

**T.C.**  
**ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**

**SIÇANLARDA TESTİS İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE**  
**NİMODİPİNE'İN KORUYUCU ETKİSİNİN MORFOMETRİK**  
**YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

**Dr. İhsan HIZ**

**Anatomi Anabilim Dalı**  
**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ESKİŞEHİR**

**2021**



**T.C.**  
**ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**

**SIÇANLARDA TESTİS İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE**  
**NİMODİPİNE'İN KORUYUCU ETKİSİNİN MORFOMETRİK**  
**YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

**Dr. İhsan HİZ**

**Anatomi Anabilim Dalı**  
**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŐMANI**  
**Prof. Dr. Ferruh YÜCEL**

**ESKİŞEHİR**

**2021**

**TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI**

Dr. İhsan HIZ'a ait "Sıçanlarda Testis İskemi/Reperfüzyon Hasarı Üzerine Nimodipine'in Koruyucu Etkisinin Morfometrik Yöntemlerle Araştırılması" adlı çalışma jürimiz tarafından Anatomi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Hilmi ÖZDEN  
Anatomi Anabilim Dalı

Üye

Prof. Dr. Ferruh YÜCEL  
Anatomi Anabilim Dalı

Üye

Prof. Dr. Ayhan CÖMERT  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Anatomi Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fakülte Kurulunun  
----/---- /2021 tarih ve ----/---- sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. İ. Özkan ALATAŞ

Dekan

## TEŞEKKÜR

Tez danışmanım, bu süreçte bana sonsuz sabır ve yol gösteren sayın hocam, Prof. Dr. Ferruh YÜCEL'e, tezimde uygulamış olduğum iskemi/reperfüzyon modelini tarafıma öğreten ve bu konuda hiçbir yardımı esirgemeyen ESOGÜ Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Hilmi ÖZDEN'e, uzmanlık eğitimim sürecinde en iyi şekilde yetiştirilmem için bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren ESOGÜ Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı öğretim üyeleri sayın hocalarım Prof. Dr. Hilmi ÖZDEN'e, Prof. Dr. Ferruh YÜCEL'e, Prof. Dr. Emel ULUPINAR'a, Prof. Dr. Nedim ÜNAL'a, Prof. Dr. Yüksel AYDAR'a ve Dr. Öğr. Gör. Hakan AY'a; tez danışmanım, bu süreçte bana sonsuz sabır ve yol gösteren sayın hocam, Prof. Dr. Ferruh YÜCEL'e, tezimin her aşamasında yanımda olan ve yardımlarını esirgemeyen Öğr. Gör. Dr. Semih ÖZ'e, Doç. Dr. Erhan ŞAHİN'e; tezimin sonuçlarının değerlendirilmesinde bana yardımcı olan Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalından Prof. Dr. Cengiz ÜSTÜNER'e ve Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalından Doç. Dr. Dilek BURUKOĞLU DÖNMEZ'e; Eskişehir Anatomi Anabilim Dalında birlikte çalıştığım meslektaşlarıma ve çalışma arkadaşlarıma; yardımları ve destekleri için teşekkür ederim. Bugünlere gelmemi sağlayan, büyük emek ve fedakârlık gösteren, her zaman yanımda olan aileme; hayattaki en büyük şansım olan, sonsuz aşkım, zorluklardan kaybolduğumda ışığım, yol göstericim, biricik aşkım, eşim Hazal ÖZKAYA HIZ'a en içten sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. İhsan HIZ

## ÖZET

**Hız, İ. Sıçanlarda Testis İskemi/Reperfüzyon Hasarı Üzerine Nimodipine'in Koruyucu Etkisinin Morfometrik Yöntemlerle Araştırılması. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2021.** Çalışmamızda testiste iskemi/reperfüzyon hasarı sonrası uygulanan nimodipine'in koruyucu etkisini morfometrik yöntemlerle araştırdık. Çalışmamızda 32 adet Sprague- Dawley cinsi sıçan gruplarda 8 adet hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Testis torsiyonu, her iki testiste spermatik kordun saat yönünün tersi yönde 720° döndürülmesiye oluşturuldu. İskemi süresinin sonunda testisler eski konumlarına getirilerek detorsiyon yapıldı. Kontrol grubuna bazal düzeylerin değerlendirilmesi için skrotal deri insizyonu yapıp, deri 4/0 sütürlle kapatıldı. Sütürler 2 saat sonra alınıp orşiektomi uygulandı. İskemi grubunda testisler 720° döndürülüp fikse edildi, 2 saat süren iskemi sonrasında orşiektomi yapıldı. İskemi/reperfüzyon grubunda ise 2 saat boyunca iskemi uygulandı ve 2 saat süren reperfüzyon sonrası orşiektomi uygulandı. Nimodipine uyguladığımız grupta 2 saat torsiyonun ardından testisler detorsiyone edildi. Reperfüzyondan 30 dakika önce 1 mg/kg nimodipine intraperitoneal yolla uygulandı. 2 saat süren reperfüzyon sonrası orşiektomi yapıldı. Genel anestezi altında hayvanlardan intrakardiyak kan örnekleri alındı. Alınan örneklerde malondialdehit (MDA), superoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (KAT) düzeyleri değerlendirildi. Testis dokusu histopatolojik inceleme için hematoksilen/eozin ile boyanıp, ışık mikroskopunda incelendi. Nimodipine uygulanan grupta, iskemi ve iskemi/reperfüzyon grubuna oranla azalmış hasar ve normale yakın yapıdaki seminifer tübüller ve tübül duvarındaki spermatogenik hücre serileri ile tübüllerde devam eden spermatogenez görülmektedir. Biyokimyasal analizlerde nimodipine uygulanan grupta MDA, SOD, KAT enzim düzeyleri kontrol grubu değerlerine yakın tespit edildi. Sonuç olarak, testiste nimodipine'nin iskemi/reperfüzyon hasarı üzerine koruyucu etkisi belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** testis, iskemi/reperfüzyon, nimodipine, sıçan

## ABSTRACT

**Hız, İ. Investigation of Protective Effect of Nimodipine on Testicular Ischemia/Reperfusion Injury by Morphometric Methods in Rats. Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Department of Anatomy, Specialization Thesis, Eskişehir, 2020.** In our study, we investigated the protective effect of nimodipine applied after ischemia/reperfusion damage in the testicle with morphometric methods. 32 Sprague-Dawley rats were divided into 4 groups, with 8 animals in the groups. Testicle torsion was created to rotate the spermatic cord counterclockwise by 720 degrees in both testicles. At the end of the ischemia period, the testicles were brought to their old positions by detorsion. In the control group, scrotal skin insulation was performed to evaluate basal levels and the skin was closed with 4/0 suture. Sutures were removed 2 hours later and orchietomy was performed. In the ischemia group, the testicles were rotated 720 degrees and fixed. After 2 hours of ischemia, orchietomy was performed. In the ischemia / reperfusion group, ischemia was applied for 2 hours, and orchietomy was performed after 2 hours of reperfusion. In the group that we applied nimodipine, testicles were detorsioned after 2 hours of torsion. 30 minutes before reperfusion, 1 mg / kg nimodipine was administered intraperitoneally. Orchietomy was performed after 2 hours of reperfusion. Intracardiac blood samples were taken from the animals under general anesthesia. Malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) levels were evaluated in the samples taken. Testicular tissue was stained with hematoxylin / eosin for histopathological examination and examined under a light microscope. In the group applied to nimodipine, less damage and near-normal seminiferous tubules and spermatogenic cell lines in the tubule wall and ongoing spermatogenesis in tubules are observed compared to the ischemia and ischemia / reperfusion group. In the biochemical analysis, MDA, SOD, CAT enzyme levels in the nimodipine group were found close to the control group values. As a result, protective effect of nimodipine on ischemia / reperfusion injury in testis was determined.

**Key Words:** testicle, ischemia / reperfusion, nimodipine, rat

## İÇİNDEKİLER

|  |      |
|--|------|
| <b>TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI</b>   | iii  |
| <b>TEŞEKKÜR</b>  | iv   |
| <b>ÖZET</b>  | v    |
| <b>ABSTRACT</b>  | vi   |
| <b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b>   | ix   |
| <b>ŞEKİLLER</b>  | xi   |
| <b>TABLolar</b>  | xiii |
| <b>1. GİRİŞ</b>  | 1    |
| <b>2. GENEL BİLGİLER</b>   | 3    |
| <b>2.1. Testis Embriyolojisi</b>   | 3    |
| <b>2.1.1. Gonadların gelişimi</b>  | 3    |
| <b>2.1.2. Testis'lerin gelişimi</b>  | 5    |
| <b>2.2. Testis Anatomisi</b>   | 8    |
| <b>2.2.1. Testis'in yapısı</b>   | 10   |
| <b>2.2.2. Testis'in arteriyel beslenmesi</b>                                 | 13   |
| <b>2.2.3. Testis'in venöz drenajı</b>  | 15   |
| <b>2.2.4. Testis'in lenfatik drenajı</b>                                     | 16   |
| <b>2.2.5. Testis'in innervasyonu</b>   | 16   |
| <b>2.3. Testis Histolojisi</b>   | 17   |
| <b>2.4. Testis Fizyolojisi</b>   | 24   |
| <b>2.5. Testis Torsiyonu</b>   | 26   |
| <b>2.5.1. Testis Torsiyonu Tarihçe:</b>                                      | 26   |
| <b>2.5.2. Testis Torsiyonu İnsidansı:</b>                                    | 26   |
| <b>2.5.3. Testis Torsiyonu Sınıflandırılması</b>                             | 27   |
| <b>2.5.4. Testis Torsiyonu Tanı</b>  | 29   |
| <b>2.5.5. Testis Torsiyonu Tedavi</b>  | 30   |
| <b>2.6. İskemi/Reperfüzyon Hasarı, Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres</b> | 32   |
| <b>2.6.1. İskemi/Reperfüzyon Hasar Mekanizması</b>                           | 32   |
| <b>2.6.2. Serbest Radikaller</b>   | 34   |
| <b>2.6.3. Oksidatif Stres</b>  | 36   |
| <b>2.6.4. Antioksidanlar</b>   | 37   |
| <b>2.7. Nimodipine</b>   | 40   |
| <b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>  | 42   |
| <b>3.1. Deney Hayvanlarının Temin Edilmesi</b>                               | 42   |



|   |    |
|---|----|
| <b>3.2. Deney Hayvanları ve Bakım:</b>              | 42 |
| <b>3.3. Deney Grupları</b>                          | 42 |
| <b>3.4. Cerrahi Teknik:</b>                         | 45 |
| <b>3.5. Deneyde Kullanılan Kimyasallar:</b>         | 48 |
| 3.5.1. Nimodipine:                                  | 48 |
| 3.5.2. Ketamine ve Xylazine:                        | 48 |
| <b>3.6. Biyokimyasal Değerlendirme</b>              | 49 |
| 3.6.1. Katalaz (KAT) seviyesi ölçümü                | 49 |
| 3.6.2. Superoksit Dismutaz (SOD) seviyesinin ölçümü | 50 |
| 3.6.3. Malondialdehit (MDA) seviyesinin ölçümü      | 51 |
| 3.6.4. Toplam protein ölçümü                        | 52 |
| <b>3.7. Histolojik Yöntem</b>                       | 53 |
| 3.7.1. Bouin Tespit Solüsyonu                       | 53 |
| 3.7.2. Hematoksilen-Eozin Boyama Prosedürü          | 55 |
| <b>3.8. İstatiksel Analiz</b>                       | 56 |
| <b>4. BULGULAR</b>                                  | 57 |
| 4.1. Histopatolojik Bulgular                        | 57 |
| 4.2. Biyokimyasal Sonuçlar                          | 65 |
| 4.2.1. Hemolizatta Malondialdehit (MDA) düzeyi      | 65 |
| 4.2.2. Hemolizatta Superoksit Dismutaz (SOD) düzeyi | 67 |
| 4.2.3. Hemolizatta Katalaz (KAT) düzeyi             | 68 |
| <b>5. TARTIŞMA</b>                                  | 71 |
| <b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>                         | 79 |
| <b>KAYNAKLAR</b>                                    | 80 |

**SİMGELER VE KISALTMALAR**

|                         |                                    |
|-------------------------|------------------------------------|
| $\mu\text{l}$           | Mikrolitre                         |
| $\mu\text{m}$           | Mikrometre                         |
| $^{\circ}\text{C}$      | Celcius                            |
| a.                      | Arteria                            |
| aa.                     | Arteriae                           |
| ark.                    | Arkadaşları                        |
| ABP                     | Androjen Bağlayıcı Protein         |
| AMH                     | Antimüllerian Hormon               |
| ATP                     | Adenozin tri fosfat                |
| cm                      | Santimetre                         |
| $\text{Ca}^{+2}$        | Kalsiyum                           |
| $\text{CO}_2$           | Karbondioksit                      |
| EDTA                    | Etilen diamin tetra asit           |
| FSH                     | Foliküler Stimulan Hormon          |
| GnRH                    | Gonadotropin Salgılatıcı Hormon    |
| $\text{GP}_x$           | Glutasyon peroksidaz               |
| gr                      | Gram                               |
| $\text{H}_2\text{CO}_3$ | Karbonik asit                      |
| $\text{H}_2\text{O}_2$  | Hidrojen peroksit                  |
| $\text{HOCl}$           | Hidroklorik asit                   |
| HADYEK                  | Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu |
| HE                      | Hematoksilen-Eozin                 |

|                 |   |
|-----------------|---|
| İ/R             | İskemi/Reperfüzyon                          |
| K <sup>+</sup>  | Potasyum                                    |
| KAT             | Katalaz                                     |
| LH              | Lutenizian Hormon                           |
| m.              | Musculus                                    |
| MDA             | Malondialdehit                              |
| ml              | Mililitre                                   |
| MR              | Magnetik Rezonans                           |
| n.              | Nervus                                      |
| nm              | Nanometre                                   |
| Na <sup>+</sup> | Sodyum                                      |
| NO              | Nitrik oksit                                |
| O <sup>-</sup>  | Superoksit anyonları                        |
| OH              | Hidroksil radikali                          |
| PDTC            | Pyrolidine dithiocarbamate                  |
| rr.             | Rami  |
| SOD             | Superoksit dismutaz                         |
| SOR             | Serbest oksijen radikalleri                 |
| TICAM           | Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi |
| TGF- $\beta$    | Transform edici büyüme faktörü-beta         |
| TNF- $\alpha$   | Tümör nekroz faktör- alfa                   |
| UV              | Ultraviyole                                 |
| v.              | Vena  |

## ŞEKİLLER

|  | Sayfa |
|--|-------|
| 2. 1. Genital ve gonadal çıkıntuların şematik gösterimi.   | 3     |
| 2. 2. Primordiyal germ hücrelerinin gonadlara göçü.  | 4     |
| 2. 3. Primitif seks kordları oluşumu.  | 5     |
| 2. 4. Embriyonal gelişimin 4. ayında genital kanal ve testis.  | 6     |
| 2. 5. Erkek genital organların farklılaşması.  | 7     |
| 2. 6. Scrotum ve Testis anatomisi.   | 8     |
| 2. 7. Testis ve epididymis.  | 9     |
| 2. 8. Testis ve scrotum transvers kesit.   | 11    |
| 2. 9. Testis ve Funiculus Spermaticus Hidroseli, Testis Hematoseli   | 13    |
| 2. 10. Testis'in arteryel ve venöz damarlanması.   | 15    |
| 2. 11. Testis, epididymis ve ductus deferentis.  | 18    |
| 2. 12. Seminifer tübüllerin şematik gösterimi.   | 19    |
| 2. 13. Sertoli hücreleri ve kan-testis bariyerinin şematik gösterimi.  | 20    |
| 2. 14. Spermatogenezin evreleri.   | 23    |
| 2. 15. Testis torsiyonun sınıflandırılması.  | 28    |
| 2. 16. Nimodipine'in biyokimyasal formülü.   | 40    |
| 3. 1A/1B. Skrotal insizyon sonrası testis dokusunun ayrıştırılması   | 45    |
| 3. 2A/2B. Testisler 720° döndürülüp sıkıca bağlandı. Skrotal keseye tekrar yerleştirilip sütür atılarak birleştirildi. | 46    |
| 3. 3. İskemi sonrası (A) ve reperfüzyon sonrası (B) testislerin görüntüsü  | 47    |
| 3. 4. İntraperitoneal Nimodipine enjeksiyonu   | 47    |
| 4.1. Kontrol grubuna ait sıçanların testislerinin farklı büyütmelelerde çekilmiş ışık mikroskopik görüntüleri (A1-A3). | 57    |

|  |    |
|--|----|
| 4. 2. İskemi grubuna ait sıçanların testislerinin farklı büyütmelede çekilmiş ışık mikroskopik görüntüleri (B1-B3).                              | 59 |
| 4. 3. İskemi/reperfüzyon grubundaki sıçanların testislerinin farklı büyütmelede çekilmiş ışık mikroskopik görüntüleri (C1-C3).                   | 61 |
| 4. 4. İskemi/Reperfüzyon+Nimodipine grubunu oluşturan sıçanların testislerinin farklı büyütmelede çekilmiş ışık mikroskopik görüntüleri (D1-D3). | 63 |
| 4. 5. Kontrol ve deney gruplarının ortalama MDA değerleri  | 66 |
| 4. 6. Kontrol ve deney gruplarının ortalama SOD değerleri  | 68 |
| 4. 7. Kontrol ve deney gruplarının ortalama Katalaz değerleri  | 69 |

**TABLÖLAR**

|  | Sayfa |
|--|-------|
| 2. 1. Serbest radikallerin endojen ve ekzojen kaynakları   | 35    |
| 2. 2. Enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar  | 38    |
| 3. 1. Deney gruplarının dizaynı ve gruplardaki hayvanlara uygulanan işlemler   | 44    |
| 3. 2. Testis dokusu takip prosedürü  | 54    |
| 3. 3. Hematoksilen-Eozin boyama prosedürü  | 55    |
| 4. 1. Kontrol grubu sıçanların testis dokusu histolojik hasar skorlaması.  | 58    |
| 4. 2. İskemi grubundaki sıçanların testis dokusu histolojik hasar skorlaması.  | 60    |
| 4. 3. İskemi/Reperfüzyon grubundaki sıçanların testis doku hasarına dair histolojik hasar skorlaması.                      | 62    |
| 4. 4. İskemi/Reperfüzyon + Nimodipine uygulanan gruptaki sıçanların testis doku hasarına dair histolojik hasar skorlaması. | 64    |
| 4. 5. Kontrol ve deney gruplarından hemolizatta Malondialdehit düzeyi (mmol/mg protein)                                    | 65    |
| 4. 6. Kontrol ve deney gruplarından hemolizatta Süperoksit Dismutaz (SOD) düzeyi (ng/ mg protein)                          | 67    |
| 4. 7. Kontrol ve deney gruplarından hemolizatta Katalaz düzeyi (ng/mg protein)   | 68    |
| 4. 8. Deney gruplarından elde edilen MDA, SOD, KAT değerleri ve gruplar arası istatistiksel karşılaştırılması.             | 70    |

## 1. GİRİŞ

Testis torsiyonu, funiculus spermaticus'un kendi eksenini etrafında dönmesi neticesinde meydana gelen ürolojik bir acildir. Yenidoğan ve adölesan çocuk grubunda daha yaygın olmakla beraber, her yaşta da görülebilmektedir. 25 yaş altındaki genç erkeklerde görülme sıklığı 1/4000 oranındadır [1]. Hastalarda başarılı cerrahi girişimlere karşın, %40-60'ında testiküler atrofi ve infertilite gelişmektedir [2]. Testis torsiyonunun derecesi ve süresine bağlı olarak histopatolojik değişiklikler, iskemi hatta nekroza kadar ilerleyebilmektedir.

Testis torsiyonu iskemi tablosuna, detorsiyon ise reperfüzyona sebep olur. İskemi testislere gelen kan akımının kısmi ya da tamamen azalması bağlı olarak meydana gelir. Testis torsiyonu sonucu dokuda fazla miktarda hasar görülse de detorsiyonun ardından oluşan reperfüzyona bağlı artan serbest oksijen radikalleri testis dokusuna zarar vermektedir.

İskemi döneminde kan akımı yetersizliğine bağlı testis dokusunda hipoksantin, lipid peroksit ve laktik asit artar. Reperfüzyon döneminde ise serbest oksijen radikallerinden (SOR) superoksit anyonu ( $O_2^-$ ), hidroksil radikali (OH) ve hidrojen peroksit artar [3-5]. Bu serbest radikaller mitokondri hücre membranındaki lipidlerin peroksidasyonu yoluyla membran geçirgenliğindeki artışa veya membran bütünlüğünde bozulmaya neden olur. Hücre membranındaki proteinlerin denatürasyonu neticesinde hücre harabiyeti ve germ hücre hasarı oluşmaktadır [6].

Nimodipine hücre içi  $Ca^{+2}$  iyonu transferini önleyen bir kalsiyum blokörüdür. İskemi ve reperfüzyon sonucu ortaya çıkan doku hasarı hücreye  $Ca^{+2}$  girişine ikincil olarak ortaya çıkar. Hücre içi kalsiyumu antagonize etmekte ve hücrede proteoliz ve lipid yıkımını önlemektedir. Böylece serbest radikallerin meydana gelmelerini engelleyerek sinir hücrelerini iskemiye bağlı oluşabilecek hasardan korumaktadır [7]. Nimodipine bu sebeple iskemik serebrovasküler hastalık, subaraknoid kanamalar ve ağır kafa travmalarına bağlı olarak beyin hasarının tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır [8-10].

Nimodipine'in son yıllarda beyin dokusu, karaciğer, böbrek ve overde oluşan iskemik hasarın önlenmesine yönelik çalışmalarda kullanıldığı görülmektedir [11-16]. Nimodipine'in testis torsiyonuna bağlı olarak oluşacak doku hasarını önlediğine yönelik bir çalışma bulunmamasına rağmen, intraperitoneal olarak verilen nimodipine'in over torsiyonu sonucu iskemiye maruz kalan over dokusunda iskemi/reperfüzyon hasarını önlemede yardımcı olduğu görülmüştür [12].

Testis torsiyonunda, iskemi-reperfüzyon hasarını önlemek için kullanılan maddeler genellikle detorsiyon öncesi veya ilk 24 saat içinde tek doz olarak verilmektedir. İskemi ve reperfüzyon sonrası dokuda antioksidan enzim düzeyleri ve lipid peroksidasyonunu belirlemek için *Kabay ve ark.*'nında yapmış olduğu gibi malondialdehit (MDA), superoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (KAT) gibi parametreler biyokimsyal analizler için çalışılmıştır [17].

Bu çalışmada biz, torsiyonla indüklenmiş iskemi ve detorsiyon sonrası reperfüzyona bağlı olarak testis dokusunda gelişebilecek hasarı ve nimodipine'in bu hasar üzerine olan koruyucu etkilerini histopatolojik ve enzimatik düzeyde etkilerini incelemeyi planladık.



## 2. GENEL BİLGİLER

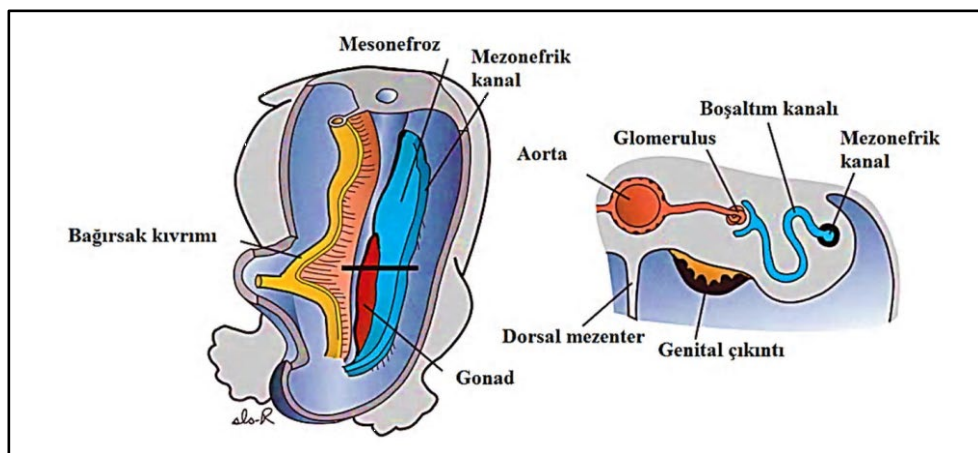
### 2.1. Testis Embriyolojisi

Cinsiyet farklılaşması, bazıları otozomal olan pek çok genin rol aldığı karmaşık bir süreçtir. Seksüel dimorfizmin anahtarı, Y kromozomunun kısa kolu üzerinde yer alan, testis belirleyici gen olarak adlandırılan SRY genidir (Yp11). Bu genin protein ürünü, rudimenter seksüel organların kaderini tayin eden, downstream genlerin kaskadını başlatan transkripsiyon faktörüdür. SRY proteini testis belirleyici faktördür. Bu faktörün etkisinde erkek gelişimi, faktör yokluğunda ise kadın gelişimi meydana gelir [18].

#### 2.1.1. Gonadların gelişimi

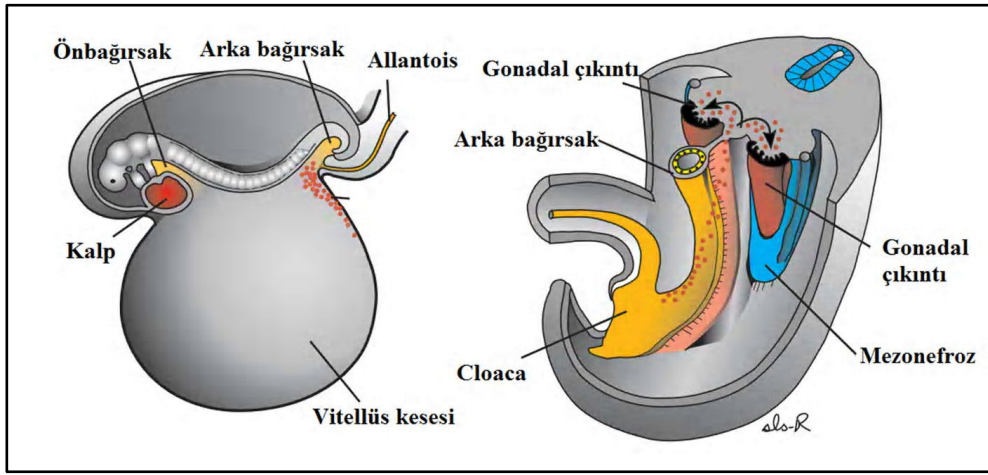
Embriyonun cinsiyeti genetik olarak döllenme esnasında belirlenir. Buna rağmen gonadlar gelişimin 7. haftasına kadar erkek veya dişi morfolojik özellik göstermezler [19].

Gonadlar başlangıçta bir çift longitudinal uzanan genital veya gonadal çıkıntılar olarak ortaya çıkarlar [19] (Şekil 2. 1). Epitelin proliferasyonu ve alt tarafta yer alan mezenkimin yoğunlaşması ile oluşurlar. Gelişimin altıncı haftasına kadar genital çıkıntılarda germ hücrelerine rastlanmaz.



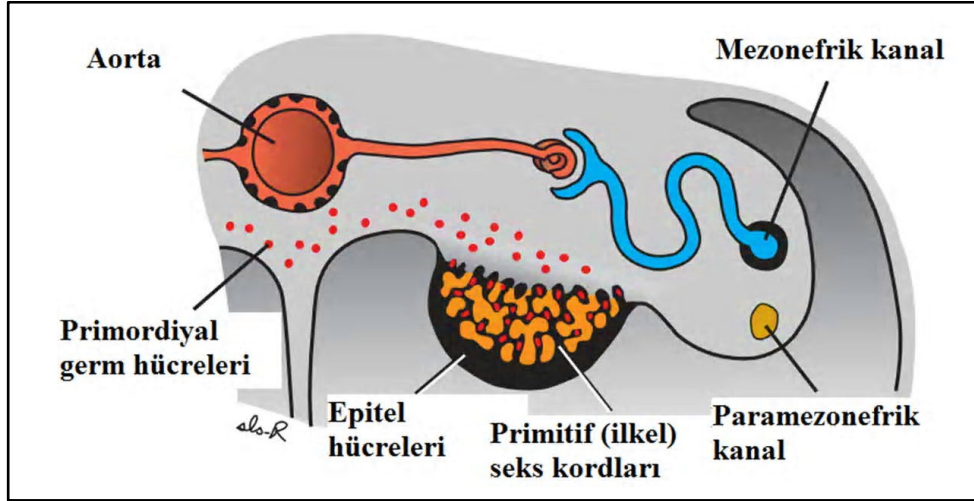
Şekil 2. 1. Genital ve gonadal çıkıntılarının şematik gösterimi [19].

Primordiyal germ hücreleri epiblasttan köken alırlar. Primitif çizgi boyunca göç eder ve gelişimin üçüncü haftasında allantois'e yakın vitellüs kesesi endoderm hücrelerinin arasına yerleşirler. Dördüncü haftada son bağırsağın mezenteriumu boyunca arkaya doğru ameboid hareketler ile göç ederler [19] (Şekil 2. 2). Beşinci haftanın başında primitif gonadlara ulaşırlar ve altıncı haftada genital çıkıntılarını istila ederler. Şayet primordiyal germ hücreleri genital çıkıntılara ulaşamazlarsa; gonadlar gelişimlerini tamamlayamazlar. Bu nedenle primordiyal germ hücrelerinin gonad gelişiminde ovaryum veya testis yönünde indükleyici etkisi mevcuttur [18].



Şekil 2.2. Primordiyal germ hücrelerinin gonadlara göçü [19].

Primordiyal germ hücrelerinin gelişimden kısa süre önce genital çıkıntı epiteli çoğalmaya başlar ve epitel hücreleri altta yer alan mezenkime penetrasyon gerçekleştirirler. Burada birkaç düzensiz şekilli primitif seks kordlarını oluştururlar [19] (Şekil 2. 3). Hem erkek hem de dişi embriyolarda, bu kordlar yüzey epiteline bağlanır ve gonadlar arasında cinsiyet tayini yapmak mümkün değildir. Bu nedenle farklılaşmamış gonad olarak adlandırılır.



Şekil 2. 3. Primitif seks kordları oluşumu [19].

### 2.1.2. Testis'lerin gelişimi

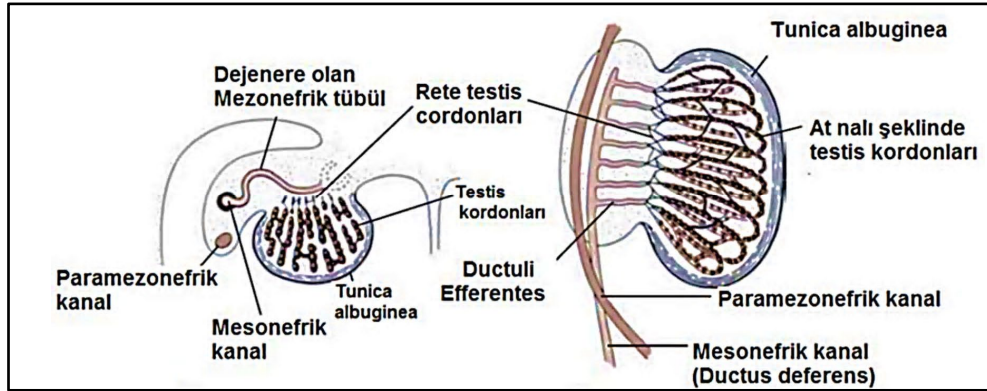
Genetik olarak embriyo erkek cinsiyete sahipse, primordiyal germ hücreleri XY kromozom kompleksi taşırlar. Y kromozomu üzerinde yer alan SRY geninin etkisi altında, primitif seks kordonları çoğalmaya devam ederler. Testis veya meduller kordonları oluşturmak üzere medullanın derinliklerine penetre etmektedirler. Bu kordonlar daha sonra rete testis'in tübüllerini oluşturacak olan küçük hücre iplikçikleri şeklinde bir ağa ayrılırlar. Gelişimin ilerleyen dönemlerinde fibröz bağ dokusundan zengin tunika albuginea, testis kordonlarını yüzey epitelinden ayırır.

Gelişimin dördüncü ayında testis kordonları at nalı şeklinde gözlenir ve ekstremiteleri rete testis ile devam eder. Artık testis kordonları primitif germ hücrelerinden ve bezin yüzey epitelinden oluşan Sertoli hücrelerinden oluşur.

Gonadal çıkıntı mezenşiminden köken alan Leydig intertisyel hücreleri, testis kordonları arasında bulunurlar. Gestasyonun sekizinci haftasında Leydig hücreleri testosteron üretmeye başlar. Testosteron üretimi testis, genital kanallar ve dış genital sistemin seksüel farklılaşmasında etkilidir [19] (Şekil 2.5).

Testis kordonları puberte döneminde bir lümen elde edilene dek solid kalır. Seminifer tübüller bu sayede oluşturulur. Seminifer tübül kanalları oluşuktan sonra, rete testis tübüllerine katılırlar ve onlar da duktus efferentes ile devam eder. Bu efferent kanallar, mezonefrik sistemin boşaltım tübüllerinin kalan kısımlarıdır. Bu kanallar

mezonefrik kanal (Wolffian kanalı) ve rete testis'i birbirine bağlarlar ve duktus deferens'i oluştururlar [19] (Şekil 2. 4).

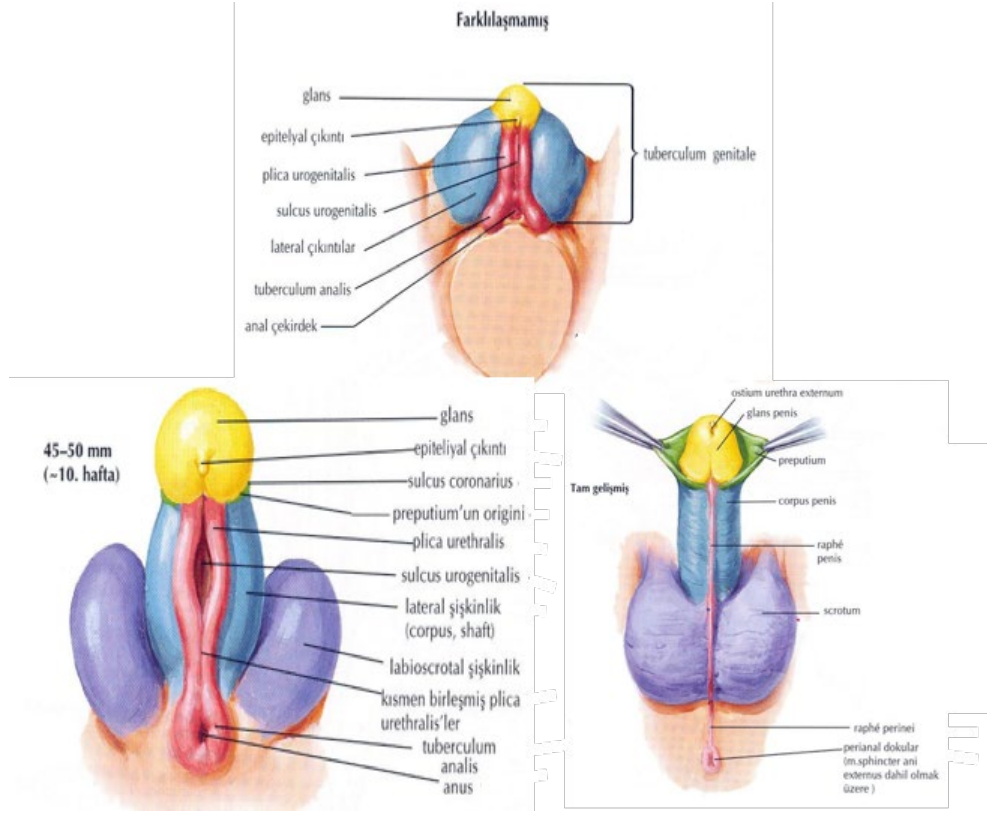


**Şekil 2. 4.** Embriyonal gelişimin 4. ayında genital kanal ve testis [19].

Embriyonal gelişim döneminde testislerde oluşan primer seks kordonları, ilerleyen dönemlerde seminifer kordonlara dönüşmektedir. Y kromozomunun kısa kolunda yer alan SRY geni ile gelişimin altıncı haftasında gonadda korteks dokusu geriler ve medüller testiküler yapılar gelişmeye başlar [19]. Embriyonal gelişimin 7.haftasıyla birlikte gonadal çıkıntılardan Leydig hücreleri ve tunika albuginea oluşmaya başlar. 8. haftada mezonefrik kanal ve dış genital organlar erkek cinsiyet yönünde gelişimlerine devam etmektedir. Bu dönemde Leydig hücrelerinden üretilmeye başlanan testosteron, dihidrotestosterona dönüştürülmektedir. Testosteron salgılanması, fetal 8-12. haftalar arasında en yüksek düzeydedir. Sertoli hücrelerinden 8. haftaya girildiğinde antimüllerian hormon (AMH) salgılanmaktadır.

Testislerin skrotuma inişleri, embriyonal gelişimin 12. haftasından itibaren başlar. 28. haftada testisler inguinal kanalda bulunur. 32. haftada testisler skrotuma inmiştir. Testisler skrotuma göçlerini tam olarak 35. haftada tamamlarlar [20]. Embriyonal gelişimin 2. ayı bitimine yakın ürogenital mezenter yardımıyla, testisler ve mezonefrozlar karın arka duvarına bağlanırlar. Mezonefrozdaki dejenerasyon gonadlar için mezenter görevi görmektedir. Bu yapı kaudalde uzayarak ligament halini alır ve bu ligamente gubernakulum denilir [19]. İntraabdominal göç sürecinde gubernakulumda şişme reaksiyonu meydana gelmektedir, bunun sonucunda vücudun büyümesiyle ters orantılı olacak şekilde gubernakulum kısalmaktadır. Böylece

skrotumlara göçün başlayacağı 12. haftaya kadar testisler inguinal kanal yakınlarında tutulmuş olur [21].

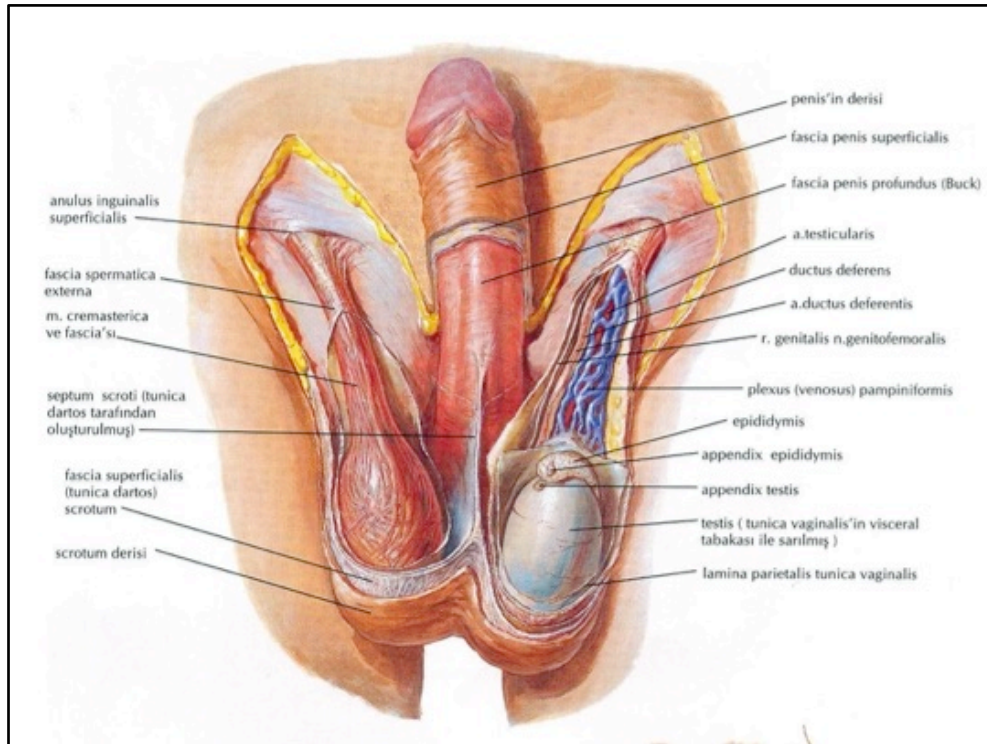


Şekil 2. 5. Erkek genital organların farklılaşması [22].

## 2.2. Testis Anatomisi

Testisler, sperm ve testosteron hormonu üretiminden sorumlu oval, yumurta şeklinde bir çift organdır. Testislerin boyutları, yetişkinlerde yaklaşık olarak 4-5 cm uzunluğunda, 2-3 cm genişliğinde ve ön arka çapı 3-4 cm ; ağırlıkları ise 12 ila 20 gr arasında değişmektedir [23]. Testis hacmi ortalama 15-25 ml arasında değişir [24, 25].

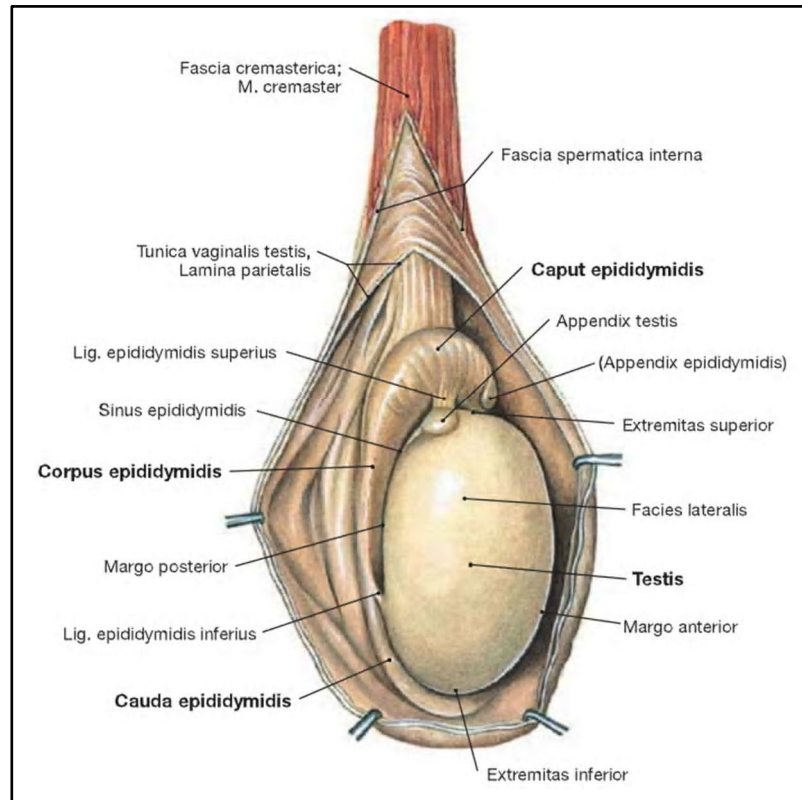
Testisler scrotum içerisinde funiculus spermaticus vasıtasıyla asılı durumda bulunur [22] (Şekil 2. 6). Sol testis genellikle sağ testisten daha aşağıda yer almaktadır. Her iki testis scrotum içerisinde oblik pozisyonda konumlanmıştır; öyle ki üst uç anterolateral'e, alt uç ise anteromedial'e bakar. Testislerin scrotum içerisindeki konumları, skrotal derinin karakteristiği ve plexus pampiniformis'in ısı değişim mekanizması ile birleştiğinde; testisler vücut ısısından yaklaşık 3-4<sup>0</sup> C daha düşük sıcaklıkta tutulur [26].



Şekil 2. 6. Scrotum ve Testis anatomisi [22].

Testis'in facies medialis ve facies lateralis adlı iki yüzü, margo anterior ve margo posterior denilen iki kenarı ve extremitas superior ve extremitas inferior olmak

üzere iki ucu bulunmaktadır [27]. Testisin üst ucuna tutunan küçük kistik yassı oluşuma appendix testis denir. Bu yapı parametonefrik kanalın üst ucunun kalıntısı olup; kadınlarda karşılığı tuba uterina'nın abdominal ucudur. Testis'in margo posterior'un dış kısmında epididymis, epididymis'in medialinde de funiculus spermaticus bulunur [28] (Şekil 2. 7). Testisin visseral periton ile örtülü kısımları margo anterior, facies anterior ve facies posterior'u, extremitas superior ve extremitas inferior'udur. Margo posterior'un sadece dış bölümü peritonla kaplıdır. Peritonun bulunmadığı medial bölüme epididymis tutunur, testisin damar-sinir ve kanal sistemi bu bölgeden geçer [29].



Şekil 2. 7. Testis ve epididymis [28].

Fötal hayatta testisler karın boşluğunda yer alır. Doğumdan önce canalis inguinalis'ten geçer, scrotum içine inerler. Gubernaculum testis, fötal hayatta canalis inguinalis'in belirlenmesine yardımcı olur. Gubernaculum testis fibröz bir yapıdadır, testis'ten scrotum'un iç yüzüne uzanır. Peritonun parmaklığı çıkıntısı olan processus vaginalis, gubernaculum testis'i izleyerek scrotum'a ulaşır. Processus vaginalis

testislerin karın boşluğundan scrotum'a inişine öncülük eder. Bu geçiş esnasında karın ön duvar tabakalarını da beraberinde sürükler. Doğumdan hemen önce normal şartlarda testisler canalis inguinalis'ten scrotum'a geçerken bu yolu takip eder. Processus vaginalis ise doğumdan kısa süre sonra kapanır. Bu yüzden testis'in etrafında processus vaginalis'in kalıntısı olan tunica vaginalis testis kalır.

### 2.2.1. Testis'in yapısı

Testisler üç tabakadan oluşan bir kapsül yapısına sahiptir: en içte tunica vasculosa, ara tabakada tunica albuginea, en dışta ise tunica vaginalis bulunur. Testis'in arka yüzüne epididymis tutunur, bu sebeptendir ki, bu kısım kısmen tunica seroza ile kaplıdır. Bu bölgede tunica albuginea tabakası mediasten testis'ten içe doğru, tunica vaginalis de epididymis'i örtmek için dışa doğru uzanır. Scrotum içinde testisler fibröz bir septum ile birbirinden ayrılmıştır. Tunica vasculosa, damar ağı ve gevşek bağ dokusundan oluşur. Tunica albuginea'nın iç yüzeyini ve testisin tüm bölmelerinin yüzlerini kaplar [28] (Şekil 2. 8).

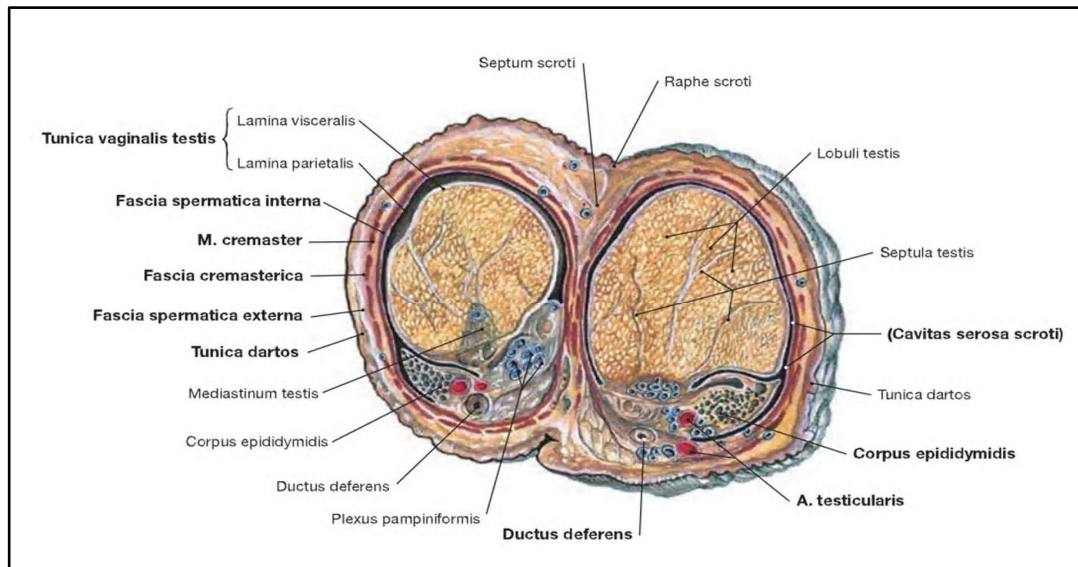
Tunica albuginea esas olarak kollajen liflerden yoğun mavi-beyaz renkli bir tabakadır. Tunica vaginalis'in visseral tabakası ile çevrilidir. Tunica vasculosa'yı örter. Testisin arka yüzünde, üst uç ile alt uç arasında tamamlanmayan kalın fibröz bir bölme şeklinde uzantı oluşturur. Bu yapı mediastinum testis (Corpus Highmori) adını alır. Septula testis, mediastinum testis'in ön ve yan kısımlarından çıkan uzantılardır. Septula testis, testis parankiminden geçer ve tunica albuginea'nın iç yüzüne tutunur. Bu yapısal düzenleniş ile testis parankimini lobuli testis adı verilen piramit şekilli bölmelere ayırır. Lobuli testis içerisinde kıvrımlı şeklinden ötürü tubuli seminiferi contorti adı verilen kanalcıklar bulunur. Bu kanal sistemi tubuli seminiferi recti isimli düz kanalcıklar ile devamlılık gösterir. Bu kanallar, mediastinum testis'e girerek bu bölgede rete testis (Haller ağı) olarak adlandırılan bir kanal ağı oluştururlar [30]. Ductuli efferentes testis'ler, mediastinum testis'in üst ucunda rete testis'ten başlayan yaklaşık 12-20 adet küçük kanallardır. Spermiumlar lobuli testis'lerde üretilip rete testis'ten ductuli efferentes testis vasıtasıyla epididymis'e ulaşır.

Tunica vaginalis, fötal hayatta testis'in abdomen'den scrotum'a inişine öncülük eden processus vaginalis'in peritoneal yaprağının devamıdır. Testis'lerin scrotuma göçüşünü takiben, processus vaginalis'in bir kısmı internal inguinal halka ile



testis arasında yer alır ve testis'i de içeren bir distal kese bırakır. Processus vaginalis'in kapanmaması sonucunda, scrotum ile cavitas peritonealis arasında kalıcı bir bağlantı oluşur, bu da hidrosel ve indirek inguinal hernilere sebep olabilir.

Tunica vaginalis testis yüzeyinden scrotum iç yüzüne uzanır; testis'in her iki ucunda lamina visceralis ve lamina parietalis olarak devamlılık gösterir. Lamina visceralis, lamina parietalis olarak devamlılık göstermeden önce testis'in arka yüzü haricinde tüm yüzlerini kaplar. Lamina parietalis'in iç yüzü pürüzsüz, nemli vasıflı bir mezotel tabakasına sahiptir. Lamina visceralis ile lamina parietalis arasında cavum serosum scroti adı verilen bir potansiyel boşluk bulunur. Bu boşluk içerisinde eklem sıvısına benzer vasıfta sarımsı renkte bir sıvı bulunur; testis'in scrotum içinde serbest hareketine imkan verir [31]. Bu sıvının hacmi inflamasyon, travma, testis neoplazmları ve testis'in lenfatik drenajında tıkanmaya bağlı olarak artabilir; bu klinik tabloya hidrosel denir.



**Şekil 2. 8.** Testis ve scrotum transvers kesit [28].

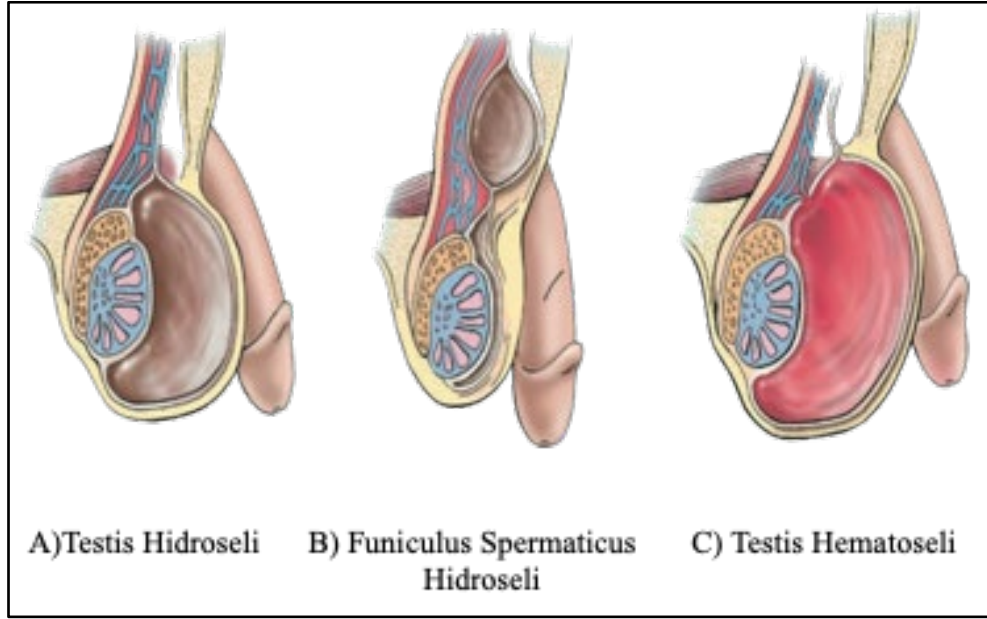
Hidrosel: persistan processus vaginalis durumunda tunica vaginalis'in tabakaları arasındaki potansiyel boşlukta sıvının aşırı varlığıdır. Bu konjenital anomali, indirekt inguinal herni ile birliktelik gösterebilir. Tunica vaginalis'in visceral

tabakasından anormal miktarda seröz vasıflı sıvı salgılanması görülür. Hidrosel boyutu, processus vaginalis'in ne kadarının fötal hayattan sonra devamlılık gösterdiğine bağlıdır [31].

Testis hidroseli, tunica vaginalis'te genişlemeye sebep olur ve scrotum'da sınırlı kalır [31] (Şekil 2. 9A). Funiculus spermaticus hidroselinde, processus vaginalis sapında genişleme görülür ve sıvı toplanması funiculus spermaticus'ta sınırlı kalır [31] (Şekil 2. 9B). Funiculus spermaticus ve testis'in konjenital hidroseli, cavitas peritonealis ile bağlantı gösterebilir.

Hidrosel transilluminasyon yöntemi ile tespit edilir. Bu yöntem, karanlık bir odada genişlemiş scrotum bölümüne parlak ışık tutulması sonucu uygulanır. Işığın kırmızı bir parlaklık olarak iletilmesi, scrotum'daki aşırı seröz sıvı varlığını gösterir. Yenidoğan erkek infantların, tunica vaginalis'lerinde sıklıkla reziduel peritoneal sıvı vardır. Genellikle bu sıvı yaşamın ilk yılında absorbe edilir. Epididymis yaralanması ve/veya inflamasyonu gibi patolojik durumlarda yetişkinlerde hidrosele sebep olabilir.

Hematosel: Testis hematoseli, kanın tunica vaginalis içerisinde, örneğin testis travmasına bağlı a. testicularis dallarının rüptürü sonucu oluşan klinik tablodur [31] (Şekil 2. 9C). Travma, skrotal ve/veya testiküler hematoma neden olabilir. Kan transilluminasyon ile tespit edilemez. Bu yöntemle hematosel, hematom hidrosel tablosundan ayırt edilebilir. Testis hematoseli, skrotal dokulara kanın efüzyonu neticesinde skrotal hematosel ile birlikte görülebilir.



Şekil 2. 9. Testis ve Funiculus Spermaticus Hidroseli, Testis Hematoseli [31].

### 2.2.2. Testis'in arteriyel beslenmesi

Testis'i besleyen arterler üç kaynaktan köken alır: Testis'in beslenmesine verdikleri katkısına göre; a. testicularis (Testis kanlanmasının yaklaşık üçte ikisini sağlar.), a. ductus deferentis ve a. cremasterica (bu iki arter birlikte organın kanlanmasının yaklaşık üçte birinden sorumludur.) [32, 33].

A. testicularis, aorta abdominalis'in visseral dalı olarak a. renalis'lerin başlangıç yerinin aşağısından ayrılır. Peritoneum parietale'nin arkasında, m. psoas major'un önünde inferolateral olarak pelvis'e doğru ilerler. Sağ a. testicularis, v. cava inferior'un önünden, a. colica media, a. ileocolica ve ileum'un terminal parçasının arka tarafında seyrederek. Sol a. testicularis, v. mesenterica inferior, a. colica sinistra ve colon descendens'in arkasında seyrederek. Sağ ve sol a. testicularis pelvis'e girdiklerinde, n. genitofemoralis, ureter ve a. iliaca externa'nın ön tarafında yer alır. Her iki arter daha sonra anulus inguinalis profundus'a girer ve funiculus spermaticus içerisinde ipsilateral seyir göstererek canalis inguinalis'ten scrotum'a geçer.

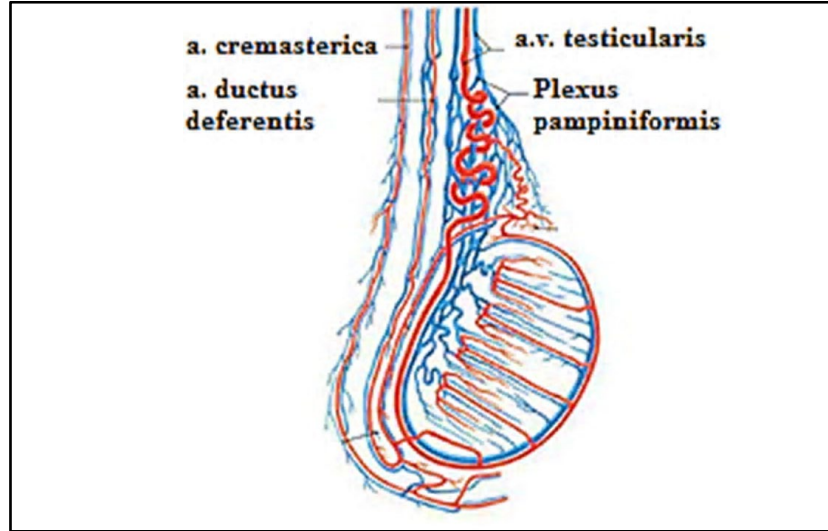
A. testicularis seyri sırasında birden fazla dala ayrılır, örneğin; epididymis'in caput, corpus ve cauda bölümlerini besleyen rr. epididymales dalı gibi [34]. Bu

dallanmaların meydana geldiği seviye değişkenlik göstermekte; vakaların % 31 ila 83'ü oranı canalis inguinalis'te görülür [35, 36]. A. testicularis testis seviyesinde, mediastinum testiste tunica albuginea'yı delip; tunica vasculosa tabakasında dallanır. A. testicularis'in dallanması esas olarak extremitas inferior'un ön, medial ve lateral bölümlerinde görülür. Testis biyopsilerinin planlanmasında önemli yere sahip olan extremitas superior'un ön bölümünde dallanma gösterebilir [36]. A. testicularis m. cremaster'i beslenmesine yardımcı birkaç dal ve ureter'i besleyen rr. ureterici dallarını verir.

A. ductus deferentis, a. iliaca interna'nın a. umbilicalis dalından köken alan a. vesicalis superior'un bir dalıdır. (Bazen de a. vesicalis inferior'dan köken alır)

A. cremasterica, a. epigastrica inferior'dan köken alır. M.cremaster ve funiculus spermaticus'u çevreleyen yapıları besler. A. ductus deferentis ve a.cremasterica birlikte anulus inguinalis profundus yakınında canalis inguinalis'e girer. A. testicularis ile beraber funiculus spermaticus boyunca birlikte seyrederek. A. testicularis fascia spermatica interna içinde bulunurken; ductus deferens, m. cremaster ve bu yapıları besleyen damarlar fascia spermatica externa içerisinde yer almaktadır.

Scrotum içerisinde zengin bir vasküler anastomoz tablosu mevcuttur. Caput epididymis bölgesinde a. testicularis ile rr. epididymales'ler arasında; cauda epidymis yakınlarında a. testicularis, rr. epididymales, a.cremasterica ve a. ductus deferentis arasında anastomozlar bulunmaktadır [28] (Şekil 2. 10).



**Şekil 2. 10.** Testis'in arteriyel ve venöz damarlanması [28].

### 2.2.3. Testis'in venöz drenajı

Testis'in arka bölümünden çıkan birçok küçük ven, epididymis'ten çıkan dallar ile birleşerek plexus pampiniformis'i oluşturur [28] (Şekil 2.9). Bu venöz plexus, testis'i çevreler ve pek çok anastomoz ağı oluşturarak funiculus spermaticus içerisinde önemli bir yer kaplar [22]. Bu vasküler düzenlemede, farklı yönlerde akış seyri gösteren arter ve venler, birbirlerinden sadece damar duvar kalınlıkları ile ayrılırlar. Bu sebeple ısı ve küçük moleküllerin değişimine imkan verilerek; testis'in sıcaklığının daha düşük derecelerde korunması kolaylaşır. Plexus pampiniformis, ductus deferens'in önünde yukarı çıkar ve canalis inguinalis'te 3-4 adet ven tarafından drene edilir. Bu venler karın boşluğuna anulus inguinalis profundus'tan geçerek girer. Sağ taraftaki venler birleşerek v. cava inferior'a; sol tarafta v. renalis'e v. testicularis olarak dökülür.

V.testicularis dextra, v. cava inferior'a dar bir açı ile v. renalis dextra'nın hemen altında bağlanır. V. testicularis sinistra ise, v. renalis sinistra'ya dik açıyla açılır. V.testicularis'ler kapakçık sistemine sahiptir.

V.testicularis'lerdeki kapakçıkların hasarlanması sonucu varikozel adlı klinik tablo ortaya çıkabilir. Plexus pampiniformis'deki venler dilate ve kıvrımlı hale gelebilir. Bu klinik tablo sıklıkla sadece ayakta duruken veya gerilme esnasında

görülür; kişi uzandığında genellikle kaybolur. Varikozel muayenesi esnasında, palpasyon bir torba dolusu solucana dokunma hissi olarak tarif edilebilir.

Varikozel, v. testicularis'ler içerisindeki kusurlu kapakçıklardan kaynaklanabilir; ancak böbrek veya renal ven problemleri de plexus pampiniformis venlerinin distansiyonuna neden olabilir.

Varikozel, ağırlıklı olarak sol tarafta görülür. Bu duruma pek çok sebep gösterilebilir. Bunlardan ilki v. testicularis sinistra'nın v. renalis'e dik açıyla açılmasından ötürü sağ tarafa göre daha fazla dirençle karşılaşmasıdır. Bir diğeri v. testicularis sinistra'nın colon descendens'in arkasından geçmesidir. Colon descendens ve içerisindekiler, v. testicularis sinistra'ya baskı uygulayarak kan akımının azalmasına sebep olurlar. Son olarak, v. cava inferior gibi büyük venlerin akım gücü daha kuvvetlidir; v. testicularis dextra bu vene açıldığı için sol tarafa göre daha az varikozel bu bölgede görülür.

#### **2.2.4. Testis'in lenfatik drenajı**

Testis'in lenfatik akışı oldukça yoğun ve sürekli. Testis'in lenfatik drenajı yüzeysel ve derin olmak üzere iki kısımda incelenebilir. Testis'in lenf damarlarından yüzeysel olanları tunica vaginalis testis'ten; derin lenfatik damarlar ise testis ve epididymis'den başlar. A. testicularis'ler ile beraber funiculus spermaticus'ta seyrederek, A. testicularis'lerin üreter'i çaprazladığı seviyeye kadar, m. psoas major'un ön tarafında uzanırlar. V. testicularis'leri takip ederler ve nodi lumbales grubuna dahil olan nodi aortici laterales ve nodi preaortici'ye açılmaktadır.

#### **2.2.5. Testis'in innervasyonu**

Testis'leri innerve eden sempatik sinir lifler medulla spinalis'in T<sub>10</sub>- T<sub>11</sub> segmentlerinden, parasempatik lifler ise n. vagus'tan gelir. Bu sinirler plexus aorticus abdominalis ve plexus renalis içinde seyredip, testis'i besleyen damarlar çevresinde organa ulaşır [37].

İlginç bir şekilde, bazı afferent ve efferent sinirlerin plexus pelvicius'a kontralateral çapraz yaptığı gösterilmiştir [38]. Bu seyir bir testiste olan patolojik süreçlerin diğerini de etkilemesine neden olarak gösterilebilir.

### 2.3. Testis Histolojisi

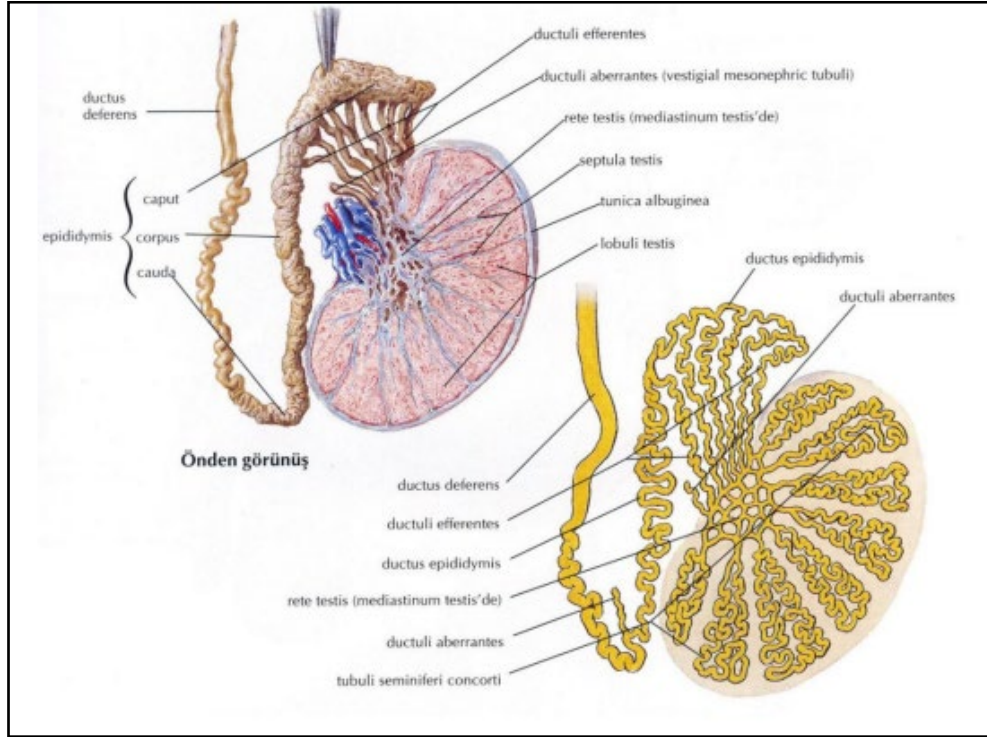
Testisler embriyolojik gelişimi, seksüel olgunlaşma ve üreme fonksiyonlarını etkileyen bir çift organdır. Ekzokrin ve endokrin fonksiyonları bulunmaktadır. Ekzokrin fonksiyonları spermiyum üretimi ve atılımı; holokrin tipte sekresyon, endokrin fonksiyonlarında ise testosteron üretimi yer almaktadır.

Embriyonal dönemde testislerde üretilen spermiyumlar erkek fetusun gelişiminin normal ilerlemesinde önemlidir. Pubertede Leydig hücrelerinden salgılanan testosteron sekonder seks karakterlerinin oluşmasında görev alır. Erişkin dönemde, sekonder seks karakterlerinin devamı ve spermiyum üretiminin sürdürülmesi testisin fonksiyonlarına bağlıdır [39].

Skrotumda yer alan her iki testis, üç tabakalı bir kapsül ile sarılmıştır. Bu kapsül dıştan içe doğru: tunica vaginalis, tunica albuginea ve tunica vasculosa'dır.

Testisler abdominal kaviteden scrotum'a inerken; peşlerinden iki katlı periton tabakası olan tunica vaginalis'i sürüklemektedir. Tunica vaginalis'in parietal ve visseral iki yaprağı bulunur. Mezotel ile döşeli olup; testis'in ön ve yan yüzeylerinde bulunur. Kapsülün en kalın ve belirgin tabakası olan tunica albuginea, fibroelastik bağ dokusundan zengindir. Testis'in arka yüzünde kalınlaşarak, tunica albuginea mediastinum testis'i meydana getirir. Bu tabaka içerisinde testis'e giren ve çıkan damarlar, lenf damarları ve genital boşaltım kanalları seyredir. Kapsülün en içinde yer alan tunica vasculosa, damarları içeren gevşek bağ dokusudur.

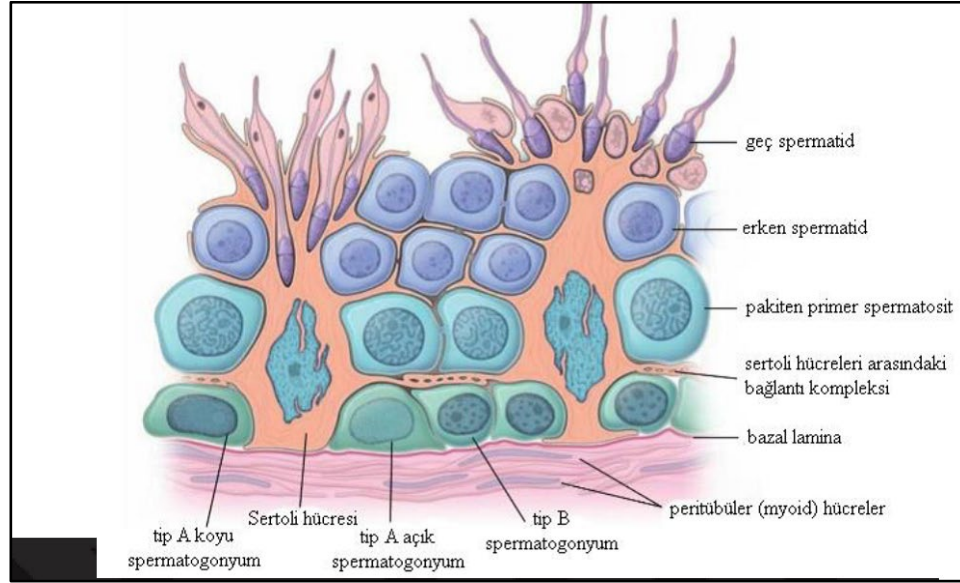
Kapsülden testis içine uzanan bağ dokusu yapısında septumlar, testis'i sayıları 250 civarı olan lobüllere ayırırlar. Her bir lobül, kan damarları, sınırları ve intertisyel hücrelerin yer aldığı bağ dokusu ile seminifer tübüllerden oluşur. Seminifer tübüller spermiyumların üretildiği kıvrımlı yapılardır; her bir lobülde 1-4 adet seminifer tübül bulunur. Testis'in mediastinum'a yakın bölümünde kısa ve düz seyir gösteren tubuli recti olarak adlandırılan tübüller yer almaktadır. Tubuli recti'ler, rete testis ile devam eder. Rete testis, ductuli efferentes aracılığıyla epididymis'in caput kısmına bağlanmıştır [22] (Şekil 2. 11).



**Şekil 2. 11.** Testis, epididymis ve ductus deferentis [22].

Seminifer tübüllerin her biri germinal ya da spermatogenik epitel denilen özelleşmiş çok katlı epitelle sarılmıştır. Germinal epitel bazal membranı fibröz bağ dokusuyla kaplanmıştır. En içte düz kas özellikleri gösteren, seminifer tübüllerin kasılmasında rol oynayan miyoid hücreler bulunur. Germinal epitel bölünebilen spermatogenik seri hücreleri ve büyük, bölünemeyen Sertoli hücrelerinden oluşur [40] (Şekil 2. 12).





**Şekil 2. 12.** Seminifer tübüllerin şematik gösterimi [41].

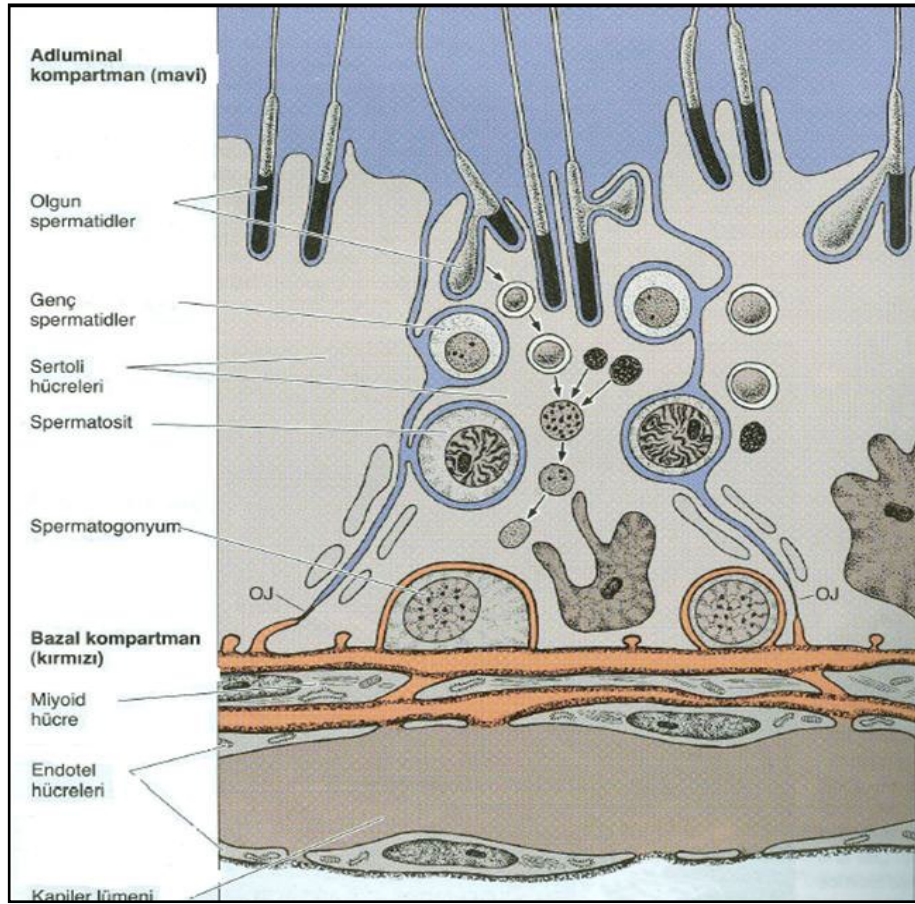
Sertoli hücreleri, bazal laminadan seminifer tübüllere uzanan piramidal ya da prizmatik hücrelerdir. Her bir Sertoli hücresi sayıları değişkenlik gösteren germ hücrelerini destekler. Hücre membranlarının bazal bölümünde foliküler stimulan hormon (FSH) için reseptörler yer alır. Sertoli hücrelerinde zonula okludens (sıkı bağlantılar) yer almakta ve bu yapılar seminifer tübül lümenini bazal ve adlüminal olmak üzere iki bölüme ayırır. Bu sıkı bağlantılar spermatozooları otoimmün reaksiyonlardan koruyan kan-testis bariyerinden sorumludur [42] (Şekil 2. 13).

Sertoli hücrelerinin görevlerinden bazıları şunlardır:

- Gelişen spermatozooları beslenmesinde rol alır, destekler ve korurlar.
- Spermatidler olgunlaşırken oluşabilecek fazla sitoplazma ürünlerini fagosite ederler.
- Kan-testis bariyerinden sorumludurlar.
- Fruktoz içeriğinden zengin bir salgı üretirler. Spermatozooların seminifer tübülden genital kanala hareketinde bu salgının kolaylaştırıcı etkisi vardır.
- Fetal dönemde antimüllerian hormon (AMH) sentez ve sekresyonu yaparlar. Böylece erkek fetusta Müller kanalının gerilemesi sağlanır.

- FSH etkisiyle Androjen Bağlayıcı Protein (ABP) sentezler. Seminifer tübülde gerekli testosteron konsantrasyon düzeyi sağlanarak spermatogenezin ilerlemesi sağlanır.
- Ön hipofizden FSH salınımında etkili olan inhibin ve aktivin sekresyonları Sertoli hücreleri tarafından yapılır [42, 43].

Spermatogenik seri hücreleri dört ila sekiz arasında değişen sayılarda kümeleşmiş hücre katmanları içerir. Öncül hücrelerden olgun sperm hücresi dönüşümü yaklaşık 10 haftalık bir periyotta tamamlanır [43].



Şekil 2. 13. Sertoli hücreleri ve kan-testis bariyerinin şematik gösterimi [43]

Spermatogenez, ergenlik öncesi gonadotropinlerde artış neticesinde spermatogonyumların proliferasyonu ile başlar. Spermatogenez üç evreye ayrılmaktadır:

- Spermatositogenezis: Spermatogonyumlar primer oositlere farklılaşır.
- Mayoz: Diploid kromozoma sahip primer spermatositler, haploid kromozomlu spermatidlere dönüşür.
- Spermiyogenezis: Spermatidler spermatozoalara farklılaşır.

Spermatogenezis bütün seminifer tübüllerde senkronize şekilde gerçekleşmek yerine, seminifer epitelde siklus bir dalgalanma benzeri değişik olgunlaşma evrelerinde arka arkaya meydana gelir.

Spermatogonyumlar, seminifer epitel bazal bölümüne bitişik yerleşim gösteren yaklaşık 12 µm çapında diploid germ hücreleridir. Puberte döneminde bu hücreler testosteron etkisiyle hücre bölünme siklusuna girerler. A tipi spermatogonyum ve B tipi spermatogonyum olarak iki tür hücre bulunmaktadır. Soluk A tipi spermatogonyumlar, puberteden sonra yüksek mitotik aktivite gösterirler. Bu hücreler aynı tip hücre veya B tipi spermatogonyumları oluştururlar. Koyu A tipi spermatogonyumlar, mitoz aktivitesi açısından inaktiftirler. Hücre siklusunun G<sub>0</sub> fazında rezerv görevi görürler, mitozda kaldıkları yerden devam ederek soluk A tipi spermatogonyum oluşturabilirler. B tipi spermatogonyumlar, mitozda primer spermatozoaları meydana getirirler [42].

Spermatogenezis mayoz aşamasında Tip B spermatogonyumlar primer spermatositlere farklılaşır. Primer spermatositler diploiddir ve 46 kromozom (44+XY) ve 4N DNA içermektedirler. Bu hücreler oluşumlarından kısa süre sonra birinci mayoz bölünmenin ortalama 3 hafta süren profaz aşamasına girerler. Primer spermatositler spermatogenik serinin hücreler boyutları bakımından en büyüğüdür. Sinaps ve rekombinasyon aşamalarının çeşitli bölümlerinde farklılaşmış kromozom oluşturması tanısaldır [41] (Şekil 2. 14).

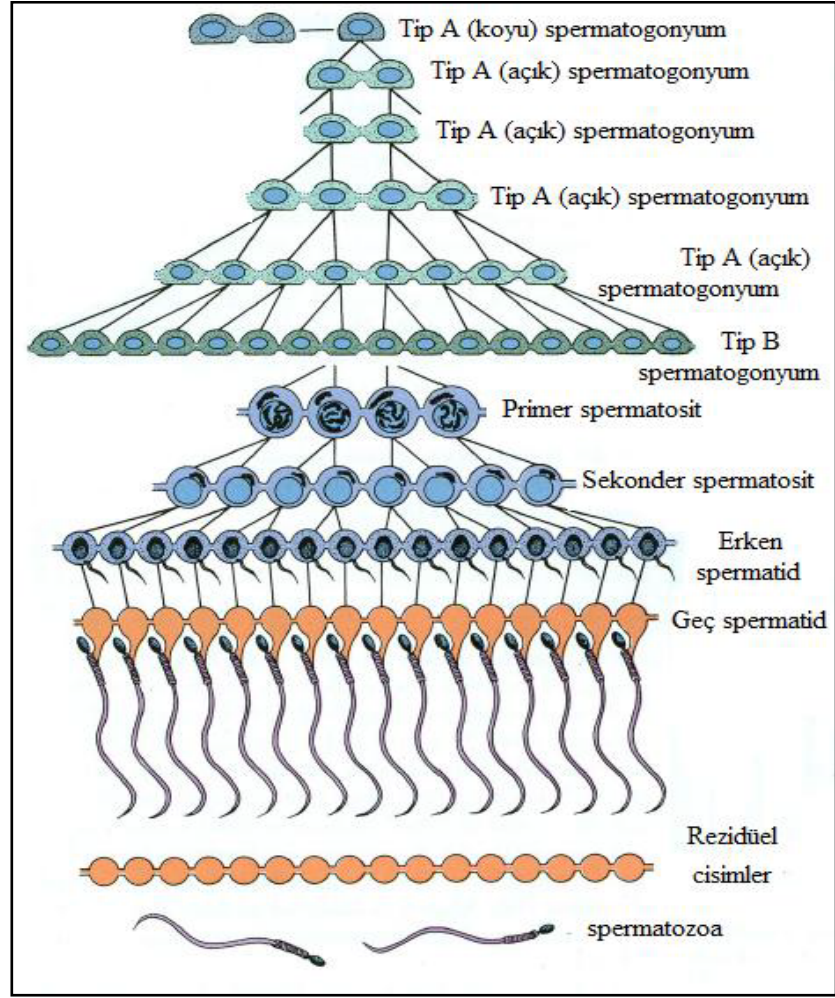
Birinci mayoz bölünmenin bitiminde, homolog kromozomlar ayrılır ve sekonder spermatositler oluşur. Sekonder spermatositler 23 kromozom (22+X veya 22+Y) içeren haploid hücrelerdir. Kromozomlarda azalma her hücrede DNA miktarı

eksilmesi ( $4N$ 'den  $2N$ 'e düşüş) ile birlikte görülür. Sekonder spermatositlerin bölünmesi ile her kromozomun kromatidleri birbirinden ayrılarak iki adet haploid hücre meydana gelir. Bu hücreler 23 kromozom içerir ve spermatid adını alırlar. Spermatositlerde iki mayoz bölünme arasında S fazı yani DNA sentezi gerçekleşmediği için, iki mayoz bölünme neticesinde her hücrede DNA miktarı yarıya iner ve haploid ( $1N$ ) hücreler meydana gelmektedir [43].

Spermiyogenez, spermatozoon üretiminin sıcaklığa duyarlı olan son aşamasıdır. Spermatidler erkek DNA'sını ovuma aktarmak amacıyla özelleşen spermatozoonlara dönüşme evresidir. Bu dönemde hücre bölünmesi gerçekleşmez. Haploid spermatidler yaklaşık 7-8  $\mu\text{m}$  çapındadır ve seminifer tübül lümenine yakın olacak şekilde adlüminal kompartmanda yerleşim gösterirler. Spermatidler, Sertoli hücre sitoplazma kriptaları içerisinde gömülü vaziyettedirler [44].

Spermiyogenez, akrozom oluşumu, çekirdek yoğunlaşması ve uzaması, flagellum gelişimi ve sitoplazmanın bir kısmının kaybını içeren bir süreçtir. Sonuç olarak, olgun spermatozoonlar Sertoli hücre yüzeyinden seminifer tübül lümenine bırakılır [43].

Testis dokusu seminifer tübülleri arasında yer alan intertisyel doku fibroblast, lenf ve kan damarları içeren gevşek bağ dokusundan oluşur. Adolesan dönemde Leydig hücreleri veya intertisyel hücreler, yağ damlacıkları içeren eozinofilik sitoplazmalı, merkezinde çekirdeği yer alan poligonal hücrelerdir. Bu hücrelerden steroid hormon olan testosteron üretilmektedir [43]. Düz endoplazmik retikulum ve mitokondride bulunan enzimlerden sentezlenir.



Şekil 2. 14. Spermatogenezin evreleri [41].

## 2.4. Testis Fizyolojisi

Testisler, testosteron, androstenedion ve dihidrotestosteron gibi genel olarak androjenler adlandırılan erkek seks hormonları salgılar. Diğer androjenlere nazaran daha fazla oranda bulunması sebebiyle testosteron, testis'in başlıca hormonu olarak kabul edilebilir [45]. Testosteron 19 karbonlu 17 pozisyonunda hidroksil grubu olan bir steroiddir. Bu hormon intertisyel Leydig hücrelerinde kolesterolden sentezlenir. Testosteron üretimine adrenal kortekste salgılanan androstenedion da katkıda bulunur [46].

Testosteron seminifer tubullerde yüksek miktarda bulunur, spermatogenezisi sağlar. Dolaşıma geçerek sekonder seks karakterlerinin ortaya çıkmasına da yardım eder.

Hipotalamo-hipofizyel sistem, hipofiz ile hipotalamus arasında bulunan fonksiyonel bağlantıdır. Seksüel fonksiyonların kontrolünde hipotalamustan salgılanıp kan damarları yoluyla hipofize gelen gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) rol almaktadır. GnRH sekresyonu ile hipofizin adenohipofiz bölümünden gonadotropik hormonlar salgılanır. Bunlardan foliküler stimulan hormon (FSH) spermatogenezisi uyarır, bir diğeri lutenizian hormon (LH) ise testislerde Leydig hücrelerinden testosteron salgılanmasını uyarır.

Lutenizian hormon (LH), Leydig hücrelerinin plazma membranında yer alan özel reseptörlere bağlanarak siklik adozin monofosfat (AMP) oluşmasını ve protein kinaz aktivasyonunu sağlar. Kolesterol esteraz, Leydig hücreleri sitoplazmasında bulunan kolestol esterlerinden serbest kolestrol oluşumunu sağlar. Pregnenolon mitokondriyal enzimler yardımıyla kolestolün yan zincirinden ayrılmasıyla oluşur. Pregnenolon, granülsüz endoplazmik retikulum enzimleriyle testosterona dönüşümü sağlanır.

Testosteron ile LH arasında negatif feed back bulunmaktadır. LH'unun uyarılması ile Leydig hücreleri testosteron salgılayarak; testosteron yeterli düzeye ulaştığında ise hipotalamus devreye girerek GnRH salınımını azaltmaktadır. GnRH düzeyinde azalma FSH ve LH salınımlarında azalmaya sebep olmaktadır. LH salınımı azalması Leydig hücrelerinden üretilen testosteron üretimini azaltır. Testosteron

düzeyi çok miktarda düştüğü durumda hipotalamustan GnRH salınımı artmasını bağlı olarak, adenohipofizden FSH ve LH salınımı uyarılarak testosteron düzeyi normal seviyeye yükselmesi sağlanır.

Seminifer tubullerden spermatozoon üretimi, testislerin ekzokrin fonksiyonlarından biridir. Seminifer tubullerde yer alan Sertoli hücrelerine FSH spesifik olarak bağlanır, spermatogenezisin başlatılmasında rol alır. FSH ile Sertoli hücrelerinden salgılanan inhibin hormonu arasında LH ve testosterona benzer negatif feed back mekanizması bulunmaktadır. Hipofizden FSH salınımı inhibin tarafından baskılanır. Sertoli hücresinden salınan bir diğer hormon aktivin ise GnRH salınımını uyarır. Böylece hipofizden FSH salınır [42]

## 2.5. Testis Torsiyonu

Testis torsiyonu, spermatik kord ve içerisinde yer alan anatomik yapıların kendi eksenleri etrafında dönmeleri neticesinde meydana gelen ürolojik bir acildir [47, 48]. Akut skrotum sebepleri arasında en sık görüleni olmamasına rağmen, yol açabileceği sonuçlar açısından en önemli olanıdır [49, 50]. Spermatik kordun kendi eksenini etrafında dönmesi sonucunda, testisi besleyen arterlerde obstrüksiyona bağlı kan akımında azalma hatta torsiyonun derecesine göre kan akımının tamamen kesilmesi görülebilmektedir. Klinikte bu dönüş açısal olarak yaklaşık 360- 720° arasındadır.

### 2.5.1. Testis Torsiyonu Tarihçe:

Testis torsiyonu ilk kez Hunter tarafından, 1776 senesinde literatürde sol testis olgusu olarak bahsedilmiştir [51]. Neonatal testis torsiyonu ilk defa Delasiavue ve Taylor tarafından 1840 yılında bildirilmiştir. 1934 yılında Newyork Brooklyn Deniz Hastanesi'nde görev alan Dr. Prehn, gonore epididimiti sebebiyle tedavi ettiği hastalarda skrotal elevasyon ile testis ağrısının azaldığını gözlemlemiştir. 1933'te Hellner, testis torsiyonu vakalarında ilk 6 saat içerisinde detorsiyon yapılması durumunda testislerin kurtulabileceğini bildirmiştir [52].

### 2.5.2. Testis Torsiyonu İnsidansı:

Testis torsiyonu akut seyirli, hızlı teşhis ve tedavi gerektiren acil bir durumdur. Yenidoğan ve adolesan çocuk grubunda daha yaygın karşılaşılsa da her yaşta da görülebilmektedir. 25 yaş altı genç erkeklerde görülme sıklığı yaklaşık 1/4000 olarak bildirilmiştir [1]. İnmemiş testis 'in ileride testis torsiyonu olma olasılığını 10 kat daha fazla artırdığı, çalışmalarda vakaların %6,8'ini inmemiş testis hastaları oluşturmaktadır [53]. Testis torsiyonu kliniğine sahip hastaların %61'lik kısmı 21 yaş altı genç erkekler olduğu belirtilmiştir [54].

Testis torsiyonunun vakalarda iki yaş grubunda pik yaptığı saptanmıştır. Bunlardan ilki neonatal dönem, bir diğeri ise 13 yaş civarı olarak gözlemlenmiştir [55]. Acil servise akut skrotum sebebiyle başvuran hastaların %35'inde testis torsiyonu saptanmıştır. Yaşlılarda testis torsiyonu görülme olasılığı oldukça düşüktür. Görüldüğü en yüksek yaş 69 olarak bildirilmiştir [56].



### 2.5.3. Testis Torsiyonu Sınıflandırılması

Testis torsiyonu intravajinal, ekstravajinal ve testis eklerinin torsiyonu olarak 3 başlık altında sınıflandırılmaktadır [57, 58] (Şekil 2. 15).

#### İntravajinal Testis Torsiyonu

Spermatik kordun tunica vaginalis'e yapışma noktasının distalinde torsiyon gelişmesi durumudur. İntravajinal testis torsiyonunda tunica vaginalis spermatik kordu daha üst seviyede sarmaktadır. Böylelikle testis tunica vaginalis içerisinde daha serbest bir pozisyonda asılı durur ve testisin torsiyone olması daha kolaylaşır.

Tunica vaginalis'in testisi daha yukarıda sarıp, bir çan tokmağı gibi asılı durmasına "Bell-clapper (çan tokmağı) deformitesi" adı verilir. Bell-clapper deformitesi intravajinal testis torsiyonlarının en önemli sebepleri arasındadır. Spermatik kord hareketler ve kremasterik kontraksiyonlar ile rahat bir şekilde dönmektedir [59].

İntravajinal testis torsiyonun testis ile epididymis arasında anatomik bir ayrılma ile kendini gösteren, daha nadir görülen bir formu vardır. Bu durumda sadece testis kendi etrafında dönmektedir [60].

Konjenital inmemiş testis, gubernakulumun anormal kısa veya uzun oluşu, epididimal birleşmenin gevşek olması, horizontal uzanan testis ve travmalar torsiyona sebep olan diğer faktörlerdir [61].

#### Ekstravajinal Testis Torsiyonu

Ekstravajinal testis torsiyonu daha çok yeni doğan döneminde görülmektedir. Bu vakalara genellikle inmemiş testis de eşlik eder. Bu torsiyon tipine spermatik kord torsiyonu da denilmektedir. İntravajinal testis torsiyonuna oranla daha nadir görülmektedir. Testis torsiyonlarının yaklaşık % 6'lık kısmını oluştururlar [62]. Her iki testiste de görülme sıklığı eşittir.

Testislerin inişi esnasında, fiksasyonlarını tam olarak tamamlamadan testis ve eklerinin spermatik kordun üst seviyelerinde, tunica vaginalislerin spermatik korda bağlandığı noktaların proksimalinde torsiyone olmasıdır. Torsiyonun sebebi testisin

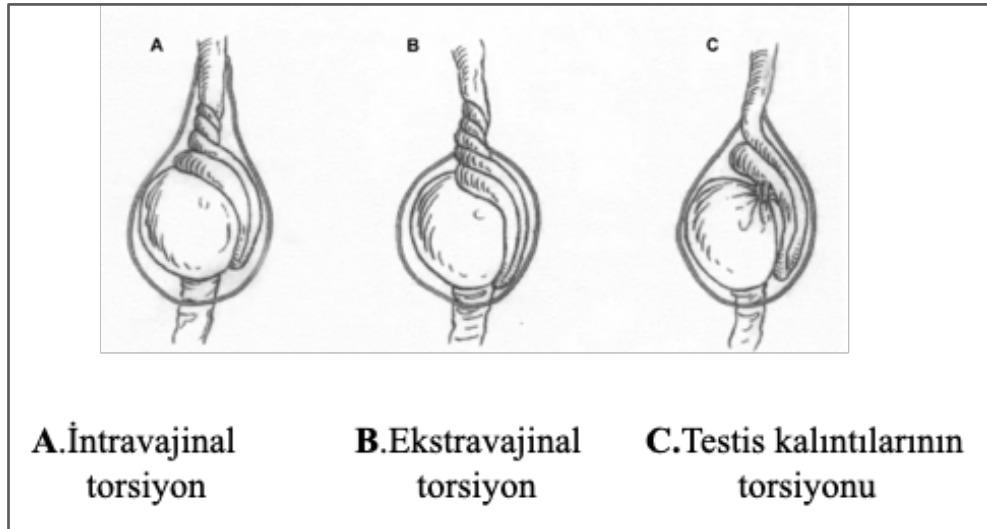
skrotuma inişi ile gubernakulumun skrotum duvarına tamamen sabitlenmemesi gösterilmektedir [63].

Ekstravajinal testis torsiyonlarının %72'si prenatal dönemde, %28'si ise postnatal dönemde saptanmaktadır.

Ekstravajinal testis torsiyonu sıklıkla testiküler atrofi ile sonuçlanmaktadır. Ekstravajinal testis torsiyon tedavisi cerrahidir. Torsiyone testisin karşı tarafında da gelişebilecek torsiyon riskini önlemek amacıyla kontralateral fiksasyon uygulaması önerilmektedir [57].

### Testis Kalıntılarının Torsiyonu

Appendiks testis ve epididimis'in üst tarafında yer alan embriyolojik kalıntıların torsiyone olması ile oluşan klinik bir tablodur. Sıklıkla 16 yaşından küçük erkeklerde görülür [57]. Ani başlayan şiddetli ağrıyı takiben, testis veya epididimisin üst kısmında kitle ele gelmesi tanıda yardımcıdır.



Şekil 2. 15. Testis torsiyonunun sınıflandırılması [58].

#### 2.5.4. Testis Torsiyonu Tanı

Testis torsiyonunda sıklıkla ani başlayan, şiddetli skrotal ağrı ilk semptom olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu ağrı inguinal bölge ve abdomenin alt kadrantlarına yayılabilir. Fizik muayene esnasında testisler büyük, hassas ve spermatik kordun orantılı kısalmasına bağlı skrotum üst kısmında yatay olarak yerleştiği gözlemlenebilir [49]. Vakaların bir kısmında ağrıya ek olarak bulantı, kusma gibi şikayetlerde eşlik etmektedir. Fizik muayenede kremaster refleksinin olmaması tanı açısından oldukça önemlidir. Klinik çalışmalarda vakaların %90 ila %100'ünde kremasterik refleks kaybı gözlenmiştir. Akut skrotuma neden olan diğer durumlarda bu refleksin %80 oranında korunduğu görülmüştür [64, 65].

Testis torsiyonu olmuş taraftaki testisin elevasyonu ile vasküler oklüzyonda ve ağrıda artış olması testis torsiyonu lehine bir bulgudur. Epididimit ve orşitte elevasyonla hastanın ağrısında azalma gözlenir. Klinikte bu muayene yöntemine Prehn bulgusu denilmektedir; testis torsiyonu ve orşit ayırıcı tanısında oldukça önemlidir [66].

Testis torsiyonunda sol testis sağ tarafa göre daha sık etkilenmektedir. Bu durum inmemiş testislerde de sol taraf testiste benzer bir sıklıkla karşımıza çıkar. Spermatik kordun sol tarafta daha uzun olmasından dolayı, sol testiste torsiyon olma olasılığı sağ tarafa oranla arttığı gözlenmiştir [67]. Hastalardan alınan anamnezlerde yaklaşık %50'sinde hastalar daha önce geçirilmiş skrotal ağrı tariflemektedirler [68, 69]. Testis torsiyonu sıklıkla egzersiz, aktivite ve travma sonrası görülebilenken, uyku sırasında da meydana gelebilmektedir [52].

Akut skrotum bulgularına sahip hastada öncelikle testis torsiyonu ekarte edilmelidir. Testis torsiyonunda meydana gelen doku hasarı torsiyonun süresi ve derecesiyle yakın ilişkilidir. Tanı ve tedavide gecikme testiste fonksiyon kaybı, infertiliteye sebep olabilir. Doppler ultrasonografisi akut skrotum değerlendirilmesinde temel radyolojik tetkiklerdendir. Testis torsiyonu değerlendirilmesinde hızlı, noninvazif ve ekonomik olmasından dolayı tanı yöntemi olarak çok sık tercih edilmektedir [70]. Doppler ultrasonografide torsiyon derecesine göre kan akımı azalmış ya da tamamen kaybolmuş görülebilir. Torsiyone testis boyutlarında artış, hipoekojen heterojen bir görüntü saptanmaktadır [71]. Baker ve arkadaşları, akut

skrotum vakalarında renkli doppler ultrasonografinin %88 sensitivite ve %98 spesifite oranına sahip olduğunu göstermişlerdir [72].

Magnetik rezonans (MR) görüntüleme yöntemi testis torsiyonu tanısında tercih edilebilir. Klinikte rutin uygulamada pediatrik dönem hastalarında anestezi gerekliliğinden dolayı tercih edilmemektedir [73].

Testis torsiyonu tanısında kullanılan bir başka görüntüleme yöntemi Teknesyum- 99m radyonüklid sintigrafidir. Torsiyone testisin radyonüklid izotop tutulumu azlığı tanıya yol göstericidir. Bu yöntemin dezavantajı işlem süresinin uzunluğu, intravenöz girişim gerektirmesi ve yüksek maliyetli oluşudur. Renkli doppler ultrasonografi ile Teknesyum-99m radyonüklid sintigrafisi karşılaştırıldığında sensitivite oranlarının birbirine yakın olduğu görülmüştür [74].

#### **2.5.5. Testis Torsiyonu Tedavi**

Testis torsiyonu acil müdahale gerektiren klinik bir tablodur. Başlıca tedavi yöntemi cerrahi eksplorasyondur. Tedavinin başarı oranı erken tanı konulması ile doğru orantılıdır. Hastanın öyküsü ve fizik muayenesinde testis torsiyonundan şüphelenilirse, hiç vakit kaybetmeden en kısa sürede cerrahi eksplorasyon önerilmektedir [48, 64, 65].

Testis torsiyonu kliniğinin başlangıcından itibaren ilk 6- 16 saatlik dilimde uygulanacak detorsiyon testisi kurtarabilir. Daha uzun süreli testis torsiyonunda meydana gelebilecek ağır hasar karşı testisi de etkileyebilir. 12 saatten kısa testis torsiyonu vakalarının yalnızca %4'ünde nekrotik yapılar görülmüş ve buna bağlı olarak orşiektomi gerekmiştir. Bu süre daha da uzudağında testis torsiyonlarının %75'ine orşiektomi uygulandığı görülmüştür [40].

Manuel detorsiyon cerrahi eksplorasyona alternatif bir müdahale olmamalıdır. Cerrahi hazırlığın devam ettiği ilk 6 saat içerisinde manuel detorsiyon uygulanabilir. Torsiyone testis oldukça hassas ve ağrılı olduğu için, manuel detorsiyon uygulanmadan önce spermatik kord anestezisi gerekir [75, 76]. Manuel detorsiyon işleminde testiste kaudalden kraniyale ve medialeden laterale doğru döndürülme hareketi uygulanır. Uygulama başarılı olursa, detorsiyone edilen testisteki şiddetli ağrı kısa sürede geçer. Manuel detorsiyonun başarısı Doppler ultrasonografide kan

akımının düzeldiğinin görülmesiyle kesinleşir [77]. Manuel detorsiyon işlemi kronik intermittan torsiyonu olan, skrotal ağrısı geçmeyen hastalarda denenebilir [75]. 6 saatten uzun süreli testis torsiyonunda kalıcı hasarın gelişmeye başlaması akıllarda tutularak, manuel detorsiyon başarılı olsa da cerrahi müdahale ile testiküler fiksasyon uygulanmalıdır [40].

Testisi korumak amacıyla gecikmeden cerrahi eksplorasyon ile müdahale edilmelidir. Orta hattan geçecek şekilde skrotal insizyon yardımıyla testise ulaşılır, testis torsiyonu tanısı doğrulanır. Spermatik kord eski pozisyonuna getirilir, testisin reperfüzyon mekanizması değerlendirilir. Testise ılık serum fizyolojik sıvı ile gazlı bez kompresyonu yapılır. Detorsiyone testiste nekroz belirgin şekilde gelişmiş, cansız ve reperfüzyon bulguları yoksa orşiektomi yapılır [40].

Bell-clapper deformitesi genellikle bilateral görüldüğü için, bu vakalarda cerrahi müdahalede kontralateral eksplorasyon ve testiküler fiksasyon rutin olarak yapılması önerilir [57, 78].

## 2.6. İskemi/Reperfüzyon Hasarı, Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

### 2.6.1. İskemi/Reperfüzyon Hasar Mekanizması

Testis dokusu, serbest oksijen radikallerinin meydana getirdiği hasara çok duyarlıdır. Radyasyon veya oksidatif stres durumlarında testis germ hücreleri ciddi şekilde hasar görür ve ölümler [79].

İskemi dokunun ihtiyacı olan oksijen ve metabolitlere erişiminin perfüzyon eksikliği sebebiyle sağlanamadığı patolojik bir durumdur. Bu süreçte dokuda meydana gelen zararlı artık ürünlerinde dolaşım tarafından uzaklaştırılmaması da sorun teşkil etmektedir [80]. İskemiye bağlı dokuda hipoksi meydana gelir. Oksijen miktarında azalma, dokunun metabolik ihtiyaçlarına cevap veremeyecek kadar düşmesi halinde, hücredeki enerji depoları azalmaya, toksik metabolitlerin birikimi sonucunda da hücre ölümüne yol açmaktadır [2].

İskemik hasarda dokuya gelen kan miktarı azalması sonucunda hücrenin enerji metabolizmasında temel rol oynayan glikoliz için gerekli maddelerin sağlanması zorlaşır. Hem dokuya gelen substrat miktarında azalma, hem de dolaşım ile dokudan uzaklaştırılması gereken metabolitlerin birikimi neticesinde glikoliz inhibisyona uğrar.

İskemide hücre içi oksijen düzeyi azalması neticesinde hücre mitokondrisindeki oksidatif fosforilasyon bozulur. Adenozin trifosfat (ATP), fosfokreatin gibi zengin bakımından zengin fosfat depoları azalır. ATPaz aktivitesinde azalma görülür. Buna bağlı olarak hücre membranında ATP bağımlı sodyum-potasyum ( $\text{Na}^+ / \text{K}^+$ ) pompası inhibe olur. Hücre içinde  $\text{Na}^+$  birikimi, hücre dışına da  $\text{K}^+$  atılımı gerçekleşir. Hücre içerisine izo-osmotik su girişi olur; akut hücresel şişme gözlemlenir. Bu süreçte hücre içi glikojen depoları hızla tüketilir, hücrede laktik asit birikmesi sonucunda hücre içi pH değeri düşerek asidoz meydana gelir. Asidoz tablosu karbondioksit ( $\text{CO}_2$ ) birikimi ile meydana gelen karbonik asit ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ )'le beraber daha da derinleşir [80]. Hücrede azalan ATP miktarı, ATP bağımlı intrasellüler kalsiyum kaskadı aktivitesinde bozulmaya sebep olur. Hücre içi  $\text{Ca}^{+2}$  artışıyla proteolitik enzimler ve fosfolipazlar aktive olur. Fosfolipazların aktivasyonu ile oluşan araşidonik asit, serbest radikal oluşumunda direk etkilidir. Hücre membranı geçirgenliği dengesizleşir ve hücre içine doğru  $\text{Ca}^{+2}$  girişinde artış olur.

Granüllü endoplazmik retikulumdan ribozomlar ayrılmaya başlar, protein sentezi azalır. Hipoksik tablonun devam etmesi halinde membran geçirgenliğinde artış meydana gelir, mitokondrial fonksiyonlar yavaşlar. Bu aşamada tüm hücre ve organeller belirgin şekilde şişmiştir. Şimdiye kadar bahsedilen olaylar, hücrenin oksijen düzeyi normal şartlara ulaştığı takdirde geri dönüşümlü hasarlardır [80].

İskeminin devam etmesi halinde geri dönüşümsüz hücre hasarı ve nekroz gelişmeye başlar. Hücrede pH düşmesi, lizozomal zarların zedelenmesi ve bunlara bağlı olarak enzimler sitoplazmaya geçerek sitoplazmik ve çekirdekdeki yapıları sindirmeye başlar [81].

İskemi gelişmiş dokunun yeniden perfüzyonu yani dokunun kanlanmasının tekrar sağlanması durumuna reperfüzyon denilir. İskemi tablosu sonucu oluşan serbest oksijen radikalleri, dokunun dolaşımının tekrar sağlanmasıyla reperfüzyon hasarına sebep olmaktadır. Testis torsiyonuna bağlı gelişen doku hasarında iskemi ve reperfüzyon aşamasında serbest oksijen radikallerinin etkinliği bilinmektedir [79, 82, 83]. Serbest oksijen radikalleri hücre membranında lipid peroksidasyonuna yol açıp, proteinlerin denaturasyonu ve hücre harabiyetine neden olurlar [84].

Reperfüzyon hasarının dokuya iskemik hasara oranla daha fazla zarar verdiği görülmüştür. Reperfüzyon esnasında iskemik bölgede toplanan nötrofil ve trombosit aktivasyonu, hücre içi  $Ca^{+2}$  birikimi ve mikrovasküler hasar doku harabiyetinin nedenlerindedir. Reoksijenasyonla beraber parankimal hücreler, endotel hücreleri ve iskemik bölgeye toplanan lökositlerden reaktif oksijen türevleri üretilmesi dokuda yeni hasar başlatabilir [80]. Superoksit anyonlar ( $O_2^-$ ), hidroksil radikalleri ( $OH^-$ ), hipoklorik asit ( $HOCl$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve nitrik oksitten derive olan peroksinitrit dokuda oluşan serbest oksijen radikalleridir [85].

Serbest oksijen radikalleri aracılığıyla hücrede ilk meydana gelen hasar ksantin oksidaz kökenli oksijen radikali ( $O_2^-$ ) oluşturulmasıdır [86]. Hücrede normal koşullarda AMP yıkımı sonucu oluşan hipoksantin, ksantin dehidrogenaz vasıtasıyla ksantine oksidasyonu gerçekleşir. İskemi durumunda ksantin dehidrogenazın, ksantin oksidaza dönüşümü gerçekleşir. Ksantin dehidrogenazın aksine, ksantin oksidaz oksijen kullanmaktadır ve iskemi esnasında hipoksantinden ksantin dönüşümü gerçekleşemez. Dokuda yüksek miktarda hipoksantin birikir. Reperfüzyon ile dokuya

oksijenizasyonun tekrar sağlanmasıyla, biriken hipoksantin oksijen ve ksantin oksidaz varlığında serbest oksijen radikalleri oluşturur [85].

Serbest oksijen radikalleri paylaşılmamış elektron bulundurmaları sebebiyle, karbonhidrat, lipid, protein, nükleik asit gibi pek çok molekülde oksidatif hasara neden olurlar [87]. Hücredeki hasar lipid peroksidasyonu, kovalen bağlanma, DNA hasarlanması, protein denaturasyonu ve kalsiyum salınımı şeklinde görülmektedir. Lipid peroksidasyonu hücrede meydana gelen en önemli ve en zararlı hasar mekanizmalarındandır. Lipid peroksidasyonu sonucunda hücre membranı akıcılığını kaybeder; hücre membran potansiyelinde azalma, membranda iyonlara karşı geçirgenlik artışı neticesinde hücre hasarı oluşur.

### **2.6.2. Serbest Radikaller**

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektrona bulunduran düşük molekül ağırlıklı ve oldukça kararsız moleküllerdir. Serbest radikaller reaktif moleküllerdir; yörüngelerinde bulunan elektronu eşlemek için diğer moleküllerle reaksiyona girme açısından yarış halindedirler [88]. Serbest radikaller, hücre membranı ve nükleik asitlerin yapısında bulunan anahtar moleküllerdir [81, 89]

İnsan vücudunda metabolik faaliyetlerin normal işleyişi esnasında stres, radyasyon ve çevresel faktörlerin etkisiyle serbest radikaller meydana gelmektedir[90] (Tablo 2.1).



**Tablo 2. 1.** Serbest radikallerin endojen ve ekzojen kaynakları[91].

| <b>Endojen Kaynaklar</b>                             | <b>Eksojen Kaynaklar</b>          |
|--|-----------------------------------|
| ✓ Mitokondriyal elektron transport zinciri           | ✓ Çözücüler                       |
| ✓ Mikrozomal elektron transport zinciri              | ✓ Anestezikler                    |
| ✓ Kloroplast elektron transport zinciri              | ✓ İlaçlar                         |
| ✓ Oksidan enzimler                                   | ✓ İyonize radyasyon               |
| ✓ Proteinler   | ✓ X- Işını                        |
| ✓ Araşidonik asid döngüsünün aktivasyonu             | ✓ Güneş ışığı (UV)                |
| ✓ Oksidatif stres                                    | ✓ Isı şoku                        |
| ✓ Peroksizomlar                                      | ✓ Ozon                            |
| ✓ Plazma membranı                                    | ✓ Sigara dumanı                   |
| ✓ Transizyon metalleri                               | ✓ Kirleticiler                    |
| ✓ Fagositik hücreler                                 | ✓ Eksoz gazları                   |
| ✓ Endojenik bileşiklerin otooksidasyon reaksiyonları | ✓ Glutasyonu okside eden maddeler |
| ✓ Egzersiz   | ✓ Metal iyonları                  |

Serbest radikaller, hücrede bulunan protein, karbonhidrat, lipid, nükleik asid gibi önemli tüm yapılara etki ederler. Bunun yanısıra mitokondride aerobik solunum ve kapiller permeabiliteyi bozarlar. Trombosit agregasyonunu artırır [92]. Ayrıca serbest radikaller, reaksiyona girdikleri moleküllerin de serbest radikale dönüşmesine yol açıp hücre hasarının yayılmasına sebep olurlar. Serbest radikaller iskemi/reperfüzyon hasarı, hücre yaşlanması, kimyasal ve radyasyon hasarı, mikropların fagositlerce öldürülmesi ve inflamatuvar hücrelerin sebep olduğu doku hasarında rol oynarlar [80].

### 2.6.3. Oksidatif Stres

Vücudumuzda serbest radikal oluşumu ve zararlı etkilerinin ortadan kaldırılması arasındaki dengeye oksidatif denge denilir [93]. Bu denge devamlılığını sürdürdüğü müddetçe, vücutta serbest radikallerin patolojik etkileri görülmemektedir. Oksidatif stres ise, serbest radikallerin oluşumunda artış ya da ortadan kaldırılmalarında azalma sonucunda görülen doku hasarı durumudur [94].

Serbest radikaller, hidrojen peroksit, nitrik osit ve toksik ürünleri, hidroksi radikalleri, superoksit anyonları oluşumuna yol açmaktadır. Hücre membranı ve mitokondriyal membranda lipid peroksidasyonuna yol açarlar. Bunların sonucunda membran yapısı bozulmakta, geçirgenliği değişmektedir. Protein denaturasyonu ve DNA hasarını neticesinde hücre ölümü gerçekleşmektedir [79].

İskemi sonucu dokuya perfüzyonun sağlanamaması sonucu, hücredeki enerji depoları azalır, toksik metabolitler birikmeye, hücresel disfonksiyon ve nekroz gelişmeye başlar. Hücre ölümünün gerçekleşmemesi için dokuya gelen kan akımının yeniden sağlanması gerekmektedir. Fakat iskemik dokuda reperfüzyon paradoksal olarak doku hasarına yol açmaktadır. Reperfüzyon dönemindeki reaksiyonlar daha çok sitotoksik oksidanlarla ilişkili olduğu gösterilmiştir [95].

İskemik dokuda reperfüzyon, arteriyollerde endotel bağımlı dilatasyonda bozulmaya, kapiller tıkaçların oluşumu ve sıvı filtrasyonların artışına neden olur. Postkapiller venüllerde plazma proteinleri damar dışına sızmaya; böylece mikrovasküler fonksiyon bozulmaya başlar [95].

Serbest radikaller hücre içi kalsiyum depoları ve hücre membranında yer alan  $Ca^{+2}$ ATPaz üzerine etkileri sonucunda hücrede  $Ca^{+2}$  düzeylerinde artış gözlenmiştir. Bu durum endotelde hasarı ve parankimal dokuda fonksiyon kaybına yol açmaktadır [96].

#### 2.6.4. Antioksidanlar

Serbest radikallerin toksik etkilerine karşı görev alan antioksidan savunma sistemi vücudun homeostasisinin korunmasına yardımcı olur. Serbest radikallerin sebep olduğu oksidasyonu önleyen, serbest radikalleri yakalayıp, etkisiz hale getiren maddelere antioksidan denilmektedir [97] (Tablo 2.2).

Antioksidanlar etkilerini dört farklı yolla yapmaktadırlar [98]:

- **Toplayıcı etki:** Antioksidanlar bu yöntemle ya serbest oksijen radikallerinin tutma ya da daha zayıf yeni moleküllere çevirerek etki gösterirler. Trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküllerde bu tip etki görülmektedir [99, 100].
- **Uyarıcı etki:** Serbest radikaller ile reaksiyonlarında onlara bir hidrojen aktarım aktivitelerinde azalma veya inaktif şekle dönüştürme yöntemidir. Vitaminler, flavanoidler bu tip etki gösterirler [101].
- **Zincir kırıcı etki:** Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırılması sonucu fonksiyonları engellenmektedir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etkiye sahiptirler [102].
- **Onarıcı etki:** Serbest radikallerin sebep olduğu hasarın onarılması şeklindedir [103].

**Tablo 2. 2.** Enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar

| <b>Enzimatik antioksidanlar</b>  | <b>Non-enzimatik antioksidanlar</b>   |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Methemoglobin redüktaz</li> <li>• Superoksit dismutaz</li> <li>• Katalaz</li> <li>• Glutatyon peroksidaz</li> <li>• Glutatyon redüktaz</li> <li>• Glutatyon S-transferaz</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Askorbik asit</li> <li>• Tokoferoller</li> <li>• Beta karoten</li> <li>• Glutatyon</li> <li>• Alfa lipoik asit</li> <li>• Ubikinol</li> <li>• L-karnitin</li> <li>• Transferrin</li> <li>• Selenyum</li> </ul> |

Serbest radikallerce başlatılan ve çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna lipid peroksidasyonu denilir. Lipid peroksidasyonu neticesinde hücre membranında lipid yapısı değişir, hücrenin yapısı ve fonksiyonları bozulur [98]. Lipid peroksidasyonu serbest radikalin, zar yapısında yer alan çoklu zincir yağ asit zincirindeki  $\alpha$ -metilen gruplarından hidrojen atomu uzaklaştırmasıyla başlar. Bu olay neticesinde oluşan lipid radikali kararsız bir molekül olup bir dizi değişikliğe uğrar [104]. Lipid radikalının moleküler oksijenle tepkimeye girmesi, zar yapısında yer alan çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikalleri oluşumuna sebep olur [98].

Membranda lipid peroksidasyonu sonucunda hücre içi ve dışı iyon dengesi bozulur. Hücre içinde  $Ca^{+2}$  konsantrasyonu artar ve buna bağlı olarak fosfolipaz ve proteaz aktivasyonu olur. Membran transport sistemleri bozulur. Hücrede organellerde meydana gelen lipid peroksidasyonu ve litik enzimlerin salınması sonucu hücre hasarı gelişmektedir.

Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonunun son ürünü olup, serbest oksijen radikalleri tarafından oluşturulan lipid peroksidasyonunun güvenilir göstergeleri arasındadır [105]. Malondialdehit nükleik asidlere, fosfolipidlere ve

proteinlerin amino gruplarına bağlanıp, hücreye toksik yönde etki etmektedir [106-108]. Hücre membranında iyon alışverişini etkileyerek, membranda yer alan bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar. İyon geçirgenliğinde ve enzim aktivisinde değişime neden olarak hücreye olumsuz etkilemektedir [109, 110].

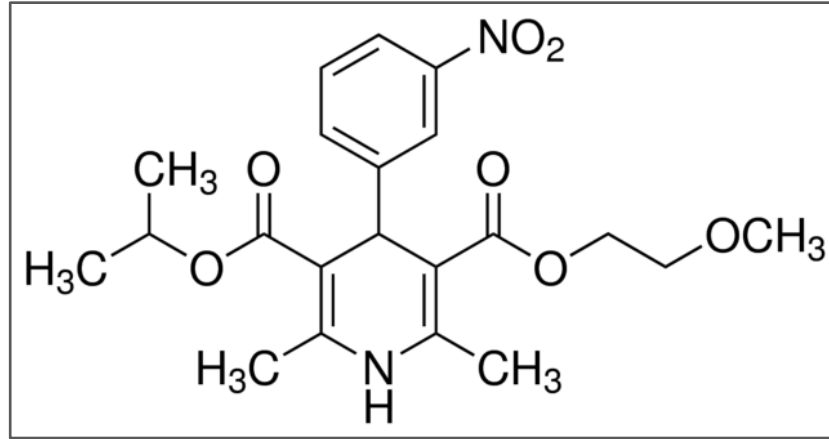
Superoksit dismutaz (SOD), neredeyse tüm canlılarda bulunur ve yaşla birlikte aktivitesi artar. Superoksitin hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve moleküler oksijene ( $O_2$ ) dönüşünde rol alan bir enzimdir[111]. Superoksit dismutaz (SOD), oldukça salgın radikal olan superoksitin etkinliğini ortadan kaldırarak canlıda yaşamsal homeostasisin devamında etkisi önemlidir [112].

Serbest radikallerin istenmeyen etkilerinin önlenmesinde, SOD'un katalaz enzimi ile beraber incelenmesi gerekmektedir. Superoksitin SOD ile reaksiyonu sonucunda oluşan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )'in toksik etkileri bulunmaktadır.  $H_2O_2$ 'un hücrede birikimi katalaz enzimi tarafından önlenmektedir [113].

Katalaz hücre sitoplazmasında ya da çoğunlukla peroksisomlarda bulunan bir enzimdir. Hidrojen peroksitle reaksiyona girerek su ve oksijene dönüştürerek zararlı etkilerini azaltmaktadır. Oksidatif stres varlığında vücutta katalaz düzeyinde artış görülmektedir.

## 2.7. Nimodipine

Nimodipine kimyasal formülü İsopropil' 2- metholsithil'-1,4 -dihidro- 2,6 – dimetil-4- '3- Nitrophenil'- 3,5- piridindikarboksilat'tır (Şekil 2. 17). Nimodipine dihidropiridin grubuna dahil bir kalsiyum antagonistidir.



Şekil 2. 16. Nimodipine'in biyokimyasal formülü.

Nimodipine yüksek oranda lipofilik bir yapıya sahiptir, bu sebeple merkezi sinir sistemine geçişi kolay ve yüksek oranda olmaktadır. Nimodipine piridin analoguna dehidrasyon, metoksi grubu demetilasyon, ester gruplarının hidroliz ya da oksidasyonu, metil gruplarının hidroksilasyon safhaları karaciğerde gerçekleşerek metabolize olmaktadır [13]. Oral kullanımda yarı ömrü ortalama iki saattir. İntravenöz uygulamalarda kandaki konsantrasyonunu istenilen düzeyde tutmak için perfüzyon şeklinde verilmelidir.

Kalsiyum ( $Ca^{+2}$ ) damar düz kas hücrelerinin depolarizasyonundan sorumludur. Hücre dışında bulunan  $Ca^{+2}$ , membranda yer alan kalsiyum-iyon kanallarının açılmasıyla hücre içine girer. Hücre içinde artan  $Ca^{+2}$  sarkoplazmik retikulumda depolarizasyon meydana getirir [8]. Hücre içinde artan  $Ca^{+2}$  iyonu düz kas kasılmasını başlatır [114]. Damar düz kasının kasılmasında rol alan  $Ca^{+2}$ 'un hücre içine girişi iki şekilde olmaktadır. Bu kanallar voltaj bağımlı kalsiyum kanalları ve reseptör bağımlı kalsiyum kanallarıdır. Voltaj bağımlı kalsiyum kanallarını özellikleri ve açık kalma sürelerine göre 3 gruba incelenir. İskelet kasları, beyin damarları ve nöronlarda üç

farklı kalsiyum kanalı bulunmaktadır (L, N, T kanalları) Bunlardan N tipi voltaj bağımlı kalsiyum kanalı presinaptik nörotransmitter salınımından sorumlu olup,  $Ca^{+2}$  girişinde görev alır. Dihidropiridin grubu kalsiyum kanal blokerleri ile inhibe olmaz. L tipi kanallar, beyin damarlarında ve presinaptik nöronlarda bulunur. Nimodipin bu kanallar üzerine etki edebilir. T kanalları endoplazmik retikulumdan  $Ca^{+2}$  salınımını kontrolünden sorumludur. Bunların dışında postsinaptik yerleşimli, iskemi veya travma gibi patolojilerde hücre içi  $Ca^{+2}$  artışından sorumlu reseptör bağımlı kalsiyum kanalları da mevcuttur [13].

Kalsiyum kanal blokerleri koroner kalp hastalıklarında, artimi ve hipertansiyon tedavisinde kullanılmaktadırlar [115]. Koroner kalp hastalıklarında önceleri variant anjina tedavisinde tercih edilse de daha sonra kararlı ve kararsız anjinayı da kapsayacak şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Miyokard enfarktüsünde de kullanılmıştır [116].

Kalsiyum kanal blokerleri vazodilatasyonla periferik direnci azaltıp, ard yükü düşürürler. Miyokardiyal oksijen tüketimini azaltırlar. Kardiyak ve vasküler dokuda kalsiyum aşırı yükünü azaltarak pozitif yönde etki etmektedirler [117].

Kalsiyum iyonları beyinde mikrovasküler tonus kontrolünde önemlidir, artan hücre içi  $Ca^{+2}$  serebral vazospazma yol açmaktadır [8, 114]. Nimodipine damar düz kas hücrelerine kalsiyum girişini engeller, buna bağlı olarak serebral akımını artırıp iskeminin istenmeyen etkilerini azaltmaktadır [8].

Nimodipine iskemik sinir hücrelerine  $Ca^{+2}$  girişini azaltmaktadır. Hücre içi kalsiyumu antagonize etmekte ve hücrede proteoliz ve lipid yıkımını önlemektedir. Böylece serbest radikallerin meydana gelmelerini engelleyerek sinir hücrelerini iskemiye bağlı oluşabilecek hasardan korumaktadır [7].

Son yıllarda kalsiyum kanal blokerleri travma sonrası meydana gelen vasküler direnci azaltmaları, bölgesel kan akımını arttırmaları,  $Ca^{+2}$  hücre içine girişini önleme ve buna bağlı olarak hücre duvarı yıkımının önlenmesinde bağılı olarak iskemik beyin hasarını azalttığı saptanmıştır. Nimodipine bu sebeple iskemik serebrovasküler hastalık, subaraknoid kanamalar ve ağır kafa travmalarının tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır [8-10].

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Deney Hayvanlarının Temin Edilmesi

Çalışmamız Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) tarafından 18.09.2019 tarihli ve 759/2019 numaralı etik kurul kararı neticesinde gerçekleşmiştir. Çalışmamızın deney aşaması Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Mikrocerrahi Laboratuvarında tamamlanmıştır. Testis dokusundan alınan numunelerin histopatolojik incelemesi Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yapılmıştır. Deneyimizde sıçanlardan kanlar intrakardiyak olarak alınıp; Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında biyokimyasal analizleri yapılmıştır.

#### 3.2. Deney Hayvanları ve Bakım:

Çalışmamızda Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi (TICAM)' den temin edilen Sprague Dawley cinsi, 32 adet, 350-450 gram ağırlığında erişkin erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar doğal fizyolojik döngülerine uygun olarak 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık ortamda, %40- %60 nispi nem oranıyla, 20-24 °C ortam ısısına sahip, iyi havalandırılmış odalarda barındırıldı. Sıçanlar ad libitum olarak beslendi [118, 119]. Cerrahi girişimden sonra olası grup içi yaralanmaların önüne geçmek için polikarbon kafeslere sıçanlar ayrı ayrı konuldu.

#### 3.3. Deney Grupları

Çalışmamızda kullandığımız hayvanlar her grupta 8 sıçan olacak şekilde 4 deney grubuna ayrıldı (Tablo 3.1). Tüm gruplarda testis dokusu ile ilgili yapılan cerrahi işlemler genel anestezi altında gerçekleştirildi. Gruplar ve yapılan işlemler aşağıda belirtilmiştir:

**Grup 1 (Kontrol grubu):** Bu gruptaki hayvanlara bazal değerlerin değerlendirilmesi amacıyla scrotum'a yapılan deri insizyonu sonrası 4/0 ipek süturla kapatıldı. Süturlar alınmadan 30 dakika önce nimodipine'in (N149-100MG) çözündüğü solüsyon sıçanlara intraperitoneal enjekte edildi. Süturlar 2 saat sonra alınarak orşiektomi uygulandı.










**Grup 2 (İskemi grubu):** İskemi grubundaki sıçanların her iki testisi saat yönünün tersine 720° döndürülerek torsiyon işlemi gerçekleştirildi ve skrotal kese içerisine yerleştirildi. 4/0 ipek sütur ile skrotal deri yaklaştırılarak geçici olarak kapatıldı. Orşiektomi işleminden 30 dakika önce nimodipine (N149- 100MG)' in çözündüğü solüsyon intraperitoneal olarak sıçanlara enjekte edildi. Cilt süturları 2 saat sonra açılarak orşiektomi uygulanmıştır.

**Grup 3 (İskemi/Reperfüzyon grubu):** İskemi/reperfüzyon grubundaki sıçanların da her iki testisi saat yönünün tersine 720° döndürülüp, torsiyon işlemi uygulandı ve skrotal kese içerisine yerleştirildi. Skrotum derisi 4/0 ipek sütur ile yaklaştırılarak geçici kapatıldı. Detorsiyon işleminden 30 dakika önce nimodipine (N149- 100MG)' in çözündüğü solüsyon intraperitoneal olarak sıçanlara enjekte edildi. 2 saat iskemi sonrası testisler normal pozisyonuna geri getirildi (detorsiyon); 2 saat reperfüzyon sonrası orşiektomi yapıldı.

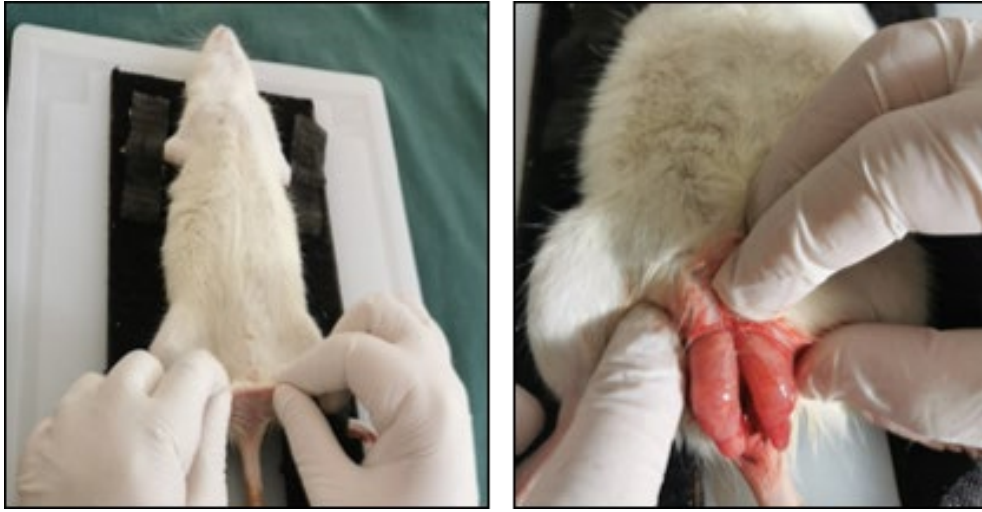
**Grup 4 (İskemi/Reperfüzyon + Nimodipine):** İskemi/reperfüzyon ve Nimodipine uygulanan gruptaki sıçanların testisi saatin tersi yönde 720° döndürülerek, torsiyon işlemi yapıldı ve skrotal kese içerisine yerleştirildi. 4/0 ipek sütur ile skrotum geçici olarak kapatıldı. Detorsiyondan 30 dakika önce nimodipine (N149-100MG) intraperitoneal yolla (1 mg/kg) verildi. 2 saat iskemi sonrası testisler normal pozisyonuna geri getirildi, 2 saat reperfüzyon sonrası orşiektomi yapıldı.

**Tablo 3. 1.** Deney gruplarının dizaynı ve gruplardaki hayvanlara uygulanan işlemler  
(350-400 g erkek Sprague-Dawley sıçan, 32 Adet)

| KONTROL GRUBU  | İSKEMİ GRUBU  | İSKEMİ/REPERFÜZYON GRUBU  | İ-R+NİMODİPİNE GRUBU  |
|--|---|---|---|
| <p>Bazal değerler için skrotal bölgeye insizyon yapılarak 4/0 sütüyle kapatıldı</p>  <p>↓</p> <p>2 saat sonra sütunlar alınarak orşiektomi yapıldı.</p> | <p>Her iki testis saat yönünün tersine 720 derece torsiyon uygulandı.</p>  <p>↓</p> <p>2 saat iskemi sonrası orşiektomi yapıldı.</p> | <p>Her iki testis saat yönünün tersine 720 derece torsiyon uygulandı.</p>  <p>↓</p> <p>2 saat sonra testisler detorsiyone edildi.</p>  <p>↓</p> <p>2 saat reperfüzyon sonrası orşiektomi yapıldı.</p> | <p>Her iki testis saat yönünün tersine 720 derece torsiyon uygulandı.</p>  <p>↓</p> <p>Detorsiyondan 30 dakika önce Nimodipine i.p yolla 1 mg/kg uygulandı.</p>  <p>↓</p> <p>2 saat sonra testislere detorsiyon yapıldı.</p>  <p>↓</p> <p>2 saat reperfüzyon sonrası orşiektomi yapıldı.</p> |

### 3.4. Cerrahi Teknik:

Sıçanlara cerrahi işlemler öncesinde intramuskuler yolla 50 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin uygulanarak genel anestezi sağlandı. İşlemler sırasında anestezi derinliği değerlendirildi, lüzum görüldüğünde idame dozlar uygulandı. Anestezi derinliğinin kontrolünde cilt ve parmak kıstırmanın yanı sıra palpebra ve kornea reflekslerinin her 2 dakikada bir takibi yapılmıştır. Sıçanlar anestezinin derinleşmesini takiben operasyon masasına sırt üstü pozisyonda yatırılmış ve ekstremitelerinden sabitlenmiştir (Şekil 3. 1A) Skrotal bölge povidin- iyot solüsyonu ile antisepsi sağlanıp, skrotal deriye orta hat hizasında insizyon uygulanmıştır. İnsizyon sonrası künt diseksiyonla testis ve funiculus spermaticus çevresinde bulunan dokular skrotal keseden ayrıştırılmaya başlandı (Şekil 3. 1B). Cerrahi işlemin son aşamasında testisler tekrar eski pozisyonlarına yerleştirileceğinden ötürü skrotal cep meydana getirildi.



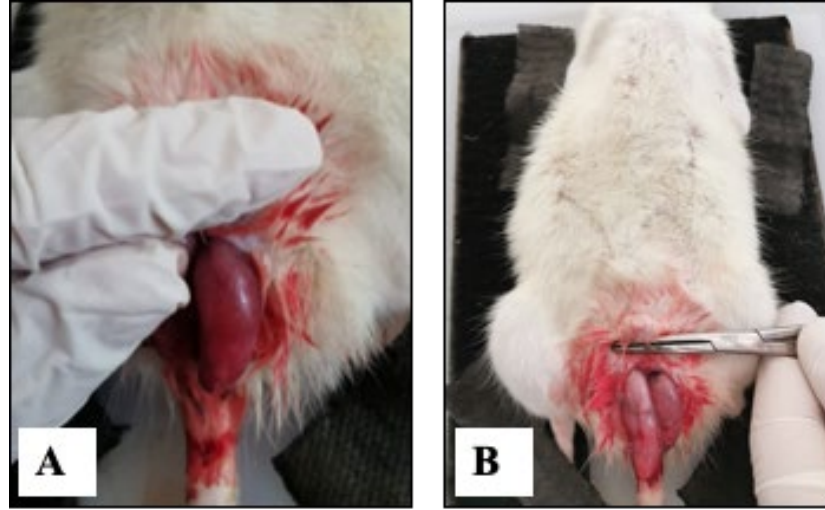
**Şekil 3. 1A/1B.** Skrotal insizyon sonrası testis dokusunun ayrıştırılması

Testis torsiyonu oluşturmak amacıyla testisler funiculus spermaticus'un longitudinal aksında saat yönün tersi yönde 720° döndürüldü; torsiyonun sürmesi için testis'e giden damarlar funiculus spermaticus'ta iple sıkıca bağlandı (Şekil 3. 2A). Bu işlemleri takiben testisler skrotal kesenin içine tekrar eski yerlerine yerleştirilip; testis derisi nontravmatik 4/0 iple suture edilerek birleştirildi (Şekil 3. 2B).



**Şekil 3. 2A/2B.** Testisler 720° döndürölüp sıkıca bağlandı. Skrotal keseye tekrar yerleştirilip sütün atılarak birleştirildi.

İskemi sonrasında dokuda oluşan renk değişimi torsiyon işleminde başarılı olduğunu bizlere göstermiştir (Şekil 3. 3A). İskemi grubundaki hayvanlar torsiyon için belirlenen sürenin bitiminde, derideki sütünler alınıp bilateral orşiektomi yapıldı. İskemi/Reperfüzyon grubunda ise 2 saatlik iskemi süresi sonrası spermatik korda uygulanan düğüm çözölüp; testisler yapılan torsiyonun ters yönünde döndürölerek eski normal pozisyonlarına getirildi, detorsiyon işlemine geçildi (Şekil 3. 3B).



**Şekil 3. 3.** İskemi sonrası (A) ve reperfüzyon sonrası (B) testislerin görüntüsü

İskemi/Reperfüzyon +Nimodipine grubunda testisler saat yönün tersi yönde 720° döndürüp iskemi başladıktan 2 saat sonra, detorsiyon işleminden 30 dakika öncesinde nimodipine solüsyonu intraperitoneal enjekte edilmiştir. Aynı uygulama diğer tüm gruplara nimodipine’i solüsyon haline getiren çözücüler intraperitoneal olarak enjekte edildi (Şekil 3. 4). Detorsiyon işlemi başlamasından 2 saat sonra skrotal deri açılıp, bilateral orşiektomi yapıldı.



**Şekil 3. 4.** İntraperitoneal Nimodipine enjeksiyonu

Histopatolojik inceleme için testisler alınıp; Bouin solüsyonu bulunan kaplara alındı. Genel anestezi altında intrakardiak kan alımı işlemi için göğüs kafesine gerekli insizyonlar yapıldı. Yüksek miktarda kan alınarak deneyimizde kullanılan hayvanlara ötenazi uygulandı.

### **3.5. Deneyde Kullanılan Kimyasallar:**

#### **3.5.1. Nimodipine:**

Nimodipine N149-100MG katalog numarası ile SİGMA firması aracılığıyla etik kurul onayla çalışmamız için tedarik edilmiştir. Behroozi-Lak ve ark. yapmış olduğu çalışmada belirtmiş oldukları etkili ve güvenli doz olarak 1 mg/kg nimodipine intraperitoneal yolla enjekte edilmiştir [12].

#### **3.5.2. Ketamine ve Xylazine:**

Deneyimizde kullanılan tüm sıçanlara cerrahi işlemler sırasında ve çalışmamızın sonunda uyguladığımız ötenazi esnasında genel anestezi koşulları sağlanmıştır. Bunun için deneyimizdeki tüm sıçanlara Ketamin (Ketalar®) 50 mg/kg ve Xylazine (Rhompun®) ise 10 mg/kg intramusküler (i.m) olarak enjekte edildi.

### 3.6. Biyokimyasal Değerlendirme

Cerrahi girişimde lipid peroksidasyonu göstermek amacıyla sıçanlardan intrakardiyak yöntemle alınan kanlardan, malondialdehit (MDA) ve oksidatif strese karşı koruyucu etkili superoksit dismutaz (SOD) ve katalaz düzeyleri incelenmiştir.

Biyokimyasal analizler için eritrosit hemolizati aşağıdaki basamaklar kullanarak hazırlandı [120].

- Deneyimizde sıçanlardan intrakardiyak şekilde alınan kan numuneleri etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) içeren tüplere konuldu.
- Alınan örnekler 1500 devirde 5 dakika santrifüj edildi.
- Plazma ayrıştırılması gerçekleştirildikten sonra eritrositler salin ile üç defa yıkandı.
- Elde edilen eritrosit hemolizatları  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

#### 3.6.1. Katalaz (KAT) seviyesi ölçümü

Hemolizatta katalaz (KAT) seviyesi ölçümü Bioassay Catalase Elisa Kit (Bioassay E0869Ra) protokolü doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Bu protokolde aşağıdaki basamaklar sırasıyla uygulanmıştır:

- Standart solüsyonlar 10, 20, 40, 80, 160 ve 320 ng/mol olacak şekilde 320 ng/ml'lik stok solüsyondan seri dilüsyon ile hazırlandı.
- Hazırlanan standart solüsyonlar 50 µl hacimle dublike olarak Elisa kuyucuklarına ilave edildi.
- Diğer kuyucuklara 40 µl hemolizat eklendi.
- Örneklerin bulunduğu kuyucuklara 10 µl anti-CAT antikoru ilave edildi.
- Standart ve örneklerin yer aldığı kuyucuklara 50 µl streptavidin-HRP eklendi.
- Plate karıştırılıp, üzeri kapatıldı.  $37^{\circ}\text{C}$ 'de 1 saat süreyle inkübe edildi.
- İnkübasyon bitiminde yıkama solüsyonuyla kuyucuklar 5 kez yıkandı.
- Yıkama işleminin ardından kuyucuklarının hepsine 50 µl A substrat solüsyonu ve 50 µl B substrat solüsyonu ilave edildi.
- Plate kapatılarak 10 dakika süreyle,  $37^{\circ}\text{C}$ 'de, karanlık ortamda bekletildi.

- 50 µl Durdurma solüsyonu tüm kuyucuklara eklendi ve rengin maviden sarı renge değiştiği gözlemlendi.
- Elisa okuyucusunda optik yoğunluk (OD) 450 nm'de 10 dakika içinde okundu.
- Absorbans değerler ile blank değeri çıkarıldı.
- Standartların optik yoğunluğu ve konsantrasyonları kullanılıp, standart grafikleri çizildi. Diğer örneklerin konsantrasyonları bu grafiğe göre belirlendi.

### 3.6.2. Superoksit Dismutaz (SOD) seviyesinin ölçümü

Hemolizatta superoksit dismutaz (SOD) seviyesi belirlenirken Bioassay Rat Super Oxidase Dismutase Elisa Kit (Bioassay E0168Ra) protokolü uygulanmıştır. Protokolde aşağıdaki basamaklar sırasıyla uygulanmıştır:

- Standart solüsyon miktarları 0.75, 1.5, 3, 6, 12 ve 24 ng/ml olacak şekilde stok solüsyondan seri dilüsyonlar ile hazırlandı.
- Hazırlanan standart solüsyonlar 50 µl hacimle dublike olarak Elisa kuyucuklarına konuldu.
- Diğer kuyucuklara 40 µl hemolizat eklendi.
- Örneklerin bulunduğu kuyucuklara 10 µl anti-SOD antikoru ilave edildi.
- Standart ve örneklerin yer aldığı kuyucuklara 50 µl streptavidin-horseradish peroksidaz (HRP) eklendi.
- Plate karıştırılıp üzeri kapatıldı ve 1 saat süreyle 37<sup>0</sup> C'de inkübe edildi.
- İnkübasyon işleminden sonra yıkama solüsyonuyla kuyucuklar 5 kez yıkandı.
- Yıkama işleminden sonra kuyucukların her birine 50 µl A substrat solüsyonu ve 50 µl B substrat solüsyonu ilave edildi.
- Plate kapatılıp, 37<sup>0</sup> C'de karanlıkta 10 dakika süreyle tutuldu.
- 50 µl Durdurma solüsyonu tüm kuyucuklara eklendi ve rengin maviden sarı renge değiştiği gözlemlendi.
- Elisa okuyucusunda optik yoğunluk (OD) 450 nm'de 10 dakika içinde okundu
- Absorbans değerler ile blank değeri çıkarıldı.
- Standartların optik yoğunluğu ve konsantrasyonları kullanılıp, standart grafikleri çizildi. Diğer örneklerin konsantrasyonları bu grafiğe göre belirlendi.



### 3.6.3. Malondialdehit (MDA) seviyesinin ölçümü

Hemolizatta malondialdehit (MDA) seviyesi ölçümü Bioassay Rat MDA Elisa Kit (Bioassay E0156Ra) protokolüne uygun yapılmıştır. Protokolde aşağıdaki basamaklar sırasıyla uygulanmıştır:

- Standart solüsyon miktarları 0.4, 0.8, 1.6, 3.2, 6.4 ve 12.8 nmol/ml olacak şekilde 12.8 nmol/ml'lik stok solüsyondanseri dilüsyon ile hazırlandı.
- Hazırlanan standart solüsyonlar 50 µl hacimle dublike olarak Elisa kuyucuklarına konuldu.
- Diğer kuyucuklara 40 µl hemolizat eklendi.
- Örneklerin bulunduğu kuyucuklara 10 µl anti- MDA antikoru ilave edildi.
- Standart ve örneklerin yer aldığı kuyucuklara 50 µl streptavidin-HRP eklendi.
- Plate karıştırılıp üzeri kapatıldı ve 1 saat süreyle 37<sup>0</sup> C'de inkübe edildi.
- İnkübasyon işleminden sonra yıkama solüsyonuyla kuyucuklar 5 kez yıkandı.
- Yıkama işleminden sonra kuyucukların her birine 50 µl A substrat solüsyonu ve 50 µl B substrat solüyonu ilave edildi.
- Plate kapatılıp, 37<sup>0</sup> C'de karanlıkta 10 dakika süreyle tutuldu.
- 50 µl Durdurma solüsyonu tüm kuyucuklara eklendi ve rengin maviden sarı renge değiştiği gözlemlendi.
- Elisa okuyucusunda optik yoğunluk (OD) 450 nm'de 10 dakika içinde okundu
- Absorbans değerler ile blank değeri çıkarıldı.
- Standartların optik yoğunluğu ve konsantrasyonları kullanılıp, standart grafikleri çizildi. Diğer örneklerin konsantrasyonları bu grafiğe göre belirlendi.

### 3.6.4. Toplam protein ölçümü

Toplam protein miktarı ölçümünde YL biont (cat no: YLA1544RA) protokolü uygulanmıştır. Sırasıyla aşağıdaki basamaklar gerçekleştirilmiştir:

- Standart solüsyonlar 62.5, 125, 250, 500, 1000 ve 2000 µg/ml olacak şekilde 2000 µg/ml'lik stok solüsyondan seri dilüsyonla hazırlandı.
- Standart solüsyonlar 50 µl hacimle dublike olarak Elisa kuyucuklarına konuldu.
- Kan örnekleri diğer kuyucuklara 40 µl miktarında eklendi.
- Örnek kuyucuklarına 10 µl TP antikoru ilave edildi.
- Standart ve örneklerin yer aldığı kuyucuklara 50 µl streptavidin-HRP eklendi.
- Plate karıştırılıp üzeri kapatıldı ve 1 saat süreyle 37<sup>0</sup> C'de inkübe edildi.
- İnkübasyon işleminden sonra yıkama solüsyonuyla kuyucuklar 5 kez yıkandı.
- Yıkama işleminden sonra kuyucukların her birine 50 µl A substrat solüsyonu ve 50 µl B substrat solüsyonu ilave edildi.
- Plate kapatılıp, 37<sup>0</sup> C'de karanlıkta 10 dakika süreyle tutuldu.
- 50 µl Durdurma solüsyonu tüm kuyucuklara eklendi ve rengin maviden sarı renge değiştiği gözlemlendi.
- Elisa okuyucusunda optik yoğunluk (OD) 450 nm'de 10 dakika içinde okundu.
- Absorbans değerler ile blank değeri çıkarıldı.
- Standartların optik yoğunluğu ve konsantrasyonları kullanılıp, standart grafikleri çizildi. Diğer örneklerin konsantrasyonları bu grafiğe göre belirlendi.

### 3.7. Histolojik Yöntem

Işık mikroskop altında testis dokusunu histopatolojik değerlendirmek için tespit solusyonu olarak Bouin solüsyonu tercih edildi. Cerrahi işlem sonrasında alınan testis dokusu fiksasyon amacıyla Bouin solüsyonuna konuldu ve daha sonra gerekli takip işlemleri uygulandı. Dokular parafin bloklara yerleştirilerek bloklandı. Parafine gömülmüş bloklardan 5 µm kalınlıkta kesitler alındı. Alınan örnekler preparat haline getirildi. Histopatolojik işlem için Hematoksilen-Eosin (HE) boya prosedürü uygulandı. Işık mikroskop Olympus BH-2 ile değerlendirilen preparatlardan Olympus DP-70 digital kamera ile fotoğraflar alındı.

#### 3.7.1. Bouin Tespit Solüsyonu

Bouin çözeltisi hazırlamak için ilk başta 12,2 gr pikrik asit 1000 ml distile suda çözdürülerek doymuş pikrik asit çözeltisi elde edildi. Bu çözelti iyice çözünmesi için sallanarak çalkalandı. Daha sonra bu çözelti süzüldü ve sırasıyla 15:5:1 oranlarında pikrik asit çözeltisi, formaldehit (%37) ve glasiyal asetik asit ile karıştırıldı.

Testisler Bouin çözeltisinde daha iyi fikse olmaları için, çözeltiye alınmadan önce testislere birkaç delik açıldı. Testisler Bouin solüsyonunda bir gün bekletildikten sonra, testisler uzun eksenlerine dik olacak şekilde kesildi. Solüsyonda bir gün daha bekletildi. Testisler etiketlenip kasetlere alındı ve klasik doku takibi işlemleri sonrası parafin bloklar hazırlandı (Tablo 3. 2)

**Tablo 3. 2.** Testis dokusu takip prosedürü

| <b>Kullanılan Kimyasallar</b> | <b>Uygulama Süresi</b> |
|-------------------------------|------------------------|
| Bouin Solüsyonu               | 48 saat                |
| %50'lik Alkol                 | Birkaç defa çalkalandı |
| %70'lik Alkol                 | 1 saat                 |
| %80'lik Alkol                 | 1 saat                 |
| %90'lık Alkol                 | 1 saat                 |
| %96'lık Alkol I               | 1 saat                 |
| %96'lık Alkol II              | 1 saat                 |
| %100 Alkol                    | 10 dakika              |
| Ksilol I                      | 20 dakika              |
| Ksilol II                     | 20 dakika              |
| Parafin+ Ksilol               | 30 dakika              |
| Parafin I                     | 1 saat                 |
| Parafin II                    | 1 saat                 |
| Parafin III                   | 1 saat 20 dakika       |
| Bloklama                      |                        |

### 3.7.2. Hematoksilen-Eozin Boyama Prosedürü

Bu boyama işlemi neticesinde testis dokusunun çekirdeği Hematoksilen ile mavi renkle boyanırken, hücre sitoplazması ve bağ dokusu Eozinle pembe-kırmızı renkle boyanmıştır (Tablo 3. 3)

**Tablo 3. 3.** Hematoksilen-Eozin boyama prosedürü

| Kimyasal madde       | Uygulama süresi |
|----------------------|-----------------|
| Ksilol I             | 20 dakika       |
| Ksilol II            | 20 dakika       |
| %96'lık alkol I      | 5 dakika        |
| %96'lık alkol II     | 5 dakika        |
| %90'lık alkol        | 5 dakika        |
| %80'lik alkol        | 5 dakika        |
| %70'lik alkol        | 5 dakika        |
| Distile su           | 5 dakika        |
| Hematoksilen         | 1 dakika        |
| Çeşme suyunda yıkama | 5 dakika        |
| Eozin                | 5 dakika        |
| %70'lik alkol        | 2 dakika        |
| %80'lik alkol        | 2 dakika        |
| %90'lık alkol        | 2 dakika        |
| %96'lık alkol I      | 2 dakika        |
| %96'lık alkol II     | 2 dakika        |
| Ksilol I             | 20 dakika       |
| Ksilol II            | 20 dakika       |
| Lamların kapatılması |                 |

### 3.8. İstatiksel Analiz

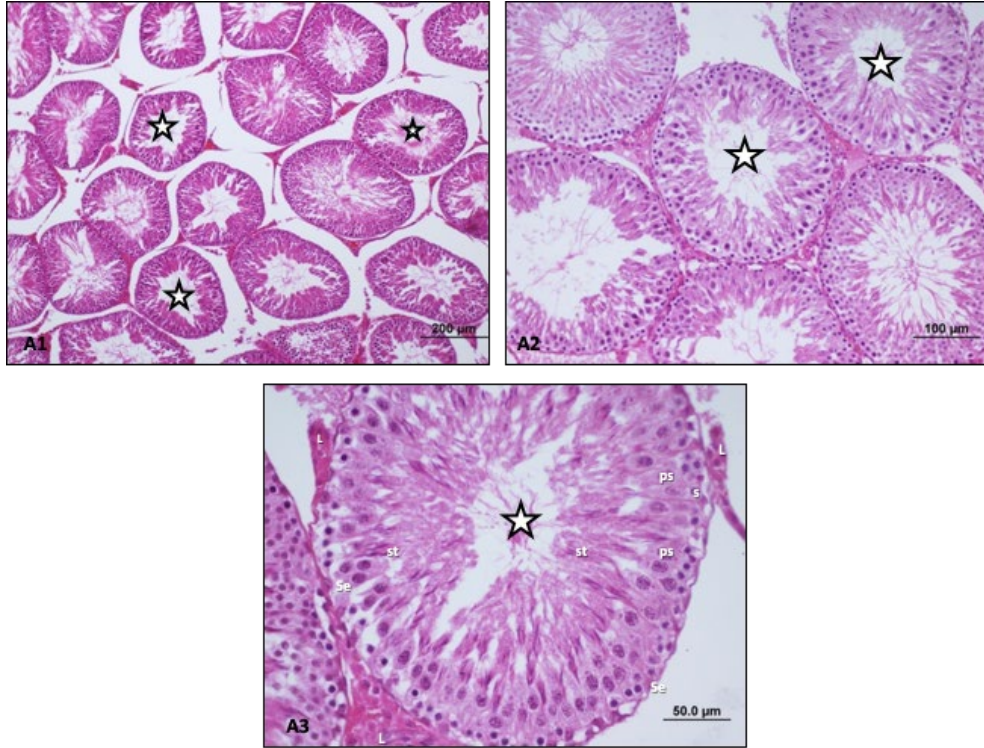
Çalışma sonunda elde edilen veriler, istatistiksel olarak IBM SPSS Statistics 21 programında incelendi. Gruplar arasındaki istatistiksel farkın normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk ve Kolmogorov- Smirnov testleriyle incelendi. Normal dağılım gösteren değişkenler ile gruplar arasında karşılaştırmaları tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulandı. Normal dağılım gösteren değişkenler Kruskal-Wallis testi ile incelendi.

Elde edilen verilere ait tanımlayıcı istatistikler ortalama  $\pm$  sapma olarak belirtildi. Tüm analizler SPSS, SigmaStat ve MINITAB paket programları ile yapıldı. Tüm incelemelerin anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Histopatolojik Bulgular

Testis dokusu Hematoksilen-Eozin ile boyanarak testis dokusu histopatolojik incelemesinde, kontrol grubuna ait sıçan testislerinde normal morfolojiye sahip seminifer tübül yapıları, tübül duvarındaki spermatogenik hücreler ile birçok tübülde devam eden spermatogenez görülmektedir. İntersitisyel alan ve Leydig hücreleri normal yapıda görülmektedir (Şekil 4. 1). Kontrol grubu sıçanlara ait testis histolojik hasar skorlaması Tablo 4.1’de verilmiştir.



**Şekil 4. 1.** Kontrol grubuna ait sıçanların testislerinin farklı büyütmelelerde çekilmiş ışık mikroskopik görüntüleri (A1-A3). Kontrol grubuna ait sıçan testislerinde normal morfolojiye sahip seminifer tübül yapıları (☆), tübül duvarındaki spermatogenik hücreler ile birçok tübülde devam eden spermatogenez görülmektedir. İntersitisyel alan ve Leydig hücreleri (L) normal yapıda görülmektedir. (Bar<sub>A1</sub>: 200µm, Bar<sub>A2</sub>: 100µm, Bar<sub>A3</sub>: 50µm) Se: Sertoli hücresi, s: spermatogonyum, ps: primer spermatosit, st: spermatid

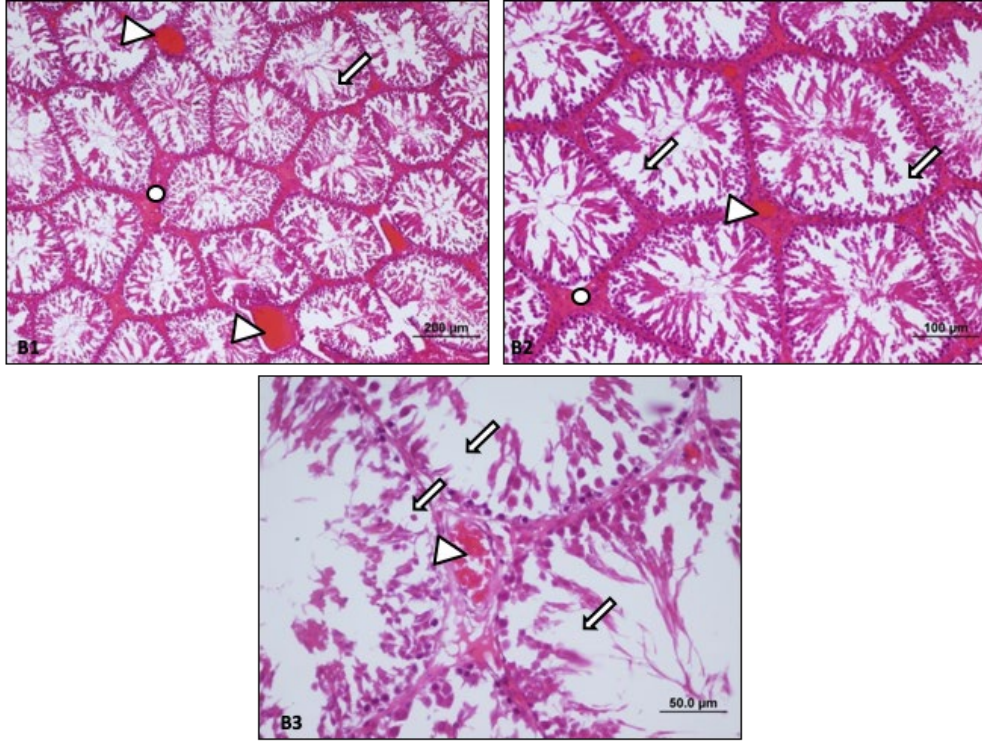
**Tablo 4. 1.** Kontrol grubu sıçanların testis dokusu histolojik hasar skorlaması.

| <b>GRUP</b>      | <b>Bazal membran ayrışması</b> | <b>Tübüler hasar ve hücrel kayıplar</b> | <b>Tübüler atrofi</b> | <b>Vasküler konjesyon</b> | <b>İnterstisyel alanda eozinofilik sıvı birikimi</b> |
|------------------|--------------------------------|---|-----------------------|---------------------------|--|
| <b>Kontrol 1</b> | 0                              | 0                                       | 0                     | 0                         | 0  |
| <b>Kontrol 2</b> | 0                              | 0                                       | 0                     | 0                         | 0  |
| <b>Kontrol 3</b> | 0                              | 0                                       | 0                     | 0                         | 0  |
| <b>Kontrol 4</b> | 0                              | 0                                       | 0                     | 0                         | 0  |
| <b>Kontrol 5</b> | 0                              | 0                                       | 0                     | 0                         | 0  |
| <b>Kontrol 6</b> | 0                              | 0                                       | 0                     | 0                         | 0  |
| <b>Kontrol 7</b> | 0                              | 0                                       | 0                     | 0                         | 0  |
| <b>Kontrol 8</b> | 0                              | 0                                       | 0                     | 0                         | 0  |

Skorlamada; 0: Hasar yok, 1: Az hasar, 2: Orta hasar, 3: Yoğun hasar olarak skorlanmıştır.

İskemi grubuna ait testis dokularında, tübüler hasar ve tübül duvarında hücrel kayıplar ile interstisyel alanda vasküler konjesyon ve eozinofilik sıvı birikimi gözlenmektedir (Şekil 4. 2). İskemi grubunda yer alan sıçanların testis histolojik hasar skorlaması Tablo 4. 2’da verilmiştir.





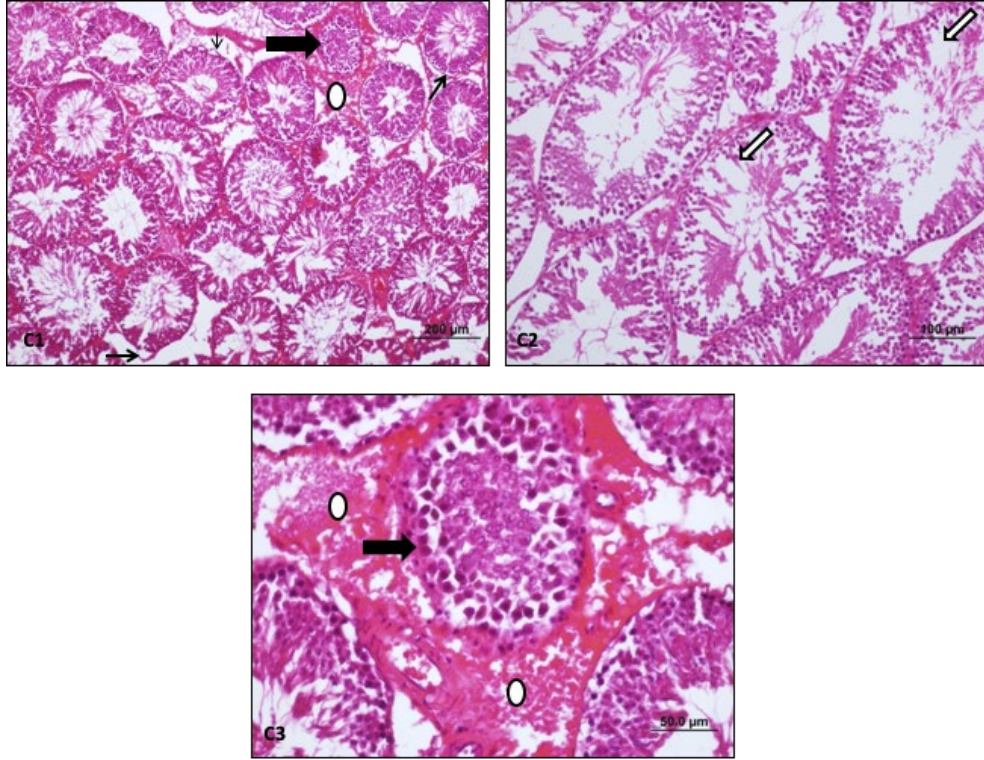
**Şekil 4. 2.** İskemi grubuna ait sıçanların testislerinin farklı büyütmelerde çekilmiş ışık mikroskopik görüntüleri (B1-B3). İskemi grubuna ait testis dokularında, tübüler hasar ve tübül duvarında hücresel kayıplar (⇐) ile interstisyel alanda vasküler konjesyon (▷) ve eozinofilik sıvı birikimi (○) gözlenmektedir. (Bar<sub>B1</sub>: 200µm, Bar<sub>B2</sub>: 100µm, Bar<sub>B3</sub>: 50µm)

**Tablo 4. 2.** İskemi grubundaki sıçanların testis dokusu histolojik hasar skorlaması.

| <b>GRUP</b>     | <b>Bazal membran ayrışması</b> | <b>Tübüler hasar ve hücrel kayıplar</b> | <b>Tübüler atrofi</b> | <b>Vasküler konjesyon</b> | <b>İnterstisyel alanda eozinofilik sıvı birikimi</b> |
|-----------------|--------------------------------|---|-----------------------|---------------------------|--|
| <b>İskemi 1</b> | 0                              | 3                                       | 2                     | 3                         | 3  |
| <b>İskemi 2</b> | 0                              | 3                                       | 2                     | 3                         | 3  |
| <b>İskemi 3</b> | 0                              | 2                                       | 2                     | 3                         | 3  |
| <b>İskemi 4</b> | 0                              | 3                                       | 3                     | 3                         | 3  |
| <b>İskemi 5</b> | 0                              | 2                                       | 2                     | 3                         | 2  |
| <b>İskemi 6</b> | 0                              | 3                                       | 2                     | 3                         | 3  |
| <b>İskemi 7</b> | 0                              | 3                                       | 3                     | 3                         | 3  |
| <b>İskemi 8</b> | 0                              | 3                                       | 3                     | 2                         | 3  |

Skorlamada; 0: Hasar yok, 1: Az hasar, 2: Orta hasar, 3: Yoğun hasar olarak skorlanmıştır.

İskemi-reperfüzyon grubuna ait testis dokusunda atrofik tübül yapıları ve tübül duvarında hücresel kayıplar, tübül duvarından bazal membran ayrışması ile intertisyel alanda eozinofilik sıvı birikimi gözlenmektedir (Şekil 4. 3). İskemi-reperfüzyon grubuna ait testis dokusu histolojik hasar skorlaması Tablo 4. 3’de verilmiştir.



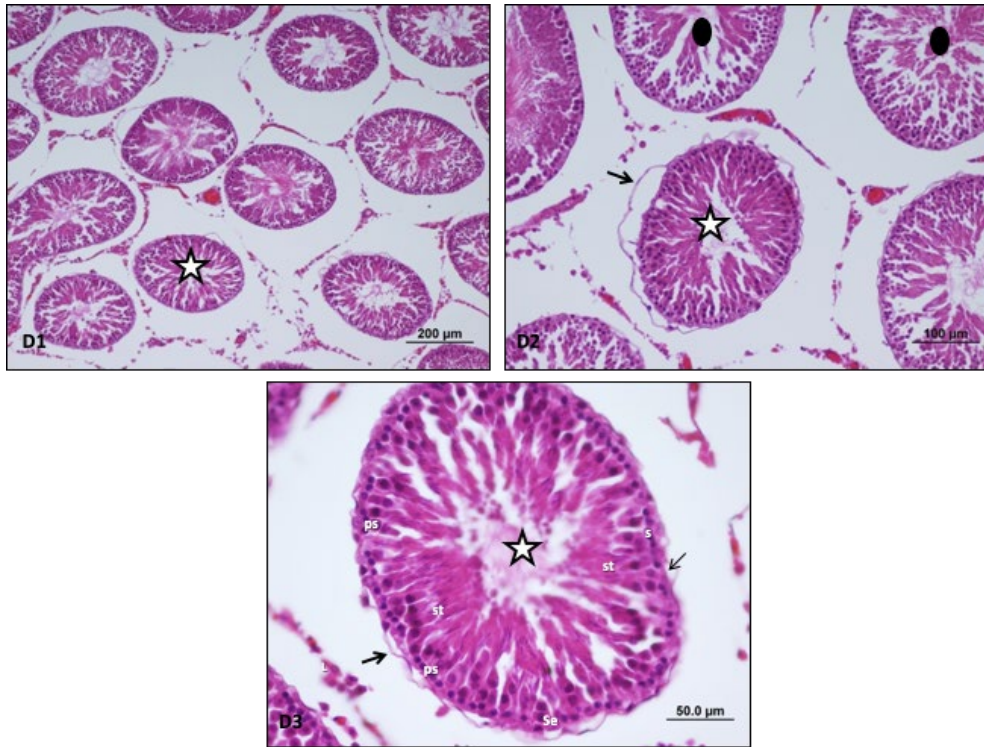
**Şekil 4. 3.** İskemi/reperfüzyon grubundaki sıçanların testislerinin farklı büyütmelelerde çekilmiş ışık mikroskopik görüntüleri (C1-C3). İskemi-reperfüzyon grubuna ait testis dokusunda atrofik tübül yapıları (→), ve tübül duvarında hücresel kayıplar (⇨), tübül duvarından bazal membran ayrışması (→) ile intertisyel alanda eozinofilik sıvı birikimi (○) gözlenmektedir. (Bar<sub>C1</sub>: 200µm, Bar<sub>C2</sub>: 100µm, Bar<sub>C3</sub>: 50µm).

**Tablo 4. 3.** İskemi/Reperfüzyon grubundaki sıçanların testis doku hasarına dair histolojik hasar skorlaması.

| <b>GRUP</b>  | <b>Bazal membran ayrışması</b> | <b>Tübüler hasar ve hücrel kayıplar</b> | <b>Tübüler atrofi</b> | <b>Vasküler konjesyon</b> | <b>İnterstisyel alanda eozinofilik sıvı birikimi</b> |
|--------------|--------------------------------|---|-----------------------|---------------------------|--|
| <b>İ/R 1</b> | 2                              | 2                                       | 2                     | 2                         | 3  |
| <b>İ/R 2</b> | 3                              | 3                                       | 2                     | 3                         | 3  |
| <b>İ/R 3</b> | 3                              | 2                                       | 2                     | 2                         | 3  |
| <b>İ/R 4</b> | 3                              | 3                                       | 3                     | 3                         | 3  |
| <b>İ/R 5</b> | 3                              | 2                                       | 2                     | 2                         | 3  |
| <b>İ/R 6</b> | 3                              | 3                                       | 2                     | 2                         | 3  |
| <b>İ/R 7</b> | 3                              | 2                                       | 2                     | 2                         | 3  |
| <b>İ/R 8</b> | 3                              | 3                                       | 3                     | 2                         | 3  |

Skorlamada; 0: Hasar yok, 1: Az hasar, 2: Orta hasar, 3: Yoğun hasar olarak skorlanmıştır.

İskemi/Reperfüzyon+Nimodipine grubuna ait sıçan testislerinde birkaç tübülde hasar ve bazal membran ayrışması devam etmektedir. Doku genelinde iskemi ve iskemi/reperfüzyon grubuna oranla azalmış hasar ve normale yakın yapıdaki seminifer tübüller ve tübül duvarındaki spermatogenez görülmektedir (Şekil 4. 4). İskemi/Reperfüzyon+Nimodipine grubunun testis histolojik hasar skorlaması Tablo 4. 4’de verilmiştir.



**Şekil 4. 4.** İskemi/Reperfüzyon+Nimodipine grubunu oluşturan sıçanların testislerinin farklı büyütme oranlarında çekilmiş ışık mikroskopik görüntüleri (D1-D3). İskemi/Reperfüzyon+Nimodipine grubuna ait sıçan testislerinde birkaç tübülde hasar (●) ve bazal membran ayrışması (→) devam etmekte beraber doku genelinde iskemi ve iskemi/reperfüzyon grubuna oranla azalmış hasar ve normale yakın yapıdaki seminifer tübüller (☆) ve tübül duvarındaki spermatogenez görülmektedir. (Bar<sub>D1</sub>: 200µm, Bar<sub>D2</sub>: 100µm, Bar<sub>D3</sub>: 50µm). Se: Sertoli hücresi, s: spermatogonyum, ps: primer spermatosit, st: spermatid.

**Tablo 4. 4.** İskemi/Reperfüzyon + Nimodipine uygulanan gruptaki sıçanların testis doku hasarına dair histolojik hasar skorlaması.

| <b>GRUP</b>      | <b>Bazal membran ayrışması</b> | <b>Tübüler hasar ve hücrel kayıplar</b> | <b>Tübüler atrofi</b> | <b>Vasküler konjesyon</b> | <b>İnterstisyel alanda eozinofilik sıvı birikimi</b> |
|------------------|--------------------------------|---|-----------------------|---------------------------|--|
| <b>İ/R+Nim 1</b> | 1                              | 2                                       | 0                     | 0                         | 0  |
| <b>İ/R+Nim 2</b> | 2                              | 2                                       | 0                     | 0                         | 0  |
| <b>İ/R+Nim 3</b> | 1                              | 2                                       | 0                     | 0                         | 0  |
| <b>İ/R+Nim 4</b> | 1                              | 1                                       | 0                     | 0                         | 0  |
| <b>İ/R+Nim 5</b> | 1                              | 1                                       | 0                     | 0                         | 0  |
| <b>İ/R+Nim 6</b> | 2                              | 2                                       | 0                     | 0                         | 0  |
| <b>İ/R+Nim 7</b> | 1                              | 1                                       | 0                     | 0                         | 0  |
| <b>İ/R+Nim 8</b> | 1                              | 2                                       | 0                     | 0                         | 0  |

Skorlamada; 0: Hasar yok, 1: Az hasar, 2: Orta hasar, 3: Yoğun hasar olarak skorlanmıştır.

## 4.2. Biyokimyasal Sonuçlar

### 4.2.1. Hemolizatta Malondialdehit (MDA) düzeyi

MDA düzeyi açısından, Kontrol grubu ( $2,454 \pm 0,461$ ) ile İskemi/Reperfüzyon +Nimodipine grubu ( $2,748 \pm 0,353$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ) (Şekil 4. 5, Tablo 4.5).

İskemi grubu ( $4,341 \pm 0,353$ ) ile kontrol grubu ( $2,454 \pm 0,461$ ) MDA düzeyleri açısından karşılaştırıldığında daha fazla tespit edilmiş olup, istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı fark gözlenmiştir ( $p < 0.001$ ).

İskemi/Reperfüzyon grubu ( $3,420 \pm 0,212$ ) kontrol grubu ( $2,454 \pm 0,461$ ) ile MDA düzeyleri açısından karşılaştırıldığında, ileri düzeylerinde artış gözlenmiş olup, istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ( $p < 0.001$ ). İskemi grubunda ( $4,341 \pm 0,353$ ) ise İskemi/Reperfüzyon grubuna ( $3,420 \pm 0,212$ ) göre MDA düzeylerinde artış daha fazla olup; istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p < 0.001$ ).

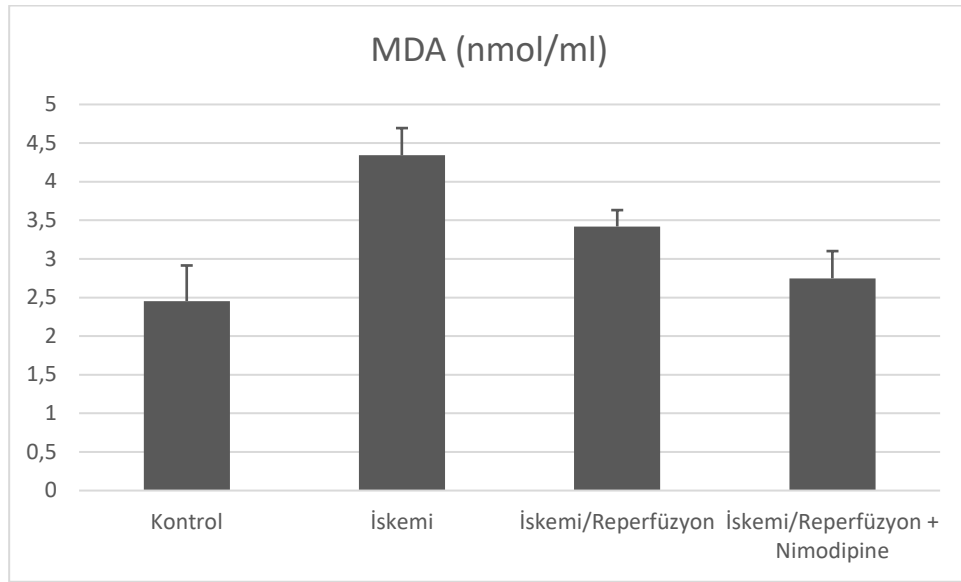
**Tablo 4. 5.** Kontrol ve deney gruplarından hemolizatta Malondialdehit düzeyi (mmol/mg protein)

| GRUPLAR                         | Grup No | N | MDA (nmol/ml)     |
|---------------------------------|---------|---|-------------------|
| Kontrol                         | G1      | 8 | $2,454 \pm 0,461$ |
| İskemi                          | G2      | 8 | $4,341 \pm 0,353$ |
| İskemi/Reperfüzyon              | G3      | 8 | $3,420 \pm 0,212$ |
| İskemi/Reperfüzyon + Nimodipine | G4      | 8 | $2,748 \pm 0,353$ |

Tüm veriler ortalama $\pm$ SD olarak ifade edildi. N: Gruptaki hayvan sayısı.

İskemi/Reperfüzyon + Nimodipine grubu ( $2,748 \pm 0,353$ ) ile İskemi grubu ( $4,341 \pm 0,353$ ) MDA düzeyleri açısından karşılaştırıldığında, iskemi grubunda MDA düzeyleri daha fazla saptanmış olup, istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ( $p < 0.001$ ).

İskemi/Reperfüzyon + Nimodipine grubu ( $2,748 \pm 0,353$ ) ile İskemi/Reperfüzyon grubu ( $3,420 \pm 0,212$ ) MDA düzeyleri açısından karşılaştırıldığında, nimodipine uygulanan grupta kontrol grubuna yakın düzeyler tespit edilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ( $p < 0.01$ ).



**Şekil 4.5.** Kontrol ve deney gruplarının ortalama MDA değerleri

Veriler ortalama $\pm$ SD olarak ifade edilmiştir.



#### 4.2.2. Hemolizatta Superoksit Dismutaz (SOD) düzeyi

SOD düzeyleri incelendiğinde, Kontrol grubu ( $8,648\pm 0,984$ ) ile İskemi/Reperfüzyon +Nimodipine grubu ( $7,921\pm 0,404$ ) arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ). Kontrol grubu ( $8,648\pm 0,984$ ) ile İskemi grubu ( $3,474\pm 0,464$ ) ve İskemi/Reperfüzyon grupları ( $5,869\pm 0,439$ ) arasında ileri düzeyde artış ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ) (Şekil 4. 6, Tablo 4.6)

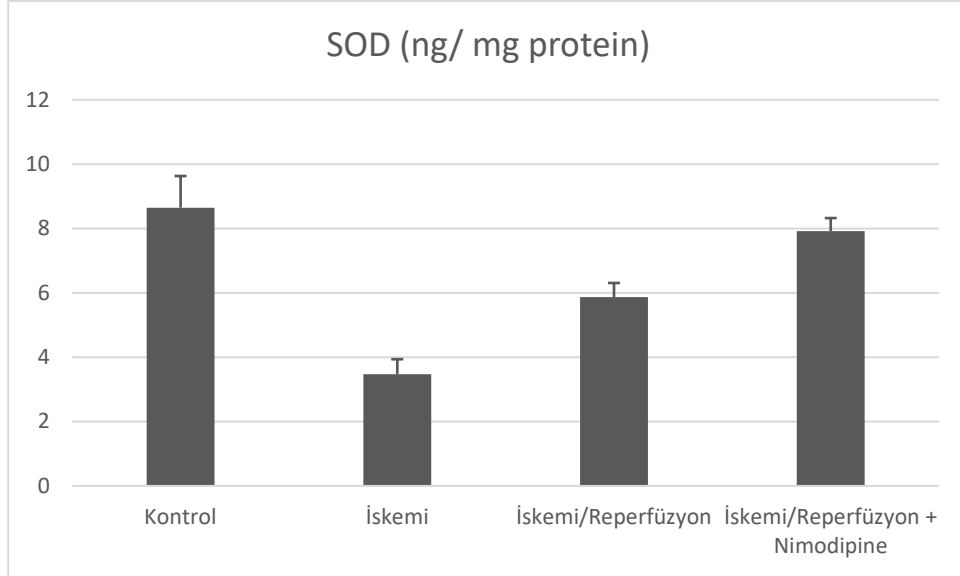
**Tablo 4. 6.** Kontrol ve deney gruplarından hemolizatta Süperoksit Dismutaz (SOD) düzeyi (ng/ mg protein)

| GRUPLAR                         | Grup No | N | SOD (ng/ mg protein) |
|---------------------------------|---------|---|----------------------|
| Kontrol                         | G1      | 8 | $8,648\pm 0,984$     |
| İskemi                          | G2      | 8 | $3,474\pm 0,464$     |
| İskemi/Reperfüzyon              | G3      | 8 | $5,689\pm 0,439$     |
| İskemi/Reperfüzyon + Nimodipine | G4      | 8 | $7,921\pm 0,404$     |

Tüm veriler ortalama $\pm$ SD olarak ifade edildi. N: Gruptaki hayvan sayısı.

İskemi/Reperfüzyon grubunda ( $5,869\pm 0,439$ ) SOD değeri İskemi grubuna ( $3,474\pm 0,464$ ) göre daha az saptanmış olup, bu iki grup istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). İskemi/Reperfüzyon + Nimodipine grubunda ( $7,921\pm 0,404$ ) İskemi grubu ( $3,474\pm 0,464$ ) göre, SOD değeri daha fazla artmış, kontrol değerlerine daha yakın izlenmiştir ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p<0.001$ ).

İskemi/Reperfüzyon + Nimodipine grubu ( $7,921\pm 0,404$ ) ile İskemi/Reperfüzyon grubu ( $5,869\pm 0,439$ ) arasında SOD değerleri karşılaştırıldığında, ileri düzeyde artış görülmüş olup istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ).



**Şekil 4. 6.** Kontrol ve deney gruplarının ortalama SOD değerleri  
Veriler ortalama±SD olarak ifade edilmiştir.

#### 4.2.3. Hemolizatta Katalaz (KAT) düzeyi

Katalaz düzeyi açısından, Kontrol grubu ( $89,931 \pm 9,046$ ) ile İskemi/Reperfüzyon + Nimodipine grubu ( $81,799 \pm 12,587$ ) arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ( $p > 0.05$ ). Kontrol grubu ( $89,931 \pm 9,046$ ) ile İskemi grubu ( $50,584 \pm 5,743$ ) karşılaştırıldığında, ileri düzeyde azalış görülmüş olup istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ( $p < 0.001$ ) (Şekil 4. 7, Tablo 4.7).

**Tablo 4. 7.** Kontrol ve deney gruplarından hemolizatta Katalaz düzeyi  
(ng/mg protein)

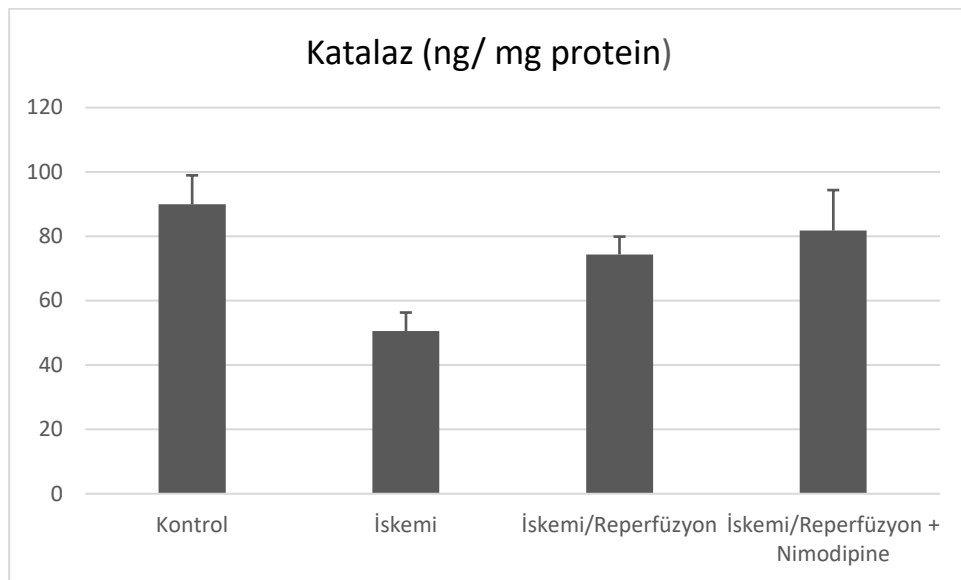
| GRUPLAR                         | Grup No | N | Katalaz (ng/mg protein) |
|---------------------------------|---------|---|-------------------------|
| Kontrol                         | G1      | 8 | $89,931 \pm 9,046$      |
| İskemi                          | G2      | 8 | $50,584 \pm 5,743$      |
| İskemi/Reperfüzyon              | G3      | 8 | $74,379 \pm 5,546$      |
| İskemi/Reperfüzyon + Nimodipine | G4      | 8 | $81,799 \pm 12,587$     |

Tüm veriler ortalama±SD olarak ifade edildi. N: Gruptaki hayvan sayısı.

İskemi/Reperfüzyon grubu ( $74,379 \pm 5,546$ ) ile İskemi grubu ( $50,584 \pm 5,743$ ) katalaz değerleri açısından karşılaştırıldığında; reperfüzyon uygulanan grupta daha yüksek saptanmış olup istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ( $p < 0.001$ ). İskemi/Reperfüzyon + Nimodipine grubu ( $81,799 \pm 12,587$ ) ile İskemi grubu ( $50,584 \pm 5,743$ ) katalaz düzeyleri açısından karşılaştırıldığında, iskemi grubunda daha düşük tespit edilmiş olup istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ( $p < 0.001$ ).

İskemi/Reperfüzyon grubu ( $74,379 \pm 5,546$ ) ile Kontrol grubu ( $89,931 \pm 9,046$ ) katalaz değerleri açısından incelendiğinde, reperfüzyon uygulanan grupta daha düşük tespit edilmiş olup istatistiksel fark gözlenmiştir ( $p < 0.01$ ).

İskemi/Reperfüzyon grubu ( $74,379 \pm 5,546$ ) ile İskemi/Reperfüzyon + Nimodipine grubu ( $81,799 \pm 12,587$ ) arasındaki katalaz düzeylerine değerlendirildiğinde, nimodipine enjeksiyonu yapılan gruptaki değerlerin kontrol grubuna daha yakın olduğu, İskemi /reperfüzyon grubuna göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Fakat bu iki grup istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ).



**Şekil 4.7.** Kontrol ve deney gruplarının ortalama Katalaz değerleri

Veriler ortalama $\pm$ SD olarak ifade edilmiştir.

Biyokimyasal değerlendirmeler sonucunda lipid peroksidasyonu belirteçlerinden olan SOD, MDA ve KAT düzeyleri değerlendirilmiştir (Tablo 4. 8)

**Tablo 4. 8.** Deney gruplarından elde edilen MDA, SOD, KAT değerleri ve gruplar arası istatistiksel karşılaştırılması.

| Grup                           | Grup No      | MDA (nmol/ml) | SOD (ng/mg protein) | Katalaz (ng/mg protein) |
|--------------------------------|--------------|---------------|---------------------|-------------------------|
| Kontrol                        | G1           | 2,454±0,461   | 8,648 ± 0,984       | 89,931 ± 9,046          |
| İskemi                         | G2           | 4,341±0,353   | 3,474 ± 0,464       | 50,584 ± 5,743          |
| İskemi/Reperfüzyon             | G3           | 3,420±0,212   | 5,869 ± 0,439       | 74,379 ± 5,546          |
| İskemi/Reperfüzyon +Nimodipine | G4           | 2,748±0,353   | 7,921 ± 0,404       | 81,799 ± 12,587         |
| Gruplar arası p değeri         | <b>G1-G2</b> | < 0,001       | < 0,001             | < 0,001                 |
|                                | <b>G1-G3</b> | < 0,001       | < 0,001             | 0,007                   |
|                                | <b>G1-G4</b> | 0,368         | 0,113               | 0,265                   |
|                                | <b>G2-G3</b> | < 0,001       | < 0,001             | < 0,001                 |
|                                | <b>G2-G4</b> | < 0,001       | < 0,001             | < 0,001                 |
|                                | <b>G3-G4</b> | 0,004         | < 0,001             | 0,342                   |

İstatistiksel analizde tüm veriler ortalama±SD olarak ifade edildi. Gruplar arasındaki farklılıklar, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ardından Post Hoc karşılaştırma testi ile değerlendirildi. Anlamlılık, p <0.05, p <0.01 ve p <0.001 olarak test edildi.

## 5. TARTIŞMA

Testis torsiyonu, spermatik kord ve içinde bulunan anatomik yapıların kendi eksenleri etrafında dönüşleri neticesinde meydana gelen ürolojik bir acildir. Bu klinik tablo sıklıkla yenidoğan ve adolesan dönemde karşımıza çıksa da her yaş grubunda da testis torsiyonu görülebilir.

Testiste torsiyona bağlı oluşan iskemi ile detorsiyon sonrası oluşan reperfüzyon testis dokusunda hasara neden olmaktadır [121]. Uzun süren iskemiye bağlı testiste atrofi ve ilerleyen aşamalarda infertilite görülebilmektedir. Noseworthy ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada torsiyone testis dokusuna ilk 6 saat içerisinde müdahale edilmesi durumunda, iyileşme oranı %85-97 oranında saptanmıştır [122]. Prater ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir diğer çalışmada ise, ilk 12 saat içerisinde tedavi edilmeyen olgularda testis kaybıyla sonuçlanabileceği gösterilmiştir [123].

DeneySEL çalışmalar ve vaka sunumlarında testis torsiyonuna bağlı oluşan testiküler hasar, testisin dönme açısı ve torsiyonun başlangıcından itibaren geçen süreyle ilişkili olduğu gösterilmiştir [67]. Testislerin 720° döndürülmesi ile oluşturulan testis torsiyonunda, kan akımının tamamen kesildiği ve testiste iskemi meydana geldiği gösterilmiştir [57].

Turner rat testislerinde testis torsiyonu modeli araştırdığı çalışmada; testisleri 180°, 360° ve 720° olmak üzere farklı derecelerde testisleri döndürüp torsiyone etmiştir. Testislere 1, 2 ve 4 saat süren farklı iskemi süreleri sonrasında detorsiyon işlemi uygulanmıştır [124]. Testislerde 360° dönüş ve bir saatlik torsiyon uygulanmasının sadece akut vasküler değişikliklerle sonuçlandığı gözlenmiştir. Testislerin 720° dönüşüyle oluşturulan 4 saat süren torsiyonun tam iskemiyle sonuçlandığı saptanmıştır. Cosentino ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir diğer çalışmada; farklı sürelerde testiste iskemi oluşturup, histopatolojik sonuçları incelenmiştir [125]. 720° torsiyone edilip iskemi oluşturulan testislerde 2 saat sürenin sonunda, dokuda ciddi hasarların olduğu, nekroz meydana geldiği bildirilmiştir. Testiste iskemi/reperfüzyon hasarını gözlemlemek için yapılan çalışmalarda, torsiyone edilen sıçan testis dokusunda germinal ve tübüler epitelde geri dönüşümsüz hasar

oluşmaması için iskemi süresinin 4 saatten daha kısa tutulması gerektiği belirtilmiştir [126, 127].

Literatürde testis torsiyonu modellerinde birbirinden farklı iskemi ve reperfüzyon süreleri araştırılmıştır [17, 128-130]. Bu bilgiler ışığında literatüre uygun olacak şekilde, testisler saat yönün tersi yönde 720° torsiyone edildikten sonra iskeminin tam olarak sağlandığı 2 saat süreyle iskemi, sonrasında detorsiyone edilip 2 saat boyunca reperfüze edildi.

Çalışmamızda, Hematoksilen-Eozin ile boyanan testis kesitlerinin ışık mikroskopunda incelenmesi sonucu: iskemi/reperfüzyona bağlı olarak; iskemi grubunda tübül hasar ve tübül duvarında hücresel kayıpla beraber intertisyel alanda eozinofilik sıvı birikimi ve vasküler konjesyon gözlemlendi. İskemi/reperfüzyon grubunda ise atrofik tübül yapıları, tübül duvarında hücresel kayıplar ve intertisyel alanda eozinofilik sıvı birikimi görüldü. Bu histomorfolojik bulgular yaptığımız skorlama sonuçlarında da açıkça gözlemlendi.

Doğan ve arkadaşlarının nimodipine gibi bir kalsiyum kanal blokleri olan amlodipinin ratların testis dokusu üzerindeki iskemi reperfüzyon sonucu oluşan hasarı önlemedeki etkisini araştırdıkları bir çalışmada: iskemi ve iskemi/reperfüzyon gruplarında seminifer tübüllerde düzensizlik, intertisyel alanda ödem ve konjesyon gibi benzer bulgular gözlemlenmiştir [131].

Kabay ve arkadaşlarının nükleer faktör kappa B inhibitörü PDTC'nin testis torsiyon ve detorsiyon hasarına koruyucu etkilerini araştırdıkları çalışmada; iskemi grubunda şiddetli tübüller dejenerasyon, interstisyel alanda ödem ve eozinofilik sitoplazma gözlenmiş olup, bu verilerde çalışmamızın bulgularıyla paralellik göstermektedir [17]. Yine Şekerci ve arkadaşlarının çalışmasında da testis torsiyonu yapılan ratların testislerinde kontrol grubuna göre tübüllerde ciddi hasar, bazal membran ayrılması ve intertisyel alanda düzensizlikler görülmüştür [132]. Ratlarda deneysel testis iskemi reperfüzyon modelinde karvakolün etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada, iskemi reperfüzyon yapılan grupta interlobüler alanda konjesyon, ödem, seminifer tübül yapılarında bozulma ve germinal epitelde düzensizlik, dökülmeler görülmüş olup, çalışmamızla benzer veriler elde edilmiştir [133].

Çalışmamızda, iskemi/reperfüzyon'un ratların testis dokusu üzerindeki ortaya çıkardığı doku hasarı bulgulara ek olarak, apoptotik hücre sayısında artış, nekroz, bazal membranda kalınlaşma ve intertisyel alanda hyalinizasyon gibi bulgular da farklı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir [131, 134-136].

Nimodpine'in ratların testis dokusu üzerindeki iskemi reperfüzyon sonucu oluşan hasarı önlemedeki etkisini araştırdığımız çalışmamızda, histopatolojik bulguların biyokimyasal verilerle de desteklenmesi için, sıçanlardan intrakardiyak yöntemle almış olduğumuz kan numunelerinde bazı enzim analizleri de yapılmıştır.

Bu bağlamda, testis dokusundaki hasarı göstermek için ratların kanında, lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA), hücrede oksidatif strese bağlı artan hasar üzerine koruyucu etkili süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (KAT) enzimleri seviyeleri değerlendirildi [130, 137].

Çalışmamızda MDA düzeyleri hem iskemi, hem de iskemi/reperfüzyon gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı şekilde artış göstermiştir. İskemi/reperfüzyon grubunda MDA seviyesindeki yükselme bir miktar gerilese de, MDA düzeyi kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Bu da bize iskemi ve iskemi/reperfüzyon gruplarında testiküler dokudaki hasarın varlığını göstermektedir. Diğer taraftan, iskemi ve iskemi/reperfüzyon gruplarında SOD ve KAT düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azalma saptanmıştır. İskemi grubunda gözlenen SOD ve KAT seviyelerindeki artışın, iskemi/reperfüzyon grubunda da devam etmesi, testis dokusundaki hasarı işaret etmektedir.

Meštrović ve arkadaşlarının rat testislerinde torsiyon detorsiyon hasarında nifedipine'in koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmada, biyokimyasal analizlerde MDA düzeyi, SOD ve GP<sub>x</sub> aktivitesini incelenmiştir. Çalışmamızla benzer şekilde iskemi/reperfüzyon grubunda MDA seviyesi anlamlı şekilde artmış ve SOD aktivitesi ise azalmıştır [136]. Javanmardi ve arkadaşları deneysel testis torsiyonu çalışmalarında kalsiyum kanal blokeri olan benidipine'in koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmada; MDA ve GP<sub>x</sub> aktivitesi incelenmiş olup çalışmamızla uyumlu olacak şekilde iskemi/reperfüzyon grubunda MDA seviyesi artışı gözlenmiştir [138].

Gürdal ve arkadaşları sıçan testisinde torsiyon sonucu gelişen hasarı önlemede pentoksifilin antioksidan etkisini inceledikleri çalışmada; iskemi/reperfüzyon

uygulanan grupta MDA seviyesinde artış tespit etmiştir ve bu veriler çalışmamızla uyumluluk göstermektedir [130]. Ganjiani ve arkadaşları ratlarda deneysel testis torsiyonu modelinde Stevia rebaudiana ekstranın koruyucu etkilerini araştırdıkları çalışmada; testislerdeki hasar gösterilmek için MDA seviyesi ve SOD ve GP<sub>x</sub> aktivitesini incelenmiştir. Çalışmamızla benzer şekilde iskemi/reperfüzyon grubunda MDA seviyesinde artış ve SOD aktivitesinde azalma saptanmıştır [135].

Özbal ve arkadaşlarının  $\alpha$ -lipoik asidin ratlarda testis iskemi/reperfüzyon hasarına karşı etkilerini inceledikleri çalışmada; testiküler hasarı göstermek için MDA ve SOD ve GP<sub>x</sub> aktivitesi incelenmiştir. SOD aktivitesi iskemi ve iskemi/reperfüzyon gruplarında artış göstermekle birlikte, iskemi/reperfüzyon grubunda SOD aktivitesindeki yükseliş bizim çalışmamızla benzer şekilde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. İskemi ve iskemi/reperfüzyon gruplarında MDA düzeyinde yükselme saptanmıştır. İskemi/reperfüzyon grubu MDA seviyesi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı şekilde artmış olup, çalışmamızda iskemi grubunda en yüksek MDA düzeyi tespit edilmesi neticesinde farklılık göstermektedir [139]. Kabay ve arkadaşlarının deneysel testis torsiyon modelinde PDTC'nin iyileştirici etkisini araştırdıkları çalışmada; testiküler hasarın etkilerini göstermede biyokimyasal parametre olarak MDA, SOD ve KAT aktivitesi incelenmiştir. İskemi ve iskemi/reperfüzyon gruplarında KAT aktivitesi kontrol grubuna göre azalmış saptanmış olup; iskemi/reperfüzyon grubunda iskemi grubuna göre daha az düşüş saptanmış ve bu veriler çalışmamızın KAT değerleri ile paralellik göstermektedir. Çalışmamızda farklı olarak SOD aktivitesinde iskemi/reperfüzyon grubunda daha fazla düşüş olmasına rağmen, iskemi grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmamıştır. MDA seviyesi artış ise iskemi/reperfüzyon grubunda daha fazla gözlenmiş olup, çalışmamız bulgularıyla farklılık göstermektedir [17].

Nimodipine'in dihidropiridin grubuna dahil bir kalsiyum antagonisti olduğu ve kalsiyum kanal blokerlerinin vazodilatasyon ile periferik direnci azalttığı ileri sürülmektedir. Diğer taraftan, nimodipine'in etkisiyle; miyokardiyal oksijen tüketiminin azalması da kardiyak ve vasküler dokuda kalsiyum aşırı yükünü hafifleterek; pozitif yönde etkide bulunduğu kabul edilmektedir [117]. Kalsiyum iyonları beyinde mikrovasküler tonusta önemlidir. Hücre içi artan Ca<sup>+2</sup> serebral



vazospazma yol açmaktadır. Nimodipine damar düz kas hücrelerine kalsiyum girişini engelleyerek, serebral kan akımını artırır [8].

Nimodipine iskemik hasara uğramış sinir hücrelerine kalsiyum girişini azaltmaktadır. Hücre içinde kalsiyumu antagonize ederek, hücrede proteoliz ve lipid yıkımını önlemektedir. Böylece serbest radikallerin meydana gelmeleri engellenmiş olup, sinir hücreleri iskemik hasardan korunmaktadır [7].

Sıçanlarda nimodipine'nin over torsiyonu sonucunda iskemi/reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, MDA ve SOD düzeyleri çalışmamızda elde etmiş olduğumuz verilerle paralellik göstermiş olup, intraperitoneal olarak verilen nimodipine'in over torsiyonunda iskemi/reperfüzyon hasarını azaltmada yardımcı olabileceği bildirilmiştir [12]. Aynı çalışmada, nimodipine'in intraperitoneal olarak verilmesinin, oral yolla alınmasına kıyasla daha hızlı etki gösterdiği ve bu durumun over torsiyonu sonucu meydana gelebilecek ileride olası infertiliteyi önlemede ve over fonksiyonlarının korunmasında daha etkili olabileceği ifade edilmektedir [12].

Nuglish ve arkadaşları sıçanlarda iskemi sonucu; hippocampus'ta oluşan nekrozun, nimodipine'in serebral vasodilatasyon yapmaksızın, nöronlar üzerine doğrudan etkide bulunması sonucu azaldığını göstermişlerdir [15].

Ratlarda kortikal hasar sonrası beyinde melatonin ve nimodipine'nin koruyucu etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, beyin dokusunda MDA düzeyleri nimodipine ve melatonin verilen gruplarda travma yapılmış hayvanlara göre belirgin bir şekilde azaldığı ancak melatonin'in koruyucu etkisinin nimodipine'e çok daha fazla olduğu belirtilmiştir [140].

Üstün ve arkadaşlarının deneysel kafa travması sonrası magnezyum sülfat ve nimodipine'nin endojen antioksidan düzeyleri üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, magnezyum sülfatın nimodipine'nin aksine iskemi sonrası tavşan beyin dokusunda oluşabilecek SOD ve GP<sub>x</sub> düzeylerinde azalmayı önlediği gösterilmiştir [11].

Fröba ve arkadaşları domuzlarda abdominal aorta oklüzyonu sonucu gelişen iskemi/referfüzyon hasarında intrarenal nimodipine uygulamasının böbrek

fonksiyonları üzerine etkilerini araştırmıştır [14]. Intrarenal nimodipine infüzyonunun glomeruler apoptozu azaltarak, büyük olasılıkla iskemi sonrasında böbrek fonksiyonlarını iyileştirebileceğini bildirmişlerdir.

Nimodipine'in karaciğer iskemi/reperfüzyon hasarındaki koruyucu etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, iskemi öncesinde (30 dakika) ve sonrasında verilen nimodipine'in koruyucu etkisi karşılaştırılmış ve neticede iskemi öncesinde verilen nimodipine'in çok daha büyük oranda koruyucu etkiye sahip olduğu bildirilmiştir [16].

Testis torsiyonu sonucu ortaya çıkan testiküler hasarı gidermek için nimodipine'in verilen grupta, birkaç tübülde bazal membran ayrışması ve tübülde hasar devam etse de iskemi ve iskemi/reperfüzyon gruplarına göre azalmış hasar ve normale yakın seminifer tübüller gözlemlendi. Tübül duvarındaki spermatogenik seri hücreleri ve tübülde devam eden spermatogenez tespit edildi. Testis histolojik skorlamasında ise iskemi ve iskemi/reperfüzyon grubuna göre daha düşük skor tespit edildi.

Son yıllarda ratlarda testislerde oluşabilecek iskemi/reperfüzyon hasarına karşı nimodipine'nin farklı maddelerin de koruyucu etkileri araştırılmıştır [17, 141-143]

Kabay ve arkadaşlarının PDTC'nin testis torsiyonu modelinde koruyucu etkilerini araştırdıkları bir çalışmada; tedavi grubunda tübüllerin normal morfolojiye sahip oldukları ve spermatogenezin devam ettiği tespit edilmiştir [17]. Benzer bulgular çalışmamızda da gözlenmiştir.

Berberine'nin iskemi/reperfüzyon hasarındaki oksidatif stresi inhibe edici etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, berberine verilen hayvanların testislerinde çalışmamız sonuçlarına benzer şekilde, seminifer tübüllerin normal görünümde oldukları ve olgun spermler içerdikleri rapor edilmiştir [141].

Ganoderma lucidum'un testis torsiyonu üzerine koruyucu etkisinin araştırıldığı deneysel çalışmada da, yine bulgularımıza paralel olarak; tedavi grubunda bazal membran kalınlığında azalma, bazı tübüllerde dejenere olmuş spermatik hücreler ve vasküler konjesyonda azalma gözlenmiştir [143].

Somuncu ve arkadaşlarının trapidil'in testiste iskemi reperfüzyon hasarı üzerindeki koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmada; iskemi reperfüzyon grubunda

saptanan kapiller ödemde artış, vasküler konjesyon, intertisyel alanda hemoraji ve infarkt bulguları trapidil'in etkisiyle azalmıştır [142]. Bu bulguların çalışmamızdaki histopatolojik bulgularla paralellik gösterdiği görülmektedir.

Testis torsiyonunda iskemi ve reperfüzyona bağlı olarak hücrelerde oldukça kararsız, reaktif serbest radikallerin oluştuğu ve normal metabolik aktivitelerde bile üretilebilen serbest radikallerin aşırı artışı hücrede oksidatif strese sebep olduğu ileri sürülmektedir. Ayrıca, oksidatif stres sonucunda hücre membranı ve mitokondriyal membranda lipid peroksidasyonu sonucu membran yapısı bozularak membran geçirgenliği değiştiği belirtilmekte ve bu değişimlerin sonucu olarak; protein denaturasyonu ve DNA hasarını neticesinde hücre ölümünün gerçekleştiği vurgulanmaktadır [79].

Çalışmamızda, nimodipine verilen grupta MDA seviyesinin iskemi/reperfüzyon grubuna göre azalarak kontrol grubu seviyesine inmesi, buna karşın iskemi/reperfüzyon grubuna göre SOD ve KAT düzeylerinde artışın tespit edilmesi ve bu artışın kontrol grubu hayvanlardaki seviyesine çıkması; nimodipine'nin testis torsiyonu sonucu dokuda meydana gelebilecek hasara karşı koruyucu etkisinin olduğunu açıkça göstermektedir.

Meštrović ve arkadaşlarının ratlarda testis torsiyonu hasarına karşı, bir başka kalsiyum antagonisti olan nifedipine'in koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmada, Nifedipine uygulanan grupta çalışmamızla benzer şekilde MDA değerinde, iskemi/reperfüzyon grubuna göre düşüş, SOD aktivitesinde ise artış gözlenmiştir [136].

Literatürde testislerdeki iskemi/reperfüzyon hasarına karşı çok farklı maddelerin koruyucu etkileri de incelenmiştir. Bu çalışmalarda lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA seviyesinin tedavi gruplarında iskemi/reperfüzyon grubuna göre azaldığı saptanmıştır [17, 129-131, 138, 141]. Diğer taraftan, serbest radikallerin zararlı etkilerini önleyen antioksidanlardan olan SOD ve Katalaz aktivitesinin tedavi gruplarında iskemi/reperfüzyon grubuna göre artış gösterdiği tespit edilmiştir [17, 132, 144-147].

Literatür taramalarında, testis torsiyon/detorsiyon modellerinde testiküler hasar ve hasara karşı koruyucu etkinin saptanmasında NO, GSH, TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , GP<sub>x</sub>,

MPO, laktik asit, hipoksantin gibi farklı parametreler de incelenmiştir [4, 129, 131, 132, 135, 139].

Ratlarda spermatik kordun kendi eksenini etrafında 720° döndürülüp sıkıca bağlanması neticesinde, klinikte karşımıza çıkan testis torsiyonuna benzer doku hasarı ortaya çıktığı ve testislerin detorsiyonundan 30 dakika önce 1 mg/kg intraperitoneal nimodipine uygulamasının oluşacak doku hasarını önlemede etkin olacağı düşünülmektedir.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Deneysel çalışmamızda ratların spermatik kordları kendi eksenlerinde döndürülüp bağlanmasıyla oluşturduğumuz iskemi/reperfüzyon hasarında beklendiği üzere tübüllerde hasar, tübül duvarında hücresel kayıpla beraber intertisyel alanda eozinofilik sıvı birikimi ve vasküler konjesyon gözlenmiştir. Bu bulgular doku hasarına bağlı olarak MDA düzeyinde artış, SOD ve KAT seviyelerinde azalma ile biyokimyasal analizlerle desteklenmiştir.

Testis dokusunda ilk kez nimodipine'nin koruyucu etkisini araştırdığımız çalışmada; intraperitoneal 1 mg/kg nimodipine uygulamasının iskemi/reperfüzyon hasarını düzelterek testis dokusunu normal morfolojiye ve fonksiyona döndürdüğü gözlenmiştir. İskemi reperfüzyonun sonucunda ortaya çıkan doku hasarının nimodipine uygulaması ile beraber ortadan kalkmasını destekleyici bulgular MDA, SOD ve KAT değerleriyle de ortaya konmuştur.

Testis torsiyonunda, manuel torsiyon uygulaması ağrıyı azaltıp hastada rahatlama sağlasa da, kesin tedavi cerrahi eksplorasyondur. Hastada testis torsiyonu tablosu ortaya çıktıktan sonra, cerrahi eksplorasyonla müdahale edilinceye kadar geçen süre oldukça önemlidir. Bu sürenin uzaması testis dokusunda atrofi ve olası ileride infertilite ile sonuçlanabilmektedir. Bu sebeple cerrahi müdahaleye kadar hastaya torsiyon tablosunun ilerlememesi ve olası istenmeyen etkilerin önlenmesi gerekmektedir.

Deneysel çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar, ratlarda testis torsiyonunda ortaya çıkacak testis hasarında, cerrahi müdahale öncesinde nimodipine'nin uygulamasının kalıcı doku hasarını önlemede önemli katkı sağlayacağı görülmektedir. Diğer taraftan, nimodipine'in testis dokusu hasarını önlemedeki etkinliği, testis mikroanatomik yapısı üzerinde yapılacak kantitatif design-based stereolojik çalışmalarla da desteklenmelidir.

**KAYNAKLAR**

1. Barada, J.H., J.L. Weingarten, and W.J. Cromie, *Testicular salvage and age-related delay in the presentation of testicular torsion*. The Journal of urology, 1989. 142(3): p. 746-748.
2. Krarup, T., *The testes after torsion*. British journal of urology, 1978. 50(1): p. 43-46.
3. Saugstad, O.D., *Hypoxanthine as an indicator of hypoxia: its role in health and disease through free radical production*. Pediatric Research, 1988. 23(2): p. 143-150.
4. Makgür, F., et al., *Ipsilateral and contralateral testicular biochemical acute changes after unilateral testicular torsion and detorsion*. Urology, 1994. 44(3): p. 413-418.
5. Saba, M., et al., *Morphological and biochemical changes following acute unilateral testicular torsion in prepubertal rats*. The Journal of urology, 1997. 157(3): p. 1149-1154.
6. Ischemia-Reperfusion, H.C.I.T. And I.I.A. Rat, *Siçan Testisindeki İskemi-Reperfüzyon Hasari Sonucu Oluşan Oksidatif Stres Ve Histopatolojik Değişiklikler Üzerine Ketoprofenin Koruyucu Etkisi*.
7. Langham, J., et al., *Calcium channel blockers for acute traumatic brain injury*. Cochrane Database of Systematic Reviews, 2003(4).
8. Fleckenstein-Grün, G. and A. Fleckenstein, *Prevention of cerebrovascular spasms with nimodipine*. Stroke (1970), 1990. 21(12): p. IV64-IV71.
9. Aslan, A., et al., *Nimodipine can improve cerebral metabolism and outcome in patients with severe head trauma*. Pharmacological research, 2009. 59(2): p. 120-124.
10. Böker, D.-K., L. Solymosi, and H. Wassmann, *Immediate postangiographic intraarterial treatment of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage with nimodipine: report on 3 cases*. Neurochirurgia, 1985. 28(S 1): p. 118-120.

11. Üstün, M.E., et al., *Effects of nimodipine and magnesium sulfate on endogenous antioxidant levels in brain tissue after experimental head trauma*. Journal of neurosurgical anesthesiology, 2001. 13(3): p. 227-232.
12. Behroozi-Lak, T., et al., *Protective effects of intraperitoneal administration of nimodipine on ischemia–reperfusion injury in ovaries: Histological and biochemical assessments in a rat model*. Journal of pediatric surgery, 2017. 52(4): p. 602-608.
13. İsmailoğlu, Ö., B. Albayrak, and N.E. Çetinalp, *Travmatik Subaraknoid Kanamalarda Nimodipinin Etkisi*. Sınir Sistemi Cerrahisi Dergisi. 2(4): p. 200-204.
14. Fröba, G., et al., *Effects of intrarenal administration of the calcium antagonist nimodipine during porcine aortic occlusion-induced ischemia/reperfusion injury*. Shock, 2008. 29(6): p. 717-723.
15. Nuglich, J., et al., *Protective effect of nimodipine against ischemic neuronal damage in rat hippocampus without changing postischemic cerebral blood flow*. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism, 1990. 10(5): p. 654-659.
16. Chávez-Cartaya, R.E., et al., *Ischemia and reperfusion injury of the rat liver: the role of nimodipine*. Journal of Surgical Research, 1996. 60(1): p. 199-206.
17. Kabay, S., et al., *Protective effects of the nuclear factor kappa B inhibitor pyrrolidine dithiocarbamate on experimental testicular torsion and detorsion injury*. The Korean Journal of Physiology & Pharmacology, 2014. 18(4): p. 321-326.
18. Moore, K. and T. Persaud, *Klinik yönleriyle insan embriyolojisi, 2008*. Çev.: Dalçık, H., Yıldırım, M.), Nobel tıp kitabevleri, İstanbul, 524s.
19. Sadler, T., *L.(2009) Langman's Medical Embryology*. 2011, Lippincott, williams wilkinis Saragusty, J. and Arav, A.
20. Ağras, K., *İnmemiş Testiste Embriyoloji ve Testiküler İniş Mekanizmaları*.
21. Buraundi, S., et al., *Gubernacular development in the mouse is similar to the rat and suggests that the processus vaginalis is derived from the urogenital*

- ridge and is different from the parietal peritoneum.* Journal of pediatric surgery, 2011. 46(9): p. 1804-1812.
22. Netter, F.H. and S. Colacino, *Atlas of human anatomy*. 1989: Ciba-Geigy Corporation.
  23. Tishler, P., *Diameter of testicles*. The New England journal of medicine, 1971. 285(26): p. 1489-1489.
  24. Prader, A., *Testicular size: assessment and clinical importance*. Triangle; the Sandoz journal of medical science, 1966. 7(6): p. 240.
  25. Goede, J., et al., *Normative values for testicular volume measured by ultrasonography in a normal population from infancy to adolescence*. Hormone research in paediatrics, 2011. 76(1): p. 56-64.
  26. D'Antoni\*, A.V., *Gray's Anatomy, the Anatomical Basis of Clinical Practice, Forty-First Edition, by Susan Standring, Editor-in-Chief, Elsevier Limited, 2016, 1,562 Pages, Hardcover, 228.99( 171.74), ISBN: 978-0-7020-5230-9*. Clinical Anatomy, 2016. 29(2).
  27. Arıncı, K. and A. Elhan, *Anatomi (Cilt 1)*. Güneş Kitabevi, Ankara, 1995.
  28. Paulsen, F., et al., *Sobotta Atlas of Human Anatomy: Vol. 2, English*. 2013: Elsevier Health Sciences Germany.
  29. Sargon, M.F., *Anatomi Akıl Notları*. 2016, Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri.
  30. Hasan, O., *Ozan Anatomi*. Vol. 3. 2014, Ankara: Klinisyen Tıp Kitabevleri.
  31. Keith, L.M., F.D. Arthur, and M. Anne, *Clinically oriented anatomy*. Clinically oriented anatomy, 2006.
  32. Harrison, R. and A. Barclay, *The distribution of the testicular artery (internal spermatic artery) to the human testis*. British journal of urology, 1948. 20(2): p. 57-66.
  33. Raman, J.D. and M. Goldstein, *Intraoperative characterization of arterial vasculature in spermatic cord*. Urology, 2004. 64(3): p. 561-564.



34. Macmillan, E., *The blood supply of the epididymis in man*. British journal of urology, 1954. 26(1): p. 60-71.
35. Beck, R., et al., *Laparoscopic Excision of an Intraabdominal Testis*. British journal of urology, 1992. 70(1): p. 105-106.
36. Jarrow, J., *Clinical significance of intratesticular anatomy*. J Urol, 1991. 145: p. 777-779.
37. Rauchenwald, M., W.D. Steers, and C. Desjardins, *Efferent innervation of the rat testis*. Biology of reproduction, 1995. 52(5): p. 1136-1143.
38. Shono, T. and T. Taguchi, *Short-time exposure to mono-n-butyl phthalate (MBP)-induced oxidative stress associated with DNA damage and the atrophy of the testis in pubertal rats*. Environmental Science and Pollution Research, 2014. 21(4): p. 3187-3190.
39. Eşrefoğlu, M., *Özel Histoloji*. Vol. 2. 2016: İstanbul Tıp Kitabevi.
40. Anderson, J. and R. Williamson, *Testicular torsion in Bristol: a 25-year review*. British journal of surgery, 1988. 75(10): p. 988-992.
41. Ross, M., G. Kaye, and W. Pawlina, *Histology a Text and Atlas, 2003*. Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia.
42. Gartner, L.P., *BRS cell biology and histology*. 2018: Lippincott Williams & Wilkins.
43. Junqueira, L. and C.J.Ç. Editörleri, *Solakoğlu S, Aytekin Y. Temel Histoloji Text & Atlas*. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 2009.
44. Hassa, H., *İnfertil Olgulara Klinik Yaklaşım ve IVF Laboratuar Uygulamaları*. 1. Baskı, Eskişehir: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Yayınları, 2003: p. 127-165.
45. Guyton, A.C. and J.E. Hall, *Guyton ve Hall tıbbi fizyoloji*. 2017: Güneş Tıp Kitabevleri.
46. Barrett, K.E., et al., *Ganong'un tıbbi Fizyolojisi Sınavlara Hazırlık ve Tekrar*. 2019: Güneş Tıp Kitabevleri.

47. Blask, A.R.N., et al., *Color Doppler sonography and scintigraphy of the testis: a prospective, comparative analysis in children with acute scrotal pain*. Pediatric emergency care, 2002. 18(2): p. 67-71.
48. McAndrew, H., et al., *The incidence and investigation of acute scrotal problems in children*. Pediatric surgery international, 2002. 18(5-6): p. 435-437.
49. Ciftci, A., et al., *Clinical predictors for differential diagnosis of acute scrotum*. European Journal of Pediatric Surgery, 2004. 14(05): p. 333-338.
50. Mushtaq, I., M. Fung, and M.J. Glasson, *Retrospective review of paediatric patients with acute scrotum*. ANZ journal of surgery, 2003. 73(1-2): p. 55-55.
51. Çaman, Ş., Et Al., *Akut Skrotum; Çocuk Ürolojisinin Önemli Bir Acil Durumu [An Important Emergency Pathology In The Pediatric Urology: Acute Scrotum]*. Zeynep Kamil Tıp Bülteni, 2014. 45(1): P. 49-53.
52. Noske, H.-D., et al., *Historical milestones regarding torsion of the scrotal organs*. The Journal of urology, 1998. 159(1): p. 13-16.
53. Sam D. Graham, J. and T.E. Keane, *Glenn Ürolojik Cerrahi*. 2011: Günei Tıp Kitabevi.
54. Cummings, J.M., et al., *Adult testicular torsion*. The Journal of urology, 2002. 167(5): p. 2109-2110.
55. Gunther, P., et al., *Acute testicular torsion in children: the role of sonography in the diagnostic workup*. European radiology, 2006. 16(11): p. 2527.
56. Ün, H., *Siçan Testisinde Oluşturulmuş İskemi/Reperfüzyon Hasarında Bir Renin İnhibitörü Olan Aliskiren'in Etkisinin Araştırılması*. 2014.
57. Hutson, M., *Undescended testis, torsion and varicocele*. Pediatric surgery, 1998.
58. Favorito, L.A., A.G. Cavalcante, and W.S. Costa, *Anatomic aspects of epididymis and tunica vaginalis in patients with testicular torsion*. International braz j urol, 2004. 30(5): p. 420-424.

59. Pentyala, S., et al., *Testicular torsion: a review*. Journal of lower genital tract disease, 2001. 5(1): p. 38-47.
60. Başaklar, A.C., *Bebek ve çocukların cerrahi ve ürolojik hastalıkları*. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara, 2006: p. 965-968.
61. Sevük, M., et al., *Ürogenital Sistem Hastalıklarında Semptomatoloji ve Klinik Muayene*. İn: Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N Editör. Temel Üroloji. Üçüncü Baskı. Ankara: Öncü Basımevi. S, 2007. 56.
62. Bahadır, G.B.Y. And M.T.D. Bingöl Koloğlu, *Tek Taraflı Testis Torsiyonu Deneysel Modelinde IGF-I, GH VE FGF Gibi Büyüme Faktörlerinin Uygulanmasının Fertilitate Ve Fekundite Üzerine Etkileri (Sıçanlarda Deneysel Çalışma)*. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı.
63. Backhouse, K., *Embryology of testicular descent and maldescent*. Urol. Clin. North Am., 1982. 9: p. 315-325.
64. Kadish, H.A. and R.G. Bolte, *A retrospective review of pediatric patients with epididymitis, testicular torsion, and torsion of testicular appendages*. Pediatrics, 1998. 102(1): p. 73-76.
65. Van Glabeke, E., et al., *Acute scrotal pain in children: results of 543 surgical explorations*. Pediatric surgery international, 1999. 15(5-6): p. 353-357.
66. Karmazyn, B., et al., *Clinical and sonographic criteria of acute scrotum in children: a retrospective study of 172 boys*. Pediatric radiology, 2005. 35(3): p. 302-310.
67. Fonkalsrud, E.W., *Testicular undescend and torsion*. Pediatric clinics of North America, 1987. 34(5): p. 1305-1317.
68. Bourne, H.H. and R.E. Lee, *Torsion of spermatic cord and testicular appendages*. Urology, 1975. 5(1): p. 73-75.
69. Stillwell, T.J. and S.A. Kramer, *Intermittent testicular torsion*. Pediatrics, 1986. 77(6): p. 908-911.
70. Melloul, M., et al., *The value of radionuclide scrotal imaging in the diagnosis of acute testicular torsion*. British journal of urology, 1995. 76(5): p. 628-631.

71. Mernagh, J.R., C. Caco, and J. De Maria, *Testicular torsion revisited*. *Current Problems in Diagnostic Radiology*, 2004. 33(2): p. 60-73.
72. Baker, L.A., et al., *An analysis of clinical outcomes using color Doppler testicular ultrasound for testicular torsion*. *Pediatrics*, 2000. 105(3): p. 604-607.
73. Wu, H.-C., et al., *Comparison of radionuclide imaging and ultrasonography in the differentiation of acute testicular torsion and inflammatory testicular disease*. *Clinical nuclear medicine*, 2002. 27(7): p. 490-493.
74. Paltiel, H.J., et al., *Acute scrotal symptoms in boys with an indeterminate clinical presentation: comparison of color Doppler sonography and scintigraphy*. *Radiology*, 1998. 207(1): p. 223-231.
75. Johnston, B.I. and J.S. Wiener, *Intermittent testicular torsion*. *BJU international*, 2005. 95(7): p. 933-934.
76. Viguera, R.M., et al. *The effect of naloxone pretreatment before relieving testicular torsion*. in *Proceedings of the Western Pharmacology Society*. 1998.
77. Kiesling, V.J., et al., *Spermatic cord block and manual reduction: primary treatment for spermatic cord torsion*. *The Journal of urology*, 1984. 132(5): p. 921-922.
78. Sheldon, C.A., *The pediatric genitourinary examination: inguinal, urethral, and genital diseases*. *Pediatric Clinics*, 2001. 48(6): p. 1339-1380.
79. Wilhelm Filho, D., et al., *Spermatic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia–reperfusion injury*. *Molecular aspects of medicine*, 2004. 25(1-2): p. 199-210.
80. CR, K.V. and R. SL, *Temel Patoloji*. 2014, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.
81. Türkyılmaz, Z., *Karaciğer iskemi-reperfüzyon zedelenmesinde pentoksifilin, ekzojen melatonin ve dimetilsülfoksit koruyucu etkilerinin karşılaştırılması (tez)*. Edirne: TÜ Tıp Fak, 2003.
82. Prillaman, H. and T. Turner, *Rescue of testicular function after acute experimental torsion*. *The Journal of urology*, 1997. 157(1): p. 340-345.

83. Ozturk, H., et al., *The effects of nitric oxide on the expression of cell adhesion molecules (ICAM-1, UEA-1, and tenascin) in rats with unilateral testicular torsion*. Journal of pediatric surgery, 2003. 38(11): p. 1621-1627.
84. Ünsal, A., et al., *Propofol attenuates reperfusion injury after testicular torsion and detorsion*. World journal of urology, 2004. 22(6): p. 461-465.
85. Toyokuni, S., *Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology*. Pathology international, 1999. 49(2): p. 91-102.
86. Granger, D.N., *Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury*. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 1988. 255(6): p. H1269-H1275.
87. Ertan, T., et al., *Kan Malondialdehid ve total antioksidan seviyesinin (TAS) önemi*. Cerrahi Tıp Bülteni, 2001. 2(4): p. 154-167.
88. Heys, A. and T. Dormandy, *Lipid peroxidation in iron-overloaded spleens*. Clinical Science, 1981. 60(3): p. 295-301.
89. Taşkıran, A., *Koroner By-Pass Yapılan Olgularda Lipid Hidroperoksit, Antioksidan Kapasite ve Oksidan Strese Duyarlılık (tez)*. Edirne: TÜ Tıp Fak, 2002.
90. Bayan, Y. and G. Nusret, *Salvia verticillata subsp. amasiaca'nın Toplam Fenolik Madde ve Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi*. Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi, 2016. 5(2): p. 158-166.
91. Poprac, P., et al., *Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases*. Trends in pharmacological sciences, 2017. 38(7): p. 592-607.
92. Gutteridge, J.M. and B. Halliwell, *The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems*. Trends in biochemical sciences, 1990. 15(4): p. 129-135.
93. Serafini, M. and D. Del Rio, *Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool?* Redox report, 2004. 9(3): p. 145-152.

94. Yan, S.L., et al., *Protective effects from carnosine and histidine on acetaminophen-induced liver injury*. Journal of food science, 2009. 74(8): p. H259-H265.
95. Zimmerman, B.J. and D.N. Granger, *Reperfusion injury*. The surgical clinics of North America, 1992. 72(1): p. 65-83.
96. Gower, J.D., et al., *Protection against oxidative damage in cold-stored rabbit kidneys by desferrioxamine and indomethacin*. Cryobiology, 1989. 26(4): p. 309-317.
97. Elliott, J.G., *Application of antioxidant vitamins in foods and beverages: Developing nutraceuticals for the new millenium*. Food technology (Chicago), 1999. 53(2): p. 46-48.
98. Doğan, Ç., *Ratlarda testiküler torsiyon/detorsiyon modeline bağlı oluşan doku hasarında amlodipinin etkisi*. 2014.
99. Reiter, R.J., *Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain I*. The FASEB journal, 1995. 9(7): p. 526-533.
100. Karihtala, P. and Y. Soini, *Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies*. Apmis, 2007. 115(2): p. 81-103.
101. Cherubini, A., et al., *Dietary antioxidants as potential pharmacological agents for ischemic stroke*. Current Medicinal Chemistry, 2008. 15(12): p. 1236-1248.
102. Mickle, D. and R. Weisel, *Future directions of vitamin E and its analogues in minimizing myocardial ischemia-reperfusion injury*. The Canadian journal of cardiology, 1993. 9(1): p. 89-93.
103. Virág, L. and C. Szabó, *The therapeutic potential of poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors*. Pharmacological reviews, 2002. 54(3): p. 375-429.
104. Girotti, A.W., *Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems*. Journal of lipid research, 1998. 39(8): p. 1529-1542.
105. Buege, J.A. and S.D. Aust, *[30] Microsomal lipid peroxidation*, in *Methods in enzymology*. 1978, Elsevier. p. 302-310.

106. Arter, S.S.A.O.S., *Darlığının Derecesi ile Lipid-Lipoprotein, Lp (A), Apo AI, Apo B ve MDA Düzeyleri Arasındaki İlişki (tez)*. Edirne: TÜ Tıp Fak, 2001.
107. Southorn, P.A. and G. Powis. *Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions*. in *Mayo Clinic Proceedings*. 1988. Elsevier.
108. Ohkawa, H., N. Ohishi, and K. Yagi, *Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction*. *Analytical biochemistry*, 1979. 95(2): p. 351-358.
109. Niki, E., *Antioxidants in relation to lipid peroxidation*. *Chemistry and physics of lipids*, 1987. 44(2-4): p. 227-253.
110. Porter, N.A., [32] *Chemistry of lipid peroxidation*. *Methods in enzymology*, 1984. 105: p. 273-282.
111. Rodriguez, C., et al., *Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin*. *Journal of pineal research*, 2004. 36(1): p. 1-9.
112. McCord, J.M. and I. Fridovich, *The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions: I. Radicals generated by the interaction of sulfite, dimethyl sulfoxide, and oxygen*. *Journal of Biological Chemistry*, 1969. 244(22): p. 6056-6063.
113. Mao, G.D., et al., *Superoxide dismutase (SOD)-catalase conjugates. Role of hydrogen peroxide and the Fenton reaction in SOD toxicity*. *Journal of Biological Chemistry*, 1993. 268(1): p. 416-420.
114. Godfraind, T., N. Morel, and C. Dessy, *Calcium antagonists and vasoconstrictor effects in intracerebral microarterioles*. *Stroke*, 1990. 21(12 Suppl): p. IV59-63.
115. Opie, L.H., *Clinical use of calcium channel antagonist drugs*. 2012: Springer Science & Business Media.
116. Braunwald, E., *Mechanism of action of calcium-channel-blocking agents*. *New England Journal of Medicine*, 1982. 307(26): p. 1618-1627.
117. Binggeli, C., et al., *Effects of chronic calcium channel blockade on sympathetic nerve activity in hypertension*. *Hypertension*, 2002. 39(4): p. 892-896.

118. Cantürk, N.Z. and İ. Sayek, *Cerrahi Araştırma, Araştırma planlama, Değerlendirme ve Sunum , Deneysel Hayvanları Özgül Deneysel Modeller*. 2005: Nobel Tıp Kitabevi.
119. Van Zutphen, B.V. and B. AC, *Laboratuvar Hayvanları Biliminin Temel İlkeleri*. İde T, çeviri editörü, 2003. 1.
120. Sun, Y., L.W. Oberley, and Y. Li, *A simple method for clinical assay of superoxide dismutase*. Clinical chemistry, 1988. 34(3): p. 497-500.
121. Mogilner, J.G., et al., *Effect of diclofenac on germ cell apoptosis following testicular ischemia-reperfusion injury in a rat*. Pediatric surgery international, 2006. 22(1): p. 99-105.
122. Noseworthy, J., *Testicular torsion*, in *Pediatric surgery* K. Ashcraft, Editor. 2000, W.B.Saunders Co: Philadelphia. p. 674-80.
123. Prater, J.M. and B.S. Overdorf, *Testicular torsion: a surgical emergency*. American family physician, 1991. 44(3): p. 834-840.
124. Turner, T. and K. Brown, *Spermatic cord torsion: loss of spermatogenesis despite return of blood flow*. Biology of reproduction, 1993. 49(2): p. 401-407.
125. Cosentino, M.J., et al., *Histological changes occurring in the contralateral testes of prepubertal rats subjected to various durations of unilateral spermatic cord torsion*. The Journal of urology, 1985. 133(5): p. 906-911.
126. Kallerhoff, M., et al., *Follow-up of tissue acidosis, lactic acid production and morphologic changes in testicular tissue in ischemia and the effect of cooling*. Helvetica chirurgica acta, 1993. 60(3): p. 371-376.
127. Freedman, S., M. Chehval, and D. Mehan, *Enzymatic changes in experimental testicular torsion*. Investigative urology, 1981. 19(3): p. 209-210.
128. Aydın, C., et al., *Can N-acetylcysteine play a role on preventing tissue damage on experimental testicular torsion*. Cum Med J, 2012. 34: p. 462-71.
129. Çakan, M., et al., *Sıçan testisindeki iskemi-reperfüzyon hasarı sonucu oluşan oksidatif stres ve histopatolojik değişiklikler üzerine ketoprofenin koruyucu etkisi*. 2007.



130. Gürdal, M., et al., *Torsiyone rat testisinde gelişen iskemi-reperfüzyon hasarında pentoksifilin antioksidan etkisi*. Türk Üroloji Dergisi/Turkish Journal of Urology, 2002. 28(3): p. 260-263.
131. Dogan, C., et al., *Effects of amlodipine on ischaemia/reperfusion injury in the rat testis*. Andrologia, 2016. 48(4): p. 441-452.
132. Sekerci, C., et al., *Effects of platelet-rich plasma against experimental ischemia/reperfusion injury in rat testis*. Journal of pediatric urology, 2017. 13(3): p. 317. e1-317. e9.
133. Balcı, C.N., *Ratlarda deneysel testis iskemi reperfüzyon modelinde, karvakrolün olası etkilerinin histolojik ve biyokimyasal olarak incelenmesi in Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı*. 2018, Abant İzzet Baysal Üniversitesi.
134. Sekmenli, T., et al., *The effects of melatonin and colchicine on ischemia–reperfusion injury in experimental rat testicular torsion model*. Journal of pediatric surgery, 2017. 52(4): p. 582-586.
135. Ganjani, V., N. Ahmadi, and A. Raayat Jahromi, *Protective effects of Stevia rebaudiana aqueous extract on experimental unilateral testicular ischaemia/reperfusion injury in rats*. Andrologia, 2020. 52(2): p. e13469.
136. Meštrović, J., et al., *Beneficial effect of nifedipine on testicular torsion-detorsion injury in rats*. Urology, 2014. 84(5): p. 1194-1198.
137. Erol, U., et al., *Is midazolam effective as an antioxidant in preventing reperfusion injury in rat kidney?* International urology and nephrology, 2002. 34(1): p. 121-127.
138. Javanmardi, S. and M. Khordadmehr, *Benidipine reduces ischemia/reperfusion injury following testicular torsion/detorsion in rats*. Iranian Journal of Veterinary Surgery, 2017. 12(2): p. 21-30.
139. Ozbal, S., et al., *The effects of  $\alpha$ -lipoic acid against testicular ischemia-reperfusion injury in rats*. The Scientific World Journal, 2012. 2012.
140. Ismailoglu, O., et al., *The therapeutic effects of melatonin and nimodipine in rats after cerebral cortical injury*. 2012.

141. Kazaz, I.O., et al., *Berberine inhibits the ischemia-reperfusion induced testicular injury through decreasing oxidative stress*. The American journal of emergency medicine, 2020. 38(1): p. 33-37.
142. Somuncu, S., et al., *Protective effects of trapidil in ischemia–reperfusion injury due to testicular torsion and detorsion: An experimental study*. International journal of urology, 2006. 13(5): p. 601-605.
143. Doğan, G. and H. İpek, *The protective effect of Ganoderma lucidum on testicular torsion/detorsion-induced ischemia-reperfusion (I/R) injury*. Acta chirurgica brasileira, 2020. 35(1).
144. Jafari, A., et al., *Topiramate: A novel protective agent against ischemia reperfusion-induced oxidative injury after testicular torsion/detorsion*. The American journal of emergency medicine, 2020.
145. Tanriverdi, H.I., et al., *Protective effect of famotidine on ischemia–reperfusion injury following testicular torsion in rats*. Journal of Pediatric Urology, 2020.
146. Wei, S.-M., Z.-Z. Yan, and J. Zhou, *Protective effect of rutin on testicular ischemia-reperfusion injury*. Journal of pediatric surgery, 2011. 46(7): p. 1419-1424.
147. Salmasi, A.H., et al., *Effect of morphine on ischemia-reperfusion injury: experimental study in testicular torsion rat model*. Urology, 2005. 66(6): p. 1338-1342.

