

SIÇAN TESTİSİNDEKİ İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI SONUCU OLUŞAN OKSİDATİF STRES VE HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNE KETOPROFENİN KORUYUCU ETKİSİ

PROTECTIVE EFFECTS OF KETOPROFEN ON OXIDATIVE STRESS AND HISTOPATHOLOGICAL CHANGES IN TESTICULAR ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY IN A RAT

Murat ÇAKAN*, Türkay ÇAKAN**, Tolga AYDOS***, Demet YILMAZER****, Elmas ÖĞÜŞ*****, Aytun S. KILIÇ*

* S.B. Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. Üroloji Kliniği, ANKARA

** S.B. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1. Anestezi Kliniği, ANKARA

*** Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, KIRIKKALE

**** S.B. Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. Patoloji Kliniği, ANKARA

***** S.B. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Kliniği, ANKARA

ABSTRACT

Introduction: Testicular torsion is a common surgical emergency affecting newborns, children and adolescents. A possible cause of testicular injury is ischemia-reperfusion (I/R) injury. In this study we evaluated the effect of ketoprofen, a non-steroidal anti-inflammatory drug, on I/R injury due to testicular torsion-detorsion (T/D).

Materials and Methods: Twenty-eight prepubertal male Wistar rats were divided into four groups each containing 7 rats: Group 1, control; Group 2, sham; Group 3, T/D; and Group 4, T/D+ketoprofen. Group 3 and 4 underwent 2 hours of left testicular torsion and 4 hours of detorsion. In Group 4, ketoprofen (5 mg/kg) was administered intraperitoneally 60 minutes before detorsion. At the end of the study, bilateral orchiectomies were performed for measurement of MDA and NO levels and histopathologic examination.

Results: Testicular torsion-detorsion significantly induced oxidative stress and tissue damage in both ipsilateral and contralateral testes. Administration of ketoprofen significantly lowered MDA level and improved histologic parameters of spermatogenesis in both testes.

Conclusion: Ketoprofen has a protective effect on testicular ischemia-reperfusion injury due to testicular torsion/detorsion.

Key words: Testis, Ischemia-reperfusion injury, Ketoprofen

ÖZET

Testis torsiyonu yenidoğan, çocukluk ve adolesan dönemdeki erkekleri etkileyen ve sık karşılaşılan ürolojik acil bir hastalıktır. Testiküler torsiyon sonucu gelişen testiküler hasarın olası nedenlerinden biri testiküler iskemi-reperfüzyon (I/R) hasarıdır. Bu çalışmamızda testiküler torsiyon-detorsiyon (T/D) sonucu gelişen I/R hasarı üzerine bir nonsteroidal ilaç olan ketoprofenin etkisi araştırıldı.

Çalışmaya alınan 28 prepubertal sıçan eşit olarak 4 gruba bölündü: grup 1, kontrol; grup 2, sham; grup 3, T/D; grup 4 T/D+ketoprofen. Grup 3 ve 4'deki sıçan testislerine 2 saat torsiyon ve 4 saat detorsiyon uygulandı. 4. grupta ketoprofen (5 mg/kg) detorsiyondan 60 dakika önce intraperitoneal olarak verildi. Çalışmanın sonunda bütün sıçanlara iki taraflı orşiektomi yapılarak hem testiküler MDA ve NO seviyeleri ölçüldü, hem de testiküler histopatolojik inceleme yapıldı.

Testiküler torsiyon/detorsiyonun hem de kontralateral testiste oksidatif strese ve doku hasarına neden olduğu saptandı. Ketoprofen verilmesinin oksidatif stresi önemli derecede azalttığı ve testiküler doku hasarında anlamlı bir düzelmeye neden olduğu tespit edildi.

Ketoprofen testiküler torsiyon/detorsiyona bağlı olarak gelişen iskemi/reperfüzyon hasarı üzerine koruyucu etkiye sahip bir ilaç olarak gözükmektedir.

Anahtar kelimeler: Testis, İskemi-reperfüzyon hasarı, Ketoprofen

GİRİŞ

Testis torsiyonu çocukluk ve gençlik çağlarındaki erkeklerde akut skrotumun ana nedenlerinden biridir. 25 yaşından genç erkeklerdeki insidansı 1/

4000'dir¹. Başarılı bir cerrahi girişime karşın bu hastaların %40-60'ında testiküler atrofi ve infertilite gelişmektedir².

Dergiye Gönderme Tarihi: 21.02.2007

Yayına Kabul Tarihi: 26.02.2007

Testiküler torsiyon-detorsiyon (T/D) nedeniyle oluşan iskemik ve reperfüzyon (I/R) testiküler hasara neden olmaktadır. İskemi sırasında oksijen miktarının metabolik ihtiyaçlara oranla düşük seviyede olması, hücresel enerji depolarındaki azalma ve toksik metabolitlerin birikimine bağlı olarak germ hücre ölümü gerçekleşir³. Reperfüzyon safhasında hem reaktif oksijen radikallerinde (ROS) (başlıca hidroksil radikalleri ve süperoksit anyonları olmak üzere) hem de reaktif nitrojen türevlerinde (RNS) (başlıca nitrik oksit (NO) ve onun peroksinitrit gibi toksik metabolitlerinde olmak üzere) ciddi artış olur^{4,5}. Bu serbest radikaller mitokondri ve hücre membranındaki lipidlerin peroksidasyonu yoluyla membran geçirgenliğinde artışa veya membran bütünlüğünde bozulmaya neden olur⁶. Sonuçta iskemik nedeniyle oluşan germ hücre hasarı daha da artar.

Testiste oluşan I/R hasarı serbest oksijen radikallerini tutucu antioksidan ilaçlarla düzeltilebilir. Analjezik ve antiinflamatuvar etkileri nedeniyle non-steroidal antiinflamatuvar (NSAİ) ilaçlar bu amaçla en sık kullanılan ajanlardır. Bu grupta yer alan ilaçlar güçlü bir ROS ve/veya RNS azaltıcı etki gösterirler⁷. Ketoprofen bir arylpropionic asit türevidir ve inflamasyon/ağrı tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılır. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada ketoprofenin hem serbest oksijen radikallerini tuttuğu hem de siklooksijenaz (COX) enzimini inhibe ettiği gösterilmiştir⁷. Ancak daha önce bu ilacın testiküler T/D sonrası gelişen I/R hasarındaki etkisi araştırılmamıştır.

Bu çalışmamızda tek taraflı testiküler torsiyon ve detorsiyon sonrası gelişen testiküler oksidatif stres ve testis histopatolojisindeki değişimler üzerine bir NSAİ ilaç olan ketoprofenin etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Deneysel Torsiyon Modeli için Cerrahi İşlemler ve Hayvan Seçimi: Lokal etik komite izni alındıktan sonra yirmi sekiz adet 120-180 gram ağırlığında prepubertal Wistar albino sıçan çalışmaya alındı. Sıçanlar randomize olarak eşit sayıda dört gruba ayrıldı: 1. grup, kontrol; 2. grup, sham; 3. grup, torsiyon/detorsiyon (T/D); 4. grup, T/D+ketoprofen. Bütün sıçanlara ısı ve ışık miktarları kontrol edilen odalarda su ve yemleri sağlanarak bakıldı.

Sıçanlar intraperitoneal olarak uygulanan 30 mg/kg ketamin ile uyutuldu. Kontrol grubundaki sıçanlara sadece iki taraflı orşiyektomi yapıldı. T/D grubundaki sıçanlara 2 saat süreyle tek taraflı torsiyon yapıldıktan sonra testis detorsiyone edilerek 4 saat beklendi. Bu gruba hiçbir ilaç uygulaması yapılmadı. T/D+ketoprofen grubundaki sıçanlara torsiyon işlemi uygulandıktan sonra detorsiyondan 60 dakika önce intraperitoneal olarak 5 mg/kg dozda ketoprofen (Profenid®, Eczacıbaşı) verildi. T/D ve T/D+ketoprofen grubundaki sıçanlarda orta skrotal hattın yapılan vertikal kesi ile sol testis dışarı alınıp gubernakulum kesildi. Testis saat yönünde 720° döndürüldükten sonra tunika albugineadan geçilen dikişlerle skrotuma tespit edildi. Daha sonra testis tekrar skrotuma yerleştirilip tabakalar kapatıldı. İki saatlik torsiyon sonrası skrotum tekrar açılarak testis detorsiyone edildi ve tekrar skrotuma yerleştirildi. Sham grubundaki sıçanlara ise T/D hariç yukarıda bahsedilen cerrahi işlemin aynısı uygulandı.

Testiküler Dokuların Hazırlanması: Çalışma sonunda sıçanlara iki taraflı orşiyektomi yapıldı. Elde edilen dokular üç parçaya bölündü. Birinci parça derhal sıvı nitrojen ile işlem edilerek donduruldu ve biyokimyasal incelemeler yapılana kadar -80°'de saklandı. İkinci parça histolojik inceleme için alındı ve Bouin solüsyonunda 24-48 saat tutularak tespit edildi. Üçüncü parça ise daha sonra herhangi bir nedenle kullanım ihtimaline karşı saklandı.

Biyokimyasal İncelemeler: Testiküler malondialdehit (MDA) düzeylerinin ölçümü için Wasowicz ve arkadaşları tarafından tarif edilen fluorometrik yöntem kullanıldı⁸. Buradaki temel prensip, tiyobarbiturik asit ile MDA'nın reaksiyonu sonucu oluşan ürünün standart solüsyonlar (1, 1, 1, 3-tetrametoksipropen) ile karşılaştırılarak spektrofotometrede (Hitachi model F-2500) (525 nm'de eksitasyon, 547 nm'de emisyon) okunması esasına dayanır.

Testisteki nitrit oksit miktarı ölçümü Griess yöntemine göre yapıldı⁹. Bu yöntemde önce 2-10 µM sodyum nitrit veya sodyum nitrat standart olarak kullanılarak kolorimetrik kit (Sigma-Aldrich Co, USA) ile testiküler nitrite (NO₂⁻)/nitrat e(NO₃⁻) düzeyleri tespit edildi. Daha sonra mikromolar de-

ğer olarak saptanan nitrit ve nitratın toplamı NO değeri olarak kullanıldı.

Histopatolojik İncelemeler: Testis doku örnekleri parafine yatırıldı ve her bloktan elde edilen 5 mikronluk kesitler hemotoksilin-eosin (H-E) ile boyandı. Tüm kesitler yapılan işlemler hakkında bilgisi olmayan aynı patolog (DY) tarafından incelendi. Histolojik hasarı tanımlamada Cosentino ve ark.nın tanımladığı 4 dereceli skala kullanıldı: Grade I hasar düzenli germinal hücre dizilimi ile normal testiküler yapıyı; grade II hasar daha az düzenli, birbirinden ayrılmış germinal hücreler ve sıkıca birbirine yapışık seminifer tubülülleri içeren yapıyı; grade III hasar büzülmüş piknotik nükleusları ve belirsizleşmiş seminifer tubülü sınırları ile birlikte cansız germinal hücreler içeren düzensiz yapıyı ve grade IV hasar seminifer tubülüllerin koagülasyon nekrozu ile sıkıca çevrelendiği germinal hücre yapısını gösteriyordu¹⁰.

İstatistiksel Analizler: Veri analizleri Windows için düzenlenmiş SPSS'in 11.5 versiyonu ile yapıldı. Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal Wallis testi kullanılarak yapıldı. Kruskal Wallis testinden elde edilen p değerleri istatistiksel olarak anlamlı çıktığında multipl karşılaştırma testleri kullanılarak hangi grubun diğerinden farklı olduğu tespit edildi. Grup içi karşılaştırmalar Wilcoxon Sign Rank testi kullanılarak yapıldı. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Testis MDA ve NO Konsantrasyonları: İpsilateral iskemik ve kontralateral noniskemik testislerdeki ortalama MDA ve NO seviyeleri Tablo 1'de verilmiştir. Bütün gruplarda yer alan sıçanların her iki testislerine ait ortalama MDA ve NO sevi-

yeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$).

Kontrol ve sham grubundaki her iki testise ait ortalama MDA ve NO seviyeleri birbirine benzer bulundu ($p > 0.05$). T/D grubundaki ipsilateral ve kontralateral testiküler MDA seviyesi kontrol grubundan daha yüksek olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.05$). Buna karşın, ketoprofen verilen grupta her iki testise ait MDA seviyesi T/D grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük ($p < 0.05$) ve kontrol grubuna benzer seviyede idi ($p > 0.05$). Hem T/D hem de T/D+ketoprofen grubundaki her iki testise ait NO değerleri kontrol ve sham gruplarındaki değerlerden düşük ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.05$). Bununla beraber, ketoprofen verilen grup ile T/D grubundaki NO seviyeleri birbirine benzer bulundu ($p > 0.05$).

Histopatoloji: Bütün gruplara ait ortalama testiküler hasar skoru Şekil 1'de gösterilmiştir. T/D ve T/D+ketoprofen gruplarındaki ipsilateral iskemik testise ait ortalama hasar skoru kontrol ve sham grubundan istatistiksel olarak anlamlı yüksek olmasına karşın ($p < 0.05$), ketoprofen verilen gruptaki skor T/D grubundan daha düşük ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.05$). T/D grubundaki tüm ipsilateral iskemik testislerdeki hasar grade 3 veya 4 seviyesinde iken, ketoprofen verilen gruplarda bu hasar grade 2 veya 3 seviyesinde idi. Hem T/D hem de ketoprofen grubundaki kontralateral iskemik testislere ait testiküler hasar skoru ipsilateral iskemik testislerden istatistiksel olarak anlamlı düşük iken ($p < 0.05$), bu değerler kontrol ve sham grubuna ait değerlerden yüksek ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.05$) (Resim 1).

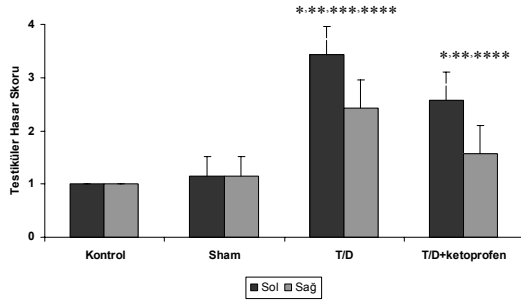
Tablo 1. Reperfüzyon sonrası testiküler MDA ve NO düzeyleri (Ortalama $\pm$ Standart sapma)

Grup	MDA (nmol/g wet tissue)		NO (μ mol/L/g wet tissue)	
	İpsilateral	Kontralateral	İpsilateral	Kontralateral
Kontrol	36,7 $\pm$ 6,15	37,9 $\pm$ 7,37	133,1 $\pm$ 21,70	127,5 $\pm$ 8,05
Sham	38,9 $\pm$ 3,16	38,3 $\pm$ 3,93	131,5 $\pm$ 13,01	129,3 $\pm$ 18,94
T/D	75,1 $\pm$ 4,60****	63,2 $\pm$ 4,29*****	104,3 $\pm$ 11,32***	101,9 $\pm$ 8,72***
T/D+ketoprofen	42,6 $\pm$ 4,87	40,5 $\pm$ 7,93	100,8 $\pm$ 7,57***	105,4 $\pm$ 9,56***

*: Kontrol grubu ile olan fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$).

**: Sham grubu ile olan fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$).

***: T/D+ketoprofen grubu ile olan fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$).



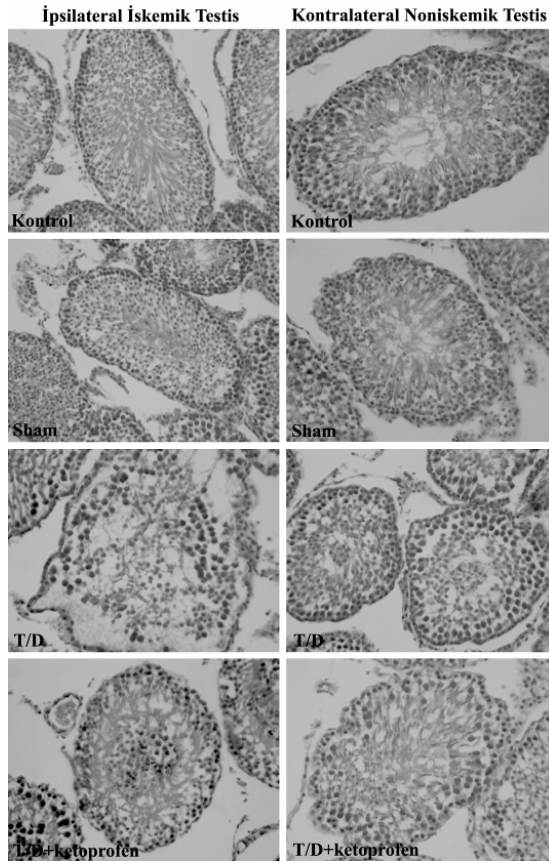
Şekil 1. Deney gruplarındaki ortalama histolojik hasar skorları

*: p<0,05 kontrol grubu ile karşılaştırma

** : p<0,05 sham grubu ile karşılaştırma

***: p<0,05 T/D+ketoprofen grubu ile karşılaştırma

****: p<0,05 sol ve sağ testislerin karşılaştırılması



Resim 1. Tüm gruplarda her iki testisin histopatolojik bulguları

TARTIŞMA

İnfertilite hala testiküler torsiyonun uzun dönem istenmeyen yan etkilerinden en önemlisidir. Bu hastalardaki fertilitte bozukluğu iskeminin derecesine ve diğer testisteki hasara bağlıdır^{11,12}. Testi-

küler torsiyonlu sıçan çalışmalarında detorsiyon sonrası leyding ve sertoli hücrelerinin fonksiyonlarının korunmasına ve kan akımının geri dönmesine karşın spermatogenezde bozukluk meydana gelmektedir^{11,13,14}. Dahası, bu bozukluk değişik süreler devam eder ve bu durum testiküler torsiyonun cerrahi tedavisi sonrasında devam eden spermatogenezdeki bozukluğu açıklamaktadır¹⁵.

Testis torsiyonunun cerrahi tedavisi sonrası gözlenen I/R hasarı nötrofillerin infiltrasyonu ve ROS/RNS'lerin ortama çıkmasına bağlanmaktadır. İnflamatuar dönemde, fagositik hücrelerin stimülasyonu ile süperoksit anyon radikali gibi oksijen radikalleri ortama çıkar¹⁶. Bu ürünler hücre membran lipidlerinin peroksidasyonu ile çeşitli hücresel komponentlerinde hasar oluştururlar. Malondialdehit lipid peroksidasyonu sırasında oluşan bir I/R hasar ürünüdür ve dokudaki birikimi lipid peroksidasyonunun derecesi ile orantılıdır¹⁷. Yapılan bir çalışmada testiküler dokudaki MDA seviyesinin reperfüzyon başladıktan 4 saat sonra arttığı rapor edilmiştir¹⁸.

Testiküler inflamasyon bölgesinde ROS ürünlerinin yanı sıra başlıca NO ve peroksinitrit olmak üzere RNS türevleri de oluşur¹⁹. Yapılan çalışmalarda NO'nun testiküler I/R hasarında önemli bir rolü olduğu belirtilmesine karşın bu rolün ne olduğu belirsizdir^{20,21}. Yüksek konsantrasyonlardaki NO oksijen veya süperoksit molekülü ile etkileşime girerek DNA deaminasyonu, oksidasyon veya nitrasyonuna yol açar²⁰. Buna karşın, yapılan bazı çalışmalarda NO miktarının iskemi safhasında biraz artarken reperfüzyon safhasında azaldığını ortaya koymuştur²⁰⁻²². Dahası, Can ve ark. NO seviyesinin hem iskemi hem de reperfüzyon safhasında azaldığını rapor etmişlerdir²³. Bizim çalışmamızda hem T/D grubunda hem de T/D+ketoprofen grubundaki testiküler NO seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu (p<0.05). Ayrıca ketoprofenin NO seviyesini etkilemediği tespit edildi. Reperfüzyon safhasındaki NO seviyesinin düşmesinin nedenleri açık olmasa da bu durum NO'nun süperoksit radikalleri ve hemoglobin ile reaksiyonuna bağlı olabilir²². Ayrıca, reperfüzyon safhasında tunika albugenianın baskısı nedeniyle mekanik olarak kan akımının azalması testiküler NO seviyesinde düşmeye neden olabilir²⁰. Peroksinitrit tirozin rezidülerinin nitrasyonunu artırır ve

bu durum NO'deki azalmanın bir başka nedeni olabilir²⁴.

Testis torsiyonunun tedavisinde amaç iskemi ve reperfüzyonun bozucu etkilerini azaltmak veya yok etmektir. Burada hücre membran bütünlüğünü koruyan etkili ajanlardan birisi antioksidanlardır²⁵. Araşidonik asitin PGG₂ ve PGH₂A'ya dönüşümünü sağlayan COX-1 ve/veya COX-2 enziminin inhibisyonu NSAİ grupta yer alan ilaçların ana etki mekanizmasıdır²⁶. COX-2 inhibisyonu NSAİ ilaçların antipretik, analjezik ve antiinflamatuvar etkisini sağlar iken COX-1 inhibisyonu gastrointestinal trakta ait istenmeyen yan etkilerden sorumludur. Bununla beraber bu ilaçların etkisinin kısmen ROS/RNS azaltıcı ve nötrofil salınımını engelleyici etkileri ile ilişkili olduğu belirtilmektedir⁷.

Arilproponik asit derivelerinin farmakodinamik özellikleri diğer NSAİ ilaçlardan önemli bir farklılık göstermez. Bu grupta yer alan ilaçların hepsi nonselektif COX enzim inhibitörüdürler ve yan etkileri diğer NSAİ ilaçlar gibidir. Ketoprofen bir antiinflamatuvar, antioksidan ve antriapopitotik ilaçtır. İlk olarak antiromatizmal bir ilaç olarak geliştirilmiştir. Ketoprofen nötrofillerin agregasyonunu ve degranülasyonunu inhibe eder⁷. COX inhibisyonunun yanı sıra hem lizozomal membranları stabilize eder hem de bradikininin etkisini antagone eder. ROS, NO ve peroksinitrit etkilerini engellemesinin yanı sıra iNOS sentezini de inhibe eder⁷. Fokal serebral iskemi yapılmış sıçanlarda ketoprofenin infarkt volümünü küçülttüğü rapor edilmiştir²⁷. Ancak, yayınlarda ketoprofenin testiküler I/R hasarında kullanımına ait bir çalışma tespit edilmemiştir. Bu çalışmamızda ketoprofenin MDA seviyesini önemli derecede düşürür iken NO seviyesine bir etki yapmadığı saptanmıştır. Ketoprofenin in-vitro ve in-vivo olarak prostaglandin sentezini inhibe ettiği ve başlıca süperoksit radikali, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve hipoklorus asit olmak üzere ROS türevlerini inhibe ettiği bilinmektedir. Fakat yapılan bir in-vivo çalışmada ketoprofenin NO üzerine çok az bir etki yaptığı, peroksinitrit üzerine ise hiç etki yapmadığı belirtilmiştir⁷. Mogilner ve ark benzer bulguları bir başka NSAİ ilaç olan diklofenak için rapor etmiştir³. Fakat bizim çalışmamızda ketoprofenin testiküler histopatoloji üzerine düzeltici etkisi bulunduğu saptanmış iken diklofenak ile yapılan çalışmada bu etkinin gözlenmediği bildirilmiştir³.

Tek taraflı testis torsiyonunun karşı testise etkisi tartışmalıdır. Bazı çalışmalarda karşı testiste hasar olduğu rapor edilmesine karşın³, bazı çalışmalarda bu birliktelik saptanmamıştır^{13,18}. Bu çalışmamızda tek taraflı testis torsiyonu/detorsiyonu sonrası karşı testiste bir oksidatif stres ve doku hasarı olduğu saptanmıştır. Ancak bu hasar torsiyonlu testiste daha şiddetli olmuştur. Karşı testiste refleks olarak azalmış kan akımı, testisten salınan ROS ve bozulmuş kan-testis bariyeri nedeniyle kendi sperm hücresine karşı oluşan otoimmünizasyon bu hasarı açıklamak için öne sürülen mekanizmalardan bazılarıdır^{28,29}. Kehinde ve ark. detorsiyondan 3 ay sonra dahi her iki testisteki ROS miktarının normalden fazla olduğunu ve bu durumun karşı testiste oluşan hasarın nedenlerinden birisi olduğunu belirtmiştir³⁰.

Bu çalışmamızda, ilk kez olarak, bir antioksidan ve anti-inflamatuvar ajan olan ketoprofenin testiküler torsiyon-detorsiyonuna bağlı olarak gelişen iskemi-reperfüzyon hasarındaki etkisi araştırılmış ve bu ilacın hem T/D yapılan testiste hem de karşı testiste oluşan hasarı azalttığı saptanmıştır. Bu nedenle ketoprofen testiküler I/R hasarında kullanılabilecek yeni bir ajan olarak gözükmektedir. Ancak bu çalışmamızın sonuçlarını doğrulayacak ve testiküler COX ve NOS seviyelerindeki ölçümleri de içeren başka çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- 1- Barada JH, Weingarten JL, Cromie WJ: Testicular salvage and age-related delay in the presentation of testicular torsion. J Urol. 142: 746-748, 1989.
- 2- Krarup T: The testes after torsion. Br J Urol. 50: 43-46, 1978.
- 3- 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. 22: 99-105, 2006.
- 4- Lysiak JJ, Nguyen QA, Turner TT: Peptide and non-peptide reactive oxygen scavengers provide partial rescue of the testis after torsion. J Androl. 23: 400-409, 2002.
- 5- 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. 25: 199-210, 2004.
- 6- Akgül FM, Kılınç K, Tanyel FC, Büyükpamukçu N, Hiçsönmez A: Ipsilateral and contralateral testicular biochemical acute changes after unilateral testicular torsion and detorsion. Urology. 44: 413-418, 1994.
- 7- Costa D, Moutinho L, Lima JL, Fernandes E: Antioxidant activity and inhibition of human neutrophil oxidative burst mediated by arylpropionic acid non-steroidal anti-inflammatory drugs. Biol Pharm Bull. 29: 1659-70, 2006.

- 8- **Wasowicz W, Neve J, Peretz A:** Optimized steps in fluorometric determination of thiobarbituric acid-reactive substance in serum: Importance of extraction pH and influence of sample preservation and storage. *Clin Chem.* 39: 2522-2526, 1993.
- 9- **Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skippner PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR:** Analysis of nitrate, nitrite, and [¹⁵N] nitrite in biological fluids. *Anal Biochem.* 126: 131-138, 1982.
- 10- **Cosentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, Cockett AT:** Histopathology of prepubertal rat testes subjected to various durations of spermatic cord torsions. *J Androl.* 7: 23-31, 1986.
- 11- **Baker LA, Turner TT:** Leyding cell function after experimental testicular torsion despite loss of spermatogenesis. *J Androl.* 16: 12-17, 1995.
- 12- **Bartke A:** Apoptosis in germ cells, a generalized or cell type-specific phenomenon. *Endocrinology.* 136: 3-4, 1995.
- 13- **Turner TT, Tung KS, Tomomasa H, Wilson LW:** Acute testicular ischemia results in germ cell-specific apoptosis in the rat. *Biol Reprod.* 57: 1267-1274, 1997.
- 14- **Turner TT, Brown KJ:** Spermatic cord torsion: Loss of spermatogenesis despite return of blood flow. *Biol Reprod.* 49: 401-407, 1993.
- 15- **Prillman HM, Turner TT:** Rescue of testicular function after acute experimental torsion. *J Urol.* 157: 340-345, 1997.
- 16- **Kladna A, Aboul-Enein HY, Kruk I, Lichszteid K, Michalska T:** Scavenging of reactive oxygen species by some nonsteroidal anti-inflammatory drugs and fenofibrate. *Biopolymers.* 82: 99-105, 2006.
- 17- **Draper HH, Hadley M:** Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 186: 421-431, 1990.
- 18- **Bozlu M, Coskun B, Cayan S, Acar D, Aktas S, Ulusoy E, Akbay E:** Inhibition of poly (adenosine diphosphate-ribose) polymerase decreases long-term histologic damage in testicular ischemia-reperfusion injury. *Urology.* 63: 791-795, 2004.
- 19- **Miyasaka N, Hirata Y:** Nitric oxide and inflammatory arthritides. *Life Sci.* 61: 2073-2081, 1997.
- 20- **Kono T, Saito M:** Real-time monitoring of nitric oxide and blood flow during ischemia-reperfusion in the rat testis. *Mol Cell Biochem.* 286: 139-145, 2006.
- 21- **Uz E, Söğüt S, Şahin S, Var A, Özyurt H, Güleç M, Akyol O:** The protective role of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on testicular tissue after testicular torsion and detorsion. *World J Urol.* 20: 264-270, 2002.
- 22- **Koltuksuz U, Irmak MK, Karaman A, Uz E, Var A, Özyurt H, Akyol O:** Testicular nitric oxide levels after unilateral testicular torsion/detorsion in rats pretreated with caffeic acid phenethyl ester. *Urol Res.* 28: 360-363, 2000.
- 23- **Can C, Tore F, Tuncel N, Uysal O, Gurer F, Ak D, Tuncel M:** Protective effect of vasoactive intestinal peptide on testicular torsion-detorsion injury: association with heparin-containing mast cells. *Urology.* 63: 195-200, 2003.
- 24- **Nakagawa H, Komai N, Takusagawa M, Miura Y, Toda T, Miyata N, Ozawa T, Ikota N:** Nitration of specific tyrosine residues of cytochrome c is associated with caspase-cascade inactivation. *Biol Pharm Bull.* 30: 15-20, 2007.
- 25- **Bulger EM, Maier RV:** Antioxidants in critical illness. *Arch Surg.* 136: 1201-1207, 2001.
- 26- **Vane JR, Botting RM:** Mechanism of action of anti-inflammatory drugs. *Scand J Rheumatol Suppl.* 102: 9-21, 1996.
- 27- **Dias LA, Colli BO, Coutinho Netto J, Lachat JJ:** Focal cerebral ischemia induced by middle cerebral artery occlusion and the neuroprotective effect of ketoprofen in rats. *Arq Neuropsiquiatr.* 58: 1047-1054, 2000.
- 28- **Bulkley GB:** Free radical-mediated reperfusion injury: A selective review. *Br J Cancer Suppl.* 8: 66-73, 1987.
- 29- **Harrison RG, Lewis-Jones DI, Moreno de Marval MJ, Connolly RC:** Mechanism of damage to the contralateral testis in rats with an ischemic testis. *Lancet.* 2: 723-725, 1981.
- 30- **Kehinde EO, Anim JT, Mojiminiyi OA, Al-Awadi F, Shihab-Eldeen A, Omu AE, Fatinikun T, Prasad A, Abraham M:** Allopurinol provides long-term protection for experimentally induced testicular torsion in a rabbit model. *BJU Int.* 96: 175-180, 2005.