

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

RATLARDA DENEYSEL TESTİS TORSİYONU İLE
OLUŞTURULAN İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINDAN
KORUNMADA HESPERETİNİN ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ

Dr.Emrah ÇELİK

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Hakan OĞUZTÜRK

MALATYA- 2012

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

**RATLARDA DENEYSEL TESTİS TORSİYONU İLE
OLUŞTURULAN İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINDAN
KORUNMADA HESPERETİNİN ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr.Emrah ÇELİK

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Hakan OĞUZTÜRK**

**Bu tez, T.C. İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından
2011/167 proje numarası ile desteklenmiştir.**

TEŞEKKÜR

Birlikte geçirdiğimiz uzmanlık eğitim süresi boyunca, kişiliği ve mesleki deneyimi ile bana her zaman örnek olan, bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren, tez konumu belirleyerek çalışmamın yürütülmesi ve bu alanda yetişmemde daima desteğini gördüğüm başta tez danışmanım Doç.Dr.Hakan OĞUZTÜRK olmak üzere, Acil Tıp Anabilim dalı başkanı Doç.Dr.M.Gökhan TURTAY ve diğer bölüm hocalarımıza, tezimi hazırlarken yardımlarını esirgemeyen Doç.Dr.Osman ÇİFTÇİ'ye, Yrd.Doç.Dr.Fatih OĞUZ'a, Dr.Nurhan ŞAHİN'e, tezimin yapımında ve oluşumunda her türlü özveriyi gösteren deney hayvanları laboratuvarı çalışanlarına; asistanlık süresince beraber çalıştığım, nöbet tuttuğum sevgili arkadaşlarım Acil Tıp Anabilim Dalı asistanlarına, konsültan arkadaşlarıma, acil servis ekibine ve asistanlığım süresince her konuda yardımını esirgemeyen, dostça dayanışmanın en iyi örneğini gösteren sevgili ağabeyim Dr.Y.Kenan TEKİN'e ve kardeşim Dr.Engin YILDIRIM'a, ayrıca bu zor süreçte bana destek olan sevgili kızım Beste ve eşim Özlem'e sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Emrah ÇELİK

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLolar DİZİNİ.....	v
RESİMLER DİZİNİ.....	vi
KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Testis Anatomisi.....	3
2.1.1.Testisin Arteriyel Dolaşımı.....	3
2.1.2.Testisin Venöz Dolaşımı.....	4
2.1.3.Testisin İnnervasyonu.....	6
2.2.Testis Embriyolojisi.....	6
2.2.1.Gonadlar.....	6
2.2.2.Testis.....	7
2.2.3.Testis Kanallarının Gelişiminin Moleküler Düzeni.....	7
2.2.4.Erkekde Genital Kanallar.....	8
2.2.5.Testisin İnişi.....	8
2.2.6.Testislerin Gelişimi.....	9
2.3.Testis Histolojisi ve Spermiyogenez.....	10
2.3.1.Seminifer Tubüller.....	10
2.3.2.Spermatogenez.....	11
2.3.3.Spermiyogenez.....	12
2.3.4.İntersiyel Doku.....	13
2.3.5.Rete Testis.....	14
2.3.6.Duktuli Efferentes.....	14
2.3.7.Duktuli Epididimis.....	14
2.3.8.Duktus Deferens.....	15
2.3.9.Duktus Ejakulatorius.....	15

2.4. Testis Torsiyonu.....	16
2.4.1. Epidemiyoloji ve Etiyolojisi.....	16
2.4.2. Sıklık.....	17
2.4.3. Sınıflandırma.....	17
2.4.4. Klinik Bulgular.....	20
2.4.5. Tanı.....	21
2.4.6. Tanısal Testler.....	22
2.4.6.1. Doppler USG.....	22
2.4.6.2. Manyetik Rezonans.....	23
2.4.6.3. Radyonüklid Sintigrafi.....	23
2.4.7. Patofizyoloji.....	23
2.4.7.1. İskemi.....	23
2.4.7.2. Reperfüzyon.....	25
2.4.8. Tedavi.....	28
2.4.8.1. Manual Detorsiyon.....	30
2.4.8.2. Cerrahi Eksplorasyon.....	30
2.4.9. Komplikasyonlar.....	31
2.4.10. Ayırıcı Tanı.....	31
2.5. Serbest Oksijen Radikalleri.....	32
2.5.1. Serbest Radikal Türleri.....	32
2.5.1.1. Reaktif Oksijen Bileşikleri.....	32
2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	34
2.6.1. Antioksidanların Etkileri.....	34
2.6.2. Enzimler.....	35
2.6.3. Karotenoidler ve Retinoidler.....	36
2.6.4. Askorbik Asit.....	37
2.6.5. Vitamin E.....	38
2.6.6. Flavonoidler.....	38
2.6.7. Nitrik Oksit.....	39
2.6.8. Glutasyon.....	40
2.6.9. Malondialdehit.....	40

2.7. HESPERİDİN.....	41
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	50
4. BULGULAR.....	63
5. TARTIŞMA.....	68
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	75
7. ÖZET.....	76
8. SUMMARY.....	78
9. KAYNAKLAR.....	80
10.EKLER.....	94

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Ratlara verilen yemin bileşimi.....	50
Tablo 2. Deneyde kullanılan kimyasal maddeler.....	51
Tablo 3. Deney grupları.....	52
Tablo 4. Histopatolojik bulguların gradelenmesi.....	55
Tablo 5. Gruplara göre biyokimyasal verilerin dağılımı.....	63

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1	:Seminifer tubuluslara sahip grade II testiküler değışiklikler. (H&Ex100).....	57
Resim 2	:Belirgin kohezyon kaybı gösteren grade II testis dokusu. (H&Ex200).....	57
Resim 3	:Sınırları belirsiz seminifer tubuller, düzensiz, dökülmüş germinal hücreler (grade III) (H&Ex100).....	58
Resim 4	:Seminifer tubuluslarda dökülmüş, büzülmüş hücreler, piknotik nükleuslar (grade III) (H&Ex400).....	58
Resim 5	:Germinatif hücrelerde belirgin koagülatif nekroz (Grade IV) (H&Ex400).....	59
Resim 6	:Grade IV değışikliklere sahip seminifer tubuluslarda belirgin koagülatif nekroz (H&Ex200).....	59
Resim 7	:Koagülatif nekroz gösteren seminifer tubuluslar (H&Ex 200).....	60
Resim 8	:Koagülatif nekroz gösteren seminifer tubuluslar (H&Ex200).....	60
Resim 9	:Normal testiküler seminifer tubuluslar ve germinativ hücreler (H&Ex200)...	61
Resim 10	:Normal germinal hücreler ve dizilimleri. (H&Ex400).....	61
Resim 11	:Normal germinal hücreler ve dizilimleri. (H&Ex200).....	62

KISALTMALAR DİZİNİ

AMH	: Antimüllerien inhibitör madde
AMP	: Adenozin Monofosfat
ATP	: Adenozin Trifosfat
BaP	: Benzo(alpha) pyrene
CAPE	: Kafeik asit fenetil ester
CAT	: Katalaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
GSH	: Redükte glutatyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GSSG	: Yükseltilmiş glutatyon
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
hCG	: Human koryonik gonodotropin
I/R	: İskemi reperfüzyon
i.p	: İntraperitoneal
İNOS	: İndüklenebilen nitrik oksit türevleri
MDA	: Monoaminooksidaz
MIM	: Müllerien inhibitör madde
MIS	: Müllerian inhibe edici madde
ml	: Mililitre
MR	: Manyetik rezonans
NBT	: Nitroblue Tetrazolium
NOS	: Nitrik oksit sentaz

O₂	: Oksijen
PH	: Fosforillenmiş hesperetin
RNT	: Reaktif nitrojen türeleri
RNT	: Reaktif nitrojen türevleri
ROB	: Reaktif Oksijen Bileşikleri
ROT	: Reaktif oksijen türevleri
S.C	: Subkutanöz
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikali
SRY	: Sex determining region of Y
T/D	: Torsiyon detorsiyon
TBA	: Tiyoarbitürük asit
TBF	: Testis belirleyici faktör
TT	: Testis torsiyonu
USG	: Ultrasonografi

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Testis torsiyonu testiste ileri düzeyde iskemiye sebep olan akut seyirli, her yaşta görülebilen ivedilikle teşhis ve tedavi gerektiren cerrahi bir acildir. Bu durum spermatik kord katlandığında oluşarak damarsal obstrüksiyona ve uzayan iskemi ile birlikte testiküler hasara neden olur. Hastaların önemli bir kısmı süt çocukları, küçük erkek çocuklar ya da genç erkeklerdir. Her yaşta görülmesine rağmen sıklıkla 12-18 yaş aralığında görülür. 25 yaş altı erkeklerde testiküler torsiyonun yıllık insidansı 1/ 4000 olarak tahmin edilmektedir. Yapılan çalışmalarda vakaların % 6,8'inin inmemiş testisli hastalarda görüldüğü saptanmış ve testiküler torsiyonun inmemiş testisi olanlarda 10 kat fazla görüldüğü belirlenmiştir (1).

Semptomların başlangıcı genelde spontandır fakat travmaya ikincil olarak da görülebilir. Akut ağrılı skrotum şişliği ile gelen hastalarda düşünülecek ayırıcı tanı gerektiren klinik durumlar arasında orşit, epididimit, akut hidrosel, strangüle inguinal herni, testis içine kanama ya da spermatik korda yağ nekrozu akla gelmelidir. Semptomların ilk birkaç saatinde testis kurtarma operasyonu ile % 100' e yakın başarı sağlanırken 12-24 saat arasında bu oran % 20'lere düşer. 24 saatten uzun süren tam testis iskemisi genellikle atlanmış torsiyon olarak bilinen geri dönüşümsüz enfarkta neden olur (2).

Ciddi testis iskemisi tanısında sintigrafi veya Doppler USG önemli yer tutmasına karşın torsiyon geçici ve kısa süreli ise radyonüklid inceleme veya Doppler USG normal olabilir. Daha sonra dinamik sintigrafide torsiyone testisin perfüzyonunun azaldığı gösterilebilir (2).

Akut skrotumun değerlendirilmesinde radyolojik görüntüleme yöntemlerindeki gelişmeye rağmen akut testiküler torsiyonu destekleyen bir hikaye ve fizik muayene

sıklıkla acil cerrahi yaklaşım için yeterlidir. Pratikte genellikle tanı klinik olarak konur ve cerrahi sırasında doğruluğu kanıtlanır. Yapılabilecek radyolojik çalışmalar da teşhisi destekler (1).

Testiküler torsiyonun en belirgin komplikasyonu gonadların infarktudur. Bu durum torsiyonun süresine ve derecesine bağlı olmakla birlikte orşiektomi ile önlenir. Anormal semen analizi ve kontralateral testis apoptozisi testiküler torsiyonu izleyen komplikasyonlardır. Bu yüzden hastaya subfertilite riski nedeniyle aydınlatma yapılmalıdır (1).

Testis torsiyonuna bağlı venöz dönüş bozularak ödem ve hemoraji gelişir. Sonradan arteriyel obstrüksiyon bulguları da tabloya eklenir ve kan akımı azalarak testiste hipoksi meydana gelir. Deneysel çalışmalarda testiküler iskemide en duyarlı olan hücrelerin başında spermatogonia ve spermatositler olmak üzere germ hücreleri olduğu gösterilmiştir. İskemik dokularda canlılığı korumak için en kısa sürede reperfüzyonun sağlanması gerekmektedir. Testisin detorsiyone edilmesinden sonra ise reperfüzyon nedeni hasarlanma meydana gelmektedir (3). Reperfüzyon hasarı serbest oksijen radikallerinin (SOR) artışı ve nötrofil infiltrasyonu ile bağlantılıdır. Oluşan radikaller hücre membranındaki lipidlerin peroksidasyonu, protein denaturasyonu ve DNA hasarına neden olur (4).

Yapılan deneysel çalışmalarda detorsiyon sonrası oluşabilecek hasarı önlemek için çok sayıda antioksidan maddeler kullanılmıştır. (İbuprofen, dehidroepiandrosteron, N-asetilsistein, morfin, erdostein, allopurinol, resveratrol, selenyum, propofol v.b. (50,147,148,153,192).

Hesperidin bir flavon glikozitidir. Bir aglikon hesperetin veya metil eriodiktiyol ve buna ek olarak bir disakkarit rutinozdan oluşur (5). Hesperidin elektron ve proton transfer reaksiyonundaki süperoksit radikalini azalttığı bulunmuştur. Metal iyonlarının şelatörleri olduğundan serbest radikal süpürücü özellikleriyle etkili antioksidanlardır (6). Hesperidin serbest oksijen radikallerinden ve lipid peroksidasyonundan korunmayı sağlamaktadır (8,9,10,11). Böylece hesperidin diğer flavonoidlerle karşılaştırıldığında belirgin ve etkin bir antioksidan olarak karşımıza çıkmaktadır (12-19).

Testis torsiyonuna bağlı iske mi reperfüzyon sonrası testislerin histolojik ve fonksiyonel yönlerini inceleyen çok sayıda yayın bulunmaktadır. Biz bu çalışmada testisin iske mi ve reperfüzyonuna bağlı tarayabildiğimiz literatür kadarıyla daha önce denenmemiş olduğunu gördüğümüz hesperetin etkilerini incelemeyi amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Testis anatomisi

Testisler, 4-5 cm uzunluğunda, 3 cm genişliğinde ve 2,5 cm derinliğinde olup ortalama olarak 30 ml hacme sahiptir. Sol testis, sağ testisten 1 cm daha aşağıdadır (20). Testisler sert bir kapsülle çevrilmiştir ve bu kapsül viseral tunika vajinalis, kollajen ve düz kas elamanlarıyla beraber tunika albuginea ve tunika vasküloza'dan oluşur.

Epididimis, testisin posterolateral yüzeyine yapışır. Onun altında, tunika albuginea damarların ve duktusların testiküler kapsülü geçtiği noktada olan mediastinum testisi oluşturmak için içeri doğru uzanır. Septa radiata mediastenden tunika albugineanın iç yüzeyine sayıları 200-300 arasında değişen koni şekilli lobülleri oluşturmak için yapışır (21). Rete testisten, 12-20 adet duktuli efferentes çıkarak epididim başına girerler. Her bir lobülden gelen duktus tek bir epididim duktusuna drene olur. Oldukça olan bu kanalın, kuyruğa doğru ilerledikçe çapı ve kalınlığı giderek artarak duktus deferens oluşur (22).

Testis atardamarları birbirleriyle anastomozlar yaparak kollateral dolaşımı oluştururlar (23). Neuhof ve Mencher'e göre kord kesilse bile hastaların % 98'de testis kollateral dolaşım sayesinde gangren olmaktan kurtulmaktadır (24). Daha geniş kapsamlı bir çalışmada ise Burdick ve Higinbotham % 80 oranında atrofi, % 2 oranında da gangren saptamışlardır (25).

2.1.1.Testisin Arteriyel Dolaşımı

Testisler, başlıca üç arteriyel sistem tarafından kanlanmaktadır.

1. İnternal spermatik (Testiküler) arter
2. Eksternal spermatik (Kremasterik) arter
3. Deferensiyel (Vazal) arter

1-) İnternal Spermatik (Testiküler) Arter

Ana testiküler arterdir, testis kan akımının 2/3'sini sağlar. Abdominal aortadan, renal arterin hemen altındaki anterolateral yüzden çıkar. Testis orta polde, posteriorda, epididimisin altında tunikayı oblik olarak geçerek testise girer.

İnsan testiküler parankimi 100 mg dokuya yaklaşık 9 ml/dk kan sağlar (26). Metabolik ihtiyaca göre kan akışı değişkenlik göstermektedir.

Testis biopsisi ve orşiopeksi esnasında arterin kesintiye uğramamasına dikkat edilmelidir. İnternal spermatik arter alt polde deferensiyel ve kremasterik arterlerle (27,28), üst polde deferensiyel arterle (27) anastomoz yapar.

2-) Eksternal Spermatik (Kremasterik) Arter

Testis kan akımının yaklaşık %15-20'sini sağlar, esas olarak tunika vajinalisi besler. A. iliaka eksterna'nın dalı olan a.epigastrika inferior'dan internal inguinal ring içinde ayrılır. Testiküler mediastinumda internal spermatik ve deferensiyel arterlerle anastomoz yapar, tunika vaginalis üzerinde ağ yaparak sonlanır.

3-) Deferensiyel (Vazal) Arter

Testis kan akımının 1/6'ini sağlar, A.iliaka interna'nın uç dalı olan A. vezikalis superior veya inferior'dan çıkar, vaz deferens ve epididimisin globus minor'unu besler, testise yakın yerde internal spermatik arter ile anastomoz yapar. İnternal spermatik arter bağlanırsa kremasterik arterin de katkısıyla testis kan akımını arttırarak düzeni sağlar. (29,30)

2.1.2. Testisin Venöz Dolaşımı

Testiküler venöz drenaj dört ayrı sistemle olmaktadır.

1. İnternal Spermatik (Testiküler) Ven
2. Eksternal Spermatik (Kremasterik) Ven
3. Deferensiyel (Vazal) Ven
4. Gubernakuler Ven

1-) İnternal Spermatik (Testiküler) Ven

İnternal spermatik artere eşlik eder, solda renal vene dik olarak, sağda V. cava inferiora oblik olarak açılır. Sol internal spermatik ven daha yüksek konumu ve sol testisin daha aşağı pozisyonu nedeniyle sağdakinden 8-10 cm daha uzundur, inferior

vena cava'nın daha fazla akmasıyla olan bir çekiş etkisiyle sağdaki akımı arttırdığı düşünülmektedir (31).

2-) Eksternal Spermatik (Kremasterik) Ven

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

3-) Deferensiyel (Vazal) Ven

Vaz deferense eşlik eder, süperior-inferiorvezikal ven'ler yoluyla internal iliak ven'e dökülür.

4-) Gubernakular Ven

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

Venöz Sistem Anastomozları

Venöz drenaj iki anastomotik sistem yoluyla oluşmaktadır. Bunlar testikuler, kremasterik, deferensiyel, skrotal, gubernakular, superfisial epigastrik, eksternal pudental, superfisial circumfleks, safenöz, femoral venler yoluyla olan bir yüzeyel sistem ve penil, krural, üreteral, obturator, renal kapsüler, kolonik, lumbal venler yolu ile olan bir derin sistemden oluşmaktadır. Ayrıca sağ.-sol arasındaki sakral, üreterik, spermatik, skrotal, retropubik seviyelerde anastomozlar oluşmaktadır (29,32,33).

Pleksus Pampiniformis

Intratestiküler küçük venler, testis yüzeyel venlerine ve rete testiste hiler venlere açılırlar, daha sonra testis ve epididimden kaynaklanan venler, mediastinum'dan çıkar ve duktus deferens önünde ve testiküler arter çevresinde 8-12 venden oluşan bir şebeke halinde serbest anastomoz yapan 3 ayrı ven grubu pampiniform pleksusu oluşturur (34).

Testosteron, konsantrasyon gradientine göre pasif difüzyon ile venden artere taşınır (35). Spermatik kordonda ısının karşılıklı akım ile değişimi, normal bireylerde rektal ısıdan 2-4°C daha düşük olan testise kan sağlayarak ısı ayarına katkıda bulunur (36). Pleksus pampiniformis, epididim ve skrotal duvarın drenajını sağlayan kremasterik pleksus ve deferansiyel ven sistemi arasında, skrotum ve inguinal kanal seviyesinde birbirleriyle anastomozlar vardır, pleksuslar tekrar kendi aralarında birleşerek venleri oluştururlar, böylece deferansiyel ve kremasterik gruplar, internal spermatik ven grubunun ligasyonundan sonra testisten venöz dönüş için kollateral yol sağlamış olur (37).

2.1.3. Testisin İnnervasyonu

Testisin innervasyonu, süperior mezenterik ve renal arter bölgesindeki aortik pleksuslar ve kollateral ganglionlar ile ilişkili sempatik lifler ve genel visseral duyu lifleri ile sağlanır (38). Bu lifler testise testiküler arterler ile birlikte gelirler ve testise sempatik ve duysal innervasyon taşırlar. Ağrı iletimiyle ilgili spinal kord seviyeleri, torasik ve splanknik sinirlerin çıktıkları T5-T12 seviyesidir. Genitofemoral sinirin genital dalı (L1-L2) inguinal kanala internal inguinal halkadan girer. Bu dal kremasterik kası inerve eder. İlioinguinal sinir (L1) krsta iliaka anterior süperior yakınında eksternal ve internal oblik kaslar arasından çıkar, kanala girer, en sonunda dış inguinal halkadan çıkar. İlioinguinal sinir penis kökünün derisini, skrotum'un üst kısmını, uyluğun üst medial bölümünü inerve eder (39).

Pelvik pleksusa anestezi yapılması inatçı testis ağrılarında kullanılabilen bir yöntemdir. Bazı afferent ve efferent sinirler karşı taraf pelvik pleksus'a karışabilirler (40). Bu nöral çapraz kominikasyonlar bir testisteki patolojik olayların karşı taraf testis'in fonksiyonlarını da etkileyebileceğini açıklar. Genitofemoral sinirin genital dalları pariyetal ve visseral tunika vajinalis ve skrotumun duyarlılığını sağlar.

2.2. Testis Embriyolojisi

2.2.1.Gonadlar

Embriyonun cinsiyeti, fertilizasyon sırasında belirlenmiş olmasına rağmen, gelişimin 7. haftasına kadar gonadlar erkek veya dişi morfolojik özelliklerine sahip değildirler. Gonadlar başlangıçta bir çift uzunlamasına, çölomik epitelin proliferasyonu ve altındaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla oluşmuş genital veya gonadal sırtlar halinde belirirler. Gelişimin 6. haftasına kadar bu genital sırtlar içinde germ hücreleri yoktur. (41).

Primordial germ hücreleri, gelişimin erken evrelerinde yolk kesesinin allontoise yakın duvarındaki endoderm hücreleri arasında belirirler. Son barsağın mezenterinin dorsali boyunca ameboid hareketler ile ilerleyerek 5.haftanın başında primitif gonadlara ulaşır, 6.haftada da genital sırtları işgal ederler. Bu hücreler genital sırtlara ulaşamadıkları takdirde gonadlar gelişemezler. Gonadların over veya testise farklılaşmasında primordiyal germ hücrelerinin indükleyici etkisi vardır.

Primordial germ hücrelerinin primitif gonadlara ulaşmasından hemen önce ve ulaşması sırasında, genital sırtın epiteli proliferer olur ve epitelyum hücreleri altlarındaki

mezenşimin içine gömülürler. Bunlar burada primitif cinsiyet kordonlar denilen irregüler şekilli kordonları oluştururlar. Hem erkek hem dişi embriyolarda bu kordonlar yüzey epiteline bağlıdır ve bu dönemde erkek veya dişi gonadların'ın birbirinden ayırılması mümkün değildir. İşte bu devredeki gonad farklanmamış gonad olarak bilinir. (41).

2.2.2.Testis

Eğer embriyo genetik olarak erkekse, primordial germ hücrelerinin cinsiyet kromozomları XY dir. Testis belirleyici faktörü kodlayan Y kromozomu üzerindeki SRY geninin etkisi ile primitif cinsiyet kordonları testis veya medullar kordonları oluşturmak üzere çoğalmaya devam ederek medullanın derinliklerine doğru ilerlerler.

Dördüncü ayda, testis kordonları atnalı şeklini alır ve bu atnalının uçları rete testis ile devam eder. Bu durumda testis kordonları artık primitif germ hücreleri ve bezin yüzey epitelinden köken almış sertoli destek hücrelerinden oluşur. Gonadal sırtın orijinal mezenşiminden köken alan intertisyel leyding hücreleri testis kordonlarının arasında bulunur ve bu kordonların farklanmaya başlamasından hemen sonra gelişmeye başlarlar. Gestasyonun 8.haftasında, leyding hücreleri testosteron üretmeye başlarlar. Testisler artık genital kanal ve dış genital organların cinsiyetini etkileyecek hale gelmiştir. (41).

Puberteye kadar solid halde kalan testis kordonları pübertede lümenleri açılarak seminifer tübüller haline gelirler. Seminifer tübüller rete testis tübüleriyle birleşir ve duktuli eferenteslere girerler. Bu eferent duktuslar mezonefrik sistemin geride kalmış boşaltım tübülleridir. Duktus deferens olarak bilinen bu kanallar, rete testis ile mezonefrik veya Wolffian kanalları birbirine bağlarlar. (41).

2.2.3.Testis Kanallarının Gelişiminin Moleküler Düzeni

Testis gelişimi üzerinde en temel rolü oynayan SRY geni testisten mezonefrik kanal tübüllerinin gonadal sırtı penetre edebilmesini ve testislerin daha ileri gelişimini sağlayan kemotaktik bir madde salgılamalarını uyarmaktadır. SRY geni aynı zamanda sertoli ve Leydig hücrelerinin farklanabilmesi için gerekli olan ve etkisini bir başka transkripsiyon faktörü olan SOX9 geni üzerinden gösteren steroidogenezis faktörü 1' in salgılanmasını düzenlemektedir. Sertoli hücreleri tarafından salgılanan müllerian inhibe edici madde (MIS) paramezonefrik (müllerian) kanalların gerilemesini sağlamaktadır.

Leydig hücreleri tarafından salgılanan testosteron 5-alfa redüktaz enzimi ile dihidrotestosterona dönüştürülür. Testosteron reseptör kompleksi mezonefrik kanalların virilizasyonunu sağlarken, dihidrotestosteron reseptör kompleksi de erkek dış genital organlarının diferansiye olmalarına yardım eder. (41).

2.2.4.Erkekde Genital Kanallar

Mezonefroz gerilerken, epigenital tübüller adı verilen birkaç boşaltım kanalı rete testis kordonları ile ilişki kurarak sonunda duktuli efferentesleri oluşturur. Mezonefrik kanallar kıvrıntılı bir yapı halini alarak duktus epididimi oluştururlar. Duktus deferensin seminal vezikülden sonraki parçasına ejakulatuar kanal denir. Paramezonefrik kanallar erkeklerde kranial uçlarındaki küçük bir kısım dışında dejenere olurlar (41).

2.2.5.Testisin İnişi

İkinci ayın sonunda testis ve mezonefroz karın arka duvarına ürogenital mezenter ile bağlanmıştır. Mezonefroz dejenere olduktan sonra bu bağlar gonadın mezenteri haline gelir. Bu mezenterin kaudal bir ligament haline gelerek kaudal genital ligament adını alır. Testisin kaudal kutbundan çıkan ve ekstrasellüler matriksten zengin, yoğun mezenşimal bir yapı da gubernakulum olarak bilinir. Bu mezenşim bandı testisin aşağı inişinden önce inguinal bölgede, internal ve eksternal abdominal oblik kasların arasında sonlanır. Testis inguinal halkaya doğru aşağı inmeye başladığından gubernakulumun extraabdominal parçasıda inguinal bölgeden skrotal şişliğe doğru büyümeye başlar. Testisler inguinal kanaldan geçerken, gubernakulumun ekstra-abdominal kısmı skrotumun tabanına temas eder (41).

Testisin inişine etki eden faktörler tam olarak netleşmemiştir. Ancak intraabdominal göçün gubernakulumun ekstraabdominal parçasının uzamasıyla gerçekleştiği, organların büyümesinin intraabdominal basıncı arttırarak inguinal kanaldan geçişi sağladığı ve gubernakulumun karıncı kısmının regresyonunun da testisin skrotum içine doğru olan inişini tamamlamasını sağladığı düşünülmektedir. Normalde testisler gestasyonun yaklaşık 12.haftasında inguinal bölgeye gelmekte, inguinal kanaldan 28. haftada geçmekte ve skrotuma 33.haftada ulaşmaktadırlar. Bu süreç şüphesiz androjenler ve MIS gibi hormonlardan etkilenmektedir. İniş sırasında testisler aorta tarafından beslenmeye devam ederler ve testiküler damarlar başlangıçtaki lomber lokalizasyonlarından skrotum içindeki testislere kadar uzanırlar (41).

Testislerin aşağı inişinden bağımsız olarak, karın boşluğunu çevreleyen periton da, karın ön duvarının orta hattının her iki yanında cepler meydana getirir. Vajinal proses olarak bilinen bu periton cepleri, skrotal şişliğe doğru ilerleyen gubernekulu izlerler. İnguinal kanal müsküler ve fasiyel tabakalarla birlikte skrotal şişliğe doğru ilerleyen vajinal proses meydana getirilir.

Testisler, inguinal kanaldan ve pubik kemiğin üstünden geçerek gebeliğin bitiminde skrotuma inmiş olurlar. Skrotum içindeki testis, vajinal proses tarafından çevrelenmiştir. Testisi saran bu peritoneal tabakaya tunika vajinalisin viseral tabakası, peritoneal kesenin diğer kısımlarına da tunika vajinalis'in pariyetal tabakası denir. Vajinal prosesi periton boşluğuna bağlayan bu dar kanal doğumla birlikte ya da doğumdan kısa bir süre sonra kapanır (41).

Testisler vajinal proses kökenli peritoneal tabaka dışında, içinden geçtiği karın ön duvarına ait tabakalar ile örtülüdürler. Transversalis fasyası internal spermatik fasyayı; internal oblik kas, kremaster adalesini ve fasyasını ve eksternal oblik kasda eksternal spermatik fasyayı oluşturur. Transversus abdominis kası bu bölgenin üzerinde arkus yaptığı ve göç yolu üzerinde bulunmadığı için testis ve testise ait yapıların çevresinde bu kasa ait tabaka bulunmaz (41).

2.2.6. Testislerin Gelişimi

Y kromozomunun kısa kolu üzerindeki testis belirleyici faktör (TBF) için SRY geni, farklanmamış gonadın testis olarak gelişiminde bir anahtar rol görmektedir. Transkripsiyon faktörü SOX9' da testiküler farklılaşma için esastır. TBF, gonodal kordonları uyararak, onların farklanmamış gonadın medulla derinlerine doğru uzamasına neden olur, kordonlar burada dallanarak birbirleriyle anastomoz yaparlar ve böylece rete testis gelişir. Gonodal kordonların tunika albuginea meydana gelmesiyle yüzey epiteli ile olan bağlantıları kaybolur. Dens tunika albugineanın gelişimi, testiküler gelişim için oldukça karakteristiktir. Genişleyen testis aşamalı olarak kören mezonefroza ayrılır ve seminifer özkordonlar, seminifer öztübüllere, tubuli rekti ve rete testise başkalaşırlar (42).

Seminifer öztübüller, intertisyel hücreleri (leydig hücreleri) oluşturan mezenşim ile ayrılmışlardır. 8. haftadan sonra leydig hücreleri androjenik hormonları (testosteron ve androstenedione) salgılamaya başlarlar, bu hormonlar mezonefrik kanalların ve dış genitalerin farklanmasını uyarırlar. Testosteron üretimini, insan koryonik gonadotropin

(hCG) hormonu stimüle eder, hormonun miktarı, 8-12 haftalık dönemde en yüksek değerine ulaşmıştır, testosterona ilaveten, fetal testisler, glikoprotein bir hormon olan antimüllerien hormon (AMH) veya müllerien inhibitör madde (MİM) adı verilen bir hormonu da salgılamaktadır. AMH; sertoli hücreleri tarafından salgılanır, hormonun salgılanması puberteye kadar devam eder ve giderek seviyesi azalır. AMH, uterus ve tuba uterinalara farklı, paramezonefrik (müllerien) kanalların gelişimini baskılar (42).

2.3.Testis Histolojisi ve Spermiyogenez

Testisler; embriyonik gelişimi, seksüel olgunlaşmayı ve üreme fonksiyonlarını etkileyen hem ekzokrin hem de endokrin fonksiyonu olan bir çift organdır. Embriyoda erkek fetüsün normal gelişimi için testislerde üretilen androjenler gereklidir. Pubertede testislerden salgılanan testosteron sperm üretiminin başlamasını ve sekonder seks özelliklerinin oluşumunu sağlar. Erişkinlerde de sperm üretiminin devam etmesi, sekonder seks karakterlerinin korunması ve yardımcı bezlerin fonksiyonları testise bağlıdır.

Skrotum içinde yer alan testisler, dıştan üç tabakalı kalın bir kapsül ile kaplanmıştır. Kapsülün dış tabakası tunika vajinalis, orta tabakası tunika albuginea ve iç tabakası da tunika vasküloza olarak adlandırılır. Tek katlı mezotelyal hücrelerden oluşan tunika vajinalis genellikle preparatlarda izlenmez. Kapsülün en kalın ve belirgin tabakası, yoğun bir fibroelastik bağ dokusu olan tunika albugineadır (43). Tunika albuginea testisin arka yüzünde kalınlaşarak mediastinum testisi oluşturur (44). Kapsülden testisin içine uzanan tunika albuginea'nın ince bağ dokusu uzantıları testisi insanda sayıları 250'ye ulaşan lobüllere ayırır (43).

2.3.1.SeminiferTübüller

Her testis lobülü kan damarlarını, sinirleri ve interstisyel hücreleri içeren gevşek bağ dokusu ile sınırlı seminifer tubüllerden oluşur. Seminifer tubüller spermlerin üretildiği, kıvrımlı seyreden tubüllerdir. Her testiste 250-300 adet tübül bulunur. Lobüllerin apeksinde düz seyreden tübüller, tubuli rekti olarak isimlendirilir. Düz tübüller mediastinumda bulunan rete testis ile devamlılık gösterir. Rete testis, duktuli efferentes ile epididimisin baş kısmına bağlanmıştır. Seminifer tubüller seminifer epitel ile kaplı kanallardır.

Seminifer epitel iki ayrı hücre grubu içerir. Birinci grup hücreler germ hücreleri olan spermatogenetik hücrelerdir. Diğer hücreler ise germ hücrelerine destek olan ve onları besleyen sertoli hücreleridir. Sertoli hücreleri bazal membrandan tubül lümenine kadar uzanan prizmatik hücrelerdir. Spermatogenetik hücreler ise sertoli hücrelerinin lateral uzantıları ile oluşan bölmelerde yerleşmişlerdir. Bu iki hücre grubu arasındaki sıkı bağlantı kompleksleri kan-testis bariyerini oluşturur.

Seminifer tubüllerin karbonhidrat, iyon, aminoasit ve protein içeriği; kan ve lenf içeriğinden oldukça farklıdır. Kan-testis bariyeri ile oluşan bu fark germ hücrelerinin kan yolu ile gelen zararlı maddelere karşı korunmasını sağlar. Spermatogenetik hücreler birbiri üzerine sıralanmış farklı gelişim aşamaları gösterir. Bunlardan bazal membrana en yakını spermatogonyumlardır. Lümene en yakın bulunan, daha olgun hücreler ise spermatidlerdir. Lümeninde ise spermiyumlar bulunur. Seminifer tübüllerin enine kesitinde spermatogenetik hücreler bazı özellikleri ile birbirlerinden ayırt edilebilirler (43).

Seminifer tubüller fibröz bir bağ dokusu kılıfı, belirgin bir bazal lamina ve karmaşık bir germinal ya da seminifer epitelden meydana gelir. Seminifer tubülü saran fibröz tunika propria birkaç fibroblast katmanından oluşmuştur (44).

2.3.2.Spermatogenez

Spermatogenez, spermatozoon üretim süreci olup bu süreç ilkel primitif bir germ hücresi olan spermatogonyum ile başlar (44). İnsanlarda spermatogenez ve spermiyogenez yaklaşık 9 haftalık bir sürede tamamlanır. Herhangi bir tubülde bu dönemde oluşan bütün aşamaları görmek her zaman mümkün olmaz. Bazal membranın hemen üzerinde yer alan spermatogonyumlar mitoz bölünme ile spermatogenetik hücreleri oluşturan ana hücrelerdir (43).

Spermatogonyum yaklaşık 12 mikrometre çapında bazal laminanın hemen üstündeki küçük hücre yapısıdır (44). Spermatogonyum tip A hücreleri heterokromatik veya ökromatik oval nükleuslu hücrelerdir. Spermatogonyum tip A'nın mitoz bölünmesiyle oluşan spermatogonyum tip B ise kromatini nükleusun periferinde yoğunlaşmış, yuvarlak nükleuslu, belirgin nükleoluslu hücrelerdir. Her iki spermatogonyum da soluk boyanan az miktarda stoplazmaya sahiptirler. Heterokromatik nükleuslu tip A spermatogonyumların ana hücreler olduğu

düşünülmektedir. Bir seri bölünmeden sonra tip A spermatogonyumlardan tip B spermatogonyumlar oluşur (43).

Tip B spermatogonyumlar primer spermatositlere farklılaşan öncül (progenitor) hücrelerdir (44). Tip B spermatogonyumların mitoz bölünmesi ile pirimer spermatositler oluşur. Pirimer spermatositlerin birinci mayoz bölünmesi ile sekonder spermatositler oluşur. Bu bölünme ile pirimer spermatositin diploid kromozom sayısı haploide inmiş olur (43). Kromozomlardaki bu sayıya azalmaya her hücredeki DNA miktarının azalması eşlik eder (44). Sekonder spermatositlerin ikinci mayoz bölünmesi sonucunda ise spermatidler oluşur. Bu hücreler haploid kromozom ve DNA içeriğine sahiptirler. Bu olaylar testislerde gerçekleşir (43).

2.3.3.Spermiyogenez

Spermatidlerin farklılaşarak hareketli spermatozoonlara dönüşmesine spermiyogenez adı verilir (43). Spermiyogenez spermatozoon üretiminin son aşaması ve spermatitlerin, erkek DNA'sını ovuma aktarmak için son derece özelleşmiş hücreler olan spermatazoonla dönüşme sürecidir. Bu süreçte hücre bölünmesi gerçekleşmez. Spermatitler küçük boyutları ve yoğunlaşmış kromatin bölgeleri içeren nükleusları ile fark edilebilirler. Seminifer tübüllerde lümen yakınında yerleşmişlerdir. Spermiyogenez, akrozom oluşumunu, nükleus yoğunlaşmasını ve uzamasını, flagellum gelişmesini ve stoplazmanın çoğunun kaybolmasını içeren karmaşık bir süreçtir. Üç faza ayrılır (44).

1) Golgi Fazı

Spermatit stoplazması, nükleusun yakınında yer alan belirgin bir golgi kompleksi, bir çift sentriyol, mitokondriler, serbest ribozomlar ve düz endoplazma retikulum tübüllerini içerir. Proakrozomal granüller olarak isimlendirilen küçük PAS pozitif granüller golgi kompleksinde birikir ve daha sonra birleşerek membranla sınırlı bir akrozomal vezikülün içinde yer alan tek bir akrozomal granülü oluştururlar. Sentriyoller göç ederek oluşan akrozomun karşı tarafında hücre yüzeyine yakın bir konuma gelirler. Flagellar aksonem oluşmaya başlar, sentriyoller yeniden nükleusa doğru göç ederken hareket ettikçe aksonemal bileşenleri çevresine sarar (44).

2) Akrozomal Faz

Akrozomal vezikül ve granül, yoğunlaşan nükleusun ön yarısını kaplayacak şekilde yayılır ve bundan sonra akrozom adını alır. Akrozom hiyalüronidaz, nöraminidaz, asit fosfataz ve etkisi tripsine benzer bir proteaz gibi bazı hidrolitik enzimler içerir. Spermatozoonlar bir oositle karşılaştığında, akrozomun dış membranı birçok bölgede spermatozoonun plazma membranı ile kaynaşarak akrozomal enzimlerin hücre dışına boşalmasını sağlar. Bu işlem akrozomal reaksiyon olarak bilinir ve döllenmenin ilk aşamalarından biridir. Bu fazda nükleus uzar ve daha yoğun bir hale gelir. Aynı zamanda sentriyollerden bir tanesi gelişerek flagellumu oluşturur. Mitokondriler de flagellumun proksimal kısmı etrafında toplanarak orta parça adı verilen kalınlaşmış bölgeyi oluşturur, bu bölge spermatozoon hareketlerinin enerji kaynağıdır (44).

3) Maturasyon (olgunlaşma) Fazı

Geriye kalan artık stoplazma sertoli hücreleri tarafından fagosit edilir ve spermatozoonlar tübülün lümenine salınırlar (44).

2.3.4. İnterstisyel doku

Seminifer tubüller arasında yer alan interstisyel bağ dokusu, kan damarlarından lenfatiklerden ve sinirlerden zengin olan gevşek bir bağ dokusudur. Bu dokuda fibroblastlar, farklılaşmamış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Pubertede bu hücrelere ek olarak leydig hücreleri veya interstisyel hücreler olarak adlandırılan hücreler görülmeye başlar. Yuvarlak veya poligonal şekilli, yuvarlak nükleuslu, asidofil sitoplazmalı bu hücreler bağ dokusu içinde tek tek veya gruplar şeklinde bulunur. Hücreler sentezledikleri testosteron hormonunu, birlikte bulundukları kan veya lenf kapillerlerine boşaltarak endokrin sekresyon yaparlar. Steroid sentezleyen hücre özelliğini gösteren bu hücrelerin stoplazmalarında vakuoller bulunur (43).

Testisin interstisyel dokusu androjen üretimi açısından önemlidir. Testislerde seminifer tubüller arasındaki boşluklar bağ dokusu, sinirler, kan ve lenf damarlarıyla doldurulmuştur. Testiküler kapillerler pencerelidir ve kan proteinleri gibi makromoleküllerin geçişine izin verir. Bağ dokusu çeşitli tipte hücreler içerir, bunlar arasında fibroblastlar, farklılaşmamış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Ergenlikte bir hücre tipi daha işlevsel olarak belirgin hale gelir. Bu

yuvarlak ya da poligonal şekilli, merkezi bir nükleusu ve küçük lipid damlacıklarından zengin eozinofilik bir sitoplazması bulunan bir hücredir. Bu hücreler sekonder seks karakterlerinin gelişmesinden sorumlu erkeklik hormonu olan testosteronu üretirler. Testosteron sentezi mitokondrilerde ve düz endoplazmik retikulumda bulunan enzimlerce gerçekleştirilmektedir (44).

2.3.5 Rete testis

Tek katlı kübik veya alçak prizmatik epitel ile döşeli düzensiz anastomozlaşan kanallardır. Epitel hücreleri tek bir apikal silium ve birkaç mikrovillus içerir. Epitelin yaşlandığı bazal membran, mediastinumun bol kan damarlı bağ dokusu ile sarılıdır (43).

Testisin mediastinumu içinde düzensiz biçimde anastomozlaşan kanallardan oluşur. Fibroblastlar ve myoloid hücreler tarafından oluşturulan duvar, büyük leydig hücresi kümelerine eşlik eden kan damarları ve geniş lenf kanalları ile kuşatılmıştır (45).

2.3.6. Duktuli Efferentes

Rete testisi epididimise bağlayan kanallardır. Rete testis epididimisin başına, sayıları yaklaşık 12 adet olan kıvrımlı seyreden duktuli efferentesler ile açılır. Kanalları döşeyen yalancı çok katlı prizmatik epitel, prizmatik ve kübik hücrelerden oluşur. Hücre boyları eşit olmadığından dolayı, epitel yüzeyi girintili çıkıntılı görünür. Uzun boylu prizmatik hücreler genellikle siliyalıdır. Kısa boylu hücreler ise siliya içermez. Bu hücreler çok sayıda mikrovillus, pinositoz vezikülü, membranla sınırlı cisimcikler içeren, endositoz yapan hücrelerdir. Seminifer tübüllerden salgılanan sıvının büyük bir bölümü duktuli efferentesin bu hücreleri tarafından reabsorbe edilir. Epitelde lenfositler de görülebilir. Elastik lif içeren, ince bir sirküler kas tabakası, kanalı çevreler. Spermin bu kanallar boyunca ilerlemesi siliyaların hareketi ve kas tabakası sayesinde oluşur (43).

2.3.7. Duktus epididimis

Testisin arka yüzü boyunca uzanan, son derece kıvrımlı, 4-6 metre uzunluğunda bir kanaldır. Baş, gövde ve kuyruk olmak üzere 3 bölümden oluşur (46). Baş, testisin üst kutbunda, gövde ve arka kısmında yer alır. Epididim gövde ve kuyruğu kıvrımlı tek bir kanaldan meydana gelmiştir (46). Kanalı kan damarlarından, düz kas hücrelerinden

zengin sıkı bir bağdokusu sarar. Yalancı çok katlı sterosilyalı prizmatik epiteli, bazal hücreler ve prizmatik hücrelerden oluşur. Epitel içinde lenfositler de görülebilir.

Epididimisin baş ve gövdesinin büyük bölümünde bağ dokusu dışında sirküler seyirli düz kaslardan oluşan ince bir tabaka daha yer alır. Kuyrukta bu tabakanın iç ve dış bölümünde longitudinal seyirli iki kas tabakası daha eklenir. Spermatozoa duktus epididimisten geçerken hareket ve döllenme yeteneği kazanır. Duktuli efferentesde absorbe edilmemiş olan sıvı burada absorbe edilir. Epitel hücreleri sertoli hücreleri tarafından ortadan kaldırılmamış olan artık cisimleri ve dejenere olan spermleri fagositler ederek ortadan kaldırır. Esas hücreler sperm olgunlaşmasını sağlayan siyalik asit, gliserofosfokolin ve glikoproteinleri salgırlar (43). Epididim sperm depolanması, taşınması ve olgunlaşması için gerekli bir organdır (46).

2.3.8. Duktus deferens

Epididimisin kuyruğunun devamı olan, kalın duvarlı musküler bir kanaldır. Epididimise benzer şekilde, yalancı çok katlı prizmatik epitel ile döşelidir. Epitel hücrelerinin çoğunun yüzeyinde sterosilyalara rastlanır. Epitel altında elastik liflerden zengin lamina propria yer alır. Mukoza lümene doğru katlantılar yaptığından dolayı lümen düzensiz görülür. Musküler tabaka, içte ve dışta longitudinal, ortada sirküler seyreden kas liflerinden oluşan kalın bir tabakadır. Dışta damar ve sinirleri içeren konnektif doku kılıfı, ortada; iç ve dış longitudinal ve orta sirküler kaslardan oluşan kas tabakası ve içte sterosilia taşıyan mukoza hücrelerinden oluşmuştur (46).

Duktus deferens spermatik kordun bir parçasını oluşturur. Kanal, prostata girmeden önce genişleyerek ampullayı yapar. Ampullanın son kısmında seminal veziküller kanala dahil olur. Bundan sonra duktus deferens prostata girer ve üretraya açılır. Prostata giren segmente ejakülatuar duktus denir. 30-35 cm boyunda, 2-3 mm. çaplı bir kanaldır (46).

2.3.9. Duktus ejakulatorius

Basit prizmatik veya yalancı çok katlı prizmatik epitel ile döşelidir. Duvarında kas tabakası olmayıp, epiteli fibröz bağ dokusu tabakası sarar (43).

2.4.TESTİS TORSİYONU

2.4.1.Epidemiyoloji ve Etyoloji

Testis torsiyonu ilk olarak 1800’lü yıllarda tanımlanmıştır (47). Testis torsiyonu testis hasarına ve subfertiliteye sebep olan önemli bir ürolojik acildir (48). Testisin, damarsal pedinkülü etrafında dönüş yapması sonucu dolaşımının bozulmasıyla karakterizedir (49). Testis torsiyonu esnasında oluşan iskemik hasarın etyolojisinde ortamda bulunan reaktif oksijen metabolitlerine bağlı oksidatif stres ve inflamasyon süreci yer almaktadır. İskemik hasar dönemi olarak adlandırılan bu süreçte testiküler hasar primer olarak oksijen desteğinin azalmasına bağlıdır. Bu süreç, iskemik hasar dönemi olarak adlandırılır. Reaktif oksijen ve nitrojen ürünlerinin oluşması ile torsiyon ortadan kaldırıldıktan sonra da reperfüzyon hasarı süreci devam eder (50). Deneysel çalışmalarda testiküler iskemiyeye en duyarlı olan hücrelerin spermatagonia ve spermatositler olmak üzere germ hücreleri olduğu gösterilmiştir (51).

Testosteron sentezinden sorumlu olan Leydig hücreleri germ hücrelerine göre iskemiyeye daha dirençlidir (51). Torsiyon sonucu gelişen testiküler hasar, torsiyonun derecesi ve süresi ile ilişkilidir (51,52). Testis torsiyonu ilk defa Hunter tarafından etkilenen testiste kalıcı iskemik yaralanmaya neden olan ürolojik acil bir durum olarak tanımlanmıştır (53,54). Testis torsiyonu için bir takım predispozan faktörlerden söz edilse de, Scorer ve Farrington torsiyonun korddan testis ve epididime dar bir mezenterik bağlantı nedeniyle oluştuğunu belirtmiştir. Bu dar mezenterik bağlantı testisin ileri doğru düşmesine neden olur. Vajinal kavitede testis rahatlıkla dönebilir (55).

Pubertede testosteron seviyesinin artışı ile testisin hızlı büyümesi predispozan bir faktör olarak düşünülebilir (49,56,57). Testis ve epididime olan mezenterik bağlantı geniş ise testis öne doğru düşmez ve daha dik pozisyonda kalır, sonuçta bükülme ihtimali düşmektedir. Bu özellik puberte de testisin hacminin beş altı kat artması nedeniyle pubertal testisin prepubertal döneme göre daha yüksek ihtimalle torsiyone olmasını açıklar (58). Bu aynı zamanda inmemiş testisin torsiyone olmasının tümör gelişiminin erken göstergesi olmasını da açıklar; çünkü tümörler de mezentere oranla testis boyutunun artmasına sebep olur (59).

Araştırılan yayınlar ışığında testis torsiyonun bildirildiği en yüksek yaş 69 dur, ancak yaşlılarda torsiyon oranı düşüktür (60). Stehr ve arkadaşlarına (61) göre akut skrotum tablosu ile gelen çocukların yaklaşık %9’da altta testis torsiyonu yatmaktadır.

Testis torsiyonuna kış aylarında ve de aralık ayında daha fazla (%14) rastlanmaktadır (62,63,64).

2.4.2.Sıklık

Testis torsiyonu, sıklıkla adolesan dönemde ortaya çıkan, spermatik kordun torsiyonuna bağlı testise olan kan akımındaki azalma ile birlikte gonad kaybına kadar gidebilen ürolojik acil bir klinik tablodur (65,66,67). Eğer bu acil durum özellikle ilk 4-6 saatte tedavi edilmez ise tam arteriel oklüzyona bağlı testiküler nekroz meydana gelecektir (68,69).

Testis ve tüm eklerinde 25 yaşına kadar torsiyon görülme sıklığı 1/160 iken (70), sadece testis için bu oran 1/4000'dir (65,71). Ancak bu oranın gerçek sıklığın altında olduğu tahmin edilmektedir. Her yaş grubunda görülebilmemesine rağmen, özellikle pubertal dönem ve ilk 1 yaşta pik yapar (72,73,74). Olguların % 65'i pubertal dönemde ve 13 yaş grubundadır (72,73,75).

Testis torsiyonu, neonatal dönemde de görülebilmektedir (76). İnsidans daha sonra yavaş yavaş azalır (76). Başarılı bir cerrahi girişime karşın bu hastaların %40-60'ında testiküler atrofi ve infertilite geliştiği bildirilmiştir (77). Akut skrotal ağrısı olan adolesanların torsiyon olma sıklığı % 50-60 arasındadır (73). Her ne kadar bu patolojinin genelde çocuk ve adolesanlarda görüldüğü düşünülse de torsiyon gözlenen tüm olguların yaklaşık % 40'ı erişkin yaşlardadır (78). Hagan ve ark; tek taraflı torsiyon geçirmiş 55 hastayı incelemişler ve bu hastaların sadece 7'sinde spermiogram sonuçlarının normal olduğunu bildirmişlerdir (77).

2.4.3.Sınıflandırma

Testis torsiyonu başlıca 3 tip olarak sınıflandırılır. Bunlar;

- 1-Extravajinal Torsiyon
- 2-İntravajinal Torsiyon
- 3-Testis eklerinin Torsiyonu

1-Extravajinal Torsiyon

Torsiyonların % 10' u neonatal dönemde gelişmektedir. Bunların çoğu prenatal dönemde görülmekte (79), torsiyonun nedeni olarak testisin skrotuma inişin ve gubernakulum'un skrotum duvarına fiksasyonu'nun tam olmaması sorumlu

tutulmaktadır (80). Ekstravajinal torsiyon (ET) olarak tanımlanan bu durumda; testis, epididim ve tunika vajinalis spermatik kordonun üst düzeyinde, vertikal aksda torsiyona maruz kalır. Ekstravajinal torsiyon küçük yastaki torsiyonların çoğundan sorumludur (75). Kesin olarak torsiyon tanısı konulan olguların yaklaşık % 25' inde, daha önce en az bir kez oluşmuş ve kendiliğinden geçirilmiş skrotal ağrı öyküsü vardır (81).

ET; tunika vajinalislerin spermatik korda bağlantı noktalarının proksimalinden gelişir. Kord birçok kez kendi etrafında torsiyone olur. Torsiyon inguinal kanal seviyesinde olabileceği gibi daha distaldede gelişebilir. ET, doğum öncesi veya doğum sonrası ilk bir ayda gelişir, tanı ancak doğum sonrası konabildiğinden intrauterin torsiyonlarda testisin kurtarılabilmesi mümkün olmaz. Skrotumda şişlik tanıda en önemli semptomdur (46).

İntrauterin torsiyonlar monoorşidizmin en önemli nedenlerindendir. Genelde tek taraflı gelişir. Tedavi mutlaka cerrahidir. Klinik olarak, yenidoğan sıkı, sert ve translüminasyon vermeyen büyük bir skrotal kitleyle gelir. Genellikle kitle hassas değildir ve çocuk rahatsızlık göstermez. Nadiren çocuk huzursuz olabilir ve beslenme güçlüğü gösterebilir (82).

Ekstravajinal torsiyon genellikle inguinal kanal seviyesinde olur ve sıklıkla inguinal herni de olaya eşlik eder. Cerrahi yaklaşım intrauterin torsiyonlarda da hayatın ilk günlerinde önerilmektedir. Genellikle eksplorasyon sırasında testis gangrenözdür (82). Eksplore edilip sorunun ortaya konması, patolojinin düzeltilmesi ve kontralateral fiksasyon yapılması önerilmektedir (83,84). Maalesef cerrahi müdahale ile kurtarılan testislerin bir kısmı sekonder atrofiye giderler (77). Erken müdahaledeki amaç karşı taraftaki testisin torsiyon riskine karşı fikse edilme gerekliliğidir. Literatürde yetişkinlerde bildirilen ekstravajinal torsiyon sayısı çok azdır (85).

2-İntravajinal torsiyon

Spermatik kordun tunika vajinalise yapıştığı noktanın distalinde torsiyone olmasıdır. İntravajinal torsiyona neden olan predispozan faktörler arasında tunika vajinalislerin normale oranla spermatik korda daha proksimalde yapışmasının önemli rolü olduğu bildirilmektedir. Tunikadaki bu anormallik testisin hareketi için geniş bir alanın oluşmasına yol açar. Testise oblik olarak yapışan kremasterik kasların spazmının da torsiyona yol açtığı bildirilmektedir. Kasların kontraksiyonu ile sağ testis saat

yönünde, sol testis ise saat yönünün tersine torsiyone olur. Torsiyone olan noktanın proksimal'inde vasküler staz nedeniyle testis ve skrotumda ödem ve eritem gelişir.

İnmemiş testis, gevşek epididimal birleşme, testisin horizontal uzanımı, çan tokmağı deformitesi, gubernakulum testisin anormal uzun veya kısa olması gibi konjenital anormallikler ve travmalarda torsiyona yol açabilmektedir (46). Normalde tunika vajinalis testisin ön yüzünü sarar ve epididim ya da spermatik kord düzeyinde sonlanır.

Tunika vajinalisin spermatik kordonun üst düzeylerinde sonlandığı durumlarda, testis tunikal kavitenin içinde serbestçe hareket eder. Postmortem yapılan çalışmalarda % 12 oranında saptanan bu varyasyon “çan tokmağı deformitesi” olarak adlandırılır (55,86). Çan tokmağı deformitesi intravajinal torsiyona sebep olup, sıklıkla pubertal dönemde görülen torsiyonlardan sorumlu tutulmaktadır. Ayrıca pubertal dönemde testis hacmindeki artış, mezenterik yapıya oranla daha hızlı olup torsiyon olasılığı artmaktadır (46). Çan tokmağı deformitesi postmortem testislerin %12'de görülür. Çocukluk ve adolesan döneminde torsiyonun en sık nedenidir ve sıklıkla iki taraflıdır (55). İntravajinal torsiyon en sık 10-14 yaşları arasında gözlenmesine karşın 20 yaş üzerinde de belirli bir sıklıkta görülür. Torsiyon genellikle tek taraflıdır (46).

Ağrı ani başlangıçlıdır. Hemen sonrasında skrotumda ödem gelişir. Torsiyon düşünülüyor ise skrotum eksplorasyonu yapılmalıdır. En az iki farklı sütürle kontralateral orşiopeksi hemen yapılmalıdır, çünkü hastalık ikitaraflı olma eğilimindedir (87,88) eğer torsiyon manual olarak redükte edilirse cerrahi fiksasyon yapılmalıdır, çünkü hasta daha hastane'den taburcu edilmeden tekrarlayan torsiyona ikincil testis kaybı gelişebilir (89,90). İntratestiküler arteriyel kanlanmayla ilgili yeni bilgiler fiksasyon sütürlerinin testis ön alt yüzüne yerleştirilmemesi gerektiğini göstermektedir (27).

3-Testis Eklerinin Torsiyonu (appendiks testis ve epididimis torsiyonları)

Appendiks testis ve epididimislerin üst kısımlarında bulunan embriyolojik kalıntıların torsiyonu ile gelişen patolojileridir. Uzun appendikslerin torsiyonu sonrası gelişen enflamasyon kliniği belirler. Genelde 16 yaş sonrası erkeklerde gözlenir. Şiddetli ani bir testiküler ağrı ile olay başlar, ardından testisin veya epididimisin üst bölümünde kitle ele gelmesi patognomoniktir (46,91). Appendiks torsiyonunda skrotum cildinde mavi-nokta bulgusu (blue-dotsign) gözlenirken, palpasyonda appendiks ödemli ve şiş, testis ise normal palpe edilir. Tedavide ağrı kesicive skrotal destek önerilir. Eğer

testis torsiyonu ile ayırıcı tanısı yapılamazsa hasta operasyona alınabilir. Operasyon yapılan hastalarda appendiks eksize edilebilir. Opere edilmeyen olgularda ise ağrı ve skrotal ödem 5-7 günde kaybolur (46).

2.4.4.Klinik Bulgular

Torsiyon sıklıkla akut başlayan, tek taraflı testis ağrısıyla kendini gösterir ancak hikaye her zaman bu klasik paterne uymaz, %2 oranında bilateral olabilir (56,92,93). Sol taraf genelde daha sık etkilenir ve inmemiş testislerde de torsiyon solda daha sık görülür (94). Torsiyone testis retrakte olur, skrotum da yüksek yerleşimlidir ve horizontaldir (95).

Testis torsiyonu genellikle spontan oluşur. Sadece % 4-8 vakada travma sonucu oluştuğu belirtilmiştir (57). Tanı geciktiği zaman testiste fonksiyon kaybına ve infertiliteye yol açabilir (52). Daha uzun bir spermatik korda sahip olan sol testiste torsiyon olasılığının sağ testise oranla iki defa daha fazla olduğu, inmemiş ve retraktıl testislerde torsiyon olasılığının arttığı saptanmıştır (97). Acil tanı konularak zaman kaybedilmeden testisin manual olarak veya bunun mümkün olmadığı durumlarda cerrahi eksplorasyonla detorsiyone edilmesi gereklidir (77).

Anderson ve Williamson'un (74) yapmış oldukları çalışmada 1960-84 yılları arasında torsiyon ile başvuran 670 hasta değerlendirilmiş ve bunların %89'u skrotal ağrı şikayetleri ile başvurmuş. Skrotal ağrısı olan hastaların %34'ünde aynı zamanda kasık, karın veya uyluk ağrısı da görülebildiği ve bunun en erken ve belirgin semptom olabildiği belirtilmiştir. Aynı zamanda hastaların %36'sında unilateral ya da bilateral geçirilmiş testis ağrısı ya da şişlik öyküsü saptanmıştır. Vakaların % 4'ünde yaralanma, % 7'sinde egzersiz ve % 3'ünde de bisiklet sürme torsiyona neden olurken; % 11'inde ani ağrı ile uykudan uyanma tanımlanmıştır (74).

Olgularda tipik olarak akut başlayan hemiskrotal ağrı görülür. Ağrıyla birlikte skrotal şişlik, bulantı-kusma (99) , karın ağrısı da dikkat çeker (56,93,63). Torsiyone tarafta skrotum eritemli ve ödemlidir. Skrotum yukarı seviyededir. Kremasterik refleks kaybolabilir (100). Testis torsiyonu, genellikle aktivite ve travmayı takiben veya uyku esnasında gerçekleşebilir (101). Aslında, hastaların yaklaşık %50'sinde daha önce geçirilmiş ve kendiliğinden düzelmiş bir testiküler ağrı öyküsü mevcuttur (102,103).

Rabinowitz kremaster refleks kaybının testis torsiyonu ile %100 uyumlu olduğunu göstermiştir (104). Karamazyn ve ark. çalışmalarında kremaster refleksinin

kaybolmasının testis torsiyonu ile birlikteliği % 90 olarak verilirken, diğer akut skrotum tablolarında ise kremaster refleksinin % 75 oranında devam ettiği belirtilmiştir (105). Hidrozel gelişebilir ve gelişen hidrozel mayi kanlı olabilir (46).

2.4.5.Tanı

Torsiyonun erken dönemlerinde epididimin normal lokalizasyonunda palpe edilmemesi tanıda yardımcı olur. Ancak saatler içinde gelişen ödem epididimin palpe edilmesine engel olur. Bu dönemde renkli doppler ultrasonografi tanıda yardımcıdır. Torsiyon varlığında doppler ile tipik olarak arteriyel kan akımının kaybolduğu gözlenir (46).

Tek taraflı testis torsiyonu olan hastaların % 40-60'ında anormal semen analizi gösterilmiştir. Ratlarda yapılan deneysel çalışmalarda testis torsiyonu ve detorsiyonun aynı taraf testisinde torsiyonun derecesi ve süresi ile ilişkili olmak üzere fonksiyon bozulmasına ve atrofiye neden olduğu bilinmektedir. Testis torsiyonu sonrasında karşı testiste seminifer tübül çapı ve spermatogenezde azalma olduğu da gösterilmiştir (106). Testis torsiyonunda kontralateral hasarın mekanizması ise, çok açık değildir (107).

Torsiyone testiste testisin elevasyonu ile birlikte ağrı artarken, epididimit ve orşitte hasta rahatlar. Bu bulgu (prehn bulgusu) orşit ile testis torsiyonunun ayırıcı tanısında önemli bir kriterdir (100).

Genel olarak muayeneye normal testisten başlanmalı; horizontal yatan testis çan tokmağı deformitesini akla getirmeli ve karşı testiste torsiyon olabileceğini düşündürmelidir (74). Etkilenen tarafta testis hassas ve şiştir, skrotum da yüksek yerleşimlidir ve kalınlaşmış hassas kord hissedilebilir. Kremaster refleksi genellikle kaybolmuştur ve sekonder hidrozel bulunabilir (74).

Torsiyon sonucunda oluşan iskemik testiküler hasar testisin dönme sayısı ve torsiyon süresiyle ilişkilidir. 360°' den fazla ve 24 saatten uzun torsiyonlarda testis yerinde bırakılırsa testis atrofisi sonucu ipsilateral testis kaybı gerçekleşir. Şiddetli atrofi aynı zamanda 4 saatten uzun ve kord üzerinde 360°'den fazla dönmelerde de görülebilir (108). Deneysel çalışmaların bildirdiği sonuçlara göre testiküler arterden kan akımının tamamen kesilmesi ve iskemi oluşması için 720° derecelik bir torsiyona gereksinim vardır (109).

Testis torsiyonunda tedavinin başarısı ağrının süresi ve tanının gecikmesi ile ters orantılıdır. Klinik olarak bu hastalarda hastaneye başvurmadan önceki ağrı süresi,

bulantı-kusmanın eşlik etmesi ve daha önceden intermitant torsiyon atakları geçirmesi torsiyon tanısının konmasına kesin olmasa da kısmen yardımcı olur. Ağrı süresi tanı için oldukça önemlidir. Ağrı süresinin 6 saatten az olması tanıyı testis torsiyonuna yaklaştırır da kesin olarak tanı koydurmaz (105). Bir saat ve üzeri torsiyonda atrofinin başladığı gösterilmesine karşın, karşı taraf testisin torsiyondan etkilendiği iyi belgelenmiş değildir (110).

Eğer hasta 4-6 saat içinde opere edilir ve kontralateral orşiopeksi yapılırsa torsiyonun prognozu iyidir (77). Testis torsiyone olduğunda bazı proteinlerin sistemik sirkülasyona karıştığı bunun da kontralateral normal testise zarar veren anti-testiküler antikorların gelişimine neden olduğu düşünülmektedir (111).

İlk 6 saat içerisinde detorsiyone edilen vakalarda testis %100 korunabilirken, 12 ve 24 saat sonra detorsiyone edilenlerde bu oran sırasıyla %20 ve %0 olarak bildirilmiştir (112). Hellner'in 6 saatlik iskeminin testisin kaderini belirleyen ana faktör olduğu şeklindeki düşüncesi günümüzde de kabul görmektedir (101).

2.4.6. Tanısal Testler ve Görüntüleme Yöntemleri

2.4.6.1. Dopler Ultrasonografi

Son yıllarda USG testis torsiyonu tanısında en sık başvuru alan yöntem haline gelmiştir (116). Kolay ulaşılabilirliği ve ucuz olması nedeniyle halen birçok merkez tarafından ilk tanısal test olarak kullanılmaktadır. Hızlı ve non invazif bir yöntemdir. Hematom, apendiks torsiyonu ve hidroselin görüntülenmesini sağlayabilme yönünden de faydalıdır.

Tam torsiyonda, doppler görüntülemeye kan akımı tamamen kaybolmuştur. Tam olmayan torsiyonda kan akımı halen görülebilir. Torsiyonun süresine göre USG bulguları değişebilir. Genel olarak etkilenen testis genişlemiştir ve heterojen görüntüsü mevcuttur (117). Nussbaum ve ark. (118) testis torsiyonunda ek olarak artmış epididim boyutu ve avaskülerite görülebildiğini belirtmişlerdir.

Renkli doppler ultrasonografi ile anatomi değerlendirilirken testisin kan akımı da değerlendirilebilir. Akut skrotal şişliği olan ve kesin tanıları olmayan hastalarda renkli doppler ultrasonografinin %88.9 oranında tanısal sensitivitesi ve %98.8 spesifitesi olduğu, %1 yanlış pozitif sonuç verdiği bildirilmiştir. Ultrasonografide testis ilk saatlerden itibaren büyük ve hipoekojen olarak görülür (119).

Baker ve arkadaşları, akut skrotumlu hastalarda yapılan renkli doppler USG sonucunda sensitiviteyi %88, spesiviteyi ise %98 olarak bulmuşlardır(119). Baud (120) ve Acre (121) ise spermatik kordun renkli doppler USG ile direkt olarak görüntülenmesinin testiküler torsiyon tanısında güvenilir olduğunu göstermişler ve spermatik kordun, dönmüş burğu şeklindeki görüntüsünün testiküler torsiyon tanısını koyduracağını söylemişlerdir. Fakat diğerk çalışmalar da doppler USG’ nin normal pediatrik testiste kanlanmayı belirleyemediğı gösterilmiştir, bu nedenle torsiyon olup olmadığını belirlemek için tamamen görüntüleme yöntemlerine güvenilmemesi gerekmektedir (122).

2.4.6.2 Manyetik Rezonans Görüntüleme

Manyetik rezonans (MR) görüntülemede testis torsiyonu tanısında kullanılabilir. (123). Ancak klinik uygulamada özellikle pediatrik dönemde anestezi gerekliliğinden dolayı pek tercih edilmemektedir.

2.4.6.3. Radyonüklid Sintigrafi

Bu görüntüleme yöntemi de testis kan akımının değerlendirilmesinde kullanılır (124). En sık kullanılan izotop Tc 99’dur. Testis torsiyonu zayıf Tc 99 tutulumu ile kendini gösterir ve sintigrafide torsiyone olmuş testisin çevresindeki dokulara nazaran radyonüklid izotopu daha az tutmasına bağılı olarak halka bulgusu gözükür. USG’nin aksine radyonüklid sintigrafi intravenöz girişim gerektirir ve prosedür daha uzun sürmektedir (53). Palitel ve arkadaşlarının çalışmasında radyonüklid görüntüleme ile renkli doppler USG’nin tanı koyma sensitivite oranlarının birbirine yakın olduğu gösterilmiştir (125). Sintigrafik görüntüleme ayrıca testis parankimi, tunika bütünlüğü, travma, herni, hidrosel varlığı gibi gerekli anatomik detayları da ortaya koyamamaktadır (126).

2.4.7.Patofizyoloji ve Histolojik Bulgular

2.4.7.1.İskemi

Testis, oksidatif serbest radikal hasarına karşı oldukça duyarlıdır (127). Germinal hücreler oksidatif stres veya artan radyasyon karşısında ciddi şekilde hasar görüp ölürlere ve fonksiyonlarını korumak için daha düşük bir fizyolojik ısıya ihtiyaç duyarlar (127). Literatürde testis torsiyonunun mekanizmasını açıklayan, testis

torsiyonu ve detorsiyonunun bir tür iskemi/ reperfüzyon (I/R) hasarı oluşturduğunu, inflamatuvar sitokinlerin açığa çıktığını, apoptozisin arttığını biyokimyasal ve histopatolojik olarak gösteren ve hasarın oluşumunu engellemeyi amaçlayan birçok yayın mevcuttur (128).

Testis torsiyonu oluştuğunda venöz dönüş bozulur ve buna bağlı olarak ödem, hemoraji ve arteriyel obstrüksiyon gelişir. Arteriyel ya da venöz kan akımının azalmasına bağlı yetersiz perfüzyon sonucu, doku veya organların oksijenden yoksun kalması şeklinde tanımlanan iskemi sırasında, oksijen miktarının metabolik gereksinimlere oranla düşük düzeyde olması, hücresel enerji depolarındaki azalma ve toksik metabolitlerin birikimine bağlı olarak hücre ölümü gerçekleşir (77).

Kan akımının azalması, vücudun diğer dokularında gösterildiği gibi testiste de hipoksiye neden olur. Testiküler torsiyon-detorsiyon nedeniyle oluşan iskemi ve reperfüzyon testiküler hasara neden olur (77).

İskemi-reperfüzyon hasarı vücudumuzdaki tüm organlarda kendini gösterebilen ve sadece olduğu organla sınırlı kalmayan, pek çok organ ve sisteme de olumsuz etkiler yapan bir patolojidir (129). İskemi nedeniyle gerekli enerjinin sağlanamaması hücre membranında bulunan Adenozin Trifosfat (ATP) bağımlı Sodyum-Potasyum (Na^+/K^+) pompasında işlev yetersizliğine yol açar. İyon dengesizliği hücre içerisinde izo-ozmotik su birikimine ve akut hücre şişmesine neden olur. Anaerobik glikoliz sonucu oluşan asidoz, karbondioksit (CO_2) birikimiyle oluşan karbonik asit (H_2CO_3) ile daha da derinleşir (130).

Adenozin trifosfat bağımlı çalışan diğer bir pompa ise ekstrasellüler ve intrasellüler kalsiyum (Ca^{++})'u dengelemektedir. İntrasellüler Ca^{++} artışı ile proteolitik enzimler ve fosfolipazlar aktive olurlar. Fosfolipazların aktivasyonu araşidonik asit oluşumu ile sonuçlanır. Araşidonik asit direkt etki ile mitokondriyal enzimleri inhibe eder ve serbest radikallerin oluşumunu artırır (130). Hücre içerisinde oluşan bu sitotoksik olaylar sonucunda ribozomlar granüllü endoplazmik retikulumdan ayrılır. Polizomlar monozomlara parçalanır ve protein sentezi azalır. Bu aşamadan sonra iskemi hala devam ederse geri dönüşümsüz zedelenme ortaya çıkar. Hasara, mitokondrielerde şiddetli vakualizasyon ve matrikste Ca^{++} 'dan zengin, şekilsiz yoğunluk birikimi eşlik eder. Ortaya çıkan membran hasarı sonucunda bol miktarda Ca^{++} hücre içine girer (130).

İskemi sırasında hücresel ATP hipoksantin'den indirgenmektedir. Normalde hipoksantin, ksantin dehidrogenaz ile ksantine oksitlenir (131). İskemi sırasında ise

ksantin dehidrogenaz, ksantin oksidaza çevrilir. Ksantin oksidaz iskemi sırasında hipoksantinden ksantine dönüşümü katalizleyemez ve dokularda aşırı hipoksantin birikir. Reperfüzyon sırasında ortama yeniden giren oksijen ve ksantin oksidaz, aşırı hipoksantin ile birlikte toksik serbest oksijen radikallerini (SOR) oluşturur (131).

Testis torsiyonunda iskemik hasardan hangi mediyatörlerin etkili olduğu tam olarak bilinmemekle birlikte, çeşitli biyokimyasal ve immünolojik mediyatörler belirlenmiştir (132,133). Bununla birlikte testis torsiyonunun cerrahi olarak düzeltilmesi sonucu, artan doku kan akımının da doku hasarında önemli rol oynadığı klinik ve deneysel çalışmalarla belirlenmiştir (134). Testis torsiyonunda gerek aynı taraf, gerek karşı taraf testiste meydana gelen doku hasarında etkili olan biyokimyasal ve immünolojik mediyatörler halen daha tam olarak aydınlanmamıştır (134).

Torsiyon sonrası testiküler hasarın gelişmesinde iskemi ve bunu izleyen reperfüzyon sırasında ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin (SOR) etkili olduğu bilinmektedir (127,135,136). Serbest oksijen radikalleri hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna yol açarak proteinleri denatüre eder ve hücre harabiyetine neden olur (137).

Deneysel çalışmalarda testiküler iskemiye en duyarlı olan hücrelerin başta spermatogonia ve spermatositler olmak üzere germ hücreler olduğu gösterilmiştir (3,4). İskemi sırasında oksijen miktarının metabolik ihtiyaçlara oranla düşük seviyede olması, hücresel enerji depolarındaki azalma ve toksik metabolitlerin birikimine bağlı olarak germ hücre ölümü gerçekleşir (138).

2.4.7.2.Reperfüzyon

Testis torsiyonu olgularında spermatogenezin azalması ve infertilite görülmesi hasarın yalnızca torsiyone olan tarafta sınırlı olmadığını, kontralateral testisinde etkilendiğini destekler (77,127). İskemik dokularda canlılığı korumak için temel prensip reperfüzyonun sağlanmasıdır. İskemik dokuda kan akımının yeniden sağlanmasının, enerji gereksiniminin yeniden yapılması ve toksik metabolitlerin ortadan kaldırılması gibi yararlı etkileri olmaktadır (139). Bu nedenle testis torsiyonlu olgularda zaman geçirmeden müdahale edilmelidir. Akgür ve arkadaşları testiste iskemi gelişmesi ve ardından reperfüzyonunun sağlanmasının “reperfüzyon hasarı” na neden olduğunu göstermişlerdir (3,140).

Reperfüzyon hasarı nötrofil infiltrasyonu ve serbest oksijen radikallerinin artışıyla yakın ilişkilidir (3,4). Reperfüzyon, iskemik dokularda iskeminin dokuda oluşturduğu hasardan daha fazla bir hasara yol açabilmektedir (141). Reperfüzyon hasarı, belirli bir süre iskemiye maruz kalan dokuların tekrar perfüze olması sonucu mikrosirkülasyon'da görülen obstrüksiyonlar ve tekrar perfüze olan dokunun nekrozu ile karakterize bir yaralanma olarak tanımlanmıştır (142). Sonuçta iskemi nedeniyle oluşan germ hücre hasarının daha da arttığı belirlenmiştir (86,127).

Reperfüzyon sırasında nötrofiller postkapiller endotele yapışarak vene ve çevredeki interstisyuma zarar verirler (143). Oluşan serbest oksijen radikalleri hücre membranındaki lipidlerin peroksidasyonu, protein denatürasyonu ve sonuçta DNA hasarına yol açar (111). İskemi ve reperfüzyon dönemlerinden oluşan bu zararlı etkilerin tümü İ/R hasarı olarak adlandırılmaktadır. İskemi-reperfüzyon hasarında, nötrofil infiltrasyonunun yanısıra SOR, RNT, NO ve onun peroksinitrit gibi toksik metabolitlerinde olmak üzere ciddi artış olur (86,127).

Oluşan serbest oksijen ve nitrojen radikalleri mitokondri ve hücre membranındaki lipidlerin peroksidasyonu yoluyla membran geçirgenliğinde artışa veya membran bütünlüğünde bozulmaya, protein denatürasyonuna ve DNA hasarına yol açar (4). Sonuçta iskemi nedeniyle oluşan germ hücre hasarı daha da artar (86,127).

İskemi-reperfüzyon hasarının önlenmesi amacıyla yeni tedavi stratejileri öne sürülmüş; deneysel ve klinik çalışmalar ile dehidroepiandrosteron (144), ibuprofen (145), morfin (146), erdosteine (147), kafeik asit fenil ester (148), verapamil (149) gibi farklı ilaçların koruyucu ve/veya tedavi edici etkinliği araştırılmıştır.

Kritik iskemi periyodu organa bağlı olarak değişmektedir. Karaciğer ve böbrek için 15-20 dk., iskelet kası için 2,5 saat, beyin için 5 dk.'dan fazla, testis için 6 saattir (150). Son yıllarda, iskemi ve reperfüzyon sonucu gelişen DNA hasarında en son basamak olarak poly (ADP-ribose) polymerase (PARP), ya da diğer adıyla poly (ADP-ribose) synthetase (PARS) adlı enzimin rol oynadığı bildirilmektedir (151). Normal salınımında DNA onarımında rol oynayan bu enzim, iskemi ve reperfüzyon hasarı gibi aşırı salınımı gereken durumlarda yoğun miktarda ATP kullanır ve enerji kaybı nedeniyle hücre ölümüne yol açar. Değişik doku ve organ modellerinde PARP enzim inhibitörlerinin iskemi ve reperfüzyon hasarını önlediği gösterilmiştir (152).

Deneysel çalışmalarda ise farklı torsiyon derecelerinin araştırıldığı dikkati çekmiştir. Heindel ve ark. (113) ratlarda testisin 360° torsiyonunun herhangi bir

değişikliğe yol açmadığını, 720° ve fazlasının fertilitede azalmaya neden olduğunu belirtmişlerdir. Turner ve ark. (114) ratlarda gerçekleştirdikleri bir çalışmada longitudinal aksı boyunca testise 180°, 360° ve 720° torsiyon uygulamışlardır. Torsiyone testisi sırasıyla 1, 2 ve 4 saat sonra detorsiyone eden çalışmacılar, sonuçta 360° ve bir saatlik torsiyonun yalnızca akut vasküler değişimlere yol açtığını, 720° ve dört saatlik torsiyonun ise tam iskemi ile sonuçlandığını saptamışlardır.

Ratlarda deneysel ekstravaginal torsiyon modelinde süre ile hasarlanma derecesinin birbirleriyle ilişkili olduğu ve hasarlanma için en az 540° torsiyon gerektiği bildirilmiştir (115).

Testiküler İ/R oluşturmak üzere T/D yönteminin kullanıldığı çalışmalarda farklı iskemi ve reperfüzyon sürelerinin denenmiş olmasında dikkat çekici bulunmuştur (138). Akgür ve ark. (153) çalışmalarında 1, 3 ve 5 saat 720° tek taraflı sol testis torsiyon uyguladıkları rat modelinde detorsiyon sonrası 5 saate kadar biyokimyasal olarak reperfüzyon hasarı geliştiğini saptamışlardır. Cosentino ve ark. (154) ise değişik sürelerde uyguladıkları torsiyon sonrasında testisleri inceledikleri çalışmalarında 3 saat 720° torsiyon sonrasında testiküler kan akımının geri dönmediğini ve dokuda nekroza varan ciddi değişikliklerin görüldüğünü tespit etmişlerdir. Ayrıca, arteriyel obstrüksiyonda 2 saat, venöz obstrüksiyonda ise 6 saat içinde testiste geri dönüşümsüz hasarlanma, yani nekroz geliştiği gösterilmiştir (64,140).

Benzer şekilde, bir saat boyunca, 720° torsiyonun, rat modelinde spermatogenezi durdurmak için yeterli olduğu tespit edilmiştir (52). Turner ve ark. (155) ise lipid peroksidasyonunun reperfüzyondan 4 saat sonra belirgin olarak arttığını bildirmişlerdir. Bu verilerle uyumlu olarak Akgür ve ark.(111) da çalışmalarında lipid peroksidasyonunun arttığı zamanın detorsiyondan 4 saat sonra olduğunu tespit etmişlerdir. Torsiyon ve detorsiyon sürelerinin araştırıldığı çalışmalardan elde edilen verilerin ışığında çalışmamızda bir saatlik torsiyon ve dört saatlik detorsiyon uygulanması tercih edilmiştir.

İskemi reperfüzyon sürecinde ROT/RNT artışı, inflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-6, IL-1 β) serbestleşmesi, nötrofil infiltrasyonu, oksijen radikallerinde (süper oksit anyonu) artış, membran lipidlerinin serbest radikallerle peroksidasyonu ile oluşan lipid peroksidin, hücresel yapılarda hasar oluşturduğu bildirilmiştir (4,96). Doku lipid peroksid içeriğinin İ/R'un en önemli belirteci olduğu (127) ve bu içeriğin en iyi şekilde

peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan MDA düzeyi ölçümü (127) ile gösterilebildiği belirtilmiştir.

Bozlu ve ark.(156) çalışmalarında testiküler dokudaki MDA düzeylerinin reperfüzyon başladıktan dört saat sonra arttığını bildirmişlerdir. Diğer yandan, torsiyonun testiküler hasar üzerine etkilerini araştıran Shiraishi ve ark. (157) iNOS ile NO üretiminin ratlarda nekrotik veya apoptotik germ hücre ölümüne yol açtığını göstermişlerdir. Ayrıca aşırı üretilen iNOS'un testiküler dokuda NO'nun toksik düzeylere ulaştığını ve rat testisinde apoptotik germ hücrelere neden olduğunu saptamışlardır.

Reperfüzyon döneminde NO düzeyinin arttığı tespit edilmiştir(4). Turner ve ark.(96), testisin reperfüzyonundan sonra inflamatuvar sitokinlerden TNF- α ve IL-1 β 'de artış olduğunu tespit etmişlerdir. Reperfüzyondan sonra NO ve makrofajlardan serbestleşen TNF- α , IL-6, IL-1 β gibi mediyatörlerle inflamasyonun başladığını ve şiddetlendiğini, sitokinlerle uyarılan nötrofiller ve ROT'un reperfüzyon hasarında etkin olduğunu bildirmişlerdir.

2.4.8.Tedavi

İskemik dokularda canlılığı korumak için temel prensip reperfüzyonun sağlanmasıdır. Bu nedenle testis torsiyonlu olgulara zaman geçirmeden müdahale edilmelidir (54). Tanı konulur konulmaz analjezikle birlikte elle detorsiyone edilip acil cerrahi endikasyonu ortadan kaldırılır. Detorsiyon esnasında korda lokal anestezi ile infiltrasyonu işlemi kolaylaştırır. Ağrıda ani azalma, detorsiyon işleminin başarılı olduğunu gösteren bir bulgudur ve manual detorsiyon sonrası testis kan akımı Doppler USG ile kontrol edilmelidir.

Detorsiyon başarılı olmazsa açık yöntemle detorsiyon yapılır ve her iki testis fiks edilir. Tekrar torsiyon gelişiminin engellenmesi için fiksasyon işlemi non-absorbable sütürle yapılmalıdır. Detorsiyon sonrası testise doğru artan kan akımı lokal serbest oksijen radikallerinin oluşumuna yol açmakta ve testiste ek bir harabiyet oluşturabilmektedir. Detorsiyonda gecikilmiş ise operasyonda testis çıkarılmalıdır (65).

Testiste spermatogenetik hücreler iskemiye duyarlıyken testesteron üreten Leydig hücreleri iskemiye daha dayanıklıdır. İlk 6 saate kadar torsiyonun düzeltilmesi sonrası testis fonksiyonlarının % 100'ü korunur. Torsiyonun 12.saatinden sonra yapılan düzeltmelerde testis fonksiyonlarının ancak % 20'si korunabilirken, 24 saatten uzun

olgularda testiste irreversibl değişiklikler belirginleşir (65). Testis torsiyonunda fertilitiyi etkileyecek testiküler hasarın önlenmesinde veya azaltılmasında en etkin tedavi şekli, en kısa sürede uygulanacak cerrahi tedavidir (132).

Testis torsiyonunda cerrahi tedavi altın standart tedavi modeli olmasına rağmen, iskemi süresinin 6 saatten uzun sürmesinin germinal epitelde geriye dönüşümsüz değişikliklere neden olması ve reperfüzyon hasarının da germinal epiteli olumsuz yönde etkilemesi, cerrahi tedavi yanında başka medikal tedavilerinde kullanılmasını gündeme getirmiştir (71). İpsilateral veya kontralateral hasarı azaltmak için torsiyone testisin erken cerrahi ile çıkarılması (158), tek taraflı testis torsiyonu sonrası steroid uygulaması (158), pentoksifilin (fosfodiesteraz inhibitörü) uygulaması, kimyasal sempatektomi ve hiperbarik oksijen uygulamasıdenenen tedaviler arasındadır.

Testiküler torsiyonun, semptomların başlangıcından itibaren ilk 4 saat içerisinde tedavi edilmesi durumunda semen kalitesi % 50 oranında korunurken bu tedavinin ilk 8 saat içerisinde uygulandığı hastalarda normal testis boyutlarının korunabildiğı, ancak testiküler morfolojide önemli değişikliklerin meydana geldiğı tespit edilmiştir (72) torsiyonunun derecesi de testiste gözlenen değişiklikler üzerinde etkilidir. Barada ve ark. 18 yaş altındakilerin tıbbi değerlendirmedeki gecikmeler nedeniyle testis kaybına daha yatkın olduklarını göstermiştir (71).

Testis torsiyonu tanısı alan hastaların en az yarısında, daha önceden aralıklı torsiyon düşündüren tekrarlayan, ani başlangıçlı ve kısa süreli şiddetli hemiskrotal ağrı öyküsü mevcuttur (159). Torsiyonun başlangıcı ile testisin canlılığını kaybetmesi arasındaki süre hastadan hastaya farklılık göstermektedir. Gonad torsiyonunda testisin canlılığıiki parametreyle yakından ilgilidir. Bunlar torsiyonun derecesi ve torsiyonunsüresidir. Torsiyonla nekroz arasındaki süre oldukça değişken olup, 2 ila 24 saat arasında değişmektedir. Ancak genellikle ilk 48 saat çok önemlidir

Çesitli klinik çalışmalarda da detorsiyon ve fiksasyonla tedavi edilmiş hastaların uzun süreli takiplerinde; semptomları 6 saatten az olan hastalarda testislerin %92'sinin, 6-12 saat arasında olanlarda %62'sinin, 12-24 saat arasında olanlarda %38'inin ve 24-48 saat olanlarda da %11'inin morfolojik açıdan normal kalabildiğı bildirilmiştir.

Testis torsiyonunda tedavinin esası detorsiyondur. Önce opioid analjezikler yardımıyla manuel detorsiyon işlemi uygulanır (65,71). Başarılı bir cerrahi girişime karşın bu hastaların %40-60'ında testiküler atrofi ve infertilite gelişmektedir (77).

2.4.8.1.Manual detorsiyon

Manuel detorsiyon ilk 2-6 saat arasında veya cerrahi hazırlığın devamettiği esnada uygulanmalıdır. Manuel detorsiyon aynı zamanda kronik intermitan torsiyonu olupta skrotal ağrısı geçmeyen hastalarda da denenmelidir. Bu çok ağırlı bir prosedür olduğu için uygun sedasyon veya spermatik kord anestezisi gereklidir (160). Doppler USG ‘deki kan akımının düzelmesi ise başarılı detorsiyonun kesin belirtisidir.

2.4.8.2.Cerrahi eksplorasyon

Akut skrotumu olan ve doppler USG ile kesin tanı koyulan ve manuel detorsiyonun başarılı olmadığı hastalarda acil cerrahi yaklaşım gereklidir. Bunun nedeni 6 saat sonrasında kalıcı iskeminin oluşmaya başlamasıdır (74). Genellikle transskrotal yaklaşım tercih edilir. Eksplorasyon esnasında etkilenen testis ve spermatik kord detorsiyone edilir. Detorsiyon sonrası testisin canlılığı değerlendirilir. Eğer testis canlılığını yitirmiş ise veya nekrotik ise orşiektomi yapılmalıdır. Eğer mümkünse orşiektomi, kontralateral orşiopeksi ile beraber uygulanmalıdır. Eğer detorsiyon sonrası testis canlı görünüyorsa bilateral orşiopeksi yapılmalıdır.

Testisi korumak için gecikmeden cerrahi olarak detorsiyon uygulanması şarttır. Orta hat skrotal insizyon ile testise ulaşılır ve teşhis doğrulanır. Kord düzeltilir, testis ılık SF ile ıslatılmış gazlı bez ile sarılır. Eğer torsiyone testis belirgin olarak siyah ve cansız görülüyorsa çıkartılması uygun olur. Bristol serileri göstermiştir ki 12 saatten kısa torsiyone olan testislerin sadece %4’ünün nekrotik olduğu ve orşiektomi gerektiği görülmüş ancak bu süreden uzun torsiyon gerçekleşmişse %75’ine orşiektomi yapılmıştır (74).

Eğer testis nekroze değil ve korunacaksa mümkünse tespit sütürü konmadan oluşturulmuş olan dartos poşuna yerleştirilir. Bellinger ve arkadaşları testisin tunika albuginea’sına sütür koymanın oluşturabileceği lokal reaksiyonların testise zarar verebileceğini göstermişlerdir (161). Eğer sütür fiksasyonu yapılacak ise ince, absorbe olabilen ve non-reaktif sütürler tercih edilmelidir. Mutlaka karşı hemiskrotum aynı seansta incelenmelidir.

İlk 4-6 saatte müdahale edildiğinde prognoz oldukça iyidir. İlk 4 saatte müdahale edilenlerde daha az oranda testis atrofisi izlenmiştir (77). Testis koruyucu cerrahi yaklaşıma rağmen bu hastalarda uzun dönemde morbidite oranı hala yüksek seyretmektedir.

2.4.9.Komplikasyonlar

Spermatogenez torsiyon geçirmiş hastalarda belirgin olarak bozulmuştur. Hastaların yaklaşık %36'sında sperm sayısı 20 milyon/ml'nin altındadır (110). İnfertilite hala testiküler torsiyonun uzun dönem istenmeyen yan etkilerinden en önemlisidir. Bu hastalardaki fertilite bozukluğu iskeminin derecesine ve diğer testisteki hasara bağlıdır (162).

Testiküler torsiyonlu sıçan çalışmalarında detorsiyon sonrası leydig ve sertoli hücrelerinin fonksiyonlarının korunmasına ve kan akımının geri dönmesine karşın spermatogenezde bozukluk meydana gelmektedir (162).

Kontralateral testis üzerindeki etkileri

Birçok araştırmacı tek taraflı testis torsiyonunun kontralateral testiste biyokimyasal değişikliklere neden olduğunu ve bu değişikliklerin detorsiyondan sonra da şiddetlenebileceğini söylemektedirler. Vigueras ve ark. (117) çalışmalarında iki grup belirlemişler; birinci gruba torsiyon sonrası detorsiyon uygulayıp orşiektomi uygulamışlar, diğer gruba ise detorsiyon uygulamadan direk orşiektomi uygulamışlar. Torsiyon yapılan hayvanlarda; kontralateral testisteki etkilenen seminifer tubül yüzdesinin torsiyon sonrası detorsiyon uygulanıp orşiektomi yapılanlarda (%58.6), torsiyon sonrası direk orşiektomi yapılanlara göre (%48) daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Bu kontralateral hasara nörohormonal yolların yol açtığı varsayılmaktadır. Buna rağmen kontralateral hasarın patofizyolojisi henüz tam olarak açıklığa kavuşmamış bir konudur.

2.4.10. Ayırıcı Tanı

Testis torsiyonu strangule herni, orsit, epididimit ve apendiks testistorsiyonu gibi akut skrotal ağrının diğer nedenlerinden ayrılmalıdır. Testis torsiyonu klinik olarak en çok epididimoorşit'lerle karışır. Epididimoorşit'lerin kliniği testis torsiyonuna oranla daha yavaş seyreder, ateş ve dizüri görülebilir. Ancak ateş ve dizüri görülmeyen epididimitli hastalar da olabilir. Geçmişte tekrarlayan üriner enfeksiyon, üretral akıntı, üriner cerrahi ve üretralkateterizasyon öyküsünün olması epididimoorşit tanısında yardımcı olabilir (163). Testis torsiyonunda ağrı epididimo-orşitle kıyaslandığında daha şiddetli ve daha akut başlangıçlıdır.

Apendiks testis torsiyonu testis torsiyonundan daha yavaş başlaması “blue dot” bulgusu, testisin üst polünde lokalize hassasiyet olması ve bulantı kusma gibi semptomların olmaması gibi bulgular yardımıyla ayrılır. Kremaster refleksi testis torsiyonunun aksine çoğunlukla kaybolmamıştır. Eğer akut travma öyküsü varsa testis rüptürü ve hematosel de ayırıcı tanıda düşünülmelidir. Akut skrotal ağrının diğer nedenleri arasında apendiks testis, Henoch-Schönlein purpurası, travma, inguinal herni, epididimit, orşit, funikilit, testis tümörleri, akut hidrosel, spermatosel, yağ nekrozu, viral inflamasyon, varikosel ve poliartritis nodoza yer almaktadır (46).

2.5.Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest oksijen radikalleri dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içeren atom ya da moleküllerdir. Oksijenden tek elektron indirgenmesi sonucu oluşan serbest oksijen radikallerinin neden olduğu oksidan yıkım; iskemi, heperoksijenizasyon ve doku inflamasyonu gibi birçok olayda yer alarak hastalıkların patogenezinde rol oynamaktadır (131).

Serbest radikaller aerobik hücre metabolizmasının bir ürünü olarak sürekli üretilir ve antioksidan savunma mekanizmaları ile dengede tutulurlar. Serbest radikallerinin ömürleri çok kısa olmasına rağmen protein, nükleik asit, ve lipid gibi makro moleküller ile etkileşimleri sonucu, hücre yapı ve fonksiyonlarında önemli değişikliklere sebep olurlar (131).

2.5.1. Serbest Radikal Türleri

Serbest radikaller, oksijen merkezli ve oksijen merkezli olmayan serbest radikaller olarak sınıflandırılırlar. Oksijen merkezli serbest radikallerin başlıcaları O_2 ve OH 'dir. Ayrıca H_2O_2 gibi radikal olmayan fakat etkileri ve sonuçları nedeniyle kimyasal aktiviteleri yüksek reaktif oksijen bileşikleri (ROB) de vardır (131).

2.5.1.1. Reaktif Oksijen Bileşikleri

a) Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Biyolojik sistemlerde en fazla bulunan radikal öncülü moleküler oksijendir. Oksijenin tek bir elektronla indirgenmesi ile süperoksit radikali oluşur. Serbest radikal olmakla beraber $O_2^{\cdot-}$ 'in belirgin toksik etkisi yoktur. Başlıca kaynağı sitoplazmadaki P_{450} sistemidir (164).



b) Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit, moleküler oksijenin iki elektron indirgenmesi sonucu oluşur. Hidrojen peroksitin eşlenmemiş elektronu olmadığı için serbest radikal değildir. Biyolojik sistemlerde H₂O₂'nin asıl kaynağı O₂^{•-}'in dismutasyonudur. Bu reaksiyon spontan veya süperoksit dismutaz (SOD) ile enzimatik olarak gerçekleşir. H₂O₂ biyolojik membranları geçebilir ve uzun ömürlüdür(165).



H₂O₂, protein tiyollerini oksitleme ve DNA'da zincir kırılmaları oluşturarak hasar yapar, asıl önemi geçiş metal iyonlarının varlığında hidroksil (OH⁻) radikallerini oluşturmasıdır.

c) Hidroksil radikali (OH⁻)

Süperoksit radikali ve H₂O₂'ten meydana gelen en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali. Yarı ömrü çok kısadır. Önemli iki kaynağı; Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonudur (166).

Fenton reaksiyonu;



Haber-Weiss reaksiyonu;



d) Singlet oksijen

Singlet oksijen, ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal değildir. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi, radikal reaksiyonların başlamasına da sebep olur. Yarılanma ömrü kısadır. Singlet oksijen, oksijen molekülünün daha reaktif bir türü olup, moleküler oksijenin enerji alması ile oluşur (165).

e) Hipoklorik asid (HOCl)

Fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde önemli rol oynar. Nötrofil ve makrofajlar tarafından enzimatik olarak üretilir ve bakterisit etkisi için salınır (165).



Serbest radikallerin etkileri

- a) Deoksiribonükleik asidin tahrip olması
- b) Nükleotid yapılı koenzimlerin yıkımı
- c) Tiyollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hücre ortamının tiyol/disülfid oranının değişmesi
- d) Protein ve lipidlerle kovalan bağlantılar yapması
- e) Enzim aktivitelerinde ve lipid metabolizmasındaki değişiklikler
- f) Mukopolisakkaritlerin yıkımı
- g) Proteinlerin tahrip olması ve protein "turnover"nin artması
- h) Lipid peroksidasyonu, zar yapısı ve fonksiyonunun değişmesi
- i) Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması
- j) Steroid ve yaşlılık pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi
- k) Kollajen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozularak kapillerlerdeki aterofibrotik değişikliklerin oluşması

Serbest radikaller birçok hastalığın patogeneğinde rol oynarlar. Diyabet ve komplikasyonları'nın gelişimi, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, psöriasis, romatoid artrit ve daha birçok hastalıkta serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir (167).

2.6.Antioksidan Savunma Sistemleri

2.6.1.Antioksidanlar Etkileri

Serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere organizmada antioksidanlar olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları gelişmiştir. Serbest radikallerin ve antioksidanların düzeyleri arasındaki hassas denge korunamadığı takdirde, hücre hasarına kadar giden birçok patolojik değişiklik ortaya çıkmaktadır.

Antioksidanların ilk belirlenen etkileri, zar yapısında bulunan lipidlerin peroksidasyona karşı korunması olmuştur. Bunun sonucu olarak, başlangıçta antioksidanlar lipid peroksidasyonunu engelleyen moleküller olarak tanımlanmışlardır. Günümüzde ise antioksidanların tanımı lipidlerin yanı sıra proteinler, nükleik asitler ve karbonhidratlar gibi diğer hedef molekülleri koruyucu etkilerini de içerecek şekilde genişletilmiştir. Bu nedenle hedef moleküllerdeki oksidan hasarı engelleyen veya geciktiren maddeler olarak tanımlanmaktadır.

Antioksidanların başlıca etki çeşitleri şunlardır

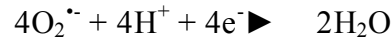
- 1) Metal iyonların bağlanması ve radikal oluşum reaksiyonlarının engellenmesi
- 2) Hedef moleküllerin hasar sonrası tamiri yada temizlenmesi
- 3) Reaktif oksijen türlerinin enzim reaksiyonları aracılığıyla yada doğrudan temizlenmesi
- 4) Reaktif oksijen türlerinin oluşumunun baskılama yoluyla engellenmesi

Antioksidanlar çeşitli kriterlere göre gruplandırılırlar (168).

- Enzimler
- Enzim olmayan protein, küçük moleküller

2.6.2.Enzimler

a) Sitokrom oksidaz: Mitokondilerde sounum zincirinin en son basamağında yer alan , bakır (Cu) içeren bir enzimdir. Solunum zincirindeki görevini sürdürürken, süperoksit radikalının suya dönüşümünü de sağlar(169).



b)Süperoksit dismutaz (SOD): Bu enzim aşağıdaki reaksiyonu katalizleyerek süperoksit radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar. Böylece hücre içindeki $O_2^{\bullet-}$ düzeylerini azaltır



SOD ‘un fizyolojik görevi, hücreleri süperoksit radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Oksijen kullanımı yüksek olan dokularda SOD aktivitesi fazladır, ancak ekstrasellüler sıvılarda SOD aktivitesi çok düşüktür(165,169).

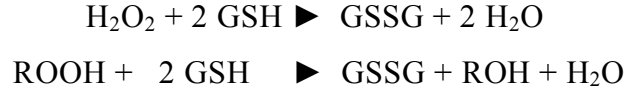
c)Katalaz:

H₂O₂, katalaz enzimi tarafından su ve oksijene yıklılır



Enzim peroksisomlarda yerleşmiştir. Yapısında dört tane hem grubu bulunur. Peroksidaz aktivitesi de vardır ve hidrojen peroksit, metil hidroperoksit gibi küçük moleküllere etki eder. Lipid hidroperoksitlerine ise etkisi yoktur (131,165).

d) Glutasyon peroksidaz (GSH-Px): Dört selenyum atomu içeren, sitozolde yerleşik, tetramer yapıda bir enzimdir. Aşağıdaki reaksiyonları katalizleyerek, hidrojen peroksidin ve organik hidroperoksitlerin (ROOH) indirgenmesini sağlar



Glutasyon peroksidazın iki substratı vardır. Substratlarından biri olan peroksitler alkole indirgenirken, diğer substrat olan GSH yükseltgenir, oluşan yükseltgenmiş glutasyon (GSSG), glutasyon redüktaz enziminin katalizlediği bir başka reaksiyon ile tekrar indirgenmiş glutatyon dönüşür (168).



e) Glutasyon tranferaz

Sitozolde bulunan, çok sayıda izoenzimi olan, dimerik yapıda bir enzimdir. Çeşitli endojen ve eksojen bileşiklerin glutasyon ile konjugasyonunu katalizlerler (165,168).



ENZİM OLMAYANLAR

Lipid fazda bulunanlar: Alfa-tokoferol, beta-karoten, alfa-lipoik asid

Sıvı fazda bulunanlar: Albumin, askorbat, bilirubin, ferritin, glutasyon, laktoferrin, melatonin, ürat, sistein (131,165).

2.6.3.Karotenoidler ve Retinoidler

Karotenoidler havuç, domates, fasulye, portakal ve diğer narenciyelerde bulunan bitki pigmentleridir. A vitamininin metabolik ön maddesi olan beta-karoten bu karotenoidlerin başlıcasıdır. Retinoidler plazmada taşınması lipoproteinler ve retinol bağlayıcı protein aracılığıyla olmaktadır. Beta-karoten ve likopen gibi retinoidler LDL'nin yapısında yer alır ve LDL'yi oksidasyona karşı korurlar. Karotenoidler, hücreleri oksidan strese karşı üç farklı şekilde korurlar.

- a) Flavinler ve porfirinler gibi triplet uyarıcıların zararlı etkilerini baskılama,
- b) Singlet oksijeni baskılama,
- c) Peroksil radikallerini temizlenme

Karotenoidlerin antikarsinojen oldukları bilinmekle birlikte, bu etki ve diğer biyolojik etkileri antioksidan özelliklerinden bağımsızdır (168).

2.6.4.Askorbik asid (C vitamini)

Askorbik asid, suda çözünür vitamin grubundan olmakla birlikte insanlarda sentezlenemediğinden diyetle alınması gerekmektedir. Özellikle yeşil yapraklı taze sebze, meyve ve turunçgillerde bol miktarda bulunur. İnce barsaklardan kolayca emilir. Isıtılmaya dayanıksız, dondurulmaya dayanıklıdır. Dokularda ve plazmada askorbat iyonu şeklinde bulunur.

Askorbik asidin organizma için önemi, indirgeyici gücünün yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Bu özelliği ile hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgeyici ajan olarak görev yapar. Askorbik asid, semidehidroaskorbat radikali üzerinden dehidroaskorbik aside yükseltgenir. Dehidroaskorbat'da fizyolojik şartlarda glutatyon ile doğrudan veya enzimatik olarak etkileşir ve askorbata indirgenir. Ayrıca kollajen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir

Askorbik asid aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. $O_2^{\cdot-}$, $\cdot OH$ ve 1O_2 ile kolayca reaksiyona girerek onları etkisizleştirir. Sulu fazda bulunmasına karşın, lipid peroksidasyonunu başlatıcı radikalleri temizleyerek, lipidleri ve zarları oksidan hasara karşı korumaktadır. E vitamininin geri dönüşümünde görev alır. Tokoferoksil radikalinin alfatokoferole indirgenmesini sağlar. Böylece E vitamini ile birlikte etkin bir şekilde LDL'yi oksidasyona karşı korur. Ayrıca, antiproteazların oksidan maddeler ile inaktive olmasını engeller.

Askorbik asid; Fe^{+3} ü, Fe^{+2} e indirgeyen süperoksit radikali dışındaki tek hücre içi moleküldür. Bu etkisiyle, ferri-demiri indirger. Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşime uygun olan ferro-demire dönüştürür ve süperoksit radikalinin üretimine neden olur. Bu özelliği C vitamininin pro-oksidan etkili olmasına sebep olmaktadır (165,168).

2.6.5. E vitamini

Tokoferol ve tokotrienol türevlerini kapsayan bir vitamindir. Doğal olarak alfa, beta, gama, delta, eta ve zeta gibi çeşitli şekilleri bulunmaktadır. Bunların hepsi, izoprenoid takısı içeren bileşiklerdir. Antioksidan aktivitesi en yüksek olanı alfatokoferoldür. Yapısındaki fenolik hidroksil grubuna sahip olan aromatik halka, aktif kısmını oluşturur ve molekülün antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır. Bitkisel yağlar ve tohumlar, E vitamininden zengin kaynaklardır.

Diyetle alınan E vitamini yağda çözünmüş haldedir. Yağ sindirimi sırasında açığa çıkar ve emilir. Emilebilmesi için safra asid düzeylerinin de normal sınırlarda olması gerekir. E vitamini herhangi bir taşıyıcı protein olmadan pasif difüzyonla emilir. Dokularda, mitokondri ve mikrozoamlar gibi membrandan zengin hücre fraksiyonlarında bulunur. Çok güçlü bir antioksidan olarak, zarda bulunan fosfolipidlerin yapısındaki çoklu doymamış yağ asidlerini serbest radikallerin etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. E vitamini, $\cdot O_2^-$, $\cdot OH$ ve 1O_2 gibi radikalleri indirger. E vitamini ile GSH- Px serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler.

Glutasyon peroksidaz, oluşan peroksitleri ortadan kaldırırken, E vitamini peroksitlerin yapımını engeller. E vitamini ve selenyum birbirlerinin metabolizmasında önemli rol oynarlar. Selenyum hem E vitamininin, hem de lipidlerin emilimi için gerekli olmakla birlikte E vitamininin lipoproteinler içinde tutulmasına yardımcı olur. E vitamini ise selenyum kaybını önleyerek veya onu aktif şekilde tutarak organizmanın selenyum ihtiyacını azaltır. E vitamininin zincir kırıcı antioksidan olarak başlıca fonksiyonu; lipid peroksidlerini etkisizleştirerek peroksidasyon zincir reaksiyonunu sonlandırmaktır (170).

2.6.6. Flavonoidler

Lipidlerde çözünen antioksidan sınıfından olan flavonoidler bitkilerdeki kırmızı, mavi ve sarı renk pigmentlerini oluşturan polifenollerdir. Kateşin, gallik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, klorogenik asit ve kuersetin başlıca flavonoidlerdendir. Başlıca besinsel kaynakları elma, portakal, limon, kayısı gibi meyveler ile patates, karnabahar gibi sebzelerdir. Şarap ve çay gibi bitkisel kaynaklı içeceklerde de bulunurlar.

Flavonoidlerin farklı yollarla lipid peroksidasyonunu engellediği belirlenmiştir. Bunları peroksidasyonu başlatan radikalleri tutulması, metal iyonlarını bağlaması ve radikal oluşturucu enzimleri inhibe etmesi şeklinde gerçekleştirir. Ancak, bazı

flavonoidlerin metal iyonlarıyla etkileşerek pro-oksidan etki yaptığı da saptanmıştır (170). Kuersetinin; serbest radikalleri temizlediği, antiplatelet etki gösterdiği, hepatik ve kan kolesterol seviyesini düşürdüğü ve kataraktı önlediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

2.6.7.Nitrik oksit (NO)

Nitrik oksit (NO) hem fizyolojik hem patofizyolojik süreçlerde önemli bir role sahip serbest radikaldir. NO sentezi bazı hücrelerde bir reseptöre bir stimülatörün bağlanmasına veya nöronlarda bir sinir uyarısına yanıt olarak meydana gelir. Nitrik oksit (NO) muskarinik veya histamin reseptörleri gibi çeşitli reseptörlerin aktivasyonu sonucu L-arjinin ve oksijenden, nitrik oksit sentaz (NOS) etkisiyle sentezlenir. Nitrik oksit (NO) sentezinin insanda vasküler tonüsün düzenlenmesinde önemli rol oynadığı, kan basıncı ve böbrek fonksiyonunun kontrolünde kesin bir role sahip olduğu bilinmektedir.

Nitrik oksit (NO) vasküler endotelial hücrelerde oluşturulan önemli bir vazodilatatördür. Nitrik oksit, düz kas hücrelerine girer ve 3',5'-siklikGMP (cGMP) oluşturmak üzere solubl guanilat siklazı stimüle eder. Böylece hücrede cGMP konsantrasyonu artar. Düz kas hücrelerinde cGMP, bir veya daha fazla protein kinazı cAMP gibi aktive eder. Aktive olan protein kinazlar düz kasın relaksasyonu ve ardından damarların dilatasyonundan sorumludurlar.

Nitrik oksit (NO) korpus kavernosumu kan ile doldurmak için düz kas relaksasyonunu uyaran bir nörotransmitter olarak etki ederek penil eraksiyonu uyarır. Nitrik oksit sentaz (NOS) sinir dokuda, vasküler endotelde, trombositlerde ve diğer dokularda bulunur. Nitrik oksit sentazın (NOS), nöronal NOS (tip I, nNOS), endotelial NOS (tip III, eNOS) ve indüklenebilir NOS (tip II, iNOS) olmak üzere farklı lokalizasyon ve düzenlenmeye sahip üç izoenzimi vardır.

Nöronal NOS (tip I, nNOS) ve endotelial NOS (tip III, eNOS), Ca^{+2} ve kalmodulin bağımlı esas izoformlardır. Nöronal NOS (tip I, nNOS), nöral iletide foksiyon görür.

Endotelial NOS (tip III, eNOS) böbreklerde bulunur. Endotelial NOS (tip III, eNOS) vasıtasıyla oluşturulan nitrik oksit (NO), vasküler düz kas hücrelerinin relaksasyonu için en önemli sinyaldir.

İndüklenebilir NOS (tip II, iNOS) normal şartlar altında bulunmaz. İnflamasyon veya enfeksiyon durumlarında sitokinler veya endotoksinler tarafından indüklenir ve uzun dönemde bol miktarda üretilir.

iNOS hepatositler, makrofajlar, nötrofiller, düz kas hücreleri, kondrositler gibi birçok hücre tipinde indüklenebilir. iNOS vasıtasıyla oluşturulan NO, antimikrobiyal aktiviteye sahiptir ve bu nedenle nonspesifik konak savunma sisteminin önemli bir parçasıdır (171).

2.6.8.Glutatyon (GSH)

Glutatyon, başta karaciğer olmak üzere pek çok dokuda yüksek düzeylerde bulunan glutamat, sistein ve glisinden sentezlenebilen bir tripeptittir. Suda çözünen, önemli bir antioksidan ve indirgeyici ajandır. Glutatyonun pek çok metabolik görevi vardır. Glutatyon peroksidaz, GSH redüktaz ve GSH transferaz gibi enzimlerin substrat veya ko-substratıdır.

Glutatyon, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidan hasara karşı korur. Ayrıca protein yapısındaki - SH gruplarını indirgenmiş halde tutarak pek çok proteinin ve enzimin inaktivasyonunu engeller. Amino asitlerin membrandan transportunu sağlar. Hemoglobinin methemoglobine dönüşmesini önler. İndirgenmiş glutatyon çeşitli reaksiyonlarda yükseltgenerek, GSSG'ye dönüşür. Yükseltgenmiş glutatyonun tekrar indirgenmesi NADPH'nin da kullanıldığı bir reaksiyonla olur. Bu şekilde dokularda GSSG/GSH oranı düşük tutulur (<1/1000) (172).

2.6.9.Malondialdehit (MDA)

Malondialdehit (MDA), hücre lipidlerinin oksidasyonu ile yapılarının bozulması sonucu oluşan ana metabolittir. Lipid peroksidasyon ürünlerinin % 40'ını oluşturur. Bu yüzden MDA, lipid peroksidasyonunun bir indeksi olarak kabul edilmektedir (173). Organ ve dokularda oluşan membran hasarı sonucu, lipid peroksidasyonu uyarılır. Hasarlanan dokularda peroksidasyon yatkınlığının artışı, antioksidanların aktivitelerini kaybetmesi ve metal iyonlarının (Fe, Cu) hücre içinde serbestleşmesinin bir sonucudur.

Lipid peroksidasyonuna neden olan en önemli radikaller, O_2 ve $OH^\bullet$ radikalleridir. Lipid peroksidasyonu sonucunda, özellikle doymamış yağ asitlerin çift bağlarının oksidasyonu membran akışkanlığında azalmaya, membran salınım

fonksiyonlarında düzensizliğe ve membran geçirgenliğinde bozulmaya neden olur (173). Peroksidatif yol boyunca birçok reaktif ara ürün oluşmaktadır. Peroksidasyonla oluşan MDA, DNA ve proteinlere çapraz bağlanarak bunların fonksiyon ve aktiviteleri değiştirebilirler.

Peroksidasyon ürünleri, aterosklerozda, iskemik ve travmatik beyin hasarında önem arzeder. LDL ve membran fosfolipitleri serbest radikallerin ataklarına karşı en duyarlı makromoleküllerdir (174). Serbest radikaller tarafından oluşturulan lipid peroksidasyonu birçok doku ve organı ilgilendiren patolojilerde rol oynamaktadır. Bunlar arasında; diyabet, hipertansiyon, kanser, ateroskleroz, kollajen doku hastalıkları, yaşlanma, dokuların iskemi sonrası reperfüzyon hasarı, senil katarakt, vitiligo, senil demans ve çeşitli beyin hastalıkları sayılabilir

2.7. HESPERİDİN

Fizikokimyasal özellikleri

Saf hesperidin uzun saça benzer iğneler halinde açık veya koyu sarı renkte bulunur. Erime noktası 258 - 262°C' e kadar (250°C' de yumuşar) değişmekle birlikte molekül formülü $C_{18}H_{34}O_{15}$ ve molekül ağırlığı 610.57 daltondur. Sudaki çözünürlüğü % 2' dir. Pridinde ve seyreltik alkali ortamda kolayca çözünerek, temiz sarı bir çözelti verir. Sıcak glasiyel asetik asitte ve metanolde de çözünür. Aseton, benzen ve kloroformda ise neredeyse hiç çözünmez. Benzer glikozidlerle kompleks kristaller oluşturma özelliği vardır. Bu, hesperidinin çözünürlüğünü ve diğer fiziksel özelliklerini büyük ölçüde etkiler ve saf halde elde edilmesini zorlaştırır. Fakat sıcak suyla yıkayarak ve % 95 metil alkolle ekstre edilip kristalize edilerek saflaştırılabilir (5). Hesperidinin sudaki çözünürlüğünün azlığı farmasötik kullanımlarına sınırlamalar getirmektedir (175).

Hesperidin bir flavon glikozitidir. Bir aglikon hesperetin veya metil eriodiktiyol ve buna ek olarak bir disakkarit rutinozdan oluşur (5). Birer mol ramnoz ve glikozdan oluşan hesperidin ve neohesperidin adlı iki izomerden birinin tatsız diğerinin acı olmasında bu şekerlerin birbirlerine bağlanma biçimleri rol oynamaktadır (176).

Birçok araştırmacı flavonoid ve karışımları içinden hesperidin ve/veya hesperetinin ayrılması ve miktarının belirlenmesi için YBSK yönteminden faydalanmışlardır. Bu araştırmaların çoğunda ters faz C-18 kolon ve mobil faz olarak su, asetonitril, metanol ve küçük miktarlarda asitlerle birlikte tetrahidrofur

kullanılmıştır. Dedeksiyon için ise Ultraviyole (UV) detektör ile 280 nm’ de çalışılmıştır (16).

Besin Kaynakları

Hesperidin; *Citrus aurantium* (turunç, ekşi portakal), *C.sinensis* (tatlı portakal), *C.Paradis greylfuit*), *C.unshiu* (satsuma mandalini), *C.reticulata* (mandalina), *C.limon*(limon), *C.Aurantifolia* (misket limonu) ve *Citrus* cinsinin (*Rutaceae*) diğer türlerinin kabuklarından yüksek miktarlarda izole edilir (16,175,177).

Portakalın dışında başka familyalara ait bitkilerde de bulunduğu (*Fabaceae*, *Betulaceae*, *Lamiaceae*, *Papillionaceae*) rapor edilmiştir (5). Hong Kong’ da yetişen bitkiler olan *Zanthoxylum avicennae*ve *Z.cuspidatum*’da ağaç kabuğunda bulunduğu tespit edilmiştir (5).

Hesperidin yüksek konsantrasyonlarda olgunlaşmamış meyvelerde de bulunmaktadır ve konsantrasyonu depolanma sırasında artmaktadır. Epikarp, mezokarp, endokarpda dağılımı ve turunç meyve sularında rapor edilmiştir (178). *C.sinensis*’ in olgun meyvelerinin değişik dokularındaki hesperidin dağılımı ve konsantrasyonu radioimmunoassay metodu ile ölçülmüş ve yüksek seviyelerde albedoda, membranlarda ve sünger dokuda bulunurken, suyunda ve tohumunda daha az miktarlarda tespit edilmiştir. Konsantrasyonu, olgunlaşmamış meyvede daha fazladır. Ancak olgun tatlı meyvenin kabuk, etli kısmı ve posasında kuru ağırlıkta % 2 iken suyunda sadece % 0.02 - % 0.06 arasındadır. Hesperidinin büyük bir kısmı işlenen ürünlerde, az bir miktarı ise suyunda bulunmaktadır.

Portakal kabuğu suyundaki katılar ve melaslar hesperidin ve diğer çözünmeyen flavonoidlerce zengindir. Bu nedenle hesperidinin çoğu kabuklardan veya diğer katı ürünlerden ekstre edilmelidir (179).

Farmakokinetiği

Hesperetin oral alımda barsak epitelinden absorbe edilmektedir. Hesperidin, tek başına absorbe olmazken, glikolizasyonu sonucu absorbe edilebilir duruma gelir. Genel olarak besinlerdeki flavonoidlerin ince barsak florasında bulunan bakteriler tarafından degradasyona uğratıldığı ve kolona ulaştığı düşünülmektedir. Hesperidin barsaktaki bakteri enzimlerince hidrolize edildikten sonra absorbe edilmektedir. Aglikonu olan

hesperetine konjuge olur. Bu aglikon idrar ve plazmada glukronit ve sülfoglukronit halde bulunur. Sülfoglukronit ve çok az da serbest aglikon halinde idrarla atılır (175).

Hesperidin ve hesperetini içeren 6 flavonoidin metabolizması, oral uygulama yapılan sıçanlarda incelenmiştir. İdrarda görülen başlıca metabolik ürün az miktarda m-kumarik asit ve aglikonlarla birlikte hidroksi fenil propiyonik asittir. Aglikonlar glukronik asitle konjuge ve serbest halde bulunurlar. İntestinal kanaldaki absorpsiyon demetoksilasyonla takip edilerek dehidroksilasyonla m-hidroksifenil propiyonik asit oluşumuna neden olmaktadır. Bu çalışma, ayrıca tavşanlarda, sıçanlarda ve insanda hesperetinin hesperidinden daha çabuk absorbe edildiğini göstermektedir. İnsanlarda hesperidin metabolizması belirgin farklılık göstermektedir. İdrar metaboliti olarak 3-hidroksi-4-metoksifenilhidrakrilik asit oluşmuştur. Bu da hesperetinin piran halkasının bu hidrakrilik asidi oluşturmak için bölündüğünü göstermektedir. Çok az miktarda da hesperetinin glukronidi tespit edilmiştir (5).

Greyfurt ve portakal suyundaki hesperetin ve naringenin idrarla atılımı ve plazma kinetiklerini araştırmak için bir çalışma yapılmıştır. Meyve sularını içen sağlıklı deneklerin kan ve idrar örnekleri toplanmış, elektrokimyasal dedeksiyonla YBSK' de analiz edilmişlerdir. Bu çalışmada, bireysel farklılıkların hesperetin biyoyararlanımını önemli oranda etkilediği tespit edilmiştir. Hayvan çalışmaları, hesperidin içeren Daflon-500 mg® adlı ilacın alımından 96 saat sonra tamamen atıldığını göstermektedir (180)

C14 hesperidin metilkalkon' un (suda çözünür, doğal hesperidin'in semi-sentetik türevi) reabsorpsiyon ve atılımıyla ilgili sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, 10 mg/kg⁻¹ dozda oral yoldan verilen maddenin 1-2 saat içinde absorbe olduğu gözlenmiştir. Kan profilleri ilacın iyi bir biyoyararlanıma sahip olduğunu göstermektedir. Atılım her iki yolda da uygulamadan sonraki ilk 24 saatte gerçekleşmektedir (5).

Farmakolojik Etkileri

Damar Sistemi Üzerine Etkileri

Hesperidin, varis ve damar yırtılmalarıyla sonuçlanan, kolay yaralanma ve damar geçirgenliği sorunlarını içeren kan damar hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Hesperidin kılcal damarların geçirgenlik ve kolay yaralanma özelliğini azaltmaktadır. Vasküler bütünlüğü arttırarak kılcal geçirgenliği azaltmaktadır. Ayrıca kapiller antihemorajik özelliği de saptanmıştır (5).

Hesperidin venöz tonusu ve mikrosirkülasyonu arttırarak venöz ülserlerin iyileşmesine katkıda bulunmaktadır. Kronik venöz bozukluklar ve hemoroid tedavisinde kullanılan hesperidin, operasyon sonrası oluşabilen tromboembolizmden korunmada etkilidir (16,175,177).

Buna ek olarak pek çok flavonoidin siklik adenosin monofosfat (cAMP) fosfodiesterazın inhibitörü olması nedeniyle diüretik etki oluşturdıkları düşünülmektedir (5).

Intraperitoneal (i.p.) hesperidin-5-glikozit uygulaması, farelerde yüksek oranda yağ içeren diyetle birlikte total kolesterol seviyesini belirgin bir biçimde düşürürken, serum trigliserit seviyesini etkilememiştir (175). Bu nedenle hesperidin-5-glikozit' in hiperlipidemi tedavisinde kullanılması yarar sağlamaktadır. Hesperidin bu belirgin aktivitesi hepatik kolesterol katabolizmasını arttırmasından kaynaklanmaktadır (16,175, 177).

Antienflamatuar Etkileri

Hesperidin belirgin antiinflamatuar ve analjezik etkileri olduğu tespit edilmiştir. Prostaglandin 2 (PG2) ve Prostaglandin 2 α (PG2 α)'nın sentezini inhibe etmektedir. Kolitli farelere uygulanan hesperidin ise kolonik hasarı azaltmıştır (5). Bunun hesperidin antioksidan aktivitesinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir (16,175).

Enzimler Üzerindeki Etkisi

Mukopolisakkarit hiyalüronik asidi depolimerize eden enzim hiyalüronidazdır. Kılcal duvarların geçirgenliğini dengelemede ve dokuları desteklemede rol oynamaktadır. Hiyalüronidaz, hiyalüronik asidin yıkımını sağlayarak doku geçirgenliğini artırır. Farelerde, izole edilmiş konnektif membranlarda yapılmış bir çalışmaya dayanarak, hiyalüronidazın permeabilite arttırıcı aktivitesinin fosforillenmiş hesperidin ile 15 dakika veya fazlasında ortadan kalkabildiği rapor edilmiştir. Hesperidin hiyalüronidaz aktivitesini ortadan kaldırmakla birlikte membran bütünlüğünü de sağlamış ve tedavi edilmemiş normal membranların geçirgenliğini de azaltmıştır (5).

Hesperidin hiyalüronidazdan başka, insan akrosinini de in vitro olarak inhibe etmiştir. Ayrıca fare serumunda aldoz redüktaz ve alkalın fosfatazı da inhibe edici etkisi

tespit edilmiştir. Ancak ksantin oksidaz ve revers trinskriptaz enzimi üzerinde inhibitör etkisi olmadığı gözlenmiştir (5).

Antimikrobiyal Etkisi

Hesperidin ve hesperetin, in vitro olarak pek çok bitki ve hayvan mikroplarına karşı enfeksiyondan koruyucu ve bu mikropların eşleşmesini önleyici özellikler göstermişlerdir (5).

Antibakteriyal Etkisi

Hesperidin ve hesperitinin *Helicobacter pylori*'nin gelişimini azalttığı rapor edilmiştir (6).

Antifungal Etkisi

Botrytis cinerea, *Trichoderma glaucum* ve *Aspergillus famigatus*'a karşı hesperidinin 1-10 µg arasında değişen dozlarda antifungal aktivitesi olduğu rapor edilmiştir (5).

Antiviral Etkisi

Hesperidin virüs-veziküler stomatite karşı antihiyalüronidaz aktivitesi sebebiyle aktif bir antiviral ajan olarak kullanılmıştır. Ayrıca hesperidinin influenza virüsüne karşı da aktif olduğu rapor edilmiş ve Herpes simplex'e karşı da zayıf bir aktivite gösterdiği bulunmuştur. Bu etki hesperidinin hücrelerdeki cAMP sentezini stimule etmesinden ve eşleşmeyi önleyici özelliğinden kaynaklanmaktadır (5).

Antifertilite Etkisi

Hesperidin ve türevleri çok uzun zamandan beri antifertilite aktiviteleri açısından değerlendirilmektedirler. 1948' de fosforillenmiş hesperidinin (PH) sperm enzimi olan hiyalüronidazı inhibe ederek antifertilite etkisi gösterdiği tespit edilmiştir. Oral ve i.p. verildiğinde PH' in antifertilite özelliğini gösterdiği saptanmıştır. Hem erkek hem dişi farelere verildiğinde beklenmeyen hamilelikleri azalttığı gözlenmiştir. Dişilerin menstrual döngüsü ile erkeklerin sperm sayısı ve motilitesi değişmemiştir. İlaç üzerinde yapılan diğer çalışmalar, toksik etkileri olmayan ve sterilityi azaltmayan bir oral kontraseptif olarak rol oynadığını ortaya koymuştur. Travma, enfeksiyon

hastalıkları ve sistemik hastalıkların antifertilite özelliğini etkilemediği görülmüştür. Tavşanlarda PH' nin vajinal uygulamasıyla da belirgin bir kontraseptif etki gözlenmiştir. Hiyalüronidazın yumurtanın folikül hücre katmanına spermin geçirgenliğini sağladığı rapor edilmiştir (5).

Antikarsinojenik Etkisi

Son on yılda hesperidin ve aglikonu hesperetinin antikarsinojenik aktivitesi üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda, apoptozisi indükleyerek antikanserojenik etki gösterdiği tespit edilmiştir (175). Erkek fare idrar torbaları üzerinde hesperidin/diosmin kombinasyonu kullanılarak antikarsinojenik etki araştırılmıştır. Kombinasyonun, N-bütil-N-(4-hidroksibütil) nitrozamin ile indüklenen karsinogenezisi tümör başlangıç fazında 8 hafta boyunca süren tedavi sonucunda inhibe ettiği görülmüştür. Ayrıca sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada 500 ppm/kg dozda hesperidinin karsinogenezisi inhibe ettiği rapor edilmiştir (181).

Hesperidinin aynı zamanda 4-nitrokuinolin-1- oksitle indüklenen ağız kanserini inhibe ettiği, lezyonların sayısını, dil dokusundaki poliamin seviyelerini ve hücre proliferasyonunu azalttığı bulunmuştur (182). Bir başka çalışmada, tek başına hesperidin ve diosmin/hesperidin kombinasyonu verildiğinde, hem 4-nitrokuinolin-1- oksitle başlatılan tümör gelişiminin inhibe olduğu hem de azoksimetanla indüklenen sıçan kolon karsinogenezisine karşı kemopreventif etki geliştiği saptanmıştır. Bu sonuçlar artan hücre proliferasyonunun baskılanması sonucunda olduğu bildirilmiştir (182).

Antimutajenik Etkisi

Hesperetinin antimutajenik aktivitesi Salmonella typhimurium mutantları kullanılarak incelenmiştir. Citrus flavonoidlerinin antimutajenik aktivitesi üzerinde yapılan bir araştırmada, hesperidinin Salmonella typhimurium üzerinde benz(α)piren ile indüklenen mutasyonlara karşı zayıf bir antimutajenik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Sıçanlarda N-metil-N-amilnitrozamin ile indüklenmiş tümör oluşumuna karşı bir antimutajenik etki gösterdiği raporlanmıştır (5).

β -kripto ksantin ve hesperidin içeren C.unshiu Marc. Satsuma mandalinalarının azoksimetanla indüklenen sıçan kolonik adenokarsinomasına karşı hücre

proliferasyonunu ve enzim detoksifikasyonunu indüklemesi nedeniyle koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (7).

Hesperidinin, 12-o-tetradekaboilforbol-13-asetat uygulanmış CD-1 farelerinde tümör oluşumunu azalttığı ve N-metil-N-amil nitroz aminle indüklenen sıçan yemek borusu tümör oluşumunu, hücre çoğalmasını azaltarak inhibe ettiği düşünülmektedir (9).

Trombositler ve Hücre Agregasyonu Üzerine Etkileri

Hesperidinin, insanda trombositler üzerinde yapılan bir araştırmada epinefrin ve ADP ile indüklenen trombosit agregasyonunu 0.08 mg.mL⁻¹ konsantrasyonun da inhibe ettiği bulunmuştur. Antitrombotik etkisi de söz konusu olan hesperidinin, atlar üzerinde yapılan bir araştırmada eritrositlerin agregasyonunu azalttığı gözlenmiştir. Ayrıca hamsterlar üzerinde yapılan çalışmada hesperidinin antiiskemik etkisi saptanmıştır (5).

Ultraviyole Koruyucu Etkisi

Son yıllarda oksidatif cilt hasarını önlemek için flavonoidlerin serbest radikal süpürücü olarak kullanılmaları üzerindeki araştırmalara hız verilmiştir. Ultraviyole radyasyonu nedeniyle oluşan oksidatif stres; cilt kanseri ve güneş ışığı maruziyetine bağlı yaşlanmanın başlatıcısı olabilmektedir. Bir çalışmada topikal olarak uygulanan hesperetinin, tek başına ve C.sinensis ile birlikte uygulanan hamekstresinde diğer flavonoidlerle beraber UV-B ile indüklenmiş cilt eritemini yok edici etkisi araştırılmıştır (5). Model membran olarak fosfotidilkolin veziküllerini alarak UV radyasyonu ile indüklenen peroksidasyon üzerinde hesperetinin etkisi çalışılmıştır. İn vitro olarak insan cildine bu bileşiklerin geçişi de ölçülmüştür. Hesperetin yumurta fosfotidilkolini (PC) içeren lipozomları, UV radyasyonu ile indüklenen peroksidasyonu ve oluşan serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırarak korumaktadır.

Analjezik ve Antipiretik Etkisi

Hesperidin farelerde s.c. ve i.p. uygulama sonucunda analjezik aktivite göstermiştir. Bu etki periferik bir mekanizmayla açıklanmaktadır. Ayrıca ateşi de azaltmaktadır. Hesperidin hem histamin hem de prostaglandin salınımını inhibe ederek gastrik mukoza lezyonlarına karşı koruyucu bir ajan olarak rol oynamaktadır (5,177).

Antioksidan Etkisi

Hesperidinin elektron transfer ve proton transfer reaksiyonundaki süperoksit radikalini azalttığı bulunmuştur. Metal iyonlarının şelatörleri olduğundan serbest radikal süpürücü özellikleriyle etkili antioksidanlardır (6). Ayrıca karaciğer homojenatlarında süperoksitle indüklenen kemoluminesans sergilemiştir. Stimule edilmiş nötrofillerden reaktif oksijen türlerinin açığa çıkmasını da önlemiştir. Hesperidin serbest oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonundan korunmayı sağlamaktadır (6). Böylece hesperidin diğer flavonoidlerle karşılaştırıldığında güçlü bir antioksidan olarak karşımıza çıkmaktadır (16,177).

Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkisi

Hesperidinin bağışıklık sistemini baskılayıcı aktivite sergilediği gözlenmiştir. Bakteriyel α -amilazına karşı antikor üretimini intragastrik uygulamayla baskılamıştır. Başka bir çalışmada ise, hesperidinin erkek farelerde intragastrik uygulamayla hücresel immüniteyi arttırdığı tespit edilmiştir (5). Hesperidin en güçlü koloni stimule edici faktör olan CSF'nin indükleyici aktivitesini doza bağımlı olarak göstermiştir (178).

Hormonlar Üzerindeki Etkisi

Hesperidin östrojen seviyelerini dengelemeye yardımcı ve buna bağlı inflamasyon ve ağrıyı azaltıcı etkiye sahiptir. Yapılan bir çalışmada, menopozal semptomlardan şikayetçi 94 kadına 1 ay boyunca her gün 900 mg hesperidin, 300 mg hesperidin metil kalkon, 1200 mg C vitamini verilmiş ve bir ayın sonunda sıcak basmalarının hastaların %53'ünde, tüm diğer semptomların da %34'ünde azaldığı rapor edilmiştir (199). Hesperidin bir fitoöstrojen olup, seks hormonlarına bağlı biyolojik cevapları ve östrojen reseptörlerine bağlanmayı etkilemektedir (17).

Diğer etkileri

Hesperidinin antiallerjik, antihemoroidal, kanama durdurucu, yara iyileştirici ve strese bağlı ülserle karşı koruyucu etkileri de vardır (5). Ayrıca hesperidin sedatif ve uyku düzenleyici etkiye de sahiptir.

Toksisitesi

Genel olarak, hesperidini de içeren Citrus bioflavonoidlerinin hamilelikte bile güvenli olduğu ve hiçbir yan etkilerinin olmadığı bilinmektedir. Erkek ve dişi farelerde yapılan bir deney sonucunda PH' nin organizmaya ve dokulara nontoksik olduğu, birikim özelliği olmadığı ve hiçbir alerjik reaksiyona yol açmadığı tespit edilmiştir (5).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Deneysel testis iskemi ve reperfüzyonunda hesperetinin antioksidan özelliğinin etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılan bu çalışma İnönü Üniversitesi hayvan hakları etik kurulundan (2011/A-64) nolu onay alındıktan sonra İnönü Üniversitesi Deney Hayvan Üretim ve Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirildi.

3.1.GEREÇ

3.1.1.Çalışmada kullanılan deney hayvanları

Çalışmada erişkin ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen 42 adet pubertal erkek Wistar-Albino ratlar kullanıldı. Ratlar standart plastik kafeslerde sabit ısı (21 °C) ve havalandırmaya sahip deney hayvanları laboratuvarında bakıma alındı. Çalışma öncesinde su ve diyetlerinde kısıtlamaya gidilmedi. Ratların beslenmesinde kullanılan yemin bileşimi Tablo 1’de verilmiştir. Tüm ratlar ısı ve ışık yönünden kontrollü bir çevrede standart su ve gıda ile beslendi. Ratları hipotermiden korumak için çalışma süresince vücut sıcaklıkları ısıtıcı bir lamba kullanılarak korundu.

Tablo 1. Ratlara verilen yemin bileşimi

Yem Bilesimi	Oran (%)
Su (en çok)	% 12
Ham protein (en az)	% 24
Ham selüloz (en çok)	% 7
Ham kül (en çok)	% 8
HCl’de çözünmeyen kül (en çok)	% 2
NaCl (en çok)	% 1
Mineral Karması *	% 1.25
Vitamin Karması **	%1.25
Metabolik enerji	2650 kcal/kg

* Mineral Karması: Kalsiyum (% 1.0-2.8), Fosfor (% 0.9), Sodyum (%0.5-0.7), Mangan (10 mg/kg), Çinko (4 mg/kg).

** Vitamin Karması: Vitamin A (300 IU/kg), Vit. D3 (1000 IU/kg), Vit. E (60 mg/kg), Vit. B2 (4 mg/kg)

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tablo-2: Deneyde kullanılan kimyasal maddeler

Amonyum sülfat	Merck 1216
Bakır-2-klorür	Merck 2733
Bakır-2-sülfat	Merck 1.02787
Disodyum etilendiamintetraasetik asit dihidrat	Sigma E5134
Disodyum hidrojen fosfat-2-hidrat	Merck 6580
5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit	AppliChem 69-78-3
Etanol	Riedel 32221
Folin&ciocalteus-phenol Reaktifi	Sigma F9252
Hidrojen peroksit (%35)	Merck 1.08600
Hidroklorik asit (%37)	Merck 1.00314
İndirgenmiş glutasyon	Sigma G4251
Ksantin Sigma	X7375
Ksantin oksidaz	Sigma X4376
Kloroform	Merck 243
Nitroblu tetrazolyum klorür	Sigma N6639
Potasyum dihidrojen fosfat	Merck 4873
Potasyum hidroksit	Merck 5032
Potasyum klorür	Merck 4936
Sığır serum albumini	Fluka 05470
Sodyum azid	Riedel 35088
Sodyum hidroksit	Sigma S-0899
Sodyum karbonat	Merck 1.06398.1000
Sodyum potasyum tartarat	Merck 8085.1000
Trikloroasetik asit	Merck 807
Tris tamponu	Sigma T6066
2-Tiyobarbitürik asit	Merck 1.08180.0025
Sodyum klorür	Merck 1.06404.1000
1,1',3,3' - Tetraetoksipropan	Acros Organics 122-31-6

3.1.4.Çalışma Grupları ve Deney Protokolü

Deney günü Wistar–Albino cinsi ratlar kendi aralarında randomize olarak seçilerek herbiri 7 adet rat içeren toplam altı grup oluşturuldu. Operasyon odasına alınan ratlara İP yolla 50 mg/kg Ketamin (Ketalar®, Pfizer Pharma GMBH, Germany) ve 10 mg/kg Ksilazin hidroklorid (Alfazyne®, %2, Alfasan International, 3440 AB, Woerden, Holland) uygulanarak anestezileri sağlandı, gerektiğinde ratların hareketsizliğini sürdürmek için anestezik ajanların aynı dozları tekrarlandı. Anestezi uygulanıp

stabilizasyon sağlandıktan sonra betadin solüsyonu ile asepsi-antisepsi sağlanmasının ardından tüm gruplardaki ratlara sağ skrotal insizyon yapılarak sağ testis ve spermatik kord serbestleştirildi.

Testis torsiyonu oluşturulacak gruplarda torsiyon, sağ testisin saat yönünde 720 derece döndürülmesiyle gerçekleştirildi. Torsiyonun sürdürülebilmesi için testis döndürüldükten sonra tunika albugineasın'dan skrotuma ipek sütür ile tespit edildi. 1 saat iskemi oluşturulduktan sonra testis serbestleştirilerek insizyonla kapatıldı. Çalışmaya katılan sıçanların grupları tablo 3' de sınıflandırılmıştır.

Tablo-3: Deney Grupları

Gruplar	Denek sayısı(n)	Deney protokolü
Grup-1: kontrol	7	Cerrahi işlem uygulandı, sağ testis dışarı çıkarıldıktan sonra torsiyon uygulanmadan tekrar skrotuma yerleştirildi. Bu grup cerrahi stresin testisler üzerine olası etkisini belirlemek için kullanıldı.
Grup2: Hesperetin(50 mg/kg)	7	Cerrahi işlem uygulandı, sağ testis dışarı çıkarıldıktan sonra IP olarak 50 mg/kg Hesperetin verilerek torsiyon uygulanmadan tekrar skrotuma yerleştirildi. Bu grup düşük doz Hesperetinin testisler üzerine olası etkisini belirlemek için kullanıldı.
Grup3: Hesperetin(100 mg/kg)	7	Cerrahi işlem uygulandı, sağ testis dışarı çıkarıldıktan sonra IP olarak 100 mg/kg Hesperetin verilerek torsiyon uygulanmadan tekrar skrotuma yerleştirildi. Bu grup yüksek doz Hesperetinin testisler üzerine olası etkisini belirlemek için kullanıldı.
Grup-4: Testiküler İskemi Reperfüzyon (İ/R)	7	Sağ testis dışarı alındıktan sonra torsiyone edildi. Bir saat iskemi periyodundan sonra detorsiyon işlemi uygulandı ve 4 saat reperfüzyon sağlandı. Bu grup detorsiyonun İ/R hasarı üzerine olası etkisini belirlemek için kullanıldı.
Grup5:Testiküler iskemi Reperfüzyon + Hesperetin (50 mg/kg)	7	Sağ testis dışarı alındıktan sonra torsiyone edildi. 1 saat iskemi periyodundan sonra detorsiyon işlemi uygulandı ve 4 saat reperfüzyon sağlandı. Detorsiyondan 30 dk önce 50 mg/kg Hesperetin İP yolla uygulandı. Bu grup 50 mg/kg Hesperetinin testiküler İ/R hasarı üzerine olası etkisini belirlemek için kullanıldı.

Grup-6: Testiküler iskemi Reperfüzyon + Hesperetin(100 mg/kg)	7	Sağ testis dışarı alındıktan sonra torsiye edildi. 1 saat iskemi periyodundan sonra detorsiyon işlemi uygulandı ve 4 saat reperfüzyon sağlandı. Detorsiyondan 30 dk önce 100 mg/kg Hesperetinin İP yolla uygulandı. Bu grup 100 mg/kg Hesperetinin testiküler İ/R hasarı üzerine olası etkisini belirlemek için kullanıldı.
--	---	---

3.1.5.Deneyin Tamamlanması ve Örneklerin Alınması

Dört saat reperfüzyon uygulamasından sonra anestezi altındaki ratlara orşiyektomi operasyonu yapıldı. Elde edilen dokular iki parçaya bölündü. Birinci parça cerrahi tampon ile kurulandıktan sonra CAT, SOD, GSH ve MDA ölçümünü içeren biyokimyasal işlemler için ölçüm yapılacağı güne kadar -86°C’de derin dondurucu içinde saklandı. İkinci parça histopatolojik inceleme için Formol solüsyonu içerisine konuldu.

3.1.5.1. Homojenatların Hazırlanması

Derin dondurucudan alınan dokular tartılarak cam tüplere konuldu. Üzerine 1/10 (g/h) oranında dilüsyon olacak şekilde %1,15’lik potasyum klorür ilave edildikten sonra soğuklukları muhafaza edilerek cam teflon homojenizatörde 16.000 devir/dakika hızda 3 dakika homojenize edildi. Hazırlanan bu homojenatlarda doku MDA ve protein tayinleri yapıldı. Geri kalan homojenat +4°C’de 45 dakika süreyle 3500 rpm’de santrifüj edilerek süpernatant elde edildi. Bu süpernatantlarda GSH ve protein düzeyleri ile CAT enzim aktiviteleri ölçüldü. Geri kalan süpernatant kısmına kloroform/etanol (3/5, h/h) karışımından oluşan ayıraç 1/1 (h/h) oranında ilave edildi ve vorteks yardımıyla karıştırıldı. Daha sonra 45 dakika 3500 rpm’de santrifüj edildi. Üstte kalan kloroform/etanol fazında SOD enzim aktivitesi ve protein ölçümleri tekrar yapıldı.

3.2. YÖNTEMLER

3.2.1. Doku Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Ölçümü

Doku MDA düzeylerinin tayini spektrofotometrik olarak Ohkawa ve ark. (183) tarafından önerilen metoda göre yapıldı.

Prensip: Doku MDA tayini; aerobik şartlar altında ve pH:3.5’te, doku homojenatının kaynar su banyosunda bir saat inkubasyonu sonucu, lipid peroksidasyonunun sekonder ürünü olan MDA’nın TBA ile oluşturduğu pembe renkli kompleksin 532 nm’de spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanır.

3.2.2. Doku Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi Ölçümü

Süperoksit dismutaz, oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin ($O_2^{\cdot-}$) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır. Dokulardaki SOD enzim aktivitesi Sun ve ark. (184) tarafından tarif edilen metoda göre yapıldı.

Prensip: Bu yöntemde SOD aktivitesi, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksitin nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Oluşan süperoksit radikallerinin NBT'yi indirgemesi ile oluşan renkli formazon spektrofotometrik olarak ölçülür. Bu kompleks 560 nm'de maksimum absorbans verir. Enzimin olmadığı ortamlarda indirgenme meydana gelerek mavi-mor renk oluşmaktadır. Ortamda SOD bulunduğunda ise indirgenme olmayıp mavi-mor renk oluşmaz ve enzim aktivitesine bağlı olarak daha açık bir renk oluşur.

3.2.3. Doku Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesinin Ölçümü

Katalaz, katalitik aktivitesiyle H_2O_2 'yi dekompoze ederek su ve oksijene dönüştürmektedir. Dokulardaki CAT enzim aktivitelerinin tayini Aebi (186) tarafından tarif edilen metoda göre yapıldı.

Prensip: Hidrojen peroksit, 240 nm dalga boyunda maksimum absorbans göstermektedir. Deney ortamına ilave edilen H_2O_2 'nin CAT enzimi tarafından parçalanması, ultraviyole spektrumda bir absorbans azalması olarak takip edilir. Absorbansta görülen bu azalma enzim aktivitesi ile doğru orantılıdır.

3.2.4. Doku Redükte Glutasyon (GSH) Ölçümü

Dokulardaki GSH aktiviteleri Ellman (187) tarafından ditiyonitrobenzoik asit geri çevirim metodu olarak tanımlanan yöntemle göre tayin edildi.

Prensip: 5,5'-ditiyo-bis[2-nitrobenzoik asit] (DTNB), sülfidril bileşikleri tarafından redükte edilerek bir disülfid bileşiği olan sarı renkli kompleks oluşturur. Bu sarı renkli bileşiğin optik dansitesi 412 nm dalga boyunda ölçülerek GSH aktivitesi saptanır.

3.2.5. Doku Protein Ölçümü

Homojenat ve süpernatantlardaki protein miktarı tayinleri Lowry ve ark. (188) tarafından tarif edilen yöntemle göre ölçüldü.

Prensip: Alkali bakır ayırıcındaki Cu^{++} peptid bağları ile kompleks yapmaktadır. Her 7 veya 8 aminoasit artığı 1 atom bakır bağlamaktadır. Folin- Fenol ayıracı, bakır ile muamele edilmiş karışıma ilave edildiğinde mor-mavi bir renk şekillenir. Oluşan bu renk 650 nm’de okunur.

3.2.6. İstatiksel analizler

Windows için düzenlenmiş Statistical Package of Social Sciences 15.0 (SPSS 15.0, Chicago, IL, USA) programı ile veri analizleri yapıldı. Grupların karşılaştırılmasında oneway ANOVA testi kullanıldı, gruplar arasında farklılık tespiti için posthoc Duncan testi uygulandı. $p < 0.001$ anlamlı olarak kabul edildi.

3.2.7.Histopatolojik Değerlendirme

Deneyssel torsiyon işlemi sırasında iskemiye maruz kalan tüm testislerde iskeminin makroskopik sonuçları olarak ödem ve venöz staza bağlı renk değişiklikleri gözlenmiştir. Detorsiyon uygulanan testislerde kısa sürede testislerin renginde düzelme saptanmıştır.

Deneklere ait testiküler doku örnekleri % 10’luk formaldehit içerisinde patoloji laboratuvarına gönderildi. Makroskopik olarak örneklenen dokular rutin doku takip işlemine tabi edildikten sonra parafine gömülüp 5 mikronluk kesitler alındı. Kesitler Hematoksilen&Eozin boyama prosedürü ile boyandıktan sonra kör olarak ışık mikroskopisinde değerlendirildi. Mikroskobik olarak; ödem ile konjesyon ve hemoraji varlığı/yokluğu değerlendirilirken seminifer tubüller ve germinal hücrelerdeki değişiklikler ise aşağıdaki şekilde gradelendirilmiştir

3.2.8.1.Histopatolojik bulguların gradeleme kriterleri

Tablo-4: Histopatolojik bulguların gradelenmesi

GRUPLAR	GRADE 1	GRADE 2	GRADE 3	GRADE4	ÖDEM	KONJESYON
TA	7/7				6/7	
TIR		2/7	1/7	4/7	5/7	2/7
TIR-LH		5/7	2/7		4/7	3/7
TIR-HH	2/7	3/7	2/7		4/7	3/7

Grade I: Normal testiküler arkitektür

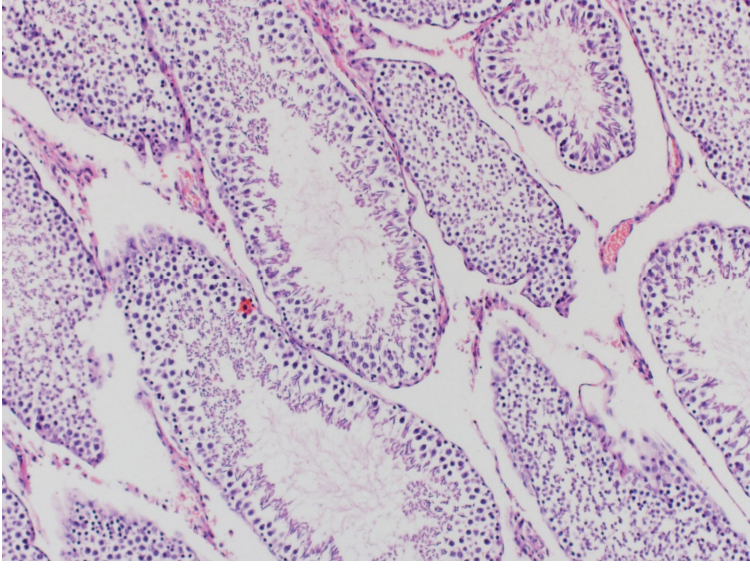
Grade II: (Hafif etki): Germinal hücrelerde kohezyon kaybı, sıkı seminifer tubuller

Grade III: (Orta derecede etki): Düzensiz, dökülmüş, büzülmüşgerminal hücreler, piknotiknükleuslar, sınırları belirsiz seminifertubuller

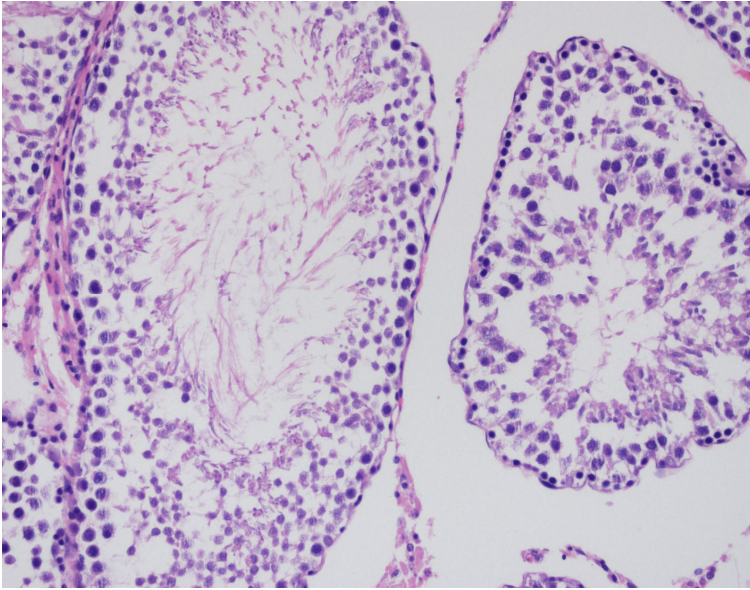
Grade IV: (Şiddetli etki): Hasar seminifertubuluslara sınırlıdır. Germinal hücrelerde koagülatif nekroz

Normal testiküler doku seminifer tübüller, interstisyum ve leydig hücrelerinden oluşmaktadır. Seminifer tübülüsler ise değişik diferansiyasyon dereceleri ve sertoli hücrelerinden meydana gelmektedir. Her tübül belirgin bir bazal membrana ve ince bir lamina propriaya sahiptir. Tübülüslerdeki sertoli hücreleri destek hücreleri olup, germ hücreleri ise spermatogonyum, primer spermatositler, sekonder spermatosit ve spermatidler olmak üzere matürasyon basamaklarına sahiptir. Testisin maruz kalacağı herhangi bir olumsuz uyarana vereceği cevap bu yapılardaki patolojik değişim şeklindedir.

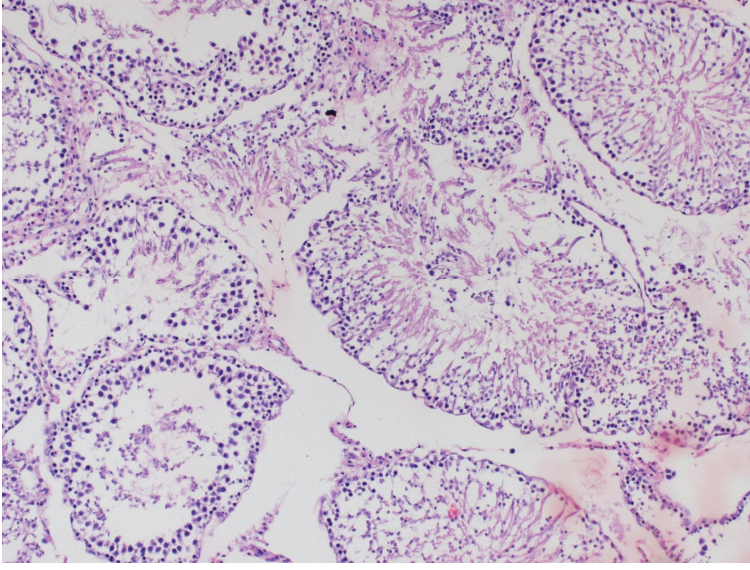
Spermatogonyalar seminifer tubullerin bazal kısmına yerleşmişken sekonder spermatositlerin oldukça kısa yarı ömrü vardır. Bu hücreler tübül lümenine yakın yerleşmişlerdir. Geç spermatid formu ise nükleus değişikliği ile karakterizedir (önce oval şekilli, kondansekromatinli iken sonraları elonge şekilli ve matür spermatozoon nükleus şeklindedir). Normal fizyolojik spermatogenezis basamakları bu şekilde izlenirken olumsuz uyarana halinde spermatogenezisin herhangi bir basamağında duraklama, germ hücrelerinde yerleşim bozuklukları (dizorganizasyon) ve nihayet nekroza kadar giden bir süreçle karşılaşılabilir.(189)



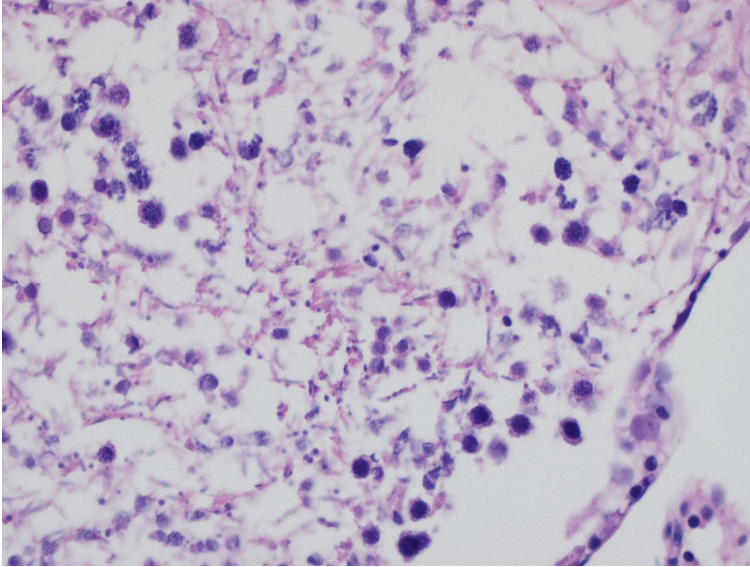
Resim 1: Sıkı seminifer tubuluslara sahip grade II testiküler değişiklikler. (H&Ex100)



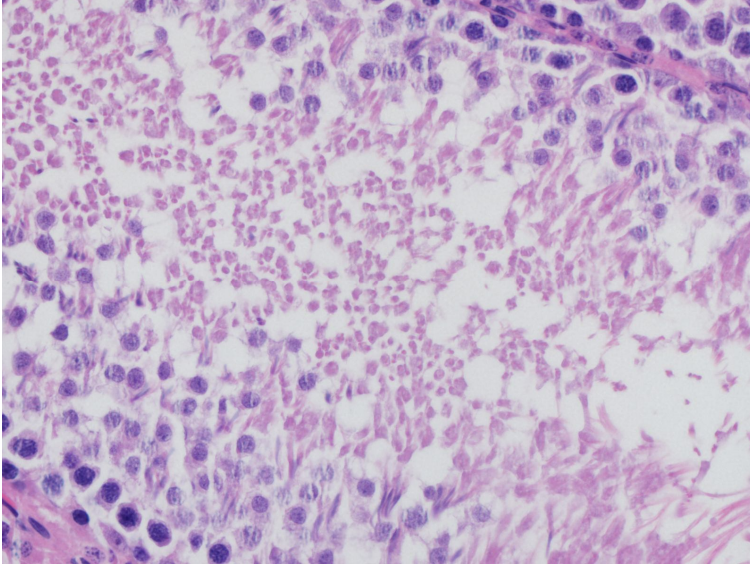
Resim 2: Belirgin kohezyon kaybı gösteren grade II testis dokusu. (H&Ex200)



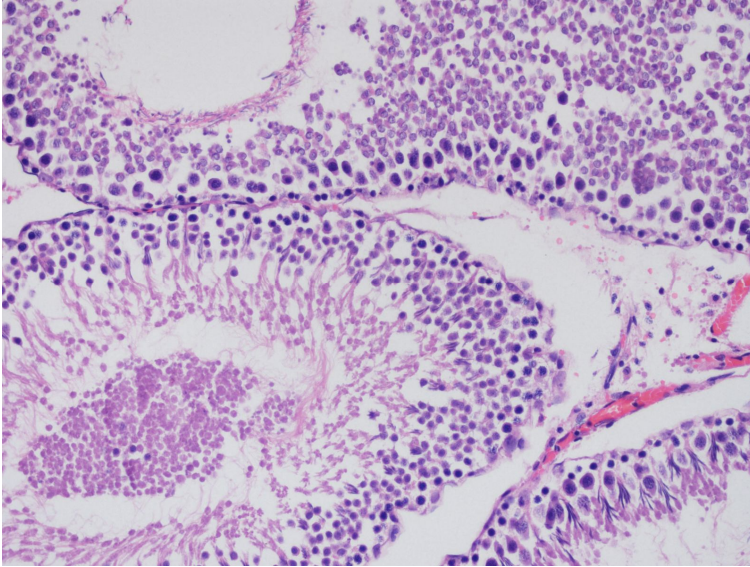
Resim 3: Sınırları belirsiz seminifer tubuller, düzensiz, dökülmüş germinal hücreler (grade III) (H&Ex100)



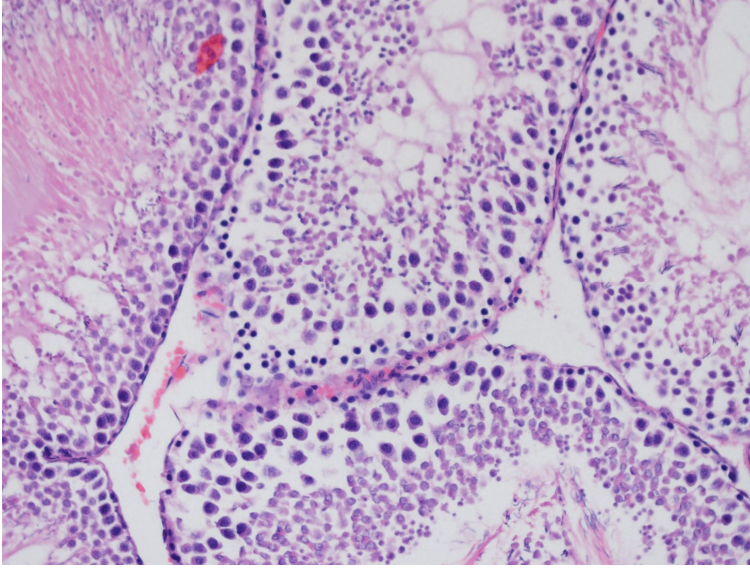
Resim 4: Seminifer tubuluslarda dökülmüş, büzülmüş hücreler, piknotik nükleuslar (grade III) (H&Ex400)



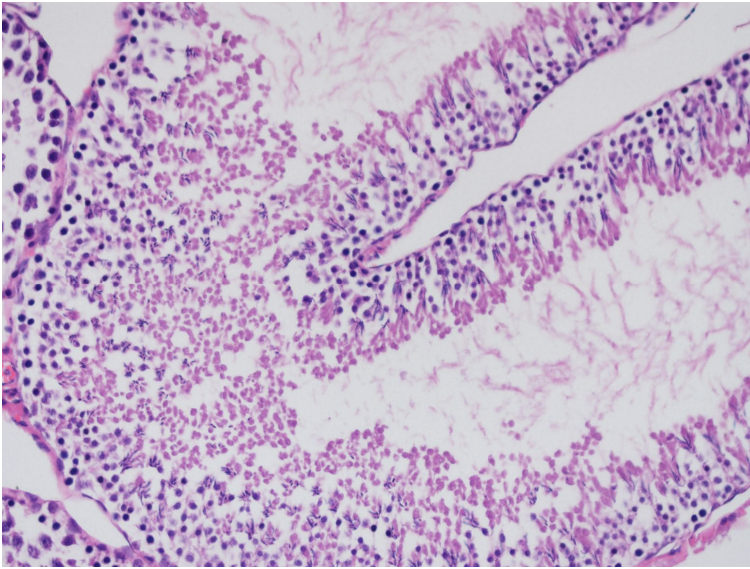
Resim 5: Germinatif hücrelerde belirgin koagülatif nekroz (Grade IV) (H&Ex400)



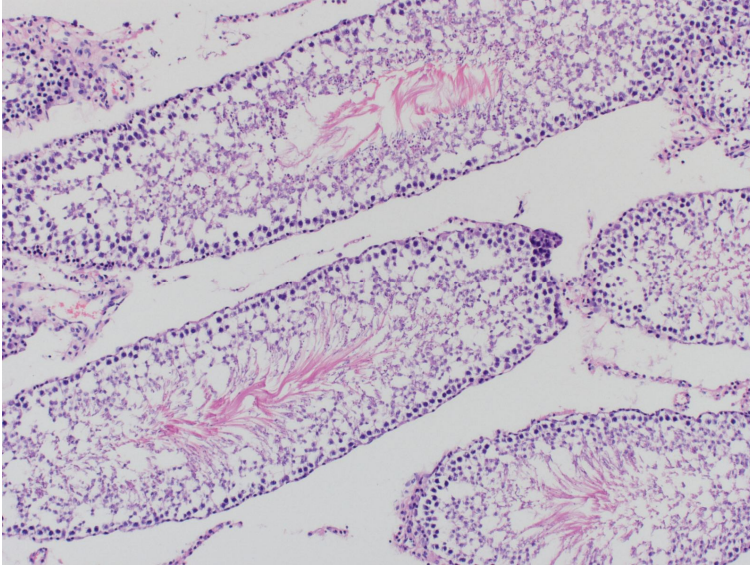
Resim 6: Grade IV değişikliklere sahip seminifer tubulusta belirgin koagülatif nekroz (H&Ex200)



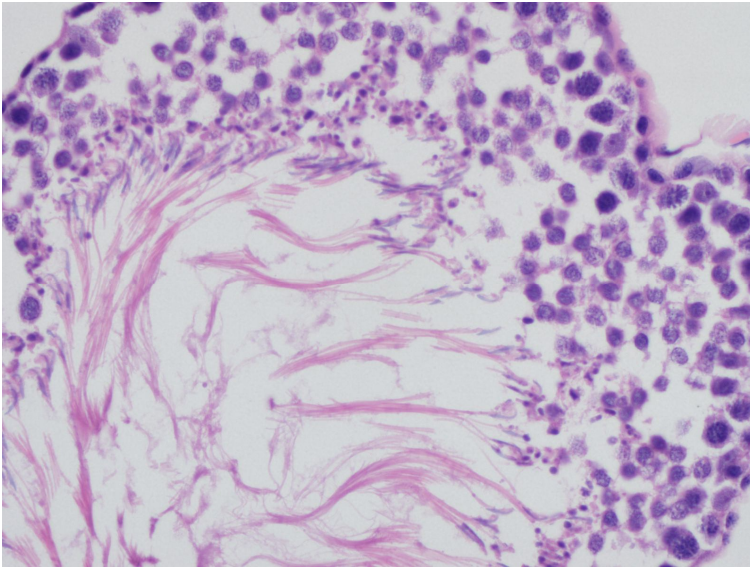
Resim 7: Koagülatif nekroz gösteren seminifer tubuluslar (H&Ex 200)



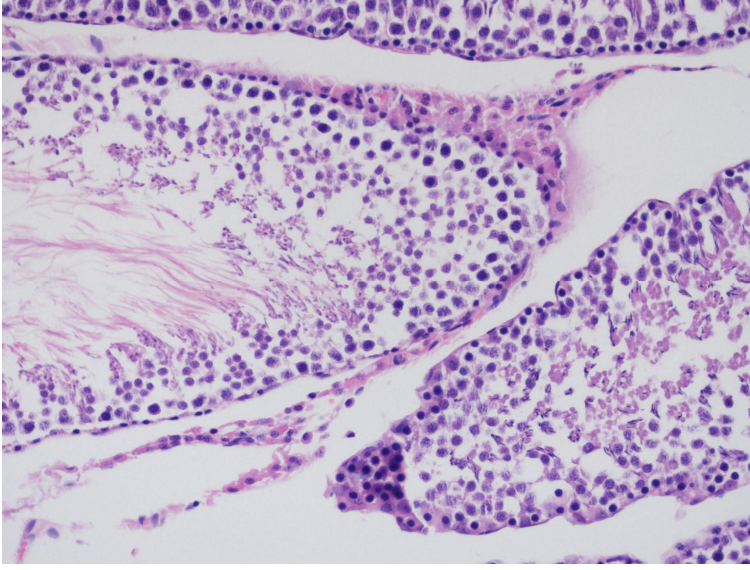
Resim 8: Koagülatif nekroz gösteren seminifer tubuluslar (H&Ex200)



Resim 9: Normal testiküler seminifer tubuluslar ve germinativ hücreler (H&Ex200)



Resim 10: Normal germinal hücreler ve dizilimleri. (H&Ex400)



Resim 11: Normal germinal hücreler ve dizilimleri. (H&Ex200)

TIR-HH ile TIR grupları karşılaştırıldığında TIR-HH' de grade 1 (hiç değişiklik olmayan) denek sayısı artmakla birlikte (2/7), grade 3-4 (ileri grade) azalmakta olup, bu iki grup arasında istatistiksel anlamda bir fark saptanmamıştır. ($p=0,28$)

TIR-LH ve TIR-HH verilen gruplar bir araya getirilip I/R yapılan gruba göre karşılaştırma yapıldığında; hesperetin verilen grupların hiçbirinde grade 4 (ileri grade) şiddetli patolojik etki olmamakla birlikte hasar derecesi daha düşük saptanmıştır. Bu etki hesperetinin koruyucu etkisini göstermiştir.

4. BULGULAR

4.1.Biyokimyasal parametreler

Çalışmadan elde edilen biyokimyasal verilerin gruplara göre dağılımı Tablo- 6'da sunulmuştur.

Tablo-5: Gruplara göre biyokimyasal verilerin dağılımı

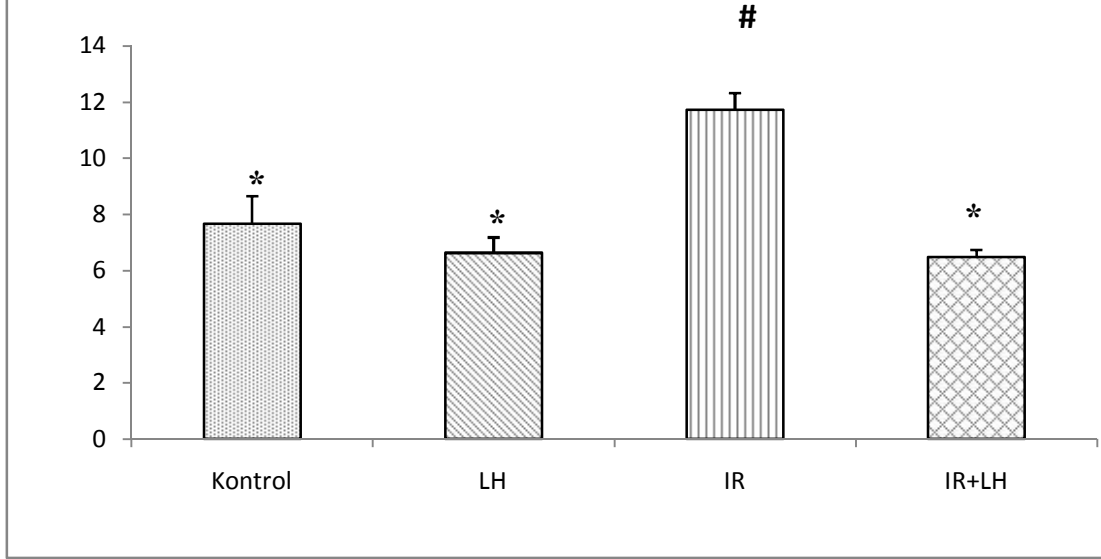
gruplar	MDA nmol/g doku	SOD U/mg protein	CAT k/mg protein	GSH nmol/ml
kontrol	7.67±0.97 ^a	3.86±0.17 ^a	0.037±0.001 ^a	390.1±18.0 ^{ac}
Low-hes	6.63±0.55 ^{ac}	3.83±0.39 ^a	0.027±0.003 ^b	432.4±10.3 ^{ac}
High-hes	4.64±0.39 ^c	4.73±0.43 ^b	0.030±0.001 ^b	436.3±14.2 ^a
IR	11.73±0.59 ^b	1.80±0.24 ^c	0.017±0.001 ^c	311.3±12.4 ^b
Lowhes-IR	6.48±0.26 ^{ac}	2.70±0.23 ^d	0.025±0.001 ^b	385.3±19.4 ^{ac}
Highhes-IR	6.66±0.83 ^{ac}	3.65±0.26 ^a	0.030±0.002 ^b	380.5±16.8 ^c
P value	0.001	0.001	0.001	0.001

4.1.1.Doku MDA düzeyleri

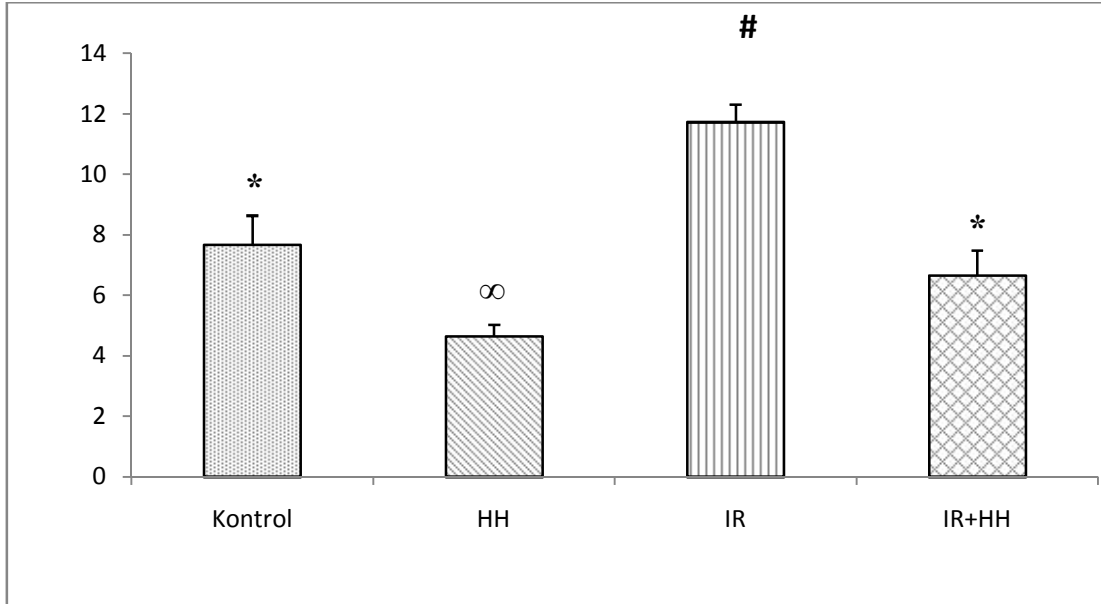
Hesperetin tedavisi uygulanan gruplara ait MDA değerleri grafik-1 ve 2 de sunulmuştur. İ/R yapılan grupta MDA değerlerinin; kontrol grubu ve hesperetin verilen tedavi gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı tespit edilmiştir (p<0,001). İ/R ile hesperetinin birlikte uygulandığı tedavi gruplarında doku MDA düzeyinde azalma olduğu saptanmıştır. Bunun yanında hesperetinin koruyucu etkisi ile

İ/R yapılan grupta artan MDA seviyesi kontrol grubu lehinde düşmüştür. Düşük doz ve yüksek doz hesperetin verilen gruplarla, İ/R ile birlikte hesperetin uygulanan gruplar arasında doz bağımlı olarak MDA değerleri arasında anlamlı bir fark tespit edilememiştir.

Grafik-1: Testis MDA nmol/gr yaş dokunun gruplara göre dağılımı



Grafik: 2: Testis MDA nmol/gr yaş dokunun gruplara göre dağılımı

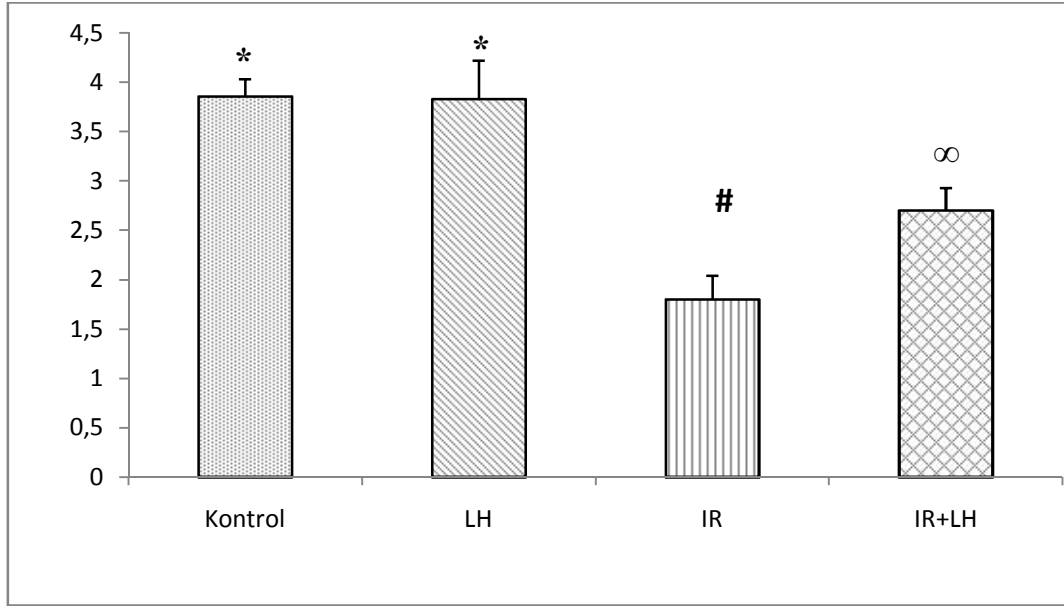


4.1.2.Doku SOD düzeyleri

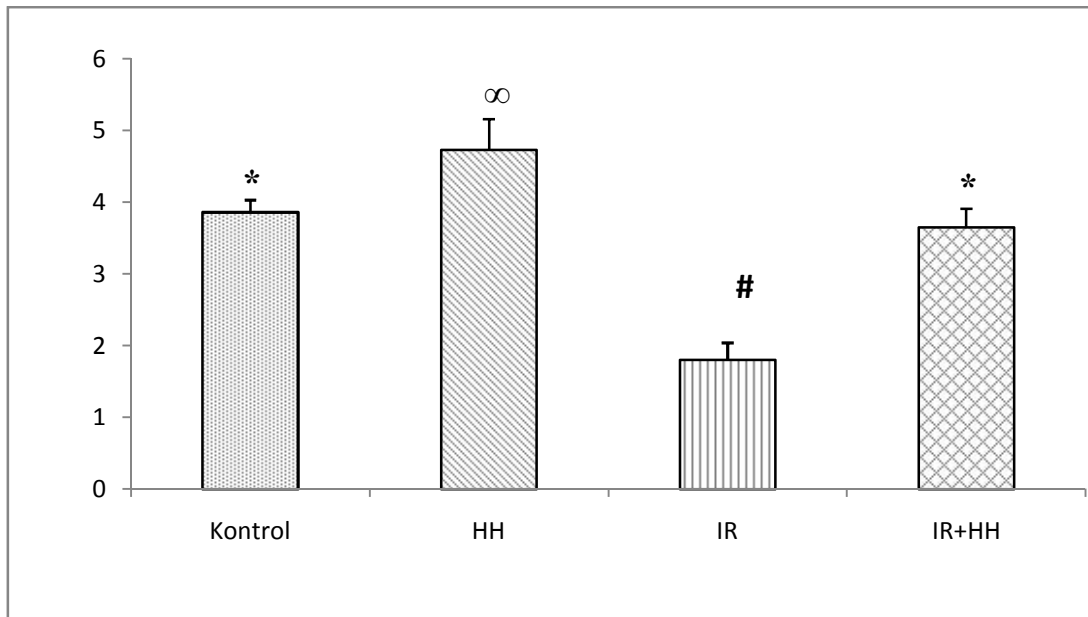
Hesperetin tedavisi uygulanan gruplara ait testis SOD değerleri grafik-3 ve 4' de sunulmuştur. Yapılan ölçümler sonucunda testis SOD enzim aktivite düzeyleri: İ/R

uygulanılan grupta anlamlı oranda azalmıştır ($p<0.001$). Hesperetin uygulaması ile İ/R grubunda azalan SOD enzim aktivitesi kontrol grubu lehinde yükselmiştir ($p<0.001$). İ/R ile birlikte düşük ve yüksek doz hesperetin verilen gruplar arasında SOD enzim aktivite düzeylerinde anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p<0.001$).

Grafik-3: Testis SOD U/mg proteinin gruplara göre dağılımı



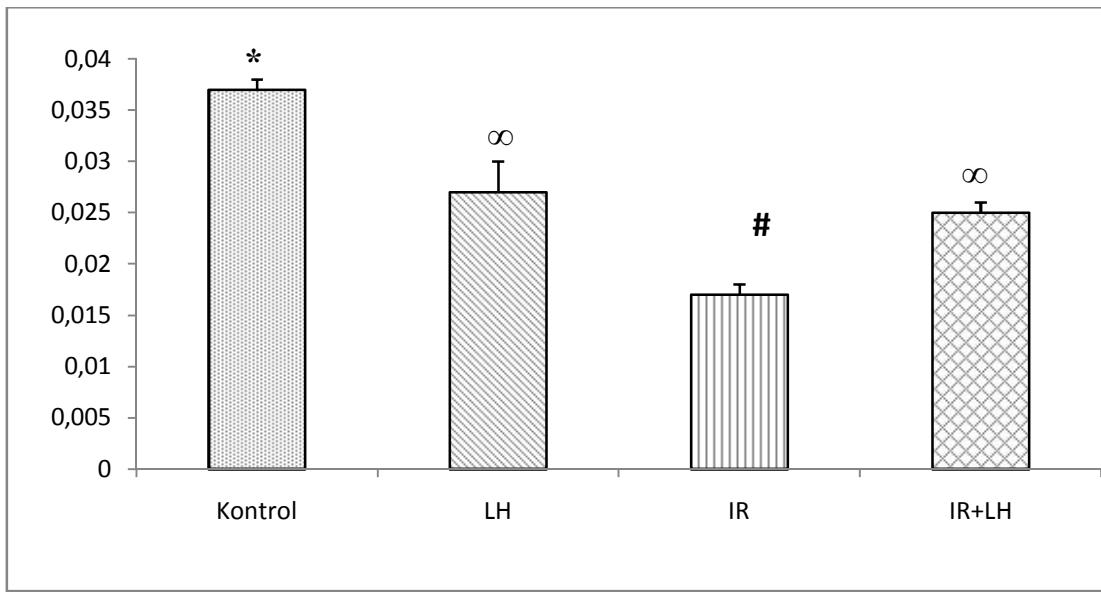
Grafik-4: Testis SOD U/ mg proteinin gruplara göre dağılımı



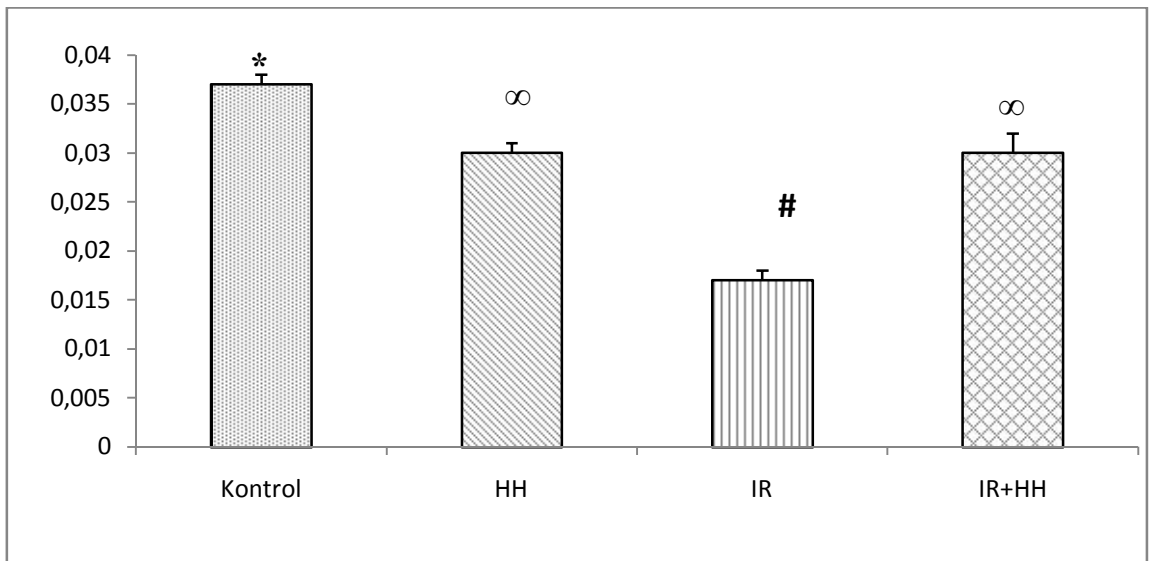
4.1.3.Doku CAT düzeyleri

Hesperetin tedavisi uygulanan gruplara ait testis CAT değerleri grafik 5 ve 6’ da sunulmuştur. Yapılan çalışmalarda testis CAT enzim aktivite düzeyleri, İ/R uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşmüştür ($p<0.001$). Tedavide verilen hesperetin uygulaması ise İ/R grubunda azalan CAT enzim aktivitesini kontrol grubu yönünde anlamlı şekilde artmıştır. İ/R ile birlikte düşük ve yüksek doz hesperetin uygulanan gruplar arasında doku CAT düzeyleri arasında doz bağımlı anlamlı bir fark tespit edilememiştir.

Grafik-5: Testis CAT k/mg proteininin gruplara göre dağılımı



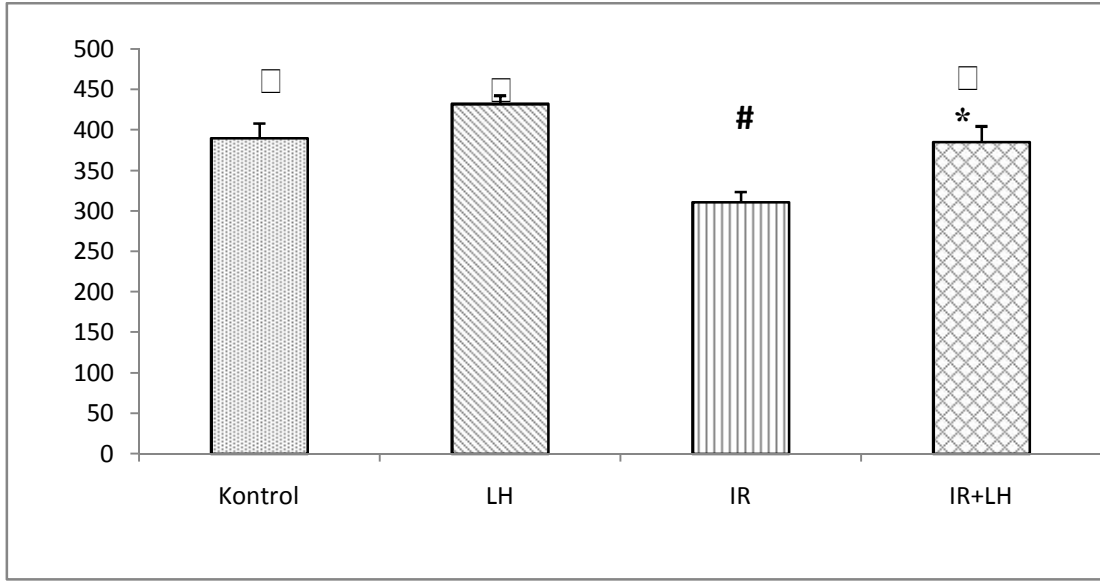
Grafik-6: Testis CAT k/mg proteininin gruplara göre dağılımı



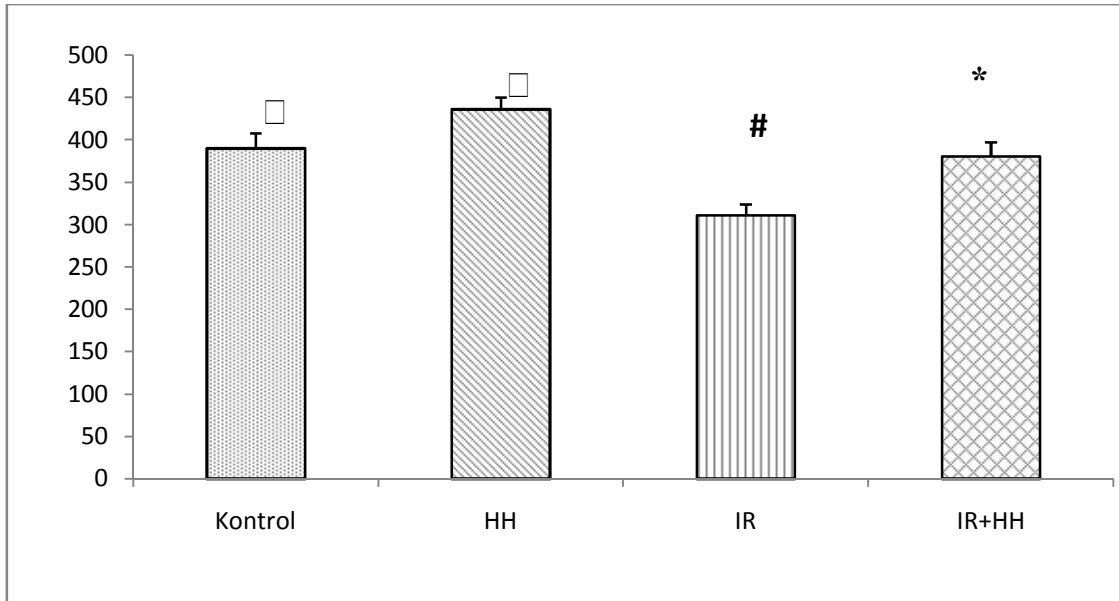
4.1.4.Doku GSH aktiviteleri

Hesperetin tedavisi uygulanan gruplara ait testis GSH değerleri grafik 7 ve 8’de sunulmuştur. İ/R yapılan grupta testis GSH düzeyi anlamlı şekilde düşmüştür ($P=0,001$). Tedavide verilen hesperetin uygulaması ise İ/R grubunda azalan GSH düzeyi kontrol grubu lehinde arttırmıştır. İ/R ile düşük ve yüksek doz hesperetin verilen tedavi grupları arasında doku GSH aktivite düzeyi arasında doz bağımlı anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

Grafik-7: Testis GSH nmol/ml gruplara göre dağılımı



Grafik-8: Testis GSH nmol/ml gruplara göre dağılımı



5.TARTIŞMA

Testis torsiyonu özellikle genç erkeklerde görülen, testisin vasküler pedikülü etrafından dönüş yapması sonucu dolaşımının bozulmasıyla ile karakterize, müdahale edilmediği durumlarda gonad kaybıyla sonuçlanan ürolojik acil bir durumdur (71). Testis ve eklerinde 25 yaşına kadar torsiyon görülme sıklığı 1/ 160 iken (70), sadece testis için bu oran 1/4000'dir (71). Her yaş grubunda görülmesine rağmen, sıklıkla pubertal dönem ve ilk 1 yaşta pik yapar. Olguların %65'i pubertal dönemde ve 13 yaş grubundadır (72,73). Testis torsiyonu genelde sol testiste görülürken, olguların %2'sinde bilateralidir.

Testisin intravajinal veya ektravajinal torsiyonu oluşabilir. İntravajinal torsiyon daha sık görülmektedir. Tunika vajinalis spermatik korda olması gereken yerden daha yukarıdan tutunur, testisin tunika vajinalis içinde bir çan tokmağı şeklinde asılı durmasına yol açar. "Bell-Clapper deformitesi " adı verilen bu durum torsiyon için temel neden kabul edilir ve spermatik kordun hareketlerle veya kremasterik kontraksiyonlarla rahatça dönmesine neden olur. Ektravajinal torsiyon ise daha az görülmekle birlikte, yenidoğan döneminde görülen torsiyon tipidir. Ektravajinal torsiyon olarak tanımlanan bu durumda, testis, epididim ve tunika vajinalis spermatik kordonun üst düzeyinde vertikal aksta torsiyona maruz kalır.

Testis torsiyonu oluştuğunda venöz dönüş bozulur. Buna bağlı olarak ödem, hemoraji ve arteriyel obstrüksiyon gelişir. Kan akımının azalması, diğer dokularda olduğu gibi testiste de hipoksiye neden olur. Deneysel çalışmalarda testiküler iskemiye en duyarlı olan hücrelerin başta spermatogonia ve spermatositler olmak üzere germ hücreler olduğu gösterilmiştir (51). İskemik dokularda canlılığı korumak için temel

prensip reperfüzyonun sağlanmasıdır. Bu nedenle testis torsiyonlu olgularda zaman geçirmeden müdahale edilmesi gerekmektedir.

Torsiyonun testisler ve fertilité üzerine olan etkileri birçok araştırmacı tarafından araştırılmıştır. Ancak, torsiyonun etkileri ve varsa bu etkilerin ne şekilde olduğu konusunda bir görüş birliği oluşmamıştır.

Literatür incelendiğinde testis torsiyonu tedavisinde çok sayıda çalışma mevcut olmasına karşın testis torsiyonu tedavisinde Hesperetinin kullanıldığı bir çalışmaya rastlamadık.

Testiküler torsiyonda ana patoloji, testisin spermatik kord ile birlikte dönmesi sonucu iskemiye bağlı gelişen hasar ve tedaviden sonra reperfüzyonun oluşturduğu hasardır. İskemi ve reperfüzyona (I/R) bağlı olarak çok fazla miktarda reaktif oksijen türevleri (ROT) meydana gelir. Artan ROT miktarı, hücresel DNA hasarı oluşturur ve hücre membranlar ile dokular arasında lipid peroksidasyonuna neden olur (4,48). Lipid peroksidasyonu sonrası membran geçirgenliği değişmekte, membrana bağlı enzimler azalmakta ve protein sentezi inhibe olmaktadır (48). Reperfüzyon sonrası oluşan serbest oksijen metabolitleri reperfüzyon hasarından sorumlu tutulmaktadır (140,153). Birçok çalışmada ROT' un rat testislerinde torsiyon sonrası oluşan I/R'a olan etkileri gösterilmiştir.

Reperfüzyon sırasında oluşan SOR, lökositleri aktive ederek, lökositlerin damar endoteline yapışmasına sebep olur. Bunun sonucunda kapiller yatakta tıkaçlar oluşarak dolaşım bozulmaktadır, kapillerin bir kısmı perfüze olamamaktadır. Bu duruma ' no-reflow fenomeni' denilmektedir (190). Bununla birlikte antioksidanların, I/R un zararlarına yönelik koruyucu etkilerini gösteren çalışmalar da vardır (191).

Torsiyon sonucunda oluşan iskemik testiküler hasar; testisin dönme sayısı ve torsiyon süresiyle ilişkilidir. 360°' den fazla ve 24 saatten uzun torsiyonlarda testis yerinde bırakılırsa testis atrofi sonucu ipsilateral testis kaybı gerçekleşir. Şiddetli atrofi aynı zamanda 4 saatten uzun ve kord üzerinde 360°'den fazla dönmeler de görülebilir (108).

Deneysel çalışmalar 720° torsiyonda, kan akımının geri dönüşümsüz olarak kesildiği ve tam bir iskemi oluştuğunu göstermiştir (56). Klinikte testis torsiyonları ile 360° ile 720° arasında karşılaşıldığı (56), sol testisin daha uzun bir spermatik korda sahip olmasından dolayı sol testis torsiyonunun sağ testise oranla iki defa daha sık görüldüğü bildirilmiştir (97).

Deneysel çalışmalarda ise farklı torsiyon derecelerinin araştırıldığı dikkati çekmiştir. Heindel ve ark. (113) ratlarda testisin 360° torsiyonunun herhangi bir değişikliğe yol açmadığını, 720° ve fazlasının fertilitede azalmaya neden olduğunu belirtmişlerdir. Turner ve ark. (114) ratlarda gerçekleştirdikleri bir çalışmada longitudinal aksı boyunca testise 180°, 360° ve 720° torsiyon uygulamışlardır. Torsiyone testisi sırasıyla 1, 2 ve 4 saat sonra detorsiyone eden araştırmacılar, sonuçta 360° ve bir saatlik torsiyonun yalnızca akut vasküler değişimlere yol açtığını, 720° ve dört saatlik torsiyonun ise tam iskemiyle sonuçlandığını saptamışlardır.

Ratlarda deneysel ekstravaginal torsiyon modelinde süre ile hasarlanma derecesinin birbirleriyle ilişkili olduğu ve hasarlanma için en az 540° torsiyon gerektiği bildirilmiştir (115). Bizim çalışmamızda, literatürde hasarlanma için gerekli torsiyon derecesi olduğu bildirilen 720° seçilmiştir.

Testiküler İ/R oluşturmak üzere T/D yönteminin kullanıldığı çalışmalarda farklı iskemi ve reperfüzyon sürelerinin denenmiş olması da dikkat çekici bulunmuştur (4,138,144). Akgür ve ark. (153) çalışmalarında 1, 3 ve 5 saat 720° tek taraflı sol testis torsiyon uyguladıkları rat modelinde detorsiyon sonrası 5 saate kadar biyokimyasal olarak reperfüzyon hasarı geliştiğini saptamışlardır. Cosentino ve ark. (154) ise farklı sürelerde uyguladıkları torsiyon sonrasında testisleri inceledikleri çalışmalarında 3 saat boyunca 720° torsiyon sonrasında testiküler kan akımının geri dönmediğini ve dokuda nekrozla sonuçlanan çok ciddi değişikliklerin görüldüğünü tespit etmişlerdir. Ayrıca, arteriyel obstrüksiyonda 2 saat, venöz obstrüksiyonda ise 6 saat içinde testiste geri dönüşümsüz hasarlanma ve sonrasında nekroz geliştiği gösterilmiştir (64,140). Benzer şekilde, bir saat boyunca, 720° torsiyonun, rat modelinde spermatogenezi durdurmak için yeterli olduğu tespit edilmiştir (52).

Turner ve ark. (155) lipid peroksidasyonunun reperfüzyondan 4 saat sonra belirgin olarak arttığını saptamışlardır. Bu verilerle uyumlu olarak Akgür ve ark. (111) da çalışmalarında lipid peroksidasyonunun arttığı zamanın detorsiyondan 4 saat sonra olduğunu tespit etmişlerdir. Torsiyon ve detorsiyon sürelerinin araştırıldığı çalışmalardan elde edilen verilerin ışığında yaptığımız çalışmamızda bir saatlik torsiyon ve dört saatlik detorsiyon uygulanması tercih edilmiştir.

Turner ve ark. (96), testisin reperfüzyonundan sonra inflamatuvar sitokinlerden TNF- α ve IL-1 β 'de artış olduğunu tespit etmişlerdir. Reperfüzyondan sonra NO ve makrofajlardan serbestleşen TNF- α , IL-6, IL-1 β gibi mediyatörlerle inflamasyonun

başladığını ve şiddetlendiğini, sitokinlerle uyarılan nötrofiller ve ROT'un reperfüzyon hasarında etkin olduğunu bildirmişlerdir.

İskemi reperfüzyon sürecinde ROT/RNT artışı, inflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-6, IL-1 β) serbestleşmesi, nötrofil infiltrasyonu, oksijen radikallerinde (süper oksit anyonu) artış, membran lipidlerinin serbest radikallerle peroksidasyonu ile oluşan lipid peroksidin, hücresel yapılarda hasar oluşturduğu bildirilmiştir (4,96). Doku lipid peroksid içeriğinin İ/R'un en önemli belirteci olduğu (127) ve bu içeriğin en iyi şekilde peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan MDA düzeyi ölçümü (127) ile gösterilebildiği belirtilmiştir.

Bozlu ve ark. (156) çalışmalarında testiküler dokudaki MDA düzeylerinin reperfüzyon başladıktan dört saat sonra arttığını bildirmişlerdir. Diğer yandan, torsiyonun testiküler hasar üzerine etkilerini araştıran Shiraishi ve ark. (157) iNOS ile NO üretiminin ratlarda nekrotik veya apoptotik germ hücre ölümüne yol açtığını göstermişlerdir. Ayrıca aşırı üretilen iNOS'un testiküler dokuda NO'nun toksik düzeylere ulaştığını ve rat testisinde apoptotik germ hücrelere neden olduğunu saptamışlardır. Reperfüzyon döneminde NO düzeyinin arttığı tespit edilmiştir (4).

Bizim çalışmamızda da hem İ/R hasarının en iyi belirteçleri arasında sayılması, hemde verilerimizi kıyaslayabileceğimiz çalışmalarda kullanılmış olması nedeniyle testiküler İ/R etkilerini biyokimyasal olarak göstermek için, detorsiyondan dört saat sonraki MDA, SOD, CAT, GSH düzeylerinden yararlanılmıştır.

Bazı araştırmacılar cerrahi eksplorasyon ve sonrasında testiküler detorsiyon yapılmasının İ/R hasarına yol açtığını öne sürmüşlerdir (96). Süperoksitler gibi serbest oksijen radikalleri reperfüzyon esnasında oluşurlar ve plazma membranında lipid peroksidasyonuna ve artmış hücre ölümüne sebep olurlar (192). Testis torsiyonu esnasında oluşan iskemik hasarın temelinde ortamda bulunan reaktif oksijen metabolitlerine bağlı oksidatif stres ve inflamasyon süreci yer almaktadır. Testis torsiyonunda kan akımının azalması ile oluşan iskemik sonucunda ATP azalır. Hücre, enerji ihtiyacını, en az enerji yüklü olan AMP'i kullanarak karşılamaya çalışır. AMP yıkım ürünleri ise; adenosin, inozin ve hipoksantindir. Hipoksantin oksijen yetersizliği nedeniyle ksantin ve ürik aside dönüşemez. Testis detorsiyone edildikten sonra kanlanma ve oksijenasyon başlar ve buda reaktif oksijen ve nitrojen ürünlerinin oluşmasıyla reperfüzyon hasarı sürecini başlatır (50). Böylece hücrede birikmiş olan

hipoksantin, ksantin oksidaz enzimi ile ürik aside dönüştürülür ve ortamda önemli miktarda SOR oluşur.

Reperfüzyon döneminde testis dokusunda artan ksantin oksidaz enzim aktivitesine bağlı üretilen superoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali ($OH^\cdot$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi serbest oksijen radikallerinin ve peroksinitrit gibi reaktif nitrojen radikallerinin artması testiste başlıca lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve oksidatif DNA hasarı gibi toksik etkilere neden olur. Spermatogenez ve sertoli hücrelerinin gelişimi bu durumdan olumsuz etkilenir. Bu durumun önemli belirleyicileri; histopatolojik inceleme ve lipid peroksidasyonun son ürünlerinden malondialdehit (MDA), antioksidan enzim aktiviteleri ve düşük moleküler ağırlıklı enzimatik olmayan antioksidanların seviyeleridir.

Birçok araştırmacı tek taraflı testis torsiyonunun kontralateral testiste biyokimyasal değişikliklere sebep olduğunu ve bu değişikliklerin detorsiyondan sonra da şiddetlenebileceğini söylemektedirler. Vigueras ve ark. (117) bir hayvan çalışmasında iki grup belirlemişler; birinci gruba torsiyon sonrası detorsiyon uygulayıp orşiektomi uygulamışlar diğer gruba ise detorsiyon uygulamadan direk orşiektomi uygulamışlar. Torsiyon yapılan hayvanlarda; kontralateral testisteki etkilenen seminifer tubül yüzdesinin torsiyon sonrası detorsiyon uygulanıp orşiektomi yapılanlarda (%58.6), torsiyon sonrası direk orşiektomi yapılanlara göre (%48) daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Bu kontralateral hasara nörohormonal yolların yol açtığı düşünülmektedir.

Güncel araştırmalar bu reperfüzyon yaralanmasını engelleyebilecek birçok kimyasal madde üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu anlamda allopurinol, kafeik asit fenetil ester (CAPE), E vitamini, verapamil, tetronik 1107, L-karnitin ve sildenafil ile umut verici sonuçlar elde edilmiştir (192). Melatoninin testisi iskemi/reperfüzyon hasarından korumada allopurinolden daha efektif bir ajan olduğu gösterilmiştir (191).

Reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu güncel çalışmalarla belirlenen diğer kimyasallar ise propofol, alfalipoik asit, meloksikam, ibuprofen, dexpantenol, rosglitazone, ibuprofen, dehidroepiandrosteron, CAPE(kafeik asit fenil ester), N-asetilsistein, morfin, erdostein, resveratrol, selenyum vb (144,145,146,147).

Doğan ve arkadaşları deneysel sıçan varikosel modelinde varikoselin oluşturduğu testiküler hasar üzerine diosmin-hesperidinin etkilerini incelemişler,

sonuçta varikozel oluşturulan testislerin ağırlıkları belirgin olarak azalmış ve bu testislerde seminifer tübül hasarı belirgin olarak artmış bulunmuştur (193).

Bilateral testiküler kan akımları varikozel oluşturulan grupta belirgin olarak artmıştır. Bu bulgular varikozelin testiste kan akımını ve MDA düzeyini artırdığını ve spermatogenezi etkilediğini, ortalama Johnsen skorlarında düşmeye ve apoptotik indekste artışa neden olduğunu göstermiş ve varikozel sonucu gelişen testis hasarının önlenmesinde diosmin- hesperidinin olumlu etkisini gözlemlemişlerdir (193).

Yine benzer bir çalışmada Dağlı ve arkadaşlarının Renal iskemi-reperfüzyon oluşturulan ratlarda kullandıkları Diosmin+Hesperidinin, iskemi-reperfüzyon hasarını bir ölçüye kadar azaltabileceği gösterilmiştir (194).

Acıpayam ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada da Metotreksat sonrası oluşan ince barsak hasarının hesperidin uygulanması sonrası azaldığı ve hesperidinin barsak epitel hasarının azaltmak için klinik uygulamalarda kullanılabileceği belirtilmiştir (195).

Shagirtha ve ark. tarafından kadmiyuma bağlı testiküler oksidatif hasarın önlenmesinde citrus flavonoidi olan hesperetin kullanılmış ve ratlara 21 gün boyunca subkutanöz kadmiyum uygulamasının ardından testiküler oksidatif stres markırları ve kadmiyum seviyesinin testis dokusunda arttığını ve non enzimatik antioksidanların ve membrana bağlı enzimlerin azaldığını gözlemişlerdir. Ardından oral olarak 21 gün boyunca uygulanan hesperidin sonrasında oksidatif stres markırlarının azaldığı, testisteki kadmiyum konsantrasyonlarının azaldığı, non enzimatik antioksidan ve enzimatik antioksidanların ise normal seviyelere yakın olacak şekilde arttığını gözlemlemişlerdir. Histopatolojik değerlendirmede hesperidinin IP olarak 40mg/kg uygulanmasından sonra kadmiyum toksisitesinin geri döndüğü ve normal histopatolojik testis yapısına kavuşulduğu gözlenmiştir. Sonuçta ratlarda testisteki kadmiyumun oluşturduğu oksidatif stres ve testiküler toksisitenin hesperidinin kuvvetli antioksidan etkisi ile karşı konulabileceği gösterilmiştir (196).

Trivedi ve ark. yaptığı bir çalışmada doksorubisin ile oluşan testiküler hasarın önlenmesinde hesperetin uygulanmış. Yapılan çalışmada doksorubisin ratlara 4 mg/kg/hafta olacak şekilde ardışık 5 hafta boyunca intraperitoneal olarak uygulanmış ve hesperidin 5 hafta boyunca haftada 5 gün perioral olarak sonda ile 25, 50 ve 100 mg/kg dozunda ratlara verilmiş. Doksorubisinin son enjeksiyonundan 1 hafta sonra hayvanların yaşamları sonlandırılmıştır. Çalışma sonrasında oksidatif stresin önlenmesinde hesperidinin etkisinin doksorubisin toksisitesi sonrası sperm sayısı ve

sperm morfoljisinin korunmasında daha belirgin olduğu ve nuclear factor-kappa B, p38 ve caspase-3 moleküllerinin doksorubisin kaynaklı oksidatif strese karşı koyan hesperidin fonksiyonunda etkili olduğu gözlenmiştir. Bu çalışma doksuribicin kaynaklı oksidatif stresin iyileştirilmesinde hesperidin etkili olduğunu göstermiştir (197).

Arafa ve ark. yaptığı bir çalışmada karsinogenik, teratojenik ve mutajenik etkili bir hidrokarbon olan benzo(alpha) pyrene'nin (BaP) testiküler fonksiyon üzerindeki etkilerinin önlenmesinde hesperetin uygulanmış. Swis albino cinsi ratlarla yapılan çalışmada 10 gün boyunca BaP (50 mg/kg/gün) perioral olarak uygulanmış. BaP'e bağlı toksisite histolojik ve biyokimyasal olarak gösterilmiş. Testis ağırlığında azalma, seminifer tübüllerdeki spermatogenezde piknozis, nekrobiyotik değişiklikler ve kromatoliz oluşmuş. Sperm sayısı, morfoloji ve motilitesinde bozulmayla birlikte testiküler fonksiyonu gösteren LDH, SOD, GST aktivitesinde azalma tespit edilmiş. Hesperidin 200 mg/kg/gün BaP uygulamasından sonra 10 gün boyunca verilmiş. Çalışmanın sonucunda Hesperidin uygulamasının ardından enzimatik ve spermiogramdaki fonksiyonlarda düzelme olduğu tespit edilmiştir, buna ek olarak seminifer tubüllerde oluşan piknozis ve nekrobiyotik değişikliklerin de hesperetin tedavisi alan ratlarda belirgin olarak düzeldiği saptanmıştır (198).

Testis torsiyonunun tedavisinde amaç iskemi ve reperfüzyonun bozucu etkilerini azaltmak veya yok etmektir. Burada hücre membran bütünlüğünü koruyan etkili ajanlardan birisi antioksidanlardır.

Biz bu çalışmada ratlarda deneysel testis torsiyon/detorsiyon modeli oluşturarak, testiste oluşan iskemi/reperfüzyon hasarının derecesini histopatolojik olarak dokudaki GSH, MDA, SOD, katalaz gibi belirteçlerin düzeyini ölçmek suretiyle biyokimyasal olarak belirledik ve hesperetin bu hasar üzerindeki etkilerini inceledik.

Çalışmamızda yalnızca torsiyon ve detorsiyon uygulayarak İ/R'un etkilerinin araştırıldığı dokudaki GSH, MDA, SOD, katalaz düzeyleri, gerekse histopatolojik veriler kontrol grubu ile kıyaslanmış ve bu grupta iskemi ve reperfüzyonun gerçekleştiği belirlenmiştir.

Hesperetin farklı iki dozunun uygulandığı ilaç gruplarının her ikisinde de MDA düzeyleri İ/R grubuna kıyasla düşük bulunmuştur. Bu veriler hesperetin testiste torsiyon ve detorsiyonla oluşturulan İ/R hasarının etkilerini azalttığı şeklinde yorumlanmıştır. Hesperetin verilen grupta, diğer gruplara göre hasar derecesi düşük bulunmuştur.

6.SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu deneysel çalışmada rat testiküler iskemi reperfüzyon modelinde 50 ve 100 mg/kg'lık dozlarda uygulanan Hesperetinin etkileri; doku MDA, katalaz, GSH, SOD düzeyleri ve histopatolojik incelemeler ile araştırılmıştır. İskemi ve reperfüzyonun ardından yükselen doku MDA düzeyi hesperetinin uygulanmasıyla doza bağımlı olarak düşmüştür.

Bu çalışmamızda, ilk kez olarak, bir antioksidan ve anti-inflamatuvar ajan olan hesperetinin testiküler torsiyon-detorsiyonuna bağılı olarak gelişen iskemi-reperfüzyon hasarındaki etkisi araştırılmış ve bu ilacın T/D yapılan testiste oluşan hasarı azalttığı saptanmıştır. Bu nedenle hesperetin testiküler torsiyona bağılı gelişecek iskemi reperfüzyon hasarının tedavisinde kullanılabilecek yeni bir ajan olarak gözükmemektedir. Ancak bu çalışmamızın sonuçlarını doğrulayacak başka çalışmalara ihtiyaç vardır.

7.ÖZET

Amaç: Testis torsiyonu testiste ileri düzeyde iskemiye neden olan akut seyirli, her yaşta görülebilen hızlı teşhis ve tedavi gerektiren cerrahi bir acildir. Bu durum spermatik kord katlandığında oluşarak vasküler sıkışmaya ve uzayan iskemi ile birlikte testiküler hasara neden olur. Her yaşta görülmesine rağmen sıklıkla 12-18 yaş aralığında görülür. 25 yaş altı erkeklerde testiküler torsiyonun yıllık insidansı 1/ 4000 olarak tahmin edilmektedir. Torsiyon-detorsiyon sonrası oluşan iskemi ve reperfüzyon testiküler hasara neden olur. Bu çalışmanın amacı ratlarda testis torsiyonuna bağlı gelişen iskemi reperfüzyon hasarında Hesperetinin koruyucu etkisinin araştırılmasıdır.

Yöntem: İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen 42 adet pubertal erkek Wistar-Albino ratlar çalışmada kullanıldı. Deney günü Wistar-Albino cinsi ratlar kendi aralarında randomize olarak seçilerek herbiri 7 adet rat içeren toplam altı grup oluşturuldu. Grup-1 (kontrol)'deki ratlara cerrahi işlem uygulandı, sağ testis dışarı çıkarıldıktan sonra torsiyon uygulanmadan tekrar skrotuma yerleştirildi. Grup 2 'deki ratlara cerrahi işlem uygulandı, sağ testis dışarı çıkarıldıktan sonra i.p olarak 50 mg/kg Hesperetin verilerek torsiyon uygulanmadan tekrar skrotuma yerleştirildi. Grup- 3'deki ratlara cerrahi işlem uygulandı, sağ testis dışarı çıkarıldıktan sonra i.p olarak 100 mg/kg Hesperetin verilerek torsiyon uygulanmadan tekrar skrotuma yerleştirildi. Grup-4'deki ratlara cerrahi işlem uygulandı, sağ testis dışarı alındıktan sonra torsiyone edildi. Bir saat iskemi periyodundan sonra detorsiyon işlemi uygulandı ve 4 saat reperfüzyon sağlandı. Grup-5'deki ratlarada cerrahi işlem uygulandı, sağ testis dışarı alındıktan sonra torsiyone edildi. Bir saat iskemi periyodundan sonra detorsiyon işlemi uygulandı ve 4 saat reperfüzyon sağlandı. Detorsiyondan 30 dk önce 50 mg/kg Hesperetin i.p yolla

uygulandı. Grup-6 'daki ratlarada cerrahi işlem uygulandı, Sağ testis dışarı alındıktan sonra torsiyone edildi. Bir saat iskemi periyodundan sonra detorsiyon işlemi uygulandı ve 4 saat reperfüzyon sağlandı. Detorsiyondan 30 dk önce 100 mg/kg Hesperetinin i.p yolla uygulandı. Dört saat reperfüzyon uygulamasından sonra anestezi altındaki ratlara orşiyektomi operasyonu yapıldı. Deney sonunda alınan testis dokusunda reperfüzyon hasarının derecesi doku malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutasyon peroksidaz (GSH) düzeyleri ölçümü ile değerlendirildi. $P<0.001$ anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular: İ/R yapılan grupta (grup 4) testis TBARS değerlerinin; kontrol grubu (grup 1) ve hesperetin verilen tedavi gruplarına (grup5-6) göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı tespit edilmiştir.($p<0,001$). İ/R ile hesperetinin birlikte uygulandığı tedavi gruplarında (grup5-6) artan TBARS düzeyinde anlamlı azalma olduğu saptanmıştır. Yapılan ölçümler sonucunda testis SOD enzim aktivite düzeyleri; İ/R uygulanan grupta (grup-4) anlamlı oranda azalmıştır($p<0.001$). Yapılan ölçümler sonucunda testis CAT enzim aktivite düzeyleri İ/R uygulanan grupta (grup-4) istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşmüştür ($p< 0.001$). İ/R grubunda azalan CAT enzim aktivitesi Hesperetin uygulaması ile anlamlı şekilde artmıştır. İ/R yapılan grupta testis GSH düzeyi anlamlı şekilde düşmüştür ($p<0,001$). Hesperetin uygulaması ise İ/R grubunda azalan GSH düzeyini arttırmıştır.

Sonuç: Rat testiküler iskemi reperfüzyon modelinde 50 ve 100 mg/kg'lık dozlarda uygulananhesperetinin reperfüzyon hasarını doza bağımlı olarak azalttığı kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: Hesperetin, testis torsiyonu, testis detorsiyonu, iskemi reperfüzyon hasarı, rat

8.SUMMARY

Objective: Testicular torsion causes acute ischemia of testis; it can be seen any ages and it requires rapid diagnosis and treatment. Spermatic cord consists of folded. Ischemia and testicular damage are caused by vascular occlusion. Testicular torsion is more common in between 12-18 years old, but it can be seen any years. Annual incidence of testicular torsion in men under the age of 25, 1/4000 is estimated to be. Damage caused by reperfusion causes testicular torsion and detorsion. The purpose of this study is due to torsion of testicular ischemia reperfusion injury in rats to investigate the protective effect of hesperetin.

Material and Methods: Inonu University Faculty of Medicine was approved by the Ethics Committee in Animal Experiments. Wistar-Albino rats were used to study. 42 rats were used. These rats were male and weights ranged from 250-300 g. Wistar-Albino rats were randomly selected among themselves. Each of the six groups were a total of 7 rats. The rats in the first group was surgical procedure (control group). The right testis was taken out and placed in the scrotum without torsion. The rats in the second group underwent surgery. The right testis was removed out of the scrotum. Hesperetin i.p. 50 mg / kg were given and and placed in the scrotum without torsion. The rats in the third group underwent surgery. The right testis was removed out of the scrotum. Hesperetin i.p. 100 mg / kg were given and and placed in the scrotum without torsion. The rats in the fourth group underwent surgery. The right testis was removed out of the scrotum. Torsion of the right testis was performed. An hour after a period of ischemia followed by detorsion and 4 hours of reperfusion was achieved. The rats in the fifth group underwent surgery. The right testis was removed out of the scrotum. Torsion

of the right testis was performed. An hour after a period of ischemia followed by detorsion and 4 hours of reperfusion was achieved. 30 minutes before of detorsion 50 mg / kg hesperetin ip. administered. The rats in the sixth group underwent surgery. The right testis was removed out of the scrotum. Torsion of the right testis was performed. An hour after a period of ischemia followed by detorsion and 4 hours of reperfusion was achieved. 30 minutes before of detorsion 100 mg / kg hesperetin ip administered. Orchiectomy was performed in anesthetized rats. Degree of testicular tissue reperfusion injury of tissue; malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH) levels were evaluated by measuring. $P < 0.001$ was considered significant.

Results: I/R in the group (the fourth group), control group (the first), the treatment groups of hesperetin (fifth, sixth groups) were compared, the fourth group were significantly increased TBARS value. Co-administered with I/R treatment groups hesperetin (fifth, sixth groups); increased TBARS levels were significantly decreased. SOD enzyme activity levels were significantly decreased in the group undergoing testicular I/R (the fourth group) ($p < 0.001$). CAT enzyme activity levels were statistically significantly decreased in the group I/R (the fourth group) ($p < 0.001$). CAT enzyme activity was reduced IR group were significantly increased with the application of hesperetin. GSH levels were significantly decreased in the IR group ($p < 0.001$). GSH levels decreased in the IR group increased application of hesperetin.

Conclusions: Rat testicular ischemia-reperfusion model, 50 and 100 mg / kg doses, a dose-dependent decrease reperfusion injury concluded that the hesperetin.

Keywords: Hesperetin, testicular torsion, testicular detorsion, ischaemia-reperfusion injury, rats

9.KAYNAKLAR

- 1- Graham SD. Glenn Ürolojik Cerrahi. (6.basım). Ankara.(2006). Güneş Kitabevi.
- 2- Newhouse JH, Sandler CM, Dunnick NR, Amis ES.Üroradyoloji. İstanbul. Nobel Tıp Kitabevi.(2006), s:374-375
- 3-Becker EJ, Turner TT. Endocrine and exocrine effects of testicular torsion in the prepubertal and adult rat. J Androl;1995;16:342-51
- 4- Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D. Antioxidant Therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. Pharmacol Rev 2001;53: 135-59
- 5- Garg A, Garg S, Zaneveld LJD, Singla AK. Chemistry and pharmacology of the Citrus bioflavonoid hesperidin, Phytother. Res.2001;15, 655-669
- 6- Knekt P, Kumpulainen J, Jarvinen R, Rissanen H, Heliovaara M, Reunanen A, Hakulinen T, Aromaa A. Flavonoid intake and risk of chronic diseases, Am.J. Clin. Nutr.2002;76, 560-568
- 7- Kohno H, Taima M, Sumida T, Azuma Y, Ogawa H, Tanaka T. Inhibitory effect of mandarin juice rich in b-cryptoxanthin and hesperidin on 4- (methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced pulmonary tumorigenesis in mice, Cancer Lett.2001;174 (2), 141-150
- 8- Deng W, Fang X, Wu J. Flavonoids function as antioxidants: By scavenging reactive oxygen species or by chelating iron?, Radiat. Phys. Chem.1997;50 (3), 271-276
- 9- Chen Y, Shen S, Lin H. Rutinoside at C7 attenuates the apoptosis-inducing activity of flavonoids, Biochem. Pharm, 2003;66, 1139-1150
- 10- Labib S, Erb A, Kaus M, Wickert T, Richling E. The Pig Caecum Model: A Suitable Tool to Study the Intestinal Metabolism of Flavonoids, Mol. Nutr. Food Res.2004;48, 326-332
- 11- Justesen U, Arrigoni E, Larsen BR, Amado R. Degradation of Flavonoid Glycosides and Aglycones During in vitro Fermentation with Human Faecal Flora, Lebensm. Wiss. Technol,2000;33 (6), 424- 430
- 12- Del Caro A, Piga A, Vacca V, Agabbio M. Changes in flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage, Food Chem.2004;84 (1), 99-105

- 13- Peng Y, Liu F, Ye J. Quantitative and qualitative analysis of flavonoid markers in *Fructus aurantii* of different geographical origin by capillary electrophoresis with electrochemical detection, *J. Chrom. B.* 2006;830, 224-230
- 14- Ortuño A, Reynaldo IO, Fuster MD, Botía J, Puig DG, Sabater F, Lidón AG., Porras I, Del Río JA. Citrus cultivars with high flavonoid contents in the fruits, *Sci. Hortic.* 1997;68 (1-4), 231-236
- 15- Nogata Y, Sakamoto K, Shiratsuchi H, Ishii T, Yano M, Ohta H. Flavonoid composition of fruit tissues of Citrus species, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2006;70 (1), 178-192
- 16- Del Río JA, Fuster MD, Gomez P, Porras I, Garcia-Lidon A, Ortuno A. Citrus limon: a source of flavonoids of pharmaceutical interest, *Food Chem.* 2004;84(3), 457-461
- 17- Erlund I, Meririnne E, Alfthan G, Aro A. Plasma kinetics and urinary excretion of the flavanones naringenin and hesperitin in humans after ingestion of orange juice and grapefruit juice, *Human Nutrition and Metabolism*, 2001;131, 235-241
- 18- Kanaze FI, Gabrieli C, Kokkalou E, Georgarakis M, Niopas I. Simultaneous reversed-phase high-performance liquid chromatographic method for the determination of diosmin, hesperidin and naringin in different citrus fruit juices and pharmaceutical formulations, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2003;33, 243-249
- 19- Vanamala J, Reddivari L, Yoo KS, Pike LM, Patil BS. Variation in the content of bioactive flavonoids in different brands of orange and grapefruit juices, *J. Food Compost. Anal.* 2006;19 (2-3), 157-166
- 20- Tanagho EA, McAninch JW. *Smith's General Urology*. New York, The McGraw – Hill Companies, 2000:750-787
- 21- Klinik Androloji, Ankara, Ankara Üniversitesi Basımevi, 2000:1-20
- 22- Adams MC, Alfert HJ, MD et al. (2005). *Campbell Üroloji*. Güneş Kitabevi. (8. basım), s:76-78
- 23- Hanley HG, Harrison RG. Nature and surgical treatment of varicocele. *Br J Surg* 1962;50:64.
- 24- Neuhof H, Mencher WH. The viability of the testis following complete severance of the spermatic cord. *Surg Gynecol Obstet* 1960;8:672
- 25- Burdick CG, Higinbotham NL. Division of the spermatic cord as an aid in operating on selected types of inguinal hernia. *Ann Surg* 1935;102:863

- 26- Pettersson S, Soderholm B, Persson JE, et al: Testicular blood flow in man measured with versus occlusion plethysmography and xenon-133. *Scand J Urol Nephrol* 1973;7:115-119.
- 27- Jarow JP. Intratesticular arterial anatomy. *J Androl*. 1990;11(3):255-9.
- 28- Fowler R, Stephens FD. The role of testicular vascular anatomy in the salvage of high undescended testes. *Aust New Zeal J Surg*. 1959;29:92-106
- 29- Chehval MJ, Purcell MH. Deterioration of semen parameters over time in men with untreated varicocele: Evidence of progressive testicular damage. *Fertil Steril*. 1992;57(1):1747.
- 30- Steinberger E, Tjioe DY. Spermatogenesis in rat testes after experimental ischemia. *Fertil Steril*. 1969;20(4):639-49.
- 31- Shafik A, Moftah A, Olfat S, Mohi-el-Din M, el-Sayed A. Testicular veins: anatomy and role in varicocelogenesis and other pathologic conditions. *Urology*. 1990;35(2):175-82.
- 32- Coolsaet BL The varicocele syndrome: venography determining the optimal level for surgical management. *J Urol*. 1980;124(6):833-9.
- 33- Turek PJ, Lipshultz LI. The varicocele controversies. I. Etiology and pathophysiology. AUA update series, Vol.14, Lesson 13. Baltimore: American Urological Association; 1995. P.106-11.
- 34- Harrison RG: The comparative anatomy of the blood supply of the mammalian testis. *Proc Zool Soc London* 1949a;119:325-344.
- 35- Bayard F, Boulard PY, Huc A, Pontonnier F; Arterio-venous transfer of testosterone in the spermatic cord of man. *J Clin Endocrinol Metab* 1975;40:345.
- 36- Agger P: Scrotal and testicular temperature: Its relation to sperm count before and after operation for varicocele. *Fertil Steril* 1971;22:286-297
- 37- Wishahi MM. Anatomy of the venous drainage of the human testis: testicular vein cast, microdissection and radiographic demonstration. A new anatomical concept. *Eur Urol*. 1991;20(2):154-60.
- 38- Rauchenwald M, Steers WD, Desjardins C: Efferent innervation of the rat testis. *Biol Reprod* 1995;52:1136-1143.
- 39- Skandalakis JE, Skandalakis LJ, Colborn GL. Testicular atrophy and neuropathy in herniorrhaphy. *Am Surg* 62(9):775-782, 1996.

- 40-Taguchi K, T sukamoto, Murakami G:Anatomical studies of the autonomic nervous system in the human pelvis by the whole mount staining method:Left-right communicating nerves between bilateral pelvic plexues.J Urol 1999;161:320-325.
- 41-Sadler TW. (2005). Langman Medikal Embriyoloji. Ankara. (9.basım). Palme yayıncılık, s:330-349 .
- 42-Moore KL, Persaud TVN. (2009). Klinik yönleriyle İnsan Embiyolojisi.(8.basım).Nobel yayıncılık, s:263-281.
- 43-Eşrefoğlu M.(2009). Özel Histoloji. Malatya. Medipres yayıncılık, s:253-264.
- 44-Carneiro J, Junqueira CL.(2006). Temel Histoloji text &atlas .Nobel yayıncılık,s:431-441.
- 45-Kierszenbaum AL. (2006). Histoloji ve Hücre Biyolojisi, patolojiye giriş. Ankara. Palme yayıncılık, s:554.
- 46-Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N. (2007). Temel Üroloji (3.baskı).Ankara. Güneş tıp yayınevi, s:17.
- 47-Delasiauve L.JF: Descente tardive du testicule gauche, prise pour une hernie étranglée. Rev Med Fr Etrang 1840; 1: 363.
- 48-Saba M, Morales CR, De Lamirande E, et al: Morpho-logical and biochemical changes following acute unilateral testicular torsion in prepubertal rats. J Urol 157:1149, 1997
- 49-Murphy JP: The acute scrotum. Ziegler MM, Azizkhan RG, Weber TR (ed): OperativePediatric Surgery, McGraw-Hill Companies, New York, 2003, pp.563-568
- 50- Yagmurdur H, Ayyıldız A, Karaguzel E, Ogus E, Surer H, Caydere M, Nuhoglu B, Germiyanoglu C. The preventive effects of thiopental andpropofol on testicular ischemia-reperfusion injury
- 51-Tijoe DY, Steinberger E. A quantitative study of the effect of ischemia on the germinalepithelium of the rat testes. J Reprod Fert 21: 489, 1970
- 52-Turner TT, Brown KJ. Spermatid cord torsion: loss of spermatogenesis despite return of blood flow. Biol Reprod 1993; 49:401–407.
- 53-Nussbaum Blask AR, Bulas D, Shalaby-Rana E, Rushton G, ShaoC, MajdM. Color Doppler sonography and scintigraphy of the testis:a prospective,comparative analysis in children with acute scrotalpain. Pediatr Emerg Care2002; 18: 67–71.
- 54-McAndrew HF, Pemberton R, Kikiros CS, Gollow I. The incidence andinvestigation of acute scrotal problems in children. Pediatr Surg Int 2002; 18:435-7

- 55- Caesar R, Kaplan G. Incidence of the bell clapper deformity in an autopsy series. *Urology* 44: 114, 1994
- 56- Hutson JM: Undescended Testis, Torsion and Varicocele. In O'Neill JA, Rowe MI, Grosfeld JL et al (eds): *Pediatric Surgery*, Mosby, St. Louis, 1998, pp.1087-1109
- 57- Ringdahl E, Teague L. Testicular torsion, *Am Fam Physician* 2006;15:74,10:1739-1743
- 58-Marshall JC, Tanner JM: Variations in pattern of pubertal changes in boys . *Arch Dis Child* 1980;45:13
- 59- Ringler HC: Torsion of intra-abdominal testes. *Surg Clin North Am* 1972;53:371.
- 60- Davol P, Simmons J. Testicular torsion in a 68-year-old man. *Urology* 2005;66: 195.
- 61- Stehr M, Boehm R. Critical validation of colour Doppler ultrasound diagnostics of acute scrotum in children. *Eur J Pediatr Surg* 2003; 13:386–92.
- 62- Williams CR, Heaven KJ, Joseph DB. Testicular torsion: is there a seasonal predilection for occurrence? *Urology* 2003; 61: 638–41.
- 63- Pentyala S, Lee J, Yalamanchili P, Vitkun S et al. Testicular torsion: A review. *J LowUrin Tract Dis* 2001;5(1):38-47
- 64- Shukla RB. Association of cold weather with testicular torsion. *Br Med J* 1982; 285:1459 60
- 65- Sade M, Esen A, Çelebi İ, Mungan U. Ürogenital sistemin acil yaklaşım gerektiren hastalıkları. *Temel Üroloji*, Güneş Kitabevi, Ankara, 1998;963
- 66- Rabinowitz R, Hulbert WC: Acute scrotal swelling. *Urol Clin North Am.* 22: 101-105, 1995
- 67- Anderson JB, Williams RC: Fertility after torsion of spermatic cord. *Br J Urol* 65: 225-230,1990
- 68- Miller, D.C Effects of hypothermia on testicular ischemia. *J.Urol*, 143:1046,1990
- 69- Smith,G.:Cellular changes from graded testicular ischemia.*J.Urol.*,73:355,1955
- 70- Williamson RCN. Torsion of the testis and allied conditions. *Br J Surg* 63: 465, 1976
- 71- Barada IH, Weingarten JL, Cromie WJ. Testicular salvage and age-related delay in the presentation of testicular torsion. *J Urol* 142: 746, 1989
- 72- Bartsch G, Frank S, Marberger H, Mikuz G. Testicular torsion: late results with special to fertility and endocrine function. *J Urol* 124: 375, 1980

- 73- Melekos M, Asbach H, Markou S. Etiology of the acute scrotum with regard to distribution. J Urol 139: 1023, 1988
- 74- Anderson J.B., Williamson, R.C.N., 1988. Testicular torsion in Bristol: a 25-year review. Br. J. Surg. 75, 988-992.
- 75- Cuckov PM and Frank JD. Torsion of the testis, BJU. International, 86 (2000)349-353
- 76- Scorer CG, Farrington GH: Congenital Deformities of the Testis and Epididymis. New York, Apleton-Century-Crofts, 1971
- 77- Krarup T: The testes after torsion. Br J Urol 1978;50:43-6
- 78- Cummings JM, Boullier JA, Sekhon D, Bose K: Adult testicular torsion. J Urol; 167: 2109-2110, 2002.
- 79- Callewaert PR, Van Kerrebroeck P. New insights into perinatal testicular torsion. Eur J Pediatr. 2010 Jun;169(6):705-12. Epub 2009 Oct 25.
- 80- Backhouse KM. Embryology of testicular descent and maldescent. Urol Clin North Am 9: 315, 1982
- 81- Knight PJ, Vassy LE. The diagnosis and treatment of the acute scrotum in children and adolescents. Ann Surg 200; 664, 1984
- 82- Stone KT, Kass EJ, Cacciarelli AA, Gibson DP: Management of suspected antenatal torsion: What is the best strategy? J Urol 1995; 153:782
- 83- Giacomantonio, M.: Torsion of the testicle in the newborn. Can. J. Surg., 24: 14, 1981
- 84- La Quaglia, M.P: Bilateral neonatal torsion. J. Urol., 123: 293, 1980.
- 85- Albayrak S, Göktaş C, Cangüven Ö. ve Horuz R. Testis torsiyonunun erişkinde görülen nadir şekli : Ekstravajinal testis torsiyonu, Türk Üroloji Dergisi 30,4 (2004), 474–475.
- 86- Lysiak JJ, Nguyen QA, Turner TT: Peptide and nonpeptide reactive oxygen scavengers provide partial rescue of the testis after torsion. J Andro 2002;23: 400-9
- 87- Burton JA: Atrophy following testicular torsion. Br J Surg 1972;59:422
- 88- Macnicol MF: Torsion of the testis in childhood. Br J Surg 1974;61:905
- 89- Sparks JP: Torsion of the testis in adolescents and young adults. Clin Pediatr 1972;11:484
- 90- Korbel EL: Torsion of the testis . J Urol 1974;111:255.
- 91- Dresner M: Torsed appendage: Blue dot sign . Urology 1973;1:63

- 92- Kuremu RT. Testicular torsion: case report. East Afr Med J 2004; 81: 274–6.
- 93-Prater JM, Overdorf BS. Testicular torsion: a surgical emergency. Am Fam Physician 1991;44:834-40
- 94-Zilberman D, Inbar Y, Heyman Z et al. Torsion of the cryptorchid testis –can it be salvaged? J Urol 2006; 175: 2287–9.
- 95- Ciftci AO, Senocak ME, Tanyel FC, Buyukpamukcu N. Clinical predictors for differential diagnosis of acute scrotum. Eur J Pediatr Surg 2004; 14:333–8.
- 96- Turner TT, Bang HJ, Lysiak JL. The molecular pathology of experimental testicular torsion suggests adjunct therapy to surgical repair 2004 J Urol 172:2574–2578.
- 97-Fonkalsrud EW. Testicular undescend and torsion. Pediatr Clin North Am 1987;34(5):1305-17
- 98- Anderson J, Williamson R. Testicular torsion in Bristol: a 25 year review. Br J Surg 1988; 75: 988 +92
- 99- Lavallee ME, Cash J. Testicular torsion: evaluation and management. Curr Sports Med Rep 2005; 4: 102–4.
- 100- Rabinowitz R: The importance of the cremasteric reflex in acute scrotal swelling in children. J Urol 1984; 132: 89-90.
- 101-Noske HD, Kraus SW, Altinkilic BM, Weidner W. Historical milestones regarding torsion of the scrotal organs. J Urol 159: 13-16, 1998.
- 102- Bourne HH, Lee RE. Torsion of spermatic cord and testicular appendages. Urology 5: 73-75, 1975.
- 103-Stillwell TJ, Kramer SA. Intermittent testicular torsion. Pediatrics 77: 908-911, 1986.
- 104-Rabinowitz R: The importance of the cremasteric reflex in acute scrotal swelling in children, J. Urol 11984;32, 89-90.
- 105-Karamazyn B, Steinberg R, Kornreich L: Clinical and sonographic criteria of acute scrotum in children: a retrospective study of 172 boys, Pediatric, Radiol 2005;35, 302-10.
- 106-Schmitz G, Lepper H, Estler CJ: Failure of calcium antagonist agents to prevent hepatotoxicity induced by diclofenac. Pharmacol Toxicol 77(1):32-35, 1995
- 107-Al-Tuwarijri AS, Mustafa AA: Verapamil enhances the inhibitory effect of diclofenac on the chemiluminescence of human polymorphonuclear leukocytes and carrageenan-induced rat's paw oedema. In J Immunopharmacol 145(1):83-91, 1992

- 108-Tryfonas G, Violaki A, Tsikopoulos G et al. Late postoperative results inmales treated for testicular torsion during childhood. *J Pediat Surg* 1994; 29:553± 6
- 109-Williamson RC, Thomas WE. Sympathetic orchidopathia. *Ann R Coll Surg Engl* 66: 264 266, 1984.
- 110-Visser AJ, Heyns C.F, Testicular function after torsion of the spermatic cord,BJU. *Int*, Augst 2003, 92 (3), 200 – 3.
- 111- Akgur FM, Kılınç K, Tanyel FC, Büyükpamukçu N,Hiçsönmez A: Ipsilateral and contralateral testicular biochemicalacute changes after unilateral testicular torsion and detorsion. *Urology*. 44: 413-418, 1994.
- 112-Coley BD. The Acute Pediatric Scrotum. *UltrasoundClin* 1: 485-496, 2006.
- 113-Heindel RM, Pakyz RE, Reinking LN, Cosentino MJ. The effect of various degrees of unilateral spermatic cord torsion on fertility in the rat. *J Urol* 1990;144(2):366-9
- 114-Turner TT. Acute experimental testicular torsion: no effect on the contralateral testis. *JAndrol* 1985;6(1):65-72
- 115-Janetschek G, SchreckenberG F, Grimm W, Marberger M. Hemodynamic effects ofexperimental testicular torsion. *Urol Res* 1987;15:303-6
- 116-Lee SK, Shen CY, Gueng MK, Su YC. Using gray-scale and color Dopplerultrasound for testicular torsion diagnosis and outcome analysis. *UltrasoundMed Biol* 2006; 32: 230–1.
- 117-Mernagh JR, Caco C, De Maria J. Testicular torsion revisited. *Curr ProblDiagn Radiol* 2004; 33: 60–73.
- 118-Nussbaum Blask AR, Rushton HG. Sonographic appearance of theepididymis in pediatric testicular torsion. *AJR Am J Roentgenol* 2006; 187:1627–35.
- 119-Baker LA, Sigman D, Matthews RI, et al: An analysis of clinical outcomes using colorDoppler testicular ultrasound for testicular torsion. *Pediatrics* 2000; 105: 604-607.
- 120-Baud C, Veryac C, Couture A et al: Spiral twist of the spermatic cordon:areliable sign of testicular torsion . *Paediatric Radiology* 1998;28:950-953.
- 121-Acre JD, Cortes M, Vargas JC: Sonographic diagnosis of spermatic cord torsion.Rotation of the cord: a key to diagnosis *Pediatric Radiol* 2002;32: 485-91.
- 122- Atkinson GO Jr, Patrick LE, Ball TI Jr,et al: The normal and abnormal scrotum in children: Evaluation with color Doppler sonography. *Am J Roentgenol* 1992;138:613.
- 123-Kaipia A, Ryymin P, Makela E, Aaltonen M, Kahara V, Kangasniemi M.Magnetic resonance imaging of experimental testicular torsion. *Int J Androl*2005; 28: 355–9.

- 124-Wu HC, Sun SS, Kao A, Chuang FJ, Lin CC, Lee CC. Comparison of radionuclide imaging and ultrasonography in the differentiation of acute testicular torsion and inflammatory testicular disease. Clin Nucl Med 2002;27: 490–3.
- 125-Palitel HJ, Connolly LP, Atala A, et al: Acute scrotal symptoms in boys with indetermined clinical presentation: comparison of color doppler sonography and scintigraphy Radiology.1998; 207: 223-231.
- 126-Middleton WD, Siegel BA, Melson GL, Yates CK, Andriole GL: Acute scrotal disorders: prospective comparison of color Doppler US and testicular scintigraphy.Radiology 1990; 177: 17781.
- 127- Filho DW, Moacir A. Torres, Andre L.B. Bordin, Tania B. Crezcynski-Pasa, Alberto Boveris. Spermatic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia reperfusion injury. Molecular Aspects of Medicine 25 (2004) 199–210.
- 128-May Al-Maghrebia, Elijah O. Kehinde b, Jehoram T. Anim. Long term testicular ischemia–reperfusion injury-induced apoptosis: Involvement of survivin down-regulation. Biochemical and Biophysical Research Communications 395 (2010) 342–347.
- 129-Çağlayan O, Çağlayan F, Günel E, et al: İntestinal iskemi-reperfüzyonun doku çinko düzeyine etkisi. Genel Tıp Dergisi 8:9, 1998
- 130-Kumar V, Cotran R, Robbins SL. Basic Pathology. 6th ed 2000:P:6-10,30-36
- 131-Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB: Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. Am J Surg 161:488-503,1991
- 132-Palmer JS, Cromie WJ, Plzak LF, et al: A Platelet activating factor antagonist attenuates the effects of testicular ischemia. J Urol. 158: 1186-90, 1997.
- 133-Plante GE, Sirois P, Braguet P: Platelet activating factor antagonism with BN 52021 protects the kidney against acute ischemic injury. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 34: 53-60, 1998.
- 134- Nagler HM, White RD: The effect of testicular torsion on the contralateral testis. J Urol. 128: 1343-8, 1982.
- 135-Ozturk H, Buyukbayram H, Ozdemir E, et al: The effects of nitric oxide on the expression of cell adhesion molecules (ICAM-1, UEA-1, and tenascin) in rats with unilateral testicular torsion. J Pediatr Surg; 38:1621- 1627, 2003.

- 136-Prillaman HM, Turner TT: Rescue of testicular function after acute experimental torsion. *J Urol*. 157: 340-345, 1997
- 137-Unsal A, Devrim E, Guven C, et al: Propofol attenuates reperfusion injury after testicular torsion and detorsion. *World J Urol*; 22: 461-465, 2004.
- 138-Mogilner JG, Lurie M, Coran AG, Nativ O, Shiloni E, Sukhotnik I: Effect of diclofenac on germ cell apoptosis following testicular ischemia-reperfusion injury in a rat. *Pediatr Surg Int*. 22: 99-105, 2006.
- 139-Grace PA. Ischemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994;81:637-47
- 140- Akgür FM, Kılınç K, Aktuğ T. Reperfusion injury after detorsion of unilateral testicular torsion. *Urol Res* 21: 395, 1993
- 141- Kandilci HB, Gümüşel B: Akciğerlerde iskemi-reperfüzyon hasarı ve iskemik önkoşullanma. *Hacettepe Üniversitesi. Eczacılık Fakültesi Dergisi* 25:35, 2005
- 142- Granger DN. Ischemia-reperfusion: mechanisms of microvascular dysfunction and the influence of risk factors for cardiovascular disease. *Microcirculation* 1999 6:167-178
- 143- Zamboni WA, Roth AC, Russel RC, et al: Morphologic analysis of the microcirculation during reperfusion of ischemic skeletal muscle and the effect of hyperbaric oxygen. *Plast. Reconstr. Surg*. 91 (6): 1110-23, 1993.
- 144- Aksoy H, Yapanoglu T, Aksoy Y, Ozbey I et al. Dehydroepiandrosterone treatment attenuates reperfusion injury after testicular torsion and detorsion in rats. *J Pediatr Surg* 2007;42:1740-4
- 145- Dokmeci D, Kanter M, Inan M, Aydogdu N et al. Protective effects of ibuprofen on testicular torsion/detorsion-induced ischemia reperfusion injury in rats. *Arch Toxicol* 2007;81:655-63
- 146- Salmasi AH, Beheshtian A, Payabvash S, Demehri S et al. Effect of morphine on ischemia-reperfusion injury: experimental study in testicular torsion rat model. *J Urology* 2005;66:1338-42
- 147- Koc A, Narci A, Duru M, Gergerlioglu HS et al. The protective role of erdosteine on testicular tissue after testicular torsion and detorsion. *Mol Cell Biochem* 2005;280:193-9
- 148- Uz E, Sogut S, Sahin S, Var A, et al. The protective role of caffeic acid phenethyl ester on testicular tissue after testicular torsion and detorsion. *World J Urol* 2002;20:264-270

- 149- Sarica K, Bakir K, Yagci F, Erbagci A, et al. Unilateral testicular torsion: protective effect of verapamil on contralateral testicular histology. *Urol Int* 1999;62:159–163
- 150- Tapuria N, Kumar Y, Habib MM, et al: Remote ischemic preconditioning: a novel protective method from ischemia reperfusion injury-a review. *JSR* 150:304, 2008
- 151- Szabo C, Dawson VL. Role of poly (ADP-ribose) synthetase in inflammation and ischemia-reperfusion. *Trends Pharmacol Sci* 19: 287, 1998
- 152- Tentori L, Portarena I, Graziani G. Potential clinical applications of poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitors. *Pharmacol Res* 45: 73, 2002
- 153- Akgur F, Kilinc K, Aktug T, Olguner M: The effect of allopurinol pretreatment before detorting testicular torsion. *J Urol* 1994;151:1715–1717
- 154- Cosentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, Cockett ATK. Histological changes occurring in the contralateral testes of prepubertal rats subjected to various durations of unilateral spermatic cord torsion. *J Urol* 1985;133:906-11
- 155- Turner TT, Tung KS, Tomomasa H, Wilson LW. Acute testicular ischemia results in germ cell-specific apoptosis in the rat. *Biol Reprod* 1997;57:1267–74
- 156- Bozlu M, Coskun B, Cayan S, Acar D, Aktas S, Ulusoy E, Akbay E: Inhibition of poly(adenosine diphosphate-ribose) polymerase decreases long-term histologic damage in testicular ischemia-reperfusion injury. *Urology* 2004;63:791-795
- 157- Shiraishi K, Naito K, Yoshida K: Nitric oxide promotes germ cell necrosis in the delayed phase after experimental testicular torsion of rat. *Biol Reprod* 2001;65: 514–521
- 158- Pakyz RE, Heindel RM, Kallish M, et al: Spermatic cord torsion: effects of cyclosporine and prednisone on fertility and the contralateral testis in the rat. *J Androl* 11:401, 1990
- 159- Eaton SH, Cendron MA, Estrada CR, Bauer SB, Borer JG, Cilento BG, Diamond DA, Retik AB, Peters CA. Intermittent testicular torsion: diagnostic features and management outcomes. *J Urol.* 174: 1532-1535, 2005.
- 160- Johnston BI, Wiener JS. Intermittent testicular torsion. *BJU Int* 2005; 95: 933–4.
- 161- Bellinger MF, Abramovitz H, Brantley S, Marshall G: Orchiopexy: an experimental study of the effect of surgical technique on testicular histology, *J. Urol* 1989;142 :553-555.

- 162- Baker LA, Turner TT: Leyding cell function after experimental testicular torsion despite loss of spermatogenesis. *J Androl.* 16: 12-17, 1995.
- 163- Rabinowitz: The importance of the cremasteric reflex in acute scrotal swelling in children, *J. Urol* 11984;32, 89-90.
- 164- Bachschmid M, Schildknecht S, Ullrich V. Redox regulation of vascular prostanoid synthesis by the nitric oxide-superoxide system. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;338:536-542.
- 165- Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev* 1994;74:139-162.
- 166- Kruszewski M. Labile iron pool: the main determinant of cellular response to oxidative stress. *Mutat Res* 2003;531:81-92
- 167- Zwart LL, Meerman JHN, Commandeur JNM, et al. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radic Biol Med* 1999;26:202-226.
- 168- Rangan U, Bulkley GB. Prospects for treatment of free radical-mediated tissue injury. *Br Med Bull* 1993;49:700-718
- 169- McCord JM, Edeas MA. SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision. *Biomed Pharmacother* 2005;59:139-142
- 170- Yapar SB, Eskiocak S. (2006.) Alfa lipoik asidin rat karaciğer homojenatlarında indüklenmiş lipid peroksidasyonuna etkisi, Uzmanlık Tezi. Trakya Üniversitesi: Edirne.
- 171- Chamberlain CG, Mansfield KJ, Cerra A. Nitric oxide, a survival factor for lens epithelial cells. 2008;14: 983-991.
- 172- Yalçın AS. Antioksidanlar. *Klinik Gelişim* II, 1998;342-346.
- 173- Slater T. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J.* 1984;222: 1-15.
- 174- Griffiths HR, Moller L, Bartosz G, et al. Biomarkers. *Mol Aspects Med.* 2002;23:101-208
- 175- Tommasini S, Calabro ML, Stancanelli R, Donato P, Costa C, Catania S, Villari V, Ficarra P, Ficarra R, The inclusion complexes of hesperitin and its 7-rhamnoglucoside with (2-hydroxypropyl)- β -cyclodextrin, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 39, 572-580 (2005)
- 176- Kometani T, Nishimura T, Nakae T, Takii H, Okada S, Synthesis of neohesperidin glycosides and naringin glycosides by cyclodextrin gluconotransferase from an alkalophilic *Bacillus* Species, *Biosci. Biotech. Biochem.* 60, 645-649 (1996)

- 177- Kanaze FI, Kokkalou E, Georgarakis M, Niopas I, Validated highperformanceliquid chromatographic method utilizing solid-phase extraction forthe simultaneous determination of naringenin and hesperetin in human plasma, J.Chromatogr. B, 801 (2), 363-367 (2004)
- 178-Kawaguchi K, Mizuno T, Aida K, Uchino K, Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas and Pseudomonas, Biosci. Biotech. Biochem., 61, 102-104 (1999)
- 179-Grohmann K, Manthey JA, Cameron RG, Acid-catalyzed hydrolysis of hesperidin at elevated temperatures, Carbohydr. Res, 328 (2), 141-146 (2000)
- 180-Meyer OC, Safety and security of Daflon® 500 mg in venous insufficiency and haemorrhoids diseases, Angiology, 45, 579-584 (1994)
- 181-Yang M, Tanaka T, Hirose Y, Deguchi T, Mori H, Kawadan Y.Chemopreventive effects of diosmin and hesperidin on N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine induced urinary bladder carcinogenesis in male ICR mice, Int. J. Can. 73, 719-724 (1997)
- 182-Tanaka T, Makita H, Ohnishi M, Hirose Y, Chemoprevention of 4- nitroquinoline 1-oxide-induced oral carcinogenesis by dietary curcumin and hesperidin: Comparison with protective effects of beta carotene, Cancer Res, 54, 4653-4659 (1994)
- 183- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. (1979). Assay for lipit peroxides in animal tissues bythiobarbituric acid reaction. Anal Biochem 95: 351-358.
- 184-Sun Y, Oberley LW, Li Y, (1988). A simple method for clinical assay of superoxidedismutase. Clin Chem 34: 497-500.
- 185-Beutler E. (1975). Red cell metabolism. In: A Manual of Biochemical Methods. New York: Grune Strottan Sayfa: 67-69.
- 186-Aebi H. (1984). Catalase in vitro assay methods. Methods Enzymol 105: 121-126.
- 187-Ellman G. (1959). Tissue sulphydryl groups. Arch Biochem Biophys 82: 70-77.
- 188-Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. (1951). Protein measurement with pholinphenol reagent. J Biol Chem 193: 265-275.
- 189-Trainer TD. Testis and Excretory Duct System. In: Mills SE. Histology for Pathologists. Lippincott Williams&Wilkins 2007: 943-961
- 190- Menger MD, Rücker M, Vollmar B. Capillary dysfunction in striated muscleischemia/reperfusion: On the mechanisms of capillary “no-reflow ”. Shock 8: 2-7,1997
- 191- Abasiyanik A, Dagdönderen L. Beneficial effects of melatonin compared with allopurinol in experimental testicular torsion. J Pediatr Surg 2004; 39:1238–1241.

- 192- Salmasi AH, Payabvash S, Beheshtian A et al. Protective effects of sildenafil administration on testicular torsion /detorsion damage in rats. Eur Urol Suppl 2006; 5: 302.
- 193-Doğan F. (2011). Deneysel sıçan varikosel modelinde varikoselin oluşturduğu testiküler hasar üzerine diosmin-hesperidinin etkileri, Uzmanlık Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Üroloji Ana Bilim dalı, Isparta
194. Dağlı C. (2011). Deneysel olarak renal iskemi-reperfüzyon oluşturulan sıçanlarda diosmin ve hesperidinin etkisi, Uzmanlık Tezi. Trakya Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Edirne
195. Acıpayam C .(2011). Metotreksat ile barsak epiteli hasarı oluşturulan sıçanlarda hesperidinin koruyucu etkisi. Uzmanlık Tezi. Çukurova Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Adana
- 196- Shagirtha K, Pari L. Hesperetin, a citrus flavonone, protects potentially cadmium induced oxidative testicular dysfunction in rats. Ecotoxicol Environ Saf. 2011 Oct;74(7):2105-11.
- 197-Trivedi PP, Tripathi DN, Jena GB. Hesperetin protects testicular toxicity of doxorubicin in rat: role of NFκB, p38 and caspase-3. Food Chem Toxicol. 2011 Apr;49(4):838-47.
- 198-Arafa HM, Aly HA, Abd-Ellah MF, El-Refaey HM. Hesperidin attenuates benzo[alpha] pyrene-induced testicular toxicity in rats via regulation of oxidant/antioxidant balance. Toxicol Ind Health. 2009 Jul;25(6):417-27.
- 199- Philp, H, Hot flashes - a review of the literature on alternative and complementary treatment approaches, (Altern. Med. Rev.) 8 (3), 284-302 (2003)

10. EKLER