

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**TESTİS TORSİYONUNUN DETORSİYONU
SONRASINDA OLUŞAN
İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARININ
ROSUVASTATİN İLE ÖNLENEBİLİRLİĞİ**

Dr. Erdal KARAKAYA

UZMANLIK TEZİ

İZMİR - 2006

Danışman Öğretim Üyesi: Prof Dr. Mustafa OLGUNER

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**TESTİS TORSİYONUNUN DETORSİYONU
SONRASINDA OLUŞAN
İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARININ
ROSUVASTATİN İLE ÖNLENEBİLİRLİĞİ**

Dr. Erdal KARAKAYA

UZMANLIK TEZİ

İZMİR - 2006

Danışman Öğretim Üyesi: Prof Dr. Mustafa OLGUNER

Bu tez Prof. Dr. Mustafa Olguner'in danışmanlığında hazırlanmıştır.

Bu tezin hazırlanmasında bana yardımcı olan hocalarım

Prof. Dr. M. Feza Akgür,

Doç. Dr. Gülce Hakgüder, Yrd. Doç. Dr. Oğuz Ateş'e

Araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ŞEKİL ve GRAFİK LİSTESİ.....	i
TABLO ve RESİM LİSTESİ.....	ii
KISALTMALAR.....	iii
ÖZET.....	1
İNGİLİZCE ÖZET	2
GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
GENEL BİLGİLER	5
GEREÇ VE YÖNTEM.....	16
BULGULAR.....	20
TARTIŞMA.....	23
SONUÇ	27
KAYNAKLAR.....	28

ŞEKİL ve GRAFİK LİSTESİ

Şekil 1: Asetil CoA'dan kolesterole dönüşüm şeması.....	11
Şekil 2: Mevalonat yolunun statinler ile inhibisyonu sonucu eNOS artıyor, NADPH oksidaz azalıyor.....	13
Şekil 3: Statin kullanımının pleitropik etkileri.....	15
Grafik 1: Gruplardaki ortalama ölçüm değerleri	22

TABLO ve RESİM LİSTESİ

Tablo 1: Statin grubundaki ilaçlar.....	12
Tablo 2: Gruplardaki ortama ölçüm değerlerinin karşılaştırılması.....	20
Resim 1: Testiste iskemi/reperfüzyon tekniğinin aşamaları.....	19

KISALTMALAR

HMG-CoA: 3-hidroksi-3 metil glutaril koenzim A

ATP: Adenozintrifosfat

NO: Nitrik oksit

H₂O₂: Hidrojen peroksit

OH⁻: Hidroksil radikali

ONOO⁻: Peroksinitrit

DNA: Deoksiribonükleik asit

TNF: Tümör nekrozis faktör

IL-1: İnterlökin 1

IL-6: İnterlökin 6

IL-8: İnterlökin 8

eNOS: Endotelyal nitrik oksit sentetaz

CoA: Koenzim A

MHC II: Major histocompatibility class 2

NK : Natural killer, doğal öldürücü hücreler

EPH: Endotelyal progenitör hücreler

LDF: Laser Doppler flowmetri

L-NAME: NG-nitro-L-arginine methyl ester

ÖZET

Testis torsiyonunun detorsiyonu sonrasında oluşan iskemi/reperfüzyon hasarının rosuvastatin ile önlenabilirliği

Dr. Erdal Karakaya, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, İzmir.

Giriş ve Amaç: Torsiyon gelişip daha sonra detorsiyone edilen testiste reperfüzyon sonrası hasarlanma devam etmektedir. Bu durumdan iskemi/reperfüzyon hasarı sorumlu tutulmaktadır. Testis torsiyonu ve sonrasında testisin detorsiyonu sonucu oluşan iskemi/reperfüzyon hasarının rosuvastatin ile azaltılabilirliğini incelemek amacıyla bu çalışmayı planladık.

Gereç ve Yöntem: Deney hayvanı olarak Wistar albino ratlar kullanıldı. Torsiyon öncesi (bazal değer), detorsiyon öncesi (ikinci değer) ve detorsiyondan 1 saat sonra (üçüncü değer) laser Doppler flowmetri ile testis kan akımı ölçüldü. Çalışmadaki ratlar 3 gruba ayrıldı. 1) Sham grubu (n=5): Testis inguinal insizyondan dışarı alındıktan sonra laser Doppler flowmetri ile bazal kan akımı ölçüldü. Aynı işlem 2. ve 3. saatte ikinci ve üçüncü değerler alınmak üzere tekrarlandı. 2) Torsiyon/detorsiyon grubu (n=8): Bazal kan akımı ölçümü sonrası iki saatlik testis torsiyonunu takiben detorsiyondan önce ikinci değer ve detorsiyon yapıldıktan bir saat sonra üçüncü kan akımı değeri ölçüldü. 3) Torsiyon/detorsiyon + rosuvastatin grubu (n=8): Bazal kan akımı ölçümü sonrası iki saatlik torsiyonun detorsiyone edilmesinden 30 dakika önce intraperitoneal rosuvastatin uygulandı detorsiyondan önce ikinci ve detorsiyondan bir saat sonra üçüncü kan akımı ölçüldü.

Bulgular: Gruplarda ölçülen bazal değerler arasında fark yoktu. Torsiyon/detorsiyon grubu ve torsiyon/detorsiyon + rosuvastatin grubunda torsiyon sonrası kan akımı belirgin derecede azaldı. Detorsiyondan bir saat sonraki ölçümde torsiyon/detorsiyon + rosuvastatin grubunun ortalama kan akımı torsiyon/detorsiyon grubuna göre belirgin derecede artmıştı.

Sonuç: Testis torsiyonunun detorsiyonu sonrasında oluşan iskemi/reperfüzyon hasarının önlenmesinde rosuvastatin kullanımı yararlı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Testis torsiyonu, iskemi/reperfüzyon, rosuvastatin, laser Doppler flowmetri

SUMMARY

The preventive effect of rosuvastatin in ischemia/reperfusion injury due to the detorsion of testicular torsion

Dr. Erdal Karakaya, Dokuz Eylül University Faculty of Medical, Department of Pediatric Surgery, İzmir.

Background: Treatment of testicular torsion by detorsion may further damage the testis. The cause of this damage is believed to be the ischemia/reperfusion injury. This study was designed to determine the effect of rosuvastatin in the ischemia/reperfusion injury process in rat testis.

Methods: Wistar albino rats were used in the experiments. Blood flow of testis were measured before the torsion (base value), before the detorsion (second value) and 1 hour after detorsion (third value). by using laser Doppler flowmetry. Rats used in the study were separated into three groups. 1) Sham group (n=5): After the left testis exposed by ilioinguinal incision, basal blood flow of testis was determined by laser Doppler flowmetry. Same process was repeated as to determine the second and third values in 2. and 3. hours. 2) Torsion/detorsion group (n=8): After 2 hour torsion of testis second value was measured before the detorsion and third value was measured 1 hour after detorsion. 3) Torsion/detorsion + rosuvastatin group (n=8): after measurement of the basal blood flow rosuvastatin was injected intraperitoneally 30 minutes before detorsion of 2 hour torsion second value was measured before the detorsion and third value was measured 1 hour after detorsion.

Results: The basal values obtained from the groups were not significantly different. In torsion/detorsion group and torsion/detorsion + rosuvastatin group blood flow decreased significantly after the torsion. One hour after the detorsion mean blood flow of torsion/detorsion + rosuvastatin group was not different from sham group.

Conclusions: In ischemia/reperfusion injury due to the detorsion of testicular torsion rosuvastatin may prevent reperfusion injury.

Key words: Testicular torsion, ischemia/reperfusion, rosuvastatin, laser Doppler flowmetry

GİRİŞ ve AMAÇ

Testis torsiyonu gelişip daha sonra detorsiyone edilen testiste reperfüzyon sonrası hasarlanma devam etmektedir. Bu durumdan testiste oluşan “iskemik hasara” ek olarak testisin kan akımının ameliyat ile yeniden sağlanması sırasında oluşan “reperfüzyon hasarı” sorumlu tutulmaktadır (1). Reperfüzyon sırasında ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri reperfüzyon hasarına neden olmaktadır (2). Hidrojen peroksit, süperoksit anyonları ve hidroksil radikali reperfüzyon sırasında oluşan ve doku hasarlanmasına yol açan önemli oksijen radikalleridir.

Reperfüzyon sırasında ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri lökositleri aktive ederek, lökositlerin damar endoteline yapışmalarına neden olmaktadır. Bu lökosit-endotel yapışması sonucu kapiller yatakta tıkaçlar oluşarak dolaşım bozulmaktadır. Bu nedenle reperfüzyon sonrası kapillerin bir kısmı perfüze olamamaktadır. İskemi/reperfüzyon sonrası kapillerin bir kısmında perfüzyonun geri dönmemesi “no-reflow fenomeni” olarak adlandırılmaktadır (2). İskemi/reperfüzyon sonrası ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri dokularda doğrudan hasar yarattıkları gibi no-reflow fenomenine yol açarak dolaylı hasara neden olmaktadır.

Daha önceden yapılan çalışmalarda testis torsiyonunda iskemi/reperfüzyon sonucunda serbest oksijen radikallerinin arttığı biyokimyasal testlerle gösterilmiştir (1,3). Çeşitli antioksidan ajanların kullanılmasıyla (allopurinol, melatonin, N-asetil sistein) serbest oksijen radikallerinin azaltılabildiği gösterilmiştir (4-8).

Statinler 3-hidroksi-3 metil glutaril koenzim A (HMG-CoA) redüktaz inhibitörü olarak hiperlipidemi ve koroner arter hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda antihiperlipidemik etkilerinden bağımsız olarak antiinflamatuvar ve endotelial hücre koruyucu etkileri gösterilmiştir (9).

Rosuvastatin hidrofilik yapıda sentetik bir statindir. Hiperkolesterolemi tedavisinde kullanılmasına karşın normokolesterol durumlarında da anti-inflamatuar özellikleri gösterilmiştir (10-12). Yapılan çalışmalarda lökosit adezyonunu azalttığı, trombosit agregasyonunu engellediği, santral kan akımını düzenlenmesinde katkısı olduğu ifade edilmektedir (9-14). Hücre koruyucu özelliklerinden dolayı iskemi/reperfüzyon hasarının önlenmesinde kullanılabileceği belirtilmektedir. Kalp, beyin gibi dokulara yapılan hayvan çalışmalarında iskemi/reperfüzyon sonrası hasarlanmayı önemli ölçüde azaltmıştır (15,16). Ratlarda yapılan bir çalışmada rosuvastatin kullanımı ile intestinal iskemi/reperfüzyon sonrası hasarın azaltılabildiği gösterilmiştir (17).

Testis torsiyonu ve sonrasında testisin detorsiyonu sonucu oluşan iskemi/reperfüzyon hasarının rosuvastatin ile azaltılabilirliğini incelemek amacıyla bu çalışmayı planladık.

GENEL BİLGİLER

TESTİS TORSİYONU

Testis torsiyonu çocuklarda görülen akut skrotumun en önemli nedenidir (18). Testisin, vasküler pedinkülü etrafında dönüş yapması sonucu dolaşımının bozulmasıyla karakterizedir. Testis torsiyonu her yaş grubunda oluşabilir ancak en çok yenidoğan ve puberte dönemlerinde görülür (18).

Testisin intravajinal veya ekstravajinal torsiyonu oluşabilir. İntravajinal torsiyonla daha sık karşılaşılır (%90). İntravajinal torsiyon, tunika vajinalise göre spermatik kordun anormal yüksek yerleşimi ile karakterizedir. Tunika vajinalis spermatik korda olması gereken yerden daha yukarıdan tutunur, testisin tunika vajinalis içinde bir çan tokmağı şeklinde asılı durmasına yol açar. "Bell-clapper deformitesi" adı verilen bu durum torsiyon için temel neden kabul edilir ve spermatik kordun hareketlerle veya krameterik kontraksiyonlarla rahatça dönmesine neden olur. Pubertede testesteron seviyesinin artışı ile testisin hızlı büyümesi de predispozan bir faktör olabilir (18-19). Ekstravajinal torsiyon daha az sıklıkla görülür (%10). Yenidoğan döneminde görülen torsiyon tipidir. Gonodal dokuların skrotumla olan bağlantılarının yokluğu yada yetersizliği sonucu oluştuğu sanılmaktadır (18-19).

Torsiyonun başlangıç evresinde venöz tıkanıklık oluşur. Bu durum testiste ani başlayan ağrı ve ödeme neden olur. Venöz dolaşımın düzelmemesi arteriyel dolaşımın bozulmasına yol açar. Venöz, arteriel ve kapiller düzeyde oluşan trombüsler testiste iskemi ve devamında nekroza neden olur. Testis torsiyonunda oluşan doku hasarı torsiyonun süresi ve derecesi ile yakından ilişkilidir. Yapılan çalışmalarda semptomları 6 saatten kısa olan hastaların büyük çoğunluğunda testis morfolojik açıdan normal tespit edilmiş ancak sürenin uzaması halinde testiste kalıcı hasarlanmanın arttığı görülmüştür (18-19).

Akut skrotum bulguları olan bir hastada mutlaka testis torsiyonu olabileceği düşünülerek testislerdeki kan akımı Doppler ultrasonografi ve/veya sintigrafik yöntemlerle tespit edilmelidir (20-23). Tedavide testiste kalıcı hasar oluşmadan acil testis detorsiyonu ile testis kan akımının döndürülmesi amaçlanır. Bir tarafta testis torsiyonuna neden olabilecek anatomik sorunlar, karşı tarafta da olabileceğinden testislerin iki taraflı fiksasyonu önerilir (19).

Testis torsiyonu gelişip, ameliyat ile detorsiyone edilen testiste reperfüzyon sonrası hasarlanma devam etmektedir. Bu durumdan testiste oluşan “iskemik hasara” ek olarak testisin kan akımının ameliyat ile yeniden sağlanması sırasında oluşan “reperfüzyon hasarı” sorumlu tutulmaktadır (1).

İSKEMİ ve REPERFÜZYON

İskemi, herhangi bir nedenle, dokudaki kan akımının, hücresel fonksiyonları karşılamak için gerekli olan düzeyin altına düşmesi durumudur. Aerobik organizmalar canlılıklarını devam ettirebilmek için oksijene gereksinim duymaktadırlar. İskemi hücresel oksidatif fosforilasyonu azaltır ve adenozintrifosfat (ATP), fosfokreatin gibi enerjiden zengin fosfatların depolarında yetmezlik oluşur (24). İskemide enerji eksikliğine bağlı olarak; asidoz, ATP yıkım ürünlerinin birikmesi, makromolekül sentezinin durması, iyon dengesinde bozulma gibi olaylar gelişir. İskemi proinflamatuvar durumu uyararak lökosit adezyon molekülleri, sitokinler, endotelin, tromboksan A₂ gibi mediatörlerin salınmasına neden olur (24-26).

İskemik organa kan akımının tekrar sağlanması geri dönüşümsüz hasarlanmayı önler ve kaybolan fonksiyonlar geri kazanılır fakat oluşan serbest oksijen radikallerine ve kandaki aktive edilmiş kan hücrelerine bağlı olarak "reperfüzyon hasarı" oluşur.

İskemi/reperfüzyon Hasarında Serbest Oksijen Radikalleri

İskemik dokunun reperfüzyonu sonucunda nitrik oksit (NO⁻), süperoksit anyonları (O₂⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hidroksil radikali (OH⁻) gibi toksik serbest oksijen radikalleri oluşur (27).

NO⁻, damar endoteli ve bazı başka dokularda L-arginin aminoasitlerinden üretilir. Süperoksit ile reaksiyona girerek oluşturduğu kuvvetli bir oksidan olan peroksinitrit (ONOO⁻) ile dokulara direkt olarak ve ayrıca oluşturduğu hidroksil radikali ile dolaylı olarak hasar vermektedir. OH⁻ ise canlı hücrelerde, deoksiribonükleik asit (DNA), membran lipidleri, karbonhidratlar, aminoasitler gibi makro moleküllerle hızlı bir şekilde reaksiyona girerek doku hasarı oluşturmaktadır (28).

İskemi sırasında hücresel ATP hipoksantinden indirgenmektedir. Normalde hipoksantin, ksantin dehidrogenaz ile ksantine oksitlenir (29). İskemi sırasında ise ksantin dehidrogenaz, ksantin oksidaza çevrilir. Ksantin oksidaz iskemi sırasında hipoksantinden ksantine dönüşümü katalizleyemez ve dokularda aşırı hipoksantin

birikir. Reperfüzyon sırasında ortama yeniden giren oksijen ve ksantin oksidaz, aşırı hipoksantin ile birlikte toksik serbest oksijen radikalleri oluşturur (29-30).

Serbest oksijen molekülleri, hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna neden olarak direkt hücresel membran yaralanması yapan potent okside ve redükte edici maddelerdir. Lipid peroksidasyonu sonucu membranların geçirgenliği değişmekte, membrana bağlı enzimler azalmakta ve protein sentezi inhibe olmaktadır. Lipid peroksidasyonu yeni oksijen radikallerinin oluşmasına da yol açmaktadır. Lizozom ve mitokondri gibi organellerin membranlarının bozulması ile içerdikleri enzimler hücre içine salınmakta ve böylece hücreler ölmektedir (29-31).

Serbest reaktif oksijen molekülleri, araşidonik asitten oluşan fosfolipaz A₂'yi aktive ederek lökosit aktivasyonunu ve kemotaksisini stimüle ederler(2,32).

Ksantin oksidaz reaksiyonu sırasında ortaya çıkan süperoksit radikali nötrofillerin infiltrasyonuna neden olmaktadır (1,2, 32).

Normal koşullarda mitokondrial elektron zincirinde de oksijenin parsiyel indirgenmesi sonucu %1-5 oranında serbest oksijen molekülleri oluşmaktadır. Reperfüzyon ile gelen yüksek konsantrasyondaki moleküler oksijen, iskemi sırasında birikmiş olan indirgen moleküller (NADH, FADH₂) ile indirgenerek serbest oksijen radikalleri oluşturur (29).

Sonuçta reperfüzyonda çok çeşitli hücreler (vasküler endotel, kan hücreleri), organeller (mitokondri, lizozom) ve enzimler (nitrik oksit sentetaz) serbest oksijen radikali kaynağı olabilmektedir (28).

İskemi/reperfüzyon Hasarında Lökositlerin Rolü

İskemi/reperfüzyon sonucunda lökosit aktivasyonu meydana gelir (2,24). Reperfüzyon ile birlikte sırasıyla kemotaksis, lökosit endotel hücre yapışması ve göçü oluşur. Hücre dışı bölgeye ulaşan aktive lökositlerden salınan toksik serbest oksijen radikalleri, proteazlar ve elastazlar mikrovasküler geçirgenlikte artma, ödem tromboz ve parankimal hücre ölümüne neden olurlar (25,33,34).

İskemi/reperfüzyon Hasarında Komplemanın Rolü

İskemi/reperfüzyon sonucunda birçok proinflamatuvar mediatör oluşur ve kompleman aktivasyonu yapar. C_{5a} lökosit aktivasyonunu ve kemotaksisi uyarır. Monosit kemoatraktan protein 1, interlökin 1 (IL-1), interlökin 6 (IL-6) ve tümör nekrozis faktör (TNF) oluşumunu sağlayarak inflamatuvar yanıtı artırır (35-36).

iC_{3b} ve C_{5b-9} vasküler hemostazisi değiştirirler. C_{5b-9} endotelial interlökin 8 (IL-8) ve monosit kemoatraktan 1 sekresyonu ile lökosit aktivasyon ve kemotaksisini artırır. Endotelial siklik guanozin monofosfatı azaltarak ve endotel bağımlı relaksasyonu baskılayarak vasküler tonusu etkiler. Endotelden lökosit adezyon molekülü transkripsiyonu ve salınmasını aktive eder (35-37).

Komplemanlar lökosit endotelial yapışmasını arttırarak ve vasküler hemostazisi değiştirerek iskemik organa kan akımını azaltırlar (35-37).

İskemi/reperfüzyon Hasarı ve No-reflow Fenomeni

Reperfüzyon sırasında ortaya çıkan serbest oksijen molekülleri lökositleri aktive ederek, lökositlerin damar endoteline yapışmasına neden olmaktadır. Bu lökosit-endotel yapışması sonucu kapiller yatakta tıkaçlar oluşarak dolaşım bozulmaktadır. Bu nedenle reperfüzyon sonrası kapillerin bir kısmı perfüze olamamaktadır. İskemi/reperfüzyon sonrası kapillerin bir kısmında perfüzyonun geri dönmemesi "no-reflow fenomeni" olarak adlandırılmaktadır (2,25,33,34).

Aktive olan nötrofiller, salgıladıkları proteaz, elastaz, jelatinaz gibi enzimler ile endotel hücrelerinin parçalanmasına, endotel devamlılığının bozulmasına neden olmaktadır. Bu da trombositler ve nötrofillerin kapiller yatağa kemotaksisine yol açmaktadır. Endotelial devamlılığın bozulması ile ortaya çıkan sitotoksik mediyatörler mikrovasküler geçirgenliği arttırmakta ve böylece intersitisyel alana sıvı kaybına neden olmaktadır. İntesitisyel alana sıvı kaybı sonucu gelişen hemokonsantrasyon ve interstisyel ödem, kapiller lümenin daralmasına neden olmaktadır (2,33,38,39).

Nötrofiller araşidonik asit metaboliti olan lökotrien B₄'ü salgılayarak, süperoksit radikali oluşmasına ve nötrofil kemotaksisine neden olmaktadır. Böylece pozitif feed back mekanizması ile, aktive olmuş ve tıkaç oluşturmuş olan nötrofiller yeni serbest oksijen radikalleri oluşturmaya bu da nötrofil infiltrasyonuna neden olmaktadır (2).

Serbest oksijen radikalleri hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna neden olarak hücre membranlarının geçirgenliğini artırmakta, lizozom ve mitokondri gibi organellerin membran bütünlüğünün bozulmasıyla hücre içine salınan enzimlerle hücreler ölmektedir (25,33,34).

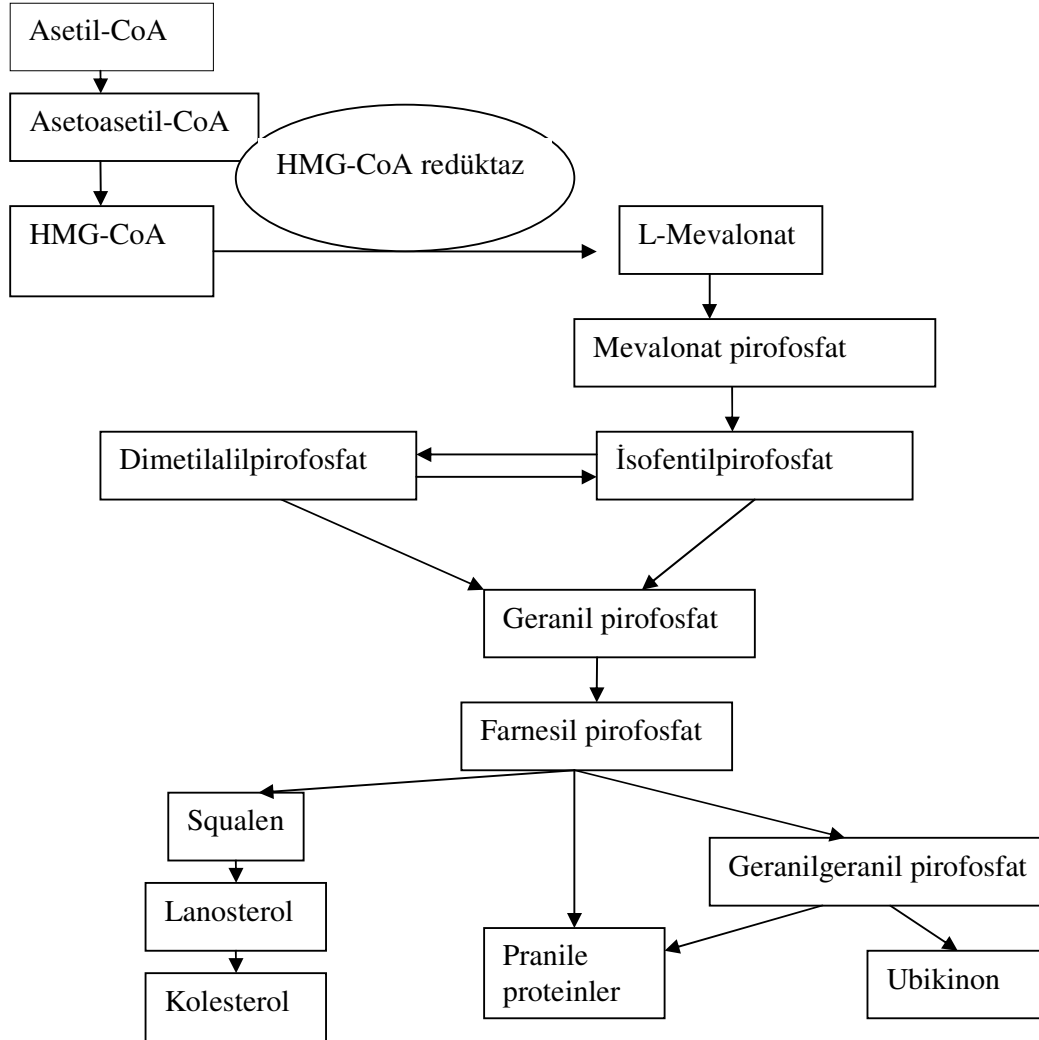
Antioksidan Mekanizma

Normal koşullarda, organizmada oksijen etkenler ve antioksidan mekanizmalar bir denge halinde bulunmaktadır. Bu dengenin oksidan etkenler yönüne kayması ile doku hasarı meydana gelmektedir (28).

Antioksidan mekanizmalar endojen ve eksojen kaynaklı olabilirler. Endojen kaynaklılar, mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, süperoksit dismutaz gibi enzimatik veya α -tokoferol, β -karoten, askorbik asit, transferrin gibi nonenzimatik olabilirler. Eksojen savunma mekanizmaları ise, enzim inhibitörlerinden nötrofil inhibitörlerine kadar uzanan geniş bir grubu kapsar (28,29).

STATİNLER ve ROSUVASTATİN

Statinler olarak bilinen 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG-CoA) redüktaz inhibitörleri yüksek kan kolesterol seviyesi bulunan hastalarda kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanılan ilaçlardır (40,41).



Şekil 1: Asetil CoA'dan kolesterole dönüşüm şeması. CoA: koenzim A, HMG-CoA: 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A

Oral olarak alınan statinler, etkisini kolesterol sentezinde hız kısıtlayıcı basamak olan HMG-CoA redüktaz enzimini inhibe ederek gösterirler. Bu enzim HMG-CoA'nın L-mevalonat'a dönüşmesini katabolize eder ve bu inhibisyonla statinler L-mevalonat'ın oluşturacağı kolesterolü önlenmiş olur (9) (Şekil 1).

Halen bir kısmı kullanımda olan farklı moleküler yapıda statinler bulunmaktadır (Tablo 1). İlk çalışılmaya başlanan statin Mevastatin olup, prototip olarak kabul edilmektedir (42).

Tablo 1: Statin grubundaki ilaçlar

<u>Doğal / yarı sentetik</u>	<u>Sentetik</u>
Mevastatin (Compactin/ML236B)	Fluvastatin
Lovastatin	Atorvastatin
Simvastatin	Cerivastatin
Pravastatin	Rosuvastatin
	Pitavastatin
	Nisvastatin
	Crilvastatin
	HR 780

Statinlerin kolesterol düzeyini düşürerek kardiovasküler ve serebrovasküler hastalıkların önlenmesi ve tedavisi amacıyla kullanımları sırasında başka olumlu etkilerinin olabileceği fark edilmiştir (pleitropik etkiler) (9,42).

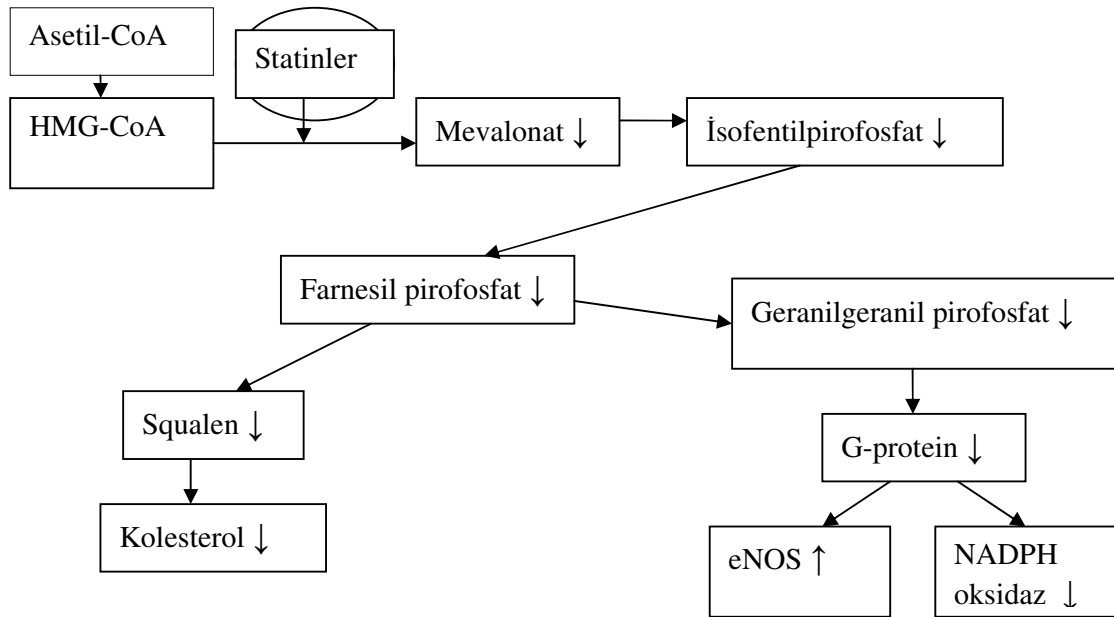
Pleitropik Etkilerde Olası Mekanizmalar

- Endotel fonksiyonu üzerine etkileri
- Vasküler düz kas hücreleri üzerine etkileri
- Anti-inflamatuar etki
- Antioksidan etki
- Antitrombotik etki
- Vaskülogenez üzerine olan etki
- Plak stabilizasyonu

Statinlerin Endotel Fonksiyonuna Etkileri:

Statinlerin kolesterol düzeyi normal olan hayvanlara uygulanmasıyla vasküler endotelde inflamatuvar yanıtı azalttığı gösterilmiştir (9). Bu etki kolesterol düşürücü etkiden bağımsız olarak endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS) aktivitesindeki artışa bağlanmıştır. Statınlerin eNOS sentezinde artışa neden oldukları in-vitro çalışmalarda gösterilmiştir. Daha sonra yapılan birçok çalışmada da çeşitli statınlerin eNOS sentezini artırarak iskemik hasarları azaltılabileceği üzerinde durulmuştur (9,42-45).

HMG-CoA redüktaz enziminin statınler ile inhibe edilmesiyle kolesterol dışında kolesterol üretimi sırasında oluşan ara ürünler de oluşmaz. Farnesil pirofosfat ve geranilgeranil pirofosfat düzeyinin azalması heterotrimetrik G-proteinlerinde azalmayla sonuçlanır. Buna bağlı olarak eNOS aktivitesinde artma ve NADPH oksidaz aktivitesinde azalma olur (Şekil 2) (9,42).



Şekil 2: Mevalonat yolunun statinler ile inhibisyonu sonucu eNOS artıyor NADPH oksidaz azalıyor

eNOS' un iskemi sırasında korunması nitrik oksitin salınmasına ve endotelial fonksiyonların korunmasına neden olmaktadır. Statinler aynı zamanda endotelden süperoksit salınımını inhibe ederler. Vasküler düz kas hücrelerinde gevşemeye yol açarlar. Vaskular tonus ile birlikte vasküler geçirgenlik üzerinde de olumlu etkileri gösterilmiştir (12,42-46).

Statinler ve Anti-inflamatuar Etki

Statinler major histocompatibility class 2'yi (MHCII) etkileyerek; lökosit fonksiyonel antijen inhibisyonuna, lökositlerin endotele adezyonunda ve invazyonunda azalmaya neden olurlar. TNF- α IL-1 β yada IL-6 gibi proinflamatuar sitokinlerin salınımını azaltırlar. Monositlerin ve nötrofillerin infiltrasyon ve proliferasyonunda azalma meydana getirerek inflamatuvar yanıtı azaltırlar. İnflamatuvar yanıtta azalmayla birlikte reaktif oksijen moleküllerinin salınımı azalır. Doğal öldürücü hücrelerin (natural killer, NK) aktivasyonunda azalmaya neden olurlar (9, 16, 42).

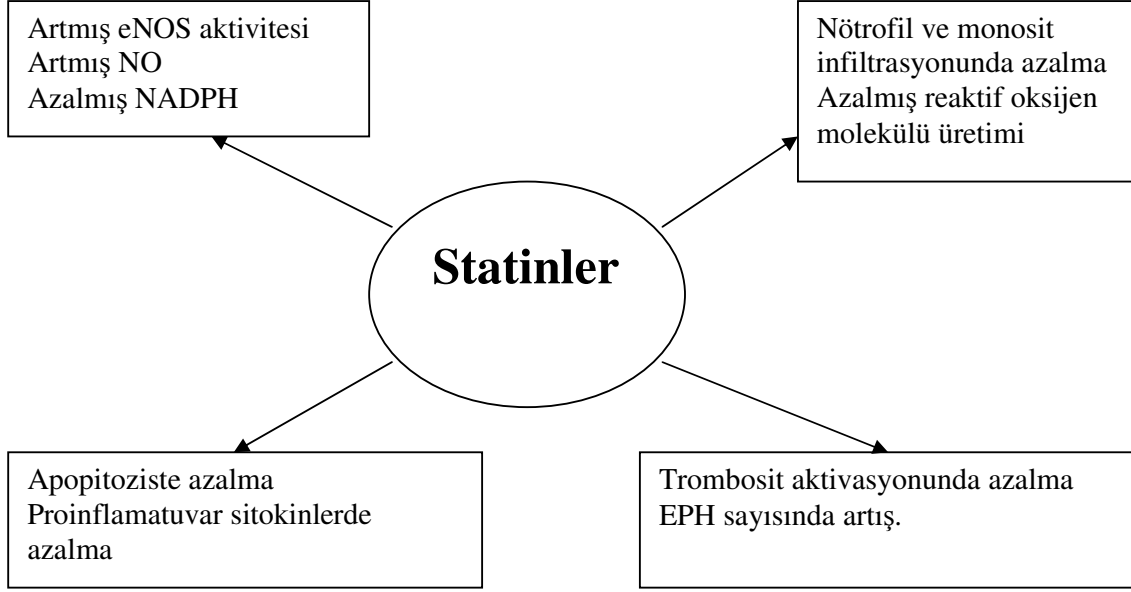
Statinler ve Anti-trombotik Etki

Statinlerle yapılan çalışmalarda trombositlerin endotel hasarı olan bölgelere adhezyonunu azaltarak trombojenik kapasitelerini azalttığı gösterilmiştir. Statinler, trombosit aktivasyonunu, trombosan A2 düzeyini, fibrinojen düzeyini, trombin oluşumunu azaltırken, prostosiklin ve doku plazminojen aktivatörü düzeyini artırır (9,13, 14, 47).

Statinlerin Vaskülogeneze Etkileri

Endotelial progenitor hücreler (EPH), vasküler hasar veya tümör büyümesi sonrasındaki vaskülogeneze katılırlar. Doku revaskülarizasyonu ve rejenerasyonuna katkıda bulunurlar. Statinler, kemik iliğinden EPH salınmasını uyarırlar. Dolaşan EPH sayısını artırarak onları iskemik bölgeye yönlendirirler (48,49).

Statin kullanımının pleiotropik etkileri şekil 3'de gösterilmiştir.



Şekil 3: Statin kullanımının pleiotropik etkileri

Rosuvastatin

Rosuvastatin hidrofilik özellikte sentetik bir statindir. Diğer statinler gibi HMG-CoA redüktaz enzimini etkileyerek kolesterol oluşumunu engellerler. Tüm statinler gibi pleiotropik etkiler gösterirler (10,12,13,15,17).

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma yerel etik kurul onayı alındıktan sonra "Laboratuvar hayvanları araştırma laboratuvarı usul ve işleyiş esasları" yönergesine uygun olarak, Dokuz Eylül Üniversitesi Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Çalışmada erişkin 250 g civarında, erkek Wistar albino ratlar kullanıldı. Ratlar standart plastik kafeslerde 21 °C de deney hayvanları laboratuvarında bakıma alındı, çalışma öncesinde su ve diyetlerinde kısıtlamaya gidilmedi. Deney günü operasyon odasına alınan ratlar, intraperitoneal yoldan 50 mg/kg ketamin (Ketalar®, Parke-Davis) + 10 mg/kg xlasin (Alfazyne®, Alfasan) ile anestezi sağlandıktan sonra, ameliyat masasına stabilize edildi.

Torsiyon, detorsiyon ve Sham operasyonları uygulanacak ratların bir taraf ilioinguinal bölgelerine prilokain (Citanest® %2'lik, Astra Zeneca) ile lokal anestezi uygulandıktan sonra standart ilioinguinal insizyon yapıldı. Tüm gruplarda ilioinguinal insizyon sonrası testis dışarıya alınarak, kan akımı "bazal değerleri" laser Doppler flowmetri (LDF) ile değerlendirildi. Sham grubunda ilioinguinal insizyon sonrası testiste torsiyon oluşturulmadan insizyon kapatıldı. Sham grubunda Bu işlemde iki ve üç saat sonra testis aynı insizyondan çıkartılarak "ikinci değer" ve "üçüncü değer" ölçüldü.

Testis torsiyonu oluşturulacak gruplarda torsiyon, sol testisin saat yönünde 720 derece döndürülmesiyle gerçekleştirildi. Torsiyonun sürdürülebilmesi için testis döndürüldükten sonra tunika albugineasından skrotuma ipek sütün ile tespit edildi. İşlem sonrası insizyon kapatıldı. İki saatlik torsiyon sonrası detorsiyondan önce "ikinci değer" ler ölçüldükten sonra detorsiyone edildi. Rosuvastatin uygulanacak grupta detorsiyondan 30 dakika önce 10 mg/kg rosuvastatin (Crestor®, Astra Zeneca) serum fizyolojik ile sulandırılıp intraperitoneal olarak verildi. Detorsiyon yapıldıktan 1 saat sonra "üçüncü değer" kan akımı ölçüldü.

Deney sonunda ratlara yüksek doz pentobarbital (100 mg/kg) intraperitoneal verilerek sakrifiye edildi.

Deney Grupları

1. Sham grubu (n=5): Testis inguinal insizyondan dışarı alındıktan sonra LDF ile “bazal değer” ölçüldü. Torsiyon oluşturulmadan insizyon kapatıldı. Bu işlemde iki ve üç saat sonra testis aynı insizyondan çıkartılarak “ikinci değer” ve “üçüncü değer” kan akımı ölçüldü.

2. Torsiyon/detorsiyon grubu (n=8): Testis inguinal insizyondan dışarı alındıktan sonra LDF ile “ bazal değer” ölçüldü. İki saatlik testis torsiyonunu takiben detorsiyondan önce “ikinci değer” ve detorsiyon yapıldıktan bir saat sonra “üçüncü değer” kan akımı ölçüldü.

3. Torsiyon/detorsiyon + rosuvastatin grubu (n=8): Testis inguinal insizyondan dışarı alındıktan sonra LDF ile “ bazal değer” ölçüldü. İki saatlik torsiyonun detorsiyone edilmesinden 30 dakika önce intraperitoneal rosuvastatin uygulandı. İki saatlik testis torsiyonunu takiben detorsiyondan önce “ikinci değer” ve detorsiyon yapıldıktan bir saat sonra “üçüncü değer” kan akımı ölçüldü.

Laser Doppler Flowmetri tekniği

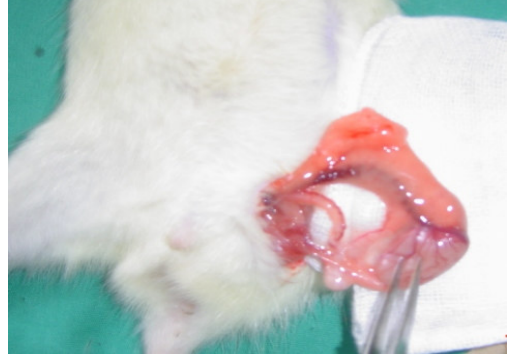
Testiste mikrovasküler düzeydeki kan akımı LDF ile (Laserflow BMP2, vasamedics, ABD) ile değerlendirilmiştir. LDF ölçümleri Palmer JS ve ark. yaptığı ölçümler örnek alınarak küçük değişikliklerle yapılmıştır (50). Ölçümler sabit sıcaklıkta odada gerçekleştirilmiştir. Testis dışarıya alındıktan sonra testisin tam orta yüzeyine, gözle görülen büyük damarlardan kaçınarak yüzey probu yerleştirilmiştir. İki dakikalık ölçüm ortalamaları mikrovasküler kan akımı değeri (ml/dk/100 gr) olarak alınmıştır.

İstatistiksel Analiz

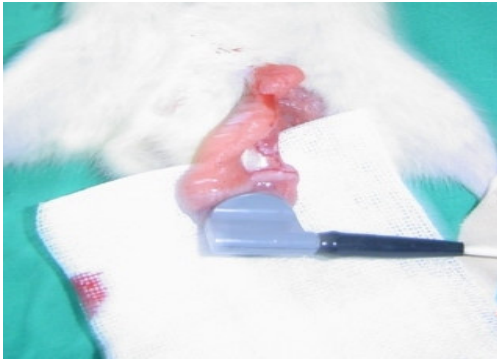
Gruplar arasındaki istatistiksel karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Post-hoc test olarak Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. $p < 0,05$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



A



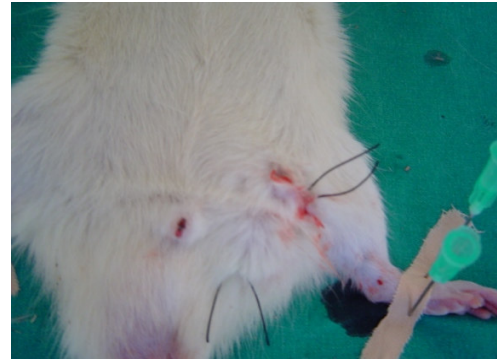
B



C



D



E



F

Resim 1: Testiste iskemi/reperfüzyon tekniğinin aşamaları
A,B: İnguinoskrotal insizyondan testisin dışarı alınması
C: Laser Doppler flowmetri yüzey probunun uygulanması
D: 720 ° testis torsiyonu
E: İnsizyonun kapatılması
F: Torsiyon edildikten 2 saat sonra detorsiyon öncesi testisin görünümü

BULGULAR

Tüm gruplarda ilioinguinal insizyonla testis dışarıya alındıktan sonra LDF ile testisin bazal kanlanma değerleri ölçüldü. Bazal değerler sham grubunda ortalama $30,06 \pm 2,68$ (26,70-33,00) ml/dk/100 gr, torsiyon/detorsiyon grubunda ortalama $30,85 \pm 5,96$ (22,60/41,30) ml/dk/100 gr, torsiyon/detorsiyon + rosuvastatin grubunda ortalama $31,31 \pm 2,48$ (27,30-33,40) ml/dk/100 gr olarak bulundu. Üç grup arasında bazal değerler açısından anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$).

Torsiyon/detorsiyon ve torsiyon/detorsiyon + rosuvastatin grubunda torsiyondan iki saat sonra ve sham grubunda işlemten iki saat sonra bakılan ikinci ölçüm değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0,05$) (Tablo 2).

Tablo 2: Gruplardaki ortama ölçüm değerlerinin karşılaştırılması

	Bazal değer (Ort \pm SS)	İkinci değer (Ort \pm SS)	Üçüncü değer (Ort \pm SS)
Sham	$30,06 \pm 2,68$	$29,52 \pm 2,54$	$29,56 \pm 3,12$
Torsiyon/detorsiyon	$30,85 \pm 5,96$	$5,48 \pm 0,97^a$	$12,64 \pm 1,85^b$
Torsiyon/detorsiyon + rosuvastatin	$31,31 \pm 2,48$	$6,35 \pm 0,78^a$	$27,64 \pm 2,04$

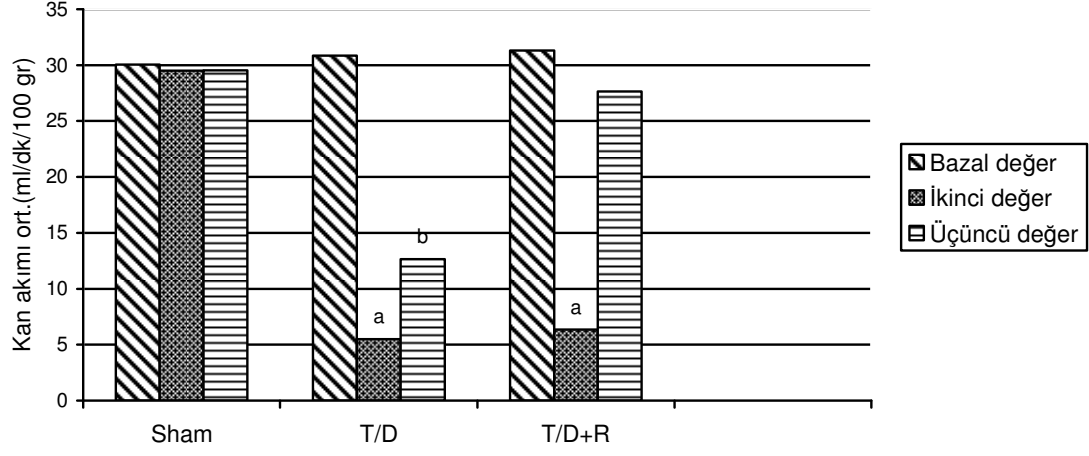
^a: $p < 0,05$ sham grubu ile karşılaştırıldığında

^b: $p < 0,05$ sham grubu ve torsiyon/detorsiyon + rosuvastatin grubu ile karşılaştırıldığında

Torsiyon/detorsiyon ve torsiyon/detorsiyon + rosuvastatin grubunda ikinci ölçüm değerleri bazal değerlerle kıyaslandığında belirgin azalmıştı ($p<0,05$). Torsiyon/detorsiyon grubunda ikinci değer ortalama $5,48\pm 0,97$ (3,57-6,40) ml/dk/100 gr ölçüldü. Torsiyon/detorsiyon + rosuvastatin grubunda ikinci ölçüm değeri ortalama $6,35\pm 0,78$ (5,00-7,70) ml/dk/100 gr'idi. Torsiyon/detorsiyon ve torsiyon/detorsiyon+rosuvastatin grubunun ikinci ölçüm değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Sham grubunun ikinci ölçüm değerleri ortalama $30,06\pm 2,68$ (26,70-33,00) ml/dk/100 gr bulundu. Bu grupta ikinci ölçüm değerleri bazal değerlerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Sham grubunda ikinci ölçüm değeri kontrol ve rosuvastatin gruplarının ikinci ölçüm değerlerine göre yüksekti ($p<0,05$).

Detorsiyondan bir saat sonra ölçülen üçüncü değerler karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark bulundu ($p<0,05$). Üçüncü değer sham grubunda ortalama $29,56\pm 3,20$ (25,20-33,10) ml/dk/100 gr, torsiyon/detorsiyon+rosuvastatin grubunda ortalama $27,64\pm 2,04$ (25,10-30,2) ml/dk/100 gr olup bu iki grup arasında anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). Torsiyon/detorsiyon grubunda ise üçüncü ölçüm değeri ortalama $12,64\pm 1,85$ (9,7-15,2) ml/dk/100 gr bulundu. Torsiyon grubundaki üçüncü ölçüm değerleri, sham ve rosuvastatin gruplarının üçüncü ölçüm değerlerinden düşüktü ($p<0,05$).

Grafik 1: Gruplardaki ortalama ölçüm değerleri



^a= $p < 0,05$ sham grubu ile karşılaştırıldığında

^b= $p < 0,05$ sham grubu ve torsiyon/detorsiyon+rosuvastatin grubu ile karşılaştırıldığında

TARTIŞMA

Testis torsiyonu ve torsiyone testisin detorsiyone edilmesiyle oluşan, iskemi ve reperfüzyon dokuda biyokimyasal ve morfolojik değişikliklere yol açmaktadır. Reperfüzyon sonrasında ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri reperfüzyon hasarından sorumlu tutulmaktadır (1-4).

Yapılan çalışmalarda iskemi ve reperfüzyon sonrası serbest oksijen radikallerinde artış gösterilmiştir. Serbest oksijen radikalleri, hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna neden olarak direkt hücresel membran yaralanması yapan potent okside ve redükte edici maddelerdir. Lipid peroksidasyonu sonucu membranların geçirgenliği değişmekte, membrana bağlı enzimler azalmakta ve protein sentezi inhibe olmaktadır (1,4).

Reperfüzyon sırasında ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri lökositleri aktive ederek, lökositlerin damar endoteline yapışmalarına neden olmaktadır. Bu lökosit-endotel yapışması sonucu kapiller yatakta tıkaçlar oluşarak dolanım bozulmaktadır. Bu nedenle reperfüzyon sonrası kapillerin bir kısmı perfüze olamamaktadır. İskemi/reperfüzyon sonrası kapillerin bir kısmında perfüzyonun geri dönmemesi “no-reflow fenomeni” olarak adlandırılmaktadır (2).

Çeşitli antioksidan ajanların kullanılmasıyla (allopurinol, melatonin, N asetil sistein), serbest oksijen radikallerinin azaltılabildiği ve bunun olumlu etkileri biyokimyasal ve histopatolojik incelemelerle gösterilmiştir (4-8).

Statinler, kan kolesterol seviyesi yüksek olan hastalarda kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanılan ilaçlardır (40-41). Statinlerin pleiotropik etkileri ile iskemi ve reperfüzyon hasarını önleyebileceği düşünülerek çeşitli dokulardaki etkilerini gösteren çalışmalar yapılmıştır. Statinlerin kolesterol düzeyi normal olan hayvanlara uygulanmasıyla vasküler endotelde inflamatuvar yanıtı azalttığı gösterilmiştir (9).

İskemi/reperfüzyon sırasında kompleman sisteminin aktive olmasıyla vasküler tonus etkilenmekte ve vasküler geçirgenlik artmaktadır. (35,36). Statinler endotelden süperoksit salınımını inhibe ederler. Vasküler düz kas hücrelerinde gevşemeye yol açarlar. Vasküler tonus ile birlikte vasküler geçirgenlik üzerinde de olumlu etkileri gösterilmiştir (12,42-46).

Reperfüzyon sırasında ortaya çıkan serbest oksijen molekülleri lökositleri aktive ederek, lökositlerin damar endoteline yapışmasına neden olmaktadır. Bu lökosit-endotel yapışması sonucu kapiller yatakta tıkaçlar oluşarak dolanım bozulmaktadır (2,33,34). Statinler MHCII'yi etkileyerek; lökosit fonksiyonel antijen inhibisyonuna, lökositlerin endotele adezyonunda ve invazyonunda azalmaya neden olurlar. TNF- α IL-1 β yada IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını azaltırlar. Monositlerin ve nötrofillerin infiltrasyon ve proliferasyonunda azalma meydana getirerek inflamatuvar yanıtı azaltırlar (9,16,42). Statinler, trombosit aktivasyonunu, tromboksan A2 düzeyini, fibrinojen düzeyini, trombin oluşumunu azaltırken, prostosiklin ve doku plazminojen aktivatörü düzeyini artırır (9,13, 14, 47).

Yapılan çalışmalarda statinlerin eNOS aktivitesinde artmaya ve NADPH oksidaz aktivitesinde azalmaya neden olduğu gösterilmiş ve statinlerin eNOS sentezini artırarak iskemik hasarları azaltılabileceği üzerinde durulmuştur (9,42-45). HMG-CoA reduktaz enziminin statinler ile inhibe edilmesiyle kolesterol dışında kolesterol üretimi sırasında oluşan ara ürünler de oluşmaz. Farnesil pirofosfat ve geranilgeranil pirofosfat düzeyinin azalması heterotrimetrik G-proteinlerinde azalmaya sonuçlanır. Buna bağlı olarak eNOS aktivitesinde artma ve NADPH oksidaz aktivitesinde azalma olur (9,42). eNOS' un iskemi sırasında korunması NO salınmasına ve endotelial fonksiyonların korunmasına neden olmaktadır (10-14,17,46).

NO bir çok organda düzenleyici rol alan serbest oksijen molekülüdür. NO sentezinin düzeninin bozulması, doku hasarlanmasında önemli rol oynamaktadır. NO sentezinin artması bazı durumlarda yarar sağlar iken, bazı durumlarda zararlıdır (51). Barlas ve Hatiboğlu yaptıkları çalışmada bir gruba NO oluşumunu artırmak için L arjinin, diğer gruba NO'in kompatetif inhibitörü olan NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) vererek NO'in testiküler iskemi/reperfüzyon hasarındaki etkilerini değerlendirmişlerdir. L arjinin verilen grupta NO miktarı diğer gruplara göre artmış bulunmuş, bu grupta hasarlanmanın daha az olduğu biyokimyasal ve histopatolojik olarak gösterilmiştir (51).

Öztürk ve ark. NO'in testiküler iskemi/reperfüzyon hasarındaki etkilerini değerlendirdikleri benzer bir çalışmada, NO'in doku hasarını azalttığını göstermişlerdir. Onlar NO'in iskemi/reperfüzyon hasarını önlemedeki olumlu etkilerini, NO' in nötrofil fonksiyonlarını azaltmasına ve adezyon moleküllerinin salınımında düzenlenmeye bağlamışlardır (52).

Rosuvastatin hidrofilik özellikte sentetik bir statindir. Diğer statinler gibi HMG-CoA redüktaz enzimini etkileyerek kolesterol oluşumunu engellerler. Tüm statinler gibi pleiotropik etkiler gösterir (10,12,13,15,17). Naito ve ark ratlarda intestinal iskemi/reperfüzyon modeli oluşturarak yaptıkları çalışmada 10 mg/kg rosuvastatinin iskemi/reperfüzyon hasarını, azalttığını hem biyokimyasal hem de histopatolojik olarak göstermişlerdir. İntestinal iskemi/reperfüzyon modelinde 10 mg/kg rosuvastatin verilmesiyle inflamatuvar sitokinlerin azaldığını ve eNOS yapımının arttığını göstermişlerdir (17). Laufs ve ark yaptıkları çalışmada iskemi/reperfüzyona bağlı beyin hasarının önlenmesinde 2 mg/kg rosuvastatinin etkili olduğunu belirtmişlerdir (11).

Testis torsiyonunun detorsiyonu sonrasında oluşan iskemi/reperfüzyon hasarının rosuvastatin ile önlenabilirliğini değerlendirdiğimiz bu çalışmada, torsiyon sonrası 10 mg/kg rosuvastatin verildiğinde testiste doku kan akımının belirgin şekilde düzeldiğini tespit ettik ($p < 0,05$). Rosuvastatinin bu etkisi eNOS' u koruyucu etkisinden ve/veya diğer pleiotropik etkilerinden kaynaklanıyor olabilir.

Hareket halindeki bir nesneden yansıyan radyasyonun frekansında Doppler etkisi ile bir değişim olur ve buna Doppler kayması adı verilir. LDF, sıvı içinde hareket eden küçük partiküllerin oluşturduğu Doppler kaymasına duyarlı olan, sıvı hızı ölçüm tekniğidir (53).

Bu amaçla düşük güçlü monokromatik laser ışını taşıyan bir optik prob kullanılır. Bu prob içerisinde, ışını dokuya taşıyan verici fiber ve dokudan geri saçılan ışınları fotodedektöre taşıyan toplayıcı fiber bulunmaktadır. Işın demeti proba dokuya iletildiğinde, ışının bir kısmı absorbe olurken büyük kısmı yansır. Işını yansıtan hareketsiz hücreler dalgaboyunu değiştirmezken, ışını yansıtan hareketli kan hücreleri dalgaboyunu değiştirerek Doppler kaymasına neden olurlar. Doppler kayması meydana gelen ışın demeti sinyalleri oluşturur. Fotodedektörden sinyal işlemciye gelen sinyaller, anlamlı verilere dönüştürülür (53, 54).

LDF tekniği non-invaziv olması, kolay uygulanabilmesi, sürekli yada aralıklı kayıt alınabilmesi gibi avantajları nedeniyle çeşitli dokuların kan akımının değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (53-56).

Çeşitli çalışmalarda testisteki mikrovasküler düzeydeki kan akımının belirlenmesinde LDF tekniği kullanılmıştır (50, 57-60).

Palmer ve ark çalışmalarında ratların testislerinde değişik derecelerde iskemi oluşturmuşlar ve oluşan histolojik değişiklikleri LDF ile ölçtükleri kan akımı ile karşılaştırmışlardır. Onlar, LDF ile ölçtükleri kan akımı azalmasının histolojik hasarlanma ile uyumlu olduğunu göstermişlerdir (50). Biz, yaptığımız çalışmada iskemi/reperfüzyon hasarının bulgularını LDF ölçümleriyle değerlendirdik. 720° lik testis torsiyonu sırasında oluşan kan akımı değişikliklerini göstermede etkin ve güvenli olduğunu gösterdik.

SONUÇ

İki saatlik torsiyon sonrası testiste kan akımı belirgin olarak azalmaktadır. Reperfüzyon öncesi rosuvastatin verilmesi testiste kan akımını belirgin şekilde düzelterek iskemi/reperfüzyon hasarını önlemektedir.

Klinikte testis torsiyonunun detorsiyonu sonrasında oluşan iskemi/reperfüzyon hasarının önlenmesinde rosuvastatin kullanımı yararlı olabilir.

KAYNAKLAR

1. Akgür FM, Kılınç K, Aktuğ T. Reperfusion injury after detorsiyon of unilateral testicular torsion. Urol Res 21: 395, 1993
2. Menger MD, Rücker M, Vollmar B. Capillary dysfunction in striated muscle ischemia/reperfusion: On the mechanisms of capillary "no-reflow ". Shock 8: 2-7,1997
3. Akgür FM, Kılınç K, Tanyel FC, et al: Ipsilateral and contralateral testicular biochemical acute changes after unilateral testicular torsion and detorsion. Urology 44: 413-418, 1994
4. Akgür FM, Kılınç K, Aktuğ T, et al: The effect of allopurinol pretreatment before detorting testicular torsion. J Urol 151:1715-1717, 1994
5. Salmasi AH, Beheshtian A, Payabvash, et al: Effect of morphine on ischemia-reperfusion injury: experimental study in testicular torsion rat model. Urology 66:1338-1342, 2005
6. Abasıyanık A, Dağdöndüren L: Beneficial effects of melatonin compared with allopurinol in experimental testicular torsion. J Ped Surg 39: 1238-1241, 2004
7. Çay A, Alver A, Küçük M, et al: The effects of N acetylcysteine on antioxidant enzyme activities in experimental testicular torsion. J Surg Res 131: 199-203. 2006
8. Kehinde EO, Anim JT, Mojiminiyi OA, et al: Allopurinol provides long-term protection for experimentally induced testicular torsion in a rabbit model. BJU Int 96:175-180, 2005
9. Endres M: Statins: potential new indications in inflammatory conditions. Atheroscler Suppl 7: 31-35, 2006
10. Stalker TJ, Lefer AM, Scalia R: A new HMG-CoA reductase inhibitor, rosuvastatin, exerts anti-inflammatory effects on the microvascular endothelium: the role of mevalonic acid. Br J Pharmacol 133: 406-412, 2001
11. Laufs U, Gertz K, Dirnagl, et al: Rosuvastatin, a new HMG-CoA reductase inhibitor, upregulates endothelial nitric oxide synthase and protects from ischemic stroke in mice. Brain Res 942: 23-30 2002
12. Jones SP, Gibson MF, Rimmer DM, et al: Direct vascular and cardioprotective effects of Rosuvastatin , a new HMG-CoA reductase inhibitor. JACC 40: 1172-1178, 2002
13. Schafer A, Fraccarollo D, Eigenthaler M, et all: Rosuvastatin reduces platelet activation in heart failure: role of NO bioavailability. Arterioscler Thromb Vasc Biol 25: 1071-1077, 2005

14. Kılıç E, Kılıç Ü, Matter CM, et al: Aggravation of focal cerebral ischemia by tissue plasminogen activator is reserved by 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitor but does not depend on endothelial NO synthase. *Stroke* 36: 332-336, 2005
15. Weinberg EO, Scherrer-Crosbie M, Picard MH, et al: Rosuvastatin reduces experimental left ventricular infarct size after ischemia- reperfusion injury but not total coronary occlusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 288: 1802-1809, 2005
16. Kılıç Ü, Bassetti CL, Kılıç E, et al: Post-ischemic delivery of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitor Rosuvastatin protects against focal cerebral ischemia in mice via inhibition of extracellular-regulated kinase-1/-2. *Neuroscience* 134: 901-906, 2005
17. Naito Y, Katada K, Takagi T, et al: Rosuvastatin reduces rat intestinal ischemia-reperfusion injury associated with the preservation of endothelial nitric oxide synthase protein. *World J Gastroenterol* 12: 2024-2030, 2006
18. Murphy JP: The acute scrotum. Ziegler MM, Azizkhan RG, Weber TR (ed): *Operative Pediatric Surgery*, McGraw-Hill Companies, New York, 2003, pp.563-568
19. Hutson JM: Undescended Testis, Torsion and Varicocele. In O'Neill JA, Rowe MI, Grosfeld JL et al (eds): *Pediatric Surgery*, Mosby, St. Louis, 1998, pp.1087-1109
20. Melloul M, Paz A, Lask D: The value of radionuclide scrotal imaging in the diagnosis of acute testicular torsion. *Br J Urol* 72: 628-631, 1995
21. Barloon TJ, Weissman AM, Kahn D: Diagnostic imaging of patients with acute scrotal pain. *Am Fam Physician* 53:1734-1750, 1996
22. Brown JM, Hammers LW, Barton JW, et al: Quantitative Doppler assessment of acute scrotal inflammation. *Radiology* 197: 427-431, 1995
23. Dewire DM, Begun FP, Lawson RK, et al: Color Doppler ultrasonography in evaluation of the acute scrotum. *J Urol* 147: 89-91, 1992
24. Langer JC, Sohal SS, Blennerhasselt P: Mucosal permeability after subclinical intestinal ischemia/reperfusion injury: An exploration of possible mechanisms. *J pediatr Surg* 30: 568-572, 1995
25. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, et al: Ischemia/Reperfusion injury. *J Surg Res* 105: 248-258, 2002
26. Vedder NB, Fouty BW, Winn RK, et al: Role of neutrophils in generalized reperfusion injury associated with resuscitation from shock. *Surgery* 106: 509-516, 1989
27. Clark IA. Tissue damage caused by free oxygen radicals. *Pathology* 18: 181-186, 1986

28. Gutteridge JMC. Iron and oxygen radicals in brain. *Ann Neurol* 32: 516-521, 1992
29. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB: Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg* 161: 488-503, 1991
30. Bulkley GB. Free radical-mediated reperfusion injury: a selective review. *Br J Cancer* 55: 63-66, 1987
31. White BC, Grossman LI, Krause GS: Brain injury by global ischemia and reperfusion a theoretical perspective on membrane damage and repair. *Neurol* 43: 1656-1665, 1993
32. Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol* 244: 1269-1275, 1988
33. Orlinsky M, Shoemaker W, Reis ED, et al: Current controversies in shock and resuscitation. *Surg Clin North Am* 81: 1217-1262, 2001
34. Childs EW, Udopi KF, Wood JG, et al: In vivo visualization of reactive oxidants and leukocyte-endothelial adherence following hemorrhagic shock. *Shock* 8: 16-25, 2002
35. Welbourn CRB, Goldman G, Peterson IS, et al: Pathophysiology of ischemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg* 78: 651-655, 1991
36. Collard CD, Lekowski R, Jordan JE, et al: Complement activation following oxidative stress. *Mol Immunol* 36: 941-948, 1999
37. Granger DN, Korthuis RJ: Physiologic mechanisms of postischemic tissue injury. *Annu Rev Physiol* 57: 311-332, 1995
38. Hakgüder G, Akgür FM, Ateş O, et al: Short-term intestinal motility that can be preserved by xanthine oxidase inhibition. *Dig Dis and Sci* 47: 1279-1283, 2002
39. Eppihimer MJ, Granger N: Ischemia/reperfusion induced leukocyte- endothelial interactions in postcapillary venules. *Shock* 8: 16-25, 1997
40. Heart Protection Study Collaborative Group: MRC/BHF Heart Protection Study of Cholesterol Lowering with simvastatin in 20356 high-risk individuals: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 360: 7-22, 2002
41. Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, et al: The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and recurrent events trial investigators. *N Engl J Med*. 14:1001-1009, 1996
42. Hamamcioğlu K, Vural O: Statins for the treatment of multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 22: 221-230, 2005
43. Laufs U, La Fata V, Plutzky J, et al: Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. *Circulation* 97:1129-1135,1998.

44. Tamai O, Matsuoka H, Itabe H, et al: Single LDL apheresis improves endothelium-dependent vasodilatation in hypercholesterolemic humans. *Circulation* 95: 76–82, 1997
45. Ikeda Y, Young LH, Lefer AM: Rosuvastatin, a new HMG-CoA reductase inhibitor, protects ischemic reperfused myocardium in normocholesterolemic rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 41: 649–656, 2003
46. Bulhak AA, Gourine AV, Gonon AT, et al: Oral pre-treatment with rosuvastatin protects porcine myocardium from ischaemia/reperfusion injury via a mechanism related to nitric oxide but not to serum cholesterol level. *Acta Physiol Scand* 183: 151-159, 2005
47. Lacoste L, Lam JYT, Hung J, et al: Hyperlipidemia and coronary disease: correct of the increased thrombogenic potential with cholesterol reduction, *Circulation* 92: 3172-3177, 1995
48. Rafil S, Lyden D: Therapeutic stem and progenitor cell transplantation for organ vascularization and regeneration. *Nat Med* 9:702-712, 2003
49. Hill JM, Zalos G, Halcox JP, et al: Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Eng J Med* 348:593-600, 2003
50. Palmer JS, Plzak LF, Cromie WJ: Comparison of blood flow and histological changes in rat models of testicular ischemia. *J Urol* 158: 1138-1140
51. Barlas M, Hatiboğlu C: The effect of nitric oxide in testicular ischemia-reperfusion injury. *Int Urol Nephrol* 34: 81-86, 2002
52. Öztürk H, Büyükbayram H, Özdemir E, et al: The effects of nitric oxide on the expression of cell adhesion molecules (ICAM-1, UEA-1, and tenascin) in rats with unilateral testicular torsion. *J Pediatr Surg* 38: 1621-1627, 2003
53. Güngör K. The importance of laser doppler flowmetry in dentistry. *GÜ Dişhek Fak Derg* 20: 57-63, 2003
54. Wright CI, Kroner CI, Draijer R: Non-invasive methods and stimuli for evaluating the skin's microcirculation. *J Pharmacol Toxicol Methods* 54: 1 – 25, 2006
55. Abdulatif M, El- Sanabary M: Blood flow and mivacurium-induced neuromuscular block at the orbicularis oculi and adductor pollicis muscles. *Br J Anaesth* 79: 24-28, 1997
56. Zhong J, Huang DL, Sagher O: Parameters influencing augmentation of cerebral blood flow by cervical spinal cord stimulation. *Acta Neurochir* 146: 1227-1234, 2004
57. Becker EJ, Prillaman HM, Turner TT: Microvascular blood flow is altered after repair of testicular torsion in the rat. *J Urol* 157: 1493-1498, 1997
58. Kono T, Saito M, Kinoshita Y, et al: Real-time monitoring of nitric oxide and blood flow during ischemia-reperfusion in the rat testis. *Mol Cell Biochem* 286: 139-145, 2006

59. Srinivas M, Kilmartin B, Basham P, et al: Unilateral spermatic vessel ligation in prepubertal rats decreases microvascular blood flow to ipsilateral testis postpubertally. *Pediatr Surg Int* 19: 395-399, 2003
60. Salman AB, Mutlu S, İskit AB, et al: Hemodynamic monitoring of the contralateral testis during unilateral testicular torsion describes the mechanism of damage. *Eur Urol* 33: 576-580, 1998