

# A PDE5-gátlás hatása a here iszkémia/reperfúziós károsodására, patkánymodellben

Oroszi Márton dr.<sup>1</sup>, Szabó Andrea dr.<sup>2</sup>, Bajory Zoltán dr.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>SZTE SZAKK, Urológiai Klinika, Szeged (igazgató: Bajory Zoltán dr.)

<sup>2</sup>SZTE, Sebészeti Műtéttani intézet, Szeged (igazgató: Boros Mihály dr.)

Levelezési cím:  
Dr. Oroszi Márton  
SZTE Urológiai Klinika  
6725 Szeged,  
Kálvária sugárút 57.  
E-mail: oroszim@gmail.com

## ÖSSZEFOGLALÁS

**Bevezetés:** Torzió során a hereszövet rövid időn belül irreverzibilis hipoxiás károsodást szenvedhet. Ezért, a heretorzió azonnali megoldást igényel. Mivel a műtéti előkészítés időt vesz igénybe, így rendkívül nagy jelentőségű lehet egy olyan gyógyszer, amelynek az operáció előtti adásával a here rövid- és hosszú távú iszkémiás/reperfúziós (I/R) károsodása enyhülhet. Jelen tanulmányunkban patkánymodellben mutatjuk be az intravénásan alkalmazott PDE5-gátló szildenafil kedvező hatását a torziót követő mikrocirkulációs károsodásokra.

**Anyag és módszer:** 11 db hím Sprage–Dawley-patkányon (tömegük  $250 \text{ g} \pm 10 \text{ g}$ ) fluoreszcens intravitalis videomikroszkóppal (IVM) vizsgáltuk a here mikrocirkulációját (a vörösvértestek áramlási sebességét és pulzatilitását a kapillárisokban) torzió előtt, a 60 perc torziót követően közvetlenül és a reperfúzió 1-4. órájában. Véletlenszerűen az állatokat 2 csoportba osztottuk. Az egyik csoport kísérleti állatainak a torzió 50. percében intravénásan  $0,7 \text{ mg/kg}$  szildenafilt adtunk ( $n=5$ ), míg a kontrollcsoport egyedeit az 50. percben  $1 \text{ ml/kg}$  fiziológiás sóoldattal (a sildenafil oldószerével) kezeltük intravénásan ( $n=6$ ).

**Eredmények:** Torziót követően a vvt-ek áramlási sebessége és a pulzatis áramlási mintázata mind a két csoportban jelentősen romlott. A szildenafillel kezelt csoportban, a kontrollcsoportéhoz képest szignifikáns javulás volt észlelhető a vizsgált paraméterekben, minden vizsgált időpillanatban.

**Következtetés:** A kísérleti heretorzió következtében kialakult I/R-es mikrocirkulációs károsodásokat javította az intravénásan alkalmazott sildenafilkezelés. Ezen eredmények alapján, előnyös lehet a klinikai heretorziót követő mikrocirkulációs károsodások enyhítésére is a műtét előtt alkalmazandó sildenafilterápia.

## KULCSSZAVAK

HERETORZIÓ, ISZKÉMIA/REPERFÚZIÓ, HERE-MIKROCIRKULÁCIÓ, PDE5-INHIBITOR, PATKÁNYMODELL

## Effect of PDE-5 inhibition on testicular ischemia/reperfusion injury in a rat model

### SUMMARY

**Introduction:** During torsion, testicular tissue can suffer irreversible hypoxic damage within a short period of time. Therefore, testicular torsion requires an immediate solution. Because preoperative preparation takes time, a drug that may alleviate short- and long-term ischemic/reperfusion (I/R) damage to the testis administered preoperatively may be extremely important. In the present study, we demonstrate the beneficial effect of intravenous PDE-5 inhibitor sildenafil on microcirculatory damage following torsion in a rat model.

**Material and method:** 11 male Sprage-Dawley rats ( $250 \text{ g} \pm 10 \text{ g}$ ) were examined by fluorescent intravital video microscopy (IVM) to examine testicular microcirculation (erythrocyte flow rate and pulsatility in capillaries), before torsion, immediately after 60 min of torsion, and after 1-4. hours of reperfusion. The animals were randomly divided into 2 groups. In the first group animals received  $0.7 \text{ mg/kg}$  sildenafil intravenously in the at 50<sup>th</sup> minutes of torsion ( $n=5$ ), while individuals in the control group received  $1 \text{ ml/kg}$  saline (solvent for sildenafil) intravenously at the 50<sup>th</sup> minutes ( $n=6$ ).

**Results:** Following torsion, the flow rate and pulsatile flow pattern of RBCs deteriorated significantly in both groups. In the sildenafil-treated group, there was a significant improvement in study parameters compared to the control group at all-time points studied.

**Conclusion:** Intravenous sildenafil treatment improved I/R microcirculatory damage due to experimental testicular torsion. Based on these results, preoperative sildenafil therapy may also be beneficial in alleviating post-operative microcirculatory damage following clinical testicular torsion.

### KEYWORDS

TESTICULAR TORSION, ISCHEMIA/REPERFUSION, TESTICULAR MICROCIRCULATION, PDE5 INHIBITOR, RAT MODEL

## Bevezetés

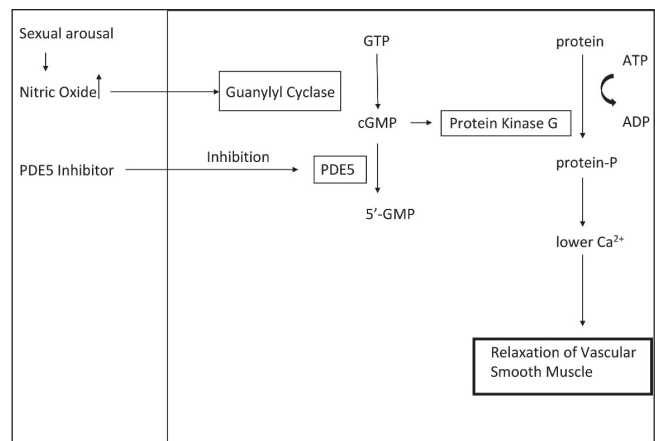
A heretorzió (HT) az egyik leggyakoribb sürgősségi műtéti indikáció a gyermekek, serdülők és fiatal felnőttek körében. A torzió előfordulása 100 000 férfiből 3,8–4,5-et érint (1, 2). A gyors diagnózis és a kezelés elengedhetetlen, mivel a szöveti károsodás mértéke a hipoxia időtartamával arányosan növekszik (2–4).

A műtéti beavatkozás 90-100%-ban sikeres, ha a panaszok megjelenésétől számított 4-8 órán belül elvégzik azt. A teljes sikeresség azonban az idő múlásával drasztikusan csökken (12 órán belül 50%, 24-nél pedig csak 10%) (5). A jelentős mikrocirkulációs károsodás és a tartós hipoxia visszafordíthatatlan károsodást okozhat, a fájdalom megjelenésének 6. órájától kezdve (2). Amint azt korábban *Gandhi és munkatársai* leírták, a szildenafil javíthatja a herék mikrocirkulációját, amely által mérséklődik a hipoxiával összefüggő irreverzibilis sejt-pusztulás és javul a prognózis is. A herék iszkémiás/reperfúziós (I/R) károsodása közvetlenül is csökkenthető antioxidánsok alkalmazásával is (6).

A here károsodása (torzió/detorzió során) két különálló mechanizmusból származhat. Az első mechanizmus szerint is a funiculus spermaticus torziója drámai módon csökkentheti vagy leállíthatja a herék vérbeáramlását, ami állandó hipoxiát és azt követő sejthalált okozhat. A funiculus elzáródása következtében a hereszövetben a hipoxia csökkent ATP-szintet okoz. Az ATP nélkül az elengedhetetlen folyamatok nem tudnak végbemenni, ezért kiváltják a sejthalált. Régóta ismert, hogy a hypoxaemia hossza és a sejtkárosodás súlyossága fordított arányban változik (7). A második mechanizmus részeként a reaktív oxigéngyökök (ROS) a reperfúziót követően okozhatnak károsodást (reperfúziós károsodás). Közvetlenül a véráramlás helyreállítása után megkezdődik a ROS-képződés. A reaktív oxigéngyökök egy bizonyos koncentráció felett károsítják a posztisztkémiai szöveteket, beleértve az endotheliális barrierfunkció romlását, az endothelsejt-eredetű adhéziós molekula-expresszió fokozódását, a fokozott leukocita-endothelsejt-adhéziót és a gyulladásos mediátorok termelődését (pl. thrombocytaktiváló-faktor) (7, 8). A leukocitákban elsősorban a nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát (NADPH)-oxidáz felelős a ROS képződéséért (9).

A here mikrocirkulációjának dinamikus, térbeli jellemzésére elsősorban a fluoreszcens intravitális videomikroszkópia (IVM) és az ortogonális polarizációs spektrális képalkotás alkalmazható kísérletes körülmények között *in vivo* (10).

Feltételezésünk szerint, mivel a sildenafil fokozza az erek dilatációját a simaizom relaxációjának fenntartása révén (1. ábra), pozitív hatással lehet a torziót követően kialakult érkárosodásokra. Így jelen tanulmányunkban a foszfodiészteráz-5 (PDE5)-gátló sildenafil, here mikrocirkulációra gyakorolt hatását kívántuk vizsgálni intravitális mikroszkópiás (IVM) módszerrel a vörösvértestek sebességének (VVTS, Red Blood Cell Velocity – RBCV) akut változása és a kapillárisok áramlási mintázata szempontjából here I/R során patkányon.



**1. ÁBRA: A PDE5-GÁTLÁS MECHANIZMUSA. A SZEXUÁLIS IZGALOM MEGNÖVEKEDETT NO-SZINTET OKOZ, AMI A GUANILIL-CIKLÁZT ARRÁ ÖSZTÖNZI, HOGY A GTP-T cGMP-VÉ ALAKÍTSA. PDE5-INHIBITOR, GÁTOLJA A PDE5-ENZIMET, AMI A cGMP KATABOLIZMUSÁÉRT FELELŐS. A MEGNÖVEKEDETT cGMP-SZINT AKTIVÁLJA A PROTEIN-KINÁZ G-T, AMI CSÖKKENTI A Ca<sup>2+</sup>-SZINTET. ENNEK EREDMÉNYEKÉNT KIALAKUL A SIMAIZOM ELLAZULÁSA ÉS AZ AZT KÖVETŐ MEREVEDÉS (26)**

## Anyagok és módszerek

Kísérleteinket a hatályos nemzetközi és hazai állatjóléti szabályokkal összhangban, az Állatkísérleti Tudományos Etikai Tanács és a Szegedi Tudományegyetem Munkahelyi Állatvédelmi Bizottsága által jóváhagyott etikai engedélyeknek megfelelően végeztük (11).

### Kísérleti csoportok

Hatvanperces HT-t hajtottunk végre hím Sprague–Dawley-patkányokon (súly: 250±10 g, n=11). Az állatokat véletlenszerűen két csoportba osztottuk. A szildenafilt, 0,7 mg/kg dózisban (1 ml/kg sóoldatban oldva, iv.) oldva, intravénásan adtuk be, 10 perccel a reperfúzió előtt (torzió + SIL-csoport, n=5), míg a kontrollállatok sóoldatot kaptak (1 ml/kg sóoldat iv. + torzió, n=6). A herék mikrocirkulációját fluoreszcens IVM-vel vizsgáltuk a torzió előtt, közvetlenül utána és minden órában a 4 órás reperfúziós periódus során.

### Sebészeti feltárás

A narkózist nátrium-pentobarbitál intraperitoneális (45 mg/kg) oltása révén hoztuk létre. A tracheát intubáltuk a szükséges oxigénszintjének fenntartása céljából. A jugularis vénát is izoláltuk és kanuláltuk Ringer-laktát infúziója 10 ml/kg/h sebességgel, a homeosztatisz terafogatstabilitás fenntartása, pentobarbitál 5 mg/kg-os adagolása, az anesztézia fenntartása és sildenafil vagy sóoldat adása érdekében. A nyaki artériát izoláltuk a vérnyomméréshez (Experiment Kft., Budapest, Magyarország).

Ezt követően a here izolálását végeztük el, megóvva az ereket, a tunica albugineat és a funiculus spermaticust. Végül a művi heretorzio elvégzése érdekében a herét 720°-kal elforgattuk az óramutató járásával megegyező irányba, 60 percig fenntartva a hipoxiát.

**A herék mikrocirkulációjának monitorozása**

A 60 perc torzió után fluoreszcein-izotiocianáttal jelzett vörösvértesteket (0,2 ml intravénásan, Sigma Aldrich) injektáltunk a juguláris vénán keresztül. Ezt követően a heréket izoláltuk. A posztkapilláris venulákat Zeiss Axiotech Vario 100HD mikroszkóppal, 100 W HBO higanylámpával és Acroplan 20x vízimerziós objektívvel (Carl Zeiss GmbH, Jena, Németország) vizsgáltuk és a mikrokeringésről készült videofelvételeket számítógéphez csatlakoztatott videokamerával (AVT HORN -BC 12, Aalen, Németország) rögzítettük (11). Minden időpillanatban legalább 5 posztkapilláris venulában vizsgáltuk a VVTS-t és a pulzáló mintázat jelenlétét (2. ábra).

**Statisztikai analízis**

Az időbeli- és csoportok közötti különbségeket kétutas ANOVA-tesztel hasonlítottuk össze SigmaStat® for Windows® statisztikai program segítségével (Jandel Corporation, San Rafael, CA, USA).

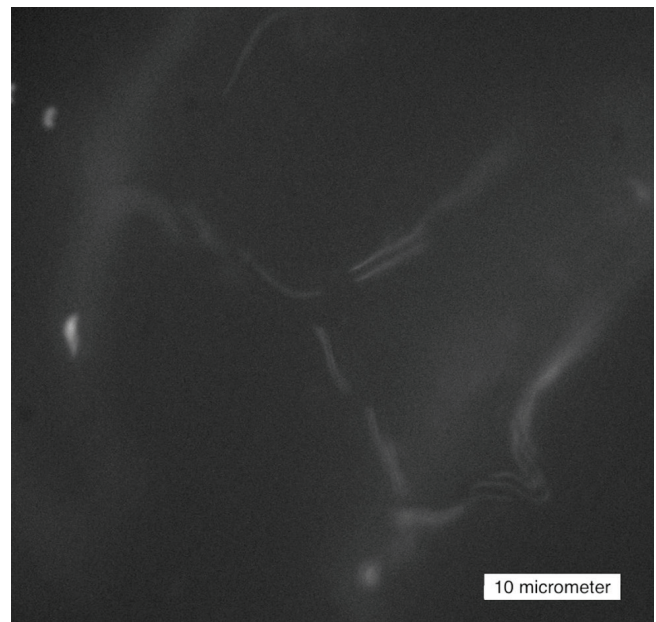
**Eredmények**

A here mikrokeringését kiindulási állapotban egy pulztilis keringési mintázat és homogén mikrokeringés jellemezte a kapillárisokban. A heretorzio a mikrocirkulációs teljes mértékű leállítását eredményezte a herék kapillárisaiban. A reperfúzió a VVTS jelentős romlásával járt (az összes posztisztkémias érték alacsonyabb volt, mint a kiindulási érték mindkét csoportban) (p <0,05). A detorzio után csak a szildenafilfil kezelte csoportban tért vissza a pulzáló véráramlási mintázat. A szildenafilkezelés szintén szignifikánsan magasabb VVTS-értékeket okozott (minden vizsgálati időpillanatban) a kontrollcsoporthoz képest (p <0,05, 2 mintás ANOVA-vizsgálattal mérve), habár a véráramlási értékek így is a kiindulási szint alatt maradtak ebben a csoportban is (3. ábra).

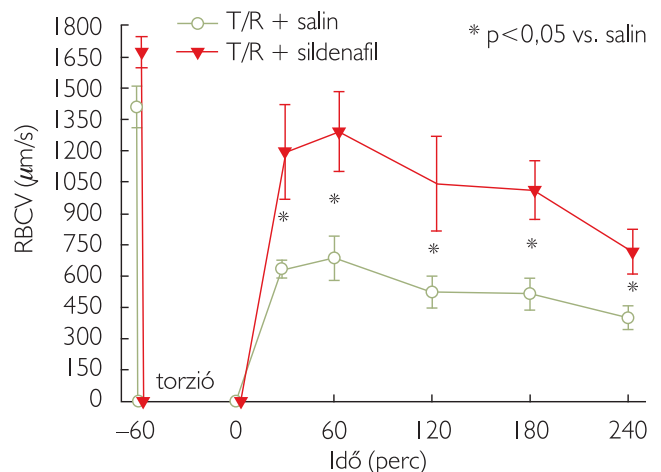
**Megbeszélés**

Jelen tanulmányban a szildenafilfil mikrocirkulációra gyakorolt hatását vizsgáltuk patkányhere I/R előtt, alatt és után. Kimutattuk, hogy a szildenafilfil jelentősen javítja a posztkapilláris venulákban a VVT-k áramlási sebességét és visszaállítja az áramlás pulztilitását.

A heretorzio klinikai diagnózisához elsősorban a pontos anamnézis (hirtelen és kifejezett fájdalom a herében) szükséges. Elengedhetetlen azonban a fizikális vizsgálat, illetve Doppler-ultrahangvizsgálat a csökkent véráramlás megerősítése céljából (3). Mivel a here leggyakrabban mediális irányba torquálódik, fizikális vizsgálat során



2. ÁBRA: FLUORESZCEIN-IZOTIOCIÁNÁTTAL JELZETT VÖRÖSVÉRSEJTEK A HERE KAPILLÁRISAIBAN (IVM FELVÉTEL)



3. ÁBRA: A SZILDENAFIL HATÁSA A HERÉK TORZIÓ ÁLTAL KIVÁLTOTT RBCV-ROMLÁSÁRA REPERFÚZIÓ SORÁN (\*p <0,05, KÉTUTAS ANOVA-TEST)

az érintett herét, belülről kifelé irányuló tekeréssel detorquálhatjuk. Az esetek egyharmadában azonban laterális irányba csavarodik a here (9), így az előzővel ellentétes irányú manőverrel próbálkozhatunk. Manuális detorzio sikertelensége esetén akut műtétet kell elvégezni. A sikeres műtétet követően is azonban reperfúziós károsodás fordulhat elő, amely további szövethárosodást okozhat. A leukociták jelentősen hozzájárulnak a herekárosodáshoz a NADPH-oxidáz általi reaktív oxigéngyök-képződés révén (12–15). Meddőség és azoospermia is előfordulhat hosszú távon, elsősorban a spermiumok morfológiai károsodása és a műtét utáni spermiumellenes antitestek képződése miatt (16).

A szildenafilil jótékony hatását számos más szervben I/R során igazolták korábban. Egy nemrégiben készült tanulmányban *Behmengurt* és *munkatársai* patkányokban a foszfodiészteráz-5 (PDE5)-inhibitor akut kardioprotektív hatását vizsgálták a mitokondriális Ca<sup>2+</sup>-szenzitív káliumcsatornák vonatkozásában. 30 perc iszkiémiát, majd 60 perc reperfúziót hoztak létre és 10 perccel az iszkiémia előtt alkalmazták a szildenafililt, amelynek hatására jelentősen csökkent az infarktusz nagysága (17). A kísérleteinkben is alkalmazott szildenafilildózis (0,7 mg/kg, iv.) *Ocakaili* és *munkatársai* tanulmányában is mérsékelte a szívizom elhalását (18). *Kolettis* és *munkatársai* különböző szildenafilildózisokat vizsgálták (alacsony dózis [0,7 mg/kg], magas dózis [1,4 mg/kg] I/R [20 perc/45 perc]) károsodáson átesett szívizomban, ahol az alacsonyabb dózisú kezelés kedvező hatását igazolták a bal kamrai kontraktilitásra (19). A gyomoronyálkahártya-károsodást azonban a PDE5-inhibitor nagy dózisa csökkentette az indometacinnal kiváltott gastritisben patkányokban (20).

A PDE5-gátlás kedvező hatását a herében is több kutatócsoport leírta. *Zavras* és *munkatársai* az eritropoetin (EPO) (1000 NE/kg) és a szildenafilil (0,7 mg/kg) hatását vizsgálta I/R-károsodást követően patkányherékben. Az iszkiémia 60. percében alkalmazták a kezeléseket, majd további 30 perc múlva szüntették meg az iszkiémiát és 24 órás reperfúzió után végeztek hisztopatológiai vizsgálatot a heréken. Mindkét kezelés szignifikáns mértékű morfológiai javulást eredményezett, de a szildenafilil hatása az EPO-hoz képest is kedvezőbb volt (21).

Egy másik tanulmányban *Beheshtian* és *munkatársai* a szildenafililt a 60 perces torzió alatt, a torzió 30. percében, intraperitonealisan adták patkányoknak. A szildenafilil jelentősen mérsékelte a szabadgyök-károsodással összefüggő paramétereket (malondialdehid-szint, katalázaktivitás) 4 órás reperfúzió során, illetve mérsékelte az apoptotikus sejtmagok számát 24 órás reperfúzióban (22).

*Yildiz* és *munkatársai* 2 órás heretorziót, majd 2 órás reperfúziót indukálnak és a torzió 60. percében adták a szildenafililt

(0,7 mg/kg és 1,4 mg/kg dózisokban). A reperfúzió második órája után megvizsgálták a laboratóriumi paramétereket (23, 24). Szignifikánsan kedvezőbb eredményeket detektáltak abban a csoportban, ahol a patkányok 0,7 mg/ml szildenafilillel voltak kezelve, összehasonlítva azokkal a csoportokkal, ahol a patkányok 1,4 mg/ml szildenafililt kaptak és a kontrollcsoport értékeihez képest a szöveti glutation és malondialdehid, valamint a nitrogén-monoxid-szintek vonatkozásában (24).

*Istanbulluoglu* és *munkatársai* orálisan beadott PDE5-gátló (vardenafil) hatását vizsgálták sertésekben, heréjük I/R károsodását követően 2 órás torziót követően és 45 perccel a torzió vége előtt szájon adták be a vardenafil (0,4 mg/kg). 8 órás reperfúzió után a herék ún. apoptózis-proteáz-aktiváló faktor (APAF-1) mennyiségi változásán keresztül vizsgálták a csírasejtek apoptózisát (25). Nem találtak szignifikánsan javulást a vardenafilal kezelt csoportban a kontrollcsoportéhoz képest, amely eredmény vélhetően az alkalmazott PDE5-inhibitor alacsony koncentrációjának köszönhető.

A fenti vizsgálatok bizonyítják a szildenafilil védő hatását here I/R-károsodást követően, annak ellenére, hogy mind az iszkiémia, mind pedig a reperfúzió jelentős szövétkárosodást okoz a herében. Vizsgálatunknak ugyan számos limitációja van, hiszen a vizsgálatba bevont patkányok száma viszonylag kevés volt és hosszú távú követés sem történt meg, ám eredményeink egyértelműen igazolják a szildenafilil protektív hatását a korai mikrocirkulációs paraméterek vonatkozásában 1 óra torziót követően.

## Következtetés

Az iszkiémia alatt elkezdett intravénás szildenafililkezelés javítja a here mikrocirkulációját I/R-károsodást követően, ami kihathat a here hosszabb távú károsodásának mérséklésére és a fertilitás megtartására is.

## Irodalom

- Williamson RC. Torsion of the testis and allied conditions. *Br J Surg* 1976; 63(6): 465–76.  
<https://doi.org/10.1002/bjs.1800630618>
- DaJusta DG, et al. Contemporary review of testicular torsion: new concepts, emerging technologies and potential therapeutics. *J Pediatr Urol* 2013; 9(6 Pt A): 723–30.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpuro.2012.08.012>
- Fehér ÁM, Bajory Z. A review of main controversial aspects of acute testicular torsion. *Journal of Acute Disease* 2015; 5(1): 1–8.  
<https://doi.org/10.1016/j.joad.2015.06.017>
- Gatti JM, Patrick Murphy J. Current management of the acute scrotum. *Semin Pediatr Surg* 2007; 16(1): 58–63.  
<https://doi.org/10.1053/j.sempedsurg.2006.10.008>
- Sharp VJ, Kieran K, Arlen AM. Testicular torsion: diagnosis, evaluation, and management. *Am Fam Physician* 2013; 88(12): 835–40.
- Gandhi J, et al. Testicular compartment syndrome: an overview of pathophysiology, etiology, evaluation, and management. *Transl Androl Urol* 2016; 5(6): 927–934.  
<https://doi.org/10.21037/tau.2016.11.05>
- Granger DN, Kvietys PR. Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept. *Redox Biol* 2015; 6: 524–551.  
<https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.08.020>
- Bradley JR, Johnson DR, Pober JS. Endothelial activation by hydrogen peroxide. Selective increases of intercellular adhesion molecule-1 and major histocompatibility complex class I. *Am J Pathol* 1993; 142(5): 1598–609.
- Sessions AE, et al. Testicular torsion: direction, degree, duration and disinformation. *J Urol* 2003; 169(2): 663–5.  
<https://doi.org/10.1097/0005392-200302000-00059>  
[https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(05\)63987-0](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(05)63987-0)
- Bajory Z, et al. Orthogonal polarization spectral imaging: a novel tool for examination of microcirculatory changes in the testis. *J Androl* 2012; 33(3): 499–504.  
<https://doi.org/10.2164/jandrol.111.013599>

11. Bajory Z, et al. Microcirculatory effects of selective endothelin-A receptor antagonism in testicular torsion. *J Urol* 2014; 192(6): 1871–7. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2014.06.086>
12. Endrich B, et al. Technical report – a new chamber technique for microvascular studies in unanesthetized hamsters. *Res Exp Med (Berl)* 1980; 177(2): 125–34. <https://doi.org/10.1007/BF01851841>
13. Menger MD, Marzi I, Messmer K. In vivo fluorescence microscopy for quantitative analysis of the hepatic microcirculation in hamsters and rats. *Eur Surg Res* 1991; 23(3–4): 158–69. <https://doi.org/10.1159/000129148>
14. Messmer K, Krombach F. [Microcirculation research in experimental surgery]. *Chirurg* 1998; 69(4): 333–8. <https://doi.org/10.1007/s001040050422>
15. Szabo A, et al. Possible relationship between histamine and nitric oxide release in the postischemic flow response following mesenteric ischemia of different durations. *Shock* 1997; 7(5): 376–82. <https://doi.org/10.1097/00024382-199705000-00011>
16. Arap MA, et al. Late hormonal levels, semen parameters, and presence of antisperm antibodies in patients treated for testicular torsion. *J Androl* 2007; 28(4): 528–32. <https://doi.org/10.2164/jandrol.106.002097>
17. Behmenburg F, et al. Impact of Mitochondrial Ca<sup>2+</sup>-Sensitive Potassium (mBKCa) Channels in Sildenafil-Induced Cardioprotection in Rats. *PLoS One* 2015; 10(12): e0144737. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144737>
18. Ockaili R, et al. Sildenafil (Viagra) induces powerful cardioprotective effect via opening of mitochondrial K(ATP) channels in rabbits. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283(3): H1263–9. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00324.2002>
19. Kolettis TM, et al. Dose-dependent effects of sildenafil on post-ischemic left ventricular function in the rat isolated heart. *J Pharm Pharmacol* 2010; 62(3): 346–51. <https://doi.org/10.1211/jpp.62.03.0009>
20. Karakaya K, et al. Mitigation of indomethacin-induced gastric mucosal lesions by a potent specific type V phosphodiesterase inhibitor. *World J Gastroenterol* 2009; 15(40): 5091–6. <https://doi.org/10.3748/wjg.15.5091>
21. Zavras N, et al. Comparison of erythropoietin and sildenafil protective role against ischemia/reperfusion injury of the testis in adult rats. *Int Urol Nephrol* 2014; 46(4): 731–6. <https://doi.org/10.1007/s11255-013-0569-x>
22. Beheshtian A, et al. Protective effects of sildenafil administration on testicular torsion/detorsion damage in rats. *World J Urol* 2008; 26(2): 197–202. <https://doi.org/10.1007/s00345-008-0243-6>
23. Yildiz H, et al. Effects of sildenafil citrate on torsion/detorsion-induced changes in red blood cell and plasma lipid peroxidation, antioxidants, and blood hematology of male rats. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011; 159(2): 359–63. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2011.07.023>
24. Yildiz H, et al. Dose-dependent protective effect of sildenafil citrate on testicular injury after torsion/detorsion in rats. *Andrologia* 2012; 44(Suppl 1): 300–6. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2011.01181.x>
25. Istanbuluoglu MO, et al. Effects of vardenafil on testicular torsion/detorsion damage: an experimental study in pigs. *Urol Int* 2011; 86(2): 228–32. <https://doi.org/10.1159/000321492>
26. Corbin JD. Mechanisms of action of PDE5 inhibition in erectile dysfunction. *Int J Impot Res* 2004; 16(Suppl 1): p. S4–7. <https://doi.org/10.1038/sj.ijir.3901205>