlik torsiyon grubunda, 28 gün sonra deneklerin hepsinde testis boyutlarında küçülme olduğu, renginin ise kalsifikasyon benzeri görünüme sahip olduğu görüldü (Şekil 4.1).



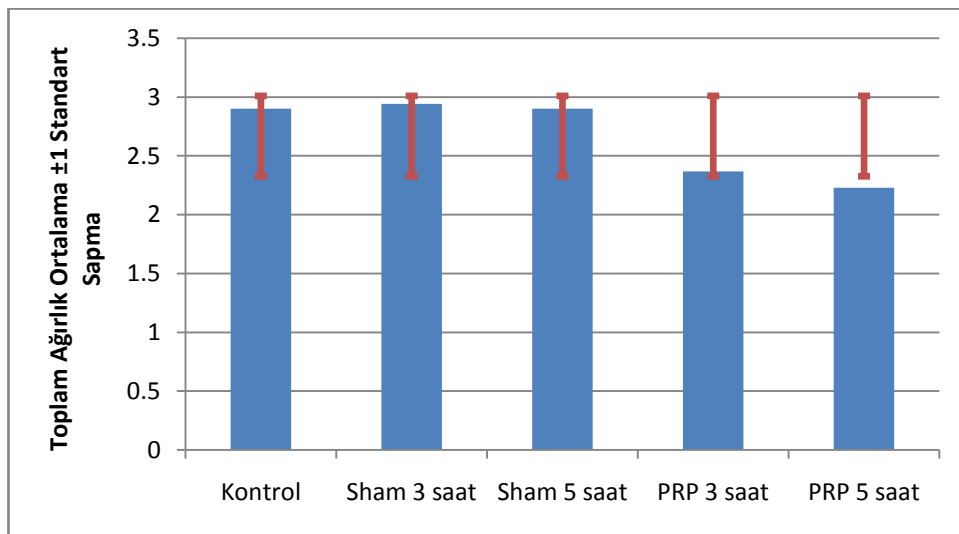
Şekil 4.1. Siyah ok: Sağ testis (boyutlarında küçülme ve kalsifikasyon benzeri renk değişimi)

PRP-5 saatlik torsiyon grubunda, 28 gün sonra deneklerin hepsinde testis boyutlarında belirgin küçülme olduğu, renginin ise belirgin şekilde kalsifikasyon benzeri görünüme sahip olduğu görüldü (Şekil 4.2).



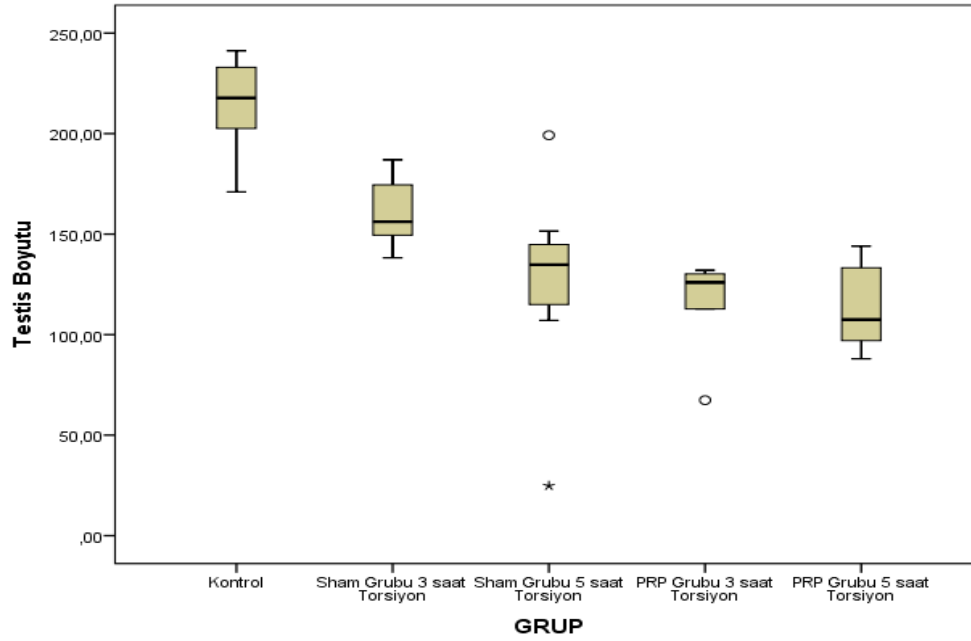
Şekil 4.2. Siyah ok: Sağ testis (boyutlarında belirgin küçülme ve kalsifikasyon benzeri belirgin renk değişimi)

Çıkarılan dokular incelendiğinde toplam ağırlık (testis, epididim, spermatik kord) açısından gruplardan en az ikisi birbirinden istatistiksel olarak farklıdır ($p=0,004$) (Tablo 4.1). PRP-3 ve SHM-3 grupları arasında ikili karşılaştırmada, istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p=0,1$). PRP-5 grubunun ağırlığı, SHM-5 grubundan anlamlı olarak düşüktür ($p=0,03$). PRP-5 grubu; K, SHM-3 ve SHM-5 gruplarından farklılık göstermektedir (Tablo 4.2) (Şekil 4.3). Ağırlık ortalama değeri en küçük olan PRP-5 grubudur.



Şekil 4.3. Grupların toplam ağırlık dağılımı (hata çubuk (error bar) grafiği).

Testis boyutu açısından, gruplardan en az ikisi birbirinden istatistiksel olarak farklıdır ($p < 0,001$) (Tablo 4.1) (Şekil 4.4). PRP-3 ve SHM-3 grupları ile PRP-5 ve SHM-5 grupları arasında ikili karşılaştırmada, istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p = 0,198$ ve $p > 0,05$). Kontrol grubu; SHM-5, PRP-3 ve PRP-5 gruplarından farklılık göstermektedir (Tablo 4.3). Testis boyutu medyan değeri en büyük olan K grubudur.



Şekil 4.4. Grupların testis boyutu dağılımı (kutu çizgi (box plot) grafiği).

Tablo 4.1. Gruplarda toplam ağırlık ve testis boyutu açısından karşılaştırma sonuçları.

	Toplam Ağırlık (gr) Ort±SS	Testis Boyutu (mm) Medyan(Min-maks)
K	2,90±0,370	217,7(171-241,2)
SHM-3	2,94±0,321	156,2(138,2-187)
SHM-5	2,90±0,678	134,8(24,8-199,2)
PRP-3	2,37±0,197	126(67,4-132)
PRP-5	2,23±0,214	107,5(88-144)
p	0,004^a	<0,001^b

a: Varyans Analizi; b: Kruskal-Wallis Testi.

Tablo 4.2. Toplam ağırlık için Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları p değerleri.

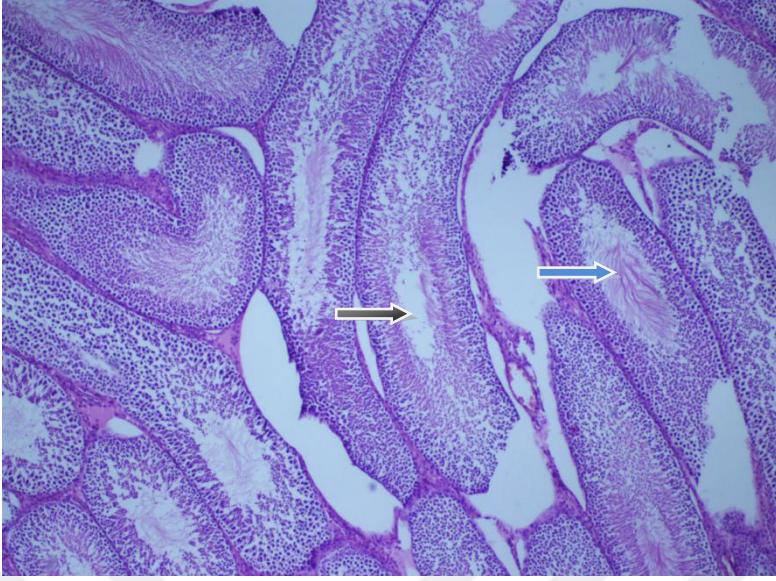
	K	SHM-3	SHM-5	PRP-3	PRP-5
K	-	>0,05	>0,05	0,147	0,030
SHM-3	-	-	>0,05	0,100	0,019
SHM-5	-	-	-	0,147	0,030
PRP-3	-	-	-	-	0,971
PRP-5	-	-	-	-	-

Tablo 4.3. Testis boyutu için Dunn-Bonferroni Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları p değerleri.

	K	SHM-3	SHM-5	PRP-3	PRP-5
K	-	>0,05	0,020	0,002	0,001
SHM-3	-	-	>0,05	0,198	0,157
SHM-5	-	-	-	>0,05	>0,05
PRP-3	-	-	-	-	>0,05
PRP-5	-	-	-	-	-

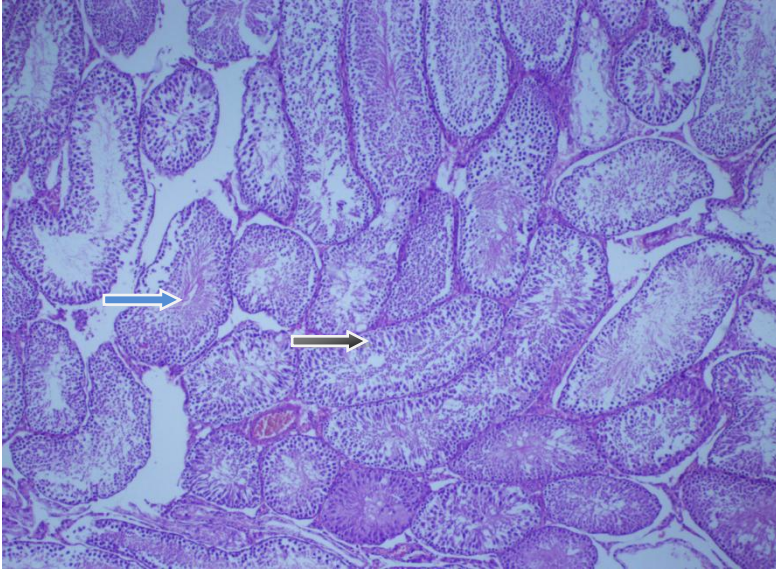
4.2. Mikroskopik Bulgular

Kontrol grubunda; tübül lümenleri açık, maturasyon ve bazal membranlar korunmuş, lümende spermatid ve spermler mevcuttu (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Kontrol grubu. Siyah ok; tübül lümenleri açık. Mavi ok; lümen içinde spermatid ve spermier mevcut (HEx4).

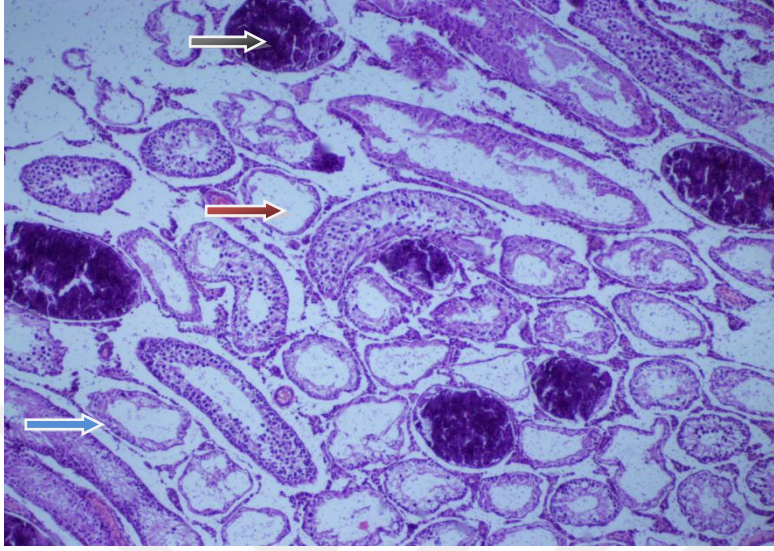
SHM-3 grubunda; Tübül lümenleri açık, bazal membranlar korunmuş, germ hücreleri mevcut, bazı tübül lümenlerinde spermier izlendi (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. SHM-3 grubu. Siyah ok; germ hücreleri. Mavi ok; bazı tübül lümenlerinde görülen spermier (HEx4).

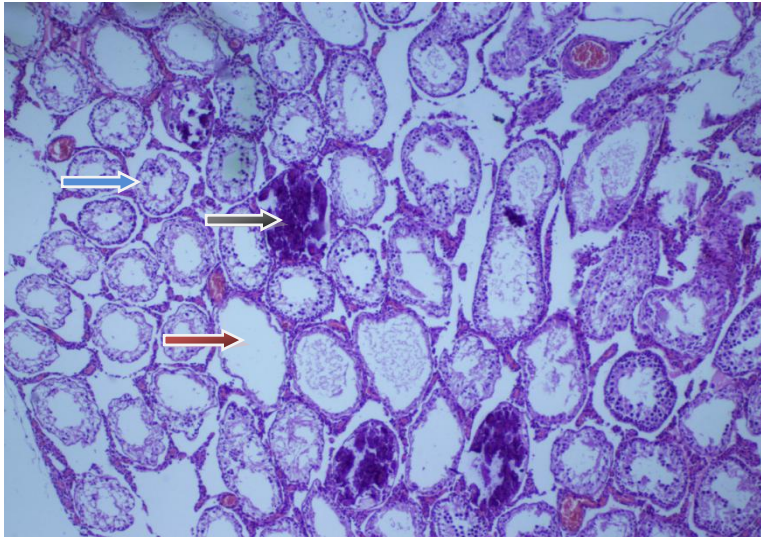
SHM-5 grubunda; Yer yer tübül lümenleri kapalı olup nekrotik debris mevcuttu. Tübülleri çoğunda maturasyon kaybı olup sadece Sertoli hücreleri izlenebildi. Birkaç

tübülde germ hücreleri izlenmekle birlikte, spermatid veya sperm mevcut değildi (Şekil 4.7).



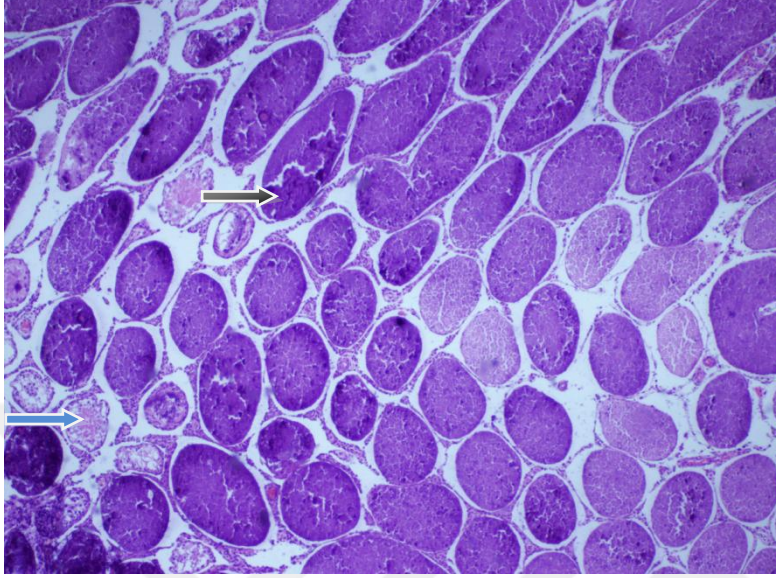
Şekil 4.7. SHM-5 grubu. Siyah ok; nekrotik debris. Mavi ok; Sertoli hücreleri. Kırmızı ok; tübül lümeninde spermatid veya sperm mevcut değil (HEx4).

PRP-3 grubunda; Yer yer tübül lümenleri kapalı, tübüllerin çoğunda maturasyon kaybı mevcut olup spermatid ve sperm varlığına rastlanmadı. Çoğu tübülde sadece Sertoli hücreleri mevcuttu (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. PRP-3 grubu. Siyah ok; kapalı tübül lümenleri. Mavi ok; Sertoli hücreleri. Kırmızı ok; tübül lümeninde spermatid veya sperm mevcut değil (HEx4).

PRP-5 grubunda; Tübül lümenleri tümüyle nekrotik debris ile oblitere görünümde olup çok az tübülde sadece Sertoli hücreleri dikkati çekti (Şekil 4.9).



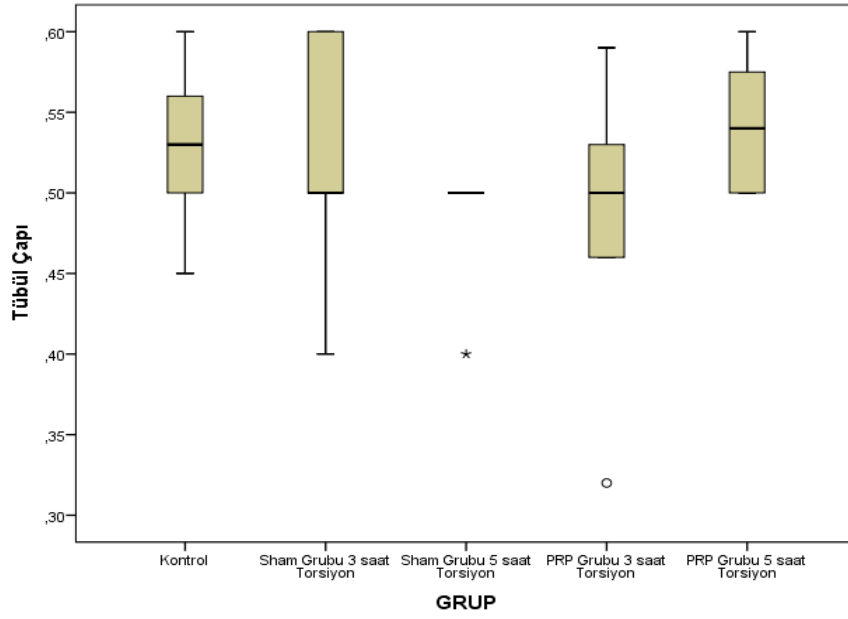
Şekil 4.9. PRP-5 grubu. Siyah ok; nekrotik debris ile oblitere tübül lümenleri. Mavi ok; Sertoli hücreleri (HEx4).

Tübül çapı ve tübül başına düşen Sertoli hücre sayısı incelendiğinde, iki parametre açısından da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla $p=0,234$; $p=0,124$) (Tablo 4.4) (Şekil 4.10 ve Şekil 4.11).

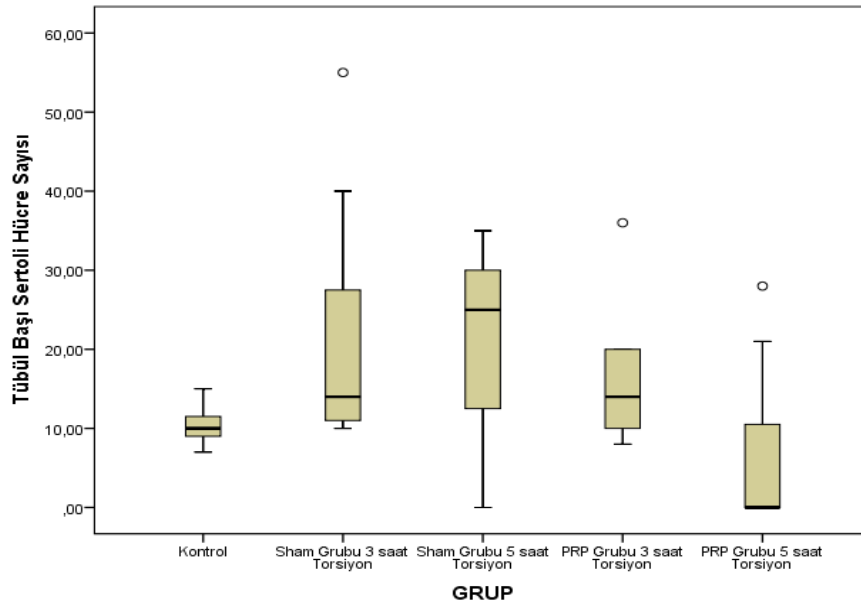
Tablo 4.4. Gruplarda tübül çapı ve tübül başına düşen Sertoli hücre sayısı açısından karşılaştırma sonuçları.

	Tübül Çapı (mm) Medyan(Min-maks)	Tübül Başına Düşen Sertoli Hücre Sayısı Medyan(Min-maks)
K	0,53(0,45-0,60)	10(7-15)
SHM-3	0,50(0,40-0,60)	14(10-55)
SHM-5	0,50(0,40-0,50)	25(0-35)
PRP-3	0,50(0,32-0,59)	14(8-36)
PRP-5	0,54(0,50-0,60)	0(0-28)
p	0,234 ^a	0,124 ^a

a: Kruskal-Wallis Testi.



Şekil 4.10. Grupların tübül çapı dağılımı (kutu çizgi (box plot) grafiği).



Şekil 4.11. Grupların tübül başına düşen sertoli hücre sayısı dağılımı (kutu çizgi (box plot) grafiği).

Dokular, lümen açıklığı açısından incelendiğinde grubun etkisi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,001$). Kontrol ve SHM-3 gruplarının hepsinde lümen açıklığı tam iken, SHM-5, PRP-3 ve PRP-5 gruplarının hiçbirinde tam açıklık yoktur. PRP-5 grubunun %71,4'ünde açıklık yoktur (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Gruplarda lümen açıklığı dağılımları.

	Lümen Açıklığı							
	Yok	0,1	0,2	0,5	0,7	0,8	0,9	Var
K n(%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7 (100)
SHM-3 n(%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7 (100)
SHM-5 n(%)	2 (28,6)	0 (0)	0 (0)	3 (42,9)	2 (28,6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
PRP-3 n(%)	1 (16,7)	1 (16,7)	2 (33,3)	1 (16,7)	0 (0)	0 (0)	1 (16,7)	0 (0)
PRP-5 n(%)	5 (71,4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (14,3)	1 (14,3)	0 (0)	0 (0)

Gruplar, spermatid varlığı açısından incelendiğinde, grubun etkisi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,001$). PRP-3 ve SHM-3 grupları arasında ikili karşılaştırma sonucunda, istatistiksel olarak grubun etkisi önemli değildir ($p = 0,009$). Kontrol grubunun tamamında çok sayıda spermatid varken, SHM-5, PRP-3 ve PRP-5 gruplarının hiçbirinde spermatid yoktur (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Gruplarda spermatid varlığı dağılımları.

	Spermatid Varlığı				p
	Yok	Az	Var	Çok sayıda var	
K n(%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7 (100)	<0,001^a
SHM-3 n(%)	1 (14,3)	1 (14,3)	5 (71,4)	0 (0)	
SHM-5 n(%)	7 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
PRP-3 n(%)	6 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
PRP-5 n(%)	7 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	

a: Fisher-Freeman-Halton Exact Test.

Germ hücre varlığı açısından araştırılan dokularda, grubun etkisi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,001$). PRP-3 ve SHM-3 grupları ile PRP-5 ve SHM-5 grupları arasında ikili karşılaştırma sonuçlarında, istatistiksel olarak grubun etkisi önemli

değildir ($p=0,038$ ve $p=0,231$). Kontrol grubunun hepsinde çok sayıda germ hücre varken, SHM-5 grubunun hiçbirinde germ hücre yoktur (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Gruplarda germ hücre varlığı dağılımları.

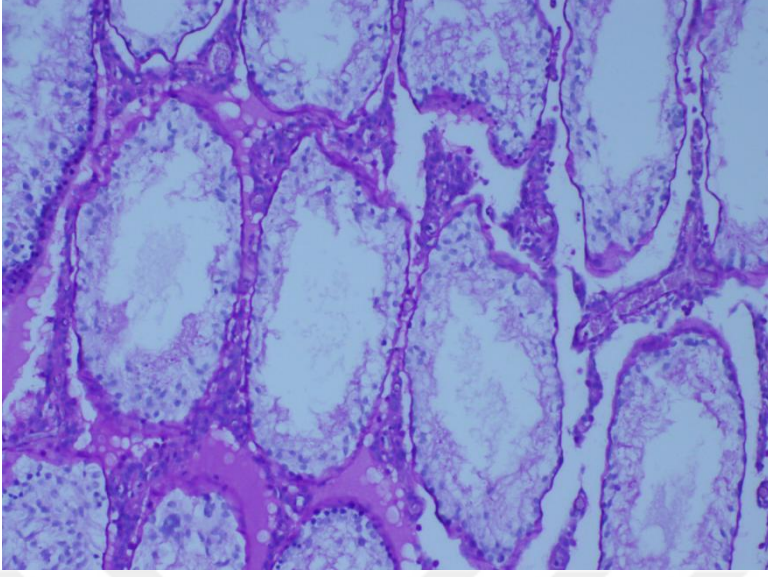
	Germ Hücre Varlığı				p
	Yok	Minimal	Az	Yeterli	
K n(%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7 (100)	<0,001^a
SHM-3 n(%)	0 (0)	1 (14,3)	1 (14,3)	5 (71,4)	
SHM-5 n(%)	7 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
PRP-3 n(%)	1 (16,7)	1 (16,7)	4 (66,7)	0 (0)	
PRP-5 n(%)	5 (71,4)	0 (0)	2 (28,6)	0 (0)	

a: Fisher-Freeman-Halton Exact Test.

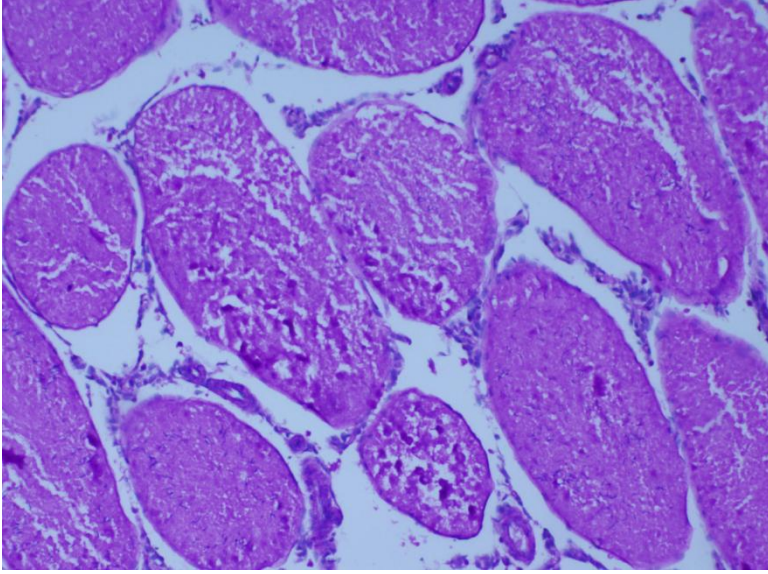
Dokularda bazal lamina bütünlüğü değerlendirilmesinde grubun etkisi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,003$). PRP-3 grubunda bazal lamina bütünlüğü SHM-3 grubuna göre önemli oranda bozulmuştur ($p=0,001$). PRP-5 ve SHM-5 grupları arasında ikili karşılaştırma sonuçlarında ise, istatistiksel olarak grubun etkisi önemli değildir ($p>0,05$) (Tablo 4.8) (Şekil 4.12 ve Şekil 4.13).

Tablo 4.8. Gruplarda bazal lamina bütünlüğü dağılımları.

	Bazal Lamina Bütünlüğü			
	Bozulmuş	0,1 – 0,4	0,5 – 0,9	Korunmuş
K n(%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7 (100)
SHM-3 n(%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7 (100)
SHM-5 n(%)	1 (14,3)	1 (14,3)	2 (28,6)	3 (42,9)
PRP-3 n(%)	0 (0)	3 (50)	3 (50)	0 (0)
PRP-5 n(%)	1 (14,3)	2 (28,6)	2 (28,6)	2 (28,6)



Şekil 4.12. Bazal membran bütünlüğü korunmuş SHM-3 grubu deneği (PASx10).



Şekil 4.13. Bazal membran bütünlüğü bozulmuş PRP-5 grubu deneği (PASx10).

Dokular, germinal epitelde dökülme açısından değerlendirildiğinde grubun etkisi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,001$). PRP-3 grubunda germinal epitel dökülme oranı, SHM-3 grubuna göre fazla bulunmuştur ($p = 0,0047$). PRP-5 ve SHM-5 grupları arasında ikili karşılaştırma sonuçları arasındaki fark anlamlı değildir ($p = 0,231$). Kontrol grubunun tamamında germinal epitelde dökülme hiç yokken, SHM-5 grubunun tamamında epitel hiç kalmamıştır (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Gruplarda germinal epitelde dökülme dağılımları.

	Germinal Epitelde Dökülme				p
	Yok	Kismen	Var	Epitel Hiç Yok	
K n(%)	7 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	<0,001^a
SHM-3 n(%)	4 (57,1)	2 (28,6)	1 (14,3)	0 (0)	
SHM-5 n(%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7 (100)	
PRP-3 n(%)	0 (0)	0 (0)	6 (100)	0 (0)	
PRP-5 n(%)	0 (0)	0 (0)	2 (28,6)	5 (71,4)	

a: Fisher-Freeman-Halton Exact Test.

Dokularda sperm varlığı araştırıldığında, grubun etkisi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$). PRP-3 ve SHM-3 grupları arasında ikili karşılaştırma sonucunda, istatistiksel olarak grubun etkisi önemli değildir ($p=0,009$). Kontrol grubunun tamamında sperm varken, SHM-5, PRP-3 ve PRP-5 gruplarının hiçbirinde sperm yoktur (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. Gruplarda sperm varlığı dağılımları.

	Sperm Varlığı			p
	Yok	Az	Var	
K n(%)	0 (0)	0 (0)	7 (100)	<0,001^a
SHM-3 n(%)	1 (14,3)	1 (14,3)	5 (71,4)	
SHM-5 n(%)	7 (100)	0 (0)	0 (0)	
PRP-3 n(%)	6 (100)	0 (0)	0 (0)	
PRP-5 n(%)	7 (100)	0 (0)	0 (0)	

a: Fisher-Freeman-Halton Exact Test.

Dokularda oluşan histopatolojik hasar tanımı açısından “*Cosentino sınıflaması*”na göre incelendiğinde, gruplardan en az ikisi birbirinden istatistiksel olarak farklıdır ($p<0,001$) (Tablo 4.11). PRP-3 ve SHM-3 grupları ile PRP-5 ve SHM-5 grupları arasında ikili karşılaştırma sonuçlarında ise, istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur

($p=0,473$ ve $p>0,05$). Kontrol grubu; SHM-5 ve PRP-5 gruplarına göre, SHM-3 grubu da; SHM-5 ve PRP-5 gruplarına göre daha iyi evrede bulunmuştur (Tablo 4.12). Kontrol ve SHM-3 gruplarında bulgular daha iyiyken, SHM-5 ve PRP-5 gruplarında daha kötüdür.

Tablo 4.11. Gruplarda “*Cosentino sınıflaması*” açısından karşılaştırma sonuçları.

	Cosentino Sınıflaması Medyan(Min-maks)
K	1(1-1)
SHM-3	2(1-2,9)
SHM-5	3,5(3,3-4)
PRP-3	3,25(2,7-3,8)
PRP-5	4(3,2-4)
p	<0,001^a

a: Kruskal-Wallis Testi.

Tablo 4.12. “*Cosentino sınıflaması*” için Dunn-Bonferroni Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları p değerleri.

	K	SHM-3	SHM-5	PRP-3	PRP-5
K	-	>0,05	0,002	0,068	<0,001
SHM-3	-	-	0,043	0,473	0,006
SHM-5	-	-	-	>0,05	>0,05
PRP-3	-	-	-	-	>0,05
PRP-5	-	-	-	-	-

Dokularda oluşan histopatolojik hasar tanımı açısından “*Johnsen testiküler biyopsi skoru*”na göre incelendiğinde, gruplardan en az ikisi birbirinden istatistiksel olarak farklıdır ($p<0,001$) (Tablo 4.13). PRP-3 ve SHM-3 grupları ile PRP-5 ve SHM-5 grupları arasında ikili karşılaştırma sonuçlarında ise, istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p=0,420$ ve $p>0,05$). PRP-5 grubu; SHM-3 ve K gruplarından, SHM-5 grubu; SHM-3 ve K gruplarından, PRP-3 grubu; K grubundan olumsuz yönde farklılık göstermektedir (Tablo 4.14).

Tablo 4.13. Gruplarda “*Johnsen testiküler biyopsi skoru*” açısından karşılaştırma sonuçları.

	Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru Medyan(Min-maks)
K	10(10-10)
SHM-3	8(2,6-10)
SHM-5	1,5(1-1,7)
PRP-3	1,88(1,25-2,7)
PRP-5	1(1-3,4)
p	<0,001^a

a: Kruskal-Wallis Testi.

Tablo 4.14. “*Johnsen testiküler biyopsi skoru*” için Dunn-Bonferroni Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları p değerleri.

	K	SHM-3	SHM-5	PRP-3	PRP-5
K	-	>0,05	0,002	0,044	0,001
SHM-3	-	-	0,033	0,420	0,018
SHM-5	-	-	-	>0,05	>0,05
PRP-3	-	-	-	-	>0,05
PRP-5	-	-	-	-	-

5. TARTIŞMA

Testis torsiyonu, tanı konulduğu anda acil cerrahi müdahale gerektiren ürolojik hastalıklardan biridir. Ancak detorsiyon işlemi uygulanmasına karşın, bu süreçte gelişen iskemik hasar ve sonrasındaki reperfüzyon hasarının engellenememesi, testiste kalıcı hasarı arttırmaktadır. Bu hasarların azaltılmasına yönelik destek medikal tedavi arayışı devam etmektedir. Pek çok tedavi yöntemi araştırılmış ancak halen kabul görmüş ve rutin uygulamaya geçilmiş bir ajan bulunamamıştır. Biz de, PRP'nin TT'nin histopatolojik bulguları üzerindeki etkinliğini araştırmak amacıyla bu çalışmayı planladık.

Testis torsiyonu modelini oluşturmak yönünde farklı yaklaşımlar literatürde tanımlanmıştır. Tek ve kesin bir yöntem olmaması nedeniyle biz de literatürde tanımlanan yöntemlerden uygun olanları seçtik. Deneysel çalışmalarda, 360^0 (182) ve 1080^0 (183,184) uygulanan torsiyon modelleri olsa da, genellikle kullanılan 720^0 torsiyon derecesi, bizim çalışmamızda da uygulandı (2,17,119,185,186). Literatürde, skrotal kesi yöntemi olarak subinguinal skrotal (17), orta hat vertikal (185-187) veya hemiskrotal/paramedian vertikal insizyon (188,189) kullanılmışken, çalışmamızda sağ testis torsiyon modeli için yeterli görüş alanı ve çalışma sahası sağlayan ve eş zamanlı sol testise hasar riski en düşük sağ hemiskrotal vertikal kesi tercih edilmiştir. Torsiyon oluşturulduktan sonra, bazı çalışmalarda testis skrotum duvarına tek dikişle (17,187,188), bazı çalışmalarda ise iki ayrı yerden tespit edilmiştir (189). Bizim çalışmamızda ise, testisi mümkün olduğunca az travmatize ederek sabitlemeye yeterli olan tek dikişle tespit yöntemi kullanılmıştır. Yine yapılan çalışmalarda, 1 saat (189,190), 1,5 saat (188), 3 saat (58,59), 4 saat (17,186,187), 5 saat (58,180), 9 saat (58,73,180), 12 saat (58,180) gibi farklı torsiyon süreleri uygulanmıştır. Literatürdeki çalışmalarda kritik zaman sınırı olarak kabul edilen 4 saatlik torsiyon süresi hasarın geri dönüşümlü olup olmaması açısından çalışmamızda eşik kabul edilmiştir. Dört saatten uzun süreyle 720^0 torsiyone olan testislerde fokal infarktüsler meydana geldiği bildirilmiştir (59,191). Bu eşik değerini temel alarak, geri dönebilir hasar açısından 3 saatlik torsiyon grubu ve geri dönüşümsüz hasar açısından 5 saatlik torsiyon grubu oluşturulmuştur. Bu teoriye uygun olarak, 3 saatlik TT grubunun

(SHM-3) uzun dönemlik takipte (28 gün) alınan sonuçlarının, 5 saatlik TT grubunun (SHM-5) uzun dönemlik takipte (28 gün) alınan sonuçlarına göre daha iyi olduğu görülmüştür. SHM-3 grubu ile K grubu arasında hiçbir parametrede istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmaması, TT tedavisinde ilk 3 saatte yapılan müdahalenin kritik olduğunu, hasarın geri dönebildiğini desteklemektedir.

Benzer şekilde reperfüzyon hasarı değerlendirmesi için literatürde, detorsiyondan hemen sonra (190), 15 dakika sonra (190), 2 saat sonra (189), 4 saat sonra (187), 24 saat sonra (188), 14 gün sonra (190), 4 hafta sonra (16,17) ve 6 hafta sonra (16) gibi farklı bekleme süreleri sonunda orşiektomi yapılan çalışmalar mevcutken, çalışmamızda kronik hasar tespiti için 28 gün (4 hafta) sonra orşiektomi uygulanmıştır. Ayrıca, testise doksorubisin hidroklorür maruziyeti sonrası PRP uygulamasının etkilerini araştıran Valeriy ve ark, farklı gruplarda 4 ve 6 haftalık takip sonrası orşiektomi uygulayarak histopatolojik inceleme yapmışlar, ancak PRP uygulanan gruplarda 4 haftalık ve 6 haftalık takip sürelerinin sonunda, gruplar arasında anlamlı fark tespit etmemişlerdir (16).

Testis torsiyonunda, PRP enjeksiyon yönteminin kesin doz aralığını gösteren çalışmalar yoktur. Sekerci ve ark, TT'de PRP etkinliği araştırmalarında intratestiküler olarak 10 µl PRP enjekte etmişler ve sonuçlarını olumlu bulmuşlardır (17). Sumii ve ark, TT'de ürokortin etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında intratestiküler enjeksiyon için 50 µl hacim kullanmışlar ve ürokortinin germ hücreleri üzerinde sitoprotektif rol oynayabileceği sonucuna varmışlardır (192). Russell ve ark, farklı tedavi yöntemlerinde intratestiküler enjeksiyon için 50 µl'den fazla hacim kullanılabileceğini raporlamış, ancak sıvıların geri akışını tetikleyebileceği düşünülerek optimal hacmin ≤ 50 µl olduğu sonucuna varmışlardır (193). Valeriy ve ark. ise, PRP'nin testis toksisitesi üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, 2 hafta aralarla skrotum içine üç kez 100 µl PRP enjeksiyonu uygulamışlar ve sonuçlarını olumlu bulmuşlardır (16). Literatürde, intraparankimal testis enjeksiyonları için değişen hacimler kullanılmıştır ve Sekerci ve ark. çalışmalarında (17), testis enjeksiyonlarında kullanılan en düşük hacim olan 10 µl PRP verdiklerinde etkin olduğunu tespit etmişlerdir. Biz çalışmamızda, TT tedavisinde

henüz araştırılma safhasında olan PRP'nin, daha yüksek dozlardaki etkinliğini araştırmak istedik. Bu amaçla PRP grubu deneklerine insülin enjektörü ile intratestiküler 100 µl PRP enjekte edilmiştir.

Literatürde, PRP hazırlanması amacıyla pek çok farklı yöntem tarif edilmiş ve henüz ortak bir yöntem uygulamaya geçmemiştir. Ticari kit (16), tek santrifüj (194), iki santrifüj (17,195), farklı santrifüj hızları ve süreleri uygulanmış çalışmalar mevcuttur. Ayrıca deneysel çalışmalarda, otolog (194,195) veya homolog (17) kandan PRP hazırlanan çeşitli araştırmalar mevcuttur. Sekerci ve ark, bizim çalışmamızda olduğu gibi PRP hazırlamak için çalışma gruplarının dışında, ayrı bir grup sıçandan intrakardiyak yoldan alınan tam kan ile hazırlanan homolog PRP kullanmışlar ve olumlu sonuç almışlardır. Ancak bizim çalışmamızdan farklı olarak, Sekerci ve ark. ticari kit kullanmadan, iki aşamalı santrifüj yöntemi ile PRP elde etmişlerdir. Tam kan ve hazırlanan PRP'deki platelet konsantrasyonları ölçüldüğünde 2000000 platelet / µl şeklinde raporlamışlardır (17). Bizim çalışmamızda ise, platelet konsantrasyonu 669000 platelet / µl saptanmıştır. İdeal PRP'de olması gereken 1000000 platelet / µl ve üzeri iken, çalışmamızda elde edilen düşük konsantrasyon değerinin, ölçümün geç yapılmasına veya kullanılan PRP hazırlama yöntemine bağlı olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızın, diğer çalışmalardan farklı sonuçlanmasını bu düşük platelet konsantrasyonu sebebiyle de olabileceğini düşünüyoruz.

Valeriy ve ark. ise, tam kandan, bizim çalışmamızda olduğu gibi ticari kit ile PRP elde ettiklerini raporlamışlar, ancak kan aldıklarını sıçanların hangi gruba ait olduğunu, sıçanlardan hangi yoldan (kuyruk veni veya intrakardiyak) kan aldıklarını, hazırlanan PRP'nin otolog mu, yoksa homolog mu olduğunu, içeriğindeki platelet konsantrasyonu sayısını paylaşmamışlardır (16). Siyatik sinir kesisi üzerinde PRP etkinliğini araştıran Göncü, sıçanlardan intrakardiyak yoldan alınan otolog kanla, ticari kit kullanmadan, tek aşamalı santrifüj ile PRP elde etmiş ve yara yerine uygulaması sonucunda, primer onarım yöntemine göre üstünlük tespit edememiştir (194). Deneysel kostik özofagus yanıklarında PRP'nin motiliteye etkisini araştıran Oztan ve ark, sıçanların kuyruk veninden alınan otolog kanla, ticari kit kullanmadan,

iki aşamalı santrifüj ile PRP elde etmiş ve kostik yanıklarda özofagus motilitesinin düzenlenmesinde yardımcı olabileceği sonucuna varmışlardır (195).

Literatürde, deneysel TT modellerinde ilaç etkinliği araştırılan çalışmaların bir kısmında, sham gruplarına da, tedavi gruplarıyla eşit hacimde serum fizyolojik verildiği görülmektedir. Valeriy ve ark, kontrol grubundaki sıçanlara, PRP grubundaki sıçanlara verdikleri hacimde serum fizyolojik enjekte etmişlerdir (16). Bazı çalışmalarda ise, bizim çalışmamıza benzer şekilde, sham gruplarında sadece cerrahi prosedür uygulanmış ve ek medikasyon yapılmamıştır (17,196). Çalışmamızda, PRP uygulamasının, standart cerrahi prosedür ile karşılaştırılması amacıyla, sham grubuna torsiyon / detorsiyon işlemi haricinde ek işlem uygulanmamıştır. Ancak çıkan sonuçlarda testis içine verilen ve kapsül içi basınca etki ettiğini düşündüğümüz volümün etkisinin anlaşılması gerektiğini düşünüyoruz. Testis içine serum fizyolojik uygulaması yapılmasının, intratestiküler basıncın sonuca etkisi açısından değerlendirmelerde yol gösterici olabileceğini düşünmekteyiz.

Testis torsiyonunda, torsiyon derecesi, süresi gibi ek faktörlere bağlı olarak öncelikle seminifer tübüller arasında venöz tıkanıklık, buna bağlı ödem ve kanama, sonrasında da germinal hücrelerde nekroz gelişir (119). Bizim çalışmamızda da, benzer sonuçlar bulunmakla beraber daha detaylı histopatolojik parametreler araştırılmıştır. Tübül çapı ve tübül başına düşen Sertoli hücre sayısı açısından incelendiğinde, gruplar arasındaki farklılıklar, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. PRP-5 grubunda, tübül çapı medyan değeri en yüksek ve tübül başına düşen Sertoli hücre sayısı medyan değeri en düşük bulunmuştur ancak bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı değildir. Diklofenak ve verapamil'in TT üzerindeki etkisini araştıran Dağlar ve ark, torsiyon / detorsiyon sonrası yalnız diklofenak ve torsiyon / detorsiyon sonrası diklofenak + verapamil verdikleri grupları, yalnız torsiyon / detorsiyon yaptıkları grupla karşılaştırdıklarında, her iki gruptaki çap ortalamasını ve spermatogenik aktiviteyi anlamlı olarak fazla bulmuşlardır (197).

Sekerci ve ark, histopatolojik açıdan sadece bazal lamina, tübül lümeni ve hücre varlığı açısından sınırlı parametre araştırmışlarsa da, TT sonrası PRP grubunda, I/R grubuna göre bazal laminanın daha düzenli olduğunu ve spermatogoninin korunduğunu saptamışlardır (17). Valeriy ve ark ise, testise doksorubisin hidroklorür maruziyeti sonrası PRP uygulamasının etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, 4 haftalık takip sonunda PRP uygulanan grupta, sham grubuna kıyasla tüm spermatogenik hücre serilerinin arttığını, tübül çapının sham grubuna küçük olmasına rağmen kontrol grubuna göre artış gösterdiğini, ayrıca bazal membran kalınlığının azaldığını raporlamışlardır (16). Bizim çalışmamızda ise, kontrol ve SHM-3 gruplarının tamamında bazal lamina bütünlüğü korunmuştur. SHM-3 ve PRP-3 grupları karşılaştırıldığında, PRP-3 grubundaki bozulmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. SHM-5 ve PRP-5 gruplarında, kontrol grubuna göre bazal lamina bütünlüğündeki bozulma istatistiksel olarak anlamlı olmasına karşın, bu gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında anlamlı fark yoktur. Bu veriler sonucunda, 3 saatlik torsiyon sonrası PRP'nin bazal lamina bütünlüğüne olumsuz etkisi olduğu, 5 saatlik torsiyon sonrası ise bazal lamina bütünlüğünün geri dönüşümsüz olarak bozulduğu görülmüştür.

PRP-3, PRP-5 ve SHM-5 gruplarının hiçbirinde spermatid ve sperm varlığına rastlanmamıştır ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Sham gruplarında, torsiyon süresine bağlı olarak spermatogenik hücrelerde azalma olduğu saptanmışken, PRP gruplarında torsiyon süresinden bağımsız olarak verilen PRP'nin bu hücrelerde koruyucu etkisi olmadığı görülmüştür. Bu veriler sonucunda, 3 saatlik torsiyon sonrası PRP'nin spermatid ve sperm oluşumuna, sham grubuna göre olumsuz etkisi olduğu, 5 saatlik torsiyon sonrası ise spermatid ve sperm oluşumunun geri dönüşümsüz olarak bozulduğu görülmüştür.

Germ hücre varlığı açısından incelendiğinde ise PRP-3, PRP-5 ve SHM-5 gruplarının hiçbirinde yeterli sayıda hücre saptanmazken, PRP-3 ve SHM-3 grupları ile PRP-5 ve SHM-5 grupları ikili olarak karşılaştırıldığında, gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu parametre açısından da, verilen PRP'nin koruyucu etkisi olmamıştır.

PRP-3 grubunda germinal epitel dökülme oranı, SHM-3 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak daha fazladır. SHM-5 ve PRP-5 gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir. Bu veriler sonucunda, 3 saatlik torsiyon sonrası PRP'nin germinal epitel dökülme oranına Sham grubuna göre olumsuz etkisi olduğu, 5 saatlik torsiyon sonrası ise germinal epitel dökülme oranının dönüşümsüz olarak bozulduğu görülmüştür.

Elde edilen histopatolojik veriler, Cosentino evrelemesine göre değerlendirildiğinde, SHM-3 (medyan evre 2) ve PRP-3 (medyan evre 3,25) grupları, K grubuna (medyan evre 1) göre istatistiksel olarak anlamlı fark göstermezken, SHM-5 (medyan evre 3,5) ve PRP-5 (medyan evre 4) grupları, K ve SHM-3 gruplarından istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek evrede bulunmuştur. SHM-3 ile PRP-3 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmasa da, medyan evre değerlerine bakıldığında, 3 saatlik torsiyon grubunda PRP'nin Cosentino evrelemesine göre testis patolojisine etkisi olumsuzdur.

Verilerimiz Johnsen spermatogenesis skorumasına göre değerlendirildiğinde, PRP-3 (medyan skor 1,88), PRP-5 (medyan skor 1) ve SHM-5 (medyan skor 1,5) grupları, kontrol grubundan (medyan skor 10) istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. SHM-5 ve PRP-5 grupları, SHM-3 grubundan (medyan skor 8) da istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulunmasına karşın, SHM-3 grubunda skor yüksek olsa da, PRP-3 grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

İloprost ve metotreksatın TT üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, Johnsen skorumasına sisteminin kullanan Yuvaç ve ark, I/R grubuna kıyasla, I/R + iloprost ve I/R + metotreksat gruplarında, dejenerasyon, deskuamasyon, germinal hücrelerde disorganizasyon, ödem ve kanamanın azaldığını ancak bu verilerin istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadığını raporlamışlardır. Şaşırtıcı olarak, histopatolojik hiçbir veride anlamlı fark saptanmazken, bakılan tüm biyokimyasal parametrelerde anlamlı fark bulmuşlardır. Total antioksidan kapasitesi, iloprost ve

metotreksat uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı şekilde artarken, total oksidatif kapasite ve oksidatif stres indeksi, yine bu gruplarda istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır. Bu iki grup birbiriyle kıyaslandığında da, metotreksat grubunda, iloprost grubuna göre tüm biyokimyasal parametrelerde olumlu yönde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (196). Bu çalışmanın verilerine bakıldığında, biyokimyasal parametreler, histolojik parametrelere göre daha mı hassastır? Dolayısıyla biyokimyasal parametreleri araştıran ve olumlu sonuçlara ulaşan araştırmacıların, histopatolojik verileri detaylı olarak incelendiğinde aynı şekilde olumlu sonuçlar elde edilebilir mi? soruları akla gelmektedir.

Sekerci ve ark. I/R + PRP grubu ile I/R grubunu biyokimyasal parametreler açısından kıyasladıklarında; PRP uygulanan grupta MPO ve kaspaz-3 aktivitesi ile MDA, TGF- β , folikül uyarıcı hormon (FSH) ve LH düzeylerinin düşük, SOD aktivitesi, GSH ve testosteron düzeylerinin ise yüksek olduğunu görmüşlerdir. Ancak kontrol grubu ile kıyaslandığında; kaspaz-3 ve MPO aktivitesini, MDA, TGF- β ve folikül uyarıcı hormon düzeylerini halen yüksek bulmuşlardır. GSH seviyesi, kontrol grubuna göre düşük, SOD aktivitesi, testosteron ve luteinizan hormon düzeyleri ise kontrol grubu ile benzer sonuçlanmıştır. Tüm bu veriler ışığında, PRP kullanımının Leydig hücre fonksiyonlarını koruduğunu ve apoptozisi sınırladığını raporlamışlardır (17).

Çalışmamızda elde edilen veriler ışığında, kritik olduğu kabul edilen 4 saatten uzun sürede müdahale edilmesi durumunda hasarın geri dönüşsüz hal almaya başladığı görülmektedir. Daha kısa sürede müdahale edildiğinde ise uygulanan PRP dozu veya tekniğinin tedavide etkili olmadığı açıktır. 100 μ l dozunda PRP kullanımının TT'unda koruyucu etkisi olmadığı, hatta 3 saatlik TT sonrası oluşan hasarı kötüleştirdiği görülmüştür. Literatürdeki bu çalışmaların sonuçları ile bizim çalışmamızın sonuçları arasındaki farklılığın, öncelikle verilen PRP'nin dozuna (hacmine) bağlı olabileceği düşünülmektedir. Russell ve ark, intratestiküler enjeksiyon yöntemiyle çeşitli ajanların potansiyel toksisitesini değerlendirmek ve normal spermatogenez mekanizmalarını incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada, intratestiküler yoldan 50 μ l'yi aşan hacimler enjekte edilebileceğini, bununla birlikte

testislerde aşırı şişme sonucu enjekte edilen sıvılarda geri akış meydana geldiğini raporlamışlardır (193). Doku içine uygulanan PRP hacminin fazla gelmesi ile kapsül içine sıkışan dokuda basınç artışı meydana gelmesi, hücre hasarını arttırmış olabilir. Ayrıca çalışmamızda kullanılan küçük yaş ve düşük ağırlıktaki sıçanlarda otolog olarak hazırlanamayan, homolog olarak hazırlanıp uygulanan PRP'nin, düşük de olsa immün reaksiyon oluşturma ihtimali olduğunu da düşünmekteyiz.

Bir diğer kısıtlılığımız ise, platelet konsantrasyonu ölçümü için yapılması gereken tam kan sayımının, kan alındıktan hemen sonra yapılamaması ve dolayısıyla gerçek platelet konsantrasyon miktarının doğru saptanamaması, sonradan saptanan konsantrasyonun da yetersiz olduğunun işlem sonrası fark edilmesi ve dolayısı ile literatürde önerilen konsantrasyonda PRP verilememesidir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda, sıçanlar üzerinde farklı iskemi sürelerinde oluşturulan TT için, PRP'nin ortaya çıkan histopatolojik hasar üzerindeki etkileri incelendi. Beş gruba (Kontrol, Sham 3 saat torsiyon, Sham 5 saat torsiyon, PRP 3 saat torsiyon, PRP 5 saat torsiyon) ayrılan sıçanlar postoperatif 28. günde sakrifiye edilerek makroskopik ve mikroskopik olarak şu sonuçlar elde edildi:

1. Torsiyon süresi uzadıkça hasar derecesinin arttığı görüldü. Üç saatte hasarın geri dönüşümlü, 5 saatte geri dönüşümsüz olduğu gözlemlendi. Bu, literatürde de verilen 4 saatlik kritik sınırla uyumlu bulundu.
2. Üç saat TT sonrası PRP uygulamasının hasarı arttırdığı, PRP'nin olumsuz etki ettiği görüldü.
3. Kontrol grubu ile Sham 3 saatlik torsiyon grubu arasında, hiçbir parametrede istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.
4. Tübül çapı ve tübül başına düşen sertoli hücre sayısı dışında tüm verilerde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi; hasar derecesi en yüksek grupların Sham 5 saatlik torsiyon ve PRP 5 saatlik torsiyon grupları olduğu görüldü.

Olumsuz sonuçların nedenleri; doku içine uygulanan PRP hacminin (100 µl) fazla gelmesi sonucu kapsül içine sıkışan dokuda basınç artışı ile hücre hasarını arttırmış olabileceği, küçük yaş ve düşük ağırlıktaki sıçanlarda otolog olarak hazırlanamayan, homolog olarak hazırlanıp uygulanan PRP'nin, düşük de olsa immün reaksiyon oluşturabileceği, platelet konsantrasyonu ölçümü için yapılması gereken tam kan sayımının, kan alındıktan hemen sonra yapılamaması ve dolayısıyla gerçek platelet konsantrasyon miktarının doğru saptanamaması, sonradan saptanan konsantrasyonun da yetersiz olduğunun işlem sonrası fark edilmesi ve dolayısı ile literatürde önerilen konsantrasyonda PRP verilememesi şeklinde belirlendi. Sonuç olarak, deneysel olarak TT'de PRP uygulamasının etkinliğini gösteren yeterli çalışma mevcut değildir. Tüm bu bilgiler göz önüne alındığında, farklı PRP hacimleri (dozları) verilerek, farklı uygulama yöntemleri (intratestiküler, intraskrotal) ile, olumlu /

olumsuz etkilerinin sebepleri ile belirlenmesi amacıyla yeni çalıřmalara ihtiyaç olduğu dūřunlmektedir.



7. KAYNAKLAR

1. Colodny AH: Acute urologic conditions. *Pediatr Ann* 1994; 23:207-210.
2. Yagmurdur H, Ayyıldız A, Karaguzel E, et al. The preventive effects of thiopental and propofol on testicular ischemia-reperfusion injury. *Acta Anaesthesiol Scand* 2006; 50:1238-43.
3. Zhao LC, Lautz TB, Meeks JJ, Maizels M. Pediatric testicular torsion epidemiology using a national database: incidence, risk of orchiectomy and possible measures toward improving the quality of care. *J Urol* 2011; 186:2009e13.
4. Sessions AE, Rabinowitz R, Hulbert WC, Goldstein MM, Mevorach RA. Testicular torsion: direction, degree, duration and disinformation. *J Urol* 2003; 169:663e5.
5. Puri P, Barton D, O'Donnell B. Prepubertal testicular torsion: subsequent fertility. *J Pediatr Surg* 1985; 20:598-601.
6. Tijoe D.Y, Steinberger E. A Quantitative study of the effect of ischemia on the germinale pithelium of the rat testes. *J Reprod Fert* 1970;21:489.
7. Bodur A. Testis torsiyonu ile oluşturulan doku hasarına karşı N-asetil sistein'in uzun dönem etkisinin incelenmesi. 2012 Erişim tarihi: 04/10/2017. Erişim: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezSorguSonucYeni.jsp>.
8. Krarup T. The testis after torsion. *Br J Urol* 1978; 50:43.
9. Kurt Ö. Sıçanlarda testis torsiyonu sonrası süreye bağlı olarak LH, Total testosteron, serbest testosteron seviyelerindeki değişikliklerin incelenmesi. 2008 Erişim tarihi: 04/10/2017. Erişim: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezSorguSonucYeni.jsp>.
10. Vaos G, Zavras N. Antioxidants in experimental ischemia-reperfusion injury of the testis: Where are we heading towards? *World J Methodol* 2017; 7(2):37-45.
11. Arena S, Iacona R, Antonuccio P. Medical perspective in testicular ischemia-reperfusion injury. *Exp Ther Med* 2017; 13(5):2115-2122.
12. Weyrich, A., Schwertz, H., Kraiss, L., Zimmerman, G. Protein synthesis platelets: Historical and new perspectives. *J. Thromb. Haem.* 2009; 7:241-246.

13. İnal Gültekin G, Yaylım İ, İşbir T. Plateletten zengin plazmanın kullanım alanları. Erişim tarihi: 04/10/2017. Erişim: <http://dergipark.gov.tr/download/article-file/94891>.
14. Coppinger, J., Cagney, G., Toomey, S. Characterization proteins released from activated platelets leads to localization novel platelet proteins in human atherosclerotic lesions. *Blood*. 2004; 103:2096-2104.
15. Nisbet HÖ. Yara sağaltımında trombositten zengin plazma ve trombositten fakir plazma kullanımı. Erişim tarihi: 04/10/2017. Erişim: <http://dergipark.gov.tr/download/article-file/268736>.
16. Valeriy Z, Olena K, Olena K. Platelet-rich plasma induces morphofunctional restoration of mice testes following doxorubomycine hydrochloride exposure. *J Exp Clin Med* 2014; 31:183-187.
17. Sekerci C.A, Tanidir Y, Sener T.E, et al. Effects of platelet-rich plasma against experimental ischemia/reperfusion injury in rat testis. *J Pediatr Urol* 2017; 13:317e1-e9.
18. Moore KL, Persaud TVN. Ürogenital sistem. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi (Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H ed). 1'inci baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri. 303-347, 2002.
19. Şeftalioğlu A. Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi. 3. baskı Ankara, Feryal Matbaası, 1998.
20. Docimo SG, Canning DA, Khoury AE. Testisin temel bilimi. Kelalis-King-Belman Pediatrik Üroloji (Kilciler M ed). İstanbul, Habitat Yayıncılık. 1053-1062, 2013.
21. Sadler TW. Langman's Medical Embriology (Başaklar AC, ed) 7. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 1996.
22. Sadler TW. Langman Medikal Embriyoloji, 9. Baskıdan çeviri, 2004.
23. Başaklar AC. İnmemiş testis. Bebek ve Çocukların Cerrahi ve Ürolojik Hastalıkları. Ankara, Palme Yayıncılık. Cilt II. 1717-1752, 2006.
24. Başaklar AC. İnguinal herni, hidrosel ve kordon kisti. Bebek ve Çocukların Cerrahi ve Ürolojik Hastalıkları. Ankara, Palme Yayıncılık. Cilt II. 1795-1716, 2006.

25. Akman M. İnmemiş testis. Erişim tarihi: 31/05/2018 Erişim: http://www.mustafaakman.com/sayfalar.376.inmemis_testis.html.
26. Netter FH. Atlas of human Anatomy. Third edition. USA, Elsevier Science, 2002.
27. Erişim tarihi: 31/05/2018 Erişim: <http://www.days-eye.com/male-testicular-anatomy-pictures/gorgeous-testicular-artery-idea-vas-ductus-deferens-body-male-testicular-anatomy-head-efferent-capur-epididymis-high-quality>.
28. Snell RS. Clinical Anatomy. Third edition. Boston, Brown and Company, 1986.
29. Eşrefoğlu M. Özel Histoloji. Malatya, Medipres Yayıncılık, 253-264, 2009.
30. Junqueira LC, Carneiro J. Temel Histoloji. (Solakoğlu S, Aytekin Y ed.) İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 2009.
31. Erişim tarihi: 31/05/2018 Erişim: <https://www.anatomy-medicine.com/the-male-reproductive-system/172-the-ductus-deferens.html>.
32. Memis A, Cetinkaya M, Memis L et al. Kobayda unilateral spermatik arter bağlanmasının testislere olan etkisi. Ankara Patoloji Bülteni 1992; 9(1):9-13.
33. Kadioğlu A. Adölesan varikosel. Erişim tarihi: 29/05/2018. Erişim: <http://file.uroturk.org.tr/files/adolesan-varikosel-son.pdf>.
34. Mitchell GA. The innervation of the kidney, ureter, testicleand epididymis. J Anat 1935; 70(1):10-32.
35. Hutson JM. Undescended testis, Torsion and Varicocele. In O’neill JA, Rowe MI, Grosfeld JL et al (eds): Pediatric Surgery, Mosby, St. Louis, 1087-1109, 1998.
36. Vasdeva N, Chadwick D, Thomas D. The acute pediatric scrotum: presentation, differential diagnosis and management. Curr Urol 2012; 6:57–61.
37. Başaklar AC. Akut skrotum. Bebek ve Çocukların Cerrahi ve Ürolojik Hastalıkları. Ankara, Palme Yayıncılık. Cilt II. 1753-1764, 2006.
38. Kurt G, Celayir AC, Şahin C et al. Testis torsiyonlu olgularda 4.5 yıllık deneyimlerimiz. Zeynep Kamil Tıp Bülteni 2017; 48(3):94-98.
39. Özdemir K, Savaş Ç. Çocuklarda akut skrotum. SDÜ Tıp Fakültesi Derg 2000; 7(4): 50-60.

40. Smith G. Cellular changes from graded testicular ischemia. *J Urol* 1983; 129(5):975-977.
41. Das S, Singer A. Controversies of perinatal torsion of spermatic cord: A review, survey and recommendations. *J Urol* 143: 231, 1990.
42. Baglaj M, Carachi R. Neonatal bilateral testicular torsion: a plea for emergency exploration. *J Urol*. 2007; 177(6):2296-9.
43. Djahangirian O, Ouimet A, Saint-Vil D. Timing and surgical management of neonatal testicular torsions. *J Pediatr Surg* 2010; 45(5):1012-5.
44. Callewaert PRH, Kerrebroeck PV. New insights into perinatal testicular torsion. *Eur J Pediatr* 2010; 169(6):705-712.
45. Murphy JP. The acute scrotum. In Ziegler MM, Azizkhan RG, Weber TR (eds). *Operative Pediatric Surgery*. New York, Mc Graw-Hill. 563-567, 2003.
46. Ransler CW, Allen TD. Torsion of the testis. *Urol Clin North Am* 1982; 9:245-250.
47. Gatti JM, Patrick Murphy J. Current management of the acute scrotum. *Semin Pediatr Surg* 2007; 16(1):58-63.
48. Noseworthy J. Testicular torsion. In Ashcraft KW et al (eds): *Pediatric Surgery*. Philadelphia, W.B.Saunders Company. 674-680, 2000.
49. Bader TR, Kammerhuber F, Herneth AM. Testicular blood flow in boys as assessed at color Doppler and power Doppler sonography. *Radiology* 1997; 202:559-564.
50. Lee FT Jr, Winter DB, Madsen FA et al. Conventional color Doppler velocity sonography versus color Doppler energy sonography for diagnosis of acute experimental torsion of the spermatic cord. *AJR Am J Roentgenol* 1996; 167:785-790.
51. Nason GJ, Tareen F, McLoughlin D, McDowell D, Cianci F, Mortell A. Scrotal exploration for acute scrotal pain: a 10- year experience in two tertiary referral paediatric units. *Scand J Urol* 2013; 47(5): 418-22.
52. Bartsch G, Frank S, Marbeger H et al. Testicular torsion: late results with special regard to fertility and endocrine function. *J Urol* 1980; 124(3):375-378.
53. Baker LA, Turner TT. Leydig cell function after experimental testicular torsion despite loss of spermatogenesis. *J Androl*. 1995; 16(1):12-17.

54. Turner TT, Bang HJ, Lysiak JJ. Experimental testicular torsion: reperfusion blood flow and subsequent testicular venous plasma testosterone concentrations. *Urology*. 2005; 65(2):390–394.
55. DaJusta D, Granberg CF, Villanueva C et al. Contemporary review of testicular torsion: New concepts, emerging Technologies and potential therapeutics. *J Pediatr Urol* 2013; 9(6):1-12.
56. Leape LL. Testicular torsion. In Ashcraft KW et al (ed): *Pediatric Urology*. Philadelphia, WB Saunders Company. 429-436, 1990.
57. Kiesling VJ Jr, Schroeder DE, Pauljev P et al. Spermatic cord block and manuel reduction: primary treatment of spermatic cord torsion. *J Urol* 1984; 132(5):921-923.
58. Cosentino MJ, Rabinowitz R, Valvo JR et al. The effect of prepubertal spermatic cord torsion on subsequent fertility in rats. *J Androl* 1984; 5(2):93-98.
59. Cosentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R et al. Histological changes occuring in the contralateral testes of prepubertal rats subjected to various durations of unilateral spermatic cord torsion. *J Urol* 1985; 133(5):906-911.
60. Nagler HM, White RD. The effect of testicular torsion on the contralateral testis. *J Urol* 1982; 128 (6):1343-1348.
61. Madarikan BA,. Testicular salvage following spermatic cord torsion. *J Pediatr Surg* 1987; 22(3):231-234.
62. Zanchetta R, Mastrogiacomo I, Graziotti P et al. Autoantibodies against Leydig cells in patients after spermatic cord torsion. *Clin Exp Immunol* 1984; 55(1):49-57.
63. Mastrogiacomo I, Zanchetta R, Graziotti P et al. Immunological and clinical study of patients after spermatic cord torsion. *Andrologia* 1982; 14(1):25-30.
64. Urry RL. The incidence of antisperm antibodies in infertility patients with a history of cryptorchidism. *J urol* 1994; 151:381.
65. Mininberg DT, Chen ME, Witkin SS. Antisperm antibodies in cryptorchid boys. *Eur J Pediatr* 1993; 152:523.

66. Hagen P, Buchholz MM, eigenmann J et al. Testicular dysplasia causing disturbance of spermiogenesis in patients with unilateral torsion of the testis. *Urol Int* 1992; 49(3):154-157.
67. Salman AB, Mutlu S, Iskit AB et al. Hemodynamic monitoring of the contralateral testis during unilateral testicular torsion describes the mechanism of damage. *Eur Urol* 1998; 33(6):576-580.
68. Tanyel FC, Buyukpamukcu N, Hicsonmez A. Contralateral testicular blood flow during unilateral testicular torsion. *Br J Urol* 1989; 63(5):522.
69. Otcu S, Durakogugil M, Orer HS et al. Contralateral genitofemoral sympathetic nerve discharge increases following ipsilateral testicular torsion. *Urol Res* 2002; 30(5):324-328.
70. Power RE, Scanlon R, Kay EW et al. Long-term protective effects of hypothermia on reperfusion injury post-testicular torsion. *Scand J Urol Nephrol* 2003; 37(6):456-460.
71. Akgur FM, Kilinc K, Aktug T et al. The effect of allopurinol pretreatment before detorting testicular torsion. *J Urol* 1994; 151(6):1715-1717.
72. Palmer JS, Cromie WJ, Lee RC. Surfactant administration reduces testicular ischemia-reperfusion injury. *J Urol* 1998; 159(6):2136-2139.
73. Pakyz RE, Heindel RM, Kallis M et al. Spermatic cord torsion: effects of cyclosporine and prednisone on fertility and the contralateral testis in the rat. *J Androl* 1990; 11(5):401-408.
74. Dokucu AI, Ozturk H, Ozdemir E et al. The protective effects of nitric oxide on the contralateral testis in prepubertal rats with unilateral testicular torsion. *BJU Int* 2000; 85(6):767-771.
75. Oguzkurt P, Okur DH, Tanyel FC et al. The effects of vasodilatation and chemical sympathectomy on spermatogenesis after unilateral testicular torsion: a flow cytometric DNA analyses. *Br J Urol* 1998; 82(1):104-108.
76. Siegel A, Snyder H, Duckett JW: Epididymitis in infants and boys: Underlying urogenital anomalies and efficiency of imaging modalities. *J Urol* 1987; 138:1100-1103.
77. Sheldon CA: Undescended testis and testicular torsion. *Surg Clin North Am* 1985; 65(5):1303-1329.

78. Acute scrotum. 2014 Erişim tarihi: 31/05/2018 Erişim: <https://www.slideshare.net/althaf09/acute-scrotum-41987479>. Slayt no: 8.
79. Najmaldin A, Burge DM: Acute idiopathic scrotal edema: Incidence, manifestations and aetiology. BR J Urol 1987; 74:634-635.
80. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. YYÜ Veterinerlik Fakültesi Dergisi 2004; 15(1-2):91-96.
81. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemiareperfusion injury. Anesthesiology. 2001; 94(6):1133-1138.
82. Cadenas E. Mechanisms of oxygen activation and reactive oxygen species detoxification. In: Ahmad S (ed). Oxidative stress and antioxidant defences in biology. New York, Chapman and Hall. 4-47, 1995.
83. Halliwell B. Free radicals antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence? The Lancet 1994; 344:721.
84. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. Physiol Rev 2007; 87:315-424.
85. Sies H. Oxidative stress from basic research to clinical application. The Am J Med 1991; 3(91):31.
86. Del Maestro RF. An approach to free radicals in medicine and biology. Acta Physiol 1980; 492:153-168.
87. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksitleri ve organizmada prooksidan antioksidan dengesini etkileyen koşullar. Klinik gelişim 1998; 11:336-341.
88. Haber F, Weis JJ. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. Proc R Soc Lond Ser, 1984; 147:332-351.
89. Dündar Y, Aslan R. Hücre moleküler statüsünün araştırılması ve fizyolojik önem açısından radikaller-antioksidanlar. Cer Tıp Bil Derg; İnsizyon 1999; 2(2):134-142.
90. Valko M, Leibfritz D, Moncol J et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol 2007; 39:44-84.
91. Comporti M, Signorini C, Buonocore G et al. Iron release, oxidative stress and erythrocyte ageing. Free Radic Biol Med 2002; 32(7):568-576.

92. Buege JA, Aust AD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, 1978; 302-310.
93. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford: Oxford University Press, 1999.
94. Karabulut H, Gülay MŞ. Antioksidanlar. *MAE Vet Fak Derg* 2016; 1(1):65-76.
95. Guemouri L, Artur Y, Herbeth B et al. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. *Clin Chem*, 1991; 37(11):1932-1937.
96. Meister A. Glutathione metabolism and its selective modification. *J Biol Chem* 1988; 263(33):17205-17208.
97. Meister A. Selective modification of glutathione metabolism. *Science* 1983; 220(4596):472-477.
98. Akcora B, Altug ME, Kontas T et al. The protective effect of darbepoetin alfa on experimental testicular torsion and detorsion injury. *Int J Urol* 2007; 14(9):846-850.
99. Tuglu D, Yuvanc E, Yilmaz E et al. The antioxidant effect of dexmedetomidine on testicular ischemia-reperfusion injury. *Acta Cir Bras* 2015; 30(6):414-421.
100. Salmasi AH, Beheshtian A, Payabvash S et al. Effect of morphine on ischemia-reperfusion injury: Experimental study in testicular torsion rat model. *Urology* 2005; 66(6):1338-1342.
101. Urt Filho A, Inouye CM, Pontes JC et al. Propofol effects on the morphology of rat testes subjected to testicular ischemia-reperfusion. *Acta Cir Bras* 2012; 27(2):172-178.
102. Ozbal S, Ergur BU, Erbil G et al. The effects of α -lipoic acid against testicular ischemia-reperfusion injury in rats. *Scientific World Journal* 2012; 2012:489248.
103. Guimarães SB, Kimura OS, Vasconcelos PR: Dimethylsulfoxide attenuates ischemia-reperfusion injury in rat testis. *Acta Cir Bras* 2010; 25(4):357-361.
104. Rifaioglu MM, Motor S, Davarci I et al. Protective effect of ebselen on experimental testicular torsion and detorsion injury. *Andrologia* 2014; 46(10):1134-1340.

105. Tamamura M, Saito M, Kinoshita Y et al. Protective effect of edaravone, a free-radical scavenger, on ischaemia-reperfusion injury in the rat testis. *BJU Int* 2010; 105(6):870-876.
106. Kurt O, Yazici CM, Erboga M et al. Mannitol has a protective effect on testicular torsion: an experimental rat model. *J Pediatr Urol* 2016; 12(3):167.e1-e8.
107. Parlaktas BS, Atilgan D, Ozyurt H et al. The biochemical effects of ischemia-reperfusion injury in the ipsilateral and contralateral testes of rats and the protective role of melatonin. *Asian J Androl* 2014; 16(2):314-318.
108. Kara Ö, Sari E, Akşit H et al. Effects of selenium on ischaemia-reperfusion injury in a rat testis model. *Andrologia* 2016; 48(10):1267-1273.
109. Tu YP, Chuang SJ, Chen SC et al. Simvastatin induces the expression of hemoxygenase-1 against ischemia-reperfusion injury on the testes in rats. *Toxicol Lett* 2011; 207(3):242-250.
110. Minutoli L, Antonuccio P, Squadrito F et al. Effects of polydeoxyribonucleotide on the histological damage and the altered spermatogenesis induced by testicular ischaemia and reperfusion in rats. *Int J Androl* 2012; 35(2):133-144.
111. Minutoli L, Arena S, Antonuccio P et al: Role of inhibitors of apoptosis proteins in testicular function and male fertility: Effects of polydeoxyribonucleotide administration in experimental varicocele. *Biomed Res Int* 2015; 2015:248976.
112. Antonuccio P, Minutoli L, Romeo C et al. Lipid peroxidation activates mitogen-activated protein kinases in testicular ischemia-reperfusion injury. *J Urol* 2006; 176(4 Pt 1):1666-1672.
113. Dogan C, Halici Z, Topcu A et al. Effects of amlodipine on ischaemia/reperfusion injury in the rat testis. *Andrologia* 2016; 48(4):441-452.
114. Meštrović J, Drmić-Hofman I, Pogorelić Z et al. Beneficial effect of nifedipine on testicular torsion-detorsion injury in rats. *Urology* 2014; 84(5):1194-1198.
115. Celebi M, Paul AG: Blocking E-selectin inhibits ischaemia-reperfusion-induced neutrophil recruitment to the murine testis. *Andrologia* 2008; 40(4):235-239.

116. Tsounapi P, Saito M, Dimitriadis F et al. Protective effect of sivelestat, a neutrophil elastase inhibitor, on ipsilateral and contralateral testes after unilateral testicular ischaemia-reperfusion injury in rats. *BJU Int* 2011; 107(2):329-336.
117. Wei SM, Yan ZZ, Zhou J: Taurine reduces testicular ischemia/reperfusion induced neutrophil recruitment to testis probably by downregulation of pro-inflammatory cytokines and E-selectin. *Urology* 2008; 72(2):464-465.
118. Al-Maghrebi M, Renno WM. The tACE/angiotensin (1-7)/mas axis protects against testicular ischemia reperfusion injury. *Urology* 2016; 94:312.e1-e8.
119. Ozturk H, Ozturk H, Terzi EH et al. Interleukin 10 reduces testicular damage in experimental testicular ischemia/reperfusion injury. *Urology* 2014; 83(2):508.e1-e6.
120. Minutoli L, Bitto A, Squadrito F et al. Melanocortin 4 receptor activation protects against testicular ischemia-reperfusion injury by triggering the cholinergic antiinflammatory pathway. *Endocrinology* 2011; 152(10):3852-3861.
121. Asghari A, Akbari G, Meghdadi A et al. Protective effect of metformin on testicular ischemia/reperfusion injury in rats. *Acta Cir Bras* 2016; 31(6):411-416.
122. Kemahli E, Yildiz M, Firat T et al. An experimental study on effects of pyrrolidine dithiocarbamate on ischemia-reperfusion injury in testis. *Can Urol Assoc J* 2016; 10(3-4):e104-e109.
123. Silay MS, Toklu H, Ozagari A et al. Montelukast prevents testes against ischemia-reperfusion injury through suppression of iNOS expression. *Turk J Urol* 2014; 40(4):221-227.
124. Zhang Y, Lv Y, Liu YJ et al. Hyperbaric oxygen therapy in rats attenuates ischemia-reperfusion testicular injury through blockade of oxidative stress, suppression of inflammation, and reduction of nitric oxide formation. *Urology* 2013; 82(2):489.e9-e15.
125. Almodhen F, He X, Loutochin O et al. Protective role of hypothermia on ischemia of prepubertal rodent testicle. *Urology* 2011; 77(3):762.e8-e12.

126. Ozkisacik S, Erdem AO, Durmaz O et al. The long-term protective effects of short-interval postconditioning in testicular ischemia-reperfusion injury in rats. *J Pediatr Surg* 2012; 47(4):743-746.
127. Sener TE, Yuksel M, Ozyilmaz Yay N et al. Apocynin attenuates testicular ischemia-reperfusion injury in rats. *J Pediatr Surg* 2015; 50(8):1382-1387.
128. Atik E, Gorur S, Kiper AN: The effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on histopathological changes in testicular ischemia-reperfusion injury. *Pharmacol Res* 2006; 54(4):293-297.
129. Duman A, Mogulkoc R, Baltaci AK et al. 3', 4'-dihydroxyflavonol attenuates tissue damage in unilateral testis ischemia-reperfusion in rats. *Bratisl Lek Listy* 2015; 116(12):735-740.
130. Al-Maghrebi M, Renno WM, Al-Ajmi N. Epigallocatechin-3- gallate inhibits apoptosis and protects testicular seminiferous tubules from ischemia/reperfusion-induced inflammation. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 420(2):434-439.
131. Al-Maghrebi M, Renno WM. Genistein alleviates testicular ischemia and reperfusion injury-induced spermatogenic damage and oxidative stress by suppressing abnormal testicular matrix metalloproteinase system via the Notch 2/Jagged 1/Hes-1 and caspase-8 pathways. *J Physiol Pharmacol* 2016; 67(1):129-137.
132. Kanter M: Protective effects of Ginkgo biloba (EGb 761) on testicular torsion/detorsion-induced ischemia-reperfusion injury in rats. *Exp Mol Pathol* 2011; 91(3):708-713.
133. Dursun R, Zengin Y, Gündüz E et al. The protective effect of goji berry extract in ischemic reperfusion in testis torsion. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8(2):2727-2733.
134. Guzel M, Sonmez MF, Bastug O et al. Effectiveness of lycopene on experimental testicular torsion. *J Pediatr Surg* 2016; 51(7):1187-1191.
135. Wei SM, Yan ZZ, Zhou J. Psoralea corylifolia protects against testicular torsion/detorsion-induced ischemia/reperfusion injury. *J Ethnopharmacol* 2011; 137(1):568-574.

136. Aldemir M, Ozgun G, Onen E et al. Quercetin has a protective role on histopathological findings on testicular ischaemia-reperfusion injury in rats. *Andrologia* 2012; 44 Suppl 1:479-483.
137. Yulug E, Turedi S, Karaguzel E et al. The short term effects of resveratrol on ischemia-reperfusion injury in rat testis. *J Pediatr Surg* 2014; 49(3):484-499.
138. Kim HJ, Lee JW, Hwang BR et al. Protective effect of pterostilbene on testicular ischemia/reperfusion injury in rats. *J Pediatr Surg* 2016; 51(7):1192-1196.
139. Wei SM, Yan ZZ, Zhou J. Protective effect of rutin on testicular ischemia-reperfusion injury. *J Pediatr Surg* 2011; 46(7):1419-1424.
140. Guimarães SB, Santos JM, Araújo AA et al. Ternatin pretreatment attenuates testicular injury induced by torsion/detorsion in Wistar rats. *Acta Cir Bras* 2011; 26(4):325-328.
141. Ayan M, Tas U, Sogut E et al. Protective effect of thymoquinone against testicular torsion induced oxidative injury. *Andrologia* 2016; 48(2):143-151.
142. Karaguzel E, Kutlu O, Yulug E et al. Comparison of the protective effect of dipyridamole and acetylsalicylic acid on long-term histologic damage in a rat model of testicular ischemia-reperfusion injury. *J Pediatr Surg* 2012; 47(9):1716-1723.
143. Aksoy H, Yapanoglu T, Aksoy Y et al. Dehydroepiandrosterone treatment attenuates reperfusion injury after testicular torsion and detorsion in rats. *J Pediatr Surg* 2007; 42(10):1740-1744.
144. Parlaktas BS, Atilgan D, Gencten Y et al. The effects of carvedilol on ischemia-reperfusion injury in the rat testis. *Int Braz J Urol* 2014; 40(1):109-117.
145. Yildiz H, Durmuş AS, Şimşek H et al. Effects of sildenafil citrate on torsion/detorsion-induced changes in red blood cell and plasma lipid peroxidation, antioxidants, and blood hematology of male rats. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011; 159(2):359-363.
146. Tuglu D, Yuvanc E, Ozan T et al. Protective effects of udenafil citrate, piracetam and dexmedetomidine treatment on testicular

- torsion/detorsion-induced ischaemia/reperfusion injury in rats. *Andrologia* 2016; 48(6):676-682.
147. Bozlu M, Acar D, Cayan S et al. Protective effect of trapidil on long-term histologic damage in a rat model of testicular ischemia-reperfusion injury. *World J Urol* 2009; 27(1):117-122.
 148. Inan M, Basaran U, Dokmeci D et al. Rosiglitazone, an agonist of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, prevents contralateral testicular ischaemia-reperfusion injury in prepubertal rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; 34(5-6):457-461.
 149. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg* 2004; 62:489-496.
 150. Wroblewski AP, Melia HJ, Wright VJ. Application of platelet-rich plasma to enhance tissue repair. *Oper Tech Orthop* 2010; 20:98-105.
 151. Grageda E. Platelet-rich plasma and bone graft materials: a review and a standardized research protocol. *Implant Dentistry* 2004; 13;(4):301-309.
 152. Nurden AT, Nurden P, Sanches M et al. Platelets and wound healing. *Frontiers in Bioscience*. 2008; 13:3532-3548.
 153. Carter CA, Jolly, DG, Worden SR et al. Platelet-rich plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. *Experimental and Molecular Pathology*. 2003; 74:244-255.
 154. Martins RP, Hartmann DD, de Moraes JP et al. Platelet-rich plasma reduces the oxidative damage determined by a skeletal muscle contusion in rats. *Platelets*. 2016; 1-7.
 155. Graham S, Leonidou A, Lester M et al. Investigating the role of PDGF as a potential drug therapy in bone formation and fracture healing. *Expert Opin Investig Drugs*. 2009; 18(11):1633-1654.
 156. Heldin CH, Westermark B. Platelet-derived growth factors: A family of isoforms that bind to two distinct receptors. *Br Med Bull*. 1989; 45:453-464.
 157. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS et al. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen*. 2008; 16(5):585-601.

158. Roberts AB, Anzano MA, Wakefield LM et al. Type beta transforming growth factor: a bifunctional regülatör of cellular growth. Proc Natl Acad Sci USA. 1985; 82:119-123.
159. de Mos M, van der Windt AE, Jahr H et al. Can platelet-rich plasma enhance tendon repair? a cell culture study. Am J Sports Med. 2008; 36(6):1171-1178.
160. Borrione P, Gianfrancesco A, Pereira MT et al. Platelet rich plasma in muscle healing. Am J PHYS Med Rehabil. 2010; 89:854-861.
161. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? Implant Dent 2001; 10:225-228.
162. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G et al. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex and platelet count. J craniomaxillofac Surg 2002; 30:97-102.
163. Mei-Dan O, Lippi G, Sanchez M et al. Autologous platelet-rich plasma: Arevolution in soft tissue sports injury management? Phys Sportsmed 2010; 38:127-135.
164. Robiony M, Polini F, Costa F et al. Osteogenesis distraction and platelet-rich plasma for bone restoration of the severely atrophic mandible: Preliminary results. J Oral Maxillofac Surg 2002; 60:630-635.
165. Şahin F, Arıkan f, Yeşilbek B et al. Periodontik kemik greftlerinin yapışmasında etkin olarak kullanılan trombositten zengin plazma eldesinde farklı metotların karşılaştırılması. Turkish Journal of Haematology (Supplement). 2004; 21:3.
166. Yakaryılmaz A. Trombosit-lökosit fonksiyonel etkileşiminin in-vitro koşullarda incelenmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası. 2005; 58:51-56.
167. Wasterlain AS, Braun HJ, Dragoo JL. Contents and formulations of platelet-rich plasma. Oper Tech Orthop 2012; 22:33-42.
168. Humagain S. Blood and plasma. 2017 Erişim tarihi:31/05/2018 Erişim: <http://onlinesciencenotes.com/blood-and-plasma>.
169. Flardo G, Kon E, Pereira Ruiz MT et al. Platelet-rich plasma intra-articular injections for cartilage degeneration and osteoarthritis: single-versus double-

- spinning approach. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2012; 20(10):2082-2091.
- 170.** Shukla A, Dubey MP, Srivastava R et al. Differential expression of proteins during healing of cutaneous wounds in experimental normal and chronic models. *Biochemical and Biophysical Research Communication* 1998; 224:434-439.
- 171.** Giordano S, Romeo M, di Summa P et al. A meta-analysis on evidence of platelet-rich plasma for androgenetic alopecia. *Int J Trichology* 2018 Jan-Feb; 10(1): 1–10.
- 172.** Anand U, Mehta DS. Evaluation of immediately loaded dental implants bioactivated with platelet-rich plasma placed in the mandibular posterior region: A clinico-radiographic study. *J Indian Soc Periodontol* 2012; 16(1):89-95.
- 173.** Lekovic V, Camargo PM, Weinlaender M et al. Effectiveness of a combination of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration in the treatment of mandibular grade II molar furcations in humans. *Clin Periodonto* 2003; 30:746-751.
- 174.** Petrungraro PS. Using platelet-rich plasma to accelerate soft tissue maturation in esthetic periodontal surgery. *Compendium* 2001; 22(9):729-745.
- 175.** Müftüoğlu O, Altinkurt E, Haliloğlu M et al. Kornea ülserlerinde ve kornea epitel iyileşme zorluklarında plateletten zengin plasma kullanım sonuçları. Erişim tarihi: 29/05/2018. Erişim: <http://www.abstractagent.com/av2/afpr.asp?pdid=2015tod&plng=tur&au=1669&afu=220308>.
- 176.** Drew VJ, Tseng C, Seghatchian J et al. Reflections on dry eye syndrome treatment: therapeutic role of blood products. *Front Med (Lausanne)* 2018; 5:33.
- 177.** Yuan T, Zhang CQ, Wang JH. Augmenting tendon and ligament repair with platelet-rich plasma. *Muscles Ligaments Tendons J* 2013; 3(3):139-149.
- 178.** Yoneyama A, Nakahara K. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia-differentiation from true thrombocytopenia. *Nippon Rinsho* 2003; 61:569-74.

- 179.** Van der Meer W, Allebes W, Simon A, Van Berkel Y, De Keijzer MH. Pseudothrombocytopenia: a report of a new method to count platelets in a patient with EDTA-and temperature-independent antibodies of the IgM type. *Eur J Haematol* 2002; 69: 243-7.
- 180.** Cosentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, et al. Histopathology of prepubertal rat testes subjected to various durations of spermatic cord torsion. *J Androl* 1986; 7(1):23-31.
- 181.** Johnsen SG. Testicular biopsy score count – a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones* 1970; 1(1):2-25.
- 182.** Turner TT. Acute experimental testicular torsion no effect on the contralateral testis. *J Androl* 1985; 6:65-72.
- 183.** Romero FR, Gomes RPX, Lorenzini F et al. Ipsilateral testicular necrosis and atrophy after 1080-degree torsion of the spermatic cord in rats. *Acta Cir Bras* 2009; 24(2):118-123.
- 184.** Lorenzini F, Filho RT, Gomes RPX et al. Long-term effects of the testicular torsion on the spermatogenesis of the contralateral testis and the preventive value of the twisted testis orchiepididymectomy. *Acta Cir Bras* 2012; 27(6):388-395.
- 185.** Ghasemnejad-Berenji M, Ghazi-Khansari M, Yazdani I et al. Effect of metformin on germ cell-specific apoptosis, oxidative stress and epididymal sperm quality after testicular torsion/detorsion in rats. *Andrologia* 2017; e12846.
- 186.** Yapanoglu T, Ozkaya F, Yilmaz AH et al. Effect of etoricoxib on experimental oxidative testicular ischemia-reperfusion damage in rats induced with torsion-detorsion. *Korean J Physiol Pharmacol* 2017; 21(5):457-464.
- 187.** Aydiner CY, Pul M, Inan M et al. Deneysel testiküler torsiyon modelinde N-asetilsistein doku hasarını önlemede rol oynayabilir mi? *Cumhuriyet Med J*, 2012; 34:462-471.
- 188.** Kostakis ID, Zavras N, Damaskos C et al. Erythropoetin and sildenafil protect against ischemia7reperfusion injury following testicular torsion in adult rats. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2017; 13:3341-3347.

- 189.** Koku N, Ilhan H, Tokar B et al. Testis torsiyonunda metilen mavisinin reperfüzyon hasarına etkisi. *Pediatric Cerrahi Dergisi* 2002; 16:64-68.
- 190.** Baloglu H, Baykal K, Demirel D et al. Testis torsiyonunda iskemi/reperfüzyon hasarının biyokimyasal ve morfolojik boyutları ve bu hasarın önlenmesinde E vitamininin rolü. *Türk Patoloji Dergisi* 1996; 12-2:68-73.
- 191.** Hoşcan MB, Özorak A, Tuncer H. Ratlarda deneysel testis torsiyonu ve iskemi- reperfüzyon modeli. Erişim tarihi: 04/10/2017 Erişim: <http://www.jcam.com.tr/files/KATD-720.pdf>.
- 192.** Sumii K, Miyake H, Enatsu N et al. Characterization of urocortin as an anti-apoptotic protein in experimental ischemia-reperfusion model of the rat testis. *Biochem Biophys Res Commun* 2016; 479:387-392.
- 193.** Russell LD, Saxena NK, Weber JE. Intratesticular injection as a method to assess the potential toxicity of various agents and to study mechanisms of normal spermatogenesis. *Gamete Res* 1987; 17:43-56.
- 194.** Göncü RG. Siyatik sinir kesi modelinde eritropoetin ile TZP(trombositten zengin plazma)'nın rejenerasyon üzerine etkisinin karşılaştırılması. 2011 Erişim tarihi: 29/06/2018 Erişim: <http://acikerisim.selcuk.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/6282/2/98736.pdf?sequence=1>.
- 195.** Oztan MO, Oztan S, Duzenli N et al. The effect of platelet-rich plasma on motility changes in experimental caustic esophageal burn. *Esophagus* 2018; 15:198-204.
- 196.** Yuvañç E, Tuğlu D, Kısa Ü et al. Deneysel testis torsiyonu sonrası iskemi/reperfüzyon hasarında iloprost ve düşük doz metotreksat'ın koruyucu etkisi. *KÜ Tıp Fak Derg* 2017; 19(3):131-138.
- 197.** Dağlar Z, Günşar C, Neşe N et al. Diklofenak'ın deneysel testis torsiyonundaki etkileri. *Çocuk Cerrahisi Dergisi* 2009; 23(1):4-9.