

T.C.
GENEL KURMAY BAŐKANLIĐI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ, ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI BAŐKANLIĐI

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

HİPOSPADYASLI OLGULARDA TURNİKE
UYGULAMASINA BAĞLI İSKEMİ-REPERFÜZYON
HASARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

SAYED WAİSULLAH PADSHAH
TABİP YARBAY

GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ, ASKERİ TIP
FAKÜLTESİ, ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI
BAŐKANLIĐI

ANKARA-2011

GATA Askeri Tıp Fakóltesi Dekanlığına:

‘Hipospadyaslı olgularda turnike uygulamasına baēlı iskemi-reperfüzyon hasarının deēerlendirilmesi’ konulu bu çalışma jürimiz tarafından Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı’nda Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : Prof.Hv.Tbp.Kd.Alb. İlhami SÜRER

Üye : Prof.Tbp.Kd.Alb. Rıdvan AKIN

Üye : Prof.Hv.Tbp.Kd.Alb. Abdurrahman řİMřEK

Üye : Doç.Tbp.Kd.Alb. Suzi DEMİRBAē

Üye : Doç.Hv.Tbp.Alb. Ahmet GÜVEN

ONAY:

Sayed Waisullah Padshah’ın 26/06/2011 tarihinde savunduēu bu tez Akademi Kurulu’nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görölmüş ve kabul edilmiştir.

Sadettin ÇETİNER

Prof.Tbp.Tümgeneral

GATA K.Bil.Yrd.

Askeri Tıp Fakóltesi Dekanı ve

Eēitim Hastanesi Bařtabibi

TEŞEKKÜR

Çocuk cerrahisi eğitimi almam için beni Türkiye'ye gönderen ve hiçbir desteği esirgemeyen Afganistan Devleti'ne,

Eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanım ve tez danışmanım Prof. Dr. İlhami SÜRER'e,

Hocalarım Doç. Dr. Suzi DEMİRBAĞ, Doç. Dr. Ahmet GÜVEN, Yar. Doç. Dr. Cüneyt ATABEK, Op. Dr. Mehmet Turgay SAKARYA'ya,

Emekli öğretim üyelerimiz Prof. Dr. Salih ÇETİNKURŞUN, Prof. Dr. Haluk ÖZTÜRK'e,

Başasistanım Op.Dr. Mehmet Bahadır ÇALIŞKAN'a ve Op. Dr. Altan ALİM'e

Biyokimyasal veri analizindeki yardımları için Doç. Dr. Taner ÖZGÜRTAŞ ve Dr. Fevzi Nuri AYDIN'a,

İstatistiki verilerin değerlendirilmesindeki emeklerinden dolayı Doç. Dr. Cengizhan AÇIKER'e

Asistan arkadaşım Dr. Bilal ALTAN'a,

Maddi ve manevi olarak her zaman yanımda olan aileme,

Sonsuz teşekkür ederim...

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	İİ
İÇİNDEKİLER	İV
ÖZET	İV
ABSTRACT.....	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. PENİS ANATOMİ ve HİSTOLOJİSİ	3
2.2. İSKEMİ VE REPERFÜZYON	8
2.3. PENİL TURNİKE.....	123
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	144
3.1. ÇALIŞMA GRUPLARI.....	14
3.2. BİYOKİMYASAL İNCELEME YÖNTEMİ	15
3.3. İSTATİSTİKSEL İNCELEME YÖNTEMİ	16
4. BULGULAR.....	1717
4.1. BİYOKİMYASAL ANALİZ SONUÇLARI.....	17
4.2. İSTATİSTİKSEL KARŞILAŞTIRMA SONUÇLARI.....	17
5. TARTIŞMA	18
KAYNAKLAR	22

ÖZET

Çalışmamızda, bir ön çalışma olarak TNF-alfa ve IL-10'un hipospadias cerrahisi esnasında çok sık kullanılan bir yöntem olan penil turnike uygulamasının yol açtığı iskemi-reperfüzyon hasarının düzeyinin ortaya konması amaçlanmıştır. Bu değişimin ortaya konması ileride kullanılabilecek TNF alfa inhibitörleri ve IL-10 preparatlarının doku iyileşmesi ve oluşan hasarın azaltılması yönündeki çalışmalara öncülük edebilir.

Çalışmamızda; çalışma grubunu 12 primer hipospadias onarımı olgusu, kontrol grubunu ise genel anestezi altında sünnet işlemi gerçekleştirilen 12 olgu oluşturmıştır. Çalışma grubunda turnike uygulanmadan önce ve 20 dakika turnike uygulandıktan sonra cerrahi sahaya sızan yaklaşık 1 cc kan, kontrol grubunda ise sünnet işlemi esnasında sahaya sızan yaklaşık 1 cc kan enjektör yardımıyla aspire edilerek toplanmış ve derhal santrifüje edilerek serumlar -80 santigrad derecede saklanmıştır. IL-10 ve TNF alfa düzeyleri ELISA yöntemi ile instant Bendermed human TNF alfa ve human IL-10 kitleri ile yapılmıştır. Elde edilen veriler SPSS 16.0 versiyonu ile Mann-Whitney U testi kullanılarak değerlendirilmiştir.

Sonuçlar değerlendirildiğinde kontrol grubu ile çalışma grubu arasında yaş ortalaması açısından anlamlı farklılık gözlenmedi. TNF alfa değerleri açısından turnike sonrası elde edilen değerler turnike öncesi ve kontrol grubu değerlerine oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti($p < 0.05$). IL-10 değerleri açısından turnike sonrası elde edilen değerler turnike öncesi ve kontrol grubu değerlerine oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti($p < 0.05$).

Hipospadias cerrahisinde uygulanan penil turnike yöntemi insanlarda penil dokuda iskemi reperfüzyon hasarı oluşturmaktadır. İskemi reperfüzyon hasarına bağlı olarak TNF alfa ve IL-10 düzeylerinde oldukça yüksek artışlar meydana gelmektedir. İskemi reperfüzyon hasarı hipospadias cerrahisinin en sık komplikasyonları olan fistül oluşumu ve meatal stenoz gelişimini açıklamaya yardımcı olabilir.

SUMMARY

As a preliminary study, in our study, TNF-alpha and IL-10 are intended to reveal the level of damage caused by ischemia-reperfusion, during penile tourniquet application which is a commonly used method in hypospadias surgery. In the future TNF-alpha inhibitors and IL-10 preparations can be used to reduce the damage and may lead tissue healing.

The study group was built up 12 cases of primary hypospadias repair and the control group also consisted 12 patients that circumcision procedure performed under general anesthesia. One cc. blood leaking from the surgical field was aspirated with the help of a syringe during circumcision in the control group while before and after 20 min. tourniquet application in the study group. Collected blood immediately centrifuged and the serum stored in -80 degrees Celsius. IL-10 and TNF-alpha levels were measured by ELISA method using Bendermed instant human TNF alpha and IL-10 kits. The obtained data was evaluated with Mann-Whitney U test using SPSS version 16.0.

Results are evaluated in terms of average age of the working group with the control group no significant difference was observed. TNF alpha values obtained after tourniquet application were significantly higher than the values of the pre-tourniquet and the control group ($p < 0.05$). Also IL-10 values obtained after tourniquet application were significantly higher than the values of the pre-tourniquet and the control group ($p < 0.05$).

In humans, penile tourniquet method during hypospadias surgery causes ischemia reperfusion injury in penile tissue. Depending on ischemia-reperfusion injury, TNF alpha and IL-10 levels are increasing gradually which results in tissue damage. Therefore ischemia-reperfusion injury may help to explain the development of fistula formation and meatal stenosis which are the most common complications of hypospadias surgery.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hipospadyas ve kordi düzeltilmesi çocuk yaş grubunda sık uygulanan ürolojik operasyonlardır. Bu operasyonlar sırasında kanamayı azaltmak ve ereksiyon testi yapmak için penis köküne turnike uygulaması sık kullanılan bir yöntemdir (1,2,3).

Penil turnike işlemi hipospadyas cerrahisinde çoğu cerrah tarafından uygulanan bir işlem olmasına rağmen güvenilir turnike süresinin ne olması gerektiği hakkında ortak görüş bildiren literatür yoktur. Kimi cerrahlar tüm operasyon süresince turnike uygulamasını savunurken kimi belirli aralıklarla turnike uyguladıklarını belirtmektedirler (2,3,4,5).

“Turnike” uygulaması antik çağlardan itibaren kanama kontrolünde yer bulmuştur, özellikle amputasyon olmak üzere ekstremitte cerrahisinde uygulanan ve güvenilirliği sorgulanan bir yöntem olmuştur (6). Turnike uygulamasında turnikenin distalinde kalan tüm dokularda arteriyel ve venöz dolaşımın engellenmesi ve kansız bir sahada çalışma hedeflenir. Bu durum hipospadyas cerrahisinde önemli yer tutmaktadır. Turnike sırasında dokuda iskemi meydana gelmekte, turnike sonlandırıldığında ise kan akımının tekrar başlamasıyla reperfüzyon hasarı oluşmaktadır (7). İskemi ve reperfüzyon hasarında bir çok mekanizma sorumlu tutulmakta, bunlar arasında serbest oksijen radikalleri önemli yer tutmaktadır (8,9,10).

Çeşitli dokularda iskemi ve reperfüzyonun yol açtığı hasarı inceleyen bir çok çalışma olmakla birlikte (11,12,13,14) erektil dokularda iskemi ve reperfüzyonun meydana getirdiği değişiklikleri inceleyen çalışma sayısı oldukça sınırlıdır.

Munarriz 2003 yılında iskemik priapizm modelinde erektil dokularda oluşan değişiklikleri incelediği bir çalışma yayınlamıştır (15). Dokuda meydana gelen hipoksik hasarın reperfüzyon süresi ile orantılı olarak arttığını bildirmiştir. Turnike işlemine bağlı olarak erektil dokularda meydana gelen değişiklikleri inceleyen Güney’in tez çalışmasında ise penil turnike uygulamasının 20 dakikalık sürede dahi biyokimyasal ve histopatolojik olarak saptanan hücre hasarına yol açabildiği gösterilmiştir (16). Yine Oktay’ın tez çalışmasında aralıklı turnikenin dokulara devamlı turnikeye oranla daha

fazla zarar verdiđi ve antioksidan maddelerle (enoant) bu zararın asgariye indirgenebildiđi gösterilmiştir(17).

TNF alfa, iskemi-reperfüzyon durumunda ortaya çıkan inflamatuvar yanıtta anahtar rol oynamaktadır. Bir çok hayvan çalışmasında TNF alfa'nın inflamasyon varlığında kan düzeyinin arttığını göstermiştir. Bununla birlikte yine birçok çalışmada TNF alfa inhibitörlerinin kullanılması, inflamatuvar kökenli birçok hastalıkta oluşan doku hasarını azalttığı belirtilmiştir.

Yine inflamasyon durumunda vucutta miktarı artan bir başka sitokin olan IL 10 vucutta inflamasyonun sonlandırılmasında görev alır. Bu etkinin inflamasyon nedeni ile oluşan doku hasarını engellediği düşünülerek otoimmün kökenli bazı hastalıklarda IL 10 preperatlarının kullanılmaya başlanmış ve yararlı sonuçlar elde edilmiştir.

Çalışmamızda, bir ön çalışma olarak, bahsedilen bu 2 sitokinin “insanlar üzerinde” iskemi reperfüzyon durumunda miktarlarının nasıl değiştiğini araştırmayı planladık. Bu değişimi saptamak daha sonra yapılabilecek, iskemi-reperfüzyon hasarı modellerinde TNF alfa inhibitör ve IL 10 preperatlarının doku iyileşmesinde veya doku hasarının azaltılmasında kullanılabileceğine dair yapılabilecek çalışmalara öncülük edeceği düşünölmektedir.

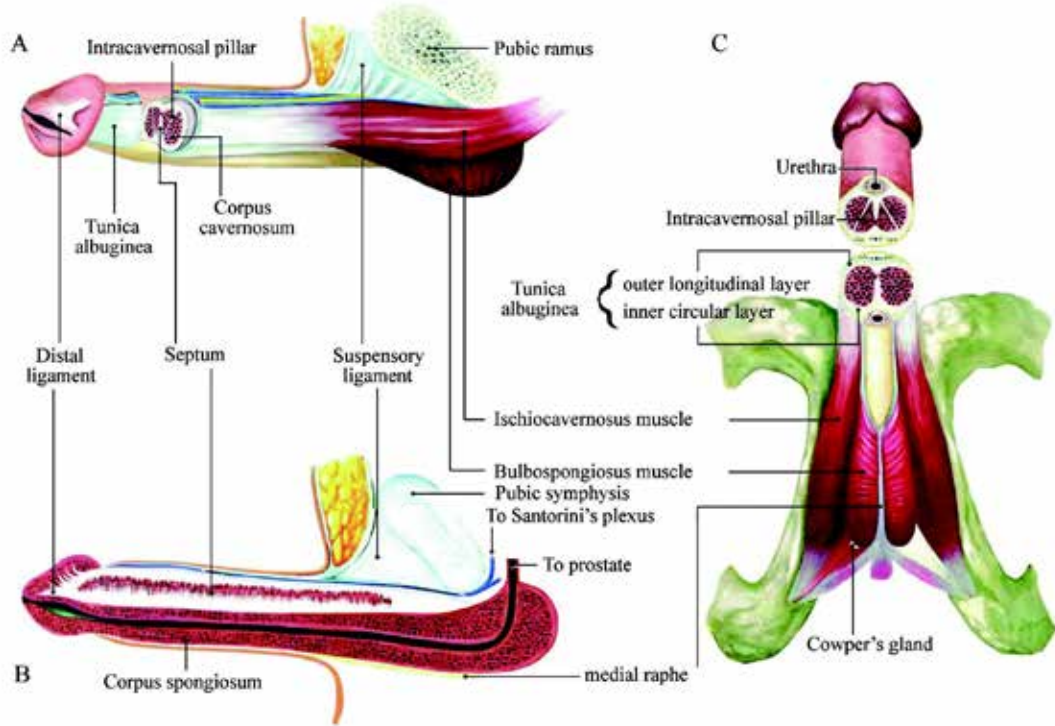
2. GENEL BİLGİLER

2.1. PENİS ANATOMİ ve HİSTOLOJİSİ

Penis radiks ve korpustan oluşan erektile bir organdır. Radiks ürogenital bölgede yerleşmiştir. İki krus ve bir bulbus olmak üzere üç erektile yapıya sahiptir. Her iki krus kendi etraflarındaki iskionun altına tutunur ve iskiokavernöz kas tarafından sarılırlar. Daha sonra her iki krus yan yana birlikte seyrederler. Bu noktadan itibaren kruslar “korpus kavernosum” olarak adlandırılırlar. Korpus kavernosum penis yapı olarak süngere benzer. Korpus kavernosumu dıştan saran ve “tunika albuginea korpus kavernosum” adı verilen zar sağlam bağ dokusundan oluşmuştur. Korpus kavernosumlar glans peniste sonlanırlar (17, 18).

Penis bulbusu yüzeyle perineal bölgede her iki krusun arasında yer alır. Bulbusun üst kısımları ürogenital diaframın alt kenarına tutunur ve bulbokavernöz kas ile örtülür. Başlangıçta bulbusu üstten penetre eden üretra daha sonra merkezde yer alarak bulbus içinde öne doğru ilerler. Bulbusun, korpus kavernosumların proksimal ucu ile komşu olan kısmından itibaren adı “korpus spongiosum” olur. Korpus spongiosum, korpus kavernosumlar arasındaki alt orta olukta yer alır. Penis uzunlamasına geçerken korpus spongiosum daralırsa da hemen sonra distal uçta genişleyerek glansı oluşturur. Korpus spongiosum penisin etrafını saran tunika albuginea ince ve gevşektir.

Glans, penis korpusundan fiziksel olarak “sulcus coronarius” ile ayrılır. Glans penisin yapısı diğer erektile dokulardan farklıdır. Burada bulunan kavernalar geniş ve kıvrık damara benzer. Bu kavernalar arasında bağ dokusu çoktur. Bununla birlikte kas lifleri de çok az bulunur ve tunika albuginea yoktur. Glansın ucunda üretranın sonlandığı meatus bulunur. Glans “prepusyum” adı verilen çift katlı penis cildi ile örtülüdür. Prepusyumun ön yüzünde bulunan “frenilum” cildin medial bir plisi olup meatusa tutunur.

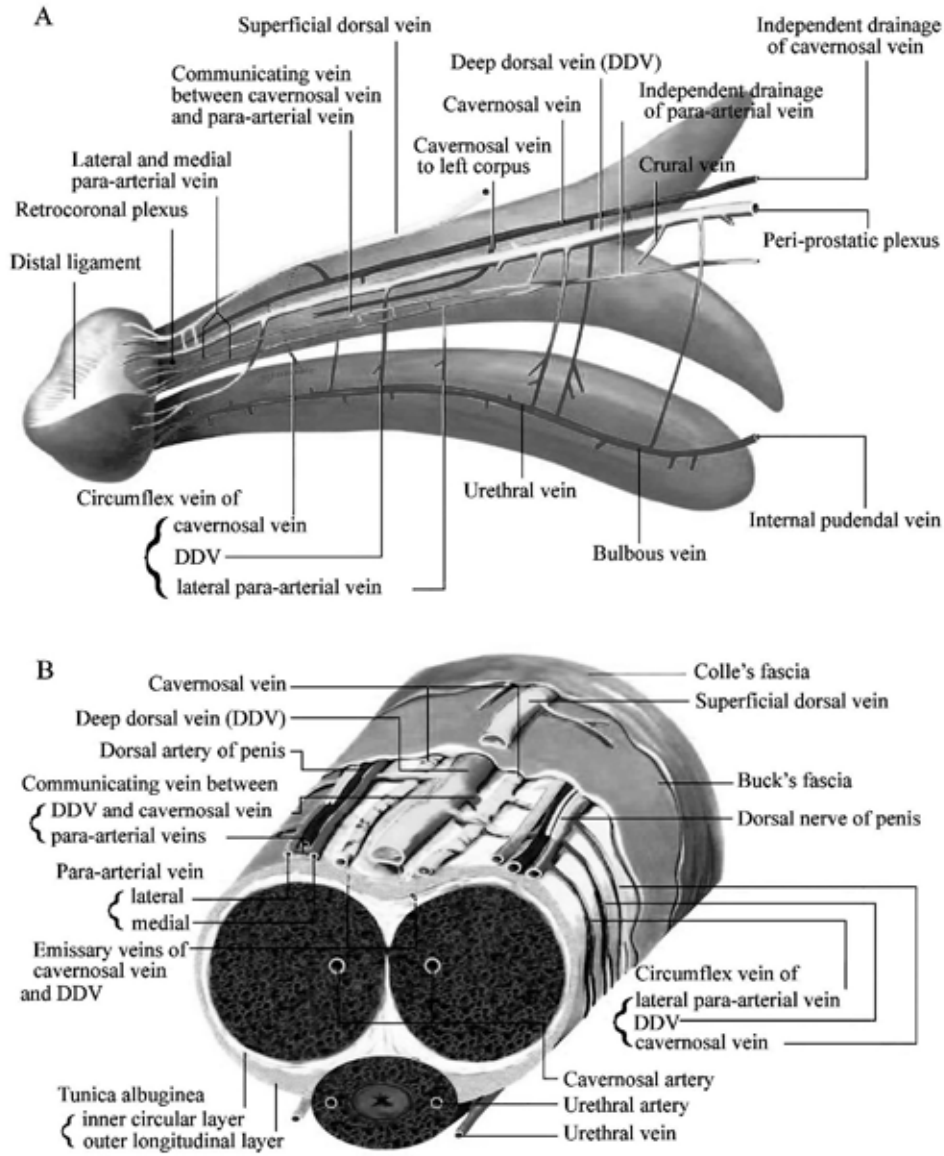


Penis anatomisi.

Penisin derin ve yüzeyel olmak üzere iki fasyası vardır (17). Yüzeyel olan fasya “Colles fasyası” adını alır. Bu fasya skrotumun dartos fasyası ve süperfisiyal perineal fasya ile uzanır. “Buck fasyası” olarak adlandırılan penisin derin fasyası korpus kavernosumlar ve korpus spongiosumu saran kuvvetli bir fasyadır ve derin perineal fasyaya uzanır. Buck fasyası korpus kavernosumların distal ucunda son bulur ve glans penisi örtmez. Buck fasyası distal uçta inceler, multipl delikler yardımı ile korpus kavernosumların birbiri ile olan ilişkisini sağlar.

Penis Kanlanması

Penisin arteriyel kanlanmasını başlıca a.dorsalis penis, a.profunda penis ve a.bulboüretralis gibi a.pudentalis internanın dalları sağlamaktadır (17). Ayrıca a.pudentalis externanın yüzeyel ve derin dalları a.pudentalis interna dalları ile anastomozlar oluşturan ve penil cildi besleyen bir çok küçük dal vermektedir.



Penisin vasküler anatomisi.

Penisin venöz drenajı üç ayrı sistemden oluşur (17,19,20,21). İlk sistem, dartosun altındaki yüzeysel ven ağıdır, v.dorsalis penis superfisialis yolu ile v.saphena magna'ya drene olur. İkinci sistemi buck fasyası derininde bulunan ve v.dorsalis penis profunda'ya drene olan ven ağı oluşturur. Ayrıca korpus kavernosumlardan çıkan lateral, inferior ve superior emisser venler ile çok sayıda circumfleks penil ven drene olur. Üçüncü sistem ise korpus kavernosumları ve korpus spongiosumu drene eden bir grup derin venden oluşur.

Korpus kavernosumu drene eden derin venler pudental pleksusa boşalır. Korpus spongiosum ise bulber ve üretral venlerden oluşan derin bir ven ağı aracılığı ile drene olur. Distal üretrayı ön ve arka üretral venler drene eder. Arka venler birleşerek pudental pleksusa veya bulber venlere boşalırlar. Üretral venlerin ön grubu sirkumfleks venöz sistemi oluşturmak üzere, sonradan posterior emisser venler ile birleşen bir çok dala ayrılır (22).

Penisin Lenfatik Drenajı

Penil cildin lenfatik drenajı superfisiyal inguinal lenf bezlerine, glans ve distal üretranın lenfatik drenajı ise derin inguinal ve eksternal iliak lenf bezlerine boşalmaktadır. Korpus kavernosum ve proksimal üretra ise internal iliak lenf bezlerine drene olmaktadır (17).

Penisin İnnervasyonu

S2 – S4 spinal segmentten çıkan sinir lifleri ile sağlanmaktadır. Sempatik innervasyon n.pudendalis'in terminal bir dalı olan n.dorsalis penis tarafından sağlanmaktadır. Cildin ve glans penisin innervasyonundan sorumludur. Penis kökünde n. ilioinguinalis dalları innervasyona katkı sağlar. Kavernöz sistemin innervasyonu parasempatik sistemin kontrolündedir, prostatik pleksustan çıkan parasempatik lifler erektil dokuları innerve etmektedir (17). Nörovasküler sinir demeti penis dorsumunda saat 11 ile 13 arasında yerleşmiştir, ayrıca nörovasküler demetten ayrılan küçük dallar korpus spongiosum içine girmektedir (23).

Penis Histolojisi

Korpus kavernosumun tunika albugineası, kalın kollagen fibriller ve birkaç adet elastik liften oluşmuştur. Kollajen fibriller interstisyel kollajenlerden (Tip I – II – III) ve tropokollajenden meydana gelir. Tip I kollajen fonksiyonel olan birimdir. Elastik fibriller sıklıkla iki anatomik bölgede bulunur, bunlar proksimal krus ve distal tunikadır. Penisin istirahati sırasında tunika çok gevşektir. Korpus spongiosum penis; bol ve

düzensiz yapıda elastik fibriller içerir. Elastik ağ, glans penis yapısında da bulunur ve düzensiz dağılım gösterir (24).

Korpus kavernosum bağ dokusu ve düz kasla birbirinden ayrılmış laküner aralıklar olarak tanımlanmıştır (25). Korpus kavernosumların fibröz iskeleti tunika albuginea ve sütunlarından oluşmaktadır.

Penil Ereksiyon Fizyolojisi

Ereksiyon halinde olmayan, gevşek, peniste düz kas tonusu yükselmiştir. Ereksiyon için ise penil düz kas tonusunun azalması gerekmektedir. Genital ve ekstragenital cinsel uyarıların motor yanıtı olarak oluşan ereksiyonun ilk aşamasında penil arterler (kavernozal ve heliksin arter) dilate olur. Penis gevşek durumdayken laküner boşlukta düşük kan akımı ve düşük bir basınç mevcuttur. Ereksiyonda ise venüllerde elongasyon, çaplarında azalma ve resistansta artış sağlayan laküner boşlukların dilatasyonu ile sonlanan kavernozal ve arterial düz kas relaksasyonu gerçekleşmektedir. Bunun sonucunda laküner alan içine olan kan akımı artar ve kavernoz içi basınç yükselir. Arteriyal dilatasyonu takiben, trabeküler düz kas gevşer ve böylece laküner alan kompliyansı artarak kanın burada depolanması sağlanır. Venöz pleksusların tunica albuginea ve genişleyen sinusoidal alanlar arasında sıkışması sonucu venöz akım azalır. Tunicanın gerilmesi, emisser venlerin oklüzyonuna neden olur, venöz kan akımı minimal düzeye iner. İntrakavernöz basınç artar (yaklaşık 100mmHg) ve peniste ereksiyon gerçekleşir. İskiokavernöz kasın kasılması ile tam ereksiyon gerçekleşir (26).

2.2. İSKEMİ VE REPERFÜZYON

2.2.1. MEKANİZMALAR

Bir dokuya giden kan akımı kesildiğinde, o dokuya ait hücrelerin fonksiyon bozukluğu ile başlayan ve hücre ölümüne kadar ilerleyen bir dizi kimyasal olay gerçekleşir. Hücresel fonksiyonların gerçekleşebilmesi için gerekli temel yakıt oksijendir. Normal hücre fonksiyonları için gerekli olan yüksek enerjili fosfat bağları aerobik metabolizma ile sağlanır. Oksijen yetersizliği durumunda anaerobik metabolizma devreye girer. Bu da laktik asit ve toksik metabolitlerin birikimi ile sonuçlanır. Ortaya çıkan asidoz nedeniyle normal enzim kinetiği değişir ve yüksek enerjili fosfat bağlarının yapımı azalır. Bu durumda hücre kendi homeostazı için gerekli olan enerjiden yoksun kalır (8).

Hücresel homeostaz için gerekli olan enerji kaynaklarının, özellikle ATP'nin tüketimi, hücre membranında iyon dengesizliğine yol açar. Na^+ ve Ca^{++} iyon dengesi bozulur. Oksijen seviyesi düştüğünde oksidatif fosforilasyon sona erer ve hücrede enerji üretimi glikoliz ile sağlanır. Glikojen depolarının tüketilmesi ise laktik asit ve inorganik fosfatların birikimi ile sonuçlanır. Mitokondrial fonksiyon bozulur, hücre membran permeabilitesi artar. Hücrenin anahatları; ultrastruktürel özelliklerinin kaybı ve hücre yüzeyinde kabarcıkların oluşumu ile bozulur. Osmotik regülasyonun kaybı nedeniyle hidropik dejenerasyon – vakuoler dejenerasyon izlenir. Hücre çekirdeğinde kromatin kümelenmesi ve piknozis gibi histolojik bulgular görülür (8,27,28,29).

Reperfüzyon, iskemiye neden olan etkenin ortadan kaldırılarak dokuya kan akımının yeniden düzenlenmesidir. Reperfüzyonun, iskemik dokuda enerji ihtiyacının sağlanması ve toksik metabolitlerin uzaklaştırılması gibi iki olumlu etkisi vardır. Böylelikle reperfüzyon iskemik hasarın düzeltilebilmesi için gerekli bir süreçtir. Ancak oksijenlenmiş kanın iskemik dokuya dönüşü dokuyu daha fazla zedeleyen bir reaksiyon

sürecini başlatır (8). Reperfüzyon hasarı serbest oksijen radikalleri, endotelial faktörler ve nötrofillerin eşlik ettiği karmaşık bir mekanizmayla gerçekleşir.

Reperfüzyon hasarına doğrudan veya dolaylı olarak katılan pek çok madde ve biyokimyasal reaksiyon tanımlanmıştır. Bu maddelerin birbiriyle etkileşimi sonucunda iskemi – reperfüzyon hasarının reperfüzyon kısmının mediatörleri olan serbest oksijen radikalleri ortaya çıkar.

İskemi – reperfüzyonun yol açtığı mikrovasküler hasar için nötrofil ve endotel ilişkisi gerekmektedir. İskemi sırasında ve daha ağırlıklı olarak bunu takip eden reperfüzyon döneminde postkapiller venüllerde endotele artmış nötrofil adezyonu görülür. Araşidonik asit metabolitleri , özellikle lökotrienler kapiller permeabiliteyi ve lökositlerin endotele adezyonunu artırırlar. Endotele giderek artan ilgiyle bağlanan lökositler, lizozimleri aktive eder, reaktif oksijen radikalleri üretir ve diğer lökositler için kemotaktik ajanlar salınmasına neden olur.

İskemi ve reperfüzyon sürecinde aktive olan lizozim proteolitik enzimlerin salınmasını sağlarken Fosfolipaz A₂ hücre membran lipidlerini araşidonik aside dönüştürür. Araşidonik asit, lökotrienler ve prostaglandinler gibi inflamatuvar mediatörlerin prekürsörüdür (9).

2.2.2. SERBEST RADİKALLER

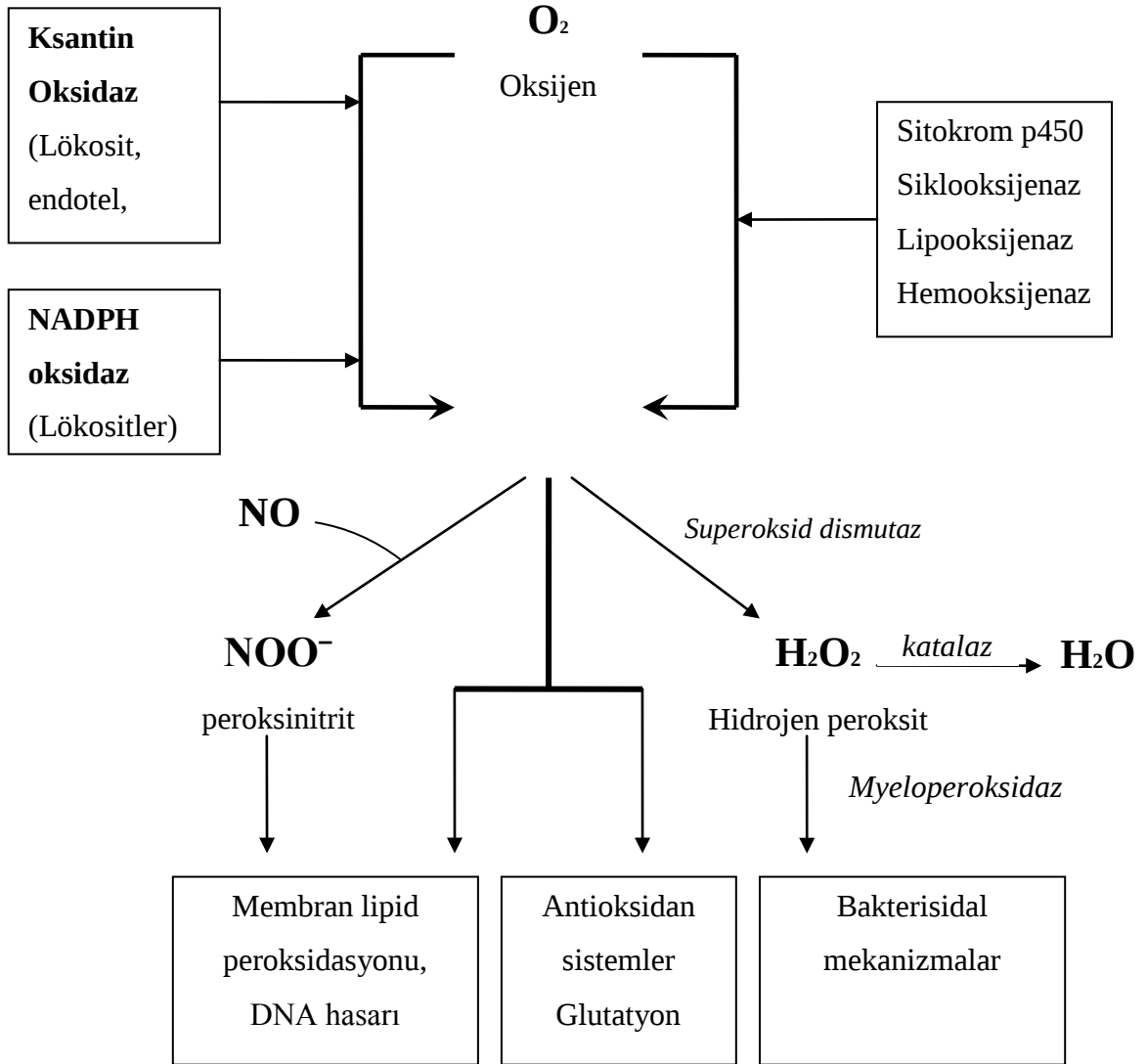
Serbest radikaller, en dış yörüngesinde tek sayıda elektron içeren, ileri derecede reaktif, kısa ömürlü ve stabil olmayan moleküllerdir. Moleküler oksijenin indirgenmesi ve uyarılması ile çok değişik oksijen serbest radikalleri üretilebilir (30).

Oksijenin redüksiyonu ve aerobik hücrelerin enzimatik oksidasyonu sırasında negatif yüklü bir ara ürün olan süperoksit radikali (O_2^-) oluşur. Süperoksit radikalinden enzimatik yolla veya spontan dismutasyonla ikinci bir ara ürün olan hidrojen peroksit radikali (H_2O_2) oluşur. Daha sonra özellikle mitokondride diğer bir ürün olan hidroksil radikali (OH^-) oluşur (Şekil 1). Diğerleriyle karşılaştırıldığında O_2^- radikali yüksek elektron aktivitesine sahiptir ve çok reaktiftir. Ancak oksijen radikallerinden en aktif olanı OH

O_2^- radikali

membran potansiyellerinin indirgenmesi gibi etkilerden başlıca sorumlu olan radikaldır (8,9).

Süperoksid radikalının başlıca kaynakları

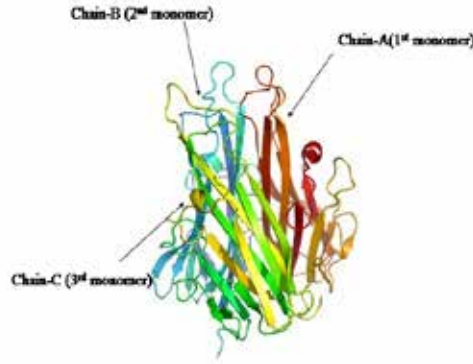


Hücreler serbest oksijen radikallerinin hasarına bağışık değildir. Ancak genellikle glutasyon ve katalaz gibi endojen etkenler ile oksijen hasarına karşı korunmuşlardır. İskemik dokularda, serbest oksijen radikali üreten intraselüler mekanizmalar tam aktive edilmiş durumdadır. Ancak oksijen sağlanmasındaki eksiklikten dolayı fonksiyon görmezler. Kan akımı ve oksijen sağlanmasının restorasyonu ile büyük miktarlarda serbest oksijen radikali üretilerek reperfüzyon hasarı

indüklenir. Organizmada serbest oksijen radikalleri ortaya çıktıktan sonra radikal reaksiyon dizileri başlar. Eğer bir serbest radikal, radikal olmayan bir molekülle reaksiyona girerse, binlerce reaksiyondan oluşan reaksiyon zincirlerini başlatır. Serbest oksijen radikalleri paylaşılmamış elektronlarından dolayı lipid, protein, karbonhidrat, nükleik asit gibi çeşitli makromoleküllerin oksidatif hasarına neden olurlar (9, 30).

2.2.3. TNF ALFA VE İNTERLÖKİN 10

Tümör Nekrozis Faktörler (TNF) sitokin altgrubundadır. 2 ana üyesi vardır; TNF alfa ve beta. İlk defa fibrosarkomlu fare deneylerinde gösterilmiş olup, tümör hücrelerinin ölmesini sağladığı için bu isim verilmiştir (39). Homolog yapıdaki 3 monomerden oluşan trimer yapıya sahiptir.



TNF alfa homotrimeri (40)

Tip I (TNFR-I, TNF-R55 olarak da bilinir) 55 kilodalton molekül ağırlığı .	Tip II (TNFR-II, TNF-R75 olarak da bilinir) 75 kilodalton molekül ağırlığı
TNF-R55 hücrelerde oldukça yaygın dağılımlıdır	TNF-R75 sınırlı dağılım gözlenir, özellikle damar endoteli ve inflamatuvar yanıt hücrelerinde vardır
Her iki reseptörde homolog yapıda olup extrasellüler yüzeyde TNF alfa'yı 4 sistin bağı ile bağlarlar	
Sadece Tip I intrasellüler etkiye sahiptir ve "ölüm etkisi" olarak adlandırılır ve TNF aracılı hücre ölümüne neden olur.	"Ölüm etkisi" (intrasellüler etki) içermez.
TNF alfa ve beta aynı reseptöre bağlanır	

(41,42,43)

TNF alfa'nın biyolojik rolü oldukça geniş olmakla beraber; tümör hücrelerinin öldürülmesi, inflamatuvar yanıt, nötrofillerin damar endoteline adezyon ve agregasyonunun kontrolü, vücut savunma sisteminin uyarılması ve infektif ajanlarla savaşın artırılması, uyku halinin uyarılması ve kontrolü, embriyogenezin kontrolü, hipofizden ACTH salınımının kontrolü bunlardan birkaçıdır (44,45,46).

Birçok hastalık TNF alfa düzeyinin yüksekliği ile birliktelik gösterir. Bu hastalıklarda TNF alfa yüksekliği tüm dokularda yaygın inflamatuvar yanıt oluşumu ve doku nekrozu ile seyreder. İskemi/reperfüzyon hasarından ve tümör hücrelerinin öldürülmesinde bu yanıt sorumludur (47).

İnterlökin 10 (IL 10), herbiri 160 aminoasitten oluşan iki homolog monomerin birleşmesiyle oluşan dimer (37 kilodalton) yapıdadır. En önemli kaynağı makrofajlar olmakla birlikte birçok farklı dokuda sentezlenen önemli bir immünregülatördür. Ana görevi inflamatuvar cevabı sınırlandırma ve sonlandırmaktır. T ve B lenfositleri, NK hücreleri ve antijen sunan hücreler gibi birçok immün hücrenin çoğalmasını ve farklılaşmasını kontrol eder.

2.3. PENİL TURNİKE

Antik çağlardan itibaren kanamanın kontrolü için turnike amacıyla birtakım gereçler kullanılmıştır, ancak “turnike” kelimesini 1718 yılında tanımlayan ve cerrahi uygulamaya sokan kişi Jean Louis Petit'dir (6). 1873 yılında Esmarch tarafından kansız alanda cerrahi amacıyla lastik turnike kullanılmaya başlanmıştır. Pek çok farklı cerrahi sahada çeşitli tiplerde turnikeler kullanılmıştır. 1983 yılında Redman hipospadyas cerrahisinde hemostaz amacıyla lastik turnike uygulamasını tarif etmiştir (1).

Turnike uygulamasında turnikenin distalinde kalan tüm dokularda arteriyel ve venöz dolaşımın engellenmesi ile kansız bir sahada çalışma hedeflenir. Özellikle ekstremitte cerrahisinde turnike uygulamasının yöntem ve süresini inceleyen birçok çalışma mevcuttur (7,31,32,33). Turnikeye bağlı iskemi süresi ile reperfüzyon hasarı arasında doğru orantı olduğunu bildiren ya da aralıklı turnike uygulamasının reperfüzyon hasarını azalttığını ve cerrahi süresince total turnike süresini uzatmak için

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMA GRUPLARI

Çalışmaya, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı' na 2010-2011 yılları arasında başvuran; 12 tanesi genel anestezi altında sünnet işlemi yapılan, diğer 12 tanesi primer hipospadyas cerrahisi için ameliyata alınan ve ameliyat sırasında turnike uygulanan, yaş ortalamaları 4,5 (aralık:1-9) olan 24 erkek olgu dahil edildi.

Sünnet işlemi uygulanan olgular kontrol grubu amaçlı olarak kullanıldı. Yaş ortancası 4,375 (aralık: 1,5-9) idi. Genel anestezinin vucutta yaptığı stres cevabın hipospadyaslı olgulardaki bulgularla karşılaştırılırken yanılma payının en aza indirilmesi amacı ile sadece genel anestezi altında sünnet yapılan olgular çalışmaya dahil edildi. Bu gruptan sünnet işlemi esnasında cerrahi sahadan sızan, yaklaşık 1 cc kan alımı yapıldı.



(Sünnet sırasında kan alımı.)

Hipospadyalı hastalar ise çalışmanın asıl grubunu oluşturmakla beraber yaş ortancası 4,625 (aralık:1-8) idi. Olguların tamamına devamlı 20 dk turnike uygulandı. Bu hastalardan hem turnike işlemi öncesi hem de turnike işlemi sona erdikten sonra, yine cerrahi sahadan sızan 1 cc kadar kan toplandı.



3.2. BİYOKİMYASAL İNCELEME YÖNTEMİ

Toplanan kanlar santifrüj yöntemi ile “eppendorf” marka cihazda dakikada 500 devir cevrilerek kanın şekilli elemanları ve plazma ayrıldı. Bu serumlar -80 santigrad derecede muhafaza edildi. Gruplardan elde edilen serumlar toplandıktan sonra “instant” ELİSA Bendermed marka human IL 10 ve TNF alfa kitleri ile ölçüm yapıldı



(Penil turnike uygulanması)

.

3.3. İSTATİSTİKSEL İNCELEME YÖNTEMİ

Kontrol grubu, turnike öncesi hipspadyas grubu ve turnike sonrası hipospadyas grubu kendi aralarında yaş, IL 10 ve TNF alfa açısından, Mann-Whitney-V yöntemi kullanılarak aralarında karşılaştırıldı ve sonuçlar SPSS 16.0 istatistik paketi kullanılarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. BİYOKİMYASAL ANALİZ SONUÇLARI

Kontrol Grubu(Sünnet)				Çalışma Grubu (Hipospadyas)				
				Turnike Öncesi			Turnike Sonrası	
	Yaş	TNF Alfa (pg/ml)	IL 10 (pg/ml)	Yaş	TNF Alfa (pg/ml)	IL 10 (pg/ml)	TNF Alfa (pg/ml)	IL 10 (pg/ml)
1	1,5	31	35	1	32	21	46	33
2	3	39	35	1,5	42	31	58	38
3	4	39	36	5	46	33	69	46
4	3	50	36	4	42	24	66	37
5	7	49	37	8	31	38	42	57
6	8	38	36	5	34	50	60	59
7	5	34	25	4	58	39	79	52
8	2	42	29	5	27	39	33	59
9	2	45	35	7	29	26	41	37
10	9	23	35	4	32	27	36	44
11	5	30	36	7	29	32	42	33
12	3	36	36	4	37	34	43	38
Ort	4,375	38	34,25	4,625	36,58	32,83	47,75	39,5

4.2. İSTATİSTİKSEL SONUÇLAR

- 1) Kontrol grubu ile çalışma grubundaki olgularda yaş ortalaması açısından anlamlı fark gözlenmedi($P>0,05$).
- 2) TNF alfa değerleri açısından kontrol grubu kanları ile turnike öncesi alınan kanlar arasında anlamlı fark bulunmadı ($P>0,05$).
- 3) IL 10 değerleri açısından kontrol grubu kanları ile turnike öncesi alınan kanlar arasında anlamlı fark bulunmadı ($P>0,05$).
- 4) TNF alfa değerleri açısından Turnike sonrası alınan kanlardaki değerler, turnike öncesi alınanlardan ve kontrol grubundan alınanlarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olarak artmış olduğu gözlemlendi ($P<0,05$).
- 5) IL 10 değerleri açısından Turnike sonrası alınan kanlardaki değerler, turnike öncesi alınanlardan ve kontrol grubundan alınanlarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olarak artmış olduğu gözlemlendi ($P<0,05$).

5. TARTIŞMA

Antik çağlardan itibaren kanamanın kontrolü için cerrahi uygulamalarda zaman zaman yer bulmuş olsa da “Turnike” kelimesini 1718 yılında tanımlayarak cerrahi uygulamaya sokan kişi Jean Louis Petit’dir (6). 1864’te Lister cerrahi işlem sırasında kanamanın azaltılması ve cerrahi sahanın rahat görülebilmesinin önemini vurgulamış; 1873 yılında Esmarch tarafından kansız alanda cerrahi amacıyla lastik turnike kullanılmaya başlanmıştır. 1983 yılında Redman hipospadyas cerrahisinde hemostaz amacıyla lastik turnike uygulamasını tariflemiştir (1).

Özellikle ekstremitte cerrahisinde turnike uygulamasının yöntem ve süresini inceleyen birçok çalışma mevcuttur (7,31,32,33). Concannon’un çalışmasında tavşanlarda turnikeye bağlı iskemi süresi ile reperfüzyon hasarı arasında doğru orantı olduğunu gösterilmiştir. 1 ile 4,5 saat arasında değişen sürelerde turnike uygulanan ve 20 dakika reperfüzyon aralıkları olan çalışmada MDA düzeyleri incelenmiş ve reperfüzyonu aralıklı olarak uygulamanın hasarı arttırdığı bildirilmiştir (7). Sapega ve Sirsjö ise yayınlarında aralıklı turnike uygulamasının reperfüzyon hasarını azalttığını ve cerrahi süresince total turnike süresini uzatmak için belirli aralıklarda reperfüzyon uygulanması gerektiğini savunmaktadır (32,33).

Penil turnike işlemi hipospadyas cerrahisinde çoğu cerrah tarafından uygulanan bir işlem olmasına rağmen güvenilir turnike süresinin ne olması gerektiği hakkında ortak görüş bildiren literatür yoktur. Kimi cerrahlar tüm operasyon süresince turnike uygulamasını savunurken kimi belirli aralıklarla turnike uyguladıklarını belirtmişlerdir. Hipospadyas cerrahisinde turnike uygulayan ilk cerrah olan Redman 1983’te yayınladığı 146 olgu serisinde 12 ila 50 dakika arasında değişen sürelerde iskemik değişiklikler olduğunu bildirmiş, 50 dakika ve altında uygulamaların güvenli olduğunu belirtmiştir (1). Pathak minör cerrahi girişimler sırasında 9 ile 14 dakika arasında değişen sürelerde turnike uygulamıştır. Serisinde turnike uygulamasına bağlı ödem gelişimi %4,1 oranında bildirilmiştir (2). Cloutier ve Rabinovitch operasyon süresince turnike uygularken (3,34); Duckett, Smith ve Belman aralıklı turnikeyi savunmaktadır (4,5,35).

Çeşitli dokularda iskemi reperfüzyonun yol açtığı hasarı inceleyen bir çok çalışma mevcuttur (11,12,13,14). İntestinal iskemi ve reperfüzyon hasarını inceleyen Vinardi'nin çalışmasında; ratlarda 60 dakika mezenter iskemisi ve 120 dakika reperfüzyon periodunun ardından ileum ve akciğer dokusunda myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ölçülmüş, reperfüzyon hasarına bağlı olarak doku MPO aktivitesinin arttığını gösterilmiştir (12). Yine diğer bir intestinal iskemi reperfüzyon çalışmasında dokularda ve serumda MDA düzeylerinin oksidatif hasara bağlı olarak arttığı bildirilmiştir (11). Myokard, renal parankim ve çizgili kas gibi bir çok değişik dokuda iskemi ve reperfüzyon hasarını inceleyen deneysel çalışmalar literatürde yeralmaktadır (13,14,37).

Erektile dokularda iskemi ve reperfüzyon hasarını inceleyen çalışma sayısı oldukça azdır. Munnarriz ve arkadaşları tarafından 2003 yılında yayınlanan bir çalışmada, tavşan penisinde deneysel priapizm oluşturularak, kavernoöz dokularda meydana gelen histopatolojik ve biyokimyasal değişiklikler araştırılmıştır (15). Bu çalışmada meydana getirilen hipoksik dönemi takiben uygulanan reperfüzyon süresi ile orantılı olarak doku MDA ve myeloperoksidaz seviyelerinin arttığı belirlenmiştir. Doku örneklerinin histopatolojik incelemelerinde korpus kavernosum endotelinde polimorfonükleer lökosit adhezyonu ve doku altında lökosit infiltrasyonu meydana geldiği, periferik arterlerin orta tabakalarında da lökosit adhezyonu ve infiltrasyonu meydana geldiği gösterilmiştir. Reperfüzyon hasarının çeşitli antioksidan ajanların kullanımı ile azaltılabileceğine dikkat çekilmiş ve bu konuda çalışılması gerektiği bildirilmiştir.

Çakmak ve arkadaşlarının tavşanda penil turnike çalışmasında; uygulanan penil turnikenin hipospadyas cerrahisinde kullanılan cilt flepleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır (38). Deneklerde, Mathieu tipi cilt flebi hazırlanmış ve sırası ile 10, 20, 40 dakikalık turnike uygulamasının ardından 5 dakikalık reperfüzyon yapılarak MDA düzeylerine bakılmıştır. Kontrol grubuna göre çalışma gruplarında MDA düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Histopatolojik incelemede 10 dakikalık turnike uygulamasında belirgin ödem, konjesyon, ekstrasvazyon ve lenfanjektazi saptanmıştır. 20 ve 40 dakika gruplarında da histopatolojik bulguların değişik derecelerde devam ettiği bildirilmiştir. Ödem ve ekstrasvazyonun yara iyileşmesinde olumsuz rol oynadığı; başarısız hipospadyas cerrahisinde penil turnike uygulamasının da sorumlu tutulabileceği belirtilmiştir.

2003 yılında Güney'in ve devamında 2007 yılında Oktay'ın yaptığı deneysel tez çalışmasında ratlarda penil turnike uygulamasının erektil dokular üzerindeki etkileri histopatolojik ve biyokimyasal olarak incelenmiştir. Bu çalışmada 20, 40 ve 60 dakika turnike uygulanan gruplarda erken ve geç dönem değişiklikler incelenmiş, histopatolojik bulgular ve MDA düzeyleri karşılaştırılmıştır. Tüm gruplarda, turnike süresi ile orantılı olarak artan şiddette histopatolojik değişiklikler olduğu bildirilmiştir. Erken dönemde ödem, konjesyon, lenfanjektazi ve özellikle 60 dakikalık grupta tunika albuginea ve korpus kavernozumda fibrozis gibi değişikliklerin meydana geldiği saptanmıştır. 3 haftalık geç dönemde bulguların devam ettiği, uzun süreli turnike uygulaması sonucu üretra epiteli altında fibrozis gelişebileceği gösterilmiştir. Biyokimyasal incelemede 20 ve 40 dakikalık turnike uygulamasında MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı belirtilmiştir. Bir antioksidan olan Enoant'ın bu etkileri engellediği deneysel olarak gösterilmiştir (16, 17).

TNF alfa'nın dokudaki inflamatuvar yanıtı artırıcı etkileri bir çok çalışmaya konu olmuş ve bu etkinin varlığı çeşitli dokulardaki iskemi-reperfüzyon modellerinde araştırılmıştır. Gusti Agung Suryadarma 2007 yılındaki çalışmasında Karaciğerde iskemi/reperfüzyon hasarında TNF alfanın rolü açık şekilde belirtilmiştir. Yine Kirstan K. ve arkadaşları 2002 yılında böbrekte, Qiuping Gu ve arkadaşları 2006 yılındaki çalışmasında kalp kasında, Kate Lykke Lambertsen ve arkadaşları 2009 yılında beyinde, iskemi/reperfüzyon hasarında TNF alfanın etkisini göstermişler .

TNF alfanın bu doku hasarını artırıcı etkilerine karşılık IL 10'un inflamatuvar yanıtı sınırlayan ve doku hasarını azaltıcı etkileri de birçok deneysel ve insan çalışmasında kullanılmıştır. Elaine Radwanski ve arkadaşları 1998 yılında insanlar üzerinde yaptıkları çok önemli bir çalışmada rekombinant IL 10 preparatlarının subcutan kullanımında vücutta TNF alfa ve IL 1 salınımını azalttığını göstermişlerdir. 1999 yılında Wegener granülomatosis'li hastalarda IL 10 subkutan 4 mikrogram/kg/gün kullanılmıştır. 2010 yılında Buruiana FE. ve arkadaşları Crohn'lu hasta grubunda IL 10 kullanıp, hastaların remisyona girdiğini göstermişlerdir.

Çalışmamıza aralarında anlamlı olarak yaş farkı olmayan 24 olgu dahil edilmiştir. Kontrol grubu aynı strese maruz kalması amaçlanarak hipospadyas grubu gibi anestezi altında girişim yapılan sünnet hastalarından oluşturulmuştur. Sünnet işlemi sırasında kan alınan olgularla hipospadyas cerrahisi yapıp turnike uygulanan hastaların

turnike öncesi alınan kanlarda TNF alfa ve IL 10 miktarları arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Buna karşılık turnike bitiminde alınan kanlarda kontrol grubu ve turnike öncesi alınan kanlarla karşılaştırıldığında belirgin olarak yüksek TNF alfa ve IL 10 düzeyi dikkat çekmiştir ve istatistiksel olarak kanıtlanmıştır.

Elde edilen sonuçlarda;

- 1) Hipospadias cerrahisinde uygulanan penil turnike yöntemi iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturmakta TNF alfa ve IL 10 düzeylerinde artış saptanmaktadır. Bu durum literatür verileri ile birleştirildiğinde inflamasyon başlangıcında ortaya çıkan ve inflamasyonun şiddetini arttıran TNF alfa ile birlikte hemen eş zamanlı inflamasyonu sınırlandıran IL 10 cevabı da olmaktadır.
- 2) TNF alfa ve buna karşılıklı IL-10 düzeylerindeki artış hipospadias cerrahisinde en sık karşılaşılan komplikasyon olan fistül oluşumunun etyopatogenezini açıklamaya yardımcı olabilir.

Vücutta iskemi-reperfüzyon durumlarında, inflamasyonu ve dolayısıyla doku yıkımını arttıran faktörlerle inflamasyonu sınırlandıran, başka bir deyişle doku yıkımını azaltan faktörler denge halindedir. Bu denge, dışardan verilebilecek rekombinant IL 10 preparatları ve “Infliximab” gibi TNF alfa reseptör bloker antikoru veya “Etanercept” dolaşım TNF alfa inhibitörleri ile, IL 10 lehine bozulabilir ve oluşan doku hasarının önüne geçilebilir.

Çocuk cerrahisinde iskemi-reperfüzyon hasarı ile birliktelik gösteren hipospadias cerrahisine bağlı bir komplikasyon olan fistül oluşumu ve glans nekrozunda, yanlış lokal anestezi kullanımına bağlı oluşan sünnet komplikasyonlarında ve hatta gonad torsiyonlarında bu preparatların kullanımı ile doku hasarı belirli oranlarda hafifletilebilir. Bunun için bu çalışmanın devamında bu preparatlarla ilgili çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Redman JF. Tourniquet as hemostatic aid in repair of hypospadias. *Urology* 1986 Sep; 28(3):241.
2. Pathak KA. Penile tourniquet: an invaluable technique. *Scand J Urol Nephrol* 1997 Oct; 31(5):457-8.
3. Rabinovitch HH. Experience with a modification of the Cloutier technique for hypospadias repair. *J Urol* 1988 May; 139(5):1017-19.
4. Duckett JW, Keating MA. Technical challenge of the megameatus intact prepuce hypospadias variant: the pyramid procedure. *J Urol* 1989 Jun; 141(6):1407-9.
5. Smith D. A de-epithelialised overlap flap technique in the repair of hypospadias. *Br J Plast Surg* 1973 Apr; 26(2):106-14.
6. Klenerman L. The tourniquet in surgery. *J Bone Joint Surg Br* 1962 Nov; 44-B: 937-43.
7. Concannon MJ, Kester CG, Welsh CF, Puckett CL. Patterns of free radical production after tourniquet ischemia: implications for the hand surgeon. *Plast Reconstr Surg* 1992 May; 89(5):846-52.
8. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994 May; 81(5):637-47.
9. Khalil AA, Aziz FA, Hall JC. Reperfusion injury. *Plast Reconstr Surg* 2006 Mar; 117(3):1024-33. Review.
10. McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 2000 Jun 1; 108(8):652-9.
11. Stefanutti G, Pierro A, Vinardi S, Spitz L, Eaton S. Moderate hypothermia protects against systemic oxidative stress in a rat model of intestinal ischemia and reperfusion injury. *Shock* 2005 Aug; 24(2):159-64.
12. Vinardi S, Pierro A, Parkinson EJ, Vejchapipat P, Stefanutti G, Spitz L, Eaton S. Hypothermia throughout intestinal ischaemia-reperfusion injury attenuates lung neutrophil infiltration. *J Pediatr Surg* 2003 Jan; 38(1):88-91; discussion 88-91.
13. Mark LA, Robinson AV, Schulak JA. Inhibition of nitric oxide synthase reduces renal ischemia/reperfusion injury. *J Surg Res* 2005 Dec; 129(2):236-41.

14. Pickelmann S, Nolte D, Leiderer R, Mollmann M, Schutze E, Messmer K. Effects of the phlebotropic drug Daflon 500 mg on postischemic reperfusion injury in striated skin muscle: a histomorphologic study in the hamster. *J Lab Clin Med* 1999 Nov; 134(5):536-45.
15. Munarriz R, Park K, Huang YH, Saenz de Tejada I, Moreland RB, Goldstein I, Traish AM. Reperfusion of ischemic corporal tissue: physiologic and biochemical changes in an animal model of ischemic priapism. *Urology* 2003 Oct; 62(4):760-4.
16. Güney C. Penil turnike uygulamasının erektil dokular üzerine histopatolojik ve biyokimyasal etkileri : Sıçanlarda deneysel bir çalışma. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2003.
17. Oktay E.R. Sıçan Modelinde Aralıklı ve Sürekli Penil Turnike Uygulamalarının Karşılaştırılması ve Antioksidan Etkinliğinin Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2007.
18. Moore KL, Dalley AF, editors. *Clinically Oriented Anatomy*. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
19. Goldstein AM, Padma-Nathan H. The microarchitecture of the intracavernosal smooth muscle and the cavernosal fibrous skeleton. *J Urol* 1990 Nov; 144(5):1144-6.
20. Hsu GL. Hypothesis of human penile anatomy, erection hemodynamics and their clinical applications. *Asian J Androl* 2006 Mar; 8(2):225-34.
21. Newman HF, Northup JD. Mechanism of human penile erection: an overview. *Urology* 1981 May; 17(5):399-408.
22. Aboseif SR, Lue TF. Hemodynamics of penile erection. *Urol Clin North Am* 1988 Feb; 15(1):1-7.
23. Fitzpatrick T. The corpus cavernosum intercommunicating venous drainage system. *J Urol* 1975 Apr; 113(4):494-6.
24. Baskin LS, Erol A, Li YW, Liu WH. Anatomy of the neurovascular bundle: is safe mobilization possible. *J Urol* 2000 Sep; 164(3 Pt 2):977-80.
25. Brock G, Hsu GL, Nunes L, von Heyden B, Lue TF. The anatomy of the tunica albuginea in the normal penis and Peyronie's disease. *J Urol* 1997 Jan; 157(1):276-81.

26. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO, editors. *Basic Histology*. 9th ed. McGraw-Hill Publishing Co, 1998.
27. Dean RC, Lue TF. Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction. *Urol Clin North Am* 2005 Nov; 32(4):379-95.
28. Schwartz SI, editor. *Principles of Surgery*. 7th ed, McGraw-Hill Professional; 1998.
29. Semenza GL. Cellular and molecular dissection of reperfusion injury: ROS within and without. *Circ Res* 2000 Feb 4; 86(2):117-8.
30. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL, editors. *Basic Pathology* - Hücre zedelenmesi, ölümü ve adaptasyonu. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti. 2000.
31. Patterson S, Klenerman L. The effect of pneumatic tourniquets on the ultrastructure of skeletal muscle. *J Bone Joint Surg Br* 1979; 61-B(2):178-83.
32. Sapega AA, Heppenstall RB, Chance B, Park YS, Sokolow D. Optimizing tourniquet application and release times in extremity surgery. A biochemical and ultrastructural study. *J Bone Joint Surg Am* 1985 Feb; 67(2):303-14.
33. Sirsjö A, Gidlöf A, Nilsson G, Povlsen B. Skeletal muscle blood flow after prolonged tourniquet ischaemia and reperfusion with and without intervening reoxygenation: an experimental study in rats using laser Doppler perfusion imaging. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 1999 Sep; 33(3):281-5.
34. Cloutier AM. A method for hypospadias repair. *Plast Reconstr Surg Transplant Bull* 1962 Sep; 30:368-73.
35. Belman AB. The de-epithelialized flap and its influence on hypospadias repair. *J Urol* 1994 Dec; 152(6 Pt 2):2332-4.
36. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978; 12:302-10).
37. Maxwell SR, Lip GY. Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *Int J Cardiol* 1997 Jan 31; 58(2):95-117.
38. Cakmak M, Caglayan F, Kisa U, Bozdogan O, Saray A, Caglayan O. Tourniquet application and epinephrine injection to penile skin: is it safe? *Urol Res* 2002 Sep; 30(4):268-72.

39. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1975 Sep;72(9):3666-70.
40. Eck, M. J., and Sprang, S. R. (1989) *J Biol Chem* 264, 17595-17605.
41. Murray J, Barbara JA, Dunkley SA, Lopez AF, Van Ostade X, Condliffe AM, Dransfield I, Haslett C, Chilvers ER. Regulation of neutrophil apoptosis by tumor necrosis factor-alpha: requirement for TNFR55 and TNFR75 for induction of apoptosis in vitro. *Blood*. 1997 Oct 1;90(7) :2772-83.
42. National Cancer Institute, 1995
43. Van Ostade X, Vandenabeele P, Everaerd B, Loetscher H, Gentz R, Brockhaus M, Lesslauer W, Tavernier J, Brouckaert P, Fiers W. Human TNF mutants with selective activity on the p55 receptor. *Nature*. 1993 Jan 21;361(6409):266-9.
44. Madge LA, Pober JS. TNF signaling in vascular endothelial cells. *Exper Molec Path*. 2001;70:317–325.
45. Wertheimer S, Myers C, Wallace R, et al. Intercellular adhesion molecule 1 gene expression in human endothelial cells. Differential regulation by tumor necrosis factor-alpha and phorbol myristate acetate. *J Biol Chem*. 1992;267:12030–12035.
46. Rink, L., Kirchner, H. 1996. Recent Progress in the Tumor Necrosis Factor-Alpha Field. *International Archives of Allergy and Immunology*. 111 (3) : 199-209
47. Selzner N, Selzner M, Odermatt B, Tian Y, Van Rooijen N, Clavien PA. ICAM-1 triggers liver regeneration through leukocyte recruitment and Kupffer cell-dependent release of TNF-alpha/IL-6 in mice. *Gastroenterology*. 2003 Mar;124(3):692-700.
48. Asadullah K, Volk HD, Friedrich M, Sterry W. Experimental therapies for psoriasis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2002;50(6):411-20. Review.