

Deneysel tek taraflı testis torsiyonundaki karşı testis hasarında apoptozisin rolü ve karnitinin koruyucu etkisi

The role of apoptosis and protective effect of carnitine in contralateral testicular injury in experimental unilateral testicular torsion

Levent CANKORKMAZ,¹ Gökhan KÖYLÜOĞLU,¹ Hatice ÖZER,²
Esin YILDIZ,² Zeynep SÜMER,³ Öztürk ÖZDEMİR⁴

AMAÇ

Sıçanlarda oluşturulan tek taraflı testis torsiyonu modelinde, karşı testis hasarının etyolojisinde programlanmış hücre ölümünün (PHÖ) rolü ve karnitinin koruyucu etkisi araştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Otuz altı adet Wistar Albino sıçan altı gruba ayrıldı. Gruplar, kontrol, sham, 6 ve 24 saatlik torsiyon-detorsiyon ile 6 ve 24 saatlik torsiyon-detorsiyon-karnitin verilen şekilde oluşturuldu. Sıçanların sol testisleri torsiyone edildi. Tedavi gruplarına, detorsiyondan bir saat önce periton içine karnitin verildi. Detorsiyondan bir hafta sonra sağ orşiektomi yapıldı. Testisler Johnsen biyopsi skorları (JTBS), seminifer tübül çapları (STÇ), malonildialdehit ve PHÖ oranları açısından incelendi. PHÖ oranları, immün floresans ve DNA agaroz gel elektroforeziyle saptandı. Sonuçlar ANOVA testiyle değerlendirildi.

BULGULAR

Kontrol ve sham grubunun JTBS ve STÇ'leri, deney gruplarının JTBS ve STÇ'lerinden anlamlı olarak yüksekti ($p<0,05$). 6 ve 24 saatlik torsiyon-detorsiyon grubundaki PHÖ oranları, sham grubuna göre belirgin olarak yüksekti, 24 saatlik torsiyon-detorsiyon grubundaki PHÖ artışı daha belirgindi. Karnitinin koruyucu etkisi 24 saatlik torsiyon grubunda anlamlı bulunurken 6 saatlik torsiyon-detorsiyon sonrası karnitin verilen grupta anlamlı farklılık saptanmadı.

SONUÇ

Tek taraflı testis torsiyonu modelinde karşı testiste, torsiyon süresiyle paralel olarak artan oranda hasarlanma ve PHÖ'de artış görülmektedir. Bu, uzun süreli torsiyonlarda, detorsiyon öncesi verilen karnitinle azaltılabilir.

Anahtar Sözcükler: Karnitin; karşı testis; programlanmış hücre ölümü; sıçan, Wistar Albino cinsi.

BACKGROUND

We examined the role of programmed cell death (PCD) in the etiology of contralateral testis injury as well as the protective effect of carnitine.

METHODS

Thirty-six Wistar Albino rats were used in the study. Rats were divided into six groups as control, sham, torsion-detorsion with 6- and 24-hour intervals, and torsion-detorsion-carnitine administration with 6- and 24-hour intervals. The left testes of all rats were torsioned 720°. Intra-peritoneal carnitine was administered to groups as 100 mg/kg one hour before detorsion. Orchiectomy was applied to the contralateral testis a week after detorsion. Testes were examined with respect to diameters of seminiferous tubules (DST), ratios of malonyl dialdehyde and Johnsen biopsy scores (JBS), and PCD ratios. Results were evaluated by ANOVA test.

RESULTS

Programmed cell death ratios were significantly higher in the torsion-detorsion with 6- and 24-hour intervals groups compared to the sham group. Those increases were more prominent in the torsion-detorsion with 24-hour interval group. DST and JBS of the control group were significantly higher than in the experimental groups ($p<0.05$). The protective effect of carnitine was significant in the 24-hour torsion group, while no significant difference were detected in the 6-hour torsion-detorsion-carnitine group.

CONCLUSION

Increased injury and PCD in the contralateral testis was observed with prolonged exposure time in this model. It was possible to decrease the injury with carnitine.

Key Words: Carnitine; contralateral testis; programmed cell death; rats, Wistar Albino.

IX. Ulusal Çocuk Ürolojisi Kongresi ve Güncelleştirme Kursu'nda sunulmuştur (8-11 Kasım 2007, Antalya).

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi

¹Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, ²Patoloji Anabilim Dalı, ³Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ⁴Genetik Anabilim Dalı, Sivas.

Presented at the IXth Congress of Children Urology and Update Course (November 8-11, 2007, Antalya, Turkey).

Departments of ¹Pediatric Surgery, ²Pathology, ³Microbiology, ⁴Genetics, Cumhuriyet University Faculty of Medicine, Sivas, Turkey.

İletişim (Correspondence): Dr. Levent Cankorkmaz. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi ABD, Kampüs, 58140 Sivas, Turkey.
Tel: +90 - 346 - 258 12 69 Faks (Fax): +90 - 346 - 219 19 55 e-posta (e-mail): cankorkmaz@cumhuriyet.edu.tr

Testis torsiyonu, spermatik kord ve yapılarının kendi etrafında dönmesiyle oluşan ve çocuklarda acil cerrahi girişim gerektiren önemli bir ürolojik sorundur. Sağlıklı tek testisin bile, fertilizasyon için sorun oluşturmadığı bilindiği halde, tek taraflı testis torsiyonu olgularının uzun süreli izlemlerinde, %25 oranında infertilite ve %90'a varan anormal sperm analiz sonuçları, tek taraflı testis torsiyonunun karşı testiste de histolojik ve hemodinamik değişikliklere neden olduğunu desteklemiştir.^[1-10]

Dokulardaki herhangi bir incinme, hücrelerde programlı (apoptozis) ya da programsız (nekrozis) ölümlere neden olabilmektedir. Apoptozis programlanmış hücre ölümü (PHÖ), hücrelerin kendi kendilerini yok ettikleri bir fizyolojik ölüm mekanizmasıdır.

Bu çalışmada, deneysel tek taraflı testis torsiyonuna bağlı karşı testis dokusunda oluşacak olası PHÖ ve bir membran stabilazötörü olan karnitinin tedavideki yeri araştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırma, üniversitemizin hayvan etik kurulundan onay alınarak, Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında yapıldı. Çalışmada, ağırlıkları 180-230 gr arasında değişen 36 adet erkek Wistar Albino sıçan kullanıldı. Bir kontrol ve beş deney grubu olmak üzere toplam altı grup oluşturuldu. Sıçanlar cerrahi işlem öncesi bir gece aç bırakılarak, 40 mg/kg periton içine (İP) ketamin HCl (Ketalar® 50 mg/ml, Eczacıbaşı) ve ksilazin hidroklorid (Rompun® %2, Bayer) anestezisi altında ve steril koşullarda ameliyat edildi. Testis torsiyonu, sol skrotal insizyonla, testisin bulunarak saat yönünde 720° çevrilmesiyle oluşturuldu ve skrotum cildine 6,0 ipekle tespit edildi. Testisler, torsiyon sürelerinin bitiminde detorsiyone edilip skrotum cildine 6,0 ipekle tespit edildi. Scrotum cildi ise 4,0 ipekle kapatıldı. Deney bitiminde, sıçanlar servikal dislokasyonla sakrifiye edilerek sağ testisleri çıkartıldı. Deney süresince herhangi bir kaybın olmadığı kontrol ve deney grubu hayvanlarda, karşı testis hasarı ve apoptozis açısından, histopatolojik ve genetik olarak değerlendirildi.

Deney grupları; Kontrol (KNT): Herhangi bir ek işlem yapılmada sağ testisleri çıkarılan grup,

Sham (SHAM): Herhangi bir torsiyon işlemi uygulanmayan fakat sol testisleri eksplere edilip kapatılan grup,

6 Saatlik Torsiyon-Detorsiyon (6TD): Sol testisleri 6 saat süreyle torsiyone edilen ve detorsiyondan

1 saat önce 1 cc/kg dozunda İP serum fizyolojik (SF) verilen grup,

6 Saatlik Torsiyon-Detorsiyon-Karnitin (6TD-K): Sol testisleri 6 saat süreyle torsiyone edilen ve detorsiyondan 1 saat önce 100 mg/kg dozunda İP karnitin verilen grup,

24 Saatlik Torsiyon Detorsiyon (24TD): Sol testisleri 24 saat süreyle torsiyone edilen ve detorsiyondan 1 saat önce 1 cc/kg dozunda İP SF verilen grup,

24 Saatlik Torsiyon-Detorsiyon-Karnitin (24TD-K): Sol testisleri 24 saat süreyle torsiyone edilen ve detorsiyondan 1 saat önce 100 mg/kg dozunda İP karnitin verilen grup.

Kontrol ve deney grubu hayvanlara ait testislere uygulamadan 1 hafta sonra histopatolojik ve genetik açıdan değerlendirilmek üzere orşiektomi uygulandı.

Genomik DNA ayrıştırılması ve DNA fragmentasyon analizi: Testis dokularından 10-25 mg'lık parçalar 1 ml soğuk alkol (%99) içeren 2 ml'lik eppendorf tüpüne genomik DNA izole edilmek üzere alınıp etiketlendi ve -20°C'de saklandı. Yüksek moleküler ağırlıklı genomik DNA, alkol ortamından genomik DNA izolasyon tekniği kullanılarak elde edildi.^[11] Bütün gruplara ait genomik DNA'lar agaroz jel fregmantasyon profilleri açısından DNA markeri varlığında (DNA ladder 100 kb ve λ DNA EcoRI/HindIII) karşılaştırıldı. Agaroz jellere (%1'lik) 75 mA 90-100 V'de yaklaşık 45 dakika akım verildi. Sonra jeller UV altında jel görüntüleme sisteminde (Vilber Lourmat) değerlendirildi. Uygun jellerin polaroid film (Video Graphic Printer UP - 895 CE) ile fotoğrafları çekildi.

Histopatolojik değerlendirme: Doku örnekleri %10'luk formol solüsyonunda fikse edilip, parafin bloklara alındı. Yaklaşık 5 µ kalınlığındaki kesitler, hematoksilin-eozinle (H-E) boyanarak ışık mikroskopunda incelendi.

Seminifer tübül çapları (STÇ): Testisteki iskemik hasarın bir diğer göstergesi olarak da STÇ kullanıldı. 100X objektif ve oküler bir mikrometre ile her biyopsi spesmeninde on adet yuvarlak seminifer tübül çapı ölçülerek ortalama seminifer tübül çapları hesaplandı.

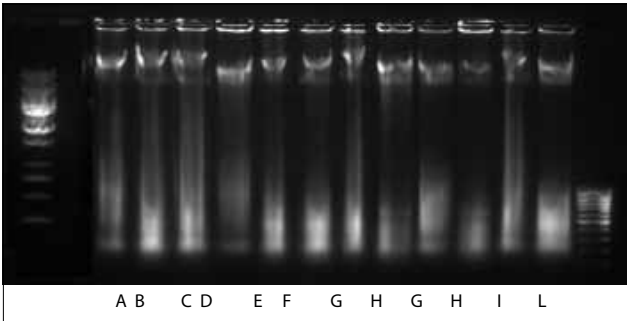
Johnsen tübül biyopsi skorları (JTBS): Spermatogenezin kantitatif şekilde değerlendirilmesi amacıyla JTBS kullanıldı. Germinal epitelyumun matüritesi, 25X objektif ile testiküler biyopsi sahasında 25 adet tübülde JTBS kullanılarak derecelendi-

rildi. Bu skorlamaya göre, hasarlanmaya neden olan herhangi bir olay sonrasında, tübülün içindeki hücrelerin dağılımı belli bir sıra takip ederek progresif bir şekilde kaybolur. Modifiye JTBS, biyopsi materyalinin her kesitindeki 25-50 adet tübül aşağıda belirtilen ölçütlere göre derecelendirildi ve ortalama değerleri elde edildi.^[12,13] Değerlendirme ölçütleri şöyleydi:

1. Tübüler kesitte hiçbir hücre yoktur.
2. Sadece Sertoli hücreleri vardır.
3. Germ hücreleri olarak sadece spermatogoniyumlar vardır.
4. Az sayıda (5/ tübül) spermatozoid vardır.
5. Fazla sayıda spermatozoid mevcuttur.
6. Az sayıda (5/ tübül) spermatid mevcuttur.
7. Farklanma işareti olmaksızın fazla sayıda spermatid vardır.
8. Matür spermatozoa olmaksızın geç spermatidler mevcuttur.
9. Az sayıda (5/ tübül) spermatozoa vardır.
10. Fazla sayıda spermatozoanın görüldüğü tam spermatogenezis mevcuttur.

DNA Fragmentasyonlarının saptanması: Parafin bloklardan elde edilen preparatlar %0,01'lik polilizinle yıkandı. Takiben 70°C'de 10 dakika ısıtılıp, saf su ile iki kez 5'er dakika tekrar yıkandı. Kurumandan sonra %96'lık etil alkolle iki kez üçer dakika, %90'lık etil alkolle bir kez üç dakika, %80'lik etil alkolle bir kez üç dakika yıkandı. Tekrarlı yıkamaları takiben preparatlar, 8 µg/mL Hoechst 33258 ile boyandı ve immün floresan mikroskopta incelendi. İncelenen gruplardan herbirinden 100 tane hücre sayılarak kromatin kırıkları saptanan (apoptotik) hücre oranları hesaplandı.

MDA saptanması: Soğuk %0,09'luk NaCl ile yıkayıp tartılan dokular 9 ml/mg (%1,15 KCl) varlığında homojenize edildi. Homojenize örnekler (0,1



Şekil 1. Grupların DNA agaroz jel elektroforezi.

ml) %8,1'lik sodyum dodesil sülfattan (SDS) 0,2 ml, %20'lik asetikasitten (pH 3,5) 1,5 ml, tiyobarbitürik asitten (TBA) 1,5 ml ve 4 ml dH₂O eklenerek önce 95°C'de bir saat inkübe edildi ve tekrar 1 ml dH₂O, 5 ml n-butanol-piridin'le karıştırılıp 4000 rpm'de (dakika/devir) 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatın 532 nm dalga boyunda absorbanları okundu. Gruplara ait veriler "SPSS for Windows" (ver. 16,0) programına yüklenerek ANOVA testi kullanılarak karşılaştırıldı. p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Sol testislerine torsiyon uygulanan sıçanların testisleri, detorsiyon sırasında incelendiğinde, 24TD grubunda daha belirgin olmak üzere testislerin mor renkli, ödemli ve çevresinde serohemorajik sıvı olduğu saptandı. Orşiektomi yapılan karşı testislerin hiçbirinde makroskopik olarak herhangi bir değişikliğe rastlanmadı.

Gruplar, MDA değerleri açısından karşılaştırıldığında gruplar arası farkın önemsiz olduğu saptandı (p>0,05).

Dokulara ait genomik DNA profilleri karşılaştırıldığında (Şekil 1); kontrol grubu ve SHAM grubu dokulara ait genomik DNA'larının yüksek moleküler ağırlıklı ve non-fragmente yapıda olduğu görülmüştür. 6TD ve 6TD-K gruplarının yapılan DNA agaroz jel elektroforez sonuçları değerlendirildiğinde DNA'ların 21226-200 fragmentasyon aralığında apoptotik hücrelere özgü merdiven (*ladder*) görünümünde oldukları saptandı. Deney grubu dokulara ait *ladder* yapı oluşturan fragmente DNA'ların 500, 400, 300 ve 200 baz çifti büyüklüğünde yoğunlaştıkları saptandı (Şekil 1.A). 24TD grubuna ait doku DNA profillerinin yine 200-21266 baz çift aralığında fregmantasyon gösterdiği saptandı (Şekil 1.C). Diğer yandan 24TD-K grubuna ait DNA'nın ise 500-21266 baz çift aralığında fregmantasyon yoğunluğu gösterdiği saptandı (Şekil 1.E).

JTBS her testis için ayrı ayrı değerlendirilip grupların aritmetik ortalamaları hesaplandı. JTBS'leri açısından gruplar incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık saptandı (p<0,05); KNT ve SHAM grubunun JTBS'leri 6TD, 6TD-K, 24TD ve 24TD-K gruplarının JTBS ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (p<0,05).

6TD, 6TD-K ve 24TD-K gruplarının JTBS'leri 24TD grubunun JTBS'dan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (p<0,05).

Tablo 1. Deney ve tedavi gruplarının bulguları

| | Tübüler biyopsi skoru | Tübül çapları | PHÖ yüzdesi | MDA oranları |
|--------|-----------------------|---------------|-------------|--------------|
| KNT | 9,70±0,04 | 283,33±3,74 | 5,66±1,96 | 3,85±0,41 |
| SHAM | 9,70±0,02 | 283,33±1,92 | 2,83±0,83 | 4,17±0,47 |
| 6TD | 8,46±0,20 | 236,83±0,94 | 37,00±4,58 | 5,87±1,14 |
| 6TD-K | 8,55±0,04 | 235,33±1,92 | 31,50±2,70 | 4,80±0,55 |
| 24TD | 5,91±0,40 | 172,72±1,72 | 51,83±4,36 | 5,45±0,51 |
| 24TD-K | 7,84±0,38 | 192,20±1,92 | 35,66±2,18 | 5,25±0,86 |

STÇ'leri açısından gruplar incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık saptandı (Şekil 2a ve 2b), ($p<0,05$); KNT ve SHAM grubunun STÇ'leri 6TD, 6TD-K, 24TD ve 24TD-K gruplarının STÇ ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (Şekil 2c ve 2d), ($p<0,05$).

6TD, 6TD-K gruplarının STÇ'leri 24TD ve 24TD-K gruplarının STÇ'dan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,05$).

24TD-K'nın STÇ'ı 24TD grubunun STÇ'dan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,05$).

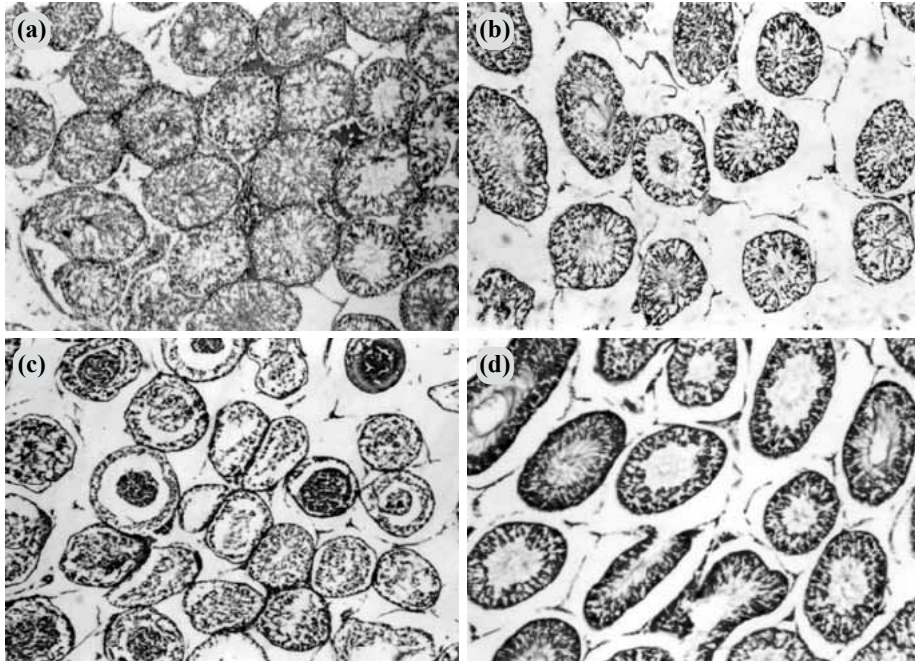
Kromatin kırığı saptanan (apoptotik) hücre oranları açısından gruplar incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık saptandı ($p<0,05$) (Şekil 3a-d). Gruplar ikişerli olarak karşılaştırıldığında; KNT, SHAM, 6TD, 6TD-K, 24TD-K gruplarının PHÖ

oranları 24TD grubunun PHÖ oranından anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0,05$).

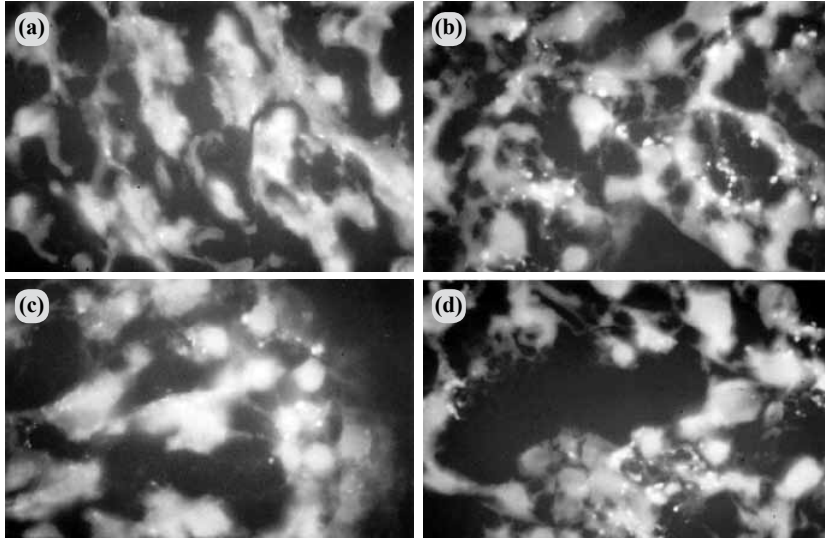
KNT, SHAM ve 24TD-K gruplarının PHÖ oranları 6TD, 6TD-K ve 24TD'nın PHÖ oranlarında anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0,05$). Deney ve tedavi gruplarının bulguları Tablo 1'de gösterilmektedir.

TARTIŞMA

Tek taraflı testis torsiyonu olgularının izlemlerinde, subfertilite veya infertiliteye rastlanması yeni tedavi seçeneklerinin araştırılmasının gerekliliğini ortaya koymaktadır. Deney modelimiz ve torsiyon süreleri literatüre uygun olarak seçildi.^[2,4,10,14-18] SHAM ve KNT grupları karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmaması, bize karşı testis hasarlanmasının yapılan cerrahi işlemlere bağlı olmadığını göstermektedir.



Şekil 2. (a) Kontrol grubuna ait normal görünümlü testis dokusu (H-E x 300). (b) 6TD grubuna ait düşük STÇ ve JTBS testis dokusu (H-E x 300). (c) 24TD grubuna ait STÇ ve JTBS'leri ileri derecede azalmış testis dokusu (H-E x 300). (d) 24TD-K grubuna ait kısmen düzelmiş STÇ ve JTBS değerlere sahip testis dokusu (H-E x 300).



Şekil 3. (a) Kontrol grubuna ait normal testis dokusu (İmmünfloresans x 400 Hoechst 33268). (b) 6TD grubuna ait kromatin kırıkları saptanan apoptotik hücreler (İmmünfloresans x 400 Hoechst 33268). (c) 24TD grubuna ait yoğun apoptotik hücre profilleri (İmmünfloresans x 400 Hoechst 33268). (d) 24TD-K grubuna ait daha az apoptotik hücre saptanan (İmmünfloresans x 400 Hoechst 33268).

Karşı tetiste görülen hasarın nedenlerinden birinin torsiyon sırasında karşı testiste erken ve progresif kan akımı azalması, detorsiyonu takiben de belirgin artış olması olabilir.^[19] Kan akımı azaldığında, aktive lökositler, mikro-vasküler alana vardıklarında, normalde antimikrobiyal savaşta kullandıkları proteolitik enzimlerden ve oksidanlardan oluşan silahlarını damar duvarına yöneltirler. Oksidatif saldırı sonucu oluşan endotel hasarı, sonuçta da iskemik doku hasarı ortaya çıkmaktadır.^[3,20] Detorsiyonu takiben oluşan kan akımındaki artma sonucu reperfüzyon hasarı beklenirken Bergh ve arkadaşlarının^[21] deneysel çalışmasında, testis hasarlanmasında asıl etkili olan mekanizmanın reperfüzyon değil iskemik hasar olduğunu göstermişlerdir. Testis gibi global iskekiye toleransı olmayan organlarda, hasarlanma reperfüzyondan çok iskemik komponentte olmaktadır.^[12,22,23] Çalışmamızda MDA değerlerinin artmaması da literatürdeki bu bilgilerle uyum göstermektedir.

6TD ve 24TD gruplarında, karşı testiste hasarlanma ve PHÖ oranlarında artma saptandı. Altı saatlik torsiyonun karşı testiste PHÖ'ye neden olduğu, 24 saatte daha da belirginleştiği görüldü. Bu durum iskemi süresinin artmasının karşı testiste PHÖ'de de artışa sebep olduğunu göstermektedir. 6TD ile 6TD-K grupları arasında, farklılık saptanmaması, kısa süreli iskeminin oluşturduğu karşı testis hasarının, karnitinle anlamlı bir şekilde düzeltilemediğini gösterdi.

24TD ile 24TD-K grupları karşılaştırıldığında, 24TD-K grubunda PHÖ oranlarında anlamlı azalma hem de histopatolojik parametrelerde düzelme saptandı. Bu da karnitinin, 24 saatlik torsiyon sonrasında oluşan karşı testis hasarını azalttığını göstermektedir. 6TD-K grubunda karnitinin olumlu etkisinin görülmeyip 24TD-K grubunda görülmesi, karnitinin olumlu etkilerinin ortaya çıkabilmesi için hasarın belli bir düzeyin üzerinde olmasının gerekliliğini düşündürmektedir.

Hadziselimovic ve arkadaşları^[9] klinik çalışmasında, testis-kan bariyerindeki bozulmaya ikincil olarak oluşan sitokin ve benzeri bazı maddelerin karşı testiste PHÖ indeksinde artışa neden olabileceğini iddia etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da torsiyon süresiyle doğru orantılı olarak karşı testiste PHÖ oranlarında artış olduğu sonucunun çıkması Hadziselimoviç'in çalışması ile paralellik göstermektedir.

Karnitinin bu olumlu etkisi iki ana mekanizma üzerinden olabilir. Bunlardan ilki direkt iskemik hasarın engellenmesine yönelik olan etkisidir. Bu etki iskemi bulgularının azaltılması, pro-oksidan etki ve serbest oksijen radikallerinin oluşumunun azaltılmasına yönelik etkilerdir.^[24] Diğer ana mekanizma ise direkt PHÖ'ye gidişin azaltılmasıdır. Bu etkisi ise membran stabilizasyonu, kaspazların aktivitelerinin engellenmesi ve Fas/FasL sisteminin inhibisyonu yoluyla olmaktadır.^[25,26]

Bazı çalışmalarda karnitinin bir pro-oksidan gibi davrandığı saptanmıştır.^[24] Karnitinin bu etkisi, testisteki mikrovasküler alanda, oksidasyon sonucu oluşacak olumsuz etkiyi azaltmaktadır. Reaktif oksijen radikalleri karşı testiste direkt histopatolojik zarara sebebiyet verdiği gibi, mitokondri, plazma zarı ve genom üzerinde oluşturduğu etkiylede PHÖ'yü başlatabildiği bilinmektedir.

Karnitinin bilinen diğer bir etkisi de membran stabilizatör etkisidir ki bu etki birçok yönden karşı testisteki hasarlanmayı önleyebilecek bir etkidir. Koji ve arkadaşları^[27] bir çalışmalarında, Fas/FasL sisteminin, testisteki iskemi/reperfüzyon sonrası PHÖ'ye gidişte etkili olduğu, ancak normal testisteki hormonal etkiyle oluşan PHÖ ile ilişkisinin olmadığını saptamışlardır. Karnitinin PHÖ'ye olan etkilerinden birinin de Fas/FasL sisteminin inhibisyonu olduğuna dair yayımlar vardır. Çalışmamızdaki karnitinin olumlu etkileri işte bütün bu mekanizmalar üzerinden olabilir.

Sonuç olarak, testiküler torsiyon-detorsiyon işlemi sonrasında karşı testiste, torsiyon süresinin artışına paralel olarak artan bir PHÖ gerçekleşmektedir. PHÖ'deki bu artış detorsiyon öncesi verilen karnitin ile azaltılmaktadır. Bundan sonra yapılacak olan çalışmalar karşı testiste gelişen PHÖ'nün asıl mekanizmasının aydınlatılmasına yönelik olmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Kolski JM, Mazolewski PJ, Stephenson LL, Texter J, Grigoriev VE, Zamboni WA. Effect of hyperbaric oxygen therapy on testicular ischemia-reperfusion injury. *J Urol* 1998;160:601-4.
2. Thomas WE, Williamson RC. Diagnosis and outcome of testicular torsion. *Br J Surg* 1983;70:213-6.
3. Barkley C, York JP, Badalament RA, Nesbitt JA, Smith JJ, Drago JR. Testicular torsion and its effects on contralateral testicle. *Urology* 1993;41:192-4.
4. Janetschek G, Schreckenberg F, Mikuz G, Marberger M. Experimental testicular torsion: effect on endocrine and exocrine function and contralateral testicular histology. *Urol Res* 1988;16:43-7.
5. Madarikan BA. Testicular salvage following spermatic cord torsion. *J Pediatr Surg* 1987;22:231-4.
6. Nagler HM, Were White R. The effect of testicular torsion on the contralateral testis. *J Urol* 1985;133:294-97.
7. Özgür GK, Pişkin B, Sivrikaya A, Gacar N, Erkul S. Effect of testicular torsion on the contralateral testis. *Int Urol Nephrol* 1990;22:461-6.
8. Turner TT. On unilateral testicular and epididymal torsion: no effect on the contralateral testis. *J Urol* 1987;138:1285-90.
9. Hadziselimovic F, Geneto R, Emmons LR. Increased apoptosis in the contralateral testes of patients with testicular torsion as a factor for infertility. *J Urol* 1998;160:1158-60.
10. Krarup T. The testes after torsion. *Br J Urol* 1978;50:43-6.
11. Özdemir O, Bulut HE, Korkmaz M, Onarlioglu B, Colak A. Increased cell proliferation and R.Msp1 fragmentation induced by 5-aza-2'-deoxycytidine in rat testes related to the gene imprinting mechanism. *Exp Toxicol Pathol* 2000;52:317-22.
12. Cosentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, Cockett AT. 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.
13. Johnsen SG. Testicular biopsy score count--a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones* 1970;1:2-25.
14. Bartsch G, Frank S, Marberger H, Mikuz G. Testicular torsion: late results with special regard to fertility and endocrine function. *J Urol* 1980;124:375-8.
15. Laor E, Fisch H, Tennenbaum S, Sesterhenn I, Mostofi K, Reid RE. Unilateral testicular torsion: abnormal histological findings in the contralateral testis--cause or effect? *Br J Urol* 1990;65:520-3.
16. Macnicol MF. Torsion of the testis in childhood. *Br J Surg* 1974;61:905-8.
17. Janetschek G, Schreckenberg F, Grimm W, Marberger M. Hemodynamic effects of experimental testicular torsion. *Urol Res* 1987;15:303-6.
18. Henriksen K, Hakovirta H, Parvonen M. In-situ quantification of stage-specific apoptosis in the rat seminiferous epithelium: effects of short-term experimental cryptorchidism. *Int J Androl* 1995;18:256-62.
19. Melikoglu M, Guntekin E, Erkilic M, Karaveli S. Contralateral testicular blood flow in unilateral testicular torsion measured by the ¹³³Xe clearance technique. *Br J Urol* 1992;69:633-5.
20. Ernst E, Hammerschmidt DE, Bagge U, Matrai A, Dormandy JA. Leukocytes and the risk of ischemic diseases. *JAMA* 1987;257:2318-24.
21. Bergh A, Damber JE, Marklund SL. Morphologic changes induced by short-term ischemia in the rat testis are not affected by treatment with superoxide dismutase and catalase. *J Androl* 1988;9:15-20.
22. Cody RJ, Müller FB, Kubo SH, Rutman H, Leonard D. Identification of the direct vasodilator effect of milrinone with an isolated limb preparation in patients with chronic congestive heart failure. *Circulation* 1986;73:124-9.
23. Karnak I, Tanyel FC, Kiliç K, Büyükpamukçu N, Hiçsönmez A. Tissue hypoxia in ipsilateral and contralateral testes undergoing surgically induced maldescent. *Eur J Pediatr Surg* 1996;6:281-4.
24. Koster JK. Free radical mediated damage and carnitine esters. In: De Jong JW, Ferrari R, editors. *The carnitine system*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1995. p. 123-32.
25. Cifone MG, Alesse E, Di Marzio L, Ruggeri B, Zazzeroni F, Moretti S, et al. Effect of L-carnitine treatment in vivo on apoptosis and ceramide generation in peripheral blood lymphocytes from AIDS patients. *Proc Assoc Am Physicians* 1997;109:146-53.
26. Mutomba MC, Yuan H, Konyavko M, Adachi S, Yokoyama CB, Esser V, et al. Regulation of the activity of caspases by L-carnitine and palmitoylecarnitine. *FEBS Lett* 2000;478:19-25.
27. Koji T, Hishikawa Y, Ando H, Nakanishi Y, Kobayashi N. Expression of Fas and Fas ligand in normal and ischemia-reperfusion testes: involvement of the Fas system in the induction of germ cell apoptosis in the damaged mouse testis. *Biol Reprod* 2001;64:946-54.