

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

Tez Yöneticisi  
Prof. Dr. Tefvik AKTOZ

**PIOGLİTAZONUN TESTİS İSKEMİ REPERFÜZYON  
HASARI ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

**(Uzmanlık Tezi)**

**Dr. İrfan Yıldırım ŞENTÜRK**

EDİRNE-2020

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım ve tez yazımı sürecinde yardımlarını benden esirgemeyen tez danışmanım Sn. Prof. Dr. Tevfik AKTOZ'a;

Uzmanlık eğitimim süresince mesleki tecrübeleriyle yol gösterici olan Üroloji Anabilim Dalı başkanı Sn. Prof. Dr. İrfan H. ATAKAN'a, eğitim sorumlum Sn. Prof. Dr. H. Mete ÇEK'e, Üroloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sn. Prof. Dr. Ali Serdar GÖZEN'e, Sn. Doç. Dr. Hakan AKDERE'ye, Sn. Doç. Dr. Ersan ARDA'ya,

Uzmanlık eğitimim sırasında bilgi ve görgüsünden faydalandığım kliniğimizden emekli olan Sn. Prof. Dr. Uğur KUYUMCUOĞLU'na,

Tez yazımı sürecinde yardımlarını benden esirgemeyen Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sn. Doç. Dr. Ebru TAŞTEKİN'e, Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sn. Dr. Öğr. Üyesi Oktay KARA'ya ve Sn. Vet. Hek. Ziya ÇUKUR'a,

Berber çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum değerli araştırma görevlisi arkadaşlarıma;

Üroloji servisinde, polikliğinde ve ameliyathanesinde çalışan tüm hemşire, personel ve anestezi ekibine teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

<b>GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
<b>TESTİS ANATOMİSİ</b> .....	<b>3</b>
<b>TESTİS EMBRİYOLOJİSİ</b> .....	<b>6</b>
<b>TESTİS HİSTOLOJİSİ</b> .....	<b>8</b>
<b>TESTİS TORSİYONU</b> .....	<b>9</b>
<b>İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI</b> .....	<b>11</b>
<b>SERBEST RADİKALLER</b> .....	<b>15</b>
<b>ANTIOKSİDANLAR</b> .....	<b>16</b>
<b>PIOGLİTAZON</b> .....	<b>17</b>
<b>GEREÇ VE YÖNTEMLER</b> .....	<b>19</b>
<b>BULGULAR</b> .....	<b>25</b>
<b>TARTIŞMA</b> .....	<b>34</b>
<b>SONUÇLAR</b> .....	<b>40</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>42</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>44</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>46</b>
<b>EKLER</b>	

## SİMGE VE KISALTMALAR

<b>ADP</b>	: Adenozin Difosfat
<b>AMP</b>	: Adenozin Monofosfat
<b>ATP</b>	: Adenozin Trifosfat
<b>Ca</b>	: Kalsiyum
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>Fe</b>	: Demir
<b>GSH</b>	: Glutasyon
<b>GSH-Rd</b>	: Glutasyon Redüktaz
<b>GLUT</b>	: Glukoz Transporter
<b>H-E</b>	: Hemotoksilen Eozin
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen Peroksit
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>Na</b>	: Sodyum
<b>NO</b>	: Nitrik Oksit
<b>O<sub>2</sub></b>	: Süperoksit Anyonu
<b>PPAR<math>\gamma</math></b>	: Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Reseptör Gama
<b>RNA</b>	: Ribonükleik Asit
<b>ROS</b>	: Reaktif Oksijen Türevleri
<b>SOD</b>	: Süperoksit Dismutaz
<b>SOR</b>	: Serbest Oksijen Radikalleri
<b>TBA</b>	: Tiyobarbitürik Asit

**TDF** : Testis Belirleyici Faktör

**TNF** : Tümör Nekrozis Faktör

**TUHDYEK** : Trakya Üniversitesi Hastanesi Deney Hayvanları Etik Kurulu

**USG** : Ultrasonografi

## GİRİŞ VE AMAÇ

Ürolojinin organ kaybı ile sonuçlanabilecek acil bir hastalığı olan testis torsiyonu spermatik kordun kendi etrafında 360 veya 720 derece dönmesi olarak tanımlanır. 25 yaş altı erkeklerde 4000'de 1 görülür ve ilk defa 1840 yılında Delasiauve tarafından tanımlanmıştır (1, 2, 3). Sol spermatik kord daha uzun olduğundan torsiyon sol tarafta daha sık görülür (4). Torsiyon gözlenen testiste detorsiyon sonrasında da hasarlanma devam eder. Bu durumdan iskemik hasara ek olarak kan akımının yeniden sağlanması sırasında oluşan reperfüzyon hasarı sorumlu tutulmaktadır. Reperfüzyon sırasında ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri reperfüzyon hasarına neden olmaktadır (5).

İskemi esnasında oksijen miktarının dokunun ihtiyacını karşılayamıyor olması sebebiyle hücresel enerji depolarında azalma ve toksik metabolitlerin birikimine bağlı olarak germ hücre ölümü gerçekleşir (6). Reperfüzyon safhasında reaktif oksijen radikalleri (hidroksil radikalleri ve süperoksit anyonları) ve reaktif nitrojen türevlerinde (NO) ciddi artış olur (7). Bu serbest radikaller mitokondri ve hücre membranında bulunan lipidlerin peroksidasyonu yoluyla membranın bütünlüğünü bozarlar, ayrıca protein ve enzimlerin buna bağlı olarak da DNA'nın hasar görmesine neden olurlar (5). Sonuçta iskemi sonucu oluşan germ hücre hasarı reperfüzyon safhasında da devam eder.

İskemi reperfüzyon hasarı nedeniyle oluşan organ hasarında birçok ajanın tedavi edici etkinliği göstermiştir. Özellikle de antioksidan sistemin iyileştirilmesi, iskemi reperfüzyon hasarını engelleyici amaçla kullanılmıştır (8).

Tiazolidindionların hücre içi antioksidan etkileri de mevcuttur (9). Bu ajanlar serbest radikaller üzerine direk antioksidan etki göstermemekle birlikte oksidatif stresin oluşumuna neden olan birkaç hiperglisemik mekanizmayı bloke ederek bu etkilerini gösterir. Özellikle

Pioglitazonun potent glikasyon ve proteine çapraz bağlanmasının inhibit6r6 ve g6l6 antioksidan olduğu g6sterilmiştir (10).

Biz de çalışmamızda sıçanlarda oluşturulan deneysel iskemi reperf6zyon hasarı 6zerine pioglitazonun antioksidan etkisini incelemeyi amaçladık.

## GENEL BİLGİLER

### TESTİS ANATOMİSİ

Testisler 4-5 cm uzunluğunda, 3 cm genişliğinde ve 2,5 cm derinliğinde olup yaklaşık 30 ml hacindedir (11). Testisler skrotum içerisinde spermatik kordlara asılı olarak bulunmaktadır. Genellikle sol spermatik kord daha uzun ve sol testis daha aşağıda konuşlanmış halde bulunmaktadır. Her iki testis de oblik olarak yerleşmiştir. Üst kutup anterolateral eğimli iken, alt kutup ise anteromedial eğimlidir. Testisler skrotum içerisinde plexus pampiniformisin ters akım ısı değiştirme mekanizması ile vücut sıcaklığından 3-4 °C daha düşük sıcaklıkta tutulmaktadır (12).

Testisler üç tabakadan oluşan sert bir kapsül içindedir: Kapsülün iç tarafında tunika vasküloza, arada tunika albuginea ve dışında tunika vajinalis vardır (12).

**Tunika Vasküloza:** Tunika vasküloza kan damarlarını içeren gevşek bir bağ dokudur. Tunika albugineanın iç kısmında bulunmaktadır ve testis içindeki tüm yüzeyleri ve septasyonları kaplar (12).

**Tunika Albuginea:** Tunika albuginea, yoğun mavi-beyaz bir tabaka olup kollajen liflerden oluşmaktadır. Tunika vaskülozayı kaplar ve tunika vajinalisin visseral tabakası tarafından sarılıdır. Testisin posterior yönünde, testisin üst kutbundan alt kutbuna kadar uzanan, kalın fakat tamamlanmamış bir fibröz septum olan mediastinum testis şeklinde içeriye doğru uzanır (12).

**Tunika Vajinalis:** Tunika vaginalis, periton boşluğunun devamıdır. Tunika vaginalis testisin yüzeyinden, skrotumun iç tabakasına doğru uzanır ve testisin her iki kutbunda visseral



ve pariyetal tabakalar oluşturur. Visseral tabaka; pariyetal tabaka ile süreklilik kazanmadan önce, epididime doğru arka yüzü hariç testisin tüm yüzlerini sarar. Pariyetal tabakanın iç yüzeyi düz mezotelyumdur. Visseral ve pariyetal tabakalarının arasında bulunan tunika vajinalis boşluğunda, ince bir sıvı tabakası bulunur (12).

### **Testisin Vasküler Yapısı**

Testiküler arterler, aortadan çıkar ve internal inguinal halkaya ulaşmak için retroperitoneal bölgede seyrederler. İç halka seviyesinde damarlar; genitofemoral sinirin lateral dalı, ilioinguinal sinir, kremasterik arter, vas deferens ve arteri ile birleşirler (11).

İnternal spermatik (testiküler) arter: Testisin ana arteridir. Testis kan akımının 2/3'ü buradan sağlanır. 100 mg testis dokusuna dakikada 9 mg kan getirir (13).

Eksternal spermatik (kremasterik) arter: Esas olarak tunika vajinalisi besleyen bu arter, testis kan akımının yaklaşık %15-20'sini sağlar. Arteria iliaka eksternanın dalı olan arteria epigastrika inferior'dan internal inguinal ring içinde ayrılır.

Deferensiyel (vazal) arter: Arteria iliaka internanın uç dalı olan arteria vezikalıs superior veya inferiordan çıkan bu arter, testis kan akımının 1/6'sını sağlar. Vaz deferens ve epididimisin globus minor'unu besler.

Testiküler arter testise girişi yolunda bir internal arter, bir inferior testiküler arter ve epididimis başına giden kapiiler arter olmak üzere dallara ayrılır.

Testiküler venler ise testiküler arter çevresinde plexus pampiniformis denilen oldukça yoğun anatomik kanallar oluşturular. Bu oluşum, ters akım ile ısı değişikliğine neden olup testiküler arter içerisindeki kanı soğutur (11).

### **Testisin İnnervasyonu**

Testis ve epididimin innervasyonu iki yolla olur. Bir kısmı renal ve aortik plexuslardan çıkar ve gonadal damarlarla birlikte seyreder. Diğer gonadal afferent ve efferent sinirler ise vas deferens ile birlikte pelvik plexustan çıkarlar (14).

### **Epididimis**

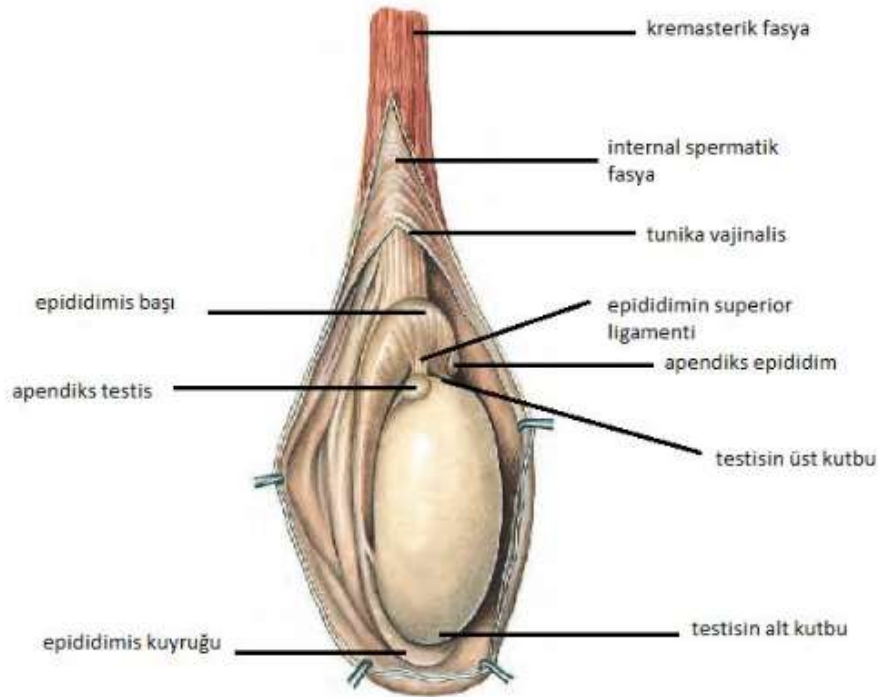
Epididimis, testisin posteriorunda ve hafif lateralinde bulunmaktadır. Kaput (baş), korpus (gövde) ve kauda (kuyruk) olarak üç ayrı bölümden oluşur. Efferent kanallar 8-10 adettir ve testisin üst kutbundan içeriye doğru girerek kaput epididimi oluştururlar. Epididimisin kauda bölgesi distalde vas deferensin kıvrık kısmı ile kesintisiz hale gelir (12).

## Spermatik Kord

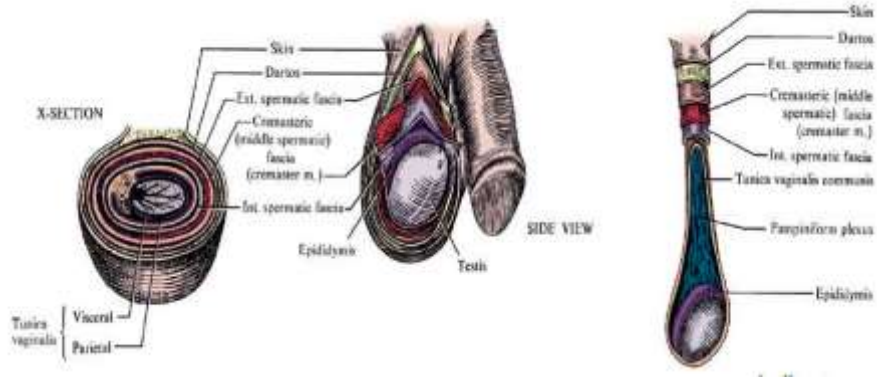
Spermatik kord, inguinal halkadan başlar ve inguinal kanalın uzunluğu boyunca devam eder. Yüzeysel veya dış inguinal kanaldan çıkar ve testisin skrotumda asılı kalmasını sağlar. Spermatik kord içinde testiküler damar ve sinirler, ilioinguinal sinir, genitofemoral sinirin genital dalı, kremasterik damarlar ile duktus deferens bulunur (12).

## Skrotum

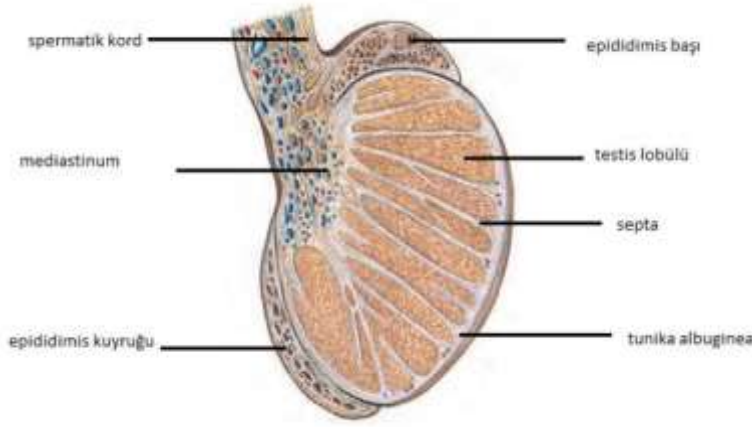
Skrotum deri, dartos kası, dış spermatik fasya, kremasterik ve internal spermatik fasya dahil olmak üzere birçok doku katmanından oluşur. Skrotal deri ince, pigmentli ve ter bezleri bakımından zengin bir yapıdadır. Orta hat raphesi üretral meatustan, ventral penil shaftın altından anüse uzanır ve genital tüberküllerin hattında kaynaşma gösterir. Raphenin derinliğinde (skrotal deri hariç) skrotal duvarın tüm katmanlarından oluşan bir septum ile iki bölmeye ayrılır. Testisler, bu bölmelerde spermatik kordonlarla asılı bulunmaktadır. Düz kasların dartos tabakası, Colles, Scarpa ve perinedeki dartos fasyası ile kesintisiz devam eder. Skrotumun dış spermatik, kremasterik ve iç spermatik katmanları sırasıyla spermatik kordondaki katmanlarla keşişir. Daha sonra sırasıyla dış ve iç oblik aponevrozlardan ve karın duvarının transversalis fasyasından ortaya çıkar. Testis aynı zamanda alt kutbundaki skrotal duvara, gubernakulum olarak bilinen lifli bir doku bandıyla sabitlenir (12).



Şekil 1. Testisin anatomisi (15)



Şekil 2. Skrotum ve katları (16)



Şekil 3. Testis ve epididimin vertikal kesiti (15)

## TESTİS EMBRİYOLOJİSİ

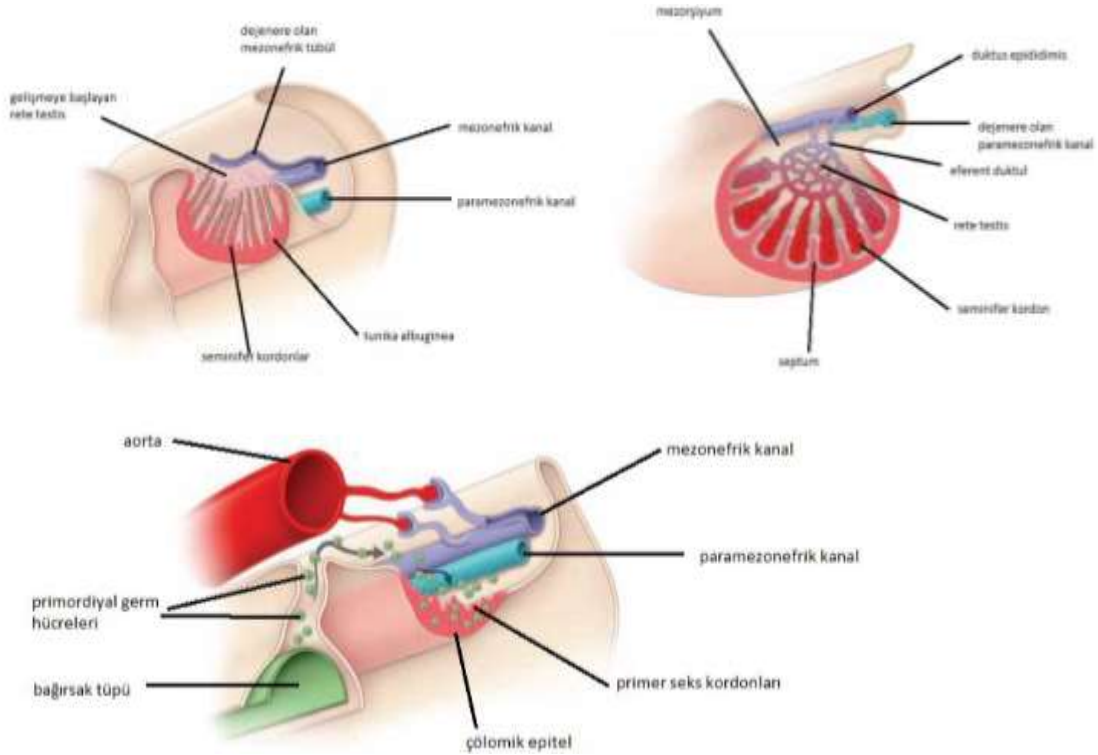
### Primordiyal Germ Hücrelerinin Göçü

Primordiyal germ hücreleri yolk kesesinin endodermal hücrelerinden köken alır (17). 4. haftada primordiyal germ hücreleri mezenterin dorsali boyunca ilerler ve 5. haftada primitif gonadlara ulaşırlar. Daha sonra 6. haftada ise genital kabartılara yerleşirler (18). Primordiyal germ hücreleri, primitif gonadlara ulaşmadan önce ve ulaştığında genital kabartının endodermal hücreleri ve çöломik mezotelyum hücreleri çoğalarak mezenşime gömülürler ve primitif cinsiyet kordonlarının oluşumunu indükler (18,19).

### Testis Oluşumu

Genetik cinsiyet, Y kromozomun varlığı ve yokluğu ile döllenme sırasında belirlenir. Testisler gelişimin 7. haftasına kadar gelişmez. Gonadal cinsiyet, Y kromozomun kısa kolunun

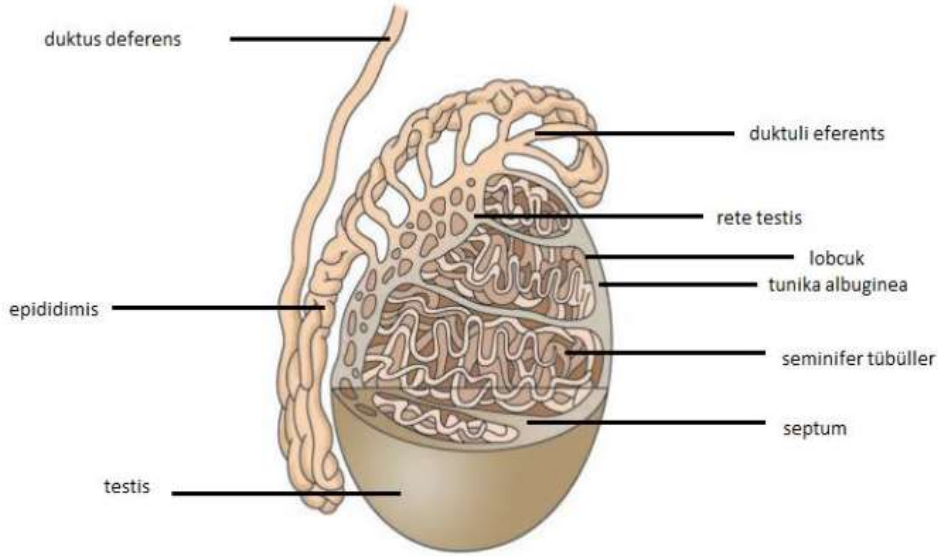
cinsiyet belirleyici bölgesinde bulunan SRY geninin varlığı ile belirlenir. SRY geni tarafından kodlanan testis belirleyici faktörün (TDF) moleküler bölgesi, DNA'nın spesifik bölgesine bağlanır ve bu da DNA'nın yapısını değiştirir. Yapısı değişen DNA halka şeklini alarak diğer transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasına da olanak sağlar. Bu bağlanan transkripsiyon faktörler de testis ve diğer erkek cinsiyet organlarının gelişiminde rol alır (19). Testis belirleyici faktörün kodlanması ile primitif cinsiyet kordonları proliferasyon olarak medullanın içine doğru ilerler. Çoğalan kordonlar, ağ oluşturarak hilusa dağılır ve rete testis tübüllerini oluşturur. İlerleyen evrelerde fibröz bağ dokusu olan tunika albuginea, testis kordonları ile yüzey epiteli arasına girerek birbirinden ayırır. Gelişimin 4. ayında kordonlar at nalı şeklini alarak uçları rete testis ile birleşir. Testis kordonları farklılaşmaya başladığı zaman kordonların arasında bulunan ve mezenşimden köken alan Leydig hücreleri de gelişir. 8. haftada gelişen Leydig hücreleri testosteron üretmeye başlarlar. Eksprese olan testosteron, genital kanal ve dış genital organların gelişimini etkiler. Lümeni olmayan testis kordonları pubertede lümenine sahip olarak seminifer tübüllere dönüşürler. Seminifer tübüller, rete testis ile birleşerek duktuli efferentese bağlanır. Daha sonra duktuli efferentes, mezonefrik kanalları birbirine bağlayarak duktus deferens oluşturur (18).



Şekil 4. Testis gelişim evreleri (18)

## TESTİS HİSTOLOJİSİ

Tunika albuginea damarların ve duktusların testiküler kapsülü geçtiği noktada mediastinum testisi oluşturmak üzere içeri doğru uzanır. Septa radiata medistenden tunika albugineanın iç yüzeyine sayıları 200-300 arasında değişen koni şekilli lobulleri (her biri bir ya da daha fazla seminifer tübülden oluşur) oluşturmak için yapışır. Her bir tübül 'U' şeklinde olup gerildiğinde boyu 1 metre kadardır. Tübülleri çevreleyen gevşek doku içerisinde testosteron üreten Leydig hücreleri vardır. Lobullerin tepelerine doğru tübüller rete testisi oluştururlar. Rete testisten çıkan ductuli eferentes epididim baş kısmına giderek epididim lobüllerini oluşturur. Bunların tümü birleşerek kıvrımlı bir epididim kanalı oluşturular. Bu kanalın çapı kuyruğa ilerledikçe artarak duktus deferens meydana gelir (11).



**Şekil 5. Testis ve epididim (20)**

Seminifer tübüller Sertoli hücreleri ve germ hücrelerini içerir. Sertoli hücreleri arasında sıkı bağlantı kompleksleri oluşur. Bu kompleksler kan-testis bariyerini oluşturarak, kandan gelen maddelerin lümen içerisine geçişini önler. Ayrıca bu hücreler; spermatogenezin düzenlenmesinde rol alan androjen bağlayıcı protein, transferrin, büyüme hormonu, seruloplazmin ve inhibin gibi pek çok maddenin sentezini de gerçekleştirir. İntertübüler bölgede Leydig hücreleri, kan damarları, lenfatikler, sinirler, makrofajlar ve mast hücreleri bulunur. Leydig hücreleri ergenlikte ortaya çıkarlar. Bunlar; santral konumlu, tek, yuvarlak bir çekirdeğe sahip, görevi testosteron üretimi olan hücrelerdir (21).

Germ hücreleri, insanda olgunlaşmasını 64 günde tamamlar. Bazal membrana oturan spermatogoniumların bir kısmı (spermatogonium A) kök hücreleri oluştururken, bir kısmı da

(spermatogonium B) mitoz ile bölünerek lümene doğru göç ederler ve primer spermatositlere dönüşürler. Bunlar mayoz bölünme ile sekonder spermatositleri oluştururlar. Sekonder spermatositler ikinci bir mayoz bölünme daha geçirerek haploid spermatidlere dönüşürler. Haploid spermatidler ise olgunlaşarak, spermatozoonları oluştururlar (18).

## TESTİS TORSİYONU

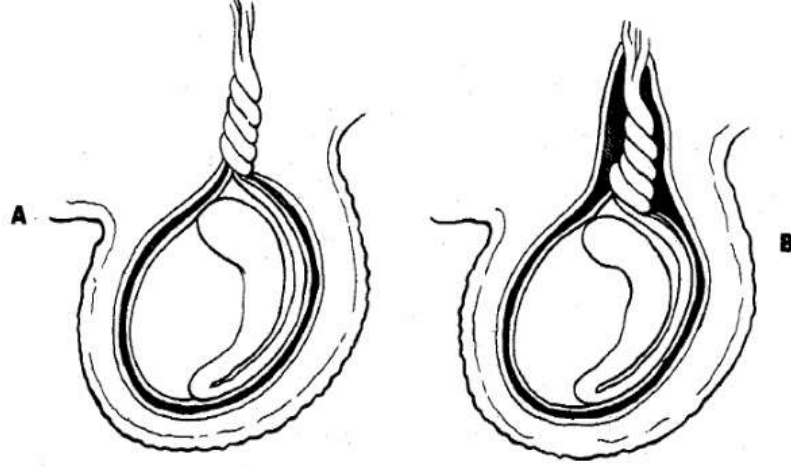
Testis torsiyonu veya daha doğru ifadeyle akut spermatik kord torsiyonu spermatik kordun dönmesi ile testise giden kan akımının bozulmasıyla oluşan klinik tablodur. 25 yaşına kadar insidansı 1/4000 olarak bildirilmiştir (22). Özellikle yenidoğan ve adölesan yaş gruplarında pik yapar. Hastalarda tipik olarak akut başlayan hemiskrotal ağrı görülür. Ağrıyla birlikte skrotal şişlik, bulantı, kusma, karın ağrısı da dikkati çeker. Ağrı bazen karın alt kısmına da yayılabilir. Bebeklerde testis torsiyonu belirtileri daha sessiz seyredebilir.

Torsiyonun sebebi genellikle bilinmemekte birlikte çeşitli hazırlayıcı etkenlerden söz edilmektedir. Pubertede testis volumünün artışı, torsiyonun bu dönemde daha fazla görülmesine neden olmaktadır. Travma ve aşırı egzersiz de torsiyonu başlatan bir etken olabilir. Çevre ısısının 2°C' nin altına düştüğü ortamlarda testis torsiyonun daha sık görüldüğü bildirilmiştir (23). Sol testis daha uzun bir spermatik korda sahip olduğundan sağ testise oranla iki defa daha sık torsiyone olur. İnmemiş ve retraktıl testislerde torsiyon olasılığı artmıştır (24).

Ekstravajinal torsiyon, processus vajinalisi de içine alan tüm spermatik kordun kendi etrafında dönmesi ile oluşan torsiyon çeşidi olmakla birlikte sıklıkla antenatal ve erken postnatal dönemde gözlenebilir. Nedenini açıklayacak net bulgular olmasa da inmemiş testis, yenidoğan döneminde testis etrafındaki dokuların yeterince sıkı olmaması ve zor doğumlar suçlanmaktadır (25).

Intravajinal torsiyon ise tunika vajinalis ile spermatik kordun yapıştığı bölgenin distalinde torsiyon gelişmesi olup çoğunlukla çocuklarda ve yetişkinlerde gözlenir. Çan tokmağı deformitesinde tunika vajinalis testise daha proksimalde yapışır, böylece testis daha geniş bir alan içerisinde hareket eder. Ergenlik döneminde daha sık görülen çan tokmağı arazi intravajinal torsiyondan sorumlu tutulmaktadır (26)

Torsiyonun diğer tipi ise testis ekleri olan appendiks epididimis ve appendiks testisin torsiyonudur. Genellikle 16 yaş üzeri görülen testis eklerinin torsiyonunu klinik olarak testis torsiyonuna benzer bulgular verir. Epididim veya appendiks testis bölgesinde kitle ele gelmesi tanı koydurucudur. İnflame ve ödemli appendiks testis skrotumda mavi olarak görülebilir buna mavi nokta bulgusu denir. Bu klasik bulgu %10-23 hastada gözlenir (27)



**Şekil 6. A: Ekstravaginal testis torsiyonu B: İnvaginal testis torsiyonu (28)**

### **Tanı ve Tedavi**

Tanıda muayene, labaratuvar ve radyolojik tetkikler kombine kullanılmalıdır. Muayenede şiddetli ağrı, ödem gibi bulgular olabilir. Elevasyonla ağrının artması torsiyon lehine değerlendirilirken ağrının azalması (Prehn bulgusu) epididimit ve orşit lehine değerlendirilir. Labaratuarda idrar tetkikinde piyüri olması epididimoorşit lehinedir. Torsiyon şüphesi durumunda ilk istenecek görüntüleme yöntemi renkli doppler USG'dir. Torsiyonda kanlanma azalırken, epididimit ve orşitte kanlanma artar. Renkli Doppler USG %88 sensitivite, %98 spesifite ve %1 yanlış negatif oranına sahiptir (29).

Tedavi acil cerrahi detorsiyon ve her iki testisin fiksasyonudur. Cerrahi tedavide testisi kurtarmamız detorsiyon yapılana kadar geçen süre ve torsiyonun derecesine bağlıdır (30). 4 saati geçen ve 360 derecen fazla olan torsiyonlarda ciddi testis atrofisi gözlenirken, 180-360 derece arasında torsiyon olup 12 saatten az süre geçmiş olgularda atrofi saptanmamıştır (31). Anderson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 12 saatten kısa torsiyone kalan testislerin %4'ünün nekrotik olduğu ve orşiektomi gerektiği görülmüş ancak bu süreden daha uzun torsiyon gerçekleşmişse hastaların %75'ine orşiektomi yapılmıştır (32).

### **Testis Torsiyonun Fertilité Üzerine Etkisi**

Çalışmalarda torsiyon öyküsü olan erkeklerin %36'sında sperm sayısının <20 milyon/ml'nin altında olduğu tespit edilmiştir (30). Başka bir klinik bir çalışmada ise erken dönemde (<13 saat) detorsiyon uygulanan erkeklerde fertilitenin korunduğu bildirilmekte iken, geç dönemde (ortalama 70 saat) orşiektomi uygulanan erkeklerde fertilitenin olumsuz yönde

etkilendiği ortaya konulmuştur (33). Yine yapılan çalışmada yaşamın erken döneminde oluşan tek taraflı testis torsiyonunun yetişkin erkek fertilitesi üzerinde ihmal edilebilir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (34). Başka bir çalışmada ise çocukluk çağında geçirilen testis torsiyonun erektil fonksiyon üzerine etkisi olmadığı gösterilmiştir (35). Testis torsiyonu sonrası fertilitenin kontralateral testis hacmine bağlı olduğu ve testis koruyucu cerrahinin orşiektomiye kıyasla daha iyi fonksiyonel sonuçlar gösterdiği gösterilmiştir (36).

### **İSKEMİ- REPERFÜZYON HASARI**

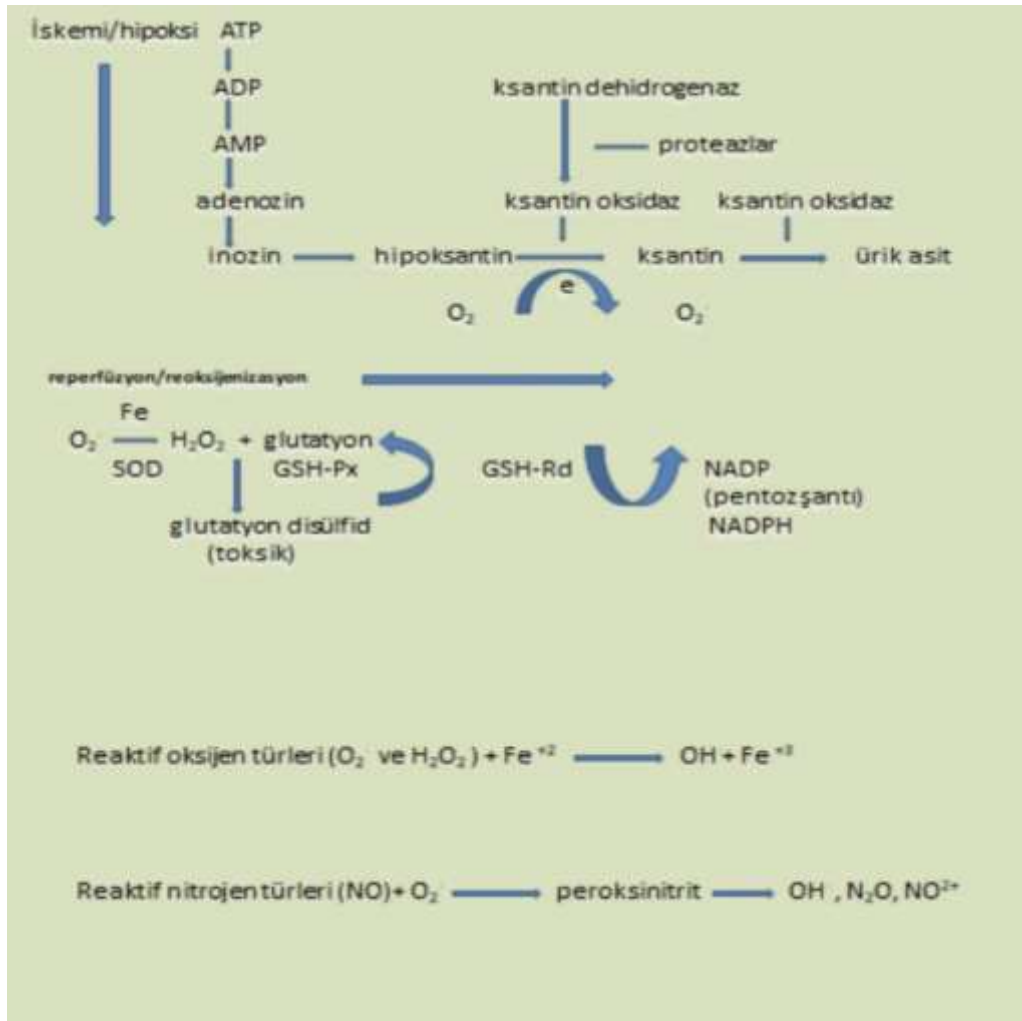
Hücrel fonksiyonların gerçekleşmesi için gerekli temel bileşen oksijendir. İskemi; dokunun oksijen ve diğer metabolitlere olan gereksiniminin dolaşım tarafından sağlanamaması ve oluşan atık ürünlerin uzaklaştırılmaması olarak tanımlanmaktadır (37).

Hücre hasarı ve ölümünün en sık nedenlerinden birisi hipoksidir. Hipoksidede, hücre içi oksijen azlığı sebebiyle aerobik solunum aksayarak mitokondrideki oksidatif fosforilasyon engellenmiş olur (38). Bunun sonucunda Adenozin trifosfat (ATP) üretimi azalır ya da tamamen sona erer, sodyum potasyum ATPaz aktivitesi de azalır. Sodyum potasyum ATPaz çalışmasındaki azalma, hücre zarında bulunan aktif sodyum (Na) pompası yetersizliğini ve beraberinde hücre içinde sodyum birikimini fazlalaştırır. Hücre içi potasyum dışarı atılır. Ardından su hücre içine girer ve hücre şişer. Hücrel şişmenin bir diğer nedeni ise katabolitlerin birikimidir. Hücrenin enerji metabolizması, bu süreç içerisinde glikoza bağımlı hale gelir. Glikojen depoları azalır. Glikoliz, laktik asit ve fosfat türevlerinin hidrolizi ile inorganik fosfatların birikimine ve hücre içi pH'yı düşürerek asidoza neden olur (39). Sonrasında granüllü endoplazmik retikulumdan ribozomlar ayrılır ve polizomlar monozomlara parçalanarak protein sentezi azalır. Hipoksi devam ederse membran geçirgenliği artar ve mitokondri fonksiyonları azalır. Bu sırada mitokondriler normal, hafif yoğunlaşmış ya da şişmiş; endoplazmik retikulum ise genişlemiş olarak görülür. Sonuçta hücre belirgin biçimde şişer. Buraya kadar olan olaylar geri dönebilir değişikliklerdir. Hücre ölümünün; örneğin miyokard bulguları tam iskemiden ortalama 10-12 saat sonrasına kadar ışık mikroskobu ile görülmez (38). Ancak iskemi devam ederse, geri dönüşümsüz zedelenme gerçekleşir. Morfolojik olarak geri döndürülemeyen zedelenmede mitokondrilerin şiddetli vakuolizasyonu, mitokondri matriksinde şekilsiz ve kalsiyumdan zengin yoğunlukların birikimi, plazma membranlarının geniş hasarı ve şişmiş lizozomlar görülür (40).

İskemik dokuya kan akımının tekrar sağlanması ile doku oksijenasyonu yeniden sağlanır ve geri dönüşümsüz hasarlanma gerçekleşmez. Kaybolan fonksiyonlar tekrar kazanılır fakat oluşan serbest oksijen radikallerine ve kandaki aktive edilmiş kan hücrelerine bağlı olarak



‘reperfüzyon hasarı’ oluşur (41). Dokuda geri dönüşümsüz hasarın ortaya çıkmasına kadar gereken iskemi süresine tolerans zamanı denir. Eğer iskemi süresi tolerans zamanını aşarsa, hücre ölümü ve doku nekrozu gelişir. Geri dönüşümsüz hasar oluşmadan önce iskemik dokunun kanlanması tekrar sağlanırsa doku hasarı gerileyebilir. Reperfüzyon sırasında iskemik doku, oluşan serbest oksijen radikallerine bağlı ek zedelenmeye de maruz kalır. İskemik dokunun reperfüzyonu ile oluşan hasar, serbest oksijen radikallerinin vasıtası ile gelişir (42). İskemik dokuda oluşan serbest oksijen radikallerinin ana kaynağının ksantin oksidaz olduğu kabul edilmektedir. Ksantin oksidaz, hücre içi kalsiyum artışına bağlı olarak, aktive edilen bir proteazdır ve yaygın şekilde bulunan ksantin dehidrogenaz enziminin iskemik dokuda dönüşümüne bağlı oluşur. İskemik dokunun tekrar oksijenizasyonu ile ksantin oksidaz enzimi, moleküler oksijen ve ATP’nin düşük enerji yıkım ürünü olan hipoksantin ile reaksiyonu sonucunda, süperoksit radikali ve hidrojen peroksit radikali oluşur (43).



Şekil 7. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve antioksidan enzimler (44)

## **İskemi Reperfüzyon Hasarı Patofizyolojisinde Rol Oynayan Sistemler**

**Lökositler ve kompleman sistemi:** İskemi sonrasında damar endotelinin hasarlanması ile nötrofil ve trombosit aktivasyonu meydana gelmektedir (45). İskemi reperfüzyon alanına gelen nötrofiller, bu bölgede serbest oksijen radikalleri (SOR) üretirler ve ortaya çıkan SOR antiproteazları inaktive eder. Sonuçta, lizozomlardan proteolitik enzimler salınır ve hücre hasarı meydana gelir (46). Ayrıca nötrofiller de uyarılmaları sonucunda esnek yapılarını kaybederek mikrosirkülasyonda kalır ve embolizasyona neden olurlar (45).

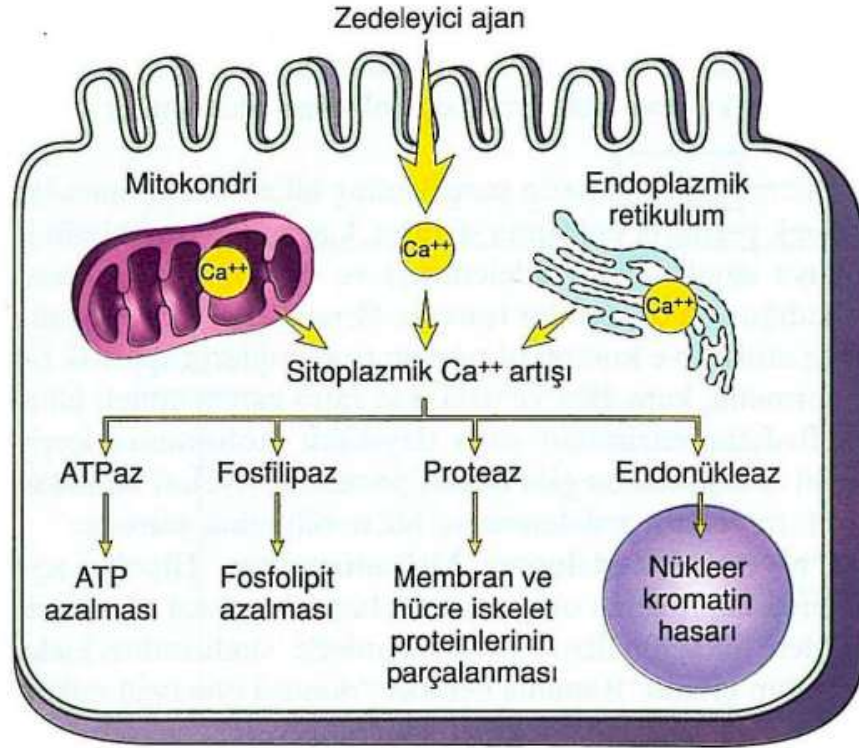
Reperfüzyon sırasında ortaya çıkan serbest oksijen molekülleri lökositleri uyararak, lökositlerin damar endoteline yapışmasına neden olmaktadır. Bu lökositin endotele yapışması sonucu kapiller yatakta tıkaçlar oluşarak, dolaşım bozulmaktadır. Bu nedenle reperfüzyon sonrası kapillerin bir kısmı tekrar kanlanamaz. Bu durum 'no-reflow fenomeni' olarak adlandırılmaktadır (47,37).

Aktive olan nötrofiller; salgıladıkları proteaz, elastaz, jelatinaz gibi enzimler ile endotel hücrelerinin parçalanmasına, devamlılığının bozulmasına neden olmaktadır. Bu da trombositler ve nötrofillerin kapiller yatağa göçüne yol açmaktadır. Endotelial devamlılığın bozulması ile ortaya çıkan sitotoksik mediyatörler mikrovasküler geçirgenliği artırmakta ve böylece interstisyel alana sıvı kaybına neden olmaktadır. İnterstisyel alana sıvı kaybı sonucu gelişen interstisyel ödem, kapiller lümenin daralmasına neden olmaktadır (47,48).

İskemi reperfüzyon hasarı sonucunda proinflamatuvar mediatörler oluşur ve kompleman aktivasyonu yapar. C5a, lökosit aktivasyonunu ve kemotaksiste rol alır. Monosit kemoatraktan protein 1, interlökin 1 (IL-1), interlökin 6 (IL-6) ve tümör nekrozis faktör (TNF) oluşumunu sağlayarak inflamatuvar yanıtı artırır (49,50). C3b ve C5b-9, vasküler hemostazı değiştirirler. C5b-9, endotelial interlökin 8 (IL-8) ve monosit kemoatraktan 1 sekresyonu, lökosit aktivasyonunu ve kemotaksisini artırır. Endotelial cGMP'i azaltarak ve endotel bağımlı relaksasyonu baskılayarak, vasküler tonusu etkiler. Endotelden lökosit adhezyon molekülü transkripsiyonu ve salınmasını aktive eder. Komplemanlar, lökositin endotelial yapışmasını artırarak ve vasküler hemostazı değiştirerek iskemik organa kan akımını azaltırlar (49,51).

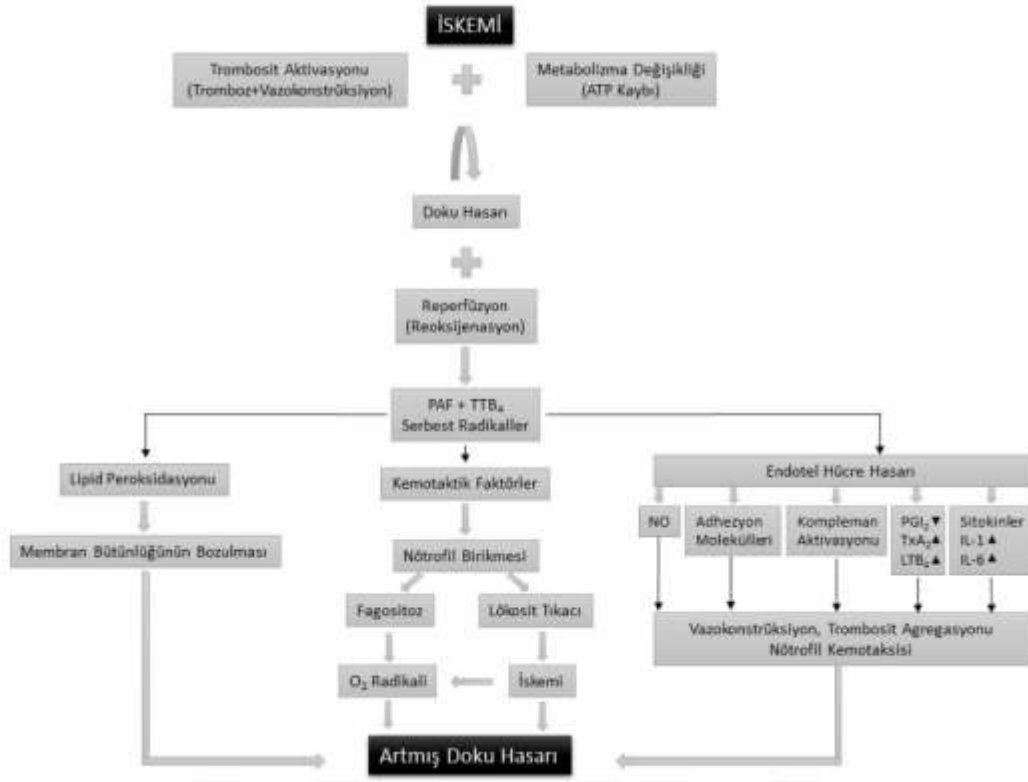
**Kalsiyum:** Reperfüzyon sırasında hücre içinde aşırı kalsiyum birikimi doku hasarı gelişiminin en önemli nedenidir. İskemide ortaya çıkan membran hasarı ve gradient farkı nedeniyle kalsiyum hücre içine girer. Dışarıdan kalsiyum girişine ek olarak; endoplazmik retikulum da iskemi reperfüzyon hasarına bağlı membran zedelenmesi sonucu içerdiği kalsiyumu sitoplazmaya bırakır. Normal koşullarda hücre için faydalı olan kalsiyumun reperfüzyon sonrasında hücre içinde aşırı miktarda birikmesi sonucu hücreye zarar vermesi

kalsiyum paradoksu olarak adlandırılır. Artan hücre içi kalsiyum konsantrasyonu ATPaz enziminin inaktivasyonuna neden olur. Böylelikle iskemide zaten azalmış olan ATP depoları daha da boşalır. Hücrede yıkımla görevli birçok enzimin kalsiyum tarafından aktive edilmesiyle hücre yıkımı başlar. Membran fosfolipidlerinin, aktive olan fosfolipaz tarafından parçalanması sonucu ise hücre bütünlüğü bozulur (52).



Şekil 8. Hücre hasarlanmasında sitoplazmik kalsiyum artışının rolü (40)

**Serbest oksijen radikalleri:** Serbest radikaller, bir ya da daha çok sayıda eşlenmemiş elektron içeren atom ya da atom gruplarıdır (53). Herhangi bir atom veya molekülün dış orbitallerinde bir veya daha fazla paylaşılmamış elektronların bulunması, söz konusu atom veya molekülün reaktivitesini artırır. Bu atom ve moleküller kararsız haldedir ve dış yörüngesindeki elektronun eşlenmesini sağlamak ve daha kararlı hale gelmek için diğer moleküllerle reaksiyona girebilecek şekilde aktif bir yapı gösterir.



**Şekil 9. İskemi reperfüzyon hasarında rol alan olaylar (54)**

## SERBEST RADİKALLER

Serbest radikaller, oksijen ve nitrojen kaynağı bakımından kendi aralarında ikiye ayrılmaktadır. Oksijen kaynaklı olan serbest radikallere reaktif oksijen türleri (ROS) denir (55,56). ROS, radikal (hidroksil iyon süperoksit, NO, peroksil vb.), radikal olmayan (ozon, singlet oksijen, lipid peroksit, hidrojen peroksit) ve oksijen türevlerini içeren geniş bir molekül kategorisini temsil eder (57). Reaktif oksijen türleri, aerobik metabolizmanın yan ürünleridir. ROS, süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil radikallerini ( $OH\cdot$ ) içerir. Bunların hepsi, farklı biyolojik hedeflere tepki veren doğal kimyasal özelliklere sahiptir. Reaktif oksijen türleri sıklıkla oksidatif stres ile ilişkilidir ve lipidlere, proteinlere ve DNA'ya zarar vererek patolojik olaylara yol açarlar (58).

### Serbest Radikallerin Biyomoleküllere Etkileri

**Membran lipidlerine etkileri:** Hücre membranları çoklu doymamış yağ asitleri açısından zengindir. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve zincirleme olarak kendiliğinden süren bir reaksiyon çeşididir. Membranda bulunan çoklu doymamış lipidlerdeki çift bağlar, oksijen kaynaklı serbest radikallerin saldırısına duyarlıdır. Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin aldehid ve diğer karbonil

bileşiklerine dönüşmesiyle sona erer. Bu bileşiklerden biri malondialdehit (MDA)'dir. MDA, lipid peroksidasyonunun son ürünü olması açısından, ROT tarafından oluşan lipid peroksidasyonunun önemli ve güvenilir bir göstergesidir (59). MDA ölçümü lipid peroksit seviyelerinin belirlenmesinde sıklıkla kullanılır. MDA, lipid peroksidasyonunun spesifik bir indikatörü olmamakla birlikte lipid peroksidasyonunun derecesi ile iyi bir korelasyon gösterir (60,61).

**Proteinlere etkileri:** Serbest radikaller, protein oksidasyonunun ilk belirtisi olan proteinlerdeki tiyol gruplarının oksidasyonuna sebep olur (62). Protein oksidasyonunun biyokimyasal sonuçları; protein agregasyonu, proteolize yatkınlıkta değişiklik, protein fonksiyonlarının ve proteaz inhibitör aktivitenin kaybı, reseptör aracılı endositozun bozulması, gen transkripsiyonundaki değişimler, immünojen aktivitedeki artış, enzim aktivitesindeki azalma olarak sıralanabilir (63).

**Karbonhidratlara etkileri:** Monosakkaridlerin otooksidasyonu sonucunda hidrojen peroksid, peroksidler ve okzoaldehidler oluşur. Okzoaldehidler deoksiribonükleik asit (DNA), ribonükleik asit (RNA) ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler (64).

**Nükleik asitler ve DNA'ya etkileri:** Serbest radikaller, DNA'nın yapısını bozarak hücrede mutasyon ve ölüme yol açabilirler. Serbest radikallerin sitotoksiteleri, nükleik asit-baz modifikasyonları sonucu oluşan kromozom değişikliklerine bağlıdır.

## **ANTIÖKSİDANLAR**

Hücreler, serbest radikalleri uzaklaştırmak ve oluşacak hasarı azaltmak amacıyla çok sayıda mekanizma geliştirmişlerdir. Serbest radikaller durağan olmayıp genellikle kendiliğinden güçlerini kaybederler. Ayrıca birçok enzimatik ve nonenzimatik sistem serbest radikallerin güçlerini kaybetmesine neden olur.

Antioksidan enzimler, doku hasarlanmasını engellemek için serbest oksijen radikallerini parçayarak su ve oksijen haline çevirirler. Çoğu hücrede bulunan süperoksid dismutazların (SOD) katalitik etkisiyle serbest radikallerin kaybı artar. Glutatyon peroksidaz gibi enzimler serbest radikallere karşı koruyucudur. Peroksizomlarda bulunan katalaz enzimi hidrojen peroksidi parçalar. Ayrıca sistein, glutatyon, seruloplazmin gibi sülfidril ile A, C ve E vitaminleri serbest radikallerin oluşumunu engelleyen ya da onları inaktive eden endojen ve

eksojen antioksidanlardandır (65).

**Tablo 1. Başlıca antioksidanlar (66)**

<b>Enzimler</b>	<b>Yağda Çözünen Radikal Tutucular</b>	<b>Suda Çözünen Radikal Tutucular</b>	<b>Metal İyonlarını Bağlayan Proteinler</b>
Süperoksit dismutaz	E vitamini	İndirgenmiş glutatyon	Ferritin
Katalaz	B- karoten	C Vitamini	Transferrin
Glutatyon peroksidaz	Bilirubin	Ürik asit	Haptoglobin
Glutatyon transferaz	Ubiquinol	Glikoz	Hemopeksin
Glikoz 6 fosfat dehidrogenaz	Flavonoidler	Sistein	Seruloplazmin
Sitokrom oksidaz	Melatonin	Mukus	Albumin
		Taurin	Laktoferrin
		Sisteamin	

Karaciğerde glisin, sistein ve glutamat aminoasitlerinden sentezlenen tripeptit yapıdaki çok önemli bir antioksidan olan glutatyon (GSH); hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünü engelleyerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur.

## **PIOGLİTAZON**

Pioglitazon, tiazolidinedionlar grubundan olup Tip 2 Diabetes Mellitus tedavisinde kullanılan insülin duyarlılaştırıcı ajandır. İnsülin direncini azaltarak glisemik kontrolü sağlar. Günümüzde kullanımda olan tek tiazolidinediondur. Bu bileşikler ortak olarak bir tiazolidin-2-4-dion yapısına sahiptir ve her birinin farklı bir yan zinciri vardır. Ana halka antidiyabetik etkiden sorumlu halkadır ve bu halka üzerinde yapılan modifikasyonlar genellikle antidiyabetik etkinlikten çok, ilacın farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerini değiştirmektedir. Tiazolidinedionların antihiperglisemik etkilerinin yanında; lipid metabolizması, endotel fonksiyonu, oksidatif stres ve vasküler inflamasyon üzerinde de olumlu etkileri vardır (67).

Tiazolidinedionların intrasellüler antioksidan aktivitesi mevcuttur (68). Bu özellik koruyucu antioksidan etkilerini yansıtır. Bu ajanlar antioksidan etkilerini serbest radikaller üzerinden değil oksidatif stresin oluşumuna neden olan hiperglisemik durumlardan birkaç mekanizmayı bloke ederek etki gösterirler. Tiazolidinedionların; özellikle pioglitazonun potent glikasyon ve protein çapraz bağlanmasının inhibitörü ve güçlü antioksidan olduğu görülmüştür (69).

Diyabette gelişen inflamasyon, oksidatif stresin üretimine neden olan hiperglisemi ile

ilişkilidir. Tiazolidinedionların antiinflamatuvar aktiviteye sahip olduğu ve bu etkinin hipoglisemik etkilerinden bağımsız olabileceği diyabetik hastalarda doğrulanmıştır (70).

### **Farmakodinamik Özellikler**

Tiazolidinedionların antidiyabetik etkilerini, hedef organları (yağ hücreleri, çizgili kas ve karaciğer hücreleri) insülinin etkisine duyarlı hale getirerek gösterdiği kabul edilmektedir. Bu etki insülin bağımlıdır, tiazolidindionlar insülin yokluğunda kan şekerini düşürmekte etkili değildir (71). Tiazolidindionlar antihiperlisemik potansiyelleri için klofibrin asit analoglarının taranması sırasında moleküler hedefleri bilinmeksizin geliştirilen ajanlar olup, daha sonraları çekirdek hormon reseptörlerinin bir üyesi olan peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gamanın (PPAR $\gamma$ ) doğrudan ligandı oldukları bulunmuştur. Peroksizom proliferatör-aktivatör reseptör- $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) aslında iskelet ve kas hücrelerinde mevcut olan, ancak ön planda yağ dokusunda bulunan bir nükleer reseptördür (72). PPAR $\gamma$ 'nın aktivasyonu DNA'da spesifik elementlere bağlanmayı sağlar, karbonhidrat ve lipid metabolizmasında görevli çeşitli genlerin transkripsiyonunu değiştirir. GLUT-1 ve GLUT-4'ün de ekspresyonunu ve hücre zarına translokasyonunu artırır ve hızlandırır. Böylece karaciğer ve iskelet kasında glikoz uptake artar, kan şekeri düşer (73).

### **Farmakokinetik Özellikler**

Pioglitazon oral alındıktan sonra hızla emilir, açlık sırasında verildiğinde serumda 30 dakika içinde ölçülebilir (74). PİK konsantrasyona ulaşma süresi 2 saattir. Pioglitazonun yemekle birlikte alınması pİK konsantrasyona ulaşma süresini 3-4 saat kadar geciktirmekle birlikte emilimini azaltmaz. Pioglitazon'un yarılanma ömrü 3-7 saattir. Sürekli serum konsantrasyonuna ise 7 gün içinde ulaşır. Dağılım hacmi 0,63 l/kg'dır ve %99'undan fazlası albumin olmak üzere, proteine bağlanır. Pioglitazon aktif ve inaktif metabolitlerine hidroksilasyon, oksidasyon ve konjugasyonla metabolize edilir. Büyük oranda karaciğerde, sitokrom (CYP)P450'nin CYP2C8 ve CYP3A4 izoformları yoluyla metabolize olur (75). İdrarla atılımı %15-30'dur. Pioglitazonun ve metabolitlerinin safra ve feçes yoluyla primer olarak atıldığı tahmin edilmektedir (74).

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu deneysel çalışmada sıçanlarda testis iskemisi reperfüzyonu sonrası gelişen testiküler hasar morfolojisini biyokimyasal ve patolojik olarak değerlendirip, oluşan hücre hasarını saptayarak pioglitazon tedavisinin testis iskemisi reperfüzyonu üzerine tedavi edici etkisini araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla 48 adet Wistar Albino cinsi rat Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma laboratuvarından elde edildi. 21.02.2020 tarihinde proje onaya sunulmuş Ek-1’de yer alan TÜHDYEK-2020.02.01 sayılı etik kurul izni alındı. Wistar Albino cinsi erkek ratlar 5-6 aylık olacak şekilde seçildi. Hiçbirinde bir hastalık olmadığı çalışmadan önce 2 ay izlenerek teyit edildi. Tüm ratların ağırlıkları 400-500 gr arasında değişmekteydi. Çalışmada ratlara herhangi bir diyet kısıtlaması uygulanmadı. Kuru rat yemi ile beslendi. Tüm ratlar gece ve gündüz farkı olmaksızın normal oda ısısında muhafaza edildiler. Güneş ışığı kısıtlaması uygulanmadı. Tüm deneysel çalışmalar Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarında yürütüldü. Deney sonrası histopatolojik, biyokimyasal incelemeler ve istatistiksel çalışmalar yine Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesinde yürütüldü.

### KULLANILAN İLAÇLAR

Ketamin: 50 mg/kg ketamin (Ketalar ®, Pfizer Pharma GMBH, Germany), anestezi amacıyla intraperitoneal (IP) yolla uygulandı.

Ksilazin Hidroklorid: 15 mg/kg ksilazin hidroklorid (Alfazyne®, %2, Alfasan International, 3440 AB, Woerden, Holland), anestezi amacıyla IP yolla uygulandı.

Pioglitazon: 3 mg/kg ve 6 mg/kg (Dropia 30 mg tb, Sanovel ), tedavi amacıyla oral gavaj olarak uygulandı.

Çalışmaya katılan tüm ratlar randomize olarak kontrol ve testis iskemisi reperfüzyon modeli oluşturulmak üzere her iki grupta 24 er rat olacak ayrıldı. Daha sonra bu iki grupta



bulunan ratlar Pioglitazon tedavisi uygulama protokolüne göre randomize olarak seçilmiş ve her grupta 8'er rat olacak şekilde 6 gruba ayrıldı.

- Grup 1 (Kontrol): Kontrol grubu (n=8)
- Grup 2 (IR): Testis iskemi reperfüzyonu uygulanan grup (n=8)
- Grup 3 (3mg/kg Pio): Pioglitazon 3 mg/kg verilen grup (n=8)
- Grup 4 (IR+ 3 mg/kgPio) : Testis iskemi reperfüzyon uygulanan ve iskeminin 2. Saatinde 3 mg/kg pioglitazon verilen grup (n=8)
- Grup 5 (6 mg/kg Pio): Pioglitazon 6 mg/kg verilen grup (n=8)
- Grup 6 (IR + 6 mg/kg Pio): Testis iskemi reperfüzyon uygulanan ve iskeminin 2. Saatinde 6 mg/kg pioglitazon verilen grup (n=8)

### **HAZIRLIK, ANESTEZİ VE CERRAHİ İŞLEMLER**

Cerrahi girişim öncesi deneklere 5-10 mg/kg dozunda xylazin ve 50-70 mg/kg dozunda ketamin hidroklorür kas içine uygulanarak genel anestezi sağlandı. Gerekliğinde sıçanların hareketsizliğini sağlamak amacıyla aynı ilaçlardan aynı dozlarda tekrar uygulama yapıldı. Sonrasında skrotum derisine %10'luk povidon iyot çözeltisi ile temizlik yapıldı.

Deneklere skrotum orta hat üzerinde, iki cm uzunluğunda vertikal cilt ve cilt altı kesisi uygulandı. Skrotal boşlukta sol testis tunika vaginalis ve spermatik kord ile birlikte gubernakulumdan künt disseksiyonla ayrılarak dışarıya alındı. Torsiyon modeli planlanan gruptaki sıçanlarda sol testis, kord elemanları ile birlikte saat yönünde olacak şekilde 720 derece döndürülerek deneysel akut testis torsiyonu modeli oluşturuldu ve testis skrotum iç yüzeyine fikse edildi. Her işlem sonrasında testis dokusu skrotuma yerleştirilirken insizyon ılık ve ıslak gaz kompres ile kapatıldı. Tüm işlemler sonunda gruptaki her denek orşiektomi yapıldıktan sonra servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.

**Grup 1 (Kontrol):** Deneklere, anestezi sonrası orşiektomi yapıldı. Orşiektomi sonrası servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.

**Grup 2 (IR):** Deneklere anestezi sonrası anlatılan şekilde sol testis torsiyonu uygulandı. Torsiyonun 2. saatinde diğer gruplarla farklı olmaması için oral gavaj ile 1 cc izotonik verildi. Deneklere torsiyonun 4. saatinde detorsiyon yapıp, 4 saat reperfüzyon ardından da orşiektomi uygulandı. Orşiektomi sonrası servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.

**Grup 3 (3 mg/kg Pio):** Deneklere oral gavaj ile 3 mg/kg'dan pioglitazon verildi. Gavaj uygulamasından 6 saat sonra orşiektomi yapıldı. Orşiektomi sonrası servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.

**Grup 4 (IR+ 3 mg/kg Pio):** Deneklere anestezi sonrası anlatılan şekilde sol testis torsiyonu uygulandı. Torsiyonun 2. Saatinde oral gavaj ile 3 mg/kg'dan pioglitazon verildi. Deneklere torsiyonun 4. saatinde detorsiyon yapıp, 4 saat reperfüzyon ardından da orşiektomi uygulandı. Orşiektomi sonrası servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.

**Grup 5 (6 mg/kg Pio):** Deneklere oral gavaj ile 6 mg/kg'dan pioglitazon verildi. Gavaj uygulamasından 6 saat sonra orşiektomi yapıldı. Orşiektomi sonrası servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.

**Grup 6 (IR+ 6 mg/kg Pio):** Deneklere anestezi sonrası anlatılan şekilde sol testis torsiyonu uygulandı. Torsiyonun 2. Saatinde oral gavaj ile 6 mg/kg'dan pioglitazon verildi. Deneklere torsiyonun 4. saatinde detorsiyon yapıp, 4 saat reperfüzyon ardından da orşiektomi uygulandı Orşiektomi sonrası servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.



**Şekil 10. (A: scrotum orta hat üzerinden uygulanan insizyon, B: gubernakulumdan serbestlenerek dışarı alınan sol testis, C: saat yönünde 720 derece döndürülerek deneysel torsiyonun oluşturulması D: 4 saatlik torsiyon sonrası testiste oluşan renk değişikliği)**

## HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Her bir rata ait doku örnekleri %10 luk nötral formaldehitte tespit edildikten sonra testis orta kısımdan en geniş yüzeyi içerecek şekilde patoloji uzmanı tarafından örneklendi. Her bir örnek tek kasette doku takibine alındı. Dokulara dehidratasyon, saydamlaştırma ve parafinizasyon işlemi yapıldı. Hazırlanan dokuların her biri her bir parafin bloktan 5 mikron kesitler halinde lam hazırlanarak bunlar Hematoksilen-eozin (H-E) ile boyandı. İncelenen tüm kesitler fotoğraflandı.

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

Hematoksilen-eozin ile boyanan kesitlere, seminifer tübül ve spermatogenez değişikliğini saptamak için Johnsen skorlaması yapıldı. Her örnekten 20 tübül rastgele seçilip 1'den 10'a kadar puan verildi. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi. Johnsen skorlaması aşağıdaki puan sistemine göre yapılmıştır (Tablo 2).

**Tablo 2. Johnsen skorlama sistemi (76)**

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

## BİYOKİMYASAL İNCELEME

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Laboratuvarında ratların malondialdehid (MDA) ve Glutasyon (GSH) değerleri çalışıldı. Alüminyum folyo içinde paketlenen rat testis dokuları MDA ve GSH için -80<sup>0</sup> C'de saklandı.

## Malondialdehit Tayini

Lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile sıcak ve asit ortamda reaksiyona girmesi sonucu oluşan renk spektrofotometrik olarak ölçüldü (77).

### Çözeltiler

1. % 8,1'lik Sodyum dodesil sülfat (SDS)
2. % 20'lik Asetik asit (NaOH ile pH 3,5'e ayarlandı)
3. % 0,8'lik Tiyobarbitürik asit (TBA)

### Deneyin Yapılışı

0,2 ml 10 kat dilüe edilmiş doku homojenatı; 0,2 ml % 8,1'lik SDS, 1,5 ml % 20'lik asetik asit, 1,5 ml % 0,8'lik TBA ve 0,6 ml distile su ile karıştırıldı. Karışım 95 °C'deki sıcak su banyosunda 1 saat tutuldu. Musluk suyu ile soğutulduktan sonra absorbanslar homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı 650 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.

### Sonuçların Hesaplanması

$$C \text{ (nmol/ml)} = \frac{A \times V_t \times 10^9}{E \times V_s \times L \times 10^3}$$

A : Absorbans

E : Tüketim katsayısı ( $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )

V<sub>t</sub> : Total reaksiyon hacmi

V<sub>s</sub> : Total reaksiyon içindeki numune hacmi

L : Küvet çapı

10<sup>9</sup> : Molün nanomole çevrilmesi

10<sup>3</sup> : Litrenin mililitreye çevrilmesi

Sonuçlar MDA nmol/g yaş doku olarak ifade edildi

## Glutasyon Düzeyinin Ölçümü

Doku homojenatlarındaki serbest SH gruplarının Ellman ayırıcı ile oluşturduğu rengin spektrofotometrik olarak saptanması, GSH içeriğinin belirtilmesi için kullanıldı (78).

### Çözeltiler

1. Proteinsizleştirme çözeltisi: 120 g NaCl, 6,68 g metafosforik asit ve 0,8 g sodyum-EDTA tartıldı ve 400 ml distile suda çözüldü.

2. 0,3 M Disodyum fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )

3. 1 mM Ellman ayıracı: 4 mg 5.5-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) (DNTB), 10 ml % 1'lik sodyum sitrat çözeltisinde çözüldü.

4. Glutasyon standardı: 10 mg/dl GSH

### Deneyin Yapılışı

Doku homojenatının 0,5 ml'si üzerine 1,5 ml 0,15 M KCl ve 3 ml proteinsizleştirme çözeltisi eklendi. Bu karışım 3000xg'de 20 dakika santrifüj edildikten sonra 0,5 ml süpernatant alınarak üzerine 0,3 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ve 0,5 ml Ellman ayıracı eklendi. Absorbanslar homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı 412 nm'de okundu. GSH düzeyleri ekstinksiyon katsayısı ( $\Sigma=1.36 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar  $\mu\text{mol GSH/mg doku}$  olarak ifade edildi.

### İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilks testi ile değerlendirilmiştir. Niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Mann Whitney U test kullanıldı. Anlamlılık  $p<0,05$  düzeyinde değerlendirildi.

## BULGULAR

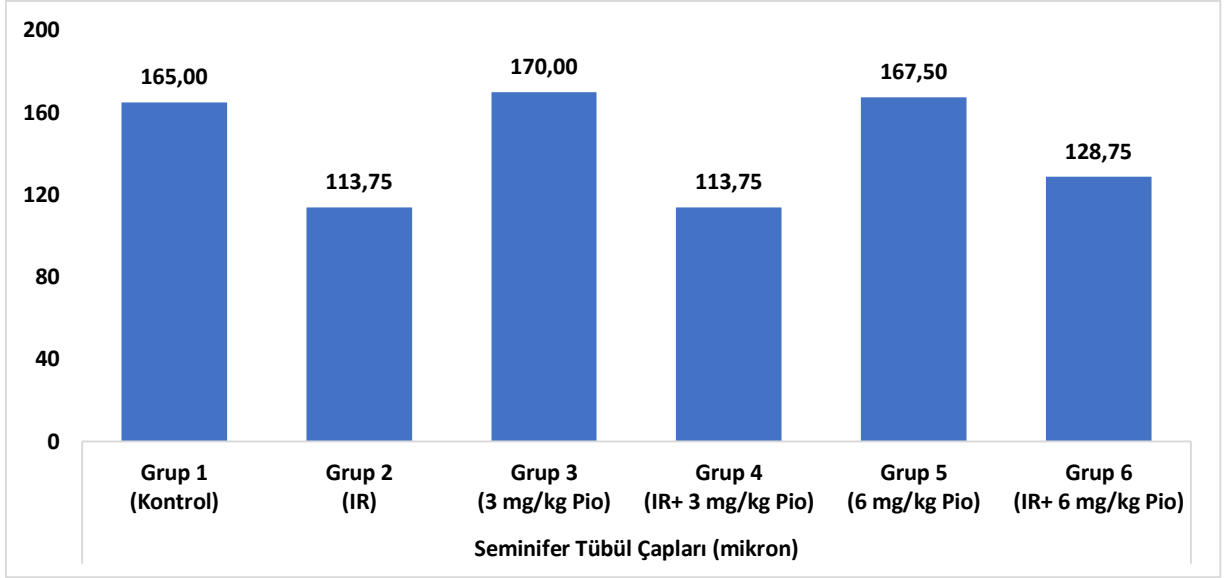
### HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Çalışmaya katılan tüm ratların seminifer tubül çapları ortalaması  $143,12 \pm 26,59$  micron olarak bulunurken, iskemi reperfüzyon yapılmayan gruplardaki ratların  $167,5 \pm 9,44$  micron, iskemi reperfüzyon yapılan gruplardaki ratların ise  $118,75 \pm 10,75$  micron çapta olduğu bulundu. Seminifer tubül çapları sırasıyla Grup I'de  $165 \pm 10,69$  micron, Grup 2'de  $113,75 \pm 9,16$  micron, Grup 3'de  $170 \pm 7,56$  micron, Grup 4'de  $113,75 \pm 9,16$  micron, Grup 5'de  $167,5 \pm 9,41$  micron ve Grup 6'da  $128,75 \pm 6,4$  micron olarak saptandı. Ratların gruplara göre seminifer tubül çapları ortalamaları ve karşılaştırılması Tablo 3'de gösterilmiştir.

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

İskemi reperfüzyon yapılmayan gruplar ve iskemi reperfüzyon yapılan gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında; iskemi reperfüzyon yapılmayan gruplar kendi aralarında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmaz iken ( $p = 0,591$ ), iskemi reperfüzyon yapılan grupların kendi aralarında karşılaştırılmasında ise istatistiksel olarak anlamlı farkın olduğu bulundu ( $p = 0,002$ ).

Bu fark grup içi varyasyon analizi ile incelendiğinde; iskemi reperfüzyon yapılan gruplardan 6 mg/kg pioglitazon uygulanan grupta sadece iskemi reperfüzyon yapılan kontrol ve iskemi reperfüzyon yapılarak 3 mg/kg pioglitazon uygulanan gruplara göre anlamlı derecede daha geniş seminifer tubül çapları bulundu (sırasıyla;  $p = 0,005$ ;  $p = 0,005$ ). Sadece iskemi reperfüzyon yapılan kontrol ve iskemi reperfüzyon yapıp 3 mg/kg pioglitazon uygulanan gruplar arasında ise seminifer tubül çapları bakımından farkın olmadığı bulundu ( $p = 1.000$ ).



Şekil 11. Semifer tubül çapları ortalamalarının dağılımı

Tablo-3: Semifer tubül çapları ortalamalarının karşılaştırılması

	Seminifer Tübül Çapları (mikron)	p*
<b>Grup 1 (n=8)</b> <b>(Kontrol)</b>	165±10,69 (150-180)	0,001 <sup>a</sup> , 0,591 <sup>d</sup>
<b>Grup 2 (n=8)</b> <b>(IR)</b>	113,75±9,16 (100-130)	0,001 <sup>a</sup> , 0,002 <sup>e</sup>
<b>Grup 3 (n=8)</b> <b>(3 mg/kg Pio)</b>	170±7,56 (160-180)	0,001 <sup>b</sup> , 0,591 <sup>d</sup>
<b>Grup 4 (n=8)</b> <b>(IR+ 3 mg/kg Pio)</b>	113,75±9,16 (100-130)	0,001 <sup>b</sup> , 0,002 <sup>e</sup>
<b>Grup 5 (n=8)</b> <b>(6 mg/kg Pio)</b>	167,5±10,35 (150-180)	0,001 <sup>c</sup> , 0,591 <sup>d</sup>
<b>Grup 6 (n=8)</b> <b>(IR+ 6 mg/kg Pio)</b>	128,75±6,4 (120-140)	0,001 <sup>c</sup> , 0,002 <sup>e</sup>

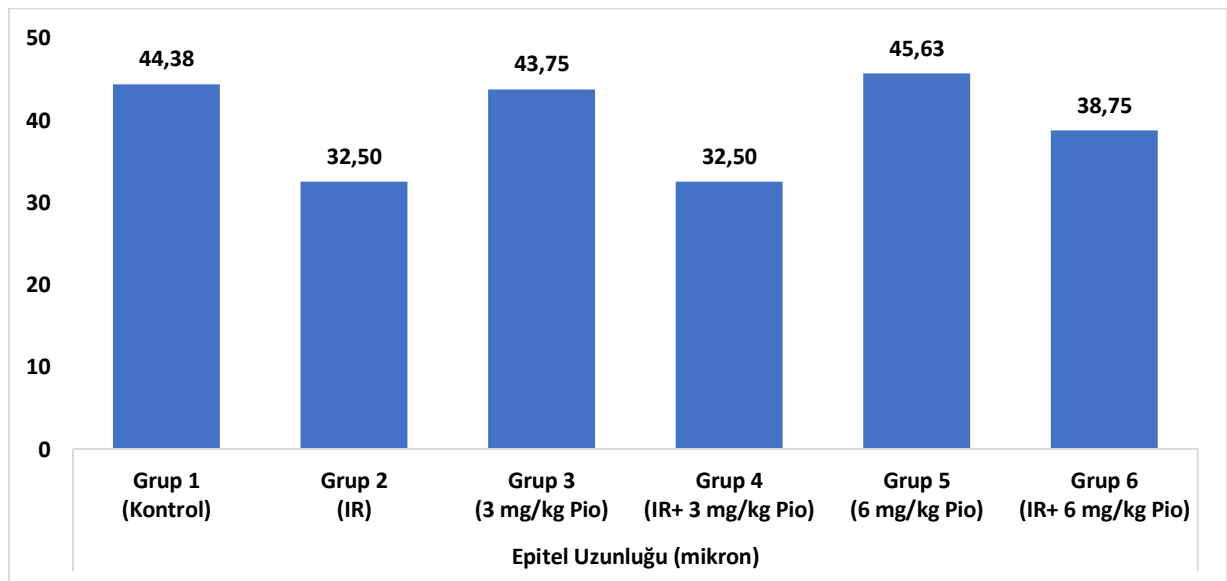
\* Student T test, \*\* Anova test, p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı. ( a: grup 1-2'nin karşılaştırılması, b: grup 3-4'ün karşılaştırılması, c: grup 4-6'nın karşılaştırılması, d: grup 1-3, 1-5 ve 3-5'in karşılaştırılması, e: grup 2-4, 2-6 ve 4-6'nın karşılaştırılması)

Çalışmaya katılan tüm ratların epitel uzunlukları ortalaması  $39,58 \pm 6,51$  micron olarak bulunurken, iskemi reperfüzyon uygulanmayan gruplardaki ratların  $44,58 \pm 4,15$  micron, iskemi reperfüzyon uygulanan gruplardaki ratların ise  $34,58 \pm 4,15$  micron uzunlukta olduğu bulundu.

Epitel uzunlukları sırasıyla Grup 1'de  $44,38 \pm 4,17$  micron, Grup 2'de  $32,5 \pm 2,67$  micron, Grup 3'de  $43,75 \pm 4,43$  micron, Grup 4'de  $32,5 \pm 2,67$  micron, Grup 5'de  $45 \pm 4,62$  micron ve Grup 6'da  $38,75 \pm 3,54$  micron olarak saptandı. Ratların gruplara göre epitel uzunlukları ortalamaları ve karşılaştırılması Tablo 4'te gösterilmiştir.

Gruplar iskemi reperfüzyon varlığına göre karşılaştırıldığında; tüm gruplarda epitel uzunluklarının iskemi reperfüzyon uygulanan gruplarda iskemi reperfüzyon uygulanmayanlara göre anlamlı derecede daha kısa olduğu bulundu ( $p < 0,05$ ). İskemi reperfüzyon uygulanmayan gruplar ve iskemi reperfüzyon uygulanan gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında; iskemi reperfüzyon yapılmayan gruplar kendi aralarında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmaz iken ( $p = 0,674$ ), iskemi reperfüzyon yapılan grupların kendi aralarında karşılaştırılmasında ise istatistiksel olarak anlamlı farkın olduğu bulundu ( $p < 0,001$ ).

Bu fark grup içi varyasyon analizi ile incelendiğinde; iskemi reperfüzyon yapılan gruplardan 6 mg/kg pioglitazon uygulanan grupta sadece iskemi reperfüzyon uygulanan kontrol ve iskemi reperfüzyon uygulanarak 3 mg/kg pioglitazon uygulanan gruplara göre anlamlı derecede büyük epitel uzunluğu bulundu (sırasıyla;  $p = 0,001$ ;  $p = 0,001$ ). Sadece iskemi reperfüzyon uygulanan kontrol ve iskemi reperfüzyon uygulanarak 3 mg/kg pioglitazon uygulanan gruplar arasında ise epitel uzunluğu bakımından farkın olmadığı bulundu ( $p = 1,000$ ).



Şekil 12. Epitel uzunlukları ortalamalarının dağılımı



**Tablo 4. Epitel uzunlukları ortalamalarının karşılaştırılması**

	<b>Epitel Uzunlukları (mikron)</b>	<b>p*</b>
<b>Grup 1 (n=8)</b> <b>(Kontrol)</b>	44,38±4,17 (40-50)	0,001 <sup>a</sup> , 0,674 <sup>d</sup>
<b>Grup 2 (n=8)</b> <b>(IR)</b>	32,5±2,67 (30-35)	0,001 <sup>a</sup> , 0,001 <sup>e</sup>
<b>Grup 3 (n=8)</b> <b>(3 mg/kg Pio)</b>	43,75±4,43 (40-50)	0,001 <sup>b</sup> , 0,674 <sup>d</sup>
<b>Grup 4 (n=8)</b> <b>(IR+ 3 mg/kg Pio)</b>	32,5±2,67 (30-35)	0,001 <sup>b</sup> , 0,001 <sup>e</sup>
<b>Grup 5 (n=8)</b> <b>(6 mg/kg Pio)</b>	45,62±4,17 (40-50)	0,001 <sup>c</sup> , 0,674 <sup>d</sup>
<b>Grup 6 (n=8)</b> <b>(IR+ 6 mg/kg Pio)</b>	38,75±3,54 (35-45)	0,001 <sup>c</sup> , 0,001 <sup>e</sup>

\* Student T test, \*\* Anova test, p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı. ( a: grup 1-2'nin karşılaştırılması, b: grup 3-4'ün karşılaştırılması, c: grup 4-6'nin karşılaştırılması, d: grup 1-3, 1-5 ve 3-5'in karşılaştırılması, e: grup 2-4, 2-6 ve 4-6'nin karşılaştırılması)

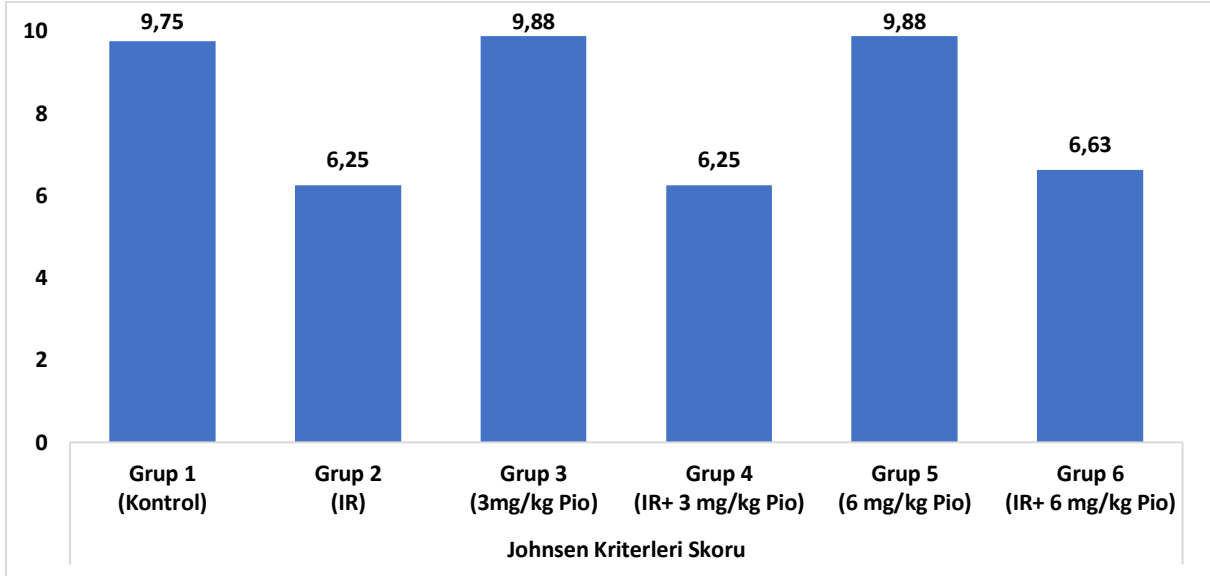
Çalışmaya katılan tüm ratların Johnsen skorları ortalaması 8,10±1,8 olarak bulunurken, iskemi reperfüzyon yapılmayan gruplardaki ratların Johnsen skorları ortalamasının 9,83±0,38, iskemi reperfüzyon yapılan gruplardaki ratların Johnsen kriterleri ortalamasının ise 6,38±0,49 olduğu bulundu.

Johnsen skorları sırasıyla Grup 1'de 9,75±0,46, Grup 2'de 6,25±0,46, Grup 3'de 9,88±0,35, Grup 4'de 6,25±0,46, Grup 5'de 9,88±0,35 ve Grup 6'da 6,62±0,51 olarak saptandı. Gruplara göre Johnsen skorları ortalamaları ve karşılaştırılması Tablo 5'te gösterilmiştir

Gruplar iskemi reperfüzyon varlığına göre karşılaştırıldığında; tüm gruplarda Johnsen skorları ortalamalarının iskemi reperfüzyon yapılanlarda iskemi reperfüzyon yapılmayanlara göre anlamlı derecede daha düşük olduğu bulundu (p<0,05).

İskemi reperfüzyon yapılmayan gruplarda Johnsen skorları ortalamalarında fark saptanmadı (p=0,767). İskemi reperfüzyon yapılan gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında ise 6 mg /kg pioglitazon verilen grupta Johnsen skorlarında bir miktar iyileşme olmakla beraber

anlamli fark saptanmadı (p=0,223).

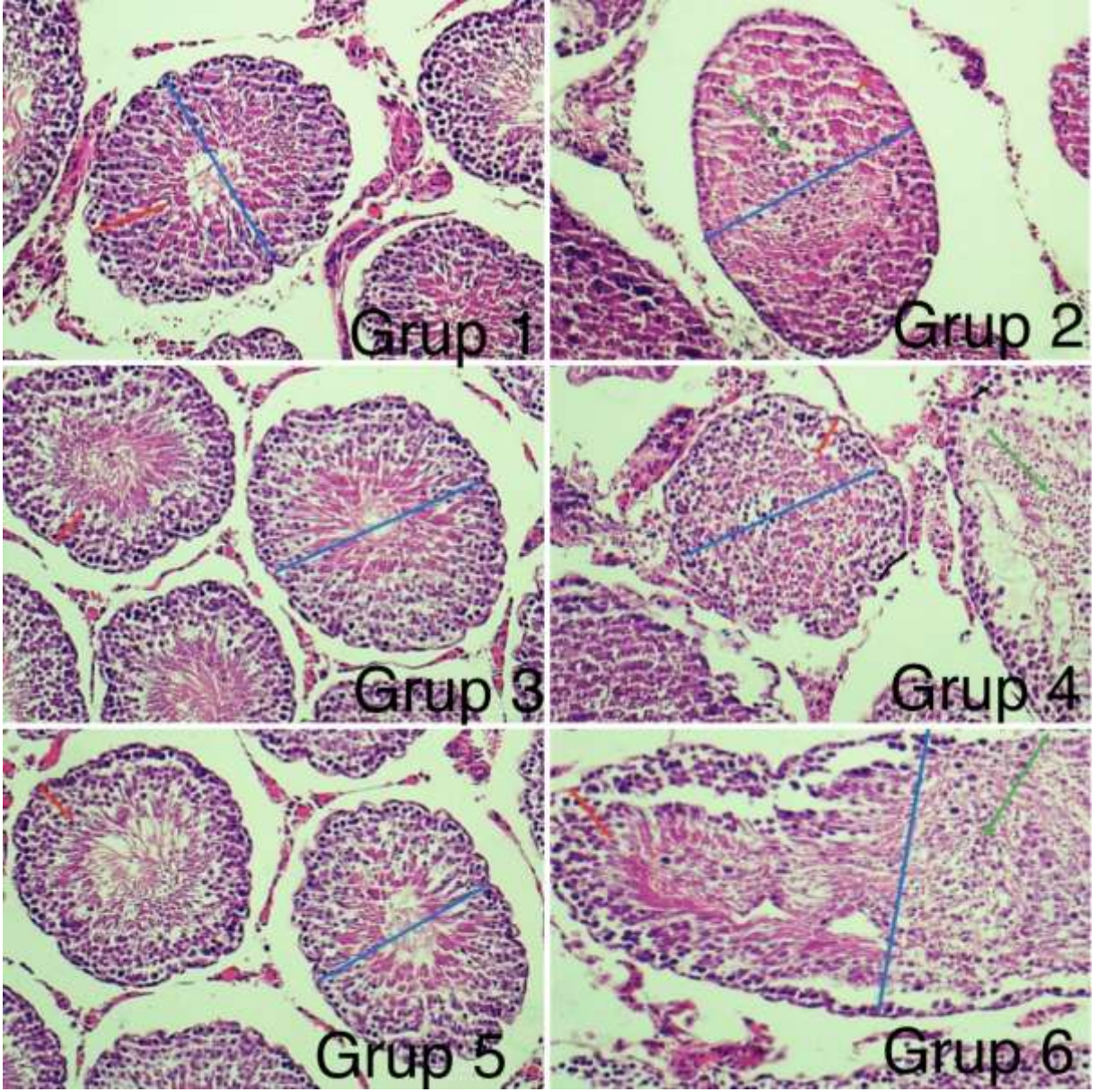


Şekil 13. Johnsen skorları ortalamalarının dağılımı

Tablo 5. Johnsen skorları ortalamalarının karşılaştırılması

	Johnsen Skorları	p*
<b>Grup 1 (n=8)</b> <b>(Kontrol)</b>	9,75±0,46 (9-10)	0,001 <sup>a</sup> , 0,591 <sup>d</sup>
<b>Grup 2 (n=8)</b> <b>(IR)</b>	6,25±0,46 (5-7)	0,001 <sup>a</sup> , 0,767 <sup>e</sup>
<b>Grup 3 (n=8)</b> <b>(3 mg/kg Pio)</b>	9,88±0,35 (9-10)	0,001 <sup>b</sup> , 0,591 <sup>d</sup>
<b>Grup 4 (n=8)</b> <b>(IR+ 3 mg/kg Pio)</b>	6,25±0,46 (5-7)	0,001 <sup>b</sup> , 0,767 <sup>e</sup>
<b>Grup 5 (n=8)</b> <b>(6 mg/kg Pio)</b>	9,88±0,35 (9-10)	0,001 <sup>c</sup> , 0,591 <sup>d</sup>
<b>Grup 6 (n=8)</b> <b>(IR+ 6 mg/kg Pio)</b>	6,62±0,51 (6-7)	0,001 <sup>c</sup> , 0,767 <sup>e</sup>

\* Student T test, \*\* Anova test, p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı. ( a: grup 1-2'nin karşılaştırılması, b: grup 3-4'ün karşılaştırılması, c: grup 4-6'nın karşılaştırılması, d: grup 1-3, 1-5 ve 3-5'in karşılaştırılması, e: grup 2-4, 2-6 ve 4-6'nın karşılaştırılması)



Şekil 14. Deney gruplarının testis dokusuna ait bazı mikroskobik bulgular (kırmızı çizgi: epitel uzunluğu, mavi çizgi: seminifer tübül çapı, yeşil ok: nekroz odağı)

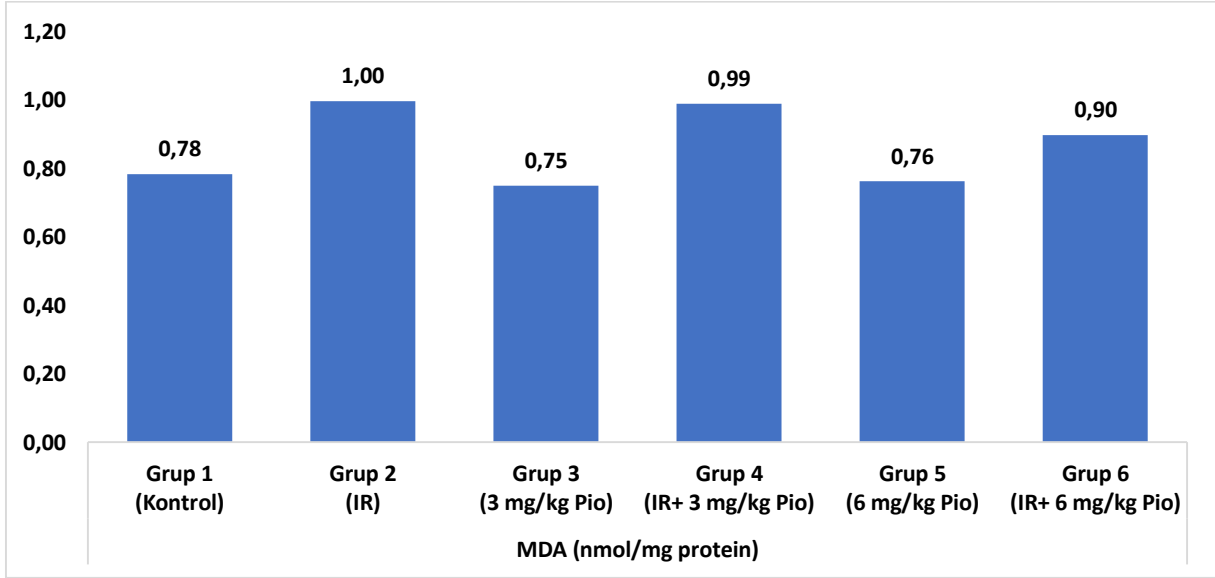
## BİYOKİMYASAL BULGULAR

Çalışmaya katılan tüm ratların MDA ortalaması  $0,86\pm 0,17$  nmol/mg protein olarak bulunurken, iskemi reperfüzyon yapılmayan gruplardaki ratların MDA ortalamasının  $0,76\pm 0,38$  nmol/mg protein, iskemi reperfüzyon yapılan gruplardaki ratların MDA ortalamasının ise  $0,96\pm 0,16$  nmol/mg protein olduğu bulundu.

Çalışmaya dahil edilen ratların MDA ortalamaları sırasıyla Grup 1’de  $0,78\pm 0,06$  nmol/mg protein, Grup 2’de  $1,00\pm 0,19$  nmol/mg protein, Grup 3’de  $0,75\pm 0,14$  nmol/mg protein, Grup 4’de  $0,99\pm 0,16$  nmol/mg protein, Grup 5’de  $0,76\pm 0,1$  nmol/mg protein ve Grup 6’da  $0,90\pm 0,12$  nmol/mg protein olarak saptandı. Gruplara göre MDA ortalamaları ve karşılaştırılması Tablo 6’da gösterilmiştir.

Gruplar iskemi reperfüzyon varlığına göre karşılaştırıldığında; tüm gruplarda MDA ortalamaları iskemi reperfüzyon yapılanlarda iskemi reperfüzyon yapılmayanlara göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulundu ( $p<0,05$ ).

İskemi reperfüzyon yapılmayan grupların MDA ortalamalarının benzer olduğu bulundu ( $p=0,812$ ). İskemi reperfüzyon yapılan gruplar kendi aralarında kıyaslandığında ise 6 mg/kg pioglitazon verilen grupta MDA düzeylerinde bir mikrar iyileşme saptanırken anlamlı fark bulunmadı ( $p=0,492$ ).



Şekil 14. MDA ortalamalarının dağılımı

**Tablo 6. MDA ortalamalarının karşılaştırılması**

	<b>MDA (nmol/mg protein)</b>	<b>p*</b>
<b>Grup 1 (n=8)</b> <b>(Kontrol)</b>	0,78±0,06 (0,70-0,87)	0,001 <sup>a</sup> , 0,812 <sup>d</sup>
<b>Grup 2 (n=8)</b> <b>(IR)</b>	1,00±0,19 (0,81-1,29)	0,001 <sup>a</sup> , 0,492 <sup>e</sup>
<b>Grup 3 (n=8)</b> <b>(3 mg/kg Pio)</b>	0,75±0,14 (0,51-0,89)	0,001 <sup>b</sup> , 0,812 <sup>d</sup>
<b>Grup 4 (n=8)</b> <b>(IR+ 3 mg/kg Pio)</b>	0,99±0,16 (0,76-1,26)	0,001 <sup>b</sup> , 0,492 <sup>e</sup>
<b>Grup 5 (n=8)</b> <b>(6 mg/kg Pio)</b>	0,76±0,1 (0,52-0,85)	0,001 <sup>c</sup> , 0,812 <sup>d</sup>
<b>Grup 6 (n=8)</b> <b>(IR+ 6 mg/kg Pio)</b>	0,90±0,12 (0,76-1,09)	0,001 <sup>c</sup> , 0,492 <sup>e</sup>

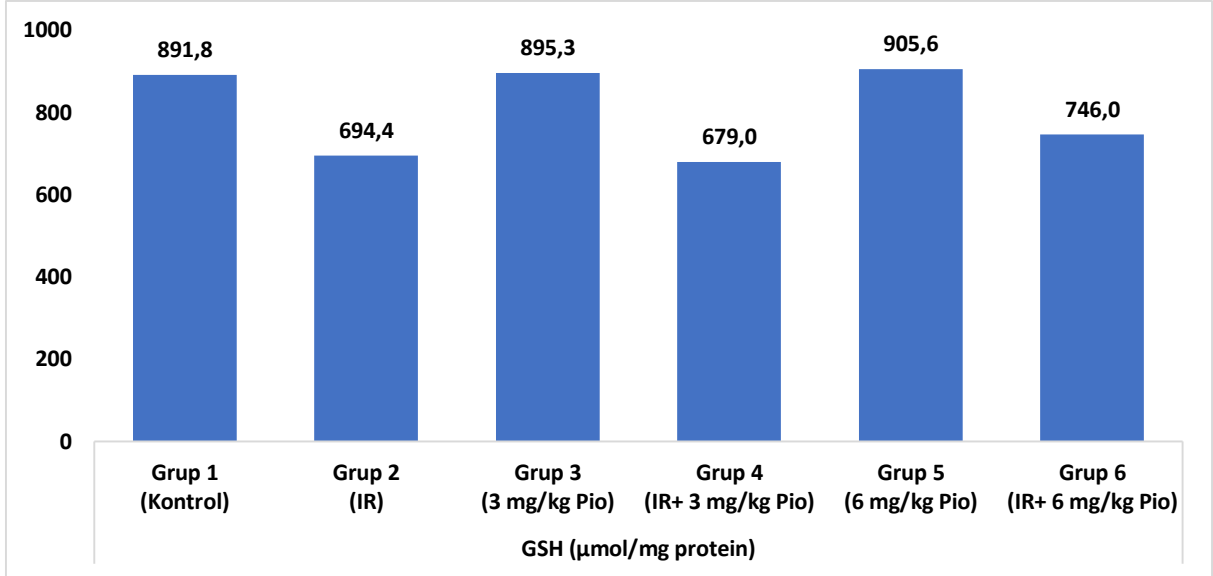
\* Student T test, \*\* Anova test, p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı. ( a: grup 1-2'nin karşılaştırılması, b: grup 3-4'ün karşılaştırılması, c: grup 4-6'nin karşılaştırılması, d: grup 1-3, 1-5 ve 3-5'in karşılaştırılması, e: grup 2-4, 2-6 ve 4-6'nin karşılaştırılması)

Çalışmaya katılan tüm ratların GSH ortalaması 804,4±277 nmol/mg protein olarak bulunurken, iskemi reperfüzyon yapılmayan gruplardaki ratların GSH ortalamasının 897,6±301,7 nmol/mg protein, iskemi reperfüzyon yapılan gruplardaki ratların GSH ortalamasının ise 702,9±209,8 nmol/mg protein olduğu bulundu.

Çalışmaya dahil edilen ratların GSH ortalamaları sırasıyla Grup 1'de 891,8±303,9 nmol/mg protein, Grup 2'de 694,4±242,5 nmol/mg protein, Grup 3'de 895,3±203,2 nmol/mg protein, Grup 4'de 679±125,3 nmol/mg protein, Grup 5'de 905,6±406,6 nmol/mg protein ve Grup 6'da 746±278 nmol/mg protein olarak saptandı. Gruplara göre GSH ortalamaları ve karşılaştırılması Tablo 7'de gösterilmiştir.

Gruplar iskemi reperfüzyon varlığına göre karşılaştırıldığında; tüm gruplarda GSH ortalamalarının iskemi reperfüzyon yapılanlarda iskemi reperfüzyon yapılmayanlara göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulundu (p<0,05).

İskemik reperfüzyon yapılmayan grupların GSH ortalamaları benzer bulundu (p=0,812). İskemi reperfüzyon uygulanan gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında ise 6 mg/kg pioglitazon verilen grupta ortalama GSH değerlerinde bir miktar iyileşme görülmekle birlikte anlamlı fark saptanmadı (p=0,492).



Şekil 15. GSH ortalamalarının dağılımı

Tablo 7. GSH ortalamalarının karşılaştırılması

	GSH (nmol/mg protein)	p*
<b>Grup 1 (n=8)</b> <b>(Kontrol)</b>	891,8±303,9 (416,2-1501,4)	0,001 <sup>a</sup> , 0,996 <sup>d</sup>
<b>Grup 2 (n=8)</b> <b>(IR)</b>	694,4±242,5 (398,3-999)	0,001 <sup>a</sup> , 0,845 <sup>e</sup>
<b>Grup 3 (n=8)</b> <b>(3 mg/kg Pio)</b>	895,3±203,2 (604,8-1192,7)	0,001 <sup>b</sup> , 0,996 <sup>d</sup>
<b>Grup 4 (n=8)</b> <b>(IR+ 3 mg/kg Pio)</b>	679±125,3 (479,4-825,8)	0,001 <sup>b</sup> , 0,845 <sup>e</sup>
<b>Grup 5 (n=8)</b> <b>(6 mg/kg Pio)</b>	905,6±406,6 (516,1-1703,8)	0,001 <sup>c</sup> , 0,996 <sup>d</sup>
<b>Grup 6 (n=8)</b> <b>(IR+ 6 mg/kg Pio)</b>	746±278 (482-1227,3)	0,001 <sup>c</sup> , 0,845 <sup>e</sup>

\* Student T test, \*\* Anova test, p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı. ( a: grup 1-2'nin karşılaştırılması, b: grup 3-4'ün karşılaştırılması, c: grup 4-6'nın karşılaştırılması, d: grup 1-3, 1-5 ve 3-5'in karşılaştırılması, e: grup 2-4, 2-6 ve 4-6'nın karşılaştırılması)

## TARTIŞMA

Spermatik kordun kendi etrafında dönmesi ile oluşan testis torsiyonu, organ kaybına yol açabilen ciddi bir ürolojik acildir (79). Testis torsiyonu germ hücre ölümüne yol açarak infertiliteye sebep olabilir. Reperfüzyon; testis hücrelerinin hayatta kalması için gerekli olmasına rağmen, kötü prognozdan sorumlu olduğu varsayılır (80). Reperfüzyon sonrası artan serbest radikaller; lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve oksidatif DNA hasarı gibi toksik etkilere yol açarak testiküler hasar oluşturur. Testisler serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu hasara karşı duyarlı organlardır.

Yapılan çalışmalarda oluşan iskemik hasarın, testisin dönme sayısı ve torsiyon süresiyle ilişkili olduğu görülmüştür (24). Testiste torsiyon modeli oluştururken testisin dönme ya da döndürülme derecesi 720 derece olarak yapılması durumunda kan akımının tamamen kesildiği ve tam bir iskemi durumu olduğu gösterilmiştir (81). Ayrıca sol testisin sağ testise göre daha uzun bir spermatik kord yapısına sahip olduğundan iskeminin sol testiste olma olasılığının daha yüksek olduğu belirmiştir (24). Turner yapmış olduğu çalışmalarda testisleri 180, 360 ve 720 derece çevirdikten sonra sırasıyla 1, 2 ve 4 saat detorsiyon işlemi uygulamış ve bu bilgilere dayanarak 720 derece torsiyon ve 4 saat detorsiyon işlemi uygulanan ratlarda iskemik hasarın tam olduğunu belirtmiştir (82).

Biz de çalışmamız da testis torsiyon modelinde, daha sık görülmesinden dolayı ratların sol testislerine 4 saat torsiyon ve 4. saatin sonunda detorsiyon işlemi uyguladık. Detorsiyon sonrası 4. saatteki reperfüzyon hasarını değerlendirdik. Çalışmamızda ayrıca 3 mg/kg ve 6 mg/kg pioglitazonun testis iskemi reperfüzyonu üzerine koruyucu etkinliğinin olup olmadığını değerlendirdik.

Testiste reperfüzyona sekonder olarak gelişen oksidatif stres hasarını önleyen ve

inflamasyonu azaltarak iskemi reperfüzyon hasarından koruyan tedavi uygulamalarının klinikte kullanılması mantıklı bir fikirdir. Böyle bir ajanın kullanımda olması cerrahiye kadar geçen sürede oluşan hasarı azaltacak ve oluşabilecek morbiditeleri en aza indirecektir. Bu amaçla antioksidan ve antiinflamatuvar etkiyi arttırmaya yönelik literatürde birçok tedavi stratejisi öne sürülmektedir. Ancak günümüzde iskemi reperfüzyon hasarını önlemede klinik kullanımda olan herhangi bir farmakolojik ajan mevcut değildir. Çalışmamızda, ‘Cerrahi işlem gerçekleşinceye kadar geçen sürede pioglitazon gibi bir ajan kullanımının anlamlı bir etkisi olabilir mi?’ sorusuna cevap aranmaya çalışılmıştır.

Literatür incelendiğinde testis torsiyonu tedavisinde kullanılabilecek ajanlarla ilgili birçok çalışma mevcuttur. Quercetin, N-asetilsistein, hidrojen sulfid, kolşisin, topiramet bunlardan bazılarıdır (83-87). Mahmoud ve arkadaşları ise bizim de testiküler iskemi reperfüzyon üzerine etkisini göstermek için çalıştığımız pioglitazon üzerine çalışmışlardır (88).

Pioglitazon, nükleer hormon reseptör süper ailesinin bir üyesi olan peroksizom proliferatör ile aktive olan reseptör-gama (PPAR- $\gamma$ ) agonistidir. PPAR- $\gamma$ ; glikoz homeostazı, hücrel farklılaşma, lipid metabolizmasının düzenlenmesi, ateroskleroz, kısırılık ve iltihaplanma gibi çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde yer alan genlerin ekspresyonunu düzenler (89). Gorga ve arkadaşları ise PPAR- $\gamma$  aktivasyonunun rat sertoli hücrelerinde lipid ve laktat metabolizmasını düzenlediğini göstermişlerdir (90). Sekulic J. ve arkadaşları yapmış olduğu çalışmada pioglitazonun terapötik etkilerinin bir insülin duyarlılaştırıcı olarak kullanımının çok ötesine ulaştığını ve pioglitazonun kalp, beyin ve böbreklerdeki iskemi reperfüzyon hasarını hafiflettiğini ortaya koymuştur (91).

Meneses ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada pioglitazonun insan sertoli hücrelerindeki glikolitik verimliliği artırarak spermatogenezi artırdığını göstermişlerdir (92) M.H. Somi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma pioglitazonun iskemi reperfüzyon ile indüklenen karaciğer hasarını azalttığını göstermiştir (93). Rafaie Marwa ve arkadaşları ise yaptıkları çalışma ile pioglitazonun over torsiyonuna bağlı oluşan iskemi reperfüzyon hasarı üzerine etkileri incelenmiş ve koruyucu etkisi olduğunu göstermişlerdir (94).

İskemi reperfüzyon uygulanan testislerde meydana gelen histopatolojik değişikliklerden başlıcaları; tübül çaplarında azalma, interstisyel alanda ödem ve hemoraji, tübüllerde germinal epitelyum hücre organizasyonunun bozulması, gelişimini tamamlamamış spermatogonik hücrelerin lümen içerisinde birikimi, çok çekirdekli dev hücrelerin, mayozun belli aşamalarında duraksamış ve farklı şekillerde izlenen dejenere hücrelerin görülmesi olarak sıralanabilir. Histopatolojik değerlendirme, parafin bloklardan elde edilen ve hemotoksilen eozin ile boyanan kesitlerin değerlendirmesi ile yapılmıştır. Çalışmamızda seminifer tübül çapı ölçümü, epitel



kalınlık ölçümü ve Johnsen skorlaması yapılarak spermatogenez kalitesi hakkında sonuçlar elde edildi.

Romeo ve arkadaşları ratlarda oluşturdukları testis iskemi reperfüzyon hasarında torsiyon yapılan sol testiste, intertübüler alanlarda dilatasyon, ödem ve hemoraji olduğunu belirtmişlerdir (95). Dağlar ve arkadaşları torsiyon yapılan testis dokusunda düzensizlik, germinal epitel tabakalarında incelleme, germ hücrelerinde dejenerasyon ve tübüllerde spermatogenezin olmadığını gözlemlemişlerdir (96). Aydın ve arkadaşları torsiyone olan testis dokularında seminifer tübüller ve intertübüler alanlarda hasarlanma olduğunu bildirmişlerdir (97).

Taati ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada testis torsiyonunun testis dokusunda oluşturduğu hasarı anlamak için seminifer tübül çaplarını ölçmüş, torsiyon grubunda kontrol grubuna kıyasla germinal epitel kalınlığı ve tübül çaplarının azaldığını göstermişlerdir (98). Andıran ve arkadaşları ise çalışmalarında testis torsiyonunun seminifer tübül çaplarını azalttığını rapor etmişlerdir (99).

Kanter ve arkadaşları ratlarda testiküler iskemi reperfüzyon çalışmasında melatoninin koruyucu etkinliğini histopatolojik değişiklikler üzerine olan etkisini değerlendirmiştir. Burada iskemi reperfüzyon yapılan grupta seminifer tübül çaplarının anlamlı derecede azaldığı ve melatonin tedavisi verilen iskemi reperfüzyon grubunda seminifer tübül çaplarının anlamlı derecede düzeldiğini tespit etmişlerdir (100). Aktoz ve arkadaşları ise testiküler iskemi reperfüzyonda quercetin'in koruyucu etkinliğini histopatolojik olarak göstermek için ve quercetin tedavisi verilen grupta seminifer tübül çaplarının anlamlı derecede düzeldiğini tespit etmişlerdir (83).

Bizim çalışmamızda da iskemi-reperfüzyon yapılan grupta, 3 mg/kg pioglitazon verilen ve iskemi-reperfüzyon yapılan grup kıyaslandığında seminifer tübül çapı ve epitel uzunluklarında anlamlı artış gözlenmedi. Ancak iskemi reperfüzyon yapılan grupta, 6 mg/kg pioglitazon verilen ve iskemi reperfüzyon yapılan grup kıyaslandığında seminifer tübül çapı ve epitel uzunluklarında anlamlı artış gözlemlendi.

Literatürde yapılan deneysel torsiyon modelleri incelendiğinde reperfüzyon sonrası spermatogenezin ne zaman etkilendiğiyle ilgili ortak bir görüş olmadığı görülmektedir. Yapılan deneysel çalışmalarda reperfüzyon sonrası 2 saat ile 3 ay arasında değişen sürelerde Johnsen kriterlerine göre spermatogenezin anlamlı olarak bozulduğu gösterilmiştir (101-102). Özcan ve arkadaşları çalışmalarında, testis torsiyon grubunda seminifer tübül Johnsen skorlamasında anlamlı bir düşüş saptamışlardır (103). Azizollahi ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada, testis iskemi reperfüzyon hasarı grubunda kontrol grubuna kıyasla

Johnsen skorlamasında anlamlı bir düşüş olduğunu göstermişlerdir (104).

Koksal ve arkadaşlarının ratlarda oluşturduğu iskemi-reperfüzyon modelinde ise melatoninin oksidatif strese olan etkisi incelenmiş ve sonuç olarak melatoninin Johnsen skoru ve sperm kalitesi üzerinde olumlu etkileri sayesinde etkin bir antioksidan ajan olduğu belirtilmiştir (105).

Bizim çalışmamızda da iskemi-reperfüzyon yapılan grupla, 3 mg/kg Pioglitazon verilen ve iskemi-reperfüzyon yapılan grup arasında Johnsen skorlarında anlamlı bir fark saptanmadı. İskemi-reperfüzyon yapılan grupla, 6 mg/kg pioglitazon verilen ve iskemi-reperfüzyon yapılan grup karşılaştırıldığında ise Johnsen skorlarında bir miktar iyileşme olmakla beraber anlamlı fark saptanmadı.

Lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA, lipid peroksidasyonun güvenilir bir göstergesidir. MDA hücre zarından kolay difüze olur ve hücre içinde lipofuksin şeklinde sitoplazmada birikir. MDA membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağ yapmalarına yol açtıklarından dolayı iskemi ve reperfüzyonda membran yüzeyinin durumunu, enzim aktivitesini, iyon transportunu etkileyebilirler. Doku lipid peroksid içeriği çeşitli yöntemlerle ölçülmektedir. Çalışmamızda reperfüzyon hasarını lipid peroksidasyon ürünleri ile değerlendirmek amacıyla etkinliği birçok yayında ortaya konmuş önemli bir belirteç olan MDA düzeyleri araştırıldı (106). Tsounapi ve arkadaşlarının yapmış olduğu testis deneysel iskemi reperfüzyon modelinde 2 saat iskemi ve 48 saatlik reperfüzyon sonrası iskemi reperfüzyon grubunda kontrol grubuna göre iskemik testiste MDA seviyelerinin kontrol grubundan önemli şekilde yüksek olduğu belirlenmiştir (107).

Çay A. ve arkadaşlarının yaptığı bir benzer çalışmada ise antioksidan olarak ratlara N-asetilsistein verilmiştir. Sonuç olarak N-asetilsistein'in reperfüzyon esnasında lipid peroksidasyonunu azalttığı, bunun neticesinde doku MDA düzeyinde azalma, histolojik hasarda gerileme olduğu vurgulanmıştır (108).

Bizim çalışmamızda da iskemi-reperfüzyon yapılan grupla, 3 mg/kg Pioglitazon verilen ve iskemi-reperfüzyon yapılan grup arasında MDA düzeylerinde anlamlı fark saptanmadı. İskemi-reperfüzyon yapılan grupla, 6 mg/kg pioglitazon verilen ve iskemi-reperfüzyon yapılan grup karşılaştırıldığında ise MDA düzeylerinde bir miktar iyileşme olmakla beraber anlamlı fark saptanmadı.

Guimarae ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir çalışmada testis deneysel iskemi reperfüzyon modelinde 2 saatlik iskemi ve bunu takiben 3 saatlik reperfüzyon süresi sonunda iskemi reperfüzyon grubunda testis dokusu glutatyon seviyelerinin azaldığını belirlenmiştir (109). Ege E. ve arkadaşlarının testiste iskemi reperfüzyon modeli uygulanarak yapılmış

çalışmada GSH seviyelerinin azaldığı gözlenmiştir (110). Çalışmalarında çoğunlukla deney grubunda GSH değeri azalmış olsa da aksini bildiren çalışmalar da vardır (111).

Biz ise yaptığımız çalışmada GSH düzeylerinin literatürün çoğunluğu ile uyumlu olarak; iskemi reperfüzyon yapılan gruplarda, iskemi reperfüzyon yapılmayan gruplara kıyasla anlamlı olarak azaldığını bulduk. İskemi-reperfüzyon yapılan grupla, 3 mg/kg Pioglitazon verilen ve iskemi-reperfüzyon yapılan grup arasında GSH düzeylerinde anlamlı fark saptanmadı. İskemi-reperfüzyon yapılan grupla, 6 mg/kg pioglitazon verilen ve iskemi-reperfüzyon yapılan grup karşılaştırıldığında GSH düzeylerinde bir miktar artış olmakla beraber anlamlı fark saptanmadı.

Mahmoud ve arkadaşlarının testis iskemi reperfüzyonu üzerine pioglitazonun etkilerini incelemek için yapmış oldukları çalışmada 4 grup mevcut olup gruplar; kontrol grubu, iskemi reperfüzyon grubu, 1 mg/kg'dan pioglitazon verilen grup ve 3 mg/kg'dan pioglitazon verilen gruptur. Bu çalışmada iskemi reperfüzyon yapılan gruplarda hem ipsilateral hem kontralateral testislerde MDA düzeyinde anlamlı artış saptanırken, GSH ve SOD düzeyinde ise anlamlı azalma saptanmıştır. Pioglitazon 3 mg/kg verilen grupta daha anlamlı olmak üzere, hem pioglitazon 1 mg/kg hem de pioglitazon 3 mg/kg verilen grupta MDA düzeyleri anlamlı azalırken, GSH ve SOD düzeyleri ise anlamlı artmıştır. Bu çalışmada spermatogenezin değerlendirilmesi için Johnsen skorlarına bakılmış olup, iskemi reperfüzyon yapılan grupta hem kontralateral hem de ipsilateral testisten alınan dokularda Johnsen skorunda ise anlamlı azalma saptanmıştır. Pioglitazon 1 mg/kg verilen grupta ipsilateral, pioglitazon 3 mg/kg verilen grupta ise hem ipsilateral hem de kontralateral testislerde Johnsen skorlarında anlamlı iyileşme saptanmıştır (88).

Bizim çalışmamızda ise 3 mg/kg pioglitazon verilen grupta iskemi reperfüzyon yapıp tedavi verilmeyen gruba kıyasla; ne biyokimyasal olarak bakılan MDA ve GSH değerlerinde, ne de histopatolojik olarak bakılan epitel uzunluğu, seminifer tübül çapı ve Johnsen skorunda değişiklik saptanmadı. Bir diğer tedavi grubu olan 6 mg/kg pioglitazon verilen grupta ise MDA, GSH ve Johnsen skorunda hem sadece iskemi reperfüzyon yapılan gruba hem de iskemi reperfüzyon yapılarak 3 mg/kg pioglitazon verilen gruba kıyasla iyileşme görülmüş fakat anlamlı bulunmamıştır. Bizim çalışmamızı daha önceden yapılan çalışmadan ayıran histopatolojik parametreler olan seminifer tübül çapı ve epitel kalınlıklarında ise 6 mg/kg pioglitazon verilen grupta hem sadece iskemi reperfüzyon yapılan gruba hem de iskemi reperfüzyon yapılarak 3 mg/kg pioglitazon verilen gruba kıyasla anlamlı iyileşme görülmüştür.

Bu sonuçlara bakarak pioglitazonun testis torsiyonu tedavisi amaçlı klinik kullanıma girebilmesi ve etkin dozun belirlenebilmesi için randomize prospektif ve uzun dönem takip sonuçlarına sahip çalışmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

## SONUÇLAR

Pioglitazonun testis iskemi reperfüzyon hasarına olan etkisini incelemek amacıyla yaptığımız çalışma sonucunda;

- 1- Seminifer tübül çaplarının testis iskemi reperfüzyon modeli oluşturulup 6 mg/kg pioglitazon tedavisi uygulanan ratlarda, 3 mg/kg pioglitazon tedavisi uygulanan ve kontrol grubundaki ratlara göre anlamlı derecede daha geniş çaplara sahip olduğu,
- 2- Epitel kalınlıklarının testis iskemi reperfüzyon modeli oluşturulup 6 mg/kg pioglitazon tedavisi uygulanan ratlarda, 3 mg/kg pioglitazon tedavisi uygulanan ve kontrol grubundaki ratlara göre epitel kalınlıklarının anlamlı derecede daha uzun olduğu,
- 3- Histopatolojik değerlendirme için kullanılan Johnsen skorlarının testis iskemi reperfüzyon modeli oluşturulup 6 mg/kg pioglitazon tedavisi uygulanan ratlarda, 3 mg/kg pioglitazon tedavisi uygulanan ve kontrol grubundaki ratlara göre yüksek skorlara sahip olmakla birlikte anlamlı fark olmadığı,
- 4- Biyokimyasal parametrelerden MDA'nın testis iskemi reperfüzyon modeli oluşturulup 6 mg/kg pioglitazon tedavisi uygulanan ratlarda, 3 mg/kg pioglitazon tedavisi uygulanan ve kontrol grubundaki ratlara göre düşük skorlara sahip olmakla birlikte anlamlı fark olmadığı,
- 5- Biyokimyasal parametrelerden GSH'ın testis iskemi reperfüzyon modeli oluşturulup 6 mg/kg pioglitazon tedavisi uygulanan ratlarda, 3 mg/kg pioglitazon tedavisi uygulanan ve kontrol grubundaki ratlara göre düşük skorlara sahip olmakla birlikte anlamlı fark olmadığı bulundu.

Tüm bu bulgulara bakarak deneysel olarak oluşturduğumuz testis iskemi reperfüzyon modelinde; 6 mg/kg'dan verilen pioglitazonun histopatolojik parametrelerde anlamlı iyileşme sağlamakla birlikte klinik uygulamaya geçebilmesi için daha fazla deney gruplarıyla ve farklı sürelerde yapılacak çalışmalara ihtiyacı olduğu düşünüldü.

## ÖZET

Testis torsiyonu teşhis sonrasında hızlı şekilde tedavi gerektiren akut seyirli ürolojik acildir. Tedavi olarak yapılan detorsiyon işlemi sonrasında meydana gelen iskemi-reperfüzyon süreçleri de testiküler hasara neden olur. Çalışmamızın amacı pioglitazonun, testiküler iskemi reperfüzyon hasarında etkisini araştırmaktır.

Bu amaçla dizayn ettiğimiz çalışmada; 48 adet Wistar-Albino sıçan randomize edilerek 8 eşit gruba ayrıldı. 1. grup kontrol grubu olup sadece orşiektomi yapıldı. 3. ve 5. grup ilaç grupları olup sırasıyla 3 mg/kg ve 6 mg/kg dozundan pioglitazon verildikten 2 saat sonra orşiektomi yapıldı. 2. grup iskemi reperfüzyon grubu idi. Bu gruba deneysel testis torsiyonu uygulanarak 4 saat beklendi. 4 saatlik torsiyon sonrası detorsiyon işlemi uygulandı. Detorsiyonun 4. saatinde orşiektomi yapıldı. 4. ve 6. gruplar deney grupları idi. Bu gruplara 2. gruptan farklı olarak torsiyonun 2. saatinde sırasıyla 3mg/kg ve 6 mg/kg dozundan pioglitazon verildi. Biyokimyasal olarak; testis dokusunda Malondialdehid (MDA ve Glutasyon (GSH) değerlendirildi. Histopatolojik olarak ise seminifer tübül çapları ve epitel kalınlıkları ölçüldü ve Johnsen skoru hesaplandı. Sonuçlar Kruskal Wallis ve Mann Whitney-U testi ile karşılaştırıldı.

Biyokimyasal değerlendirmede iskemi reperfüzyon yapılan gruplarda MDA ve GSH iskemi yapılmayan gruplara göre anlamlı yüksek bulundu. Tedavi verilen gruplardan 3 mg/kg'dan pioglitazon verilen grupta tedavi verilmeyen gruba göre fark saptanmazken, 6 mg/kg pioglitazon verilen grupta bir miktar azalma görülmekle beraber anlamlı fark saptanmadı. Histopatolojik değerlendirmede ise iskemi reperfüzyon yapılan gruplarda seminifer tübül çapları, epitel uzunlukları ve Johnsen skoru iskemi reperfüzyon yapılmayan gruplara kıyasla anlamlı azalma gösterdi. Tedavi verilen gruplardan 3 mg/kg'dan pioglitazon verilen grupta tedavi verilmeyen gruba kıyasla fark saptanmazken, 6 mg/kg'dan pioglitazon

verilen grupta seminifer tübül çapları ve epitel kalınlıkları anlamlı iyileşme gösterdi. Sonuç olarak; tek taraflı testis torsiyonunda 6 mg/kg pioglitazon tedavisinin iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisi olduğunu sylenebilir.

**Anahtar kelimeler:** İskemi reperfüzyon hasarı, Testis torsiyonu, Pioglitazon



## **INVESTIGATION OF THE EFFECT OF PIOGLITAZONE ON TESTICULAR ISCHEMIA REPERFUSION INJURY**

### **SUMMARY**

Testicular torsion is an acute urological emergency that requires prompt treatment after diagnosis. Ischemic-reperfusion processes after detorsion also causes testicular damage. The aim of our study is to investigate the effect of pioglitazone on testicular ischemia reperfusion injury.

In the study we designed for this purpose; 48 Wistar-Albino rats were randomized and divided into 8 equal groups. The first group was the control group and only orchietomy was performed. Group 3 and 5 were drug groups, and orchietomy was performed 2 hours after pioglitazone was given at a dose of 3 mg/kg and 6 mg/kg, respectively. The second group was the ischemia reperfusion group. Experimental testicular torsion was applied to this group and it was waited for 4 hours. Detorsion procedure was applied after 4 hours of torsion. Orchietomy was performed at the 4th hour of detorsion. Groups 4 and 6 were experimental groups. Unlike the second group, pioglitazone was administered to these groups at a dose of 3 mg/kg and 6 mg/kg, respectively, at the second hour of torsion. Biochemically; Malondialdehyde (MDA) and Glutathione (GSH) was evaluated in testicular tissue. Histopathologically, seminiferous tubule diameters and epithelial thickness were measured and the Johnsen score was calculated. Results were compared with Kruskal Wallis and Mann Whitney-U test.

In the biochemical evaluation, MDA and GSH were found to be significantly higher in the ischemia reperfusion groups compared to the groups without ischemia. While there was no

difference in the group treated with 3 mg/kg pioglitazone compared to the non-treated group, a slight decrease was observed in the group treated with 6 mg/kg pioglitazone, but no significant difference was found. In histopathological evaluation, seminiferous tubule diameters, epithelial lengths and Johnsen score showed a significant decrease in ischemia reperfusion groups compared to groups without ischemia reperfusion. While there was no difference between the treated groups and the group treated with 3 mg/kg pioglitazone compared to the untreated group, seminiferous tubule diameters and epithelial thickness improved significantly in the group given pioglitazone with 6 mg/kg. As a result; 6 mg/kg pioglitazone treatment could have a protective effect against ischemia reperfusion injury in unilateral testicular torsion.

**Keywords:** Ischemia reperfusion injury, Testicular torsion, Pioglitazone

## KAYNAKLAR

1. Kilciler M. (Ed) Ürolojik Aciller, İstanbul Tıp Kitabevi. 2015.
2. Harrison RH: Testicular torsion. In Glenn JF (ed): Urologic Surgery. Philadelphia, Toronto, JB Lippincott Co 1983, pp 1067-76.
3. Macnicol MP: Torsion of the testis in childhood. Brit J Surg 61:905-908, 1974.
4. Williamson RCN: Torsion of the testis and allied conditions. Br J Surg 1976;63:465-76.
5. Akgür FM, Kılınç K, Aktuğ T. Reperfusion injury after detorsion of unilateral testicular torsion. Urol Res 1993;21:395-9.
6. Mogilner JG, Lurie M, Coran AG, Nativ O, Shiloni E, Sukhotnik I. Effect of diclofenac on germ cell apoptosis following testicular ischemia-reperfusion injury in a rat. Pediatric Surgery International, 2006;22:99-105.
7. Lysiak JJ, Nguyen QAT, Turner TT. Peptide and nonpeptide reactive oxygen scavengers provide partial rescue of the testis after torsion. J Androl 2002, 23: 400-9.
8. Telang VM, Stahl RE, Clark DA, Orafidiya AO, Dweck HS. Ischemic-Injury to Rabbit Ileum- Protective Role of Vitamin-E (Tocopherol-T). Pediatric Res 1986;20:A250.
9. Da Ros R, Assaloni R, Ceriello A. The preventive anti-oxidant action of thiazolidinediones: a new therapeutic prospect in diabetes and insulin resistance. Diabet Med 2004;21:1249-1252.
10. Rahbar S, Natarajan R, Yerneni K, Scott S, Gonzales N, Nadler JL. Evidence that pioglitazone, metformin and pentoxifylline are inhibitors of glycation. Clin Chim Acta 2000;301:65-77.
11. Wein Alan J. (Ed) Campbell-Walsh Üroloji 10. Baskı Güneş Tıp Kitabevi.

12. Standing S. Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice. Forty-first ed. Elseiver, 2016.
13. Pettersson S. Testicular Blood flow in man measured with venous occlusion plethysmography and xenon. Scand J Urol Nephrol 1973;7(2-3): p. 115-9.
14. Rauchenwald M., Steers W.D., Desjardins C.: Efferent innervation of the rat testis. Biol Reprod 1995;52:1136-43.
15. Waschke J, Paulsen F. Sobotta Atlas of Human Anatomy, 15th ed, Elsevier, Urban and Fischer. 2013.
16. Pansky B. Review of gross anatomy. 6 th. Ed. New York: MCFraw-Hill; 1987.s.483.
17. Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. The developing human: clinically oriented embryology, 10th ed, Elsevier, 2016.
18. Sadler TW. Langman Medikal Embriyoloji. 11. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2005.
19. Ross MH and Pawlina W. Histology: A text and atlas: with correlated cell and molecular biology. 7th edition Baltimore, Wolters Kluwer Health, 2016
20. Gartner L, Hiatt J. Color Textbook of Histology. 2nd ed. Philadelphia, Saunders, 2001.
21. Kayalı H. Özel histoloji. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Film Merkezi, 1989:218-28.
22. Barada JH, Weingarten JL, Cromie WJ. Testicular salvage and age-related delay in the presentation of testicular torsion. J Urol 1989;142:746-8.
23. Shukla RB. Association of cold weather with testicular torsion. Br Med J 1982;285:1459-60.
24. Fonkalsrud EW. Testicular undescent and torsion. Pediatr Clin North Am 1987;34:1305-17.
25. Callewaert, P.R. and P. Van Kerrebroeck, New insights into perinatal testicular torsion. European journal of pediatrics, 2010. 169(6): p. 705-712.
26. Demir Ö, Çelebi İ, Esen A.A. Ürogenital Sistemin Acil Yaklaşım Gerektiren Hastalıkları, Anafarta K, Arıkan N, Bedük Y (eds.). Temel Üroloji dördüncü baskı. Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri 2011; s. 1030-1.
27. Rabinowitz, R. and W.C. Hulbert Jr, Acute scrotal swelling. The Urologic clinics of North America, 1995;22(1): p. 101.
28. Rowe MI ONJ, Grosfeld JL, Fonkalsrud EW, Coran AG. Essentials of pediatric surgery. Baskı. St. Louis, Mosby-Year Book Inc, 1995: s. 457-9.

29. Baker LA, Sigman D, Mathews RI, Benson J, Docimo SG. An analysis of clinical outcomes using color doppler testicular ultrasound for testicular torsion. *Pediatrics* 2000;105:604-7.
30. Visser, A. and C. Heyns, Testicular function after torsion of the spermatic cord. *BJU international*, 2003. 92(3): s. 200-3.
31. Tryfonas, G., et al., Late postoperative results in males treated for testicular torsion during childhood. *Journal of pediatric surgery*, 1994;29(4): p. 553-6.
32. Anderson JB, Williamson RC. Testicular torsion in Bristol: a 25-year review. *Br J Surg* 1988;75(10):988-92.
33. Anderson MJ, Dunn JK, Lipschultz LI, et al. Semen quality and endocrine parameters after acute testicular torsion. *J Urol* 1992;147:1545–50.
34. Zhang X., Zhang J., Cai Z., Wang X, Lu W., Li H. (2020) Effect of unilateral testis torsion at different ages on male fertility. *J Int Med Res* 2020 Apr: 48(4): doi: [10.1177/0300060520918792](https://doi.org/10.1177/0300060520918792)
35. Makela E., Roine R., Taskinen S. (2020) Paternity, erectile function, and health-related quality of life patients operated for pediatric testicular torsion. *Journal of Pediatric Urology* 2020;(16):1-4.
36. Taskinen S., Makela E, Raivio T. (2020) Effect of pediatric testicular torsion on testicular function in the short term. *J Pediatric Surg* 2020;55(8):1613-5.
37. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, Ward PA. Ischemia/reperfusion injury. *The Journal of surgical research*, 2002;105:248-58.
38. Mitchell RN CR. *Temel patoloji 6. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi 2000.*
39. <http://med.ege.edu.tr/saitsen/ogrenci/hucre.html>
40. Kumar V, Cotran R, Robbins S. *Temel patoloji (Basic Pathology). 6. edition. s. 2000. 6–10, 30–6.*
41. Langer JC, Sohal SS, Blennerhasselt P. Mucosal permeability after subclinical intestinal ischemia/reperfusion injury: An exploration of possible mechanisms. *J pediatr Surg* 1995;30:568-572.
42. Faberowsky N, Stefannsson E, Davidson RC. Local Hypothermia protects the retina from ischemia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989;30:2309-12.
43. Granger DN, Rutili G, Mc Cord JM. Superoxide radicals in feline intestinal ischemia. *Gastroenterology* 1981;81:22-9.
44. Saugstad OD. Hypoxanthine as a measurement of hypoxia. *Pediatr Res* 1975;9:158-61.
45. Halliwell B, Gutteridge JM. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radical biology&medicine*, 1995;18:125-6.

46. Carden DL SJ, Korthuis RJ. Neutrophil-mediated microvascular dysfunction in postischemic canine skeletal muscle. Role of granulocyte adherence. *Circulation Res* 1990.
47. Menger MD, Rucker M, Vollmar B. Capillary dysfunction in striated muscle ischemia/reperfusion: On the mechanisms of capillary “no- reflow”. *Shock* 1997;8:2-7.
48. Eppihimer MJ, Granger N. Ischemia/reperfusion induced leukocyte-endothelial interactions in postcapillary venules. *Shock* 1997; 8:16-25.
49. Welbourn CRB, Goldman G, Peterson IS. Pathophysiology of ischemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg* 1991;78:651-5.
50. Collard CD, Lekowski R, Jordan JE. Complement activation following oxidative stres. *Mol Immunol* 1999;36:941-8.
51. Granger DN, Korthuis RJ. Physiologic mechanisms of postischemic tissue injury. *Annu Rev Physiol* 1995;57:311-32.
52. Türkyılmaz Z. Karaciğer İskemi-Reperfüzyon Zedelenmesinde Pentoksifilin, Dimetilsülfoksit ve Eksojen Melatoninin Koruyucu Etkilerinin Karşılaştırılması Edirne: TÜ Tıp Fak, 2003.
53. Taşkiran A. Koroner By-Pass Yapılan Olgularda Lipid Hidroperoksit, Antioksidan Kapasite ve Oksidan Strese Duyarlılık (tez). Edirne: TÜ Tıp Fak; 2002.
54. Sener G., Sakarcan A. ve Yegen B. C. Role of garlic in the prevention of ischemia-reperfusion injury. *Mol Nutr Food Res* 2007;51(11):1345-52.
55. Halliwell B, Gutteridge J. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd ed. New York: Oxford University Press. 1999; s. 10- 121.
56. Valko M, Leibfritz D, Moncola J, ve ark. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007; 39: 44-84
57. Agarwal A, Probakaran S. Mechanism mesurement and predention of oxidative stress in male reproductive physiology. *Indian J Exp Biol* 2005;43:963-74.
58. Cross C, Halliwell B, Borish E, Pryor W, Ames B, Saul R, McCord J, Harman D. Oxygen radicals and human disease. *Ann. Int. Med*, 1987;107:526–45.
59. Buege JA. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978;52:302-10.
60. Akkuş İ (editör). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1. Baskı. Konya: Mimoza Yayınları;1995 s.3-24.
61. Candenas E. Biochemistry of oxygen toxicity. *Annu Rev Biochem* 1989.;58:79-81.
62. Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem J* [Internet]. 1997;324 (Pt 1:1–18. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9164834%0Ahttp://www.pubmedcentral.nih.go>

v/artic lerender.fcgi?artid=PMC1218394

63. Shacter E. Quantification and Significance of Protein Oxidation in Biological Samples. 2000;32:307–26.
64. Halliwell B. How to Characterize a Biological Antioxidant. Free Radic Res Commun. 1990;9:1–32.
65. Joannidis M, Gunther B, Pfeiffer W. Lipid-peroxidation: an initial event in experimental acute renal failure. Ren Physiol Biochem 1989;12:47–55.
66. Sen S, Chakraborty R. American Chemical Society, Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy. 2011; p. 1–37
67. Verges B. Clinical interest of PPAR $\gamma$ 's ligands. Diabetes Metab 2004;30:7-12.
68. Da Ros R, Assaloni R, Ceriello A. The preventive anti-oxidant action of thiazolidinediones: a new therapeutic prospect in diabetes and insulin resistance. Diabet Med 2004;21:1249-52.
69. Rahbar S, Natarajan R, Yerneni K, Scott S, Gonzales N, Nadler JL. Evidence that pioglitazone, metformin and pentoxifylline are inhibitors of glycation. Clin Chim Acta 2000;301:65-77.
70. Agarwal R. Anti-inflammatory effects of short-term pioglitazone therapy in men with advanced diabetic nephropathy. Am J Physiol Renal Physiol 2006;10:290-6.
71. Henry, R.R. Thiazolidinediones. Endocrinol Metab Clin North Am 1997;26:553-73.
72. Lehmann JM, Moore LB, Smith-Oliver TA, et al. An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator- activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ). J Biol Chem., 1995;270(22):12953-6.
73. Yki-Järvinen H. Thiazolidinediones. N Engl J Med 2004;351(11):1106-18.
74. Hardy E., Jabbour SA.. Thiazoldinediones. Textbook of Type 2 Diabetes Mellitus.Goldstein BJ, Müller-Wieland D.(eds). 1.baskı, Çeviri: kurul Düzey Matbaası, İstanbul; 2004:117-26.
75. Aoyama, E., Tsujiuchi, H., Asahi, S. In vitro studies on the metabolic pathways of pioglitazon (Abstract 418-P). Diabetes 2001;50(2): A105.
76. Johnsen SG. Testicular biopsy score count a method for registration of spermatogenesis in human testes. Normal values and results of 335 hypogonadal males. Hormones 1970;1(1):2-25.
77. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbutiric acid reaction. Anal Biochem 1979;95:351-8.
78. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. Arch Biochem Biophys 1959;82:70-7.

79. Arevalo M K, Sheth KR, Menon VS, Ostrov L, Hennis H, Singla N, et al. Straight to the Operating Room: An Emergent Surgery Track for Acute Testicular Torsion Transfers. *J Pediatr* 2018;192:178–83.
80. Ghasemnejad-Berenji M, Ghazi-Khansari M, Yazdani I, Saravi SSS, Nobakht M, Abdollahi A, et al. Rapamycin protects testes against germ cell apoptosis and oxidative stress induced by testicular ischemia-reperfusion. *Iran J Basic Med Sci* 2017;8:905–11.
81. Hutson JM. Undescended Testis, Torsion, and Varicocele [Internet]. 7th ed. *Pediatric Surgery, 2-Volume Set*. Elsevier Inc.; 1003–1019 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-07255-7.00077-5>
82. Turner TT. Acute experimental testicular torsion. No effect on the contralateral testis. *J Androl* 1985;6(1):65-72.
83. Aktoz T, Kanter M, Aktas C. Protective effects of quercetin on testicular torsion/detorsion induced ischaemia-reperfusion injury in rats. *Andrologia* 2010;42(6):376-83.
84. Tangül SU, Çakmak AM, Çağlayan O, Bozdoğan Ö. Prevention of the harmful effects of free oxygen radicals by using N-acetylcysteine in testicular torsion. *J. Pediatr Urol* 2020;16(1):42.e1-42.e8. doi: 10.1016/j.jpuro.2019.10.028. Epub 2019 Nov 6. PMID: 31882389
85. Bozkurt M, Degirmentepe RB, Polat EC, Yildirim F, Sonmez K, Cekmen M, Eraldemir C, Otunctemur A. Protective effect of hydrogen sulfide on experimental testicular ischemia reperfusion in rats. *J Pediatr Urol* 2020;16(1):40.e1-40.e8. doi: 10.1016/j.jpuro.2019.10.006. Epub 2019 Oct 24. PMID: 31786227
86. Gozukara KH, Ozcan O, Ozgur T, Kaya YS, Tutuk O. Protective Effects of Colchicine on Testicular Torsion/Detorsion-Induced Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. *Urol J* 2020;16;17(3):294-300. doi: 10.22037/uj.v0i0.4918. PMID: 31364099
87. Jafari A, Ghasemnejad-Berenji H, Nemati M, Ghasemnejad-Berenji M. Topiramate: A novel protective agent against ischemia reperfusion-induced oxidative injury after testicular torsion/detorsion. *Am J Emerg Med.* 2020;1:S0735-6757(20)30216-3. doi: 10.1016/j.ajem.2020.03.060. Online ahead of print.
88. Mahmoud N., Kabil S. Pioglitazone abrogates testicular damage induced by testicular torsion/detorsion in rats. *Iran J Basic Med Sci* 2019;22(8):884-92. Doi:10.22038/ijbms.2019.33199.7929.
89. Bonato JM, Bassani TB, Milani H, Vital MABF, de Olivera RMW. Pioglitazone reduces mortality, prevents depressive-like behavior, and impacts hippocampal neurogenesis in the 6-OHDA model of Parkinson's disease in rats. *Exp Neurol* 2017;300:188–200.
90. A. Gorga, G. M. Rindone, M. Regueria, E.H. Pelizzari, M.C. Pelizzari S.B. Meroni PPAR- $\gamma$  activation regulates lipid droplet formation and lactate production in rat sertoli cells. *Cell and tissue Research* 2017;369:611-24.



91. Sekulic-Jablanovic M, Petkovic V, Wright M B, Kucharaya k, Huerzeler N, Levano S, et al. Effects of peroxisome proliferator activated receptors (PPAR)- $\gamma$  and - $\alpha$  agonists on cochlear protection from oxidative stress. *PLoS One*. 2017;11:e0188596.
92. Meneses MJ, Bernardino RL, Sá R, Silva J, Barros A, Sousa M, ..., Alves MG. (2016) Pioglitazone increases the glycolytic efficiency of human Sertoli cells with possible implications for spermatogenesis. *Int J Biochem Cell Biol*. 79:52-60. doi: 10.1016/j.biocel.2016.08.011. Epub 2016 Aug 8. PMID: 27515589
93. M.H. Somi, B. Hacipour, N.A. Asl, R. Estakhri, A.N. Azar, M.N. Zade, A.G. Hahhjou, A.M. Vatankhah (2009) Pioglitazone attenuates ischemia/reperfusion – induced liver injury in rats. *Transplant Proc* 41(10):4105-9. doi: 10.1016/j.transproceed.2009.09.075.
94. Refaie Marwa M.M., Maram el-Hussieny. Protective effect of pioglitazone on ovarian ischemia reperfusion injury of female rats via modulation of peroxisome proliferator activated receptor gamma and heme-oxygenase 1. *International Immunopharmacol* 2018;62:7-14.
95. Romeo C, Antonuccio P, Esposito M, Marini H, Impellizzeri P, Turiaco N, Altavilla D, Bitto A, Zuccarello B, Squadrito F. Raxofelast. A hydrophilic vitamin E-like antioxidant, reduces testicular ischemia- reperfusion injury. *Urol Res* 2004;32:367- 71.
96. Dağlar Z, Günşar C, Neşe N, Şencan A, Yılmaz Ö, Genç A, TANELİ C, Mir E. Diklofenak'ın deneysel testis torsiyonundaki etkileri. *Çocuk Cerrahisi Dergisi*, 2009; 23(1):4-9.
97. Aydın ÇY, Pul M, İnan M, Bilgi S, Can EÇ. N-Acetylcysteine Play A Role On Preventing Tissue Damage On Experimental Testicular Torsion. *Cumhuriyet Tıp Derg* 2012;34:462-71.
98. Taati M, Moghadasi M, Dezfoulian O, Asadian P. Effects of Ghrelin on Testicular Ischemia/Reperfusion-Induced Injury. *Acta Med Iran* 2016;54(1):32-8.
99. Andiran F, Okur DH, Kılınç A, Gedikoğlu G, Kılınç K, Tanyel F. Do experimentally induced ipsilateral testicular torsion, vas deferens obstruction, intra-abdominal testis or venous obstruction damage the contralateral testis through a common mechanism? *BJU Int* 2000;85:330-5.
100. Kanter M. Protective effects of melatonin on testicular torsion/detorsion-induced ischemiareperfusion injury in rats. *Exp Mol Pathol* 2010;89(3):314-20.
101. Wei SM, Yan ZZ, Zhou J. Beneficial Effect of Taurine on Testicular Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *Urology* 2007;70(6):1237–42.
102. Ergur BU, Kiray M, Pekcetin C, Bagriyanik HA, Erbil G. Protective effect of erythropoietin pretreatment in testicular ischemia-reperfusion injury in rats. *J Pediatr Surg* 2008;43(4):722–8.
103. Jacobsen FM, Rudlang TM, Fode M, Østergren PB, Sønksen J, Ohl DA, Jensen CFS; CopMich Collaborative. The Impact of Testicular Torsion on Testicular Function. *World J Mens Health* 2020;38(3):298-307.

104. Azizollahi S, Aflatoonian R, Gilani M, Behnam B, Tajik N, Asghari- Jafarabadi M, Asgari HR, Koruji M. Alteration of spermatogenesis following spermatogonial stemcells transplantation in testicular torsion- detorsion mice J Assist Reprod Genet 2016;33:771–81.
105. Koksall M, Oğuz E, Baba F, Eren MA, Ciftci H, Demir ME et al. Effects of melatonin on testis histology, oxidative stress and spermatogenesis after experimental testis ischemia- reperfusion in rats. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2012;16(5): 582-8.
106. Aydos TR, Başar MM, Kul O, Atmaca HT. Effects of ozone therapy and taurine on ischemia / reperfusion-induced testicular injury in a rat testicular torsion model. Turkish J Med Sci 2014;44:749–55.
107. Tsounapi P, Saito M, Dimitriadis F, Shimizu S, Kinoshita Y, Shomori K, et al. Ischaemia – reperfusion injury in rats. BJU Int 2010;107(2):329–36.
108. Cay A, Alver A, Küçük M, Işık O, Eminağaoğlu MS, Karahan SC et al. The effects of N- acetylcysteine on antioxidant enzyme activities in experimental testicular torsion. J Surg Res 2006;131(2):199-203.
109. Guimarães SB, Kimura SO, Leitão De Vasconcelos PR. Ischemia - Reperfusion Dimethylsulfoxide attenuates ischemia-reperfusion injury in rat testis 1 Dimetilsulfóxido atenua a lesão de isquemia-reperfusão em testículo de ratos. Acta Cirúrgica Bras 2010;25(4):357–61.
110. Ege E, İlhan A, Gurel A, Akyol O, Ozen S. Erdosteine ameliorates neurological outcome and oxidative stress due to ischemia/reperfusion injury in rabbit spinal cord. Eur J Vasc Endovasc Surg 2004;28(4):379–86.
111. Hekimoglu A, Kurcer Z, Aral F, Baba F, Atessahin A, Sakin F. Effects of 3-aminobenzamide on unilateral testicular ischemia–reperfusion injury: What is the role of PARP inhibition? Can J Physiol Pharmacol 2010;88(12):1123–9.

## **EKLER**

Ek 1



T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu  
(Trakya University, Local Ethics Committee of Animal Experiments)

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Oturum Sayısı: 2020/02

Karar Tarihi: 21.02.2020

KARAR NO: 2020.02.01

Hayvan Sayısı ve Cinsi: Sıçan 48 Adet

Yürürlüçüldüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Tevfik AKTOZ'un yaptığı, Araş. Gör. Dr. İrfan Y. ŞENTÜRK 'ün Tıpta Uzmanlık Tezi olarak planlanan TÜHADYEK-2020/02 protokol nolu "Pioglitazonun Testis İskemi Reperfüzyon Hasarı Üzerine Olan Etkisinin İncelenmesi" başlıklı çalışma isteği görüldü. Araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan deneyleri yerel etik kurulu yönergesinde belirtilen ilke ve kurallara uygun bulunarak, çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Enis ULUÇAM  
Başkan  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Vet. Hekim Didem DÖNMEZ  
Vet. Hek. Üye  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Yrd. Doç. Dr. Hayat ARDA  
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Yrd. Doç. Dr. Beytullah ÖZKAN  
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

-KATILMADI-  
Prof. Dr. Y. Atakan SEZER  
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

- KATILMADI -  
Prof. Dr. Tevfik AKTOZ  
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Doç. Dr. Hakan GÜRKAN  
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Doç. Dr. Elvan BAKAR  
Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

-KATILMADI  
Ecz. F. Uygur GÜLER  
Sivil Toplum Kuruluşu Sivil Üye  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Ayhan YILMAZ  
Sivil Üye  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır