

# Sıçanlarda Testiküler İskemi Reperfüzyon Modelinde İki Farklı Dozda Deksmetomidinin Etkileri

## The Effects of Two Different Doses of Dexmedetomidine in a Testicular Ischemia-Reperfusion Model in Rats

Uz.Dr. Hayri BEKTAŞ,<sup>a</sup>  
Prof.Dr. Deniz ÖZZEYBEK,<sup>b</sup>  
Uz.Dr. Ferim GÜNENÇ,<sup>b</sup>  
Uz.Dr. Muhammed AKKUŞ,<sup>b</sup>  
Doç.Dr. Alper BAĞRIYANIK,<sup>c</sup>  
Yrd.Doç.Dr. Tuncay KÜME,<sup>c</sup>  
Uz.Dr. Hakan AYGÜN,<sup>d</sup>  
Dr. Onur KİZER<sup>e</sup>

<sup>a</sup>Bismil Devlet Hastanesi,  
Diyarbakır  
<sup>b</sup>Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD,  
<sup>c</sup>Histoloji ve Embriyoloji AD,  
<sup>e</sup>Üroloji AD,  
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
<sup>d</sup>Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği,  
Çiğli Devlet Hastanesi,  
İzmir

Geliş Tarihi/Received: 17.10.2011  
Kabul Tarihi/Accepted: 09.01.2012

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Uz.Dr. Ferim GÜNENÇ  
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD,  
İzmir,  
TÜRKİYE/TURKEY  
ferim.gunenc@deu.edu.tr

**ÖZET Amaç:** Yapılan çalışmalarda, deksmedetomidinin antiinflamatuvar etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. Bu araştırmanın amacı, sıçanda testiküler iskemi/reperfüzyon modelinde, farklı iki dozda uygulanan deksmedetomidinin etkilerini araştırmaktır. **Gereç ve Yöntemler:** Ağırlıkları 300-350 g arasında değişen 28 adet erkek Albino Wistar sıçan dört gruba ayrılmıştır. Tüm gruplardaki sıçanlarda sol testis ve spermatik kordon sol inguinal insizyonla serbestleştirildi. Grup 1'deki (Kontrol) (n=7) sıçanların sol testisleri, herhangi bir işlem yapılmadan skrotuma yerleştirildi. Diğer gruplara sol testise 1 saat torsiyon, 4 saat detorsiyon uygulandı. Grup 2'ye (İskemi/reperfüzyon) (İ/R, n=7) ilaç uygulaması yapılmadı. Torsiyon işleminin başlangıcının 30. dakikasında Grup 3 (İ/R+50D) (n=7) sıçanlara 50 µg/kg, Grup 4 (İ/R+100D) (n=7) sıçanlara ise 100 µg/kg deksmedetomidin intraperitoneal yolla enjekte edildi. Deney sonunda testis dokusundaki reperfüzyon hasarının derecesi doku malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit (NO) düzeyleri ölçümü ile germ hücre hasarı ise alınan testiste histopatolojik olarak Cosentino Skalası değerlendirilerek yapıldı. **Bulgular:** İ/R grubunda MDA düzeyleri, Kontrol, İ/R+50D ve İ/R+100D gruplarına kıyasla belirgin şekilde daha yüksek bulundu (p<0,001). İ/R+50D ve İ/R+100D grupları arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,01). NO düzeyleri de İ/R grubunda, Kontrol, İ/R+50D ve İ/R+100D gruplarına kıyasla daha yüksek bulundu (p=0,003). Histopatolojik skorlar ise İ/R grubunda, İ/R+50D ve İ/R+100D gruplarından daha yüksek tespit edildi (p=0,001). **Sonuç:** Sıçanda testiküler iskemi reperfüzyon modelinde 50 ve 100 µg/kg'lık dozlarda uygulanan deksmedetomidinin reperfüzyon hasarını doza bağımlı olarak azalttığı kanısına varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Deksmetomidin; reperfüzyon hasarı; spermatik kordonun dönmesi

**ABSTRACT Objective:** Dexmedetomidine is known to have anti-inflammatory activity in both ischemic and toxic inflammatory response models. In this study, the effects of two different doses of dexmedetomidine were investigated in a rat model of testicular ischemia-reperfusion. **Material and Methods:** Twenty eight rats weighing 300-350 g were divided into four groups. The left testis and spermatik cord were liberated by left inguinal incision in all groups. Sham group (Group 1) (n=7) did not receive 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), did not receive any drug. Dexmedetomidine 50 µg/kg for Group 3 (I/R+50D, n=7) and 100 µg/kg for Group 4 (I/R+100D, n=7) was injected intraperitoneally after 30 mins of testicular torsion. 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. **Results:** MDA levels in group I/R were significantly higher than in sham, I/R+50D and I/R+100D groups (p<0.001). MDA levels in I/R+50D and I/R+100D were also significantly different (p=0.01). NO levels were significantly higher in group I/R when compared to Sham, I/R+50D and I/R+100D groups (p=0.003). Histopathological scores were higher in I/R group than in I/R+50D and I/R+100D groups (p=0.001). **Conclusion:** Dexmedetomidine treatment at a dose of 50 and 100 µg/kg, attenuated reperfusion injury in a dose-dependent manner in this experimental testicular ischemia reperfusion model.

**Key Words:** Dexmedetomidine; reperfusion injury; spermatik cord torsion

doi: 10.5336/medsci.2011-26915

Copyright © 2012 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2012;32(3):766-74

**T**estis torsiyonu, çoğunlukla çocukluk ve gençlik çağlarındaki erkeklerde görülen acil ürolojik problemlerin ana nedenleri arasında sayılmaktadır. On sekiz yaşından küçük erkeklerdeki yıllık insidansının 3,8/100000 olduğu ve bu hastaların %41,9'una cerrahi uygulandığı bildirilmiştir.<sup>1</sup>

Testiküler torsiyon-detorsiyon nedeniyle oluşan iskemik ve reperfüzyon testiküler hasara neden olur. Deneysel çalışmalarda testiküler iskemiyeye en duyarlı hücrelerin germ hücreleri olduğu gösterilmiştir.<sup>2-4</sup>

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.<sup>3</sup>

Reperfüzyon hasarı nötrofil infiltrasyonu ve serbest oksijen radikallerinin artışıyla yakından ilişkili bulunmuştur. Oluşan serbest oksijen radikallerinin mitokondri ve hücre membranındaki lipidlerin peroksidasyonu yoluyla membran geçirgenliğinde artışa, protein denatürasyonuna ve hücre hasarına yol açtığı, sonuçta iskemik nedeniyle oluşan germ hücresi hasarının daha da arttığı belirlenmiştir.<sup>4-6</sup>

İskemik-reperfüzyon (İ/R) hasarının önlenmesi amacıyla yeni tedavi stratejileri öne sürülmüş, ancak klinik uygulama konusunda bir fikir birliğine varılamamıştır. Deksmetomidin, farmakolojik olarak medetomidinin dekstroizomeri olan,  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörler üzerinde selektif ve spesifik agonistik etki oluşturan, geniş farmakolojik özellik spektrumuna sahip, sedatif ve analjezik etkili bir imidazol bileşiğidir.<sup>7</sup> İskemik ve toksik inflamatuvar yanıt modellerinde yapılmış sınırlı sayıda çalışmada, deksmedetomidinin antiinflamatuvar etkinlik gösterdiği belirlenmiştir.<sup>8-10</sup>

Yapılan kaynak taramasında, testiküler iskemik reperfüzyonda deksmedetomidinin araştırıldığı klinik bir çalışmaya rastlanmamıştır. Deneysel olarak Hancı ve ark.nın sıçanlarda testiküler iskemik reperfüzyon modelinde 10 µg/kg deksmedetomidinin

etkisini araştırdıkları tek bir çalışma bulunabilmiştir.<sup>11</sup>

Sıçanda testiküler iskemik reperfüzyon modelinde gerçekleştirdiğimiz çalışmamızda, intraperitoneal yolla farklı iki dozda (50 ve 100 µg/kg) uygulanan deksmedetomidinin iskemik reperfüzyon hasarı üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu deneysel çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi (DEÜTF) Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun izni alındıktan sonra, DEÜTF Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda yapıldı. Hayvanlara uygulanan tüm işlemlerde 'Guide for the Care and Use of the Laboratory Animals' kurallarına uyuldu.

Çalışmada ağırlıkları 300-350 gr arasında değişen 28 adet Wistar Albino tipi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar tel kafeslerde 12 saatlik karanlık-aydınlık döngüsünde tutuldu, standart yiyecek ve suyla beslendi. Sıçanları hipotermiden korumak için çalışma süresince ısıtıcı bir lamba kullanılarak vücut sıcaklıkları korundu ve bazal gereksinimleri için intraperitoneal (İP) yolla 2 mL/sa serum fizyolojik solüsyonu uygulandı.

Anestezi, İP yolla 50 mg/kg ketamin (Ketalar®, Pfizer Pharma GMBH, Germany) ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorit (Alfazyne®, %2, Alfasan International, 3440 AB, Woerden, Holland) uygulanarak sağlandı; gerektiğinde sıçanların hareketsizliğini sürdürmek için anestezik ajanların aynı dozları tekrarlandı. Çalışma için 4 grup oluşturuldu. Toplam çalışma süresi tüm gruplarda 300 dakika olarak standardize edildi.

Anestezi uygulanıp stabilizasyon sağlandıktan sonra steril koşullarda tüm gruplardaki sıçanlara sol inguinal insizyon yapılarak, sol testis ve spermatik kordon serbestleştirildi.

Grup 1'deki (Kontrol) (n=7) sıçanlarda, torsiyon ve detorsiyon işlemi yapılmadan sol testis skrotuma yerleştirildi. Cilt 3/0 ipek sütür ile kapatıldı.

Grup 2'deki (R n=7) sıçanlarda, sol testis saat yönünde 720° döndürülerek torsiyone edildi. Tor-

siyonun sürdürülebilmesi için testis tunika albugi-neasından skrotuma 3/0 ipek sütür ile tespit edildi. Cilt 3/0 ipek sütür ile geçici olarak kapatıldı. Bir saat sonra cilt sütürleri açılıp tespit dikişleri alındıktan sonra sol testis saat yönünün tersine döndürülerek torsiyon düzeltildi. İnsizyon tekrar 3/0 ipek sütür ile kapatıldı ve 4 saat reperfüzyon sağlandı.

Grup 3 (İ/R+50D) (n=7) ve Grup 4'teki (İ/R+100D) (n=7) sıçanlara, Grup 2'deki sıçanlara yapılan işlemler uygulanırken, iskeminin 30. dakikasında, başka bir deyişle detorsiyondan 30 dakika önce, Grup 3'teki sıçanlara 50 µg/kg, Grup 4'teki sıçanlara ise 100 µg/kg deksmedetomidin (Precedex, Abbott Laboratories Ltd. North Chicago ABD, 100 µg/mL) İP olarak enjekte edildi. Çalışma ilacının verildiği zamanda Grup 1 ve Grup 2'deki sıçanlara ilaçla aynı hacimde serum fizyolojik solüsyonu İP yolla verildi.

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

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

## BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

**Doku örneklerinin homojenizasyonu:** Eritilen doku örnekleri %10'luk olacak şekilde hassas terazide 0,5 g tartılarak ve falkon tüplerine konularak 4,5 mL soğutulmuş fosfatla tamponlanmış solüsyon eklendikten sonra buz içinde ultrasonik homojenizatörde 80 amplitüde 5 x 6 sn pulse ile (Vibrocell, Sonics and Materials Inc, Panbury, Connecticut, USA) homojenize edildi. 4000 g'de 15 dk santrifüstasyondan sonra, 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 saptama ile (Shimadzu VP Series and RF-10AXL floresan dedektör, Japan) yapıldı.<sup>12</sup> Malondialdehit ölçümü için, 40 µL doku homojenizatlarına 100 µL saf su, 20 µL 2,8 mmol/L bütillenmiş hidroksi toluen, 20 µL %8,1 sodyum dodesil sülfat, 600 µL tiyobarbitürik asit eklendikten sonra örnekler 95°C'de 1 saat bekletildi. Soğutulduktan sonra 1000 µL 1:15 piridin butanol eklenerek vortekslendi. Daha sonra örnekler Organik faz Eppendorf tüplerine alınarak 15 000 g'de 15 dk santrifüj edildi; üstteki kısım C18 [150x4,6 cm, partikül çapı 5 mm, (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 saptandı. Malondialdehit piki 3,7 dakikada oluştu. Elde edilen MDA değerleri protein başına (µmol/g) oranlanarak düzeltildi.

**Doku NO düzeyi ölçümü:** Doku homojenizatlarında NO düzeyi, ticari "Nitric Oxide Assay Kit" (Catalog no: MA152037. Thermo Scientific. ABD) reaktif kiti kullanılarak ölçüldü. 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 540 nm'de absorbans veren azo boyası oluşumuna dayanan Griess reaksiyonuyla ölçüldü.<sup>13</sup> Toplam NO seviyesi, dönüştüğü metabolitleri nitrit ve nitrat seviyelerinin toplamı olarak değerlendirildi.<sup>13</sup> Elde edilen NO değerleri protein başına (mmol/g) oranlanarak düzeltildi.

## HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

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 mikrotom bıçağı (Feather S35) kullanılarak testis dokusundan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesit örnekleri lamlara yayıldı ve hematoksilin-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). Her doku için en az 4 kesit incelendi. Boyamaya bağlı belirgin artefaktları olan kesitler değerlendirme dışı tutuldu. Boyama tamamlandıktan sonra kesitler ışık mikroskobunda (Olympus BX-51 Tokyo, Japonya) incelendi ve görüntüler yüksek çözünürlüğe sahip kamera yardımıyla bilgisayara aktarıldı (Olympus DP-70, Tokyo, Japonya). İncelenen bütün kesitler dijital olarak fotoğraflandı.

Histolojik hasarı tanımlamada Cosentino ve ark. tarafından tanımlanan 4 dereceli ölçek kullanılarak puanlama yapıldı:<sup>14</sup>

**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 nukleuslar ve belirsizleşmiş seminifer tübülü sınırları ile birlikte cansız germinal hücreler içeren düzensiz yapıyı;

**Grade IV:** Seminifer tübüllerin koagülasyon nekrozu ile sıkıca çevrelendiği germinal hücre yapısını göstermektedir.

## İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Windows için düzenlenmiş Statistical Package of Social Sciences 15,0 (SPSS 15.0, Chicago, IL, USA) programı ile veri analizleri yapıldı. Değerler or-

tanca (min-maks) olarak verildi. Gruplar arası 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

Ağırlıkları ortalaması 330 g (300-350 g) olan toplam 28 adet Albino Wistar erkek sıçan çalışmaya dâhil edildi; tüm denekler çalışmayı tamamladı.

### BİYOKİMYASAL BULGULAR

Çalışmadan elde edilen biyokimyasal verilerin gruplara göre dağılımı Tablo 1’de sunulmuştur.

### DOKU MDA DÜZEYLERİ

Kontrol, İ/R, İ/R+50D, İ/R+100D grupları MDA düzeyleri açısından karşılaştırıldığında, gruplar arasında ortaya çıkan fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0,001$ ). Gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda torsiyon ve detorsiyonun uygulanmadığı Kontrol 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 Kontrol ve İ/R+100D grupları

**TABLO 1:** Çalışma gruplarından elde edilen MDA ve NO değerleri [ortanca (min.-maks)].

	Grup 1 (Kontrol) 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 <sup>†</sup> (0,71-1,25)	0,67 <sup>‡</sup> (0,54-0,77)	0,41 (0,34-0,67)	<0,001
NO (µg mol/g protein)	0,079 <sup>§</sup> (0,07-0,10)	0,122 <sup>  </sup> (0,10-0,18)	0,09 (0,08-0,13)	0,09 (0,07-0,11)	0,003

\* $p < 0,01$ : Grup 1- Grup 2 ve Grup 3.

<sup>†</sup> $p < 0,01$ : Grup 2- Grup 3 ve Grup 4.

<sup>‡</sup> $p < 0,01$ : Grup 3- Grup 4.

<sup>§</sup> $p < 0,01$ : Grup 1- Grup 2.

<sup>||</sup> $p < 0,01$ : Grup 2- Grup 3 ve Grup 4.

D: Deksmetomidin; İ/R: İskemi/reperfüzyon; MDA: Malondialdehit; NO: Nitrik oksit.



**TABLO 2:** Histopatolojik puanların gruplara göre dağılımı.

Histopatolojik Puan	Grup 1 Kontrol (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†		

\*p&lt;0,01:Grup 1- Grup 2, Grup 3 ve Grup 4.

†p&lt;0,01:Grup 2- Grup 3 ve Grup 4.

İ/R: İskemi/reperfüzyon.

arasındaki fark ise anlamlı bulunmadı (p=0,18) (Tablo 2).

### DOKU NO DÜZEYLERİ

Gruplar doku NO düzeyleri açısından karşılaştırıldığında, aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,003). Gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda Kontrol grubu yalnızca İ/R grubundan istatistiksel olarak farklı bulundu (p=0,003). İskemi reperfüzyonun etkilerinin araştırıldığı İ/R grubuyla, İ/R+50D (p=0,021) ve İ/R+100D (p=0,007) grupları arasında anlamlı fark elde edildi. Kontrol grubu ile İ/R+50D (p=0,096) ve İ/R+100D (p=0,085) arasındaki farklılıklar ise 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).

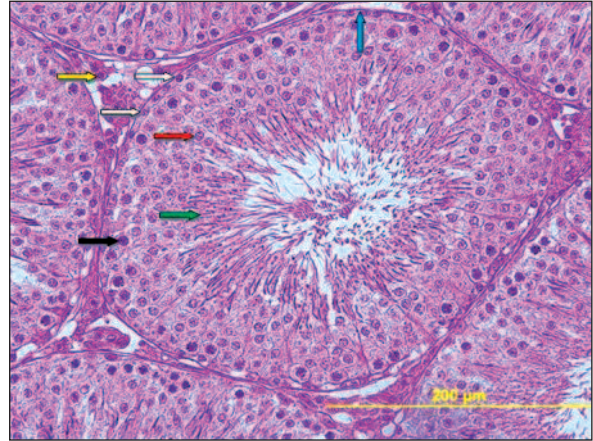
### HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Gruplar histopatolojik değerlendirme yönünden karşılaştırıldığında, aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0,001). Grupların ikili karşılaştırmalarında Kontrol 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 deksetomidinin 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 2’de sunulmuştur.

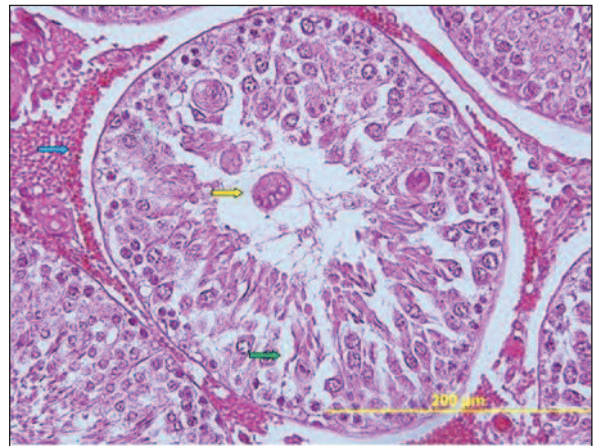
Kontrol grubunun testis kesitlerinin mikroskopik görüntüsü normal testis dokusu bulgularıyla uyumlu bulundu (Resim 1).

İ/R grubunun testiküler doku kesitlerinde, germinal epitelde hücrelerarası bağlantı komplekslerinde kayıp, interstisyel alanda kan damarları çevresinde hemoraji, ödem ve konjesyon, tübül-



**RESİM 1:** Kontrol grubundan bir deneğe ait mikroskopik görüntü. Normal testiküler yapı (Beyaz ok: spermatogoniya, Siyah ok: primer spermatosit, Yeşil ok: spermiyum, Sarı ok: Leydig hücresi, Kırmızı ok: spermatit, Mavi ok: bazal membran) 40X.

(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)



**RESİM 2:** İskemi/Reperfüzyon grubundan bir deneğe ait mikroskopik görüntü. Belirsizleşmiş seminifer tübül sınırları, hemoraji, ödem ve konjesyonun varlığı, (Mavi ok: interstisyel alanda hemoraji, Yeşil ok: epitel hücrelerinde ayrılma, Sarı ok: lümeninde kümelenmiş spermatogenik seri hücreleri) 40X.

(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)

lerde büzülme, tübül içi ödem, lümenine dökülmüş halde spermatogenik hücre kümeleri ve tübüllerde germinal epitelin bazal membrandan ayrılması gibi değişiklikler gözlemlendi (Resim 2).

İ/R+50D grubunun testis dokusu kesitlerinde, İ/R grubundaki hasarlanmaya benzer şekilde nekroz, spermatogenik hücre kümeleri ve tübüllerde bozulma tespit edildi; nadir alanlarda düzenli germinal epitele sahip seminifer tübüller ve düzenli spermatogenik hücreler gözlemlendi (Resim 3).

İ/R+100D grubunun testis dokusu kesitlerinde ise, 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, Kontrol grubundaki bulgular ile benzer özellikte olduğu saptandı (Resim 4).

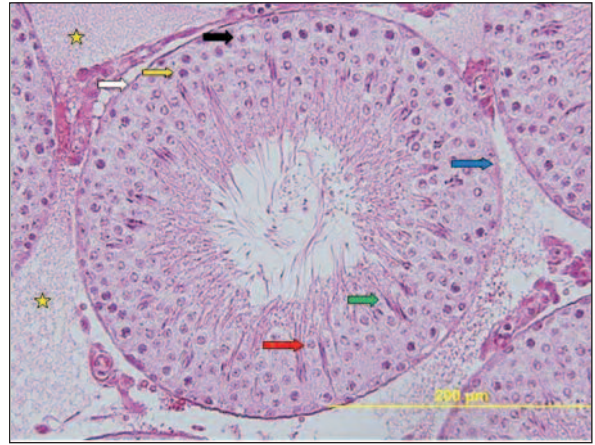
## TARTIŞMA

Testiküler torsiyon ve detorsiyon sonucunda ortaya çıkan testiküler hasar tablosunun bir İ/R modeli olduğu önceki çalışmalarda belirlenmiştir.<sup>15</sup> Bu etkilerin testiste atrofiye, germ hücrelerinde hasarlanmaya ve klinikte infertiliteye yol açtığı bilinmektedir.<sup>2-4</sup>

Testis torsiyonundan sonra uygulanan detorsiyonda ortaya çıkabilecek hasarlanmayı azaltmaya yönelik tedavi stratejileri geliştirmek amacıyla çok sayıda çalışma yapılmıştır.<sup>2,16,17</sup> 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.<sup>18,19</sup>

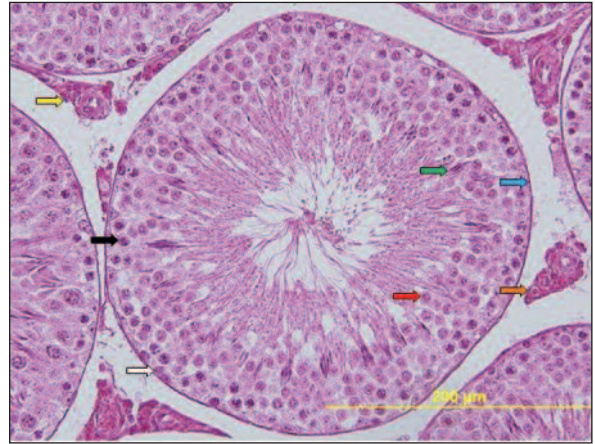
Deksmedetomidinin testiküler İ/R üzerine olan etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada, kolay temin edilmesi, deneysel İ/R modellerinin uygulandığı ve deksmedetomidinin antiinflamatuvar etkinliğinin incelendiği çalışmalarda kullanılmış olması nedeniyle deney hayvanı olarak sıçan seçilmiştir.<sup>2,8-10</sup>

Deneysel çalışmalarda farklı torsiyon derecelerinin araştırıldığı dikkati çekmiştir. Heindel ve ark. sıçanlarda testisin 360° torsiyonunun herhangi



**RESİM 3:** İskemi/Reperfüzyon+50Deksmedetomid grubundan bir deneye ait mikroskopik görüntü. (Beyaz ok: spermatogoniya, Yeşil ok: spermium, Kırmızı ok: spermatid, Mavi ok: bazal membran, Sarı ok: primer spermatosit, Yıldız: interstisyel alanda ödem) 40X.

(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)



**RESİM 4:** İskemi/Reperfüzyon+100Deksmedetomid grubundan bir deneye ait mikroskopik görüntü. (Beyaz ok: spermatogoniya, Kırmızı ok: spermatid, Yeşil ok: spermium, Sarı ok: interstisyel alan, Mavi ok: bazal membran, Siyah ok: primer spermatosit, Turuncu ok: Leydig hücresi) 40X.

(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)

bir değişikliğe yol açmadığını, 720° ve fazlasının fertilitede azalmaya neden olduğunu belirtmişlerdir.<sup>20</sup>

Turner ve ark. sıçanlarda gerçekleştirdikleri bir çalışmada, longitudinal aksı boyunca testise 180°, 360° ve 720° torsiyon uygulamışlardır.<sup>21</sup> 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.

Çalışmamızda 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 torsiyon-detorsiyon yönteminin kullanıldığı çalışmalarda farklı iskemi ve reperfüzyon sürelerinin denenmiş olması da dikkat çekici bulunmuştur.<sup>2,4,16</sup>

Akgür ve ark. çalışmalarında 1, 3 ve 5 saat boyunca 720° tek taraflı sol testis torsiyonu uyguladıkları sıçan modelinde, detorsiyondan sonra 5 saate kadar biyokimyasal olarak reperfüzyon hasarı geliştiğini saptamışlardır.<sup>22</sup> Cosentino ve ark. ise değişik sürelerde uyguladıkları torsiyondan sonra testisleri inceledikleri çalışmalarında, 3 saat boyunca 720° torsiyondan sonra testiküler kan akımının geri dönmediğini ve dokuda nekroza varan ciddi değişikliklerin görüldüğünü tespit etmişlerdir.<sup>23</sup>

Torsiyon ve detorsiyon sürelerinin araştırıldığı çalışmalardan elde edilen verilerin ışığında, çalışmamızda bir saatlik torsiyon ve dört saatlik detorsiyon uygulanması tercih edilmiştir.

İskemi reperfüzyon sürecinde reaktif oksijen ve nitrojen ürünlerinin artışı, inflamatuvar sitokinlerin (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ ) serbestleşmesi, nötrofil infiltrasyonu, oksijen radikallerinde artış, membran lipidlerinin serbest radikallerle peroksidasyonu ile oluşan lipid peroksidin, hücre yapısında hasar oluşturduğu bildirilmiştir.<sup>4,6,15</sup> Dokunun lipid peroksit içeriğinin, İ/R'nin en önemli belirteci olduğu ve bu içeriğin en iyi şekilde peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan MDA düzeyi ölçümü ile gösterilebildiği belirtilmiştir.<sup>4,6,16,18</sup> Diğer yandan, torsiyonun testiküler hasar üzerindeki etkilerini araştıran Shiraishi ve ark., indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ile NO üretiminin sıçanlarda nekrotik veya apoptotik germ hücre ölümüne yol açtığını göstermişlerdir.<sup>24</sup> Ayrıca, aşırı iNOS üretimi sonucu testiküler dokuda NO'in toksik düzeylere ulaştığını ve sıçan testisinde apoptotik germ hücrelere neden olduğunu saptamışlardır. Benzer şekilde Üstün ve ark., ipsilateral testiküler dokuda

İ/R sonrasında iNOS, endotelial hücre nitrik asit sentaz (eNOS) ve NO düzeylerinde artışın meydana geldiğini belirlemişlerdir.<sup>19</sup> 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., testisin reperfüzyonundan sonra inflamatuvar sitokinlerden TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'de artış olduğunu tespit etmişlerdir.<sup>15</sup> Reperfüzyondan sonra NO ve makrofajlardan serbestleşen TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  gibi mediyatörlerle inflamasyonun başladığını ve şiddetlendiğini, sitokinlerle uyarılan nötrofiller ve reaktif oksijen türleri (ROT)'nin reperfüzyon hasarında etkin olduğunu bildirmişlerdir.

İskemi-Reperfüzyon modellerinde deksmedetomidinin kullanıldığı çalışmalarda, ilacın presinaptik  $\alpha$ -2 adrenoreseptörler üzerinden etki gösterdiği ve aşırı noradrenalin sekresyonu ile oluşan iskemiye engellediği saptanmıştır. Hoffman ve ark., sıçanlarda oluşturdukları geçici serebral iskemi modelinde, 10 ve 100  $\mu$ g/kg dozlarındaki deksmedetomidinin etkilerini araştırmışlar ve deksmedetomidinin plazma katekolamin düzeylerini doza bağımlı olarak düşürdüğünü belirtmişlerdir.<sup>25</sup> Çalışmacılar bu sonuçları, ilacın presinaptik  $\alpha$ -2 adrenerjik reseptör stimülasyonu ile sempatik aktiviteyi azaltarak iskemiye ve O<sub>2</sub> radikallerinin potansiyel doku hasarı oluşturucu etkisini engellemesiyle açıklamışlardır.

Gerek İ/R modellerinde, gerekse de diğer inflamatuvar yanıt çalışmalarında deksmedetomidinin etkinliğinin belirlenmesi için uygulanması gereken doz aralığına yönelik kesin bir bilgiye rastlanamamıştır. Kocaoğlu ve ark., sıçanlarda sol renal artere 60 dk iskemi, 45 dk reperfüzyon uyguladıkları çalışmalarında, reperfüzyon başlangıcında 100  $\mu$ g/kg deksmedetomidin uyguladıkları sıçanların histopatolojik puanlarının, tedavi edilmeyen grubun ve kontrol grubunun puanlarına göre anlamlı düzeyde daha düşük olduğunu saptamışlardır.<sup>26</sup>

Hancı ve ark. da benzer şekilde, sıçanlardaki testiküler iskemi reperfüzyon modelinde 10  $\mu$ g/kg



dozda uygulanan deksmedetomidinin etkisini araştırmışlardır.<sup>11</sup> Testiste saat yönünde 720° rotasyon ile bir saat iskemi ve ters yönde çevirerek 4 saat reperfüzyon uyguladıkları çalışmalarında, iskemi başlangıcından 30 dk sonra verdikleri 10 µg/kg deksmedetomidinin histopatolojik ve biyokimyasal olarak hücre hasarını önleyebildiğini belirtmişlerdir. Çalışmanın biyokimyasal değerlendirmesini, total antioksidan enzim aktivitelerini ve MAD düzeylerini ölçerek, germ hücre apoptozunu ise APAF-1 (Apoptosis Protease Activating Factor 1) antikolarını kullanarak gerçekleştirmişlerdir.

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

Çalışmamızda yalnızca torsiyon ve detorsiyon uygulanarak İ/R'nin etkilerinin araştırıldığı grupta, gerek MDA ve NO düzeyleri, gerekse histopatolojik veriler, Kontrol grubu ile kıyaslanmış ve bu grupta iskemi ve reperfüzyonun gerçekleştiği belirlenmiştir. Bu bulgular, aynı iskemi ve reperfüzyon sürelerini kullanan Hancı ve ark. ile Beheshtian ve ark. tarafından elde edilen verilerle uyumlu bulunmuştur.<sup>11,18</sup>

Çalışmamızda, deksmedetomidinin farklı iki dozunun uygulandığı ilaç gruplarının her ikisinde de MDA ve NO düzeyleri, ilaç uygulanmayan İ/R grubundakilere kıyasla daha düşük bulunmuştur. Bu veriler, deksmedetomidinin testiste torsiyon ve detorsiyonla oluşturulan İ/R hasarının etkilerini doza bağlı olarak azalttığı şeklinde yorumlanmıştır. Hancı ve ark. tarafından yapılan çalışmalarda, 10 µg/kg deksmedetomidin ile saptanan MDA düzeylerinin, bizim uyguladığımız 50 ve 100 µg/kg ile saptadığımız MDA değerlerinden belirgin olarak daha yüksek belirlemiş olmaları, ilacın doza bağımlı bir etki gösterdiğini destekler nitelikte bulunmuştur.<sup>11</sup>

Taniguchi ve ark., deksmedetomidinin inflammatuar yanıtları inhibe ettiğini, alveol duvarlarındaki nötrofil infiltrasyonunu azalttığını, akciğer hasarını hafiflettiğini ve ajanın bu etkileri doza ba-

ğımlı olarak gerçekleştirdiğini saptamışlardır.<sup>9</sup> 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 göstermemesinin ise, reperfüzyondan dört saat sonra kontrol değerlerine çok yaklaşmış olmasından kaynaklanıyor olabileceği düşünülmüştür.

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, kontrol grubundakine benzer özellikler gösterdiği saptanmıştır. Kontrol 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.

Bu deneysel çalışmada, sıçanda 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 ve nitrik oksit düzeylerinin, ayrıca histopatolojik olarak iskemi ve reperfüzyonla yükselen hasar puanlarının deksmedetomidin uygulamasıyla doza bağımlı olarak düştüğü saptanmıştır. Bu verilere dayanılarak, sıçanlardaki testiküler iskemi reperfüzyon modelinde, 50 ve 100 µg/kg'lık dozlarda uygulanan deksmedetomidinin iskemi reperfüzyon hasarını doza bağımlı olarak azalttığı sonucuna varılmıştır.

Deksmetomidinin, acil koşullarda gerçekleştirilen testis detorsiyonu girişimlerinde klinik bir seçenek oluşturmasından önce, farklı uygulama zamanlarının etkinliğinin de araştırılmasının uygun olacağı kanısına varılmıştır.



## KAYNAKLAR

1. Zhao LC, Lautz TB, Meeks JJ, Maizels M. Pediatric testicular torsion epidemiology using a national database: incidence, risk of orchiectomy and possible measures toward improving the quality of care. *J Urol* 2011;186(5):2009-13.
2. Mogilner JG, Lurie M, Coran AG, Nativ O, Shiloni E, Sukhotnik I. Effect of diclofenac on germ cell apoptosis following testicular ischemia-reperfusion injury in a rat. *Pediatr Surg Int* 2006;22(1):99-105.
3. Becker EJ Jr, Turner TT. Endocrine and exocrine effects of testicular torsion in the prepubertal and adult rat. *J Androl* 1995;16(4):342-51.
4. 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(1):135-59.
5. Lysiak JJ, Nguyen QA, Turner TT. Peptide and nonpeptide reactive oxygen scavengers provide partial rescue of the testis after torsion. *J Androl* 2002;23(3):400-9.
6. Filho DW, Torres MA, Bordin AL, Crezcynski-Pasa TB, Boveris A. Spermatic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia-reperfusion injury. *Mol Aspects Med* 2004;25(1-2):199-210.
7. Gertler R, Brown HC, Mitchell DH, Silvius EN. Dexmedetomidine: a novel sedative-analgesic agent. *Proc (Bayl Univ Med Cent)* 2001; 14(1):13-21.
8. Taniguchi T, Kidani Y, Kanakura H, Takemoto Y, Yamamoto K. Effects of dexmedetomidine on mortality rate and inflammatory responses to endotoxin-induced shock in rats. *Crit Care Med* 2004;32(6):1322-6.
9. Taniguchi T, Kurita A, Kobayashi K, Yamamoto K, Inaba H. Dose- and time-related effects of dexmedetomidine on mortality and inflammatory responses to endotoxin-induced shock in rats. *J Anesth* 2008;22(3):221-8.
10. 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(5):650-6.
11. Hanci V, Erol B, Bektaş S, Mungan G, Yurtlu S, Tokgöz H, et al. Effect of dexmedetomidine on testicular torsion/detorsion damage in rats. *Urol Int* 2010;84(1):105-11.
12. Lykkesfeldt J. Determination of malondialdehyde as dithiobarbituric acid adduct in biological samples by HPLC with fluorescence detection: comparison with ultraviolet-visible spectrophotometry. *Clin Chem* 2001;47(9):1725-7.
13. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 1982;126(1):131-8.
14. 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(1):23-31.
15. Turner TT, Bang HJ, Lysiak JL. The molecular pathology of experimental testicular torsion suggests adjunct therapy to surgical repair. *J Urol* 2004;172(6 Pt 2):2574-8.
16. Aksoy H, Yapanoglu T, Aksoy Y, Ozbey I, Turhan H, Gursan N. Dehydroepiandrosterone treatment attenuates reperfusion injury after testicular torsion and detorsion in rats. *J Pediatr Surg* 2007;42(10):1740-4.
17. Yurtçu M, Abasıyanık A, Avunduk MC, Karagözoğlu E, Abasıyanık F. [The effects of one dose and seven days' managements of melatonin and steroid to prevent ischemia-reperfusion injury in testicular torsion]. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2005;25(4):496-500.
18. Beheshtian A, Salmasi AH, Payabvash S, Kiumehr S, Ghazinezami B, Rahimpour S, et al. Protective effects of sildenafil administration on testicular torsion/detorsion damage in rats. *World J Urol* 2008;26(2):197-202.
19. Ustün H, Akgül KT, Ayyıldız A, Yağmurdur H, Nuhoğlu B, Karagözel E, et al. Effect of phosphodiesterase 5 inhibitors on apoptosis and nitric oxide synthases in testis torsion: an experimental study. *Pediatr Surg Int* 2008; 24(2):205-11.
20. 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 Pt 1):366-9.
21. Turner TT. Acute experimental testicular torsion. No effect on the contralateral testis. *J Androl* 1985;6(1):65-72.
22. Akgür FM, Kiliç K, Aktuğ T, Olguner M. The effect of allopurinol pretreatment before detorsion of testicular torsion. *J Urol* 1994;151(6):1715-7.
23. 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(5):906-11.
24. 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(2):514-21.
25. Hoffman WE, Kochs E, Werner C, Thomas C, Albrecht RF. Dexmedetomidine improves neurologic outcome from incomplete ischemia in the rat. Reversal by the alpha 2-adrenergic antagonist atipamezole. *Anesthesiology* 1991; 75(2):328-32.
26. Kocoglu H, Ozturk H, Ozturk H, Yilmaz F, Gulcu N. Effect of dexmedetomidine on ischemia-reperfusion injury in rat kidney: a histopathologic study. *Ren Fail* 2009;31(1):70-4.