

T.C.
ZONGULDAK KARAEMLAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇAN TESTİS İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA
ANJİYOTENSİN VE
ENDOTELİNİN ROLÜ

ECZ. AHMET BURAK TÜRKİLİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. ZEHRA KURÇER

ZONGULDAK
2010

T.C.
ZONGULDAK KARAEMLAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇAN TESTİS İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA
ANJİYOTENSİN VE
ENDOTELİNİN ROLÜ

ECZ. AHMET BURAK TÜRKİLİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. ZEHRA KURÇER

ZONGULDAK
2010

TEZ KABUL ve ONAY:

"SIÇAN TESTİS İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA ANJİYOTENSİN VE ENDOTELİNİN ROLÜ" başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek, Farmakoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Emine Y. Sipahi

Başkan : Prof. Dr. Emine YILMAZ SİPAHİ

.....

Üye : Doç. Dr. Zehra KURÇER

.....

Zehra Kurçer

Üye : Yrd. Doç. Dr. Kanat GÜLLE

.....

Kanat Güllü

ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.../.../...

Emine Y. Sipahi

Prof. Dr. Emine YILMAZ SİPAHİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu tezi hazırlamamda, çalışma sürecinde ve yapım aşamasında yapıcı ve bilimsel eleştirilerini esirgemeyen, her fırsatta bilgi ve deneyimleri ile bana güç ve güven veren, saygıdeğer hocam ve tez danışmanım sayın Doç. Dr. Zehra KURÇER'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim süresince tüm sorularıma anlayışla yaklaşan, bilgi ve tecrübeleriyle beni aydınlatan saygıdeğer hocalarım, sayın Prof. Dr. Zekiye Nur BANOĞLU'na, sayın Prof. Dr. Emine YILMAZ SİPAHİ'ye ve sayın Doç. Dr. Günnur ÖZBAKIŞ DENGİZ'e teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmasının biyokimyasal parametrelerin ölçümünde analizinde yardımcı olan sayın Doç. Dr. Görkem Mungan ve sayın Yrd. Doç. Dr. Haktan Özaçmak'a ve histopatolojik değerlendirme için sayın Yrd. Doç. Dr. Nilüfer ONAK'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tez çalışmamda deneyler sırasında bana yardımcı olan Dr. Derya KARAOĞLU, Dr. İnci TURAN ve Dr. Zeynep Mehpere ESKİCİ'ye de teşekkür ederim.

Ahmet Burak TÜRKİLİ
2010-Haziran/Zonguldak

ÖZET

Ahmet Burak TÜRKİLİ, Sıçan Testis İskemi Reperfüzyon Hasarında Anjiyotensin Ve Endotelinin Rolü. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji Anabilim Dalı, Yüksel Lisans Tezi, Zonguldak, 2009

Bu çalışma testiküler iskemi/reperfüzyon (İR) hasarında anjiyotensin ve endotelinlerin rolü olup olmadığını belirlemek için planlandı. Sıçanlar tiyopental sodyum (50 mg/kg) ile intraperitoneal (i.p.) olarak anestezi edildi. Sıçanların sol testiküler arter ve veni 1 saat süreyle klemple oklüze edildi, bilateral orşiektomi yapılmadan önce organ 3 ya da 24 saat reperfüze edildi. Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörü enalapril (20 mg/kg), anjiyotensin reseptör (AT_1) antagonisti losartan (30 mg/kg), endotelin A ve B reseptör ($ET_{A/B}$) antagonisti bosentan (10 mg/kg) ya da çözücü (salin) reperfüzyondan yarım saat önce tek doz i.p. olarak uygulandı. Malondialdehid (MDA) düzeyi ve myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi reperfüzyondan 3 saat sonra testiküler dokularda ölçüldü. Histolojik muayene reperfüzyondan 24 saat sonra yapıldı. İR ipsilateral testislerin MPO aktivitesini değiştirmeksizin MDA düzeyinde anlamlı bir artışa sebep oldu. Enalapril, losartan ve bosentan tedavileri MPO aktivitesinde herhangi bir değişiklik yapmaksızın MDA düzeyini azalttı. Yalnızca bosentan tedavisi İR ile oluşan histopatolojik değişiklikleri iyileştirdi. Bu sonuçlar testiküler İR hasarı patogenezinde endotelinlerin anjiyotensinlere göre daha önemli bir rol oynayabileceğini göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Enalapril, losartan, bosentan, iskemi, reperfüzyon, malondialdehid, testis, sıçanlar

İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)

Ahmet Burak TÜRKİLİ, Role of Angiotensin and Endothelin on Ischemia Reperfusion Injury in Rats. Zonguldak Karaelmas University, Health Science Institute, Department of Pharmacology, Master of Science Thesis, Zonguldak, 2009

This study was designed to determine whether angiotensin and endothelin have a role in testicular IR injury. Rats were anesthetized with thiopental sodium (50 mg/kg i.p.) before the operation. Left testicular artery and vein of rats was occluded for 1 hour, before the bilateral orchiectomy the organ was allowed to reperfuse 3 or 24 hour. Enalapril (20 mg/kg, i.p.), losartan (30 mg/kg, i.p.), bosentan (10 mg/kg, i.p.) or vehicle (saline) was administrated at 30 min prior reperfusion. Malondialdehyde (MDA) level and myeloperoxidase (MPO) activity were measured in testicular tissue after 3 hours of reperfusion. Histologic examination was made after 24 hours of reperfusion. IR caused a significant increase in MDA level of ipsilateral testis, but did not change the MPO activity. Enalapril, losartan and bosentan treatments decreased MDA levels without any change in MPO activities. Only, bosentan treatment ameliorated IR induced histopathologic alterations. These results shown that endothelin may play more important role in pathogenesis of testicular IR injury than angiotensin.

Keywords: Enalapril, losartan, bosentan, ischemia, reperfusion, malondialdehyde, testis, rats

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ KABUL ve ONAY	ii
ÖNSÖZ	iii
ÖZET	iv
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT).....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİL DİZİNİ.....	x
TABLO DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İskemi Reperfüzyon Hasarı	3
2.2. Testis İskemi Reperfüzyon Hasarı	5
2.3. Anjiotensin Dönüştürücü Enzim.....	6
2.4. Anjiotensin Dönüştürücü Enzim İnhibitörleri	8
2.5. Anjiotensin Reseptörleri	9
2.6. Anjiotensin Reseptör Antagonistleri	12
2.7. Endotelin Reseptörleri	13
2.8. Endotelin Reseptör Antagonistleri	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM	16
3.1. Hayvanlar.....	16
3.2. Kimyasallar.....	16
3.3. Gruplar.....	16
3.4. Testiküler İskemi Reperfüzyon.....	16
3.5. Biyokimyasal Değerlendirme	17
3.5.1. Malondialdehid (MDA) düzeylerinin belirlenmesi	17
3.5.2. Myeloperoksidaz (MPO) aktivitesinin ölçülmesi	19
3.6. Histopatolojik değerlendirme	19
3.7. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi	20
4. BULGULAR	21
4.1. İskemi Reperfüzyonun Testis Üzerine Etkisi	21
4.2. Enalaprilin Testiküler İskemi Reperfüzyon Hasarı Üzerine Etkisi.....	21

4.3. Losartanın Testiküler İskemi Reperfüzyon Hasarı Üzerine Etkisi	22
4.4. Bosentanın Testiküler İskemi Reperfüzyon Hasarı Üzerine Etkisi	22
5. TARTIŞMA	27
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	31
7. KAYNAKLAR	32
8. EKLER	45
Ek 1: Etik Kurul Onayı	45
9. ÖZGEÇMİŞ.....	46

SİMGELER VE KISALTMALAR

A-I	Anjiotensin I
A-II	Anjiotensin II
AT₁	Anjiotensin I reseptörleri
AT₂	Anjiotensin II reseptörleri
ATP	Adenozintrifosfat
AMP	Adenozinmonofosfat
ADE	Anjiotensin dönüştürücü enzim
Ca⁺⁺	Kalsiyum
CAT	Katalaz
C3a	Kompleman 3a
DAG	Diaçilgliserol
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDE	Endotelin dönüştürücü enzim
ET	Endotelin
ET_A	Endotelin A reseptörü
ET_B	Endotelin B reseptörü
GPx	Glutasyon peroksidaz
H	Hidrojen
H₂O₂	Hidrojen peroksit
HPLC	Yüksek basınçlı likid kromatografi
IP3	İnositol 1,4,5-trifosfat
i.p.	İntraperitoneal
İR	İskemi reperfüzyon
K	Potasyum
KAH	Koroner arter hastalığı
KKY	Konjestif kalp yetmezliği
MDA	Malondialdehid
MPO	Myeloperoksidaz
mRNA	Mesajcı ribonükleik asit
Na	Sodyum
NaCl	Sodyum klorür
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

NO	Nitrik Oksid
NO⁻	Nitrik Oksid Anyonu
NF-κB	Nükleer transkripsiyon faktörü
ICAM	İnterselüler adezyon molekülü
O₂⁻	Oksijen radikali
ONOO⁻	Peroksinitrit
OH⁻	Hidroksil radikali
OKB	Ortalama kan basıncı
PAF	Trombosit aktive edici faktör
PAH	Pulmoner arter hastalığı
PG	Prostaglandin
PGI₂	Prostasiklin
PMNL	Polimorf nüveli lökosit
SOD	Süperoksit dismutaz
SOR	Serbest Oksijen Radikalleri
TxA₂	Tromboksan A ₂
TNF-α	Tümör nekrozis faktör alfa

ŞEKİL DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. Renin-anjiotensin sistemi ve biyoaktif anjiotensin yolağı.	7
Şekil 2. Testiküler arter ve ven (ok).	18
Şekil 3. Testiküler arter ve venin klempenmesi.	18
Şekil 4. Sham ve İR gruplarının ipsilateral testislerine ait ışık mikroskopik görünümler.....	24
Şekil 5. Enalapril (A) ve losartan (B) tedavisi uygulanan ipsilateral testislere ait ışık mikroskopik görünümler.....	25
Şekil 6. Bosentan tedavisi uygulanan ipsilateral testislere ait ışık mikroskopik görünümler.....	26

TABLO DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 1. Johnsen skarlama sistemine göre histopatolojik kriterler.	20
Tablo 2. Reperfüzyonun 3. saatinde testislerde MDA düzeyleri.....	23
Tablo 3. Reperfüzyonun 3. saatinde testislerdeki MPO aktiviteleri.....	23
Tablo 4. Reperfüzyonun 24. saatinde testislerdeki histopatolojik hasar skor değerleri.....	23

1. GİRİŞ

Testiküler torsiyonda oluşan iskemi reperfüzyon (İR), spermatogenezisin sürdürülebilmesi açısından, akut olarak tedavi edilmesi gereken önemli bir hasardır. Testiküler torsiyon 25 yaşından genç erkeklerde 1/4000 oranında gözlenmektedir. Testiküler torsiyonun 4-6 saat içinde tedavi edilememesi durumunda germ hücre kaybı meydana gelmektedir (1). Deneysel ve klinik çalışmalarda tek taraflı testis torsiyonunun, torsiyona uğramayan testiste de yapısal değişikliklere neden olduğu ve böylece infertilite riskini artırdığı ileri sürülmektedir (2, 3). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, testiküler torsiyonun patofizyolojik mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Testisteki İR hasarını tamamen önleyen klinik olarak etkili bir tedavi yöntemi hala bulunmamaktadır. Cerrahi girişime rağmen testis torsiyonu olan hastaların % 40-60'ında testiküler atrofi ve infertilite ortaya çıkmaktadır (4). Bu açıdan testiküler İR'nin tedavisinde etkili olabilecek etken maddeler üzerinde araştırmalar yapmak infertilitenin önlenmesi açısından önemlidir.

Anjiotensin II (A-II) ve endotelin 1 (ET-1) vazokonstriktör etkili otakoidlerdir. A-II, anjiyotensin 1 reseptörleri (AT_1) aracılığıyla damarlarda vazokonstriksiyona neden olur (5). ET-1 düz kas hücrelerindeki endotelin A (ET_A) ve B (ET_B) reseptörlerine bağlanarak vazokonstriksiyona neden olurken endoteldeki ET_B reseptörlerine bağlanarak nitrik oksid (NO) ve prostasiklin (PGI_2) salınımı ile vazodilatasyona neden olur (6, 7). A-II ve ET-1 aynı zamanda hücre büyümesi, apoptozis, inflamasyon ve fibrozis gibi olayları da etkileyen otakoidlerdir (8, 9). AT_1 reseptörleri, A-II'nin düz kas hücre büyümesi ve proliferasyonu, makrofaj aktivasyonu ve hücre migrasyonuna bağlı inflamasyon artışı ve serbest oksijen radikallerinin (SOR) artışı gibi etkilerine aracılık eder (10, 11). Benzer şekilde ET-1'de ET_A reseptörleri aracılığıyla SOR üretimine neden olurlar (12). Bu süreçlerin hepsi de akut iskemik olaylara katkıda bulunurlar (13, 14).

Hem anjiotensin dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörleri hem de anjiotensin reseptör antagonistleri kalbi ve böbreği koruyucu etkileri nedeni ile hipertansiyon ve konjestif kalp yetmezliği gibi hastalıklarda yaygın olarak kullanılan ilaçlardır. ET_A ve ET_B reseptörlerinin nonselektif antagonisti ($ET_{A/B}$) olan bosentan pulmoner hipertansiyon tedavisinde kullanılmaktadır (15). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda böbrek, kalp, karaciğer gibi organlarda oluşturulan İR hasarında ADE inhibitörlerinin, AT_1 ve $ET_{A/B}$ reseptör antagonistlerinin koruyucu olabileceği rapor

edilmiştir (16-19). Testiküler İR hasarında ET reseptör antagonistlerinin etkisi çalışılmamış ve sadece bir çalışmada ise ADE inhibitörlerinin ve AT₁ reseptör antagonistinin kontralateral testiste oluşan tübüler zedelenmeyi ve apoptozisi azalttığı bildirilmekle birlikte olası diğer etki mekanizmaları araştırılmamıştır (20).

Bu çalışmada, testiküler İR hasarında anjiyotensin ve endotelinlerin rolü olup olmadığını araştırmak amaçlanmıştır. Bu amaçla deneysel testiküler İR hasarı üzerine ADE inhibitörü enalapril, AT₁ reseptör antagonisti losartan ve ET_{A/B} reseptör antagonisti bosentanın etkileri değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İskemi Reperfüzyon Hasarı

İskemi, dokudaki kan akımının ve oksijen miktarının, hücrel metabolik ihtiyaçları karşılamak için gerekli olan seviyenin altına düşmesidir. İskemi sırasında hücrel enerji depoları azalır ve toksik metabolitler birikir (21). Kan akımı azalmış veya tamamen kesilmiş dokularda enerji oksijensiz yoldan elde edilmeye çalışıldığından hücredeki laktik asit miktarı artar, oksidatif fosforilasyon azalır ve adenosintrifosfat (ATP), fosfokreatin gibi enerjiden zengin fosfatların depolarında yetmezlik oluşur. ATP azalınca hücre enerji ihtiyacını karşılamak için adenosinmonofosfatı (AMP) kullanır. Böylece AMP hipoksantine yıkılır ve ortamdaki hipoksantin oksijen yetersizliği nedeniyle ksantin ve ürik aside dönüşemez, birikir (22). İskemide enerji eksikliğine bağlı olarak; asidoz, ATP yıkım ürünlerinin birikmesi, makromolekül sentezinin durması, iyon dengesinde bozulma gibi olaylar gelişir. İskemi aynı zamanda proinflatuvar sistemi de uyararak lökosit adezyon molekülleri, sitokinler, endotelin ve tromboksan A_2 (TxA_2) gibi mediatörlerin salınmasına neden olur (23).

Reperfüzyon ise iskemik dokuya yeniden kan akımıyla birlikte oksijenin sağlanması olayıdır. Reperfüzyon, iskemi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara yol açar. Reperfüzyon hasarından SOR, polimorf nüveli lökositler (PMNL), kompleman sistemi ve endotel hücreleri sorumlu tutulmaktadır (24).

İskemik dokunun reperfüzyonu sonucunda oluşan SOR, eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküldür. Moleküle bir elektron ilavesi ya da bir elektron kaybı ile reaktif hale gelir (25). Bu moleküller süperoksit anyonları (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), nitrik oksit (NO^-), peroksinitrit ($ONOO^-$) ve hidroksil radikalidir (OH^-) (26). Süperoksit radikali, oksijen molekülüne bir elektron ilavesi ile oluşur ve serbest radikal hasarına karşı koruyucu antioksidan bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) aracılığı ile H_2O_2 'e indirgenir. H_2O_2 eşlenmemiş elektron içermediği için tek başına radikal değildir ve metal iyonları varlığında Fenton reaksiyonu ile oldukça toksik OH^- 'ne döner (27). H_2O_2 hücre içinde katalaz (CAT) veya glutatyon peroksidaz (GPx) tarafından toksik olmayan ürünlere dönüşebilir. NO^- , damar endoteli ve bazı başka dokularda L-arginin aminoasitinden üretilir. NO^- Süperoksit ile reaksiyona girerek oluşturduğu kuvvetli bir oksidan olan $ONOO^-$ ile dokulara direkt olarak ve ayrıca

oluşturduğu OH^- ile dolaylı olarak hasar vermektedir (28). SOR, lipid, protein, karbonhidrat ve deoksiribonükleik asit (DNA) gibi makromoleküller ile reaksiyona girerek bu yapılarda oksidatif hasara neden olur. Hücre organellerinin, membranlarının bozulmasına ve içerdikleri enzimlerin hücre içine salınmasına bağlı olarak hücre ölümü gerçekleşir (29-31). Normal hücrede de SOR oluşabilmesine rağmen SOD, GPx ve CAT enzimleri SOR'u suya indirgeyerek etkisiz hale getirirler. Fakat reperfüzyon sırasında oluşan SOR için bu enzimler yeterli olmaz (29). Reperfüzyon ile tekrar oksijen ve ksantin oksidazın dokulara girmesiyle, iskemi sırasında biriken hipoksantinden toksik miktarda SOR oluşur (29, 30).

İR ile lökosit aktivasyonu, kemotaksisi ve lökosit endotel hücre adezyonu meydana gelir (21, 32-34). Reperfüzyonda mikrovasküler permeabilededeki artıştan başlıca PMNL sorumludur (33). Lökositlerin adezyonu sonucu kapiller içinde tıkaçlar oluşarak dolaşım bozulmaktadır. Diğer taraftan, PMNL yüksek miktarda SOR üretme kapasitesine de sahiptir. Oluşan serbest oksijen molekülleri lökositleri aktive ederek, lökositlerin damar endoteline yapışmasına neden olmaktadır (32, 35). PMNL'lerin aktivasyon ve migrasyonları için endotel hücrelerine adezyonunu sağlayan moleküllere selektinler denilir. Selektinlerin L, P ve E olmak üzere üç üyesi vardır. İR, endoteldeki P-selektin ekspresyonunu artırır. P-selektinler damar endotel üzerine etkisini üç aşamada gösterir. P-selektin glikoprotein 1, düşük afiniteli lökosit endotel bağlantısını oluşturur (lökosit rolling). İkinci aşamada, lökosit beta2 integrinler ile endoteldeki interselüler adezyon molekülü 1 (ICAM-1) arasındaki etkileşim sonucunda lökosit adezyonu ve agregasyonu gelişir. Üçüncü aşamada, trombosit-endotel hücresi adezyon molekülü 1 ile endotel hücre bağlantıları arasındaki etkileşim sayesinde lökosit transmigrasyonu gerçekleşir. Aktive lökositler damar dışına ulaştınca hasar bölgesine doğru göç etmeye başlarlar (kemotaksis) (36). Buradaki kemotaktik maddeler kompleman 3a (C3a) ve interlökin-1 (IL-1), lökotrien B_4 , trombosit aktive edici faktör (PAF) ve prostaglandin (PG) türleridir (34). Dokuda aktive lökositlerin başlattığı yanıtta hasar ve doku zedelenmesinin sorumluları fosfolipaz A_2 aktivasyonu sonucu oluşan araşidonik asit metabolitleri (prostaglandinler ve lökotrienler) ve degranülasyon sonucu salınan lizozomal enzimlerdir (37, 38).

Kompleman sistemi, konağın savunmasında ve inflamatuvar olayların düzenlenmesinde önemli rolleri olan plazma proteinlerinden oluşur. Kompleman sistemi klasik ve alternatif yol ve bu iki yolun birleştiği terminal yola sahiptir (39).

Komplemanlar lökositlerin endotelyuma yapışmasını arttırarak ve vasküler hemostazisi değiştirerek iskemik organa kan akımını azaltır (40, 41). Kompleman sistemini oluşturan proinflamatuvar komponentler C3a, C5a, iC3b ve C5b-9'dur. C3a ve C5a anaflatoksinlerdir ve lökositleri aktive ederler. İnflamatuvar yanıtı ve adezyon moleküllerini uyararak lökosit aktivasyonu, kemotaksisini uyarırlar. Aynı zamanda endotel bağımlı vazodilatasyonu inhibe ederek vasküler tonusu bozarlar (42, 43).

Endotel hücrelerinin İR hasarındaki rolü önemlidir. Endotel hücreleri de SOR üretim kaynağıdır. Endotel hücreleri SOR hasarına yanıt olarak interlökin 1, PAF, PGI₂, PGE₂, granulosit monosit koloni stimüle edici faktör, büyüme faktörleri, ET, NO ve TxA₂ salgılar. Aktive olan endotel hücreleri ek olarak kendi bazal membranlarını sindiren kollajenazlar salgılama özelliğine sahiptir (38). Endotel hücrelerinde hipoksi geliştikten sonra adezyon molekülleri ve sitokinlere ait genler uyarılırken endotelial nitrik oksid ve trombomoduline ait genlerin baskılandığı görülmüştür (44). Endotel yapısında mikrovasküler homeostaz yine endotelde üretilen ET ve NO ile sağlanır. NO ve ET arteriyel dolaşımda zıt çalışırlar. Arterlerde NO vazodilatasyon yaparken ET vazokonstriksiyon yapar. Venlerde ise tam tersi etki yapar. İR hasarında endotelin ve NO dengesi endotelin miktarının artması ile bozulur ve arterlerde vazokonstriksiyon, venlerde vazodilatasyon meydana gelir (45). Reperfüzyon sonrası erken dönemde SOR üretimi artar ve NO'nun üretimi azalır (46).

2.2. Testis İskemi Reperfüzyon Hasarı

Testis torsiyonu, testisin spermatik kordunun kendi ekseninde 360° ile 720° dönmesi sonucu testis kan akımının bozulmasıdır. Testis torsiyonu her yaş grubunda oluşabilir ancak en çok yenidoğan ve puberte dönemlerinde görülür (47-49). Testis torsiyonunun oluşması için çeşitli nedenler olabilir. İnmemiş ve retraktıl testislerde torsiyon olasılığı artmaktadır (50). Sol spermatik kord daha uzun olduğundan sağ testise oranla daha sık torsiyone olur (51).

Testis torsiyonuna bağlı kan akımının azalması, tıpkı diğer dokularda gösterildiği gibi testiste de hipoksiye neden olan bir iskemik durumdur. Testiküler iskemiye en hassas hücrelerin başta spermatogonia ve spermatositler olmak üzere germ hücreleri olduğu deneysel olarak gösterilmiştir (52). Testis torsiyonu gelişip daha sonra detorsiyone edilen testiste reperfüzyon sonrası hasarlanma devam

etmektedir. Bu durum testiste oluşan “iskemik hasara” ek olarak testisin kan akımının ameliyat ile yeniden sağlanması sırasında oluşan “reperfüzyon hasarı” ile açıklanmaktadır (53).

2.3. Anjiotensin Dönüştürücü Enzim

ADE (dipeptidil karboksipeptidaz, kininaz II), renin-anjiotensin sisteminde anahtar rolü olan çinko içeren bir metalloendopeptidazdır (Şekil 1). ADE anjiotensin I’i (A-I) anjiotensin II’ye (A-II) dönüştürür ve vazodilatör etkili bradikinini inaktive eder (54, 55). ADE aynı zamanda Anjiotensin (1-7)’yi Anjiotensin (1-5)’e hidrolize eder (56). ADE’nin somatik ve germinal (testisküler) olmak üzere iki formu vardır. Somatik ADE vasküler endotelyal hücrelerde, makrofajlarda ve tübüler epitelyumda yüksek oranda üretilir. ADE’nin somatik izozimi testiküler endotelyal ve Leydig hücrelerinde de bulunmaktadır. ADE’nin germinal tipinin ise yalnızca spermatid ve spermatozoalarda bulunduğu bildirilmektedir (57). Son zamanlarda ADE’nin homoloğu olan ADE2’de tespit edilmiştir. ADE2’nin yüksek oranda kalp, böbrek ve testiste üretildiği gösterilmiştir (58, 59). ADE2’nin sıçanlarda Leydig hücrelerinde, insanda ise Leydig ve Sertoli hücrelerinde üretildiği immünohistokimyasal yöntemle rapor edilmiştir (60). ADE2, vazokonstriktör ve mitojenik özelliği olan A-II’yi vazodilatör ve antiproliferatif özelliği olan A(1-7)’ye dönüştürerek ADE’nin etkisini zıt yönde dengeler (61, 62). Ayrıca A-I’den inaktif bir peptid olan A(1-9)’un oluşumuna neden olur (58). ADE2 geni silinmiş farelerin çoğunluğunun fertil olması ADE2’nin fertilite üzerine etkili olmadığını göstermektedir (63). ADE2 geni silinmiş farelerle yapılan bir diğer çalışmada ise ADE2’nin vazodilatör etkisinin ortadan kalkmasına bağlı olarak farelerin kan basınçlarının etkilendiği belirlenmiştir (64).

ADE benzeri bir protein olan ADE3’ün fare, sıçan, köpek ve inek gibi memeli türlerinde bulunduğu fakat insanda bulunmadığı bildirilmektedir (65).

2.4. Anjiotensin Dönüştürücü Enzim İnhibitörleri

ADE inhibitörleri, A-I'in aktif A-II'ye dönüşümünü sağlayan ADE'yi inhibe ederek ve bradikinin yıkımını önleyerek vazodilatör etkinlik sağlarlar. Bu grubun ilk örneği kaptoprildir. Kimyasal yapılarına göre üç farklı gruba ayrılırlar. Sülfidril grubu içerenler: Kaptopril, fentiapril, pivalopril, zofenopril; karboksil grubu içerenler: Benazepril, enalapril, silazapril, lizinopril, imidapril, moexipril, perindopril, quinopril, ramipril, spirapril, trandolapril; fosforil grubu içerenler: Fosinopril, seranapril (67). Kaptopril ve lizinopril hariç, yukarıda sayılan diğer ADE inhibitörleri, mide-barsak kanalından absorpsiyonlarını ve biyoyararlanımlarını artırmak için ön-ilaç olarak yapılmışlardır; vücutta karaciğer ve diğer yerlerdeki esterazlarla aktif şekilleri olan enalaprilat, benazeprilat, rimaprilat, silazaprilat ve benzerlerine dönüştürülürler. Kaptopril ve enalaprilin oral absorpsiyonu %70 oranında iken lisinoprilin %30-40'dır. Kaptoprilin absorpsiyonu hızlıdır, alındıktan 15 dakika sonra kanda tespit edilir. Kaptoprilin yarılanma ömrü 1-2 saattir ve etki süresi 6-8 saat kadardır. Ön ilaç formunda olan enalapril ve diğerleri absorbe edildikten sonra karaciğerde aktif ilaç haline dönüşür. Bu nedenle etkileri 1-2 saat sonra başlar. Enalaprilin yarılanma ömrü 35 saattir ve etki süresi kaptoprile göre daha uzundur (12-16 saat). Enalapril, fosinopril, ramipril gibi çoğu ADE inhibitörlerinin baskın eliminasyon atılım yolu böbrekler üzerindendir ve yüksek oranda lipofilik olan ilaçlar safra yoluyla atılır. Bu nedenle, böbrek yetmezliği olanlarda eliminasyonun azalması ilaçların farmakokinetik özelliklerini değiştirir (68).

ADE inhibitörlerinin myokard infarktüsünü önleyici etkileri antiaterojenik, antiinflamatuvar, antiproliferatif ve antitrombotik özellikleri ile ilişkili olan vasküler koruyucu etkilerine bağlanmıştır. ADE inhibitörleri koroner arter hastalığı (KAH) olan hastalarda iskemik olay ve miyokardiyal infarkt açısından sekonder profilakside de etkilidir. Bu koruyucu etkiler sayesinde aynı zamanda ADE inhibitörleri hipertansiyon, diyabet, inme, geçici iskemik atak ve periferik arter hastalığı olanlarda vasküler korunma sağlamak amacıyla da kullanılmaktadır (69, 70). Hipertansiyonlu hastalarda ADE inhibitörleri sistemik arteriyel direnç ile diyastolik ve sistolik kan basıncında belirgin azalma yaptıklarından dolayı ilk tercih edilen antihipertansif ilaçlardandır. İlaçların bu etkisi hem A-II'nin direkt vazokonstriktör etkisinin inhibisyonuna hem de aldosteron üzerinden sodyum tutulumunun engellenmesine bağlıdır. Konjestif kalp yetmezliği (KKY) olgularında ADE inhibitörleri, sistolik

disfonksiyonu olan hastalarda kalbin afterload'unu azaltırken kardiyak output ve kardiyak indeksi arttırırlar. Ayrıca ADE inhibitörleri doğrudan kalp kasına etkiyerek sol ventrikül duvar kalınlığını ve hacmini azaltırlar. Bu nedenle KKY olgularında ADE inhibitörleri kullanılmaya başlanmıştır (71). Yapılan çalışmalarda ADE inhibitörlerinin kalp yetmezlikli ve miyokardiyal infarktli hastalarda morbidite ve mortaliteyi anlamlı azalttığı bildirilmektedir (72). Normotansif ve hipertansif hastalardaki diyabetik nefropati ve ona bağlı proteinürinin tedavisinde ADE inhibitörleri kullanıldığı gibi diyabete bağlı olmayan proteinürlü nefropatilerde de proteinüriyi azaltabilirler (73). ADE inhibitörleri kadınlarda postüral su ve tuz retansiyonuna bağlı idiyopatik ödemin ve skleroderma olgularında gelişen hipertansif krizin tedavisinde de kullanılmaktadır (74).

2.5. Anjiotensin Reseptörleri

Anjiotensinler, fizyolojik ve patolojik etkilerini hedef hücrelerin membranında bulunan anjiotensin reseptörlerini uyararak oluştururlar. Bu reseptörler hücre membranı içinde 7 transmembranal segment oluşturan G proteini ile kenetli reseptörlerdir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda anjiotensin reseptörlerinin birçok alt tipi olduğu anlaşılmıştır. A-II ve A-III, AT₁ ve AT₂ reseptörleri üzerinden etkilerini gösterirler. Amfibilerde ve nöroblastoma hücrelerinde AT₁ ve AT₂ reseptör antagonistleri tarafından etkilenmeyen anjiotensin reseptörleri AT₃ olarak tanımlanmakla birlikte fonksiyonu bilinmemektedir. A-IV'ün reseptörü insülinle ilişkili bir aminopeptiddir (IRAP; insulin regulated amino peptidase receptor). A(1-7)'nin de kendine özgü A(1-7) reseptörü vardır (15).

Anjiotensinin fizyolojik ve farmakolojik etkilerinin çoğuna AT₁ reseptörleri aracılık eder. AT₁ reseptörleri çoğunlukla damar düz kası, böbrek, karaciğer, kalp ve adrenal kortekste, ayrıca adrenerjik sinir uçları ve beynin bazı bölgelerinde de bulunur (75). AT₁ reseptörlerinin uyarılması damarlarda vazokonstriksiyona ve damar düz kası proliferasyonuna neden olurken böbreklerde kan akımının azalmasına, renal sodyum reabsorpsiyonunda artmaya ve renin salgılanmasının inhibisyonuna neden olur. AT₁ reseptörlerinin kalp üzerine aracılık ettiği etkiler kardiyak hipertrofi ve kardiyak kontraksiyondur (9,10). Diğer doku ve organlarda aracılık ettiği etkiler ise aldosteron sentezi ve salgılanması, vazopresin

salgılanmasında artma, periferik sempatik aktivitede artma, santral sempatik aktivitenin düzenlenmesi, santral ozmotik kontrol, inflamatuvar sitokinlerin aktivasyonu, hücre dışı bağ dokusu oluşumdur. Ayrıca bu reseptörlerin uyarılması oksidatif strese ve endotel işlev bozukluğuna sebep olabilir (11).

Anjiotensinler, Gq/11, Gi, G12 ve G13 proteinlerine kenetlenen AT₁ reseptörleri ile hücre içindeki ikincil ulakları üretirler (76). AT₁ reseptörünün uyarılması Gq/11 proteini aracılığıyla fosfolipaz A2, D ve C'nin aktivasyonuna, Gi proteini aracılığıyla da adenilat siklazın inhibisyonuna neden olmaktadır. AT₁ reseptörlerinin Gq/11 proteinine transdüklenmesi ile Fosfolipaz C β aktivasyonu sonucu oluşan ikincil ulaklar inositol 1,4,5-trifosfat (IP3) ve diaçilgliserol (DAG), hücre içinde kalsiyum seviyesinin yükselmesine neden olarak düz kas kontraksiyonuna yol açmaktadır. Ayrıca vazokonstriksiyonun oluşmasında Gi proteini aracılığıyla adenilat siklazın inhibe edilmesi de rol oynamaktadır. Fosfolipaz A2 gliserofosfolipidleri (fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolamin) hidrolize ederek, fosfolipaz D ise fosfatidil kolini fosfatidik asit ve koline hidrolize ederek araşidonik asidin salıverilmesine; buna bağlı olarak lipoksinlerin, lökotrienlerin, yağ asitlerinin ve tromboksanın oluşmasına neden olmaktadır. AT₁ reseptörleri protein kinaz C ve hücre içi artmış Ca⁺² ile birlikte protein tirozin fosforilasyonunu, mitojen aktive protein kinazı, sinyal düzenleyici ve transkripsiyon aktivatör proteinlerin aktivasyonunu stimüle ederek hücre proliferasyonuna ve böylece hücre hipertrofisine neden olmaktadır (77-80).

AT₂ reseptörleri fetal dokularda yoğun olarak bulunurken yetişkinde adrenal medulla, uterus düz kası, overler, damar endoteli, kalp, miyometriyum ve beynin bazı bölgelerinde yerleşim gösterir. AT₂ reseptörlerinin fonksiyonları şunlardır: Vazodilatasyon; apoptozis; NO yapımının artması; fetal doku gelişimi; renal sodyum reabsorbsiyonunda, mitogeneze, inflamasyonda, miyosit hipertrofisinde ve kardiyak fibroziste azalmaz. Bu reseptörün aktivasyonu, tirozin serintreonin fosfotazların uyarılmasına, guanilil siklazın inhibisyonuna ve hücre membranındaki potasyum (K⁺) kanallarının açılmasına yol açar. AT₁ reseptörleri losartan ile inhibe olurken AT₂ reseptörleri kendine özgü PD 123177 ile inhibe olur (81).

AT₄ reseptörleri beyin, kalp, damar, böbrek, prostat ve adrenal bezde bulunur (11). AT₄ reseptörlerin etkileri renal vazodilatasyon ve plazminojen aktivatör inhibitör 1'in stimülasyonudur (11, 15, 22). A-II'nin fiziksel bir aktif metaboliti olan A-IV'ün öğrenme ve hafızayı arttırdığı davranışsal modellerle gösterilmiştir (82, 83).

DNA sentezini stimule ederek nöronal gelişime katkısının olduğu ileri sürülmüştür (84). Son zamanlarda AT₄ reseptörünün insulin ile ilişkili aminopeptid olan transmembranal bir enzim olduğu ve yaygın olarak insuline hassas glukoz taşıyıcılarının veziküllerinde bulunduğu tesbit edilmiştir (85).

A(1-7) reseptörü, G-proteini ile ilişkili reseptör sınıfına ait olan Mas reseptörüdür. Memelilerde vasküler endotelyum, testis ve ön beyinde A(1-7)'nin reseptörü olan Mas'ın üretildiği bildirilmektedir (86). Anjiotensin A(1-7) renin-anjiotensin sisteminin önemli bir aktif bileşenidir. A-II'den ADE2 aracılığıyla oluşur (87). A(1-7), A-II'nin fizyolojik antagonisti gibi davranır (88). Mas aktivasyonu ile A(1-7) kan basıncını düşürür, hücre büyümesini ve gelişmesini inhibe eder ve kardiyoprotektif etki gösterir (89). A(1-7), NO ve PG üretimi ile damar endotelinde vazodilatasyon yapar (90-92).

Memeli testislerinde AT₁, AT₂ ve A(1-7) reseptörlerinin olduğu yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir. Sıçanlarda seminifer tübüllerde bulunan ve seminifer tübüllerin kontraksiyonunu sağlayarak spermatozoanın transportuna ve sperm salınımına neden olan peritübüler miyoid hücrelerde AT₁ reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir. Bu reseptörlerin uyarılmasının miyoid hücrelerde kontraksiyon ve proliferasyona yol açtığı bildirilmektedir (93). Üç haftalık Sprague-Dawley cinsi sıçanların seminifer tübüllerinde A-II, AT₁ ve AT₂ reseptörleri bulunmaktadır. İnterstisyel alanlarda yaşamın 10. gününde hem AT₁ hem de AT₂ reseptörü bulunurken 7. haftada yalnızca AT₁ reseptörü bulunduğu rapor edilmektedir (94). Memelilerde testis ve ön beyinde A(1-7)'nin reseptörü olan Mas üretilmektedir (86). Bununla birlikte yenidoğan farelerde Mas belirlenemezken doğumdan birkaç hafta sonra bu reseptörlerin arttığı ve pubertede artışın devam ettiği ve Mas'ın Leydig ve Sertoli hücrelerinde bulunduğu belirtilmektedir (95). Mas geni çıkarılmış sıçan ve farelerde Sertoli ve Leydig hücrelerinin sayısı ve büyüklüğünün benzer olduğu fakat testis ağırlığında ve seminifer epitelyumdaki apoptotik hücre, dev hücre ve vakuollerin hacminde artma olduğu rapor edilmektedir. Tüm fare ve sıçanlarda mayoz bölünme sırasında apoptotik hücre sayısında artış gerçekleşir. Mas geni silinmiş farelerde bozuk spermatogenez nedeniyle günlük sperm üretiminde belirgin azalma vardır. Ayrıca A-779 [A(1-7) antagonisti] ile kronik infüzyon sonucu sıçanların spermatogenezinde toplam apoptotik hücre ve birincil spermatositlerinin sayısında belirgin azalma olmaktadır. Hepsi birlikte ele alındığında bu bulgular A(1-7) reseptör Mas'ın spermatogenezde önemli bir rolü olduğunu desteklemektedir (96).

2.6. Anjiotensin Reseptör Antagonistleri

ADE inhibitörlerinin renin-anjiotensin sistemine etkinliğinin spesifik olmaması sistemi daha spesifik etkileyen anjiotensin reseptör antagonistlerinin bulunmasına neden olmuştur. A-II'nin kardiyovasküler sistemdeki ve diğer birçok etkilerine AT₁ reseptörleri aracılık eder. Şu an tedavide kullanılan anjiotensin reseptör antagonistleri de AT₁ reseptörlerinin selektif kompetitif antagonistleridir. Kanda renin düzeyini ve ayrıca ADE inhibitörlerinden farklı olarak anjiotensin düzeyini yükseltirler. ADE inhibitörlerinin aksine endojen bradikinin ve diğer kinin peptidlerinin yıkımını inhibe etmezler, bu peptidlerin düzeylerinde veya etkilerinde belirgin bir artış yapmazlar. Bu nedenle öksürük ve anjiödem yapma olasılıkları ADE inhibitörlerinden düşüktür (97, 98).

AT₁ reseptör antagonistleri olan sartanlar grubunun ilk üyesi losartandır. Losartanı grubun daha yeni üyeleri valsartan, irbesartan, kandesartan sileksetil, telmisartan, olmesartan ve eprosartan takip etmiştir. Losartan bifenil grubu eklenmiş imidazol türevidir (99). Losartanın biyoyararlanımı %33 iken en fazla biyoyararlanım %70 ile irbesartanın ve en az biyoyararlanım ise %15 ile eprosartana aittir. Grubun tüm üyeleri %90'nın üzerinde plazma proteinlerine bağlanır. Losartan karaciğerde biyolojik olarak aktif metabolitine (EXP 3174) dönüşür. Bu aktif metabolit losartandan 10 ile 20 kat daha güçlü etkiye sahiptir ve etkisi losartana göre daha uzun sürmektedir. Bu nedenle losartanın etkilerinin çoğunu aktif metaboliti oluşturmaktadır. Yarılanma ömrü 6-9 saat olan losartan böbrekler ve safra yoluyla atılır. Sartanlar grubunun öbür üyelerinden sadece valsartan ön ilaçtır. Safrayla ve böbreklerden atılarak vücuttan uzaklaştırılan valsartanın yarılanma ömrü 9 saattir. İrbesartan, losartan ve valsartana göre daha uzun etki sürelidir. Yarılanma ömrü 11-15 saattir ve atılımı %80 oranında safrayla %20 oranında ise böbreklerden gerçekleşir. Kandesartan sileksetil de irbesartan gibi uzun etki sürelidir ve atılımının yaklaşık %60'ı böbreklerden, %40'ı da safra yolundan olmaktadır. Telmisartan yaklaşık 24 saat ile en uzun yarılanma ömrüne sahip sartandır. Eprosartan ise yaklaşık 5-7 saat ile en kısa yarılanma ömrüne sahip sartandır ve %90'ı safrayla %10'u ise böbreklerden atılmaktadır (100).

Anjiotensin reseptör antagonistleri hipertansiyon ve KKY'de ADE inhibitörleri kadar etkilidirler. Böbrek kan akımını artırır ve ADE inhibitörleri gibi diyabetik nefropati ve kronik böbrek yetmezliğindeki proteinüriyi azaltırlar. Bazı indikasyonlarda halen ADE inhibitörleri kadar fazla denenmemişlerdir. Tedavi

edilmeyen hipertansiyonlu hastalarda gelişen sol ventrikül hipertrofisinin gelişmesini önledikleri veya azalttıkları gösterilmiştir. Valsartan ve kandersan KKY'nin tedavisinde kullanılmaktadır. Valsartan sol ventrikül sistolik disfonksiyonun tedavisinde de kullanılır. Losartan ve irbesartan diyabetik nefropatide yeterince denenmişlerdir ve böbreği koruyucu etkileri vardır (11).

2.7. Endotelin Reseptörleri

Endotelin (ET) 1988 yılında Yanagisawa ve arkadaşları tarafından endotel hücrelerinden izole edilmiştir. Bilinen en güçlü vazokonstriktör madde iken ürotensinin bulunmasıyla bu özelliğini kaybetmiştir (15). Yirmibir amino asitten oluşan ET'in farklı izoformları vardır (100). ET₁, kardiyovasküler sistemde ve plazmada ana izoform olarak yer alır. Bunun yanında ET₂, ET₃, ET₄ de izole edilmiştir. ET'ler damar endoteli dışında endokardiyum, miyokard, damar düz kası, böbrek, akciğer, pankreas, dalak, barsak, sinir hücreleri, iris ve kan hücrelerinde de bulunur (15, 101). ET₁'in sıçan testisinde Sertoli hücreleri tarafından üretildiği, tübüler ve interstisyel fonksiyonlarda düzenleyici rolü olduğu bildirilmektedir (102).

PreproET'den önce preET, sonra-iriET ve sonunda ET'ler oluşur. İriET'nin ET'ye dönüşümü, endotelin dönüştürücü enzim (EDE) denilen metaloproteaz niteliğindeki endopeptidazlar tarafından yapılır. EDE'nin üç ana-izoformu ve onlarında alt-formları vardır. Bunlar (i) EDE-1 (EDE-1a, EDE-1b, EDE-1c, EDE-1d), (ii) EDE-2 (EDE-2a-1, EDE-2a-2, EDE-2b-1, EDE-2b-2) ve EDE-3'tür. Endotelin etkisine aracılık eden iki tip reseptör vardır. Bunlar ET_A ve ET_B reseptörleridir (103). Her iki reseptör de G proteini ile kenetlenen reseptörlerdendir. ET_A reseptörleri için peptid affinitesi ET₁ ile ET₂'nin eşit, ET₃'ün ise daha zayıf olduğu halde; ET_B reseptörleri için her üç peptid benzer affiniteye sahiptir. ET₃, ET_A ve ET_B'ye eşit affinite gösterir.

ET_A reseptörleri G_{q/11} ve G_s proteinine, ET_B reseptörleri ise G_{q/11} ve G_{i/o} proteinine kenetlenen reseptörlerdir. Fosfolipaz C (PLC) aktivasyonu sonucu İP₃ ve DAG oluşumunu sağlayarak hücre içi serbest kalsiyum konsantrasyonunu artırır. Hücre içi serbest kalsiyum konsantrasyonunun artışı, endotelinlerin aktive ettiği Na⁺-H⁺ ve Na⁺-Ca²⁺ değiş-tokuş sisteminin de katkısı vardır. Ayrıca mitojenle aktive olan kinaz ve fosfotidil inositol 3 kinaz enzimleri de bu reseptörlerin uyarılması sonucu aktive olmaktadır. ET_B ilk kez domuz pulmoner veninde tanımlanmıştır (104). ET_B reseptörlerinin uyarılması, NO ve PGI₂ salınımı ile vazodilatasyona neden olur. ET_B'nin

iki alt tipi ET_{B1} ve ET_{B2} 'dir. ET_{B1} endotelyum hücrelerinde ve ET_{B2} kas hücrelerinde bulunur. ET_{B1} reseptör alt tipi damarlarda endotele bağlı vazodilatasyondan sorumludur. ET_{B2} ise damar düz kas hücrelerinde vazokonstriksiyona neden olur (105). Endotelinlerin etki şekli damarlarda yavaş ama uzun süreli vazokonstriksiyon şeklindedir. Damar düz kasında kasılmayı ET_A reseptörü sağlar (106). İnsanda vazokonstriksiyon ve kan basıncının sorumlusu ET_A olmasına rağmen bazı hayvan türlerinde ve bazı damar yataklarında kasılma ET_B reseptörleri ile olur (107).

İnsan üreme sisteminde de, ET1 ve reseptörlerinin uterus, testis ve epididimiste bulunduğu bildirilmektedir (108, 109, 110). İnsanlarda ET1 mRNA'sı bütün testiküler dokularda ve seminifer tüplerde tespit edilirken testiküler kapillerde bulunmamıştır. ET peptidleri, Sertoli ve Leydig hücreleri ile matur spermatidlerde bulunmaktadır. ET_A mRNA'sı seminifer tüpte ve bütün testiküler dokularda olmasına rağmen testiküler kan damarlarında bulunmamaktadır. ET_B mRNA'sı ise tüm testiküler dokularda, seminifer tübüllerde ve testiküler kapillerde (vasküler endotelial ve düz kas hücresinde) vardır (111).

2.8. Endotelin Reseptör Antagonistleri

Endotelinlerin, embriyonik gelişimde ve fizyolojik koşulların devamında rol almalarının yanı sıra esansiyel hipertansiyon, kalp yetmezliği, iskemik kardiyak disfonksiyon, pulmoner hipertansiyon, akut ve kronik böbrek yetmezliği, preeklamsi, diyabet, allograft reddi, sistemik sklerozis, sistemik lupus eritematozus, kardiyojenik şok gibi durumlarda düzeylerinin arttığı bildirilmektedir. Endotelinlerin seviyesinin birçok hastalıkta artışı, endotelin sentezinin engellenmesinin ya da reseptörlerinin bloke edilmesinin, tedavide önemli olabileceğini düşündürmüştür. EDE aktivitesini inhibe eden fosforamidon deneysel çalışmalarda kullanılmaktadır. Ancak fosforamidon seçici değildir ve seçici olan EDE inhibitörlerinin geliştirilmesi çalışmaları devam etmektedir. Birçok ET_A ve ET_B reseptör antagonisti bulunmuştur. Bosentan ve tezosentan ET_A ve ET_B reseptörü için seçici olmayan antagonistlerdir. ET_A reseptörleri için seçici olan darusentan, antrasentan, sitaksentan, ambrisentan ve avosentanın böbrek hastalıklarında, diyabette, kanserde, hipertansiyonda, kalp yetmezliğinde kullanımı için klinik faz denemeleri yapılmaktadır (15).

Bosentan 2001'de onay alan ilk ET reseptör antagonistidir. Her iki reseptör için hemen hemen eşit bir afinite gösterir. ET_A/ET_B afinite oranı yaklaşık 40/1'dir. Avrupa

ülkelerinde 2006 yılında onay alan bir diğer ilaç sitaksentandır. ET_A/ET_B afinite oranı 6000/1 olduğu için selektif ET_A reseptör antagonisti olarak kabul edilir. Diğer ajan ise 2007 yılında ABD’de onay alan selektif ET_A reseptör antagonisti ambrisentandır (112). Bosentan, sitaksentan ve ambrisentanın farmakokinetikleri, reseptör afiniteleri ve kimyasal yapıları açısından birbirinden farklılıkları vardır. Ambrisentan bir propionik asit ürünü iken, bosentan ve sitaksentan sulfonamid analogudur. Bosentan ile karaciğer aminotransferaz yüksekliği sitaksentan ve ambrisentana göre daha sık görülmekle birlikte; 2002’den beri hastalarda yoğun olarak kullanılan bosentanın kalıcı veya fatal karaciğer hasarına neden olmadığı belirtilmektedir (113).

Bosentanın biyoyararlılığı %50’dir. Ambrisentan oral kullanımda bir miktar absorbe edilir fakat biyoyararlılığı bilinmemektedir. Ambrisentan veya bosentanın gıdalarla alımının biyoyaralanımları üzerine etkisi yoktur. Sitaksentanın oral biyoyaralanımı %90’dan fazladır. Her üç ilaç da yüksek oranda plazma proteinlerine bağlanır. Bosentan karaciğerde metabolize edilir. Bosentanın eliminasyonu yaklaşık %97 oranında safra yolu ile %3 veya daha az oranda da böbrek yolu ile gerçekleşir. Ambrisentanın eliminasyonu çoğunlukla renal olmayan yollardan olur. Sitaksentan eliminasyonu %50-60 böbreklerle geri kalanı ise feçes yoluyla elimine olur. Ambrisentan ve sitaksentanın karaciğerdeki sitokrom P450 enzimleri üzerinde inhibitör etkinlikleri vardır. Bosentanın yarılanma ömrü 5–8 saat, ambrisentanın 9–15 saat, sitaksentanın ise 6–7 saattir (114).

ET reseptör antagonistlerinden bosentan, sitaksentan ve ambrisentan pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH) tedavisi için onay almıştır. PAH, bir grup hastalığa bağlı yüksek pulmoner arter basıncı ve pulmoner vasküler direncin ilerleyici artışı ile karakterize, sağ kalp boşluklarında hipertrofi veya dilatasyona yol açan, sonucunda sağ ventrikül yetmezliği ve erken ölüme neden olan bir sendromdur (115). PAH patogeneğinde, ET gibi vazoaktif bileşiklerin üretiminde artış vardır (116, 117); ET ’nin yüksek seviyeleri hastalık şiddetiyle doğru orantılıdır (118) ve damar yatağı başta olmak üzere fibroz, kan damarlarının kalınlaşmasına, daralmasına ve tıkanmasına yol açan hücre hipertrofisi ve proliferasyonu, inflamasyon, vazokonstriksiyon gibi zararlı etkilere neden olur (115). Bosentanın, sistemik sklerozla ilişkili dijital ülserler (119), idiyopatik pulmoner fibrozis (120), KKY ve hipertansiyon (121) gibi hastalıkların tedavisinde kullanımı için klinik çalışmaları devam etmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvanlar

Deneylerde, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezinde üretilen Wistar cinsi 200-250 g ağırlığında 88 adet erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar 12 saat gün ışığı ve 12 saat karanlık olan $21\pm2^{\circ}$ C sıcaklıkta, % 60 ± 5 nem oranındaki odalarda barındılar. Hayvanlar pellet yem ve çeşme suyu verilerek beslendi. Hayvanlar üzerinde yapılan uygulamalar ve protokoller için, “Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’ndan” onay alındı (Ek 8.1.).

3.2. Kimyasallar

Deneylerde enalapril (Deva Holding AŞ), losartan (Merck & Co, Inc, Whitehouse Station, NJ, USA), bosentan (Sequoia Research Products Ltd, UK) ve anestezi için tiyopental sodyum (Pental®, İE Ulugay İlaç Sanayi AŞ) kullanıldı. İlaçların hepsi salinde çözüldü.

3.3. Gruplar

Sıçanlar rastgele olarak sham, İR, enalapril + İR (E + İR) , losartan + İR (L + İR) ve bosentan + İR (B + İR) olmak üzere 5 ana gruba ayrıldı. Enalapril (20 mg/kg), losartan (30 mg/kg) ve bosentan (10 mg/kg), reperfüzyondan yarım saat önce tek doz intraperitoneal (i.p.) olarak uygulandı. Her grup kendi içinde biyokimyasal değerlendirme için 3 saat ve histopatolojik değerlendirme için 24 saat reperfüze edilecek şekilde tekrar ikiye ayrıldı.

3.4. Testiküler İskemi Reperfüzyon

Sıçanlar tiyopental sodyum (50 mg/kg i.p.) ile anestezi edildi. Sıçanlara abdominal insizyon uygulandıktan sonra sol testiküler arter ve ven 1 saat klemple oklüze edildi (Şekil 2-3). Daha sonra klemple kaldırılarak reperfüzyon başlatıldı.

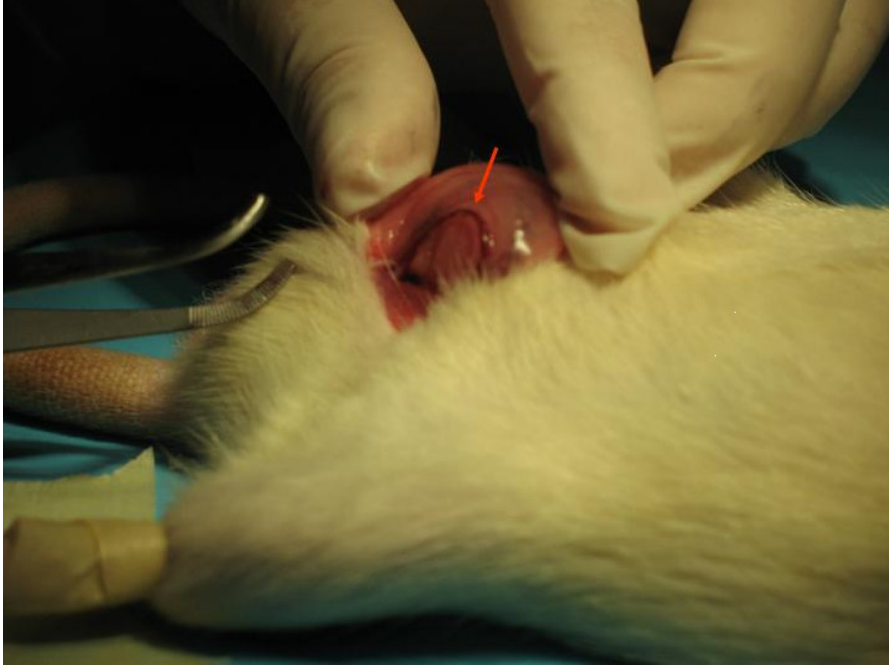
Reperfüzyon sonrası hayvanların insizyon yeri 2/0 ipek ile dikildi. Sıçanlar 3 saat ya da 24 saat reperfüze edildi (122). Sham grubu sıçanlara damarların klemplenmesi hariç aynı işlem uygulandı.

3.5. Biyokimyasal Değerlendirme

Reperfüzyonun 3. saatinde hayvanlar tekrar anestezi edilerek, iskemi yapılan taraftaki (ipsilateral) ve karşı taraftaki (kontralateral) testis dokuları alındı. Testis dokularında, lipid oksidasyonunun göstergesi olarak kabul edilen MDA düzeyi yüksek basınçlı likid kromatografisi (high pressure liquid chromatography, HPLC) ile ölçüldü. Lökositlerde bol miktarda bulunan ve dolayısıyla lökosit birikimini göstermesi açısından kullanılan MPO enzim aktivitesi ise spektrofotometrik olarak belirlendi.

3.5.1. Malondialdehid (MDA) düzeylerinin belirlenmesi

Testis dokuları %1.15'lik KCl içinde %10 olacak şekilde homojenize edildi. Sonra 1500 devirde 10 dakika santrifüjlendi ve süpernatant kısmından Recipe Chemichals Instruments Labortechnik (Munich, Germany) marka kit ile HPLC yöntemiyle (Zivak Technologies P100, TÜBİTAK MAM, Kocaeli, Türkiye) çalışıldı (123). Sonuçlar ng/g doku olarak sunuldu.



Şekil 2. Testiküler arter ve ven (ok).



Şekil 3. Testiküler arter ve venin klemplenmesi.

3.5.2. Myeloperoksidaz (MPO) aktivitesinin ölçülmesi

Reperfüzyon sonrasında alınan testislerde nötrofil infiltrasyonunun indirekt bir göstergesi olan MPO aktivitesi Bradley ve ark.'nın metoduna göre belirlendi (124). Dokular tartıldıktan sonra ağırlıklarının 20 katı kadar hacimde pH'sı 6.0 olan 50 mmol/L fosfat tamponu dokulara eklendi. Dokuların bulunduğu tüpler kuru buz içerisine yerleştirildikten sonra dokular homojenize (Heidolph Diax 900, Heidolph Elektro GmbH&Co. KG, Kelheim, Germany) edildi. Homojenat 40000 g de 4°C de 15 dak santrifüj edildi. Homojenize pelleti, 5 g/L heksadesiltrimethylamonyum bromür (HETAB) içeren 50 mmol/L fosfat tamponu ile tekrar homojenize edildi. Takiben dondurma ve ardından sonikasyon (Bandelin Sonopuls HD2070, Bandelin Electronic GmbH&Co.KG, Berlin, Germany) işlemi üç kez tekrarlandı ve tekrar 40000 g de 4°C de 10 dak santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonrasında 0.1 mL süpernatanta, 0.167 mg/mL o-dianisidin ve 20 mmol/L hidrojen peroksit içeren 50 mmol/L fosfat tamponu (pH 6.0) eklendi. Süpernatant bu işlemde 1 dak sonra 460 nm absorbans değerinde spektrofotometrik (Smart Spectro, LaMotte Co., Chestertown, MD, USA) olarak okundu. MPO aktivitesinin 1 ünitesi 25°C de 1µmol peroksitin indirgenmesi olarak belirlendi. Sonuçlar dokunun gramı başına MPO aktivitesinin ünitesi olarak sunuldu.

3.6. Histopatolojik değerlendirme

Sıçanlar reperfüzyonun 24. saatinde anestezi edilerek ipsilateral ve kontralateral testisleri çıkarıldı. Her bir örnek makroskopik olarak tarifiyenip, %10'luk tamponlanmış nötral formalin solüsyonuna alındı ve 24 saat fikse edildi. Testis dokuları longitudinal olarak iki eşit parçaya ayrıldı. Tüm parçalar histopatolojik inceleme için rutin otomatik doku takibi işleminden geçirilerek parafine gömüldü. Parafin bloklardan hazırlanan 5 µm kalınlığındaki kesitler hematoxylin-eosin (H&E) ile boyandı.

Histopatolojik değerlendirme ışık mikroskobu (DMLB, Leica, Almanya) altında, H&E boyalı kesitler taranarak gerçekleştirildi. Ön incelemede tüm doku kesitleri küçük büyütmede (x40) gözden geçirilerek, testis dokusunun genel morfolojisi (spesmendeki seminifer tübül sayısı ve paterni, bazal membran yapısı, intersitisyel doku özelliği, Leydig hücreleri, tübüler hyalinizasyon vb.)

değerlendirildi. Seminifer tübüllerdeki histolojik bulgular Johnsen skorlama sistemine uygun olarak 0-10 arasında değişen bir skalada skorlandı (125). Dörtüüz büyütmede 10 ardışık alanda bulunan tübüller skorlanarak ortalamaları alındı. Johnsen skorlaması, öncelikle en matür hücre tiplerinin kaybı ile germinal epitelyumun ilerleyici dejenerasyonu ve spermatozoa, spermatid, spermatosit ve son olarak da Sertoli hücrelerinin gözlenememesi ile karakterize, testiküler hasarı temel alan bir skorlamadır. Hasar arttıkça skorlamada puan azalır (Tablo 1).

3.7. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi

Veriler aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak sunuldu. Grupların normal dağılıma uygunluğu Kolmogrov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Normal dağılıma uyan çoklu grupların karşılaştırılmasında Tek Yönlü ANOVA Testi ile LSD post hoc testi uygulandı. Normal dağılıma uymayan grupların karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi uygulandı. Gruplar arasındaki farklılıklar Mann-Whitney *U* testi ile değerlendirildi. Sağ ve sol testislerin parametrik değerlerinin karşılaştırılmasında paired-Student *t* testi, parametrik olmayan değerlerinin karşılaştırılmasında Wilcoxon testi kullanıldı. Analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde, $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

Tablo 1. Johnsen skorlama sistemine göre histopatolojik kriterler (126).

Skor	Histolojik bulgular
10	Bütünüyle matür spermatogenez izlenmektedir. Seminifer tübüllerde germinal epitel çok sıralıdır ve çok sayıda spermatozoa içerir.
9	Hafif derecede bozulmuş spermatogenez izlenir. Seminifer tübüllerin germinal epitelinde disorganizasyon ve lümeneye doğru yığılma yanı sıra çok sayıda geç spermatozoa görülür.
8	Yoğun nükleer boyama gösteren 10 taneden az spermatozoa gözlenmektedir. Bazen piknotik cisimciklere rastlanır.
7	Spermatozoa yoktur, ancak çok sayıda matür spermatidler gözlenir. Bu hücrelerin düşük yoğunluktaki nükleer boyanma özellikleri nedeniyle periferik yerleşimi gösterilebilir.
6	Az sayıda soluk kromatinli ve dar oval başlıklı orta-büyüklikte spermatidler gözlenir, sıralı olarak dizilmişlerdir. Piknotik cisimcik yoktur.
5	Spermatozoa ve spermatid yoktur, ancak çok sayıda spermatosit görülür.
4	Sadece çok az bir miktar spermatosit (5'ten az) gözlenir. Spermatid ve spermatozoa gözlenmez.
3	Germ hücre olarak sadece spermatogonia vardır.
2	Hiç bir germ hücresi yoktur, fakat Sertoli hücreleri vardır.
1	Tübüler bölümde hücre yoktur.

4. BULGULAR

4.1. İskemi Reperfüzyonun Testis Üzerine Etkisi

Reperfüzyonun 3. saatinde alınan ipsilateral (iskemi uygulanan) ve kontralateral (iskemi uygulanmayan) testislerin MDA değerleri Tablo 2’de sunulmaktadır. İpsilateral testislerdeki İR grubunun MDA düzeyleri (3.05 ± 0.292 ng/g doku) sham grubundan (2.27 ± 0.206 ng/g doku) yüksek bulunurken ($p=0.020$), kontralateral testislerdeki grupların hiçbirinde MDA değerleri anlamlı olarak shamden grubundan farklı bulunmadı. İpsilateral ve kontralateral testisler karşılaştırıldığında MDA düzeyleri arasında anlamlı fark gözlenmedi (Tablo 2). İskemi uygulanan grupların ipsilateral testislerindeki MPO aktiviteleri sham grubundan farklı değildi ($p>0.05$) (Tablo 3).

İpsilateral ve kontralateral testislerin Johnsen skorları Tablo 4’de görülmektedir. İpsilateral testisler ile kontralateral testisler karşılaştırıldığında sham grubu hariç İR uygulanan diğer tüm gruplardaki ipsilateral testislerde skor anlamlı olarak düşük bulundu (Tablo 4).

İR, ipsilateral testislerde ($p=0.001$) ve kontralateral testislerde ($p=0.017$) Johnsen skorlarını sham grubundaki testislere göre düşürdü. Tüm sham dokularında normal testiküler morfoloji ve matür spermatogenez izlendi (Şekil 4A). Sham grubunda Johnsen skoru 8 ile 10 arasında (ortalama; 8.60 ± 0.085) değişmekteydi. İpsilateral İR grubunda ise seminifer tübül sınırlarında belirsizleşme, germinal hücrelerde kohezyon kaybı, piknoz ve yaygın koagülatif nekroz görüldü. Spermatogonya matürasyonunda belirgin azalma mevcuttu (Şekil 4B). Bu grupta ortalama Johnsen skoru 7.64 ± 0.073 (minimum 5- maksimum 8) olup, sham grubuna göre belirgin olarak düşük bulundu ($p=0.001$). Kontralateral testislerin ortalama Johnsen skoru 8.19 ± 0.138 olup, sham grubuna göre belirgin olarak düşük bulundu (Tablo 4). Kontralateral İR grubunda da ipsilateral testistekine benzer bulgular izlenmekle birlikte histolojik değişikliklerin yoğunluğu daha az derecede idi.

4.2. Enalaprilin Testiküler İskemi Reperfüzyon Hasarı Üzerine Etkisi

Enalapril ile tedavi edilen sıçanların ipsilateral ve kontralateral testislerindeki MDA düzeyleri (Tablo 2) ve ipsilateral testislerdeki MPO aktiviteleri (Tablo 3) sham

grubu ile benzer bulundu. Enalapril ile tedavi edilen sıçanların ipsilateral ve kontralateral testislerinde, İR grubuna benzer şekilde iskemik hasar bulguları gözlemlendi (Tablo 4). Sperm matürasyonunda değişen derecelerde bozulma ve duraklama görüldü (Şekil 5A). Enalapril uygulanmış ipsilateral testislerdeki ortalama Johnsen skoru 7.65 ± 0.098 (minimum 5-maksimum 9) olup, İR grubu gibi sham grubuna göre düşüktü ($p=0.001$). Kontralateral İR grubunda ortalama Johnsen skoru 8.25 ± 0.154 olup, sham grubuna göre belirgin olarak düşük bulundu (Tablo 4).

4.3. Losartanın Testiküler İskemi Reperfüzyon Hasarı Üzerine Etkisi

Losartan ile tedavi edilen sıçanların ipsilateral ve kontralateral testislerindeki MDA düzeyleri (Tablo 2) ve ipsilateral testislerdeki MPO aktiviteleri (Tablo 3) sham grubu ile benzer bulundu. Losartan ile tedavi edilen ipsilateral (Şekil 5B) ve kontralateral testislerde histopatolojik bulgular İR grubuna benzer nitelikte idi (Tablo 4). Bu grupta ipsilateral testislerin ortalama Johnsen skoru 7.48 ± 0.087 (minimum 5-maksimum 9) olup, skor İR grubuna benzer şekilde kontrolden düşük ($p=0.020$) bulundu. Kontralateral İR grubunda ortalama Johnsen skoru 7.98 ± 0.054 olup, sham grubuna göre belirgin olarak düşük bulundu (Tablo 4).

4.4. Bosentanın Testiküler İskemi Reperfüzyon Hasarı Üzerine Etkisi

İpsilateral ve kontralateral testislerdeki MDA düzeyleri (Tablo 2) ve ipsilateral testislerdeki MPO aktiviteleri (Tablo 3) bosentan uygulanan grup ile sham grubunda benzer bulundu. Bosentan ile tedavi edilen sıçanların ipsilateral testislerde ortalama skor 8.00 ± 0.110 (minimum 7-maksimum 9) olup, sham grubuna göre düşük ($p=0.03$) ancak İR grubuna ($p=0.023$) göre de yüksekti (Tablo 4). Kontralateral testislerde ortalama skor ise 8.51 ± 0.052 olup sham grubundan farklı bulunmadı ($p>0.05$). İskemik zedenlemenin etkisinin devam ettiği seminifer tübüllerin (Şekil 6A) yanı sıra bazı tübüllerde spermatogenezin yeniden başladığı ve lümen içerisinde az sayıda spermatid varlığı ipsilateral testislerde izlendi (Şekil 6B).

Tablo 2. Reperfüzyonun 3. saatinde testislerde MDA düzeyleri.

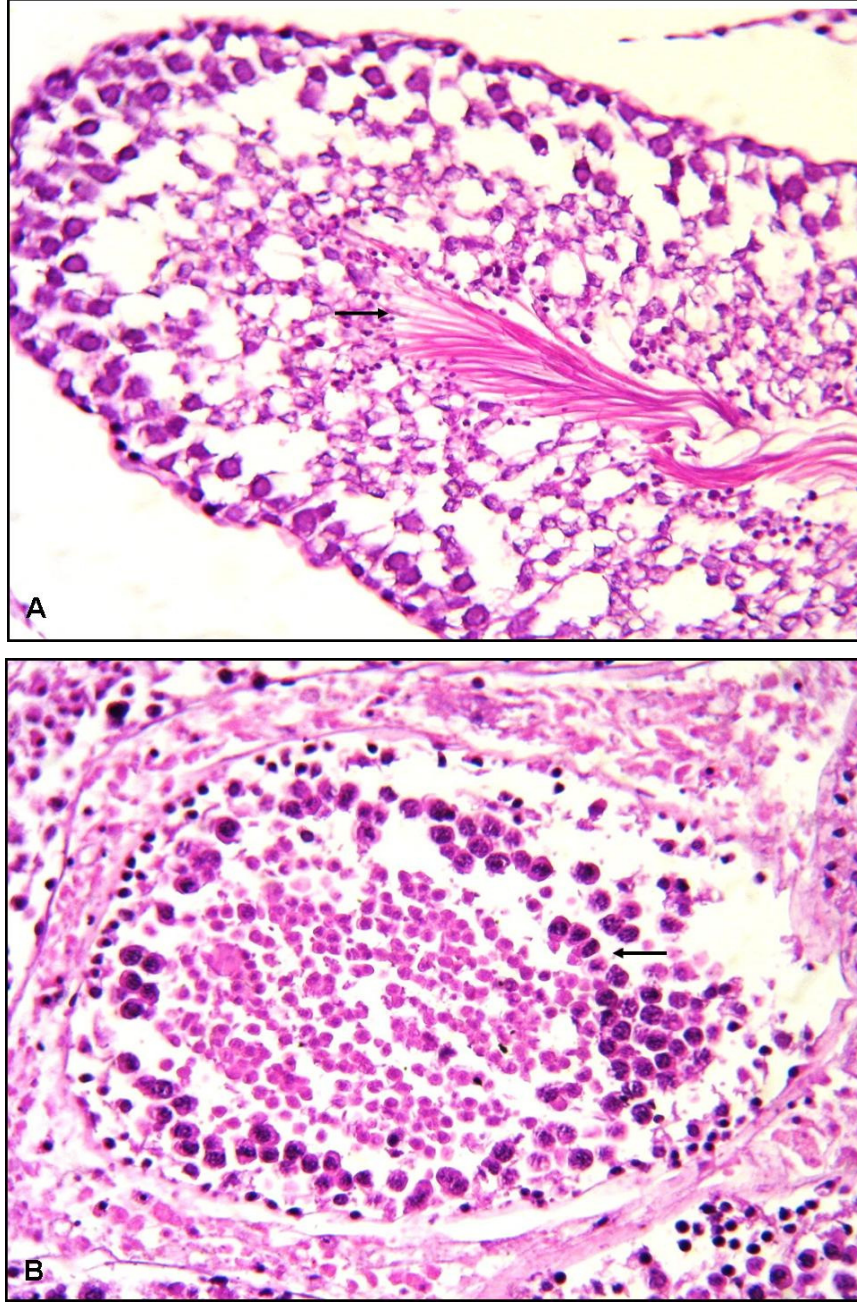
Gruplar	MDA (ng/g doku)	
	İpsilateral testis	Kontralateral testis
Sham (n=9)	2.27 ± 0.206	2.84 ± 0.304
İR (n=8)	3.05 ± 0.292 ^a	2.83 ± 0.288
E+İR (n=7)	2.70 ± 0.317	3.04 ± 0.340
L+İR (n=9)	2.48 ± 0.155	2.64 ± 0.198
B+İR (n=7)	2.37 ± 0.154	3.01 ± 0.146
Veriler ortalama değerleri ± standart hata olarak sunuldu. ^a : p<0.05 kontrolden farkı gösterir. İR = İskemi Reperfüzyon, E+İR = Enalapril+İR, L+İR = Losartan+İR, B+İR = Bosentan+İR		

Tablo 3. Reperfüzyonun 3. saatinde testislerdeki MPO aktiviteleri.

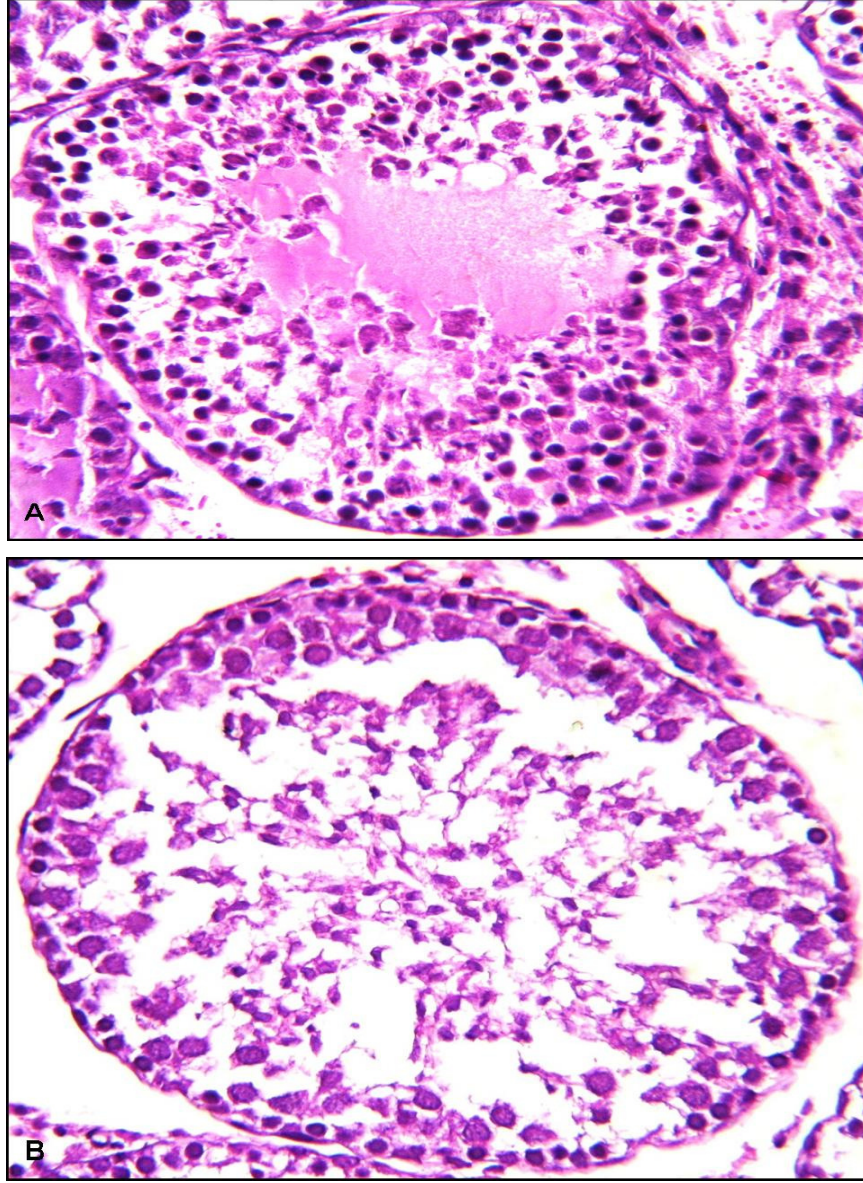
Gruplar	MPO (ü/mg doku)
	İpsilateral testis
Sham (n=9)	29.97 ± 13.301
İR (n=8)	34.80 ± 11.672
E+İR (n=7)	27.14 ± 14.240
L+İR (n=9)	51.44 ± 22.463
B+İR (n=7)	31.75 ± 21.817
Veriler ortalama değerleri ± standart hata olarak sunuldu.	

Tablo 4. Reperfüzyonun 24. saatinde testislerdeki histopatolojik hasar skor değerleri.

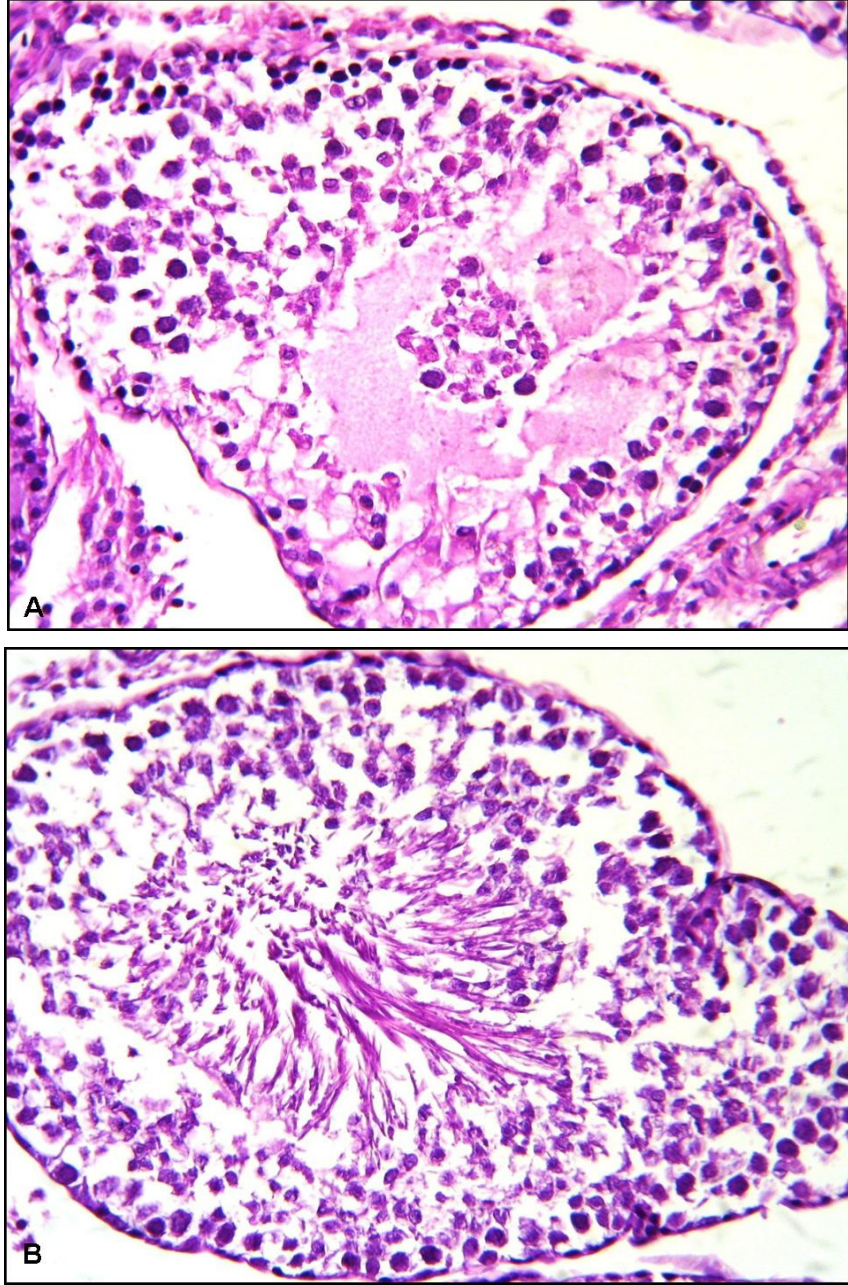
Gruplar	İpsilateral testis skor	Kontralateral testis skor
Sham (n=10)	8.60 ± 0.085	8.61 ± 0.081
İR (n=11)	7.64 ± 0.073 ^a	8.19 ± 0.138 ^{a*}
E+İR (n= 8)	7.65 ± 0.098 ^a	8.25 ± 0.154 ^{a*}
L+İR (n=12)	7.48 ± 0.087 ^a	7.98 ± 0.054 ^{a*}
B+İR (n= 8)	8.00 ± 0.110 ^{ab}	8.51 ± 0.052 ^{b*}
Veriler ortalama değerleri ± standart hata olarak sunuldu. ^a : p<0.05 kontrolden, ^b : p<0.05 İR'den, *: p<0.05 ipsilateral testisten farkı gösterir.		



Şekil 4. Sham ve İR gruplarının ipsilateral testislerine ait ışık mikroskopik görünüm (A-B: H&E, x400). A) Sham grubuna ait örnekte spermatogenetik matürasyon mevcuttur ve tübül lümeninde çok sayıda spermatozoa görülmektedir (ok). B) İR uygulanan ipsilateral testise ait örnekte iskemik değişiklikler, matürasyon arresti ve lümene dökülen germ hücrelerinde koagülatif nekroz görülmektedir (ok).



Şekil 5. Enalapril (A) ve losartan (B) tedavisi uygulanan ipsilateral testislere ait ışık mikroskopik görünüm (A-B: H&E, x400). Her iki grupta testis dokusunda iskemik değişikliklerin devam ettiği ve matürasyonun durduğu gözlenmektedir. Seminifer tübüllerde periferde immatür spermatogonialar ve lümene dökülen az sayıda erken evrede spermatid izlenmektedir.



Şekil 6. Bosentan tedavisi uygulanan ipsilateral testislere ait ışık mikroskopik görünüm (A-B: H&E, x400). İskemik zedenlemenin etkisinin devam ettiği seminifer tubuluslar yanı sıra (A), matürasyonun yeniden başladığı ve lümenlerinde az sayıda matür spermatitlerinde bulunduğu seminifer tübüller izlenmektedir (B).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, ADE inhibitörü enalapril, AT₁ reseptör antagonisti losartan ve ET_{A/B} reseptör antagonisti bosentanın testiküler İR ile oluşan hasar üzerine etkileri araştırılmıştır. Testiküler arterin 1 saat süreyle klemplenmesi ile ipsilateral testiste lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan MDA düzeyi artmış ve iskemi uygulanan ve uygulanmayan her iki testiste de histopatolojik hasar gözlenmiştir. İR sonrası MDA düzeyinde reperfüzyonun 3. saatinde MDA düzeyindeki artış enalapril, losartan ve bosentan tarafından kontrole geri döndürülmüştür. Histopatolojik hasar hem ipsilateral hem de kontralateral testiste bosentan tedavisi tarafından azaltılırken, sadece kontralateral testiste tamamen kontrole geri dönmüştür. Nötrofil birikiminin bir göstergesi kabul edilen MPO enzim aktivitesinin İR sonrası 3. saatte anlamlı artmadığı ve her üç tedavinin de enzim aktivitesini etkilemediği görülmüştür.

Testiküler torsiyon detorsiyon hasarının temel patolojik mekanizması her ne kadar tamamen anlaşılmamış olsa da İR sırasında oluşan SOR'un önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir (127, 128, 129). SOR üretimindeki artışa bağlı olarak artan lipid peroksidasyonunun, testiküler İR hasarına bağlı arttığı deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (130, 131). Bu çalışmada da 1 saat iskemi sonrası reperfüzyonun 3. saatinde lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeylerinin anlamlı olarak arttığı bulunmuştur. Enalapril, losartan ve bosentan ile tedavi edilen iskemik gruplarda MDA düzeyleri kontrol (sham) gruptan farklı bulunmamıştır.

Vücuttaki doğal endojen peptidlerin SOR üretimine katkısı olabileceği bildirilmektedir. Endotelinler kardiyovasküler sistemde, endotel ve damar düz kasında bulunan nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz enzimlerini ET_A reseptörleri aracılığıyla aktive ederek süperoksid üretimini artırır (12). İlginç olarak oluşan SOR'un da endotelin sentezini artırdığı gösterilmiştir (132). Benzer şekilde anjiyotensinler tarafından AT₁ reseptörlerinin uyarılması da endotel, düz kas ve fibroblastlarda oksidatif strese neden olur (10, 11). Bu araştırmalar anjiyotensin ve endotelin reseptörlerinin uyarılmasının oksidatif strese ve endotel işlev bozukluğuna sebep olabileceğini göstermektedir. Yapılan çalışmalarla da ADE inhibitörlerinin, AT₁ reseptör antagonistlerinin ve endotelin reseptör antagonistlerinin İR hasarında koruyucu etkilerinin antioksidan özellikleri ile ilişkili olabileceği rapor edilmektedir. Özellikle sülfidril grupları içeren kaptopril, zofenopril gibi ADE inhibitörlerinin bu özelliğinin daha belirgin olduğu bildirilmektedir (133, 134). Sülfidril grubu içeren ADE

inhibitörleri, antioksidan etkilerini elektron transferi mekanizmasıyla SOR'u nötralize ederek gösterirler. Ayrıca direkt OH^- radikallerini süpürücü etkileri ve antiperoksidatif etkileri de vardır (135). Kaptoprilin serbest radikal süpürücü etkisinin glutatyon, N-2-merkaptopropionilglisin ve N-asetilsisteine yakın olduğunu fakat bu etkinin sülfidril grubu içermeyen enalapril tarafından gösterilmediği rapor edilmiştir (136). Bununla birlikte birçok çalışmada enalaprilin de antioksidan enzimleri artırarak lipid peroksidasyonunu azalttığı ileri sürülmektedir (137-139). İsbir ve ark.'ları enalaprilin, kronik hipoksiye bağlı gelişen miyokard hasarını miyokardiyal antioksidan seviyeyi artırarak ve lipid peroksidasyonunu azaltarak koruduğunu bildirmektedir (137). Cavanagh ve ark.'ları 11 hafta süreyle içme suyuna kaptopril ve enalapril katılan farelerin karaciğer hücrelerinde antioksidan enzim olan GPx ve SOD aktivitesinin kontrole göre anlamlı oranda arttığını bulmuşlardır (138). Seujiang ve ark.'ları da renal İR hasarında artan MDA düzeylerini hem ADE inhibitörü enalaprilin hem de AT_1 reseptör antagonisti losartanın azaltarak İR'ye bağlı gelişen renal hasarı iyileştirdiği bildirilmektedir (139). Khaper ve Signal koroner ligasyon sonrası 4 hafta süre ile içme suyuna losartan eklenen sıçanlarda miyokardiyal İR sonrası 16. haftada azalan CAT ve GPx enzimlerinde yükselme ve artan lipid peroksidasyonunda azalma gözlemlendiğini rapor etmektedirler (140). Losartanın hipertansif sıçan damarlarında NADH/NADPH oksidaz aktivasyonuna bağlı olarak artan O_2^- üretimini normale döndürdüğü bildirilmektedir (141). Yapılan çalışmalarda $\text{ET}_{\text{A/B}}$ reseptör antagonisti bosentanın sıçan miyokardiyal İR'ye bağlı (142) ve doksorubisinle oluşan kardiyotoksisteye bağlı (143) artan lipid peroksidasyonunu azalttığı gösterilmektedir. Bosentan tedavisinin miyokardiyal İR'ye bağlı hasarı, azalan hücre içi glutatyon (GSH) düzeyini, SOD ve CAT aktivitesini artırarak iyileştirdiği rapor edilmektedir (144). ET_A reseptör antagonisti BQ123'ün miyokardiyal İR sonrası hasarla artan lipid peroksidasyonunu azaltırken; azalan NO düzeyini, hücre içi GSH içeriğini, SOD ve CAT enzim aktivitelerini artırdığı bildirilmektedir (145). Bizim çalışmamız ve yapılmış olan önceki çalışmalar hem sülfidril grubu içermeyen ADE inhibitörü olan enalaprilin hem de losartanın, $\text{ET}_{\text{A/B}}$ reseptör antagonisti olan bosentanın vücuttaki antioksidan mekanizmalar üzerinden oksidatif stresi azaltabileceğini göstermektedir.

Testiküler torsiyon sonrası nötrofil birikiminin de SOR üretimine katkısı olduğu bildirilmektedir (23). Sıçanlarda deneysel testiküler İR sonrası nötrofil birikiminin bir göstergesi olan MPO aktivitesinde anlamlı artışın reperfüzyonun 4. saatinde olduğu rapor edilmiştir (23). Bu çalışmada reperfüzyonun 3. saatinde MDA düzeyinde anlamlı artış gözlenirken MPO aktivitesinde anlamlı bir artış tespit edilememiştir. Anlamlı artış

bulunmamasının nedeni diğer çalışmalardan farklı olarak reperfüzyonun 4. saatinden önce MPO aktivitesine bakmamız olabilir.

Bu çalışmada her üç tedavi şekli de lipid peroksidasyonunu azaltırken histopatolojik hasarı ADE inhibitörü enalapril ve AT₁ reseptör antagonisti losartan anlamlı şekilde azaltmamış; sadece ET_{A/B} reseptör antagonisti bosentan, ipsilateral testiste hasarı azaltırken kontralateral testiste tamamen kontrole döndürmüştür. Gökçe ve ark. ise oluşturdıkları deneysel İR modelinde (4 saat torsiyon / 24 saat detorsiyon), detorsiyondan 1 saat önce lisinopril (50 mg/kg i.p.) veya losartan (30 mg/kg i.p.) uygulamasının kontralateral testiste histopatolojik hasarı ve apoptozisi azalttığını belirtmekle birlikte ipsilateral testislerle ilgili herhangi bir sonuç rapor etmemişlerdir. ADE inhibitörlerinin ve AT₁ reseptör antagonistinin bu yararlı etkilerinin İR sırasında artan sempatik etkinliği, bozulan renin anjiyotensin aldosteron sistemini düzenleyerek azaltmalarına bağlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir (20). Memeli testislerinde ADE, A-II ve ET1'in üretildiği ve AT₁, AT₂, A(1-7), ET_A ve ET_B reseptörlerinin olduğu yapılan çalışmalarda rapor edilmektedir (56, 85, 92-95, 101, 107-110, 146). Sıçanlarda seminifer tübüllerde A-II üretilmektedir ve peritübüler miyoid hücrelerde bulunan AT₁ reseptörleri aracılığıyla seminifer tübüllerin kontraksiyonunu sağlayarak spermatozoanın transportuna ve sperm salınımına neden olmaktadır. Bu reseptörlerin uyarılmasının miyoid hücrelerde kontraksiyon ve proliferasyona yol açtığı ileri sürülmektedir (93). Benzer şekilde Sertoli hücreleri ve seminifer epitelyum hücrelerinde üretilen endotelinin, peritübüler miyoid hücrelerde ET_A ve ET_B reseptörlerine bağlanarak seminifer tübüllerin kontraksiyonuna neden olduğu belirtilmektedir. A-II'nin Leydig hücrelerinde testosteron üretimini azaltırken (146) ET1'in ise testosteronun biyosentezini artırdığı bildirilmektedir (147). ADE'nin testiküler damarların endotelyumunda bulunduğu ve ADE inhibitörü perindopril tarafından inihibe edildiği ileri sürülmektedir (148). ET_A mRNA'sı seminifer tüpte ve bütün testiküler dokularda olmasına rağmen testiküler kan damarlarında bulunmamaktadır. ET_B mRNA'sı ise tüm testiküler dokularda, seminifer tüplerde ve testiküler kapillerde (vasküler endotelyal ve düz kas hücresinde) de bulunmaktadır (111). Yapılan bu çalışmalar A-II ve ET1'in testisler üzerindeki fizyolojik etkilerinin Leydig hücrelerinden testosteron üretimi hariç birbirine benzer olduğunu göstermektedir. Bu nedenle testiküler İR ile oluşan histopatolojik hasarı sadece bosentanın anlamlı olarak azaltması, A-II ve ET1'in testisler üzerindeki bilinen fizyolojik etkilerinin kaldırılması ile ilişkili gibi gözükmemektedir. Bizim çalışmamıza benzer şekilde Jerkic ve arkadaşları sıçanlarda oluşturdıkları deneysel akut renal

yetmezlik modelinde bosentanin losartandan daha etkili olduğunu bildirmektedirler. Sıçanlarda yapılan renal İR çalışmasında bosentan (10 mg/kg) ve losartan (5 mg/kg) iskemiden 20 dakika öncesinden başlayarak iskemiden sonraki 20 dakikaya kadar intravenöz infüzyonla uygulanmış. Bosentan, losartana göre böbrek kan akımında ve glomerüler filtrasyon hızında daha fazla artış yaparken bosentanin renal tübüler hasarın şiddetini de daha fazla iyileştirdiğini rapor etmişlerdir. Renal iskemi sırasında belirgin şekilde ET1'in üretiminin arttığını ve artan ET1'in intrarenal vazokonstriksiyonunun iskemik akut tübüler nekroz patofizyolojisine neden olabileceğini ileri sürmüşlerdir (16).

Bu çalışmada her üç ilaç da reperfüzyondan yarım saat önce tek doz i.p. olarak uygulandı. İlaçlardan bosentan ön ilaç değilken enalapril ve losartan ön-ilac özelliğindedir. Bununla birlikte her üç ilacın da lipid peroksidasyonunu kontrol grubuna döndürmesi enalaprilin ve losartanın aktif metabolitlerinin oluştuğunu düşündürmektedir. Çalışmamızda enalapril 20 mg/kg, losartan 30 mg/kg ve bosentan 10 mg/kg dozunda kullanıldı. Enalapril ve losartanın lipid peroksidasyonunu azaltmakla birlikte histopatolojik hasarı azaltmaması kullanılan dozlarda ilaçların hipotansif etkisi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamız sırasında deney hayvanlarımızın kan basıncı değerlerini ölçmedik. Pourdjabbar ve ark. sıçanlarda yüksek (30 mg/kg) ve düşük (3 mg/kg) doz losartanı 1 hafta kullandıktan sonra myokardiyal iskemi yapılan hayvanlarda, reperfüzyonun 24. saatinde yüksek doz losartan uygulanan grubun ortalama kan basıncı (OKB) değerlerinin kontrol ve düşük doz losartan uygulanan gruplara göre anlamlı olarak düşük bulunduğunu göstermişlerdir (149). Jerkic ve arkadaşları da benzer şekilde renal iskemi sonrası reperfüzyonun 24. saatinde 10 mg/kg losartan uygulanan grubun OKB değerlerinin kontrole göre anlamlı düşüken 5 mg/kg dozunda uygulanan losartan ve 10 mg/kg dozunda bosentan uygulanan grubun OKB değerlerinin ise kontrolden farklı olmadığını rapor etmişlerdir (16). Bu bilgiler ışığında enalapril ve losartanın OKB değerini etkileyen ve etkilemeyen farklı dozlarının testiküler İR hasarı üzerine etkilerine bakılabilir. Bununla birlikte Jerkic ve arkadaşları renal İR hasarına bağlı gelişen akut böbrek yetmezliği tedavisinde bosentanin, OKB değerini etkilemeyen dozda uygulanan losartana göre daha yararlı etkilerinin olduğunu bildirmektedirler (16).

Bu çalışma testiküler İR hasarının fizyopatolojisinde anjiyotensinlerin ve endotelinlerin katkısı olabileceğini göstermekle birlikte İR hasarı üzerine bosentanin etkisinin enalapril ve losartandan daha fazla olması bize İR hasarında endotelinlerin anjiyotensinlere göre daha önemli bir rolü olabileceğini düşündürmektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Tez çalışmamızda, sol testiküler artere 1 saat süreyle iskemi ardından 3 ya da 24 saat süreyle reperfüzyon uygulanmıştır. İskemi uygulanan ipsilateral ve uygulanmayan kontralateral testiste İR'ye bağlı gelişen biyokimyasal ve histopatolojik hasar üzerine ADE inhibitörü enalapril, AT₁ reseptör antagonisti losartan ve ET_{A/B} reseptör antagonisti bosentanın etkileri araştırılmıştır.

1. Sol testiküler artere uygulanan 1 saat iskemi ve 3 saat reperfüzyon sonrasında ipsilateral testislerde lipid peroksidasyonunun dolayısıyla oksidatif stresin arttığı belirlenmiştir.

2. Sol testiküler artere uygulanan 1 saat iskemi ve 24 saat reperfüzyon sonrasında iskemi uygulanan ve uygulanmayan testislerde histopatolojik hasarın anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir.

3. ADE inhibitörü enalapril, AT₁ reseptör antagonisti losartan ve ET_{A/B} reseptör antagonisti bosentan İR'ye bağlı artan oksidatif stresi kontrole (sham) geri döndürmüştür.

4. İR'ye bağlı oluşan histopatolojik hasarı istatistiksel olarak anlamlı azaltan yalnızca nonselektif endotelin reseptör antagonisti bosentan olmuştur.

5. Testiküler İR hasarı patogenezinde anjiyotensin ve endotelin gibi peptidlerin rol oynadığı bu peptidlerin etkilerine AT₁ ve ET_A ve/veya ET_B reseptörlerinin aracılık ettiği fakat endotelinlerin patogeneizde anjiyotensinlere göre daha önemli bir yer teşkil edebileceği düşünülmektedir.

6. Testiküler İR hasarı patogenezinde anjiyotensinlerin rolünün tam olarak anlaşılabilmesi için farklı farmakokinetik özellikleri olan ADE inhibitörlerinin ve AT₁ reseptör antagonistlerinin farklı dozlarda denenmesi gerekmektedir.

7. Bosentanın testis torsiyon/detorsiyon tedavisinde yeri olup olmayacağını anlamak için testiküler İR sonrası bozulduğu bilinen sperm morfolojisi ve azaldığı bilinen sperm sayısı ve motilitesi üzerine etkilerini araştırmak gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Ringdahl E, Teague L. Testicular torsion. *Am Fam Physician* 74(10): 1739–1743, 2006.
2. Akgur FM, Kilinc K, Tanyel FC, Buyukpamukcu N, Hicsonmez A. Ipsilateral and contralateral testicular biochemical acute changes after unilateral testicular torsion and detorsion. *Urology* 44(3): 413-418, 1994.
3. Avlan D, Erdogan K, Cimen B, Dusmez Apa D, Cinel I, Aksoyek S. The protective effect of selenium on ipsilateral and contralateral testes in testicular reperfusion injury. *Pediatr Surg Int* 21(4): 274-278, 2005.
4. Noseworthy J. Testicular torsion. Ed: Ashcraft KW, *Pediatric Surgery*. 3rd Edition, pp. 674-680, WB Saunders Co, Philadelphia, USA, 2000.
5. Sugaya T, Nishimatsu S, Tanimoto K, Takimoto E, Yamagishi T, Imamura K, Goto S, Imaizumi K, Hisada Y, Otsuka A. Angiotensin II type 1a receptor-deficient mice with hypotension and hyperreninemia. *J Biol Chem* 270(32):18719 –18722, 1995.
6. Fujitani Y, Unda H, Okada T. A Selective agonist of endothelin type receptor, IRL 1620 stimulates cyclic GMP increase via nitric oxide formation. *J Pharm Exp Ther* 267(2): 683-689, 1993.
7. Qui C, Samsell L, Baylis C. Actions of endogenous endothelin on glomerular hemodynamics in the rat. *Am J Physiol* 269(2 Pt2): R469-R473, 1995.
8. Ren A, Yan X, Lu H, Shi J, Yin Y, Bai J, Yuan W, Lin L. Antagonism of endothelin-1 inhibits hypoxia-induced apoptosis in cardiomyocytes. *Can J Physiol Pharmacol* 86(8): 536-540, 2008.
9. Ohkubo N, Matsubara H, Nozawa Y, Mori Y, Murasawa S, Kijima K, Maruyama K, Masaki H, Tsutsumi Y, Shibasaki Y, Iwasaka T, Inada M. Angiotensin type 2 receptors are re-expressed by cardiac fibroblasts from failing myopathic hamster hearts and inhibit cell growth and fibrillar collagen metabolism. *Circulation* 96(11): 3954–3962, 1997.
10. Nio Y, Matsubara H, Murasawa S, Kanasaki M, Inada M. Regulation of gene transcription of angiotensin II receptor subtypes in myocardial infarction. *J Clin Invest* 95(1): 46 –54, 1995.
11. Burnier M. Angiotensin II type 1 receptor blockers. *Circulation* 103(6): 904-912, 2001.

12. Elmarakby AA, Loomis ED, Pollock JS, Pollock DM. NADPH oxidase inhibition attenuates oxidative stress but not hypertension produced by chronic ET-1. *Hypertension* 45(2): 283-287, 2005.
13. Homer-Vanniasinkam S, Crinnion JN, Gough MJ. Post-ischaemic organ dysfunction: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 14(3): 195-203, 1997.
14. Monsinjon T, Richard V, Fontaine M. Complement and its implications in cardiac ischemia/reperfusion: strategies to inhibit complement. *Fundam Clin Pharmacol* 15(5): 293-306, 2001.
15. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 12. Basım, s.1265-1275, Pelikan Yayıncılık, Ankara, 2009.
16. Jerkic M, Miloradovic Z, Jovovic D, Mihailovic-Stanojevic N, Elena JV, Nastic-Miric D, Grujic-Adanja G, Rodriguez-Barbero A, Markovic-Lipkovski J, Vojvodic SB, Manero MV, Prieto MP, Lopez-Novoa JM. Relative roles of endothelin-1 and angiotensin II in Experimental post-ischaemic acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 19(1): 83-94, 2004.
17. Gonon AT, Erbas D, Bröijersen A, Valen G, Pernow J. Nitric oxide mediates protective effect of endothelin receptor antagonism during myocardial ischemia and reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286(5): H1767-74, 2004.
18. Liu X, Engelman RM, Rousou JA, Cordis GA, Das DK. Attenuation of myocardial reperfusion injury by sulfhydryl-containing angiotensin converting enzyme inhibitors. *Cardiovasc Drugs Ther* 6(4): 437-443, 1992.
19. Uhlmann D, Uhlmann S, Spiegel HU. Important role for endothelins in acute hepatic ischemia/reperfusion injury. *J Invest Surg* 14(1): 31-45, 2001.
20. Gokce G, Karboga H, Yildiz E, Ayan S, Gultekin Y. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II type 1 receptor blockade on apoptotic changes in contralateral testis following unilateral testicular torsion. *Int Urol Nephrol* 40(4): 989-995, 2008.
21. Langer JC, Sohal SS, Blennerhasselt P. Mucosal permeability after subclinical intestinal ischemia/reperfusion injury. An exploration of possible mechanisms. *J Pediatr Surg* 30(4): 568-572, 1995.
22. Saugstad OD. Hypoxanthine as an indicator of hypoxia: its role in health and disease through free radical production. *Pediatr Res* 23(2): 143-147, 1988.
23. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB. Ischemia/Reperfusion injury. *J Surg Res* 105(2): 248-258, 2002.

24. Vedder NB, Fouty BW, Winn RK. Role of neutrophils in generalized reperfusion injury associated with resuscitation from shock. *Surgery* 106(3): 509-516, 1989.
25. Clark IA. Tissue damage caused by free oxygen radicals. *Pathology* 18(2): 181-186, 1986.
26. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB: Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg* 161(4): 488-503, 1991.
27. Gutteridge JMC. Iron and oxygen radicals in brain. *Ann Neurol* 32(S1): S16-21, 1992.
28. Menger MD, Rucker M, Vollmar B. Capillary dysfunction in striated muscle ischemia/reperfusion: On the mechanisms of capillary "no-reflow". *Shock* 8(1): 2-7, 1997.
29. Bulkley GB. Free radical-mediated reperfusion injury: a selective review. *Br J Cancer Suppl* 8: 66-73, 1987.
30. White BC, Grossman LI, Krause GS: Brain injury by global ischemia and reperfusion a theoretical perspective on membrane damage and repair. *Neurol* 43(9): 1656-1665, 1993.
31. Davies SJ, Reichardt-Pascal SY, Vaughan D, Russel GI. Differential effect of ischemia-reperfusion injury on anti-oxidant enzyme activity in the rat kidney. *Exp Nephrol* 3(6): 348-354, 1995.
32. Lopez-Neblina F, Paez-Rollys AJ, Toledo-Pereyra LH. Mechanism of Protection of Verapamil by Preventing Neutrophil Infiltration in the Ischemic Rat Kidney. *J Surg Res* 61(2): 469-472, 1996.
33. Frangogiannis NG. Chemokines in ischemia and reperfusion. *Thromb Haemost* 97(5): 738-747, 2007.
34. Orlinsky M, Shoemaker W, Reis ED, Kerstein MD. Current controversies in shock and resuscitation. *Surg Clin North Am* 81(6): 1217-1262, 2001.
35. Woodfin A, Voisin MB, Nourshargh S. PECAM-1: a multi-functional molecule in inflammation and vascular biology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 27(12): 2514-2523, 2007.
36. Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med* 21(9): 1376-1386, 1993.
37. Weight SC, Bell PR, Nicholson ML. Renal ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 83(2): 162-170, 1996.

38. Roos A, Bouwman LH, Munoz J, Zuiverloon T, Krol MC- F, van den Houten FC-F, Mohamad N-K, Bouwman LH, Hack CE, Tilanus MG, Daha MR. Functional characterization of the lectin pathway of complement in human serum. *Mol Immunol* 39(11): 655-668, 2003.
39. Akkuş İ, Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1. Baskı, s.1-60, Mimoza Yayınları, Konya 1995.
40. Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem* 16(10): 577-586, 2005.
41. 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* 68(6): 1363-1370, 2007.
42. Suzuki M, Asako H, Kubes P, Jennings S, Grisham MB, Granger DN. Neutrophil-derived oxidants promote leukocyte adherence in postcapillary venules. *Microvasc Res* 42(2): 125-138, 1991.
43. Zhang W, Smith C, Shapiro A, Monette R, Hutchison J, Stanimirovic D. Increased expression of bioactive chemokines in human cerebrovascular endothelial cells and astrocytes subjected to simulated ischemia-in vitro. *J Neuroimmunol* 101(2): 148-160, 1999.
44. Davies MG, Juynh TT, Hagen PO. Endothelial physiology. Ed: Grace PA, Mathie RT. *Ischemia-Reperfusion Injury*. pp.157-179, Blackwell Science, London, UK, 1999.
45. Garcia-Villalon AL, Amezcua YM, Monge L, Fernández N, Salcedo A, Dieguez G. Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion. *Vascul Pharmacol* 48(2-3): 109-114, 2008.
46. Grisham MB, Granger DN, Lefer DL. Modulation of leukocyte-endothelial Interactions by reactive metabolites of oxygen and nitrogen: relevance to ischemic heart disease. *Free Rad Biol* 25(4-5): 404-433, 1998.
47. Rowe MI, O'Neill JA, Grosfeld JL, Fonkalsrud EW, Coran AG. *Essentials of Pediatric Surgery*. pp. 457-459, Mosby-Year Book Inc, St. Louis, USA, 1995.
48. Hutson JM. Undescended testis, torsion and varicocele. Ed: O'Neill JA, Rowe MI, Grosfeld JL, Fonkalsrud EW, Coran AG (s.). *Pediatric Surgery*, vol 2, 5th Edition, pp. 1099-1101, Mosby-Year Book Inc, St. Louis, USA, 1998.

49. Prater JM, Overdorf BS. Testicular torsion: a surgical emergency. *Am Fam Physician* 44(3): 834-840, 1991.
50. Fonkalsrud EW. Testicular undescend and torsion. *Pediatr Clin North Am* 34(5): 1305-1317, 1987.
51. Murphy JP: The acute scrotum. Ed: Ziegler MM, Azizkhan RG, Weber TR, *Operative Pediatric Surgery*, pp. 563-568, McGraw-Hill Companies, New York, 2003.
52. Tijoe DY, Steinberger E. A quantitative study of the effect of ischemia on the germinal epithelium of the rat testes. *J Reprod Fert* 21(3): 489-494, 1970.
53. Akgür FM, Kılınç K, Aktug T. Reperfusion injury after detorsiyon of unilateral testicular torsion. *Urol Res* 21(6): 395-399, 1993.
54. Corvol P, Williams TA, Soubrier F. Peptidyl dipeptidase A: angiotensin I-converting enzyme. *Methods Enzymol* 248: 283-305, 1995.
55. Erdos EG, Deddish PA, Marcic BM. Potentiation of bradykinin actions by ACE inhibitors. *Trends Endocrinol Metab* 10(6): 223-229, 1999.
56. Chappell MC, Pirro NT, Sykes A, Ferrario CM. Metabolism of angiotensin-(1-7) by angiotensin converting enzyme. *Hypertension* 31(1 Pt 2): 362-367, 1998.
57. Sibony M, Gasc JM, Soubrier F, Alhenc-Gelas F, Corvol P. Gene expression and tissue localization of the two isoforms of angiotensin I converting enzyme. *Hypertension* 21(6 Pt 1): 827-835, 1993.
58. Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, Godbout K, Gosselin M, Stagliano N, Donovan M, Woolf B, Robison K, Jeyaseelan R, Breitbart RE, Acton S. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circ Res* 87(5): E1-E9, 2000.
59. Tipnis SR, Hooper NM, Hyde R, Karran E, Christie G, Turner AJ. A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase. *J Biol Chem* 275(43): 33238-33243, 2000.
60. Douglas GC, O'bryan MK, Hedger MP, Lee DKL, Yarski MA, Smith AI, Lew RA. The Novel Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) Homolog, ACE2, Is Selectively Expressed by Adult Leydig Cells of the Testis. *Endocrinology* 145(10): 4703-4711, 2004.
61. Tallant EA, Diz DI, Ferrario CM. State-of-the-Art lecture. Antiproliferative actions of angiotensin-(1-7) in vascular smooth muscle. *Hypertension* 34(4 Pt 2): 950-957, 1999.

62. Tallant EA, Ferrario CM, Gallagher PE. Angiotensin-(1-7) inhibits growth of cardiac myocytes through activation of the mas receptor. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 289(4): H1560–H1566, 2005.
63. Kregge JH, John SWM, Langenbach LL, Hodgin JB, Hagaman JR, Bachman ES, Jennette JC, O'Brien DA, Smithies O, Malw-female diffirences in fertility and blood pressure in ACE-deficient mice. *Nature* 375(6527): 146-148, 1995.
64. Crackower MA, Sarao R, Oudit GY, Yagil C, Kozieradzki I, Scanga SE, Oliveira-dos-Santos AJ, Costa JD, Zhang L, Pei Y, Scholey J, Ferrario CM, Manoukian AS, Chappell MC, Backx PH, Yagil Y, Penninger JM. Angiotensin converting enzyme 2 is an essential regulator of heart function. *Nature* 417(6891): 822-828, 2002.
65. Rella M, Elliot JL, Revett TJ, Lanfear J, Phelan A, Jackson RM, Turner AJ, Hooper NM. Identification and characterisation of the angiotensin converting enzyme 3 (ACE3) gene: a novel mammalian homologue of ACE. *BMC Genomics* 8: 194, doi:10.1186/1471-2164-8-194, 2007.
66. Fiorentino AD, Cianchetti S, Celi A, Dell'Omo G, Pedrinelli R. The effect of angiotensin receptor blockers on C-reactive protein and other circulating inflammatory indices in man. *Vasc Health Risk Manag* 5(1): 233–242, 2009.
67. Piepho RW: Overview of the angiotensin converting enzyme inhibitors. *Am J Health Syst Pharm* 57(Suppl 1): S3-7, 2000.
68. Hoyer J, Schulte KL, Lenz T. Clinical pharmacokinetics of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors in renal failure. *Clin Pharmacokinet* 24(3): 230-254, 1993.
69. Khalil ME, Basher AB, Brown EJ, Alhaddad IA: A remarkable medical story: Benefits of angiotensin-converting enzyme inhibitors in cardiac patients. *J Am Coll Cardiol* 37(7): 1757-1764, 2001.
70. Halkin A, Keren G: Potential indications for angiotensin-converting enzym inhibitors in atherosclerotic vascular disease. *Am J Med* 112(2): 126-134, 2002.
71. Garrison JC, Peach MJ: Renin and angiotensin. Ed: Goodman&Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 8. edition Vol.1, pp. 749-763Pergamon Pres, Inc. Singapore, 1991.
72. Brown NJ, Vaughan DE. Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors. *Circulation* 97(14): 1411-1420, 1998.

73. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 12. Basım, s. 364-365, Pelikan Yayıncılık, Ankara, 2009.
74. Demir T. Bir anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü olan enalaprilin solunum fonksiyon testleri ve bronş hiperreaktivitesi üzerine etkileri. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Uzmanlık Tezi, İstanbul, 1994.
75. Timmermans PB, Wong PC, Chiu AT, McCall DE, Price WA, Carini DJ, Duncia JV, Wexler RR, Yoo SE, Johnson AL. Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacol Rev* 45(2): 205–251, 1993.
76. Higuchi S, Ohtsu H, Suzuki H, Shirai H, Frank GD, Eguchi S. Angiotensin II signal transduction through the AT₁ receptor: novel insights into mechanisms and pathophysiology. *Clinic Sci* 112(8): 417–428, 2007.
77. Goodfriend TL, Elliott M E, Catt KJ. Angiotensin receptors and their antagonists. *N Engl J Med* 334(25): 1649-1654, 1996.
78. Griendling KK, Lassegue B, Alexander RW. Angiotensin receptors and their therapeutic implications. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 36(1): 281-306, 1996.
79. Nagata D, Takeda R, Sata M, Satonaka H, Suzuki E, Nagano T, Hirata Y. AMP-activated protein kinase inhibits angiotensin II stimulated vascular smooth muscle cell proliferation. *Circulation* 110(4): 444-451, 2004.
80. Siragy H. Angiotensin II receptor blockers: review of the binding characteristics. *Am J Cardiol* 84(10A): 3S-8S, 1999.
81. Mukoyama M, Nakajima M, Horiuchi M, Expression cloning of type 2 angiotensin II receptor reveals a unique class of seven transmembrane receptors. *J Biol Chem* 268(33): 24539–24542, 1993.
82. Wright JW, Miller-Wing AV, Shaffer MJ, Higginson C, Wright DE, Hanesworth JM, Harding JW. Angiotensin II (3–8) (ANG IV) hippocampal binding: potential role in the facilitation of memory. *Brain Res Bull* 32(5): 497–502, 1993.
83. Wright JW, Stubley L, Pederson ES, Kramar EA, Hanesworth JM, Harding JW. Contributions of the brain angiotensin IV-AT₄ receptor subtype system to spatial learning. *J Neurosci* 19(10): 3952–3961, 1999.
84. Hall KL, Venkateswaran S, Hanesworth JM, Schelling ME, Harding JW. Characterization of a functional angiotensin IV receptor on coronary microvascular endothelial cells. *Regul Pept* 58(3): 107–115, 1995.

85. Rogi T, Tsujimoto M, Nakazato H, Mizutani S, Tomoda Y. Human placental leucine aminopeptidase/oxytocinase. A new member of type II membrane-spanning zinc metallopeptidase family. *J Biol Chem* 271(1): 56–61, 1996.
86. Bunnemann B, Fuxe K, Metzger R, Mullins J, Jackson TR, Hanley MR and Ganten D, Autoradiographic localization of mas proto-oncogene mRNA-In adult rat brain using in situ hybridization, *Neurosci Lett* 114(2): 147–153, 1990.
87. Vaz-Silva C, Carneiro MM, Ferreira MC, Pinheiro SVB, Silva DA, Silva AL, Witz CA, Reis AM, Santos RA, Reis FM. The Vasoactive Peptide Angiotensin-(1-7), Its Receptor Mas and the Angiotensin-converting. *Reprod Sci* 16(3): 247-256. 2009.
88. Byku M, Macarthur H and Westfall TC. Inhibitory effects of angiotensin-(1-7) on the nerve stimulation-induced release of norepinephrine and neuropeptide Y from the mesenteric arterial bed. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 298(2): H457-H465, 2010.
89. Benter IF, Yousif MH, Anim JT, Cojocel C, Diz DI. Angiotensin-(1-7) prevents development of severe hypertension and end-organ damage in spontaneously hypertensive rats treated with L-NAME. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 290(2): H684–H691, 2006.
90. Costa-Goncalves AC, Leite R, Fraga-Silva RA, Pinheiro SV, Reis AB, Reis FM, Touyz RM, Webb RC, Alenina N, Bader M, Santos RAS. Evidence that the vasodilator angiotensin-(1-7)-Mas axis plays an important role in erectile function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 293(4): H2588–H2596, 2007.
91. Santos RAS, Frezard F, Ferreira AJ. Angiotensin-(1-7): blood, heart and blood vessels. *Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents* 3(4): 383–391, 2005.
92. Ferrario CM, Chappell MC. Novel angiotensin peptides. *Cell Mol Life Sci* 61(21): 2720–2727, 2004.
93. Rossi F, Ferraresi A, Romagni P, Silvestroni L, Santiemma V. Angiotensin II stimulates contraction and growth of testicular peritubular myoid cells in vitro. *Endocrinology* 143(8): 3096–3104, 2002.
94. Ernsberger P, Zhou J, Damon TH, Douglas JG. Angiotensin II receptor subtypes in cultured rat renal mesangial cells. *Am J Physiol* 263(3 Pt 2): F411–F416, 1992.
95. Alenina N, Baranova T, Smirnow E, Bader M, Lippoldt A, Patkin E and Walther T, Cell type-specific expression of the Mas proto-oncogene in testis, *J Histochem Cytochem* 50 (5):691–696, 2002.

96. Leal MC, Pinheiro SV, Ferreira AJ, Santos RA, Bordoni LS, Alenina N, Bader M, França LR. The role of angiotensin-(1-7) receptor Mas in spermatogenesis in mice and rats. *J Anat* 214(5): 736-743, 2009.
97. Gavras H, Brown JJ, Lever AF, Macadam RF, Robertson JJ. Acute renal failure, tubular necrosis and myocardial infarction induced in the rabbit by intravenous angiotensin II. *Lancet* 2(7714): 19–22, 1971.
98. Brunner HR, Laragh JR, Baer L, Cragoe EJ. Essential hypertension: renin and aldosterone, heart attack and stroke. *N Engl J Med* 286(9): 441–449, 1972.
99. Kassler-Taub K, Littlejohn T, Elliott W, Ruddy T, Adler E. Comparative efficacy of two angiotensin II receptor antagonists, irbesartan and losartan, in mild-to-moderate hypertension. *Am J Hypertens* 11(4 Pt 1): 445–453, 1998.
100. Eglen RM, Michel AD, Sharif NA, Swang SR, Whiting RL. The pharmacological properties of the peptide endothelin. *Br J Pharm* 97(4): 1297-1307, 1989.
101. Fernandez-Durango R, Rollin R, Mediero A, Roldan-Pallares M, Feijo JG, Sanchez JG, Fernandez-Cruz A, Ripodas A. Localization of endothelin-1 mRNA expression and immunoreactivity in the anterior segment of human eye: Expression of ETA and ETB receptors. *Mol Vis* 9: 103-109, 2003.
102. Santiemma V, Beligotti F, Magnanti M, Palleschi S, Silvestroni L, Fabbrini A. Endothelin-1 stimulates deoxyribonucleic acid synthesis and contraction in testicular peritubular myoid cells. *Biol Reprod* 54(3): 583-590, 1996.
103. Sakurai T, Yanagisawa M, Takuwa Y. Cloning of a cDNA cloning a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor. *Nature* 348: 732-735, 1990.
104. Karaki H, Sudjarwo SA, Hori M, Takai M, Urade Y, Okada T. Induction of endothelium-dependent relaxation in the rat aorta by IRL 1620, a novel and selective agonist at the endothelin ETB receptor. *Br J Pharmacol* 109(2): 486-490, 1993.
105. Zimmermann M, Seifert V. Endothelin receptor antagonists and cerebral vasospasm, *Clin Auton Res* 14(3): 143–145, 2004.
106. Angard EE, Botting RM, Vane JR. Endothelins. *Blood Vessels* 27, 269-281, 1990.
107. McMurdo L, Lidbury PS, Thiemermann C, Vane JR. Mediation of endothelin-1-induced inhibition of platelet aggregation via the ETB receptor. *Br J Pharmacol* 109(2): 530-534, 1993.

108. Maggi M, Barni T, Orlando C, Fantoni G, Finetti G, Vannelli GB, Mancina R, Gloria L, Bonaccorsi L, Yanagisawa M, Forti G. Endothelin-1 and its receptors in human testis. *J Androl* 16(3): 213-224, 1995.
109. Rubanyi GM, Pokoloff MA. Endothelins: molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology, and pathophysiology. *Endocr Rev* 46(3): 325–415, 1994.
110. Peri A, Fantoni G, Granchi S, Vannelli GB, Barni T, Amerini S, Pupilli C, Barbagli G, Forti G, Serio M and Magg M. Gene Expression of Endothelin-1, Endothelin-Converting Enzyme-1, and Endothelin Receptors in Human Epididymis, *J Clin Endocrinol Metab* 82(11): 3797-3806, 1997.
111. Ergün S, Harneit S, Paust H J, Mukhopadhyay AK, Holstein A F. Endothelin and endothelin receptors A and B in the human testis. *Anat Embryol* 199(3): 207–214, 1999.
112. Vatter H, Seifert V. Ambrisentan, a non-peptide endothelin receptor antagonist. *Cardiovasc Drug Rev* 24(1): 63-76, 2006.
113. Dupuis J, Hoeper MM. Endothelin receptor antagonists in pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 31(2): 407-415, 2008.
114. Steiner MK, Preston IR. Optimizing endothelin receptor antagonist use in the management of pulmonary arterial hypertension. *Vasc Health Risk Manag*: 4(5): 943–952, 2008.
115. Gaine SP, Rubin LJ. Primary Pulmonary Hypertension. *Lancet* 352(9129): 719–725, 1998.
116. Stewart DJ, Levy RD, Cernacek P, Langleben D. Increased plasma endothelin-1 in pulmonary hypertension: marker or mediator of disease? *Ann Inter Med* 114(6): 464-469, 1991.
117. Yoshibayashi M, Nishioka K, Nakao K, Saito Y, Matsumura M, Ueda T, Temma S, Shirakami G, Imura H and Mikawa H. Plasma endothelin concentrations in patients with pulmonary hypertension associated with congenital heart defects. Evidence for increased production of endothelin in pulmonary circulation. *Circulation* 84(6): 2280-2285, 1991.
118. Rubens C, Ewert R, Halank M, Wensel R, Orzechowski HD, Schultheiss HP Hoeffken G. Big endothelin-1 and endothelin-1 plasma levels are correlated with the severity of primary pulmonary hypertension. *Chest* 120(5): 1562–1569, 2001.

119. Korn JH, Mayes M, Matucci Cerinic M. Digital ulcers in systemic sclerosis: Prevention by treatment with bosentan, an oral endothelin receptor antagonist. *Arthritis Rheum* 50(12): 3985-3993, 2004.
120. King TE Jr, Behr J, Brown KK, du Bois RM, Lancaster L, de Andrade JA, Stähler G, Leconte I, Roux S, Raghu G. BUILD-1: a randomized placebo-controlled trial of bosentan in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 177(1): 75-81, 2008.
121. Ray A, Hegde LG, Chugh A, Gupta JB. Endotelin-receptor antagonists: current and future perspectives. *Drug Discov Today* 5(10): 455-464, 2000.
122. Minutoli L, Antonuccio P, Romeo C, Nicotina PA, Bitto A, Arena S, Polito F, Altavilla D, Turiaco N, Cutrupi A, Zuccarello B, Squadrito F. Evidence for a role of mitogen-activated protein kinase 3/mitogen-activated protein kinase in the development of testicular ischemia-reperfusion injury. *Biol Reprod* 73(4): 730-736, 2005.
123. Seljeskog E, Hervig T, Mansoor MA. A novel HPLC method for the measurement of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). A comparison with a commercially available kit. *Clin Biochem* 39(9): 947-954, 2006.
124. Bradley PP, Priebe D, Christensen RD, Rodhstein G. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *J Invest Dermatol* 78(3): 206-209, 1982.
125. Johnsen SG. Testicular biopsy score count-a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results of 335 hypogonadal males. *Hormones* 1(1): 2-25, 1970.
126. Holstein AF, Schulze W, Davidoff M. Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment *Reprod Biol Endocrinol* 1(1): 107, 2003.
127. Akgur FM, Kilinc K, Aktu T. Reperfusion injury after detorsion of unilateral testicular torsion. *Urol Res* 21(6): 395-399, 1993.
128. Turner TT, Tung KS, Tomomasa H, Wilson LW. Acute testicular ischemia results in germ cell-specific apoptosis in the rat. *Biol Reprod* 57(6): 1267-1274, 1997.
129. Lysiak JJ, Nguyen QAT, Turner TT. Peptide and nonpeptide reactive oxygen scavengers provide partial rescue of the testis after torsion. *J Androl* 23(3): 400-409, 2002.

130. Somuncu S, Cakmak M, Erdogan S, Caglayan O, Akman H, Kaya M. Protective effects of trapidil in ischemia-reperfusion injury due to testicular torsion and detorsion: an experimental study. *Int J Urol* 13(5): 601–605, 2006.
131. Kurcer Z, Oguz E, Ozbilge H, Baba F, Aksoy N, Celik N. Effect of melatonin on testicular ischemia/reperfusion injury in rats: is this effect related to the proinflammatory cytokines? *Fertil Steril* 89 (5 Suppl): 1468-1473, 2008.
132. Kähler J, Ewert A, Weckmüller J, Stobbe S, Mittmann C, Köster R, Paul M. Oxidative stress increases endothelin-1 synthesis in human coronary artery smooth muscle cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 38(1): 49–57, 2001.
133. Cushman DW, Wang FL, Fung WC, Grover GJ, Harvey CM, Scalese RJ, Mitch SL, Deforrest JM. Comparison in vitro, ex vivo and in vivo of the actions of seven structurally diverse inhibitors of angiotensin converting enzyme (ACE). *Br J Clin Pharmacol* 28(2): 115S–130S, 1989.
134. Chopra M, Beswick H, Clapperton M, Dargie HJ, Smith WE, McMurray J. Antioxidant effects of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors: free radical and oxidant scavenging are sulfhydryl dependent, but lipid peroxidation is inhibited by both sulfhydryl and nonsulfhydryl-containing ACE inhibitors. *J Cardiovasc Pharmacol* 19(3): 330–340, 1992.
135. Mak IT, Freedman AM, Dickens BF, Weglicki WB. Protective effects of sulfhydryl-containing angiotensin-converting enzyme inhibitors against free radical injury in endothelial cells. *Biochem Pharmacol* 40(9): 2169–2175, 1990.
136. Goldschmidt JE, Tallarida RJ. Pharmacological evidence that captopril possesses an endothelium-mediated component of vasodilation: effect of sulfhydryl groups on endothelium-derived relaxing factor. *J Pharmacol Exp Ther* 257(3):1136-1145, 1991.
137. İsbir S, Ak K, Zeybek Ü, Akgün S, Yaylın İ, Civelek A, Tekeli A, Aydın M ve Çobanoğlu A. Kronik Hipokside Enalapril ve Nifedipinin Akciğer ve Miyokard Doku Hasarı Üzerine Etkisi. *Türk Kardiyol Dern Arş* 30(4): 229-232, 2002.
138. Cavanagh EM, Inserra F, Ferder L, Romano L, Ercole L, Fraga CG. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities are increased by enalapril and captopril in mouse liver. *FEBS Lett* 361(1): 22-24, 1995.
139. Seujiang Y, Kittikowit W, Eiam-Ong S, Eiam-Ong S. Lipid peroxidation and renal injury in renal ischemic reperfusion: effect of angiotensin inhibition. *J Med Assoc Thai* 89(10): 1686-1693, 2006.

140. Khaper N, Singal PK. Modulation of oxidative stress by a selective inhibition of angiotensin II type 1 receptors in MI rats. *J Am Coll Cardiol*. 37(5): 1461-1466, 2001.
141. Rajagopalan S, Kurz S, Munzel T, Tarpey M, Freeman BA, Griending KK and Harrison DG. Angiotensin II mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. *J Clin Invest* 97(8): 1916–1923, 1996.
142. Singh AD, Amit S, Kumar OS, Rajan M, Mukesh N. Cardioprotective effects of bosentan, a mixed endothelin type A and B receptor antagonist, during myocardial ischaemia and reperfusion in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 98(6): 604-610, 2006.
143. Bien S, Riad A, Ritter CA, Gratz M, Olshausen F, Westermann D, Grube M, Krieg T, Ciecholewski S, Felix SB, Staudt A, Schultheiss HP, Ewert R, Völker U, Tschöpe C, Kroemer HK. The endothelin receptor blocker bosentan inhibits doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Cancer Res* 67(21): 10428-10435, 2007.
144. Gupta SK, Saxena A, Singh U, Arya DS. Bosentan, the mixed ET_A-ET_B endothelin receptor antagonist, attenuated oxidative stress after experimental myocardial ischemia and reperfusion. *Mol Cell Biochem* 275 (1-2): 67-74, 2005.
145. Özdemir R, Parlakpınar H, Polat A, Colak C, Ermis N, Acet A. Selective endothelin a (ET_A) receptor antagonist (BQ-123) reduces both myocardial infarct size and oxidant injury. *Toxicology* 219(1-3): 142-149, 2006.
146. Khanum A, Dufau ML. Angiotensin II Receptors and Inhibitory Action in Leydig Cells. *J Biol Chem* 263(11): 5070-5074, 1988.
147. Conte D, Questino P, Fillo N, Isidori A, Romanelli F. Endothelin stimulates testosterone secretion by rat Leydig cells. *J Endocrinol* 136(2): R1–R4, 1993.
148. Sakaguchi K, Jackson B, Chai SY, Mendelsohn FA, Johnson CI. Effects of perindopril on tissue angiotensin-converting enzyme activity demonstrated by quantitative in vitro autoradiography. *J Cardiovasc Pharmacol* 12(6): 710-717, 1988.
149. Pourdjabbar A, Parker TG, Nguyen QT, Desjardins JF, Lapointe N, Tsoporis JN, Rouleau JL. Effects of pre-, peri-, and postmyocardial infarction treatment with losartan in rats: effect of dose on survival, ventricular arrhythmias, function, and remodeling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 288(4): H1997-2005, 2004.

8. EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onayı



T.C.
Zonguldak Karaelmas Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

TOPLANTI TARİHİ: 07/05/2008
TOPLANTI NO : 2008/04

5- Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın, "Sıçan Testis İskemi-Reperfüzyon Hasarında Anjiyotensin ve Endotelin'in Rolü" konulu çalışmasının Z.K.Ü. Deney Hayvanları Araştırma Ünitesi Etik Kurul ilkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Z. Nur Banoğlu", is written over a horizontal line.

Prof. Dr. Z. Nur BANOĞLU
Deney Hayvanları Etik Kurulu Başkanı

9. ÖZGEÇMİŞ

Ahmet Burak TÜRKİLİ, 1979 yılında Zonguldak'ta doğdu. İlkokulu Kilimli Merkez İlköğretim Okulunda, orta ve lise eğitimini ise TED Zonguldak Koleji'nde tamamladı. Üniversite eğitimine 1997 yılında Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde başladı ve 2003 yılında mezun oldu. Meslek hayatına 2003 yılında Türkili Eczanesi'ni açarak başladı ve halen devam etmektedir. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine 2006 yılında başladı. Zonguldak Eczacı Odası'nda denetim kurulu üyesi olarak 2009 yılında seçildi ve halen görev yapmaktadır.