

T.C
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

Doç.Dr. Adnan ABASIYANIK
ANABİLİM DALI BAŞKANI

132046

TESTİS TORSİYONUNDAKİ İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINI
ÖNLEMEDE TEK DOZ VE YEDİ GÜNLÜK MELATONİN VE STEROİD
TEDAVİSİNİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM BAKANLIĞI
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Müslim YURTÇU

132046

Tez Danışmanı

Doç.Dr. Adnan ABASIYANIK

KONYA-2003

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	1
KISALTMALAR	2
1.GİRİŞ VE AMAÇ	3
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1.TESTİS TORSİYONU.	4-5
2.2. KLİNİK BULGULAR	5-6
2.3. TANI	6-7
2.4. TEDAVİ	7-8
2.5. PROGNOZ.	8
2.6. İSKEMİK TESTİS DOKUSUNDAKİ BİYOKİMYASAL DEĞİŞİKLİKLER	8-9
2.7. İSKEMİK TESTİS DOKUSUNDAKİ HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER	9
2.8. ANTİOKSİDAN AJANLAR	9-13
3. MATERYAL VE METOD	14
3.1. DENEKLER	14
3.2. OPERASYONUN YAPILIŞI	14
3.3. ÇALIŞMA GRUPLARI	17
3.4. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME	18
3.5. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME	19-20
3.6. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	20
4. BULGULAR	21
4.1. BİYOKİMYASAL BULGULAR	21
4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	23
4.2.1. Makroskopik Bulgular	23
4.2.2. Mikroskopik Bulgular	25
5. TARTIŞMA	30-35
6. SONUÇLAR	36
7. ÖZET	37- 38
8.SUMMARY	39
9. KAYNAKLAR	40-48
10. TEŞEKKÜR	49

KISALTMALAR

TT	Testis torsiyonu
YD	Yenidoğan
O_2^-	Süperoksit anyonu
OH^-	Hidroksil radikali
H_2O_2	Hidrojen peroksit
MDA	Malondialdehit
İ-R	İskemi-Reperfüzyon
SOR	Serbest oksijen radikalleri
ATP	Adenozin trifosfat
SOD	Süperoksit dismutaz
TBAR	Tiyobarbütirik asit reaktifleri
RH	Reperfüzyon hasarı
TBA	Tiyobarbütirik asit
H&E	Hematoksilen-Eozin
AMP	Adenozin monofosfat

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Testis torsiyonu (TT), yenidoğan (YD) ve puberte döneminde daha sık olarak görülen acil bir cerrahi hastalıktır. Torsiyonun derecesine ve süresine bağlı olarak testiste iskemiden nekroza kadar ilerleyen histopatolojik değişiklikler oluşur. Torsiyon iskemi dönemini, detorsiyon ise reperfüzyon dönemini oluşturur. İskemi döneminde yetersiz kan dolaşımına bağlı olarak testis dokusunda hipoksantin, lipid peroksit ve laktik asit düzeyleri artar.⁶²⁻⁶⁵ Reperfüzyon döneminde ise testis dokusunda süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali (OH^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) düzeyleri artar.⁶⁴⁻⁶⁷ Serbest oksijen radikalleri denilen bu maddeler testis dokusunda toksik etki gösterir. Spermatogenezis ve Sertoli hücrelerinin gelişimi bozulur. Spermatogenezis ve Sertoli hücrelerinin gelişiminin etkilendiğini gösteren önemli belirleyiciler; histopatolojik inceleme ve lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden olan malondialdehit (MDA) seviyeleridir. TTndan sonra testis dokusunda MDA seviyelerinin artması, testiste hasar oluştuğunu gösterir.

İskemi-Reperfüzyon (İ-R) hasarının, süperoksit dismutaz gibi enzimler, steroid gibi metabolizanlar, allopurinol ve oksipurinol gibi antioksidan ajanlarla engellendiği gösterilmiştir. Aynı zamanda barsak, barsak mezenteri, kalp, karaciğer, böbrek, akciğer, testis ve beyin gibi organlarda antioksidan tedavi, İ-R hasarını önlemek amacıyla başarılı bir şekilde kullanılmıştır.¹¹⁸⁻¹²⁰ Çalışmamızın amacı, TTnda steroid ve melatoninin tek doz ve yedi günlük tedavileri ile testisteki İ-R hasarını önlemede etkinliğini belirlemek ve her iki tip tedavi şekline göre hangisinin daha etkili olduğunu ortaya koymaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TESTİS TORSİYONU

TT ilk defa 1840 yılında Delasiauve tarafından tanımlanmıştır. İntrauterin dönemde, YDlarda, puberte döneminde ve inmemiş testisli olgularda TT daha sık olarak görülür.¹ YD döneminde TTnun fazla görülmesi, YDlardaki testosteron düzeylerinin, puberte dönemi hariç, diğer dönemlere göre daha yüksek düzeylerde olmasından kaynaklanır.¹ Puberte döneminde daha sık görülmesinin nedeni ise; artan testosteron düzeyine bağlı olarak oluşan testis elevasyonuna ve rotasyonuna bağlıdır.^{1,5} TT çocukluk döneminde akut skrotuma neden olan en ciddi patolojidir. Aynı zamanda yüksek oranda testis dokusunda nekroza neden olmasıyla acil cerrahi girişim gerektiren bir hastalıktır.³ Klinik çalışmalarda TT oluşan hastaların % 90ında orşiektomi yapılmış, yapılmayanlarda ise bir kısmının atrofi sonucu aynı taraftaki testislerini kaybettikleri bildirilmiştir.²

Anatomik yapıdaki bozukluklar TTnun oluşumunda önemli rol oynar. Tunika vajinalisin spermatik korda yüksekte bağlanması durumunda testis posteriora yeterince fikse olamaz, testisin rotasyonuna izin verir ve TTna zemin hazırlar. Testisler YDlarda ve inmemiş testisli olgularda ise skrotuma fikse değildir. Bunlarda daha çok ekstravajinal torsiyon denilen ve tüm kordu içeren torsiyon oluşur. Diğer etyolojik faktörler ise seksüel aktivite ve skrotal veya inguinal bölgeye yönelik akut ya da kronik travmalardır.⁵ Torsiyonun başlangıcında önce, spermatik kordun venöz kan akımında obstrüksiyon oluşur. Daha sonra da arteriyel akım etkilenecek hemorajik infarkt ile testiste nekroz ortaya çıkar.^{17,93,94} Klinik çalışmalarda 4-6 saatlik TTnun testiste nekrotik değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise 1 saatlik iskeminin de spermatogenetik hücrelerde hasar meydana getirdiği bildirilmiştir.^{16,18} Atrofiye yol açan TT süresi tartışmalı olmakla beraber, Ashcraft'a göre 8 saatlik torsiyondan sonra testis atrofisi gelişmektedir.¹ Rat ve köpek testislerindeki deneysel çalışmalarda, germinal ve tübüler hücreler için güvenli sürenin 4 saatten daha kısa olduğu bildirilmiştir.¹⁶ Torsiyonun derecesi hafif ise, venöz obstrüksiyon nedeni ile ağrı ve ödem oluşur. Ciddi olgularda ise sırası ile venöz obstrüksiyon, arteriyel tromboz ve testiküler infarkt gelişir.^{14,15} Deneysel çalışmalarda 720° torsiyonda, kan akımının irreverzibl olarak kesildiği ve tam bir iskemi olduğu gösterilmiştir.^{3,4} Sol spermatik kord daha uzun olduğu için, testis torsiyonu sol testiste daha sık görülür.

TT ekstravajinal ya da intravajinal olabilir. Ekstravajinal torsiyon: Spermatik kord torsiyonu da denilir. Daha seyrek olarak oluşur.³ Genellikle intrauterin ve YD döneminde görülür. Testis torsiyonlarının % 6-12sini oluşturur. Ekstravajinal torsiyonda testisin skrotuma bağlantısı zayıf olduğundan, testis skrotum içinde dönebilir. Karşı tarafta anatomik bir defekt olmadığı için kontralateral eksplorasyon gerekmez.^{3,4}

Intravajinal torsiyon: çan tokmağı (Bell-clapper) deformitesi de denir.^{11,12} YD döneminden sonraki torsiyonların çoğunluğunu oluşturur. Normalde tunika vajinalisin testisi kısmen sarması, epididimin posteriora skrotuma tutunması ve epididimin testise yapışık olması testise hem hareketlilik, hem de kısmi bir stabilizasyon sağlamaktadır. Tunika vajinalisin testisi tamamen sardığı durumlarda testis stabil olamamakta ve tunika vajinalis içinde dönebilmektedir.^{3,4} Bilateral olma olasılığı yüksek olduğu için kontralateral eksplorasyon yapılmalıdır.¹¹⁻¹³

1761 yılında Morgagni appendiks testisi tanımladı. Buna "hydatid of Morgagni" de denir. Appendiks testisin, Müllerian ya da paramezonefrik kanalın embriyolojik kalıntısı olduğu düşünülmektedir. Erkeklerin % 90ından fazlasında mevcut olup, çapı 1 mm.den 10 mm.ye kadar değişir. Appendiks testis, 4 testis ekinden (appendiks epididimis, paradidimis ve vas aberrans) en sık torsiyone olanıdır. En sık görüldüğü dönem, 11 yaş civarındadır.^{3,4} Pubertenin tamamlanmasından hemen önce görülen bu artış östrojenlerin etkisi ile erken pubertal stimülasyona bağlı olabilir.³

2. 2. KLİNİK BULGULAR

TT adolesan dönemde daha sık olarak görülür. Appendiks testisin torsiyonu ise daha çok puberteden önce oluşur. Genel olarak TTnün görüldüğü dönemler ise erken YD dönemi ve 13 ila 16 yaş arasındaki puberte dönemidir. Akut skrotumlu 771 çocuktan oluşan bir çalışmada; olguların % 58inde apendiks testis torsiyonu, % 29unda TT ve % 13ünde epididimitis olduğu tespit edilmiştir. TT genellikle testiste, karnın alt kadrantlarında, ya da kasıkta ani ağrı ile birlikte, bulantı ve kusma ile başlar. TT görülen adolesanların yaklaşık 1/3ünde intermittan ağrı hikayesi vardır. Kısa süreli ağrılar ise kendiliğinden düzelen inkomplet torsiyonu düşündürür. Testis ve epididimiste nekroz gelişmedikçe, palpasyon anında ağrı vardır. Fizik muayenede o taraf skrotumda kızarıklık, ödem ve ileri derecede hassasiyet tespit edilir. Testisin yukarı doğru kaldırılması vasküler oklüzyonu ve ağrıyı artırır. Buna Prehn bulgusu

denir. Tedavi edilmez ise testiste infarktla birlikte skrotumda mavimsi bir renk değişimi ortaya çıkar. Tunikadaki ödem sıvısının effüzyonundan kaynaklanan reaktif bir hidrosel, fizik muayene bulgularını maskeleyebilir. Apendiks testis torsiyonunda ağrının derecesi daha az olmasına rağmen bulgular hemen hemen aynıdır. Testisin üst kutbunda mavimsi bir siyah nokta görülebilir. Buranın palpe edilmesi şiddetli bir ağrıya, testisin kendisinin palpasyonu ise hafif bir ağrıya neden olur. Skrotumda inflamasyon ve ödem ortaya çıkınca, TT ile apendiks testis torsiyonunu ayırmak zor olabilir.³ Ani karın ağrısı ile birlikte kasıkta kitlesi ve boş skrotumu olan olgularda, inmemiş testise bağlı TT düşünölmelidir.⁴ Bu olgularda, ağrı alt kadranslarda lokalize ise, akut karın tablosu ile karıştırılabilir. Bazılarında travma öyküsü bildirilmekle beraber çoğunda neden saptanamaz.²²

2. 3. TANI

Erken tanı başarılı tedavinin anahtarıdır. Skrotal hassasiyet, eritem ve ödemin göröldüğü her olguda; Tc (teknesyum) 99M ve gamma kamera kullanılarak radyoizotopik çalışma yapılmalıdır.²³ Kan akımının azalması ve testiste avasküler alanların görölməsi TTnu düşöndürmelidir. Klinik tablo ile birlikte değerlendirildiğinde, doğru tanı değeri % 95 oranındadır.^{24,25} Doppler ultrasonografinin ise TTndaki kan akımını değerlendirmede olguların % 30unda yanıtıcı olduğu bildirilmiştir.^{8,26-27} Puberte çağındaki adolesanlarda rodyoizotopik skan ve Doppler ultrasonografi gibi testler daha yararlıdır. Çünkü testisin boyutları, sonucun doğru çıkmasına yeterince izin verecek kadar büyüktür.³ Apendiks testis torsiyonunda ise testisin üst kutbunda preoperatif yumuşak mavi noktanın gösterilmesi ile tanı konur.³

TT ile en çok karışan epididimoorşitte; testis yukarı doğru kaldırılınca ağrı azalır (Prehn bulgusu negatifliği). Epididimoorşit prepubertal dönemde seyrek olarak görölür ve sıklıkla üriner infeksiyon bulguları ile birlikte bulunur. Epididimit ise üriner infeksiyon bulguları ile birlikte ortaya çıkabilir.³ Akut epididimiti olan çocuklarda genitoüriner sistemin konjenital anomalilerini araştırmak için voiding sistoüretrografi ve renal ultrasonografi yapılmalıdır. Üreteral ektopi, posterior üretral valv, vezikoüreteral reflü ve mesane nöropatisi gibi patolojiler tespit edilebilir.⁴

Strangöle inguinal herni, akut hidrosel, skrotal herni kesesinin torsiyonu, idiyopatik skrotal ödem, travmatik hematoma, Henoch-Schönlein purpurası, skrotal yağ dokusu nekrozu, pyosel, testis tümörleri ve testisin lösemik infiltrasyonu ayırıcı tanıda

yer alan diğer hastalıklardır.^{21,28} Bununla birlikte tüm çocuklar TT elimine edilinceye kadar, TT varmış gibi tedavi edilmelidir.³

2. 4. TEDAVİ

Akut skrotum ve olası TTnun tedavisi, skrotumun acil cerrahi ekplorasyonudur. Skrotuma orta hattan bir kesi yapılır ve koter ile hemiskrotum açılır. Skrotal duvardaki ödem tunika vajinalisin tanınmasını zorlaştırabilir. Tunika vajinalis açıldığında hidrosel sıvısı açığa çıkar. Testisin kendisinin torsiyonu söz konusu ise, insizyon genişletilerek testis serbestleştirilir. Testisin görüntüsü normal ise, testisin üst kutbu palpe edilir.³ Apendiks testis torsiyone olmuş ise eksize edilir. TT oluşmuş ise, testis detorsiyone edilir ve canlılık sağlanır. Prepubertal dönemdeki bir çocukta, bu manevra genellikle kolaydır ve dolaşım birkaç dakika içinde normale döner. Postpubertal dönemdeki bir çocukta, özellikle testiste hemoraji var ise, canlılığı belirlemek zordur. Testisin kan akımı hakkında, Doppler ultrasonografi ile ameliyat anında bilgi edinilebilir.³

En iyi teknik, emilmeyen sütürlerle defekt kenarlarını tunika vajinalise sütüre etmek ve tunika segmentini ensize ederek bir tunika vajinalis penceresi oluşturmaktır. Bu skrotumun bağ dokusu ile testis yüzeyinin sürekli füzyonuna neden olur ve yeni bir mezorşium oluşturur. Absorbabl sütürlerle uygun olmayan fiksasyon tekrar eden torsiyonlara neden olabilir.³

Canlılığı şüpheli olan testislerin eksize edilip edilmemesi tartışmalıdır. Testiste oluşan iskeminin kan-testis bariyerini hasara uğrattığı ve çocukta kendi spermatogoniasına karşı potansiyel otoimmünizasyon riski oluşturduğuna ilişkin önemli kanıtlar vardır. Adolesan dönemde iskemik testis fikse edilirse erişkin dönemde spermatogenezis ile ilgili sorunlar ortaya çıkabilmektedir. On yaşından küçük çocuklarda, spermatogenezis henüz oluşmadığından ve kan-testis bariyeri olmadığından dolayı iskemiye bağlı otoimmünizasyon riski düşüktür. Bu nedenle 10 yaşından küçük çocuklarda şüpheli testisler yerinde bırakılabilir. On yaşından büyük iskemik testisi olan çocuklarda ise orşiektomi önerilir.³

Perinatal torsiyon nedeniyle atrofik testisi olan YDlarda, kontralateral testiste fiksasyon yapılmasının gerekip gerekmediği diğer bir tartışma konusudur. Daha önce belirtildiği gibi perinatal torsiyon, testisin inişi sırasında spermatik kordun torsiyonuna bağlı olarak meydana gelir. Bununla birlikte bu çocukların önemli bir kısmında fikse olmayan ya da çan tokmağı "bell-clapper" testis vardır. Bu nedenle kontralateral

torsiyon riski bulunmaktadır. Bu konuda kesin karar vermek zordur, fakat adolesanlardaki torsiyonda tanımlandığı gibi kontralateral testisin eksplorasyonu ve fiksasyonu yapılabilir.³ TT olan adolesanların yaklaşık 1/3 ünde daha önceden aralıklı olarak gelen ağrı hikayesi vardır. Bu nedenle tekrarlayan aralıklı testiküler ağrı ile başvuran adolesanlarda, fizik muayenede testis özellikle horizontal planda ise bilateral orşiopeksi yapılabilir.³

Sonuç olarak TTunun tedavisi acil eksplorasyon olup, testis dokusu canlı ise fiksasyon yapılmalıdır. Semptomların başlangıcından itibaren 6 saat içerisinde ameliyat edilen olgulardan iyi sonuçlar alınmıştır.²³ Şüpheli durumlarda da eksplorasyon en uygun yaklaşımdır.⁴ Böylece testisin canlılığını sağlama oranının % 80-90'lara kadar yükseldiği ileri sürülmüştür.^{23,28} Torsiyondan yaklaşık 10 gün sonra sekonder skrotal apse gelişenlere, drenaj ve geniş spektrumlu antibiyotik uygulanmalıdır. Böylece kontralateral skrotal enfeksiyon potansiyeli ortadan kalkar.⁴

2. 5. PROGNOZ

Dört saatlik iskemiden sonra ağır Sertoli hücre hasarı görülürken, Leydig hücre hasarı 10-12 saatlik iskemiden sonra ortaya çıkar. Torsiyonun süresi 6 saatten daha kısa ise testislerin % 85 ile 97'si, 6-12 saat arasında ise % 55 ile 85i, 12-24 saat arasında ise % 20 ile 80i kurtulur. TT 24 saatten uzun sürerse, kurtulma şansı % 10un altındadır.⁴

2. 6. İSKEMİK TESTİS DOKUSUNDAKİ BİYOKİMYASAL DEĞİŞİKLİKLER

Kan akımı azalan doku hücrelerinde enerji anaerobik yoldan sağlandığından, dokuda laktik asit miktarı artar. ATP azalınca hücre, enerji ihtiyacını en az enerji yüklü olan AMPyi kullanarak kompanse etmeye çalışır. Bunun için AMP hipoksantine yıkıldığında ortamdaki hipoksantin oksijen yetersizliği nedeniyle ksantin ve ürik asite dönüşmez ve böylece miktarı artar.⁶²⁻⁶⁵ Hücrenin hipoksi parametreleri olan laktik asit ve hipoksantin artmış olduğu, ATP, total adenosin nükleotid ve adenilat enerji yükünün ise azalmış olduğu görülür. Laktik asit ve hipoksantin, hücre hipoksisinin güvenilir göstergeleridir.

Doku kanlanması normale dönünce, ortamın oksijenasyonu ile reaksiyon yeniden oluşarak hızla süperoksit, hidroksil ve hidrojen peroksit gibi serbest oksijen radikalleri (SOR) meydana gelir.⁶⁴⁻⁶⁷ Bunlara reaktif oksijen spesmenleri de (ROS) denir. Normalde oksijenin % 1i sitokrom enzim sistemine girmeyerek SOR nin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Böylece az miktarda ortaya çıkan SOR, süperoksit

dismutaz (SOD), peroksidaz ve katalaz enzimleri tarafından suya yıkılmaktadır. Ancak bu enzimler, reperfüzyon döneminde fazla miktarda ortaya çıkan SOR ni yıkmaya yetecek miktarda ortamda bulunmamaktadır. Dokudaki hipoksinin bir göstergesi olması yanında daha çok reperfüzyon hasarını yansıtan bu maddelerin, perokside lipidler olarak tanımlanan komponentleri tiyobarbütirik asit reaktifleri (TBAR) şeklinde tespit edilebilmektedir. Bunlar hücrede ve mitokondrial membranlarda lipidlerle reaksiyona girerek lipid peroksidleri oluştururlar.^{63-65,68,69} Lipid peroksidasyonu doğrudan membran yapısına zarar verir ve dolaylı olarak da reaktif aldehidler üreterek membran bütünlüğünün ve sonra da hücre bütünlüğünün bozulmasına neden olur. Bu olaylara "reperfüzyon hasarı (RH)" denir.^{67,70}

Torsiyonun derecesi ve süresi arttıkça, testis elemanlarında ilerleyici hasar ortaya çıkar. Detorsiyone edilmiş testisin biyolojik fonksiyonu tartışmalıdır. Reperfüzyon sırasında oluşan oksijenlenme ile ksantin oksidaz; ürik asit ve süperoksit radikallerine dönüşür. Fazla miktarda ortaya çıkarak yıkılmayan SOR; mitokondri, lizozom ve hücre zarındaki lipidlerle peroksidasyon reaksiyonlarına girerek reverzibl ve irreverzibl hücre yıkımına neden olmaktadır. Reperfüzyondan bir süre sonra SOR nin etkisi gittikçe azalmaktadır.

2. 7. İSKEMİK TESTİS DOKUSUNDAKİ HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER

İskemi sonrası iki saat içinde dokuda kanama, ödem ve germinatif hücrelerde dejenerasyon oluşur. Ancak ilerleyen saatlerde bu ödem ve kanamanın daha fazla artmadığı ancak dejenerasyonun arttığı bildirilmiştir.^{14,29,30} İskemi süresi 24 saati bulunca, sperm ve spermatid sayısı oldukça azalarak nekroz ortaya çıkar.²⁰ Kontralateral testislerde ise en sık gözlenen histolojik değişiklikler, fokal organizasyon yetersizliği ve lumende immatür germ hücrelerinin görülmesidir. Ayrıca germ hecreleri tümü ile yoksa ağır hasar vardır.

2. 8. ANTIOKSİDAN MADDELER

Oksijen kaynaklı SORnin neden olduğu reperfüzyon hasarını engellemek için, katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz gibi enzimler; askorbik asit, folik asit, verapamil, 6-hidroksidopamin ve allopurinol gibi antioksidan ajanlar kullanılmıştır.^{78,84,85} Verapamil gibi kalsiyum kanal blokerleri, intraselüler sitozolik kalsiyumu azaltıp, ksantin dehidrojenazın ksantin oksidaza dönüşümünü azaltarak ve son olarak da SORnin üretimini azaltarak etki eder. Detorsiyon ile birlikte antioksidan

madde verilmesi ratin testis parankim fonksiyonunun düzelmesine yardımcı olur. Süperoksid dismutaz, SORni ortadan kaldırarak reperfüzyon injürisini önler. Allopurinol ve oksipurinol gibi allopurinol metabolitleri, ksantin oksidazı inhibe edip, hücredek SORni azaltarak hücrede reperfüzyon injürisini engellerler. İntraperitoneal olarak verilerek 6-hidroksidopamin ile oluşturulan kimyasal sempatektomi, TTndan sonra hipoksik ürünlerin artışı önlemiştir. Torsiyone edilen testiste reperfüzyonla oluşturulan testis hasarı, bu yaklaşımla azaltılabilir.

STEROİD

Steroidler, lokal ve sistemik uygulanabilen, oral emilimleri iyi ve plazma yarı ömürleri 30-300 dk. arasında değişen maddelerdir. Kortizol, plazmada albumine ve daha büyük oranda da transkortine bağlı olarak, sentetik glukokortikoidler ise serbest şekilde bulunurlar. Eliminasyonları üriner yoldan inaktif sülfo ve glukrokonjuge türevler şeklinde olur. Biyolojik yarı ömürleri (8-54 saat) plazma yarı ömürlerinden çok daha uzundur.

Glukokortikoidler organizmanın tüm dokularında önemli hücresel fonksiyonları kontrol altında tutarlar ve etki mekanizmaları aynıdır. Glukokortikoidlerin etkisi üç basamakta oluşur;

- 1-Stoplazmik bir reseptörle etkileşim
- 2-Steroid-reseptör kompleksinin aktivasyonu
- 3-Transkripsiyonun uyarılması

Glukokortikoidler antiinflamatuvar etkilerini enzimatik olmayan yolla gösterirler. Bunlar:

1-Kapiller geçirgenlik artışı inhibe ederek inflamasyon reaksiyonlarını bloke ederler.

2-Lezyonlu kapiller endoteline granüositlerin ve makrofajların yapışmalarını azaltırlar.

3-Makrofajların ve polimorfonükleer lökositlerin fagositer aktivitelerini, lenfositler ve makrofajlar tarafından bazı sitokinlerin oluşumunu azaltırlar. Böylece immünosupressif etki yaparlar. Glukokortikoidler, fosfolipaz A2 enzimini inhibe ederek membran fosfolipidlerinden, prostaglandinlerin prekürsörü olan araşidonik asit oluşumunu bloke ederler. Böylece inflamasyonda mediatör olarak görev yapan prostaglandinlerin ve lökotrienlerin sentez yolu olan siklooksijenaz ve lipooksijenaz yolu bloke olur.

4-İnflamasyonlu dokularda ortaya çıkan bradikininin aktivasyonu bloke olur. Histamin ve serotoninin ortaya çıkışı glukokortikoidler tarafından etkilenir. Glukokortikoidler, kollajenaz ve elastaz gibi nötr proteazlar, doku plazminojen aktivatörü, kinin ve kompleman oluşumunu da inhibe ederler.³¹

Görüldüğü gibi glukokortikoidler; fosfolipazA2 sistemini bloke ederek ve lökosit aktivasyonunu engelleyerek radikal oluşumunu önlerler. Sonuçta glukokortikoidler, antiinflamatuvar etkileri dolayısı ile RHNın gelişiminde rol alan bir çok mekanizmayı iyileştirici etki yapar.

MELATONİN

Melatonin (N-acetyl-5 methoxytryptamine), sirkadien siklüsün karanlık döneminde pineal glanddan salgılanan bir hormondur.⁷³⁻⁷⁷ Melatonin salınımı gece artar, sabaha doğru azalır ve gün ortasında oldukça azalır.^{78,79} Melatoninin uykunun başlangıcından 3-4 saat sonra salgılandığı deneysel çalışmalarla gösterilmiştir.^{73,80,81} Karanlıkta pineal beta-reseptörlerin adrenerjik stimülasyonu nedeni ile melatonin salgısı gerçekleşir, beta-blokerler tarafından ise melatonin sekresyonu engellenir.⁵⁷ Melatonin oral verildiği zaman, iyi absorbe edilir, hızla metabolize edilir ve plazma yarı ömrü birkaç dakika sürer.⁵⁵ Melatoninin günlük önerilen dozu 5 mg olup, periton içine ve cilt altına verildikten sonra 30-45 dakikada sistemik dolaşıma geçer. Bir saat sonra serumda en yüksek düzeyine ulaşır.^{85,86,94} Diğer antioksidan ajanlardan farklı olarak melatonin, yüksek dozlarda (300 mg/gün) ve uzun süre kullanımda (5 yıla kadar) bile hiçbir toksik etki göstermez.⁸⁷ Melatonin 300-1000 mg/gün dozunda 1-4 hafta süre ile verildiğinde ise ciltte flaşing, karında kramp, ishal ve migren tarzında başağrıları görülmüştür. Hormonlar genellikle küçük dozlarda verilir ve yapılan çalışmaların bazılarında önerilen melatonin dozları, fizyolojik olarak olması gereken dozlardan çok daha fazladır.⁹⁴

Triptofan önce serotonine sonra da bir indol olan melatonine dönüştürülür. Melatonin, karaciğerde 6-hydroxy-melatonine metabolize edilir. Bilinen en güçlü antioksidan ajan olan melatonin, en zararlı radikal olan OH⁻ radikali ile reaksiyona girerek ve indolil katyon radikalini tutarak antioksidan aktivite gösterir.⁸² En güçlü lipofilik ajan olarak da bilinen melatonin, hücre çekirdeğine ve hücrenin hemen bütün organellerine ulaşır. Kan-beyin bariyeri gibi engelleri de kolayca geçerek geniş dağılımlı bir antioksidan aktivite gösterir. Melatonin, invivo ve invitro ortamlarda direkt olarak serbest radikal temizleyicisi olarak görev yaptığı gibi, aynı zamanda bir

antioksidan enzim olan glutatyon peroksidaz sentezini de uyarak indirekt olarak görev yapar.^{74,75,83,84}

Melatonin DNA hasarı yapan toksik serbest radikallerin ortadan kaldırılmasında en etkili hormondur. Melatonin, diğer antioksidan ajanlardan farklı olarak hücre çekirdeğine girerek DNAyı oksidatif hasardan korur. SORni oluşturarak kansere neden olan safrolün DNA üzerindeki yıkımını inhibe eder ve böylece antitümör özelliği gösterir.⁸⁵ İleri derecede "renal hücreli karsinoma"sı olan 22 hastanın, 12 ay süre ile lenfoblastoid interferon ve günde 10 mg melatonin ile tedavi edildiği bildirilmektedir. Antitümör ve immunitiyi artırıcı özelliklerinden yararlanmak için kanser ve AIDS tedavisinde kullanılmak üzere, daha ileri çalışmalar devam etmektedir.⁷⁴ Melatoninin, puberte ve ısı düzenlenmesinde de olumlu etkisi vardır.⁸⁶ Pineal glandı çıkartılan ratlarda testis regresyonu olduğu bildirilmiştir. Diğer bir çalışmada ise üreme siklusunun değişik evrelerinde melatonin verilen köpeklerde ise testis regresyonunun önlendiği gösterilmiştir. Bu nedenle spermatogenezisi olumlu yönde etkiler.^{94,95,96,97}

Melatoninin diğer bazı endikasyonları; glokom, epilepsi, stres, uyku bozuklukları, kalp ve karaciğer hastalıkları ile yaşlılıkla ilgili (yaşlılıkta melatonin yapımı azaldığından) hastalıklardır.⁷³ Bir deneysel çalışmada karaciğer dokusunda iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan polimorf çekirdekli lökositlerin ve lipid peroksidlerin melatoninin etkisiyle azaldığı gösterilmiştir.⁵⁶ Kainik asit tarafından beyinde oluşturulan lipid peroksidasyonu ve beyin mitokondri DNA hasarı melatonin ile önlenabilmektedir.⁸⁸ Melatonin (günün karanlık saatleri sırasında 20 mg/gün oral verilerek), kemoterapi uygulanan hastalarda oluşan asteni, trombositopeni, stomatitis, kardiyotoksisite ve nörotoksisiteyi önemli oranda azalttığından dolayı; medikal onkolojide destekleyici olarak başarı ile kullanılabilir. Depresyonlu hastalarda, melatonin seviyeleri düşük bulunmuştu.⁸ Melatonin, kalsitonini serbestleştirerek, prostaglandinin sentezini inhibe ederek ve paratiroid bezleri stimüle ederek; kalsiyum ve fosfor metabolizmasının düzenlenmesinde etkili olduğu bildirilmiştir.⁹⁴

Melatoninin kesin olarak tespit edilen etkilerini özetleyecek olursak; oksijeni^{58,59,90,91,98,99} ve nitrojen kaynaklı reaktanları temizlemesi¹⁰⁰⁻¹⁰², SOR temizleyicilerinin fonksiyonunu metabolize etmesi^{90,104,105}, antioksidatif enzimleri stimüle etmesi^{106,107}, oksidatif enzimleri inhibe etmesi¹⁰⁸, glutatyon seviyelerini artırması¹⁰⁹, hücre membranlarını stabilize etmesi^{110,111}, oksidatif fosforilasyonun

etkisini arttırması ^{112,113}, lökosit yıkımını ve adhezyon molekülünün ortaya çıkmasını ^{114,115} ve homosistein aracılıklı yıkımı azaltması ^{116,117} sayılabilir.



3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Cerrahisi, Biyokimya ve Patoloji Anabilim Dallarını ile birlikte Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp ve Araştırma Merkezi'nde Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurulu Yönergesi doğrultusunda etik yönden "uygun" bulunarak gerçekleştirildi.

3.1. DENEKLER

Çalışmamızda 100 adet sağlıklı, 70-75 gr ağırlığında, 30-45 günlük prepubertal erkek Sprague-Dawley rat kullanıldı.

3.2. OPERASYONUN VE TEDAVİNİN YAPILIŞI

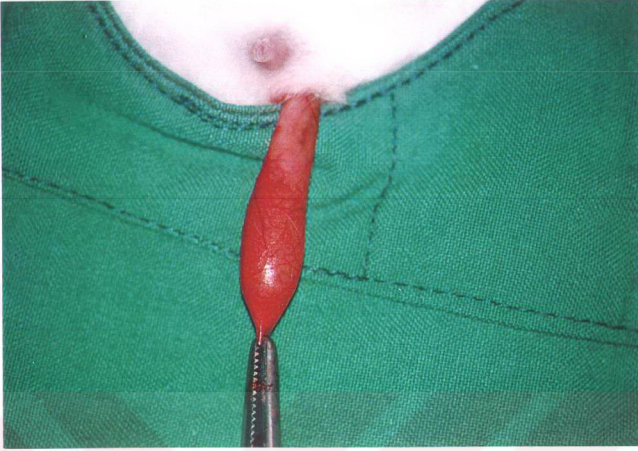
Denekler steril şartlarda 50 mg/kg i.m ketamin hidroklorür enjeksiyonu ile uyutuldu. Sol inguinoskrotal bölgenin temizlenmesinden sonra 2 cm.lik inguinoskrotal cilt kesisi ile funikulus spermatikusa ulaşıldı (Resim 1). Sol spermatik kord ve testis serbestleştirildikten sonra kontrol grubunda hemen, sham-1 grubunda 6 saat sonra, sham-2 grubunda 7 gün sonra sol orşiektomi yapıldı. Torsiyon grubunda ise sol testisin saat yönünde 720° ekstravajinal torsiyonundan 6 saat sonra sol orşiektomi uygulandı (Küstener yöntemi).⁹ (Resim 2). Torsiyone edilen testisler (720°) 3/0 polyglycolic acid içeren absorbabl bir suture ile skrotuma tespit edildi (Resim 3). Torsiyon-Detorsiyon gruplarında ise sol testise saat yönünde 720° torsiyon uygulandıktan 6 saat sonra detorsiyon ve bir grupta detorsiyondan 6 saat sonra sol orşiektomi, diğer gruba ise 7 gün sonra sol orşiektomi yapıldı. Tek doz tedavi gruplarında ise sol testise saat yönünde 720° torsiyon uygulandı. Torsiyon süresi 6 saat idi. Detorsiyondan 30 dakika önce antioksidan maddeler verildi. Detorsiyondan 6 saat sonra sol orşiektomi uygulandı. Yedi doz tedavi gruplarında ise detorsiyondan 30 dakika önce antioksidan maddeler verildi, 6 saat sonra detorsiyon uygulandı ve 7 gün süre ile günde tek doz antioksidan maddeler verildi. Ardından 7. günün sonunda sol orşiektomi yapıldı. Cerrahi girişimlerden sonra kesi steril şartlarda 3/0 monofilament polipropilen ile kapatıldı.

Melatonin [(N-Acetyl-5-methoxytryptamine) M-5250 Lot 25H0904 SIGMA] alkolde eriyen bir madde olduğundan, 150 mg alınarak steril 15 ml. saf etanolde çözdürüldü. Hazırlanan stok solüsyon ışığa maruz bırakılmadan, enjeksiyon zamanına kadar deep-freezde -83°Cde muhafaza edildi. Stok solüsyondan her rat

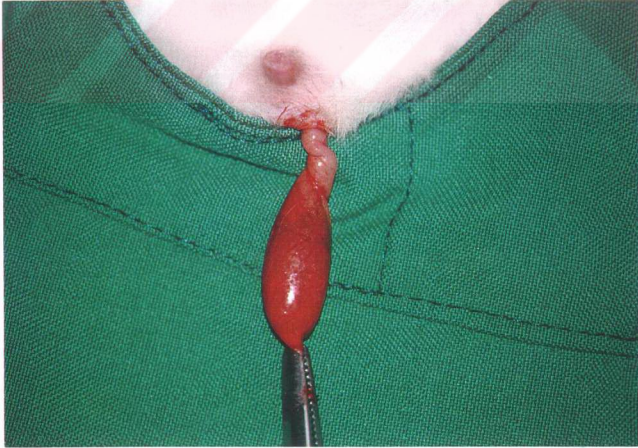
için 0.1 ml. alınarak üzerine 0.4 ml. SF solüsyonu eklenip 17 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulandı. 20 mg.lık metilprednizolon solüsyonundan her rat için 0.1 ml. alınarak üzerine 0.1 ml. SF solüsyonu eklenip 1 mg/kg dozunda i.m olarak verildi.

Orşiektomi sonrası testislerin yarısı testis dokusunda MDA düzeylerini tespit etmek için biyokimya laboratuvarına, diğer yarısı ise % 10 formaldehit solüsyonuna konularak Johnsen skorlarını belirlemek amacıyla patoloji laboratuvarına gönderildi.





Resim 1: Normal rat sol testisinin görünümü.



Resim 2: Sol testise saat yönünde 720° torsiyon oluşturulması.



Resim 3: Torsiyon sonrası testisin skrotuma tespiti.

3.3. ÇALIŞMA GRUPLARI

Denekler 10 gruba ayrıldı. Her grupta 10 adet rat kullanıldı.

Grup 1 (Kontrol Grubu): Sol orşiektomi yapıldı.

Grup 2 (Sham-1 Grubu): Sol testis skrotum dışına alındı, 5 dakika sonra tekrar skrotuma yerleştirilip kapatıldı ve 6 saat sonra sol orşiektomi yapıldı.

Grup 3 (Sham-2 Grubu): Sol testis skrotum dışına alındı, 5 dakika sonra tekrar skrotuma yerleştirilip kapatıldı ve 7 gün sonra sol orşiektomi yapıldı.

Grup 4 (Torsiyon Grubu): Sol testisin saat yönünde 720° torsiyonundan 6 saat sonra sol orşiektomi yapıldı.

Grup 5 (Torsiyon-Detorsiyon-1 Grubu): Sol testise saat yönünde 720° torsiyon uygulandı, 6 saat sonra detorsiyon ve detorsiyondan 6 saat sonra sol orşiektomi yapıldı.

Grup 6 (Torsiyon-Detorsiyon-2 Grubu): Sol testise saat yönünde 720° torsiyon uygulandı, 6 saat sonra detorsiyon ve 7 gün sonra sol orşiektomi yapıldı.

Grup 7 (Torsiyon-Detorsiyon-Tek Doz Steroid Grubu): Sol testise saat yönünde 720° torsiyon uygulandı, detorsiyondan 30 dakika önce steroid verildi, 6 saat sonra detorsiyon yapıldı. Detorsiyondan 6 saat sonra sol orşiektomi uygulandı.

Grup 8 (Torsiyon-Detorsiyon-Yedi Doz Steroid Grubu): Sol testise saat yönünde 720° torsiyon uygulandı, detorsiyondan 30 dakika önce steroid verildi, 6 saat sonra detorsiyon yapıldı. Ardından 7 gün süre ile günde tek doz steroid verildi ve 7. günün sonunda sol orşiektomi uygulandı.

Grup 9 (Torsiyon-Detorsiyon-Tek Doz Melatonin Grubu): Sol testise saat yönünde 720° torsiyon uygulandı, detorsiyondan 30 dakika önce melatonin verildi, 6 saat sonra detorsiyon yapıldı. Detorsiyondan 6 saat sonra sol orşiektomi uygulandı.

Grup 10 (Torsiyon-Detorsiyon-Yedi Doz Melatonin Grubu): Sol testise saat yönünde 720° torsiyon uygulandı, detorsiyondan 30 dakika önce melatonin verildi, 6 saat sonra detorsiyon yapıldı. Ardından 7 gün süre ile günde tek doz melatonin verildi ve 7. günün sonunda sol orşiektomi uygulandı.

3.4. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

Doku homojenatlarının hazırlanması

Orşiektomi ile elde edilen testisler tartıldıktan sonra 150 mM soğuk KCL ile Microson Ultrasonic Cell Disrubter XL 2007 marka homojenizatörle 12 rms de homojenize edildi.

MDA (Lipid peroksit) ölçümü

MDA, lipid peroksidasyonunun derecesi ile iyi korelasyon gösterir. Yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir. Lipid peroksit değerinin ölçülmesinde, Uchiama ve Mihara yöntemi ile lipid peroksitin bir ürünü olan MDA ölçümü tercih edildi.¹⁰⁷ Tüpe, 1 ml homojenat, 0.08 ml % 0.01 lik BHT (Butilated Hidroksi Toluen) + 3'er ml % 1 lik fosforik asit ve 1'er ml % 0.6 Thiobarbutiric acid (TBA) eklendi, vortexte karıştırıldı, sonra tüpler kaynar su banyosunda 45 dakika tutuldu. Tüpler soğutulduktan sonra, karışımlar 4'er ml butanol eklenerek iyice karıştırıldı ve oluşan renk butanol fazına ekstrakte edildi. Jhımatzu marka spektrofotometrede 532 nm de absorbanslar butanol körüne karşı okundu. Sonuçlar mg-protein başına verildi. Oluşan rengin şiddeti, aynı koşullarda çalışılan ve homojenat yerine KCL içeren köre karşı 535 ve 532 nm. absorbans farkları 1.1.3.3 tetraetoxipropanın yıkım ürünü standart kabul edilerek okundu. Hesaplama, TBA nın MDA ile oluşturduğu kompleksin molar absorpsiyonu $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ olarak alındı ve dokulardaki lipid peroksit miktarı gram yağ doku başına nanomol (nMol) MDA olarak verildi.

3.5. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Dokular % 10 luk formalin ile tespit edildi. Tespit edilen dokulardan hazırlanan parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında ince kesitler yapıldı. Hazırlanan kesitler Hematoksilen-Eozin (H&E) ile boyandı. Bütün doku örnekleri aynı patolog tarafından kör olarak, ışık mikroskopunda histopatolojik olarak değerlendirildi. Seminifer tübülüs çapı, sperm ve spermatid sayısı, germinatif hücrelerde dejenerasyon (bulanık şişmeden nekroza, fokal dağılımdan diffuz dağılıma kadar), organizasyon bozukluğu, dokuda ödem ve kanama ayrı ayrı incelendi. Bu değerlendirmede histopatolojik hasarı sınıflandırmak için Johnsen skoru (Tablo 1) kullanıldı.⁹²

Tablo 1. Johnsen skorlaması⁹²

Skor 1	Tübüler kesitte hiç hücre yok.
Skor 2	Germ hücresi hiç yok, sadece Sertoli hücresi mevcut.
Skor 3	Spermatogonia şeklinde birkaç germ hücresi mevcut.
Skor 4	Sadece birkaç spermatozoid (< 5) mevcut; ancak spermatozoa ve spermatid mevcut değil.
Skor 5	Spermatozoa ve spermatid yok, fakat biraz ya da çok sayıda spermatozoid mevcuttur.
Skor 6	Hiç spermatozoa yok, sadece birkaç spermatid mevcut (<5-10).
Skor 7	Hiç spermatozoa yok, ancak birçok spermatid mevcut.
Skor 8	Sadece birkaç spermatozoa mevcut (<5-10)
Skor 9	Çok sayıda spermatozoa mevcut, ancak germinal epitel yetersiz ve lümen obliteredir.
Skor 10	Komplet spermatogenezis söz konusudur; çok sayıda spermatozoa içeren ve yeterli kalınlıkta organize olmuş germinal epitelium ve açık lümen mevcut.

3.6. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Çalışmadaki tüm gruplara "Varyans analizleri, ANOVA ve Tukey HSD" testi uygulandı. Bulunan P değeri < 0.05 ise gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. BİYOKİMYASAL BULGULAR

Testis dokusundaki MDA değerlerine göre, tek doz steroid grubu (Grup 7) sham-1 grubu (Grup 2) ile karşılaştırıldığında aradaki farkın anlamsız olduğu ($P>0.05$), torsiyon-detorsiyon-1 grubu (Grup 5) ile karşılaştırıldığında ise anlamlı olduğu ($P<0.05$), ancak bu grupların (Grup 2 ve 5) tek doz melatonin grubu (Grup 9) ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde melatonin grubunda MDA değerlerinin düşük olduğu tespit edildi ($P<0.05$). Tek doz steroid grubu ile tek doz melatonin grubu karşılaştırıldığında, MDA değerleri melatonin grubunda daha düşük olmasına rağmen aradaki farkın anlamsız olduğu görüldü ($P>0.05$)

Sham-2 (Grup 3) ve torsiyon/detorsiyon-2 (Grup 6) grupları ile karşılaştırılan yedi doz steroid (Grup 8) ve yedi doz melatonin (Grup 10) gruplarındaki MDA değerleri daha düşük bulunmuş olup, aralarındaki farklılıkların anlamlı olduğu tespit edildi ($P<0.05$). Ancak yedi doz steroid grubu ile yedi doz melatonin grupları arasındaki MDA değerleri melatonin grubunda düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($P>0.05$).

Tek doz steroid grubu (Grup 7) ile yedi doz steroid (Grup 8) grubu karşılaştırıldığında farkın anlamlı olduğu ($P<0.05$) ve MDA değerlerinin yedi doz steroid grubunda belirgin bir şekilde düşük olduğu tespit edildi. Tek doz melatonin grubu (Grup 9) ile yedi doz melatonin grubu (Grup 10) karşılaştırıldığında ise, MDA değerlerinin yedi doz melatonin grubunda ileri derecede düşük olarak bulunmuş olup aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($P<0.05$). MDA değerleri tablo 2 de özetlenmiştir.

Tablo 2. Tüm Grupların Biyokimyasal Değerlendirmesinde Testis Dokularındaki MDA Değerleri

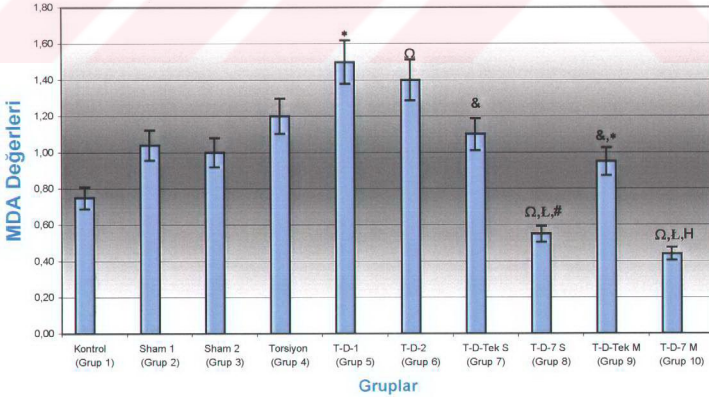
Gruplar	MDA (n mol.mg.prot ⁻¹ /gr yaş doku)
1 (Kontrol)	0.757 ± 0.101
2 (Sham 1)	1.040 ± 0.178
3 (Sham 2)	1.000 ± 0.476
4 (Torsiyon)	1.200 ± 0.081
5 (T-D-1)	1.500±0.159*
6 (T-D-2)	1.400 ±0.252 ^Ω
7 (T-D-Tek S)	1.100 ± 0.088 ^{&}
8 (T-D-7 S)	0.550 ± 0.071 ^{Ω,L,#}
9 (T-D-Tek M)	0.950 ± 0.036* ^{,&}
10 (T-D-7 M)	0.440 ± 0.018 ^{Ω,L,H}

Değerler Ortalama ± SD olarak verilmiştir.

* Grup 2 ile karşılaştırıldığında P<0.05 Ł Grup 6 ile karşılaştırıldığında P<0.05

Grup 7 ile karşılaştırıldığında P<0.05 Ω Grup 3 ile karşılaştırıldığında P<0.05

H Grup 9 ile karşılaştırıldığında P<0.05 & Grup 5 ile karşılaştırıldığında P<0.05

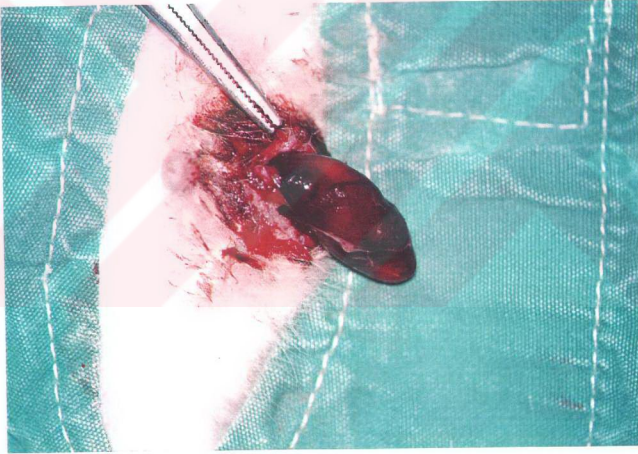


Grafik 1: Gruplara göre MDA değerleri (n mol.mg.prot⁻¹/gr yaş doku)

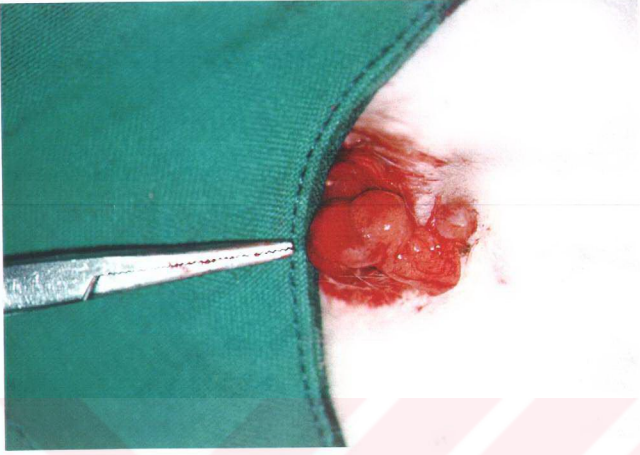
4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

4.2.1. Makroskopik Bulgular

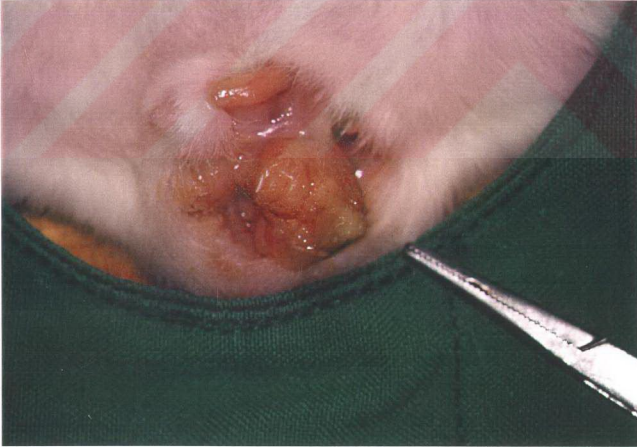
Prepubertal rat testisleri yaklaşık olarak 1.1 x 0.7 x 0.6 cm boyutlarında ve yaklaşık 0.4-0.8 gr. ağırlığında olup pembe renklidir. Testislerin 6 saat süre ile 720° derece torsiyon sonrası ileri derecede ödemli, hemorajik ve siyanotik oldukları gözlemlendi (Resim 3). Daha sonra 6 saatlik detorsiyon sonrasında da benzer makroskopik görüntülerle beraber siyanozun arttığı görüldü (Resim 4). Yedi doz steroid (Resim 5) ve özellikle de yedi doz melatonin (Resim 6) verilen gruplarda hemoraji ve ödemin azaldığı gözlemlendi.



Resim 4: İskemi sonrası oluşturulan 6 saatlik reperfüzyonda testisteki hasarın daha da arttığı görülmektedir.



Resim 5: Yedi doz steroid grubunda hemorajı ve ödemin azaldığı görüldü.



Resim 6: Yedi doz melatonin grubunda da hemorajı ve ödemin azaldığı görüldü.

4.2. 2. Mikroskopik Bulgular

Testis dokusundaki histopatolojik incelemeye göre, sham-1 grubu (Grup 2), tek doz steroid (Grup 7) ve tek doz melatonin (Grup 9) grupları ile karşılaştırıldığında aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($P<0.05$), steroid ve melatonin gruplarındaki testis dokularının Johnsen skorlarının daha düşük olduğu tespit edildi. Bu gruplar (Grup 7 ve 9), torsiyon-detorsiyon-1 grubu (Grup 5) ile ve kendi aralarında karşılaştırıldığında her üç gruptaki testislerin Johnsen skorlarının birbirine eşit olduğu ve istatistiksel olarak anlamsız olduğu bulundu ($P>0.05$)

Sham-2 grubu (Grup 3), yedi doz steroid (Grup 8) ve yedi doz melatonin (Grup 10) grupları ile karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğu ($P>0.05$) ve her iki gruptaki Johnsen skorlarının sham-2 (Grup-3) grubundaki skora çok yakın olduğu tespit edildi. Aynı grupların (Grup 8 ve 10), torsiyon-detorsiyon-2 (Grup 6) ile karşılaştırıldığında aradaki farkın anlamlı olduğu görüldü ($P<0.05$). Johnsen skorları torsiyon-detorsiyon-2 (Grup 6) grubuna oranla oldukça yüksekti. (Resim 9) Yedi doz steroid (Grup 8) (Resim 10) ile yedi doz melatonin (Grup 10) (Resim 11) grupları arasında ise anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($P>0.05$). Ancak yedi doz melatonin (Grup 10) grubundaki testislerin Johnsen skorları daha yüksekti.

Tek doz steroid grubu (Grup 7) ile yedi doz steroid grubu (Grup 8) ve tek doz melatonin grubu (Grup 9) ile yedi doz melatonin grubu (Grup 10) karşılaştırıldığında; yedi doz tedavi gruplarının testislerinin Johnsen skorları, tek doz tedavi gruplarına göre daha yüksek olduğu tespit edildi. Aralarındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($P<0.05$). Johnsen skoru değerleri tablo 3 de özetlenmiştir.

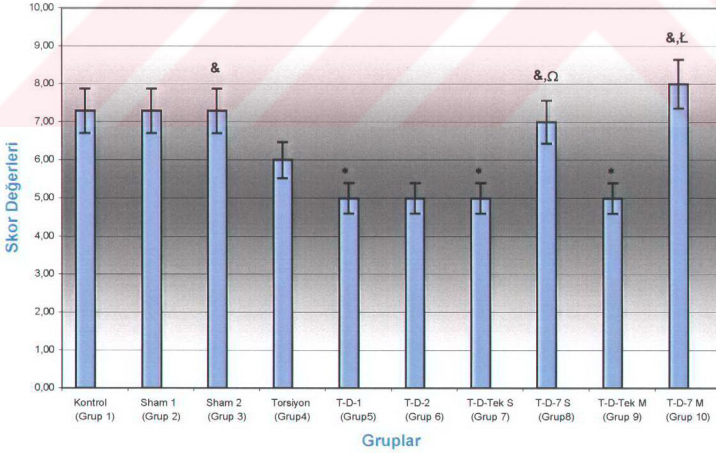
Tablo 3. Johnsen skorlamasına göre çalışma gruplarında testis dokularının histopatolojik değerlendirilmesi

Gruplar	Johnsen skoru
1 (Kontrol)	7,300 ± 0,675
2 (Sham 1)	7,300 ± 0,675
3 (Sham 2)	7,300 ± 0,675 ^{&}
4 (Torsiyon)	6,000 ± 0,817
5 (T-D-1)	5,000 ± 0,817 [*]
6 (T-D-2)	5,000 ± 0,817
7 (T-D-Tek S)	5,000 ± 0,817 [*]
8 (T-D-7 S)	7,000 ± 0,817 ^{&,Ω}
9 (T-D-Tek M)	5,000 ± 0,817 [*]
10 (T-D-7 M)	8,000 ± 0,817 ^{&,L}

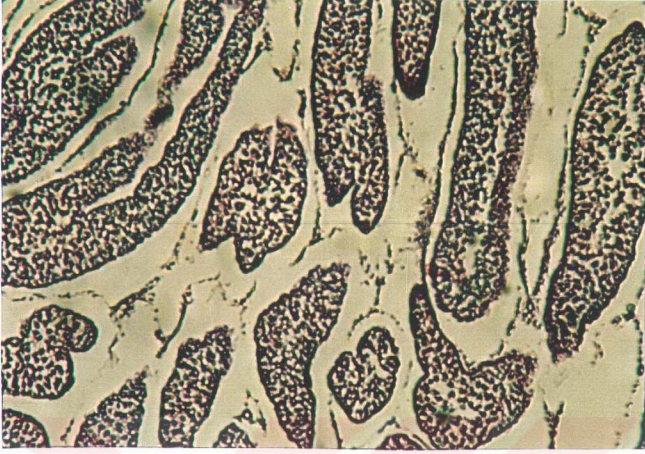
Değerler Ortalama ± SD olarak verilmiştir.

* Grup 2 ile karşılaştırıldığında P<0.05 Ω Grup 7 ile karşılaştırıldığında P<0.05

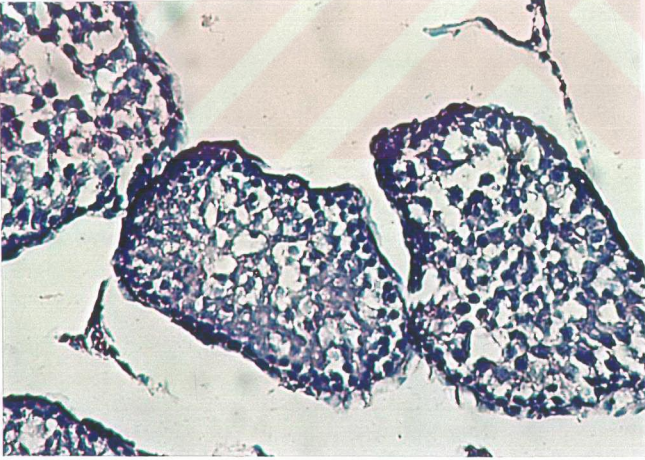
L Grup 9 ile karşılaştırıldığında P<0,05 & Grup 6 ile karşılaştırıldığında P<0.05



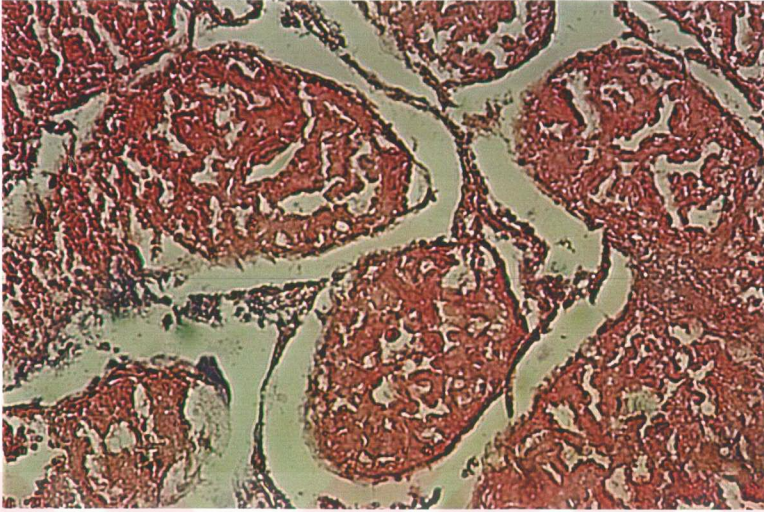
Grafik 2: Gruplara göre Johnsen skoru değerleri.



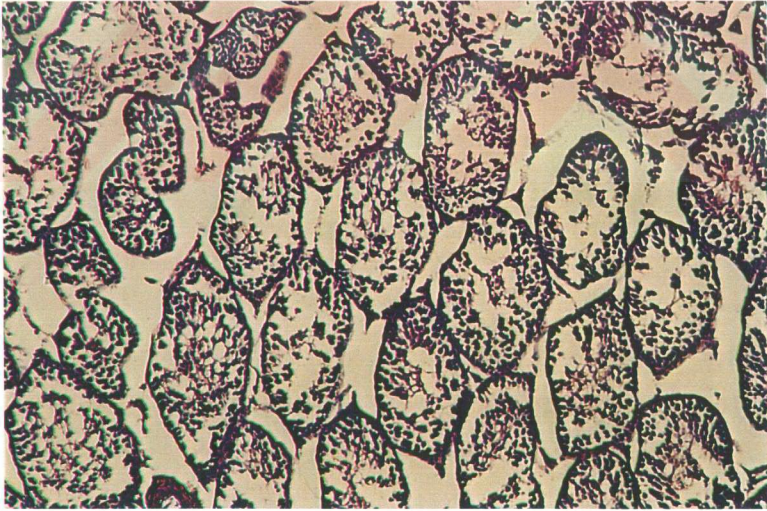
Resim 7: Kontrol grubunda normal spermatogenezisle beraber olan düzenli seminifer tübüller ve germ hücreleri . Sertoli ve leydig hücreleri yapı ve sayı olarak normaldir (Johnsen skoru: 8)(H&E, x40).



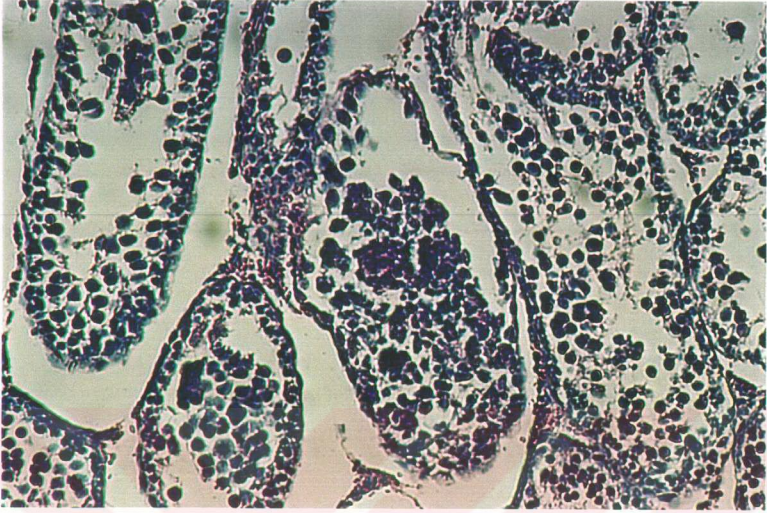
Resim 8: İskemi grubundaki bir testisin histopatolojik görünümü. Bazı seminifer tübüller nekrotik görünümde olup, normal histolojik yapı bozulmuştur (Johnsen skoru: 6) (H&E, x40).



Resim 9: Reperfüzyon grubunun histopatolojik görünümü. Dokunun boya tutmasının belirgin şekilde azalmasına bağlı solukluk ve germinal hücrelerde koagulasyon nekrozu dikkati çekmektedir (Johnsen skoru: 5) (H&E, x40)



Resim 10: Yedi doz steroid grubunun histopatolojik görünümü. İnterstiyumda kanamaya bağlı eritrosit toplulukları görülmektedir. Seminifer tübül içinde disorganizasyonik bir görünüm mevcuttur (Johnsen skoru: 7) (H&E, x40).



Resim 11: Yedi doz melatonin grubunun histopatolojik görünümü. Spermatogenetik seri hücrelerinde minimal azalma ile beraber tübüller arasında ilişkinin kısmen bozulduğu dikkat çekmektedir (Johnsen skoru: 8) (H&E, x40).

5. TARTIŞMA

TT acil cerrahi girişim gerektiren bir hastalıktır. Agressif cerrahi girişimler testisin kurtulma olasılığını artırır. Buna rağmen testislerin % 68inde atrofi gelişmektedir.⁴¹ Tedavi edilmeyen olgularda ise hemen hemen tamamında testis atrofisi gelişmekte ve olguların bir kısmında infertiliteye neden olmaktadır. TT nda kan akımının azalması ile oluşan iskemi sonucunda ATP azalır. Hücre enerji ihtiyacını, en az enerji yüklü olan AMPyi kullanarak karşılamaya çalışır. AMP yıkım ürünleri ise; adenosin , inozin ve hipoksantindir. Hipoksantin oksijen yetersizliği nedeni ile ksantin ve ürik asite dönüşemez. Bu nedenle miktarı artar. İskemi sonucu anaerobik glikolizis nedeni ile ATP üretmek için daha çok sayıda glikoz molekülünün yıkılması ile ortamda fazla miktarda laktik asit birikmektedir. Laktik asit ve hipoksantin hücre hipoksisinin güvenilir göstergeleridir. Testisin detorsiyone edilerek kanlanmanın tekrar başlaması sonucu ortamın oksijenlenmesi ile hücrede fazla miktarda birikmiş olan hipoksantin, ksantin oksidaz enzimi ile ürik asite dönüşür ve aşırı miktarda SOR ortaya çıkar. SOR hücrede toksik etki gösterir. Hücre membranındaki fosfolipidlerin SOR ile reaksiyona girmesi sonucu lipid peroksidasyonu oluşmaktadır. Lipid peroksidasyonu doğrudan membran yapısına zarar verir. SOR aynı zamanda hücre proteinini ve DNAyı oksidize edip DNA hasarına yol açarak genetik kodda mutasyonlara neden olabilir. Bu olaylar hücrede fonksiyon bozukluğuna ve hücre ölümüne neden olur.^{7,18,28,42,43,51,62,65} TTnda karşı taraf testis de değişik mekanizmalar sonucu etkilenmektedir.^{6,18,20} Genitofemoral sinirden sempatik deşarj oluşmakta ve 15 dk süre ile katekolaminlerde %21 oranında artış olmaktadır.⁶⁰ Bu sonuçlar, karşı testiste kan akımının azalmasında otonomik sinir sisteminin rol aldığını göstermektedir.

TTnun prepubertal dönemde fazla görülmesi nedeni ile çalışmamız bu dönemdeki ratlarda uygulandı. Bu dönemdeki ratlardan elde edilen sonuçların klinik ile adaptasyonu daha uygun olacaktır.^{17,93,94} Torsiyon genellikle sol testiste görüldüğü için torsiyon sol testiste oluşturuldu. Torsiyon sonucu testiste oluşan hasar torsiyonun derecesine ve süresine bağlıdır. Tam iskemi oluşturmak için torsiyonun derecesinin 720° olması yeterlidir.^{17,64,65,66} Rat testislerinde hasar oluşturmak için minimum süre 1 saattir.⁶¹ İki saat süre ile oluşturulan 360° torsiyon, rat testisinde orta derecede akut vasküler cevap oluşturur. Torsiyone edilen rat testislerinde, germinal ve tubuler epitel için güvenli sürenin 4 saatten daha kısa bir süre olduğu belirlenmiştir.^{10,16,19} Ancak 4 saatten daha uzun süre ile 720° torsiyone edilen testislerde kan akımı bloke edilerek

fokal infarktüsler oluşmaktadır.^{14,29,30,34} Çalışmamızda ise ciddi bir İ-R hasarı oluşturmak için 6 saat süre ile 720° torsiyon oluşturduk. Torsiyon oluşturulan çalışma gruplarında hem biyokimyasal hem de histopatolojik olarak iskemik değişikliklerin oluştuğunu gördük.

Reperfüzyon sonrası ortaya çıkan SORnin öncelikle zarar verdikleri yer hücre membranıdır. Burdaki fosfolipitlerle reaksiyona girerek peroksidasyona neden olurlar. Lipid peroksidasyonunun son ürünü MDAdır.⁴⁰ İ-R hasarını testis dokusunda biokimyasal olarak belirlemek için MDA seviyeleri güvenilir bir belirleyicidir.⁶² TT nda hasarın derecesini belirlemek için en önemli ve güvenilir belirleyicilerden biri de histopatolojik değerlendirmedir. Torsiyonda vende konjesyon ve kapillerlerde ekstrasvazyon oluşur. Daha sonra hemorajik infarkt ortaya çıkar. Torsiyonun derecesine göre hafif hasarda interstisiyel ödem görülür. Orta dereceli hasarda ise seminifer tübül nekrozunun erken bulguları ile birlikte interstisiyel hemoraji tespit edilir. Bu dönemde seminifer tübüllerdeki germ hücreleri ve Sertoli hücreleri zarar görür. Ağır hasarda ise hemorajik infarkt gelişir. Johnsen skoru tübüllerdeki germ hücreleri ve sertoli hücreleri hakkında bize ayrıntılı bilgiler verir. Skor 2de germ hücresi yoktur ve sadece Sertoli hücresi vardır. Skor 1de ise tübüler kesitte hiç hücre yoktur. Torsiyondan 1 saat sonra genellikle ödem ve kanama oluşur. Germ hücreleri, kapiller sistemdeki sirkülasyonun bozulması ile ortaya çıkan iskemiye karşı çok hassastır.^{33,39,61}

Çalışmamızda, 720° 6 saatlik torsiyon ve detorsiyon işleminden sonra MDA seviyeleri sham gruplarına göre yüksek değerlere çıkmış ve aradaki fark anlamlı bulunmuştur (P<0.05). Johnsen skorları açısından torsiyon-detorsiyon gruplarının skorları, sham gruplarına göre daha düşük olarak tespit edilmiş olup, aralarındaki farkın anlamlı olduğu görülmüştür (P<0.05). Bu bulgulara göre, 6 saatlik torsiyondan sonra oluşturulan 6 saatlik detorsiyon sonucu İ-R hasarı belirgin bir şekilde ortaya çıkar. MDA ve Johnsen skoru reperfüzyon hasarını belirlemek için hassas ve güvenilir belirleyicilerdir.

Bugüne kadar yapılan deneysel çalışmalarda testiste oluşturulan İ-R hasarını önlemek için; alopurinol, oksipurinol, SOD, PEG (polietilen glikol)-SOD, katalaz, kafeik asit fenetil esteri, diltiazem, verapamil, deferoksamin, vitamin E gibi antioksidan maddeler kullanılmıştır.^{14,17,44,45,67,69,72} Bu maddeler İ-R hasarından sonra, SORnin etkisini azaltmak için değişik şekillerde etki gösterirler. Allopurinol ve oksipurinol ksantin oksidaz enzimini inhibe eder.⁴⁶ SOD, süperoksit anyonunun

hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalize eder. Aynı zamanda indirekt olarak süperoksit anyonundan ve hidrojen peroksitten, hidroksil radikali ve hidroksil anyonunun oluşumunu da baskılar.^{35,36} Katalaz ise iki hidrojen peroksit molekülünden birini elektron vericisi, diğerini elektron alıcısı olarak kullanarak bunları zararsız hale getirir.^{32,35,37,38,47} TT sonucu oluşturulan İ-R hasarını önlemek deneysel çalışmalarda kortikosteroidler kullanılmamıştır. Bunlar fosfolipaz A2 sistemini bloke ederek ve lökosit aktivasyonunu önleyerek SORnin oluşumunu engeller. Ayrıca antiinflamatuvar etkileri de reperfüzyon hasarının gelişiminde rol alan pek çok mekanizmayı iyileştirici yönde işlev görür. Melatonin ise bugüne kadar tespit edilen en güçlü antioksidan maddedir. Deneysel çalışmalarda beyin ve karaciğer gibi organlardaki İ-R hasarının önlemek için başarıyla kullanılmıştır.^{44,52,53} Melatonin, hem toksik hidroksil radikalinin temizleyicisi olup hem de antioksidan bir enzim olan glutatyon peroksidaz enzimini aktive eder.⁷⁵ Melatonin aynı zamanda oksidatif hasara neden olan süperoksit ve nitrik oksitin bir ürünü olan ileri derecede toksik peroksinitrit anyonunun temizleyicisidir.⁴⁸ Glutatyon gibi serbest radikal temizleyicileri ile karşılaştırıldığı zaman fizyolojik olarak tolere edilebilen konsantrasyonlarda anlamlı bir şekilde daha etkilidir.⁴⁸ Melatonin hem lipofilik hem de hidrofilik özelliği nedeni ile hücre ve hücre çekirdeği içerisine girerek orada birikir.⁵⁰ Böylece oksidatif hasara karşı DNAyı korur.^{52,53}

Antioksidan maddelerin reperfüzyondan önce verilmesinin nedeni, SORnin ortaya çıkmadan önce plazmada yeterli konsantrasyona ulaşması içindir. Biz de çalışmamızda steroid ve melatonini reperfüzyondan 30 dakika önce verdik. Antioksidan maddeler bugüne kadar yapılan deneysel çalışmalarda ilk 24 saat içerisinde tek doz olarak verilmiştir. Çalışmamızda ise gruplardan bir kısmına tek doz diğerlerine ise 7 gün süre ile günde tek doz olarak verildi. Biz İ-R hasarına neden olan SORnin zararlı etkilerinin 12-24 saat gibi kısa bir sürede oluşup hemen sona ermeyeceğini, daha uzun bir süre devam edebileceğini düşünüyoruz. Çalışmamızda da torsiyon-detorsiyon-2 grubunda detorsiyondan 7 gün sonra hala MDA değerlerinin yüksek olduğunu sham-2 grubuna göre aralarındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu tespit ettik ($P<0.05$). Aynı zamanda detorsiyondan 6 saat sonra bakılan torsiyon-detorsiyon-1 grubundaki MDA değerlerine yakın olduğunu gördük ($P>0.05$). Bu sonuçlara göre 6 saatlik detorsiyondan sonra sham-1 grubuna göre anlamlı bir şekilde yüksek olan MDA değerleri ($P<0.05$), detorsiyondan 7 gün sonra da anlamlı düzeyde yüksek olarak devam etmektedir ($P<0.05$). TTnda öncelikle

venlerin strangüle olması ile venöz dönüş bozulmaktadır. Ardından arterlerde ve kapillerlerde hem mekanik olarak hem de İ-R hasarı sonucu parsiyelden totale kadar uzanan trombozlar oluşmaktadır. Buna göre arter ve kapiller lümeninde değişik derecelerdeki bu tıkanıklıkların, detorsiyondan sonra günler içerisinde belirli ölçülerde açılacağını, bu sürecin 12-24 saat gibi kısa bir süreç değil, birkaç gün süren bir reperfüzyon süreci olduğunu düşünmekteyiz. MDA değerlerinin detorsiyondan 7 gün sonra da yüksek seyretmesi bu düşüncemizi desteklemektedir. Testiste infarkt gelişmedikçe testis kan akımı belirli sürelerde normale dönmektedir.

Akhter ve ark⁴⁵ 1 saatlik TTndan sonra oluşturulan reperfüzyon hasarına tek doz oksipurinol ve PEG-SODın histopatolojik olarak etkili olduğunu bildirdiler.⁴⁵ Prillaman ve Turner ise 1 ve 2 saatlik TTndan sonra reperfüzyon hasarı oluşturdular. Tedavide antioksidan madde olarak SOD, katalaz, verapamil ve allopurinol kullandılar.⁷² Bu yazarlar 1 saatlik torsiyon-1 grubundan sonra tek doz SOD ve katalazın etkili olduğunu, verapamil ve allopurinolün ise etkili olmadığını tespit ettiler. Ancak 2 saatlik torsiyon-2 grubundan sonra oluşturulan reperfüzyon hasarına kullandıkları antioksidan maddelerin hiçbirinin etkili olmadığını gösterdiler. Buna karşılık Akgür ve ark. ise, 1 saatten 5 saate kadar uzanan TTlarından sonra oluşan reperfüzyon hasarına tek doz allopurinolün etkili olduğunu bildirdiler.⁶⁷ Ancak onlar reperfüzyon hasarını değerlendirmek için lipid peroksidasyon ürünü olan TBAR ürünlerinin seviyelerine baktılar. Çalışmamızda ise tek doz steroid ve melatonin grupları, torsiyon-1 grubu ile karşılaştırıldığında, MDA seviyeleri torsiyon-1 grubuna göre daha düşük bulunmuş ve bu farkın anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Ancak Johnsen skorları açısından değerlendirildiğinde, tek doz steroid ve melatonin gruplarının Johnsen skorları, torsiyon-1 grubundaki skorlarla eşit olup histopatolojik olarak olumlu bir etkisi tespit edilmemiştir ($P>0.05$). Benzer şekilde Greenstein ve ark. 3 saatlik ve Diduk ve ark. ise 6 saatlik torsiyon-2 grubundan sonra PEG-SOD ve diltiazemin, histopatolojik inceleme sonucunda yararlı bir etkisinin olmadığını göstermişlerdir.^{71,93} Bu sonuçlara göre; 1 saatten daha fazla süren testis torsiyonlarında tek doz antioksidan maddelerin biokimyasal olarak reperfüzyon hasarına etkisi varmış gibi gözükmesine rağmen, histopatolojik olarak etkili olmadığı görülmüştür. Bu nedenle TTlarından sonra İ-R hasarını değerlendirmek için histopatolojik inceleme yapılmasını öneriyoruz.

Yedi doz steroid ve melatonin gruplarındaki MDA seviyeleri, torsiyon-2 grubu ile karşılaştırıldığında, bu gruplarda MDA seviyeleri belirgin bir

şekilde düşük bulunmuş ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). Yedi doz steroid ve melatonin grupları Johnsen skorları açısından torsiyon-detorsiyon-2 grubu ile karşılaştırıldığında ise, Johnsen skorlarının bu gruplarda, torsiyon-detorsiyon-2 grubuna göre oldukça yüksek olduğu ve aralarındaki farkın anlamlı olduğu görülmüştür ($P<0.05$). Bu gruplar hem MDA hem de Johnsen skorları açısından sham-2 grubu ile karşılaştırıldığında değerlerin birbirine çok yakın olduğu ve aralarında bir fark olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$). Bu sonuçlar, yedi doz steroid ve melatonin tedavisinin, 6 saatlik torsiyon ve detorsiyondan sonra İ-R hasarını tam olarak önlediğini göstermektedir. Yedi doz steroid grubunun tek doz steroid grubu ile ve yedi doz melatonin grubunun tek doz melatonin grubu ile karşılaştırıldığında her iki parametre açısından da yedi doz steroid ve melatonin tedavilerinin istatistiksel olarak anlamlı ve etkili tedaviler olduğunu görmekteyiz. Yedi doz tedavilerin, İ-R hasarını başarılı bir şekilde önlemesini steroid açısından değerlendirecek olursak; steroid SORnin oluşumunu engellediği gibi aynı zamanda hücre zarının bütünlüğünü sağlar. İlave olarak kapiller geçirgenlik artışını inhibe eder, kapiller endoteline granülositlerin ve makrofajların yapışmalarına engel olur, makrofajların ve polimorfonükleer lökositlerin fagositer aktivitelerini azaltır ve bradikininin aktivasyonunu bloke ederek antiinflamatuvar etkiler gösterir.³¹ Melatonin ise SORnin güçlü bir temizleyicisi olup, androjen salınımını düzenler ve immun cevabı kontrol eder.⁵⁴ Aynı zamanda testis gelişimini stimüle eder.⁸¹ Çalışmamızda yedi doz melatonin grubunda MDA seviyelerinin (0.440 ± 0.018), sham-2 grubundaki MDA seviyelerinden (1.000 ± 0.476) düşük olması ve Johnsen skorlarının ise sham-2 grubuna göre daha yüksek olarak (8.000 ± 0.817) bulunmasının, melatoninin yukarıda belirttiğimiz olumlu etkilerinden başka spermatogenezisi de olumlu yönde etkilemesine bağlayabiliriz.^{96,97} Bu çalışmada yedi doz steroid tedavisi ile yedi doz melatonin tedavisi arasında her iki parametre açısından da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P>0.05$). Ancak yedi doz melatonin grubunda MDA değerleri daha düşük, Johnsen skorları da daha yüksektir.

Sonuç olarak, yedi doz steroid ve yedi doz melatonin tedavileri, 6 saat sürelerle oluşturulan torsiyon ve detorsiyon işleminden sonra hem biyokimyasal olarak hem de histopatolojik olarak İ-R hasarını tam olarak önlemektedir. Bugüne kadar İ-R hasarını önlemek için, tek doz antioksidan maddelerle uygulanan tedavilerin bazı çalışmalarda etkili olduğu, bazı çalışmalarda ise etkisiz olduğu

bulunmuştur. Çalışmamızda ise tek doz steroid ve melatonin tedavilerinin etkili olmadığı tespit edilmiştir. Bu bilgiler ışığında; çalışmamız deneysel bir çalışma olmasına rağmen çocuklardaki TT sonrası oluşan İ-R hasarını önlemek için, yedi günlük steroid veya melatonin tedavisinin testisin kurtarılmasına çok olumlu katkılar sağlayacağına inanıyoruz.



6. SONUÇLAR

1-Rat testisinde, 6 saatlik torsiyon ve 6 saatlik detorsiyon işleminden sonra oluşan biokimyasal ve histopatolojik değışiklikler, sham gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($P<0.05$). Buna göre 720° ve 6 saatlik süreler ile oluşturulan torsiyon ve detorsiyon işlemleri rat testisinde yeterli bir İ-R hasarı oluşturur.

2-Tek doz steroid ve melatonin tedavileri İ-R hasarını önlemez.

3-Yedi doz steroid ve melatonin tedavileri i-R hasarını tam olarak önler.

4-Yedi doz steroid ve melatonin tedavileri arasında İ-R hasarını önleme açısından bir fark yoktur.



7. ÖZET

Amaç: Testis torsiyonundan sonra oluşan iskemi reperfüzyon hasarını önlemek için yapılan deneysel çalışmalarda antioksidan maddeler tek doz olarak ilk 24 saatte uygulanmıştır. Çalışmamızda tek doz ve 7 gün süre ile günde günde tek doz olarak uygulanan steroid ve melatoninin antioksidan etkilerinin ve her iki tedavi şekline hangisinin daha etkili olduğu ortaya koymayı amaçladık.

Materyal ve metodlar: Çalışmamızda 100 adet Sprague-Dawley rat kullanarak 10 gruba ayrıldı. Her grupta 10 adet rat kullanıldı. Sol inguinoskrotal kesi ile testise ulaşıldı. Kontrol grubunda (Grup 1) hemen, sham-1 grubunda (Grup-2) 6 saat sonra, sham-2 grubunda (Grup 3) 7 gün sonra sol orşiektomi yapıldı. Torsiyon grubunda (Grup 4) ise sol testis 720° torsiyone edildikten 6 saat sonra sol orşiektomi uygulandı. Torsiyon-detorsiyon gruplarında (Grup 5 ve 6) sol testis torsiyone edildikten 6 saat sonra detorsiyone edildi. Bu gruplardan birine (Grup 5) detorsiyondan 6 saat sonra, diğerine (Grup 6) ise yedi gün sonra sol orşiektomi yapıldı. Tek doz steroid ve melatonin gruplarında (Grup 7 ve 9) detorsiyondan 30 dakika önce 1 mg/kg metil prednizolon ve 17 mg/kg melatonin verildi. Detorsiyondan 6 saat sonra her iki grupta da sol orşiektomi uygulandı. Yedi doz steroid ve melatonin gruplarında (Grup 8 ve 10) detorsiyondan 30 dakika önce ve yedi gün süre ile günde tek doz 1 mg/kg metil prednizolon ve 17 mg/kg melatonin verildi. Testisler 6 saat süre ile detorsiyone edildi ve 7. günün sonunda her iki grupta da sol orşiektomi uygulandı. İskemi-reperfüzyon hasarını değerlendirmek amacıyla orşiektomi sonrası testis dokusunda MDA seviyeleri ve histopatolojik inceleme yapılarak Johnsen skorları belirlendi.

Bulgular: MDA seviyelerine göre; torsiyon-detorsiyon-1 grubu (Grup 5) tek doz steroid (Grup 7) ve melatonin (Grup 9) grupları ile karşılaştırıldığında, MDA seviyelerinin Grup 7 ve 9da daha düşük olduğu ve farkın anlamlı olduğu görüldü ($P<0.05$). Johnsen skorları Grup 5, 7 ve 9 da aynı idi ($P>0.05$). Torsiyon-detorsiyon-2 grubu (Grup 6), yedi doz steroid (Grup 8) ve melatonin (Grup 10) grupları ile karşılaştırıldığında, hem MDA seviyeleri hem de Johnsen skorları açısından aradaki fark anlamlı olup ($P<0.05$), Grup 8 ve 10 da MDA değerleri daha düşük, Johnsen skorları ise daha yüksekti (Grup 8 ve 10). Tek doz ve yedi doz steroid grupları, tek doz ve yedi doz melatonin grupları kendi içinde karşılaştırıldığında, MDA seviyeleri ve Johnsen skorları açısından aradaki fark anlamlı idi ($P<0.05$). Yedi doz steroid ve melatonin grupları arasında fark yoktu ($P>0.05$).

Sonuçlar: Bu bulgulara göre; tek doz steroid ve melatonin tedavisinin İ-R hasarına biyokimyasal olarak etkili gibi görünmesine rağmen histopatolojik olarak hiçbir olumlu etkisi yoktur. Yedi doz steroid ve melatonin tedavileri ise hem biyokimyasal olarak hem de histopatolojik olarak İ-R hasarını tam olarak önler.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Testis torsiyonu, iskemi-reperfüzyon hasarı, steroid, melatonin.



8. SUMMARY

Purpose: In experimental studies to prevent the I-R damage after testicular torsion, antioxidant agents were used as one-dose for the first 24 hours. In this study, we tried to determine the antioxidant effects of steroid and melatonin, which were injected as one dose in group 7 and 9, and once a day for seven days in group 8 and 10.

Materials and methods: A hundred peripubertal male Sprague-Dawley rats were divided into 10 groups each containing 10 rats. Testicles were identified by left inguinoscrotal skin incision. Left orchiectomies were performed in the shortest time in group 1, after 6 hours in group 2 (sham 1), and after 7 days in group 3 (sham 2). In torsion group (group 4), torsion was created by rotating the left testicles in a clockwise direction for 6 hours. Then, left orchiectomies were performed. In group 5 and 6 (torsion-detorsion groups), 6 hours of torsion-6 hours of detorsion were created. In one of these groups (group 5) left orchiectomies were created after 6 hours of torsion-6 hours of detorsion. In other group, left orchiectomies were performed seven days later. In group 7 and 9 (10 dose steroid and melatonin groups) 1 mg/kg metilprednisolon and 17 mg/kg melatonin were injected before 30 minutes from detorsion. In both of these groups, left orchiectomies were performed after 6 hours of detorsion. In group 8 and 10 (7 dose steroid and melatonin groups) 1 mg/kg metilprednisolon and 17 mg/kg melatonin were injected before 30 minutes from detorsion and once a day for 7 days, and at the end of 7 days, left orchiectomies were performed in both of these groups. Histopathologic examination were performed, and MDA levels and Johnsen's scores of testicular tissue were determined.

Results: MDA levels in group 7 and 9 (T-D-Tek S, T-D-Tek M) were significantly less compared with group 5 (T-D-1) ($P<0.05$). Johnsen's scores were the same as in group 5, 7 and 9 (T-D-1, T-D-Tek S, T-D-Tek M) ($P>0.05$). Both MDA levels and Johnsen's scores in group 6 (T-D-2) were significantly different compared with group 8 (T-D-7 S) and 10 (T-D-7 M). MDA levels were less and Johnsen's scores were higher in group 8 (T-D-7 S) and 9 (T-D-7 M). MDA levels and Johnsen's scores in group 7 (T-D-Tek S) and 8 (T-D-7 S) were significantly different ($P<0.05$). Also, these parameters were the same for group 9 (T-D-Tek M) and 10 (T-D-7 M) ($P<0.05$). There was no difference in group 8 (T-D-7 S) and 10 (T-D-7 M).

Conclusions: According to these data, the treatment of one-dose steroid and melatonin are effective against the I-R damage biochemically, but not histopathologically. The treatments of 7 dose steroid and melatonin, however significantly prevents I-R damage both biochemically and histopathologically.

INDEX WORDS: Testicular torsion, ischemia-reperfusion, steroid, melatonin.

9. KAYNAKLAR

1. Leape LL. Testicular torsion. In: Ashcraft KW (ed). Pediatric Urology. Philadelphia, W. B. Saunders. 1990:1556-58.
2. Longo VJ. Torsion of the testis: A new twist. Urol 1978;12:743-45.
3. Hutson JM. Undescended Testis, Torsion, and Varicocele. In O'Neill JA, Rowe MI, Grosfeld JL, Fonkalsrud EW, Coran AG. editors. Pediatric Surgery Volume Two. 5th ed. London: Mosby-Year Book, Inc, 1998:1099-1101.
4. Noseworthy J, Testicular Torsion. Ashcraft, Murphy, Sharp, Sigalet, Snyder. editors. Pediatric Surgery. 3rd Edition. United States of America: W.B. SAUNDERS COMPANY, 2000: 674-80
5. Shukla RB. Association of cold weather with testicular torsion. Br Med J 1982; 285:1459-62.
6. Turner TT. On unilateral testicular and epididymal torsion: No effect on the contralateral testis. J Urol 1987; 138: 1285-90.
7. Karagüzel G, Gedikoğlu G, Tanyel FC, Büyükpamukçu N, Hiçsönmez A. Is ipsilateral testis mandatory for contralateral testicular detorsion encountered following spermatic cord torsion? Urol res 1994; 22: 115-7.
8. Bickerstaff KI, Sethia K, Murie JA. Doppler ultrasonography in the diagnosis of acute scrotal pain. Br J Surg 1988;75:238-9.
9. Kurpisz M, Mazurkiewicz I, Fernandez N. Morphological and immunological observation in experimentally induced torsion of testis in rats. Am J Repro Immunol Microbiol 1985; 9: 129-34.
10. Erol D, Germiyanoğlu C, Bulut G, Özkardeş H, Kurt Ü. Diagnostic value of creatine phosphokinase in testicular torsion. Int Urol Nephrol 1992; 24: 201-4.
11. Mc Combe AW, Scoble WG. Torsion of the scrotal contents in children. Br J Urol 1988;61:148-50.
12. Sethia KK, Bickerstaff KI, Murie JA. Changing pattern of scrotal exploration for testicular torsion. Urol 1988;31:408-10.
13. Bloom DA, Wan J, Key D. Disorder of male external genitalia and inguinal canal. (In): Kelalis PP, King LR, Belman AB (eds): Clinical Pediatric Urology. Philadelphia, WB Saunders 1992; 2: 1015-49.
14. Cosentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, Cockett ATK. Histological changes occurring in the contralateral testes of prepubertal rats subjected to various durations of unilateral spermatic cord torsion. J Urol 1985;133: 906-11.
15. Chakraborty J, Sinha Hikim AP, Jhunhunwala JS. Effect of experimental torsion of the spermatic cord on sustentacular cells in the guinea-pig testis. Acta Anat 1985; 124:234-37.

16. Kallerhoff M, Gross AJ, Bötöfür IC, Zöller G, Weidner W. The influence of temperature on changes in pH, lactate and morphology during testicular ischaemia. *Br J Urol* 1996; 440-45.
17. Henderson IV JA, Smey P, Cohen MS, Davis CP, Payer AF, Parkening TA, Warren MM. The effect of testicular torsion on the contralateral testicle in prepubertal chinese hamsters. *J Pediatr Surg* 1985; 20: 592-7.
18. Jhunjunwala JS, Sinha Hikim AS, Budd CA, Chakraborty J. Germ Cell Degeneration in the Contralateral testis of the Guinea Pig with Unilateral Torsion of the Spermatic Cord. Quantitative and Ultrastructural Studies. *J Androl* 1986; 7: 16-22.
19. Freedman S, Chehval MJ, Mehal DJ. Enzymatic changes in experimental testicular torsion. *Invest Urol* 1981; 19: 209-12.
20. Choi H, Choo MS, Kim KM, Kim WH, Song Lee Y, Chung MH. The alterations of cellular metabolism in the contralateral testis following spermatic cord torsion in rats. *J Urol* 1993;150: 577-80.
21. Leape LL. Torsion of the testis. *JAMA* 1967; 200: 93-7.
22. Cass AS. Elective orchiopexy for recurrent testicular torsion. *J Urol* 1982;127: 253-58.
23. Shealdon CA. Undescended testis and testicular torsion. *Surg Clin N Am* 1976; 65: 465-68.
24. Haynes B. The diagnosis of testicular torsion. *JAMA* 1982; 249-52.
25. Stage KH, Schoenvagel R, Levis S. Testicular scanning: clinical experience with 72 patients. *J Urol* 1981;125: 334-38.
26. Mevorach RA, Lerner RM, Greenspan BS, Russ GA, Heckler BL. Color doppler ultrasound compared to a radionuclide scanning of spermatic cord torsion in a canine model. *J Urol* 1991;14: 428-33.
27. Rodriguez DD. Doppler ultrasound versus testicular scanning in the evaluation of acute scrotum. *J Urol* 1981;125: 343-47.
28. Leape LL. Torsion of the testis. In *Pediatr Surgery, Year Book Medical Publishers, Chicago* 1990: 351-55.
29. Chakraborty J, Sinha Hikim AP, Jhunjunwala JS. Stagnation of blood in the microvasculature of the affected and contralateral testes of men with short-term torsion of the spermatic cord. *J Androl* 1985; 6: 291-94.
30. Jhunjunwala JS, Sinha Hikim AP, Budd CA, Chakraborty J. Germ cell degeneration in the contralateral testis of the guinea pig with unilateral torsion of the spermatic cord. *J Androl* 1986; 7: 9-17.

31. Dökmeci I. İnflamasyon ilaçları ve antipiretik analjezikler. In: Dökmeci I. Editor. Farmakoloji İlaç Uygulamalarında Temel Kavramlar. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 1992: 595-633.
32. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. British Medical Bulletin 1993; 49: 479-93.
33. Cosentino MJ, Nishida M. Histopathology of prepubertal rat testes subjected to various durations of unilateral spermatic cord torsion. Journal of Andrology 1986: 23-31.
34. Turner TT. Acute experimental testicular torsion. Journal of Andrology 1985: 65-73
35. Shlafer M, Kane PF, Kirsh MM. Superoxide dismutase plus catalase enhances the efficacy of hypothermic cardioplegia to protect the globally ischemic, reperfused heart. J Thorac Cardiovasc Surg 1992; 83: 830-9.
36. Ceballos-picot I, Trivier JM, Nicole A. Age correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. Clin Chem 1992; 38: 66-70.
37. Mayes PA. Lipids of physiologic significance. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Editors. Harper's Biochemistry. 23. ed. London: Lange medical publication, 1993: 142-53.
38. Gaetani GF, Galiano S, Canepa L. Catalase and glutathione peroxidase are equally active in detoxification of hydrogen peroxide in human erythrocytes. Blood 1989; 73: 334-9.
39. Chakraborty J, Jhunjunwala J, Hikim A. Stagnation of blood in the microvasculature of the affected and contralateral testes of men with short-term torsion of the spermatic cord. Journal of Andrology 1985: 291-99.
40. Schoenberg MH, Fredholm BB, Haglund U, Jung H, Sellin D, Younes M, Schildberg FW. Studies on the oxygen radical mechanism involved in the small intestinal reperfusion damage. Acta Physiol Scand 1985; 124: 581-9.
41. Krarup T. The testis after torsion. Br J Urol 1978; 50: 43-46.
42. Globus MY, Busto R, Lin B, et al. Detection of free radical activity during transient global ischemia and recirculation: Effects of intraschemic brain temperature modulation. J Neurochem 1995; 65: 1250-56.
43. Ames BN. Endogenous oxidative DNA damage, aging, and cancer. Free Rad Res Commun 1989; 7: 121-8.
44. Pieri C, Marra M, Moroni F, et al. Melatonin: a peroxy radical scavenger more potent than vitamin E. Life Sci 1994; 55: 272-6.
45. Akhter S, Sridher S, Katlowitz NM, et al. Immune response to testicular ischemia and reperfusion. J Urol 1990; 143: 262 A.

46. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radical and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg* 1991; 161: 488-503.
47. Guemouri I, Arthur B. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. *Clinical Chemistry* 1991:1932-37
48. Cuzzocrea S, Zingarelli B, Gilad E, et al. Protective effect of melatonin in carrageenan-induced models of local inflammation. *J Pineal Res* 1997; 23: 106-16.
49. Tan DX, Chen LD, Poeggeler B, et al. Melatonin: A potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocrine J* 1993; 1: 57-60.
50. Menendez-Pelaez A, Poeggeler B, Reiter RJ, et al. Nuclear localization of melatonin in different mammalian tissues: Immunocytochemical and radioimmunoassay evidence. *J Cell Biochem* 1994; 53: 373-82.
51. Sade M, Amato S, Buyuksu C, Mertan S, Canda MS, Kaplanoglu N. The effect of testicular torsion on the contralateral testis and the value of various types of treatment. *Br J Urol* 1988; 62: 69-71
52. Cabrer J, Burkhardt S, Tan DX, et al. Autooxidation and toxicant-induced oxidation of lipid and DNA in monkey liver: reduction of molecular damage by melatonin. *Pharmacol Toxicol* 2001; 89: 225-30.
53. Wakatsuki A, Okatani Y, Izumiya C, et al. Melatonin protects against ischemia and reperfusion-induced oxidative lipid and DNA damage in fetal rat brain. *J Pineal Res* 1999; 26: 147-52.
54. Valenti S, Giusti M. Melatonin participates in the control of testosterone secretion from rat testis: an overview of our experience. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 966: 284-9.
55. Rang HP, Dale MM, Ritter JM. Melatonin. *Pharmacology*. Fourth Edition: Edinburgh London New York Philadelphia Sydney Toronto 1999; 495-96.
56. Klingmuller D, Haidl G. Inhibin B in men with normal and disturbed spermatogenesis. *Hum Reprod* 12 (11) 1997: 2376-78
57. Laurence DR, Bennett PN, Brown MJ. Melatonin. *Clinical Pharmacology*. Eighth Edition. Longman Singapore Publishers (pte.) Ltd. Printed in Singapore 1997; 314
58. Hardeland R, Balzer I, Poeggeler B et al. On the primary function of melatonin in evolution: Mediation of photoperiodic signals in unicells, photooxidation and scavenging of free radicals. *J Pineal Res* 1995; 18: 104-111.
59. Riter RJ, Tan DX, Manchester LC, Qi W. Biochemical reactivity of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species: A review of the evidence. *Cell Biochem Biophys* 2001; 34: 237-56.

60. S Otçu, M Durakoğlugil, H Orer, F Tanyel. Tek Taraflı Testis Torsiyonunda Karşı Genitofemoral Sinirden Olan Sempatik Deşarj Değişiklikleri. 20. Çocuk Cerrahisi Kongresi (SB 13) October 15-19, 2002

61. Turner TT, Brown KJ Spermatic cord torsion: loss of spermatogenesis despite return of blood flow. Eur J Pediatr; 159 (1-2) 2000: 103-107

62. Saugstad OD. Hypoxanthine as an indicator of hypoxia: its role in health and disease through free radical production. Pediatr Res 1988; 23: 143-7.

63. Karnak I, Tanyel FC, Kılınç K, Büyükpamukçu N, Hiçsönmez A. Tissue hypoxia in ipsilateral and contralateral testes undergoing surgically induced maldescent. Eur J Pediatr Surg 1996; 6:281-4.

64. Akgür FM, Kılınç K, Tanyel FC, Büyükpamukçu N, Hiçsönmez A. Ipsilateral and contralateral testicular biochemical acute changes after unilateral testicular torsion and detorsion. Urol 1994; 44: 413-8.

65. Akgür FM, Kılınç K, Aktuğ T. Reperfusion injury after detorsion of unilateral testicular torsion. Uro Res 1993; 21: 395-9.

66. Saba M, Morales CR, De Lamirende E, Gagnon C. Morphological and biochemical changes following acute unilateral testicular torsion in prepubertal rats. J Urol 1997; 157: 1149-54.

67. Akgür FM, Kılınç K, Aktuğ T, Olguner M. The effect of allopurinol pretreatment before detorting testicular torsion. J Urol 1994; 115: 1715-17.

68. Kagan VE. Lipid peroxidation in biomembranes. CRC Press, Florida, 1988.

69. Bergh A, Damber JA, Marklund SL. Morphologic changes induced by short-term ischemia in the rat testis are not affected by treatment with superoxide dismutase and catalase. J Androl 1988; 9: 15-20.

70. Sorensen V, Nilsson U, Pettersson S, Schersten T, Sjogvist PO, Svensson L, Jonsson O. Effect of a new inhibitor of lipid peroxidation on kidney function after ischaemia-reperfusion. A study on rat and rabbit kidneys. Acta Physiol Scand 1996; 157: 289-297.

71. Greenstein A, Smith-Harrison LI, Wakely PE, Kololgi S, Salzberg AD, Koontz WW, The effect of polyethylene glycol-superoxide dismutase administration on histological damage following spermatic cord torsion. J Urol 1992; 148: 639-41.

72. Prillaman HM, Turner TT. Rescue of testicular function after acute experimental torsion. J Urol 1997;157: 340-5.

73. Wirz-Justice A. Melatonin: a new wonder drug? Schweiz-Rundsch-Med-Prax 1996; 85: 1332-36.

74. Kancheva RL, Zofkova I. Melatonin: the hormon of darkness. Cas Lek Cesk 1996; 135: 231-5.

75. Pablos MI, Chuang J, Reiter RJ, Ortiz GG, Daniels WM, Sewerynek E, Melchiorri D, Poeggeler B. Time course of the melatonin-induced increase in glutathione peroxidase activity in chick tissues. *Biol Signals* 1995; 4: 325-30.
76. Pitrosky B, Kirsch R, Vivien-Roels B, Georg-Bentz I, Canguilhem B, Pevet P. The photoperiodic response in Syrian hamster depends upon a melatonin-driven circadian rhythm of sensitivity to melatonin. *J Neuroendocrinol* 1995; 7: 889-95.
77. Fiorina P, Lattuada G, Ponari O, Silvestrini C, Dall'Aglio P. Impaired nocturnal melatonin excretion and changes of immunological status in ischaemic stroke patients (letter). *Lancet* 1996; 347: 692-3.
78. Miguez JM, Recio J, Vivien-Roels B, Pevet P. Diurnal changes in the content of indoleamines, catecholamines, and methoxyindoles in the pineal gland of the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*): effect of photoperiod. *J Pineal Res* 1996; 21: 7-14.
79. Coon SL, Mazuruk K, Bernard M, Roseboom PH, Klein DC, Rodriguez IR. The human serotonin N-acetyltransferase (EC 2.3.1.87) gene (AANAT): structure, chromosomal localization, and tissue expression. *Genomics* 1996; 34: 76-84.
80. Shaw D, Goldman BD. Influence of prenatal photoperiods on postnatal reproductive responses to daily infusions of melatonin in the siberian hamster. *Endocrinology* 1995; 136: 4231-36.
81. Gormon MR, Yellon SM. Three daily melatonin infusions alter gonadal development but not GnRH neuron number in the medial preoptic area or diagonal band of Broca in Siberian hamsters. *Neuro sci-Lett* 1996; 210: 165-8.
82. Maywood ES, Hastings MH. Lesions of the iodomelatonin-binding sites of the mediobasal hypothalamus spare the lactotropic, but block the gonadotropic response of male Syrian hamsters to short photoperiod and to melatonin. *Endocrinol* 1995; 136: 144-153.
83. Bertuglia S, Marchiafava PL, Colantuoni A. Melatonin prevents ischemia reperfusion injury in hamster cheek pouch microcirculation. *Cardiovasc Res* 1996; 31: 947-952.
84. Sewerynek E, Reiter RJ, Melchiorri D, Ortiz GG, Lewinski A. Oxidative damage in the liver induced by ischemia-reperfusion: protection by melatonin. *Hepatogastroenterol* 1996; 43: 898-905.
85. Uz T, Giusti P, Franceschini D, Kharlamov A, Manev H. Protective effect of melatonin against hippocampal DNA damage induced by intraperitoneal administration of kainate to rats. *Neuroscience* 1996; 73: 631-6.
86. Dawson D, Gibbon S, Singh P. The hypothermic effect of melatonin on core body temperature: is more better? *J Pineal Res* 1996; 20: 192-7.
87. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1.baskı: Mimoza yay. 1995.

88. Mohanan PV, Yamamoto HA. Preventive effect of melatonin against brain mitochondria DNA damage, lipid peroxidation and seizures induced by kainic acid. *Toxicol Lett* 2002 24;129 (1-2): 99-105

89. Lissoni P. Is there a role for melatonin in supportive care? U.O. di Oncologia Medica e Radioterapia, Ospedale S. Gerardo dei Tintori, 20052 Monza (MI), Italy. oncologia@genie.it

90. Mlt 55. Tan DX, Reiter RJ, Manchester LC et al. Chemical and Physical properties and potential mechanisms: Melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Curr Topics Med Chem* 2002; 2: 181-198.

91. Mlt 56. Allegra M, Reiter RJ, Tan DX, Gentile C, Tesoriere L, Livrea MA, The chemistry of melatonin's interaction with reactive species. *J Pineal Res* 2003; 34: 1-10.

92. Johnsen SG: Testicular biopsy score count-a method for registration of spermatogenesis in human testes: Normal values and results in 352 hypogonadal males. *Hormones* 1; 1970: 1-24.

93. Blank ML, O'Neill PJ, Steigman CK, Cobb M, Wilde RA, Havenstein PJ, Chaudry IH. Reperfusion injury following testicular torsion and detorsion in prepubertal rats. *Urol Res* 1993; 21: 389-393.

94. Becker EJ, Turner TT. Endocrine and exocrine effects of testicular torsion in the prepubertal and adult rat. *J Androl* 1995; 16: 342-6.

95. Edmonds KE, Stetson MH. Pineal gland and melatonin affect testicular status in the adult marsh rice rat (*Oryzomys palustris*). *Gen Comp Endocrinol.* 1995; 99: 265-274.

96. Stirland JA, Grosse J, Loudon AS, Hastings MH, Maywood ES. Gonadal responses of the male tau mutant Syrian hamster to short-day-like programmed infusions of melatonin. *Biol Reprod* 1995; 53: 361-7.

97. Özata M, Bulur M, Bingöl N, Beyhan Z, Çorakçı A, Bolu E, Gündoğan MA. Daytime plasma melatonin levels in male hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1877-81.

98. Tan DX, Chen LD, Poeggeler B, Manchester LC, Reiter RJ. Melatonin: A potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocr J* 1993; 1: 57-60.

99. Matuszek Z, Reszka K, Chingnell CF. Reaction of melatonin and related indoles with hydroxyl radicals: ESR and spin trapping investigations. *Free Radic Biol Med* 1997; 23: 347-72.

100. Dugo L, Serriano I, Fulia F et al. Effect of melatonin on cellular energy depletion mediated by peroxynitrite and poly (ADP-ribose) synthetase activation in an acute model of inflammation. *J Pineal Res* 2001; 31: 76-84.

101. Zhang H, Squadrito GL, Pryor WA. The reaction of melatonin with peroxyxynitrite: Formation of melatonin radical cation and absence of stable nitrated products. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 251: 83-87.
102. Cuzzocrea S, Reiter RJ. Pharmacological actions of melatonin in acute and chronic inflammation. *Curr Topics Med Chem* 2002; 2: 153-165.
103. Tan DX, Reiter RJ, Manchester LC et al. Chemical and Physical properties and potential mechanisms: Melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Curr Topics Med Chem* 2002; 2: 181-198.
104. Tan DX, Manchester LC, Burkhardt S et al. N¹-acetyl-N²-formyl-5-methoxykynuramine, a biogenic amine and melatonin metabolite, functions as a potent antioxidant. *FASEB J* 2001; 15: 2294-6.
105. Maharaj DS, Anopkumar-Dukie S, Glass BD et al. The identification of the UV degradants of melatonin and their ability to scavenge radicals. *J Pineal Res* 2002; 32: 257-261.
106. Okatani Y, Wakatsuki A, Sihinochara K, Kaneda C, Fukaya T. Melatonin stimulates glutathione peroxidase activity in human chorion. *J Pineal Res* 2001; 30: 199-205.
107. Albarran MT, López-Burillo S, Pablos MI, Reiter RJ, Agapito MT. Endogenous rhythms of melatonin, total antioxidant status and superoxide dismutase activity in several tissues of chick and their inhibition by light. *J Pineal Res* 2001; 30: 227-233.
108. Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto L. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *J Biomed Sci* 2001; 7: 444-458.
109. Urata Y, Honma S, Goto S et al. Melatonin induces γ -glutamylcysteine synthetase mediated by activator protein-1 in human vascular endothelial cells. *Free Radic Biol Med* 1999; 27: 838-847.
110. Garcia JJ, Reiter RJ, Guerrero JM et al. Melatonin prevents changes in microsomal membrane fluidity during induced lipid peroxidation. *FEBS Lett* 1997; 408: 297-300.
111. Garcia JJ, Reiter RJ, Ortiz GG et al. Melatonin enhances tamoxifen's ability to prevent the reduction in microsomal membrane fluidity induced by lipid peroxidation. *J Membr Biol* 1998; 162: 59-65.
112. Acuna-Castroviejo D, Martin M, Macias M et al. Melatonin, mitochondria and cellular bioenergetics. *J Pineal Res* 2001; 30: 65-74.
113. Reiter RJ, Tan DX, Manchester LC, El-Sawi MR. Melatonin reduces oxidant damage and promotes mitochondrial respiration: Implications for aging. *Ann NY Acad Sci* 2002; 959: 238-250.
114. Cuzzocrea S, Costantino G, Mazzon R et al. Beneficial effects of melatonin in a model of splanchnic artery occlusion and reperfusion. *J Pineal Res* 2000; 28: 52-63.

115. Cuzzecrea S, Mazzon E, Serriano I et al. Melatonin reduces dinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. *J Pineal Res* 2001; 30: 1-12.
116. Okatani Y, Wakatsuki A, Reiter RJ. Melatonin suppresses homocysteine enhancement of serotonin-induced vasoconstriction of the human umbilical artery. *J Pineal Res* 2001; 31: 242-7.
117. Osuna C, Reiter RJ, Garcia JJ et al. Inhibitory effect of melatonin on homocysteine-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates. *Pharmacol Toxicol* 2002; 90: 32-37.
118. Telang VM, Stahl RE, Clark DA. Ischemic injury to rabbit ileum: protective role of vitamin E (alpha-tocopherol: T) *Periatr Res* 1986; 20: 577A.
119. Kotegawa M, Sugiyama M, Shoji T, Haramaki N, Ogura R. Effect of a-Tocopherol on high energy phosphate metabolite levels in rat heart by ³¹P-NMR using a Langendorff perfusion technique. *J Mol Cell Cardiol* 1993; 25: 1067-74.
120. Ambrosio G, Flaherty JT. Effects of the superoxide radical scavenger mannitol, on reperfusion injury in isolated rabbit hearts. *Cardiovasc Drugs Ther* 1992; 6: 623-32.

10. TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince değerli bilgi ve deneyimleriyle eğitimime olan katkılarından dolayı hocalarım Doç. Dr. Adnan ABASIYANIK, Doç. Dr. Engin GÜNEL ve Y. Doç. Dr. Alaeddin DİLSİZ'e, bu çalışmanın yürütülmesinde destekleyici tutumlarından dolayı Prof. Dr. Ali Muhtar TİFTİK, Doç. Dr. A. Kerim Kasım BALTAÇI ve Uz. Dr. Murat GÖLCÜK'e, istatistik değerlendirmelerini yapan Prof. Dr. Sait Bodur'a, histopatolojik incelemeleri yapan Doç. Dr. M. Cihat AVUNDUK ve Uz. Dr. Emine TOSUN'a, bilgisayar çalışmalarında yardımcı olan Doç. Dr. T. Kemal ŞAHİN ve Dr. Atilla ORHAN'a, biyokimya tetkiklerini yapan Dr. Emrah Karagözoğlu'na, ihtisas süresince birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma, Çocuk Cerrahisi Kliniği hemşire ve personeline teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Ayrıca büyük destek ve engin sabırlarından dolayı sevgili eşim Emine YURTÇU'ya ve TATLI ailesine, çocuklarım Mustafa Kenan, Muhammet Emin ve Sinan YURTÇU'ya, bugünlere gelmemde büyük emeğe ve paya sahip olan anneme, merhum pederime ve tüm aileme sonsuz teşekkürler ederim.

Dr. Müslim YURTÇU

Konya-2003

