

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİMDALI**

**RATLARDA DENEYSEL TESTİS TORSİYONU İLE
OLUŞTURULAN İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINDAN
KORUNMADA L-KARNİTİN VE MELOKSİKAM’IN ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Sedat AKYÜZ

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Serhat GÜROCAK**

**ANKARA
OCAK 2009**

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

İÇİNDEKİLER	i
KISALTMALAR	iv
TABLolar VE ŞEKİLLER DİZİNİ	v
GRAFİKLER DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. TESTİS TORSİYONUN EPİDEMİYOLOJİ VE ETYOLOJİSİ.....	3
2.2. ÇOCUKLUK DÖNEMİ VE PERİPUBERTAL TORSİYON.....	4
2.3. TESTİS TORSİYONUNDA KLİNİK BULGULAR	5
2.4. KRONİK İNTERMITAN TORSİYON	6
2.5. AYIRICI TANI	6
2.6. TANISAL TESTLER VE GÖRÜNTÜLEME YÖNTEMLERİ.....	7
2.6.1. Dopler Ultrasonografi	7
2.6.2. Manyetik Rezonans Görüntüleme.....	7
2.6.3. Radyonüklid Sintigrafi	7
2.7. KOMPLİKASYONLAR.....	8
2.7.1. İnfertilite.....	8
2.7.2. Kontralateral testis üzerindeki etkileri	8
2.8. Tedavi.....	9
2.8.1. Manuel Detorsiyon.....	9
2.8.2. Cerrahi eksplorasyon	10

2.9. TESTİS TORSİYONU, İSKEMİ/REPERFÜZYON SONRASI OKSİDATİF STRES.....	10
2.9.1. Serbest Radikaller	13
2.9.2. Serbest Radikal Kaynakları.....	13
2.9.3. Serbest Radikallerin Biyomoleküllere Etkileri	14
2.9.3.1. Lipid Peroksidasyonu	14
2.9.3.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri.....	16
2.9.4. Antioksidan Savunma Sistemi	16
2.10. L-KARNİTİN.....	17
2.11. MELOKSİKAM	18
2.11.1. Siklooksijenaz (COX).....	19
2.11.2. Siklooksijenaz ürünlerinin aktif oksijen radikalleri ile olan ilişkisi.....	20
3. MATERYAL VE METOD	22
3.1. RATLAR	22
3.2. GRUP DAĞILIMI	22
3.3. CERRAHİ PROSEDÜR	23
3.4. BİYOKİMYASAL YÖNTEM.....	24
3.4.1. Malondialdehit çalışması	24
3.4.2. Lipid hidroperoksit çalışması.....	24
3.4.3. Total sülfidril çalışılması.....	25
3.4.4. Nitrik oksit çalışması	25
3.4.5. Ksantin oksidaz çalışması	26
3.4.6. Katalaz çalışması.....	26
3.5. PATOLOJİK YÖNTEM	27

4. BULGULAR.....	28
4.1. BİYOKİMYASAL BULGULAR.....	28
4.1.1. Ksantin Oksidaz	28
4.1.2. Katalaz.....	29
4.1.3. MDA	31
4.1.4. LHP (Lipid Hidroperoksit).....	32
4.1.5. Nitrik Oksit (NOx)	34
4.1.6. Total Tiyo1 (TSH)	35
4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR.....	37
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ	51
7. ÖZET.....	52
8. SUMMARY	54
9. KAYNAKLAR	56

KISALTMALAR

O_2^-	:	SÜPEROKSİT ANYONU
$HO^\cdot$	:	HİDROKSİL RADİKALI
H_2O_2	:	HİDROJEN PEROKSİT
COX_2	:	SİKLOOKSİJENAZ 2
SOR	:	SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ
MDA	:	MALONDİALDEHİT
GP_x	:	GLUTATYON PEROKSİDAZ
SOD	:	SÜPEROKSİTDİSMUTAZ
NO	:	NİTRİK OKSİT
NOS	:	NİTRİKOKSİT SENTAZ
NO_2	:	NİTROJEN DİOKSİT
$ONOO^-$	:	PEROKSİNİTRİT
HOCL	:	HİPOKLORİKASİT
HOB R	:	HİPOBROMİKASİT
PG	:	PROSTOGLANDİN
GSH	:	GLUTATYON
XO	:	KSANTİN OKSİDAZ

TABLÖLAR VE ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 1: Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşum Mekanizmaları ve Antioksidan Enzimler.....	11
Tablo 2. Gruplara Göre Biyokimyasal Parametrelerin Sayısal Değerleri	37
Şekil 1: Lipid Peroksidasyonunun Kimyasal Yolu (55)	15
Şekil 2: Siklooksijenaz (COX1-COX2)	20

GRAFİKLER DİZİNİ

Sayfa No:

Grafik 1: Sağ ve Sol Testis İçin Ksantin Oksidaz Değerleri	29
Grafik 2: Sağ ve Sol Testis İçin Katalaz Değerleri.....	30
Grafik 3: Sağ ve Sol Testis İçin MDA Düzeyleri	32
Grafik 4: Sağ ve Sol Testis İçin LHP Değerleri	33
Grafik 5: Sağ ve Sol Testis İçin NOx Değerleri	35
Grafik 6: Sağ ve Sol Testis İçin TSH Değerleri.	36

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No:

- Resim 1:** Sham Grubundan Bir Rat Testisinin Histopatolojik Görüntüsü (Cosentino skor 1 Germ hücrelerin normal dizilimi ile karakterli normal testis parankimi)..... 38
- Resim 2:** Torsiyon Grubundan Bir Rat Testisinin Histopatolojik Görüntüsü (Cosentino skor 4. Germ hücrelerinde koagülasyon nekrozu ile karakterli testis parankimi)..... 38
- Resim 3:** L-karnitin Tedavi Grubundan Bir Rat Testisinin Histopatolojik Görüntüsü (Cosentino skor 2. Germ hücrelerin diziliminde hafif derecede bozulma ve hücrelerde kohezyon kaybı ile karakterli testis parankimi) 39
- Resim 4:** Meloksikam Tedavi Grubundan Bir Rat Testisinin Histopatolojik Görüntüsü (Cosentin skor.4 Germ hücrelerinde koagülasyon nekrozu ile karakterli testis parankimi)..... 39
- Resim 5:** Kombine Tedavi Grubundan Bir Rat Testisinin Histopatolojik Görüntüsü (Cosentino skor 3. Germ hücre nukleusları piknotik ve büzülmüş görünümde; hücreler seminifer tubül lümenlerine dökülmüş, seminifer tubül sınırları belirginliğini kaybetmeye başlamış) 40

1. GİRİŞ

Testis torsiyonu çocuklarda ve adolönlarda sık görülen, kısa zamanda müdahale gerektiren ürolojik acillerden biridir. Testis torsiyonu esnasında oluşan iskemik hasarın etyolojisinde ortamda bulunan reaktif oksijen metabolitlerine bağlı oksidatif stres ve inflamasyon süreci yer almaktadır. İskemik hasar dönemi olarak adlandırılan bu süreçte testiküler hasar primer olarak oksijen desteğinin azalmasına bağlıdır. Bu süreç, iskemik hasar dönemi olarak adlandırılır. Torsiyon ortadan kaldırıldıktan sonra da reaktif oksijen ve nitrojen ürünlerinin oluşmasıyla reperfüzyon hasarı süreci başlar (1).

Reperfüzyon döneminde testis dokusunda artan Ksantin oksidaz enzim aktivitesine bağlı üretilen süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali (OH^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2), gibi serbest oksijen radikallerinin ve peroksinitrit gibi reaktif nitrojen radikallerinin artması testiste başlıca lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve oksidatif DNA hasarı gibi toksik etkilere neden olur. Testis torsiyonuna bağlı olarak oluşan iskemi/reperfüzyon hasarının sonucunda hem torsiyone olanda hem de kontralateral testiste ortaya çıkan oksidatif stresin dokuda oluşturduğu hasar bir antioksidan molekül olan L-karnitin ile azaltılabilir. Buna ek olarak, inflamasyon sürecinin de siklooksijenaz 2 (COX2) enziminin

selektif bir inhibitörü olan meloksikam ile inhibe edilmesi sonucunda torsiyon sonrası görülen iskemi/reperfüzyon hasarı en aza indirgenebilir.

Bu çalışmada amaç, ratlarda deneysel testis torsiyon/detorsiyon modeli oluşturmak, testiste oluşan iskemi/reperfüzyon hasarının derecesini histopatolojik olarak ve dokudaki ksantin oksidaz, malondialdehit, lipid hidroperoksit, nitrik oksit, total tiyol düzeyleri, katalaz gibi belirteçlerin düzeyini ölçmek suretiyle biyokimyasal olarak belirlemek ve L-karnitin ve meloksikam tedavisinin testislerdeki hasar üzerindeki etkilerini incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TESTİS TORSİYONUN EPİDEMİYOLOJİ VE ETYOLOJİSİ

Testis torsiyonu ilk defa Huntur tarafından etkilenen testiste kalıcı iskemik yaralanmaya sebep olan ürolojik bir acil durum olarak tanımlanmıştır (2-3). Erkeklerde testis torsiyonu insidansı 25 yaşın altında 1/4000'dir. Cummings ve ark. (4) bir çalışmada hastaların %61'nin 21 yaşından küçük olduğunu belirtmişlerdir. Yaş dağılımı biri neonatal dönemde diğeri 13 yaş civarında olmak üzere 2 defa pik yapmaktadır (5). Testis torsiyonun bildirildiği en yüksek yaş 69'dur ancak yaşlılarda torsiyon oranı düşüktür (6). Stehr ve ark.na (7) göre akut skrotum tablosu ile gelen çocukların yaklaşık %9'da altta testis torsiyonu yatmaktadır. İlginç olarak testis torsiyonuna soğuk aylarda özellikle aralık ayında daha sık olarak %14 oranında rastlanmaktadır (8).

Tunica vaginalis normalde testisin anterior yüzeyini sarar ve epididim ile spermatik kord üzerinde farklı mesafeler oluşturur. Eğer tunika vaginalis korda kadar sararsa testis tunikal kavite içinde serbest olarak hareket eder ve kendi ince "mezenter" i etrafında dönebilir. Bu duruma "çan tokmağı" varyantı denir. Postmortem testislerin %12'de görülür. Çocukluk ve adölesan döneminde torsiyonun en sık nedenidir ve sıklıkla bilateraldir (9). Testis skrotumda horizontal bir pozisyonda durur. Neonatal dönemde inmekte olan veya henüz inmiş testis ve testisi saran dokular skrotum içerisinde çok hareketlidir. Bu yaş gurubunda kord

ve saran yapılar birlikte dönebilir. Bu durum ektravajinal torsiyon olarak adlandırılır ve küçük yaştaki torsiyonların çoğundan sorumludur. Ancak bu yaşlarda intravajinal torsiyonda görülebilir (10).

2.2.ÇOCUKLUK DÖNEMİ VE PERİPUBERTAL TORSİYON

Bu yaş gurubunda torsiyon sıklıkla akut başlayan tek taraflı testiküler ağrı ile kendini gösterir ancak hikaye her zaman bu klasik paterne uymaz. Anderson ve Williamson'un (11) yapmış oldukları çalışmada 1960-84 yılları arasında torsiyon ile başvuran 670 hasta değerlendirilmiş ve bunların %89'u bu tip semptomla başvurmuş. Skrotal ağrısı olan hastaların %34'ünde aynı zamanda kasık, karın veya uyluk ağrısıda görülebildiği ve bunun en erken ve en belirgin semptom olabildiği belirtilmiştir. Diğer yandan hastaların %36'sında unilateral yada bilateral geçirilmiş testis ağrısı yada şişlik öyküsü saptanmıştır. Vakaların %4'ünde yaralanma %7'sinde egzersiz ve %3'ünde de bisiklet sürme torsiyona neden olurken; %11'inde ani ağrı ile uykudan uyanma tanımlanmıştır (11).

Genel olarak muayeneye normal testisten başlanmalı; horizontal yatan testis çan tokmağı deformitesini akla getirmeli ve kontralateral testiste torsiyon olabileceğini düşündürmelidir (11). Etkilenen tarafta testis hassas ve şiştir, skrotumda yüksek yerleşimlidir ve kalınlaşmış hassas kord hissedilebilir. Kremaster refleksi genellikle kaybolmuştur ve sekonder hidrosel bulunabilir (11).

Torsiyon sonucunda oluşan iskemik testiküler hasar testisin dönme sayısı ve torsiyon süresiyle ilişkilidir. 360°' den fazla ve 24 saatten uzun torsiyonlarda

testis yerinde bırakılırsa testis atrofisi sonucu ipsilateral testis kaybı gerçekleşir. Şiddetli atrofi aynı zamanda 4 saatten uzun ve kord üzerinde 360°'den fazla dönmelerde de görülebilir (12).

Testisi korumak için gecikmeden cerrahi olarak detorsiyonu uygulanması şarttır. Orta hat skrotal insizyon ile testise ulaşılır ve teşhis doğrulanır. Kord düzeltilir testis ılık SF ile ıslatılmış gazlı bez ile sarılır. Eğer torsiyone testis belirgin olarak siyah ve cansız görülüyorsa çıkartılması uygun olur. Bristol serileri göstermiştir ki 12 saatten kısa torsiyone olan testislerin sadece %4'ünün nekrotik olduğu ve orşiektomi gerektiği görülmüş ancak bu süreden uzun torsiyon gerçekleşmişse %75'ine orşiektomi yapılmıştır (11).

2.3. TESTİS TORSİYONUNDA KLİNİK BULGULAR

Hastalar sıklıkla akut başlayan ve gittikçe şiddetlenen ağrı ile gelirler. Aynı zamanda abdominal ağrı da olabilir. Bulantı kusma sıklıkla eşlik eder (13). Daha geç dönemde hafif ateş te görülebilir. Torsiyon genellikle tek taraflıdır ancak %2 oranında bilateral olabilir (14). Sol taraf genelde daha sık etkilenir ve inmemiş testislerde de torsiyon solda daha sık görülür (15). Palpasyonda etkilenen testis çok hassastır. Torsiyone testis retrakte olur, skrotumda yüksek yerleşimlidir ve horizontaldir (16). Anteriorda hissedilen epididim de sık karşılaşılan bir bulgudur. Testiküler elevasyon (Phren bulgusu) ile ağrı azalmaz bu durum orşitte görülenin tersidir (17).

2.4. KRONİK İNTERMİTAN TORSİYON

Kronik intermitan torsiyonda hasta tekrarlayıcı akut tek taraflı skrotal ağrı epizodları tarif eder. Ağrı genellikle birkaç saat içinde kendiliğinden kaybolur. Klinik muayene hasta hekime geldiğinde genellikle normale dönmüştür. Benzer olarak radyolojik bulgularda torsiyonun kaybolması nedeniyle hasta başvurduğu anda normale dönmektedir.

2.5. AYIRICI TANI

Testis torsiyonu strangüle herni, orşit, epididimit ve apendiks testis torsiyonu gibi akut skrotal ağrının diğer nedenlerinden ayrılmalıdır. Testis torsiyonunda ağrı epididimiorşitle kıyaslandığında daha şiddetli ve daha akut başlangıçlıdır. Çocuklarda akut skrotal ağrının %35-67'inden apendiks testis torsiyonu sorumludur (18). Apendiks testis torsiyonu testis torsiyonundan daha yavaş başlaması “blue dot” bulgusu, testisin üst polünde lokalize hassasiyet olması ve bulantı kusma gibi semptomların olmaması gibi bulgular yardımıyla ayrılır. Kremaster refleksi testis torsiyonunun aksine çoğunlukla kaybolmamıştır. Eğer akut travma öyküsü varsa testis rüptürü ve hematosel de ayırıcı tanıda düşünülmelidir. Akut skrotal ağrının diğer nedenleri arasında Henoch-Schönlein purpurası ve poliartritis nodoza yer almaktadır (19).

2.6. TANISAL TESTLER VE GÖRÜNTÜLEME YÖNTEMLERİ

Tam kan sayımı ve idrar analizi genellikle normaldir.

2.6.1. Dopler Ultrasonografi

Son birkaç yıl içinde ultrasonografi (USG) testis torsiyonu tanısında en sık tercih edilen yöntem haline gelmiştir (20). Tam torsiyonda doppler görüntülemeye kan akımı tamamen kaybolmuştur. Tam olmayan torsiyonda kan akımı halen görülebilir. Torsiyonun süresine göre USG bulguları değişebilir. Genel olarak etkilenen testis genişlemiştir ve heterojen görüntüsü mevcuttur (21). Nussbaum ve ark. (22) testis torsiyonunda ek olarak artmış epididim boyutu ve avaskülerite görülebildiğini belirtmişlerdir.

2.6.2 Manyetik Rezonans Görüntüleme

Manyetik rezonans (MR) görüntülemeye testis torsiyonu tanısında kullanılabilir (23). Fakat klinik uygulamada pediyatrik dönemde anestezi gerekliliğinden dolayı pek tercih edilmemektedir.

2.6.3. Radyonüklid Sintigrafi

Bu görüntüleme yöntemi de testis kan akımının değerlendirilmesinde kullanılır (24). En sık kullanılan izotop Tc 99'dur. Testis torsiyonu zayıf Tc 99

tutulumu ile kendini gösterir ve sintigrafide torsiyone olmuş testisin çevresindeki dokulara nazaran radyonüklid izotopu daha az tutmasına bağlı olarak halka bulgusu gözükür. USG'nin aksine radyonüklid sintigrafisi intravenöz girişim gerektirir ve prosedür daha uzun sürmektedir (2).

2.7. KOMPLİKASYONLAR

2.7.1. İnfertilite

Spermatogenez torsiyon geçirmiş hastalarda belirgin olarak bozulmuştur. Hastaların yaklaşık %36'sında sperm sayısı 20 milyon/ml'nin altındadır (25).

2.7.2. Kontralateral testis üzerindeki etkileri

Birçok araştırmacı tek taraflı testis torsiyonunun kontralateral testiste biyokimyasal değişikliklere neden olduğunu ve bu değişikliklerin detorsiyondan sonra da şiddetlenebileceğini söylemektedirler. Vigueras ve ark. (21) bir hayvan çalışmasında iki grup belirlemişler; birinci gruba torsiyon sonrası detorsiyon uygulayıp orşiektomi uygulamışlar diğer gruba ise detorsiyon uygulamadan direk orşiektomi uygulamışlar. Torsiyon yapılan hayvanlarda; kontralateral testisteki etkilenen seminifer tübül yüzdesinin torsiyon sonrası detorsiyon uygulanıp orşiektomi yapılanlarda (%58.6), torsiyon sonrası direk orşiektomi yapılanlara göre (%48) daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Bu kontralateral hasara

nörohormonal yolakların yol açtığı varsayılmaktadır. Unilateral detorsiyondan sonra pentoksifilin gibi bazı ilaçların her iki testise de kan akımını arttırdıkları gösterilmiştir (26). Buna rağmen kontralateral hasarın patofizyolojisi henüz tam olarak açıklığa kavuşmamış bir konudur.

2.8. Tedavi

Akut hassas skrotal şişliği olan her erkekte eğer hikaye, muayene veya görüntüleme yöntemleri aksini göstermiyorsa akut torsiyon mutlaka düşünülmelidir. Eğer tanı görüntüleme ile teyid edildiyse veya doğru tanı üzerinde şüphe varsa bile acil cerrahi girişim gerekmektedir. Uygun analjeziyi sağlamak tedavinin en önemli basamaklarındanıdır. Acil İV katater takılmalıdır.

2.8.1. Manuel Detorsiyon

Manuel detorsiyon ilk 2-6 saat arasında veya cerrahi hazırlığın devam ettiği esnada uygulanmalıdır. Manuel detorsiyon aynı zamanda kronik intermitan torsiyonu olupta skrotal ağrısı geçmeyen hastalarda da denenmelidir (27). Bu çok ağrılı bir prosedür olduğu için uygun İV sedasyon veya spermatik kord anestezisi gereklidir (28). Testisler genellikle medialden laterale doğru detorsiyone edilir. Başarılı detorsiyonda skrotal ağrının hemen geçmesi gerekir. Doplerdeki kan akımının düzelmesi ise başarılı detorsiyonun kesin belirtisidir.

2.8.2. Cerrahi eksplorasyon

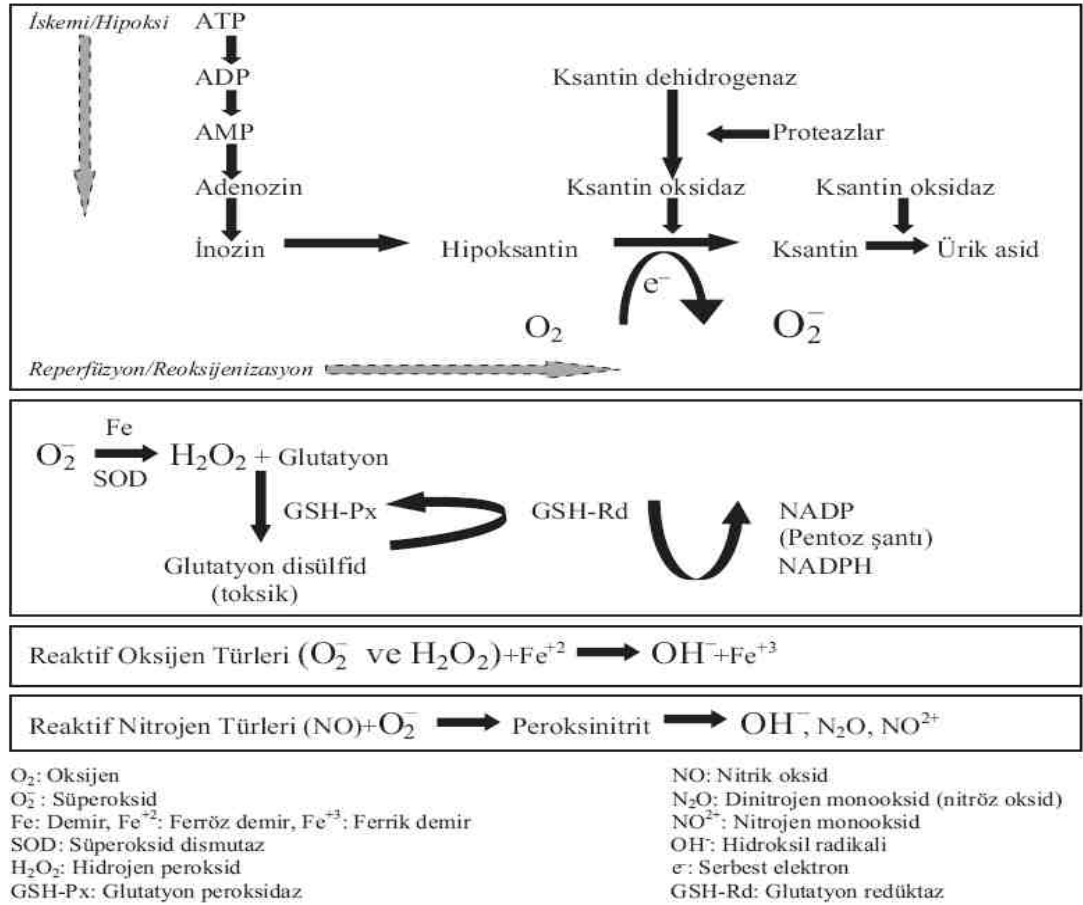
Akut skrotumu olan ve dopler ile kesin tanı koyulan ve manuel detorsiyonun başarılı olmadığı hastalarda acil cerrahi yaklaşım gereklidir. Bunun nedeni 6 saat sonrasında kalıcı iskeminin oluşmaya başlamasıdır (29). Genellikle transskrotal yaklaşım tercih edilir. Eksplorasyon esnasında etkilenen testis ve spermatik kord detorsiyone edilir. Detorsiyon sonrası testisin canlılığı değerlendirilir. Eğer testis canlılığını yitirmişse veya nekrotikse orşiektomi yapılmalıdır. Eğer mümkünse orşiektomi kontralateral orşiopeksi ile beraber uygulanmalıdır. Eğer detorsiyon sonrası testis canlı görünüyorsa bilateral orşiopeksi yapılmalıdır. Torsiyon için yapılan orşiopekside amaç tunika albugineanın dartosa dikilmesidir.

2.9. TESTİS TORSİYONU, İSKEMİ/REPERFÜZYON SONRASI OKSİDATİF STRES

Testis gibi organlarda iskemi/reperfüzyon hasarının oluşumunda reaktif oksijen ve nitrojen radikalleri aşırı üretimi rol oynamaktadır (30). Moleküler Oksijen serbest elektron ile iskemi sonrası reperfüzyon fazında hipoksantin-ksantin oksidaz - ksantin sistemi üzerinden hızla karşılaşır ve süperoksit anyonuna ve süperoksit dismutaz aktivitesi sonrası da hidrojen perokside dönüşür. Dokularda hipoksi ile bir pürin metaboliti olan hipoksantin artarak biriktiğinin gösterilmesi artan hipoksantin, hipoksantin-ksantin oksidaz sistemi ile ortadan

kaldırılması esnasında özellikle reperfüzyon evresinde oksijen radikallerinin aşırı üretiminin gerçekleştiğinin ortaya konulmuştur. Hipoksantin-ksantin oksidaz sistemi üzerinden sentezlenen oksijen radikallerinin miktarı hem hipoksantin konsantrasyonu, hem de oksijen konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (31).

Tablo 1: Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşum Mekanizmaları ve Antioksidan Enzimler



Bu aşamada ayrıca mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ve oksidatif fosforilasyonun bozulması söz konusudur. SOR'ının mitokondriyal üretimi artmıştır ve antioksidan savunma mekanizmaları tarafından üretilen SOR'un oluşturduğu oksidatif strese doku tarafından karşı koyulabilir (32-33). İkinci

aşama oksidatif stresin yaratmış olduğu tehdit süresine bağlı olarak saatler veya günler sürer. Bu aşamada geri dönüşümsüz doku hasarı ve inflamasyon oluşur ve nötrofil infiltrasyonu ve makrofaj hakimiyeti söz konusu olur (34). Erken reperfüzyon esnasında SOR üretiminin artması nonenzimatik reaksiyonlara bağlıdır. Örnek olarak hızlı reoksijenasyon esnasında mitokondiyal respiratuvar zincirin bileşenlerinin semikuinon formlarının otooksidasyonu ile oluşan O_2^- verilebilir (35). Hücre membranındaki ve lipoproteinlerdeki unsature lipid ve kolesterolin oksidasyonu ile gerçekleşen serbest radikal oluşum süreci olan lipid peroksidasyonu iskemi/reperfüzyon durumunun en zararlı sonucu olarak kabul edilmektedir (36). Diğer organlara benzer olarak testiküler hasar da temel olarak iskeminin şiddetine bağlıdır ancak reperfüzyon süresi de önemli rol oynar (37, 38).

Bazı çalışmalarda rat testisi üzerindeki etkiler sadece iskekiye bağlanıp iskemi ve reperfüzyonun beraber etkisi göz ardı edilmiştir (39,40). Dolayısıyla iskemi/reperfüzyon entegre bir fenomen olarak düşünülmemiştir ve birden fazla oksidatif stres belirtecinin değerlendirilmemesine neden olmuştur. Akgür'ün (41) yaptığı çalışma hariç bu çalışmada kontralateral testisteki MDA seviyelerinde fark saptanmamıştır. Bir çalışmada da 1-2 saatlik torsiyon uygulanmış ve detorsiyondan sonraki 6-24 saatlik ve 1 haftalık periyodlarda ipsilateral testiste azalmış, kontralateral testiste artmış MDA içeriği saptanmıştır (42). Testis torsiyonunda oksidatif stresi incelemeyi amaçlayan bazı çalışmalarda lipid peroksidasyonu araştırılmıştır. MDA lipid peroksidasyonu esnasında oluşan, iskemi reperfüzyon hasarının sekonder ürünüdür. Testiküler hasar sonrası testis

dokusunda MDA seviyesi artar (43, 44, 45). Serbest radikallerin temizleyicisi olarak da bilinen antioksidan enzimler serbest oksijen radikallerini su ve oksijen haline çevirirler. Bu enzimlerden en iyi bilinenleri süperoksitdismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalazdır. SOD seviyeleri bir çok organda reperfüzyon hasarına bağlı olarak azalır (46). SOD ile katalazın birlikte tedavi rejimi olarak verildiği bir çalışmada iskemi reperfüzyon hasarından sonra testiküler fonksiyonda anlamlı iyileşme saptanmıştır (47). Bu azalma oksidatif stres nedeniyle bu enzimin tüketilmesinden kaynaklanmaktadır.

2.9.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, bir ya da daha çok sayıda çiftleşmemiş elektron içeren atom ya da atom gruplarıdır (48). Herhangi bir atom veya molekülün dış orbitallerinde bir veya daha fazla paylaşılmamış elektronların bulunması, söz konusu kimyasal türün reaktivitesini artırır. Bu yapılar kararsız haldedir ve dış yörüngesindeki elektronun ortaklanmasını sağlamak ve daha kararlı hale gelmek için diğer moleküllerle reaksiyona girebilecek şekilde aktif bir yapı gösterir.

2.9.2. Serbest Radikal Kaynakları

Ekzojen kaynaklar: hava kirleticiler, doğal zararlı gazlar (ozon, oksijen ve hiperbarik oksijenin yüksek konsantrasyonları), iyonize ve non-iyonize

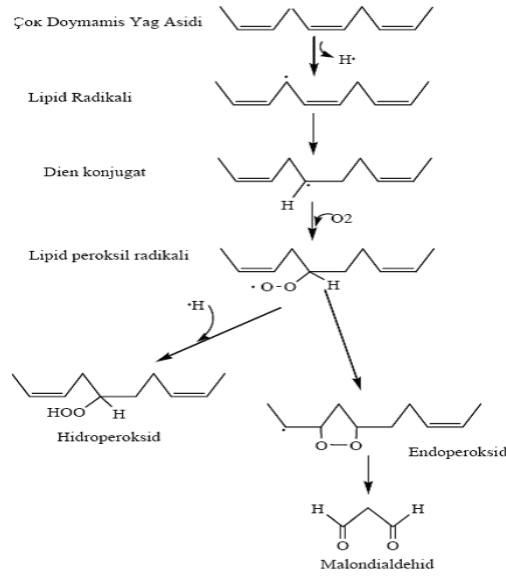
radyasyon, ilaçlar, alkol, patojenik bakteri ve virüsler (49). Endojen kaynaklar ise mitokondrial elektron transport sistemi, endoplazmik retikulum, araşidonik asit metabolizması veya siklooksijenaz (COX) sistemi, redoks döngüsü, fagositik hücreler (monosit ve makrofajlar, nötrofil, eozinofil) ve endotelyal hücreler gibi hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar, ksantin oksidaz, NADPH oksidaz gibi oksidan enzimler ve otooksidasyon reaksiyonlarıdır (50).

2.9.3. Serbest Radikallerin Biyomoleküllere Etkileri

Serbest radikaller yüksek konsantrasyonda başta nükleik asitler, lipidler ve proteinler olmak üzere birçok molekülü hedef alırlar (51). Reaktif oksijen/Reaktif nitrojen türlerinin zararlı etkisi biyolojik sistemde hasara neden olmakta, bu durum da oksidatif veya nitrozaktif stres olarak nitelendirilmektedir (52). Serbest radikallerin hücrede sıklıkla karşılaştıkları ilk yapı membran lipid komponentleridir (53).

2.9.3.1. Lipid Peroksidasyonu

Hücre membranları çoklu doymamış yağ asitleri açısından zengindir. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve zincirleme olarak kendiliğinden süren bir reaksiyon çeşididir (54).



Şekil 1: Lipid Peroksidasyonunun Kimyasal Yolu (55)

Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikal aracılı oksidasyonu sonucu lipid hidroperoksitler gibi birincil metabolitler oluşurken daha ileri oksidasyon reaksiyonları sonrası siklik peroksitler gibi ikincil lipid peroksidasyon metabolitleri oluşur (56) Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikal aracılı oksidasyonu, bu yağ asitlerinin yapısındaki hidrojen atomunun zincir başlatıcı radikale ($R^\cdot$) veya hidroksil radikali ($OH^\cdot$) gibi kararsız yapılara transferi sonucu pentenil karbon merkezli lipid radikalının oluşması ile başlar. Burada karbon merkezli lipid radikali moleküler oksijenle tepkimeye girerek lipid peroksil radikalini oluşturur. Böylece peroksil radikalleri zincir reaksiyonunun devam ettiricileridir. Lipid hidroperoksitler bölünüp toksik aldehitlere (4-hidroksinonenal, malondialdehit, 4-hidroksihekzenal) dönüşebilir. Bu aldehitler diğer biyolojik moleküllerle (aminoasitler, proteinler, nükleik asitlerin bazıları)

reaksiyona girerek hücrede sitotoksik, genotoksik hatta proliferatif etki gösterirler (57).

2.9.3.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Proteinlerin oksidasyonu, reaktif oksijen/nitrojen türevleri ile veya diğer oksidan metabolitlerle kovalent modifikasyonu sonucu gerçekleşir (58). Protein oksidasyonunun biyokimyasal sonuçları enzim aktivitesindeki azalma, protein fonksiyonlarının ve proteaz inhibitör aktivitenin kaybı, protein agregasyonu, proteolize artmış ya da azalmış yatkinlık, reseptör aracılı endositozun bozulması, gen transkripsiyonundaki değişimler, immünojen aktivitedeki artış olarak sıralanabilir (59). Serbest radikallerin proteinlerdeki tiyol (-SH) gruplarının oksidasyonuna yol açtığı ve bunun da protein oksidasyonunun en erken gözlenebilen belirtisi olduğu bilinmektedir (60). Sistein amino asidinin -SH grubu oksidatif atığa oldukça yatkindır ve -SH gruplarından değişik mekanizmalarla oluşan tiil radikali (-S[•]) proteinlerdeki disülfid bağlarının oluşumuna öncülük eder. Aynı zamanda -SH grupları oksidasyonu sonucu oksi-asit türevleride oluşur (58).

2.9.4. Antioksidan Savunma Sistemi

Organizmalardaki lipid, protein, nükleik asit ve karbohidratlar gibi moleküller oksidatif hasar için hedef moleküllerdir. Antioksidanlar, oksidatif

hasara karşı bu moleküllerinin oksidasyonunu geciktiren veya engelleyen moleküller olarak tanımlanmaktadır (61). Hücre dışında ve hücrede farklı organellerde yerleşerek savunma mekanizmasında rol alan biyomoleküller (antioksidanlar) enzimatik yapıda olabilecekleri gibi non-enzimatik yapıda da olabilirler. Enzimatik yapıdaki antioksidanlar içinde süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GPX), glutatyon redüktaz ve glutatyon S-transferaz sayılabilir. Enzimatik yapıda olmayanlar arasında askorbik asit, tokoferoller, β -karoten gibi vitamin yapıya katılan antioksidanlar sayılabileceği gibi glutatyon, α -lipoik asit, ubikinol, ürik asit, serüloplazmin, l_karnitin, transferrin, selenyum gibi antioksidan özellik gösteren maddeler de sayılabilir (62).

2.10. L-KARNİTİN

L-karnitin yapısal olarak aminoasite benzeyen vitamin benzeri bir moleküldür. İskelet kası, kalp, böbrek, karaciğer ve beyin gibi dokularda esansiyel aminoasitler olan lizin ve metioninden endojen olarak sentezlenir (63). L-karnitinin antiradikal ve antioksidan etkileri vardır ve ortamdan SOR'u uzaklaştırır. Biyolojik membran lipidlerini oksidasyondan korur ve MDA gibi lipid peroksidasyon ürünlerinin birikmesini engeller (64, 65). MDA'nın artışına bağlı oluşan birçok patolojik durumların L-karnitin varlığında gerçekleşmediği gösterilmiştir. Örneğin kalp, iskelet kası, böbrek, beyin, retina ve karaciğerde oluşan iskemi reperfüzyon hasarı verilebilir (66, 67) L-karnitinin farklı organ

sistemlerinde başarıyla kullanılmış olması testis torsiyonu modelinde de başarıyla kullanılabileceğini düşündürmüştür. Nitekim Dökmeci ve ark.nın (68) yapmış olduğu çalışmada deneysel testis torsiyon detorsiyon modelinde L-karnitin testis dokusunu antioksidan etkiden koruduğu gösterilmiştir. L-karnitin memeli epitelinden epididim plazmasına ve spermatozoaya salgılanır. Burada serbest ve asetlenmiş olarak birikir. Vücutta en fazla epididim sıvısında görülür. Buradaki konsantrasyonu dolaşımdaki kana göre 2000 kez daha fazladır (69). Daha önce yapılan çalışmalar epididimde L-karnitin spermatozoa maturasyonuna olumlu etki ettiği gösterilmiştir.

Testiste üretilen spermatozolar immobil ve infertildir ve epididimde postgonadal modifikasyona girerek fertil hale gelirler. Spermin motilitesini kazanması L-karnitin artışına paralel olduğu gösterilmiştir (70, 71). Ek olarak L-karnitin SOR üretimini azaltır ve spontan gebelik oranını artırır (72). Ancak L-karnitin erkek fertilitasını hangi mekanizmayla etkilediği henüz tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. SOR formasyonunu engellediği, serbest radikalleri yok ettiği ve hücreleri peroksidatif strese koruduğu bilinmektedir. Sonuç olarak karnitinle yapılacak bir antioksidan tedavi SOR'a bağlı infertilitesi olan erkeklerde hormonal olmayan akılcı bir tedavi stratejisi olarak düşünülebilir.

2.11. MELOKSİKAM

Non steroid anti inflamatuvar (NSAİ) ilaçlar arasında enololik asit grubundan bir oksikam derivativesidir. Meloksikam kimyasal olarak 4hidroksi-

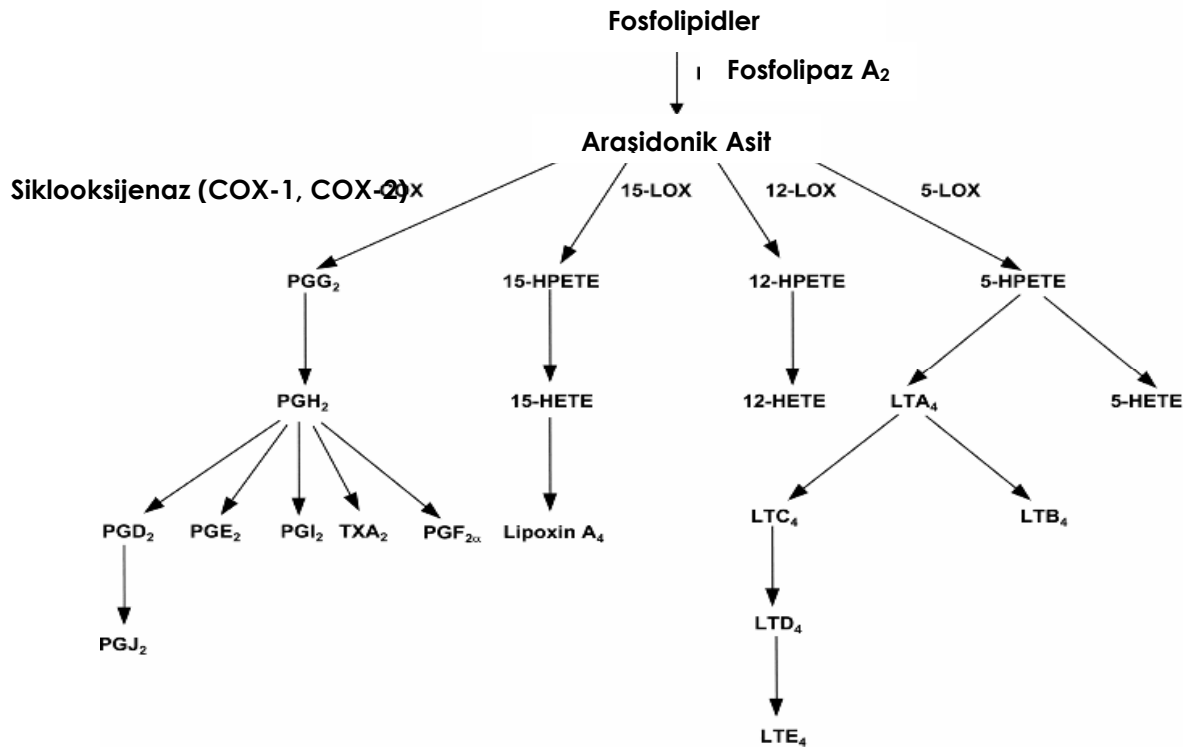
2metil-N- (5metil-2tiyazolil)-2H-1,2benzotiazin-3 karboksamit-1,1 Dioksit molekül düzenindedir. Meloksikamın hayvan modelleri üzerinde antiinflamatuvar, analjezik, antipiretik etkinliği olduğu kanıtlanmıştır. Meloksikamın etki mekanizması diğer NSAİ ilaçlar gibi prostoglandin sentetaz (siklooksijenaz) enzim inhibisyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir. Meloksikam COX-2'yi COX-1'e göre daha potent olarak inhibe eden yeni bir NSAİ ilaçtır. Sıklıkla romatizmal hastalıkların tedavisinde kullanılır (73).

2.11.1. Siklooksijenaz (COX)

Siklooksijenaz (COX) prostanoid (prostoglandin, prostasiklin ve tromboksan) denilen biyolojik medyatörlerin oluşumundan sorumlu bir enzimdir. COX'un farmakolojik olarak inhibe edilmesi inflamasyon ve ağrı semptomlarının azaltılmasına neden olmaktadır. Bu mekanizmayla NSAİ ilaçlar etki göstermektedirler. Prostaglandin sentaz ve prostaglandin sentetaz isimleride COX enzimini tanımlamak için kullanılmaktadır. COX araşidonik asidi PGH_2 'e dönüştürür. Bu molekül 2. seri prostanoidlerin prekürsörüdür. Enzimin iki aktif bölümü vardır. Bunlardan biri peroksidaz aktivitesi olan hem bölümüdür. Bu bölüm PGG_2 'nin PGH_2 'e redüksiyonundan sorumludur. Siklooksijenaz bölümü ise araşidonik asidi hidroperoksi endoperoksit PGG_2 'e dönüştürür (74).

Dokuda irritasyon ve zedelenme yapan ayrıca immünolojik reaksiyonlara neden olan etkenler lokal araşidonik asitten prostanoidlerin sentezini artırır.

Prostanoidler diye adlandırılan COX ürünü eikozanoidler PG'ler, prostasiklinler ve tromboksanlardır. COX enzimleri (COX1 VE COX2) araşidonik asidin adı geçen prostanoidlerin prekürsörleri olan prostaglandin G ve H'e dönüşünü katalize eder (75) (Şekil2).



Şekil 2: Siklooksijenaz (COX1-COX2)

2.11.2. Siklooksijenaz ürünlerinin aktif oksijen radikalleri ile olan ilişkisi

İnflamasyon belirtilerinin oluşmasında prostaglandin varsayımını tamamlayan bu yeni görüşü destekleyen deneysel bulgular son zamanlarda

yayınlanmıştır. Buna göre araşidonik asidin siklik endoperoksidler olan PGG₂'nin PGH₂'ye dönüşümü sırasında ve ayrıca araşidonik asitten lipooksijenaz aracılığı ile lipid peroksidler oluşurken aktif oksijen radikalleri olan süperoksit (O₂^{-*}) anyonu ve serbest hidroksil anyonu (OH) radikali oluşur. Fazla sitotoksik olan bu bileşikler inflamasyonun oluşmasına katkıda bulunurlar. Gerçekte aktif oksijen radikalleri hücrelerde normal durumlarda da oluşurlar; fakat süperoksit dismutaz ve benzeri enzimlerle hemen inaktive edilirler. İnflame dokuda, özellikle PMNL'ler ve makrofajlar tarafından aşırı derecede ve kontrolsüz bir şekilde aktif oksijen radikalleri üretilir. Bunun bir nedeni, inflamasyonu oluşturan stimulusun anılan hücrelerde hekzoz-monofosfat şantını aktive ederek non-mitokondriyal enerji üretimini arttırmasıdır (76).

Na-salisilat, indometazin, fenilbutazon, sulindak, diklofenak, meloksikam, neklofenemat ve azapropazon'un antiinflamatuvar etkilerinin kısmen iltihaplı dokuda aktif oksijen radikalleri oluşmasını inhibe etmeleri ve/veya oluşmaları bağlayıp inaktive etmeleri ile ilişki gösterdiği saptanmıştır. Aktif oksijen radikalleri inaktive eden süperoksit dismutaz enzimi preparatları, romatoid artritli hastalarda intraartiküler veya parenteral verilerek tedavi edici ilaç olarak hala denenmektedir ve alınan sonuçlar olumlu gözükmektedir (76).

3. MATERİYAL VE METOD

3.1. RATLAR

Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı'ndan 43-5907 sayılı 09/04/2008 tarihli belgeyle etik kurul onayı alındıktan sonra 250-300 gr ağırlığında 30 adet wistar rat deneyde kullanıldı. Ratlar su içmeleri serbest olmak üzere işlemiden 24 saat öncesinden itibaren aç bırakıldı.

3.2. GRUP DAĞILIMI

30 rat gelişigüzel olarak her grupta 6 rat olmak üzere 5 gruba ayrıldı.

Grup1 (sham): Ratlara skrotal kesi yapıldı ve sol testis doğurtuldu ve skrotuma geri yerleştirildi.

Grup2: Bu grupta sol testis doğurtulduktan sonra 720 derece saat yönünde torsiyone edildi. 90 dk boyunca bekletildi ve detorsiyone edilerek skrotuma geri yerleştirildi.

Grup 3: 2.grupta uygulanan prosedüre ek olarak postop 3 gün boyunca ratlara L-karnitin tedavisi uygulandı. (500mg/kg/gün IM)

Grup 4: 2.grupta uygulanan prosedüre ek olarak postop 3 gün boyunca ratlara meloksikam tedavisi uygulandı. (3mg/kg/gün IM)

Grup 5: 2.grupta uygulanan prosedüre ek olarak postop 3 gün boyunca ratlara L-karnitin ve meloksikam tedavisi uygulandı.

3.3. CERRAHİ PROSEDÜR

24 saatlik açlık sonrası ratlara intramuskuler pentobarbital (40mg/kg) ile anestezi uygulandı. Skrotum üzerinden yapılan sol vertikal insizyon ile testise ulaşıldı ve testis vasküler yapılarıyla birlikte doğurtuldu. Grup 1’de testis hemen geri yerleştirilirken grup 2,3, 4 ve 5’de sol testis 720 derece saat yönünde torsiyone edildi. 90 dk boyunca hipotermiyi engellemek için ılık SF ile ıslatılmış gazlı bezle testis örtüldü. 90 dk sonunda örtü kaldırılarak testis detorsiyone edildi ve skrotuma geri yerleştirildi. Skrotum 6/0 poliglikolikasit suture ile 2 tabaka halinde onarıldı. Ratlara su ve yiyecek serbest bırakıldı. 96 saat sonra yüksek doz intramuskuler pentobarbitalle (75mg/kg) ratlara ötenazi uygulandı. Her iki testise orşiektomi uygulandı. Bir parçaları %4 formaldehit solusyonuna konularak histopatolojik inceleme için ayrıldı. Diğer parçalar biyokimyasal inceleme için petrikaplarında saklandı.

3.4. BİYOKİMYASAL YÖNTEM

3.4.1. Malondialdehit çalışması:

Doku homojenatlarında malondialdehit seviyeleri Yoshioka ve ark.nın (77) tarif ettiği metot esas alınarak ölçüldü. %0.67 tiyobarbutirik asit çözeltisi, %20 trikloroasetik asit, tüpler 95 °C de 30 dakika kaynatılıp yavaş yavaş soğutulur. Saf n-bütanol eklendikten sonra 4000 rpm de 10 dakika santrifüj edildikten sonra bütanol fazı spektrofotometrede 535 nm de köre karşı okutulur. Tiyobarbutirik asit ile malondialdehit arasında oluşan pembe renkli kompleks için 535nm’ de molar absorpsiyon katsayısı (ϵ_{535nm} : $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) olarak hesaplanmıştır.

3.4.2. Lipid hidroperoksit çalışması

FOX-2 çözeltisi: 100 μM xlenol orange, 250 μM amonyum-ferröz sülfat, %90 metanol (HPLC grade), 4 mM bütillenmiş hidroksitoluen, 25 mM sülfirik asit gibi reaktifler kullanılarak deney yapıldı. Doku lipid hidroperoksit düzeyleri Hunt ve arkadaşlarının (78) tarif ettiği yönteme göre tayin edildi. 50 μl serum, 950 μl FOX-2 çözeltisi ile 1,5 ml lik mikrosantrifüj tüpü içersinde karanlıkta 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda serum içermeyen kör tüpüne karşı örnekler 560 nm de mikropalak okuyucuda okutuldu. Xylonol orange ile ferik demir arasında oluşan mavi-mor renkli komplaks için 560 nm’ de molar

absorbsiyon katsayısı ($\epsilon_{560\text{nm}}: 1,5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar $\mu\text{mol/litre}$ olarak hesaplanmıştır.

3.4.3. Total sülfidril çalışması

0,01 M 5,5'-ditiobis- (2-nitrobenzoik asit), (DTNB; Ellman's reagent) saf metanol içersinde hazırlandı. 0,2 M tris tamponu (pH:8,2), (TRIS-EDTA); 12,1 g Tris bir miktar deiyonize suda çözüldükten sonra, üzerine 50 ml 0,2 M etilendiamintetraasetikasit-2-sodyum tuzu (EDTA Na₂) ilave edilir. PH:8,2' ye 1 N HCl ile ayarlandıktan sonra, deiyonize su ile 500 ml' ye tamamlanır. Doku sülfidril düzeyleri Sedlak ve arkadaşlarının (79) tarif ettiği yöntemle göre tayin edildi. 5,5'-dithiobis- (2-nitrobenzoik acid) için 412 nm' de molar absorpsiyon katsayısı ($\epsilon_{412\text{nm}}: 13100 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar $\mu\text{mol/litre}$ olarak hesaplanmıştır.

3.4.4. Nitrik oksit çalışması

Doku homojenatlarında nitrit-nitrat düzeyleri ticari kit protokolüne uygun olarak kolorimetrik olarak mikropalak okuyucuda ölçüldü (80). Homojenatda ki nitrat, nitrat redüktaz tarafından nitrite dönüştürüldükten sonra total nitrit düzeyleri iki basamaklı reaksiyonla (Griess 1 sülfanilamid çözeltisi, Griess 2 N-

naftiletilenamid çözeltisi) azo bileşiğine dönüştürüldükten sonra 540 nm de mikropalak okuyucuda ölçüldü.

3.4.5. Ksantin oksidaz çalışması

33 mM, (pH 7.5) fosfat tamponu, 0.17 mM ksantin çözeltisi, %100 trikloroasetik çözeltisi gibi reaktifler kullanıldı. Doku homojenatlarında ksantin oksidaz aktivitesi Prajda ve arkadaşlarının (81) tarif ettiği metot esas alınarak ölçüldü. Enzim aktivitesi: 25 °C de, 1 dakikada 1 µmol substratı ürüne dönüştüren enzim 1 IU enzim olarak tanımlanır. Ürik asit için 293 nm' de molar absorpsiyon katsayısı (ϵ_{293nm} : $13.0 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar mIU/mg protein olarak hesaplanmıştır.

3.4.6. Katalaz çalışması

Doku homojenatlarında katalaz aktivitesi Aebi (82) tarafından geliştirilen metot esas alınarak ölçüldü. Spektrofotometrik ölçüm için küvet içersine 2900 µl Hidrojen peroksit içeren 50 mM fosfat tamponu ve 50 µl homojenat eklendikten sonra hızla küvet karıştırıldı. 240 nm de hidrojen peroksitin katalaz enzimi tarafından parçalanması sonucu optik dansitede ki azalış kaydedildi. Hidrojen peroksit için 240 nm' de molar absorpsiyon katsayısı (ϵ_{240nm} : $43.6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar IU/mg protein olarak hesaplanmıştır.

3.5. PATOLOJİK YÖNTEM

Ratlara ait testis dokuları, %10 luk formaldehitte 6 saatlik fiksasyonu takiben rutin parafin doku takip işleminden geçirilmiştir. Parafin bloklar 4 mikron kalınlığında kesilerek, hematokilen-eozin (H&E) ile boyanmıştır. Kesitler ışık mikroskopik olarak, iskeminin derecelendirilmesi için Cosentino ve arkadaşlarının (83) kullandığı 4 dereceli sistem ile seminifer tubüllerindeki hücre zedelenmesi semi-kantitatif olarak değerlendirilmiştir.

Grade 1: Germ hücrelerin normal dizilimi ile karakterli normal testis parankimi

Grade 2: Germ hücrelerin diziliminde hafif derecede bozulma ve hücrelerde kohezyon kaybı ile karakterli testis parankimi

Grade 3: Germ hücre nükleusları piknotik ve büzülmüş görünümde; hücreler seminifer tubül lümenlerine dökülmüş, seminifer tubül sınırları belirginliğini kaybetmeye başlamış

Grade 4: Germ hücrelerinde koagülasyon nekrozu ile karakterli testis parankimi

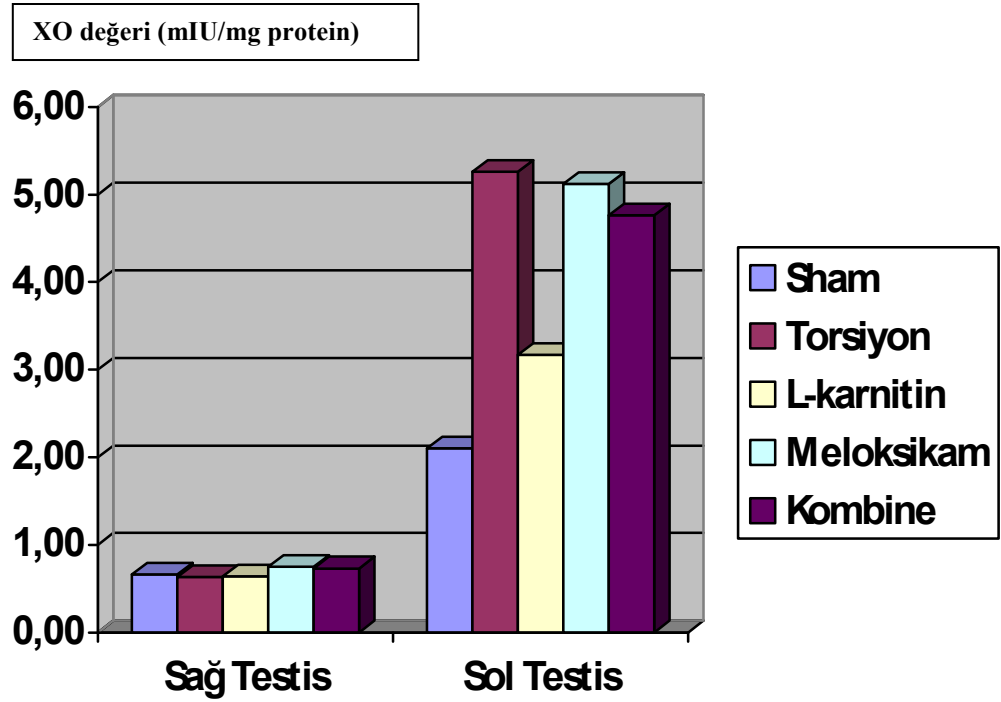
4. BULGULAR

4.1. BİYOKİMYASAL BULGULAR

4.1.1. Ksantin Oksidaz

Torsiyone edilen sol testisteki ksantin oksidaz seviyeleri değerlendirildi. Sham grubunda ksantin oksidaz seviyesi, torsiyon, meloksikam ve kombine tedavi gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olarak saptandı (p:0.010, p:0.004, p:0.006) (Grafik1). Torsiyon grubunda ksantin oksidaz değeri L-karnitin, meloksikam ve kombine tedavi gruplarına göre daha yüksekti (p:0.109, p:0.873, p:0.936). L-karinitin grubunda bu değer, meloksikam ve kombine tedavi grubuna göre daha düşüktü (p:0.037, p:0.055). L-karnitin ve meloksikam grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı iken L-karnitin ve kombine tedavi grupları arasındaki fark anlamlı değildi (Grafik1).

Her iki testisteki ksantin oksidaz değerleri kıyaslandığında, tüm gruplarda sırasıyla sol testisteki ksantin oksidaz değerleri istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksekti (p:0.006, p:0.004, p:0.006, p:0.004, p:0.004) (Grafik1).



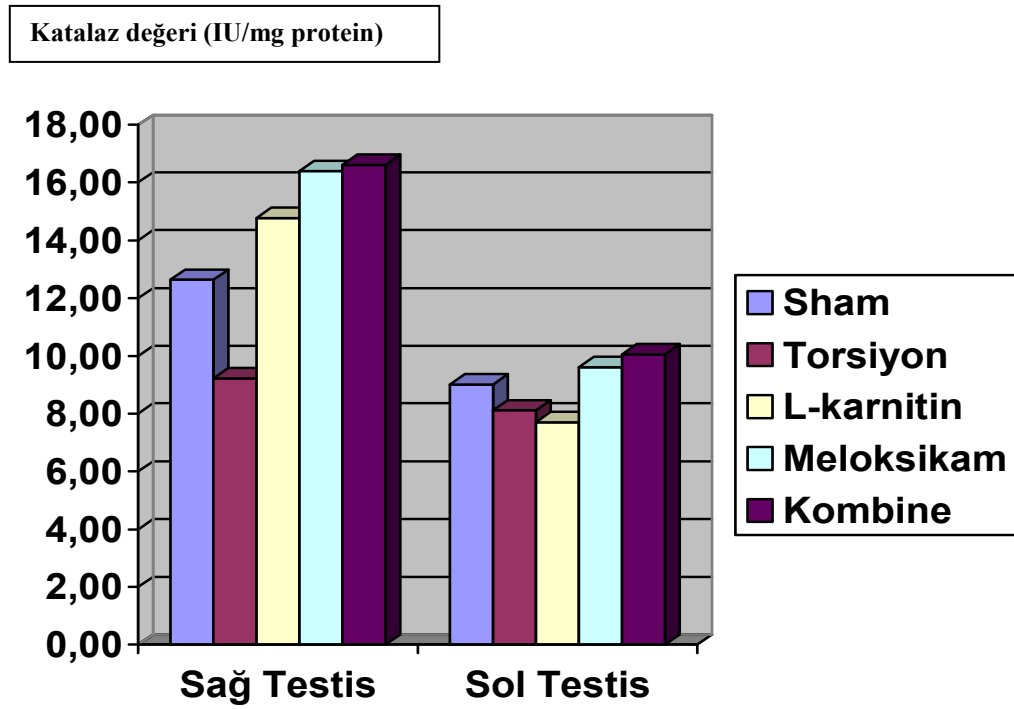
Grafik 1: Sağ ve Sol Testis İçin Ksantin Oksidaz Değerleri

4.1.2. Katalaz

Sol testisteki katalaz seviyeleri değerlendirildi. Sham grubunda katalaz değeri torsiyon ve L-karnitin gruplarındaki değerlere göre daha yüksekti ($p:0.262$, $p:0.150$). Yine Sham grubunda bu değer, meloksikam ve kombine tedavi grubuna göre daha düşüktü ($p:0.873$, $p:0.873$) (Grafik2). Bu değerler istatistiksel olarak anlamlı değildi. Torsiyon grubunda katalaz değeri L-karnitin grubuna göre daha yüksekti ($p:0.873$). Yine torsiyon grubunda bu değer meloksikam ve kombine tedavi grubuna göre daha düşüktü ($p:0.240$, 0.262) (Grafik2). L-karnitin grubunda katalaz değeri meloksikam ve kombine tedavi grubuna göre daha düşüktü

(p:0.078, 0.078). Meloksikam grubunda Katalaz değeri kombine tedavi grubuna göre daha düşüktü (p:0.873). Bu değerler istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Her iki testisteki Katalaz değerleri kıyaslandığında sham, torsiyon, L-karnitin, meloksikam ve kombine tedavi gruplarında bu değer sağ testiste sol testise göre daha yüksekti (p:0.078, p:1, p:0.010, p:0.004, 0.016) (Grafik2). Meloksikam ve kombine tedavi gruplarında sağ ve sol testis arasında Katalaz seviyeleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı derecede fark saptandı.

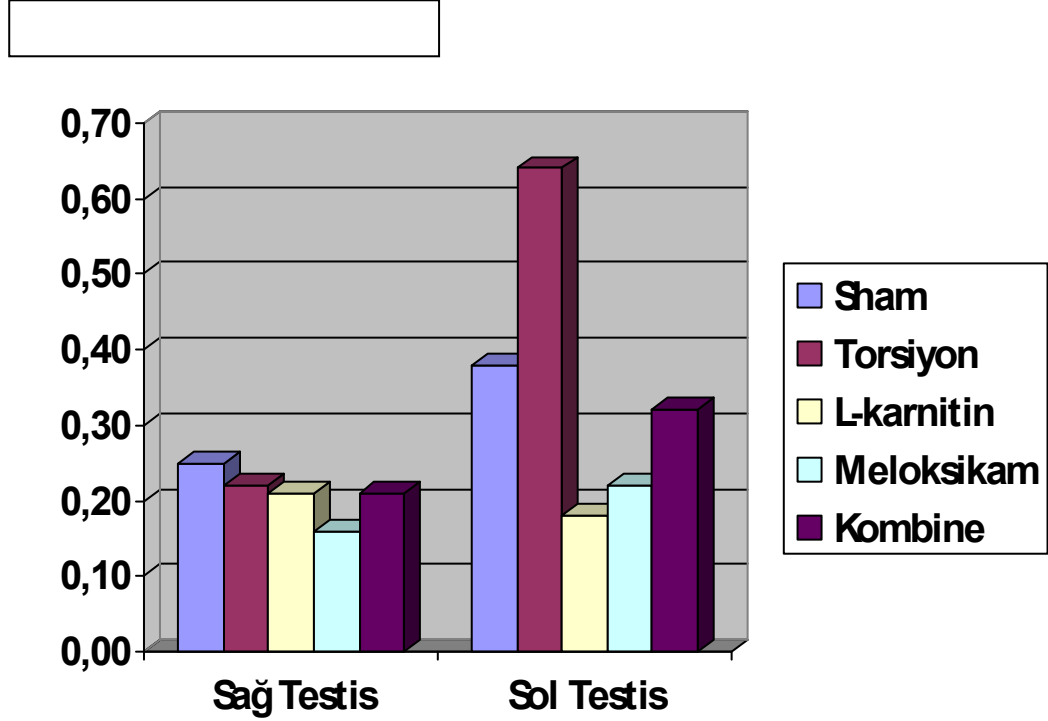


Grafik 2: Sağ ve Sol Testis İçin Katalaz Değerleri

4.1.3. MDA

Sol testisteki MDA seviyeleri değerlendirildi. Sham grubunda MDA düzeyi torsiyon grubuna göre daha düşük saptanırken L-karnitin, meloksikam ve kombine tedavi gruplarına göre daha yüksek saptanmıştır (p:0.055, p:0.006, p:0.025, p:0.423) (Grafik 3). Sham grubu ile L-karnitin ve meloksikam grupları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır. Torsiyon grubundaki MDA seviyesi L-karnitin, meloksikam ve kombine tedavi gruplarına göre daha yüksek olarak saptandı (p:0.004, p:0.004, p:0.037). Bu değerler istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır. L-karnitin grubunda MDA düzeyi meloksikam ve kombine tedavi gruplarına göre daha düşük olarak saptandı (p:0.150, p:0.037). L-karnitin ve kombine tedavi grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Meloksikam grubunda MDA seviyesi kombine tedavi grubuna göre daha düşüktür ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir (p:0.150).

Her iki testisteki MDA seviyeleri kıyaslandığında L-karnitin grubunda MDA düzeyi sağ testiste daha yüksekti (p:0.337). Ancak bu değer istatistiksel olarak anlamlı değildi. Sham, torsiyon, meloksikam ve kombine tedavi gruplarında sağ testisteki MDA düzeyi sol testise göre daha düşüktü (p:0.150, p:0.006, p:0.037, p:0.109) (Grafik 3). Torsiyon ve meloksikam gruplarında sağ ve sol testis arasındaki MDA düzeyi farkı istatistiksel olarak anlamlıydı.



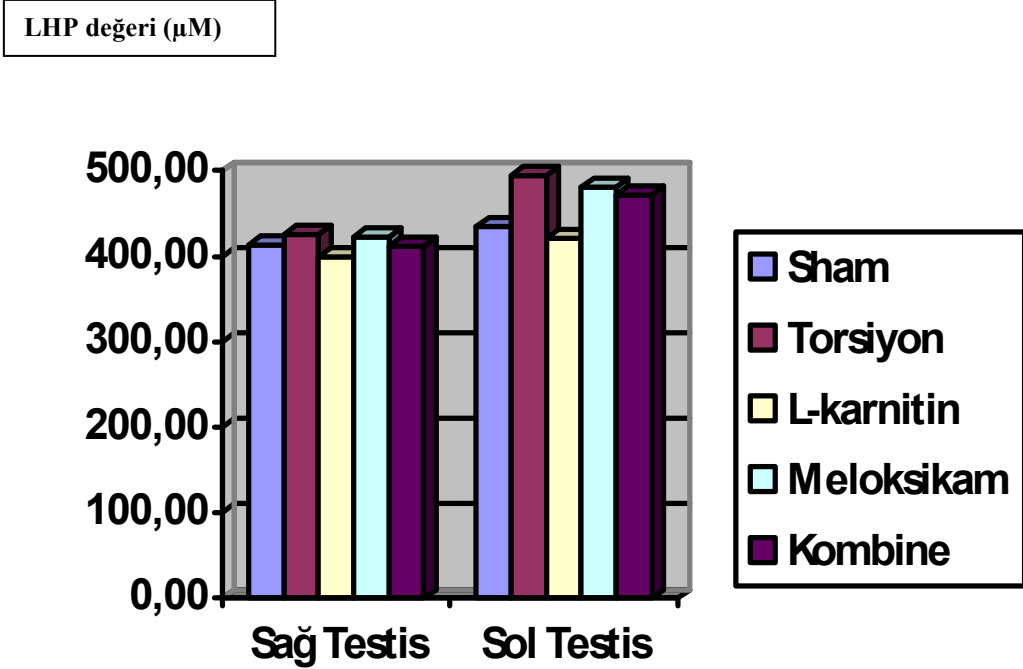
Grafik 3: Sağ ve Sol Testis İçin MDA Düzeyleri

4.1.4. LHP (Lipid Hidroperoksit)

Sol testisteki LHP düzeyleri değerlendirildi. Sham grubunda LHP düzeyi L-karnitin grubuna göre daha yüksek olarak saptanırken (p:0.200) torsiyon, meloksikam ve kombine tedavi gruplarından düşük olarak saptandı (p:0.337, p:0.025, p:0.200) (Grafik4). Sham ve meloksikam grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi. Torsiyon grubundaki LHP düzeyi L-karnitin, meloksikam ve kombine tedavi gruplarından daha yüksekti (p:0.055, p:0.631, p:0.873) (Grafik4). Bu değerler istatistiksel olarak anlamlı değildi. L-karnitin grubundaki LHP düzeyi meloksikam ve kombine tedavi gruplarına göre daha

düşüktü ($p:0.013$, $p:0.078$). L-karnitin ve meloksikam grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi. Meloksikam grubundaki LHP düzeyi kombine tedavi grubundakine göre daha yüksekti ($p:0.749$). Bu değer istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Her iki testisteki LHP düzeyleri kıyaslandı. Sağ testisteki LHP düzeyi sham, torsiyon, L-karnitin, meloksikam ve kombine tedavi gruplarında sol testise göre daha düşük olarak saptandı ($p:0.200$, $p:0.150$, $p:0.010$, $p:0.037$) (Grafik4). Meloksikam ve kombine tedavi gruplarında sağ ve sol testis arasındaki LHP düzeyi farkları istatistiksel olarak anlamlıydı.

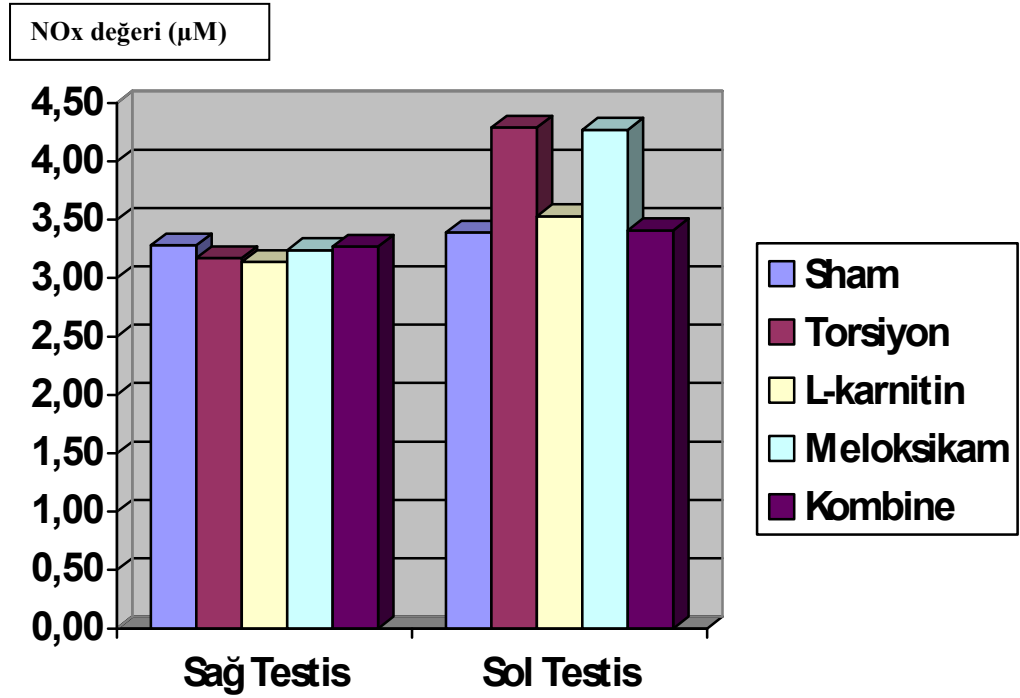


Grafik 4: Sağ ve Sol Testis İçin LHP Değerleri

4.1.5. Nitrik Oksit (NOx)

Sol testisteki NOx düzeyleri değerlendirildi. Sham grubunda NOx düzeyi torsiyon, L-karnitin, meloksikam ve kombine tedavi gruplarına göre daha düşüktü (p:0.037, p:1, p:0.020, p:0.873) (Grafik5). Sham grubu ile torsiyon ve meloksikam grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi. Torsiyon grubunda NOx düzeyi, L-karnitin, meloksikam ve kombine tedavi gruplarına göre daha yüksek olarak bulundu (p:0.025, p:1, p:0.037). Torsiyon grubu ile L-karnitin ve kombine tedavi grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. L-karnitin grubundaki NOx düzeyi meloksikam grubuna göre düşük olarak saptanırken (p:0.016) kombine tedavi grubuna göre daha yüksek olarak bulunmuştur (p:1). L-karnitin ve meloksikam grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Meloksikam grubundaki NOx düzeyi kombine tedavi grubuna göre daha yüksekti (p:0.016). Bu değer de istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Her iki testisteki NOx düzeyleri kıyaslandığında sağ testisteki NOx düzeyi sham, torsiyon, L-karnitin, meloksikam ve kombine tedavi gruplarında sol testise göre daha düşük olarak saptandı (p:0.688, p:0.025, p:0.150, p:0.010, 0.150) (Grafik5). Torsiyon ve meloksikam gruplarında sağ ve sol testis arasında NOx düzeyi açısından saptanan fark istatistiksel olarak anlamlıdır.



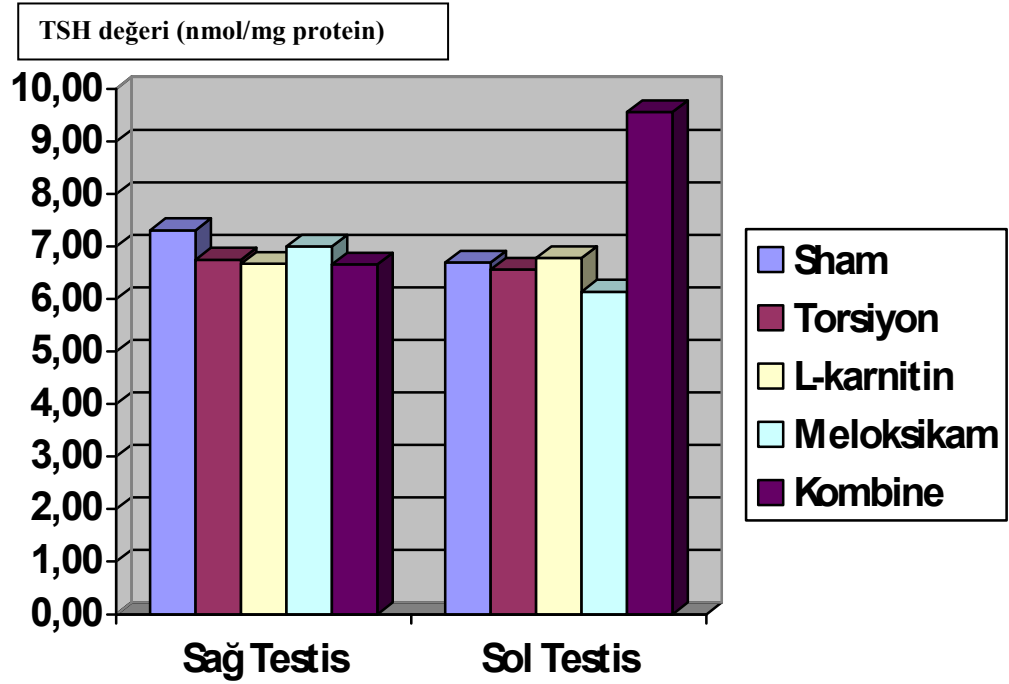
Grafik 5: Sağ ve Sol Testis İçin NOx Değerleri

4.1.6. Total Tiylol (TSH)

Sol testisteki TSH düzeyleri değerlendirildi. Sham grubunda TSH düzeyi L-karnitin ve kombine tedavi grubuna göre daha düşüktü ($p:0.749$, $p:0.037$) (Grafik6). Sham ve kombine tedavi grupları arasındaki değer farkı istatistiksel olarak anlamlıydı. Torsiyon grubundaki TSH düzeyi kombine tedavi grubuna göre daha düşük olarak saptandı. ($p:0.006$). Torsiyon ve kombine tedavi grupları arasında TSH düzeyi açısından saptanan fark istatistiksel olarak anlamlıdır. L-karnitin grubundaki TSH değeri kombine tedavi grubuna göre daha düşük olarak saptandı ($p:0.037$). L-karnitin ve kombine tedavi grubu arasındaki fark istatistiksel

olarak anlamlı olarak saptanmıştır. Meloksikam grubundaki TSH düzeyi kombine tedavi grubuna göre daha düşük olarak saptanmıştır ($p:0.004$) (Grafik 6). Bu değer de istatistiksel olarak anlamlıdır.

Her iki testisteki TSH düzeyleri karşılaştırıldı. Sağ testisteki TSH düzeyi sham, torsiyon ve meloksikam gruplarında sol testise göre daha yüksek olarak saptanırken ($p:0.423$, $p:0.688$, 0.037) L-karnitin ve kombine tedavi gruplarında daha düşük olarak saptandı ($p:0.873$, $p:0.004$) (Grafik 6). Meloksikam ve kombine tedavi gruplarında sağ ve sol testis arasındaki TSH düzeyleri açısından saptanan fark istatistiksel olarak anlamlıdır.



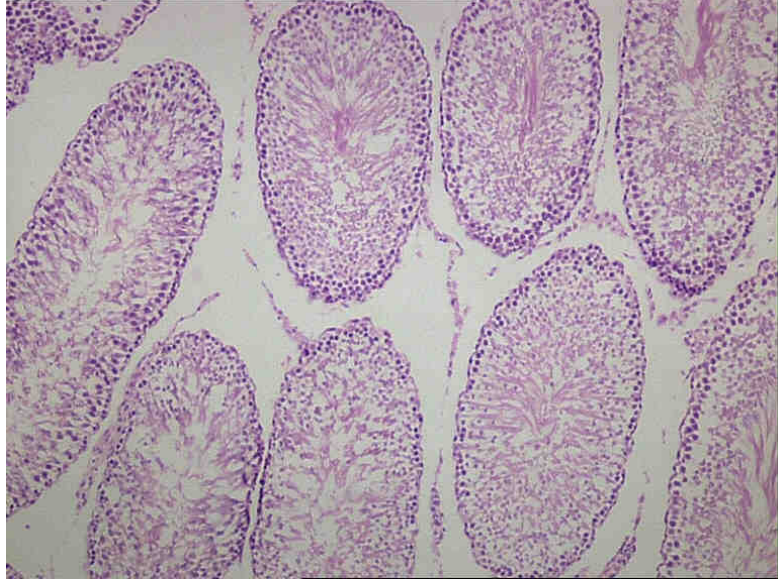
Grafik 6: Sağ ve Sol Testis İçin TSH Değerleri.

Tablo 2. Gruplara Göre Biyokimyasal Parametrelerin Sayısal Değerleri

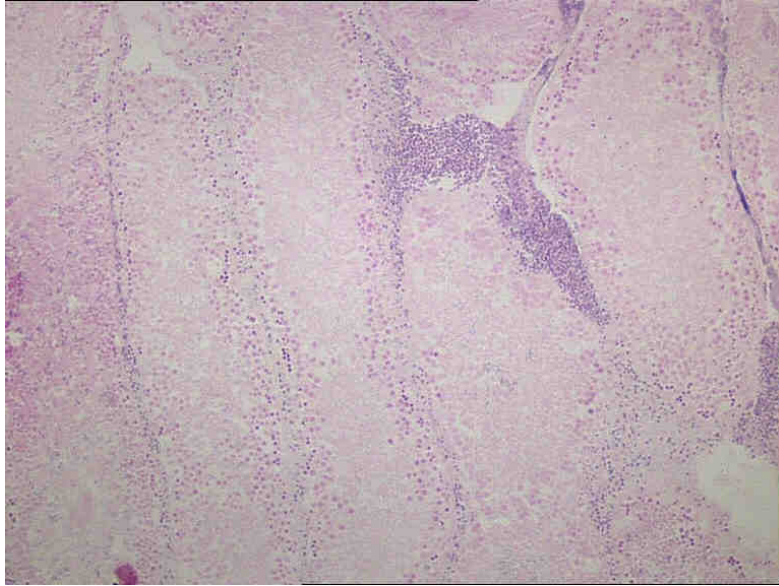
	Sham		Torsiyon		Torsiyon+L-Karnitin		Torsiyon+Meloksikam		Torsiyon + L-karnitin +Meloksikam	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
Ksantin oksidaz (mIU/mg protein)	0.66	2.10	0.63	5.26	0.64	3.17	0.75	5.12	0.73	4.76
Katalaz (IU/mg protein)	12.64	9.01	9.22	8.12	14.77	7.71	16.40	9.61	16.61	10.06
MDA (nmol/mg protein)	0.25	0.38	0.22	0.64	0.21	0.18	0.16	0.22	0.21	0.32
Lipid Hidroperoksit (μ M)	413.35	435.23	425.70	494.82	398.93	420.99	422.46	481.05	412.13	471.90
NOx (μ M)	3.28	3.39	3.17	4.29	3.14	3.53	3.24	4.27	3.27	3.41
Total Thiols (nmol/mg protein)	7.31	6.69	6.75	6.56	6.67	6.78	7.00	6.14	6.66	9.59

4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

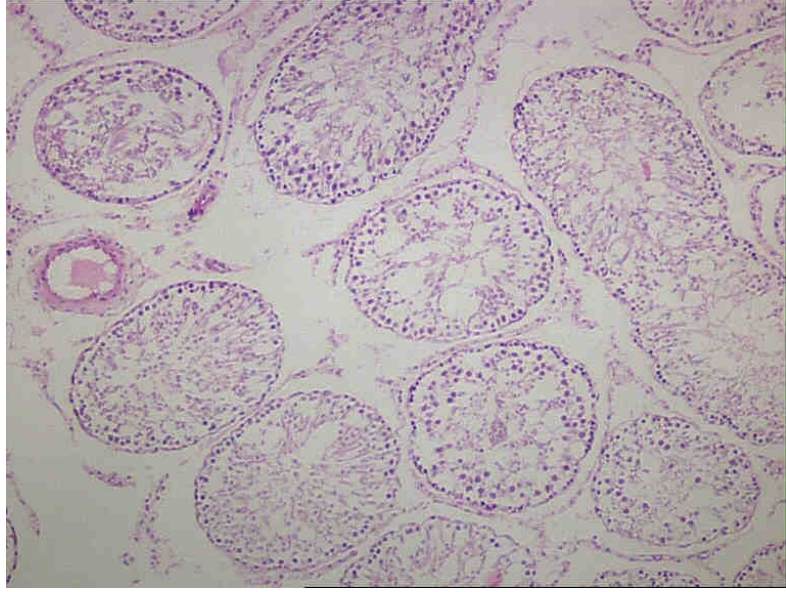
Yapılan histopatolojik incelemede testisler Cosentino (83) skoruna göre değerlendirildi. Torsiyon grubunda Cosentino skorunun L-karnitin grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu görüldü (p:0.037) (Resim2-Resim3). Aynı şekilde kombine tedavi grubunda da Cosentino skoru torsiyon grubuna göre daha düşüktü ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p:0.675) (Resim2-Resim4)



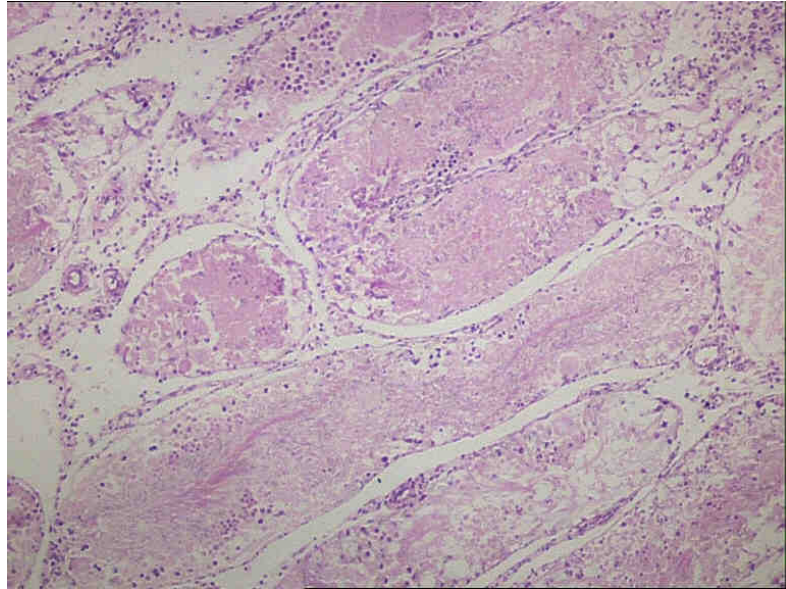
Resim 1: Sham Grubundan Bir Rat Testisinin Histopatolojik Görüntüsü
(Cosentino skor 1 Germ hücrelerin normal dizilimi ile karakterli normal testis parankimi)



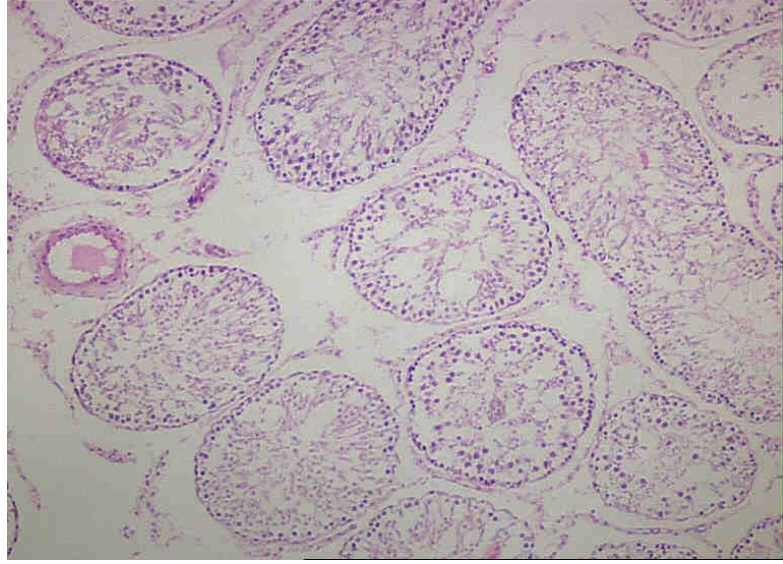
Resim 2: Torsiyon Grubundan Bir Rat Testisinin Histopatolojik Görüntüsü
(Cosentino skor 4. Germ hücrelerinde koagülasyon nekrozu ile karakterli testis parankimi)



Resim 3: L-karnitin Tedavi Grubundan Bir Rat Testisinin Histopatolojik Görüntüsü (Cosentino skor 2. Germ hücrelerin diziliminde hafif derecede bozulma ve hücrelerde kohezyon kaybı ile karakterli testis parankimi)



Resim 4: Meloksikam Tedavi Grubundan Bir Rat Testisinin Histopatolojik Görüntüsü (Cosentin skor.4 Germ hücrelerinde koagülasyon nekrozu ile karakterli testis parankimi)



Resim 5: Kombine Tedavi Grubundan Bir Rat Testisinin Histopatolojik Görüntüsü (Cosentino skor 3. Germ hücre nukleusları piknotik ve büzülmüş görünümde; hücreler seminifer tubül lümenlerine dökülmüş, seminifer tubül sınırları belirginliğini kaybetmeye başlamış)

5. TARTIŞMA

Testis torsiyonu çocuklarda ve adölesanlarda sık görülen, en kısa zamanda müdahale gerektiren ürolojik acillerden biridir. Torsiyon sonucunda oluşan iskemik testiküler hasar; testisin dönme sayısı ve torsiyon süresiyle ilişkilidir. 360°' den fazla ve 24 saatten uzun torsiyonlarda testis yerinde bırakılırsa testis atrofisi sonucu ipsilateral testis kaybı gerçekleşir. Şiddetli atrofi aynı zamanda 4 saatten uzun ve kord üzerinde 360° fazla dönmeler de görülebilir (12).

Deneysel çalışmalar 720° torsiyonda, kan akımının geri dönüşümsüz olarak kesildiği ve tam bir iskemi oluştuğunu göstermiştir (84,85). Bazı araştırmacılar cerrahi eksplorasyon ve takiben testiküler detorsiyon yapılmasının iskemi/reperfüzyon hasarına yol açtığını öne sürmüşlerdir (86). Süperoksitler gibi serbest oksijen radikalleri reperfüzyon esnasında oluşurlar ve plazma membranında lipid peroksidasyonuna ve artmış hücre ölümüne neden olurlar (87,88). Testis torsiyonu esnasında oluşan iskemik hasarın etyolojisinde ortamda bulunan reaktif oksijen metabolitlerine bağlı oksidatif stres ve inflamasyon süreci yer almaktadır. Testis torsiyonunda kan akımının azalması ile oluşan iskemi sonucunda ATP azalır. Hücre, enerji ihtiyacını, en az enerji yüklü olan AMP' i kullanarak karşılamaya çalışır. AMP yıkım ürünleri ise; adenosin, inozin ve hipoksantindir. Hipoksantin oksijen yetersizliği nedeniyle kasantin ve ürik aside

dönüşemez. Testis detorsiyone edildikten sonra kanlanma ve oksijenasyon başlar ve buda reaktif oksijen ve nitrojen ürünlerinin oluşmasıyla reperfüzyon hasarı sürecini başlatır (1). Böylece hücrede birikmiş olan hipoksantin, ksantin oksidaz enzimi ile ürik aside dönüştürülür ve ortamda önemli miktarda SOR oluşur. Reperfüzyon döneminde testis dokusunda artan ksantin oksidaz enzim aktivitesine bağlı üretilen süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali ($OH^\cdot$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2), gibi serbest oksijen radikallerinin ve peroksinitrit gibi reaktif nitrojen radikallerinin artması testiste başlıca lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve oksidatif DNA hasarı gibi toksik etkilere neden olur. Spermatogenez ve sertoli hücrelerinin gelişimi bu durumdan olumsuz etkilenir. Bu durumun önemli belirleyicileri; histopatolojik inceleme ve lipid peroksidasyonun son ürünlerinden malondialdehit (MDA), antioksidan enzim aktiviteleri ve düşük moleküler ağırlıklı enzimatik olmayan antioksidanların seviyeleridir.

Güncel araştırmalar bu reperfüzyon yaralanmasını engelleyebilecek bir çok kimyasal madde üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu bağlamda allopürinol, kafeik asit fenetil ester (CAPE), E vitamini, verapamil, tetronik 1107, L-karnitin ve sildenafil ile umut verici sonuçlar elde edilmiştir (87,88). Melatoninin testisi iskemi/reperfüzyon hasarından korumada allopürinolden daha efektif bir ajan olduğu gösterilmiştir (89). Reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu güncel çalışmalarla belirlenen diğer kimyasallar ise propofol, alfalipoik asit, meloksikam, ibuprofen, dexpanenol ve rosglitazone'dur (90,91).

Birçok araştırmacı tek taraflı testis torsiyonunun kontralateral testiste biyokimyasal değişikliklere neden olduğunu ve bu değişikliklerin detorsiyondan sonra da şiddetlenebileceğini söylemektedirler. Vigueras ve ark. (21) bir hayvan çalışmasında iki grup belirlemişler; birinci gruba torsiyon sonrası detorsiyon uygulayıp orşiektomi uygulamışlar diğer gruba ise detorsiyon uygulamadan direk orşiektomi uygulamışlar. Torsiyon yapılan hayvanlarda; kontralateral testisteki etkilenen seminifer tübül yüzdesinin torsiyon sonrası detorsiyon uygulanıp orşiektomi yapılanlarda (%58.6), torsiyon sonrası direk orşiektomi yapılanlara göre (%48) daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Bu kontralateral hasara nörohormonal yolların yol açtığı varsayılmaktadır. Unilateral detorsiyondan sonra pentoksifilin gibi bazı ilaçların her iki testise de kan akımını arttırdıkları gösterilmiştir (26). Buna rağmen kontralateral hasarın patofizyolojisi henüz tam olarak açıklığa kavuşmamış bir konudur.

Biz bu çalışmada ratlarda deneysel testis torsiyon/detorsiyon modeli oluşturarak, testiste oluşan iskemi/reperfüzyon hasarının derecesini histopatolojik olarak ve dokudaki ksantin oksidaz, malondialdehit, lipid hidroperoksit, nitrik oksit, total tiyol düzeyleri, katalaz gibi belirteçlerin düzeyini ölçmek suretiyle biyokimyasal olarak belirledik ve L-karnitin ve meloksikam moleküllerinin bu hasar üzerindeki etkilerini inceledik.

Testiküler torsiyon ve detorsiyonuna bağlı ipsilateral testis hasarı diğer dokularda olduğu gibi testis dokusunda da iskemi reperfüzyon hasarını ortaya çıkarır (92). Bu hasarın reperfüzyon bileşeni tipik olarak SOR oluşumuna neden

olur. Postiskemik dokuda serbest radikallerin en önemli kaynaklarından biri hipoksantin–ksantin oksidaz reaksiyonudur. İskemi ATP yıkımına ve bununda sonucu olarak intraselüler hipoksantin miktarında artışa neden olur. Reperfüzyon esnasında O₂ desteği yeniden sağlanınca ksantin oksidaz hipoksantini ürikasitle birlikte çok miktarda süperoksit radikallerine dönüştürür.

Serbest radikallerin ikinci kaynağı ise inflamasyon sonucu gerçekleşen nötrofil infiltrasyonu sonucu oluşan respiratuar patlamadır. Bu respiratuar patlamadan sorumlu enzim NADPH oksidazdır. Bu enzim oksijeni süperoksit anyonuna dönüştürür. İskemi esnasında nötrofillerde oluşan kalsiyum akışı hücrelerde artmış bir NADPH oksidaz aktivitesine neden olur. Bu durum reperfüzyon esnasında süperoksit radikallerinin ortaya çıkmasına yol açar (93).

Bizim çalışmamızda da ipsilateral testiste sham grubunda ksantin oksidazın (XO) seviyesi diğer gruplara göre anlamlı derecede düşük saptandı (p:0.010, p:0.004, p:0.006) (Grafik 1). Torsiyon grubunda ise bir antioksidan molekül olan L-karnitin tedavisinin verildiği gruba göre anlamlı derecede XO daha yüksekti. Meloksikam tedavisinin ve kombine tedavinin verildiği gruplarda da torsiyon grubuna göre bir düşüş saptandı ancak anlamlı değildi. Bu bulgular her ne kadar olgu sayısının az olmasına bağlı olarak anlamlı olmasada verilen L-karnitin, meloksikam veya kombine tedavinin hedef doku olan testiste XO aktivitesine gereksinimi azalttığını ortaya koymaktadır.

İskemi sonrası reperfüzyon esnasında artan oksidatif stres lipid peroksidasyonunun da artışı ile gösterilir. Dolayısıyla katalaz, SOD ve glutatyon

peroksidaz gibi enzimlerin azalması söz konusu olur. Lipid peroksidasyonun bir ürünü olan MDA' in iskemi reperfüzyon hasarı gelişen dokularda artış gösterdiği birçok çalışmada belirtilmiştir (94,95). Bizim çalışmamızda da MDA seviyeleri ipsilateral testiste torsiyon grubunda L-karnitin, meloksikam ve kombine gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek saptandı (p:0.004, p:0.004, p:0.037) (Grafik 3). Torsiyon grubunda MDA seviyelerindeki bu artış ipsilateral testiste gerçekleşen iskemi reperfüzyon hasarının önemli bir göstergesidir. L-karnitin lipit peroksidasyonundan korucu etkisinin temelinde antiradikal ve antioksidan etkileri vardır ve ortamdan SOR'u uzaklaştırır. Biyolojik membran lipidlerini oksidasyondan korur ve MDA gibi lipid peroksidasyon ürünlerinin birikmesini engeller (64, 65). MDA'nın artışına bağlı oluşan birçok patolojik durumların L-karnitin varlığında gerçekleşmediği gösterilmiştir. Örneğin kalp, iskelet kası, böbrek, beyin, retina ve karaciğerde oluşan iskemi reperfüzyon hasarında (66, 67). L-karnitin farklı organ sistemlerinde başarıyla kullanılmış olması testis torsiyonu modelinde de başarıyla kullanılabileceğini düşündürmüştür. Nitekim Dökmeci ve ark.nın (68) yapmış olduğu çalışmada deneysel testis torsiyon detorsiyon modelinde L-karnitin testis dokusunu oksidan etkiden koruduğu gösterilmiştir. Meloksikamın koruyucu etkisi ise COX inhibisyonu ile inflamatuvar süreç baskılanarak nötrofil infiltrasyonunu engellenir. Ve dolayısıyla respiratuvar patlama gerçekleşmez ve serbest radikallerin oluşumu baskılanmış olur.

Reaktif oksijen ürünleri (H_2O_2 , O_2^- , OH) normal hücresel metabolik sürecin sonucun da oluşan doğal metabolitlerdir. İnsan vücudu antioksidan

enzimler (SOD, CAT, vb...) ve non enzimatik antioksidan bileşenlerden (glutasyon, askorbik asit, vb...) oluşan bir kompleks antioksidan defans sistemiyle oksidatif stresten korunmaktadır. Bu sistemler serbest radikal zincir reaksiyonlarının başlamasına ve devam etmesine engel olurlar. Bu antioksidan enzimlerden biri olan SOD süperoksit radikal anyonunu ($O^{\cdot -}$) daha az zararlı bir molekül olan H_2O_2 'e çevirirken Katalaz ise H_2O_2 'i O_2 ve suya yıkar (96). Aksoy ve ark.nın (97) yapmış olduğu çalışmada deneysel olarak oluşturulan testis torsiyon/detorsiyon modelinde torsiyone edilen testiste sham grubuna göre katalaz aktivitesi anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır. Yine aynı çalışmada testis torsiyon grubu ile sham grubu arasında belirgin fark saptanmamıştır. Benzer olarak Salmasi ve ark.nın (98) yaptığı çalışmada deneysel olarak oluşturulan torsiyon/detorsiyon grubunda kontrol gruplarına göre katalaz ve SOD aktiviteleri anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır. Bu çalışmalarda da görüldüğü gibi reperfüzyon esnasında artmış oksidatif stres artmış lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır. Bu da katalaz, SOD ve GPX gibi antioksidan enzimlerin aşırı tüketimi ve azalmasıyla sonuçlanmaktadır.

Bizim çalışmamızda torsiyone edilen sol testiste sağ testise göre katalaz seviyesinde anlamlı derecede azalma saptanmıştır. Her iki testisteki Katalaz değerleri kıyaslandığında sham, torsiyon, L-karnitin, meloksikam ve kombine tedavi gruplarında bu değer sağ testiste sol testise göre daha yüksekti ($p:0.078$, $p:1$, $p:0.010$, $p:0.004$, 0.016) (Grafik2). Sol testiste meloksikam ve kombine tedavi uygulandığında ise diğer gruplara göre katalaz aktivitesi daha yüksek saptanmıştır ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p:0.240$, 0.262)

(Grafik 2). Bu bulgu meloksikam ve kombine tedavi sayesinde hücredeki oksidatif gerilimin azalmasına sekonder olarak katalaz enziminin daha az tüketildiğini ortaya koymaktadır. Bu şekilde tedavinin ana amacı olan oksidatif gerilimin hedef dokuda azaltıldığı tespit edilmiştir.

Nitrik oksit (NO) serbest diffüz olabilen suda ve yağda çözünebilen gaz formunda bir moleküldür. Kısa yarılanma süresine sahiptir. Bir grup nitrikoksit sentaz (NOS) enzimleriyle L-arginin ve moleküler O₂'den üretilir. NO apoptoz yada nekroz sonucu gerçekleşen hücre ölümünün önemli bir belirtecidir (99). Vasküler endotelde iskemi NOS aktivitesinde artışa neden olur ve bu artışı takiben reperfüzyonun gerçekleşmesiyle birlikte süperoksit radikallerinin oluşumuna birkaç mekanizmayla katkıda bulunur. Örneğin NO ve O₂'nin reaksiyona girmesi sonucunda peroksinitrit oluşur. (100,101) Yağmurdur ve ark.nın (1) yapmış olduğu çalışmada deneysel olarak oluşturulan testis torsiyonu grubunda kontrol grubuna göre NO seviyesinde anlamlı artış saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda da NO seviyesi torsiyon grubunda ipsilateral testiste kontralateral testise göre anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır (0,025). Sol testiste torsiyon grubuna göre L-karnitin tedavisinin kullanıldığı L-karnitin ve kombine tedavi gruplarında NO seviyesi anlamlı derecede daha düşük saptanmıştır. Bu düşüş meloksikam grubunda görülmemiştir (p:0.025, p:0.037, p:1) (Grafik 5.). Torsiyon grubu ile L-karnitin ve kombine tedavi grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. L-karnitin grubundaki NOx düzeyi L-karnitin NO seviyesini azaltması serbest radikal temizleyici etkisine ve buna

bağlı olarak hücre nekrozunun önlenmesi ve NO oluşumunun azalmasına bağlı olabilir.

Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikal aracılı oksidasyonu sonucu lipid hidroperoksitler gibi birincil metabolitler oluşurken daha ileri oksidasyon reaksiyonları sonrası siklik peroksitler gibi ikincil lipid peroksidasyon metabolitleri oluşur (56). İskemi/reperfüzyon'a bağlı iskemi süreci sonunda da oluşan oksidatif strese bağlı yağ asidi peroksidasyonu ve bunun sonucunda lipid hidroperoksitlerinin oluşumu testis torsiyon/detorsiyon modelinde olası bir oksidatif stres bulgusudur. Bizim çalışmamızda sol testiste torsiyon grubundaki lipid hidroperoksit düzeyi L-karnitin, meloksikam ve kombine tedavi gruplarına göre daha yüksekti. Ancak bu farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi (p:0.055, p:0.631, p:0.873) (Grafik 4.) Özellikle L-karnitin grubunda torsiyon grubuna nazaran saptanan belirgin azalma L-karnitin oksidatif stresi azaltarak lipid peroksidasyonunu azaltmasına bağlı olduğu düşünülebilir.

Hücrenin oksidatif geriliminde diğer bir önemli süreç olan proteinlerin oksidasyonu, reaktif oksijen/nitrojen türevleri ile veya diğer oksidan metabolitlerle kovalent modifikasyonu sonucu gerçekleşir. Protein oksidasyonunun biyokimyasal sonuçları enzim aktivitesindeki azalma, protein fonksiyonlarının ve proteaz inhibitör aktivitenin kaybı, protein agregasyonu, proteolize artmış ya da azalmış yatkinlık, reseptör aracılı endositozun bozulması, gen transkripsiyonundaki değişimler, immünojen aktivitedeki artış olarak sıralanabilir (59). Serbest radikallerin proteinlerdeki tiyol (-SH) gruplarının

oksidasyonuna yol açtığı ve bunun da protein oksidasyonunun en erken gözlenebilen belirtisi olduğu bilinmektedir (60). Bizim çalışmamızda sol testiste sham, torsiyon, L-karnitin ve meloksikam gruplarında total tiyol miktarı kombine tedavi grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olarak saptanmıştır (0,037, 0,006, 0,037, 0,004) (Grafik 6.). Bu bulgunun, kombine tedavi verilen rat grubunda oksidatif stresin azalması sonucunda protein yapıların tiyol gruplarının korunması nedeniyle saptanmış olduğu düşünülmektedir.

Günümüzde bilinen en potent antioksidan moleküllerden biri olan L-karnitin testiküler torsiyon/detorsiyona bağlı oluşan iskemi/reperfüzyon hasarından germ hücreleri koruyucu etkisi olduğu Dökmeci ve ark.nın (68) yaptığı çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmada ratlarda testis torsiyon detorsiyon modeli oluşturulmuş ve tedavi grubuna L-karnitin uygulanmıştır. Sadece iskemi reperfüzyon uygulanıp L-karnitin tedavisi verilmeyen grupta seminifer tübül çapında belirgin bir azalma, tübül yapısında ciddi bozulma, peritübüler fibrozis ve neredeyse tüm tübüllerde maturasyon arresti izlenmiştir. L- karnitin verilen grupta ise çoğu tübülde spermatozoa seviyesine kadar maturasyonun korunduğu görülmüştür ve tübüler morfoloji bozulmamıştır. Bizim çalışmamızda da L-karnitin verilen grupta germ hücre yapısının torsiyon grubuna göre çok daha iyi korunduğu histopatolojik olarak görülmüştür. Bu iki grup arasında Cosentino (83) skorları arasında anlamlı fark saptanmıştır (p:0.037). Aynı şekilde L-karnitinin tedavi edici ajan olarak kullanıldığı kombine tedavi grubunda da germ hücre yapısının torsiyon grubundakine göre daha iyi korunduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda elde edilen bu bulgular Dökmeci ve ark.nın L-karnitin testiküler

iskemi reperfüzyon hasarından koruyucu etkileri hakkında elde ettikleri bulguları destekler niteliktedir.

Sonuç olarak oksidatif enzimlerde, lipid peroksidasyonunda ve protein oksidasyonunda artış hedef dokuda torsiyon sonrasında oksidatif stresin geliştiğini ortaya koymaktadır. Çalışmamızın bulguları ışığında L-karnitin ve meloksikamın tek tek veya kombine olarak kullanıldığında ana amacımız olan testisteki oksidatif gerilimi ve histopatolojik bozulmayı azaltabildik. Bu tedavi modalitesinin insanlarda rutin kullanıma dahil edilebilmesi için randomize, prospektif, geniş kapsamlı ve uzun dönem takip sonuçlarına sahip çalışmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ

Rat testisi üzerinde yaptığımız torsiyon/detorsiyon modelinde torsiyon gruplarında meydana gelen biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikler, sham gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$) Torsiyon sonrasında oksidatif enzimlerde, lipid peroksidasyonunda ve protein oksidasyonunda artış hedef dokuda oksidatif stresin geliştiğini ortaya koymaktadır.

Bütün moleküler çalışmaların ana amacı verilen tedavinin klinik kullanıma da uyarlanabilme potansiyelidir. Biz çalışmamızda bu amaçla dünyada bilinen en güçlü antioksidan moleküllerden biri olan L-karnitinini ve sadece COX-2 inhibe etmesi dolayısıyla dispeptik şikayetlerin minimal görüleceği ve uzun dönem kullanılabilir seçatif COX-2 inhibitörü olan meloksikamı seçtik. Bulgular ışığında bu moleküllerin tek tek veya kombine olarak kullanıldığında ana amacımız olan testisteki oksidatif gerilimi özellikle kombine tedavi ile oldukça azaltabildik. Rat hayvan modellerinde birçok torsiyonun çalışması olmasına karşın insanlarda özellikle pediatrik grupta bu amaca yönelik çalışma sayısı azdır. İnsanlardaki sonuçları değerlendirmek için randomize, prospektif, geniş kapsamlı ve uzun dönem takip sonuçlarına sahip çalışmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

7. ÖZET

Amaç: Testis torsiyonu çocuklarda ve adolosanlarda sık görülen, kısa zamanda müdahale gerektiren ürolojik acillerden biridir. Bu çalışmada amacımız testis torsiyonu sonrası dokudaki oksidatif gerilimi biyokimyasal ve histopatolojik olarak belirlemek, L-karnitin ve meloksikam tedavisinin bu hasar üzerindeki etkilerini incelemektir.

Materyal metod: 250-300 gr ağırlığında 30 adet wistar gelişigüzel olarak her grupta 6 rat olmak üzere 5 gruba ayrıldı. 1. grup sham grubu olarak belirlendi, 2. grupta torsiyon oluşturuldu, 3. grupta 2.gruba uygulanan prosedüre ek olarak ratlara L-karnitin tedavisi uygulandı. (500mg/kg/günIM) 4. grupta 2.gruba uygulanan prosedüre ek olarak meloksikam tedavisi uygulandı (3mg/kg/gün IM). 5. grupta ise 2. gruba uygulanan prosedüre ek olarak L-karnitin ve meloksikam tedavisi uygulandı.

Bulgular: Her iki testisteki ksantin oksidaz değerleri kıyaslandığında, tüm gruplarda sırasıyla sol testisteki ksantin oksidaz değerleri istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksekti (p:0.006, p:0.004, p:0.006, p:0.004, p:0.004). Torsiyon grubundaki MDA seviyesi L-karnitin, meloksikam ve kombine tedavi gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olarak saptandı (p:0.004, p:0.004, p:0.037). Torsiyon grubunda Cosentino skorunun L-karnitin grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu görüldü (p:0.037). Aynı şekilde kombine tedavi grubunda da Cosentino skoru torsiyon grubuna göre daha düşüktü ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p:0.675).

Sonuç: Torsiyon sonrasında oksidatif enzimlerde, lipid peroksidasyonunda ve protein oksidasyonundaki artış hedef dokuda oksidatif stresin geliştiğini ortaya koymaktadır. Çalışmamızın bulguları ışığında L-karnitin ve meloksikamın tek tek veya kombine olarak kullanıldığında testisteki oksidatif gerilimin özellikle L-karnitin ve kombine tedavi grubunda daha belirgin olmak üzere azaldığını gözlemledik. Bu tedavi modalitesinin insanlarda rutin kullanıma dahil edilebilmesi için randomize, prospektif, geniş kapsamlı ve uzun dönem takip sonuçlarına sahip çalışmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

8. SUMMARY

Aim: Testicular torsion is an urologic emergency which requires immediate intervention and it is frequent in pediatric and adolescent age group. In this study we aimed to determine the oxidative stress in the testis tissue after torsion biochemically and histopathologically and to analyse the effect of L-carnitine and meloxicame treatment in this injury.

Materials and Methods: 30 wistar rats which weigh 250-300 gr were separated to 5 groups and in each group there were 6 rats. 1st group was defined as the sham group, in the 2nd group torsion was performed, in the 3rd group rats were administered L-karnitine treatment in addition to the procedure performed in the 2nd group (500mg/kg/günIM), in the 4th group rats were administered meloxicame treatment in addition to the procedure performed in the 2nd group (3 mg/kg/günIM), and in the 5th group rats were administered meloxicame and L-karnitine treatment in addition to the procedure performed in the 2nd group.

Results: When xantine oxidase values in two testes were compared in all groups xantine oxidase values were significantly higher in the left testes (p:0.006, p:0.004, p:0.006, p:0.004, p:0.004). MDA values in the torsion group were significantly higher when compared to L-carnitine, meloxicame and combined treatment groups (p:0.004, p:0.004, p:0.037). Cosentino score was significantly higher in the torsion group when compared to L-carnitine group (p:0.037). Similarly, Cosentino score was lower in combined treatment group when compared to torsion group but it wasn't statistically significant (p:0.657).

Conclusions: Increase in the oxidative enzymes in lipid peroxidation and protein oxidation shows us that oxidative stress occurs in the target tissue after torsion. According to the results of this study we decreased oxidative stress in testis when we used L-carnitine and meloxicame treatments either separately or as a combination. We think that new randomised, prospective, comprehensive and long-term studies are needed to use these treatment modalities in humans routinely

9. KAYNAKLAR

- 1- H. Yagmurdur, A. Ayyıldız, E. Karaguzel, E. Ogus, H. Surer, M. Caydere, B. Nuhoglu, C. Germiyanoglu. The preventive effects of thiopental and propofol on testicular ischemia-reperfusion injury
- 2- Nussbaum Blask AR, Bulas D, Shalaby-Rana E, Rushton G, ShaoC, Majd M. Color Doppler sonography and scintigraphy of the testis:a prospective, comparative analysis in children with acute scrotalpain. *Pediatr Emerg Care* 2002; 18: 67–71.
- 3- McAndrew HF, Pemberton R, Kikiros CS, Gollow I. The incidence and investigation of acute scrotal problems in children.*Pediatr Surg Int* 2002; 18: 435-7
- 4- Cummings JM, Boullier JA, Sekhon D, Bose K. Adult testicular torsion. *J Urol* 2002; 167: 2109–10.
- 5- Gunther P, Schenk JP, Wunsch R et al. Acute testicular torsion in children: the role of sonography in the diagnostic workup. *Eur Radiol* 2006; 16: 2527–32.
- 6- Davol P, Simmons J. Testicular torsion in a 68-year-old man. *Urology* 2005; 66: 195.
- 7- Stehr M, Boehm R. Critical validation of colour Doppler ultrasound in diagnostics of acute scrotum in children. *Eur J Pediatr Surg* 2003; 13: 386–92.
- 8- Williams CR, Heaven KJ, Joseph DB. Testicular torsion: is there a seasonal predilection for occurrence? *Urology* 2003; 61: 638–41.
- 9- Caesar R, Kaplan G. Incidence of the bell clapper deformity in an autopsy series. *Urology* 1994; 44: 114±6

- 10- BJU International (2000), 86, 349±353 Torsion of the testis P.M. CUCKOW and J.D. FRANK* The Hospital for Sick Children, Great Ormond Street, London and * Bristol Royal Hospital for Sick Children, Bristol, UK
- 11- Anderson J, Williamson R. Testicular torsion in Bristol: a 25 year review. Br J Surg 1988; 75: 988±92
- 12- Tryfonas G, Violaki A, Tsikopoulos G et al. Late postoperative results in males treated for testicular torsion during childhood. J Pediatr Surg 1994; 29: 553±6
- 13- Lavallee ME, Cash J. Testicular torsion: evaluation and management. Curr Sports Med Rep 2005; 4: 102–4.
- 14- Kuremu RT. Testicular torsion: case report. East Afr Med J 2004; 81: 274–6.
- 15- Zilberman D, Inbar Y, Heyman Z et al. Torsion of the cryptorchid testis – can it be salvaged? J Urol 2006; 175: 2287–9.
- 16- Ciftci AO, Senocak ME, Tanyel FC, Buyukpamukcu N. Clinical predictors for differential diagnosis of acute scrotum. Eur J Pediatr Surg 2004; 14: 333–8.
- 17- Rabinowitz R. The importance of the cremasteric reflex in acute scrotal swelling in children. J Urol 1984; 132: 89–90.
- 18- Strauss S, Faingold R, Manor H. Torsion of the testicular appendages: sonographic appearance. J Ultrasound Med 1997; 16: 189–92.
- 19- Ha TS, Lee JS. Scrotal involvement in childhood Henoch-Schonlein purpura. Acta Paediatr 2007; 96: 552–5.
- 20- Lee SK, Shen CY, Gueng MK, Su YC. Using gray-scale and color Doppler ultrasound for testicular torsion diagnosis and outcome analysis. Ultrasound Med Biol 2006; 32: 230–1.

- 21- Mernagh JR, Caco C, De Maria J. Testicular torsion revisited. *Curr Probl Diagn Radiol* 2004; 33: 60–73.
- 22- Nussbaum Blask AR, Rushton HG. Sonographic appearance of the epididymis in pediatric testicular torsion. *AJR Am J Roentgenol* 2006; 187: 1627–35.
- 23- Kaipia A, Ryymin P, Makela E, Aaltonen M, Kahara V, Kangasniemi M. Magnetic resonance imaging of experimental testicular torsion. *Int J Androl* 2005; 28: 355–9.
- 24- Wu HC, Sun SS, Kao A, Chuang FJ, Lin CC, Lee CC. Comparison of radionuclide imaging and ultrasonography in the differentiation of acute testicular torsion and inflammatory testicular disease. *Clin Nucl Med* 2002; 27: 490–3.
- 25- Visser AJ, Heyns CF. Testicular function after torsion of the spermatic cord. *BJU Int* 2003; 92: 200–3.
- 26- Savas C, Dindar H, Aras T, Yucesan S. Pentoxifylline improves blood flow to both testes in testicular torsion. *Int Urol Nephrol* 2002; 33: 81–5.
- 27- Johnston BI, Wiener JS. Intermittent testicular torsion. *BJU Int* 2005; 95: 933–4.
- 28- Vigueras RM, Medina P, Reyes G et al. The effect of naloxone pretreatment before relieving testicular torsion. *Proc West Pharmacol Soc* 1998; 41: 41–2.
- 29- Anderson JB, Williamson RC. Testicular torsion in Bristol: a 25- year review. *Br J Surg* 1988; 75: 988–92
- 30- Cuervo JL, Grillo A, Vecchiarelli C, Osio C, Prudent L. Perinatal testicular torsion: a unique strategy. *J Pediatr Surg* 2007; 42: 699–703.

- 31- Saugstad OD. Hypoxanthine as a measurement of hypoxia. *Pediatr Res* 1975;9: 158-161
- 32- Gasbarrini, A., Pasini, P., Nardo, B., De Notaris, S., Simoncini, M., Cavallari, A., Roda, E., Bernardi, M., Roda, A., 1998. Chemiluminescent real time imaging of post-ischemic oxygen free radicals formation in livers isolated from young and old rats. *Free Radic. Biol. Med.* 24, 211–216.
- 33- Yamato, M., Egashira, T., Utsumi, H., 2003. Application of in vivo ESR spectroscopy to measurement of cerebrovascular ROS generation in stroke. *Free Radic. Biol. Med.* 35, 1619–1631
- 34- Cutrin, J.C., Boveris, A., Zingaro, B., Corvetti, G., Poli, G., 2000. In situ determination by surface chemiluminescence of temporal relationships between evolving warm ischemia–reperfusion injury in rat liver and phagocyte activation and recruitment. *Hepatology* 31, 622–632.
- 35- Gonzalez-Flecha, B.S., Cutrin, J., Boveris, A., 1993. Time course and mechanism of oxidative stress and tissue damage in rat liver subjected to in vivo ischemia–reperfusion. *J. Clin. Invest.* 91, 456–464.
- 36- Joannidis, M., Gunther, B., Pfaller, W., 1989. Lipid-peroxidation: an initial event in experimental acute renal failure. *Ren. Physiol. Biochem.* 12, 47–55.
- 37- Rhee, H.W., Yoon, M.S., 1988. The effect of testicular torsion on the contralateral testis in rats. *J. Cathol. Med. Coll.* 41, 957–968.
- 38- Smith-Harrison, L., Koontz, W.W., 1990. Torsion of the testis: changing concepts. *AUA Update Series IX*, vol. 32, pp. 250–254.
- 39- Akgur, F.M., Kilinc, K., Aktug, T., 1993. Reperfusion injury after detorsion of unilateral testicular torsion. *Urol. Res.* 21, 395–399.

- 40- Blank, M.L., O'Neill, P.J., Steigman, C.K., Cobb, L.M., Wilde, R.A., Havenstein, P.J., Chaudry, L.H., 1993. Reperfusion injury following testicular torsion and detorsion in prepubertal rats. *Urol. Res.* 21, 389–393.
- 41- Akgur, F.M., Kilinc_, K., Aktug, T., 1995. Is ipsilateral testis mandatory for the occurrence of contralateral intratesticular biochemical changes indicative of hypoxia after unilateral spermatic cord torsion? *Eur. Urol.* 28, 143–148
- 42- Saba, M., Morales, C.R., Lamirande, E., Gagnon, C., 1997. Morphological and biochemical changes following acute unilateral testicular torsion in prepubertal rats. *J. Urol.* 157, 1149–1154.
- 43- Abasiyanik A, Dagdonderen L. Beneficial effects of melatonin compared with allopurinol in experimental testicular torsion. *J Pediatr Surg* 2004; 39: 1238–1241.
- 44- Avlan D, Erdougan K, Cimen B, Dusmez Apa D, Cinel I, Aksoyek S. The protective effect of selenium on ipsilateral and contralateral testes in testicular reperfusion injury. *Pediatr Surg Int* 2005; 21: 274–278.
- 45- Ozkan KU, Boran C, Kilinc M, Garipardic M, Kurutas EB. The effect of zinc aspartate pretreatment on ischemia-reperfusion injury and early changes of blood and tissue antioxidant enzyme activities after unilateral testicular torsion-detorsion. *J Pediatr Surg* 2004; 39: 91–95.
- 46- Mc Cord JM (1985) Oxygen derived free radicals in post ischemic tissue injury: mechanism of disease. *N Eng J Med* 312:159–163
- 47- Prilman HM, Turner TT (1997) Rescue of testicular function after acute experimental torsion. *J Urol* 157:340–345
- 48- Halliwell B, Gutteridge JM. The definition at measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic Biol Med* 1995; 181: 125-6

- 49- Halliwell B, Gutteridge JMc. Free radical in biology and medicine. Third ed. Oxford: Oxford University Press; Oxford 160-165.2000
- 50- Akkus I. Serbest radikaller ve fizyolojik etkileri. 723. Konya: Mimoza;1995
- 51- Valko M, Rohodes CJ, Moncol J, İzakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem Biol Interact. 2006;160 (1):1-40.
- 52- Kovacic P, Jacintho JD. Mechanism of carcinogenesis: focus on oxidative stress and electron transfer. Curr Met Chem 2001;8 (7):773-96
- 53- Gutteridge JM, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. Trends Biochem Sci 1990;15 (4):129-35
- 54- Esterbauer H, Wag G, Phul H. Lipdi peroxidation and it's role in atherosclerosis. Br Med Bull 1993;49 (3):566-76
- 55- Murray RK, Granner DK, Mayes RA, Rodwell VW. 1996. N. DİKMEN, T. ÖZGÜNEN Harper Biyokimya. 24. Baskı. Barış Kitabevi, İstanbul
- 56- Yin H, Porter NA. News insides regarding the autooxidation of polyunsaturated fatty acids. Antioxid Redox Signal 2005 7 (1-2): 170-84
- 57- Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemitry of 4-hydroxynoneal, malonaldehyde and related aldehydes. Free Radic Biol Med 1991; 11 (1):81-128
- 58- Shacter E. Protein oxidative damage. Methods Enzymol 2000;319:428-36
- 59- Shacter E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. Drug Metab Rev 2000;32 (3-4):307-26
- 60- Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. Biochem J 1997; 324 Pt 1:1-18

- 61- Halliwell B. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic Res Commun* 1990; 9 (1):1-32
- 62- Bast A, Haenen GR, Doelman CJ. Oxidants and antioxidants: state of the art. *Am J Med* 1992; 91 (3C):2-13
- 63- Rebouche CJ, Seim H. Carnitine metabolism and its regulation in microorganisms and mammals. *Annu Rev Nutr* 1998; 18: 39–61.
- 64 -Izgut-Uysal VN, Agac A, Derin N. Effect of L-carnitine on carrageenan-induced inflammation in aged rats. *Gerontology* 2003; 49: 287–292
- 65- Dokmeci D, Akpolat M, Aydogdu N, Doganay L, Turan FN. L-carnitine inhibits ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *Pharmacol Rep* 2005; 57: 481–488.
- 66- Derin N, Agac A, Bayram Z, Asar M, Izgut-Uysal VN. Effects of L-carnitine on neutrophil-mediated ischemia-reperfusion injury in rat stomach. *Cell Biochem Funct* 2005; Aug 30 (doi: 10.1027/cbf.1251).
- 67- Atila K, Coker A, Sagol O, et al. Protective effects of carnitine in an experimental ischemia-reperfusion injury. *Clin Nutr* 2002; 21: 309–313.
- 68- Dikmen Dokmeci^{1*}, Mustafa Inan², Umit Nusret Basaran², Omer Yalcin, Nurettin Aydogdu⁴, Fatma Nesrin Turan⁵ and Yesim Hulya U Protective effect of L-carnitine on testicular ischaemia–reperfusion injury in rats *Cell Biochem Funct* 2007; 25: 611–618.
- 69- Ng CM, Blackman MR, Wang C, Swerdloff RS. The role of carnitine in the male reproductive system. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1033: 177–188.
- 70- Ruiz-Pesini E, Alvarez E, Enriquez JA, Lopez-Perez MJ. Association between seminal plasma carnitine and sperm mitochondrial enzymatic activities. *Int J Androl* 2001; 24: 335–340.

- 71- Gurbuz B, Yalti S, Ficicioglu C, Zehir K. Relationship between semen quality and seminal plasma total carnitine in infertile men. J Obstet Gynaecol 2003; 23: 653–656.
- 72- Vicari E, Calogero AE. Effects of treatment with carnitines in infertile patients with prostatovesiculo-epididymitis. Hum Reprod 2001; 16: 2338–2342.
- 73- Bertram G. Katzung Temel ve Klinik Farmakoloji. 6. baskı Barış kitabevi. İstanbul 1995.
- 74- Chandrasekharan, N.V., Dai, H., Roos, K.L.T. et al. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure, and expression. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 99 (21):13926-31, (2002). PMID 12242329.
- 75- Warner, Timothy D. and Mitchell, Jane A. (October 8, 2002). "Cyclooxygenase-3 (COX-3): Filling in the gaps toward a COX continuum?". PNAS 99 (21): 13371–13373. doi:10.1073/pnas.222543099. PMID 12374850.
- 76- Prof. Dr. Oğuzkayalp. Klinik Farmakolojinin Esasları ve Temel Düzenlemeler. 4.Baskı Pelikan Yayıncılık. 2007
- 77- Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M: Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated oxygen toxicity in the blood. Am J Obstet Gynecol 135: 372–376, 1979)
- 78- Jiang ZY, Hunt JV, Wolff SP. Ferrous ion oxidation in the presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxide in low density lipoprotein. Anal Biochem. 1992 May 1;202 (2):384-9)

- 79- Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem.* 1968; 25: 192–205.
- 80- Cayman Chemical Company, USA
- 81- Prajda N., Weber G. Malign transformation-linked imbalance: decreased XO activity in hepatomas, *FEBS Lett* 59 (1975), pp. 245–249.)
- 82- Aebi Y: Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 105: 121–126, 1984)
- 83- Cosentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, Cockett AT. Histopathology of prepubertal rat testes subjected to various durations of spermatic cord torsion. *J Androl* 1986;7:23-31
- 84- Hutson JM. Undescended Testis, Torsion, and Varicocele. In O'Neill JA, Rowe MI, Grosfeld JL, Fonkalsrud EW, Coran AG. Editors. *Pediatric Surgery Volume Two*. 5th ed. London: Mosby –year Book, Inc, 1998:1099-1101.
- 85- Noseworthy J, Testicular Torsion. Ashcraft, Murph, Sharp, Sigalet, Snyder. Editors. *Pediatric Surgery*. 3 rd edition. United States of America: W.B. SAUNDERS COMPANY, 2000: 674-80
- 86- Turner TT, Bang HJ, Lysiak JJ. Experimental testicular torsion: reperfusion blood flow and subsequent testicular venous plasma testosterone concentrations. *Urology* 2005; 65: 390–4.
- 87- Kehinde EO. Allopurinol provides long-term protection for experimentally induced testicular torsion in a rabbit model. *BJU Int* 2005; 96: 1147–8.
- 88- Salmasi AH, Payabvash S, Beheshtian A et al. Protective effects of sildenafil administration on testicular torsion/detorsion damage in rats. *Eur Urol Suppl* 2006; 5: 302.

- 89- Abasiyanik A, Dagdonderen L. Beneficial effects of melatonin compared with allopurinol in experimental testicular torsion. *J Pediatr Surg* 2004; 39: 1238–41.
- 90- Runzer TD, Ansley DM, Godin DV, Chambers GK. Tissue antioxidant capacity during anesthesia: propofol enhances in vivo red cell and tissue antioxidant capacity in a rat model. *Anesth Analg* 2002; 94: 89–93.
- 91- 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: 457–61.
- 92- Turner TT, and Brown KJ: Spermatic cord torsion: loss of spermatogenesis despite return of blood flow. *Biol Reprod* 49: 401–407, 1993.
- 93- Prillaman HM, and Turner TT: Rescue of testicular function after acute experimental torsion. *J Urol* 157: 340– 345, 1997.
- 94- Abes, M, Sarihan H, Deg̃er O, Uydu HA. The effect of ATPMgCl₂ on prevention of reperfusion injury after unilateral testicular torsion. *Eur J Pediatr Surg* 2001;11:255.
- 95- Visser AJ, Heyns CF. Testicular function after torsion of the spermatic cord. *BJU Int* 2003;92:200.
- 96- Filho DW, Torres MA, Bordin ALB, et al. Spermatic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia- reperfusion injury. *Mol Aspects Med* 2004;25:199-210.
- 97- Hülya Aksoya,□, Turgut Yapanoglu, Yılmaz Aksoyb, Isa Özbeyb, Hamdullah Turhana, Nesrin Gursanc Dehydroepiandrosterone treatment attenuates reperfusion injury after testicular torsion and detorsion in rats *Journal of Pediatric Surgery* (2007) 42, 1740–1744

- 98- Amirali Hassanzadeh Salamsi, Azadeh Beheshtian, Seyedmehdi Payabvash, Shadpour Demehri; Mohammed Reza Ebrahimkhani, Motahare karimzadegan, Moslem Bahadori. Parvin Pasalar, and Ahmed reza Dehpour. Effect of meorfihine on ischemia- reperfusion injury: experimental study in testikular torsion rat model UROLOGY 66: 1338–1342 © 2005 Elsevier Inc.
- 99- Shiraishi K, Naito K, Yoshida Ki. Nitric oxide promotes germ cell necrosis in the delayed phase after experimental testicular torsion of rat. Biol Reprod 2001;65:514-21.
- 100- Koltuksuz U, Irmak MK, Karaman A, Uz E, Var A, Ozyurt H, et al. Testicular nitric oxide levels after unilateral testicular torsion/ detorsion in rats pretreated with caffeic acid phenethyl ester. Urol Res 2000;28:360–3.
- 101- Eşrefoglu M, Gul M, Parlakpınar H, Acet A. Effects of melatonin and caffeic acid phenethyl ester on testicular injury induced by myocardial ischemia/reperfusion in rats. Fundam Clin Pharmacol 2005;19:365–72.