

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ
ANABİLİM DALI**

Tez Yöneticisi
Dr. Öğr. Üyesi Hakan AKDERE

**KUANTUM IŞIN TEDAVİSİNİN TESTİS İSKEMİ-
REPERFÜZYONU ÜZERİNE OLAN KORUYUCU
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Canan KAPLAN

EDİRNE -2018



TEŞEKKÜR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık eğitimim süresince emeği geçen değerli hocalarım Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İrfan Hüseyin ATAKAN'a, Prof. Dr. Hakkı Mete ÇEK'e, Prof. Dr. Uğur KUYUMCUOĞLU'na Prof. Dr. Tevfik AKTOZ'a, Dr. Öğr. Üyesi Ersan ARDA'ya hem asistanlık eğitimimde hem tez sürecinde yoğun destek ve ilgisiyle beni yüreklendiren değerli tez hocam Dr. Öğr. Üyesi Hakan AKDERE'ye ve bütün çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
TESTİSİN EMBRİYOLOJİSİ	3
TESTİSİN ANATOMİSİ.	4
TESTİS TORSİYONU	9
İSKEMİ REPERFÜZYON (I/R) HASARI.	15
GEREÇ VE YÖNTEMLER	22
BULGULAR	27
TARTIŞMA	33
SONUÇLAR	37
ÖZET	38
SUMMARY	39
KAYNAKLAR	40
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

ATP	: Adenozin Trifosfat
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
eNOS	: Endotelyal Nitroz Oksit Sentezi
İ/R	: İskemi Reperfüzyon
MDA	: Malondialdehid
NO	: Nitrik Oksit
RDUS	: Renkli doppler ultrasonografi
ROS	: Reaktif Oksijen Radikalleri

GİRİŞ VE AMAÇ

Testis torsiyonu genelde çocukluk ve gençlik çağlarındaki erkeklerde görülür. Akut seyirli olan bu patolojinin olabildiğince erken tanı ve tedavisi gerekmektedir. İlk kez 1800'lerde tanımlanan testis torsiyonu acil müdahale gerektiren ürolojik hastalıklardan biridir. Çoğunlukla çocukluk ve adolesan çağında görülür. Yirmibeş yaş altı 4000 erkekte birinde testis torsiyonu görülmektedir. Başarılı bir cerrahi girişime karşın bu hastaların % 40'ında testiküler atrofi ve ilerleyen yıllarda infertilite gelişebilmektedir. Testis torsiyonu olan hastaların % 61'inin 21 yaşından küçük olduğu bilinmektedir (1). Testis torsiyonu insidansı biri neonatal dönem, diğeri de 13 yaş civarı olmak üzere 2 defa pik yapmaktadır. Görüldüğü en yüksek yaş 69 olarak bildirilmişse de yaşlılarda torsiyon oranı nispeten daha düşüktür (2).

Pediyatrik dönem akut skrotal hastalıkların ise %25-35'ini oluşturur. Tanı koymakta geç kalındığında testiste fonksiyon kaybı ve infertiliteye yol açabilir. Testiküler torsiyon sonucu oluşan iskemiye ve detorsiyon sonrası meydana gelen reperfüzyon hasarına bağlı testiküler hasar gelişmektedir. İskemi sırasında azalan oksijen miktarının metabolik ihtiyaçları karşılayamaması, hücrel enerji depolarında azalma ve toksik metabolitlerin birikimine bağlı olarak germ hücre ölümü gerçekleşir (1).

Reperfüzyon safhasında hem reaktif oksijen radikallerinde (ROS) hem de reaktif nitrojen türevlerinde ciddi artış olur (3). Bu serbest radikaller mitokondri ve hücre membranındaki lipidlerin peroksidasyonu yoluyla membran geçirgenliğinde artışa veya membran bütünlüğünde bozulmaya neden olurken ayrıca proteinlerin, enzimlerin ve buna bağlı olarak da Deoksiribo Nükleik asit (DNA)'nın hasar görmesine neden olurlar. Sonuçta iskemi nedeniyle oluşan germ hücre hasarı daha da artar.

Klinikte testis iskemi-reperfüzyon hasarı, torsiyone testisin cerrahi müdahale ile detorsiyonu sonucu ortaya çıkan patolojik bir durumdur (4). Torsiyone testis vakalarında tedavinin gecikmesi testis kaybı ve infertiliteye yol açabilmektedir. Erken müdahalelerde detorsiyon ile ilk 6 saat içerisinde testis % 90 korunabilirken geç kalınmış müdahalelerde bu oran 12 saat sonra % 50, 24 saat sonra ise bu oran % 10 lara kadar düşmektedir (5).

Bazı çalışmalar dokudaki iskemi-reperfüzyon (I/R) hasarından serbest oksijen radikallerinin sorumlu olduğunu göstermiştir (6). İskemi reperfüzyon hasarına uğrayan organlar üzerinde birçok terapötik ajanın koruyucu rolleri gösterilmiştir. Ayrıca barsak, kalp, karaciğer, böbrek, akciğer ve beyin gibi organlarda antioksidan sisteminin iyileştirilmesi, I/R hasarını önleme amacıyla kullanılmıştır (7). Ancak yapılan çalışmalar sonucunda torsiyona bağlı doku hasarının tam olarak önlenemediği ve günümüzde klinik pratikte kullanılabilecek bir terapötik ajan bulunmadığı bilinmektedir. Diğer yandan vücutta en kolay torsiyone olan organın testis olmasına rağmen, literatürde bu konu hakkında yeterince tatmin edici klinik çalışma bulunmamaktadır. Bu yüzden testis torsiyonunun tedavisi ile ilgili halen deneysel model çalışmaları devam etmektedir.

Kuantum ışın tedavisinin testis iskemi-reperfüzyonuna bağlı gelişen doku değişiklikleri üzerindeki koruyucu rolü üzerine kurulmuş çalışma literatür incelendiğinde bulunmamıştır. Biz de bu çalışma ile sıçanlarda testis iskemi-reperfüzyonu sonrası gelişen testiküler hasar morfolojisini patolojik olarak değerlendirip, oluşan hücre hasarını saptayarak kuantum ışın tedavisinin testis iskemi-reperfüzyonu sonrası tedavi edici etkisini araştırmayı planladık.

GENEL BİLGİLER

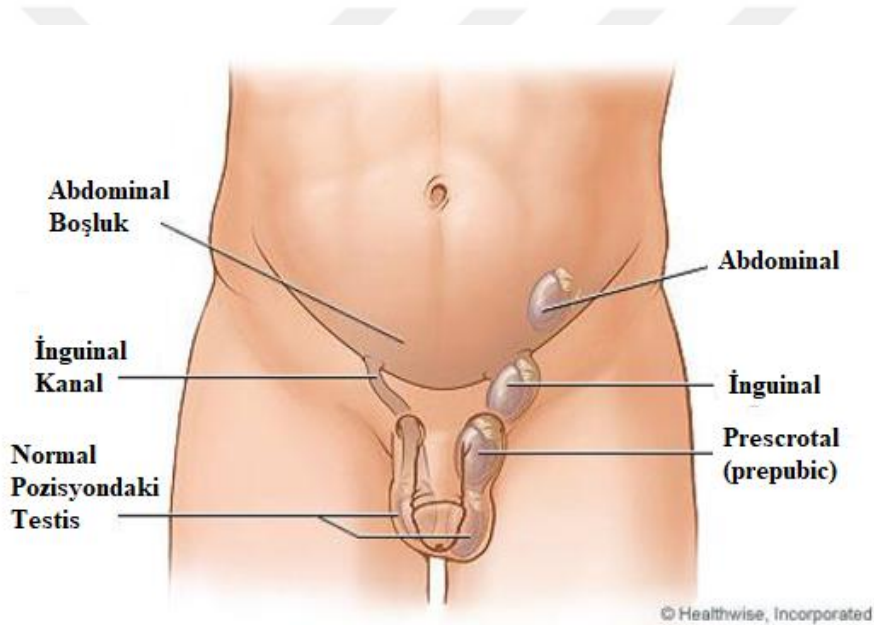
TESTİSİN EMBRİYOLOJİSİ

İkincil oosit ile fertilizasyona giren spermin taşıdığı genetik materyel ile oluşan embriyonun genetik cinsiyeti belirlenir (8). Primordiyal gonadın mezenkimal kısmı insan embriyosunun 10-12. dorsal segmentleri arasından gelişmekte iken bununla birlikte gelişimin üçüncü haftasındaki primordiyal germ hücreleri ise allantoisinin başlangıç yerine yakın bir yerde yolk kesesi duvarında ve endoderm hücreleri arasında ortaya çıkarlar. Bu primordiyal germ hücreleri beşinci haftanın başında amibik hareketlerle son barsağın mezenterinin dorsali boyunca ilerleyip primitif gonadlara ulaşır ve altıncı haftada tamamen genital kıvrımlara yerleşerek henüz farklılaşmamış olan fötal gonad, gebeliğin bu haftasında ortaya çıkmış olur. Farklılaşmamış gonadlar olarak adlandırılan her iki cinsin gonadları gebeliğin yedinci haftasına kadar benzerdir (9).

Gebeliğin yedinci haftasında ise gonadların erkek ya da dişiliğe farklılaşmaları XX, XY kromozom kompleksine bağlı olarak belli olur. Gebeliğin yedinci haftasının başında genetik olarak XY olan embriyoda primitif germ kordonları Y kromozomu üzerindeki testis belirleyici faktör etkisiyle hızla çoğalır. Gonadın medulla bölgesini dolduran bu kordonlar testis veya meduller kordonları oluştururlar. Bu kordonlar gonadın hilusunda ince ve daha küçük kordonlara parçalanıp ağ şekline dönüşerek “rete testis”i oluştururlar. Gelişim ilerledikçe testis kordonları yüzey epiteliyle olan ilişkilerini testisin üzerinde yer alan fibröz yapıdaki tunika albuginea sayesinde kaybederler. Kordonlar puberteye kadar kapalıdır. İşte bu dönemde lümen oluşarak seminifer tübüller belirir. Seminifer tübüller rete testis lümenine bağlandıktan sonra duktuli efferentes ile devam ederek Wolf kanalına dökülüp ductus

deferensi oluştururlar. İnterstisyel dokudaki mezenkimal hücrelerin 8-18. haftalar arasında hızlı değişimi sonucunda ortaya çıkan ve testisin %50'sini oluşturan Leydig hücrelerinin, gebeliğin ortasına gelindiğinde ve doğuma yaklaştığında sayıları giderek azalır (10,11).

Başlangıçta lomber bölgede bulunan testisler, üçüncü fütal aydan itibaren skrotuma doğru inişe başlarlar. Hipotezlere göre testisin inişinin iki evresi vardır: İlki transabdominal evredir. Bu evre androjenden bağımsız olan ve inişin anti mülleryan hormon etkisiyle olduğu evredir. Testis bu evrede karın arka duvarı boyunca inişe geçer; gebeliğin 17. haftasında iç inguinal halka hizasına gelir ve gebeliğin 28. haftasına kadar burada kalır (12). İkincisi ise inguinokrotal evredir. Testis bu evrede inguinal kanal yoluyla karın ön duvarını geçerek skrotuma iner. Testis gebeliğin yedinci ayından sonra inguinal kanalı geçmiş ve doğumdan hemen önce de gelişimini tamamlamış halde skrotumdaki yerini alır (Şekil 1).



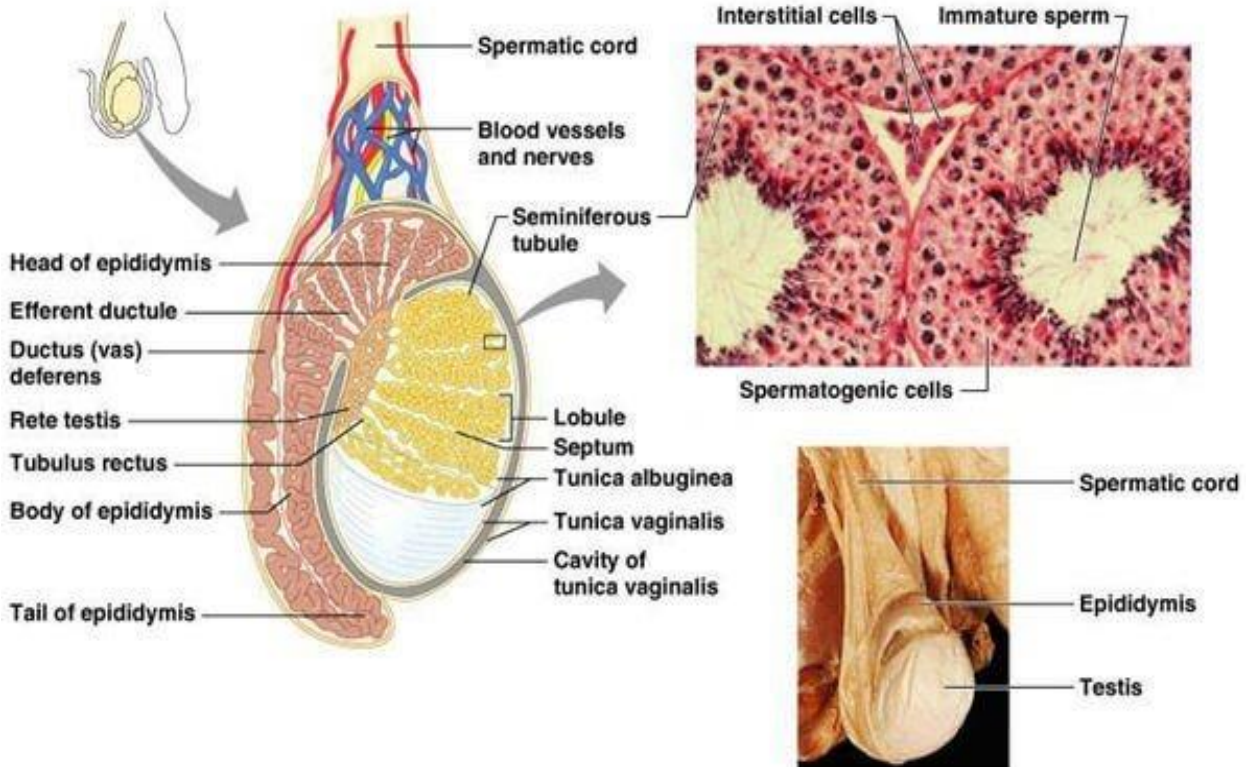
Şekil 1. Testisin iniş rotası (12)

TESTİSİN ANATOMİSİ

Erişkin bir erkeğin testisi ovoid şekilli olup 4x3, 5x3 cm boyutlarındadır ve her bir testisin hacmi 30 ml kadardır. Testisin 2/3 olan anterolateral bölümü serbest iken, posterolateral yüzü epididim, bağ dokusu ve damarlarla örtülüdür. “Mediastinum testis” olarak isimlendirilen kranioposterior kısmından ise seminal taşıyıcılar çıkar. Testis parankimi dıştan içe doğru, tunika vaginalis, ortada tunika albuginea ve en içte tunika vaskulosa olmak üzere 3 tabakadan oluşan bir kapsül ile sarıdır. Visseral ve parietal olmak üzere 2 tabakadan

oluşan Tunika vaginalisin visseral tabakası testisin her iki yanında ve ön yüzünde bulunur (13).

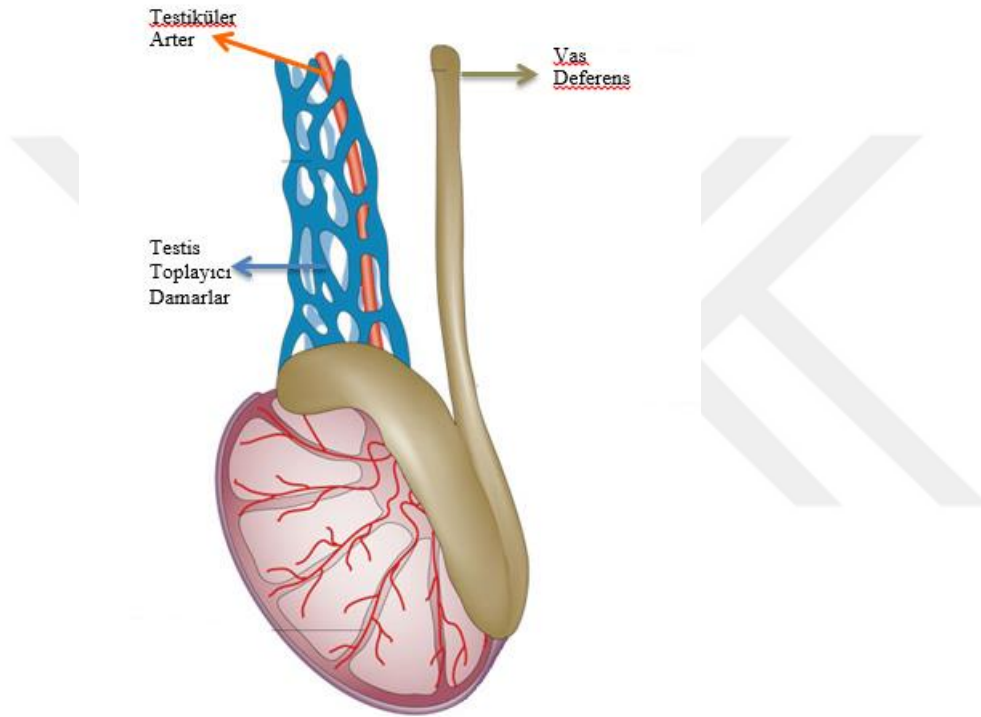
Parietal tabaka ise testisin alt kısmından üst kısmına doğru uzanır. Bu iki tabaka arasında potansiyel bir boşluk vardır. Bu boşlukta az miktarda seröz sıvı bulunur. Bu yapı ekstravaginal torsiyonun oluştuğu kompartmanı oluşturur. Tunika albuginea kalın, sert fibröz bir tabaka olup testis içeriğini sarar. Yapısında, esas olarak kollajen doku içine dağılmış çok sayıda, dallanmış, düz kas hücreleri vardır ve bu lifler otonomik innervasyon sonrasında kasılarak efferent duktuslara doğru sperm hücrelerinin hareket etmesinde yardımcı olur. Tunika albugineadan kaynaklanan septalar, seminifer tübülüsleri lobüllere böler (14). Tunika vaskulosa, tunica albugineanın hemen altında yer alır. Testisin septumlarının iç yüzünü örttüğünden dolayı kapsül aracılığıyla septalarla 250 kadar kompartmana bölünen testis kompartmanları etrafında uzanmaktadır. Her bir septum, interstisyel doku ve gelişmekte olan germ hücreleri içeren seminifer tübül ve en az bir sentrifugal arter içerir. Seminifer tübüller her iki ucu da sıklıkla rete testiste sonlanan "V" şeklinde tübüller olarak uzanırlar. İnsan testisinde yaklaşık olarak 600-1200 adet seminifer tübül bulunmaktadır (15)(Şekil 2).



Şekil 2. Testis anatomisi (14,15)

Testis Kanlanması

İnsan testis parankimi dakikada 100 mg doku için yaklaşık 9 ml kan ile beslenir (16). Testiküler arterler aortadan çıkarak retroperitoneal bölge boyunca internal inguinal ringe ulaşmak için yol alırlar. İnternal ring seviyesinde bulunan damarlar, genitofemoral sinirin genital dalı, ilioinguinal sinir, kremasterik arter ve vas deferens ile buluşurlar. Testiküler arter, testise girdiğinde internal arter, inferior testiküler arter ve epididimis başına giden kapital arter olmak üzere üç dala ayrılır. Bu dallanmanın seviyesi oldukça değişkenlik gösterip olguların %31-%88’inde inguinal kanal içinde oluştuğu bildirilmiştir (17) (Şekil 3) .



Şekil 3. Testisin kanlanması (17)

Testiküler arter, testisin ana damarı olan aortanın ön yüzünden ve böbrek arterinin yaklaşık iki-üç cm altından çıkıp retroperitoneumda ilerleyip internal inguinal ringe kadar spermatik kord yapıları arasına katılır. Tek veya dallara ayrılan testiküler arter, testis arka yüzüne ulaşır burada oblik biçimdeki tunika albugineayı geçerek ana dallara bölünerek ilerler ve seminifer tübüller arasında yer alan interlobüler arteriollerini oluşturur. Ana damar testiküler arter olmasına karşın, kremasterik, vazal ve epididimal arterlerle testiküler arter arasında birçok anastomoz görülebilmektedir. Testisin venöz drenajı ise kapiler ile başlar ve testis dışında “plexus pampiniformis”i meydana getirirler. Çoğunlukla internal ring seviyesinde bu venler birleşerek testiküler veni oluştururlar. Sağ testiküler ven, sağ renal venin dört-beş cm

kadar altından vena kava inferiora açılırken, sol testiküler ven ise sol renal vene direkt açılır. Sinirler genelde vasküler yapıları takip ederek testise ulaşırlar ve tunika albuginea dışında dallara ayrılırlar. Testis lenfatikleri, seminifer tübüller etrafında görülmeyen lenfatik kapillerlerle interlobüler septadan başlar. Daha sonra spermatik kordu takip ederek paraaortik, interaortokaval ve perikaval lenf düğümlerine açılırlar (18).

Testisin İnnervasyonu

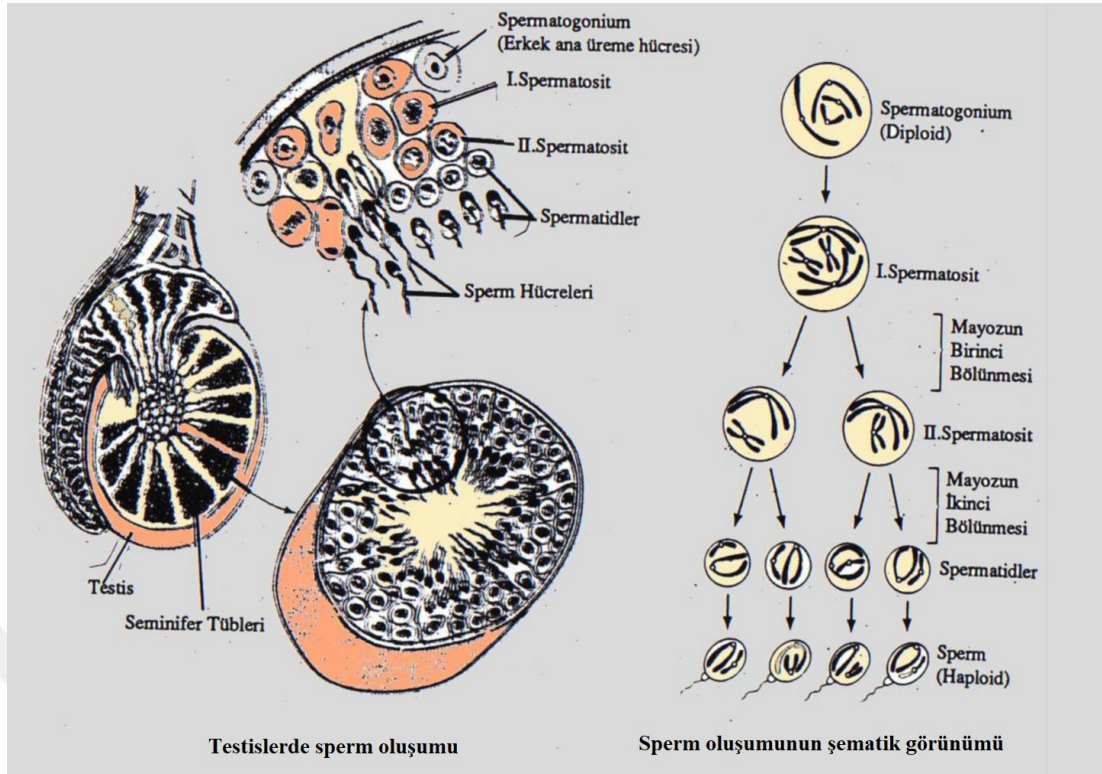
Testisin innervasyonu, süperior mezenterik arter ve renal arter seviyesindeki aortik pleksuslar ve kollateral ganglionlar ile ilişkili sempatik lifler ve genel visseral duyu lifleri ile sağlanır (17). Bu lifler testise testiküler arterler ile birlikte gelirler ve testise sempatik ve duysal innervasyon sağlarlar. Ağrı iletimiyle ilgili spinal kord seviyeleri, torasik ve splanknik sinirlerin çıktıkları T5-T12 seviyesidir. Genitofemoral sinirin genital dalı (L1-L2) inguinal kanala internal inguinal ringden girer. Bu dal kremasterik kasın innervasyonunu sağlar. İlioinguinal sinir (L1) krsta iliaka anterior süperior yakınında internal ve external oblik kaslar arasından çıkar, inguinal kanala girer ve en sonunda dış inguinal ringden çıkar. İlioinguinal sinir penis kökünün derisini, skrotumun üst tarafını, uyluğun üst medial bölümünü innerve eder (18).

İnterstisyel Doku ve Seminifer Tübüller

Testis dokusunun %25-30'u interstisyel dokudan oluşur ve bu dokunun intertübüler bölgesinde Leydig hücreleri, kan damarları, lenfatikler, sinirler, makrofaj ve mast hücreleri bulunmaktadır. Testesteron üreten Leydig hücreleri, ergenlikte ortaya çıkan santral konumlu, tek ve yuvarlak çekirdekli hücrelerdir (19). Testesteron ise kolesterolden sentezlenen, sekonder seks karakterlerinin gelişim yanında birçok endokrin görevi olan bir hormondur. Hipofizden salgılanan luteinizan hormon tarafından salınımı kontrol edilmektedir. Plazma testesteronunun yaklaşık %65'i androjen bağlayıcı protein olarak adlandırılan bir beta globüline, yaklaşık %33'ü ise albümine bağlı olarak bulunur (16). Spermatogenez, hipofiz kaynaklı luteinizan hormon ve folikül stimüle edici hormonlarının kontrolü altındadır (20). luteinizan hormon, normal spermatogenik hücrelerin gelişimi için Leydig hücrelerinin etkisi ile testesteron yapımını uyarır. Folikül stimüle edici hormon ise Sertoli hücrelerini etkileyerek adenilat siklazı ve sonuçta cAMP artışını uyarır. Böylece androjen bağlayıcı protein sentezi ve salınımı artar. Androjen bağlayıcı protein de testesteronu bağlayarak seminifer tübül lümenine taşır.

Seminifer túbüller, dışta miyoid hücreleri de içeren bağ dokusunun çevrelediği, belirgin bir bazal membran ile interstisyumdan ayrılan kanalcıklardır. Bu túbüller, sertoli hücreleri ve germ hücrelerini içerirler. Erişkin testisindeki Sertoli hücreleri, seminifer túbülün basal kısmından lümene doğru uzanan ve bölünme yeteneği olmayan destek hücreleridir. Seminifer túbüllerin hücresel yapısının %10-15'ini oluşturan sertoli hücrelerinin çekirdekleri düzensiz şekillidir ve oldukça belirgin nukleolusları ile germ hücre elemanlarından ayrılırlar. Pubertede ise Sertoli hücreleri arasında sıkı bağlantı kompleksleri oluşur. Kan ile gelen maddelerin lümen içerisine geçişini önleyen en önemli yapı bu kan-testis bariyeri kompleksidir (19).

Sertoli hücreleri fagositoz kapasiteleri dışında; spermatogenezin düzenlenmesinde rol oynayan androjen bağlayıcı protein, transferrin, büyüme hormonu, seruloplazmin ve inhibin gibi pek çok maddenin sentezinde de görev almaktadır. Seminifer túbüllerde yer alan ikinci grup da germ hücreleri olan spermatogenetik hücrelerdir. Spermatogenetik hücreler, birbirleri üzerine sıralanmış farklı gelişim aşamaları gösteren hücrelerdir. Bunlardan basal membrana en yakın olanları spermatogonyumlar iken; lümene en yakın olanlar spermatidlerdir. Lümente ise spermiyumlar bulunur. Germ hücreleri insanda olgunlaşmasını 64 günde tamamlayan ve çoğalabilen hücrelerdir. Basal membrana oturan spermatogonyumların bir kısmı kök hücreleri oluştururken, bir kısmı da mitoz ile bölünerek lümene doğru göç ederler ve spermatositlere dönüşürler. Primer spermatositlerin 1. mayoz bölünmesi ile sekonder spermatositler oluşur. Bu mayoz ile diploid kromozumlu primer spermatosit, haploid kromozoma inmiş olur. Sekonder spermatositlerin 2. mayoz bölünmesi sonucunda ise spermatidler oluşur. Bu hücreler haploid kromozom ve DNA içeriğine sahiptir. Spermatidlerin farklılaşarak hareketli spermatozoonlara dönüşmesine spermatogenezis denir (21)(şekil 4).



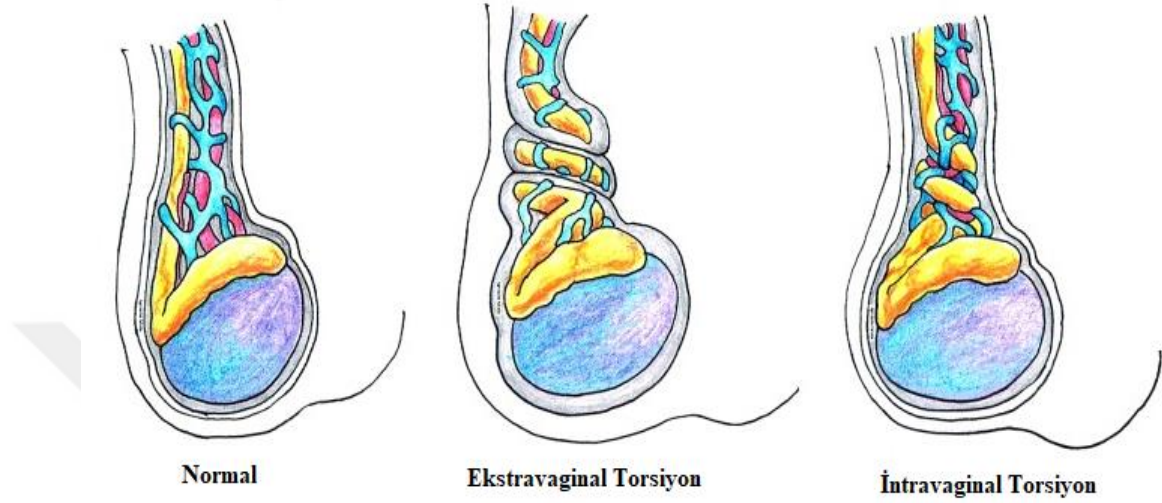
Şekil 4. Spermatojenesis (21)

TESTİS TORSİYONU

Yeni başlayan ağrı, şişlik ve/veya intraskrotal hassasiyet akut skrotum olarak adlandırılır ve ürolojide sık görülen bir patolojidir. Akut skrotal ağrı ile ilişkili hastalıkların bulguları ve semptomları geniş farklılıklar göstermektedir. Bazı klinik özellikler diğerlerinden daha güvenilir olmasına rağmen klinisyenin tanı ve tedavi aşamasında olabildiğince hızlı ve doğru kararlar vermesi oldukça önemlidir. Hastanın hikayesinde potansiyel önem taşıyan ağrının başlangıcı, niteliği, süresi ve yoğunluğudur. Acil cerrahi olarak tedavi edilen geniş serilerde apendiks testis torsyonu en yaygın tanıdır (%40-60). Ardından ise %20-30 arasında spermatik kord torsyonu gelmektedir (22). Testise kan akışının azalması veya kesilmesi ile spermatik kord torsyonu, yatkınlığı olan bireylerde görülebilir. Travmanın ya da aşırı egzersizin, torsiyonu başlatan bir etken olabileceği düşünüldüğü gibi kremaster veya dartos kaslarının kasılması da torsiyonu başlatan bir etken olabilir. Torsiyonda ana patoloji testiste ödeme ve ağrıya yol açan venöz tıkanıklıktır. Ancak bu venöz tıkanıklık testisin tunikası elastik olmadığından arteriyel dolaşımı bozarak tıpkı diğer dokularda olduğu gibi testiste de hipoksiye neden olur. Deneysel çalışmalarda testiküler iskemiye en duyarlı olan hücrelerin başta spermatogonia ve spermatositler olmak üzere germ hücreleri olduğu gösterilmiştir (Şekil 5).

Testis Torsiyonu Sınıflaması

Başlıca 2 çeşit testis torsiyonu sınıflaması vardır: İnvaginal testis torsiyonu, testisler tunica vaginalis içinde döndüğünde olurken; ekstravaginal testis torsiyonu tunica vaginalisin skrotum içinde fiksasyonundan önde daha çok perinatal dönemde meydana gelir.



Şekil 5. Testis torsiyonu anatomik yapısı (22)

Akut invaginal testis torsiyonu: Spermatic kord torsiyonunda kimi predispozan faktörler bulunmaktadır. Anatomik bir varyasyon olan çan tokmağı deformitesi, soğuk hava, kremasterik refleks aktivasyonu ile ani hareket ve inmemiş testis varlığı bunlardan bir kaçıdır (23).

İnvaginal testis torsiyonu her genç erkekte olabilmesine rağmen, olguların pik yaşı 12 ila 16'dır. Olguların %86-93'ü 10 yaşından sonra ve postpubertal erkeklerdir (22).

Torsiyon kliniği, uzun spermatic korddan dolayı sol testiste daha sık görülür ancak çok nadiren bilateral testis torsiyonu da bildirilmiştir. Klasik olarak hastanın torsiyon ile ipsilateral tarafta, istirahat halinde, aktivite veya spor ile veya uyku sırasında oluşabilen ani, şiddetli skrotal ağrı şikayeti ön plandadır. Bu klinik prezentasyon dışında da hasta ile karşılaşılabilir. Çoğu retrospektif seri, özellikle 6 saat içinde başvuran hastalarda diğer intraskrotal patolojilerden daha muhtemel olarak testiküler torsiyon olabileceğini bildirmektedir. Bulantı ve kusma invaginal testiküler torsiyonlu hastaların %10 ila 60'ında eşlik etmektedir. Skrotal ödem ve eritem, torsiyonun süresine ve derecesine bağlı olarak eklenebilmektedir. Ayrıca dizüri ve ateş de klinikte karşılaşılabilecek diğer ek bulgulardır (22).

Fizik muayenede yaygın skrotal hassasiyet ve kremasterik refleks yokluğu sıklıkla izlenen bulgulardır. Bu refleks normal olarak genitofemoral refleks arkının oluştuğu 2 yaşından büyük çocuklarda mevcuttur. İç uyluğun çizilmesi sonucu ipsilateral testisin skrotum içerisinde eleve olması olarak tanımlanabilir ve testis torsiyonunun ekarte edilmesinde değerli bir bulgudur. Normal bir kremasterik refleks, testiste bozulmamış kan akışı ile korele edilir ancak kesin olarak normal testiküler perfüzyonu gösterdiği söylenemez. Bazı vakalarda, testisin normal skrotal pozisyonundan eleve olması, anormal yatışı, anterior epididimal pozisyon, dönmeyi düşündüren kord kalınlaşması, testiküler endurasyon, testis ve epididim arasındaki sınırın kaybı, skrotal ödem ve eritem mevcuttur ancak hastanın yaşına ve torsiyon süresine bağlı olarak bulguların hepsinde değişiklikler izlenebilir. Tanı aşamasında idrar tahlili, eşlik eden patolojilerin saptanmasında anlamlı bir testtir. Ek patolojilerin varlığında hematüri veya piyüri varlığı izlenebilir. Skrotal görüntüleme rutin pratikte son yıllarda daha fazla yer tutmaktadır. Radyonüklid incelemeler, tecrübe ve geniş zaman gerektirdiğinden pek tercih edilmezler. Renkli doppler ultrasonografi (RDUS), testiküler anatomi ve intraparenkimal perfüzyonu göstermede oldukça başarılı ve pratik bir yöntemdir. Yerleşmiş bir torsiyon kliniğinde RDUS'da azalmış veya hiç olmayan doppler dalgaları, parenkimal heterojenite ve diğer testis ile yapılan kıyas yüksek oranda tanıyı koydurmaktadır.

Renkli doppler ultrasonografi ile halen tanınamayan olgularda yüksek çözünürlüklü ultrasonografi de yüz güldürücü sonuçlar verebilmektedir (24). Renkli doppler ultrason ve daha yakın zamanda kullanılmaya başlanan yüksek çözünürlüklü ultrasonografinin artan erişilebilirliği ve acil kullanılabilirliğine rağmen torsiyonun yokluğunun teyidi için yönetim stratejisi selektif cerrahi eksplorasyona doğru kaymıştır. Günümüzde çoğu cerrah, görüntüleme yöntemleri ile birlikte geliştirilen bu yönetim stratejisinden ziyade halen acil cerrahi eksplorasyona güvenmektedir. Gerçekten de çoğu seri, eksplorasyonun gecikmesi nedeniyle testisin kaybedildiği atipik olgular bildirmektedir. Bu yüzden bulgular, spermatik kord torsiyonu için destekleyici veya kuşkuolu olduğunda acil skrotal eksplorasyon endikedir. Bazı klinisyenler, intravaginal testislerin dönmesinin medial yönde oluştuğunu varsayarak manuel detorsiyon önermektedir. Ancak torsiyon için yapılan 186 cerrahi çalışma ile ilgili verilerin retrospektif incelenmesinde lateral torsiyonun %33 oranında görüldüğü ve manuel detorsiyon ile vakaların %32 'sinde torsiyonun tamamen giderilemediği bildirilmiştir (25). Bu manevranın denenebilmesine rağmen testislerin kesin detorsiyonu ve fiksasyonu için ameliyathaneye transferin geciktirilmemesi önerilmektedir. Anestezi indüksiyonundan sonra etkilenen testise ilk olarak hemiskrotal transvers veya midskrotal insizyon ile yaklaşılır. Tanımlama yapıldıktan sonra, cerrah detorsiyonu gerçekleştirir, korddaki torsiyon sayısını ve

çan tokmağı varlığını kontrol eder. Detorsiyon sonrası testis, renk değişimi açısından kontrol edilir. Etkilenen testisin çıkarılmasında şüphesiz renk değişimi çok önemlidir ancak her vaka hastanın yaşına ve torsiyon süresinin uzunluğuna göre ayrıca değerlendirilir. Bir RDUS probu veya tunika albuginea insizyonu ile kanamanın değerlendirilmesi, intratestiküler kanlanmanın görülmesinde kullanılabilir ancak bu manevranın testisin yaşayabilirliğini ön görmesi tartışmalıdır. Kutikov ve ark. (26) gözlemledikleri iyileşmiş görünüm, tunika albuginea detorsiyonu ve insizyonundan sonra düşük intraparenkimal basınca dayanarak, bu kompartman sendromunun testisteki yaralanmaya katkıda bulunabileceğini bildirmişlerdir. Cerrahi detorsiyon sonrasında yaşayamaz şekilde görülen testislerin genel orşiektomi sıklığı %30 ila %70 arasında değişmektedir (27). Ayrıca orşiektomiye giden olgularda spermatik korddaki rotasyonun median değerinin 540 derece olduğu, testislerin kurtarıldığı olgularda ise 360 derece olduğu bildirilmektedir (28). Orşiopeksi veya orşiektominin nihai testiküler fonksiyonu maksimize etmekte üstün sonuçlar sağladığına dair hiçbir klinik kanıt yoktur. Bununla birlikte detorsiyon sonrasında perfüzyon yönünde klinik bir işaret görülen tüm olgularda testisi korumak için maksimum gayret gösterilmelidir. Ayrıca cerrah, intraoperatif alınan biopsiler ile nekroz varlığını ve geride bırakılan testisin yaşayabilirliğini saptayabilir. Detorsiyon sonrasında testisin intraskrotal fiksasyonu bilateral yapılmalıdır. Kontralateral bir çan tokmağı deformitesi genellikle eşlik eder ve metakron torsiyona neden olabilir. Ayrıca fiksasyonda kullanılacak subdartal bir poş ile tunika vaginalisin obliterasyonunu önlemek daha kolay bir yaklaşımdır. Testiküler volum kaybının varlığı ve derecesini belirlemek için hastanın en az 6 ay takibi gereklidir. Bu hastaların uzun vadeli takipleri ve prognozlarının izlemi ise oldukça zordur. Testiküler kurtarma oranlarının incelendiği 1140 hastada orşiektomi riski ağrının başlangıcından sonra 0-6 saat, 7-12 saat, 13-18 saat, 19-24 saat, 24 saatten fazla ve 48 saatten fazla için sırasıyla yaklaşık %5, %20, %40, %60, %80 ve %90 olarak bildirilmiştir (25).

Bununla birlikte bireysel serilerden edinilen veriler en azından kısmi testiküler atrofinin ağrı başlangıcından sonra 4 saatten az bir süre içinde operatif detorsiyon geçiren hastalarda nadir olmadığını düşündürmektedir. Yani testis detorsiyon sırasında yaşayabilir görünse bile iskemiye bağlı hasar hızla gelişebilir. Kısmi testisküler hacim kaybı bile testiste önemli spermatogenez kaybını yansıtabilir. Ne yazık ki bu hastaların izleminde yapılan çalışmalarda heterojen, sınırlı semen analizi ve minimal paternite verileri mevcuttur. Doğumsal monorşizimli erkekler ile karşılaştırıldığında, testis torsiyonuna bağlı orşiektomi geçiren olguların fertilitite potansiyellerinin daha düşük olduğu düşünülmektedir. Bunun bir otoimmün fenomen ile ilişkili olabileceği hipotezi ise torsiyonlu bireylerde antisperm

antikorlarının analizi ile desteklenememiştir (29). Bu noktada intravaginal testisküler torsiyonlu olgularda oluşan hasarın derecesinde I/R hasarı da güncel bir noktadır.

İntermitan intravaginal testis torsiyonu: Akut spermatik kord torsiyonu ile prezente olan hastaların %30 ila %50 'si kadarı, daha önce de benzer skrotal ağrı atakları yaşadıklarını bildirmektedirler. Bu ataklar da tipik olarak hızla başlar ve hızla çözülür özelliindedir. Sonuç olarak intermitan torsiyon tanısı konulan vakaların retrospektif çalışmasında ağrı ataklarının frekansının, çocuklarda ve yetişkinlerde nihai persistan torsiyon ve testis kaybı riski ile korele olduğu gözlemlenmiştir (30). Bu grup hastaların doğru tespiti ve tedavisi, semptomlarının ataklar halinde gelmesi ve sonrasında gerilemesi nedeniyle oldukça zordur. Torsiyon-detorsiyon vakalarında doğru tanının mümkün olamayacağı bilgisi ile birlikte, kısa süre içinde elektif bilateral orşiopeksi yapılması önerilmektedir.

Akut ekstravaginal testis torsiyonu: Perinatal testiküler torsiyon olarak da adlandırılır. Bu durum; spermatik kord, skrotum içinde tunika vaginalis ve dartos arasında fiksasyon sağlanmadan önce testis, kordun tamamı ve tunika vaginalisin rotasyonu nedeniyle oluşur. Doğumdan önce daha yaygındır ve zamanlamaya bağlı olarak kriptorşidizm için değerlendirilen bir çocukta nonpalpabl testis veya ilk postnatal muayeneden sonra anormal bir skrotal testis olarak ortaya çıkabilir. Perinatal torsiyon, hayatın ilk ayı içinde de meydana gelebilir ancak ekstravaginal torsiyonun standart bulguları doğumdan sonra 9. aya kadar görülemeyebildiğinden neonatal testiküler enfarktüs vakaları spermatik kord torsiyonu olmayan intravaginal torsiyona atfedilebilir. Perinatal torsiyonun meydana gelmesi, olayın gerçekleşme zamanına bağlı olarak değişkendir ve sinsi olabilir. Ayrıca hastalığın seyrekliği nedeniyle eldeki verilerin çoğu küçük retrospektif serilere dayanır. Doğum esnasında testiküler endurasyon, ödemli veya ödemsiz skrotal eritem veya koyu renk değişiklikleri klinik açıdan anlamlı olabilir. Bebek genelde asemptomatiktir ve bazen skrotal hassasiyet duruma eşlik edebilir. Muayeneyi daha da karmaşık hale getiren bir hidroselin varlığı da olasıdır. Eski tarihli iki büyük retrospektif çalışmada vakaların bilateralite oranları %5 ve %22 olarak bildirilmiştir (31,32). Testis görüntülemesinin şüpheli perinatal torsiyon vakalarında kullanılabilir olmasına rağmen, güvenilirliği kuşkuludur. Tanısı kadar bu hastalığın tedavisi de tartışmalı olmaya devam etmektedir. Bazı cerrahlar, perinatal elektif eksplorasyon ve kontrateral orşiopeksinin uygulanabilecek en iyi yöntem olduğunu düşünmektedirler. Ancak sadece acil cerrahi uygulanabilen vakalarda testisin kısmen veya tam korunması mümkün olabilmektedir.

Testis Torsiyonu ve Fertilite

Testisler, serbest oksijen radikallerinin hasarına karşı oldukça duyarlı organlardır. Oksidatif stres varlığında ciddi şekilde hasar gören germinal hücreler apoptozis yoluna girerler. Torsiyona sekonder gelişen oksidatif stres, germinal hücrelerde nekroza yol açıp hayatın ileri dönemlerinde infertilite sorununa neden olabilir (33). Yapılan çalışmalarda torsiyon öyküsü olan hastaların ortalama %36'sında oligospermi gözlenmiştir. Geç kalınıp orşiektomiye giden olgularda da fertilitenin daha yüksek oranda bozulduğuna dair yayınlar mevcuttur (34).

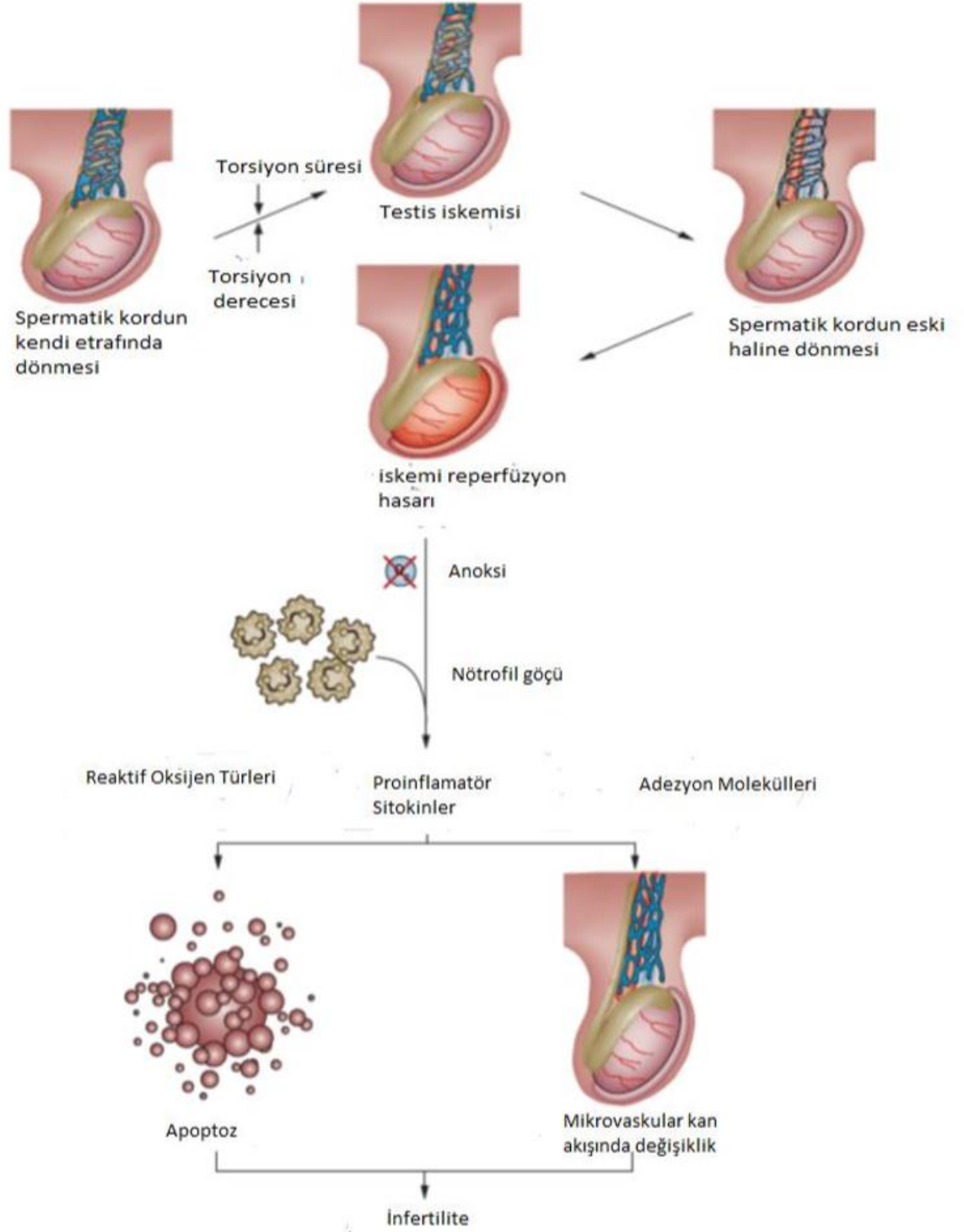
İskemik ve Hipoksik Hasar

İskemi, klinik pratikte en sık görülen hücre zedelenmesi nedenidir. Anaerobik glikoliz ile enerji üretiminin devam edebildiği hipoksinin aksine; iskemide glikoliz için gerekli maddelerin ortama getirilmesinde de sorun vardır. Bu yüzden iskemik dokularda potansiyel substratlar tükendiğinde veya normalde kan akımıyla uzaklaştırılacak metabolitler glikolizi inhibe ettiğinde anaerobik enerji üretimi de durur. Dolayısıyla iskemi, dokuları hipoksiden daha hızlı zedeler. Oksijensiz hücrelerdeki biyokimyasal ve yapısal değişiklikler başlıca şöyle sıralanabilir: Hipoksik hücrelerde, hücre hasarına neden olan asıl biyokimyasal anormallik, azalan oksijen nedeniyle hücre içinde Adenozin Trifosfat (ATP) üretiminin düşmesidir. ATP'nin kaybı, membranlardaki iyon pompalarının kaybı, glikojen depolarının boşalması ve laktik asit birikimi ile hücre içi pH azalması ve protein sentezinin aksamasına neden olur. Bu dönemde fonksiyonel sonuçlar ağır olabilir. Örneğin bu olay kalp kası hücresinde meydana geldiğinde koroner tıkanıklıktan 60 saniye sonra kalp kası kasılamaz duruma gelir. Hipoksi devam ederse; derinleşen ATP eksikliği, bozuklukların daha da artmasına, mikrovillusların kaybına ve kabarcıklar oluşmasına neden olur. Bu dönemde hücrenin tümü, organelleriyle birlikte belirgin olarak şişmiş, su, sodyum ve klor konsantrasyonları artmış; potasyum konsantrasyonu azalmıştır. Yeniden oksijen sağlanması durumunda bu dönemdeki tüm değişiklikler geri dönüşümlüdür. Ancak iskemi devam ederse, bu kez geri dönüşümsüz zedelenme ve nekroz meydana gelir. Geri dönüşsüz zedelenmede mitokondrilerin ileri derecede şiştiği, lizozomların şiştiği, plazma membranlarında ağır hasar olduğu görülür. Hücre içine yoğun kalsiyum girişi görülebilir. Ölüm, genellikle nekroz yoluyla ancak apoptozisin de payı vardır. Apoptotik yolak, muhtemelen yapısı bozulan mitokondrilerden sızan pro-apoptotik moleküller tarafından aktive edilir. Hücre bileşenleri ilerleyici biçimde parçalanır ve hücre içi enzimler hücreler arası alana yayılır. En sonunda, ölü hücrelerin yerini fosfolipidlerden oluşan büyük kitleler halindeki miyelin figürleri alır. Bunlar

daha sonra lökositler tarafından fagosite edilir veya kalsifiye olabilecek yağ asitlerine parçalanır (35).

İSKEMİ REPERFÜZYON (I/R) HASARI

Hücrenin geri dönüşümlü hasarında, kan akımının yeniden sağlanması, hücre iyileşmesi ile sonuçlanabilir. Ancak; bazı durumlarda iskemik fakat canlı olan dokuların reperfüzyonu, paradoksal olarak hasarın artmasına ve hızlanmasına yol açar. Bunun sonucunda, dokularda iskemik dönemin sonunda geri dönüşsüz hasara ek olarak hücre kaybı da yaşanır. I/R hasarı olarak adlandırılan ve klinik olarak önemli olan bu süreç, özellikler kalp ve beyin gibi hayati organların infarktüsünde önemli rol oynayabilir. İskemik dokunun reperfüzyonunun hücre hasarını arttırmasında birkaç mekanizma vardır: Yeni hasar, reoksijenizasyon sırasında paramkimal ve epitelyal hücrelerden ve infiltre olan lökositlerden daha çok ROS üretilmesi ile sonuçlanabilir. Gelen oksijen miktarı arttığında; özellikle mitokondri zedelenmesi oksijenin tam olarak redükte edilememesine neden olduğundan ve oksidazların lökositler, endotel hücreleri ve parenkimal hücreler üzerindeki etkilerinden dolayı ROS miktarında da buna karşılık bir artış olabilir. Hücrenin antioksidan savunma sistemleri de iskemiden olumsuz etkilenmiş olabileceğinden, serbest radikallerin birikimi kolaylaşır. İskemik zedelenmeye eşlik eden inflamasyon, ortama daha çok lökosit ve plazma proteini geleceğinden, reperfüzyonla artabilir. Aktifleşen lökositlerin ürünleri, daha fazla hücre zedelenmesine neden olabilir. Kompleman sisteminin aktivasyonu da I/R zedelenmesine katkı yapabilir. Bilinmeyen nedenlerle, bazı antikorlar iskemik dokulara çökmeye yatkındırlar. Kan akımı yeniden sağlandığında, kompleman proteinleri biriken antikorlara bağlanır, aktifleşir ve hücre zedelenmesi ile inflamasyonu arttırırlar (36)(Şekil 6).



Şekil 6. Testis torsiyonunun patofizyolojisi (36)

I/R Hasarının Patofizyolojisinde Rol Oynayan Sistemler

ROS: Serbest radikaller, bir ya da daha çok sayıda çiftleşmemiş elektron içeren atom ya da atom gruplarıdır. Kan akımı ve oksijen sağlanmasının restorasyonu ile büyük miktarlarda ROS üretilerek reperfüzyon hasarı indüklenir (37). Organizmada ROS'lar ortaya

çıktıktan sonra radikal reaksiyon dizileri başlar. Eğer bir serbest radikal, radikal olmayan bir molekülle reaksiyona girerse, binlerce reaksiyondan oluşan reaksiyon zincirlerini başlatır. ROS'lar paylaşılmamış elektronlarından dolayı lipid, protein, karbonhidrat, nükleik asit gibi çeşitli makromoleküllerin oksidatif hasarına neden olurlar.

Nötrofiller: İskemi sonrasında damar endotelinin hasar görmesi ile nötrofil ve trombosit aktivasyonu meydana gelmektedir. I/R alanına gelen nötrofiller, bu bölgede ROS üretirler ve ortaya çıkan ROS'lar antiproteazları inaktive eder. Sonuçta, lizozomlardan proteolitik enzimler salınarak hasar oluşur. Ayrıca nötrofiller de uyarılmaları sonucunda esnek yapılarını kaybederek mikrosirkülasyonda kalır ve embolizasyona neden olurlar.

Kalsiyum: Reperfüzyon sırasında hücre ve organelleri içinde aşırı Ca iyonu birikimi ciddi doku hasarı gelişiminin en önemli nedenidir. İskemide ortaya çıkan hücre membran hasarı ve gradient farkı nedeniyle kalsiyum hücre içine girer. Dışarıdan kalsiyum girişinin yanısıra, endoplazmik retikulum da I/R hasarına bağlı membran zedelenmesi sonucu içerdiği kalsiyumu sitoplazmaya bırakır. Normal koşullarda hücre için yararlı olan kalsiyumun reperfüzyon sonrasında hücre içinde aşırı miktarda birikmesi sonucu ortaya çıkan hasara kalsiyum paradoksu denilmektedir (38). Artan hücre içi konsantrasyon, ATPaz enziminin inaktivasyonuna neden olur. Böylelikle iskemide zaten azalmış olan ATP depoları daha da boşalır. Hücrede litik ödevi olan birçok enzimin kalsiyum tarafından aktive edilmesiyle hücre yıkımı başlar. Membran fosfolipidlerinin, aktive olan fosfolipaz tarafından parçalanması sonucu ise hücre bütünlüğü bozulur. İskemi sonrasında endotel ve hücre zarı fonksiyonlarının bozulmasıyla hem hücre içinde, hem de hücre dışında ödem görülür. Endotel hücrelerinde şişme ile damar dışı boşluğa sızan sıvının neden olduğu bası sonucu kapiller damar lümeni daralır ve sonuçta reperfüzyon olsa da mikrosirkülasyonda ciddi yetersizlikler ortaya çıkar. Reperfüzyon ile iskemide bozulmuş mikrosirkülasyonun tam olarak düzeltilmemesine “no-reflow” olayı denir (39).

Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış yörüngesinde tek ve paylaşılmamış olan elektron taşıyan kimyasal ürünlerdir ve bu durumdaki enerji bir takım tepkimelerle açığa çıkmaktadır. Bu tepkimeler de organizmanın temel yapı taşları olan proteinler, karbohidratlar, lipidler ile inorganik kimyasallar gibi komşu moleküllerle olan tepkimelerdir (40). Serbest radikaller, hücre membranları ve nükleik asitlerin yapısında yer alan anahtar moleküllerdir. Biyolojik ve hücre kaynaklı olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar. İskemi, oksidatif stres yapıcı bir durum olup hücre kaynaklıdır. Serbest radikaller, hücrelerin lipid, protein, DNA,

karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler ve ayrıca mitokondrideki aerobik solunumu ve kapiller permeabiliteyi bozup, trombosit agregasyonunu arttırıp, hücrede potasyum kaybının olmasına neden olurlar (37).

Membran lipidlerine etkileri: Serbest radikaller tarafından başlatılan ve zar yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan kimyasal olaylar bütünüdür. Bu kimyasal olaylar sonucunda membran lipid yapısı değişir, hücre yapı ve fonksiyonları bozular. Lipid peroksidasyonu başlangıç, zincir gelişimi ve sonlanma olmak üzere üç aşamada gerçekleşir. Lipid peroksidasyonunun başlaması organizmada oluşan kuvvetli oksitleyici bir radikalın, zar yapısındaki çoklu doymamış yağ asidi zincirindeki alfa metilen gruplarından hidrojen atomunu uzaklaştırmasıyla olur. Bu şekilde oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşik olup bir dizi değişikliğe uğramaktadır (41). Asıl etkili radikalın hidroksil radikali olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda demir iyonlarının da lipid peroksidasyonunda önemli rolü vardır. Lipid radikalının moleküler oksijenle reaksiyona girmesiyle zar yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumunu sağlayıp bu durum sonunda ise lipid peroksid radikalleri meydana gelmektedir. Lipid peroksid radikalleri de kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerine dönüşmektedir. Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin aldehid ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesiyle sona erer. Bu bileşiklerden biri malondialdehid (MDA)'dir. MDA, lipid peroksidasyonunun son ürünü olması açısından, ROS tarafından oluşan lipid peroksidasyonunun güvenilir bir göstergesidir (42). MDA hücre zarından kolay difüze olur ve hücre içinde lipofuksin şeklinde sitoplazmada birikir. MDA miktarı, tiyobarbitürik asid testiyle ölçülmektedir ve bu yöntem lipid peroksid düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. MDA proteinlerin amino gruplarına, fosfolipidlere veya nükleik asidlere bağlanarak kendi toksik etkisini gösterir.

Membranda lipid peroksidasyonu sonucu:

1. Membran transport sistemi bozular.
2. Hücre içi ve hücre dışı iyon dengeleri bozular.
3. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artar ve buna bağlı olarak proteazlar aktive olur
4. Hücre içi organellerde oluşan lipid peroksidasyonu ve litik enzimlerin salgılanmasına bağlı hücre hasarı gelişir.

Proteinlere etkileri: Proteinlerin oksidasyonu, reaktif oksijen/nitrojen türevleri veya diğer oksidan metabolitlerle kovalent modifikasyonu sonucu gerçekleşir (43). Protein oksidasyonunun biyokimyasal sonuçları şu şekilde sıralanabilir. Enzim aktivitesindeki

azalma, protein agregasyonu, proteolize artmış ya da azalmış yatkınlık, protein fonksiyonlarının ve proteaz inhibitör aktivitenin kaybı, reseptör aracılı endositozun bozulması, gen transkripsiyonundaki değişimler, immünojen aktivitedeki artıştır (44). Serbest radikallerin proteinlerdeki oksidasyonuna tiyol gruplarının yol açtığı ve bunun da protein oksidasyonunun en erken gözlenebilen belirtisi olduğu bilinmektedir.

Nükleik asitler ve DNA'ya etkileri: Serbest radikaller, iyonize edici radyasyonla oluşurlar ve DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar (45). Sitotoksiste, büyük oranda, nükleik asid baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır.

Karbonhidratlara etkileri: Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Monosakkaritlerin ootoksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehidler oluşurlar. Oluşan bu Okzoaldehidler DNA, ribonükleik asit (RNA) ve proteinlere bağlanmaları ve bunlarla aralarında çapraz bağlar oluşturmaları gibi özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler (46).

Oksidatif Stres, Nitrik Oksit (NO) ve Nötrofiller

Organizmada serbest radikallerin oluşumu ve ortadan kaldırılmaları arasında sürekli bir denge vardır. Buna oksidatif denge denilmektedir. Bu denge sürdürülebildiği zaman serbest radikallerin herhangi bir patolojik etkisi oluşmamaktadır. Fakat serbest radikallerin oluşmaları aşamasında oluşum hızlarında artış veya ortadan kaldırılma hızında bir azalma olduğunda oksidatif stres denilen süreç gözlenmekte ve bu durum doku hasarı ile sonuçlanmaktadır (47). ROS oluşumunda nötrofiller, oksidatif ve nitrostatif sistemle etkileşerek önemli rol oynarlar. ROS; hidrojen peroksit, hidroksi radikaller, süperoksit anyonları, NO ve toksik ürünleri, hücre ve mitokondriyal membranlarda lipid peroksidasyonuna yol açar ve bunun sonucunda membran geçirgenliği değişir, yapısı bozulur, protein denaturasyonu ve DNA hasarını takiben hücre ölümü gerçekleşir. İskemiye maruz kalan dokuda başlayan kimyasal reaksiyonlar sonucunda hücresel disfonksiyon ve nekroz gelişir, hücresel enerji depoları boşalır ve toksik metabolitler birikerek hücre ölümü meydana gelir. Hücre ölümünün gerçekleşmemesi için dokuya yeniden kan akımı gereklidir. Ancak, iskemik dokunun reperfüzyonu paradoksal olarak doku hasarına yol açar. Reperfüzyon döneminde başlayan reaksiyonların sitotoksik oksidanlarla ilişkisinin daha ciddi olduğu bildirilmiştir. İskemik dokunun reperfüzyonu, arteriyollerde endotel bağımlı dilatasyonun bozulmasına, kapillerde lökosit tıkaçlarının oluşmasına ve sıvı filtrasyonunun artmasına sebep olurken ayrıca postkapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına sızması ve böylece

mikrovasküler fonksiyonun bozulmasına sebep olur. Reperfüzyonda, mikrosirkülasyonun tüm segmentlerinde aktive edilmiş endotel hücrelerinden fazla miktarda oksijen radikali oluşur ve NO oluşumu azalır. Süperoksit radikaliyle NO arasındaki dengenin bozulması sonucunda endotel hücrelerinden trombosit aktive edici faktör (TAF), TNF gibi inflamatuvar medyatörlerin salınmasına ayrıca lökosit-endotel hücre adezyonuna aracılık eden adezyon moleküllerinin biyosentezinin artmasına neden olur. Nötrofillerin saldıkları maddelerle yol açtıkları hasarın yanı sıra, aktif nötrofillerin damar içinde oluşturdukları hücre toplulukları ile damar endoteline yapışmalarından dolayı mikrovasküler tıkanmaya neden olarak I/R hasarında rol oynayan önemli bir mediyatör olduğu kabul edilir (48). Serbest radikallerin hücre membranındaki kalsiyum ATPaz üzerindeki ve ayrıca hücre içi kalsiyum depolarındaki etkisi sonucu hücre içi kalsiyum düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Bu olaylar ise endotel hasarına ve parankimal dokuda da fonksiyon kaybına yol açmaktadır. NO; kısa yarı ömürlü, su ve yağda çözünebilir, NOS ailesinin indüklenmesiyle beraber moleküler oksijen ve L-argininden oluşan, bir serbest radikaldir. Endotelyal ve nöronal NOS formları olarak adlandırılmakta ve hücre içi kalsiyum artışıyla sentezlenmektedir (49). Testis dokusu içerisinde eNOS; Leyding, Sertoli, spermatozoid ve spermatid hücreleri tarafından sentezlenirken nNOS; Leyding hücrelerinde bulunmakta ve vazodilatasyonda rol oynamaktadır. eNOS, çeşitli sitokinlerin indüklenmesiyle beraber transkripsiyonel bir aktivasyon sonucu oluşmaktadır. NO, hasarın süresine bağımlı olarak nekroz veya apoptoza yol açan önemli bir medyatördür. Western blot yöntemiyle yapılan çalışmalarda eNOS, testis torsiyonundan 24 saat sonra anlamlı olarak artmakta ve 96. saatten sonra düşme göstermektedir. Bu durum geç dönemde oluşan geri dönüşümsüz hasarda eNOS aktivitesiyle yüksek miktarda sentezlenen NO'nun önemli rol oynadığını ortaya koymaktadır (50).

Testiküler I/R Hasarı ve Otofaji

Ürolojide I/R hasarı, daha çok testis ve böbrek gibi organlarda görülmektedir. Testis torsiyonu ve böbrek transplantasyonu, I/R hasarı için en önemli ürolojik örneklerdir. Testiküler I/R hasarı, cerrahi manipülasyon sonrası görülebildiği gibi, özellikler küçük çocuk ve ergenlerde görülen intermitan testis torsiyonuna bağlı olarak da gelişmektedir. İskemi reperfüzyon sırasında oluşan ROS'un mitokondrial apoptotik sinyal yolağını ve endoplazmik retikulum stres yanıtlarını aktive edebildiği bilinmektedir (51). Testislerde oksidatif stres yükündeki artış, sperm hücrelerinde apoptoza neden olabilir. Sperm hücrelerinde apoptoz, mitokondriye bağlı yolak veya reseptörlere bağlı yolak üzerinden ilerleyebilir (52). İskemi reperfüzyon hasarının inflamatuvar tepkisi sırasında lökositler, hasar gören bölgede Fas

reseptörlerini uyarmaya başlar (53). Böylece enflamasyon sperm hücrelerinde kaspaz-8 aktivasyonuna ve apoptoik hücre ölümüne neden olur. Ayrıca I/R hasarı sebebiyle bozulan mitokondri işlevi, kaspaz-9 aktivasyonu ve apoptoz yanında Beclin1 ve LC3' e bağlı otofajiye de neden olur (54). Yapılan çalışmalar, otofajinin testis torsyonu sonrasında apoptoz belirteçleri ile birlikte aktive olduğunu ve otofaji proteinlerinde çeşitli değişikliklere neden olduğunu göstermiştir.

I/R Hasarında Sitokinler

Sitokinler, çeşitli hücre mekanizmalarıyla üretilen ve salgılanan ayrıca hormon benzeri olan polipeptidlerdir. Fakat sadece hormonlara benzerler; hormon değildirler. Bunlar enflamasyon, hücre büyümesi, iyileşmesi ve yaralanmaya karşı sistemik yanıtı da içine alan bağışıklık ve enflamatuar olayları düzenlerler. Sitokinler çok geniş bir protein grubudur ve çok sayıda özellikleri vardır: Sitokin salınımı kısadır ve kendini sınırlayan bir olgudur. Genel olarak sitokinler öncül moleküller olarak depolanmazlar ve sentezleri yeni gen transkripsiyonu ile başlatılır. Bu transkripsiyonel aktivasyon genellikle geçici olup, sitokinleri kodlayan mRNA'lar stabil değildir. Bu nedenle sitokin salınımı geçicidir ve bir kez sentezlendikleri zaman, sitokinler hızla salınırlar. Sitokinler çeşitli hücreler tarafından üretilir ve birçok farklı hücre tiplerine etki ederler. Bu özelliğe pleiotropizm denir (55). Sitokinlerin aynı hedef hücrede farklı birçok etkileri vardır. Bazı etkiler aynı anda meydana gelirken, bazı etkiler farklı zaman aralıklarıyla oluşabilir. Sitokinler, genellikle diğer sitokinlerin fonksiyonlarını etkilerler. İki sitokin birbirini antagonize eder veya additif etki gösterebilir ya da bazı durumlarda sinerjik etki gösterebilirler. Sitokinler, diğer polipeptid hormonlarda olduğu gibi hedef hücrenin yüzeyindeki özel membran reseptörlerine bağlanarak etkilerini başlatırlar. Birçok sitokin reseptörünün ekspresyonu özel sinyaller tarafından üretilir ve söz konusu hücre sitokini salgılayan hücrenin kendisi olabilir (Otokrin etki) veya komşu hücre olabilir (parakrin etki) veya diğer gerçek hormonlarda olduğu gibi dolaşıma salınan sitokinler tarafından uyarılan uzaktaki bir hücre olabilir (Endokrin etki). Birçok hedef hücre için sitokinler hücre bölünmesini düzenlerler yani büyüme faktörü gibi etki ederler.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu deneysel çalışmada sıçanlarda testis iskemi-reperfüzyonu sonrası gelişen testiküler hasar morfolojisini patolojik olarak değerlendirip, oluşan hücre hasarını saptayarak kuantum ışın tedavisinin testis iskemi-reperfüzyonu sonrası tedavi edici etkisini araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla 48 adet Wistar Albino cinsi rat Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları ve Araştırma laboratuvarından elde edildi. 25.01.2013 tarihinde proje onaya sunulmuş Ek-1’de yer alan TÜHDYEK-2013.01.16 sayılı etik kurul izni alındı. Wistar Albino cinsi erkek ratlar 3,5-4 aylık olacak şekilde seçildi. Hiçbirinde bir hastalık olmadığı çalışmadan önce 1 ay izlenerek teyid edildi. Tüm ratların ağırlıkları 250-300 gr arasında değişmekteydi. Çalışmada ratlara herhangi bir diyet kısıtlaması uygulanmadı. Kuru rat yemi ile beslendi. Tüm ratlar gece ve gündüz farkı olmaksızın normal oda ısısında muhafaza edildiler. Güneş ışığı kısıtlaması uygulanmadı. Tüm deneysel çalışmalar Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarında yürütüldü. Deneysel sonrası histopatolojik incelemeler ve istatistiksel çalışmalar yine Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesinde yürütüldü.

Çalışmaya katılan tüm ratlar randomize olarak kontrol ve testis iskemi reperfüzyon modeli oluşturulmak üzere her iki grupta da 24 er rat olacak şekilde ayrıldı. Daha sonra bu iki grupta bulunan ratlar kuantum ışın tedavisi uygulama protokolüne göre randomize olarak seçilmiş ve her grupta 8’er rat olacak şekilde 6 gruba ayrıldı.

- Grup I: Kontrol grup (n=8)
- Grup II: Testis iskemi-reperfüzyonu uygulanan grup (n=8)

- Grup III: 4 hafta boyunca, haftada 3 kez, 5 dakika 5 Hz kuantum ışın tedavisi uygulanan olan grup (n=8)
- Grup IV: 4 hafta boyunca, haftada 3 kez, 5 dakika 5 Hz kuantum ışın tedavisi uygulandıktan sonra testis iskemi-reperfüzyonu uygulanan grup (n=8)
- Grup V: 4 hafta boyunca, haftada 3 kez, 5 dakika 50 Hz kuantum ışın tedavisi uygulanan grup (n=8)
- Grup VI: 4 hafta boyunca, haftada 3 kez, 5 dakika 50 Hz kuantum ışın tedavisi uygulandıktan sonra testis iskemi-reperfüzyonu uygulanan grup (n=8)

Çalışma protokolü olarak;

Grup I ve Grup II ratlara 4 hafta boyunca herhangi bir işlem uygulamadan takip edildi, Grup III ve Grup IV ratlara ise Rikta® Quantum Terapi Cihazı (Şekil 7) haftada 3 kez olacak şekilde 5 dk süresince 5 Hz şiddetinde kuantum tedavisi uygulandı (Şekil 8).

Grup V ve Grup VI ratlara ise haftada 3 kez olacak şekilde 5 dk süresince 50 Hz şiddetinde kuantum tedavisi uygulandı.



Şekil 7. Rikta® Quantum Terapi Cihazı



Şekil 8. Ratlara kuantum tedavisi uygulaması

Ve 4 hafta sonunda tüm ratların gruplara göre ayrılarak skrotal insizyon yoluyla testisleri histolojik çalışma için çıkarıldı.

Cerrahi girişim öncesinde sağlıklı sıçanlara IP (intraperitoneal) yolla 50 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorid uygulanarak genel anestezi sağlandı. Gerekliliğinde sıçanların hareketsizliğini sağlamak amacıyla aynı ilaçlardan aynı dozlarda tekrar uygulama yapıldı. Anestezi uygulanıp stabilizasyon sağlandıktan sonra skrotal bölge traş edilip %10'luk povidon iyot solüsyonu ile antisepsi sağlandı. Ardından tüm gruplardaki sıçanlara rafeden skrotal insizyon yapılarak sol testis ve spermatik kord serbestleştirildi (Şekil 9).



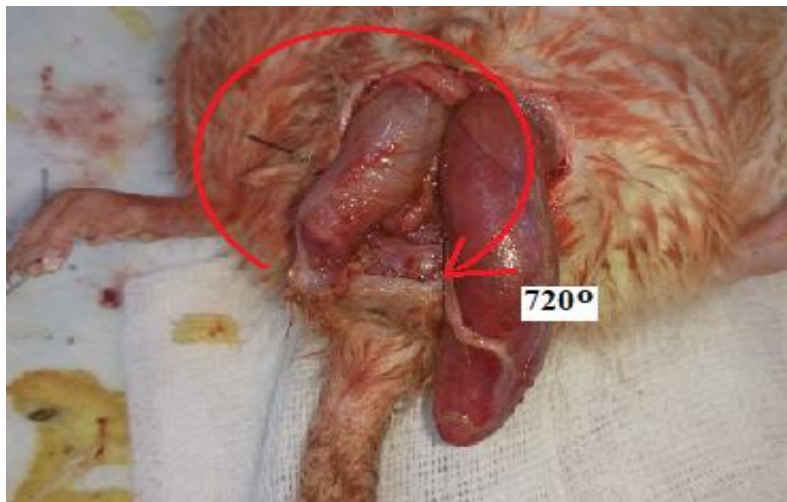
Şekil 9. Testislerin skrotum dışına alınması

Torsiyon modeli planlanan gruptaki sıçanlarda sol testis, kord elemanları ile birlikte saat yönünde olacak şekilde 720 derece döndürülerek deneysel akut testis torsiyonu modeli oluşturuldu ve testis 5/0 propilen sutur ile skrotum iç yüzeyine fikse edildi (Şekil 10).



Şekil 10. Testislerin torsiyonu

Cerrahi işlem sonrası 5. saat sonunda; kontrol grubundaki ratlarda torsiyon modeli yapılmadan, deney grubunda ise retorsiyon yapılarak (Şekil 11) tüm ratlarda testis anatomik pozisyonuna uygun şekilde skrotuma yerleştirilerek skrotum 5/0 prolene sutur ile primer onarıldı.



Şekil 11. Testislerin retorsiyonu

Histopatolojik Değerlendirme

Her bir sıçana ait doku örnekleri %10 luk nötral formaldehitte tespit edildikten sonra testis orta kısımdan en geniş yüzeyi içerecek şekilde patoloji uzmanı tarafından örneklendi. Her bir örnek tek kasette doku takibine alındı. Dokuların dehidratasyon, saydamlaştırma ve parafinizasyon işlemi yapıldı. Hazırlanan dokuların herbiri her bir parafin bloktan 5 mikron kesitler halinde lam hazırlanarak bunlar hematoksileneozin (H-E) ile boyandı. Ayrıca incelenen bütün kesitler dijital olarak fotoğraflandı.

Doku örneklerinden ratların seminifer tübül çapları, epitel uzunlukları ve Johnson testiküler biyopsi skorları hesaplandı.

Hematoksilen-eozin ile boyanan kesitlere, seminifer tübül ve spermatogenez değişikliğini saptamak için Johnsen skorlaması yapıldı. Her örnekten 20 tübül rastgele seçilip 1'den 10'a kadar puan verildi. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi. Johnsen skorlaması aşağıdaki puan sistemine göre yapılmıştır; (Tablo 1).

Tablo 1. Johnsen skorlama sistemi (56)

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

İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilks testi ile değerlendirilmiştir. Çalışma verileri değerlendirilirken niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Mann Whitney U test kullanıldı. Anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışmaya katılan tüm ratların seminifer tubül çapları ortalaması $136,25 \pm 24,37$ micron olarak bulunurken, iskemik olmayan gruptaki ratların $157,5 \pm 12,93$ micron, iskemik gruptaki ratların ise $115 \pm 10,3$ micron çapta olduğu bulundu. Tübül çapları sırasıyla grup I de $115,0$ micron, grup II de $111,3$ micron, grup III de $157,5$ micron, grup IV de $110,0$ micron, grup V de $160,0$ micron ve grup VI da $123,8$ micron olarak saptandı. Ratların gruplara göre seminifer tubül çapları ortalamaları ve karşılaştırılması Tablo 2’de gösterilmiştir.

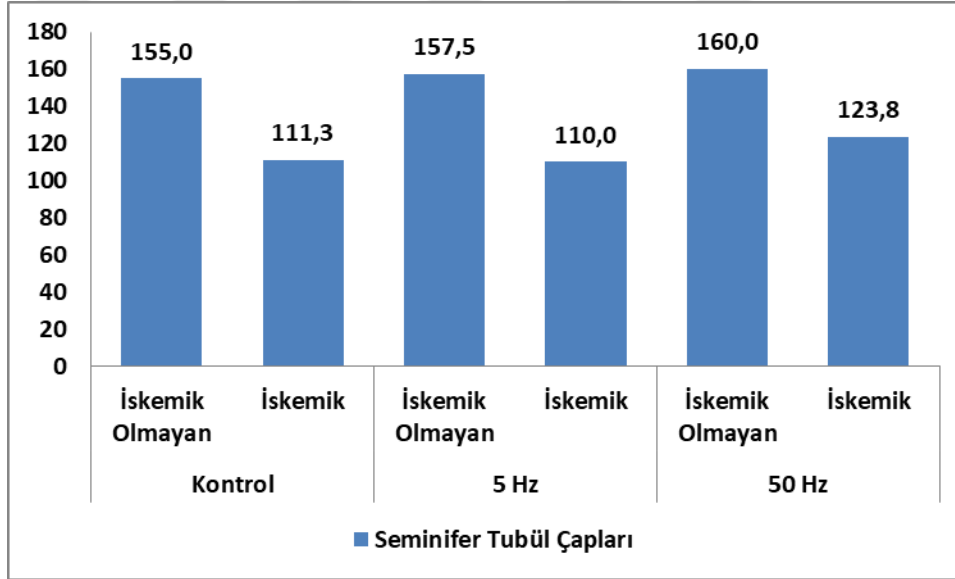
Gruplar iskemi varlığına göre karşılaştırıldığında; tüm gruplarda seminifer tubül çaplarının iskemik olanlarda iskemik olmayanlara göre anlamlı derecede daha dar olduğu bulundu ($p < 0,05$).

İskemik olmayan gruplar (Grup I, III, V) ve iskemik olan gruplar (Grup II, IV, VI) kendi aralarında karşılaştırıldığında; iskemik olmayan gruplar kendi aralarında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmaz iken ($p = 0,759$), iskemik grupların kendi aralarında karşılaştırılmasında ise istatistiksel olarak anlamlı farkın olduğu bulundu ($p = 0,006$). Bu fark grup içi varyasyon analizi ile incelendiğinde; iskemik gruplardan 50 Hz uygulanan grupta iskemik kontrol ve iskemik 5 Hz uygulanan gruplara göre anlamlı derecede daha geniş seminifer tubül çapları bulunurken (sırasıyla; $p = 0,019$; $p = 0,010$), iskemik kontrol ve iskemik 5 Hz uygulanan gruplara arasında seminifer tubül çapları bakımından farkın olmadığı bulundu ($p = 0,952$) (Şekil 12).

Tablo 2. Seminifer tubül çapları ortalamalarının karşılaştırılması

	Seminifer Tubül Çapları		P*
	İskemik Olmayan (n=24)	İskemik (n=24)	
Kontrol (n=16)	155±14,14 140-180	111,25±6,4 100-120	0,001
5 Hz (n=16)	157,50±12,81 140-180	110±7,56 100-120	0,001
50 Hz (n=16)	160±13,09 140-180	123,75±10,6 110-140	0,001
P**	0,759	0,006	

* Student T test, ** Anova test, p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı.



Şekil 12. Seminifer tubül çapları ortalamalarının dağılımı

Çalışmaya katılan tüm ratların epitel uzunlukları ortalaması $39,69 \pm 6,39$ micron olarak bulunurken, iskemik olmayan gruptaki ratların $44,58 \pm 3,87$ micron, iskemik gruptaki ratların ise $34,79 \pm 4,29$ micron uzunlukta olduğu bulundu. Epitel çapları sırasıyla grup I de 45,6 micron, grup II de 33,1 micron, grup III de 43,8 micron, grup IV de 32,5 micron, grup V de 44,4 micron ve grup VI da 38.8 micron olarak saptandı. Ratların gruplara göre epitel uzunlukları ortalamaları ve karşılaştırılması Tablo 3'de gösterilmiştir.

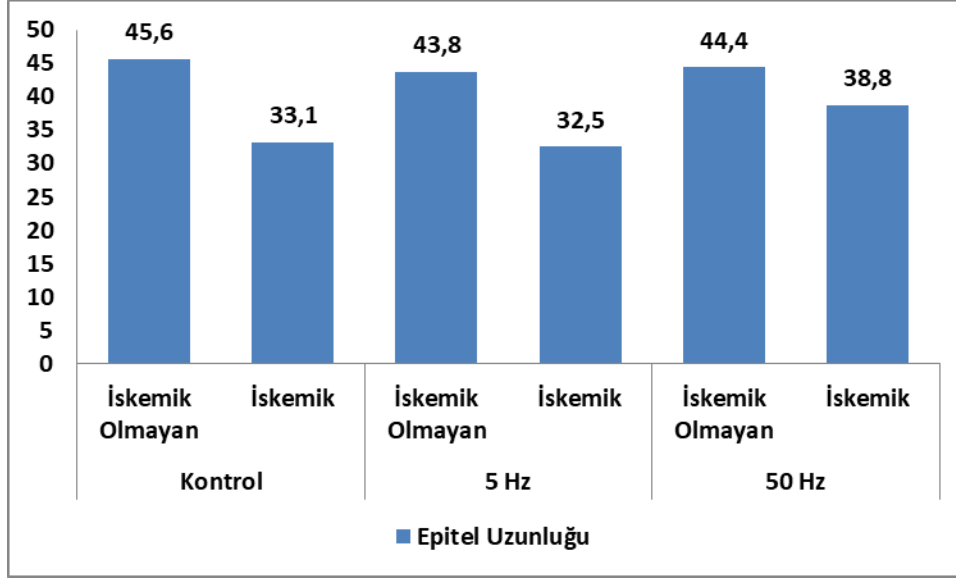
Gruplar iskemi varlığına göre karşılaştırıldığında; tüm gruplarda epitel uzunluklarının iskemik olanlarda iskemik olmayanlara göre anlamlı derecede daha kısa olduğu bulundu ($p<0,05$).

İskemik olmayan gruplar (Grup I, III, V) ve iskemik olan gruplar (Grup II, IV, VI) kendi aralarında karşılaştırıldığında; iskemik olmayan gruplar kendi aralarında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmaz iken ($p=0,462$), iskemik grupların kendi aralarında karşılaştırılmasında ise istatistiksel olarak anlamlı farkın olduğu bulundu ($p=0,029$). Bu fark grup içi varyasyon analizi ile incelendiğinde ise; iskemik gruplardan 50 Hz uygulanan grupta iskemik kontrol ve iskemik 5 Hz uygulanan gruplara göre anlamlı derecede daha büyük epitel uzunluğu bulunurken bu farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğu bulundu (sırasıyla; $p=0,051$; $p=0,051$), iskemik kontrol ve iskemik 5 Hz uygulanan gruplara arasında seminifer tubül çapları bakımından farkın olmadığı bulundu ($p>0,999$) (Şekil 13).

Tablo 3. Epitel uzunlukları ortalamalarının karşılaştırılması

	Epitel Uzunluğu		p*
	İskemik Olmayan (n=24)	İskemik (n=24)	
Kontrol (n=16)	45,62±3,2 40-50	33,12±2,57 30-35	0,001
5 Hz (n=16)	43,75±4,43 40-50	32,5±2,67 30-35	0,001
50 Hz (n=16)	44,38±4,17 40-50	38,75±4,43 40-50	0,020
p**	0,462	0,002	

* Student T test, ** Anova test, $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı.



Şekil 13. Epitel uzunlukları ortalamalarının dağılımı

Çalışmaya katılan tüm ratların johnsen kriterleri ortalaması $8,04 \pm 1,89$ olarak bulunurken, iskemik olmayan gruptaki ratların johnsen kriterleri ortalamasının $9,83 \pm 0,38$, iskemik gruptaki ratların johnsen kriterleri ortalamasının ise $6,25 \pm 0,68$ olduğu bulundu gruplara göre johnsen kriterleri ortalamaları ve karşılaştırılması Tablo 4’de gösterilmiştir

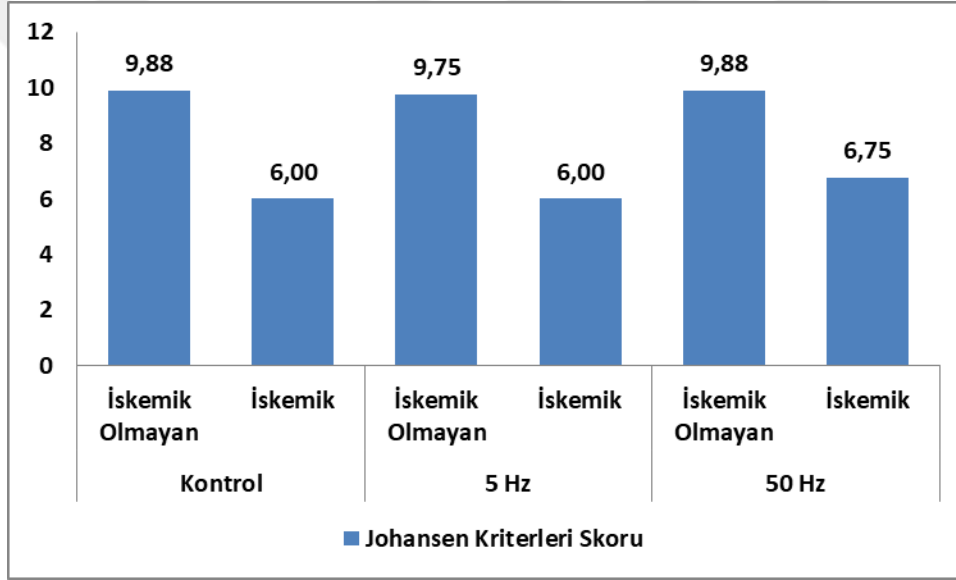
Gruplar iskemi varlığına göre karşılaştırıldığında; tüm gruplarda johnsen kriterleri ortalamalarının iskemik olanlarda iskemik olmayanlara göre anlamlı derecede daha düşük olduğu bulundu ($p < 0,05$).

İskemik olmayan gruplar (Grup I, III, V) ve iskemik olan gruplar (Grup II, IV, VI) kendi aralarında karşılaştırıldığında; iskemik olmayan gruplar kendi aralarında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmaz iken ($p = 0,759$), iskemik grupların kendi aralarında karşılaştırılmasında ise istatistiksel olarak anlamlı farkın olduğu bulundu ($p = 0,029$). Bu fark grup içi varyasyon analizi ile incelendiğinde; iskemik gruplardan 50 hz uygulanan grupta iskemik kontrol ve iskemik 5 hz uygulanan gruplara göre anlamlı derecede daha düşük johnsen kriterleri ortalamaları olduğu bulunurken (sırasıyla; $p = 0,051$; $p = 0,051$), iskemik kontrol ve iskemik 5 hz uygulanan gruplara arasında semifer tubül çapları bakımından farkın olmadığı bulundu ($p = 1,000$) (Şekil 14).

Tablo 4. Johnsen kriterleri ortalamalarının karşılaştırılması

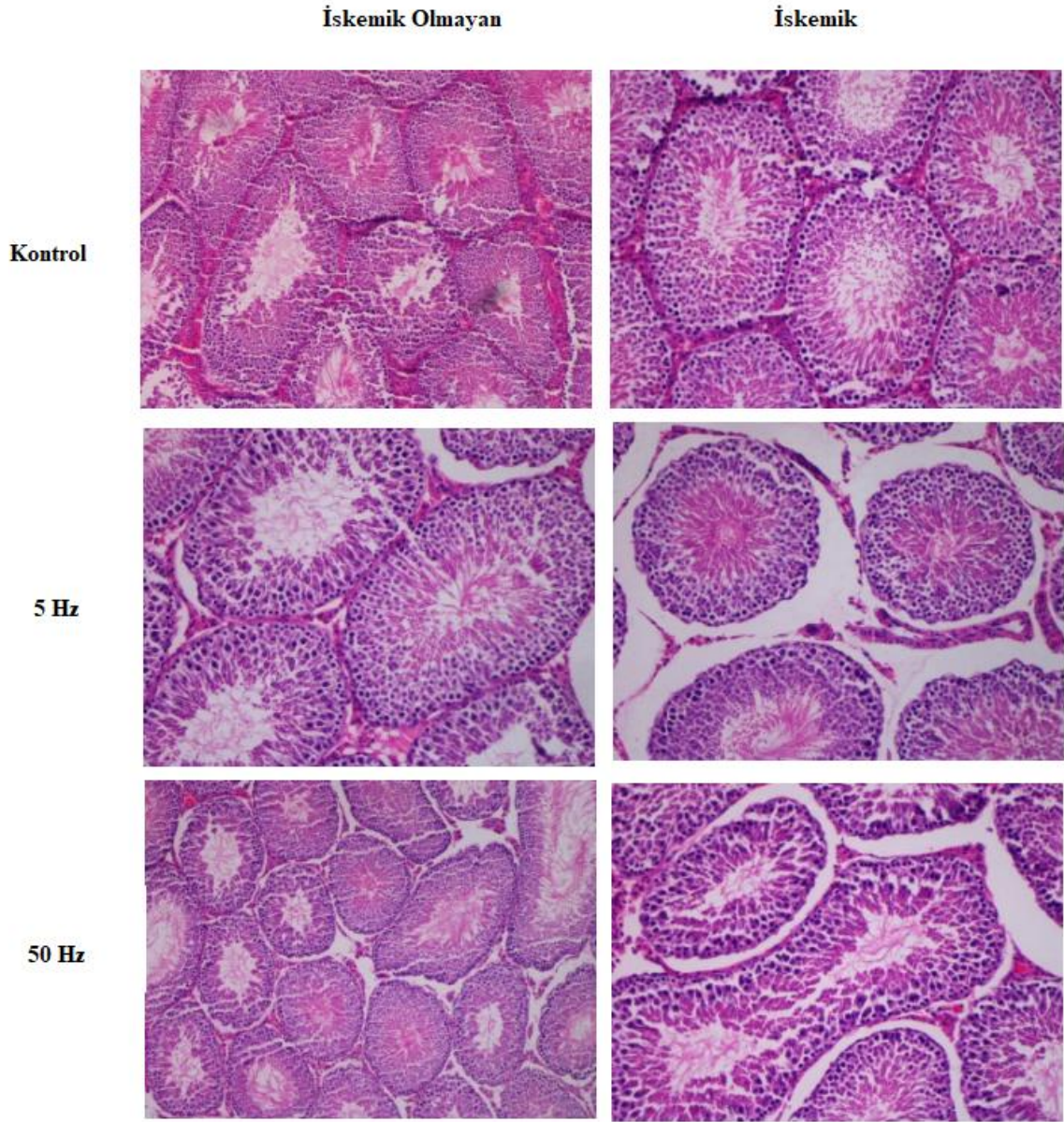
			p*
	İskemik Olmayan (n=24)	İskemik (n=24)	
Kontrol (n=16)	9,88±0,35 9-10	6±0,75 5-7	0,001
5 Hz (n=16)	9,75±0,46 9-10	6±0,54 5-7	0,001
50 Hz (n=16)	9,88±0,35 9-10	6,75±0,46 6-7	0,001
p**	0,767	0,029	

* Student T test, ** Anova test, p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı.



Şekil 14. Johnsen kriterleri ortalamalarının karşılaştırılması

Çalışmaya katılan tüm grupların histolojik karşılaştırılması Şekil 15’te gösterilmiştir.



Şekil 15. Çalışmaya katılan rat testislerinin histolojik görüntüleri
(H&E boyama, 40X büyütme)

TARTIŞMA

Klinik pratikte özellikle çocukluk ve genç ergenlik döneminde sıklıkla karşılaşılan bir durum olan testis torsiyonu, acil bir ürolojik patolojidir. Yirmibeş yaşından genç erkeklerdeki insidansı 1/4000'dir. Başarılı bir cerrahi girişime karşın bu hastaların % 40-60'ında testiküler atrofi ve ilerleyen yıllarda infertilite gelişebilmektedir. Testiküler torsiyon ve detorsiyon sonucunda ortaya çıkan testiküler hasar tablosunun bir I/R modeli olduğu çok sayıda çalışmada bildirilmiştir (1-3).

Testiste I/R hasarına en duyarlı hücre grubunun germ hücreleri olduğu bilinmektedir (57,58). Testis torsiyonu; doku hasarına ve subfertiliteye sebep olan ürolojik bir sorundur. Testisin spermatik kordon ve damarlarının etrafında dönmesiyle kan akımı durur, böylelikle doku hasarı başlar (1,2).

Spermatik kordon torsiyonu, doku hipoksisi ve sonuç olarak germinal hücrelerin nekrozisi ile sonuçlanabilir. Bu sonuçların torsiyonun kaçınıcı saatinde gelişmeye başladığı henüz net olarak bilinmese de yapılan deneysel çalışmalar bu değişikliklerin torsiyon sonrası ilk 4-6 saatte yapılan düzeltme sonrası geri döndürülebileceğini göstermektedir. Deneysel çalışmaların birçoğu 720 derece torsiyonda kan akımının geri dönüşümsüz olarak kesildiği ve tam bir iskemi oluştuğunu göstermiştir (59,60). Biz de bu yüzden çalışmamızda testis torsiyonu ile iskemi reperfüzyon modeli oluşturabilmek için sol testiste 720 derecelik ve 5 saatlik deneysel torsiyon oluşturduk.

Testiküler hasara sebep olan torsiyon boyunca oluşana iskemik hasar ve detorsiyon sonucunda başlayana ise reperfüzyon hasarı denir (61). Oluşan iskemi reperfüzyon hasarı dokuda ROS artışına, lipid peroksidasyonuna ve apoptoza sebep olur (62). ROS, çoklu

doymamış yağ asitlerine saldırarak hücre membranında lipid peroksidasyonunu başlatır (63). Lipid peroksidasyonu; testiküler fonksiyon bozukluğuna, sperm anomalilerine ve kapasitasyonun azalmasına neden olur (64,65).Lipid peroksidasyonu sırasında MDA açığa çıkmakta olup, önemli bir belirteçidir (66,67). Oksidatif strese sebep olan ROS, mitokondriyal membranları bozarak sitokrom-c salınımını hızlandırır. Sitokrom-c'nin serbest kalması ile kaspaz aktivasyonu başlar ve bunun sonucunda apoptoz meydana gelir (68).

Biz de kurguladığımız bu I/R modelinde doku hasarı sonucunda meydana gelen apoptotik değişimlerin kıyaslanması amacıyla farklı dalga boylarında quantum ışınlarının tedavi edici özelliğinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

Literatürdeki benzer I/R modeli çalışmalarında oluşan hasarın, sadece modelin kurgulandığı testiste değil, kontrateral testiste de gerçekleştiği bildirilmekte ve özellikle bu testisin korunmasında kullanılacak kimyasal maddelerin varlığı güncel merak konusu olmaktadır (69-72). Hiç şüphesiz torsiye olmayan testisin korunmasının, fertilitite potansiyelinde büyük bir yeri vardır. Yapılan bazı çalışmalarda karşı testiste daha yüksek seviyelerde lipid peroksidasyonu, düşük antioksidan kapasite ve yüksek histopatolojik hasar seviyeleri bildirilirken; bunun tersi yönünde kontrateral testiste anlamlı hasar oluşmadığını iddia edenler de mevcuttur (73,74). Kontrateral testiste oluşan bu hasarın patofizyolojisinde spermatogoniumu karşı oluşan otoimmünizasyon, kan-testis bariyerinde bozulma, refleks olarak artan sempatik yanıt ile doku perfüzyonunda azalma ve ROS'ların artmış üretimi suçlanmaktadır (75). Bu noktada bizim çalışmamızın sonucu da benzer mekanizmalar ile açıklanabilir.

Testis torsiyonu sonrasında, erken zamanda detorsiyon işlemi yapılsa dahi her iki testiste de ortaya çıkabilecek bu germ hücre hasarını ve torsiyonun infertiliteye olan katkısını azaltmak amacıyla çok sayıda çalışmada birçok farklı kimyasal ajanın etkinliği araştırılmıştır. Deneysel modellerde özellikle oksijen radikali süpürücüleri gibi kimyasalların, I/R hasarını önlemede başarılı olduğu görülse de bunların çok az bir kısmı yan etki profilleri tolere edilebilir düzeyde olduğundan dolayı klinik kullanıma girebilmiştir (76-78).

Kuantum ışın terapisi giderek daha yaygın kullanılan ve kökleri 1990'lara kadar dayanan bir tedavi yöntemidir. Etkisini elektromanyetik dalgalar yoluyla hücresel ve moleküler düzeyde gösterir (75).

Kuantum ışık tedavisi, 4 farklı elektromanyetik ışının kullanıldığı karmaşık bir terapötik yöntemdir: Birinci bileşen olan süper darbeli koherent lazer ışınlarının sadece kan ve hücre içi metabolizmanın dolaşımını uyarma potansiyeline sahip olmadığını, aynı zamanda derin dokulara (12-13 cm kadar) nüfuz ederek immünolojik ve endokrin sistemleri uyardığı

bildirilmiştir (76-81). İkinci bileşen ise darbeli olmayan kızılötesi ışınlar olup, bu ışınlar süper-darbeli koherent lazer gibi daha derin yapılara nüfuz etmemekte, fakat hem otonom hem de merkezi sinir sistemleri üzerinde kuvvetli bir düzenleyici etkiye sahip olduğu bildirilmektedir (76). Üçüncü bileşen, kızıl ötesi ışığa göre daha düşük bir penetrasyon derinliğine sahip olan darbeli kırmızı ışıktır ve özellikle artiküler yapılarda enflamasyonu hafiflettiği gösterilmiştir (76,82). Son olarak, sabit manyetik alanın kullanımının ardında yatan fikir, bu alanın radyasyonun çevresel zararlı etkenlerine karşı bir bariyer olarak çalışması olarak gösterilmiştir (76-83).

Yapılan kaynak araştırmalarında testis iskemi reperfüzyon modeli üzerinde quantum ışın tedavisi uygulamasının etkisi ile ilgili çalışmalar bulunamamıştır. Ancak birçok kimyasal madde ve ilaç uygulamalarının testis iskemi-reperfüzyon modelleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Literatürde quantum ışığı ile yapılan başka dokulara ait çalışmalara bakıldığında quantum ışığının doku ve hücre üzerine bakterisidal, hücresel proliferasyonu uyarıcı ve microsirkülasyonu düzenleyici etkilerine vurgu yapılmıştır (75,84). Öztekin ve ark. (84)'nın yaptığı çalışmada quantum ışığının prostat dokusuna olan canlandırıcı, rejeneratif, anestezi ve antinflamatuar etkileri bildirilmiş ve quantum terapisi kronik prostatit hastalarının tedavisinde ucuz, yan etkisiz ve kabul edilebilir bir alternatif tedavi yöntemi olarak saptanmıştır. Akdere ve ark. (75)'nin prostat doku hasarı sonrası ağrıya olan etkileri araştırılmış ve standart tedavi alan hastalar ve standart tedaviye ek olarak quantum terapi alan hastalar karşılaştırıldığında kombine tedavi alan grupta hayat kalitesinde, üriner sistem semptomlarında ve ağrıda anlamlı bir iyileşme olduğu görülmüştür.

İskemi/reperfüzyon uygulanmış testiste meydana gelen histopatolojik değişiklikler; tübül çaplarında azalma, interstisyel alanda ödem ve hemoraji, tübüllerde germinal epitelyum hücre organizasyonunun bozulması, gelişimini tamamlamamış spermatogenik hücrelerin lümen içerisinde birikimi, çok çekirdekli dev hücrelerin, mayozun belli aşamalarında duraksamış ve farklı şekillerde izlenen dejenere hücrelerin görülmesi olarak sıralanabilir. Kanter ve ark. (85) ratlarda testiküler I/R çalışmasında melatonin'in koruyucu etkinliğini histopatolojik değişiklikler üzerine olan etkisini değerlendirmiştir. Burada I/R yapılan grupta seminifer tübül çaplarının anlamlı derecede azaldığı ancak melatonin tedavisi verilen I/R grubunda seminifer tübül çaplarının anlamlı derecede düzeldiğini tespit etmişlerdir. Aktoz ve ark. (86) testiküler I/R'da quercetin'in koruyucu etkinliğini histopatolojik olarak göstermek için ve quercetin tedavisi verilen grupta seminifer tübül çaplarının anlamlı derecede düzeldiğini tespit etmişler. Ranade ve ark. (87) testiküler I/R sonrası vit. E'nin histopatolojik değişiklikler üzerine olan etkisini değerlendirmişler. Bu çalışmada vit. E tedavisinin seminifer

tübül çaplarını düzelttiği saptanmıştır. Özbek (88) ise apocyninin koruyucu etkinliğini histopatolojik olarak göstermek için tübül çaplarına ilaveten tübüllerin sınıflandırılması germ hücrelerinin lümenine dökülmesine, çok çekirdekli dev hücre ve dejenere hücrelerinin varlığına göre değerlendirdiklerini bildirmiştir. Burada I/R yapılan gruplarda tübül çapının azaldığı, ancak I/R yapıp apocynin tedavisi verilen grupta seminifer tübüllerinin ortalama çapının I/R grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda kuantum tedavisinin testis iskemi reperfüzyon hasarına olan koruyucu etkisini inceledik. Testis iskemi reperfüzyon modeli oluşturulup quantum tedavisi uygulanan ratlarda 50 Hz şiddetinde quantum tedavisi uygulanan ratlarda, seminifer tübül çapları, epitel kalınlıkları ve johnsen skorlarının 5 Hz şiddetinde quantum tedavisi uygulanan ve kontrol grubundaki ratlara göre anlamlı derecede daha iyi sonuçlar verdiği bulundu. Buda bize gelecekte daha ayrıntılı çalışmalarla quantum tedavisinin iskemi reperfüzyon hasarının korunmasında yer edinebileceğini göstermektedir.

SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim dalında kuantum tedavisinin testis iskemi reperfüzyon hasarına olan koruyucu etkisini incelemek amacıyla yaptığımız çalışma sonucunda;

1. Seminifer tübül çaplarının testis iskemi reperfüzyon modeli oluşturulup 50 Hz şiddetinde quantum tedavisi uygulanan ratlarda, 5 Hz şiddetinde quantum tedavisi uygulanan ve kontrol grubundaki ratlara göre anlamlı derecede daha geniş çaplara sahip olduğu,
2. Epitel kalınlıklarının testis iskemi reperfüzyon modeli oluşturulup 50 Hz şiddetinde quantum tedavisi uygulanan ratlarda, 5 Hz şiddetinde quantum tedavisi uygulanan ve kontrol grubundaki ratlara göre epitel kalınlıklarının daha uzun olduğu,
3. Histolojik değerlendirme için kullanılan johnsen skorlarının testis iskemi reperfüzyon modeli oluşturulup 50 Hz şiddetinde quantum tedavisi uygulanan ratlarda, 5 Hz şiddetinde quantum tedavisi uygulanan ve kontrol grubundaki ratlara göre yüksek skorlara sahip olduğu bulundu.

ÖZET

Bu çalışmada amaç testis torsiyonuna bağlı gelişen iskemi reperfüzyon hasarında quantum ışın terapisinin koruyucu rolü olup olmadığını ortaya koymak idi. Bu amaçla her biri 8 rattan oluşan toplam 6 grup kuruldu. Bu gruplar şöyledir. Grup I kontrol grubudur Grup II, testis iskemi-reperfüzyonu uygulanan gruptur. Grup III'te 4 hafta boyunca, haftada 3 kez, 5 dakika 5 Hz kuantum ışın tedavisi uygulanmıştır. Grup IV' te 4 hafta boyunca, haftada 3 kez, 5 dakika 5 Hz kuantum ışın tedavisi uygulandıktan sonra testis iskemi-reperfüzyonu uygulanmıştır. Grup V'te 4 hafta boyunca, haftada 3 kez, 5 dakika 50 Hz kuantum ışın tedavisi uygulanmıştır. Grup VI'da ise 4 hafta boyunca, haftada 3 kez, 5 dakika 50 Hz kuantum ışın tedavisi uygulandıktan sonra testis iskemi-reperfüzyonu uygulanmıştır. Gerekli işlemler yapıldıktan sonra sol testisler alınıp dokular histopatolojik olarak incelenmiştir. İstatiksel analiz sonucu testis iskemi reperfüzyon modeli oluşturulup quantum tedavisi uygulanan ratlarda 50 Hz şiddetinde quantum tedavisi uygulanan ratlarda, seminifer tübül çapları, epitel kalınlıkları ve johnsen skorlarının 5 Hz şiddetinde kuantum tedavisi uygulanan ve kontrol grubundaki ratlara göre anlamlı derecede daha iyi sonuçlar verdiği bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Testis, iskemi reperfüzyon hasarı, kuantum ışın terapi

THE PROTECTIVE EFFECT OF QUANTUM LIGHT THERAPY ON TESTIS ISCHEMIA REPERFUSION

SUMMARY

The purpose of this study is to demonstrate the protective effect of quantum light therapy on testis ischemia reperfusion injury due to testicular torsion. For this aim we form 6 groups each has 8 rats. Group I is the control group. Group II is performed testicular ischemia and reperfusion. In group III rats are applied 5 Hz quantum light therapy for 5 minutes during 4 weeks, three times a week. In Group IV rats are applied 5 Hz quantum light therapy for 5 minutes during 4 weeks three times a week and then testicular ischemia reperfusion is demonstrated. In Group V rats are applied 50 Hz quantum light therapy for 5 minutes during 4 weeks, three times a week. In Group VI rats are applied 50 Hz quantum light therapy for 5 minutes during 4 weeks, three times a week and then testicular ischemia reperfusion is demonstrated. Afterwards orchiectomy is performed for left testis for each rat and testicular tissues are investigated histopathologically. After statistical analysis the results in the rats that are applied 50 Hz quantum light therapy has positive effect of reducing testicular injury.

Key words: Testis, ischemia reperfusion injury, quantum light therapy

KAYNAKLAR

1. Cummings JM, Boullier JA, Sekhon D, Bose K. Adult testicular torsion. *J Urology* 2002;167(5):2109-10.
2. Davol P, Simmons J. Testicular torsion in a 68-year-old man. *Urology* 2005;66(1):195.
3. Mogilner JG, Lurie M, Coran AG, Nativ O, Shiloni E, Sukhotnik I. Effect of diclofenac on germ cell apoptosis following testicular ischemia-reperfusion injury in a rat. *Pediatr Surg Int* 2006;22(1):99-105.
4. Tuglu D, Yuvanc E, Yılmaz E, Gencay IY, Atasoy P, Kisa, U, et al. The antioxidant effect of dexmedetomidine on testicular ischemia-reperfusion injury. *Acta Cir Bras* 2015;30(6):414-21.
5. Coley BD. Sonography of pediatric scrotal swelling. *Semin Ultrasound CT MR* 2007;28(4):297-306.
6. Cadenas E. Mechanisms of oxygen activation and reactive oxygen species detoxification. In: Ahmad S (Ed.). *Oxidative stress and antioxidant defences in biology*. New York: Chapman and Hall, 1995:4-47.
7. Telang VM, Stahl RE, Clark DA, Orafidiya AO, Dweck HS. Ischemic-injury to rabbit ileum - protective role of vitamin-E (Tocopherol-T). *Pediatr Res* 1986;20:A250-A250.
8. Şeftalioğlu A. Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi. 3. Baskı. Ankara, Feryal Matbaası, 1998.
9. Sadler TW. (Çeviri: Başaklar C). *Langman's Medikal Embriyoloji*. 7. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 1996.
10. Hutson JM, Hasthorpe S, Heyns CF. Anatomical and functional aspects of testicular descent and cryptorchidism. *Endocr Rev* 1997;18(2):259-80.
11. Zimmermann S, Steding G, Emmen JM, Brinkmann AO, Nayernia K, Holstein AF, et al. Targeted disruption of the *Insl3* gene causes bilateral cryptorchidism. *Mol Endocrinol* 1999;13(5):681-91.

12. Klonisch T, Fowler PA, Hombach-Klonisch S. Molecular and genetic regulation of testis descent and external genitalia development. *Dev Biol* 2004;270(1):1-18.
13. Lennox B, Ahmad KN. Total length of tubules in human testis. *J Anat* 1970;107(Pt 1):191.
14. Kayalı H. Özel Histoloji. İstanbul Üniversitesi Film Merkezi, 1989,218-28.
15. Jarow JP. Clinical significance of intratesticular arterial anatomy. *J Urol* 1991;145(4):777-9.
16. Kuran O. Sistemik Anatomi. İstanbul, Filiz Kitabevi, 1983,512-4.
17. Rauchenwald M, Steers WD, Desjardins C. Efferent innervation of the rat testis. *Biol Reprod* 1995;52(5):1136-43.
18. Skandalakis JE, Skandalakis LJ, Colborn GL. Testicular atrophy and neuropathy in herniorrhaphy. *Am Surg* 1996;62(9):775-82.
19. Junqueira LC, Carneiro J. (Çeviri: Aytekin Y Solakoğlu S). *Temel Histoloji*. Ankara: Nobel Tıp Kitabevi, 2006.
20. Kathrins M, Niederberger C. Diagnosis and treatment of infertility related male hormonal dysfunction. *Nat Rev Urol* 2016;13(6):309-23.
21. Ovalle WK, Nahirney PC. (Çeviri: Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P). *Netter Temel Histoloji*. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi, 2009: 386-438.
22. Kaipia A, Ryymin P, Mäkelä E, Aaltonen M, Kähärä V, Kangasniemi M.. Magnetic resonance imaging of experimental testicular torsion. *Int J Androl* 2005;28(6):355-9.
23. Lindner U, Ramon J, Mor Y. The therapeutic approach to adolescent varicocele. *Harefuah* 2007;146(1):53-6.
24. Kalfa N, Veyrac C, Lopez M, Lopez C, Maurel A, Kaselas C, Sibai S, et al. Multicenter assesment of ultrasound of the spermatic cord in children with acute scrotum. *J Urol* 2007;177(1):297-301.
25. Sessions AE, Rabinowitz R, Hulbert WC, Goldstein MM, Mevorach RA. Testicular torsion: direction, degree, duration and disinformation. *J Urol* 2003;169(2):663-5.
26. Kutikov A, Casale P, White MA, Meyer WA, Chang A, Gosalbez R, et al. Testicular compartment syndrome: a new approach to conceptualizing and managing testicular torsion. *Urology* 2008;72(4):786-9.

27. Kaye JD, Shapiro EY, Levitt SB, Friedman SC, Gitlin J, Freyle J, et al. Parenchymal echo texture predicts testicular salvage after torsion: potential impact on the need for emergent exploration. *J Urol* 2008;180(4 Suppl):1733-6.
28. Mansbach JM, Forbes P, Peters C. Testicular torsion and risk factors for orchiectomy. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2005;159(12):1167-71.
29. Arap MA, Vicentini FC, Cocuzza M, Hallak J, Athayde K, Lucon AM, et al. Late hormonal levels, semen parameters, and presence of antisperm antibodies in patients treated for testicular torsion. *J Androl* 2007;28(6):528-32.
30. Hayn MH, Herz DB, Bellinger MF, Schneck FX. Intermittent torsion of the spermatic cord portends an increased risk of acute testicular infarction. *J Urol* 2008;180(4 Suppl):1729-32.
31. Yerkes EB, Robertson FM, Gitlin J, Kaefer M, Cain MP, Rink RC. Management of perinatal torsion: today, tomorrow or ever? *J Urol* 2005;174(4 Pt 2):1579-82.
32. Baglaj M, Carachi R. Neonatal bilateral testicular torsion: a plea for emergency exploration. *J Urol* 2007;177(6):2296-9.
33. Visser AJ, Heyns CF. Testicular function after torsion of the spermatic cord. *BJU Int* 2003;92(3):200-3.
34. Anderson MJ, Dunn JK, Lipshultz LI, Coburn M. Semen quality and endocrine parameters after acute testicular torsion. *J Urol* 1992;147(6):1545-50.
35. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN. *Robbin's Temel Patoloji*. 8. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 2008.
36. Mitchell RN, Cotran RS (Çeviri: U. Çevikbaş). Hücre zedelenmesi, ölümü ve adaptasyonu. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL (Eds.). *Temel patoloji'de*. 6. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi (WB Saunders Co), 2000; 3-24.
37. Taşkiran A. Koroner by-pass yapılan olgularda lipid hidroperoksit, antioksidan kapasite ve oksidan strese duyarlılık. (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2002.
38. Türkyılmaz Z. Karaciğer iskemi-reperfüzyon zedelenmesinde pentoksifilin, dimetilsülfoksit ve eksojen melatoninin koruyucu etkilerinin karşılaştırılması. (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2003.
39. Bagge U, Amundson B, Lauritzen C. White blood cell deformability and plugging of skeletal muscle capillaries in hemorrhagic shock. *Acta Physiol Scand* 1980;108(2):159-63.
40. Ertan T, Soran A, Kılıc M, Aşlar AK, Koc M, Cengiz O. Kan malondialdehid ve total antioksidan seviyesinin önemi. *Cerrahi Tıp Bülteni* 2001;2:154-67.

41. Girotti AW. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *J Lipid Res* 1998;39(8):1529-42.
42. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978;52:302-10.
43. Shacter E. Protein oxidative damage. *Methods Enzymol* 2000;319:428-36.
44. Shacter E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab Rev* 2000;32(3-4):307-6.
45. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza yayınları, 1995.
46. Halliwell B. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic Res Commun* 1990;9(1):1-32.
47. Yan SL, Wu ST, Yin MC, Chen HT, Chen HC. Protective effects from carnosine and histidine on acetaminophen-induced liver injury. *J Food Sci* 2009;74(8):H259-65.
48. Zhao ZQ, Nakamura M, Wang NP, Wilcox JN, Shearer S, Ronson RS, et al. Reperfusion induces myocardial apoptotic cell death. *Cardiovasc Res* 2000;45(3):651-60.
49. Shiraishi K, Naito K, Yoshida K. Nitric oxide promotes germ cell necrosis in the delayed phase after experimental testicular torsion of rat. *Biol Reprod* 2001;65(2):514-21.
50. Okusa MD, Linden J, Macdonald T, Huang L. Selective A2A adenosine receptor activation reduces ischemia-reperfusion injury in rat kidney. *Am J Physiol* 1999;277(3 Pt 2):F404-12.
51. Turner TT, Miller DW. On the synthesis and secretion of rat seminiferous tubule proteins in vivo after ischemia and germ cell loss. *Biol Reprod* 1997;57(6):1275-84.
52. Liles WC, Kiener PA, Ledbetter JA, Aruffo A, Klebanoff SJ. Differential expression of Fas (CD95) and Fas ligand on normal human phagocytes: implications for the regulation of apoptosis in neutrophils. *J Exp Med* 1996;184(2):429-40.
53. Salahudeen AK, Huang H, Joshi M, Moore NA, Jenkins JK. Involvement of the mitochondrial pathway in cold storage and rewarming-associated apoptosis of human renal proximal tubular cells. *Am J Transplant* 2003;3(3):273-80.
54. Chien CT, Shyue SK, Lai MK. Bcl-xL augmentation potentially reduces ischemia/reperfusion induced proximal and distal tubular apoptosis and autophagy. *Transplantation* 2007; 84(9):1183-90.
55. Abbas AK, Lichtman AS, Pober JS. Cytokines. Cellular and Molecular Immunology, Philadelphia: WB Saunders Company, 1994.
56. Johnsen SG. Testicular biopsy score count - a method for registration of spermatogenesis in human testes. Normal values and results of 335 hypogonadal males. *Hormones* 1970; 1(1): 2- 25.

57. Becker EJ, Turner TT. Endocrine and exocrine effects of testicular torsion in the prepubertal and adult rat. *J Androl* 1995;16(4):342-51
58. Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Rev* 2001;53(1):135-59.
59. Noseworthy J. Testicular Torsion. In: Ashcraft, Murphy, Sharp, Sigalet, Snyder (Eds.). *Pediatric Surgery*. 3rd Ed., Philadelphia: WB Saunders Company, 2000: 674-80.
60. Turner TT, Bang HJ, Lysiak JJ. Experimental testicular torsion: reperfusion blood flow and subsequent testicular venous plasma testosterone concentrations. *Urology* 2005; 65(2):390-4.
61. Celik E, Oguzturk H, Sahin N, Turtay M, Oguz F, Ciftci O. Protective effects of hesperidin in experimental testicular ischemia/reperfusion injury in rats. *Arch Med Sci* 2016;12(5): 928-34.
62. Salvemini D, Cuzzocrea S Therapeutic potential of superoxide dismutase mimetics as therapeutic agents in critical care medicine. *Crit Care Med* 2003;31(1 Suppl):S29-38.
63. Agarwal A, Makker K, Sharma R. Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: *Am J Reprod Immunol* 2008;59(1):2-11.
64. Asadi N, Basmani M, Kheradmand A, Rafieian-Kopaei M. The impact of oxidative stress on testicular function and the role of antioxidants in improving it: A Review. *J Clin Diagn Res* 2017;11(5):IE01-IE05
65. Peltona V, Manthla E, Huntaniemi I, Ahutopa M. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the rat testis after cigarette smoke inhalation or administration of polychlorinated biphenyls or polychlorinated naphthalenes. *J Androl* 1994;15(4):353-61.
66. Aikken J, Krawz Z, Backingham D. Relationships between biochemical markers for residual sperm cytoplasm, reactive oxygen species generation, and the presence of leukocytes and precursor germ cells in human sperm suspensions. *Mol Reprod Dev* 1994;39(3):268-79
67. Aitken R, Clarkson J, Fishel S. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation and human sperm function. *Biol Reprod* 1989;41(1):183-97.
68. Lee J, Richburg J, Younkin S, Boekelheide K. The Fas system is a key regulator of germ cell apoptosis in the testis. *Endocrinology* 1997;138(5):2081-8.
69. Ozmerdiven G, Coskun B, Kaygisiz O, Vuruskan BA, Asiltas B, Kilicarslan H The protective effect of L-arginine, tadalafil, and their combination in rat testes after ischemia and reperfusion injury. *Can Urol Assoc J* 2017;11(1-2):19-25.

70. Madgar I, Lunenfeld B, Mashiach S, Goldwasser B, Weissenberg R. Effect of testicular torsion on contralateral testis and fertility in mature rats. *Arch Androl* 1987;19(3):237-41.
71. Sarica K, Küpeli B, Budak M, Koşar A, Kavukçu M, Durak I, Göğüş O. Influence of experimental spermatic cord torsion on the contralateral testis in rats. Evaluation of tissue free oxygen radical scavenger enzyme levels. *Urol Int* 1997;58(4):208-12.
72. Uz E, Söğüt S, Sahin S, Var A, Ozyurt H, Güleç M, Akyol O. The protective role of caffeic acid phenethyl ester on testicular tissue after testicular torsion and detorsion. *World J Urol* 2002;20(4):264-70.
73. Beheshtian A, Salmasi AH, Payabvash S, Kiumehr S, Ghazinezami B, Rahimpour S, et al. Protective effects of sildenafil administration on testicular torsion/detorsion damage in rats. *World J Urol* 2008;26(2):197-202.
74. Ustün H, Akgül KT, Ayyildiz A, Yağmurdur H, Nuhoglu B, Karagüzel E, et al. Effect of phosphodiesterase-5 inhibitors on apoptosis and nitric oxide synthases in testis torsion: an experimental study. *Pediatr Surg Int* 2008;24(2):205-11.
75. Akdere H, Oztekin I, Arda E, Aktoz T, Turan FN, Burgazli KM. Analgesic effects of oligonol, acupuncture and quantum light therapy on chronic nonbacterial prostatitis. *Send to Iran Red Crescent Med J* 2015;17(4):e26006.
76. Fyodorov Y. *Quantum Therapy and The Prevention of a Wide Range of Diseases*. Quantum Medicine Association, Moskova, 10th edition, 2007.
77. Alves AN, Fernandes KP, Melo CA, Yamaguchi RY, Franca CM, Teixeira DF, et al. Modulating effect of low level-laser therapy on fibrosis in the repair process of the tibialis anterior muscle in rats. *Lasers Med Sci* 2014;29(2):813-21.
78. Wu JY, Chen CH, Yeh LY, Yeh ML, Ting CC, Wang YH. Low-power laser irradiation promotes the proliferation and osteogenic differentiation of human periodontal ligament cells via cyclic adenosine monophosphate. *Int J Oral Sci* 2013;5(2):85-91.
79. Ebrahimi T, Moslemi N, Rokn A, Heidari M, Nokhbatolfoghahaie H, Fekrazad R. The influence of low-intensity laser therapy on bone healing. *J Dent (Tehran)* 2012; 9(4):238-48.
80. Assis L, Moretti AI, Abrahao TB, Cury V, Souza HP, Hamblin MR, et al. Low-level laser therapy (808 nm) reduces inflammatory response and oxidative stress in rat tibialis anterior muscle after cryolesion. *Lasers Surg Med* 2012;44(9):726-35.
81. Casalechi HL, Leal-Junior EC, Xavier M, Silva JAJ, de Carvalho Pde T, Aimbire F, et al. Low-level laser therapy in experimental model of collagenase-induced tendinitis in rats: effects in acute and chronic inflammatory phases. *Lasers Med Sci* 2013; 28(3): 989-95.
82. Dahan S. Laser and intense pulsed light management of couperose and rosacea. *Ann Dermatol Venereol* 2011;138(Suppl 3):219-22.

83. Kupriianova TA, Markov BP, Vilkova LA, Barabash AG. The use of a permanent magnetic field in the combined treatment of lichen ruber planus of the oral mucosal. *Stomatologiia (Mosk)* 1989;68(5):33-4.
84. Öztekin İ, Akdere H, Can N, Aktoz T, Arda E, Turan FN. Therapeutic effects of oligonol, acupuncture, and quantum light therapy in chronic nonbacterial prostatitis. *Evid Based Complement Alternat Med* 2015;2015:687196.
85. Kanter M. Protective effects of melatonin on testicular torsion/detorsion-induced ischemiareperfusion injury in rats. *Exp Mol Pathol* 2010;89(3):314-20.
86. Aktoz T, Kanter M, Aktas C. Protective effects of quercetin on testicular torsion/detorsioninduced ischaemia-reperfusion injury in rats. *Andrologia* 2010;42(6):376-83.
87. Ranade AV, Tripathi Y, Rajalakshmi R, Vinodini NA, Soubhagya RN, Nayanatara AK, et al. Effect of vitamin E administration on histopathological changes in rat testes following torsion and detorsion. *Singapore Med J* 2011;52(10):742-6.
88. Özbek Ö. Testis iskemi/reperfüzyonu oluşturulmuş ratlarda apocyninin testis dokusu üzerine koruyucu ve tedavi edici etkilerinin araştırılması. (Tez). Malatya: İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2013.

EKLER