

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**TESTİS TORSİYONU SONRASINDA DETORSİYON+ FİKSASYON
VE ORŞİEKTOMİNİN TESTİSLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN
DENEYSEL OLARAK ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. AYTAÇ TAŞCI
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. SEMA UĞURALP**

MALATYA-2019

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**TESTİS TORSİYONU SONRASINDA DETORSİYON+ FİKSASYON
VE ORŞİEKTOMİNİN TESTİSLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN
DENEYSEL OLARAK ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. AYTAÇ TAŞCI
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. SEMA UĞURALP**

Bu tez İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 2016-181 proje numarası ile desteklenmiştir. İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi birimine teşekkür ederiz

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
TABLolar, GRAFİKLER ve ŞEKİLLER DİZİNİ	ii
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ	iv
1- GİRİŞ	1
2- GENEL BİLGİLER	3
2-1 TESTİSİN EMBRİYOLOJİSİ	3
2-2 TESTİSİN ANATOMİSİ	6
2-3 TESTİS HİSTOLOJİSİ	8
2-4 FSH, LH VE TESTOSTERONUN TESTİS ÜZERİNE ETKİSİ	10
2-5 TESTİS TORSİYONU	12
2-6 TESTİS TORSİYONU; İSKEMİ VE REPERFÜZYON SÜRECİ	14
2-7 İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA PATOFİZYOLOJİ	16
2-7-1 İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA NİTRİT OKSİT VE İNDUCİBLE NİTRİT OKSİT SENTAZ	16
3- MATERYAL – METOD	18
3-1 MATERYAL	18
3-1-1 DENEY GRUPLARI	18
3-2 METOD	19
3-2-1 TORSİYON MODELİ OLUŞTURMA	19
3-2-2 BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER: FSH, LH, TESTOSTERON	20

ÖLÇÜMLERİ

3-2-3	HİSTOPATOLOJİK İNCELEME	20
3-3	İSTATİSTİKSEL ANALİZ	21
4-	BULGULAR	22
4-1	BİYOKİMYASAL SONUÇLAR	22
4-2	HİSTOPATOLOJİK İNCELEME SONUÇLARI	23
4-2-1	HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	23
4-2-2	JOHNSEN TESTİKÜLER BİYOPSİ SKORU	26
4-2-3	SEMİNİFER TÜBÜL ÇAPI	27
4-2-4	İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR	28
5-	TARTIŞMA	30
6-	SONUÇLAR	35
7-	ÖZET	36
8-	SUMMARY	38
9-	KAYNAKLAR	40
10-	ETİK KURUL ONAY BELGESİ	48

TABLÖLAR, RESİMLER, GRAFİKLER ve ŞEKİLLER DİZİNİ

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Testis ağırlıkları

Tablo 2: Grupların ortalama FSH, LH ve Testosteron düzeyleri

Tablo 3: Johnsen skorlaması

Tablo 4: Seminifer Tübül Çapı

Tablo 5: iNOS ekspresyonu

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Sol torsiyone testis modeli

Resim 2: Testis torsiyonu sonrasında 1. gün orşiektomi yapılan grubun karşı testisi

Resim 3: Normal spermatogenez (H&Ex200)

Resim 4: İnterstisyel alanda yaygın taze kanama ve seminifer tübül lümenlerinde eksfoliyate nekrotik hücreler, (H&Ex100)

Resim 5: İnterstisyel alanda ödem, seminifer tübül çapında azalma ve germ hücre kaybı, (H&Ex100)

Resim 6: Seminifer tübül bazal membranlarında kalınlaşma ve yaygın kalsifikasyon, (H&Ex100)

Resim 7: Sağlıklı spermatogenezin izlendiği seminifer tübül, (H&Ex200)

Resim 8: İmmünohisokimyasal olarak iNOS ekspresyonu, skor:1+, x100

Resim 9: İmmünohisokimyasal olarak iNOS ekspresyonu, skor:3+, x100

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Testisin embriyolojik gelişimi

Şekil 2: Testisin iniş yolu

Şekil 3: Erkek genital sistemi

Şekil 4: Seminifer tübülün bir parçası

Şekil 5: Testosteron, FSH ve LH'nin erkek üreme sistemi üzerine etkisi

Şekil 6: Testis torsiyonu tipleri

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
FSH	: Follikül Stimüle Edici Hormon
LH	: Lüteinize Edici Hormon
TSH	: Tiroid Stimüle Edici Hormon
GNRH	: Gonadotropin-Relasing Hormon
TBF	: Testis Belirleyici Faktör
INSL-3	: İnsulin-Like Factor 3
AMH	: Anti-Mullerian Hormon
ABP	: Androjen Bağlayıcı Protein
USG	: Ultrasonografi
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
ATP	: Adenozin Trifosfat
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
ELISA	: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
H&E	: Hematoksilen&Eozin
INOS	: Indusible Nitric Oksit Sentaz

1. GİRİŞ

Testis torsiyonu (TT) yenidoğan ve adolesan yaş gruplarında daha sık görülmekle beraber her yaş grubunda görülebilen hızlıca teşhis ve tedavi edilmesi gereken acil cerrahi bir durumdur. 25 yaşından genç erkeklerde insidansı 1/4000 'dir. Başarılı bir cerrahi girişime karşın bu hastaların % 40-60'ında testiküler atrofi ve infertilite gelişmektedir (1).

Testis torsiyonu gelişip daha sonra detorsiyone edilen testiste iskemik hasara ek olarak testisin kan akımının yeniden sağlanması sırasında oluşan reperfüzyon hasarı da eklenmekte ve reperfüzyon hasarına bu sırada ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri neden olmaktadır. İskemi/reperfüzyon sonrası kapillerin bir kısmında perfüzyonun geri dönmemesi “no-reflow fenomeni” olarak adlandırılmaktadır. İskemi/reperfüzyon sonrası ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri dokularda doğrudan hasar yaptıkları gibi no-reflow fenomenine yol açarak ta dolaylı yollardan hasara neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda testis torsiyonunda iskem/reperfüzyon sonucunda serbest oksijen radikallerinin hem torsiyone testiste hem de karşı testiste arttığı biyokimyasal testlerle gösterilmiştir (2-4).

Testis torsiyonu nedeni ile oluşan iskem/reperfüzyon hasarını azaltmak için çok sayıda çalışma mevcut olmakla beraber testis torsiyonu sonrası karşı testisi inceleyen çalışma sayısı çok sınırlı olup (5-15) , bu çalışmalarda karşı testiste patolojik bir hasarın mevcut olup olmadığı ile ilgili görüş ayrılığı mevcuttur. Yapılan çalışmaların bir kısmında karşı testiste Sertoli ve Leydig hücrelerinin patolojik olarak etkilendiği belirtilmiştir (8,12,13). Ayrıca literatürde testis torsiyonu sonrasında detorsiyon/orşiopeksi ve orşiektominin birlikte yapılarak her iki testis üzerine olan sonuçlarının patolojik ve hormonal olarak kıyaslandığı bir çalışma da bulunmamaktadır. Sağlıklı bir insanda olgun sperm oluşabilmesi için gereken süre 64 gündür (4). Ratlarda seminifer epitel döngüsünün uzunluğu yaklaşık 12,9 gün olup spermatogoniumdan spermatozaya yaklaşık 58 günlük bir süreç gerekmektedir (16,17). Ancak yapılan yaklaşık 400 küsur çalışmanın hemen tamamı iskem/reperfüzyon çalışması olup akut dönemde her iki testis değerlendirmiş ve karşı testiste bazı çalışmalarda etkilenme saptanırken diğerlerinde normal olarak değerlendirilmiştir (3,5-13). En uzun süreli çalışma 2012 yılında Lorenzini ve arkadaşları tarafından yapılmış olup torsiyon yapılan tarafa 1, 5, 10 ve 90. günlerde orşiektomi yapılmış, 3 ay sonra karşı testiste histopatolojik olarak seminifer tubulus çapı ve Johnsen skoru bakılmıştır (3). Bizim çalışmamızda bu parametrelere ek olarak hormonal parametreler ve immunohistokimyasal olarak ta inducible nitric oxide synthase

(iNOS) bakılarak spermin sağlıklı olup olmadığı değerlendirilmiştir. Literatürdeki çalışmalarının tamamını incelediğimizde gerek orşiopeksi yapılan gruplarda her iki testisin iyileşme derecesi gerekse de orşiektomi yapılan gruplarda karşı testisin orşiektomiye yanıtının 6 ay gibi uzun vadede hem hormonal hem de histopatolojik olarak bu kadar fazla parametre ile değerlendirildiği bir çalışma bulunamamıştır. Çalışmamızda torsiyon sonrasında halen devam eden testisi çıkaralım mı yoksa yerinde bırakalım mı sorusuna yanıt aranmıştır.

Çalışmanın amacı; testis torsiyonundan sonra detorsiyon+fiksasyon ve orşiektominin testisler üzerine olan etkilerini uzun vadede araştırmaktır.



2. GENEL BİLGİLER

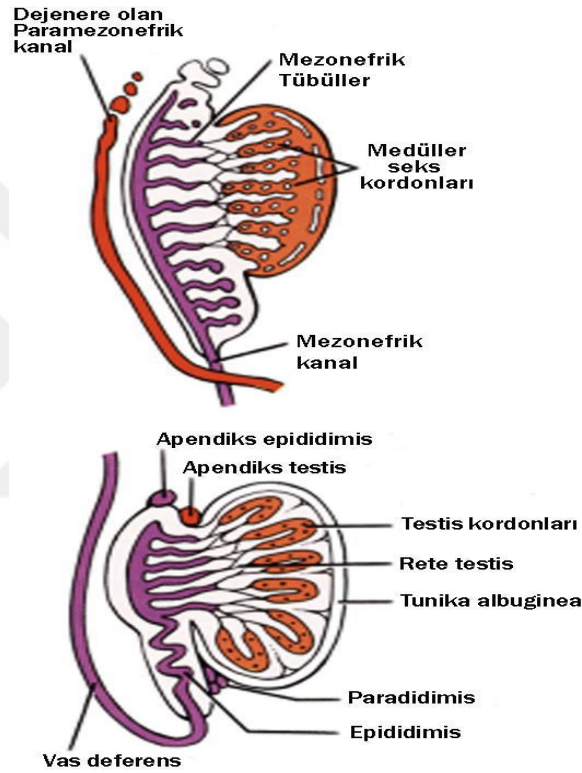
2- 1 TESTİSİN EMBRİYOLOJİSİ

Kromozomal ve genetik cinsiyet embriyoda sekonder oositi dölleyen spermin fenotipine bağlı olarak fertilizasyonda belirlenir (18). Fertilizasyondan sonra ki 3 haftada primordiyal germ hücreleri yolk kesesi duvarında endoderm hücreleri arasında, allantoise yakın bir yerde oluşur. Primordial germ hücreleri son barsak mezenterinin dorsali boyunca ilerler ve beşinci haftanın başında primitif gonadlara ulaşır. Germ hücreleri altıncı haftada genital kıvrımlara yerleşirler. Böylece henüz farklılaşmamış fötal gonad gebeliğin altıncı haftasında ortaya çıkar (19,4). Fertilizasyondaki spermin kromozomal yapısına bağlı olarak (xx veya xy) gonad üzerindeki erkek veya dişi ilk farklılaşma 7. haftada gonadda gözlenir (18). Gonadların over ve testise farklılaşmasından primordial germ hücre belirleyici roldedir (20).

Y kromozomu üzerindeki primitif germ kordonları gebeliğin yedinci haftasının başında testis belirleyici faktör etkisiyle (TBF) çoğalır. Kordonlar ilerleyen zamanda testis ve meduller kordonları oluşturmak üzere gonadın iç bölgesine göç ederek bezin hilusuna doğru ince hücre sıralarından oluşan bir ağ meydana getirir. İlerleyen zamanda testis kordonları yüzey epiteli ile olan bağlantılarını kaybeder ve testis yüzeyi yoğun fibröz yapıdaki tunika albuginea denilen bir bağ doku ile epitelden ayrılır ve puberteye kadar testis kordonları kapalı bir halde kalırlar. Gestasyonun 16-20. haftaları arasında testis kordonları at nalı şeklini alır ve bu kordonların uçları rete testis olarak devamlılık gösterir. Bu dönemde testis kordonları germ hücreleri ve bezin yüzey epitelinden köken alan Sertoli hücrelerinden oluşmaktadır.

Testesteron üretimini sağlayarak dış genital organlardaki farklılaşmada rol oynayan Leydig hücreleri testis kordonları arasında bulunan interstisyel dokudaki mezenkimal hücrelerin değişimi sonucu ortaya çıkar. Gebeliğin 20. haftalarında testisin % 50'sini oluşturan Leydig hücreleri doğuma doğru giderek azalır (21). Puberteye gelinmesi ile testis kordonlarının lümenleri acı olarak seminifer tübülleri oluşturur. Seminifer tübüller retetestis lümenine bağlanır ve sonrasında duktuli efferentes ile devam ederler. Duktus eferentes kanalları rete testis ile mezonefrik kanal arasında ilişkiyi sağlar.

Mezonefrik kanallar ana genital kanalları oluştururlar. Epigenital tübüller rete testisin kordonları ile birleşip duktus eferentesleri, paragenital tübüller ise rete testis kordonları ile birleşemeyip kalıntı halindeki paradidimi oluşturur. Duktus eferenteslerin giriş yerinin altında mezonefrik kanallar uzayarak duktus epididimi oluşturur. Epididimin kuyruk kısmından seminal vezikül tomurcuğuna kadar uzanan kas tabaka sarılı kanal ise duktus deferens olarak isimlendirilmiştir. Seminal vezikülden sonraki kanal ise ejakulatuar kanal olarak isimlendirilir. Paramezonefrik kanal kranial ucunda ki kısmı haricinde testicular appendiks dışında dejenere olmaktadır (Şekil 1).



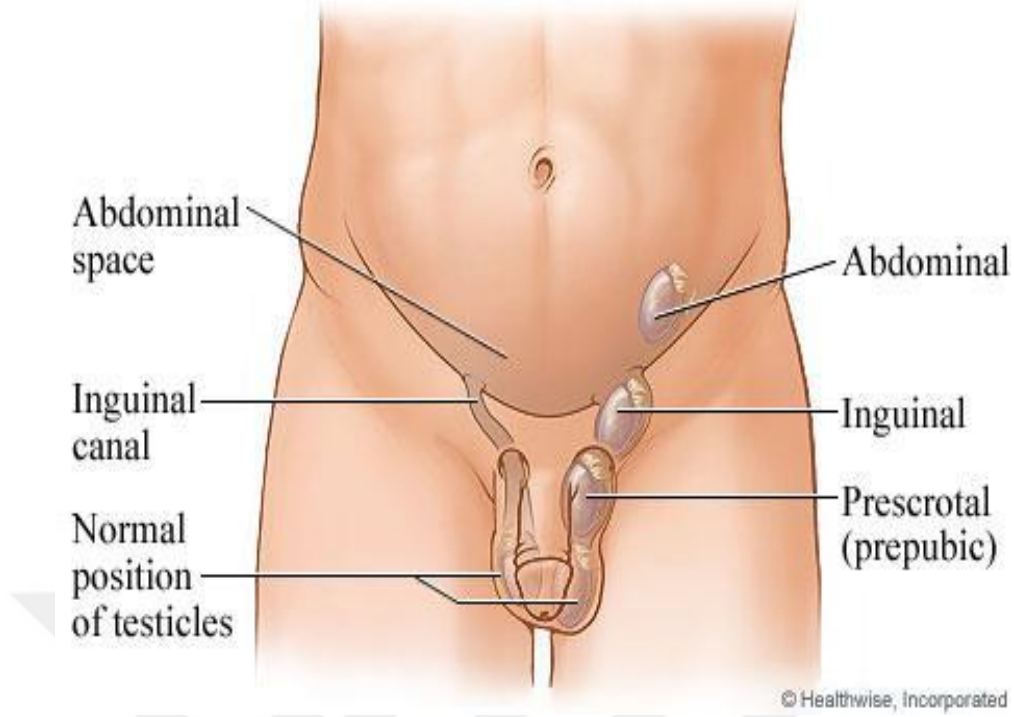
Şekil 1: Testis gelişimi. Seminifer kordonların, seminifer tübüllere, tübüli rekti ve rete testise farklanması.

Normal spermatogenezisin gerçekleşebilmesi için testislerin vücut ısısından 2-3 derece daha serin olan skrotuma inmesi gerekir. Fetal hayatın 3. ayından itibaren testisler skrotuma inmeye başlar. Testisin inişi abdominal ve migratuvar inguinokrotal faz olmak üzere aşamalıdır.

1- Abdominal Migrasyon; Testisler intrauterin 2. ayın sonunda ürogenital mezenter ile karın arka duvarına bağlanır. Mezonefrozun dejenere olması ile bağlar sadece gonadın mezenteri haline gelir. Bu mezenter kaudal yönde gelişerek kaudal genital ligament adını alır.

İU 7-8. haftalarda testis ve over benzer pozisyonlardadırlar. Daha sonra testis inguinal kanala yakın hale gelirken overler kasıktan uzaklaşır. Testisler karın arka duvarına kraniyal gonadal süspansör ligaman ile asılıdırlar. Androjenler kraniyal gonadal süspansör ligamanı regrese ederek testisin kaudal yönde hareketine izin vermektedir. Testisin transabdominal inişinde gubernakulum ve gubernakulumun gelişimini sağlayan testiküler hormon olan insülin-like factor 3 (INSL3), relaksin (22) ve mullerian inhibiting substance (MIS) sorumludur (23). Gubernakulum, testisin kaudalinden internal ve eksternal abdominal oblik kaslar arasından geçerek skrotuma uzanan ekstrasellüler matriksten zengin mezenkimal kökenli ince kısa yapıdır. Mezenkimal proliferasyon ve hyalüronik asit artışı ile gubernakulum gelişerek testisi sabitler. Ayrıca karın ön duvarının normal olarak gelişmesi , karın içi organların oluşması ile böbrek alt tarafında yer alan testisler artan karın içi basıncı ile aşağı doğru itilirler. Sonuç olarak; gubernakulumun genişlemesi-migrasyonu, kraniyal süspansör ligamanın regrese olması ve diğer faktörlerin de etkisi ile testis 12. haftada internal inguinal ring hızasına iner (23).

2- Migratuvar inguinokrotal faz: Proessus vajinalis intrauterin hayatın 3. ayında peritondan bir cep olarak gubernakulum boyunca inguinal kanala uzanır. Gubernakulum migrasyonunun androjenik kontrol mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte migrasyondan genitofemoral sinirden salınan kalsitonin gen related peptid sorumlu tutulmaktadır. Testisler inguinal kanaldan geçip skrotuma inerler ve sonrasında ise proessus vajinalis katlantısı ile sarılırlar. Testisin skrotuma inişi 35. haftada tamamlar, inguinal kanal içindeki proessus vajinalis % 85 oranında oblitere olur (23) (Şekil 2).



Şekil 2: Testisin iniş yolu

2-2 TESTİSİN ANATOMİSİ

Erişkin sağlıklı bir bireyin testisi skrotum içerisinde ovoid şekilli 4x3.5x3 cm boyutlarında 30 ml hacminde 10-14 g ağırlığında gonadal bir organdır. Sıklıkla sol testis sağdakine oranla yaklaşık 1cm daha aşağıda bulunmaktadır (24). Testis tunika vaskulosa, tunika albuginea, tunika vaginalis olmak üzere 3 tabaka ile sarılıdır. Testisin posterolateral yüzü epididim, bağ dokusu ve damarlarla örtülüdür. “*Mediastinum testis*” olarak isimlendirilen kranioposterior kısmından, seminal taşıyıcılar çıkar (25).

En dış katmanda bulunan tunika vaginalis; visseral ve pariyetal olmak üzere 2 katmandan oluşur, bu iki katman arasında seröz bir sıvı vardır. Bu sıvı artış gösterirse hidrosel olarak adlandırılır (16). Visseral katman tunika vajinalisin testisi örten iç kısmıdır. Yan ve ön yüzdeki pariyetal katman ise fascia spermatica internaya yapışan kısmı olup testisin alt kısmından üst kısmına doğru dış tarafta uzanır (26, 27). İnternal spermatik fascia fascia transversalisten, kremaster internal oblik kastan ve eksternal spermatik fascia ise eksternal oblik kastan meydana gelir (3).

Tunika albuginea fibroblast ve kollajenden zengin olmasından dolayı kalın sert bir tabaka olup içerisinde çok sayıda düz kas hücresi mevcuttur. Düz kas hücreleri sayesinde

otonomik inervasyon sonrası sperm hücrelerinin efferent duktuslara doğru hareket etmesine yardımcı olur. Tunika albugineadan kaynaklanan septalar, seminifer tübülüsleri lobüllere böler (28).

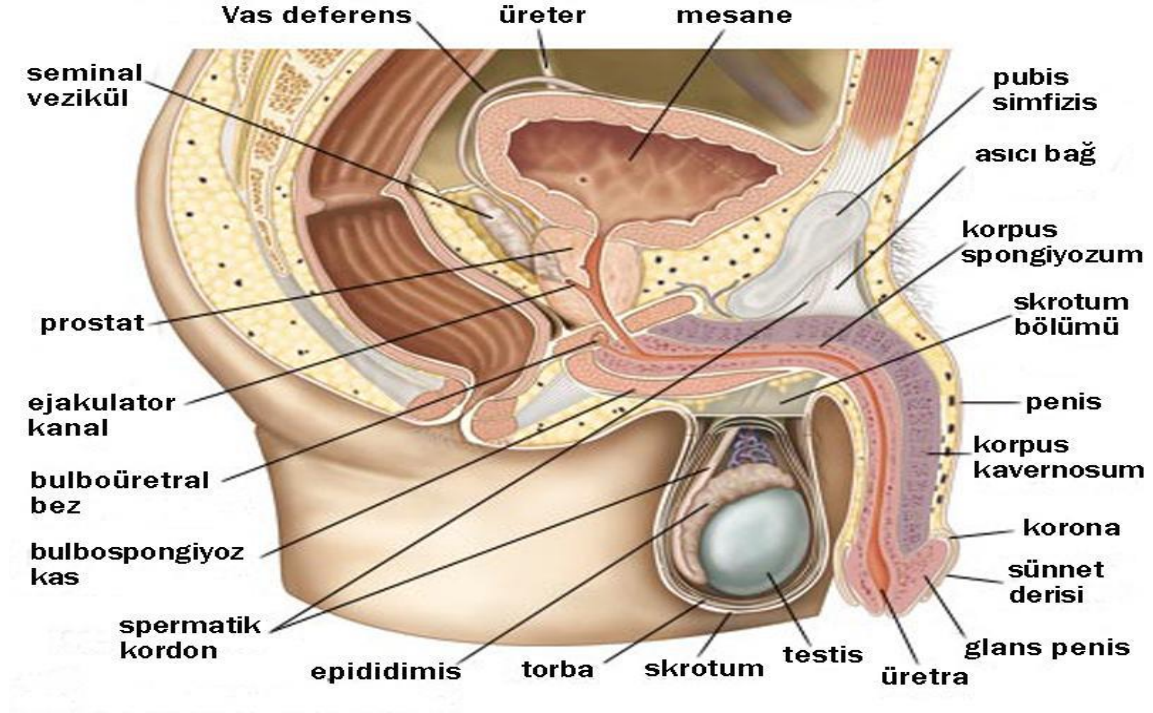
Testiküler lobüllerin iç yüzünü örten tunika vaskulozadır. Her bir lobülde seminifer tübül ve sentrifugal arter bulunur. Seminifer tübüller; iki ucu da rete testiste sonlanan ‘V’ şeklinde tübüllerdir. Testiste yaklaşık 600-1200 seminifer tübül bulunur (29). Rete testis 6-12 efferent kanalın birleşmesi ile oluşur, testiküler sıvı ve spermatazoanın epididim baş kısmına aktarılmasını sağlar.

Aortadan renal arterin altından çıkan testiküler arter, retroperitonda ilerleyip internal ring hızasına kadar spermatik kord yapıları arasına katılır. Testisi besleyen ana arter testiküler arter olmasına karşın, kremasterik (eksternal iliak arterin dalı), diferansiyel arter (vezikal arterin dalı) testiküler arter arasında anastomozlar görülebilmektedir. Testisin posteriorundan oblik biçimde tunika albugineayı geçerek testise giren testiküler arter önce anterior testis parankiminde sonra da posterior kısmında olacak şekilde interlobuler dallara ayrılır. Bu nedenle testisin anterior ve inferior bölgeleri, medial ve lateral bölgelerine oranla daha çok damar içermektedir (30).

Venöz drenaj posteriordan ilerleyen venlerin mediastenden gelen küçük venlerle ve vas deferens venleri ile birleşerek testis dışında “*plexus pampiniformis*”i meydana getirmesi ile sağlanır. Çoğunlukla internal ring seviyesinde bu venler birleşerek testiküler veni oluştururlar (30). Sağ testiküler ven, sağ renal venin altından vena kava inferiora dökülürken, sol testiküler ven ise sol böbrek venine dökülür.

Lenfatik drenaj interlobülerden başlayan 4-8 arası lenf damarının spermatik kord içinden geçerek paraaortik, interaortokaval ve perikaval lenf nodlarına dökülmesiyle sağlanır (28).

Testisin parasempatik inervasyonu N. Vagustan oluşmaktadır. Sempatik inervasyon ise T10-11 medulla spinalis segmentinden çıkan postganglionik, visseral afferent liflerin a. testicularis etrafındaki pleksuslerle testise ulaşımıyla sağlanır (25).



Şekil 3: Erkek genital sistemi

2-3 TESTİS HİSTOLOJİSİ

Erkek genital sistemi; androjenleri salgılayan testisler ile sperm üreten, dışarıya sorumlu olan dış kanallar sistemini oluşturan epididimis, duktus deferens, ejakülatuar kanal ve erkek üretrasının bir parçasından, salgıları semen kitlesini oluşturan ve ejaküle spermatozoaya besinler sağlayan seminal vezikül, prostat bezi ve bulboüretal bezlerden ve penisten meydana gelir (31).

Testisler ekzokrin ve endokrin fonksiyonları sayesinde, fetal hayatta androjenlerin üretiminde, pubertede testesteron salgısı sperm üretimi ve sekonder seks karakterlerinin oluşmasında, yetişkin hayatta ise sperm üretiminin devamı ile sekonder seks karakterlerinin korunmasında rol oynarlar.

Her testis tunika vajinalisin altında yer alan sıkı bir bağ dokusu olan tunika albuginea ile sarılmıştır. Tunika albuginea testisin arka yüzünde kalınlaşarak mediastinum testisi oluşturur ve bezin içine giren fibröz uzantılar sayesinde bezi testiküler lobüller denilen bir biri ile ilişkili yaklaşık 250 adet bölmeye ayırır. Bu lobüllerin her birinde 1-4 arası seminifer tübül ve interstisyel hücreler (Leydig hücreleri) bulunur. Seminifer tübüller erkek üreme hücreleri olan spermatozoonları üretir. Leydig hücreleri testiküler androjenleri salgılar.

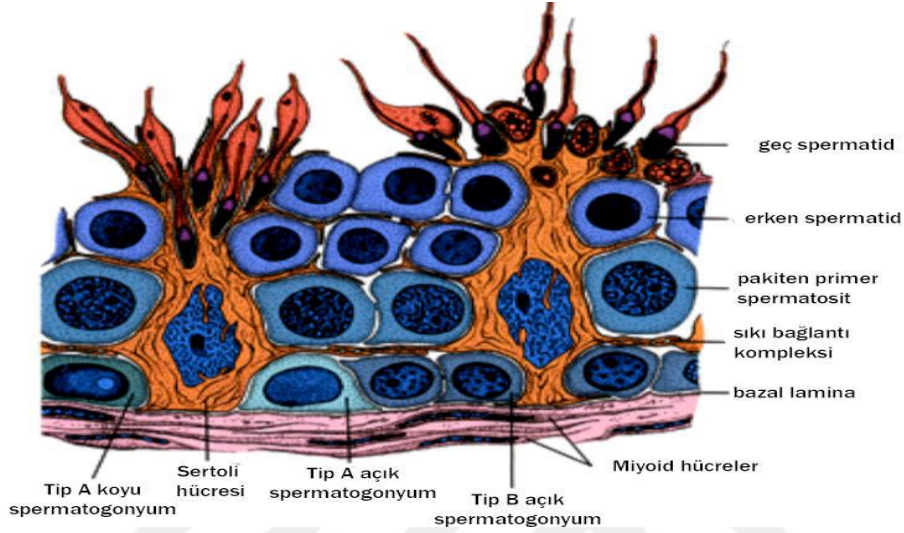
Testiste yaklaşık 250-1000 seminifer tübül bulunur. Seminifer tübül sonlanırken lumeni daralır ve düz tübüller veya tübüli rekti adıyla bilinen kısa segmentler halinde devam eder. Bu düz tübüller, seminifer tübüllerin rete testis denilen, epitel ile döşeli kanalların oluşturduğu bir labirentte bağlanmasını sağlar. Mediastinumun bağ dokusunda bulunan rete testis, duktuli efferentes ile epididimisin baş kısmına bağlanmıştır (32-34).

Seminifer tübüller iki farklı hücre tipinden oluşan myoid hücreleride içeren bağ dokunun çevrelediği, belirgin bir bazal membran ile interstisyumdan ayrılan çok katlı epiteldir (32). Destek hücreleri olarak bilinen puberteden sonra çoğalma özelliğini kaybeden Sertoli hücreleri ile birkaç bölünmeyle farklılaşarak matür sperme dönüşecek olan spermatogenik hücrelerden oluşur (35) (Şekil 4). Sertoli hücreleri spermatozoonların desteklenmesi, korunması ve beslenmelerinin düzenlenmesi, fagositoz, sekresyon, Anti-Müllerian Hormon (AMH) üretimi gibi görevlere sahiptir. Follikül stimulan hormon (FSH) etkisi ile testosteron ve dihidroepitesterona yüksek afinitesi olan androjen bağlayıcı protein (ABP) Sertoli hücreleri tarafından sentezlenir. Ayrıca sertoli hücreleri salgıladıkları aktivin ve inhibin ile FSH üzerine olumlu ve olumsuz geri bildirimde (feedback) bulunurlar (33). Pubertede kan testis bariyerini oluşturan sertoli hücreleri arasında sıkı bağlantı kompleksleri oluşur (33). Bu sayede kandan gelen maddelerin lümen içerisine geçişi önlenir (34). Fagositoz kapasiteleri dışında bu hücreler spermatogenezin düzenlenmesinde rol alan androjen bağlayıcı protein, transferrin, büyüme hormonu, seruloplazmin gibi pek çok maddenin sentezini de yaparlar (33). Spermatogonya en immatur spermatogenik hücre olup bazal laminada yer alırken en olgun hücre olan spermatidler en üstte tübül lümeni kenarındadırlar (34).

Spermatogonyumdan spermatozoon oluşumu her biri 16 ± 1 gün olan 4 siklustan ortalama olarak 64 günde oluşmakta olup her tübülde aynı anda değildir. Bazal membranda bulunan spermatogonium A kök hücreleri oluştururken, spermatogonium B mitoz ile bölünerek primer spermatositlere dönüşür devamında da mayoz bölünme ile sekonder spermatositleri oluştururlar. Sekonder spermatositler ikinci bir mayoz bölünmeyle haploid spermatidlere dönüşürler. Haploid spermatidler ise spermatozoonları oluştururlar (34).

Testisin % 30-35'ini oluşturan interstisyel dokuda Leydig hücreleri, fibroblast, makrofajlar, mast hücreleri, kan damarları, sinirler ve lenfatikler bulunur. Testiküler kapillerler kan proteinleri gibi makromoleküllerin rahatça geçişine izin verecek şekilde pencerelidir. Testosteron sentezleyen Leydig hücrelerinin aktivite ve miktarları hormon

bağımlıdır. Kolesterolde sentezlenen testosteronun % 65'i androjen bağlayıcı protein olan beta globülin ile % 33'ü ise albumine bağlı olarak hedef organa taşınır (33). Fetal hayatta anne kaynaklı plasental gonadotropik hormonun fetusa geçmesiyle androjenik hormonlar interstisyel hücrelerde sentezlenerek erkek genital organ gelişimini gebeliğin 18. haftasına kadar uyarır. Bu haftadan sonra puberte dönemindeki hipofizden salınan Luteinizan Hormon uyarımına kadar testosteron sentezi durur ve Leydig hücreleri dinlenmeye geçer (34).



Şekil 4: Seminifer tübülün bir parçası. Seminifer epitel 2 tip hücreden oluşmuştur: Spermatogenez seri hücreleri ve destek ya da Sertoli hücreleri.

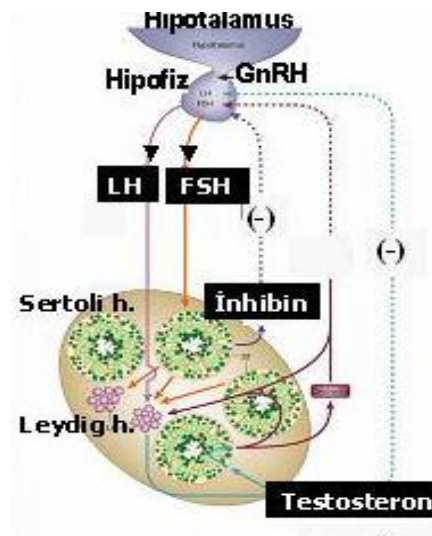
2-4 FSH, LH VE TESTOSTERONUN TESTİS ÜZERİNE ETKİSİ

Spermin testisler tarafından üretimi, hipotalamus-hipofiz-gonadlar ekseninin tam fonksiyon görmesini gerektirir. Hipotalamik nörosekretuar hücreler peptid yapıdaki gonadotropin-releasing hormonu (GnRH) üretirler. GnRH 70-90 dakikada bir salgılanarak hipofiz bezine ulaşır. Anterior Hipofiz bölgesindeki hücrelerin (gonadotropinler) uyarılması ile follikül stimüle edici hormon (FSH) ve luteinize edici hormon (LH) salgılanır. Gonadotropinler dolaşım ile testislere ulaşır ve özeleşmiş hücre yüzey reseptörlerine bağlanır. Leydig hücreleri interstisyel testis dokusunda yer alır. LH, Leydig hücrelerinin yüzey reseptörlerine tutunarak hücre içi döngüsel adenosin monofosfat (cAMP) seviyesinin artışına yol açar. Bunun sonucunda Leydig hücrelerinden testosteron üretimi olur. Spermatidlerden olgun spermin oluşması (spermiyogenez) FSH olmadan gerçekleşmezken, spermatogenezin başlaması testosteron gerektirir (36). Follikül uyarıcı hormon, testiste yumurtalığın ve spermatogenez foliküllerinin gelişmesinde önemli rol oynar (37).

Testosteron insan vücudunun en önemli androjenik hormonudur. Ergenlik sırasında erkek bedenindeki ikincil cinsiyet karakterlerinin gelişimi, fizyolojik değişiklikler, libido ve sperm olgunlaşması, puberteyle birlikte yetişkin erkeklerin yaşamı boyunca sperm üretimi ve seks gücünün korunmasında rol alan en önemli hormondur (38). FSH ve LH gonadları uyaran glikoprotein yapıdaki hormonlardır. Hipotalamus ve Hipofiz, Leydig hücrelerindeki testosteron sentezi ve seminifer tübüllerdeki spermatogenez gibi testislerdeki gonadal fonksiyonları uyarır. Testiste aromataz aktivitesi primer olarak Leydig ve Sertoli hücrelerinde lokalizedir. Artmış östradiol hipofiz'deki LH ve / veya FSH sekresyonunu azaltarak veya direkt testosteron sentezini inhibe ederek spermatogenezini bozabilmektedir. (39,40) (Şekil 5)

Seminifer tübüllerde bulunan Sertoli hücreleri FSH ile bağlanan hücre yüzey reseptörlerine sahiptir. Bu bağlanma spermatogenezin tamamlanmasını sağlar. Testosteron pasif bir şekilde dolaşımı hipotalamik hipofizden LH salgılanmasında bir negatif feedbacke yolaçar. Hipofiz gonadotropları inhibin için özel reseptörlere sahiptirler. Bu hormonun bağlanması, FSH salgılanmasını inhibe eder. Normal fonksiyon gören hipotalamik - hipofiz-gonadal eksen ve normal spermatogenezde gonadotropin ve hormon seviyeleri tam olarak regüle edilir.

Hipotalamus ve Hipofiz fonksiyon bozukluklarında FSH, LH ve testosteron seviyelerinde azalma görülür. Bu durumda testislerde uyarı eksikliği, azalmış sperm üretimi ve küçük testise yol açar. Diğer yandan Sertoli ve Leydig hücrelerinin yetersiz fonksiyon görmesi, hipofize negatif feedback'i ortadan kaldırır ve primer testiküler yetersizlik ile birlikte görülen artmış ,FSH ve LH seviyelerinde artış görülür . (36)

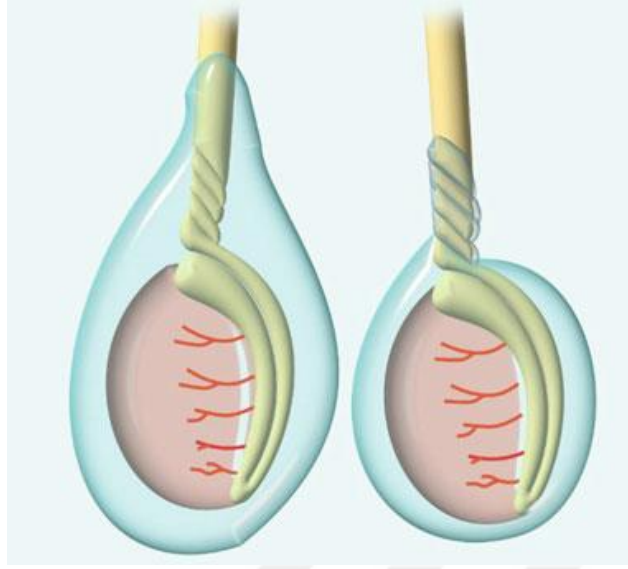


ŞEKİL 5: Testosteron, FSH ve LH'nin erkek üreme sistemi üzerine etkisi.

2-5 TESTİS TORSİYONU

İlk defa Hunter tarafından tariflenen testis torsiyonu; spermatik kord ve yapılarının kendi eksenini etrafında dönmesi ile oluşan ve acil tedavi edilmemesi halinde testis nekrozu ile sonuçlanan bir durumdur (41,42). Testis torsiyonunda iskemi ve reperfüzyon hasarına bağlı olarak tedavide gecikme olması halinde testiküler atrofi, endokrin fonksiyonlarda azalma, sperm sayısında azalma, sperm morfolojisinde değişiklikler ve infertilite gelişebilir (43,44). Testis torsiyonu akut skrotal patolojilerin %10-15 inden sorumludur. Daha çok yenidoğan ve pubertal yaş dönemlerinde pik yapmaktadır. Testis torsiyonuna bağlı olarak ilk dört saatte testiküler hasar ve nekroz gelişebilmekte, testis torsiyonu %42 oranında orşiektomi ile sonuçlanmaktadır (33,45,46). Görülme sıklığı yapılan çalışmalarda farklı belirtilmekle beraber 18 yaş altında insidansı 3,8/100000 (47). 25 yaş altında ise 1/4000 oranındadır (48).

Testis torsiyonu ekstravajinal, intravajinal ve testis eklerinin torsiyonu olmak üzere 3 ayrı tiptedir (49, 10) (Şekil 6). Antenatal ve erken postnatal dönemde görülen kord ve tunika vajinalisin beraber torsiyone olduğu ekstravajinal torsiyonun etiyojisi net değildir. Yenidoğan döneminde testiküler fiksasyonun oluşmadığı ilk 7-10 günlük dönem ile inmemiş testisi olan hastalarda daha sık gözlemlenir (50). Testis torsiyonlarının %10'u yenidoğanlarda görülmektedir. Yenidoğan torsiyonlarının %92'si ekstravajinal % 8'i intravajinaldır (50). Antenatal dönemde oluşan torsiyonun tanısı doğumdan sonra konulabileceği için testis kurtarılamaz. Doğum sonrası oluşan testis torsiyonunda ise skrotal şişlik gözlenir. Testis genelde inguinal kanaldadır (49). Prognozu oldukça kötü olup testisin kurtarılabilme oranı %9 dur (52). İntravajinal torsiyon ise tunika vajinalis ile spermatik kordun yapıştığı bölgenin distalinde torsiyon gelişmesidir (49). Genelde çocuklarda ve yetişkinlerde gözlenir, en sık görülen torsiyondur. Sıklıkla ergenlik döneminde görülen çan tokmagı (bell clapper deformitesi) varyantı intravajinal torsiyondan sorumlu tutulmaktadır. Tunikal kavite içinde tunika vajinalis yokluğuna bağlı serbest olarak hareket eden kord kendi eksenini etrafında döner. Testis eklerinin yani embriyolojik kalıntılar olan appendiks epididimis ve appendiks testisin torsiyonu genelde 16 yaş üzeri erkeklerde gözlenir. Akut skrotum kliniği ile başvuran hastalarda epididim veya appendiks testis bölgesinde kitle ele gelmesi patognomoniktir (51,52). Testis normal olarak palpe edilirken ekler ödemli ve şiştir. Enflame ve ödemli appendiks testis ciltte mavi nokta (blue dot) bulgusu olarak görünür (52). Appendiks testis torsiyonunun klasik bulgusu olan mavi nokta bulgusu %10-23 hastada gözlenir.



Şekil 6: Testis torsiyonu tipleri; sol testis intravajinal, sağ testis ektravajinal

Akut başlangıçlı ve gittikçe artan şiddetli testiküler ağrı hastalarda en bariz semptom olmakla birlikte bu ağrıya bulantı, kusma, nonspesifik karın ağrısı ve ateş eşlik edebilir. Genellikle tek taraflı olmakla beraber % 2 bilateralidir. Fizik muayenede torsiyon tarafındaki ciltte ısı artışı, hassasiyet, endurasyon ve eritomatöz görünüm gelişebilir. Torsiyonun zamanına ve testisin kaç tur döndüğüne bağlı olarak bu bulgular değişebilir. Kremasterik refleks uylugun medialine dokunma sonrasında aynı taraf testisin yukarıya inguinal kanala doğru yer değiştirmesidir. Kremasterik refleks kaybı testis torsiyonu tanısında % 100 sensitivite ve % 66 spesifiteye sahip basit bir testtir (52,53) ancak çocuklarda güvenilir değildir.

Ayırıcı tanıda epididimoorşit, appendiks testis torsiyonu, strangüle herni, idyopatik skrotal ödem, akut hidrosel, travmatik hematoma, akut varikosel, Henoch schönlein purpurası, skrotal yağ nekrozu, lösemik testiküler infiltrasyonlar gibi hastalıklar akılda tutulmalıdır. Ağrının daha yavaş başlaması ve mavi nokta bulgusu apendiks testis torsiyonu lehinedir. Hastaya bağlı olarak değişmekle birlikte ağrı testis torsiyonunda epididimoorşitten daha fazladır. Epididimoorşitte pollakuri, dizüri ve idrar tahlilinde enfeksiyon bulgusu olması ayırıcı tanıda yardımcıdır (54,55).

Testis torsiyonunun tanısında anamnez ve fizik muayene baz alınmalıdır. Anamnez ve fizik muayene testis torsiyonu ile uyumlu hastalarda yapılacak laboratuvar testlerinin özel

bir yeri olmayıp tanıda skrotal doppler ultrasonografi % 88 sensitivite, % 98 spesivite ve % 1 yanlış negatiflik oranı ile büyük katkı sağlamaktadır. Ancak testis boyutunun küçük olduğu hastalarda ve deneyimsiz radyologların doppler usg yapması yanıltıcı sonuçlar verebilir. Sintigrafi ve manyetik rezonans görüntüleme tetkikleri de benzer sensitivite ve spesifite değerleri ile tanıya yardımcı olabilecek diğer testler olmakla birlikte testis torsiyonu gerçek bir acil olup kaybedecek zaman olmadığından pratikte kullanılmazlar (55). Testis torsiyonuna yönelik kuvvetli fizik muayene ve anamnez varlığında scrotal doppler ultrasonografi sonucunda testiste kanlanma görülse bile skrotal eksplorasyon yapılmalıdır (56-58). Tedavi iskemide uğramış testiküler kan akımının en kısa sürede cerrahi ile düzeltilmesidir.

Cerrahi tedavide başarıyı testis torsiyonunun süresi ve torsiyonun derecesi belirlemektedir. Semptomlar ortaya çıktıktan sonraki ilk 6 saatte yapılan cerrahide başarı oranı % 90-100, 12 saatten sonra yapılan cerrahide % 50, 24 saatten sonra yapılan cerrahide ise % 10 olarak saptanmıştır (59,60). Torsiyone testis canlı görünmekte ise orşiopeksi, eğer testis tamamen nekrotik ise orşiektomi ve beraberinde kontralateral orşiopeksi yapılır. Deneyisel olarak torsiyone olmuş bir testis varlığında karşı testisin kan testis bariyerinin immünolojik mekanizmalara bağlı olarak etkilendiği gösterilmiştir. Karşı taraf kan testis bariyeri zedelenerek kendi spermatogoniumlarına otoimmünize olmaktadır (61). Literatürdeki orşiektomi oranları %39 ile %71 arasında geniş bir orandadır. Orşiektomi ve testis detorsiyonu + orşiopeksi sonrasındaki karşılaştırmada semen kalitesi benzer bulunmuş fakat orşiektomi yapılan grupta semen morfolojisi daha iyi saptanmıştır (62-64).

2-6 TESTİS TORSİYONU; İSKEMİ VE REPERFÜZYON SÜRECİ

İskemi; dokudaki kan akımının hücresel fonksiyonları karşılamak için gerekli olan düzeyin altına düşmesi ve yine bu süreçte dokuda oluşan atık ürünlerin dolaşım tarafından uzaklaştırılamamasıdır. Hasarın derecesi hipoksinin derinliği ve süresine bağlı olarak değişir. Geri dönüşümlü evrede müdahale edilmemesi durumunda hücre ölümü ile sonuçlanabilir (61, 65). İskemi sonrası dokuda kan akımının tekrar başlaması reperfüzyon olarak adlandırılır. İskemik organa geri dönüşümlü evrede kan akımının tekrar sağlanması hasarlanmayı önler, kaybolan hücre fonksiyonları geri kazanılır, fakat oluşan serbest oksijen radikallerine ve kandaki aktive edilmiş kan hücrelerine bağlı olarak “ reperfüzyon hasarı ” oluşur (66). İskemi, hücresel oksidatif fosforilasyonu azaltır ve adenosin trifosfat (ATP), fosfokreatin gibi enerjiden zengin fosfatların depolarında yetmezlik oluşur. İskemide enerji eksikliğine bağlı

olarak asidoz, ATP yıkım ürünlerinin birikmesi, makromolekül sentezinin durması, iyon dengesinde bozulma gibi olaylar gelişir. İskemi proenflamatuvar durumu uyararak lökosit adezyon molekülleri, sitokinler, endotelin, tromboksan A2 gibi mediatörlerin salınmasına neden olur (65,66).

Hipokside aerobik solunum aksayarak oksidatif fosforilasyon engellenir. Adenozin trifosfat ve ATPaz aktivitesinin üretimi azalır veya tamamen sona erer. Hücre zarında bulunan aktif sodyum pompası yetersizliği gelişerek hücre içinde sodyum birikimi oluşur. Hücre içi potasyum dışarı atılır ve ardından difüzyonla su hücre içine girer ve hücre sel şişme meydana gelir. Hücre sel şişmenin bir diğer nedeniyse katabolitlerin birikimidir. Enerji metabolizması bu süreç içerisinde glikoza bağımlı hale gelir. Glikojen depoları hızla azalır. Glikoliz sürecinde laktik asit ve fosfat türevlerinin hidrolizi ile inorganik fosfatlar birikir ve hücre içi pH düşerek asidoza neden olur. Protein sentezi azalır. Hipoksinin devamı halinde membran geçirgenliği artar ve mitokondri fonksiyonları yavaşlar ve hücre şişer, bu aşamaya kadar olaylar geri dönüşümlüdür. Bu geridönüşümlü süreye tolerans süresi denir (67).

Mitokondri ve kristalarda aşırı vakuolizasyon ile beraber plazma zarında aşırı zedelenme sonrasında geri dönüşümsüz hücre zedelenmesi başlar. Hücre için gerekli yaşamsal elemanlar hücre zarından hücre dışına çıkarak kaybolur. Hücre içi asidoz, lizozom zarlarının zedelenmesi ve lizozomal enzimlerin sitoplazmaya geçerek asit hidrolazları aktiflemesine bağlı, çekirdek ve sitoplazma yapıları sindirilir. Mitokondri fonksiyon bozukluğu, membran fosfolipidlerinin giderek artan kaybı, hücre iskeletindeki değişimler, serbest oksijen radikalleri (SOR), lipid yıkım ürünleri, hücre içi aminoasitlerin kaybı membran zedelenmesinin nedenleri arasında düşünülmektedir. Membran zedelenmesine bağlı olarak hücreler arası mesafeden hücre içine doğru kalsiyum (Ca^{+2}) tutulumu olur. Tutulan Ca^{+2} hücre sel enzimleri inhibe ve proteinleri denature eder, sonuçta koagülasyon nekrozu oluşur. İskemi sonucunda artan SOR kan akımı düzeldikten sonra reperfüzyon zedelenmesine yol açar. Reperfüzyon oluşmazsa, öldürücü iskemik zedelenme gelişir fakat toksik SOR oluşmaz. Reperfüzyon sırasında iskemik alanda toplanan nötrofil ve trombositlerin aktivasyonu, hücre içi Ca^{+2} birikimi ile oluşan mikrovasküler hasar dokudaki zedelenmenin nedenidir. Toksik oksijen türevlerinin büyük ölçüde iskemik alan da toplanan polimorf nüveli lökositler tarafından yapıldığı düşünülmektedir (67,68).

2-7 İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA PATOFİZYOLOJİ

Endotelin hasar görmesine bağlı olarak nötrofil ve trombosit aktivasyonu gelişir. Kemotaktik faktörler salgılanarak kompleman 3a ve 5a nötrofillerin bölgeye diapedezini gerçekleştirir. Nötrofiller serbest oksijen radikalleri üretir. SOR antiproteazları inaktive ederek lizozomlardan proteolitik enzimler salınmasına yolaçar (67).

Serbest oksijen radikalleri; reperfüzyon sonrası üretilen radikal olmayan moleküller ile reaksiyona girerek çok sayıda reaksiyonu başlatır. SOR üzerinde bulunan paylaşılmamış elektrona bağlı olarak nükleik asit, protein, karbonhidrat, lipid gibi çeşitli makromoleküllerin oksidatif hasarına neden olur (68).

Kalsiyum; ciddi doku hasarı gelişiminin en önemli nedenidir. İskemide, hücre membran hasarı ve gradient farkı nedeniyle Ca^{+2} hücre içine girer. Dışarıdan Ca^{+2} girişinin yanı sıra, endoplazmik retikulum da iskemi reperfüzyon hasarında içerdiği Ca^{+2} yı sitoplazmaya bırakır. Artan hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonu ATPaz enzimini inaktive eder. İskemi nedeniyle azalmış olan ATP depoları daha da boşalır. Litik fonksiyonları olan birçok enzimin Ca^{+2} tarafından aktive edilmesiyle hücre yıkımı başlar. Fosfolipaz tarafından membran lipidlerinin parçalanmasına bağlı hücre bütünlüğü bozulur. İskemi sonrasında endotel ve hücre zarı fonksiyonlarının bozulması ile intrasellüler ve ekstrasellüler ödem görülür. Ödeme bağlı kapiller damar lümeni daralır ve reperfüzyon olsa da mikrosirkülasyonda yetersizlikler meydana gelir. Reperfüzyon ile iskemide bozulmuş mikrosirkülasyonun tam olarak düzeltilememesine “no-reflow” olayı denir (67-69).

2-7-1 İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA NİTRİT OKSİT VE İNDUCİBLE NİTRİT OKSİT SENTAZ

Testislerdeki spermatogenik sürecin başlaması ve germ hücrelerinin gelişiminde birçok hücrel mekanizma rol alır. Bu moleküllerden bazıları sitokinlerden interlökin-1a (IL-1a), interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekrozis faktör a (TNF-a) olup bunun yanı sıra inflamasyon ve immünitenin protein karakterli olmayan düzenleyicilerinden nitrik oksit (NO) de bu gruba dahil edilebilir (66-68).

Otokrin ve parakrin etkileriyle nitrik oksit kardiyovasküler sistem, immün sistem, sinir sistemi gibi birçok sistemde biyolojik olarak işlem gören kısa ömürlü bir serbest radikaldir. NOS konstitütif ve indüklenabilir olmak üzere iki tiptir. Konstitütif formu endotelyal ve nöronal olmak üzere ikiye ayrılır ve kalsiyum/kalmodulin bağımlıdır. Üretildiği yerden başka yerlerde aktivite gösterebilmesi, küçük molekül boyutu ve difüzyon özelliğinden dolayı birçok mekanizma da oldukça etkilidir. 1 µm'den daha az seviyelerde düzenleyici molekül görevi üstlenen NO yüksek seviyelerde serbest radikallerin oluşumu yoluyla DNA, protein ve lipitlerde hasara neden olabilir (68-70). iNOS; normal şartlar altında bulunmaz. İnflamasyon veya enfeksiyon durumlarında sitokinler veya endotoksinler tarafından indüklenir ve uzun dönemde bol miktarda üretilir. iNOS hepatositler, makrofajlar, nötrofiller, düz kas hücreleri, kondrositler gibi birçok hücre tipinde indüklenabilir (71). iNOS vasıtasıyla oluşturulan NO, antimikrobiyal aktiviteye sahiptir ve bu nedenle nonspesifik konak savunma sisteminin önemli bir parçasıdır. Reperfüzyon döneminde NO miktarı artmaktadır (70-73).

NO ayrıca spermatogenezis sürecinde germ hücrelerindeki apoptozisi regüle eder. iNOS ile artan NO üretiminin ratlarda nekrotik veya apoptotik germ hücre ölümüne yol açtığı gösterilmiştir (72). Aşırı NO seviyesinin, doğrudan germ hücre apoptozisini tetiklediği bildirilmiştir (70). NO arjininden nitrik oksit sentazlar (NOS) üzerinden sentezlenir. NOS L-arjininden, NO ve L-citrulline döngüsünü katalizleyen enzim ailesidir. NOS'lar testislerde infertilite, spermatogenezis ve sperm maturasyonu ile ilişkilidir (70). NO; motilite, akrozom reaksiyonu, zona pellusidaya bağlanma ve apoptozis için gerekli moleküler olayların düzenlenmesinde rol oynar (71-76).

3- MATERYALVE METOD

3.1. MATERYAL

10-6-2016 tarih ve A-82 protokol nosu ile İnönü Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurul onayı alındı. Çalışmada 250-350 gr ağırlığında 98 adet wistar albino rat kullanıldı. İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma merkezinden temin edilen hayvanlar sabit oda sıcaklığı ve nem ortamında 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık standart laboratuvar şartlarında uygun kafeslerde, şehir suyu ve standart yem ile beslendiler. Hayvanlara uygulanan cerrahi işlemler steril şartlarda ve intramusküler olarak uygulanan 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) ve 10 mg/kg Xylazine hidroklorür (Alfazyne %2, Ege Vet, Türkiye) ile genel anestezi altında gerçekleştirildi. Genel anesteziye ek başka hiçbir ilaç verilmedi.

3.1.1 DENEY GRUPLARI

Çalışmada kullanılacak denek sayıları yapılan power analiz sonucunda çalışma esnasında denek kaybı riskinden dolayı her grupta 14 adet denek rastlantısal olarak seçildi. Çalışma sırasında ölen hiçbir hayvan yerine ekleme yapılmadı.

Grup 1: Kontrol grubu

Grup 2: Detorsiyon sonrası 1 gün takip edilen grup

Grup 3: Orşiektomi sonrası 1 gün takip edilen grup

Grup 4: Detorsiyon sonrası 3 ay takip edilen grup

Grup 5: Orşiektomi sonrası 3 ay takip edilen grup

Grup 6: Detorsiyon sonrası 6 ay takip edilen grup

Grup 7: Orşiektomi sonrası 6 ay takip edilen grup

3.2 METOD

3.2.1 TORSİYON MODELİ OLUŞTURMA

İşlem öncesi bütün ratlar 50 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg xylazine kombinasyonu intramusküler uygulanması ile sedatize edildi. Sirkadiyen ritim göz önüne alınarak cerrahi işlemler hep aynı saat aralığında sabah 9:00-10:00 saatlerinde ve aynı çalışanlarca uygulandı. Skrotum üzerinden yapılan sol vertikal insizyon ile testise ulaşıldı ve testis vasküler yapılarıyla birlikte çıkartıldı. 720 derece saat yönünde testis torsiyonu yapılarak detorsiyon oluşmaması için 2 adet 4/0 ipek sütür ile fiksasyon yapıldı, 3/0 ipek ile skrotum kapatıldı (Resim 1). İşlemden 4 saat sonra sütürler açılarak detorsiyon yapıldı. Detorsiyon ve fiksasyon planlanan tüm gruplarda detorsiyon sonrası testisler tekrar 4/0 vicril ile fikse edildi. Orşiektomi planlanan gruplarda testisler orşiektomi sonrası spesmen olarak %10 formol içeren çözeltiye kondu (Resim 2). Detorsiyon+fiksasyon grubu ile orşiektomi yapılan gruplar 24 saat, ikinci bir detorsiyon+fiksasyon grubu ile orşiektomi grupları 3 ay ve diğer orşiektomi ve detorsiyon+fiksasyon grupları 6 ay gözlemlendi. Süre sonlarında 50 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg xylazine kombinasyonu ile anestezi verilerek testisler % 10 formol içeren patoloji kaplarına alındı. Akabinde tüm hayvanlardan intrakardiyak kan alınarak hormon tüplerine yerleştirildi ve sonrasında hayvanlar sakrifiye edilerek deneyin cerrahi aşaması sonlandırıldı.



Resim 1: Sol torsiyone testis modeli



Resim 2: Testis torsiyonu sonrası 1. gün orşiektomi yapılan grubun karşı testisi

3.2.2 BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER: FSH, LH, TESTOSTERON ÖLÇÜMLERİ

Çalışmada; özgül antikor kullanılarak örnekteki antijen miktarı, özgül antijen kullanarak örnekteki antikor miktarının ölçülebildiği immunokimyasal bir ölçüm tekniği olan ELİSA (Enzyme Linked İmmuno Sorbent Assay) yöntemi kullanıldı. LH, FSH ve total Testosteron rat uyumlu hazır kitle çalışıldı. Anestezi altındaki ratlardan enjektör yardımıyla intrakardiyak kan örnekleri alınarak, cam tüpler içerisine konuldu. Bu örnekler 3000 rpm'' de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Ayrılan serumlar pasteur pipet ile çekilerek ependorf tüplerine alındı ve incelenmek üzere -20 °C'de derin dondurucuda bekletildi.

Serum örnekleri oda ısısında bekletilerek çalışma periyoduna getirildi ve İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında Plazma FSH, LH, Testosteron düzeyleri ELISA kitleri kullanılarak kit prosedürlerine uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar ELX800 ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm'de okutuldu. Plate yıkamalarında Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) otomatik yıkayıcı kullanıldı. FSH ve LH sonuçları IU/L olarak, Testosteron sonuçları ise pg/ml olarak belirtildi.

3.2.3 HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Ratlardan alınan testis dokularının ağırlıkları hassas terazide ölçüldükten sonra %10 luk formaldehitte tespit edildi. Testisler boyuna olacak şekilde ortadan iki eşit parçaya bölündü ve kasetlere alındı. Rutin doku takip işlemlerinin arkasından, dokular parafine gömüldü. Leica RM2255 marka mikrotomu ile parafin bloklardan her lam üzerinde 2 kesit olacak şekilde 5µm'lik seri kesitler alındı. Kesitler 60 °C'lik etüvde deparafinize edildikten sonra rutin Hematoksilen&Eozin (H&E) boyama yöntemi uygulandı. Her kesitten 20 adet seminifer tübül değerlendirilerek seminifer tübül çapı ve ortalama Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru hesaplandı (8). Seminifer tübül çapları oküler mikrometre ile ölçüldü ve ortalama tubul çapı µm olarak ifade edildi. Hazırlanan H&E kesitler Olympus BX-53 ışık mikroskopta değerlendirilip, Olympus DP-70 dijital kamerada fotoğraf çekimleri yapıldı.

Johnsen Skoru;

1: Seminifer tubulus içinde hiç hücre yok

2: Germ hücresi yok, sadece Sertoli hücresi var

- 3: Germ hücre olarak sadece spermatogonia var
- 4: Spermatozoa yok, spermatid yok, spermatosit 5'den az
- 5: Spermatozoa yok, spermatid yok, spermatosit var
- 6: Spermatozoa yok, spermatid 10'dan az
- 7: Spermatozoa yok, çok sayıda spermatid var
- 8: Germinal epitel çok sıralı ancak lümende 10'dan az spermatozoa var
- 9: Germinal epitel disorganize ve lümene doğru yığılma, spermatozoa var
- 10: Germinal epitel çok sıralı, çok sayıda spermatozoa var

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME; Formalin tespitli, parafine gömülü dokulardan hazırlanan 5 µm kalınlıkta kesitler hazırlandı. Doku kesitleri, polilizinli lamalara alındı. Kesitlerin lam üzerine tam olarak adezyonu ve deparafinizasyonu için lamalar 60°C sıcaklıkta etüvde bekletildi. İmmünohistokimyasal boyama süreci tam otomatize immünohistokimya boyama cihazında (Ventana BenchMark Ultra, Ventana Medical Systems, Tucson, AZ) gerçekleştirildi. Boyama işlemleri sırasında cihaza uygun biyotinsiz, HRP multimer bazlı hidrojen peroksit substrat ve 3,3'-diaminobenzidin tetrahidroklorit (DAB) kromojeni içeren hazır kit (ultraView™ Universal DAB Detection Kit, Ventana Medical Systems, Tucson, AZ) ve iNOS (Ab-1, ThermoScientific, 1/100) primer antikorları kullanıldı. Zıt boyanma, Mayers hematoxilen ile boyama cihazında yapıldı. Kesitler dehidratasyonu takiben slide kapama cihazında (Leica CV 5030) lamel ile kapatılarak ışık mikroskopunda değerlendirmeye elverişli hale geldi. Pozitif kontrol olarak akciğer parankim dokusuna ait kesitler kullanıldı ve çalışma olgularıyla birlikte boyandı.

İmmünohistokimyasal olarak iNOS boyanma derecesi 0'dan 3'e kadar semikantitatif olarak derecelendirildi; Boyanma yoksa 0, hafif boyanma 1, orta şiddette boyanma 2, kuvvetli boyanma 3 olarak skorlandı.

3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Veriler ortanca (min-maks.) ve sayı (yüzde) ile özetlendi. Sayısal değişkenler için normallik sınamaları Shapiro-Wilk testi ile yapıldı. Pearson ki-kare, Mann-Whitney U ve Friedman testleri uygun yerlerde kullanıldı. $P < 0.05$ istatistiksel anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi. Analizlerde IBM SPSS Statistics 22 paket programı kullanıldı.

4- BULGULAR

Gruplara göre testis ağırlıkları Tablo1 de görülmektedir.

	İpsilateral (g)	Kontralateral (g)
Grup 1; kontrol	1,98±0,24	2,19±0,35
Grup 2; 1. gün detorsiyon	1,99±0,23	2,24±0,33
Grup 3; 1. gün orşiektomi	1,98±0,26	2,17±0,28
Grup 4; 3. ay detorsiyon	0,72±0,34*	1,85±0,26
Grup 5; 3.ay orşiektomi		1,86±0,28
Grup 6; 6.ay detorsiyon	0,87±0,36*	2,03±0,20
Grup 7; 6. ay orşiektomi		2,24±0,33

Tablo 1: Testis ağırlıkları

*p<0.05; Diğer grupların ipsilateral testislerinden anlamlı derecede düşük

3 ve 6 aylık detorsiyon+fiksasyon gruplarının ipsilateral testislerinin ağırlıkları diğer gruplardan anlamlı derecede azalmıştı (p<0.05). Kontralateral testis ağırlıkları kendi aralarında karşılaştırıldığında ise gruplar arasında anlamlı farklılıklar yoktu (p>0.05).

4-1 BİYOKİMYASAL SONUÇLAR

1. günün sonunda biyokimya sonuçları; Alınan kanların laboratuvar ortamı incelemeleri sırasında 1. gün orşiektomi yapılan grupta iki tüpün kapağında açılma olmuş ve bu tüplerden bir tanesinde yeterli kan miktarına ulaşılamamıştır. Orşiektomi ve detorsiyon+fiksasyon uygulanan ratlar arasında 1. gün alınan hormon değerlerinde kontrol grubuna göre ve bu iki grubun kendi aralarında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p>0.05) (Tablo 2).

3. ayın sonunda biyokimya sonuçları; detorsiyon yapılan grupta FSH, LH ve Testosteron düzeyleri orşiektomi grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük olarak bulunmuştur (p<0.05) (Tablo 2).

6. ayın sonunda biyokimya sonuçları; her iki grup kendi aralarında ve kontrol grubu ile kıyaslandığında FSH ve LH değerleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$). 6 aylık orşiektomi grubunun testosteron düzeyleri diğer grupların testosteron düzeylerinden yüksek olmakla birlikte bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$)(Tablo 2).

Grupların ortalama FSH, LH ve Testosteron düzeyleri Tablo 2 de gösterilmiştir.

	FSH (IU/L)	LH (IU/L)	Testosteron (pg/mL)
Grup 1; Kontrol	14,01	17,93	580,32
Grup 2; 1. gün detorsiyon	14,69	18,40	562,84
Grup 3; 1. gün orşiektomi	13,77	17,78	644,51
Grup 4; 3. ay detorsiyon	11,05*	15,01*	403,34*
Grup 5; 3. ay orşiektomi	14,30	20,36	647,86
Grup 4; 6. ay detorsiyon	15,09	16,04	598,29
Grup 5; 6. ay orşiektomi	13,86	18,39	807,13

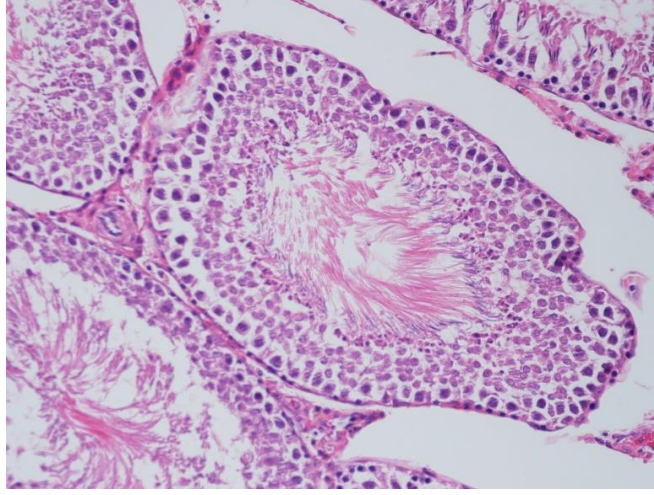
Tablo 2: Grupların ortalama hormon düzeyleri

* $P<0.05$; 3. ay detorsiyon grubunda FSH, LH ve Testosteron değerleri 3. ay orşiektomi ve kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük

4-2 HİSTOPATOLOJİK İNCELEME SONUÇLARI

4-2-1 HİSTOPATOLOJİK BULGULAR:

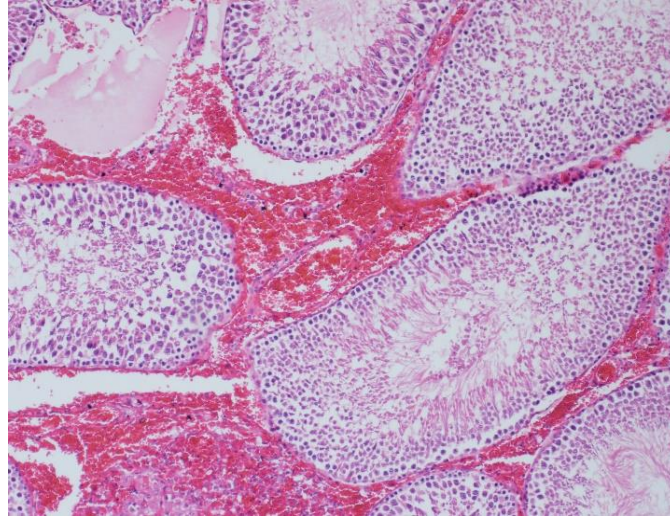
Kontrol grubuna ait kesitlerde normal testiküler yapı korunmuş olup germ hücrelerinin düzenli dizildiği ve spermatogoniumlardan spermatozoaya kadar tüm spermatogenez aşamalarının bulunduğu izlendi (Resim 3).



Resim 3: Normal spermatogenez (H&E x200)

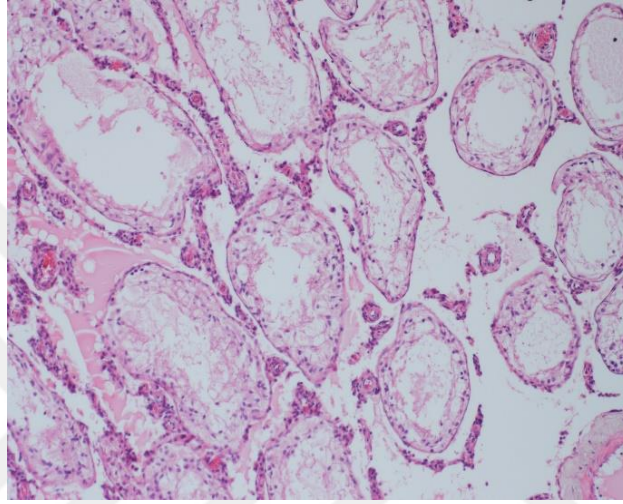
Rutin H-E ile boyanmada 1. gün detorsiyon+fiksasyon yapılan grubun testisleri kontrol grubu ile kıyaslandığında interstisyel alanda yaygın taze kanama ve seminifer tübül lümenlerinde eksfoliyate nekrotik hücreler görülmüştür (Resim 4).

1. gün detorsiyon+fiksasyon yapılan grubun karşı testislerinin normal testiküler yapısı korunmuş olup germ hücrelerinin düzenli dizildiği ve spermatogoniumlardan spermatozoaya kadar tüm spermatogenez aşamalarının bulunduğu izlendi. Epididime ait histolojik görünüm normal sınırlardaydı.



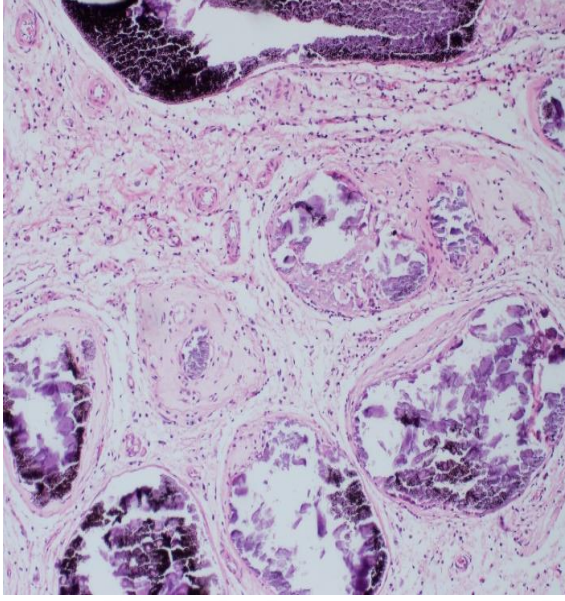
Resim 4: İnterstisyel alanda yaygın taze kanama ve seminifer tübül lümenlerinde eksfoliyate nekrotik hücreler, (H&Ex100)

3 aylık detorsiyon+fiksasyon grubunda ipsilateral testislerde seminifer tübül çapında belirgin azalma, interstisyel ödem, germ hücre sayısında belirgin azalma hatta kayıp, bazal tabakada kalınlaşma, tübüllerde distorsiyon ve olguların 2 sinde fokal kalsifikasyon gözlemlendi (Resim 5). Kontralateral testiste ise seminifer tübül çapı ve spermatogenez açısından anlamlı patolojik bulgu izlenmedi. 3 aylık orşiektomi grubunun kontralateral testislerinde seminifer tübül çapı ve spermatogenez normal seyrindeydi.

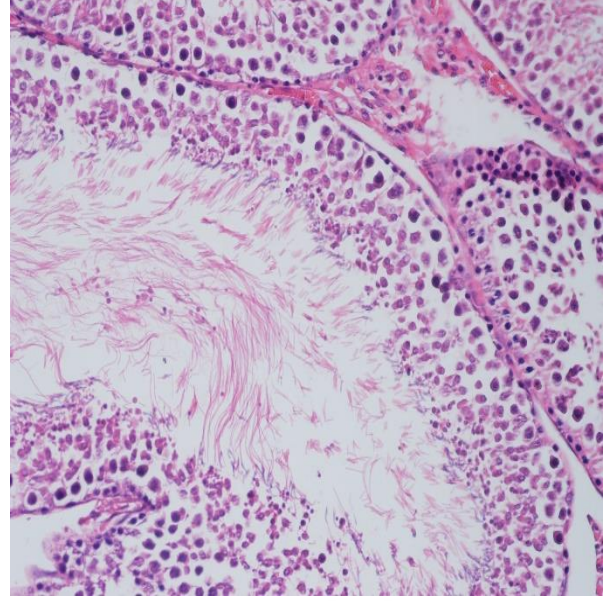


Resim 5: İnterstisyel alanda ödem, seminifer tübül çapında azalma ve germ hücre kaybı (H&Ex100)

6 aylık detorsiyon+fiksasyon grubunda ipsilateral testislerde seminifer tübüllerde yaygın kalsifikasyon izlenmiş olup izlenebilen az sayıda tübülde ise bazal membranda kalınlaşma, hyalinizasyon, sadece sertoli hücreleri ve interstisyel ödem izlendi (Resim 6). Kontralateral testiste ise seminifer tübül çapı ve spermatogenez açısından anlamlı patolojik bulgu izlenmedi. 6 aylık orşiektomi grubunun kontralateral testislerinde seminifer tübül çapı ve spermatogenez normal seyrindeydi (Resim 7).



Resim 6: Seminifer tübül bazal membranlarında kalınlaşma ve yaygın kalsifikasyon, (H&Ex100)



Resim 7: Sağlıklı spermatogenezin izlendiği seminifer tübül, (H&Ex200)

4-2-2 JOHNSEN TESTİKÜLER BİYOPSİ SKORU:

1 günlük gruplar ve kontrol gruplarının Johnsen skorlaması arasında anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

3. ve 6. ay sonunda detorsiyon+fiksasyon yapılan grupların ipsilateral testislerinin Johnsen skorlaması kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmışken ($p<0.05$); aynı grupların kontralateral testisleri kontrol grubundan anlamlı olarak farklı değildi ($p>0.05$). 6. ay sonunda detorsiyon+fiksasyon yapılmış testislerin Johnsen skorlamasının 3. aydaki detorsiyon+fiksasyon yapılan testislere göre anlamlı olarak azalmış olduğu saptandı ($p<0.05$). 6 aylık detorsiyon+fiksasyon yapılan testislerde Johnsen skoru çok düşüktü ve hem skorlamada hem de histopatolojik olarak germ hücresi görülmedi. Karşı testislerin ikili karşılaştırmaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$) (Tablo 3).

JOHNSEN SKORLAMA		
	İpsilateral	Kontralateral
Grup 1; kontrol	9,53±0,26	9,63±0,38
Grup 2; 1.gün detorsiyon	9,54±0,25	9,66±0,39
Grup 3; 1. gün orşiektomi	9,48±0,28	9,58±0,33
Grup 4; 3. ay detorsiyon	3,05±1,83*	9,59±0,3
Grup 5; 3.ay orşiektomi		9,6±0,23
Grup 6; 6.ay detorsiyon	1,40±0,47 *	9,32±0,22
Grup 7; 6. ay orşiektomi		9,55±0,28

Tablo 3: Johnsen skorlaması

* p<0.05; Diğer gruplardan anlamlı derecede düşük

4-2-3 SEMİNİFER TÜBÜL ÇAPI:

1. gün orşiektomi ve detorsiyon+fiksasyon yapılan grupların her iki testisleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). 3 ve 6 aylık torsiyon/detorsiyon gruplarının ipsilateral testislerinin seminifer tübül çaplarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı saptandı ($p<0,05$), detorsiyon+fiksasyon ve orşiektomi gruplarının kontralateral testislerinde ise anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Karşı testislerin ikili karşılaştırmaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

	Seminifer Tübül Çapı	
	İpsilateral	Kontralateral
Grup 1; kontrol	337,88±38,31	336,73±38,41
Grup 2; 1. gün detorsiyon	337,93±37,98	336,69±33,48
Grup 3; 1. gün orşiektomi	337,84±38,21	333,73±34,50
Grup 4; 3. ay detorsiyon	227,57±16,51*	341,90±30,98
Grup 5; 3.ay orşiektomi		317,26±38,40
Grup 6; 6.ay detorsiyon	182,14±25,13*	312,5±37,23
Grup 7; 6. ay orşiektomi		338,57±37,55

Tablo 4: Seminifer Tübül Çapı

* p<0.05; Diğer gruplardan anlamlı derecede düşük

4-2-4 İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR:

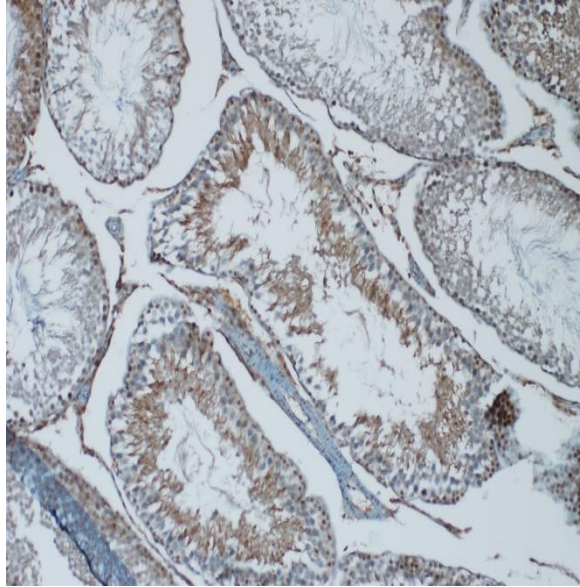
iNOS ekspresyonu; 1. gün orşiektomi ve detorsiyon+fiksasyon yapılan grupların ipsilateral testisleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında iNOS ekspresyonunda anlamlı bir artış mevcuttu ($p<0.05$), her iki grubun kontralateral testislerinde ise anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

3 ve 6 aylık detorsiyon +fiksasyon gruplarının ipsilateral testislerindeki iNOS ekspresyonu 1. gün gruplarından anlamlı olarak azalmıştı ($p<0.05$).

3. ay detorsiyon+fiksasyon yapılan grubun karşı testislerinde iNOS ekspresyonunda orşiektomi ve kontrol grubuna ve diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma izlendi ($p<0.05$), bu azalma düzeyi dikkat çekiciydi. 6. ay sonunda ise detorsiyon+fiksasyon grubu ile orşiektomi grubunun karşı testisleri arasında iNOS ekspresyonunda anlamlı farklılık izlenmedi. Yani 3. ayda detorsiyon+fiksasyon yapılan grubun karşı testislerindeki anlamlı iNOS azalması 6. ayda normal düzeye dönmüştü. Grupların iNOS boyanma derecesi Resim 8 ve 9 da gösterilmiştir.



Resim 8: İmmunohisokimyasal olarak iNOS ekspresyonu, skor: (1+,x100)



Resim 9: İmmunohisokimyasal olarak iNOS ekspresyonu, skor: (3+, x100)

	iNOS ekspresyonu	
	İpsilateral	Kontralateral
Grup 1; kontrol	1,40±0,74	1,43±0,57
Grup 2; 1. gün detorsiyon	1,81±0,71*	1,44±0,56
Grup 3; 1. gün orşiektomi	1,84±0,76*	1,42±0,60
Grup 4; 3. ay detorsiyon	1,42±1,13**	1,18±0,40***
Grup 5; 3.ay orşiektomi		1,46±0,51
Grup 6; 6.ay detorsiyon	1,28±0,75**	1,40±0,51
Grup 7; 6. ay orşiektomi		1,43±0,2

Tablo 5: iNOS ekspresyonu

* P<0.05; Kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek

**P<0.05; Grup 2 ve 3 ten anlamlı derecede düşük

*** P<0.05; Diğer gruplardan anlamlı derecede düşük

5- TARTIŞMA

Testis torsiyonu, akut tedavi edilmemesi halinde germinal hücre nekrozu ve infertilite ile sonuçlanabilen acil bir durumdur. Torsiyonun derecesi ve süresine bağlı olarak testis hasarının derecesi değişmektedir (42). Workman ve arkadaşları, testis torsiyonundan sonra ilk 6 saat içinde ameliyat edilen hastalarda torsiyone olan testisin % 83 ile % 97 arasında kurtarılabildiğini, 6-12 saat arasında opere olanlarda bu oranın % 55 ila % 85'e düştüğünü, 24 saat sonra opere edildiğinde ise % 10'un altına düştüğünü saptamışlardır (77).

Ratlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalar arteriyel tıkanmada 2 saat, venöz tıkanmada ise 6 saatlik bir sürede testis nekrozu gelişebileceğini göstermiştir (78). Ancak bazı araştırmacılar dört saatten uzun süren torsiyonlarda detorsiyon işleminden 24 saat sonra bile torsiyone testislerdeki kan akımının tam olarak düzelmediğini belirtmişlerdir (79-80). Bununla birlikte Filho ve arkadaşları ise sekiz saatlik torsiyon sonrasında detorsiyone testiste kan akımının tamamen düzeldiğini göstermişlerdir (81). Turner ve arkadaşları ratlarda en az 4 saat ve daha uzun süreli 720 derecelik testis torsiyonu sonrasında kan akımının tamamen bozulduğunu göstermişlerdir (9). Bu nedenle çalışmamızda tam iskemi oluşması için 4 saat süresince 720 derecelik saat yönünde torsiyon modelini uyguladık. Ratlarda seminifer epitel döngüsünün uzunluğunun yaklaşık 12,9 gün olması ve spermatogoniumdan spermatozoaya kadar spermin olgunlaşması için yaklaşık olarak 58 günlük bir süreç gerekli olduğundan hem erken hem de geç bulguları daha iyi görüp analiz edebilmek için 24. saat, 90. gün ve 180. günlerde testisleri inceledik (16-17).

İskemiye bağlı torsiyone testiste damar geçirgenliği artmakta, ekstrasvazasyon ve ödem gelişmektedir. Testiküler hasar sadece iskemiye bağlı olmayıp reperfüzyon süresi de hasarın derecesinde önem teşkil etmektedir (32). Aynı taraf testiste reperfüzyon sonrası oluşan serbest oksijen radikalleri, membran lipid peroksidasyonunun bozulmasına ve apoptozise yol açmaktadır. Krarup ve arkadaşları TT sonrasında anormal semen analizi olduğunu göstermişlerdir (82). Bartsch ve arkadaşları 24 saatten fazla süren TT sonrasında detorsiyon yapılan 4 hastada semen analizinin anormal olduğunu, orşiektomi yapılan 3 hastalarında ise semen analizinin normal olduğunu rapor etmişlerdir (83).

Reperfüzyon hasarının karşı testiste arteriyel kan akımında azalmaya yol açarak testis fonksiyonlarını azaltıp infertiliteye yol açabileceği bildirilmiştir (11). Karşı testisteki

etkilenmeyi açıklayacak mekanizma henüz tam olarak bilinmemekle beraber I/R hasarından başka; otoimmünizasyon, nöroendokrin ve vazomotor yolların torsiyon sırasında ortaya çıkan mediatörlerden etkilenmesi, hümorol ve hücrel immünite, akrozomal enzim salınımı, anti sperm antikörler ve karşı testiste refleks olarak gelişen vazokonstriksiyon üzerinde durulmuştur (13,15,84,85,). Cosentino ve arkadaşları testis torsiyonu süresindeki değişikliklere rağmen altı hafta sonra kontralateral testislerde ciddi ölçüde dejeneratif değişiklikler saptamışlar ve bu nedenle torsiyone testise orşiektomi yapılmasını önermişlerdir (13). Tek taraflı testis torsiyonu sonrasında alınan biopsilerde hipoksik ve iskemik süreçlere bağlı olarak karşı testis kan akımında yavaşlama ve mikrovasküler tıkanma (85), karşı testiste spermatogenezde ve ortalama tübül çapında azalma (84-86), spermatosit ve spermatid dejenerasyonu veya arresti, Leydig hücre hipertrofisi, lümen içerisinde eksfoliye spermatogenetik hücreler gösterilmiştir (84,87,88). Yukarıda belirtilen çalışmaların aksine başta Lorenzini ve arkadaşları olmak üzere Turner, Akgur, Ryan ve arkadaşları maksimum 90 gün süren çalışmalarında karşı taraf testislerde herhangi bir etkilenme ile karşılaşmadıklarını belirtmişlerdir (3,9,89,90). Ryan ve arkadaşları TT sonrası aynı taraf testiste spermatogenezin ciddi şekilde bozulabileceğini ancak kontralateral testis morfoloji ve spermatogenez fonksiyonlarının normal olduğunu torsiyon sonrası görülen subfertilitenin daha önceden mevcut olan testiküler bozuklukla ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir (89). Turner ise karşı testiste meydana geldiği iddia edilen etkilenmelerin uygunsuz cerrahi teknik ve doku ödemeine bağlı olabileceğini belirtmiş ve kesinlikle orşiektomi yapılmamasını savunmuştur (9). Puri ve arkadaşları prepubertal hastalarından oluşan klinik çalışmalarında ağır nekroz saptanan ancak az da olsa testiküler fonksiyon göstermesi umuduyla skrotumda bırakılan testisleri puberte sonrası muayene ettiklerinde detorsiyone testislerde ağır atrofi görmüşlerdir. Ancak prepubertal yaş dönemindeki hastalarında semen incelemelerini normal bulmuşlardır. Sonuç olarak puberte öncesi ve sonrası durumlarda farklı mekanizmaların işlediği ve prepubertal dönemdeki testis torsiyonlarında kontralateral testis üzerinde otoimmün yolla hasar meydana gelmediği fikri savunulmuştur (15). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde detorsiyon yapıp yerinde bırakılan testislerde 3 ve 6. aylarda atrofi oluşmuş hem Seminifer tubul çapı hem de Johnsen skoru kontrol testisleri ile kıyaslandığında anlamlı derecede düşük olarak bulunmuştur. Yine Puri ve arkadaşlarını destekler şekilde karşı testislerin uzun vadede normal sperm yapabilme kapasitesini koruduğu saptanmıştır.

Testis torsiyonu sonrasında oluşan reperfüzyon hasarını önlemeye yönelik olarak E vitamini, C vitamini, selenyum, süperoksit dismutaz, katalaz, melatonin, steroidler, trapidil,

propofol, çinko aspartat, taurin, verapamil, diklofenak, vasküler endotelyal büyüme faktörü, epidermal büyüme faktörü, sikloprin-A, FK 506, α -lipoik asit, vazoaktif intestinal peptit, resveratrol, kafeik asit fenetil ester, epigallakateşin gibi birçok endojen ve ekzojen antioksidan madde kullanılarak çok sayıda deneysel çalışma yapılmıştır (8,61,91-110). Bu ajanların bir kısmının testis iskemi- reperfüzyon hasarını önlediği deneysel olarak gösterilmiş olsa da hiçbirisi rutin klinik kullanıma girmemiştir. Çalışmamızın sonuçlarına bakıldığında uzun vadede karşı testisin fonksiyonlarını koruduğu ve fertilité için yeterli olduğu gösterilmiş olduğundan tüm bu ajanların kısa vadede kullanılmasının uzun dönem sonuçlarına etkisi olmadığı fikrine varılmıştır. Bu ajanlar ipsilateral testiste akut dönemde iskemi reperfüzyon hasarını önlemiş veya azaltmış olsalar bile bu testislerin uzun vadede atrofiye gidip gitmediği bilinmemektedir.

Testis torsiyonunun etkilerini araştırmak isteyen birçok araştırmacı genelde histopatolojik yöntemleri kullanmıştır. Bu amaçla Seminifer tübülüs çapı ve Johnsen skoru kullanılmıştır. Hipotalamus-hipofiz-testis aksındaki hormonlar çok nadir olarak değerlendirilmiştir. Janetschek ve arkadaşları hem histopatolojik hem de hormonal olarak karşı testiste histopatolojik bir değişiklik olmadığını spermatogenez ve FSH sonuçlarının normal olduğunu ancak kan LH düzeyinin arttığını belirtmişlerdir (111). Bizim hormon sonuçlarımız değerlendirildiğinde ise detorsiyon yapıp yerinde bırakılan testislerde 3. ayda FSH, LH ve Testosteron düzeylerinin hepsi diğer gruplardan anlamlı olarak düşük bulunurken 6. aya gelindiğinde bu değerlerin normale döndüğü saptanmıştır. Yani 3. ayda torsiyondan hem ipsilateral hem de kontralateral testisin etkilenmiş olduğu 6. ayda ise ipsilateral testisler atrofik olmasına rağmen karşı testislerin tamamen iyileştiği buna bağlı olarak hormon düzeylerinin normale döndüğü gösterilmiştir.

Ulaşılabilen literatürdeki çalışmaların hepsi torsiyon sonrasındaki ilk 3 aylık dönemde yapılmış olup bizim çalışmamızdaki gibi 6 aylık sonuçları göstermemektedir. 6 ay süresince çalışma yapmak hem maliyeti oldukça yüksek hem de ratların bakımı ve takipleri açısından iyi laboratuvar koşulları gerektirdiğinden şimdiye kadar yapılan çalışmalar 3 aya sınırlı kalmıştır. Spermatogenezin iki ay devam etmesinin yanında yaralı dokunun iyileşme süreci de düşünüldüğünde sağlıklı sonuçlar alınması için karşı testise yeterli zaman tanınmadığı aşıkardır. Bizim çalışmamızda 3 aylık takipte detorsiyon yapılan grubun karşı testislerinde iNOS ekspresyonunda azalma olması torsiyonun karşı testisteki torsiyon sırasında halihazırda mevcut olan sağlıklı sperm yapımını bozduğunu göstermektedir. Ancak bu grubun karşı

testislerinde seminifer tubulus çapı ve Johnsen skoru normalden farksızdır. Yani karşı testislerde sperm yapımı devam etmiş ancak bu spermier fonksiyon ağıından sağılıklı yapılarına henüz kavuşamamışlardır. Çalışmanın 6. ayında ise karşı testisteki iNOS ekspresyonunun arttığı yani torsiyon sırasında hasar görmüş olan sperm fonksiyonunun uzun vadede normale döndüğü saptanmıştır. Detorsiyon yapıp yerinde bırakılan ipsilateral testislerde 3. ayda atrofi gelişmiş 6 aylık takipte ise atrofi derecesi daha da ağırlaşmış germ hücreleri o taraf testiste görölmemiştir. Atrofiye paralel şekilde bu testislerde iNOS ekspresyonu da azalmıştır. NO; spermatogenezis sürecindeki germ hücrelerinde apoptozisi regüle ederek, sperm maturasyonunda görev alır. Aşırı NO seviyesinin, doğrudan germ hücre apoptozisini tetiklediğı bildirilmiştir (70). Germ hücre apoptozisi torsiyondan sonra reperfüzyonun 24. saatinde indüklenir. NO reperfüzyonun gecikmiş fazında iNOS tarafından sentezlenir (70,71). iNOS ekspresyonunun torsiyondan 7 gün sonra pik yaptığı gösterilmiştir (70). Bizim çalışmamızda da torsiyon yapılan grupların ipsilateral testislerinde 1. günde akut enflamasyon gelişmesine bağılı olarak iNOS ekspresyonu yüksek olarak bulunmuştur. 3 aylık detorsiyon+fiksasyon grubunun karşı testislerinde Seminifer tüböl çapı ve Johnsen skorlaması diğier grupların karşı testislerinden farklı olmamasına rağmen iNOS ekspresyonu farklı olarak bulunmuştur. iNOS artışı spermin fonksiyonel olarak sağılıklı olup olmadığının bir göstergesidir. Bu grupta Johnsen skoru ve seminifer tubulus çapı normal olmasına rağmen yani sperm yapılmasına rağmen 3. ayda bu spermier fonksiyonel olarak sağılıklı hale gelememişlerdir. Nitrik oksit (NO) sperm fizyolojisinde önemli rol oynar. NO, motilite, akrozom reaksiyonu, zona pellusidaya bağlanma ve apoptozis için gerekli moleküler olayların düzenlenmesinde rol oynar. Yani fertilite ve sperm fonksiyonunu etkiler. Spermatozoayı lipid peroksidasyonundan korur (73-74-75). Sperm patolojilerinde seminal plazma NO düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir (72).

Biyokimsal ve histopatolojik bulgular birlikte değierlendirildiğinde torsiyondan her iki testis te etkilenmiştir, ancak karşı testisin etkilenmesi geçici olup uzun vadede iyileşmektedir. Detorsiyon yapıp yerinde bırakılan testisler ise atrofiye gitmiştir. 3. ayda detorsiyon yapılan grubun hormon düzeyleri düşük olarak bulunmasına rağmen bu düzeyler 6. ayda normale dönmüştür. Hem hormon düzeyleri hem de iNOS ekspresyonu birlikte değierlendirildiğinde karşı testislerin iyileşmesi için 3 aylık sürenin yeterli olmadığı görölümüştür. Orşiektomi yapılsın ya da detorsiyon yapıp yerinde bırakılsın 6. ay sonunda karşı testisler sağılıklı sperm yapabilmiş, FSH, LH, testosteron düzeyleri, iNOS ekspresyonu, Seminifer tubulus çapı ve Johnsen skorları normal düzeylerde bulunmuştur.

Sonuç olarak; Torsiyondan her iki testis te etkilenmektedir, ancak karşı testisin etkilenmesi geçici olup uzun vadede iyileşmektedir. 4 saatlik torsiyon oluşturulduktan sonra orşiopeksi yapılan grubun ipsilateral testisleri 3. ayda atrofiye giderken bu grubun karşı testislerinde sperm yapımı devam etmiş ancak sperm fonksiyonları bozuk olarak bulunmuştur. Testisler 6 ay süresince takip edildiğinde orşiektomi ya da orşiopeksi yapılmasının gelecekteki fertilite üzerine etkisi yoktur, karşı testisler fertiliteyi devam ettirecek düzeyde sağlıklı hale gelmektedir. Yerinde bırakılan testisler ise atrofiye gitmektedir.



6- SONUÇLAR

- 1) Testis torsiyonundan her iki testis te etkilenmektedir, ancak karşı testisin etkilenmesi geçici olup uzun vadede iyileşmektedir.
- 2) Torsiyonun 3. ayında FSH, LH ve Testosteron düzeyleri düşük olarak bulunurken 6. ayda bu değerler normale dönmüştür.
- 3) Detorsiyon yapıp yerinde bırakılan testisler 3. ve 6. ayda atrofiye gitmiştir. Süre uzadıkça atrofi derecesi de artmaktadır.
- 4) Torsiyonun 3. ayında detorsiyon yapıp yerinde bırakılan testislerin ve karşı testislerin iNOS değerleri düşük olarak bulunmuştur. 6. ayda ipsilateral testiste iNOS değeri daha da azalırken karşı testiste normal değere dönmüştür.
- 5) 3. ve 6. ay sonunda detorsiyon yapıp yerinde bırakılan testislerde Johnsen skoru ve Seminifer tubulus çapları düşük olarak bulunurken karşı testislerin Johnsen skoru ve Seminifer tubulus çapları normal olarak bulunmuştur.
- 6) 4 saatlik torsiyon oluşturulduktan sonra orşiopeksi yapılan grubun ipsilateral testisleri 3.ayda atrofiye giderken karşı testislerin sperm fonksiyonları bozuk olarak bulunmuştur. Testisler 6 ay süresince takip edildiğinde orşiektomi ya da orşiopeksi yapılmasının gelecekteki fertilité üzerine etkisi yoktur, karşı testisler fertilitéyi devam ettirecek düzeyde sağlıklı hale gelmektedir. Yerinde bırakılan testisler ise atrofiye gitmektedir.

7. ÖZET

Amaç: Testis torsiyonu hızla teşhis ve tedavi edilmesi gereken acil cerrahi bir durumdur. Testis torsiyonundan sonra iskemi/reperfüzyon hasarlanması oluşmakta hem torsiyone testiste hem de karşı testiste serbest oksijen radikalleri ve inflamatuvar sitokinler artarak testis hasarlanmasına neden olmaktadır.

Çalışmanın amacı; testis torsiyonundan sonra detorsiyon+fiksasyon ve orşiektomi yapılmasının testisler üzerine olan etkilerini uzun vadede araştırmaktır.

Materyal ve Metod: Çalışmamızda 7 grupta 98 adet rat kullanıldı. Deney gruplarındaki ratlara 4 saat süresince 720 derece sol testis torsiyonu oluşturuldu. 4. saatin sonunda 3 deney grubumuzda bulunan ratların sol testislerine orşiektomi, diğer 3 grubumuzda bulunan ratların sol testislerine detorsiyon+fiksasyon işlemini uygulandı. 1 gün, 3. ay ve 6 ayın sonunda ratlardan hormon ölçümü yapılmak üzere kan alındı. Testisler histopatolojik ve immünohistokimyasal inceleme için çıkarılarak ratlar sakrifiye edildi.

Bulgular: Biyokimya sonuçlarında 3. ay sonunda detorsiyon+fiksasyon yapılan grupta FSH, LH ve Testosteron düzeyleri diğer gruplardan anlamlı olarak düşük düzeyde bulunmuştur ($p<0.05$). 6. ay sonunda hormonal parametrelerde gruplar arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir ($p>0.05$). Torsiyon sonrası detorsiyon+fiksasyon yapılan testislerde 3. ve 6. aylarda kontrol grubuna göre testis ağırlığı azalmış olup, histopatolojik olarak ta Johnsen skoru ve Seminifer tubulus çaplarında belirgin azalma izlenmiştir ($p<0.05$). Grupların karşı testislerinde Johnsen skoru ve Seminifer tubulus çapları arasında fark bulunmamıştır. İmmünohistokimyasal olarak 1. gün sonunda orşiektomi ve detorsiyon+fiksasyon yapılan grupların ipsilateral testislerinde iNOS ekspresyonunda artış izlenirken 3. ve 6. ayda ise iNOS ekspresyonu azalmıştır. 3. ay sonunda detorsiyon+fiksasyon yapılan grubun karşı testisinde iNOS ekspresyonu diğer grupların karşı testislerinden anlamlı olarak azalmıştır ($p<0.05$).

Sonuçlar: Torsiyonun 3. ayında FSH, LH ve Testosteron düzeyleri düşük olarak bulunurken 6. ayda bu değerler normale dönmüştür. Detorsiyon+fiksasyon yapılan testisler atrofiye gitmiştir.

Torsiyonun 3. ayında detorsiyon yapıp yerinde bırakılan testislerin ve karşı testislerin iNOS ekspresyonu düşük olarak bulunmuştur. 6. ayda ipsilateral testiste iNOS ekspresyonu

daha da azalırken karşı testiste normal değere dönmüştür. Detorsiyon+fiksasyon yapılan testislerde Johnsen skoru ve Seminifer tubulus çapları düşük olarak bulunmuştur.

Sonuç olarak; Testis torsiyonundan her iki testis te etkilenmektedir, ancak karşı testisin etkilenmesi geçici olup uzun vadede iyileşmektedir. 4 saatlik torsiyon sonrasında torsiyone testise detorsiyon+fiksasyon ya da orşiektomi yapılmasının gelecekteki fertilité üzerine etkisi yoktur. Uzun vadede karşı testisler fertilitéyi devam ettirecek düzeyde sağlıklı hale gelmektedir.

Anahtar Kelimeler: Testis torsiyonu, orşiektomi, detorsiyon+fiksasyon, FSH, LH, Testosteron, Seminifer tubulus çapı, Johnsen skoru, iNOS.

8. SUMMARY

Aim: Testicular torsion is an urgent surgical condition that needs to be rapidly diagnosed and treated. Ischemia / reperfusion injury occurs after testicular torsion, increased free oxygen radicals and inflammatory cytokines play role cause testicular damage on both ipsilateral and contralateral testis. The aim of this study, investigate the effect of detorsion + fixation and orchiectomy on testes after testicular torsion in the long term.

Material and Method: 98 wistar male rats was used in seven group in this study. Torsion of the left testis was created in the experimental groups for 4 hours during the 720-degree. After 4 hours, left testicular orchiectomy was performed to 3 groups and detorsion + fixation was performed to 3 groups. At day 1, month 3 and 6, blood sample were taken from rats. At the end of the experiment, the testes were collected for the histopathologic and immunohistochemical evaluation.

Results: In the detorsion + fixation group at the end of the third month, FSH, LH and Testosterone levels were significantly lower than in the other groups ($p < 0.05$). At the end of the 6th month, no significant difference was observed between the groups in hormonal parameters ($p > 0.05$). In the ipsilateral testes after detorsion + fixation at 3 and 6 months compared to the control group, testicular weight, Johnsen score and Seminifer tubulus diameter were significantly reduced ($p < 0.05$). There was no significant difference in the Johnsen score and Seminifer tubulus diameters of the contralateral testes ($p > 0.05$). Immunohistochemically, iNOS expression was increased in the ipsilateral testes of orchiectomy and detorsion + fixation groups at the end of the first day and iNOS values were decreased at the 3rd and 6th months in this groups ($p < 0.05$). At the end of 3 months, iNOS expression was significantly decreased in the contralateral testes of detorsion + fixation group compared to the other contralateral testes ($p < 0.05$).

Conclusion: FSH, LH and Testosterone levels were found to be low in the 3th month of the torsion. Testes which was performed detorsion + fixation were atrophied. In the 3th month after torsion, iNOS expression was significantly decreased in the bilateral testes of the detorsion + fixation group. In the 6th month after torsion iNOS expression on ipsilateral testis further decreased whereas on the contralateral testes of detorsion + fixation group iNOS expression was in the normal value. Johnsen score and Seminifer tubulus diameters were found to be low in ipsilateral testes detorsion+fixation groups. As a result; testis torsion is affected by both testes, however, the injury of the contralateral testis is temporary and improves in the long term. After 4 hours of torsion, detorsion + fixation or orchiectomy has no effect on future

fertility. In the long term, the contralateral testes in both groups remain healthy to maintain fertility.

Key words: Testicular torsion, Orchiectomy, detorsion+fixation, FSH, LH, Testosterone, Seminifer tubulus diameter, Johnsen score, iNOS



9- KAYNAKLAR

1. H. Yagmurlu, A. Ayyıldız, E. Karaguzel, et al. The preventive effects of thiopental and propofol on testicular ischemia-reperfusion injury. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2006 ; 50:1238-43.
2. 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.
3. Fernando Lorenzini I, Renato Tambara Filho II, Regina Paula Xavier Gomes III, et al. Long-term effects of the testicular torsion on the spermatogenesis of the contralateral testis and the preventive value of the twisted testis orchiopididymectomy. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 2012; 27: 391.
4. Sadler TW. Langman's medikal embriyoloji. Başaklar AC (editör). 7. Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık, 1996; 274-5.
5. Kapoor S. Testicular torsion: a race against time. *Int J Clin Pract* 2008; 62: 821-27.
6. Yang Jr, Song B, Liu X, et al. Acute scrotum in children: an 18-year retrospective study. *Pediatr Emerg Care* 2011; 27: 270-74.
7. Kaye, J.D. Shapiro EY, Levitt SB, et al. Parenchymal echo texture predicts testicular salvage after torsion: potential impact on the need for emergent exploration. *J of Urol* 2008; 180: 1733-36.
8. Wei SM, Yan ZZ, Zhou J. Protective effect of rutin on testicular ischemia-reperfusion injury. *J Pediatr Surg* 2011; 46: 1419-24.
9. Turner T. Acute experimental testicular torsion: No effect on the contralateral testis. *J. Androl* 1985; 6: 65-72.
10. Yin H, Porter NA. News insides regarding the autooxidation of polyunsaturated fatty acids. *Antioxid Redox Signal* 2005; 7: 170-84.
11. Saba M, Morales CR, De Lamirande E, et al. Morphological and biochemical changes following acute unilateral testicular torsion in prepubertal rats. *J Urol* 1997; 157:1149-54.
12. Chamberlain CG, Mansfield KJ, Cerra A. Nitric oxide, a survival factor for lens epithelial cells. *Mol Vis* 2008; 14: 983-91.
13. Cosentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, et al. Histopathology of prepubertal rat testes subjected to various durations of spermatic cord torsion. *J Androl* 1986; 7: 23-31.
14. Filho DW, Torres MA, Bordin AL, et al. Spermatic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia-reperfusion injury. *Mol Aspects Med* 2004; 25: 199-10.

15. Puri P, Barton D, O'Donnell B. Prepubertal testicular torsion: subsequent fertility. J Pediatr Surg 1985; 20: 598-601.
16. Russell LD, Etlin RA, Hikim APS, et al. Histological and histopathological evaluation of the testis. St. Louis: Cache River Press; Clearwater, Florida 1990; 54: 260.
17. Amann RP. Use of animal models for detecting specific alterations in reproduction. Fundam Appl Toxicol. 1982; 2: 13-26.
18. Şeftalioğlu A (editör). Genel ve özel insan embriyolojisi. 3. Baskı. Ankara: Feryal Matbaası; 1998; 346-50.
19. Moore KL (eds). The developing human. 4th ed. Philadelphia: Saunders Co;1988; 7: 262.
20. Sadler TW. Urogenital system. Langman's Medical Embryology. 6 th ed. Williams& Wilkins, Baltimore 1990; 257-78.
21. Larsen WJ. Human Embryology. Churchill Livingstone, Second Edition, New York.1997; 373-88.
22. Husmann DA, Levy JB. Current concepts in the pathophysiology of testicular undescend. Urology 1995;46: 267-76.
23. James a. O'Neill, Marc I. Rowe, Arnold Coran, Eric Fonkalsrud Pediatric Surgery Vol. 2 Mosby; 5 edition Nashville 1998; 1073-1106.
24. Heyns C.F. The gubernaculum during testicular descent in the human fetus. J Anat 1987; 153: 93-112.
25. Anafarta K, Baykara M, Baydınç C. Ürogenital organların anatomik ve histolojik yapısı. Temel Üroloji, Ankara: Güneş Kitapevi; 1998; 1-28.
26. Snell RS (eds). Clinical anatomy. 3rd ed. Boston: Brown and Company 1986;168-75
27. Schlegel PN HMIWP, Retik AB, Vaughan ED, Jr, Wein AJ Campbell's Urology. 8. Baskı. Philadelphia, WB Saunders, 2002; 74-195.
28. Kim ED LL, Howards SS. Male infertility. Gillenwater JY, Grayhack JT, Howards SS, Mitchell ME (Eds): In Adult and pediatric urology. 4. ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins: 2002; 1683-58.
29. Sobotta İnsan Anatomisi Atlası. Urban & Schwarzenberg, 19. baskı Münih Türkçe çevirisi, Beta Yayınevi, İstanbul. 2. cilt: 1990; 224 – 31
30. Lennox B, Ahmad KN. Total Length of Tubules in Human Testis. Journal of Anatomy, 1970, 107: 91
31. Kuran O. Sistemik anatomi İstanbul, Filiz Kitabevi: 1983; 512-14
32. Jangueria LC, Carneiro J, Kelley OR. Temel histoloji (Çev: Aytekin Y, Solakoğlu S, Ahışhalı B.) Barış kitabevi:1998; 407-22.

33. Gartner PG HJ. Color Text Book of Histology. 3. Baskı. Philadelphia, WB Saunders Co, 2006; 406-12.
34. Kayalı H. Özel histoloji. İstanbul, İstanbul Üniversitesi Film Merkezi:1989;218-2 28
35. Junqueira LC CJ. Temel Histoloji. Çeviri: Aytekin Y SS. Nobel Tıp Kitabevi a. 2006; 449-67.
36. Feldmana GJ, Mullinb JM, Ryan MP. Occludin: structure, function and regulation. Adv Drug Deliv Rev, 2005; 57: 883–17.
37. Özpak L, Pazarbaşı A. Erkek İnfertilitesinin Sitogenetiği. Arşiv 2011; 20: 230-31.
38. El Osta R, Almont T, Diligent C, et al. Anabolic Steroids Abuse and Male Infertility. Basic Clin Androl. 2016; 26: 2.
39. Ilgaz N.S, Aydos O.S, Karadag A, et al. Impact of follicle-stimulating hormone receptor variants in female infertility. J Assist Reprod Genet 2015; 32: 1659-68.
40. Özgür B.C, Eroğlu M. Obezite ve İnfertilite. Androloji Bülteni. 2012; 51: 254.
41. Hutson JM. O'Neill JA RM, Grosfeld, JL FE, Coran AG Pediatric surgery. 5th Baskı. St. Louis, Mosby-Year Book Inc, 1998; 1087-1109.
42. Hutson JM. Undescended testis, torsion and varicocele. In: O'Neill JA, Rowe MI, Grosfeld JL, Fonkalsrud EW, Coran AG (Eds.). Pediatric surgery. vol.2, 5th ed. St. Louis: Mosby-Year Book Inc: 1998; 1099-101.
43. Tryfonas G, Violaki A, Tsikopoulos G, et al. Late postoperative results in males treated for testicular torsion during childhood. J Pediatr Surg 1994; 29: 553–56.
44. Sessions AE, Rabinowitz R, Hulbert WC, et al. Testicular torsion: direction, degree, duration and disinformation. J Urol 2003; 169:663.
45. Ringdahl, E. and L. Teague, Testicular torsion. Am Fam Physician 2006; 74: 1739-43.
46. Barbosa J.A, Barbosa JA1, Tiseo BC, et al. Development and initial validation of a scoring system to diagnose testicular torsion in children. The J of Urol 2013; 189: 1859-64.
47. Rowe MI, O'Neill JA, Grosfeld JL, Fonkalsrud EW, Coran AG. Essentials of pediatric surgery. St. Louis: Mosby-Year Book Inc, 1995;457-59.
48. Zhao, LC. Lautz TB, Meeks JJ, et al. Pediatric testicular torsion epidemiology using a national database: incidence, risk of orchiectomy and possible measures toward improving the quality of care. The J Urol 2011; 186: 2009-13.
49. Liang T, Metcalfe P, Sevcik W, et al. Retrospective review of diagnosis and treatment in children presenting to the pediatric department with acute scrotum. Am J Roentgenol, 2013; 200: 444-49.

50. Das S, Singer A. controversies of perinatal torsion of the spermatic cord: A review, survey and recommendations. *J Urol*.1990; 143: 31.
51. Callewaert PR, Van Kerrebroeck P. New insights into perinatal testicular torsion. *Eur J Pediatr* 2010; 169: 705-12.
52. Nandi B, Murphy FL. Neonatal testicular torsion: a systematic literature review. *Pediatr Surg Int* 2011; 27: 1037-40.
53. Kadish H.A, Bolte RG. A retrospective review of pediatric patients with epididymitis, testicular torsion, and torsion of testicular appendages. *Pediatr* 1998; 102: 73-6.
54. Nelson CP, Williams JF, Bloom DA. The cremasteric reflex: a useful but imperfect sign in testicular torsion. *J Pediatr Surg* 2003; 38: 1248-49.
55. Rabinowitz R, Hulbert Jr W. Acute scrotal swelling. *The Urol Clin of North Am*, 1995; 22; 101.
56. Baker LA, Sigman D, Mathews RI, et al. An analysis of clinical outcomes using color Doppler testicular ultrasound for testicular torsion. *Pediatr* 2000; 105: 604-07.
57. Watkin, Reiger NN, Moisey C. Is the conservative management of the acute scrotum justified on clinical grounds? *Br J Urol* 1996; 78: 623-27.
58. Davis JE, Silverman M. Scrotal emergencies. *Emerg Med Clin of North Am* 2011; 29: 469-484.
59. Molokwu CN, Somani BK, Goodman CM. Outcomes of scrotal exploration for acute scrotal pain suspicious of testicular torsion: a consecutive case series of 173 patients. *BJU Int* 2011; 107: 990-93.
60. Sessions AE, Rabinowitz R, Hulbert WC, et al. Testicular torsion: direction, degree, duration and disinformation. *The J Urol* 2003; 169: 663-65.
61. Orhan İ, Hayıt H, Duksal İ, et al. Tek taraflı testis torsiyonunda PAF antagonistinin karşı taraf testisinin iskemik hasarındaki koruyucu etkinliği. *Türk Üroloji Dergisi* 2004; 30: 11-6.
62. Mäkelä E, Lahdes-Vasama T, Rajakorpi H, et al. A 19-year review of paediatric patients with acute scrotum. *Scand J Surg* 2007; 96: 62-6.
63. Kapoor S, Testicular torsion: a race against time. *Int J Clin Pract* 2008; 62: 821-27.
64. Yang Jr, C Song B, Liu X, et al. Acute scrotum in children: an 18-year retrospective study. *Pediatr Emerg Care* 2011; 27: 270-74.
65. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, et al. Ischemia/reperfusion injury. *J Surg Res* 2002; 105: 248-58.
66. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol* 2000; 190: 255-26.

67. Langer JC, Sohal SS, Blennerhasselt P. Mucosal permeability after subclinical intestinal ischemia/reperfusion injury: An exploration of possible mechanisms. *J Pediatr Surg* 1995; 30: 568-72.
68. Mitchell RN CR. Temel patoloji 6. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi (WB Saunders Co) 2000; 3-24.
69. Türkyılmaz Z. Karaciğer İskemi-Reperfüzyon Zedelenmesinde Pentoksifilin, Dimetilsülfoksit ve Eksojen Melatoninin Koruyucu Etkilerinin Karşılaştırılması Edirne: TÜ Tıp Fak (tez), 2003.
70. Shiraishi K, Naito K, Yoshida K. Nitric oxide promotes germ cell necrosis in the delayed phase after experimental testicular torsion of rat. *Biol Reprod*. 2001; 65: 514–21.
71. Moira K. O'Bryan, Stefan Schlatt, Orapin Gerdprasert, et al. Hedger Inducible Nitric Oxide Synthase in the Rat Testis: Evidence for Potential Roles in Both Normal Function and Inflammation. Mediated Infertility *Biol Reprod* 2000; 63: 1285–93.
72. Chamberlain CG, Mansfield KJ, Cerra A. Nitric oxide, a survival factor for lens epithelial cells. 2008;14: 983-91.
73. Kalezic A. Macanovic B. Garalejic E. et al. Level of NO/nitrite and 3-nitrotyrosine in seminal plasma of infertile men: Correlation with sperm number, motility and morphology. *Chem Biol Interact*. 2018; 291: 264-70.
74. Khodaei H, Chamani M, Madhavi B. Effects of adding sodium nitroprusside to semen diluents on motility, viability and lipid peroxidation of sperm in holstein bulls *Int J Fertil Steril* 2016; 9: 521-52.
75. Miraglia E, De Angelis F, Gazzano E, et al. Nitric oxide stimulates human sperm motility via activation of the cyclic GMP/protein kinase G signaling pathway. *Reproduction* 2011; 141: 47-54.
76. Sharma RK, Agarwal A. Artificial stimulation of cryopreserved human spermatozoa by sodium nitroprusside, 2-chloroadenosine, and 2-deoxyadenosine. *Eur Urol* 1997; 32: 344-52.
77. Workman SJ, Kogan BA. Old and new aspects of testicular torsion. *Semin Urol* 1988; 6: 146–57.
78. Melekos MD, Asbach HW, Markou SA. Etiology of acute scrotum in 100 boys with regard to age distribution. *J Urol* 1988; 139:1023-25.
79. Turner TT, Caplis LA, Rhoades CP. Testicular vascular permeability: effect of lesions associated with impaired testis function. *J Urol* 1996; 155:1078-82.

80. Tanyel FC, Büyükpamukçu N, Hiçsönmez A. Contralateral testicular blood flow during unilateral testicular torsion. *Br J Urol* 1989; 63: 522-24.
81. Filho DW, Torres MA, Bordin AL, et al. Spermatogenic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia-reperfusion injury. *Mol Aspects Med* 2004; 25: 199-210.
82. Krarup T: The testis after torsion. *Br J Urol* 1978; 50: 43.
83. Bartsch G, Frank S, Marberger H, et al. Testicular torsion: late results with special regard to fertility and endocrine function. *J Urol* 1980;124: 375-78.
84. Nagler HM, White RD. The effect of testicular torsion on the contralateral testis. *J Urol* 1982; 128: 1343-48.
85. Heindel RM, Pakyz RE, Reinking LN, et al. The effect of various degrees of unilateral spermatogenic cord torsion on fertility in the rat. *J Urol* 1990; 144: 366-69.
86. Barkley C, York JP, Badalament RA. Testicular torsion and its effects on contralateral testicle. *Urology* 1993; 41: 192-94.
87. Lewis-Jones DI, Moreno de Marval M, Harrison RG. Impairment of rat spermatogenesis following unilateral experimental ischemia *Fertil Steril* 1982; 38: 482-90.
88. Chakraborty J, Sinha Hikim AP, Jhunjhunwala J. Effect of experimental torsion of the spermatogenic cord on sustentacular cells in the guinea-pig testis. *Acta Anat* 1985;124: 234-40.
89. Ryan PC¹, Whelan CA, Gaffney EF, et al. The effect of unilateral experimental testicular torsion on spermatogenesis and fertility. *Br J Urol* 1988; 62: 359-66.
90. Akgur FM, Kilinc F, Tanyel FC, et al. Ipsilateral and contralateral testicular biochemical acute changes after unilateral testicular torsion and detorsion. *Urology* 1994; 44: 413-48.
91. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312: 159-63.
92. Özbal S, Ergur BU, Erbil G, et al. The effects of α -lipoic acid against testicular ischemia-reperfusion injury in rats. *Sci World J*, 2012;2012:489248. doi: 10.1100/2012/489248. Epub
93. Turan C, Kucukaydin N, Bekerecioglu A, et al. The effect of vitamin E on ipsilateral and contralateral testis following unilateral testicular torsion in rats. *Res Exp Med* 1996; 196: 243-46.
94. Uguralp S, Karabulut AB, Mizrak B, et al. The effect of sustained and local administration of epidermal growth factor on improving bilateral testicular tissue after torsion. *Urol Res* 2004; 32: 323-31.

95. Uguralp S, Mızrak B, Usta U. Resveratrol May Reduce Apoptosis of Rat Testicular Germ Cells After Experimental Testicular Torsion. *Eur J Ped Surg* 2005; 15: 333-36.
96. Beheshtian, A, Salmasi AH, Payabvash S, et al. Protective effects of sildenafil administration on testicular torsion/detorsion damage in rats. *World J Urol* 2008; 26: 197-202.
97. Yildiz H, Durmuş AS, Şimşek H, et al. Effects of sildenafil citrate on torsion/detorsion-induced changes in red blood cell and plasma lipid peroxidation, antioxidants, and blood hematology of male rats. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011; 159: 359-63.
98. Zavras N, Kostakis ID, Sakellariou S et al. Comparison of erythropoietin and sildenafil protective role against ischemia/reperfusion injury of the testis in adult rats. *International urology and nephrology.* 2014; 46: 731-36.
99. MO, Zor M, Celik A, et al. Effects of vardenafil on testicular torsion/detorsion damage: an experimental study in pigs. *Urol Int* 2010; 86: 228-32.
100. Wu Z, Wang GB, Xiao YB, et al. Protective effect of tadalafil against ischemia-reperfusion injury in rats. *National J Androl* 2015; 21: 214-18.
101. Akgur FM, Kilinc F, Aktug T, et al. The effect of allopurinol pretreatment before detorting testicular torsion. *J Urol* 1994;151:1715-17.
102. Can C, Töre F, Tunçel N, et al. Protective effect of vasoactive intestinal peptide on testicular torsion-detorsion injury: association with heparin-containing mast cells. *Urology* 2004; 63: 195-200.
103. Orozco TJ, Wang JF, Keen CL. Chronic consumption of a flavonol and procyanidin rich diet is associated with reduced levels of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat. *J Nutr Biochem* 2003; 14: 104-10.
104. Ozkan KU, Boran Ç, Kilinc M, et al. The effect of zinc aspartate pretreatment on ischemia-reperfusion injury and early changes of blood and tissue antioxidant enzyme activities after unilateral testicular torsion-detorsion. *J Pediatr Surg* 2004; 39: 91-5.
105. Uz E, Söğüt S, Şahin Ş, et al. The protective role of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on testicular tissue after testicular torsion and detorsion. *World J Urol* 2002; 20: 264-70.
106. Palmer JS, Cromie WJ, Lee RC. Surfactant administration reduces testicular ischemiareperfusion injury. *J Urol* 1998;159:2136-39.
107. Kolski JM, Mazolewski PJ, Stephenson LL, et al. Effect of hyperbaric oxygen therapy on testicular ischemia-reperfusion injury. *J Urol* 1998;160:601-4.
108. Takhshid MA, Tavasuli AR, Heidary Y, et al. Protective effect of vitamins E and C on endosulfan-induced reproductive toxicity in male rats. *Iran J Med Sci* 2012; 37: 173-80.

109. Shi L, Song R, Yao X, et al. Effects of maternal dietary selenium (Se-enriched yeast) on testis development, testosterone level and testicular steroidogenesis-related gene expression of their male kids in Taihang Black Goats Theriogenology 2018 1;114:95-102.
110. Mogilner JG, Lurie M, Coran AG, et al. Effect of diclofenac on germ cell apoptosis following testicular ischemia-reperfusion injury in a rat. Pediatr Surg Int 2006; 22: 99-105.
111. Janetschek G1, SchreckenberG F, Mikuz G, et al. Experimental testicular torsion: effect on endocrine and exocrine function and contralateral testicular histology. Urol Res 1988; 16: 43-7.





İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 10-06-2016
Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya
Araştırma Protokol no.su : 2016/A-82
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Rat
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyü : Wistar Albino
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : ☒E ☐D ☐Farketmez
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 90 Adet
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : 240-280 gr

Tıp Fakültesi Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. Sema Uğuralp'ın yürüttüğü olduğu
"Testis torsiyonu sonrasında orşiopeksi ve orşiektominim karşı testis üzerine etkilerinin
araştırılması ve orşiopeksi yapılan tarafta uzun dönemde testisin iyileşme derecesinin
belirlenmesi" isimli 2016/A-82 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi
Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine
getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir
etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

Doç.Dr.M.Arif ALADAĞ
Başkan

Prof. Dr. Nigar VARDI
Üye

Prof. Dr. Yılmaz ÇİGREMİŞ
Üye

Vet.Hek.M.Zafer BOZDAĞ
Üye

Yrd.Doç.Dr.Mehmet KARATAŞ
Üye

Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN
Üye

Salih AVCI
Sivil Üye

Ahmet GÖNÜLLÜOĞLU
Sivil Üye