



**T.C. SAđLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ**  
**PROF. DR. CEMİL TAŐCIOđLU ŐEHİR HASTANESİ**  
**ROLOğİ KLİNİğİ**

**TESTİS TORSİYONU OLUŞTURULAN RAT MODELİNDE**  
**MİSOPROSTOL'N DETORSİYON SONRASI İSKEMİ REPERFÜZYON**  
**ÜZERİNE ETKİSİ**

**Dr. Mehmet Ali Sezgin**

**(TIPTA UZMANLIK TEZİ)**

**İSTANBUL/2024**





**T.C. SAđLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ**  
**PROF. DR. CEMİL TAŐCIOđLU ŐEHİR HASTANESİ**  
**ROLOğİ KLİNİğİ**

**TESTİS TORSİYONU OLUŞTURULAN RAT MODELİNDE**  
**MİSOPROSTOL'N DETORSİYON SONRASI İSKEMİ REPERFÜZYON**  
**ÜZERİNE ETKİSİ**

**Dr. Mehmet Ali Sezgin**

**Tez DanıŐmanı: Prof. Dr. Emre Can Polat**

**(TIPTA UZMANLIK TEZİ)**

**İSTANBUL/2024**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimine başladığım günden bu yana bilgi ve birikimi ile bana rehberlik eden, hiçbir konuda desteğini esirgemeyen kendilerinden çok değerli bilgiler öğrendiğim üroloji kliniği eğitim ve idari sorumlusu değerli hocam Prof. Dr. Alper Ötünçtemur'a,

Asistanlığımın ilk yıllarında beraber çalıştığım, mesleki tecrübeleriyle eğitim hayatıma katkıda bulunan sayın hocam Prof. Dr. Fatih Altunrende'ye,

Deneyimlerini benimle paylaşan, bilgisi ile yol gösteren, tez sürecinde tüm sorularımı sabırla yanıtlayan tez danışmanım Prof. Dr. Emre Can Polat'a,

Asistanlığım boyunca ilgi ve önerilerini eksik etmeyen, tez yazım aşamasında tecrübeleriyle destek olan değerli hocam Doç. Dr. Levent Özcan'a,

Hayata dair engin tecrübeleri, her konuda her an yardım etmeye hazır, sonsuz mesleki deneyimlerini aktarmaları ve eğitim sürecime katkıları nedeniyle Op. Dr. Erol Aras, Doç. Dr. Erkan Merder ve Doç. Dr. Ahmet Arıman'a,

Uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük emekleri olan kliniğimiz uzmanları Op. Dr. Galip Dedekargınoğlu, Op. Dr. Eyyüp Danış, Doç. Dr. Mehmet Ali Karagöz, Doç. Dr. Mustafa Erkoç, Doç. Dr. Caner Baran, Prof. Dr. H. Lütfi Canat, Doç. Dr. M. Gökhan Çulha, Doç. Dr. İlter Alkan, Doç. Dr. Sait Özbir, Doç. Dr. H. Anıl Atalay, Doç. Dr. S. Sami Çakır, Doç. Dr. Muammer Bozkurt, Op. Dr. E.Erdinç Çelebi'ye,

Uzmanlık eğitimim süresince beraber çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum değerli asistan arkadaşlarım Op. Dr. Samir Aghalarov, Op. Dr. Osman Can, Op. Dr. Vusal Pirverdiyev, Op. Dr. Erdem Toprak, Op. Dr. Murat Özer, Op. Dr. Erdal Abay, Dr. Kenan Sabuncu, Dr. E. Görkem Kutlutürk, Dr. Musab U. Karakanlı, Dr. Veysel Sezgin, Dr. A. Talha Akan, Dr. Ahmet Boylu, Dr. Kahraman Aksoy, Dr. Fırat Karadaş, Dr. Hasan Cem Yakut, Dr. Adil Maraz, Dr. Alper Elhan, Dr. Tolga Doğan, Dr. Asilbek Samatov, Dr. Volkan Çevik, Dr. Ebubekir Atan, Dr. Süleyman Benli, Dr. Yusuf Y. Yüksel'e,

Üroloji servisinde ve ameliyathanesinde çalışan tüm hemşire, personel ve anestezi ekibine,

Eğitim hayatım boyunca yoğunluk nedeniyle vakit ayıramadığım, hayatımın her anında desteklerini hissettiğim, bana öncelikli olarak ahlaklı bir insan olmayı öğreten ve bugünlere gelmemde sonsuz emekleri olan canım aileme, yoğun çalışma hayatımda desteğini hep hissettiğim sevgili eşim Zeynep ve biricik oğlum Koray'a sonsuz teşekkürler.

# İÇİNDEKİLER

|  |     |
|--|-----|
| TEŞEKKÜR.....                                | i   |
| İÇİNDEKİLER .....                            | ii  |
| KISALTMALAR .....                            | iv  |
| TABLO DİZİNİ .....                           | v   |
| ÖZET .....                                   | vii |
| ABSTRACT.....                                | ix  |
| 1. GİRİŞ ve AMAÇ .....                       | 1   |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                      | 3   |
| 2.1 Testis Embriyolojisi .....               | 3   |
| 2.2 Testis Histolojisi .....                 | 4   |
| 2.2.1 Seminifer Tübüller .....               | 5   |
| 2.2.2 Spermatogenez - Spermiyogenez.....     | 5   |
| 2.2.3 Sertoli Hücreleri.....                 | 5   |
| 2.2.4 Leydig Hücreleri .....                 | 6   |
| 2.3 Testis Anatomisi .....                   | 7   |
| 2.3.1 Testisin Nörovasküler Yapısı .....     | 8   |
| 2.4 Testis Torsiyonu.....                    | 9   |
| 2.4.1 İntravaginal Testis Torsiyonu .....    | 10  |
| 2.4.2 Ekstravaginal Testis Torsiyonu.....    | 10  |
| 2.4.3 Tanı ve Tedavi .....                   | 11  |
| 2.5 İskemi ve Reperfüzyon .....              | 12  |
| 2.5.1 İskemi.....                            | 12  |
| 2.5.2 İskemi Reperfüzyon Hasarı.....         | 13  |
| 2.5.3 Oksidatif Stres.....                   | 14  |
| 2.5.4 Antioksidanlar .....                   | 16  |
| 2.6 Misoprostol .....                        | 16  |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM .....                     | 18  |
| 3.1 Deney Hayvanları ve Etik Kurul İzni..... | 18  |

|   |    |
|---|----|
| 3.2 Deneş Protokolü .....   | 18 |
| 3.3 Deneş Grupları.....   | 18 |
| 3.4 Deneş Gruplarına Uygulanan İşlemler .....                         | 19 |
| 3.5 Biyokimyasal inceleme .....                                       | 20 |
| 3.5.1 Doku Lipit Peroksidasyonu (LPO) ve Glutasyon (GSH) Ölçümü ..... | 21 |
| 3.5.2 Doku Myeloperoksidaz (MPO) Düzeylerinin Ölçümü.....             | 21 |
| 3.5.3 Total Antioksidan Seviye (TAS).....                             | 21 |
| 3.6 Histopatolojik İnceleme .....                                     | 22 |
| 3.7 İmmunohistokimyasal İnceleme .....                                | 23 |
| 3.8 İstatiksel Analiz.....  | 24 |
| 4. BULGULAR.....  | 25 |
| 4.1 Biyokimyasal Bulgular .....                                       | 25 |
| 4.2 Histopatolojik Bulgular.....                                      | 27 |
| 4.3 İmmunohistokimyasal Bulgular.....                                 | 30 |
| 5. TARTIŞMA .....   | 33 |
| 6. SONUÇ .....  | 42 |
| 7. KAYNAKLAR .....  | 44 |

## KISALTMALAR

- AMH:** Anti-müllerian hormon  
**Apaf-1:** Apoptotik proteaz aktive edici faktör 1  
**ATP:** Adenozin trifosfat  
**CGRP:** Calcitonin gene-related peptide  
**DHT:** Dihidrotestosteron  
**DNA:** Deoksiribonükleik asit  
**FSH:** Follicle-stimulating hormone  
**GnRH:** Gonodotropin releasing hormon  
**GSH:** Glutatyon  
**GSSG:** Okside glutatyon  
**H&E:** Hematoksilen&Eozin  
**INSL-3:** Insulin like hormon-3  
**İ/R:** İskemi/reperfüzyon  
**iNOS:** İndükleyici nitrik oksit sentaz  
**MD:** Mullerian ducts  
**MDA:** Malondialdehid  
**MPO:** Myeloperoksidaz  
**NAD:** Nikotinamid Adenin Dinükleotit  
**PAF:** Platelet Activating Factor  
**ROT:** Reaktif oksijen türevleri  
**SRY:** Sex-determining region Y  
**T/D:** Torsiyon/detorsiyon  
**TAS:** Total antioksidan seviye  
**TNF-a:** Tümör nekroz faktör a  
**WD:** Wolffian ducts

## TABLO DİZİNİ

|  |    |
|--|----|
| <b>Tablo 1.</b> Deney çalışma grupları ve deney protokolü.....             | 19 |
| <b>Tablo 2.</b> Cosentino Skoru .....                                      | 22 |
| <b>Tablo 3.</b> Johnsen Skoru .....  | 23 |
| <b>Tablo 4.</b> Gruplar arası GSH değerlerinin karşılaştırılması .....     | 25 |
| <b>Tablo 5.</b> Gruplar arası MDA değerlerinin karşılaştırılması.....      | 26 |
| <b>Tablo 6.</b> Gruplar arası MPO değerlerinin karşılaştırılması .....     | 26 |
| <b>Tablo 7.</b> Gruplar arası TAS değerlerinin karşılaştırılması .....     | 27 |
| <b>Tablo 8.</b> Gruplar arası Johnsen Skorlarının karşılaştırılması .....  | 28 |
| <b>Tablo 9.</b> Gruplar arası Cosentino skorlarının karşılaştırılması..... | 30 |
| <b>Tablo 10.</b> Gruplar arası Apaf-1 değerlerinin karşılaştırılması.....  | 31 |
| <b>Tablo 11.</b> Gruplar arası iNOS değerlerinin karşılaştırılması.....    | 31 |

## ŞEKİL DİZİNİ

|  |    |
|--|----|
| Şekil 1. Testis İniş Evreleri .....  | 4  |
| Şekil 2. Seminifer tübül ve çevre dokuların şematik çizimi .....   | 6  |
| Şekil 3. Seminifer tübüller ve interstisyum içerisinde bulunan leydig hücrelerini gösteren testis dokusu ..... | 7  |
| Şekil 4. Skrotum ve testisin enine kesiti. ....  | 8  |
| Şekil 5. Testisin arteriyel kanlanması .....   | 9  |
| Şekil 6. Torsiyon Çeşitleri .....  | 11 |
| Şekil 7. T/D (Grup C): Johnsen skor 1, 2, 4 ve 10 tübül yapıları (HEx40) .....                                 | 28 |
| Şekil 8. Kontrol (Grup B): Johnsen skor 9 ve 10 tübül yapıları (HEx40) .....                                   | 29 |
| Şekil 9. Testis dokularına ait mikroskopik inceleme .....  | 32 |
| Şekil 10. Testis dokularına ait mikroskopik inceleme .....   | 32 |

# TESTİS TORSİYONU OLUŞTURULAN RAT MODELİNDE MİSOPROSTOL'ÜN DETORSİYON SONRASI İSKEMİ REPERFÜZYON ÜZERİNE ETKİSİ

## ÖZET

**Amaç:** Testis torsiyonu iskemisi sonucu organ kaybına kadar ilerleyebilen, hızlı tanı ve tedavi gerektiren ürolojik acil bir durumdur. Çalışmamızda misoprostolün testiküler iskemisi reperfüzyon (İ/R) hasarı üzerine etkisini araştırmayı amaçladık.

**Gereç ve Yöntem:** 35 adet Wistar-Albino sıçan randomize edilerek; Grup A sham, Grup B kontrol, Grup C torsiyon-detorsiyon(T/D), Grup D T/D + oral 200 mcg/kg misoprostol ve Grup E T/D + spermatik korda 200 mcg/kg misoprostol enjeksiyonu olmak üzere 5 gruba ayrıldı. Biyokimyasal olarak testis dokusunda malondialdehid (MDA), myeloperoksidaz (MPO), glutatyon (GSH) ve total antioksidan seviye (TAS) düzeyleri değerlendirildi. Histopatolojik incelemede, testiküler doku Hematoksilen&Eozin (H&E) boyası ile boyandı ve ışık mikroskopik bulguları incelendi. Spermatogenezisi değerlendirmek için Johnsen skoru ve seminifer tübüllerdeki hasarı değerlendirmek için Cosentino skorlama sistemi kullanıldı. İmmunohistokimyasal analiz için apoptoz proteaz aktive edici faktör-1 (Apaf-1) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) aktivitesi değerlendirildi. Elde edilen veriler Kruskal Wallis ve Mann Whitney-U testi ile karşılaştırıldı.

**Bulgular:** Biyokimyasal değerlendirmede GSH ve TAS seviyeleri T/D grubunda, sham ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük saptandı. T/D grubuna misoprostolün oral ve spermatik korda enjeksiyon yöntemiyle uygulanması GSH seviyelerinde anlamlı artış göstermiştir. TAS seviyelerinde de artışa sebep olmuştur. Fakat TAS seviyesindeki artış anlamlı bulunmamıştır. MDA ve MPO değerleri, T/D grubu ve reperfüzyon öncesi oral misoprostol grubu arasında karşılaştırıldığında tedavi grubunda anlamlı düzeyde azalma görülmüştür. Spermatik korda misoprostol uygulanan grup ile T/D grubu karşılaştırıldığında MDA seviyesinde azalma istatistiksel

anamlılık göstermesine rağmen MPO seviyesinde azalmada anlamlılık izlenmemiştir. Johnsen skorlarında T/D grubunda, sham ve kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalma saptanmıştır. T/D grubuna, misoprosoln oral ve spermatik korda enjeksiyonu ile uygulanması sonrası Johnsen skorlarında anlamlı düzelme gözlenmiştir. Cosentino skorlaması T/D grubunda, sham ve kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artmıştır. Apaf-1 ve iNOS aktivitesi T/D grubunda, sham ve kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek saptanmıştır. Oral ve spermatik korda enjeksiyon yöntemiyle tedavi alan gruplar da Apaf-1 ve iNOS seviyeleri T/D grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır.

**Sonuç:** Misoprostol uygulaması deneysel testis torsiyon modelinde T/D oluşturulan sıçanlarda İ/R hasarına karşı koruyucu bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Testis torsiyonu, Misoprostol, İskemi reperfüzyon hasarı

# EFFECT OF MISOPROSTOL ON ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY FOLLOWING DETORSION IN A CREATED RAT MODEL OF TESTICULAR TORSION

## ABSTRACT

**Aim:** Testicular torsion is a urological emergency that can progress to organ loss due to ischemia, requiring prompt diagnosis and treatment. In our study, we aimed to investigate the effect of misoprostol on testicular ischemia-reperfusion (I/R) injury.

**Material-Methods:** 35 Wistar-Albino rats were randomized into five groups: Group A sham, Group B control, Group C torsion-detorsion (T/D), Group D T/D + oral 200 mcg/kg misoprostol, and Group E T/D + intratesticular injection of 200 mcg/kg misoprostol on the spermatic cord. Biochemically, malondialdehyde (MDA), myeloperoxidase (MPO), glutathione (GSH), and total antioxidant status (TAS) levels were assessed in testicular tissue. Histopathological examination involved staining the testicular tissue with Hematoxylin & Eosin (H&E) and analyzing light microscopic findings. For spermatogenesis evaluation, the Johnsen score was used, and the Cosentino scoring system was employed to assess damage in the seminiferous tubules. Immunohistochemical analysis included evaluating the activity of apoptosis protease-activating factor-1 (Apaf-1) and inducible nitric oxide synthase (iNOS). The obtained data were compared using the Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U tests.

**Results:** In the biochemical assessment, GSH and TAS levels were significantly lower in the T/D group compared to the sham and control groups. The application of misoprostol to the T/D group through oral and intratesticular injection methods resulted in a significant increase in GSH levels and also led to an increase in TAS levels, although the increase in TAS levels was not statistically significant. MDA and MPO values showed a significant decrease in the treatment group when compared with the T/D group and the pre-reperfusion oral misoprostol group. While a statistically significant decrease in MDA levels was observed when comparing the group receiving misoprostol on the spermatic cord with the T/D group, no significance was observed

in the decrease in MPO levels. Johnsen scores revealed a significant decrease in the T/D group compared to the sham and control groups. Following the application of misoprostol through oral and intratesticular injection to the T/D group, a significant improvement in Johnsen scores was observed. Cosentino scoring increased significantly in the T/D group compared to the sham and control groups. Apaf-1 and iNOS activities were significantly higher in the T/D group compared to the sham and control groups. Groups receiving treatment through oral and intratesticular injection methods showed a significant decrease in Apaf-1 and iNOS levels compared to the T/D group.

**Conclusion:** The application of Misoprostol has been found to be protective against I/R damage in rats with T/D created in the experimental testicular torsion model.

**Keywords:** Testicular torsion, Misoprostol, Ischemia reperfusion injury

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Testis torsiyonu, testis veya spermatik kordun kendi ekseninde dönmesi sonucunda testis kanlanması ve venöz dönüşün bozulmasıyla karakterize erken müdahale gerektiren ürolojik acil bir durumdur. Her yaş grubunda görülebilir, en sık yenidoğan ve adölesan dönemdeki erkekleri etkilemektedir (1). Ani başlayan ağrı ile başvuran akut skrotum vakalarının ayırıcı tanısında mutlaka düşünülmelidir. İlk 6 saat içerisinde olan müdahalelerde testiküler dokunun kurtarılma oranının %90 ve üzerinde olduğu, 24 saatlik bir gecikme sonrası bu oranın %10 ve daha da altına düştüğü belirtilmiştir (2). Testis torsiyonundan tedaviye kadar geçen süre ve testisin dönme derecesi tedavi başarısında önemli faktörlerdir (3). Torsiyone testiste iskemik durumu ortadan kaldırmak için erken skrotal eksplorasyon ve detorsiyon gerekmekte olup testis canlılığını sağlama olasılığını arttırmaktadır (4). Her ne kadar başarılı cerrahi detorsiyon gerçekleştirilse de hastaların yaklaşık %50 sinde testiküler atrofi ve disfonksiyon gelişmektedir (5).

İskemi sonrası testiküler dokunun metabolizması için gerekli olan enerji karşılanamamakta ve toksik metabolitler birikmekte bunun sonucunda germ hücreleri fonksiyonlarını yerine getirmeyip zaman geçtikçe azalmaktadır (6). Testis hasarı oluşumunda iskemik kalan testiküler dokuda yetersiz doku oksijenizasyonunun yanında detorsiyon sonrası kan akımının artmasıyla oluşan serbest oksijen radikallerinin de olumsuz etkisi bulunmaktadır. Bu durum iskemi/reperfüzyon(İ/R) hasarı ile açıklanmaktadır. Çeşitli sitokinlerin artan ekspresyonu sonrasında reaktif oksijen ürünlerinin artması protein denatürasyonuna, membran lipitlerinde peroksidasyon ve mitokondride oksidatif fosforilasyon hasarına sebep olmaktadır (7).

Testisin İ/R hasarında etkilenmesini azaltmak için antioksidan mekanizmalar ile oksidatif stresi azaltmak uygun tedavi seçeneği olarak görülmektedir. İ/R hasarı üzerine birçok ajan böbrek, karaciğer, testis, beyin ve akciğer gibi organlarda deneysel model oluşturularak araştırılmıştır. Bu tedavi seçeneği reperfüzyon sonrası oluşan etkileri azaltacağı gibi cerrahi müdahaleye kadar olan süre için zaman kazandırabileceği düşünülmüş olup çalışmalar sıklığı artarak devam etmektedir.

Misoprostol sentetik PGE-1 analogudur. Misoprosol İ/R durumunda TNF-a, P-selektin, E-selektin gibi molekülleri baskılayarak antinflamatuar etki göstermiş olup

bunun yanında vazodilatatör ve sitoprotektif özelliklerinde olduğu çeşitli iskemi ve ilaç hasar çalışmalarında gösterilmiştir.(8,9) Misoprostolün karaciğer,böbrek ve serebral iskemi çalışmalarında antioksidan etki göstererek organ hasarı üzerine koruyucu rolü olduğu gösterilmiştir. (8,10,11)

Bu sonuçlar değerlendirildiğinde misoprostolün testis torsiyonlarında tedavi sonrası gerçekleşen İ/R hasarına olan etkisinin araştırılmasının faydalı olabileceğini çıkarımında bulunduk. Literatür araştırmasında testiste İ/R hasarında misoprostolün organ hasarına olan etkisini inceleyen çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda testiste gerçekleşen İ/R hasarının ve misoprostolün tedavi edici etkisini biyokimyasal, histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak incelemeyi amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

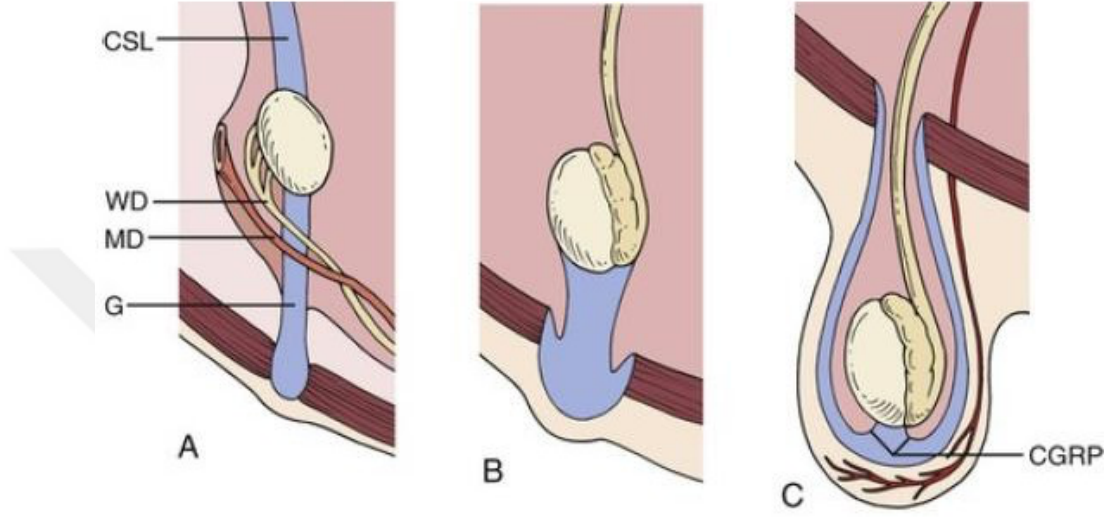
### 2.1 TESTİS EMBRİYOLOJİSİ

Fertilizasyondan sonra ilk 7 hafta boyunca cinsiyete ait özellikler ortaya çıkmaz bu dönem indiferansiye dönem olarak adlandırılır. Primordial germ hücreleri 5. haftada mezonefrozun medialinde genital tüberkülün oluşmasını sağlar. 6.haftada genital tüberkülün mezenkimini invaze ederek seks kordları oluşturur. 8-9. haftalarda farklılaşmamış genital tüberkülden, birçok genin eşlik ettiği karmaşık cinsiyet farklılaşma süreci başlar. Y kromozomu kısa kolunda bulunan 'cinsiyet belirleyici bölge' (SRY) geni erkek yönüne değişimde rol oynar. SRY geni olmadığında dişi fenotip gelişir. 9.haftada leydig hücreleri testosteron salgılamaya başlar. Ürogenital sinüs ve genital tüberkül içerisinde 5α redüktaz enzimi sayesinde testosteron dihidrotestosterona(DHT) dönüşür. DHT, normal penis ve prostat gelişimi için gereklidir (12).

SRY geni etkisinde medüller bölgedeki hücreler testiküler epitelyal kordlara dönüşür o da daha sonra farklılaşarak sertoli hücrelerine dönüşür. Sertoli hücrelerinden müllerian inhibe edici faktör (AMH) salgılanarak paramezonefrik kanalların regresyonuna neden olur. Buradan kalan artıklar testis üst polünde apendiks testis olarak kendini gösterir. Primordial germ hücreleri, ileri zamanda sertoli hücreleri ile etkileşim halinde olacak şekilde testiküler epitelyal kordlara göç eder. Testiküler epitelyal kord hücreleri seminifer tübül hücrelerine yönelerek farklılaşır. Distalde bulunan testiküler kordonlar rete testisi oluşturur. Medialde bulunan rete testis mezonefrik tübüller ile bağlanarak duktus efferentesleri oluşturur. Bu bağlantı spermin iletilmesinde önemlidir. 21.haftada testis, epididim ve vaz deferens arasındaki bağlantı sağlanır. Testis gelişim sürecinde mezotel tabakasından tunica albuginea belirginleşerek testis sınırları netleşir (13).

Testisler, gonadların farklılaşmasından önce üst lomber bölge proksimalinde kranial suspansatuar ligament, distalde gubernakulum tarafından tutulur. Yaklaşık 10-15. haftalar arasında inguinal bölgeye ilerler. Androjenlerin etkisiyle kranial bölgedeki ligaman regrese olmaya ve gubernakulum ise gelişmeye başlar. Gubernakulumun genişleme hareketinde insülin like hormon 3 (INSL-3)' ün etkisi olduğu gösterilmiştir. 28.haftada gubernakulumun gelişmesiyle eksternal ringden skrotuma doğru yer değiştirmeye başlar. Testise yön vermede kalsitonin geni ile ilişkili

peptid (CGRP) üretiminin gubernakular dokuda mitozu aktiflemesi üzerinden etkili olduğu izlenmiştir. Abdominal basınç artışının da testisin inguinal kanaldan skrotuma ilerleyişte etkili olduğu belirtilmektedir (14). Testisler seyri sırasında yukarıda anlatıldığı gibi transabdominal ve inguinokrotal evrelerini tamamlayıp skrotuma yerleşir. (Şekil 1)



**Şekil 1. Testis İniş Evreleri (13)**

CSL:Kraniosuspansatuar ligament

WD:Wolf kanalı

MD:Müllerian kanal

G:Gubernakulum

A- Kranialde CSL ve kaudal bölgede G tarafından tutulur.

B- G genişleme hareketi sonrası inguinal ring yakınına tutunur. (transabdominal faz)

C- G skrotuma doğru CGRP ve androjen etkisiyle uzaması (inguinokrotal faz)

## 2.2 TESTİS HİSTOLOJİSİ

Testiste seminifer tübüller, sertoli ve leydig hücreleri ana bileşenleri oluşturmaktadır. Testisin etrafını saran tunica albuginea fibroz uzantılar vererek testisti lobüler hale getirir ve damar, sinir lenf ağının içinden geçtiği mediastinum

testisi oluşturur. Lobüller içerisinde seminifer tübüller ve bunların arasında gevşek bağ doku içerisinde leydig hücreleri bulunur.

### **2.2.1 Seminifer Tübüller**

Seminifer tübüller miyoid hücreler ile sarılı bir bazal membran ile interstisyumdan ayrılırlar. Seminifer tübüllerde spermatozoonlar ve destek hücresi olarak sertoli hücreleri bulunmaktadır (15). Seminifer tübüller distale doğru düzleşerek tubuli rectiyi oluşturur bunlar rete testise oradan da duktus efferentis ile epididime açılırlar. Seminifer tübüller içerisinde spermatogenez ve spermiyogenezin farklı basamaklarındaki hücreler bir arada görülebilir. (Şekil-2) Sıklıkla spermatogonium hücreleri bazal membrana daha yakın olup spermatozoonlar lümene daha yakın olarak bulunurlar.

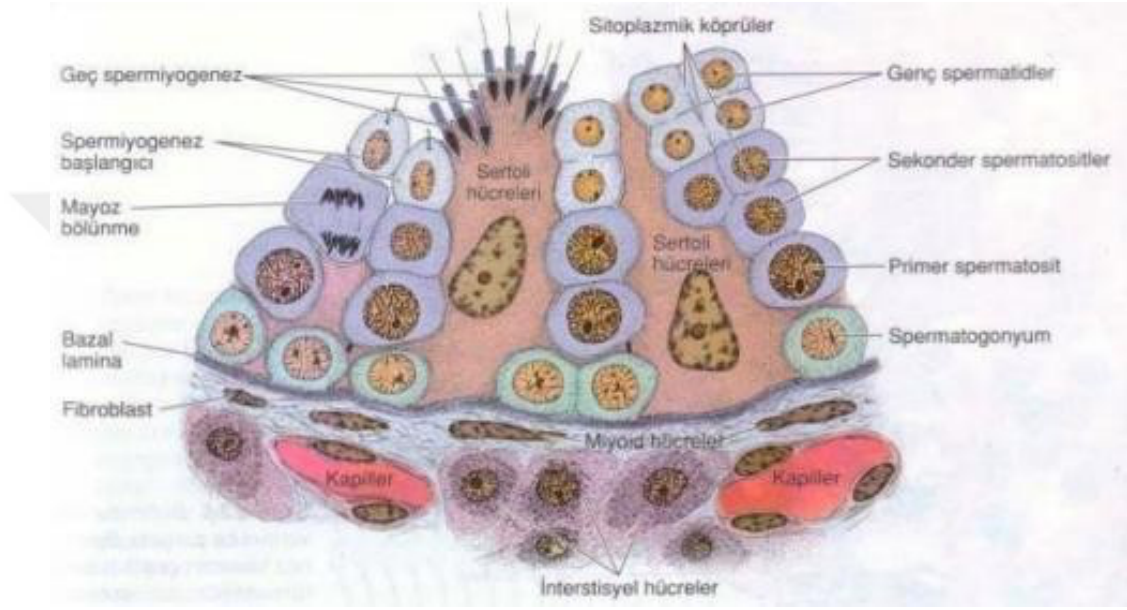
### **2.2.2 Spermatogenez - Spermiyogenez**

Doğuma kadar gonositler inaktif şekilde beklemektedir. Doğum sonrası 24 haftalık süreçte gonositlerden spermatogoniumlar oluşur. Spermatogenez aşamasında spermatogoniumlar puberteden sonra mitoz ile çoğalmaya başlarlar. Çeşitli sayıda spermatogoniumlar mevcuttur ama spermatogenez aşaması tip B spermatogonium üzerinden devam eder (16). Mitoz sonrası primer spermatisitler oluşur. Primer spermatisitlerden mayoz 1 sonrası sekonder spermatisitler oluşur. Mayoz 2 sonrası spermatidler oluşarak spermatogenez aşaması sonlanır. Bu aşamada gerçekleşen mayoz bölünme sonrası genetik çeşitlilik oluşur (17). Oluşan spermatid herhangi bir bölünmenin olmadığı spermiyogenez aşamasına girerek golgi,akrozomal ve olgunlaşma fazını tamamlayarak olgun spermatozoon oluşur (18). Bu süreç yaklaşık olarak 64 günde tamamlanmaktadır (15).

### **2.2.3 Sertoli Hücreleri**

Sertoli hücreleri spermatogenik hücrelerin etrafını sarak şekilleri belirli olmayan destek hücreleridir. (Şekil 2) Bunun yanı sıra sertoli hücreleri koruyucu etki gösterir. Sıkı bağlantılara oluşturularak kan testis bariyerini oluştururlar. Bu bariyer gonosit hücrelerini immun sistem ve toksik metabolitlerden korumaktadır. Sertoli hücrelerin hasar görmesi sonucu bariyer bozulur ve otoimmünite gelişebilmektedir. Sertoli hücreleri gap junction bağlantıları sayesinde spermatogenik hücrelerin beslenmesini sağlamaktadır. Spermatogenez ve spermiyogenez sırasında oluşan

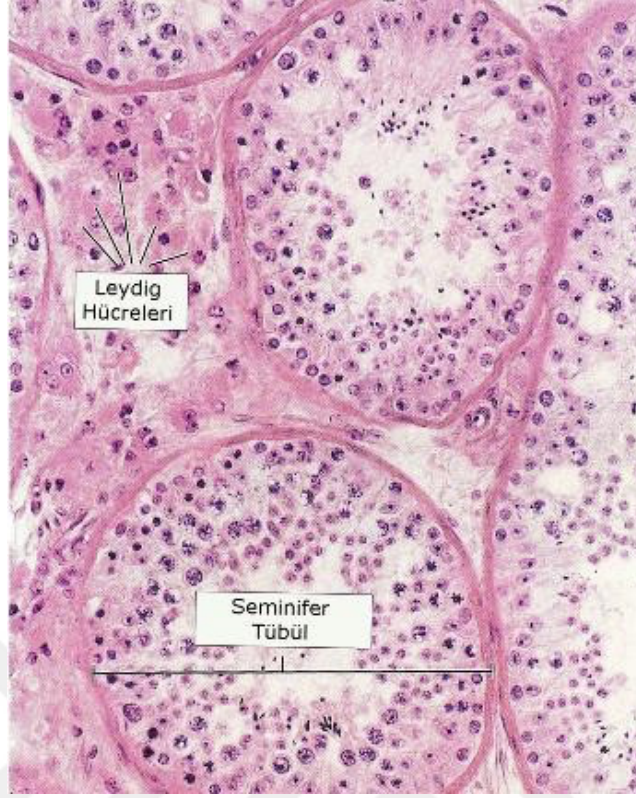
sitoplazmik artıkları fagosite ederler. Endokrin fonksiyonları da mevcut olup hormonal üretime katkı sağlarlar. Müllerian kanalın regresyonunu sağlayan anti-müllerian hormon (AMH) salgılar. Sertoli hücrelerinin hormonal kontrolü FSH ile sağlanmakta olup inhibin salgılayarak FSH düzenlenmesinde etkili olan hücrelerdir. Androjen bağlayıcı protein (ABP) salgılayarak testosteron bağlar ve testosteronu seminifer tübül içerisine getirerek sperm oluşum aşamalarının ilerlemesine katkı sağlar (19).



Şekil 2. Seminifer tübül ve çevre dokuların şematik çizimi (15)

#### 2.2.4 Leydig Hücreleri

Leydig hücreleri fetal yaşamda aktif olarak başlayıp daha sonra inaktif faza girerler pubertede gonodotropin maruziyeti sonrası tekrar aktif faza girerler ve testosteron üretimini sağlarlar (19). İnterstisyel dokuda mast hücreleri, lenf, damar ve sinirler ile birlikte bulunmaktadır. (Şekil 3) Leydig Hücreleri etkisi altında vücutta üretilen testosteronun %95'ini üretmektedir. Testosteron ile Leydig Hücreleri arasında negatif geri uyarı mevcut olup artan testosteron üretimi sonrası hipofizin gonodotropin releasing hormona (GnRH) olan duyarlılığını azaltır.

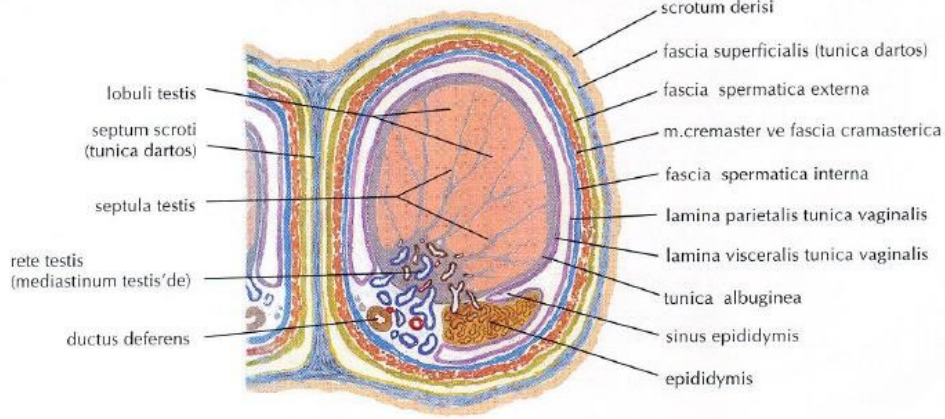


**Şekil 3.** Seminifer tübüller ve interstisyum içerisinde bulunan leydig hücrelerini gösteren testis dokusu (19)

### 2.3 TESTİS ANATOMİSİ

Testis 3x5x2.5 cm uzunluğunda yaklaşık olarak 15-25 cc hacminde skrotuma yerleşen bir çift organdır (20). Testis konum olarak üst bölümü öne ve dışa, alt bölümü öne ve içe dönük olacak şekilde konumlanmıştır. Testis üst polünde appendiks testis bulunur. Posterolateralde epididim ile komşudur. Testis çevresi içeriden dışarıya doğru tunica vasküloza-tunica albuginea ve tunica vaginalisin testis ve epididimi saran viseral yaprağı mevcuttur. En içteki tabakası daha çok damarsal ağları içermektedir. Tunica albuginea ise fibrinojen ve kollajenden zengin yapıya sahiptir (21). Bunun dışında peritonun uzantısı olduğu kabul edilen tunica vaginalisin viseral ve pariyetal yaprağı bulunmaktadır. Daha dışarda skrotum katları ile içten dışa olacak şekilde fascia spermatica interna-musculus cremasterica-fascia spermatica externa – tunica dartos ve skrotum cildi ile devam etmektedir. (Şekil 4) Funiculus spermaticus testileri askıda tutan yapı olup içerisinde lenf damarları, testiküler arter, pampiniform plexus

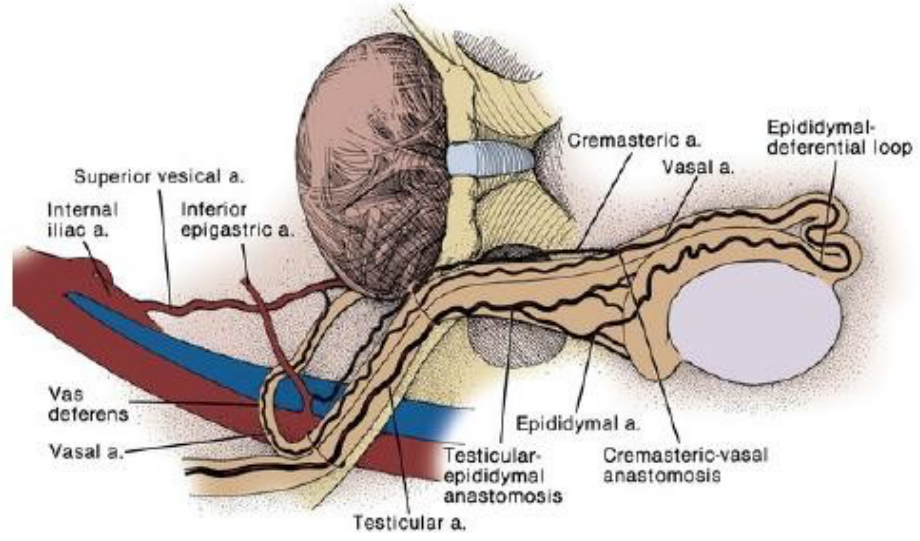
,kremasterik arter, kremasterik ven, defaransiyel arter ve ven, ductus deferens, genitofemoral sinirin genital dalı ve ilioinguinal sinir bulunmaktadır (22).



**Şekil 4.** Skrotum ve testisin enine kesiti (23).

### 2.3.1 Testisin Nörovasküler Yapısı

Testis kanlanması majör olarak aortadan çıkan testiküler (internal spermatic) arter tarafından sağlanmaktadır. Testiküler arter testis içerisinde üst polün ön yüzeyinde ve alt polün ön, iç ve dış kenarında dallar verir (24). Testisin orta zonun kanlanması daha azdır. Cerrahi müdahalelerde vaskülarizasyonun zarar görmesini engellemek için bu anatomik yapı göz önünde bulundurulmalıdır (24). Vas deferens (deferansiyel) arteri, kremasterik (eksternal spermatic) arter ile birlikte testis kanlanmasına katkı sağlamaktadır. Deferansiyel arter arteria vezikalıs superiorıdan kremasterik arter ise inferior hipogastik arterden köken almaktadır.(Şekil 5)



**Şekil 5.** Testisin arteriyel kanlanması (25)

Testis , epididim ve vaz deferensin yüzeysel ve derin drenajı vardır. Yüzeysel drenajı skrotumda başlayıp internal ve eksternal pudental venede sonlanır. Derin drenajı ise testisten ve epididimden gelen venler birleşerek plexus pampiniformisi oluşturarak gerçekleştirir. İnternal inguinal ring seviyesinde birkaç ven ile drene edilerek yukarıya doğru gonadal ven olarak devam eder. Sağ tarafta vena cava inferiora sol tarafta ise renal vene dökülür (26).

Testislerin lenf drenajı, sağ-sol paraortik ve inter aortakaval lenf nodlarına olmaktadır. Lenfatik kanallar testisten çıktıktan sonra spermatik kord içerisinde seyrine devam eder.

Testis innervasyonu, testiküler arterin seyri ile komşuluk gösteren, T10 ve T11 spinal segmentlerinden aortik plexus ve kolletaral ganglionlarla ilişkili lifler tarafından sağlanır. Vaz deferense eşlik eden pelvik pleksustan çıkan liflerde testisin innervasyonuna katkı sağlamaktadır (27).

## 2.4 TESTİS TORSİYONU

Testis torsiyonu ani başlayan şiddetli ağrı, şişlik ve hassasiyet ile seyreden iskemi ile karakterize ürolojik bir acildir. Her yaşta görülebilmesine rağmen yaşamın ilk yılında ve 12 yaşında sıklığının arttığı gözlenmiştir (28). Spermatik kord torsiyonu akut skrotumu olan çocukların %26'sında görülmektedir (29). Testis torsiyonun da venöz ve arteriyel iskeminin üzerine reperfüzyon hasarı eklenmekte olup oksidatif

stress artmakta ve hemorajik nekroz ya da apoptoz ile hücre kaybı gerçekleşmektedir. Germ hücreleri diğer hücre tipleri arasında en sık etkilenen hücrelerdir. Reperfüzyon sonrası sertoli hücrelerinin korunmasına karşın spermatogenezisin kaybolduğu gösterilmiştir (30). Testis torsiyonu vakalarında etkilenen testisi kurtarmak için genellikle 4 ile 8 saat arası uygun aralık olarak kabul edilmiştir (28). Tek başına geçen süre değil aynı zamanda testisin dönme derecesi de testisin kurtarılma oranlarına etki etmektedir (3). Testis torsiyonu ekstravaginal ve intravaginal olarak 2 ye ayrılır. (Şekil 6)

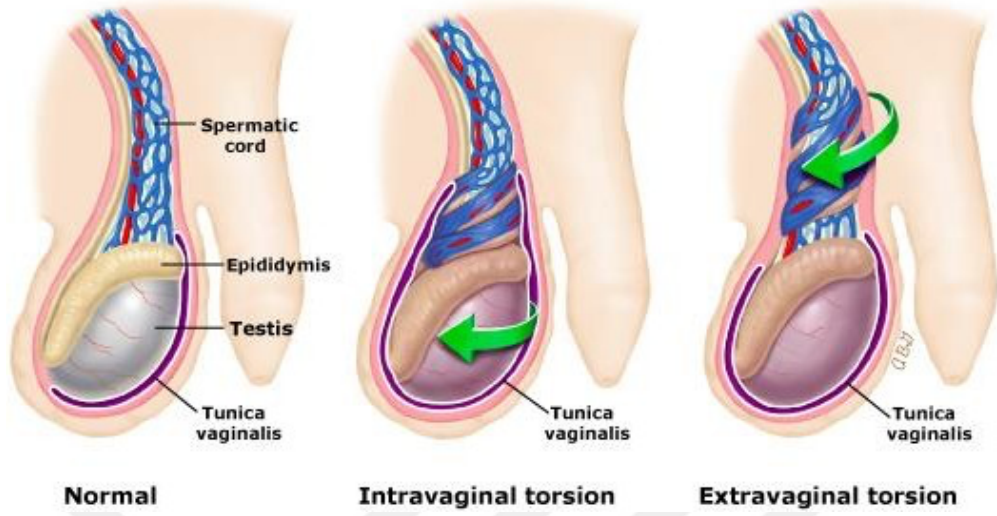
#### **2.4.1 İntravaginal Testis Torsiyonu**

Çoğunlukla ‘bell clapper deformitesine’ bağlı olarak tunica içerisinde hareketliliğin artması sonucu oluşmaktadır. Bu durumda tunica testise yapışması gereken yerden daha yukardan yapışmıştır ve testis daha mobil hale gelir. Etkilenen testis kontrolateralinde de bu yatkınlığın olduğu belirtilmektedir. Kremasterik kasın, ani sıcaklık değişimi gibi durumlarda testisi torsiyone edici etkisi olabilmektedir (31). Travma sonrası görülebildiği gibi genellikle uyku sırasında görülmektedir (2). Sıklıkla ergenlik öncesi dönemde olmak üzere diğer yaş gruplarında da görülebilmektedir (29).

#### **2.4.2 Ekstravaginal Testis Torsiyonu**

Testiküler yapılar ve tunica dartos arasındaki fiksasyonda zayıflık ya da birlikteliğin olmaması suçlanmaktadır (31). Prenatal ve neonatal dönemde görülmektedir. Sıklıkla skrotal hematoma ile karıştırılmaktadır. Prenatal dönemde görülen ekstravaginal torsiyon vakalarında testis kurtarılma oranları düşüktür. Bu tip torsiyonda ailevi geçişin olabileceği konusunda çalışmalar devam etmektedir (2). Erken müdahale ve karşı taraf testisin sabitlenmesi önerilmektedir (31).

Apendiks testis ve apendiks epididimis kendi etrafında dönmesi ile testis eklerinin torsiyonu görülebilmektedir. Skrotumdan bakıldığında mavi işaret bulgusu görülebilir. Prepubertal dönemde akut skrotumun çoğunluğunu oluşturur. Acil cerrahi tedavi gerekmemektedir. Ağrı şiddeti artarsa cerrahi müdahale düşünülebilir (32). Soğuk uygulama, antiinflatuar tedavi ve fiziksel aktiviteyi kısıtlamak tedavide kullanılır.



**Şekil 6.** Torsiyon Çeşitleri (33)

### 2.4.3 Tanı ve Tedavi

Hastalar şiddetli ve ani başlayan skrotal ağrı ile başvururlar. Ağrı bazen inguinal bölge ya da karın bölgesine de yayılabilmektedir. Ağrıya bulantı kusma şikayetleri eşlik edebilir. Sol testis torsiyonu daha sık görülmektedir. %2 vakada bilateral testis torsiyonu görülebilmektedir (34). Kriptorşidizm olan hastalarda karın ağrılarında testis torsiyonun göz önünde bulundurmamak gerekmektedir. Testis ve spermatic kord elemanları erken dönemde muayene edilebilmekle birlikte zaman ilerledikçe artan iskemi ve ödem sonucu net olarak değerlendirilememektedir. Testis kontrolateral testise göre daha yüksek yerleşimli, yatay ve asimetric görünümündedir. Torsiyon durumunda kremasterik refleks alınamaz. Fakat kremasterik refleks olması torsiyon olmadığı anlamına gelmez (35). Skrotal elevasyon ile hastanın ağrısında artma ya da değişim olmaması torsiyon lehine bir bulgudur.

Anamnez ve muayene bulguları torsiyon lehine yüksek şüphe uyandırıyor ise ek bir görüntüleme yapmaya gerek olmadan acil olarak cerrahi eksplorasyon gerekmektedir. Arada kalın vakalarda skrotal doppler ultrasonografi(USG) tercih edilebilmektedir. Sensitivitesi %88.9 spesifitesi %98.8 olduğu belirtilmiştir (36). USG’de kısmi kan akımı görülmesi durumunda da inkomplet torsiyon olabileceği aklımızda bulunmalı, klinik bulgular devam ediyor ve torsiyon tanısını düşündürüyorsa fazla gecikmeden cerrahi eksplorasyon mutlaka yapılmalıdır. Skrotal

doppler USG de testisin hacmi, ekojenitesi ve perfüzyon durumu değerlendirilmektedir.

Tedavide amaç torsiyone testisi detorsiyone ederek iskemik durumu ortadan kaldırıp testisin canlılığın devamını sağlamaktır. Manuel detorsiyon cerrahiye kadar geçen süreçte denenebilir fakat torsiyonu düzelse bile cerrahi müdahale gecikmemelidir. Cerrahi detorsiyon sonrası testislerin nekroze ve canlı değilse orşiektomi yapılır. Etkilenen tarafa yapılan işlem dışında karşı testise de orşiopeksi yapılmalıdır (2).

## **2.5 İSKEMİ VE REPERFÜZYON**

### **2.5.1 İskemi**

İskemi, hücre ve dokularda yetersiz perfüzyon sonrasında gerekli oksijen ve besin maddelerinin transportunun engellenmesinin sonucunda geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz olayların geliştiği patolojik durumdur. Hücrelerin yaşam döngüsü için gerekli enerjinin sağlanamaması sonucu toksik metabolitler atılamamaktadır. Tüm bunların sonucunda hücre hasarı birçok fonksiyonel ve biyokimyasal süreç sonrası ortaya çıkmaktadır.

Biyokimyasal süreçleri incelediğimizde enerji üretiminde rol alan mitokondrilerde hasar oluşur, reaktif oksijen türevleri (ROT) birikmeye başlar, oksidatif fosforilasyon sağlanamadığı için adenosin trifosfat (ATP) üretimi gerçekleşemez. ATP bağımlı sodyum (Na) kanallarının çalışmaması sonucu hücre içi Na miktarı artarak hücrenin şişmesine neden olur. Alternatif olarak enerji sağlamak için aneorobik glikolize yönelim sonrası oluşan ürünler hücre içi pH değerini düşürerek, enzimlerin çalışması için optimal koşulların bozulmasına neden olur. İskemi durumunda hipoksiden farklı olarak zamanla ulaşan besinlerin azalmasına bağlı olarak anaerobik glikolizde durmaktadır. Aynı zaman da iskemik dokuda enerji oluşmamasına bağlı olarak protein sentezi bozulur. Hücre içi kalsiyum (Ca) artış gerçekleşir ve bunun sonucunda hücre hasarını tetikleyen enzim aktivasyonu gerçekleşir. Bu aşamada hücrelerde sodyum, klor ve su oranları artmış potasyum oranları azalmış neticede hücreler şişmiştir. Eğer iskemi ortadan kaldırılıp yeniden enerji sağlanırsa bu olaylar geri döndürülebilir.

Devam eden iskemi durumunda geri dönüşsüz hasar meydana gelir ve genellikle nekroz ile sonuçlanır. Nekroz ile beraber mitokondrilerde üretilen proapoptotik moleküllerin salınması ile apoptozda eşlik edebilir. Hücreler yıkıma uğrar ve yerini fosfolipitlerden oluşan yapılar alır. Bunlar da lökositler tarafından fagosite edilir (37).

### **2.5.2 İskemi Reperfüzyon Hasarı**

İskemik dokuda hücrelere yeniden oksijen ulaşması ve toksik ürünlerin uzaklaştırılması için yeniden kan akımı gerekmektedir. Ancak iskemi sonrası sağlanan reperfüzyonda paradoksal olarak hücre daha ciddi yıkıma uğrayabilmektedir. Bu duruma sebep olan çeşitli mekanizmalar bulunmaktadır. Serbest oksijen radikalleri, lökositler, kompleman sistem aktivasyonu ve endotel hücrelerinden salınan mediatörler bu durumu açıklayan önemli faktörlerdir.

İskemi sonrası mitokondriyal hasar gelişmiş olup yeniden kanlanma sonrası gelen oksijen mitokondride indirgenemediğinden ve lökosit, endotel, parankim hücrelerinden salgılanan oksidazlar sebebiyle serbest oksijen radikalleri oluşmaktadır. Serbest oksijen radikalleri radikal olmayan bir madde ile reaksiyona girerse çok sayıda reaksiyon ortaya çıkar. Bu indirgenmemiş ajanlar hücre ve vücudun yapılarında görevli protein, nükleik asit ve lipit türevi moleküllerle karşılaştıklarında oksidatif hasara neden olurlar. İskemi sırasında zarar gören antioksidan mekanizmalar sonucu serbest radikallerde artış meydana gelmektedir (38).

İskemi sonrası reperfüzyon da lökositler aktive olarak adezyon molekülleri ile etkileşime girerek hasar bölgesine doğru göç etmeye başlarlar. Lökositler sitokin salınımı, serbest oksijen radikallerin oluşumu, sitotoksik enzim salgılanması ve oklüzyon yaparak hasara sebep olup yıkıcı etkiyi arttırmaktadırlar (39).

İ/R hasarında aktive olan bir diğer yolak kompleman sistemidir. Kompleman sistem aktivasyonu ile proinflamatuvar moleküller oluşur. Bunlar lökositlerin kemotaksi ve adezyonunu artırır. Ortaya çıkan mediatörler sonucu vasküler tonus bozulur. Endotel hücrelerinden de serbest oksijen radikalleri salgılanmaktadır. Ayrıca kompleman sistemini de aktive edip hasarın etkisini arttırmaktadır (40).

Normalde ATP üretiminde azalma olmasına rağmen iskemik dokuda ATP kullanılmaya devam etmektedir. ATP'nin Parçalanması sonrasında adenozin ve AMP

oluşur. Adenozin de hücre dışında hipoksantere dönüşür. Ayrıca ksantin dehidrojenaz, ksantin oksidaza dönüşür. Non- iskemik doku da normalde hipoksantin ürik aside dönüşür ve burada elektron transferi okside nikotinamid adenin dinükleotidinin (NAD<sup>+</sup>) üzerinden olur. İskemik dokuda ise reperfüzyon sonrası hipoksantin , ksantin oksidaz ile ürik aside dönüşür ve burada elektron alıcı molekül oksijendir. Bunun sonucunda da ROT oluşmaktadır (41).

### 2.5.3 Oksidatif Stres

ROT, oksijen kaynaklı serbest radikallerdir. Radyasyon, kimyasal, iskemi-reperfüzyon hasarının yanında hücre yaşlanmasında da serbest radikallerin etkisi vardır. ROT normal olarak oksijenli solunum yapılan tüm hücrelerde az miktarda üretilmektedir.

Mitokondride elektron taşıma zinciri sırasında süperoksit meydana gelir. Süperoksit dismutaz enzimi ile hidrojen peroksit ya da NO ile peroksinitrite dönüşür. Oluşan hidrojen peroksit ise Fenton reaksiyonu ile serbest hidroksil radikale dönüşür. Hidrojen peroksit serbest radikal değildir fakat kuvvetli bir oksitleyici ajan olmasından dolayı reaktif oksijen türevleri içerisinde anılmaktadır.

ROT'lar fagositoz yapan lökosit, nötrofil ve makrofaj gibi dokularda mikroorganizmanın öldürülmesi amacıyla kullanılmaktadır. Fagolizozom membran enzimi tarafından gerçekleştirilen reaksiyon sonrası süperoksit radikalleri oluşur. Lizozomlarda bulunan myeloperoksidaz enzimi (MPO) ise hidrojen peroksidi ileri derecede reaktif bileşik olan hipoklorite dönüştürür. Serbest radikallerin oluşturduğu hasar, üretim ve vücutta uzaklaştırılma hızına bağlıdır. Üretimin artması ya da kararlı hale gelmesini sağlayan yapılarda aksaklık oluşması sonucu oksidatif hasar meydana gelmektedir.

Nitrik oksit (NO), serbest radikal olup nitrik oksit sentaz (NOS) enziminin indüklenebilir(iNOS), endotelial(eNOS) ve nöronal(nNOS) izoformları tarafından üretilir. iNOS , mikroorganizmaların endotoksinleri ve inflamatuvar reaksiyonlarda bulunan NO üretimini sağlar.NO dokularda normalde arjininden sentezlenir ve kofaktör olarak tetrahidrobiopterin kullanılır.Arjinin ve/veya kofaktörün azalması sonucunda NOS-uncoupling ile NOS'un süperoksit üretimini arttırmasına sebep olur (42).

NO, eNOS tarafından az miktarda üretilir. Vazodilatasyona, trombosit ve hücre iletim fonksiyonlarını düzenleyici ve lökosit adezyonunu engelleyici etkileri bulunmaktadır. İskemi- reperfüzyon durumunda oluşan süperoksit miktarı artar. NO ile reaksiyona girerek yıkıcı etkisi güçlü peroksinitrite dönüşür (43). Süperoksit ile NO arasında ki dengenin bozulması sonucu endotel hücrelerinden trombosit aktive edici faktör (PAF) ve tümör nekroz faktör (TNF) inflamasyonda görevli olan mediatörler salgılanır. Reperfüzyon geç döneminde iNOS tarafından üretilen NO'nun nekrozla ilişkili olduğu belirtilmiş ve iNOS'u inhibe ederek testis torsiyonunda spermatogenezisin iyileştirilebileceği belirtilmiştir (44).

ROT'lar, hücre membran geçirgenliğini arttırarak proteinler arası bağlar ve nükleik asit yapılarına zarar vererek hücreyi yıkıma götüren radikallerdir. Hücre membranlarında bulunan doymamış yağ asitlerinin çift bağlarıyla etkileşime giren ROT'lar lipid peroksidasyonu ile daha kararsız molekülleri oluşturarak hücrenin kendisi tarafından yıkımına sebep olan olaylar zincirini başlatır. MDA lipid peroksidasyon son ürünü olarak ortaya çıkar ve ROT ile etkileşimin önemli bir göstergesidir (45). MDA kendisi de proteinler arası bağlara karşı toksik etkilidir. Membranlarda lipid peroksidasyonu sonucu hücre membranından transfer ve iyon geçişleri bozulur. Hücreler içerisinde artan Ca seviyesi sonrası proteazlar aktive olur ve litik enzimlerin salgılanması sonucu hücre yıkımı oluşur.

Serbest radikaller, proteinler içerisindeki bağların direk olarak parçalanmasına yol açabilirler. Bir diğer hasar mekanizma yolu ise proteinlerin sülfidril aracılığıyla gerçekleşen bağlarını arttırır bu da proteinin yıkımına ve görevlerini yapamamasına sebep olur. Karbonhidratların da oksidasyonu sonucu okzoaldehidler oluşur. Okzoaldehidler proteinler, ribonükleik asit (RNA) ve deoksirinonükleik asit (DNA) ile bağ kurarak mitoz engelleyici etki gösterirler (46).

ROT'lar mitokondri ve çekirdek DNA'sın da timin ile reaksiyona girerek bağlar arası kırılmaya neden olur. Bu durumun hücre yıkımı, yaşlanma ve malign transformasyon ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Konak savunmasında önemli etkisi olan miyeloperoksidaz (MPO) nötrofil ve monositlerde bulunan lizozomal bir enzimdir. Peroksidaz aktivasyonu sonucu serbest radikaller oluştururlar bunlarda dokularda yıkıcı etkiye sahiptirler (47). İ/R hasarında

nötrofiller ise damar içerisinde trombosit agregasyonu ve endotel adezyonuna sebep olarak mikrovasküler oklüzyona sebep olur (48).

#### **2.5.4 Antioksidanlar**

ROT'lar zaman içerisinde kendileri parçalanır. Oluşan serbest radikallerin yıkım üzerine olan etkisini azaltmak için hücreden uzaklaştırılmasını sağlayan mekanizmalar mevcuttur. Bunlar çeşitli yollar üzerinden olmaktadır. Serbest oksijen radikallerinin tutmak ya da yok etmek, H iyonu aktararak inaktif hale getirmek, serbest oksijen radikallerini bağlayarak etkisiz hale getirmek ve hasarların onarılması sağlayıcı etki göstererek ROT etkileri antioksidanlar sayesinde azaltılmaya çalışılmaktadır.

Endojen ve eksojen antioksidanlar mevcut olup endojen antioksidanlar içerisinde enzimatik olan ve olmayan yollar vardır. Enzimatik olarak SOD'lar süperoksitlerin parçalanmasını sağlar. Bunun sonucunda hidrojen peroksit ve oksijen üretimi gerçekleşir. Hidrojen peroksidin oksidatif hasarı da katalaz grubu enzimler sayesinde gerçekleşmektedir. Tüm hücrelerin sitoplazmasında bulunan glutatyon (GSH) oksidatif hasardan hücreleri korurlar. Bunların yanı sıra C,E,A vitaminleri ,sistein ve seruloplazmin gibi ROT etkilerini engelleyen endojen ya da eksojen antioksidanlar mevcuttur (49).

Vücutta bulunan antioksidan kapasitenin çoğunu C vitamini, albümin ve ürik asit oluşturmaktadır. Ayrı ayrı değerlendirmek yerine total anti oksidan kapasitesi (TAS) olarak kümülatif olarak değerlendirilmektedir (50).

#### **2.6 MİSOPROSTOL**

Misoprostol sentetik bir prostoglandin E1 (PGE1) analogudur. Prostoglandinler üretildikten sonra dokuda depolanmadan salınır. Sentezini arttıran herhangi bir etken salınımını artırır, sentez inhibisyonu yapan ajanlar ise salınımını azaltır. Misoprostol emilimi oral tek dozdan sonra radyoaktif analizlerde %88 olarak tespit edilmiştir. Misoprostol molekül ağırlığı 382.5 dalton, suda erime yeteneği 0.4 mg /ml ve alkolde erime yeteneği 10 mg/ml'dir. Metabolizasyonu yağ asidi oksidasyonunu gerçekleştiren enzimler tarafından oluşmaktadır. Aktif metaboliti misoprostol asittir.15-30 dk da maksimum konsantrasyona ulaşır. Çoğunluğu idrar ile atılmakta olup az bir kısmı feçes ve bilier sistem aracılığıyla uzaklaştırılmaktadır.

Misoprostol cAMP oluşumunu inhibe ederek mide pariyetal hücrelerinden gastrik asit sekresyonunu azaltmaktadır. Bu sebepten kronik gastrit , gatrik ülser ve duodenal ülser tedavisinde kullanılmaktadır. PGE1 analoglarının sitoprotektif olarak epitel hücrelerinin rejeneratif kapasitesini arttırmak ve lizozom membranlarının stabilitesinin arttırılması gibi etkileri bulunmaktadır (51). Sitoprotektif etkileri çeşitli iskemi modellerinde karaciğer, pankreas beyin ve miyokard gibi organlarda gösterilmiştir. PGE1, inflamasyonda artan trombosit agregasyonunu güçlü bir şekilde inhibe etmektedir. Sirozlu hastalarda misoprostol kullanımının iNOS düzeyini azaltarak pozitif nitrojen dengesi oluşturduğu izlenmiştir (52). Karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında TNF-a ve adezyon moleküllerini önemli ölçüde azalttığı ve İ/R hasarını engellediği gösterilmiştir (8).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1 DENEY HAYVANLARI VE ETİK KURUL İZİNİ**

Bu deneysel çalışma, İstanbul Mehmet Akif Ersoy Deneysel Araştırma Geliştirme ve Eğitim Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 2023/01 sayılı karar no'lu onay sonrası İstanbul Mehmet Akif Ersoy Deneysel Araştırma Geliştirme ve Eğitim Merkezinde (İDEA) gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda İDEA tarafından temin edilen 350-400 gr ağırlığında Wistar-Albino cinsi 35 adet sıçan kullanıldı. Sıçanlar 22-24 °C sıcaklık arasında, ortalama %50 lik nem ortamında korunaklı kafeslere yerleştirildi. Besine ve suya istedikleri zaman ulaşacak şekilde, yeterli havalandırmanın sağlandığı ortamda deney gerçekleştirildi. 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyodlar düzenlendi ve her bir kafeste 3 ya da 4 adet olacak şekilde sıçanlar yerleştirildi. Radomizasyon ile her grupta 7 adet olmak üzere 5 grup oluşturuldu.

#### **3.2 DENEY PROTOKOLÜ**

Tüm sıçanlara işlem öncesi intraperitoneal ketamin hidroklorür 50 mg/kg (Ketalar ®, Pfizer Pharma GMBH, Germany) ve ksilazin hidroklorür 10mg/kg (Alfazyne®, %2, Alfasan International, 3440 AB, Woerden, Holland) dozunda anestezi için uygulandı. Müdahaleye devam edebilmek için gereklilik halinde aynı dozlarda işlem tekrarlandı. Skrtotal bölge ve çevresinde ki kıllar kesildi ardından povidon iyot temizlendi. Skrotumdan orta hat insizyonu ile sol testise ve spermatik korda ulaşıldı.

#### **3.3 DENEY GRUPLARI**

35 adet sıçan randomize edilerek her grupta 7 sıçan olmak koşulu ile beş gruba ayrıldı. (Tablo 1)

**Tablo 1.** Deney çalışma grupları ve deney protokolü

| DENEY GRUBU | AÇIKLAMA                                       |
|-------------|--|
| GRUP-A      | Sham (7)                                       |
| GRUP-B      | Kontrol (7)                                    |
| GRUP-C      | T/D (7)  |
| GRUP-D      | T/D + oral 200 mcg/kg misoprostol (7)          |
| GRUP-E      | T/D + spermatik korda 200mcg/kg misoprostol(7) |

### 3.4 DENEY GRUPLARINA UYGULANAN İŞLEMLER

A grubu, sham grubuydu. Anestezi derinliği tamamlanıp uygun asepti-antisepsi koşulları sağlandıktan sonra skrotal orta hat kesisini takiben sol testis eksplore edilerek gubernakuler yapılardan ayrıştırıldı. Testis, başka bir müdahale ve tedavi yapılmadan aynı şekilde 4/0 monoflaman suturele skrotuma tespit edilip , 2 saat sonra orşiektomi uygulandı. Orşiektomi yapıldıktan sonra servikal dislokasyon ile sıçanlar kurban edildi.

B grubu, kontrol grubu olarak belirlendi. Anestezi derinliği tamamlanıp uygun asepti-antisepsi koşulları sağlandıktan sonra herhangi bir işlem yapmadan midskrotal olarak sol testis ve spermatik korda ulaşıldı. Orşiektomi yapıldıktan sonra servikal dislokasyon ile sıçanlar kurban edildi.

C grubu iskemi ve reperfüzyonun gerçekleştiği torsiyon/detorsiyon(T/D) modeli olarak tanımlandı. Anestezi derinliği tamamlanıp uygun asepti -antisepsi koşulları sağlandıktan sonra skrotum orta hat insizyonla sol testis eksplore edilerek gubernakuler yapılardan ayrıştırıldı. Testis saat yönünde 720 derece çevrilerek torsiyone edildi ve bu durumda kalması için 4/0 monoflaman suturele skrotuma tespit edildi. Testis 2 saat torsiyonda bırakıldıktan sonra 720 derece saat yönünün tersine çevrilerek detorsiyone edildi. 4 saatlik reperfüzyon sonunda sol orşiektomi yapıldı. Orşiektomi yapıldıktan sonra servikal dislokasyon ile sıçanlar kurban edildi.

D grubu T/D modeline oral olarak misoprostol 200 mcg/kg (Cytotec® 200 µcg tablet, Ali Raif İlaç San. A.Ş. İstanbul, Türkiye ) verilen grup olarak belirlendi. Anestezi derinliği tamamlanıp uygun asepsi -antisepsi koşulları sağlandıktan sonra skrotum orta hat insizyonla sol testis eksplore edilerek gubernakuler yapılardan ayrıştırıldı. Testis saat yönünde 720 derece çevrilerek torsiyone edildi ve bu durumda kalması için 4/0 monoflaman sütünle skrotuma tespit edildi. Testis 2 saat torsiyonda bırakıldı. Detorsiyone etmeden 30 dk önce gavaj yolu ile oral misoprostol 200 mcg/kg uydulandı. Testis 720 derece saat yönünün tersine çevrilerek detorsiyone edildi. 4 saatlik reperfüzyon sonunda sol orşiektomi yapıldı. Orşiektomi yapıldıktan sonra servikal dislokasyon ile sıçanlar sakrifiye edildi.

E grubu, T/D modeline spermatik korda 200 mcg/kg misoprostol verilen gruptur. Bu grupta misoprostol havanda dövüldükten sonra toz haline getirilerek distile su içerisinde çözülmüş formda hazırlandı. Anestezi derinliği tamamlanıp uygun asepsi-antisepsi koşulları sağlandıktan sonra skrotum orta hat insizyonla sol testis eksplore edilerek gubernakuler yapılardan ayrıştırıldı. Testis saat yönünde 720 derece çevrilerek torsiyone edildi ve bu durumda kalması için 4/0 monoflaman sütünle skrotuma tespit edildi. Testis 2 saat torsiyonda bırakıldı. Detorsiyone etmeden 30 dk önce distile su ile hazırlanan misoprostol çözeltisi 200 mcg/kg olacak şekilde spermatik kordun son 1 cm'lik kısmına enjekte edildi. Testis 720 derece saat yönünün tersine çevrilerek detorsiyone edildi. 4 saatlik reperfüzyon sonunda sol orşiektomiyapıldı. Orşiektomi yapıldıktan sonra servikal dislokasyon ile sıçanlar sakrifiye edildi.

Her grubun orşiektomi materyali biyokimyasal ve histopatolojik inceleme için ayrı ayrı numaralandırılma yapılarak tespit edildi. Testislerin bir kısmı bistüri yardımıyla -80 °C de saklanmak koşulu ile biyokimyasal analiz için alındı. Geri kalan testis dokusu histopatolojik ve imminohistokimyasal inceleme için bouin solüsyonuna konuldu.

### **3.5 BİYOKİMYASAL İNCELEME**

Doku örnekleri, 250-300 mg ağırlıklarında tartılıp deney tüpüne alındı, üzerine 10 katına kadar soğuk 0,15M KCl solüsyonu eklenerek deney tüpü buz içinde olacak şekilde Ultra Turrax marka doku homojenizatöründe homojenize edildi. Daha sonra 1600g 'de 10 dk. +4 °C'de santrifüj edilip, süpernatant alikotlanarak örnekler -80 °C'ye kaldırıldı.

### 3.5.1 Doku Lipit Peroksidasyonu (LPO) ve Glutasyon (GSH) Ölçümü

-80 °C'de olan alikotlardan bir tanesi alınıp buzda çözdürüldükten sonra içinden 125 µl homojenat alınıp 625 ccc%20'lik TCA ve 250 µl %0.67'lik TBA ile karıştırıldı. 1 saat suda kaynatıldıktan sonra 10 dk. buzda tutuldu ve sonra 5000 rpm da 10 dk. santrifüj sonrası süpernatant 532 nm de spektrofotometrede okundu. MDA düzeyi µM/gr doku cinsinden ifade edildi.

GSH ölçümü için kalan homojenat 10.000 g'de 15 dk. +4 °C'de santrifüj edilip, süpernatanttan 125 µl alınıp üzerine 500 µl 0,3 M'lık Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ve 62,5 c DTNB eklendi. GSH miktarı spektrofotometrik olarak 412 nm'de okundu ve µM/gr doku olarak ifade edildi.

### 3.5.2 Doku Myeloperoksidaz (MPO) Düzeylerinin Ölçümü

-80 °C'de olan alikotlardan bir tanesi alınıp buzda çözdürüldükten sonra 18.000 g de 15 dk. +4 °C'de santrifüj edildi. 290 µl assay reagent üzerine 10 µl homojenat eklenerek 0. sn ve 60. sn absorbansları 460 nm okundu. MPO aktivitesi, o-dianizidin.2HCl'nin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 'e bağımlı oksidasyonunun spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile belirlenerek, enzim aktivitesi U/gr doku olarak ifade edildi

Assay Reagent Hazırlanışı

Reagent 1: 290 µl PBS + 10 µl (%30'luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)= %1 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Reagent 2: 20 µl Reagent 1 + 380 µl PBS = %0.05 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Reagent 3: 6,68 mg 0-dianisidine + 400 µl %0.9 'luk NaCl

Assay Reagent: Reagent 2 (400 µl) +Reagent 3 (400 µl)+ 39,2 ml PBS

### 3.5.3 Total Antioksidan Seviye (TAS)

Doku TAS seviyeleri ticari kit vasıtasıyla çalışıldı (Elabscience ,E-BC-K801-M). Kitin çalışma prensibi; ABTS ortamdaki serbest radikaller ile okside olarak yeşil bir moleküle dönüşür. Antioksidan varlığında renksizdir. Örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadır Örnekteki TAS seviyesi 660 nm de ABTS absorbansının ölçülmesi ile belirlenir. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanıldı. Örnekler spektrofotometrik olarak okutulduktan sonra sonuçlar mmol Trolox Equiv./ gr doku olarak hesaplandı.

### 3.6 HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Doku örnekleri tam otomatik doku takip cihazında (Diapath) işlem gördükten sonra 56- 58°C'lik parafine gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom (SLEE; CUT 6062;) ile alınan 4 µm kalınlığındaki kesitler, lamlara yapıştırıldı. Alınan kesitlere hematoxilen ve eozin boyama yapıldı. Hematoxilen ve eozin boyama için; kesitler ksilol yardımı ile parafinden arındırıldıktan sonra alçalan alkol serisinden (100°, 96°, 90°, 80° ve 70°) geçirilerek suya indirildi. Ardından Mayer hematoxilende 15-20 dk boyandı. Preparatlar çeşme suyunda, nükleuslar koyu mor renk alıncaya kadar, 15-20 dk beklemeye bırakıldı. Ardından kesitler eozin eriyiğinde 2-5 dk tutuldu. Çeşme suyunda kısaca yıkandı. %100 ve %96'lık alkollerden geçirilerek, dehidratasyon işlemi uygulandı. Ksilolden geçirilen kesitler, entellan ile kapatıldı. Her bir dokudan 2 preparat hazırlandı. Dokuların histopatolojik incelemesi Olympus marka Bx53 model mikroskopta patolog tarafından yapıldı. Hazırlanan testis dokuları için Johnsen ve Cosentino skorlamaları yapıldı. İskeminin derecelendirilmesi için seminifer tübüllerdeki hücre hasarı Cosentino sınıflandırması ile dört gruba ayrılarak değerlendirilmiştir. (Tablo 2) Spermatogenezisi değerlendirme amaçlı Johnsen skorlaması için 50 tübül sayılarak aritmetik ortalama hesaplandı. (Tablo 3).

**Tablo 2.** Cosentino Skoru (53)

|        |  |
|--------|--|
| Evre 1 | Germ hücrelerin normal dizilimi,normal testis parankimi  |
| Evre 2 | Seminifer tübüllerde germ hücrelerin diziliminde hafif derecede bozulma ve hücrelerde kohezyon kaybı   |
| Evre 3 | Germ hücre nükleusları piknotik ve büzülmüş görünümde; hücreler seminifer tubül lümenlerine dökülmüş, seminifer tubül sınırları belirginliğini kaybetmeye başlamış |
| Evre 4 | Germ hücrelerinde koagülasyon nekrozu ile karakterli testis parankimi  |

**Tablo 3.** Johnsen Skoru (54)

| Skor | Histolojik bulgular   |
|------|---|
| 10   | Tübüllerde tam spermatogenezis ile birlikte çok sayıda spermatozoon vardır. Tübül epiteli düzenli bir kalınlıkta organize olmuştur ve tübül lümeni açıktır. |
| 9    | Bir çok spermatozoon vardır ancak, tübüler epitel iyi organize olmamıştır ve lümende tıkanıklık vardır  |
| 8    | Kesitlerde az sayıda spermatozoon (< 5-10) vardır.  |
| 7    | Kesitlerde hiç spermatozoon yoktur ama çok sayıda spermatid gözlenir.   |
| 6    | Kesitlerde hiç spermatozoon yoktur ve az sayıda (< 5-10) spermatid gözlenir.  |
| 5    | Kesitlerde hiç spermatozoon ve spermatid yoktur ancak çok sayıda spermatosit vardır.  |
| 4    | Kesitlerde hiç spermatozoon ve spermatid yoktur ve az sayıda spermatosit vardır.  |
| 3    | Görülebilir tek germ hücresi spermatogoniumlardır   |
| 2    | Tübüllerde hiç germ hücresi yoktur, yalnızca Sertoli hücreleri görülebilir  |
| 1    | Tübüllerde hiç hücre görülmez   |

### 3.7 İMMUNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME

Apoptotik proteaz aktive edici faktör 1 (Apaf-1) ve iNOS testis dokusu bölümünün pozitif yüklü slaytlar üzerinde toplanması için birincil antikor üreticisi tarafından sağlanan talimatlara göre etiketlendi. Bölümler, deparafinizasyon, antijen geri kazanımı, endojen peroksidaz ve protein bloke etme prosedürlerinden geçirilmiş ve antikor ile Apaf-1'e (1: 200 seyreltilmiş, oda sıcaklığı, BIOSS, Cat No: bs-0058R, poliklonal) ve iNOS'a (1: 200 seyreltilmiş, oda sıcaklığı, BIOSS, Cat No: bs-2072R, poliklonal) inkübe edilmiştir, daha sonra ticari bir ikincil antikor kiti (ROCHE/VENTANA, R05269806001) ve 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) kromojen (Ultraview Universal DAB Detection KIT) ile işaretlendi. Son olarak, bölümler, Mayer'in haematoksilen ile karşıt boyandı. Negatif kontrol bölümleri yalnızca birincil antikorları seyreltmek için kullanılan antikor seyreltici ile inkübe edildi. Antijen alımı

sitrat tampon çözeltisi kullanılarak gerçekleştirildi. İmmünohistokimyasal etiketleme ışık mikroskopu kullanılarak değerlendirildi ve etiketli tübüler hücrelerin oranına ve etiketlemenin yoğunluğuna göre skorlandı. İmmünohistokimyasal boyamalar ışık mikroskop ile değerlendirildi ve immun reaksiyon, boyanma yaygınlığı ve yoğunluğuna göre aşağıdaki gibi skorlandı. İmmun boyanmanın yoğunluğu; 0: boyama yok; 1: zayıf; 2: orta; 3: güçlü boyama.

(0) İmmunopozitifliğin saptanmaması

(1) Farklı on mikroskop sahasında birkaç hafif immunopozitifliğin saptanması

(2) Farklı on mikroskop sahasında fokal alanlar halinde ancak belirgin olarak immunopozitifliğin saptanması

(3) Farklı on mikroskop sahasında %50'den fazla güçlü immunopozitifliğin saptanması

### **3.8 İSTATİKSEL ANALİZ**

Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan en düşük, en yüksek, frekans ve oran değerleri kullanılmıştır. Değişkenlerin dağılımı kolmogorov simirnov, shapiro-wilk test ile ölçüldü. Nicel bağımsız verilerin analizinde ANOVA (Tukey test), Kruskal-wallis, mann-whitney u test kullanıldı. Nitel bağımsız verilerin analizinde ki-kare test kullanıldı. Analizlerde SPSS 27.0 programı kullanılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1 BİYOKİMYASAL BULGULAR

İncelenen testis dokularında GSH seviyeleri Tablo 4'te gösterilmiştir. Torsiyon detorsiyon grubunda (Grup-C) GSH seviyeleri, diğer tüm gruplardan anlamlı olarak ( $p<0.05$ ) daha düşüktü. Misoprostolün oral yoldan verildiği grupta (Grup-D) GSH seviyeleri Grup-C ye göre anlamlı( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Spermatik korda enjeksiyon yolu ile uygulanan misoprostol grubunda (Grup-E) da GSH seviyeleri Grup-C ye göre anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksek görüldü. Oral yoldan ilaç uygulanan grup (Grup-D) ve spermatik korda enjeksiyon yolu ile ilaç uygulanan gruplar (Grup-E) arasında GSH düzeyinde anlamlı farklılık izlenmedi. ( $p>0.05$ )

**Tablo 4.** Gruplar arası GSH değerlerinin karşılaştırılması

|                   | Min-Mak    | Medyan | Ort.±ss   |
|-------------------|------------|--------|-----------|
| <b><i>GSH</i></b> |            |        |           |
| Grup A            | 5,3 - 10,3 | 6,7    | 7,2 ± 1,6 |
| Grup B            | 6,9 - 8,9  | 8,0    | 8,0 ± 0,8 |
| Grup C*           | 4,1 - 6,7  | 5,5    | 5,5 ± 0,9 |
| Grup D**          | 6,2 - 9,4  | 6,5    | 7,2 ± 1,3 |
| Grup E**          | 5,6 - 12,5 | 8,9    | 8,4 ± 2,4 |

<sup>K</sup> Kruskal-wallis (Mann-whitney u test)

\*Grup A ve Grup B ile fark  $p<0.05$

\*\*Grup C ile fark  $p<0.05$

İncelenen testis dokularında MDA seviyeleri Tablo 5'te gösterilmiştir. Torsiyon detorsiyon grubu (Grup-C) ile oral misoprostol verilen grup arasında (Grup-D) MDA düzeyleri analiz edildiğinde ilaç uygulanan grupta MDA seviyesi anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha düşüktü. Spermatik korda enjeksiyon grubu ile (Grup-E) torsiyon detorsiyon (Grup-C) grubu arasında MDA değeri ilaç uygulanan grup lehine anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha düşüktü. İlaç uygulanan gruplar arasında oral ve spermatik korda enjeksiyon yöntemi ile uygulanan farklı metotlar arasında MDA düzeyleri anlamlı bir farklılık göstermemiştir. ( $p>0.05$ )

**Tablo 5.** Gruplar arası MDA değerlerinin karşılaştırılması

|                   | Min-Mak     | Medyan | Ort.±ss    |
|-------------------|-------------|--------|------------|
| <b><i>MDA</i></b> |             |        |            |
| Grup A*           | 39,1 - 51,1 | 42,9   | 43,5 ± 4,0 |
| Grup B            | 33,8 - 58,2 | 40,9   | 43,6 ± 8,7 |
| Grup C            | 41,1 - 58,9 | 49,6   | 48,4 ± 6,8 |
| Grup D**          | 39,3 - 46,9 | 40,9   | 41,6 ± 2,5 |
| Grup E**          | 38,4 - 46,2 | 40,5   | 41,7 ± 3,2 |

<sup>K</sup> Kruskal-wallis (Mann-whitney u test)

\*Grup C ile fark  $p>0.05$

\*\*Grup C ile fark  $p<0.05$

İncelenen testis dokularında MPO seviyeleri Tablo 6'da gösterilmiştir. Torsiyon detorsiyon modelinde (Grup-C) MPO seviyeleri, kontrol (Grup-B) ve sham grubuna (Grup-A) anlamlı olarak daha yüksekti ( $p<0.05$ ). Spermatik korda enjeksiyon uygulaması (Grup-E) ile MPO, torsiyon detorsiyon (Grup-C) grubuna göre daha düşük olarak saptansa da bu azalma istatistik olarak anlamlılık göstermemiştir ( $p>0.05$ ). Oral olarak ilaç verilen grupta (Grup-D), herhangi bir tedavi almayan gruba (Grup-C) göre MPO seviyelerinde anlamlı azalma izlenmiştir ( $p<0.05$ ). Oral (Grup-D) ve spermatik korda enjeksiyon (Grup-E) uygulanan gruplar arasında MPO düzeyleri arasında anlamlı bir fark yoktu ( $p>0.05$ ).

**Tablo 6.** Gruplar arası MPO değerlerinin karşılaştırılması

|                   | Min-Mak     | Medyan | Ort.±ss     |
|-------------------|-------------|--------|-------------|
| <b><i>MPO</i></b> |             |        |             |
| Grup A            | 0,42 - 1,22 | 0,8    | 0,77 ± 0,25 |
| Grup B            | 0,15 - 0,81 | 0,41   | 0,46 ± 0,23 |
| Grup C*           | 2,11 - 5,94 | 2,90   | 3,23 ± 1,31 |
| Grup D**          | 0,37 - 2,03 | 0,8    | 1,03 ± 0,57 |
| Grup E***         | 0,47 - 3,56 | 1,80   | 2,15 ± 1,15 |

<sup>K</sup> Kruskal-wallis (Mann-whitney u test)

\*Grup A ve Grup B ile fark  $p<0.05$

\*\*Grup C ile fark  $p<0.05$

\*\*\*Grup C ile fark  $p>0.05$

İncelenen testis dokularında TAS seviyeleri Tablo 7’de gösterilmiştir. Torsiyon detorsiyon (Grup-C) grubu ile sham (Grup-A) ve kontrol (Grup-B) grupları sırasıyla analiz edildiğinde TAS değerlerinde anlamlı farklılık gözlemlendi. Grup-C ile spermatik korda enjeksiyon uygulanan (Grup-E) gruplar arasında TAS değerleri arasındaki fark anlamlı değildir ( $p>0.05$ ). Oral olarak misoprostol verilen grupta TAS değerleri torsiyon detorsiyon modeline göre daha yüksek saptanmıştır. Fakat istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır. ( $p>0.05$ ).

**Tablo 7.** Gruplar arası TAS değerlerinin karşılaştırılması

|            | Min-Mak    | Medyan | Ort.±ss    |
|------------|------------|--------|------------|
| <b>TAS</b> |            |        |            |
| Grup A     | 8,0 - 13,4 | 10,2   | 10,9 ± 2,0 |
| Grup B     | 3,9 - 16,1 | 8,8    | 9,2 ± 4,5  |
| Grup C*    | 2,5 - 5,2  | 4,2    | 4,1 ± 1,0  |
| Grup D**   | 5,9 - 10,5 | 9,3    | 8,6 ± 1,7  |
| Grup E**   | 2,9 - 12,8 | 7,5    | 7,7 ± 3,8  |

<sup>A</sup> ANOVA

\*Grup A ve Grup B ile fark  $p<0.05$

\*\*Grup C ile fark  $p>0.05$

## 4.2 HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Johnsen skorlaması ile testislerde spermatogenez değerlendirildi. (Tablo 8) En düşük değerlerin herhangi bir ilaç verilmeyen torsiyon detorsiyon grubunda (Grup-C) olduğu görüldü (Şekil 7). En yüksek değerler kontrol (Grup-B) grubunda izlendi (Şekil 8). İncelenen testis dokularında Johnsen skorlaması gruplar arasında değerlendirildiğinde torsiyon uygulanıp detorsiyon sonrası incelenen testis dokularında (Grup-C), sham (Grup-A) ve kontrol (Grup-B) gruplarına göre anlamlı olarak düşük izlendi ( $p<0.05$ ). Reperfüzyondan yarım saat önce oral olarak (Grup-D) ve spermatik korda enjeksiyon (Grup-E) ile misoprostol uygulanan gruplarda Johnsen skorları, detorsiyon sonrası herhangi bir ilaç verilmeyen (Grup-C) grup ile karşılaştırıldığında ilaç uygulanan gruplarda anlamlı olarak daha yüksek izlendi ( $p<0.05$ ).

**Tablo 8.** Gruplar arası Johnsen Skorlarının karşılaştırılması

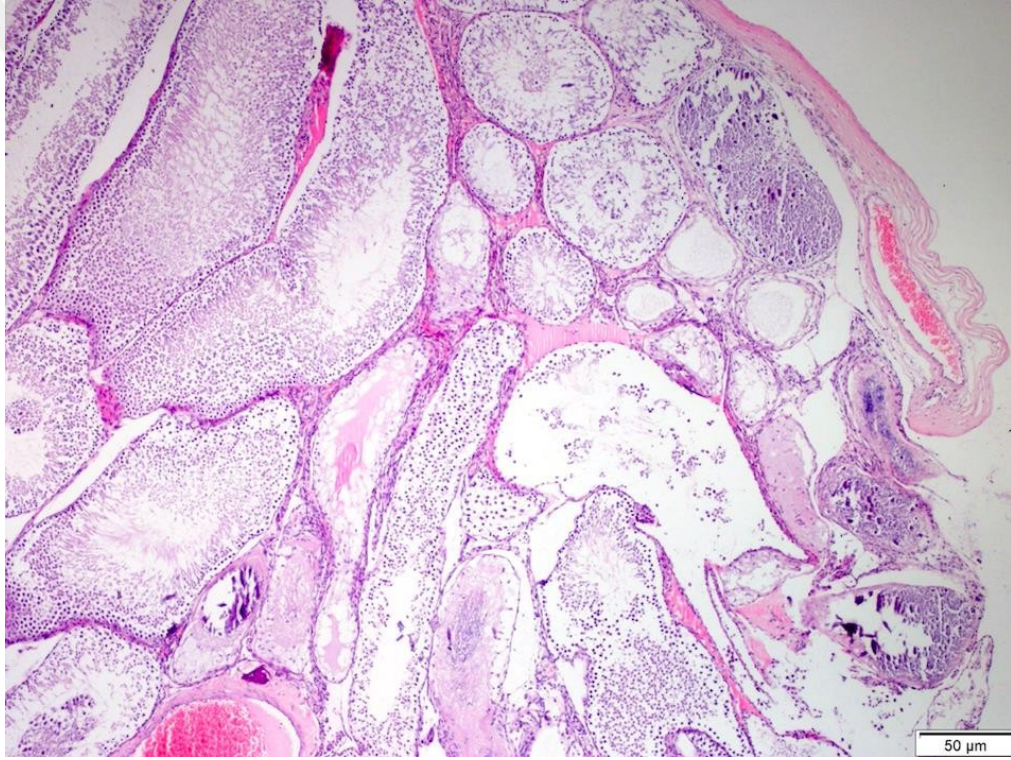
| <i>Johnsen Skorları</i> | Min-Mak   | Medyan | Ort.±ss   |
|-------------------------|-----------|--------|-----------|
| Grup A                  | 8,4 - 9,6 | 9,4    | 9,3 ± 0,5 |
| Grup B                  | 9,6 - 9,9 | 9,9    | 9,8 ± 0,1 |
| Grup C*                 | 8,0 - 8,7 | 8,3    | 8,3 ± 0,2 |
| Grup D**                | 9,0 - 9,9 | 9,4    | 9,4 ± 0,3 |
| Grup E**,***            | 8,9 - 9,8 | 9,3    | 9,4 ± 0,3 |

<sup>K</sup> Kruskal-wallis (Mann-whitney u test)

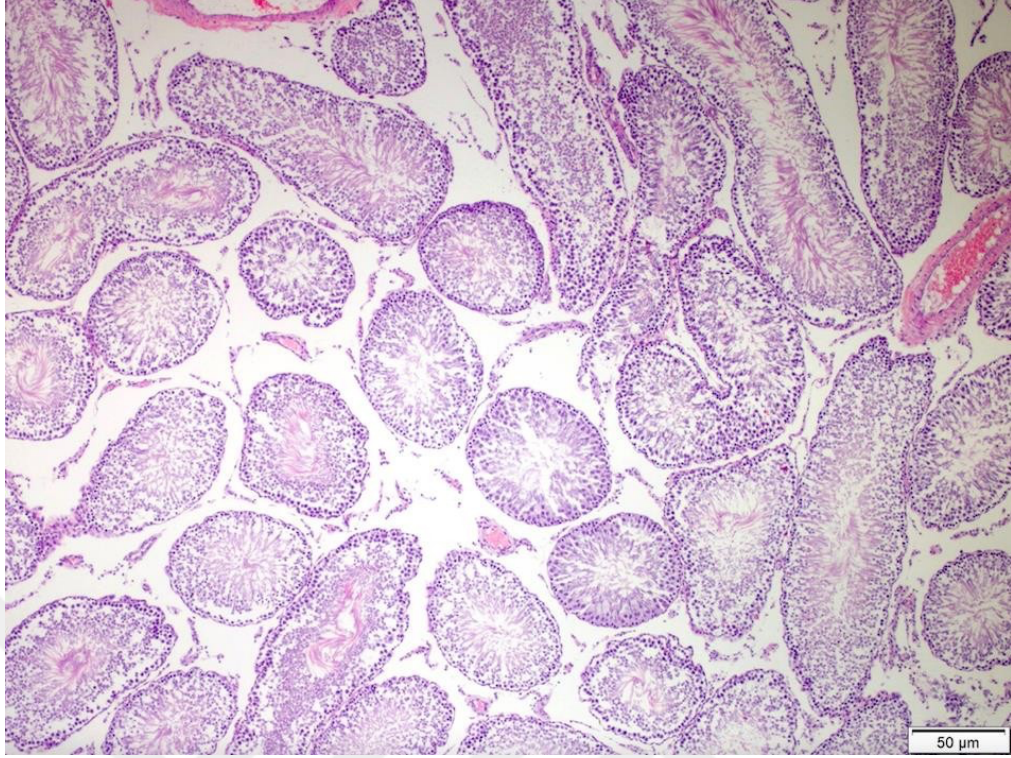
\*Grup A ve Grup B ile fark  $p < 0.05$

\*\*Grup C ile fark  $p < 0.05$

\*\*\*Grup D ile fark  $p > 0.05$



**Şekil 7.** T/D (Grup C): Johnsen skor 1, 2, 4 ve 10 tübül yapıları (HE<sub>x</sub>40)



**Şekil 8.** Kontrol (Grup B): Johnsen skor 9 ve 10 tübül yapıları (HEx40)

İncelenen testis dokularında seminifer tübüllerdeki hücre hasarları Cosentino skorlamasına göre sınıflandırılmıştır. (Tablo 9) Cosentino skorlamasına göre histopatolojik olarak yapılan değerlendirmede torsiyon sonrası detorsiyon yapılarak incelenen testis dokularında (Grup -C) Cosentino skorunun diğer gruplara göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu gözlemlendi. Reperfüzyondan yarım saat önce oral yoldan uygulanan misoprostol sonrası (Grup-D) ilaç verilmeyen grup ile yapılan karşılaştırmada Cosentino skorunun ilaç verilen grup lehine düştüğü izlendi. Aynı etki spermatik korda enjeksiyon uygulanan grupta da gözlemlendi. Ancak bu farklar istatistiksel olarak anlamlılık düzeyinde değildi. ( $p>0.05$ ) İlaç verilme yolları kendi aralarında karşılaştırıldığında, oral uygulamada (Grup-D) spermatik korda enjeksiyon (Grup-E) grubuna göre aralarında ki fark anlamlılık oluşturmasa da Cosentino skorunun daha düşük olduğu saptandı.

**Tablo 9.** Gruplar arası Cosentino skorlarının karşılaştırılması

|          | Cosentino Skorları |        |        |        |
|----------|--------------------|--------|--------|--------|
|          | Evre 1             | Evre 2 | Evre 3 | Evre 4 |
|          | n                  | n      | n      | n      |
| Grup A   | 6                  | 1      | 0      | 0      |
| Grup B   | 7                  | 0      | 0      | 0      |
| Grup C*  | 0                  | 0      | 1      | 6      |
| Grup D** | 1                  | 6      | 0      | 0      |
| Grup E** | 0                  | 4      | 3      | 0      |

<sup>X</sup> Ki-kare test

\*Grup A ve Grup B ile fark  $p < 0.05$

\*\*Grup C ile fark  $p > 0.05$

### 4.3 İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

Deney gruplarının testis dokularında Apaf-1 ve iNOS değerlerini incelenmesi sonucu oluşan veriler Tablo 10 ve Tablo 11’de gösterilmiştir. Torsiyon-detorsiyon grubunda (Grup-C) Apaf-1 değerleri tüm gruplara göre daha yüksek bulundu. Bu grup reperfüzyon öncesi oral yoldan misoprostol uygulanan (Grup-D) grup ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). Spermatik korda enjeksiyon uygulanan (Grup-E) gruptaki Apaf -1 boyanma ortalaması Grup-C ile karşılaştırıldığında ilaç uygulanan grupta anlamlı olarak daha düşük izlendi. ( $p < 0.05$ ). İlaç uygulanan gruplar (grup-D ve Grup-E) kendi arasında karşılaştırıldığında Apaf-1 düzeylerinde anlamlı fark izlenmedi. ( $p > 0.05$ ). Torsiyon-detorsiyon grubunda tüm bireylerde iNOS boyanma pozitifliği +3 düzeyinde izlendi. iNOS ekspresyonu ilaç uygulanan gruplarda (Grup-D ve E) uygulanmayan deney grubuna göre (Grup-C) daha düşük izlendi. Bu fark istatistiksel anlamlılık sağlıyordu ( $p < 0.05$ ). Kontrol grubu ile (Grup-B) reperfüzyon öncesi oral (Grup-D) ve spermatik korda enjeksiyon (Grup-E) yöntemi ile ilaç uygulanan gruplar arasında iNOS seviyeleri arasında anlamlı fark izlenmedi ( $p > 0.05$ ).

**Tablo 10.** Gruplar arası Apaf-1 değerlerinin karşılaştırılması

|          | APAF-1 |   |   |   |
|----------|--------|---|---|---|
|          | 0      | 1 | 2 | 3 |
|          | n      | n | n | n |
| Grup A   | 5      | 2 | 0 | 0 |
| Grup B   | 7      | 0 | 0 | 0 |
| Grup C*  | 0      | 0 | 1 | 6 |
| Grup D** | 0      | 6 | 1 | 0 |
| Grup E** | 0      | 5 | 2 | 0 |

<sup>X<sup>2</sup></sup> Ki-kare test

\*Grup A ve Grup B ile fark p<0.05

\*\*Grup C ile fark p<0.05

**Tablo 11.** Gruplar arası iNOS değerlerinin karşılaştırılması

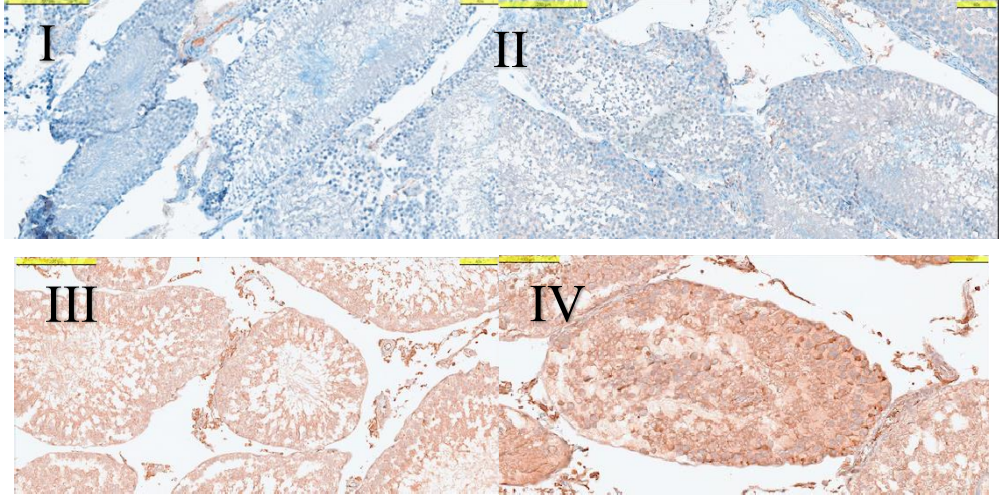
|          | i-NOS |   |   |   |
|----------|-------|---|---|---|
|          | 0     | 1 | 2 | 3 |
|          | n     | n | n | n |
| Grup A   | 4     | 3 | 0 | 0 |
| Grup B   | 6     | 1 | 0 | 0 |
| Grup C*  | 0     | 0 | 0 | 7 |
| Grup D** | 0     | 5 | 2 | 0 |
| Grup E** | 0     | 4 | 2 | 1 |

<sup>X<sup>2</sup></sup> Ki-kare test

\*Grup A ve Grup B ile fark p<0.05

\*\*Grup C ile fark p<0.05

İncelenen testis dokuları immünohistokimyasal olarak hem Apaf-1 hem de i-NOS açısından değerlendirildi. Her grup için negatif kontrol grupları kullanıldı. Apaf-1 düzeyleri arasında zayıf ve orta düzeyli boyanma daha çok sham ve kontrol grubunda gözlemlendi. Torsiyon sonrası detorsiyone edilen testis dokularında Apaf-1 güçlü boyanma göstermiştir. Reperfüzyon öncesi oral ve spermatik korda enjeksiyon uygulama sonrası incelenen dokularda zayıf ve orta derecede boyanma görüldü.



**Şekil 9.** Testis dokularına ait mikroskopik inceleme

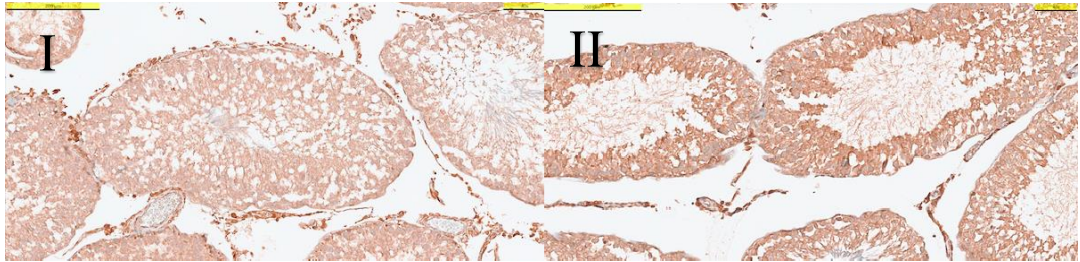
I-Kontrol grubu, Apaf-1 negatif (x400) boyanma

II- T/D+ oral misoprostol grubu, Apaf-1 zayıf boyanma (x400)

III- T/D+spermatik korda enjeksiyon grubu, Apaf-1 orta şiddette boyanma (x400)

IV-T/D grubu, Apaf-1 güçlü boyanma (x400)

İncelenen dokular arasında iNOS ekspresyonu araştırıldığında farklı düzeyde pozitiflikler gözlenmiştir. Özellikle ilaç verilmeyen torsiyon-detorsiyon modelinde iNOS ekspresyonu artmış ve yoğun boyanma gözlenmiştir. Reperfüzyon önce oral misoprostol alan grupta iNOS orta şiddette boyanmıştır.



**Şekil 10.** Testis dokularına ait mikroskopik inceleme

I-Oral misoprostol grubu , iNOS orta şiddette boyanma (x400)

II-T/D grubu, iNOS güçlü boyanma (x400)

## 5. TARTIŞMA

Testis torsiyonu spermatik kordun dönmesi ve ani bir şekilde testise giden kan akımının durması sonucu ortaya çıkar. Testisin kan akışının yeniden sağlanması için erken cerrahi müdahale gerekmekte olup testis dokusunun kurtarılması genellikle 4-6 saat arasında olan cerrahi müdahale ile mümkün olmaktadır (55). İskemi gerçekleşen dokunun yeniden kanlanmasını sağlandıktan sonra patofizyolojik olarak serbest oksijen radikallerinin oluşumu sonucu hücre ve doku düzeyinde reperfüzyon hasarı gerçekleşir (56). İskemi reperfüzyon hasarı sonucu oluşan proinflamatuvar sitokinler, hücresel hipoksi , apoptoz, nötrofil aktivasyonu ve endotel hücre disfonksiyonu, atrofi ve infertiliteye neden olabilmektedir (57) . Semptomların başlamasından yaklaşık olarak 4 saat sonra detorsiyon yapılan hastalarda bile %50 oranda sperm parametrelerinde anormallik saptandı (58).

Testis torsiyonunda tedaviye kadar geçen süre ve testisin pedikülü etrafında ne derecede döndüğü doku hasarını tespit etmekte önemli faktörler olarak gösterilmiştir (3). Testisin torsiyon halinde kalma süresinin karşılaştırıldığı bir çalışmada 3 saat ve üzeri iskemik testis dokusunun olması halinde histopatolojik değişikliklerin belirgin olduğu belirtilmiş olmasına rağmen bir başka çalışmada 1 saat ve üzeri torsiyon süresinin de hasarın ve fonksiyonel kaybın gösterilebilmesinde yeterli olduğu gösterilmiştir (59,60). Testisin spermatik kord etrafında dönme dereceleri karşılaştırıldığına 720 derece dönmenin perfüzyonu tam olarak engellediği ve iskeminin tam olarak oluştuğu belirtilmiştir (60). Sağ testis ve sol testiste torsiyon gelişme durumu karşılaştırıldığında sol testise giden spermatik kordun daha uzun olması sonucu torsiyonun sol testiste daha sık görüldüğü belirtilmiştir (61).

Biz de çalışmamızda sol testisi iki tam tur (720 derece) döndürerek 2 saatlik torsiyon sonrası ikinci saatin sonunda detorsiyon gerçekleştirdik. Daha sonra testise 4 saatlik reperfüzyon sonrası iskemi-reperfüzyon hasarını değerlendirdik.

İskemik ve hipoksik kalan testiküler doku nekroz gelişmeden tekrar kanlanma sonucunda atrofiye gitmekten kurtulmuş olsa da oluşan reaktif oksijen radikalleri ve hücresel olaylar sonucu reperfüzyon hasarı gerçekleşmektedir.

İskemik doku da ATP ve enerji sağlayan öncüller azalmakta ve zaman uzadıkça bunlar tükenmektedir (62). ATP enerjisinin kullanılması sonucunda adenozin hipoksantine indirgenmiş olup reperfüzyon sonrası elektron alıcısı olarak oksijenin kullanıldığı ROT üretilmeye başlar (41). Yeniden kanlanmanın sağlanması sonucunda serbest oksijen radikalleri ortamda bulunmakta olup iskemide geçen süre artar ya da bunları ortamdaki uzaklaştıran sistemler devre dışı kalırsa serbest radikaller oksidatif strese sebep olarak doku hasarını arttırmaktadır. ROT'lar, lipit peroksidasyonuna sebep olup membran hasarı sonucu geçirgenliğin artmasına, proteinlerin oluşumunda inhibisyona ve DNA hasarı sonucu mutasyonlara sebep olabilmektedir (63).

Serbest radikalleri uzaklaştırmak ve hasarı en aza indirmek için çeşitli antioksidatif mekanizmalar mevcut olup bunlar enzimatik olarak süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi enzimler ile sağlanmaktadır. Bunun yanı sıra ekzojen ve endojen antioksidan mekanizmalarda kararsız moleküllerin uzaklaşmasını sağlamaktadır (37). İskemi reperfüzyon sırasında oluşan ROT miktarının, koruyucu olarak rol alan antioksidatif mekanizmaların inhibisyon etkisinden çok daha fazla olması bir dengesizliğe yol açarak hasara neden olmaktadır (64). Bu durumu engellemek amacıyla antioksidatif mekanizmayı güçlendirici ek ilaçların kullanılması önemli hale gelmektedir (65). Çeşitli çalışmalarda metformin , flavonoidler, taurin, melatonin, oltipraz gibi farklı ajanlar iskemi reperfüzyon hasarını önlemek için kullanılmıştır (56,64–67). Literatürde testis torsiyon detorsiyon modeli üzerinde misoprostolün etkisini inceleyen bir çalışmaya rastlamadık.

Misoprostolün iskemi reperfüzyon üzerine olan olumlu etkileri karaciğer, kalp, barsak ve böbrek gibi dokular üzerinde gösterilmiştir. (8,68–70).Bizde çalışmamızda misoprostolün oksidatif stres üzerine olan etkisini testis dokusu üzerinde araştırdık.

Glutatyon vücut içerisinde çok sayıda enzimin koenzimidir. Ayrıca aminoasit taşınması, DNA sentezinin düzenlenmesi ve serbest oksijen radikallerinin detoksifikasyonunda görev alan moleküldür. Eritrosit ve lökositleri serbest radikallerin oluşturduğu hasara karşı korumaktadır. Yapısını oluşturan glutamat , glisin ve sistein arasında ki bağ yapıları sayesinde hücre içindeki

kararlılığı arttırır. Glutasyon hücrede baskın olarak indirgenmiş (GSH) yapıda bulunur ayrıca okside form (GSSG) olarak da bulunabilmektedir (71). Glutasyon redüktaz enzimi, okside glutasyonu GSH yapısına katalizleyen antioksidan bir enzimdir. Hücrelerde indirgenmiş glutasyon miktarını koruyarak serbest radikallere karşı oksidatif stresin azaltılmasına katkı sağlamaktadır.

Deneysel iskemi reperfüzyon modelinin oluşturulduğu bir çalışmada 3 saatlik torsiyon ardından 4 saatlik reperfüzyon sonrası testis dokusunda biyokimyasal inceleme sonrası GSH düzeyinin torsiyon detorsiyon grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük değerde olduğu gösterilmiştir (72).

İskemi reperfüzyon modeli oluşturulan ve fenofibratin oksidatif hasarı engellemede aktif olduğunun gösterildiği deneysel araştırmada iskemi öncesi herhangi bir tedavi verilmeyen grupla karşılaştırıldığında tedavi verilen grupta testiküler dokuda GSH düzeyinde anlamlı bir artış izlenmiştir (73).

Biz çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak 720 derece döndürülen testise 4 saatlik reperfüzyon uygulanan grupta testiküler dokuda GSH seviyesinin, sham ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığını gördük. Reperfüzyondan yarım saat önce spermatik korda enjeksiyon yöntemiyle ve oral olarak misoprostol verilen her iki grup, tedavi almayan grup ile karşılaştırıldığında GSH seviyelerinde tedavi alan gruplarda anlamlı artış tespit edildi.

MDA, eikozanoid sentezinde veya serbest radikallerle kataliz sonucunda lipit peroksidasyon ürünü olarak ortaya çıkar. Hücre zarı yüzeyinde çapraz bağ reaksiyonları ile iyon geçişi ve enzim aktivitelerinde değişikliğe sebep olabilmektedir. Yapısındaki aldehit grubu sayesinde uzun süre ortamda bulunabilen ve hücre membranlarından geçen oksidatif stres belirtecidir (74).

Yıldız ve ark. yapmış olduğu iskemi reperfüzyon çalışmasında T/D grubunda MDA seviyesi sham grubuna göre artmış olduğu gözlenmektedir. Fakat istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır. Aynı çalışmada reperfüzyon öncesi sildenafil verilen grupta MDA düzeyinde T/D grubuna göre anlamlı olarak bir azalma izlenmiştir (75).

İskemi reperfüzyon hasarı üzerine oltiprazın etkisini araştıran çalışmada T/D grubunda MDA seviyesinin, tedavi verilen gruba göre anlamlı olarak yüksek olduğu gösterilmiştir (67).

Deneysel T/D modelinde 2 saat iskemi ardından 2 saatlik reperfüzyon sonrası MDA düzeyinin sham grubuna göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (76). Benzer şekilde iskemi süresi olup 48 saatlik reperfüzyon gerçekleştirilen farklı bir çalışmada da MDA düzeyinin iskemik grupta kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirtilmiştir (77).

Çalışmamızda iskemi sonrası 4 saatlik reperfüzyon uygulanmış olup, T/D grubunda MDA seviyesi sham ve kontrol grubundan yüksek olarak saptanmıştır. Oral yoldan misoprostol kullanan grup ile T/D grubu karşılaştırıldığında MDA seviyesinin ilaç uygulaması sonrası anlamlı düzeyde azaldığı gözlenmiştir. Spermatik korda misoprostol enjeksiyonu sonrası MDA düzeyi T/D grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Misoprostolün spermatik korda enjeksiyon ya da oral olarak kullanılmasını birbirileriyle karşılaştırdığımız da MDA seviyelerinde anlamlı farklılık oluşmamaktadır.

MPO normal lökosit fonksiyonlarında görev alan bir enzimdir. MPO'nun görev aldığı reaksiyonlar sonucunda oluşan reaktif ürünler güçlü antimikrobiyal ve antiviral etki oluşturmaktadır. Aynı zamanda MPO, iskemi sonrası serbest oksijen radikalleri sonrası gerçekleşen oksidasyon hasarına yanıt olarak da lökositlerden salgılanmaktadır (47). MPO, reperfüzyon sonrası oksidatif stres göstergesi olarak dokularda tespit edilebilmektedir.

Testis torsiyonlarında hipoterminin etkisini operasyondan 8 hafta sonra araştıran deneysel çalışmada 1 saatlik torsiyon sonrası detorsiyone edilen grupta MPO değerleri, sham grubuna göre anlamlı olarak yüksek izlenmiştir. Tedavi alan grupta ise MPO değerinin anlamlı olarak daha düşük olduğu saptanmıştır (78).

Zheng ve ark. yapmış olduğu çalışmada 2 saatlik torsiyon ardından 24 saatlik reperfüzyon gerçekleştirilmiştir. Tedavi grubunda MPO değeri, T/D grubuyla karşılaştırıldığında MPO seviyesinin düşüklüğü istatistiksel anlamlılık göstermiştir (79). Aynı iskemi süresine sahip bir başka çalışmada 4 saatlik reperfüzyon sonrası MPO değeri, sham grubuna göre anlamlı olarak yüksek izlenmiştir (80).

Çalışmamızda 2 saatlik torsiyon ardından 4 saatlik reperfüzyon sonrası MPO değerleri karşılaştırılmıştır. T/D grubunda MPO seviyesi sham ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. Reperfüzyondan yarım saat önce oral yoldan misoprostol verilen grup ile T/D grubu analiz edildiğinde MPO seviyesi tedavi grubunda anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır. Tedavinin spermatik korda enjeksiyon yöntemiyle uygulandığı grupta MPO değeri T/D grubuna göre daha düşük saptanmış fakat istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır.

Testis torsiyonu sonrası iskemik dokunun tekrar kanlanmasının sağlanması, reperfüzyona bağlı oluşan serbest radikaller sonucu hasara sebebiyet vermektedir (38). TAS seviyesi oksidatif stresi izlemek için , vücuttaki toplam antioksidan mekanizmaların gücünü göstermektedir (81).

Yuluğ ve ark. yapmış olduğu çalışmada 4 saatlik torsiyon sonrası reperfüze testis dokusu 24 saat sonunda incelenmiştir. T/D grubunda TAS seviyesi sham grubuna göre anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır. Reperfüzyondan 30 dk önce tedavi uygulanan grup ile T/D grubu arasında TAS seviyelerinde istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır (82).

Rho-kinaz inhibitörlerinin deneysel T/D modelinde oksidatif stres üzerine etkisini inceleyen bir başka çalışmada 2 saatlik torsiyon sonrası testislerin kanlanması sağlandıktan 2 ay sonra orşiektomi gerçekleştirilmiş. Sham ve T/D grubu arasında TAS seviyesi karşılaştırıldığında T/D grubunda TAS seviyeleri anlamlı olarak daha düşük olduğu izlenmiştir. İlaç uygulanan grupta TAS seviyesi T/D grubuna göre anlamlı olarak artmıştır (83).

Çalışmamızda literatür ile benzer şekilde T/D grubunda TAS seviyesi, sham ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır. Bu durum testis torsiyonu sonrası reperfüzyonun enzimatik ya da non-enzimatik antioksidan seviyelerini azalttığını göstermektedir. Reperfüzyondan önce farklı iki yöntemle ilaç uygulanan gruplar T/D ile karşılaştırıldığında TAS seviyelerinde artış gözlenmiştir fakat bu fark istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır. Çalışmamızda reperfüzyon süresi 4 saat olarak belirlenmişti. Reperfüzyon süresinin artması halinde ilacın yanıtının daha uzun sonuçlarının değerlendirilmesi halinde bu farkta anlamlılığın sağlanabileceğini düşünmekteyiz.

Histopatolojik değerlendirme testiküler dokulardan hazırlanan parafin blokların hematoxilen- eozin ile boyanan kesitlerinde germ hücre hasarı ve spermatogenezisin değerlendirilmesi ile elde edilmiştir. Testis torsiyonunun da etkilenen testiste kan akımı durmaktadır. Detorsiyon sonrası etkilenen tarafta hem kan akımının azalması hem de detorsiyon sonrası artan kan akımı testiste hasara neden olmaktadır. Ayrıca karşı testiste hasar oluşmakta bu da reperfüzyon sonrası artan kan akımının bir sonucudur. Bu hasar mekanizmasında immünolojik süreçler ve oksidatif stres suçlanmaktadır. Belirtilen sebepler neticesinde testis torsiyonu sonrası %25 oranında infertilite gelişebilmektedir (84). Johnsen ve ark. spermatogenezisi kantitatif olarak değerlendirebilmek için bir skorlama sistemi oluşturdular. Bu sistemde her seminifer tübül hücrelerine sayısal değer verilerek incelenen bölümdeki seminifer tübüllerin ortalaması alınmaktadır (54). İlk kaybolan hücreler spermatozonlar olup en son kaybolan hücreler sertoli hücreleridir.

Nitrogliserinin testis fonksiyonları üzerinde etkisini inceleyen çalışmada 2 saatlik torsiyon ve 2 saatlik reperfüzyon sonrası tedavi alan ve almayan gruplar arasında spermatogenezis Johnsen skorlaması temel alarak değerlendirilmiştir. T/D grubunda Johnsen skoru düşük izlenmiş olup tedavi uygulandığında anlamlı artış gözlenmiştir (85).

Literatürde deneysel testis iskemi reperfüzyon etkilerinin incelenmesinde farklı iskemi ve reperfüzyon sürelerini içeren çalışmalarda Johnsen skoru sonuçları farklı olsa da T/D grubunda sham grubuna göre daha düşük Johnsen skorunun izlendiği çalışmalar çoğunluğu oluşturmaktadır (85-87).

Çalışmamızda testisler iki tam tur döndürülerek 2 saatlik iskeminin ardından 4 saatlik reperfüzyon uygulanan grupta en düşük Johnsen skoru saptanmıştır. Bu azalma kontrol ve sham grubu ile ayrı ayrı karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmıştır. Oral ve spermatik korda enjeksiyon yöntemiyle tedavi alan gruplar da Johnsen skoru anlamlı olarak yükselmiştir. Misoprostolün testis torsiyonu sonucu oluşan iskemi reperfüzyon hasarına karşı spermatogenezis üzerine koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir.

Cosentino skorlaması normal testis parenkiminden (evre 1) koagülasyon nekrozuna (evre 4) kadar değişen bir skorlama sisteminden oluşmaktadır.

Çalışmamızda T/D grubunda Cosentino skorlaması 6 testiste evre 4 olarak 1 testiste evre 3 olarak tespit edilmiştir. Bu değerler kontrol ve sham grubuna kıyasla anlamlı olarak yükseklik göstermektedir. Tedavi uygulanan gruplarda cosentino skorları T/D grubuyla karşılaştırıldığında daha düşük evrede saptanmıştır. Fakat bu durum istatistiksel olarak anlamlı değildir. Karagöz ve ark. yapmış olduğu çalışmada 4 saatlik iskemi ardından 2 haftalık reperfüzyon sonrası gruplar değerlendirilmiştir. Papaverin enjeksiyonu yapılan grupta Cosentino skorunda histopatolojik düzelme gözlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı görülmemiştir (88).

Bu sonuçlara testis torsiyonun süresinin ve derecesinin sebep olabileceğini düşünmekteyiz. Bunun yanı sıra iskemi ve reperfüzyonun oluşturduğu etki de testis hasarında önemli rol oynamaktadır. Reperfüzyon süresinin artması ile doku hasarının artabileceği tartışmalı bir konu olarak devam etmektedir (89).

İskemi ve reperfüzyon sonucu gelişen hasara sebep olan süreçlerden bir tanesi de enflamatuar mekanizmalardır. Bir çok enflamatuar molekül salgılanır ve bunlardan biri de iNOS'dur (90). iNOS fizyolojik görevinin yerine getiren normal hücrelerden salgılanmaz. iNOS'un yüksek ekspresyonu NO üretimini artırır ve organ işlevlerinin bozulmasına sebep olur. NO normalde apoptoz yolu ile sperm maturasyonunda görev almaktadır. Reperfüzyon sonrasında NO seviyesi ileri derecede artmaktadır. iNOS ve NO üretimi apoptoza ve nekroz ile hücre ölümüne sebep olmaktadır (44).

Testiste torsiyon detorsiyon modelinin oluşturulduğu çalışmada reperfüzyondan 1 saat önce uygulanan dipeptidil peptidaz-4 inhibitörlerinin , 4 saatlik reperfüzyon sonrası NOS inhibisyonu ile antiapoptotik ve antiinflamatuvar etki sonucunda T/D hasarına karşı koruyucu etkili olduğu gösterilmiştir (91). Aynı süreler ile oluşturulan deneysel testis iskemi reperfüzyon çalışmasında hidrojen sülfürün etkisinin incelenmiştir. iNOS ekspresyonunun T/D modelinde sham grubuna göre arttığı belirtilmiştir. Ve reperfüzyon öncesi uygulanan tedavi ile iNOS istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde azalmıştır (92).

T/D modelinin oluşturulduğu deneysel çalışmalarda sham grubu ile T/D grubu karşılaştırıldığında sham grubunda iNOS seviyeleri daha düşük bulunmuştur (80). Antioksidan takviyelerin etkisinin incelendiği bir başka deneysel torsiyon

modelinde sham grubuna göre iNOS ekspresyonunun arttığı ve antioksidan takviye alan grupta iNOS aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir (93).

Çalışmamızda iki tam tur torsiyon uygulanan ratlarda 2 saatlik iskemi sonrası 4 saatlik reperfüzyon gerçekleştirilen grupta iNOS ekspresyonunun diğer gruplara göre anlamlı olarak arttığı gözlemlendi. Oral ve spermatik korda enjeksiyon yöntemiyle ayrı ayrı uygulanan misoprostolün iNOS aktivitesini T/D grubuna göre anlamlı olarak azalttığı gösterilmiştir. Fakat uygulama yöntemlerinin birbirleri üzerine üstünlüğü gözlenmemiştir.

Apaf-1 mitokondrial apoptozda rol oynamaktadır. Apoptozun oluşmasında kaspazlar görev almaktadır. Kaspazlar proteaz aile grubunda olan enzimlerdir. Apoptozda, hücre membran ile kaplıdır ve kromatin yapıları membran çevresinde yoğunlaşır. Ayrıca kaspaz aktivasyonu ve mitokondriyal membran geçirgenliğinde değişiklikler tanımlanmıştır. Hücreler iki yolak ile apoptoza gidebilmektedir. Birincisi intrinsek yolak olup ölüm reseptörü yolağından farklı olarak hem hücre dışı sinyallerle (büyüme faktörü veya hormon azlığı, ultraviyoleışıını, çeşitli sitokinler) hem de DNA hasarına neden olan hücre içi sinyallerle indüklenebilir (94). İkincisi ekstrinsek yolak olup tümör nekroz faktör alfa gibi uyarılarla tetiklenen ölüm reseptörü yolağı olarak da bilinir (95).

Serbest radikaller sonucunda oluşan hücrel hasarlanmalar özel bir sistem ile algılanır ve mitokondrinin yüzeyinde bulunan BCL-2 ve Bax adlı protein ile etkileşime girmesine sebebiyet verir. Ardından mitokondrinin yüzeyinde porlar oluşur. Bu porlar mitokondriden sitokrom-c ayrılmasına olanak sağlamaktadır. Serbest kalan sitokrom-c ve Apaf-1 ise kaspaz-9 aktif hale çevirmektir. Bu üç molekülün ATP ile birlikte oluşturduğu yapıya apoptozom denir ve bu da kaspaz kaskadını başlatır (96). Bunun sonucunda hücrenin ölümü sistematik olarak gerçekleşir.

Ahmed ve ark'ın gerçekleştirdiği çalışmada 2 saatlik iskemi ve 2 saatlik reperfüzyon sonrasında İ/R grubunda Apaf-1 ekspresyonunda artış saptandı (97). Farklı iskemi ve reperfüzyon süreleri olan çalışmalarda Apaf-1 ekspresyonunda T/D gruplarında Apaf-1 seviyeleri yüksek izlenmiş olup antioksidan etkisinden yararlanan ilaçlar sonrası Apaf-1 aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir. (67,80,92)

Çalışmamızda T/D grubunda Apaf-1 ekspresyonunun sham ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğunu gösterdik. Reperfüzyon öncesi oral ve spermatik korda enjeksiyon yöntemiyle misoprostol verilen grup, T/D grubuyla karşılaştırıldığında her iki grupta da anlamlı azalma izlenmiştir.

Misoprostol cAMP oluşumunu inhibe ederek pariyetal hücrelerden gastrik asit salınımını azaltır, mukozal kanlanmayı artırır ve hücre rejenarasyonu sağlayarak gastrit ve ülser tedavisinde kullanılmaktadır (98). Ayrıca obstetrik alanda servikal olgunlaştırıcı ajan olarak da kullanılmaktadır (99). Tüm bu etkilerinin yanı sıra misoprostolün oksidatif stres, enflamasyon ve apoptozu engelleyici etkisi çeşitli organlar üzerinde yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

Renal iskemi ve reperfüzyon hasarı üzerine misoprostolün etkisini inceleyen çalışmada misoprostol verilen grupta proinflatuar sitokinlerin azaldığı tespit edilmiştir. Histolojik olarak ise misoprostol verilen grupta renal korteksin korunduğu görülmüştür. Oksidatif stres mediatörlerinden MDA seviyesinin misoprostol verilen grupta İ/R grubuna göre anlamlı düzeyde daha az olduğu gözlenmiştir. SOD düzeylerinin ise anlamlı olarak daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Bu veriler değerlendirildiğinde renal iskemi reperfüzyon hasarı üzerine misoprostol antioksidan etki göstermektedir (68).

Karaciğer üzerinde oluşturulan iskemi reperfüzyon hasarını azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca karaciğer endotel hücrelerini apoptozdan korumuştur. Misoprostol çeşitli hepatotoksik ilaçların karaciğer üzerinde ki hasarını azaltmıştır. Bu etkisini lökosit göçünü engelleyerek, iNOS ekspresyonunu ve TNF-a seviyelerini azaltarak göstermiştir. Ayrıca adezyon moleküllerini düzenleyerek ve serbest oksijen üretiminin inhibisyonu ile hücre hasarını engellemektedir (100).

Pulmoner ve serebral iskemi reperfüzyon hasarı üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde, literatürde ki diğer çalışmalara benzer şekilde serbest radikallerin etkisini inhibe ettiği ve antiinflatuar özelliği ile hasarı azalttığı gösterilmiştir. (11,101)

Biz de çalışmamızda misoprostolün antioksidan,antiinflatuar ve apoptozu engelleyici etkisinden yararlanarak testis dokusunda iskemi reperfüzyon hasarı üzerine koruyucu etkisini gösterdik.

## 6. SONUÇ

Deneysel olarak gerçekleştirdiğimiz testis torsiyon detorsiyon modelinde, testis dokusunda gelişen hasara misoprostolün etkisi incelenmiştir. Çalışmamızda reperfüzyondan 30 dk önce oral ve spermatik korda enjeksiyon yöntemi uygulanarak 2 farklı yöntemle misoprostolün testis üzerinde meydana gelen reperfüzyon hasarını engellemede biyokimyasal, histopatolojik ve immunohistokimyasal düzeyde etkilerini gösterdik.

Misoprostol tedavisi ile testis torsiyon detorsiyon modelinde biyokimyasal analizlerde MDA ve MPO seviyelerinde azalma, TAS ve GSH düzeylerinde artma gözlenmiştir. Bu verilerin testis hasarı sonrası gelişen oksidatif stres ve antioksidan mekanizmalar arasındaki dengeyi olumlu yönde etkilediğini saptadık.

Histopatolojik incelemelerde, testiste gerçekleşen iskemi reperfüzyon hasarının spermatogenez üzerine etkilerini Johnsen skorlaması ile değerlendirdik. Detorsiyondan 30 dk önce misoprostol uygulanmasında Johnsen skorlamasında istatistiksel anlamlı artış gözlemlendi. Seminifer tübüllerde hücre hasarı Cosentino skorlaması ile değerlendirilmiş olup en yüksek değerlerin tedavi almayan iskemi reperfüzyon grubunda olduğu gözlemlendi. Reperfüzyon öncesi tedavi alan grupta Cosentino skorlarında düzelme izlenmiş olup bu fark istatistiksel anlamlılık göstermemiştir.

İmmunohistokimyasal analiz verileri incelendiğinde misoprostol tedavisinin iskemi ile artan Apaf-1 düzeyini anlamlı düzeyde azaltarak hücresel düzeyde apoptozu engellediğini gösterdik. Torsiyon sonrası reperfüzyon sağlanan grupta iNOS ekspresyonunun belirgin bir artış göstermiş olup misoprostol uygulaması sonrası iNOS seviyelerinde anlamlı azalmanın doku hasarını azalttığını saptadık.

Çalışmamız sonucu ortaya çıkan veriler değerlendirildiğinde misoprostolün testis torsiyonu neticesinde gerçekleşen iskemi reperfüzyon hasarı üzerine etkili olduğu görülmüştür. Bu etki kullandığımız molekülün antioksidan ve inflamasyon ile apoptozu engelleyici etkisinden kaynaklanmaktadır. Misoprostolün koruyucu etkisinden faydalanılarak, torsiyonun testis üzerinde ki hasarını en aza indirmek için klinik uygulamalar açısından araştırılması gerektiğini düşünebiliriz. Böyle bir uygulamanın klinik pratiğe yansımaları halinde cerrahi sonrası başarı oranlarında artma veya cerrahiye kadar geçen süre için zaman kazanabileceğimizi düşünmekteyiz.

Çalışmamızda literatürde az sayıda bulunan farklı bir tedavi grubu oluşturularak spermatik korda enjeksiyon yöntemi değerlendirilmiştir. Bu tedavi grubunda da İ/R hasarı üzerine etkili sonuçlar alındığı gösterilmiştir. Bu çalışmanın bundan sonraki çalışmalara ışık tutabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte grup ve denek sayıları arttırılarak, farklı dozda tedaviler farklı yöntemler ile uygulanarak, daha uzun iskemi ve reperfüzyon sürelerinin planlandığı çalışmalara ihtiyaç vardır.



## 7.KAYNAKLAR

1. Callewaert PR, Van Kerrebroeck P. New insights into perinatal testicular torsion. *Eur J Pediatr*. 2010 Jun;169(6):705-12.
2. Kapoor S. Testicular torsion: a race against time. *Int J Clin Pract*. 2008 May;62(5):821-7. [cited 2023 Nov 27]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18412935/>.
3. Visser, A.J., et al. Testicular function after torsion of the spermatic cord. *BJU Int*, 2003. 92: 200.
4. Tryfonas G, Violaki A, Tsikopoulos G, Avtzoglou P, Zioutis J, Limas C, et al. Late postoperative results in males treated for testicular torsion during childhood. *J Pediatr Surg* [Internet]. 1994 [cited 2023 Nov 27];29(4):553–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8014814/>.
5. Lian BSY, Ong CCP, Chiang LW, Rai R, Nah SA. Factors Predicting Testicular Atrophy after Testicular Salvage following Torsion. *Eur J Pediatr Surg* [Internet]. 2016 Oct 28 [cited 2023 Nov 27];26(1):17–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26509312/>.
6. Cummings JM, Boullier JA, Sekhon D, Bose K. Adult testicular torsion. *J Urol*. 2002 May;167(5):2109-10.
7. Cvetkovic T, Stankovic J, Najman S, Pavlovic D, Stokanovic D, Vlajkovic S, et al. Oxidant and antioxidant status in experimental rat testis after testicular torsion/detorsion. *Int J Fertil Steril* [Internet]. 2015 [cited 2023 Nov 27];9(1):121–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25918600/>.
8. Hafez T, Moussa M, Nesim I, Baligh N, Davidson B, Abdul-Hadi A. The effect of intraportal prostaglandin E1 on adhesion molecule expression, inflammatory modulator function, and histology in canine hepatic ischemia/reperfusion injury. *J Surg Res* [Internet]. 2007 Mar [cited 2023 Dec 15];138(1):88–99. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17174338/>.
9. Cura-Esquivel I, Delgado-Chávez EN, García-Narro JH, Torres-González L, Alarcón-Galván G, Moreno-Peña DP, et al. Attenuation of pro-inflammatory cytokines and oxidative stress by misoprostol in renal ischemia/reperfusion in rats. *Pharmazie* [Internet]. 2018 [cited 2024 Feb 7];73(9):537–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30223938/>.
10. Bilgic S, Ozgocmen M. The protective effect of misoprostol against doxorubicin induced liver injury. *Biotech Histochem* [Internet]. 2019 Nov 17 [cited 2023 Nov 29];94(8):583–91. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31478750/>.
11. Wu H, Wu T, Hua W, Dong X, Gao Y, Zhao X, et al. PGE2 receptor agonist misoprostol protects brain against intracerebral hemorrhage in mice. *Neurobiol Aging* [Internet]. 2015 Mar 1 [cited 2024 Feb 15];36(3):1439–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25623334/>.
12. Blaschko SD, Cunha GR, Baskin LS. Molecular mechanisms of external genitalia development. *Differentiation* [Internet]. 2012 Oct [cited 2023 Dec 5];84(3):261–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22790208/>.

13. Baskin LS, Cunha G. Embryology of the Genitourinary Tract, in Alan W. Partin MD, PhD, Roger R. Dmochowski MD, MMHC, Kavoussi LR, Craig A. Peters MD Campbell-Walsh-Wein Urology 12th edition. WB Saunders Company, Philadelphia, Vol 1, Chapter 20;2020:305- 340.
14. Hutson JM, Li R, Southwell BR, Newgreen D, Cousinery M. Regulation of testicular descent. *Pediatr Surg Int* [Internet]. 2015 Mar 17 [cited 2023 Dec 5];31(4):317–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25690562/>.
15. Junqueira CL, Carneiro J. *Temel Histoloji, Text and Atlas*, 11. baskı. Seyhun Solakoğlu, Yener Aytekin (Editörler). Ankara: Nobel Tıp Kitabevi, 2009;418-33.
16. De Kretser DM, Loveland KL, Meinhardt A, Simorangkir D, Wreford N. Spermatogenesis. *Hum Reprod* [Internet]. 1998 [cited 2023 Dec 5];13 Suppl 1(SUPPL. 1):1–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9663765/>.
17. Sharma R, Agarwal A. Spermatogenesis: An Overview. *Sperm Chromatin* [Internet]. 2011 [cited 2023 Dec 5];19–44. Available from: <https://www.studocu.com/in/document/sanjay-gandhi-post-graduate-institute-of-medical-sciences/pg-transfusion-medicine/61-sharma-and-agarwal-spermiogenesis-an-overview/73355626>.
18. Neto FTL, Bach PV, Najari BB, Li PS, Goldstein M. Spermatogenesis in humans and its affecting factors. *Semin Cell Dev Biol* [Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2023 Dec 5];59:10–26. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27143445/>.
19. Ross MH, Pawlina W. *Histology: A text and atlas: with correlated cell and molecular biology*. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins 2006.
20. Tishler PV. Diameter of testicles. *N Engl J Med*. 1971;285(26):1489.
21. Langford GA, Heller CG. Fine structure of muscle cells of the human testicular capsule: basis of testicular contractions. *Science*. 1973;179(4073):573–575.
22. Paulsen F WJ. *Sobotta Atlas of Human Anatomy*. 15th Editi. Canada: Munich: Urban & Fischer; 2011. Fig 7.49.
23. Frank H. Netter MD *İnsan Anatomi Atlası* 5.Baskı Ankara-Nobel Tıp Kitabevi Fig:362.
24. Jarow JP. Clinical significance of intratesticular arterial anatomy. *J Urol* [Internet]. 1991 [cited 2023 Dec 11];145(4):777–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2005699/>.
25. Hinman F Jr: *Atlas of urosurgical anatomy*, Philadelphia, 1993, Saunders, p 497.
26. Nallikuzhy TJ, Rajasekhar SSSN, Malik S, Tamgire DW, Johnson P, Aravindhan K. Variations of the testicular artery and vein: A meta-analysis with proposed classification. *Clin Anat* [Internet]. 2018 Sep 1 [cited 2023 Dec 11];31(6):854–69. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29737575/>.
27. Taguchi K, Tsukamoto T, 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 plexuses. *J Urol* 1999; 161: pp. 320-325.
28. Zhao LC, Lautz TB, Meeks JJ, Maizels M. Pediatric testicular torsion epidemiology using a national database: incidence, risk of orchiectomy and possible measures toward improving the

- quality of care. *J Urol* [Internet]. 2011 Nov [cited 2023 Dec 11];186(5):2009–13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21944120/>.
29. Mäkelä E, Lahdes-Vasama T, Rajakorpi H, Wikström S. A 19-year review of paediatric patients with acute scrotum. *Scand J Surg* [Internet]. 2007 [cited 2023 Dec 11];96(1):62–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17461315/>.
  30. Turner TT, Brown KJ. Spermatic cord torsion: loss of spermatogenesis despite of return blood flow. *J Androl* 1995;16:12.
  31. Drlík M, Kočvara R. Torsion of spermatic cord in children: a review. *J Pediatr Urol* [Internet]. 2013 Jun [cited 2023 Dec 11];9(3):259–66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22763105/>.
  32. Koff SA, Ridder P De. Conservative management of intrascrotal appendiceal torsion. *Urology* [Internet]. 1976 [cited 2023 Dec 12];7(5):482–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/982736/>.
  33. Adam B Hittelman, Neonatal testicular torsion Laurence S Baskin (Ed), UpToDate, Waltham, MA.(Accessed on April 25, 2022).
  34. Kuremu RT. Testicular torsion: case report. *East Afr Med J* [Internet]. 2004 [cited 2023 Dec 12];81(5):274–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15508345/>.
  35. Nelson CP, Williams JF, Bloom DA. The cremasteric reflex: A useful but imperfect sign in testicular torsion. *J Pediatr Surg* [Internet]. 2003 Aug 1 [cited 2023 Dec 12];38(8):1248–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12891505/>.
  36. Baker LA, Sigman D, Mathews RI, Benson J, Docimo SG. An analysis of clinical outcomes using color doppler testicular ultrasound for testicular torsion. *Pediatrics* [Internet]. 2000 [cited 2023 Dec 12];105(3 Pt 1):604–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10699116/>.
  37. Kumar V, Cotran R, Robbins S. *Temel patoloji (Basic Pathology)*. 9. edition. 2014. 11-17 p.
  38. Homer-Vanniasinkam S, Crinnion JN, Gough MJ. Post-ischæmic organ dysfunction: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* [Internet]. 1997 [cited 2023 Dec 13];14(3):195–203. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9345239/>.
  39. Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *Br Med Bull* [Internet]. 2004 [cited 2023 Dec 13];70:71–86. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15494470/>.
  40. Thrane AS, Skehan JD, Thrane PS. A novel interpretation of immune redundancy and duality in reperfusion injury with important implications for intervention in ischaemic disease. *Med Hypotheses* [Internet]. 2007 [cited 2023 Dec 13];68(6):1363–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17169498/>.
  41. Parks DA, Williams TK, Beckman JS. Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *Am J Physiol* [Internet]. 1988 [cited 2023 Dec 13];254(5 Pt 1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3163236/>.
  42. Vaghasiya JD, Sheth NR, Bhalodia YS, Jivani NP. Exaggerated liver injury induced by renal ischemia reperfusion in diabetes: effect of exenatide. *Saudi J Gastroenterol* [Internet]. 2010 Jul

- 1 [cited 2023 Dec 13];16(3):174–80. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20616412/>).
43. Szocs K. Endothelial dysfunction and reactive oxygen species production in ischemia/reperfusion and nitrate tolerance. *Gen Physiol Biophys* 2004;23:265-95.
  44. Shiraishi K, Naito K, Yoshida KI. Nitric oxide promotes germ cell necrosis in the delayed phase after experimental testicular torsion of rat. *Biol Reprod* [Internet]. 2001 [cited 2023 Dec 13];65(2):514–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11466220/>).
  45. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* [Internet]. 1990 Jan 1 [cited 2023 Dec 14];186(C):421–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2233309/>).
  46. Halliwell B. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic Res Commun* [Internet]. 1990 [cited 2023 Dec 14];9(1):1–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2159941/>).
  47. Benjamin MA, McKay DM, Yang PC, Cameron H, Perdue MH. Glucagon-like peptide-2 enhances intestinal epithelial barrier function of both transcellular and paracellular pathways in the mouse. *Gut* [Internet]. 2000 [cited 2024 Feb 10];47(1):112–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10861272/>).
  48. Panés J, Perry M, Granger DN. Leukocyte-endothelial cell adhesion: avenues for therapeutic intervention. *Br J Pharmacol* [Internet]. 1999 [cited 2024 Feb 17];126(3):537–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10188959/>).
  49. Joannidis M, Bonn G, Pfaller W. Lipid peroxidation--an initial event in experimental acute renal failure. *Ren Physiol Biochem* [Internet]. 1989 [cited 2024 Feb 17];12(1):47–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2727384/>).
  50. Kaplan I V., Attaelmannan M, Levinson SS. Fibrinogen is an antioxidant that protects beta-lipoproteins at physiological concentrations in a cell free system. *Atherosclerosis* [Internet]. 2001 [cited 2024 Feb 17];158(2):455–63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11583726/>).
  51. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 1. Cilt. 11. Baskı. Ankara. Hacettepe-Taş Yayıncılık 2005. 317-343,.
  52. Bianchi G, Brizi M, Manini R, Fabbri A, Loffreda S, Zoli M, et al. Effects of long-term oral misoprostol administration on hepatic amino acid-nitrogen metabolism in patients with cirrhosis. *J Hepatol* [Internet]. 2002 [cited 2023 Dec 15];37(1):15–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12076857/>).
  53. Cosentino Mj, Nishida M, Rabinowitz R, Cockett Atk. Histopathology of prepubertal rat testes subjected to various durations of spermatic cord torsion. *J Androl* [Internet]. 1986 [cited 2024 Jan 22];7(1):23–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3944017/>).
  54. Johnsen SG. Testicular biopsy score count--a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones* [Internet]. 1970 [cited 2024 Jan 22];1(1):2–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5527187/>).

55. Rouzrokh M, Mirshemirani A, Khaleghnejad-Tabari A. Outcomes of Second Look Exploration in Testicular Torsion of Children. *Iran J Pediatr* [Internet]. 2015 [cited 2024 Feb 5];25(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26396707/>.
56. Wei SM, Yan ZZ, Zhou J. Beneficial effect of taurine on testicular ischemia-reperfusion injury in rats. *Urology* [Internet]. 2007 Dec [cited 2024 Feb 5];70(6):1237–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18158068/>.
57. Abdel Ghaffar DM, Eldken ZH, Sultan MS, Khalil RM, Sakr NH, Eissa H, et al. Insights on Protective Effect of Platelet Rich Plasma and Tadalafil on Testicular Ischemia/Reperfusion Injury in Rats Exposed to Testicular Torsion/Detorsion. *Cell Physiol Biochem* [Internet]. 2024 Jan 16 [cited 2024 Feb 5];58(1):14–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38232236/>.
58. Bartsch G, Frank S, Marberger H, Mikuz G. Testicular torsion: late results with special regard to fertility and endocrine function. *J Urol* [Internet]. 1980 [cited 2024 Feb 6];124(3):375–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6776291/>.
59. 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* [Internet]. 1985 [cited 2024 Feb 6];133(5):906–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3989935/>.
60. Turner Tt. Acute Experimental Testicular Torsion: No Effect on the Contralateral Testis. *J Androl* [Internet]. 1985 Jan 2 [cited 2024 Feb 6];6(1):65–72. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/j.1939-4640.1985.tb00817.x>.
61. Fonkalsrud EW. Testicular undescend and torsion. *Pediatr Clin North Am* [Internet]. 1987 [cited 2024 Feb 6];34(5):1305–17. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2889181/>.
62. Langer JC, Sohal SS, Blennerhassett P. Mucosal permeability after subclinical intestinal ischemia-reperfusion injury: an exploration of possible mechanisms. *J Pediatr Surg* [Internet]. 1995 [cited 2024 Feb 5];30(4):568–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7595836/>.
63. Ratych RE, Bulkley GB. Free-radical-mediated postischemic reperfusion injury in the kidney. *J Free Radic Biol Med*. 1986;2(5–6):311–9. ).
64. Ghasemnejad-Berenji M, Ghazi-Khansari M, Yazdani I, Nobakht M, Abdollahi A, Ghasemnejad-Berenji H, et al. Effect of metformin on germ cell-specific apoptosis, oxidative stress and epididymal sperm quality after testicular torsion/detorsion in rats. *Andrologia* [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2024 Feb 5];50(2):e12846. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/and.12846>.
65. Fouad AA, Qutub HO, Jresat I. Dose-dependent protective effect of baicalin against testicular torsion–detorsion in rats. *Andrologia* [Internet]. 2017 Feb 1 [cited 2024 Feb 5];49(1):e12580. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/and.12580>.
66. Ekici S, Doan Ekici AI, Öztürk G, Benli Aksungar F, Sinanolu O, Turan G, et al. Comparison of melatonin and ozone in the prevention of reperfusion injury following unilateral testicular

- torsion in rats. *Urology* [Internet]. 2012 Oct [cited 2024 Feb 7];80(4):899–906. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22950989/>).
67. Can O, Canat L, Eraldemir FC, Acar E, Yildirim F, Sonmez K, et al. Protective effect of oltipraz in testicular ischaemia/reperfusion injury: An experimental study. *Andrologia* [Internet]. 2022 Feb 1 [cited 2024 Feb 7];54(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34514606/>).
  68. Cura-Esquivel I, Delgado-Chávez EN, García-Narro JH, Torres-González L, Alarcón-Galván G, Moreno-Peña DP, et al. Attenuation of pro-inflammatory cytokines and oxidative stress by misoprostol in renal ischemia/reperfusion in rats. *Pharmazie* [Internet]. 2018 [cited 2023 Nov 29];73(9):537–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30223938/>).
  69. Zhu L, Xu C, Huo X, Hao H, Wan Q, Chen H, et al. The cyclooxygenase-1/mPGES-1/endothelial prostaglandin EP4 receptor pathway constrains myocardial ischemia-reperfusion injury. *Nat Commun* [Internet]. 2019 Dec 1 [cited 2024 Feb 7];10(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31015404/>).
  70. Topcu I, Vatansever S, Var A, Cavus Z, Cilaker S, Sakarya M. The effect of Misoprostol, a prostaglandin E1 analog, on apoptosis in ischemia-reperfusion-induced intestinal injury. *Acta Histochem* [Internet]. 2007 Aug 1 [cited 2024 Feb 7];109(4):322–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17433419/>).
  71. Meister A. Metabolism and function of glutathione: an overview. *Biochem Soc Trans*. 1982;10(2):78–9.
  72. Ozmerdiven G, Coskun B, Kaygisiz O, Vuruskan BA, Asiltas B, Kilicarslan H. The protective effect of L-arginine, tadalafil, and their combination in rat testes after ischemia and reperfusion injury. *Can Urol Assoc J* [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2024 Feb 8];11(1–2):E19–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28163808/>).
  73. Refaie MMM. Upregulation of peroxisome proliferator activated receptor alpha by fenofibrate in induced testicular ischemia reperfusion. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2018 Feb 1 [cited 2024 Feb 9];98:507–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29287198/>).
  74. Djordjević A, Kotnik P, Horvat D, Knez Ž, Antoniç M. Pharmacodynamics of malondialdehyde as indirect oxidative stress marker after arrested-heart cardiopulmonary bypass surgery. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2024 Feb 9];132. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33096350/>).
  75. Yildiz H, Durmus AS, Şimşek H, Yaman M. Protective effect of sildenafil citrate on contralateral testis injury after unilateral testicular torsion/detorsion. *Clinics* [Internet]. 2011 [cited 2024 Feb 9];66(1):137. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3044577/>).
  76. Ekşi E, Yalçın Cömert HS, Imamoğlu M, Alver A, Aydın Mungan S, Sarihan H. Effects of myricetin on testicular torsion-detorsion injury in rats. *Andrologia* [Internet]. 2020 Nov 1 [cited 2024 Feb 10];52(10). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32786086/>).
  77. Tsounapi P, Saito M, Dimitriadis F, Shimizu S, Kinoshita Y, Shomori K, et al. Protective effect of sivelestat, a neutrophil elastase inhibitor, on ipsilateral and contralateral testes after unilateral

- testicular ischaemia-reperfusion injury in rats. *BJU Int* [Internet]. 2011 Jan [cited 2024 Feb 10];107(2):329–36. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20575981/>.
78. Karakuş SC, Süzen A, Yenisey Ç, Ertürk N, Epikmen T, İpek E, et al. The effect of hypothermia in a rat testicular torsion/detorsion model. *J Pediatr Urol* [Internet]. 2021 Jun 1 [cited 2024 Feb 10];17(3):291.e1-291.e8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33610458/>.
79. Zheng N, Shao H, Wu D, Shen D, Lin X. Protective influence of rosiglitazone against testicular ischaemia-reperfusion injury in rats. *Andrologia* [Internet]. 2018 May 1 [cited 2024 Feb 10];50(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29315760/>.
80. Sılay MS, Toklu H, Özağarı A, Aydın M, Tetik Ş, Şener G, et al. Montelukast prevents testes against ischemia-reperfusion injury through suppression of iNOS expression. *Turk J Urol* [Internet]. 2014 Dec 1 [cited 2024 Feb 10];40(4):221–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26328182/>.
81. Mendoza-Núñez VM, Ruiz-Ramos M, Sánchez-Rodríguez MA, Retana-Ugalde R, Muñoz-Sánchez JL. Aging-related oxidative stress in healthy humans. *Tohoku J Exp Med* [Internet]. 2007 Nov 5 [cited 2024 Feb 10];213(3):261–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17984623/>.
82. Yuluğ E, Türedi S, Karagüzel E, Kutlu Ö, Mentşe A, Alver A. The short term effects of resveratrol on ischemia-reperfusion injury in rat testis. *J Pediatr Surg* [Internet]. 2014 [cited 2024 Feb 10];49(3):484–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24650483/>.
83. Çayan S, Saylam B, Tiftik N, Ünal ND, Apa DD, Efesoy O, et al. Rho-kinase levels in testicular ischemia-reperfusion injury and effects of its inhibitor, Y-27632, on oxidative stress, spermatogenesis, and apoptosis. *Urology* [Internet]. 2014 [cited 2024 Feb 10];83(3):675.e13-675.e18. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24581540/>.
84. Nguyen L, Lievano G, Ghosh L, Radhakrishnan J, Fornell L, John E. Effect of unilateral testicular torsion on blood flow and histology of contralateral testes. *J Pediatr Surg* [Internet]. 1999 [cited 2024 Feb 11];34(5):680–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10359163/>.
85. Raisi A, Kheradmand A, Farjanikish G, Davoodi F, Taheri S. Nitroglycerin ameliorates sperm parameters, oxidative stress and testicular injury following by testicular torsion/detorsion in male rats. *Exp Mol Pathol* [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2024 Feb 12];117. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33147433/>.
86. Mohamed Mahmoud N, Lotfy Kabil S. Pioglitazone abrogates testicular damage induced by testicular torsion/detorsion in rats. *Iran J Basic Med Sci* [Internet]. 2019 Aug 1 [cited 2024 Feb 12];22(8):884–92. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31579444/>.
87. Kölükçü E, Firat F, Deresoy FA, Katar M, Atılğan D. The effects of pifenidone on ischaemia-reperfusion injury in testicular torsion-induced rat model. *Andrologia* [Internet]. 2021 Mar 1 [cited 2024 Feb 12];53(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33244780/>.
88. Karagoz MA, Doluoglu OG, Ünverdi H, Resorlu B, Sunay MM, Demirbas A, et al. The protective effect of Papaverine and Alprostadil in rat testes after ischemia and reperfusion

- injury. *Int Braz J Urol* [Internet]. 2018 May 1 [cited 2024 Feb 12];44(3):617–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29617080/>).
89. Stewart RJ, Moore T, Bennett B, Easton M, Newton GW, Yamaguchi KT. Effect of free-radical scavengers and hyperbaric oxygen on random-pattern skin flaps. *Arch Surg* [Internet]. 1994 [cited 2024 Feb 12];129(9):982–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8080381/>).
  90. Welbourn CRB, Goldman G, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg* [Internet]. 1991 [cited 2024 Feb 14];78(6):651–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2070226/>).
  91. Abdelzaher WY, Rofaeil RR, Ali DME, Attya ME. Protective effect of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in testicular torsion/detorsion in rats: a possible role of HIF-1 $\alpha$  and nitric oxide. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* [Internet]. 2020 Apr 1 [cited 2024 Feb 14];393(4):603–14. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31773182/>).
  92. Bozkurt M, Degirmençtepe RB, Polat EC, Yildirim F, Sonmez K, Cekmen M, et al. Protective effect of hydrogen sulfide on experimental testicular ischemia reperfusion in rats. *J Pediatr Urol* [Internet]. 2020 Feb 1 [cited 2024 Feb 14];16(1):40.e1-40.e8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31786227/>).
  93. Sangodele JO, Inuwa Z, Lawal B, Adebayo-Gege G, Okoli BJ, Mtunzi F. Proxceed plus salvage rat testis from ischemia- reperused injury by enhancing antioxidant's activities and inhibition of iNOS expression. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2024 Feb 14];133. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33378987/>).
  94. Singh R, Letai A, Sarosiek K. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet]. 2019 Mar 1 [cited 2024 Feb 14];20(3):175–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30655609/>).
  95. Grilo AL, Mantalaris A. Apoptosis: A mammalian cell bioprocessing perspective. *Biotechnol Adv* [Internet]. 2019 May 1 [cited 2024 Feb 14];37(3):459–75. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30797096/>).
  96. Celepli, S., Bigat, İ., Celepli, P., & Karagin, P. H. (2020). Apoptoz ve apoptotik yolların gözden geçirilmesi. *Güncel Gastroenteroloji Dergisi*, 24, 103-11.
  97. Ahmed AI, Lasheen NN, El-Zawahry KM. Ginkgo Biloba Ameliorates Subfertility Induced by Testicular Ischemia/Reperfusion Injury in Adult Wistar Rats: A Possible New Mitochondrial Mechanism. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2016 [cited 2024 Feb 14];2016. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28101298/>).
  98. Jain JK, Mishell DR. A comparison of intravaginal misoprostol with prostaglandin E2 for termination of second-trimester pregnancy. *N Engl J Med* [Internet]. 1994 [cited 2024 Feb 15];331(5):13–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8022438/>).
  99. Misoprostol use in obstetrics. *Rev Bras Ginecol Obstet* [Internet]. 2023 Jul 21 [cited 2024 Feb 15];45(6):356–68. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37494579/>).

100. Salam OMEA, Sleem AA, Omara EA, Hassan NS. Hepatoprotective effects of misoprostol and silymarin on carbon tetrachloride-induced hepatic damage in rats. *Fundam Clin Pharmacol* [Internet]. 2009 Apr [cited 2024 Feb 15];23(2):179–88. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19298238/>.
101. De Perrot M, Fischer S, Liu M, Jin R, Bai XH, Waddell TK, et al. Prostaglandin E1 protects lung transplants from ischemia-reperfusion injury: a shift from pro- to anti-inflammatory cytokines. *Transplantation* [Internet]. 2001 Nov 15 [cited 2024 Feb 15];72(9):1505–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11707737/>.



