

Deneysel testis torsiyonunda reperfüzyon sendromunun yeri ve allopurinol ile önlenebilirliği

Dr. Ferit Bernay, Dr. Baycan Özçelik, Dr. Kamer Kılıç,
Dr. Bedri Kandemir, Dr. Naci Gürses

*Ondokuzmayıs Üni. Tıp Fak. Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Ondokuz Mayıs Üniv. Tıp Fak. Patoloji Anabilim Dalı
Hacettepe Üni. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı*

✓ Testis torsiyonu ve iskemi-reperfüzyon sendromu her iki taraf testiste incelendi. Oluşturulan beş grupta (50 rat) iki saat süreyle 1080° tek taraflı testis torsiyonu ve detorsiyonunun, her iki taraf testis dokusu üzerine etkisi; doku xanthine oxidase, lipid peroksidasyon değerleri ve histopatolojik çalışma ile değerlendirildi. Testis torsiyonunu ve reperfüzyonunun, hemen 15-30 dakika sonraki erken dönemde karşı testiste; xanthine oxidase ve lipid peroksit yükselmesi ile kendini gösteren bir iskemiye neden olduğu görüldü ($p < 0.001$). İskemi-reperfüzyon sendromu etkilerini azaltabilmek amacıyla, xanthine oxidase inhibitörü olarak kullanılan Allopurinol'ün, hem torsiyone, hem de karşı testiste oluşan bu iskemiye anlamlı bir şekilde azalmakla beraber ($p < 0.05$), tamamen ortadan kaldırmadığı saptandı ($p < 0.001$). Ortalama testis biopsi değerlendirilmesi (OTBD) ve ortalama seminifer tubulu çapı (OSTÇ) kriterleri ile yapılan histopatolojik değerlendirmede ise; Allopurinol'ün, hemen detorsiyon sonrası erken dönemde torsiyone testisi koruyor görünmekle beraber, 15 gün sonra yapılan geç değerlendirmede, testis dokusunun şiddetle zedelenmesini önlemediği ($p < 0.001$) tesbit edildi. Karşı testisin histopatolojik çalışmasında ise, ne erken dönemde ne de geç dönem takiplerinde, testis dokusunda anlamlı bir zedelenmenin olmadığı görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Testis torsiyonu, İskemi-reperfüzyon sendromu, xanthine oxidase, allopurinol, lipid peroksidasyon.

Effect of reperfusion syndrome in experimental testicular torsion and its preventability by allopurinol

✓ Testicular torsion and ischemia-reperfusion syndrome were examined on the ipsilateral and contralateral testi. 50 adult rats in five groups were established. The effect of two hours, 1080° unilateral testicular torsion and detorsion on the bilateral testicular tissue were evaluated by histological examination besides tissue xanthine oxidase activity and malondialdehyde, a lipid peroxidation product. Testicular torsion and reperfusion caused significant ischemia ($p < 0.001$) that was determined by increased xanthine oxidase and lipid peroxidation on the contralateral ipsilateral and contralateral testis were significantly reduced ($p < 0.05$) but not disappeared as the control group ($p < 0.001$) by allopurinol which is the inhibitor of xanthine oxidase. Allopurinol reduced the ischemia on the ipsilateral testis after detorsion in the early period but there were no histological benefit 15 days later ($p < 0.001$). There were no histological damage on the contralateral testis during 15 days after detorsion following unilateral experimental torsion in adult rats.

Key words: Testicular torsion, Ischemia-reperfusion syndrome, xanthine oxidase, allopurinol, lipid peroxidation.

Testis torsiyonu oldukça sık rastlanılan bir problemdir. Yapılan çalışmalarda torsiyona uğrayan testis ile beraber karşı tes-

tiste de zedelenme bulunmuştur. Bunun nedeni ile ilgili en sık vurgulanan teori oto antikörlerin etkisidir. Son zamanlarda, bazı

araştırmacılar karşı testiste bu zedelenmenin, karşı testisteki kan akımının azalmasından oluşabileceğini belirtmişlerdir. İskemik dokularda meydana gelen harabiyetin, reperfüzyon sonrası oluşan serbest oksijen radikallerine ($O^{\cdot-}$, $OH^{\cdot-}$, $H_2 O_2$) bağlı olarak daha da arttığı vurgulanmaktadır. Serbest oksijen radikallerinin oluşumunda rol oynayan en önemli enzimlerden biri de xanthine oxidase'dir (Fig 1). Bu çalışmada şu hedefler planlanmıştır;

1. Torsiyon olan testisin harabiyetinde, detorsiyon sonrası reperfüzyon sendromunun etkisinin incelenmesi
2. Eğer karşı testiste oluşan zedelenmeden kan akımının azalması sorumlu ise, burada da reperfüzyonun rolünü araştırmak,
3. Reperfüzyon sendromunun etkilerini xanthine oxidase inhibitörü olan allopurinol ile engelleyerek testisi koruyabilmek.

MATERYAL VE METOD

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nde yapılan bu çalışmada iki-üç aylık 50 adet erişkin albino rat kullanıldı. Bunlar her grupta 10 rat olmak üzere beş gruba ayrıldı. Bütün gruplarda intramusküler 30mg/kg ketamin anestezisi uygulandı.

Grup 1: Kontrol grubu olarak çalışıldı. Her iki taraf testislerde xanthine oxidase (XO) doku aktivite seviyesi, lipid peroksidasyon (LP) düzeyleri, ortalama seminifer tubulu çapı (OSTÇ) ve ortalama testis biopsi değerlendirilmesi (OTBD) yapılmıştır.

Grup 2: İntraperitoneal serum fizyolojik sonrası 30 dakikada sağ testiste 1080° torsiyon ve 2 saat sonra detorsiyon uygulandı. Detorsiyon sonrası 15-30 dakikada testisler çıkarıldı, her iki testiste de xanthine oxidase doku aktivite seviyesi ve lipid peroksidasyon, OSTÇ, OTBD değerlendirmeleri yapıldı.

Grup 3: İntraperitoneal 35mg/kg Allopurinol sonrası 30 dakikada sağ testiste 1080° torsiyon ve 2 saat sonra detorsiyon yapıldı. Detorsiyon sonrası 15-30 dakika testisler çıkarıldı ve her iki testiste de xanthine oxidase doku aktivite seviyesi, lipid peroksidasyon ve OSTÇ, OTBD değerlendirmeleri yapıldı.

Grup 5: İntraperitoneal 35mg/kg Allopurinol sonrası 30 dakikada, sağ testiste 1080° torsiyon ve 2 saat sonra detorsiyon yapıldı. 15 gün sonra her iki testis çıkarılarak, OSTÇ ve OTBD değerlendirmeleri gerçekleştirildi.

OSTÇ için her testiste (100X) mikroskopik büyütmede, 10 adet en yuvarlak yapıdaki tubulu çapı ölçüldü. OTBD için ise her iki testiste (400X mikroskopik büyütmede, 25 tubulu değerlendirildi ve 1'den 10'a kadar skor verildi. Doku xanthine oxidase (XO) aktivitesi, florometrik yöntemle tayin edildi. Lipid peroksidasyon (LP) ise Tiyobarbitürik Asit (TBA) testi yöntemi ile değerlendirildi.

Bütün gruplarda elde edilen XO, LP ve OSTÇ değerlerinin istatistik değerlendirmesi student-t testi ile, OTBD'nin karşılaştırılması ise ki-kare testi ile yapıldı.

Tablo I. Xanthine Oxidase ve Lipid Peroksid değerleri.

Grup	Xanthine Oxidase (mIU/gr yaş doku)				Lipid Peroksid (n mol MDA/gr yaş doku)			
	Sağ testis*		Sol testis **		Sağ testis****		Sol testis*****	
1	682.8	3.23	680.7	4.07	120.2	1.86	122.4	1.96
2	796.6	9.26	730.4	9.56	276.3	8.24	177.6	9.16
3	375.2	12.35	372.4	10.26	242.9	7.19	149.9	7.29

* XO, Sağ testis; Grup 1-2 (p<0.001), 1-3 (p<0.001), 2-3 (p<0.001)

** XO, Sağ testis; Grup 1-2 (p<0.001), 1-3 (p<0.001)

*** LP, Sağ testis; Grup 1-2 (p<0.001), 1-3 (p<0.001), 2-3 (p<0.05)

**** LP, Sol testis; Grup 1-2 (p<0.001), 1-3 (p<0.001), 2-3 (p<0.05)

BULGULAR

Grup 1(kontrol), 2 ve 3'de çalışılan her iki taraf testis xanthine oxidase (XO) doku seviyeleri ve LP değerleri Tablo I'de özetlenmiştir. XO değerlerinde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Grup 2'de her iki testiste de anlamlı yükselme ($p<0.001$) vardır.

Grup 3'te ise, hem kontrol hem de grup 2'ye göre XO değerlerinde anlamlı düşme görülmüştür ($p<0.001$). Lipid peroksit değerlerinde ise Grup 2'de kontrol grubuna göre hem sağ, hem sol testiste anlamlı yükselme vardır ($p<0.001$). Grup 3 sağ ve sol testis LP değerlerindeki, Grup 2'ye göre anlamlı olan azalmanın ($p<0.05$), yine de kon-

trol grubuna göre ($p<0.001$) yüksek olduğu tespit edildi. OSTÇ ve OTBD, Tablo II'de özetlenmiştir.

Gerek OSTÇ, gerekse OTBD yönünden torsiyon yapılan sağ testiste Grup 2,4 ve 5 değerleri normale göre anlamlı derecede farklı olarak bulunmuştur. Sadece Grup 3'ün sağ testisleri korunmuş görünmektedir. Sol testislerin histopatolojik değerlendirmesinde ise OSTÇ ve OTBD değerleri bütün gruplarda normal bulunmuştur.

Tablo II. Ortalama Seminifer Tubulu Çapı (OSTÇ) ve Ortalama Testis Biopsi Değerlendirmesi (OTBD) Sonuçları.

Tablo II. Ortalama Seminifer Tubulu Çapı (OSTÇ) ve Ortalama Testis Biopsi Değerlendirmesi (OTBD) Sonuçları

Grup	Ortalama Seminifer Tubulu Çapı (Mikron SE)				Ortalama Testis Biopsi Değerlendirmesi (X SE)			
	Sağ testis*		Sol testis**		Sağ testis***		Sol testis****	
1	256.36	5.77	261.97	4.16	9.544	0.09	9.632	0.11
2	236.06	2.32	259.54	4.09	7.688	0.73	9.212	0.06
3	251.54	3.57	270.29	2.69	8.996	0.20	9.684	0.04
4	174.85	8.59	256.57	8.99	1.588	0.27	9.116	0.21
5	196.53	18.83	291.78	5.39	2.426	1.22	9.04	0.04

* OSTÇ; Sağ testis Grup 1-2 ($p<0.05$), Grup 1-3 ($p>0.05$), Grup 1-4 ($p<0.05$), Grup 1-5 ($p<0.05$) (Student-t testi)

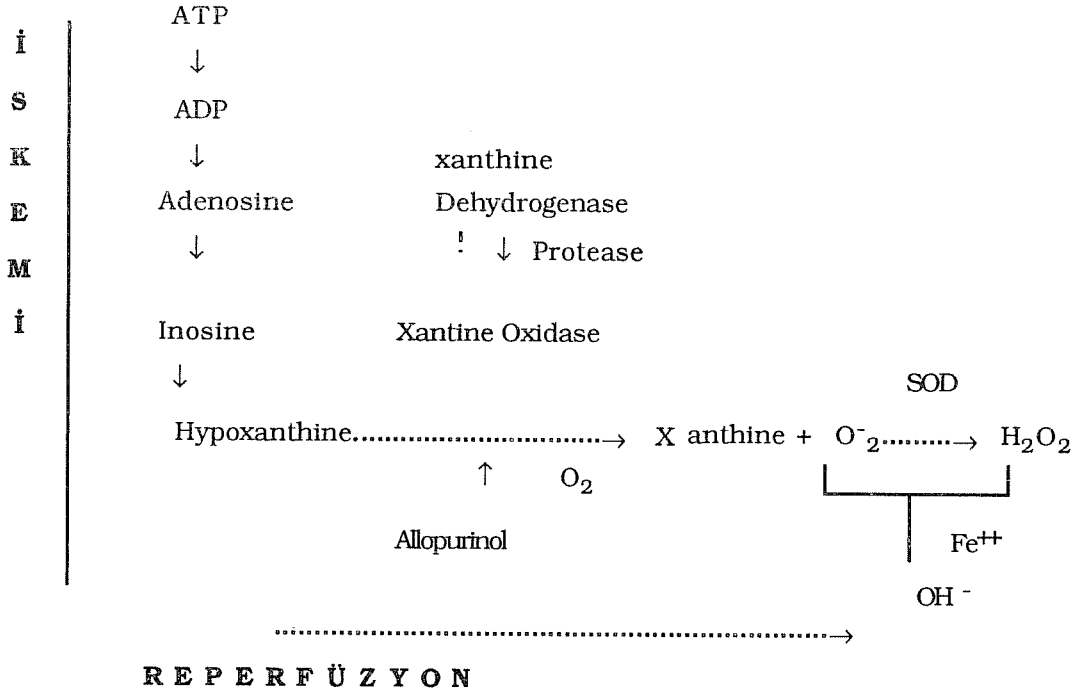
** OSTÇ; Sol testis Grup 1 (kontrol) - 2,3,4,5 ($p>0.05$) (Student-t testi)

*** OTBD; Sağ testis Grup 1-2 ($p<0.05$), Grup 1-3 ($p>0.05$),

**** OTBD; Sol testis Grup 1 (kontrol)-2,3,4,5 ($p>0.05$) (Ki-kare testi)

TARTIŞMA

Testis torsiyonu halen en önemli infertilite nedenlerinden biridir. torsiyona uğrayan testisin zedelenmesine bilindiği gibi iskemi neden olmaktadır. Son zamanlarda iskeminin neden olduğu doku harabiyetinin, özellikle reperfüzyon safhasında ortaya çıktığı öne sürülmektedir. Bu zedelenmeden serbest oksijen radikalleri (O^- , OH^- , $H_2 O_2$) sorumlu tutulmaktadır. bu radikallerin temel kaynağı Şekil 1'de görülen oluşum şemasında da belirtildiği gibi xanthine oxidase'dir. Çalışmada kullanılan parametrelerden malondialdehide, lipid peroksidasyon indeksidir. Oksijen radikalleri de lipid peroksidasyona mediatör etki yaparlar. Bu nedenle Şekil 1'de de görüldüğü gibi xanthine oxidase ve lipid per-



Şekil 1. Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşum Şeması.

oksidasyondaki artış iskemik reperfüzyon sendromunun oluştuğunu belirler. Araştırmamızda kullandığımız Allopurinol'ün etkisi xanthine oxidase inhibisyonu şeklindedir. Bu nedenle oksijen radikallerinin oluşumunu engelleyebileceği düşünülmektedir.

Testis torsiyonunda da iskemiye, reperfüzyonun eklenmesinin etkileri araştırılmaktadır. Çalışmamızda torsiyone edilen testiste, hemen detorsiyon sonrası xanthine oxidase değerlerinde beklenildiği gibi önemli bir düşüşe neden olduğu gözlemlendi (Tablo I). Bu düşüşün oksijen radikal yapımına ne kadar etkili olabildiği lipid peroksid değerleri ile test edilmiştir. Allopurinol'ün lipid peroksid'te anlamlı bir düşüşe neden olduğu, fakat normal düzeye indiremediği saptandı. Burada oksijen radikallerinin, birçok araştırmacı tarafından da belirtildiği gibi çok kaynaklı kompleks bir sistem olması, bu düşüşün daha fazla olmasını engellemiş olabilir. Allopurinol'ün hemen detorsiyon sonrası, torsiyone testisteki bu koruyucu etkisini histolojik çalışmada da gözledik. Fakat 15 gün sonra

yapılan geç değerlendirilmede Allopurinol'ün testis dokusunun şiddetle zedelenmesini engelleyemediğini saptadık. Torsiyona uğrayan testisin zedelenmesine, karşı testisin de etkilenerek eşlik ettiği hakkında birçok çalışma vardır. Bu zedelenmede en çok üstünde durulan etken immünolojik etkileşimdir. Bununla beraber bu konuda henüz bir fikir birliği oluşmamıştır. Bazı araştırmacılar bu zedelenmenin karşı testisteki kan akımının azalmasından olabileceğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda detorsiyon sonrası karşı testiste saptanan anlamlı xanthine oxidase ve lipid peroksid yükselmesinin bir iskemi-reperfüzyonu işaret ettiğini düşünüyoruz. Allopurinol karşı testiste de xanthine oxidase ve lipid peroksid değerlerinin düşmesi ile belirlenen bir etki yapmıştır. Fakat histolojik çalışmada karşı testisin ne erken, ne de geç dönemde testis torsiyonundan etkilenmediği saptandı. bu bulgu son yıllarda iddia edilen, klinikte görülen karşı testisteki zedelenmenin, torsiyon anında var olduğu ve bu nedenle deneysel çalışmalarda karşı testisin etkilenmediği tezleri ile uyum göstermektedir.

Sonuç olarak;

1. İskemi-reperfüzyon sendromunun testis torsiyonunda önemli rol oynadığını,

2. Karşı testiste bir iskemi-reperfüzyon atağının oluştuğunu,

3. Allopurinol'ün hemen detorsiyon sonrası erken dönemde torsiyone testisi ve karşı testisi koruyor görüldüğü, fakat geç dönemde torsiyone testis dokusundaki şiddetli zedelenmeye etki etmediği,

4. Karşı testiste ne erken, ne de geç dönemde histopatolojik değerlendirmeye yansiyacak bir etkilenmenin oluşmadığı kanaatine varıldı.

Geliş Tarihi: 8.5.1991

Yayına Kabul Tarihi: 6.3.1992

KAYNAKLAR

- Warso MA, Lands WEM. Lipid peroxidation in relation to prostacyclin and thromboxane physiology and pathophysiology. *Br Med Bul* 39: 277, 1983.
- Tanyel FC, Büyükpamukçu N, Hiçsönmez A. Contralateral testicular blood flow during unilateral testicular torsion. *Br J Urol* 63: 522, 1989.
- Goddio AS. Oxygen derived free radicals in plastic surgery, therapeutic interest of fighting free radical: the superoxide dismutases. *Eur J Plast Surg* 12: 111, 1989.
- Schoenberg MH, Fredholm BB, Haglund U, Jung H, Sellin D, Younes M, Schildberg FW: Studies on the oxygen radical mechanism involved in the small intestinal reperfusion damage. *Acta Physiol Scand* 124: 581, 1985.
- Salman FT, Adkins ES, Fonkalsrud EW. Morphologic effects of unilateral cryptorchidism on the contralateral descended testis. *J Pediatr Surg* 23: 439, 1988.
- Haining JL, Legan JS. Fluorometric assay for xanthine oxidase. *Anal Biochem* 21: 337, 1987.
- Uchiyama M, Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 86: 271, 1987.
- Parks DA, Bulkley GB, Granger DN, Hamilton SR, Mc Cord JM. Ischemic injury in the cat small intestine: Role of superoxide radicals. *Gastroenterology* 82: 9, 1982.
- Southard JH, Marsh DC, Mc Anulty JF, Belzer FO. Oxygen derived free radical damage in organ preservation: Activity of superoxide dismutase and xanthine oxidase. *Surgery* 102: 556, 1987.
- Otamiri T. Oxygen radicals, lipid peroxidation and neutrophil infiltration after small intestinal ischemia and reperfusion. *Surgery* 105: 593, 1989.
- 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* 9: 15, 1988
- Anderson JB, Willianson RCN, Review: fertility after torsion of the spermatic cord. *Br J Urol* 225, 1990.
- Chakraborty J, Hikim APS, Jhunjhunwala JS: Quantitative evaluation of testicular biopsies from men with unilateral torsion of spermatic cord. *Urology* 25: 145, 1985.
- Ryan PC, Whelan CA, Gaffney EF, Fitzpatrick JM. The effect of unilateral experimental testicular torsion on spermatogenesis and fertility. *Br J Urol* 62: 359, 1988.
- Turner TT. Acute experimental testicular torsion; no effect on the contralateral testis. *J Androl* 6: 65, 1985.

