

**TORSİYON/DETORSİYON SONRASI UZUN SÜRELİ ÇİNKO
KULLANIMININ RAT TESTİS DOKUSU ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Akgün ORAL

Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Zekai HALICI**

Doktora Tezi - 2015

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TORSİYON/DETORSİYON SONRASI UZUN SÜRELİ
ÇİNKO KULLANIMININ RAT TESTİS DOKUSU
ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Akgün ORAL

**Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Zekai HALICI**

**ERZURUM
2015**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ECZACILIK BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**TORSİYON/DETORSİYON SONRASI UZUN SÜRELİ ÇİNKO
KULLANIMININ RAT TESTİS DOKUSU ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Akgün ORAL

Tez Savunma Tarihi : 16.03.2015

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Zekai HALICI (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Yasin BAYIR (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Elif ÇADIRCI (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. HAMİT HAKAN ALP
(Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Ragıp BALAHOROĞLU
(Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

**Doktora Tezi
ERZURUM - 2015**

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	VII
ÖZET.....	VIII
ABSTRACT	IX
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
TABLolar DİZİNİ	XII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.2. Testisin Anatomisi.....	3
2.2.1. Testisin Kanlanması	4
2.3. Testisin Embriyolojisi	5
2.4. Testisin Histolojisi.....	6
2.5. Testis Torsiyonu ve Tipleri	7
2.5.1.1. Ekstravajinal Testis Torsiyonu	8
2.5.1.2. Intravajinal Testis Torsiyonu	8
2.5.2. Testis Torsiyonu ve Ayırıcı Tanı	9
2.5.3. Testis Torsiyonu ve Tedavi	12
2.5.4. Testis Torsiyonu ve Prognoz	13
2.5.5. Testis Torsiyonu ve Karşı Testisin Durumu	14
2.6. İskemi Reperfüzyon Hasarı	17
2.6.1. Testiste İskemi.....	17
2.6.2. Testiste Reperfüzyon ve Reperfüzyon Hasarı	18
2.6.3. Serbest Oksijen Radikalleri	18
2.6.3.1. Hidroksil Radikali (OH-)	19
2.6.3.2. Singlet Oksijen	19
2.6.3.3. Süperoksit Radikali (O ₂ •)	19
2.6.3.4. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)	19
2.6.3.5. Hipoklorik asit (HOCl).....	20
2.6.4. Serbest Radikal Kaynakları	21
2.6.5. Antioksidan Savunma Sistemleri	21

2.6.5.1. Antioksidan Enzimler.....	22
2.6.5.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar	24
2.6.6. Hücre İçi Kalsiyum Artışı	28
2.6.7. Reperfüzyon Hasarında Nötrofil Aktivasyonunun Rolü.....	28
2.6.8. Reperfüzyon Hasarında Kompleman Sisteminin Rolü	29
2.7. Çinko	29
2.7.1. Çinkonun Sülfat'ın Kimyasal Yapısı	30
2.7.2. Çinko Sülfatın Farmakokinetiği	30
2.7.2.1 Kalsiyum, Demir ve Folatın Çinko Emilimi Üzerine Etkisi.....	31
2.7.3. Çinko Sülfatın Farmakolojik Özellikleri ve Etki Mekanizması.....	32
2.7.4. Çinko Sülfat ve Tedavideki Yeri.....	32
3. MATERYAL VE METOT	36
3.1. Materyal	36
3.1.1. Deney Hayvanları.....	36
3.1.2. Kullanılan İlaç ve Hazırlanışı.....	36
3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar	37
3.2. Metot	38
3.2.1. Deney Planı	38
3.2.2. Biyokimyasal Çalışmalar	38
3.2.2.1.Testis Dokusunda Yapılan Analizler.....	40
3.2.3. Histolojik Çalışmalar.....	43
3.2.3.1. Işık Mikroskopik Takip İşlemleri.....	43
3.2.3.2. Dokuların Hematoksilen-Eozin (H-E) Boyama İşlemleri	44
3.2.4. İstatistiksel Analiz	44
4. BULGULAR	46
4.1. Biyokimyasal Bulgular.....	46
4.2. Histopatolojik Bulgular	54
4.2.1. Hematoksilen-Eozin (H-E) Boyama	54
5.TARTIŞMA	69
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	76
KAYNAKLAR.....	77
EKLER.....	90

EK-1.ÖZGEÇMİŞ.....	90
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU.....	91

TEŞEKKÜR

Tezimin planlanması ve yürütülmesi esnasında maddi-manevi hiç bir yardımını esirgemeyen ve bu çalışmanın ortaya çıkmasında büyük emeği bulunan, tez yöneticisi kıymetli hocam, sevgili asker arkadaşım, değerli dostum Prof. Dr. Zekai HALICI'ya, saygı ve şükranlarımı sunarım.

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım saygıdeğer hocalarım, Yrd. Doç. Dr. Fehmi ODABAŞOĞLU ve Doç. Dr. Mine GÜLABOĞLU'na, tez çalışmalarım esnasında her aradığımda yanımda olan Doç. Dr. Elif ÇADIRCI ve Doç. Dr. Yasin BAYIR'a, deneysel çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan doktora öğrencisi sevgili kardeşlerim Atilla TOPÇU'ya ve Harun ÜN'e Farmakoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm diğer araştırma görevlisi ve personeline, bu çalışmanın ortaya çıkmasında destekleri bulunan Eczacılık Fakültesindeki bütün hocalar ve araştırma görevlisi arkadaşlara, akademik kariyerimde Çocuk Cerrahisi alanında Üniversite Doçentliği aşamasına gelmiş olmama rağmen, yeniden ve farklı bir alanda doktora yapma cesareti göstermemde bana destek olan sevgili eşim Doç. Dr. Elif ORAL ve sevgili yavrularımız Selim, Can Ve Zeynep Edibe'ye en içten duygularıyla teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü'ne bu tezin tamamlanmasında Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında 2011264 ve 2013003 numaralı projelere verdiği destekten dolayı teşekkürü borç bilirim.

Doç. Dr. Akgün ORAL

Mart 2015

ÖZET

TORSİYON/DETORSİYON SONRASI UZUN SÜRELİ ÇİNKO KULLANIMININ RAT TESTİS DOKUSU ÜZERİNE ETKİSİ

Amaç: Testis torsiyonu akut seyirli, derhal teşhis ve tedavi edilmesi gereken cerrahi acildir. Gelişen iskemik hasarda serbest radikallerin, enflamatuar sitokinlerin salınımı mevcuttur. Sadece torsiyon olan testiste değil karşı testiste de hasar meydana gelmektedir. Çinko içeren metal aspartazların serbest oksijen radikalleri inhibitörü olduğu bilinmektedir. Sıçanlarda oluşturulan kronik testis torsiyonu modelinde her iki testiste oluşan hasarda çinko sülfatın etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışmamızda 8 gruptan oluşan 48 adet erkek rat kullanıldı. Gruplar; I: Sham, II: Torsiyon+Detorsiyon kontrol 1.ay, III: Torsiyon+Detorsiyon kontrol 2. ay, IV: Torsiyon+Detorsiyon kontrol 3. ay, V: Torsiyon+Detorsiyon Çinko sülfat tedavisi 1. ay, VI: Torsiyon+Detorsiyon Çinko sülfat tedavisi 2. ay, VII: Torsiyon+Detorsiyon Çinko sülfat tedavisi 3. ay, VIII: Sağlıklı Çinko sülfat tedavisi 3. ay. İlgili gruplarda normal besin yanında sıçan başına 100 mikrogram/gün (0.016 ml/rat) Çinko sülfat içeren içme suyu verildi.

Bulgular: Torsiyon/detorsiyon (T/D) gruplarında sham ve sağlıklı Çinko sülfat grubuna göre SOD ve GSH seviyelerinin her iki testiste de istatistiksel olarak anlamlı şekilde düştüğü, MDA seviyelerinin ise arttığı, tedavi gruplarında ise SOD ve GSH seviyelerinin torsiyon yapılmayan testiste ciddi şekilde düzeldiği, MDA seviyelerinin ise normale yaklaştığı belirlenmiştir. Torsiyon yapılan testiste Çinko sülfat tedavisine rağmen SOD ve GSH seviyelerinde ve MDA seviyelerindeki tedavi edici etki sınırlı düzeyde kalmıştır ($p<0.05$). Histopatolojik incelemeler T/D gruplarındaki şiddetli doku hasarının tedavi gruplarında azaldığını göstermiştir. Bu etkinin özellikle torsiyon yapılmayan karşı testiste olduğu görülmüştür.

Sonuç: Kronik T/D yapılmış rat testislerinde 3. ay sonunda biyokimyasal ve histopatolojik hasarın devam ettiği ve torsiyon yapılmamış karşı taraf testiste de hasar olduğu gösterilmiştir. 3 ay süreyle çinko sülfat kullanımı enflamatuar ve oksidatif stres parametrelerini özellikle torsiyon yapılmayan karşı testiste düzelterek koruyucu etkiler gösterdiği gözlemlenmiş ve tüm bu bulgular histopatolojik olarak desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Çinko sülfat, Rat, Testis torsiyonu

ABSTRACT

THE EFFECTS OF ZINC SULPHATE ON CHRONIC ISCHEMIA/REPERFUSION INJURY INDUCED IN RAT TESTIS

Aim: Testicular torsion is one of the most common medical emergencies in urological cases. Reactive oxygen species and inflammatory cytokines play role in ischemic damage and reperfusion depending on testicular torsion. It is known that Zinc sulphate is effective on reducing free radicals. We thought that Zinc sulphate may prevent testicular damage at both side of testis.

Material and Method: Totally 48 male rats in 8 groups have been used in study. Groups; I:Sham, II:T/D 1 month follow-up, III: T/D 2 months follow-up, IV:T/D 3 months follow-up, V:T/D+1 month Zinc sulphate treatment, VI:T/D+2 months Zinc sulphate treatment, VII:T/D+3 months Zinc sulphate treatment, VIII:3 months Zinc sulphate treatment. Drug administration has been carried out adding 100 microgram (0.016 ml/rat) Zinc sulphate for per rat to drinking water in related groups.

Results: Significant decreases levels of antioxidant like SOD and GSH were markedly observed in torsion and detorsion groups when compared with sham group. These levels increased in the treatment group with Zinc sulphate also MDA levels statistically decrease has been found in the treatment groups ($p < 0.05$). The beneficial effects of Zinc sulphate was more evident on non-rotated testis than rotated testis. Also in the histopathological study, significant decrease of the torsion and detorsion injury were observed in treatment groups when compared with torsion and detorsion groups.

Conclusion: In our study, protective effect of Zinc sulphate on inflammatory and oxidative stress have been found result of torsion/detorsion injury in rats especially at non rotated testis and all of these findings are supported histopathological.

Key Words: Antioxidant, Rat, Testicular torsion, Zinc sulphate

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ATP	: Adenozin trifosfat
CAT	: Katalaz
COX	: Siklooksijenaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
I/R	: İskemi/Reperfüzyon
IL-1	: İnterlökin-1
GSH	:Glutasyon
LOOH	: Lipid peroksitleri
LPO	: Lipit peroksidasyonu
MDA	: Malondialdehit
NADPH	: Nikotinamit adenin dinükleotit fosfat
NO	: Nitrik oksit
OH	: Hidroksil
PAF	:Trombosit aktive edici faktör
PSGL-1	: P-selektin glikoprotein
PG	: Prostaglandin
SG	: Sağlıklı Grup
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
MIS	: Müllerman inhibe edici substans
TİA	: Tiyamin
TMP	: Tiyamin monofosfat
T/D	: Torsiyon/detorsiyon
TP I	: Troponin I
TPK	: Tiyamin pirofosfokinaz
TPP	: Tiyamin pirofosfat
TTP	: Tiyamin trifosfat
Zn	: Çinko

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa No</u>
Şekil 4.1.	1.ay SOD enzim ölçüm değerleri.....	46
Şekil 4.2.	1.ay GSH ölçüm değerleri.....	47
Şekil 4.3.	1. ay MDA ölçüm değerleri	48
Şekil 4.4.	2.ay SOD enzim ölçüm değerleri.....	49
Şekil 4.5.	2.ay GSH ölçüm değerleri.....	49
Şekil 4.6.	2. ay MDA ölçüm değerleri.....	50
Şekil 4.7.	3.ay SOD enzim ölçüm değerleri.....	51
Şekil 4.8.	3.ay GSH ölçüm değerleri.....	51
Şekil 4.9.	3. ay MDA ölçüm değerleri.....	52
Şekil 4.10.	Sham grubuna ait testisin görünümü.....	53
Şekil 4.11.	1. ay T/D+, Zn+ grubuna ait sol testisin görünümü.....	54
Şekil 4.12.	1. ay T/D+, Zn+ grubuna ait sağ testisin görünümü.....	55
Şekil 4.13.	2. ay T/D+, Zn+ grubuna ait sol testisin görünümü.....	56
Şekil 4.14.	2. ay T/D+, Zn+ grubuna ait sağ testisin görünümü.....	57
Şekil 4.15.	3. ay T/D+, Zn+ grubuna ait sol testisin görünümü.....	58
Şekil 4.16.	3. ay T/D+, Zn+ grubuna ait sağ testisin görünümü.....	59
Şekil 4.17.	1. ay T/D+, Zn- grubuna ait sol testisin görünümü.....	60
Şekil 4.18.	1. ay T/D+, Zn- grubuna ait sağ testisin görünümü.....	61
Şekil 4.19.	2. ay T/D+, Zn- grubuna ait sol testisin görünümü.....	62
Şekil 4.20.	2. ay T/D+, Zn- grubuna ait sağ testisin görünümü.....	63
Şekil 4.21.	3. ay T/D+, Zn- grubuna ait sol testisin görünümü.....	64
Şekil 4.22.	3. ay T/D+, Zn- grubuna ait sağ testisin görünümü.....	65
Şekil 4.23.	1. ay T/D- Zn+ grubuna ait sol testisin görünümü.....	66
Şekil 4.24.	1. ay T/D- Zn+ grubuna ait sağ testisin görünümü.....	67

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. Deney Planı.....	36
Tablo 4.1. 1.ay gruplarında sıçan testis dokusunda SOD,GSH ve MDA düzeyleri.....	45
Tablo 4.2. 2.ay gruplarında sıçan testis dokusunda SOD,GSH ve MDA düzeyleri.....	48
Tablo 4.3. 3.ay gruplarında sıçan testis dokusunda SOD,GSH ve MDA düzeyleri.....	50
Tablo 4.4 Semikantitatif histopatoloji sonuçları.....	68

1. GİRİŞ

Testis torsiyonu müdahale edilmez ise testisin nekrozu ile sonuçlanan ürolojik acil bir durumdur. Spermatik kordun kendi eksenini etrafında dönmesi ile oluşur. Her yaşta görülebilmekle beraber erkek cinsiyette iki dönemde pik yapar bu dönemler; perinatal dönem olarak adlandırılan hemen doğum öncesi ve sonrası dönem ile pubertal dönemdir.¹

Testis torsiyonunun tanısında kimi zaman güçlükler yaşanır. Ayırıcı tanıda yer alan hastalıklardan ayırtlamak, özellikle de gecikmiş olgularda yardımcı tanı yöntemlerini kullanmayı gerekli kılar. Tedavisinde kritik süre 6-8 saat olarak belirtilmiştir. Bu süre dahilinde seçilmiş olgularda manuel detorsiyon denene bilirse de standart tedavi yöntemi acil cerrahi yaklaşımdır.

Ameliyat sonrası 5 yıllık takip sonunda %57 olguda torsiyone olan testiste orşiopeksi sonrası düşük sperm sayısının mevcut bulunduğu bildirilmiştir.² Torsiyon ve detorsiyon sonrası gelişen İskemi/Reperfüzyon (İ/R) hasarının germ hücrelerinde yaptığı hasar ile spermatogenezi azalttığı bilinmektedir.³ İlginç olan durum tek taraflı torsiyon sonrası aynı taraf testis ile birlikte karşı taraf testisin de bu durumdan etkilenmesidir. Seminifer tübül morfolojisinde bozulmalar, germ hücre hasarı, olgunlaşmasında ve spermatogenezde azalma olduğu birçok deneysel çalışmada^{4, 5} sperm yoğunluğunda ve motilitesinde azalma ve fertilité oranlarında düşme ise bazı klinik çalışmalarda gösterilmiştir.^{2, 4, 6, 7} Tam olarak hangi mekanizma ile karşı testisin de torsiyon ve sonrasında yaşanan süreçte hasarlanmaya yol açtığı bilinmemektedir. İddia edilen mekanizmalar immünolojik nedenler, konjenital displazi, refleks vazokonstriksiyondur.⁸

Testis torsiyonu ve tedavisi ile ortaya çıkan İ/R oluşturduğu problemlerin düzeltilmesi için pek çok deneysel çalışmada pek çok molekül denenmiştir. Pubmed

incelemede 200'ü aşkın molekülün hemen hepsinin oluşan İ/R hasarını deneysel olarak azaltabildiği göstermiş olmasına rağmen bugün için kullanımda olan tek bir ilaç dahi yoktur. Bu deney modellerin birçoğunda ilgili molekülün torsiyon oluşturulmasından önce kullanılmaya başlanmış olması gerçek hayatta yaşanan durumla hiç örtüşmemektedir.

Torsiyone testiste asıl tedavi cerrahi olmasına rağmen cerrahi yapılmış kişilerde infertilete oranının artması; torsiyone olmuş testiste de, karşı taraftaki sağlıklı testiste de iskemi reperfüzyon hasarının etkisinin uzun yıllar devam etkiğini göstermektedir. Bu nedenle cerrahi sonra her iki testisi de iskemi reperfüzyon hasarından korunması gerekmektedir.

Özellikle prepubertal çocuklarda testis torsiyonu ve detorsiyon sonrasında oral çinko kullanımı ile yapılacak olan konservatif tedavinin torsiyone olan testis ve karşı taraf testis üzerine etkilerinin kronik uzun süreçte ne şekilde olacağını ortaya koymak için mevcut deneysel modeli kurguladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Testis Torsiyonu Tarihçe ve Epidemiyoloji

Testis torsiyonu ilk kez 1840 yılında Delasiauve tarafından tanımlanmıştır.⁹ Yenidoğanda bu durum ilk kez Taylor tarafından 1897'de bahsedilmişken, testiküler apendiks ise Colt tarafından 1922'de tanımlanmıştır.^{9, 10} 1913'te Ombredanne gerçek doğasını fark edemese de muhtemelen testiküler apendiks lezyonu tariflemiştir.⁹

25 yaş altı erkeklerde 1/4000 sıklıkta görülür. Testis torsiyonu; akut skrotum bulguları ile başvuran çocukların 1/3-1/4'nünde klinik tablonun nedenidir.¹¹ Her yaşta görülebilirse de perinatal dönemde ve pubertal dönemde görülme sıklığı pik yapar.¹ Olguların % 65'i pubertal dönemde ve 13 yaş civarındadır.¹ Torsiyon zamanında müdahale edilerek uygun şekilde dahi tedavi edilse bile %33-68'sinde tek taraflı testisin atrofisi ile sonuçlanmaktadır.^{1, 10, 12}

2.2. Testisin Anatomisi

Testisler tunika vajinalis denilen periton kaynaklı yapı ile sarılmıştır. Ancak testisin posterior sınırını ve üst polünü sarmaz.¹³ Testis sert irregüler konnektif dokudan oluşan kapsülle çevrilidir. Posteriorde tunica median septum oluşturur mediastinum testis olarak bilinir. Burası epididimisin altında tunika albuginea, damarlar ve duktusların testiküler kapsülü geçtiği noktadadır. Mediastinum damar ve sinirlein testis, girdiği yerdir. Ayrıca mediastinum testisten kaynaklanan ve Tunika albugineada 200-300 civarında koni şekilli lobüller ve onları bölen trabeküler yapıda septa radiataları oluşturur. Leydig hücreleri bu tübülleri çevreleyen gevşek doku içerisinde yer alırlar ve testosteron üretirler.¹³ Lobüllerin tepe kısmına gelindiğinde seminifer tübüllerin kıvrımlarını kaybettiği ve düz bir şekil aldığı görülür ve bu kısım rete testis olarak adlandırılır. Rete testislerden çıkan yapıya duktuli efferentes olarak adlandırılır ve

epididimisin kaput olarak adlandırılan kısmına ulaşırlar. Duktuli efferenteslerin yaklaşık sayısı 10-20 civarındadır. Epididimisin kaputunda kaudasına yani kuyruğuna doğru gidildikçe çapı genişlerken artık duktuli defferenteslere ulaşılmış olur.

2.2.1. Testisin Kanlanması

Testisler asıl olarak renal arterin altından aortadan ayrılaran iki ince uzun damar ile beslenir. Testis kan akımının yaklaşık olarak 2/3'ünü sağlar. Her ikisi de psoas kası üzerinde parietal peritonun altında inferolateral seyirle ilerler. Genitofemoral siniri, üreter ve eksternal iliak arterin alt kısmını önden çaprazlar derin inguinal halkaya girer ve inguinal kanal vasıtası ile skrotuma ulaşırlar. Testisin posterosuperior kısmında iki dala ayrılırlar ve medial ve lateral yüzünde seyreder. Bu dallar tunika albugineaya girer tunica vasculozada daha çok dallara ayrılır. Seminifer tubullerin hemen yanındaki kapiller damarlar buradaki interstisiyel dokunun içerisinde bulunur ve kan testis bariyeri olarak adlandırılırlar. Testis ayrıca inferior epigastrik arterin kremasterik dalından, vas deferensin arterinden de beslenir. Kremasterik arter eksternal spermatik arter olarak da adlandırılır ve testisin kanlanmasının %15-20'sini sağlar, aslında daha çok tunika vajinalisi besler. Deferensiyel arter testis kan ihtiyacının çok az kısmını sağlar. A.iliaka interna'nın uç dalı olan A. vezikalis superior veya inferior'dan çıkar, vaz deferensi besler, internal spermatik arterle testise yakın bir noktada anastomoz yapar.¹⁴

Testisin venleri testisin posteriorundan çıkarlar, epididimi drene ederler ve plexus panpiniformisi oluştururlar. Bu yapı spermatik kordu oluşturan yapılardan önemli bir elemandır ve vas deferensin anteriorundan yukarı doğru çıkar. İnguinal kanal içerisinde üç veya dört dal ile drene olur. Derin inguinal halkadan geçtikten sonra batin boşluğuna ulaşır ve bu venler birleşerek iki ven oluştururlar bunlar testiküler arterin her iki yanında üretere ve psoas majörün önünde, peritonun gerisinde yukarı doğru çıkar.

Sağ renal venin hemen altından sağ testiküler ven direkt olarak vena cava inferiora açılırken sol tarafta testiküler ven sol renal vene drene olur.¹⁴

2.3. Testisin Embriyolojisi

Primordial germ hücrelerinin proliferasyonu ve yolk kesesinden mezonefrik cisime göçü 4. gestasyonel haftada başlar. 6. haftada primordial germ hücrelerinin embriyonel yolk kesesinin duvarından hindgut'ın dorsal mezenteri boyunca genital kabartıya (genital ridge) göçü tamamlanır.⁸ Bu süreç 5-6. hafta sırasında cereyan eder. 6. haftanın sonunda regrese olan mezonefrik cismin yerine bipotansiyel gonad oluşturma potansiyelindedir. Testiküler histolojinin gelişimi ve endokrin fonksiyon 7. gestasyonel haftada başlar ve erişkin dönemine kadar devam eder.^{10, 12} Matürasyon, pubertedeki son maturasyonal değişikliklerden önce, dört basamakta oluşur. Bu basamakların ilk ikisi prenatal ve son ikisi, postnatal dönemdedir. Her ne kadar kromozomal gen Y kromozomunun varlığı veya yokluğu ile belirleniyorsa da erkek seksüel farklılaşma 7. haftaya gelindiğinde SRY geninin (sex-related gene on the Y chromosome) varlığında başlatılabilir.¹⁵ Erkek seksüel farklılaşmanın sağlıklı devam edebilmesi için fetal testisten üretilen hormonların devamlılığı gerekir aksi halde, yani testiküler hormonların yokluğunda gidişat dışı seksüel farklılaşması yönünde olacaktır. Matürasyonun ilk basamağında, primordiyal germ hücreleri ortaya çıkan testiküler kordlara dahil olur ve gonositlere dönüşür. Bu gonositler germ hücrenin fetal kök hücre havuzunu oluşturur ve testiküler kordların ortasında uzanır. İnsan koryonik gonadotropini (hCG) fetal Leyding hücre gelişimini, proliferasyonunu ve testosteron sekresyonunu stimüle eder. Gonosit proliferasyonu fetal kök hücre havuzunu genişletir, bunun yanında Sertoli hücreleri eş zamanlı olarak farklılaşır ve Müllerian inhibe edici substans (MIS) salgılanmaya başlar.⁸ Mezonefrik (wolfian) kanalın, paramezonefrik (müllerian) kanalın ve eksternal genitalyanın maskülinizasyonu oluşur. MIS müllerian

yapıların regresyonuna yol açar ve testesteron epididim ve vas deferensi oluşturmak üzere wolfian kanalın gelişimine neden olur. Adeta erkek seksüel farklılaşmanın oluşabilmesi için dişi cinsiyet elemanların ortamdan temizler ve testisin iniş güzergahı üzerindeki engelleri yok eder.⁸

Matürasyonun ikinci basamağında, hCG'nin seviyesi, fetal Leyding hücrelerinin sayısı ve testosteron seviyesi gestasyonun 13. haftasında pik seviyelerine ulaşır. Gonositler seminifer tübüllerin bazal membranına doğru göç etmeye başlar ve fetal spermatogonyaya farklılaşır. Bunlar kök hücre olduklarından, gonositler kendi sayılarını tekrar doldurabilirler. Eksternal genitalyanın maskülinizasyonu ve paramezonefrik kanalların rezorpsiyonu tamamlanır. Mezonefrik kanalın epididime maskülinizasyonu devam eder ve gubernakulumun kalınlaşması başlar. Fetal spermatogonyanın farklılaşması aslında tüm fetal hayat boyunca devam eder. Rete testisin ve mezonefrik tübüllerin kanalizasyonu 12. haftada civarında başlar ve ancak puberte döneminde tamamlanabilir. Testiküler iniş gestasyonun 7. ayında meydana gelir ve daha önce bahsedilen çoklu faktörlere bağlıdır.⁸

2.4. Testisin Histolojisi

Testisler tunika albuginea denilen sıkı konnektif dokunun kalın kapsülü ile sarılır. Tunika albuginea testisin posterior yüzünde kalınlaşmıştır ve mediastinum testisi oluşturur ve buradan beze fibröz septalar penetre olurlar. Bu septalar bezi testiküler lobüller olarak adlandırılan yaklaşık 250 kompartmana ayırır.⁸ Lobüller arasında sıklıkla bağlantı vardır. Her lobül zengin kan ve lenf damarları, sinirler, Leydig hücreleri olarak adlandırılan intertisyel hücrelerden oluşan gevşek konnektif doku ağı ile sarmalanan 1-4 adet seminifer tübül tarafından işgal edilmiştir. Seminifer tübül erkek üreme hücresi spermatozoayı üretirken intertisyel hücrelerden testiküler androjen salgılanır.⁸

Embriyolojik gelişim esnasında, testis abdominal duvarın dorsal tarafında retroperitoneal olarak gelişir. Fetal gelişim sırasında testisler migrasyon yaparak spermatik kordun bitimindeki skrotum içindeki pozisyonunu alırlar. Bu migrasyon sırasında her bir testis peritondan köken alan tunika vajinalis olarak adlandırılan seröz keseyi taşırlar. Bu tunika dışta parietal tabaka, içde visseral tabakadan oluşur ve testisin anterior ve lateralinde tunika albugineayı sararlar.⁸

Spermatozidler adultlarda seminifer tübüllerde günlük 2×10^8 adet üretilir. Her testis 150-250µm çapında ve 300-700 cm uzunluğunda 250-1000 tübül ihtiva eder. Tek testisin tübüllerin uzunluğu toplamı yaklaşık 250 m kadardır. Tübüller kıvrıntılı şekilde ve loop formuna sahiptir. Tübüllerin uçları dar ve kısa segment olarak devam eder bu yapıya düz tübüller veya rete testis adı verilir. Yaklaşık 10-20 duktus eferentes epididimin sefalik parçasında rete testis ile bağlantılıdır. Seminifer tübüller kompleks tabakalı epitelyum ile kaplanır ve bu yapıya germinal veya seminiferus epitelyum denir. Bunun dış duvarını iyi tanımlanmış bazal lamina ve birkaç fibroblast tabakasından oluşan fibröz konnektif doku çevreler. En iç tabakası bazal lamina ile bağlantılıdır ve düz kas yapısına sahip düzleşmiş myoid hücrelerden oluşur. Leydig hücreleri bu boşluklar ve seminifer tübüllerin arasındaki mesafeyi işgal ederler.⁸

2.5. Testis Torsiyonu ve Tipleri

Testis torsiyonunu spermatik kord yapılarının inguinal kanal veya daha aşağı seviyesinde dönmesi ile karakterize klinik durumdur.^{10, 16} Testis ve spermatik kordun torsiyonu testis kan akımının kesilmesi ile strangulasyonuna yol açan cerrahi bir acil durumdur. Sonraki aşamada nekroz ve atrofi gerçekleşir. Genellikle anlamlı iskemik hasarın oluşmasından önce 6-8 saatlik pencere dönemi denilen dönem vardır^{8, 10, 16}. Yaklaşık % 60 olguda hikaye ve fizik muayene tanıyı koymada yeterli olabilir.¹

Testis torsiyonu ekstravajinal ve intravajinal olarak iki şekilde ortaya çıkabilmektedir.¹⁶

2.5.1.1. Ekstravajinal Testis Torsiyonu

Tüm testis torsiyonlarının yaklaşık %5’lik kısmını oluşturur. Temel olarak testisin skrotum içerisinde fiksasyonundan önceki tunika vajinalis sayesinde serbestçe dönebilmesinden kaynaklanır. Hayatın ilk 6. haftasına kadar tunika vajinalisin çevre dokulara yapışabildiği süreç içerisinde yani perinatal dönemde gerçekleşir. Perinatal dönem Prenatal ve Postnatal dönem olarak iki alt alt tipe sahiptir.¹ Prenatal torsiyon doğumdan önce oluşan doğumda hali hazırda mevcut bulunan koyu renkli hemi skrotum içerisinde gergin olmayan kitle ve cilt ile kitlenin yapışık olduğu bir durumdur. Postnatal torsiyonda akut inflamasyon beraberinde eritem ve gergin kitle mevcuttur. Bu fark tedavi stratejisinin planlanmasında önemlidir çünkü postnatal torsiyonda acil cerrahi eksplorasyon gerekir. Genel olarak perinatal testis torsiyonlarında testisin kurtarılabilme oranı düşüktür.

2.5.1.2. İnvajinal Testis Torsiyonu

Perinatal dönemin dışında kalan dönemde tunika vajinalis ile testis ve epididimin yapışma kusurunun sorumlu tutulduğu durumdur. Normalde tunika testisin arka yüzü ve epididim ile ilişki halindedir ve onları skrotuma yapıştırarak twist hareketinin olmasına engel olur. Ancak, tunika vajinalis spermatik kord üzerinde çok proksimal lokalizasyonda bulunuyorsa bu durumda testis ve epididimin skrotum içerisinde serbest kalarak tunika vajinalis içerisinde spermatik kordun longitudinal aksı etrafında rahatlıkla twist hareketi yapabilmesine sebep olur. İşte bu adı geçen deformiteye “bell-clapper” çan tokmağı deformitesi denilmektedir ve daha büyük

yaştaki çocuklarda testis torsiyonun sababini oluşturmaktadır.^{10, 16} En sık olarak 13 yaş civarında adölesanlarda görülmekle beraber sol testis sıklıkla etkilenirken %2 civarında da bilateral testis torsiyonu gerçekleşir.¹ Spermatik kasların kontraksiyonunun rotasyona sebep olan güç olduğu ön görülmüştür. İlave olarak adölesan çağıdaki hızlı büyüme ve testisin artmış olan vaskülaritesi de intarvajinal torsiyona prekürsör olarak sebep olabilir.

2.5.2. Testis Torsiyonu ve Ayırıcı Tanı

Testisin dönmesi ya da torsiyonu gonadal kan akımının torsiyona bağlı olarak engellenmesinden kaynaklanmaktadır. Zamanında tedavi edilmediği durumlarda nekroz ile sonuçlanır. Testis torsiyonu tüm akut skrotum nedenlerinin %25 sababini oluşturur.^{17, 18} Çocukluk çağında akut skrotumun en sık görülen nedeni olmasa da en önemlisi olduğu ve acil cerrahi yaklaşım gerektirdiği ortadadır. Akut skrotal ağrı ve şişlikten şikayetçi olan bir hastada testis torsiyonu yönü ile mutlaka düşünölmelidir. Torsiyon sonrasında geçen süre uzadıkça testisin kurtarılma ihtimali azaldığından, gerçek bir cerrahi acildir. Genellikle inmiş testiste görölmektedir ve nekroz ile sonuçlanma ihtimalinin yüksek insidansından ötürü cerrahi bir acil durumdur.¹⁰

1761’de Morgagni apendiks testisi tanımlamıştır ve bugün bu yapı morgagni hidatiği olarak bilinmektedir.⁹ Bu yapının müllerian ya da paramezonefrik kanalın kranil ucunun embriyolojik artığı olduğu kabul edilir. Erkeklerin %90’ında bu yapı bulunmaktadır ve çapı 1-10 mm arasında değişmektedir. Dört testiköler apendiks arasından en sık dönen yapı budur. Çoğunlukla 11 yaş civarı görölür. Diğerleri appendiks epididim (wolf kanal artığı), paradidim ve vas aberanstır.¹⁰ Apendiks torsiyonunda kramasterik refleks kaybolmaz. Fizik muayenede infarkte apendiks, skrotal ciltten mavi bir nokta olarak görölebilir, bu apendiks torsiyonu için

patagnomonik olarak düşünölmektedir. Ancak mavi nokta apendiks torsiyonu olan hastaların yalnızca yaklaşık % 20'sinde görölmektedir.⁸

Skrotumun enflamatuvar durumları genellikle epididimo-orşit olarak isimlendirilmektedir. Prepubertal erkeklerde, bakteriyel epididimit sıklıkla üriner sistem anormallikleri ile ilişkilidir. Herhangi bir epididimit ve idrar yolu enfeksiyonunda, konjenital anomalileri belirlemek için üriner sistemin sonografisi ve işeme sistoüreterogramı ile araştırılmalıdır.⁸ Ancak, genç erkeklerin çoğunluğunda epididimit sebebi sıklıkla tanımlanamaz. Puberte öncesi yalnız başına epididim etkilenmektedir. Puberte sonrasında, epididimo-orşit daha sık görölmektedir. Kabakulak virüsü postpubertal testise orşit nedeni olabilir buradan hareketle sadece bakteriyel etkenlerin değil viral patojenlerin de orşit nedeni olabileceği hatırdâ tutulmalıdır. Adenovirüs, enterovirüs, influenza ve parainfluenza gibi diğer virüsler de etiyolojide bildirilmiştir.¹⁶ Puberte öncesi görölen epididimit üriner sistemden vas deferens aracılığıyla enfeksiyonun retrograd epididime yayılması ile gerçekleşmektedir. En sık organizma *E.Coli*'dir ve üriner sistem anomalileri ya da üretral enstrümantasyon enfeksiyonlar yatkınlık sağlar.¹ Çocukluk çağında en çok epididimo-orşitten beklenen hasta grubu spina bifidalı aralıklı temiz kateterizasyon gerektiren çocuklardır. Bu durum ayrıca fistüllü anal atrezisi olan yenidoğanlarda görölmektedir.

İdiopatik skrotal ödem genellikle testis ya da onun apendikslerinin torsiyonu ile karışmaktadır.¹⁹ Skrotal ödemi olan çocukta önemli olan testis torsiyonunu ekarte etmektir. Bu durumda skrotumda, inguinal bölge, penis ya perineden veya bu yapılara doğru yayılan hızlı artış gösteren bir ödem söz konusudur. Bu ödemin nedeni her zaman belli değildir ancak bakteriyel sellülit ya da topikal alerji olabilir.¹⁰

Akut skrotumun yine testis torsiyonu ile karışabilen bir diğer nadir nedeni de yağ nekrozudur. Ani hassasiyet, ince skrotum derisi içinde sıklıkla bilateral küçük küme

görüntüsü ile karakterizedir.¹⁹ Etkilenen çocuklar genellikle obezdir ve soğuk suda yüzme öyküsü mevcuttur.²⁰

Testis travmasında testiküler yırtılma, hematom ve hematozele bağlı olarak testiste ağrılı ve muayenede ele gelen kitle olabilir.²¹ Rüptüre olmuş testis kaynaklı hematom, sağlam kalan tunika albugineada artmış basınca bağlı olarak enfaktüse yol açabilmektedir ve acil eksplorasyon gerektirir.¹²

Henoch-Schönlein purpurası, nontrombositopenik purpura, artralji, reanl hastalık, gastrointestinal kanama ve ara sıra skrotal ağrı ve şişlik ile karakterizedir ve ayırıcı tanıda düşünülmelidir.⁸

Erken torsiyonda, tüm testis şiş ve hassastır ve etkilenmemiş testisten daha büyüktür. Üst pole sınırlı hassasiyet, özellikle bu bölgede sert hassas nodül palpe edilebiliyorsa, testiküler apendiks torsiyonunu düşündürür. Nekrotik torsiyone apendiksi gösteren küçük mavimsi renk değişikliği, ‘mavi nokta bulgusu’ olarak bilinir, üst poldeki ciltten görülebilir.¹ Yani global olarak tüm testisi değil lokal olarak belli bir skrotal alanda patolojinin tespit edilmesi önemlidir. Bu işaret, eğer hassasiyet de mevcutsa, apendiks torsiyonu için hemen her zaman patognomoniktir. Erken epididimit hassasiyet ve endürasyon gösterir, ancak testisin kendisi hassas değildir. Epididimin palpe edilemesine engel olacak kadar yoğun şişlikte şayet semptomlar son birkaç saat boyunca mevcut bulunuyorsa, testis torsiyonunu yönünde anlam ifade edebilir. Apeniks ve epididim torsiyonunun ikisinde de, klinik ilerledikçe testiküler işaretlerde kaybolma meydana gelir.⁸ Ağrı 12 saatten beri mevcutsa ve skrotum normal görünümdeyse olası değildir. Hem epididimit hem de testisküler torsiyonda, etkilenmiş hemiskrotum 24 saat sonra tipik olarak belirgin eritem ve şişme sergiler.⁸

Krameterik refleks her zaman araştırılmalıdır. Bir çalışmada krameterik refleksin 30 aylıktan 12 yaşındaki erkek çocuklarda %100 intakt olduğunu ama infant

ve gençlerde her zaman normal olmadığını bulmuştur. Kramasterik refleks nadiren testiküler torsiyonu olan hastalarda korunmuştur ama testiküler veya epididimal apendiks torsiyonu olanlarda genellikle mevcuttur.^{1, 8}

2.5.3. Testis Torsiyonu ve Tedavi

Akut skrotum ve muhtemel testis torsiyonunun tedavisi acil operatif skrotum eksplorasyonudur. Skrotumda orta hat insizyonu yapılır ve koter ile hemiskrotum açılır. Ancak prenatal testis torsiyonunun yönetimi açısından birçok çelişkili yaklaşımlar mevcuttur. Bunlar (a) torsiyone gonadın eksplorasyon zamanı (b) gross olarak nekrotik gonadın çıkarılması veya bırakılması ve (c) kontralateral orşiopeksinin endikasyonlarını içerir.^{10, 16} Prenatal torsiyon doğumdan sonra kronik torsiyona ilerlediğinden, testis nadiren kurtarılabilir.¹⁶ Eksplorasyon ihtiyacı acil olarak uygulanmaz ancak yenidoğanın genel durumuna bağlı olarak erkenden yapılmalıdır. Yeni doğanlarda yönetimindeki ana tartışma karşı taraf gonadın potansiyel olarak kurtarılması için eksplorasyon yapılıp yapılmamasıdır. Tanı ve tedavide gecikme olursa uzun dönemde endokrin fonksiyonlarında ve fertilitede istenmeyen etkiler görülebilmektedir.¹⁰

Daha büyük çocuklarda manuel detorsiyon denenebilir. Hastaların yaklaşık 2/3'ünde bu “açık kitap” rotasyonu fayda verir. Manuel detorsiyon hastanın semptomlarında gerileme yaratır ve iskemi derecesini azaltır; ancak bu yöntem cerrahi eksplorasyona alternatif değildir. Bu başarılı olursa transverse planda ve daha yukarı yerleşimli testis skrotum tabanına düşecek ve hasta tarafından ani bir rahatlama hissedilecektir.¹

Eksplorasyon sırasında testis ödemli veya nekrotik olabilir. Potansiyel canlılığın en iyi prognostik belirtisi tunica albugeniaya yapılan bir insizyonda kanamanın olmasıdır. Testisler median septuma üç ve dört tane ince, reaktif olmayan, ve absorbe

olmayan sütürlerle fıkse edilebilir. Bu sütürler septum içersinden geçirilerek karşı taraf testisinde eş zamanlı fiksasyonunu sağlayabilir.⁸

Önceden benimsenen herhangi endokrin fonksiyonun korunması amacıyla nekrotik testisin skrotuma geri konması ve fıkse edilmesi konsepti artık dışlanmaktadır.¹⁶ İleri incelemelerde nekrotik testislerin atrofik olduğu görülmüştür. Deneysel sıçan çalışmalarında bu gibi testislerin, diğer normal testis üzerine istenmeyen immunolojik etkilere neden olacak antijenler serbestleştirdiği gösterilmiştir. Erken eksplorasyon ve nekrotik testisin çıkarılması en uygun tedavidir. Tek istisna prenatal torsiyon nedeniyle bilateral nekrotik testisleri olan bir gonadın bile kurtarılmasının endokrin veya reproduktif fonksiyonların potansiyel olarak korunabildiği yeni doğanlardır.¹⁶

Kontralateral orşidopeksi, başlangıç eksplorasyonda hastanın yaşında, torsiyonun intra/ekstravaginal olup olmamasından bağımsız olarak tek taraflı torsiyon vakalarının tümünde tavsiye edilmektedir. Bu minimal invaziv prosedür kontralateral gonada herhangi bir zarar vermez ve hali hazırda bir testisini kaybetmiş hasta için gelecekte oldukça faydalı olabilmektedir.¹⁰

2.5.4. Testis Torsiyonu ve Prognoz

Testis kurtarma oranları direkt olarak torsiyonun süresi ve derecesi ile ilişkilidir. Testiküler atrofi semptomların 24 saatten uzun sürdüğü her durumda meydana gelir. Köpeklerle yapılmış hayvan deneyleri 6 saat sonra hiçbir spermatik veya sertoli hücresinin viabilitesinin olmadığını ve iskemiden 10 saat sonra tüm leyding hücrelerin de kaybedildiğini göstermiştir.^{8, 22} Ancak, insanlarda, ciddi testiküler atrofi, eğer torsiyon derecesi 360° fazla ise 4 saat kadar erken bir sürede de oluşabilir. Kord 360°den fazla döndüğünde, arterin tamamen obstrüksiyonu olasıdır.^{8, 23} Bunun aksine, torsiyon 360°den az ise, venöz oklüzyon ve ödeme bağlı olarak arteriol stazı meydana

gelir. Genel olarak, testiküler atrofi torsiyondan 8 saat önce nadirdir, ancak bu dönemden sonra sıktır.^{1, 10, 16}

Ancak bu faktör 24 saatten uzun süredir belirtileri olan hastalara cerrahi eksplorasyon yapılmaması gibi bir anlama gelmemelidir. Yukarıda belirtildiği gibi parsiyel ya da intermitant torsiyon meydana gelebilir, bu durumda uzun süredir belirtiler var olsa bile testis halen kurtarılabilir.²⁴

Viabilitesinden şüphelenilen testisin ileride hormonal olarak fonksiyon görmesi yönü ile bırakılması veya çıkartılması durumu tartışmalıdır. Testiküler iskeminin kan-testis bariyerini zedelediği hakkında belirgin kanıtlar mevcuttur. 10 yaşından büyük çocuklarda kendi spermatogonyasına karşı otoimmunizasyon riski yüksektir. İskemi ile ilişkili otoimmunizasyon riski 10 yaşından küçük çocuklarda düşüktür çünkü kan-testis bariyeri yoktur ve spermatogenez daha başlamamıştır. Bu nedenle adölesan dönem öncesindeki çocuklarda durumu şüpheli görülen testis bırakılabilir.¹⁰

Daha da önemlisi testiküler atrofi insidansıdır; tek taraflı testiküler torsiyon geçirmiş bir çok hastada belirgin anormal sperm analizleri olduğu görülmüştür. Bu da tek taraflı bir hastalık sürecinde bilateral testiküler disfonksiyonun görüldüğünü göstermektedir. Hem klinik hem de deneysel çalışmalarda kontralateral testisin anormal spermatogenezinin enfarkte testisin in vivo bırakılması sonucu meydana gelen otoimmun etkilerin olduğunu düşündürmektedir. Diğer çalışmalarda torsiyona yatkın testislerin kriptorşidizmde olduğu gibi germ hücrelerinde kalıtsal bozukluk olduğunu ortaya atmışlardır. Spermatogenezdeki anormalliğin orijini ne olursa olsun detorsiyon sonrası anlamlı canlılık belirtileri göstermeyen her testisin çıkarılması önerilmektedir.²⁴

2.5.5. Testis Torsiyonu ve Karşı Testisin Durumu

İskeminin etkileri torsiyone testis ile sınırlı görülmemektedir. Semptomların başlagıcından itibaren 4 saat içerisinde testiküler torsiyonu tedavi edilmiş hastalarda,

her iki testiste hasarı öne süren, takipte hastaların yarısında anormal semen analizi mevcuttur.⁷ Ratlarda yapılmış çalışmalar, tek taraflı torsiyonunun çift taraflı testiküler hasarı indüklediği ve fertilitiyi düşürdüğünü teyit etmiştir. Bu gözlemleri açıklamak için birkaç mekanizma öne sürülmüştür.^{8,25} Bunlar; 1-İmmünolojik nedenler 2-Konjenital displazi 3-Refleks vazokonstriksiyon olarak sıralanmıştır.⁸

1-İmmünolojik Hasar Mekanizması;

Torsiyonun, kan-testis bariyerinin yıkılmasına neden olarak hasarlı testisteki spermlerin antijenlerine karşı antikor oluşumunu indükler, bunlar daha sonra etkilenmemiş testise de saldırır. Ratlarda, torsiyone testisin orşiektomisinin, preoperatif antilenfosit globulin ve splenektominin²⁶ veya steroid veya siklosporin gibi immünosupresiflerin kullanımının karşı taraf testisin hasarını önlediği gösterilmiştir.⁵ Benzer olarak, insanlarda, 24 saatten uzun torsiyonu olan ve orşiektomi yapılan hastalarda, torsiyone testisi yerinde bırakılan hastalara oranla, normal semen analizi olması daha olasıdır.⁷ Hayvan çalışmalarında karşı taraf testisin hasarının immün cevap ile oluştuğu hakkında belirgin kanıt olsa da, insan çalışmalarında direkt kanıt mevcut değildir. Testiküler torsiyonu olan hastaların yalnızca yaklaşık % 10-20'sinde antitestis antikorları bulunmuştur.²⁷ Buna ek olarak, bunların varlığı infertilite veya testiküler endokrin veya ekzokrin fonksiyon bozukluğu ile ilişkili değildir.

2-Konjenital Displazi

Unilateral torsiyonu olan hastalarda gözlenen anormal semen analizinin alternatif açıklaması etkilenmemiş taraftaki altta yatan konjenital displazidir. Unilateral torsiyon tedavisi sırasında karşı taraftan alınmış biyopsilerdeki, germinatif epitelde deskvamasyon, leyding hücrelerinde atrofi, ve spermatoblastların malformasyonu gibi anormallikler vakaların %88'inde gösterilmiştir.^{8, 28} Torsiyonun başlangıcından hemen sonra ortaya çıkan bu anormalliklerin varlığı, karşı taraf testisteki önceden var olan allta

yatan patolojiyi göstermektedir. Ancak, hasar başka bir mekanizma ile gelişmediyse, bu açıklama torsiyonun süresi ve total sperm sayısı arasındaki tutarlı korrelasyonu açıklayamamaktadır.⁸

3-İskemi İle İndüklenmiş Vazokonstriksiyon

Torsiyone olmayan testisteki gözlenen hasarın en son açıklaması, iskemi ile indüklenmiş vazokonstriksiyondur.²⁹ Hayvan çalışmalarında, unilateral testis torsiyonunun, kan akımında ani ve ilerleyici düşmeyi, detorsiyonu takiben yavaş yavaş artışı indüklediği gösterilmiştir.³⁰ Etkilenen taraf gibi, karşı taraf testis de iskemi ve reperfüzyon hasarı kombinasyonu ile hasarlanabilir.^{8, 31} Torsiyonun, karşı taraf testiküler kan akımındaki etkisi, genitofemoral sinirin sempatik sinir boşalımına bağlı olduğu görülmektedir.³²

Birkaç çalışma torsiyon sonrası testiküler hasarın testisin soğutulması ile sınırlandırabileceğini, immün-aracılı hasarı baskılayabileceği refleks vazokonstriksiyonu önlemek için kimyasal sempatektomiye yol açtığı öne sürmüştür.⁸ Hayvan çalışmalarında, testisin dışarıdan soğutulması iskeminin etkilerini birkaç saat geciktirebilir.³³ Buna ek olarak, verapamil, surfaktant, allopürinol, platelet aktive edici faktör ve hiperbarik oksijen tedavisi reperfüzyon hasarını azaltmak amacıyla kullanılmıştır.⁸ Benzer olarak, steroidlerle, siklosporinle ve azothiopürin ile immünsüpresyon, immün cevap ile oluşmuş testiküler hasarı azaltmak için kullanılmıştır.^{5, 34} Kapsaisin, 6-hidroksidopamin hidrobromid, guanetidin monosülfat ve nitrik oksitin hayvan çalışmalarında, testiküler hasarı azaltmak amacıyla karşı taraf testiste vazospazm ve hipoksiyi engellediği gösterilmiştir.^{8, 35, 36} Hipotermi dışında, unilateral torsiyonu takiben testiküler hasarın sınırlandırılması için diğer metodlar, insanlarda kullanılmıştır.

2.6. İskemi Reperfüzyon Hasarı

2.6.1. Testiste İskemi

Arteriyel kan akımının azalmasına bağlı organ ve dokunun yetersiz perfüzyonu sonucu ilgili doku veya organın oksijenden yoksun kalmasıdır.³⁷ Ortamda yeterli oksijen olmamasına bağlı hasar süreci başlar. Diğer taraftan ortaya çıkan zararlı maddelerin uzaklaştırılmasında da sorun yaşanır.^{38, 39} Ortamda metabolizmanın devamlılığını sağlayacak oksijenin kalmaması ve yetersiz enerji bir taraftanda toksik metabolitlerin akümülyasyonuna yol açar ve sonunda hücrenin ölümü söz konusudur.^{40 41} İskemik dokuya yeniden kan akımının başlaması yani, iskemik dokunun reperfüzyonu dokuda beklenenin aksine olarak iskemi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara yol açar.³⁸

Vücudun diğer dokularında olduğu gibi testiste de aynı tablo söz konusudur. testis torsiyon-detorsiyon nedeniyle oluşan iskemi ve reperfüzyon testiste ciddi hasara neden olur.⁴¹ Bu hasar sadece olduğu dokuyu değil aynı zamanda diğer sistem ve organlarında hasar görmesine etki eder.^{42, 43} İskemik dönemde hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Hücre içerisinde Adenozin Trifosfat (ATP) bağımlı çalışan kaskadlar bozulmaya başlar çünkü hücresel oksidatif fosforilizasyon azalır ve adenozin 5'-trifosfat ve fosfokreatin gibi yüksek enerjilifosfat sentezi azalır.²²

En önemli faktörlerden biri hücre membranında bulunan ATP bağımlı Sodyum-Potasyum (Na^+/K^+) pompasıdır ki, oluşan mevcut iskemi nedeniyle gerekli enerjinin sağlanamadığı ortamda çalışmaz ve hücre içi iyon dengesi bozulur. Fizyolojik bütünlüğü bozulan hücrede ilk etkilenen yer mitokondridir.

ATP miktarındaki azalmanın sonucunda Na^+/K^+ ATPaz enzimini inhibe olur. Bu durum hücrede Na^+ ve su akümülyasyonuna ve sonucunda hücrede şişmeye sebep olur. Na^+ 'ın hücre içindeki artışı ile geçici voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallarının açılmasına

ve hücre içi Ca^{+2} miktarının artmasına neden olur. Ca^{+2} 'un hücre içerisinde aşırı miktarda birikmesi fosfolipaz aktivasyonu ve bunun sonucunda da fosfolipidlerin parçalanması gerçekleşir.

2.6.2. Testiste Reperfüzyon ve Reperfüzyon Hasarı

Reperfüzyon, iskemik haldeki dokuya yeniden kan akımının başlaması durumudur.^{44, 45} Bugüne kadar yapılmış sayısız çalışma reperfüzyon hasarının dokuda iskemiden çok daha fazla hasar yaptığını net sonuç olarak göstermiştir.^{39, 44, 46, 47} Bu durum bir anlamda oksijensiz kalmış olan dokunun yeniden hayati önemi olan oksijene sahip olması anlamına gelirken diğer taraftan hiç arzu edilmeyen bir sonuç olarak aşırı oksijen kaynaklı ortaya çıkacak serbest oksijen radikallerinin üretilmesine de sebebiyet verir.⁴⁸⁻⁵⁰

2.6.3. Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest radikaller bir veya birden çok eşleşmemiş elektrona sahip, molekül ağırlığı düşük, kısa ömürlü, kararsız ve çok etkin moleküllerdir. Oksijen doğada dioksijen (O_2) olarak bulunan kararsız bir elementtir. Bu kararsız konumu, enerji düzeylerinde bulunan elektronlarının yapısıyla ilişkilidir. Stabil moleküllerin dış yörüngesinde birbirine zıt yönde dönen elektron çiftleri vardır. Serbest radikaller son derece reaktiftir ve elektron eşlemek ve etraftaki diğer moleküller ile reaksiyona girmek için sürekli bir yarış içerisindeyler.^{45, 46, 51}

Mitokondrial, endoplazmik ve nükleer elektron transport sistemlerinde (sitokrom p450) peroksizomlarda, monosit ve nötrofillerin fagositozu gibi normal metabolik olaylar sırasında bol miktarda serbest radikal üretilir. Serbest radikaller oksijen kullanan tüm metabolizmalarda bir hücre ürünü olarak sürekli üretilmekte ve buna karşı olarak dengeleyici antioksidan savunma mekanizmaları ile kontrol altında tutulmaktadır. Hakim duruma geçen oksidan ajanlar çok kısa süreli ömürleri olmasına rağmen fazla

miktarda üretildiklerinde lipid, protein, karbonhidrat ve deoksiribonükleik asit (DNA) gibi hücre içi biyomoleküllerin fonksiyonlarında DNA’da kırılma ve mutasyonlara açık hale getirmek, bağışıklık sistemindeki hücreleri yok ederek bağışıklık sistemini etkilemek, yaşlanma ve kanser gibi etkilere neden olurlar. Dengenin sağlanabilmesi için antioksidanların sürekli üretilmesi gerekir.⁵²⁻⁵⁴

2.6.3.1. Hidroksil Radikali (OH⁻)

Serbest radikaller içerisinde en zarar verici etki barındıranlar Süperoksit radikali ve H₂O₂’ten Fenton reaksiyonu ile üretilen hidroksil radikalidir. Oluştığı yerde büyük hasarlara neden olur. Yarı ömrü son derece kısadır. Diğer kaynağı ise Haber-Weiss reaksiyonudur.^{55,56} Tioller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşmasına yol açar.⁵⁰

2.6.3.2. Singlet Oksijen

Oksijen molekülünün daha reaktif bir türü olan Singlet oksijen, moleküler oksijenin enerji alması ile oluşur. Bunun da yarılanma ömrü kısadır. Aslında, Singlet oksijen ortaklanmamış elektronu olmadığı için bir radikal değildir. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi, radikal reaksiyonların başlamasına da sebep olur.^{47, 57, 58}

2.6.3.3. Süperoksit Radikali (O₂⁻)

Bir elektron alan oksijenin indirgenmesi sonucu kararsız bir yapı olan süperoksit radikali meydana gelir. Biyolojik sistemlerde en fazla bulunan radikal öncülü moleküler oksijendir. Serbest radikal olmakla süperoksit radikali’nin belirgin toksik etkisi yoktur. Başlıca kaynağı sitoplazmadaki P450 sistemidir.^{54, 56, 58}

2.6.3.4. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit, moleküler oksijenin iki elektron indirgenmesiyle oluşur. Hidrojen peroksitin eşlenmemiş elektronu olmadığı için serbest radikal değildir.

Biyolojik sistemlerde H_2O_2 'nin asıl kaynağı süperoksit radikalidir. Bu reaksiyon rasgele veya süperoksit dismutaz (SOD) ile enzimatik olarak gerçekleşir. H_2O_2 biyolojik membranları geçebilir ve uzun ömürlüdür.⁵⁷



H_2O_2 , protein tiyollerini oksitleme ve DNA'da zincir kırılmaları oluşturarak hasar yapar, asıl önemi geçiş metal iyonlarının varlığında hidroksil ($OH^\cdot$) radikallerini oluşturmasıdır.

2.6.3.5. Hipoklorik Asit (HOCl)

Fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde önemli rol oynar. Nötrofil ve makrofajlar tarafından enzimatik olarak üretilir ve bakterisit etkisi için salınır.⁵⁷



Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerdeki sistein sülfhidril grupları ve diğer amino asit kalıntıları okside olarak yıkılır, nükleer ve mitokondriyal DNA okside olur. Serbest oksijen radikallerinin tüm bu etkilerinin sonucunda hücre hasarı olur. Hücrede reaktif oksijen türlerinin ve serbest radikallerin artışı hücre hasarının önemli bir nedenidir. Serbest radikaller hücreye 3 farklı mekanizma ile zarar vermektedir.

Bu mekanizmalar;

1. Membran Lipitlerinin Peroksidasyonu: Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en az dayanıklı olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek perokside olurlar. Serbest radikaller, hücre membranının stabilizasyonunu ortadan kaldırır ve hızlı hücre ve doku bozulmalarına neden olurlar. Lipid peroksitleri (LOOH) yıkıldığında aktif aldehitler oluşur. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehit

(MDA) meydana gelir. MDA dokuda ortaya çıkar, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde MDA ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin indikatörü olarak kullanılır.⁵⁹

2. Disülfid Bağı Oluşumu: Proteinler serbest radikallere karşı poliansatüre yağ asitlerinden daha az hassastırlar. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur. Serbest radikallerin etkileri sonunda, yapılarında fazla sayıda disülfid bağı bulunan immünoglobülin G (IgG) ve albümin gibi proteinlerin tersiyer yapıları bozulur, normal fonksiyonlarını yerine getiremezler.⁶⁰⁻⁶²

3.DNA Hasarı: DNA molekülü yeniden sentezlenemeyen ancak kopyalanabilen bir molekül olduğundan DNA modifikasyonları mutasyonlara ve genetik bozukluklara neden olmaktadır. Bu yüzden DNA hasarının ROS ile indüklenen hücresel modifikasyonların en ciddiisi olduğu düşünülmektedir. İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar.⁶¹⁻⁶³

2.6.4. Serbest Radikal Kaynakları

Ekzojen kaynaklar: hava kirleticiler, iyonize ve non-iyonize radyasyon, ilaçlar, doğal zararlı gazlar, alkol, patojenik bakteri ve virüsler.⁵⁰

Endojen kaynaklar: endoplazmik retikulum, mitokondrial elektron transport sistemi, araşidonik asit metabolizması veya siklooksijenaz (COX) sistemi, monosit ve makrofajlar, nötrofil, eozinofil gibi fagositik hücreler ve endotelial hücreler gibi hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar, ksantin oksidaz, NADPH oksidaz gibi oksidan enzimler ve otooksidasyon reaksiyonlarıdır.⁴⁵

2.6.5. Antioksidan Savunma Sistemleri

Vücutta serbest radikallerin etkilerinin ortadan kaldırmak için antioksidan savunma sistemi denilen bir sistem mevcuttur. İnsan vücudundaki her hücrenin her gün binlerce serbest radikalın hücumuna maruz kaldığı bilinir. Antioksidanların ilk belirlenen etkileri, zar yapısında bulunan lipidlerin peroksidasyonunu engellemektir. Lipidlerin yanı sıra karbonhidratların ve proteinlerinde korunmasında görev alırlar. Bu nedenle antioksidanlara, hedef dokudaki hasarın engellemesinden sorumlu elemanlardır.

Antioksidanlar'ın hedef moleküllerin hasar sonrası tamiri ya da temizlenmesi, serbest oksijen radikallerinin enzim reaksiyonlarını peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ya da reaktif oksijen türlerini toplayarak doğrudan temizlenmesi, metal iyonların bağlanması ve radikal oluşum reaksiyonlarının engellenmesi ve serbest oksijen radikallerinin oluşumunun baskılama yoluyla engellenmesi gibi görevleri vardır.⁵¹

2.6.5.1. Antioksidan Enzimler

1. Süperoksit dismutaz (SOD): Bir metalloenzimdir. SOD'un görevi, hücreleri süperoksit radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD enzimi oksijeni metabolize eden tüm hücrelerde bulunur. Bu nedenle oksijen toksisitesine karşı önemli bir savunma elemanıdır. Doğal olarak oksijen tüketiminin yüksek olduğu dokularda SOD aktivitesi de fazladır.^{47, 53, 57, 64}



Bu enzim yukarıdaki reaksiyonu katalizleyerek süperoksit radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar. Kofaktör olarak içerdiği metal iyonuna göre (bakır, mangan, demir) üç sınıf dismutaz enzimi vardır. Böylece hücre içindeki $\text{O}_2^{\bullet -}$ düzeylerini azaltır.

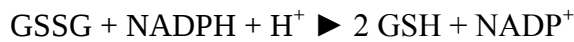
2. Katalaz (CAT): Katalaz, protein yapısında bol miktarda bulunan karakteristik bir enzimdir. Bu enzim yaygın bir şekilde hayvan, bitki ve mikroorganizmada mevcuttur. CAT esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. CAT, hidrojen peroksitin su ve oksijene dönüştürülmesini katalizleyen ve böylece hidrojen peroksitin hücrel bileşiklere zarar vermesini engelleyen koruyucu bir enzimdir. Granulomatöz hücrelerde CAT, hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma işlevini de görür. Hücrede oluşan hidrojen peroksidi hidroksil serbest radikali oluşumunu önlemek için ortadan kaldırır.^{50, 64, 65}



3. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px): Glutasyonun oksidasyonu ile hidrojen peroksit ve organik hidroperoksitlerin (ROOH) detoksifiye edici indirgenmesini kataliz eden oksidoredüktaz sınıfının bir enzimidir. Dört selenyum atomu içeren, sitozolde yerleşik, tetramer yapıda bir enzimdir. Aşağıdaki gösterilmiş olan reaksiyonları katalizler^{45, 64, 66}.



Glutasyon peroksidazın iki substratı vardır. Substratlarından biri olan peroksitler alkole indirgenirken, diğer substrat olan GSH yükseltgenir, oluşan yükseltgenmiş glutasyon (GSSG), glutasyon redüktaz enziminin katalizlediği bir başka reaksiyon ile tekrar indirgenmiş glutatyon dönüşür.^{45, 51, 57, 66}



4. Glutasyon tranferaz: Glutasyon s-transferazlar elektrofilik xenobiyotikleri inaktive ederek vücuttan atmak üzere konjugasyonunu sağlayan dimerik enzimlerdir. Sitozolde bulunur, çok sayıda izoenzimi mevcuttur. Çeşitli endojen ve eksojen bileşiklerin glutasyon ile konjugasyonunu katalizlerler.^{51, 57, 64}



2.6.5.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar

1. Glutasyon (GSH)

Glutasyon (y glutamil sisteinil glisin) glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptiddir. GSH serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif stres hasarına karşı korur. Glutasyon peroksidaz, GSH redüktaz ve GSH transferaz gibi enzimlerin substrat veya ko-substratıdır. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Tiyol grubu taşıyan bir tripeptid olan glu- tasyon, serbest radikallerin yıkıcı etkilerini önleyen veya azaltan transferazlar, peroksidazlar gibi birçok enzimin substratı olarak görev yapmaktadır. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. GSH yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve amino asitlerin membranlardan transportunu da sağlar, lökositleri ve eritrositleri oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir.^{65, 67,53, 64}

2. Askorbik asit (C vitamini)

Yapı itibariyle en basit vitamindir. Bir şeker asidinin laktonundan ibarettir. Birçok hayvan ve bitki askorbik asidi glikozdan ve diğer basit ön basamaklardan sentezleyebilir. Mikroorganizmalarda askorbik asit yoktur. Askorbik asit insan dahil omurgalılar için esansiyeldir. Taze meyve ve sebzelerde özellikle turuncgillerde bulunduğu bilinmektedir. Besinlerin ısıtılması sırasında askorbik asit büyük ölçüde etkisini kaybeder. Suda çözünen vitaminler grubundadır. Askorbik asit dehidroaskorbat'da fizyolojik şartlarda glutasyon ile doğrudan veya enzimatik olarak etkileşir ve askorbata indirgenir. $O_2^{\cdot-}$, $\bullet OH$ ve 1O_2 ile kolayca reaksiyona girerek onları etkisizleştirir. Doğal olarak lipid peroksidasyonunu başlatan radikalleri etkisizleştirerek antioksidan görevi üstlenmiş olur. Askorbik asit; Fe^{+3} , Fe^{+2} e

indirgeyen süperoksit radikali dışındaki tek hücre içi moleküldür bu etkisiyle, ferri-demiri indirger ve demirin ince bağırsaklardan Emilimini ve depolardan mobilizasyonunu artırır. Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşime uygun olan ferro-demire dönüştürür ve süperoksit radikalının üretimini gerçekleştirir. Bu özelliğinden ötürü C vitamini pro-oksidan etkili olduğu açıklanmıştır.^{46, 51, 57, 64}

3. E Vitamini

E vitamini (diğer adıyla tokoferol), en önemli antioksidandır. Bileşiminde alfa, beta, gama ve delta eta gibi çeşitli şekillerde bulunur. E vitamini yağda çözünür özelliktedir. Karaciğerde depolanır ve bağışıklık sisteminde pek çok fonksiyonu vardır. Hücre zarlarında ve lipoproteinlerin yapısında bulunur. Başlıca antioksidan fonksiyonu görevleri membran yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikallerden korumaktır. Lipit peroksidasyonu zarlarda, eritrositlerde, lipoproteinlerde, beyinde ve çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) bol olduğu diğer dokularda yaygındır. Yapısındaki fenolik hidroksil grubuna sahip olan aromatik halka, aktif kısmını oluşturur ve molekülün antioksidan özelliğide bu gruptan kaynaklanır. Tohumlar ve bitkisel yağlar, E vitamini bakımından zengin kaynaklardır. Tokoferoller en çok buğday tanesi yağında bulunurlar. Moleküler oksijene maruz bırakılan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu azaltır. Antioksidan savunmada ilk E vitamini, $O_2^{\bullet-}$, $\bullet OH$ ve 1O_2 gibi radikalleri indirger. E vitamininin antioksidan olarak başlıca fonksiyonu; lipid peroksidlerini etkisizleştirerek peroksidasyonu sonlandırmaktır.⁶⁸

4. Karotenoidler

Sarı ve turuncu renkli bileşikler olup bazı bakteriler, bitkilerde bulunan pigmentlerdir. İnsan ve hayvanlar karotenoid biyosentezini gerçekleştiremezler bu nedenle diyetle alırlar. A vitamininin metabolik ön maddesi bir karotenoidtir. Bu madde beta-karotendir. Karotenoidler havuç, domates ve portakal gibi besinlerde bolca

bulunur. Karotenoidler, hücreleri oksidan strese karşı korurlar. Koruyucu etkileri; triplet uyarıcıların zararlı etkilerini baskılama, singlet oksijeni baskılama ve bazı oksijen radikallerini temizleme gibi koruyucu etkilere sahiptir. Bununla birlikte karotenoidler, lipit membranlara lokalize olarak membranların oksidatif strese karşı hassasiyetini azaltır.^{50, 51, 67}

5. Flavonoidler

Flavonoidler yıllar öncesinden bilinmesine rağmen son yıllarda flavonoidlerin antioksidan özelliklerinin yanında antiinflamatuvar, antiviral, antiallerjik, antitrombotik ve diğer özelliklerinin de bulunduğunu göstermektedir. Flavonoidler çay, elma, soğan, baklagiller, domateste bol miktarda bulunmaktadır. Ayrıca patates, elma, limon, kayısı gibi besinlerde bulunur. Flavonoidler de antioksidan özelliğinden ötürü kullanılan maddeler arasındadır. Yağda çözünürler. Kafeik asit, kateşin, p-kumarik asit, klorogenik asit ve kuersetin başlıca flavonoidlerdendir. Antioksidan savunmada, metal iyonlarla reaksiyon verme, serbest radikal oluşumunu engelleme ve lipit peroksidasyonunu inhibe edici olarak görev alır. Flavonoidlerin bazı çalışmalarda metal iyonlarıyla etkileşerek pro-oksidan özellik gösterdiği de belirtilmiştir.⁶⁸

6. Nitrik oksit (NO)

Nitrik oksit metabolizmada hem fizyolojik hem patofizyolojik süreçlerde çok önemli bir role sahip serbest radikaldir. NO L-arjinin ve oksijenden, nitrik oksit sentaz (NOS) etkisiyle muskarinik veya histamin reseptörleri gibi çeşitli reseptörlerin aktivasyonu sonucu sentezlenir. Nitrik oksit sentezinin insanda vasküler tonüsün düzenlenmesinde önemli rol oynadığı, kan basıncı ve böbrek fonksiyonunun kontrolünde kesin bir role sahip olduğu bilinmektedir.³⁵ Nitrik oksit vasküler endotelial hücrelerde oluşturulan önemli bir vazodilatatördür. Düz kas hücrelerine

girerek hücrede cGMP konsantrasyonu artar. Düz kas hücrelerinde cGMP, bir veya daha fazla protein kinazı cAMP gibi aktive eder. Aktive olan protein kinazlar düz kasın relaksasyonu ve ardından damarların dilatasyonundan sorumludurlar.^{35, 69}

2.6.6. Hücre İçi Kalsiyum Artışı

İskemi ve belli bazı toksinler, belirgin bir şekilde hücre dışı Ca^{+2} plasma membranını geçerek hücre içi akışına yol açar. Bunu, hücre içi depolardan (mitokondri, endoplazmik retikulum) kalsiyumun açığa çıkması izler. Hücre içine artan Ca^{+2} girişi ve azalan çıkışı intrasellüler ve extrasellüler Ca^{+2} dengesini bozar. Bu sitotoksik etki normal fizyolojik koşullarda, hücre içi biriken fazla Ca^{+2} dışarı atılarak ya da hücre içinde depolanarak tolere edilir. Ancak iskemi sırasında yetersiz enerji nedeniyle pompalar ve depolama mekanizmalar çalışmamaktadır ve artan Ca^{+2} düzeyi fosfolipazları (fosfolipid yıkımına neden olur ve hücre membran zedelenir), proteazları (hem membran hem hücre iskeleti proteinlerinin parçalanmasına neden olur) aktive ederek radikal oluşumunu artırır ve hücreyi ağır bir hasara sürüklerler.^{70, 71}

2.6.7. Reperfüzyon Hasarında Nötrofil Aktivasyonunun Rolü

Reperfüzyon hasarında mikrovasküler permeabilitedeki artıştan başlıca nötrofillerin sorumlu olduğu gösterilmiştir.⁷² Nötrofillerin aktivasyon ve migrasyonları endotel hücrelerinde ve lökositlerde bulunan adhezyon molekülleri aracılığıyla olur. Selektinler olarak bilinen adhezyon moleküllerinin P-selektin glikoprotein (PSGL-1) adlı reseptörü ile etkileşerek düşük afiniteli lökosit endotel bağlantısını oluşturur. Nötrofillerin dokuya gelebilmeleri için gerekli kemotaktik maddeler arasında C3a ve interlökin-1 (IL-1), lökotrien B4 (LT-B4), trombosit aktive edici faktör (PAF) ve prostaglandin (PG) türleri vardır. Aktif nötrofiller salıverdikleri maddelerle yol açtıkları hasarın yanı sıra, damar içinde oluşturdukları hücre toplulukları (agregatlar) ve aktif

trombositlerle birlikte damar endoteline yapışarak mikrovasküler tıkanmaya da neden olurlar.⁷³

2.6.8. Reperfüzyon Hasarında Kompleman Sisteminin Rolü

Reperfüzyon hasarında komplemanın rolü önemlidir. Ancak tüm detayları ortaya konamamıştır. İskemik hasar oluşuktan sonra damar endotelinin hasar görmesi ile nötrofil ve trombosit aktivasyonu meydana gelir. Kompleman sisteminin aktivasyonu sonunda proinflamatuvar komponentler oluşur. İskemi reperfüzyon alanına gelen nötrofiller, bu bölgede ROS üretimi sağlar. Ortaya çıkan ROS'u antiproteazlar inaktive eder. İnfiltrate olan aktive nötrofiller, ROS'u ve proteazları salgırlar. Hücre içi savunma mekanizmalarında kullanılan CAT ve GSH-Px enzimleri, lökositlerin salgıladıkları bu sitotoksik reaktif oksijen metabolitleri tarafından oluşturulan hasarı azaltabilme kapasitesine sahiptir.^{73, 74} Sonuçta, lizozomlardan proteolitik enzimler salınarak hasar oluşur. Ayrıca nötrofiller de uyarılmaları sonucunda esnek yapılarını kaybederek mikrosirkülasyonda kalır ve damar tıkanıklığına neden olurlar.^{73, 75}

Doku hasarında kompleman sisteminin doğrudan ya da dolaylı yoldan büyük bir etkisi olduğu bilinmektedir. Hücre hasarı ve ilerleyen aşamalarıyla birlikte hücre ölümüne sebebiyet verdiği belirtilmiştir.⁷⁶ Reperfüzyon hasarında komplemanın rolüne bakılırsa damarda oluşturduğu hasar göze çarpar. Kompleman sisteminin aktivasyonu sonunda proenflamatuar komponentler oluşur. Bunlar C_{3a}, C_{5a}, iC_{3b} ve C_{5b-9}'dur. C_{3a} ve C_{5a} anaflatoksinlerdir ve lökositleri aktive ederler. C_{5a} ayrıca polimorfonükleer lökositleri dokuya doğru çekerek, oluşan enflamatuar cevabı artırır. Kompleman aktivasyonu sonucu, C_{5b-9} kompleksi meydana gelir. Bu kompleks aracılığıyla kompleman sistemi tek başına doku hasarı oluşturabilir. C₈ safhasında hücre zarında porlar oluşurken, C₉ eklenmesiyle sitotoksik etki ön plana geçer.⁷⁴

2.7. Çinko

Esansiyel eser elementler yaşayan organizmanın sağlıklı büyümesi, hücre fonksiyonlarının n romod lasyonu, regülasyonu ve devamlılığı için çok önemlidir.⁷⁷ çinko esansiyel bir eser elementtir. İnsan vücudu 2-3 gr kadar çinko içerir. Sadece insanlar için değil bitkiler, mikroorganizmalar, hayvanların yapı ve fonksiyon proteinlerinde çok sayıda önemli santral rolleri üstlenir, vücuttaki tüm dokularda, sekresyon ve sıvılarda bulunur.⁷⁸ Dolayısı ile diyetle alınması zorunludur. Vücutta depo edilmez. Kimyasal yapısı onu biyolojik olaylarda yer alan önemli bir metal iyon olmasını sağlar. İnsan vücudundaki yüzlerce enzim ve sinyal iletimi çinko bağımlı olarak gerçekleşir. Hayvansal taze et insanlar için en fazla çinko içeren kaynaktır. Kırmızı et, balık ve kümes hayvanları, bitkilerden daha fazla çinko içerirler. Demirin yanında çinko vücutta en yaygın mineraldir ve tüm hücrelerde bulunur.

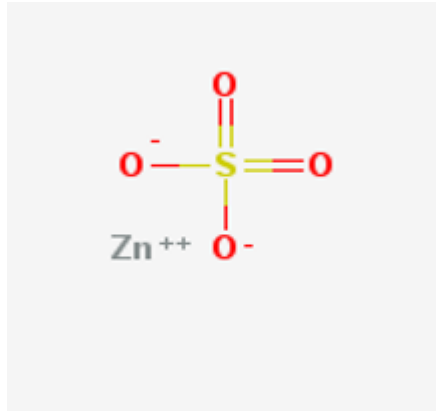
Proteinlerin yapısında ve fonksiyonlarında, RNA ve DNA metabolizmasında, sinyal transd ksiyonunda, gen ekspresyonu, regülasyon ve apoptozisde çok önemli roller üstlendiği bilinmektedir.^{77, 79} Tarihin en eski çağlarından beri çinko yaraların iyileştirilmesi için kullanılmıştır. Günümüzde immün sistem, üreme sistemi, büyüme, tat alma, görme, koku alma, kan pıhtılaşmasının sağlanması, düzgün insülin ve troid metabolizmasının devamlılığında önemli fonksiyonlarının olduğu gösterilmiştir.⁷⁷ çinkonun antioksidan olarak etki gösterdiği bilinmektedir. Bu sayede serbest radikallerin yol açtığı hücre hasarının önlenmesinde faydalı etkiler gösterir.⁸⁰

Suplement olarak çinko kullanılmasınn diyare, pnömoninin önlenmesinde ve optimal büyümenin sağlanmasında önemi gösterilmiştir. Takviye  inko kullanımı sadece morbiditeyi azaltmakla kalmaz mortaliteyi de ciddi olarak azaltır. Dünya genelinde global olarak yeterli çinko kullanılması durumunda yüz binlerce erken  ocuk ölümünün engellenebileceği bildirilmiştir.⁸¹

Pek çok önemli fonksiyonu bulunan çinkonun eksikliğinde de çok sayıda hastalıklar meydana gelir. Dünya Sağlık Örgütü, yüksek ölüm oranlarının bulunduğu gelişmekte olan ülkelerdeki hastalıkların ortaya çıkmasında majör etkenlerden birisinin de çinko eksikliği olduğunu bildirmiştir.^{82, 83} Çinko eksikliğinin, dünya üzerinde özellikle gelişmekte olan ülkelerde yaşayan yaklaşık iki milyar insanı etkilediği iddia edilmektedir.⁷⁸

Çinkonun tedavide kullanılan pek çok formu vardır. Çinko'nun inorganik tuz ihtiva eden formları çinko klorid ve çinko sülfat dır. Organik asidleri; çinko glukonat, çinko glukonat/glisin, çinko asetat, çinko propionatdır. Biyolojik olarak organik formu çinko ile zenginleştirilmiş mayalardır. Çinko sülfat metabolizmada emilimi en az olan formudur. Daha kolay absorbe olan formları çinko sitrat, çinko pikolinat, çinko gliserat, çinko monomethionindir. Bunlar içerisinde çinko sülfat en ucuz olan formudur. Çinko glukonat az çinko içermesi yönü ile fiyat olarak diğerlerinden daha pahalı formudur.

2.7.1. Çinko Sülfat'ın Kimyasal Yapısı



2.7.2. Çinko Sülfat'ın Farmakokinetiği

Çinko'nun büyük kısmı ince barsaklardan duodenumdan emilir. Halbuki daha eski çalışmalar asıl emilim yerinin kalın barsak olduğunu bildirmekteydi. Günlük diyetimizde mevcut bulunan çinkonun barsak emilimi tam değildir. %10-20 kadarı absorbe olmaktadır.

Kimus içerisinde yer almakta olan amino asitler ve peptidler diyetle alınan çinko'nun emilimini kolaylaştırırken bitkisel besinler ile alınan lifler ve fitatlar çinko emilimini engellerler.⁸⁴ Proksimal duodenumda ve midedeki gastrik asit ve pepsin, çinko'nun peptidlere olan ilgisini artırır. Kimus distale doğru ilerleyince pH yükselir ve bu sefer çinko sindirilemeyen ligandlar ile birleşir. Ancak çinko absorpsiyonu burada da tamamen durmaz distal ince barsak ve çekumda da absorpsiyon bildirilmiştir.^{85, 86}

Gelişmekte olan ülkelerdeki beslenme nedenli çinko eksikliğindeki asıl sebep bu bölgelerde aşırı hububat kaynaklı protein tüketilmesidir.⁸⁷ Bu şekilde fazlaca fitat (organik fosfat)'dan zengin alınan besinler çinkonun emilimini imkansız bırakır.⁸⁷ Fitaların önemi ilk olarak Harrison ve Mellanby'nin köpekler üzerinde yaptıkları hububat kaynaklı diyet ile beslenmenin genç köpeklerde kalsiyum eksikliği ve riketse yol açtığını gösterdikleri çalışmalar ile ortaya konulmuştur.^{88,89} Ayrıca diyet içerisindeki lifler, selüloz, dekstranlar, meyve ve sebzeler içerisindeki lifler de çinko emilimini azaltır.^{90,91} Buna karşılık eğer diyetle protein bol bulunur ise çinkonun emilimi artar.⁸²

2.7.2.1 Kalsiyum, Demir ve Folatın Çinko Emilimi Üzerine Etkisi

Kalsiyum'un fitatlar ile olan ilgisi hayvan deneylerinde çinko absorpsiyonun azaldığını ispat etmiştir.⁹²⁻⁹⁴ Buna karşılık diyetle kalsiyumun yer alması tek başına çinko emilimini azaltmamaktadır.^{95, 96}

Milne ve ark. yaptıkları çalışmada tesadüfen pteroylglutamic asidin (folik asit) günlük kullanılmasının fekal çinko atılımını artırarak barsak emilimini azalttığını gözlemişlerdir.⁹⁷ Bazı çalışmalar genç çocuklarda 10 mg devamlı çinko kullanılmasının demir düzeyinde bazı olgularda negatif etki gösterdiğini bildirmektedir.⁹⁸ Çinko tedavi amacı ile kullanılacağı zaman su ile veya meyve suyu ile birlikte alınabilir. Ancak beraberinde demir ve kalsiyum ile beraber alınması önerilmez.

2.7.3. Çinko Sülfat'ın Farmakolojik Özellikleri ve Etki Mekanizması

Vücutta pek çok önemli fonksiyonun gerçekleşmesinde kilit rol oynar. Protein ve karbohidrat metabolizması çinko eksikliğinde bozulur. Adeta bir büyüme faktörüdür. Büyüme çağındaki çocuklarda retardasyona ve gonadal bozukluklara yol açar.⁹⁹ Eksikliği, immün bozukluklara ve erken ölümlere sebep olur, ayrıca kognitif fonksiyonlarda kayıp yapması ortaya çıkan diğer bir sorundur. Son elli yıldır sebep olduğu bilinen tüm bu ciddi problemlere her geçen gün yenileri eklenmektedir.

Fazlaca çinko kullanımı durumunda günlük 50 mg'ın üzerindeki dozlarda bakır metabolizması olumsuz etkilenir ve eritrositlerde SOD aktivitesi düşer.⁹⁹

2.7.4. Çinko Sülfat ve Tedavideki Yeri

İlk olarak 1934 yılında Todd rat gelişiminde çinkonun önemini gösterdi.¹⁰⁰ Son 40 yılda yapılmış olan çalışmalar ise insan sağlığında ne kadar önemli etkileri olduğunu ortaya koydu.⁸⁷ Günlük çinko ihtiyacı yaşa bağlı olarak değişmekle birlikte infant ve 5 yaşına kadar olan çocuklarda 5-10 mg/gün kadardır.^{79, 82} Yetişkin kadın ve erkekte 15 mg/gün kadar günlük alınması gerekmektedir. Sağlıklı ve düzenli diyetle beslenen kişilerde eksikliği beklenmez. Dolayısı ile endüstriyel gelişimini tamamlamış ülkelerde eksikliği nadiren görülür.

Aşırı çinko kullanımına bağlı toksisite 150 mg/gün'den yüksek dozlarda yetişkinlerde ortaya çıkar. Semptomları sıklıkla bulantı ve kusmadır.¹⁰¹

Çinko eksikliğinin en az beş sebebi vardır. Bunlar; gıdalar ile yetersiz alımın, vücuttaki aşırı artmış çinko ihtiyacı, malabsorbsiyon, tekrarlayan diyareler ile aşırı kayıp, bozulmuş metabolik kullanım olarak özetleyebiliriz.¹⁰²

Çinko eksikliği infantlarda diare, nörolojik bozuklular, öğrenme güçlüğü (83) şeklinde bulgular verirken tat almada kayıp, büyümenin duraksaması, kilo kaybı, saç dökülmesi, tekrarlayan enfeksiyonlar şeklindeki bulgular okul çağı çocuklarında

görülür(84). Menstrual periyodun bozulması, gece körlüğü, tırnak yataklarında beyaz lekelenmeler ve depresyon ise daha ileri yaştaki hastalarda görülür.(83, 85)

Dünya Sağlık Örgütü infantlardaki diyare tedavisinde şurup şeklindeki çinko sülfat (%23 çinko içeren), çinko asetat (%30), çinko glukonat (%14) veya suda eriyebilen tablet şeklindeki çinko formlarının kullanılmasını önermektedir.⁸²

Eksiklik varsa ancak aşırı yaşlılarda, alkoliklerde, anoreksia bulunanlarda ve sınırlı diyet ile sürekli beslenenlerde görülür. Ayrıca chron ve çöliyak hastalıkları gibi gibi malabsorbsiyon sendromu olgularında çinko eksikliği görülebilir.

Orak hücreli anemi bulunanlarda çoğunlukla beraberinde çinko eksikliği de bulunmaktadır. Bazı yayınlar tedaviye ilave edilen çinko ile kilo alınması boy uzaması ve sickle-cell krizlerin azaltılmasında faydalı olduğunu göstermiştir.¹⁰³

Çinko kullanımının mide ülseri tedavisinde faydalı olduğu yönünde yayınlar mevcuttur.¹⁰⁴

Dikkat eksikliği ve hiperaktivite hastalığı bulunan çocuklarda çinko tedavisi uygulanmasının hiperaktiviteyi azalttığı, impulsif davranışları azalttığı, sosyalizasyonu arttırdığı gösterilmiştir.¹⁰⁵ Ancak dikkat eksikliği semptomlarında düzelme görülmemiştir.

HIV/ AIDS bulunanlarda düşük çinko düzeyi çok yaygındır.¹⁰⁶ Bu durum bu hastalarda süregelen diyare, kötü beslenme, kullanılan ilaçlardan kaynaklanabileceği gibi diğer taraftan çinko tedavisi uygulananlarda kilo alma, daha iyi immünite oluştuğu görülmüştür.

Çinkonun bakırın absorbsiyonunu azaltıyor olması nedeni ile Wilson hastalığı bulunanlarda çinko kullanımının faydası gösterilmiştir.¹⁰⁷

Hereditör bir hastalık olan akrodermatitis enteropatika'da çinkonun gastroinestinal sistemden emilim bozukluğuna bağlı ortaya çıkan nadir bir hastalık olup alopesi, periorifisiyal dermatitler, ve diyare görülür. Çinko sülfatın 40 mg/gün doz ile verilmesi ile tedavi edilir.^{108, 109}

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı ve Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Moleküler Farmakoloji Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmamızda Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi (ATADEM) bünyesindeki deneysel hayvan laboratuvarından temin edilen toplam 48 adet ve ağırlıkları 200-220 gram arasında değişen Albino Wistar cinsi erkek sıçan kullanıldı. Deney süresince, sıçanlara yeteri kadar (ad libitum) su ve yem (Standart Sıçan Yemi) verildi. Hayvanlar deney öncesi gruplar halinde laboratuvarında normal oda sıcaklığında (22 °C) barındırıldı ve beslendi. Çalışmalarımızın tüm aşamalarının etik kurallara uygun olduğu, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 20.02.2014 tarih ve 1 sayılı toplantıda 25 numaralı kararı ile onaylanmıştır.

3.1.2. Kullanılan İlaç ve Hazırlanışı

Ticari olarak alınan çinko sülfat (BERKO İlaç ve Kimya San. A.Ş. ZİNCO 30 mg şurup) her 5/30 ml/mg hesabı ile rat başına 100 mikrogram/gün (μg) çinko sülfat verebilmek için 0.016 (ml/gün/rat) her kafesteki içme suyuna günlük olarak katıldı.

Tiyopental sodyum: Çalışmada cerrahi prosedür için 25 mg/kg i.p. ve deney sonunda ötenazi için i.p. olarak 50 mg/kg tiyopental sodyum (İE ULAGAY Pental) verildi.

3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Cihazlar	Modeli ve Firması
Chemwell	Awareness Technology, USA
Eliza Okuyucu	Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTek, USA
Mikroplate Yıkayıcı	Stat Fax 2600 Microplate Washer, USA
Santrifüj (Soğutmalı)	Hettich Zentrifugen 320R, Germany
pH Metre	SCHOTT Instruments Lab 850, Germany
Manyetik Karıştırıcı	Wisd WiseStir MSH-20A, Germany
Doku Homojenizatörü	Tissue Lyser II, Qiagen, Germany
Hassas Terazî	Shimadzu ATX224, USA
Etüv	Memmert WNB 7-45, Germany
Karıştırıcı	IKA- MS 3 basic, USA
Buzdolabı (-86 °C)	Nuaire NU-9483E, USA
Derin Dondurucu	Vestel BZP-XL3402W, Türkiye
Otomatik Multikanal Pipet	Eppendorf Research Pro (20-300 µl)
Pipet Seti	Eppendorf Research Plus

3.2. Metot

3.2.1. Deney Planı

Tablo 3.1. Deney Planı

Gruplar	Hayvan Sayısı	Tedavi	Çinko sülfat
I	6	Sham	X
II	6	Torsiyon + Detorsiyon kontrol 1.ay	X
III	6	Torsiyon + Detorsiyon kontrol 2. ay	X
IV	6	Torsiyon + Detorsiyon kontrol 3. ay	X
V	6	Torsiyon + Detorsiyon çinko sülfat tedavisi 1. ay	100 µg/rat/gün
VI	6	Torsiyon + Detorsiyon çinko sülfat tedavisi 2. ay	100 µg/rat/gün
VII	6	Torsiyon + Detorsiyon çinko sülfat tedavisi 3. ay	100 µg/rat/gün
VIII	6	Sağlıklı çinko sülfat tedavisi 3. ay	100 µg/rat/gün

Sıçanlarda oluşturulan testis torsiyonu modeli: 6’şardan 8 gruba ayrılmış toplam 48 erkek sıçan 25 mg/kg dozda tiopental sodyumla anestezi altına alınarak önce tüyler traşlama işlemi yapılarak temizlendi ve ardından sıçanların skrotum derisine %10’luk povidon iyot çözeltisi ile temizlik yapıldı. Sıçanlara skrotum sol hat üzerinde, yaklaşık iki cm uzunluğunda insizyon uygulanarak vertikal kesisi ile cilt ve cilt altı geçilerek, skrotum içerisinde sol testis tunika vajinalis ve spermatik kord ile birlikte gubernakulumdan künt diseksiyonla ayrılarak dışarıya alındı. Torsiyon/detorsiyon (T/D) gruplarında testis 720° saat yönünde döndürülerek tekrar skrotuma yerleştirilirken, insizyon hattı (4-0)’lık ipek ile matres sütürler ile kapatıldı. 1. grup sham sağlıklı kontrol grubu olarak belirlendi. Bu gruptaki hayvanlara skrotum bölgesi açıldı testislerde herhangi bir uygulama yapılmadı ve 4-0 ipek sütür materyali ile matres sütürler ile kapatıldı. 2, 3, 4, 5, 6 ve 7. gruptaki hayvanlara “sol” testislere 720°

“clockwise” metoduyla saat yönünde döndürülerek iskemi oluşturuldu. Torsiyone sol testis dartos fasiyasına tek sütür ile sabitlendi. Sağ testise herhangi bir cerrahi işlem uygulanmadı. İskemide 2 saat kalan testisler bu süre sonunda dikkatlice detorsiyone edildi ve reperfüzyon sağlandıktan sonra skrotum içerisinde normal lokalizasyonuna tekrar yerleştirildi. Tabakalar yukarıda belirtildiği gibi kapatıldı. Ertesi gün 2, 3 ve 4. gruplardaki sıçanlara normal şekilde beslenme ve su verilirken 5, 6, 7. gruplardaki sıçanlara normal besin yanında sıçan başına 100 mikrogram/gün (μg) (0.016 ml/gün/rat) çinko sülfat içeren içme suyu temin edildi. 1. ayın sonunda 2 ve 5. gruptaki sıçanlara, 2. ayın sonunda ve 3 ve 6. gruptaki sıçanlara, 3. ayın sonunda 4 ve 7. gruptaki sıçanlara yukarıda belirtildiği şekilde tekrar anestezi ve cerrahiye hazırlık yapıldı. Sağ ve sol testisler orşiektomi yapılarak çıkartıldı ve sıçanlara yüksek doz tiopental sodyumla ötanazi yapıldı. 8. gruptaki sıçanlar 3. ay sağlıklı çinko sülfat tedavisi alan grup olarak belirlendi. Hayvan deneyleri etik kurulunun deneylerde kullanılan hayvan sayısını minimumda tutmak yönündeki kararı gereğince 1. ve 2. ay sağlıklı çinko sülfat tedavisi grupları oluşturulmadı. 8. gruptaki sıçanlara cerrahi hazırlık sonrası aynen sham sağlıklı kontrol (1. gruptaki) sıçanlara yapılan işlemler uygulandı.

Tüm gruplardaki hayvanlarda hem iskemi esnasında hem de reperfüzyon esnasında metamizol sodyum (i.m. 50 mg/kg ADEKA Adepiron) verilerek cerrahi ağrının oluşması engellendi.

Deney sonunda sakrifiye edilen sağ ve sol rat testislerinden biyokimyasal analiz için yeterli miktarda doku çıkarılarak ayrıldı ve fosfat tamponuna koyularak -80°C dondurucuda muhafaza edildi. Kalan testis dokuları ise, histolojik çalışma için %10'luk nötral formaldehit çözeltisine konularak tespit edildi.

3.2.2. Biyokimyasal Çalışmalar

3.2.2.1. Testis Dokusunda Yapılan Analizler

Makroskopik analizlerden sonra, rat dokuları -80°C’de saklandı. Her ratın testisi PBS ile yıkandıktan sonra testis dokusu sıvı azot ile öğütüldükten sonra toz haline gelmiş testis dokusundan 100 mg eppendorf tüpe alındı ve üzerine 1 ml PBS ilave edildi. Daha sonra Tissue Lyser II ile 30 Hz’3 dakika boyunca homojenize edildi. Daha sonra kitteki direktiflere göre santrifüj edildi. Biyokimyasal çalışmalar için her süpernatanttan SOD, MDA seviyeleri ve GSH seviyeleri manuel ölçüm metodlarıyla ölçüldü. Ayrıca uygun tampon ile homojenize edilmiş tüm testis süpernatantlarında total protein analizi yapıldı. Bütün datalar her mg protein için $\text{ort} \pm \text{standart sapma}$ olarak gösterildi.

Protein Tayini:

Protein tayini aşağıdaki protokole göre yapılmıştır.

Homojenat Tamponu: PBS,

Lowry Reagent Solüsyonu: 1 şişe Lowry Reagent 40ml distile suda çözülür,

Folin&Cocalteu Solüsyonu: 450 µl Folin&Cocalteu’s phenol reagent 4,75 µl distile su ile karıştırılır,

Protein Standartları: 16 mg Bovine serum albumin(BSA) 20 ml distile suda çözülür.

Deneyin Yapılışı;

1. Standartlar hariç tüm kuyulara 95µl saf su konulur,
2. Örnekler kuyulara 5µl olacak şekilde konulur,
3. 10 dakika plate çalkalanır,
4. Protein standart solüsyonu ve blank’ten her kuyuya 100’ er µl konulur,
5. 50µl Lowry Reagent tüm kuyulara konulur,
6. 20 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılır,

7. 50µl working solüsyonu tüm kuyulara konulur,
8. 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılır,
9. 750nm de ölçüm alınır.¹¹⁰

Oluşan mavi rengindeki artışın absorbans miktarları 750 nm’de 96’lık well plate kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan albümin stok çözeltisi ile oluşturulan standart grafikten yararlanarak ölçümler hesaplandı.

Süperoksitdismutaz (SOD) enzim aktivitesinin ölçülmesi:

Homojenat Tamponu: Fosfat Tamponu (50 mM pH 7.8, + 10 mM EDTA) veya

PBS Ölçüm karışımı: Xantine (0.3 mM, 40 ml), EDTA(Etilendiamin tetraasetik asit) (0.6 mM, 20 ml), NTB (Nitro blue tetrazolium) (150 µM 0,00015 M, 20 ml), Na₂CO₃ (0.4M, 12 ml), BSA (Bovine Serum Albumine) (1.2 g /L) ,

XO (Xanthine oksidaz) (167 U/L) ,

(NH₄)₂SO₄(Amonyum Sülfat) (2M, 2 ml) ,

Deneyin prensibi: Bu metotta, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksit radikalleri Tetrazolium'u indirgeyerek renkli formazon oluşturur. Bu kompleks 560 nm'de maksimum absorbans verir. Enzimin olmadığı ortamda meydana gelen indirgenme mavi-mor renk oluşturmaktadır. Ortamda SOD olduğunda ise Tetrazolium indirgenmesi tam olmayıp enzim miktar ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmakta, buradan aktivite hesabı yapılabilmektedir.

Deneyin yapılışı:

Doku homojenizasyonu;

1. Dokular kırmızı kan hücresi ve pıhtılarını uzaklaştırmak için PBS ile yıkanır,
2. 0.1 gram doku 1ml homojenat tamponu ile karıştırılır,

3. 10 µl Triton x-100 ilave ederek homojenizatörde 1 dakika boyunca homojenize edilir,

4. 12000 rpm' de 15 dakika 4° C de santrifüjlenir,

5. Süpernatant (üstte kalan berrak kısım) enzim çözeltisi olarak kullanılır.

Çalışma prosedürü:

1. Çalışmada 96 kuyucuklu plate kullanılır,

2. Her kuyuya ölçüm karışımından 200'er µl eklenir,

3. Standartlar hazırlanarak 50 µl standartlar sırasına eklenir,

4. Numune çözeltilerinden uygun kuyucuklara 50'şer µl eklenir,

5. Kör kuyusuna 50 µl homojenat tamponu eklenir,

6. Oda sıcaklığında herbir kuyucuğa 5'er µl XO eklenir,

7. İlk kuyucuğa XO eklendikten 20 dakika geçtikten sonra 560nm dalga

boyunda absorbans ölçümü yapılır. ¹¹¹

SOD aktivitesinin hesaplanması: Oluşan mavi-mor rengindeki formazon boyasındaki azalmanın absorbans miktarları 560 nm'de 96'lık well plate kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan SOD stok çözeltisi ile oluşturulan standart grafikten yararlanarak ölçümler hesaplandı. Numunelerin SOD aktivitesi, U/mg protein olarak tarif edildi. Her bir doku faktörünün etkisi 2 kez tekrar yapılarak belirlendi.

Total Glutasyon (GSH) tayini:

Homojenat Tamponu: Tris-HCl (50 mM, pH 7.4) veya PBS.

Ölçüm Tamponu: Tris-HCl (200 mM pH 8,2 + 0.2 mM EDTA)

DTNB (Ditiyobis Nitrobenzoik Asit) (10 mM)

GSH Standartları

GSH miktarının ölçülmesi ve prensibi: Sedlak ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem esas alınarak gerçekleştirildi. Ölçüm ortamındaki DTNB 5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) disülfid bir kromojendir ve sülfhidril gruplu bileşikler tarafından kolayca indirgenir. Meydana gelen sarı renk 412 nm spektrofotometrik olarak ölçülebilir.

Deneyin yapılışı:

Doku homojenizasyonu;

1. Dokular kırmızı kan hücresi ve pıhtılarını uzaklaştırmak için PBS ile yıkanır,
2. 0.1 g doku üzerine 4.5 ml homojenat tamponu ilave edilerek homojenize edilir,
3. Homojenatlar, 12000 g 4 °C'de 10 dakika santrifüj edilir ve süpernatantlar, GSH miktarının belirlenmesinde kullanılır.

Çalışma prosedürü:

1. Çalışmada 96 kuyucuklu plate kullanılır,
2. Ölçüm tamponundan her kuyuya 150'şer µl eklenir,
3. DTNB'den her kuyuya 10'ar µl eklenir,
4. Numunelerden 50'şer µl uygun kuyulara eklenir ve kısaca vortekslenir,
5. Standartlar uygun kuyulara 50'şer µl eklenir,
6. Kör kuyusuna 50 µl homojenat tamponu eklenir,
7. 30 dakika 37° C de inkübasyona bırakılır ve
8. 412 nm dalga boyunda absorbans okunur.¹¹²

GSH miktarının hesaplanması: Oluşan sarı renk miktarları 412 nm'de 96'lık well plate kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan GSH stok çözeltisi ile oluşturulan standart grafikten yararlanarak ölçümler hesaplandı. Numunelerin GSH miktarları, nmol/mg protein olarak tarif edildi. Her bir doku faktörünün etkisi 2 kez tekrar yapılarak belirlendi.

Malondialdehit (MDA) tayini:

Homojenat Tamponu: % 10'luk KCl (potasyumklorür) veya PBS

Ölçüm Tamponu:

% 8 SDS (Sodium dodesyl sulphate)

% 0.08 TBA (tiobarbitirikasit)

% 20 Asetik asit

Saf su

MDA Standartları 1,1,3,3-Tetraethoxypropane

MDA miktarının ölçülmesi ve prensibi: Asidik ortamdaki tiyobarbitürik asit ile 90-95 °C'de reaksiyona giren MDA, pembe renkli kromojen meydana getirir. 15 dakika kaynatıldıktan sonra hızla soğutulan numunelerin absorbanları 532 nm'de spektrofotometrik olarak okunur.

Deneyin yapılışı:

Doku homojenizasyonu;

1. Dokular sıvı azot altında homojenize edilmeden önce PBS ile yıkanır,
2. Sıvı azotla parçalanmış numuneler 100mg tartılır,
3. 0.1 g doku üzerine 1 ml homojenat tamponu ilave edilerek tissue lyser'da homojenize edilir,

Çalışma prosedürü:

1. Çalışmada 96 kuyucuklu plate kullanılır,
2. Tüm kuyulara 10µl SDS, 75 µl asetik asit, 75 µl TBA ve 20 µl saf su eklenir,
3. Numune kuyularına 20'şer µl uygun numunelerden eklenir,
4. Kör kuyusuna 20 µl homojenat tamponu eklenir,
5. Standartlar uygun kuyulara 20'şer µl eklenir,
6. Pipetlemeler yapıldıktan sonra plate, 105° C de bir buçuk saat inkübe edilir,

7. İnkübasyon sonunda plate, 4000 rpm de, 4° C de, 15 dakika santrifüjlenir,
8. Süpernatant (üstte kalan berrak kısım) MDA çözeltisi olarak kullanılır,
9. 532 nm dalga boyunda absorbans okunur.¹¹³

MDA miktarının hesaplanması: Oluşan pembe renk miktarları 532 nm’de 96’lık well plate kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan MDA stok çözeltisi ile oluşturulan standart grafikten yararlanarak ölçümler hesaplandı. Numunelerin MDA miktarları, nmol/mg protein olarak tarif edildi. Her bir doku faktörünün etkisi 2 kez tekrar yapılarak belirlendi.

3.2.3. Histolojik Çalışmalar

3.2.3.1. Işık Mikroskopik Takip İşlemleri

Fiksasyon işleminin ardından dokular sırasıyla aşağıdaki işlem basamaklarına tabi tutuldu.

Akansuda yıkama: Dokular 1 saat yıkandı.

Dehidratasyon işlemi (dereceli alkol serilerinden geçirme): Bu amaçla artan alkol serilerinden (Pelco) geçirildi. Bu amaçla;

- %50’lik Alkolde 20 dk,
- %60’lik Alkolde 20 dk,
- %70’lik Alkolde 20 dk,
- %80’lik Alkolde 20 dk,
- %90’lık Alkol’de 1 saat,
- %100’lük Alkolde 1 saat,
- %100’lük Alkol de 1 saat bekletildi.

Ksilen serileri (Merc) ® ile şeffaflaştırma işlemi: Bu amaçla;

- 1/1 oranında Ksilen/Etil Alkol’de 15 dk,
- Ksilende 75 dk,

İnfiltrasyon işlemi (parafin serilerinden geçirme)

-Ksilen + boncuk parafin (Merck) ® karışımında 60° C'lik etüvde 1 saat,

-Boncuk parafinde 60° C'lik etüvde 1 saat,

-Boncuk parafinde 60° C'lik etüvde 2 saat bekletildi.

Dokuların parafin bloklara gömülmesi;

Elde edilen parafin bloklara gömülü bulunan dokular, (Leica RM2125RT) mikrotomunda 5 µm kalınlığında kesilerek, boyama işlemlerine hazır hale getirildi. Daha sonra kesitler, ışık mikroskobu düzeyinde incelenmek üzere boyandı.

3.2.3.2. Dokuların Hematoksilen-Eozin (H-E) Boyama İşlemleri

Parafin bloklardan mikrotom (Leica RM2125RT) ile kesilen 5 µm'lik kesitler deparafinizasyon işlemi için lama yerleştirilerek 60°C'lik etüvde 1 gece bekletilerek, kimyasal deparafinizasyon işlemi için 10'ar dakika 2 değişim ksilende tutuldu. Sırayla % 95, % 80, % 70, % 60 etil alkol serilerinde 2 dakika bekletilen kesitler 5 dakika çeşme suyunda yıkandı. Kesitler 5 dakika hematoksilen boya solüsyonunda tutulduktan sonra 5 dakika çeşme suyunda yıkandı. Diferansiyasyon işlemi için asit alkol solüsyonuna 1-3 saniye batırılıp çıkarılan kesitler 5 dakika çeşme suyunda yıkandı. 2-3 dakika eosin boya solüsyonunda tutulan kesitler tekrar 1-5 dakika çeşme suyunda yıkandı. %80'lik alkolde 10 dakika, iki ayrı %96'lık alkol serisinde 10 dakika bekletilen kesitler üç ayrı ksilol serilerinde 20 dakika bekletildikten sonra, üzerine entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı ve penset yardımıyla hava kabarıkları çıkarıldı.

3.2.4. İstatistiksel Analiz

Deneylerden elde edilen sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verildi ve 0.05'in altındaki P değerleri, istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi. Gruplar arası farkın önemlilik derecesi One-Way ANOVA testinde Post Hoc çoklu karşılaştırmalı testlerden Duncan'a göre yapıldı. p<0.05 anlamlı olarak kabul edildi. Her

bir farklı harf diğer gruptan istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir. Aynı harfler anlamsız olduğunu göstermektedir. (Değerler: Ortalama $\pm$ Standart Sapma)

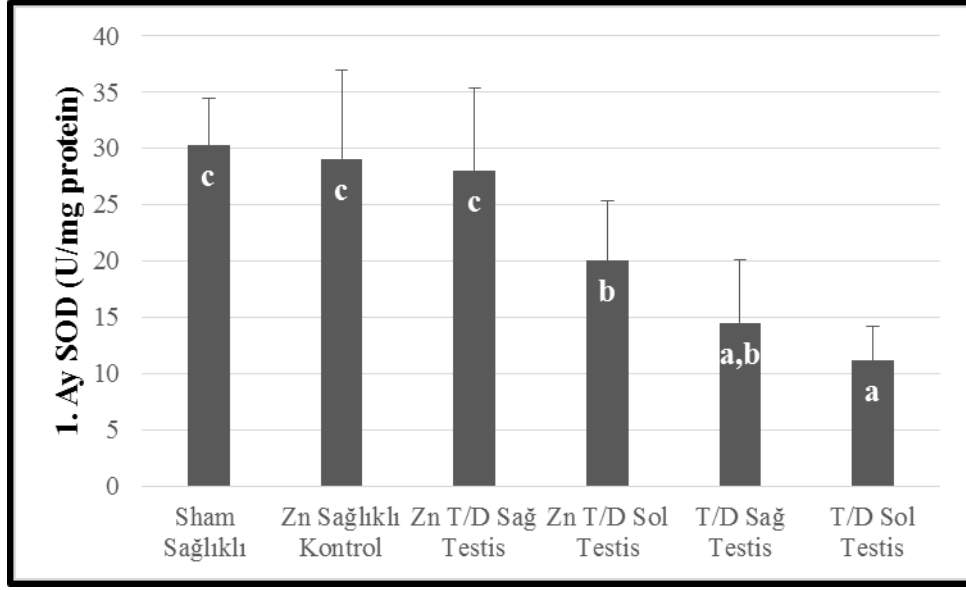
4. BULGULAR

4.1.Biyokimyasal bulgular

Tablo 4.1. Zn(+): Çinko sülfat verilmiş, T/D: Torsiyon/Detorsiyon yapılmış.

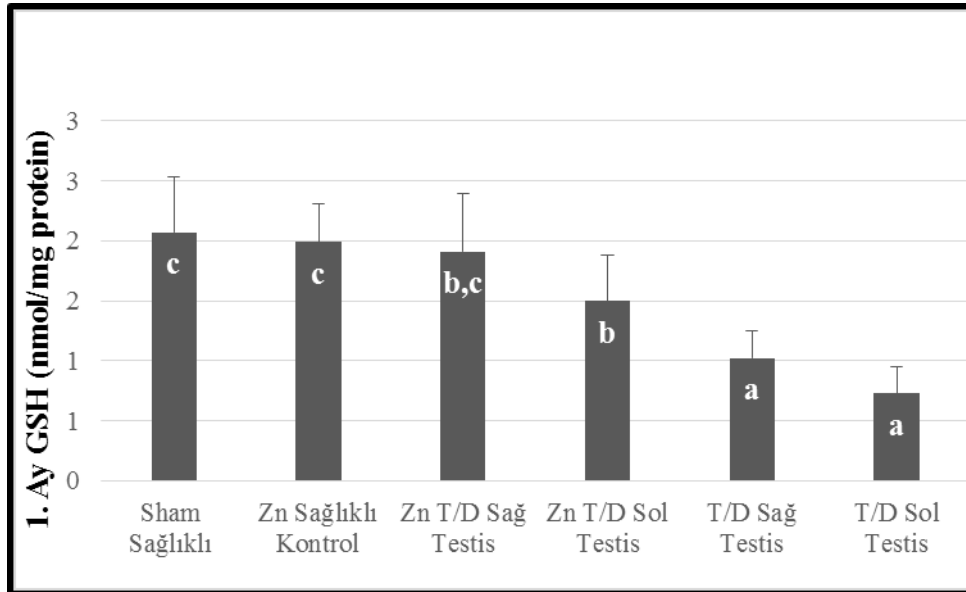
		SOD (U/mg protein)		GSH(nmol/mg protein)		MDA(nmol/mg protein)	
1.AY	Sham Sağlıklı	30.30 $\pm$ 4.21	c	2.07 $\pm$ 0,46	c	1.63 $\pm$ 0.30	a
	Zn Sağlıklı						
	Kontrol	29.08 $\pm$ 7.85	c	1.99 $\pm$ 0,32	c	1.66 $\pm$ 0.61	a
	Zn T/D Sağ						
	Testis	28.04 $\pm$ 7.33	c	1.91 $\pm$ 0,49	b,c	1.99 $\pm$ 0.42	a,b
	Zn T/D Sol Testis	20.04 $\pm$ 5.29	b	1,50 $\pm$ 0,38	b	2.33 $\pm$ 0.55	b,c
			a				
	T/D Sağ Testis	14.51 $\pm$ 5.64	b	1.02 $\pm$ 0,23	a	2.66 $\pm$ 0.77	c
	T/D Sol Testis	11.17 $\pm$ 3.08	a	0.73 $\pm$ 0,23	a	3.40 $\pm$ 0.61	d

Planlanan çalışmaya göre mevcut gruplarımızdan olan sham sağlıklı grubunda (I.grup) ve çinko sülfat verilen sağlıklı kontrol grupta (VIII.grup) SOD enzim aktivitesi sonuçları sırası ile 30.30, 29.08 U/mg protein, GSH ölçüm değerleri sırası ile 2.07, 1.98 nmol/mg protein, MDA ölçüm değerleri sırası ile 1.63, 1.66 nmol/mg protein olarak ölçüldü. İstatistiksel olarak aralarında anlamlı bir fark mevcut değildi ($p<0.05$)(Tablo 4.1.).



Şekil 4.1. 1. ay SOD enzim ölçüm değerleri

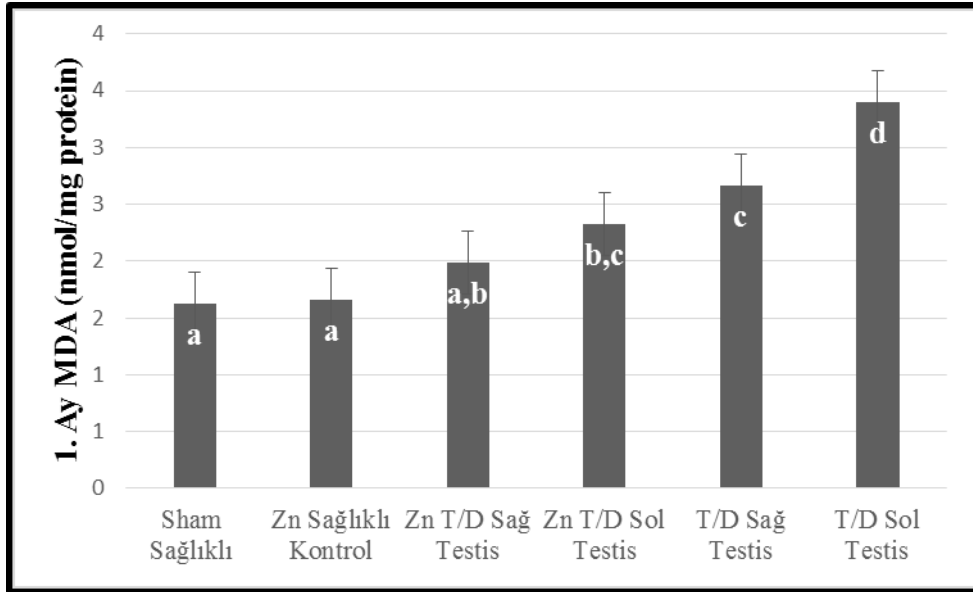
1.ay gruplarında yapılan ölçümlerde SOD enzim aktiviteleri sham sağlıklı grubu (I.grup) ile mukayese edildiğinde T/D yapılan grupta (II.grup) hem sol testiste hem de sağ testiste çok ciddi enzim aktivitesinde düşüş mevcutken, çinko sülfat verilen ve T/D yapılan grupta enzim aktiviteleri yükselmiş olup (V.grup) sol testiste SOD enzim aktivitesindeki yükseliş daha hafif olmuş, sağ testiste ise sham sağlıklı grubu ile arasında istatistiksel bir fark kalmamıştır ($p<0.05$). (Şekil 4.1.).



Şekil 4.2. 1.ay GSH ölçüm değerleri

1.ay gruplarında yapılan ölçümlerde GSH seviyeleri sham sağlıklı grubu (I.grup) ile mukayese edildiğinde T/D yapılan grupta (II.grup), hem sol testiste hem de sağ testiste çok ciddi düşüş mevcutken, çinko sülfat verilen ve T/D yapılan grupta (V.grup) GSH seviyelerinde anlamlı bir yükseliş olduğu bulundu ($p<0.05$) (Şekil 4.2.). T/D yapılan ve çinko verilen gruptaki hayvanların sağ testisleri ise sağlıklı gruba yakın bir GSH seviyesine sahipti.

1.ay gruplarından ginko sülfat beraberinde T/D uygulanan grup (V.grup) sham sağlıklı gruba (I.grup) mukayese edildiğinde GSH seviyelerinde sol ve sağ testiste (torsiyon yapılan taraf) anlamlı bir düşüş mevcutken sağ ve sol testis arasında anlamlı bir fark mevcut değildi (Şekil 4.2.).



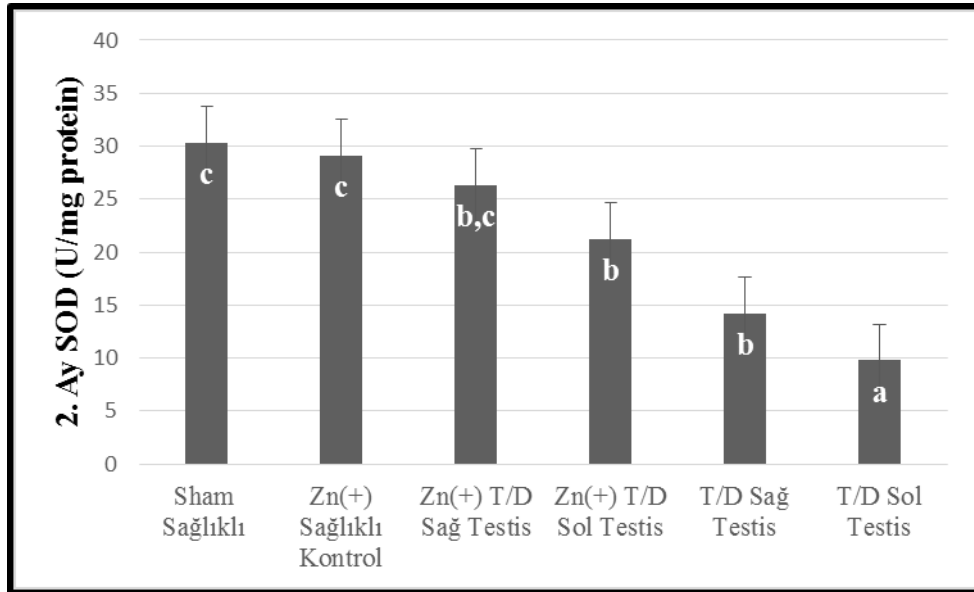
Şekil 4.3. 1. ay MDA ölçüm değerleri

1.ay gruplarında yapılan ölçümlerde MDA seviyeleri sham sağlıklı grubu (I.grup) ile mukayese edildiğinde T/D yapılan grupta (II.grup) hem sol testiste hem de

sağ testiste çok ciddi artış mevcutken, çinko sülfat verilen ve T/D yapılan grupta (V.grup) daha hafif seyirli ve istatistiksel olarak anlamlı bir düzelme olduğu ve çinko uygulanan T/D grubunda bulunan sağ testis MDA seviyelerinin normale yaklaştığı gözlemlenmiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.3.).

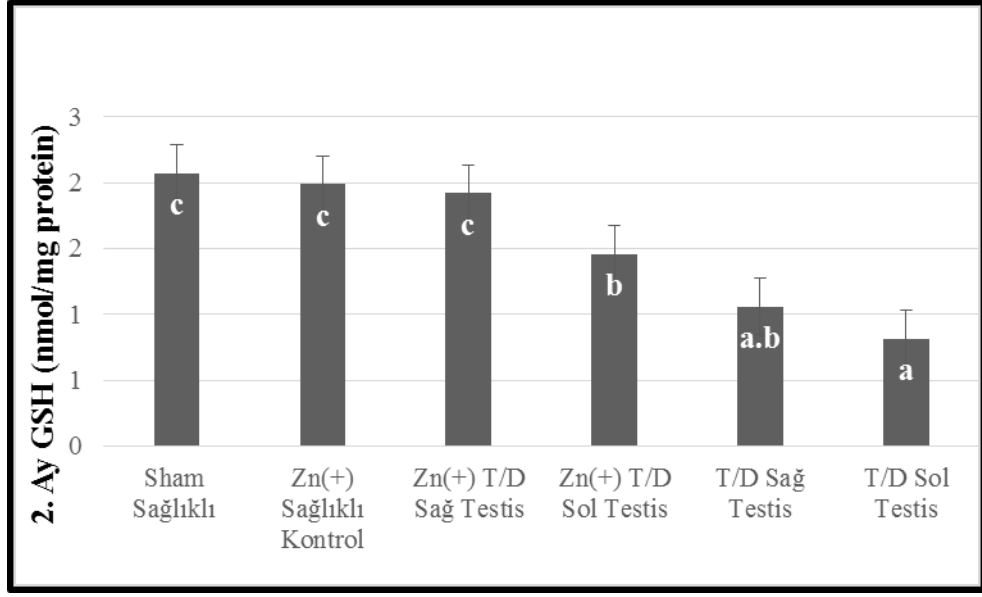
Tablo 4.2. Zn(+): Çinko sülfat verilmiş, T/D: Torsiyon/Detorsiyon yapılmış.

		SOD (U/mg protein)				GSH (nmol/mg protein)				MDA (nmol/mg protein)			
2.AY	Sham Sağlıklı	30.30	±	4.20	c	2.07	±	0.45	c	1.62	±	0.30	a
	Zn Sağlıklı Kontrol	29.08	±	7.85	c	1.98	±	0.32	c	1.66	±	0.60	a
	Zn T/D Sağ Testis	26.30	±	3.82	b,c	1.92	±	0.28	c	1.98	±	0.52	a
	Zn T/D Sol Testis	21.26	±	4.95	b	1.45	±	0.33	b	2.27	±	0.72	a,b
	T/D Sağ Testis	14.23	±	6.92	a	1.05	±	0.32	a,b	2.79	±	0.30	b,c
	T/D Sol Testis	9.80	±	3.34	a	0.81	±	0.41	a	3.38	±	0.65	c



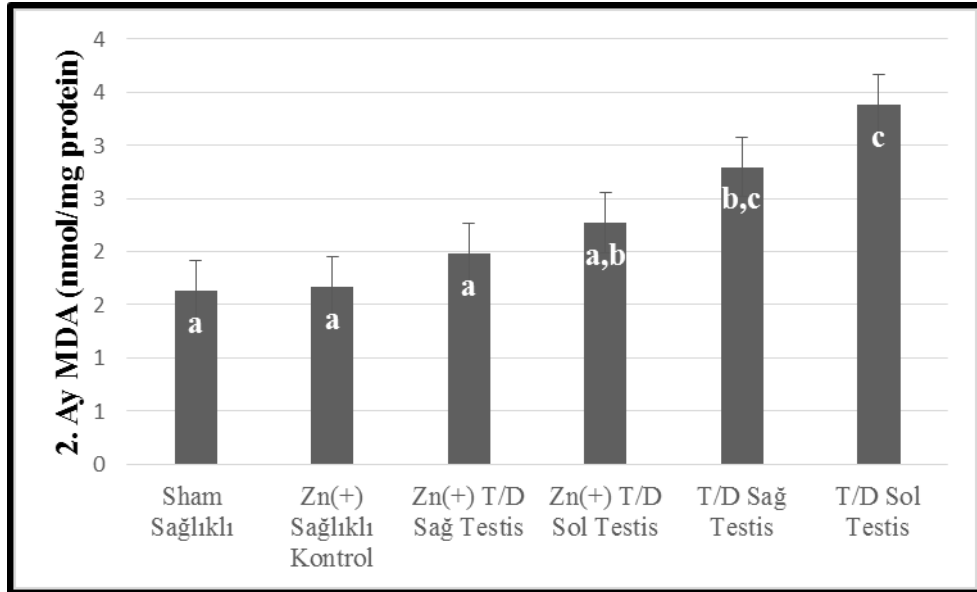
Şekil 4.4. 2.ay SOD enzim ölçüm değerleri

2.ay gruplarında yapılan ölçümlerde SOD enzim aktiviteleri sham sağlıklı grubu (I.grup) ile mukayese edildiğinde T/D yapılan grupta (III.grup) sol testiste çok daha fazla olmakla beraber her iki testiste çok ciddi düşüş mevcutken, çinko sülfat verilen ve T/D yapılan grupta (VI.grup)) sol testiste SOD enzim aktivitesi anlamlı bir şekilde azalmıştır. Yine aynı grupta T/D yapılmamış olan sağ testiste SOD aktivitesi normale yakın ölçülmüştür ($p<0.05$) (Şekil 4.4.).



Şekil 4.5. 2.ay GSH ölçüm değerleri

2.ay gruplarında yapılan ölçümlerde GSH seviyeleri sham sağlıklı grubu (I.grup) ile mukayese edildiğinde T/D yapılan grupta (III.grup) sol testiste çok daha fazla olmakla beraber her iki testiste çok ciddi düşüş mevcutken, çinko sülfat verilen ve T/D yapılan grupta (VI.grup) GSH seviyelerinin sol testiste anlamlı şekilde yükseldiği bulundu ($p<0.05$). T/D yapılan ve çinko sülfat verilen gruptaki hayvanların sağ testisleri ise sağlıklı gruba yakın bir GSH seviyesine sahipti ($p<0.05$) (Şekil 4.5.).

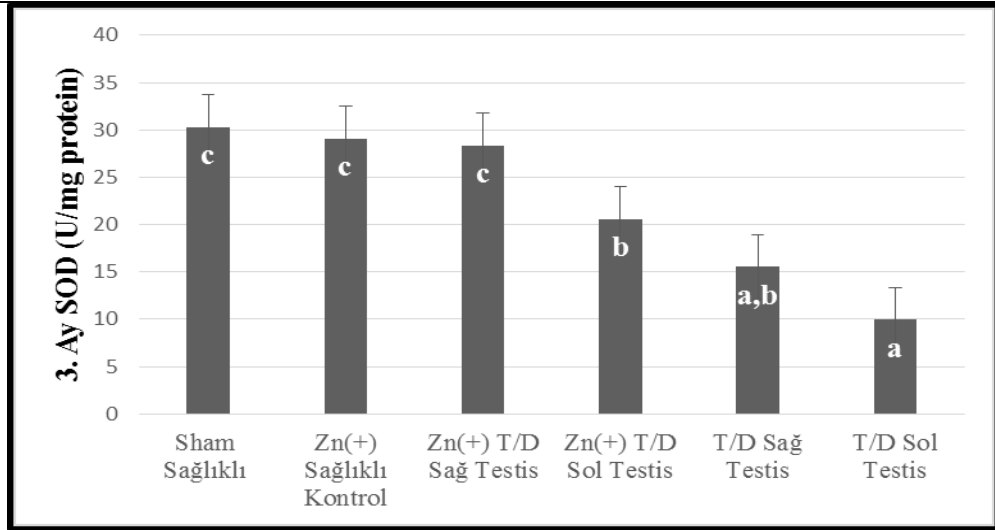


Şekil 4.6. 2. ay MDA ölçüm değerleri

2.ay gruplarında yapılan ölçümlerde MDA seviyeleri sham sağlıklı grubu (I.grup) ile mukayese edildiğinde T/D yapılan grupta (III.grup) sol testiste çok daha fazla olmakla beraber her iki testiste çok ciddi artış mevcutken, çinko sülfat verilen ve T/D yapılan grupta (VI.grup) hem sol hem de sağ testiste istatistiksel olarak anlamlı bir düzelme olduğu gözlemlenmiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.6.).

Tablo 4.3. Zn(+): Çinko sülfat verilmiş, T/D: Torsiyon/Detorsiyon yapılmış.

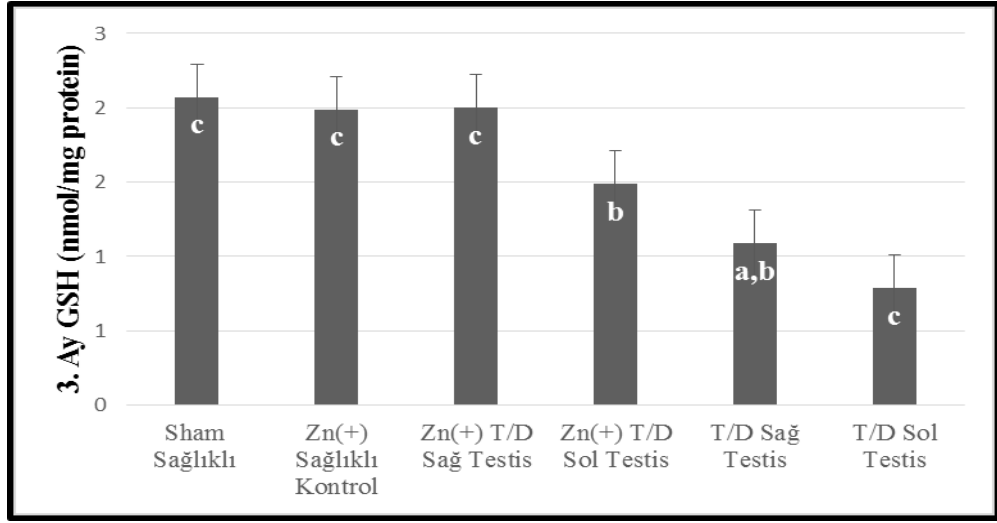
		SOD (U/mg protein)				GSH (nmol/mg protein)				MDA (nmol/mg protein)			
3.AY	Sham Sağlıklı	30.30	±	4.20	c	2.07	±	0.45	c	1.62	±	0.30	a
	Zn Sağlıklı Kontrol	29.08	±	7.85	c	1.98	±	0.32	c	1.66	±	0.60	a
	Zn T/D Sağ Testis	28.38	±	5.40	c	2.00	±	0.26	c	2.08	±	0.19	a,b
	Zn T/D Sol Testis	20.55	±	1.81	b	1.48	±	0.15	b	2.32	±	0.81	a,b
	T/D Sağ Testis	15.52	±	4.39	a,b	1.08	±	0.17	a,b	2.51	±	0.77	b,c
	T/D Sol Testis	9.95	±	0.92	a	0.78	±	0.08	a	3.21	±	0.56	c



Şekil 4.7. 3.ay SOD enzim ölçüm değerleri

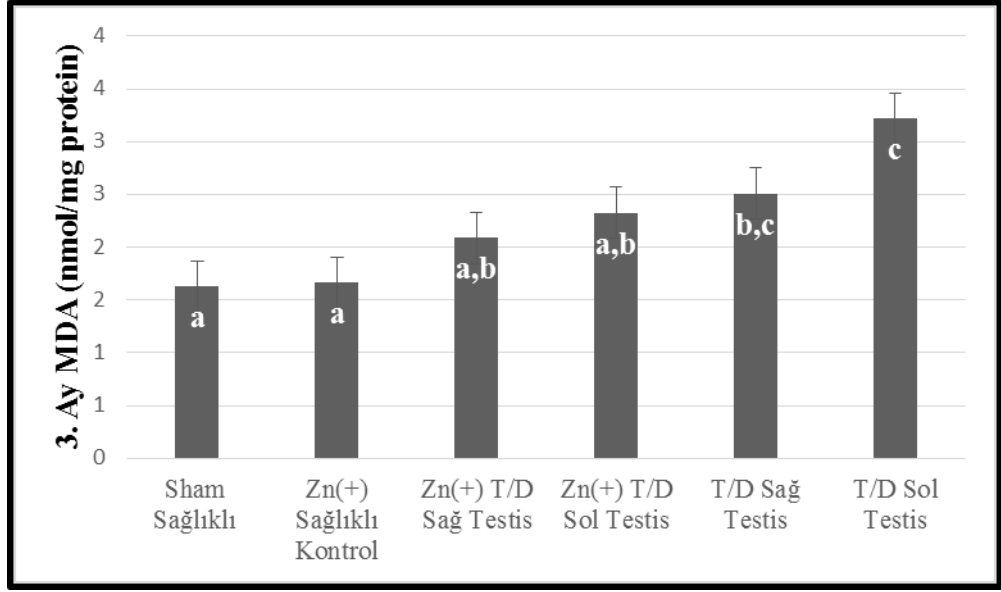
3.ay gruplarında yapılan ölçümlerde SOD aktiviteleri sham sağlıklı grubu (I.grup) ile mukayese edildiğinde T/D yapılan grupta (IV.grup) sol testiste çok ciddi, sağ testiste daha hafif olmakla beraber her iki testiste de istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturan SOD enziminde aktivite düşüşü tespit edildi ($p<0.05$). Çinko sülfat verilen ve T/D yapılan grup (VII.grup) sham sağlıklı grup (I.grup) ile mukayese edildiğinde sağ testiste enzim aktivitesi yükselerek aralarında istatistiksel olarak bir fark kalmazken,

sol testiste enzim aktivitesi yükselmiş olup istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.7.).



Şekil 4.8. 3.ay GSH ölçüm değerleri

3.ay gruplarında yapılan ölçümlerde GSH seviyeleri sham sağlıklı grubu (I.grup) ile mukayese edildiğinde T/D yapılan grupta (IV.grup) sol testiste çok daha fazla olmakla beraber her iki testiste ciddi düşüş mevcutken, çinko sülfat verilen ve T/D yapılan grupta (VII.grup) sham sağlıklı grubu (I.grup) ile mukayese edildiğinde sağ testiste GSH seviyelerinin çok ciddi yükseliş gösterdiği ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın kalmadığı görülürken, sol testiste de GSH seviyesinin daha hafif bir yükseliş gösterdiği ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu bulundu ($p<0.05$) (Şekil 4.8.).



Şekil 4.9. 3. ay MDA ölçüm değerleri

3.ay gruplarında yapılan ölçümlerde MDA seviyeleri sham sağlıklı grubu (I.grup) ile mukayese edildiğinde T/D yapılan grupta (IV.grup) sol testiste çok daha fazla olmakla beraber her iki testiste artış mevcutken, çinko sülfat verilen ve T/D yapılan grupta (VII.grup) sham sağlıklı grubu (I.grup) ile mukayese edildiğinde her iki taraf testiste de MDA seviyelerinin düzelmiş olduğu istatistiksel olarak anlamlı bir farkın bulunamadığı gözlemlenmiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.9.).

4.2. Histopatolojik Bulgular

4.2.1.Hematoksilen-Eozin (H-E) Boyama

Histopatolojik İncelemeler

Histopatolojik değerlendirmede her bir grupta yer alan testis dokularında tubuler dejenerasyon, tubuler skleroz, intersitisyel ödem, intersitisyel hücre artışı ve spermiyogenez derecesi belirlendi.

Buna göre, yapılan semikantitatif değerlendirme, tubuler dejenerasyon, tubuler skleroz, intersitisyel ödem ve intersitisyel hücre artışı, (+) çok az, (++) az, (+++) orta şiddetli, (++++ şiddetli, (+++++) çok şiddetli olarak tanımlandı. Spermiyogenez için, (-) hiç yok, (*) az, (**) normal olarak tanımlandı.

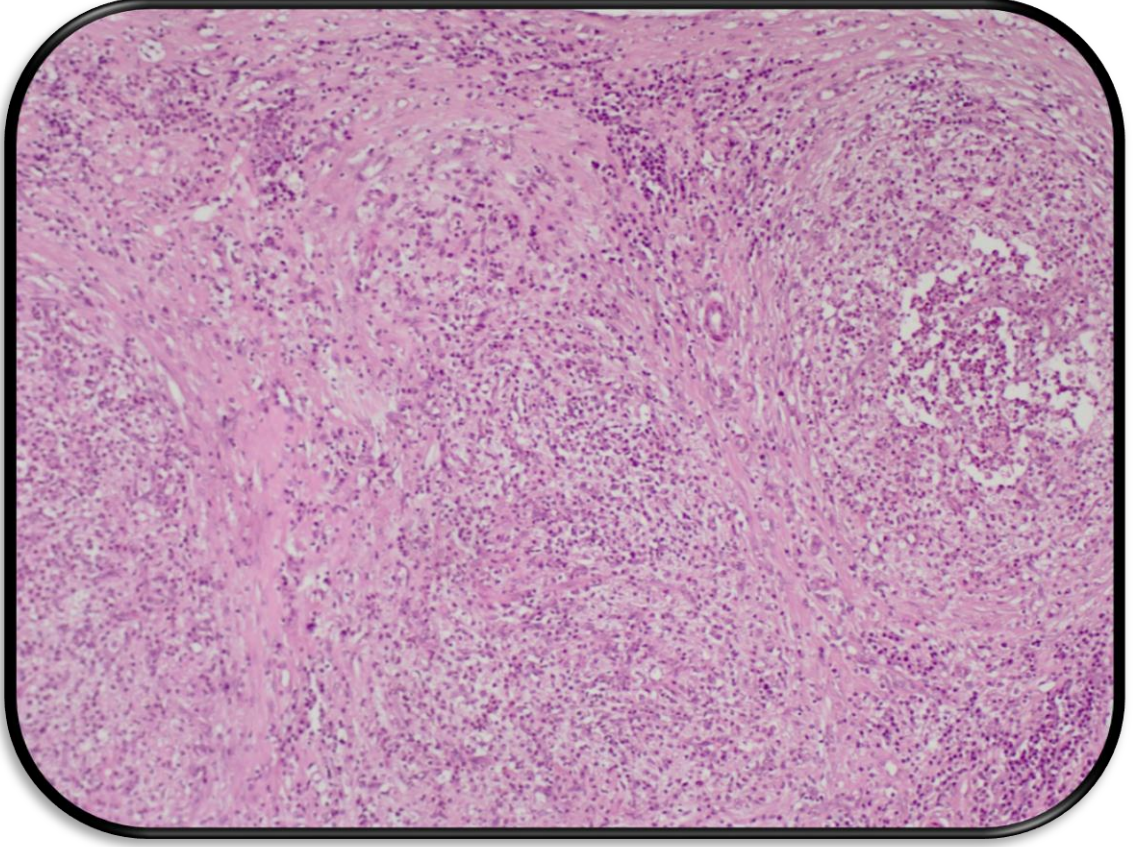
Bulgular

Semkantitatif histopatoloji değerlendirme sonuçları Tablo 4.4’de gösterilmiştir.



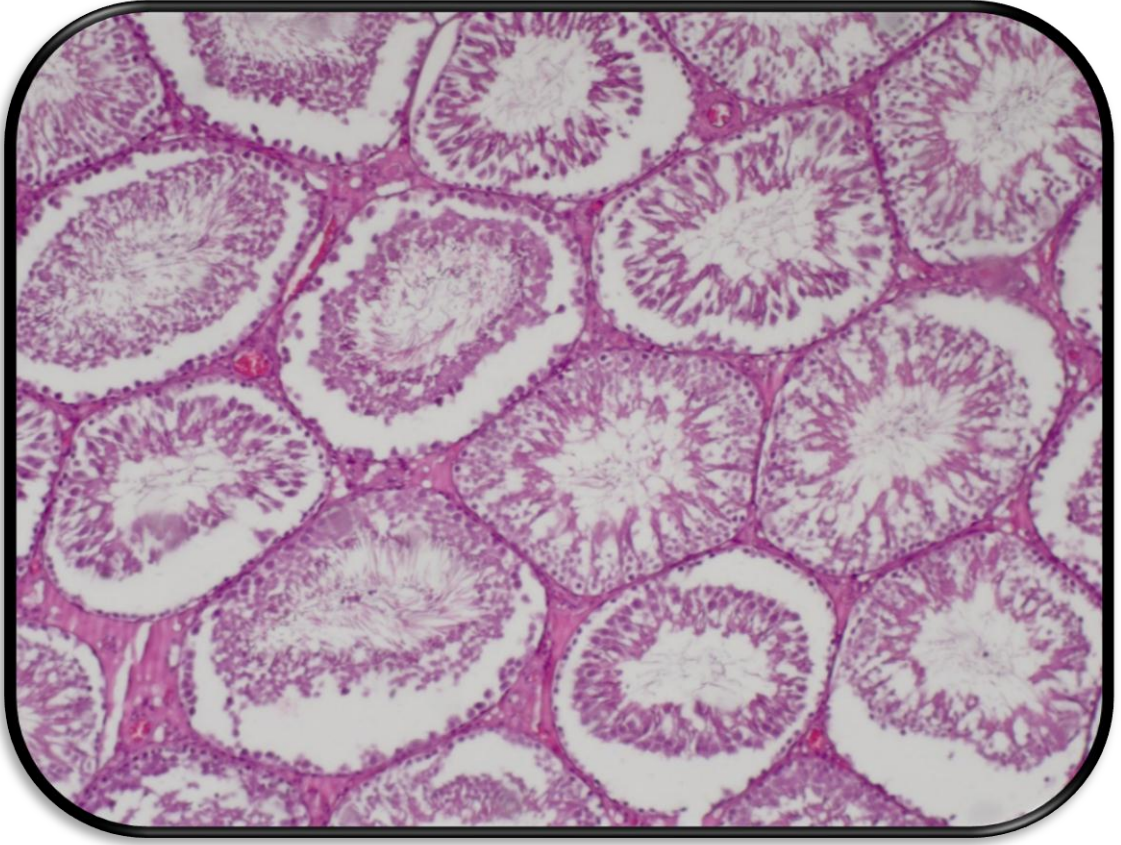
şekil 4.10. Sham grubuna ait testisin görünümü. Hematoksilen ve eozin boyama. Büyütme 100X.

Sham grubunda, testislerin tubuler yapısı ve tubuler bazal membranları normal histolojik görünümdeydi. Spermiyogenez normal olarak gözlendi.



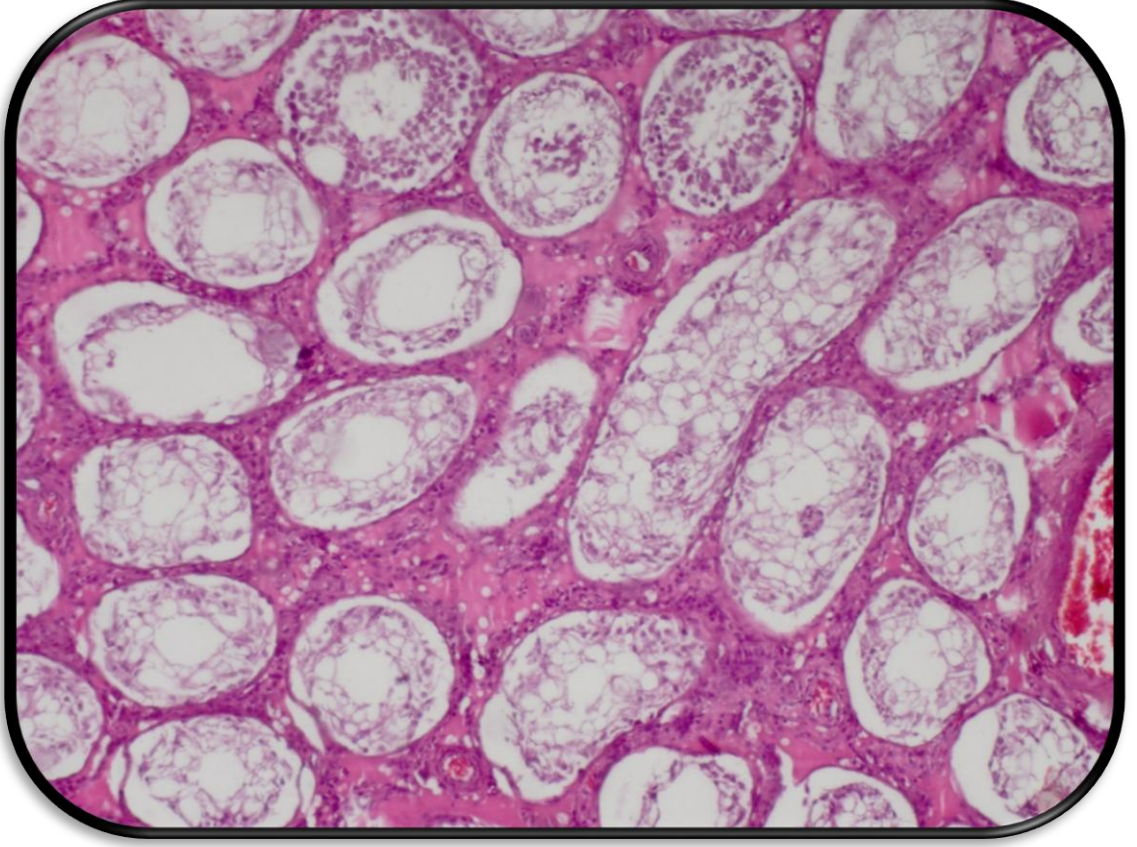
Şekil 4.11. 1. ay T/D+, Zn+ grubuna ait sol testisin görünümü. Hematoksilen ve eozin boyama. Büyütme 100X.

1. ay T/D+, Zn+ grubunda, sol testiste, oldukça şiddetli yangısal infiltrasyon vardı. Tubuler dejenerasyon, tubuler skleroz, intersitisyel ödem ve intersitisyel hücre artışı çok şiddetliydi.



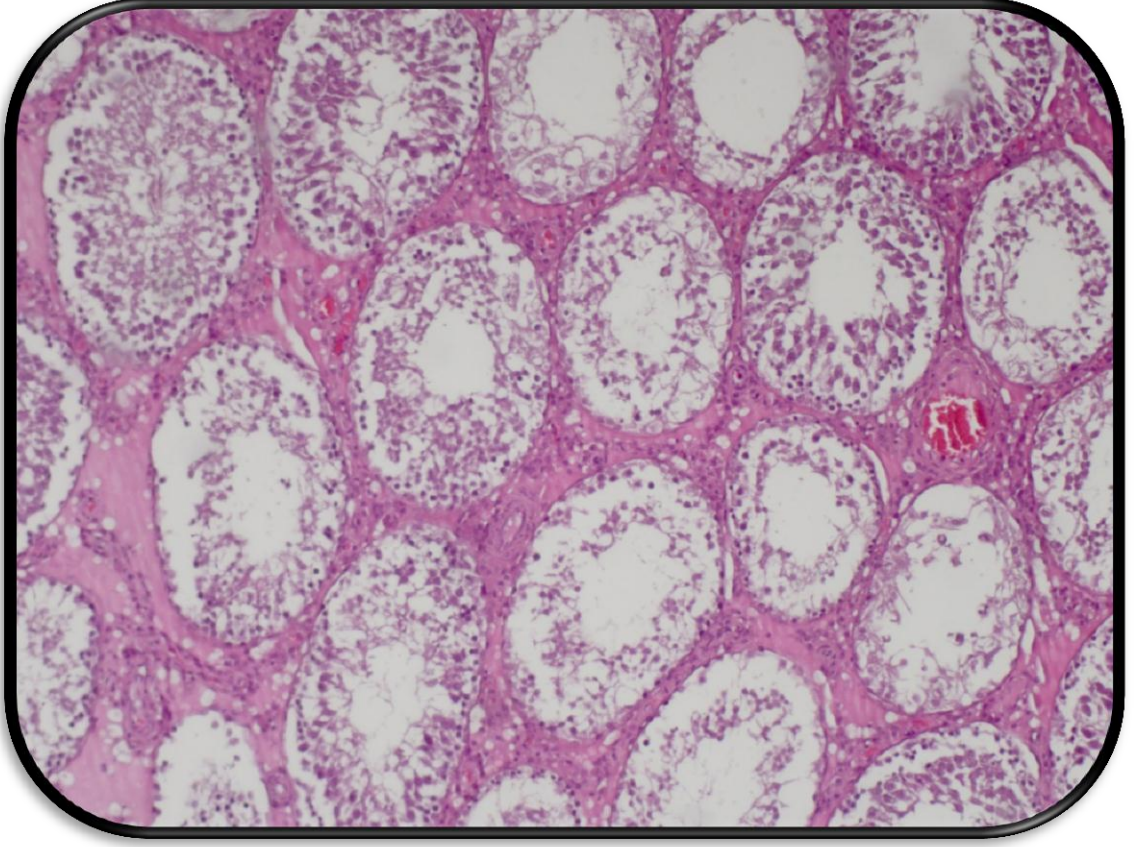
Şekil 4.12. 1. ay T/D+, Zn+ grubuna ait sağ testisin görünümü. Hematoksilen ve eozin boyama. Büyütme 100X.

1. ay T/D+, Zn+ grubunda, sağ testiste, spermiyogenez bazı tubullerde seçilmezken bazılarında normal olarak gözlendi. Bazal membran üzerindeki germinal tabakada ayrılımlar seçildi. İntersitisyel alanda az miktarda ödem ve yangısal hücre artışı az olarak belirlendi.



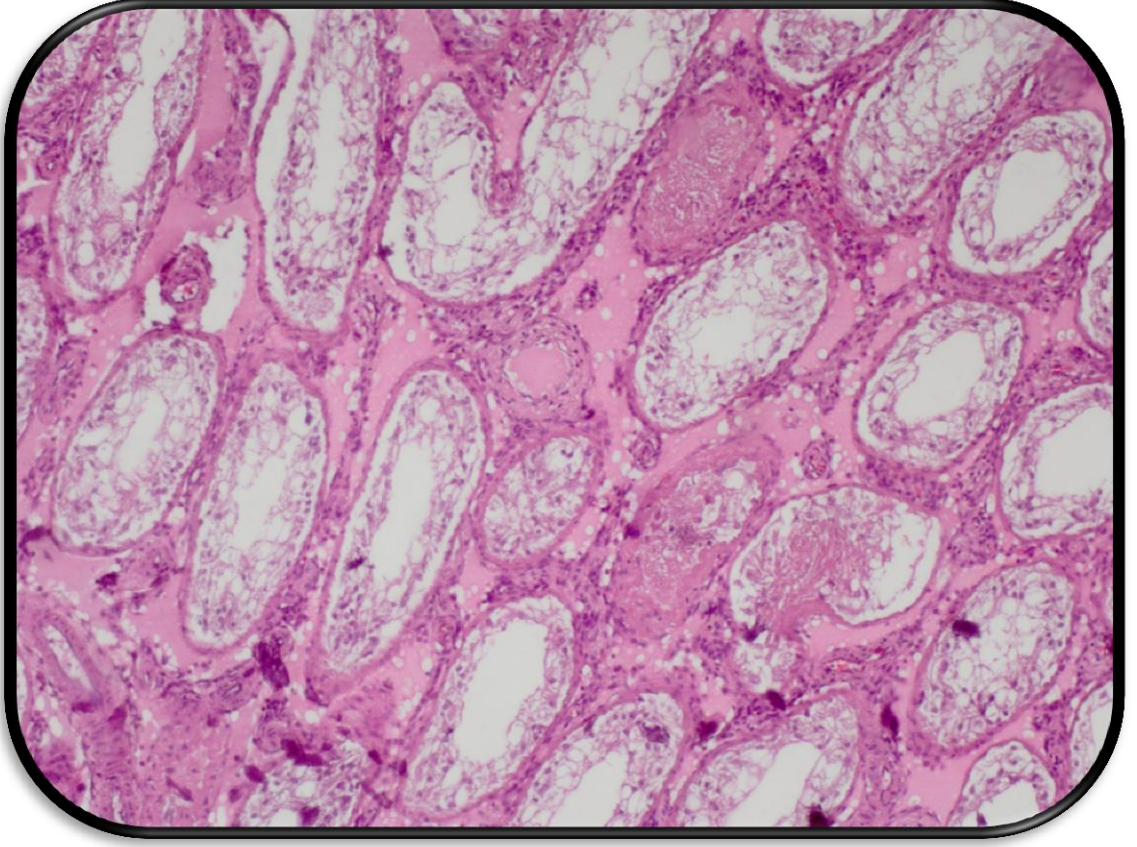
Şekil 4.13. 2. ay T/D+, Zn+ grubuna ait sol testisin görünümü. Hematoksilen ve eozin boyama. Büyütme 100X.

2. ay T/D+, Zn+ grubunda, sol testiste, intersitisyel ödem oldukça dikkat çekti. Ödemle birlikte yangısal hücre infiltrasyonları da şiddetli olarak gözlendi. Tubuler dejenerasyonun şiddetli olduğu bu grupta germinal dizilim gösteren çok az tubul seçildi. Spermiyogenez çoğu tubulde hiç yoktu. Bazılarında çok az tespit edildi.



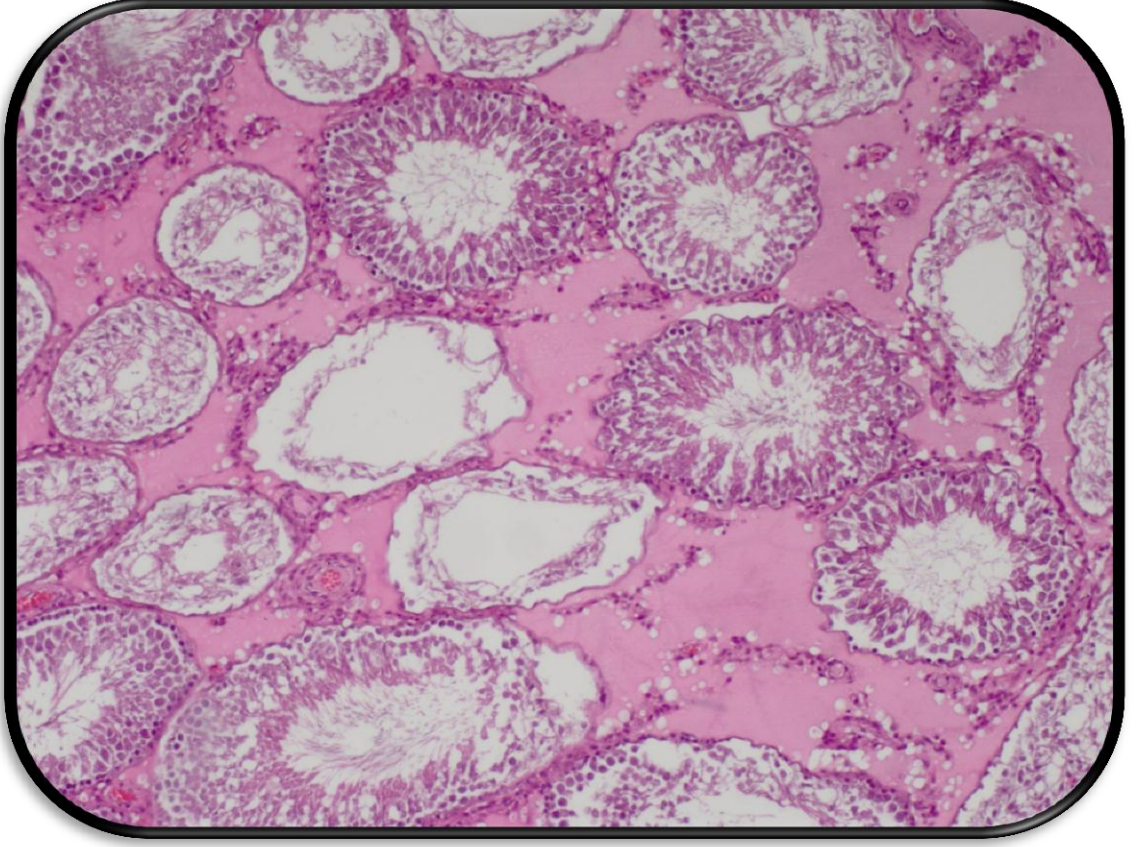
Şekil 4.14. 2. ay T/D+, Zn⁺ grubuna ait sağ testisin görünümü. Hematoksilen ve eozin boyama. Büyütme 100X.

2. ay T/D+, Zn⁺ grubunda, sağ testiste, tubuler dejenerasyonu çok azdı. Tubuler skleroz çok az olarak gözlendi. İntersitisyel ödem az iken ve intersitisyel hücre artışı çok az olarak belirlendi. Spermiyogenez ise normale yakın olarak gözlendi.



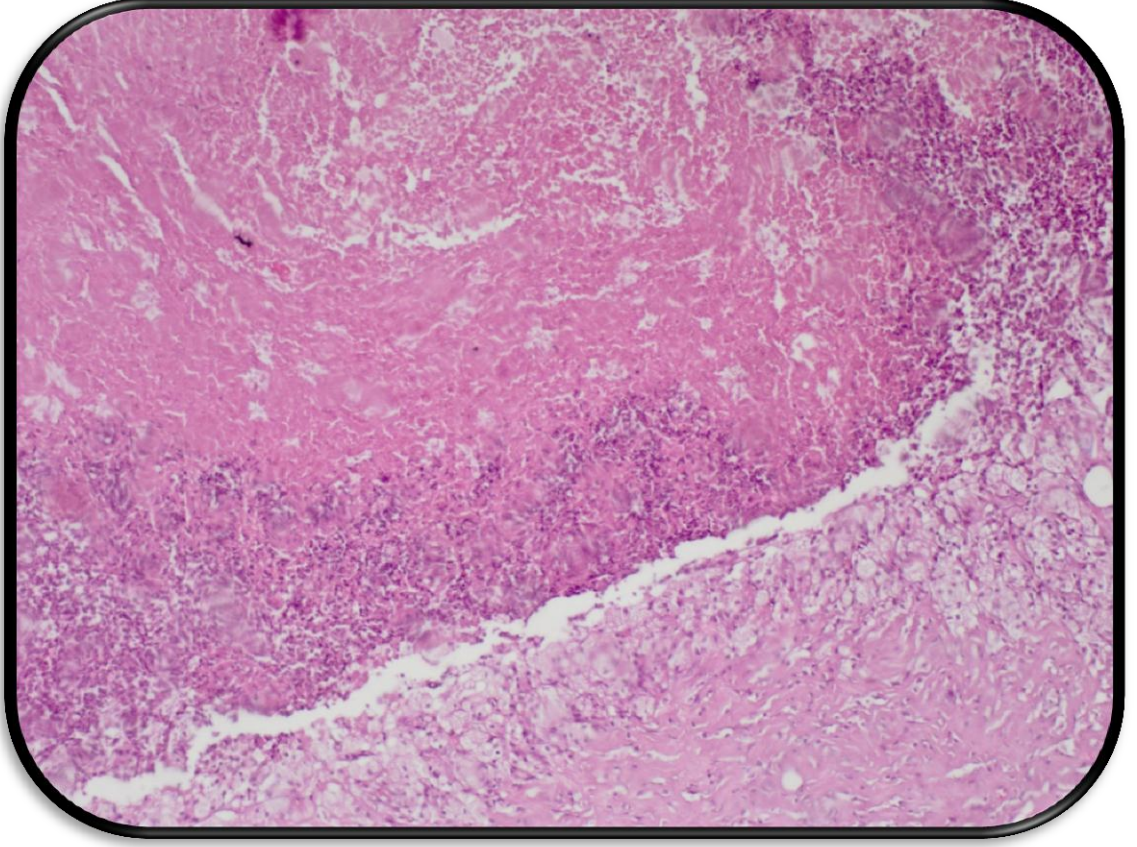
Şekil 4.15. 3. ay T/D+, Zn+ grubuna ait sol testisin görünümü. Hematoksilen ve eozin boyama. Büyütme 100X.

3. ay T/D+, Zn+ grubunda, sol testiste, intersitistiyel ödem çok şiddetliydi, tubullere ait bazal membranlar seçilmekteydi ancak germinal dizilim belirgin değildi. Tubuler dejenerasyon oldukça belirgindi. Bazı tubullerin sklerotik olduğu dikkati çekti. Spermiyogenez birkaç tubul haricinde hiç yoktu.



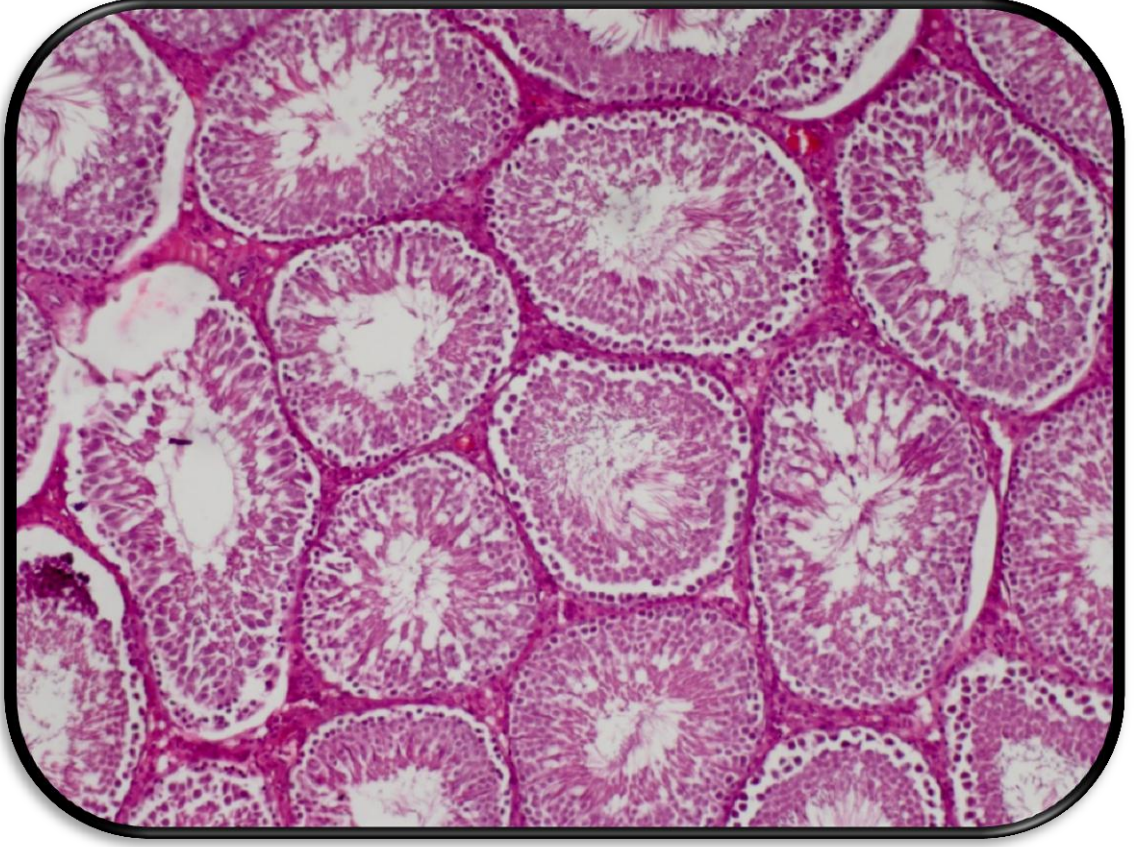
Şekil 4.16. 3. ay T/D+, Zn+ grubuna ait sağ testisin görünümü. Hematoksilen ve eozin boyama. Büyütme 100X.

3. ay T/D+, Zn+ grubunda, sağ testiste, interstisyel ödem bazı bölgelerde belirgindi. Germinal dizilimin normal olarak görüldüğü tubuller oldukça fazlaydı. Spermiyogenez normal olarak izlendi. Germinal dizilimin sağlam olduğu tubullerde spermiyogenezde normal olarak görüldü.



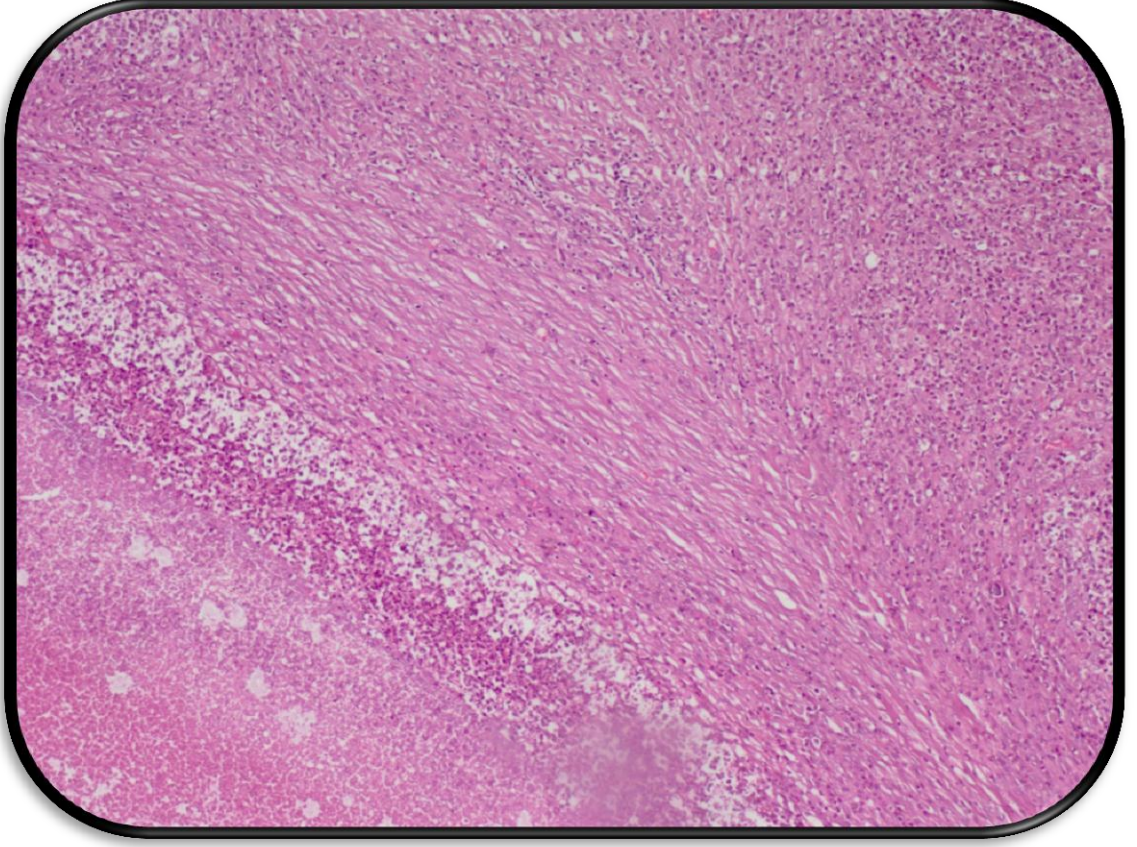
Şekil 4.17. 1. ay T/D+, Zn- grubuna ait sol testisin görünümü. Hematoksilen ve eozin boyama. Büyütme 100X.

1. ay T/D+, Zn- grubunda, sol testiste, oldukça şiddetli yangısal infiltrasyon vardı. Tubuler yapıya ait morfoloji gözlenemedi.



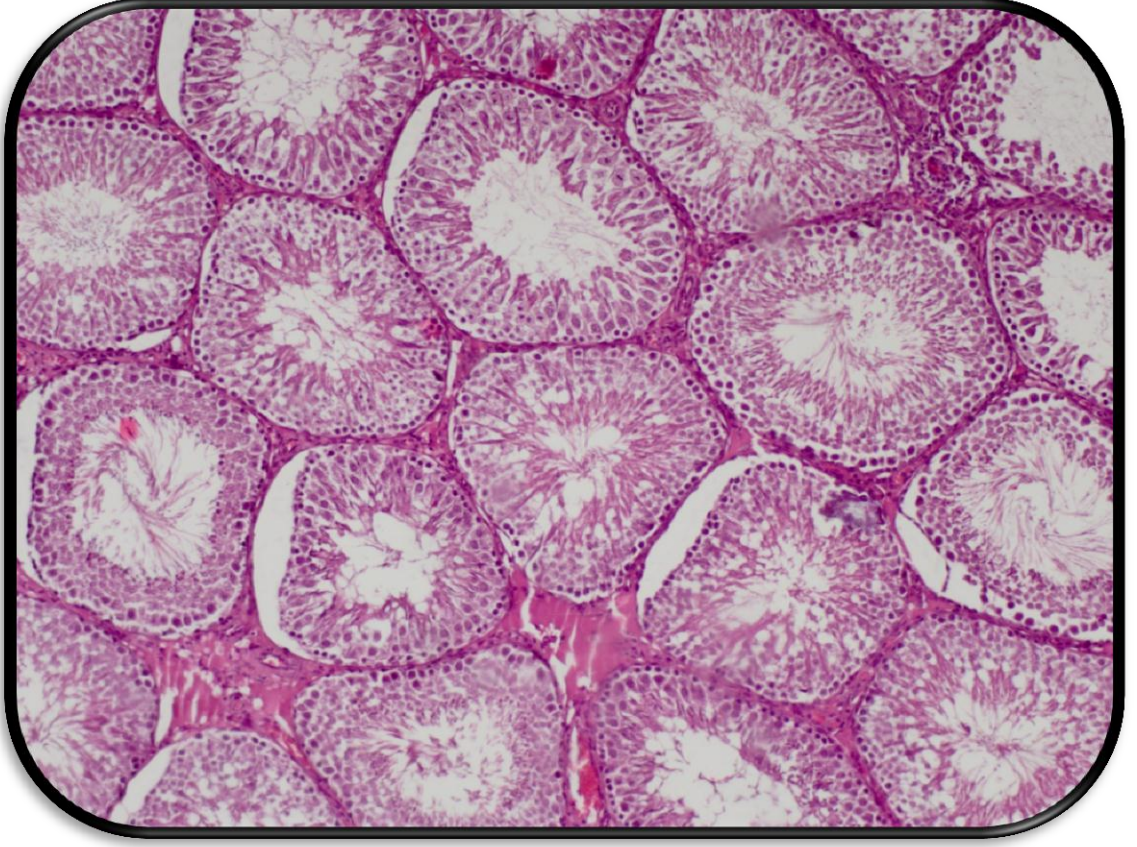
Şekil 4.18. 1. ay T/D+, Zn- grubuna ait sağ testisin görünümü. Hematoksilen ve eozin boyama. Büyütme 100X.

1. ay T/D+, Zn- grubunda, sağ testiste, tubuler dejenerasyon az, tubuler skleroz çok az, intersitisyel ödem az ve intersitisyel hücre artışı çok az olark belirlendi. Spermiyogenez ise normale göre daha düşük olarak belirlendi.



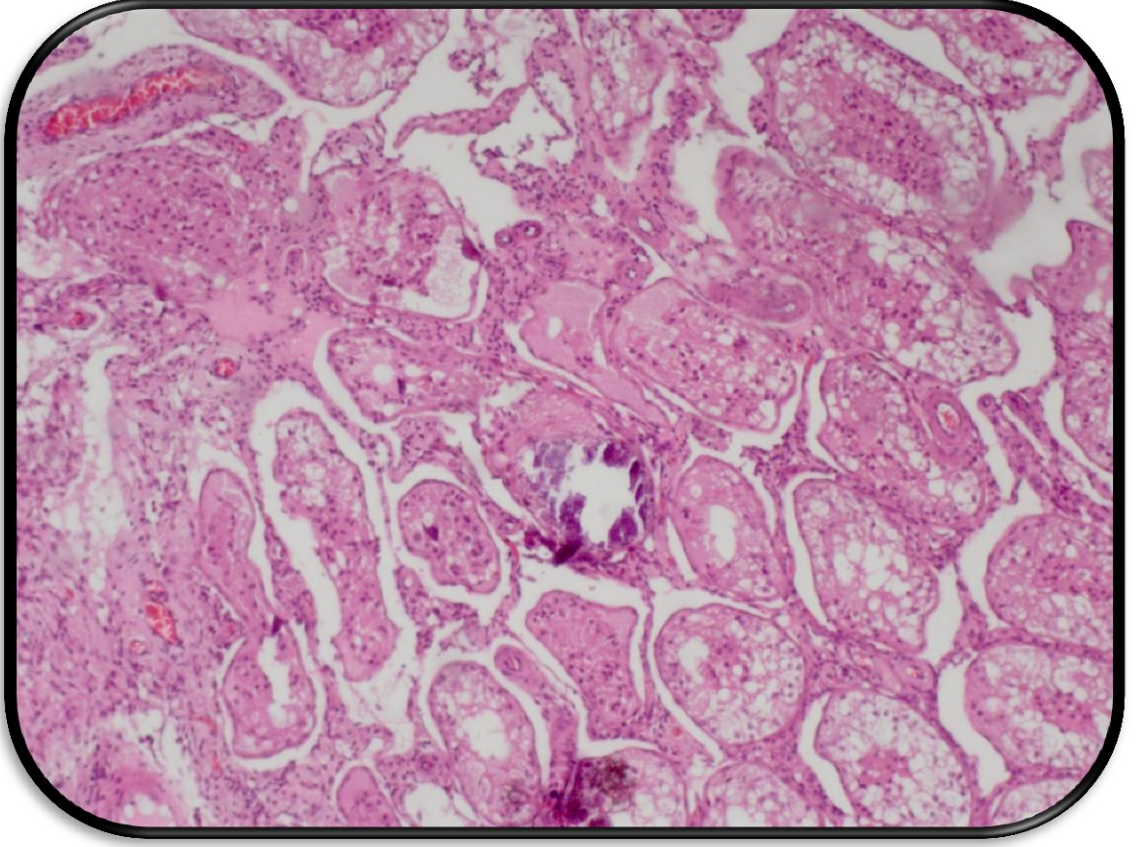
Şekil 4.19. 2. ay T/D+, Zn- grubuna ait sol testisin görünümü. Hematoksilen ve eozin boyama. Büyütme 100X.

2. ay T/D+, Zn- grubunda, sol testiste, oldukça şiddetli yangısal infiltrasyon vardı. Tubuler yapıya ait morfoloji gözlenemedi.



Şekil 4.20. 2. ay T/D+, Zn- grubuna ait sağ testisin görünümü. Hematoksilen ve eozin boyama. Büyütme 100X.

2. ay T/D+, Zn- grubunda, sağ testiste, Spermiyogenezin bazı tubullerde az olduğu ve bazılarında normal olduğu gözlemlendi. Tubuler dejenerasyonlar orta şiddette gözlemlendi. İntersitisyel ödem ve yangısal hücre artışı normale göre daha belirgindi.



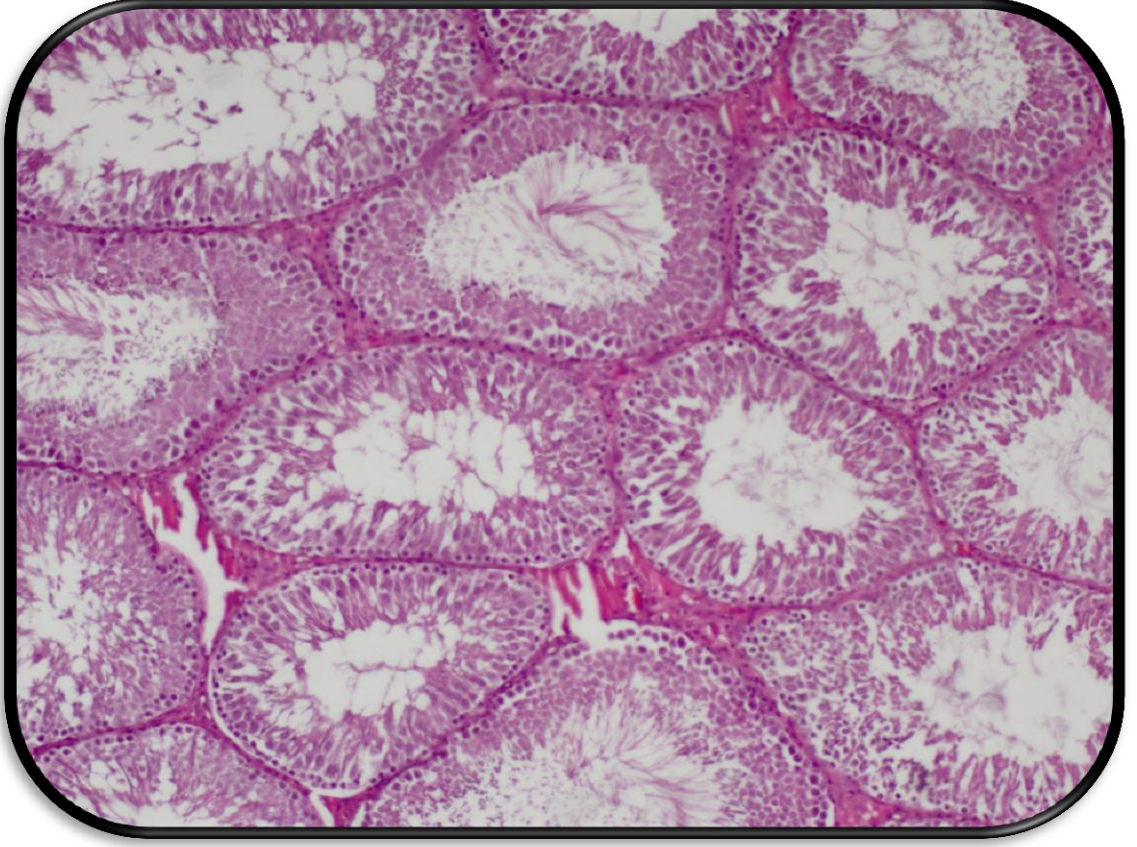
Şekil 4.21. 3. ay T/D+, Zn- grubuna ait sol testisin görünümü. Hematoksilen ve eozin boyama. Büyütme 100X.

3. ay T/D+, Zn- grubunda, sol testiste, Spermiyogenez hiç yoktu. Tubuler skleroz oldukça yaygındı. İnterstisyel ödem ve yangısal hücre artışı sklerotik tubullerin arasında gözlendi.



Şekil 4.22. 3. ay T/D+, Zn- grubuna ait sağ testisin görünümü. Hematoksilen ve eozin boyama. Büyütme 100X.

3. ay T/D+, Zn- grubunda, sağ testiste, İntersitisyel ödem çok belirgindi ve yangısal hücre artışı azdı. Spermiyogenez bazı tubullerde hiç yoktu. Bazı tubullerin germinal diziliminin bazal membrandan ayrıldığı gözlemlendi.



Şekil 4.23. 1. ay T/D-, Zn⁺ grubuna ait sol testisin görünümü. Hematoksilen ve eozin boyama. Büyütme 100X.

1. ay T/D-, Zn⁺ grubunda, sol testiste, Spermiyogenez normal olarak görüldü. Tubuler dejenerasyonlar görülmedi. İntersitisyel ödem ve yangısal hücre artışı bulunmayıp sham grubundaki hayvanların testislerine benzerlik gösterdi.



Şekil 4.24. 3. ay T/D-, Zn⁺ grubuna ait sağ testisin görünümü. Hematoksilen ve eozin boyama. Büyütme 100X.

3. ay T/D-, Zn⁺ grubunda, sağ testiste, spermiyogenez normal olarak görüldü. Tubuler dejenerasyonlar görülmedi. İntersitisyel ödem ve yangısal hücre artışı bulunmayıp sham grubundaki hayvanların testislerine benzerlik gösterdi.

Tablo 4.4. Semikantitatif histopatoloji sonuçları

Parametre	T/D+, Zn-								T/D +, Zn +								T/D-, Zn+	
	1. ay		2.ay		3.ay		Sham		1. ay		2.ay		3.ay		3.ay			
	Sol testis	Sağ testis	Sol testis	Sağ testis	Sol testis	Sağ testis	Sol testis	Sağ testis	Sol testis	Sağ testis	Sol testis	Sağ testis	Sol testis	Sağ testis	Sol testis	Sağ testis	Sol testis	Sağ testis
Tubul epitel dejenerasyonu	+++++	++	+++++	++++	+++++	+++	-/+	-/+	+++++	++	+++++	+	+++++	+	-/-	-/-		
Tubuler skleroz	+++++	+	++	++	+++	+++	-/+	-/+	+++++	+	+++++	+	+++++	+	-/-	-/-		
İnterstisyel ödem	+++++	++	+++++	+++	+++++	+++++	-/+	-/+	+++++	++	+++++	++	+++	+++	-/-	-/-		
İnterstisyel hücre artışı	+++++	+	++++	+++	+++++	++	-/+	-/+	+++++	++	+++++	+	++++	++	-/-	-/-		
Spermiyogenez	-	*	-/*	-/*	-	-	**	**	-	*/**	-	*/**	-	*/**	**	**		

Semikantitatif değerlendirme, -/+ yok yada tek tük, + çok az, ++ az, +++ orta şiddetli, ++++ şiddetli, +++++ çok şiddetli. Spermiyogenez için, - hiç yok, * az, ** normal.

5. TARTIŞMA

Testis torsiyonu, hızlı şekilde tanı ve tedavi edilmez ise üreme yeteneğinin kaybedilebildiği cerrahi acil bir hastalıktır. Akut skrotum başlığı altında pek çok hastalıkla ayırıcı tanısının hızla ve doğrulukla yapılması gereken bir bulmacadır. Karışmakta olduğu hastalıkların aslında hiç birisinin acil müdahale gerektirmemesine rağmen, ayırıcı tanının sadece fizik muayene ile yapılamaması hemen daima yardımcı tanı yöntemlerinin kullanılmasını kaçınılmaz hale getirir. Hastaların ilk şikayetlerinin başlamasından hastaneye müracaatlarına kadar geçen süreye, ayırıcı tanı ve operasyon hazırlıkları için gereken süre de eklenince 6-8 saatlik kritik sürenin çok yetersiz bir süre olduğu ortaya çıkacaktır. Operasyon esnasında detorsiyone edilen testiste renk değişikliğinin sağlanması testisin iskemik fazda yakalandığı anlamına gelirken, şüpheli durumlarda tunika albuginaya ulaşacak derinlikte kesi yapılması ile kanamanın sağlanması durumunda testisin viable olduğu anlaşılır ve tedavi çoğunlukla orşiopeksi şeklinde olur. Aksi durumda yaygın tedavi yaklaşımı günümüzdeki orşiektomi şeklinde olmaktadır. Testis torsiyonunda patoloji sadece torsiyon olan testisle sınırlı kalmamaktadır. Krarup, 1978 yılında testis torsiyonu sonrası takip edilen 18 hastadan sadece bir tanesinin fertil olduğunu rapor etmiştir.⁴¹ Bu çalışma, tek taraflı testis torsiyonunun karşı testisi de zedeleyeceğine dikkati çekmiştir. Melekos ve ark.¹¹⁴ testis torsiyonu ile oluşan doku hipoksisi ve germinal hücre nekrozunun torsiyonun gerçekleşmesinden 12 sene sonra subfertiliteye ve infertiliteye sebep olabildiğini göstermişlerdir.

Karşı taraf testisin nasıl hasarlandığı ve fertilitenin olumsuz yönde etkilendiği noktasında pek çok mekanizma suçlanmıştır. İ/R hasarı ve ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin yaptığı hasar bu durumdan sorumlu tutulmuştur.^{3, 49, 115, 116} Tanyel ve ark.³⁰ tek taraflı testis torsiyonun aynı tarafta ve konturlateral internal spermatik arter

kan akımını azaltmasını sorumlu tutmuşlardır. Hagen ve ark.²⁸ patolojik bulgular ile destekleyerek vakaların %88'de konjenital displazinin de hali hazırda var olduğunu ortaya koymuşlar ve sebep olarak sunmuşlardır. Bu düşünce başka araştırmacılar tarafından da desteklenmiştir.^{3, 28, 117} Hadziselimovic ve ark.¹¹⁸ tek taraflı torsiyon sonrası artmış apoptozu infertiliteyi etkileyen en önemli bir sebep olarak ortaya koymuştur. Sinisi ve ark.¹¹⁹ incelemiş oldukları 6 familial testiküler torsiyon bulunan fertlerde, tespit ettikleri otoimünizasyona bağlı oluşmuş otoantikörlerin karşı taraf testiste bu duruma sebep olmuş olabileceği savunmuşlardır. Yukarıda sıralanmış çok sayıdaki patoloji gelişimi mekanizması içerisinde en muhtemel sebep olarak İ/R hasarına bağlı karşı taraf testisinde de moleküler ve biyokimyasal bozuklukları sorumlu tutulmuştur.^{115, 116}

Cosentino ve ark.²⁵ testis torsiyonu sonrası karşı testiste hasar meydana geldiğini bu durumun geç dönemde fertliletiyi olumsuz olarak etkilediğini ve bu hasarın engellenebilmesinin ancak erken orşiektomi yapılması ile karşı testisin korunmasının mümkün olabileceğini savunmuştur.

Turner ve ark.¹²⁰ karşı taraftaki testisin detorsiyon sonrası etkilenmediğini bu nedenle uzun süre torsiyone halde kalmış testislerde dahi orşiektomi yapılmaması gerektiğini savunmuştur. Lorenzini ve ark.'da pubertal ratlarda yapmış oldukları 90 günlük kronik deneysel bir çalışmada, spermatogenezin karşı taraf testiste etkilenmediğini ve bu nedenle torsiyone testise karşı taraf testisi korumak maksadı ile erken orşiektomi yapılmasına hiç gerek olmadığını iddia etmişlerdir.

Puri ve ark.¹²¹ orşiopeksi uygulanan 18 prepubertal çocuğun 7-23 yıllık takiplerinde otosensitizasyonu gösterecek otoantikörlere ve karşı testis hasarına rastlamadıklarını bildirmişlerdir.

Yukarıda sıralanmış tüm muhtemel mekanizmalar ve uzun süreli takip sonuçlarını içeren çoğu deneysel ve klinik vaka serileri, torsiyon sonrası oluşan akut hasarın zaman içerisinde devam ederek kronik süreçte hasar oluşturabileceğini ortaya koymuştur. Her ne kadar aksini iddia eden çalışmalar mevcut bulunsa da ameliyat esnasında torsiyone testis detorsiyone edildikten sonra orşiopeksi kararı alınacak olur ise karşı tarafta bulunan sağlıklı testisin bu durumdan etkilenme ihtimali yönündeki endişe klinisyenler için her zaman var olacaktır. Çünkü kesin bir fikir birliği oluşturulamamıştır.

İ/R hasarında temel patoloji iskemi nedeni ile gerekli enerjinin sağlanamaması ve hücre membranında bulunan ATP bağımlı çalışan Na^+/K pompasının işlevsiz kalması ve hücrenin şişmesi ile başlar. Diğer ATP bağımlı çalışan bir pompa hücre içi ve dışı Ca^{++} dengeleyen pompa olup onun işlevsiz kalması hücre içerisinde Ca^{++} akümülayonu ve buna bağlı proteolitik enzimlerin ve fosfolipazların aktivasyonuna yol açar.⁵² İskemi esnasında hücresel ATP hipoksantinden indirgenmesi ile temin edilmeye çalışılır. İskemi sırasında ise ksantin dehidrogenaz, ksantin oksidaza çevrilir. Ksantin oksidaz iskemi sırasında hipoksantinden ksantine dönüşümü katalizleyemez ve dokularda aşırı hipoksantin birikir. Reperfüzyon sırasında ortama yeniden giren oksijen ve ksantin oksidaz, aşırı hipoksantin ile birlikte toksik serbest oksijen radikallerini (SOR) oluşturur.⁵²

Yapılan çalışmalarda İ/R hasarına bağlı gelişen patolojik durumların en önemli belirleyicileri; antioksidan enzim aktiviteleri, oksidatif stresi ilişkilendiren parametreler, enflamatuvar sitokinler ve ajanların seviyeleri, histopatolojik değerlendirme olduğu görülmektedir. İskemi ve reperfüzyon esnasında artan miktarda üretilen radikallerin ortamdan uzaklaştırılması antioksidan sistem tarafından sağlanmaktadır. Çinkonun yüzlerce önemli görevlerinden birisi de SOD enziminde üstlendiği görevidir. SOD

enzimi, süperoksit anyonunun ($\cdot\text{O}_2^-$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene dönüşümünü katalize ederek bu radikallerin etkisini azaltmaktadır. Bu olayda SOD enziminin aktif bölgesini oluşturan çinko önemli bir mineraldir.⁸⁴ Çinkonun pek çok dokuda oluşmuş İ/R hasarını önleyebildiği yapılmış çalışmalar ile ortaya konulmuştur. Bu çalışmalar miyokard¹²², böbrek¹²³, ince barsak¹²⁴, retina¹²⁵, mide mukozası¹²⁶ üzerinde oluşturulmuş I/R hasarında faydalı etkilerini ortaya koymaktadır.

Yapılan literatür çalışmalarında testis torsiyonu ve detorsiyonuna bağlı olarak SOD aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir.¹²⁷ Çalışmamızda testis dokusundaki SOD aktivitesini inceledik. Torsiyon ve detorsiyon gruplarında SOD aktivitesinin sağlıklı gruba göre anlamlı derecede düştüğünü gösterdik. Ancak torsiyon yapılan testiste çok ciddi anlamda SOD aktivitesi düşerken torsiyon yapılmayan sağ testiste daha hafif olmakla beraber SOD aktivitesinde düşüş mevcuttu. Bu bilgidен hareketle uzun süreli kronik testis torsiyonu deneysel modelinde karşı testisinde mevcut iskemik hasardan etkilenmekte olduğunu başka araştırmacıların^{3, 115} ortaya koyduğu gibi bizde gösterdik. Çinko sülfat tedavi gruplarında ise SOD enzim aktivitesinin yükseldiği hatta torsiyon yapılmayan testiste sağlıklı grup seviyelerine yükselmiş olduğunu gördük. Bu sonuç bize çinko sülfat tedavisinin torsiyon olan testiste oluşan hasarı azalttığını diğer taraftaki torsiyon yapılmayan testiste oluşan hasarı neredeyse sağlıklı gruptaki seviyelere kadar yaklaştırdığını göstermiştir.

İskemi reperfüzyon hasarının önemli belirteçlerinden biride MDA dır. Lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA'nın iskemi reperfüzyon hasarı gelişen dokularda artış gösterdiği birçok çalışmada belirtilmiştir.^{3,128} Çalışmamızda da MDA seviyelerinin, testiste torsiyon ve detorsiyon yapılan gruplarda sağlıklı gruba göre mukayese edilmesinde istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek değerler saptandı. Çalışmamızda tedavi edici olarak düşündüğümüz çinko sülfatın uygulandığı gruplarda

MDA seviyelerinde torsiyon yapılan testiste düşüş sağlarken bu etki en güçlü şekilde karşı testis hasarından korunmada ortaya çıktı. Yapılan deneysel bir rat çalışmasında çinko yetmezliğine bağlı gelişen spermatogenez bozukluğunda artmış olan MDA seviyelerinin, çinko tedavisi ile normal seviyelere düşürüldüğü gösterilmiştir.¹²⁹ Bizim bulgularımızı destekler nitelikte yapılan bir deneysel testis torsiyonu çalışmasında çinko kullanımının MDA seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir.¹³⁰

Çalışmamızda araştırdığımız antioksidan parametrelerinden bir diğeri ise GSH tır. GSH serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif stres hasarına karşı korur. Ayrıca, yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve aminoasitlerin membranlardan transportunu da sağlar, lökositleri ve eritrositleri oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir. Yapılan çalışmalarda testis torsiyon ve detorsiyonuna bağlı olarak GSH seviyesi oldukça düşmektedir.^{131,132} Bizde çalışmamızda torsiyon ve detorsiyon gruplarında GSH seviyelerinin sağlıklı gruba göre anlamlı derecede düştüğünü gösterdik. Yapılan bir deneysel hipertroidizm çalışmasında düşmüş olan GSH seviyelerinin çinko tedavisi uygulanması ile yükseldiği gösterilmiştir.¹³³ Mevcut çalışmamızda çinko sülfat ile tedavi ettiğimiz gruplarda GSH seviyelerin arttığını gösterdik. Bu artış SOD ve MDA seviyelerinde olduğu gibi torsiyon yapılmayan karşı testiste neredeyse sağlıklı grup seviyesine yakın bir değere gelmiş olduğu gösterilmiştir.

Çalışmamızın bir diğer parametresi olan histopatolojik değerlendirme sonuçlarımız da biyokimyasal bulgularımızı destekler nitelikte olup Kar ve ark.¹³⁴ yapmış olduğu deneysel çalışmadaki sonuçları ile örtüşmektedir. Histopatolojik sonuçlarımıza göre; çinko kullanılmayan 2. ay grubundaki ratlarda torsiyon yapılan sol testislerde çok şiddetli yangısal infiltrasyon mevcuttur ve tubuler yapıya ait normal morfoloji kaybolmuştur. Dikkat çekici olarak biyokimyasal sonuçlarımıza benzer şekilde testis torsiyonu yapılmayan sağ testiste de hasar bulunmaktadır. Hatta bazı

tübüllerde spermiyogenezin azalması, orta şiddette tübüler dejenerasyonun mevcut bulunması ve özellikle 3. ay çinko kullanmayan grupta spermiyogenezin bazı tübüllerde hiç gözlenmezken bazı tübüllerin germinal diziliminin ve bazal membrandan ayrılması şeklinde dejenerasyonlar mevcuttur.

Web of Science taramasında testiste İ/R hasarını azalttığı deneysel olarak gösterilen yüzlerce molekül mevcuttur. Ancak günümüzde testis torsiyonu olgularında rutin kullanımda olan tek bir molekül dahi bulunmamaktadır. Yapılan tüm hayvan deneyi çalışmalarında model oluşturulurken torsiyon öncesi ilgili molekülün kullanılmaya başlanması ve torsiyon sonrası oluşan hasarın kontrol grubu ile mukayesesi şeklindedir. Etkin olduğu gösterilmiş olan tüm bu moleküllerin günlük hayatta testis torsiyonu öncesi kullanılmaya başlanması söz konusu olamaz ve tüm deneysel çalışmalar 2-24 saat arasında seyreden İ/R sonrası testis hasarını içermekte olup bir hasarın ilerlemesi ve aylar ve yıllar sonra vereceği hasarlar incelenmemiştir. Bu sebeplerden dolayı mevcut deneysel çalışmalar klinikte gördüğümüz testis torsiyonu vakalarını tam olarak modelleyememektedir. Torsiyone olan testisin cerrahi olarak detorsiyone edilmesi testis hasarını durduramamaktadır. Bu bilgiler bize cerrahi sonrasında her iki testisi koruyacak yeni tedavilerin gerekliliğini göstermektedir.

Bu nedenle gerek klinik ve deneysel olarak İ/R olmuş testisi ve gerekse karşı taraftaki testisi korumak amacı ile bugüne kadar pek çok medikal ajan ve cerrahi tedavi yöntemi denenmiştir. Ancak, en önemli ortaya çıkan problem, bu şekilde ilaçların uzun süreli olarak kullanılması ile ilaca bağlı ciddi yan etkiler söz konusudur. Bu nedenle fizyolojik zemini bozmayacak yeni medikal tedaviler denenmelidir.

Mevcut çalışmamız göstermiştir ki şayet orşiopeksi kararı alınacak olursa, ameliyat sonrası uzun süreli çinko sülfat kullanılması özellikle karşı testisin serbest oksijen radikallerine bağlı oluşan hasardan korunması için faydalıdır. Bu amaçla bugüne

kadar ortaya konulmuş tüm ilaçlardan farklı olarak çinko sülfat uzun süreli kullanılmasında toksik etki göstermez ve tam tersine Dünya Sağlık Örgütü tarafından takviye olarak gıda ve içeceklerde kullanılması gereken element olarak sürekli olarak ön plana çıkartılmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Kronik iskemi reperfüzyon modeli içeren çalışmamızın sonuçları göstermiştir ki 2 saatlik iskemi sonrasında detorsiyone edilerek orşidopeksi uygulanan testiste histolojik ve biyokimyasal olarak fonksiyon oldukça bozulmuştur.

2. Torsiyon oluşturulmayan taraftaki testiste de iskemi reperfüzyon hasarına bağlı histolojik ve biyokimyasal olarak gösterilebilen hasar oluşmaktadır.

3. Çinko sülfat güçlü bir antioksidan olarak kronik kullanımda iskemi reperfüzyon hasarında etkili olduğu gösterilmiştir.

4. Histolojik çalışmada semikantitatif olarak gösterildiği gibi çinko sülfat uygulaması torsiyon oluşturulmayan taraftaki testiste spermiyogenezi korumaktadır.

5. Kronik testis torsiyonu ve detorsiyonu modelinde uzun süreli çinko sülfat kullanılması ratlarda torsiyon oluşturulan testiste fayda sağlamazken karşı testiste oluşan iskemi reperfüzyon hasarından kaynaklanan fonksiyon kayıplarını engellemektedir.

6. Çocuklarda testis torsiyonu sonrası orşiektomi yapılmayıp orşiopeksi uygulanan olgularda özellikle karşı testisin mevcut iskemi reperfüzyona bağlı oluşan dolaylı hasardan korunabilmesi ve çocuğun üretkenlik yeteneğinin bu sayede devam ettirilebilmesi açısından çinko sülfat kullanılmasının klinik çalışmalar ile desteklenmesi gereklidir.

KAYNAKLAR

1. George Whitfield Holcomb, J. Patrick Murphy, Ostlie DJ. Ashcraft's Pediatric Surgery. İçinde: Charles M. Leys, Gatti JM (eviri editörleri). George Whitfield Holcomb, J. Patrick Murphy, Ostlie DJ (editörler). *Ashcraft's Pediatric Surgery*, Fifth Baskı. Philadelphia, PA, Saunders, 2010: 687-691.
2. Ferreira U, Netto Junior NR, Esteves SC, Rivero MA, Schirren C. Comparative study of the fertility potential of men with only one testis. *Scand J Urol Nephrol*, 1991, 25: 255-259.
3. Filho DW, Torres MA, Bordin AL, Crezcynski-Pasa TB, Boveris A. Spermatic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia-reperfusion injury. *Mol Aspects Med*, 2004, 25: 199-210.
4. Ludwig G, Haselberger J, Kagelmacher B. [Fertility after experimental torsion of the spermatic cord (author's transl)]. *Urologe A*, 1980, 19: 303-305.
5. Madarikan BA. Testicular salvage following spermatic cord torsion. *J Pediatr Surg*, 1987, 22: 231-234.
6. Anderson JB, Williamson RC. Fertility after torsion of the spermatic cord. *Br J Urol*, 1990, 65: 225-230.
7. Bartsch G, Frank S, Marberger H, Mikuz G. Testicular torsion: late results with special regard to fertility and endocrine function. *J Urol*, 1980, 124: 375-378.
8. Steven G Docimo, Douglas A Canning, Khoury AE. The Kelalis–King–Belman Textbook of Clinical Pediatric Urology İçinde: Michael F MacDonalds, Julie Spencer Barthold, Kass EJ (eviri editrleri). Fifth Baskı. London Informa Healthcare, 2007: 1250-1255.
9. Noske HD, Kraus SW, Altinkilic BM, Weidner W. Historical milestones regarding torsion of the scrotal organs. *J Urol*, 1998, 159: 13-16.

10. Arnold Coran, N. Scott Adzick, Thomas Krummel, Jean-Martin Laberge, Robert Shamberger, Caldamone A. *Pediatric Surgery*. 7 Baskı. Philadelphia, PA 19103-2899, Elsevier Saunders, 2012: 848.
11. Mansbach JM, Forbes P, Peters C. Testicular torsion and risk factors for orchiectomy. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 2005, 159: 1167-1171.
12. Basaklar C. *Bebek ve Çocukların Cerrahi ve Ürolojik Hastalıkları*. 1 Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2006.
13. John E. Skandalakis, Gene L. Colburn, Thomas A. Weidman, Roger S. Foster Jr, Andrew N. Kingsworth, Lee J. Skandalakis, Panajiotis N. Skandalakis, Skandalakis PN. SKANDALAKIS' SURGICAL ANATOMY: The Embryologic and Anatomic Basis of Modern Surgery. İçinde: SKANDALAKIS' SURGICAL ANATOMY: The Embryologic and Anatomic Basis of Modern Surgery, Athens, Greece, Paschalidis Medical Publications, Ltd, 2004.
14. Stendring S. Gray's Anatomy : The Anatomical Basis of Clinical Practice. İçinde: Borley NR (Çeviri editörü). Stendring S (editör). *Gray's Anatomy : The Anatomical Basis of Clinical Practice*, 39. Baskı. Churchill Livingstone, Elsevier, 2005: 1306.
15. TW.Sadler. *Langman's medical embryology*. 12 Baskı. Baltimore, MD, Lippincott Williams & Wilkins, 2012.
16. Prem Puri, Höllwarth M. *Pediatric Surgery Diagnosis and Management*. Baskı. Berlin, Springer-Verlag, 2009.
17. Cimador M, DiPace MR, Castagnetti M, DeGrazia E. Predictors of testicular viability in testicular torsion. *J Pediatr Urol*, 2007, 3: 387-390.
18. Caldamone AA, Valvo JR, Altebarmakian VK, Rabinowitz R. Acute scrotal swelling in children. *J Pediatr Surg*, 1984, 19: 581-584.
19. Najmaldin A, Burge DM. Acute idiopathic scrotal oedema: incidence, manifestations and aetiology. *Br J Surg*, 1987, 74: 634-635.
20. Klin B, Lotan G, Efrati Y, Zlotkevich L, Strauss S. Acute idiopathic scrotal edema in children--revisited. *J Pediatr Surg*, 2002, 37: 1200-1202.

21. Skoog SJ, Belman AB. The communicating hematocele: an unusual presentation for blunt splenic trauma. *J Urol*, 1986, 136: 1092-1093.
22. Smith GI. Cellular changes from graded testicular ischemia. *J Urol*, 1955, 73: 355-362.
23. Tryfonas G, Violaki A, Tsikopoulos G, Avtzoğlu P, Zioutis J, Limas C, Gregoriadis G, Badouraki M. Late postoperative results in males treated for testicular torsion during childhood. *J Pediatr Surg*, 1994, 29: 553-556.
24. Moritz M. Ziegler, Richard G. Azizkhan, Weber TR. Operative Pediatric Surgery. İçinde: Murphy JP (Çeviri editörü). Moritz M. Ziegler, Richard G. Azizkhan, Weber TR (editörler). *Operative Pediatric Surgery*, New York, McGRAW-HILL Companies, 2003: 563-568.
25. Cosentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, Cockett AT. Histological changes occurring in the contralateral testes of prepubertal rats subjected to various durations of unilateral spermatic cord torsion. *J Urol*, 1985, 133: 906-911.
26. Nagler HM, White RD. The effect of testicular torsion on the contralateral testis. *J Urol*, 1982, 128: 1343-1348.
27. Mastrogiacono I, Zanchetta R, Graziotti P, Betterle C, Scufari P, Lembo A. Immunological and clinical study of patients after spermatic cord torsion. *Andrologia*, 1982, 14: 25-30.
28. Hagen P, Buchholz MM, Eigenmann J, Bandhauer K. Testicular dysplasia causing disturbance of spermiogenesis in patients with unilateral torsion of the testis. *Urol Int*, 1992, 49: 154-157.
29. Salman AB, Mutlu S, İskit AB, Güc MO, Mutlu M, Tanyel FC. Hemodynamic monitoring of the contralateral testis during unilateral testicular torsion describes the mechanism of damage. *Eur Urol*, 1998, 33: 576-580.
30. Tanyel FC, Büyükpamukcu N, Hicsonmez A. Contralateral testicular blood flow during unilateral testicular torsion. *Br J Urol*, 1989, 63: 522-524.

31. Kolettis PN, Stowe NT, Inman SR, Thomas AJ, Jr. Acute spermatic cord torsion alters the microcirculation of the contralateral testis. *J Urol*, 1996, 155: 350-354.
32. Otcu S, Durakogugil M, Orer HS, Tanyel FC. Contralateral genitofemoral sympathetic nerve discharge increases following ipsilateral testicular torsion. *Urol Res*, 2002, 30: 324-328.
33. Power RE, Scanlon R, Kay EW, Creagh TA, Bouchier-Hayes DJ. Long-term protective effects of hypothermia on reperfusion injury post-testicular torsion. *Scand J Urol Nephrol*, 2003, 37: 456-460.
34. Akgur FM, Kilinc K, Aktug T, Olguner M. The effect of allopurinol pretreatment before detorting testicular torsion. *J Urol*, 1994, 151: 1715-1717.
35. Dokucu AI, Ozturk H, Ozdemir E, Ketani A, Buyukbayram H, Yucesan S. The protective effects of nitric oxide on the contralateral testis in prepubertal rats with unilateral testicular torsion. *BJU Int*, 2000, 85: 767-771.
36. Oguzkurt P, Okur DH, Tanyel FC, Buyukpamukcu N, Hicsonmez A. The effects of vasodilatation and chemical sympathectomy on spermatogenesis after unilateral testicular torsion: a flow cytometric DNA analysis. *Br J Urol*, 1998, 82: 104-108.
37. Zimmermann R, Tillmanns H, Kapp M, Grethe U, Neumann FJ, Schlumpp K, Rauch B, Bubeck B, Kubler W. Reduction of myocardial ischemia by gallopamil: a dual-isotope study with thallium-201 and iodine-123 phenylpentadecanoic acid. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1992, 20 Suppl 7: S40-47.
38. Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr*, 1990, 137: 1-53.
39. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol*, 2000, 190: 255-266.
40. Kumar V CR, Robbins SL. . *Temel patoloji*. 6 Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi 2000: 3-24.
41. Krarup T. The testes after torsion. *Br J Urol*, 1978, 50: 43-46.

42. Çağlayan O ÇF, Günel E. *İntestinal iskemi-reperfüzyonun doku çinko düzeyine etkisi. Genel Tıp Dergisi*. Baskı. 1998: 8-9.
43. Grisham MB, Granger DN, Lefer DJ. Modulation of leukocyte-endothelial interactions by reactive metabolites of oxygen and nitrogen: relevance to ischemic heart disease. *Free Radic Biol Med*, 1998, 25: 404-433.
44. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg*, 1994, 81: 637-647.
45. Akkus I. *Serbest radikaller ve fizyolojik etkileri*. Baskı. Konya, Mimoza, 1995: 723.
46. Dormandy TL. Free-radical reaction in biological systems. *Ann R Coll Surg Engl*, 1980, 62: 188-194.
47. Fridovich I. The biology of oxygen radicals. *Science*, 1978, 201: 875-880.
48. Becker EJ, Jr., Turner TT. Endocrine and exocrine effects of testicular torsion in the prepubertal and adult rat. *J Androl*, 1995, 16: 342-351.
49. Akgur FM, Kilinc K, Aktug T. Reperfusion injury after detorsion of unilateral testicular torsion. *Urol Res*, 1993, 21: 395-399.
50. Halliwell B GJ. *Free radical in biology and medicine*. 3 Baskı. Oxford, Oxford University Press, 2000: 160-165.
51. Rangan U, Bulkley GB. Prospects for treatment of free radical-mediated tissue injury. *Br Med Bull*, 1993, 49: 700-718.
52. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg*, 1991, 161: 488-503.
53. McCord JM, Edeas MA. SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision. *Biomed Pharmacother*, 2005, 59: 139-142.
54. Bachschmid M, Schildknecht S, Ullrich V. Redox regulation of vascular prostanoid synthesis by the nitric oxide-superoxide system. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 338: 536-542.
55. Kruszewski M. Labile iron pool: the main determinant of cellular response to oxidative stress. *Mutat Res*, 2003, 531: 81-92.

56. Liu R, Buettner GR, Oberley LW. Oxygen free radicals mediate the induction of manganese superoxide dismutase gene expression by TNF- α . *Free Radic Biol Med*, 2000, 28: 1197-1205.
57. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev*, 1994, 74: 139-162.
58. Fridovich I. Fundamental aspects of reactive oxygen species, or what's the matter with oxygen? *Ann N Y Acad Sci*, 1999, 893: 13-18.
59. Wu YL, Jiang YZ, Jin XJ, Lian LH, Piao JY, Wan Y, Jin HR, Joon Lee J, Nan JX. Acanthoic acid, a diterpene in *Acanthopanax koreanum*, protects acetaminophen-induced hepatic toxicity in mice. *Phytomedicine*, 2010, 17: 475-479.
60. Ozdemir R, Parlakpinar H, Polat A, Colak C, Ermis N, Acet A. Selective endothelin a (ETA) receptor antagonist (BQ-123) reduces both myocardial infarct size and oxidant injury. *Toxicology*, 2006, 219: 142-149.
61. Yapar K, Kart A, Karapehlivan M, Atakisi O, Tunca R, Erginsoy S, Citil M. Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen toxicity in mice. *Exp Toxicol Pathol*, 2007, 59: 121-128.
62. Hsu CC, Lin CC, Liao TS, Yin MC. Protective effect of s-allyl cysteine and s-propyl cysteine on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Food Chem Toxicol*, 2006, 44: 393-397.
63. Xu H, Lin L, Yuan WJ. Antiarrhythmic effect of endothelin-A receptor antagonist on acute ischemic arrhythmia in isolated rat heart. *Acta Pharmacol Sin*, 2003, 24: 37-44.
64. Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J*, 1984, 222: 1-15.
65. Pasaoglu H. Biyolojik Oksidasyon. İçinde: Harper Biyokimya N Dikmen TOCEHsBRKM, Daryl K. Granner. *Harper Biyokimya*. 11 Baskı. Nobel Tıp Kitabevi, 2004: 133.
66. Akkus I. *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*. Baskı. Konya, Mimoza yayınları, 1995: 3-95.

67. Di Mascio P, Murphy ME, Sies H. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am J Clin Nutr*, 1991, 53: 194S-200S.
68. Yapar SB ES. Alfa lipoik asidin rat karaciğer homojenatlarında indüklenmiş lipid peroksidasyonuna etkisi. Trakya Üniversitesi. Uzmanlık Tezi, Edirne: Trakya Üniversitesi, 2006.
69. Chamberlain CG, Mansfield KJ, Cerra A. Nitric oxide, a survival factor for lens epithelial cells. *Mol Vis*, 2008, 14: 983-991.
70. Cheung JY, Bonventre JV, Malis CD, Leaf A. Calcium and ischemic injury. *N Engl J Med*, 1986, 314: 1670-1676.
71. Harman AW, Maxwell MJ. An evaluation of the role of calcium in cell injury. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1995, 35: 129-144.
72. 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*, 1996, 61: 469-472.
73. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am*, 1992, 72: 65-83.
74. Şahna E. Melatoninin fizyolojik ve farmakolojik konsantrasyonlarının miyokardiyal iskemi-reperfüzyona bağlı aritmiler ve nekroz üzerine etkisi. Tıp fakültesi Farmakoloji Anabilimdalı. Malatya: İnönü Üniversitesi, 2001.
75. Türkyılmaz Z. Karaciğer İskemi-Reperfüzyon Zedelenmesinde Pentoksifilin, Dimetilsülfoksit ve Eksojen Melatoninin Koruyucu Etkilerinin Karşılaştırılması (tez). Tıp fakültesi. Edirne: Trakya Üniversitesi, 2003.
76. Birincioğlu M. İskemi-reperfüzyon aritmilerine kaptopril, lizinopril ve glutatyonun etkileri. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilimdalı. Malatya: 1996.
77. Zhang S, Zhang Y, Peng N, Zhang H, Yao J, Li Z, Liu L. Pharmacokinetics and biodistribution of zinc-enriched yeast in rats. *ScientificWorldJournal*, 2014, 2014: 217142.

78. Haider BA, Lassi ZS, Ahmed A, Bhutta ZA. Zinc supplementation as an adjunct to antibiotics in the treatment of pneumonia in children 2 to 59 months of age. *Cochrane Database Syst Rev*, 2011: CD007368.
79. Hambidge KM, Krebs NF. Zinc deficiency: a special challenge. *J Nutr*, 2007, 137: 1101-1105.
80. Che L, Xuan Y, Hu L, Liu Y, Xu Q, Fang Z, Lin Y, Xu S, Wu D, Zhang K, Chen D. Effect of Postnatal Nutrition Restriction on the Oxidative Status of Neonates with Intrauterine Growth Restriction in a Pig Model. *Neonatology*, 2014, 107: 93-99.
81. Miller LV, Krebs NF, Hambidge KM. Human zinc metabolism: advances in the modeling of stable isotope data. *Adv Exp Med Biol*, 1998, 445: 253-269.
82. Wegmuller R, Tay F, Zeder C, Brnic M, Hurrell RF. Zinc absorption by young adults from supplemental zinc citrate is comparable with that from zinc gluconate and higher than from zinc oxide. *J Nutr*, 2014, 144: 132-136.
83. Brundtland GH. From the World Health Organization. Reducing risks to health, promoting healthy life. *JAMA*, 2002, 288: 1974.
84. Rink L. *ZINC IN HUMAN HEALTH*. Baskı. Amsterdam, Netherlands, Nieuwe Hemweg 2011.
85. Sandstrom B, Cederblad A, Stenquist B, Andersson H. Effect of inositol hexaphosphate on retention of zinc and calcium from the human colon. *Eur J Clin Nutr*, 1990, 44: 705-708.
86. Sandstrom B, Cederblad A, Kivisto B, Stenquist B, Andersson H. Retention of zinc and calcium from the human colon. *Am J Clin Nutr*, 1986, 44: 501-504.
87. Prasad AS. Zinc in human health: effect of zinc on immune cells. *Mol Med*, 2008, 14: 353-357.
88. Harrison DC, Mellanby E. Phytic acid and the rickets-producing action of cereals. *Biochem J*, 1939, 33: 1660-1680 1661.
89. Mellanby E. The rickets-producing and anti-calcifying action of phytate. *J Physiol*, 1949, 109: 488-533, 482 pl.

90. Reinhold JG, Garcia JS. Fiber of the maize tortilla. *Am J Clin Nutr*, 1979, 32: 1326-1329.
91. Kelsay JL, Jacob RA, Prather ES. Effect of fiber from fruits and vegetables on metabolic responses of human subjects. III. Zinc, copper, and phosphorus balances. *Am J Clin Nutr*, 1979, 32: 2307-2311.
92. Oberleas D, Muhrer ME, O'Dell BL. Dietary metal-complexing agents and zinc availability in the rat. *J Nutr*, 1966, 90: 56-62.
93. Tucker HF, Salmon WD. Parakeratosis or zinc deficiency disease in the pig. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1955, 88: 613-616.
94. Forbes RM, Parker HM, Erdman JW, Jr. Effects of dietary phytate, calcium and magnesium levels on zinc bioavailability to rats. *J Nutr*, 1984, 114: 1421-1425.
95. Spencer H, Vankinscott V, Lewin I, Samachson J. Zinc-65 Metabolism during Low and High Calcium Intake in Man. *J Nutr*, 1965, 86: 169-177.
96. Spencer H, Kramer L, Norris C, Osis D. Effect of calcium and phosphorus on zinc metabolism in man. *Am J Clin Nutr*, 1984, 40: 1213-1218.
97. Milne DB, Canfield WK, Mahalko JR, Sandstead HH. Effect of oral folic acid supplements on zinc, copper, and iron absorption and excretion. *Am J Clin Nutr*, 1984, 39: 535-539.
98. Brown KH, Peerson JM, Baker SK, Hess SY. Preventive zinc supplementation among infants, preschoolers, and older prepubertal children. *Food Nutr Bull*, 2009, 30: S12-40.
99. International Zinc Nutrition Consultative G, Brown KH, Rivera JA, Bhutta Z, Gibson RS, King JC, Lonnerdal B, Ruel MT, Sandstrom B, Wasantwisut E, Hotz C. International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG) technical document #1. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food Nutr Bull*, 2004, 25: S99-203.

100. Todd WR EC, Hart EB. Nutrition classics. The American Journal of Physiology. Volume 107, 1934, pages 146-156. "Zinc in the nutrition of the rat" by W.R. Todd, C.A. Elvehjem and E.B. Hart. *Nutr Rev*, 1980, 38: 151-154.
101. Hess SY, Brown KH. Impact of zinc fortification on zinc nutrition. *Food Nutr Bull*, 2009, 30: S79-107.
102. Haider BA, Bhutta ZA. The effect of therapeutic zinc supplementation among young children with selected infections: a review of the evidence. *Food Nutr Bull*, 2009, 30: S41-59.
103. Swe KM, Abas AB, Bhardwaj A, Barua A, Nair NS. Zinc supplements for treating thalassaemia and sickle cell disease. *Cochrane Database Syst Rev*, 2013, 6: CD009415.
104. Rodrigues LE, Galle P, Siry P, Vinhaes A. The protective effect of zinc on gastric ulceration caused by ethanol treatment. *Braz J Med Biol Res*, 1989, 22: 41-50.
105. Dodig-Curkovic K, Dovhanj J, Curkovic M, Dodig-Radic J, Degmecic D. [The role of zinc in the treatment of hyperactivity disorder in children]. *Acta Med Croatica*, 2009, 63: 307-313.
106. Winch PJ, Gilroy KE, Fischer Walker CL. Effect of HIV/AIDS and malaria on the context for introduction of zinc treatment and low-osmolarity ORS for childhood diarrhoea. *J Health Popul Nutr*, 2008, 26: 1-11.
107. Schilsky M. Zinc treatment for symptomatic Wilson disease: moving forward by looking back. *Hepatology*, 2009, 50: 1341-1343.
108. Perafan-Riveros C, Franca LF, Alves AC, Sanches JA, Jr. Acrodermatitis enteropathica: case report and review of the literature. *Pediatr Dermatol*, 2002, 19: 426-431.
109. Azevedo PM, Gavazzoni-Dias MF, Avelleira JC, Lerer C, de Sousa AS, Azulay DR. Acrodermatitis enteropathica in a full-term breast-fed infant: case report and literature review. *Int J Dermatol*, 2008, 47: 1056-1057.

110. G.L. P. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Anal Biochem*, 1977, 83: 346-356.
111. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*, 1988, 34: 497-500.
112. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem*, 1968, 25: 192-205.
113. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 1979, 95: 351-358.
114. Melekos MD, Asbach HW, Markou SA. Etiology of acute scrotum in 100 boys with regard to age distribution. *J Urol*, 1988, 139: 1023-1025.
115. Taskinen S, Taskinen M, Rintala R. Testicular torsion: orchiectomy or orchiopexy? *J Pediatr Urol*, 2008, 4: 210-213.
116. Saba M, Morales CR, De Lamirande E, Gagnon C. Morphological and biochemical changes following acute unilateral testicular torsion in prepubertal rats. *J Urol*, 1997, 157: 1149-1154.
117. Dominguez C, Martinez Verduch M, Estornell F, Garcia F, Hernandez M, Garcia-Ibarra F. Histological study in contralateral testis of prepubertal children following unilateral testicular torsion. *Eur Urol*, 1994, 26: 160-163.
118. Hadziselimovic F, Geneto R, Emmons LR. Increased apoptosis in the contralateral testes of patients with testicular torsion as a factor for infertility. *J Urol*, 1998, 160: 1158-1160.
119. Sinisi AA, Di Finizio B, Lettieri F, Pasquali D, Scurini C, De Bellis A, Bellastella A. Late gonadal function and autoimmunization in familial testicular torsion. *Arch Androl*, 1993, 30: 147-152.
120. Turner TT. Acute experimental testicular torsion. No effect on the contralateral testis. *J Androl*, 1985, 6: 65-72.

- 121.Puri P, Barton D, O'Donnell B. Prepubertal testicular torsion: subsequent fertility. *J Pediatr Surg*, 1985, 20: 598-601.
- 122.Xu Z, Zhou J. Zinc and myocardial ischemia/reperfusion injury. *Biometals*, 2013, 26: 863-878.
- 123.Guo L, Li P, Meng C, Lu R, Yang Y, Zhou Y, Zhang Y, Chen H, Yin F. Protective effect of zinc on mouse renal ischemia-reperfusion injury by anti-apoptosis and antioxidation. *Curr Pharm Biotechnol*, 2014, 15: 577-582.
- 124.Bulbuloglu E, Yildiz H, Senoglu N, Coskuner I, Yuzbasioglu MF, Kilinc M, Dogan Z, Deniz C, Oksuz H, Kantarceken B, Atli Y. Protective effects of zinc, pentoxifylline, and N-acetylcysteine in an animal model of laparoscopy-induced ischemia/reperfusion injury of the small intestine. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*, 2011, 21: 947-951.
- 125.Ophir A, Berenshtein E, Kitrossky N, Averbukh E. Protection of the transiently ischemic cat retina by zinc-desferrioxamine. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1994, 35: 1212-1222.
- 126.Yoshikawa T, Naito Y, Tanigawa T, Yoneta T, Yasuda M, Ueda S, Oyamada H, Kondo M. Effect of zinc-carnosine chelate compound (Z-103), a novel antioxidant, on acute gastric mucosal injury induced by ischemia-reperfusion in rats. *Free Radic Res Commun*, 1991, 14: 289-296.
- 127.Kabay S, Ozden H, Guven G, Burukoglu D, Ustuner MC, Topal F, Gunes HV, Ustuner D, Ozbayer C. Protective effects of the nuclear factor kappa B inhibitor pyrrolidine dithiocarbamate on experimental testicular torsion and detorsion injury. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2014, 18: 321-326.
- 128.Visser AJ, Heyns CF. Testicular function after torsion of the spermatic cord. *BJU Int*, 2003, 92: 200-203.
- 129.Omu AE, Al-Azemi MK, Al-Maghrebi M, Mathew CT, Omu FE, Kehinde EO, Anim JT, Oriowo MA, Memon A. Molecular basis for the effects of zinc deficiency

- on spermatogenesis: An experimental study in the Sprague-dawley rat model. *Indian J Urol*, 2015, 31: 57-64.
- 130.Ozkan KU, Boran C, Kilinc M, Garipardic M, Kurutas EB. The effect of zinc aspartate pretreatment on ischemia-reperfusion injury and early changes of blood and tissue antioxidant enzyme activities after unilateral testicular torsion-detorsion. *J Pediatr Surg*, 2004, 39: 91-95.
- 131.Parlaktas BS, Atilgan D, Gencten Y, Akbas A, Markoc F, Erdemir F, Ozyurt H, Uluocak N. The effects of carvedilol on ischemia-reperfusion injury in the rat testis. *Int Braz J Urol*, 2014, 40: 109-117.
- 132.Parlaktas BS, Atilgan D, Ozyurt H, Gencten Y, Akbas A, Erdemir F, Uluocak N. The biochemical effects of ischemia-reperfusion injury in the ipsilateral and contralateral testes of rats and the protective role of melatonin. *Asian J Androl*, 2014, 16: 314-318.
- 133.Baltaci AK, Mogulkoc R, Ayyildiz M, Kafali E, Koyuncuoglu T. Lipid peroxidation in kidney and testis tissues in experimental hypothyroidism: the role of zinc. *Bratisl Lek Listy*, 2014, 115: 498-501.
- 134.Kar A, Ozden E, Yakupoglu YK, Kefeli M, Sarikaya S, Yilmaz AF. Experimental unilateral spermatic cord torsion: the effect of polypolymerase enzyme inhibitor on histopathological and biochemical changes in the early and late periods in the ipsilateral and contralateral testicles. *Urology*, 2010, 76: 507 e501-505.

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Akgün ORAL Doğum tarihi: 19.10.1973 Doğum yeri: Erzurum Medeni hali: Evli, 3 çocuk Uyruğu: T.C. Adres: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM Tel: 0442 344 74 00 Faks: 0442 236 13 01 E-mail: ak_oral@hotmail.com
Eğitim
Lise: Erzurum Anadolu Lisesi (1991) Lisans: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi (1991-1997) Yüksek lisans: . . Doktora: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı (2002-2006)
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce: İyi derecede (ÜDS 68.75, Aralık 2005) _____ Almanca: . _____ Rusça: . _____
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
Türkiye Çocuk Cerrahisi Derneği .
İlgi Alanları ve Hobiler
Yüzme, Doğa Sporları, Fotoğrafçılık .

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 36643897-37

Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

24.02.2014

ERZURUM

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

25240 – Kampus / ERZURUM

İlgi : 29.01.2014 tarih ve 42190979-01-02/423 sayılı yazınız.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Fakülteniz Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Zekai HALICI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yürütülecek olan **“Torsiyon/Detorsiyon Sonrası Uzun Süreli Çinko Kullanımının Rat Testis Dokusu Üzerine Etkisi”** başlıklı araştırma çalışması, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 20.02.2014 tarih ve 1 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 25 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcut oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.


Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR
Başkan

Toplantı Tarihi : 20.02.2014

Toplantı Sayısı : 1

KARAR NO : 25- Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Zekai HALICI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yürütülecek olan **“Torsiyon/Detorsiyon Sonrası Uzun Süreli Çinko Kullanımının Rat Testis Dokusu Üzerine Etkisi”** başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Tıp Fakültesi Dekanlığının 29.01.2014 tarih ve 42190979-01-02/423 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Adres : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı. 25240 – Yakutiye / ERZURUM

Telefon : 0-442-231 47 30

Fax : 0-442-231 55 63

e-mail: hadyek@atauni.edu.tr