

**T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RATLARDA 2100 MHz'LİK ELEKTROMANYETİK ALANIN TESTİS
DOKUSU ÜZERİNE ETKİSİNİN BİYOKİMYASAL,
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL VE İMMÜNOHİSTOPATOLOJİK
DÜZEYDE İNCELENMESİ**

KÖKSAL ÖZTÜRK

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. HÜSEYİN AVNİ UYDU



**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

RİZE-2020

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RATLARDA 2100 MHz'LİK ELEKTROMANYETİK ALANIN TESTİS DOKUSU
ÜZERİNE ETKİSİNİN BİYOKİMYASAL, İMMÜNOHİSTOKİMYASAL VE
İMMÜNOHİSTOPATOLOJİK DÜZEYDE İMCELENMESİ

Prof. Dr. Hüseyin Avni UYDU danışmanlığında, Köksal ÖZTÜRK tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 05/02/2020 tarihinde Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı, Soyadı	İmzası
Tez Danışmanı	: Prof. Dr. Hüseyin Avni UYDU	
Jüri Üyesi	: Doç. Dr. Sermet YILDIRMIŞ	
Jüri Üyesi	: Dr. Öğr. Üyesi Tolga MERCANTEPE	


Prof. Dr. Hüseyin Avni UYDU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



BEYAN

Bu tez çalışmasının Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak hazırlanarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

10.01.2020

Köksal ÖZTÜRK

Uyarı: Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitim sürecinde her zaman bana bilgi ve tecrübesiyle desteğini esirgemeyen başta değerli danışmanım Prof. Dr. Hüseyin Avni UYDU'ya, değerli hocalarım Prof. Dr. Adnan YILMAZ ve Doç. Dr. Levent TÜMKAYA'ya teşekkür ederim.

Ayrıca eğitim sürecinde desteklerini esirgemeyen Öğr. Gör. Sibel KARAKAŞ, Öğr. Gör. Esra PINARBAŞ'a ve bu zorlu süreci aynı şekilde paylaşan lisansüstü eğitiminde beraber yol aldığım arkadaşım Fatih DİZMAN'a ve çalışmakta olduğum RTEÜ Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kan Merkezi Laboratuvarındaki arkadaşlarımdan eğitim sürecini tamamlamak için yapmış oldukları yardımlardan ötürü onlara da teşekkür ederim.

Son olarak da hem çalışma hayatında hem de okul döneminde beni idare eden, sabır gösteren, her daim destekleyen, hayat arkadaşım Nurgül GÜNEŞ ÖZTÜRK'e, aynı şekilde çalışmalarımından ötürü gereken zamanı ayıramadığım oğlum Ali Asaf ÖZTÜRK'e, minik kızım Mihrimah Hilal'e ve bana maddi ve manevi emek veren değerli aileme minnettirim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
BEYAN	I
TEŞEKKÜR	II
İÇİNDEKİLER	III
TABLOLAR DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
RESİMLER DİZİNİ	VIII
KISALTMA, SİMGE ve FORMÜLLER DİZİNİ	IX
ÖZET	XII
ABSTRACT	XIII
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Radyasyon ve türleri	3
2.1.1. İyonize elektromanyetik radyasyon.....	3
2.1.2. İyonize olmayan elektromanyetik radyasyon	3
2.2. Elektriksel ve elektromanyetik alan	3
2.2.1. Elektriksel alan	3
2.2.2. Manyetik alan	4
2.2.3. Elektromanyetik dalgalar.....	4
2.2.4. Elektromanyetik alan.....	5
2.3. Spesifik absorpsiyon hızı (SAR)	6
2.4. İyonlaştırıcı olmayan radyasyon kaynakları.....	7
2.5. Telefonun gelişimi.....	7
2.6. Cep telefonları	7

2.7. Elektromanyetik alanın insan sağlığına etkileri.....	8
2.8. Oksidatif stres.....	9
2.9. Serbest radikaller.....	10
2.10. Serbest oksijen radikalleri (SOR).....	12
2.10.1. Lipitlere etkileri.....	13
2.10.2. Proteinlere etkileri.....	15
2.10.3. DNA'ya etkileri.....	15
2.10.4. Karbohidratlara etkileri.....	15
2.11. Antioksidanlar.....	15
2.12. Bazı enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar.....	16
2.12.1. Süperoksit dismutaz (SOD).....	16
2.12.2. Katalaz (CAT).....	16
2.12.3. Glutasyon peroksidaz ve glutasyon Redüktaz.....	17
2.12.4. Tiyol grupları.....	17
2.13. Erkek üreme sistemi.....	18
2.13.1. Testis.....	18
2.13.2. Testis histolojisi.....	19
2.13.3. Spermatogenezis.....	20
2.13.4. Testosteron.....	21
2.14. Erkek üreme fonksiyonlarının kontrolü.....	22
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	23
3.1. Sıçanların ortam şartları.....	23
3.2. Deneysel uygulamalar.....	23
3.3. Kan ve doku örneklerinin toplanması.....	24
3.4. Biyokimyasal işlemler.....	24
3.4.1. Kullanılan cihazlar.....	24

3.4.2. Kullanılan kimyasallar ve markaları.....	25
3.4.3. Homojenatların hazırlanması.....	25
3.4.4. TBARS (MDA) analizi.....	25
3.4.5. Toplam tiyol tayini (TT).....	28
3.4.6. Testosteron düzeyinin belirlenmesi.....	29
3.5. İmmünohistokimyasal ve histopatolojik analizler.....	31
3.5.1. Hematoksilen ve eozin boyama yöntemi.....	32
3.5.2. Masson-Goldner trikrom boyama yöntemi.....	32
3.5.3. İmmünohistokimyasal boyama yöntemi.....	32
3.6. İstatiksel analizler.....	34
4. BULGULAR.....	35
4.1. Biyokimyasal bulgular.....	35
4.2. Histopatolojik bulgular.....	38
4.2.1. Hematoksilen ve eosin boyama.....	38
4.2.2. Goldner's Masson Trikrom boyaması.....	40
4.3. İmmünohistokimyasal bulgular.....	42
4.3.1. Kontrol grubuna ait bulgular.....	42
4.3.2. EMA 6 saat grubuna ait bulgular.....	43
4.3.3. EMA 12 saat grubuna ait bulgular.....	43
4.4. Semi-kantitatif analiz.....	44
5. TARTIŞMA.....	45
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	51
7. KAYNAKLAR.....	52
EKLER.....	57
ÖZGEÇMİŞ.....	58

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa
Tablo 1. Türkiye’de GSM operatörleri kontrolsüz etkilenme limit değerleri	8
Tablo 2. Oksijen ve azot kaynaklı reaktif bileşikler	11
Tablo 3. Endojen ve eksojen antioksidanlar	16
Tablo 4. Hayvan deney grupları	23
Tablo 5. Kullanılan cihazlar ve markaları	24
Tablo 6. Kullanılan kimyasallar ve markaları	25
Tablo 7. Tbars tayininde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları	26
Tablo 8. Tbars analizinde pipetleme miktarları.	27
Tablo 9. Toplam tiyol tayininde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları	28
Tablo 10. Toplam tiyol tayini için pipetleme miktarları	29
Tablo 11. Ratların testis dokusunda tbars ve toplam tiyol düzeyleri	35
Tablo 12. Deney grupları serum testosteron miktarları	37
Tablo 13. Johnsen skorlaması sonuçları	44
Tablo 14. Kaspaz-3 pozitivite skorlama tablosu	44
Tablo 15. İmmünohistokimyasal analiz sonuçları	44
Tablo 16. Litaratürde daha önce sıçan testis dokusunda yapılmış, EMA kaynaklı bazı oksidatif stres çalışmaları	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa
Şekil 1. Bir elektromanyetik dalganın gösterimi.....	5
Şekil 2. Elektromanyetik spektrum	6
Şekil 3. Oksidatif denge	10
Şekil 4. Serbest radikallerin etkileri	12
Şekil 5. Lipid peroksidasyonu şeması	14
Şekil 6. Glutasyonu yapısı	18
Şekil 7. Testis yapısı.....	20
Şekil 8. Spermatogenezis aşamaları	21
Şekil 9. Testosteron yapısı	21
Şekil 10. Spermatogenezis ve testosteron salınımının hipotalamik kontrolü.....	22
Şekil 11. MDA ile TBA'nın tepkimeye girdiği reaksiyon	26
Şekil 12. MDA standart grafiği	27
Şekil 13. Glutasyon ile Ellman reaktifinin tepkimeye girdiği reaksiyon.....	28
Şekil 14. GSH standart grafiği	29
Şekil 15. Standart seyreltme.....	30
Şekil 16. Tüm gruplardaki testis doku TBARS düzeyleri.....	36
Şekil 17. Tüm gruplardaki testis doku toplam Tiyol düzeyleri.....	36
Şekil 18. Tüm gruplardaki serum testosteron düzeyleri.....	37
Şekil 19. TBARS ile testosteron değerlerinin korelasyon grafiği	38

RESİMLER DİZİNİ

Resim No	Sayfa
Resim 1. H&E ile boyanmış, kontrol grubu sıçan testis kesitlerinin mikroskopik görüntüleri	39
Resim 2. H&E ile boyanmış, EMA 6 saat grubu sıçan testis kesitlerinin mikroskopik görüntüleri	39
Resim 3. H&E ile boyanmış, EMA 12 saat grubu sıçan testis kesitlerinin mikroskopik görüntüleri	40
Resim 4. Goldner's masson trikrom ile boyanmış, kontrol grubuna ait testis kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri	40
Resim 5. goldner's masson trikrom ile boyanmış, EMA 6 saat grubuna ait testis kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri	41
Resim 6. Goldner's masson trikrom ile boyanmış, EMA12 saat grubuna ait testis kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri	42
Resim 7. Kaspaz-3 primer antikoru ile boyanmış, kontrol grubuna ait testis kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri	42
Resim 8. Kaspaz-3 primer antikoru ile boyanmış, EMA 6 saat grubuna ait testis kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri	43
Resim 9. Kaspaz-3 primer antikoru ile boyanmış, EMA 12 saat grubuna ait testis dokusu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri	43

KISALTMA, SİMGE ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

CAT	Katalaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
DTNB	Ditiyobis 2 nitrobenzoik asit
dk.	Dakika
eV	Elektron volt
EMS	Elektromanyetik spektrum
EMA	Elektromanyetik alan
FSH	Folikül stimüle hormon
GSM	Global System for Mobile Communications
GRx	Glutasyon redüktaz
GPO	Glutasyon peroksidaz
GST	Glutasyon s transferaz
GSSG	Okside GSH
3G	Üçüncü jenerasyon
GSH	Redükte glutasyon
H&E	Hematoksilen ve eosin
Hz	Hertz
HCl	Hidroklorik asit
KCl	Potasyum klorid
HO [·]	Hidroksil radikali
LOO [·]	Peroksil radikali
LOOH	Lipid hidroperoksit
LC	Leydig hücreleri
LPO	Lipid peroksidasyonu
LH	Luteinize edici hormon
MDA	Malondialdehit
MHz	Megahertz
mM	Milimolar
µL	Mikrolitre

nmol	nanamol
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NO	Nitrik oksit
O ₂ ⁻	Süperoksit radikali
ONOO ⁻	Peroksinitrit anyonu
O ₂	Moleküler oksijen
pg	Pikogram
rpm	Revolutions per minute
ROT	Reaktif oksijen türleri
RF	Radyo frekansı
SOD	Süperoksit dismutaz
SOR	Serbest oksijen radikalleri
SAR	Specific Absorption Rate
SHBG	Seks hormon bağlayıcı globüline
SD	Standart sapma
SH	Standart hata
SDS	Sodyum dodesil sülfat
spgn	Spermatogoniyum
spc	Spermatozitler
spt	spermatid
sc	Sertoli hücreleri
TT	Toplam tiyol
TEP	1,1,3,3 Tetrametoksipropan
TBA	Tiyobarbitürik asit
TBARS	Tiyobarbitürat reaktif maddeler
V/m	Volt/metre

Simgeler

cm ³	Santimetreküp
Cu	Bakır
°C	Santigrat derece
Fe	Demir
G	Gauss

g	Gram
T	Tesla
%	Yüzde

Formüller

H_2O_2	Hidrojen peroksit
Na_2HPO_4	Di sodyum hidrojen fosfat
$Na_3C_6H_5O_7$	Tri sodyum sitrat
NaH_2PO_4	Sodyum di hidrojen fosfat, anhidrat
$NaOH$	Sodyum hidroksit



ÖZET

Ratlarda 2100 MHz'lik Elektromanyetik Alanın Testis Dokusu Üzerine Etkisinin Biyokimyasal, İmmünohistokimyasal ve İmmünohistopatolojik Düzeyde İncelenmesi

Teknolojinin gelişimiyle birlikte mobil cep telefonlarının özellikleri arttırılmış, buna bağlı olarak da kullanım oranı ve sürelerinde artış meydana gelmiştir. Cep telefonlarının özellikleri arttırılırken kullanılan elektromanyetik spektrum (EMS) radyo frekansı da artmaktadır. Üçüncü nesil (3G) cep telefonlarının üretilmesiyle birlikte EMS radyofrekansı 2100 MHz kullanılmaya başlanmıştır. Özellikle erkekler tarafından elektromanyetik alan (EMA) oluşturan cep telefonlarının cepte taşınması testis dokusunu olumsuz yönde etkileyebileceği, EMS radyofrekansının arttırılmasıyla birlikte bu etkinin artabileceği ön görülmektedir. Bu çalışmanın amacı 2100 MHz EMA'ya maruz bırakılan sıçanların testis dokularında EMA aracılı oksidatif stres etkisinin araştırılmasıdır. Bu amaçla 3 ayrı gruptan (EMA uygulanmayan kontrol grubu, günde 6 saat ve 12 saat 60 gün EMA uygulanan) oluşan toplamda 24 adet Sprague Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Daha sonra sıçanlara EMA uygulanmadan 30 gün daha beklendi. Bu süre sonunda biyokimyasal, histopatolojik ve immünohistokimyasal parametrelerin değerlendirilmesi için anestezi uygulanmış sıçanlardan testis dokusu ve kan örnekleri alındı. Tiyobarbitürik asitle reaksiyona giren maddelerin (TBARS) testis düzeyleri Ohkawa ve ark.'nın metoduna göre bakılırken, testis dokusundaki toplam tiyol (TT) grup miktarı ise Ellman metoduna göre analiz edildi. Serum örneklerinde ise testosteron düzeyleri otoanalizörde belirlendi. Gerekli boyamalar yapılarak bloklanmış doku numunelerinin histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirilmeleri için fotoğraflandı. Biyokimyasal bulgularda; kontrol grubuna göre EMA 6 ve 12 saat grupları arasında TBARS düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür ($p < 0.01$). Kontrol grubuna göre EMA 12 saat grubunda TT ve testosteron düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir ($p < 0.01$). Histolojik bulgularda ise kontrol grubu ile EMA 12 saat grubu arasında Johnsen skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüştür ($p = 0.002$). Sonuç olarak 2100 MHz EMA'nın testis dokusu üzerinde olumsuz etkiler meydana getirdiği düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Elektromanyetik Alan, Oksidatif Stres, Testis, Antioksidan, Sıçan

ABSTRACT

The Effect of 2100 MHz Electromagnetic Field on Testicular Tissue Investigation Biochemical, Immunohistochemical And Immunohistopathological of in Rats

With the development of technology, the features of mobile cell phones have increased, and accordingly, the usage rate and duration of them have increased. The electromagnetic spectrum (EMS) of radio frequency used while increasing the features of mobile phones is also increasing. With using of third generation (3G) mobile phones, EMS radio frequency at 2100 MHz has started to be used. It is anticipated that there is an adverse effect of mobile phone usage, generating electromagnetic fields (EMF) on especially the testicular tissue in men, and this effect may increase with increasing EMS radio frequency. The aim of this study is to investigate the effect of EMF-mediated oxidative stress in testicular tissues of rats exposed to 2100 MHz EMF. For this purpose, a total of 24 male Sprague Dawley rats consisting of 3 separate groups (control group without EMF, 6 hours daily and 12 hours daily during 60 days EMF applied) were used. Then, rats were waited for another 30 days without EMF. At the end of this period, testicular tissue and blood samples were taken from anesthetized rats to evaluate biochemical, histopathological and immunohistochemical parameters. Testicular levels of the substances reacting with thiobarbituric acid (TBARS) were examined according to the method of Ohkawa et al. The total amount of thiol group (TT) in the testicular tissue was analyzed according to the Ellman method. In serum samples, testosterone levels were determined by the autoanalyzer. Histopathological and immunohistochemical evaluations of the tissue samples blocked by making necessary staining were performed by photographing. In biochemical findings; There was a statistically significant increase in TBARS levels between the EMF 6 and 12 hour groups compared to the control group ($p < 0.01$). A statistically significant increase in TT and testosterone levels was detected in the EMF 12 hour group compared to the control group ($p < 0.01$). In histological findings, a statistically significant decrease was observed between Johnsen scores of the control group and the EMF 12 hour group ($p = 0.002$). Consequently, 2100 MHz EMF might have negative effects on testicular tissue.

Keywords: Electromagnetic field, Oxidative Stres, Testis, Antioxidan, Rat

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Günümüzde teknoloji ve endüstrideki gelişmeler sonucunda hayatımızı kolaylaştıran birçok teknolojik alet üretilmiştir. Bu gelişmeler iletişim sektörünü de etkilemiş olup iletişim araçlarının çeşitliliği ve kullanım oranlarını arttırmıştır. Özellikle mobil cep telefonları, telsizler ve internet ağları kullanımı oranı oldukça artmıştır (Saygın vd., 2011). Türkiye’de 2008 yılında mobil abone sayısı yaklaşık 65 milyon iken Haziran 2019 sonu itibari ile bu sayı 81 578 284’e ulaşmıştır. Bu sayı ülke nüfusuna oranlandığında (penetrasyon) yaklaşık %99.5’ine karşılık gelmektedir. Avrupa da ise İtalya, Portekiz, Danimarka, Finlandiya ve Avusturya ülkeleri %133’lük oran ile en yüksek mobil penetrasyon oranına sahip ülkelerdir (BTK, 2019).

Cep telefonları elektromanyetik alanlar (EMA) olan radyofrekans dalgaları ileterek iletişim kurmaktadır. EMA oluşturan elektromanyetik dalgalar doku yüzeyine çarptığında bir kısmı doku içerisine girerek soğurulurken bir kısmı da yansımaktadır. Elektromanyetik dalgalar dokudan geçerken hızında ve dalga boyunda değişimler meydana gelir (Amara vd., 2006). Elektromanyetik dalgaların enerjisi, doku ile yaptığı etkileşimin türü, soğurulan enerji miktarı ve maruz kalma süresi gibi etmenler bu dalgaların dokuda oluşturabilecekleri zararların derecesini belirler. (Saygın vd., 2010). EMA oluşturan cep telefonu kullanımının hızlı bir şekilde artması beraberinde sağlık üzerindeki olası etkilerine ilişkin endişeleri arttırmaktadır. Bu endişelerden dolayı EMA’nın canlılar üzerindeki etkilerini araştıran birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan bazı bilimsel araştırmalar sonucunda EMA’nın insan sağlığına olumsuz yönde etkileri olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmalarda EMA’nın oksidatif strese ve DNA hasarına sebep olarak hücrenin yapı ve fonksiyonunun bozulmasına yol açtığı gösterilmiştir (Odacı vd., 2015).

Lipid peroksidasyonu (LPO) ve reaktif oksijen türleri (ROT), oksidatif stresin bir sonucu olarak ortaya çıkar ve böylece biyomoleküllerde hasara yol açar. Bazı çalışmalar, cep telefonları tarafından yayılan EMA’nın serbest radikallerin artmasına neden olarak oksidatif strese yol açtığı bildirilmiştir. EMA etkisi altında hücresel yapılarda, membranlarda ve moleküllerde oksidatif hasar, özellikle doymamış yağ asitleri bakımından zengin olan biyolojik zarların serbest radikal saldırısına duyarlılığı açısından açıklanabilmektedir (Odacı vd., 2015).

Bilimsel çalışmaların bir kısmı, mobil telefonların genellikle insanların ceplerinde taşınmasından dolayı üreme sistemine etkisi üzerine olmuştur. Cep telefonları her zaman bir pantolon cebinde taşındığında, erkeklerde testisleri veya kadınlarda yumurtalıkları etkileyebileceği tahmin edilmektedir. Özellikle çocukluk ve ergenlik döneminde cep telefonlarının yaygın kullanımı mevcut endişeleri daha da artırmıştır. Sperm ve testosteronun üretildiği erkek üreme sisteminin organı olan testis, hipertermi, inflamasyon, radyasyon ve germ hücrelerinin apoptozuna yol açan ajanlara maruz kalma gibi çeşitli faktörlere karşı çok hassastır (Bahaodini vd., 2015). Yapılan çalışmalarda EMA'nın testiste fonksiyonel ve morfolojik değişikliklere sebep olduğu, spermatogenezi olumsuz etkilediği, apoptozisi arttırdığı ve erkek infertilitesine yol açabileceği bildirilmiştir. Ayrıca Sertoli ve Leyding hücre dejenerasyonuna sebep olduğu, testosteron seviyelerinde değişimlere, spermatozoonlarda DNA hasarına ve seminifer tübül çapında azalmaya sebep olduğu ortaya konmuştur (Demirbağ, 2016).

Günlük yaşantımızda kullandığımız cep telefonlarında farklı frekansta yayın yapan GSM (Global System for Mobile Communications) operatörlerini kullanmaktayız. Araştırmacılar da bu GSM operatörlerinin yayın yaptığı çeşitli frekansların oluşturduğu EMA'nın insan sağlığına olası etkilerini araştırmak amacıyla çalışmalar yapmaktadır. Literatürde 900 ve 1800 MHz'lik EMA'nın testis dokusu üzerine etkisi araştırılmıştır (Mailankot vd., 2009; Nisbet vd., 2013; Odacı vd., 2015; Hancı vd., 2018). Fakat teknolojinin gelişmesiyle cep telefonlarının özellikleri arttırılmış buna bağlı olarak da özellikle üçüncü nesil (3G) cep telefonlarının üretilmesiyle birlikte radyofrekans düzeyi de yükselmiştir. Bizim çalışmamızın amacı da 3G'ye geçtikten sonra kullanılmaya başlanan 2100 MHz EMA'nın 6 ve 12 saatlik uygulamasının postnatal erkek sıçanlarda testis dokusu üzerine etkilerini araştırmak ve literatürdeki boşluğu doldurmak amaçlanmaktadır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Radyasyon ve Türleri

Bir elementi meydana getiren en küçük yapı taşı atomlardır. Atomların çekirdekleri pozitif yüklü proton, yüksüz nötronlardan oluşur ve çekirdeğin etrafında belirli yörüngede negatif yüklü elektronlar bulunmaktadır. Atom çekirdeğinin, kararsız halden daha kararlı bir hale geçerken parçacık veya elektromanyetik dalga şeklinde enerji yaymasına radyasyon denir. İyonlaştırıcı radyasyon ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar (Ocaktan ve Akdur, 2008).

2.1.1. İyonize Elektromanyetik Radyasyon

Molekülleri bir arada tutan atomik bağları iyonlaştırmaya yetecek foton enerjisine sahip olan frekansı yüksek ışınımlardır. Atomun yapısında bulunan proton ve elektron yüklerini bir arada tutmakta olan yüksüz nötrona etki etmek suretiyle atomun yapısında bozulmalar meydana getirirler. Enerji değeri olarak en az 12 eV (elektron volt)'tan başlayan enerjiye sahiptirler. Kozmik, x ve gama gibi ışınlar bu radyasyon grubuna girmektedir. Bu gruba giren ışınlar uzun süre maruz kalınması durumunda, DNA zincir yapısının bozulmasına ve hücre organellerin hasara uğraması gibi önemli sonuçlara sebep olabilmektedirler (Erdoğan vd., 2019).

2.1.2. İyonize Olmayan Elektromanyetik Radyasyon

Molekülleri bir arada tutan atomik bağları iyonlaştırabilecek enerjisi olmayan fotonların meydana getirdiği elektromanyetik dalgalardır. İyonlaştırıcı olmayan elektromanyetik ışınımları; radyo frekansı (RF) dalgaları, mor ötesi, mikrodalga, kızılötesi, görünür ışık, statik ve manyetik alanları oluşturmaktadır (Erdoğan vd., 2019).

2.2.Elektriksel ve Elektromanyetik Alan

2.2.1.Elektriksel Alan

Bir elektrik yükünün başka bir yük üzerinde meydana getirdiği itme veya çekme kuvveti etkisi olarak ifade edilir. Her elektrik yükü bir elektriksel alan üretmektedir. Böylece elektrik yüklerinin birikmesiyle elektrik alanı meydana gelmektedir. Bir cihazın beslenme gerilimi ne kadar yüksek olursa, bunun sonucunda ortaya çıkacak olan elektriksel alan da ona göre yükselmektedir. Elektriksel alan yoğunluk birimi metre başına volt (V/m) olarak ifade edilmektedir. Kaynaktan uzaklaşmaya başladıkça elektriksel alan şiddeti azalma göstermektedir. Elektriksel alanı yalıtkan nitelikli küçük bir engelle (ağaç, bina vb.)

karşılaştığında bu engeller elektriksel alanının azalmasına sebep olmaktadır (Yalçın ve Saygın, 2016).

2.2.2. Manyetik Alan

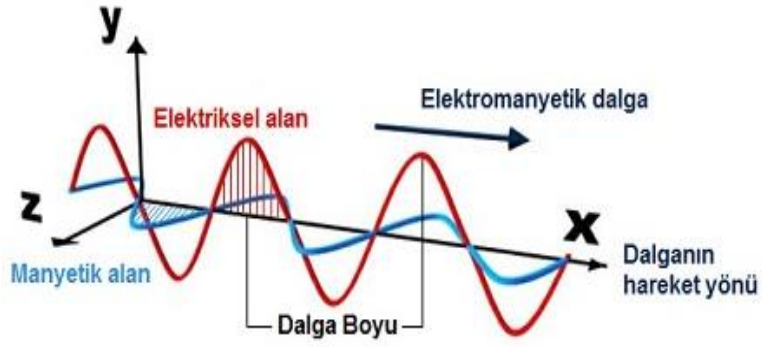
Elektrik yüklerinin yer değişmesiyle elektrik akımı sirkülasyonu meydana geldiğinde manyetik alan oluşmaktadır. Lamba yandığında, elektrik alanının yanı sıra akımın besleme kablosundan ampule geçişinden kaynaklanan bir manyetik alan da söz konusudur (Tamam vd., 2016).

Manyetik alan birimi, uluslararası kabul görmüş tesla (T) veya ABD’de kullanılmakta olan gauss (G) ile ifade edilmektedir. Bu iki birimin birbiriyle olan eşitliği $1T = 10\ 000\ G$ şeklindedir. (Türkkan ve Pala, 2009).

Manyetik alanların tümü; frekans, spin yönü, spinin büyüklük veya gücü olmak üzere üç değişken içermektedir (Tamam vd., 2016). Elektrik akımı yükseldikçe manyetik alan da ona göre yükselmektedir. Manyetik alan şiddeti mesafe ile azalmaktadır ve elektriksel alanın aksine bir engel meydana getiren nesnelere neredeyse hiç engellenmemektedirler (Yalçın ve Saygın, 2016).

2.2.3. Elektromanyetik Dalgalar

Elektromanyetik dalga, uzayda veya maddesel bir ortamda yayılan ve salınım yapan bir elektrik alan ve manyetik alanın birlikte meydana getirmiş olduğu dalgalardır. Şekilde 1’de elektromanyetik dalganın basit bir fotoğrafı gösterilmektedir. Şekli incelediğimizde manyetik alan ve elektrik alan eksenleri birbirine diktirler, aralarında 90 derecelik bir faz farkı olup buna bağlı olarak manyetik alanın maksimum olduğu durumda elektrik alanı minimum olmaktadır. Aynı şekilde tersi bir durum söz konusu olduğunda, yani manyetik alanın minimum olduğu noktada elektrik alanı maksimum olmaktadır (Yalçın ve Saygın, 2016).

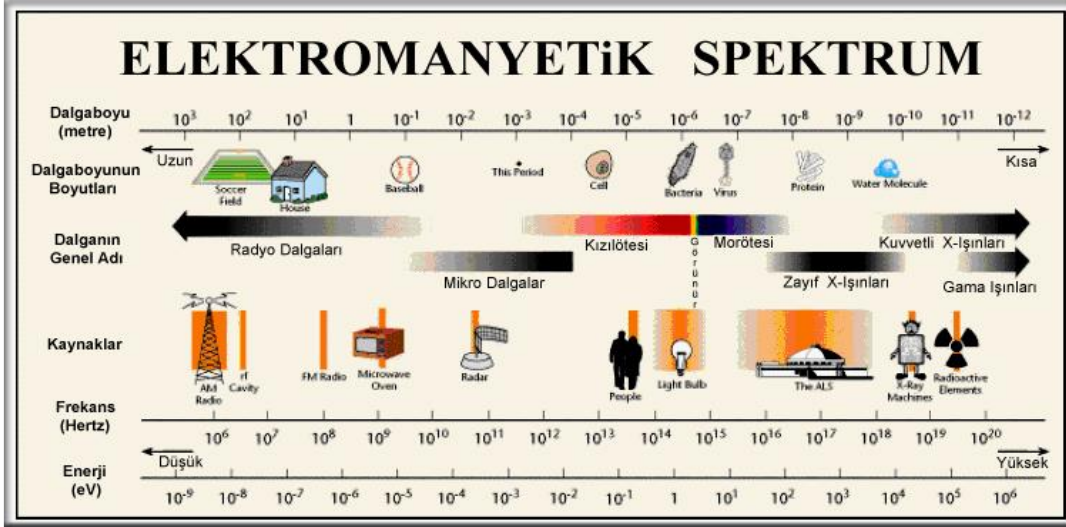


Şekil 1. Bir elektromanyetik dalganın gösterimi (URL-1)

Radyo dalgaları, mikro dalga, kızılötesi dalga, ışık, morötesi ışınlar, x ışınları, gama ışınları elektromanyetik dalgalardan oluşmaktadır (Yalçın ve Saygın, 2016).

2.2.4. Elektromanyetik Alan

Elektromanyetik alan, elektrik alan ve manyetik alan dalgaların meydana getirmiş oldukları alanlardır. Bu alanların belirgin özelliği frekansları ve dalga uzunluklarıdır. Elektromanyetik dalgaların saniyede yapmış olduğu salınım (titreşim) sayısına frekans denmektedir. Frekans birim olarak Hertz (Hz) ile ifade edilmektedir (Yalçın ve Saygın, 2016). Bir titreşim sırasındaki dalganın yol aldığı mesafeye ise dalga uzunluğu denmektedir. Dalga uzunluğunun birimi mesafe birimleridir. Elektromanyetik dalgalar; frekans, dalga boyları ve enerjilerine göre tanımlanmaktadırlar (Şekil 2). Frekans arttıkça dalga boyu uzunluğu kısalmakta ve alanda yayılan enerji ise artmaktadır (Yalçın ve Saygın, 2016).



Şekil 2. Elektromanyetik spektrum (Türkkın ve Pala, 2009)

Elektromanyetik spektrumu incelediğimizde; dalga boyu uzun olan radyo dalgaları ve mikrodalga da enerjinin oldukça düşük olduğu görülüyor. Buna karşın dalga boyunun kısalmış olduğu x ışınları, gamma ışınları ve kozmik ışınlarda enerjinin çok yükseldiği görülmektedir.

2.3. Spesifik Absorbsiyon Hızı (SAR)

SAR (Specific Absorption Rate), vücut dokuları tarafından elektromanyetik enerjinin soğurulma hızını ifade etmekte olup birimi W/kg'dır. Yapılan çalışmalarda insan vücudunda 1 °C sıcaklık artışı meydana geldiğinde, bu artışın vücutta bazı sorunları ortaya çıkardığı ve sıcaklık artışını düzenleyemediği görülmüştür. İnsanların vücutlarında 1 °C sıcaklık artışının meydana gelebilmesi için 1 kg. doku başına 4W gücün soğurulması gerekmektedir. 4W değerinin 50'de biri (0.08 W/kg), insanların genel yaşam alanlarında SAR sınır değeri olarak kabul edilmiştir. SAR değerlerinin belirlenmesinde belli parametreler tercih edilmektedir. Güç yoğunluğu, manyetik alan ve elektrik alan şiddeti bu parametreleri oluşturmaktadır (Taktak vd., 2005).

Mesleki anlamda elektromanyetik alana daha fazla maruz kalınan yerler için, Uluslararası Işınımında Korunma Birliği sınır değerleri belirlemiştir. Bu sınır değerleri, genel halk sağlığı sınırından daha yüksek tutulmuştur. Bunun nedeni ise mesleği gereği sürekli olarak elektromanyetik alana maruz kalan kişiler için koruyucu ekipmanlar ve tedbirler alınmasıdır (Taktak vd., 2005)

2.4. İyonlaştırıcı olmayan radyasyon kaynakları

- Sabit telekomünikasyon cihazlarının (baz istasyonları ve cep telefonu) antenleri
 - Televizyon, telsiz ve radyo verici istasyonlarının antenleri
 - Trafo merkezleri, elektrik iletim hatları ve elektrikli trenler
 - Televizyon, bilgisayarlar, cep telefonları
 - Uydu ve radar sistemleri
 - Tıp alanında kullanılmakta olan bazı cihazlar
 - Endüstride, yüksek radyofrekansta çalışan bazı sistemler
 - Elektrikli ev aletleri (saç kurutma makinesi, mikrodalga fırın, tıraş makinesi vb.)
- (Ocaktan ve Akdur, 2008).

2.5. Telefonun gelişimi

Telefon ilk olarak Graham Bell tarafından 1876 yılında icat edilmiştir (Musaveya, 2015). Telefonlar uzak yerlerdeki kişiler arasında iletişimin gerçekleşmesini sağlayan, ağızdan çıkan ses dalgalarını elektrik sinyallerine çevirip alıcıya ulaştıran ve alıcıya ulaşan elektrik sinyallerini kulağın duyulabileceği şekilde tekrar ses dalgalarına dönüştüren aygıtlardır. İlk cep telefonu ise 1973 yılında Motorola şirketinin mühendisi olan Martin Cooper tarafından piyasaya sunulmuştur. Akıllı telefonların temeli ise 1993 yılında IBM tarafından üretilen dokunmatik ekranlı Simon modeli ile atılmıştır. İlk internet özelliğine sahip telefonlar ise 1999 yılında Nokia 7110 ile gündeme gelmiş, Apple ise 2007 yılında diğer telefonlardan daha gelişmiş model olan Iphone'u üretmiştir. 1972 yılında Bell Laboratuvarları'nda mobil-radyo sistemi için hücrel kavramı kabul edilmiş, bu gelişmeden sonra ülkeler kendi mobil sistemlerini kurmuştu. Bu telefonlar yalnızca kendi ülkelerinde kullanılabildiği için sorunlar yaşanıyordu. Bu sorunları çözmek için Avrupa ülkeleri 1982 yılında GSM grubunu kurarak tek bir standart sistem oluşturmaya karar vermişlerdi. 1986 yılında Avrupa Birliği 900 MHz frekansında çalışan mobil sistemi onaylamışlardır (Musaveya, 2015).

2.6. Cep telefonları

Cep telefonları günlük hayatımızın önemli bir parçası haline gelmiş, kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır. Gelişen teknolojiyle birlikte özellikleri ve işlevleri arttırılan cep telefonları birçok konuda bizlere kolaylık sağlamaktadır. Buna bağlı olarak insanların cep telefonlarını kullanım süreleri de her geçen gün artmaktadır. Cep telefon özelliklerinin artmasıyla birlikte radyofrekans bandı giderek artmıştır. Cep telefonları yaklaşık olarak 900-

2100 MHz radyofrekans aralığında çalışmaktadır. Birinci nesil analog telefonlar 450-900 MHz, ikinci nesil dijital telefonlar 900-1800 MHz ve üçüncü nesil cep telefonlarında ise 2100 MHz radyofrekans aralığında çalışmaktadır (Leblebici Altındağ vd., 2016).

Teknolojinin gelişimiyle birlikte her geçen gün çok farklı alanlarda EMA oluşturan aletlerin üretimi artmış ve hayatımıza giren bu elektronik aletlerden kaynaklanan EMA etkilerini engellemek amacıyla her ülke kendi standartlarına göre çeşitli limit değerleri belirlemiştir. Ülkemizde kullanmış olduğumuz cep telefonları operatörlerinin limit değerleri Tablo 1’de verilmiştir (Sarıkahya, 2014).

Tablo 1. Türkiye’de GSM operatörleri kontrolsüz etkilenme limit değerleri (Sarıkahya, 2014).

GSM Operatörü	Frekans Bandı	Elektrik Alan Şiddeti (V/m)		Manyetik Alan Şiddeti (A/m)	
		Tek bir cihaz için	Ortamın toplamı için	Tek bir cihaz için	Ortamın toplamı için
VODAFONE	900 MHz	10,23	41,25	0,027	0,111
TURKCEL	900 MHz	10,23	41,25	0,027	0,111
AVEA	1800 MHz	14,47	58,34	0,038	0,157
3G (Her Üç Operatör)	2100 MHz	15	61	0,04	0,160

2.7. Elektromanyetik alanın insan sağlığına etkileri

Elektromanyetik alanların sağlık üzerine etkilerini 1979 yılında Wertheimer ve Leeper’in, düşük frekanslı EMA’ya maruz kalmanın çocukluk çağında meydana gelen kanser ile ilişkisini göstermeleri sonucunda dikkatleri çekmiştir. Daha sonra elektromanyetik alanların canlılar üzerine etkileri üzerine yapılan çalışmalarda artış görülmüştür. Özellikle enerji iletim hatlarından, bilgisayarlardan, cep telefonlarından ve ev içinde kullanılan elektrikli cihazlardan yayılan elektromanyetik alanların sağlık üzerinde etkisini incelemek amaçlı çalışmalar son dönemlerde giderek artmaktadır (Türkkan ve Pala, 2009)

Cep telefonunu yoğun olarak kullanan kişilerde, kulakta ısınma ve yanma, işitme kaybı, baş ağrısı, yorgunluk, vertigo gibi belirtiler meydana gelebilmektedir. Suudi Arabistan’da 437 cep telefonu kullanıcısı üzerinde bir araştırma yapılmıştır. Bu katılımcılarda en sık görülen bulgu baş ağrısı olup bunun yanında yorgunluk, uyku bozukluğu, baş dönmesi ve gerginlik gibi bulgulara rastlanmıştır. Bir diğer çalışmada ise İsveç ve Norveç’te cep telefonu kullanan kişiler haftada en az bir semptom yaşadığını

belirtmişler ve bu oran İsveç'te %13, Norveç'te ise %31 olarak tespit edilmiştir. Bu katılımcılar arasında ise en sık görülen semptom kulak çevresinde ısınma olmuştur (Ocaktan ve Akdur, 2008).

Mesleği gereği elektromanyetik radyasyona maruz kalan kişiler üzerinde yapılan incelemelerde doğumsal sorunların meydana geldiği bildirilmiştir. Bu sorunlar, kendiliğinden meydana gelen düşükler, ölü doğum, gecikmiş gebelik ve doğum defektleri (anomaliler) olarak ortaya çıkmaktadır. Ortaya çıkan bu olumsuz durumlardan en sık görüleni ise kendiliğinden meydana gelen düşüklerdir. Ayrıca erkekler üzerinde yapılan araştırmalarda EMA'nın özellikle sperm üretimi ve fizyolojisi üzerinde olumsuz etkiler meydana getirdiği bildirilmiştir. Özellikle sperm sayısında azalma, sperm hareketliliği ve sperm morfolojisinde değişikliklere sebep olduğuna dair çalışmalar bildirilmiştir. (Ocaktan ve Akdur, 2008).

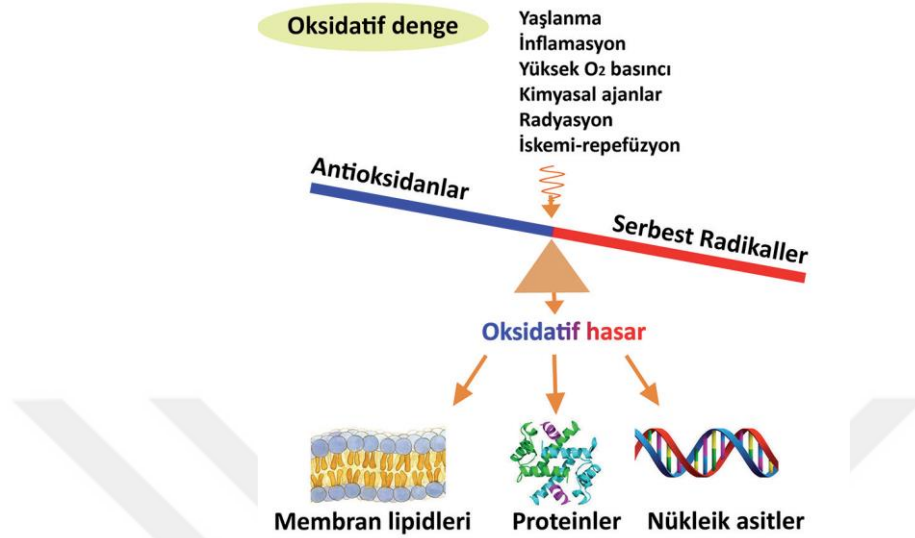
ABD, İngiltere ve İsveç'te yapılan çalışmalarda elektromanyetik alanların akut myeloid lösemiye yakalanma oranını arttırdığı ve beyin tümörlerine sebep olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca manyetik alanların kansere yakalanma riskini 1.4 oranında arttırdığı düşünülmektedir (Yalçın ve Saygın, 2016). İsveç'te cep telefonu kullanıcıları üzerinde yapılan bir çalışmada, cep telefonunun konuşurken tutulduğu taraf ile beyinde oluşan tümör tarafı arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. Bunun yanında telsiz ve analog telefonların beyin tümörlerinin gelişiminde artışa sebep olduğunu bildiren benzer çalışmalarda olmuştur (Ocaktan ve Akdur, 2008).

Göz lensi ısıya duyarlıdır. Mesleği gereği RF'ye daha fazla maruz kalanlar üzerinde yapılan çalışmalarda RF maruziyetinin katarakt insidansını artırıcı etkisinden söz edilebilmektedir (Ocaktan ve Akdur, 2008).

2.8. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, hücrel metabolizma sırasında meydana gelen serbest oksijen radikalleri (SOR) ile bunların zararlı etkilerini ortadan kaldıran, antioksidanların yetersiz kalması sonucunda oksidatif dengenin bozulması durumudur (Şekil. 3). Oksidatif dengenin serbest oksijen radikalleri tarafına kayması sonucunda hücrede artan serbest oksijen radikalleri, hücre içi lipid ve protein yapıların çift bağ içeren gruplarına ve DNA'daki bazların çift bağlarına saldırırlar. Bu saldırı sonrasında bir hidrojen atomu kopartmak suretiyle zincirleme oksidasyon reaksiyonlarını başlatırlar. Bunun sonucunda da hücre

içiprotein, lipit ve DNA gibi moleküllerin zarar görmesinden dolayı hücrede hasar veya ölüm gerçekleşir (Özcan vd., 2015).



Şekil 3. Oksidatif Denge (Özcan vd., 2015)

Canlı vücudunda doku fonksiyon ve bütünlüğünün normal düzeylerde sürdürülebilmesi için meydana gelen reaksiyonlar sırasında çok fazla miktarda serbest oksijen radikali üretilmektedir. Üretilen bu SOR'ların zararlı etkileri endojen glutatyon (GSH), glutatyon redüktaz (GRx), glutatyon peroksidaz (GPO), glutatyon s transferaz (GST), katalaz (CAT), süperoksid dismutaz (SOD) ve diğer antioksidan (A, C, E vitaminler) sistemler tarafından nötralize edilmektedir (Süleyman vd., 2018).

2.9. Serbest Radikaller

Serbest radikaller dış orbitallerinde eşlenmemiş bir elektron içeren moleküler yapılardır (Tablo 2). Bu moleküller oksijenin kısmen indirgenmesi sonucunda meydana gelen kısa ömürlü ve güçlü oksidan özelliği olan metabolitlerdir. Son yörüngelerindeki eksik olan elektronu tamamlayabilmek için başka bir radikalle veya radikal olmayan bir ajanla birleşirler. Böylelikle organizmada birçok önemli etkiye sebep olabilmektedirler (Aslankoç vd., 2019). Serbest oksijen radikalleri, endojen ve ekzojen kaynaklı oluşabilmektedir. Endojen kaynaklı serbest radikaller, aerobik metabolizma kullanan bütün organizmalarda oksijen kullanımının doğal sonucu olarak meydana gelir. Ayrıca mitokondriyal elektron transportu, bütün sentez ve yıkım reaksiyonlarında ve oksidatif fagositoz (enfeksiyon) reaksiyonlarında da serbest oksijen radikalleri oluşmaktadır. Eksojen kaynaklı serbest

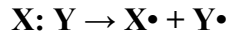
radikaller ise toksinler (kimyasallar, sigara, alkol), hava kirliliği, güneş ışınları, x-ray ışınları gibi etkiler sonucunda meydana gelmektedir (Karakan ve Nazlıkul 2017).

Tablo 2. Oksijen ve azot kaynaklı reaktif bileşikler (Gürdöl, F., 2015).

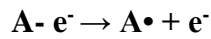
Radikaller		Radikal olmayanlar	
Hidroksil	HO [·]	Hidrojen Peroksit	H ₂ O ₂
Alkolsil	RO [·]	Singlet oksijen	¹ O ₂
Peroksil	ROO [·]	Ozon	O ₃
Süperoksit	O ₂ ^{·-}	Hipoklorit asit	HOCl
Nitrik oksit	NO [·]	Lipit hidroperoksit	LOOH
Azot dioksit	NO ₂ [·]	Peroksinitrit	ONOO [·]

Serbest radikaller başlıca 3 yolla meydana gelmektedir.

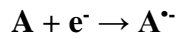
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi



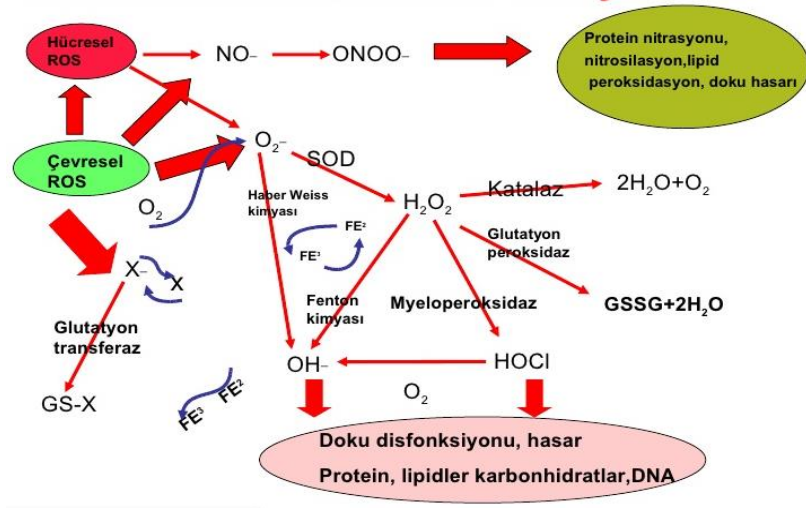
2. Normal bir molekülün bir elektronun kaybına uğraması



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi



Üretilen bu radikaller zar lipidlerine, hücre içi proteinlere ve nükleik asitlere etki ederler (Şekil 4). Bu moleküllerin hem yapısını hem de fonksiyonlarını bozarak hücrelerde hasar meydana getirirler (Özcan vd., 2015).

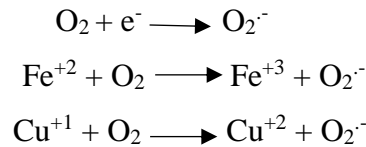


Şekil 4. Serbest Radikallerin Etkileri (URL-2)

2.10. Serbest Oksijen Radikalleri (SOR)

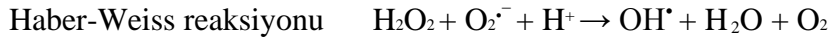
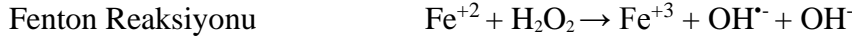
Serbest oksijen radikalleri, serbest radikallerin dış orbital yörüngesinde eşlenmemiş bir elektron ile bir oksijen atomu bulunması sonucu oluşur. Ayrıca bu moleküller oksijenin kısmen indirgenmesi sonucu meydana gelen kısa ömürlü ve oldukça güçlü oksidan özelliktedirler. En önemlileri arasında süperoksit radikalleri, hidroksil radikalleri, hidrojen peroksit yer almaktadır.

Süperoksit radikali ($O_2^{\bullet -}$), moleküler oksijenin (O_2) bir elektron alarak indirgenmesi sonucunda oluşan kararsız radikallerdir. Adrenalin, tiyol içeren bileşikler, flavinnükleotidleri, glukoz ile demir ve bakır gibi geçiş metallerinin oksijene etkisiyle oluşmaktadır. Mitokondrilerdeki elektron transfer zincirinde, fagositozda, hücre büyümesi ve farklılaşması gibi biyolojik reaksiyonlarda oluşmaktadır (Çaylak, 2011).



Hidrojen peroksit (H_2O_2), $O_2^{\bullet -}$ 'ye bir elektron ilave edilmesiyle veya O_2 'ye iki elektron eklenmesiyle meydana gelen oksijen türlerindedir (Flora, 2007). Hidrojen peroksit serbest radikal değildir. Serbest radikal oluşumunda rol aldıklarından dolayı SOR kapsamına girmektedirler. Hidrojen peroksit, süperoksit radikallerinin varlığında Haber- Weiss reaksiyonu ile ve geçiş metallerinin (Fe^{+2} , Cu^+ gibi) varlığında Fenton reaksiyonu sonucu ile

hidroksil radikalini oluşturur. Hidroksil radikali ise proteinler, lipitler ve DNA gibi önemli moleküllerle etkileşime girebilen en güçlü oksitleyici radikaldir (Aslankoç vd., 2019).



Hidroksil radikali (HO^{\cdot}), diğer radikallere göre daha güçlü bir şekilde biyomoleküller ile reaksiyona girebildiklerinden dolayı biyolojik sistemlere diğer SOR'lardan daha fazla zarar verebilirler. Fenton reaksiyonu sonucunda hidrojen peroksit, Fe^{+2} ve Cu^+ veya diğer geçiş elementleri (Zn, Mn, Cr, Co) varlığında indirgenerek OH^{\cdot} 'ye dönüştürülür. Fenton reaksiyonu ile süperoksit radikali bağlantı kurarak meydana gelen metal iyonlarının yeniden kullanılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Bu iki reaksiyona "Haber-Weiss reaksiyonu" adı verilmektedir. Böylelikle OH^{\cdot} oluşmasında geçiş metalleri önemli bir rol oynamaktadır (Karabulut ve Gülay, 2016).

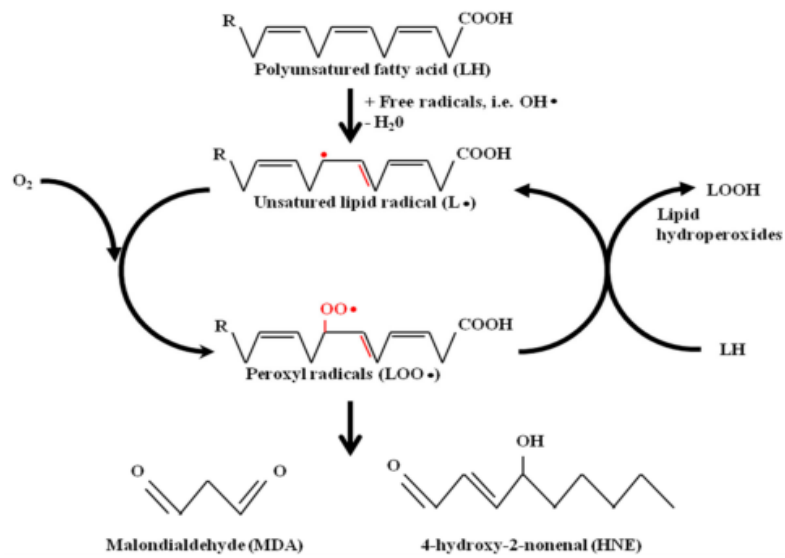
En önemli reaktif nitrojen çeşitleri arasında nitrik oksit (NO) yer almaktadır. Nitrik oksit memeli hücrelerindeki makrofaj, endotel (damar iç yüzü), nöron gibi farklı hücrelerde L- argininden nitrik oksit sentaz enzimi aktivitesine bağlı olarak meydana gelmektedir. Nitrik oksit trombosit kümelenmesini engeller, kan damarlarını genişletici etki gösterir. Bu özelliğinden dolayı damar daralmasını engelleyici etki gösterir. Biyoaktivitesinde azalma olması durumunda ise damar tıkanıklığı ortaya çıktığı belirtilmektedir. Nitrik oksit radikalleri son derece reaktif olup, hızla reaksiyona girerek nitrat, nitrit ve en önemlisi de peroksinitrit anyonunu (ONOO^-) oluşturmaktadır. Oluşan bu anyon fizyolojik pH'da nitrojendioksit ve hidroksil benzeri radikaller oluşturarak lipid peroksidasyonu ve damar hasarlarına sebep olarak, kalp-damar hastalıklarına neden olmaktadır (Ekici ve Sağdıç, 2008).

2.10.1. Lipitlere etkileri

Lipitler üzerine serbest radikallerin en önemli etkileri lipid peroksidasyonunu uyarmasıdır. Lipid peroksidasyonu çoklu doymamış yağ asidi (LH) zincirinde bulunan α -metilen gruplarından hidrojen (H) atomunun uzaklaşmasıyla başlamaktadır. Bu durumda yağ asidi zinciri radikal niteliği (L^{\cdot}) taşır. İlk aşamada molekül içinde çift bağ aktarılmasıyla

dien konjugatı oluşmaktadır. Daha sonra radikal oksijenin eklenmesi ile bu yağ asidi peroksil radikaline ($LOO\cdot$) dönüşmektedir. Oluşan lipid peroksil radikalleri zar yapısında bulunan diğer çoklu doymamış yağ asitlerinden hidrojen atomlarını çıkartmak suretiyle yeni reaksiyonlar başlatmaktadır. Ayrıca lipid peroksil radikalleri ($LOO\cdot$) açığa çıkan H atomlarını almak suretiyle lipid hidroperoksitlerine ($LOOH$) dönüşmektedir. Lipid peroksidasyonu ise, oluşan $LOOH$ 'ların aldehit ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesiyle sonlanmaktadır (Şekil 6) (Gürdöl, F., 2015).

Lipid peroksidasyonu biyolojik zar hasarlar meydana getirmektedir. Bu hasarlar sonucunda zar akışkanlığında bozulmalar, zar hidrojen ve diğer iyonlara karşı geçirgenliğinde artışa yol açarak, zarların rüptüre olmasına ve organel içeriğinin sitoplazmaya geçmesine sebep olur. Bu olumsuz etkiler hücrenin hasara uğramasına veya ölümüne neden olmaktadır (Özcan vd., 2015). Lipid peroksidasyon sonucu meydana gelen aldehitlerden en iyi bilineni malondialdehid (MDA) olup araşidonik asidin oksijenasyonu veya poliansature yağ asitlerinin enzimatik olmayan oksidatif yıkımı sonucunda oluşmaktadır. Malondialdehid zar komponentlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna sebep olmaktadır. Buna bağlı olarak, enzimatik aktiviteyi, iyon transportu, hücre yüzey determinantlarının agregasyon durumları ve intrinsik membran özelliklerini değiştirmektedir. Bu nedenle, hücre hasarın derecesini ölçmede MDA kullanılmaktadır (Sezer ve Keskin, 2014).



Şekil 5. Lipid Peroksidasyonu Şeması (Barrera vd., 2018).

1.10.2. Proteinlere Etkileri

Proteinler serbest radikallerden doğrudan etkilenmekte olup, etkilenme derecesini belirleyen ise içerdikleri aminoasitlerdir. Sülfür ve doymamış bağ içeren moleküller serbest radikallerden daha fazla etkilenir. Bundan dolayı özellikle tirozin, triptofan, sistein, fenil alanin ve metionin gibi amino asitleri içermekte olan proteinler serbest radikaller ile daha kolay reaksiyona girebilirler. Yapısal proteinlerin fonksiyonunu ve enzim aktivitesini engellemek suretiyle de proteinlerin hasara uğramasına neden olabilmektedirler (Karabulut ve Gülay, 2016).

2.10.3. DNA'ya Etkileri

Serbest radikaller DNA harabiyetinin önemli bir kaynağıdır. Yaklaşık oksidatif olarak değişikliğe uğramış 20 tip DNA molekülü tanımlanmıştır. DNA'ya Fe^{+2} 'nin özgül olmayan şekilde bağlanması durumunda hidroksil radikalının lokalize üretimi kolaylaşır. Bunun sonucunda DNA'da baz değişiklikleri olabilir. Bu radikal deoksiriboz omurgasına saldırıp iplikte kopmalara neden olabilir. Hücre DNA'daki bu harabiyeti bir ölçüde onarabilir veya hücrenin apoptoza uğramasıyla DNA harabiyeti asgariye indirilir (Smith vd., 2007). Ayrıca oksidatif stres sonucunda oluşan bazı radikaller yapısında aromatik aminoasit bulunan proteinlerle birlikte DNA-protein çapraz bağlarını oluşturmaktadırlar. DNA'nın hasara uğramasına ilişkin en önemli patolojik süreç ise karsinogenezis olup, karsinogenezisin başlangıç, ilerleme ve malign dönüşümü evrelerinde oksidatif hasarın rol oynadığı düşünülmektedir (Özcan vd., 2015).

2.10.4. Karbohidratlara etkileri

Karbohidratlar ile hidroksil gibi serbest radikaller reaksiyona girebilirler. Bunun sonucunda da karbon atomlarının birinden bir hidrojen atomu çıkartarak karbon merkezli radikal üretebilirler. Bunlar ise hyaluronik asit gibi önemli moleküllerde zincir kırılmalarına sebep olurlar (Karabulut ve Gülay, 2016).

2.11. Antioksidanlar

Serbest radikaller tarafından canlı hücrelerde bulunan okside olabilecek lipid, protein, karbohidrat ve DNA gibi maddelerin oksidasyonunu önleyen ya da geciktiren maddelere antioksidan, bu olaya da antioksidan savunma denir. Belirli bir düzeye kadar oluşabilen oksidan moleküller yine vücutta belirli bir düzeyde bulunan antioksidanlar ile etkisiz hale getirilmektedir (Tablo 3). Antioksidanlar etkilerini şu şekilde gösterirler;

- Oluşan serbest radikalleri kararlı hale getirerek
- Serbest radikal üreten kimyasal reaksiyonları zincir kırıcı etki ile durdurarak
- Baskılayıcı etki ile reaksiyon hızını azaltarak
- Onarıcı etki ile biyolojik molekülerde meydana gelen hasarı onararak
- Organizmada enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların sentezini arttırmak suretiyle etki göstermektedirler (Kasapçopur Özel ve Birdane, 2014).

Tablo 3. Endojen ve Eksojen Antioksidanlar (Karabulut ve Gülay, 2016)

ENDOJEN ANTIÖKSİDANLAR		
Enzimatik Antioksidanlar	Nonenzimatik Antioksidanlar	
Süperoksit Dismutaz (SOD)	Glutasyon	Ürik asit
Katalaz (CAT)	Albümin	Selenyum
Glutasyon redüktaz (GR)	Bilirubin	α -lipoik asit
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Transferrin	Seruloplazmin
	Koenzim Q 10	Melatonin
EKSOJEN ANTIÖKSİDANLAR		
Askorbik asit (Vitamin C)	β -karoten (Vitamin A)	
α -Tokoferol (Vitamin E)	Folik asit (Vitamin B9)	

2.12. Bazı enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar

2.12.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Oksidasyon sonucu oluşan süperoksit anyonlarını moleküler oksijen ve hidrojen peroksite katalizleyen enzimlerdir (Aksoy ve Bingöl Özakpınar, 2014).



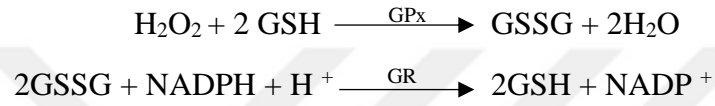
2.12.2. Katalaz (CAT)

Süperoksit dismutazın etkisiyle meydana gelen hidrojen peroksitin, su (H₂O) ve oksijene (O₂) dönüştürülmesinde görev alan enzimdir. Hidrojen peroksit önemli biyolojik moleküllerle reaksiyona girmeyip, daha çok reaktif oksidanların oluşmasında ön madde olarak görev almaktadır (Karadeniz ve Koca, 2003).



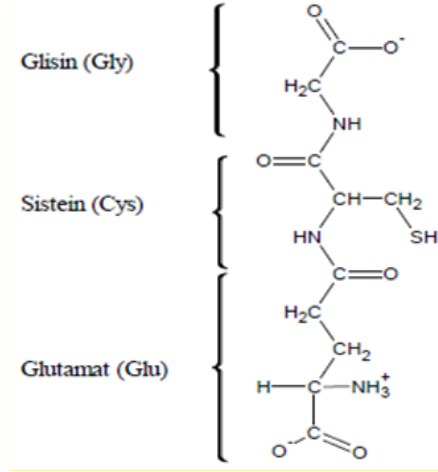
2.12.3. Glutasyon Peroksidaz ve Glutasyon Redüktaz

Glutasyon peroksidaz, H₂O₂'den kaynaklanan oksidatif hasara karşı hücreleri koruyucu etki gösterir. Hücrelerin stoplazmasında bulunan bu enzim dört protein alt biriminden oluşur. Her bir alt birim bir selenyum atomu içermektedir. Glutasyon peroksidaz, elektron kaynağı olarak glutasyonu (GSH) kullanır. Metabolize etme reaksiyonları esnasında GSH, hidrojen verici olarak hareket ettiğinden dolayı H₂O₂ ve hidroperoksitler indirgenirken GSH okside olmaktadır (GSSG). GSSG glutasyon redüktaz (GR) varlığında ise redükte glutasyon haline geri indirgenir. Bu reaksiyon esnasında glutasyon redüktaz elektron vericisi olarak NADPH'yi kullanır (Karabulut ve Gülay, 2016).



2.12.4. Tiyol Grupları

Tiyol grupları; oksidatif stresi dengelemek için serbest oksijen radikallerinin oluşumunu veya bu radikallerin aktivitelerini azaltıcı etki gösteren ve yapılarında sülfidril (-SH) grubu içeren organik bileşiklerdir. Serbest oksijen radikalleriyle ortamdaki tiyol grupları oksitlenerek reversibl disülfid bağlarına dönüşmektedir (Halil ve Karacan, 2018). Bu bileşiklerin majör bileşeni olan glutasyon (GSH); glutamik asid, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptittir. Glutasyon önemli bir indirgeyici ajan ve antioksidan olarak, hücrenin oksido-redüksiyon dengesini sağlayarak hücreleri endojen ve ekzojen kaynaklı oksidanların zararlı etkilerinden korumaktadır. Glutasyona antioksidan özelliğini tiyol grubu sağlamaktadır (Şekil 6). Proteinlerdeki SH gruplarının korunmasında, bazı reaksiyonlarda koenzim olarak görev almasının yanında, protein ve DNA sentezinde de önemli bir rol üstlenir. Dokularda glutasyon indirgenmiş glutasyon (GSH) ve okside glutasyon (GSSG) olarak iki şekilde bulunmaktadır (Konukoğlu ve Akçay,1995). GSH'ın yaklaşık %85-90'ı sitoplazma da bulunmaktadır. Ancak bazen GSH sitoplazmada sentezlendikten sonra mitokondri, çekirdek, peroksizomlar ve endoplazmik retikulumda da bulunabilmektedirler (Karabulut ve Gülay, 2016).



Şekil 6. Glutasyonu yapısı

2.13. Erkek Üreme Sistemi

Erkek üreme sistemi genellikle dört farklı yapı içerisinde incelenebilir. Bunlar; Sperm ve testosteronu üreten testisler, sperm olgunlaşmasına yardımcı olan, depolayan ve taşıyan kanallar, sperm sıvı kısmının büyük bölümünü oluşturan yardımcı bezler ve sperm vajinaya iletilmesini sağlamakta olan penis kısmıdır (Aktümsek, 2009).

2.13.1. Testis

Erkeklerde normal şartlarda bir çift testis bulunmaktadır. Testisler vücutta skrotum (scrotum) denilen torba içerisinde yerleşmiştir. Sperm üretimini gerçekleştirebilmek için testislerin sıcaklığı normal vücut sıcaklığından 2-3 °C daha düşüktür ve optimum sıcaklığı 34 °C'dir. Skrotum sıcakta gevşeyerek sarkar ve vücuttan uzaklaşır. Soğukta ise büzülür ve bu şekilde vücuda yaklaştırılarak testislerin uygun sıcaklıkta tutulması sağlanır (Aktümsek, 2009).

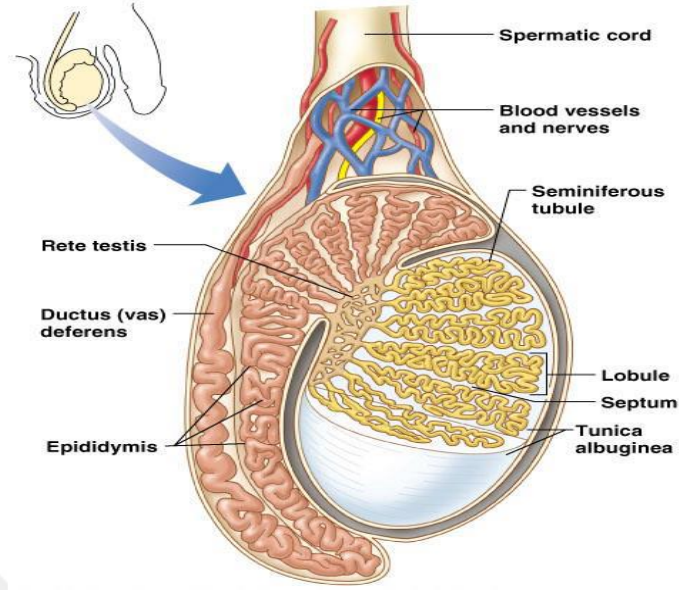
Erkeklerde esas üreme fonksiyonu, sperm hücresinin oluşumunu sağlamaktır ve bunu testisler gerçekleştirir. Ayrıca erkek cinslik hormonu olan testosteronu da testisler yapmaktadır. Testis 2 ayrı doku taşımaktadır. Bunlardan birincisi sperm hücrelerini meydana getiren tubuli seminiferdir. İkincisi ise testosteron hormonunu meydana getiren interstitial hücrelerden oluşur (Noyan, 2004). Testisler çok sayıda seminifer tübül olarak adlandırılan kıvrımlar içerir. Her bir seminifer tübülün iç yüzeyi mitozla çoğalmakta olan spermatogoniumlarla döşelidir. Bu hücrelerin üzerinde mayoz bölünmeye giren diğer hücre tipleri mevcuttur. Tübül lümeninde, serbest hareket edebilen spermatidler bulunmaktadır. Spermatogenezis bu tübüllerde meydana gelmektedir. Testosteron hormonunu yapan

hücreler ise seminifer tübüleri çevreleyen bağ doku içerisinde bulunurlar. Bu hormonu yapan hücreler Leyding hücreleri olarak adlandırılır (Bozdoğan, 2000).

2.13.2. Testis Histolojisi

Testisler dıştan tunica albuginea ile kaplıdır. Bu kapsül üçgen şeklinde testisin arka kenarı boyunca mediastinum testisi oluşturur. Bu oluşumdan testis dokusu içine septumlar gider. Bu septumlar testisin parankimasını lobuli testislere ayırır. Bu lobuli testislerin içerisinde seminifer tübüleri bulunur (spermatogenezin gerçekleştiği yer). Tübülüslerin arasını dolduran interstisyel doku, damarlarca ve fibroblastça zengin yapıdadır. Burada ayrıca Leyding hücreleri de bulunur (Şekil 8) (Akdoğan vd., 1998).

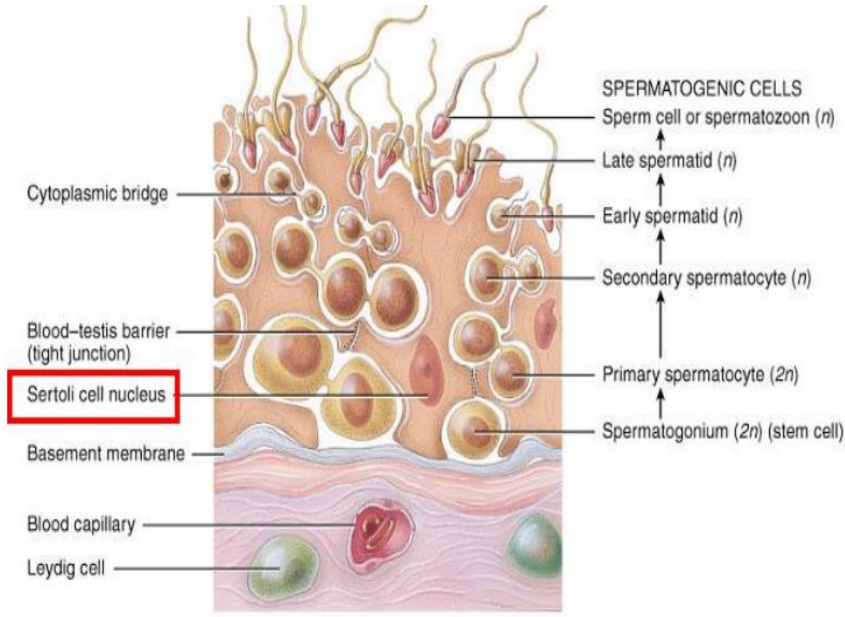
Seminifer tübüleri, lobuli testis içinde kıvrımlı borucuklar şeklinde bulunan her biri 0,2 mm çaplı ve 30-70 cm uzunluğundadır. Seminifer tübülün duvarı germinal epithelium ile çevrilidir. Bu tübülüs epitelinde spermatogenez evrelerindeki hücreler ve Sertoli hücreleri bulunur. Spermatogenez için gerekli besin ve destek görevini üstlenmiş olan Sertoli hücreleri bulunmaktadır. Seminifer tübüleri kısa segmentler halinde sonlandığı tubuli recti, seminifer tübüllere epitelle kaplanmış kanalların oluşturduğu rete testiste bağlanmasını sağlamaktadır (Erbengi, 1990). Seminifer tübüleri arasını dolduran internal dokudaki damarların hemen etrafında kırmızı noktalar şeklinde Leyding hücreleri bulunur. Tübülüslerin bir kısmında lümene yakın bölgede kuyruklu hücreler bulunur. Tübülüslerin epitelinin altında kalın bir bazal lamina bulunmaktadır. Bunun altında da lamina propria bulunur. Epitelde iki tür hücre bulunmaktadır. Birincisi Sertoli (yardımcı), ikincisi spermatogoniyal (spermatogonium, primer spermatositler, sekonder spermatositler, spermatidler, spermiler) hücrelerdir (Akdoğan vd., 1998).



Şekil 7. Testis yapısı (URL-3)

2.13.3.Spermatogenezis

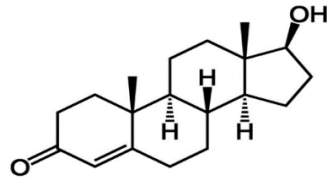
Seminifer tübül epitelinde taban zarına en yakın hücreler spermatogonia hücreleridir. Bu hücreler ergenlik çağında mitotik olarak çoğalarak primer spermatositleri oluşturur. Bu hücreler mayoz bölünme ile kromozom sayısını yarıya indirir ve bu şekilde sekonder spermatositler meydana gelir. Bunlarda spermatidleri oluşturur. Spermatogoniumdan spermatidlere kadar olan olgunlaşma evrelerinde hücreler stoplazmik köprülerle birbirlerine bağlıdır. Spermatidler büyük sertoli hücrelerinin stoplazmasına gömülüdürler. Burada olgun spermatozoa meydana getirirler. İnsanda ortalama olarak spermatogoniumdan spermatozoon oluşumuna kadar geçen süre 74 gündür. Olgunlaşan spermatozoalar serbest bırakılır ve tübül boşluğuna girerler (Şekil 9) (Noyan, 2004).



Şekil 8. Spermatogenezis aşamaları (URL-4)

2.13.4. Testosteron

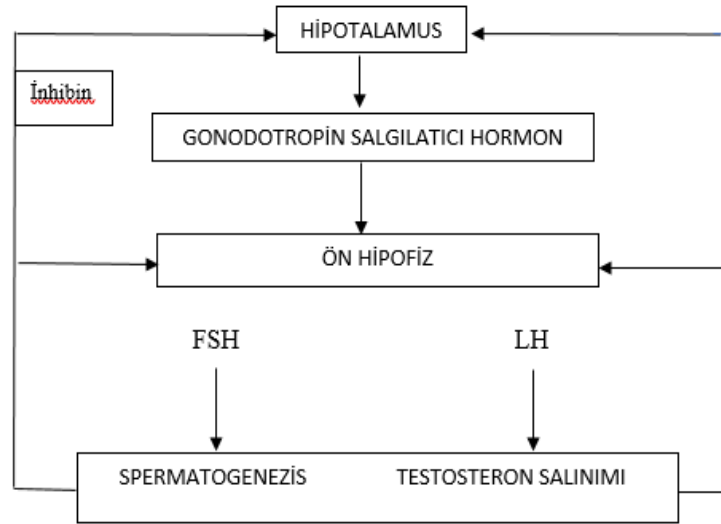
İnsan vücudundaki üretilen steroid yapıdaki testosteronun büyük bir bölümü testislerde üretilmektedir (Şekil 10). Bunun dışında testosteron üretimi adrenal bez ve overler tarafından gerçekleştirilmektedir. Testosteron sentezi, hipotalamus kontrolünde ön hipofiz bezi tarafından salgılanan luteinize edici hormon (LH) aracılığıyla kontrol edilmektedir. Bir günde sağlıklı erişkin bir erkek birey yaklaşık 2.5-11 mg testosteron üretmektedir. Üretilen testosteronun %44'lük kısmı seks hormon bağlayıcı globüline (SHBG) bağlı, %2'lik kısmı ise serbest halde bulunmaktadır. Geriye kalan %54'lük kısmı ise albümine gevşek olarak bağlıdır (Akdoğan ve Özen, 2006).



Şekil 9. Testosteron yapısı

2.14. Erkek Üreme Fonksiyonlarının Kontrolü

Her iki cinsiyette de üreme fonksiyonları ön hipofizden salgılanan gonodotropinler (FSH, LH) tarafından kontrol edilir (Şekil 11). Bunların moleküler yapıları hem erkek hem de dişilerde aynıdır. Erkekte LH genellikle interselüler hücre stimüle edici hormon (ICSH) olarak isimlendirilir. Erkekte LH ve FSH'nin etkileri sadece testisler üzerine olmaktadır. Testislerde hormon üretiminde leyding ve sertoli hücreleri olmak üzere iki hücre tipi sorumludur. FSH seminifer tübüllerindeki sertoli hücrelerini etkileyerek spermatogenezisi uyarır. LH ise leyding hücrelerini etkilemek suretiyle testosteron salınımını uyarır. Gerek FSH gerekse de LH hormonlarının salınımı ön hipofiz bezinden olmaktadır. Ön hipofiz hormonlarının salınımını hipotalamus tarafından salınan bazı faktör veya hormonlar düzenlenmektedir. Ayrıca sertoli hücrelerinden adenohipofizde FSH salınımını inhibe eden inhibin hormonu salgılanmaktadır (Bozdoğan, 2000).



Şekil 10. Spermatogenezis ve testosteron salınımının hipotalamik kontrolü (Bozdoğan, 2000).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Sıçanların Ortam Şartları

Bu çalışmada kullanılan sıçanlar, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma Merkezinden temin edildi. Araştırmada 12-14 haftalık ve ağırlıkları 250-300 g arası olan 24 adet Sprague Dawley ırkı erkek sıçan kullanıldı. Her kafeste 8 sıçan olacak şekilde şeffaf polietilen kafeslerde barındırıldı. Sıçanlar musluk suyu ve sıçan yemiyle beslendi. Adaptasyon amacıyla sıçanlar 1 hafta önce ısı 23 (± 2) °C, nemi %55 (± 5) ve ışığı 12 saat aydınlık-12 saat karanlık foto periyotta yapay olarak kontrol edilen odalara alındı. Adaptasyon aşamasından sonra her grupta 8 sıçan olacak şekilde 3 farklı deney grubu oluşturuldu. Elektromanyetik dalga maruziyeti için Anritsu MG3670 B tipi elektromanyetik dalga üreten jeneratör kullanıldı. Birinci gruba EMA uygulaması yapılmadı. İkinci gruba günde 6 saat, üçüncü gruba ise günde 12 saat olmak üzere 60 gün boyunca EMA uygulaması yapıldı.

3.2. Deneysel Uygulamalar

Oluşturulan gruplar ve bu gruplara uygulanan işlemler aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo 4.).

Gruplar

Grup 1: Kontrol Grubu (K); herhangi bir EMA uygulaması yapılmayan grup.

Grup 2: Günde 6 saat 2100 MHz EMA uygulamasına maruz bırakılan grup.

Grup 3: Günde 12 saat 2100 MHz EMA uygulamasına maruz bırakılan grup.

Tablo 4. Hayvan deney grupları

Gruplar	Hayvan adedi	2100 MHz EMA uygulama süresi/gün
Grup 1 (Kontrol grubu)	8	-
Grup 2 (EMA 6 saat)	8	6 saat
Grup 3 (EMA 12 saat)	8	12 saat
Toplam	24	

3.3. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması

Yapılan deney süresi sonunda sıçanlar anestezi altında uyutularak testis dokusu çıkarıldı ve ventriküler kan alındı. Biyokimyasal analizler için alınan kan örnekleri hızlı bir şekilde 3500 rpm'de 5 dk. santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında elde edilen serum örnekleri testosteron çalışması için -20 °C'de saklandı. Sıçanlardan alınan testis dokusu histolojik analizler için ikiye bölünerek bir parçası formaldehite, diğer parçası Bouin solüsyonuna koyuldu. Diğer testis dokusu biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere -20 °C'de derin dondurucuya koyuldu. Bu dokularda TBARS ve toplam TİYOL düzeyleri değerlendirildi.

3.4. Biyokimyasal İşlemler

3.4.1. Kullanılan Cihazlar

Yapılan çalışmalar Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Kullanılan cihazlar ve markaları Tablo 5'de verilmiştir.

Tablo 5. Kullanılan Cihazlar ve Markaları

Cihazın Adı	Markası
Santrifüj	Thermo SCIENTIFIC Multifuge 3SR+
Su banyosu	Memmert WNB 14
Etüv	Memmert UF 55
Hassas terazi	Precisa XB 220 A
Homojenizatör	TissueLyser II QIAGEN
Otomatik pipet	Brand, Socorex
pH Metre	Thermo Scientific Orion 3 star
Mikroplaka okuyucu	Thermo Scientific Multiskan GO
Mikroplaka yıkayıcısı	Biotek ELX50/8
Manyetik karıştırıcı	Are Velp Scientifica
Vorteks	Velp scientica
Buzdolabı	Beko BK 7121 T
Derin dondurucu	Vestel FT-290

3.4.2.Kullanılan Kimyasallar ve Markaları

Çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler ve markaları Tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 6. Kullanılan kimyasallar ve markaları

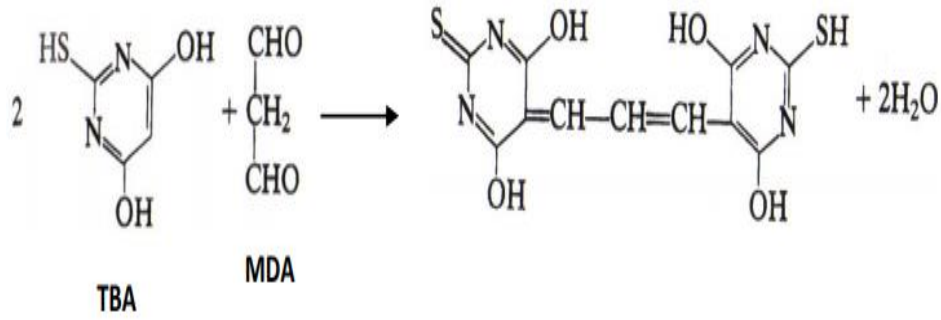
Kimyasal Adı	Markası
Di sodyum fosfat (Na ₂ PO ₄)	HIMEDIA
Tri sodyum sitrat (Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇)	HIMEDIA
Sodyum di hidrojen fosfat, anhidrat (NaH ₂ PO ₄)	HIMEDIA
Sodyum dodesil sülfat (SDS)	Sigma-Aldrich
Asetik asit	MERCK
Potasyum klorid (KCl)	HIMEDIA
Redükte glutatyon (GSH)	Sigma-Aldrich
Sodyum hidroksit (NaOH)	HIMEDIA
Hidroklorik asit (HCl)	MERCK
Etanol	MERCK
Tiyobarbitürik asit (TBA)	MERCK
Ditiyobis 2 nitrobenzoik asit (DTNB)	Alfa Aesar
1,1,3,3 Tetrametoksiopropan (TEP)	Fluka

3.4.3.Homojenatların Hazırlanması

Testis doku numuneleri 0,1 g olarak tartıldı. Ağırlık/hacim oranı 1/10 g/mL olacak şekilde homojenizasyon tamponu içine alındı. Bu şekilde endorf tüpleri içerisine alınan dokular buz içerisinde taşınarak homojenizatör cihazına yerleştirildi. Burada 30 sıklık/saniye devirde 3 dakikada parçalandı. Parçalanmış dokular santrifüjde +4 °C’de 800 g’de 10 dk. boyunca çevrildi. Santrifüj edilen dokuların süpernatant kısımları biyokimyasal analizleri yapılması için alındı.

3.4.4. TBARS (MDA) Analizi

TBARS tayini, tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyonuna dayanan Ohkawa ve ark. (1979)’nın modifiye yöntemine göre yapılmıştır. Önce standart grafiği kullanılarak spektrofotometrik yöntemle nmol/mL değerleri bulundu. Bulunan bu değerler daha sonra doku başı verilerek nmol/g doku olarak hesaplandı.



Şekil 11. MDA ile TBA'nın tepkimeye girdiği reaksiyon

3.4.4.1. Kullanılan Çözeltiler

Tablo 7. TBARS tayininde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları

Çözelti	Hazırlanışı
Doku homojenizasyon tamponu	0,94 g NaH ₂ PO ₄ , 1,73 g Na ₂ HPO ₄ , 10,44 g KCl tartıldı. pH 7,4 olacak şekilde ayarlandı. Son hacim 1 litreye tamamlandı.
%8,1'lik SDS	8,1 g SDS tartılıp 100 mL distile suda çözünerek hazırlandı.
%50'lik asetik asit	50 mL asetik asit 50 mL distile suda çözündürülüp hazırlandı.
%0,8'lik TBA	%50'lik asetik asit çözeltisinde 0,8 g TBA çözüldü ve %50'lik asetik asitle 100 ml'ye tamamlandı.
%20'lik asetik asit	20 mL asetik asit pH 3,5'a ayarlandı. 100 mL'ye distile su ile tamamlanarak hazırlandı.

3.4.4.2. Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Standart çözeltiler için 26 µL MDA standardı (1,1,3,3 tetrametahidroksipropan (TEP) alınıp 10 mL etanole tamamlandı. Elde edilen 10 mM stok MDA'dan seri dilüsyonlar yapıldı. Bu dilüsyonlar 0.625, 0.3125, 0.156, 0.078 ve 0.039 nmol/mL olacak şekilde hazırlandı. Daha sonra 10 dk. sıcak su banyosunda inkübasyona bırakıldı. Sıcak su banyosundan çıkarılan tüpler santrifüj cihazında +4 °C'de 4 000 rpm'de 15 dk. santrifüj edildi. Santrifüj edilen standart numunelerin her birinden 100 µL alındı ve üzerlerine 500 µL distile su ilave edildi. Meydana gelen bu çözeltiden de 400 µL alındı 50 µL TBA ilave edilerek 532 nm'de absorbanları okutuldu ve standart grafiği çıkarıldı (Şekil 12)

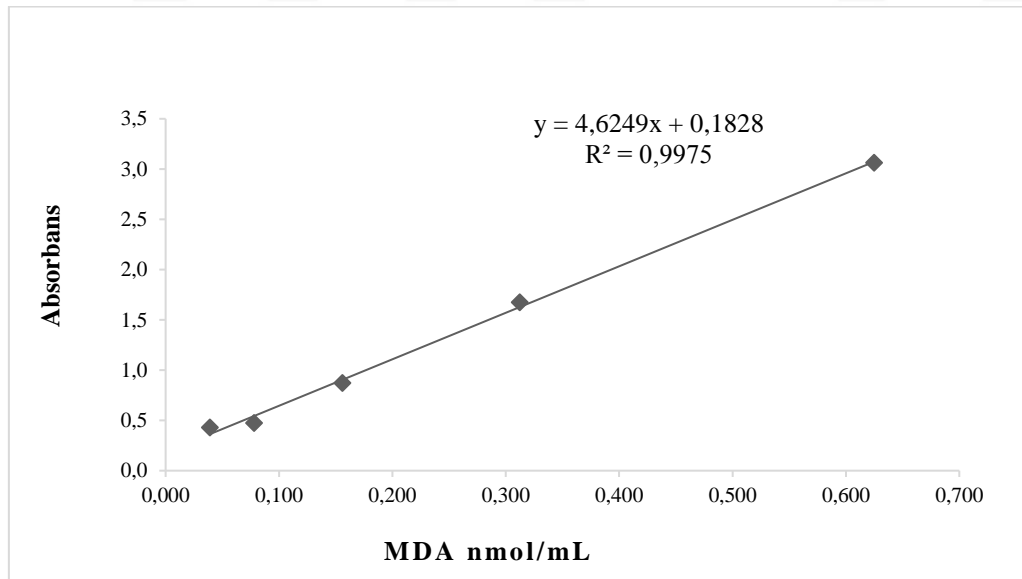
3.4.4.3. Deneyin yapılışı

Tablo 8. TBARS analizinde pipetleme miktarları.

Çözeltiler	Numune	Kör
Tampon	100 µL	200 µL
Numune çözeltisi *	100 µL	-
Asetik asit	375 µL	375 µL
TBA	375 µL	375 µL
SDS	50 µL	50 µL

*: Spektrofotometrede sonuçlar okunabilir aralıklarda çıkabilmesi için homojenatlar 1:2 oranında dilüe (seyreltme) edilmiştir.

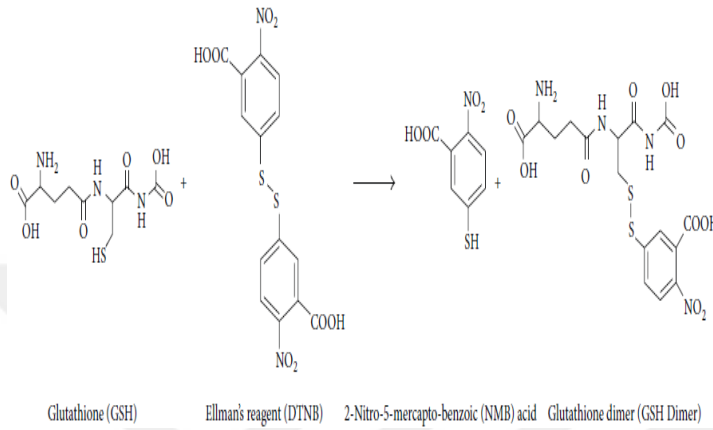
Pipetlemeler Tablo 8’de verildiği gibi yapıldıktan sonra tüpler 1 saat 100 °C sıcak su banyosunda çalkalanır vaziyette inkübasyona bırakıldı. Daha sonra tüpler +4 °C 15 dk. 4 000 rpm’de santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra alınan tüplerden mikrolaka üzerinde numune ve kör için belirlenen kuyucuklara 200 µL pipetleme yapıldı. 532 nm’de absorbansları okutulup standart grafiği kullanılarak hesaplamaları yapıldı. TBARS düzeyleri doku başına verilerek nmol/g doku şeklinde hesaplandı.



Şekil 12. MDA standart grafiği

3.4.5. Toplam Tiyoil Tayini (TT)

TT tayin yönteminde doku homojenatı yapıldıktan sonra süpernatant kısmı alınmıştır. Bu tayin yöntemi serbest sülfidril gruplarının Ellman reaktifiyle oluşturduğu rengin spektrofotometrik olarak ölçülmesi prensibine dayanmaktadır (Ellman, 1959).



Şekil 13. Glutatyon ile Ellman reaktifinin tepkimeye girdiği reaksiyon

3.4.5.1. Kullanılan Çözeltiler

Tablo 9. Toplam tiyoil tayininde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları

Çözelti	Hazırlanışı
Doku homojenizasyon tamponu	0,94 g NaH ₂ PO ₄ , 1,73 g Na ₂ HPO ₄ , 10,44 g KCl tartılıp pH 7,4 olacak şekilde ayarlandı. Son hacim 1 litreye tamamlandı.
0,3 M Na ₂ HPO ₄ çözeltisi	2,13 g Na ₂ HPO ₄ tartılıp 50 mL distile suda çözülerek hazırlandı.
Ellman ayırıcı çözeltisi	%1'lik sodyum sitrat çözeltisi içerisinde 0,004 g DTNB reaktifi çözülerek 10 mL'ye tamamlandı.

3.4.5.2. Deneyin yapılışı

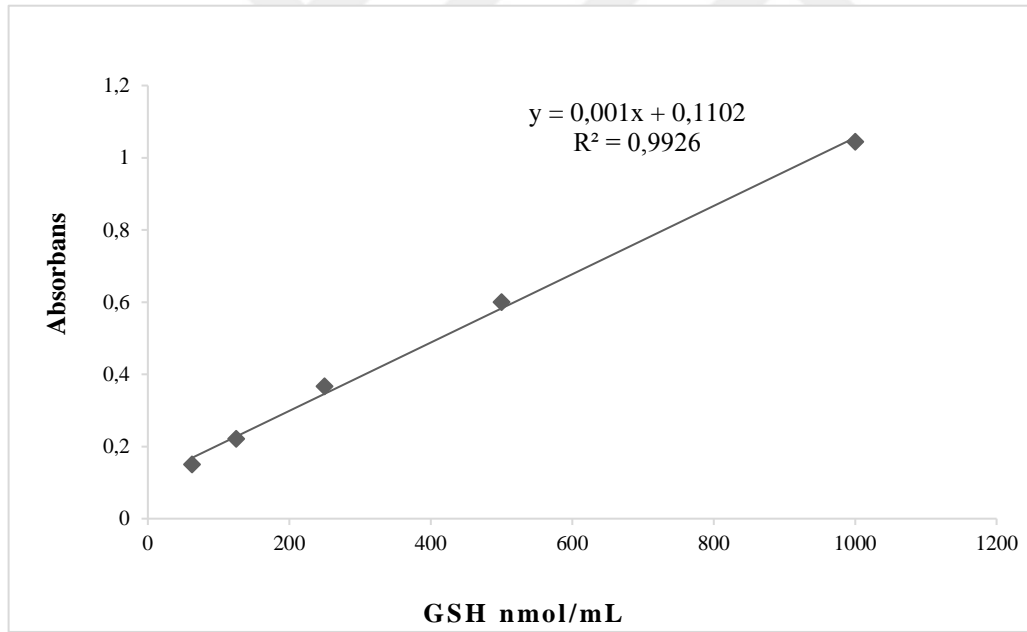
GSH standartından (L-glutatyon reduced) 0.0061 g tartıldı. 2 mL distile suda çözülerek 10 000 µM stok çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltiden 1 000, 500, 250, 125 ve 62.5 nmol/mL standart çözeltileri hazırlandı.

TT tayini için Tablo. 10'a göre pipetleme yapıldı. Spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda absorpsanları okutulup standart grafiği kullanılarak hesaplamaları yapıldı (Şekil.12). GSH düzeyleri doku başı verilerek nmol/g doku şeklinde hesaplandı.

Tablo 10. Toplam tiyol tayini için pipetleme miktarları

	Numune	Standart	Kör
Tampon	-	-	25 µL
GSH Çözeltisi	-	25 µL	-
Dilüe Homojenat*	25 µL	-	-
Na ₂ HPO ₄	100 µL	100 µL	100µL
Ellman Ayracı	25 µL	25 µL	25 µL

*: Spektrofotometrede sonuçlar okunabilir aralıklarda çıkabilmesi için homojenatlar 1:2 oranında dilüe (seyreltme) edilmiştir.



Şekil 14. GSH standart grafiği

3.4.6. Testosteron (T) Düzeyinin Belirlenmesi

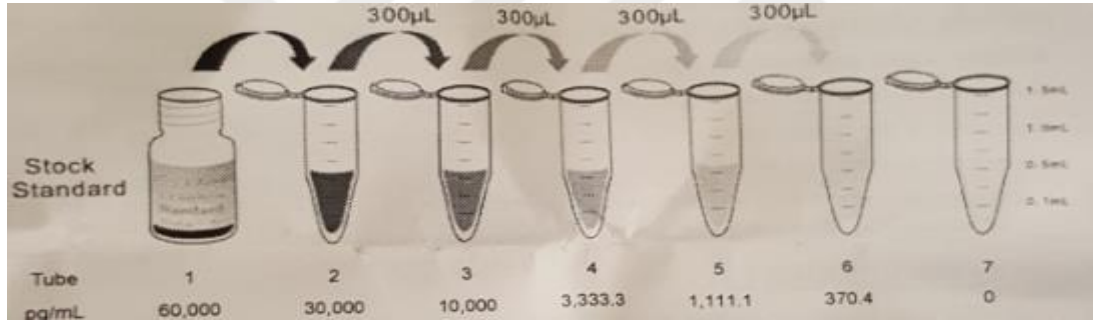
Numunelerin testosteron düzeylerinin ölçümleri Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Araştırma ve Uygulama Laboratuvarında enzime bağlı immünosorban yöntem (ELISA) ile testosteron ticari kiti (Cloud-Clone Corp. Kiti, CEA458Ge 96) kullanılarak gerçekleştirildi.

3.4.6.1. Testin Prensipleri

Bu ELISA kiti, serum, plazma ve diğer biyolojik sıvılarda testosteronun in vitro kantitatif ölçümü için yarışmalı bir inhibisyon enzim immünoassay tekniğidir. Spesifik bir monoklonal antikor testosteron bir mikrolaka üzerine önceden kaplanmıştır. Önceden kaplanmış antikor ile biotin etiketli testosteron ve etiketlenmemiş testosteron (Standartlar veya örnekler) arasında yarışmalı bir inhibisyon reaksiyonu başlatılır.

3.4.6.2. Reaktif Hazırlama

1. Reaktifler oda sıcaklığına getirildi.
2. Standart 10 dk. boyunca oda sıcaklığında tutulup, 1 mL standart seyreltici ile sulandırıldı. Standartın stok çözeltisindeki konsantrasyonu 60 000 pg/mL olarak hazırlandıktan sonra 30 000 pg/mL'ye seyreltildi. 0.6 mL standart seyreltici içeren 5 tüp hazırlandı ve Şekil. 13'e göre seyreltme yapıldı.



Şekil 15. Standart seyreltme

30 000, 10 000, 3 333.3, 1 111.1 ve 370.4 pg/mL olacak şekilde 5 seyreltilmiş standart hazırlandı.

3. Reaktif A ve B santrifüjlendi.
4. 20 mL yıkama solüsyonu konsantrasyonu ile 580 mL distile suyla seyreltilerek 600 mL yıkama solüsyonu hazırlandı.

3.4.6.3. Test Prosedürü

Mikrolaka üzerinde belirlenen yerlere standart, kör ve numune çözeltileri eklendi. Standart kuyucuklarına (5) 50 µL standart solüsyonları eklendi. Kör için 1 kuyucuk ayrıldı. Numune kuyucuklarına 50 µL serum dağıtımı yapıldı. Tüm kuyucuklara 50 µL reaktif A eklendi ve hafifçe plaka sallandı. Plaka kapatacısıyla örtülüp 37 °C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon bitiminde mikrolakalar hazırlanan yıkama solüsyonu ile Biotek marka

otomatik yıkayıcıda her birinde kuyucuklara 350 µl eklenerek 3 kez yıkandı. Her yıkamadan sonra mikropalakayı emici kağıda geçirerek kalan sıvıyı tüm kuyucuklardan tamamen çıkarılarak yapıldı. Her kuyucuğa 100 µL reaktif B çalışma çözeltisi eklenip, mikropalaka kapatici ile kapattıktan sonra 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi. Daha sonra kinci basamakta gerçekleştirilen yıkama işlemi 5 kez olacak şekilde tekrarlandı. Her bir kuyucuğa 90 µL substrat reaktifi eklendi, üstü kapatıldı ve karanlıkta 37 °C' de 15 dk. inkübe edildi. Bütün kuyucuklara 50 µL stop solüsyonu eklendi ve mikropalaka 450 nm dalga boyunda ThermoMultiscan Go markalı mikropalaka okuyucu cihazında okutularak absorbanlar belirlendi.

3.5. İmmünohistokimyasal ve histopatolojik analizler

Sıçanlardan çıkarılan testis dokuları 1.5 cm³ hacminde trimlenerek tespit olması için Bouin solüsyonunda 24 saat boyunca bekletilerek fiksasyon işlemi uygulandı. Fiksasyon işlemi takiben rutin histolojik yöntemlere uygun olarak testis dokuları doku takip cihazında (ThermoScientific™ Citadel 2000, İngiltere) sırası ile artan etanol (Merck GmbH, Darmstadt Almanya) serisinde [%50 (2 kez), 60, 70, 80, 96 ve %100 (2 kez)] 15'er dakika bekletilerek su çekme işlemi gerçekleştirildi. Yine doku takibi cihazında testis dokusuna ait numuneler bir sonraki aşamada iki seri ksilol (Merck GmbH, Darmstadt Almanya) solüsyonunda 15'er dakika bekletilerek şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Bir sonraki aşamada doku takibi cihazında testis dokusuna ait örnekler yumuşak parafinde (Merck GmbH, Darmstadt Almanya) 1 saat ve sert parafinde (Merck GmbH, Darmstadt Almanya) bir gece boyunca bekletildi. Daha sonraki aşamada testis dokusuna ait örnekler doku gömme cihazı (Leica EG 1150 H, Almanya) kullanılarak sert parafin (Merck GmbH, Darmstadt Almanya) kullanılarak doku gömme kasetlerine (Isolab; Almanya) gömüldü.

Hazırlanan testis dokusuna ait parafin bloklarından rotary mikrotom (Leica RM2255, Almanya) kullanılarak 4-5 µm kalınlığında kesitler alınarak sıcak su banyosunda (GFL 1052, Almanya) katlantıları açıldıktan sonra adesif lamlara (Isolab, Almanya) aktarıldı. Kesitlerin boyama işlemlerine başlanmadan önce 60 °C sıcaklıkta 1 saat süre ile etüvde inkübe edildi. Ardından kesitler Harris hematoksilen ve eozin G (H&E, Merck GmbH, Darmstadt, Almanya) ve Masson-Goldner trikrom boyama kiti (Merck, 100485, Almanya) ile boyama cihazında (Leica ST5020, Almanya) boyama gerçekleştirildi.

3.5.1. Hematoksilen ve Eozin Boyama Yöntemi

1. Deparafinizasyon işlemi 60 °C sıcaklığa maruz bırakıldıktan sonra ksilen solüsyonunda bekletilerek tamamlandı.
2. Rehidratasyon işlemi için %100, 96, 90, 80 ve 70'lik etanol serilerinden geçirildikten sonra musluk suyuna tutulduktan sonra distile suda bekletildi.
3. Harris hematoksilen ile boyama işlemi gerçekleştirildi.
4. Ardından musluk suyunda tutuldu.
5. Sonrasında eozin Y ile boyandı.
6. Musluk suyundan geçirildi.
7. %70, 80, 90 ve 100'lük etanol serilerinden geçirilerek dehidratasyon işlemi gerçekleştirildi.
8. Ksilen serilerinde bekletilerek şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi.
9. Kesitlerin üst kısımları entellan ile lamel kapatıldı.

3.5.2. Masson-Goldner trikrom boyama yöntemi

1. Kesitler deparafinizasyon ve dehidratasyon işlemlerinden geçirildi.
2. Hematoksilen çözeltisi ile boyama işlemi başlatıldı.
3. Kesitler musluk suyu altında yıkandı.
4. %1'lik asetik asit maruziyeti sonrası azofloksin solüsyonunda bekletildi.
5. %1'lik asetik asit solüsyonu maruziyetinden sonra tungstofosforik asit oranj G çözeltisinde bekletildi.
6. %1'lik asetik asit solüsyonu maruziyeti sonrası light green SF çözeltisinde bekletildi ve ardından tekrar %1'lik asetik asit solüsyonunda bırakıldı.
7. %70, 96 ve 100'lük (2 kez) etanol serilerinden geçirilerek dehidratasyon sağlandı
8. Ksilen ile şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi.
9. Kesitler üzerine entellan ile lamel kapatıldı.

3.5.3. İmmunohistokimyasal boyama yöntemi

Sıçanlardan çıkarılan testis dokuları 1.5 cm³ hacminde trimlenerek tespit olması için %10'luk paraformaldehit solüsyonunda 36 saat boyunca bekletilerek fiksasyon işlemi uygulandı. Fiksasyon işlemini takiben rutin histolojik yöntemlere uygun olarak testis dokuları doku takip cihazında (ThermoScientific™ Citadel 2000, İngiltere) sırası ile artan etanol (Merck GmbH, Darmstadt Almanya) serisinde [%50 (2 kez), 60, 70, 80, 96 ve 100 (2 kez)] 15'er dakika bekletilerek su çekme işlemi gerçekleştirildi. Yine doku takibi

cihazında testis dokusuna ait numuneler bir sonraki aşamada iki seri ksilol (Merck GmbH, Darmstatdi Almanya) solüsyonunda 15'er dakika bekletilerek şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Bir sonraki aşamada doku takibi cihazında testis dokusuna ait örnekler yumuşak parafinde (Merck GmbH, Darmstatdi Almanya) 1 saat ve sert parafinde (Merck GmbH, Darmstatdi Almanya) bir gece boyunca bekletildi. Daha sonraki aşamada testis dokusuna ait örnekler doku gömme cihazı (Leica EG 1150 H, Almanya) kullanılarak sert parafin (Merck GmbH, Darmstatdi Almanya) kullanılarak doku gömme kasetlerine (Isolab; Almanya) gömüldü. Elde edilen testis dokusuna ait parafin bloklarından rotary mikrotom (Leica RM2255, Almanya) kullanılarak 2-3 µm kalınlığında kesitler alınarak sıcak su banyosunda (GFL 1052, Almanya) katlantıları açıldıktan sonra pozitif jarjlı lamlara (Patolab, Türkiye) aktarıldı. Kesitlerin boyama işlemlerine başlanmadan önce 60 °C sıcaklıkta 1 saat etüvde inkübe edildi.

Testis dokusuna ait preparatlar apoptotik hücrelerin gösterilmesi için anti-kaspaz-3 primer antikoru (Ab4051, Abcam) ve immunohistokimyasal boyama cihazı kullanılarak (Leica Bond-Max, Avustralya) primer ve sekonder antikorlar ile inkübe edildi.

1. Kesitler deparafinizasyon ve dehidratasyon işlemlerine tabi tutuldu.
2. BOND™ Epitope Retrieval ER1 Solüsyonu ile 20 dk. 100 °C'de maruziyet gerçekleştirildi.
3. Peroksid blokloma çözeltisinde 11 dk. bekletildi.
4. Bond wash çözeltisi ile yıkama işlemi gerçekleştirildi.
5. Anti-kaspaz-3 antikoru (Ab4051, Abcam), (1/400 dilüsyon oranı) ile 21 dk. inkübe edildi.
6. Bond wash çözeltisi ile yıkama işlemi gerçekleştirildi.
7. Post primer çözeltisine 8 dk. maruz bırakıldı.
8. Bond wash çözeltisi ile yıkama işlemi gerçekleştirildi.
9. Polimer ile 8 dk. maruz bırakıldı.
10. Bond wash çözeltisi ile yıkama işlemi gerçekleştirildi.
11. DAB (3,3'-Diaminobenzidin) ile 7 dk. maruziyet ile pozitivite gösteren alanlar görünür hale getirildi.
12. Deiyonize su ile yıkama işlemi gerçekleştirildi. Hematoksilen ile 10 dk. bekletildi.
13. Bond wash çözeltisi ile yıkama işlemi gerçekleştirildi ve kesitler üzerine entellan ile lamel kapatıldı.

3.6. İstatiksel Analizler

Elde edilen verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov–Smirnov testine göre belirlendi. Sayısal olan verilerin merkezi eğilimleri parametrik olanlar aritmetik ortalama (X) ve standart sapma (SD), nonparametrik olanlar ortanca ve çeyrekler arası aralık [ortanca (%25-%75)] şeklinde ifade edildi. Normal dağılım gösteren verilerin gruplar arası varyans analizi ANOVA tesine göre, nonparametrik olanlar ise Kruskal-Wallis (ikili karşılaştırılması Mann-Whitney U testi) testine göre yapıldı. Gruplardaki değişkenler arasındaki ilişki Spearman ya da Pearson korelasyon testine göre belirlendi. İstatistiksel olarak anlamlılık derecesi $p < 0.05$ kabul edildi.

İmmünohistokimyasal semi-kantitatif analizler sonucu elde edilen veriler SPSS 21.0 (IBM Corp. New York, ABD) programı kullanılarak hesaplandı. Veriler yapılan normallik testleri sonucunda parametrik olmayan testler kullanılmasına karar verildi. Veriler medyan değer ve %25'lik ve %75'lik çeyrek arası değerler göz önüne alınarak hesaplandı ve Kruskal Wallis bunu takiben One-Way ANOVA Tamhane T2 testleri ile analiz edildi. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

4.1.Biyokimyasal Bulgular

Çalışma gruplarının biyokimyasal sonuçları Tablo. 11’de verilmiştir. Bu sonuçlar incelenip testis doku TBARS düzeylerine bakıldığında kontrol grubuna göre hem EMA 6 saat grubu hem de EMA 12 saat grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.01$). Fakat EMA 12 saat grubunda EMA 6 saat grubuna göre artış görülmesine rağmen bu artış istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır (Şekil. 14).

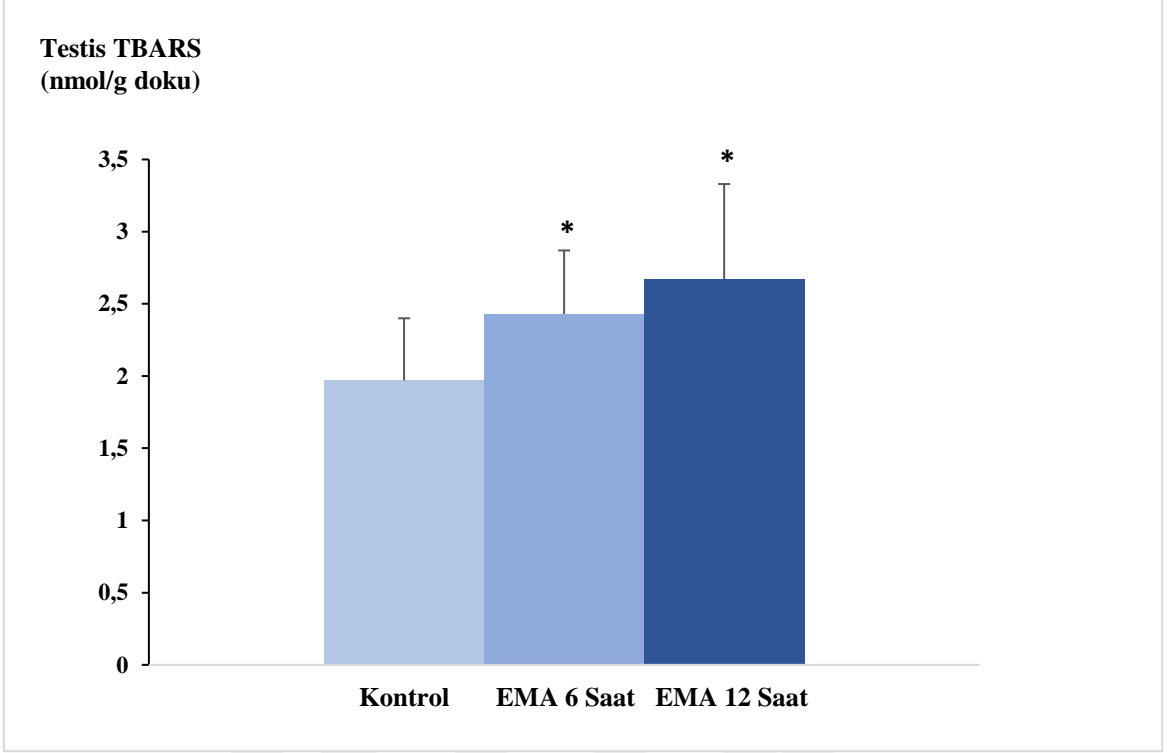
Testis dokuda toplam TİYOL düzeylerine bakıldığında kontrol grubuna göre EMA 6 saat ve EMA 12 saat grupları arasında artış görülmüştür. Kontrol grubu ile EMA 6 saat grupları arasında artış olmasına rağmen bu artış istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır. Kontrol grubu ile EMA 12 saat grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür ($p<0.01$). Ayrıca EMA 12 saat grubunda EMA 6 saat grubuna göre de istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür ($p<0.01$) (Şekil. 15).

Tablo 11. Ratların testis dokusunda TBARS ve toplam TİYOL düzeyleri (Ort. \pm SH)

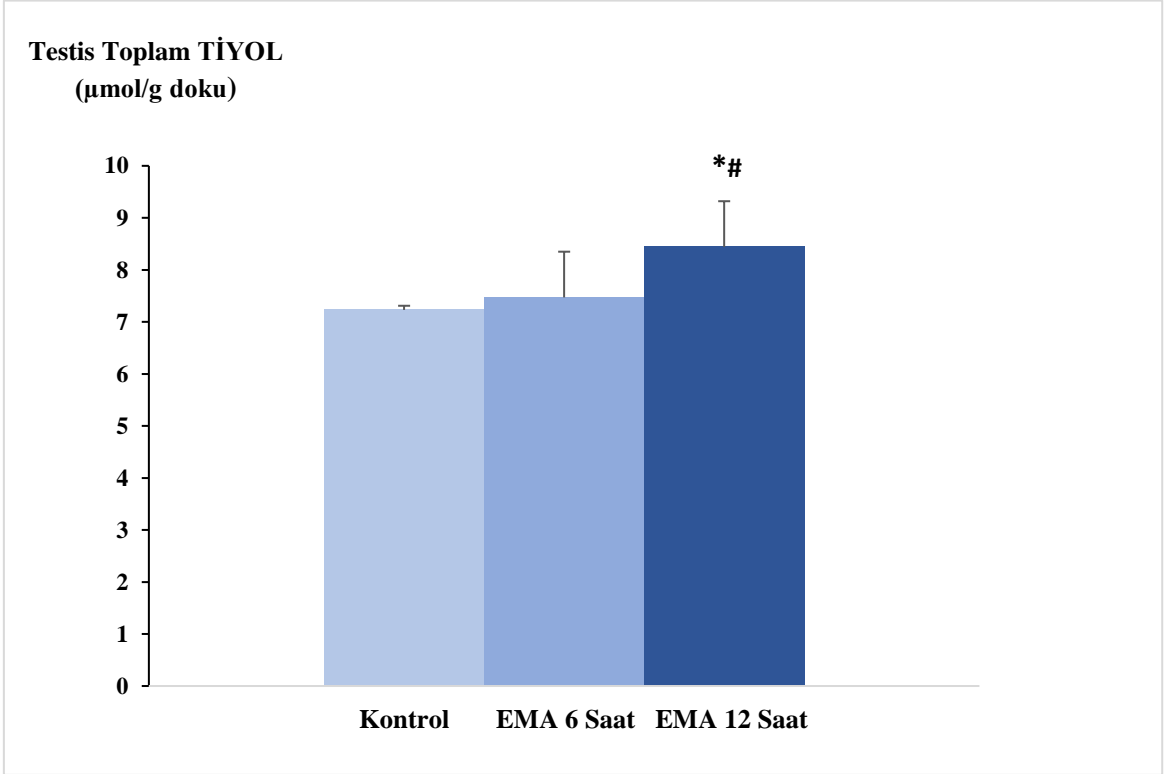
Gruplar	Testis	
	TBARS (nmol/g doku)	Toplam TİYOL (μ mol/g doku)
Kontrol	1,97 \pm 0,43	7,23 \pm 0,08
EMA 6 Saat	2,43 \pm 0,44*	7,47 \pm 0,88
EMA 12 Saat	2,67 \pm 0,66*	8,44 \pm 0,88*#

*: Kontrol grubuna göre $p<0.01$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterir.

#: Diğer gruplara göre $p<0.01$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterir.



Şekil 16. Tüm gruplardaki testis doku TBARS (nmol/g doku) düzeyleri
*: Kontrol grubuna göre $p < 0.01$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterir.



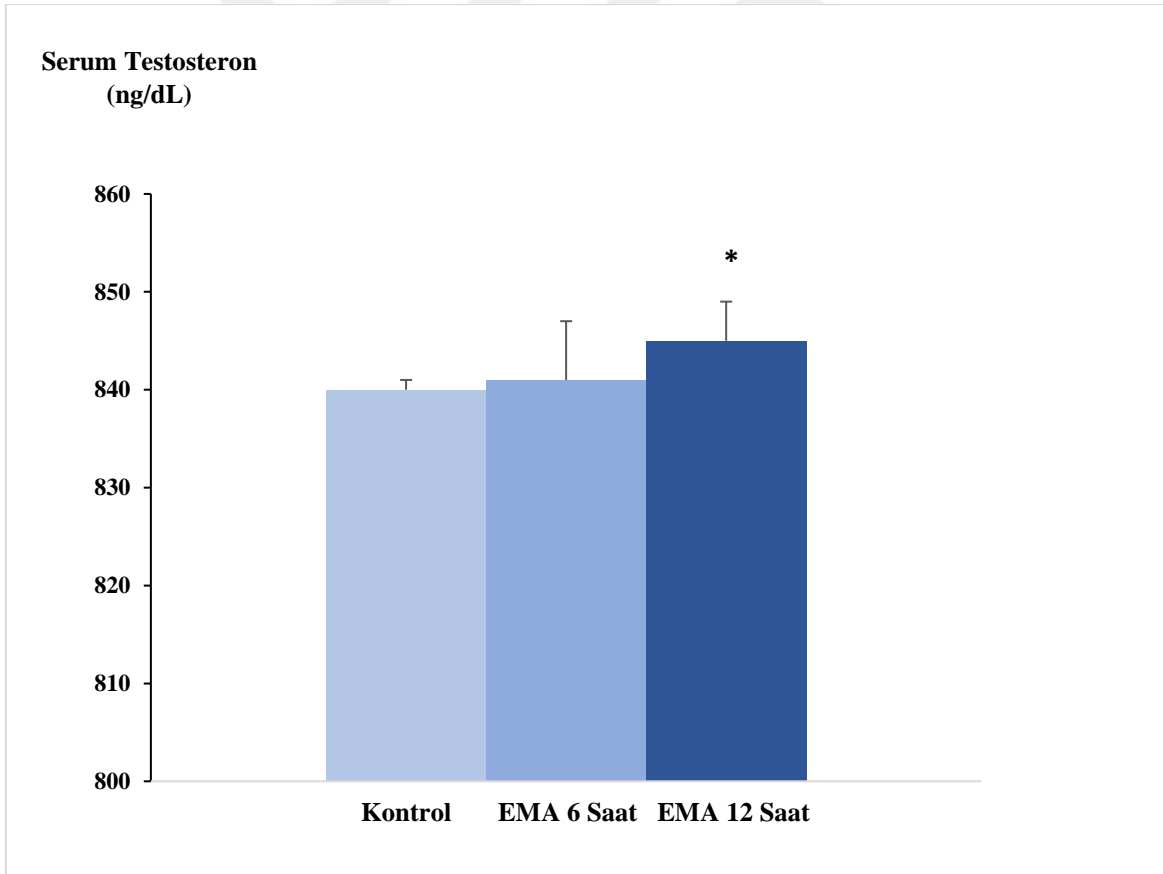
Şekil 17. Tüm gruplardaki testis doku toplam TİYOL ($\mu\text{mol/g doku}$) düzeyleri.
*: Kontrol grubundan $p < 0.01$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterir.
#: Diğer gruplara göre $p < 0.01$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterir.

Gruplar arasındaki serum testosteron düzeylerine bakıldığında kontrol grubuna göre hem 6 saat hem de 12 saatlik EMA gruplarında artış görülmüştür (Tablo 12). Ancak bu artış EMA 12 saat grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmuştur ($p<0.01$) (Şekil 16).

Tablo 12. Deney grupları serum testosteron miktarları (Ort. \pm SH)

Gruplar	Serum testosteron (ng/dL)
Kontrol	840 \pm 1
EMA 6 Saat	841 \pm 6
EMA 12 Saat	845 \pm 4*

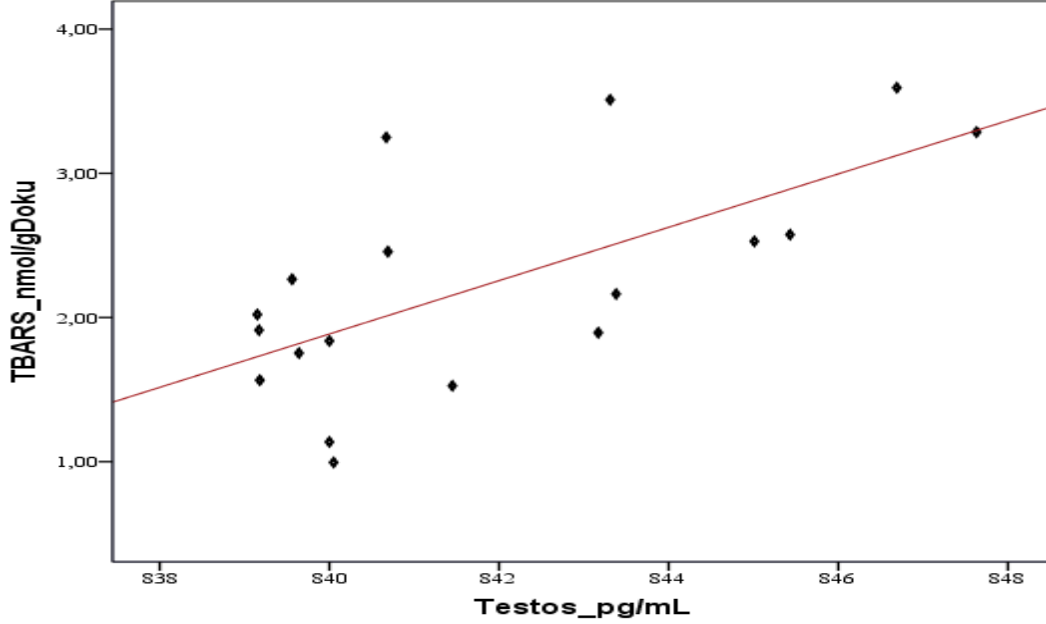
*: Kontrol grubuna göre $p<0.01$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterir.



Şekil 18. Tüm gruplardaki serum testosteron (ng/dL) düzeyleri

*: Kontrol grubuna göre $p<0.01$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterir.

Çalışmamızda gruplarında analiz edilen TBARS ile testosteron değerleri arasında lineer bir korelasyon tespit edilmiştir ($p<0.10$, $r=0.594$). TBARS ile testosteron değerlerinin korelasyon grafiği Şekil 17’de gösterilmiştir.



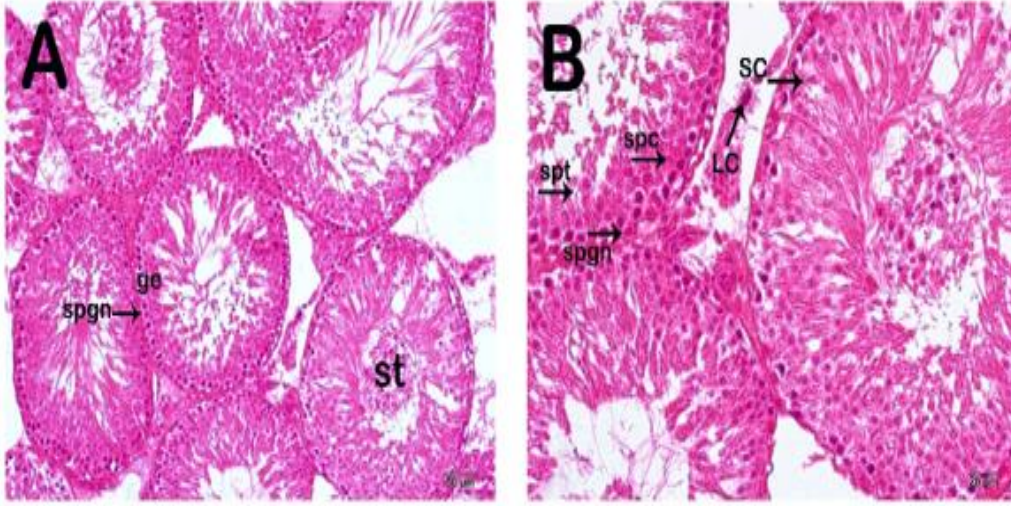
Şekil 19. TBARS ile testosteron değerlerinin korelasyon grafiği ($p=0.09$, $r=0.594$)

4.2. Histopatolojik Bulgular

4.2.1. Hematoksilen ve Eosin Boyama

4.2.1.1. Kontrol Grubuna Ait Bulgular

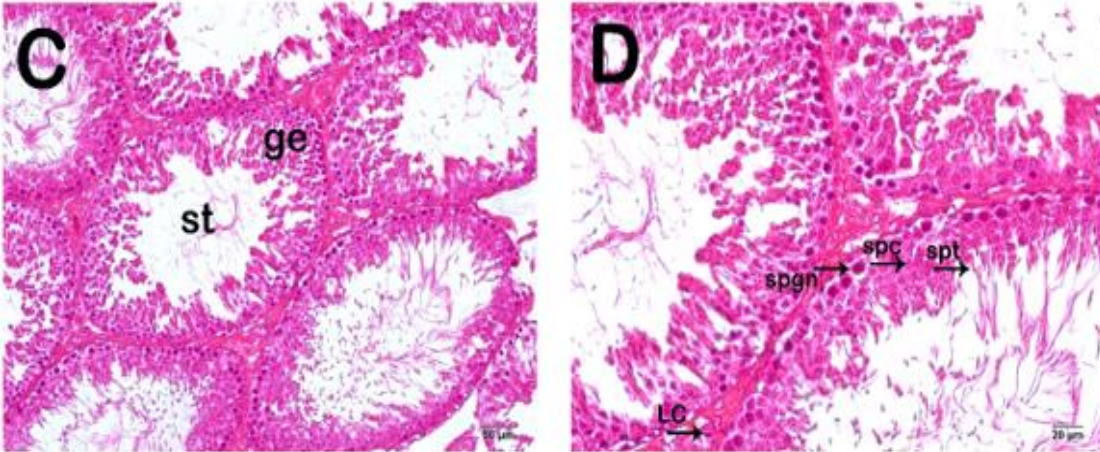
Kontrol grubuna ait testis dokusu kesitlerinde normal yapıdaki spermatogonium (spgn), spermatozoidler (spc), spermatid (spt) ve sertoli hücrelerinden (sc) oluşan seminifer tübüler ve intertübüler alanlarda leydig hücreleri (LC) gözlemlendi (Resim 1).



Resim 1. H&E ile boyanmış, kontrol grubu sıçan testis kesitlerinin mikroskopik görüntüleri
A (x20)-B (x40): Kontrol grubuna ait testis dokusu kesitlerinde normal yapıdaki germinal epitele (ge) sahip seminifer tübüller (st) ve Leydig hücre (LC) gözlemlendi.

4.2.1.2. EMA 6 Saat Grubuna Ait Bulgular

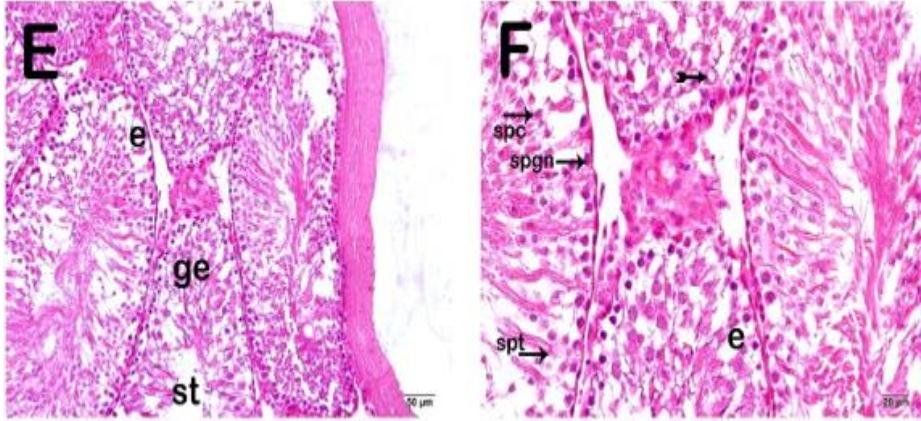
EMA 6 saat grubuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde seminifer tübüllerde yaygın tipik yapıdaki spermatogenetik hücreleri bulunmakla beraber az miktarda spermatogenetik hücrelerin sayısında azalmasıyla eşlik eden ödematoz alanlar izlendi (Resim 2).



Resim 2. H&E ile boyanmış, EMA 6 saat grubu sıçan testis kesitlerinin mikroskopik görüntüleri
H&E ile boyanmış EMA 6 saat grubuna ait sıçan testis dokusu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri.
C (x20)-D (x40): Germinal epitel (ge) hücrelerinde azalma gözlenmekle beraber tipik spermatogenetik hücrelerden oluşan seminifer tübül (st) gözlemlendi.

4.2.1.3. EMA 12 Saat Grubuna Ait Bulgular

EMA 12 saat grubuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde ise seminifer tübüllerde yaygın olarak başta spermatozoonlar ve spermatidler olmak üzere spermatogenetik hücrelerin sayısında azalmasıyla eşlik eden ödematoz alanlar belirlendi (Resim 3).

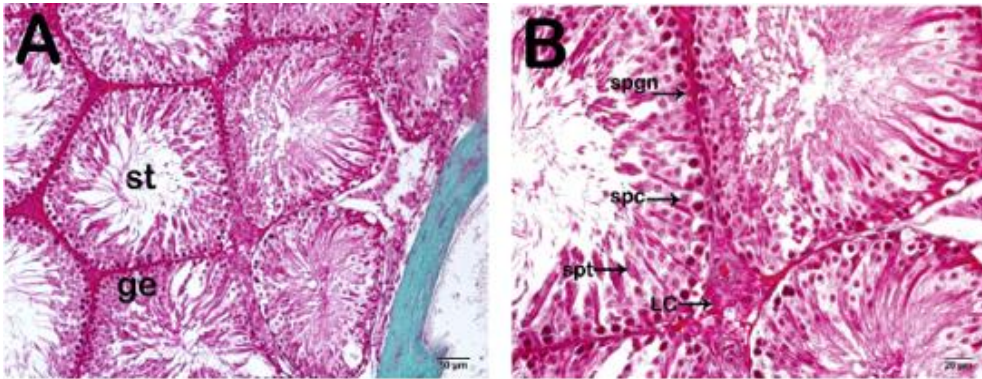


Resim 3. H&E ile boyanmış, EMA 12 saat grubu sıçan testis kesitlerinin mikroskopik görüntüleri
E (x20)-F (x40): Germinal epitel (ge) hücrelerinde azalma ile eşlik eden yaygın ödematoz alanlar (e), spermatogenetik hücrelerde vakuolizasyonlar (kuyruklu ok) izlendi.

4.2.2. Goldner's Masson Trikrom Boyaması

4.2.2.1. Kontrol Grubuna Ait Bulgular

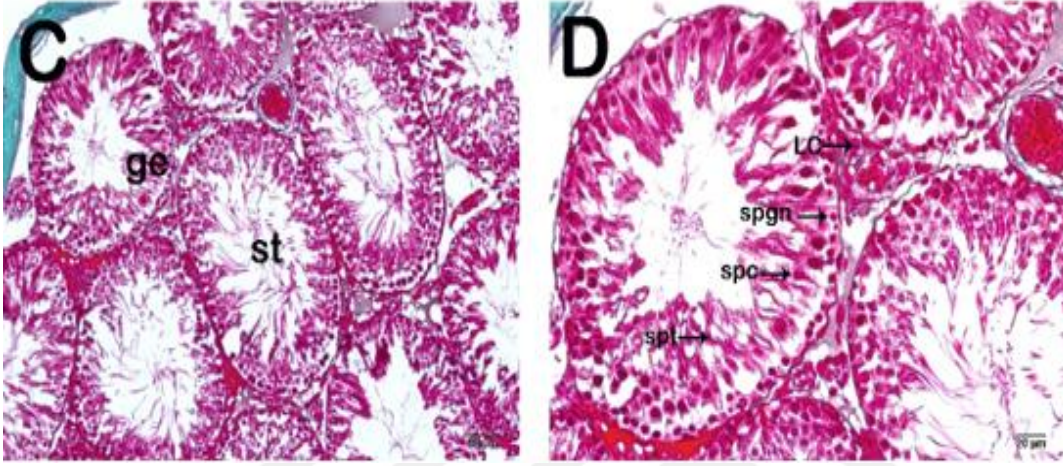
Kontrol grubuna ait testis dokusu kesitlerinde normal yapıdaki spermatogonyum (spgn), spermatisitler (spc), spermatid (spt) ve sertoli hücrelerinden (sc) oluşan seminifer tübüler ve intertübüler alanlarda leydig hücreleri (LC) gözlemlendi (Resim 4).



Resim 4. Goldner's Masson trikrom ile boyanmış, kontrol grubuna ait testis kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri
A(x20)-B(x40): Kontrol grubuna ait testis dokusu kesitlerinde normal yapıdaki germinal epitele (ge) sahip seminifer tübüller (st) ve Leydig hücre (LC) belirlendi.

4.2.2.2. EMA 6 Saat Grubuna Ait Bulgular

EMA 6 saat grubuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde seminifer tübüllerde yaygın tipik yapıdaki spermatogenetik hücreleri bulunmakla beraber az miktarda spermatogenetik hücrelerin sayısında azalmasıyla eşlik eden ödematoz alanlar gözlemlendi (Resim 5).

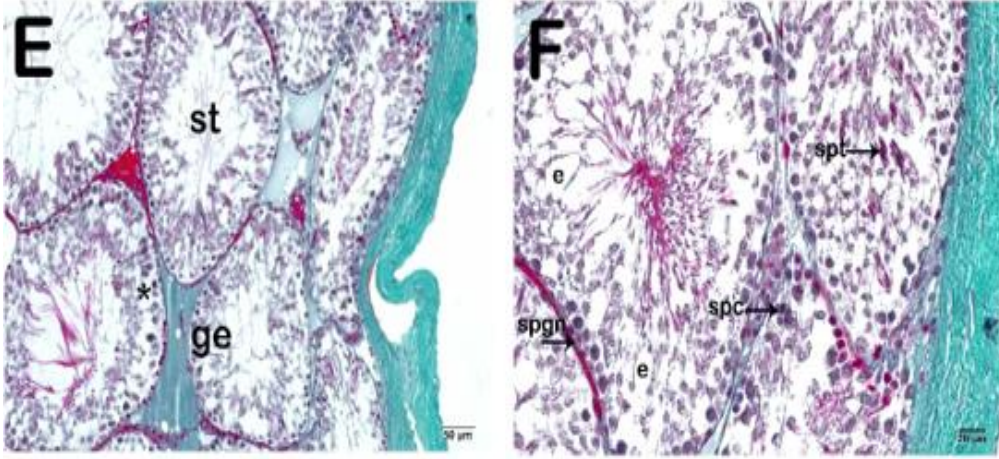


Resim 5. Goldner's Masson trikrom ile boyanmış, EMA 6 saat grubuna ait testis kesitlerinin ışık mikroskobik görüntüleri

C(x20)-D(x40): Germinal epitel (ge) hücrelerinde azalma gözlenmekle beraber tipik spermatogenetik hücrelerden oluşan seminifer tübül izlendi.

4.2.2.3. EMA 12 Saat Grubuna Ait Bulgular

EMA 12 saat grubuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde ise seminifer tübüllerde yaygın olarak başta spermatozoonlar ve spermatidler olmak üzere spermatogenetik hücrelerin sayısında azalmasıyla eşlik eden ödematoz alanlar saptandı (Resim 6).



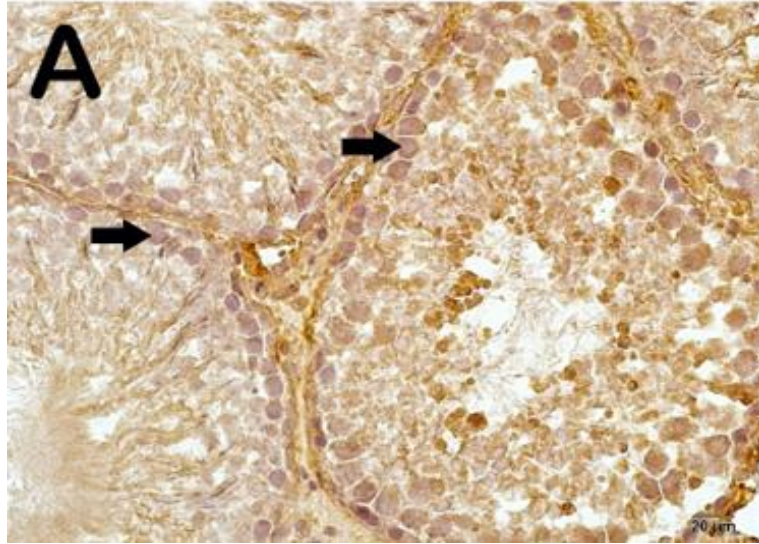
Resim 6. Goldner's Masson trikrom ile boyanmış, EMA 12 saat grubuna ait testis kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri

E(x20)-F(x40): Germinal epitel (ge) hücrelerinde azalma ile eşlik eden yaygın ödematoz alanlar (e) gözlenmekle beraber spermatogenetik hücrelerden vakuolizasyonlar (kuyruklu ok) izlendi.

4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

4.3.1. Kontrol Grubuna Ait Bulgular

Kontrol grubuna ait testis dokusu kesitlerinde normal yapıdaki germinal epitele sahip seminifer tübüller ve inter tübüler alanlarda leydig hücreleri gözlemlendi (Resim 7).

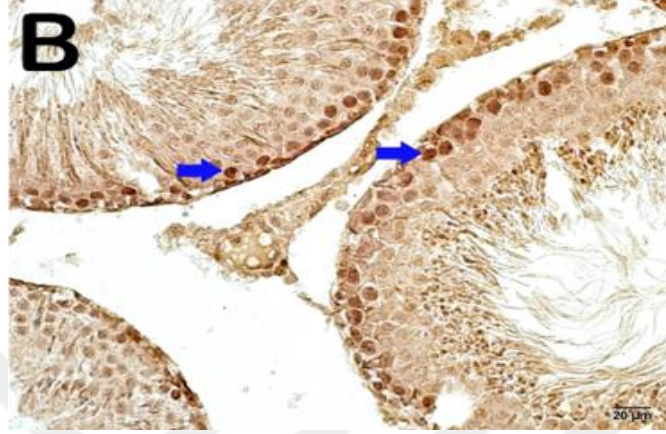


Resim 7. Kaspaz-3 primer antikoru ile boyanmış, kontrol grubuna ait testis kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri

A(x40): Kontrol grubuna ait kesitlerde normal yapıdaki spermatogenetik hücreler (ok) izlendi (Kaspaz-3 pozitif skor medyanı: 0(0-0.5)).

4.3.2. EMA 6 Saat Grubuna Ait Bulgular

EMA 6 saat grubunda az miktarda Kaspaz-3 pozitivitesinde artış olmakla beraber kontrol grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (Resim 8).

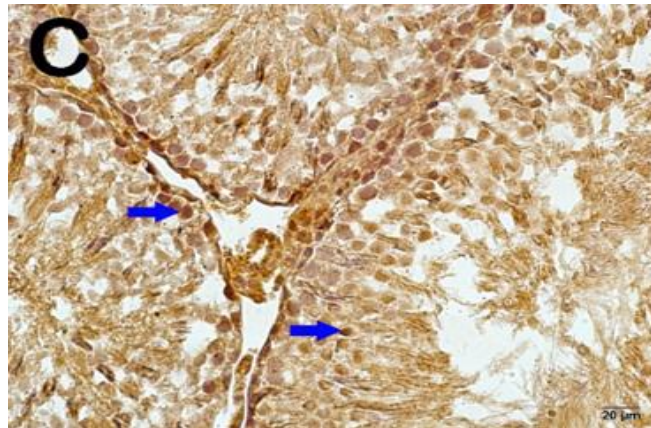


Resim 8. Kaspaz-3 primer antikoruna ile boyanmış, EMA 6 saat grubuna ait testis kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri

B (x40): Yaygın olarak tipik spermatogenetik hücreler gözlenmekle beraber az miktarda apoptotik spermatogenetik hücreler (mavi ok) gözlemlendi. Kaspaz-3 pozitif skor medyanı: 1(1-2).

4.3.3. EMA 12 Saat Grubuna Ait Bulgular

EMA 12 saat grubunda kontrol grubuna kıyasla Kaspaz-3 pozitivitesi gösteren apoptotik spermatogenetik hücrelerde artış olduğunu gözlemlendi (Resim 12). Bununla beraber, 2100 MHz EMA uygulama 12 saat grubunda apoptotik spermatogenetik hücrelerin sayısında 6 saat uygulama grubuna kıyasla Kaspaz-3 pozitivitesinde artış olduğu saptandı (Resim 9).



Resim 9. Kaspaz-3 primer antikoruna ile boyanmış, EMA 12 saat grubuna ait testis dokusu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri

C(x40): Orta düzeyde Kaspaz-3 pozitivitesi gösteren apoptotik spermatogenetik hücreler (mavi ok) izlendi. Kaspaz-3 pozitif skor medyanı: 2(2-3).

4.4. Semi-kantitatif Analiz

Kontrol grubu ile EMA 6 saat grupları arasında Johnsen skorları arasında herhangi bir fark gözlenmedi (Tablo 13). Bunun aksine EMA 12 saat grubunda (7(6-8)) kontrol grubuna (9(9-9.5)) kıyasla başta spermatozoonlar ve spermatidler olmak üzere spermatogenetik hücrelerde azalma olduğunu gözlendi (Tablo 13; $p<0.01$).

Tablo 13. Johnsen skorlaması sonuçları

Gruplar	Johnsen Skoru
Kontrol grubu	9 (9-9.5)
EMA 6 saat grubu	9 (8-9)
EMA 12 saat grubu	7 (6-8) ^{*#}

*: Kontrol grubuna göre $p<0.01$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterir.

#: EMA 6 saat grubuna göre $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterir. Merkezi eğilim değerleri medyan (çeyreklikler arası aralık) olarak verilmiştir. Kruskal Wallis/Tamhane T2 test.

Tablo 14. Kaspaz-3 pozitivite skorlama tablosu

Skor	Bulgu
0	%5'den daha az kaspaz-3 pozitif
1	%6-25 arası kaspaz-3 pozitif
2	%26-50 arası kaspaz-3 pozitif
3	%50'den daha fazla kaspaz-3 pozitif

Tablo 15. İmmünohistokimyasal analiz sonuçları

Gruplar	Kaspaz-3 pozitivite Skoru
Kontrol grubu	0 (0-0.5)
EMA 6 saat grubu	1 (0-1)
EMA 12 saat grubu	2 (2-3) ^{*#}

*: Kontrol grubuna göre $p<0.001$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterir.

#: EMA 6 saat grubuna göre $p<0.01$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterir. Merkezi eğilim değerleri medyan (çeyreklikler arası aralık) olarak verilmiştir. Kruskal Wallis/Tamhane T2 test

5.TARTIŞMA

Günlük yaşamın önemli bir parçası haline gelen cep telefonları en çok kullanılan iletişim araçlarından biridir. İnsanlar cep telefonları ve diğer EMA yayıcıların artan kullanımıyla birlikte her geçen gün daha fazla elektromanyetik alana maruz kalmaktadır. 2011 yılında, Dünya Sağlık Örgütü Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı elektromanyetik alana neden olan cep telefonları ve diğer kablosuz aygıtların yaydığı radyasyonu insanlara kansorejen etki eden 2B Grubu sınıfına koymuştur (Hancı vd., 2018).

Cep telefonu kullanıcı sayısının hızlı bir şekilde artması, cep telefonu kullanımının olası sağlık etkileri ile ilgili endişeleri de arttırmaktadır. Cep telefonları üreme sisteminin, belirli etkinliklerini veya termal moleküler hareketlerini veya her ikisi ile etkileyebilir. Cep telefonu maruz kalma etkileri, maruz kalma süresine, maruz kalma koşullarına, cinsiyete ve maruz kalan dokuların türüne bağlı olarak farklılık göstermektedir (Şehitoğlu vd., 2015). Özellikle cep telefonları erkekler tarafından üreme organlarına yakın bir yerde taşınmaktadır. Bundan dolayı bu bölgelerdeki dokular üzerinde olası zararlı etkileri incelenip, fertilité üzerindeki etkilerini değerlendirmek önemlidir (Mailankot vd., 2009).

EMA'nın testis dokusu üzerinde olumsuz etkilerini belirleyebilmek için önemli bir belirteç olan hücrelerdeki oksidatif stres ve bu etkiyi azaltıcı antioksidanlar ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır (Öztürk, 2003; Hancı vd., 2018). Oksidatif stresin sebebi olan serbest radikaller antioksidanlar tarafından zararsız hale getirilmektedir. Bu antioksidanların yetersiz kaldığı durumlarda serbest radikallerin etkileri ile canlılarda karbohidrat, protein, lipid ve DNA gibi önemli yapılar olumsuz şekilde etkilenmektedir. Bu da birçok sağlık sorununa neden olmaktadır (Süleyman vd., 2018).

Oksidatif strese sebep olan serbest radikaller hücre zar lipitlerini etkileyerek hasar oluşturmaktadır. Bu hasar sonucu meydana gelen lipid peroksidasyon ürünü MDA'nın (TBARS) ve oksidatif stresin olumsuz etkilerine karşı hücreleri korumak için görev alan önemli bir antioksidan olan GSH'nin (toplam Tiyol) düzeylerinin ölçülmesi bizlere testiste meydana gelebilecek doku hasarı için birtakım bilgiler vermektedir. Litaratürde değişik frekanslarda EMA'nın testis dokusu üzerinde neden olduğu oksidatif stresle ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır (Aydın vd., 2007; Odacı ve Özyılmaz, 2015; Hancı vd., 2018). Fakat 2100 MHz ile yapılan çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmayla 2100 MHz EMA'nın 6 ve 12 saatlik uygulamasının postnatal erkek sıçanlarda testis dokusu üzerine etkilerini araştırmak ve litaratürdeki bu boşluğu doldurmak amaçlanmaktadır.

Yapmış olduğumuz çalışmada testis dokusu oksidatif stres belirteçlerinden olan doku TBARS sonuçlarında gruplar arasında değişiklikler görülmüştür. Kontrol grubu ile EMA 6 saat ve EMA 12 saat grupları arasında TBARS düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür ($p<0.01$). Ayrıca EMA 12 saat grubunda EMA 6 saat grubuna göre TBARS düzeylerinde artış görülmesine rağmen bu artış istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır. Bu sonuçlar göz önüne alındığında EMA'nın testis dokusunda oksidatif strese sebep olduğu ve buna bağlı olarak artan serbest radikallerin etkisiyle meydana gelen lipid peroksidasyon ürünü olan TBARS seviyesini arttırdığı düşünülmektedir. Elde ettiğimiz sonuçlar benzer birçok araştırma sonuçlarıyla uyumludur (Tablo 16) (Öztürk vd., 2003; Mailankot vd., 2008; Hancı vd., 2013; Demirbağ B., 2016; Hancı vd., 2018).

Hancı vd. (2018)'nin yapmış oldukları çalışmada ergenlik dönemindeki (21 günlük) erkek sıçanlar kullanılmıştır. Oluşturulan EMA grubuna 60 gün boyunca günde bir saat 900 MHz olmak üzere EMA uygulanmış ve testis dokusunun TBARS sonuçları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bir artış göstermiştir.

Mailankot vd. (2009)'un yapmış oldukları çalışmada EMA grubu erkek sıçanlara 28 gün boyunca günde 1 saat GSM (0.9/1.8 GHz) cep telefonuna maruz bırakılmış ve testis dokularında TBARS düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0.01$).

Öztürk vd. (2003)'nin yapmış oldukları çalışmada EMA grubu erkek sıçanlara 6 ay boyunca günde 5 dk. 50Hz EMA uygulamış ve testis ile serum TBARS düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığını bulmuşlardır ($p<0.01$).

Hancı vd. (2013)'nin yapmış oldukları çalışmada gebe olan sıçanlara EMA gebeliklerinin 13-21 günleri arasında günde bir saat 900 MHz uygulanmış ve doğan erkek sıçanların 21. gününde testis dokularında TBARS tayini yapılmış ve EMA uygulana grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür ($p<0.05$).

Demirbağ B. (2016)'nin yapmış olduğu tez çalışmasında erkek sıçanlar 30 gün boyunca günde 1 saat olmak üzere 1800 MHz uygulamaya maruz bırakılmış ve testis dokularında TBARS düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür ($p<0.01$).

Çalışma sonuçlarımızın uyumlu olmadığı bazı araştırmalar az da olsa bulunmaktadır. Aydın vd. (2007)'nin yapmış oldukları çalışmada erkek sıçanlara farklı sürelerde EMA

uygulanmış (1 ay günde 24 saat 50 Hz, 2 ay günde 24 saat 50 Hz ve 3 ay günde 24 saat 50 Hz EMA) akabinde testis TBARS düzeylerine bakılmıştır. Gruplar arasında bazı farklar olsa da istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmamıştır. Bu sonuçların anlamlı çıkmayışının sebebi olarak düşük frekansta EMA uygulanması ve uygulama süresinin az olması olabileceğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda testis doku TT düzeylerinde gruplar arasında farklılıklar tespit edilmiştir. Kontrol grubuna göre EMA 12 saat grubu arasında anlamlı bir artış bulunmuş ancak EMA 6 saat grubu arasında ise anlamlı bir artış tespit edilmemiştir ($p>0.05$). Ayrıca EMA 12 saat grubu ise EMA 6 saat grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0.01$). Bu bulgular bizlere elektromanyetik alanın testis dokusunda meydana getirmiş olduğu oksidatif strese bağlı olarak MDA düzeylerinde artışa sebep olduğu ve oluşan bu oksidatif stresi berteraf etmek için testis doku hücreleri antioksidan savunma sistemlerini uyararak başta GSH olmak üzere diğer tiyol grubu biyomoleküllerin seviyelerini arttırdıklarını düşündürmektedir. Literatürde daha önce yapılmış benzer bazı çalışmalar Tablo 16'da verilmiştir.

Elde ettiğimiz TT bulguları Öztürk vd. (2003) erkek sıçanlara 6 ay günde 5 dk. 50 Hz EMA uyguladığı çalışma sonuçlarıyla uyumluydu. Hancı vd. (2018)'nin 60 gün günde 1 saat 900 MHz uygulanan EMA grubunda kontrol grubuna göre artış tespit etmiş fakat bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bulmuştur ($p>0.05$).

Bizim çalışmamızın aksine EMA uygulaması sonrasında doku GSH seviyesinde düşüş görülmüş olan araştırmalar da olmuştur (Mailankot vd., 2009; Al-Damegh, M.A., 2012; Odacı vd., 2015). Mailankot vd. (2009)'nin yaptıkları araştırmada 28 gün günde 1 saat GSM (0.9/1.8 GHz) cep telefonuna maruz bırakılan gruplarda hem testis doku hem de epididim GSH seviyelerine bakılmış, kontrol gruplarına göre her iki dokuda da GSH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görmüşlerdir ($p<0.01$).

Al-Damegh, M.A. (2012)'nin yapmış olduğu çalışmada 15, 30 ve 60 dakikalık üç farklı EMA grubu oluşturmuştur. Bu üç gruba 14 gün boyunca 900 MHz EMA uygulaması yapmış, kontrol grubuna göre her üç zaman grubunda da testis doku GSH seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görmüşlerdir ($p<0.05$).

Odacı vd. (2015)'nin yaptıkları çalışmada ise 30 gün boyunca günde 1 saat 900 MHz verilen EMA grubunun GSH düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüştür ($p<0.05$). Bu azalışların sebebi olarak glutatyon diğer serbest

radikallerle reaksiyona girerek hücreyi oksidatif hasarlardan korumaya çalıştığı için azalış gösterdiğini ileri sürmüşlerdir.

Tablo 16. Litaratürde daha önce sıçan testis dokusunda yapılmış, EMA kaynaklı bazı oksidatif stres çalışmaları

ÇALIŞMA GRUPLARI	TBARS		TOPLAM TİYOL	
	KONTROL	EMA	KONTROL	EMA
Öztürk K, 2020; 2.100 MHz, 6 ve 12 saat	1.97 nmol/g	2.43/2.67 nmol/g	7.23 µmol/g	7.47 / 8.44 µmol/g
Hancı vd., 2018; 900 MHz	20 nmol/mg	40 nmol/mg	0.54 nmol/mg	0.65 nmol/mg
Demirbağ B., 2016; 1800 MHz	21.58 nmol/mg	80.27 nmol/mg	-	-
Odacı vd., 2015; 900 MHz	-	-	0.06 nmol/mg	0.02 nmol/mg
Hancı vd., 2013; 900 MHz	2.08 nmol/g	3.21 nmol/g	-	-
Al-Damegh A, 2012; 900 MHz; 15, 30 ve 60 dk.	-	-	4.58 µmol/g	2.96/1.71/1.03 µmol/g
Mailonkot vd., 2009; 900/1800 MHz	15 nmol/mg	17 nmol/mg	2.2 nmol/mg	1.9 nmol/mg
Öztürk vd., 2003; 50 Hz	27 nmol/g	90.4 nmol/g	120 nmol/g	211 nmol/g

Testis dokusu üzerine EMA aracılığıyla oluşturulan oksidatif stresin dokuda oluşturabileceği yapısal bozukluğun değerlendirilmesinde doku TBARS ve TT düzeyleri analiz edilmiştir. Diğer taraftan EMA aracılı oksidatif stresin testis dokusunun fonksiyonel işlevi üzerine etkisini değerlendirmek için de serum testosteron seviyelerine bakılmıştır. Serum testosteron düzeylerinde kontrol grubuna göre 6 ve 12 saat EMA gruplarında artış görülmüştür. Kontrol grubu ile EMA 12 saat grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunurken ($p<0.05$) kontrol grubuna göre EMA 6 saat grubu arasındaki artış istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Nisbet vd. (2013)'nin 900 ve 1800 MHz EMA işlemini 90 gün boyunca günde 2 saat olacak şekilde uyguladığı çalışmada her iki EMA grubunda kontrol grubuna göre testosteron düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür ($p<0.05$). Forgács vd. (2005)'nin iki hafta boyunca günde 2 saat 1800 MHz olacak şekilde uyguladığı çalışmada kontrol gruplarına göre EMA gruplarında testosteron düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığını göstermişlerdir ($p<0.05$).

Yapılan bu araştırmalar ışığında bu artışın nedenleri olarak; histolojik değişikliklerin olmaması ve leydig hücrelerinde bozulma görülmemesi, EMA uygulamasının leydig hücrelerine geçici olarak etki ederek testosteron sentezini arttırmış olabileceğini düşündürmektedir.

Bizim çalışmamızın aksine EMA uyguladığında testosteron değerlerinde azalmalar gösteren birçok çalışma yapılmıştır. (Koyu vd., 2005; Aydın vd., 2006; Gharamaleki vd., 2014; Şehitoğlu vd., 2015).

Koyu vd. (2005)'nin yaptıkları çalışmada 4 hafta (haftada 5 gün) günde 30 dk. 900 MHz uygulanan grupta testosteron seviyesinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalış bulunmuştur ($p<0.01$). Aydın vd. (2007)'nin yapmış olduğu çalışmada oluşturduğu üç gruba sırasıyla 1, 2 ve 3 ay günde 24 saat 50 Hz uygulamış ve her ayda testosteron seviyesi kontrol grubuna ve birbirine göre azalma göstermiştir. Bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Gharamaleki vd. (2014)'nin yaptıkları çalışmada gebeliğin ilk gününden itibaren 21 gün boyunca günde 4 saat 50 Hz uygulanan gruplardan doğan erkek sıçanlar 12 hafta normal şartlar altında bakıldıktan sonra testis dokuları alınmış, EMA uygulanan grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalış bulunmuştur ($p<0.05$). Şehitoğlu vd. (2015)'nin 20 gün günde 24 saat 900 MHz uygulanan gebe sıçanlardan doğan erkek sıçanlarda yaptığı çalışmada EMA uygulanan gruptan doğanların testosteron düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak azalma görülmüştür ($p<0.05$).

EMA uygulamasından sonra testosteron seviyelerinde bu azalışların sebepleri hipofizin uyarılmasında ya da mezenşimal hücrelerden leydig hücrelerinin farklılaşmasını engelleyen testis fonksiyonundaki birtakım bozukluklardan kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir. Testis dokusunun hassas olması ve buna bağlı olarak leydig hücre hasarı sonucu testosteron yapımı azalmış olabileceği düşünülmektedir.

Yapmış olduğumuz çalışmada histolojik bulguların değerlendirilmesinde ise kontrol grubu ile EMA 6 saat grubu arasında Johnsen skorları arasında herhangi bir fark gözlemlenemedi. Fakat EMA 12 saat grubunda kontrol grubuna oranla Johnsen skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü ($p<0.01$). Kaspaz-3 pozitifitesinde EMA 6 saat grubunda kontrol grubuna göre artış olmasına rağmen bu artış anlamlı olmamıştır. Fakat EMA 12 saat grubu hem kontrol grubuna göre hem de EMA 6 saat grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($p<0.01$). Sonuçlarımız Hancı vd. (2018)'nin yaptıkları çalışma sonucuyla uyumludur. Bu araştırma grubu 60 gün boyunca günde 1 saat 900 MHz EMA uygulaması yapmış grupta kontrol ve sham gruplarına göre seminifer tübül çapı, germinal epitel kalınlığı ve Johnsen skorlarında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlenmiştir ($p<0.05$). Ayrıca seminifer lümeninde dejenerasyon,

spermatojenik hücrelerde stoplazma kaybı ve spermatogoniyal hücreler arasında bütünlük kaybı da saptamışlardır. Odacı vd. (2015)'nin yaptıkları bir çalışmada 30 gün boyunca günde 1 saat 900 MHz EMA uygulanan grupta kontrol grubuna göre Johnsen skorlarında istatistiksel olarak anlamlı azalma ($p < 0.05$), apoptotik hücre sayısında anlamlı artış ($p < 0.05$) ve seminifer tübül çapında ise anlamlı düşüş gözlemlenmiştir ($p < 0.05$). Hancı vd. (2013)'nin yaptıkları çalışmada gebeliklerinin 13-21. günleri arasında gebe sıçanlara günde 1 saat 900 MHz EMA uygulaması yapılmış ve bunlardan doğan erkek sıçanlara herhangi bir uygulama yapılmadan 21 büyütülmüşlerdir. Sonuçlar incelendiğinde EMA uygulanan grupta kontrol grubuna göre seminifer tübül çapında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış ($p=0.001$) ve apoptotik hücre indeksinde anlamlı bir artış olduğunu görmüşlerdir ($p < 0.01$).

Demirbağ (2016)'ın yapmış olduğu tez çalışmasında 30 gün boyunca günde 1 saat 1800 MHz uygulanan grupta kontrol grubuna göre Johnsen skorlarında istatistiksel olarak anlamlı düşüş ($p < 0.001$) görmüş EMA uygulamasının, testis dokusunda seminifer tübül yapısının bozulmasına, apoptotik hücrelerin artmasına ve Johnsen skorlarında anlamlı azalışlara sebep olduğunu rapor etmişlerdir.

6.SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak yapmış olduğumuz çalışmada EMA uygulamasının testis dokusu üzerinde oksidatif strese sebep olduğu ve buna bağlı olarak da ortaya çıkan lipid peroksidasyon ürünü olan TBARS düzeyinin arttırdığı bulunmuştur. Ayrıca EMA uygulama süresi arttıkça TBARS seviyesinin buna paralel olarak artış gösterdiği belirlenmiştir. Buna karşılık EMA uygulanan hücrelerin antioksidan sistemini uyararak toplam tiyol seviyelerini EMA uygulama sürelerine göre giderek arttırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca testis dokusunun uzun süre EMA uygulamasına maruz kalmasının seminifer tübülleri etkileyerek spermatogenetik hücrelerin azalmasına ve apoptotik hücrelerin artmasına sebep olduğu düşünülmektedir. Ancak Leydig hücrelerinin EMA uygulamasından fazla etkilenmediği görülmüştür. Bunun yanında özellikle 12 saat EMA uygulanan grupta bu uygulamanın uyarıcı etki gösterdiği ve buna bağlı olarak da testosteron seviyesinde artış olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmamızdan yola çıkarak;

1. Testis dokusunda katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerinin çalışılması EMA araçlı oksidatif stres düzeylerinin değerlendirilmesine katkı sağlayabilir.
2. Üçüncü nesil cep telefonlarının kullanılmaya başlanmasıyla birlikte mobil telefon kullanıcılarından erkeklerin serum testosteron ve tüm oksidatif stres belirteçlerinin çalışılması, testis dokusunun EMA'dan ne düzeyde etkilenmiş olabileceği konusunda daha kapsamlı bilgi edinmemize yardımcı olabilir.
3. Erkek bireylerden mobil telefon kullanıcılarının maruz kaldığı elektromanyetik alanın testis dokusu üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmak için antioksidan vitaminlerin verilmesine yönelik çalışmaların yapılması olumlu sonuçlar verebilir.
4. Testis dokusunda meydana gelen EMA kaynaklı oksidatif stres, erkeklerde giderek artmakta olan kısırlık sebeplerinin araştırılmasında bir etken kabul edilip birbiriyle bağlantılı araştırmalar yapılabilir.
5. Bireysel korunma için yaşam alanlarındaki EMA'nın etkileri ve oluşturacağı sağlık riskleri açısından toplumun bilgilendirilmesi faydalı sonuçlar verebilir.

7. KAYNAKLAR

- Akdoğan A, Aras D, Bayramoğlu E, Coşgun A, Coşgun Y, Din N, Maden O, Terzi T, Ulaş MM (1998). *Anatomi Histoloji Embriyoloji*. Birinci baskı. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul; Sayfa: 403-405.
- Aydın M, Türk G, Yüksel M, Çevik A, Apaydın AM, Yılmaz S (2007). Effect of electromagnetic field on the sperm characteristics and histopathological status of testis in rats. *Medycyna weterynaryjna* 63(2): 178-183.
- Aktümsek A (2009). *Anatomi ve Fizyoloji İnsan Biyolojisi*. Dördüncü baskı. Nobel yayınları, Ankara; Sayfa: 371-378.
- Al-Damegh MA (2012). Rat testicular impairment induced by electromagnetic radiation from a conventional cellular telephone and the protective effects of the antioxidants vitamins C and E. *CLINICS* 67(7): 785-792.
- Aksoy H, Özakpınar ÖB (2014). Yara iyileşmesi ve oksidatif stres. *Marmara Pharmaceutical Journal* 18: 153-158.
- Altındağ ÖL, Kaplanoğlu GT, Aral BS, Seymen CM (2017). Cep Telefonu Radyasyonunda Melatonin' in Testis Dokusunda Olası Koruyucu Etkisi. *Dicle Tıp Dergisi* 44: 71-80.
- Aslankoç R, Demirci D, İnan Ü, Yıldız M, Öztürk A, Çetin M, Savran EŞ, Yılmaz B (2019). Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü-süperoksit dismutaz (sod), katalaz (cat) ve glutatyon peroksidaz (gpx). *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 26(3): 362-369.
- Bozdoğan Ö (2000). *Fizyoloji*. Birinci baskı. Palme yayıncılık, Ankara; Sayfa: 439-450.
- Bahaodini A, Owjfar M, Tamadon A, Jafari SM (2015). Low frequency electromagnetic fields long-term exposure effects on testicular histology, sperm quality and testosterone levels of male rats. *Asian Pacific Journal of Reproduction* 4(3): 195-200.
- Barrera G, Pizzimenti S, Daga M, Dianzani C, Arcaro A, Cetrangolo GP, Giordano G, Cucci MA, Graf M, Gentile F (2018). Lipid peroxidation-derived aldehydes, 4-hydroxynonenal and malondialdehyde in aging-related disorders. *MDPI journals* 7(8): 102.
- Çaylak E (2011). Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 9(1): 73-83.
- Demircan ÖE (2013). Radyo/Tv Vericilerinden Kaynaklı Elektromanyetik Alan Şiddeti Ölçüm Sonuçlarının Değerlendirilmesi: Karadeniz Bölgesi İncelemesi. İdari Uzmanlık Tezi. Bilgi Teknolojileri ve İletişim Kurumu, Samsun.

- Demirbağ B (2016). Subkronik 1800 MHz elektromanyetik alan uygulanmış sıçanların testis dokusunda parikalsitolinin etkisinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Mersin.
- Ellman GL (1959). Tissue sulfhydryl groups. Arch. Biochem. Biophys. 82: 70-77.
- Erbengi T (1990). Histoloji 2. İkinci Baskı. Güneş Kitapevi, Ankara; Sayfa: 153-160.
- Ekici L, Sağdıç O (2008). Serbest radikaller ve antioksidan gıdalarla inhibisyonu. GIDA 33(5): 251-260.
- Erdoğan M, Şahin E, Dinçel Z (2019). Elektromanyetik Alan Oluşturan Cihazlar Sanıldığı Kadar Masum Mu? Journal of Human Rhythm 5(1): 41-53.
- Forgács Z, Kubinyi G, Sinay G, Bakos J, Hudák A, Surján A, Révész C, Thuróczy G (2005). Effects of 1800 MHz GSM-like exposure on the gonadal function and hematological parameters of male mice. Hungarian Oncology 49(2): 149-151.
- Flora SJ (2007). Role of free radicals and antioxidants in health and disease. Cell. Mol. Biol. 53(1): 1-2.
- Gharamaleki H, Parivar K, Soleimani Rad J, Roshangar L, Shariati M (2014). Effects of Electromagnetic field exposure during the prenatal period on biomarkers of oxidative stress and pathology of testis and testosterone level of adult rats in F1 generation. General Endocrinology 10(4): 577-587.
- Gürdöl F (2015). Tıbbi Biyokimya. Birinci baskı. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul; Sayfa: 641-646.
- Hancı H, Odacı E, Kaya H, Aliyazıcıoğlu Y, Turan İ, Demir S, Çolakoğlu S (2013). The effect of prenatal exposure to 900-MHz electromagnetic field on the 21-old-day rat testicle. Reproductive Toxicology 42: 203-209.
- Hancı H, Kerimoğlu G, Mercantepe G, Odacı E (2018). Changes in testicular morphology and oxidative stress biomarkers in 60-dayold Sprague Dawley rats following exposure to continuous 900-MHz electromagnetic field for 1 h a day throughout adolescence. Reproductive Toxicology 81: 71-78.
- Halil H, Karacan CD (2018). Kısa süre uykusuz bırakılan çocuk hastalarda oksidatif stres düzeyi artıyor mu?. Ortadoğu Tıp Dergisi 10 (4): 460-464.
- Johnsen SG (1970). Testicular Biopsy Score Count – A Method for Registration of Spermatogenesis in Human Testes: Normal Values and Results in 335 Hypogonadal Males. Hormones 1: 2-25.

- Jungueira LC, Carneiro J, Kelley RO (1992). Basic Histology. Temel Histoloji. Çeviren: Aytekin Y, Barış Kitabevi, İstanbul, 496-515.
- Konukoğlu D, Akçay T (1999). Glutasyon metabolizması ve klinik önemi. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi 15(4): 214-218.
- Koca N, Karadeniz F (2003). Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. Gıda Mühendisliği Dergisi 16: 32-37.
- Koyu A, Cesur G, Özgüner F, Elmas O (2005). Cep telefonlarından yayılan 900 MHz elektromanyetik alanın serum kortizol ve testosteron hormonu üzerine etkisi. S.D.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi 12(1): 52-56.
- Karabulut H, Gülay MŞ (2016). Antioksidanlar. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Dergisi 1(1): 65-76.
- Karakan M, Nazlıkul H (2017). Oksidatif stres ve serbest radikallerin vücut üzerindeki etkisi. Bilimsel Tamamlayıcı Tıp, Regülasyon ve Nöralterapi Dergisi 11(2): 7-11.
- Mailankot M, Kunnath AP, Jayalekshmi H, Koduru B, Valsalan R (2009). Radio frequency electromagnetic radiation (RF-EMR) from gsm (0.9/1.8ghz) mobile phones induces oxidative stress and reduces sperm motility in rats. Clinical Science 64(6): 561-565.
- Musayeva G (2015). Gelişen teknoloji sayesinde cep telefon operatörlerinin değişimindeki beklentiler. İstanbul Aydın Üniversitesi Dergisi 28(7): 53-63.
- Mercantepe T, Unal D, Tümkaya L, Yazici ZA (2018). Protective effects of amifostine, curcumin and caffeic acid phenethyl ester against cisplatin-induced testis tissue damage in rats. Exp Ther Med. 15(4): 3404-3412.
- Noyan A (2004). Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. Ondördüncü baskı. Meteksan yayınları, Ankara; Sayfa: 1106-1116.
- Nisbet HÖ, Nisbet C, Akar A, Çevik M, Karayığit MÖ (2013). Effects of exposure to electromagnetic field (1.8/0.9 GHz) on testicular function and structure in growing rats. Journal of Experimental and Clinical Medicine 30: 275. doi: 10.5835/jecm.omu.30.03.0205.
- Ocaktan ME, Akdur R (2008). Cep Telefonu Teknolojisi ve Sağlık. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi 28: 58-65.
- Odacı E, Özyılmaz C (2015). Exposure to a 900 MHz electromagnetic field for 1 hour a day over 30 days does change the histopathology and biochemistry of the rat testis. International Journal of Radiation Biology 91(7): 547-554.

Öztürk M, Baltacı AK, Moğulkoç R, Öztekin E (2003). Zinc prevention of electromagnetically induced damage to rat testicle and kidney tissues. *Biological Trace Element Research* 96(1-3): 247-254.

Özel GSK, Birdane YO (2014). Antioksidanlar. *Kocatepe Veteriner Dergisi* 7(2): 41-52.

Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z (2015). Oxidative stress and its impacts on intracellular lipids, proteins and DNA. *Journal of Clinical and Experimental Investigations* 6(3): 331-336.

Saygın M, Çalışkan S, Gümral N, Soydan M, Vural H (2009). 2450 MHz elektromanyetik radyasyonun sıçanların FSH, LH ve Total Testosteron seviyelerinde meydana getirdiği değişiklikler. *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.* 16(4): 10-14.

Saygın M, Çalışkan S, Gümral N, Bocutoğlu AÇ, Has M (2010). 2450 MHz Elektromanyetik alan ve karaciğer üzerine etkileri. *S.D.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 1: 15-22.

Sarıkahya NM (2014). Bir işyerinde elektromanyetik alan ölçümü yapılması ve sonuçlarının iş sağlığı ve güvenliği yönünden değerlendirilmesi. *İş Sağlığı ve Güvenliği Uzmanlık Tezi*. T.C. Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı İş Sağlığı ve Güvenliği Genel Müdürlüğü, Ankara.

Sezer K, Keskin M (2014). Serbest oksijen radikallerinin hastalıkların patogenezisindeki rolü. *F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.* 28(1): 49-56.

Süleyman H, Gül V, Erhan E (2018). Oksidatif Stres ve Doku Hasarı. *Erzincan Tıp Dergisi* 1(1): 1-4.

Şehitoğlu İ, Tümkaya L, Kalkan Y, Bedir R, Cüre MC, Zorba OÜ, Cüre E, Yüce S (2015). Biochemical and histopathological effects on the rat testis after exposure to electromagnetic field during fetal period. *International Section* 68 (6): 562-568.

Taktak F, Tiryakioğlu İ, Yılmaz İ (2005). Gps’de Kullanılan Elektromanyetik Dalgaların İnsan Sağlığına Etkilerinin İrdelenmesi. 2. Mühendislik Ölçmeleri Sempozyumu, İstanbul, 23-25 Kasım 2005, 641-648.

Türkkan A, Pala K (2009). Çok Düşük Frekanslı Elektromanyetik Radyasyon ve Sağlık Etkileri. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi* 14: 11-22.

Tamam C, Evrensel M, Tamam Y (2016). Elektromanyetik Alanların İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri. *Bilimsel Tamamlayıcı Tıp Regülasyon ve Nöral Terapi Dergisi* 10: 19-25.

Topcu A, Mercantepe F, Rakici S, Tümkaya L, Uydu HA, Mercantepe T (2019). An investigation of the effects of N-acetylcysteine on radiotherapy-induced testicular injury in

rats. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 392(2): 147-157.

Yalçın A, Saygın M (2016). Elektromanyetik Alanların Üreme Sistemi Üzerine Etkileri. Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi 4: 105-124.

URL-1, 2020. Available from: <http://biyolojiterimleri.com/?madde=Elektromanyetik-dalgalar>. [05 January 2020].





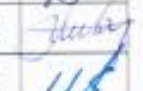





URL-2, 2019. Available from: <http://www.cosmed-clinic.com/ileri-antiaging-uygulamalarinda-oksidatif-stres-testinin-onemi.htm/koah-patogenezi-34-728>. [01 October 2019].

URL-3, 2020. Available from: <https://docplayer.biz.tr/162526055-Erkek-ureme-fizyolojisi.html>. [05 January 2020].

URL-4, 2020. Available from: <https://docplayer.biz.tr/162526055-Erkek-ureme-fizyolojisi.html>. [05 January 2020].

EKLER

Ek 1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı Araştırma Başvurusu Onay Formu

T.C. RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI (Republic of Turkey Recep Tayyip Erdogan University Local Ethics Committee for Animal Experiments)						
BAŞVURU BİLGİLERİ (Application Information)	ETİK KURUL DOSYA NO REFERENCE :11					
	ÇALIŞMANIN ADI	Ratlarda 2100 Mhz'lik elektromanyetik alanın testis dokusu üzerine etkisinin biyokimyasal, immunohistokimyasal ve histopatolojik düzeyde incelenmesi				
	Title	Investigation of the effect of 2100 MHz electromagnetic field in the testicular tissues of rats (by biochemical, immunohistochemical and histopathological means)				
	SORUMLU ARAŞTIRMACI (Director of Project)	Doç.Dr.Hüseyin Avni UYDU				
	DİĞER GÖREVLİLER (Researchers)	Köksal ÖZTÜRK , Levent TÜMKAYA, Tolga MERCANTEPE, Mehtap ATAK Zahra TOPAL SUZAN				
	BAŞVURULAN ETİK KURUL	Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	<input checked="" type="checkbox"/> Tek Merkez Ulusal		<input type="checkbox"/> Çok Merkezli Ulusal		<input type="checkbox"/> Çok Merkezli Uluslararası	
KARAR BİLGİLERİ	Karar No Decision No :2019/11		Tarih (Date): 27.02.2019			
	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fakültesi' nden, Doç.Dr.Hüseyin Avni UYDU 'nun sorumluluğunda yürütülen ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Hayvan Deneyleri Araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler, araştırmanın gerekeceği amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına katılan üyelerin oy birliğiyle karar verilmiştir.					
Decision Information	The study above has been approved by the Local Ethics Committee of R.T.E.University.					
	<input checked="" type="checkbox"/> Accepted			<input type="checkbox"/> Rejected		
ÜYELER (Members)						
Ünvanı/ Adı/ Soyadı Ek Üyeligi	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Clasiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof.Dr. Fikri BALTA (Başkan, Müdür)	Su Ürünleri (Veteriner Hekim)	R.T.E. Üniversitesi Su Ürünleri Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr. Levent TÜMKAYA (Başkan Vekili)	Histoloji Embriyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	-----
Doç.Dr. Ayşe ERTÜRK (Üye)	Enfeksiyon Hast. Ve Klinik Mikr.	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr. Serkan GÜL (Üye)	Biyoloji	R.T.E. Üniversitesi Fen Edebiyat Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr. Kazım ŞAHİN (Üye)	Tıbbi Mikrobiyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Dr. Öğr. Üyesi Hatice SEVİM NALKIRAN (Üye)	Tıbbi Biyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Dr. Öğr. Üyesi Medeni ARPA (Üye)	Tıbbi Biyokimya	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Dr. Öğr. Üyesi Murat ALKURT (Üye)	Protektif Diş Tedavisi	R.T.E. Üniversitesi Diş Hekimliği Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Şenay ÇAKIROĞLU (Üye)	Veteriner Hekim	R.T.E. Üniversitesi Deney Hayv. Üy. ve Arş.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Şevket ÇAKMAKÇI (Üye)	Sağlık Çalışanı	Sendika Üyesi	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Rukiye ÜLGER (Üye)	Serbest Çalışan	Sivil Üye	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

*Araştırma ile ilişkisi|Relation to the project, E: Yes, H: No|

**Toplantıda Bulunma|Attendance, E: Yes, H: No|

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER		
Soyadı, Adı	ÖZTÜRK KÖKSAL	
Uyruğu	T.C.	
Doğum Tarihi ve Yeri	1983/TRABZON	
E-Posta	koksal61.5@hotmail.com	
Yazışma Adresi	Merkez/RİZE	
EĞİTİM BİLGİLERİ		
Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet yılı
Lisans	KTÜ BİYOLOJİ BÖLÜMÜ	2014
Önlisans	KTÜ SHMYO TIBBİ LABORATUVAR BÖLÜMÜ	2009
Lise	TRABZON ASML LAB. TEK. BÖLÜMÜ	2001
YABANCI DİL		
İngilizce		