

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL DÜŞÜK DOZ ELEKTROMANYETİK ALANIN
SIÇAN TESTİS VE SEMEN DOKULARINA ETKİLERİ VE
KAFEİK ASİT FENETİL ESTERİN ANTİOKSİDAN ROLÜNÜN
ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. ŞADIYE AÇIKGÖZ

MART-2019

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL DÜŞÜK DOZ ELEKTROMANYETİK ALANIN
SIÇAN TESTİS VE SEMEN DOKULARINA ETKİLERİ VE
KAFEİK ASİT FENETİL ESTERİN ANTIOKSİDAN ROLÜNÜN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. ŞADIYE AÇIKGÖZ

**DANIŞMAN
PROF. DR. ELVAN ŞAHİN**

MART-2019

KABUL ve ONAY



SAKARYA
ÜNİVERSİTESİ

SAKARYA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU ARAŞTIRMA ONAY BELGESİ

SAKARYA UNIVERSITY
ANIMAL EXPERIMENTS LOCAL ETHIC COMMITTEE
RESEARCH APPROVAL CERTIFICATE

Araştırmanın Adı <i>Title of the Research</i>	Deneysel Düşük Doz Elektromanyetik Alanın Siçan Testis ve Semen Dokularına Etkileri ve Kafeik Asit Fenetil Ester'in (CAPE) Antioksidan Rolünün Araştırılması	
Yürütücü <i>Chief investigator</i>	Prof. Dr. Elvan ŞAHİN	
Yrd. Araştırmacı(lar) <i>Co-investigator(s)</i>	Yrd. Doç. Dr. Derya GÜZEL, Arş Gör. Şadiye AÇIKGÖZ	
Arş. Başlama Tarihi <i>Research Starting Date</i>		
Proje Süresi <i>Total Time of Project</i>	10 ay	
Kullanılan Hayvan Türü <i>Animal Species</i>	Rat	
Kullanılan Hayvan Cinsiyeti ve Sayısı <i>Animal Sex and number</i>	Erkek- 40 adet (Deney Hayvanı sayısı azaltılarak toplam 32 ye indirilmiştir.)	
Arş. Destekleyen Kuruluş (varsa) <i>Funding institution(s) (if available)</i>	-	
Destek Şekli ve Miktarı <i>Type and amount of funding</i>	-	
Karar: Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 21 / 02 / 2018 tarih ve 02 sayılı kararı ile; yukarıda bilgileri verilen araştırma projesinin	<input checked="" type="checkbox"/> gerçekleştirilmesinin Uygun Olduğuna Karar Verilmiştir. <input type="checkbox"/> Yeniden düzenlenmesine Karar Verilmiştir. <input type="checkbox"/> gerçekleştirilmesinin Uygun Olmadığına Karar Verilmiştir.	
Decision: With the decision of the Local Ethics Committee of Animal Experiments of Sakarya University dated 21/02/2018 and numbered 02; it has been decided that above mentioned research project is	Appropriate to carry out. <input type="checkbox"/> Rearranged <input type="checkbox"/> Not Appropriate to carry out.	
	BASKAN/CHAIR Prof. Dr. Nureddin CENGİZ	
ÜYE / MEMBER Prof. Dr. Ali Fuat ERDEM	ÜYE / MEMBER Prof. Dr. Ramazan ŞEKEROĞLU	ÜYE / MEMBER Doç. Dr. Pelin TANYERİ
ÜYE / MEMBER Doç. Dr. Kerem KARAMAN	ÜYE Doç. Dr. Hüseyin AKSOY	ÜYE Yrd. Doç. Dr. Songül DOĞANAY
ÜYE / MEMBER Yrd. Doç. Dr. Ahmet KARA	ÜYE / MEMBER Yrd. Doç. Dr. Murat ÇILLI	ÜYE / MEMBER Yrd. Doç. Dr. Havva SERT
ÜYE / MEMBER Yrd. Doç. Dr. Mustafa Zahit YILDIZ	ÜYE / MEMBER Murat YILDIZ	ÜYE / MEMBER Ibrahim AKTEKİN

BEYAN

Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 21/ 02 / 2018 tarihinde onay olarak hazırlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

13/03/2019

Dr. Şadiye Açıkgöz

TEŞEKKÜR

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji uzmanlık eğitim sürecinde bilgi, fikir ve tecrübeleri ile her zaman bana destek veren, tez çalışmamın proje hazırlığından itibaren tamamlanmasına kadar hep yardımcı olan danışman hocam Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Elvan Şahin'e, yine asistanlığım boyunca hep desteğini hissettiğim hocam Prof. Dr. Nurettin Cengiz'e, semen örneklerinde spermlerin sayısal ve motilite değerlendirmelerini yaparken fikirlerinden yararlandığım hocam Dr. Öğr. Üyesi Özcan Budak'a, tez projesinin yazılma sürecinde ve kan örneklerinin toplanması sırasında birlikte çalıştığımız Fizyoloji Anabilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi Derya Güzel'e, tezimin akım sitometrik analizlerini yapan Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğr. Görevlisi Gülay Erman'a, GSM simülatör cihazı sağlayan Üsküdar Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Osman Çerezci'ye, yazım aşamasında yardımcı olan sevgili ablam Diş Hekimi Hanife Gülnaz Açıkgöz'e, deneysel verilerin istatistiksel değerlendirmelerini yapan Halk Sağlığı Uzmanı Dr. Muhlise Demirbaş'a, deneysel uygulamaların yapılması aşamasında yardımcı olan SÜDETAM veterineri Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin Çakıroğlu'na, deneysel aşamalarda desteklerini aldığım Halk Sağlığı Anabilim Dalı Asistanı Dr. Neşe Aşıcı'ya ve Histoloji ve Embriyoloji Yüksek Lisans Öğrencisi Nihal Tufan'a, SÜDETAM deney hayvanları bakıcısı İbrahim Aksoy'a, asistan arkadaşlarıma ve tıp fakültesi personeline teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca Uzmanlık Eğitimim ve Tez hazırlama sürecinde dualarını ve manevi desteklerini esirgemeyen başta sevgili annem Naime Açıkgöz ve babam Hamdi Açıkgöz olmak üzere kıymetli ablalarıma ve kız kardeşlerime, sevgisiyle beni her zaman motive eden ve ona ayırmam gereken zamanlardan çalmak zorunda kaldığım sevgili yavrum İnci'ye ayrı ayrı teşekkür ederim.

Bu tez, Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından BAP-2018-2-9-31 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Saygılarımla.

Dr. Şadiye Açıkgöz

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMA VE SİMGELER.....	vi
ŞEKİLLER.....	viii
TABLolar	ix
RESİMLER.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. ELEKTROMANYETİK ALAN NEDİR?	4
2.2. ELEKTROMANYETİK SPEKTRUM VE RADYASYON	6
2.3. ELEKTROMANYETİK ALAN MARUZİYETİ VE ETKİ MEKANİZMASI	7
2.3.1. Elektromanyetik alan ile yapılan <i>in vitro</i> çalışmalar.....	11
2.3.2. Elektromanyetik alan ile yapılan <i>in vivo</i> çalışmalar	12
2.3.3. Elektromanyetik alan ile yapılan insan çalışmaları.....	15
2.3.4. Elektromanyetik alanın sağlık üzerine etkileri.....	17
2.4. ERKEK ÜREME SİSTEMİ.....	17
2.4.1. EMA'nın Erkek Üreme Sistemi Üzerindeki Etkileri	22
2.5. KAFEİK ASİT FENETİL ESTER.....	24
2.5.1. CAPE fiziksel ve kimyasal özellikleri	25
2.5.2. CAPE etkileri ve kullanım alanları	25
2.5.3. CAPE'nin antimikrobiyal etkileri	26
2.5.4. CAPE'nin antiinflamatuar etkisi	26
2.5.5. CAPE'nin sitotoksik etkisi.....	26
2.5.6. Kemoterapi ve radyoterapinin sebep olduğu toksik etkilere karşı CAPE.....	26
2.5.7. Diğer etkiler	27
2.5.8. CAPE antioksidan etkileri.....	27
2.6. SERBEST RADİKALLER.....	28

2.6.1. Glutasyon peroksidaz ve glutasyon redüktaz.....	29
2.6.2. Süperoksit dismutaz	29
2.6.3. Katalaz	29
2.6.4. Malondialdehit	30
2.6.5. Erkek üreme sisteminde serbest radikaller.....	30
2.6.6. Serbest radikaller ile DNA hasarı	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM	32
3.1. ÇALIŞMANIN YERİ VE TARİHİ	32
3.1.1. Etik kurul kararı ve proje desteği.....	32
3.1.2. Çalışmanın yeri ve tarihi	32
3.2. GEREÇ VE YÖNTEM	33
3.2.1. Deneklerin temini ve deney gruplarının oluşturulması	33
3.2.2. Vücut ağırlıklarının ölçümü	34
3.2.3. GSM simülatör cihaz	34
3.2.4. Deney düzeneği.....	35
3.2.5. Kafeik asit fenetil esterinin hazırlanması.....	35
3.2.6. Deneyin uygulanışı	36
3.2.7. Deneyin sonlandırılması	36
3.2.8. Örneklerin toplanması.....	36
3.2.9. Makler sayım kamarası	38
3.2.10. Akım sitometri yöntemi ile DNA kırığı tespiti	39
3.2.11. Sperm morfolojisinin incelenmesi	41
3.2.12. Testislerin doku takibi.....	41
3.2.13. Testislerden kesit alma.....	42
3.2.14. Testis kesitlerinin boyanması.....	42
3.2.15. Johnsen skorlaması	44
3.2.16. Biyokimyasal analiz yöntemi.....	45
3.2.16. İstatistiksel analiz.....	47
4. BULGULAR.....	49
4.1. MORFOMETRİK ÖLÇÜMLER İLE İLGİLİ BULGULAR	49
4.1.1. Vücut Ağırlığı ile İlgili Bulgular	49
4.1.2. Testis ağırlıkları ile ilgili bulgular	53
4. 2. SPERM KONSANTRASYONU İLE İLGİLİ BULGULAR	53
4. 3. SPERM MOTİLİTESİ İLE İLGİLİ BULGULAR	56
4.4. SPERM MORFOLOJİSİ İLE İLGİLİ BULGULAR.....	61

4.5. TESTİSLERİN HİSTOPATOLOJİK İNCELENMELERİ İLE İLGİLİ BULGULAR	68
4.5.1. Hematoksilen ve Eosin boyama ile kesitlerin incelenmesi	68
4.5.2. Masson Trikrom boyama ile kesitlerin incelenmesi	75
4.5.3. Periyodik Asit Schiff ile kesitlerin incelenmesi	80
4.5.4. Johnsen skorlaması ile ilgili bulgular.....	83
4.6. BİYOKİMYASAL BULGULAR.....	89
4.6.1. Kan biyokimyası	89
4.7. AKİM SİTOMETRİ ANALİZİ İLE İLGİLİ BULGULAR.....	94
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	98
5.1. TARTIŞMA	98
5.2. SONUÇ	108
ÖZET.....	110
SUMMARY	111
KAYNAKLAR	114

KISALTMA VE SİMGELER

KISALTMALAR

AP-1: Aktivatör protein-1	MDA: Malondialdehit
CAPE: Kafeik Asit Fenetil Ester	Mel: Melatonin
CASA: Bilgisayar yardımlı semen analizi	µg: Mikro gram
CAT: Katalaz	NADPH: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
COX-1,2: Siklooksijenaz-1,2	NFAT: Nükleer Faktör Aktive T
DNA: Deoksiribo Nükleik Asit	NF-κB: Nükleer Faktör Kappa B
EMA: Elektromanyetik Alan	NO: Nitrik Oksit
ERK: Ekstrasellüler sinyal-regule protein kinaz	NOS: Nitrik Oksit Sentaz
GSH: Glutasyon	OSI: Oksidatif Stres İndeksi
GSH-Px: Glutasyon Peroksidaz	PBS: Fosfat Tamponlu Salin
GSM: Global Mobil İletişim Sistemi	RF: Radyo Frekans
GR: Glutasyon Redüktaz	RNS: Reaktif Nitrojen Türleri
HCV: Hepatit C Virüsü	ROS: Reaktif Oksijen Türleri
HIV: Human Immunodeficiency Virus	TAC: Total Antioksidan Kapasite
H2O2: Hidrojen peroksit	TAS: Total Antioksidan Status
IARC: Uluslararası Kanser Araştırmaları Merkezi	TOC: Total Oksidan Kapasite
IBκB: İnhibitör protein Sitoplazmik NF-κB	TOS: Total Oksidan Status
IL: Interlökin	TNF: Tümör Nekroz Faktör
JNK: c-Jun NH2-terminal Kinaz	WHO: Dünya Sağlık Örgütü
LCD: Likit Kristal Ekran	Wi-fi: Kablosuz Bağlantı Alanı
LPO: Lipit Peroksidasyonu	XO: Ksantin Oksidaz

SİMGELER

°C: Celcius

dk: dakika

Eq: Ekvivalan

GHz: Giga Hertz

g: Gravite

gr: Gram

Hz: Hertz

kHz: Kilo Hertz

L: Litre

mg: Mili gram

mmol: Mili Mol

µmol: Mikro Mol

mT: Mili Tesla

ng: Nano gram

nm: Nano Metre

rpm: Dakikadaki devir



ŞEKİLLER

Şekil 1. Elektromanyetik dalgaların ve alanların oluşumu	4
Şekil 2. Dünyanın doğal manyetik kalkanı	5
Şekil 3. Elektromanyetik Spektrum Değerleri	7
Şekil 4. RF-EMA Maruziyeti (Kesari et al. 2018).....	10
Şekil 5. EMA Erkek Üreme Sistemi Üzerindeki Etkileri	24
Şekil 6. CAPE'nin kimyasal açık formülü.....	25
Şekil 7. Olgunlaşmamış spermatozoonda ROS üretimi mekanizması.....	31
Şekil 9. Deney gruplarında sperm konsantrasyonu ortalamalarının grafiği	55
Şekil 10. Semende toplam motilite ortalamaları grafiği	57
Şekil 11. Semende ileri hareketli motilite ortalamalarının grafiği.....	59
Şekil 12. Semende yerinde hareketli motilite ortalamalarının grafiği	60
Şekil 13. Semende hareketsiz motilitelerin ortalamaları grafiği.....	61
Şekil 14. Testis kesitlerinde Johnsen Skorlaması ortalama değerleri	84
Şekil 15. Akım sitometri yöntemi ile semende DNA kırığı yüzdelerinin ortalama değerleri.....	96
Şekil 16. Semende TUNEL işaretleme ile akım sitometrik analizlerin histogramı ...	97

TABLolar

Tablo 1. DNA işaretleme solüsyonunun içerik ve miktarları.....	40
Tablo 2. Kontrol grubu vücut ağırlığı ölçüm değerleri	49
Tablo 4. EMA+CAPE grubunda vücut ağırlığı ölçüm değerleri.....	50
Tablo 5. CAPE grubunda vücut ağırlığı ölçüm değerleri.....	50
Tablo 6. Deney gruplarının başlangıç haftasında vücut ağırlıkları açısından karşılaştırma istatistikleri	51
Tablo 7. Deney grupları arasında 3. haftada vücut ağırlıkları açısından karşılaştırma istatistikleri.....	52
Tablo 8. Deney sonunda deney gruplarının testis ağırlık ölçüm sonuçları	53
Tablo 9. Deney sonunda deney gruplarının sperm konsantrasyonu sonuçları	54
Tablo 10. Deney gruplarının sperm konsantrasyonu bakımından karşılaştırmalı istatistikleri.....	55
Tablo 11. Deney gruplarının semende toplam motilite istatistikleri	56
Tablo 12. Deney gruplarının semende toplam motilite karşılaştırmalı istatistikleri .	57
Tablo 13. Deney gruplarının semende ileri hareketli motilite karşılaştırmalı istatistikleri.....	58
Tablo 14. Deney gruplarına ait sperm örneklerinin morfoloji yüzdeleri.....	62
Tablo 15. Deney gruplarına ait testis kesitlerinin Johnsen Skorlaması istatistikleri.	84
Tablo 16. Serum örneklerinde biyokimyasal parametrelerin ortalama değerlerinin karşılaştırılması	90
Tablo 17. Testiküler doku örneklerinde biyokimyasal analizlerin ortalama değerlerinin karşılaştırılması.....	93
Tablo 18. Deney gruplarına ait semen örneklerinde DNA kırığı yüzdeleri	94
Tablo 19. Deney gruplarına ait semen örneklerinde DNA Kırığı Yüzdelerinin Çoklu Karşılaştırmaları.....	95

RESİMLER

Resim 1. Testis Histolojisi.....	20
Resim 2. Seminifer Tübül Histolojisi	21
Resim 3. Sperm Histolojisi	22
Resim 4. Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar	33
Resim 5. Elektronik Tartı	34
Resim 6. Elektromanyetik dalga verici GSM simülatör cihaz	34
Resim 7. Deney düzeneği	35
Resim 8. Hassas terazi	37
Resim 9. Epididimal kanallardan semen eldesi	38
Resim 10. Makler Sayım Kamarası	39
Resim 11. Akım sitometri analiz cihazı.....	40
Resim 12. Kamera ataçmanlı ışık mikroskobu.....	41
Resim 13. Mikrotom.....	42
Resim 14. Kontrol grubu sıçanlarda normal morfolojide sperm örnekleri.....	63
Resim 15. EMA uygulanan sıçanlarda spermde baş anomalileri.	64
Resim 16. EMA uygulanan sıçanlarda spermde anormal morfolojiler	64
Resim 17. EMA uygulanan sıçanlarda spermde boyun anomalisi.	65
Resim 18. EMA uygulanan sıçanlarda spermde boyun ve kuyruk anomalileri.	65
Resim 19. EMA+CAPE uygulanan sıçanlarda spermlerde anormal morfolojiler.....	66
Resim 20. CAPE uygulanan sıçanlarda normal morfolojide sperm örnekleri.....	66
Resim 21. CAPE uygulanan sıçanlarda spermde kuyruk anomalisi.....	67
Resim 22. Kontrol grubuna ait testis kesitinin ışık mikroskobik görüntüsü.	68

Resim 23. EMA grubuna ait testis kesitlerinde histolojik değişiklikler	69
Resim 24. EMA grubuna ait testis kesitlerinde histolojik değişiklikler	70
Resim 25. EMA grubuna ait testis kesitlerinde histolojik değişiklikler	70
Resim 26. EMA grubuna ait testis kesitlerinde histolojik değişiklikler	71
Resim 27. EMA grubuna ait testis kesitlerinde histolojik değişiklikler	71
Resim 28. EMA grubuna ait testis kesitlerinde histolojik değişiklikler	72
Resim 29. EMA+CAPE grubuna ait testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.....	73
Resim 30. CAPE grubuna ait testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.....	74
Resim 31. Kontrol grubundaki sıçanların testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.	75
Resim 32. Kontrol grubundaki sıçanlara ait testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.....	76
Resim 33. EMA grubundaki sıçanlara ait testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.	77
Resim 34. EMA+CAPE grubundaki sıçanlara ait testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.....	78
Resim 35. CAPE grubundaki sıçanlara ait testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.	79
Resim 36. Kontrol grubundaki sıçanlara ait testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.....	80
Resim 37. EMA grubundaki sıçanlara ait testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.	81
Resim 38. EMA+CAPE grubundaki sıçanlara ait testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.....	82
Resim 39. CAPE grubundaki sıçanlara ait testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.	83
Resim 40. Kontrol grubunda testis kesitinin ışık mikroskopik görüntülerinde Johnsen Skorlamasına göre değerlendirilmiş seminifer tübüller.	85

Resim 41. EMA grubunda testis kesitinin ışık mikroskopik görüntülerinde Johnsen Skorlamasına göre değerlendirilmiş seminifer tübüller.	86
Resim 42. EMA+CAPE grubunda testis kesitinin ışık mikroskopik görüntülerinde Johnsen Skorlamasına göre değerlendirilmiş seminifer tübüller.	87
Resim 43. CAPE grubunda testis kesitinin ışık mikroskopik görüntülerinde Johnsen Skorlamasına göre değerlendirilmiş seminifer tübüller.	88



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yüzyılda insan teknolojik hareketindeki patlama, statik manyetik alanlar, aşırı düşük frekans elektromanyetik alanlar, radyo frekanslar ve mikrodalgalar gibi non-iyonize radyasyonların biyosferde varlığını arttırmıştır. Radyofrekans (RF) ve mikrodalga, bilişim ve iletişim teknolojisinde; cep telefonu, mikrodalga, Wi fi ve Bluetooth uygulamalarında kullanılmaktadır (Bernabò et al. 2017). Bu cihazların yol açtığı düşük doz elektromanyetik alan (EMA) 10 kHz- 300 GHz aralığındaki RF alanını tanımlar (Repacholi 1998). Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) düşük doz EMA'ları, 2b ("insanlar için muhtemel kanserojen") olarak sınıflamaktadır (Humans IWGotEoCRt 2013). "İnsanlar için muhtemel kanserojen madde", insanlarda kanserojenite kanıtının sınırlı olduğu ve deney hayvanlarında karsinogenez için yeterli kanıtın bulunmadığı bir maddeyi belirtmek için kullanılan bir ifadedir. EMA maruziyeti elektromanyetik hipersensitivite, sitotoksikite ve genotoksikite yapması nedeniyle endokrin sistem, kardiyovasküler sistem, sinir sistemi ve üreme fonksiyonları üzerine olumsuz etkileri bulunmaktadır (Singh and Kapoor 2014).

Son yıllarda gelişmiş ülkelerde fertilitenin düştüğü tespit edilmiştir ve non-iyonize elektromanyetik alan maruziyetinin fertilitate azalmasında rol oynadığı bildirilmektedir (Bernabò et al. 2017). Güncel çalışmalar reaktif oksijen radikallerinin erkek infertilitesinde %30-40 etkisinin olabileceğini bildirmektedir (Bisht et al. 2017). Yapılan insan semen çalışmalarında düşük doz EMA maruziyeti ile oksidatif stres belirteçlerinde artma, buna bağlı olarak spermelerin vitalitesinde, motilitesinde azalma, DNA hasarlanmasında artış şeklinde sonuçlar elde edilmiştir (Davoudi and Brossner 2002, Agarwal et al. 2008, Agarwal et al. 2009, Fejes et al. 2005). Fertilizasyon, hidrojen peroksit, süperoksit anyonu, hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) sperm fonksiyonlarını etkilediği bir sürece dayanır (Krausz et al. 1994, John Aitken et al. 1989, Lopes et al. 1998). Oksidatif stresle ortaya çıkan reaktif oksijen türleri kapasitasyon ve akrozom reaksiyonu gibi normal sperm fonksiyonları için

gereklidir; ancak aşırı ROS üretimi yani oksidatif stres durumunda, sperm plazma membranında lipit peroksidasyonu, sperm DNA hasarı ve hatta infertilite gelişmektedir (Agarwal et al. 2003, Saleh et al. 2003). Fertil kontrol grubu ile karşılaştırıldığında infertil erkeklerde semen ROS seviyelerinde artış ve antioksidan kapasitesinde azalma gözlenmiştir (Desai et al. 2009, Aitken and Baker 2006, Athayde et al. 2007). Reaktif oksijen türlerinin oluşumu, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) veya glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi seminal sıvıda bulunan ve spermatozoayı ROS'un etkisinden koruyan enzimleri etkileyebilir. Spermatozoa özellikle RF ile tetiklenen oksidatif strese karşı kırılgandır. ROS seviyelerindeki çok düşük değişimler bile sperm kapasitasyonu, akrozom reaksiyonu ve oosite bağlanmada önemli bir rol oynayabilir (Garrido et al. 2004a).

İnsan vücudunda radyosensitivitesi en yüksek organ; radyasyona diğer tüm hücrelerden daha hassas olan spermatogonik kök hücreleri ihtiva eden germinal epitelyuma sahip testislerdir (Fischbein et al. 1997, Xu et al. 2008). Agarwal ve ark. insanlarda cep telefonlarının sürekli kullanımının azalmış motilite, sperm konsantrasyonu, morfoloji ve viabilitesi ile bağlantısını rapor etmiştir (Agarwal et al. 2008).

Hayvan modeli kullanan çeşitli çalışmalarda cep telefonu radyasyonuna cevaben farklı dokularda (böbrek, endometriyum, göz, testis, beyin, miyokart) oksidatif stres olduğu gösterilmiştir (Öktem ve ark. 2005, 2005a, Meral ve ark. 2007, Balcı ve ark. 2007, Oral ve ark. 2006, Özgüner ve ark. 2006, 2005c). Hayvanlarda düşük doz EMA ile uyarılan oksidatif stres durumuna antioksidanların potansiyel koruyucu etkileri de gösterilmiştir (Öktem ve ark. 2005, Oral ve ark. 2006, Özgüner ve ark. 2005a). Bu koruyucu ajanlardan biri Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE)'dir. CAPE bal arısı propolis özünün aktif bileşenlerindedir, serbest radikalleri süpürür ve antioksidan enzimleri aktive eder. Doğal antioksidanlar arasında; enzimler (SOD, CAT, GSH-Px, glutatyon redüktaz, sitokrom-C-oksidad, hidroksi peroksidaz), makromoleküller (seruloplazmin, transferrin, ferritin, miyoglobulin, haptoglobulin) ve mikromoleküller (β -karoten, A vitamini, C vitamini, E vitamini, tokoferoller, tiyol içerenler, glutatyon,

N-asetilsistein, metionin, kaptopril, ubiguinon, melatonin) sayılabilir (Parlakpınar 2012).

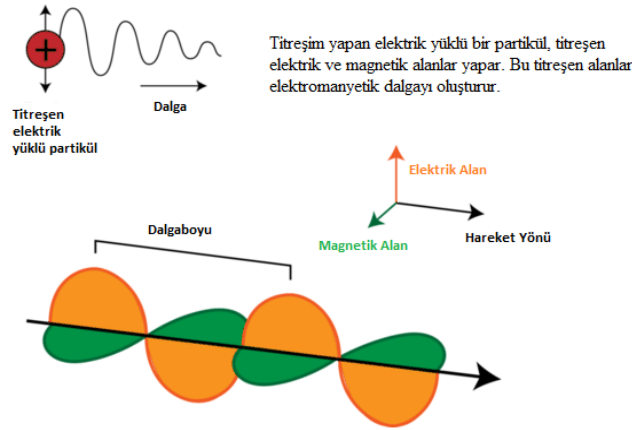
CAPE, 10 µmol/kg konsantrasyonda kullanıldığında, insan nötrofillerinde ROS üretimini tamamen bloke eden bir antioksidan ajandır (Sud'Ina et al. 1993). Bazı *in vivo* çalışmalarda böbrekte, kalp kasında ve karaciğerde cep telefonu ile indüklenen oksidatif stresin, CAPE uygulaması sonucunda azaldığı gösterilmiştir (Özgüner ve ark. 2005b, Koyu ve ark. 2009). İnsanda spermatozoanın *in vitro* CAPE ile muamelesinin oksidatif DNA hasarına karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (Ayla ve ark. 2018).

Bizim bu çalışmadaki amacımız; ışık mikroskopik ve biyokimyasal yöntemler kullanarak *in vivo* sıçan modelinde EMA maruziyeti ile testis ve semen örneklerinde oluşması muhtemel hasarı, hasar oluşması durumunda CAPE'nin olası koruyucu etkilerini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ELEKTROMANYETİK ALAN NEDİR?

Elektromanyetik dalgalar elektrik yüklerin hareketinden doğan uzayda yol alabilen bir titreşim türüdür. Elektromanyetik alan (EMA) elektromanyetik dalgalardan oluşur. EMA, elektrik alan ve manyetik alan birleşiminden oluşan elektromanyetik enerji içeren kuvvet alanıdır (Türkkan ve ark. 2012). Elektrik alanları, voltajdaki farklılıklar tarafından yaratılır, voltaj ne kadar yüksek olursa, sonuç alanı daha güçlü olacaktır. Elektrik akımı aktığında manyetik alanlar oluşur, akım ne kadar büyük olursa, manyetik alan o kadar güçlü olur. Akan akım olmadığında bile bir elektrik alanı mevcut olacaktır (WHO) (Şekil 1).

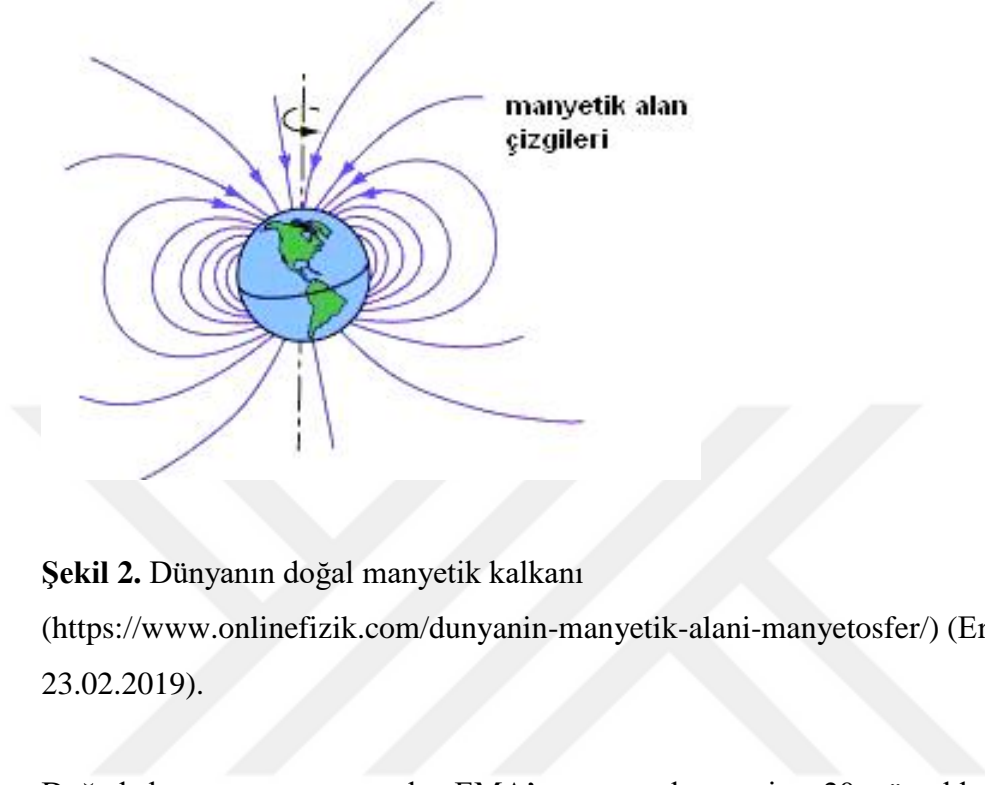


Şekil 1. Elektromanyetik dalgaların ve alanların oluşumu

(<https://www.ck12.org/physics/electromagnetic-waves/lesson/Electromagnetic-Waves-MS-PS>) (Christopher Auyeung. Erişim tarihi: 23.02.2019).

Elektromanyetik alanlar, çevremizdeki her yerde mevcuttur, ancak insan gözüyle görünmez. Dünyanın fırtınalarla ilişkili atmosferdeki elektrik yüklerin birikmesiyle

üretileen yerel elektrik alanları ve yerküreenin metal çekirdeğinin magma hareketinden kaynaklanan doğal manyetik alanları mevcuttur (WHO) (Şekil 2).



Şekil 2. Dünyanın doğal manyetik kalkanı

(<https://www.onlinefizik.com/dunyanin-manyetik-alani-manyetosfer/>) (Erişim tarihi: 23.02.2019).

Doğada her zaman mevcut olan EMA'ya çevresel maruziyet 20. yüzyılda, teknolojik cihazlar, elektrik talebi, sürekli gelişen kablosuz teknolojiler, iş ve sosyal hayattaki değişikliklerden dolayı sürekli olarak artmıştır (Radiation, WHO, 2002).

2.2. ELEKTROMANYETİK SPEKTRUM VE RADYASYON

Elektromanyetik (EM) spektrum, radyasyonu frekansa göre iyonize ve iyonize olmayan radyasyon olarak sınıflandıran bir sistemdir. EM frekansın standart birimi Hertz (Hz)'dir. 1000 Hertzlük bir frekans 1 kilo hertze (kHz), 1000 kHz'lik frekans 1 mega hertze (MHz), 1000 MHz'lik bir frekans 1 giga hertz'e (GHz) eşittir.

Radyasyonu ortamda yol alan enerji olarak tanımlamak mümkündür. Bu tanım kapsamında doğal ya da yapay radyoaktif çekirdeklerin kararlı yapıya geçebilmek için dışarı saldıkları hızlı parçacıklar ve elektromanyetik dalga şeklinde taşınan fazla enerjileri de "radyasyon" olarak adlandırılır.

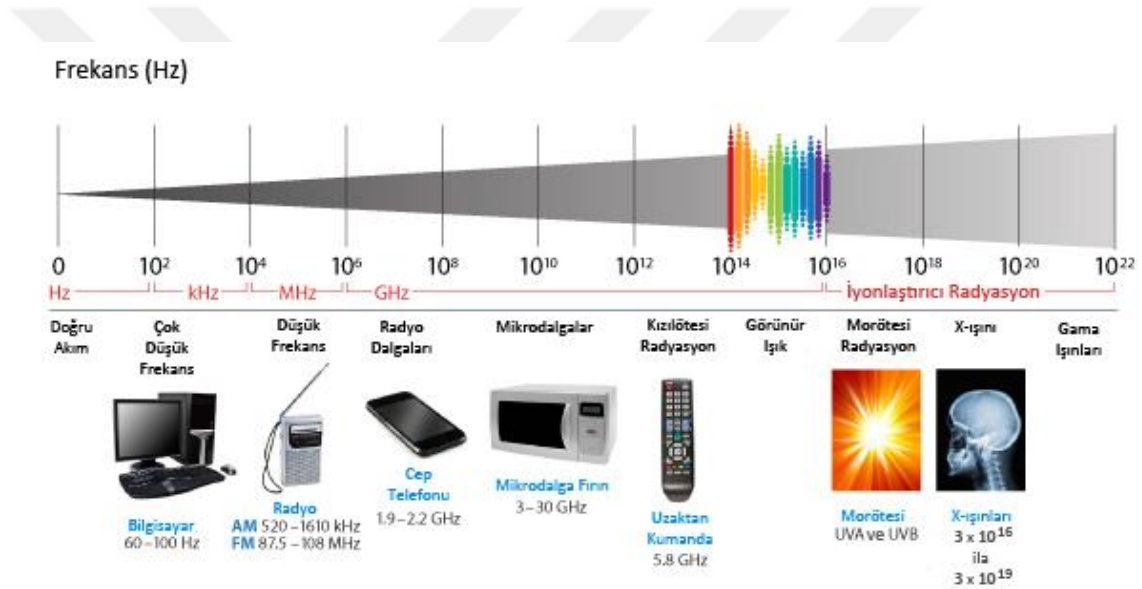
Radyasyonu temel olarak iki şekilde sınıflandırabiliriz. Bunlar "parçacık" ve "dalga" tipi radyasyonlardır. Parçacık radyasyonu; belli bir kütle ve enerjiye sahip çok hızlı hareket eden minik parçacıkları ifade eder. Bunlar hızla giden mermilere benzerler, ancak gözle görülemeyecek kadar küçüktürler. Dalga tipi radyasyon; belli bir enerjiye sahip ancak kütsüz radyasyon çeşididir. Bunlar, titreşim yaparak ilerleyen elektrik ve manyetik enerji dalgaları gibidir. Görünür ışık dalga tipi radyasyonun bir çeşididir. Bütün dalga tipi radyasyonlar ışık hızıyla (3×10^8 m/saniye) hareket ederler.

Gözlerimizin fark edebileceği en yüksek enerjili ışık mor renkli ışıktır. Radyasyonun enerjisi arttıkça ışık rengi mor renk ötesine gider ve morötesi olarak adlandırılır. Morötesi ışığı göremez veya hissedemeyiz, ancak ortamda mevcuttur ve eğer şiddeti büyükse ciltte bırakacağı güneş yanığına benzer yanık izleri ile varlığı hissedilir. Parçacık ve dalga tipi radyasyonları da yine iki gruba ayırmamız mümkündür. Bunlar, "iyonlaştırıcı" ve "iyonlaştırıcı olmayan" radyasyonlardır.

İyonlaştırıcı radyasyon, çarptığı maddede yüklü parçacıklar (iyonlar) oluşturabilen ve kimyasal bağları kırabilen radyasyon demektir. İyon meydana gelmesi yani iyonizasyon olayı herhangi bir maddede meydana gelebileceği gibi insanlar dahil tüm canlılarda da oluşabilir. O halde iyonlaştırıcı radyasyonlar, önlem alınmadığı takdirde tüm canlılar için zararlı olabilecek radyasyon çeşitleridir. Başlıca beş iyonlaştırıcı radyasyon çeşidi vardır. Bunlar, Alfa parçacıkları, Beta parçacıkları, X ışınları, Gama

ışınları ve nötronlardır (<http://www.taek.gov.tr/ogrenci/r02.htm>) (Erişim tarihi: 23.02.2019).

İyonlaştırmayan radyasyon ise atomik bağları kırarak yeterli enerjiye sahip değildir. Ancak ısınma, kimyasal reaksiyon değişimleri, hücreler ve dokularda elektrik akımının tetiklenmesi yoluyla biyolojik etkilere yol açabilir. Mikro dalga fırın, saç kurutma makinesi gibi elektrikli ev aletleri, televizyon ve bilgisayar ekranları, uydu iletişim sistemleri, radyo ve televizyon istasyonları, cep telefonları ve baz istasyonları iyonize olmayan elektromanyetik radyasyon olarak sınıflanmaktadır (Trošić and Pavičić 2009). (Şekil 3).



Şekil 3. Elektromanyetik Spektrum Değerleri

(<https://www.niehs.nih.gov/health/topics/agents/emf/>) (Çeviren Tuğsan Topçuoğlu, Erişim tarihi: 23.02.2019).

2.3. ELEKTROMANYETİK ALAN MARUZİYETİ VE ETKİ MEKANİZMASI

Doğal ve insan yapımı kaynaklardan yayılan elektromanyetik alanlar günlük hayatımızda önemli bir rol oynar. Dünyada 3 milyondan fazla insan her gün düzenli olarak elektromanyetik alan ve dalgalara maruz kalmaktadır (Fragopoulou et al. 2010). Ömür boyu EMA maruziyeti, biyolojik sistemde kritik değişiklikler ve zararlı etkilere

sebeup olması açısından giderek belirgin ve önemli bir bilimsel araştırma konu başlığı haline gelmiştir. EMA'nın biyolojik etkileri termal ve atermal olarak sınıflandırılabilir. Termal etkiler, belli bir alanda EMA tarafından oluşturulan ısıyla ilişkilidir. Bu mekanizma RF alanlarındaki ısı değişiklikleri ile ortaya çıkar. RF alanlar ve biyolojik dokular arasındaki her etkileşimin ısıda artışla sonuçlanan bir enerji transferine sebep olması mümkündür. Deri ve diğer yüzeyel dokular genellikle mobil telefonlar tarafından yayılan atermal radyasyonu absorbe eder, bu beyin ve vcttaki diğer organlarda belirgin olmayan bir ısı artışına yol açar (Megha et al. 2012). Atermal mekanizmalar ısı değişikliklerinden ziyade doku tarafından absorbe edilen enerji sebebiyle oluşan değişikliklerle direk ilişkilendirilir (Challis 2005, Leszczynski et al. 2002). İletişim sistemlerinden yayılan RF'ın sağlık üzerindeki etkilerini araştıran alışmalar RF-EMA'nın atermal etkilerinin de araştırılması gerektiğini ortaya koymuştur. Bu konuda yapılan önemli sayıda çalışmada bu etkilerin ROS oluşumuyla ortaya çıktığını göstermiştir (Tkalec et al. 2007). ROS birçok hücre fonksiyonuyla ilişkilidir ve homeostaz için son derece gerekli ya da aşırı derecede zararlı olabilirler (Cui et al. 2004). Bu ROS'un sitotoksik etkileri membran fosfolipidlerinin peroksidasyonundan kaynaklanır. Bu durum membran geçirgenliğinde değişime ve membran bütünlüğünde azalmaya yol açar (Halliwell et al. 2006). EMA maruziyetinin hücre ortamında serbest radikal üretimine sebep olduğu gözlenmiştir. Yaşayan organizmalar, ROS ve ürünleri tarafından ortaya çıkan hasarı hafifletmek için GSH, GSH-Px, CAT, SOD gibi antioksidatif mekanizmalara sahiptir (Calcabrini et al. 2017). Bu savunma mekanizmaları ROS tarafından tetiklenen zincirleme mekanizmaları baskılayarak veya bozarak etki gösterirler.

Günümüzde evresel olarak bulunan birçok elektrikli sisteme ek olarak, radar, iletişim cihazları, mobil telefon baz istasyonları, yüksek voltaj hatları, radyo ve televizyon vericileri, trafolar, iş ve evde kullanılan elektrikli aletler de geniş spektruma yayılan elektromanyetik dalgalar yaymaktadır (Feychting and Alhbom 1993). şu an dünya çapında kullanılan telekomünikasyon sistemleri içinde en yaygın olanı Global Mobil İletişim Sistemi (GSM, 850-900 MHz ve 1850-1990 MHz) komnikasyonlarıdır. Günümüzde kullanılan mobil telefon modelleri (1800-2200 MHz), dizüstü

bilgisayarlar (1000 MHz- 3600 MHz) ve kablosuz ağlar yüksek frekans (2.45 GHz) mikrodalga radyasyon ile işlev görür (Nishiyama et al. 2014).

Teknolojik gelişmelere bağlı olarak günlük hayatımızda her geçen gün daha da önemli hale gelen elektronik cihazlar hayatımızı kolaylaştırmakla birlikte çeşitli sağlık problemlerine de sebep olabilir. Özellikle mobil telefon kullanım yaşının hızlı bir Şekilde ilkokul çağına kadar düşmesi ile insan mrndeki EMA maruziyet zamanı artan bir grafik ile seyretmektedir. Yapılan bir çalışmada mobil telefonlardan kaynaklı düşük frekanslı elektromanyetik alanlara maruziyetin sağlık problemlerine sebep olabileceği ortaya konmuştur (Manikonda et al. 2007). Bu alanda yapılan diğer çalışmalarda ise stres, baş ağrısı, kaygı, yorgunluk, gerilemiş öğrenme kabiliyeti, bilişsel fonksiyonlarda azalma ve zayıflamış konsantrasyon rapor edilmiştir (Megha et al. 2012, Söderqvist et al. 2009, Behari 2010).

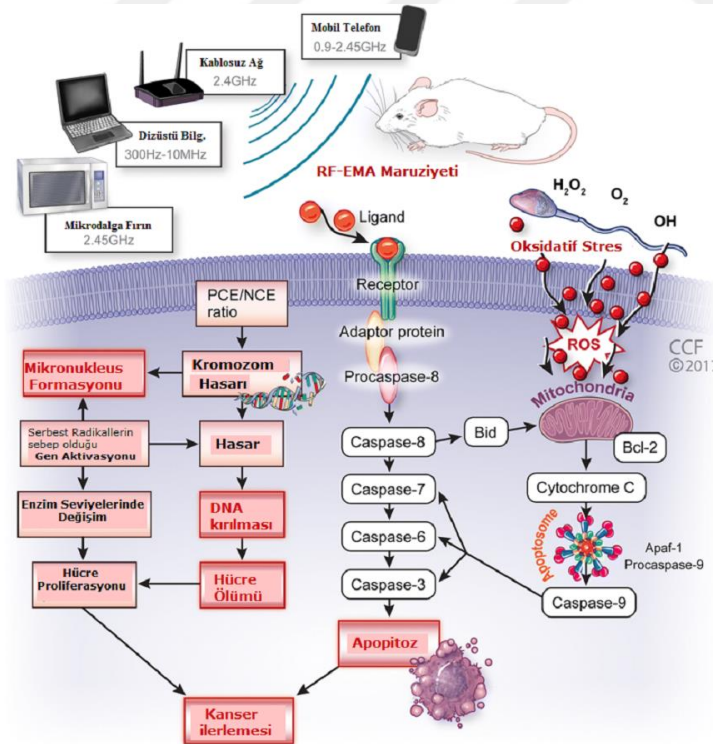
Elektromanyetik alanlar insan vücudundaki metabolik süreçleri etkiler ve farklı mekanizmalar yoluyla hücreler üzerinde çeşitli biyolojik etkilere neden olur. Yüksek derecede elektromanyetik enerji emilimi vücudun elektrik akımını değiştirebildiğinden, dokunun kimyasal yapılarını bozar (Gherardini et al. 2014). Bu maruziyetin sonucu olarak organların fonksiyonları etkilenir. Elektrik alanları, plazma zarının her iki tarafındaki her serbest iyon üzerinde bir salınım kuvveti uygular ve bu iyonların çapraz olarak zarı geçmesine neden olur. Bu iyon hareketi, zar üzerindeki iyon kanallarında bozulma, membrandaki biyokimyasal değişiklikler ve dolayısıyla tüm hücresel fonksiyonların bozulmasıyla sonuçlanır (Alberts 2002).

EMA'nın sağlık etkileri hakkında bilimsel bilgi çok sayıda epidemiyolojik, hayvan ve *in vitro* alışmalara dayanmaktadır. Üreme kusurlarından kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklara kadar pek çok sağlık durumu incelenmiş, ancak bugüne kadar elde edilen en tutarlı kanıt çocukluk ağı lösemisi ile ilgilidir (Wertheimer and Leeper 1979, Feychting et al. 2005). Bu konuda yayınlanmış INTERPHONE alışması en önemli çalışmalardan biridir. On üç farklı ülkede yürütülen vaka kontrol Őeklindeki çalışmada cep telefonu kullanımı ile menenjiom ve gliom arasındaki ilişki incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda cep telefonu kullanımının menenjiom ve gliom

riskini arttırmadığı; uzun süreli kullanım sonrasında gliom riskinde az bir artış olduğu bildirilmiştir (Group, I.S. 2010).

Doğal EMA kaynaklarından farklı olarak günümüzde sıklıkla ve neredeyse sürekli maruz kaldığımız elektrikli cihaz ve kaynaklardan yayılan düşük elektromanyetik dalgaların hücre, doku ve diğer fizyolojik sistemlerin işleyişlerindeki etkilerle ilgili yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar bu frekansların canlı yaşamını birden olmasa da sürekli maruziyet sonucu DNA yapısından, hücre işleyişine, enzimlerin salgılanmasına ve bildiğimiz anlamda norm kabul edilen işleyiş ve yapıları değiştirmek de dahil olmak üzere çok farklı düzeylerde etkileyebildiğini göstermektedir.

Şekil 4’te tariflenmiş olan mekanizma radyasyon ile tetiklenen oksidatif hasarın, DNA hasarı, mikronukleus formasyonu ve kanser oluşumuna sebep olabileceğini öngörmektedir (Kesari et al. 2018).



Şekil 4. RF-EMA Maruziyeti (Kesari et al. 2018)

2.3.1. Elektromanyetik alan ile yapılan *in vitro* çalışmalar

İnsan semeninin *in vitro* bir saat konuşma modunda cep telefonu radyasyonuna maruziyeti sonrası yapılan değerlendirmede, sperm viabilitesi ve motilitesinin azaldığı, ROS'un arttığı, ROS-total antioksidan status (TAS) skorunun azaldığı gösterilmiştir (Agarwal et al. 2009). Yine insan semeninin *in vitro* cep telefonu frekans aralığında RF-EMA'ya maruziyeti ile spermatozoada mitokondriyal ROS üretiminin arttığı, motilite ve vitalitenin azaldığı, DNA'da baz eklenmesinin ve fragmentasyonun tetiklendiği gösterilmiştir (Iulius et al. 2009). İnsan semeninin 1 saat geniş bant kod bölmeli çoklu erişim benzeri EMA maruziyeti sonucu sperm motilitesi ve kinetik değişkenler bilgisayarlı sperm analizi (CASA) ile ve 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) pozitif spermatozoa akım sitometri ile değerlendirildiklerinde sham grubuna göre önemli fark gözlenmemiştir (Nakatani-Enomoto et al. 2016). İnsan immün ilişkili hücre serilerinin RF-EMA'ya maruziyeti sonucu ROS salınımında ve ısı şok proteini 70 (HSP70) tezahüründe belirgin fark bulunmamıştır (Lantow et al. 2006b, 2006a). İnsan periferik kan mononükleer hücrelerinin 2 saatten fazla RF-EMA'ya maruziyeti sonucu ROS oluşumunun maruziyet süresiyle artan ve 8 saatte % 37'ye varan apoptozis aracılı hücre ölümüne neden olduğu gösterilmiştir (Lu et al. 2012). Araç elektronikleri, fizyoterapi ekipmanları, LCD monitörleri gibi cihazlardan yayılan EMA'ya 30 dakika kadar maruz bırakılan insan kan trombositlerinde CAT aktivitesinde ve MDA konsantrasyonunda artış izlenmiştir ve RF-EMA'nın insan vücudunda oksidatif strese ve serbest radikal hastalıklara yol açabileceği salık verilmiştir (Lewicka et al. 2015). İnsan SH-SY5Y nöroblastoma hücrelerinin RF-EMA'ya menadion, ferröz klorid gibi tetikleyici kimyasallar ile maruziyetleri sonucu bu hücrelerde kimyasal ile tetiklenen ROS üretiminin ve buna bağlı DNA hasarının artabileceği salık verilmiştir (Luukkonen et al. 2009, 2010). İnsan lösemi kanser hücrelerinin 2.45 GHz radyasyona 1, 2, 12, 24 saat maruziyetleri sonucu zaman bağımlı olarak lipid peroksidasyonunda, sitozolik serbest Ca²⁺konsantrasyonunda ve hücre sayısında kontrol grubuna göre artış ölçülmüştür ancak hiçbir grupta hücre viabilitesi, GSH-Px, vitamin C değerlerinde değişiklik gösterilmemiştir (Nazıroğlu ve ark. 2012a).

Hücre bazında serbest radikaller ve Ca^{2+} iyonu EMA etkilerine aracılık edebilir ve hücre büyümesinin baskılanması, proteinin zincirinin yanlış katlanması ve DNA kırılmasına sebep olabilir. EMA Ca^{2+} iyonuna dayalı hücre sinyalizasyonunu bozabilir. İnsan lösemi T hücre hattı Jurkat hücrelerinde 50 Hz, 0.5 mT EMA'nın Ca^{2+} düzeylerini arttırdığı, kolera toksini ve protein tirozin kinaz inhibitörü genistein etkisini bloke ettiği bulundu (Lindström et al. 1998). Timik lenfositlerde Ca^{2+} akışı, 60 Hz, 22 mT EMA'ye maruz bırakıldığında mitojenle aktive edilen sinyal iletimi sırasında artmıştır (Liburdy 1992), bu da EMA'nın Ca^{2+} kanallarının regülasyonu üzerindeki modüle edici rolünü düşündürmektedir. 900 ve 872 MHz'lik RF-EMA'lar, kimyasal olarak indüklenmiş ROS üretimini artırabilir ve insan SH-SY5Y nöroblastoma hücrelerinde ikincil DNA hasarı ile sonuçlanabilir (Zeni et al. 2007, Luukkonen et al. 2009).

2.3.2. Elektromanyetik alan ile yapılan *in vivo* çalışmalar

In vivo deneylerde, sıçanlarda endometriyal histopatolojik bozukluğa yol açan 900 MHz'lik bir EMA'nın neden olduğu artan oksidatif stres ortaya çıkmıştır (Güney ve ark. 2007). Prostat kanseri hücrelerinde, 60 Hz sinüzoidal EMA ile indüklenen ROS, hücre büyümesini apoptozis ile inhibe ettiği ve hücre döngüsünü tuttuğu gözlenmiştir (Koh et al. 2008). 2.450 MHz'lik bir RF-EMA maruziyetinin, DNA segmentlerinin yeniden düzenlenmesine ve testis germ hücrelerinde DNA kopmasına neden olduğu saptanmıştır (Sarkar et al. 1994). Benzer şekilde, Çin hamster akciğer hücrelerinde 1,800 MHz'lik bir RF-EMA indüke DNA hasarı görülmüştür (Diem et al. 2005). Ek olarak, farelerde kaudal epididimal spermatozoa ve embriyonik kök hücrelerde 900 MHz ve 1.7 GHz kaynaklı bir RF-EMA indüke DNA kırılması bulgulanmıştır (Zhang et al. 2006, Aitken et al. 2005). Bazı araştırmacılar, EMA tarafından protein katlanmasında değişiklikler bildirdiler, 1,95 MHz'lik cep telefonu frekansında EMA tarafından indüklenen ton balığı miyoglobin proteininin yapısal dalgalanmasındaki değişiklikler, RF-EMA'larının protein yanlış katlanması için potansiyel bir risk olduğunu göstermiştir (Nikolova et al. 2005).

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada düşük doz EMA'nın lipit peroksidasyonunun aracılık ettiği karaciğer, akciğer, testis ve kalp dokularında oksidatif hasara, artmış NO

seviyesine ve antioksidan savunma mekanizmasının bastırılmasına neden olduğu gösterilmiştir (Esmekaya ve ark. 2011). Cep telefonu radyasyonunun sperm parametrelerine maruz kalma süresi açısından incelendiği bir çalışmada maruz kalma süresinin artışı ile sperm canlılığı ve motilitesinde daha fazla bir azalma meydana geldiği görülmüştür. Çalışmada ayrıca sperm toplam antioksidan kapasitesinin de benzer şekilde azaldığı bulunmuştur (Ghanbari et al. 2013). Sıçanlarda termal olmayan elektromanyetik alanların oksidatif stresi tetikleme potansiyelini araştıran bir çalışmada 40 ile 60 günlük RF radyasyonuna maruziyet sonrası tiyobarbitürik ve reaktif türleri (TBARS), indirgenmiş glutatyon (GSH) içeriği, CAT aktivitesi, glutatyon redüktaz (GR) ve glikoz kalıntısı açısından değerlendirilmiştir. 40 gün sonra önemli değişiklik oluşmazken 60 gün sonra enzimatik antioksidatif savunma sistemlerinde azalma ile sonuçlandığı bulunmuştur (Achudume et al. 2010). Akbari ve ark. (2014) çalışmalarında sıçanlarda serebellum ve ensefalonda RF dalgaları ile tetiklenen oksidatif stresin ve bu dokularda antioksidan enzim aktivitesinin ölçülmesiyle vitamin C'nin profilaktik etkisini değerlendirmiştir. RF dalgalarının beyinde oksidatif strese neden olduğu ve C vitamininin antioksidan enzim aktivitesini artırdığı ve MDA'yı azalttığı sonucuna varmışlardır (Akbari et al. 2014). Benzer bir çalışmada cep telefonu radyasyonunun korneal ve lens dokularında oksidatif strese yol açtığı ve C vitamini gibi antioksidanların bu etkilerin önlenmesine yardımcı olabileceğine dair bulgular elde edilmiştir (Balcı ve ark. 2007). Başka bir çalışmada 20 hafta boyunca günde 24 saat Wi fi radyofrekans enerjisine maruz bırakılan sıçanlarda serum 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin düzeyleri ile testislerde DNA hasarını gösteren 8-hidroksiguanozin boyamasında anlamlı artış ve CAT ile GSH-Px aktivitelerinde azalma saptanmıştır (Atasoy ve ark. 2013). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada mikrodalga radyasyonlarına maruziyet sonucunda lipid peroksidasyonunda artış ve askorbik asit ve alfa-tokoferolün koruyucu etkileri olduğu görülmüştür (Aweda ve ark. 2003). Cep telefonu radyasyonuna benzer ışına maruz bırakılmış sıçan derisinde artmış fibrozis ve lipid peroksidasyonu (LPO) gözlenmiş olup ışın ile birlikte melatonin verilen grupta melatonin tedavisinin radyasyonun neden olduğu fibrozis ve LPO'yu azalttığı gösterilmiştir (Ayata et al. 2004). Benzer bir çalışmada sıçan laringotrakeal mukozasında Wi fi kaynaklı EMA'nın neden olduğu oksidatif stres üzerindeki melantoninin koruyucu rolü araştırılmıştır. Melantoninin serbest radikal

oluşumunu inhibe ederek ve GSH-Px antioksidan sistemini destekleyerek koruyucu etki gösterdiği bulunmuştur (Aynalı ve ark. 2013). EMA ile tetiklenen hasarın olgunlaşmamış ve olgun sıçanlarda geri dönüşlü olup olmadığını belirlemek için yapılan bir araştırmada 45 gün boyunca günde 2 saat düşük doz EMA'ya maruz bırakılan sıçanların 2 haftalık iyileşme süreci sonucunda lenfoit organlarda antioksidan sistemdeki değişikliklere bakılmış. Sonuç olarak olgunlaşmamış sıçanların majör lenfoit organlarında olgun sıçanlara göre çok daha fazla geri dönüşümsüz oksidatif hasar görülmüştür (Aydın ve Akar 2011). Düşük doz EMA'ya maruziyet sonucu sıçanların beyin dokusu ve serumundaki oksidatif stresi ve sarımsak tozunun koruyucu etkisini inceleyen bir çalışmada beyin lipidinde ve protein oksidasyonunda önemli bir artış olduğu ve sarımsağın bu oksidatif strese karşı koruyucu bir etki gösterdiği bulunmuştur (Bilgici ve ark. 2013). Cep telefonu radyasyonunun sıçanlarda fertilité üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışmada EMA grubunda düzensiz seminifer tübüller, az sayıda spermatogonia, dev çok çekirdekli hücre, dejenere spermatozoa ve Leydig hücre sayısında önemli ölçüde azalma saptanmıştır. Çalışmada EMA'ya kronik maruziyette testiküler hasara karşı Moringa oleifera yaprağı ekstratının koruyucu etkisi de gösterilmiştir (Bin-Meferij and El-Kott 2015). Plazma antioksidanlarının (Mel, GSH-Px ve SOD) sirkadiyen ritimlerinin RF'den etkilenip etkilenmediğini belirlemek için sıçanlarda yapılan çalışmada RF'nin hem günlük antioksidatif seviyelerini hem de sirkadiyen ritimlerini olumsuz etkilediği gösterilmiştir (Cao et al. 2015). Üçüncü nesil (3G) bir cep telefonunun yaydığı EMA'nın sıçanların göz dokusu ve kanındaki antioksidan ve oksidatif stres parametrelerine etkisini araştıran çalışmada 20 günlük maruziyet sonucu göz dokularında GSH-Px ve CAT düzeyleri; ek olarak, kanda MDA ve indirgenmiş GSH seviyeleri ölçülmüştür. Göz dokusunda GSH-Px ve CAT aktiviteleri ve kandaki MDA ve GSH düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır (Demirel ve ark. 2012). Düşük doz EMA'ya haftada 5 gün boyunca günde 2 saat maruz kalan sıçanlarda bilişsel işlevde anlamlı bozulma ve oksidatif streste artış olduğu gösterilmiştir (Deshmukh et al. 2013). 2 ay boyunca günde 1 saat düşük doz mikrodalga ışınlarına maruz bırakılan sıçanlarda EMA'nın Total TAS düzeyini anlamlı olarak azalttığı ve Total Oksidan Status (TOS) ve oksidatif stres indeks düzeylerini frontal korteks, beyin sapı ve serebellumda anlamlı olarak arttırdığı gösterilmiştir (Eser ve ark. 2013). Cep telefonu radyasyonunun dışı

sıçanlarda olası oksidatif endometriyal hasara dair biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikleri incelemek üzere yapılan bir çalışmada endometriyal yüzey epitelyal ve glandüler hücrelerde ve stromal hücrelerde yaygın ve şiddetli apoptoz bulunmuştur. Ayrıca EMA'ya maruz kalan hayvanlarda endometriyal nitrik oksit (NO), MDA yükselirken; SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerinin azaldığı, E ve C vitaminlerinin bu oksidatif stres eğilimini tersine çevirdiği bulunmuştur (Güney ve ark. 2007). Bir çalışmada prenatal düşük doz EMA'ya maruz kalan sıçanlardan postnatal 21. günde testisler çıkartılarak LPO ve DNA oksidasyon seviyeleri, apoptotik indeks karşılaştırılmıştır. Prenatal dönemde düşük doz EMA'ya maruz kalan 21 günlük sıçan testislerinde bu parametreler kontrollere göre yüksek bulunmuş ve bu olumsuz etki doğumdan sonra da devam etmiştir (Hancı ve ark. 2013). Bir çalışmada baz istasyonu tarafından üretilen RF dalgasının testisteki oksidatif stres üzerine etkisi ve GSH-Px, SOD, CAT ve MDA antioksidan enzim aktiviteleri llerek C vitamininin profilaktik etkisi değerlendirilmiştir. RF dalgasının testiste oksidatif strese neden olduğu ve C vitamininin antioksidan enzim aktivitelerini artırdığı ve MDA'yı azalttığı bulunmuştur (Jelodar et al. 2013). Başka bir çalışmada 45 gün boyunca günde 2 saat cep telefonu radyasyonuna maruz bırakılan sıçanlarda testosteron seviyesinde azalma ve kaspaz-3 aktivitesinde bir artış bulunmuştur (Kesari and Behari 2012). EMA'nın karaciğerde oluşturduğu hasara bakılan bir çalışmada 1 ay günde 1 saat maruziyet ile sıçan karaciğerinde fokal nekroz, inflamasyon, vasküler dejenerasyon, hepatositlerde apoptoz, vasküler genişleme, mononükleer hücre infiltrasyonu, biliyer hiperplazi, Kupffer hücre popülasyonunda azalma gibi histopatolojik değişiklikler görülürken 24 saat bir sefer maruziyet ile Kupffer hücre sayısında artma izlenmiştir (şahin ve ark. 2018).

2.3.3. Elektromanyetik alan ile yapılan insan çalışmaları

15-30 dakika maruziyet ile cep telefonu kullanıcılarının tükürüklerinde salınan süperoksit anyon radikal konsantrasyonunda artış gösterilmiştir. Bu alışma ile EMA maruziyetinin insan hücrelerinde oksidatif stres oluşturabileceği salık verilmiştir (Abu Khadra et al. 2015). 1 saatten fazla cep telefonu ile konuşmanın tükürükte TAC seviyesini 20 dakikadan az konuşmaya göre daha fazla azalttığı bulunmuştur (Arbabi-Kalati et al. 2014). Elektromanyetik hipersensitiviteden muzdarip insanlarda plazma

koenzim-Q10 oksidasyon oranında belirgin artış ile pro-oksidan/proinflamatuvar metabolik değişiklikler tanımlanmıştır (De Luca et al. 2014). Yıllarca telefon kullanan bireylerde EMA'ya maruz kalan parotis bezi ile karşı parotis bezi tükürük salgısı akışı, total protein konsantrasyonu, p53, p21, ROS, glutasyon, ısı şok proteinleri 27 ve 70 ve IgA tükürük seviyeleri açısından karşılaştırıldığında fark bulunmamıştır (de Souza et al. 2014). Buna karşın yıllarca telefon kullanan bireylerde sağır bireylerden oluşan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında parotis bezlerinde tükürük akışı, total protein, albümin, amilaz aktivitesinde düşüş ve tükürükte oksidatif stres belirteçlerinde belirgin artış bildirilmiştir (Hamzany et al. 2013). Tükürük salgısında MDA ve 8-okso-7,8-dihidro-2'-deoksiguanozin (8-Oxo-dG) gibi oksidan belirteçler ile oksijen radikal absorpsiyon kapasitesi (ORAC) ve hidroksil radikal ekartasyon kapasitesi (HORAC) değerlendirildiğinde, 15-30 dakika gibi kısa süreli RF-EMA maruziyetler ile tükürük salgısının oksidan/antioksidan durumu arasında ilişki bulunmamıştır (Khalil et al. 2014). Deniz radarı kaynaklı mikrodalga radyasyonuna maruz kalan çalışanlarda yapılan testlerde kontrol grubuna göre oksidatif strese işaret eden düşük glutasyon ve yüksek MDA konsantrasyonları ve sitogenetik değişiklikleri gösteren mikronukleus testlerde belirgin fark tespit edilmiştir. Bu çalışma ile hücre ve DNA hasarında oksidatif stresin muhtemel mekanizmalardan biri olabileceği salık verilmiştir (Garaj-Vrhovac et al. 2011). Baz istasyonu yüz metre yakınında yaşayan insanlar 10^4 ila 10^7 kat arasında daha fazla radyasyona maruz kalmaktadır. Baz istasyonuna yakın yaşayan kişilerde kontrol grubuna göre SOD ve CAT enzim aktivitelerinde düşüklük ile LPO'da yüksek değerler bulunmuştur. Bu insanlarda antioksidan gen polimorfizminin genetik hasar ile belirgin ilişkisi olduğu izlenmiştir (Gulati et al. 2018). Cep telefonu radyasyonuna maruz kalan gönüllülerde kanda ve dışa verdikleri havada bakılan oksidatif stres dengesinin 30. dakikadan sonra belirgin değiştiği bulunmuştur (Marconi et al. 2015). Sağlıklı erkek gönüllülerde yapılan çalışmada cep telefonu radyasyonuna bekleme modunda 1, 2, 4 saatlik akut maruziyetler sonucu eritrositlerde LPO'da artış, SOD ve GSH-Px aktivitelerinde azalma ile oksidatif stresin değiştiği gösterilmiştir (Moustafa et al. 2001). Birçok epidemiyolojik çalışmada özellikle östrojen pozitif meme tümöründe EMA'ya kronik maruziyette genel etkisine işaret edilmekle birlikte meme kanserinde EMA ilişkili artmış risk için yeterli kanıt bulunmamıştır (Nazıroğlu ve ark. 2012b). İnsanda 30 dakika konuşma modunda cep telefonu radyasyonuna

maruziyette diğer tarafa göre cilt sıcaklığı, nazal NO seviyesi artışı, nazal minimal kesit alanında ise azalma ölçülmüştür (Paredi et al. 2001). Gönüllü genç erişkinlerde cep telefonu kullanım süresi uzun olanlarda kısa süre kullananlara göre bakılan tükürük salgısı enzim ve MDA düzeylerinde belirgin artış saptanmıştır (Shivashankara et al. 2015). Cep telefonu baz istasyonu civarında yaşayan insanlardan alınan periferik kan lenfosit kültürlerinde mikronukleus sıklığı daha uzakta yaşayanlara göre yüksek bulunmuştur, yakında yaşayan insanların plazma GSH, CAT, SOD seviyeleri düşüken LPO yüksek bulunmuştur (Zothansiana et al. 2017).

2.3.4. Elektromanyetik alanın sağlık üzerine etkileri

Elektrik ve manyetik alanlara mesleki olarak maruz kalan işçilerin sağlık durumuyla ilgili ilk çalışma 1960'ların başında Sovyetler Birliğinde yapılmıştır. Asanova&Rakov ve ark. (1966) yüksek voltajlı istasyonlarda 26 kV/m kadar elektrik alanına maruz kalan işçileri incelemiştir. Bu tür maruziyetlerin otonom ve santral sinir sisteminde fonksiyonel bozukluklara sebep olabileceği bulgulanmıştır. Bu tür maruziyetlerin otonom ve santral sinir sisteminde fonksiyonel bozukluklara sebep olabileceği bulgulanmıştır. Bu bulgular Ukrayna'da yüksek voltaj istasyonlarında çalışan işçilerle yapılan 2 ayrı çalışmada daha doğrulanmıştır. Bu çalışmalarda toplam 500 işçi incelenmiştir. İşçiler tarafından rapor edilen şikayetler; yorgunluk, irritasyon, baş ağrısı, iştah kaybı, baş dönmesi, mide bulantısı, uyku bozuklukları, azalmış libido ve ilgili çeşitli fonksiyon bozukluklarıdır (Revnova et al. 1968, Sazanova 1967).

2.4. ERKEK ÜREME SİSTEMİ

Embriyoda genital sistem Wilms tümör geni ve steroidogenetik faktör-1 etkileri ile karın boşluğunun arka duvarında yer alan ara mezodermden gelişir. Döllenme ile genetik açıdan cinsiyet belirlenmiş olmakla birlikte gelişimin 7. haftasına kadar gonad indifferansiyel bipotansiyel özelliktedir. Gonadlar ortaya bir çift uzunlamasına genital sırt olarak çıkar ve içinde germ hücreleri yoktur. Epiblasttan köken alan primordiyal germ hücreleri primitif gonadlara 6. haftada ulaşır ve primitif cinsiyet kordonlarını oluşturur. İnsanda bipotansiyel gonadın testis yönünde farklılaşması Y kromozomunun kısa kolu üzerinde bulunan SRY geni ve 17. kromozom üzerinde yer alan SOX-9 geni ile sağlanmaktadır. SRY geni ürünü olan testis belirleyici faktör

etkisiyle primitif cinsiyet kordonları medullar kordonları oluşturmak üzere çoğalır. SOX-9 antimüllerian hormon geninin ekspresyonunu kontrol eder ve Sertoli hücrelerinin farklılaşmasını sağlar. Antimüllerian hormon dışı iç genital yapıya dönüşecek müllerian yapıları geriletir. Kordonların farklılaşması ile mezenşimden gelişen Leydig hücreleri gelişimin 8. haftasında testosteron üretmeye başlar. Testosteron wolf yapılarını (epididim, duktus deferens, seminal vezikül) gelişimini sağlar ve dihidrotestosterona dönüşerek dış genital yapıların ve ürogenital sinüsün virilizasyonunu sağlar. Pubertede testis kordonları lümenleri açılarak seminifer tübüllere dönüşür (Sadler 2011).

Erkek üreme sistemi; erkek gamet hücre üretiminin gerçekleştiği testisler, spermatozoa taşınmasını sağlayan epididimis, ductus deferens, ejakulatuvar kanal ve uretranın bir kısmı, semeni oluşturan seminal vezikül, prostat bezi, bulboüretal bezler, koitus organı penisten oluşur (Kierszenbaum 2002).

Sperm üretiminin gerçekleştiği testisler skrotum denilen torba içerisinde sağlı sollu bir çift olarak bulunur (Arıncı ve Elhan 2006). Testisleri saran tunika albugineadan uzanan bağ dokusu organı lobüllere ayırır. Her lobülde spermatogenezin gerçekleştiği seminifer tübüller ve Leydig hücrelerini içeren stroma vardır. Tübül etrafında bulunan miyoid hücreler kasılarak spermatozoanın ve testiküler sıvının tübülden kanal sistemine geçişini sağlar. Seminifer tübül epitelini Sertoli hücreleri ve spermatogenik seri hücreleri oluşturur (Resim 1).

Leydig hücreleri kolesterolden testosteron sentezi yaparak embriyoda gonad gelişimini, ergenlikte sperm üretiminin başlamasını, sekonder seks karakterlerinin gelişimini, aksesuar cinsiyet bezlerin salgı işlevini ve yetişkinde bu işlevlerin devamlılığını sağlar (Ross and Pawlina, 2015).

Sertoli hücreleri bazal laminadan seminifer tübül lümenine uzanan destek hücreleridir. Spermatogenik seri hücreleri için yapısal ve besinsel destek sağlar, kan-testis bariyeri oluşturarak immün sistemden korur, bu hücrelerin lümene doğru hareketlerini ve serbest bırakılmalarını sağlar (Jegou 1992). Geride kalan sitoplazmik artıklar ile dejenere hücrelerin fagositozunu yapar (Mruk and Cheng 2004). Sertoli hücreleri

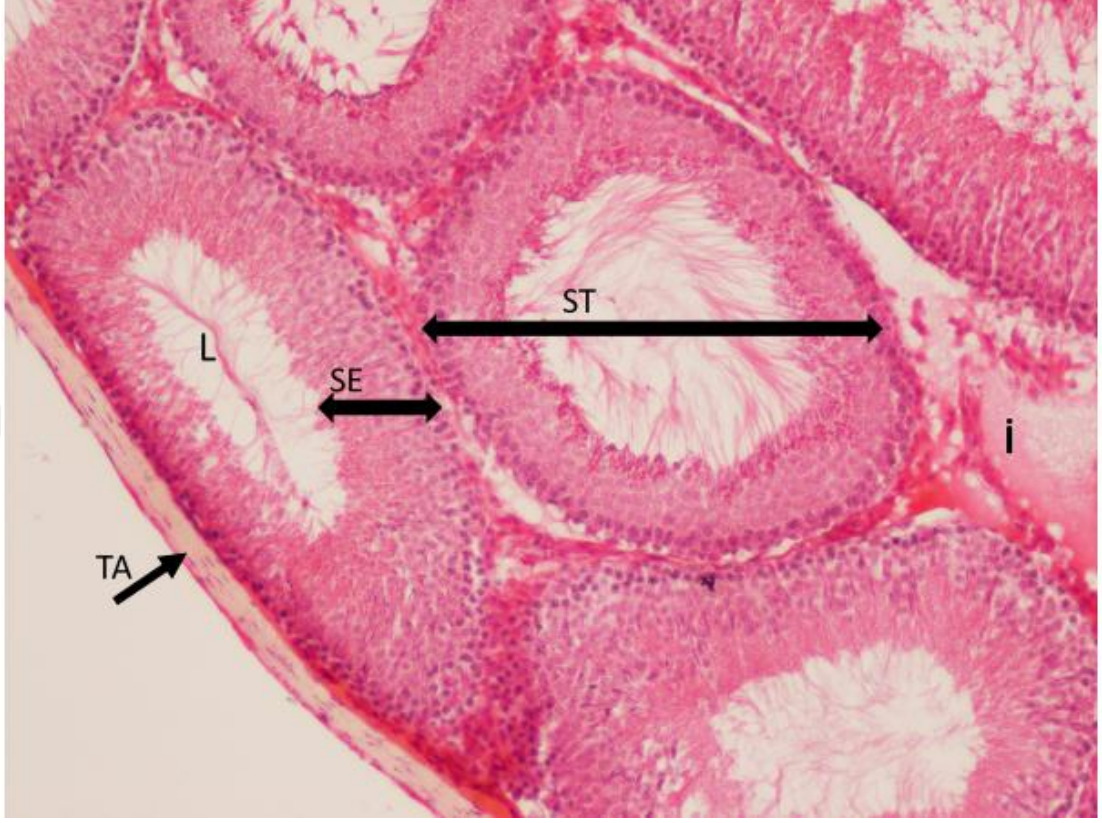
bazolateral bağlantıları ile oluşturduğu bazal ve adluminal kompartmanlarda pinositoz ve reseptör aracılı endositoz işlevlerini gerçekleştirir (Rong-Xi et al. 1987). Tip A açık, tip A koyu ve tip B spermatogonia bazal kompartmanda bulunurken spermatositler, spermatidler adluminal kompartmanda yer alır (Cavicchia and Sacerdote 1988).

Spermatogenezin spermatogoniyal fazında spermatogoniyal kök hücrelerden köken almış spermatogoniyal hücreler, mitoz ile çoğalarak, hem kendi rezervlerini koruyan tip A koyu (Ad) spermatogoniyal hücreleri hem de spermatositlere farklılaşacak tip A soluk (Ap) hücreleri ve buna müteakip tip B spermatogoniyal popülasyonu oluştururlar. Spermatosit fazında tip B spermatogoniyal hücrelerden köken alan primer spermatositlerden I. mayoz ile sekonder spermatositler, sekonder spermatositlerden II. mayoz sonucu spermatidler oluşur. Spermiyogenez fazlarını geçiren spermatidler spermatozoaya dönüşümünü tamamlayarak seminifer tübül lümenine salınır (Ross and Pawlina 2015). Mayoz bölünmeler adluminal kompartmanda kan-testis bariyeri sayesinde immün sistemden korunmuş olarak gerçekleşir (Mathur et al. 2011).

Leydig hücresi eozinofilik sitoplazma ve yuvarlak nükleus gösteren poligonal hücrelerdir. Tübül etrafında 3-5 tabaka halinde miyoid hücreler görünmektedir. Sertoli hücreleri soluk nükleus ve belirgin nükleolus gösteren prizmatik hücrelerdir. Ad spermatogonyum bazofilik nükleus içerirken Ap spermatogonyum nükleusu oval ve soluk görünümlüdür. Tip B spermatogonyum merkezi nükleolus içeren yuvarlak nükleusa sahiptir. Spermatositlerin büyük yuvarlak nükleusları belirgin kromatin örüntüsüne sahiptir. Genç spermatidler yuvarlak nükleuslu yuvarlak hücreler iken matür spermatidler bazofilik başları ve eozinofilik flagellaları ile lümeneye uzanır (https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/File:Testis_histology_2.jpg, erişim tarihi: 23.02.2019, Ross and Pawlina, 2015) (Resim 2).

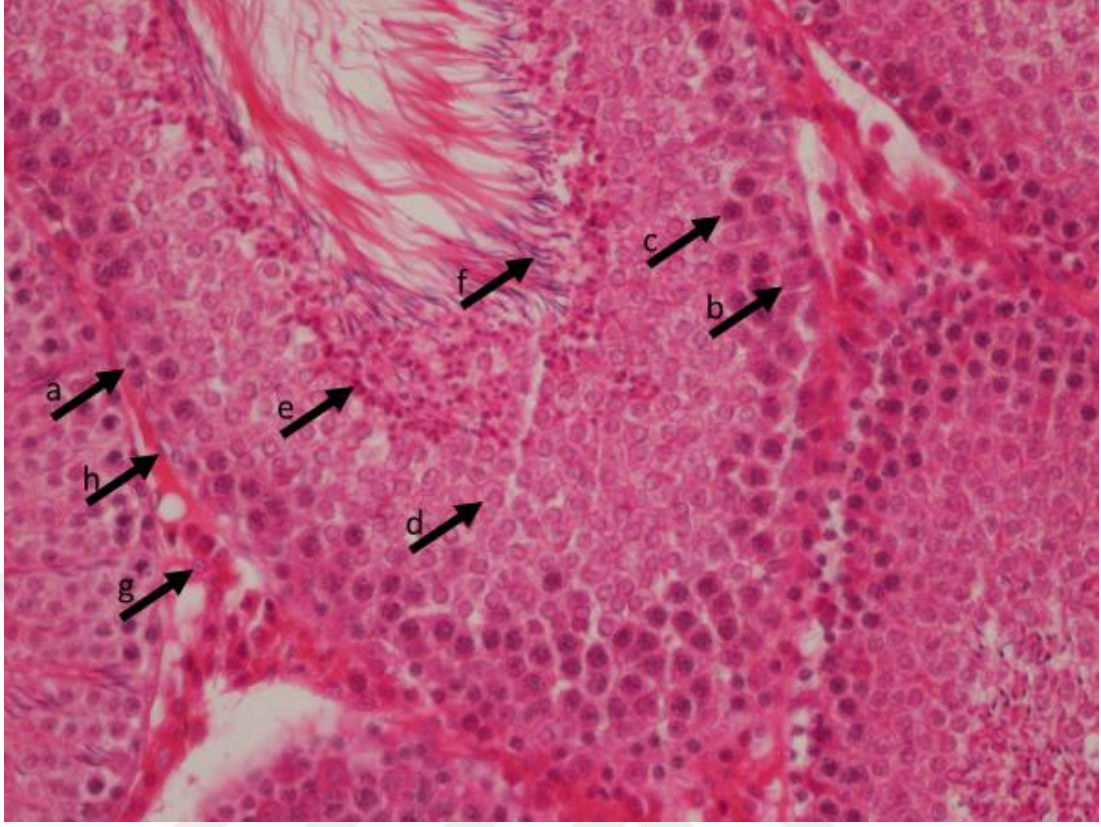
Lümeneye serbestleştirilen normal bir spermatozoonun başı oval biçimli, 5-6 µm uzunluğunda, 2,5-3,5 µm çapında, % 40-70 akrozom içeren özelliktedir. Orta parçası ince hatlı, eksensel olarak bağlı, başın 1,5 katı uzunluğunda, 1 µm genişliğinde olup başın yarısından büyük sitoplazmik damlacık bulundurmaz. Kuyruk kısmı 45 µm uzunluğunda tek olup kırılma, bükülme, kıvrılma göstermez (Kruger et al. 1988,

1986). İnsan sperminden farklı olarak sıçan sperminin başı çengel şeklindedir (Resim 3).



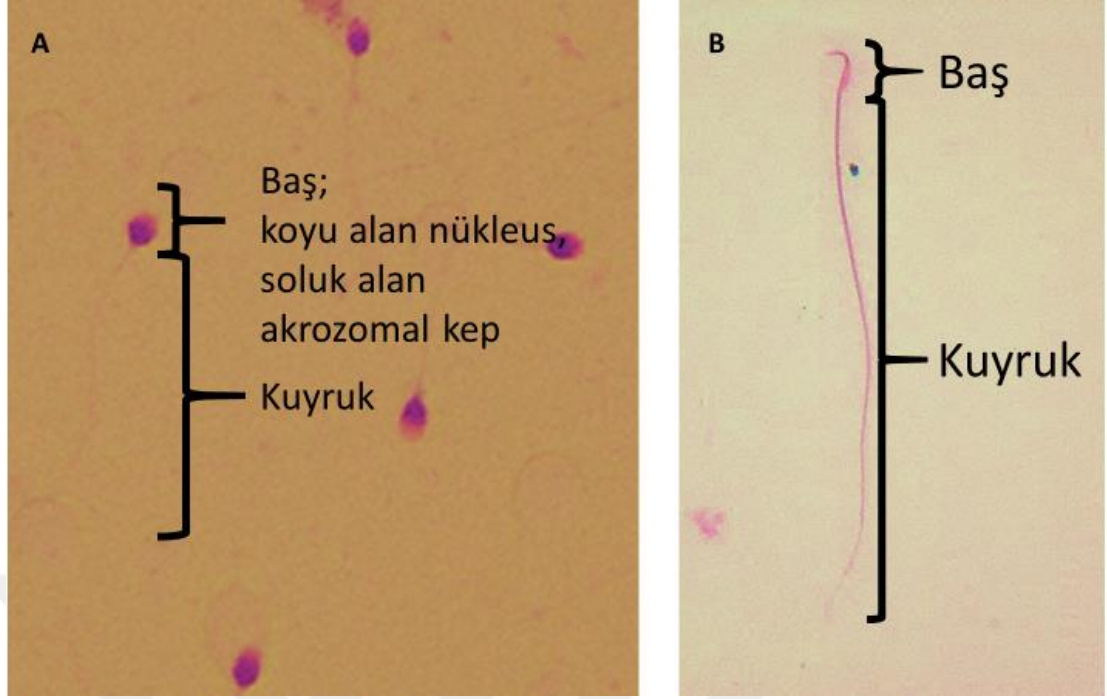
Resim 1. Testis Histolojisi

İ: İnterstisyel bağ dokusu L: Lümen, SE: Seminifer Epitel, ST: Seminifer Tübül, TA: Tunika Albuginea. **Boya:** Hematoksilen ve Eosin. **Objektif büyütmesi** x20



Resim 2. Seminifer Tübül Histolojisi

a: Spermatogonyum, b: Sertoli hücresi, c: Primer spermatozoid, d: Erken spermatid, e: Geç spermatid, f: Spermatozoon, g: Leydig hücresi, h: Miyoid hücre. Sıçan. **Boya:** Hematoksilen ve Eosin. **Objektif büyümesi** x40.



Resim 3. Sperm Histolojisi

A. Sperm Yayma, insan. **Boya:** Diff Quick. **B.** Sıçan spermi. **Boya:** Eosin Y.

Objektif büyütmesi x40.

Henüz hareketsiz olan spermatozoa miyoid hücrelerinin kasılması ve Sertoli hücrelerinden salgılanan sıvının akışı ile düz tübüller ve rete testis aracılığı ile hareket ve dölleme yeteneği kazandıkları epididimise ulaşarak depo edilir. Cinsel uyarı gerçekleştiğinde duktus deferense geçen spermatozoa aksesuar bezlerin salgıları ile birleşerek semeni oluşturur ve üretradan ejakulasyon ile atılır. Böylelikle erkek üreme hücresinin erkek genital sistemde nihai hedefine ulaşmak için yaptığı, üretiminden atılımına kadarki 86 günlük yolculuğu tamamlanmış olur (Ross and Pawlina 2015).

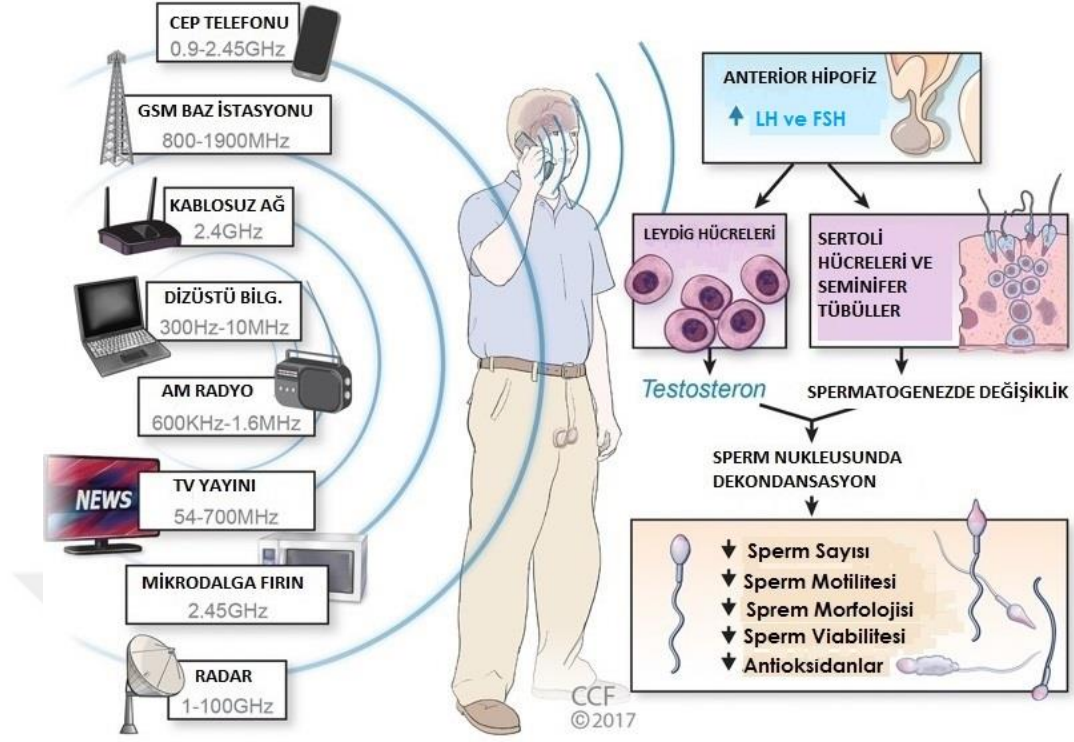
2.4.1. EMA'nın Erkek Üreme Sistemi Üzerindeki Etkileri

İnfertilite dünya çapında üreme çağındaki çiftlerin yaklaşık %15'ini etkiler. İnfertilite kliniklerinde çiftlerin % 30'dan fazlası kadın kaynaklı olmayan ve semen analizlerinde çok büyük anormallikler göstermeyen vakalardır ve bu çiftler idiopatik infertil olarak sınıflandırılır (Liu et al. 2004). İdiopatik infertilite anormal morfoloji, gecikmiş/ hiç

gerçekleşmemiş akrozom cevabı ya da bozulmuş sperm-zona bağlanması gibi sözde erkek faktörlerine atfedilir (Kruger et al. 1986, Franken et al. 1993).

Erkek fertilitesinde rapor edilen düşüş, aralarında RF-EMA'nın da bulunduğu birçok sebeple ilişkilendirilmektedir (Eroğul ve ark. 2006, Sheiner et al. 2003). Agarwal ve ark. nın (2008) mobil telefon kullanımının semen kalitesinin çeşitli kriterlerine etkisi ile ilgili olarak yaptığı çalışmada, infertilite kliniğine başvuran 360 erkek hasta kullanım saatlerine göre 4 gruba ayrılarak sperm parametreleri incelenmiş ve sperm parametrelerinin günlük cep telefonu kullanımına maruz kalma süresinin uzamasıyla azaldığı ve başlangıç semen kalitesinin bu değerler anlamında düşürdüğü gözlenmiştir.

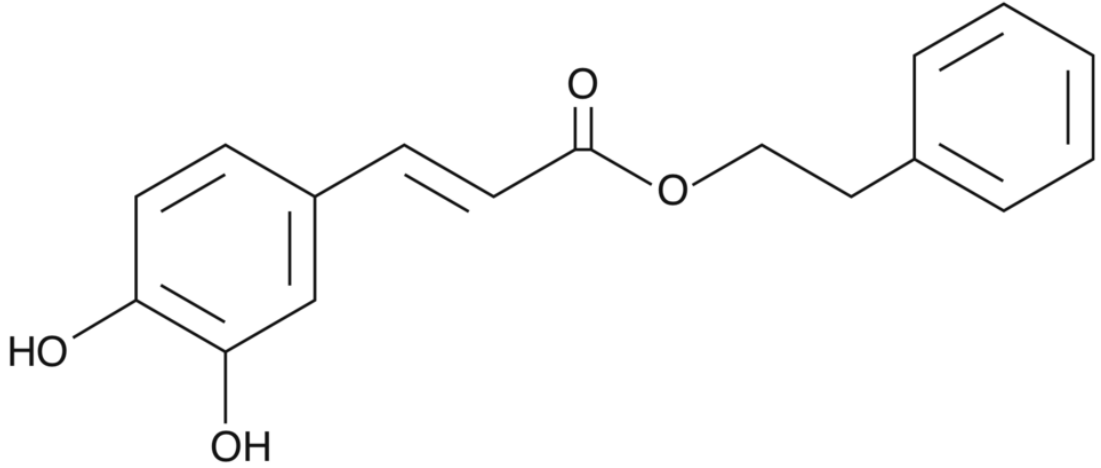
Lokal kablosuz ağa bağlı dizüstü bilgisayarların insan spermatozoası üzerindeki etkilerini değerlendirmek için Avendano ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 29 sağlıklı donörden alınan sperm örnekleri değerlendirildiğinde çoğu normozoospermik olan sperm örneklerinden 4 saat boyunca kablosuz ağa bağlı dizüstü bilgisayara maruz bırakılanların sperm motilitesinde belirgin düşme gösterilmiştir. Alınan sonuçlar internete bağlı bilgisayarın kucakta testislere yakın konumlandırılarak kullanılmasının erkek fertilitesinde düşüğe sebep olabileceğini göstermiştir (Margaritis et al. 2014) (Şekil 5).



Şekil 5. EMA Erkek Üreme Sistemi Üzerindeki Etkileri
(Kesari et al. 2018)

2.5. KAFEİK ASİT FENETİL ESTER

Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE) doğal bir biyoaktif bileşendir ve birçok bitkide bulunur (Metzner et al. 1979). Arı kovanlarından çıkarılan balmumu reçineden elde edilir (Bankova 2009). Bununla birlikte polifenik ester kafeik asit ve fenetil alkolün reaksiyona girmesi yoluyla da sentezlenebilir (Chen et al. 2011). İlk kez Grunberger ve arkadaşları tarafından bulunmuş ve tanımlanmıştır (Grunberger et al. 1988). CAPE bileşiği, CAPEEE, 2-feniletıl kaffeat, β -feniletıl kaffeat kullanılan diğer isimleridir. Kimyasal formülü $C_{17}H_{16}O_4$ 'tür (Şekil 6).



Şekil 6. CAPE'nin kimyasal açık formülü

(<https://www.caymanchem.com/images/catalog/70750.png>) (Erişim tarihi: 20.08.2018)

2.5.1. CAPE fiziksel ve kimyasal özellikleri

Moleküler ağırlığı 284.311 g/mol'dür.

Topolojik Polar Yüzey Alanı: 66.8 Å²

Hidrojen Donör Bağ Sayısı: 2

Hidrojen Akseptör Bağ Sayısı: 4

Kapekateol halkası içindeki hidroksil gruplarıyla birlikte bulunan bir polifenoldür ve birçok biyolojik aktivitede kritik rol oynar. Antineoplastik, hücre koruyucu ve immun-modülatör bioaktif özellikler gösterir.

2.5.2. CAPE etkileri ve kullanım alanları

Antimitojenik, antikanserojenik, antiinflamatuvar ve immün-modülatör özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Nükleer transkripsiyon faktörünün, NF-κB aktivasyonunun güçlü ve spesifik bir inhibitörüdür (Natarajan et al. 1996). Çalışmalar CAPE'nin enfeksiyöz hastalıklar, oksidatif stres, inflamasyon, kanser, diyabet, nörodejenerasyon ve anksiyete gibi birçok patolojiye karşı etkin biyolojik ve farmakolojik rol oynadığını göstermektedir (Grunberger et al. 1988, Wang et al. 2006, Kumazawa et al. 2010).

2.5.3. CAPE'nin antimikrobiyal etkileri

CAPE'nin *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia DH5 α* bakterilerine, HIV-1, Hepatit –C virüslerine karşı, bakteri duvarı membranı, RNA-DNA yazılımları ve replikasyon aktivitelerini hedef alarak etki gösterdiği ortaya konmuştur (Kishimoto et al. 2005, Velazquez et al. 2007, Kujumgiev et al. 1993, Serkedjieva et al. 1992). CAPE'nin diyet yoluyla alınımında, soğuk algınlığı, boğaz ağrısı ve yara iyileşmesinde etkin sonuçlar gözlenmektedir.

2.5.4. CAPE'nin antiinflamatuvar etkisi

CAPE antiinflamatuvar etkisini, hücre duvarından araşidonik asit salınımını azaltması yoluyla COX-1 ve COX-2 aktivitesini baskılayarak gerçekleştirir (Michaluart et al. 1999, Orban et al. 2000, Mirzoeva and Calder. 1996, Lee et al. 2004b). İnflamasyona sebep olan T-hücrelerinde interlökin-2 (IL-2) gen transkripsiyonu ve sentezini azalttığı gözlenmiştir (Raso et al. 2001). Nitrik oksit (NO) başta olmak üzere reaktif nitrojen türleri inflamasyonda önemli bir rol oynar. İnflamatuvar süreçte Nitrik oksit sentaz (NOS) belirgin şekilde artar. NOS' un inhibisyonu, inflamasyon ve doku hasarını azaltabilir. CAPE, indüklenebilir NOS'u (iNOS) baskılar ve bu şekilde NO aktivitesini azaltır (Parlakpınar ve ark. 2012).

2.5.5. CAPE'nin sitotoksik etkisi

CAPE'nin sitotoksik etkileriyle ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar CAPE'nin C6 Glioma hücrelerinin büyümesini baskıladığını göstermiştir (Kuo et al. 2006). Bazı kanser türlerinde artan nükleer transkripsiyon faktör - κ B (NF- κ B) aktivasyonunu engelleyerek kanser önleyici etki göstermektedir (Natarajan et al. 1996). Anjiyogenez, tümör invazyonu ve metastaz üzerindeki CAPE'nin önleyici etkilerinin incelendiği çalışmalarda antitümör etkileri gösterilmiştir (Liao et al. 2003, Lotfy 2006, Oršolić and Bašić 2005).

2.5.6. Kemoterapi ve radyoterapinin sebep olduğu toksik etkilere karşı CAPE

Kanser tedavisinde kullanılan birçok ilaç, serbest radikal formasyonu ve oksidan hasara sebep olarak böbrek ve karaciğer gibi organlardaki fizyolojik hemostazı bozar.

CAPE serbest radikal formasyonunu ve NF-κB faktörü baskılayarak bu ilaçların istenmeyen etkilerini azaltır ve terapötik etkilerini artırır (Sulaiman et al. 2014, Akyol ve ark. 2012, Özen ve ark. 2004, Kızılay ve ark. 2004).

2.5.7. Diğer etkiler

Bazı çalışmalar CAPE'nin, immün-modülatör, antihepatotoksik, antiosteojenik, antiaterosklerotik özelliklerini göstermiştir (Lee et al. 2008, Erdem ve ark. 2014, Hishikawa et al. 2005). CAPE'nin iskemi ve çeşitli zehirlenmelerden kaynaklı beyin ve spinal kord hasarını bertaraf ettiği nöroprotektif etkisi gösterilmiştir (Akyol ve ark. 2011). 10 µM konsantrasyonda, CAPE ksantin/ ksantinoksidaz sistemini ve insan nötrofillerinde ROS üretimini tamamen durdurmaktadır (Sud'Ina et al. 1993).

Hücre metabolizmasının bir sonucu olarak, hidrojen peroksid, süperoksit anyon, hidroksil iyonu, reaktif oksijen türleri ile nitrit oksit gibi nitrojen türevleri açığa çıkar. Bu maddelerin detoksifiye edilememesi ve yüksek oranlarda bulunması DNA gibi moleküllerle etkileşime girerek zararlı sonuçlara yol açar.

CAPE'nin antioksidatif etkileri konusunda çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar CAPE'nin kuvvetli bir antioksidan etki göstererek reaktif oksijen türlerini temizlediğini ve hücre membranını lipid peroksidasyonuna karşı koruduğunu göstermiştir (Kurek-Górecka et al. 2014, Olczyk et al. 2013a, 2013b, Russo et al. 2002, Yasui et al, 2013).

2.5.8. CAPE antioksidan etkileri

Sıçanda yapılan çalışmalarda renal dokuda üriner NAG ve kardiyak, retinal ve yine renal dokularda bakılan MDA, NO seviyelerinin artışı ile SOD, CAT, GSH-Px aktivitelerinin azalışı uzun dönem cep telefonu maruziyeti ile tetiklenen doku hasarında oksidatif mekanizmaların rolünü bununla birlikte CAPE'in bu hasarlara karşı antioksidan özelliği sayesinde koruyucu etkisi gösterilmiştir (Özgüner ve ark. 2005b, 2005a, 2006). Sıçanlarda sigara ile tetiklenen oksidatif stres sonucu testis dokusunda artan MDA, CAT, SOD düzeylerinin sigara maruziyeti yanında CAPE uygulanması ile tersine çevrilerek antioksidan aktivitenin arttığı, GSH-Px düzeyinin

yükseldiği gösterilmiştir (Özyurt ve ark. 2006). Sıçanlarda testiste torsiyon/detorsiyon uygulanması sonucu oluşan oksidatif stresin profilaktik CAPE uygulanması ile antioksidan yönüne kaydığı, SOD, CAT düzeylerinin torsiyon/detorsiyon gruba göre düşük, GSH-Px düzeyinin yüksek olduğu gösterilmiştir (Uz ve ark. 2002).

2.6. SERBEST RADİKALLER

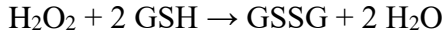
Serbest radikaller dış yörüngelerinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektrona sahip yüksek enerjili atom veya moleküllerdir (Cheeseman and Slater. 1993). Eşlenmemiş elektronları nedeniyle, kararlı hale ulaşmak için elektron alarak veya vererek diğer bileşikler ile tepkimeye girerler, bu şekilde oksidan ya da redüktan olarak davranırlar (Vishal-Tandon et al. 2005, Cheeseman and Slater. 1993). Oksijen kaynaklı serbest radikaller reaktif oksijen türleri (ROS) ve nitrojen kaynaklı serbest radikaller reaktif nitrojen türleri (RNS) olarak isimlendirilir (Halliwell ve Gutteridge 1999; Valko ve ark. 2007). Reaktif oksijen türlerinin başlıcaları; tekli oksijen (1O_2), süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil (OH), peroksil ($ROO\cdot$) ve alkoksi ($RO\cdot$), hidrojen peroksit (H_2O_2) molekülleridir (Kaurand Kapoor 2001). Reaktif nitrojen türlerinin bazı örnekleri ise nitrik oksit (NO), nitrojen dioksit (NO_2), nitroksil anyonu (NO^-), nitröz asit (HNO_2)'dir. Serbest radikallerin hücre hasarı oluşturma mekanizmalarından başlıcaları membranların lipit peroksidasyonu, DNA parçalanması, proteinlerin ve enzimlerin oksidatif modifikasyonu, polipeptit fragmentasyonu olarak sayılabilir (Kumar et al. 2000). *In vivo* olarak hücrede normal metabolizmanın ürünleri şeklinde açığa çıkan radikaller olduğu kadar inflamasyon, radyasyon, antineoplastik ajanlar, hava kirliliği, hiperoksi, sigara dumanı, bazı çözücüler, anestezipler ve genel olarak aromatik hidrokarbonlar gibi çevresel ajanlar da serbest radikallerin meydana gelmesine yol açar (Erden 1992).

Hücrelerde serbest radikalleri yok eden enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemler vardır. Vücutta başlıca antioksidan maddeler GSH-Px, GR, SOD, katalaz gibi enzimler ve serbest Fe, Cu taşıyan seruloplazmin, laktoferrin, ferritin, transferrin, selenyum, A, E, C vitaminleri, beta karoten, glutatyon gibi maddelerdir (Kumar et al. 2000). Seminal plasma GSH-Px/GR sistemi, SOD, CAT, C, E vitaminleri, GSH, urat, ubikinon, bilirubin antioksidanlarını ve sperm plasma membranı E, A vitaminlerini,

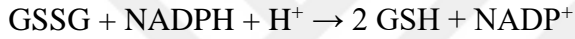
haptoglobulin, transferrin, serüloplazmin antioksidanlarını içerir (Agarwal and Prabakaran 2005).

2.6.1. Glutasyon peroksidaz ve glutasyon redüktaz

GSH-Px hidrojen peroksitin ve lipid hidroperoksitlerin indirgeyerek hücreyi lipid peroksidasyonuna karşı korur (Tabakoğlu ve Durgut 2013). GPx, glutasyonu okside ederek H₂O₂'yu H₂O'ya indirger.



Glutasyon redüktaz (GR) ise glutasyonun okside formunu (GSSG) tekrar GSH'ya indirger.



Hücrede GSSG'nin GSH'a oranı hücrenin oksidatif durumunun bir yansımasıdır ve hücrenin serbest radikalleri katabolize etme yeteneğinin bir göstergesi olarak kullanılır (Kumar et al. 2000).

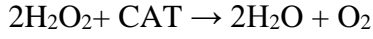
2.6.2. Süperoksit dismutaz

Serbest radikallere karşı organizmadaki ilk savunma işlemi SOD enzimiyle gerçekleşir. Süperoksit dismutaz (SOD) hücre hasarına yol açan süperoksit grubunu hidrojen peroksit (H₂O₂) ve oksijene çeviren esansiyel bir enzimdir. SOD, ROS'lardan süperokside bir elektron vererek H₂O₂'ye indirgeyerek organizmayı oksidanların zararlı etkisinden korur (Halliwell and Gutteridge 1999, Mercan 2004).



2.6.3. Katalaz

Hidrojen peroksidi indirgeyerek oksijen ve suya parçalanmasını sağlayan enzimlerden biri de katalazdır.



CAT serbest radikallerin birikmesini ve lipid peroksidasyonunun başlamasını önleyen enzimatik antioksidanlardandır (Tabakoğlu ve Durgut 2013).

2.6.4. Malondialdehit

Plasma membranındaki poliansatüre yağ asitlerine ROS saldırısı ile meydana gelen kimyasal reaksiyonlar zincirine lipid peroksidasyonu denir (Shekarriz et al. 1995). Malondialdehit (MDA) lipid peroksidasyonunun son ürünüdür. Oluşan MDA iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi membran özelliklerinin değişmesine yol açar (Cighetti et al. 2002).

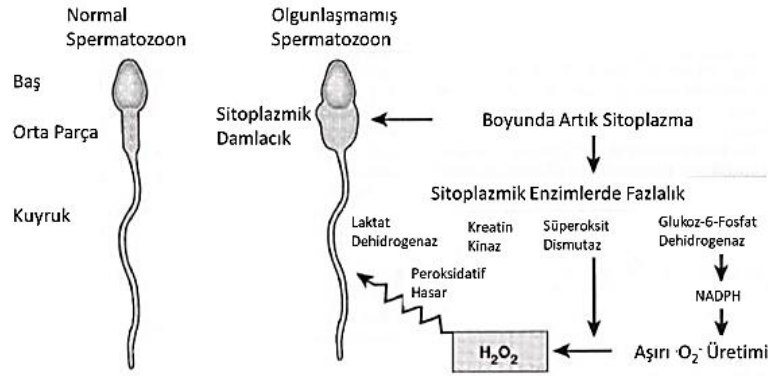
2.6.5. Erkek üreme sisteminde serbest radikaller

Serbest radikaller normal hücrel metabolizmanın ürünleridir. Serbest radikal hasarı hücrel yaşlanma, fagositik hücreler ile mikropların öldürülmesi, iltihabi hücre hasarı makrofajlar ile tümör imhası ve zedeleyici olayların temelini teşkil eder (Kumar et al. 2000).

Erkek üreme sisteminde lökositler ve immatür spermatozoa reaktif oksijen türlerinin iki kaynağını oluşturur (Garrido et al. 2004b). Spermde ROS üretimi sperm plasma membranında NADPH oksidaz sistemi ve mitokondride NADH bağımlı oksido-redüktaz sistemi ile gerçekleşir (Gavella and Lipovac 1992). Ejakulasyon ile erkek genital sistemi terk eden spermatozoanın dışı genitalde fertilizasyon yeteneği kazanmasına kapasitasyon denir (Austin 1951). Kapasitasyonu takiben spermin yumurtayı döllemesine izin veren akrozom reaksiyonu meydana gelir (Lambert et al. 1985, De Lamirande et al. 1997). Kapasitasyon ve akrozom reaksiyonu oksido-redüksiyon reaksiyonları ile düzenlenen süreçlerdir, $\cdot\text{O}_2^-$, H_2O_2 , $\cdot\text{NO}$ gibi radikaller kapasitasyonun ve akrozom reaksiyonunun gerçekleşmesini sağlar (de Lamirande et al. 1998, Zini et al. 1995, Sengoku et al. 1998).

Oksidatif stres; serbest radikallerin üretimini artırması, antioksidanların inaktif ya da yetersiz olması gibi nedenlerle oksidan/antioksidan dengesinin bozulması sonucu oluşur (Tabakoğlu ve Durgut 2013). Sigara, alkol, ilaç, radyasyon gibi çevresel faktörler ROS üretimini artırarak organizmada oksidatif strese yol açar (Agarwal and Prabakaran 2005).

Fizyolojik koşullar altında, spermatozoa kapasitasyon, akrozom reaksiyonu ve fertilizasyon için gerekli olan az miktarda reaktif oksijen türleri (ROS) üretir (Griveau and Lannou 1997). Bununla birlikte, lökositler ve olgunlaşmamış spermler tarafından üretilen aşırı miktarda ROS, lipid peroksidasyonunu ve DNA hasarını indükleyerek normal spermatozoaya zarar verebilir (Şekil 7) (Aitken et al. 1998, Agarwal et al. 2003, Agarwal and Saleh 2002).



Şekil 7. Olgunlaşmamış spermatozoonda ROS üretimi mekanizması

(Agarwal and Saleh 2002)

2.6.6. Serbest radikaller ile DNA hasarı

Serbest oksijen radikalleri ile delesyon, mutasyon, genetik hasar gibi DNA'da birçok lezyon tetiklenir (Tominaga et al. 2004). Hidroksil radikalleri ile deoksiriboz şekerin oksidasyonu DNA zincir kırıklarının temel nedenidir (Sun et al. 1997). Oksidatif hasar baz degradasyonu, DNA fragmantasyonu ve proteinlerde çapraz bağlara neden olur (Lopes et al. 1998, Aitken and Krausz 2001). İnfertil erkeklerin semenlerinde bir DNA oksidasyon ürünü olan 8-OHdG düzeyinin yüksekliği ile gösterilen DNA fragmantasyonu oranı yüksektir (Moustafa et al. 2004, Agarwal and Said 2003).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMANIN YERİ VE TARİHİ

3.1.1. Etik kurul kararı ve proje desteği

“Deneysel düşük doz elektromanyetik alanın sıçan testis ve semen dokularına etkileri ve kafeik asit fenetil esterinin antioksidan rolünün araştırılması” isimli çalışmamızın, Sakarya Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığının 21.02.2018 tarih ve 02 sayılı kararı ile gerçekleştirilmesinin uygun olduğuna ile karar verilmiştir.

Bu çalışma, Sakarya Üniversitesi Rektörlüğü BAP-2018-2-9-31 numaralı bilimsel araştırma projeleri kapsamında sağlanan finansal destekle gerçekleştirilmiştir.

3.1.2. Çalışmanın yeri ve tarihi

Bu çalışma, Sakarya Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Merkezinde (SÜDETAM) 2018 Haziran-Temmuz aylarında yapılmıştır.

3.2. GEREÇ VE YÖNTEM

3.2.1. Deneklerin temini ve deney gruplarının oluşturulması

Sakarya Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Merkezinden temin edilen Wistar Albino cinsi 10 haftalık sıçanlar 2 hafta aklimatizasyon döneminden geçirilerek deney ortamına uyumları sağlanmıştır.

Toplam 30 günlük deney sürecinin başlangıcında 12 haftalık 32 adet erkek sıçan her grupta 8 adet olacak şekilde rasgele 4 gruba bölündü. Sıçanlara kuyrukları boyanarak rakam verildi (Resim 4).



Resim 4. Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar

4 ayrı kafeste takip edilen deney grupları şu şekilde düzenlendi:

Grup I (Kontrol grubu): 30 gün boyunca hiçbir madde uygulanmayan grup.

Grup II (EMA grubu): 30 gün boyunca günde 1 saat düşük doz EMA uygulanan grup.

Grup III (EMA+CAPE): 30 gün boyunca kafeik asit fenetil ester intraperitoneal enjeksiyonunu takiben günde 1 saat EMA uygulanan grup.

Grup IV (CAPE): 30 gün boyunca kafeik asit fenetil ester intraperitoneal enjeksiyon uygulanan grup.

3.2.2. Vücut ağırlıklarının ölçümü

Dört gruptaki sıçanların ağırlıkları deney başlangıcında ve deney süresince elektronik tartı (Kern PCB terazi, Almanya) ile her hafta tartıldı (Resim 5).



Resim 5. Elektronik Tartı

3.2.3. GSM simülâtör cihaz

EMA uygulaması için 900 MHz elektromanyetik dalga verici GSM simülâtör cihaz (Set Electronic LTD, 900-1800 MHz Microwave Test Transmitter, GHz 2011X, Samsun, Türkiye) kullanıldı (Resim 6).

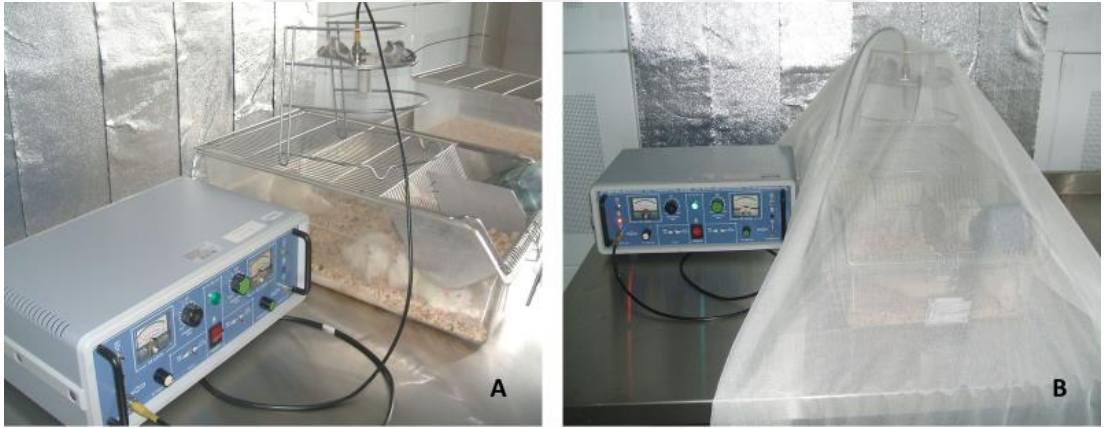


Resim 6. Elektromanyetik dalga verici GSM simülâtör cihaz

3.2.4. Deney düzeneği

GSM elektromanyetik dalga verici anten (Kathrein, VPol Indoor 876-960/1710-2700 360° 2dBi, Germany) kafese üstten 23 cm yükseklikte yerleştirildi ve elektromanyetik dalganın kafes içi şiddeti 0,2 - 0,3 V/m olarak ayarlanarak elektromanyetik radyasyon ölçüm cihazı ile ölçüldü.

Uygulama odasında GSM simülatör cihazın yakın olduğu duvar 60 µm kalınlığında alüminyum kaplı izolasyon malzemesi ile döşendi. Uygulama esnasında deney düzeneği elektromanyetik radyasyonu engelleyen perde ile örtüldü (Resim 7). Yan odalardaki EMA şiddeti prob ile ölçüldü ve bu tedbirler ile deney odasının dışına elektromanyetik dalga çıkışının önleendiği tespit edildi. Elektromanyetik koruyucu perde kumaşı gümüşle kaplı sentetik elyaf iplikten oluşmaktadır. Perde, dokumasında bulunan elektriksel iletkenliği olan iplikler ile elektromanyetik dalgaları sağlığa zararı bulunmayan elektrik akımlarına dönüştürmektedir.



Resim 7. Deney düzeneği

A. Anten kafesin üstüne yerleştirildi. **B.** Kafes elektromanyetik dalga önleyici perde ile örtüldü.

3.2.5. Kafeik asit fenetil esterinin hazırlanması

Kafeik asit fenetil ester (Cayman Chemical Company 1180 E. Ellsworth Rd. Ann Arbor, MI 48108) % 100 etanol (Merck KGaA 64271 Darmstadt, Germany) ile çözdürülerek hazırlandı.

3.2.6. Deneyin uygulanışı

Wistar Albino 12 haftalık erkek sıçanlar sıcaklığı 21 ± 2 °C olan iyi havalandırılmış bir odada 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık döngüde şeffaf plastik kafesler (Eurotype 4; 18 cm × 33 cm × 55 cm) içinde barındırıldı (Resim 7A). Denekler pelet haline getirilmiş standart sıçan yemi ve musluk suyu ile serbest şekilde (*ad libitum*) beslendi.

Kontrol grubu hiçbir madde uygulanmadan diğer gruplarla aynı koşullarda deneye dahil edildi. Grup II'deki sıçanlara 30 gün süreyle, her gün, günün aynı saatinde, 900 MHz EMA uygulandı. Grup III'teki sıçanlara Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE) otuz gün süreyle 10 µmol/kg/gün dozda günün aynı saatinde tek doz intraperitoneal (ip) enjeksiyonunu takiben günde 1 saat düşük doz (900 MHz) EMA uygulandı. Grup IV'teki sıçanlara otuz gün süreyle günün aynı saatinde tek doz 10 µmol/kg/gün dozda ip CAPE enjeksiyon olarak uygulandı.

3.2.7. Deneyin sonlandırılması

Çalışmanın 30. gününde anestezik olarak Ketazol % 10, 75mg/kg ip (Richterpharma ag, Wels, Austria) ve Basilazin % 2, 8mg/kg ip (ani Medica GmbH, Im Südfeld 9, 48308 Senden-Bösensell / Almanya) uygulanan sıçanlardan intrakardiyak kan örnekleri alındı ve hayvanlar eksanguinasyon yöntemi ile sonlandırıldı.

3.2.8. Örneklerin toplanması

Biyokimyasal analizler için deneklerden alınan kan örnekleri çalışmanın gerçekleştirileceği güne kadar -20 °C'de derin dondurucuda saklanmak üzere ependorf tüplere konuldu.

Sıçanlardan testis ve epididimal kanallar çıkarıldı. Testislerin ağırlıkları hassas terazide (Shimadzu, ATX-224, Japonya) ölçülerek kaydedildi (Resim 8).



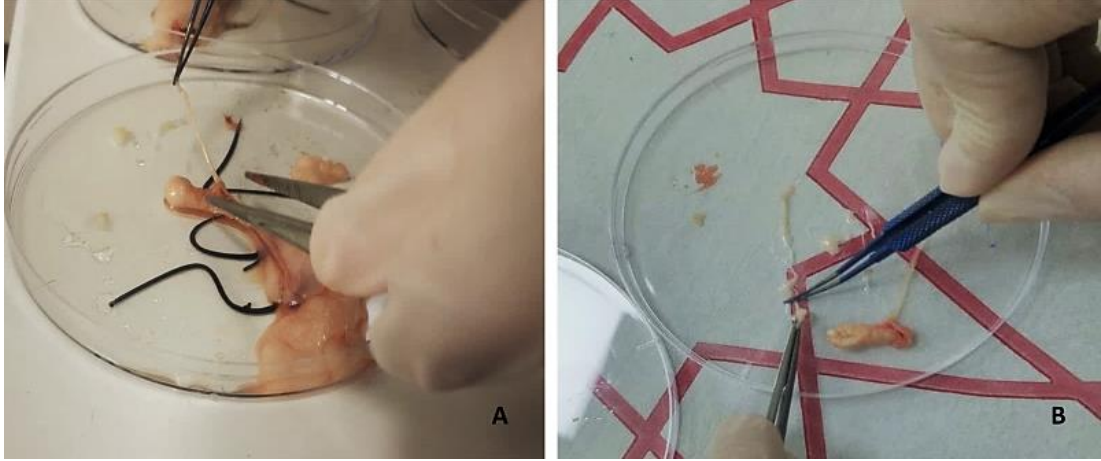
Resim 8. Hassas terazi

Sağ testisler ve bağlantılı kanallar ışık mikroskopunda histopatolojik incelemeler için Bouin's fiksatifine (Scy Tek Lab. Emergo Europe, Prinsessegracht 20, 2514 AP The Hague, The Netherlands) alındı.

Sol testisler ve bağlantılı kanallar biyokimyasal analizler yapıncaya kadar saklanmak üzere -20 °C'de dondurucuya konuldu.

3.2.8.3. Semen eldesi

Kaudal epididimisten semen eldesi için epididimis kapsülü bistüri ile kesildi. Bağlama pensi yardımı ile epididimal kanalın bir kısmı serbestleştirilerek pens başı ile kanal dışarıdan sıvazlanarak semenin dışarı akması sağlandı. Yaklaşık 5 µl hacmindeki semen fosfat tamponlu salin (PBS, Sigma, P4417-100 TAB) solüsyonu ile yıkanarak petriden ependorf tüplere alındı (Resim 9). Alınan numunelerden sperm sayımı ve akım sitometrik incelemeler yapmak üzere son hacim PBS solüsyonu ile 1 ml'ye tamamlandı.



Resim 9. Epididimal kanallardan semen eldesi

A. Epididimal kanalların serbestleştirilmesi. **B.** Epididimal kanalların dışardan pens aracılığıyla sıvazlanması ile semen elde edilmesi.

3.2.9. Makler sayım kamarası

Makler sayım kamarası (Irvine Scientific 2511 Daimler St. Santa Ana, CA, USA) seyreltilmemiş semen örneklerinden sperm sayısı, motilite değerlendirilmesinde androloji laboratuvarlarında kullanılmaktadır (Resim 10).

Makler kamarası iki bölümden oluşmaktadır: Alt ana parça merkezi bir açıklığa sahip metal taban ve iki tutamaktan oluşmaktadır. Tabanın merkezinde, üzerinde örnek bulunan optik düz camdan yapılmış düz bir disk bulunur. Diskin etrafında dört pim vardır. Onların uçları diskin yüzey seviyesinin 10 mikron üzerindedir. Üst kısım metal bir halka ile çevrelenmiş camdan ibarettir. Alt yüzeyinin merkezinde, her biri 0.1 x 0.1 mm olan 100 kareye bölünmüş 1 mm² ızgara vardır. Cam dört uç uca yerleştirildiğinde, 10 kareden oluşan bir sıra ile sınırlanmış olan alan, tam olarak mL’de bir milyondur. Bu nedenle, 10 karedeki sperm başı sayısı, konsantrasyonu milyon / mL olarak belirtir (Makler 1980).



Resim 10. Makler Sayım Kamarası

Hazırlanan sperm solüsyonundan 10 µl alınarak Makler sayım kamarasında sayı ve hareketlilik incelemeleri yapıldı.

3.2.10. Akım sitometri yöntemi ile DNA kırığı tespiti

Tüm deney gruplarına ait semen örneklerinde, akım sitometri cihazında Apo-Direct kit (BD Pharmingen, San Diego, CA, USA) kullanılarak “The Terminal Deoxynucleotide Transferase Mediated dUTP Nick End Labeling” (TUNEL) yöntemi ile sperm DNA kırıkları tespit edildi. Referans olarak ve oluşabilecek yanlış pozitifliği önlemek amacı ile kit içeriğindeki negatif ve pozitif kontroller kullanıldı. Akım sitometri analizleri 1×10^6 hücre/ml konsantrasyonda numunelerde gerçekleştirildi. Örnekler 300 g’de 7 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant uzaklaştırıldı ve peletin üzerine % 1’lik paraformaldehit eklendi. Hücreler, % 1 paraformaldehit içinde $1,0 \times 10^6$ hücre / ml’lik bir yoğunlukta süspanse edilip 60 dk boyunca buz üzerine inkübe edildi. Süre bitiminde örnekler 300 g’de 7 dk santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırıldı. 2 ml PBS eklenen hücreler aynı şekilde santrifüj edildi ve süpernatantları uzaklaştırıldı. Yıkama işlemi iki kere tekrarlanarak PBS uzaklaştırıldı ve 1 ml % 70’lik soğuk etanol eklenerek hücreler buz üzerinde 30 dk bekletildi. Santrifüj yöntemi ile etanol uzaklaştırıldı. Negatif ve pozitif kontroller ile sperm hücrelerinin bulunduğu tüplere 1’er ml “Wash Buffer” eklenip santrifüjlenerek süpernatant uzaklaştırıldı.

Yıkama işlemi iki kere tekrarlandı. Kontrol ve sperm peletleri üzerine 50'şer µl DNA işaretleme solüsyonu eklenerek süspansiyon edildi (DNA işaretleme solüsyonunun içerik ve miktarları tabloda verilmiştir). Örnekler 60 dk 37 °C 'de inkübe edildikten sonra 1 ml "Rince Buffer" eklenip 300 g'de 7 dk santrifüj edildi ve bu işlem tekrarlandı. Süpernatantları uzaklaştırılan örnekler 0,5 ml PI/RNase boyama tamponu eklenerek 30 dk karanlık ve oda ısısında inkübe edildi. DNA kırıkları Beckman Coulter Navios akım sitometri analiz cihazı kullanılarak Kaluza yazılımı ile analiz edildi (Resim 11).

Tablo 1. DNA işaretleme solüsyonunun içerik ve miktarları.

DNA Labeling Solution	
Reaction Buffer	10.00 µl
µlTdT Enzyme	0.75 µl
FITC dUTP	8.00 µl
Distilled H ₂ O	32.25 µl
Total Volume	51.00 µl



Resim 11. Akım sitometri analiz cihazı

3.2.11. Sperm morfolojisinin incelenmesi

Epididimal semen örneklerinden 1 ml alınarak % 1'lik Eosin-Y (Bio-Optica, 20134 Milano, Italy) ile 1:1 oranında karıştırıldı ve oda ısısında 30 dakika bekletildi. Boyanan örneklerden bir damla alınarak lama yayma yapıldı ve oda ısısında kurutuldu. Kuruyan örnekler metanole daldırılıp çıkarılarak fazla boya uzaklaştırıldı ve tekrar kurumaya bırakıldı. Işık mikroskopunda (Nikon Eclipse DS-Fi2, Japan) 40x büyütmede incelenen dört gruptaki her sıçana ait örneklerin boyamalarında 200 spermde normal morfoloji, baş anomalisi, boyun anomalisi, kuyruk anomalisi parametrelerinin yüzdeleri hesaplandı (Resim 12).



Resim 12. Kamera ataçmanlı ışık mikroskobu

3.2.12. Testislerin doku takibi

Deney sonunda sıçanlardan çıkarılan sağ testisler ağırlık ölçümünü takiben doku takibine alındı.

Testisler +4°C'de Bouin's fiksatifine alındıktan 20 saat sonra vertikal düzlemde ikiye bölünerek tespitleri 24 saate tamamlandı. Tespitten sonra testisler yıkamaya alınmadan sırasıyla % 70, % 80, % 90, % 100 etil alkol serilerinde 24'er saat tutularak dehidratasyon yapıldı. Dehidratasyonu takiben üçlü aseton serisinde her birinde 15'er dakika tutularak şeffaflaştırma yapıldı. Şeffaflaştırma işlemini takiben 60 °C etüvde

üçlü parafin serisinde her birinde 1'er saat tutularak infiltrasyon işlemi gerçekleştirildi. Örnekler erimiş parafine gömülerek bloklama işlemi yapıldı.

3.2.13. Testislerden kesit alma

Örnekler kesit alma işleminden önce -20 °C'de bekletilerek soğutuldu. Thermo Scientific Microm HM40E (Otto-Hahn-Strasse 1a 69190 Walldorf, Germany) marka mikrotom ile 3-5 µm kalınlığında alınan kesitler jelatinli (Gelatine, Foodland, Ewald-Gelatine GmbH, Meddersheimer Str. 50, 55566 Bad Sobernheim, Germany) sıcak su banyosunda açılmaları sağlanarak lamlara alındı (Resim 13).



Resim 13. Mikrotom

3.2.14. Testis kesitlerinin boyanması

Kesitlerin histolojik yapısını incelemek için Hematoksilen-Eosin (Merck KGaA 64271 Darmstadt, Germany), Masson Trikrom (1020 Serpentine Lane, Suite #114 Pleasanton, CA, USA), Periyodik Asit Schiff (PAS) (Sigma-Aldrich, Inc, 3050 Spruce Street, St. Louis, MO, USA) boyamaları yapıldı.

3.2.14.1. Hematoksilen ve Eosin ile boyama yöntemi

Deparafinizasyon işlemi için, parafin bloktan lama alınmış 3-5 µm'lik örnekler lam asansörüne yerleştirilerek 60 °C'lik etüvde 1 gece bekletildi. Kimyasal deparafinizasyon işlemi için, kesitler 30'ar dakika 2 değişim ksilende tutuldu. Rehidratasyon işlemi için, % 95, % 80, % 70, % 60 etil alkol serilerinde 2'şer dk tutuldu. 5 dk akar suda yıkanan kesitler 10 dk hematoksilen boya solüsyonunda tutuldu ve takiben 5 dk akar suda yıkandı. Kesitler diferansiyasyon işlemi için asit alkol solüsyonuna 1-3 sn batırılıp çıkarıldı ve takiben 5 dk akar suda yıkandı. Kesitler 5 dk eosin boya solüsyonunda tutulduktan sonra 3-5 dk akar suda yıkandı. 1'er dk % 80 ve % 95 alkol içinde tutulan kesitler 1'er saat üçlü ksilen serisinde bekletildi. Kesitler üzerine entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı ve penset yardımıyla hava kabarcıkları çıkarıldı.

3.2.14.2. Masson Trikrom ile boyama yöntemi

Deparafinizasyon işlemi için, parafin bloktan lama alınmış 3-5 µm'lik örnekler lam asansörüne yerleştirilerek 60 °C'lik etüvde 1 gece bekletildi. Kimyasal deparafinizasyon işlemi için, kesitler 30'ar dk 2 değişim ksilende tutuldu. Rehidratasyon işlemi için, % 95, % 80, % 70, % 60 etil alkol serilerinde 2'şer dk tutuldu. Kesitler 5 dk distile su ile yıkandıktan sonra 10 dk Weighert's çalışma çözeltisinde tutuldu. 10 dk akar suda ve distile su ile yıkanan kesitler Biebrich Scarlet-Asit fuksin çözeltisi içinde 15 dk tutuldu. Distile sudan geçirildikten sonra Fosfomolibdik asit-fosfotungstik asit çözeltisinde 15 dk tutuldu. Direk olarak (yikanmadan) anilin mavisi çözeltisi içinde 5 dk boyadı. Distile sudan geçirilen kesitler Asetik asit çözeltisinde 1 dk tutularak tekrar distile su ile çalkalandı. Örnekler 1'er dk % 80 ve % 95 alkol serisinden geçirildikten sonra 1'er saat üçlü ksilen serisinde tutuldu. Üzerlerine entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı ve penset yardımıyla hava kabarcıkları çıkarıldı.

3.2.14.3. Periyodik Asit Schiff ile boyama yöntemi

Deparafinizasyon işlemi için, parafin bloktan lama alınmış 3-5 µm'lik örnekler lam asansörüne yerleştirilerek 60 °C'lik etüvde 1 gece bekletildi. Kimyasal

deparafinizasyon işlemi için, kesitler 30'ar dk 2 değişim ksilende tutuldu. Rehidratasyon işlemi için, % 95, % 80, % 70, % 60 etil alkol serilerinde 2'şer dk tutuldu. Beş dk distile su ile yıkanan kesitler Periyodik asit solüsyonu içinde 5 dk tutularak tekrar distile sudan geçirildi. Takiben kesitler Schiff reaktifi içinde 15 dk tutuldu. Kesitler akar su altında 10 dk yıkandı ve Hematoksilen Gill 3 çözeltisi içinde 6 dk tutuldu. Tekrar akar su altında 10 dk yıkanan kesitler asit alkol solüsyonuna 1-3 sn batırılıp çıkarılarak diferansiyasyon işlemi yapıldı. Akar su altında 10 dk daha yıkanan kesitler 1'er dk % 80 ve % 90 alkol serileri içinde tutuldu. Kesitler 1'er saat üçlü ksilen serisinden geçirilerek üzerlerine entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı ve penset yardımıyla hava kabarcıkları çıkarıldı.

3.2.15. Johnsen skorlaması

Johnsen skorlaması 1970 yılında Svend G. Johnsen tarafından tanımlanan spermatogenez kayıt yöntemidir. Testiküler biyopsinin bir bölümündeki tüm boru kesitleri sistematik olarak değerlendirilir ve her biri aşağıdaki kriterlere göre 1-10 arasında bir puan alır:

Skor 10: Birçok spermatozoa ile tam spermatogenez. Germinal epitel açık bir lümen bırakarak düzenli kalınlıkta düzenlenmiştir.

Skor 9: Birçok spermatozoa mevcut fakat belirgin bir şekilde hücre dökülmesi ya da lümen obliterasyonu ile germinal epitel düzensizdir.

Skor 8: Tübüler kesitte sadece birkaç spermatozoa (<5-10) var.

Skor 7: Spermatozoa yok ama birçok spermatid var.

Skor 6: Spermatozoa yok ve sadece birkaç spermatid (<5-10) var.

Skor 5: Spermatozoa yok, spermatid yok ama birkaç veya daha fazla spermatosit var.

Skor 4: Sadece birkaç spermatosit var ve spermatid veya spermatozoa yok.

Skor 3: Spermatogonia mevcut tek germ hücreleridir.

Skor 2: Hiçbir germ hücresi yok ancak sadece Sertoli hücreleri var.

Skor 1: Tübüler kesitte hiç hücre yok.

Ortalama skoru hesaplamak için, her on skor için kaydedilen tübül sayısı, skor ile çarpılır ve tüm on skor için çarpımların toplamı, kaydedilen toplam tübül sayısına bölünür (Johnsen 1970).

3.2.16. Biyokimyasal analiz yöntemi

Sıçanlar anestezi altında iken kalplerinden kan alınarak eksanguinasyon yöntemi ile hayvanlar sonlandırıldı. Biyokimyasal analizler için kan ve testis dokuları toplandı. Kan numuneleri oda sıcaklığında koagülasyon işleminin tamamlanması sonrası 4 °C'de 1000 g'de 15 dk santrifüj edildi (Thermo Scientific, Centrifuge SL16R, UK) ve endoflarda analiz gününe kadar -20 °C'de bekletildi.

Testis doku analizi için dokulara fosfat tamponu ilave edilerek %10'luk homojenat oluşturuldu. Buzda 1-2 dk 12,000 rpm'de homojenizasyon işlemi sonrası (Benchmark, Bead Blaster Microtube Homogenizer, USA) süpernatantı elde etmek için 5000 rpm'de 30 dk +4 °C'de santrifüj edildi. Süpernatantlardan TAS, TOS, SOD ve MDA seviyeleri çalışıldı.

Serum örneklerinde bu moleküller ve ek olarak testosteron, tiyol ve glutatyon peroksidaz çalışıldı.

TAS seviyeleri, ticari olarak temin edilen kit (Relassay Diagnostics, Türkiye, No: RL0017) kullanılarak ölçüldü. Yöntem, antioksidanlar tarafından daha kararlı bir ABTS (2,2 ' - Azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)) radikal katyonunun karakteristik renginin ağartılmasına dayanmaktadır. Test % 3'ten daha düşük hassasiyet değerlerine sahiptir. 660 nm'de absorbans değişimi, numunenin toplam antioksidan seviyesi ile ilgilidir. Elde edilen numuneler kolorimetrik olarak (Vital Scientific, Selectra E, Netherlands) ölçülerek sonuçlar mmol Trolox Eq / L olarak ifade edildi.

TOS seviyeleri ticari olarak temin edilen kit (Relassay Diagnostics, Türkiye, No: RL0024) kullanılarak ölçüldü. Bu yöntemde, örnekte bulunan oksidanlar demir iyonu-o-dianisidin kompleksini ferrik iyonuna okside eder. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon

ortamında bol miktarda bulunan gliserol molekülleri ile güçlendirildi. Ferrik iyon, asidik bir ortamda ksilenol portakalı ile renkli bir kompleks üretir, spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, numunede bulunan toplam oksidan molekülü miktarı ile ilişkilidir. Numuneler kolorimetrik olarak (Vital Scientific, Selectra E, Netherlands) analiz edildi. Test, hidrojen peroksit (H₂O₂) ile kalibre edildi ve sonuçlar µmol H₂O₂ Eq/L olarak ifade edildi. TOS'un TAS'a oranı, oksidatif stres indeksi (OSI) olarak kabul edildi. OSI, belirtilen formül ile hesaplandı: $OSI = ([TOS, \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq / L}] / [TAS, \text{mmol Trolox Eq / L}] \times 10)$ (Erel 2005).

Süperoksit dismutaz (SOD) ticari olarak temin edilebilen kit (Relassay Diagnostics, Türkiye, No: RL0025) kullanılarak ölçüldü. SOD'un analiz yöntemi, kırmızı bir formazan boyası oluşturmak üzere süperoksit radikalleri üretmek için 2- (4-iyodofenil) -3- (4-nitrofenol) -5-feniltetrazolyum klorür (I.N.T.) ile reaksiyona giren ksantin ve ksantin oksidazı (XO) içerir. SOD aktivitesi bu reaksiyonun inhibisyon derecesi ile ölçülür. Bir birim SOD, test koşulları altında INT'nin azaltılma oranının % 50 inhibisyonuna neden olan bir birimdir. Elde edilen sonuçlar spektrofotometrik olarak (Robonik® ELISA Plate Analyzer, Maharashtra, India) olarak değerlendirildi.

Homojenattaki MDA seviyeleri, ticari olarak temin edilen kit (Relassay Diagnostics, Türkiye, No: RL0026) kullanılarak ölçüldü. Testosteron analizi serum numunelerinde ticari temin edilen kit (Roche Diagnostics Corporation, Indianapolis, Indiana) kullanılarak yapıldı. Örnekler biyotinlenmiş monoklonal testosteron spesifik antikor ve 2-bromoestradiol ile inkübe edildi. Streptavidin kaplı mikropartiküller ve rutillenmiş testosteron türevi reaksiyon karışımına eklendi ve kompleksler biyotinstreptavidin etkileşimleriyle katı faza bağlandı. Reaksiyon karışımı ölçüm hücrelerine aktarılıp mikropartiküller bir elektrotun yüzeyine manyetik olarak tutularak bağlanmamış numune, elektrota voltaj uygulanarak bir kemilüminesan reaksiyon başlatılmadan önce yıkandı. Kemilüminesans yöntemi (Roche ® Cobas e411, Germany) ile numune içindeki testosteron konsantrasyonu bir kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplandı.

Tiyol ticari olarak temin edilen kit (Relassay Diagnostics, Türkiye, No: RL0178) kullanılarak ölçüldü. Tiyol tayininde kullanılan yöntem; tiyoller 5, 5'-ditiyobis- (2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile etkileşime girerek, 412 nm'de maksimum pik ile yüksek oranda renkli bir anyon oluşturması esasına dayanır. Absorbans, numunenin toplam tiyol içeriği ile orantılı olduğundan dolayı bileşik renginin 412 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak (Robonik® ELISA Plate Analyzer, Maharashtra, India) ölçümü ile elde edilen değerler ile istatistiksel karşılaştırmalar yapıldı.

Glutatyon Peroksidaz ticari olarak temin edilen kit (Relassay Diagnostics, Türkiye, No: RL1243) kullanılarak ölçüldü. Rat glutatyon peroksidaz-1'i (GSH-Px-1) test etmek için biyotin çift antikorlu sandviç teknolojisine dayalı ELISA testi kullanıldı. Glutatyon peroksidaz-1 (GSH-Px-1) monoklonal antikor ile önceden kaplanmış ve daha sonra inkübe edilen kuyucuklara glutatyon peroksidaz-1 (GSH-Px-1) eklendi. Bundan sonra, bağışıklık kompleksi oluşturan streptavidin-HRP ile birleşmek için biyotinle işaretlenmiş anti GSH-Px-1 antikorları eklendi. İnkübasyon ve yıkamadan sonra bağlanmamış enzimler ve substrat muamelesi sonrası (GSH-Px-1) konsantrasyonu pozitif olarak korele olarak ELISA cihazı (Robonik® ELISA Plate Analyzer, Maharashtra, India) ile ölçüldü. Elde edilen değerler ng/ml olarak belirtildi.

3.2.16. İstatistiksel analiz

Çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde; değişkenlerin normal dağılıma uygun olup olmadıkları Shapiro Wilk testi ile incelendi. Normallik varsayımı sağlandığı durumda sürekli yapıdaki veriler ortalama±standart sapma, sağlanmadığı durumda medyan [min.-max.] cinsinden özetlendi. Kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde cinsinden ifade edildi. İki den fazla bağımsız grup karşılaştırılmasında normal dağılım varsayımı sağlandığı durumda One-Way ANOVA, farklılık çıkması durumunda farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek amacıyla varyanslar homojen ise post hoc test olarak Bonferroni, varyanslar homojen değilse Tamhane's T2 kullanıldı. Normal dağılım varsayımı sağlanmadığı durumda Kruskal-Wallis testi uygulandı ve anlamlı fark olması durumunda farkın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek amacıyla Mann

Whitney U testi ile ikili karşılaştırmalar gerçekleştirildi. İstatistik anlamlılık seviyesi $p \leq 0,05$ olarak alındı. Elde verilerin istatistiksel analizleri, SPSS 20.0 ile yapıldı.



4. BULGULAR

4.1. MORFOMETRİK ÖLÇÜMLER İLE İLGİLİ BULGULAR

4.1.1. Vücut Ağırlığı ile İlgili Bulgular

Her grupta vücut ağırlıkları çalışmanın başlangıcında ve sonrasında haftada bir tartılarak kaydedildi (Tablo 2-5).

Tablo 2. Kontrol grubu vücut ağırlığı ölçüm değerleri

Denek no.	Başlangıç	1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta
1	283	310	342	350	358
2	276	300	311	321	330
3	293	320	355	374	384
4	301	329	358	372	387
5	306	330	376	381	385
6	298	324	336	349	358
7	269	286	294	313	321
8	288	313	356	364	370
Ortalama \pm ss	289,25 \pm 12,74	314,0 \pm 15,18	341,0 \pm 26,91	353,0 \pm 24,94	361,62 \pm 25,18

Tablo 3. EMA grubunda vücut ağırlığı ölçüm değerleri

Denek no.	Başlangıç	1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta
1	314	318	340	362	388
2	300	312	330	347	364
3	296	317	330	348	370
4	312	326	333	339	357
5	271	294	307	330	354
6	281	291	302	314	329
7	279	294	301	316	342
8	324	327	340	359	381
Ortalama \pm ss	293,67 \pm 20,52	305,89 \pm 18,30	318,78 \pm 19,90	335,0 \pm 21,46	355,44 \pm 23,98

Tablo 4. EMA+CAPE grubunda vücut ağırlığı ölçüm değerleri

Denek no.	Başlangıç	1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta
1	318	308	320	340	346
2	355	341	366	377	403
3	277	259	261	258	254
4	288	279	298	309	323
5	316	310	332	321	331
6	295	290	313	317	329
7	279	272	281	292	288
8	300	286	291	307	315
Ortalama ± ss	303,50 ± 25,76	293,12 ± 25,82	307,75 ± 32,59	315,12 ± 34,61	323,62 ± 43,22

Tablo 5. CAPE grubunda vücut ağırlığı ölçüm değerleri

Denek no.	Başlangıç	1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta
1	314	281	316	318	324
2	324	310	339	351	370
3	321	258	284	328	341
4	325	313	332	340	360
5	320	311	315	322	326
6	321	317	332	336	350
7	297	273	288	296	302
8	324	280	296	302	308
Ortalama ± ss	319,33 ± 9,25	293,44 ± 21,06	313,0 ± 19,91	324,0 ± 17,51	335,66 ± 22,78

Dört gruptaki sıçanlar başlangıçtaki ağırlıkları açısından karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,008$). Farkın hangi gruplardan kaynaklandığını belirlemek için yapılan post hoc testler CAPE grubundaki sıçanların kontrol ve EMA grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı olarak daha ağır olduğunu göstermiştir (sırasıyla $p=0,001$ ve $p=0,033$) (Tablo 6).

Tablo 6. Deney gruplarının başlangıç haftasında vücut ağırlıkları açısından karşılaştırma istatistikleri

Başlangıç	(I) grup	(J) grup	Ortalama fark (I-J)	Standart hata	Sig.
Tamhane	Kontrol	EMA	-4,41667	8,19038	,996
		EMA+CAPE	-14,25000	10,16076	,718
		CAPE	-30,08333*	5,45681	,001
	EMA	Kontrol	4,41667	8,19038	,996
		EMA+CAPE	-9,83333	11,39166	,955
		CAPE	-25,66667*	7,50370	,033
	EMA+CAPE	Kontrol	14,25000	10,16076	,718
		EMA	9,83333	11,39166	,955
		CAPE	-15,83333	9,61584	,583
	CAPE	Kontrol	30,08333*	5,45681	,001
		EMA	25,66667*	7,50370	,033
		EMA+CAPE	15,83333	9,61584	,583

Dört gruptaki sıçanlar 1., 2., 4. haftalardaki ağırlıkları açısından karşılaştırıldığında, gruplar arasında bu haftalardaki sıçan ağırlıkları açısından istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadı (sırasıyla $p=0,128$; $p=0,060$; $p=0,051$).

Dört gruptaki sıçanlar 3. haftadaki ağırlıkları açısından karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulundu ($p=0,030$). Farkın hangi gruplardan kaynaklandığını belirlemek için yapılan post hoc testler kontrol grubundaki sıçanların ağırlığının EMA+CAPE grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğunu gösterdi ($p=0,025$) (Tablo 7).

Tablo 7. Deney grupları arasında 3. haftada vücut ağırlıkları açısından karşılaştırma istatistikleri

3. hafta	(I) grup	(J) grup	Ortalama fark (I-J)	Standart hata	p
Tukey HSD	Kontrol	EMA	18,00000	12,19078	,464
		EMA+CAPE	37,87500*	12,54421	,025
		CAPE	29,00000	12,19078	,103
	EMA	Kontrol	-18,00000	12,19078	,464
		EMA+CAPE	19,87500	12,19078	,378
		CAPE	11,00000	11,82680	,789
	EMA+CAPE	Kontrol	-37,87500*	12,54421	,025
		EMA	-19,87500	12,19078	,378
		CAPE	-8,87500	12,19078	,885
	CAPE	Kontrol	-29,00000	12,19078	,103
		EMA	-11,00000	11,82680	,789
		EMA+CAPE	8,87500	12,19078	,885

4.1.2. Testis ağırlıkları ile ilgili bulgular

Testis ağırlıklarına göre grupların karşılaştırılmasında veriler normal dağılıma uymadığı için Kruskal-Wallis testi uygulandı (Tablo 8).

Tablo 8. Deney sonunda deney gruplarının testis ağırlık ölçüm sonuçları

		Ortalama	Standart Sapma	Ortanca	En küçük değer	En büyük değer
Sol Testis	Kontrol	1,50	1,23	1,54	1,26	1,63
	EMA	1,37	0,06	1,37	1,28	1,46
	EMA+CAPE	1,35	0,21	1,38	0,94	1,65
	CAPE	1,41	0,18	1,40	1,07	1,70
Sağ Testis	Kontrol	1,51	0,07	1,51	1,37	1,59
	EMA	1,40	0,25	1,32	1,24	2,00
	EMA+CAPE	1,35	0,21	1,40	0,91	1,58
	CAPE	1,39	0,06	1,37	1,33	1,48

Gruplar sol testis ağırlıklarına göre karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı bir sonuç bulunmadı ($p=0,205$).

Gruplar sağ testis ağırlıklarına göre karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı bir sonuç bulunmadı ($p=0,261$).

4. 2. SPERM KONSANTRASYONU İLE İLGİLİ BULGULAR

Deney sonunda dört gruptan PBS içine alınan epididimal sperm süspansiyonundan 10 µl alınarak Makler sayım kamarasında sperm sayımı yapıldı ve seyreltme oranı ile çarpılarak konsantrasyonları kaydedildi.

Uygulanacak istatistik testine karar vermek için, her bir grup için normallik testi yapılmıştır. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogrov-Smirnov testi ve grafikler üzerinden incelenmiş ve tüm grupların normal dağılıma uyduğuna karar verilmiştir. Grupların konsantrasyon açısından karşılaştırılmasında One-Way

ANOVA testi kullanıldı. Deney gruplarına ait tanımlayıcı veriler Tablo 9'da özetlenmiştir.

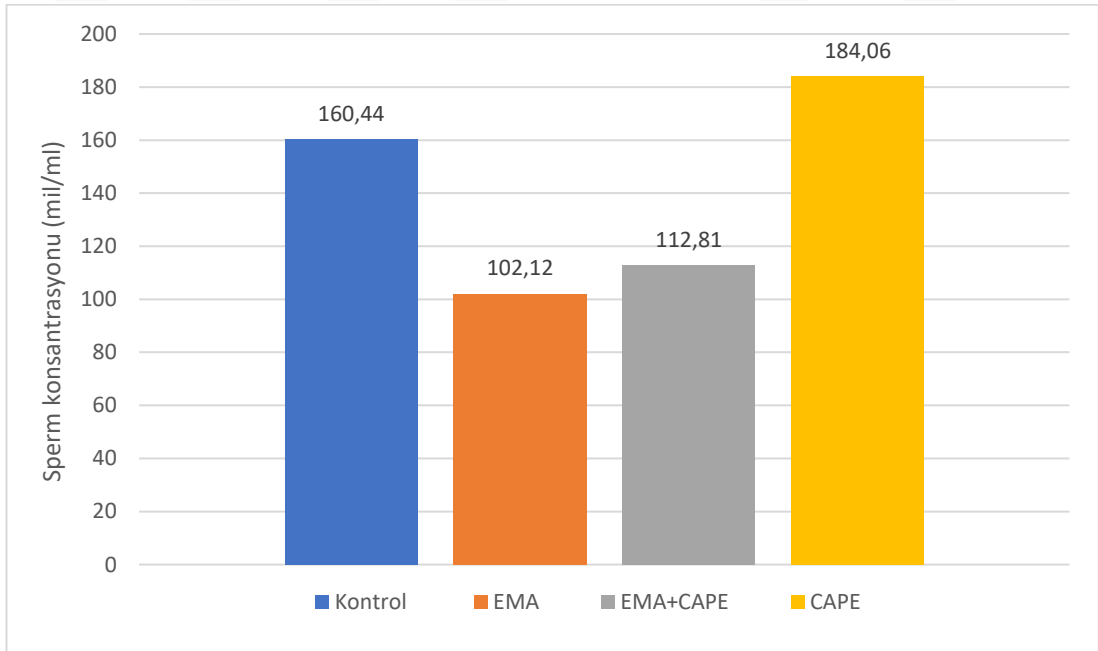
Tablo 9. Deney sonunda deney gruplarının sperm konsantrasyonu sonuçları

Denek no.	Kontrol	EMA	EMA+CAPE	CAPE
1	133	69	91	202,5
2	187	101	97,5	194,5
3	154	141,5	121	215
4	209,5	56,5	145,5	207
5	129	130,5	87	140,5
6	135,5	110	107	140,5
7	184,5	53	155	216
8	151	155,5	98,5	156,5
Ortalama \pm ss	160,44 \pm 29,72	102,12 \pm 39,39	112,81 \pm 25,44	184,06 \pm 32,75

Dört grubun sperm konsantrasyonları One-Way ANOVA testi ile karşılaştırılmış ve gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulundu ($p=0,000$). Farkın hangi grup/ gruplardan kaynaklandığını anlamak için post hoc test uygulanmıştır. Post hoc testi sonucunda kontrol grubunun sperm konsantrasyonunun EMA ve EMA+CAPE gruplarından istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu görüldü (sırasıyla $p=0,06$ ve $0,030$). Ayrıca CAPE grubunun sperm konsantrasyonunun EMA ve EMA+CAPE gruplarından istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu bulundu (sırasıyla $p=0,000$ ve $p=0,001$) (Tablo 10) (Şekil 9).

Tablo 10. Deney gruplarının sperm konsantrasyonu bakımından karşılaştırmalı istatistikleri

	(I) grup	(J) grup	Ortalama fark (I-J)	Standart hata	p
Tukey HSD	Kontrol	EMA	58,31250*	16,11421	,006
		EMA+CAPE	47,62500*	16,11421	,030
		CAPE	-23,62500	16,11421	,471
	EMA	Kontrol	-58,31250*	16,11421	,006
		EMA+CAPE	-10,68750	16,11421	,910
		CAPE	-81,93750*	16,11421	,000
	EMA+CAPE	Kontrol	-47,62500*	16,11421	,030
		EMA	10,68750	16,11421	,910
		CAPE	-71,25000*	16,11421	,001
	CAPE	Kontrol	23,62500	16,11421	,471
		EMA	81,93750*	16,11421	,000
		EMA+CAPE	71,25000*	16,11421	,001



Şekil 9. Deney gruplarında sperm konsantrasyonu ortalamalarının grafiği

4. 3. SPERM MOTİLİTESİ İLE İLGİLİ BULGULAR

Örneklerde Makler sayım kamarasında 10 karede ileri hareketli, yerinde hareketli, hareketsiz spermilerin sayımı değerlendirme yapıldı.

Gruplar arasında toplam motilite, ileri hareketli, yerinde hareketli, hareketsiz parametreler açısından fark olup olmadığını karşılaştırmadan önce verilerin normal dağılıma uyup uymadığını karşılaştırmak üzere Shapiro Wilk testi uygulandı. Test sonuçlarına göre tüm gruplarda toplam motilite verisi normal dağılıma uyduğu için One-Way ANOVA ile ileri hareketli, yerinde hareketli, hareketsiz parametreler verilerinde normal dağılıma uymayan gruplar olması nedeniyle Kruskal Wallis testi uygulanmasına karar verildi.

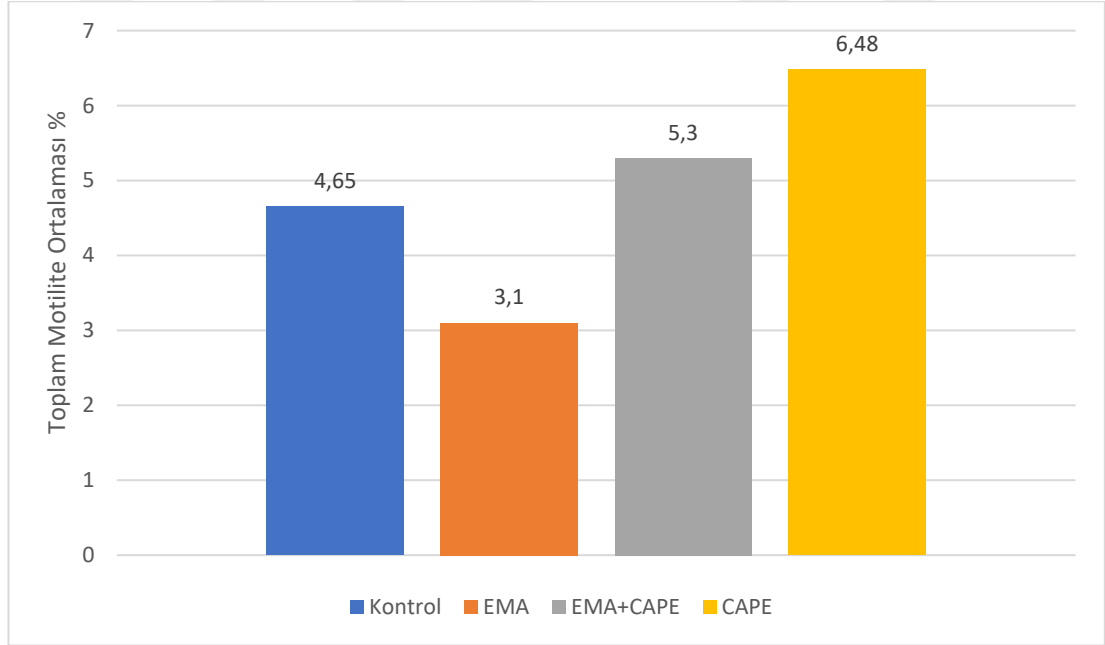
Dört grubun toplam motilite verileri karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,170$) (Tablo 11-12) (Şekil 10).

Tablo 11. Deney gruplarının semende toplam motilite istatistikleri

Denek no.	Kontrol	EMA	EMA+CAPE	CAPE
1	5,26	5,8	10,7	6,2
2	3,74	1	2,6	2,4
3	2,6	1	2,3	3,8
4	2,15	3,5	2,9	3,4
5	6,97	2,2	8,8	9,97
6	4,1	4,5	1,9	3,9
7	5,14	1,1	9,7	11,6
8	7,28	5,7	3,5	10,6
Ortalama \pm sd	4,65 \pm 1,87	3,10 \pm 2,06	5,30 \pm 3,73	6,48 \pm 3,69

Tablo 12. Deney gruplarının semende toplam motilite karşılaştırmalı istatistikleri

Toplam Motilite	(I) grup	(J) grup	Ortalama fark (I-J)	Standart hata	p
Tamhane	Kontrol	EMA	1,55500	,98465	,586
		EMA+CAPE	-,64500	1,47669	,999
		CAPE	-1,82875	1,46332	,806
	EMA	Kontrol	-1,55500	,98465	,586
		EMA+CAPE	-2,20000	1,50843	,680
		CAPE	-3,38375	1,49534	,241
	EMA+CAPE	Kontrol	,64500	1,47669	,999
		EMA	2,20000	1,50843	,680
		CAPE	-1,18375	1,85664	,990
	CAPE	Kontrol	1,82875	1,46332	,806
		EMA	3,38375	1,49534	,241
		EMA+CAPE	1,18375	1,85664	,990

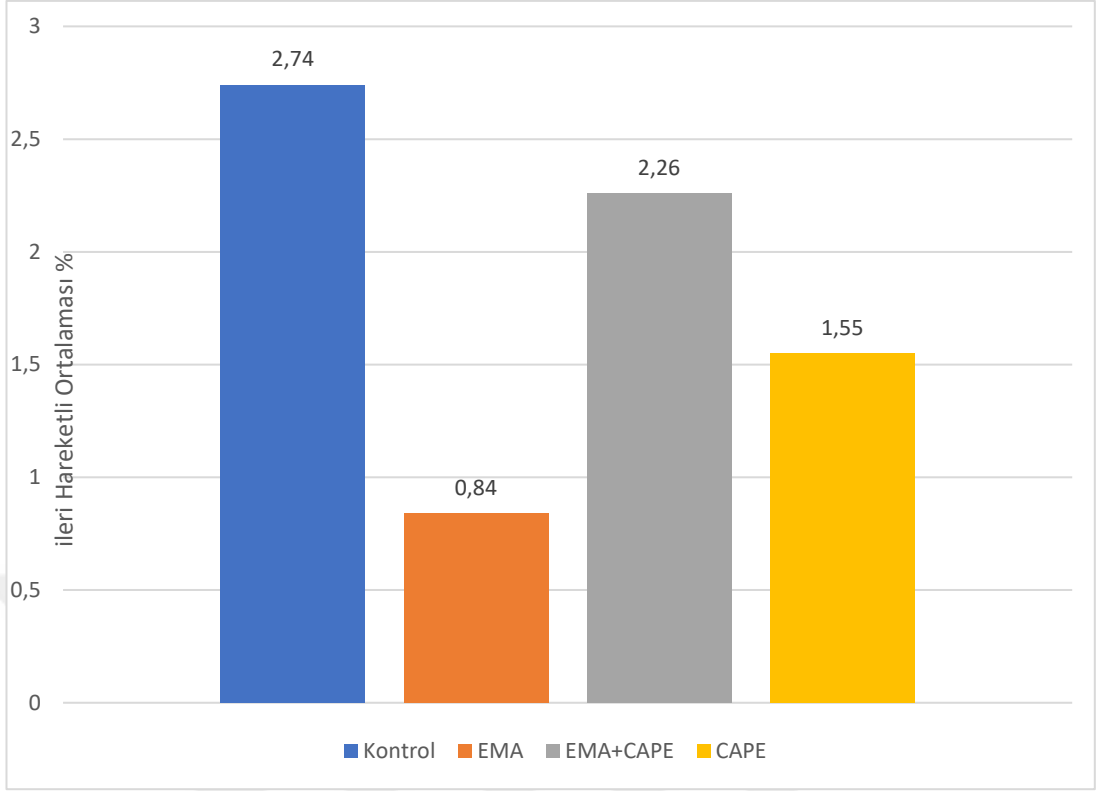


Şekil 10. Semende toplam motilite ortalamaları grafiği

Dört grubun ileri hareketli verileri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark olduğu görüldü ($p=0,014$). Farkın hangi gruplardan kaynaklandığını bulmak için yapılan ikili karşılaştırmalarda kontrol grubunun EMA grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha büyük ileri hareketli değerlerine sahip olduğu görüldü. Gruplar arasında ileri hareketli motilitenin karşılaştırmalı istatistikleri Tablo 13'te ve grupların ileri hareketli motilite ortalamalarının grafiği Şekil 11'de gösterilmiştir.

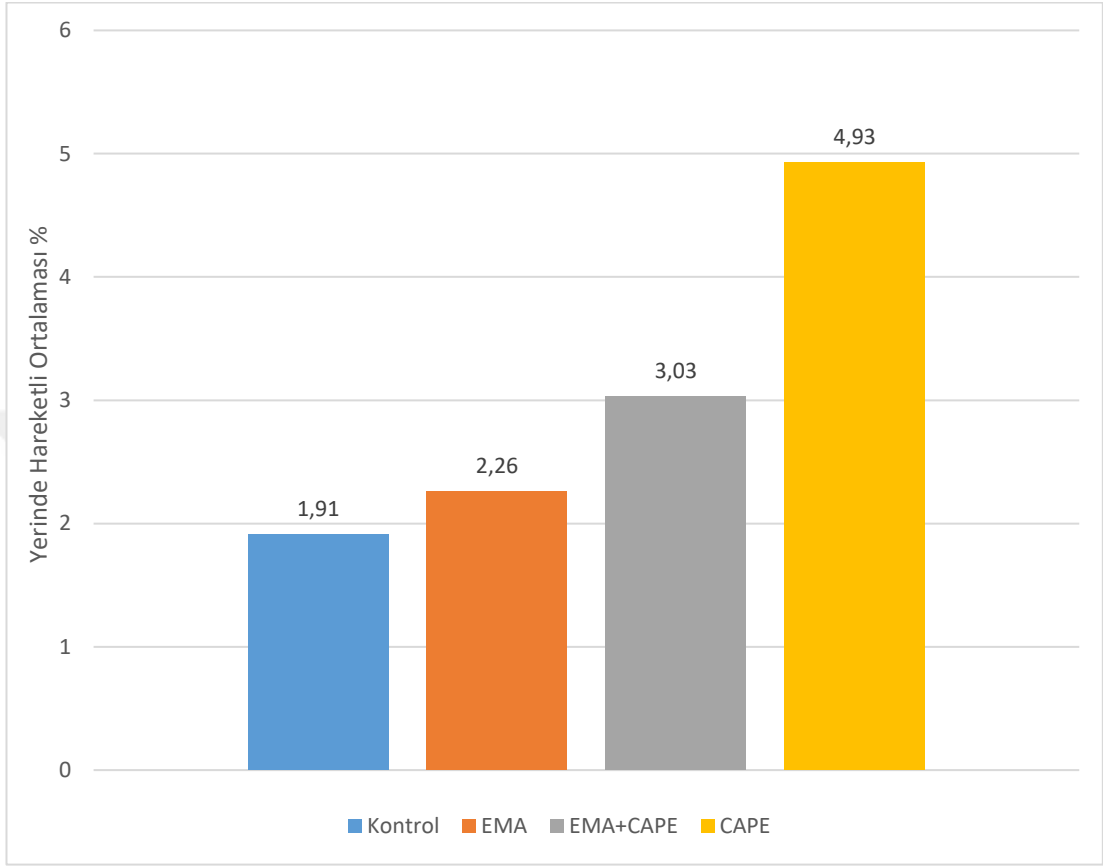
Tablo 13. Deney gruplarının semende ileri hareketli motilite karşılaştırmalı istatistikleri

İleri hareketli	(I) grup	(J) grup	Ortalama fark (I-J)	Standart sapma	p
Tamhane	Kontrol	EMA	1,90625*	,52599	,018
		EMA+CAPE	,48125	,78049	,992
		CAPE	1,19250	,64385	,417
	EMA	Kontrol	-1,90625*	,52599	,018
		EMA+CAPE	-1,42500	,73894	,402
		CAPE	-,71375	,59279	,824
	EMA+CAPE	Kontrol	-,48125	,78049	,992
		EMA	1,42500	,73894	,402
		CAPE	,71125	,82698	,956
	CAPE	Kontrol	-1,19250	,64385	,417
		EMA	,71375	,59279	,824
		EMA+CAPE	-,71125	,82698	,956



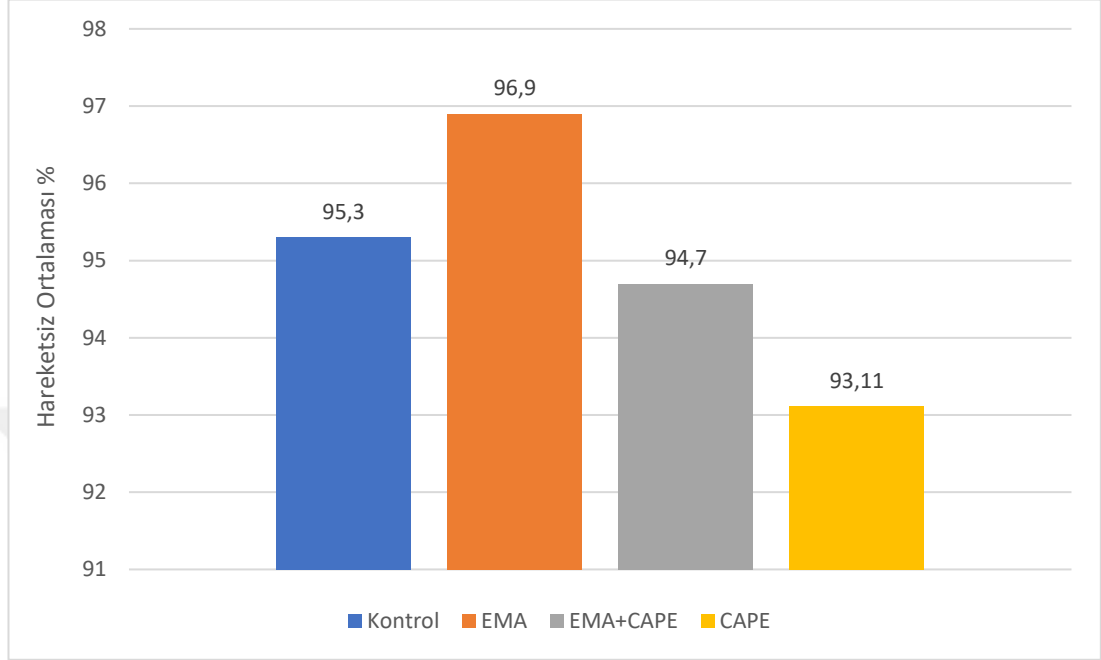
Şekil 11. Semende ileri hareketli motilite ortalamalarının grafiği

Dört grup yerinde hareketli açısından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ($p=0,174$) ve Şekil 12'de grafiği gösterilmiştir.



Şekil 12. Semende yerinde hareketli motilite ortalamalarının grafiği

Dört grup hareketsiz motilite açısından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ($p=0,204$) (Şekil 13).



Şekil 13. Semende hareketsiz motilitelerin ortalamaları grafiği

4.4. SPERM MORFOLOJİSİ İLE İLGİLİ BULGULAR

Işık mikroskopunda x20 ve x40 objektif büyütmesinde görüntülenen dört gruptaki her sıçana ait örneklerin boyamalarında 200 spermde normal morfoloji, baş anomalisi, boyun anomalisi, kuyruk anomalisi parametrelerinin yüzdeleri hesaplandı.

Verilerin normal dağılımı Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Normal dağılıma uyan veriler One-Way ANOVA testi ile normal dağılıma uymayanlar ise Kruskal-Wallis testi ile incelendi. Gruplar arasında anlamlı fark bulunursa ileri analizlerle farkın hangi gruplardan kaynaklandığı araştırıldı. Grupların karşılaştırılması Tablo 14'te verilmiştir.

Dört grup normal morfoloji açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulundu ($p=0,024$). Farkın hangi gruplardan kaynaklandığını anlamak için yapılan

ileri analizlerde EMA+CAPE'nin EMA'dan istatistiksel anlamlı olarak büyük olduğu görüldü ($p=0,035$) (Tablo 14).

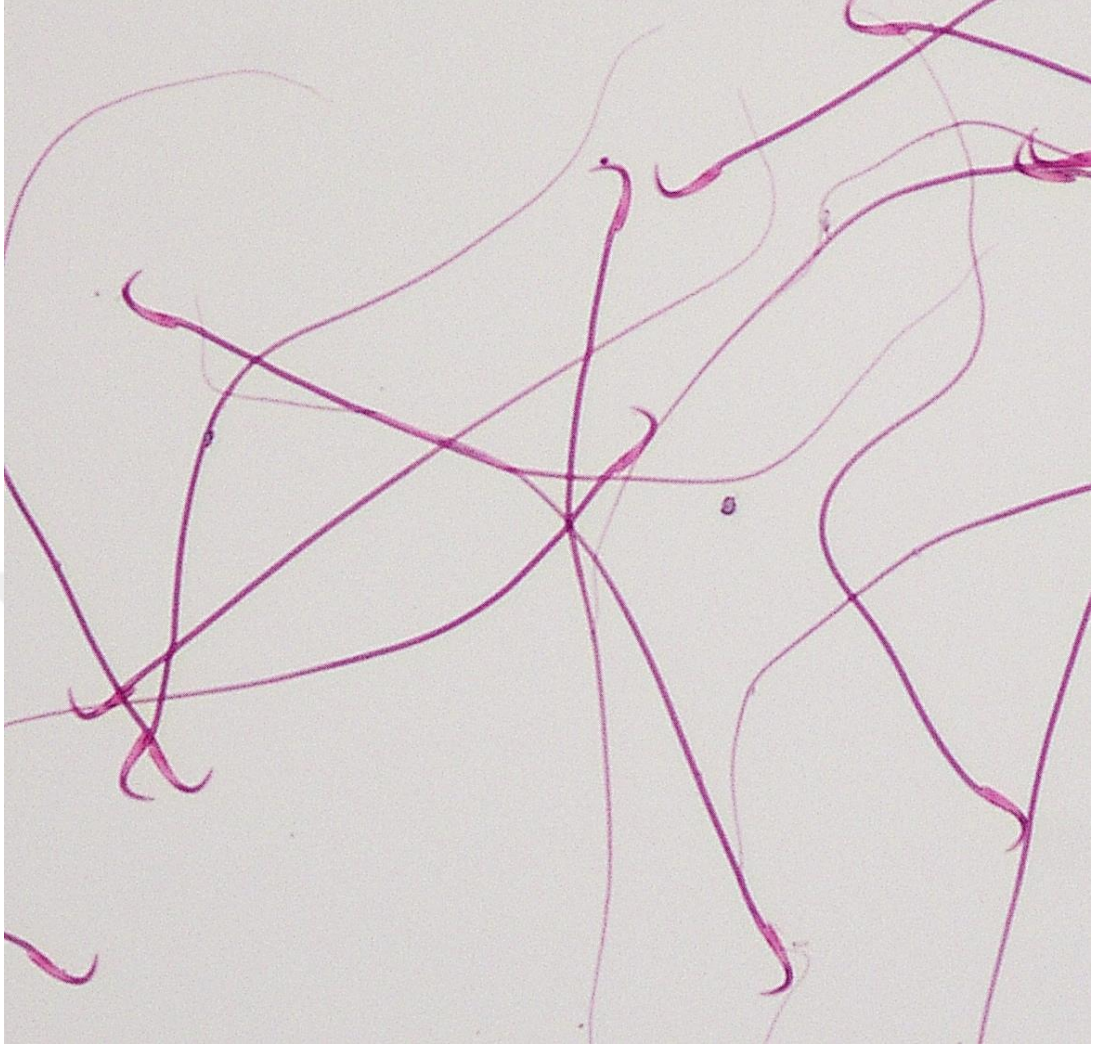
Dört grup baş anomalisi açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı bir fark bulundu ($p=0,004$). Farkın hangi gruplardan kaynaklandığını anlamak için yapılan ileri analizlerde EMA'nın EMA+CAPE ve CAPE'den istatistiksel anlamlı olarak büyük olduğu görüldü ($p=0,028$, $p=0,004$) (Tablo 14).

Dört grup arasında boyun ve kuyruk anomalileri açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadı (sırasıyla $p=0,074$; $p=0,425$) (Tablo 14).

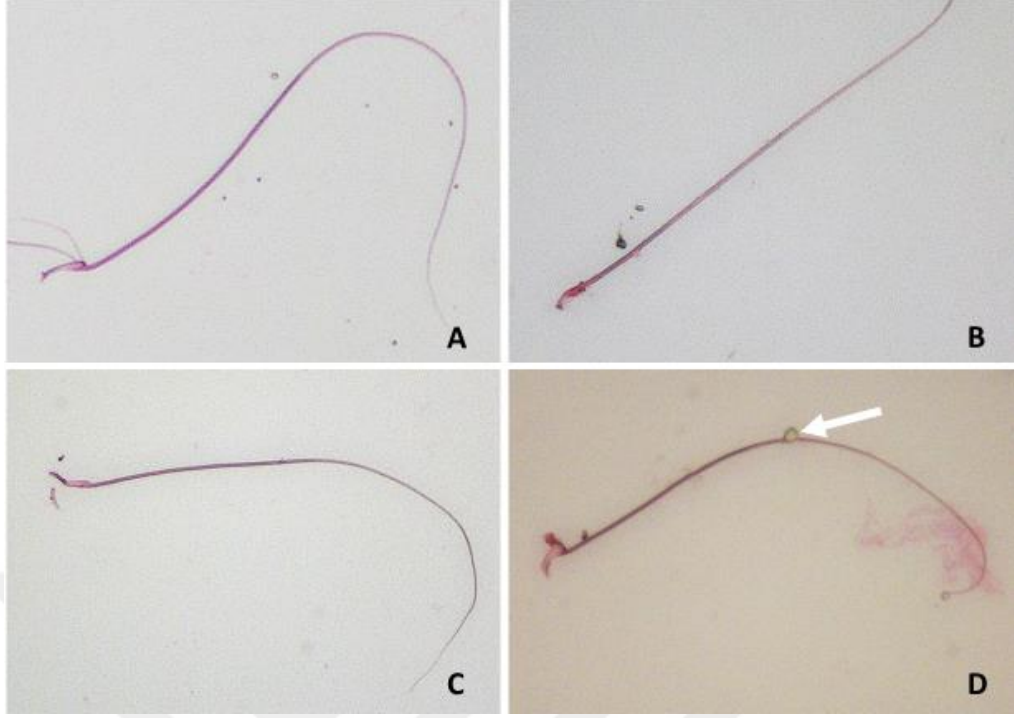
Tablo 14. Deney gruplarına ait sperm örneklerinin morfoloji yüzdeleri

		Ortalama	Standart Sapma	Ortanca	En küçük değer	En büyük değer
Kontrol	Normal Morfoloji	91,49	3,64	91,70	87,00	96,40
	Baş Anomalisi	4,20	2,96	3,85	1,20	9,66
	Boyun Anomalisi	1,87	2,19	1,21	0,60	7,25
	Kuyruk Anomalisi	2,43	1,63	1,62	1,00	5,80
EMA	Normal Morfoloji	84,89	5,96	83,35	77,10	92,30
	Baş Anomalisi	7,45	2,40	7,15	4,70	10,70
	Boyun Anomalisi	3,32	1,90	3,25	1,00	6,00
	Kuyruk Anomalisi	4,34	3,25	4,35	0,80	7,80
EMA+CAPE	Normal Morfoloji	92,70	2,73	93,75	88,30	95,70
	Baş Anomalisi	3,11	1,83	2,85	0,90	6,70
	Boyun Anomalisi	2,28	0,85	2,60	0,60	3,20
	Kuyruk Anomalisi	1,90	1,50	1,60	0,60	5,40
CAPE	Normal Morfoloji	92,14	3,36	93,15	86,20	96,00
	Baş Anomalisi	2,51	1,58	1,90	1	5,60
	Boyun Anomalisi	2,86	1,53	2,70	1,10	5,10
	Kuyruk Anomalisi	2,49	1,25	2,45	1,00	4,30

Işık mikroskopunda dört gruptaki her sıçana ait örneklerin boyamalarında normal morfoloji, baş anomalisi, boyun anomalisi, kuyruk anomalisi incelenerek 20x ve 40x objektif büyütmelelerinde görüntülendi (Resim 14-21).

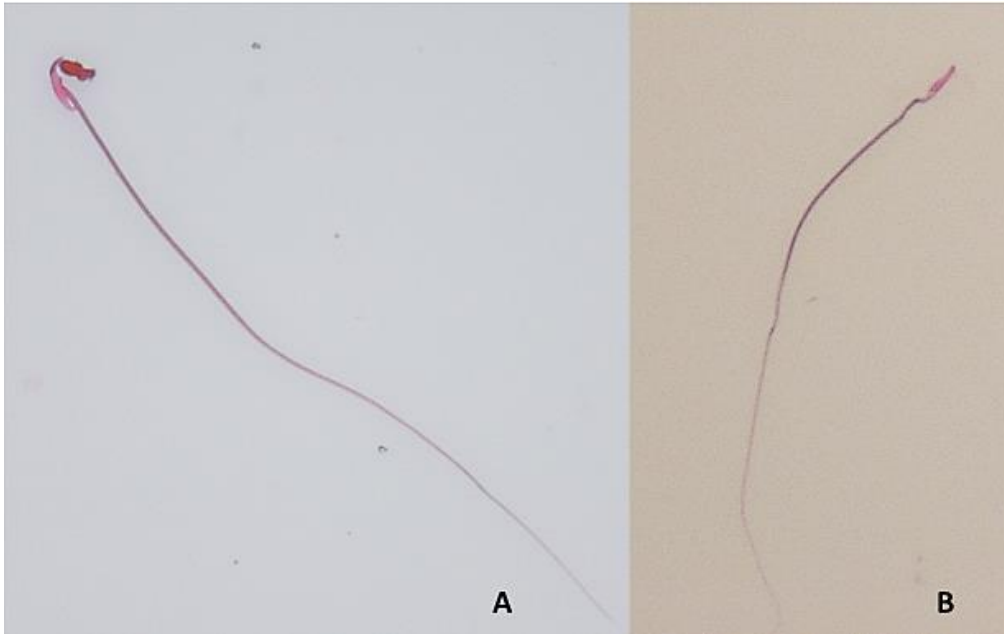


Resim 14. Kontrol grubu sıçanlarda normal morfolojide sperm örnekleri
Boya: Eosin-Y. **Objektif büyütmesi** x40.



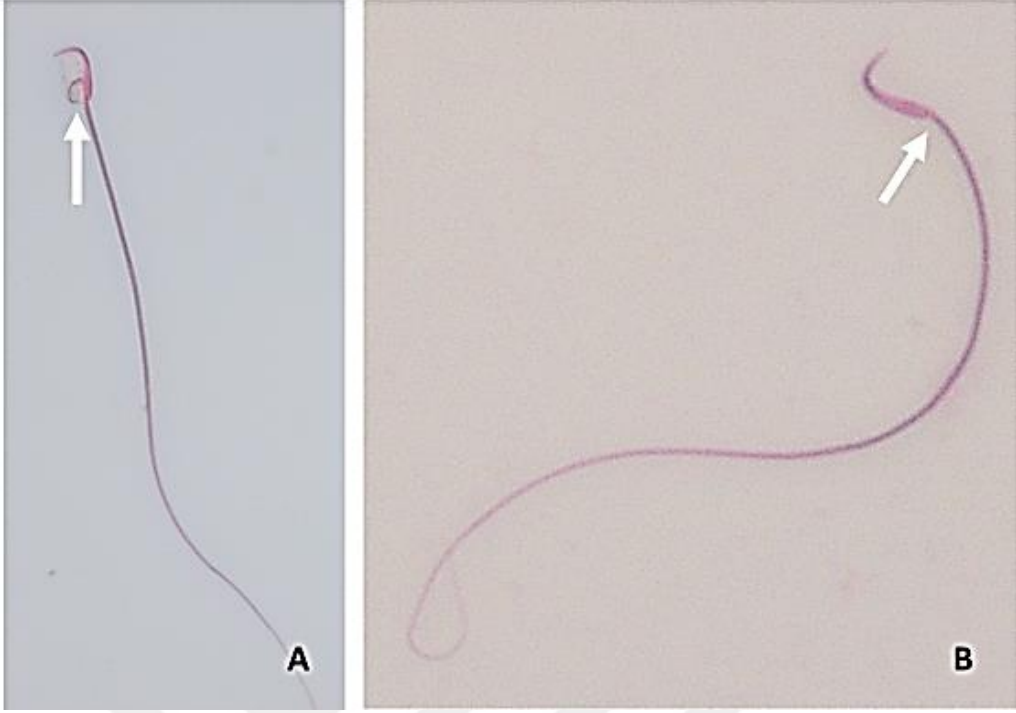
Resim 15. EMA uygulanan sıçanlarda spermde baş anomalileri.

A. çengelsiz baş. **B.** küçük baş ve boyun anomalisi. **C.** düz baş. **D.** muz şeklinde baş, ok; sitoplazmik damlacık. **Boya:** Eosin-Y. **Objektif büyütmesi** x40.



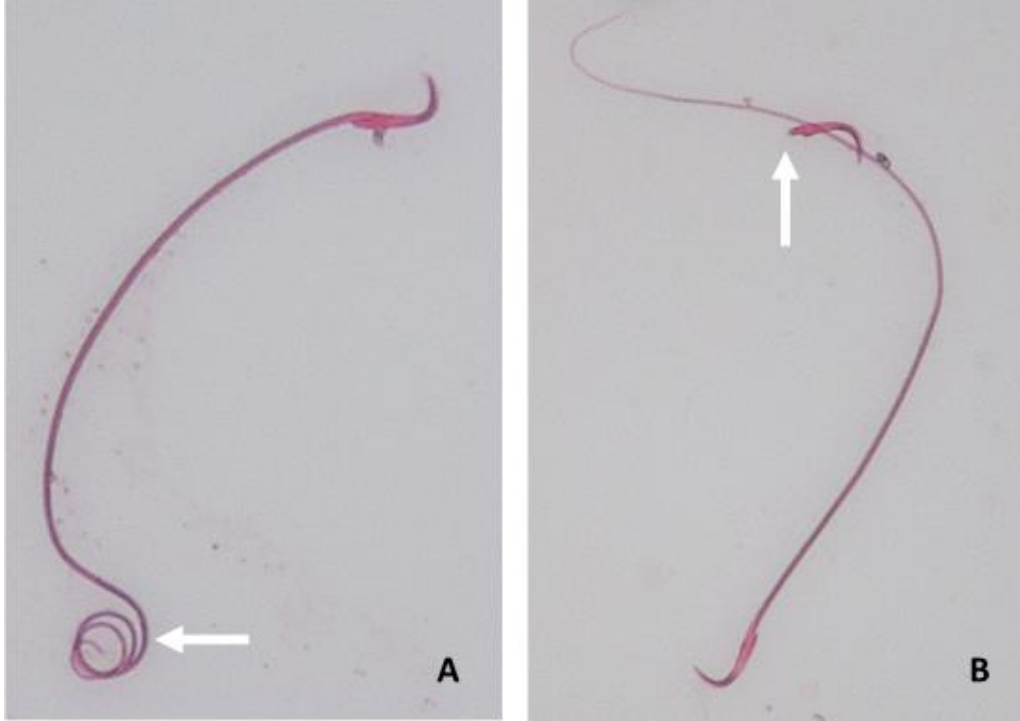
Resim 16. EMA uygulanan sıçanlarda spermde anormal morfolojiler

A. muz şeklinde baş. **B.** düz baş. **Boya:** Eosin-Y. **Objektif büyütmesi** x40.



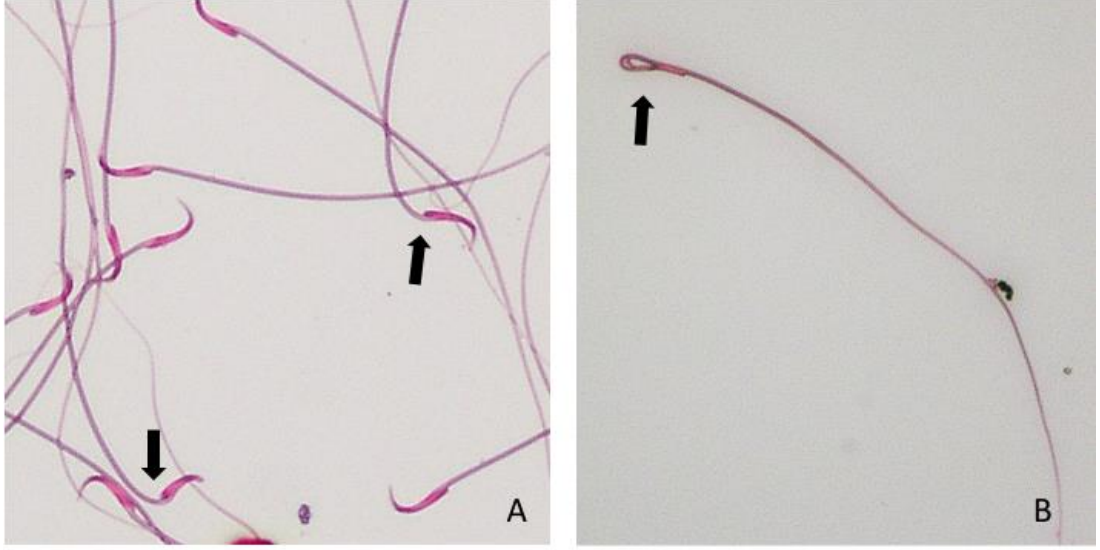
Resim 17. EMA uygulanan sıçanlarda spermde boyun anomalisi.

A. sitoplazmik damlacık. **B.** kırık boyun. **Boya:** Eosin-Y. **Objektif büyümesi** x40.

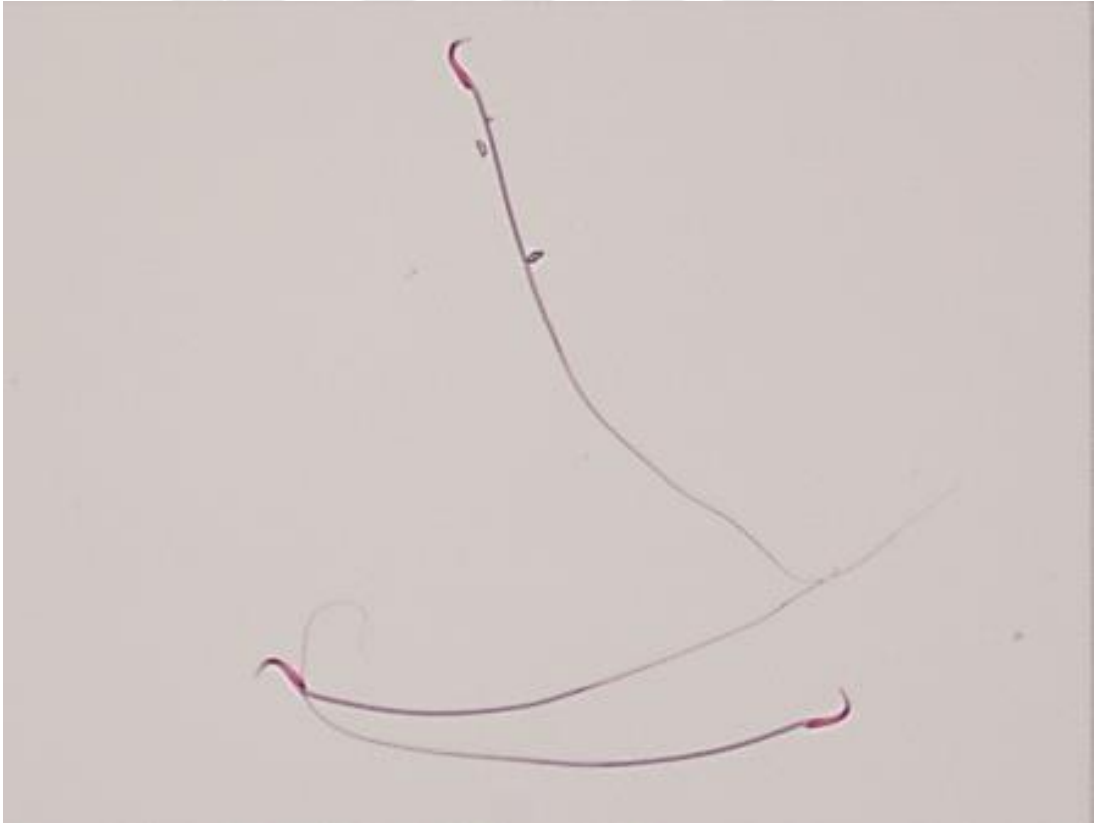


Resim 18. EMA uygulanan sıçanlarda spermde boyun ve kuyruk anomalileri.

A. Kıvrılmış kuyruk. **B.** Kuyruk yokluğu. **Boya:** Eosin-Y. **Objektif büyümesi** x40.



Resim 19. EMA+CAPE uygulanan sıçanlarda spermelerde anormal morfolojiler.
A. kırık boyun. **B.** baş anomali. **Boya:** Eosin-Y. **Objektif büyümesi** x40.



Resim 20. CAPE uygulanan sıçanlarda normal morfolojide sperm örnekleri.
Boya: Eosin-Y. **Objektif büyümesi** x40.



Resim 21. CAPE uygulanan sıçanlarda spermde kuyruk anomalisi.

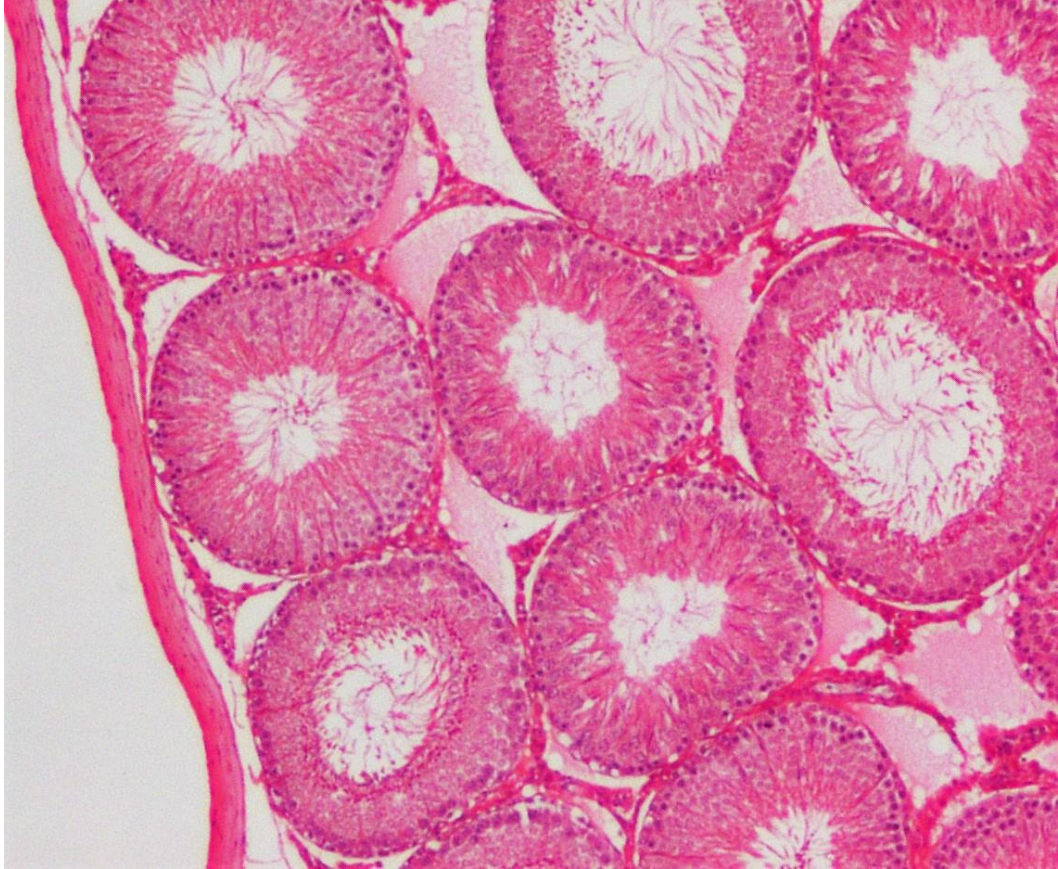
Ok; Kıvrılmış kuyruk. **Boya:** Eosin-Y. **Objektif büyütmesi** x40.

4.5. TESTİSLERİN HİSTOPATOLOJİK İNCELENMELERİ İLE İLGİLİ BULGULAR

4.5.1. Hematoksilen ve Eosin boyama ile kesitlerin incelenmesi

Boyanan örnekler ışık mikroskobu ile görüntülenerek fotoğrafları çekildi.

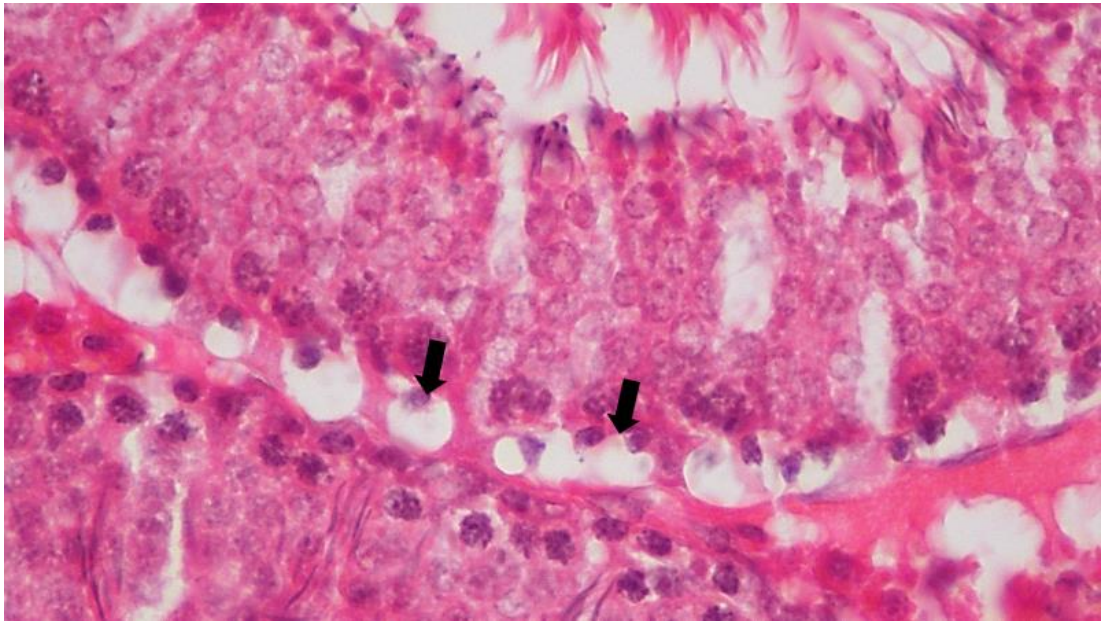
Kontrol grubundaki sıçanların testis kesitlerine ait örneklerde düzenli şekilli, normal yapıda seminifer tübüller, organize, normal yapıda germinal epitel, intersitisyel alanda normal histolojik görünümde Leydig hücreleri görülmekteydi. Seminifer tübül lümenlerinde normal görünümlü spermatozoa mevcuttur. Germinal epitelde az miktarda apoptotik hücreler bulunmaktaydı (Resim 22).



Resim 22. Kontrol grubuna ait testis kesitinin ışık mikroskobik görüntüsü.

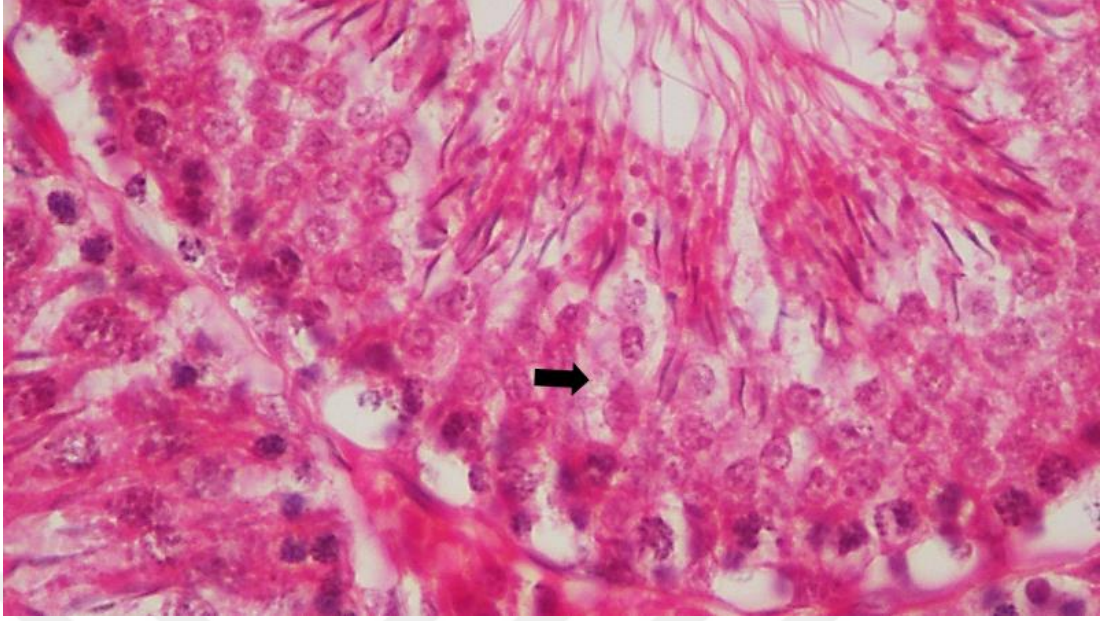
Boya: Hematoksilen ve Eosin. **Objektif büyütmesi** x10.

EMA'ya maruz bırakılan sıçanların testis kesitlerinde spermatogonyal hücrelerde vakuolar dejenerasyon, seminifer tübül epitelinde intratübüler ödem, germinal epitel hücrelerinde hücresel şişme, köpüksü sitoplazma gözlenmiştir (Resim 23-24). Yine EMA grubunda testis kesitlerinde seminifer tübül epitelinde yaygın olarak apoptotik hücreler ve apoptotik cisimler ve mitotik figürlerde artış gözlenmiştir (Resim 25-26). Bu gruba ait örneklerde bazı seminifer tübüllerde spermatogonyal hücrelerin germinal epitelden ayrıldığı ve epitelde mikrokistik alanlar olduğu görülmüştür (Resim 27-28).



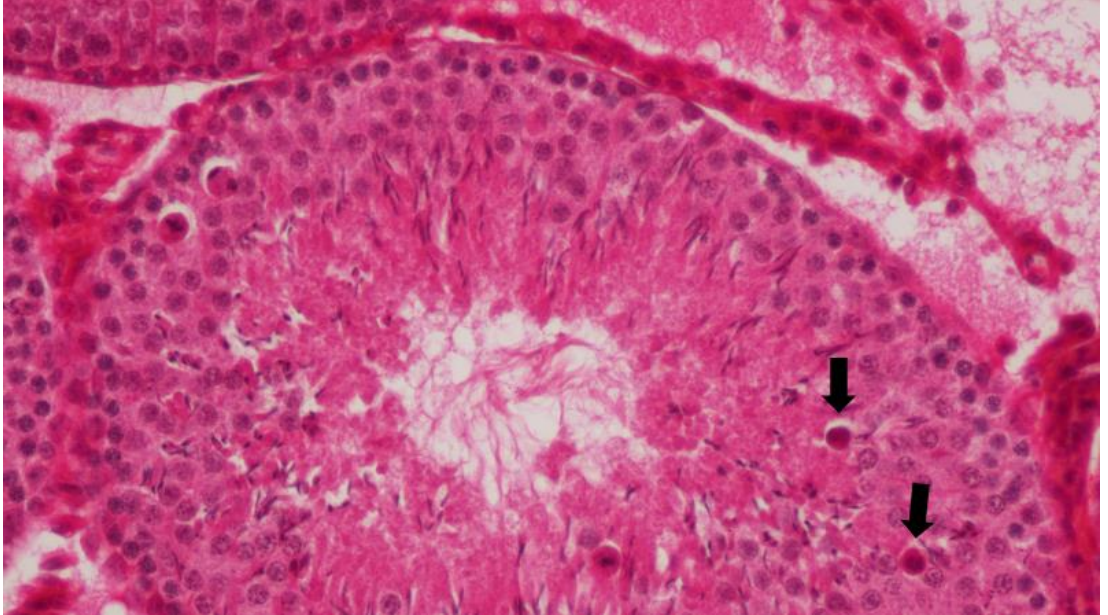
Resim 23. EMA grubuna ait testis kesitlerinde histolojik değişiklikler.

Oklar; spermatogonyal hücrelerde vakuolar dejenerasyon. **Boya:** Hematoksilen ve Eosin. **Objektif büyütmesi** x40.



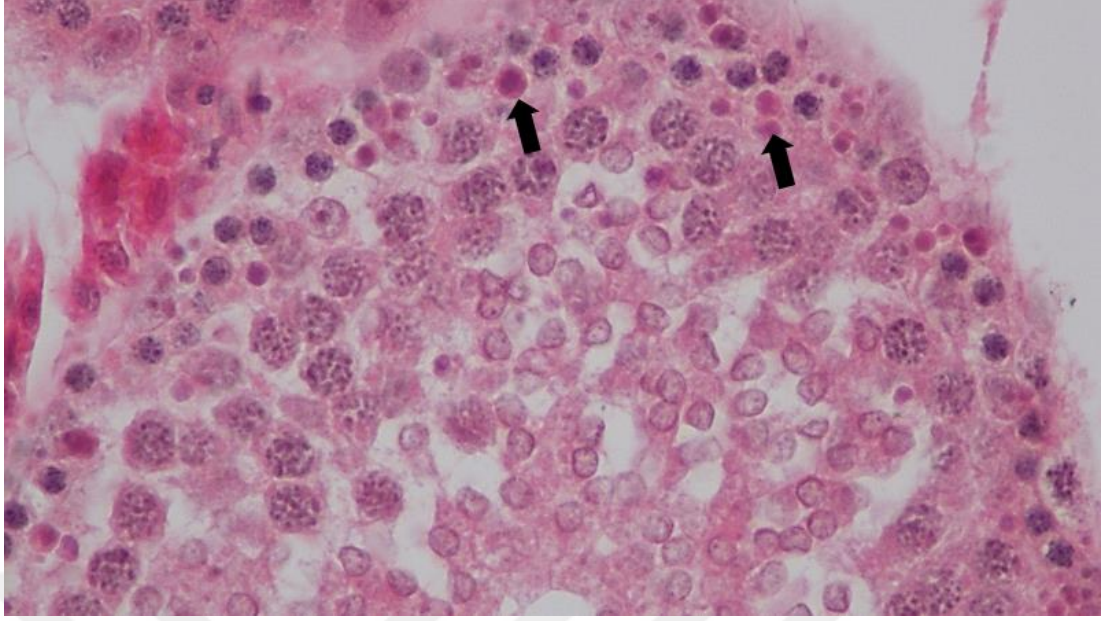
Resim 24. EMA grubuna ait testis kesitlerinde histolojik değişiklikler

Ok; germinal epitelde hücresel şişme, köpüksü sitoplazma. **Boya:** Hematoksilen ve Eosin. **Objektif büyütmesi** x20.



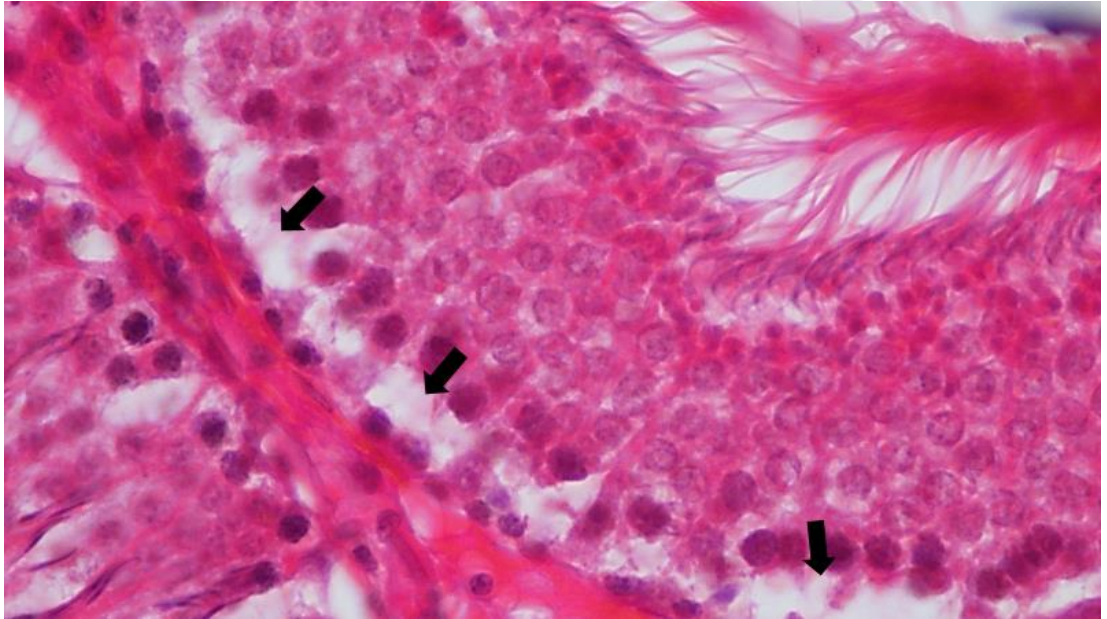
Resim 25. EMA grubuna ait testis kesitlerinde histolojik değişiklikler

Oklar; apoptotik hücreler. **Boya:** Hematoksilen ve Eosin. **Objektif büyütmesi** x20.



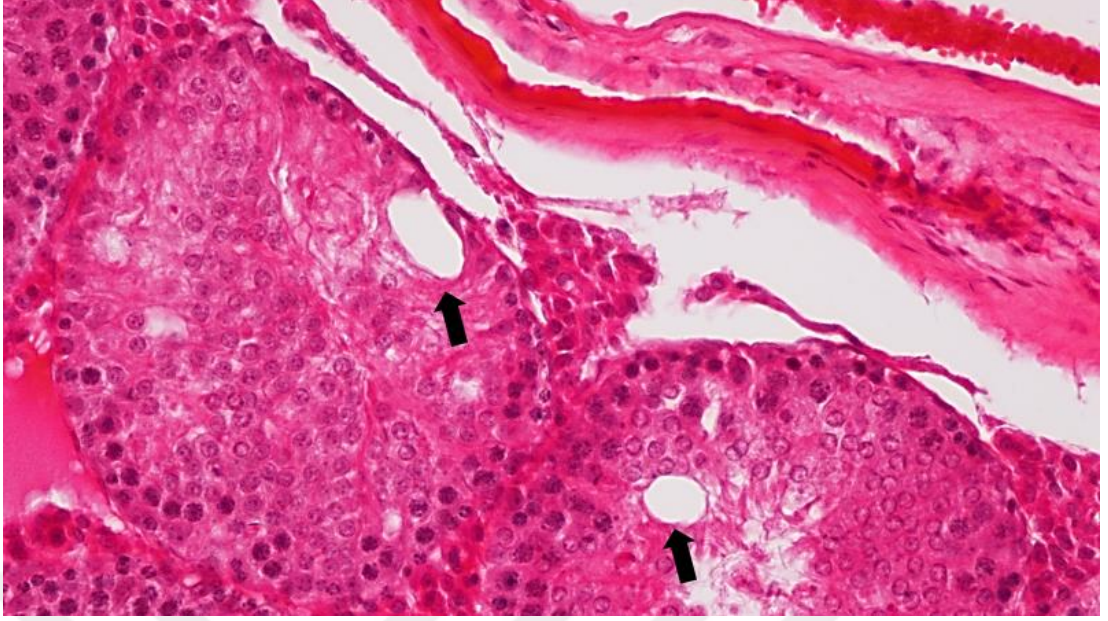
Resim 26. EMA grubuna ait testis kesitlerinde histolojik değişiklikler

Oklar; apoptotik cisimler. **Boya:** Hematoksilen ve Eosin. **Objektif büyümesi** x20.



Resim 27. EMA grubuna ait testis kesitlerinde histolojik değişiklikler

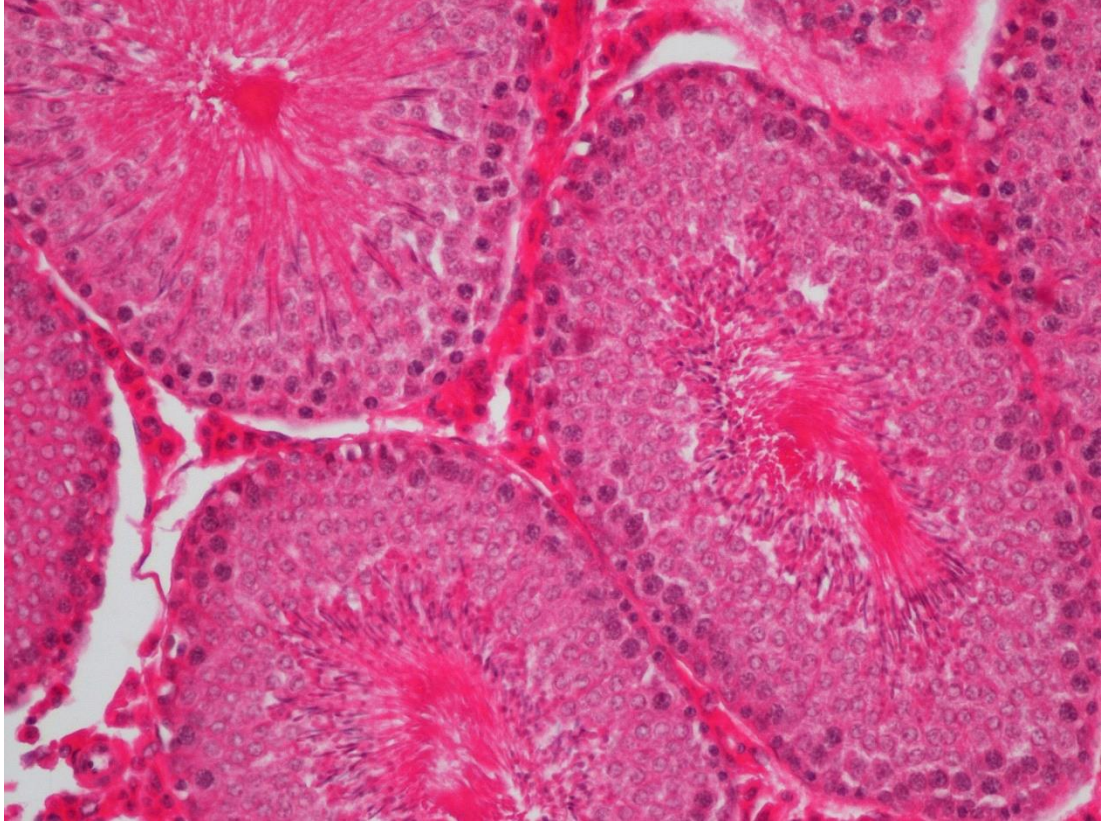
Oklar; spermatogoniyal hücrelerin germinal epitelden ayrılması. **Boya:** Hematoksilen ve Eosin. **Objektif büyümesi** x20.



Resim 28. EMA grubuna ait testis kesitlerinde histolojik değişiklikler

Oklar; Mikroistik alanlar. **Boya:** Hematoksilen ve Eosin. **Objektif büyümesi** x20.

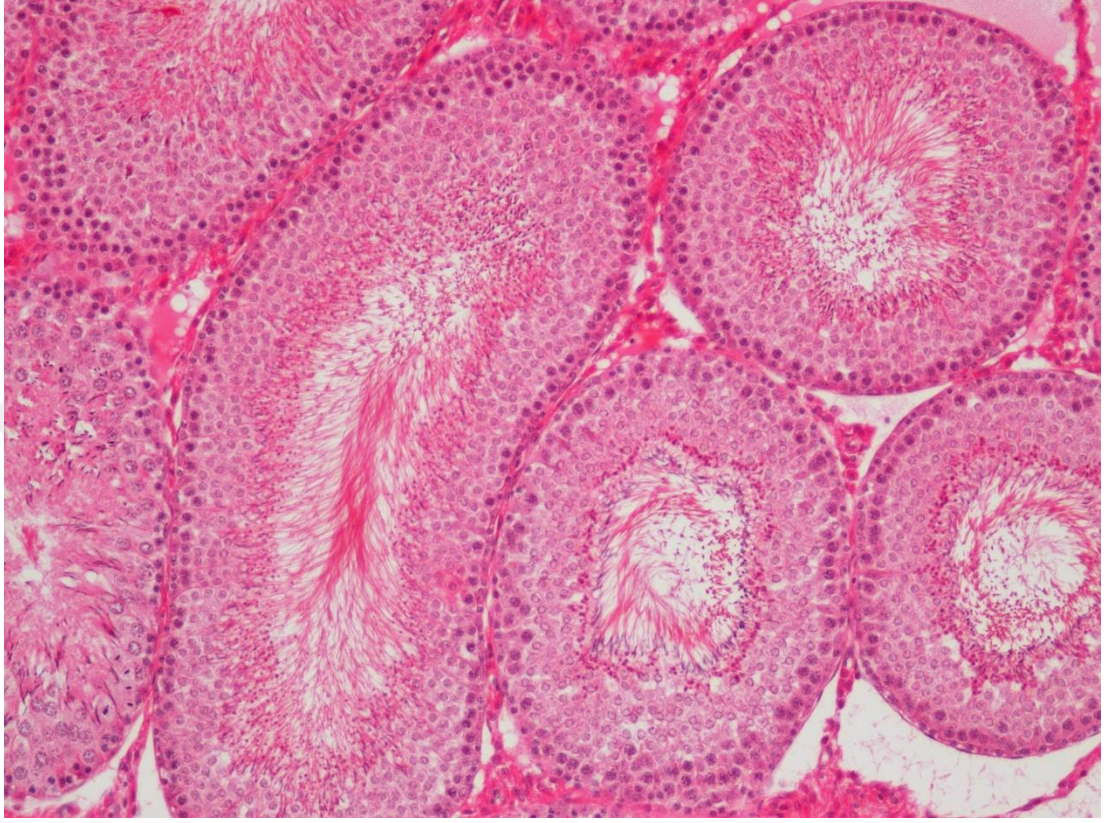
EMA+CAPE grubundaki sıçanlara ait testis kesitlerinde seminifer tübüller düzgün Şekli, çoğunlukla organize epitele sahipken bazı yerlerde spermatogoniyal hücrelerde vakuolar dejenerasyon görülmüştür (Resim 29).



Resim 29. EMA+CAPE grubuna ait testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.

Boya: Hematoksilen ve Eosin. **Objektif büyütmesi** x20.

CAPE grubundaki sıçanlara ait testis kesitlerinde seminifer tübüller düzenli şekilli, germinal epitel organize görülmektedir (Resim 30).



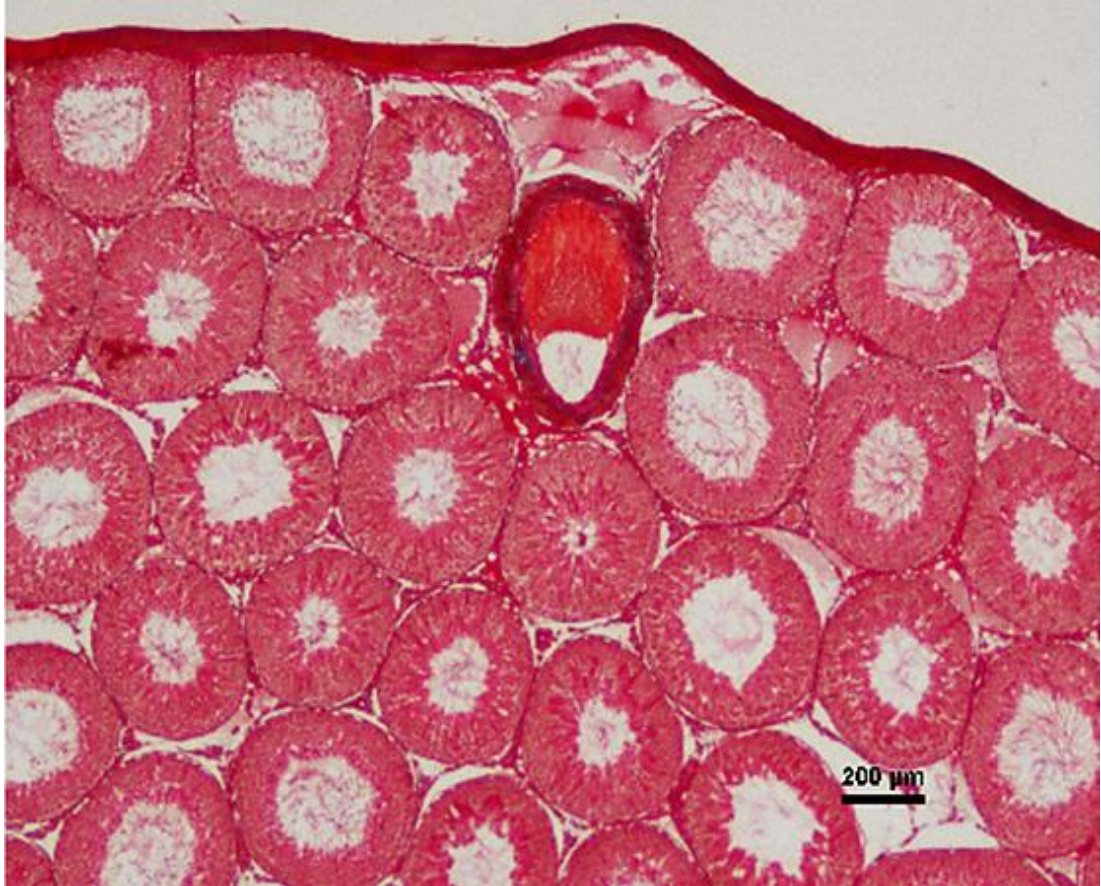
Resim 30. CAPE grubuna ait testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.

Boya: Hematoksilen ve Eosin. **Objektif büyütmesi** x20.

4.5.2. Masson Trikrom boyama ile kesitlerin incelenmesi

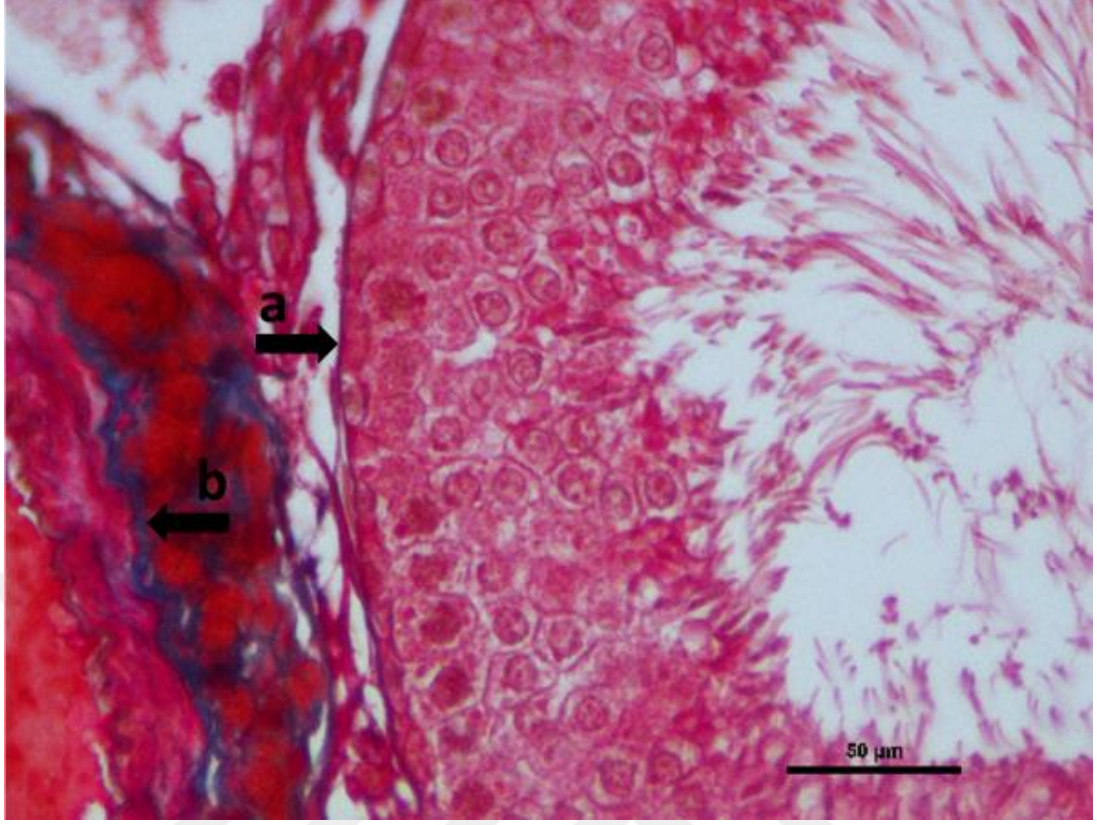
Boyanan örnekler ışık mikroskobu ile görüntülenerek fotoğrafları çekildi.

Kontrol grubu sıçanların testis kesitlerinde bazal membran intakt görülmektedir. Damar duvarında ondülan kollajen yapısı seçilmektedir (Resim 31, 32).



Resim 31. Kontrol grubundaki sıçanların testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.

Boya: Masson Trikrom. **Ölçü çubuğu:** 200 µm.



Resim 32. Kontrol grubundaki sıçanlara ait testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.

a; bazal membran. b; damar duvarında kollajen lif yapısı. **Boya:** Masson Trikrom.

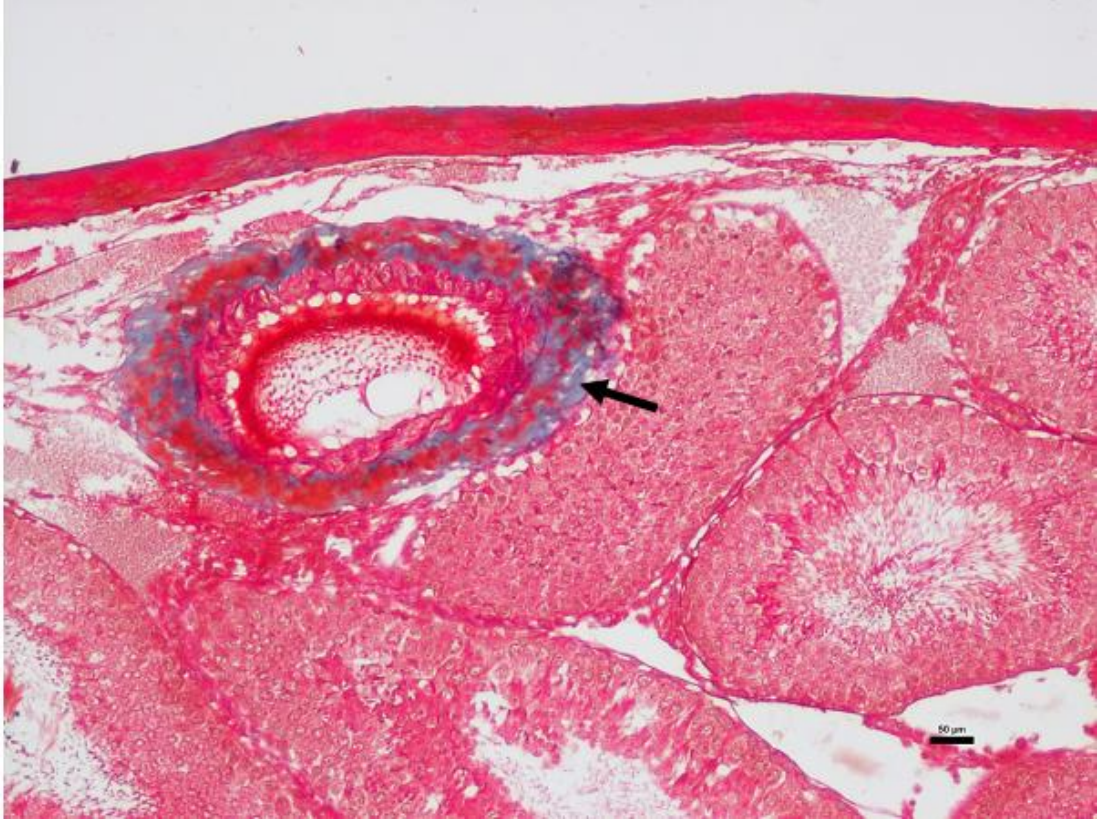
Ölçü çubuğu: 50 µm.

EMA grubundaki sıçanlara ait testis kesitlerinde tunika albuginea da kollajene özgül renkte yoğun boyanma görülmektedir. Tunika vaskülozada damarların duvar yapısında benzer şekilde yoğun kollajene özgül boyanma seçilmektedir (Resim 33).



Resim 33. EMA grubundaki sıçanlara ait testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü. **Ok;** tunika albuginea. **Boya:** Masson Trikrom. **Ölçü çubuğu:** 200 µm.

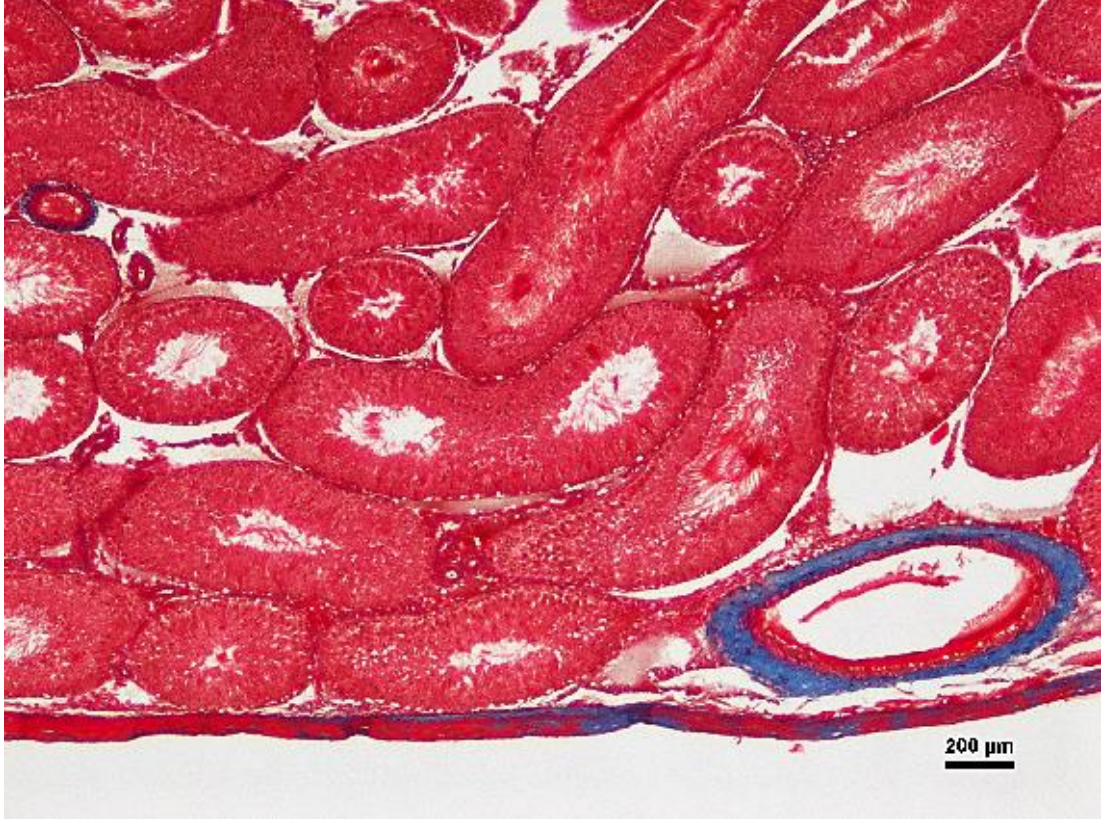
EMA+CAPE grubundaki sıçanlara ait testis kesitlerinde tunika albugineada ve tunika vaskülozadaki damar duvarlarında kontrol grubundaki örneklere benzer yoğunlukta kollajene özgü boyanma görülmektedir (Resim 34).



Resim 34. EMA+CAPE grubundaki sıçanlara ait testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.

Ok; Damar duvarında kollajen lifler. **Boya:** Masson Trikrom. **Ölçü çubuğu:** 50 µm.

CAPE grubuna ait sıçanların testis kesitlerinde tunika albugineada ve damar duvarlarında EMA grubu örneklerine benzer yoğunlukta kollajene özgü boyanma görülmektedir (Resim 35).

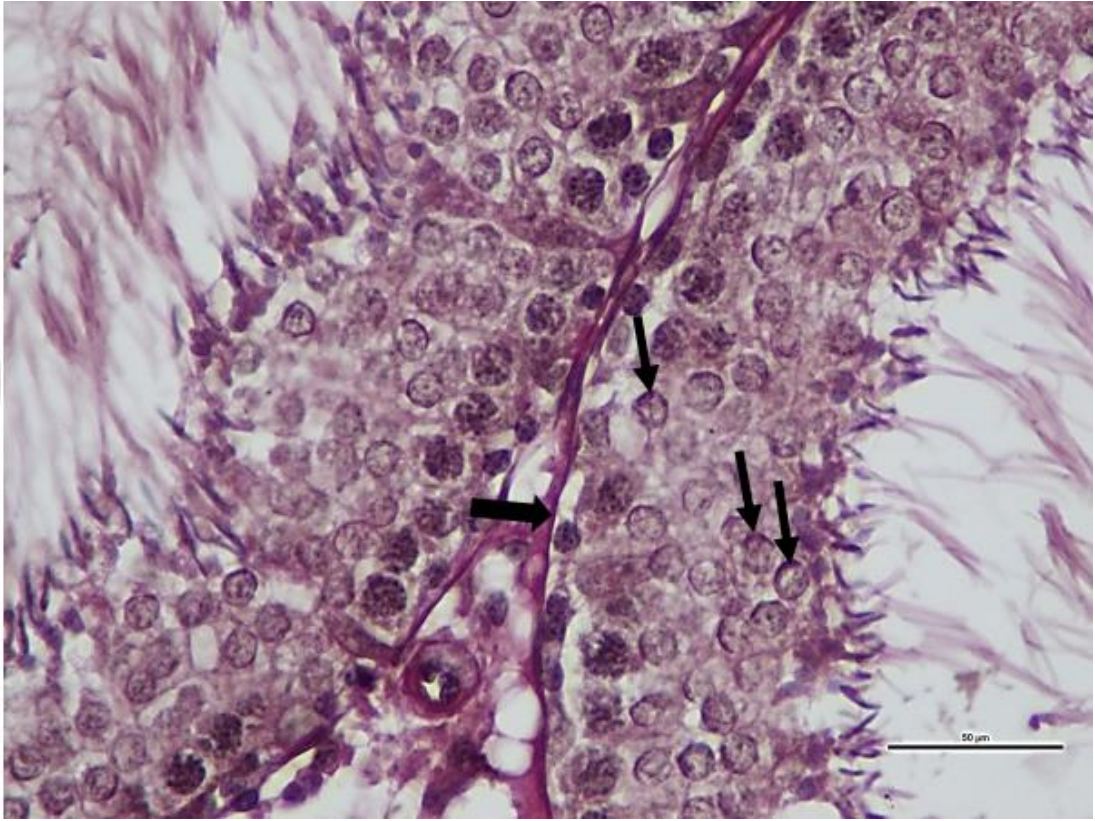


Resim 35. CAPE grubundaki sıçanlara ait testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.
Boya: Masson Trikrom. **Ölçü çubuğu:** 200 µm.

4.5.3. Periyodik Asit Schiff ile kesitlerin incelenmesi

Periyodik Asit Schiff (PAS) ile boyanan örnekler ışık mikroskobu ile görüntülenerek fotoğrafları çekildi.

Kontrol grubundaki sıçanların testis kesitlerinde seminifer tübül epiteli bazal membranı PAS boyamaya özgü fuşya pembesi görülmektedir. Germinal epitel hücrelerinde akrozom oluşumuna işaret eden PAS (+) boyanma özelliği seçilmektedir (Resim 36).



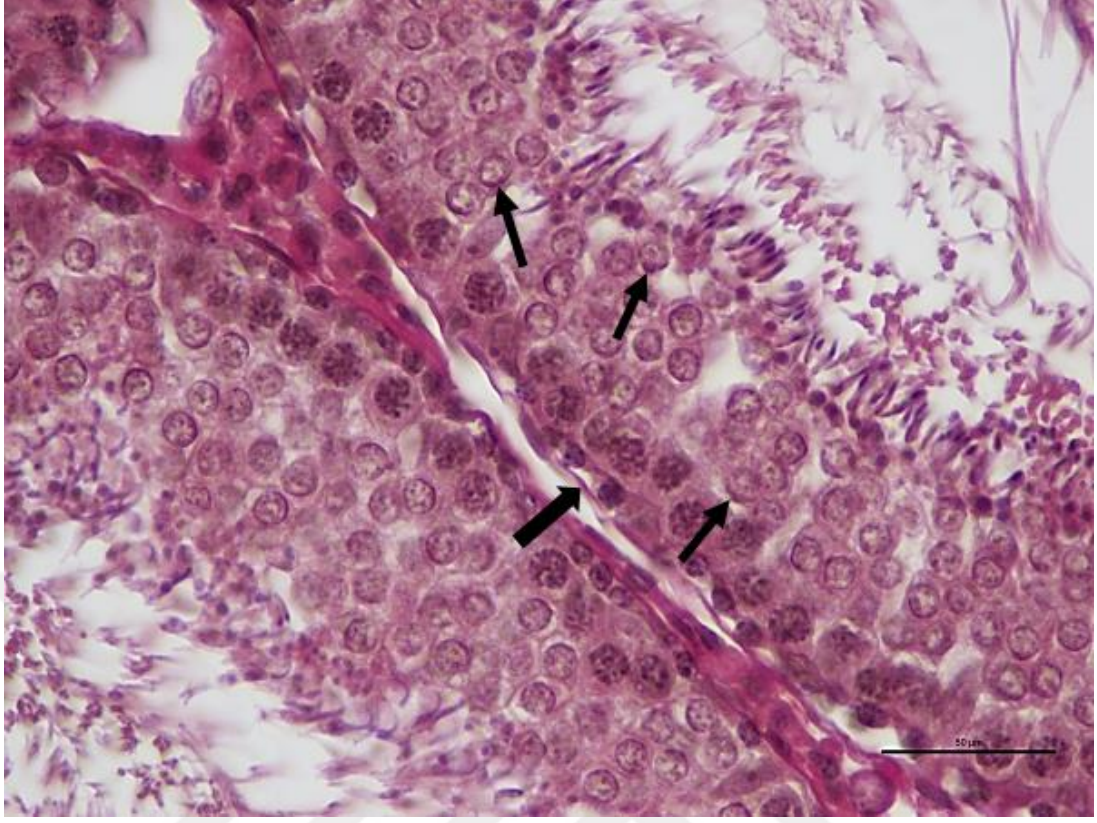
Resim 36. Kontrol grubundaki sıçanlara ait testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.

Ok: PAS (+) boyanma gösteren bazal membran. **İnce oklar:** PAS (+) akrozomal sistem. **Boya:** PAS. **Ölçü çubuğu:** 50 µm.

EMA, EMA+CAPE ve CAPE gruplarındaki sıçanların testis kesitlerinin PAS boyanma özelliği kontrol grubuna benzer özellikler göstermektedir. Bazal membran ve germinal epitel hücrelerinde akrozomal sistemin PAS (+) boyandığı görülmektedir (Resim 37-39).

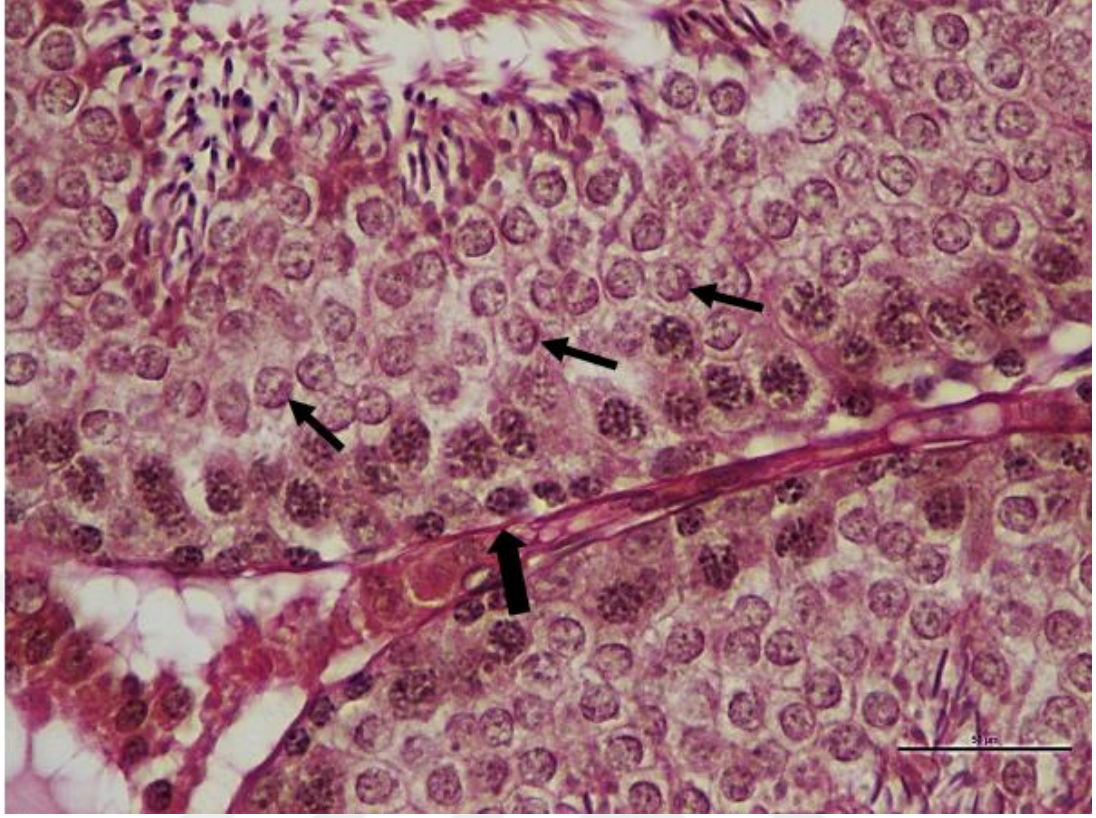


Resim 37. EMA grubundaki sıçanlara ait testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü. **Ok;** PAS (+) boyanma gösteren bazal membran. **İnce oklar;** PAS (+) akrozomal sistem. **Boya:** PAS. **Ölçü çubuğu:** 50 µm.



Resim 38. EMA+CAPE grubundaki sıçanlara ait testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü.

Ok: PAS (+) boyanma gösteren bazal membran. **İnce oklar:** PAS (+) akrozomal sistem. **Boya:** PAS. **Ölçü çubuğu:** 50 µm.



Resim 39. CAPE grubundaki sıçanlara ait testis kesitinin ışık mikroskopik görüntüsü. **Ok:** PAS (+) boyanma gösteren bazal membran. **İnce oklar;** PAS (+) akrozomal sistem. **Boya:** PAS. **Ölçü çubuğu:** 50 μ m.

4.5.4. Johnsen skorlaması ile ilgili bulgular

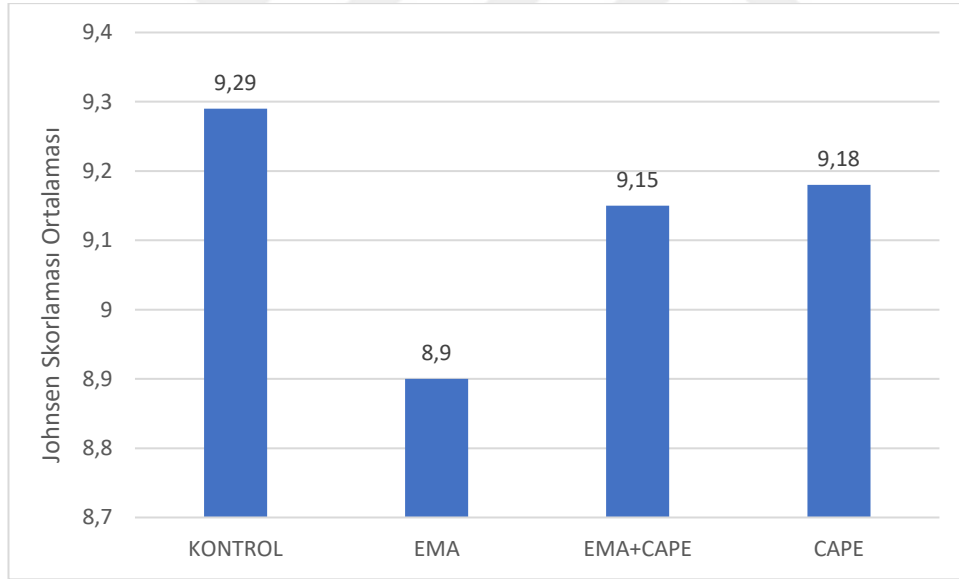
Deney gruplarındaki sıçanların her birine ait testis kesitlerinde Johnsen Skorlaması yapıldı.

Verilerin normal dağılıma uyup uymadığı Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Tüm verilerin normal dağılıma uyduğu görüldü. Veriler normal dağılıma uyduğu için tanımlayıcı veriler ortalama, standart sapma olarak verilmiştir. Grupların birbiri ile karşılaştırılması One Way ANOVA kullanılarak yapıldı. Dört gruptaki her sıçana ait sağ testislerde yapılan skorlamalara dair gruplar arasındaki istatistiksel bulgular Tablo 15'te verilmiştir.

Tablo 15. Deney gruplarına ait testis kesitlerinin Johnsen Skorlaması istatistikleri

	Ortalama	Standart sapma
Kontrol	9,29	,08
EMA	8,90	,13
EMA+CAPE	9,15	,11
CAPE	9,18	,14

Dört grup (Kontrol, EMA, EMA+CAPE, CAPE) verileri birbiri ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulundu ($p=0,000$). Farkın hangi gruplardan kaynaklandığını anlamak için yapılan ileri analizlerde EMA'nın Kontrol, EMA+CAPE, CAPE gruplarına göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü. (EMA-Kontrol p değeri= 0,000; EMA-EMA+CAPE p değeri= 0,005; EMA-CAPE p değeri= 0,005).



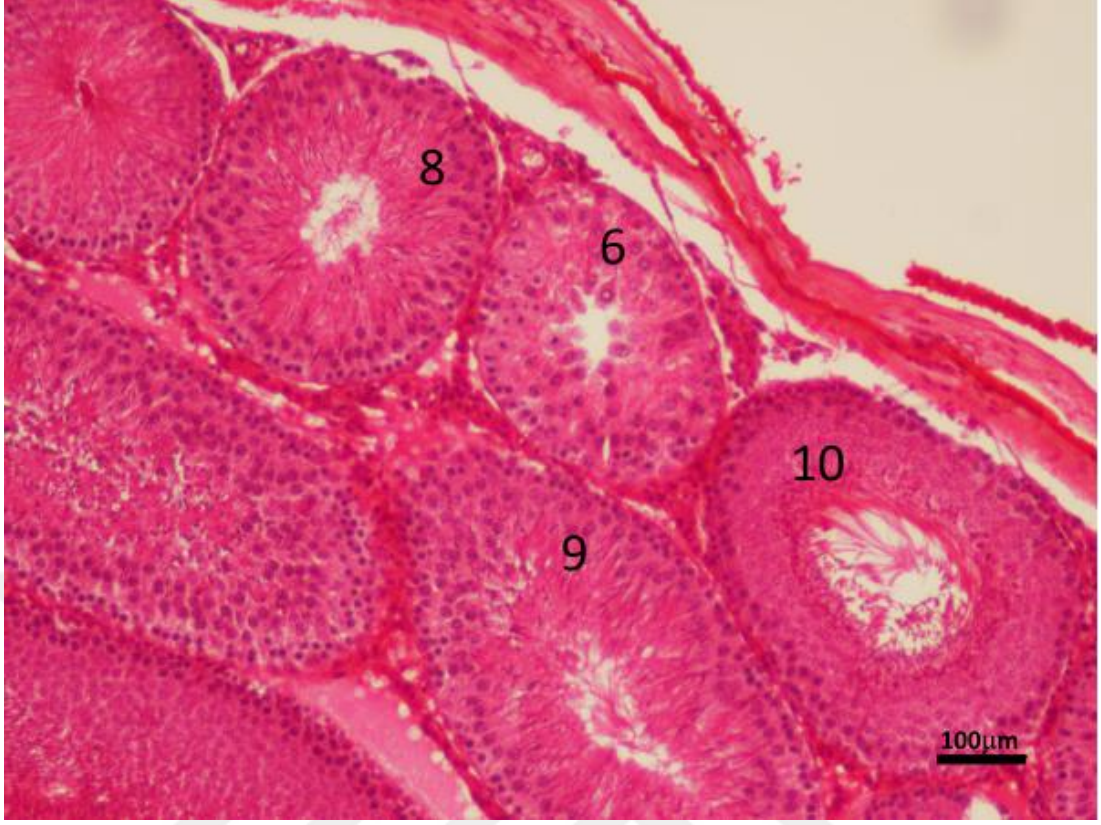
Şekil 14. Testis kesitlerinde Johnsen Skorlaması ortalama değerleri

Boyanan testis kesitleri ışık mikroskobu ile 40x objektif büyütmesinde görüntülenerek fotoğrafları çekildi (Resim 40-43).



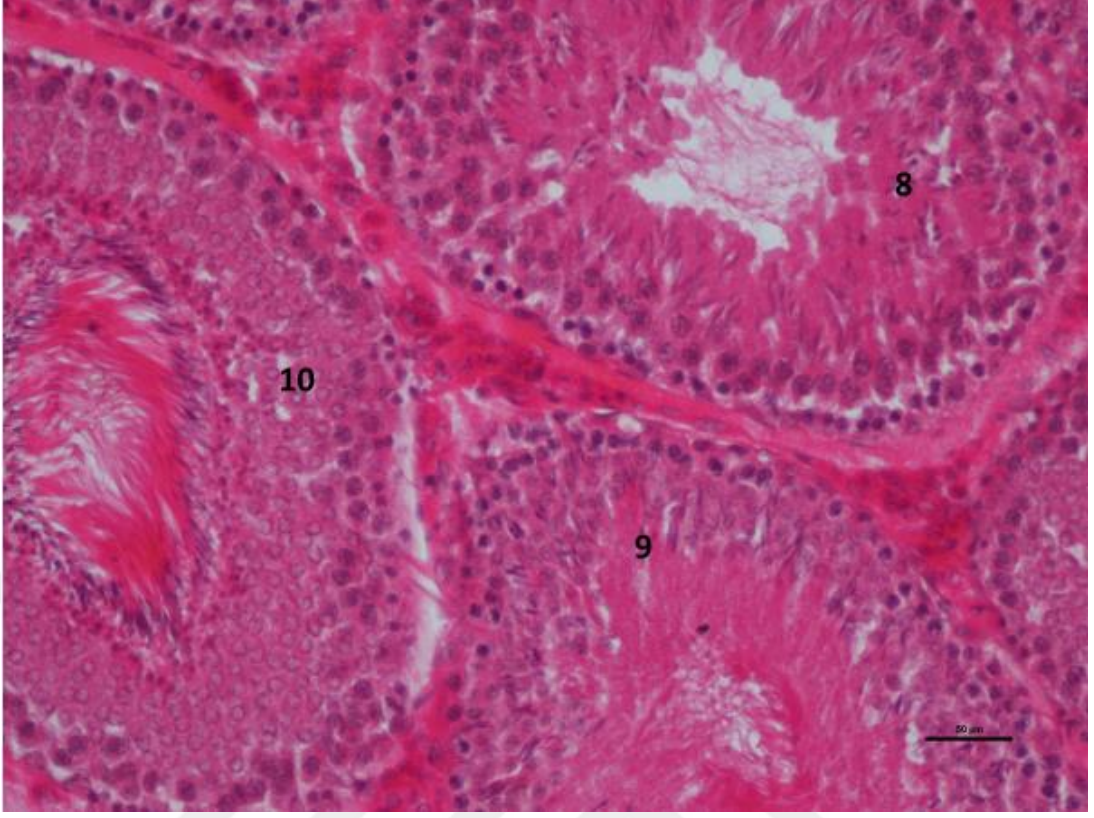
Resim 40. Kontrol grubunda testis kesitinin ışık mikroskopik görüntülerinde Johnsen Skorlamasına göre değerlendirilmiş seminifer tübüller.

Boya: Hematoksilen ve Eosin. **Ölçü çubuğu:** 100 µm.



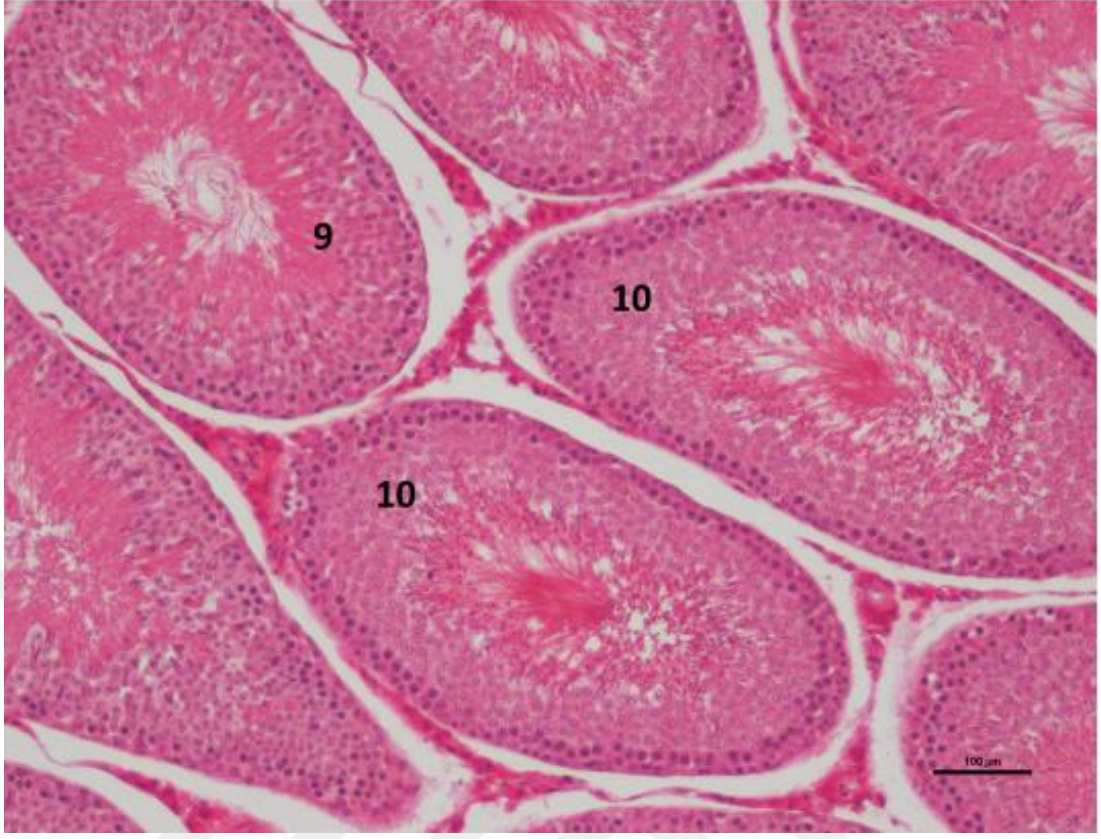
Resim 41. EMA grubunda testis kesitinin ışık mikroskopik görüntülerinde Johnsen Skorlamasına göre değerlendirilmiş seminifer tübüller.

Boya: Hematoksilen ve Eosin. **Ölçü çubuğu:** 100 µm.



Resim 42. EMA+CAPE grubunda testis kesitinin ışık mikroskopik görüntülerinde Johnsen Skorlamasına göre değerlendirilmiş seminifer tübüller.

Boya: Hematoksilen ve Eosin. **Ölçü çubuğu:** 50 µm.



Resim 43. CAPE grubunda testis kesitinin ışık mikroskopik görüntülerinde Johnsen Skorlamasına göre değerlendirilmiş seminifer tübüller.

Boya: Hematoksilen ve Eosin. **Ölçü çubuğu:** 100 µm.

4.6. BİYOKİMYASAL BULGULAR

4.6.1. Kan biyokimyası

Deney gruplarındaki sıçanlara ait serumlarda testosteron, total tiyol, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, malondialdehit, total antioksidan status, total oksidan status, oksidatif stres indeksi bakıldı.

Serum örneklerinde bakılan biyokimyasal parametrelerin ortalama ve standart sapma değerleri ve hipotez testi p değerleri tabloda verilmiştir (Tablo 16).

Deney grupları serum testosteron değerlerinin ortalamaları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Farkın hangi gruplardan kaynaklandığını anlamak için yapılan post hoc analizlerde EMA grubunun testosteron düzeyi kontrol, EMA+CAPE ve CAPE gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur (sırasıyla $p=0,002$; $p=0,035$; $p=0,05$). Ayrıca kontrol grubunun serum testosteron düzeyi EMA+CAPE grubundan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0,036$).

Deney grupları serum total tiyol, GSH-Px, TAS, SOD değerlerinin ortalamaları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Deney grupları serum TOS değerlerinin ortalamaları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Farkın hangi gruplardan kaynaklandığını anlamak için yapılan post hoc analizlerde EMA grubunun TOS düzeyi EMA+CAPE ve CAPE gruplarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0,021$; $p=0,035$).

Tablo 16. Serum örneklerinde biyokimyasal parametrelerin ortalama değerlerinin karşılaştırılması

Deney Grupları n=8	Testosteron (ng/mL)	Total Tiyol (μ mol/L)	GSH-Px (ng/ml)	TAS (mmol Trolox Eq/L)	TOS (μ mol H ₂ O ₂ Eq/L)	OSİ (birim)	SOD (U/ml)	MDA (μ mol/ml)
Kontrol (I)	5.25 \pm 2.46	407.49 \pm 127.67	63.16 \pm 26.10	1.49 \pm 0.40	8.83 \pm 3.07	0.56 \pm 0.13	13.65 \pm 2.42	11.87 \pm 3.96
EMA (II)	1.53 \pm 1.25	404.82 \pm 123.10	66.80 \pm 19.81	1.31 \pm 0.35	11.31 \pm 2.47	0.93 \pm 0.38	13.99 \pm 3.03	13.69 \pm 4.36
EMA+CAPE (III)	2.91 \pm 1.42	370.97 \pm 130.15	51.63 \pm 24.90	1.49 \pm 0.24	8.13 \pm 2.94	0.55 \pm 0.19	12.95 \pm 2.75	10.40 \pm 3.48
CAPE (IV)	3.35 \pm 1.81	300.76 \pm 117.75	71.49 \pm 19.18	1.62 \pm 0.25	8.00 \pm 2.60	0.54 \pm 0.21	15.03 \pm 2.54	9.12 \pm 3.93
<i>p</i> değeri (gruplar arası karşılaştırmalar)	0.002 (I-II) 0.036 (I-III) 0.035 (II-IV) 0.05 (II-III)				0.021 (II-IV) 0.035 (II-III)	0.023 (I-II) 0.024 (II-IV) 0.025(II-III)		0.045(II-IV)

EMA: Elektromanyetik Alan; CAPE: Kafeik asit fenetil ester; GSH-Px: Glutasyon peroksidaz; TAS: Total Antioksidan Status; TOS: Total Oksidan Status; OSİ: Oksidatif Stres İndeksi; SOD: Superoksit Dismutaz; MDA: Malondialdehit Veriler ortalama \pm ss. $p \leq 0,0$

Deney grupları serum OSİ değerlerinin ortalamaları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Farkın hangi gruplardan kaynaklandığını anlamak için yapılan post hoc analizlerde EMA grubunun OSİ düzeyi kontrol, EMA+CAPE ve CAPE gruplarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p= 0,023$; $p=0,024$; $p=0,025$).

Deney grupları serum MDA değerlerinin ortalamaları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Farkın hangi gruplardan kaynaklandığını anlamak için yapılan post hoc analizlerde EMA grubunun MDA düzeyi CAPE grubundan istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p=0,045$).

4.6.2. Doku Biyokimyası

Deney gruplarındaki sıçanlara ait testis dokularında SOD, MDA, TAS, TOS, OSİ değerlerine bakıldı.

Testis dokusunda bakılan biyokimyasal parametrelerin ortalama ve standart sapma değerleri ve hipotez testi p değerleri tabloda verilmiştir (Tablo 17).

Deney grupları testis dokusu TAS değerlerinin ortalamaları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Farkın hangi gruplardan kaynaklandığını anlamak için yapılan post hoc analizlerde EMA grubunun TAS düzeyi CAPE grubundan istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur ($p=0,05$).

Deney grupları testis dokusu TOS değerlerinin ortalamaları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Farkın hangi gruplardan kaynaklandığını anlamak için yapılan post hoc analizlerde CAPE grubunun TOS düzeyi kontrol ve EMA gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur (sırasıyla $p=0,02$; $p=0,012$).

Deney grupları testis dokusu OSİ değerlerinin ortalamaları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Farkın hangi gruplardan kaynaklandığını anlamak için yapılan post hoc analizlerde CAPE grubunun

OSİ düzeyi kontrol ve EMA gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur (sırasıyla $p=0,016$; $p=0,005$).

Deney grupları testis dokusu SOD değerlerinin ortalamaları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p<0,05$).

Deney grupları testis dokusu MDA değerlerinin ortalamaları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Farkın hangi gruplardan kaynaklandığını anlamak için yapılan post hoc analizlerde CAPE grubunun MDA düzeyi kontrol ve EMA gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur (sırasıyla $p=0,043$; $p=0,022$).

Tablo 17. Testiküler doku örneklerinde biyokimyasal analizlerin ortalama değerlerinin karşılaştırılması

Deney Grupları n=8	TAS (mmol Trolox Eq/L)	TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/L)	OSİ (birim)	SOD (U/ml)	MDA ($\mu\text{mol/ml}$)
Kontrol (I)	0.948 \pm 0.166	6.660 \pm 1.407	0.724 \pm 0.209	9.996 \pm 1.974	7.629 \pm 2.293
EMA (II)	0.901 \pm 0.173	6.908 \pm 1.498	0.796 \pm 0.227	9.602 \pm 2.408	8.232 \pm 2.606
EMA+CAPE (III)	0.919 \pm 0.203	6.093 \pm 1.727	0.698 \pm 0.260	10.619 \pm 2.092	6.477 \pm 2.213
CAPE (IV)	1.181 \pm 0.335	5.169 \pm 0.789	0.470 \pm 0.155	10.633 \pm 0.948	5.285 \pm 1.903
<i>p değeri</i> (gruplar arası karşılaştırmalar)	0.05 (II-IV)	0.020 (I-IV) 0.012 (II-IV)	0.016(I-IV) 0.005 (II-IV)		0.043 (I-IV) 0.022 (II-IV)

EMA: Elektromanyetik Alan; CAPE: Kafeik asit fenetil ester; TAS: Total Antioksidan Status; TOS: Total Oksidan Status; OSİ: Oksidatif Stres İndeksi; SOD: Superoksit Dismutaz; MDA: Malondialdehit Veriler ortalama \pm ss. $p \leq 0,05$.

4.7. AKIM SİTOMETRİ ANALİZİ İLE İLGİLİ BULGULAR

Deney gruplarına ait semen örneklerinde Apo-Direct kit kullanılarak TUNEL yöntemi ile sperm DNA kırıkları tespit edilmiştir (Tablo 18).

Tablo 18. Deney gruplarına ait semen örneklerinde DNA kırığı yüzdeleri

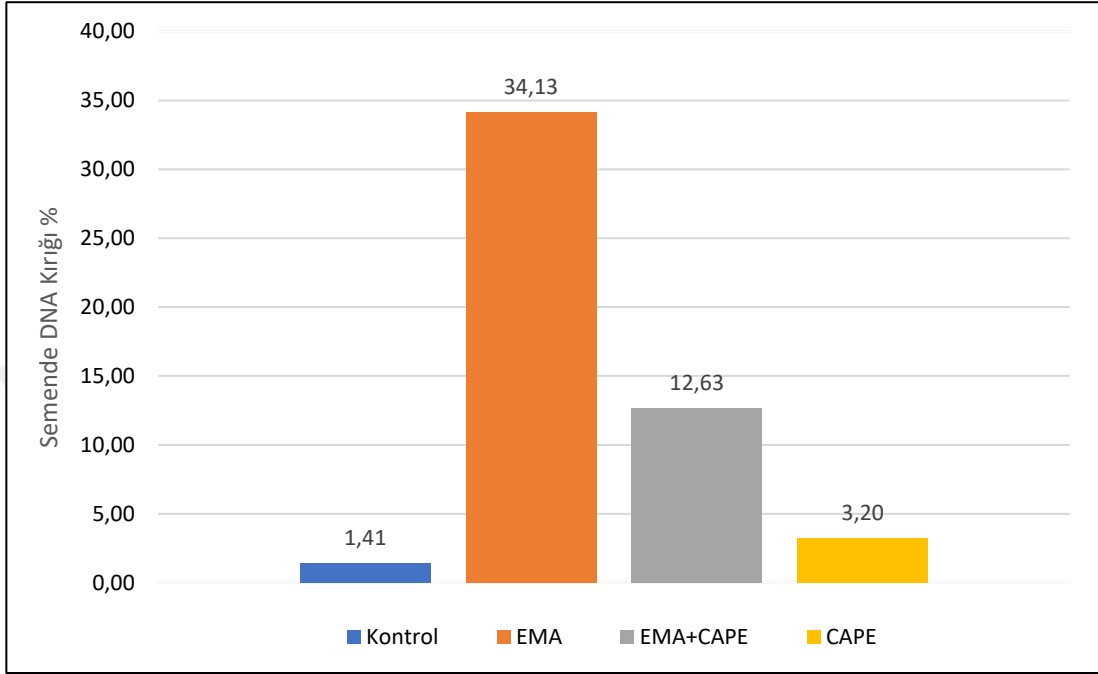
Denek no.	Kontrol	EMA	EMA+CAPE	CAPE
1	1,53	33,82	13,1	3,16
2	2,11	33,42	11,41	3,9
3	0,94	33,92	13,44	2,44
4	0,93	36,15	11,98	2,51
5	1,86	32,26	14,19	4
6	1,26	34,85	13,17	3,08
7	0,93	35,08	11,2	3,22
8	1,76	33,56	12,58	3,31

Verilerin normal dağılıma uyup uymadığı Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Veriler normal dağılıma uyduğu için One Way ANOVA testi yapıldı. One Way ANOVA testinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark olduğu görüldü ($p < 0,001$). Farkın hangi gruplardan kaynaklandığını anlamak için yapılan post hoc analizlerde tüm grupların değerlerinin birbirinden istatistiksel anlamlı olarak farklı olduğu görüldü ($p < 0,001$) (Tablo 19).

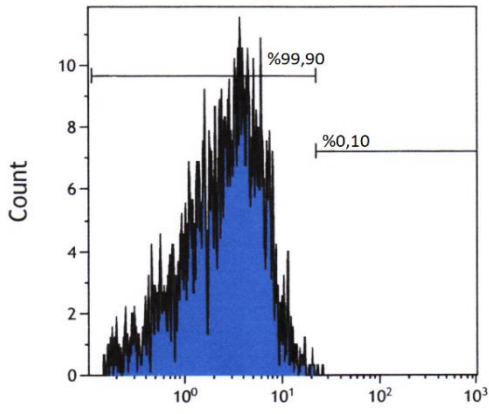
Tablo 19. Deney gruplarına ait semen örneklerinde DNA Kırığı Yüzdelerinin Çoklu Karşılaştırmaları

Tamhane						
(I) grup	(J) grup	Ortalamalar Arası Fark (I-J)	Standart Hata	p değeri	95% Güven Aralığı	
					Alt sınır	Üst Sınır
Kontrol	EMA	-32,71750*	,45318	,000	-34,2315	-31,2035
	EMA+CAPE	-11,21875*	,40298	,000	-12,5428	-9,8947
	CAPE	-1,78750*	,25862	,000	-2,5825	-,9925
EMA	Kontrol	32,71750*	,45318	,000	31,2035	34,2315
	EMA+CAPE	21,49875*	,55946	,000	19,7827	23,2148
	CAPE	30,93000*	,46636	,000	29,4063	32,4537
EMA+CAPE	Kontrol	11,21875*	,40298	,000	9,8947	12,5428
	EMA	-21,49875*	,55946	,000	-23,2148	-19,7827
	CAPE	9,43125*	,41774	,000	8,0902	10,7723
CAPE	Kontrol	1,78750*	,25862	,000	,9925	2,5825
	EMA	-30,93000*	,46636	,000	-32,4537	-29,4063
	EMA+CAPE	-9,43125*	,41774	,000	-10,7723	-8,0902

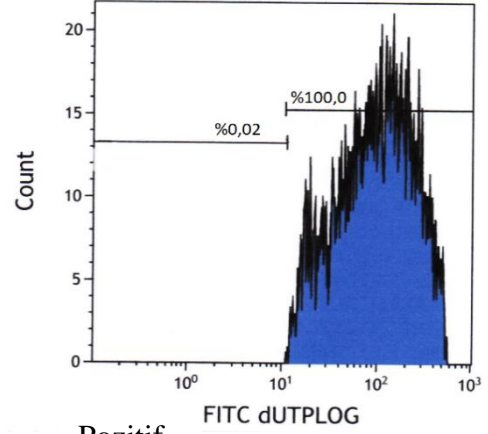
Tüm deney gruplarından elde edilen semen örneklerinde, akım sitometri yöntemi ile saptanan DNA kırığı yüzdelerinin ortalama değerleri grafiksel olarak Şekil 15'te ve TUNEL işaretleme analiz sonuçları da histogram olarak Şekil 16'da sunuldu.



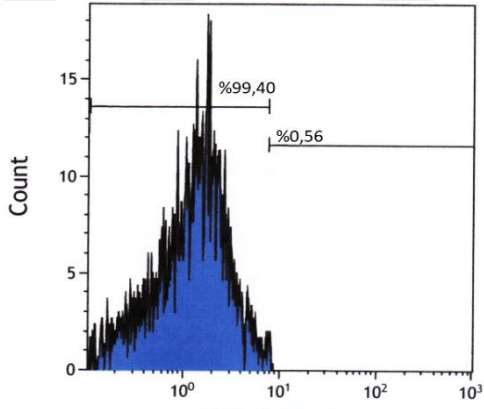
Şekil 15. Akım sitometri yöntemi ile semende DNA kırığı yüzdelerinin ortalama değerleri



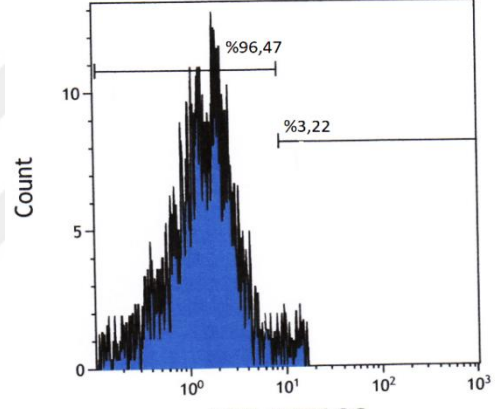
Negatif
Kontrol



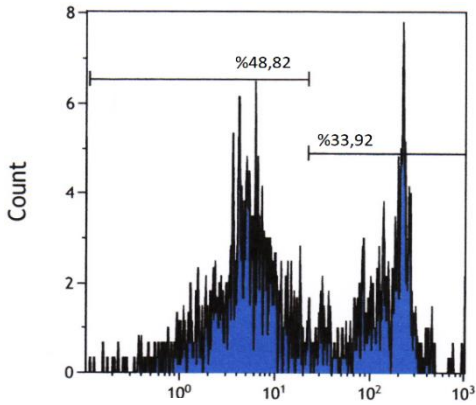
Pozitif
Kontrol



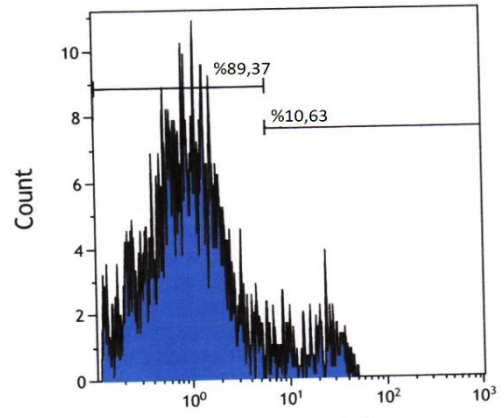
Kontrol



CAPE



EMA



EMA+CAPE

Şekil 16. Semende TUNEL işaretleme ile akım sitometrik analizlerin histogramı

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

5.1. TARTIŞMA

Çalışmanın konusu sıçan modelinde, EMA' nın testis ve semen üzerindeki oluşması muhtemel hasarı ve bu hasar üzerine CAPE'nin olası koruyucu etkilerini göstermektedir.

Deney grupları vücut ağırlıkları açısından karşılaştırıldığında CAPE grubunun başlangıç ağırlığının yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durum deneyin kısıtlılıklarından biridir. Yine 3. hafta grupların ağırlıkları karşılaştırıldığında kontrol grubunun EMA+CAPE grubundan yüksek olduğu bulunmuştur. EMA+CAPE ve CAPE gruplarının enjeksiyon nedeniyle strese bağlı kilo kaybettiğini düşünmekteyiz. Sıçanlar bu kaybı 4. haftada kapatarak kontrole benzer ağırlığa ulaşmışlardır.

Çalışmamızda deney gruplarındaki sıçanların sağ ve sol testis ağırlıkları açısından karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır. Bu durum literatürde, çalışmamıza benzer sıçanlar üzerine uygulanan düşük doz EMA maruziyeti ile testis ağırlıkları açısından kontrol gruplarına göre fark olmadığını gösteren birçok çalışma ile benzer sonuçlar vermiştir (Taş ve ark. 2014, Daşdağ ve ark. 2015, Kim et al. 2007, Oh et al. 2018, Aitken et al. 2005, Oksay ve ark. 2014).

Sperm konsantrasyonu ile ilgili bulgularımızı değerlendirdiğimizde kontrol grubunun sperm konsantrasyonunun EMA ve EMA+CAPE gruplarından istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu görülmüştür. Daha önce yapılan çalışmalarda, guinea piglerinde düşük doz EMA'ya günde 20 dk 60 gün maruziyet sonrası spermatozoa sayısının azaldığı gösterilmiştir (Uslu ve ark. 2012), benzer şekilde sıçanlarda 2 ay günde 1 saat düşük doz EMA maruziyeti ile deney gruplarında sperm sayısında azalma gösterilmiştir (Bin-Meferij and El-Kott 2015). Bununla beraber, literatürde farklı sonuçların elde edildiği çalışmalarda söz konusudur; sıçanlarda 2'den 12 haftaya günde 20 dakikadan 1,5 saate değişen sürelerde düşük doz EMA maruziyeti

ile sperm sayısında değişiklik olmadığı gösterilmiştir (Trošić et al. 2013, Mailankot et al. 2009, Daşdağ ve ark. 2003, Lee et al. 2010, Ribeiro et al. 2007). Benzer şekilde sıçanlarda 1 sene günde sırasıyla 3 saat ve 24 saat düşük doz EMA maruziyetleri ile sperm konsantrasyonunda değişiklik olmadığı gösterilmiştir (Taş ve ark. 2014, Daşdağ et al. 2015; Salama et al. 2010). Benzer şekilde başka bir çalışmada sıçanlarda 2 ay düşük doz EMA maruziyeti ile sperm sayısında doz bağımlı azalma olduğu ancak istatistiksel anlamlı fark oluşturmadığı gösterilmiştir (Kim et al. 2007).

Tavşanlar ile yapılan düşük doz EMA maruziyeti ile sperm konsantrasyonunda azalmanın, çalışmanın 6. haftasından sonra ortaya çıktığı gösterilmiştir (Salama et al. 2010). İnsan üzerinde yapılan araştırmalarda ise cep telefonu kullanıcılarında yapılan çalışmada sperm sayısının kullanım süresinin artışıyla düşüş gösterdiği bulunmuştur (Agarwal et al. 2008). İnsan semeninin *in vitro* cep telefonu radyasyonuna 1 saat maruz bırakıldığı bir araştırmada kontrole göre sperm konsantrasyonunda fark olmadığı gösterilmiştir (Agarwal et al. 2009).

Çalışmamızda ayrıca CAPE grubunun sperm konsantrasyonunun EMA ve EMA+CAPE gruplarından istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğunu bulduk. Bir diğer tespitimiz ise EMA+CAPE grubunun sperm konsantrasyonu EMA grubundan yüksektir ancak istatistiksel anlamlı fark oluşturmamıştır.

İnfertil veya subfertil hastalarda vitamin E, vitamin C, selenyum, vitamin A, koenzim Q10 (Co Q10), N-asetil sistein, folik asit, çinko, likopen gibi antioksidanlarla tek başlarına ya da birlikte tedavilerin sperm konsantrasyonunu arttırdığını gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur (El Sheikh et al. 2015, Comhaire et al. 2000, Moslemi and Tavanbakhsh 2011, Galatioto et al. 2008, Safarinejad 2009, Safarinejad and Safarinejad 2009, Wong et al. 2002, Omu et al. 2008, Çiftçi ve ark. 2009, Gupta and Kumar 2002, Mohanty et al. 2001, Lafuente et al. 2013, Hadwan et al. 2015).

Bununla birlikte infertil hastalarda vitamin C, vitamin E ile tedavinin sperm parametrelerini düzeltmede başarısız olduğunu gösteren çalışmalar da vardır (Kessopoulou et al. 1995, Rolf et al. 1999, Moilanen and Hovatta 1995, Greco et al.

2005). Başka bir çalışmada selenyum ile takviyenin normozoospermik grupta semen parametreleri üzerine belirgin bir etkisi görülmediği bulunmuştur (Hawkes et al. 2009). Farklı bir çalışmada infertil hastalarda likopen tedavisinin sadece belli bir sperm konsantrasyonu seviyesi üzerinde iken sperm parametrelerinde belirgin bir artış yaptığı gösterilmiştir (Gupta and Kumar 2002). Besinlerden Co Q10 alımı ile subfertil kişilerde semen konsantrasyonunda fark oluşturmadığı bulunmuştur (Tiseo et al. 2017). Düşük doz EMA maruziyeti öncesi bir antioksidan olan hurma poleni uygulanan farelerde sperm sayısının salt EMA'ya maruz kalan farelere göre yüksek olduğu bulunmuştur (Baharara et al. 2015).

Çalışmamızda sperm motilitesi ile ilgili bulgular değerlendirildiğinde toplam motilite verileri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Literatürde toplam motilite bulguları açısından farklı sonuçlar gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur. Wi-Fi RF'nin sıçanlarda sperm motilitesi yüzdesinde fark oluşturmadığı bulunmuştur (Daşdağ ve ark. 2015). Kemirgenlerde 2 hafta ve daha kısa düşük doz EMA maruziyetlerinde toplam motilitenin değişmediği bulunmuştur (Trošić et al. 2013, Aitken et al. 2005). Tavşanlarda düşük doz EMA maruziyeti ile sperm motilitesinin 10. haftaya kadar kontrol grubuyla benzer olduğu daha uzun maruziyet ile sperm motilitesini düşürdüğü gösterilmiştir (Salama et al. 2010). EMA'ya maruz kalma süresinin uzamasıyla beraber sıçanlarda toplam sperm motilitesinin düştüğü gösterilmiştir (Wdowiak et al. 2007, Liu et al. 2015, Bin-Meferij and El-Kott 2015, Mailankot et al. 2009, Ghanbari et al. 2013). EMA maruziyetinin sperm motilitesini arttırdığını gösteren çalışmalar da mevcuttur; 3 ay günde 2 saat düşük doz EMA maruziyeti ile sperm motilitesinin arttığı gösterilmiştir (Nisbet ve ark. 2012).

Çalışmamızda ileri hareketli motilite verileri karşılaştırıldığında ise kontrol grubunun EMA grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı olduğu bulunmuştur. Bu sonuç diz üstü bilgisayarların *in vitro* insan spermatozoasında etkilerinin değerlendirildiği başka bir çalışma sonucu ile uyumludur. Sözü edilen çalışmada Wi-Fi internete bağlı laptop kullanıcılarının 4 saat maruziyeti sonrası progresif sperm motilitesinde belirgin düşme bulunmuştur (Avendano et al. 2012). *In vitro* insan spermatozoasının 5 dakikadan 16 saate değişen sürelerde düşük doz EMA

maruziyetine bırakıldığı çalışmalarda toplam motilitede ve hareketli sperm motilitesinde düşme gösterilmiştir (Agarwal et al. 2009, De Iuliis et al. 2009, Eroğul ve ark. 2006, Falzone et al. 2011, Gorpinchenko et al. 2014, Zalata et al. 2015).

EMA maruziyeti öncesi bir antioksidan olan hurma poleni uygulanan farelerde motilite parametrelerinin kontrol grubuna benzer şekilde iyileştiği gösterilmiştir (Baharara et al. 2015). Düşük doz EMA maruziyeti sonrası sperm motilitesinin azalması sperm plasma membran fosfolipitlerinin peroksidasyonu sonucu olabilir (Taha et al. 2014). İstatistiksel anlamlı fark oluşturmamakla birlikte EMA+CAPE grubunda EMA'ya göre sperm motilitesinde daha az kayıp olması CAPE uygulaması ile EMA'nın yaptığı hasarın CAPE'nin antioksidan özelliği sayesinde önlendiğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda, sperm morfolojisi ile ilgili bulgular değerlendirildiğinde sperm baş anomalisi açısından karşılaştırıldığında EMA'nın EMA+CAPE ve CAPE'den istatistiksel anlamlı olarak farklı olduğu görülmüştür. Benzer şekilde 2.4 GHz RF'nin uzun dönem maruziyet etkilerine bakılan başka bir çalışmada da sperm baş anomalisinin EMA maruziyeti olan sıçanlarda maruz kalmayan sıçanlara göre yüksek olduğu bulunmuştur (Daşdağ ve ark. 2015). Yine benzer şekilde farelerde RF radyasyon maruziyetinin sperm baş anormalliğini indüklediği gösterilmiştir (Otitoloju et al. 2010). EMA maruziyetinin 1 ay, günde 20 dk uygulanan sıçanlarda sperm morfolojisinde anlamlı farklar görülmediği çalışmalar da literatürde mevcuttur (Daşdağ et al. 2003). İnsanlarda yapılan semen analizlerinde cep telefonu kullanım süresine göre EMA'ya maruziyetin artışı ile spermde anormal morfolojinin arttığı gösterilmiştir (Wdowiak et al. 2007).

Çalışmamızda EMA'ya maruz bırakma sonrası baş anomalisi görülen çok sayıda sperm hücrelerine rastladık. Sperm baş anomalisinin meydana gelmesi sperm başında genetik materyalin paketlenmesi esnasında kromozomal değişikliklerin olmasından ya da testiküler DNA'da nokta mutasyonları oluşmasından kaynaklanıyor olabilir (Bruce and Heddle 1979). Aynı zamanda spermatogenezis sırasında spermatozoonun farklanmasında meydana gelen hatalar sonucu artmış olabilir (Bakare et al. 2005).

Çalışmamızda, sperm normal morfoloji yüzdesi açısından karşılaştırıldığında EMA+CAPE'nin EMA'dan istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu görülmüştür. Angora keçilerinin semenlerinde kurkumin, inositol ve karnitin antioksidanlarının eklenmesi ile yapılan çalışmalarda kontrole göre daha az sperm anormalliğine yol açtığı bulunmuştur (Bucak et al. 2010). EMA maruziyeti öncesi bir antioksidan olan hurma poleni uygulanan farelerde sperm morfoloji anormalliğinin EMA grubuna göre daha az olduğu görülmüştür (Baharara et al. 2015).

Çalışmamızda, EMA'ya maruz bırakılan sıçanların testis dokularında spermatogoniyal hücrelerde vakuolar dejenerasyon, seminifer tübül epitelinde apoptotik hücreler ve apoptotik cisimler, intratübüler ödem, mikrokistik alanlar, germinal epitel hücrelerinde hücresel şişme, köpüksü sitoplazma, bazı seminifer tübüllerde spermatogoniyal hücrelerin germinal epitelden ayrıldığı görülmüştür.

Çalışma gruplarımıza ait testis dokusu örnekleri PAS boyama özellikleri açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında histopatolojik bir fark görülmemiştir. Bu durum ışık mikroskopik olarak değerlendirildiğinde düşük doz EMA maruziyetinin akrozom oluşumu üzerine olumsuz bir etkisi olmadığını düşündürmektedir.

EMA'ya maruz kalma süresinin uzunluğu spermatogenez üzerine farklı etkileri ile kendini gösterir. EMA'nın 3 ve 12 günlük maruziyetleri ile farelerde düşük doz EMA maruziyetinin artan süre ile testiste daha fazla histopatolojik dejenerasyona sebep olduğu gösterilmiştir. Spermatogenezde arrest, disorganize seminifer tübül epiteli ve atrofi gözlenmiştir (Khayat 2011). Üç hafta boyunca günde 3 saat Wi-Fi EMA maruziyetinin sıçan testisinde oluşturduğu dejeneratif değişiklikler bakıldığında irregüler şekilli seminifer tübüller, seminifer epitelde boş alanlar, nekrotizan spermatogonia, ondulan bazal membran gösterilmiştir (Almášiová et al. 2014).

Mikrodalga radyasyonun 35 gün boyunca günde 2 saat uygulandığı sıçanlarda testiste seminifer tübül epiteli hücre popülasyonunda azalma gözlenmiştir (Chauhan et al. 2017). Bir haftadan 1 aya değişen sürelerde düşük doz EMA maruziyeti ile kemirgenlerde testiste anlamlı bir histopatolojik değişiklik oluşmadığı bulunmuştur

(Forgács et al. 2006, Daşdağ ve ark. 2003, Aitken et al. 2005). Bir ay boyunca günde 1 saat Wi-Fi radyasyona maruz bırakılan sıçanlarda kontrol grubuna göre seminifer tübül çaplarında ve piknotik, karyotik hücre sayısında anlamlı fark olmadığı, Leydig hücre sayısında azalma ve testiküler dokuda apoptoziste artma olduğu gözlenmiştir (Saygın ve ark. 2011).

Farelerde çok düşük EMA maruziyeti sonucu spermatogoniyal hücrelerin germinal epitelden ayrıldığı, seminifer tübülde olgun spermatozoa miktarının azaldığı ve bazı Sertoli hücrelerinin yassılaştığı gözlenmiştir (Hamdi et al. 2011). Sıçanlarda 1 ay süre ile günde 1 saat düşük doz EMA maruziyeti sonucu bazı seminifer tübüllerde bazal membranda ayrılma, seminifer tübül epitelinde ve bazal membranlarda vakuoller, intertübüler alanda ödem, spermatogoniyal hücre serileri arasında apoptotik hücreler gözlenmiştir (Odacı ve Özyılmaz 2015). Başka bir çalışmada 5 hafta boyunca günde 2 saat mikrodalga radyasyon maruziyeti sonucu seminifer tübül çaplarında azalma, lümende genişleme, tübül epitelinde nekroz gözlenmiştir (Chauhan et al. 2017). EMA maruziyetinin yaptığı aşırı ROS üretimi sonucu oluşan oksidatif stres doku harabiyetinin nedeni olabilir (Kesari et al. 2010, Koç ve ark. 2013).

Yaptığımız çalışmada, deney gruplarına ait testis örnekleri Masson Trikrom boyama özellikleri açısından karşılaştırıldığında EMA grubundaki sıçanlara ait testis kesitlerinde tunika albugineada ve damar duvarlarında diğer gruplara göre daha yoğun kollajene özgü boyanma görülmektedir. Bu durum EMA maruziyeti sonucu dokuda kollajen liflerin artışı düşündürmektedir. CAPE grubunda ise EMA grubuna benzer yoğunlukta kollajene özgü boyanma görülmektedir. CAPE'nin tek başına uygulanması ile kollajen yapısını arttırdığı görülmektedir.

Reaktif oksijen türlerinin çeşitli hücre tiplerinde kollajen metabolizmasını düzenlediği bilinmektedir (Belkhiri et al. 1997, Kawaguchi et al. 1996, Pardo et al. 1998). Çalışmalarda EMA maruziyetinin bağ dokusu hücrelerinde tip I kollajen mRNA ekspresyonunu ve kollajen sentezini arttırdığı gösterilmiştir (Heermeier et al. 1998, Ahmadian et al. 2006, Ciombor and Aaron 2005). CAPE antifibrotik özelliği ile EMA'nın oluşturduğu kollajen sentez artışını düzenliyor görünmektedir. Çalışmalarda

CAPE'nin çeşitli ajanlarla tetiklenen kollajen sentez artışını azalttığı gösterilmiştir (Zhao et al. 2014, Larki et al. 2013, Mia and Bank 2016). Ancak CAPE kendisi de tek başına kollajen sentez artışı yapıyor gibi görünmektedir. Fibroblast hücre kültürlerinde kollajen benzeri polimer sentezini arttırdığı gösterilmiştir (Song et al. 2008). Yine başka bir çalışmada farelerde deneysel ülser dokusunda miyofibroblast farklanmasını hızlandırdığı ve tip 3 kollajen depolanmasını arttırdığı gösterilmiştir (Romana-Souza et al. 2018).

Çalışmamızda deney grupları, Johnsen skorlaması açısından karşılaştırıldığında EMA'nın kontrol, EMA+CAPE, CAPE gruplarına göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görülmüştür. Literatürde EMA uygulama süresine bağlı olarak farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bir ay boyunca günde 1 saat ve 1 sene boyunca her gün günde 3 saat 900 MHz EMA maruziyeti uygulanan çalışmalarda sıçanlarda kontrol grubuna göre Johnsen skorlamasında düşme görülmüştür (Taş ve ark. 2014, Odacı ve Özyılmaz 2015). Dört hafta boyunca sırasıyla günde 1 saat ve 18 saat 2 GHz'den fazla EMA'ya maruz bırakılan sıçanlarda kontrol grubuna göre skorda anlamlı düşme görülmüştür (Oh et al. 2018, Saygın ve ark. 2011). Ancak sırasıyla 8 hafta günde 1-2 saat ve 1 sene günde 24 saat 2,4 GHz Wi-Fi RF radyasyona maruz bırakılan sıçanlarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında skorda anlamlı bir fark oluşmayan çalışmalar da vardır (Daşdağ ve ark. 2015, Kim et al. 2007).

Yaptığımız çalışmamızda, EMA grubunun serum testosteron düzeyi kontrol, EMA+CAPE ve CAPE gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur. Ayrıca kontrol grubunun serum testosteron düzeyi EMA+CAPE grubundan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Literatürde çalışmamıza benzer olarak 45 gün boyunca günde 2 saat düşük doz EMA'ya maruz bırakılan sıçanlarda serumda testosteron düzeyinin kontrol grubuna göre düşük olduğu bulunmuştur (Kesari and Behari 2012). İki ay boyunca günde 2 saat 2,45 GHz mikrodalga alana maruz bırakılan sıçanlarda serum testosteron düzeyinin kontrol grubuna göre düşük olduğu gösterilmiştir. MW alan maruziyetini takiben uygulanan 2 saat düşük doz EMA (pulse) terapisi ile serum testosteron seviyesinin kontrol grubuna göre düşük ancak MW alan uygulanan gruba göre yüksek olduğu bulunmuştur (Kumar et al. 2011).

EMA grubunun serum MDA düzeyi CAPE grubundan istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. EMA grubunun serum TOS ve OSİ düzeyleri EMA+CAPE ve CAPE gruplarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. EMA'ya 30 dakika kadar maruz bırakılan insan kan trombositlerinde MDA düzeyinin arttığı gösterilmiştir (Lewicka et al. 2015). Düşük doz EMA maruziyeti ile sıçanlarda oluşturulan oksidatif strese bir antioksidan olan rosmarinik asitin koruyucu etkisine bakılan bir çalışmada serumda MDA düzeyinin antioksidan ve EMA'nın birlikte uygulandığı grupta EMA grubuna göre düşük olduğu, testosteron, TAS düzeylerinin yüksek olduğu bulunmuştur (Hajhosseini et al. 2013).

EMA grubunun testiste TAS düzeyi CAPE grubundan istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur. Deney grupları testis dokusu SOD değerlerinin ortalamaları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır. Literatürde farklı ve benzer sonuçlar elde edilen çok sayıda çalışma mevcuttur. Dört-6 hafta boyunca günde 1 saat düşük doz EMA'ya maruz bırakılan sıçanlarda testiste TAS düzeyinin kontrol grubuna göre düşük olduğu bulunmuştur (Özörak ve ark. 2013). İnfertil erkeklerde beslenmede bir antioksidan olan Co Q10 takviyesi ile semende plasebo grubuna göre daha yüksek katalaz (CAT) ve SOD aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur (Nadjarzadeh et al. 2014). Benzer şekilde beslenmede çinko takviyesinin de infertil erkeklerde semende MDA düzeyini azalttığı, TAS ve SOD düzeylerini iyileştirdiği, CAT aktivitesini düzelttiği gösterilmiştir (Hadwan et al. 2015, Omu et al. 2008).

Sıçanlarda 30 gün boyunca günde 1 saat EMA'ya maruziyet sonucu testiste MDA, SOD, CAT, GSH düzeylerinin kontrole göre düşük olduğu bulunmuştur (Odacı ve Özyılmaz 2015). İnsan semeninin *in vitro* cep telefonu radyasyonuna 1 saat maruz bırakıldığı bir çalışmada kontrole göre ROS düzeyinin maruz bırakılan semende yüksek olduğu, TAS düzeyleri arasında anlamlı fark olmadığı gösterilmiştir (Agarwal et al. 2009).

CAPE grubunun testiste TOS, OSİ, MDA düzeyleri kontrol ve EMA gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur. Daha önce yapılan çalışmalarda ise, 11-12 hafta boyunca günde 1-1,5 saat düşük doz EMA'ya maruz bırakılan sıçanlarda testiste MDA düzeyinin kontrole göre anlamlı fark oluşturmadığı bulunmuştur (Lee et al. 2010, Ribeiro et al. 2007). Dört hafta süreyle günde 1 saat düşük doz EMA'ya maruz bırakılan sıçanlarda kontrol grubuna göre testiste MDA düzeyinin arttığı ve GSH düzeyinin azaldığı bulunmuştur (Mailankot et al. 2009).

Cep telefonu kaynaklı elektromanyetik radyasyonun sıçan kan ve testis dokularında oksidan ve antioksidan statusuna etkilerine bakılan bir çalışmada kan ve testis dokularında CAT aktivitesinin 3 kat kadar arttığı, GSH ve GSH-Px seviyelerinin 3-5 kat azaldığı gösterilmiştir. C ve E vitaminlerinin ise testiste EMA indüklü oksidatif stresi iyileştirdiği, CAT, GSH ve GSH-Px seviyelerini fizyolojik seviyelere düzelttiği gösterilmiştir (Al-Damegh 2012). Beş hafta süreyle günde 2 saat mikrodalga radyasyon maruziyeti ile sıçanlarda semende kontrol grubuna göre GSH-Px, SOD düzeylerinde düşme, CAT düzeyinde artış gösterilmiştir (Kesari and Behari 2010).

GSH ve GSH-Px düzeylerinin EMA+melatonin uygulanan grupta EMA grubuna göre anlamlı yüksek olduğu ancak EMA grubunda bu enzimlerin kontrole göre düşük olmakla birlikte anlamlı fark oluşturmadığı gösterilmiştir (Oksay ve ark. 2014). Sıçanlarda 10 gün boyunca günde 30 dk düşük doz EMA uygulanması ile miyokard dokusunda MDA, NO düzeylerinde artış ve SOD, GSH-Px ve CAT düzeylerinde kontrole göre düşme görülmüştür. EMA ile birlikte CAPE uygulanan grupta EMA uygulanan gruba göre MDA, NO düzeyleri düşük; GSH-Px, SOD, CAT düzeyleri yüksek ve kontrol grubuna benzer olduğu gösterilmiştir (Özgüner ve ark. 2005a). Benzer bir çalışmada karaciğer dokusunda kontrole göre düşük doz EMA uygulanan grupta MDA, CAT, XO düzeylerinde artma; SOD, GSH-Px düzeylerinde düşme görülmüştür. EMA ile birlikte CAPE uygulanan grupta ise SOD, GSH-Px düzeylerinin kontrole benzer olduğu, MDA düzeyinin EMA uygulanan gruba göre düşük olduğu; CAT ve XO düzeylerinin kontrole göre yüksek olduğu gösterilmiştir (Koyu ve ark. 2009). RF-EMA'ya kronik maruziyetin SOD, CAT, GSH-Px, TAS aktivitelerini düşürmektedir. Ancak MDA düzeyi ve SOD aktivitesinin çelişkili sonuçlar

göstermiştir (Balcı ve ark. 2007, Daşdağ ve ark. 2003, Ribeiro et al. 2007). Çalışmalar melatonin, CAPE, E, C vitaminleri gibi antioksidanlar ile hayvan dokularında RF-EMA kaynaklı oksidatif stresin önlendiğini göstermiştir (Öktem ve ark. 2005, Oral ve ark. 2006, Özgüner ve ark. 2006).

Yaptığımız çalışmada, deney grupları serum total tiyol, GSH-Px, TAS, SOD değerlerinin ortalamaları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır.

Bu çalışmada DNA kırığı yüzdeleri açısından karşılaştırıldıklarında tüm grupların değerlerinin birbirinden istatistiksel anlamlı olarak farklı olduğu görüldü. EMA grubunun DNA kırığı yüzdesinin diğer gruplardan anlamlı yüksek, EMA+CAPE grubunun EMA grubundan düşük, kontrol ve CAPE gruplarından yüksek olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada EMA maruziyeti sonrasında spermde DNA kırığının arttığı gösterilmiştir. Benzer şekilde EMA maruziyeti ile spermde DNA kırığı artışı gösteren çalışmalar vardır. RF-EMA maruziyetinin, DNA segmentlerinin yeniden düzenlenmesine ve testis germ hücrelerinde DNA kopması (Sarkar et al. 1994), Çin hamster akciğer hücrelerinde RF-EMA indüke DNA hasarı (Diem et al. 2005), farelerde kaudal epididimal spermatozoa ve embriyonik kök hücrelerde RF-EMA indüke DNA kırılması gösterilen (Zhang et al. 2006, Aitken et al. 2005) çalışmalar vardır. Fare spermatozoid hücre serilerinin düşük doz EMA'ya maruziyeti sonucu DNA kırıklarında artış olduğu (Liu et al. 2013), insan semeninin *in vitro* cep telefonu radyasyonuna maruziyeti ile spermatozoada kontrole göre DNA fragmentasyonunda artış olduğu gösterilmiştir (De Iuliis et al. 2009, Zalata et al. 2015, Gorpichenko et al. 2014). Ancak insan semeninin *in vitro* düşük doz EMA maruziyeti ile DNA hasarı oluşturmayan çalışmalar da vardır (Agarwal et al. 2009, Falzone et al. 2010). 1 ay günde 2 saat mikrodalga radyasyona maruz bırakılan sıçanlarda kontrole göre apoptoziste artış olduğu gösterilmiştir (Kesari and Behari 2010). Kemirgenlerde çok düşük EMA ve mikrodalga radyasyon maruziyeti sonucu spermatozoada DNA hasarının arttığı bulunmuştur (Aitken et al. 2005, Lee et al. 2004a). EMA maruziyeti

sonrası spermatozoada meydana gelen DNA hasarı, serbest radikal hasarının bir sonucu olabilir (Kumar et al. 2002, Twigg et al. 1998). C vitamini, E vitamini, çinko, melatonin gibi antioksidanların takviyesi ile oksidatif stres sonucu oluşan DNA fragmentasyonunun azaltıldığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Greco et al. 2005, Omu et al. 2008, Liu et al. 2013). Yapılan çalışmalara paralel olarak bu tez çalışmasında EMA+CAPE grubunun DNA kırığı yüzdesinin EMA grubundan düşük olması CAPE'nin antioksidan özelliği sonucu EMA'nın meydana getirdiği oksidatif hasara karşı koruyucu olduğunu düşündürmektedir.

5.2. SONUÇ

EMA hücrelerde serbest radikal aktivitesini arttırmaktadır. RF-EMA plasma membranında NADH oksidazı aktive ederek ekstraselüler süperoksit artışına ve oksidatif strese neden olmaktadır. Plasma membranının RF-EMA'nın hedefinde olması oksidatif stresin nedenini oluşturuyor olabilir. RF-EMA ROS'u arttırarak ya da antioksidan enzim aktivitesini azaltarak ROS metabolizmasını bozuyor olabilir.

Klinik çalışmalar düşük doz EMA maruziyeti ile sperm konsantrasyonu, motilite, normal morfoloji parametrelerinde düşme meydana geldiğini göstermektedir. Bunun nedeni RF-EMA'nın plasma membranı enzimleri üzerine etki ederek semende oksidatif stresi arttırması olabilir. Bu anormalliklerin maruziyet süresi ile ilişkili olduğu görülmektedir. Literatüre geçen ve daha önce yapılan çalışmalarda RF-EMA'nın DNA hasarı yaptığı gösterilmiştir. Oluşan DNA hasarı RF-EMA'nın maruziyet süresine, frekansına ve tipine bağlı olabildiğini düşünmekteyiz.

Literatürdeki ve yaptığımız çalışma sonucunda açıkça göstermiştir ki, EMA'ya belli sürelerde maruz kalmanın dokularda oksidatif strese neden olabileceğini ve EMA etkisinde kalma süresi uzattıkça dokularda yapısal hasar oluşturabileceğini söyleyebiliriz. Biz de çalışmamızda EMA etkisi altında oldukça fazla sayıda sıçan testislerinde dejeneratif değişiklikler, nekrotik ve apoptotik hücreler gördük.

Elde ettiğimiz bulgular ışığında, EMA 'nın sperm parametreleri ve morfolojisi, testis histopatolojisi, serum testosteronu, intratestiküler testosteron düzeyi ve testis ile

epididimiste oksidatif denge üzerine olumsuz etkiler yaparak erkek üreme sisteminde hasar oluşturduğu sonucuna verilerimiz yardımı ile ulaştık.

Tüm bu olumsuz etkilerin giderilmesi veya azaltılmasını için CAPE kullandık. CAPE uygulanması bizim için antioksidanların erkek infertilitesi üzerindeki pozitif etkileri ve bunun yanısıra hasara uğramış yapılar üzerindeki etkilerini görmek için önemliydi. CAPE uygulanan deney gruplarında oksidatif stres belirteçlerinin daha düşük olduğunu, histopatolojik incelemelerde de kontrole daha benzer histolojik yapılar gözlemledik. Sonuç olarak CAPE uygulanan gruplarda daha az ROS üreten ve daha az histolojik zarar görmüş seminifer tübüllerden üretilen daha az DNA kırığına sahip spermiler gözlemledik. Bu sonuç bize antioksidanların erkek üreme sistemi üzerine olumlu etkilerini görmemizi ve sperm DNA kırıkları üzerine antioksidanların önleyici veya onarıcı etkilerini gözlemlememizi sağladı. Bu çalışmanın, erkek infertilitesi ve bununla ilgili olarak geliştirilecek tedavi yöntemleri konusunda yapılacak yeni çalışmalara ışık tutacağını düşünmekteyiz.

ÖZET

GİRİŞ VE AMAÇ: Çalışmalarda düşük doz elektromanyetik alan (EMA) maruziyetinin oksidatif stres belirteçlerinin arttırması sonucu erkek infertilitesinde rol oynadığı bildirilmektedir. Çalışmalarda düşük doz elektromanyetik dalga ile uyarılan oksidatif stres durumuna antioksidanların potansiyel koruyucu etkileri gösterilmiştir. Bu çalışmada düşük doz elektromanyetik alanın sıçan testis ve semen dokularına etkileri ve kafeik asit fenetil esterinin (CAPE) koruyucu rolü araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM: 30 günlük deneyde Wistar Albino sıçanlar kontrol, EMA, EMA+CAPE, CAPE şeklinde 4 gruba ayrılmıştır (n=8). Kontrol grubuna hiçbir madde uygulanmamıştır. EMA grubuna günde 1 saat 900 MHz elektromanyetik alan uygulanmıştır. EMA+CAPE grubuna 1 saat EMA maruziyetinden önce ip 10 µmol/kg CAPE uygulanmıştır. CAPE grubuna ip 10 µmol/kg CAPE uygulanmıştır. Deney sonunda sıçanlardan alınan kan ve testis dokularında biyokimyasal, testis ve semen dokularında histolojik ve akım sitometrik analizler yapılmıştır.

BULGULAR: Testiste EMA maruziyetine bağlı histopatolojik dejenerasyonlar, semen konsantrasyonunda ve ileri motilitede azalma ve sperm morfolojisinde baş anomali tespit edilmiştir. Semende akım sitometri analizi ile DNA hasarı yüzdesinin EMA grubunda yüksek olduğu görülmüştür. CAPE'nin bu hasarları azalttığı bulunmuştur. Serumda gruplar arasında GSH-Px, TAS, SOD, total tiyol açısından anlamlı fark bulunmamıştır. EMA uygulanan grupta serum testosteron düzeyi düşük, TOS, OSİ, MDA düzeyleri yüksek bulunmuştur. Testiste SOD düzeyinde anlamlı fark görülmezken CAPE uygulanan grubun TOS, OSİ, MDA düzeyleri düşük, TAS düzeyi yüksek bulunmuştur.

SONUÇ: CAPE, EMA'nın oluşturduğu oksidatif stresi serumda ve dokuda histolojik ve biyokimyasal açıdan düzeltmektedir.

Anahtar Kelimeler: Akım sitometri, Elektromanyetik alan, Histopatoloji, Kafeik asit fenetil ester, Oksidatif stres, Semen, Sperm, Testis, TUNEL.

SUMMARY

INTRODUCTION: Low-dose electromagnetic field (EMF) exposure has been reported to play a role in male infertility as a result of increasing oxidative stress markers. The potential protective effects of antioxidants on oxidative stress induced by low-dose electromagnetic wave have been shown in the studies. The effects of low dose electromagnetic field on testis and semen tissues and the protective role of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) were investigated.

MATERIALS AND METHODS: Wistar Albino rats were divided into 4 groups as control, EMF, EMF + CAPE, CAPE (n=8). No substance could be applied to the control group. EMF group received 900 MHz electromagnetic field for 1 hour per day. EMF + CAPE group was treated with ip 10 $\mu\text{mol/kg}$ CAPE before 1 hour EMF exposure. CAPE group was given 10 $\mu\text{mol/kg}$ CAPE. At the end of the experiment, biochemical analyzes of blood and testes and histological and flow cytometric analyzes of testes and semen tissues were performed.

RESULTS: Histopathological degenerations due to EMF exposure in testicle, concentration and progressive motility decrease in semen and head anomaly in sperm morphology were determined. By flow cytometry analysis, percentage of DNA damage was higher in EMF group. CAPE has been found to reduce these damages. No significant difference was found between the groups in terms of GSH-Px, TAS, SOD, total thiol in serum. In the EMF group, serum testosterone levels were low and TOS, OSI and MDA levels were found to be high. While no significant difference was observed in SOD level in the testicle, TOS, OSI, MDA levels of CAPE group and TAS level were found to be high.

CONCLUSION: The oxidative stress induced by EMF was corrected histologically and biochemically by CAPE in serum and testis tissues.

Key Words: Caffeic acid phenethyl ester, Electromagnetic field, Flow cytometry, Histopathology, Oxidative stress, Semen, Sperm, Testis.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Şadiye Açıkgöz

Doğum yeri ve tarihi: Emirdağ / 20.03.1982

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: Bir çocuk annesi.

İletişim adresi: sadiye.acikgoz@gmail.com

Yabancı dili/ Seviye: İngilizce / ÜDS: 72

II- Eğitimi: Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi/Histoloji ve Embriyoloji

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi/Lisans

Ankara Atatürk Anadolu Lisesi/Lise

III- Ünvanları: Doktor

Anne

IV- Mesleki Deneyimi: Çankırı 112 Acil Sağlık Hizmetleri/ 2009-2011

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji

AD/ 2015-2019

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar: Türkiye Histoloji ve Embriyoloji Derneği

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayınları:

1. Yanar S, Açıkgöz Ş, Şahin E, Sarıkaya A. Spermatogonial Kök Hücre, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Dergisi 2017; 4(1):37-44. Derleme.
2. E Şahin, D Güzel, Ş Açıkgöz, N Tufan. Effects of Acute and Chronic Exposure to 900 Mhz Electromagnetic Field on the Rat Liver Microarchitecture, Presented at the 2nd International Cell Death Research Congress, Izmir, Turkey, 1–4 November 2018.
3. M Akcaalan, MD Yener, S Acikgoz, T Colak, B Bamac, N Cengiz, Comparison of Kidneys Between Healthy Group and Stress Group in Terms of Cortex-Medulla Thickness, IMER-HS Congress, Istanbul, Turkey, 3-5 November 2017.
4. 9. Hücresel Sinirbilim Kongresi, İstanbul, 29-30 Kasım 2015.
5. 15. Hücresel Sinirbilim Kongresi, Sakarya, 07-10 Mayıs 2017.

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Verdiği konferans ya da seminerler:

‘Formaldehit’ /derleme sunum

‘Hücre Hasarı’/derleme sunum

‘Hücre Organelleri’/ sunum

‘Epitel Dokusu’/ sunum

‘Bağ Dokusu’/ sunum

‘Sinir Dokusu’/ sunum

‘Over histolojisi’/ sunum

‘Embriyonun 1. 2. ve 3. Gelişim haftaları’ /sunum

VIII- Diğer Bilgiler

Eğitim programı haricinde aldığı kurslar ve katıldığı eğitim seminerleri:

Deney hayvanları kullanım Sertifikası Eğitimi, Sakarya Üniversitesi HADYEK, Sakarya, 22.06.2018-02.07.2018

14. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, Antalya, 10-13 Mayıs 2018

Mezenkimal Kök Hücre, Klinik Kanıtları ve *In Vivo* Deneysel Kullanım Kursu, SÜDETAM, Sakarya, 08-09 Aralık 2018

Fotodinamik Terapi Çalıştayı I 2018, Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sakarya, Sağlık Bilimlerinde Bilimsel Proje Hazırlama Eğitim Etkinliği, THED-AYBÜ-2017, Ankara, 01-03 Aralık 2017

‘UpToDate Anywhere’ ve ‘Elsevier ClinicalKey’ Tıp Veritabanları Eğitimi, Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, 26.09.2016

ERPA Uluslararası Eğitim Kongresi Temel Refleksoloji Eğitimi, Bosna-Hersek, 03.06.2016

Konfokal Mikroskop Çalıştayı, Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, 08.10.2015

Temel İş Sağlığı ve Güvenliği Eğitimi, Sakarya, 04.11.2015

KAYNAKLAR

- Abu Khadra K. M., Khalil A. M., Abu Samak M. & Aljaberi A. 2015. Evaluation Of Selected Biochemical Parameters In The Saliva Of Young Males Using Mobile Phones. *Electromagnetic Biology And Medicine*, 34, 72-76.
- Achudume A., Onibere B., Aina F. & Tchokossa P. 2010. Induction Of Oxidative Stress In Male Rats Subchronically Exposed To Electromagnetic Fields At Non-Thermal Intensities. *Journal Of Electromagnetic Analysis And Applications*, 2, 482.
- Agarwal A., Deepinder F., Sharma R. K., Ranga G. & Li J. 2008. Effect Of Cell Phone Usage On Semen Analysis In Men Attending Infertility Clinic: An Observational Study. *Fertility And Sterility*, 89, 124-128.
- Agarwal A., Desai N. R., Makker K., Varghese A., Mouradi R., Sabanegh E. & Sharma R. 2009. Effects Of Radiofrequency Electromagnetic Waves (Rf-Emw) From Cellular Phones On Human Ejaculated Semen: An In Vitro Pilot Study. *Fertility And Sterility*, 92, 1318-1325.
- Agarwal A. & Prabakaran S. A. 2005. Mechanism, Measurement, And Prevention Of Oxidative Stress In Male Reproductive Physiology.
- Agarwal A. & Said T. M. 2003. Role Of Sperm Chromatin Abnormalities And Dna Damage In Male Infertility. *Human Reproduction Update*, 9, 331-345.
- Agarwal A. & Saleh R. A. 2002. Role Of Oxidants In Male Infertility: Rationale, Significance, And Treatment. *Urologic Clinics Of North America*, 29, 817-828.
- Agarwal A., Saleh R. A. & Bedaiwy, M. A. 2003. Role Of Reactive Oxygen Species In The Pathophysiology Of Human Reproduction. *Fertility And Sterility*, 79, 829-843.

- Ahmadian S., Zarchi S. R. & Bolouri B. 2006. Effects Of Extremely-Low-Frequency Pulsed Electromagnetic Fields On Collagen Synthesis In Rat Skin. *Biotechnology And Applied Biochemistry*, 43, 71-75.
- Aitken R. J. & Baker M. A. 2006. Oxidative Stress, Sperm Survival And Fertility Control. *Molecular And Cellular Endocrinology*, 250, 66-69.
- Aitken R. J., Bennetts L. E., Sawyer D., Wiklendt A. M. & King B. V. 2005. Impact Of Radio Frequency Electromagnetic Radiation On Dna Integrity In The Male Germline. *International Journal Of Andrology*, 28, 171-179.
- Aitken R. J., Gordon E., Harkiss D., Twigg J. P., Milne P., Jennings Z. & Irvine D. S. 1998. Relative Impact Of Oxidative Stress On The Functional Competence And Genomic Integrity Of Human Spermatozoa. *Biology Of Reproduction*, 59, 1037-1046.
- Aitken R. J. & Krausz C. 2001. Oxidative Stress, Dna Damage And The Y Chromosome. *Reproduction-Cambridge-*, 122, 497-506.
- Akbari A., Jelodar G. & Nazifi S. 2014. Vitamin C Protects Rat Cerebellum And Encephalon From Oxidative Stress Following Exposure To Radiofrequency Wave Generated By A Bts Antenna Model. *Toxicology Mechanisms And Methods*, 24, 347-352.
- Akyol S., Armutçu F. & Yiğitoğlu M. R. 2011. The Medical Usage Of Caffeic Acid Phenethyl Ester (Cape), An Active Compound Of Propolis, In Neurological Disorders And Emergencies. *Spatula Dd-Tamamlayıcı Tip Ve İlaç Geliştirme Alanında Hakemli Dergi*, 1, 37-42.
- Akyol S., Giniş Z., Armutçu F., Öztürk G., Yiğitoğlu M. R. & Akyol O. 2012. The Potential Usage Of Caffeic Acid Phenethyl Ester (Cape) Against Chemotherapy-Induced And Radiotherapy-Induced Toxicity. *Cell Biochemistry And Function*, 30, 438-443.
- Al-Damegh M. A. 2012. Rat Testicular Impairment Induced By Electromagnetic Radiation From A Conventional Cellular Telephone And The Protective Effects Of The Antioxidants Vitamins C And E. *Clinics*, 67, 785-792.
- Alberts B. 2002. Membrane Transport Of Small Molecules And The Electrical Properties Of Membranes. *Molecular Biology Of The Cell*, 615-657.

- Almášiová V., Holovská K., Cigánková V., Račeková E., Fabianová K. & Martončíková M. 2014. Structural And Ultrastructural Study Of Rat Testes Influenced By Electromagnetic Radiation. *Journal Of Toxicology And Environmental Health, Part A*, 77, 747-750.
- Arbabi-Kalati F., Salimi S., Vaziry-Rabiee A. & Noraei M. 2014. Effect Of Mobile Phone Usage Time On Total Antioxidant Capacity Of Saliva And Salivary Immunoglobulin A. *Iranian Journal Of Public Health*, 43, 480.
- Arıncı K. & Elhan A. 2006. *Anatomi 1. Cilt: Kemikler, Eklemler, Kaslar, İç Organlar, Güneş Kitapevi*.
- Asanova T. 1966. The State Of Health Of Persons Working In The Electric Field Of Outdoor 400 And 500 Kv Switcyards. *Gig. Trud., Prof., Zabol.*, 10, 50-52.
- Atasoy H. I., Gunal M. Y., Atasoy P., Elgun S. & Buğdaycı G. 2013. Immunohistopathologic Demonstration Of Deleterious Effects On Growing Rat Testes Of Radiofrequency Waves Emitted From Conventional Wi-Fi Devices. *Journal Of Pediatric Urology*, 9, 223-229.
- Athayde K. S., Cocuzza M., Agarwal A., Krajcir N., Lucon A. M., Srougi M. & Hallak J. 2007. Development Of Normal Reference Values For Seminal Reactive Oxygen Species And Their Correlation With Leukocytes And Semen Parameters In A Fertile Population. *Journal Of Andrology*, 28, 613-620.
- Austin C. 1951. Observations On The Penetration Of The Sperm Into The Mammalian Egg. *Australian Journal Of Biological Sciences*, 4, 581-596.
- Avendano C., Mata A., Sarmiento C. A. S. & Doncel G. F. 2012. Use Of Laptop Computers Connected To Internet Through Wi-Fi Decreases Human Sperm Motility And Increases Sperm Dna Fragmentation. *Fertility And Sterility*, 97, 39-45. E2.
- Aweda M., Gbenebitse S. & Meidinyo R. 2003. Effects Of 2.45 Ghz Microwave Exposures On The Peroxidation Status In Wistar Rats. *The Nigerian Postgraduate Medical Journal*, 10, 243-246.
- Ayata A., Mollaoğlu H., Yılmaz H. R., Aktürk O., Özgüner F. & Altuntaş I. 2004. Oxidative Stress-Mediated Skin Damage In An Experimental Mobile Phone Model Can Be Prevented By Melatonin. *The Journal Of Dermatology*, 31, 878-883.

- Aydın B. & Akar A. 2011. Effects Of A 900-Mhz Electromagnetic Field On Oxidative Stress Parameters In Rat Lymphoid Organs, Polymorphonuclear Leukocytes And Plasma. *Archives Of Medical Research*, 42, 261-267.
- Ayla Ş., Tunali G., Bilgiç B. E., Sofuoğlu K., Özdemir A. A., Tanriverdi G., Özdemir, S., Soner, B. C., Öztürk, B. & Karahüseyinoğlu, S. 2018. Antioxidant Activity Of Cape (Caffeic Acid Phenethyl Ester) In Vitro Can Protect Human Sperm Deoxyribonucleic Acid From Oxidative Damage. *Acta Histochemica*.
- Aynalı G., Naziroğlu M., Çelik Ö., Doğan M., Yarıktaş M. & Yasan H. 2013. Modulation Of Wireless (2.45 Ghz)-Induced Oxidative Toxicity In Laryngotracheal Mucosa Of Rat By Melatonin. *European Archives Of Oto-Rhino-Laryngology*, 270, 1695-1700.
- Baharara J., Amini E., Salek-Abdollahi F., Nikdel N. & Asadi-Samani M. 2015. Protective Effect Of Date Palm Pollen (*Phoenix Dactylifera*) On Sperm Parameters And Sexual Hormones In Male Nmri Mice Exposed To Low Frequency Electromagnetic Field (50 Hz). *Journal Of Herbmед Pharmacology*, 4.
- Bakare A. A., Mosuro A. A. & Osibanjo O. 2005. An In Vivo Evaluation Of Induction Of Abnormal Sperm Morphology In Mice By Landfill Leachates. *Mutation Research/Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis*, 582, 28-34.
- Balcı, M., Devrim E. & Durak I. 2007. Effects Of Mobile Phones On Oxidant/Antioxidant Balance In Cornea And Lens Of Rats. *Current Eye Research*, 32, 21-25.
- Bankova V. 2009. Chemical Diversity Of Propolis Makes It A Valuable Source Of New Biologically Active Compounds. *Journal Of Apiprodukt And Apimedical Science*, 1, 23-28.
- Behari J. 2010. Biological Responses Of Mobile Phone Frequency Exposure.
- Belkhiri A., Richards C., Whaley M., Mcqueen S. A. & Orr F. W. 1997. Increased Expression Of Activated Matrix Metalloproteinase-2 By Human Endothelial Cells After Sublethal H₂O₂ Exposure. *Laboratory Investigation; A Journal Of Technical Methods And Pathology*, 77, 533-539.
- Bernabò N., Ciccarelli R., Greco L., Ordinelli A., Mattioli M. & Barboni B. 2017. Scientometric Study Of The Effects Of Exposure To Non-Ionizing

- Electromagnetic Fields On Fertility: A Contribution To Understanding The Reasons Of Partial Failure. *Plos One*, 12, E0187890.
- Bilgici B., Akar A., Avci B. & Tuncel O. K. 2013. Effect Of 900 Mhz Radiofrequency Radiation On Oxidative Stress In Rat Brain And Serum. *Electromagnetic Biology And Medicine*, 32, 20-29.
- Bin-Meferij M. M. & El-Kott A. F. 2015. The Radioprotective Effects Of *Moringa Oleifera* Against Mobile Phone Electromagnetic Radiation-Induced Infertility In Rats. *International Journal Of Clinical And Experimental Medicine*, 8, 12487.
- Bisht S., Faiq M., Tolahunase M. & Dada R. 2017. Oxidative Stress And Male Infertility. *Nature Reviews Urology*, 14, 470.
- Bruce W. R. & Heddle J. A. 1979. The Mutagenic Activity Of 61 Agents As Determined By The Micronucleus, Salmonella, And Sperm Abnormality Assays. *Canadian Journal Of Genetics And Cytology*, 21, 319-333.
- Bucak M. N., Sariözkan S., Tuncer P. B., Sakin F., Ateşşahin A., Kulaksiz R. & Çevik M. 2010. The Effect Of Antioxidants On Post-Thawed Angora Goat (*Capra Hircus Ancryrensis*) Sperm Parameters, Lipid Peroxidation And Antioxidant Activities. *Small Ruminant Research*, 89, 24-30.
- Calcabrini C., Mancini U., De Bellis R., Diaz A. R., Martinelli M., Cucchiarini L., Sestili P., Stocchi V. & Potenza L. 2017. Effect Of Extremely Low-Frequency Electromagnetic Fields On Antioxidant Activity In The Human Keratinocyte Cell Line Nctc 2544. *Biotechnology And Applied Biochemistry*, 64, 415-422.
- Cao H., Qin F., Liu X., Wang J., Cao Y., Tong J. & Zhao H. 2015. Circadian Rhythmicity Of Antioxidant Markers In Rats Exposed To 1.8 Ghz Radiofrequency Fields. *International Journal Of Environmental Research And Public Health*, 12, 2071-2087.
- Cavicchia J. C. & Sacerdote F. L. 1988. Topography Of The Rat Blood-Testis Barrier After Intratubular Administration Of Intercellular Tracers. *Tissue And Cell*, 20, 577-586.
- Challis L. 2005. Mechanisms For Interaction Between Rf Fields And Biological Tissue. *Bioelectromagnetics*, 26, S98-S106.

- Chauhan P., Verma H., Sisodia R. & Kesari K. K. 2017. Microwave Radiation (2.45 Ghz)-Induced Oxidative Stress: Whole-Body Exposure Effect On Histopathology Of Wistar Rats. *Electromagnetic Biology And Medicine*, 36, 20-30.
- Cheeseman K. & Slater T. 1993. An Introduction To Free Radical Biochemistry. *British Medical Bulletin*, 49, 481-493.
- Chen H.-C., Chen J.-H., Chang C. & Shieh C.-J. 2011. Optimization Of Ultrasound-Accelerated Synthesis Of Enzymatic Caffeic Acid Phenethyl Ester By Response Surface Methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18, 455-459.
- Cighetti G., Duca L., Bortone L., Sala S., Nava I., Fiorelli G. & Cappellini M. 2002. Oxidative Status And Malondialdehyde In B-Thalassaemia Patients. *European Journal Of Clinical Investigation*, 32, 55-60.
- Ciombor D. M. & Aaron R. K. 2005. The Role Of Electrical Stimulation In Bone Repair. *Foot And Ankle Clinics*, 10, 579-593.
- Comhaire F., Christophe A., Zalata A., Dhooge W., Mahmoud A. & Depuydt C. 2000. The Effects Of Combined Conventional Treatment, Oral Antioxidants And Essential Fatty Acids On Sperm Biology In Subfertile Men. *Prostaglandins, Leukotrienes And Essential Fatty Acids (Plefa)*, 63, 159-165.
- Cui K., Luo X., Xu K. & Murthy M. V. 2004. Role Of Oxidative Stress In Neurodegeneration: Recent Developments In Assay Methods For Oxidative Stress And Nutraceutical Antioxidants. *Progress In Neuro-Psychopharmacology And Biological Psychiatry*, 28, 771-799.
- Çiftçi H., Verit, A., Savaş M., Yeni E. & Erel O. 2009. Effects Of N-Acetylcysteine On Semen Parameters And Oxidative/Antioxidant Status. *Urology*, 74, 73-76.
- Daşdağ, S., Taş M., Akdağ M. Z. & Yeğin K. 2015. Effect Of Long-Term Exposure Of 2.4 Ghz Radiofrequency Radiation Emitted From Wi-Fi Equipment On Testes Functions. *Electromagnetic Biology And Medicine*, 34, 37-42.
- Daşdağ, S., Akdağ M. Z., Aksen F., Yılmaz F., Bashan M., Daşdağ M. M. & Salih Çelik M. 2003. Whole Body Exposure Of Rats To Microwaves Emitted From A Cell Phone Does Not Affect The Testes. *Bioelectromagnetics*, 24, 182-188.
- Davoudi M. & Brossner C. 2002. The Influence Of Electromagnetic Waves On Sperm Motility.

- De Iuliis G. N., Newey R. J., King B. V. & Aitken R. J. 2009. Mobile Phone Radiation Induces Reactive Oxygen Species Production And Dna Damage In Human Spermatozoa In Vitro. *Plos One*, 4, E6446.
- De Lamirande E., Leclerc P. & Gagnon C. 1997. Capacitation As A Regulatory Event That Primes Spermatozoa For The Acrosome Reaction And Fertilization. *Molecular Human Reproduction*, 3, 175-194.
- De Lamirande E., Tsai C., Harakat A. & Gagnon C. 1998. Involvement Of Reactive Oxygen Species In Human Sperm Arcosome Reaction Induced By A23187, Lysophosphatidylcholine, And Biological Fluid Ultrafiltrates. *Journal Of Andrology*, 19, 585-594.
- De Luca C., Chung Sheun Thai, J., Raskovic D., Cesareo E., Caccamo D., Trukhanov A. & Korkina L. 2014. Metabolic And Genetic Screening Of Electromagnetic Hypersensitive Subjects As A Feasible Tool For Diagnostics And Intervention. *Mediators Of Inflammation*, 2014.
- De Souza F. T., Correia-Silva J. F., Ferreira E. F., Siqueira E. C., Duarte A. P., Gomez M. V., Gomez R. S. & Gomes C. C. 2014. Cell Phone Use And Parotid Salivary Gland Alterations: No Molecular Evidence. *Cancer Epidemiology And Prevention Biomarkers*, 23, 1428-1431.
- Demirel S., Doğanay S., Türköz Y., Doğan Z., Turan B. & Fırat P. G. B. 2012. Effects Of Third Generation Mobile Phone-Emitted Electromagnetic Radiation On Oxidative Stress Parameters In Eye Tissue And Blood Of Rats. *Cutaneous And Ocular Toxicology*, 31, 89-94.
- Desai N., Sharma R., Makker K., Sabanegh E. & Agarwal A. 2009. Physiologic And Pathologic Levels Of Reactive Oxygen Species In Neat Semen Of Infertile Men. *Fertility And Sterility*, 92, 1626-1631.
- Deshmukh P. S., Banerjee B. D., Abegaonkar M. P., Megha K., Ahmed R. S., Tripathi A. K. & Mediratta P. K. 2013. Effect Of Low Level Microwave Radiation Exposure On Cognitive Function And Oxidative Stress In Rats.
- Diem E., Schwarz C., Adlkofer F., Jahn O. & Rüdiger H. 2005. Non-Thermal Dna Breakage By Mobile-Phone Radiation (1800MHZ) In Human Fibroblasts And In Transformed Gfsh-R17 Rat Granulosa Cells In Vitro. *Mutation Research/Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis*, 583, 178-183.

- Elsheikh M., Hosny M., Elshenoufy A., Elghamrawi H., Fayad A. & Abdelrahman S. 2015. Combination Of Vitamin E And Clomiphene Citrate In Treating Patients With Idiopathic Oligoasthenozoospermia: A Prospective, Randomized Trial. *Andrology*, 3, 864-867.
- Erdem M., Gulabi D., Sen C., Şahin S. A. & Bozdağ E. 2014. Effects Of Caffeic Acid Phenethyl Ester And Melatonin On Distraction Osteogenesis: An Experimental Study. *Springerplus*, 3, 8.
- Erden M. 1992. Serbest Radikaller. *Turkiye Klinikleri Journal Of Medical Sciences*, 12, 201-207.
- Erel O. 2005. A New Automated Colorimetric Method For Measuring Total Oxidant Status. *Clinical Biochemistry*, 38, 1103-1111.
- Eroğul O., Öztaş E., Yıldırım I., Kır T., Aydur E., Komesli G., Irkilata H. C., Irmak M. K. & Peker A. F. 2006. Effects Of Electromagnetic Radiation From A Cellular Phone On Human Sperm Motility: An In Vitro Study. *Archives Of Medical Research*, 37, 840-843.
- Eser O., Songur A., Aktaş C., Karavelioğlu E., Çağlar V., Aylak F., Özgüner F. & Kanter, M. 2013. The Effect Of Electromagnetic Radiation On The Rat Brain: An Experimental Study. *Turkish Neurosurgery*, 23, 707-715.
- Esmekaya M. A., Özer C. & Seyhan N. 2011. 900 Mhz Pulse-Modulated Radiofrequency Radiation Induces Oxidative Stress On Heart, Lung, Testis And Liver Tissues. *Gen Physiol Biophys*, 30, 84-89.
- Falzone N., Huyser C., Becker P., Leszczynski D. & Franken D. R. 2011. The Effect Of Pulsed 900-MHz GSM Mobile Phone Radiation On The Acrosome Reaction, Head Morphometry And Zona Binding Of Human Spermatozoa. *International Journal Of Andrology*, 34, 20-26.
- Falzone N., Huyser C., Franken D. R. & Leszczynski D. 2010. Mobile Phone Radiation Does Not Induce Pro-Apoptosis Effects In Human Spermatozoa. *Radiation Research*, 174, 169-176.
- Fejes I., Závaczki Z., Szöllösi J., Koloszar S., Daru J., Kovacs L. & Pal A. 2005. Is There A Relationship Between Cell Phone Use And Semen Quality? *Archives Of Andrology*, 51, 385-393.

- Feychting M., Ahlbom A. & Kheifets L. 2005. Emf And Health Annu Rev Public Health 26: 165–189. Find This Article Online.
- Feychting M. & Alhbom M. 1993. Magnetic Fields And Cancer In Children Residing Near Swedish High-Voltage Power Lines. American Journal Of Epidemiology, 138, 467-481.
- Fischbein A., Zabudovsky N., Eltes F., Grischenko V. & Bartoov B. 1997. Ultramorphological Sperm Characteristics In The Risk Assessment Of Health Effects After Radiation Exposure Among Salvage Workers In Chernobyl. Environmental Health Perspectives, 105, 1445.
- Forgács Z., Somosy Z., Kubinyi G., Bakos J., Hudák A., Surján A. & Thuróczy G. 2006. Effect Of Whole-Body 1800 Mhz Gsm-Like Microwave Exposure On Testicular Steroidogenesis And Histology In Mice. Reproductive Toxicology, 22, 111-117.
- Fragopoulou A. F., Koussoulakos S. L. & Margaritis L. H. 2010. Cranial And Postcranial Skeletal Variations Induced In Mouse Embryos By Mobile Phone Radiation. Pathophysiology, 17, 169-177.
- Franken D. R., Kruger T. F., Oehninger S., Coddington C. C., Lombard C., Smith K. & Hodgen G. D. 1993. Andrology: The Ability Of The Hemizona Assay To Predict Human Fertilization In Different And Consecutive In-Vitro Fertilization Cycles. Human Reproduction, 8, 1240-1244.
- Galatioto G. P., Gravina G. L., Angelozzi G., Sacchetti A., Innominato P. F., Pace G., Ranieri G. & Vicentini C. 2008. May Antioxidant Therapy Improve Sperm Parameters Of Men With Persistent Oligospermia After Retrograde Embolization For Varicocele? World Journal Of Urology, 26, 97-102.
- Garaj-Vrhovac V., Gajski G., Pažanin S., Šarolić A., Domijan A.-M., Flajs D. & Peraica M. 2011. Assessment Of Cytogenetic Damage And Oxidative Stress In Personnel Occupationally Exposed To The Pulsed Microwave Radiation Of Marine Radar Equipment. International Journal Of Hygiene And Environmental Health, 214, 59-65.
- Garrido N., Meseguer M., Alvarez J., Simón C., Pellicer A. & Remohí J. 2004A. Relationship Among Standard Semen Parameters, Glutathione Peroxidase/Glutathione Reductase Activity, And Mrna Expression And

- Reduced Glutathione Content In Ejaculated Spermatozoa From Fertile And Infertile Men. *Fertility And Sterility*, 82, 1059-1066.
- Garrido N., Meseguer M., Simon C., Pellicer A. & Remohi J. 2004B. Pro-Oxidative And Anti-Oxidative Imbalance In Human Semen And Its Relation With Male Fertility. *Asian Journal Of Andrology*, 6, 59-65.
- Gavella M. & Lipovac V. 1992. Nadh-Dependent Oxidoreductase (Diaphorase) Activity And Isozyme Pattern Of Sperm In Infertile Men. *Archives Of Andrology*, 28, 135-141.
- Ghanbari M., Mortazavi S. B., Khavanin A. & Khazaei M. 2013. The Effects Of Cell Phone Waves (900 Mhz-Gsm Band) On Sperm Parameters And Total Antioxidant Capacity In Rats. *International Journal Of Fertility & Sterility*, 7, 21.
- Gherardini L., Ciuti G., Tognarelli S. & Cinti C. 2014. Searching For The Perfect Wave: The Effect Of Radiofrequency Electromagnetic Fields On Cells. *International Journal Of Molecular Sciences*, 15, 5366-5387.
- Gorpinchenko I., Nikitin O., Banyra O. & Shulyak A. 2014. The Influence Of Direct Mobile Phone Radiation On Sperm Quality. *Central European Journal Of Urology*, 67, 65.
- Greco E., Iacobelli M., Rienzi L., Ubaldi F., Ferrero S. & Tesarik J. 2005. Reduction Of The Incidence Of Sperm Dna Fragmentation By Oral Antioxidant Treatment. *Journal Of Andrology*, 26, 349-353.
- Griveau J. & Lannou D. L. 1997. Reactive Oxygen Species And Human Spermatozoa: Physiology And Pathology. *International Journal Of Andrology*, 20, 61-69.
- Group I. S. 2010. Brain Tumour Risk In Relation To Mobile Telephone Use: Results Of The Interphone International Case–Control Study. *International Journal Of Epidemiology*, 39, 675-694.
- Grunberger D., Banerjee R., Eisinger K., Oltz E., Efras L., Caldwell M., Estevez V. & Nakanishi K. 1988. Preferential Cytotoxicity On Tumor Cells By Caffeic Acid Phenethyl Ester Isolated From Propolis. *Experientia*, 44, 230-232.
- Gulati S., Yadav A., Kumar N., Priya K., Aggarwal N. K. & Gupta R. 2018. Phenotypic And Genotypic Characterization Of Antioxidant Enzyme System

- In Human Population Exposed To Radiation From Mobile Towers. *Molecular And Cellular Biochemistry*, 440, 1-9.
- Gupta N. P. & Kumar R. 2002. Lycopene Therapy In Idiopathic Male Infertility—A Preliminary Report. *International Urology And Nephrology*, 34, 369-372.
- Güney M., Özgüner F., Oral B., Karahan N. & Mungan T. 2007. 900 Mhz Radiofrequency-Induced Histopathologic Changes And Oxidative Stress In Rat Endometrium: Protection By Vitamins E And C. *Toxicology And Industrial Health*, 23, 411-420.
- Hadwan M. H., Almashhedy L. A. & Als Salman A. 2015. Oral Zinc Supplementation Restores Superoxide Radical Scavengers To Normal Levels In Spermatozoa Of Iraqi Asthenospermic Patients. *Int J Vitam Nutr Res*, 85, 165-73.
- Halliwell B. & Gutteridge J. 1999. *Free Radical In Biology And Medicine*, 1-231, 353-425. Oxford University Press, New York.
- Halliwell B. & Gutteridge J. 2006. Role Of Free Radicals In The Neurodegenerative Diseases: Therapeutic Implications For Antioxidant Treatment. *Amyotrophic Lateral Sclerosis*, 7, 67-67.
- Hamdi B., Roshangar L., Khaki A. & Soleimani Rad J. 2011. Histological Study Of Testes And Sperm Parameters In Adult Mice Exposed To 50 Hz Electromagnetic Field During Developmental Period. *Annals Of Biological Research*, 2, 455-62.
- Hamzany Y., Feinmesser R., Shpitzer T., Mizrachi A., Hilly O., Hod R., Bahar G., Otradnov I., Gavish M. & Nagler R. M. 2013. Is Human Saliva An Indicator Of The Adverse Health Effects Of Using Mobile Phones? : Mary Ann Liebert, Inc. 140 Huguenot Street, 3RD Floor New Rochelle, Ny 10801 Usa.
- Hancı H., Odaçı E., Kaya H., Aliyazıcıoğlu Y., Turan I., Demir S. & Çolakoğlu S. 2013. The Effect Of Prenatal Exposure To 900-Mhz Electromagnetic Field On The 21-Old-Day Rat Testicle. *Reproductive Toxicology*, 42, 203-209.
- Hawkes W. C., Alkan Z. & Wong K. 2009. Selenium Supplementation Does Not Affect Testicular Selenium Status Or Semen Quality In North American Men. *Journal Of Andrology*, 30, 525-533.
- Heermeier K., Spanner M., Träger J., Gradinger R., Strauss P., Kraus W. & Schmidt J. 1998. Effects Of Extremely Low Frequency Electromagnetic Field (Emf) On

- Collagen Type I Mrna Expression And Extracellular Matrix Synthesis Of Human Osteoblastic Cells. *Bioelectromagnetics: Journal Of The Bioelectromagnetics Society, The Society For Physical Regulation In Biology And Medicine, The European Bioelectromagnetics Association*, 19, 222-231.
- Hishikawa K., Nakaki T. & Fujita T. 2005. Oral Flavonoid Supplementation Attenuates Atherosclerosis Development In Apolipoprotein E-Deficient Mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, And Vascular Biology*, 25, 442-446.
https://Embryology.Med.Unsw.Edu.Au/Embryology/Index.Php/File:Testis_Histology_2.Jpg.
- <https://Www.Caymanchem.Com/Images/Catalog/70750.Png>.
- <https://Www.Ck12.Org/Physics/Electromagnetic-Waves/Lesson/Electromagnetic-Waves-Ms-Ps>.
- <https://Www.Niehs.Nih.Gov/Health/Topics/Agents/Emf/>.
- <https://Www.Onlinefizik.Com/Dunyanin-Manyetik-Alani-Manyetosfer/>.
- Humans, I. W. G. O. T. E. O. C. R. T. 2013. Non-Ionizing Radiation, Part 2: Radiofrequency Electromagnetic Fields. *Iarc Monographs On The Evaluation Of Carcinogenic Risks To Humans*, 102, 1.
- Jegou B. 1992. The Sertoli Cell. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*, 6, 273-311.
- Jelodar G., Nazifi S. & Akbari A. 2013. The Prophylactic Effect Of Vitamin C On Induced Oxidative Stress In Rat Testis Following Exposure To 900 Mhz Radio Frequency Wave Generated By A Bts Antenna Model. *Electromagnetic Biology And Medicine*, 32, 409-416.
- John Aitken R., Clarkson J. S. & Fishel S. 1989. Generation Of Reactive Oxygen Species, Lipid Peroxidation, And Human Sperm Function. *Biology Of Reproduction*, 41, 183-197.
- Johnsen S. G. 1970. Testicular Biopsy Score Count—A Method For Registration Of Spermatogenesis In Human Testes: Normal Values And Results In 335 Hypogonadal Males. *Hormone Research In Paediatrics*, 1, 2-25.
- Kawaguchi Y., Tanaka H., Okada T., Konishi H., Takahashi M., Ito M. & Asai J. 1996. The Effects Of Ultraviolet A And Reactive Oxygen Species On The Mrna Expression Of 72-Kda Type Iv Collagenase And Its Tissue Inhibitor In

- Cultured Human Dermal Fibroblasts. *Archives Of Dermatological Research*, 288, 39-44.
- Kesari K. K., Agarwal A. & Henkel R. 2018. Radiations And Male Fertility. *Reproductive Biology And Endocrinology*, 16, 118.
- Kesari K. K. & Behari J. 2010. Effects Of Microwave At 2.45 Ghz Radiations On Reproductive System Of Male Rats. *Toxicological And Environ Chemistry*, 92, 1135-1147.
- Kesari K. K. & Behari J. 2012. Evidence For Mobile Phone Radiation Exposure Effects On Reproductive Pattern Of Male Rats: Role Of Ros. *Electromagnetic Biology And Medicine*, 31, 213-222.
- Kesari K. K., Kumar S. & Behari J. 2010. Mobile Phone Usage And Male Infertility In Wistar Rats.
- Kessopoulou E., Powers H. J., Sharma K. K., Pearson M. J., Russell J. M., Cooke I. D. & Barratt, C. L. 1995. A Double-Blind Randomized Placebo Cross-Over Controlled Trial Using The Antioxidant Vitamin E To Treat Reactive Oxygen Species Associated Male Infertility. *Fertility And Sterility*, 64, 825-831.
- Khalil A. M., Abu Khadra K. M., Aljaberi A. M., Gagaa M. H. & Issa H. S. 2014. Assessment Of Oxidant/Antioxidant Status In Saliva Of Cell Phone Users. *Electromagnetic Biology And Medicine*, 33, 92-97.
- Khayyat L. I. 2011. The Histopathological Effects Of An Electromagnetic Field On The Kidney And Testis Of Mice. *Eurasia J Biosci*, 5, 103-109.
- Kızılay A., Kalcıoğlu M., Özerol E., Iraz M., Güleç M., Akyol O. & Özturan O. 2004. Caffeic Acid Phenethyl Ester Ameliorated Ototoxicity Induced By Cisplatin In Rats. *Journal Of Chemotherapy*, 16, 381-387.
- Kierszenbaum A. L. 2006. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi-Patolojiye Giriş. Çeviri Editörü: Ramazan Demir, Palme Yayıncılık*, s. 531-564.
- Kim J. Y., Kim H. T., Moon K. H. & Shin H. J. 2007. Long-Term Exposure Of Rats To A 2.45 Ghz Electromagnetic Field: Effects On Reproductive Function. *Korean Journal Of Urology*, 48, 1308-1314.
- Kishimoto N., Kakino Y., Iwai K., Mochida K. & Fujita T. 2005. In Vitro Antibacterial, Antimutagenic And Anti-Influenza Virus Activity Of Caffeic Acid Phenethyl Esters. *Biocontrol Science*, 10, 155-161.

- Koç A., Ünal D., Çimentepe E., Bayrak Ö., Karataş Ö. F., Yıldırım M. E., Bayrak R. & Aydın M. 2013. The Effects Of Antioxidants On Testicular Apoptosis And Oxidative Stress Produced By Cell Phones. *Turkish Journal Of Medical Sciences*, 43, 131-137.
- Koh E. K., Ryu B.-K., Jeong D.-Y., Bang I.-S., Nam M. H. & Chae K.-S. 2008. A 60-Hz Sinusoidal Magnetic Field Induces Apoptosis Of Prostate Cancer Cells Through Reactive Oxygen Species. *International Journal Of Radiation Biology*, 84, 945-955.
- Koyu A., Özgüner F., Yılmaz H., Uz E., Cesur G. & Özçelik N. 2009. The Protective Effect Of Caffeic Acid Phenethyl Ester (Cape) On Oxidative Stress In Rat Liver Exposed To The 900 Mhz Electromagnetic Field. *Toxicology And Industrial Health*, 25, 429-434.
- Krausz C., Mills C., Rogers S., Tan S. & Aitken R. J. 1994. Stimulation Of Oxidant Generation By Human Sperm Suspensions Using Phorbol Esters And Formyl Peptides: Relationships With Motility And Fertilization In Vitro. *Fertility And Sterility*, 62, 599-605.
- Kruger T. F., Acosta A. A., Simmons K. F., Swanson R. J., Matta J. F. & Oehninger S. 1988. Predictive Value Of Abnormal Sperm Morphology In In Vitro Fertilization. *Fertility And Sterility*, 49, 112-117.
- Kruger T. F., Menkveld R., Stander F. S., Lombard C. J., Van Der Merwe J. P., Van Zyl J. A. & Smith K. 1986. Sperm Morphologic Features As A Prognostic Factor In In Vitro Fertilization. *Fertility And Sterility*, 46, 1118-1123.
- Kujumgiev A., Bankova V., Ignatova A. & Popov S. 1993. Antibacterial Activity Of Propolis, Some Of Its Components And Their Analogs. *Die Pharmazie*, 48, 785-786.
- Kumar S., Kesari K. K. & Behari J. 2011. The Therapeutic Effect Of A Pulsed Electromagnetic Field On The Reproductive Patterns Of Male Wistar Rats Exposed To A 2.45-Ghz Microwave Field. *Clinics*, 66, 1237-1245.
- Kumar T. R., Doreswamy K. & Shrilatha B. 2002. Oxidative Stress Associated Dna Damage In Testis Of Mice: Induction Of Abnormal Sperms And Effects On Fertility. *Mutation Research/Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis*, 513, 103-111.

- Kumar V., Cotran R. & Robbins S. 2000. Temel Patoloji (Çeviri). Çev. Ed. Çevikbaş U. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 133-74.
- Kumazawa S., Ahn M.-R., Fujimoto T. & Kato M. 2010. Radical-Scavenging Activity And Phenolic Constituents Of Propolis From Different Regions Of Argentina. *Natural Product Research*, 24, 804-812.
- Kuo H.-C., Kuo W.-H., Lee Y.-J., Lin W.-L., Chou F.-P. & Tseng T.-H. 2006. Inhibitory Effect Of Caffeic Acid Phenethyl Ester On The Growth Of C6 Glioma Cells In Vitro And In Vivo. *Cancer Letters*, 234, 199-208.
- Kurek-Górecka A., Rzepecka-Stojko A., Górecki M., Stojko J., Sosada M. & Świerczek-Zięba G. 2014. Structure And Antioxidant Activity Of Polyphenols Derived From Propolis. *Molecules*, 19, 78-101.
- Lafuente R., González-Comadrán M., Solà I., López G., Brassesco M., Carreras R. & Checa M. A. 2013. Coenzyme Q10 And Male Infertility: A Meta-Analysis. *Journal Of Assisted Reproduction And Genetics*, 30, 1147-1156.
- Lambert H., Overstreet J. W., Morales P., Hanson F. W. & Yanagimachi R. 1985. Sperm Capacitation In The Human Female Reproductive Tract. *Fertility And Sterility*, 43, 325-327.
- Lantow M., Lupke M., Frahm J., Mattsson M., Kuster N. & Simko M. 2006A. Ros Release And Hsp70 Expression After Exposure To 1,800 Mhz Radiofrequency Electromagnetic Fields In Primary Human Monocytes And Lymphocytes. *Radiation And Environmental Biophysics*, 45, 55-62.
- Lantow M., Schuderer J., Hartwig C. & Simko M. 2006B. Free Radical Release And Hsp70 Expression In Two Human Immune-Relevant Cell Lines After Exposure To 1800 Mhz Radiofrequency Radiation. *Radiation Research*, 165, 88-94.
- Larki A., Hemmati A., Arzi A., Borujerdnia M. G., Esmaeilzadeh S. & Karami M. Z. 2013. Regulatory Effect Of Caffeic Acid Phenethyl Ester On Type I Collagen And Interferon-Gamma In Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis In Rat. *Research In Pharmaceutical Sciences*, 8, 243.
- Lee H. J., Pack J. K., Kim T. H., Kim N., Choi S. Y., Lee J. S., Kim S. H. & Lee Y. S. 2010. The Lack Of Histological Changes Of Cdma Cellular Phone-Based Radio Frequency On Rat Testis. *Bioelectromagnetics*, 31, 528-534.

- Lee J. S., Ahn S. S., Jung K. C., Kim Y.-W. & Lee S. K. 2004A. Effects Of 60 Hz Electromagnetic Field Exposure On Testicular Germ Cell Apoptosis In Mice. *Asian Journal Of Andrology*, 6, 29-34.
- Lee K. J., Choi J. H., Khanal T., Hwang Y. P., Chung Y. C. & Jeong H. G. 2008. Protective Effect Of Caffeic Acid Phenethyl Ester Against Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity In Mice. *Toxicology*, 248, 18-24.
- Lee K. W., Chun K. S., Lee J. S., Kang K. S., Surh Y. J. & Lee H. J. 2004B. Inhibition Of Cyclooxygenase-2 Expression And Restoration Of Gap Junction Intercellular Communication In H-Ras-Transformed Rat Liver Epithelial Cells By Caffeic Acid Phenethyl Ester. *Annals Of The New York Academy Of Sciences*, 1030, 501-507.
- Leszczynski D., Joenväärä S., Reivinen J. & Kuokka R. 2002. Non-Thermal Activation Of The Hsp27/P38mapk Stress Pathway By Mobile Phone Radiation In Human Endothelial Cells: Molecular Mechanism For Cancer-And Blood-Brain Barrier-Related Effects. *Differentiation*, 70, 120-129.
- Lewicka M., Henrykowska G. A., Pacholski K., Szczęsny A., Dziedziczak-Buczyńska M. & Buczyński A. 2015. The Impact Of Electromagnetic Radiation Of Different Parameters On Platelet Oxygen Metabolism-In Vitro Studies. *Adv Clin Exp Med*, 24, 31-35.
- Liao H.-F., Chen Y.-Y., Liu J.-J., Hsu M.-L., Shieh H.-J., Liao H.-J., Shieh C.-J., Shiao M.-S. & Chen Y.-J. 2003. Inhibitory Effect Of Caffeic Acid Phenethyl Ester On Angiogenesis, Tumor Invasion, And Metastasis. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 51, 7907-7912.
- Liburdy R. P. 1992. Calcium Signaling In Lymphocytes And Elf Fields Evidence For An Electric Field Metric And A Site Of Interaction Involving The Calcium Ion Channel. *Febs Letters*, 301, 53-59.
- Lindström E., Mild K. H. & Lundgren E. 1998. Analysis Of The T Cell Activation Signaling Pathway During Elf Magnetic Field Exposure, P56lck And [Ca²⁺] I-Measurements. *Bioelectrochemistry And Bioenergetics*, 46, 129-137.
- Liu C., Gao P., Xu S.-C., Wang Y., Chen C.-H., He M.-D., Yu Z.-P., Zhang L. & Zhou Z. 2013. Mobile Phone Radiation Induces Mode-Dependent Dna Damage In A

- Mouse Spermatoocyte-Derived Cell Line: A Protective Role Of Melatonin. *International Journal Of Radiation Biology*, 89, 993-1001.
- Liu D. Y., Garrett C. & Baker H. G. 2004. Clinical Application Of Sperm-Oocyte Interaction Tests In In Vitro Fertilization–Embryo Transfer And Intracytoplasmic Sperm Injection Programs. *Fertility And Sterility*, 82, 1251-1263.
- Liu Q., Si T., Xu X., Liang F., Wang L. & Pan S. 2015. Electromagnetic Radiation At 900 Mhz Induces Sperm Apoptosis Through Bcl-2, Bax And Caspase-3 Signaling Pathways In Rats. *Reproductive Health*, 12, 65.
- Lopes S., Jurisicova A., Sun J.-G. & Casper R. F. 1998. Reactive Oxygen Species: Potential Cause For Dna Fragmentation In Human Spermatozoa. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 13, 896-900.
- Lotfy M. 2006. Biological Activity Of Bee Propolis In Health And Disease. *Asian Pac J Cancer Prev*, 7, 22-31.
- Lu Y.-S., Huang B.-T. & Huang Y.-X. 2012. Reactive Oxygen Species Formation And Apoptosis In Human Peripheral Blood Mononuclear Cell Induced By 900 Mhz Mobile Phone Radiation. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*, 2012.
- Luukkonen J., Hakulinen P., Mäki-Paakkanen J., Juutilainen J. & Naarala, J. 2009. Enhancement Of Chemically Induced Reactive Oxygen Species Production And Dna Damage In Human Sh-Sy5y Neuroblastoma Cells By 872MHZ Radiofrequency Radiation. *Mutation Research/Fundamental And Molecular Mechanisms Of Mutagenesis*, 662, 54-58.
- Luukkonen J., Juutilainen J. & Naarala J. 2010. Combined Effects Of 872 Mhz Radiofrequency Radiation And Ferrous Chloride On Reactive Oxygen Species Production And Dna Damage In Human Sh-Sy5y Neuroblastoma Cells. *Bioelectromagnetics*, 31, 417-424.
- Mailankot M., Kunnath A. P., Jayalekshmi H., Koduru B. & Valsalan R. 2009. Radio Frequency Electromagnetic Radiation (Rf-Emr) From Gsm (0.9/1.8 Ghz) Mobile Phones Induces Oxidative Stress And Reduces Sperm Motility In Rats. *Clinics*, 64, 561-565.
- Makler A. 1980. The Improved Ten-Micrometer Chamber For Rapid Sperm Count And Motility Evaluation. *Fertility And Sterility*, 33, 337-338.

- Manikonda P. K., Rajendra P., Devendranath D., Gunasekaran B., Aradhya R., Sashidhar R. & Subramanyam C. 2007. Influence Of Extremely Low Frequency Magnetic Fields On Ca²⁺ Signaling And Nmda Receptor Functions In Rat Hippocampus. *Neuroscience Letters*, 413, 145-149.
- Marconi A., Tasteyre A., De Sèze R., Fogel P., Simoneau G., Conti M., Sarbach C., Young S. S., Gilbert J.-E. & Thomas Y. 2015. Multivariate Entropy Analysis Of Oxidative Stress Biomarkers Following Mobile Phone Exposure Of Human Volunteers: A Pilot Study. *Journal Of Scientific Exploration*, 29, 449-465.
- Margaritis L. H., Manta A. K., Kokkaliaris K. D., Schiza D., Alimisis K., Barkas G., Georgiou E., Giannakopoulou O., Kollia I. & Kontogianni G. 2014. Drosophila Oogenesis As A Bio-Marker Responding To Emf Sources. *Electromagnetic Biology And Medicine*, 33, 165-189.
- Mathur P., Francispillai M., Vaithinathan S. & Agarwal A. 2011. Nf-Kb In Male Reproduction: A Boon Or A Bane *The Open Reproductive Science Journal* 3.
- Megha K., Deshmukh P. S., Banerjee B. D., Tripathi A. K. & Abegaonkar M. P. 2012. Microwave Radiation Induced Oxidative Stress, Cognitive Impairment And Inflammation In Brain Of Fischer Rats.
- Meral I., Mert H., Mert N., Değer, Y., Yörük I., Yetkin A. & Keskin S. 2007. Effects Of 900-Mhz Electromagnetic Field Emitted From Cellular Phone On Brain Oxidative Stress And Some Vitamin Levels Of Guinea Pigs. *Brain Research*, 1169, 120-124.
- Mercan U. 2004. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *Yüzüncü Yil Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15, 91-96.
- Metzner J., Bekemeier H., Paintz M. & Schneidewind E. 1979. On The Antimicrobial Activity Of Propolis And Propolis Constituents (Author's Transl). *Die Pharmazie*, 34, 97-102.
- Mia M. M. & Bank R. A. 2016. The Pro-Fibrotic Properties Of Transforming Growth Factor On Human Fibroblasts Are Counteracted By Caffeic Acid By Inhibiting Myofibroblast Formation And Collagen Synthesis. *Cell And Tissue Research*, 363, 775-789.
- Michaluart P., Masferrer J. L., Carothers A. M., Subbaramaiah K., Zweifel B. S., Koboldt C., Mestre J. R., Grunberger D., Sacks P. G. & Tanabe T. 1999.

- Inhibitory Effects Of Caffeic Acid Phenethyl Ester On The Activity And Expression Of Cyclooxygenase-2 In Human Oral Epithelial Cells And In A Rat Model Of Inflammation. *Cancer Research*, 59, 2347-2352.
- Mirzoeva O. & Calder P. 1996. The Effect Of Propolis And Its Components On Eicosanoid Production During The Inflammatory Response. *Prostaglandins, Leukotrienes And Essential Fatty Acids*, 55, 441-449.
- Mohanty N., Kumar S., Jha A. & Arora R. 2001. Management Of Idiopathic Oligoasthenospermia With Lycopene. *Indian Journal Of Urology*, 18, 57.
- Moilanen J. & Hovatta O. 1995. Excretion Of Alpha-Tocopherol Into Human Seminal Plasma After Oral Administration. *Andrologia*, 27, 133-136.
- Moslemi M. K. & Tavanbakhsh S. 2011. Selenium–Vitamin E Supplementation In Infertile Men: Effects On Semen Parameters And Pregnancy Rate. *International Journal Of General Medicine*, 4, 99.
- Moustafa M. H., Sharma R. K., Thornton J., Mascha E., Abdel-Hafez M. A., Thomas A. J. & Agarwal A. 2004. Relationship Between Ros Production, Apoptosis And Dna Denaturation In Spermatozoa From Patients Examined For Infertility. *Human Reproduction*, 19, 129-138.
- Moustafa Y. M., Moustafa R. M., Belacy A., Abou-El-Ela S. H. & Ali F. M. 2001. Effects Of Acute Exposure To The Radiofrequency Fields Of Cellular Phones On Plasma Lipid Peroxide And Antioxidase Activities In Human Erythrocytes. *Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Analysis*, 26, 605-608.
- Mruk D. D. & Cheng C. Y. 2004. Sertoli-Sertoli And Sertoli-Germ Cell Interactions And Their Significance In Germ Cell Movement In The Seminiferous Epithelium During Spermatogenesis. *Endocrine Reviews*, 25, 747-806.
- Nadjarzadeh A., Shidfar F., Amirjannati N., Vafa M., Motevalian S., Gohari M., Nazeri Kakhki S., Akhondi M. & Sadeghi M. 2014. Effect Of Coenzyme Q10 Supplementation On Antioxidant Enzymes Activity And Oxidative Stress Of Seminal Plasma: A Double-Blind Randomised Clinical Trial. *Andrologia*, 46, 177-183.
- Nakatani-Enomoto S., Okutsu M., Suzuki S., Suganuma R., Groiss S. J., Kadowaki S., Enomoto H., Fujimori K. & Ugawa Y. 2016. Effects Of 1950 Mhz W-Cdma-Like Signal On Human Spermatozoa. *Bioelectromagnetics*, 37, 373-381.

- Natarajan K., Singh S., Burke T. R., Grunberger D. & Aggarwal B. B. 1996. Caffeic Acid Phenethyl Ester Is A Potent And Specific Inhibitor Of Activation Of Nuclear Transcription Factor Nf-Kappa B. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 93, 9090-9095.
- Naziroğlu, M., Çiğ B., Doğan S., Uğuz A. C., Dilek S. & Faouzi D. 2012A. 2.45-Gz Wireless Devices Induce Oxidative Stress And Proliferation Through Cytosolic Ca²⁺ Influx In Human Leukemia Cancer Cells. *International Journal Of Radiation Biology*, 88, 449-456.
- Naziroğlu M., Tokat S. & Demirci S. 2012B. Role Of Melatonin On Electromagnetic Radiation-Induced Oxidative Stress And Ca²⁺ Signaling Molecular Pathways In Breast Cancer. *Journal Of Receptors And Signal Transduction*, 32, 290-297.
- Nikolova T., Czyz J., Rolletschek A., Blyszczuk P., Fuchs J. R., Jovtchev G., Schuderer J. R., Kuster N. & Wobus A. M. 2005. Electromagnetic Fields Affect Transcript Levels Of Apoptosis-Related Genes In Embryonic Stem Cell-Derived Neural Progenitor Cells. *The FASEB Journal*, 19, 1686-1688.
- Nisbet H. O., Nisbet C., Akar A., Çevik M. & Karayığit M. O. 2012. Effects Of Exposure To Electromagnetic Field (1.8/0.9 Ghz) On Testicular Function And Structure In Growing Rats. *Research In Veterinary Science*, 93, 1001-1005.
- Nishiyama H., Ito M. & Kato N. 2014. Relay-By-Smartphone: Realizing Multihop Device-To-Device Communications. *Ieee Communications Magazine*, 52, 56-65.
- Odacı E. & Özyılmaz C. 2015. Exposure To A 900 Mhz Electromagnetic Field For 1 Hour A Day Over 30 Days Does Change The Histopathology And Biochemistry Of The Rat Testis. *International Journal Of Radiation Biology*, 91, 547-554.
- Oh J. J., Byun S.-S., Lee S. E., Choe G. & Hong S. K. 2018. Effect Of Electromagnetic Waves From Mobile Phones On Spermatogenesis In The Era Of 4g-Lte. *Biomed Research International*, 2018.
- Oksay T., Naziroğlu M., Doğan S., Güzel A., Gümral N. & Koşar P. 2014. Protective Effects Of Melatonin Against Oxidative Injury In Rat Testis Induced By Wireless (2.45 Ghz) Devices. *Andrologia*, 46, 65-72.

- Olczyk P., Ramos P., Bernas M., Komosinska-Vassev K., Stojko J. & Pilawa B. 2013A. Application Of Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy To Comparative Examination Of Different Groups Of Free Radicals In Thermal Injuries Treated With Propolis And Silver Sulphadiazine. *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine*, 2013.
- Olczyk P., Wisowski G., Komosinska-Vassev K., Stojko J., Klimek K., Olczyk M. & Kozma E. M. 2013B. Propolis Modifies Collagen Types I And Iii Accumulation In The Matrix Of Burnt Tissue. *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine*, 2013.
- Omu A., Al-Azemi M., Kehinde E., Anim J., Oriowo M. & Mathew T. 2008. Indications Of The Mechanisms Involved In Improved Sperm Parameters By Zinc Therapy. *Medical Principles And Practice*, 17, 108-116.
- Oral B., Güney M., Özgüner F., Karahan N., Mungan T., Çömlekçi S. & Cesur G. 2006. Endometrial Apoptosis Induced By A 900-Mhz Mobile Phone: Preventive Effects Of Vitamins E And C. *Advances In Therapy*, 23, 957-973.
- Orban Z., Mitsiades N., Burke Jr T. R., Tsokos M. & Chrousos G. P. 2000. Caffeic Acid Phenethyl Ester Induces Leukocyte Apoptosis, Modulates Nuclear Factor-Kappa B And Suppresses Acute Inflammation. *Neuroimmunomodulation*, 7, 99-105.
- Oršolić N. & Bašić I. 2005. Water-Soluble Derivative Of Propolis And Its Polyphenolic Compounds Enhance Tumoricidal Activity Of Macrophages. *Journal Of Ethnopharmacology*, 102, 37-45.
- Otitoloju A., Obe I., Adewale O., Otubanjo O. & Osunkalu V. 2010. Preliminary Study On The Induction Of Sperm Head Abnormalities In Mice, *Mus Musculus*, Exposed To Radiofrequency Radiations From Global System For Mobile Communication Base Stations. *Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology*, 84, 51-54.
- Öktem F., Özgüner F., Mollaoğlu H., Koyu A. & Uz E. 2005. Oxidative Damage In The Kidney Induced By 900-Mhz-Emitted Mobile Phone: Protection By Melatonin. *Archives Of Medical Research*, 36, 350-355.
- Özgüner F., Altınbaş A., Özaydın M., Doğan A., Vural H., Kisioğlu A. N., Cesur G. & Yıldırım, N. G. 2005A. Mobile Phone-Induced Myocardial Oxidative Stress:

- Protection By A Novel Antioxidant Agent Caffeic Acid Phenethyl Ester. *Toxicology And Industrial Health*, 21, 223-230.
- Özgüner F., Bardak Y. & Çömlekçi S. 2006. Protective Effects Of Melatonin And Caffeic Acid Phenethyl Ester Against Retinal Oxidative Stress In Long-Term Use Of Mobile Phone: A Comparative Study. *Molecular And Cellular Biochemistry*, 282, 83-88.
- Özgüner F., Öktem F., Ayata A., Koyu A. & Yılmaz, H. R. 2005B. A Novel Antioxidant Agent Caffeic Acid Phenethyl Ester Prevents Long-Term Mobile Phone Exposure-Induced Renal Impairment In Rat. *Molecular And Cellular Biochemistry*, 277, 73-80.
- Özgüner M., Koyu A., Cesur G., Ural M., Özgüner F., Gökçimen A. & Delibaş N. 2005C. Biological And Morphological Effects On The Reproductive Organ Of Rats After Exposure To Electromagnetic Field. *Saudi Medical Journal*, 26, 405-410.
- Özyurt H., Pekmez H., Parlaktaş B. S., Kuş I., Özyurt B. & Sarsılmaz M. 2006. Oxidative Stress In Testicular Tissues Of Rats Exposed To Cigarette Smoke And Protective Effects Of Caffeic Acid Phenethyl Ester. *Asian Journal Of Andrology*, 8, 189-193.
- Özen S., Akyol, Ö., Iraz M., Söğüt S., Özüğurlu F., Özyurt H., Odacı E. & Yıldırım, Z. 2004. Role Of Caffeic Acid Phenethyl Ester, An Active Component Of Propolis, Against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity In Rats. *Journal Of Applied Toxicology: An International Journal*, 24, 27-35.
- Özorak A., Naziroğlu M., Çelik Ö., Yüksel M., Özçelik D., Özkaya M. O., Çetin H., Kahya M. C. & Köse S. A. 2013. Wi-Fi (2.45 Ghz)-And Mobile Phone (900 And 1800 Mhz)-Induced Risks On Oxidative Stress And Elements In Kidney And Testis Of Rats During Pregnancy And The Development Of Offspring. *Biological Trace Element Research*, 156, 221-229.
- Pardo A., Barrios R., Maldonado V., Meléndez J., Pérez J., Ruiz V., Segura-Valdez L., Sznajder J. I. & Selman M. 1998. Gelatinases A And B Are Up-Regulated In Rat Lungs By Subacute Hyperoxia: Pathogenetic Implications. *The American Journal Of Pathology*, 153, 833-844.

- Paredi P., Kharitonov S. A., Hanazawa T. & Barnes P. J. 2001. Local Vasodilator Response To Mobile Phones. *The Laryngoscope*, 111, 159-162.
- Parlakpınar H., Örüm M. & Acet A. 2012. Kafeik Asit Fenetil Ester (Kafe) Ve Miyokardiyal Iskemi Reperfüzyon (Mi/R) Hasari. *Inönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 1, 10-5.
- Radiation, W. H. O., Health, E. & Organization, W. H. 2002. Establishing A Dialogue On Risks From Electromagnetic Fields, World Health Organization.
- Raso G. M., Meli R., Di Carlo G., Pacilio M. & Di Carlo R. 2001. Inhibition Of Inducible Nitric Oxide Synthase And Cyclooxygenase-2 Expression By Flavonoids In Macrophage J774a. 1. *Life Sciences*, 68, 921-931.
- Repacholi M. H. 1998. Low-Level Exposure To Radiofrequency Electromagnetic Fields: Health Effects And Research Needs. *Bioelectromagnetics*, 19, 1-19.
- Revnova N., Azaova T. & Semenovskaya N. Effects Of The High-Intensity Electric Field Of Industrial Frequen-Cy. *Proceedings Of The All-Union Symposium On The Hygiene Of Labour And Biological Effects Of The Radiofrequency Electromagnetic Waves*, 1968.
- Ribeiro E. P., Rhoden E. L., Horn M. M., Rhoden C., Lima L. P. & Toniolo L. 2007. Effects Of Subchronic Exposure To Radio Frequency From A Conventional Cellular Telephone On Testicular Function In Adult Rats. *The Journal Of Urology*, 177, 395-399.
- Rolf C., Cooper T., Yeung C. & Nieschlag E. 1999. Antioxidant Treatment Of Patients With Asthenozoospermia Or Moderate Oligoasthenozoospermia With High-Dose Vitamin C And Vitamin E: A Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind Study. *Human Reproduction*, 14, 1028-1033.
- Romana-Souza B., Dos Santos J. S. & Monte-Alto-Costa A. 2018. Caffeic Acid Phenethyl Ester Promotes Wound Healing Of Mice Pressure Ulcers Affecting Nf-Kb, Nos2 And Nrf2 Expression. *Life Sciences*, 207, 158-165.
- Rong-Xi D., Djakiew D. & Dym M. 1987. Endocytic Activity Of Sertoli Cells Grown In Bicameral Culture Chambers. *The Anatomical Record*, 218, 306-312.
- Ross M. H. & Pawlina W. 2015. *Histology: A Text And Atlas : With Correlated Cell And Molecular Biology*, 6th edition. Wolters Kluwer.785-815

- Russo A., Longo R. & Vanella A. 2002. Antioxidant Activity Of Propolis: Role Of Caffeic Acid Phenethyl Ester And Galangin. *Fitoterapia*, 73, S21-S29.
- Sadler T.W. 2011. *Langman Medikal Embriyoloji*. Çeviri Editörü: A. Can Başaklar. 11. baskı, Palme Yayıncılık, s. 246-255.
- Safarinejad M. R. 2009. Efficacy Of Coenzyme Q10 On Semen Parameters, Sperm Function And Reproductive Hormones In Infertile Men. *The Journal Of Urology*, 182, 237-248.
- Safarinejad M. R. & Safarinejad S. 2009. Efficacy Of Selenium And/Or N-Acetyl-Cysteine For Improving Semen Parameters In Infertile Men: A Double-Blind, Placebo Controlled, Randomized Study. *The Journal Of Urology*, 181, 741-751.
- Salama N., Kishimoto T. & Kanayama H. O. 2010. Retracted: Effects Of Exposure To A Mobile Phone On Testicular Function And Structure In Adult Rabbit. *International Journal Of Andrology*, 33, 88-94.
- Saleh R. A., Agarwal A., Nada E. A., El-Tonsy M. H., Sharma R. K., Meyer A., Nelson D. R. & Thomas A. J. 2003. Negative Effects Of Increased Sperm Dna Damage In Relation To Seminal Oxidative Stress In Men With Idiopathic And Male Factor Infertility. *Fertility And Sterility*, 79, 1597-1605.
- Sarkar S., Ali S. & Behari J. 1994. Effect Of Low Power Microwave On The Mouse Genome: A Direct Dna Analysis. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 320, 141-147.
- Saygın M., Çalışkan S., Karahan N., Koyu A., Gumral N. & Uğuz A. 2011. Testicular Apoptosis And Histopathological Changes Induced By A 2.45 Ghz Electromagnetic Field. *Toxicology And Industrial Health*, 27, 455-463.
- Sazanova T. 1967. *Physiological And Hygienic Assessment Of Labour Conditions At 400-500 Kv Outdoor Switch-Yards*. Publication Of The Institute Of Labor Protection Of All-Union Central Council Of Trade Unions.) Moscow Profizdat.
- Sengoku K., Tamate K., Yoshida T., Takaoka Y., Miyamoto T. & Ishikawa M. 1998. Effects Of Low Concentrations Of Nitric Oxide On The Zona Pellucida Binding Ability Of Human Spermatozoa. *Fertility And Sterility*, 69, 522-527.

- Serkedjieva J., Manolova N. & Bankova V. 1992. Anti-Influenza Virus Effect Of Some Propolis Constituents And Their Analogues (Esters Of Substituted Cinnamic Acids). *Journal Of Natural Products*, 55, 294-297.
- Sheiner E. K., Sheiner E., Hammel R. D., Potashnik G. & Carel R. 2003. Effect Of Occupational Exposures On Male Fertility: Literature Review. *Industrial Health*, 41, 55-62.
- Shekarriz M., Dewire D., Thomas Jr A. J. & Agarwal A. 1995. A Method Of Human Semen Centrifugation To Minimize The Iatrogenic Sperm Injuries Caused By Reactive Oxygen Species. *European Urology*, 28, 31-31.
- Shivashankara A. R., Joy J., Sunitha V., Rai M. P., Rao S., Nambranathayil S. & Baliga M. S. 2015. Effect Of Cell Phone Use On Salivary Total Protein, Enzymes And Oxidative Stress Markers In Young Adults: A Pilot Study. *Journal Of Clinical And Diagnostic Research: Jcdr*, 9, Bc19.
- Singh S. & Kapoor N. 2014. Health Implications Of Electromagnetic Fields, Mechanisms Of Action, And Research Needs. *Advances In Biology*, 2014.
- Song H. S., Park T. W., Sohn U. D., Shin Y. K., Choi B. C., Kim C. J. & Sim S. S. 2008. The Effect Of Caffeic Acid On Wound Healing In Skin-Incised Mice. *The Korean Journal Of Physiology & Pharmacology*, 12, 343-347.
- Söderqvist F., Carlberg M. & Hardell L. 2009. Use Of Wireless Telephones And Serum S100b Levels: A Descriptive Cross-Sectional Study Among Healthy Swedish Adults Aged 18–65 Years. *Science Of The Total Environment*, 407, 798-805.
- Sud'ina G., Mirzoeva O., Pushkareva M., Korshunova G. A., Sumbatyan N. & Varfolomeev S. 1993. Caffeic Acid Phenethyl Ester As A Lipoxygenase Inhibitor With Antioxidant Properties. *Febs Letters*, 329, 21-24.
- Sulaiman G. M., Al-Amiery A. A. & Bagnati R. 2014. Theoretical, Antioxidant And Cytotoxic Activities Of Caffeic Acid Phenethyl Ester And Chrysin. *International Journal Of Food Sciences And Nutrition*, 65, 101-105.
- Sun J.-G., Jurisicova A. & Casper R. F. 1997. Detection Of Deoxyribonucleic Acid Fragmentation In Human Sperm: Correlation With Fertilization In Vitro. *Biology Of Reproduction*, 56, 602-607.

- Şahin E., Güzel D., Açikgöz Ş. & Tufan N. Effects Of Acute And Chronic Exposure To 900 Mhz Electromagnetic Field On The Rat Liver Microarchitecture. Multidisciplinary Digital Publishing Institute Proceedings, 2018. 1585.
- Tabakoğlu E. & Durgut R. 2013. Veteriner Hekimlikte Oksidatif Stres Ve Bazi Önemli Hastalıklarda Oksidatif Stresin Etkileri. Avkae Dergisi, 3, 69-75.
- Taha E., Ezz-Aldin A., Sayed S., Ghandour N. & Mostafa T. 2014. Smoking Influence On Sperm Vitality, Dna Fragmentation, Reactive Oxygen Species And Zinc In Oligoasthenoteratozoospermic Men With Varicocele. Andrologia, 46, 687-691.
- Taş M., Daşdağ S., Akdağ M. Z., Cirit U., Yeğın K., Şeker U., Özmen M. F. & Eren L. B. 2014. Long-Term Effects Of 900 Mhz Radiofrequency Radiation Emitted From Mobile Phone On Testicular Tissue And Epididymal Semen Quality. Electromagnetic Biology And Medicine, 33, 216-222.
- Tiseo B. C., Gaskins A. J., Hauser R., Chavarro J. E., Tanrikut C. & Team E. S. 2017. Coenzyme Q10 Intake From Food And Semen Parameters In A Subfertile Population. Urology, 102, 100-105.
- Tkalec M., Malarić K. & Pevalek-Kozlina B. 2007. Exposure To Radiofrequency Radiation Induces Oxidative Stress In Duckweed Lemna Minor L. Science Of The Total Environment, 388, 78-89.
- Tominaga H., Kodama S., Matsuda N., Suzuki K. & Watanabe M. 2004. Involvement Of Reactive Oxygen Species (Ros) In The Induction Of Genetic Instability By Radiation. Journal Of Radiation Research, 45, 181-188.
- Trošić I., Mataušić-Pišl M., Pavičić I. & Marjanović A. M. 2013. Histological And Cytological Examination Of Rat Reproductive Tissue After Short-Time Intermittent Radiofrequency Exposure. Archives Of Industrial Hygiene And Toxicology, 64, 513-519.
- Trošić I. & Pavičić I. 2009. Disturbance Of Cell Proliferation In Response To Mobile Phone Frequency Radiation. Archives Of Industrial Hygiene And Toxicology, 60, 109-115.
- Türkkan A., Çerezci O. & Pala K. 2012. Elektromanyetik Alan Ve Sağlık Etkileri.
- Twig J., Fulton N., Gomez E., Irvine D. S. & Aitken R. J. 1998. Analysis Of The Impact Of Intracellular Reactive Oxygen Species Generation On The

- Structural And Functional Integrity Of Human Spermatozoa: Lipid Peroxidation, Dna Fragmentation And Effectiveness Of Antioxidants. *Human Reproduction* (Oxford, England), 13, 1429-1436.
- Uslu B. A., Kılıç D. K., Gulyuz F., Değer Y. & Uçar O. 2012. Effect Of Electromagnetic Wave Emitted From Mobile Phone On Some Reproductive Parameters In Adult Male Guinea Pigs. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg* 2012, 7, 77-84.
- Uz E., Söğüt S., Şahin Ş., Var A., Özyurt H., Güleç M. & Akyol Ö. 2002. The Protective Role Of Caffeic Acid Phenethyl Ester (Cape) On Testicular Tissue After Testicular Torsion And Detorsion. *World Journal Of Urology*, 20, 264-270.
- Velazquez C., Navarro M., Acosta A., Angulo A., Dominguez Z., Robles R., Robles-Zepeda R., Lugo E., Goycoolea F. & Velazquez E. 2007. Antibacterial And Free-Radical Scavenging Activities Of Sonoran Propolis. *Journal Of Applied Microbiology*, 103, 1747-1756.
- Vishal-Tandon M., Gupta B. & Tandon R. 2005. Free Radicals/Reactive Oxygen Species. *Jk Practitioner*, 12, 143-148.
- Wang X., Stavchansky S., Bowman P. D. & Kerwin S. M. 2006. Cytoprotective Effect Of Caffeic Acid Phenethyl Ester (Cape) And Catechol Ring-Fluorinated Cape Derivatives Against Menadione-Induced Oxidative Stress In Human Endothelial Cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14, 4879-4887.
- Wdowiak A., Wdowiak L. & Wiktor H. 2007. Evaluation Of The Effect Of Using Mobile Phones On Male Fertility. *Annals Of Agricultural And Environmental Medicine*, 14, 169-172.
- Wertheimer N. & Leeper E. 1979. Electrical Wiring Configurations And Childhood Cancer. *American Journal Of Epidemiology*, 109, 273-284.
- Wong W. Y., Merkus H. M., Thomas C. M., Menkveld, R., Zielhuis, G. A. & Steegers-Theunissen, R. P. 2002. Effects Of Folic Acid And Zinc Sulfate On Male Factor Subfertility: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Fertility And Sterility*, 77, 491-498.
- Xu G., Intano G. W., Mccarrey J. R., Walter R. B., McMahan C. A. & Walter C. A. 2008. Recovery Of A Low Mutant Frequency After Ionizing Radiation-

- Induced Mutagenesis During Spermatogenesis. *Mutation Research/Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis*, 654, 150-157.
- Yasui N., Nishiyama E., Juman S., Negishi H., Miki T., Yamori Y. & Ikeda K. 2013. Caffeic Acid Phenethyl Ester Suppresses Oxidative Stress In 3t3-L1 Adipocytes. *Journal Of Asian Natural Products Research*, 15, 1189-1196.
- Zalata A., El-Samanoudy A. Z., Shaalan D., El-Baiomy Y. & Mostafa T. 2015. In Vitro Effect Of Cell Phone Radiation On Motility, Dna Fragmentation And Clusterin Gene Expression In Human Sperm. *International Journal Of Fertility & Sterility*, 9, 129.
- Zeni O., Di Pietro R., D'ambrosio G., Massa R., Capri M., Naarala J., Juutilainen J. & Scarfi M. R. 2007. Formation Of Reactive Oxygen Species In L929 Cells After Exposure To 900 Mhz Rf Radiation With And Without Co-Exposure To 3-Chloro-4-(Dichloromethyl)-5-Hydroxy-2 (5h)-Furanone. *Radiation Research*, 167, 306-311.
- Zhang D., Xu Z., Chiang H., Lu D. & Zeng Q. 2006. Effects Of Gsm 1800 Mhz Radiofrequency Electromagnetic Fields On Dna Damage In Chinese Hamster Lung Cells. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi [Chinese Journal Of Preventive Medicine]*, 40, 149-152.
- Zhao W.-X., Wang L., Yang J.-L., Li L.-Z., Xu W.-M. & Li T. 2014. Caffeic Acid Phenethyl Ester Attenuates Pro-Inflammatory And Fibrogenic Phenotypes Of Lps-Stimulated Hepatic Stellate Cells Through The Inhibition Of Nf-Kb Signaling. *International Journal Of Molecular Medicine*, 33, 687-694.
- Zini A., De Lamirande E. & Gagnon C. 1995. Low Levels Of Nitric Oxide Promote Human Sperm Capacitation In Vitro. *Journal Of Andrology*, 16, 424-431.
- Zothansiam Zosangzuali M., Lalramdinpuii M. & Jagetia G. C. 2017. Impact Of Radiofrequency Radiation On Dna Damage And Antioxidants In Peripheral Blood Lymphocytes Of Humans Residing In The Vicinity Of Mobile Phone Base Stations. *Electromagnetic Biology And Medicine*, 36, 295-305.