

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI



**ELEKTRİK ALANIN SIÇAN TESTİS DOKUSUNDAKİ
FİZYOPATOLOJİK ETKİLERİ VE RESVERATROLÜN
KORUYUCU ROLÜ**

Rahime ASLANKOÇ

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Nurhan GÜMRAL

**Bu Tez 3001 – TÜBİTAK – Başlangıç AR-GE Projeleri Destekleme Programı
tarafından 214S370 proje numarası ile desteklenmiştir**

Tez. No: 134

ISPARTA-2016

KABUL ve ONAY SAYFASI


Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji **Anabilim Dalı Doktora Programı** çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

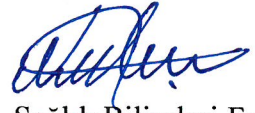
Tez Savunma Tarihi: 02/02/2016

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Nurhan GÜMRAL 
Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD

Üye : Prof. Dr. Sadettin ÇALIŞKAN 
Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD

Üye : Prof. Dr. M. Fehmi ÖZGÜNER 
Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD

Üye : Prof. Dr. Ahmet KOYU 
Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD

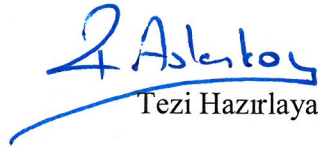
Üye : Yrd. Doç. Dr. Nurgül ŞENOL 
Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi,
Beslenme ve Diyetetik Bölümü

ONAY: Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Mustafa KAYAN
Enstitü Müdürü


BEYAN

“Elektrik Alanın Sıçan Testis Dokusundaki Fizyopatolojik Etkileri ve Resveratrolün Koruyucu Rolü” adlı Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.


Tezi Hazırlayan

Rahime ASLANKOÇ

İmza


Danışman

Doç. Dr. Nurhan GÜMRAL

İmza

Sevgili eşim ve biricik oğluma ithaf ediyorum...

Saygılarımla...

Isparta, 2016

TEŞEKKÜR

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda 2012-2016 yılları arasında doktora eğitimim süresince bana her konuda desteğini esirgemeyen, tezimin hazırlanmasında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım başta tez danışmanım sayın Doç. Dr. Nurhan GÜMRAL'a, Prof. Dr. M. Fehmi ÖZGÜNER'e, Prof. Dr. Ahmet KOYU'ya, Prof. Dr. Halis KÖYLÜ'ye, araştırma laboratuvarlarında uzun uğraşlarda destek olan ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, desteklerini hissettiğim değerli hocalarım Yrd. Doç. Dr. Nurgül ŞENOL'a, Yrd. Doç. Dr. Mustafa SAYGIN'a, Yrd. Doç. Dr. Halil AŞÇI'ya ve sevgili arkadaşlarım Arş. Gör. F.Nihan CANKARA, Arş. Gör. Oğuzhan KAVRIK'a teşekkür ederim.

Deney aşamalarının kurulumu ve uygulanmasında her zaman destek olan değerli hocam Doç.Dr. Selçuk ÇÖMLEKÇİ'ye, istatistik değerlendirmelerinde destek olan sevgili arkadaşım Yrd. Doç. Dr. Fatma BAŞALAN İZ'e ve Süleyman Demirel Üniversitesi İstatistik Danışmanlık Uygulama ve Araştırma Merkezinden değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Özgür KOŞKAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bana inanan ve beni yürekten destekleyen aileme ve dostlarıma çok teşekkür ederim.

Bu çalışma, 3001-TÜBİTAK-Başlangıç AR-GE Projeleri Destekleme Programı tarafından desteklenmiştir. Proje no: 214S370

Rahime ASLANKOÇ

Isparta, 2016

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
BEYAN	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
RESİMLER DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Elektrik Alan	3
2.1.1. Gauss Kanunu	4
2.1.2. Elektrik Alan Çizgileri	4
2.1.3. Çevremizdeki Elektrik Alan Kaynakları	5
2.1.3.1. Doğal Alanlar	5
2.1.3.2. Elektrikli Ev Aletlerinin Oluşturduğu Elektrik Alanlar	6
2.1.3.3. Yüksek Gerilim Hatlarının Oluşturduğu Alanlar	6
2.1.3.4. Çok Düşük Frekanslı Alanlar	7
2.1.4. Elektrik Alanın Biyolojik Etkileri.....	8
2.1.4.1. Oksidatif Stress Parametreleri Üzerine Etkileri	8
2.1.4.2. Nörofizyolojik ve Davranışsal Etkileri	9
2.1.4.3. Biyokimyasal Etkileri	10
2.1.4.4. Klinik ve Fizyolojik Etkileri.....	10
2.1.4.5. Üreme Üzerine Etkileri	12
2.2. Erkek Üreme Sistemi.....	13
2.2.1. Erkek Üreme Organlarının Fizyolojik Anatomisi.....	13
2.2.1.1. Testis	14
2.2.1.2. Epididim.....	15
2.2.1.3. Prostat ve Vesicula Seminalisler	15
2.2.2. Spermatogenez.....	15
2.2.2.1. Spermatositogenez.....	16

2.2.2.2. Mayoz Bölünme	16
2.2.2.3. Spermiyogenez	17
2.2.3. Spermin Yapısı.....	18
2.2.3.1. Kapasitasyon	18
2.2.4. Spermatogenezi Uyarıcı Hormonlar.....	19
2.2.5. Testis Fonksiyonlarının Düzenlenmesi	19
2.2.6. Sperm DNA Hasarları	20
2.2.6.1. Spermatozoon DNA Hasarı ve Erkek İnfertilitesi	21
2.3. Resveratrol	21
2.3.1. Resveratrol Farmakolojisi	23
2.3.1.1. Resveratrol Sentezi	23
2.3.1.2. Resveratrol Emilimi	24
2.3.1.3. Resveratrolün Dokulara Taşınması.....	25
2.3.1.4. Resveratrolün Atılımı.....	25
2.3.2. Resveratrolün Biyolojik Etkileri.....	25
2.3.2.1. Antioksidan Etki.....	25
2.3.2.2. Antitümör Etki.....	26
2.3.2.3. Kardiyojenik Etki.....	26
2.3.2.4. Trombosit Agregasyonu Önleyici Etki	28
2.3.2.5. Anjiyogenezis Üzerine Etkileri	28
2.3.2.6. Damar Genişletici Etki.....	28
2.3.2.7. İnflamasyon Önleyici Etki	29
2.3.2.8. Antimikrobiyal Etki	30
2.3.2.9. Yaşlanma Karşıtı Etki.....	30
2.3.2.10. Helikobakter Pylori Üzerine Etki	30
2.3.2.11. Antikonvulsif Etki.....	31
2.3.2.12. Nöroprotektif Etki.....	31
2.3.2.13. Testis Üzerine Etkileri	32
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	34
3.1. Çalışmada Kullanılan Malzeme ve Cihazlar	34
3.2. Hormonal Kitler	34
3.3. Elektrik Alan Düzenliği	35
3.4. Deney Hayvanları ve Gruplandırma.....	37
3.5. Ratların Dekapitasyonu.....	38

3.5.1. Epididim ve Testis Dokusunun Ayrılması	38
3.5.2. Sperm İzolasyonu.....	39
3.5.3. Serum Elde Edilmesi.....	39
3.6. Spermın Fiziksel İncelemesi	39
3.6.1. Sperm Sayısı	39
3.6.2. Motilite	40
3.7. Oksidan ve Antioksidan Enzim Yöntemleri	40
3.7.1. Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Saptanması.....	40
3.7.2. Dokuda Protein Tayini	41
3.7.3. Katalaz (CAT) Düzeyinin Saptanması.....	41
3.7.4. Süperoksit Dismutaz Düzeyinin (SOD) Saptanması	41
3.7.5. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Düzeyinin Saptanması	42
3.8. Comet Assay Yöntemi ile DNA Hasar Tayini.....	43
3.8.1. Yöntemin Prensibi.....	43
3.8.2. Yöntemin Uygulanışı	43
3.8.2.1. Slaytların Hazırlanması.....	43
3.8.2.2. Hücrelerin Jele Gömülmesi.....	44
3.8.2.3. Lizis Aşaması	44
3.8.2.4. Elektroforez Tamponu	44
3.8.2.5. Elektroforez.....	44
3.8.2.6. Nötralizasyon.....	45
3.8.2.7. Boyama	45
3.8.2.8. Görsel Skorlama Yöntemi ile Analiz.....	45
3.8.3. Comet Assay Yöntemi İçin Kullanılan Çözeltiler	46
3.9. Histopatolojik Yöntem.....	48
3.10. İmmünohistokimyasal Yöntem	50
3.11. İstatiksel Analiz.....	50
4. BULGULAR.....	52
4.1. Genel Görünüm	52
4.2. Ağırlık Değişimi.....	52
4.2.1. Vücut Ağırlığı.....	52
4.2.2. Testis Ağırlığı	53
4.2.3. Epididim Ağırlığı	54
4.3. Vücut Isısı	55

4.4. Testis Isısı	56
4.5. Spermin Fiziksel İnceleme Bulguları	57
4.5.1. Sperm Sayısı	57
4.5.2. Motilite	58
4.6. Oksidan ve Antioksidan Enzim Sonuçları	58
4.7. Gruplara Ait Hormon Analiz Sonuçları.....	60
4.8. Comet Assay Yöntemi ile DNA Hasarı Analizi.....	61
4.9. Histopatolojik Bulgular.....	64
4.10. Morfometrik Bulgular	70
4.10.1. Leydig Hücre Sayısına ait Bulgular	70
4.10.2. Seminifer Tübül Çapına ait Bulgular	70
4.10.3. Tunika Albuginea Kalınlığına ait Bulgular	71
4.11. İmmünohistokimyasal Bulgular	72
5. TARTIŞMA.....	76
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	87
ÖZET.....	90
ABSTRACT	91
KAYNAKLAR.....	92
BEYAN.....	107
EKLER.....	108
Ek 1. Etik Kurul Kararı	109
Ek 2. Özgeçmiş	111

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

EA	Elektrik alan
EMA	Elektromanyetik alan
Hz	Hertz
WHO	World Health Organisation (Dünya Sağlık Örgütü)
IEEE	Institute of Electrical and Electronics Engineers (Elektrik ve Elektronik Mühendisleri Enstitüsü)
ICNIRP	International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (Uluslararası İyonize Olmayan Radyasyondan Korunma Komisyonu)
DNA	Deoksiribonukleik Asit
LH	Luteinizan hormon
FSH	Folikül uyarıcı – stimüle edici hormon
C	Coulomb
V/m	Volt/metre
ELF	Extremely-low frequency (Oldukça düşük frekans)
OH [·]	Hidroksil radikali
O ^{·-}	Süperoksit anyonu
SOD	Süperoksit dismutaz
CAT	Katalaz
GSH-Px	Glutatyon peroksidaz
TBARS	Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler
MDA	Malondialdehit
ADA	Adenozin deaminaz
XO	Ksantin oksidaz
MPO	Miyeloperoksidaz
GnRH	Gonadotropin serbestleştirici hormon
ROS	Reaktif oksijen radikalleri
E2	Östrodiol
GH	Büyüme hormonu
TCA	Trikloroasetik asit

TBA	Tiyobarbitürik asit
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
NMA	Normal kaynama dereceli agoroz
LMA	Düşük kaynama dereceli agoroz
PBS	Phosphate-buffered saline (Tuz içeren yıkama eriyiği)
TUNEL	TdT-mediated dUTP-digoxigenin nick endlabelling
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Bazı Ev Aletlerinin Oluşturduğu Elektrik Alanlar	6
Tablo 2. Elektrik ve Manyetik Alanların 50 Hz ve 60 Hz İçin Mesleki ve Halk İçin Referans Değerleri	8
Tablo 3. Hematoksilen & Eosin Boyama Prosedürü	49
Tablo 4. Masson Trikrom Boyama Prosedürü.....	49
Tablo 5. Araştırma Gruplarında Ağırlık Artışları (gr/hafta/hayvan)	53
Tablo 6. Testis ve Epididim Ağırlık Parametrelerinin Değerlendirilmesi	55
Tablo 7. Araştırma Gruplarının Vücut Isısı ve Testis Isısı Değişimleri.....	57
Tablo 8. Araştırma Gruplarında Spermin Fiziksel İnceleme Bulguları	58
Tablo 9. Araştırma Gruplarının Oksidan ve Antioksidan Düzeyleri	60
Tablo 10. Araştırma Gruplarına Ait Hormonal Sonuçlar	61
Tablo 11. Comet Analizinin İstatistiksel Değerlendirilmesi	62
Tablo 12. Gruplara Ait Hasar Şiddeti.....	70
Tablo 13.1. Grupların Leydig Hücre Sayısına Ait Ortalama ve Standart Sapmalar ..	70
Tablo 13.2. Grupların Seminifer Tübül Çapına Ait Ortalama ve Standart Sapmalar	71
Tablo 13.3. Grupların Tunika Albuginea Kalınlıklarına Ait Ortalama ve Standart Sapmalar	71
Tablo 14. Grupların Apoptotik Hücrelerine Ait Ortalama ve Standart Sapmalar	72

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. (a, b, c, d) Elektrik Alan Örnekleri	4
Şekil 2. Pozitif Yüklü Bir Tabakanın EA Çizgileri.....	5
Şekil 3. Zıt Yüklü Levhalar Arasındaki EA Çizgileri	5
Şekil 4. Erkek Üreme Sistemi	13
Şekil 5. Testisin Anatomik Yapısı.....	14
Şekil 6. Seminifer Tübüllerin Yapısı ve Spermatogonyumlardan Sperm Oluşum Aşamaları	17
Şekil 7. İnsanda Spermin Yapısı	18
Şekil 8. Testis Fonksiyonlarının Nöroendokrin Kontrolü.....	20
Şekil 9. Trans- ve Cis-resveratrolün Piseid Formları	22
Şekil 10. Fitoaleksinlerin Biyosentez Yolağı.....	24
Şekil 11. Elektrik Alan Deney Düzeneği.....	35
Şekil 12. DNA Hasarı Sonucu Meydana Gelen Hasarın Göç Sonrası Mikroskopik Görüntüleri	46
Şekil 13. Araştırma Gruplarının Vücut Ağırlığı Ortalamaları ve Standart Sapmaları.....	53
Şekil 14. Araştırma Gruplarının Testis Ağırlık Ortalamaları ve Standart Sapmaları.....	54
Şekil 15. Araştırma Gruplarının Epididim Ağırlık Ortalamaları ve Standart Sapmaları.....	55
Şekil 16. Araştırma Gruplarının Günlük Ortalama Vücut Isısı Değişimleri	56
Şekil 17. Araştırma Gruplarının Günlük Ortalama Testis Isısı Değişimleri.....	57
Şekil 18.1. Seminifer Tübül ve Germ Hücreleri, Masson trikrom, X 40.....	65
Şekil 18.2. Seminifer Tübül, Germ hücreleri ve İnterstisyel Alan, Masson trikrom, X 40	65
Şekil 18.3. İnterstisyel Alanda Azalma, Germ Hücrelerinde Azalma, Masson Trikrom, X 40.....	66
Şekil 18.4. İnterstisyel Alanda Azalma, Germ Hücrelerinde Azalma ve Vakuolizasyonlar, Masson Trikrom, X 40.....	66
Şekil 18.5. İnterstisyel Alanda Ödem ve Konjesyon, Germ Hücrelerinde Azalma ve Vakuolizasyonlar, Masson Trikrom, X 40	67
Şekil 18.6. İnterstisyel Alanda Ödem, Germ Hücrelerinde Azalma ve Vakuolizasyonlar, Masson Trikrom, X 40.....	67
Şekil 18.7. İnterstisyel Alanda Ödem, Germ Hücrelerinde Azalma ve Vakuolizasyonlar, Masson Trikrom, X 10.....	68

Şekil 18.8. İnterstisyel Alanda Azalma ve Ödem, Germ Hücrelerinde Azalma ve Vakuolizasyonlar, Masson Trikrom	68
Şekil 18.9. Seminifer Tübül ve Germ Hücreleri, Masson Trikrom.....	69
Şekil 19.1. EA Grubuna Ait Testis Dokusunda Gözlenen TUNEL (+) Hücreler	73
Şekil 19.2. EA Grubuna Ait Testis Dokusunda Gözlenen TUNEL (+) Hücreler	73
Şekil 19.3. EA Grubuna Ait Testis Dokusunda Gözlenen TUNEL (+) Hücreler	74
Şekil 19.4. EA+R Grubuna Ait Testis Dokusunda Gözlenen TUNEL (+) Hücreler	74
Şekil 19.5. R Grubuna Ait Testis Dokusunda Gözlenen Tunel (+) Hücreler ve Zayıf Boyanma	75
Şekil 19.6. K Grubuna Ait Testis Dokusunda Gözlenen Tunel (+) Hücreler ve Zayıf Boyanma	75

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Elektrik Alan Düzenegi.....	36
Resim 2. Grup I (K) Comet Analizi.....	62
Resim 3. Grup II (EA) Comet Analizi.....	63
Resim 4. Grup III (EA+R) Comet Analizi.....	63
Resim 5. Grup IV (R) Comet Analizi.....	64

1. GİRİŞ

Elektrik alan (EA) bir elektrik yükünün başka bir elektrik yükü üzerinde yarattığı çekme ya da itme kuvvet etkisini ifade eder. Her elektrik yükü bir elektrik alana sahiptir. Yapılan testlerde, bir cihazın besleme gerilimini yükselttiğimizde bunun sonucu olarak elektrik alanında yükseldiği görülmektedir. Aslında EA'nın varlığını hissedebiliriz. Hiçbir şey yapmadan saçlarımız ve vücudumuzdaki tüyler titreşiyorsa, cildinizde "üfleniyormuş" hissi ve nahoş bir his varsa, EA'nın etkisinde olma ihtimaliniz çok yüksektir. Vücudumuz elektriği iletme özelliğine sahiptir. Ancak her dokunun elektriği iletme özelliği farklı olduğu gibi maruz kaldığımız EA'nın etkileri kişiden kişiye az ya da çok değişiklik gösterebilir. Bu tamamen genetik ve yaşam faktörlerine bağlıdır.

Son yıllarda hızla gelişen teknoloji ve modern yaşamın bir parçası olan teknolojik aletler beraberinde elektrik ve manyetik alan kirliliğini de oluşturmaktadır. Dünya nüfusunun artması, birey başına düşen metre karenin azalması ve teknolojik cihazların kullanımının artması, insanların daha uzun süre ve yoğunlukta elektrik alana maruz kalmasına neden olmaktadır. Bu maruziyet insan sağlığını etkilemektedir. Bu projede 50 Hz (10kV/m) frekanslı alternatif EA maruziyetinin erkek üreme organı olan testis dokusundaki hasarı tespit edilecektir.

Elektrik ve manyetik alanların sağlığa etki eden sınırları World Health Organisation (WHO), International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP) ve Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE) tarafından belirlenmektedir. Bu maruziyet sınırları uygun bilimsel incelemelere dayandırılmaktadır. Ani, şiddetli ve kısa süreli etki için yeterli çalışmalar gerçekleştirildiğinden bu etkilere karşı iki tane uluslararası önlem kılavuzu geliştirilmiştir (1998a ve IEEE std C95.6-2002). Yapmış olduğumuz ön çalışmalar doğrultusunda uzun süreli etkinin oluşturduğu zararlarla ilgili bir belirsizlik olduğu görülmüştür. Çalışmamız bu alandaki belirsizliğe katkı sağlamakla birlikte halk ve iş yerleri için elektrik alan referans değerlerinin güncellenmesine de oldukça önemli katkı sağlayacaktır.

Resveratrol, trans-resveratrol (trans-3,5,4'-trihydroxystilbene)'dur. Başta üzüm olmak üzere pek çok farklı bitkide varolan doğal bir fitoaleksindir. Fitoaleksinler, bitkilerde UV ışını, hasar ve infeksiyonlara karşı gelişen ikincil yapılardır. Resveratrol, siyah üzümün soğuk hava koşulları, mantar enfeksiyonları gibi etkenlere bağlı olarak kendini korumak için ürettiği bir maddedir.

Yapılan deneysel çalışmalarda resveratrolün sağlığa yararlı pekçok etkileri (trombosit agregasyon inhibisyonu, antihiperglisemik veya antidiyabetik, kardiovasküler koruma, antikanserojenik, antiinflamatuvar, serbest radikal temizleyici, antiöstrejenik, nöroproteksiyon ve antiaging) olduğu ortaya konulmuştur. Resveratrolün antioksidan özelliğinin olması çalışmamızın başlangıç noktasını oluşturmaktadır. Artan elektrik alan maruziyetinin testis dokusu üzerinde oluşturabileceği hasara karşı resveratrolün, yukarıda saydığımız pek çok özelliğininde olması erkek üreme sisteminde koruyabileceğini düşündürmüştür.

Çalışmada testis dokusundan alınan kesitlerde yapılan histopatolojik incelemelerde seminifer tübül çapları, tunica albuginea kalınlığı ve leyding hücreleri değerlendirilecektir. İmmünohistokimyasal olarak TUNEL metodu yöntemi ile apoptoza bakılacaktır. Biyokimyasal analizlerde; testosterona, luteinizan hormona (LH), follikül uyarıcı – stimüle edici hormona (FSH), östradiol (E2) ve büyüme hormonuna (GH) bakılarak erkek üreme fonksiyonu kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiş olacaktır. Sperm sayılarının ve motilitesinin tespiti, comet assay yöntemi ile sperm deoksiribonukleik asit'deki (DNA) kırılmaların çalışılmasında projeyi diğer çalışmalardan hem farklı hemde güçlü kılmaktadır. Böylece erkekteki infertilite nedenleri de tartışılacaktır. Ayrıca resveratrolün etkisinin ortaya konulması ile testis dokusu hasarlarına karşı ilaç adayı olabilecek yeni bulgulara ulaşılması planlanmaktadır.

Çalışmada kullanacağımız EA düzeneği çalışmanın mühendislik yönünü ortaya koymaktadır. Proje sonunda ulaşılan bulgular mühendislik bilimine de katkı sağlayacaktır. Teknolojik cihazlardan uzak durmak günümüzde gerçekten olanaksızdır. Ancak bu teknolojinin zararlı etkilerinden korunabiliriz. Çalışma sonuçları, evlerimize, iş yerlerimize ulaşan elektrik kablolarının ve elektrikli aletlerin daha sağlıklı bir şekilde üretilmesine ve kullanılmasına yön verecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Elektrik Alan

Elektrik ve manyetizma ile ilgili ilk bilgiler çok eskilere dayanır. Manyetizmanın, yaklaşık MÖ 2000 yıllarında bilindiği, Çin kaynaklarından anlaşılmaktadır. Eski Yunanlıların MÖ 700 yıllarında, elektrik ve manyetizma olaylarını gözlemledikleri bilinmektedir.

EA'ları, durgun ya da hareketli elektrik yüklü parçacıklardan kaynaklanır. Elektrik yükünün en küçük taşıyıcısı elektrondur ve 1.6×10^{-19} C miktarında elektrik yükü taşır. Bir proton ise buna eşit artı (pozitif) yük taşır. Uluslararası Birim Sisteminde (Système International d'Unités, [SI]), yük birimi olarak Coulomb (C) kullanılır, bir C'luk yük 6.24×10^{18} elektronun yüküne eşittir. Bir iletkenin kesitinden birim zamanda geçen yük miktarına elektrik akımı denir, birimi amperdir (1 Amper [A] = 1 C/s). Metallerde elektrik yükü taşıyıcıları elektronlardır, sıvılarda ise hem elektronlar hem de iyonlar yük taşır.

Elektrik yüklerinin davranışı ile ilgili temel yasa Coulomb Yasası'dır. Buna göre aynı işaretten yüklerle yüklü cisimler birbirini iter, aksi işaretten elektrikle yüklü cisimler ise birbirini çeker. Aksi yüklerin birbirini çekmesi kütle çekim yasasına benzer; her iki durumda da çekim kuvvetleri iki yük (veya kütle) arasındaki mesafenin karesi ile ters orantılı, yüklerle (veya kütlelerle) doğru orantılıdır. Örneğin, yükler için elektriksel çekim kuvveti (F_e), q_1 ve q_2 yükler, r aradaki mesafe olmak üzere, $[F_e = k_e \cdot q_1 \cdot q_2 / r^2]$ olarak ifade edilir. Burada k_e orantı sabitidir.

Herhangi bir yükün veya yük dağılımının çevresinde daima bir EA vardır. Bu alan içine q_0 miktarında başka bir elektrik yükü (sınama yükü) konduğunda, yukarıdaki Coulomb Yasasına göre bu sınama yüküne bir kuvvet etki eder. EA bu kuvvet ve sınama yükü cinsinden ifade edilebilir, şöyle ki sınama yükünün birim miktarına düşen kuvvete EA denir, yani, $[E = F_e / q_0]$. Buna göre EA'nın biriminin Newton/Coulomb (N/C) olduğu görülecektir. Diğer taraftan, EA'nın aynı zamanda birim mesafeye (r) düşen elektrik potansiyeli (V) olduğu da gösterilebilir, yani, $[E = V / r]$ yazılabilir, birimi Volt/metre (V/m) olur.

Farklı yük dağılımlarının EA'ları da uzaya farklı dağılır. Örneğin, aksi işaretten eşit yükler taşıyan iki paralel plaka arasında, (plakaların boyutları iki plaka arasındaki mesafeden çok büyük ise) artı yüklü plakadan eksi yüklü plakaya yönelmiş düzgün bir EA bulunur. Düzgün bir alan plakalar arasındaki her noktada EA'nın aynı olduğuna işaret eder. Düzgün alan her iki plakaya dik ve birbirine paralel oklarla gösterilir, okların yoğunluğu ise alanın şiddetini gösterir. Bir yüzeyden geçen EA çizgilerinin sayısı ile elektrik akısı doğru orantılıdır. EA büyüklüğü ile alana dik A yüzölçümünün çarpımına elektrik akısı denir.

$$\Phi_E = E \cdot A \cdot \cos\theta$$

Φ_E : Elektrik akısı (Nm^2 / C)

E: Elektrik alanı şiddeti (N/C)

A: Elektrik alanı çizgilerinin düştüğü yüzey alanı (m^2)

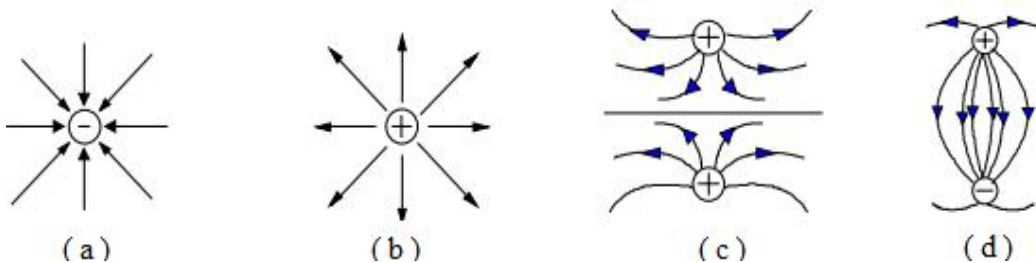
θ : Elektrik alanı ile yüzeyin normali arasındaki açı

2.1.1. Gauss Kanunu

Elektromanyetizmanın temel kanunu olan Gauss Kanunu, Coulomb Kanununun farklı bir ifadesidir. Simetrik yük dağılımlarının oluşturduğu EA hesabı, Gauss Kanunu ile basitleştirilir (1-3).

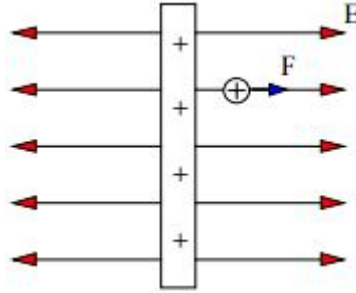
2.1.2. Elektrik Alan Çizgileri

EA çizgileri sürekli değildir, bir pozitif yükten çıkarlar ve negatif yükte son bulurlar. Bunun nedeni yüklü bir iletken içinde yükün ve alanın olmamasıdır. Şekil 1a.b.c.d'de pozitif yüklü düzgün bir tabakanın EA çizgileri gösterilmiştir (4).

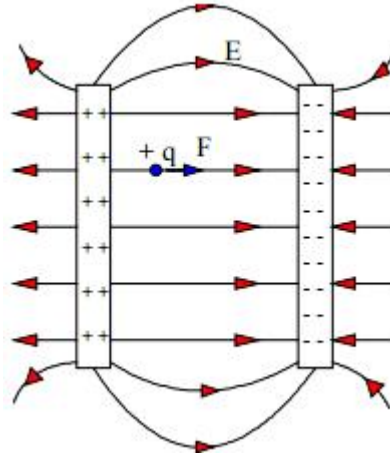


Şekil 1. (a, b, c, d) Elektrik Alan Örnekleri

Şekil 2’de pozitif yüklü levhadan uzaklaşan EA çizgileri ile şekil 3’de zıt yüklü düzlem iki paralel levha arasındaki alan görülmektedir (4).



Şekil 2. Pozitif Yüklü Bir Tabakanın EA Çizgileri



Şekil 3. Zıt Yüklü Levhalar Arasındaki EA Çizgileri

2.1.3. Çevremizdeki Elektrik Alan Kaynakları

2.1.3.1. Doğal Alanlar

Yeryüzü, elektrik yüklerinin varlığından ve atmosfer ile yerkürenin belli bir mesafe ile birbirinden ayrılmış olmasından kaynaklanan doğal bir EA’ya sahiptir. Bundan dolayı küresel bir kapasitör gibi davranır. Atmosferin doğal statik EA’yı 120- 150V/m arasındadır. Ancak şimşekli ve yıldırım fırtınalarda yeryüzü ile atmosferin üst tabakaları arasında oluşan yük transferinden kaynaklanan elektrik yük miktarındaki değişimler bu doğal EA değerinin 10.000 V/m’ye ulaşmasına neden olur.

2.1.3.2. Elektrikli Ev Aletlerinin Oluşturduğu Elektrik Alanlar

Son yıllarda hızla gelişen teknoloji ve modern yaşamın bir parçası olan teknolojik aletler beraberinde elektrik ve manyetik alanların attığı bir ortam oluşturmaktadır. Evlerde kullanılan bazı aletlerin oluşturdukları EA'lar tablo 1'de görülmektedir.

Tablo 1. Bazı Ev Aletlerinin Oluşturduğu Elektrik Alanlar

Cihaz	Elektrik Alan (V/m)
Ampul	2
Süpürge	16
Kahve makinası	30
Televizyon	30
Ütü	60
Buzdolabı	60
Su ısıtıcısı	130
Elektrikli battaniye	250

2.1.3.3. Yüksek Gerilim Hatlarının Oluşturduğu Alanlar

Elektrik enerjisi üretilerek dağıtım istasyonlarına ve oradan da kullanıcılara iletilir. Bu iletide genellikle AC (alterantif akım) 3 fazlı yüksek gerilim hatları kullanılmaktadır. Yüksek gerilim hatları çevreleri için EA kaynağı oluşturmaktadırlar. Yüksek gerilim hattı altında toprakta oluşan EA'nın frekansı hattaki enerjinin frekansı ile aynıdır.

Yüksek gerilim hatları ve dağıtım istasyonu civarında oluşan EA şiddeti çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Yüksek gerilim hattı en fazla 750 kV'luk gerilime sahip olduğunda yarattığı en düşük EA şiddetinin hattın yerden yüksekliğinin en fazla olduğu durumda (20 metre) yaklaşık 1 kV/m, en yüksek EA şiddetinin ise hattın yüksekliğinin en küçük olduğu durumda (13 metre) yaklaşık 12 kV/m değerinde olduğu saptanmıştır. 60 Hz'de 765 kV'luk yüksek gerilim hattının 15 metre uzağında ayakta duran orta boylu (1.5 metre) bir insanda oluşan EA şiddeti -10 kV/m'dir. EA şiddeti yüksek gerilim hattının merkezinden yanlara doğru gidildikçe etkisi azalmaktadır (5, 6).

2.1.3.4. Çok Düşük Frekanslı Alanlar

Nüfus fazlalığı ile endüstriyel ve teknolojik gelişmelere bağlı olarak, elektrik enerjisine, iletim hatlarına ve yüksek voltajlı güç hatlarına ihtiyaç gittikçe arttığından özellikle son yüzyılda dünya geneline yayılan elektrik hatlarının oluşturduğu çok düşük frekanslı (extremely-low frequency; ELF, 0–300 Hz) elektrik (metre başına volt;V/m) ve manyetik (Tesla, T) alanların biyolojik etkileri ilgi çekmekte ve araştırma konusu olmaktadır.

Yüksek gerilim hatlarının altında, hat voltajına ve hat ile yer arasında ki mesafeye bağlı olarak EA şiddetinin 12 kV/m'den daha yüksek olduğu, elektrik üretim istasyonlarının etrafında ise EA şiddetinin 16 kV/m'nin üzerine çıktığı saptanmıştır (7). Bu nedenle, yüksek voltaj iletim hatlarının bakım/onarımında ya da elektrik üretim istasyonlarında çalışan işçilerin ortalama olarak 24 kV/m şiddetinde EA maruz kaldığı belirlenmiştir. Ayrıca, evlerin içerisinde yer alan kabloların ve cihazlarında elektrik alan maruziyetinin en yaygın kaynakları olduğu belirtilmektedir (1-10 V/m) (8).

Elektrik enerjisi evlerimizde 50 Hz frekanslı alternatif alanlar şeklinde bulunur. Bu elektrik akım ve oluşturduğu EMA'lara maruz kalma zamanla dokularda enerji yutulmasına ve vücut içi akımların akmasına neden olur. Zamanla değişen EA'lar canlı dokularda elektrik yüklerinin hareketine (akım akmasına), bağlı yüklerin polarizasyonuna (elektiriksel dipol oluşmasına) ve var olan dipollerin yön değiştirmesine neden olur. İletkenlik dokudan dokuya değişkenlik gösterir. Birinci derecede etkilen dokular iletkenlik özelliklerine göre beyin ve kan'dır. İkinci derecede etkilen dokular ise göz sıvısı, tiroid, gastrointestinal sistem, prostat ve testislerdir. Kalp, böbrek ve deri düşük iletkenlik gösterir. Vücut dışındaki EA'lar vücudun yüzeyinde yüzey yükleri birikmesine neden olur. Bu yükler vücudun sahip olduğu elektrikselsel dengeyi bozabilir (9-11).

EA'nın insan metabolizmasını bozduğu sınırlar WHO, ICNIRP, IEEE tarafından belirlenmiştir. Avrupa Birliği ve İngiltere ICNIRP'nin hazırladığı klavuzunu benimsemiştir. Ülkeler maruziyet sınırlarını zaman zaman değiştirmektedirler. Farklı

ülkelerde kullanılan şu andaki 50 Hz ve 60 Hz için mesleki ve halk için referans değerler tablo 2’de gösterilmiştir (12).

Tablo 2. Elektrik ve Manyetik Alanların 50 Hz ve 60 Hz İçin Mesleki ve Halk İçin Referans Değerleri

Frekans Bölgesi	Elektrik Alan Şiddeti E (V/m)	Manyetik Alan Şiddeti	Manyetik akı yoğunluğu B (µT)
1. Zaman değişimli elektrik ve manyetik alanların halk için referans değerleri (rms)			
0,025-0,8 (kHz)	250/f	4/f	5/f
50 Hz	5000	80	100
60 Hz	4166,66	66,66	83,33
2. Zaman değişimli elektrik ve manyetik alanların mesleki için referans değerleri (rms)			
0,025-0,82 (kHz)	500/f	20/f	25/f
50 Hz	10000	400	500
60 Hz	8333,33	333,33	416,66

2.1.4. Elektrik Alanın Biyolojik Etkileri

2.1.4.1. Oksidatif Stress Parametreleri Üzerine Etkileri

Hücreler serbest radikal oluşumundan ve onların zararlı etkilerinden korunmak için antioksidan savunma mekanizmalarını geliştirirler. Çok düşük frekanslı alanların en önemli etkilerinden biri de serbest radikal oluşumunu ve dolayısıyla lipid peroksidasyonu arttırmasıdır. Birçok çalışmada, ELF alanların serbest radikal mekanizmalarını kullanarak biyokimyasal reaksiyonların sayısını ve hızını değiştirdiği gösterilmiştir (13, 14, 15).

Statik ve düşük frekanslı EA’ların etkilerini araştırmak için yapılan çalışmalarda, uygulanan EA’ların şiddetleri, uygulama süreleri ve uygulama periyotları değiştirilerek farklı doku ve plazmalarda lipid peroksidasyon ve antioksidan enzim düzeyleri incelenmiştir. Güler ve arkadaşlarının kobaylar üzerinde yaptığı çalışmada, 50 Hz 1.35 kV/m şiddetinde EA’nın karaciğer, böbrek ve akciğer

dokularında tiyobarbitürük asit reaktif maddeler (TBARS) ve SOD düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir (14-16).

Ayrıca, Romodanova ve arkadaşları, 320 kV/m şiddetindeki EA'nın beyin dokusunda lipid peroksidasyon indeksi malondialdehidi (MDA) artırdığını, redükte glutasyonu (GSH) azalttığını tespit etmişlerdir (17). Diğer yandan, yapılan başka bir çalışmada ise, günde 8 saat süreyle 3 gün boyunca kobaylara 0.3 ile 5 kV/m arası değişen şiddetlerde EA uygulandıktan sonra beyin dokusu MDA, SOD, CAT, GSH-Px, adenozin deaminaz (ADA), ksantin oksidaz (XO) ve miyeloperoksidaz (MPO) aktivitelerinde kontrol grubuna göre herhangi bir farklılık saptanmamıştır (13, 18).

2.1.4.2. Nörofizyolojik ve Davranışsal Etkileri

Elektrik ve manyetik alanlarla ilgili yapılan çalışmalarda EA'nın beyin dokusunda DNA kırıkları oluşturduğu ve bu hasarın uygulama süresine paralel olarak arttığı saptanmıştır (19). Lipid peroksidasyona neden olan serbest radikaller hücrenin temel yapı taşları proteinler ve karbonhidratlar yanında DNA'da da ciddi hasarlar oluşturarak hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve hücre ölümüne (apoptozis) neden olurlar (20, 21). Özellikle kromozomal DNA fragmantasyonu, nükleer fragmantasyon, kromatin birikimi ve hücre membranındaki değişiklikler apoptozisin oluşmasındaki en önemli faktörlerdir (22).

Yapılan farklı çalışmalarda ise; 60 Hz'de 65 kV/m'lik EA'ya maruz bırakılan sıçanlarda perifer sinir fonksiyonlarında etki gözlenmemiş buna karşılık nöromüsküler fonksiyonlarda önemli değişimler ve sempatik ganglion'un uyarılabilirliğinde artış saptanmıştır (6).

Gavalas ve arkadaşları da kediler ve maymunlar üzerinde EA'nın etkileri araştırdıkları çalışmalarda maymunlarda EA uygulamasının artırılması ile motor aktivitede artış, kedi beyininde ise EA uygulaması ile kalsiyum salınımında azalma olduğunu göstermişlerdir (23-25).

2.1.4.3. Biyokimyasal Etkileri

Yapılan çalışmalarda, 60 Hz'de 65 kV/m'lik EA'nın farelerde kırmızı kan hücrelerinin (RBC) sayısını artırdığı, 5 kV/m'lik EA'nın RBC sayısını azalttığı görüldü. 25, 50 ve 65 kV/m'lik EA'ların ise beyaz kan hücrelerinin (WBC) sayısını artırdığı ve 50 Hz'de 0.01-100 kV/m'lik EA'nın fare, sıçan, köpek ve tavşanlarda WBC düzeyini artırdığı saptanmıştır (26). 30 gün boyunca yatay ve dikey EA'lara maruz bırakılan sıçanlarda albumin miktarında artma, globulinlerde ise azalma tespit edilmiştir (27). Hori ve arkadaşları 50 Hz EA maruz bırakılan farelerde triaçilgliserol, serbest yağ asitleri, kolesterol, fosfolipit, karaciğer ve barsaklarda diaçilgliserol açiltransferazın ve mRNA seviyelerinde azalma olduğunu göstermişlerdir (28).

2.1.4.4. Klinik ve Fizyolojik Etkileri

Aslında EA'nın varlığını hissedebiliriz. Aniden saçlarımız ve vücudunuzdaki tüyler titreşiyorsa, cildinizde "üfleniyormuş" hissi varsa, EA'nın etkisinde olabilirsiniz. 20 kV/m'den ve 1.5 mT'dan daha büyük elektrik ve MA'lara maruziyet vücut kıllarında titreşmeye neden olur. Bireylerin bu kadar yüksek şiddette elektrik ve MA'ra maruz kalmaları sonucunda deride ürperme, döküntü ve sıcaklık hissini yanı sıra baş ağrısı, yorgunluk, dikkat eksikliği, uyku bozukluğu, baş dönmesi ve stres gibi birçok belirti ortaya çıkmaktadır (29). Debruyn ve Dejager'in fareleri EA maruz bırakarak adrenal bezlerin histopatolojik yapılarını ve serum kortizon değerlerini araştırdıkları çalışmada zona glomeruloza'da ortalama lipid hacminin kontrol grubundan fazla olduğunu göstermişleridir. Ayrıca EA maruziyetinin kortizon düzeylerini de anlamlı bir şekilde yükselttiğini gösterdiler (30).

Kahverengi yağ dokusu enerji metabolizmasının sürdürülmesinde önemlidir. Yapılan çalışmada kahverengi yağ doku EA'la uyarılarak rektal ısı etkilenmeksizin doku ısısında artış elde edilmiştir. Çalışmadaki tüm bulgular obezite için tedavi edici bir yöntemin oluşturulabileceğini göstermektedir (31).

ELF alanların kardiyovasküler sistem üzerine etkileri de araştırılmıştır. Bireylere 60 Hz elektrik ve manyetik alan birlikte uygulandığında (9 kV/m, 0.02 mT)

kardiyak fonksiyonlarda küçük değişiklikler olduğu, maruziyet süresince ya da hemen sonra istirahat durumunda kalp hızının az miktarda fakat anlamlı olarak azaldığı belirlenmiştir (dakika da 3-5 atım) (32). Ancak bu şiddetler yerine farklı değerler uygulandığında örneğin elektrik ve manyetik alan şiddetinin artırılmasının (12 kV/m, 0.03 mT), azaltılmasının (6 kV/m, 0.01 mT) ya da sadece EA (10 kV/m) uygulamasının kardiyak fonksiyonlarda herhangi bir değişikliğe neden olmadığı görülmüştür (33-35).

Çok düşük frekanslı alanların en önemli etkilerinden biri de kanser oluşumuna neden olmasıdır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, üretim istasyonlarında çalışanların, güç hattını onaran işçilerin, elektrikçilerin, kaynakçıların ve elektrikli tren sürücülerinin akut lenfoblastik olmayan ve akut myeloid lösemiye yakalanma olasılığının ve beyin de tümör oluşma riskinin arttığı gösterilmiştir (36-38). Bununla birlikte, bu işçilerin lösemiye yakalanma riskinin önemli derecede arttığını gösteren bulgulara rağmen riskin olmadığını belirten çalışmalarda bulunmaktadır (39, 40). Yapılan bir çalışmada, çocukların ve hamilelik dönemi boyunca kadınların elektrikli battaniye, saç kurutucusu gibi cihazları kullanmasıyla lösemiye yakalanma riski arasında bir ilişki bulunmuştur (41). Bunlara ilaveten, bir diğer çalışmada televizyon izleyen çocukların lösemi olma olasılığının 1.5'ten 2.4'e çıktığı bildirilmiştir (42). Araştırmaların sonuçları karşılaştırıldığında, manyetik alana göre elektrik alanın lösemi için daha büyük bir risk faktörü olduğu belirlenmiştir (43).

Çok düşük frekanslı alanların bir başka etkisi de, işitsel ya da görsel uyarıya cevap olarak ortaya çıkan uyarılma potansiyellerinin genliklerini veya latenslerini değiştirmesidir. Olaya ilişkin potansiyellerin geç ortaya çıkan bileşenlerinden biri olan P300 bileşeninin; 60 Hz 6 kV/m şiddetinde elektrik ve 10 µT şiddetinde manyetik alanların birlikte uygulanması durumunda latensinin, alan şiddetinin 9 kV/m ve 20 µT olduğu durumda ise latensinin ve genliğinin arttığı bulunmuştur (44, 45). Diğer yandan, elektrik ve manyetik alanların (5 mT, 12 kV/m) işitsel beyin sapı, görsel, işitsel ve somatosensöryel uyarılma potansiyellerinde herhangi bir değişiklik oluşturmadığı gözlenmekle birlikte (46-48), yüksek şiddette (60 mT) uygulanan

manyetik alanın görsellerde önemli değişikliklere neden olduğu saptanmıştır (48, 49).

2.1.4.5. Üreme Üzerine Etkileri

Elektrik ve manyetik alanlar üreme sürecini etkileyebilir. Bu alanda yapılan epidomiyolojik çalışmalarda, laboratuvar deneylerinde farklı sonuçlar elde edilmiştir (50, 51). 60 Hz EA'ya maruz bırakılan sıçanlarda üreme, büyüme ve gelişimin değerlendirildiği çalışmada; EA maruz bırakılan gruplar kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında, yavru sayıları ve yavru ölümleri arasında farkın olmadığı, maruziyet gruplarında laktasyon süresince kilo kaybının meydana geldiği, maruziyet grubundaki erkek yavruların daha az kilo aldığı tespit edilmiştir. Aynı çalışmada dişi sıçanlar EA maruz kalan ve kalmayan erkek sıçanlarla çiftleştirilmişlerdir. Gebeliğin 20. günü sakrifiye edilen hayvanlarda uterus içeriği değerlendirilmiştir. Doğurganlık ve gebelik süresince kilo kazanımının elektrik alan ile etkilenmediği, gruplar arasında malformasyonun anlamlı olmadığı, hiçbir gelişimsel toksitenin tespit edilmemesine rağmen, anne hayvanlarda kulak girişinde pas renginde değişimlerin meydana geldiği tespit edilmiştir (52, 53). Rommereim ve arkadaşları yaptıkları farklı bir çalışmada sıçanlara günde 19 saat EA uygulayarak kronik maruziyetin üreme üzerine etkilerine bakmışlardır. Yavrularda gruplar arasında fiziksel bir farklılık bulunamamıştır (54).

FHS, LH ve testosteron hormonları üreme fonksiyonunu sürdüren hormonlardır. 30 gün boyunca 60 Hz EA'ya maruz bırakılan erkek sıçanlarda vücut ağırlığı, plazma FSH ve LH hormonları seviyelerinde gruplar arasında fark görülmezken plazma testosteron seviyelerinin azaldığı tespit edilmiştir (55).

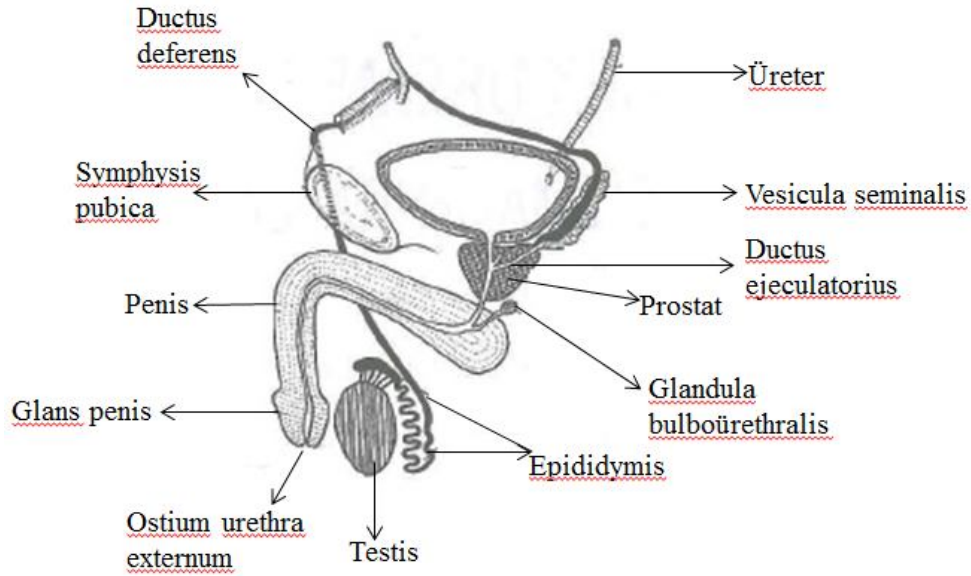
Margonato ve arkadaşları 3 yıl boyunca 240 erkek sıçana 50 Hz EA uygulamışlar, EA'nın hayvanlar üzerinde; vücut ağırlıklarına, kan değerlerine, LH, FSH ve testosteronun plazma seviyelerine, karaciğer, testis, mesenterik lenf nodlarına etkilerini araştırmışlardır. Deney sonunda tüm değerlerde anlamlı bir fark bulunamamıştır (56).

Yapılan farklı bir çalışmada ise, Sprague-Dawley sıçanlar 60 Hz, 80 kV/m yoğunlukta EA'na maruz bırakılmış üreme, prenatal ve postnatal durumları değerlendirilmiştir. 305 dişi, 213 gebe ve 2683 yenidoğan sıçan; doğurganlık, verimlilik, hayatta kalma, yavruların cinsiyet oranı, büyüme malformasyonları açısından değerlendirilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (57).

Diğer bir açışmada, gebelik süresince sürekli olarak 60 Hz yatay ve dikey EA'ya maruz bırakılan 3 nesil fare üzerindeki biyokimyasal etkiler incelenmiştir. Dikey ekseninde EA'ya maruz bırakılan özellikle 3. nesil farelerde vücut ağırlığında azalma, ölüm oranında artış tespit edilmiştir. Vücut ağırlığındaki azalma yatay ekseninde EA uygulanan 2. nesil farelerde daha fazla görülmüştür (58).

2.2. Erkek Üreme Sistemi

Erkek üreme sistemi; testis, epididim, duktus deferens, duktus ejakulatorius ve genital eklenti bezleri olan vesicula seminalis, prostat ve bulboüretral bezden meydana gelir (59).



Şekil 4. Erkek Üreme Sistemi (59)

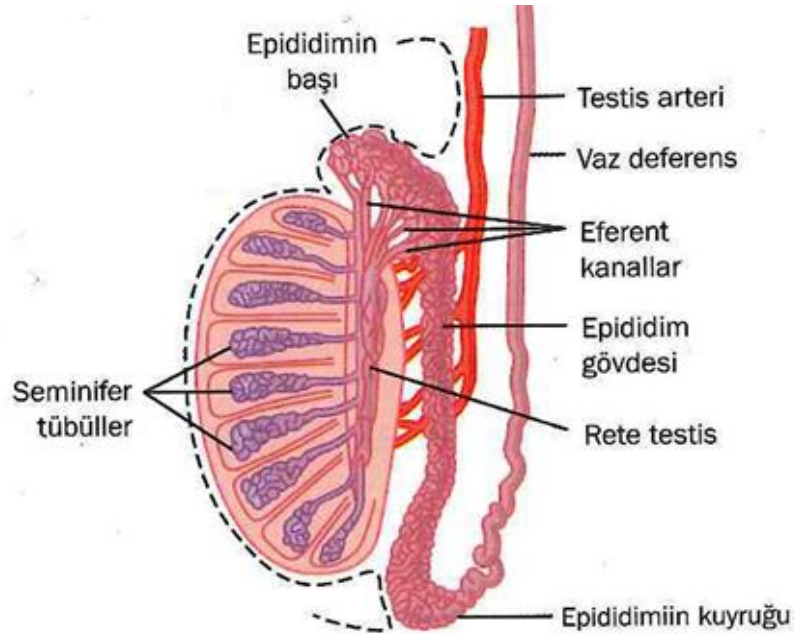
2.2.1. Erkek Üreme Organlarının Fizyolojik Anatomisi

Erkek cinsiyet hücresi olan sperm seminifer tübüllerde oluşur. Seminifer tübüller mediastinum testise uzanarak bir kanalcık ağı olan rete testisi oluşturur.

Daha sonra seminifer túbüller 10-20 adet efferent testis halinde testisi terk ederek epididime gelir. Sperm bu kanallar aracılığıyla epididime iletilir. Duktus deferens 40-50 cm uzunluğunda olan testisin arka kenarı boyunca yukarıya doğru uzanan bir kanaldır. Duktus deferens inguinal kanalı geçerek karın pelvis boşluğuna girer mesanenin arka tabanından prostat bezi tabanına doğru ilerler. Duktus ejakulatoriusu oluşturmadan önce genişler bu bölgeye ampulla denir. Burada vesicula seminalisten gelen kanalla birleşerek duktus ejakulatoriusu oluşturur. Ejakülatör kanallar daha sonra prostat içine girer ve mesaneden gelen prostatik üretraya açılır. Sperm, prostat, vesicula seminalis ve bulboüretal bezlerden gelen salgularla birlikte penil üretradan dış ortama atılır (Şekil 4) (59, 60).

2.2.1.1. Testis

Testisler skrotum adı verilen torba şeklindeki dokunun içinde, vücut boşluğunun dışında yer alır. Oval şeklinde yanlardan basık, herbiri 2.5x3x5 boyutlarında 10-15 gr ağırlığında erkek üreme hücresi olan spermatozoonlar ile erkek seks hormonları olan androjenleri üretir. Testisin anatomik yapısı şekil 5’de görülmektedir (59, 60).



Şekil 5. Testisin Anatomik Yapısı (61)

2.2.1.2. Epididim

Epididim her bir testisin arka üst bölümü üzerine yerleşmiş 5-6 cm uzunluğunda kesintisiz şekilde kıvrılmış bir kanaldır. Epididim, kaput, korpus ve kauda olmak üzere üç bölümde incelenir. Epididimin; spermatozoanın taşınması, olgunlaşması ve depolanması olmak üzere üç fonksiyonu vardır.

Epididimde bekleyen spermler yaklaşık 40 cm uzunluğundaki ductus deferense geçer, buradan ejakülatör kanala açılarak, erkek orgazmı sırasında genital bezlerden gelen sıvı ile karışarak penis ucundan dışarı atılır (59, 60).

2.2.1.3. Prostat ve Vesicula Seminalisler

Prostat ve vesicula seminalisler, spermin hareket ve fertilize etme yeteneğinin kazanmasında görev alır. Prostat mesanenin hemen altında bulunur. Erişkin bir insanda 8-20 gram ağırlığında 4x2x3 cm boyutlarındadır. Bezin ortasından prostatik üretra geçer. Salınımı testosteron tarafından kontrol edilen alkalik bir sıvı salgılar. Bu özellik ovumun döllemesinde önemlidir.

Vesicula seminalisler, mesanenin tabanı ile rektum arasında, pelvik fasyada gömülü olarak yer alan bir çift bezdir. Her bir vesicula seminalis 5-7 cm uzunluğunda, 2-2.5 cm genişliğindedir. Her bir bezin kanalı duktus deferns ile birleşerek ejakülatör kanalı oluşturur. Vesicula seminalisler mukoid bir sıvı salgılar, sıvı semenin %60'ını oluşturur. Bu sıvı spermin beslenmesini sağlar (59, 60).

2.2.2. Spermatogenez

Sperm üretimi testis içinde seminifer tübülde gerçekleşir. Seminifer tübüllerin etrafını germ hücreleri ve sertoli hücreleri döşer. Germ hücreleri sperm yapımından sorumludur. Sertoli hücreleri ise germ hücrelerine destek fonksiyonu sağlar. Bir germ hücresinden olgun bir spermin meydana gelmesi ortalama 72 günde gerçekleşir. Germ hücrelerinin çeşitli aşamalardan geçtikten sonra sperm haline gelmesi spermatogenez olarak adlandırılır. Gelişim aşamalarında hücreler sırasıyla spermatogonyum, primer spermatosit, sekonder spermatosit, spermatid ve sperm adını alır (60-62).

Spermatogenez üç aşamada gerçekleşir.

1. Spermatositogenez
2. Mayoz Bölünme
3. Spermioyogenez

2.2.2.1. Spermatositogenez

Seminifer tübüllerde bulunan spermatogonyumlar 46 kromozomlu hücrelerdir. Seminifer tübülün bazal membranına yakın bulunurlar. Bazal membrana temas edenlere spermatogonyum A denir. Spermatositogenez'de spermatogonium A'lar bir dizi mitoz bölünme gerçekleştirirler ve sürekli spermatogonyum A'ları oluştururlar. Bu bölünmenin sonucunda oluşan spermatogonium A'ların bir kısmı mitoz bölünme göstererek spermatogonyum B'leri oluşturur. Oluşan spermatogonyum B'ler mitoz bölünme ile primer spermatositi meydana getirirler. Spermatogonyum B'ye dönüşemeyen spermatogonyum A'lar kök hücre olarak kalır. Spermatositogenez burada tamamlanır (60-62).

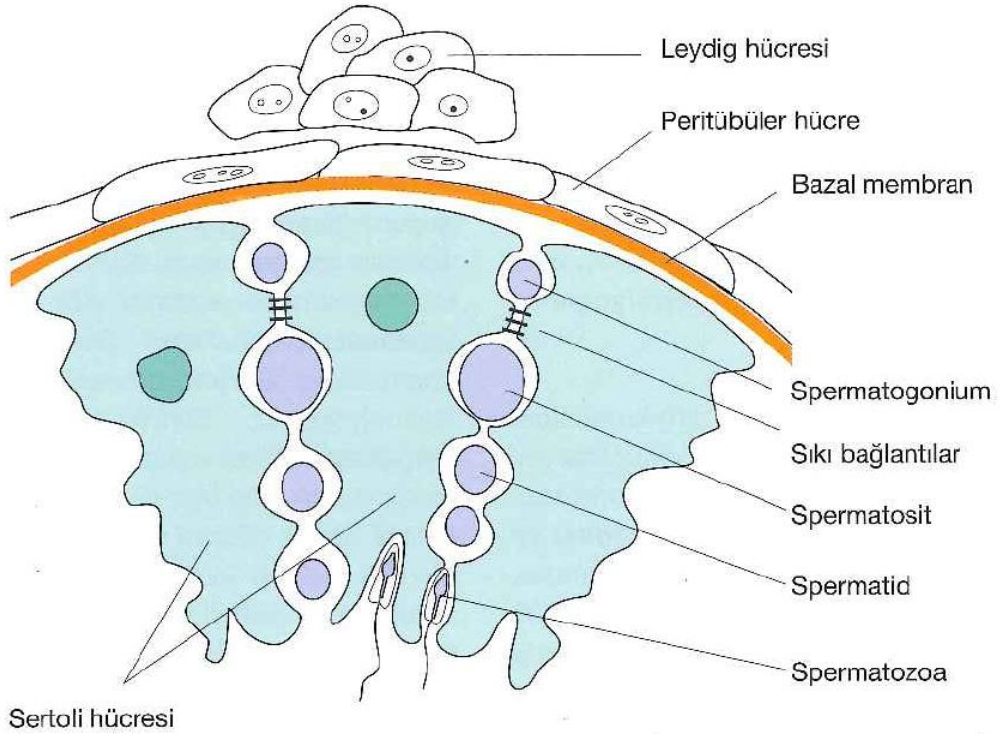
2.2.2.2. Mayoz Bölünme

Primer spermatositler hücre siklusunun S fazında DNA içeriklerini iki katına çıkarır ve I. mayoz bölünmeye girer. Primer spermatositler mayozun ilk bölünme evresi olan profaza girer ve bu evrede 20 gün kalır. Bu olay seminifer tübülün bazal bölümünde gerçekleşir. I. mayozun sonunda her bir primer spermatosit bölünerek 2 sekonder spermatosit oluşturur. Kromozom sayısı I. mayozun başında diploid (2n) iken I. mayozun sonunda haploid (1n) olur. Her bir sekonder spermatositte 23 kromozom vardır.

Sonraki aşamada II. mayoz bölünme gerçekleşir. Her bir sekonder spermatositler tekrar bölünerek 23 kromozom içeren spermatid adı verilen iki hücre oluşturur. II. mayoz bölünmede kromozom sayısı değişmez ancak DNA sayısı yarıya iner. Sonuçta spermatogonyum genlerinden yarısını taşıyan 23 kromozomlu spermatidler oluşur. Bu olay luminal tabakada gerçekleşir. Mayoz bölünme süreci uzun zaman alır. Erkeklerde mayoz bölünme, ikisi X kromozomu ve diğer ikisi Y kromozomu içeren 4 adet spermatid oluşumu ile sonuçlanır (60-62).

2.2.2.3. Spermiyogenez

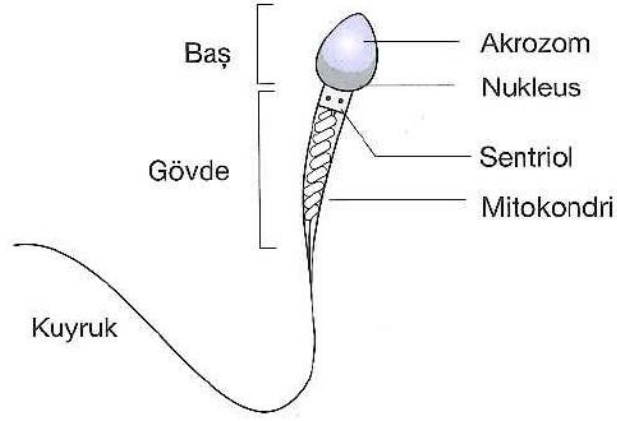
Spermatidden olgun sperm oluşumuna kadar geçen süreç spermiyogenez olarak adlandırılır. Spermiyogenez uzun bir süreçtir ve sertoli hücresi sitoplazmasında gerçekleşir. Yeni oluşan spermatositler sertoli hücresi içine girer burada bir dizi gelişim evresi geçirir. Sertoli hücresi spermatidleri besler ve yavaş yavaş sperm hücresine dönüştürür. Spermatidlerin önce sitoplazmaları büzülür ve sitoplazmalarının bir kısmını kaybederler. Daha sonra akrozom (baş) ve kuyruk oluşur ve sonuçta olgun sperm meydana gelir. Sperm daha sonra seminifer tübüllerin iç boşluğuna atılır. Ancak bunların hareket ve döllenme yetenekleri yoktur. Hareket yeteneklerini ductus epididimiste, döllenme yeteneklerini ise dişi genital kanalında kazanırlar (60-62).



Şekil 6. Seminifer Tübüllerin Yapısı ve Spermatogonyumlardan Sperm Oluşum Aşamaları (60).

2.2.3. Spermin Yapısı

Sperm baş, gövde ve kuyruktan oluşur.



Şekil 7. İnsanda Spermin Yapısı (60)

Baş kısmı nukleus, sitoplazma ve hücre membranından oluşur. Başın %40-70'ini kaplayan ön kısmına akrozom denir. Akrozom golgi aygıtından oluşur ve proteolitik enzimler içerir. Nukleus, kromatin ve nukleus membranından oluşur. Kromatini sıkıca paketlenmiştir. Bu özellik spermiuma hareketlilik sağlar. Gövde çok sayıda mitokondri içerir. Kuyruk ise spermin en uzun parçasıdır. Kuyrukta, aksonem kuyruk boyunca uzanır ve aksonemin çevresinde fibröz bir kılıf bulunur. Aksonem 11 mikrotübülden oluşur. Mikrotübüllerin kayması kuyruğun ileri geri hareketini sağlar (60, 63).

2.2.3.1. Kapasitasyon

Spermin döllenme yeteneğini kazanması kapasitasyon olarak değerlendirilir. Sperm bu yeteneğini dişi genital kanalında 4-6 saat kalarak kazanır. Kapasitasyon sırasında baskılayıcı proteinler ve spermilerin akrozom bölgesindeki glikoprotein kılıf ortamdan uzaklaştırılır. Kapasitasyonda öncelikle uterus ve fallop tüplerindeki sıvılar, sperm aktivitesini baskılayan proteinleri ortadan kaldırır. Daha sonra spermier erkek genital kanalında seminifer tübüllerden gelen ve kolesterol içeren çok sayıda vezikülle karşılaşır. Veziküllerdeki kolesterol, akrozomu çevreleyen membrana yerleşerek akrozom membranını sağlamlaştırır ve enzimlerin

serbestleşmesini engeller. Ejekülasyon sonrası vajinada toplanan spermelerde, birkaç saat içinde çok miktarda kolesterol kaybolur. Bu durum spermin baş bölgesindeki membranı zayıflatır ve enzimlerin serbestleşmesi kolaylaşır. Son olarak sperm baş bölgesi membranınin kalsiyuma karşı geçirgenliği artar. Çok miktarda kalsiyumun sperme girişi kuyruk hareketini arttırır. Kalsiyum aynı zamanda akrozomdaki enzimlerin hızlı ve kolay serbestleşmesini sağlar (60, 61).

2.2.4. Spermatogenezi Uyarıcı Hormonlar

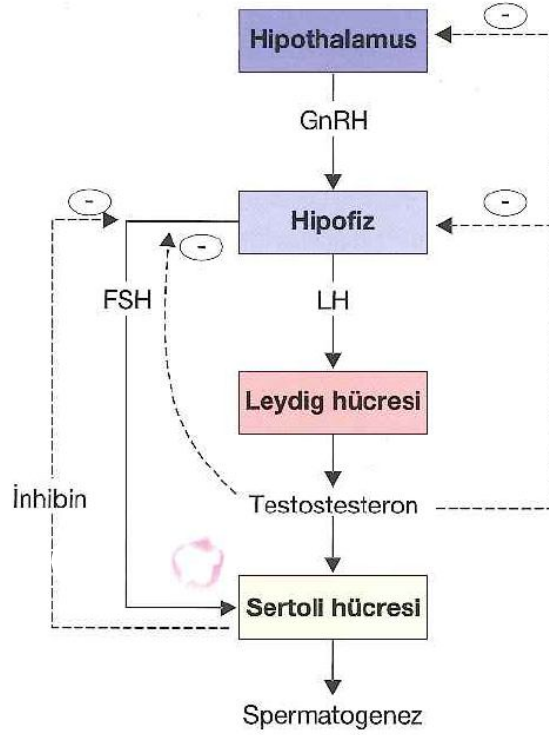
Spermatogenezi uyarıcı hormonlar testosteron, LH, FSH, E2 ve GH'dur. Testosteron, testiste Leydig hücrelerinden salgılanır. Germinal hücrelerin büyüme ve bölünmesi için gereklidir. Spermin gelişimini sağlar. LH, ön hipofizden salgılanır. Leydig hücrelerinden testosteron salgılanmasını uyarır. FSH, ön hipofizden salgılanır. Sertoli hücrelerini uyarır ve spermatidlerin sperme dönüşümünü sağlar. E2, spermin olgunlaşmasında rol oynar. GH, testislerin büyümesini kontrol eder ve spermatogonyumların bölünmesini hızlandırır (62, 64).

2.2.5. Testis Fonksiyonlarının Düzenlenmesi

Testis fonksiyonları hipotalamus ve hipofiz bezinden salgılanan hormonlar tarafından düzenlenir. Hipotalamustan salgılanan gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH) ön hipofizden LH ve FSH salgılanmasına neden olur. GnRH pulsatil olarak hipotalamusun arkuat çekirdeğinden salgılanır. GnRH hipotalamo-hipofizeal portal sistem yoluyla ön hipofize taşınır. GnRH ön hipofizden LH ve FSH salgılanmasına neden olur.

LH Leydig hücrelerinde bulunan reseptöre bağlanarak testosteron yapımını uyarır. Testosteron Leydig hücrelerinde kolesterolden sentezlenir. Salgılanan testosteron miktarı LH miktarı ile doğru orantılıdır. Testosteron intertisyel aralıktan seminifer tübüllere geçer ve sertoli hücrelerine parakrin hormon olarak etki eder. Ön hipofizden salgılanan FSH'nin testisin endokrin fonksiyonları üzerine bir etkisi yoktur. Artan testosteron yoğunluğu spermatogenezi hızlandırır. Spermatogenezin başlaması için testosteron ve FSH birlikte gereklidir. GnRH, LH, FSH salgısı

testosteron tarafından negatif geribildirim ile düzenlenmesi şekil 8’de görülmektedir (60-62).



Şekil 8. Testis Fonksiyonlarının Nöroendokrin Kontrolü (60)

2.2.6. Sperm DNA Hasarları

Birçok genotoksik faktörler sperm DNA’sında değişik düzeyde hasarlar meydana getirebilir. Sonuçta spermatozoadaki DNA hasarları fertilitenin bozulmasına neden olabilir (65, 66). DNA’da meydana gelen hasarlar; kromatin yapısının bozulması (67), kromatin yapısındaki anomaliler ve bazılarının kimyasal yapılarının bozulmasıdır (68). Ayrıca sigara gibi kanserojen kaynaklar insan sperm DNA’sında kırılmalara ve kromatin yapılarında bozulmalara neden olabilir (69). Pek çok çalışmada mevcut DNA kırıkları gösterilmekle birlikte mekanizma tam olarak açıklanamamıştır. DNA hasarının oluşumu spermatozoadaki apoptotik süreçle doğrudan bağlantılı olmayıp hücrenin yeniden şekillenme sürecine bağlıdır. Spermatozoadaki apoptotik proteinlerin bulunması spermatogenez aşamalarında sitoplazmik şekillenme defektlerine neden olabilir (70). Anormal kromatin organizasyonu infertil erkeklerde, fertil erkeklere göre daha sık görülmektedir.

Sperm kromatin hasarının belirlenmesinde DNA kromatin olgunlaşması/DNA bütünlüğüne bakılmaktadır. İnfertil erkeklerde sperm anomalileri, kötü paketlenen DNA, artan DNA zincir kırıkları ve asitle indüklenen DNA denatürasyonuna olan duyarlılık fertil erkeklerin spermatozoonlarında daha fazladır (71, 72).

2.2.6.1. Spermatozoon DNA Hasarı ve Erkek İnfertilitesi

Spermatozoon DNA hasarlarının infertilitedeki önemi çok sayıda in vitro ve in vivo çalışmada gösterilmiştir. Geleneksel olarak erkek infertilitesinin teşhisinde sperm kalitesinin mikroskopik olarak değerlendirilmesine ve biyokimyasal tahlillere güvenilir. Bu parametreler infertilite teşhisinde aslında başlangıçtır. Sperm sağlığı ile ilgili ileri testlerden biri DNA integrite saptama testidir. DNA hasarı ve sperm kromatininde anormallikler; kromatin paketlenmesi, apoptozisinde bozukluk ve oksidatif stres sonucu oluşabilir. Yüksek düzeyde reaktif oksijen radikallerinin; infertil erkeklerde görülen tek ve ya çift sarmallı DNA fragmantasyonuna neden olduğu söylenmektedir. Reaktif oksijen radikallerinin artması sperm deformatelerinin olduğunu gösterir. Oksidatif stres, astenozoospermi, azoospermi, kanser tedavileri gibi predispozan faktörler infertiliteye neden olabilir. Ayrıca sperm DNA hasarı, sigara içimi ve semen örneklerinin hazırlanması işlemi sırasında da oluşabilir. Spermilerin % 30'undan fazlasında DNA hasarı var ise fekundite (doğurganlık) azalır. Özellikle intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) gibi yardımcı üreme tekniklerinde DNA fragmantasyonlu spermatozoon ile oositin fertilize olma riski yüksektir (73, 74).

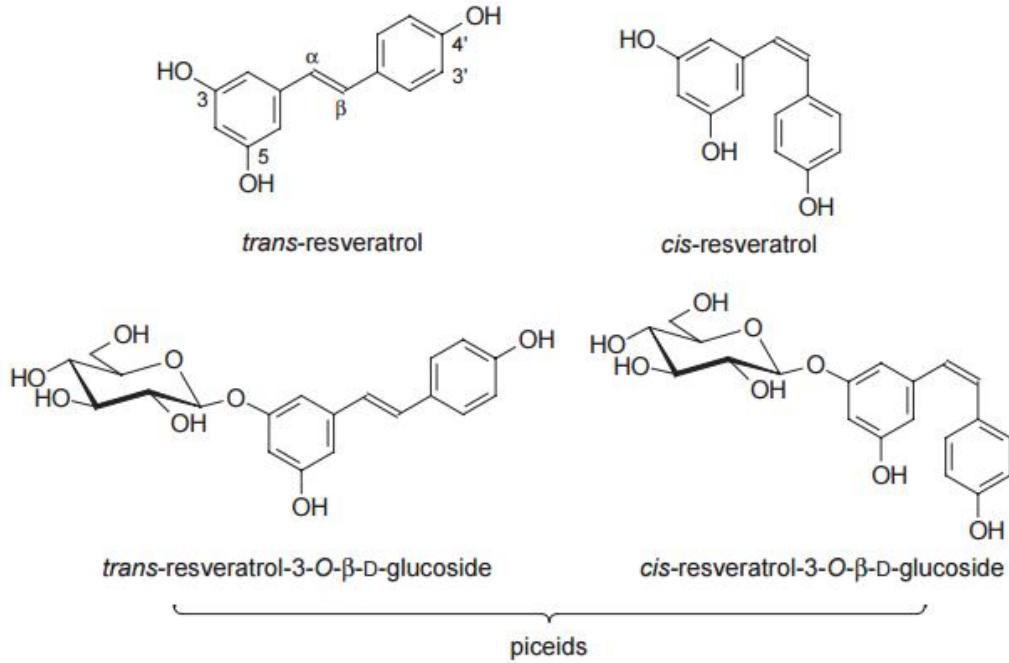
2.3. Resveratrol

Resveratrol (3, 5, 4'- trans- trihidroksistilben), doğada başta üzüm olmak üzere pek çok farklı bitkide bulunan doğal non-flavonoid yapıda polifenolik bir fitoaleksindir. Antioksidan özelliği güçlü bir bileşiktir. Bazı bitkilerde, fungal enfeksiyona (*Botrytis cinerea*), travmatik zedelenmeye ve ultraviyole ışığına etkin kalınmaya yani biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı yanıt olarak sentezlenir. Üzüm, kırmızı üzüm, kırmızı şarap en iyi bilinen kaynaklarıdır. Ayrıca yerfıstığı,

yabanmersini, kızılcık, sarıçam, asma yaprağı, zambak, baklagiller, okaliptüs, ananas gibi bitkiler ve meyvelerin sap ve köklerinde bulunur (75-78).

Resveratrol, polifenol antioksidan ailesinin stilbenler alt grubunda yer alır. Kimyasal yapısı içerisinde altıgen aromatik halkalar ve hidroksil grupları (OH) kapsar. Resveratrol ve türevleri polifenoller sınıfının en önemli grubudur. Molekül formülü: $C_{14}H_{12}O_3$ ve mol ağırlığı 228.25g/mol'dur. Resveratrol stilben fitoaleksilerinin en aktif bileşiğidir (79-81).

Ultraviyole spektral özelliklerine göre resveratrolün cis- ve trans- olarak iki izomeri bulunur. Yüksek pH ve ultraviyole ışık trans formundan cis'e dönüşüme neden olurken; düşük pH, yüksek ısı ve gün ışığı cis formundan transa dönüşüme neden olur. Bitkilerde çoğunlukla trans izomerinin bulunması ve ışıktan korunduğu sürece trans-resveratrolün stabil formda olması nedeniyle bütün araştırmalar trans izomeri üzerine yoğunlaşmıştır. Bitkilerde polifenoller genelde glikozit yapısındadır. Özellikle kırmızı şarapta resveratrolün 3- O- β - D glikozit şekli 'piseid' olarak da adlandırılır. İzomerleride trans- piseid ve cis- piseid'dir (82-85).



Şekil 9. Trans- ve Cis-resveratrolün Piseid Formları (80)

Trans izomeri fıstık, üzüm, böğürtlen ve kurutulmuş *polygnum cuspidatum* kökü gibi oldukça fazla bitkide bulunurken, cis ve trans resveratrol, *polygnum*

cuspidatum bitkisinde vardır (86). Şarapta da cis ve trans resveratrol izomerlerinin ikisi de bulunmuştur. Ancak cis resveratrolün düzeyi trans şekline karşın düşük düzeydedir. Yapılan çalışmalar cis ve trans resveratrolün izomerizasyon işleminde ya da üzüm kabuğunun fermantasyonu sürecinde polimerlerinin parçalanması sonucu oluştuğunu belirtmiştir (85, 87, 88).

Resveratrol ilk kez 1930' lu yılların başlarında tespit edilmiştir. 1940 yılında Dr. Michio Takaoka tarafından beyaz helleborus bitkisinin köklerindeki bir bileşik olarak tanımlanmıştır (89). Daha sonra Çin ve Japonya'da Ko- jo- kon olarak bilinen, olygonum cuspidatu bitkisinin kurutulmuş köklerinde bulunmuştur. 1976 yılında ise ilk kez asmada (Vitis vinifera) üzüm yaprağı ve üzüm tanelerinin etli kısmını saran kabuğunda, bir fitoaleksinin olarak bulunmuştur. Resveratrolün şarapta olduğu ve kalp koruyucu etkisi ilk kez 1992 yılında saptanmıştır (90-93).

Epidemiyolojik çalışmalarda, Güney Fransa' da doymuş yağ oranı yüksek diyet ve sigara kullanımının fazla olması ile birlikte yüksek miktarda alkol ve şarap tüketimine karşın, koroner kalp- damar hastalıklarına yakalanma ve ölüm oranı düşüktür. Yaşa ve cinsiyete bağlı olarak, orta düzeyde şarap tüketiminin kardiyovasküler sistem üzerinde koruyucu etkilerinin olduğu belirtilen bu olgu 'Fransız Paradoksu' olarak adlandırılır (94, 95).

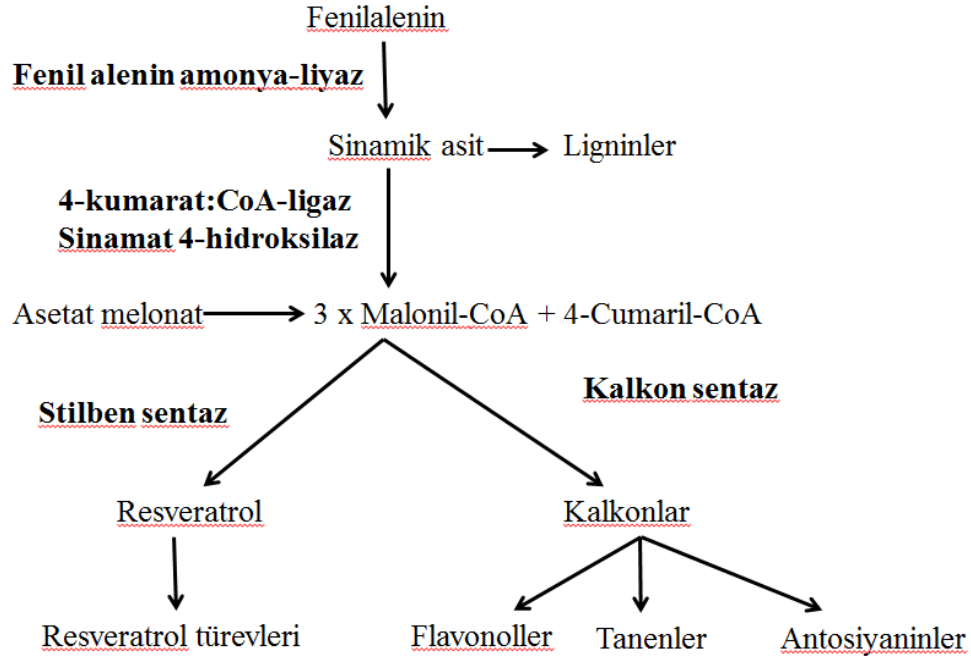
Şarap içinde çok sayıda bileşen olmasına rağmen, antioksidan özelliği ile tanınan polifenoller, özellikle kalp- damar hastalıkları ile ilgili tedavi edici etkileriyle dikkat çekerler (96-98).

2.3.1. Resveratrol Farmakolojisi

2.3.1.1. Resveratrol Sentezi

Resveratrol, stres, travma, enfeksiyon ya da ultraviyole ışığına maruz kalma sonucunda 4- kumarol koenzim A (4- kumarol-CoA) ve malonil koenzim A (malonil CoA)' den sentezlenir. Resveratrol sentezi bir amino grubunun fenilalanin amonia liyaz enzimi ile katalize edilmesi ile başlar. 1 molekül 4- kumarol- CoA ve 3 molekül malonil- CoA, tetraketid yapısını oluştururlar. Bu aşamadan sonra oluşan ürünün

flavonoid ya da resveratrol olacağı ortamdaki enzim türüne bağlıdır. Ortamdaki stilben sentaz enzimi resveratrol biyosentezini (92, 99, 100).



Şekil 10. Fitoaleksinlerin Biyosentez Yolağı (101).

2.3.1.2. Resveratrol Emilimi

Resveratrolün biyoyararlanım çalışmalarında, trans resveratrolün % 50'si ağız yoluyla verildikten 10-15 dakika sonra büyük miktarı jejunumdan, az miktarı ise ileumdan emilir. Bazolateral kısma geçen resveratrolün çoğu karaciğer ve bağırsakta glukuronit ve sülfat formlarına konjuge edilerek metabolize olur. Perfüze edilen resveratrolün ve kojugatlarının sadece % 6'sı bağırsak epitelini geçer (80, 102).

Yapılan bir çalışmada 20 mg/ kg dozda resveratrol uygulanan sıçanlardan 12-24 saat sonra toplanan idrar örneğine LC-MS- MS ve HPLC analizleri yapılmış ve resveratrol metabolitlerine bakılmıştır. Elde edilen bulgulara göre resveratrolün esas metabolitleri res- monoglukuronit, dihidroresveratrol, dihidroresveratrol monosülfat ve resveratrol monosülfat'tır (103). Bağırsak hücreleri sadece glikozile olmayan flavonoidleri emdiği için, emilim sürecinde glikozidazlar gerekir. Bu nedenle glikozit formların flavonoidlerin emilimini güçleştirdiği düşünülür. Resveratrolün biyoyararlanımı temel olarak karaciğerde, az miktarda da bağırsaklarda olur (80, 104-106).

2.3.1.3. Resveratrolün Dokulara Taşınması

Resveratrolün konjuge duruma dönüşmesi kana geçişini, vücutta dağılımını ve atılımını kolaylaştırır. Resveratrol ve metabolitleri karaciğer ve safra kesesince kandan süzülerek safra ve bağırsaklara geçer daha sonra emilir. Kan yoluyla çeşitli organlara taşınır (107, 108).

2.3.1.4. Resveratrolün Atılımı

Plazmada bulunan resveratrolün bir kısmı dışkı ile bir kısmı da böbrek yoluyla atılır. Resveratrolün alımından itibaren bir saat içinde böbreklerden atılım başlar ve 12-24 saat içinde devam eder. Glikozile olmayan resveratrol idrarda çok az miktarda bulunur. Böbrekte normal şekli bulunurken, idrarda konjuge şekli bulunur (80).

2.3.2. Resveratrolün Biyolojik Etkileri

2.3.2.1. Antioksidan Etki

Vitaminler ve polifenoller gibi doğal bir antioksidan olan resveratrol, serbest radikallerle ilişkilendirilen hastalıkların önlenmesinde önemli rol oynar. Resveratrol, OH radikallerince yapılan sitokrom C oksidasyon miktarını azaltır. Biyolojik sistemlerde bulunan hücre içi antioksidan miktarlarını hasar durumunda da korur. Resveratrol ayrıca, akarotenin etanol çözeltisinde bulunan OH radikallerini süpürmede oldukça etkilidir. Lipopolisakkaritler (LPS) ya da farbol esterlerince (PMA) uyarılan makrofajların ürettiği O_2^- ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi süperoksit ve hidrojen peroksit radikallerinin üzerinde resveratrolün güçlü engelleyici etkisi olduğu gibi bu süperoksit radikallerine etkin kalma ile LPS ve PMA' larca uyarılan [3H]-araşidonik asit üretimini de önemli ölçüde azaltır (109). Miura ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada karaciğer mikrozomlarında resveratrolün antioksidan etkisi değerlendirilmiştir. Çalışmada, resveratrolün mikrozomlardaki demir ya da morötesi ışın uyarımı ile oluşan lipid peroksidasyonunu önlediği ve bakır ile oluşan, düşük yoğunlukta lipoprotein (LDL) oksidasyonunu baskıladığı belirtilmiştir (110).

Birçok bileşik, aromatik grupları nedeniyle rezonans yapıları üzerinden kararlı radikaller oluşturma esası ile antioksidan olarak işlev yapabilirler. Resveratrolün iki aromatik grubu vardır ve bunların E vitamini, C vitamini ve propil gallata göre daha yüksek OH radikal süpürücü gücü vardır. Oksidatif stresin neden olduğu aşırı hasar, hücreleri apopitozis için uyarabilir. Yapılan bir çalışmada, resveratrolün bu dokularda oluşan oksidatif uyarımlı apopitozisi baskıladığı ifade edilmiştir (111).

2.3.2.2. Antitümör Etki

Birçok çalışma, resveratrolün çeşitli tipte kanser ve tümör oluşumunda koruyucu etkisi olduğunu, kanserin oluşumu, ilerleme ve yayılma aşamalarını engellediğini göstermiştir (112-118). Resveratrol kanser ve tümör üzerindeki etkilerini çeşitli düzenekler aracılığıyla gerçekleştirir. Bunlar; Faz- I ve Faz- II enzimlerinin, nitrik oksit sentazın, siklooksijenazın düzenlenimi ve kanser hücrelerinde büyümeyi durdurma ve apopitozisi uyarmadır (116, 119, 120).

Resveratrolün tümör hücrelerinde büyümeyi durdurup apopitozisi başlattığı mekanizmanın temeli hücre döngüsünün duraklatılmasına neden olan gen ürününün ve hücreyi apopitozise götüren p53 ve p21 genlerinin aktive edilmesine bağlıdır. Hücre çoğalmasında etkin olan nükleer faktör-kB (NF- kB) ve aktivatör protein-1 (AP- 1)' in baskılanmasına, ayrıca Apaf- 1 gibi apopitozise götüren yolların etkin duruma getirilmesine dayanır (111, 121).

2.3.2.3. Kardiyojenik Etki

Resveratrolün kardiyovasküler sistem üzerine etki mekanizmaları ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Ancak resveratrolün etkileri tam olarak aydınlatılamamıştır. Resveratrolün kalp fonksiyonlarını koruma üzerine en çok kabul edilen mekanizma trombosit agregasyonu inhibisyonudur (122). Trombositler kemik iliğinde üretilir ve birkaç mekanizma ile uyarılır. Damar zedelenmesinde morfolojisi değişerek pıhtılaşma sürecini başlatır. Aşırı agregasyon kardiyovasküler hastalıkların gelişimine sebep olabilir. Resveratrol tedavisi ile trombositlerin aşırı

agregasyonu önlenabilir inflamasyon sürecinde kan trombositlerinin reaktivitesi değişebilir (123).

Resveratrol hipertansiyon tedavisinde etkili olabilir. Endotel hücrelerinin damar düz kaslarının kasılma gevşemesindeki rolü ve endotelden salınan nitrik oksit (NO) etkileri belirlenmiştir. Resveratrol NO'ye ek olarak GMP yolağına etki ederek GMP artışına neden olur ve bu etki sadece aortta değil; akciğer, karaciğer, böbrek, adrenal bezler, trakea, timus ve iskelet kasında da gözlenir. Benzer bir çalışma resveratrolün NO aracılı ve aracılı olmayan düzeneklerle etki ettiğini göstermiştir. Endotel hücrelerinde eNOS aracılığı ile oluşan NO, birçok patolojik ve biyolojik olaydan sorumludur (124).

eNOS, iNOS sitokin uyarımlı bir enzimdir. eNOS izoformu kalp yetmezliği sırasında dolaşım işlevinde önemli rol oynar. MI sonrası iNOS izoformunun hemodinamikte önemli rolü vardır. iNOS büyük arterlerde arteriyal hemodinamiği ayarlar, eNOS periferik damarların direncini düzenler. Birçok deneysel çalışma, eNOS ya da eksojen NO'nun farmakolojik miktarlarından düşük düzeyde üretilen NO'nun apoptotik hücre ölümünü azalttığını göstermiştir (125). Bazı çalışmalar resveratrolün kalpteki etkisini NO bağımlı gerçekleştiğini ve NO etkisinin doğrudan olduğunu belirtmektedir. İnsan umbilikal ven endotel hücrelerinde resveratrolün eNOS ifadesini uyarması, resveratrolün eNOS ve iNOS ifadelerini arttırabileceğini kanıtlar niteliktedir (126).

Resveratrolün diğer bir rolü de LDL oksidasyonunu önlemedir. LDL oksidasyonu arterlerde yağ birikimine ve ateroskleroza neden olabilir. Resveratrol damar içinde sinyal iletimine hücrel gen ekspirasyonu, proliferasyonu ve farklılaşmayı etkileyen yollar oluşturur (127, 128).

Ateroskleroza endotel işlevleri bozulur, NO salınımı azalır ve ET- 1 oluşumu ile salınımı artar. İnsan aorta düz kas hücrelerinde resveratrol, endotelin mRNA'sı ve proteininde oluşan artışı anlamlı olarak baskılar. İnsan göbek venlerinde bulunan endotel hücrelerinde resveratrolün fibrinolitik protein etkinliğine olan etkisi incelendiğinde; resveratrol antijen ve mRNA düzeylerini arttırıcı etki yapar. Böylece

resveratrolün fibrinolitik protein düzeyini artırarak fibrinolitik etkinliği artırdığı ve bu yol ile koroner kalp hastalıklarında koruyucu etkisi olduğu belirtilmektedir (129).

2.3.2.4. Trombosit Agregasyonu Önleyici Etki

Trombositler damar endotelinde oluşan bir hasarın normal iyileşme sürecinde, kanın akışkanlığını değiştirmeden hasar bölgesinde tıkaç işlevi gören kan hücreleridir. Hasarlı damar endoteline yapışırlar. Yapıştıkları yüzeye yayılarak daha fazla trombosit birikimi ve pıhtı oluşumunu sağlarlar (130). Trombosit işlevi ve birikiminin artması ateroskleroz patogenezinde önemli risk etmenidir. Siklooksijenaz (COX) enziminin uyarımı ile araşidonik asitten, tromboksan A2 sentezlenir ve trombosit yapışması sırasında adezyon oluşumunu sağlar (131-133).

2.3.2.5. Anjiogenezis Üzerine Etkileri

Anjiogenezis yara iyileşmesinde önemli rol oynar. Damar endotelinden salınan VEGF yeni damar oluşumunu uyarır. H₂O₂ gibi radikalleri engelleyen resveratrol, büyüme faktörünü artırır ve kapiler damar gelişimini hızlandırarak yara iyileşmesinde olumlu etki gösterir (134).

Ateroskleroz, kronik enflamasyon, diyabetik retinopati, tümör büyümesi ve metastazlar gibi çoğu patolojik olguda denetimsiz damar oluşumu gerçekleşir (135). Protein kinazlar mitojenlerle etkin duruma gelerek hücrenin uyarılmasını sağlarlar. Resveratrol ise bu uyarımı baskılar. Bunun üzerinde yapılan çalışmalar aorta endoteli üzerine odaklı olup; prostat, kolon, meme ve epitel hücre kanserlerinde resveratrolün kapiler damar gelişmesini olumlu yönden etkilediğini göstermektedir (136).

2.3.2.6. Damar Genişletici Etki

Resveratrol damar genişletici etkisini endotel hücrelerindeki iyon akımı üzerine etki ederek gösterir. Vasküler endotel hücreler damar ve kas arasına yerleşir, kan ve doku arasındaki değişimi düzenleyerek kas tonusu kontrolünde önemli rol oynar. Bu hücreler voltaj bağımlı Ca⁺⁺ kanallarını açarak membranda

hiperpolarizasyon ve Ca^{++} artışına sebep olur ve sıklıkla endotelial NO sentezini aktive eder (137, 138).

Resveratrol damarlarda vazodilatasyon etkisini NO- cGMP yolağı aracılığıyla gerçekleştirir. Resveratrol ayrıca damardaki nikotinamid adenin dinükleotid/ nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADH/ NADPH) oksidaz etkinliğini baskılayarak bazal süperoksit üretiminin azalmasına neden olup NO inaktivasyonunu azaltır. Resveratrol, *in vivo*, damar düz kası genişleme yanıtını birden fazla düzeneklerle sağlar (139).

2.3.2.7. İnflamasyon Önleyici Etki

Prostaglandin'ler (PG) enflamasyonda rol alan moleküllerdir. PG aktivitesinin baskılanması resveratrolün kimyasal koruyucu ve kalbi koruyucu etkisini arttırabilir. Resveratrol insanlarda periferel kan lökositlerinde PGE2 üretimini baskılar. *In vivo* resveratrol önemli derecede sıçanlarda PGD2 seviyesinin yükselmesini azaltır. *In vitro* ve *invivo* modellerde resveratrol, inflamasyon ile uyarılan ve PG sentezini katalize eden enzim siklooksijenaz-2 (COX-2) üretimini azaltır (140, 141).

Siklooksijenaz (COX) enzimleri, enflamasyon öncesi oluşacak moleküllerin üretimi için önemlidir. Bu moleküller COX ve 5- lipooksijenaz yollarınca üretilirler ve yaygın olarak kullanılan enflamasyon önleyici ilaçlar bu moleküllerin baskılayıcıları ile hazırlanır. Resveratrol *in vivo* olarak, COX- 2 ifadesini baskılayarak enflamasyonu önler. Resveratrol, prostoglandin (PG) sentezini katalizleyen COX- 2 enzim ifadesini sinyal iletim yolları aracılığı ile baskılayarak azaltır. Prostaglandin'ler de enflamasyonda rol alan moleküllerdir. PG etkisi ile enflamatuar süreç olaylanır ve bu molekülün baskılanması, resveratrolün kimyasal koruyucu ve kalbi koruyucu etkisini arttırabilir (111, 142).

Resveratrol ayrıca tümör nekroz faktör- α (TNF- α) ve interlökin-1 β (IL- 1 β) gibi sitokinlerin enflamatuar etkinliğini de baskılar. Bir transkripsiyon etmeni olan nükleer faktör-kB (NF- kB), enflamasyon ve tümör oluşumunda yer alan genleri düzenler. Resveratrolün enflamasyon önleyici etkinliği, NF- kB etkinliğini

baskıladığı mekanizma yoluyla da gerçekleşir. Resveratrol doku faktörünün (TF) anormal ifadesini etkili biçimde baskılar ve damar hücrelerindeki sitokinleri etkili bir şekilde baskılayarak da enflamasyonu önler (111, 143)

2.3.2.8. Antimikrobiyal Etki

Yapılan çalışmalarda resveratrol'ün antimikrobiyal etki gösterdiği organizmalar; filamentous fungi, *Penicillium expansum*, *Aspergillus niger*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis* ve dermatofitlerdir. Ayrıca *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Staphylococcus aureus*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum gypseum*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae* etki göstermektedir (144-147).

2.3.2.9. Yaşlanma Karşıtı Etki

NAD bağımlı deasetilaz ailesinden olan sirtuins pek çok hücrel süreçlerde; p53 düzenleyicisi, yağ asidi metabolizması, hücre döngüsü düzenleyicisi ve yaşam süresinin uzatılmasında önemlidir. Resveratrol in vivo ve in vitro olarak SIRT2 ve SIRT1 genlerini aktive eder. Ayrıca resveratrolün üç model organizmada SIRT2 genine bağlı yolları arttırdığı gösterilmiştir (148-150).

SIRT1 geninin strese karşı direnci artırdığı buna ek olarak sıkıntı ve uyum dönemlerinin daha rahat atlatılmasını sağladıkları ortaya konulmuştur. SIRT1 geni beyaz yağ dokusuna etki eder ve hormonal değişiklikler meydana getirerek yaşlanmayı yavaşlatır. Çalışmalar resveratrolün yaşlanma karşıtı olan SIRT1 gen etkinliğini 13 kat artırdığını göstermektedir (151, 152).

2.3.2.10. Helikobakter Pylori Üzerine Etki

Helikobakter pylori, mide ve duodenumun çeşitli bölgelerine yerleşen kronik yangıya neden olarak oksijen radikallerini artırıp, DNA hasarına neden olan bir mikroorganizmadır. Yapılan çalışmalar resveratrolün bu bakterileri seçici olarak baskıladığını ortaya koymuştur (153, 154).

2.3.2.11. Antikonvülsif Etki

Status epileptikus uzun süreli nöbet ya da konvülsiyonlarla sonuçlanan, Reaktif oksijen radikalleri (ROS)'un oluşumunu tetikleyen aminoasit reseptörü uyarıcı aktivasyonu ile oluşan nörolojik bir bozukluktur. İn vivo ve in vitro çalışmalar serbest radikallerin eksitoksin artışında önemli rol oynadığını göstermektedir (155). Bu uzun süreli nöbetten ROS oluşumunu tetikleyen uyarıcı aminoasit resptörlerinin aktivasyonu sorumludur. Bu durumda daha fazla glutamat sentezlenebilir ve böylece nöron ölümlerine neden olabilir.

Bazı deneysel çalışmalar glutamat ve domoik asit gibi ajanlarla uyarılan eksitoksitoyi önlemede antioksidanların etkisini göstermektedir. Çalışmalarda lityum-pilokarpin ve kainik asit gibi ajanlarla status epileptikus oluşturularak resveratrolün koruyucu etkileri araştırılmıştır. Resveratrolün antikonvülsif ilaç olarak hareket ve nöbetleri önleme yeteneğine sahip olabileceği sonucuna varılmıştır (150, 156-158).

2.3.2.12. Nöroprotektif Etki

Astrositler beyinde yıldız şeklinde glial hücrelerdir. Enerji metabolizması, iyon homeostazisi, glutamat taşınması gibi pek çok görevi vardır. Aşırı birikimi nörodejenaratif bozukluklara neden olur. Astrosit glutamat buluşması beyinde oksidatif stres ile savaşmada temeldir. Resveratrolün nöroprotektif etkisinin antioksidan özelliğinden kaynaklandığı çalışmalarda ifade edilmektedir. Resveratrol nöroprotektif etkiyi mekanizmanın tam olarak açıklanamaması ile birlikte astrosit aktivitesine etki ederek gösterir (159).

Resveratrolün iskemik beyin hasarlarına karşı etkisi deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. Resveratrol nörodejenaratif hastalıkları tedavi etmek için ideal olan β -amiloid plak ve oksidatif stres oluşumunu geciktirerek etkisini göstermektedir (160). İnsanlar üzerinde yapılan in vitro çalışmalar oksidatif stres ve mitokondriyal disfonksiyonlar Alzheimer hastalığı dahil birçok nörodejenaratif hastalık süreçlerine sebep olabileceğini göstermektedir (161, 162).

2.3.2.13. Testis Üzerine Etkileri

Çevresel, psikolojik ve genetik gibi pek çok faktör sperm fonksiyonlarında azalma ve infertilite yapabilir. Normal sperm fonksiyonunu etkileyen faktörlerin belirlenmesi oldukça önemlidir. Oksidatif stres bu çeşitli sebepler arasında yer alır (163).

ROS sperm fonksiyonlarında önemli araçlardır. ROS anlık yada lokal maruziyetle birlikte ortamdaki ROS konsantrasyonuna bağlı olarak sperm fonksiyonları üzerine yararlı ya da zararlı olabilir. Semende ROS üretiminin fazla olması anormal spermatozoaya ve sonuçta infertiliteye neden olabilir. H_2O_2 insan spermatozoası için birincil toksik ROS ürünüdür. ROS'un düşük olması spermin yaşayabilirliğini etkilemez fakat hücre içi ATP azalması ve aksonemal proteinlerin fosforilizasyonunu azalması sıklıkla spermde hareketsizliğe sebep olabilir (164).

H_2O_2 spermatozoada lipid peroksidasyonunun temel uyarıcısıdır ve SOD ise peroksidatif hasarlarda insan spermatozoasının majör belirleyicisi olarak görev yapar. SOD etkisi ile H_2O_2 'den yapılan O^{2-} , spermatozoada oluşan önemli bir reaktif oksijen radikalidir. Spermatozoalar ayrıca, seminal plazmada elde ettikleri demir ve bakır iyonlarıyla Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidroksi radikalleri oluştururlar. H_2O_2 insan spermatozoası için O^{2-} 'den daha sitotoksiktir (165, 166).

Memelilerde spermatozoa membranı doymamış yağ asitlerinden zengindir. Bu onları oksijen kaynaklı hasara karşı çok duyarlı hale getirir. Üreme sistemi dokularında antioksidan mekanizmalar vardır ve muhtemelen bu mekanizmalar gonadal hücreleri ve olgun spermatozoayı oksidatif hasara karşı korur. Kronik hastalık durumunda bu hücrelerdeki antioksidan mekanizmalar bozulur, oksidatif stres meydana gelir. Böylece ROS ve antioksidan kapasite arasındaki denge hastalığın patofizyolojisinde önemli rol oynar. Oksidatif stres nedeniyle oluşan erkek infertilitesi uygun antioksidan kullanımı ile önlenabilir (167).

Litaratürlerde, resveratrolün testis üzerine doğrudan etkilerinin incelendiği çalışmalar kısıtlıdır. Resveratrolün uygulanış yolları ve dozları çalışma sonuçlarını etkilemektedir. Bir çalışmada di-n-phthalate ile oluşturulan testis hasarında oral yolla uygulanan 20mg/kg/gün resveratrolün testis dokusunda değişiklik meydana

getirmekle birlikte yeterli olmadığı gösterilmiştir (168). Diğer bir çalışmada, Juan ve arkadaşları oral olarak 20mg/kg/gün resveratrol kullanılan sıçanlarda kontrol grubuna göre seminifer tübül çaplarının, sperm sayılarının, gonotropin ve testosteron sayılarının daha iyi olduğunu, sperm kalitesinin de ise bir değişiklik olmadığını ifade etmişlerdir (169). 2,5-hexanedione ile oluşturulan testis hasarında resveratrolün rolüne bakıldığı başka bir çalışmada; testis ağırlığının, seminifer tübül çapının, c-kit protein seviyesinin kontrol grubunda hasar grubuna göre daha iyi olduğu tespit edilmiştir (170).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Çalışmada Kullanılan Malzeme ve Cihazlar

1. Velp Scientifica ZX 3 vorteks cihazı
2. İsolab ısıtıcılı manyetik karıştırıcı
3. Shimadzu AY220 hassas terazi
4. BM402 nüve marka su banyosu
5. Shimadzu UV-1601 shimadzu spektrofotometre
6. Hanna Instruments pH 301 pH metre cihazı
7. Nüve NF 800R soğutmalı mikro santrifüj
8. Hettich Rotina 35R marka makro santrifüj
9. İka ultra turrax t25 doku parçalayıcı
10. Bandelin HD2070 sonikatör
11. Bosch -20 °C derin dondurucu
12. BioTest VX 0003 electric field testers/meters model Chauvin Arnoux, Paris, France
13. IR-TW2 Non-Contact Infrared Thermometer with Laser Sight (TermoWorks, United States)
14. Olympus BX 50 floresan mikroskobu
15. Elektroforez cihazı yatay: cleaver scientific CSL-COM40, İngiltere

3.2. Hormonal Kitler

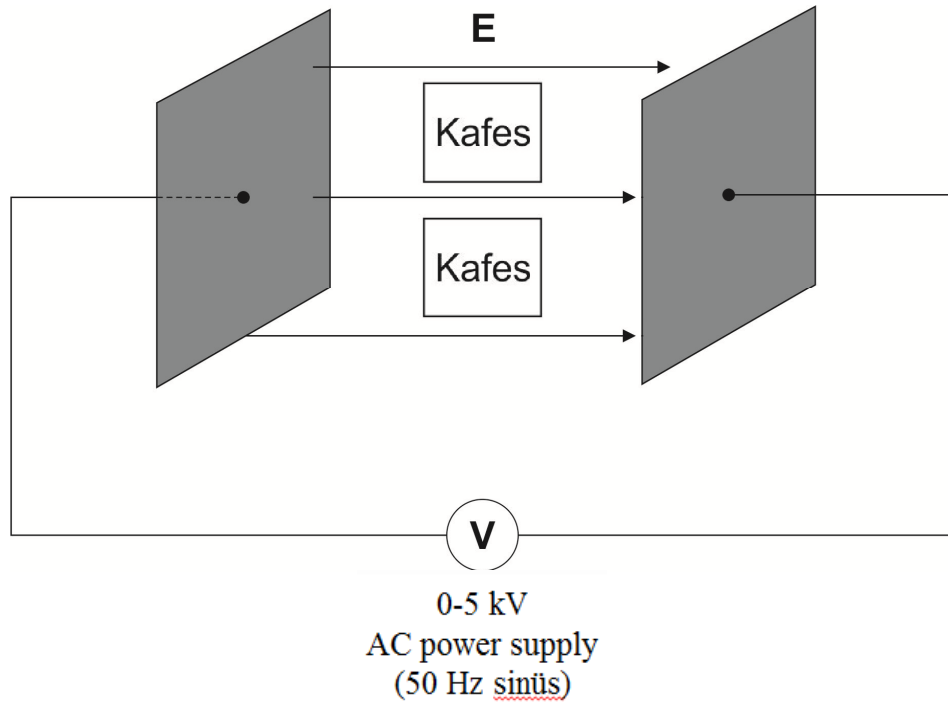
FSH, LH, GH ve E2 analizinde spesifik rat kitleri kullanıldı. E2 Cayman, GH bertin pharma, FSH ve LH Sun Red Biotechnology Company firmalarından temin

edilerek çalışıldı Serum testosteron ise Beckman&Coulter firmasının üretimi olan kemiluminesans kitleri ile çalışıldı. Çalışmalar Süleyman Demirel Üniversitesi (SDÜ) Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesinde gerçekleştirildi.

3.3. Elektrik Alan Düzeneği

EA düzeneği SDÜ Mühendislik Fakültesi Elektronik ve Haberleşme Bölümü tarafından tasarlandı ve uygulandı. Plakaların alanı aralarına iki kafesin konabilmesi için 0.5 m² (0.5x1.0m) boyutlarında seçilmiştir. Plakalar arasındaki alanın homojenliği teorik ve ölçümlü olarak test edildi (10).

Deney düzeneği şekil'12 ve resim 1'de gösterildiği gibi kuruldu. EA yoğunluğu değeri $E = V/d$ eşitliğine göre hesaplandı. Bu denklemdeki V; plakalar arasındaki elektrik potansiyel farkını, d; mesafeyi ve E ise, volt/metre olarak EA yoğunluğunu göstermektedir.



Şekil 11. Elektrik Alan Deney Düzeneği



Resim 1. Elektrik Alan Düzenegi

Bu sistemde kullanılacak hayvan kafeslerinin (8 hayvan için) özellikleri;

a) Kafesin hacmi $40 \times 50 \times 20 \text{ cm}^3$ (w x l x h) boyutlarında olup, EA'yı engellemeyen, metal parçalı olmayan tamamen plastikten yapıldı.

b) Plakaların yapımında iyi bir iletkenlik oluşturabilmek için 2 mm kalınlığında paslanmaz krom nikel levha kullanıldı. Plakaların köşeleri elektromanyetik köşe etkisini engellemek için yuvarlandı.

Kafesler ahşap stand üzerine dik olarak ve paralel kenar pozisyonunda yerleştirildi. Alanı bozmamak için kafeslerin dış köşe alanı üzerinden plakaların merkezine kablo bağlandı. Maruziyet sisteminde transformator özelliği 220 Vrms/6500 Vrms ve 1000 VA seçilmiştir. Plakalar 65 cm genişliğinde aralıklarla yerleştirildi.

Bilindiği gibi manyetik alan, elektrik alan vektörüne göre daha zor ekranlanmaktadır. Çalışmamızda kaynaktan akım çekilmediği için etkin olan EA'dır. Bu durumda EA kolayca ekranlanmıştır. Ancak bu durumun dezavantajları ortamda bulunan iletken malzemelerin EA vektör yönünü ve şiddetini değiştirebilecek olmasıdır. Bu durum göz önüne alınarak kafeslerin günlük rutin temizliği yapıldı.

Yukarıdaki denklemde ($E = V/d$) plakalar arasında elektrik akımın ortalama yoğunluğu, EA grubunda $6500 \text{ V}/0.65 \text{ m} = 10.000 \text{ V/m}$ (10 kV/m) olduğu

hesaplanmıştır. Güç trafosunun giriş gerilim aralığı 219-229 Vrms için çıkış 6250-6550 Vrms ve ortalama alan yoğunluğu 9951-1045 V/m aralığındadır. Deney odasında istenmeyen yüksek frekans alanları HI-3804 Electromagnetic Field Survey Meter-Industrial Compliance ölçer ve onun probu kullanılarak yapılmıştır (Holaday Industries, Inc, UK).

EA uygulaması 30 gün boyunca günde 23 saat olarak uygulandı. 1 saat kafeslerin günlük temizliği ve hayvanların bakımı için ayrıldı.

3.4. Deney Hayvanları ve Gruplandırma

Çalışmaya, SDÜ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 14 ağustos 2014 ve 09 sayılı etik kurul onayı ile başlandı. Çalışmamızda 12 haftalık 200-250 gr ağırlığında, 32 adet Wistar Albino türü erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar SDÜ Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarından (HÜDAL) temin edildi. Sıçanlar her grupta 8 adet hayvan olmak üzere rastgele 4 gruba ayrıldı. Tüm sıçanlar standart yem ile ad libitum olarak beslendi, aynı suyu içti, 21-23°C sıcaklıkta, 12/12 saat ışık/karanlık döngüsünde ve %55-60 nem oranında tutuldu. Bütün hayvanlar EA'yı engellemeyen tamamen plastikten oluşmuş kafes içine yerleştirildi.

Gruplardaki hayvanların ortalama ağırlıkları 200-250gr arasında değişmekteydi. Gruplar arasında ortalama ağırlık bakımından bir fark yoktu. Deney 30 gün sürdü. Hayvanların ağırlıkları haftada bir kez, vücut ısıları ve testis ısıları her gün ölçüldü. Vücut ısı ve testis ısıları IR-TW2 Non-Contact Infrared Thermometer with Laser aleti ile üretici firmanın talimatları doğrultusunda ölçüldü.

Deney süresince hayvanlar SDÜ HÜDAL'da kaldı. EA uygulaması burada yapıldı. Daha sonraki laboratuvar çalışmaları SDÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi.

I. Grup (K): Kontrol grubu (n:8)

Bu gruptaki sıçanlara EA ve resveratrol verilmedi. Bütün çevresel koşullar diğer gruplarla aynı tutuldu. Ayrıca stres faktörünü ortadan kaldırmak için gavaj uygulaması yapılarak 0.1 mL serum fizyolojik verildi.

II. Grup (EA): EA uygulanan grup (n:8)

WHO, ICNIRP, IEEE standart ve düzenlemelerine göre vücut için zararlı olan EA maruziyet sınırı (10 kV/m, 50Hz) kullanıldı. Elektrik alan 30 gün boyunca günde 23 saat uygulandı. Kafes temizliği ve hayvanların bakımı için 1 saat ayrıldı. EA ölçümleri SDÜ Mühendislik Fakültesi Elektronik ve Haberleşme Bölümü tarafından yapıldı. Bütün çevresel koşullar diğer gruplarla aynı tutuldu, gavaj uygulaması ile 0.1 mL serum fizyolojik verildi.

III. Grup (EA+R): EA ve resveratrol uygulanan grup (n:8)

Bu gruptaki sıçanlara 10 kV/m EA ve gavaj yoluyla günde 20 mg/kg resveratrol uygulandı. Resveratrolü çözmek için %5'lik carboxymethylcellulose kullanıldı. Bütün çevresel koşullar diğer gruplarla aynı tutuldu.

IV. Grup (R): Resveratrol uygulanan grup (n:8)

Bu gruptaki sıçanlara gavaj yoluyla günde 20 mg/kg resveratrol uygulandı. Bütün çevresel koşullar diğer gruplarla aynı tutuldu.

3.5. Ramların Dekapitasyonu

Sıçanlar, deney sonunda Xylazyne HCl 10 mg/kg + Ketamin HCl 90 mg/kg intraperitoneal (i.p.) uygulama ile anestezi edildikten sonra dekapite edildi. İnrakardiak kan alındı. Alınan kanlar biyokimyasal tetkikler için tüplere yerleştirildi.

3.5.1. Epididim ve Testis Dokusunun Ayrılması

Her bir sıçanın testis dokusu ve epididimi ayrıldı. Testislerin ve epididimlerin ağırlık ölçümleri yapıldı. Sol testis histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehit

içine konuldu. Sağ testis biyokimyasal analizler için, epididimler ise sperm izolasyonu için kullanıldı.

3.5.2. Sperm İzolasyonu

Sperm izolasyonu için tris ana stok solüsyonu hazırlandı (171). Bu solüsyondan 2000 µl petri kabına konuldu. Epididim dokuları hassas bir şekilde bu sıvı içinde parçalandı. Böylece spermilerin sıvı içine geçişi sağlandı. Bu sıvıdan comet assay yöntemiyle DNA hasarını belirlemek için 1000 µl örnek alınarak ependorf tüp içine yerleştirildi. Ependorflar hemen 37°C'deki su banyosu içine alındı. Petri kabı içindeki diğer 1000 µl sıvı sperm sayısı ve motilite hesaplaması için kullanıldı. Tüm çalışmalar 37°C'de gerçekleştirildi.

Tris ana stok solüsyonu malzemeleri (500 ml için)

1. 18.0245 g Trizma base (sigma)
2. 10.1203 g Citric acid (sigma)
3. 7,446 g D-(-)-Fructose (sigma)

3.5.3. Serum Elde Edilmesi

Biyokimya tüplerine yerleştirilen kan örnekleri 4000 devir/dk'da soğutmalı santrifüjde +4°C 10 dk santrifüj edilerek serumları elde edildi ve -80°C çalışmaya hazır halde saklandı.

3.6. Spermin Fiziksel İncelemesi

3.6.1. Sperm Sayısı

Kauda epididimler diseksiyonla çıkarılarak etrafındaki dokular temizlendi ve 2000 µl tris ana stok solüsyonu olan petri kabı içine konuldu. Hassas bir şekilde epididimler parçalandı. Böylece spermilerin solüsyon içine geçişi sağlandı. Bu örnekten 1000 µl alınarak sperm sayısı hesaplandı. Sperm sayımı için alınan 1000 µl örnek vortekste karıştırıldıktan sonra değerlendirmeye alındı. 36,5°C derece sıcak lam üzerinde ısıtma tablalı Olympus CX21 marka stereomikroskopta makrel kamera ile 40X

objektifle sayıma tabi tutuldu. Her bir grup numaraları kapalı vaziyette aynı kişi tarafından yapıldı. Her bir örnekten 5 ayrı sayım alınıp skor belirlendi ve sperm sayısı 1 milyon ile çarpıldı.

3.6.2. Motilite

Totalde her bir gruba ait 5 örnek preparat hazırlanarak ve minimum 200-300 sperm örneği sayılarak optimizasyon sağlandı. Spermiler ileri hareketli, yerinde hareketli ve hareketsiz olmak üzere değerlendirildi. Toplam motilite ileri ve yerinde hareketli spermilerin sayımı sonucu alındı.

3.7. Oksidan ve Antioksidan Enzim Yöntemleri

Antioksidan analizlerinin yapılabilmesi için testis dokusundan alınan örnekler, doku ağırlığının 9 katı fosfat tamponu ile birlikte homejenizatörde sonra sonikatörde parçalandı. Tüpler santrüfuj edilerek elde edilen numuneler ependorf tüpler içine konularak antioksidan analizleri için -20⁰C’de saklandı. Bütün uygulamalar soğuk ortamda gerçekleştirildi.

3.7.1. Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Saptanması

Lipid peroksidasyon ürünlerinden olan MDA ölçümü için Draper ve Hadley’in çift ısıtma yöntemi kullanıldı. Örneklere önce trikloroasetik asit (TCA) eklendi, vortekslendi, 15 dk kaynatıldı sonra 10 dk santrüfuj edildi. Daha sonra hazırlanan bu örneklere tiyobarbitürik asit (TBA) eklenerek tekrar kaynatıldı. Örneklerin spektrofotometrede 532 nm’de (Shimadzu UV-1601, Almanya) absorbans ölçümleri yapıldı. Sonuçlar nmol/gr.Hb olarak verildi ve aynı örneklerden elde edilen standart absorbans değerleri ile hesaplandı (172).

MDA ölçümü için kullanılan reaktifler

1. %40’lık etanol
2. TEP (1,1,3,3-Tetraethoxypropane)
3. % 10’luk Trikloroasetik asit
4. % 0.67’lik Tiyobarbitürik asit

3.7.2. Dokuda Protein Tayini

Homojenize edilen örneklerin süpernatlarında mikroprotein düzeyleri Bredford Yöntemi ile manuel spektrofotometre ile ölçüldü (173). Standartların absorban değerleri ile oluşturulan optik dansite-konsantrasyon grafiği çizildi ve tüm numuneler bu standart grafiğe göre hesaplandı. Sonuçlar mikroprotein düzeyine bölünerek dokuda enzim aktivitesi olarak verildi.

Protein ölçümü için kullanılan reaktifler

1. Commassia Brilliant Blue G-250 renk reaktifi
2. Sığır serum albümini

3.7.3. Katalaz (CAT) Düzeyinin Saptanması

CAT aktivitesi Aebi yöntemine göre çalışıldı. Yöntem, H_2O_2 CAT varlığında su ve moleküler oksijene dönüşmesi sırasında harcanan H_2O_2 'nin absorbanının 240 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi prensibine dayanır (174). Önce pH 7,0 olan birinci reaktif hazırlandı. Daha sonra H_2O_2 ve birinci reaktiften alınan miktarlarla ikinci reaktif hazırlandı. Doku örneği, birinci reaktif ve ikinci reaktif karıştırılarak 0. sn ve 30. sn'lerdeki absorban değerlerine bakıldı. Sonuçlar U/mg protein olarak verildi.

CAT ölçümü için kullanılan reaktifler

1. pH 7,0 50 mM fosfat tamponu
2. %30'luk Hidrojen peroksit

3.7.4. Süperoksit Dismutaz Düzeyinin (SOD) Saptanması

SOD aktivitesi, Olympus AU 2700 (Japonya) marka otoanalizöre aplike, Randox marka ticari kit kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile ölçülmüştür. Yöntemin prensibi, ksantin oksidazın katalizlediği reaksiyon sonucunda ksantinden ürik asit ve O_2^- radikali oluşumuna ve bunu takiben oluşan O_2^- radikalinin de kırmızı renkli formazon bileşiği oluşturmak üzere INT (2-(4-iodophenyl)-3-(4-

nitrophenol)-5 phenil tetrazolium chloride ile reaksiyona girmesine dayanır. SOD aktivitesi bu reaksiyonun inhibisyon derecesi ile ölçülür (175, 176). Testis dokusuna ait SOD aktivite değerleri, U/mg protein şeklinde ifade edilmiştir.

SOD ölçümü için kullanılan reaktifler

1. 0.3 mM Ksantin
2. 1 M sodyum hidroksit
3. 0,6 mM etilendiamintetraasetik asit disodyum tuzu (Na₂EDTA)
4. Nitroblue tetrazolium
5. Sodyum karbonat
6. 1 g/L sığır serum albümini
7. 167 U/L ksantin oksidaz
8. 2 M amonyum sülfat

3.7.5. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Düzeyinin Saptanması

GSH-Px aktivitesi, Olympus AU 2700 (Japonya) marka otoanalizöre applike, Randox marka ticari kit kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile ölçülmüştür. Yöntem, kümen hidroperoksit varlığında GSH-Px'in glutasyonun oksidasyonunu katalizlemesi sonucunda okside olan glutasyonun tekrar redükte forma dönüşmesi için harcanan NADPH'in absorbansının 340 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi prensibine dayanır (177). Testis dokusuna ait GSH-Px aktivite değerleri, U/mg protein cinsinden ifade edildi.

Glutasyon Peroksidaz ölçümü için kullanılan reaktifler

1. Sodyum fosfat
2. Potasyum fosfat
3. Etilen diamin tetraasetik asit disodyum tuzu (Na₂EDTA)
4. Sodyum azid
5. 150 mM redükte glutasyon

6. 10 mM nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADP)
7. Glutasyon redüktaz
8. 3,2 M Amonyum sülfat
9. 2 mM H₂O₂

3.8. Comet Assay Yöntemi ile DNA Hasar Tayini

3.8.1. Yöntemin Prensibi

Tek hücreli jel elektroforezi veya “Comet Assay” tekniği hücre düzeyinde DNA hasarını saptamak ve miktarını belirlemek için uygulanan non-invaziv, hızlı ve hassas bir floresan mikroskobik yöntemdir. Yaşlanma, moleküler epidemiyoloji, klinik ve genetik toksikoloji alanların da önemli uygulamaları olan “Comet Assay” son yıllarda giderek artan bir sıklıkta apoptoz, oksidatif stres, antioksidan çalışmalarında da yer almıştır (178).

Mikroskop lamı üzerindeki agaroz jel içine gömülen hücreler, zarların parçalanıp nükleusta bulunan DNA sarmallarının serbestleşmesi için lizis işlemine tabi tutulur. Alkali ortamda DNA sarmalları gevşer, açılır ve kırıklar ortaya çıkar. Daha sonra elektroforez etkisi ile kırılmış DNA zincirleri göç ederek kuyruklu yıldız görüntüsü oluşturur. Lizis aşamasından sonra bütün işlemler karanlık ortamda yapıldı.

3.8.2. Yöntemin Uygulanışı

3.8.2.1. Slaytların Hazırlanması

Etüv ısısı 50°C ayarlanarak lamalar ısıtıldı. Fosfat tamponu (PBS) %1’lik normal kaynama dereceli agaroz (NMA) ile kaynatılarak agaroz hazırlandı. Hazırlanan agaroz tüpü bir beher içine konularak iyice şeffaflaşmaya kadar eritildi. Polimerleşmesini önlemek için sıcak su içinde tutuldu. 200 µl NMA lam üzerine alındı ve lamalar kurumaya bırakıldı.

3.8.2.2. Hücrelerin Jele Gömülmesi

Hücreler jele gömülmeden önce PBS tamponu ile düşük kaynama dereceli agaroz (LMA) hazırlandı ve 37°C su banyosu içine alındı. İzole edilen spermelerde ependorf içinde 37°C su banyosuna alındı. 10 µl sperm ile 100 µl LMA 37°C'de karıştırıldı. Hazırlanan örnekten 100 µl alınarak NMA'lı lam üzerine damlatıldı, üzeri lamelle kapatıldı ve +4°C'de 20 dk bekletildi.

3.8.2.3. Lizis Aşaması

Agaroz jel donduktan sonra lameller alınarak yüksek konsantrasyonda tuz, deterjan ve proteinaz K içeren soğuk lizis çözeltisinde bir gece bekletildi. Lizis tamponu ile hücre membranı parçalandıktan sonra hücre içeriği çekirdekten uzaklaştırıldı.

3.8.2.4. Elektroforez Tamponu

Hazırlanmış olan preparatlar çift sarmal DNA yapısının açılması için elektroforez öncesinde yüksek alkali özellikteki (pH>13) elektroforez tamponunda 20 dk inkübe edildi. Böylece alkali tampon içerisinde nükleustaki çift sarmal DNA'nın, zincir kırıklarının bulunduğu noktalardan açılması sağlandı.

3.8.2.5. Elektroforez

Alkali ortamda DNA sarmalının açılmasından sonra, jel içinde oluşan tek zincir DNA, alkali koşullarda elektroforeze tabi tutularak comet oluşumu sağlanır. Elektrik akımı uygulandığı zaman, DNA parçaları anoda doğru hareket ederek bir kuyruklu yıldız görüntüsü verir. Hasarsız DNA ise çekirdekten çıkamaz. Alkali elektroforez tamponunda inkübasyon tamamlandıktan sonra elektroforez 25 V, 300 mA akım'da 20 dk süre içinde gerçekleştirildi.

3.8.2.6. Nötralizasyon

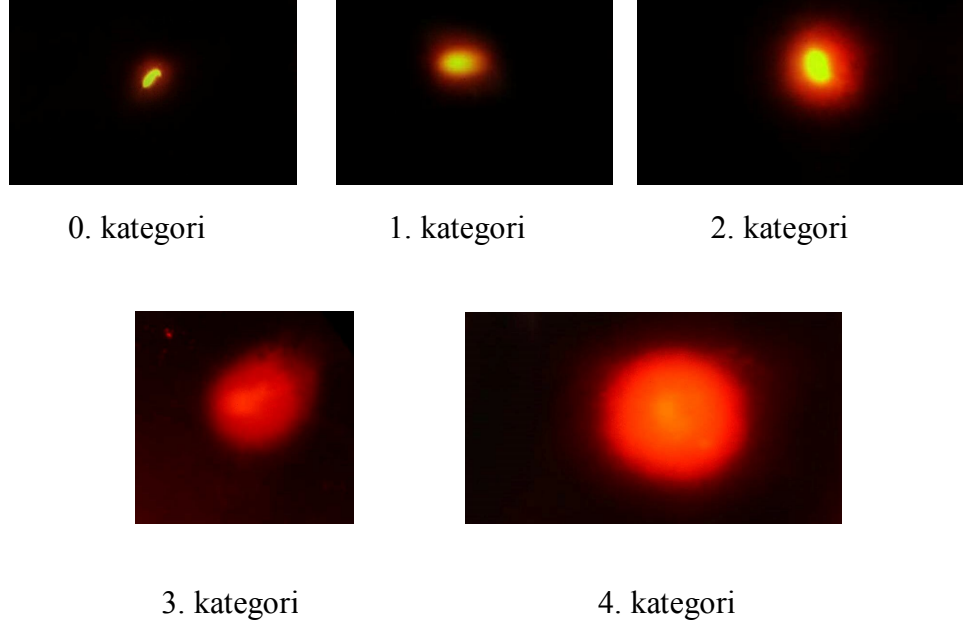
Alkali ortamda elektroforezden sonra, lamlar pH 7,5 olan nötralizasyon tamponu içinde 10 dk bekletildi. Nötralizasyondan sonra lamların boyanma işlemine geçildi.

3.8.2.7. Boyama

Nötralizasyon tamamlandıktan sonra lamlar karanlık ortamda oda ısında kurumaya bırakıldı (yaklaşık 20-30dk). Boyama işlemi için floresan boya olan etidyum bromür kullanıldı. Etidyum bromürden 40 µl alınarak lam üzerine damlatıldı 5 dk bekledikten sonra örnekler floresan mikroskopunda incelendi. Her örnek için 100 adet DNA görüntüsü incelendi.

3.8.2.8. Görsel Skorlama Yöntemi ile Analiz

Bu yöntemde DNA göçü görsel olarak değerlendirildi. Oluşan hasarın derecesine göre hücreler 5 kategoride değerlendirildi. Hasar hücrelerin göç esnasında oluşturduğu kuyruğa göre belirlendi. Şekilde 12'de görüldüğü gibi, hiç hasar bulunmayan hücreler 0, az hasarlı hücre 1, orta hasarlı hücre 2, çok hasarlı hücre 3, ileri derecede hasarlı hücre 4 olarak değerlendirildi. DNA hasarının şiddetine göre her örnek için toplam comet skoru oluşturuldu (179-182).



Şekil 12. DNA Hasarı Sonucu Meydana Gelen Hasarın Göç Sonrası Mikroskobik Görüntüleri (Görüntüler bu tez çalışmasının bulgularından elde edilmiştir.)

3.8.3. Comet Assay Yöntemi İçin Kullanılan Çözeltiler

PBS (Tuz içeren yıkama eriyiği)

1,44 g/L Na₂HPO₄.2H₂O

0,2 g/L KH₂HPO₄

8,0 g/L NaCl

0,2 g/L KCl

800 ml dH₂O ile çözülerek pH:7.4 olacak şekilde ayarlanır ve son hacim 1 lt'ye tamamlanır.

Normal Erime Noktalı Agaroz (%1)

30 mg Normal Erime Noktalı Agaroz

3000 µl dH₂O içerisinde çözülür.

Düşük Erime Noktalı Agaroz (%1)

10 mg normal erime noktalı agaroz

1000 µl dH₂O içerisinde çözülür.

Lizis Tamponu

2,5 M NaCl

100 mM EDTA

100 mM EDTA

% 1 Triton X-100

pH 10 olacak şekilde ayarlanır ve son hacim dH₂O ile 1000 ml'ye tamamlanır.

Elektroforez Tamponu

200 g NaOH

500 mL dH₂O içinde çözülür.

14,89 g EDTA

pH 10 olacak şekilde ayarlanır ve son hacim dH₂O ile 200 mL'ye tamamlanır.

Bu hazırlanan iki çözeltiden

30 ml NaOH

5 ml EDTA

pH>13 olacak şekilde ayarlanır ve son hacim dH₂O ile 1000 ml'ye tamamlanır.

Nötralizasyon Tamponu

48,5 g Trizma base

pH 7,5 olacak şekilde ayarlanır ve son hacim dH₂O ile 1000 mL'ye tamamlanır.

Boyama Solüsyonu

10X Stok:

10 mg etidyum bromür (20 µg/mL)

50 mL dH₂O ile karıştırılır.

1X Stok:

10X stoktan 1 mL alınır ve son hacim 9 mL dH₂O ile tamamlanır.

3.9. Histopatolojik Yöntem

Her gruptan alınan testis doku örnekleri ışık mikroskopunda inceleme için Bouin solüsyonunda tespit edildi. Fiksatif uzaklaştırmak için dokular bir gece boyunca akan musluk suyu altında yıkamaya alındı. Daha sonra rutin histolojik doku takibi uygulandı. Rutin doku takibinde öncelikle %70'lik alkolden başlanarak, kontrollü olarak, ortalama 1'er saat süreyle ve sırasıyla %80'lik alkol, %96'lık alkol, %100'lük alkol I, % 100'lük alkol II ve %100'lük alkol III serilerinden geçirildi. Daha sonra ksilol I, ksilol II ve ksilol III'de 15'er dakika bekletilen doku örnekleri etüvdeki ksilol-parafin içerisine alındı. 30 dakika sonra ksilol-parafin karışımından çıkarılan materyaller erimiş parafine konularak oda sıcaklığında beklemeye alındı. Blok yapmak için donmuş parafinde bulunan örnekler etüve alınıp, tamamıyla eridikten sonra parafin içerisine gömüldü. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Genel histolojik incelemeler için alınan kesitlere Hematoksilen&Eosin ve Masson Trikrom boyamaları uygulandı (183).

Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda (Leica DM 500) incelendi. Mikroskoba eklenen oküler mikrometre aracılığı ile tüm gruplardaki sıçanların seminifer tübül çapları ve tunica albuginea kalınlıkları ölçüldü. Ayrıca testis dokusunda interstisyel bağ dokusu incelendi ve 100 interstisyel alan tespit edilerek 40'luk objektifte Leydig hücreleri sayıldı. Seminifer tübüllerdeki spermatogenik hücrelerin konfigürasyonu deney grupları ve kontrol grupları arasında kıyaslandı.

Seminifer tübül çapları, tunica albuginea kalınlıkları ve Leydig hücre sayıları istatistiksel değerlendirmeleri için SPSS 20.00 programı kullanıldı. Sonuçların değerlendirilmesinde ve deney grupları ve kontrol grupları arası farkın anlamlılığının test edilmesinde Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Tablo 3. Hematoksilen & Eosin Boyama Prosedürü

Sıra	İşlem Basamakları	Süre
1	Ksilol I	5 dk.
2	Ksilol II	5 dk.
3	% 100'lük Alkol	3 dk.
4	% 96'lük Alkol	3 dk.
5	% 80'lik Alkol	3 dk.
6	% 70'lik Alkol	3 dk.
7	Akarsu altında yıkama	1-2 dk.
8	Mayer's hematoksilen solüsyonu	2-3 dk.
9	Akarsu altında yıkama	1-2 dk.
10	Eosin solüsyonu	3-5 dk.
11	% 70'lik Alkol	3 dk.
12	% 80'lik Alkol	3 dk.
13	% 96'lük Alkol	3 dk.
14	% 100'lük Alkol	3 dk.
15	Ksilol I	5 dk.
16	Ksilol II	5 dk.

Tablo 4. Masson Trikrom Boyama Prosedürü

Sıra	İşlem Basamakları	Süre
1	Ksilol I	5 dk.
2	Ksilol II	5 dk.
3	% 100'lük Alkol	3 dk.
4	% 96'lük Alkol	3 dk.
5	% 80'lik Alkol	3 dk.
6	% 70'lik Alkol	3 dk.
7	Çeşme suyunda dinlendirme	1-2 dk.
8	56 °C etüvde Bouin's solüsyonunda bekletme	1 sn.
9	Akarsu altında bekletme	Sarı renk kaybolana kadar
10	Weighert's Iron Hematoksilen solüsyonu	10 dk.
11	Akarsu altında yıkama	10 dk.
12	Distile suda bekletme	1-2 dk.
13	Asit-fuksin bekletme	10-15 dk.
14	Distile sudan geçirme	10 sn.
15	Fosfomolibdic-Fosfotungstik asit solüsyonu	10-15 dk.
16	Aniline blue solüsyonu	10-15 dk.
17	Distile sudan geçirme	10 sn.
18	%1'lik asetik asit solüsyonu	2-5 dk.
19	Distile sudan geçirme	1-2 sn.
20	% 96'lük Alkol	1-2 sn.
21	% 100'lük Alkol	1-2 sn.
22	Ksilol I	5 dk.
23	Ksilol II	5 dk.

3.10. İmmünohistokimyasal Yöntem

Dekapitasyon işleminden sonra çıkarılan testis dokuları %10'luk formalin solüsyonunda tespit edildi. Rutin takiplerden sonra parafine gömüldü. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Apoptotik hücrelerin boyanması amacıyla DNA fragmentasyonunun belirlendiği TUNEL metodu (TdT-mediated dUTP-digoxigenin nick endlabelling) uygulandı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, cat no: QIA33, USA) kullanılarak apoptoza giden hücreler belirlendi. Xylene ile deparafinize edilen dokular, dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edilip PBS ile yıkandı. Yüzde beşlik proteinaz K ile 10 dakika inkübe edilen dokular, endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için % 3 H₂O₂ ile 5 dakika inkübe edildi. PBS ile dokular yıkandıktan sonra, 20 dakika Equilibration Buffer ile inkübe edilip, 37⁰C'de nemli ortamda bekletildi. TdT Enzim damlatılarak ile 37⁰C'de nemli ortamda 90 dakika inkübe edildi. Block buffer da 10 dakika daha sonra Stop/Wash Bufferda 10 dakika bekletilen dokular, Anti-Digoxigenin-Peroxidase ile 30 dakika inkübe edildi. Diaminobenzidine (DAB) substratı ile apoptotik hücreler görüntülendi. Kahverengi çekirdekli hücreler apoptozis lehine değerlendirildi.

Apoptotik hücreler her gruptan 8 preparat, her preparattan da 20'lik objektifteki farklı alanlardan 10 seminifer tübülde, toplam 80 seminifer tübülde sayım gerçekleştirildi. İstatistiksel değerlendirmeleri için SPSS 20.00 programı kullanıldı. Sonuçların değerlendirilmesinde ve deney grupları ve kontrol grupları arası farkın anlamlılığının test edilmesinde Mann-Whitney U testi kullanıldı.

3.11. İstatiksel Analiz

Çalışmada üzerinde durulan özellikler bakımından elde edilen verilerin parametrik testlerin ön şartlarını sağlayıp sağlamadığı kontrol edilmiştir. Normal dağılımın ön şartı Kolmogorov-Smirnov testi ile varyansların homojenliği ön şartını da Bartlett Ki-kare testi ile test edilmiştir. Her iki önşartında sağlandığı özelliklerde gruplar arası farklılığın belirlenmesinde varyans analizi tekniğinden yararlanılmıştır. Bu ön şartlardan bir veya ikisinde sağlanmadığı durumlarda Kruskal Wallis testi

uygulanmıştır. Varyans analizi sonucunda grup ortalamaları arasındaki farklılığın belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır. Kruskal Wallis testi sonucunda grupların rank ortalamaları arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Bonferroni-Dunn testi uygulanmıştır. Analizler SPSS 20.00 istatistik paket programında yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. Genel Görünüm

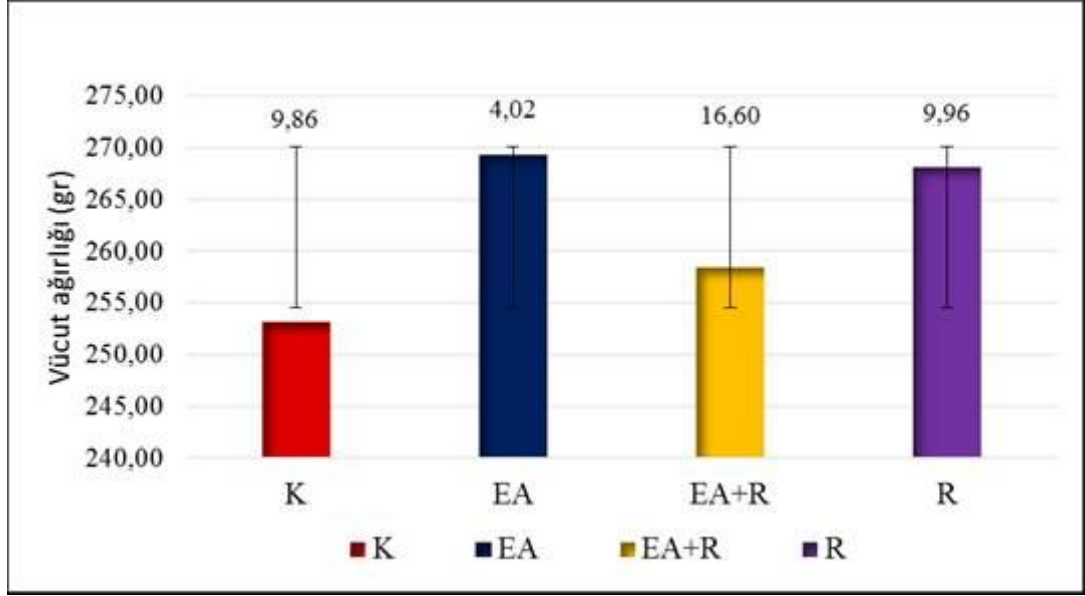
30 günlük deney süresince hayvanların genel görünüm ve davranışlarında herhangi bir değişiklik görülmemiştir.

4.2. Ağırlık Değişimi

Deney süresince hayvanların haftalık ağırlık ölçümleri yapıldı. Toplam 5 haftalık ölçüm elde edildi. Deney sonrasında ise sakrifiye edilen hayvanlardan izole edilen testis dokusu ve epididimlerin toplam ağırlık ölçümleri yapıldı.

4.2.1. Vücut Ağırlığı

Araştırma gruplarının ortalama ağırlık artışı şekil 13’de gösterilmiştir. Deney süresince tüm gruplardaki hayvanların haftalık vücut ağırlıkları takip edilmiş elde edilen verilere uygulanan Kruskal-Wallis testi sonucunda ağırlık ortalamaları açısından gruplar arasındaki fark istatistik olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.005$). Ağırlık ortalamaları üzerinden K grubuna göre yapılan kıyaslamalarda; K grubu ile EA grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.01$) ve EA grubunda artma, K grubu ile R grubu arasında fark anlamlı ($p= 0.014$) ve R grubunda artma tespit edilmiştir. EA grubuna göre yapılan karşılaştırmada; EA grubu ile EA+R grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.021$) ve EA+R grubunda azalma, R grubunun ise vücut ağırlık ortalamasının EA grubuna benzer olduğu görüldü. Ayrıca çalışmada haftalık olarak yapılan vücut ağırlık ölçümleride istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve tablo 5’de gösterilmiştir. Araştırmanın 2. haftasından itibaren EA uygulanan grupta K grubuna göre kilo artışı meydana geldiği ($p=0.01$), çalışmanın geneline bakıldığında en fazla kilo artışının EA grubunda olduğu görülmüştür (269,33 gr). Farklılığın hangi gruptan kaynaklı olduğunu gösteren Bonferroni-Dunn testi sonuçları latin harfleri ile tablo 5’de gösterilmiştir.



Şekil 13. Araştırma Gruplarının Vücut Ağırlığı Ortalamaları ve Standart Sapmaları

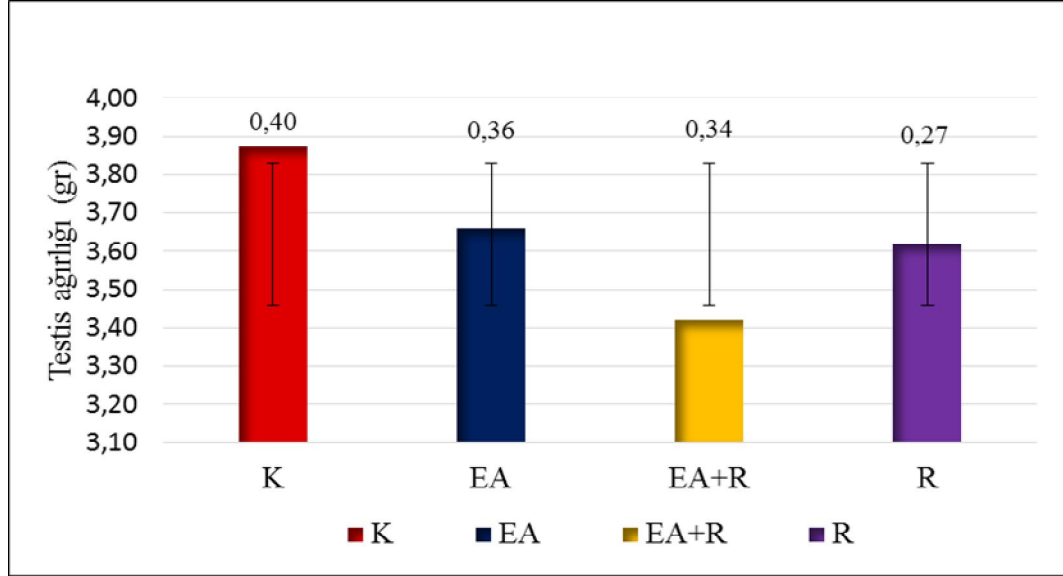
Tablo 5. Araştırma Gruplarında Ağırlık Artışları (gr/hafta/hayvan)

Vücut ağırlık ölçüleri	Grup I (K)	Grup II (EA)	Grup III (EA+R)	Grup IV (R)	P
1. ölçüm	242.38±7.39	245.25±7.72	238.88±8.76	247.38±5.60	0.144
2. ölçüm	246.63±10.53 ^b	262.00±8.55 ^a	248.13±15.83 ^b	255.13±3.83 ^{ab}	0.011
3. ölçüm	252.38±14.48 ^b	267.88±4.85 ^a	254.75±21.12 ^b	274.38±14.36 ^a	0.006
4. ölçüm	258.88±11.44 ^c	280.63±4.98 ^a	269.63±20.64 ^b	277.88±13.42 ^{ab}	0.006
5. ölçüm	265.75±14.49 ^b	290.88±5.59 ^a	280.88±20.37 ^a	286.00±15.73 ^a	0.011
Ağırlık Ortalama	253,20±9,86 ^b	269,33±4,02 ^a	258,45±16,60 ^b	268,15±9,96 ^a	0.005

Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

4.2.2. Testis Ağırlığı

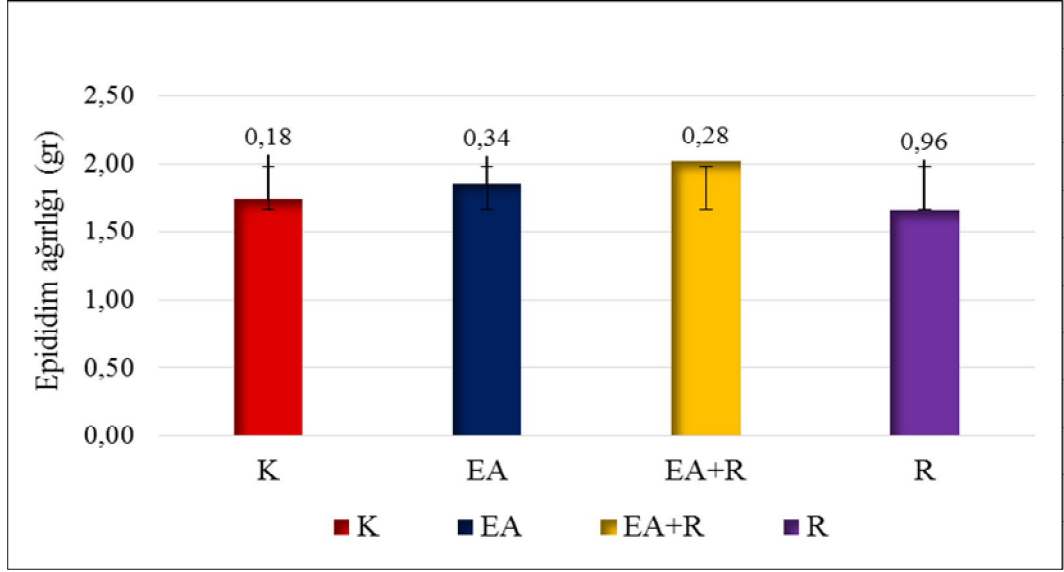
Grupların testis ağırlık ortalamalarının dağılımı şekil 14’de gösterilmiştir. Testis ağırlığı özelliği bakımından elde edilen verilere yapılan varyans analizi sonucunda grupların ortalamaları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildir (Tablo 6).



Şekil 14. Araştırma Gruplarının Testis Ağırlık Ortalamaları ve Standart Sapmaları

4.2.3. Epididim Ağırlığı

Grupların epididim ağırlık ortalamaları dağılımı şekil 15’de sunulmuştur. Epididim ağırlık ölçümlerinden elde edilen verilere yapılan Kruskal-Wallis testis sonucunda gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklı olduğunu gösteren Bonferroni-Dunn testi sonuçları latin harfleri ile tablo 6’da gösterilmiştir. İkili kıyaslamalarda; K grubu ile EA+R grubu arasında fark anlamlı ($p = 0.040$) ve EA+R grubunda artma, EA+R grubu ile R grubu arasında fark anlamlı ($p = 0.005$) ve R grubunda azalma tespit edilmiştir. K grubu ile EA grubu arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı değildir.



Şekil 15. Araştırma Gruplarının Epididim Ağırlık Ortalamaları ve Standart Sapmaları

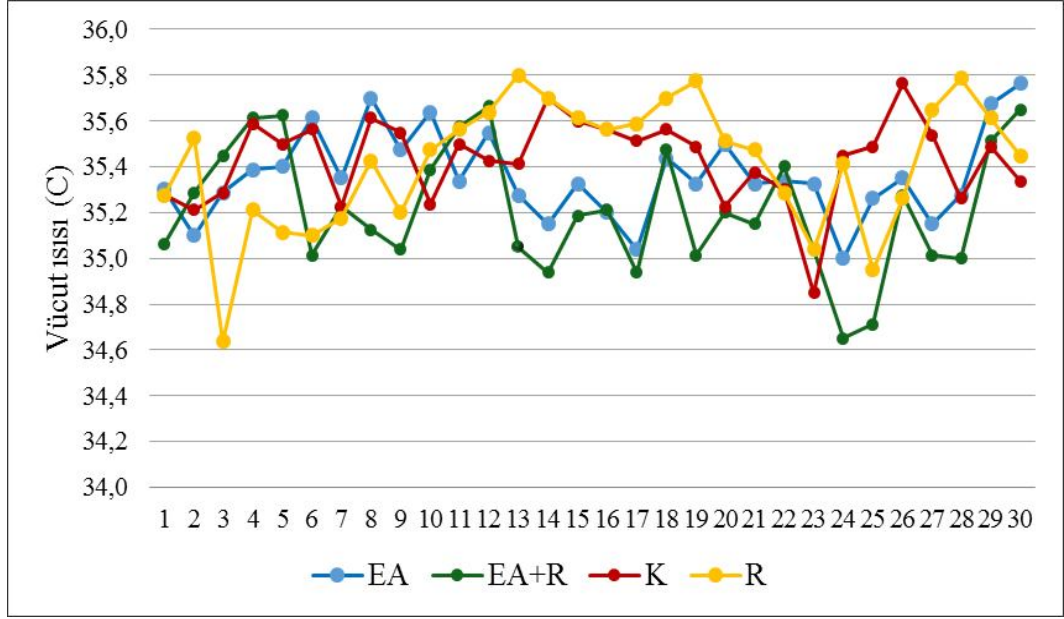
Tablo 6. Testis ve Epididim Ağırlık Parametrelerinin Değerlendirilmesi

	Grup I (K)	Grup II (EA)	Grup III (EA+R)	Grup IV (R)	P
Testis ağırlığı	3,87±0,40	3,66±0,36	3,42±0,34	3,62±0,27	0.112
Epididim ağırlığı	1,74±0,18 ^{bc}	1,86±0,34 ^{ab}	2,02±0,28 ^a	1,66±0,96 ^c	0.015

Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

4.3. Vücut Isısı

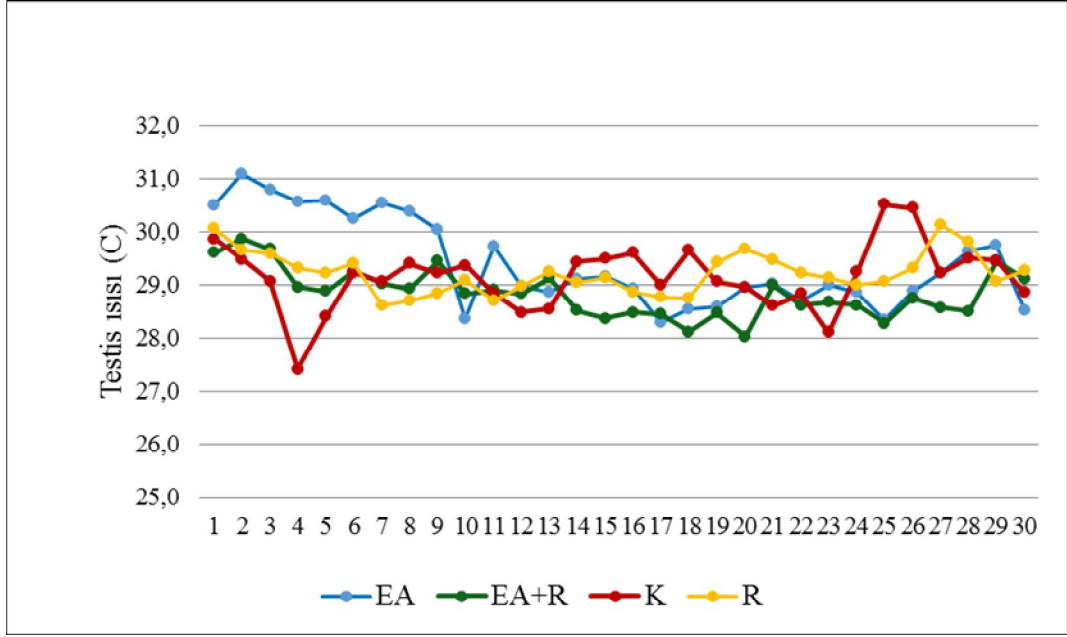
Grupların günlük vücut ısı ölçüm ortalamaları üzerinden elde edilen verilerin dağılımı şekil 16'da gösterilmiştir. Araştırma gruplarının günlük vücut ısı ölçümlerinin ortalamaları ve standart sapmalarından (tablo 7) elde edilen verilere uygulanan varyans analizi sonucunda grupların ortalamaları arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.006). İkili kıyaslamalarda; K grubu ile EA+R grubu arasında fark anlamlı (p=0.006) ve EA+R grubunda azalma, EA+R grubu ile R grubu arasında fark anlamlı (p= 0.005) R grubunda artma tespit edilmiştir. EA uygulanan grubun vücut ısı K grubuna benzer bulunmuştur.



Şekil 16. Araştırma Gruplarının Günlük Ortalama Vücut Isısı Değişimleri

4.4. Testis Isısı

Araştırma gruplarının günlük ölçülen testis ısı ortalamalarından elde edilen verilerin dağılımı şekil 17’de gösterilmiştir. Gruplarının testis ısı ölçümlerinden elde edilen ortalamalar ve standart sapma (tablo 7) verilerine uygulanan varyans analizi sonucunda grupların ortalamaları arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.005$). İkili kıyaslamalarda; EA grubu ile EA+R grubu arasında fark anlamlı ($p=0.002$) ve EA+R grubunda azalma tespit edilmiştir. EA uygulanan grubun testis ısı seğişimleri ile K grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.



Şekil 17. Araştırma Gruplarının Günlük Ortalama Testis Isısı Değişimleri

Tablo 7. Araştırma Gruplarının Vücut Isısı ve Testis Isısı Değişimleri

	Grup I (K)	Grup II (EA)	Grup III (EA+R)	Grup IV (R)	P
Vücut Isısı	35,42±0,10 ^a	35,36±0,15 ^{ab}	35,20±0,13 ^b	35,41±0,10 ^a	0.006
Testis Isısı	29,14±0,46 ^{ab}	29,14±0,27 ^a	28,83±0,24 ^b	29,21±0,18 ^{ab}	0.005

Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

4.5. Spermın Fiziksel İnceleme Bulguları

Sperm örneklerinin sperm sayısı ve motilite açısından incelenmesi yöntemler bölümünde açıklandığı şekliyle yapıldı.

4.5.1. Sperm Sayısı

Araştırma gruplarının sperm sayısı ortalamaları ve standart sapmaları tablo 8’de gösterilmiştir. Sperm sayı değişkeni gruplar arasında Kruskal-Wallis testine göre ileri düzeyde anlamlı olarak bulundu ($p=0.001$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklı olduğunu gösteren Bonferroni-Dunn testi sonuçları latin harfleri ile tablo 8’de gösterilmiştir. K grubuna göre yapılan kıyaslamalarda; K grubu ile EA grubu

arasında fark anlamlı ($p=0.01$) ve EA grubunda sperm sayısında azalma tespit edildi. K grubu ile EA+R ve R grupları arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. EA grubuna göre yapılan karşılaştırmalarda; EA grubu ile EA+R grubu arasında fark anlamlı (0.002) ve EA+R grubunda sperm sayısında artma, EA grubu ile R grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.002$) ve R grubunda artma tespit edildi.

4.5.2. Motilite

Araştırma gruplarının sperm motilite ortalamaları ve standart sapmaları tablo 8’de sunulmuştur. Tüm grupların analizleri Kruskal-Wallis testi ile yapıldı. İstatistik analiz sonuçlarına göre dört grup arasında spermilerin motilitesinde fark anlamlı olarak bulundu ($p=0.002$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklı olduğunu gösteren Bonferroni-Dunn testis sonuçları latin harfleri ile tablo 8’de gösterilmiştir. Yapılan karşılaştırmalarda; K grubu ile EA grubu arasındaki fark anlamlı ($p=0.03$) ve EA grubunda motilitede azalma tespit edildi. K grubu ile EA+R ve R grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi. EA grubu ile EA+R grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.004$) ve EA+R grubunda motilitede artma, EA grubu ile R grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.002$) ve R grubunda motilitede artma saptanmıştır.

Tablo 8. Araştırma Gruplarında Spermın Fiziksel İnceleme Bulguları

	Grup I (K)	Grup II (EA)	Grup III (EA+R)	Grup IV (R)	P
Sperm sayısı ($\times 10^6/\text{ml}$)	55,00 \pm 14,64 ^a	29,00 \pm 4,34 ^b	54,32 \pm 15,25 ^a	56,25 \pm 11,88 ^a	0.001
Motilite (%)	27,63 \pm 4,41 ^a	16,50 \pm 6,28 ^b	26,75 \pm 3,69 ^a	34,00 \pm 9,93 ^a	0.002

Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

4.6. Oksidan ve Antioksidan Enzim Sonuçları

Araştırma gruplarının MDA düzeyleri incelendiğinde (tablo 9) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0.001$). Gruplar arasında

yapılan kıyaslamalarda MDA değerleri açısından EA uygulanan grupta K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır ($p=0.030$). EA+R uygulanan grupta ise EA uygulanan gruba göre anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($p=0.001$).

CAT değerleri açısından elde edilen verilere uygulanan istatistiksel değerlendirmede gruplar arasında fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.001$), yapılan karşılaştırmalarda; K grubu ile EA+R grubu arasında fark anlamlı ($p=0.001$), K grubu ile EA ve R grupları arasında ise fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. EA+R grubu ile EA grubu arasındaki CAT aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.001$) bulunmuştur (tablo 9).

Araştırma gruplarının SOD aktivitelere uygulanan istatistiksel değerlendirme tablo 9’da sunulmuştur. EA grubunun SOD aktivitesi K grubuna göre önemli derece düşük ($p=0.001$), EA+R grubunun K grubuna göre SOD aktivitesi anlamlı derecede düşük ($p=0.001$), R grubunda ise SOD aktivitesi K grubuna yakın değerde olduğu belirlendi. SOD aktivitesi açısından R grubu ile EA grubu arasında fark anlamlı ($p=0.001$) ve R grubunda artma, R grubu ile EA+R grubu arasında yapılan karşılaştırmada fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.001$) ve R grubunda artma tespit edildi.

Gruplardan elde edilen GSH-Px düzeyleri incelendiğinde, gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.01$). Gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda; GSH-Px açısından K grubu ile EA grubu arasında fark anlamlı ($p=0.010$) ve EA grupta azalma, K grubu ile EA+R grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.003$) ve EA+R grubunda azalma tespit edildi. R grubundaki GSH-Px aktivitesi ise K grubuna benzer bulundu. R grubunda GSH-Px değerleri EA+R grubuna göre anlamlı derecede arttığı ($p=0.017$), K grubuna göre ise yakın değerlerde olduğu tespit edildi (tablo 9).

Tablo 9. Araştırma Gruplarının Oksidan ve Antioksidan Düzeyleri

	Grup I (K)	Grup II (EA)	Grup III (EA+R)	Grup IV (R)	P
MDA	5,04±1,17	6,02±1,03 ^a	2,44±0,44 ^{a,b}	4,74±0,57	0.001
CAT	6,79±0,58	6,70±0,40	4,28±0,88 ^{a,b}	6,76±0,71	0.001
SOD	12,02±0,65	6,21±0,91 ^a	5,56±0,46 ^a	11,49±0,85 ^{b,c}	0.001
GSH-Px	157,57±21	133,28±10,52 ^a	125,10±13,12 ^{a,b}	151,40±18,02 ^c	0.01

a: Kontrol grubuna göre kıyaslama (p<0.05)

b: Elektrik alan grubuna göre kıyaslama (p<0.05)

c: Elektrik alan+resveratrol grubuna göre kıyaslama (p<0.05)

4.7. Gruplara Ait Hormon Analiz Sonuçları

Araştırma gruplarına ait ortalama serum hormon seviyeleri ve standart sapmaları toplu halde tablo 10'da verilmiştir. Gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılık değerleri de (p değeri) bu tabloda gösterilmiştir.

Araştırma gruplarının serum testosteron verileri incelendiğinde tüm gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p=0.021) bulundu. K grubu ile diğer gruplar arasındaki karşılaştırmalarda; serum testosteron seviyesinin R grubunda K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği (p=0,017) tespit edildi. EA grubunda K grubuna göre azalma olmasına rağmen fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. EA grubuna göre yapılan karşılaştırmalarda; R grubundaki artış istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0.007). Serum testosteron değeri R grubunda EA+R grubuna göre de anlamlı bir artış göstermiştir (p=0.011).

Çalışmada, araştırma gruplarından elde edilen FSH ve LH düzeyleri incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Gruplardan elde edilen E2 verilerine uygulanan istatistiksel analizde tüm gruplar arasında fark anlamlı bulunmuştur (p=0,029). K grubu ile yapılan karşılaştırmalarda; R grubunda K grubuna göre anlamlı bir artış olduğu (p=0,006) tespit edildi. E2, EA grubunda ve EA+R grubunda K grubuna göre artış göstermesine rağmen fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. R grubu ile EA+R grubu arasında fark anlamlı (p= 0,022) ve R grubunda artış tespit edilmiştir.

GH verileri tüm çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.002). GH, R grubunda K grubuna göre anlamlı olarak artmıştır (p=0,001). EA ve EA+R grupları arasında ise GH seviyeleri K grubuna benzer bulunmuştur. EA grubu ile yapılan karşılaştırmalarda R grubunun GH seviyelerinin anlamlı olarak artış gösterdiği tespit edildi (p=0.002). R grubundaki GH seviyesinin EA+R grubuna göre de anlamlı bir şekilde artışı görüldü (p= 0.003).

Tablo 10. Araştırma Gruplarına Ait Hormonal Sonuçlar

	Grup I (K)	Grup II (EA)	Grup III (EA+R)	Grup IV (R)	P
T.Testosterone (ng/dl)	2,57±2,08	1,99±1.10	2,30±1,90	6,28±4,99 ^{a,b,c}	0.021
FSH(IU/ml)	16,57±1,50	16,28±2.02	15,20±2,16	15,26±1,38	0,910
LH (IU/ml)	5,82±1,89	6,03±1,76	5,70±1,14	5,41±1,84	0,359
E2 (pg/ml)	1,12±0,65	2,42±0,95	1,47±0,43	3,44±2,53 ^{a,c}	0,029
GH (ng/ml)	24,65±3,90	25,28±4,27	25,88±4,22	32,54±2,60 ^{a,b,c}	0,002

a: Kontrol grubuna göre kıyaslama (p<0.05)

b: Elektrik alan grubuna göre kıyaslama (p<0.05)

c: Elektrik alan+resveratrol grubuna göre kıyaslama (p<0.05)

4.8. Comet Assay Yöntemi ile DNA Hasarı Analizi

Yöntemler bölümünde anlatıldığı şekilde hücre ile işleme tabi tutulmuş mikrojel slaytlar hazırlanarak lizis tamponu etkisi ile DNA'nın açığa çıkması sağlanıp elektroforez ile kırıklar floresan boyanında eklenmesi ile görünür hale getirildi. Rastgele 100 hücre her bir slayt üzerinde sayılarak değerlendirme yapıldı. Spermdeki DNA kırıklarını tespit etmek için uygulanan comet yönteminde kuyruk uzunluklarına göre cometler 5 kategoriye ayrıldı. Şekil 12'de görüldüğü gibi, hiç hasar bulunmayan hücreler 0, az hasarlı hücre 1, orta hasarlı hücre 2, çok hasarlı hücre 3, ileri derecede hasarlı hücre 4 olarak değerlendirildi. DNA hasarının şiddetine göre her örnek için toplam comet skoru oluşturuldu. Elde edilen comet skoru verilerine uygulanan Kruskal–Wallis testi sonucunda gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulundu (p=0.001).

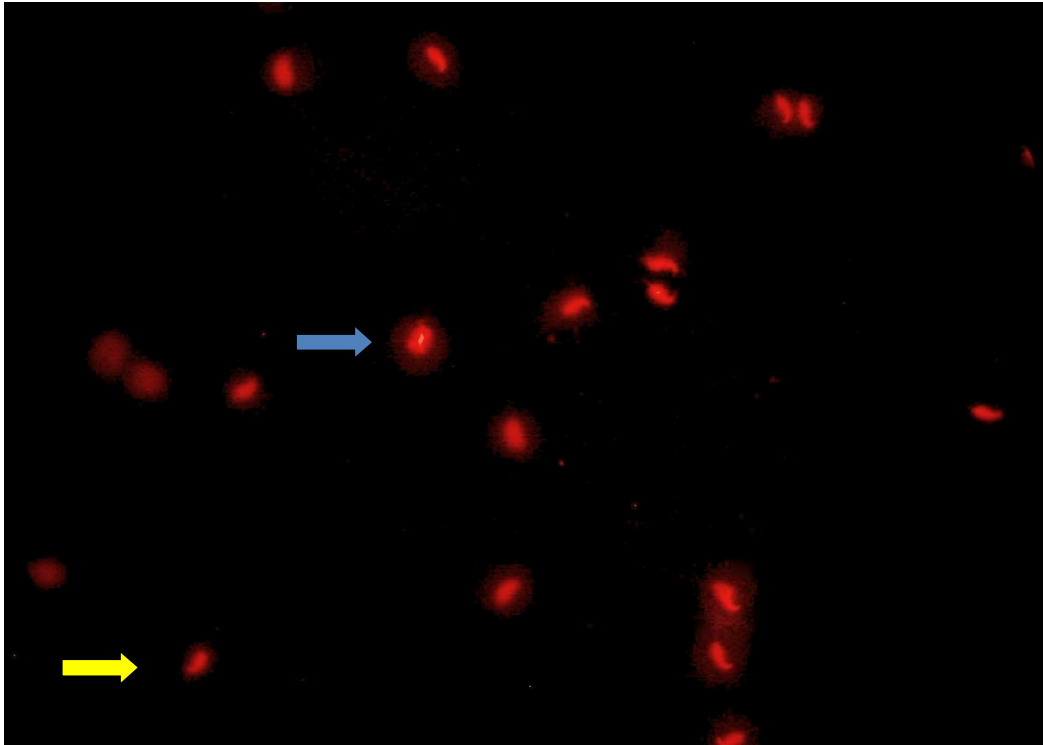
Yapılan karşılaştırmalarda; K grubu ile EA grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p=0.001) ve EA grubunda comet skoru artmıştır. EA grubu ile EA+R



grubu arasındaki fark anlamlı ($p=0.001$) ve EA+R grubunda comet skorunda azalma bulunmuştur. EA grubu ile R grubu arasında fark istatistik olarak anlamlı ($p=0.001$) ve R grubunda comet skorunda azalma tespit edilmiştir. Her grubu ait comet analiz görüntüsü resim 2. 3. 4. 5’de gösterilmiştir.

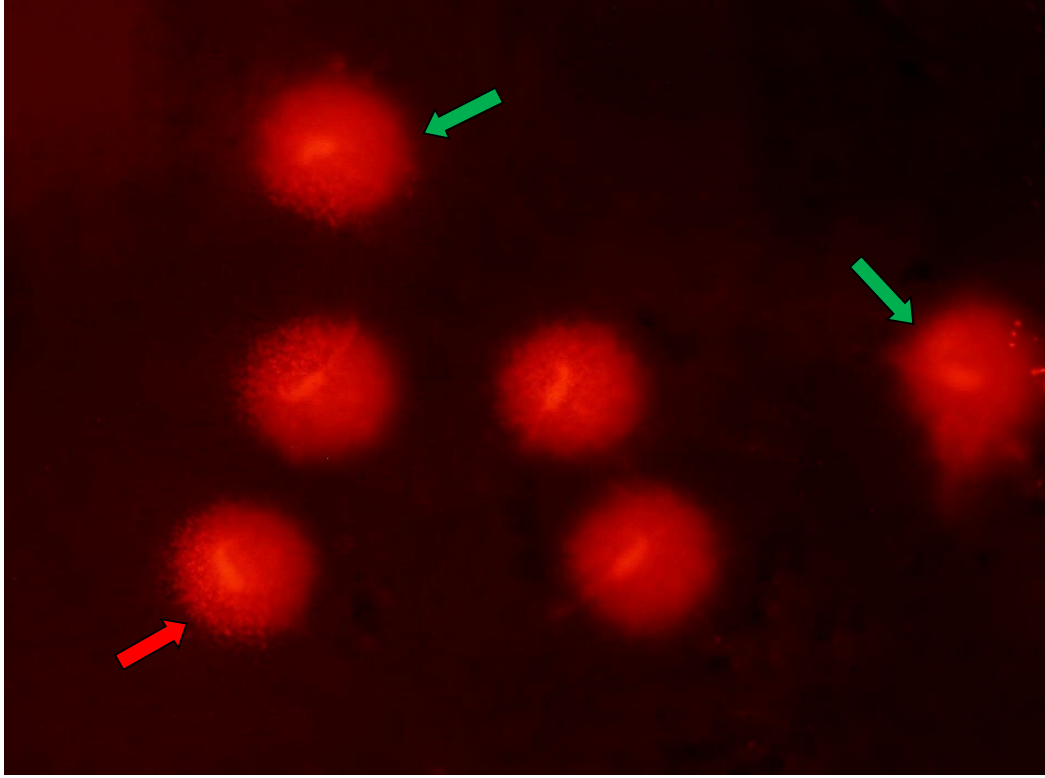
Tablo 11. Comet Analizinin İstatistiksel Değerlendirilmesi



Gruplar	Comet Skoru		
	Ortalama \pm SS	Ortanca (min-max)	P değeri
Grup I (K)	116,25 \pm 12,88 ^c	115 (101-134)	0.001
Grup II (EA)	266 \pm 50,7 ^a	270 (202- 365)	
Grup III (EA+R)	147 \pm 20,85 ^b	143 (123 – 172)	
Grup IV (R)	135,5 \pm 33,7 ^{bc}	121 (104 – 182)	

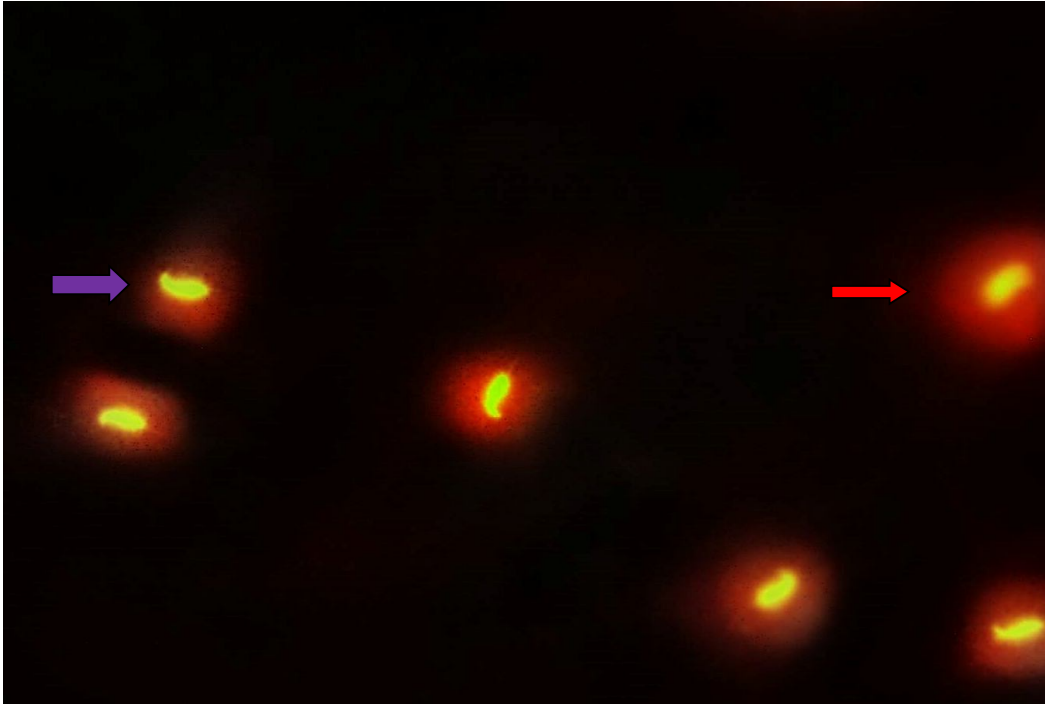
Aynı sütunda farklı harfler taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.





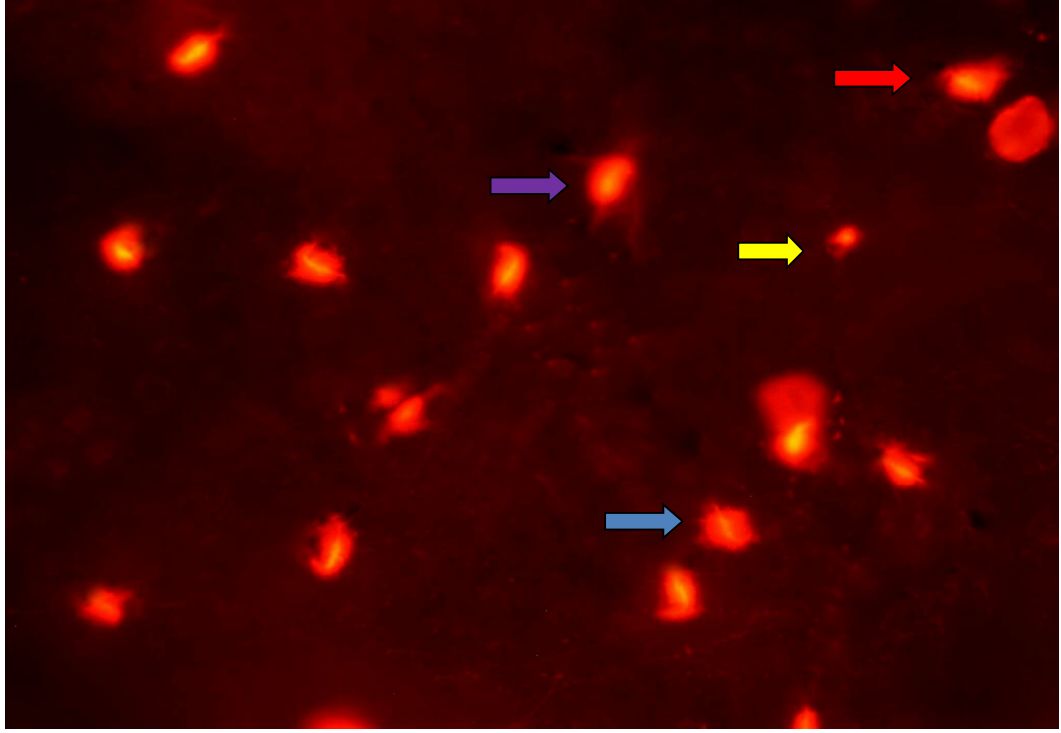
Resim 2. Grup I (K) Comet Analizi. Sarı ok () ; 0. kategori, hiç hasar bulunmayan hücre. Mavi ok () 1. kategori, az hasarlı hücre



Resim 3. Grup II (EA) Comet Analizi. Yeşil ok (); 4. kategori, ileri derecede hasarlı hücre. Kırmızı ok () 3. kategori, çok hasarlı hücre



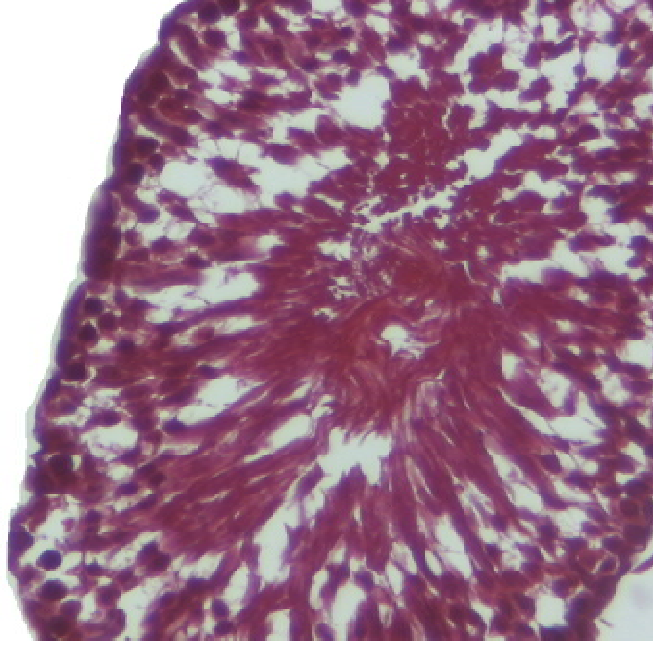
Resim 4. Grup III (EA+R) Comet Analizi. Mor ok (); 2. kategori, orta hasarlı hücre. Kırmızı ok () 3. kategori, çok hasarlı hücre



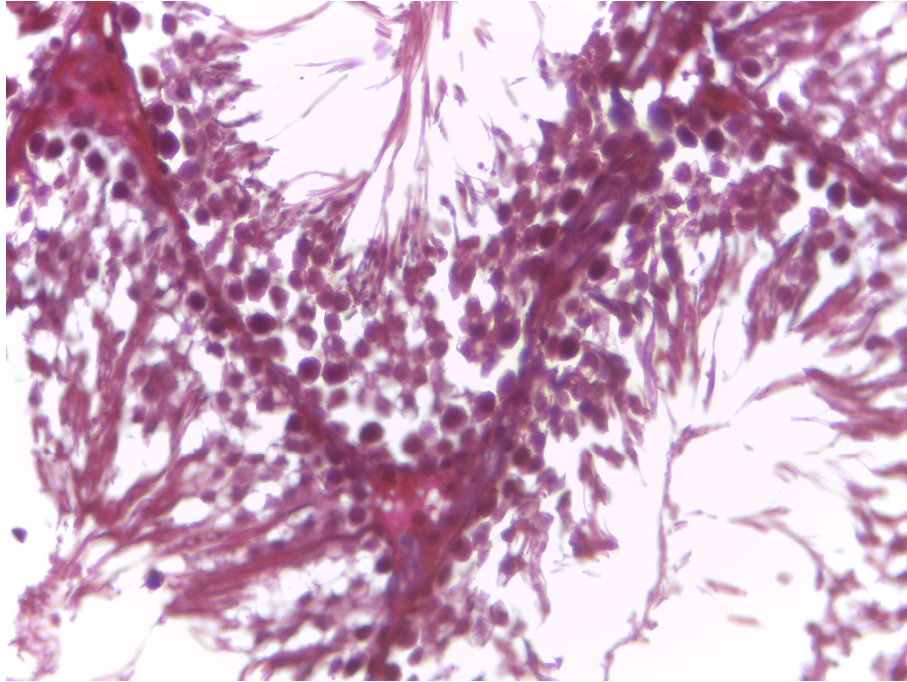
Resim 5. Grup IV (R) Comet Analizi. Sarı ok (→); 0. kategori, hiç hasar bulunmayan hücre. Mavi ok (→) 1. kategori, az hasarlı hücre. Mor ok (→) 2. kategori, orta hasarlı hücre. Kırmızı ok (→) 3. kategori, çok hasarlı hücre

4.9. Histopatolojik Bulgular

K grubunda testislerde tunika albuginea, seminifer tübül, interstisyel bağ doku ve Leydig hücrelerinin normal görünümde oldukları tespit edildi. Seminifer tübül bazal laminasının düzenli olduğu ve epitelinin normal yapıda olduğu gözlemlendi. Sertoli hücreleri ve spermatogonyumlarında normal konfigürasyonda oldukları saptandı. Testis dokusunun genel yapısında herhangi bir kanama, inflamasyon ve seminifer tübüllerde hasarla uyumlu bulgu görülmedi (Şekil 18.1, 18.2).



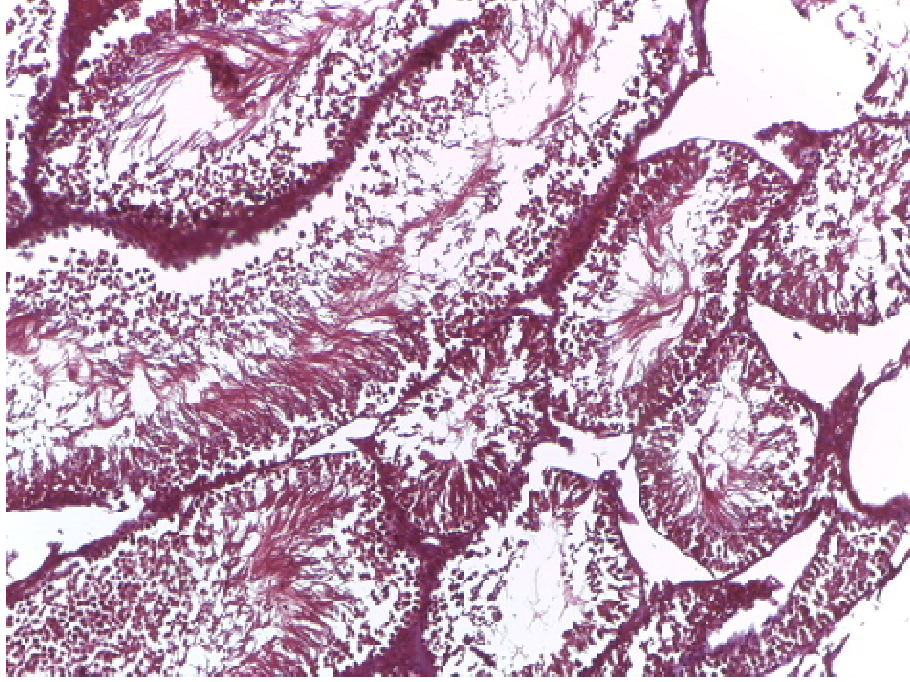
Şekil 18.1. Seminifer Tübül ve Germ Hücreleri, Masson trikrom, X 40



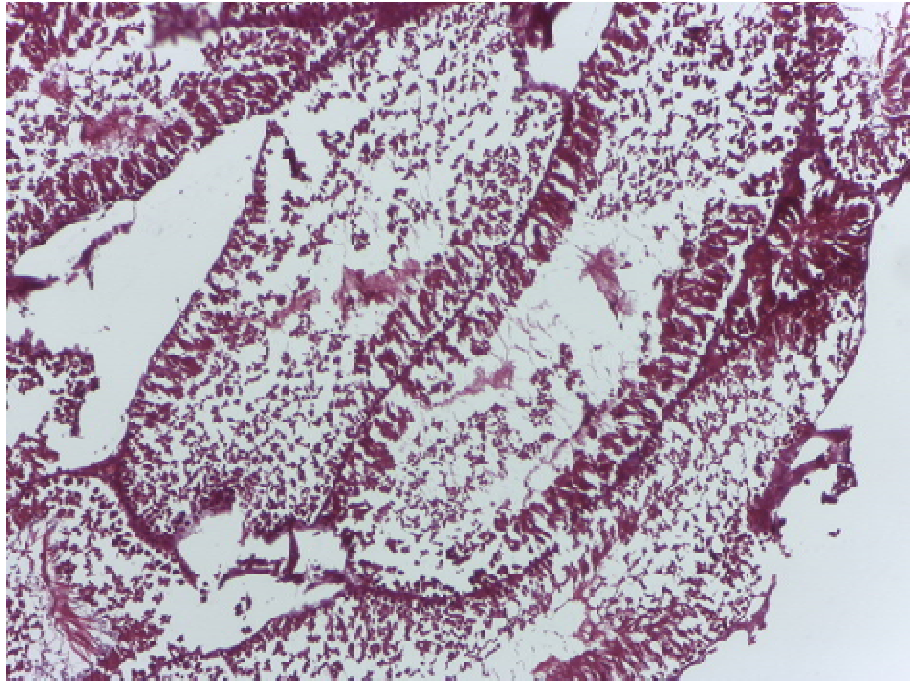
Şekil 18.2. Seminifer Tübül, Germ hücreleri ve İnterstisyel Alan, Masson trikrom, X 40

EA uygulanan grupta, seminifer túbül epitelinde yer yer kopmalar ve epitel kalınlığında azalmalar gözlemlendi. Seminifer túbüllerin bazal laminasında ayrılmalar, germ hücrelerinde azalma, interstisyel alanda ödem ve konjesyon, seminifer túbül

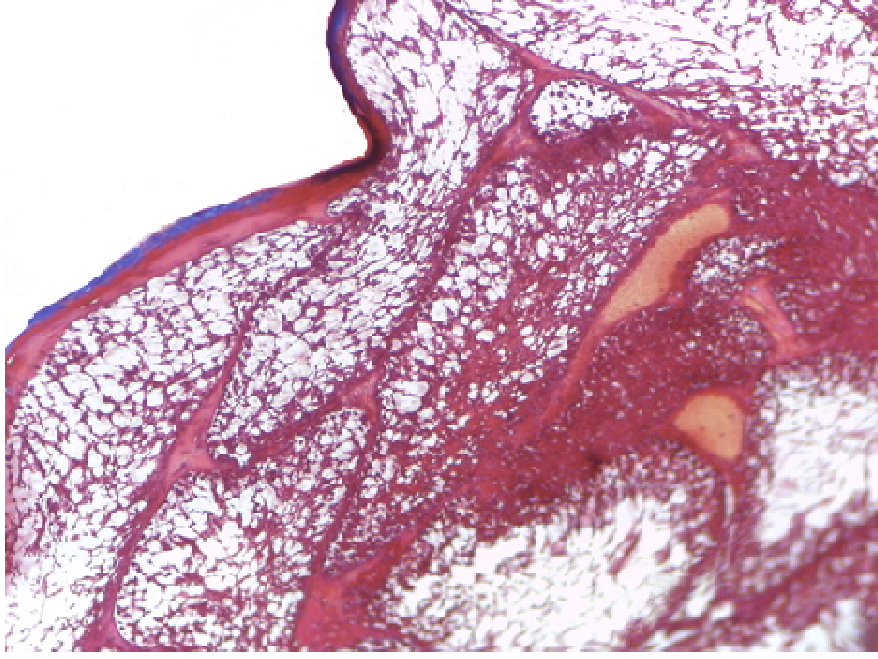
epitelinde vakuolizasyonlar belirlendi. Ayrıca interstisyel bağ dokusunun da kontrole göre azalmış olduğu saptandı (Şekil 18.3, 18.4, 18.5, 18.6).



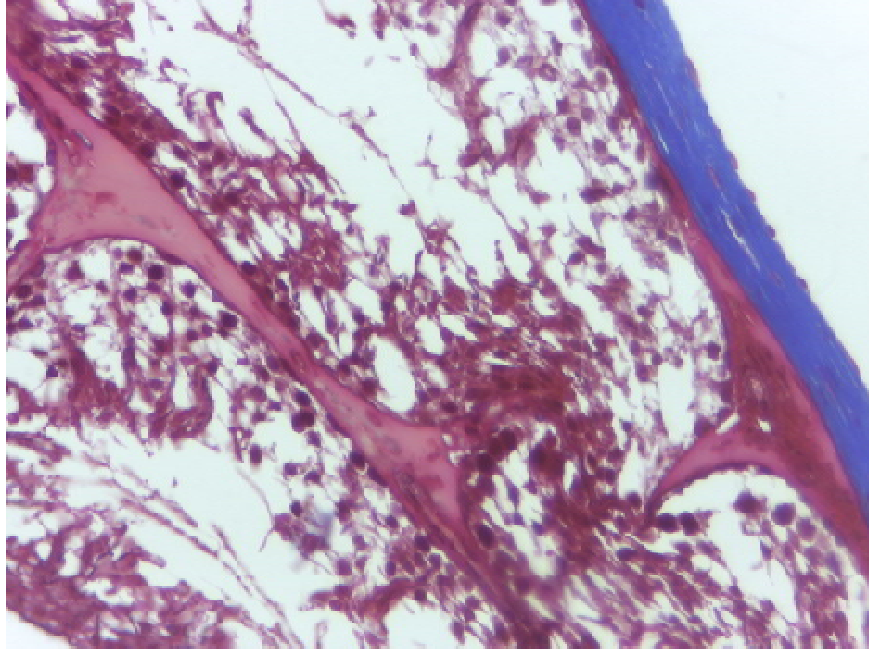
Şekil 18.3. İnterstisyel Alanda Azalma, Germ Hücrelerinde Azalma, Masson Trikrom, X 40



Şekil 18.4. İnterstisyel Alanda Azalma, Germ Hücrelerinde Azalma ve Vakuolizasyonlar, Masson Trikrom, X 40



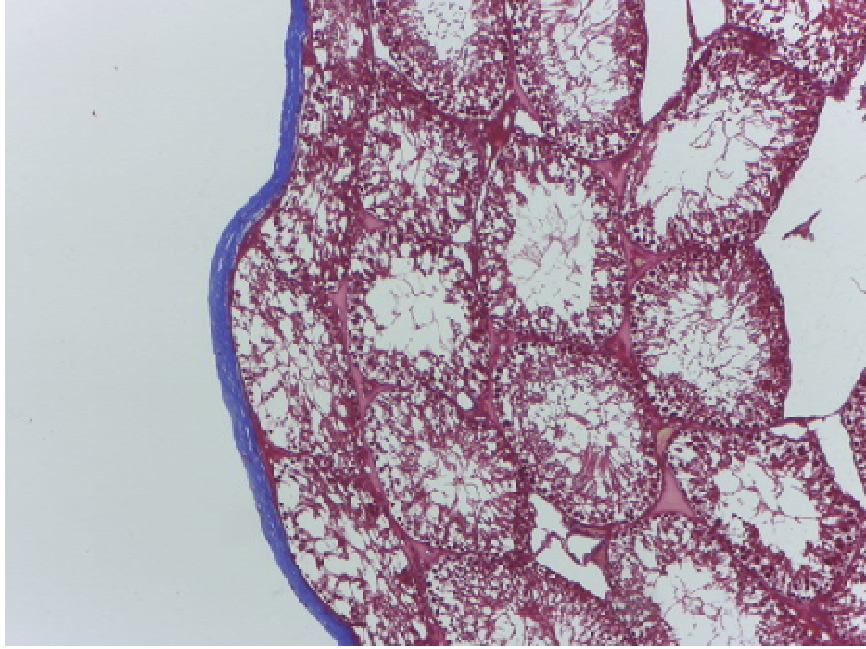
Şekil 18.5. İnterstisyel Alanda Ödem ve Konjesyon, Germ Hücrelerinde Azalma ve Vakuolizasyonlar, Masson Trikrom, X 40



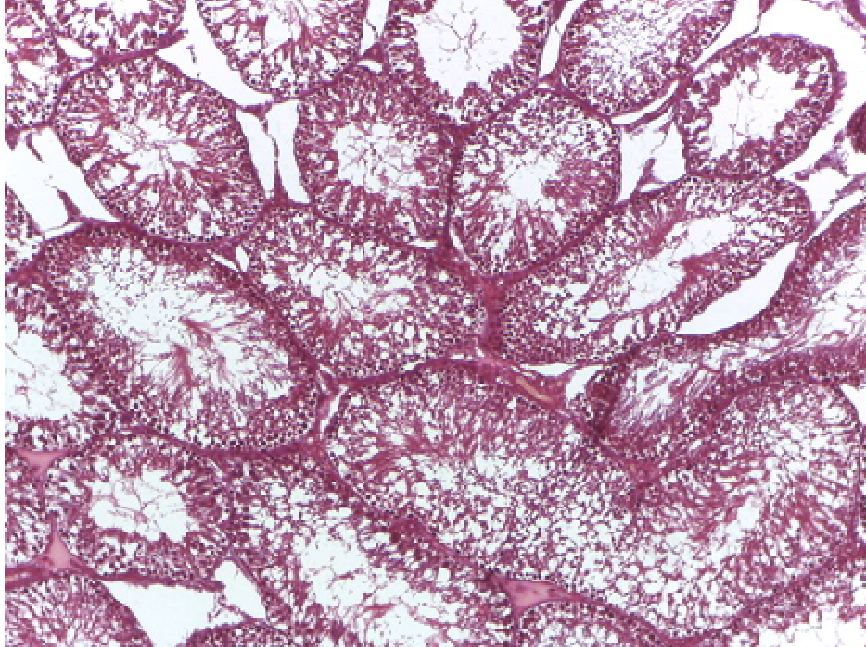
Şekil 18.6. İnterstisyel Alanda Ödem, Germ Hücrelerinde Azalma ve Vakuolizasyonlar, Masson Trikrom, X 40

EA+R uygulanan grupta, seminifer tübül epitelinde yer yer kopmalar ve epitel kalınlığında azalmaların olmasına rağmen EA grubuna göre şiddetinin hafiflediği gözlemlendi. Germ hücrelerinde azalma, interstisyel alanda ödem ve

konjesyon, seminifer tübül epitelinde vakuolizasyonlar ve interstisyel bağ dokusunda azalmalar gözlenirken EA grubuna göre nisbeten yoğunluğun hafiflediği tespit edildi (Şekil 18.7, 18.8).

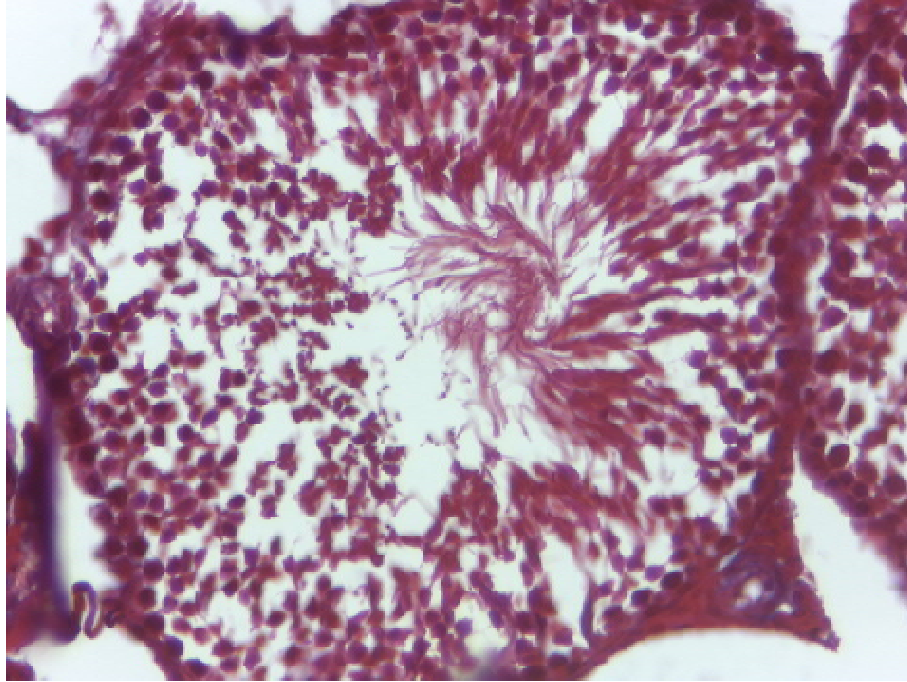


Şekil 18.7. İnterstisyel Alanda dem, Germ Hücrelerinde Azalma ve Vakuolizasyonlar, Masson Trikrom, X 10



Şekil 18.8. İnterstisyel Alanda Azalma ve ödem, Germ Hücrelerinde Azalma ve Vakuolizasyonlar, Masson Trikrom, X 20

R uygulanan gruptaki histolojik bulgular kontrol grubuna benzer olmasına rağmen farklılıkları bulunmaktadır. Tunika albuginea ve seminifer tübüller normal görünümde olmasına rağmen, interstisyel bağ dokuda azalma EA ve EA+R grubu kadar olmasa da hafif düzeyde saptandı. Seminifer tübül bazal laminasının düzenli olduğu ve epitelinin normal yapıda olduğu gözlemlendi. Sertoli hücreleri ve spermatogonyumlarında normal konfigürasyonda oldukları belirlendi. Ancak germ hücrelerinde hafif vakuolizasyon gözlemlendi. Testis dokusunun genel yapısında herhangi bir kanama, inflamasyon ve ödem görülmedi (Şekil 18.9).



Şekil 18.9. Seminifer Tübül ve Germ Hücreleri, Masson Trikrom, X 40

Histokimyasal boyamalar sonucu gruplar arası karşılaştırma yaptığımızda EA'ya maruz kalan ratların testis dokusunda ciddi hasarların olduğu belirlendi. EA+R grubunda ise resveratrolün koruyucu etkisi ile hasarların nispeten azaldığı ancak hasarların tamamıyla düzelmediği gözlemlendi. R ve K grubunda ise testis dokusunun normale yakın bir görünümde olduğu tespit edildi (Tablo 12). Resveratrolün koruyucu rolü olduğu ancak bu çalışmada kullanılan dozunun yeterli olmadığı daha yüksek dozlarda koruyuculuğunun artabileceği sonucuna varıldı.

Tablo 12. Gruplara Ait Hasar Şiddeti

	Grup I (K)	Grup II (EA)	Grup II (EA+R)	Grup IV (R)
Hasar Şiddeti	±	+++	++	+

+++ yoğun, ++ orta, + hafif, ± çok hafif

4.10. Morfometrik Bulgular

4.10.1. Leydig Hücre Sayısına ait Bulgular

Deney gruplarına ait sıçanların leydig hücre sayısına ait karşılaştırma Tablo 13.1’de verilmiştir. Yapılan istatikselsel analiz sonucunda K grubuna göre EA, EA+R grubunun leydig hücre sayısında anlamlı derecede azalma meydana geldiği gözlemlendi ($p<0.05$). Ancak K ve R grubu arasında Leydig hücre sayısı açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

Tablo 13.1. Grupların Leydig Hücre Sayısına Ait Ortalama ve Standart Sapmalar

Gruplar	n	Leydig Hücre Sayısına ait Ortalama ve Standart Sapmalar
Grup I (K)	8	21.375 ± 0.497
Grup II (EA)	8	12.750* ± 0.526
Grup III (EA+R)	8	14.625** ± 0.625
Grup IV (R)	8	20.375*** ± 0.500

* EA grubundaki değerler, K grubuna göre anlamlı derecede azaldı ($p<0.05$).

** EA+R grubundaki değerler, K grubuna göre anlamlı derecede azaldı ($p<0.05$).

*** R grubu ile K grubu arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

4.10.2. Seminifer Tübül Çapına ait Bulgular

Deney gruplarına ait seminifer tübül çapına ait ölçüm sonuçları tablo 13.2’de verilmiştir. Değerlendirilen istatikselsel sonuçlara göre K grubuna göre EA grubu seminifer tübül çapında anlamlı derecede azalma meydana geldiği gözlemlendi ($p<0.05$). Ancak K grubuna göre EA+R ve R grubu arasında seminifer tübül çapı açısından anlamlı bir farklılık belirlenmedi ($p>0.05$).

Tablo 13.2. Grupların Seminifer Tübül Çapına Ait Ortalama ve Standart Sapmalar

Gruplar	n	Seminifer Tübül Çapına ait Ortalama ve Standart Sapmalar (μm)
Grup I (K)	8	230.375 \pm 10.141
Grup II (EA)	8	188.250* \pm 7.927
Grup III (EA+R)	8	216.375** \pm 6.635
Grup IV (R)	8	234.875** \pm 12.702

* EA grubundaki değerler, K grubuna göre anlamlı derecede azaldı ($p < 0.05$).

** EA+R ve R grupları ile K grubu arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0.05$).

4.10.3. Tunika Albuginea Kalınlığına ait Bulgular

Grupların tunika albuginea kalınlıklarına ait karşılaştırma Tablo 13.3'de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda K grubuna göre EA, EA+R grubunun tunika albuginea kalınlıklarında anlamlı derecede azalma belirlendi ($p < 0.05$). Ancak K ve R grubu arasında tunika albuginea kalınlıkları açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0.05$).

Tablo 13.3. Grupların Tunika Albuginea Kalınlıklarına Ait Ortalama ve Standart Sapmalar

Gruplar	n	Tunika Albuginea Kalınlıkları ait Ortalama ve Standart Sapmalar (μm)
Grup I (K)	8	37.025 \pm 2.316
Grup II (EA)	8	25.837* \pm 1.221
Grup III (EA+R)	8	30.937** \pm 1.034
Grup IV (R)	8	33.550*** \pm 1.593

* EA grubundaki değerler, K grubuna göre anlamlı derecede azaldı ($p < 0.05$).

** EA+R grubundaki değerler, K grubuna göre anlamlı derecede azaldı ($p < 0.05$).

*** R grubu ile K grubu arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0.05$).

4.11. İmmünohistokimyasal Bulgular

TUNEL boyaması ile belirlenen apoptotik hücre sayılarının ortalama ve standart sapmaları Tablo 14’de verilmiştir. Deney grupları ve kontrol grupları arası apoptotik hücre sayısı açısından anlamlılığının test edilmesinde Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Buna göre EA ve EA+R gruplarının K grubuna göre apoptotik hücre sayısında anlamlı derecede artış gözlemlendi ($p<0.05$). R grubu ile K grubu arasında ise anlamlı bir farklılık saptanmadı. Apoptotik hücre sayısının en fazla EA grubunda olduğu tespit edildi. EA ve EA+R grupları karşılaştırıldığında ise resveratrolün koruyucu etkisiyle kısmen apoptotik hücre sayısında anlamlı derecede azalma saptandı. İmmünohistokimyasal bulgularımız histopatolojik bulgularımızı desteklemektedir. EA testis dokusunda ciddi hasarlar oluşturmuştur. EA+R grubunda ise resveratrolün koruyucu etkisi ile gerek apoptotik hücre sayısı, gerek doku hasarları azalmış ancak tam anlamıyla düzelmemiştir. Araştırma gruplarına ait immünohistokimyasal görüntüler şekil 19.1, 19.2, 19.3, 19.4, 19.5, 19.6’da görülmektedir.

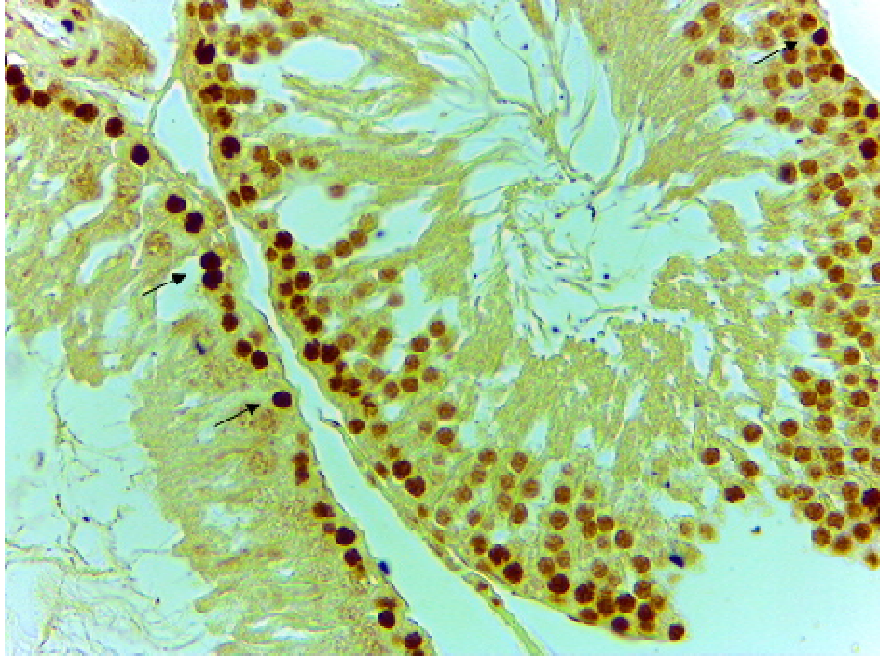
Tablo 14. Grupların Apoptotik Hücrelerine Ait Ortalama ve Standart Sapmalar

Gruplar	n	Apoptotik Hücelere ait Ortalama ve Standart Sapmalar (μm)
Grup I (K)	8	6.125 \pm 0.548
Grup II (EA)	8	22.500* \pm 0.566
Grup III (EA+R)	8	17.125** \pm 0.895
Grup IV (R)	8	7.500*** \pm 0.500

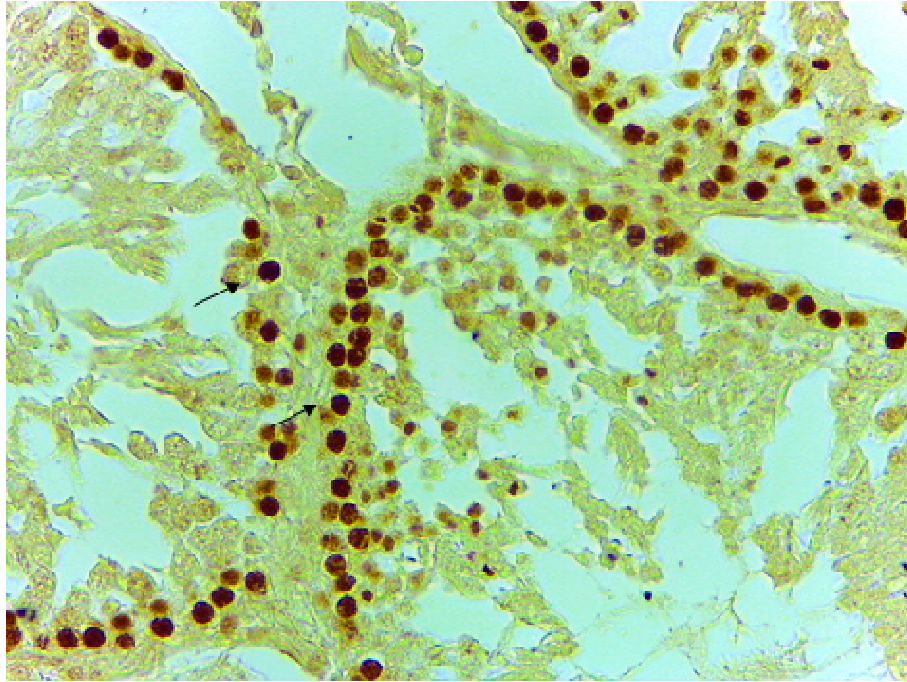
* EA grubundaki değerler, K grubuna göre anlamlı derecede arttı ($p<0.05$).

** EA+R grubundaki değerler, K grubuna göre anlamlı derecede arttı ($p<0.05$).

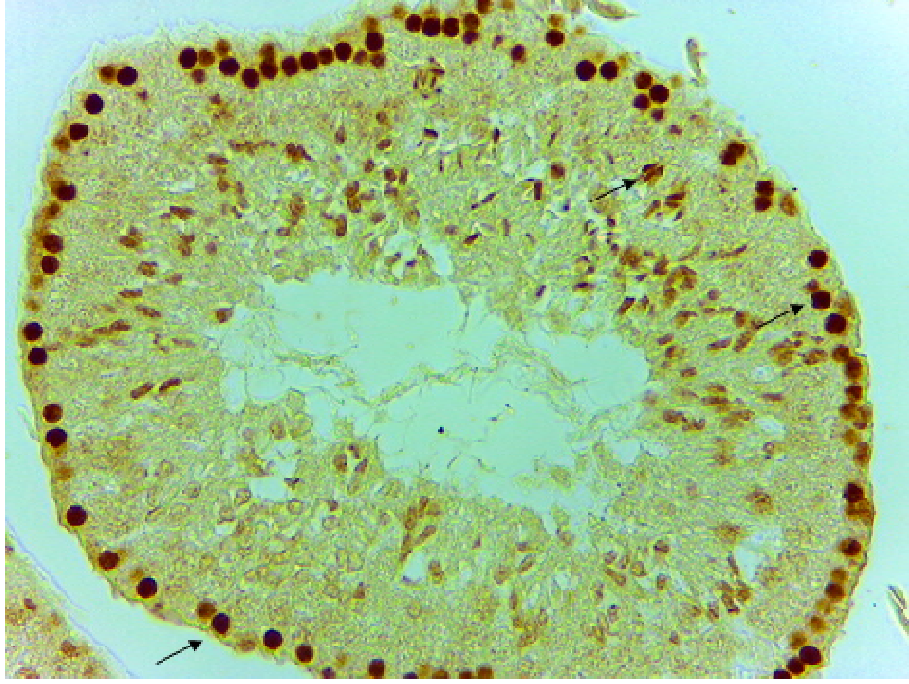
*** R grubu ile K grubu arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$).



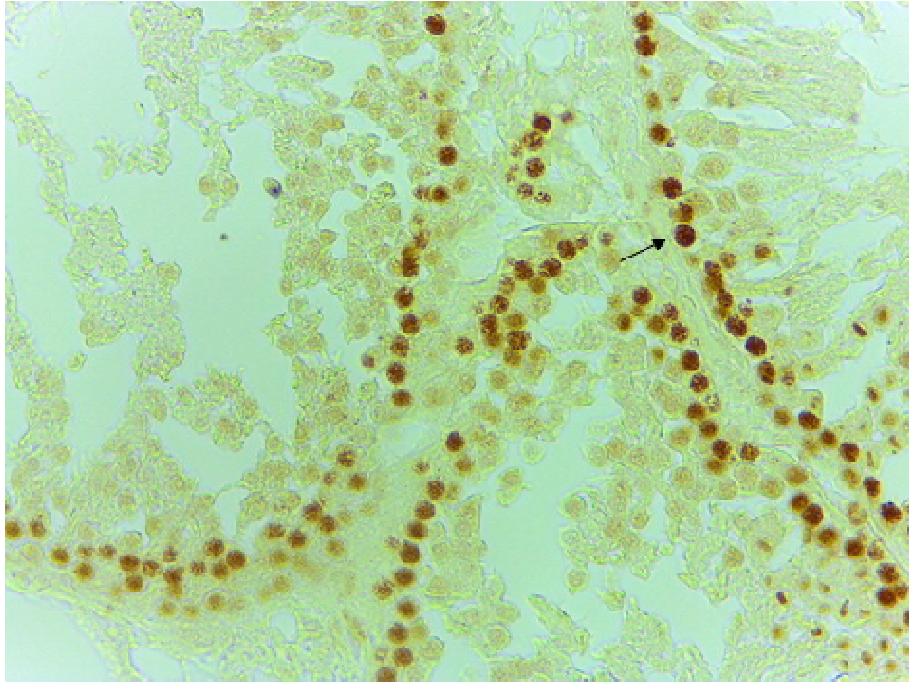
Şekil 19.1. EA Grubuna Ait Testis Dokusunda Gözlenen TUNEL (+) Hücreler (Tunel, X400).



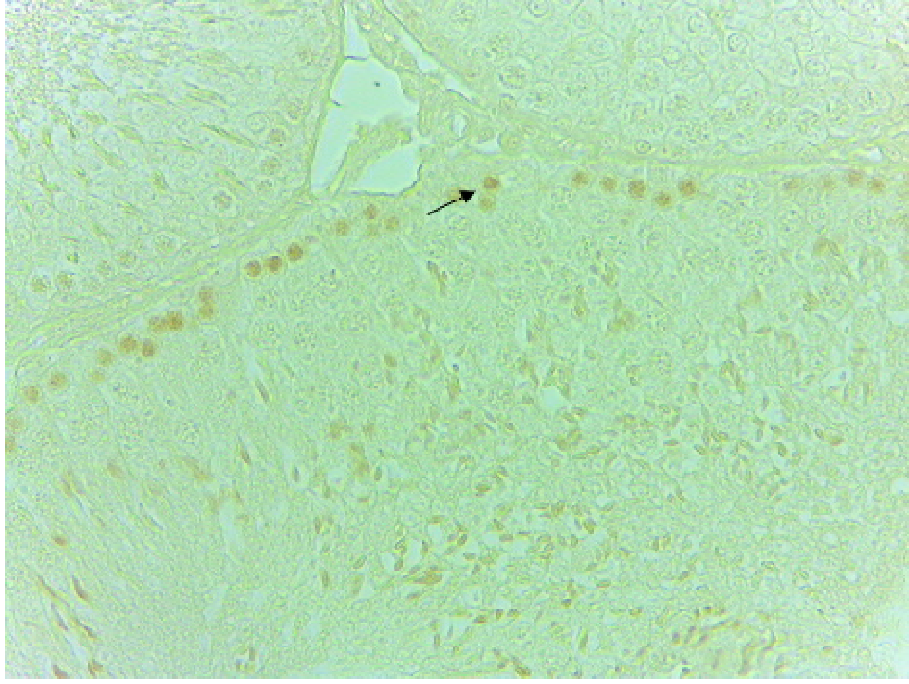
Şekil 19.2. EA Grubuna Ait Testis Dokusunda Gözlenen TUNEL (+) Hücreler (Tunel, X400).



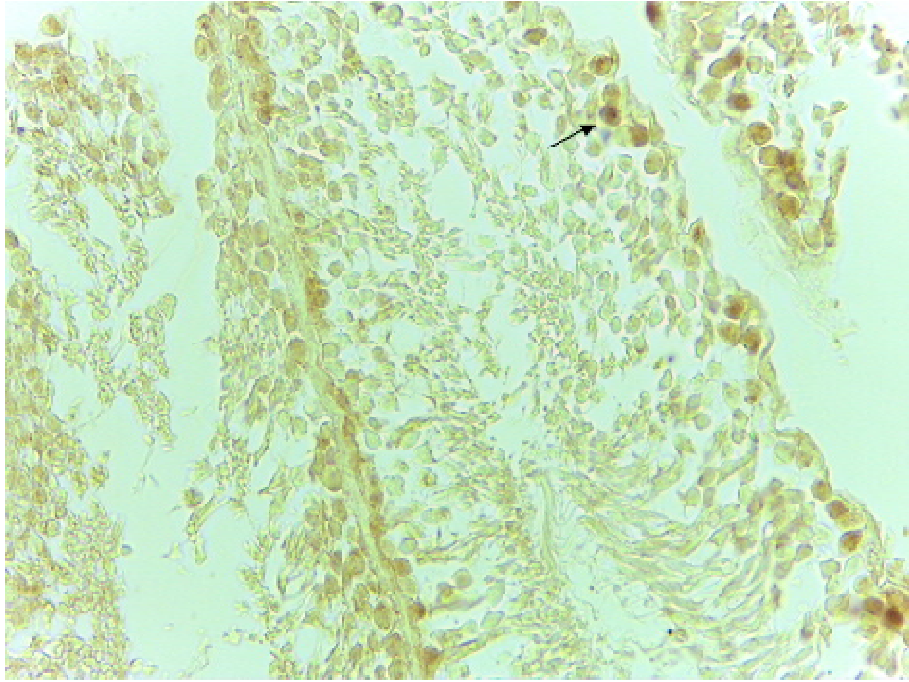
Şekil 19.3. EA Grubuna Ait Testis Dokusunda Gözlenen TUNEL (+) Hücreler (Tunel, X400).



Şekil 19.4. EA+R Grubuna Ait Testis Dokusunda Gözlenen TUNEL (+) Hücreler (Tunel, X400).



Şekil 19.5. R Grubuna Ait Testis Dokusunda Gözlenen Tunel (+) Hücreler ve Zayıf Boyanma (Tunel, X400).



Şekil 19.6. K Grubuna Ait Testis Dokusunda Gözlenen Tunel (+) Hücreler ve Zayıf Boyanma (Tunel, X400).

5. TARTIŞMA

Son yıllarda hızla gelişen teknoloji ve modern yaşamın bir parçası olan teknolojik aletler beraberinde elektrik ve manyetik alan kirliliğini de oluşturmaktadır. Dünya nüfusunun artması, birey başına düşen metre karenin azalması ve teknolojik cihazların kullanımının artması, insanların daha uzun süre ve yoğunlukta EA'ya maruz kalmasına neden olmaktadır.

Geçmişten günümüze kadar EA'nın insan sağlığına zararlı olduğunu ortaya koyan yayınların olması (28, 184-188) ve giderek daha uzun süre ve yoğunlukta EA'ya maruz kalma, bu konunun önemli bir sağlık problemi oluşturduğunu düşündürmektedir.

EA ve testis dokusu üzerine çok az çalışma yapılmış olup, bu çalışmalarda EA'nın zararlı etkisi ile ilgili somut veriler sunulamamıştır. Fakat farklı frekanslarda EMA'nın testis dokusu üzerinde hasar oluşturduğu çalışmada ifade edilmektedir (189).

EA'nın insan metabolizmasını bozduğu sınırlar WHO, ICNIRP, IEEE tarafından belirlenmektedir. Yapılan çalışmalarda EA farklı dozlarda kullanılmıştır. Bilimsel çalışmalar sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda maruziyet sınırları güncellenmektedir. Çalışmamızda, WHO, IEEE standart ve düzenlemelerine göre ülkemiz için belirlenen EA maruziyet sınırı (10 kV/m, 50 Hz) kullanılmıştır.

Bu çalışmada, uzun süreli ve yoğun EA maruziyetinin testis dokusu üzerinde oluşturabileceği hasar ile birçok çalışmada farklı dokular üzerinde iyi bir antioksidan olduğu ortaya konan resveratrolün olası koruyuculuğu araştırıldı. Çalışmada araştırılan parametreler; vücut, testis ve epididim ağırlıkları, vücut ısısı, testis ısısı, spermin fiziksel özellikleri (sperm sayısı, motilite), antioksidan, testis fonksiyonları üzerine etkili hormonlar (testosteron, LH, FSH, E2, GH), histopatolojik ve immünohistokimyasal analizlerdir.

Margonato ve arkadaşları (190) yüksek yoğunluktaki EA'nın testis dokusundaki biyolojik etkilerini araştırdıkları çalışmada vücut ağırlığını da değerlendirmişlerdir. Çalışma, 240 adet erkek sıçan üzerinde yapılmıştır. Günde 8

saat 25 kV/m ve 100 kV/m 50 Hz EA 280, 440, 1240 saat olarak uygulanmıştır. 280 ve 440 saat uygulanan gruplarda vücut ağırlığında herhangi bir değişiklik gözlenmezken, araştırmacılar 1240 saat uygulanan sıçanlarda istatistiksel olarak anlamlı olmasada vücut ağırlığında azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Erpek ve arkadaşları (191) sıçan testisi üzerine 2.2 kV/m EA'nın etkilerini araştırdıkları çalışmada, EA'ya maruz bırakılan grubun vücut ağırlığında kontrol grubuna göre azalma olduğu ancak gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını ifade etmişlerdir. 50 Hz manyetik alanın yetişkin ratlarda spermatogenez üzerine etkilerinin araştırıldığı diğer bir çalışmada (189) uzun süreli maruziyette kilo artışının meydana geldiği ancak farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gösterilmiştir. Duan ve arkadaşları (192) 50 Hz manyetik alanın fertilité parametreleri üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada benzer sonuç elde etmişler.

Organizma için öncelikli antioksidan etkileri saptanan resveratrolün biyolojik olarak; kanser karşıtı, trombosit birikimini engelleyici, iskemi-reperfüzyon hasarından koruyucu, enflamasyon önleyici, antimikrobiyal, kalp-damar sistemi üzerinde koruyucu, damar genişletici, kan yapımı, yaşlanma karşıtı ve östrojenik etkileri belirlenmiştir (111). Juan ve arkadaşları (169) sağlıklı ratlara gavaj yoluyla 20 mg/kg resveratrol uygulayarak sperm artışını araştırdıkları çalışmada vücut ağırlığında meydana gelen artışın kontrol grubuna benzer olduğunu göstermişlerdir. Kavas ve arkadaşları (193) sıçanlarda oksidan ve antioksidan sistemler üzerine 20 mg/kg resveratrolün etkilerini araştırdıkları çalışmada deneyin başında ve sonunda vücut ağırlık ölçümleri yapmışlar ve deney sonunda resveratrol uygulanan grupta kilo kaybı olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda, vücut ağırlığı verileri değerlendirildiğinde EA grubu ile K grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.01$) bir fark ve EA uygulanan grupta vücut ağırlığında artma olduğu tespit edildi. Resveratrolün testis üzerine koruyucu etkilerinin araştırıldığı çalışmamızda, EA+R grubunda EA grubuna göre vücut ağırlığında anlamlı derecede azalma ($p=0.021$) meydana geldiği tespit edildi. Sadece R uygulanan grubun kilo kazanımı ise K grubuna göre anlamlı artış gösterdiği ($p=0.014$), EA grubuna ise yakın değerlerde olduğu tespit edildi.

Bu konuda yapılan çalışma verileri farklılık göstermektedir. Çalışmada elde ettiğimiz bulgular EA'nın uygulama süresi ve kullanılan doza bağlı olarak diğer çalışmalarla bazı farklılıklar göstermektedir. Çalışma bulguları bize EA'nın nöroendokrin fonksiyonu etkileyerek metabolizmayı yavaşlattığı bu nedenle kilo artışı oluşturduğunu düşündürse de bunun ilave çalışmalarla desteklenmesi önemlidir. Ayrıca EA grubunda meydana gelen kilo artışının reveratrol uygulaması ile azaltılması resveratrolün kilo artışına karşı kullanımının olabileceğini gösterebilir bu alanda başka çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Çalışmada, deney sonrasında kurban edilen hayvanlardan çıkarılan testis ve epididim dokuları tartılarak testis ve epididim ağırlık verileri elde edildi. Testise ait veriler değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Ancak kontrol grubu ile EA grubu arasındaki fark anlamlı olmasada EA'ya maruz bırakılan grubun testis dokusunda azalma tespit edilmiştir. Çalışma sonuçları Margonata ve Erpek'in çalışma bulguları ile benzerlik göstermektedir (190,191). Epididime ait verilere yapılan istatistiksel analiz sonucunda EA'ya maruz bırakılan grup ile K grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. EA uygulanan grup ile EA+R uygulanan grup arasında fark anlamlı olmasada EA+R grubunda epididim ağırlığında artış tespit edildi. Bu artış tam olmasada EA hasarına karşı koruyucu olarak seçilen resveratrol dozunun kısmen koruyucu olduğunu göstermektedir. Daha yüksek dozlarda kullanımının daha etkili bir koruma sağlayabileceği düşünülmektedir. Duan ve arkadaşlarının (192) 50 Hz manyetik alanın spermatogenez üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada; 4 haftalık ve 8 haftalık maruziyettede gruplar arasında epididim ağırlığı açısından anlamlı bir fark elde edilmemiştir.

Çalışmamızda araştırma gruplarının günlük olarak vücut ısısı ve testis ısısı ölçülmüş olup toplamda 30 günlük değer elde edilmiştir. Araştırma gruplarının günlük vücut ısı ölçümlerinin ortalamaları ve standart sapmalarından elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonucunda gruplar arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Vücut ısısı, EA+R uygulanan grupta K grubuna göre anlamlı olarak azalma, EA grubuna göre anlamlı olmasada vücut ısısında azalma tespit edilmiştir. Çalışma bulgularından yola çıkarak en düşük vücut ısısının EA+R

uygulanan grupta oluştuğunu söyleyebiliriz. Testis ısısına ait veriler değerlendirildiğinde gruplar arasında fark istatistik olarak anlamlı bulunmuştur. Vücut ısısına paralel olarak EA+R grubunun testis ısısı diğer gruplardan daha düşük bulunmuştur. Sonuçlar bize, hem EA'nın hem de resveratrolün termoregülasyon mekanizmalarından bir veya birkaçını etkilediğini düşündürmektedir. İn vitro ve invivo olarak yapılan çalışmalarda da resveratrolün, inflamasyon ile uyarılan ve PG sentezini katalize eden enzim siklooksijenaz-2 (COX-2) üretimini azalttığı gösterilmiştir (140, 141).

Çalışmamızda sperm sayı değişkeni gruplar arasında Kruskal-Wallis testine göre ileri düzeyde anlamlı olarak bulundu ($p=0.001$). K grubuna göre yapılan kıyaslamalarda; K grubu ile EA grubu arasında fark anlamlı ($p=0.01$) ve EA grubunda sperm sayısında azalma tespit edildi. K grubu ile EA+R ve R grupları arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. EA grubuna göre yapılan karşılaştırmalarda; EA grubu ile EA+R grubu arasında fark anlamlı (0.002) ve EA+R grubunda sperm sayısında artma, EA grubu ile R grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.002$) ve R grubunda artma tespit edildi. Çalışma bulgularına göre resveratrolün EA hasarına karşı oluşan sperm sayısında azalmaya karşı koruma sağladığı söylenebilir. EA sperm sayısında azalma meydana getiriyor. Bu elde ettiğimiz sonuç Al-Akhras ve arkadaşlarının yapıdığı çalışma ile uyumluluk göstermektedir. Al-Akhras ve arkadaşlarının (189) 50 Hz manyetik alanı ratlar üzerine uygulayarak sex hormonları ve fertilité parametrelerini araştırdıkları çalışmada; maruziyet sonrasında manyetik alan uygulanan grupta sperm sayısında azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Juan ve arkadaşları (169) resveratrolün sağlıklı ratlar üzerinde sperm sayısında artış ile ilgili yaptıkları çalışmada gavaj yolu ile verilen 20mg/kg resveratrolün sperm sayısında artışa neden olduğunu göstermişlerdir. Elewa ve arkadaşları (194) cadmium chloride ile oluşturan testis hasarına karşı ve p53 geni, gonotropinlerin azalması, Bcl-2 gen ifadesi ile oluşan infertilite üzerine resveratrolün etkilerini araştırdıkları çalışmada resveratrolün sperm sayısı ve motilité üzerine olumlu etkileri olduğunu tespit etmişlerdir.

Sperm motilitesinde spermler; ileri hareketli, yerinde hareketli ve hareketsiz olmak üzere değerlendirildi. Motilité, ileri ve yerinde hareketli spermlerin

sayımı sonucu elde edildi. Tüm grupların analizleri Kruskal-Wallis testi ile yapıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre dört grup arasında spermilerin motilitesinde fark anlamlı olarak bulundu ($p=0.002$). Yapılan karşılaştırmalarda; K grubu ile EA grubu arasındaki fark anlamlı ($p=0.03$) ve EA grubunda motilitede azalma tespit edildi. K grubu ile EA+R ve R grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi. EA grubu ile EA+R grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.004$) ve EA+R grubunda motilitede artma tespit edildi. Motilite bulguları, sperm sayı bulguları ile benzeşik göstermektedir. EA uygulaması motilitede azalma oluştururken resveratrol uygulaması motilitede artışa sebep olmaktadır.

Duan ve arkadaşları (192) yetişkin ratlarda 50 Hz manyetik alanın sıçanlarda spermatogenez üzerine etkilerine baktıkları çalışmada MDA, SOD ve CAT'ı değerlendirmişler ve kontrol grubu ile maruziyet grubu arasında farkın anlamlı olmadığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda, 50 Hz EA'ya maruz bırakılan grupta kontrol grubuna göre MDA değerinde anlamlı artma ($p<0.05$), CAT değerinde anlamlı olmasada azalma, SOD ve GPx değerlerinde anlamlı azalma ($p<0.05$) tespit edildi. Bu çalışma sonuçları bize 50 Hz EA'nın testis dokusu üzerinde oksidatif stres oluşturduğunu göstermektedir. Çalışma bulgularımız histopatolojik bulgularla uyumluluk göstermektedir.

Resveratrol doğada bulunan antioksidan bir maddedir. Resveratrolün üreme fonksiyonları üzerine etkilerinin araştırılması oldukça yenidir. Yuluğ ve arkadaşları (195) methotrexate (MTX) ile uyarılan testis hasarına karşı resveratrolün etkilerini araştırdıkları çalışmada dört grup (Kontrol, MTX, MTX+R, Resveratrol) oluşturmuşlardır. Çalışmada resveratrol 20 mg/kg/gün intraperitoneal olarak 10 gün süreyle kullanılmıştır. Testis dokusunda MDA, SOD ve CAT aktivitelerinde araştırıldığı çalışmada, resveratrol uygulaması ile SOD'da anlamlı, CAT'da anlamlı olmasada artış tespit edilmiştir. Elewa ve arkadaşları (194) cadmium chloride ile oluşturan testis hasarına karşı ve p53 geni, gonotropinlerin azalması, Bcl-2 gen ifadesi ile oluşan infertilite üzerine resveratrolün etkilerini araştırdıkları çalışmada anlamlı olmasada resveratrolün SOD aktivitesini artırdığını ifade etmişlerdir. Kavas ve arkadaşları (193) sıçanlar üzerinde resveratrolün oksidan ve antioksidan sistemler üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada 20 mg/kg resveratrol 6 hafta

hayvanların içtiği suya konularak uygulanmıştır. Sonuç olarak deney grubunda MDA değerinde anlamlı azalma, SOD ve CAT değerlerinde ise anlamlı artış ($p<0.001$) tespit edilmiştir. Kasdallah-Grissa ve arkadaşları (196) ratlarda etanol ile uyarılan lipid peroksidasyon üzerine resveratrolün koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada karaciğer, kalp, beyin ve testis dokusunda MDA değerleri araştırılmıştır. Testis dokusunda resveratrol ile tedavi sonrası MDA değerlerinin anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir. Ünal ve arkadaşları (168) testis üzerine di-n-butyl phthalate'ın etkileri ve resveratrolün olası koruyuculuğunu araştırdıkları çalışmada, 20 mg/kg resveratrolün testis dokusunda hasar arttıkça koruyucu etkisinin azaldığını ifade etmişlerdir. Çalışmamızda EA+R grubunda EA grubuna göre MDA değerinde anlamlı azalmanın ($p<0.05$) olması resveratrolün antioksidan etkisini göstermekle beraber ancak CAT, SOD ve GPx değerlerinde EA grubuna göre artışın olmaması nedeniyle kullandığımız dozun yetersiz kaldığını söyleyebiliriz. MDA, SOD, CAT, GPx değerleri R grubu ile K grubu arasında benzer bulunmuştur. K grubu ile R grubu arasında MDA, SOD, CAT ve GPx aktivitelerinin benzer olması kullandığımız dozun toksik olmadığını ancak yetersiz olduğunun göstergesi olabilir.

EA uygulaması testis fonksiyonlarının nöroendokrin kontrolünü etkileyebilir. Al-Akhras ve arkadaşları (189) çalışmaların da 50 Hz manyetik alanı sıçanlara 6, 12, 18 hafta uygulayarak testosteron, LH ve FSH üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada, 18 haftalık maruziyet grubunda kontrol grubuna göre LH seviyesinin anlamlı derecede arttığı, 6 ve 12 haftalık maruziyet grubunda ise testosteronun anlamlı derecede azaldığı gösterilmiştir. FSH değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Duan ve arkadaşları (192) 50 Hz manyetik alanı haftanın hergünü günde 4 saat uygulayarak yetişkin ratlarda spermatogenez üzerine etkilerini araştırmışlardır. 4 haftalık ve 8 haftalık uygulamalarda testosteron seviyeleri açısından gruplar arasında fark bulunamamıştır. Ancak 8 haftalık uygulamada anlamlı olmasada testosteron seviyesi azalmıştır. Erpek ve arkadaşları (191) 50 Hz EA 8 hafta günde 8 saat uygulayarak testis üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, maruziyet grubunda testosteron seviyesinde anlamlı olmasada azalma olduğunu bulmuşlar. Resveratrolün sağlıklı sıçanlarda sperm üretimine etkisinin araştırıldığı farklı bir çalışmada; testosteron, FSH ve LH'nin resveratrol uygulaması ile anlamlı derecede arttığı tespit edilmiştir (169).

Çalışmamızda EA uygulaması ile testosteron seviyesi azalmış olsada fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Testosteron R grubunda diğer gruplara göre anlamlı bir artış ($p<0.05$) göstermiştir. FSH ve LH seviyeri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. E2 EA uygulaması ile artış gösterecek şekilde fark anlamlı değildir. Resveratrol uygulaması ile E2 seviyesinde artış meydana geldiği çalışmamızda tespit edilmiştir. GH düzeyleri EA grupta artış göstermesine rağmen anlamlı değildir. Resveratrol GH seviyesinde anlamlı bir artış ($p<0.05$) sağlamıştır. E2 ve GH ile ilgili çalışma bulgularımız EA ve R gruplarındaki kilo artışlarını açıklayabileceğini düşündürdü ancak ileride yapılacak çalışmalarla bu bulguların desteklenmesi gerekmektedir.

Tek hücreli jel elektroforezi veya sıklıkla tercih edilen diğer adıyla “Comet Assay” tekniği hücre düzeyinde DNA hasarını saptamak ve miktarını belirlemek için uygulanan mikroskopik yöntemdir. İlk olarak 1978 yılında Rydberg ve Johanson tarafından geliştirilmiştir. Daha sonra Ostling ve Johanson tekniği geliştirilerek hücrelerde DNA hasar tespitinin hassasiyetini arttırmak için elektroforez basamağını ekledi. Son olarak 1988 yılında Singh ve arkadaşları sadece çift sarmal kırıkları değil tek sarmal kırıklarının da anlaşılması için nötral değil alkali koşullarda işlemin yapılmasını gerçekleştirdi. Bugün hala Singh ve arkadaşlarının geliştirmiş olduğu, hem tek hem de çift zincir kırıklarının açılmasını sağlayan metod kullanılmaktadır (66, 178, 179). Çalışmamızda hiç hasar bulunmayan hücreler 0, az hasarlı hücre 1, orta hasarlı hücre 2, çok hasarlı hücre 3, ileri derecede hasarlı hücre 4 olarak değerlendirildi. DNA hasarının şiddetine göre her örnek için toplam comet skoru oluşturuldu. Elde edilen comet skoru verilerine uygulanan Kruskal – Wallis testis sonucunda gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulundu ($p=0.001$). Yapılan karşılaştırmalarda; K grubu ile EA grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.001$) ve EA grubunda comet skoru artmıştır. EA grubu ile EA+R grubu arasındaki fark anlamlı ($p=0.001$) ve EA+R grubunda comet skorunda azalma bulunmuştur. EA grubu ile R grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.001$) ve R grubunda comet skorunda azalma tespit edilmiştir. Bu elde ettiğimiz sonuçlar bize EA'nın DNA hasarı oluşturduğunu göstermektedir. DNA hasarının oluşması muhtemel olarak infertiliteye veya konjenital anomalilere neden olabilir. Testis dokusunu olası bir hasara karşı koruyucu olarak kullandığımız

resveratrol çalışmamızda DNA hasarı şiddetini azaltmaktadır. İleride yapılacak çalışmalarla çalışma bulgularımızın desteklenmesi literatüre önemli katkı sağlayacaktır.

Erpek ve arkadaşları (191) yaklaşık 2.2 kV/m büyüklükte EA'yı farelere uygulayarak testis üzerindeki etkilerini histopatolojik olarak incelemişlerdir. Çalışmada, testisin histopatolojik analizinde kanama, ödem, vasküler konjesyon, intertisyel fibrozis, bazal membran kalınlığı, leydig hücre proliferasyonu, seminifer tübül dejenerasyonu, tübüler atrofi ve nekroz tespit edilmiştir. Kontrol grubunda testisler normal fizyolojik görünümde iken maruz grupta seminifer epitelde dejenerasyon (vakuolizasyon, germ hücrelerinde azalma, nekroz, hiyalinizasyon), fokal/yaygın ödem, intertisyel dokuda hafif vasküler konjesyon gözlemlenmiştir. İntertisyel doku fibrozisi ile çevrelenen total tübüler dejenerasyon veya nekroz nadir olarak görülmesine rağmen seminifer tübüllerde germ hücrelerinde ve seminifer tübül çaplarında azalma sıklıkla tespit edilmiştir. Seminifer tübüllerde hiyalinizasyon ve atrofi ayrıca bazı nekrotik tübüllerde kalsifikasyon ve seminifer tübüllerde değişikliğe ilaveten fokal leydig hücre hiperplazileri de görülmüştür. Lokhmatova ve Pastukhova (197), farelerde 17 kHz EA'nın testis üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada EA'nın seminifer tübüllerde spermatojenik epitelial tabakada deskuamasyona neden olduğunu ileri sürmüşler. Ayrıca Lokhmatova'nın (198) yaptığı farklı bir çalışmada uzun dönem (9 ay) 17 kHz EA maruz bırakılan farelerde spermatojenik epitel hücrelerinde ve steroid üreten hücrelerde yıkım sürecinde artma ile histohematik barrier durumda değişiklik tespit edilmiştir. Margonato ve arkadaşları (190) yüksek yoğunluktaki EA'nın sıçanlardaki biyolojik etkilerini araştırdıkları bir çalışmada testis dokusunu da değerlendirmişlerdir. Çalışma, 240 adet erkek sıçan üzerinde yapılmıştır. Günde 8 saat 25 kV/m ve 100 kV/m 50 Hz EA 280, 440, 1240 saat olarak uygulanmıştır. Tüm gruplarda maruziyet sonrasında normal fizyolojik oranlar tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda, histopatolojik incelemede kontrol grubunda tunika albuginea, seminifer tübül, interstisyel bağ doku, leydig hücreleri normal fizyolojik değerlerde, sertoli hücreleri, spermatogonyumlar normal konfigürasyonda olup testis dokusunda kanama, inflamasyon, seminifer tübüllerde hasar tespit edilmedi. 50 Hz EA'ya maruz bırakılan grupta ise seminifer tübül epitelinde yer yer kopmalar, epitel kalınlığında ve seminifer tübül bazal laminasında

azalma, interstisyel alanda ödem ve konjesyon, seminifer tübül epitelinde vakuolizasyonlar, interstisyel bağ dokuda azalma görüldü. Ayrıca EA'ya maruz kalan sıçanların testis dokusunda ciddi hasarların oluştuğu belirlendi. Morfometrik değerlendirmede EA grubunda leydig hücre sayısında, seminifer tübül çapında ve tunika albuginea kalınlığında azalma tespit edildi. İmmünohistokimyasal analizde apoptoza uğrayan hücre sayısı EA grubunda anlamlı derecede artış göstermiştir.

Resveratrol (3, 5, 4'- trans- trihidroksistilben), doğada başta üzüm olmak üzere pek çok farklı bitkide bulunan doğal non-flavonoid yapıda polifenolik bir fitoaleksin' dir. Antioksidan özelliği olan güçlü bir bileşiktir. Juan ve arkadaşları (169) gavaj yoluyla verilen 20 mg/kg resveratrolün sağlıklı sıçanlarda sperm üretimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada, histolojik incelemede kontrol ve resveratrol grubunun ikisinde de tübüler elementlerin organizasyonunda bozulma gibi mikroskopik lezyonlar görülmemiştir. Resveratrol uygulanan grupta tübüler çapta azalma fakat uzunlukta artma ile tübüler dansitenin iki katına çıktığı tespit edilmiştir.

Yuluğ ve arkadaşları (195) MTX ile uyarılan testis hasarına karşı resveratrolün etkilerini araştırdıkları çalışmada dört grup (kontrol, MTX, MTX+R, Resveratrol) oluşturmuşlardır. Çalışmada resveratrol 20 mg/kg/gün intraperitoneal olarak 10 gün süreyle kullanılmıştır. Yapılan histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemelerde MTX grupta seminifer tübül lümeninde immatür germ hücrelerinde ve seminifer tübül epitelindeki organizasyonda bozulma görülürken MTX+R grubunda immatür germ hücrelerinde azalma ve seminifer tübül lümeninde spermatozoa'da çok sayıda artış görülmüştür. MTX grupta apoptoz germ hücrelerinde yaygın iken MTX+R uygulanan grupta genellikle spermatogonyum hücrelerinde mevcuttur. MTX grupta epididimal epitelyum hücrelerinde apoptoz yaygın, MTX+R grubunda apoptotik hücreler nadir olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile resveratrol grubu değerleri birbirine benzer çıkmıştır. Sonuç olarak çalışmada elde edilen biyokimyasal, histopatolojik ve apoptotik hücre seviyesi sonuçları MTX ile uyarılan testis hasarına karşı resveratrolün koruyucu olabileceğini göstermektedir.

Jiang ve arkadaşları (170) 2,5-hexanedion (2,5-HD) ile testis hasarı oluşturarak spermatogenez üzerine resveratrolün etkilerini araştırmışlardır.

Çalışmada resveratrol farklı dozlarda (20 mg/kg, 40 mg/kg, 80 mg/kg) gavaj yoluyla 9 hafta süresince kullanılmıştır. Her grupta 8 hayvan olmak üzere kontrol grubu, 2,5-HD ve 3 adet resveratrol grubu oluşturulmuştur. Yapılan immünohistokimyasal incelemelerde; 2,5-HD ile oluşturulan testis hasarı bulguların resveratrol uygulaması ile normal sıçanlara yakın bir seviyede düzeldiği saptanmıştır. Resveratrol gruplarında seminifer tübüller daha düzenli ve seminifer tübül çapları hasar grubundan daha iyi iken kontrol grubundan daha az bulunmuştur.

Ünal ve arkadaşları (168) yaptıkları çalışmada testis üzerine di-n-butly phthalate (DPB) 'ın etkisi ve resveratrolün mevcut koruyucu etkilerini araştırmışlardır. DBP çalışmada farklı dozlarda (500 mg/kg, 1000 mg/kg) kullanılmıştır. Resveratrol 20 mg/kg gavaj yoluyla 30 gün boyunca verilmiştir. Kontrol grubu, hasar grupları ve tedavi grupları oluşturulmuştur. Hasar gruplarında TUNEL metodu ile tüm hücre tiplerinde pozitif hücre sayısının arttığı ve tedavi gruplarında resveratrol uygulaması ile pozitif hücre sayısında anlamlı azalma olduğu tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonunda hasarın az olduğu grupta (500 mg/kg DBP) resveratrolün etkinliğinin hasarın fazla olduğu gruptan (1000 mg/ DBP) daha iyi olduğu bu nedenle hasar arttıkça 20 mg/kg/gün (30 gün) resveratrolün etkinliğinin yeterli olmadığı düşünülmüştür (168).

Bax geni, Bcl-2 gen ailesinin bir üyesidir. Bax, p53 aracılığıyla indüklenir ve bulunduğu hücrenin apoptoza gidişini hızlandırır. Cadmium chloride ile uyarılan testis hasarı ve p53 geninin aşağı doğru düzenlenmesi ile azalan fertilitenin resveratrol ile geri dönüşümü Elewa ve arkadaşları (194) tarafından araştırılmıştır. Çalışmada histopatolojik bulgularda (seminifer tübüllerdeki spermatogonial hücre çizgisi, germ hücreleri, vakuolizasyon, intestinal ödem, sertoli hücreleri, leydig hücreleri, kanama) cadmium chloridenin oluşturduğu toksiteyi resveratrolün önlediği gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda EA+R uygulanan grupta, seminifer tübül epitelinde yer yer kopmalar ve epitel kalınlığında azalmaların olmasına rağmen EA grubuna göre şiddetinin hafiflediği gözlemlendi. Germ hücrelerinde azalma, interstisyel alanda ödem ve konjesyon, seminifer tübül epitelinde vakuolizasyonlar ve interstisyel bağ dokusunda azalmalar gözlenirken EA grubuna göre nisbeten yoğunluğun

hafiflediği tespit edildi. R grubundaki histolojik bulgular K grubuna benzer olmasına rağmen farklılıklar bulundu. Tunika albuginea ve seminifer túbüller normal görünümde, EA ve EA+R grubu kadar olmasa da interstisyel bağ dokuda azalma hafif düzeyde saptandı. Seminifer túbül bazal laminasının düzenli olduğu ve epitelinin normal yapıda olduğu gözlendi. Sertoli hücreleri ve spermatogonyumlarında normal konfigürasyonda oldukları belirlendi. Ancak germ hücrelerinde hafif vakuolizasyon gözlendi. Testis dokusunun genel yapısında herhangi bir kanama, inflamasyon ve ödem görülmedi.

Testis hasarı açısından değerlendirdiğimizde resveratrolün koruyucu etkisi ile hasarların nispeten azaldığı ancak hasarların tamamıyla düzelmediği gözlendi. R grubu ve K grubunda ise testis dokusunun normale yakın bir görünümde olduğu tespit edildi. Bu sonuçlar bize resveratrolün koruyucu rolü olduğu ancak bu çalışmada kullanılan dozunun yeterli olmadığı farklı dozlarda koruyuculuğunun artabileceği sonucunu düşündürdü.

Morfometrik analizde, resveratrol uygulanan gruplarda seminifer túbül çapında anlamlı bir fark olmadığı, EA+R uygulanan grupta leydig hücre sayılarında ve tunika albuginea kalınlığında azalma, K ve R grupları arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi. Çalışma bulguları uygulanan dozdaki resveratrolün EA'nın oluşturduğu leydig hücre sayısı ve tunika albuginea kalınlığı hasarına karđı etkili bir koruma sağlamadığını göstermektedir.

İmmünohistokimyasal incelemelerde, K grubuna göre EA ve EA+R gruplarında apoptotik hücre sayısında anlamlı derecede artış gözlendi ($p<0.05$). R grubu ile K grubu arasında ise anlamlı bir farklılık saptanmadı. Apoptotik hücre sayısının en fazla EA grubunda olduğu tespit edildi. EA ve EA+R grupları karđılařtırıldıđında ise yine anlamlı bir farklılık gözlendi. Resveratrolün koruyucu etkisiyle kısmen apoptotik hücre sayısında azalma saptandı. Sonuç olarak, EA testis dokusunda ciddi hasarlar oluşturmuştur. EA+R grubunda ise resveratrolün koruyucu etkisi ile gerek apoptotik hücre sayısı, gerek doku hasarları azalmış ancak tam anlamıyla düzelmemiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, 50 Hz (10kV/m) frekanslı alternatif elektrik alanın kullanılması ile elektrik alanın vücut içi dipollerinin yönünü değiştirmesi, yeni dipoller oluşturması, sıvısal içerikli bir doku olan testis üzerindeki etkilerinin araştırılması ayrıca resveratrol kullanılarak yeni ilaç adayı bulgularına ulaşılması deneniyle disiplinlerarası bir karakter taşımaktadır.

Bu proje kapsamında öncelikle EA'nın testis dokusu üzerindeki etkilerine bakıldı. EA uygulanan gruptaki bulgular kontrol grubu ile karşılaştırıldı. EA uygulanan grupta elde ettiğimiz bulgular;

- Vücut ağırlığında artış,
- Epididim ağırlığında istatistik olarak anlamlı olmasada artış,
- Vücut ısısı ve testis ısı değerleri kontrol grubuna benzer,
- Sperm sayısı ve motilitede anlamlı derecede azalma,
- Testis dokusunda hasarın göstergesi olan MDA değerinde artış,
- SOD, CAT, GPx aktiviteleri açısından anlamlı bir farkın olmaması,
- Serum total testosteron değerinde azalma,
- FHS, LH, E2, GH seviyeleri açısından farkın olmaması,
- DNA hasarının anlamlı bir şekilde tespiti,
- Histopatolojik olarak; seminifer tübül epitelinde yer yer kopmalar ve epitel kalınlığında azalmalar, seminifer tübüllerin bazal laminasında ayrılmalar, germ hücrelerinde azalma, interstisyel alanda ödem ve konjesyon, seminifer tübül epitelinde vakuolizasyonların olması, interstisyel bağ dokusunun da kontrole göre azalmış olması,
- Leydig hücre sayısında, seminifer tübül çapında ve tunika albuginea kalınlığında azalma,
- Apoptotik hücre sayısında anlamlı derecede artış.

Çalışmada EA'nın oluşturduğu hasara karşı resveratrolün koruyucu etkileri ile ilgili sonuçlar ise,

- EA grubuna göre EA+R uygulanan grubun vücut ağırlığında azalma,
- Testis ağırlığında anlamlı olmasada azalma, epididim ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı olmasada artış,
- Vücut ısısında anlamlı bir fark yok, testis ısısında azalma,
- Sperm sayısı ve motilitede anlamlı derecede artma,
- Testis dokusunda hasarın göstergesi olan MDA değerinde azalma,
- SOD, CAT, GPx aktiviteleri açısından anlamlı bir farkın olmaması,
- Serum total testosteron değerinde anlamlı olmasada EA uygulamasına göre artma,
- FHS, LH, E2, GH seviyeleri açısından farkın olmaması ancak sadece resveratrol uygulanan grupta E2 ve GH değerlerinde diğer gruplara göre anlamlı bir artma,
- Resveratrol uygulaması ile EA'nın oluşturduğu DNA hasarında azalma,
- EA+R uygulanan grupta, seminifer tübül epitelinde yer yer kopmalar ve epitel kalınlığında azalmaların olmasına rağmen EA grubuna göre şiddetin hafiflediği gözlemlendi. Germ hücrelerinde azalma, interstisyel alanda ödem ve konjesyon, seminifer tübül epitelinde vakuolizasyonlar ve interstisyel bağ dokusunda azalmalar gözlenirken EA grubuna göre nisbeten yoğunluğun hafiflemesi,
- EA+R grubunda EA grubuna göre leydig hücre sayısında, seminifer tübül çapında ve tunika albuginea kalınlığında artma,
- Apoptotik hücre sayısında EA'ya göre azalma.

Araştırma sonucunda; çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre EA'nın DNA hasarı oluşturduğunu düşünmekteyiz. Sonuçlar hem tıp alanına hemde mühendislik biliminde katkı sağlayacaktır. Tıbbi olarak; DNA hasarının oluşması muhtemel olarak infertiliteye veya konjenital anomalilere neden olabilir. Çalışma

sonuçları bu anomalilerin tedavisine, mühendislik açısından; evlerimize, iyerlerimize ulaşan elektrik kablolarının ve elektrikli aletlerin daha sağlıklı bir şekilde üretilmesine ve kullanılmasına yn verecektir. Çalışmada antioksidan olarak kullandığımız resveratrol dozunun testis hasarında belirlediğimiz tüm parametreler üzerinde tam olarak koruyucu etkisinin olmaması nedeniyle ileride yapılacak çalışmalarda, resveratrolün çeşitli dozlarda kullanılmasının daha faydalı olacağını düşünmekteyiz.

ÖZET

Elektrik Alanın Sıçan Testis Dokusundaki Fizyopatolojik Etkileri ve Resveratrolün Koruyucu Rolü

Son yıllarda teknolojinin hızla gelişmesi insanların elektrik ve manyetik alanlara maruziyetini arttırmaktadır. Yapılan deneysel çalışmalar, elektrik ve manyetik alanların değişik dokularda stres oluşturduğu ve organların fonksiyonlarını bozduğunu göstermiştir. Çalışmamızda 50 Hz elektrik alanının testis dokusu üzerinde oluşturduğu hasar ile resveratrolün koruyucu rolü araştırılmıştır.

Çalışmada, toplam 32 adet 3 aylık erkek wistar albino sıçan kullanıldı. Deney grubundaki hayvanlar; 1. kontrol, 2. elektrik alan, 3. elektrik alan + resveratrol, 4. resveratrol olarak dört gruba ayrıldı. Kontrol grubuna gavaj ile serum fizyolojik verildi. Elektrik alan grubuna 50 Hz (10 kV/m) elektrik alan ve serum fizyolojik, elektrik alan + resveratrol grubuna 50 Hz elektrik alan + 20mg/kg/gün resveratrol, resveratrol grubuna ise sadece gavaj yoluyla 20mg/kg/gün resveratrol uygulandı. 30. günün sonunda sakrifiye edilen hayvanlardan; histopatolojik incelemeler için testis dokusu, sperm izolasyonu için epididim, biyokimyasal analizler için kan örnekleri alındı.

Elektrik alan uygulanan grupta; vücut ağırlığında artış anlamlı ($p=0.005$), testis, epididim ağırlıklarında fark anlamlı değil. Sperm sayısı ve motilitede anlamlı derecede azalma ($p<0.001$), MDA değerinde artış, SOD, CAT, GPx aktiviteleri açısından fark anlamlı değil. Serum total testosteron değerinde anlamlı azalma, FSH, LH, E2, GH seviyeleri açısından fark anlamlı değil. Elektrik alan uygulanan grupta DNA hasarında fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.001$). Elektrik alan uygulanan grupta histopatolojik bulgular kontrol grubuna göre anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Elektrik alan+resveratrol grubunda elektrik alan grubuna göre leyding hücre sayısında, seminifer tübül çapında ve tunika albuginea kalınlığında artma, apoptotik hücre sayısında elektrik alana göre azalma tespit edildi.

Elektrik alan uygulamasının testis dokusunda hasara neden olduğu, ancak 20 mg/kg/gün resveratrolün bu hasarı önlemede yeterli olmadığı belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Elektrik alan, testis, resveratrol

ABSTRACT

Physiopathological Effects of Electric Field in Rat Testis Tissue and Protective Role of Resveratrol

In recent years, the rapid development of technology increases the exposure to electric and magnetic fields on people. Experimental studies on electric and magnetic fields showed that create stress in different tissues and disrupt organs function. There were no studies in the literature showing any damage to the testis tissue of 50 Hz electric field. In our study, the protective role of resveratrol on the kidney damage caused by the 50 Hz electric field is investigated.

A total of thirty two male Wistar albino rats (3-4 month old) were used in this study. These animals were separated into four groups; 1.control, 2.electric field, 3. electric field+resveratrol, 4. resveratrol. The control group was performed saline by gavage. 2. groups 50 Hz (10/kV/m) electric field and saline, 3. groups 50 Hz (10/kV/m) electric field and 20mg/kg/day resveratrol, 4. groups 20mg/kg/day resveratrol were performed. Resveratrol was administered by gavage to the animals. After 30 days from sacrificed animals was collected testicular tissue for histopathological examinations, epididymal sperm for insulation, and blood samples for biochemical analysis.

The group applied electric field; significant increase in body weight (0.005), and testis, epididymis no significant difference in weight. And a significant decrease in sperm count, motility, MDA value increase, SOD, CAT, GPx activities are not significantly different. Significant reduction in the value of serum total testosterone, FSH, LH, E2, GH levels are not significantly different. DNA damage in the electric field applied in the group difference was statistically significant ($p < 0.001$). The group applied electric field histopathological findings were significant compared to the control group ($p < 0.05$). The electric field+resveratrol group, electric field according to groups the number of leydig cells, seminiferous tubules diameter and thickness increase in the tunica albuginea, a decrease was observed in the number of apoptotic cells compared to electricity.

Histopathological changes in the testis tissues were found to occur with the electric field. 20 mg/kg/day resveratrol was determined to be sufficient to prevent this damage

Keywords: Electric field, testis, resveratrol

KAYNAKLAR

1. Serway RA. Elektrik ve Manyetizma: Physics – For Scientists and Engineers with Modern Physics. Çolakoğlu K, Eds. 3. Bsk, Ankara: Palme Yayıncılık, 1996: p. 626-647.
2. Serway RA, Beichner RJ. Electricity and Magnetism: Physics – For Scientists and Engineers. 5.bsk, Orlando, Florida, 2000: p. 708-1075
3. Fıshbane PM, Gasiorowicz S, Thornton ST. Elektrik Yüğü: Temel Fizik. Türkoğulları, Eds. 2.bsk, Ankara: Arkadaş Yayınevi, 2007: p.585-608.
4. www.gitrad.org.tr/download/sorubankasi/ELEKTRİK%20ALANI.pdf
5. Barnes FS. Interaction of DC Electric Fields with Living Matter in CRC Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields. Polk C, Postow E, ed. CRC Press. Boston, 1986; p. 99-199.
6. Şeker S, Çerezci O: Elektromanyetik Alanların Biyolojik Etkileri Güvenlik Standartları ve Korunma Yöntemleri, İstanbul: Boğaziçi Üniversitesi Matbaası, 1991: s. 26-90.
7. Repacholi MH, Greenebaum B. Interaction of static and extremely low frequency electric and magnetic fields with living systems: health effects and research needs. Bioelectromagnetics 1999; 20(3): 133-60.
8. Kheifets L, Renew D, Sias G, Swanson J. Extremely low frequency electric fields and cancer: assessing the evidence. Bioelectromagnetics 2010; 31(2): 89-101.
9. Blackman CF, Benane SG, Kinney LS, Joines WT, House DE. Effects of ELF Fields on Calcium-Ion Efflux from Brain Tissue in Vitro. Radiation Research 1982; 92(3): 510-520.
10. Çömleki S. 2006. Induced dielectric-force-effect by 50 Hz strong electric field on living tissue. Bio-Medical Materials and Engineering 2006; 16: 363–367.
11. Sevgi L. Çevremizdeki Elektrik ve Manyetik Alanlar. Endüstriyel & Otomasyon, Şubat sayısı, 2005.
12. Dinçer H. Elektriksel Alanlar ve Canlılara Etkileri. Elektrik Mühendisliği 2009; 435: 45-51.
13. Seyhan N, Guler G. Review of in vivo static and ELF electric fields studies performed at Gazi Biophysics Department. Electromagnetic Biology Medicine 2006; 25(4): 307-23.
14. Guler G, Seyhan N, Aricioglu A. Effects of static and 50 Hz alternating electric fields on superoxide dismutase activity and TBARS levels in guinea pigs. General Physiology and Biophysics 2006; 25(2): 177-193.
15. Guler G, Turkozer Z, Seyhan N. Electric field effects on guinea pig serum: The role of free radicals. Electromagnetic Biology Medicine 2007; 26(3): 207-223.

16. Guler G, Turkozer Z, Tomruk A, Seyhan N. The protective effects of Nacetyl-L-cysteine and epigallocatechin-3-gallate on electric field-induced hepatic oxidative stress. *International Journal Radiation Biology* 2008; 84(8): 669-680.
17. Romodanova EA, Paranich AV, Chaikina LA. Effect of chronic effect of the electrostatic field on various biochemical indicators of the tissues. *Fiziologicheskii Zhurnal* 1990; 36(3): 30-34.
18. Turkozer Z, Guler G, Seyhan N. Effects of exposure to 50 Hz electric field at different strengths on oxidative stress and antioxidant enzyme activities in the brain tissue of guinea pigs. *International Journal Radiation Biology* 2008; 84(7): 581-590.
19. Lai H, Singh NP. Magnetic-field-induced DNA strand breaks in brain cells of the rat. *Environmental Health Perspectives* 2004; 112(6): 687-94.
20. Hassan HM, Fridovich L. Chemistry and biochemistry of superoxide dismutases. *Europe Journal of Rheumatology and Inflammation* 1981; 4(2): 160-172.
21. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological Reviews* 1994; 74(1): 139-162.
22. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995; 267(5203): 1456-62.
23. Gavalas RJ, Walter DO, Hamer J, Rossadey W. Effect of Low Level, Low Frequency Electric Fields on EEG and Behavior in Macaca Nemestrina. *Brain Research* 1970; 18(3): 491-501.
24. Bawin SM, Gavalas-Medici RJ, Adey WR. Effects of Modulated Very High Frequency Fields on Specific Brain Rhythms in Cats. *Brain Research* 1973; 58(2): 365-84.
25. Gavalas-Medici RJ, Day-Magdaleno SR. Extremely Low Frequency, Weak Electric Fields Affect Schedule-Controlled Behaviour of Monkeys. *Nature* 1976; 261: 256-259.
26. WORLD HEALTH ORGANIZATION: Environmental Health Criteria 35, Extremely Low Frequency (ELF) Fields, Printed In Finland, Geneva, 1984: 27-70.
27. Marino AA, Berger TJ, Mitchell JT, Duhacek BA, Becker RO. Electric Field Effects in Selected Biological Systems. *Annals. New York Academy Sciences* 1983; 405: 436-444.
28. Hori T, Harakawa S, Herbas SM, Ueta YY, Inoue N, Suzuki H. Effect of 50 Hz electric field in diacylglycerol acyltransferase mRNA expression level and plasma concentration of triacylglycerol, free fatty acid, phospholipid and total cholesterol. *Lipids in Health and Disease* 2012; 11: 68-74.
29. Repacholi MH, Greenebaum B. Interaction of static and extremely low frequency electric and magnetic fields with living systems: health effects and research needs. *Bioelectromagnetics* 1999; 20(3): 133-60

30. Debruyne L, Dejager L. Electric Field Exposure and Evidence of Stress in Mice. *Environmental Research* 1994; 65(1): 149-160.
31. Iwami M, Alkayed F, Shina T, Taira K, Shimizu Y. Activation of Brown adipose tissue thermogenesis by electrical stimulation to the dorsal surface of the tissue in rats. *Biomedical Research* 2013; 34(4): 173-178.
32. Cook MR, Graham C, Cohen HD, Gerkovich MM. A replication study of human exposure to 60-Hz fields: effects on neurobehavioral measures. *Bioelectromagnetics* 1992; 13: 261–285.
33. Hauf R. Electric and magnetic fields at power frequencies with particular reference to 50 and 60 Hz. In: Suess MJ, editor. *Nonionizing radiation protection*. Copenhagen: World Health Organization 1982; p 175–197.
34. Graham C, Cohen HD, Cook MR, Gerkovich MM, Riffle DW. Human cardiac response to 60-Hz fields: exposure parameters and individual differences. In: Blank M, editor. *Electricity and magnetism in biology and medicine*. San Francisco: San Francisco Press 1992; p 767–769.
35. Korpinen L, Partanen J. Influence of 50 Hz electric and magnetic fields on the pulse rate of human heart. *Bioelectromagnetics* 1994; 15(6): 503-512.
36. Miller AB, To T, Agnew DA, Wall C, Green LM. Leukemia following occupational exposure to 60-Hz electric and magnetic fields among Ontario electric utility workers. *American Journal of Epidemiology* 1996; 144(2): 150–160.
37. Kheifets L, Afifi A, Buffler P, Zhang Z. Occupational EMF exposure and brain cancer: a meta-analysis. *Journal Occupational and Environmental Medicine* 1995; 37: 1–15.
38. Kheifets L, Ahdelmonem A, Afifi A, Buffler P, Zhang A, Matkin C. Occupational electric and magnetic field exposure and leukaemia: ametaanalysis. *Journal Occupational and Environmental Medicine* 1997; 39: 1074-1091.
39. Savitz DA, Loomis DP. Magnetic field exposure in relation to leukaemia and brain cancer mortality among electric utility workers. *American Journal of Epidemiology* 1995; 141(2): 123–134.
40. Sahl JD, Kelsh MA, Greenland S. Cohort and nested case-control studies of hematopoietic cancers and brain cancer among electric utility workers. *Epidemiology* 1993; 4(2): 104 –114.
41. Kleckner RC, Savitz DA, John EM. Magnetic field exposure from electric appliances and childhood cancer. *American Journal of Epidemiology* 1990; 131(5): 763–773.
42. London SJ, Thomas DC, Bowman JD, Sobel E, Cheng TC, Peters JM. Exposure to residential electric and magnetic fields and risk of childhood leukemia. *American Journal of Epidemiology* 1991; 134(9): 923–937.

43. Villeneuve PJ, Agnew DA, Miller AB, Corey PN, Purdham JT. Leukemia in electric utility workers: The evaluation of alternative indices of exposure to 60 Hz electric and magnetic fields. *American Journal of Industrial Medicine* 2000; 37(6): 607–617.
44. Graham C, Cohen HD, Cook MR. Immunological and biochemical effects of 60-Hz electric and magnetic fields in humans. Final report RA-338-C, 30 January 1990; pp 1–80
45. Graham C, Cook MR, Cohen HD, Gerkovich MM. Dose response study of human exposure to 60 Hz electric and magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 1994; 15(5): 447–463.
46. Lyskov E, Sandstrom M, Mild KH. Provocation study of persons with perceived electrical hypersensitivity and controls using magnetic field exposure and recording of electrophysiological characteristics. *Bioelectromagnetics* 2001; 22(7); 457– 462.
47. Graham C, Cook MR, Cohen HD, Riffle DW, Hoffman S, Gerkovich MM. Human exposure to 60-Hz magnetic fields: neurophysiological effects. *International Journal Psychophysiology* 1999; 33(2): 169–175
48. Crasson M, Legros JJ, Scarpa P, Legros W. 50 Hz magnetic field exposure influence on human performance and psychophysiological parameters: two double-blind experimental studies. *Bioelectromagnetics* 1999; 20(8): 474–486
49. Silny J. Influence of low-frequency magnetic field (LMF) on the organism. In: *Proceeding of the 4th Symposium on Electromagnetic Compatibility, Zurich, 10–12 March, Paper 33 G2, 1981; pp. 175–180.*
50. Chernoff N, Rogers JM, Kavet R. A review of the literature on potential reproductive and developmental toxicity of electric and magnetic fields. *Toxicology* 1992; 74(2-3): 91-126.
51. Sagan LA 1992. Epidemiological and Laboratory Studies of Power Frequency Electric and Magnetic Fields. *The Journal of American Medical Association* 1992; 268(5): 625-629.
52. Sikov MR, Montgomery LD, Smith LG, Philips RD. Studies on prenatal and postnatal development in rats exposed to 60-Hz electric fields. *Bioelectromagnetics* 1984; 5(1): 101-112.
53. Rommereim DN, Rommereim RL, Sikov MR, Buschbom RL, Anderson LE. Reproduction, Growth, and Development of Rats during Chronic Exposure to Multiple Field Strengths of 60-Hz Electric Fields. *Toxicological Sciences* 1990; 14(3): 608-621.
54. Rommereim DN, Kaune WT, Anderson LE, Sikov MR. Rats reproduce and rear litters during chronic exposure to 150-kV/m, 60-Hz electric fields. *Bioelectromagnetics* 1989; 10(4): 385-389.
55. Free MJ, Kaune WT, Phillips RD, Cheng HC. Endocrinological effects of strong 60-Hz electric fields on rats. *Bioelectromagnetics* 1981; 2(2): 105-121.

56. Margonato V, Veicsteinas A, Conti R, Nicolini P, Ceretelli P. Biologic effects of prolonged exposure to ELF electromagnetic fields in rats. I. 50 Hz electric fields. *Bioelectromagnetics* 1993; 14(5): 479-493.
57. Yeb JS, Deborah MC, John RL, William DP, Cedric WF, Hsieh ST. Investigation of Fertility and In Utero Effects in Rats Chronically Exposed to a High-intensity 60-Hz Electric Field. *Biomedical Engineering, IEEE* 1984; 31(11): 693-702.
58. Marino AA, Becker RO, Ullrich B. The effect of continuous exposure to low frequency electric fields on three generations of mice: A pilot study. *Cellular and Molecular Life Sciences* 1976; 32(5): 565-566.
59. Yıldırım M. Erkek Üreme Sistemi: Resimli Sistemik Anatomi. 1 bsk, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2013: s. 581-594
60. Köylü H. Üreme Fizyolojisi: Tıbbi Fizyoloji - Klinik Anlatımlı. 1 bsk, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2014, s. 475-553
61. Guyton AC, Hall JE. Erkek Üreme İşlevleri ve Hormonal İşlevler: Tıbbi Fizyoloji. Çavuşoğlu H, Yeğen BÇ, Eds. 11 bsk, İstanbul: Nobel Matbaacılık, 2007, p. 997-1010
62. Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL. Endokrin ve Üreme Fizyolojisi: Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi. Gökbel H, Eds. 23.bsk, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2011, p. 402-410
63. Widmaier EP, Raff H, Strang KT. Üreme: Vander İnsan Fizyolojisi-Vücut Fonksiyon Mekanizmaları, Özgünen T, Ed. 13 bsk, İstanbul: Güneş Tıp Kitabevleri, 2014, p. 602-622
64. Preston RR, Wilson TE. Kadın ve Erkek Gonadları: Fizyoloji. İšoğlu-Alkaç Ü, Eds. 1 bsk, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2014, p. 438-448
65. Horak S, Polanska J, Widlak P. Bulky DNA adducts in human sperm: relationship with fertility, semen quality, smoking, and environmental factors. *Mutation Research* 2003; 537: 53-65.
66. Duty SM, Singh NP, Silva MJ, Barr DB, Brock JW, Ryan L, Herrick RF, Christiani DC, Hauser R. The relationship between environmental exposures to phtalates and DNA damage in human sperm using the neutral comet assay. *Environmental Health Perspectives* 2003; 111(9): 1164-1169.
67. Mishra S, Nanda S. Sperm DNA Bridges from Sperm to Egg to Inculcate Genetic Variability: A Review. *Asian Journal of Biotechnology* 2011; 3(1): 22-37.
68. Leopardi P, Villani P, Cordelli E, Siniscalchi E, Veschetti E, Crebelli R. Assesment of the in vivo genotoxicity of vanadate: Analysis of micronuclei on DNA damage induced in mice by oral exposure. *Toxicology Letters* 2005; 158(1): 39-49
69. Potts RJ, Newbury CJ, Smith G, Notarianni LJ, Jefferies TM. Sperm chromatin damage associated with male smoking. *Mutation Research* 1999; 423: 103-111.

70. Sakkas D, Moffat O, Manicardi GC, Mariethoz E, Tarozzi N, Bizzaro D. Nature of DNA damage in ejaculated human spermatozoa and possible involvement of apoptosis. *Biology of Reproduction* 2002; 66(4): 1061-67.
71. Saleh RA, Agarwal A. Oxidative Stress And Male Infertility: From Research Bench To Clinical Practice. *Journal of Andrology* 2002; 23(6): 737-752.
72. Agarwal A, Said TM. Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility. *Human Reproduction Update* 2003; 9(4): 331-345.
73. Agarwal A, Said TM. Oxidative stress, DNA damage and apoptosis in male infertility: a clinical approach. *BJU International* 2005; 95(4): 503-507.
74. Lewis SE, Simon L. Clinical implications of sperm DNA damage. *Human Fertility* 2010; 13(4): 201-207.
75. Chen RS, Wu PL, Chiou RY. Peanut roots as a source of resveratrol. *Journal Agricultural Food Chemistry* 2002; 50(6): 1665- 1667.
76. Burns J, Yokota T, Ashilhara H, Lean ME, Crozier A. Plant foods and herbal sources of resveratrol. *Journal Agricultural Food Chemistry* 2002; 50(11): 3337-3340.
77. Lyons MM, Yu C, Toma RB, Cho SY, Reiboldt W, Lee J, Bremen RB. Resveratrol in raw and baked blueberries and billberries. *Journal Agricultural Food Chemistry* 2003; 51(20): 5867- 5870.
78. Sayın O, Arslan N, Güner G. Resveratrol ve Kardiyovasküler Sistem. *Türk Biyokimya Dergisi* 2008; 33(3); 117- 121.
79. Fremont L. Minireview - Biological effects of resveratrol. *Life Science* 2000; 66(8): 663- 673.
80. Signorelli P, Ghidoni R.: Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 2005; 16(8): 449- 466.
81. Gürbüz O, Göçmen D, Dağdelen F, Gürsoy M, Aydın S, Şahin İ, Büyükuysal L, Usta M. Determination of flavan-3-ols and transresveratrol in grapes and wine using HPLC with fluorescence detection. *Food Chemistry* 2007; 100(2); 518-525.
82. Trela BC, Waterhouse AL. Resveratrol: isomeric molar absorptivities and stability. *Journal Agricultural Food Chemistry* 1996; 44(5): 1253–1257.
83. La Torre GL, Lagana G, Bellocco E, Visali F, Salvo F, Dugo G. Improvement on enzymatic hydrolysis of resveratrol glukozides in wine. *Food Chemistry* 2004; 85(2): 259-266.
84. Gerogiannaki-Christopoulou M, Athanasopoulos P, Kyriakidis N, Gerogiannaki AI, Spanos M. trans-Resveratrol in wines from the major Greek red and white grape varieties. *Food Control* 2006; 17(9): 700- 706.
85. Stervbo U, Vang O, Bonnesen C. A review of the content of the putative chemopreventive phytoalexin resveratrol in red wine. *Food Chemistry* 2007; 101(2); 449- 457.

86. Chen L, Han Y, Yang F, Zhang T. High-speed counter-current chromatography separation and purification of resveratrol and piceid from *Polygonum cuspidatum*. *Journal of Chromatography A* 2001; 907(1-2): 343-346.
87. Abril M, Negueruela AI, Perez C, Juan T, Estopanan G. Preliminary study of resveratrol content in Aregon red and rose wines. *Food Chemistry* 2005; 92(4): 729-736.
88. Dourtoglou, V.G., Makris, D.P., Bois-Dounas, F., and Zonas, C. Trans-resveratrol concentration in wines produced in Greece. *Journal of Food Composition and Analysis* 2005; 12(3): 227-233.
89. Nakata R., Takahashi S., Inoue H. Recent Advances in the Study on Resveratrol. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 2012; 35(3): 273-279.
90. Aggarwal BB, Bhardwaj A, Aggarwal RS, Seeram NP, Shishodia S, Takada Y. Role of Resveratrol in Prevention and Therapy of Cancer: Preclinical and Clinical Studies. *Anticancer Research* 2004; 24: 2783-2840.
91. Vastano BC, Chen Y, Zhu N, Ho CT, Zhou Z. Isolation and identification of stilbenes in two varieties of *Polygonum cuspidatum*. *Journal Agricultural Food Chemistry* 2000; 48(2): 253- 256.
92. Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM, Resveratrol: A Molecule Whose Time Has Come? And Gone? *Clinical Biochemistry* 1997; 30(2): 91-113.
93. Baur JA, Sinclair DA. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Natural Reviews* 2006; 5: 493-506. doi:10.1038/nrd2060.
94. De Lorgeril M, Salen P, Paillard F, Laporte F, Boucher F, De Leiris J. Mediterranean diet and the French paradox: Two distinct biogeographic concepts for one consolidated scientific theory on the role of nutrition in coronary heart disease. *Cardiovascular Research* 2002; 54(3): 503-515.
95. Sun AY, Simonyi A, Sun GY. The "French paradox" and beyond: neuroprotective effects of polyphenols. *Free Radical Biology Medicine* 2002; 32(4): 314-318.
96. Kopp P. Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the 'French paradox'?. *European Journal of Endocrinology* 1998; 138:619-620.
97. Kolouchova-Hanzlikova I, Melzoch K, Filip V, Smidrkal J. Rapid method for resveratrol determination by HPLC with electrochemical and UV detections in wines, *Food Chemistry* 2004; 87(1): 151-158.
98. Vidavalur R, Otani H, Singal PK, Maulik N. Significance of wine and resveratrol in cardiovascular disease: French paradox revisited. *Experimental Clinical Cardiology* 2006; 11(3): 217-225.
99. Pezet R, Gindro K, Viret O, Spring JL. Glycosylation and oxidative dimerization of resveratrol are respectively associated to sensitivity and resistance of grapevine cultivars to downy mildew. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 2004; 65(6): 297-303.

100. Vitaglione P, Sforza S, Galaverna G, Ghidini C, Caporaso N, Vescovi PP, Fogliano V, Marchelli R. Bioavailability of trans-resveratrol from red wine in humans. *Molecular Nutrition Food Research* 2005; 49(5): 495- 504
101. Bais AJ, Murphy PJ, Dry IB. The molecular regulation of stilbene phytoalexin biosynthesis in *Vitis vinifera* during grape berry development. *Functional Plant Biology* 2000; 27(7): 723-723.
102. Kuhnle G, Spencer JPE, Chowrimootoo G, Schroeter H, Debnam ES, S.Kaila Srai, Rice-Evans C, Hahn U. Resveratrol Is Absorbed in the Small Intestine as Resveratrol Glucuronide. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2000; 272(1): 212–217.
103. Wang D, Hang T, Wu C, Liu W. Identification of the major metabolites of resveratrol in rat urine by HPLC-MS/MS. *Journal of Chromatography B* 2005; 829(1-2): 97-106.
104. Spencer JPE, Chowrimootoo G, Choudhury R, Debnam ES, Srai SK, Rice-Evans C. The small intestine can both absorb and glucuronidate luminal flavonoids. *FEBS Letters* 1999; 458(2): 224-230.
105. Day AJ, DuPont S, Ridley S, Rhodes M, Rhodes MJC, Morgan MRA, Williamson G. Deglycosylation of flavonoid and isoflavonoid glycosides by human small intestine and liver L-glucosidase activity. *FEBS Letters* 1998; 436(1): 71-75.
106. Vitrac X, Desmouliere A, Brouillaud B, Krisa S, Deffieux G, Barthe N, Rosenbaum J, Merillona JM. Distribution of [¹⁴C]-trans-resveratrol, a cancer chemopreventive polyphenol, in mouse tissues after oral administration. *Life Sciences* 2003; 72(20): 2219–2233.
107. Marier JF, Vachon P, Gritsas A, Zhang J, Moreau JP, Ducharme MP. Metabolism and Disposition of Resveratrol in Rats: Extent of Absorption, Glucuronidation, and Enterohepatic Recirculation Evidenced by a Linked-Rat Model. *The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics* 2002; 302(1): 369–373.
108. Walle T, Hsieh F, Delege M. High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug Metabolism and Disposition* 2004; 32(12): 1377-1382.
109. Bradamante S, Barenghi L, Villa A. Cardiovascular Protective Effects of Resveratrol. *Cardiovascular Drug Reviews* 2004; 22(3): 169–188
110. Miura T, Muraoka S, Ikeda N, Watanabe M, Fujimoto Y. Antioxidative and prooxidative action of stilbene derivatives. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology* 2000; 86(5): 203–208.
111. King RE, Bomser JA, Min DB. Bioactivity of Resveratrol. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2006; 5: 65-70.
112. Jang M, Cai L, Udeani GO, Slowing KV, Thomas CF, Beecher CW, Fong HH, Farnsworth NR, Kinghorn AD, Mehta RG, Moon RC and Pezzuto JM: Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science* 1997; 275(5297): 218-220.

113. Clement MV, Hirpara JL, Chawdhury SH, Pervaiz S. Chemopreventive agent resveratrol, a natural product derived from grapes, triggers CD95 signaling-dependent apoptosis in human tumor cells. *Blood* 1998; 92(3): 996-1002.
114. Ding XZ, Adrian TE. Resveratrol inhibits proliferation and induces apoptosis in human pancreatic cancer cells. *Pancreas* 2002; 25(4): e71-e76.
115. Gao X, Xu YX, Divine G, Janakiraman N, Chapman RA, Gautam SC. Disparate in vitro and in vivo antileukemic effects of resveratrol, a natural polyphenolic compound found in grapes. *The Journal of Nutrition* 2002; 132(7): 2076-2081.
116. Gusman J, Malonne H and Atassi G: A reappraisal of the potential chemopreventive and chemotherapeutic properties of resveratrol. *Carcinogenesis* 2001; 22(8): 1111-1117.
117. Pozo-Guisado E, Alvarez-Barrientos A, Mulero-Navarro S, Santiago-Josefat B, Fernandez-Salguero PM. The antiproliferative activity of resveratrol results in apoptosis in MCF-7 but not in MDA-MB-231 human breast cancer cell: cell-specific alteration of the cell cycle. *Biochemical Pharmacology* 2002; 64(9): 1375-1386.
118. Carbo N, Costelli P, Baccino FM, Lopez-Soriano FJ, Argiles JM. Resveratrol, a natural product present in wine, decreases tumour growth in rat tumour model. *Biochemical Biophysical Research Communications* 1999; 254(3): 739-743.
119. Aziz M, Kumar R, Ahmad N. Cancer chemoprevention by resveratrol: In vitro and in vivo studies and the underlying mechanisms (Review). *International Journal of Oncology* 2003; 23: 17- 28. doi: 10.3892/ijo.23.1.17
120. Baur JA, Sinclair DA. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nature reviews* 2006; 5: 493-506. doi:10.1038/nrd2060
121. Athar M, Back JH, Tang X, Kim KH, Kopelovich L, Bickers DR, Kim AL. Resveratrol: A review of preclinical studies for human cancer prevention. *Toxicol Applied Pharmacology* 2007; 224(3): 274-283.
122. Bhat KPL, Kosmeder JW II, Pezzuto JM. Biological effects of resveratrol. *Antioxidants Redox Signaling* 2004; 3(6): 1041-64.
123. Olas B, Wachowicz B, Saluk-Juszczak J, Zielinski T. Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on platelet activation induced by endotoxin or thrombin. *Thrombosis Research* 2002; 107(3-4): 141-145.
124. Gaballa MA, Raya TE, Hoover CA, Goldman S. Effects of endothelial and inducible nitric oxide synthases inhibition on circulatory function in rats after myocardial infarction. *Cardiovascular Research* 1999; 42: 627- 635.
125. Rossig L, Haendeler J, Hermann C, Malchow P, Urbich C, Zeiher AM, Dimmeler S. Nitric oxide downregulates MKP-3 mRNA levels: Involvement in endothelial cell protection from apoptosis. *Journal of Biological Chemistry* 2000; 275(33): 25502-25507.
126. Kaga S, Zhan L, Matsumoto M, Maulik N. Resveratrol enhances neovascularization in the infarcted rat myocardium through the induction of thioredoxin-1, heme oxygenase-1 and vascular endothelial growth factor. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2005; 39(5):813-822.

127. Frankel EN, Waterhouse AL, Kinsella JE. Inhibition of human LDL by resveratrol. *Lancet* 1993; 341(8852): 1103–1104.
128. Fremont L, Belguendouz L, Delpal S. Antioxidant activity of resveratrol and alcohol- free wine polyphenols related to LDL oxidation and polyunsaturated fatty acids. *Life Science* 1999; 64(26): 2511–2521.
129. Corder R, Douthwaite JA, Delphine ML, Khan NQ, dos Santos ACV, Wood EG, Carrier MJ. Endothelin-1 synthesis reduced By red wine. *Nature* 2001; 414: 863-864. doi:10.1038/414863a
130. Saiko P, Szakmary A, Jaeger W, Szekeres T. Resveratrol and its analogs: Defense against cancer, coronary disease and neurodegenerative maladies or just a fad? *Mutation Research* 2008; 658(1-2): 68–94.
131. Olas B, Wachowicz B, Szewczuk J, Saluk-Juszczak J, Kaca W. The effect of resveratrol on the platelet secretory process induced by endotoxin and trombin. *Mikrobios* 2001; 105(410): 7-13.
132. Orsini F, Pelizzoni F, Verotta L, Aburjai T, Rogers CB. Isolation, synthesis, and antiplatelet aggregation activity of resveratrol 3-O- β -d- glucopyranosid and related compounds. *Journal of Natural. Products* 1997; 60(11): 1082-1087.
133. Olas B, Wachowicz B, Stochmal A, Oleszek W. Inhibition of blood platelet adhesion and secretion by different phenolics from *Yucca schidigera* Roetzl. bark. *Nutrition* 2005; 21(2): 199-206.
134. Khanna S, Roy S, Bagchi D, Bagchi M, Sen CK. Upregulation of oxidant-induced VEGF expression in cultured keratinocytes by a grape seed proanthocyanidin extract. *Free Radical Biology and Medicine* 2001; 31(1): 38-42.
135. Cao Y. Endogenous angiogenesis inhibitors and their therapeutic implications. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2001; 33(4): 357-369.
136. Cao Y, Cao R, Brakenhielm E. Antiangiogenic mechanisms of diyet-derived polyphenols. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 2002; 13(7): 380- 390.
137. Li HF, Chen SA, Wu SN. Evidence for the stimulatory effect of resveratrol on Ca²⁺-activated K⁺ current in vascular endothelial cells. *Cardiovascular Research* 2000; 45; 1035–1045.
138. Fleming I, Bauersachs J, Busse R. Calcium-dependent and calcium independent activation of the endothelial NO synthase. *Journal of Vascular Research.* 1997; 34(3): 165–174.
139. Fitzpatrick DF, Hirschfield SL, Coffey RG. Endothelium dependent vasorelaxing activity of wine ot other grape product. *American Journal Physilogy Heart and Circulatory Physilogy* 1993; 265(2): H774-H748.
140. Martı AR, Villegas I, La Casa C, de la Lastra CA. Resveratrol, a polyphenol found in grapes, suppresses oxidative damage and stimulates apoptosis during early colonic inflammation in rats. *Biochemical Pharmacology* 2004; 67(7): 1399–410.

141. Richard N, Porath D, Radspieler A, Schwager J. Effects of resveratrol, piceatannol, triacetoxystilbene, and genistein on the inflammatory response of human peripheral blood leukocytes. *Molecular Nutrition Food Research* 2005; 49(5): 431–442.
142. Chen G, Shan W, Yingliang WU, Ren L, Dong J, Zhizhong JI. Synthesis and Anti-inflammatory Activity of Resveratrol Analogs. *Chemical Pharmaceutical Bulletin* 2005; 53(12): 1587-1590.
143. Das DK, Maulik N. Resveratrol in Cardioprotection: A Therapeutic Promise of Alternative Medicine. *Molecular Interventions* 2006; 6(1): 36-47.
144. Docherty J, Fu MM, Tsai M. Resveratrol selectively inhibits *Neisseria gonorrhoea* and *Neisseria meningitidis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2001; 47(2): 243-244.
145. Man M, Chan Y. Antimicrobial effect of resveratrol on dermatophytes and bacterial pathogens of the skin. *Biochemical Pharmacology* 2002; 63(2): 99-104.
146. Tegos G, Stermitz FR, Lomovskaya O, Lewis K. Multidrug Pump Inhibitors Uncover Remarkable Activity of Plant Antimicrobials. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2002; 46(10): 3133- 3141.
147. Filip V, Plocková M, Midrkal J, Píková Z, Melzoch K, Schmidt K. Resveratrol and its antioxidant and antimicrobial effectiveness. *Food Chemistry*. 2003; 83(4): 585-593.
148. Borra MT, Smith BC, Denu JM. Mechanism of human SIRT1 activation by resveratrol. *The Journal of Biological Chemistry* 2005; 280: 17187- 17195.
149. Delmas D, Jannin B, Latruffe N. Resveratrol: Preventing properties against vascular alterations and ageing. *Molecular Nutrition Food Research* 2005; 49: 377–395.
150. Bansal P, Kakkar R. Resveratrol: a polyphenol with multiple health benefits. *International Journal of Pharmaceutics and Drug Analysis* 2014; 2(3): 174-191.
151. Picard F, Kurtev M, Chung N, Topark-Ngarm A, Senawong T, Machado De Oliveira R, Leid M, McBurney MW, Guarente L. Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma. *Nature* 2004; 429: 771–776.
152. Guarente L, Picard F. Calorie restriction – The SIR2 connection. *Cell* 2005; 120: 473- 82.
153. Mahady GB, Pendland SL. Resveratrol inhibits the growth of *helicobacter pylori* in vitro. *The American Journal of Gastroenterology* 2000; 95(7): 1849.
154. Mahady GB, Pendland SL, Chadwick LR. Resveratrol and red wine extracts inhibit the growth of CagA+ strains of *Helicobacter pylori* in vitro. *The American Journal of Gastroenterology* 2003; 98(6): 1440- 1441.
155. Schulz JB, Henshaw D, Siwek D, Jenkins BG, Ferrante RJ, Cipolloni PB, Kowall NW, Rosen BR, Beal MF. Involvement of Free Radicals in Excitotoxicity In Vivo. *Journal of Neurochemistry* 1995; 64(5): 2239-2247.

156. Coyle JT, Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science* 1993; 262(5134): 689-695.
157. Bondy CS. The relation of oxidative stress and hyperexcitation to neurological disease. *Experimental Biology and Medicine* 1995; 208(4): 337-345
158. Nakao N, Brundin P. Neurodegeneration and glutamate induced oxidative stress. *Progress in Brain Research* 1998; 116: 245-263.
159. de Almeida LMV, Pineiro CC, Leite MC, Brolese G, Leal RB, Gottfried C, Goncalves CA. Protective effects of resveratrol on hydrogen peroxide induced toxicity in primary cortical astrocyte cultures. *Neurochemical Research* 2008; 33(1): 8-15.
160. Karuppagounder SS, Pinto JT, Xu H, Chen HL, Beal MF, Gibson GE. Dietary supplementation with resveratrol reduces plaque pathology in a transgenic model of Alzheimer's disease. *Neurochemistry International* 2009; 54(2): 111-118.
161. Gibson GE, Haroutunian V, Zhang H, Park LC, Shi Q, Lesser M, Mohs RC, Sheu RK, Blass JP. Mitochondrial damage in Alzheimer's disease varies with apolipoprotein E genotype. *Annals of Neurology* 2000; 48(3): 297-303.
162. Beal MF. Mitochondria take center stage in aging and neurodegeneration. *Annals of Neurology* 2005; 58(4): 495-505.
163. Bansal AK, Bilaspuri GS. Impacts of Oxidative Stress and Antioxidants on Semen Functions. *Veterinary Medicine International* 2010; 2011: doi:10.4061/2011/686137
164. De Lamirande E, Gagnon C. Impact of reactive oxygen species on spermatozoa: a balancing act between beneficial and detrimental effects. *Human Reproduction* 1995; 10(1): 15-21..
165. Aitken RJ, Buckingham D, Harkiss D. Use of a xanthine oxidase free radical generating system to investigate the cytotoxic effects of reactive oxygen species on human spermatozoa. *Journal of Reproduction and Fertility* 1993; 97: 441-450.
166. Ara C, Yılmaz M, Sağır V, Kırımlıoğlu H, Bay Karabulut A, Yılmaz S. Kolestaz Sonrası Testiste Oluşan Oksidatif Strese Karşı Resveratrolün Etkisi. *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2007; 29(3): 84-89.
167. Sikka C. Relative Impact of Oxidative Stress on Male Reproductive Function. *Current Medicinal Chemistry* 2001; 8(7): 851-862.
168. Ünal SG, Take G, Erdoğan D, Gökteş G, Şahin E. The effect of di-n-butyl phthalate on testis and the potential protective effects of resveratrol. *Toxicology and Industrial Health* 2013; 1-4: doi: 10.1177/0748233713512364.
169. Juan ME, González-Pons E, Munuera T, Ballester J, Rodríguez-Gil JE, Planas JM. trans-Resveratrol, a Natural Antioxidant from Grapes, Increases Sperm Output in Healthy Rats. *The Journal of Nutrition* 2005; 135(4): 757-760.

170. Jiang YG, Peng T, Luo Y, Li MC, Lin YH. Resveratrol reestablishes spermatogenesis after testicular injury in rats caused by 2, 5-hexanedione. *Chinese Medical Journal* 2008; 121(13): 1204-1209.
171. Bucak MN, Ataman MB, Başpınar N, Uysal O, Taşpınar M, Bilgili A, Öztürk C, Güngör Ş, İnanç ME, Akal E. Lycopene and resveratrol improve post-thaw bull sperm parameters: sperm motility, mitochondrial activity and DNA integrity. *Andrologia* 2015; 47(5): 545–552.
172. Drapper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymology* 1990; 186: 421–431.
173. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilising the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry* 1976; 72: 248-254.
174. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymology* 1984; 105: 121–26.
175. Woolliams JA, Wiener G, Anderson PH, McMurray CH. Variation in the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase and in the concentration of copper in the blood various breed crosses of sheep. *Research Veterinary Science* 1983; 34: 69–77.
176. Sun Yi, Larry W. Oberley, Ying Li. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry* 1988; 34(3): 497-500.
177. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1967; 70: 158–69.
178. Haines GA, Hendry JH, Daniel CP, Morris ID. Germ Cell and Dose-Dependent DNA Damage Measured by the Comet Assay in Murine Spermatozoa after Testicular X-Irradiation. *Biology Of Reproduction* 2002; 67: 854–861.
179. Ostling O, Johanson KJ. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical Biophysical Research Communications* 1984; 123(1): 291-298.
180. Higami Y, Shimokawa I, Okimoto T, Ikeda T. Vulnerability to oxygen radicals is more important than impaired repair in hepatocytic deoxyribonucleic acid damage in aging. *Laboratory Investigation* 1994; 71(5): 650-656.
181. Kaya M, Boleken ME, Memetoğlu E, Çelik H, Kanmaz T, Koçyiğit A, Yücesan S. Evaluation of systemic oxidative status and mononuclear leukocytes DNA damage in children with caustic esophageal stricture. *Diseases of the Esophagus* 2006; 19(4): 280-284.
182. Dinçer Y, Kankaya S. DNA Hasarının Belirlenmesinde Comet Assay. *Turkiye Klinikleri Journal Medicine Sciences* 2010; .30(4): 1365-1373.
183. Bancroft JD, Stevens A, Turner DR. *Theory and Practice of Histological Techniques*. London: Churchill Livingstone, 1996. pp. 129.

184. Dündar B, Cesur G, Çömlekçi S, Songur A, Gökçimen S, Şahin Ö, Ulukut Ö, Yılmaz HR, Sütçü R, Çalışkan S. The effect of prenatal and postnatal long-term exposure to 50 Hz electric field on growth, pubertal development and IGF-I levels in female Wistar rats. *Toxicology and Industrial Health* 2009; 25(7): 479-487.
185. Garcia D, Manas P, Gomez N, Rosa J, Pagan R. Biosynthetic requirements for the repair of sublethal membrane damage in *Escherichia coli* cells after pulsed electric field. *Journal of Applied Microbiology* 2006; 100(3): 428-235.
186. Popova E, Bader M, Krivokhatchenko A. Effects of electric field on early preimplantation development in vitro in mice and rats. *Human Reproduction* 2011; 26(3): 662-670.
187. Sahakyan GV, Artsruni GG. The Influence of External Electrostatic Field on Rat Spermatogenesis and Structural and Functional State of Spermatozooids. *National Academy Science of RA Electronic Journal of Natural Sciences* 2013; 2(21): 61-69.
188. Hakoda M, Hirota Y. Correlation between dielectric property by dielectrophoretic levitation and growth activity of cells exposed to electric field. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 2013; 36(9): 1219-1227.
189. Al-Akhras MA, Darmani H, Elbetiha A. Influence of 50 Hz magnetic fields on sex hormones and other fertility parameters of adult male rats. *Bioelectromagnetics* 2006; 27(2): 127-131.
190. Margonata V, Viola D, Cantone A. Variation in weight and food intake of rats exposed to a high-intensity electrical field at 50 Hz. *Bollettino Della Societa Italiana di Biologia Sperimentale* 1982; 58(5): 259-265.
191. Erpek S, Bilgin MD, Dikicioğlu E, Karul A. The effects of low frequency electric field in rat testis. *Revue De Medecine Veterinaire*. 158(4):206-212, 2007
192. Duan W, Liu C, Wu H, Chen C, Zhang T, Gao P, Luo X, Yu Z, Zhou Z. Effects of Exposure to Extremely Low Frequency Magnetic Fields on Spermatogenesis in Adult rats. *Bioelectromagnetics* 2014; 35: 58-69.
193. Kavas GÖ, Ayrar PA, Elhan AH. The effects of Resveratrol on Oxidant/Antioxidant Systems and Their Cofactors in Rats. *Advances in Clinical and Experimental Medicine* 2013; 22(2): 151-155.
194. Elewa SM, Alkhateeb MA, Alhassem FH, Bin-Jalilah I, Sakr HF, Elrefaey HM, Elkarib AO, Alessa RM, Haidara MA, Shatoor AS, Khalil MA. Resveratrol Reverses Cadmium Chloride-induced Testicular Damage and Subfertility by Downregulating p53 and Bax Upregulating Gonotropins and Bcl-2 gene Expression. *Journal of Reproduction and Development* 2014; 60(2): 115-127.
195. Yuluğ E, Türedi S, Alver A, Türedi S, Kahraman C. Effects of Resveratrol on Methotrexate-Induced Testicular Damage in Rats. *The Scientific World Journal* 2013; doi:10.1155/2013/489659.

196. Kasdallah-Grissa A, Morganut B, Aouani E, Hammami M, Gharbi N, Kamoun A, El-Fazaa S. Protective effect of resveratrol on ethanol-induced lipid peroxidation in rats. *Alcohol and Alcoholism* 2006; 41(3): 236-239.
197. Lokhmatova SA, Pastukhova IR. Morphologic and histoenzymologic analysis of effect of electrical fields at 17 kHz on testis and testis appendages in mice. *Aerospace and Environmental Medicine*. 27(3): 50-54, 1993.
198. Lokhmatova SA. An ultrastructural analysis of the testes in mice subjected to long-term exposure to a 17-kHz electrical field. *Radiobiologia*. 33(3):342-346, 1993.

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tezi Hazırlayan

Rahime ASLANKOÇ

İmza

Danışman

Doç.Dr. Nurhan GÜMRAL

İmza

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Kararı



T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

SAYI : 21438139 - 219
KONU: Etik Kurul Kararı

14/08/2014

SAYIN
Doç. Dr. Nurhan GÜMRAL
(SDÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D.)

“Elektrik Alanın Sıçan Testis Dokusundaki Fizyopatolojik Etkileri ve Resveratrolün Koruyucu Rolü” konulu projeniz Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından **14 AĞUSTOS 2014** tarih ve **09** sayılı kararı ile uygun bulunmuştur. Kararın bir örneği ekte sunulmuştur. Bilgilerinize rica ederim.

Doç. Dr. Efkân UZ
SDÜ-HADYEK Başkanı

Ek: 1 Adet HADYEK Kararı

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı



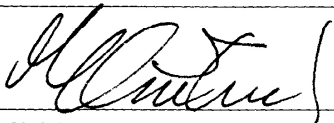
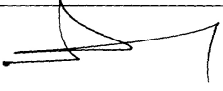

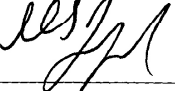
TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
14.08.2014	21	09

Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 14 AĞUSTOS 2014 tarihinde Saat 14:00'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır,

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D. Öğretim Üyesi Doç. Dr. Nurhan GÜMRAL'ın yürütücüsü olduğu Doç. Dr. Selçuk ÇÖMLEKÇİ, Yrd. Doç. Dr. Nurgül ŞENOL, Yrd. Doç. Dr. Halil AŞCI, Yrd. Doç. Dr. Mustafa SAYGIN, Öğr. Gör. Rahime ASLANKOÇ, Arş. Gör. Fatma Nihan CANKARA'nın yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı, "Elektrik Alanın Sıçan Testis Dokusundaki Fizyopatolojik Etkileri ve Resveratrolün Koruyucu Rolü" başlıklı çalışma;

Deney Hayvanının	Türü	Cinsiyeti	Sayısı	Yaşı
	Sıçan (Wistar Albino)	Erkek	32	3-4 aylık 200-250gr

Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından oy birliği ile UYGUN görülmüştür.

Doç. Dr. Efan UZ BAŞKAN	Prof. Dr. Münire ÇAKIR BAŞKAN YARDIMCISI	Doç. Dr. İ. Metin ÇİRİŞ ÜYE
		
Yrd. Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR ÜYE	Yrd. Doç. Dr. Gülnur ÖZGÜNER ÜYE	Yrd. Doç. Dr. Müge ÇINA AKSOY ÜYE
KATILMADI		KATILMADI
Öğr. Gör. İbrahim ONARAN ÜYE	Vet. Hekim İsmail UZ ÜYE	Ecz. Mustafa Serhan DERYAL ÜYE
	KATILMADI	

Ek 2. Özgeçmiş

Kişisel Bilgiler		
Adı: Rahime	Soyadı: ASLANKOÇ	
Doğum yeri: Tarsus	Doğum tarihi: 25.12.1970	
Uyruğu: T.C.	Tel: 05442965293	
E mail: rahimeaslankoc@sdu.edu.tr		
Eğitim Düzeyi		
	Mezun Olduğu Kurum	Mezuniyet Yılı
Doktora	S.D.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2016
Yüksek lisans	S.D.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2002
Lisans	Atatürk Üni. Hemşirelik Yüksek Okulu	1992
Lise	Tarsus Lisesi	1988
İş Deneyimi		
Görevi	Kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Hemşire	Atatürk Üni. Araştırma Uygulama Hastanesi	1990-1994
Öğretmen	Şarkikaraağaç Sağlık Meslek Lisesi	1994-1997
Öğretim Görevlisi	S.D.Ü. Sağlık Bilimleri Fakültesi	1997-
Yabancı Diller	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	61	