

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİMDALI

**DENEYSEL TEK TARAFLI SPERMATİK KORD
TORSİYONUNDA AYNI VE KARŞI TARAF TESTİSLERDEKİ
HİSTOPATOLOJİK VE BİYOKİMYASAL DEĞİŞİKLİKLERE
POLYPOLYMERAZ ENZİM İNHİBİTÖRÜNÜN ERKEN VE
GEÇ DÖNEM ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. AYTAN KAR

SAMSUN – 2008

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİMDALI**

**DENEYSEL TEK TARAFLI SPERMATİK KORD
TORSİYONUNDA AYNI VE KARŞI TARAF TESTİSLERDEKİ
HİSTOPATOLOJİK VE BİYOKİMYASAL DEĞİŞİKLİKLERE
POLYPOLYMERAZ ENZİM İNHİBİTÖRÜNÜN ERKEN VE
GEÇ DÖNEM ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. AYTAN KAR

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ali Faik YILMAZ

SAMSUN - 2008

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇİNDEKİLER	I
ŞEKİL LİSTESİ	II
TABLO LİSTESİ	III
KISALTMALAR	IV
ÖZET VE ANAHTAR KELİMELER	V
ABSTRACT AND KEYWORDS	VII
GİRİŞ VE AMAÇ	1-2
GENEL BİLGİLER	3-18
GEREÇ VE YÖNTEM	19-25
BULGULAR	26-41
TARTIŞMA	42-48
SONUÇLAR	49
KAYNAKLAR	50-58

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil - 1: Aşırı PARP aktivasyonuna bağlı hücre ölümü	17
Şekil - 2: PARP inhibitörleri	18
Şekil - 3: Grupların sol testis JTBS Ortalamaları	28
Şekil - 4: Grupların sağ testis JTBS Ortalamaları	29
Şekil - 5: Kontrol grubundan bir rata ait HE boyalı testis kesiti	29
Şekil - 6: Kontrol grubundan bir rata ait HE boyalı testis kesiti	30
Şekil- 7: TD grubundaki rata ait HE boyalı testis kesiti	30
Şekil -8: TD grubundaki rata ait HE boyalı testis kesiti	31
Şekil -9: Grupların sol STÇ ortalamaları	33
Şekil -10: Grupların sağ STÇ ortalamaları	34
Şekil -11: Grupların sol testislerinde apoptozis ortalamaları	36
Şekil -12: Grupların sağ testislerinde apoptozis ortalamaları	36
Şekil -13: Kontrol grubundan bir rata ait testis kesitinde TUNEL yöntemi	37
Şekil -14: Kontrol grubundan bir rata ait testis kesitinde TUNEL yöntemi	37
Şekil -15: Geç dönem TD grubundan bir rata ait testis kesitinde TUNEL yöntemi	38
Şekil -16: Erken dönem TDNi grubundan bir rata ait testis kesitinde TUNEL Yöntemi	38
Şekil -17: Geç dönem TDNi grubundan bir rata ait testis kesitinde TUNEL pozitif Hücreler	39
Şekil -18: Grupların total glutatyon düzeyi ortalamaları	40
Şekil -19: Grupların serbest glutatyon düzeyi ortalamaları	41
Şekil -20: Grupların malondialdehit düzeyi ortalamaları	41

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1: Modifiye Johnson Skoru	22
Tablo 2: Grupların JTBS ortalamaları	28
Tablo 3: Grupların STÇ ortalamaları	33
Tablo 4: Gruplarda tubül başına düşen PHÖ ortalamaları	35
Tablo 5: Grupların MDA, total glutatyon ve serbest glutatyon ortalamaları	40

KISALTMALAR

DNA	: Deoksiribonükleik asit
PARP	: Poli(ADP-ribos)polimeraz
PHÖ	: Programlanmış hücre ölümü
ADP	: Adenin deoksiriboz fosfat
MIF	: Müllerialan inhibe edici faktör
TNF- α	: Tümör nekroz faktör-alfa
JTBS	: Johnson Tubüler Biyopsi Skoru
STÇ	: Seminifer tubül çapları
MDA	: Malondialdehit
TUNEL	: Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick end-labeling
FSH	: Foliküler uyarıcı hormon
LH	: Lüteinizan hormon

ÖZET

Tek taraflı spermatik kord torsiyonunun aynı ve karşı taraf testiste neden olduğu erken ve geç dönem, biyokimyasal, histopatolojik, apoptotik değişiklikleri ortaya koymak ve bu değişikliklere Poli(ADP-ribos)polimeraz (PARP) inhibitörünün erken ve geç dönem etkilerini incelemek amaçlandı.

Çalışmada, denek olarak ağırlıkları 190-210 gr arasında değişen 47 adet Wistar albino rat kullanıldı. Denekler erken ve geç olmak üzere 2 ana gruba ayrıldı. Her grup kendi içinde kontrol, sham, torsiyon-detorsiyon, torsiyon-detorsiyon SF verilen ve torsiyon-detorsiyon nicotinamide verilen ratlar olmak üzere alt gruplara ayrıldı. Sol spermatik kord ve testis serbestleştirildikten sonra kontrol ve sham grupları hariç tüm gruplarda sol testisler 4 saat süre ile 720 derece torsiyone edildi. Detorsiyondan 30 dakika önce erken torsiyon-detorsiyon SF ve geç torsiyon-detorsiyon SF gruplarına intraperitoneal 0.2 cc salin, erken torsiyon-detorsiyon nicotinamide. ve geç torsiyon-detorsiyon nicotinamide gruplarına 10 mg/kg dozda poli polimeraz enzim inhibitörü (nicotinamide) intraperitoneal yoldan verildi. Erken gruptaki ratlara detorsiyonun 4. saatinde bilateral orşiektomi yapıldı. Orşiektomiden hemen önce intra kardiyak biyokimyasal inceleme amaçlı 5'er cc kan alındı. Geç dönem gruba dahil ratlar ise 2 ay takip edilip aynı işlemler uygulandı. Spesmenlerde TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick end-labeling) yöntemi ile germ hücrelerinde apoptozisi, Johnson Tubüler Biyopsi Skoru ve seminifer tubül çapları hesaplanıp histopatolojik değişiklikleri, rat serumunda malondialdehit (MDA) ve total ve serbest glutasyon seviyeleri ölçülerek iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı değişiklikleri göstermeyi amaçladık.

Çalışmamızda torsiyon detorsiyon uygulanan gruplarda serum MDA, total glutasyon ve serbest glutasyon seviyelerinde kontrol ve sham gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Erken dönem aynı ve karşı taraf PARP inhibitörü verilmeyen grupların testislerinde seminifer tubüldeki spermatogoniaların azaldığı, PARP inhibitörü verilen gruplardaysa, PARP inhibitörü verilmeyen gruplara göre seminifer tubüldeki spermatogoniaların anlamlı olacak şekilde daha fazla olduğu tesbit edildi. Geç grupta da durum PARP inhibitörü verilen grupların lehine olarak anlamlı olarak farklıydı. Ancak erken ve geç gruplar arasında JTBS açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Erken dönem aynı ve karşı taraf PARP inhibitörü

verilmeyen testislerde seminifer tubül çap ortalamalarının azaldığı PARP inhibitörü verilen gruplardaysa, PARP inhibitörü verilmeyen gruplara göre seminifer tubül çap ortalamalarının anlamlı olarak yüksek olduğu tesbit edildi. Geç grupta da durum PARP inhibitörü verilen grupların lehine anlamlı olarak farklıydı. Ancak erken ve geç gruplar arasında seminifer tubül çapları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Çalışmamızda geç dönem aynı ve karşı taraf nicotinamide verilmeyen gruplarda germ hücrelerinde apoptozisin kontrol ve sham gruplarına göre anlamlı derecede arttığı, nicotinamide verilen gruplarda ise nicotinamide verilmeyen gruplara göre anlamlı derecede azaldığı tespit edildi. Erken dönemde ise sol testisler için nicotinamide verilen grup ile diğer nicotinamide verilmeyen grup arasında apoptoziste azalma saptanmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Yine sol testiste geç gruplarda ise nicotinamide verilen gruptaki apoptozis oranı, verilmeyen gruplara göre anlamlı derecede azalmış tesbit edildi. Sağ ve sol testisler için erken gruplara göre geç dönem aleyhine zamanla artan fakat istatistiksel olarak anlamlı olmayan ($p>0.05$) bir apoptozis artışı bulundu.

Sonuç olarak testiste iskemi reperfüzyon sonucu oluşan ve ileride oluşabilmesi muhtemel hasarlar için PARP inhibitörlerinin bu hasarı erken ve geç dönemde aynı ve karşı taraf testiste azaltılabileceğini gösterdik.

Anahtar kelimeler; Programlı hücre ölümü, TUNEL yöntemi, spermatik kord torsiyonu, nicotinamide

ABSTRACT

In this study we aimed to show the early and late biochemical, histopathological and apoptotic changes caused by unilateral spermatic cord torsion on ipsilateral and contralateral testicles, as well as the effect of the Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitor (nicotinamide) on these changes either in the early and late periods.

Forty-seven Wistar albino rats weighing between 190-210 gr were used. Rats were divided into two major groups as the early and late periods. Subsequently each group were divided into subgroups as the control, sham operation, torsion-detorsion, torsion-detorsion treated with normal saline and torsion-detorsion treated with nicotinamide. All left testicles excluding the control and the sham operation groups were subjected to 720 degrees of spermatic cord torsion for 4 hours. Thirty minutes prior to detorsion 0.2 cc of normal saline was administered intraperitoneally to early torsion-detorsion treated with normal saline and late torsion-detorsion treated with normal saline groups. Similarly 10 mg/kg of nicotinamide was administered intraperitoneally to the early torsion-detorsion treated with nicotinamide and late torsion-detorsion treated with nicotinamide groups. Bilateral orchidectomy was performed by the end of fourth hour in the early group of rats and they were sacrificed. Just prior to orchidectomy 5 cc of cardiac blood samples were collected for biochemical evaluation. For the late groups of rats same procedures were performed after they were followed for 2 months. While apoptosis in the germ cells were shown by Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick end-labeling (TUNEL) method, Johnson Tubular Biopsy Score (JTBS) and seminiferous tubule diameters (STD) were used to evaluate the histopathological changes in the rat's testis tissue. Ischaemia-reperfusion injury related changes were assessed by the levels of malondialdehyde (MDA), total and free glutathione in the rat serum.

There was no statistical significance between torsion-detorsion groups and the control-sham operation groups in terms of serum MDA, total and free glutathione levels. While there was a significant decrease in the number of spermatogonia in the seminiferous tubules of both the contralateral and ipsilateral testicles was observed in the early torsion-detorsion groups which did not receive the PARP inhibitor nicotinamide. The subjects which received nicotinamide in the early period had a

significantly higher number of spermatogonia in the seminiferous tubules when compared to subjects which did not receive nicotinamide. Similarly in the late torsion-detorsion groups the number of spermatogonia were better on behalf of subjects which received nicotinamide. Interestingly there was no statistical significance was observed in terms of JTBS between the early and the late groups. While there was a decreased mean STD value on the contralateral and ipsilateral testicles of the early torsion-detorsion groups which did not receive nicotinamide, the mean STD values were significantly higher in the subjects which received nicotinamide when compared to subjects who did not receive nicotinamide. In the late groups there were similar results on behalf of PARP inhibitor nicotinamide. But no significant difference was observed in terms of STD between the early and the late groups. In our study also we observed that there was a significant increase in apoptosis of the germ cells of the contralateral and ipsilateral testicles of the late torsion-detorsion groups which did not receive nicotinamide when compared to control and sham operation groups. The late groups which were treated with nicotinamide significantly had less apoptosis when compared to untreated groups. In the early groups although there was a decrease in the number of apoptotic cells of the ipsilateral testicle which were treated with nicotinamide, it was not statistically significant. In the late group for the ipsilateral testicle which was treated with nicotinamide had a significant lower number of apoptotic cells when compared to untreated group. An insignificant increase ($p>0.05$) was observed for the late groups between the right and left testicles when compared to early groups.

As a conclusion we showed that PARP inhibitors may successfully decrease the ischemia reperfusion injury derived tissue damage in the early and late periods both in the ipsilateral and contralateral testicles.

Key Words: Apoptosis, spermatic cord torsion, nicotinamide, TUNEL methode

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Spermatik kord torsiyonu, testis ve spermatik kordun tunika vajinalis ile birlikte veya tunika vajinalis içinde dönmesidir. Acil cerrahi girişim gerektiren ürolojik hastalıklar arasında önemli bir yer tutan spermatik kord torsiyonu, sonraki dönemde de fertilitiyi etkilemesinden dolayı önemini korumaktadır (1). Pediatrik yaş grubunda ise akut skrotumun % 25-35'ini oluşturmaktadır. Testiste hasar, torsiyonun olduğu andan itibaren başlamakta olup semptomların başlangıcı ile cerrahi girişime gitme arasındaki zaman ne kadar kısa ise testisin korunma oranı o derece artmaktadır. Tedavide gecikme testiküler atrofiyle sonuçlanmakta, geç takiplerde subfertilite veya infertiliteye kadar uzanabilen klinik tabloların gelişebildiği bilinmektedir.

Spermatik kord torsiyonunda, spermatik kord ve yapılarının kendi etrafında dönmesi sonucu başlangıçta venöz tıkanıklık oluşmakta, venöz tıkanıklığın ilerlemesi ile arteriyal dolaşım bozulmaktadır. Buna bağlı olarak oluşan iskemi, bir takım kimyasal reaksiyonların başlamasına yol açmakta, bu da sonuçta hücrel disfonksiyona ve nekroza yol açmaktadır. İskemi sonucu oluşan bu durumun nedeni tek bir reaksiyon ve olay ile açıklanamamakla beraber, enerji depolarının tükenmesi ve toksik metabolitlerin birikmesinin hücre ölümüne yol açtığı bilinmektedir (2). Bununla birlikte, iskemik dokuların tekrar kanlanması, reaktif oksijen radikallerinin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Bu radikaller, DNA iplik kırıklarının oluşmasına yol açıp çeşitli mekanizmalarla hücre canlılığının kaybına yol açmaktadır. Reaktif oksijen radikallerinin DNA'da yaptığı iplik kırıklarının, DNA tamir mekanizmalarında görevli olan ve bol miktarda enerji tüketen, poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) enzimini aktive ettiği gösterilmiştir (3). PARP'nin DNA tamiri için çok önemli bir role sahip olduğu bilinmektedir. Hücre, DNA hasarını onarmak için hücrel enerji kullanımını arttırmak zorundadır. PARP ile çekirdek proteinlerinin masif ADP-ribozilasyonun, hücrel enerji tüketimine ve hücre ölümüne sebep olabileceği gösterilmiştir (4-7). PARP'nin yoğun aktivasyonunun, dokularda iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı olduğu bilinmektedir. Çeşitli organlarda PARP inhibitörlerinin uygulanmasının, iskemi-reperfüzyon hasarında azalmaya yol açtığı gösterilmiştir (8-11).

Bazı karşı görüşlere rağmen, tek taraflı spermatik kord torsiyonun karşı testiste de hemodinamik ve histolojik değişikliklere yol açtığı artık kabul edilmektedir (12–14). Klinik çalışmalarda tek taraflı spermatik kord torsiyonlu olgularının uzun süre izlemlerinde, % 25 oranında infertilite, %40'tan %90'a varan oranlarda anormal semen analizi sonuçlarıyla karşılaşmıştır (15). Bu durum hasarın yalnızca torsiyon olan tarafta olmadığını, karşı taraf testisin de olaydan etkilendiğini düşündürmektedir. Özellikle germ hücrelerinde belirgin hasarlanma karşı testisin önemli bulgularındandır (16). Karşı testis hasarını önlemeye yönelik olarak E vitamini, pentoksifilin, verapamil, hiperbarik oksijen, steroidler, immun baskılayıcılar kullanılmıştır (17–19). Fakat bu ve benzeri çalışmalarda elde edilen sonuçlar tam tatmin edici olmamış ve klinik pratiğe aktarılamamıştır.

Programlanmış hücre ölümü (PHÖ) olarak bilinen apoptozis, son yıllarda biyoloji alanında olduğu kadar temel ve klinik bilimlerde de yoğun ilgi odağı haline gelmiştir. Kerr ve arkadaşları tarafından 30 yıl önce tanımlanan ve hücre ölümüne yol açan iki ana mekanizmadan biri olan PHÖ, hasar gören hücrenin uzun süre ortamda kalmasının çıkarabileceği sorunları çözümlenebilen bir mekanizmadır (20).

1996 yılında yapılan bir klinik çalışmada, tek taraflı spermatik kord torsiyonu sonrası karşı testiste PHÖ indeksinde artış saptanmıştır (21). PHÖ indeksindeki artıştan, kan-testis bariyerindeki bozulmayı takiben dolaşıma geçen sitokinlerin PHÖ'yü indüklemelerinin sorumlu olabileceği öne sürülmüştür.

Bozlu ve arkadaşları detorsiyon öncesi verilen PARP inhibitörünün iskemi-repefüzyon hasarındaki biyokimyasal değişiklikleri azalttığını göstermişlerdir (22). Yine aynı ekip tarafından detorsiyon öncesi verilen PARP inhibitörünün iskemi-repefüzyon hasarındaki biyokimyasal değişiklikleri uzun dönemde de aynı taraf testiste oluşan hasarı azalttığı gösterilmiştir (23). Ancak bu çalışmalarda PHÖ'deki artış değerlendirilmemiştir.

Biz çalışmamızda, tek taraflı testis torsiyonu sonrasında aynı ve karşı taraf testiste, erken ve geç dönemde biyokimyasal, histopatolojik, apoptotik değişiklikleri değerlendirmek ve bu değişikliklere PARP inhibitörünün erken ve geç dönem etkilerini incelemek istedik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Testis Embriyolojisi

Ürogenital sistem çöлом boşluğunun arka duvarında, dorsal mezenterin her iki yanında embriyonun dorsal duvarı boyunca uzanan mezodermal kabarıklıktan (intermediate mezoderm) gelişir. Intermediate mezoderm, embriyonun horizontal düzlemde katlanması ile somitlerle olan ilişkisini kaybeder ve çöлом boşluğunun arka duvarında, primitif aortanın her iki tarafında longitudinal mezodermal şişlikler olarak belirir. Bu şişliklere ürogenital kabarıklık adı verilir. Ürogenital kabarıklığın medialinde ise genital kabarıklık bulunur.

Gelişimin altıncı haftasına kadar genital kabarıklık içinde germ hücreleri mevcut değildir. Primordial germ hücreleri yolk kesesinin allantoise yakın endodermal hücrelerinden oluşur ve altıncı haftada ameboik hareketlerle son barsağın dorsal mezenteri boyunca ilerleyerek genital kabarıklığa gelirler. Primordial germ hücrelerinin genital kabarıklığa ulaşmalarından hemen önce genital kabarıklığın çöломik epitel proliferasyon olarak altındaki mezenşim içine girmeye başlar. Çöломik epitel hücreleri burada primitif cinsiyet kordonları denilen irregüler şekilli kordonları oluştururlar. Bu evrede erkek ve dişi gonadların birbirinden farkları yoktur. Genital kabarıklıklar primordial germ hücrelerinin indükleyici etkileri ile over veya testise farklılaşırlar.

Eğer embriyo erkek ise primordial germ hücreleri XY kromozomunu taşırlar. Y kromozomu üzerindeki testis belirleyici faktörün (TBF) etkisiyle primitif cinsiyet kordonları çoğalmaya devam eder ve testisin medüller kordonlarını oluşturmak üzere medullanın iç kesimlerine doğru ilerler. Kordonlar daha sonra bezin hilusuna doğru ince hücre sıralarından ibaret bir ağ oluşturur. Bu ağdan testis tubülleri meydana gelir.

Gelişimin daha ileri evrelerinde testis kordonları yüzey epitelini ile olan ilişkisini kaybeder ve testisin yüzeyi tunika albuginea denen yoğun fibröz bir bağ dokusuyla epitelden ayrılır. Dördüncü ayda ise testis kordonları at nalı şeklini alır ve kordonların uçları rete testis olarak devam eder. Bu dönemde testis kordonları germ hücreleri ve bezin yüzey epitelinden köken alan Sertoli hücrelerinden meydana gelmiştir.

Testis kordonları arasında bulunan interstisyel Leydig hücreleri gonadal kabarıklığın orijinal mezenşimden köken alarak kordonların farklılaşmaya başlamasından hemen sonra ortaya çıkarlar. Gestasyonun sekizinci haftasında Leydig hücrelerinde testosteron üretimi başlar ve böylece testisler dış genital organların farklılaşmasında rol oynar.

Puberteye kadar testis kordonları solid halde kalır ancak puberteden sonra lümenleri açılarak seminifer tubülleri oluştururlar. Seminifer tubüller kanalize olarak rete testis tubüllerine katılır ve daha sonra duktuli eferenteslere girerler. Duktus eferentes olarak bilinen kanallar rete testis ile mezonefrik kanal (Wolffian kanalları) arasında bir bağlantı kurar.

Mezonefroz gerilerken epigenital tubüller adı verilen birkaç boşaltım kanalı rete testis kordonları ile birleşerek testise ait duktus eferentesleri oluştururlar. Testis ve mezonefroz ikinci ayın sonunda ürogenital mezenter adı verilen bir yapı ile karın arka duvarına bağlıdır. Mezonefrozun dejenerasyonu sonucu bu mezenter sadece testisin mezenteri halini alır. Takiben kaudaldeki parçasından kaudal genital ligament gelişir. Testisin kaudal kutbundan uzanan ekstrasellüler matriksten zengin yoğun mezenşimal yapıya gubernakülüm adı verilir. Testis aşağıya inmeden önce bu yapı inguinal bölgede internal ve eksternal abdominal oblik kasları arasında sonlanır. Testisin inmeye başlaması ile gubernakülümün ekstraabdominal parçası oluşur ve inguinal bölgeden skrotal şişliğe doğru büyür. Testis inguinal kanaldan geçerken gubernakülümün ekstraabdominal parçası skrotum tabanına tutunur.

Testisin karın içine doğru gelişerek, hamileliğin 28. haftasında skrotuma indiği yüzyıllardır biliniyor olmasına rağmen, testisin inişini kontrol eden faktörler tam olarak bilinmemektedir. Bu nedenle de testisin inişi ile ilgili 200'ün üzerinde teori ortaya atılmıştır. Filogenetik açıdan yaklaşan yazarlar, asıl inmesi gerekenin epididim olduğu, testisinde buna pasif olarak eşlik ettiğini ileri sürmektedir. Testisin inişi ile ilgili teorilerden biri de intraabdominal göçün gubernakülümün ekstraabdominal parçasının uzamasıyla gerçekleştiği, organların büyümesinin intraabdominal basıncı arttırarak inguinal kanaldan geçişini sağladığı ve gubernakülümün ekstraabdominal parçasının regresyonunun da testisin skrotum içine doğru inişinde rol oynadığı şeklindedir. Bu süreçte, hipotalamik-pitüiter-

gonadal aksın etkisindeki androjen hormonu ve Y kromozomunda bulunan müllerian inhibe edici faktörün etkilerinin de olduğu bilinmektedir (24).

2.2- Testisin Anatomisi

Testisler skrotumda yerleşmiş simetrik bir çift oval glandüler organdır. Yetişkinde yaklaşık 4 cm uzunluğunda, 3.5 cm genişliğinde ve 3 cm kalınlığında olup ortalama 15–25 ml hacme sahiptirler.

Posterolateral kısımları hariç testisler tamamiyle tunika vajinalisin visseral tabakası ile sarılmıştır. Oldukça ince olan bu peritoneal yapının altında testise lastiksi kıvamını veren beyaz renkli fibröz bağ dokusundan oluşan tunika albuginea bulunur. Tunika albuginea ve tunika vajinalisin viseral tabası birbirinden kolayca ayrılmadığı için bu iki tabaka cerrahi açıdan tek tabaka gibi düşünülür. Bu yapıların altında ise tunika vasküloza diye adlandırılan damarlardan zengin bir tabaka daha bulunur. Bu üç tabaka birden testisin kapsülünü yapar.

Mediastinum testis, testise ait damar ve sinirlerin organa girdiği yerdir. Tunika albuginea arka tarafta vertikal olarak mediastinum testisteki yapıları sarar ve testis içine doğru uzanan trabeküler yapıda septalar verir. Bu septalar testisi lobüllere böler. Her bir testis yaklaşık 200–300 adet lobülden oluşur ve her lobül içinde bir veya iki adet seminifer tübül bulunur. Seminifer tübüller bir biri ile anastomoz yaparak 20–30 adet tübüli rektiyi meydana getirirler. Tübüli rektiler ise birbiri ile birleşerek rete testisi yaparlar. Mediastinumun üst ucundaki rete testislerden de eferent duktuslar oluşur. Eferent duktuslar kıvrımlı ve geniş bir yapı halini alırlar. Her biri epididimal lobülleri meydana getirir. Lobüllerde bir araya gelerek epididim başını yaparlar. Epididim başından sonra gövde ve kuyruk kısmı oluşur. Kuyruk kısmından tek bir kanal halinde vas deferens çıkar. Vas deferens kalın duvarlı, kas yapısından zengin ve ejakülatı iletme özelliğine sahip bir yapıdadır. Vasdeferens epididim kuyruk kısmından ayrılarak iç inguinal halkadan karına girer, üreteri önden çaprazladıktan sonra mesane ve median umbilikal ligamentin arkasına geçer. Prostat bezine dökülmeden önce genişleyerek vas ampullayı yapar, sonra ince bir yapı halinde prostat içine dökülür.

2.2 - Testisin Vaskularizasyonu

Testis ve epididimin arteriyel kanlanması internal spermatic arter, deferensiyel arter ve eksternal spermatic ya da kremasterik arterlerle sağlanır. Spermatic arter, renal arterin hemen altında abdominal aortadan çıkar, iç inguinal halka üzerinde spermatic kordun bir parçası olur ve sonuçta plexus pampiniformisi oluşturan venlerin anastomoz ağıyla yakın ilişki içinde bulunur. Pampiniform plexustan ayrılan ve testisin mediastinal yüzüne yayılan spermatic arter testise girmeden önce aşırı kıvrımlı bir hal alır ve dallanır. Özellikle internal spermatic arter ile deferensiyel arter arasındaki yoğun bağlantılar internal spermatic arterin kesilmesinden sonra bile testisin canlılığını devam ettirmesine izin verir.

Testiste arter, testiküler parankimi penetre eden santrifugal arter serilerine ayrılır. Sonraki dallar özel olarak intertübüler kapilleri besleyen bir çift arteriole ayrılır. Seminifer tübüller yanında ip merdiveni şeklinde uzanan kapillerler, peritübüler kapillerler olarak adlandırılırken, interstisyum kolonları içinde uzanan kapillerler intertübüler kapillerler olarak adlandırılır.

Testis venlerinin, uygun intratestiküler arterler ile birlikte seyretmemesi sıktır. Parankimdeki küçük venler testisin yüzeyel venlerine ya da rete bölgesine doğru ilerleyen mediastinuma yakın bir grup ven içine dökülür. Bu iki grup ven pampiniform plexusu oluşturmak üzere deferensiyel venler ile birleşir. Sağ testiküler ven inferior vena kavaya, sol testiküler ven ise sol renal vene dökülür.

Testiste spermatic kord içinde önemli lenfatik kanallar vardır. İntertübüler aralıklardan orjin alan bu lenfatik kanallar lenfatik kapillerleri oluştururlar fakat seminifer tübüllere geçmezler. Lomber ve paraaorik lenf nodüllerine dökülerek sistemik dolaşıma katılır.

2.3 - Testis Histolojisi

Testis, tunika albuginea adı verilen beyaz, sert ve fibröz bir bağ doku ile sarılıdır. Seminifer tubüller elastik liflerden zengin bağ dokusundan yapılmış bazal membran ile bunun iç yüzünü döşeyen germinatif epitel ve sertoli hücreleri bazal membrana oturmuş ve birbirine sıkı bağlarla tutunmuştur. Bu hücrelerin sayısı yaşam boyunca sabit olup çoğalma yeteneği olmayan hücrelerdir. Bazal membran, peritübüler kontraktıl hücreler (myoid hücreler) ve birbirine sıkıca bağlanmış Sertoli hücreleri bir arada kan-testis bariyerini oluştururlar. Bu bariyer spermatogenetik hücrelerin immun sistem hücreleri ile karşılaşmasını engelleyerek immunolojik infertiliteyi önler.

Sertoli hücreleri tubül lümenine doğru filamentöz sitoplazmik dallanmalar gösterirler, germ hücreleri bu filamentöz dallanmalar arasında bulunur. Sertoli hücreleri germ hücrelerinin enerji ihtiyacını karşıladıkları gibi, gelişimin çeşitli evrelerinde oluşan germ hücrelerin atıklarını fagosite ederler ve foliküler uyarıcı hormon (FSH) reseptörleri taşırlar. Salgıladıkları ürünlerle lümen içinde spermatogenezi kolaylaştırıcı kimyasal ortam oluştururlar.

Seminifer tubül içinde yer alan ikinci önemli yapı ise germ hücreleridir. Bunlar bazaldan lümeneye kadar değişik olgunlaşma aşamalarında bulunurlar.

İnterstitiyum ise kan damarları, lenfatik kanallar, fibroblastik destek hücreleri, makrofajlar, mast hücreleri ve leydig hücrelerinden meydana gelmiştir. Leydig hücreleri lüteinizan hormon (LH) etkisi ile kolesterolden testosteron sentezlerler (25,26).

2.4 - Spermatik Kord Torsiyonu

Literatürde, akut skrotum nedeniyle acil servise başvuran 0–17 yaşlar arasındaki hastalarda spermatik kord torsiyonu görülme insidansı %35–38 olarak belirtilmiştir. Testis torsiyonun daha sık görüldüğü iki dönem vardır. En sık peripubertal dönemde, yani 10–16 yaşlar arasında, daha az sıklıkta da perinatal dönemde görülür (27). Olguların %10'u yenidoğandır (28). Sağ testise oranla, solda biraz daha fazla izlenmektedir (29,30).

Spermatik kord torsiyonu ekstravajinal ve intravajinal olmak üzere iki şekilde olur. Ekstravajinal torsiyon daha çok yenidoğan döneminde görülürken, geri kalan olguların çoğunluğu intravajinaldir. İntravajinal torsiyon, spermatik kordun tunika vaginalis bileşkesinin distalinde dönmesidir. Testis tunika vaginalis içinde epididime, epididim de posteriordan skrotuma tutunur. Testisin tunika vaginalis içindeki stabilizasyonu bu şekilde sağlanmış olur. Tunika vaginalis normalde sadece testisi ve epididim anterior yüzünü sarar ve böylece epididimin posteriordan skrotuma tutunmasına izin verir. Eğer tunika vaginalis, testis ve epididimi tümüyle sararsa testis, kord ve elemanları ucunda skrotumda serbest bir şekilde asılı kalır. Buna Bell-Clapper deformitesi denir. İntravajinal torsiyona neden olan bu anatomik anormallik genelde iki taraflıdır (2).

Ekstravajinal torsiyon ise spermatik kordun tunika vaginalisin proksimalinde dönmesidir. Genelde testiküler fiksasyonun oluşmadığı perinatal dönemde ve inmemiş testisi olan hastalarda görülür. Tunika vaginalis ile skrotum duvarı arasındaki yapışma postnatal 7–10 günlerde gerçekleşir (31,32). Bu dönemden önce bebek ekstravajinal torsiyona daha yatkındır. Yenidoğan bebekleri içeren bir çalışmada spermatik kord torsiyonlarının % 72'sinin prenatal, % 28'inin ise postnatal dönemde olduğu saptanmıştır (28).

Spermatik kord torsiyonunun oluşması ile beraber testisin venöz dönüşü engellenir ve venöz konjesyon oluşur. Venöz konjesyon sonunda testiste hemorajik infark alanları meydana gelir. Testis ödem nedeniyle şişer ve bu durum testiste ağrıya yol açar. Venöz konjesyonun oluşması ve testisin şişmesi testiste basınç artışına sebep olur. Sonuçta arteriyel dolaşım da bozularak testiste iskemik nekroz meydana gelir (33).

Testiste oluşan hasar, spermatik kordun torsiyone kalma süresi ve derecesi ile ilişkilidir. Torsiyon ne kadar erken tanınır ve müdahale edilirse testisin kurtarılma şansı da o kadar fazladır (34).

Spermatik kord torsiyonuna neden olabilecek etiyolojik faktörler arasında, travma, aşırı hareketlilik, pubertede testiste meydana gelen değişiklikler, inguinal bölge ameliyatları esnasında iyatrojenik torsiyon, hiperaktif kremasterik refleks ve inmemiş testis sayılabilir (35).

2.4.A - Klinik Bulgular

Spermatik kord torsiyonu görülen yenidoğanlar iri, miadında doğmuş bebekler olup genelde doğum kiloları 3000 gramın üzerindedir. Yenidoğanda spermatik kord torsiyonu doğum öncesi veya doğumdan hemen sonra görülür. Fizik muayenede hemiskrotum ödemli ve hiperemiktir. Bazen skrotum derisi mavi-siyah bir renk almış olabilir. Etkilenmiş testisin olduğu skrotum normalden büyüktür. Genelde yenidoğan döneminde görülen testis torsiyonunda belirgin bir hassasiyet izlenmediğinden tanı genellikle gecikir (28,36).

Daha büyük çocuklarda ise, ani başlayan skrotal ağrı vardır, bazen bu ağrı karnın alt kadranlarına da vurabilir. Bulantı kusma da görülebilir. Fizik muayenede ödemli, şiş bir testis ve eritemli bir skrotum dikkati çeker. Ancak torsiyonun ilk saatlerinde herhangi bir fizik muayene bulgusu olmayabilir. Genelde normalden yukarı yerleşimli, aksı değişmiş, ödemli bir testisin varlığı torsiyonu düşündürür. Fizik muayenede karşı testisin de mutlaka değerlendirilmesi gerekir. Bu muayene de en iyi çocuk ayaktayken yapılır. Kremasterik reflekslere de bakılmalıdır. Kremasterik reflesin yokluğu spermatik kord torsiyonu açısından değerli bir bulgudur (28,37).

Spermatik kord torsiyonunun ayırıcı tanısında apendiks testis torsiyonu, idiopatik skrotal ödem, epididimoorşit, inkarsere inguinal herni, skrotal yağ nekrozu, Henoch-Schönlein purpurası gibi akut skrotum nedeni olabilecek hastalıklar sayılabilir.

2.4.B -Karşı Testisin Etkilenme Mekanizması

Bazı karşı görüşlere rağmen, tek taraflı spermatik kord torsiyonunun karşı testiste de histolojik ve hemodinamik değişiklikler yaptığı kabul edilmektedir. Karşı testisteki histolojik bozukluk ve fertilitate azalmasını araştıran birçok deneysel ve klinik çalışma yapılmıştır (38–41).

Nagler ve White (36), tek taraflı spermatik kord torsiyonunun, karşı testiste atrofiye yol açtığını bildirmişlerdir.

İmmünite ile ilgili yapılan araştırmalarda, IgG tarzında antisperm antikorlar araştırılmış ama kontrol gruplarıyla deney grupları arasında bir fark saptanmamıştır.

Sonuçta karşı testis hasarlanmasında antisperm antikörlerin etkisi olmadığı kabul edilmiştir. Krarup yaptığı çalışmada, spermatik kord torsiyonu saptanan ve detorsiyone edilen 19 hastanın sadece birinde semen analizini normal bulmuştur (42). Bu hastalardan ilk 4 saatte müdahale edilenlerde daha az oranda testis atrofisi izlenmiştir. Müdahale için 24 saati geçen olguların çoğunda testis atrofisi izlenmiştir. Bir başka çalışmada, tek taraflı torsiyon saptanan prepubertal ve pubertal yaş grubundaki 42 hastaya detorsiyon ve fiksasyon uygulanmış ve 30 olgudaki testiküler endokrin ve ekzokrin fonksiyonlar incelenmiştir. Müdahale için 8 saati geçen olgularda testis boyutlarında ciddi azalma izlenmiştir. Olgulardan 4 saat içinde müdahale edilenlerin % 50'sinde semen analizi normal bulunmuştur. Semptomları 24 saati geçen ve orşiektomi yapılan 3 olgunun semen analizleri normalken, aynı sürede testisleri bırakılan 4 olguda semen analizi patolojik olarak saptanmıştır (38). James ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, tek taraflı spermatik kord torsiyonu sonrasında antisperm antikörlerin oluşmamasına rağmen, germinal epitelyuma ve testise karşı hem hümorale hem de hücresele bir reaksiyon geliştiği gösterilmiştir (43).

Cesarano, spermatik damarları bağlanan hayvanlarda bir ay sonra karşı testiste hasar oluşmadığını bildirmiştir (44). Bu durum, karşı tarafta hasar oluşması için torsiyone testisten, minimalde olsa sirkülasyona katılan bir kan akımının olması gerekliliğini ortaya koymuştur.

Bazı çalışmalarda karşı testis hasarlanmasında torsiyone olmuş taraftaki skrotal ödem ve ısı artışı gibi artifisyel faktörlerin de rolü araştırılmıştır. Fakat abdominal torsiyon ile skrotal torsiyon arasında, hasarlanmada bir farklılık bulunamamıştır (31,45).

Melikoğlu ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, torsiyon sırasında karşı testiste de kan akımında azalma, detorsiyon sonrasında ise karşı testis kan akımında da yeniden artma meydana geldiğini saptamışlar (46). Bu ve benzeri birçok çalışmanın ortak sonucu, karşı testiste de iskemi-reperfüzyon hasarının olduğu şeklindedir (21,47). Bununla birlikte yapılan bazı çalışmalarda ise testis gibi global iskemiye toleransı olmayan organlarda, hasarın reperfüzyondan çok iskemiye bağlı olduğu da öne sürülmüştür (48). İskemi-reperfüzyon hasarını önleyen ajanlarla karşı testis hasarlanmasının azaltıldığını iddia eden yayınlar da mevcuttur (49,50).

Spermatik kord torsiyonunda süre ile ilgili bir çok çalışmada ortak olan bulgu; 2 saatin altında karşı testiste hasarlanma olmadığı, 3 saatte hasarlanmanın başladığı, belirgin olarak hasarlanma bulgularının ise 6–8 saatlik torsiyon süresinde olduğudur (51-53). Yapılan çalışmalarda alınan sonuçlarla, 6 saatten sonra karşı testiste hasarlanmanın belirginleştiği, 24 saatte ise, hasarın inceleme için yeterli düzeye ulaştığı zaman olarak kabul edilmektedir (1).

2.4.C- Tanısal Çalışmalar

Spermatik kord torsiyonu tanısında halen en önemli yöntemler ayrıntılı öykü ve uygun fizik muayene olarak görülmektedir. Tanıda en önemli kriter zamanlamanın uygun yapılması ve hasta için geçerli tedavi planının çizilmesidir (31).

Tüm hastalarda rutin hemogram ve idrar analizi yapılmalıdır. İdrar mikroskopisinde pyüri varlığı epididimiti desteklemektedir.

Renkli doppler ultrasonografisi ile % 90' nın üzerinde doğru tanı konulabilir ve bu yöntem özellikle tümör düşünülen olgularda ayırıcı tanıda yararlıdır. Puberte öncesi dönemde, testis hacminin ve vasküler yapıların küçüklüğü nedeniyle güvenilirliği ve klinik kullanımını sınırlıdır.

Diğer bir tanı yöntemi ise Tc99m sintigrafisidir. Torsiyonda kan akımı azaldığından sintigrafide avaskülarite, orşitte ise inflamasyon nedeniyle vaskülaritenin arttığı görülebilir. Ancak sintigrafi ile de % 95 oranında doğru tanı konulabilmektedir. Buna karşılık, küçük çocuklarda testis boyutlarının küçük olması sintigrafinin de güvenilirliğini azaltmaktadır (54).

2.4.D – Tedavi

Spermatik kord torsiyonunun tedavisi acil cerrahi eksplorasyondur. Cerrahi uygulamanın gecikeceği durumlarda lokal anestezi ile manuel redüksiyon denenebilir. Redüksiyon başarısı doppler ultrasonografisi ile teyid edilmeli ve detorsiyonun başarısız olduğu durumlarda, en kısa zamanda cerrahi girişim yapılmalıdır.

Cerrahi eksplorasyon, intravaginal torsiyonlarda skrotal, ektravaginal torsiyonlarda ise inguinal yoldan yapılmalıdır. Detorsiyonu takiben 15–20 dakika izlenen testislerin canlılığı hakkında karar verilir ve eğer çıkarılmayacak ise iki taraflı skrotal fiksasyon yapılır. En iyi sonuçlar genellikle ilk 6 saatte başvuran olgularda alınmaktadır (34).

2.5 - Programlanmış Hücre Ölümü (Apoptozis)

PHÖ, biyoloji alanında olduğu kadar temel ve klinik bilimlerde de yoğun ilgi odağı olan bir konu olarak dikkati çekmektedir. PHÖ, Kherr ve arkadaşlarının otuz yıl önce tanımladığı ve hücre ölümüne yol açan iki ana mekanizmadan biridir. Hücrelerin kendi kendini yok ettikleri, aktif RNA/protein sentezine ve enerjiye gereksinim gösteren bu ölüm formu, patolojik hücre ölümü olan nekrozdan tamamen farklıdır. Organizmada yapım (mitoz) ve PHÖ arasında bir denge mevcuttur. Bu dengenin herhangi bir taraf lehine bozulması önemli sorunlara yol açabilir. PHÖ, tek bir hücrede hücrenin birden büzüşmesi ve çevre hücrelerle olan temasın kaybolması ile karakterizedir. Nekrozda, hücrede şişme olurken PHÖ’deki hücrede büzüşme ilk mikroskopik bulgudur. Wyllie yaptığı deneysel bir çalışmada, PHÖ’nün, hücrenin endonükleaz sisteminin aktive olması sonucu olduğunu öne sürmüştür (55). Böylece DNA parçalanmasının PHÖ’nün en belirgin özelliği olduğu ortaya çıkmıştır.

Robert B. ve arkadaşları ise hücre ölümünün başlamasıyla birlikte, çekirdek zarının yanında yarım ay şeklinde uniform ve koyu renkli kitleciklerin oluşumuyla karakterize kromatin yoğunlaşması olduğunu tariflemişlerdir (56). Parçalanmış çekirdek kromatinin, sitoplazma içeriği ile birlikte çekirdek zarınca porsiyonlar halinde sarmalandığını belirtmişlerdir.

PHÖ, çok hücreli organizmalarda hasar gören hücrenin uzun süre ortamda kalmasının çıkarabileceği sorunları çözümlen bir mekanizmadır. PHÖ aşağıda belirtilen fizyolojik ve patolojik olaylarda etkin rol oynamaktadır.

1- Embriyogenezis ve metamorfoz sürecindeki hücre yıkımlarında (Fetus implantasyonu, organogenezis ve gelişim sürecindeki involüsyonlar).

2- Erişkinde, hormona bağlı involüsyonlarda (menstrüel siklus ve laktasyon sonrası meme bezlerinin regresyonu).

3- Sürekli çoğalan hücre gruplarında hücre azaltılmasında (Barsak kripta epitelleri vb.)

4- İmmun hücrelerin seçimi (timus gelişimi sırasında otorektif T hücrelerinin ortadan kaldırılması).

5- Tümörlerde hücre ölümlerinde (hem büyüme hem de regresyon aşamasında)

6- Hormona bağımlı dokularda patolojik atrofi (kastrasyon sonrası prostat atrofisi). Germ hücrelerindeki yaşam siklusları da, hormona bağımlı olarak PHÖ ile kontrol altındadır.

7- Parankimatöz organlarda duktus tıkanmaları sonrasında patolojik atrofi (pankreas ve böbrek tubülüslerinde)

8- Sitotoksik T hücreleri ile oluşturulan hücre ölümü (graft versus host reaksiyonu).

9- Bazı viral hastalıklardaki hücre hasarı (viral hepatitteki Councilman cisimcikleri).

10- Çeşitli etkenlerle oluşan hücre ölümü (hipertermi, radyasyon, hipoksi, kemoterapötik ajanlar, tümör nekrosis faktör-alfa (TNF- α) salımına neden olan olaylar). Yani nekroza yol açacak olayların düşük yoğunluklardaki etkisi sonucu.

PHÖ mekanizmasında üç temel grup rol alır. Bunlar; ölüm reseptörleri, adaptör proteinler, proteolitik enzimler olan kaspazlardır (57).

PHÖ, klasik olarak ölüm reseptörleri olarak bilinen Fas ve tümör nekroz faktör reseptörleri (TNFR-1) ile uyarılır. Fas reseptörlerine bağlanan ilgili uyarıcısına Fasligand (FasL) denir. Bu ölüm bölgeleri, kaspazları aktive ederek PHÖ'yü başlatır.

Kaspazlar, zimojen (inaktif prekürsör) olarak sitoplazmada bulunan proteazlardır. Şu ana kadar 14 tanesi tanımlanmış olup, şelale tarzı reaksiyon dizisi ile birbirlerini aktive ederek PHÖ'ye yol açarlar. PHÖ sırasında DNA'yı kesen, kaspazlar ile aktive edilen deoksiribonükleaz hakkındaki son bulgular, kaspazların diğer enzimleri aktive edici etkilerinin yanında, ölümü gerçekleştiren enzimler de olduğuna işaret etmektedir (58,59).

Cothan 1994 yılında geliştirdiği deneysel modelde, PHÖ'nün aktif ve enerji gerektiren, genlerle düzenlenen bir olay olduğunu göstermiştir (60). Bu genlerden biri olan tümör süpresör gen p53, PHÖ'nün başlamasında önemli bir faktördür. Normal hücrelerde,

hücre zedeleyici (ultraviyole, radyasyon vb.) etkilerden sonra p53 protein düzeyinde artış olur ve hücre mitozdan sonra, DNA sentezinden önce (G1 fazında) durarak DNA onarımı başlar. Söz konusu onarım gerçekleşmezse PHÖ'ye giden yol açılır ve hücre ölür. Kısaca P53 genomik bütünlüğün sigortasıdır. PHÖ'de etkili olan genlerden biri de Bcl-2 ailesidir (Bax, Bad, Bid, Bcl-xs). Bcl-2; B cell lymphoma/leukomia-2 geninin kısa adıdır. En belirgin özelliği PHÖ' yü engellemesidir. Ama bu aileye ait üyelerden bir kısmının da PHÖ'yü indüklediği saptanmıştır. PHÖ'yü indükleyenlere Bax ve Bcl-xs, engelleyenlere de Bcl-2 ve Bcl-x1 örnek olarak verilebilir. Bcl-2'nin bir ilginç özelliği de reaktif oksijen düzeylerinin PHÖ üzerindeki etkilerini pro-oksidan gibi davranarak kontrol etmesidir (45,61).

Bazı çalışmalarda, hücrenin yaşaması ya da ölümü konusunda dikkatler mitokondri üzerinde yoğunlaşmış ve TNF- α ile uyarıyı takiben mitokondri zarının geçirgenliğinin artması sonucu kaspazların aktive olduğu gösterilmiştir (62,63).

PHÖ'de mitokondri zarlarında oluşan kanalların etkinliğini kontrol eden adenin nükleotid traslokator'un işlevinin ise Bcl-2 ve Bax tarafından düzenlendiği gösterilmiştir (64,65).

PHÖ'nün bazı antioksidan enzimler tarafından engellendiği de saptanmıştır (66,67). Reaktif oksijen radikallerinin mitokondri, plazma zarı ve genom üzerinde oluşturduğu hasar PHÖ'yü başlatabilmektedir. Lysiac ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, glukokortikoid hormonlarının rat testisindeki germ hücrelerinde PHÖ'yü engellediği öne sürülmüştür (57). Diğer bir çalışmada da testiste 4 saatlik torsiyon sonrasında oluşturulan reperfüzyonda PMNL'lerin subtunikal venüllerde adezyonu ve reaktif oksijen moneküllerinin neden olduğu lipid peroksidasyonunun artışıyla, PHÖ'nün doğru orantılı olduğu saptanmıştır. İskemi-reperfüzyon sonrası PMNL'nin venüllere adezyonunu takiben interlökin-1 (İL-1) ve TNF- α salınımının arttığı saptanmıştır (68).

Yazawa yaptığı bir deneysel çalışmada, germ hücrelerine spesifik PHÖ'nün mitokondri üzerinden Bax, Bcl-Xs'in ve sitoplazmik sitokromun artması sonucu, Fas/FasL yolunun aktive olmasıyla gerçekleştiğini saptanmıştır (69). Koji ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, Fas/FasL sisteminin testisteki iskemi-reperfüzyon sonrası PHÖ'ye gidişte

etkisi olduğu, ancak normal testisteki hormonal etkiyle oluşan PHÖ ile ilişkisi olmadığı gösterilmiştir.

PHÖ'nün seyri ;

1- Uyarıcı etkinin alınmasını takiben ani olarak başlar, 3–9 saat sonra dokuda saptanabilir.

2- Başlangıçta hücre volümünün yarısına düşer, su ve elektrolitini kaybeder ve daha yoğun yapısal moleküller kalır. Tomurcuklanma ve parçalara ayrılmada transglutaminaz enzimi etkili olmaktadır.

3- Kromatin kondansasyonuna yol açan mekanizma tam olarak aydınlatılmıştır. Kromatin nükleozomlar arasındaki bağlantı bölgelerinden ayrılması ile karakterizedir. 180–200 baz çiftlerinden oluşan bir dizi parça oluşur, bunlar elektrofrezdeki tipik 'ladder' görüntüsünden sorumludur. Bu görünüm nekrozdaki rastgele parçalanmaya bağlı diffüz DNA paterninden tamamen farklıdır. PHÖ'de oluşan DNA parçalanması kalsiyum duyarlı endonükleazlar ile olmaktadır. Endonükleazlar, nötral pH'da aktiftir ve sitozolik serbest Ca ve Mg'a bağımlıdır, Zn ile inhibe edilebilirler.

4- PHÖ cisimciklerinin fagositler tarafından tanınması nonimmünolojik bir mekanizma ile olmaktadır.

2.6 - Poli(ADP-Riboz) Polimerazlar ve İskemi-reperfüzyon Hasarı

2.6.A - Poli(ADP-Riboz) Polimerazlar

Poli (ADP-Riboz) polimerazlar (PARP), bir enzim ailesidir. Poli(ADP-Riboz) Polimerazlar (PARP) ADP riboz ünitelerinin NAD'den bazı alıcı proteinlere transferini katalize eden hücre sinyal enzimleri olarak tanımlanmışlardır. PARP'ler DNA onarımı, gen transkripsiyonu, hücre siklusu ilerlemesi, hücre ölümü, kromatin fonksiyonları ve genomik denge gibi pek çok hücresel sürecin düzenlenmesinde yer almaktadır (70–73).

PARP ailesinin Şu an altı üyesi tanımlanmıştır.

PARP-1: Dört ana bölgeden oluşan 116 kDa'lık bir çekirdek proteindir. Enzim, alkilleyici ajanlar, iyonize radyasyon veya serbest radikaller tarafından tetiklenen DNA hasarına cevap olarak aktive olur. PARP-1 delik tarayıcısı gibi davranır. Hüresel proteinlerin PARP-1 aracılıklı translasyon sonrası modifikasyonları, transkripsiyonu ve DNA replikasyonunu durdurmak için hızlı sinyaller üretebilir ve hasar bölgesinde DNA onarım sistemlerini yeniden çalıştırabilir (73).

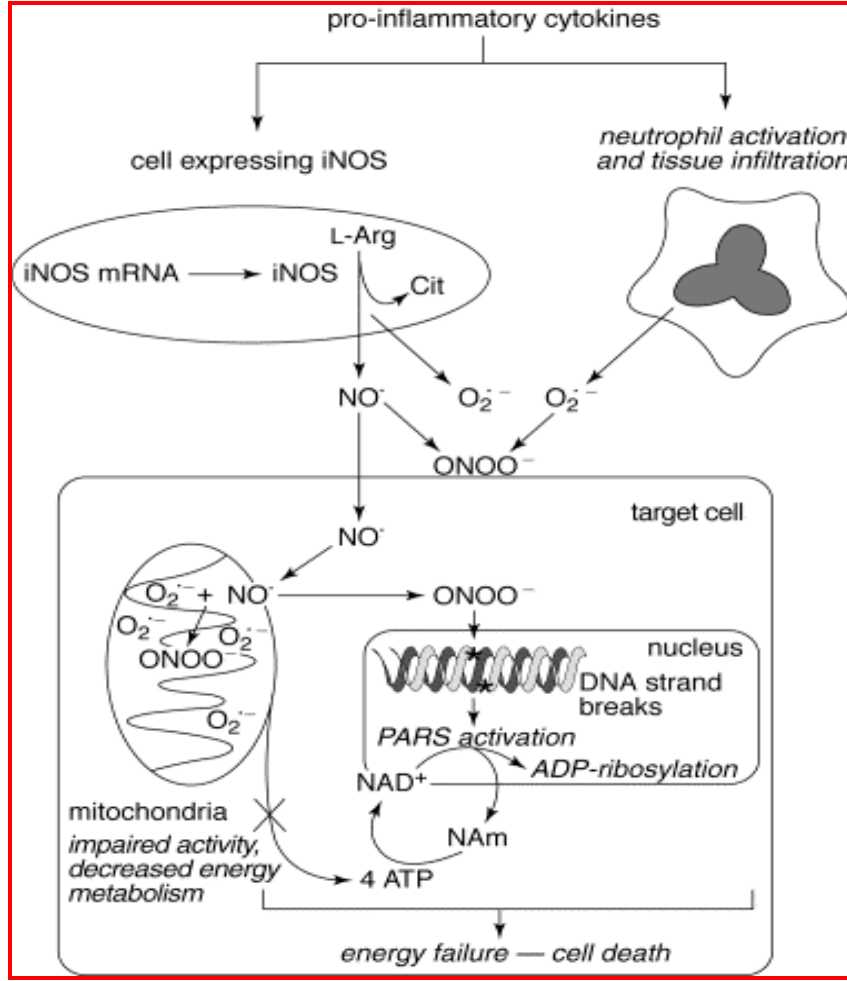
PARP-1 hem nekroz hem de apoptoziste önemli rol oynar. Masif DNA hasarı durumunda PARP-1' in yoğun aktivasyonu, NAD'yi yeniden sentezleme girişimlerinde, ATP havuzlarını boşaltabilir ve bu süreçte nekroz ile hücre ölümüne sebep olabilir. Öte yandan hücreler apoptozis uyarımına maruz kaldığında PARP-1 kaspazlar tarafından kesilir. DNA bağlanma bölgesinde proteoliz meydana gelir. Böylece PARP'nin katalitik etkisi ortadan kaldırılır. Bu hücrenin yaşaması için gerekli olan enerji havuzlarının tüketilmesini engeller (74).

PARP-2: PARP-2, PARP-1'in katalitik alanı ile en yüksek homolojiyi gösteren enzimdir. Bu iki enzimin birbirinden bağımsız düzenleme ve destek rolleri mevcuttur.

PARP-3: PARP-3 tanımlanan en küçük PARP dir. Kısa bir PARP-1'e benzer. Fakat hem DNA bağlanma hem de otomodifikasyon alanından yoksundur. PARP'nin hücre içerisindeki yerleşimi ve aktivitesi henüz bilinmemektedir (75,76).

PARP-4: 193 kDa'lık bir proteindir. Hüresel taşınımında rol almaktadır (77).

Tankilazlar (Tankilaz-1, PARP-5 ve Tankilaz-2, PARP-6): PARP-5 proteini, PARP-6 ile %85 aminoasit benzerliği gösterir. Yakın zamanda belirlenmiş olan bu enzimlerin fonksiyonları henüz net bilinmemektedir (78).

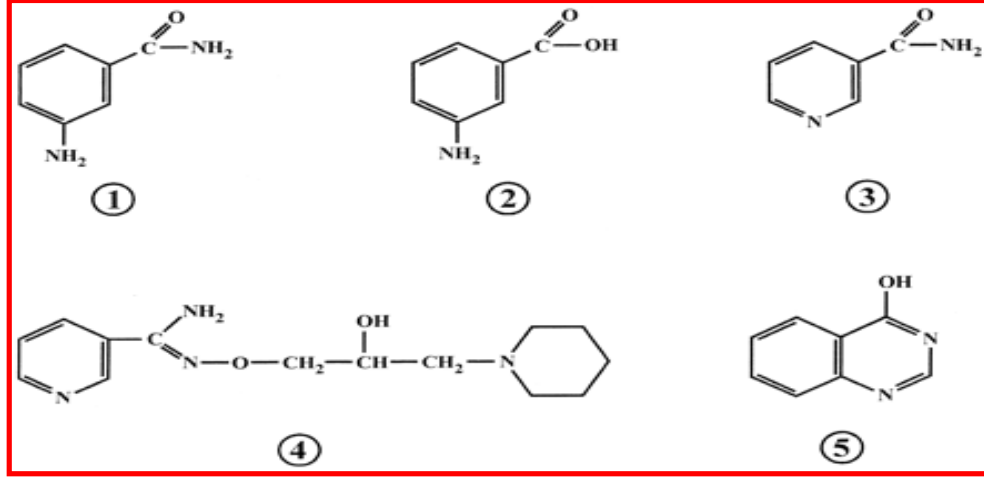


(Trends in Pharmacological Sciences- 1998)

Şekil 1: Masif PARP aktivasyonunun neden olduğu enerji kaybına bağlı hücre ölümü

2.6.B - Poli(ADP-Riboz) Polimeraz İnhibitörlerinin Potansiyel Uygulamaları

PARP inhibitörlerinin iskemi-reperfüzyon sonrası kullanımının pek çok organda faydası gösterilmiştir (78-81). PARP inhibitörlerinin uygulanması, tavşanlarda kalp ve iskelet kasında iskemi-reperfüzyon hasarında azalmaya, fokal serebral iskemi modelinde beyin infark hacminde azalmaya, retinada iskemi-reperfüzyon hasarında azalmaya yol açtığı gösterilmiştir (82,83). Farelerde de böbreklerin oksidatif stresten korunmasında etkili olduğu gösterilmiştir (84).



(Trends in Pharmacological Sciences- 1998)

Şekil 2: PARP inhibitörleri (**1.** 3 – aminobenzamide **2.** 3–aminobenzoic acid **3.**Nicotinamide **4.** BGP – 15 **5.** 4 – Hydroxyquinazoline)

2.6.C – Nicotinamide

En sık kullanılan PARP inhibitörlerinden biri olan nicotinamide, benzamide analoglarının bir çok özelliğini paylaşmaktadır. DNA hasar tamirindeki rolü diğer PARP inhibitörlerine benzerdir. Nicotinamide de diğer benzamid analogları gibi oksiradikal çöpcü gibi davranabilir. Nonspesifik özellikleri sadece yüksek konsantrasyonlarda bildirilmiştir. İyi biyoyararlanımının yanı sıra düşük toksisiteye sahiptir. Diabetes mellitusla ilgili klinik çalışmalar dikkat çekici öncül sonuçlara ulaşmıştır (85).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi 18.07.2006 tarih ve 163 nolu Etik Kurul onayı alındıktan sonra Ondokuz Mayıs Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma laboratuvarları'nda yapıldı. Deneysel çalışmalar için, T.C. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı'nın (Proje no: T-546) maddi desteği alındı. Histopatolojik inceleme ve TUNEL uygulamaları Ondokuzmayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında, rat serumları Ondokuzmayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında değerlendirildi.

Çalışmada Ondokuz Mayıs Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarları'nda yetiştirilen ağırlıkları 190–210 gr arasında değişen 47 adet Wistar albino erkek rat kullanıldı. Ratlara çalışma boyunca standart beslenme rejimi uygulandı. Su serbest olmak üzere ratlar deney öncesi 12 saat aç bırakıldılar. Denekler değişik sayılarda 10 gruba ayrıldı. Deneklerde anestezi, 5 mg/kg ksilazin hidroklorür ve 40 mg/kg ketamin intra muskuler injeksiyonu kombinasyonu ile sağlandı. Testis torsiyonu, sol skrotal insizyonla girilip, testisin bulunması ve saat yönünde 720 derece çevrilmesi ile oluşturuldu. Testisler kendiliğinden detorsiyonu önlemek için, skrotum cildine 4.0 ipekle tesbit edildi. Testisler, torsiyon sürelerinin bitiminde yeniden aynı anestezi maddelerinin etkisi altında, aynı insizyondan girilerek detorsiyone edildi. Her cerrahi işlem sonrası skrotum cildi 4.0 ipekle kapatıldı. Deney süreleri bitiminde, ratlardan 5 cc kan alınıp servikal dislokasyonla sakrifiye edilerek iki taraflı orşiektomi yapıldı.

Spesmenlerde histopatolojik inceleme ile germ hücre apoptozisi, Johnson Tubüler Biyopsi Skoru, seminifer tubül çapları hesaplanıp, rat serumunda malondialdehit (MDA) ve total, serbest glutatyon seviyeleri bakılarak sonuçlar istatistikî yöntemlerle değerlendirildi.

3.1- Deney Grupları

1- Erken Kontrol Grubu (KNTE)

Bu grup 3 adet rattan oluşmaktaydı. Normal histopatolojik, apoptozis ve biyokimyasal değerlerinin incelenmesi amacıyla intrakardiak 5 cc kan alınıp iki taraflı orşiektomi yapıldı.

2- Erken Sham Grubu (ShamE)

Bu grup 3 adet rattan oluşmaktaydı. Sol testis eksplore edildikten sonra kapatıldı. Sham operasyonundan 4 saat sonra intrakardiak 5 cc kan alınıp iki taraflı orşiektomi yapıldı.

3- Erken Torsiyon-detorsiyon Grubu (TDE)

Bu grupta 5 adet rat mevcut olup sol inguinoskrotal kesi ile funikulus spermatikusa ulaşıldı, sol spermatik kord ve testis serbestleştirildikten sonra sol testisler 4 saat süre ile 720 derece torsiyone edildi. Detorsiyondan 4 saat sonra intrakardiak 5 cc kan alınıp iki taraflı orşiektomi yapıldı.

4- Erken Grup Torsiyon-detorsiyon SF Grubu (TDSFE)

Bu grupta 5 adet rat mevcut olup sol inguinoskrotal kesi ile funikulus spermatikusa ulaşıldı, sol spermatik kord ve testis serbestleştirildikten sonra sol testisler 4 saat süre ile 720 derece torsiyone edildi. Detorsiyondan yarım saat önce intraperitoneal 0.2 cc saline verildi. Detorsiyondan 4 saat sonra 5 cc kan alınıp iki taraflı orşiektomi yapıldı.

5- Erken Grup Torsiyon-detorsiyon Nicotinamide Grubu (TDNiE)

Bu grupta 5 adet rat mevcut olup sol inguinoskrotal kesi ile funikulus spermatikusa ulaşıldı, sol spermatik kord ve testis serbestleştirildikten sonra sol testisler 4 saat süre ile 720 derece torsiyone edildi. Detorsiyondan yarım saat önce intraperitoneal 10 mg/kg PARP inhibitörü (nicotinamide) verildi. Detorsiyondan 4 saat sonra 5 cc kan alınıp iki taraflı orşiektomi yapıldı.

6- Geç Kontrol Grubu (KNTG)

Bu grup 4 adet rattan oluşmaktaydı. Normal histopatolojik, apoptozis ve biyokimyasal değerlerinin incelenmesi amacıyla intrakardiak 5 cc kan alınıp iki taraflı orşiektomi yapıldı.

7- Geç Sham Grubu (ShamG)

Bu grup 4 adet rattan oluşmaktaydı. Sol testis eksplore edildikten sonra kapatıldı. Sham operasyonundan 2 ay sonra intrakardiak 5 cc kan alınıp iki taraflı orşiektomi yapıldı.

8- Geç Torsiyon-detorsiyon Grubu (TDG)

Bu grupta 6 adet rat mevcut olup sol inguinokrotal kesi ile funikulus spermatikusa ulaşıldı, sol spermatik kord ve testis serbestleştirildikten sonra sol testisler 4 saat süre ile 720 derece torsiyone edildi. Detorsiyondan 2 ay sonra 5 cc kan alınıp iki taraflı orşiektomi yapıldı.

9- Geç Grup Torsiyon-detorsiyon SF Grubu (TDSFG)

Bu grupta 6 adet rat mevcut olup sol inguinokrotal kesi ile funikulus spermatikusa ulaşıldı, sol spermatik kord ve testis serbestleştirildikten sonra sol testisler 4 saat süre ile 720 derece torsiyone edildi. Detorsiyondan yarım saat önce intraperitoneal 0.2 cc saline verildi. Detorsiyondan 2 ay sonra intrakardiak 5 cc kan alınıp iki taraflı orşiektomi yapıldı.

10- Geç Grup Torsiyon-detorsiyon Nicotinamide Grubu (TDNiG)

Bu grupta 6 adet rat mevcut olup sol inguinokrotal kesi ile funikulus spermatikusa ulaşıldı, sol spermatik kord ve testis serbestleştirildikten sonra sol testisler 4 saat süre ile 720 derece torsiyone edildi. Detorsiyondan yarım saat önce intraperitoneal 10 mg/kg PARP inhibitörü (nicotinamide) verildi. Detorsiyondan 2 ay sonra intrakardiak 5 cc kan alınıp iki taraflı orşiektomi yapıldı.

3.2- Johnson Tubüler Biyopsi Skoru (JTBS)

Spermatogenezin kantitatif şekilde değerlendirilmesi amacıyla JTBS kullanıldı. Bu skorlamaya göre, hasarlanmaya neden olan herhangi bir olay sonrasında, tubln içinde hücrelerin dağılımı belli bir sıra takip ederek progresif olarak kaybolur. En olgun hücre tipi olan spermatidler, spermatositler, spermatogoniumlar ve en sonda sertoli hücrelerinin kaybı izler. Biyopsi materyalinin her kesitinde 25 adet tubl aşağıda belirtilen kriterlere göre derecelendirildi ve bulunan değerlerin ortalaması hesaplanarak Modifiye JTBS elde edildi.

Skor 10	Pek çok spermatozoa ile birlikte tam spermatogenez
Skor 9	Pek çok spermatozoa olmakla birlikte – disorganize spermatogenesis
Skor 8	Sadece birkaç spermatozoa (< 5-10/ tubül)
Skor 7	Spermatozoa yok, pek çok spermatid mevcut.
Skor 6	Sadece birkaç spermatid (< 5-10/ tubül)
Skor 5	Spermatid yok, pek çok spermatosit mevcut.
Skor 4	Sadece birkaç spermatosit (< 5/ tubül)
Skor 3	Sadece spermatogonia mevcut.
Skor 2	Sadece Sertoli hücresi mevcut.
Skor 1	Tübüler kesitte hiç hücre yok.

Tablo 1: Johnson Tübüler Biyopsi Skoru

3.3- Histopatolojik Değerlendirme

1. Testisler, uzun eksene paralel kesilerek parçalar %10'luk tamponlanmış nötral formolinde 24 saat tesbit edildi.

2. Tesbit edilen testislerden 3–4 cm kalınlığında parçalar alındı.

3. Rutin doku takip işleminden sonra 4-6 mikrometre kalınlığında iki kesit Hematoksilen Eozin (HE) ile boyandı.

4. Işık mikroskobu ile incelenerek, oküler mikrometre ile her biyopsi spesmeninde rastgele yirmibeş adet yuvarlak seminifer tubül çapı ölçülerek ortalama seminifer tubül çapları hesaplandı (Tablo 3), (Şekil 9), (Şekil 10). Modifiye Johnson Tübüler Skorlama sistemine göre rastgele yirmibeş tubül değerlendirilip ortalaması hesaplandı (Tablo 2), (Şekil 3), (Şekil 4).

Birer adet 3 mikrometre kalınlığındaki doku kesiti sialize lam üzerine alındı. PHÖ'nün incelenmesi apoptozis kiti (In Situ Cell Death Detection Kit, POD 11684817910) kullanılarak TUNEL metoduyla yapıldı. Bu yöntemde;

1. Doku kesitleri 3 (triethoxysilyl) propylamine (APES) (Merck) ile hazırlanan adheziv lamlara alındı.
2. Gece boyu (12 saat) 56 derecelik etüvde bekletildikten sonra ksilen ve alkolden geçirilerek deparafinize edildi.
3. Distile su ile yıkanan preparatlar antijen retrieval solüsyonu içinde (0.1 M pH 6.0 sitrat buffer) mikrodalgada 5 dakika 350 watt'ta bekletildi.
4. Oda sıcaklığında soğuması beklendi ve sonra distile suda iyice yıkandı.
5. Endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için metanol içerisinde hazırlanan %3 lük hidrojen peroksit solüsyonu ile 5 dakika muamele edildi.
6. Takiben distile suya alınıp iyice yıkandı.
7. Her bir lama dokunun tümüne temas edecek şekilde TUNEL reaksiyon karışımı damlatıldı.
8. Lamlar 37 derecelik etüvde bir saat bekletildi ve distile su ile iyice yıkandı.
9. Sonra lamlar kenarları kurularak ve blok antikor damlatılarak 5 dakika bekletildi ve üzerine POD (conjugated with horse-radish peroxidase) damlatıldı.
10. Preparatlar 37°C lik etüvde 30 dakika bekletildikten sonra distile su ile iyice yıkandı.
11. Renklendirici ajan olarak 3,3'-diamino benzidin (DAB) içeren kit (DAKO, Carpinteria, USA) kullanıldı.
12. Lamlar 2-5 dakika arasında kromojende beklerken, mikroskop ile yapılan kontrollerde boyanma gözlenenler distile suya alınıp 10-15 saniye Mayers-Hematoksilen ile muamele edildi.
13. Takiben alkol ve ksilenden geçirilerek kapatıldı.

PHÖ' yü belirlemede 30 seminifer tubül değerlendirildi. Tubül başına düşen apoptotik hücre sayısı belirlendi (Tablo 4), (Şekil 11), (Şekil 12).

3.4- Biyokimyasal Değerlendirme

Çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya A.D. Laboratuvarında yapıldı. Erken dönem rat plazmaları 2 ay -20 derecede saklandı.

Rat serumunda malodialdehit seviyesini hesaplamak için Choromosome Kat no: 67000 malondialdehit tayin kiti, total ve serbest glutatyon seviyeleri için Choromosome kat no: 66000 Glutatyon tayin kiti kullanıldı. Sırasıyla şu işlemler uygulandı.

Malondialdehit için; ışıktan korumalı vialeye:

1. 100 µl plazma, 500 µl precipitation reaktif eklendi.
2. 10 saniye vortexlendi.
3. 5 dakika 13000x rpm de santrifüj edildi.
4. 500 µl Supernatant yeni bir kapaklı viale alındı.
5. 100 µl reaktif eklendi.
6. Vialin içinde karıştırılıp 60 dakika 95 derecede inkübe edildi.
7. Soğutulan karışıma 250 µl neutralisation buffer eklendi.

Agilent 1100 HPLC cihazı kullanılarak fluorescence dedektör kullanılarak değerlendirildi.

Serbest glutatyon için ışıktan korumalı vialeye :

1. 150 µl internal standart eklendi.
2. 10 µl numune eklendi.
3. 400 µl precipitation reaktif eklendi.
4. 30 sn vortexlenip, 10 dakika 9000x rpm de santrifüj edildi.
5. Yukarıdaki karışımdan 50 µl alındı.
6. 100 µl derivatization mix eklenip karıştırıldı.
7. 50-55 derecede su banyosunda 10 dakika inkübe edildi.

Agilent 1100 HPLC cihazı kullanılarak fluorescence dedektör yardımıyla değerlendirildi.

Total Glutatyon için ışıktan korumalı vialeye :

1. 150 µl internal standart eklendi.
2. 10 µl numune eklendi.

3. 400 µl precipitation reaktif eklendi.
4. 30 sn vortexlenip, 10 dakika 9000xrpm de santrifüj edildi.
5. Yukarıdaki karışımdan 50 µl alındı.
6. 10 µl rediction reaktif eklendi.
7. Oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi.
8. 100 µl derivatization mix eklenip karıştırıldı.
9. 50-55 decede su banyosunda 10 dakika inkübe edildi.

Agilent 1100 HPLC cihazı kullanılarak fluorescence dedektör yardımıyla değerlendirildi (Tablo 5), (Şekil 18), (Şekil 19), (Şekil 20).

3.5- Verilerin Değerlendirilmesi

Çalışmamızın verileri Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı tarafından SPSS (ver.15.0) programına yüklendi. Niceliksel veriler ortalama \pm standart sapma şeklinde ifade edildi. Grupların karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis Varyans Analizi kullanıldı, gruplar arası fark tesbit edilen parametrelerde iki grubun karşılaştırılmasında Mann Whitney U Testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda sol spermatik kordlarına 4 saatlik torsiyon uygulanan ratlar detorsiyon işlemi sırasında incelendiğinde, testislerin ödemli, çevresinde serohemorajik sıvı olduğu saptandı. Karşı testislere yapılan orşiektomi işlemi sırasında yapılan incelemede bütün grupların testislerinde makroskobik olarak herhangi bir değişikliğe rastlanmadı. 2. ay orşiektomi yapılan gruplarda ise erken dönem gruptakilere göre nisbeten daha az serohemorajik sıvı varlığı ve ödem olması dikkati çekti. Fakat karşı taraf testislerde erken gruptakilerde olduğu gibi belirgin dikkati çeken makroskobik değişiklik gözlenmedi.

4.1- JOHNSON TUBÜLER BİOPSİ SKORLARI

JTBS yönünden gruplar karşılaştırıldığında hem erken hem geç gruplar arasındaki fark önemli bulundu ($p<0,05$).

Gruplara ait JTBS sonuçları erken grup sol testisler karşılaştırıldığında, PARP verilen deney grupları lehine istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu. Gruplara ait JTBS sonuçları erken grup sol testisler için ikişerli olarak karşılaştırıldığında; Kont(E) grubu ile TD(E), TDSF(E), TDNi(E) grupları arasındaki fark önemli ($p<0,05$), Sham(E) grubu ile TD(E), TDSF(E), TDNi(E) grupları arasındaki fark önemli ($p<0,05$). TDNi(E), TD(E) ile TDNi(E), TDSF(E) grupları arasındaki fark önemli bulundu ($p<0,05$). TD(E) ile TDSF(E), Sham(E) ile Kont(E) grupları arasında ise anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Geç grup sol testisler karşılaştırıldığında Kont(G) grubu ile TD(G), TDSF(G), TDNi(G) grupları arasındaki fark önemli ($p<0,05$), Sham(G) grubu ile TD(G), TDSF(G), TD(Ni) grupları arasındaki fark önemli ($p<0,05$), TD(G) ile TDNi(G), TDSF(G) ile TDNi(G) grupları arasındaki fark önemli bulundu ($p<0,05$). TD(G) ile TDSF(G), Sham(G) ile Kont(G) grupları arasında ise anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Sol testisler için, hem erken hemde geç Kont grupları ile sham gruplarındaki ratların testis kesitlerinde, seminifer tubül içerisinde olgun spermatazoa hücreleri yeteri kadar bulunurken, hem erken hemde geç TD ve TDSF gruplarında bu spermatazoa sayılarında anlamlı ölçüde azalma ve hem erken hemde geç TDNi gruplarında ise seminifer

tubül içerisinde TD ve TDSF gruplarına göre daha fazla olgun spermatazoa bulunduğu tesbit edildi.

Gruplara ait JTBS sonuçları erken grup sağ testisler karşılaştırıldığında, PARP inhibitörü verilen deney grupları lehine istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu. JTBS yönünden gruplar ikişerli olarak karşılaştırıldığında, Kont(E) grubu ile TD(E), TDSF(E), TDNi(E) arasındaki fark önemli ($p<0,05$), Sham(E) grubu ile TD(E), TDSF(E), TDNi(E) arasındaki fark önemli bulundu ($p<0,05$). TD(E) ile TDNi(E), TDSF(E) ile TDNi(E) grupları arasındaki fark önemli bulundu ($p<0,05$). TD(E) ile TDSF(E), Kont(E) ile Sham(E) grupları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

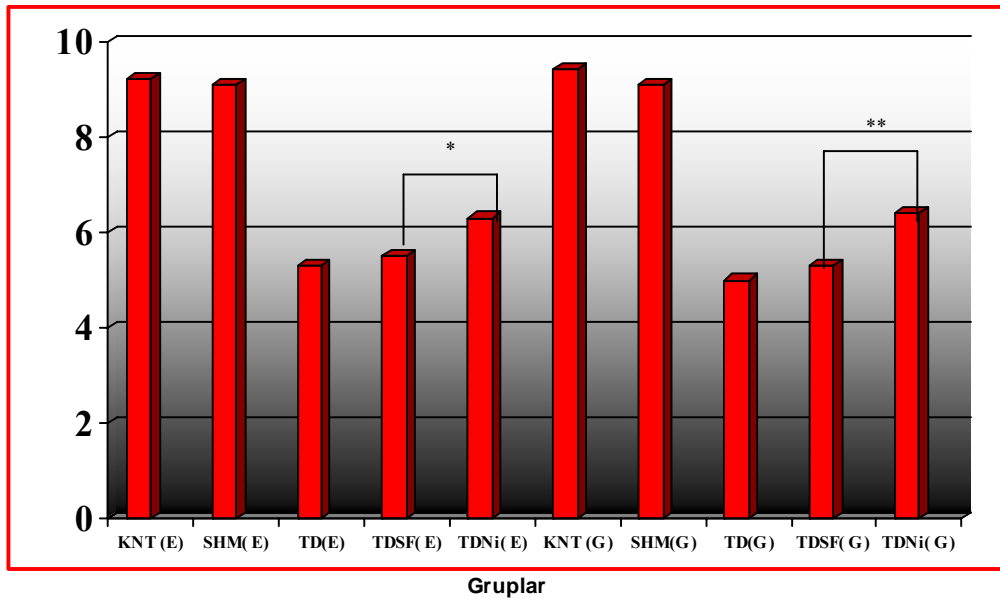
Gruplara ait JTBS sonuçları geç grup sağ testisler karşılaştırıldığında, PARP inhibitörü verilen deney grupları lehine istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu. Geç grup sağ testisler ikişerli olarak karşılaştırıldığında Kont(G) grubu ile TD(G), TDSF(G), arasındaki fark önemli ($p<0,05$), Sham(G) grubu ile TD(G), TDSF(G), TDNi(G) arasındaki fark önemli bulundu ($p<0,05$). TD(G) ile TDNi(G), TDSF(G) ile TDNi(G) arasındaki fark önemli ($p<0,05$) bulundu. TD(G) ile TDSF(G), Kont(G) ile TD(Ni) grupları arasında fark bulunmadı ($p>0,05$).

JTBS yönünden aynı taraf testisler erken ve geç dönem eş grupları karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark önemli bulunmadı ($p>0,05$).

Sağ testisler için, hem erken hemde geç Kont grupları ile sham gruplarındaki ratların testis kesitlerinde, seminifer tubül içerisinde olgun spermatazoa hücreleri yeteri kadar bulunurken, hem erken hemde geç TD ve TDSF gruplarında bu spermatazoaların sayılarında anlamlı ölçüde azaldığı ve hem erken hemde geç TDNi gruplarında ise seminifer tubül içerisinde TD ve TDSF gruplarına göre daha fazla olgun spermatazoa bulunduğu tesbit edildi.

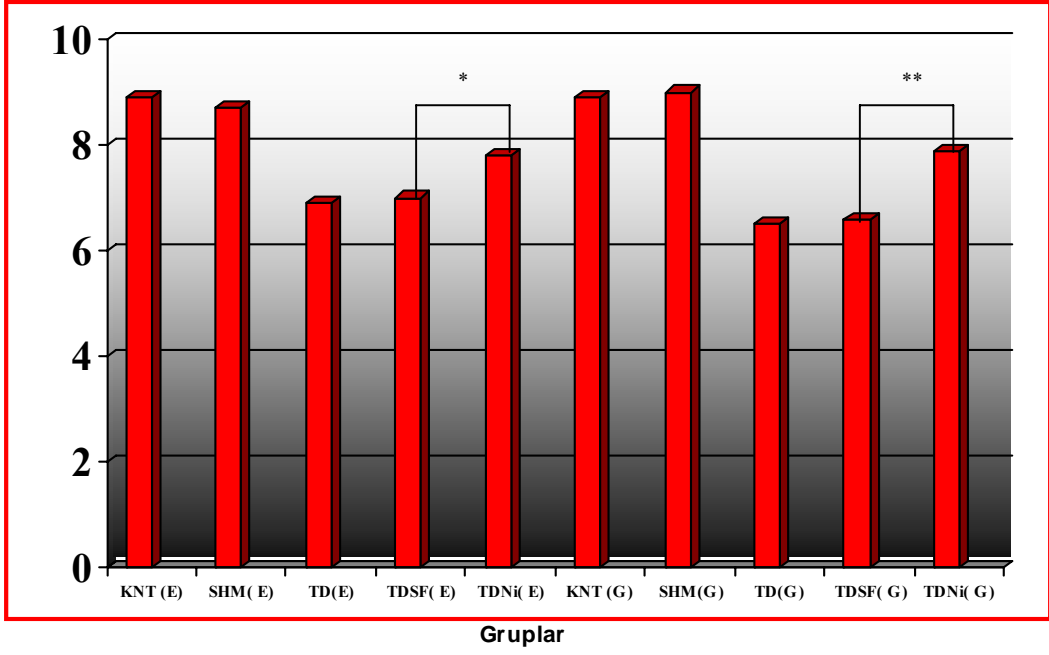
	Johnson Tubüler Biyopsi Skoru Aynı Taraf / Karşı Taraf
KNT(E)	9.2±0.10 / 9.1±0.10
SHAM(E)	9.1±0.10 / 9.0±0.10
TDSF(E)	5.20±0.24 / 6.96±0.26
TD(E)	5.10±1.2 / 7.02±0.43
TDNi(E)	6.74±0.37 / 7.78±0.19
KNT(G)	9.12±0.95 / 9.05±0.12
SHAM(G)	9.12±0.25 / 9.05±0.21
TDSF(G)	5.28±0.36 / 6.35±0.20
TD(G)	5.08±1.12 / 6.51±0.37
TDNi(G)	7.29±0.18 / 7.85±0.36

Tablo 2 : Grupların Johnson Tubüler Biopsi Skor ortalamaları



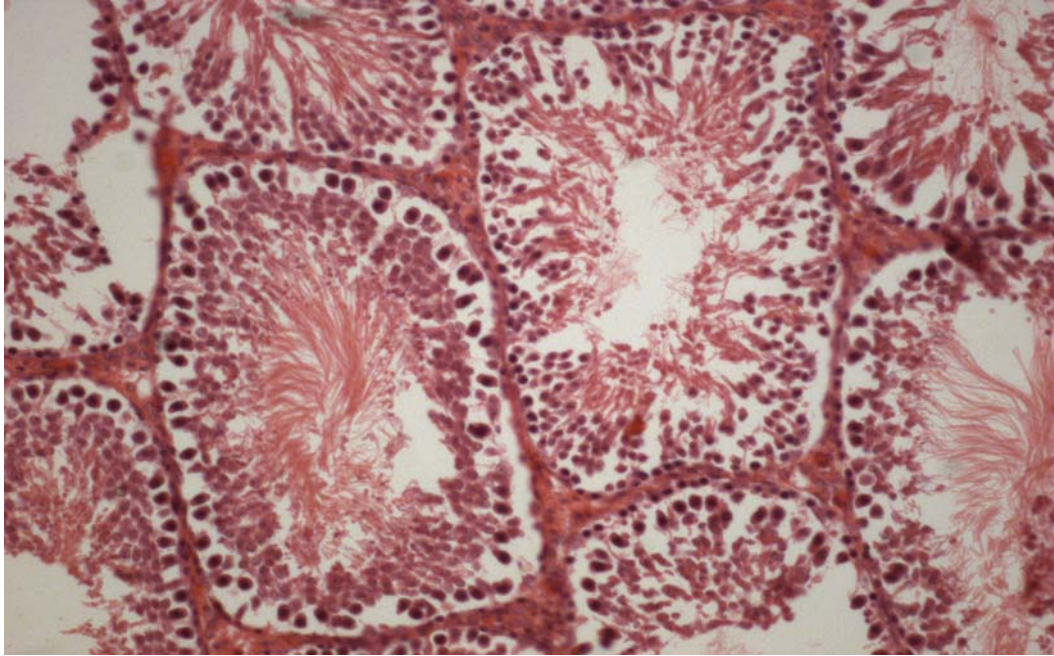
* p<0.04, ** p<0.009

Şekil 3: Grupların sol testis Johnson Tubüler Biopsi Skorları Ortalamaları

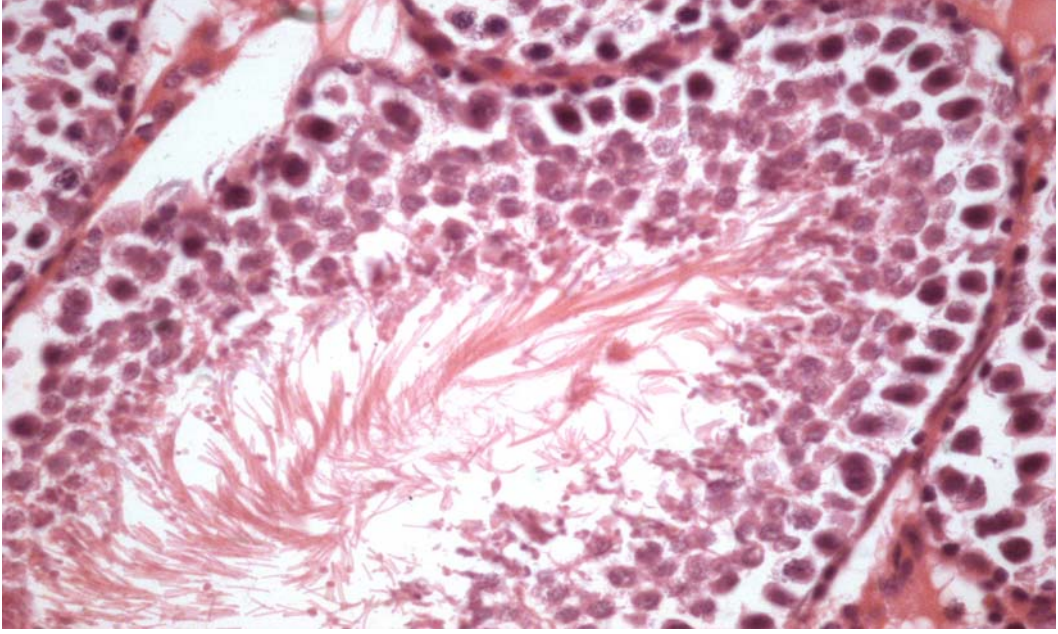


* $p < 0.04$, ** $p < 0.009$

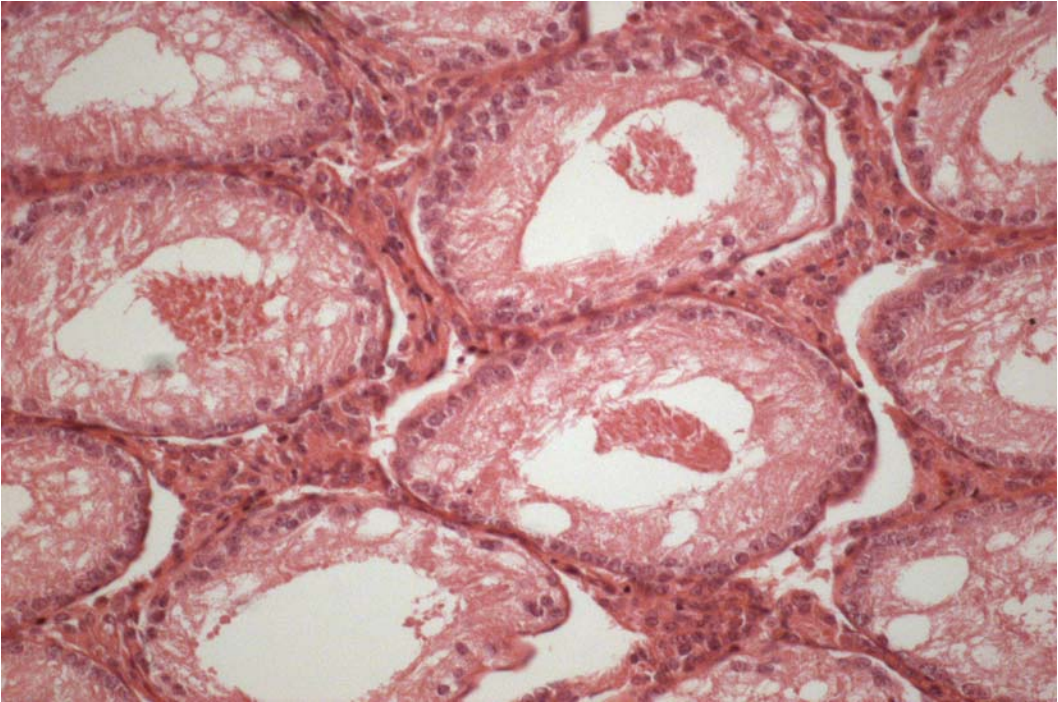
Şekil 4: Grupların sağ testis Johnson Tubüler Biopsi Skorları Ortalamaları



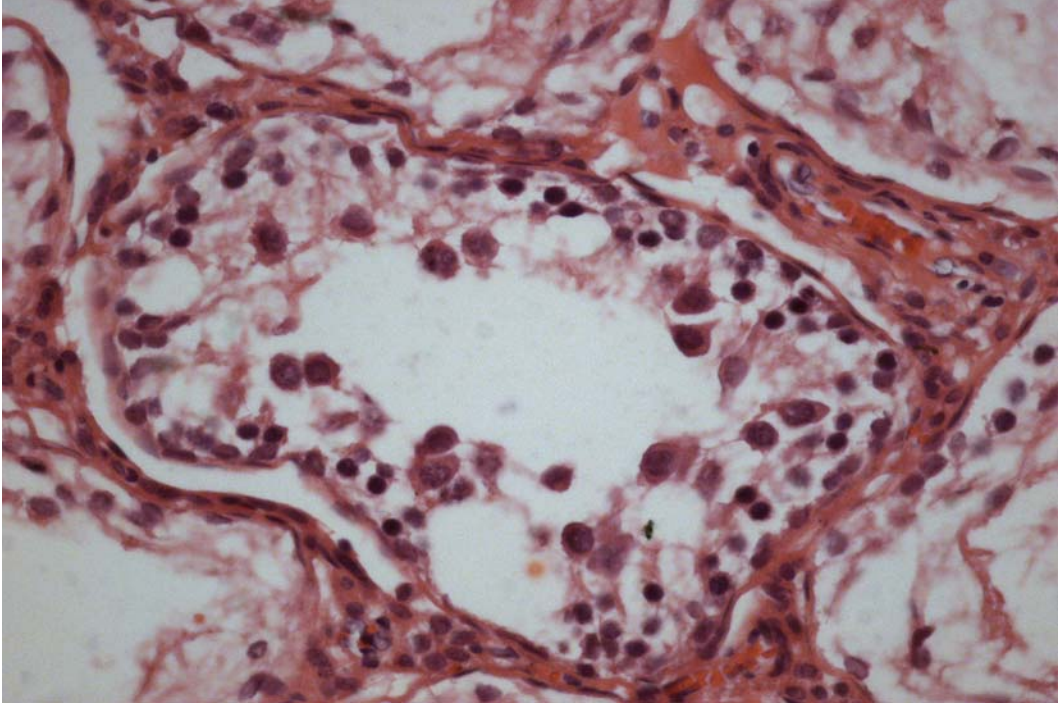
Şekil 5: Kontrol grubundan bir rata ait HE boyalı testis kesiti (HEX200)



Şekil 6: Kontrol grubundan bir rata ait HE boyalı testis kesiti (HEx400)



Şekil 7: TD grubundaki rata ait HE boyalı testis kesiti (HEx200)



Şekil 8: TD grubundaki rata ait HE boyalı testis kesiti (HEx400)

4.2- SEMİNİFER TUBÜL ÇAPLARI

STÇ açısından gruplar karşılaştırıldığında, gruplar arasındaki fark anlamlı bulundu ($p < 0,05$).

Gruplara ait STÇ sonuçları erken grup sol testisler için karşılaştırıldığında, PARP inhibitörü verilen deney grupları lehine istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p < 0,05$). Gruplara ait STÇ sonuçları erken grup sol testisler için ikişerli olarak karşılaştırıldığında; Kont(E) grubu ile TD(E), TDSF(E), TDNi(E) arasındaki fark önemli ($p < 0,05$), Sham(E) grubu ile TD(E), TDSF(E) ile TDNi(E), arasındaki fark önemli ($p < 0,05$), TD(E) ile TDNi(E), TDSF(E) ile TDNi(E) grupları arasındaki fark önemli bulundu ($p < 0,05$). TD(E) ile TDSF(E), Sham(E) ile Kont(E) grupları arasında ise anlamlı fark ($p > 0,05$) bulunmadı.

Gruplara ait STÇ sonuçları geç grup sol testisler için karşılaştırıldığında Kont(G) grubu ile TD(G), TDSF(G), TDNi(G) grupları arasındaki fark önemli ($p < 0,05$), Sham(G)

grubu ile TD(G), TDSF(G), TD(Ni) grupları arasındaki fark önemli, TD(G) ile TDNi(G), TDSF(G) ile TDNi(G) grupları arasındaki fark önemli, bulundu ($p<0,05$). TD(G) ile TDSF(G), Sham(G) ile Kont(G) grupları arasında ise anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

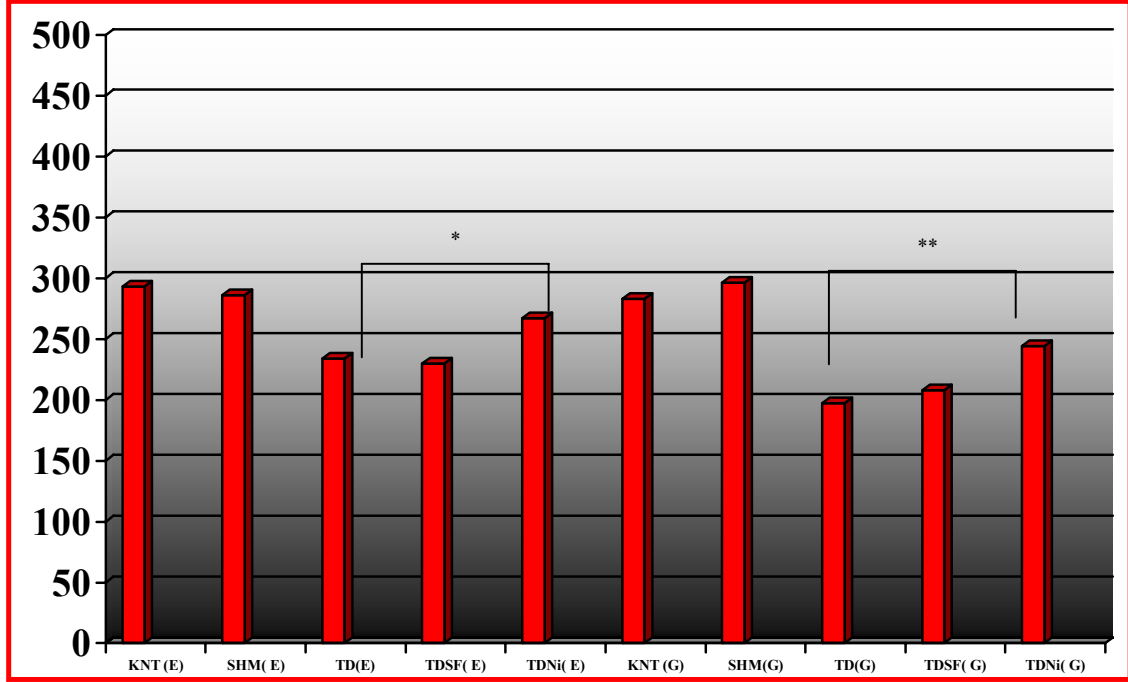
Gruplara ait STÇ sonuçları erken grup sağ testisler için karşılaştırıldığında, PARP inhibitörü verilen deney grupları lehine istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu. STÇ yönünden gruplar ikişerli olarak karşılaştırıldığında, Kont(E) grubu ile TD(E), TDSF(E), TDNi(E) grupları arasındaki fark önemli ($p<0,05$), Sham(E) grubu ile TD(E), TDSF(E), TDNi(E) grupları arasındaki fark önemli bulundu ($p<0,05$). TD(E) ile TDNi(E), TDSF(E) ile TDNi(E) arasındaki fark önemli ($p<0,05$) bulundu. TD(E) ile TDSF(E), Kont(E) ile Sham(E) grupları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Gruplara ait STÇ sonuçları geç grup sağ testisler karşılaştırıldığında, PARP inhibitörü verilen deney grupları lehine istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu($p<0,05$). Geç grup sağ testisler ikişerli olarak karşılaştırıldığında Kont(G) grubu ile TD(G), TDSF(G), TD(Ni) grupları arasındaki fark önemli ($p<0,05$), Sham(G) grubu ile TD(G), TDSF(G), TDNi(G) grupları arasındaki fark önemli ($p<0,05$) bulundu. TD(G) ile TDNi(G), TDSF(G) ile TDNi(G) arasındaki fark önemli ($p<0,05$) bulundu. TD(G) ile TDSF(G), Kont(G) ile Sham(G) grupları arasında fark anlamlı ($p>0,05$) bulunmadı.

STÇ yönünden aynı taraf testisler erken ve geç dönem eş grupları karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark önemli bulunmadı ($p>0,05$).

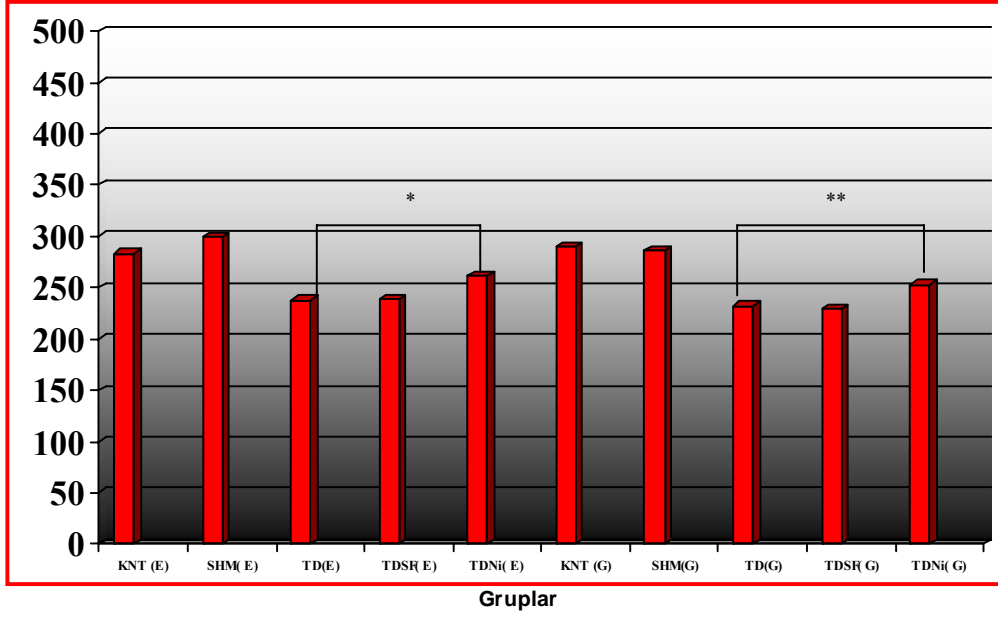
Seminifer Tubül Çapları	
Aynı Taraf / Karşı Taraf	
KNT(E)	293.00±10.0 / 292.6±14.17
SHAM(E)	285.0±9.50 / 286.66±3.0
TDSF(E)	231.0±4.11 / 234.60±7.29
TD(E)	235.4±21.38 / 229.40±4.20
TDNİ(E)	269.80±4.14 / 267.40±5.16
KNT(G)	282.25±5.17 / 291.25±2.57
SHAM(G)	287.50±3.86 / 287.50±9.32
TDSF(G)	208.16±5.48 / 229.83±4.81
TD(G)	209.00±3.74 / 230.50±4.20
TDNİ(G)	246.66±5.40 / 254.16±5.70

Tablo 3: Grupların STÇ ortalamaları (mikrometre olarak)



* p<0.009, ** p<0.004

Şekil 9: Grupların sol STÇ ortalamaları



* P<0.009, ** P<0.004

Şekil 10: Grupların sağ STÇ ortalamaları

4.3- PHÖ ORANLARI

PHÖ ortalamaları karşılaştırıldığında geç gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Gruplara ait PHÖ sonuçları erken grup sol testisler için karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$).

Gruplara ait PHÖ sonuçları geç grup sol testisler için karşılaştırıldığında Kont(G) grubu ile TD(G), TDSF(G), TDNi(G) grupları arasındaki fark önemli ($p<0,05$), Sham(G) grubu ile TD(G), TDSF(G), TD(Ni) grupları arasındaki fark önemli, TD(G) ile TDNi(G), TDSF(G) ile TDNi(G) grupları arasındaki fark önemli, ($p<0,05$) bulundu. TD(G) ile TDSF(G), Sham(G) ile Kont(G) grupları arasında ise fark bulunmadı ($p>0,05$).

Gruplara ait PHÖ sonuçları erken grup sağ testisler için karşılaştırıldığında, PARP inhibitörü verilen deney grupları lehine istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. PHÖ yönünden gruplar ikişerli olarak karşılaştırıldığında, Kont(E) grubu ile TD(E), TDSF(E), TDNi(E) arasındaki fark önemli ($p<0,05$), Sham(E) grubu ile TD(E), TDSF(E), TDNi(E)

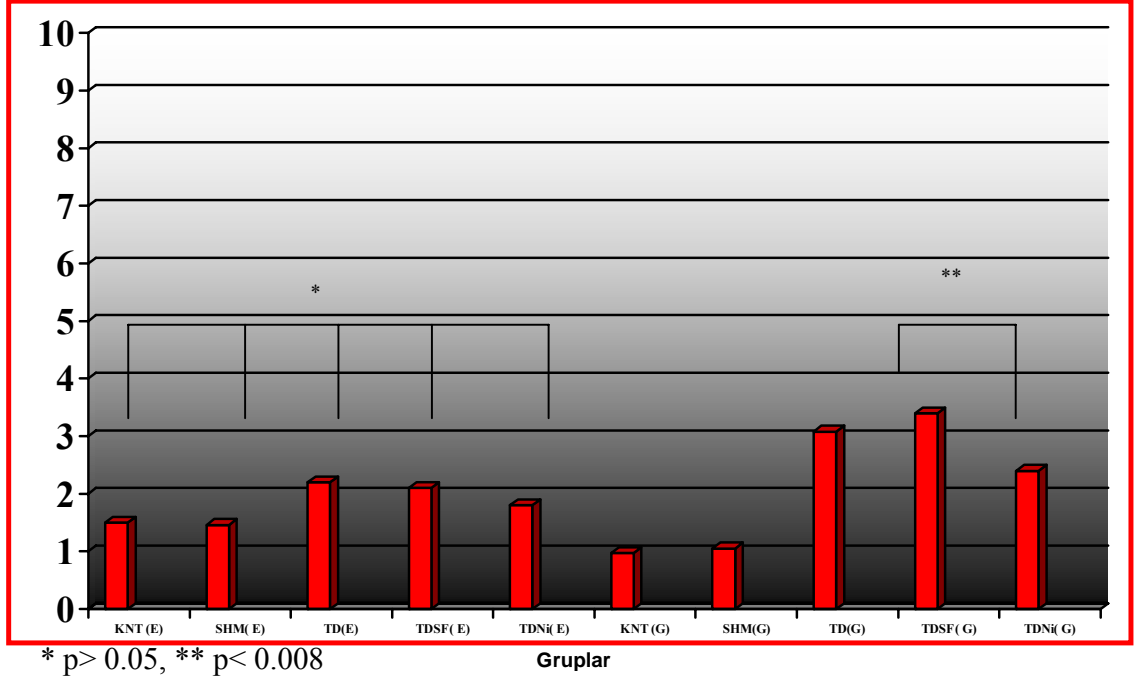
grupları arasındaki fark önemli bulundu ($p<0,05$). TD(E) ile TDNi(E), TDSF(E) ile TDNi(E) grupları arasındaki fark önemli ($p<0,05$) bulundu. TD(E) ile TDSF(E), Kont(E) ile Sham(E) grupları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Gruplara ait PHÖ sonuçları geç grup sağ testisler için karşılaştırıldığında, PARP inhibitörü verilen deney grupları lehine istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Geç grup sağ testisler ikişerli olarak karşılaştırıldığında Kont(G) grubu ile TD(G), TDSF(G), TD(Ni) grupları arasındaki fark önemli ($p<0,05$), Sham(G) grubu ile TD(G), TDSF(G), TDNi(G) grupları arasındaki fark önemli bulundu ($p<0,05$). TD(G) ile TDNi(G), TDSF(G) ile TDNi(G) grupları arasındaki fark önemli ($p<0,05$) bulundu. TD(G) ile TDSF(G), Kont(G) ile Sham(G) grupları arasında fark ($p>0,05$) bulunamadı.

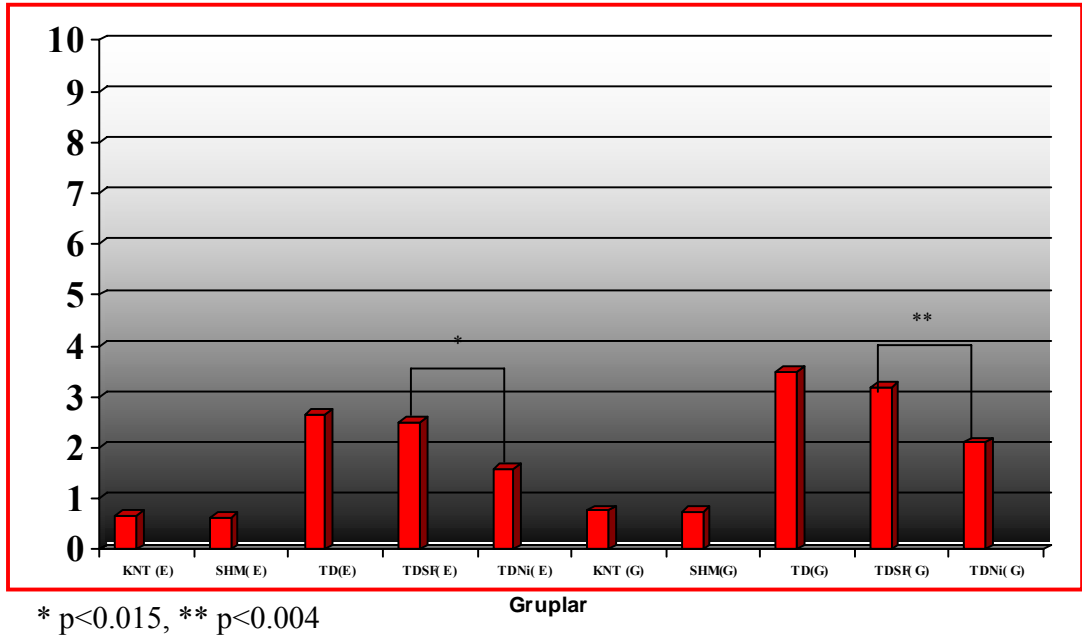
PHÖ yönünden aynı taraf testisler erken ve geç dönem eş grupları karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark önemli bulundu ($p<0,05$).

	Apoptozis	
	Aynı Taraf / Karşı Taraf	
KNT(E)	1.56±0.32 / 0.66±0.27	
SHAM(E)	1.46±0.32 / 0.63±0.25	
TDSF(E)	2.10±1.14 / 2.50±1.2	
TD(E)	2.20±0.10 / 2.66±0.85	
TDNi(E)	1.88±0.26 / 1.6±0.43	
KNT(G)	0.97±0.21 / 0.77±0.22	
SHAM(G)	1.05±0.50 / 0.75±0.28	
TDSF(G)	3.40±1.41 / 3.20±0.98	
TD(G)	3.08±0.67 / 3.5± 0.42	
TDNi(G)	2.40±0.34 / 2.16±0.75	

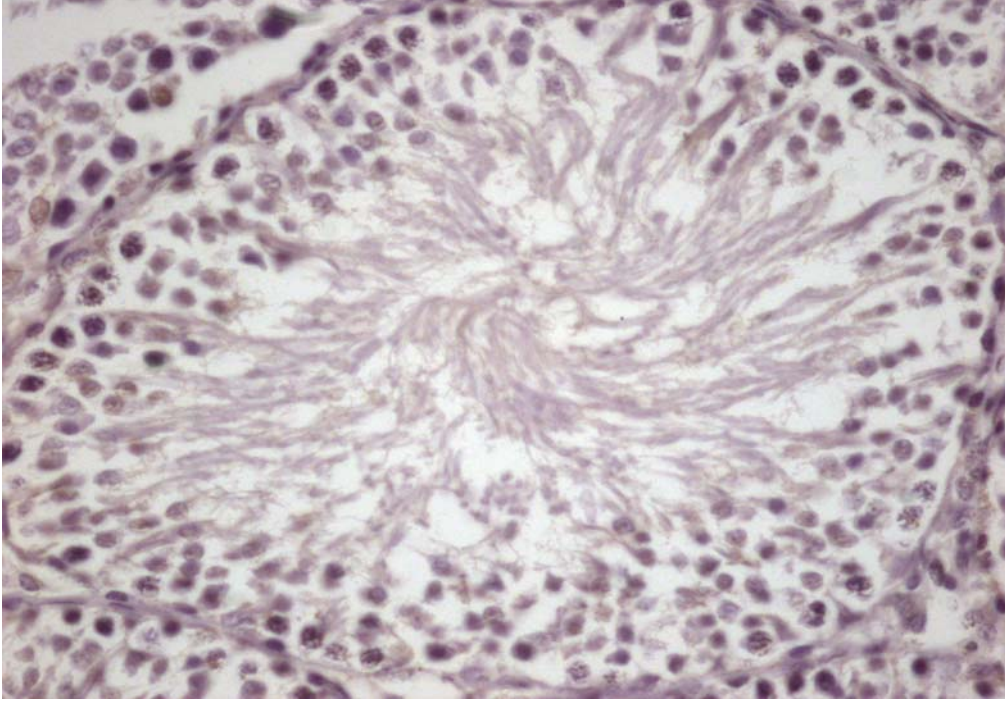
Tablo 4- Gruplarda tubül başına düşen PHÖ ortalamaları



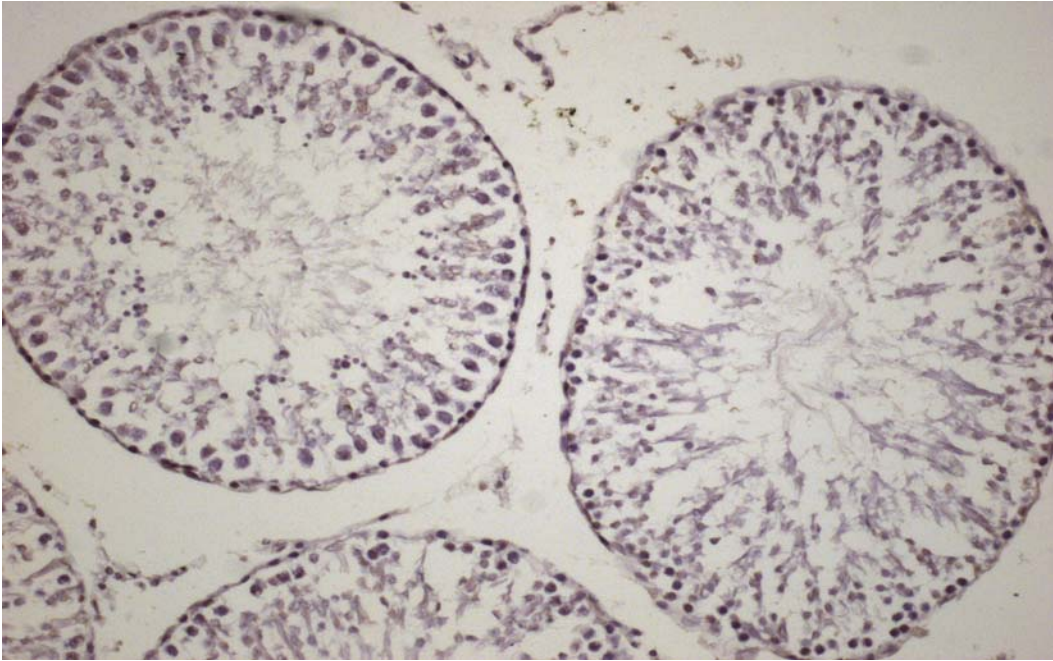
Şekil 11: Grupların sol testislerinde apoptozis ortalamaları



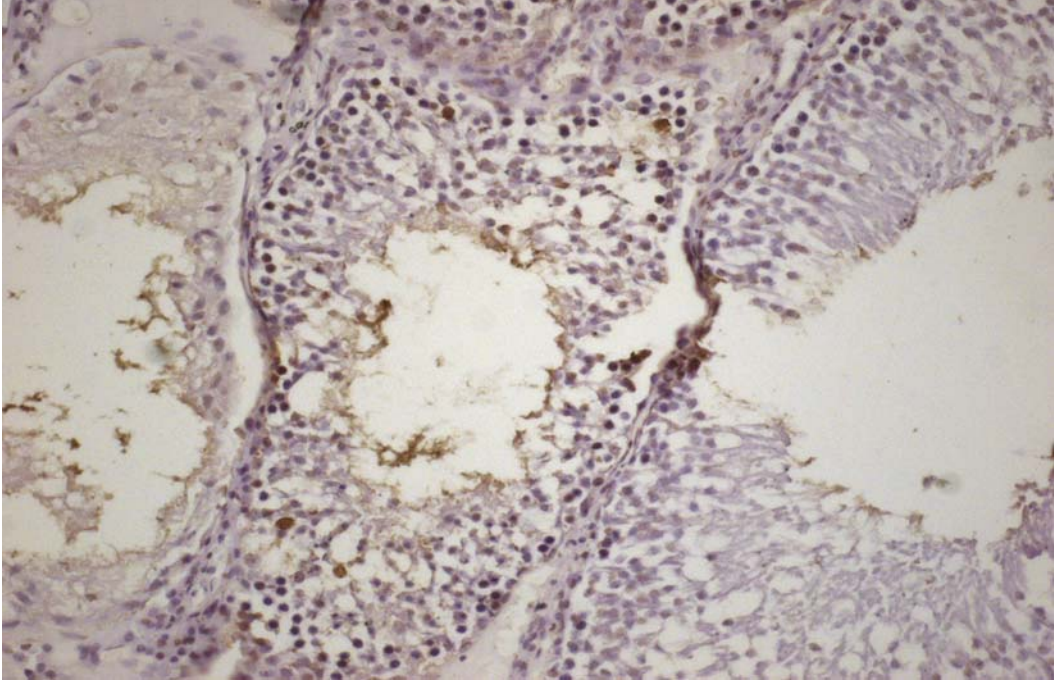
Şekil 12: Grupların sağ testislerinde apoptozis ortalamaları



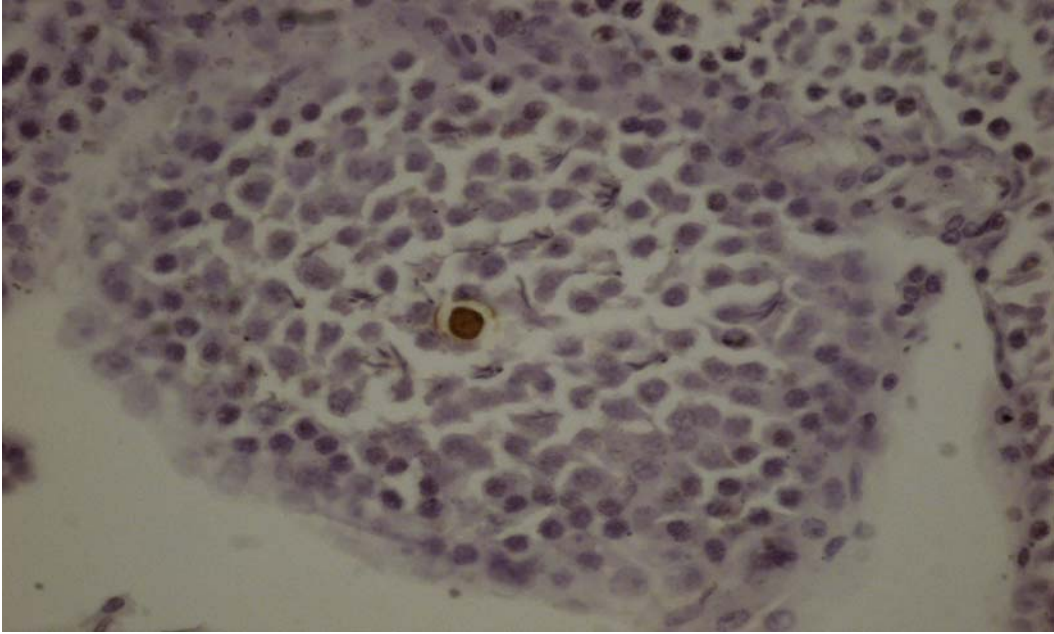
Şekil 13: Kontrol grubundan bir rata ait testis kesitinde TUNEL yöntemi (İmmünperoksidaz x 400)



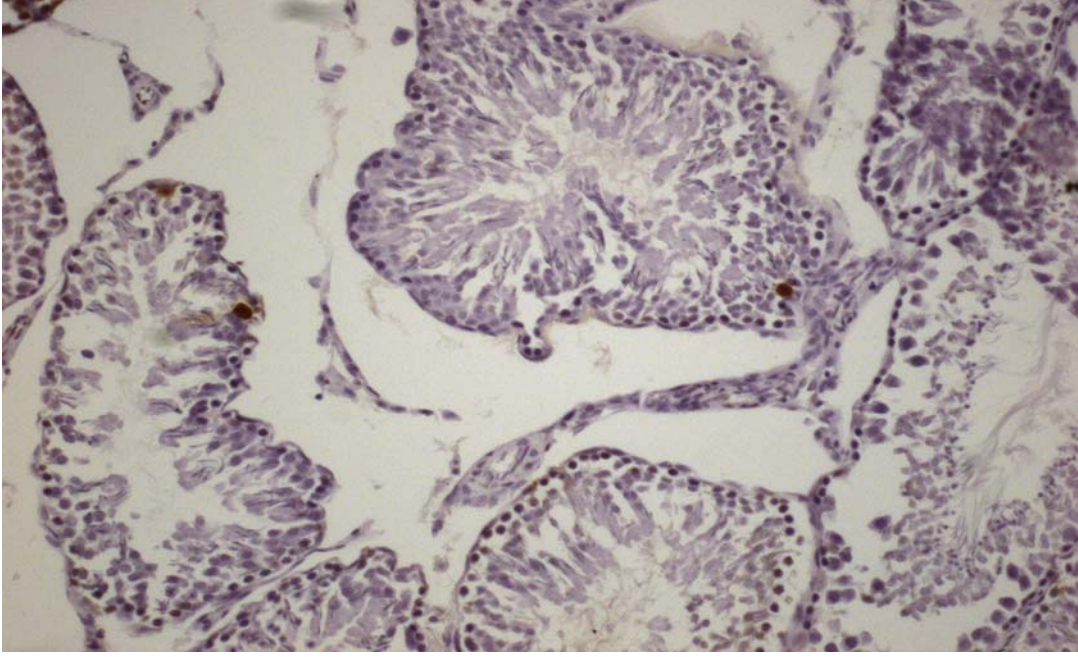
Şekil 14: Kontrol grubundan bir rata ait testis kesitinde TUNEL yöntemi (İmmünperoksidaz x 200)



Şekil 15: Geç dönem TD grubundan bir rata ait testis kesitinde TUNEL pozitif hücreler (İmmünperoksidaz x 200)



Şekil 16: Erken dönem TDNi grubundan bir rata ait testis kesitinde TUNEL pozitif (İmmünperoksidaz x 400)



Şekil 17: Geç dönem TDNi grubundan bir rata ait testis kesitinde TUNEL pozitif hücreler (İmmünperoksidaz x 200)

4.4- SERUM TOTAL GLUTATYON, SERBEST GLUTATYON VE MALONDİALDEHİT (MDA) DÜZEYLERİ

Gruplar total glutatyon yönünden karşılaştırıldığında gruplar arası fark önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).

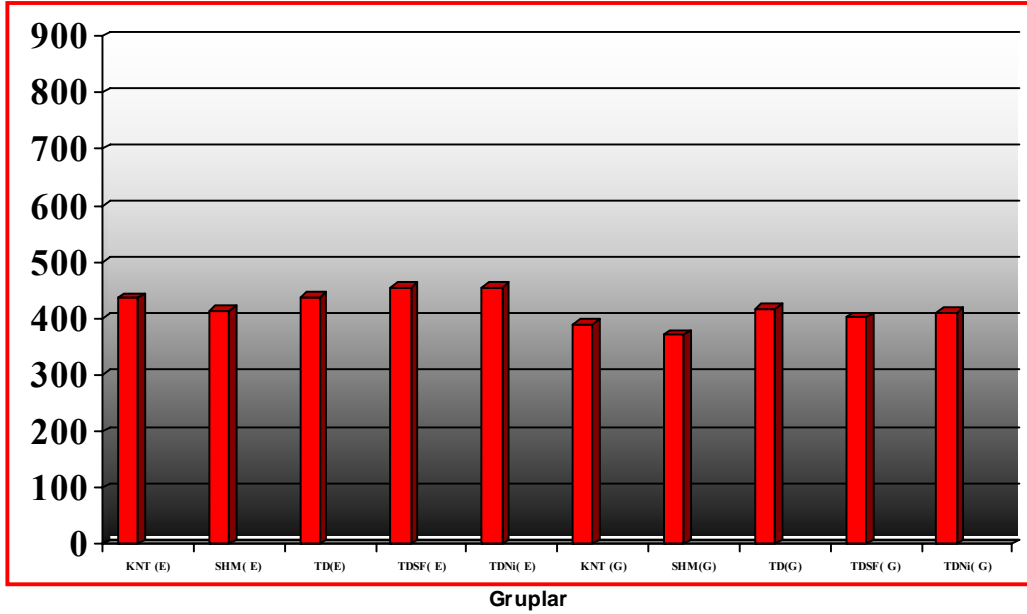
Gruplar serbest glutatyon yönünden karşılaştırıldığında gruplar arası fark önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).

Gruplar malondialdehit yönünden karşılaştırıldığında gruplar arası fark önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).

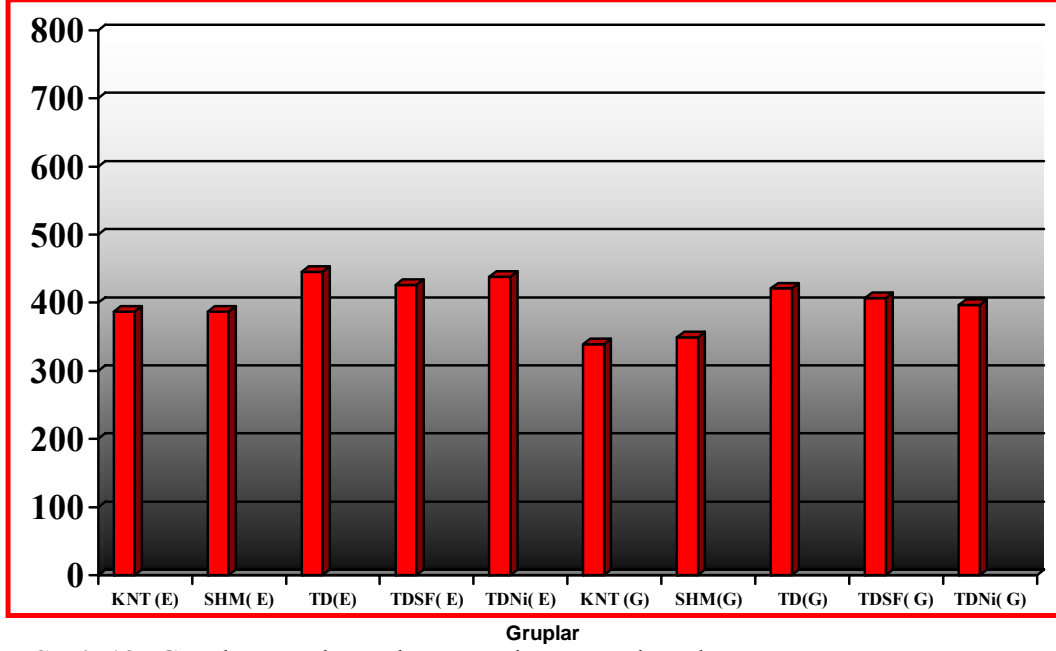
Erken ve geç dönem eş gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında gruplar arası fark önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).

	Total Glutasyon	Serbest Glutasyon	Malondialdehi
KNT(E)	436.34±115.6 mg/L	387.56±158.7 mg/L	0.18±0.60 umol/L
SHAM(E)	415.65±81.28 mg/L	386.41±66.12 mg/L	0.16±0.50 umol/L
TDSF(E)	455.59±56.85 mg/L	426.56±73.30 mg/L	0.21±0.32 umol/L
TD(E)	439.67 ±75.30mg/L	445.82±80.15 mg/L	0.15±0.33 umol/L
TDNİ(E)	456.43±86.18 mg/L	438.59±97.47 mg/L	0.31±0.35 umol/L
KNT(G)	389.81±65.74 mg/L	339.46±85.68 mg/L	0.18±0.06 umol/L
SHAM(G)	371.20±47.13 mg/L	349.90±41.87mg/L	0.18±0.30 umol/L
TDSF(G)	402.476±82.31 mg/L	407.47±99.71 mg/L	0.22±0.07 umol/L
TD(G)	417.55±33.19 mg/L	421.51±38.77 mg/L	0.22±0.05 umol/L
TDNİ(G)	410.25±116.51 mg/L	397.74±120.13 mg/L	0.19±0.02 umol/L

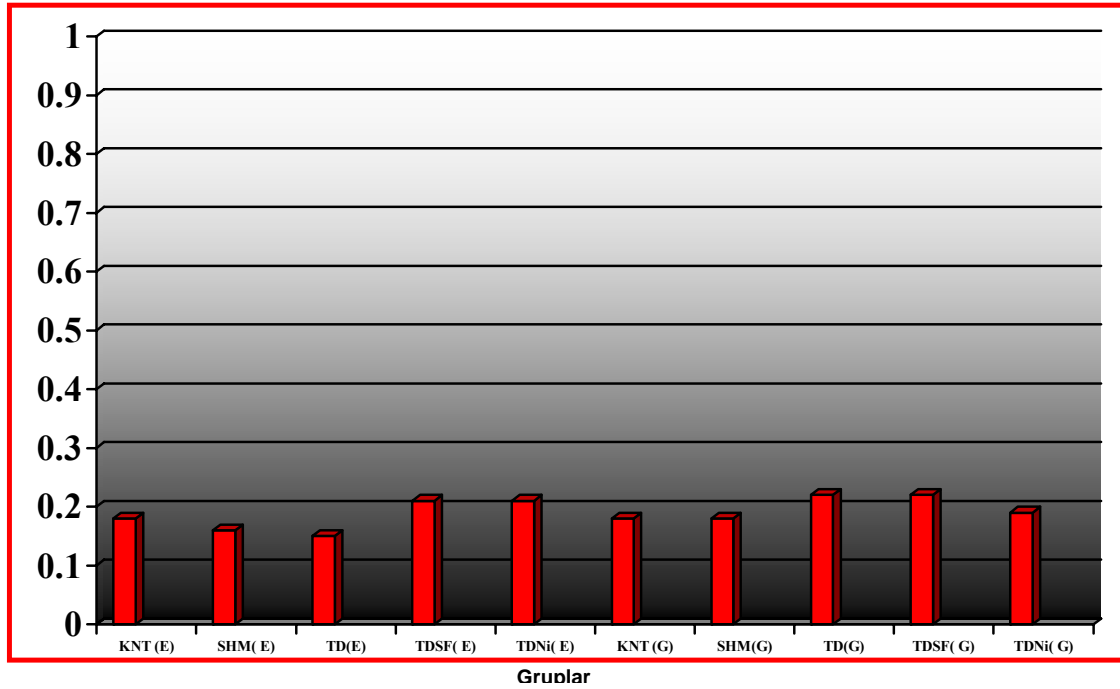
Tablo 5: Grupların MDA, total glutasyon ve serbest glutasyon düzey ortalamaları



Şekil 18: Grupların total glutasyon düzey ortalamaları



Şekil 19: Grupların serbest glutatyon düzey ortalamaları



Şekil 20: Grupların malondialdehit düzey ortalamaları

5. TARTIŞMA

Spermatik kord torsiyonu, acil ürolojik bir klinik tablodur. Pediatrik yaş grubunda akut skrotumun % 25-35'ini oluşturmaktadır (15). Sonraki dönemde fertilitiyi etkilemesinden dolayı önem kazanmıştır. Torsiyone testiste kan akımını sağlayan testiküler arter, vazdeferens ve venöz dönüşü gerçekleştiren testiküler venlerde tama yakın oklüzyon oluşmaktadır. Spermatik kord torsiyonu sırasında ilk basamak hasar iskemi ve doku hipoksisine bağlı olarak gelişmekte ve bu sırada iskemik dokularda akut dönemde görülen vasküler yanıt gerçekleşmektedir. Damar geçirgenliği giderek artmakta, bunun yanında ekstrasvazyon ve ödem belirginleşmektedir. Artan ödem sonucunda dolaşım tamamen bozulmakta ve hipoksik kalan testiste oksidatif metabolizma yerine yavaş yavaş hipoksik metabolizma gelişmektedir. Azalan ATP depoları sonucunda hücrelerde enerji açığı meydana gelmekte ve asidoz oluşmaktadır. Bu sırada ATP hipoksantine kadar katabolize olur normoksik durumda olması gerektiği gibi ürik aside metabolize olamaz ve iskemik dokuda birikir. Bu olaylar iskemiye uğrayan oksidatif her dokuda gelişmektedir. Asıl araştırılan ve tartışma konusu olay ise torsiyonu takiben tedavi amacıyla yapılan detorsiyon işlemi sonucunda oluşan reperfüzyon hasarıdır.

İskemi-reperfüzyon hasarı sitokinlerin ve reaktif oksijen radikallerinin salınımı ile patolojik süreci başlatır (79). Detorsiyon sonucu gelişen reperfüzyon ile dokuya moleküler oksijen gelmekte ve hipoksantin, ksantin oksidaz enzimi ile hidrojen perokside çevrilirken süperoksid radikali oluşmaktadır. Süperoksid radikali stabil olmayan ve dokuya fazla zararı olmayan bir radikaldir. Süperoksid radikali Haber-weis reaksiyonu ile hidroksil radikalini oluşturmaktadır. Bu radikal dokular için sitotoksik etkilere sahiptir. Güncel kaynaklar reaktif oksijen radikallerinin DNA'da delikler açarak hücrel hasarı başlattığına işaret etmektedir. (79–82). Yakın zamanda hücre hasarının bir mekanizması olarak gösterilen PARP yolağı, pek çok iskemi reperfüzyon hasarı çeşitlerinin patogenezinde yer almaktadır. Bu yolak reaktif oksijen radikallerinin DNA'da zincir kırıkları üretmesini ve daha sonra bir çekirdek enzimi olan PARP aktivasyonunu içerir. Bunun yanında iskemi reperfüzyon hasarı durumundaki şiddetli DNA hasarı, adenozin 5'trifosfat tüketimi ile sonuçlanan, büyük boyutlarda hücrel nikotinamid adenin dinükleotit tüketen şiddetli PARP aktivasyonuna

sebepe olabilir. Orta derecede PARP aktivasyonu, hücrel genom bütünlüğünü sağlar. Fakat şiddetli PARP aktivasyonu, masif adenozin 5' trifosfat tüketimine bağı hücre ölümüne sebep olur. Bu olay 'poli (ADP-riboz) polimeraz intihar hipotezi' olarak isimlendirilmektedir (87).

Çeşitli deney modellerinde ekstravajinal torsiyonlarda en az 540 derecelik torsiyonda iskemi oluşması ve klinikte genelde 720 derecelik torsiyon görülmesi sebebiyle biz çalışmamızda 720 derecelik torsiyon uyguladık. Literatürde 1, 2, 3, 4 hatta 6 saat gibi çeşitli iskemi süreleri olması ve standart bir model olmadığından biz kabul edilebilir bir iskemi olması fakat ağır bir nekroz gelişmemesi için, kliniğe de uygun olan 4 saatlik iskemi ve 4 saatlik reperfüzyon modelini uyguladık.

PARP inhibitörlerinin, iskemi reperfüzyon hasarı sonrası kullanımının pek çok organda hasarı azalttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (79-82). PARP inhibitörlerinin uygulanması, tavşanlarda kalp ve iskelet kasında iskemi-reperfüzyon hasarında azalmaya, fokal serebral iskemi modelinde beyin infark hacminde azalmaya, retinada iskemi-reperfüzyon hasarında azalmaya yol açtığı gösterilmiştir (83,84). Farelerde böbreklerin oksidatif strese korunmasında da etkili olduğu gösterilmiştir (86). Biz de bu çalışmamızda testiste iskemi-reperfüzyon modeli oluşturarak, hem torsiyone edilen testiste hem de karşı testiste oluşan histopatolojik değişiklikleri değerlendirdik.

Johnson ve arkadaşları tek taraflı spermatik kord torsiyonunda testislerdeki iskemi reperfüzyon hasarına bağı spermatogenezdeki değişiklikleri araştırmışlardır (87). Araştırmalarındaki değişiklikleri belli kriterlere göre derecelendirmişler, bulunan değerlerin ortalamalarını hesaplayarak hasar arttıkça spermatogoniumların sayılarının azaldığı tubüler biyopsi skorunu elde etmişlerdir. Çalışmamızda tek taraflı spermatik kord torsiyonun neden olduğu iskemi reperfüzyon hasarını Hematoksilen Eozin ile boyayarak Modifiye Johnson Tubüler Biyopsi Skorumu sistemine göre değerlendirdik. Erken dönem aynı ve karşı taraf PARP inhibitörü verilmeyen testislerde seminifer tubüldeki spermatogonların azaldığı, PARP inhibitörü verilen gruplardaysa, PARP verilmeyen gruplara göre seminifer tubüldeki spermatogonların anlamlı olarak daha fazla olduğunu tesbit ettik. Geç grupta da durum PARP inhibitörü verilen grupların lehine olarak anlamlı olarak farklıydı. Bizim çalışmamızın sonuçları da Hadziselimovich ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmanın

sonuçlarıyla uyumluydu. Çalışmamızda erken ve geç gruplar arasında JTBS açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Erken dönem aynı ve karşı taraf PARP inhibitörü verilmeyen testislerde seminifer tubül çap ortalamalarının azaldığı PARP inhibitörü verilen gruplardaysa, PARP inhibitörü verilmeyen gruplara göre seminifer tubül çap ortalamalarının anlamlı olarak yüksek olduğunu tesbit ettik. Geç grupta da durum PARP inhibitörü verilen grupların lehine anlamlı olarak farklıydı. Ancak erken ve geç gruplar arasında seminifer tubül çapları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Bozlu ve arkadaşları rat testisinde tek taraflı 2 saatlik torsiyon, 4 saatlik detorsiyon sonrası karşı ve aynı taraf testiste PARP inhibitörü verilen gruplarda seminifer tubül çaplarında ve biyokimyasal değişikliklerde düzelmeye bildirmişlerdir (22). Bozlu ve arkadaşları testiste iskemi-reperfüzyon hasarında erken evrelerdeki PARP inhibitörü ile elde ettikleri başarılı sonuçlardan sonra PARP inhibitörlerinin uzun dönem histolojik hasardaki etkilerini de değerlendirmişlerdir (23). Torsiyon-detorsiyon sonrası oluşan iskemi-reperfüzyon hasarının iki ay sonra değerlendirildiği çalışmalarında, PARP inhibitörlerinin seminifer tubül çapları üzerinde de olumlu etkilerini göstermişlerdir. Ancak bu çalışmalarda apoptozis incelenmemiştir. Biz çalışmamızda erken ve geç dönemde germ hücrelerinde TUNEL metoduyla germ hücrelerinde apoptozisi de değerlendirdik.

Çalışmamızda geç dönem aynı ve karşı taraf PARP inhibitörü (nicotinamide) verilmeyen gruplarda germ hücrelerinde apoptozisin kontrol ve sham gruplarına göre anlamlı derecede arttığı, nicotinamide verilen gruplarda ise nicotinamide verilmeyen gruplara göre anlamlı derecede azaldığı tesbit edildi. Erken dönemde ise sol testisler için nicotinamide verilen grup ile diğer nicotinamide verilmeyen torsiyon-detorsiyon gruplarına kıyasla apoptoziste azalma saptanmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). Yine sol testiste erken gruplarda ise nicotinamide verilen gruptaki apoptozis oranı, verilmeyen gruplara göre anlamlı derecede azalmış tesbit edildi. Hem sağ hem de sol testisler için erken gruplara göre geç dönem aleyhine zamanla artan fakat istatistiksel olarak anlamlı olmayan ($p>0.05$) bir apoptozis artışı bulundu.

Jeffrey J. ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada fare testislerinde iskemi-reperfüzyon hasarı sonrası değişik zamanlarda germ hücrelerinin apoptozis hızlarını

incelenmiş, apoptozisin torsiyonun düzeltilmesinden sonra 4. saatte hızlandığını ve 24. saatte en yüksek hale geldiği gösterilmiştir (88). Bizim çalışmamızda da torsiyon detorsiyon uygulanan aynı ve karşı testislerde erken ve geç dönemde de germ hücrelerinde artmış apoptozis tesbit ettik. İstatiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen geç dönemde, erken dönem eş gruplara göre artmış germ hücre apoptozisi tesbit ettik. Elde ettiğimiz bu sonuçlar Jeffry J. ve arkadaşlarının çalışmalarıyla uyumlu görünmektedir. Ayrıca biz bu çalışmadan farklı olarak germ hücrelerindeki apoptozisi inhibe edebilmek amacıyla PARP inhibitörü de kullandık.

Nicotinamide verilen tüm gruplarda torsiyon detorsiyon gruplarına göre erken dönem sol testisler hariç anlamlı olarak apoptoziste azalma saptadık. Fakat hiçbir grupta sham veya kontrol gruplarının ortalama değerleri kadar düşük bulamadık.

Tüm bu veriler göz önüne alındığında testiste iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan ve ileride oluşabilmesi muhtemel hasarlar için PARP inhibitörlerinin bu hasarı erken ve geç dönemde aynı ve karşı taraf testiste azaltılabileceğini gösterdik. Szijarto ve arkadaşlarının rat karaciğerinde iskemi-reperfüzyon sonrası PARP inhibitörü tedavisi uyguladıkları modelde karaciğer hücrelerinde apoptozisin azaldığı gösterilmiştir (89). Koh ve arkadaşları da ratlarda orta cerebral arterin oklüze edilmesiyle oluşturdukları iskemi-reperfüzyon hasarında PARP inhibitörleri ile tedavinin beyin hücrelerinde apoptozisi azalttığını göstermişlerdir (90). Fakat literatürde PARP inhibitörlerinin apoptozisi arttırdığını gösteren yayınlar da mevcuttur. Maier ve arkadaşları domuzlarda spinal kordtaki iskemi-reperfüzyon hasarında PARP inhibitörlerinin apoptozisi azalttığını göstermişlerdir (91).

Karşı taraf testis hasarının oluş mekanizmasını açıklamak üzere otoimmünizasyon, sempatik orşiopati ve kan akımında azalma olabileceği düşünülmüş ve çalışmalar buna yönelik devam etmiştir. Yılmaz ve arkadaşları yapmış oldukları deneysel çalışmada karşı testiste seminifer tubül çaplarının ve spermatogenetik aktivitenin azaldığını göstermişlerdir. Bu azalmada otoimmünitenin yeri olduğu gösterilememiştir (92). Testislerin normal spermatogenetik fonksiyonlarını yürütebilmeleri için en önemli faktörün düzenli bir kan akımı olduğu bilinmektedir. Tek taraflı testis patolojilerinde karşı testisteki kan akımının azalmış olarak bulunduğunu gösteren bazı çalışmalar mevcuttur. Tanyel ve arkadaşlarını tavşanlarda tek taraflı spermatik kord torsiyonu uygulayarak yaptıkları çalışmada karşı

testisteki kan akımında azalma olduğunu saptayarak bunun karşı testiste de hasara yol açtığını savunmuşlardır (93).

York ve arkadaşları tek taraflı spermatik kord torsiyonu uyguladıkları ve sonrasında orşiektomi yaptıkları çalışmada karşı testisi normal bulmuşlardır. Bunun sonucunda diğer testisteki hasarın immunolojik mekanizma ile olduğunu, torsiyone edilen spermatik kordun detorsiyone edilmesiyle antijenlerin dolaşıma geçerek diğer testisi etkilediğini belirtmişlerdir (94). Nagler ve arkadaşları tek taraflı spermatik kord torsiyonunda, splenektomi veya immunosüpresif tedavi vererek diğer testis hasarlanmasında otoimmun mekanizmaları araştırdıkları çalışmalarında seminifer tubül çapı ve seminifer tubüldeki spermatozoaları değerlendirerek immun süpresif tedavi ile karşı testisteki hasarın azaldığını göstermişlerdir (95). Bu sonuçlar ile karşı testisteki etkilenme mekanizmasının immunolojik nedenler olduğunu ileri sürmüşlerdir. Sade ve arkadaşları uyguladıkları tek taraflı spermatik kord torsiyonu sonucu oluşan karşı testisteki hasarı, kortizon kullanarak oluşturulan immunosüpresif etkiyle hasarın azaldığını bildirmişlerdir (96). Dominquez C. ve arkadaşlarının tek taraflı spermatik kord torsiyonu ile ilgili klinik çalışmalarında karşı testiste oluşan hasarın subfertiliteye hatta infertiliteye yol açabileceği rapor etmişlerdir (97). Hadziselimovich ve arkadaşları spermatik kord torsiyonu tanısı alan 17 hastada diğer testisten biyopsi alıp, germ hücrelerinde apoptosis değerlendirmişlerdir (98). Tüm hastalarda karşı testislerde artmış nekrotik değişiklikler ve apoptosis tesbit etmişlerdir

Karşı testisteki hasarın varlığına yönelik bir çok çalışmaya karşılık tek taraflı testis torsiyonunda karşı testiste herhangi bir değişiklik olmadığını ve fertilitenin etkilenmediğini gösteren çalışmalar da vardır (99). Ryan ve arkadaşlarının ratlarda yaptıkları çalışmada tek taraflı testis torsiyonu modelinde diğer testiste immunolojik ya da herhangi bir mekanizmaya bağlı olarak gelişen hasar saptamamışlardır (100). Ayrıca Turner ve arkadaşları da yaptıkları deneysel tek taraflı spermatik kord torsiyonunda karşı tarafta hasar tesbit edememişlerdir (101).

Tek taraflı spermatik kord torsiyonunda serbest oksijen radikallerinin ömürleri çok kısa olduğundan direkt olarak tesbitleri çok zordur. Serbest oksijen radikallerinin en temel özelliği hücre membranındaki doymamış yağ asitlerinden metilen hidrojen atomunu ayırmaktır (19). Bu reaksiyon hücre membranında lipid peroksidasyonunu başlatmakta ve

ortaya konjuge dienler, lipidhidroksiperoksid radikalleri gibi lipid türevi radikaller çıkmasına sebep olmaktadır. Lipid peroksidasyonun son ürünleri malondialdehit (MDA) ve diğer aldehitler, hidrokarbon gazları ve konjuge dienlerdir. Bunlar içinde iskemi-reperfüzyon hasarı sonrası en çok ortaya çıkan ve miktarı ölçülebilen biyokimyasal belirleyiciler MDA ve glutatyon seviyeleridir.

Biz çalışmamızda spermatik kord torsiyonu ve detorsiyon sonucu oluşan iskemi reperfüzyon hasarını gösterebilmek için rat serumunda MDA, total glutatyon ve serbest glutatyon seviyelerinin rat serumunda ölçümünü yaptık.

Bizim çalışmamızda torsiyon detorsiyon uygulanan gruplarda serum MDA, total glutatyon ve serbest glutatyon seviyelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$). Bu da literatürdeki bazı çalışmalarla uyumludur.

Barlas ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada çeşitli dokulardaki streslerden sonra MDA seviyesindeki doku ile plazma artış düzeylerinin korele olduğu gösterilmiştir (102). Bunun dışında Köksal ve arkadaşlarının yapmış olduğu başka bir çalışmada da Serum MDA ve glutatyon seviyelerinin testiste iskemi-reperfüzyon hasarının tesbitinde güvenilir bir belirleyici olduğu öne sürülmüştür (103).

Özkutan ve arkadaşları 4 saatlik iskemi ve 4 saatlik reperfüzyon uyguladıkları ratlarda dokudaki MDA seviyelerinde aynı taraf testiste anlamlı bir yükseliş tesbit etmelerine rağmen, karşı testiste anlamlı bir yükseliş bulamamışlar (104). Savaş ve arkadaşları ince bağırsaklarda iskemi reperfüzyon modelindeki serum MDA seviyelerinde yükseliş tesbit etmelerine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulamamışlar (105).

Spermatik kord torsiyonunda yapılan araştırmalar, karşı testis hasarı ve nedenleri ile iskemi-reperfüzyon süreleri ve hasara etkili maddelere yoğunlaşmıştır. Çalışmalar göz önüne alındığında tek taraflı spermatik kord torsiyonunda karşı testisteki hasarın, önceden var olan primer bir soruna mı yoksa otoimmün, vasküler ya da nöronal etkiler gibi sekonder bir sebebe mi bağlı olduğu konusundaki tartışmalar devam etmektedir.

Bir başka üzerinde düşünülmesi gereken bir diğer konu ise PARP enzim ailesi DNA onarımı, gen transkripsiyonu, hücre siklusu ilerlemesi, hücre ölümü, kromatin fonksiyonları ve genomik sabitlik için pek çok hücrel mekanizmanın düzenlenmesinde rol alır (4–7). Bu çalışmada PARP inhibisyonun testiste iskemi reperfüzyon hasarı sonrası görülen

histolojik bozulmayı azalttığını gösterdik. Fakat biz bu çalışmamızda kurtarılmış germ hücrelerinin DNA'larını değerlendirmedik. DNA onarımı için PARP temel enzimlerden olduğu için, çalışmamızdaki kurtarılmış germ hücrelerinin pek çoğunun, DNA yapısının hasarlı olmasının mümkün olabileceğini düşünmekteyiz. Bizim çalışmamız araştırmacılar gelecekteki çalışmalarda kurtarılmış germ hücrelerinin DNA'larını değerlendirmeye yönlendirmektedir.

6. SONUÇLAR

Deneysel tek taraflı spermatik kord torsiyonunda aynı ve karşı taraf testislerdeki histopatolojik ve biyokimyasal değişikliklerin değerlendirilmesi ve bu değişikliklere PARP inhibitörünün erken ve geç dönem etkileri isimli çalışmamızda şu sonuçları elde ettik.

- 1- Malondialdehit, Total Glutasyon, Serbest Glutasyon değerleri açısından gruplar karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı.
- 2- Çalışmamızda tek taraflı Torsiyon-detorsiyon sonrası karşı testislerde de erken ve geç dönemde artmış apoptozis, azalmış STÇ çapları, JTBS elde edildi.
- 3- JTBS değerleri açısından erken ve geç gruplarda aynı ve karşı testisler için, PARP inhibitörü verilen grupların lehine JTBS ortalamaları TD ve TDSF gruplarına göre anlamlı olarak yüksek saptandı.
- 4- STÇ değerleri açısından erken ve geç gruplarda aynı ve karşı testisler için, PARP inhibitörü verilen grupların lehine STÇ ortalamaları TD ve TDSF gruplarına göre anlamlı olarak yüksek saptandı.
- 5- PHÖ değerleri açısından erken dönem sol testisler hariç tüm gruplarda PARP inhibitörü verilen grupların lehine PHÖ ortalamaları TD ve TDSF gruplarına göre anlamlı olarak azalmış saptandı.
- 6- Erken dönem sol testislerde PHÖ ortalamaları, PARP inhibitörü verilen grupların lehine azalmış olmasına rağmen istatistiki olarak anlamlı fark saptanmadı.
- 7- Erken ve geç dönem gruplar kendi aralarında STÇ, JTBS ve PHÖ açısından karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmadı.

7. KAYNAKLAR

1. Kolski MJ, Mazelewski PJ: Effects of hyperbaric oxygen therapy on testicular ischemia reperfusion injury. *J Urol* (1998) 160: 601-602.
2. Conran RS, Kumar V, Collins T, Robbins pathologic basis of disease. 6.th Edition, 1-88, 1999
3. C. Szabo nad V.L. Dawson, Role of poly (ADP-riboz) synthetase in inflamation and ischemia-reperfusion. *Trends Pharmacol Sci* 19 (1998), 287-298.
4. S. Cuzzocrea, D.P. Riley, A.P. Caputi et al. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflamation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Rev* 53 (2001), 135-159.
5. FM Akgur, K. Kilinc, C.F. Tanyel et al., Ipsilateral and contralateral testicular biochemical acute changes after unilateral testicular torsion and detorsion. *Urology* 44 (1994), 413-418.
6. J.J. Lysiak, Q.A. Nguyen and T.T Turner, Peptide and nonpeptide reaktive oxygen scavengers provide partial rescue of the testis after torsion. *J Androl* 23 (2002), 400-409.
7. J.J. Lysiak, Q.A. Nguyen, J.L. Kirby et al., Iskemia-reperfusion of the murine testis stimulates the expression of proinflammatory cytokines and activation of c-jun N-terminal kinase in a pathway to E-selectin expression. *Biol Reprod* 69 (2003), 202-210.
8. C.Thiemermann, J. Bowes, F.P. Myint et al., Inhibition f the activity of poly (ADP-ribose) synthetase reduces ischemia-reperfusion injury in the heart and scheletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 94 (1997), 697-683.
9. K. Takahaski, J.H. Greenberg, P. Jackson et al., Neuroprotective effects of inhibiting poly (ADP-ribose) synthetase on focal cerebral ischemia in rats. *J. Cereb Blood Flow Metab* 17 (1997), 1137-1142.
10. T.T. Lam, The effect of 3-aminobenzamide, an inhibitor of poly (ADP-ribose) synthetase, on ischemia-reperfusion damage in rat retina. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 95 (1997), 241-252.

11. P.K. Chatterjee, S. Cuzzocrea and C. Thiernemann, Inhibitors of poly (ADP-ribose) synthetase protect rat proximal tubular cells against oxidant stress. *Kidney Int.* 56 (1999), 973-984.
12. Bartsch G, Frank St, Marberger H, et al. Testicular torsion : late results with special regard to fertility and endocrine function. *J Urol* 124 (1980), 375-378.
13. Blank ML, O'Neill PJ, Steigman CK, Cobb LM, Chudry IH. Reperfusion injury following testicular torsion and detorsion in prepubertal rats. *Urol Res* 21 (1993), 389-393.
14. Cosentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, Cockett AT. Histopathology of prepubertal rat testis subjected to various duration of spermatic cord torsion. *J Androl* 7 (1986), 23-31.
15. Haynes BE, Bessen HA, Haynes VE. The diagnosis of testicular torsion. *JAMA* 1983 249, 2522-2527.
16. Shukla RB. Association of cold weather with testicular torsion. *Br Med J* (1982). 285, 1459-1460.
17. Leape LL. Testicular torsion. In Ashcraft KW, editor. *Pediatric Urology*. 1st edition. Philadelphia: Saunders (1990) 429-436.
18. Thomas WE, Williamson RC. Diagnosis and outcome of testicular torsion. *Br Surg* (1983) 70, 213-216.
19. Savaş Ç, Dindar H, Aras T, Yücesan S. Pentoxifylline improves blood flow to both testis in testicular torsion. *Int Urology and Nephrology* (2002) 33, 81-85.
20. Kerr JF, Whyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biology phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer* 26 (1972), 239-157.
21. Colettis PN, Stowe NT, Inman SR. Acute spermatic cord torsion alters the microcirculation of the contralateral testicular blood flow. *J. Urol* (1996) 155, 350–354.
22. Bozlu M, Eskandari G, Çayan Selahittin The effect of poly (adenosine diphosphate-ribose) polymerase inhibitors on biochemical changes in testicular ischemia-reperfusion injury. *The Journal Of Urology* (2003) 169, 1870–1873.
23. Bozlu M, Coşkun B, Inhibition of poly(adenosine diphosphate-ribose) polymerase decreases long-term histologic damage in testicular ischemia-reperfusion injury. *J. Urol* (2004) 63, 791–795.

24. Johnson EK. Male Reproductive System: Histology and Embryology. Johnson EK A Wiley Medical Publication, New York (1984) 246 (5 pt 2), 698–704.
25. Laor E, Fisch H, Tennenbaum S, Sesterhenn I, Mostofi K, Rei RE: Unilateral testicular torsion: Abnormal histological findings in the contralateral testis: Cause of Effect ? Br J Urol (1990) 65, 520–523.
26. Linder HH. The male genital sistem: Clinical Anatomy. Linder HH Appleton and Lange, California (1989) 182, 495–511.
27. Madarikan J. Testicular salvage following spermatic cord torsion. J. Pediat Surg (1987) 22, 231–234.
28. Macnicol MF. Torsion of the testis in childhood. Br J Surg (1974) 61, 905–911.
29. Mastrogiacomo I, Zanchetta R, Graziotti P, Beterle C. Immunological and clinical study in patients after spermatic cord torsion. Andrologia (1982) 14, 25–30.
30. Mc Cord JM. Oxygen derivated free radicals in postischemic tissue injury. N Engl J Med (1985) 312, 159–167.
31. Moore KL. The abdomen: Clinical Oriented Anatomy. Third edition. Moore KL Williams and Wilkins, Baltimore (1992) 152, 144–152.
32. Erkoçak A. Genital Sistem: Özel Histoloji. Üçüncü baskı. Erkoçak A. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Ankara (1980) 166-181.
33. Kerr JF, Whiyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br. J. Cancer (1972) 26 (4), 239-257.
34. King LR : Diagnosis and management of testicular torsion: King LR, WB Saunders, Philedelphia Urologic Surgery In Infants And Children (1998) 125, 239-246.
35. Başaklar AC: Testis torsiyonu: Yenidoğanın Cerrahi Hastalıkları. Başaklar AC Ankara (1994), 399-405.
36. Nagler HM, Where White R: The effeck of testicular torsion on the contralateral testis. J. Urol (1985) 133, 294-297.
37. Nosewory J: Testicular torsion: Pediatric Surgery: Second Edition. Ashcraft KW (ed) W.B. Saunders, Philadelphia (1993) 245, 429-437.
38. Bartsch G, Frank St, Marberger H, et al. Testicular torsion: late results with special regard to fertility and endocrine function. J Urol (1980) 124, 375-378.

39. Heindel RM, Pakyz RE, Reinking LN, Cosentino JM. The effects of various degrees of unilateral spermatic cord torsion on fertility in the rat. *J Urol* (1990) 144, 366-369.
40. Hadziselimović F, Geneto R and Emmons LR. Increased apoptosis in the contralateral testis of patients with testicular torsion as a factor for infertility. *J Urol* (1998) 160, 1158-1160.
41. Noseworthy J, Testicular Torsion. Ashcraft, Murphy, Sarp, Sigalet, Synder. editors. *Pediatric Surgery*. 3rd Edition. United States of America: W. B. Saunders Company, (2000), 674-680.
42. Krarup T: The testis after torsion. *Br J Urol* (1978) 50, 43-46.
43. M. James C, Msao N, Ronald R, Abraham T.K. Histological changes occurring in the collateral testis of prepubertal rats subjected to various durations of unilateral spermatic cord torsion. *J Urol* (1985) 133, 906-911.
44. Cesarano TS, Nachtsheim DA, Otero F, Parsons CL. The effect of testicular torsion on contralateral testis and a production of antisperm antibodies in rabbits. *J Urol* (1984) 132, 577-579.
45. Daugas E, Sussin SA, Zamzami N. Mitochondrio-nuclear translocation of AIF in apoptosis and necrosis. *FASEB J* (2000) 14, 729-739.
46. Melikoğlu M, Güntekin E, Erkişç M and Karaveli S. Contralateral testicular blood flow in unilateral testicular torsion measured by the ¹³³Xe clearance technique. *Br. J Urol* (1992) 69, 633-635.
47. Blank ML, O'Neill PJ, Steigman CK, Cobb LM, Chudry IH. Reperfusion injury following testicular torsion and detorsion in prepubertal rats. *Urol Res* (1993) 21, 389-393.
48. Akgür FM, Kılınç K, Aktuğ T: Reperfusion injury after detorsion of unilateral testicular torsion. *Urol Res* (1993) 21, 369-399.
49. Sarıca K, Bakır K, Yağcı F, et al. Unilateral testicular torsion: Protective effect of verapamil on contralateral testicular histology. *Urol Int* (1999) 62, 159-163.
50. Turan C, Küçükaydın N, Bekercioğlu A, et al: The effect of vitamin E on ipsilateral and contralateral testis following unilateral testicular torsion in rats. *Res Exp Med (Berl)* (1996) 196, 243-246.
51. Krarup T. : The testis after torsion. *Br J Urol* (1978) 50, 43-46.

52. Anderson JB, Williamson RNC. The fat of the human testis following unilateral torsion of the spermatic cord. *Brit. J. Urol.* (1986) 58, 698-703.
53. Barkley C, York JP, Badelement RA, et al. Testicular torsion and its effect on contralateral testicle. *J Urol* (1993) 41, 192-194.
54. Kızılcın F, Bernay I, Tanyel FC, Büyükpamukçu N, Bekdik C. Ipsilateral and contralateral testicular blood flows during unilateral testicular torsion by ¹³³Xe clearance technique. *Int Urol Nephrol* (1992) 25, 515-520.
55. Wyllie AH: Apoptosis and regulation of cell numbers in normal and neoplastic tissues an overview. *Cancer and Metastasis Reviews* (1992) 11, 95-103.
56. Robert B, Levly M. Cyclic nucleotides: Principles Of Physiology. Robert B (ed) The C.V. Mosby Company, U.S.A (1990) 256, 466-477.
57. Lysiak JJ, Turner Sb, Turner. Molecular pathway of germ cell apoptosis following ischemia-reperfusion of the rat testis. *Biol Reprod*, (2000) 63, 1475-1482.
58. Polyak K, Xia Y, Zweier JL: A model or p53-induced apoptosis. *Nature* (1997) 389, 300-305.
59. Gores GJ, Miyoshi H, Botia R. Induction of the mitochondrial permeability transition as a mechanism of liver injury during cholestasis: A potential role for mitochondrial proteases, *Biochim Biophys Acta. (Abstract)* (1998) 366, 167-175.
60. Cothan RS, Kumar V, Robins SL: *Pathologic Basis of Disease*, 5th. Ed., WB Saunders, Philadelphia (1994) 4-16.
61. Corbert SW, Clarke AR, Gledhill S: P-53 dependent and independent links between DNA-damage, Apoptosis and mutation frequency in ES cells. *Oncogene* (1999) 18, 1537-1544.
62. Thomas WEG, Cooper MJ, Crane GA: Diagnosis and outcome of testicular torsion. *Br J Surg* (1983) 70, 213-216.
63. Turner TT: Acute experimental testicular torsion. No effect on contralateral testis. *J Androl* (1985) 6, 65-71.
64. Turner TT: On testicular torsion and epididymal torsion: No effect on the contralateral testis. *J Urol* (1984) 138, 1285-1289.

65. Wilmshurt T, Thompson D, Jenjins. Hemodynamic effects of i.v. amrinone in patients with impair left ventricular function. *Br Heart Jour.* (Abstract) (1983) 133, 294-297.
66. York JP, Drago JR: Torsion and the contralateral testicle. *J Urol*, (1985) 133, 294-297.
67. Zimmerman BJ, Grisham MB, Granger DN. Role of oxidants in ischemia reperfusion induced granulocyte infiltration. *Am J Physiol* (1990) 258, 185-189.
68. Jhunjhunwala JS, Sinha Hikim AP, BuddCA. Germ cell degeneration in the contralateral testis of the guinea pig with unilateral torsion of the spermatic cord. *J Androl* (1986) 7, 16-22.
69. Yazawa H. Glucocorticoid hormone can suppress apoptosis of rat testicular germ cells induced by testicular ischemia. *Fertil Steril.* (2001) 75, 980-985.
70. Ziegler M, Oei SL. A cellular survival switch: poly(ADP-ribose)ation stimulates DNA repair and silences transcription. *Bioessays* (2001) 23, 543-548.
71. Pieper AA, Verma A, Zhang J, Snyder SH. Poly(ADP-ribose) polymerase, nitric oxide and cell death. *Trends Pharmacol Sci* (1999) 20, 171-181.
72. Shall S, de Murcia G. Poly(ADP-ribose) polymerase-1: what have we learned from the deficient mouse model ? *Mutat Res* (2000) 460, 1-15.
73. D'Amours D, Desnoyers S, D'Silva I, Poirier GG. Poly(ADP-ribose)ation reactions in the regulation of nuclear function. *Biochem J* (1999) 342, 249-268.
74. Berger NA. Poly(ADP-ribose) in the cellular response to DNA damage. *Radiat Res* (1985) 101, 4-15.
75. Johnson M. A Human poly(ADP-ribose) polymerase gene family (ADPRTL): cDNA cloning of two novel poly(ADP-ribose) polymerase homologues. *Genomics* (1999) 57, 442-445.
76. Sallmann FR, Vodenicharov MD, Wang ZQ, Poirier GG. Characterization of sPARP-1. An alternative product of PARP-1 gene with Poly(ADP-ribose) polymerase activity independent of DNA strand breaks. *J Biol Chem* (2000) 275, 15504-15511.
77. Kickhoefer VA, Siva AC, Kedersha NL, Inman EM. The 193-kD vault protein, VPARP, is a novel poly(ADP-ribose) polymerase. *J Cell Biol* (1999) 146, 917-928.

78. Kaminker PG, Kim SH, Taylor RD, Zebarjadian Y, Funk WD. TANK2, a new TRF1-associated Poly(ADP-ribose) polymerase, causes rapid induction of cell death upon overexpression. *J Biol Chem* (2001) 276, 35891-35899.
79. S. Cuzzocrea, D.P. Riley, A.P. Caputi et al. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation and ischemia-reperfusion injury. *Pharmacol Rev* 53 (2001) 135-159.
80. C. Szabo and V.L. Dawson. Role of Poly(ADP-ribose) synthetase in inflammation and ischemia-reperfusion. *Trends Pharmacol Sci* 19 (1998), 287-298.
81. S. Shall and G. De Murcia, Poly(ADP-ribose) polymerase-1: what have we learned from the deficient mouse model ? *Mut Res* 460 (2000), 1-15.
82. L. Tentori, I. Portarena and G. Griziani. Potential clinical application of poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitors. *Pharmacol Res* 45 (2002), 73-85.
83. K. Takahashi, J.H. Greenberg, P. Jackson et al. Neuroprotective effects of inhibiting Poly(ADP-ribose) synthetase on focal cerebral ischemia in rats. *J. Cereb Blood Flow Metab* 17 (1997), 1137-1142.
84. TT. Lam, The effect of 3-aminobenzamide, an inhibitor of poly-ADP-ribose polymerase, on ischemia/reperfusion damage in rat kidney. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 95 (1997), 241-252.
85. K. Milam and Cleaver, J.E. Inhibitors of poly(adenosine diphosphate-ribose) synthesis: effect on other metabolic processes. (1984) *Science* 223, 589-591.
86. P.K. Chatterjee, S. Cuzzocrea and C. Thiernemann. Inhibitors of Poly(ADP-ribose) synthetase protect rat proximal tubular cells against oxidant stress. *Kidney Int* 56 (1999), 973-984.
87. Jhonson SG. Testicular biopsy score count a method for registration of spermatogenesis in human testis: normal values and results in 352 hypogonadal males. *Hormones* 1 (1970), 1-24.
88. Jeffrey J. Lysiak, Stephen D. Turner, Terry Turner. Molecular Pathway of germ cell apoptosis following ischemia-reperfusion of the rat testis. *Biol Reprod* 63 (2000), 1465-1472.

89. Szijarto A, Batmunkh E, Hahn O, Mihaly Z, Kreiss A, Kiss A, Lotz G. Effect of PJ-34 PARP inhibitor on rat liver microcirculation and antioxidant status. *J Urol* 142 (2007), 72-80.
90. Koh S, Park Y, Song C, Kim J, Kim K, Kim J, Lee S, Kim D, Chang D. The effect of PARP inhibitor on ischaemic cell death, its related inflammation and survival signals. *J Neuroscience* 20 (2004), 1461-1472.
91. Maier C, Scheuerle A, Hauser B, Schelzig H, Szabo C, Kick J. The selective poly(ADP)ribose-polymerase 1 inhibitor INO1001 reduces spinal cord injury during porcine aortic cross-clamping-induced ischemia/reperfusion injury. *Intensive Care Med* 33 (2007), 845-850.
92. Yılmaz AF. Testis torsiyonunun karşı testis üzerine etkisi ve bu etkide otoimmunitenin yeri. (1986). Uzmanlık tezi
93. Tanyel FC, Büyükpamukcu N, Hicsonmez A. Contralateral testicular blood flow during unilateral testicular torsion. *Br J Urol* 63 (1999), 522-524.
94. York JP, Drago JR. Torsion and the contralateral testicle. *J Urol* 133 (1985), 294-297.
95. Nagler HM, White RDV. The effect of testicular torsion on the contralateral testis. *J Urol* 128 (1982), 1343-1348.
96. Sade M, Amato S, Mertan S, Büyüksu C. The effect of testicular torsion on the contralateral testis and the value of various types of treatment. *Br J Urol* 62 (1988), 69-71.
97. Dominquez C, Martinez M. Histological study in contralateral testis of prepubertal children following unilateral testicular torsion. *Eur Urol* 26 (1994), 160-163.
98. F. Hadziselimović, R Geneto and L.R. Emmons. Increased apoptosis in contralateral testis of patients with testicular torsion as a factor for infertility. *J Urol* 160 (2005); 3, 1158-1160.
99. Tarhan F, Yildiz K, Kuyumcuoglu U. An enigma: Contralateral effects of experimental unilateral testicular torsion. *Int Urol Nephrol* 28 (1996), 359-366.
100. Ryan PC, Whelan CA, Gaffney EF, Fitzpatrick JM. The effect of unilateral experimental testicular torsion on spermatogenesis and fertility. *Br J Urol* 62 (1988), 359-366.

101. Turner TT. On unilateral testicular and epididymal torsion: no effect on the contralateral testis. *J Urol* 138 (1987), 1285-1290.
102. Barlas E, Aslıhan K, Ozkara E. Dextran attenuates lipid peroxidation and testicular damage at experimental ischemia and reperfusion injury. *J of Ped Surg* 23 (2007), 177–181.
103. G. M. Koksall, C. Sayilgan, S. Aydın. Correlation of Plasma and Tissue Oxidative Stresses in Intra-abdominal Sepsis. *J. Pediat Surg* 122 (2004), 180–183.
104. Özokutan BH, Küçükaydın M, Muhtaroglu S, Tekin Y. The role of nitric oxide in testicular ischemia-reperfusion injury. *J of Ped Surg* 35 (2000), 101-103.
105. Savaş Ç, Aras T, Çakmak M, Bilgehan A. Pentoxifylin inhibits overflow and reduces intestinal reperfusion injury. *J of Ped Surg* 32 (1997), 905-910