



**T.C.  
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ  
İZZET BAYSAL TIP FAKÜLTESİ  
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA TESTİS İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINDA  
PYRROLIDINE DITHIOCARBAMATE'IN ETKİNLİĞİ**

**Dr. Mevlüt YILDIZ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**BOLU- 2014**





**T.C.  
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ  
İZZET BAYSAL TIP FAKÜLTESİ  
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA TESTİS İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINDA  
PYRROLIDINE DITHIOCARBAMATE'IN ETKİNLİĞİ**

**Dr. Mevlüt YILDIZ  
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Yrd. Doç. Dr. Eray KEMAHLI**

**BOLU- 2014**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık ve tez hazırlama döneminde yardım ve desteğini gördüğüm, bilgi birikimini ve deneyimlerini benimle paylaşan tez danışmanı hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Eray KEMAHLI'ya

Uzmanlık eğitimi sürecinde bilgi ve tecrübelerini bana aktaran, iyi ve kötü her günümde benden yardımını esirgemeyen ve manevi desteğini her zaman hissettiğim, bana ve çalışma arkadaşlarıma iyi bir hekim olmanın yanı sıra, insanı sevmeyi ve sevdirmeyi öğreten saygıdeğer hocam Üroloji Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ahmet METİN'e,

Uzmanlık eğitimimde büyük katkıları olan bölümdeki diğer hocalarım Sayın Doç. Dr. Adnan GÜCÜK, Yrd. Doç. Dr. Uğur ÜYETÜRK ve Yrd. Doç. Dr. Mehmet Emin Özyalvaçlı'ya,

Tez çalışmamda katkıları olan Histoloji ve Embriyoloji AD'dan Yrd. Doç. Dr. Tülin FIRAT'a ve Tıbbi Biyokimya AD'dan Doç. Dr. Mehmet TOSUN'a,

Çalışma arkadaşım Araş. Gör. Dr. Burak YILMAZ'a,

Bu süreçte benim her zaman yanımda olan, benimle üzüлp benimle sevinen, onlara sahip olduğum için gurur duyduğum ve haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim aileme,

TEŞEKKÜRLERİMLE.....

**Dr. Mevlüt YILDIZ**

# İÇİNDEKİLER

|                                                                         |      |
|-------------------------------------------------------------------------|------|
| TEŞEKKÜR                                                                | iii  |
| İÇİNDEKİLER                                                             | iv   |
| SİMGELER VE KISALTMALAR                                                 | v    |
| ŞEKİLLER                                                                | vi   |
| TABLolar                                                                | vii  |
| GRAFİKLER                                                               | viii |
| ÖZET                                                                    | ix   |
| İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)                                               | x    |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ                                                        | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER                                                       | 2    |
| 2.1. Testis Anatomisi                                                   | 2    |
| 2.1.1. Testisin arteriyel dolaşımı                                      | 3    |
| 2.1.2. Testisin venöz dolaşımı                                          | 3    |
| 2.1.3. Testisin innervasyonu                                            | 4    |
| 2.2. Testis Histolojisi                                                 | 5    |
| 2.3. Testis Torsiyonu                                                   | 9    |
| 2.3.1. Epidemiyoloji ve etyoloji                                        | 9    |
| 2.3.2. Klinik                                                           | 11   |
| 2.3.3. Tanı                                                             | 11   |
| 2.3.4. Tedavi                                                           | 12   |
| 2.4. İskemi-Reperfüzyon Hasarı                                          | 12   |
| 2.5. Reaktif Oksijen Türleri, Oksidatif Stres ve Antioksidan Sistemler  | 13   |
| 2.6. Nükleer Faktör Kapa B (NFkB) ve Pyrrolidine Dithiocarbamate (PDTC) | 18   |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM                                                      | 21   |
| 4. BULGULAR                                                             | 24   |
| 5. TARTIŞMA                                                             | 31   |
| 6. SONUÇ                                                                | 37   |
| 7. KAYNAKLAR                                                            | 38   |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

|                                   |                                          |
|-----------------------------------|------------------------------------------|
| <b>ATP</b>                        | : Adenozin trifosfat                     |
| <b>cAMP</b>                       | : Siklik adenozin monofosfat             |
| <b>CAT</b>                        | : Katalaz                                |
| <b>ÇDYA</b>                       | : Çoklu doymamış yağ asitleri            |
| <b>DNA</b>                        | : Deoksiribonükleik asit                 |
| <b>FSH</b>                        | : Folikül Stimulan Hormon                |
| <b>GPX</b>                        | : Glutasyon peroksidaz                   |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> | : Hidrojen Peroksit                      |
| <b>IκB</b>                        | : inhibitör kapa B                       |
| <b>LH</b>                         | : Lüteinizan Hormon                      |
| <b>LPS</b>                        | : Lipopolisakkarid                       |
| <b>MDA</b>                        | : Malondialdehit                         |
| <b>MR</b>                         | : Manyetik Rezonans                      |
| <b>NAC</b>                        | : N-asetit sistein                       |
| <b>NEMO</b>                       | : NF-κB esansiyel modülatörü             |
| <b>NFκB</b>                       | : Nükleer faktör kapa beta               |
| <b>NIK</b>                        | : NF-κB indükleyici kinaz                |
| <b>NO</b>                         | : Nitrik oksit                           |
| <b>OH-</b>                        | : Hidroksil radikali                     |
| <b>O<sub>2</sub>-</b>             | : Süperoksit anyonu                      |
| <b>PDTC</b>                       | : Pyrrolidine Dithiocarbamate            |
| <b>ROT</b>                        | : Reaktif oksijen türleri                |
| <b>RSV</b>                        | : Resveratrol                            |
| <b>SOD</b>                        | : Süperoksit dismutaz                    |
| <b>SOR</b>                        | : Serbest oksijen radikalleri            |
| <b>Tc<sup>99m</sup></b>           | : <sup>99m</sup> Techetium pertechnetate |

## ŞEKİLLER

|            |                                                          |    |
|------------|----------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1: | Testis, epididim ve ductus deferens                      | 2  |
| Sekil 2.2: | Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu                    | 16 |
| Şekil 4.1: | Kontrol grubuna ait normal histolojik yapı               | 26 |
| Şekil 4.2: | İskemi\reperfüzyon grubuna ait histopatolojik görüntü    | 26 |
| Şekil 4.3: | İskemi\reperfüzyon grubunda bazı kanama alanları         | 27 |
| Şekil 4.4: | İskemi\reperfüzyon grubunda bazı tübüler nekroz alanları | 27 |
| Şekil 4.5: | Kontrol grubuna ait TUNNEL boyama görüntüsü              | 28 |
| Şekil 4.6: | İskemi\reperfüzyon grubuna ait TUNNEL boyama görüntüsü   | 28 |
| Şekil 4.7: | İskemi\reperfüzyon + PDTC grubunda apoptotik hücreler    | 29 |

## **TABLÖLAR**

|             |                                                            |    |
|-------------|------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 2.1 : | Bazı Reaktif Oksijen Türleri                               | 13 |
| Tablo 2.2 : | Reaktif Oksijen türlerinin kaynakları                      | 14 |
| Tablo 2.3 : | Antioksidan savunma sistemi elemanları                     | 17 |
| Tablo 3.1 : | Johnson tübüler biyopsi skoru                              | 22 |
| Tablo 4.1 : | Gruplar arası MDA ve SOD sonuçları açısından karşılaştırma | 23 |



## **GRAFİKLER**

|              |                                                       |    |
|--------------|-------------------------------------------------------|----|
| Grafik 4.1 : | Deney grupları arası Johnson skoru dağılımı           | 24 |
| Grafik 4.2 : | Deney grupları arası Seminifer tübül çapları dağılımı | 25 |
| Grafik 4.3 : | Deney grupları arası apoptotik hücre sayısı dağılımı  | 25 |

## ÖZET

### DENEYSEL TESTİS İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA PYRROLIDINE DITHIOCARBAMATE'IN ETKİNLİĞİ

Çalışmamızda bir antioksidan ve NF-kB inhibitörü olan Pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) molekülünün iskemi reperfüzyon hasarını önlemedeki rolünü araştırmayı planladık.

Wistar-Albino 21 erkek rat her grupta 7 rat olacak şekilde 3 gruba ayrıldı; sham grubu (grup 1), iskemi-reperfüzyon (I/R) grubu (grup 2) ve tedavi (I/R + PDTC) grubu (grup 3). Sham grubu hariç tüm gruplarda sol testisler 4 saat süre ile 720 derece torsiyone edildi. Detorsiyondan 15 dakika önce 3. gruba intraperitoneal olarak 100 mg/kg dozunda PDTC verildi. Bir saat reperfüzyon periyodundan sonra tüm ratlara sol orşiektomi yapıldı ve intrakardiyak 5ml kan örneği alındı. Kanda süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri ve Malondialdehit (MDA) seviyeleri ölçüldü ve histopatolojik örnekler alındı.

Grup 2 de I/R hasarını gösterecek şekilde kan SOD düzeylerinde azalma, MDA değerlerinde artma ve histopatolojik Johnson skorunda kötüleşme mevcuttu. ( $p<0,05$ ) PDTC verilen grup 3 te ise bu parametreler açısından kontrol grubu ile benzer sonuçlar tespit edildi ( $p>0,5$ ). Histopatolojik değerlendirme PDTC nin testiküler hücre hasarını azalttığını gösterdi.

Çalışmanın sonuçları, ratlarda iskemi-reperfüzyonun neden olduğu testis hasarından korumada PDTC'nin faydalı bir ajan olduğunu göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Pyrrolidine Dithiocarbamate, NF-kB, iskemi reperfüzyon hasarı, testis torsiyonu.*

## ABSTRACT

### THE EFFECT OF PYRROLIDINE DITHIOCARBAMATE IN EXPERIMENTAL TESTIS ISCHEMIA REPERFUSION INJURY

In our study, we aimed to investigate Pyrrolidine Dithiocarbamate (PDTC) molecule's (an antioxidant and inhibitor of NF- $\kappa$ B) protective effects of ischemia-reperfusion injury.

Male 21 Wistar-Albino rats were divided into three groups each has seven rats; sham group (group 1), I/R group (group 2) and I/R + PDTC group (group 3). All left testicles excluding the sham operation groups were subjected to 720 degrees of spermatic cord torsion for 4 hours. 15 minutes prior to detorsion 100\mg\kg of PDTC was administered intraperitoneally to group 3. At the end of 1 hours detorsion period, left orchiectomies were performed, and 5-mL intracardiac blood samples were taken in all groups. Blood superoxide dismutase (SOD) activities, and malondialdehyde (MDA) levels were measured, and histopathologic examinations were performed.

Group 2 had decreased blood SOD activities, elevated MDA levels and decreased hispathologic Johnson tubuler biopsy scores indicating I/R injury. ( $p<0,05$ ) Group 3 had similar results of these parameters with sham group ( $p>0,5$ ). Histopathological evaluation showed that PDTC reduced testicular cell damage.

The results of this study indicate that PDTC is a beneficial agent in protecting testicular I/R injury in rats.

**Keywords:** *Pyrrolidine Dithiocarbamate, NF- $\kappa$ B, ischemia-reperfusion injury, testicular torsion.*

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

İlk kez 1800'lerde tanımlanan testis torsiyonu acil müdahale gerektiren ürolojik hastalıklardan biridir. Çoğunlukla adolesan ve çocukluk çağında görülür. 25 yaş altı 4000 erkekten birinde testis torsiyonu görülmektedir. Pediatrik dönem akut skrotal hastalıkların ise %25-35'ini oluşturur. Tanı koymakta geç kalındığında testiste fonksiyon kaybı ve infertiliteye yol açabilir. Testiküler torsiyon sonucu oluşan iskemiye ve detorsiyon sonrası meydana gelen reperfüzyon hasarına bağlı testiküler hasar gelişmektedir. İskemi sırasında azalan oksijen miktarının metabolik ihtiyaçları karşılayamaması, hücresel enerji depolarında azalma ve toksik metabolitlerin birikimine bağlı olarak germ hücre ölümü gerçekleşir (1).

Kanlanması bozulan testise erken müdahale yapılmaz ise olay nekroz ile sonuçlanır. Spermatik kord ve yapılarının rotasyonu sonucu önce venöz ve lenfatik obstrüksiyon oluşur, ödem meydana gelir. Bunun ilerlemesiyle arteriyel dolaşım bozulur, bir süre sonra da testiküler enfarkt meydana gelir. Testis torsiyonunda oluşan doku hasarı torsiyonun derecesi ve süresi ile ilişkilidir (2). Yapılan deneysel çalışmalarda testiküler iskemiye en duyarlı olan hücrelerin başında spermatogonia ve spermatositler olmak üzere germ hücreleri olduğu gösterilmiştir (3).

Torsiyona bağlı iskemik hasar, detorsiyona bağlı reperfüzyon hasarı oluşması sonucu dokuda yapısal ve biyokimyasal bir takım değişiklikler ortaya çıkar. Bazı çalışmalar dokudaki iskemi-reperfüzyon hasarından serbest oksijen radikallerinin sorumlu olduğunu göstermiştir (4). Serbest oksijen radikalleri (SOR) organizmada etkilenen dokunun yapı elemanlarını bozarak zararlı etkilere yol açabilir. Çeşitli antioksidan ajanların kullanılmasıyla (vitamin E, allopurinol, melatonin, N-asetilsistein gibi) serbest oksijen radikallerinin zararlarının azaltılabileceği gösterilmiştir (5-9).

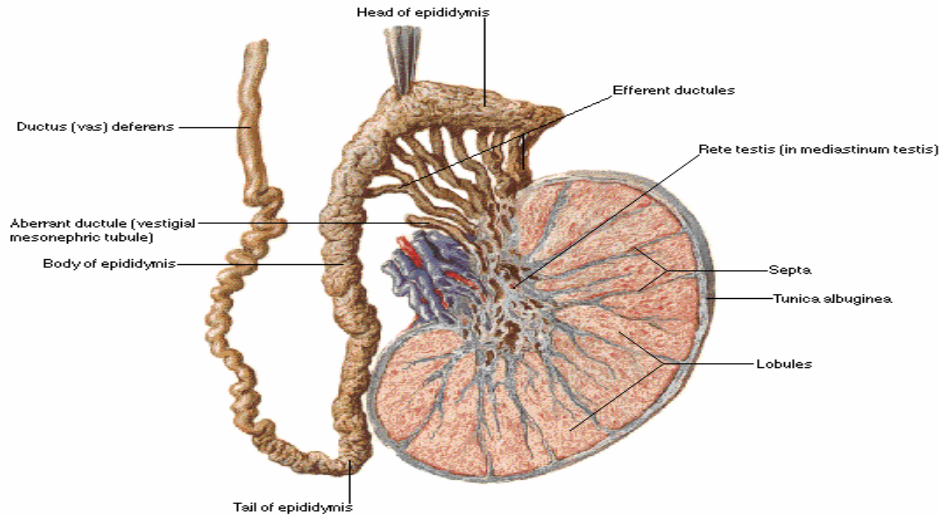
Çalışmamızda bir antioksidan olan Pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC)'ın testis torsiyonu sonrası oluşan iskemi reperfüzyon hasarı üzerindeki etkilerini incelemeyi amaçladık.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. Testis Anatomisi

Testisler, 4-5 cm uzunluğunda, 3 cm genişliğinde ve 2,5 cm derinliğinde olup ortalama olarak 15-20 ml hacme sahiptir. Sol testis, sağ testisten 1 cm daha aşağıdadır (10-12). Testis parankimi dıştan içe doğru tunika vaginalis, tunika albuginea ve tunika vaskulosa olmak üzere 3 tabakadan oluşan bir kapsül ile sarılıdır. Tunika vaginalis visseral ve parietal olmak üzere 2 tabakadan oluşur. Visseral tabaka testisin ön yüzünde ve her iki yanında bulunur. Parietal ve visseral tabaka arasında potansiyel bir boşluk vardır. Bu boşlukta az miktarda seröz sıvı bulunur. Bu yapı ekstrasvaginal torsiyonun oluştuğu kompartmanı oluşturur (13-15).

Epididimis, testisin posterolateral yüzeyine yapışır. Onun altında tunika albuginea, damarların ve duktusların testiküler kapsülü geçtiği noktada olan mediastinum testisi oluşturmak için içeri doğru uzanır. Septa radiata, mediastenden tunika albugineanın iç yüzeyine sayıları 200-300 arasında değişen koni şekilli lobülleri oluşturmak için yapışır (16). Rete testisten, 12-20 adet duktuli efferentes çıkarak epididim başına girerler. Her bir lobülden gelen duktus tek bir epididim duktusuna drene olur. Oldukça dar olan bu kanalın, kuyruğa doğru ilerledikçe çapı ve kalınlığı giderek artarak duktus deferens oluşur (17).



Şekil 2.1: Testis, epididim ve duktus deferens (Interactive Atlas of Human Anatomy, illustrated by Frank H. Netter, M.D. )

### **2.1.1. Testisin arteriyel dolaşımı**

- İnternal spermatik (testiküler) arter
- Eksternal spermatik (kremasterik) arter
- Deferensiyel (vazal) arter

#### **İnternal spermatik (testiküler) arter:**

Testisin ana arteridir. Abdominal aortadan renal arterin hemen alt seviyesinden çıkarak testislere ulaşır. Testis kan akınının 2/3 ü buradan sağlanır. 100 mg testis dokusuna dakikada 9 mg kan getirir (18). İnternal spermatik arter üst polde deferensiyel arterle, alt polde deferensiyel ve eksternal (kremasterik) arterlerle anastomoz yapar (19,20).

#### **Eksternal spermatik (kremasterik) arter**

Esas olarak tunika vajinalisi besleyen bu arter testis kan akımının yaklaşık %15-20'sini sağlar. Arteria iliaka eksternanın dalı olan arteria epigastrika inferior'dan internal inguinal ring içinde ayrılır. Testiküler mediastinumda internal spermatik ve deferensiyel arterlerle anastomoz yapar ve tunika vaginalis üzerinde ağ yaparak sonlanır.

#### **Deferensiyel (vazal) arter**

Arteria iliaka internanın uç dalı olan arteria vezikalis superior veya inferiordan çıkan bu arter testis kan akımının 1/6'sını sağlar. Vaz deferens ve epididimisin globus minor'unu besler, internal spermatik arter ile anastomoz yapar. İnternal spermatik arter bağlanırsa kremasterik arter ile birlikte testiküler kan akımını düzenler (21,22).

### **2.1.2. Testisin venöz dolaşımı**

- İnternal spermatik (testiküler) ven
- Eksternal spermatik (kremasterik) ven
- Deferensiyel (vazal) ven
- Gubernakuler ven

#### **İnternal spermatik (testiküler) ven**

İnternal spermatik artere eşlik eder. Sağda vena cava inferiora oblik olarak, solda renal vene dik olarak açılır. Sol internal spermatik ven daha yüksek konumu ve sol testisin daha aşağıda olması nedeniyle sağ internal spermatik venden 8-10 cm

daha uzundur. İnförör vena cavanın daha fazla çekiş etkisiyle sağ internal spermantik venöz akımı arttırdığı düşünölmektedir (23).

#### **Eksternal spermantik (kremasterik) ven**

Spermantik kordun posteriorunda yer alır, eksternal inguinal ring bölgesinde yüzeyel ve derin inferior epigastrik venlere ve yüzeyel eksternal ile derin pudental venler yoluyla eksternal iliak vene açılır.

#### **Deferensiyel (vazal) ven**

Vaz deferense eşlik eder, süperör-inferör vezikal venler yoluyla internal iliak vene dökölür.

#### **Gubernakular ven**

Eksternal pudental ven, safen ven yoluyla eksternal iliak vene dökölür.

#### **Pleksus pampiniformis**

Testis içindeki küçük venler, yüzeyel testis venlerine ve rete testiste hiler venlere açılırlar. Daha sonra testis ve epididimden kaynaklanan venler, mediastinumdan çıkar ve duktus deferens önünde ve testiküler arter çevresinde 8-12 venden oluşan serbest anastomoz yapan 3 ayrı ven grubu pampiniform pleksusu oluşturur (24). Testosteron, konsantrasyon gradientine göre pasif difüzyon ile venden artere taşınır (25). Scrotal ısı normal vücut ısısından 2-3°C daha düşüktür. Bu ısı ayarı spermantik kordonda ısının karşılıklı akım ile değişimi sayesinde sağlanmaktadır (26). Pleksus pampiniformis, epididim ve skrotal duvarın drenajını sağlayan kremasterik pleksus ve deferansiyel ven sistemi arasında, skrotum ve inguinal kanal seviyesinde birbirleriyle anastomozlar vardır. Bu anastomozlar sayesinde kremasterik ve deferansiyel venöz gruplar, internal spermantik ven ligasyonundan sonra testisten venöz dönüş için kollateral yol sağlamış olur (27).

#### **2.1.3. Testisin innervasyonu**

Testisin innervasyonu, süperör mezenterik arter ve renal arter seviyesindeki aortik pleksuslar ve kollateral ganglionlar ile ilişkili sempatik lifler ve genel visseral duyu lifleri ile sağlanır (28). Bu lifler testise testiküler arterler ile birlikte gelirler ve testise sempatik ve duysal innervasyon sağlarlar. Ağrı iletimiyle ilgili spinal kord seviyeleri, torasik ve splanknik sinirlerin çıktıkları T5-T12 seviyesidir. Genitofemoral sinirin genital dalı (L1-L2) inguinal kanala internal inguinal ringden girer. Bu dal kremasterik kasın innervasyonunu sağlar. İlioinguinal sinir (L1) krista

iliaka anterior süperior yakınında internal ve external oblik kaslar arasından çıkar, inguinal kanala girer ve en sonunda dış inguinal ringden çıkar. İlioinguinal sinir penis kökünün derisini, skrotumun üst tarafını, uyluğun üst medial bölümünü innerve eder (29).

## **2.2. Testis Histolojisi:**

Skrotum içindeki testisler, dıştan üç tabakalı kalın bir kapsül ile kaplanmıştır. Kapsülün dış tabakası tunika vajinalis, orta tabakası tunika albuginea ve iç tabakası da tunika vasküloza olarak isimlendirilir. Tek katlı mezotelyal hücrelerden oluşan tunika vajinalis genellikle preparatlarda izlenmez. Kapsülün en kalın ve belirgin tabakası, yoğun fibroelastik bağ dokusuna sahip olan tunika albugineadır (30,37). Tunika albuginea testisin arka yüzünde kalınlaşarak mediastinum testisi oluşturur (31). Tunika albuginea'nın ince bağ dokusu uzantıları sayesinde testis insanda sayıları 250'ye ulaşan lobüllere ayırır (37).

### **Seminifer tübüller:**

Testis hacminin % 85-90'ını oluşturur. Germ hücrelerini ve sertoli hücrelerini içerir. Testisin yüzey epitelinden köken alan destek hücrelerine sertoli hücreleri denir. Sertoli hücreleri, sabit sayıda ve çoğalmayan hücrelerdir. Sertoli hücreleri seminifer tübüllerin bazal membranında bulunur ve birbirlerine sıkı bağlantılarla bağlanır. Sertoli hücreleri, peritübüler kontraktıl hücrelerle (myoloid hücreler) birlikte kan-testis bariyerini oluştururlar. Bu bariyer, spermatogenezi kolaylaştıran ve germ hücrelerinin immünolojik olaylardan korunmasını sağlayan uygun ortamı sağlar. Spermatozoalar, bağışıklık sisteminin olayın farkına varmasından uzunca bir dönem sonra, yani pubertede üretildiklerinden bu izolasyon önem taşır. Böylece spermatozoalar, immünolojik saldırıdan korunmuş olur. Yani, bu bariyer spermatogenetik hücrelerin immün sistemle karşılaşmasını engelleyerek infertiliteyi önler. Sertoli hücreleri bir taraftan gelişen germ hücrelerini beslerken diğer taraftan harap olmuş hücreleri ve diğer yabancı artıkları fagosite eder. Ayrıca sertoli hücreleri, inhibin ve androjen bağlayıcı protein üretir, androjen ve östrojenlerin katabolizmasını sağlar ve FSH reseptörü taşır (32).



**İntertisyel doku:**

Testis dokusunun %25-30'unu oluşturur. İntertübüler bölgede leydig hücreleri, kan damarları, lenfatikler, sinirler, makrofajlar ve mast hücreleri bulunur. Leydig hücreleri pubertede ortaya çıkarlar. Bunlar, santral konumlu, tek, yuvarlak bir çekirdeğe sahip hücrelerdir. Sekonder seks karakterlerinin gelişmesinden sorumlu olan ve kolesterolden sentezlenen testosteron, leydig hücrelerinde üretilir. Testosteron salgılanması lüteinizan hormon (LH) kontrolündedir. Plazmadaki testosteronun %65'i androjen bağlayıcı protein olarak adlandırılan bir beta globüline, %33'ü ise albümine bağlı olarak bulunur (33).

**Spermatogenez:**

Spermatazoa üretimi seminifer tübüllerde gerçekleşir. Seminifer tübüllerin bazal kısmından lümenine doğru, spermatogenezin farklı evrelerinde farklı hücreler bulunmaktadır. En dışta bulunan hücreler spermatogonialardır (34). Spermatogenez 3 fazda gerçekleşir. Spermatositogenez olarak adlandırılan evrede spermatogonyumların bölünmesiyle spermatositler meydana gelir. Spermatositler ardı ardına iki kez mayoz bölünme geçirerek kromozom sayılarını ve DNA miktarlarını eşit olarak her hücrede yarıya düşürerek spermatidleri oluşturur. Spermiyogenez evresinde ise spermatidler düzenli bir hücre farklılaşma süreci geçirerek spermatozoonları oluşturur.

Spermatogenez, bazal laminanın hemen üstüne yerleşmiş bir germ hücresi olan spermatogonyum ile başlar. Bu yaklaşık 12 mikrometre ( $\mu\text{m}$ ) çapında, nispeten küçük bir hücredir. Seksüel olgunlaşmada bu hücreler bir seri mitoz geçirir ve yeni oluşan hücreler iki yol izleyebilir. Bir ya da daha fazla mitotik bölünmeden sonra farklılaşmamış kök hücreler olan tip A spermatogonyumlar olarak devam eder ya da farklılaşarak tip B spermatogonyumları oluşturur. Tip A spermatogonyumlar spermatogenik serinin kök hücreleridir. Primer spermatositlere farklılaşan öncül (progenitor) hücreler Tip B spermatogonyumlardır. Birinci mayotik bölünme ile 23 kromozom içeren sekonder spermatositler oluşur. Daha sonra bu hücreler ikinci mayotik bölünmeye girerek 23 kromozom içeren spermatidleri oluşturur (35). Spermiyogenez safhasında spermatidler farklılaşma sürecine girer. Nükleusları yoğunlaşır, akrozom oluşumu ve flagellum gelişimi bu sırada gerçekleşir. Sitoplazmanın büyük kısmı yok olur. Sonuçta seminifer tübülün lümenine açılan

olgun spermatozoon meydana gelir. Spermatogonyumların bölünmesi sırasında ortaya çıkan hücreler tamamen ayrılmaz ve sitoplazmik köprülerle birbirlerine bağlantı kurar. Bu köprüler primer ve sekonder spermatositlerle spermatid arasındaki iletişimi sağlar. Hücrelerel bilgi aktarımına izin vermesi sebebiyle bu köprüler spermatogenezdeki olaylar zincirinin koordinasyonunda önemli bir role sahiptir. Spermatogenez süresi tamamlandığında sitoplazma ve sitoplazmik köprülerin artık cisimcikler olarak dökülmesi ile spermatidler arasında bir ayrılma olur. Tek bir spermatogonyumdan oluşan tahmini spermatid sayısı 512'dir. Düzenli bir spermatogenez süreci boyunca insanlarda primitif bir germ hücresinden olgun bir spermin oluşmasına kadar geçen süre ortalama 64 gündür. Spermatogenez, eş zamanlı olarak her seminifer tübülde aynı anda gerçekleşmez, bu olay dalgalanma biçiminde olur (35,36).

37°C olan normal vücut sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda oluşan spermatogenezin regülasyonunda ısı çok önemlidir. Testiküler ısı yaklaşık 35°C'dir ve birkaç mekanizma tarafından kontrol edilir. Zengin bir venöz pleksus (*pampiniform pleksus*) her bir testiküler arterin etrafını sararak testiküler ısının artmasını engeller. Diğer faktörler, skrotumdaki terin buharlaşması ile ısı kaybı ve düşük sıcaklık olduğunda ise spermatik kordondaki krameter kaslarının kasılması ile testislerin daha yüksek bir ısıda kalabileceği inguinal kanallara çekilmesidir. Beslenme bozukluğu, alkolizm ve bazı ilaçların etkisi ile spermatogoniumlarda değişiklikler ve sonuçta spermatozoon yapımında bir azalma ortaya çıkabilir. X ışını maruziyeti ve kadmiyum tuzları spermatogenik seri hücrelerinde oldukça toksiktir ve bu hücrelerin ölümüne sebep olarak steriliteye yol açabilirler. Spermatogenez üzerinde en önemli etkiyi endokrin faktörler oluşturur. Spermatogenez, hipofizden salınan foliküler stimulan hormon (FSH) ve luteinize hormonların (LH) testiküler hücreler üzerindeki etkilerine bağlıdır. LH interstisyel hücrelere etki ederek spermatogenik seri hücrelerinin normal gelişimi için gerekli olan testosteron yapımını uyarır. FSH'ın ise sertoli hücrelerini etkileyerek adenilat siklaz yapımını uyardığı ve sonuçta siklik adenozin monofosfat (cAMP) artışına yol açtığı ve aynı zamanda androjen bağlayıcı protein sentez ve salgılanmasını sağladığı bilinmektedir. Bu protein testosteron ile bağlanır ve testosteronu seminifer tübüllerin lümenine taşır. Spermatogenez testosteron ile uyarılır, östrojen ve progesteronla inhibe edilir.

Spermatozoonlar sertoli hücreleri ve rete testis tarafından üretilen testiküler sıvı ile epididimise taşınırlar. Testiküler sıvı, bazı proteinler, steroidler, iyonlar ve testosteronla birleşmiş androjen bağlayıcı protein içerir (35).

### **Rete testis**

Tek katlı kübik veya alçak prizmatik epitel ile döşeli düzensiz anastomozları olan kanallardır. Epitel hücreleri tek apikal silium ve birkaç mikrovillus içerir. Bazal membranı mediastinumun bol kan damarlı bağ dokusu ile sarıdır (37). Testisin mediastinumu içinde düzensiz biçimde anastomozlaşan kanallardan meydana gelir. Fibroblastlar ve myoloid hücreler tarafından oluşturulan duvar, büyük leydig hücresi kümelerine eşlik eden kan damarları ve geniş lenf kanalları ile çevrilmiştir (38).

### **Duktuli efferentes**

Rete testis ile epididimis arasındaki bağlantı kanallarıdır. Rete testis epididimisin başına, sayıları yaklaşık 12 adet olan kıvrımlı seyreden duktuli efferentes ile açılır. Kanalları döşeyen yalancı çok katlı prizmatik epitel, prizmatik ve kübik hücrelerden oluşur. Uzun boyluları genellikle silialıdır. Kısa boylu olanlar ise silia içermez. Hücre boyları eşit olmadığından, epitel yüzeyi girintili çıkıntılı görünür. Bu hücreler çok sayıda mikrovillus, pinositoz vezikülü, membranla sınırlı cisimcikler içeren, endositoz yapabilen hücrelerdir. Seminifer tübüllerden salgılanan sıvının büyük bölümü duktuli efferentesteki bu hücreler tarafından reabsorbe edilir. Epitelde lenfositler de görülebilir. Elastik lif içeren, ince bir sirküler kas tabakası kanalı çevreler. Spermin bu kanallar boyunca ilerlemesi siliyaların hareketi ve bu sirküler kas tabakası sayesinde oluşur (37).

### **Duktus epididimis**

Testisin posterior kesiminde uzanan, son derece kıvrımlı, 4-6 metre uzunluğunda bir kanaldır. Caput, corpus ve cauda epididimis olmak üzere 3 bölümden oluşur (39). Caput epididimis, testisin üst kutbunda, gövde ve arka kısmında yer alır. Epididim gövde ve kuyruğu kıvrımlı tek bir kanaldan meydana gelmiştir (39). Kanalı kan damarlarından, düz kas hücrelerinden zengin sıkı bir bağ dokusu ile sarıdır. Yalancı çok katlı sterosilyalı prizmatik epiteli, bazal hücreler ve prizmatik hücrelerden oluşur. Epididimisin baş ve gövdesinin büyük bölümünde bağ dokusu dışında sirküler yerleşimli düz kaslardan oluşan ince bir tabaka daha yer alır. Kuyrukta bu tabakanın iç ve dış bölümünde longitudinal seyirli iki kas tabakası daha

eklenir. Spermatozoa duktus epididimisten geçerken hareket ve dölleme yeteneği kazanır. Duktuli efferentesteki gibi burada da reabsorbsiyon gerçekleşir. Sertoli hücreleri tarafından ortadan kaldırılmamış olan artık cisimleri ve dejenere olan spermleri burada fagosit ederek ortadan kaldırır. Asıl hücreler sperm olgunlaşmasını sağlayan siyalik asit, gliserofosfokolin ve glikoproteinleri salgılar (37). Epididim sperm depolanması, olgunlaşması ve taşınması için gerekli bir organdır (39).

### **Duktus deferens**

Cauda epididimisin devamı olan, kalın duvarlı musküler bir kanaldır. Epididimis gibi, yalancı çok katlı prizmatik epitel ile döşelidir. Epitelyum hücrelerinin çoğunun yüzeyinde sterostilyalar bulunur. Epitel altında elastik liflerden zengin lamina propria yer alır. Mukoza lümene doğru katlantılar yaptığından dolayı lümen düzensiz görülür. Duktus deferens, dışta damar ve sinirleri içeren konnektif doku kılıfı; ortada, iç ve dış longitudinal kaslar ve orta sirküler kaslardan oluşan kas tabakası ve içte sterostilialardan oluşan mukozal hücrelerinden meydana gelir (39).

Duktus deferens spermatik kordun bir parçasını oluşturur. Kanal, prostata girmeden önce genişleyerek seminal veziküller ile ampullayı oluşturur. Bundan sonra duktus deferens prostat içinden üretraya açılır. Prostata giren segmente ejakülatuar duktus denir. Duktus deferens 30-35 cm boyunda, 2-3 mm çaplı bir kanaldır (39).

## **2.3. Testis Torsiyonu**

### **2.3.1. Epidemiyoloji - etyoloji:**

Testisin vasküler pedinkülü etrafında dönüş yapması sonucu dolaşımının bozulmasıyla karakterize olan testis torsiyonu çocuklarda görülen akut skrotumun en önemli nedenidir. Testis torsiyonu her yaş grubunda oluşabilmekte fakat en çok yenidoğan ve puberte dönemlerinde görülmektedir (40).

Testis torsiyonu intravajinal yada ekstravajinal torsiyon şeklinde oluşabilir. Intravajinal torsiyon daha sık görülür (%90). Intravajinal torsiyon, spermatik kordun tunika vajinalise göre anormal yüksek yerleşimi ile karakterizedir. Tunika vajinalis spermatik korda olması gereken yerden daha yukarıdan tutunur, testisin tunika vajinalis içinde bir çan tokmağı şeklinde asılı durmasına yol açar. “Bell-clapper deformitesi” adı verilen bu durum torsiyon için ana neden olarak kabul edilir ve spermatik kordun hareketlerle veya krameterik kontraksiyonlarla kolayca dönebilmesine sebep olur. Pubertede testesteron seviyesinin artışı ile testis

boyutunun hızlı büyümesi de predispozan bir faktör olabilir (40,41). Ekstravajinal torsiyon daha çok yenidoğan döneminde görülen torsiyon tipidir (%10). Gonadal dokuların skrotumla olan bağlantılarının yetersizliği ya da yokluğu sonucu oluştuğu sanılmaktadır (40,41).

Torsiyonun başlangıcında venöz obstruksiyon oluşur. Bu durum testiste ani başlayan ağrı ve ödeme sebep olur. Venöz dolaşımın düzelmeden devam etmesi testisin tunikası elastik olmadığından arteriyel dolaşımın da bozulmasına yol açar. Venöz, arteriel ve kapiller düzeyde oluşan trombüsler testiste iskemi ve devamında nekroza sebep olur. Testis torsiyonunda oluşan doku hasarı torsiyonun süresi ve rotasyon derecesi ile yakından ilişkilidir. Yapılan çalışmalarda semptomları 6 saatten kısa olan hastaların büyük çoğunluğunda testis morfolojik açıdan normal tespit edilmiş fakat sürenin uzaması halinde testiste kalıcı hasarlanmanın arttığı tespit edilmiştir (40-42).

Testis torsiyonu genellikle sol testiste görülürken, olguların %2'sinde bilateraldir (43). Testis torsiyonunda testisin canlılığı iki parametreyle yakından ilişkilidir. Bunlar torsiyonun süresi ve torsiyonun derecesidir. Torsiyonla nekroz arasındaki süre oldukça değişken olup, 2 ila 24 saat arasında değişmektedir. Fakat genellikle ilk 48 saat çok önemlidir. Çeşitli klinik çalışmalarda detorsiyon ve cerrahi fiksasyonla tedavi edilmiş hastaların uzun süreli takiplerinde; semptomları 6 saatten az olan hastalarda testislerin % 92'sinin, 6-12 saat arasında olanlarda % 62'sinin, 12-24 saat arasında olanlarda % 38'inin ve 24-48 saat olanlarda da % 11'inin morfolojik açıdan normal kalabildiği bildirilmiştir (44).

Testis torsiyonunun gelişimindeki etyolojik faktörler arasında; fiziksel aktivite, travma, aşırı hareketlilik, kremaster kası kontraksiyonları, testisteki pubertal değişiklikler ve inmemiş testis yer almaktadır. Testis torsiyonu olgularının %25'inde travma öyküsü mevcuttur. Travmaya bağlı testis torsiyonu riski artmaktadır. Soğuk havada spermatik kord torsiyonunun daha sık görülmesi ve anestezi sonrası torsiyonun redükte olması kremaster kasının ya da dartosun kontraksiyonun, testis torsiyonunun başlamasında önemli olabileceğini düşündürmektedir. Pubertede testis torsiyonu daha sık görülmektedir. Artan testesteron seviyesinin, testisin ani büyümesine yol açarak ya da nokturnal seks yanıtı sırasında testiste elevasyon ve

rotasyon hareketlerinin daha sık oluşmasına neden olarak testis torsiyonu gelişmesinde etkili olabileceği düşünülmektedir (45-47).

### **2.3.2.Klinik**

Testis torsiyonu genellikle testiste, karnın alt kadrantlarında, ya da kasıkta ani ağrı ve bulantı-kusma ile başlar. Testis torsiyonu görülen adölesanların yaklaşık 1/3'lük kesiminde intermittan ağrı öyküsü mevcuttur. Kısa süreli ve kendiliğinden gerileyen ağrılar ise inkomplet torsiyonu düşündürür. Testis ve epididimde nekroz gelişmedikçe, palpasyonla ağrı vardır. Fizik incelemede torsiyon olan tarafta skrotumda kızarıklık, ödem ve ileri derecede hassasiyet tespit edilir. Testisin yukarı doğru kaldırılması vasküler oklüzyonu ve ağrıyı artırır. Buna “*Prehn*” bulgusu denir. Tedavi edilmez ise testiste infarktla birlikte skrotumda mavimsi bir renk değişimi ortaya çıkar. Bazı torsiyonlarda tunikadaki ödem sıvısının effüzyonundan kaynaklanan reaktif hidrosel, fizik inceleme bulgularını engelleyebilir (45,46). Ani başlayan karın ağrısı ile birlikte kasıkta palpable kitlesi ve boş skrotumu olan olgularda, inmemiş testise bağlı testis torsiyonu düşünülmelidir. Bu olgularda, ağrı alt kadrantlarda lokalize ise, akut karın tablosu ile karıştırılabilir. Bazılarında travma öyküsü bildirilmekle beraber çoğunlukla neden saptanamaz (48). Fizik muayenede bir diğer önemli bulgu da kremaster refleksinin olmamasıdır. Bazı çalışmalarda kremaster refleksi alınamaması testis torsiyonu tanısında önemli bir kriter olarak gösterilmiştir (49).

### **2.3.3.Tanı**

Renkli doppler ultrasonografi testis torsiyonunun değerlendirilmesinde non-invaziv olması ve sintigrafiyle benzer oranda testis torsiyonu tanısı koyabilmesi nedeni ile tercih edilmektedir. Renkli dopplerin en önemli özelliği skrotum ve testis içindeki kan akımlarını ayırt edebilmesidir. Öncelikle normal testis değerlendirildikten sonra aynı ayarlar korunarak karşı taraftaki testis değerlendirildiğinde normal testise göre kan akımının azalmış veya kaybolmuş olması testis torsiyonunu gösterir. Epididim-orşitte ise kan akımı artmıştır. Doppler ultrasonografinin, testis torsiyonundaki kan akımını değerlendirmede olguların %30'luk kısmında yanıltıcı olabileceği bildirilmiştir (50,51).

Diğer bir tanı yöntemi ise manyetik rezonans (MR) görüntülemesidir. Ancak çocuklarda kullanım zorluğu nedeniyle pek tercih edilmez (52). 99m Technetium

pertechnetate sintigrafisinde (Tc99m) torsiyon sonucu kan akımı azalan testiste avaskülarite, orşitte ise inflamasyon nedeniyle vaskülarite artışı görülebilir (53).

#### **2.3.4.Tedavi**

Testis torsiyonunda tedavinin esası detorsiyondur. Analjezikler yardımıyla manuel detorsiyon işlemi uygulanan çalışmalar mevcuttur. Fakat tekrarlama riski nedeniyle mutlaka cerrahi fiksasyon yapılmalıdır (54,55). Testisi korumak için gecikmeden cerrahi olarak detorsiyon uygulanması şarttır.

Orta hat skrotal insizyon ile testise ulaşarak teşhis doğrulanır. Kord düzeltilir, testis ılık SF ile ıslatılmış gazlı bez ile sarılır. Eğer torsiyone testis belirgin olarak siyah ve cansız görülüyorsa orşiektomi uygun olur. Anderson ve ark. çalışmasında 12 saatten kısa torsiyone kalan testislerin sadece %4'ünün nekrotik olduğu ve orşiektomi gerektiği görülmüş ancak bu süreden daha uzun torsiyon gerçekleşmişse %75'ine orşiektomi yapılmıştır (56). Torsiyone testis detorsiyone edilirken veya orşiektomi yapılırken karşı taraftaki testis de tespit edilir. En az iki adet emilmeyen sütür ile testisin tunika vajinalise tespit edilmesi en fazla tercih edilen yöntemdir. Torsiyone testis nekrotikse veya abse mevcutsa karşı taraftaki testisin sabitlenmesi enfekte olmaması için aynı seansta yapılmaz (57).

#### **2.4. İskemi – Reperfüzyon Hasarı**

Bir organdaki kan akımının pıhtı veya mekanik tıkanıklık gibi nedenlerle yetersiz hale gelmesi veya duraklamasına iskemi denir. Reperfüzyon ise doku kanlanmasının yeniden başlamasıdır (58).

İskemi süreci hücredeki oksidatif fosforilasyonu azaltır ve adenosin trifosfat (ATP), fosfokreatin gibi enerjiden zengin fosfatların depolarında yetmezlik oluşturur. İskemide enerji azalmasına bağlı olarak, ATP yıkım ürünlerinin birikmesi, asidoz, makromolekül sentezinin durması, iyon dengesinde bozulma gibi olaylar gelişir. İskemi proinflamatuvar olayı stimüle ederek lökosit adezyon molekülleri, sitokinler, endotelin, tromboksan A2 gibi mediatörlerin salınmasına neden olur (59-61).

Hipoksi, hücre hasarı ve ölümünün en sık nedenlerinden biridir. Hipoksidede, hücre içi oksijen yetersizliği nedeniyle aerobik solunum aksar ve mitokondrideki oksidatif fosforilasyon engellenir. ATP üretimi kısmen azalır ya da tamamen biter. ATP kaybı sonucu ATPaz aktivitesi de azalır. Bunun sonucunda hücre zarında bulunan aktif sodyum pompası yetersizliği ve beraberinde hücre içinde sodyum

birikimi gözlenir. Hücre içindeki potasyum dışarı atılır. Ardından su hücre içine girerek hücresel şişme meydana getirir. Hücresel şişmenin bir diğer nedeni ise katabolitlerin birikimidir. Hücresel enerji metabolizması bu süreç içerisinde glikoza bağımlı hale gelir. Glikojen depoları hızla azalır. Glikoliz, laktik asit ve fosfat türevlerinin hidrolizi ile inorganik fosfatların birikimine, bu da hücre içi pH da düşüş nedeniyle asidoza sebep olur.

Granüllü endoplazmik retikulumdan ribozomlar ayrılır ve polizomlar monozomlara parçalanarak protein sentezi azalır. Hipoksi devam ettiği takdirde membran geçirgenliği artar ve mitokondri çalışması yavaşlar. Bu sırada mitokondriler normal, hafif yoğunlaşmış ya da şişmiş, endoplazmik retikulum ise genişlemiş olarak görülür. Sonuçta hücre belirgin biçimde şişer. Buraya kadar olan olaylar geri dönebilir değişikliklerdir. İskemi bu andan sonra da devam ederse, geri dönüşümsüz hücre zedelenmesi başlar (62,63).

## **2.5. Reaktif Oksijen Türleri, Oksidatif Stres ve Antioksidan Sistemler:**

### **Reaktif Oksijen Türleri (ROT)**

Oksijen, organizmada oluşan serbest radikallerin çoğunun kaynağıdır. ROT dış yörüngesinde bir ya da birden fazla eşleşmemiş elektron içeren molekül ya da molekül parçacıkları için kullanılan bir tanımlamadır. Bu yapılar hem radikal hem de radikal olmayan yapıları içermektedir (bkz Tablo 2.1). Yapılarındaki çiftlenmemiş elektron, genellikle bu yapıya ciddi derecede kimyasal reaktivite kazandırmaktadır. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine girebilirler (64).

Tablo 2.1: Bazı Reaktif Oksijen Türleri(65)

| <b>Radikaller</b>                     | <b>Radikal olmayanlar</b> |
|---------------------------------------|---------------------------|
| Süperoksit radikal                    | Hidrojen peroksit         |
| Hidroksil radikal                     | Hipokloröz asit           |
| Alkoksil radikal                      | Hipobromöz asit           |
| Peroksil radikal                      | Ozon                      |
| Semikinon radikal                     | Singlet oksijen           |
| Hemoproteine bağlı serbest radikaller | Nitroksil anyonu          |
| Organik radikaller                    | Nitröz asit               |
| Organik peroksit radikali             | Dinitrojen tetraoksit     |
| Nitrikoksit                           | Dinitrojen trioksit       |
|                                       | Peroksinitrit             |



Reaktif oksijen türleri birçok anabolik ve katabolik işlemler sırasında gerçekleşen reaksiyonlar sonucu oluşabilir. Dokuların normal biyolojik mekanizmaları sonucu ve dış etkenlere bağlı birikebilirler (66) (bkz Tablo 2.2).

Tablo 2.2: Reaktif Oksijen türlerinin kaynakları (66)

| <b><i>Normal biyolojik kaynaklı</i></b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <b><i>Dış kaynaklı</i></b>                                                                                                                                                                               | <b><i>Yaşlanma süreci</i></b>                                                 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| Mitokondriyal elektron transport zinciri<br>Mikrozomal elektron transport zinciri<br>Kloroplast elektron transport zinciri<br><u>Oksidan enzimler:</u><br>-ksantin oksidaz<br>-indolamin dioksijenaz<br>-triptofan dioksijenaz<br>-galaktoz oksidaz<br>-lipooksijenaz<br>-monomin oksidaz<br><u>Fagositik hücreler:</u><br>-nötrofiller<br>-monosit ve makrofajlar<br>-eozinofiller<br>-endotelyal hücreler<br>Otooksidasyon<br>(demir,epinefrin)reaksiyonları | Redoks döngüsü maddeler (parakuat,dikuat,alloksan,doksorubisin)<br>İlaç oksidasyonu (parasetamol,CCl4)<br>Sigara içimi<br>İyonize radyasyon<br>Güneş ışığı<br>İskemi<br>Hemoraji<br>Travma<br>Sıcak şoku | Protein karboksilasyon u-nun artışı ve katalize edici tüm enzimlerin azalması |

ROT arasında en güçlü olanları, süperoksit, hidroksil ve nitrik oksit radikalleridir (67). Bu radikaller, öyle reaktif ve kararsızdır ki, sadece mikro ya da nano saniyeler içinde daha zarar verici bileşiklere dönüşebilirler. Radikal olmayan oksidanların başlıcaları ise hidrojen peroksit, hipoklorik asit ve singlet oksijendir (68).

Araştırmalar düşük düzeyde oluşan süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil ve moleküler oksijenin hücre proliferasyonu, apoptozis, immün yanıt ve hücre farklılaşması dahil birçok hücresel süreçte rol oynadığını göstermektedir (69). Bununla birlikte ROT'ların aşırı düzeylerde oluşması ve onlara bağlı reaksiyonlar anahtar biyolojik moleküllerin tümünü, özellikle DNA'yı, protein, lipid ve karbonhidrat yapılarını, olumsuz yönde etkileyebilir (70).

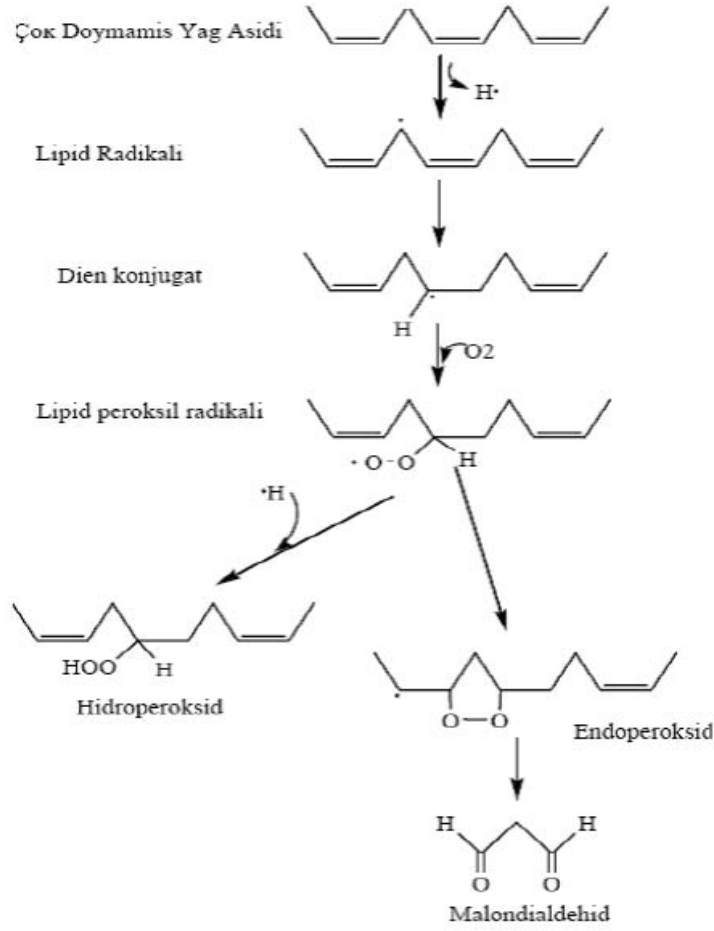
## Oksidatif Stres

Organizmada ROT'ların oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı, uygun bir denge içerisinde sürdürülmektedir ve bu durum *oksidatif denge* olarak adlandırılmaktadır. Oksidatif denge sağlandığı sürece, organizma ROT'lardan zarar görmemektedir. ROT oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme ise bu dengenin bozulmasına neden olmakta ve bu durum '*oksidatif stres*' olarak adlandırılmaktadır. Sonuç olarak reaktif oksijen türleri oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizlik başlamakta ve bu durum doku hasarına yol açmaktadır (71).

ROT oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki dengesizliğin serbest radikaller lehine bozulması, anahtar biyolojik moleküllerin tümünü, özellikle deoksi ribonükleik asit (DNA), protein ve lipid yapıları, olumsuz yönde etkileyebilir. Bu anlamda mitokondrial DNA, en kontrolsüz ROT üretiminin olduğu bölgeye yakınlığı ve en düşük onarım düzeyi nedeniyle önemlidir (67,72,73).

Oksidatif stres nükleik asitlerde mutasyona neden olup kansere de zemin hazırlayabilir (74). Protein yapısındaki moleküllerin oksidasyonu ise onların sekonder ve tersiyer yapısının değişmesine bağlı olarak işlevlerini kaybetmelerine neden olmaktadır (75). Yapılan araştırmalar, triptofan, tirozin, histidin ve sistein aminoasitlerinin, artan ROT üretimine diğer aminoasitlere kıyasla daha duyarlı olduklarını göstermiştir (76).

Membran lipidlerine etkileri (Lipid peroksidasyonu): Hücre membranları çoklu doymamış yağ asitleri (ÇDYA) açısından zengindir (77). Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve zincirleme olarak kendiliğinden süren bir reaksiyon çeşididir (78) (bkz şekil 2.2).



Sekil 2.2: Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu (78)

Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikal ile oksidasyonu sonucu lipid hidroperoksitler gibi birincil metabolitler, daha ileri oksidasyon reaksiyonları sonucu ise siklik peroksitler gibi ikincil lipid peroksidasyon metabolitleri oluşur (79). ÇDYA'nın serbest radikal aracılı oksidasyonu, bu yağ asitlerinin yapısındaki hidrojen atomunun zincir başlatıcı radikale (R.) veya hidroksil radikali (OH.) gibi kararsız yapılara transferi sonucu pentaenil karbon merkezli lipid radikalının oluşması ile başlar. Karbon merkezli lipid radikali moleküler oksijenle tepkimeye girerek lipid peroksil radikalini oluşturur. Peroksil radikalleri zincir reaksiyonunun devamını üstlenirler. Lipid hidroperoksitler bölünüp 4-hidroksinonenal, malondialdehit, 4 hidroksiheksenal gibi toksik aldehytlere dönüşebilir. Bu aldehytler diğer biyolojik moleküllerle (proteinler, aminoasitler, bazı nükleik asitler) reaksiyona girerek hücrede sitotoksik, genotoksik ve proliferatif etki gösterirler (80).

### Antioksidan sistemler

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipit, karbohidrat ve DNA gibi maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktiren maddelere *antioksidanlar*; ROT'ların oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta geliştirilen savunma mekanizmalarına ise '*antioksidan savunma sistemleri*' denir (81).

Antioksidanlar, SOR oluşumunu önleyenler (transferin, albumin, seruloplazmin, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz) ve zincir kıran ajanlar (alfa tokoferol, ubikuinon,  $\beta$  karoten, urat, sistein, askorbat) olarak ikiye ayrılır. Antioksidan savunma sistemi elemanları tabloda gösterilmektedir (82)(bkz tablo 2.3).

Tablo 2.3: Antioksidan savunma sistemi elemanları (82)

| <b>Antioksidan enzimler</b>  | <b>Süpürücü antioksidanlar</b> | <b>Engelleyici antioksidanlar</b> | <b>Sentetik antioksidanlar</b> |
|------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| Süperoksit dismutaz (SOD)    | Askorbik asit                  | Transferrin                       | N-asetilsistein                |
| Katalaz (KAT)                | $\alpha$ -tokoferol            | Albumin                           | Allopurinol                    |
| Glutatyon peroksidaz (GPx)   | Tiyoller                       | Seruloplazmin                     | Probukol                       |
| Glutatyon redüktaz           | Beta karoten                   | Ferritin                          | Penisilamin                    |
| Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz | Ürik asit                      |                                   | Pyrrolidine dithiocarbamate    |
| NADH peroksidaz ve oksidaz   | Flavanoidler                   |                                   | Desferroksamin                 |
| Sitokrom C oksidaz           | KoenzimQ                       |                                   |                                |

Antioksidan sistemin ilk aşaması hücre içinde kontrolsüz ROT üretiminin azaltılmasıdır. Dokulardaki önemli hücre içi antioksidan enzimler, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleridir. Bu enzimlerin çalışmalarını sürdürebilmeleri için bazı eser elementlere ihtiyacı vardır. Bunlardan bazıları SOD için bakır, çinko ve manganez; GPx için selenyumdur (82). Serbest radikale karşı vücutta ilk savunma SOD enzimi ile başlar. SOD, süperoksitin hidrojen peroksit'e dönüşümünü katalizler. Hidrojen peroksit ise GPx ve KAT enzimleri tarafından suya dönüştürülür. Normal koşullarda hücrede oluşan hidrojen peroksitin detoksifikasyonunda esas olarak bir selenoenzim olan GPx fonksiyona

sahiptir. KAT'ın ise hidrojen peroksit oluşumunun arttığı durumlarda devreye girdiği kabul edilmektedir (83). ROT'u nötralize eden zincir-kıran antioksidan bileşikler endojen olarak üretilen ve beslenme ile elde edilen antioksidanlardır. Endojen antioksidanlar, hücre içi tiyoredoksin sistemlerini, ubikuinonları ve glutatyonu içermektedir (84). Endojen olarak üretilen diğer antioksidanlar, suda çözünen C vitamini ve ürik asittir. Ürik asit üretimi, başka radikallerin oluşumuna da neden olabilmektedir (85). E vitamini (tokoferol ve tokotrienoller) ve karotenoidler gibi bitkisel kaynaklı bileşikler de içeren birçok antioksidan, beslenme yoluyla elde edilmektedir (86).

Tüm bu antioksidan savunma mekanizmalarına rağmen, oksidatif stres dokuda yine de hasar oluşturabilmektedir. Oksidan hasarına karşı savunmanın son aşaması, hasarlı moleküllerin onarılması ya da ortadan kaldırılmasıdır. DNA onarımı, hücre fonksiyonu için çok önemlidir ve çeşitli hasar tanı ve onarım yolları bulunmaktadır (87).

## **2.6. Nükleer Faktör Kappa B (NFκB) ve Pyrrolidine Dithiocarbamate (PDTC)**

Nükleer Faktör Kappa B (NFκB), ilk olarak olgun B hücresi çekirdeğinde, immünglobulin kappa hafif zincir geninde κB alanı olarak bilinen spesifik DNA sekansına bağlanan bir protein olarak bildirilmiştir (88). Başlangıçta sadece B hücrelerinin olgunlaşması ve gelişimi için önemli olduğu düşünüldüğünden NFκB olarak adlandırılmıştır. Yapılan çalışmalar, NFκB'nin sadece B hücresine özgül bir protein olmayıp gerçekte bir pleiotropik ve latent sitoplazmik transkripsiyon faktör prototipi olduğunu göstermiştir (89).

NFκB proteinleri, retroviral onkoprotein v-Rel ile yapısal benzerlik gösterir. Bu yüzden Rel ailesi proteinleri olarak da bilinmektedir ve Rel homolog domaine (RHD) sahiptirler. RHD, NFκB proteinlerinin N-terminal uçlarına yerleşmiş yaklaşık 300 aminoasit içeren bir yapıya sahiptir. RHD, inhibitör kappa B (IκB) ile etkileşim, DNA'ya bağlanma ve dimerizasyondan sorumlu olduğundan 'DNA bağlanma dimerizasyon domaini' olarak da isimlendirilir (90).

NFκB protein kompleksleri, immün yanıt ve enflamatuar süreç gibi, hücre yaşamının devamı, hücre proliferasyonu, angiogenez ve apoptozisle ilişkili 400'ün üzerinde gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Normal hücrelerde NFκB'nin aktivasyonu sıkı kontrol altındadır. Bazı patojenler, oksidan maddeler,

enflamasyon mediyatörleri ve büyüme faktörleri NFκB aktivasyonuna neden olmaktadır. NFκB aktivasyonu ile oksidatif stres arasındaki ilişkiden dolayı NFκB, redoks duyarlı transkripsiyon faktörü olarak da bilinmektedir (91).

NFκB aktivasyonunda 2 yoldan bahsedilmiştir:

**a.Kononikal (klasik) yolak:** Ligandın bağlanması, katalitik kinaz alt birimleri IKK $\alpha$  ve IKK $\beta$ 'yi içeren IκB kompleksini aktive etmekte ve nonenzimatik olarak düzenlenen yapısal protein olarak adlandırılan NEMO da (NF-κB esansiyel modülatörü ya da IKK $\alpha$ ) IκB'nin fosforilasyonuna neden olmaktadır. Fosforile edilmiş olan IκB alt ünitelerinin proteozomal degradasyonu da aktif NF-κB'nin nukleusa translokasyonunu sağlayarak hedef genlerin transkripsiyonunda değişikliklere sebep olmaktadır.

Kononikal yolak, IκK kompleksine duyarlı p50, p65, c-Rel ve RelB alt ünitelerinden oluşmuş NF-κB dimerlerini aktive etme yeteneğine sahiptir.

**b.Nonkononikal (alternatif) yolak:** Reseptör aktivasyonu, NF-κB indükleyici kinazın (NIK) aktivasyonunu sağlamakta ve daha sonra IKK kompleksini aktive etmektedir. IκK kompleksinin aktivasyonu, inaktif NF-κB p100/RelB dimerinin fosforilasyonuna neden olmaktadır. Daha sonra p52/RelB dimer şeklini almakta, aktif NF-κB dimeri nukleusta gen transkripsiyonu değişiklikleri yapabilmektedir. Bu aktivasyon yolağının B ve T lenfositlerinden kaynaklanan nadir uyarıcılar tarafından tetiklendiği anlaşılmıştır (92).

#### **NFκB - oksidatif stres ilişkisi:**

Bazı hücre kültürlerinde ortama doğrudan hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ilave edilmesi ile NFκB'nin aktive olduğu gözlenmiştir (93). Ayrıca NF-κB'yi de aktive eden maddelere yanıt olarak SOR'un arttığı, PDTC gibi antioksidan içeriğe sahip bileşiklerin, NF-κB aktivasyon yolağını inhibe edebildikleri gösterilmiştir (94).

Oksidatif stres sonrası NF-κB aktivasyonunu değerlendirmeye yönelik daha önce yapılan araştırmaların bir kısmında NF-κB aktivasyonunu inhibe etmek için bazı antioksidanlar kullanılmıştır. En çok kullanılan iki bileşik N-asetilsistein (NAC) ve pirolidin ditiyokarbamattır (PDTC). E vitamini türevleri ve α-lipoik asit gibi diğer antioksidanlar da kullanılmış ve bazı hücrelerde NF-κB aktivasyonunu inhibe ettikleri gösterilmiştir (95,96).

NAC ile yapılan bir çalışmada, NAC etkinliğine bağlı olarak hücre içi tiyol düzeylerindeki azalmanın önlenmesinin, NF-κB aktivasyonunu azalttığı gösterilmiştir (97). Diğer bir çalışmada ise NAC'ın serbest oksijen radikallerini baskılaması sonucu NF-κB aktivasyonunu önlediği gösterilmiştir (93).

#### **Pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC)**

Hücrelere kolaylıkla penetrasyon özelliğinden dolayı hücre kültürü çalışmalarında yaygın kullanılan PDTC, aynı zamanda NFκB için spesifik bir inhibitör olarak kabul edilmektedir (98). PDTC'nin, insan lenfositik hücrelerinde ve fare fibroblastlarında interlökin-1 (IL-1), tümör nekrotizan faktör (TNF), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, LPS tarafından indüklenen NFκB aktivasyonunu inhibe ettiği deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (94).

Ditiyokarbamatlar, ROT'lar ve nitrojen ile reaksiyonları sonucu oluşan tiüram disüflitlere bağlanmakta, bunlar da GSH ve protein tiyollerin oksidasyonuna neden olmaktadır (99-102).

PDTC'nin, NFκB'nin inhibisyonundaki bir diğer mekanizma, NFκB yolağında bir proteozom inhibitörü olarak davrandığının gösterilmiş olmasıdır (103).

### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırma, Abant İzzet Baysal Üniversitesi İzzet Baysal Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulunun 2013/33 sayılı oturumunda alınan karar doğrultusunda Abant İzzet Baysal Üniversitesi İzzet Baysal Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı tarafından planlandı ve uygulandı. Çalışmanın deney aşaması Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Giderler için Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında destek sağlandı (Proje no: 2014.08.20.696).

Histopatolojik inceleme Abant İzzet Baysal Üniversitesi İzzet Baysal Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında, rat serumları Abant İzzet Baysal Üniversitesi İzzet Baysal Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında değerlendirildi.

Yapılan çalışmada toplam 21 adet Wistar Albino türü 3 aylık (200-250gr) erkek sıçan kullanıldı. Tüm denekler 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda normal oda sıcaklığında (22°C) da tutuldu. Tüm denekler standart palet sıçan yemi (210 kcal/100gr/gün) ile beslenerek, musluk suyu içirildi.

#### **Gruplar:**

**Grup 1 (Sham-kontrol) (n=7) :** Sol skrotal insizyon yoluyla sol testis serbestlenerek herhangi bir işlem yapılmadan orşiektomi uygulanan grup.

**Grup 2 (İskemi–reperfüzyon) (n=7) :** Sıçanların sol skrotal insizyonu yoluyla sol testisi serbestlenerek 720 derece saatin tersi yönünde torsiyone edildi ve bu durumda medial ve lateral skrotum duvarına 5/0 ipekle tespit edilip skrotum kapatıldı. Dört saatlik torsiyon sonrası skrotum açılıp testis tekrar detorsiyone edildi ve 1 saat reperfüzyon uygulandı. Bu işlemin sonunda skrotal insizyon yoluyla testis histolojik çalışma için çıkarıldı.

**Grup 3 (İskemi –reperfüzyon ve PDTC) (n=7) :** Grup 2 sıçanlarda uygulanan prosedüre ek olarak PDTC 100 mg/kg dozunda reperfüzyondan 15 dakika önce intraperitoneal olarak verildi.

Tüm gruplardan biyokimyasal çalışma için 5'er cc kan alındıktan sonra ratlara yüksek doz anestezik ile dekapitasyon uygulandı.



### **Biyokimyasal İnceleme:**

Serum SOD ve MDA değerleri kolorimetrik yöntem ile Cayman (Cayman Chemical Company, MI; USA) marka reaktif kullanılarak ölçüldü.

SPSS 17.0 istatistik programı ile analiz yapıldı. MDA ve SOD değerleri açısından Kruskal-Wallis varyans analizi ile karşılaştırma yapıldı. Grupların ikili karşılaştırmaları Mann-Whitney-U testi ile yapıldı.

### **Histopatolojik İnceleme:**

Dokular %10'luk formaldehitte 24 saat süre ile tespit edildi. Tespit sonrası dokular yıkama, dereceli alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek parafin bloklar hazırlandı. 4-5 µm kalınlığındaki parafin kesitlere, genel doku değerlendirme için Hematoksilen-Eozin Boyası, bağ dokusu bileşenlerini göstermek için Masson'un Trikrom Boyası uygulandı.

Hazırlanan rnekler değerlendirilirken Johnson tarafından ortaya konulan ve incelenen her bir seminifer tübül için 1'den 10'a kadar skorlamanın yapıldığı yöntem kullanıldı (bkz Tablo 3.1).

Hematoksilen-Eozin ile boyanan kesitlerde seminifer tübül çapları 10 adet seminifer tübül belirlenip her tübülde farklı 4 noktadan Nikon Eclipse 80 i mikroskop ve NIS-Elements D 3.2 programı ile ölçüldü. Gruplar arasında seminifer tübül değişiklikleri, Johnson skorlaması ile değerlendirildi. Tnel metodu ile apoptotik hücre sayıları Gen Script L00290 kiti ile değerlendirildi.

Tablo 3.1 : Johnson Tübüler Biyopsi Skoru

|        |                                                             |
|--------|-------------------------------------------------------------|
| Skor10 | Pek çok spermatozoa ile birlikte tam spermatogenez.         |
| Skor9  | Pek çok spermatozoa ile birlikte disorganize spermatogenez. |
| Skor8  | Sadece birkaç spermatozoa (<5-10/tübül).                    |
| Skor7  | Spermatozoa yok, pek çok spermatid mevcut.                  |
| Skor6  | Sadece birkaç spermatid (<5-10/tübül).                      |
| Skor5  | Spermatid yok, pek çok spermatosit mevcut.                  |
| Skor4  | Sadece birkaç spermatosit (<5 tübül)                        |
| Skor3  | Sadece spermatogonia mevcut.                                |
| Skor2  | Sadece sertoli hücresi mevcut                               |
| Skor1  | Tübüler kesitte hiç hücre yok                               |

## 4.BULGULAR

### Biyokimyasal İnceleme:

MDA ve SOD değerleri açısından yapılan karşılaştırmada anlamlı fark bulundu (MDA:  $p=0.007$ , SOD:  $p=0.020$ )

MDA sonuçları için kontrol ve İR grupları arasında anlamlı fark tespit edildi( $p=0.006$ ).

İR ve İR+PDTC grupları arasında da MDA değerleri açısından anlamlı fark bulundu ( $p=0.025$ ).

\*PDTC verilen grubun MDA sonuçları kontrol grubuna benzemekteydi ( $p=0.142$ ).

SOD değerleri için kontrol ve İR grubu arasında anlamlı fark tespit edildi ( $p=0.014$ ).

İR ve İR+PDTC grupları arasında ise anlamlı fark tespit edildi ( $p=0.020$ ).

\*\*Kontrol ve İR+PDTC gruplarının SOD değerleri birbirine benzemekteydi. ( $p=0.564$ ).

Tablo 4.1: Gruplar arası MDA ve SOD sonuçları açısından karşılaştırma

| Gruplar           | MDA         | SOD            |
|-------------------|-------------|----------------|
| Kontrol - İR      | $p=0.006$   | $p=0.014$      |
| Kontrol - İR+PDTC | $p=0.142^*$ | $p=0.564^{**}$ |
| İR - İR+PDTC      | $p=0.025$   | $p=0.020$      |

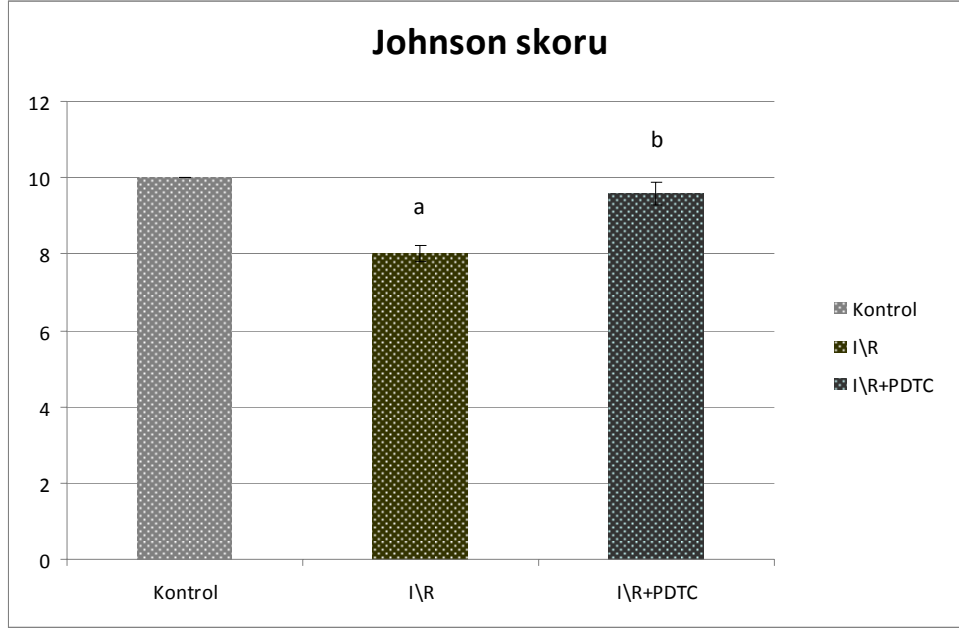
### Histopatolojik inceleme:

4 saat torsiyon sürecinde ratlarda makroskopik olarak ödem ve doku iskemisi sonucu renk değişikliği gözlemlendi.

Kontrol grubunda seminifer tübül yapıları normal görünümdeydi. İR grubunda seminifer tübül lümeninde spermatozoon sayılarının çok azalmış olduğu, immatür spermatogenetik hücrelerin lümende birikerek debris oluşturduğu, tübül epitelinin bozulmuş olduğu, interstisyel alanda ödem, konjesyon ve kanama alanlarının olduğu görüldü. Tübüllerin bir kısmında atrofi olduğu görüldü. İR+PDTC grubunda seminifer tübül yapılarının kontrol grubuna benzediği, yalnızca birkaç alanda spermatozoon sayılarının lümende azaldığı gözlemlendi.

Seminifer tübül çaplarının I R grubunda azaldığı göze çarptı. I R +PDTC grubunda kontrol grubuna benzer bulgular görüldü.

Apoptotik hücreler kontrol grubunda 1-2 tane gözlenirken, I R grubunda sayılarının artmış olduğu, I R+ PDTC grubunda ise kontrol grubuyla hemen hemen aynı sayıda olduğu gözlendi.

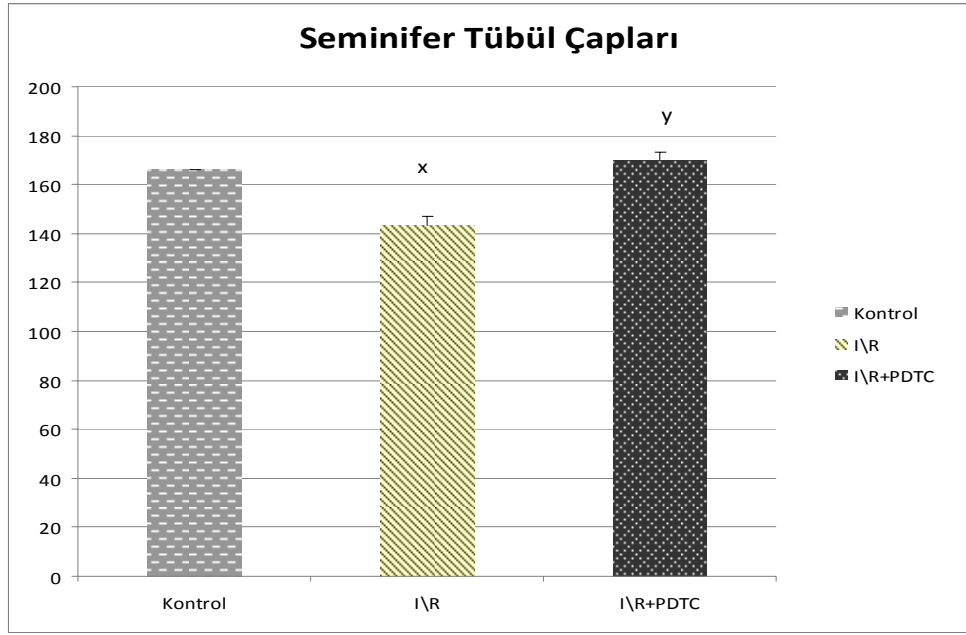


(Grafik 4.1 : Deney grupları arası Johnson skoru dağılımı)

a: I R grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır. (P=0,001)

b: I R+PDTC grubu ile I R grubu arasında anlamlı fark vardır (P=0,005)

Kontrol grubu ile I R+PDTC grubu arasında anlamlı farklılık yoktur(P=0,142)

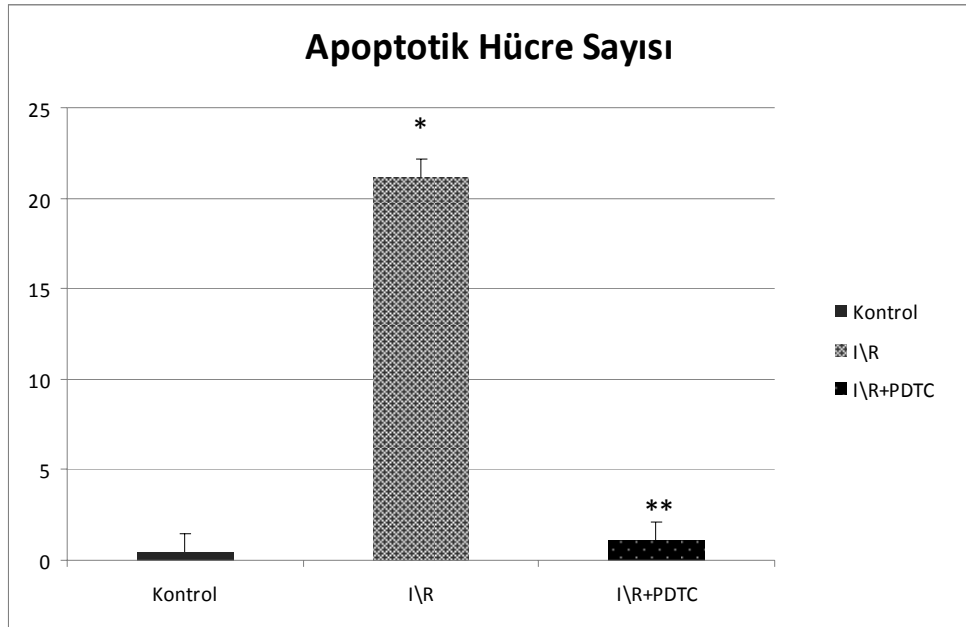


(Grafik 4.2 : Deney grupları arası seminifer tübül çapları dağılımı)

x: I/R grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır. (P=0,002)

y: I/R +PDTC grubu ile I/R grubu arasında anlamlı fark vardır (P=0,000)

Kontrol grubu ile I/R+PDTC grubu arasında anlamlı farklılık yoktur(P=0,786)

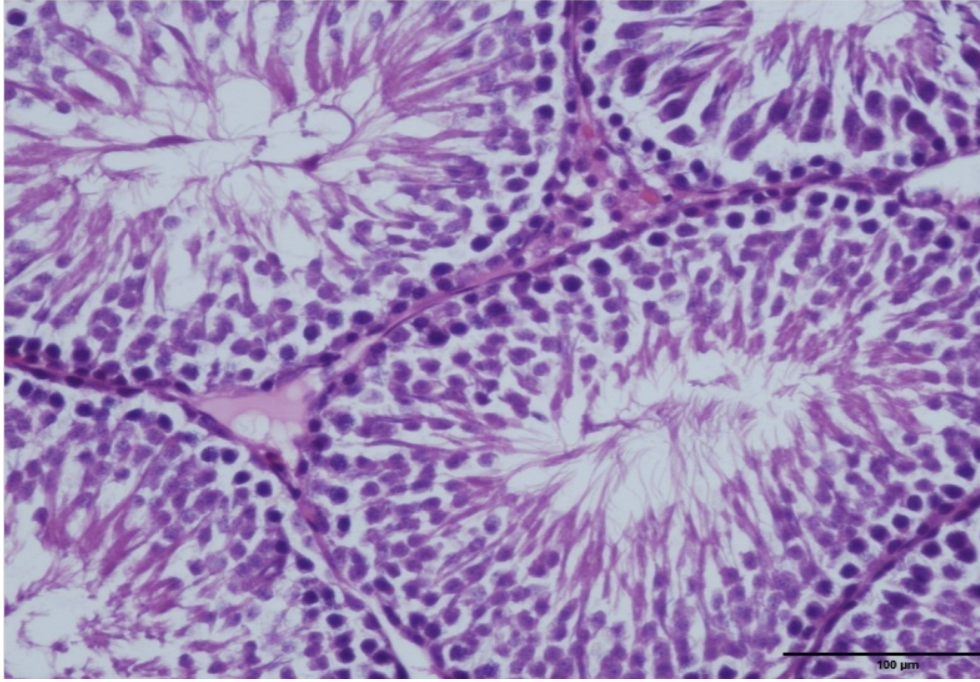


(Grafik 4.3 : Deney grupları arası apoptotik hücre sayısı dağılımı)

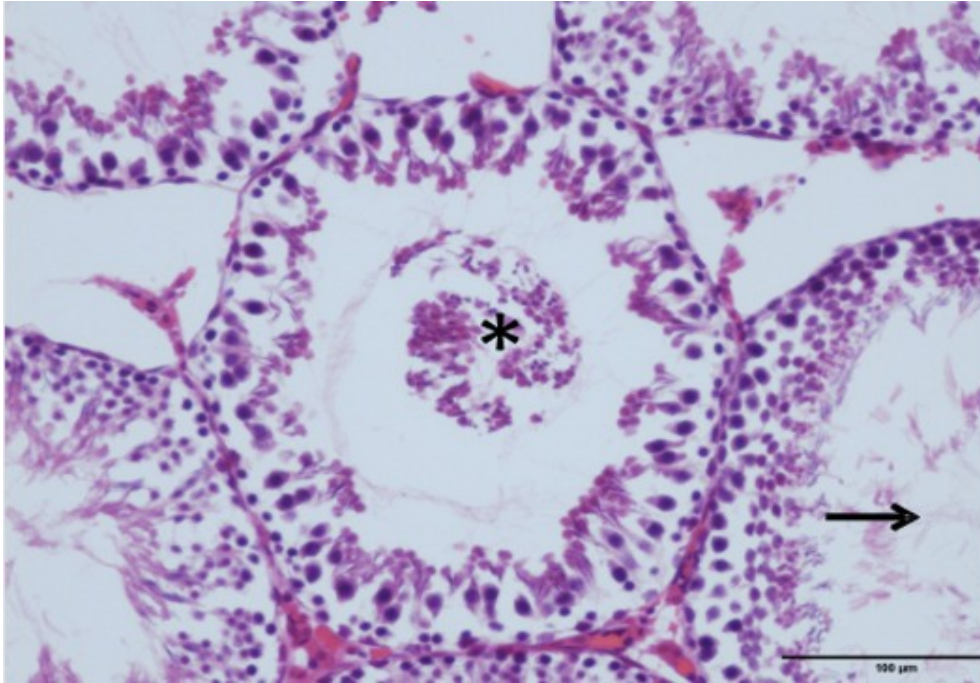
\*: I/R grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır. (P=0,001)

\*\* : I/R +PDTC grubu ile I/R grubu arasında anlamlı fark vardır (P=0,002)

Kontrol grubu ile I/R+PDTC grubu arasında anlamlı farklılık yoktur(P=0,226)

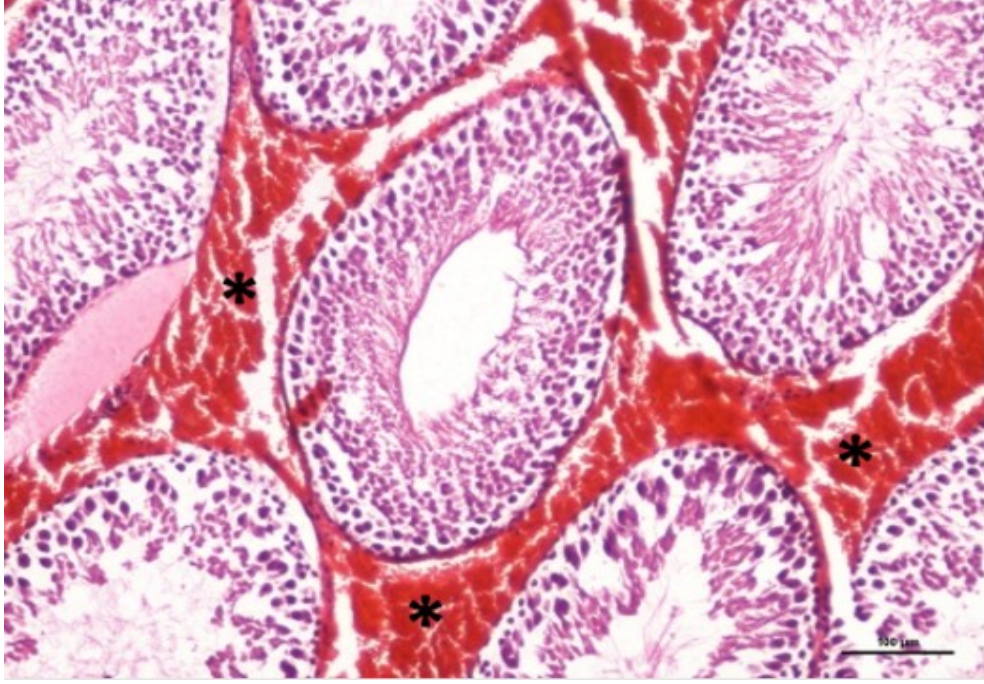


Şekil 4.1: Kontrol grubuna ait normal histolojik yapı. Seminifer tübüllerin ve interstisyel alanların normal görünümde olduğu, spermatozoonların tübül lümeninde bulunduğu görülmektedir. Hematoksilen&Eozin boyaması, x200

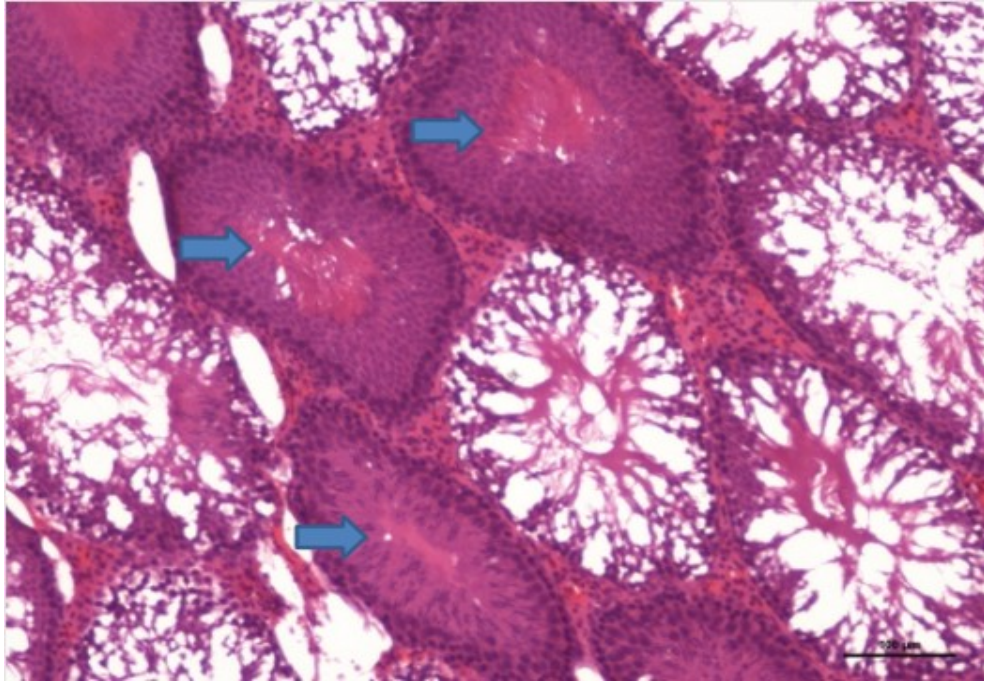


Şekil 4.2: İskemi\reperfüzyon grubuna ait histopatolojik görüntü. Germinal epitelde düzensizlik, lümende spermatozoonlarda azalma (→), immatür spermatogenetik hücrelerden oluşan debris (\*) görülmektedir. Hematoksilen&Eozin boyaması, x200

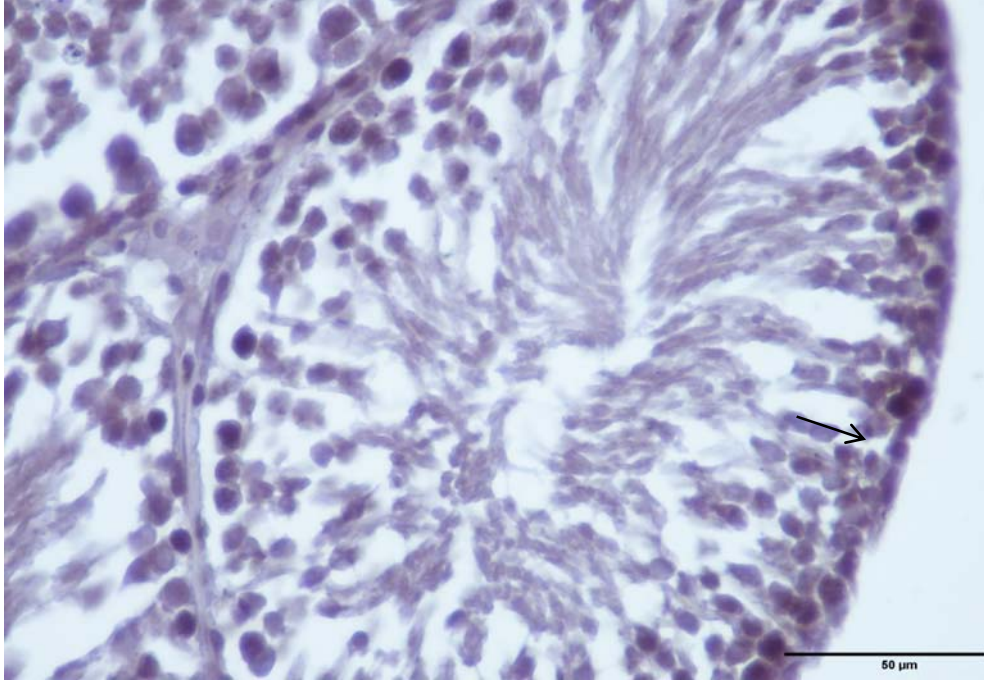




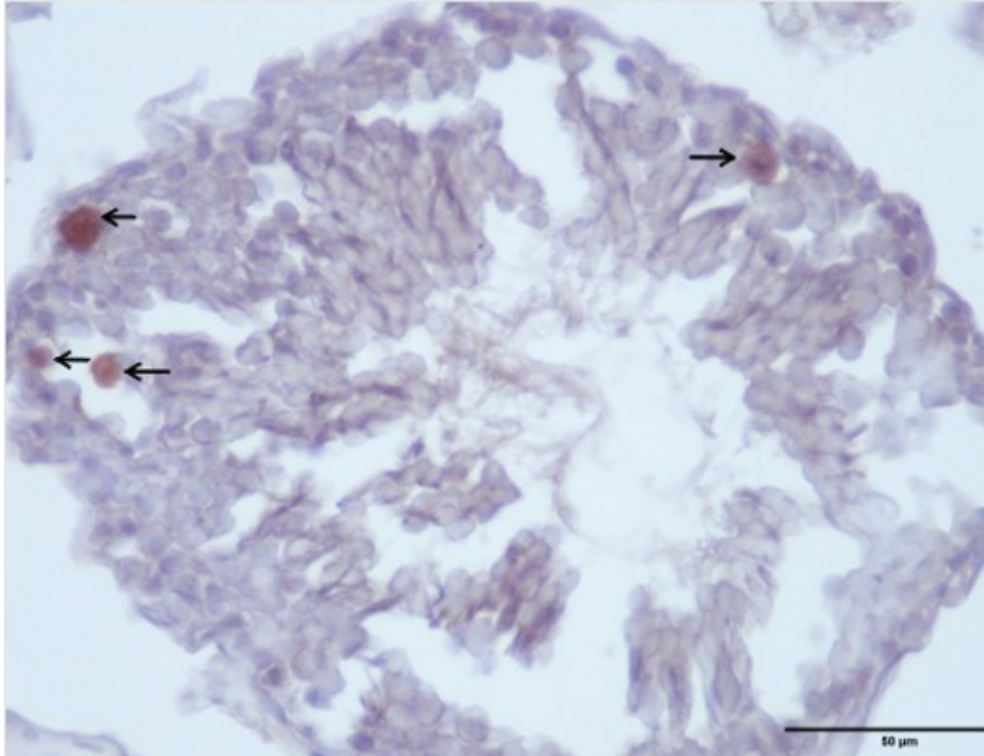
Şekil 4.3: İskemi\reperfüzyon grubuna ait görüntü. İnterstisyel alanda kanama göze çarpmaktadır (\*). Hematoksilen&Eozin boyaması, x200



Şekil 4.4: İskemi\reperfüzyon grubunda bazı alanlarda tubuler nekroz (→) olduğu görülmektedir. Hematoksilen&Eozin boyaması, x200

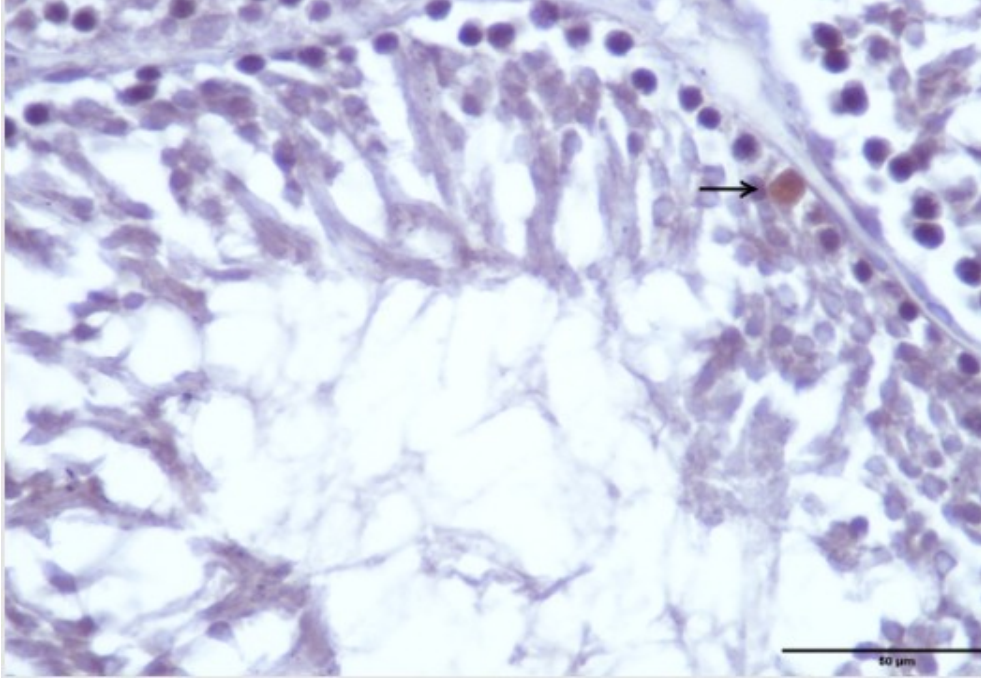


Şekil 4.5: Kontrol grubuna ait görüntü. Seminifer tübüllerde apoptotik hücreye (→) çok nadir rastlanmaktadır. TUNEL boyama. X400



Şekil 4.6: İskemi/reperfüzyon grubuna ait görüntü. TUNEL pozitif spermatogenetik hücrelerin (→) sayılarının arttığı görülmektedir. TUNEL boyaması x400





Şekil 4.7: İskemi\reperfüzyon +PDTC grubunda apoptotik hücelere (→) kontrol grubundaki gibi seyrek rastlanmaktadır.



## 5.TARTIŞMA

Testis torsiyonu çocuklarda ve adolesan dönemde sık görülen, mümkün olduğunca erken müdahale gerektiren ürolojik acillerden biridir. Testiste oluşan iskemik testiküler hasar, testisin dönme derecesi ve toplam torsiyon süresiyle ilişkilidir. 360 dereceden fazla ve 24 saatten uzun süren torsiyonlarda testise müdahale edilmezse testis atrofisi sonucu aynı taraf testis kaybı gerçekleşir. Şiddetli atrofi aynı zamanda 4 saatten uzun ve kord üzerinde 360 dereceden fazla dönmelerde de görülebilir (104). Spermatik kordon torsiyonu, doku hipoksisi ve sonuç olarak germinal hücrelerin nekrozisi ile sonuçlanabilir. Bu sonuçların torsiyonun kaçınıcı saatinde gelişmeye başladığı henüz net olarak bilinmese de yapılan deneysel çalışmalar bu değişikliklerin torsiyon sonrası ilk 4-6 saatte yapılan düzeltme sonrası geri döndürülebileceğini göstermektedir. Deneysel çalışmaların birçoğu 720 derece torsiyonda kan akımının geri dönüşümsüz olarak kesildiği ve tam bir iskemi oluştuğunu göstermiştir (47,105). Biz de bu yüzden çalışmamızda testis torsiyonu ile iskemi reperfüzyon modeli oluşturabilmek için sol testiste 720 derecelik ve 4 saatlik deneysel torsiyon oluşturduk.

Testis torsiyonu esnasında oluşan iskemik hasarın etyolojisinde ortamda bulunan reaktif oksijen metabolitlerine bağlı oksidatif stres ve inflamasyon süreci rol oynar. Testis torsiyonunda kan akımının azalması ile oluşan iskemi sonucunda ATP azalır ve böylelikle hücre, enerji ihtiyacını karşılayabilmek için, en az enerji yüklü olan AMP'yi kullanmaya çalışır. AMP yıkım ürünleri ise, adenosin, hipoksantin ve inozindir. Hipoksantin ortamdaki oksijen azlığı nedeniyle ksantin ve ürik aside dönüşmez. Testis detorsiyone edildikten sonra kanlanma ve oksijenasyon tekrar başlar ve bu da reaktif oksijen ve reaktif nitrojen ürünlerinin oluşmasıyla reperfüzyon hasarı adı verilen süreci başlatır (106). Hücrede biriken hipoksantin, ksantin oksidaz enzimi ile ürik aside dönüşür ve ortamda önemli miktarda SOR oluşur. 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 radikalleri ve peroksinitrit gibi reaktif nitrojen radikalleri artarak testiste başlıca lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve oksidatif DNA hasarı gibi toksik etkilere zemin hazırlar. Spermatogenez ve sertoli hücrelerinin gelişimi bu

durumdan olumsuz etkilenir. Oluşan bu oksidatif hasarın bazı önemli belirleyicileri; histopatolojik doku incelemesi ve lipid peroksidasyonun son ürünlerinden en önemlisi olan malondialdehit (MDA), bazı antioksidan enzim aktiviteleri ve düşük moleküler ağırlıklı enzimatik olmayan antioksidanların seviyeleridir. Lipid peroksidasyonunun bir ürünü olan MDA'nın iskemi-reperfüzyon hasarı gelişen dokularda artmış olduğu birçok çalışmada belirtilmiştir (107,108).

Yaptığımız çalışmada ratlarda deneysel iskemi-reperfüzyon modeli oluşturarak, ipsilateral testiste oluşan iskemi/reperfüzyon hasarının derecesini histopatolojik olarak ve kandaki lipid peroksidasyonu son ürünü olan MDA ve bir antioksidan enzim olan SOD (Süperoksit dismutaz, oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin ( $O_2^-$ ) hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır.) gibi belirteçlerin düzeyini ölçmek suretiyle biyokimyasal olarak belirledik.

İnsan ve hayvanlarda bazı ilaç, enzim ve bitki ekstraktlarının testiküler hasarlanma üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir. Dokuların torsiyondan etkilenmesi torsiyonun süresi ve derecesi ile ilişkili olmasına rağmen, asıl önlenebilir doku hasarı detorsiyon sonrası reperfüzyon döneminde meydana geldiği için torsiyonun cerrahi tedavisine ilave olarak alternatif tedaviler bu dönemdeki hasarlanmaya karşı etkili olabilecek medikal tedavi modelleri üzerine yoğunlaşmıştır. Bu amaçla yapılan çalışmalarda vitamin E, allopurinol, melatonin, N-asetilsistein, morphine, ATP-MgCl<sub>2</sub>, sildenafil gibi ajanlar kullanılmıştır. Bunların bazılarının etkisinin yetersizliği, bazılarının kullanım güvenilirliği ve dozajı hakkında yeterli bilgi olmaması ve yan etkilerinin belirsizliği yüzünden rutin klinik kullanıma girememiştir (5-9,107,113).

Çalışmamızda bir antioksidan ve NF-kB inhibitörü olan Pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) molekülünün iskemi reperfüzyon hasarını önlemedeki rolünü araştırdık. Daha önce birçok dokuda PDTC'nin koruyucu etkisi araştırılmıştır.

Ratlarda Cisplatin'e bağlı testis hasarına karşı koruyucu etkisi (109) ve ESWL'ye bağlı böbrek hasarındaki koruyucu etkisi gösterilmiştir (110). Bir çalışmada da ARDS ve Akut Akciğer hasarında PDTC'nin koruyucu mekanizmaya sahip olabileceği belirtilmiştir (111). Geçici fokal beyin iskemisine bağlı nörolojik defisitleri azaltmadaki rolü de gösterilmiştir (112). Literatür incelendiğinde testis

torsiyonu tedavisinde çok sayıda çalışma mevcut olmasına karşın testis torsiyonu tedavisinde PDTC'nin kullanıldığı bir çalışmaya rastlamadık.

Yapılan bazı kanser çalışmalarında PDTC'nin etkinliği araştırılmıştır. Yetişkin T hücreli lösemide bir antioksidan olan PDTC'nin apoptozisi inhibe ettiği belirtilmiştir (114). Prostat kanserinde hücrel proteazom aktivitesini azalttığı, bunun da hücrel proliferasyon ve apoptozis mekanizmasına etki ettiği gösterilmiştir (115).

Mide kanseri üzerinde yapılan bir çalışmada TNF- $\alpha$  ile aktive edilen NF-kB sinyal yolağının PDTC ile bloke edilerek apoptozisi hızlandırabileceği vurgulanmıştır (116).

Wang Z. ve arkadaşlarının 7 günlük ratlarda yaptığı bir deneysel çalışmada beyin iskemisi oluşturulmuş, intranasal PDTC verilmesi ile oksidatif stresi azalttığı ve nörolojik defisitlerden koruyabileceği gösterilmiştir (117).

Yapılan bir deneysel çalışmada tavşanlar üzerinde akut akciğer hasarı oluşturulmuş, sonrasında verilen PDTC ise doğrudan TNF- $\alpha$  ve Cathepsin G aktivasyonunu azaltarak akut akciğer hasarı ve ARDS gibi akciğer patolojileri için alternatif tedavi seçeneği ümidini doğurmuştur (111).

Tuğcu ve arkadaşlarının ratlarda yaptığı bir deneysel çalışmada böbrek taşı tedavisinde kullanılan ESWL'nin neden olduğu böbrek hasarı üzerinde PDTC etkinliği araştırılmış olup 48 rat, gruplara ayrılarak bir gruba sadece ESWL yapılmış, bir gruba ise ESWL yapılarak PDTC verilmiştir. Bir grup ise kontrol grubu olarak alınmıştır. 7. ve 35. günde ratların böbrek dokusundaki proksimal tübül hasarı ve MDA, nitrik oksid (NO), indüklenbilir nitrik oksid sentaz (iNOS), NF-kB aktiviteleri ölçülmüştür. Sonuç olarak PDTC verilen grupta sadece ESWL yapılan gruba göre anlamlı düzeyde MDA ve NO azalması tespit edilmiştir. 7. ve 35. gündeki karşılaştırmada ise devam eden PDTC tedavisi ile başarı oranının daha da arttığı gösterilmiştir (110).

İlbey YO. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ratlar üzerinde Cisplatine bağlı testiküler hasar sonrası PDTC verilmiş, iNOS ve NF-kB üzerinden etkileşimleri incelenmiş, çalışma sonucu testiküler hasarın oluşumunda reaktif oksijen türlerinin etkin olduğu ve PDTC gibi antioksidanlar verildiğinde bu oksidatif hasarın azaltılabileceği kanısına varılmıştır (109).

Testis iskemi-reperfüzyon modellerinde birçok antioksidan madde değişik metodlarla kullanılmış olup çalışma neticeleri torsiyonun asıl tedavisi olan cerrahi detorsiyon sonrası meydana gelen reperfüzyon hasarında ihmal edilmeyecek düzeyde tedavi etkinliğinin mevcut olduğunu göstermiştir.

Daha önce testis torsiyonunda PDTC çalışması yapılmadığı için diğer organlar ve hastalıklar üzerinde PDTC ile yapılan çalışmalarla karşılaştırma yapmanın faydalı olacağını düşündük ve benzer etki mekanizmaları sonucu olumlu neticeler elde ettik.

Histopatolojik incelemede Johnson skoru, seminifer tübül çapları ve apoptotik hücre sayıları bakıldı. Kontrol grubunda normal olan bulgulara kıyasla, iskemi-reperfüzyon yapılan grupta Johnson skorunun azaldığı, seminifer tübül çaplarının azaldığı ve apoptotik hücre sayılarının arttığı gözlenirken, iskemi-reperfüzyon yapıp PDTC verilen grupta bu bulguların normal olan kontrol grubuna benzer nitelikler taşıdığı gözlemlendi. Bu sonuçlara dayanarak PDTC'nin iskemi-reperfüzyon sürecinde dokudaki kötü yönde gelişen histopatolojik değişikliklere olumlu etki yapabileceğini gösterdik.

Yuluğ E. ve arkadaşlarının yaptığı iskemi-reperfüzyon modelinde ratların sol testisleri saat yönünde 720 derece dödürülmüş ve 4 saat torsiyon uygulanmış, detorsiyondan 30 dk. önce bir antioksidan olan Resveratrol (RSV) (üzüm çekirdeğinde bulunur) intraperitoneal verilmiştir. Apoptoz ve histopatolojik hasar düzeyi iskemi-reperfüzyon grubunda anlamlı olarak yüksek bulunurken, RSV verilen grupta anlamlı azalma saptanmıştır (118). Bizim çalışmamızın sonucunda da bu çalışmaya benzer şekilde PDTC verilmeyen iskemi-reperfüzyon grubunda apoptoz ve histopatolojik hasar düzeyinde anlamlı yükselme tespit edilmiştir ( $p=0.001$ ). PDTC verilen grup ile iskemi-reperfüzyon grubu arasındaki karşılaştırmada ise apoptotik hücre sayısı açısından ( $p=0.002$ ) ve Johnson skoru açısından ( $p=0.005$ ) anlamlı farklılık saptanmıştır.

Çay A. ve arkadaşlarının yaptığı bir benzer çalışmada ise antioksidan olarak ratlara NAC verilmiştir. Sonuç olarak NAC'ın reperfüzyon esnasında lipid peroksidasyonunu azalttığı, bunun neticesinde doku MDA düzeyinde azalma, histolojik hasarda gerileme olduğu vurgulanmıştır (5).

Koksal ve arkadaşlarının ratlarda oluşturduğu iskemi-reperfüzyon modelinde ise melatoninin oksidatif strese olan etkisi incelenmiş ve sonuç olarak melatoninin Johnsen skoru ve sperm kalitesi üzerinde olumlu etkileri sayesinde etkin bir antioksidan ajan olduğu belirtilmiştir (119).

Yapılan çalışmalarda reperfüzyon hasarının göstergesi olarak lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA seviyesi tespit edilmiştir. Buna bir örnek olarak ElShaari FA ve arkadaşlarının yaptığı çalışmayı gösterebiliriz. Bu çalışmada 72 adet erkek Sprague rat gruplara ayrılmış, 30 dakika testis torsiyonu yapıldıktan sonra sırasıyla 1 saat, 24 saat, 48 saat ve 1 hafta detorsiyon süresinden sonra MDA seviyeleri ölçülmüştür. Bakılan ortalama MDA seviyeleri süre uzadıkça artma eğilimi göstermiştir (120). Buradan anlaşılabileceği üzere reperfüzyon süresince oluşan oksidatif hasar üzerinde durulması gereken bir süreçtir.

Yaptığımız çalışmada erkek ratlarda deneysel olarak oluşturulan iskemi-reperfüzyon hasarında meydana gelen lipid peroksidasyonu ile oluşan değişikliklerin gerçek anlamda olduğu görülmektedir. Özellikle iskemi-reperfüzyon hasarının bir göstergesi olarak dikkate alınabilen MDA seviyelerinde meydana gelen değişikliklerin gerçekleşmesi çalışmanın başlangıcında hedeflenen testis torsiyonuna bağlı olarak plazma düzeyinde oksidatif hasar ve antioksidan savunma mekanizmalarında bir takım değişmelerin meydana geldiğini göstermektedir. Beheshtian A. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, deneysel iskemi-reperfüzyon modelinde sildenafilin etkinliği araştırılmış. Doku MDA düzeylerinin iskemi-reperfüzyon oluşturulan grupta kontrol grubuna göre arttığı, sildenafil verilen grupta ise MDA düzeyinin iskemi-reperfüzyon grubuna göre azaldığı gözlenmiştir (113).

Yağmurdur H. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulan ratlarda MDA düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (106). Salmasi AH ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, ratlarda iskemi-reperfüzyon hasarında morfinin etkinliği araştırılmış. İskemi-reperfüzyon durumunda MDA düzeylerinde artış tespit edilmiş, iskemi-reperfüzyon yapıp morfin verilen grupta ise MDA düzeylerinde azalma gözlenmiştir (7).

Serum MDA değerleri incelendiğinde, iskemi-reperfüzyon grubundaki MDA seviyelerinin kontrol grubuna göre arttığını yani lipid peroksidasyonunun iskemi-reperfüzyon ile artmış olduğunu gözlemledik. PDTC verilen grubun MDA

değerlerine bakıldığında ise bu grubun sonuçlarının kontrol grubuna yakın olduğunu gördük. PDTC verilen gruptaki bu MDA azalmasını PDTC nin doku histopatolojisindeki olumlu etkisine ek olarak aynı zamanda lipid peroksidasyonun azalmasına da yardımcı olarak antioksidatif olarak etki edebileceğini gördük.

Çalışmamızda bakılan bir diğer belirteç de serum SOD düzeyi idi. Yapılan önceki çalışmalara bakıldığında oksidatif stres durumunda oksidatif dengeyi kurmak üzere kullanıma bağlı doku ve kandaki SOD düzeylerinin düşük olduğunu görmekteyiz. Özkan KU. ve arkadaşlarının 40 rat üzerinde yaptıkları bir testis iskemi-reperfüzyon çalışmasında, iskemi-reperfüzyon hasarında zinc aspartate tedavisinin etkinliği değerlendirilmiştir. Kanda bakılan SOD düzeylerini incelediklerinde iskemi-reperfüzyon yapılan grupta SOD düzeylerinin kontrol grubuna göre düştüğü, iskemi-reperfüzyon yapıp zinc aspartate verilen grupta ise kandaki SOD düzeyinin iskemi-reperfüzyon grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (121).

Özbal S. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada iskemi-reperfüzyon oluşturulan ratlarda  $\alpha$ -lipoik asit etkinliği değerlendirilmiştir. Doku SOD düzeylerinin iskemik durumda azaldığı,  $\alpha$ -lipoik asit verilen grupta ise doku SOD düzeyinin anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir (122).

Bizim çalışmamızda iskemi-reperfüzyon yapılan gruptaki kan SOD düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük tespit edildi ( $p=0,014$ ). İskemi-reperfüzyon + PDTC grubunda SOD düzeyinde iskemi-reperfüzyon grubuna göre anlamlı artış ( $p=0,020$ ), kontrol grubuna göre ise benzer sonuçlar ( $p=0,564$ ) tespit edilmiştir.

İskemi-reperfüzyon süreci üzerinde etkili, oksidan ve antioksidan mekanizma ile ilgili diğer belirteçlerin (NO,CAT,GPX, vb.) kanda ve/veya dokuda bakılmaması, sadece ipsilateral testis hasarının beraberinde kontralateral testiküler hasarın incelenmeden değerlendirilmesi, Western Blotting gibi kesin sayısal değerler verebilen yöntemlerin kullanılamaması çalışmamızın limitasyonlarıdır.

## 6.SONUÇ

Yaptığımız deneysel testis torsiyon\detorsiyon modelinde testis dokusu hasarlanması üzerine PDTC'nin etkisi incelenmiştir. Testis torsiyonunun düzeltilmesinden önce verilen PDTC'nin torsiyone olan testiste sonradan meydana gelen reperfüzyon hasarını azaltmada biyokimyasal ve histopatolojik düzeyde etkisi gösterilmiştir.

Histopatolojik olarak PDTC'nin testis dokusunda apoptotik hücre sayısı, seminifer tübül çapları ve Johnson tübüler biyopsi skorları üzerinde olumlu etkilere sahip olduğunu gösterdik. Biyokimyasal olarak ise PDTC'nin MDA seviyesini azaltıp, SOD düzeyini artırarak antioksidan sistem lehine katkıda bulunduğunu gösterdik.

Literatürde henüz testis iskemi-reperfüzyon hasarında PDTC kullanımı ile ilgili bir yayın olmadığından, çalışmamızdaki sonuçlar bize; testiste iskemi-reperfüzyona bağlı oluşabilecek hasarın azaltılması için PDTC'nin kullanılabileceğini işaret etmektedir.

Bu çalışma bundan sonra yapılacak olan çalışmalara ışık tutacaktır. Yapılacak olan çalışmalarda farklı doz ve farklı sürelerde deneysel çalışmalar gerçekleştirilebilir.

## 7.KAYNAKLAR

- 1- **Mogilner JG, Lurie M, Coran AG, Nativ O, Shiloni E, Sukhotnik I.** Effect of diclofenac on germ cell apoptosis following testicular ischemia-reperfusion injury in a rat. *Pediatr Surg Int*, **2006**; 22: 99-105.
- 2- **Turner TT, Brown KJ.** Spermatic cord torsion: loss of spermatogenesis despite return of blood flow. *Biol Reprod*, **1993**; 49(2): 401-407.
- 3- **Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D.** Antioxidant Therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Rev*, **2001**; 53(1): 135-59.
- 4- **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, **1995**: 4-47.
- 5- **Cay A, Alver A, Küçük M, Işık O, Eminağaoğlu MS, Karahan SC et al.** The effects of N-acetylcysteine on antioxidant enzyme activities in experimental testicular torsion. *J Surg Res*, **2006**; 131(2): 199-203.
- 6- **Turan C, Küçükaydin N, Bekerecioğlu A, Kazez A, Doğan P, Küçükaydin M.** The effect of vitamin E on ipsilateral and contralateral testis following unilateral testicular torsion in rats. *Res Exp Med (Berl)*, **1996**; 196(4): 243-6.
- 7- **Salmasi AH, Beheshtian A, Payabvash, Demehri S, Ebrahimkhani MR, Karimzadegan M et al.** Effect of morphine on ischemia-reperfusion injury: experimental study in testicular torsion rat model. *Urology*, **2005**; 66(6): 1338-42.
- 8- **Abasıyanık A, Dagdönderen L.** Beneficial effects of melatonin compared with allopurinol in experimental testicular torsion. *J Ped Surg*, **2004**; 39(8): 1238-41.
- 9- **Kehinde EO, Anim JT, Mojiminiyi OA, Al-Awadi F, Shihab-Eldeen A, Omu AE et al.** Allopurinol provides long-term protection for experimentally induced testicular torsion in a rabbit model. *BJU Int*, **2005**; 96(1): 175-80.
- 10- **Tanagho EA, Mcaninch JW.** Smith's General Urology. New York: The Mc Graw –Hill Companies, **2000**: 750-787
- 11- **Turek JP.** Male Infertility. In: Tanagho EA, Mc Aninch JW (Eds.). *Smith's General Urology*. New York: The Mc Graw-Hill Companies, **2000**: 750-87.
- 12- **Anafarta K, Baykara M, Baydinç C.** Ürogenital organların anatomik ve histolojik yapısı. Anafarta K, Göğüş O, Bedük Y, Arıkan N (Editörler). *Temel Üroloji*. Ankara: Güneş Kitapevi, **1998**: 1-28.
- 13- **Schlegel PN, Hardy MH.** Male reproductive physiology. In: Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED, Jr, Wein AJ (Eds.). *Campbell's Urology*. 8th.Ed. Philadelphia: WB Saunders, **2002**: 1437-76.
- 14- **Kim ED, Lipshultz LI, Howards SS.** Male infertility. In: Gillenwater JY, Grayhack JT, Howards SS, Mitchell ME (Eds.). *Adult and pediatric urology*. 4th.Ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, **2002**: 1683-1758.
- 15- **Brooks JD.** Anatomy of the lower urinary tract and male genitalia. In: Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED, Jr, Wein AJ (Eds.). *Campbell's Urology*. 8th.Ed. Philadelphia: WB saunders, **2002**: 41-80.



- 16- **Özdiler E, Aydos K.** Klinik Androloji, Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, **2000**: 1-20.
- 17- **Adams MC, Alfert HJ et al.** Campbell Üroloji. 8. Baskı, İstanbul: Güneş Kitabevi, **2005**: 76-78.
- 18- **Pettersson S, Söderholm B, Persson JE, Eriksson S, Fritjofsson A.** Testicular blood flow in man measured with versus occlusion plethysmography and xenon-133. *Scand J Urol Nephrol*, **1973**; 7(2): 115-119.
- 19- **Jarow JP.** Intratesticular arterial anatomy. *J Androl*, **1990**; 11(3): 255-9.
- 20- **Fowler R, Stephens FD.** The role of testicular vascular anatomy in the salvage of high undescended testes. *Aust New Zeal J Surg*, **1959**; 29: 92-106.
- 21- **Chehval MJ, Purcell MH.** Deterioration of semen parameters over time in men with untreated varicocele: evidence of progressive testicular damage. *Fertil Steril*, **1992**; 57(1): 174-7.
- 22- **Steinberger E, Tjioe DY.** Spermatogenesis in rat testes after experimental ischemia. *Fertil Steril*, **1969**; 20(4): 639-49.
- 23- **Shafik A, Moftah A, Olfat S, Mohi-el-Din M, el-Sayed A.** Testicular veins: anatomy and role in varicoceleogenesis and other pathologic conditions. *Urology*, **1990**; 35(2): 175-82.
- 24- **Harrison RG.** The comparative anatomy of the blood supply of the mammalian testis. *Proc Zool Soc London*, **1949**; 119: 325-344.
- 25- **Bayard F, Boulard PY, Huc A, Pontonnier F.** Arterio-venous transfer of testosterone in the spermatic cord of man. *J Clin Endocrinol Metab*, **1975**; 40(2): 345-6.
- 26- **Agger P.** Scrotal and testicular temperature: its relation to sperm count before and after operation for varicocele. *Fertil Steril*, **1971**; 22(2): 286-97.
- 27- **Wishahi MM.** Anatomy of the venous drainage of the human testis: testicular vein cast, microdissection and radiographic demonstration. A new anatomical concept. *Eur Urol*, **1991**; 20(2): 154-60.
- 28- **Rauchenwald M, Steers WD, Desjardins C.** Efferent innervation of the rat testis. *Biol Reprod*, **1995**; 52(5): 1136-43.
- 29- **Skandalakis JE, Skandalakis LJ, Colborn GL.** Testicular atrophy and neuropathy in herniorrhaphy. *Am Surg*, **1996**; 62(9): 775-82.
- 30- **Walsh P, Retik A, Vaughan D, Wein A.** Erkek reproduktif fizyolojisi. Anafarta K, Yaman Ö (Eds.). Campbell Üroloji, Ankara: Güneş Kitabevi; **2005**: 1441-44.
- 31- **Carneiro J, Junqueira CL.** Temel Histoloji text & atlas. İstanbul: Nobel yayıncılık, **2006**: 431-41.
- 32- **Kaplan GW, King LR.** Acute scrotal swelling in children. *J Urol*, **1970**; 104(1): 219-23.
- 33- **Kayalı H.** Özel histoloji. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Film Merkezi, **1989**: 218-28.
- 34- **Richard S, Snell MD. Ph. D.** Tıp Fakültesi öğrencileri için klinik anatomi. Yıldırım M. (çeviri editörü), İstanbul: Nobel tıp kitabevleri; **1998**: 316-17.

- 35- **Jungueria CL, Carneiro J, Kelley RO.** Basic histology: Temel histoloji. Aytekin Y, Solakoğlu S, Ahışah B. (çeviri editörleri), İstanbul: Barış kitabevi; **1998**: 407-33.
- 36- **William F. Ganong.** Tıbbi Fizyoloji. Doğan A. (çeviri editörü), İstanbul: Barış kitabevi; **1994**: 464-67.
- 37- **Eşrefoğlu M.** Özel Histoloji. Malatya: Medipres yayıncılık, **2009**: 253-64.
- 38- **Kierszenbaum AL.** Histoloji ve Hücre Biyolojisi, patolojiye giriş. Ankara: Palme yayıncılık, **2006**: 554.
- 39- **Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N.** Temel Üroloji. 3. Baskı, Ankara: Güneş tıp yayınevi, **2007**: 17.
- 40- **Murphy JP.** The acute scrotum. In: Ziegler MM, Azizkhan RG, Weber TR (Eds). Operative Pediatric Surgery. New York: McGraw-Hill Companies; **2003**: 563-68.
- 41- **Hutson JM:** Undescended Testis, Torsion and Varicocele. In: O'Neill JA, Rowe MI, Grosfeld JL et al (Eds.). Pediatric Surgery. St. Louis: Mosby; **1998**: 1087-1109.
- 42- **Tijoe DY, Steinberger E.** A quantitative study of the effect of ischemia on the germinal epithelium of the rat testes. *J Reprod Fert*, **1970**; 21(3): 489-94.
- 43- **Backhouse KM.** Embriology of testicular descent and maldescent. *Urol Clin North Am*, **1982**; 9(3): 315-25.
- 44- **Başaklar AC.** Yenidoğanın cerrahi hastalıkları. Ankara: Palme yayıncılık, **1994**: 399-405
- 45- **Grosfeld JL, O'neil JA.** Fonkalsrud EW Undescended testis, Torsion, and Varicocele. *Pediatric Surgery*, USA.Mosby Inc. **2003**: 1193-1215.
- 46- **Basaklar C.** Bebek ve Çocukların Cerrahi ve Ürolojik Hastalıkları. Ankara: Palme yayıncılık, **2006**: 1753-64.
- 47- **Noseworthy J.** Testicular Torsion. In: Ashcraft, Murphy, Sharp, Sigalet, Snyder (Eds.). *Pediatric Surgery*. 3rd Ed., United States of America: W.B. SAUNDERS COMPANY, 2000: 674-80.
- 48- **Karamazyn B, Steinberg R, Kornreich L.** Clinical and sonographic criteria of acute scrotum in children: a retrospective study of 172 boys. *Pediatric Radiol*, **2005**; 35(3): 302-10.
- 49- **Rabinowitz R.** The importance of the cremasteric reflex in acute scrotal swelling in children. *J Urol*, **1984**; 132(1): 89-90.
- 50- **Mevorach RA, Lerner RM, Greenspan BS, Russ GA, Heckler BL, Orosz JF et al.** Color doppler ultrasound compared to a radionuclide scanning of spermatic cord torsion in a canine model. *J Urol*, **1991**; 145(2): 428-33.
- 51- **Bartsch G, Frank S, Marberger H, Mikuz G.** Testicular torsion: late results with spesific regard to fertility and endocrine function. *J Urol*, **1980**; 124(3): 375-8.
- 52- **Kaipia A, Ryymin P, Makela E, Aaltonen M, Kahara V, Kangasniemi M.** Magnetic resonance imaging of experimental testicular torsion. *Int J Androl*, **2005**; 28(6): 355-9.
- 53- **Kızılcan F, Bernay I, Tanyel FC, Büyükpamukçu N, Bekdik C, Hiçsönmez A.** Ipsilateral and contralateral testicular blood flows during unilateral testicular torsion by <sup>133</sup>Xe clearance technique. *Int Urol Nephrol*, **1992**; 24(5): 515-20.

- 54- **Sade M, Esen A, Çelebi İ, Mungan U.** Ürogenital sistemin acil yaklaşım gerektiren hastalıkları. Temel Üroloji. Ankara: Güneş Kitabevi, **1998**; 963.
- 55- **Barada JH, Weingarten JL, Cromie WJ.** Testicular salvage and age-related delay in the presentation of testicular torsion. *J Urol*, **1989**; 142(3): 746-48.
- 56- **Anderson JB, Williamson RC.** Testicular torsion in Bristol: a 25-year review. *Br J Surg*, **1988**; 75(10): 988-92.
- 57- **Puri P, Barton D, O'Donnell B.** Prepubertal testicular torsion: subsequently fertility. *J Pediatr Surg*, **1985**; 20(6): 598-601.
- 58- **Schaller B, Graf R.** Cerebral ischemia and reperfusion: the pathophysiologic concept as a basis for clinical therapy. *J Cereb Blood Flow Metab*, **2004**; 24(4): 351-71.
- 59- **Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, Ward PA.** Ischemia/reperfusion injury. *J Surg Res*, **2002**; 105(2): 248-258.
- 60- **Langer JC, Sohal SS, Blennerhassett P.** Mucosal permeability after subclinical intestinal ischemia/reperfusion injury: an exploration of possible mechanisms. *J Pediatr Surg*, **1995**; 30(4): 568-72.
- 61- **Vedder NB, Fouty BW, Winn RK, Harlan JM, Rice CL.** Role of neutrophils in generalized reperfusion injury associated with resuscitation from shock. *Surgery*, **1989**; 106(3): 509-16.
- 62- **Mitchell RN, Cotran RS (Çeviri: U. Çevikbaş).** Hücre zedelenmesi, ölümü ve adaptasyonu. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL (Eds.). Temel patoloji'de. 6. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi: (WB Saunders Co. izniyle); **2000**: 3-24.
- 63- **Halliwell B, Gutteridge JM.** The definition at measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic Biol Med*, **1995**; 18(1):125-6.
- 64- **Sinclair AJ, Barnett AH, Lunec J.** Free radicals and antioxidant systems in health and diseases. *British J Hosp Med*, **1990**; 43(5): 334-44.
- 65- **Halliwell B.** Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol*, **2006**; 141(2): 312-22.
- 66- **Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL et al.** Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med*, **1987**; 107(4): 526-45
- 67- **Finkel T, Holbrook NJ.** Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, **2000**; 408(6809): 239-47.
- 68- **Kour H, Perkins MJ.** The free radical chemistry of food additives. In: Arvoma OI, Halliwell B (Eds.). Free radicals and food additives, New York, **1991**.
- 69- **Trouba KJ, Hamadeh HK, Amin RP, Germolec DR.** Oxidative stress and its role in skin disease. *Antioxid Redox Signal*, **2002**; 4(4): 665-73.
- 70- **Dökmeci İ.** Farmakoloji temel kavramlar. İstanbul: Nobel tıp kitabevleri, **2000**; 714-5.
- 71- **Serafini M, Del Rio D.** Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the Total Antioxidant Capacity the right tool? *Redox Report*, **2004**; 9(3): 145-52.

- 72- **Balaban RS, Nemoto S, Finkel T.** Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell*, **2005**; 120(4): 483-95.
- 73- **Falnes PØ, Klungland A, Alseth I.** Repair of methyl lesions in DNA and RNA by oxidative demethylation. *Neuroscience*, **2007**; 145(4): 1222-32.
- 74- **Halliwell B.** Free radicals, proteins and DNA: oxidative damage versus redox regulation. *Biochem Soc Trans*, **1996**; 24(4): 1023-7.
- 75- **Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ.** Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem J*, **1997**; 324(1): 1-18.
- 76- **Akpoyraz M, Durak İ.** Serbest radikaller rolü ve biyolojik etkileri. *Ankara Tıp Dergisi*, **1995**; 48: 253-62.
- 77- **Gutteridge JM, Halliwell B.** The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci*, **1990**; 15(4): 129-35.
- 78- **Murray RK, Granner DK, Mayes RA, Rodwell VW.** Harper Biyokimya. (Çeviri Editörleri: Dikmen N, Özgünen T), İstanbul: Baris Kitabevi; **1996**: 24.
- 79- **Yin H, Porter NA.** News insides regarding the autooxidation of polyunsaturated fatty acids. *Antioxid Redox Signal*, **2005**; 7(1-2): 170-84.
- 80- **Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H.** Chemistry and biochemistry of 4- hydroxynoneal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med*, **1991**; 11(1): 81-128.
- 81- **Halliwell B.** Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. *Biochemical Pharmacology*, **1995**; 49 (10): 1341-8
- 82- **Altan N, Dinçel AS, Koca C.** Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Türk Biyokimya Dergisi*, **2006**; 31: 51-6.
- 83- **Halliwell B.** Drug antioxidant effects. A basis for drug selection? *Drugs*, **1991**; 42(4): 569-605.
- 84- **Surai PF.** Natural Antioxidants in Avian Nutrition and Reproduction. Nottingham, UK: Nottingham University Press, **2002**.
- 85- **Dröge W.** Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*, **2002**; 82(1): 47-95.
- 86- **Catani C, Peters A, Schaefer HM.** Life-history trade-offs are influenced by the diversity, availability and interactions of dietary antioxidants. *Anim. Behav*, **2008**; 76: 1107-19.
- 87- **Kastan MB, Bartek J.** Cell-cycle checkpoints and cancer. *Nature*, **2004**; 432(7015): 316-23.
- 88- **Sen R, Baltimore D.** Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences. *Cell*, **1986**; 46(5): 705-16.
- 89- **Collins T, Read MA, Neish AS, Whitley MZ, Thanos D, Maniatis T.** Transcriptional regulation of endothelial cell adhesion molecules: NFκB and cytokine-inducible enhancers. *FASEB J*, **1995**; 9(10): 899-909.
- 90- **Gilmore T.**, <http://people.bu.edu/gilmore/nf-kb>.
- 91- **Ahn KS, Sethi G, Aggarwal BB.** Nuclear factor-kappa B: from clone to clinic. *Curr Mol Med*, **2007**; 7(7): 619-37.

- 92- **Kumar A, Takada Y, Boriek AM, Aggarwal BB.** Nuclear factor-kappaB: its role in health and disease. *J Mol Med*, **2004**; 82(7): 434-48.
- 93- **Meyer M, Schreck R , Baeuerle PA.** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and antioxidants have opposite effects on activation of NF-kappa B and AP-1 in intact cells: AP-1 as secondary antioxidant-responsive factor. *EMBO J*, **1993**; 12(5): 2005-15.
- 94- **Schreck R, Meier B, Mannel DN, Dröge W, Baeuerle PA.** Dithiocarbamates as potent inhibitors of nuclear factor kappa B activation in intact cells. *J Exp Med*, **1992**; 175(5): 1181-94.
- 95- **Suzuki YJ, Aggarwal BB, Packer L.** Alpha-lipoic acid is a potent inhibitor of NF-kappaB activation in human T cells. *Biochem Biophys Res Commun*, **1992**; 189(3): 1709-15.
- 96- **Suzuki YJ, Packer L.** Inhibition of NF-kappa B DNA binding activity by alpha-tocopheryl succinate. *Biochem Mol Biol Int*, **1993**; 31(4): 693-700.
- 97- **Staal FJ, Roederer M, Herzenberg LA.** Intracellular thiols regulate activation of nuclear factor kappa B and transcription of human immunodeficiency virus. *Proc Natl Acad Sci*, **1990**; 87(24): 9943-7.
- 98- **Schreck R, Rieber P, Baeuerle PA.** Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF-kappa B transcription factor and HIV-1. *EMBO J*, **1991**; 10(8): 2247-58.
- 99- **Mankhetkorn S, Abedinzadeh Z, Houee-Levin C.** Antioxidant action of sodium diethyldithiocarbamate: reaction with hydrogen peroxide and superoxide radical. *Free Radic Biol Med*, **1994**; 17(6): 517-27.
- 100- **Liu J, Shigenaga MK, Yan LJ, Mori A, Ames BN.** Antioxidant activity of diethyldithiocarbamate. *Free Radic Res*, **1996** ;24(6): 461-72.
- 101- **Zanocco AL, Pavez R, Videla LA, Lissi EA.** Antioxidant capacity of diethyldithiocarbamate in a metal independent lipid peroxidative process. *Free Radic Biol Med*, **1989**; 7(2): 151-6.
- 102- **Hosni M, Meskini N, Prigent AF, Anker G, Joulain C, el Habib R, et al.** Diethyldithiocarbamate (ditiocarb sodium) effect on arachidonic acid metabolism in human mononuclear cells. Glutathione peroxidase-like activity. *Biochem Pharmacol*, **1992**; 43(6): 1319-29.
- 103- **Cvek B, Dvorak Z.** Targeting of nuclear factor-kappaB and proteasome by dithiocarbamate complexes with metals. *Curr Pharm Des*, **2007**; 13(30): 3155-67.
- 104- **Tryfonas G, Violaki A, Tsikopoulos G, Avtzoglou P, Zioutis J, Limas C et al.** Late postoperative results in males treated for testicular torsion during childhood. *J Pediatr Surg*, **1994**; 29(4): 553-6.
- 105- **Turner TT, Bang HJ, Lysiak JJ.** Experimental testicular torsion: reperfusion blood flow and subsequent testicular venous plasma testosterone concentrations. *Urology*, **2005**; 65(2): 390-4.
- 106- **Yagmurdur H, Ayyıldız A, Karaguzel E, Ogus E, Surer H, Caydere M et al.** The preventive effects of thiopental and propofol on testicular ischemia-reperfusion injury. *Acta Anaesthesiol Scand*, **2006**; 50(10): 1238-43.
- 107- **Abes M, Sarihan H, Değer O, Uydu HA.** The effect of ATPMgCl(2) on prevention of reperfusion injury after unilateral testicular torsion. *Eur J Pediatr Surg*, **2001**; 11(4): 255-8.

- 108- **Visser AJ, Heyns CF.** Testicular function after torsion of the spermatic cord. *BJU Int*, **2003**; 92(3): 200-3.
- 109- **Ilbey YO, Ozbek E, Simsek A, Cekmen M, Otunctemur A, Somay A.** Chemoprotective effect of a nuclear factor-kappaB inhibitor, pyrrolidine dithiocarbamate, against cisplatin-induced testicular damage in rats. *J Androl*, **2009**; 30(5): 505-14.
- 110- **Tugcu V, Bas M, Ozbek E, Kemahli E, Arinci YV, Tuhri M et al.** Pyrrolidinium dithiocarbamate prevents shockwave lithotripsy-induced renal injury through inhibition of nuclear factor-kappa B and inducible nitric oxide synthase activity in rats. *J Endourol*, **2008**; 22(3): 559-66.
- 111- **Wang M, Liu T, Wang D, Zheng Y, Wang X, He J.** Therapeutic effects of pyrrolidine dithiocarbamate on acute lung injury in rabbits. *J Transl Med*, **2011**; 9: 61.
- 112- **Li J, Sheng W, Feng C, Zuo Z.** Pyrrolidine dithiocarbamate attenuates brain A $\beta$  increase and improves long-term neurological outcome in rats after transient focal brain ischemia. *Neurobiol Dis*, **2012**; 45(1): 564-72.
- 113- **Beheshtian A, Salmasi AH, Payabvash S, Kiumehr S, Ghazinezami B, Rahimpour S et al.** Protective effects of sildenafil administration on testicular torsion/detorsion damage in rats. *World J Urol*, **2008**; 26(2): 197-202.
- 114- **Arima N, Arimura K, Tokito Y, Sakaki Y, Matsushita K, Orihara K et al.** HTLV-I Tax protein inhibits apoptosis induction but not G1 arrest by pyrrolidinedithiocarbamate, an anti-oxidant, in adult T cell leukemia cells. *Exp Hematol*, **2004**; 32(2):195-201.
- 115- **Chen D, Peng F, Cui QC ve ark.** Inhibition of prostate cancer cellular proteasome activity by a pyrrolidine dithiocarbamate-copper complex is associated with suppression of proliferation and induction of apoptosis. *Front Biosci*. 2005;10: 2932-2939.
- 116- **Cao MZ, Mao WZ, Ma GL, Li Y.** [NF- $\kappa$ b inhibitor PDTC enhances tumor necrosis factor  $\alpha$ -induced apoptosis of gastric cancer cell SGC-7901]. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi*, **2013**; 16(6): 578-82.
- 117- **Wang Z, Zhao H, Peng S, Zuo Z.** Intranasal pyrrolidine dithiocarbamate decreases brain inflammatory mediators and provides neuroprotection after brain hypoxia-ischemia in neonatal rats. *Exp Neurol*, **2013**; 249: 74-82.
- 118- **Yuluğ E, Türedi S, Karagüzel E, Kutlu O, Menteşe A, Alver A.** The short term effects of resveratrol on ischemia-reperfusion injury in rat testis. *J Pediatr Surg*, **2014**; 49(3): 484-9.
- 119- **Koksal M, Oğuz E, Baba F, Eren MA, Ciftci H, Demir ME et al.** Effects of melatonin on testis histology, oxidative stress and spermatogenesis after experimental testis ischemia-reperfusion in rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, **2012**; 16(5): 582-8.
- 120- **Elshaari FA, Elfagih RI, Sherif DS, Barassi IF.** Oxidative and antioxidative defense system in testicular torsion/detorsion. *Indian J Urol*, **2011**; 27(4): 479-84.
- 121- **Ozkan KU, Boran C, Kiliç M, Garipardiç M, Kurutaş 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(1): 91-5.

- 122- **Ozbal S, Ergur BU, Erbil G, Tekmen I, Bagriyanik A, Cavdar Z.** The effects of  $\alpha$ -lipoic acid against testicular ischemia-reperfusion injury in Rats. *ScientificWorldJournal*, **2012**; 2012: 489248.