

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI

**DENEYSEL TESTİKÜLER İSKEMİ
REPERFÜZYON MODELİNDE FARKLI İKİ
DOZDA UYGULANAN DEKSMEDETOMİDİNİN
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

DR. MUAMMER HAYRİ BEKTAŞ

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2011

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI

**DENEYSEL TESTİKÜLER İSKEMİ
REPERFÜZYON MODELİNDE FARKLI İKİ
DOZDA UYGULANAN DEKSMEDETOMİDİNİN
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. MUAMMER HAYRİ BEKTAŞ

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Deniz ÖZZEYBEK

<u>İÇİNDEKİLER:</u>	Sayfa No
TEŞEKKÜR.....	i
TABLO LİSTESİ.....	ii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iii
RESİM LİSTESİ.....	iv
GRAFİK LİSTESİ	v
KISALTMALAR.....	vi
ÖZET.....	vii
SUMMARY.....	viii
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
İskemi.....	4
Reperfüzyon.....	5
Serbest Oksijen Radikalleri.....	6
Deksmetomidin.....	8
GEREÇ VE YÖNTEM	12
Çalışmada Kullanılan Deney Hayvanları.....	12
Anestezi Uygulaması.....	12
Çalışma Grupları ve Deney Protokolü.....	12
Çalışma İlacının Uygulanması.....	13
Deneyin Tamamlanması ve Örneklerin Alınması.....	15
Biyokimyasal Değerlendirme.....	15
Histopatolojik Değerlendirme.....	16
İstatistiksel Değerlendirme.....	16
BULGULAR.....	17
Biyokimyasal Bulgular.....	17
Doku MDA Düzeyleri.....	17
Doku NO Düzeyleri.....	19
Histopatolojik Bulgular.....	20
TARTIŞMA.....	25

SONUÇ VE ÖNERİLER.....	29
KAYNAKLAR.....	30
EK.....	37

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, hekimlik sanatının ve anesteziyolojinin temel ilkelerini öğrendiğim hocalarım; Sayın Prof. Dr. Zahide Elar'a, Sayın Prof. Dr. Ali Günerli'ye, Sayın Prof. Dr. Atalay Arkan'a, Sayın Prof. Dr. Erol Gökel'e, Sayın Prof. Dr. Semih Küçükgüçlü'ye, Sayın Prof. Dr. Sermin Öztekin'e, Sayın Prof. Dr. Necati Gökmen'e, Sayın Prof. Dr. Bahar Kuvaki Balkan'a, Doç. Dr. Ayşe Karcı'ya, Doç. Dr. Leyla İyilikçi'ye, Doç. Dr. Fikret Maltepe'ye, Doç. Dr. Hasan Hepağuşlar'a, Doç. Dr. Uğur Koca'ya, Doç. Dr. Çimen Olguner'e, Doç. Dr. Sevda Özkardeşler'e, Yard. Doç. Dr. Aydın Taşdöğen'e, Yard. Doç. Dr. Yüksel Erkin'e Yard. Doç. Dr. Mert Akan'a,

Tez araştırmamı destekleyen, yapımı ve yazımı aşamasında katkı ve yardımlarını esirgemeyen. Sayın Prof. Dr. Deniz Özzeybek'e, Doç. Dr. Alper Bağrıyanık'a, Yard. Doç. Dr. Tuncay Küme'ye, Uzm. Dr. Ferim Güneç'e, Uzm. Dr. Hakan Aygün'e, Araş.Gör. Dr. Muhammet Akkuş'a, Araş.Gör. Dr. Adil Ustaoglu'na, Araş.Gör. Dr. Oytun Dora'ya,

Asistanlığım süresince birlikte çalıştığım, eğitimime katkıda bulunan hastanemiz tüm öğretim üyeleri ve uzmanlarına,

Asistanlık döneminin heyecanını, stresini ve güzelliklerini birlikte yaşadığımız tüm asistan arkadaşlarıma,

Anestezi teknikeri arkadaşlarıma, ameliyathane, yoğun bakım ünitesi, derlenme ünitesi, ağrı ünitesi, gündüz hastanesi hemşire ve personelleri ile bölüm sekreterlerine ve tanıma fırsatı bulduğum tüm hastanemiz çalışanlarına,

Hayatım boyunca benden desteğini, sevgisini ve sabrını esirgemeyen aileme,

Ve son olarak gördüğüm gündün beri kalbimde olan, eşim İlknur'a,

Sonsuz sevgilerimi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Dr. Muammer HAYRİ BEKTAŞ

TABLO LİSTESİ:

Sayfa No

Tablo-1. Çalışma Grupları ve Deney Protokolü	13
Tablo-2. Çalışma Gruplarından Elde Edilen MDA ve NO Değerleri	17
Tablo-3 Histopatolojik Skorların Gruplara Göre Dağılımı	20

SEKİL LİSTESİ:**Sayfa No**

- | | |
|--|-----------|
| Şekil-1. Hücre hasarlanmasında sitoplazmik kalsiyum artışının nedenleri ve sonuçları | 4 |
| Şekil-2. Serbest oksijen radikallerinin dokudaki doğrudan ve dolaylı etkileri | 7 |
| Şekil-3. α_2 -reseptörlerin yerleşimi ve α_2 -agonistlerinin etki mekanizması | 8 |
| Şekil-4. α_2 -reseptör aracılı fizyolojik yanıtlar | 9 |
| Şekil-5 Çalışma grupları ve deney protokolünün şematik görünümü | 14 |

RESİM LİSTESİ:**Sayfa No**

- Resim-1.** *Sham* Grubundan Bir Deneğe Ait Mikroskopik Görüntü
- Resim-2.** İ/R Grubundan Bir Deneğe Ait Mikroskopik Görüntü
- Resim-3.** İ/R+50 D Grubundan Bir Deneğe Ait Mikroskopik Görüntü
- Resim-4.** İ/R+100D Grubundan Bir Deneğe Ait Mikroskopik Görüntü

21**22****23****24**

GRAFİK LİSTESİ:

Sayfa No

Grafik-1. Testiküler dokuda malondialdehit (MDA) düzeyleri

18

Grafik-2. Testiküler dokuda nitrik oksit (NO) düzeyleri

19

KISALTMALAR:

MDA	: Malondialdehit
O₂	: Oksijen
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
Ca⁺⁺	: Kalsiyum
İ/R+50D	: İskemi Reperfüzyon + 50 µg/kg Deksmetomidin
İ/R+100D	: İskemi Reperfüzyon + 100 µg/kg Deksmetomidin
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
K⁺	: Potasyum
ATP	: Adenozin Trifosfat
Na⁺	: Sodyum
CO₂	: Karbondioksit
H₂CO₃	: Karbonik Asit
PMNL	: Polimorfonükleer Lökositler
eNOS	: Endotelial Nitrik Oksit Sentetaz
SOD	: Süperoksit Dismutaz
KAT	: Katalaz
MPO	: Miyeloperoksidaz
İ/R	: İskemi Reperfüzyon
T/D	: Torsiyon Detorsiyon
DNA	: Deoksiribonükleikasit
ROT	: Reaktif Oksijen Türevleri
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör Alfa
İL-6	: İnterlökin-6
RNT	: Reaktif Nitrojen Türevleri
NOS	: Nitrik Oksit Sentetaz
NO	: Nitrik Oksit
i NOS	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentetaz
IL-1β	: İnterlökin 1 Beta
O₂⁻	: Süperoksit
ONOO⁻	: Peroksinitrit
İP	: İntraperitoneal
HPLC	: <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
H-E	: Hematoksilen-Eosin

ÖZET

DENEYSEL TESTİKÜLER İSKEMİ REPERFÜZYON MODELİNDE FARKLI İKİ DOZDA UYGULANAN DEKSMEDETOMİDİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

**Muammer H. BEKTAŞ, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, İZMİR**

Amaç: Testis torsiyonu, ürolojik bir acil olarak tanımlanan akut skrotumun ana nedenlerindedir. Torsiyon-detorsiyon nedeniyle oluşan iskemi ve reperfüzyon testiküler hasara neden olur. İskemik ve toksik inflamatuvar yanıt modellerinde yapılmış sınırlı sayıdaki çalışmada, deksmedetomidinin antiinflamatuvar etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışmanın amacı rat testiküler iskemi/reperfüzyon modelinde iskemi döneminde farklı iki dozda uygulanan deksmedetomidinin etkilerinin araştırılmasıdır.

Yöntem: DEÜTF Hayvan Deneyle Yerele Etik Kurulu onayı alındıktan sonra ağırlıkları 300-350 g arasında değişen 28 adet rat dört gruba ayrıldı. Tüm gruplardaki ratlara sol inguinal insizyon yapılarak sol testis ve spermatik kord serbestleştirildi. Grup1(*Sham*) (n=7)'deki ratlara torsiyon detorsiyon işlemi yapılmadan sol testis skrotuma yerleştirildi. Diğer gruplarda sol testise 1 saat torsiyon, 4 saat reperfüzyon uygulandı. Grup 2 iskemi/reperfüzyon grubu (İ/R, n=7)'nda ilaç uygulaması yapılmadı, Grup 3 (İ/R+50D) (n=7)'deki ratlara 50µg/kg, Grup 4 (İ/R+100D) (n=7)'dekilere ise 100µg/kg deksmedetomidin iskeminin 30.dk'sında intraperitoneal yolla uygulandı. Deney sonunda alınan testis dokusunda reperfüzyon hasarının derecesi doku malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit (NO) düzeyleri ölçümü ile; germ hücre hasarı ise histopatolojik olarak Cosentino skalası ile değerlendirildi. $p<0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular: İ/R grubunda MDA düzeyleri *Sham*, İ/R+50D ve İ/R+100D gruplarına kıyasla daha yüksek bulundu ($p=0.000$). İ/R+50D ve İ/R+100D grupları arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.01$). Nitrik oksit düzeyleri de İ/R grubunda *Sham*, İ/R+50D ve İ/R+100D gruplarına kıyasla daha yüksek bulundu ($p=0.003$). Histopatolojik skorlar açısından da dört grup arasında fark belirlendi ($p=0.001$). İ/R grubu ile İ/R+50D ($p=0.001$) ve İ/R+100D ($p=0.001$) grupları arasındaki fark anlamlı bulundu.

Sonuç: Rat testiküler iskemi reperfüzyon modelinde 50 ve 100 µg/kg'lık dozlarda uygulanan deksmedetomidinin reperfüzyon hasarını doza bağımlı olarak azalttığı kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: Deksmetomidin, iskemi/reperfüzyon hasarı, testis torsiyonu, testis torsiyonu/detorsiyonu, rat

SUMMARY

THE EFFECTS OF TWO DIFFERENT DOSES OF DEXMEDETOMIDINE IN A TESTICULAR ISCHEMIA-REPERFUSION MODEL IN RATS

**Muammer H. BEKTAS, Dokuz Eylul University, Faculty of Medicine,
Department of Anesthesiology and Reanimation, IZMIR**

Objective: Testicular torsion is one of the main causes of acute scrotum which is mentioned as a surgical emergency. Ischemia and reperfusion caused by testicular torsion and detorsion leads to testicular damage. It has been shown that dexmedetomidine has anti-inflammatory activity in limited studies. The aim of this investigation was to assess the effects of two different doses of dexmedetomidine in a rat model of testicular ischemia-reperfusion.

Material and Methods: After the approval of Local Ethics Committee for Animal Researches of Medical School of Dokuz Eylul University, 28 male Albino Wistar rats weighing 300-350 g were divided into 4 groups. The left testis and spermatic cord were liberated by left inguinal incision in all groups. *Sham* group (Group 1) (n=7) was not received any other procedure. One hour of torsion and four hours of detorsion were applied to the other groups. The rats in ischemia/reperfusion group (Group 2) (I/R, n=7), were operated to make I/R. It has been injected dexmedetomidine after 30 mins of the beginning of the torsion procedure 50 µg/kg in Group 3 (I/R+50D, n=7), and 100 µg/kg in Group 4 (I/R+100D, n=7). To grade the testicular reperfusion injury tissue malondialdehyde (MDA) and nitric oxide (NO) levels were measured and the germ cell damage was evaluated histopathologically using Cosentino scale in the excised testis. $p < 0.05$ was accepted as significant.

Results: MDA levels in group I/R were significantly higher than in groups sham, I/R+50D and I/R+100D ($p=0.000$). MDA levels in I/R+50D and I/R+100D were also statistically different ($p=0.01$). NO levels were significantly higher in group I/R when compared to groups S, I/R+50D and I/R+100D ($p = 0.003$). Histopathologic scores were higher in I/R group than I/R+50D and I/R+100D groups ($p=0.001$)

Conclusions: Dexmedetomidine treatment in 50 and 100 µg/kg was attenuated reperfusion injury in a dose-dependent manner in an experimental testicular ischemia reperfusion model.

Keywords: Dexmedetomidine, Ischemia/reperfusion injury, testicular torsion, testicular torsion/detorsion, rat.

GİRİŞ VE AMAC

Testis torsiyonu, çoğunlukla çocukluk ve gençlik çağlarındaki erkeklerde görülen ve ürolojik bir acil olarak tanımlanan akut skrotumun ana nedenleri arasında sayılmaktadır (1). Yirmibeş yaşından küçük erkeklerdeki insidansının 1/4000 olduğu saptanmış (1,2) ve başarılı bir cerrahi girişime karşın bu hastaların %40-60'ında testiküler atrofi ve infertilite geliştiği bildirilmiştir (3).

Testiküler torsiyon-detorsiyon nedeniyle oluşan iskemi ve reperfüzyon testiküler hasara neden olur (3). Testis torsiyonu oluştuğunda önce venöz dönüş bozulur, ödem ve hemoraji gelişir. Daha sonra tabloya arteriyel obstrüksiyon bulguları eklenir (3). Arteriyel ya da venöz kan akımının azalmasına bağlı olarak perfüzyonun yetersiz kalması sonucu, hipoksi meydana gelir (3,4). Oksijen sunumunun metabolik gereksinimlerin altında olmasına, hücresel enerji depolarındaki azalmaya ve toksik metabolitlerin birikimine bağlı olarak germ hücre ölümü gerçekleşir (4). Deneysel çalışmalarda testiküler iskemiye en duyarlı hücrelerin germ hücreleri olduğu gösterilmiştir (5,6).

İskemik dokularda canlılığı korumak için temel ilke en kısa sürede reperfüzyonun sağlanması olduğundan testis torsiyonlu olgularda zaman geçirmeden girişimde bulunulması önerilmiş; ancak, testis torsiyonunun düzeltilmesinden sonra tabloya bu kez reperfüzyon ile oluşan hasarlanmanın eklendiğine dikkat çekilmiştir (5).

Reperfüzyon hasarı nötrofil infiltrasyonu ve serbest oksijen radikallerinin (süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikal) artışıyla yakından ilişkili bulunmuştur (6). Oluşan serbest oksijen radikallerinin mitokondri ve hücre membranındaki lipidlerin peroksidasyonu yoluyla membran geçirgenliğinde artışa veya membran bütünlüğünde bozulmaya, protein denatürasyonuna ve DNA hasarına yol açtığı (6), sonuçta iskemi nedeniyle oluşan germ hücre hasarının daha da arttığı belirlenmiştir (7,8).

İskemi-reperfüzyon hasarının önlenmesi amacıyla yeni tedavi stratejileri öne sürülmüş; deneysel ve klinik çalışmalar ile dehidroepiandrosteron (9), ibuprofen (10), morfin (11), erdosteine (12), kafeik asit fenil ester (13), allopurinol (14), sildenafil (15), verapamil (16), ketoprofen (17), propofol (18) gibi farklı ilaçların koruyucu ve/veya tedavi edici etkinliği araştırılmıştır. Tüm bu araştırmalara karşın klinik uygulama konusunda bir fikir birliğine

varılamamıştır.

Deksmedetomidin, farmakolojik olarak medetomidinin dekstroizomeri olan, α_2 -adrenerjik reseptörler üzerinde selektif ve spesifik agonistik etki oluşturan, yoğun bakımlarda sedasyon amacıyla kullanımı onaylanmış, geniş farmakolojik özellik spektrumuna sahip, sedatif ve analjezik etkili bir imidazol bileşiğidir (19).

Deksmedetomidin ile yapılan çalışmaların büyük kısmı ilacın sedatif ve analjezik etkilerine yöneliktir. İskemik ve toksik inflamatuvar yanıt modellerinde yapılmış sınırlı sayıdaki çalışmada, deksmedetomidinin antiinflamatuvar etkinlik gösterdiği belirlenmiştir (20-28).

Yapılan kaynak taramasında, testiküler iskemi reperfüzyon modelinde deksmedetomidinin araştırıldığı klinik bir çalışmaya rastlanmamıştır. Deneysel olarak Hancı ve ark.(29)'nın ratlarda testiküler iskemi reperfüzyon modelinde 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ deksmedetomidinin etkisini araştırdıkları tek bir çalışma bulunabilmiştir.

Rat testiküler iskemi reperfüzyon modelinde gerçekleştirilen bu çalışmada intraperitoneal yolla farklı iki dozda (50 ve 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$) uygulanan deksmedetomidinin iskemi reperfüzyon hasarı üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

Testis torsiyonu, spermatik kord yapılarının testis kan akımını bozacak şekilde kendi etrafında dönmesi olarak tanımlanmıştır (1). Testis torsiyonu sıklığının 25 yaş altındaki erkekler için 1:4000 olduğu bildirilmiştir (1,2). Torsiyonun geç çocukluk ya da erken ergenlik döneminde daha fazla görülmesine karşın antenatal ve yenidoğan dönemlerinde de oluşabildiği, sıklığın 13-16 yaş civarında en üst düzeye ulaştığı saptanmıştır (2). Olguların %2'sinde bilateral testis torsiyonu geliştiği bildirilmiştir (30,31). Torsiyonun sebebi genellikle bilinmemekte, çeşitli hazırlayıcı etkenlerden söz edilmektedir. Pubertede testis volümünün beş-altı kat artışı, torsiyonun bu dönemde daha fazla görülmesine neden olmaktadır (30,32). Travma ya da aşırı egzersiz, torsiyonu başlatan bir etken olabilir (30,31,33). Yine kremaster veya dartos kaslarının kasılması da torsiyonu başlatabilir (34). Ayrıca soğuk havalarda (15°C'nin altında) torsiyon riskinin daha fazla olduğu; bu riskin yaz aylarında azaldığı bildirilmiştir (33,34). Diğer yandan, daha uzun bir spermatik korda sahip olan sol testiste torsiyon olasılığının sağ testise oranla iki defa daha fazla olduğu, inmemiş ve retraktil testislerde torsiyon olasılığının arttığı saptanmıştır (35).

Ani başlangıçlı ve ciddi bir skrotal ağrı torsiyon için özgün bir bulgudur. Skrotal ağrı kasığa ve aynı taraf karın alt kadranına yayılır. Olguların dörtte birinde ağrıya bulantı, kusma gibi diğer sindirim sistemi yakınmaları eşlik edebilir. Bazı hastalarda skrotal travma ya da skrotumu ilgilendiren başka bir öykü (konjenital, edinsel patolojiler, ağırlık kaldırma, kalçaların ani fleksiyonu) vardır (30,31,33).

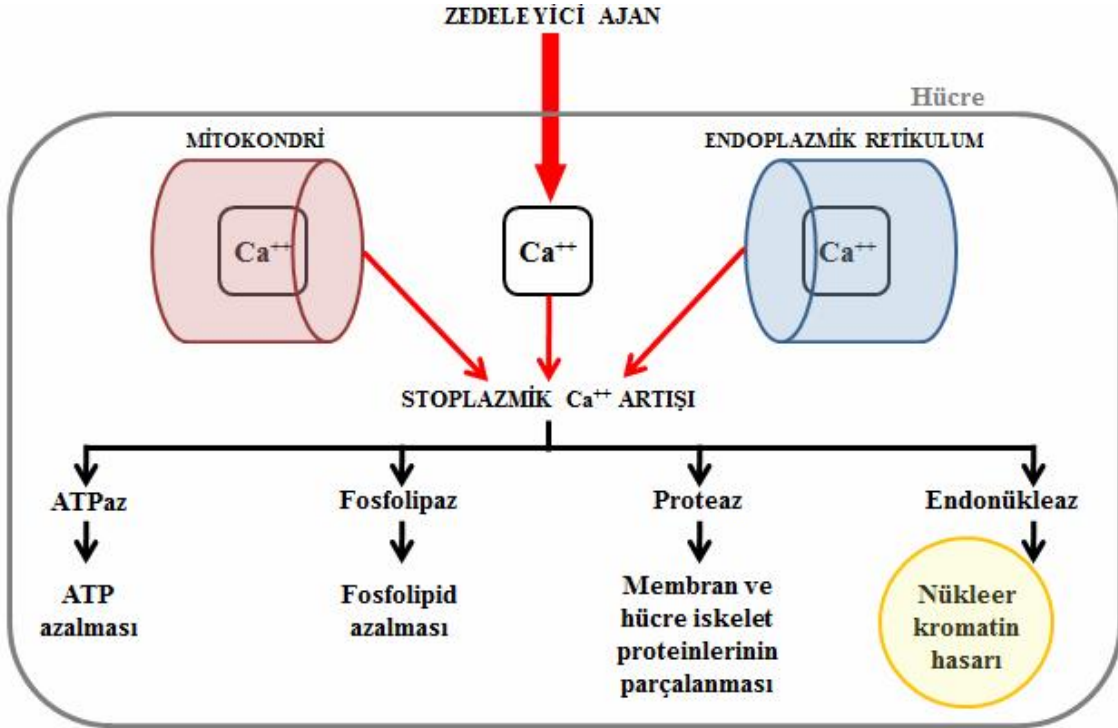
Torsiyonun tedavi edilmemesi halinde testis dokusunda nekroz geliştiği saptanmıştır (30). Testis torsiyonunda tedavinin esası detorsiyondur. Önce opioid analjezikler yardımıyla manuel detorsiyon işlemi uygulanır (1,2,30,36). Semptomların başlangıcından sonraki ilk 6-12 saat arasında uygulanan detorsiyon ve soğuk uygulama ile testiküler doku hasarının önüne geçilebilir. Daha uzun süren torsiyonlarda oluşan ağır hasarın karşı testisi de etkileme olasılığı nedeniyle orşiyektomi gerekebildiği bildirilmiştir (30,31,34,36).

İSKEMİ

Testis torsiyonu oluştuğunda venöz dönüş bozulur. Buna bağlı olarak ödem ve hemoraji gelişir. Daha sonra tabloya arteriyel obstrüksiyon bulguları eklenir (3). Arteriyel ya da venöz kan akımının azalmasına bağlı yetersiz perfüzyon sonucu, doku veya organların oksijenden yoksun kalması şeklinde tanımlanan iskemi sırasında, oksijen miktarının metabolik gereksinimlere oranla düşük düzeyde olması, hücresel enerji depolarındaki azalma ve toksik metabolitlerin birikimine bağlı olarak hücre ölümü gerçekleşir (3,4).

İskemi nedeniyle gerekli enerjinin sağlanamaması hücre membranında bulunan Adenozin Trifosfat (ATP) bağımlı sodyum-potasyum (Na^+/K) pompasında işlev yetersizliğine yol açar. İyon dengesizliği hücre içerisinde izoozmotik su birikimine ve akut hücre şişmesine neden olur. Anaerobik glikoliz sonucu oluşan asidoz, karbondioksit (CO_2) birikimiyle oluşan karbonik asit (H_2CO_3) ile daha da derinleşir (37).

Adenozin trifosfat bağımlı çalışan diğer bir pompa ise ekstrasellüler ve intrasellüler kalsiyum (Ca^{++})'u dengelemektedir. İntrasellüler Ca^{++} artışı ile proteolitik enzimler ve fosfolipazlar aktive olurlar. Fosfolipazların aktivasyonu araşidonik asit oluşumu ile sonuçlanır. Araşidonik asit direkt etkiyle mitokondriyal enzimleri inhibe eder ve serbest radikal oluşumunu artırır (37) (Şekil-1).



Şekil-1. Hücre hasarlanmasında sitoplazmik kalsiyum artışının nedenleri ve sonuçları (37)

Hücre içerisinde oluşan bu sitotoksik olaylar sonucunda ribozomlar granüllü endoplazmik retikulumdan ayrılır. Polizomlar monozomlara parçalanır ve protein sentezi azalır. Bu aşamadan sonra iskemi hala devam ederse geri dönüşümsüz zedelenme ortaya çıkar. Hasara, mitokondrilerde şiddetli vakualizasyon ve matrikste Ca^{++} 'dan zengin şekilsiz yoğunluk birikimi eşlik eder (37). Ortaya çıkan membran hasarı sonucunda bol miktarda Ca^{++} hücre içine girer (37).

Sarıca ve ark.(16), rat testiküler İ/R modelinde verapamilin Ca^{++} iyon kanallarını bloke ederek serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu hasarı azalttığını bildirmişlerdir.

İskemi sırasında hücre ATP hipoksantinden indirgenmektedir. Normalde hipoksantin, ksantin dehidrogenaz ile ksantine oksitlenir (38). 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 (O_2) ve ksantin oksidaz, aşırı hipoksantin ile birlikte toksik serbest oksijen radikallerini (SOR) oluşturur (38,39).

REPERFÜZYON

Geri dönüşümsüz hücre hasarını önleyebilmek için dokuya yeniden kan akımının yani reperfüzyonun sağlanması gerekir. İskemik dokuda kan akımının yeniden sağlanmasının, enerji gereksiniminin yeniden yapılması ve toksik metabolitlerin ortadan kaldırılması gibi yararlı etkileri olmaktadır (40). Ancak reperfüzyonun gerçekleşmesi, iskemik dokularda iskeminin dokuda oluşturduğu hasardan daha fazla hasara yol açmaktadır. Reperfüzyon hasarı, belirli bir süre iskemiye maruz kalan dokuların tekrar perfüze olması sonucu mikrosirkülasyonda görülen obstrüksiyonlar ve tekrar perfüze olan dokunun nekrozu ile karakterize bir yaralanma olarak tanımlanmıştır (41,42). İskemi ve reperfüzyon dönemlerinden oluşan bu zararlı etkilerin tümü İ/R hasarı olarak adlandırılmaktadır (43).

İskemi-reperfüzyon hasarında nötrofil infiltrasyonunun yanı sıra, SOR (süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikal) ve reaktif nitrojen türevleri (RNT)'de (başlıca nitrik oksit [NO] ve onun peroksinitrit gibi toksik metabolitlerinde olmak üzere) ciddi artış olur. Oluşan serbest oksijen ve nitrojen radikalleri mitokondri ve hücre membranındaki lipidlerin peroksidasyonu yoluyla membran geçirgenliğinde artışa veya membran bütünlüğünde bozulmaya, protein denatürasyonuna ve Deoksiribonükleik asit (DNA) hasarına yol açar (6). Sonuçta iskemi nedeniyle oluşan germ hücre hasarı daha da artar (7,8).

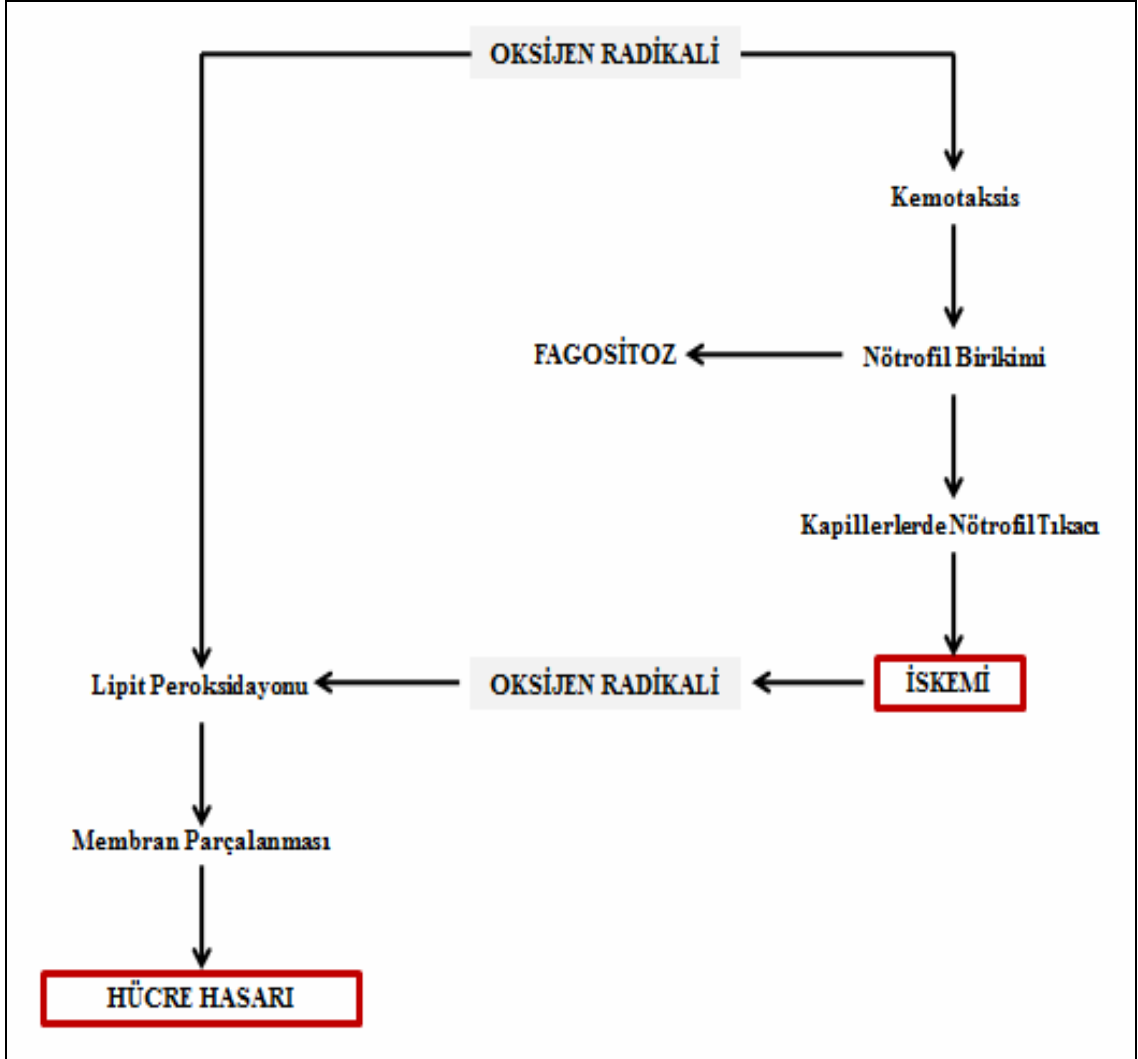
Serbest Oksijen Radikalleri

Reperfüzyonun sağlanması ile birlikte sitotoksik olaylar serisi başlar. Bu olayları başlatan faktörlerin en önemlisi SOR'dur (41,43). Reperfüzyon sonucu dokuya kan ve O₂ sağlanır. Dokuda iskemi süresince biriken hipoksantin atılmaya çalışılır. Oksijen varlığında ksantin oksidaz enzimi aktive olarak SOR'u oluşturur. Serbest oksijen radikali, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile hidrojen peroksit (H₂O₂) ve O₂'ye dönüşür. Hidrojen peroksit ise katalaz (KAT) enziminin etkisiyle su ve O₂'ye çevrilir (37,38,43). Artan SOR'un başlattığı lipid peroksidasyonu ve protein hasarı sonucu hücre fonksiyonları bozularak doku nekrozu ortaya çıkar (6,43)

Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en duyarlı olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar (6). Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksitleri yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur (7). Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehit (MDA) meydana gelir (6,7,8). Malondialdehit proteinlerin amino gruplarına, fosfolipitlere veya nükleik asitlere bağlanarak toksik etkisini gösterir (44). Malondialdehit düzeyi lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde MDA ölçülmesi lipid peroksit düzeylerinin belirteci olarak kullanılır (6,8).

Serbest oksijen radikalleri dokuya hem doğrudan hem de dolaylı yoldan, polimorfonükleer lökositler (PMNL)'lerin hasarlı dokuda birikmesine yol açarak zarar verir (Şekil-2). Nötrofil ve monositler primer lizozomal granüllerinde bir hemoprotein enzimi olan miyeloperoksidaz (MPO) içerirler. Nötrofiller dolaşımda bulunan PMNL'lerin % 90'ından fazlasını oluştururlar. Dokuya gelen aktive PMNL'ler MPO, elastaz, proteaz, kollajenaz, laktoferrin ve katyonik proteinler gibi enzimleri açığa çıkarırlar. Bu enzimler dokudaki hasarı arttırırken daha fazla radikal oluşmasına neden olurlar (37,43).

Testis torsiyonu ve detorsiyonu (T/D) tipik bir iskemi-reperfüzyon (İ/R) durumudur (45). Esas patolojik olay torsiyona bağlı olarak iskeminin ve reperfüzyona bağlı olarak reaktif oksijen türevleri (ROT) ve reaktif nitrojen türevleri (RNT)'nin yaptığı doku hasarıdır. Reaktif oksijen türevleri ve RNT'ler hem hücre içi (mitokondri) hem de hücre dışı (nötrofil) kaynaklı olabilir. (45, 46). Apoptozis ve nekrozun nedeni; iskemi sırasında NO düzeyinin azalması sonucunda apoptozisin uyarılması, reperfüzyon sırasında ise aşırı NO oluşması sonucunda nekroz gelişmesidir (47).



Şekil-2. Serbest oksijen radikallerinin dokudaki doğrudan ve dolaylı etkileri (48)

Dokudan salınan NO ve makrofajlardan salınan tümör nekroz faktör- α (TNF- α), interlökin-6 (IL-6) interlökin1 β (IL-1 β) gibi mediyatörlerle inflamasyon başlar ve şiddetlenir (37,46).

Nitrik oksit, konstitütif (endotelial nitrik oksit sentetaz [eNOS], nöronal nitrik oksit sentetaz [nNOS]) ve indüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) tarafından sentezlenebilen bir serbest radikaldir. İlk iki NOS formu fizyolojik düzeyde NO sentezler, sentezlenen bu NO vazodilatasyonda ve nörotransmisyonunda rol oynar (49). İndüklenebilir NOS ise aşırı miktarda NO sentezlenmesine yol açarak sitotoksik, bakterisidal ve tümörisidal etki yapar (45). Konstitütif olarak sentezlenen NO intrasellüler ve/veya ekstrasellüler mesajcı olarak görev yapar. NO'nun yüksek konsantrasyonlarda sentezlenmesi ise hücre için toksik etki yaparak

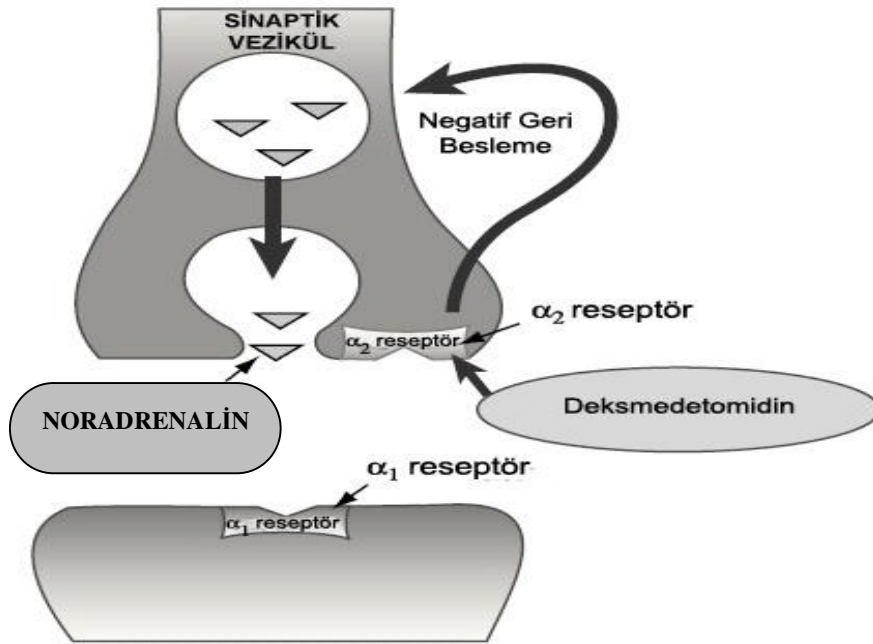
DNA replikasyonunun inhibisyonuna ve lipid perosidasyonuna yol açar (45,49).

Nitrik oksitin süperoksit dismutaz (SOD) enzimiyle yarışmaya girmesi ve süperoksit (O_2^-) radikaliyle etkileşmesi sonucu peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşur. Böylece NO'nun fizyolojik etkisi inhibe edilir, oksidatif etkisi ortaya çıkar. Peroksinitrit, NO toksisitesinin başlıca sorumlusudur (6,8).

DEKSMEDETOMİDİN

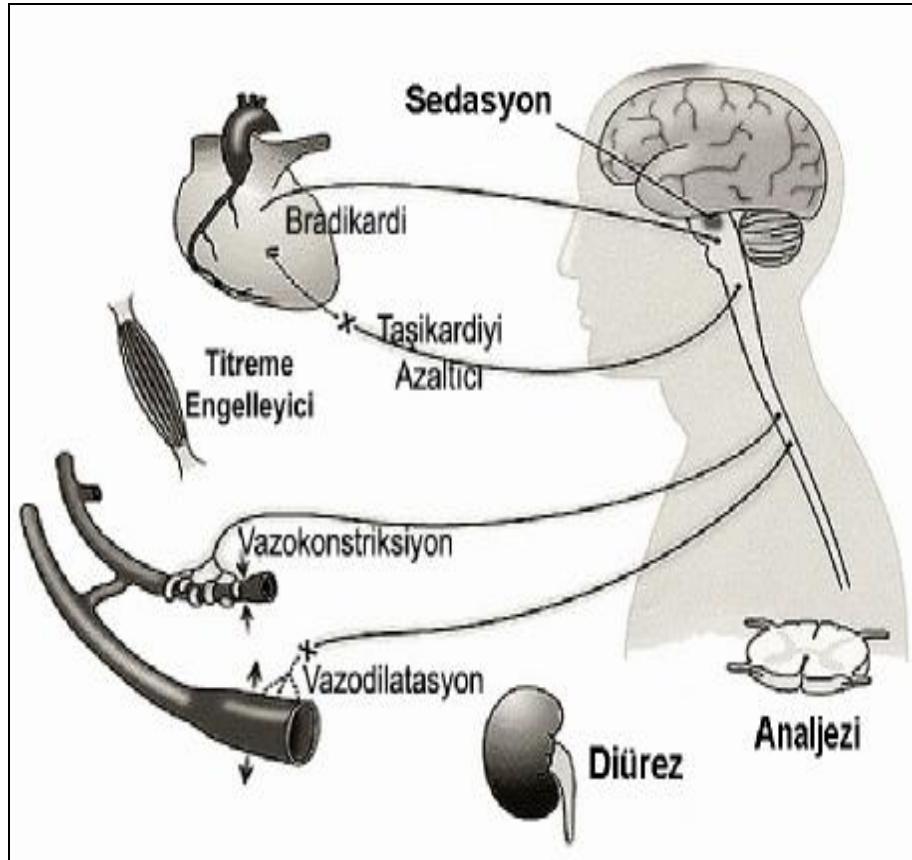
Deksmedetomidin, farmakolojik olarak medetomidinin dekstroizomeri olan, α_2 -adrenerjik reseptörler üzerinde selektif ve spesifik agonistik etkiye sahip bir imidazol bileşiğidir (19).

α_2 -reseptörler, çoğunlukla sinir terminallerinin presinaptik bölgesinde yerleşerek nörotransmitterlerin serbestleşmesini düzenler, postsinaptik ve sinaps dışı bölgelerde de bulunabilirler. Presinaptik α_2 -reseptörler negatif geri besleme mekanizması ile noradrenalin ve ATP'nin serbestleşmesini düzenledikleri için klinik olarak daha fazla öneme sahiptirler (Şekil 3) (19).



Şekil 3: α_2 -reseptörlerin yerleşimi ve α_2 -agonistlerinin etki mekanizması (19)

Beyinde ve spinal korddaki postsinaptik α_2 -reseptörlerin aktivasyonu nöronal ateşlemeyi inhibe ederek, hipotansiyon, bradikardi, sedasyon ve analjeziye yol açar (19). Genel olarak, α_2 -adrenoseptörlerin presinaptik aktivasyonu noradrenalin serbestleşmesini inhibe ederek ağrı sinyallerinin ilerlemesini sonlandırır (19,23). Santral sinir sistemindeki α_2 -reseptörlerin postsinaptik aktivasyonu sempatik aktiviteyi inhibe ederek sistemik arter basıncını ve kalp atım hızını düşürebilir. Bu etkilerin tümü birlikte düşünüldüğünde, α_2 -reseptörlerin uyarılmasıyla analjezi, sedasyon ve anksiyolizin bir arada olduğu söylenebilir. α_2 -reseptör aracılı fizyolojik yanıtlar Şekil-4'de sunulmuştur (19).



Şekil 4: α_2 -reseptör aracılı fizyolojik yanıtlar (19)

α_2 -reseptörlerin yüksek yoğunlukta bulunduğu yerlerden biri olan lokus seruleus, beyinde predominant noradrenerjik çekirdektir ve uyanıklığın önemli bir düzenleyicisidir. α_2 -adrenoseptörlerin, hipnotik ve sedatif etkiler oluşturabilmesinin santral sinir sisteminin bu bölgesinin aktivasyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu bulgular deksmedetomidinin sedatif ve antinosiseptif etkilerini lokus seruleustaki α_2 -reseptörleri uyararak oluşturduğunu göstermektedir (50).

Deksmedetomidin doğrudan karaciğerde hemen hemen tam biyotransformasyona uğrar, esas olarak idrarla atılır ve çok az bir kısmı ise idrarla veya feçesle değişmeden atılır. Eliminasyon yarı ömrü yaklaşık iki saattir. Farmakokinetik profilinde cinsiyete ve/veya yaşa bağlı önemli değişiklikler oluşmadığı gibi, böbrek yetersizliği olan hastalarda da farmakokinetiği değişiklik göstermemektedir (19,50).

Deksmedetomidin ile yapılan çalışmaların büyük kısmı ilacın sedatif ve analjezik etkilerine yöneliktir. Ancak α_2 reseptörlerin organizmadaki dağılımları (Şekil-4) göz önünde bulundurulduğunda, farklı etkilerinin olabileceği düşünülerek yapılan çalışmalarda diğer potansiyel etkileri de araştırılmıştır.

Taniguchi ve ark. (20,21), ratlarda oluşturdukları septik şok modelinde deksmedetomidinin hemodinamik parametreler, arteriyel kan gazları ve plazma sitokin konsantrasyonları üzerine etkisini incelemişler ve akciğer dokusunda nötrofil infiltrasyonunu değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar, deksmedetomidinin IL-6 ve TNF- α düzeylerini azaltarak inflamatuvar yanıtları inhibe ettiğini, alveol duvarlarında nötrofil infiltrasyonunu azalttığını, mortalite oranlarını düşürdüğünü ve bu etkilerini doza bağımlı olarak oluşturduğunu belirtmişlerdir.

Hoffman ve ark. (23), deneysel inkomplet serebral iskemi modelinde, iskemiden 30 dakika önce İP yolla farklı iki dozda deksmedetomidin (10 μ g/kg ve 100 μ g/kg) uygulamasının nörolojik hasar üzerindeki etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında; deksmedetomidin uygulanan gruplarda nörolojik hasarın doza bağımlı olarak azaldığını tespit etmişlerdir.

Ratlarda gerek fokal (24) gerekse global (25) serebral İ/R modellerinin kullanıldığı çalışmalarda deksmedetomidinin, hem iskemik hasarı azaltarak hem de plazma TNF- α konsantrasyonlarını düşürerek nöroprotektif etki gösterdiği saptanmıştır.

Yang ve ark. (27), ratlarda ventilatör ilişkili akciğer hasarında deksmedetomidinin akciğer inflamasyonu üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, yüksek tidal volüm ile ventilasyona bağlı olarak gelişen akciğer hasarında deksmedetomidinin klinik dozlarının 10 katı dozlarda (5 μ g/kg/sa) infüzyon şeklinde kullanıldığında akciğer hasarını anlamlı

olarak azalttığını ve bu etkilerinin kısmen de olsa α_2 -reseptör aracılı olduğunu göstermişlerdir.

Kocoglu ve ark. (28), deneysel renal İ/R modelinde deksmedetomidinin böbrek hasarı üzerindeki koruyucu etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında, İP yolla 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dozunda uygulanan deksmedetomidinin İ/R'a bağlı böbrek hasarını azalttığını göstermişlerdir.

Venn ve ark. (22), majör cerrahi girişim sonrası yoğun bakım ünitesinde izlenen ve postoperatif dönemde sekiz saat süreyle sedasyon amacıyla propofol veya deksmedetomidin uygulanan 20 hastada adrenokortikal fonksiyonları, kardiyovasküler, endokrin ve inflamatuvar yanıtları araştırmışlardır. Sekiz saatin sonunda iki grup arasında, kanda adrenokortikotropik hormon, prolaktin, kortizol ve glukoz düzeyleri açısından fark saptamamışlar, deksmedetomidin uygulanan grupta IL-6 düzeyinin azaldığını belirlemişlerdir.

Yağmurdur ve ark. (26), turnike altında üst ekstremitte cerrahisi uygulanan hastalarda deksmedetomidinin İ/R hasarı üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında; kan MDA ve hipoksantin düzeylerinin deksmedetomidin (1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 10 dak, idame 0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{sa}$) uygulanan grupta anlamlı olarak azaldığını göstermişlerdir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi (DEÜTF) Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu izni alındıktan sonra, DEÜTF Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda yapıldı.

Çalışmada Kullanılan Deney Hayvanları

Çalışmada ağırlıkları 300-350 gr arasında değişen 28 adet *Wistar Albino* tipi erkek rat kullanıldı. Ratlar tel kafeslerde 12 saatlik karanlık-aydınlık siklusunda tutuldu, standart yiyecek ve suyla beslendi. Ratları hipotermiden korumak için çalışma süresince vücut sıcaklıkları ısıtıcı bir lamba kullanılarak korundu, çalışma süresince bazal gereksinimleri için 2 mL/sa serum fizyolojik solüsyonu İP yolla verildi.

Anestezi Uygulaması

Anestezi, İP yolla 50 mg/kg ketamin (*Ketalar*®, Pfizer Pharma GMBH, Germany) ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorid (*Alfazyne*®, %2, Alfasan International, 3440 AB, Woerden, Holland) uygulanarak sağlandı, gerektiğinde ratların hareketsizliğini sürdürmek için anestezik ajanların aynı dozları tekrarlandı.

Çalışma Grupları ve Deney Protokolü

Çalışma için 4 grup oluşturuldu (Tablo 1) (Şekil 5). Toplam çalışma süresi tüm gruplarda 300 dk. olarak standardize edildi.

Anestezi uygulanıp stabilizasyon sağlandıktan sonra betadin solüsyonu ile asepsi-antisepsi sağlanmasının ardından tüm gruplardaki ratlara sol inguinal insizyon yapılarak sol testis ve spermatik kord serbestleştirildi.

Grup-1'deki ratlara torsiyon detorsiyon işlemi yapılmadan sol testis skrotuma yerleştirildi. Cilt 3/0 ipek sütürler ile yaklaştırılarak kapatıldı.

Grup-2, Grup-3 ve Grup-4'deki ratlarda, sol testis saat yönünde 720° döndürülerek torsiyone edildi. Torsiyonun sürdürülebilmesi için testis tunika albugineasından skrotuma 3/0 ipek sütür ile tespit edildi. Cilt 3/0 ipek sütürler ile yaklaştırılarak geçici olarak kapatıldı. Bir saat sonra cilt sütürleri açılıp fiksasyon dikişleri alındıktan sonra sol testis saat yönünün tersine döndürülerek torsiyon düzeltildi. İnsizyon tekrar 3/0 ipek sütür ile kapatıldı ve 4 saat reperfüzyon sağlandı.

Çalışma İlacının Uygulanması

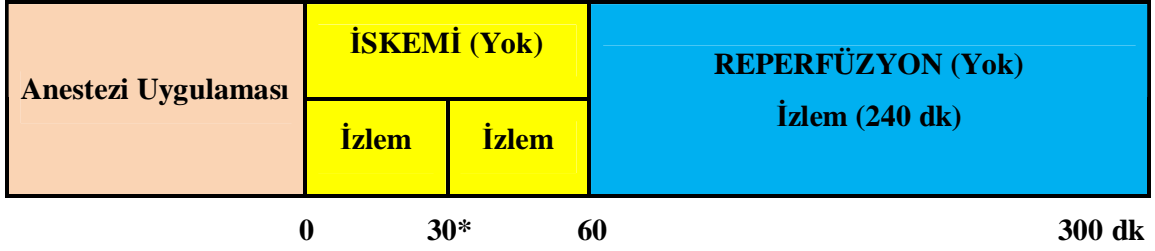
Çalışma ilacı olan deksmedetomidin iskeminin 30.dk'sında, başka bir deyişle detorsiyondan 30 dk önce uygulandı.

Grup-3'teki ratlara 50 µg/kg, Grup-4'teki ratlara 100 µg/kg deksmedetomidin (*Precedex, Abbott Laboratories Ltd. North Chicago ABD, 100µg/mL*) İP olarak verildi. Çalışma ilacının verildiği zamanda Grup-1 ve Grup-2'deki ratlara ilaçla aynı volümde serum fizyolojik solüsyonu İP yolla verildi.

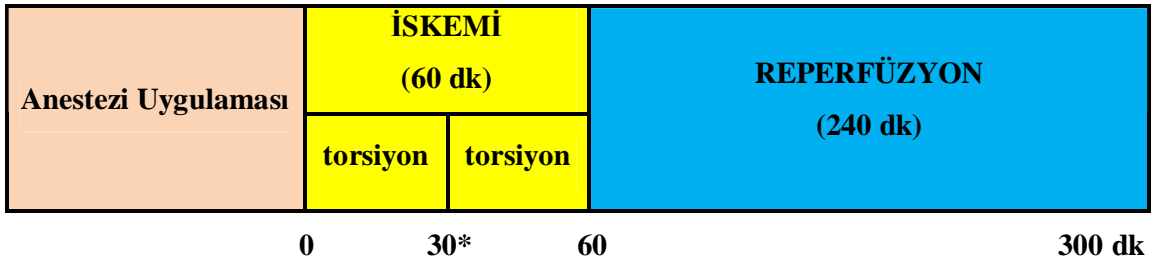
Tablo 1. Çalışma Grupları ve Deney Protokolü

Gruplar	Denek Sayısı (n)	Deney Protokolü
Grup-1 (Sham) <i>Sham</i>	7	Cerrahi işlem uygulandı, sol testis dışarı çıkarıldıktan sonra torsiyon uygulanmadan tekrar skrotuma yerleştirildi. Bu grup cerrahi stresin testisler üzerine olası etkisini belirlemek için kullanıldı.
Grup-2 (İ/R) Testiküler İskemi Reperfüzyon	7	Sol testis dışarı alındıktan sonra torsiyone edildi. Bir saat iskemi periyodundan sonra detorsiyon işlemi uygulandı ve 4 saat reperfüzyon sağlandı. Bu grup detorsiyonun İR hasarı üzerine olası etkisini belirlemek için kullanıldı.
Grup-3 (İ/R+50D) Testiküler İskemi Reperfüzyon +deksmedetomidin (50 µg/kg)	7	Sol testis dışarı alındıktan sonra torsiyone edildi. 1 saat iskemi periyodundan sonra detorsiyon işlemi uygulandı ve 4 saat reperfüzyon sağlandı. Detorsiyondan 30 dk önce 50 µg/kg deksmedetomidin İP yolla uygulandı. Bu grup 50 µg/kg deksmedetomidinin testiküler İR hasarı üzerine olası etkisini belirlemek için kullanıldı
Grup-4 (İ/R+100D) Testiküler İskemi Reperfüzyon +deksmedetomidin (100 µg/kg)	7	Sol testis dışarı alındıktan sonra torsiyone edildi. 1 saat iskemi periyodundan sonra detorsiyon işlemi uygulandı ve 4 saat reperfüzyon sağlandı. Detorsiyondan 30 dk önce 100 µg/kg deksmedetomidin İP yolla uygulandı. Bu grup 100 µg/kg deksmedetomidinin testiküler İR hasarı üzerine olası etkisini belirlemek için kullanıldı.

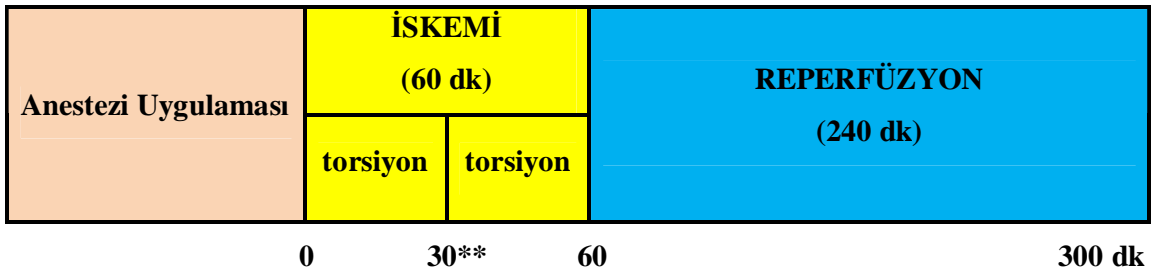
Grup-1 Sham



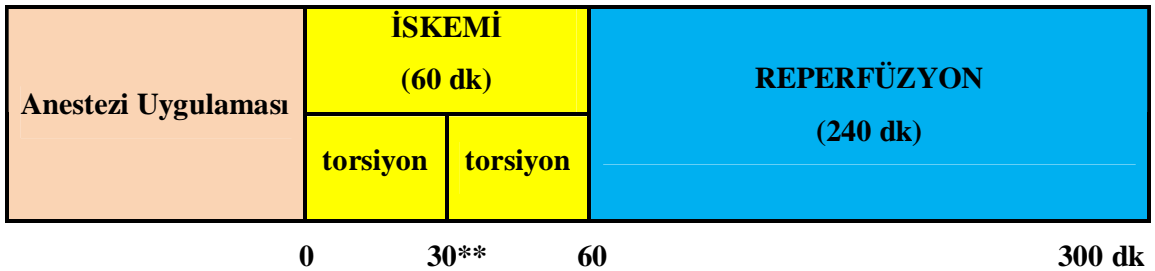
Grup-2 İ/R



Grup-3 İ/R+50D



Grup-4 İ/R+100D



*Serum fizyolojik uygulaması

**Deksmedetomidin uygulaması

Şekil-5. Çalışma grupları ve deney protokolünün şematik görünümü

Deneyin Tamamlanması ve Örneklerin Alınması

Dört saat reperfüzyon uygulamasından sonra anestezi altındaki ratlara orşiyektomi uygulandı. Elde edilen dokular iki parçaya bölündü. Birinci parça cerrahi tampon ile kurulandıktan sonra MDA ve NO ölçümünü içeren biyokimyasal işlemler için mikrosantrifüj (Eppendorf) tüplerine yerleştirildi ve ölçüm yapılacağı güne kadar Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda -80°C'de derin dondurucu içinde saklandı. İkinci parça histopatolojik inceleme için Bouin solüsyonu içerisine konuldu.

Örnekler alındıktan sonra ratlar, İP yolla 120 mg/kg tiyopental verilerek sakrifiye edildi.

Biyokimyasal Değerlendirme

Doku örneklerinin homojenizasyonu: Eritilen doku örnekleri %10'luk olacak şekilde hassas terazide 0.5g tartılarak falkon tüplerine konularak 4.5 mL soğutulmuş PBS eklendikten sonra buz içinde ultrasonik homojenizatörde 80 amplitüde 5 x 6 sn *pulse* ile (*Vibrocell, Sonics and Materials Inc, Panbury, Conneticut, USA*) homojenize edildi. 4000 g de 15 dk santrifügasyon sonrası üstte kalan homojenize edilmiş doku örnekleri MDA ve NO ölçümü için Eppendorf tüplerine konularak -80 °C'de analize kadar dondurularak saklandı.

Doku MDA düzeyi ölçümü: Doku homojenizatlarında MDA ölçümü, "*High-performance liquid chromatography*" (HPLC) yöntemi ile floresan deteksiyonla (Shimadzu VP Series and RF-10AXL floresan dedektör, Japan) yapıldı (51). Malondialdehit ölçümü için; 40 uL doku homojenizatlarına 100 uL saf su, 20 uL 2,8 mmol/L bütillenmiş hidroksi toluen, 20 uL %8.1 sodyum dodesil sülfat, 600 uL tiyobarbitürik asit eklendikten sonra 95 C'de 1 saat beklendi. Soğutulduktan sonra 1000 uL 1:15 piridin bütanol eklenerek vortekslendi. Organiz faz Eppendorf tüplerine alınarak 15 000 g'de 15 dk santrifügasyon sonrası üstteki kısım C18 [150x4,6 cm, partikül çapı 5 µm, (MN/EC 150/4.6 Nucleosil 100-5 C18, CatNo. 720120.46)] kolonuna enjekte edildi. Elüsyon işlemi 0.8 mL/dakika akış hızında gerçekleştirildi. Pikler Ex.515/Em.553 dalga boylarında detekte edildi. Malondialdehit piki 3.7 dk oluştu. Elde edilen MDA değerleri protein başına (µmol/g) oranlanarak düzeltildi.

Doku NO düzeyi ölçümü: Doku homojenizatlarında NO ölçümü, ticari "*Nitric Oxide Assay Kit*" (Catalog no: MA152037. Thermo Scientific. ABD) reaktif kiti kullanılarak ölçüldü (52). Bu kit ile 96'lık 2 plak kullanılarak testis doku örneklerinde nitrit ve nitratın kantitatif ölçümü yapıldı. Nitrat, nitrat redüktaz enzimiyle nitrite çevrildi ve daha sonra nitrit 540nm'de absorbans veren azo boyası oluşumuna dayanan *Griess* reaksiyonuyla ölçüldü (53). Toplam NO seviyesi, dönüştüğü metabolitleri nitrit ve nitrat seviyelerinin toplamı olarak

değerlendirildi (53,54). Elde edilen NO değerleri protein başına ($\mu\text{mol/g}$) oranlanarak düzeltildi.

Histopatolojik Değerlendirme

Testis doku örnekleri Bouin solüsyonunda 24-48 saat tespit edildikten sonra rutin histolojik takip işlemlerinin ardından dokular parafin bloklar haline getirildi. Mikrotom (*Leica RM2235*, Almanya) yardımıyla ince barsak dokusundan mikrotom bıçağı (*Feather S35*) yardımıyla $5\mu\text{m}$ kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesit örnekleri lamlara yayıldı ve hematoxilen-eosin (H-E) ile boyandı.

Kesitlerden elde edilen görüntülerin incelenmesinde bilgisayarlı video kamera esaslı görüntü analiz yöntemi kullanıldı (*UTHSCSA Image Tool software, for windows 3.0, Texas Univ, Amerika*). Tüm kesitler (her doku için en az 4 kesit) incelendi; sadece boyamaya bağlı belirgin artefaktları olan kesitler değerlendirme dışı tutuldu. Boyama tamamlandıktan sonra kesitler ışık mikroskopunda (*Olympus BX-51* Tokyo, Japonya) incelendi ve görüntüler yüksek çözünürlüğe sahip kamera yardımıyla bilgisayara aktarıldı (*Olympus DP-70, Tokyo, Japonya*) İncelenecek olan bütün kesitler dijital olarak fotoğraflandı.

Histolojik hasarı tanımlamada Cosentino ve ark. (55)'nin tanımladığı 4 dereceli skala kullanılarak skorlandı:

- **Grade I** : Düzenli germinal hücre dizilimi ile normal testiküler yapıyı;
- **Grade II** : Daha az düzenli, birbirinden ayrılmış germinal hücreler ve sıkıca birbirine yapışık seminifer tübülleri içeren yapıyı;
- **Grade III** : Büzülmüş piknotik nükleuslar ve belirsizleşmiş seminifer tübülü sınırları ile birlikte cansız germinal hücreler içeren düzensiz yapıyı;
- **Grade IV** : seminifer tübüllerin koagülasyon nekrozu ile sıkıca çevrelediği germinal hücre yapısını göstermektedir.

İstatistiksel değerlendirme

Windows için düzenlenmiş *Statistical Package of Social Sciences 15.0* (SPSS 15.0, Chicago, IL, USA) programı ile veri analizleri yapıldı. Değerler ortanca (min-max) olarak verildi. Gruplararası karşılaştırmalar Kruskal Wallis testi kullanılarak yapıldı. İkili grup karşılaştırmalarında ise Mann-Whitney *U* testi kullanıldı. $p<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

DEÜTF Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda gerçekleştirilen çalışmaya ortalama ağırlıkları 330 gr (300-350gr) olan toplam 28 adet rat dahil edildi, tüm denekler çalışmayı tamamladı.

Biyokimyasal Bulgular

Çalışmadan elde edilen biyokimyasal verilerin gruplara göre dağılımı Tablo 2'de sunulmuştur.

Tablo 2: Çalışma Gruplarından Elde Edilen MDA ve NO Değerleri (ortanca [min.-maks]).

	Grup 1 (Sham) n=7	Grup 2 (İ/R) n=7	Grup 3 (İ/R+50D) n=7	Grup 4 (İ/R+100D) n=7	p
MDA (µg mol/g protein)	0,33* (0,12-0,63)	0,82† (0,71-1,25)	0,67‡ (0,54-0,77)	0,41 (0,34-0,67)	0,000
NO (µg mol/g protein)	0,079§ (0,07-0,10)	0,122 (0,10-0,18)	0,09 (0,08-0,13)	0,09 (0,07-0,11)	0,003

*Grup 1'de Grup 2 ve 3'e kıyasla anlamlı fark

†Grup 2'de Grup 3 ve 4'e kıyasla anlamlı fark

‡Grup 3'de Grup 4'e kıyasla anlamlı fark

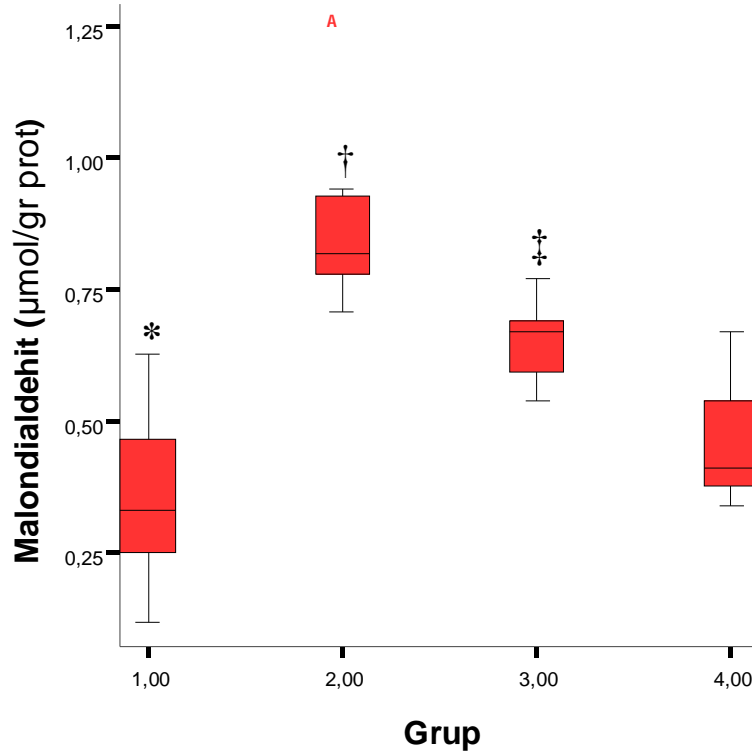
§ Grup 1'de Grup 2'ye kıyasla anlamlı fark

|| Grup 2'de Grup 3 ve 4'e kıyasla anlamlı fark

Doku MDA Düzeyleri

Sham, İ/R, İ/R+50D, İ/R+100D grupları MDA düzeyleri açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında ortaya çıkan fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.000$). Gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda torsiyon ve detorsiyonun uygulanmadığı *Sham* grubu gerek İ/R grubundan ($p=0.002$) ve gerekse İ/R+50D grubundan ($p=0.006$) istatistiksel olarak

farklı bulundu. Ayrıca İ/R uygulanan Grup 2’de deksmedetomidinin 50 µg/kg ($p=0.003$) ve 100 µg/kg ($p=0.002$) dozunda uygulandığı gruplara kıyasla anlamlı fark saptandı. İlacın iki farklı dozunun uygulandığı Grup 3 ve Grup 4 arasında ortaya çıkan farkın da istatistiksel açıdan anlamlı olduğu belirlendi ($p=0.01$). Doku MDA düzeyleri açısından *Sham* ve İ/R+100D arasındaki fark ise anlamlı bulunmadı ($p=0.18$) (Tablo 2) (Grafik-1).



Grafik-1 Testiküler dokuda malondialdehit (MDA) düzeyleri

*Grup 1’de Grup 2 ve 3’e kıyasla anlamlı fark

†Grup 2’de Grup 3 ve 4’e kıyasla anlamlı fark

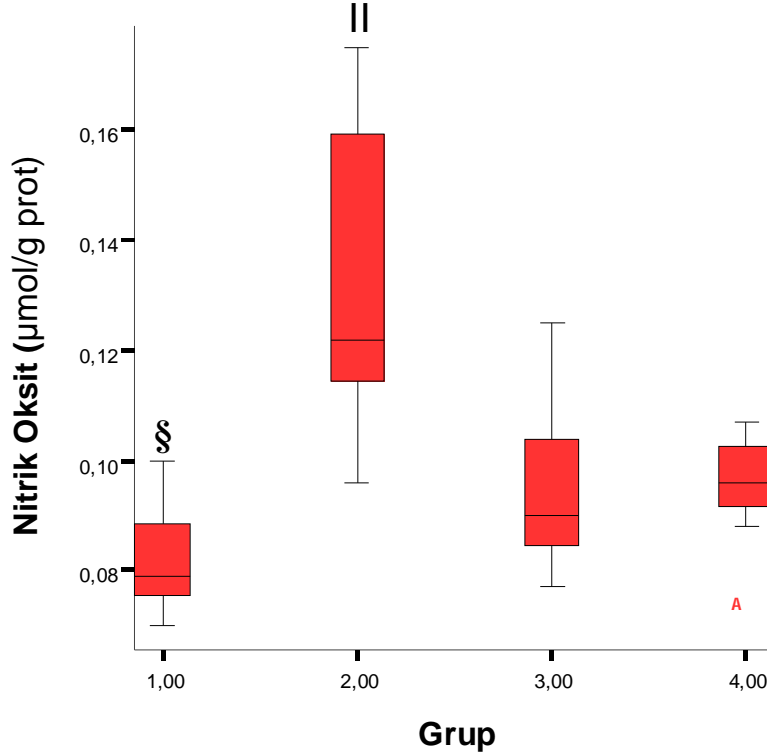
‡Grup 3’de Grup 4’e kıyasla anlamlı fark

Gruplar arasında doku MDA düzeyleri açısından elde edilmiş olan bu farklılık;

- İ/R sonucunda MDA düzeyinde anlamlı artış olduğu,
- 50 µg/kg deksmedetomidin uygulamasıyla MDA düzeyinin kısmen düştüğü,
- 100 µg/kg deksmedetomidin uygulamasıyla ise MDA düzeyinin, kontrol değerlerinin elde edildiği *Sham* grubundaki değerlere yaklaştığı, bir başka ifadeyle bu dozda verilen ilacın İ/R hasarını önlemede etkin olduğu şeklinde yorumlandı.

Doku NO Düzeyleri

Gruplar doku NO düzeyleri açısından karşılaştırıldığında, aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.003$). Gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda *Sham* grubu yalnızca İ/R grubundan istatistiksel olarak farklı bulundu ($p=0.003$). İskemi reperfüzyonun etkilerinin araştırıldığı İ/R grubunda da deksmedetomidinin 50 µg/kg dozunda uygulandığı İ/R+50D ($p=0.021$) ve 100 µg/kg dozunda uygulandığı İ/R+100D ($p=0.007$) gruplarına kıyasla anlamlı fark elde edildi. Kontrol amacıyla oluşturulan *Sham* grubu ile İ/R+50D ($p=0.096$) ve İ/R+100D ($p=0.085$) arasındaki farklılıklar anlamlı bulunmadı. Benzer şekilde ilacın iki farklı dozunun uygulandığı İ/R+50D ve İ/R+100D grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.094$) (Tablo 2) (Grafik-2).



Grafik-2 Testiküler dokuda nitrik oksit (NO) düzeyleri

§ Grup 1'de Grup 2'ye kıyasla anlamlı fark

|| Grup 2'de Grup 3 ve 4'e kıyasla anlamlı fark

Doku NO düzeylerinden elde edilen veriler;

- İskemi-reperfüzyon ile NO düzeyinin arttığı,
- Artmış olan bu NO düzeyinin deksmedetomidin uygulamasıyla kontrol değerlerine yaklaştığı,
- İlacın 50 ve 100 µg/kg'lık dozlarının doku NO düzeyine etkisinin benzer olduğu şeklinde yorumlandı.

Histopatolojik Bulgular

Gruplar histopatolojik değerlendirme yönünden karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.000$). Grupların ikili karşılaştırmalarında kontrol verileri elde etmek amacıyla oluşturulmuş olan *Sham* grubunun İ/R grubundan ($p=0.001$), İ/R+50D grubundan ($p=0.01$) ve İ/R+100D grubundan ($p=0.01$) farklı olduğu saptandı. İ/R grubunda ortaya çıkan farkın da deksmedetomidinin 50 µg/kg dozunda uygulandığı İ/R+50D ($p=0.001$) ve 100 µg/kg dozunda uygulandığı İ/R+100D ($p=0.001$) gruplarına göre istatistiksel açıdan anlamlı olduğu belirlendi. İ/R+50D ve İ/R+100D grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=1.00$).

Kesitlerin histopatolojik değerlendirme sonuçlarının gruplara göre dağılımı Tablo 3'de sunulmuştur.

Tablo 3: Histopatolojik Skorların Gruplara Göre Dağılımı

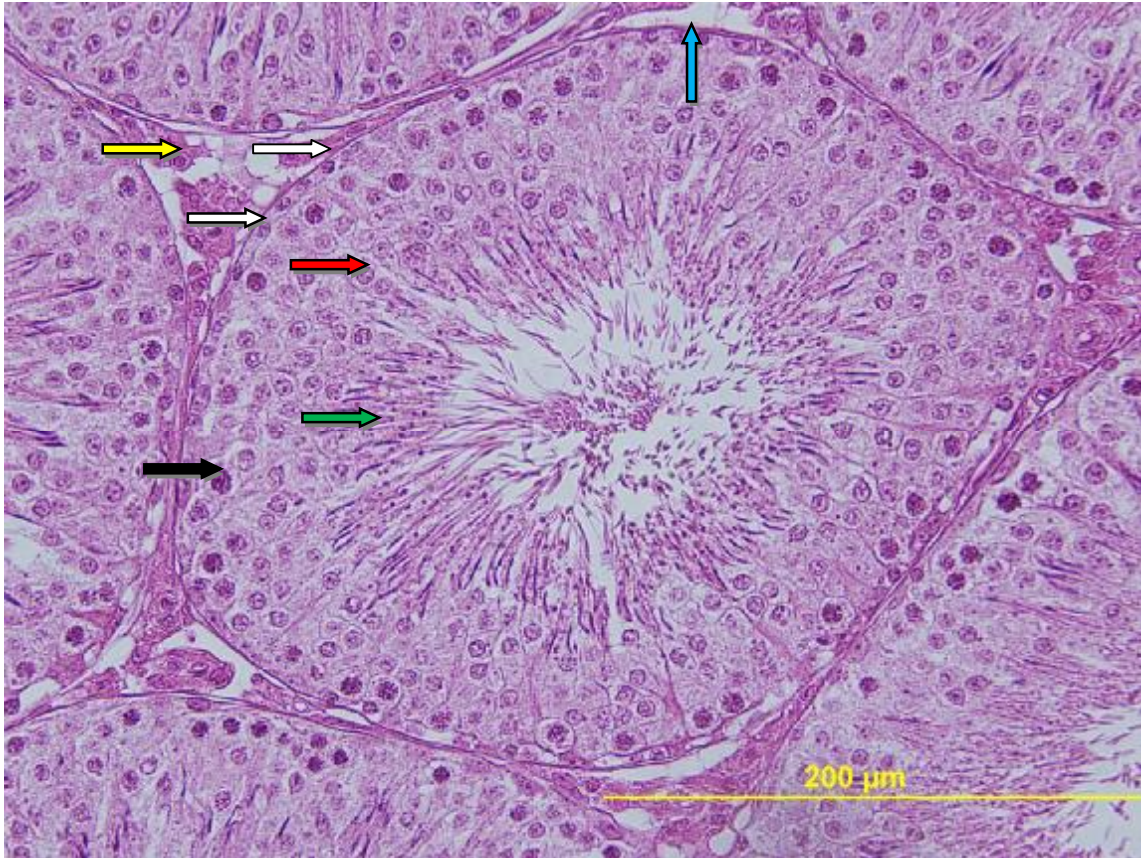
HİSTOPATOLOJİK SKOR	GRUP-1 <i>Sham</i> (n=7)	GRUP-2 İ/R (n=7)	GRUP-3 İ/R+50D (n=7)	GRUP-4 İ/R+100D (n=7)
1	6*			
2	1*		6	6
3		6 [†]	1	1
4		1 [†]		

* Grup 1'de Grup 2, 3 ve 4'e kıyasla anlamlı fark

† Grup 2'de Grup 3 ve 4'e kıyasla anlamlı fark

Sham grubunun testis kesitlerinin mikroskopik olarak incelenmesi sonucunda; testis dokusunun parankimasını seminifer túbüller, interstisyel bağ dokusu ve interstisyel alandaki Leydig hücrelerinin oluşturduğu, gevşek bağ dokusu, normal bağ dokusu hücreleri, damarlar etrafında kümelenmiş normal yapıda Leydig hücrelerinin bulunduğu, yine normal yapıda seminifer túbüller ve seminifer túbüllerin bazal membranı üzerine oturmuş spermatogonyumlar, yer yer Sertoli hücreleri ve bunların üzerinde olgunlaşmakta olan spermaların üzerinde olgunlaşmakta olan spermaların (spermatidler, spermiumlar) bulunduğu düzenli germinal hücre dizilimi saptandı (Resim-1).

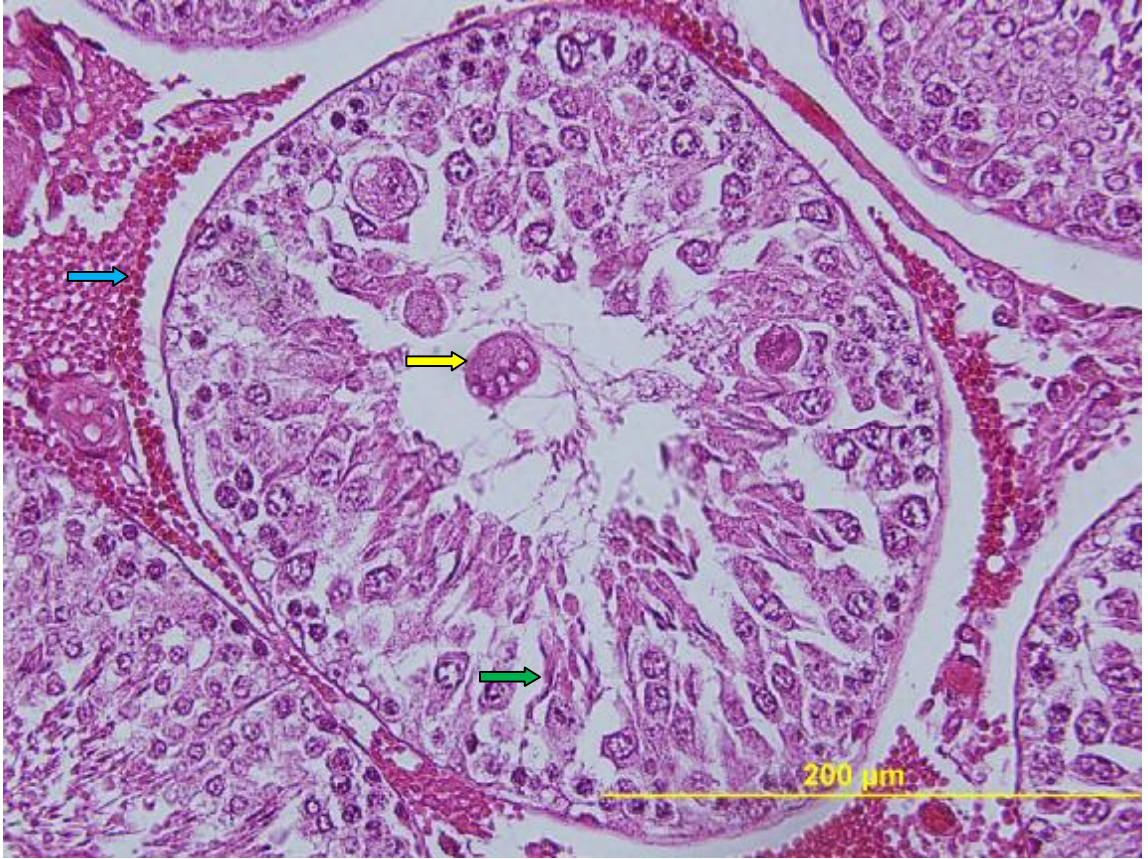
Bu veriler normal testis dokusu bulgularıyla uyumlu bulundu.



Resim-1. *Sham* grubundan bir deneğe ait mikroskopik görüntü. Normal testiküler yapı (beyaz ok: Spermatogonia, siyah ok: Primer Spermatozit, yeşil ok: Spermium, sarı ok: Leydig hücresi, kırmızı ok: spermatid, mavi ok: bazal membran)40X

İ/R grubunun testiküler doku kesitlerinde; germinal epitelde hücrelerarası bağlantı komplekslerinin kaybolduğu, hücrelerin birbirinden ayrıldığı, interstisyel alanda kan damarları çevresinde hemoraji, ödem, ve konjesyonun varlığı, tübüllerde büzülme, tübül içi ödem, lümeneye dökülmüş halde spermatogenik hücre kümeleri ve tübüllerde germinal epitelin bazal membrandan ayrıldığı gözlemlendi (Resim-2).

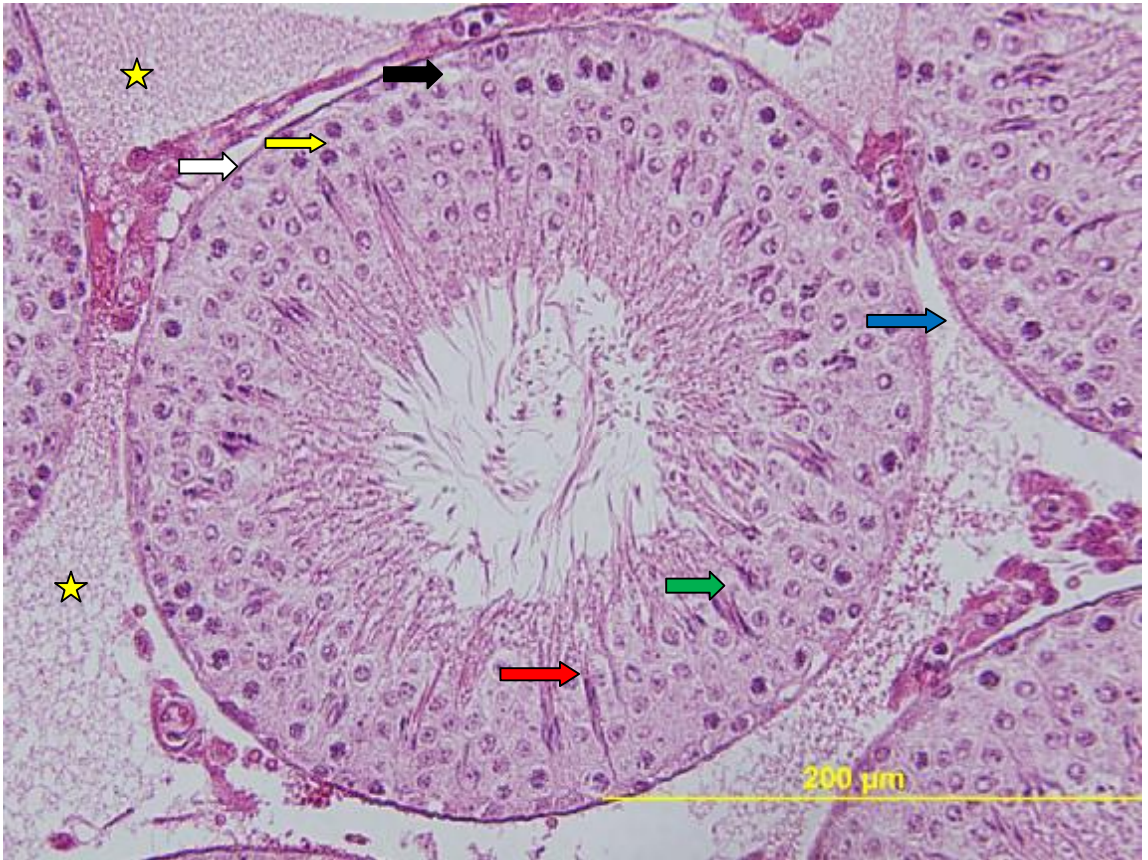
Bu veriler testis dokusunda ileri derecede hasarlanma olduğu şeklinde yorumlandı.



Resim-2. İ/R grubundan bir deneğe ait mikroskopik görüntü. Belirsizleşmiş seminifer tubül sınırları, hemoraji, ödem, ve konjesyonun varlığı, (mavi ok: interstisyel alanda hemoraji, yeşil ok: epitel hücrelerinde ayrılma, sarı ok: lümeneye dökülmüş spermatogenik seri hücreleri) 40X

İ/R+50D grubunun testis dokusu kesitlerinde; düzenli germinal epitele sahip seminifer tübüllerin, germinal epitelde hücrelerarası ayrılmalar ve bazal membrandan kopmaları da içeren tübüllerin bir arada olduğu yine nadiren büzülmüş tübülüslerin yanında düzenli spermatogenik hücre serisi hücrelerine sahip tübülüslerin çoğunlukta olduğu, nadir alanlarda interstisyel hemoraji varlığı görüldü. Ayrıca seminifer tübüllerin düzenli hücre dizilimine sahip olduğu, Leydig hücrelerinin normal hücresel özellikte olduğu saptandı (Resim-3)

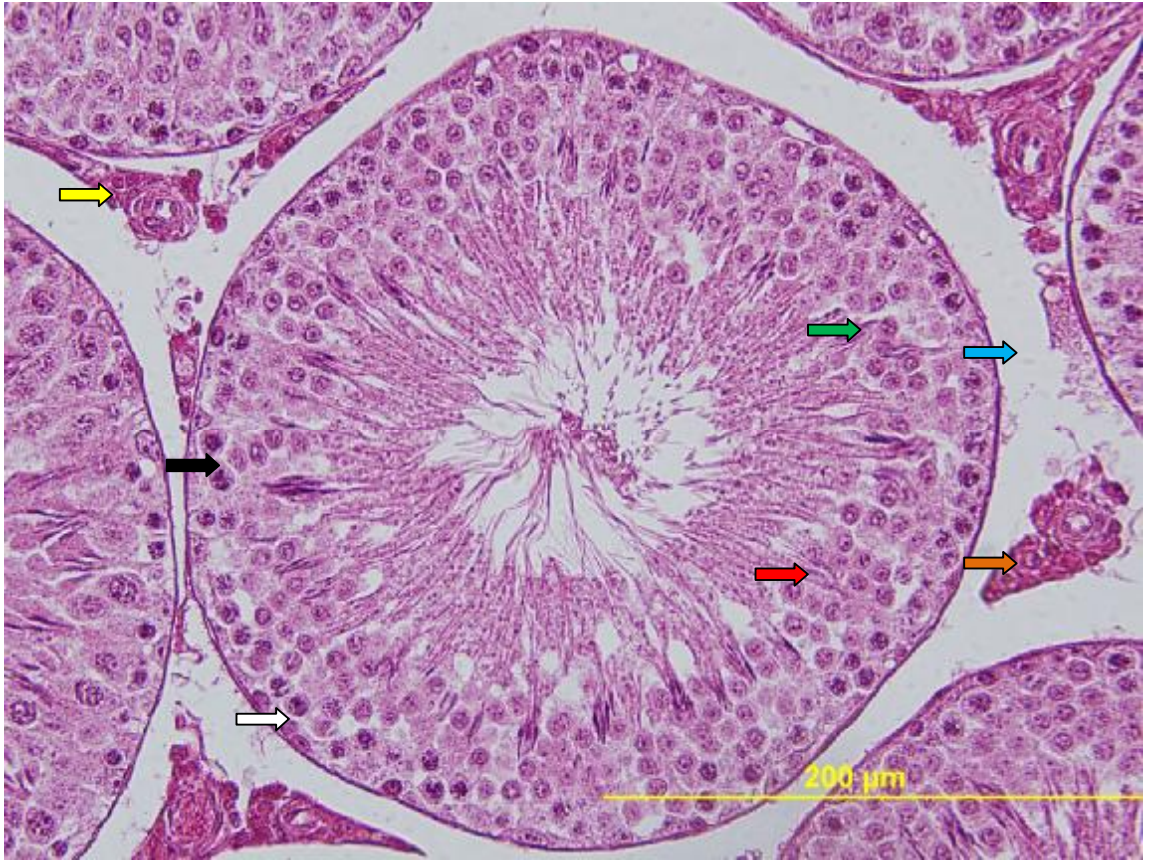
Bu veriler testis dokusundaki hasarlanmanın İ/R grubundan daha az olmadığı şeklinde yorumlandı.



Resim-3. İ/R+50D grubundan bir deneğe ait mikroskopik görüntü. (beyaz ok: Spermatogonia, yeşil ok: spermiyum, kırmızı ok: spermatid, mavi ok: bazal membran, sarı ok: Primer Spermatosit, yıldız: interstisyel alanda ödem) 40X

İ/R+100D grubunun testis dokusu kesitlerinde; germinal epitel hücreleri arasında nadiren hücresel ayrılmaların olduğu, Leydig hücrelerinin interstisyel alanda kan damarları çevresinde kümeleştiği, morfolojisinin normal olduğu görüldü. Ayrıca seminifer tübül lümeninde spermiumlar tespit edildi. Düzenli germinal epitele sahip tübüllerin, *Sham* grubu ile benzer özellikte olduğu saptandı (Resim-4).

Bu gruba ait kesitlerden elde edilen veriler testis dokusunda hasar oluştuğu ancak germinal epitel ve hücre morfolojisinin *Sham* grubu ile benzer özellikte olduğu şeklinde yorumlandı.



Resim-4. İ/R+100D grubundan bir deneğe ait mikroskopik görüntü. (beyaz ok: Spermatogonia, kırmızı ok: Spermatid, yeşil ok: Spermium, sarı ok: İnterstisyel alan, mavi ok: Bazal membran, siyah ok: Primer Spermatozit, turuncu ok: Leydig hücresi) 40X

TARTIŞMA

Testiküler torsiyon ve detorsiyon sonucunda ortaya çıkan testiküler hasar tablosunun bir İ/R modeli olduğu belirlenmiştir (14,56,57). Bu etkilerin testiste atrofiye, germ hücrelerinde hasarlanmaya ve klinikte infertiliteye yol açtığı gösterilmiştir (3-5). Deneysel çalışmalarda testiküler iskemiye en duyarlı olan hücrelerin germ hücreleri olduğu bildirilmiştir (5,6).

Testis torsiyonu sonrasında detorsiyon uygulansa bile ortaya çıkabilecek olan bu hasarlanmayı azaltmaya yönelik tedavi stratejileri geliştirmek amacıyla çok sayıda çalışma yapılmıştır (4,9-18). Deneysel modellerde oksijen radikal süpürücüleri gibi kimyasal ajanlar İ/R hasarını engellemede başarılı bulunmuş, fakat ciddi yan etkileri nedeniyle bunların çok azı bu amaçla klinik kullanıma girebilmiştir (13,15,58-60).

Deksmedetomidinin testiküler İ/R üzerine olan etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada; kolay temin edilmesi, deneysel İ/R modellerinin kullanıldığı ve deksmedetomidinin antiinflamatuvar etkinliğinin incelendiği çalışmalarda kullanılmış olması ve çalışmada yer alan araştırmacıların ratlarda daha çok deneyiminin bulunması nedeniyle deney hayvanı olarak rat seçilmiştir (4,9-17,20-25, 27).

Klinikte testis torsiyonları ile 360° ile 720° arasında karşılaştığı (30,61), sol testisin daha uzun bir spermatik korda sahip olmasından dolayı sol testis torsiyonunun sağ testise oranla iki defa daha sık görüldüğü bildirilmiştir (35).

Deneysel çalışmalarda ise farklı torsiyon derecelerinin araştırıldığı dikkati çekmiştir. Heindel ve ark. (62) ratlarda testisin 360° torsiyonunun herhangi bir değişikliğe yol açmadığını, 720° ve fazlasının fertilitede azalmaya neden olduğunu belirtmişlerdir.

Turner ve ark. (63) ratlarda gerçekleştirdikleri bir çalışmada longitudinal aksı boyunca testise 180°, 360° ve 720° torsiyon uygulamışlardır. Torsiyone testisi sırasıyla 1, 2 ve 4 saat sonra detorsiyone eden çalışmacılar, sonuçta 360° ve bir saatlik torsiyonun yalnızca akut vasküler değişimlere yol açtığını, 720° ve dört saatlik torsiyonun ise tam iskemiyle sonuçlandığını saptamışlardır.

Ratlarda deneysel ekstravaginal torsiyon modelinde süre ile hasarlanma derecesinin birbirleriyle ilişkili olduğu ve hasarlanma için en az 540° torsiyon gerektiği bildirilmiştir (64).

Bu çalışmada gerek klinikte en çok karşılaşılan torsiyon türü olması, gerekse İ/R için en

uygun model olduğunun belirlenmiş olması nedeniyle sol testis torsiyonu uygulanmış ve literatürde hasarlanma için gerekli torsiyon derecesi olduğu bildirilen 720° seçilmiştir.

Testiküler İ/R oluşturmak üzere T/D yönteminin kullanıldığı çalışmalarda farklı iskemi ve reperfüzyon sürelerinin denenmiş olması da dikkat çekici bulunmuştur (4,6, 9-13,49). Akgür ve ark. (14) çalışmalarında 1, 3 ve 5 saat 720° tek taraflı sol testis torsiyon uyguladıkları rat modelinde detorsiyon sonrası 5 saate kadar biyokimyasal olarak reperfüzyon hasarı geliştiğini saptamışlardır. Cosentino ve ark. (65) ise değişik sürelerde uyguladıkları torsiyon sonrasında testisleri inceledikleri çalışmalarında 3 saat 720° torsiyon sonrasında testiküler kan akımının geri dönmediğini ve dokuda nekroza varan ciddi değişikliklerin görüldüğünü tespit etmişlerdir. Ayrıca, arteriyel obstrüksiyonda 2 saat, venöz obstrüksiyonda ise 6 saat içinde testiste geri dönüşümsüz hasarlanma, yani nekroz geliştiği gösterilmiştir (34,35,60,66). Benzer şekilde, bir saat boyunca, 720° torsiyonun, rat modelinde spermatogenezi durdurmak için yeterli olduğu tespit edilmiştir (56). Turner ve ark. (67) ise lipid peroksidasyonunun reperfüzyondan 4 saat sonra belirgin olarak arttığını bildirmişlerdir. Bu verilerle uyumlu olarak Akgür ve ark. (68) da çalışmalarında lipid peroksidasyonunun arttığı zamanın detorsiyondan 4 saat sonra olduğunu tespit etmişlerdir. Torsiyon ve detorsiyon sürelerinin araştırıldığı çalışmalardan elde edilen verilerin ışığında çalışmamızda bir saatlik torsiyon ve dört saatlik detorsiyon uygulanması yeğlenmiştir.

İskemi reperfüzyon sürecinde ROT/RNT artışı, inflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-6, IL-1 β) serbestleşmesi, nötrofil infiltrasyonu, oksijen radikallerinde (süper oksit anyonu) artış, membran lipidlerinin serbest radikallerle peroksidasyonu ile oluşan lipid peroksidasyonunun hücre yapısında hasar oluşturduğu bildirilmiştir (6,8,57,69,70). Doku lipid peroksidasyonunun İ/R'un en önemli belirteci olduğu (8,69,70) ve bu içeriğin en iyi şekilde peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan MDA düzeyi ölçümü (6,8-12,15,18) ile gösterilebildiği belirtilmiştir. Bozlu ve ark.(71) çalışmalarında testiküler dokudaki MDA düzeylerinin reperfüzyon başladıktan dört saat sonra arttığını bildirmişlerdir. Diğer yandan, torsiyonun testiküler hasar üzerine etkilerini araştıran Shiraishi ve ark. (49) iNOS ile NO üretiminin ratlarda nekrotik veya apoptotik germ hücre ölümüne yol açtığını göstermişlerdir. Ayrıca aşırı üretilen iNOS'un testiküler dokuda NO'nun toksik düzeylere ulaştığını ve rat testisinde apoptotik germ hücrelere neden olduğunu saptamışlardır. Reperfüzyon döneminde NO düzeyinin arttığı tespit edilmiştir (6,8,18). Benzer şekilde Üstün ve ark. (58) ipsilateral testiküler dokuda İ/R sonrasında iNOS, eNOS ve NO düzeylerinde artışın meydana geldiğini belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda da hem İ/R hasarının en iyi belirteçleri arasında sayılması, hem de

verilerimizi kıyaslayabileceğimiz çalışmalarda kullanılmış olması nedeniyle testiküler İ/R etkilerini biyokimyasal olarak göstermek için, detorsiyondan dört saat sonraki MDA ve NO düzeylerinden yararlanılmıştır.

Turner ve ark. (57), testisin reperfüzyonundan sonra inflamatuvar sitokinlerden TNF- α ve IL-1 β 'de artış olduğunu tespit etmişlerdir. Reperfüzyondan sonra NO ve makrofajlardan serbestleşen TNF- α , IL-6, IL-1 β gibi mediyatörlerle inflamasyonun başladığını ve şiddetlendiğini, sitokinlerle uyarılan nötrofiller ve ROT'un reperfüzyon hasarında etkin olduğunu bildirmişlerdir.

İskemi-Reperfüzyon modellerinde deksmedetomidinin kullanıldığı çalışmalarda ilacın presinaptik α -2 adrenoreseptörler üzerinden etki gösterdiği ve aşırı noradrenalin sekresyonu ile oluşan iskemiye engellediği saptanmıştır (5,19,22-24). Bu yöndeki etkisiyle deksmedetomidinin; noradrenalin sekresyonu ile oluşan aşırı metabolizmayı durdurarak, SOR oluşumunu azalttığı, O₂ radikallerinin potansiyel doku hasarı oluşturucu etkisini engellediği saptanmıştır (23).

Gerek İ/R modellerinde, gerekse de diğer inflamatuvar yanıt çalışmalarında deksmedetomidinin etkinliğinin belirlenmesi için uygulanması gereken doz aralığına yönelik kesin bir bilgiye rastlanamamıştır. Hancı ve ark.(29)'nın ratlarda testiküler iskemi reperfüzyon modelinde 10 μ g/kg deksmedetomidinin etkisini araştırdıkları belirlenmiştir.

Bu çalışmada intraperitoneal yolla uygulanan deksmedetomidin dozu, literatürde güvenle kullanıldığı bildirilen en yüksek doz olan 100 μ g/kg (23,28) olarak belirlenmiş ve olası koruyucu etkinliğinin doza bağımlı olup olmadığını araştırmak amacıyla ikinci doz 50 μ g/kg olarak seçilmiştir.(72)

Çalışmamızda yalnızca torsiyon ve detorsiyon uygulayarak İ/R'un etkilerinin araştırıldığı grupta gerek MDA ve NO düzeyleri, gerekse histopatolojik veriler *Sham* grubu ile kıyaslanmış ve bu grupta iskemi ve reperfüzyonun gerçekleştiği belirlenmiştir. Bu bulgular, aynı iskemi ve reperfüzyon sürelerinin uygulandığı Yağmurdur ve ark. (18), Hancı ve ark. (29) ile Beheshtian ve ark. (15)'na ait verilerle uyumlu bulunmuştur.

Deksmedetomidinin farklı iki dozunun uygulandığı ilaç gruplarının her ikisinde de MDA ve NO düzeyleri ilaç uygulanmayan İ/R grubuna kıyasla düşük bulunmuştur. Bu veriler deksmedetomidinin testiste torsiyon ve detorsiyonla oluşturulan İ/R hasarının etkilerini azalttığı şeklinde yorumlanmıştır. Aynı model üzerinde deksmedetomidini 10 μ g/kg dozunda uygulayan Hancı ve ark. (29) da MDA ve NO düzeylerini İ/R gruplarına kıyasla düşük bulmuşlardır. Çalışmalarında ikinci bir doz seçmemiş olmaları ve ölçüm yöntemlerindeki

olası teknik farklılık nedeniyle Hancı ve ark. (29)'nın elde ettikleri verileri bu çalışmadan çıkan bulgularla kantitatif olarak kıyaslama olanağı söz konusu olamamıştır. Ancak, Taniguchi ve ark. (21) deksmedetomidinin inflamatuvar yanıtları inhibe ettiğini, alveol duvarlarındaki nötrofil infiltrasyonunu azalttığını, akciğer hasarını hafiflettiğini, ajanın bu etkileri doza bağımlı olarak gerçekleştirdiğini saptamışlardır. Deksmetomidinin etkisinin doza bağımlı olduğu çok sayıda çalışmada belirlenmiş ve bu sonuçlar elde ettiğimiz doku MDA düzeylerindeki doza bağımlı etkiyi destekler nitelikte bulunmuştur. Deksmetomidinin iki farklı dozunun uygulanmasının ardından elde edilen NO düzeyinin farklılık göstermemesi ise, reperfüzyondan dört saat sonra kontrol değerlerine çok yaklaşmış olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Histolojik skorlar açısından deksmedetomidinin İP yolla 50 ve 100 µg/kg'lık farklı iki dozunun uygulandığı gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ancak ilacın 100 µg/kg dozunda kullanıldığı İ/R+100D grubuna ait kesitlerin mikroskopik incelemeleri ile elde edilen sonuçlarda, germinal epitele sahip tübülüslerin *Sham* grubuyla benzer özellikler gösterdiği saptanmıştır. *Sham* grubundan farklı olarak nadiren germinal epitel hücreleri arasında hücresel ayrılmalar gözlenmiştir. Bu hücrelerarası ayrılmaların, hatta bazı alanlarda bazal membrandan kopmalar içeren tübüllerin İ/R+50D grubunda daha fazla görülmesi ilacın doza bağımlı etki gösterdiği kanısını güçlendirmiştir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu deneysel çalışmada rat testiküler iskemi reperfüzyon modelinde 50 ve 100 µg/kg'lık dozlarda uygulanan deksmedetomidinin etkileri, doku malondialdehit, doku nitrik oksit düzeyleri ve histopatolojik inceleme ile araştırılmıştır.

İskemi ve reperfüzyonun ardından yükselen doku malondialdehit düzeyi deksmedetomidin uygulamasıyla doza bağımlı olarak düşmüştür.

Nitrik oksit düzeyleri de reperfüzyonun ardından yükselmiş, her iki ilaç grubunda da kontrol değerlerine dönmüştür.

Histopatolojik olarak da ilaç gruplarında doza bağımlı etki gözlenmiştir.

Yoğun bakım ünitelerinde sedasyon amacıyla kullanımı onaylanmış olan deksmedetomidinin klinik dozunun ilk 10 dk için 1 µg/kg olduğu göz önünde bulundurularak ilacın, acil koşullarda gerçekleştirilen testis detorsiyon girişimlerinde klinik bir seçenek oluşturmasından önce daha düşük dozlarının ve farklı uygulama zamanlarının etkinliğinin de araştırılmasının uygun olacağı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR:

1. Sade M, Esen A, Çelebi İ, Mungan U. Ürogenital sistemin acil yaklaşım gerektiren hastalıkları; Göğüş O, Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N. (Eds.): Temel Üroloji, Güneş Kitabevi, Ankara 1998;963
2. Barada JH, Weingarten JL, Cromie WJ. Testicular salvage and age-related delay in the presentation of testicular torsion. J Urol 1989;142:746-8
3. Krarup T: The testes after torsion. Br J Urol 1978;50:43-6
4. Mogilner JG, Lurie M, Coran AG, Nativ O et al. Effect of diclofenac on germ cell apoptosis following testicular ischemia-reperfusion injury in a rat. Pediatr Surg Int 2006;22:99-105
5. Becker EJ, Turner TT. Endocrine and exocrine effects of testicular torsion in the prepubertal and adult rat. J Androl 1995;16:342-51
6. Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. Pharmacol Rev 2001;53:135-59
7. Lysiak JJ, Nguyen QA, Turner TT. Peptide and nonpeptide reactive oxygen scavengers provide partial rescue of the testis after torsion. J Androl 2002;23:400-9
8. Filho DW, Torres MA, Bordin AL, Crezcynski-Pasa TB et al. Spermatic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia-reperfusion injury. Mol Aspects Med 2004;25:199-210
9. Aksoy H, Yapanoglu T, Aksoy Y, Ozbey I et al. Dehydroepiandrosterone treatment attenuates reperfusion injury after testicular torsion and detorsion in rats. J Pediatr Surg 2007;42:1740-4
10. Dokmeci D, Kanter M, Inan M, Aydogdu N et al. Protective effects of ibuprofen testicular torsion/detorsion-induced ischemia reperfusion injury in rats. Arch Toxicol 2007;81:655-63

11. Salmasi AH, Beheshtian A, Payabvash S, Demehri S et al. Effect of morphine on ischemia-reperfusion injury: experimental study in testicular torsion rat model. *J Urology* 2005;66:1338-42
12. Koc A, Narci A, Duru M, Gergerlioglu HS et al. The protective role of erdosteine on testicular tissue after testicular torsion and detorsion. *Mol Cell Biochem* 2005;280:193-9
13. Uz E, Sogut S, Sahin S, Var A, et al. The protective role of caffeic acid phenethyl ester on testicular tissue after testicular torsion and detorsion. *World J Urol* 2002;20:264–270
14. Akgur F, Kilinc K, Aktug T, Olguner M: The effect of allopurinol pretreatment before detorting testicular torsion. *J Urol* 1994;151:1715–1717
15. Beheshtian A, Salmasi AH, Payabvash S, Kiumehr S, et al. Protective effects of sildenafil administration on testicular torsion/detorsion damage in rats. *World J Urol* 2008;26:197–202
16. Sarica K, Bakir K, Yagci F, Erbagci A, et al. Unilateral testicular torsion:protective effect of verapamil on contralateral testicular histology. *Urol Int* 1999;62:159–163
17. Cakan M, Cakan T, Aydos T, Yilmazer D, et al. Sıçan testisindeki iskemi-reperfüzyon hasarı sonucu oluşan oksidatif stres ve histopatolojik değişiklikler üzerine ketoprofenin koruyucu etkisi. *Türk Üroloji Dergisi* 2007;33(1):50-55
18. Yagmurdur H, Ayyildiz A, Karaguzel E, Ogus E et al. The preventive effects of thiopental and propofol on testicular ischemia-reperfusion injury. *Acta Anaesthesiol Scand* 2006;50:1238-43
19. Gertler R, Brown HC, Mitchell DH, Silvius EN. Dexmedetomidine: a novel sedative-analgesic agent. *Proc BUMC (Bayl Univ Med Cent)* 2001;14:13-21
20. Taniguchi T, Kidani Y, Kanakura H, Takemoto Y et al. Effects of dexmedetomidine on mortality rate and inflammatory responses to endotoxininduced shock in rats. *Crit Care Med* 2004;32:1322-6

21. Taniguchi T, Kurita A, Kobayashi K, Yamamoto K et al. Dose- and timerelated effects of dexmedetomidine on mortality and inflammatory responses to endotoxin-induced shock in rats. *J Anesth* 2008;22:221-8
22. Venn RM, Bryant A, Hall GM, Grounds RM. Effects of dexmedetomidine on adrenocortical function and the cardiovascular, endocrine and inflammatory responses in post-operative patients needing sedation in the intensive care unit. *Br J Anaesth* 2001;86:650-6
23. Hoffman WE, Kochs E, Werner C, Thomas C et al. Dexmedetomidine improves neurologic outcome from incomplete ischemia in the rat. Reversal by the alpha 2-adrenergic antagonist atipamezole. *Anesthesiology* 1991;75:328-32
24. Jolkkonen J, Puurunen K, Koistinaho J, Kauppinen R et al. Neuroprotection by the alpha2-adrenoceptor agonist, dexmedetomidine, in rat focal cerebral ischemia. *Eur J Pharmacol* 1999;372:31-6
25. Eser O, Fidan H, Sahin O, Cosar M et al. The influence of dexmedetomidine on ischemic rat hippocampus. *Brain Res* 2008;1218:250-6
26. Yagmurdur H, Ozcan N, Dokumaci F, Kilinc K et al. Dexmedetomidine reduces the ischemia-reperfusion injury markers during upper extremity surgery with tourniquet. *J Hand Surg Am* 2008;33:941-7
27. Yang CL, Tsai PS, Huang CJ. Effects of dexmedetomidine on regulating pulmonary inflammation in a rat model of ventilator-induced lung injury. *Acta Anaesthesiol Taiwan* 2008;46:151-9
28. Kocoglu H, Ozturk H, Ozturk H, Yılmaz F. Effect of dexmedetomidine on ischemia-reperfusion injury in rat kidney: a histopathologic study. *Renal Failure* 2009;31:70-74
29. Hancı V, Erol B, Bektas S, Mungan G et al. Effect of dexmedetomidine on testicular torsion/detorsion damage in rats. *Urol Int* 2010;84(1):105-11
30. Hutson JM. Undescended testis, torsion and varicocele. In: O'Neill JA, Rowe MI, GrosfeldJL, Fonkalsrud EW, Coran AG (Eds.). *Pediatric surgery*. vol.2, 5th ed. St.

Louis: Mosby-YearBook Inc; 1998. p.1099-101

31. Prater JM, Overdorf BS. Testicular torsion: a surgical emergency. *Am Fam Physician* 1991;44:834-40
32. Ringdahl E, Teaque L. Testicular torsion, *Am Fam Physician* 2006;15:74,10:1739-1743
33. Pentyala S, Lee J, Yalamanchili P, Vitkun S et al. Testicular torsion: A review. *J Low Urin Tract Dis* 2001;5(1):38-47
34. Shukla RB. Association of cold weather with testicular torsion. *Br Med J* 1982; 285:1459-60
35. Fonkalsrud EW. Testicular undescend and torsion. *Pediatr Clin North Am* 1987;34(5):1305-17
36. Sheldon CA. The pediatric genitourinary examination: Inguinal, urethral and genital diseases *Pediatr Clin North Am* 2001;48(6):1339-80
37. Kumar V, Cotran R, Robbins SL. *Basic Pathology*. 6th ed 2000:P:6-10,30-36
38. 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
39. Bulkley GB. Free radical-mediated reperfusion injury: a selective review. *Br J Cancer* 55:63-66,1987
40. Grace PA. Ischemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994;81:637-47
41. Granger DN Ischemia-reperfusion: mechanisms of microvascular dysfunction and the influence of risk factors for cardiovascular disease. *Microcirculation* 1999 6:167–178
42. Korthuis RJ, Granger DN, Townsley MI, Taylor AK: The role of oxygen-derived free radicals in ischemia-induced increases in canine skeletal muscle vascular permeability. *Circ Res* 57 1985;599–609

43. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations and preventations of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology* 2001;94:1133-8
44. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions *Mayo Clin Proc* 1988;381-9
45. Moon C, Ahn M, Kim S, Yasuzumi F et al. Increased expression of both constitutive and inducible forms of nitric oxide synthase in the delayed phase of acute experimental testicular torsion. *J Vet Med Sci* 2005;67(4):453-56
46. Moon C, Yasuzumi F, Okura N, Kim H et al. Enhanced expression of tyrosine kinase receptor a in germ cells of rat testis with acuteexperimental testicular torsion. *Urol Int* 2005;74(1):79-85
47. Ozkurkcugil C, Yardimoglu M, Dalcik H, Erdogan S et al. Effect of insulin-like growth factor-1 on apoptosis of rat testicular germ cells induced by testicular torsion. *BJU Int* 2004;93:1094-97
48. Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med* 1993;21:1376-86
49. Shiraishi K, Naito K, Yoshida K: Nitric oxide promotes germ cell necrosis in the delayed phase after experimental testicular torsion of rat. *Biol Reprod* 2001;65: 514–521
50. Hunter JC, Fontana DJ, Hedley LR, Jasper JR et al. Assessment of the role of alpha2-adrenoceptor subtypes in the antinociceptive, sedative and hypothermic action of dexmedetomidine in transgenic mice. *Br J Pharmacol* 1997;122:1339-44
51. Jens L. Determination of malondialdehyde as dithiobarbituric acid adduct in biological samples by HPLC with fluorescence detection: Comparison with ultraviolet-visible spectrophotometry. *Clin Chem* 2001;47:1725-1727

52. Kit inserts. Catalog no: MA152037. Thermo Scientific
53. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL et al. Analysis of nitrate, nitrite, and [¹⁵N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 1982;126:131-8. Abstract
54. Hetrick EM, Schoenfisch MH. Analytical chemistry of nitric oxide. *Annu Rev Anal Chem (Palo Alto Calif)* 2009;2:409-33
55. Cosentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, Cockett AT. Histopathology of prepubertal rat testes subjected to various durations of spermatic cord torsion. *J Androl* 1986;7:23-31
56. Turner TT, Brown KJ. Spermatic cord torsion: loss of spermatogenesis despite return of blood flow. *Biol Reprod* 1993; 49:401–7
57. Turner TT, Bang HJ, Lysiak JL. The molecular pathology of experimental testicular torsion suggests adjunct therapy to surgical repair 2004 *J Urol* 172:2574–2578
58. Ustün H, Akgül KT, Ayyıldız A, Yağmurdu H et al. Effect of phosphodiesterase-5 inhibitors on apoptosis and nitric oxide synthases in testis torsion: an experimental study. *Pediatr Surg Int* 2008;24: 205–211
59. Ünsal A, Devrim E, Guven C, Eroglu M et al: Propofol attenuates reperfusion injury after testicular torsion and detorsion. *World J Urol* 2004;22:461–465
60. Akgur FM, Kilinc K, Akdag T: Reperfusion injury after detorsion of unilateral testicular torsion. *Urol Res* 1993;21:395–399
61. Rowe MI, O'Neill JA, Grosfeld JL, Fonkalsrud EW et al. *Essentials of pediatric surgery*. St. Louis: Mosby-Year Book Inc, 1995:457-9
62. Heindel RM, Pakyz RE, Reinking LN, Cosentino MJ. The effect of various degrees of unilateral spermatic cord torsion on fertility in the rat. *J Urol* 1990;144(2):366-9
63. Turner TT. Acute experimental testicular torsion: no effect on the contralateral testis. *J Androl* 1985;6(1):65-72

64. Janetschek G, SchreckenberG F, Grimm W, Marberger M. Hemodynamic effects of experimental testicular torsion. *Urol Res* 1987;15:303-6
65. Cosentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, Cockett ATK. Histological changes occurring in the contralateral testes of prepubertal rats subjected to various durations of unilateral spermatic cord torsion. *J Urol* 1985;133:906-11
66. Melekos MD, Asbach HW, Markou SA. Etiology of acute scrotum in 100 boys with regard to age distribution. *J Urol* 1988;139:1023-5
67. Turner TT, Tung KS, Tomomasa H, Wilson LW. Acute testicular ischemia results in germ cell-specific apoptosis in the rat. *Biol Reprod* 1997;57:1267-74
68. Akgur FM, Kilinc K, Tanyel FC et al. Ipsilateral and contralateral testicular biochemical acute changes after unilateral testicular torsion and detorsion. *Urology* 1994;44:413-8
69. Cadenas E. Mechanisms of oxygen activation and reactive oxygen species detoxification. In: Ahmad S (Ed.). *Oxidative stress and antioxidant defences in biology*. New York: Chapman and Hall; 1995. p.4-47
70. Zar HA, Tanigawa K, Young-Myeong K, Lancaster. Rat liver postischemic lipid peroxidation and vasoconstriction depend on ischemia time. *Free Radic Biol Med* 1998 25:255-64
71. Bozlu M, Coskun B, Cayan S, Acar D, Aktas S, Ulusoy E, Akbay E: Inhibition of poly (adenosine diphosphata-ribose) polymerase decreases long-term histologic damage in testicular ischemia-reperfusion injury. *Urology* 2004;63:791-795
72. Küçükebe ÖB. Deneysel alt ekstremite iskemi-reperfüzyon modelinde deksmedetomidinin akut akciğer hasarı üzerindeki etkinliğinin araştırılması. DEÜTF Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD, Uzmanlık Tezi 2009

EK: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onayı



DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

35340, İnciraltı, İzmir-232 412234
http://deu.edu.tr/deneyetik/

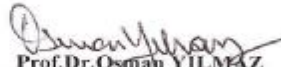
Toplantı No : 08/02/2011
Toplantı Tarihi : 21 Ocak 2011

Sayın, Dr.Muammer Hayri BEKTAŞ
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı

08/2011 Protokol No'lu; Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı doktorlarından Araş.Gör.Dr.Muammer Hayri BEKTAŞ'ın yürütücüsü olduğu "Deneysel testiküler iskemi reperfüzyon modelinde farklı iki dozda uygulanan deskmedetomidinin etkisinin araştırılması" isimli projede; literatüre getireceği yenilikler vurgulanmıştır. Anestezi uygulamasının tekrar gözden geçirilmesi gerekmektedir.

Projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.


Prof.Dr.Osman YILMAZ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik
Kurul Başkanı


Prof.Dr.A.Necati GÖKMEN
Başkan Yardımcısı


Prof.Dr.Alper SOYLU
Üye


Prof.Dr.Ayşe GELAL
Üye

Prof.Dr.Selman SÖKMEN
Üye (topl.katlamadı)

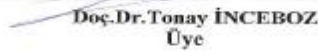
Prof.Dr.O.Nejat SARIOSMANOĞLU
Üye (topl.katlamadı)


Doç.Dr.Turna İLKNUR
Üye

Doç.Dr.H.Alper BAĞRIYANIK
Üye (Araştırmacı)

Prof.Dr.Abdullah KUMRAL
Üye(topl.katlamadı)


Doç.Dr.A.Hüseyin BASKIN
Üye


Doç.Dr.Tonay İNCEBOZ
Üye

Vtr.Hekim Adnan SERPEN
Üye (topl.katlamadı)

Ayşe Nur BALİN
Üye
(topl. katılmadı.)

Doç.Dr.Şermin GENÇ
Üye(topl.katlamadı)

NOT: Projede yapılan düzeltmelerin metin içinde bold karakter kullanılarak yapılması projenin incelenmesi açısından sağlıklı olacaktır.