

49696

D.Ü.
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Biyofizik Anabilim Dalı

**DÜŞÜK ŞİDDETLİ KRONİK MİKRODALGA
RADYASYONUNUN RATLARIN SPERM MİKTARI,
MORFOLOJİSİ, TESTİCULAR VE EPİDİDYMAL DOKULARI
ÜZERİNDE OLUŞTURDUĞU HİSTOPATOLOJİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

T 49696

(DOKTORA TEZİ)

Arş.Gör.M.Zülküf AKDAĞ

TEZ YÖNETİCİSİ

Prof.Dr.M.Salih ÇELİK

DİYARBAKIR - 1996

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	
GİRİŞ ve AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	4
MATERYAL ve METOD	23
BULGULAR	30
TARTIŞMA	55
SONUÇ	64
ÖZET	65
SUMMARY	67
KAYNAKLAR	69

TEŞEKKÜR

Akademik yaşamım boyunca hem bir büyük hemde bir hoca olarak bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, doktora tezimin oluşturulmasında sürekli olarak bana destek olan Danışman Hocam Biyofizik Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr.M.Salih ÇELİK'e, Histolojik kesitlerin değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr.Yusuf NERGİZ'e, Cerrahi grişimlerde yardımlarını esirgemeyen DSAM'da görev yapan Arş.Gör.M.Aydın KETANİ'ye, Uzman Mustafa DENİZ'e, Arş.Gör..Mukaddes şAHAN'a ve DSAM'da görevli olan tüm personel'e, kesitlerin alınmasında yardımlarını esirgemeyen teknisyen Rıza AKIN'a, verilerin istatistiksel analizinde yardımlarını esirgemeyen Arş.Gör.Rojhan ARCAK'a, Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Kliniği oğretim yelerinden Yrd.Doğ.Dr.İrfan KARADEDE'ye, Biyofizik Anabilim Dalında'ki tüm oğretim yesi ve Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma, Tezimin Düzenli olarak hatasız bir şekilde yazılmasını sağlayan Abdullah OğUZ'a ve Desteğinden tr Eşim'e teőekkürlerimi bir borę bilirim.

Arş.Gör.M.Zülküf AKDAğ

GİRİŞ ve AMAÇ

Teknolojinin ve sanayinin gelişimi insan yaşamını kolaylaştırmakla birlikte oluşturduğu çevre kirliliği ile doğada insanların yaşamını tehdit etmektedir. Sanayinin yarattığı kimyasal kirlenmenin yanısıra iyonize ve noniyonize E.M (Elektromanyetik) dalgaların ve yüksek gerilim hatlarının meydana getirdiği E.M kirlenme hem bu ortamda çalışan personeli hemde normal popülasyonu etkilemektedir (1,2).

E.M dalgaların bir üyesi olan Radyofrekans (RF) ve Mikrodalga (MW) radyasyonu yirminci yüzyılın son yarısında kullanılmaya başlanmış ve günümüzde artık yaşamımızın bir parçası haline gelmiştir. RF ve MW radyasyonunun biyolojik sistemle etkileşimi ve bu radyasyonların biyolojik etkileri uzun yıllardan beri araştırılmaktadır RF radyasyonunun biyolojik etkileri ile ilgili çalışmalar, bakteri hücresi düzeyinden (3-6) kromozomal ve moleküler DNA düzeyinden tutun da (7-11) Nöroendokrin ve endokrin sistem, İmmun sistem, Sinir sistemi, Kardiyovasküler sistem, Hematopoetic sistem, Özel duyu sistemi, Oküler sistem gibi özelleşmiş sistemlere varan geniş bir spektrumu kapsamaktadır (1,2,12,13).

Mikrodalga ve RF radyasyonunun testislerle etkileşimi konusunda yapılan bazı experimental çalışmalarda RF radyasyonunun testislerde bir takım dejenerasyonlar oluşturduğu ve üreme kapasitesini azalttığı rapor edilmiştir (14-20). Bu etkilerin genellikle biyolojik sistemin thermoregülasyon mekanizmasını aşan yüksek düzeydeki mikrodalga uygulamaları sonucu meydana geldiği, ayrıca oluşan primer etkinin thermal etki olduğu ve testislerin sıcaklığa duyarlılığından kaynaklandığı vurgulanmıştır. Bununla

birlikte Saunders ve Kowalczyk (21) yaptıkları çalışmada 2450 MHz, 100 Wm⁻²'lik maksimum müsade edilebilir akut mikrodalga uygulamasının testislerde herhangi bir etki oluşturmadığını rapor etmişlerdir.

Deney hayvanlarıyla yapılan experimental çalışmaların dışında mesleki olarak RF radyasyonuna maruz kalan bireylerde spermatogenezde azalma, testislerde dejenerasyon ve oligospermi gibi infertil bulgulara rastlanmıştır (1,22-24). Bununla birlikte mikrodalgaya mesleki olarak maruz kalan bireylerde fertilitte açısından herhangi bir değişiklik olmadığını belirten raporlarda mevcuttur (25).

Sperm miktarı, morfolojisi ve motilitesi, günlük sperm oluşumu ve testisin endokrin fonksiyonu gibi parametreler fertilitmeyi etkileyen önemli parametreler olduğundan mikrodalga radyasyonunun bu parametreler üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar yoğunlaşmıştır.

Kronik veya akut olarak uygulanan mikrodalga radyasyonunun in vivo koşullarda epididymal sperm miktarı, günlük sperm oluşumu ve testikular fonksiyon açısından anlamlı değişiklikler meydana getirmediği rapor edilmekle birlikte (26-31) mikrodalga radyasyonunun sperm miktarını, morfolojisini, testikular fonksiyonu değiştirdiği ve üreme kapasitesini azalttığına dair bulgularda mevcuttur (32-35).

Cleary ve ark. (36) yaptıkları in vitro çalışmada izotermal koşullarda uyguladıkları mikrodalga radyasyonunun epididymal spermin fertilizasyon yeteneğini azalttığını saptamışlar. Bununla birlikte Hall ve ark. (37,38) yaptıkları in vitro çalışmalarda 2.45 GHz mikrodalga radyasyonunun spermin fertilizasyon kapasitesini, spermin canlılığını ve anormal formdaki sperm yüzdesini değiştirmedeğini rapor etmişlerdir.

RF radyasyonunun gerek testis morfolojisi ve gerekse sperm miktarı, sperm morfolojisi ve günlük sperm üretimi üzerine etkisi ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda bazı çelişkili bulgulara rastlanması, bizi seminifer epitelyumun farklı sıklüsları boyunca uygulanan mikrodalga radyasyonunun rat testis ve epididymis morfolojisine, sperm miktarı ve morfolojisi ile genital organların ağırlıklarına herhangi bir etkisinin olup olmadığı konusunda experimental bir çalışma yapmaya yöneltti.

Bu çalışmanın amacı kronik olarak seminifer epitelyumun 1,2,3 ve 4. sıklüsları boyunca uygulanan mikrodalga radyasyonunun ratların testis ve epididymis morfolojisine, sperm miktarı ve morfolojisi ile genital organların ağırlıklarına herhangi bir etkisinin olup olmadığını araştırmaktır.



GENEL BİLGİLER

Mikrodalga ve RF (Radyofrekans) Radyasyonunun E.M.Spektrum içindeki yeri ve önemi:

Radyofrekans radyasyonu ve onun bir parçası olduğu kabul edilen mikrodalga radyasyonu geniş bir aralığa yayılmış olan Elektromanyetik Spektrumun (E.M.) Non-iyonize bölgesinde bulunur (1,2).

300 kHz - 300 MHz aralığındaki E.M. dalgalar radyofrekans radyasyonu ve 300 MHz - 300 GHz aralığındaki frekanslar mikrodalga olarak dikkate alınmakla birlikte (1), 300 kHz ile 300 GHz aralığındaki E.M. dalgalar başka bir anlayışa göre radyofrekans (RF) radyasyonu olarak tanımlanmıştır (2).

Radyofrekans bantları, orta (MF) ve yüksek (HF) frekans çok yüksek frekans (VHF) olmak üzere 3 tip frekans bandından oluşmuştur. Mikrodalga bandlarında, ultra yüksek frekans (UHF), süper yüksek frekans (SHF) ve oldukça yüksek frekans (EHF) olmak üzere 3 tip frekans bandından oluşmuştur (Tablo 1). Bu radyasyonlar Radyo ve TV yayıncılığında tutunda uydu ve radar haberleşmesine varan kominikasyon sistemlerinde, Tıpta, Denizcilik ve Havacılıkta ayrıca fırın olarakta yiyecek endüstrisinde yoğun olarak kullanılmaktadır (1,2).

Bazı otörler Mikrodalga radyasyonunu RF radyasyonu içinde ele alıp incelediklerinden (2). Biz de mikrodalga radyasyonu ile birlikte RF radyasyonunu'da dikkate aldık.

Tablo 1: Elektromanyetik spektruma giren bazı radyasyonların frekans dalgaboyu ve enerji aralıkları.

Radyasyon Tipi	Frekans Aralığı	Dalgaboyu Aralığı	Foton başına düşen enerji
İyonize radyasyon	> 3000 THz	< 100 nm	> 12,40 ev
Ultraviyole radyasyon	3000-750 THz	100-400 nm	12,40-3,10 ev
Görünür Işın (Visible light)	750-385 THz	400-780 nm	3,10-1,59 ev
Infrared (IR)	385-0,3 THz	0,78-1000 μ m	1590-1,24 mev
Mikrodalga (MW)	300-0,3 GHz	1-1000 mm	1240-1,24 μ ev
EHF (Extremely high frequency)	300-30 GHz	1-10 mm	1240-124 μ ev
SHF (Süper-high frequency)	30-3 GHz	10-100 mm	124-12,40 μ ev
UHF (Ultra-high frequency)	3-0,3 GHz	100-1000 mm	12-1,24 μ ev
Radar	56-0,23 GHz	5,4-1300 mm	230-0,95 μ ev
Radyofrekans (RF) radyasyonu	300-0,1 MHz	1-3000 m	1240-0,41 nev
VHF (Very high frequency)	300-30 MHz	1-10 m	1240-124 nev
HF (High frequency)	30-3 MHz	10-100 m	124-12,4 nev
MF (Medium frequency)	3-0,3 MHz	100-1000 m	12,4-1,24 nev
Low frequency (LF)	300-30 kHz	1-10 km	1240-124 pev
Very low frequency (VLF)	30-3 kHz	10-100 km	124-12,4 pev
Extremely low frequency (ELF)	< 0,3 kHz	> 1000 km	< 1,24 pev

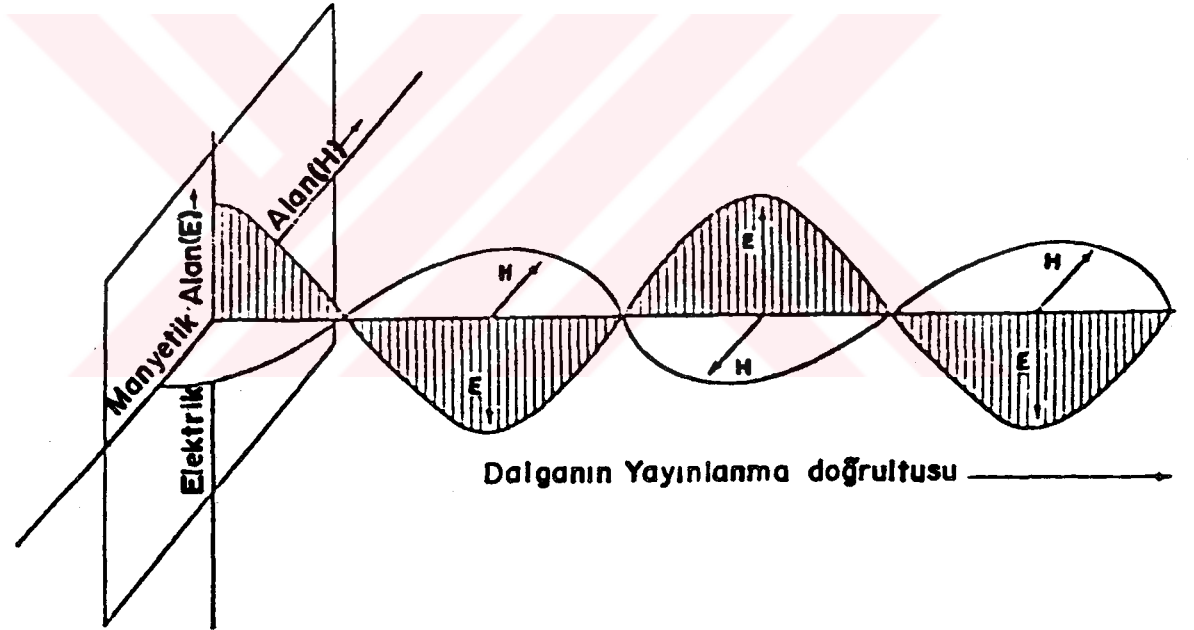
Mikrodalga radyasyonunun Fiziksel ve Biyofiziksel Özellikleri

Elektromanyetik dalgalar, bir dalga hareketi şeklinde yayılan elektrik ve manyetik alan bileşenleri olan dalgalardır. Elektrik alandaki bir değişiklik manyetik alandaki bir değişikliğe ve manyetik alandaki bir değişiklikte elektrik alandaki bir değişikliğe eşlik eder. Elektrik (E) ve Manyetik (H) alanlar SI sisteminde (V/m) ve (A/m) olarak birimlendirilmiştir. Bu alanlar vektörel alanlar olup belli bir doğrultu ve büyüklüğe sahiptirler (1,2).

Mikrodalgalar diğer elektromanyetik dalgalar gibi Poynting vektörü (S), yayılma hızı (c), Elektrik polarizasyon (P) (Elektrik alanın doğrultusu), Manyetik alan şiddeti (H), Elektrik alan şiddeti (E), dalga boyu (λ) ve frekansı (f) içeren bir parametre setiyle karakterize edilir (1,2).

Şekil 1. Elektromanyetik dalganın yayılma doğrultusu ile Elektrik ve manyetik alan bileşenlerini göstermektedir. Elektromanyetik dalganın yayılma hızı (V) ile dalga boyu (λ) ve frekans arasında aşağıdaki ilişki vardır (1,4,39).

$$V = F \lambda \quad (1)$$



Şekil 1: Bir elektromanyetik dalganın elektrik ve manyetik alan bileşenleri ile dalganın yayınlanma doğrultusu.

Boşlukta, dalga hızı ışığın hızına eşittir. Maddi ortamda dalga hızı ve dalga boyu permitivite (ϵ) ve permeabilite (μ) gibi maddenin elektriksel özelliklerine bağlıdır. Permitivite elektrik alan ile madde etkileşimini permeabilite manyetik alan ile etkileşimi ifade eder (1,2). Biyolojik materyaller serbest uzayda (boşlukta) geniş bir şekilde değişen bir permitiviteye sahiptirler. Bununla birlikte biyolojik materyallerin permeabilitesi boşluktakine eşittir.

Şekil 1'de gösterildiği gibi mikrodalga bir düzlem dalga olarak şu genel özellikleri ile karakterize edilir.

-Mikrodalgalar (MW) diğer E.M dalgalar gibi enine dalgalardır.

-Elektrik alan manyetik alan ile normaldir.

-Dalğanın yayınlanma doğrultusu hem elektrik hemde manyetik alana diktir.

-Maddi ortamlarda dalğanın yayınlanma hızı sadece ortamın elektriksel özelliklerine bağlıdır.

-Elektrik alan şiddetinin manyetik alan şiddetine oranı sabittir ve bu da karakteristik impedans (Z) olarak bilinir.

$$Z = \frac{E}{H} \quad (2)$$

Serbest uzayda, $Z = 120\pi \approx 377\Omega$ diğer materyallerde Z permitivite ve permeabiliteye bağlıdır.

-Herhangi bir sürede elektrik alanda birim hacim başına depolanan enerji manyetik alanda depolanan enerjiye eşittir.

Enerji transferi ve bir düzlem dalgadaki ortalama güç yoğunluğu elektromanyetik akım yoğunluğunun doğrultusunu ve büyüklüğünü belirten poynting vektörüyle tanımlanmıştır (1,2,39).

$$\mathbf{S}=\mathbf{E}\times\mathbf{H} \quad (3)$$

Yayılan bir dalga için, herhangi bir yüzeyde S'nin integrali bu yüzey boyunca geçen bir anlık gücü ifade eder. Poynting vektörü metre kare başına watt olarak (W/m^2) ifade edilir ve düzlem dalgalar için elektrik ve manyetik alan şiddetiyle ilişkilidir. Poynting vektörü ile elektrik ve manyetik alan arasında şu ilişki vardır (1,2,39)

$$S = \frac{E^2}{120 \pi} = \frac{E^2}{377} \quad W/m^2 \quad (4)$$

ve

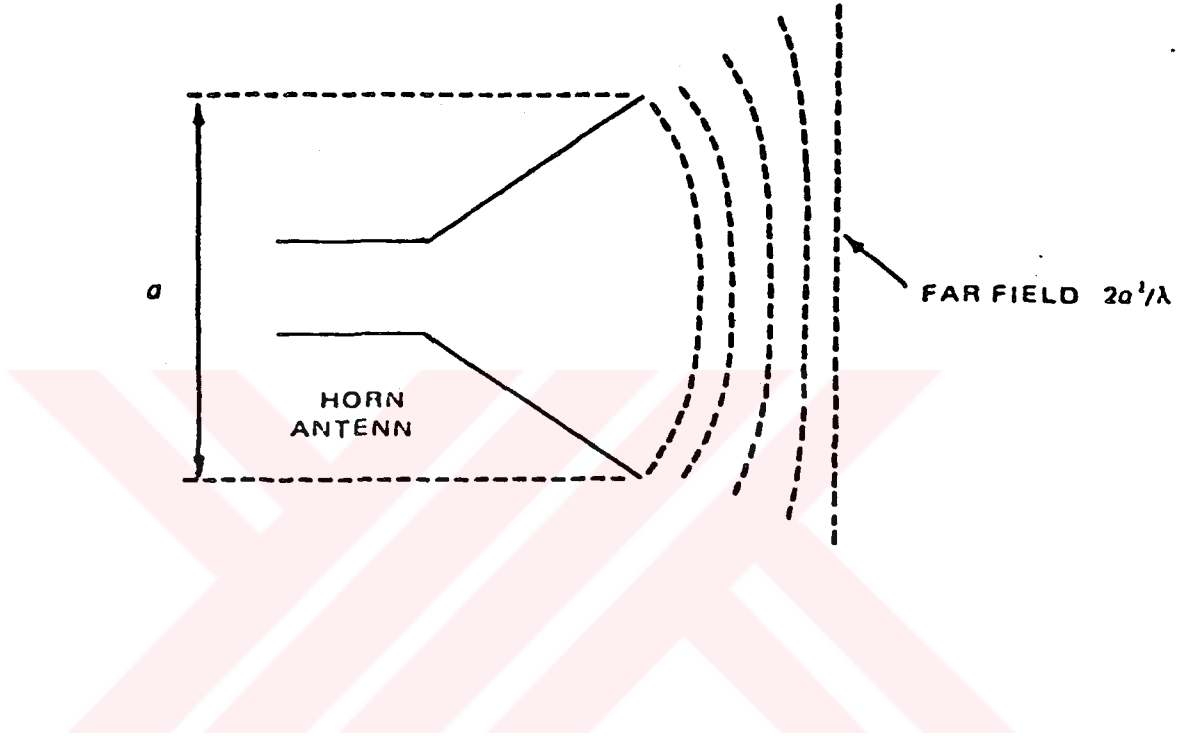
$$S=120\pi H^2= 377 H^2 \quad W/m^2 \quad (5)$$

Anten tarafından yayınlanan Elektromanyetik (E.M) alan iki bölgeye bölünebilir. Bu alanlar yakın alan (Near-Field) ve uzak alan (Far-Field) şeklindedir. r kaynaktan olan uzaklığı göstermek üzere E.M alanlar $1/r$, $1/r^2$, $1/r^3$ gibi terimler ile ifade edilir. Kaynaktan, uzak bölgede $1/r^2$, $1/r^3$,--- gibi terimler $1/r$ yanında ihmal edilir. Bu alanlara uzak alanlar denilir (Şekil 2). Şayet r'nin daha yüksek dereceden terimleri ihmal edilemiyorsa bu tür alanlara yakın alanlar denir (39) r antene olan uzaklık olmak üzere uzak alanı (Far-Field) yakın alan (Near-Field) dan ayıran mesafe antenin büyüklüğüne ve dalga boyuna bağlı olarak şu formülle verilir (2).

$$r = \frac{2a^2}{\lambda} \quad (6)$$

a= Antenin en büyük açıklığıdır.

Yakın alandaki uygulama hem elektrik alan hemde manyetik alanla karakterize edilmelidir. Uzak alanda ise denklem 2'deki ilişkiyle gösterildiği gibi bu alanlardan biri yeterlidir. Pratikte yakın alandaki uygulamalar genellikle 300 MHz'in altındaki frekanslarda meydana gelir (2).



Şekil 2: Near ve Far-Field alanların anten büyüklüğüne göre ayrılması.

RF alanları ile yapılan uygulamalar elektromanyetik dalgalarla objelerin etkileşimiyle daha komplike hale gelir. Genellikle, E.M dalgayla bir obje etkileştiğinde objeye gelen enerjinin bir kısmı yansır, bir kısmı obje tarafından absorbe edilir ve bir kısımda objeden geçer. Objeden geçen, yansıyan veya absorbe olan enerjinin oranı objenin elektriksel özelliklerine ve şekline, alanın polarizasyonuna ve frekansa bağlıdır (1,2).

RF ve mikrodalga alanları ile biyolojik sistemlerin etkileşimi bir çok farklı alan karakteristiklerine bağlı olduğundan ve pratikte alanın kompleksliğiyle

karşılaşıldığından, şu faktörlerin RF ve MW (Mikrodalga) alanları ile yapılan uygulamalarda dikkate alınması gerekir.

- Alanın yakın veya uzak alan olup olmadığı,
- Yakın alan için elektrik ve manyetik alan şiddetleri veya uzak alan için bunlardan biri,
- Alan polarizasyonu yani dalganın yayınlanma doğrultusu ile elektrik alanın doğrultusu.

E.M dalgaların elektrik alanları, vücudu meydana getiren doku üzerine üç temel prensiple enerji transfer ederler (39).

1-E alanları herhangi bir atomun serbest elektronlarına kinetik enerji verir.

2-E alanları atom ve moleküllerdeki elektrik dipollere etki eder. Polarizasyon olarak isimlendirilen bu olaya ilişkin sürtünme nedeniyle doku malzemelerinde ısı oluşur.

3-E alanları, dokuda daha önce mevcut dipolleri bir araya getirir. Bununla birlikte oluşan sürtünme dokuya enerji transfer eder.

Spesifik Absorblanma oranı (SAR):

Spesifik absorblanma oranı (SAR) Biyolojik sistemlerle RF ve Mikrodalga alanlarının etkileşiminde geniş bir şekilde kullanılan bir dozimetrik parametre olup biyolojik bir sisteme enerji geçiş oranı (SAR)'dan faydalanarak açıklanır. SAR, vücudun birim kütlesine birim zamanda geçen enerji olarak tanımlanır (1,2,39). Ortalama SAR vücudun tüm kütlesine birim zamanda geçen toplam enerjidir. Lokal SAR vücut içinde herhangi bir noktadaki sonsuz küçük hacime geçiş yapan enerji oranıdır.

$$SAR = \frac{d(\Delta W)}{dt(\Delta m)} = \frac{d(\Delta W)}{dt(\rho \Delta v)} \quad (7)$$

ΔW bir Δm kütlesine transfer edilen enerji, ΔV Δm kütlesini içeren hacim, ρ yoğunluktur. Sinüsoidal olarak değişen alanlar için, elektrik alanın sabit olduğu dokunun küçük bir hacmindeki SAR

$$SAR = \frac{\sigma E_{in}^2}{\rho} \quad (8)$$

σ = dokunun metkenliği ve E_{in}^2 dokudaki elektrik alanın karekök ortalamasının karesidir. SAR kilogram başına watt (W/kg) veya mW/g olarak ifade edilir.

Isı kaybı ihmal edildiğinde, sıcaklık artışının ilk oranı SAR ile direkt olarak orantılıdır.

$$\frac{dT}{dt} = \frac{SAR}{C} \quad (9)$$

T sıcaklık, t zaman ve C spesifik ısı kapasitesidir (2).

Mikrodalga ve Radyofrekans Radyasyonun Testisler Üzerine Etkisi

Testisler üzerine mikrodalğanın etkisi ile ilgili çalışmalar araştırmacıların büyük ilgisini çekmiş ve araştırmacıları bu konuda daha fazla çalışma yapmaya yöneltmiştir.

Varma ve Traboulay (14) yaptıkları çalışmada 1.7 GHz ve 3 GHz frekanslı mikrodalga radyasyonunun mice testisi üzerindeki etkilerini araştırmışlar. Bu araştırmacılar 1.7 GHz, 200 mW/cm² ile 20 dakika, 10 mW/cm² ile 100 dakika 50 mW/cm² ile 30-40 dakikalık uygulamalar yapmışlar. 200 mW/cm²'lik uygulama sonucunda 1.derecede yanık, ödem ve scrotal sıcaklıkta artış olduğunu gözlemişler ve histolojik kesitlerdeki seminifer tubüllerin oldukça düzensiz olduğunu gözlemişler. 1.7 GHz, 10 mW/cm²'lik uygulama sonucunda seminifer tubüllerdeki hücrelerin miktarı azalmış, lümen

eriyen spermatidlerin bir pıhtılaşmış kütlesi olarak görünürken, tubüllerde dejenere olan germinal hücrelerin lümene geçtiği görülmüş.

1.7 GHz, 50 mW/cm²'lik uygulama sonucunda ise seminifer tubüller arasında belirgin boşluklar olduğu ve tüm spermatidlerin bölünmesiyle lümenlerin boş olduğu gözlenmiş.

3.0 GHz düzeyinde yapılan uygulama sonucunda tesbit edilen tahribatın anlamsız olduğu gözlenmiş.

Yapılan çalışmalar yüksek güç yoğunluklu uygulamanın testis ve overi etkileyebildiğini belirtmekle birlikte, bu yanıtlar organların ısınması ile ilgili olabilir (1). Testislerin ısıya duyarlılığı iyi bilinir (40,41). 2.45 GHz (CW) mikrodalga ile ratın scrotal bölgesinin ısıtılması 36,38,40 ve 42°C'lik sıcak su immersiyonu ile karşılaştırıldığında her bir sıcaklıkta karşılaştırılabilir tahribat olduğu saptanmış (1). Bununla birlikte kronik düşük düzeydeki uygulamaların küçük hayvanların testisinde ölçülebilir sıcaklık artışı olmaksızın spermatogenezis ve üreme fonksiyonunda bozulmalara neden olabileceğine dair raporlar mevcuttur (1).

RF veya MW radyasyonuna maruz kalan insanlar sterilite ve infertilite açısından incelenmiş ve bazı ilginç bulgular tesbit edilmiştir. Baron ve ark. (25) mikrodalgaya mesleki olarak maruz kalan insanlar arasında fertilitate açısından değişiklik olduğunu belirten bulguya rastlamamışlar. Bununla birlikte güçlü mikrodalga yayıcısına 4 yıl sürekli mesleki olarak maruz kalan 31 yaşındaki bir bireyde fertilitede değişiklik olduğunu ve testicular biyopside patoloji olduğunu belirten bir vaka raporu mevcuttur (22). Bu raporda daha önce dölleme yapabildiği gösterilen bir genç bireydeki infertilite ve oligospermiden radar dalgalarının sorumlu olduğu tesbit edilmiş. Bu raporun değerlendirilmesindeki güçlük bu bireysel bulguda ön uygulama deneyinin olmaması ve nedensel ilişkinin oldukça zayıf olmasıdır. Uygulama düzeyleri

ile ilgili bilgi verilmemiş, fakat alet çalışırken hastanın radar antenine yakın bölgede sürekli olarak çalıştığı ve çalışırken koruyucu giysi giymediği ve Birleşik Devletler Hava Kuvvetlerinin önerdiği düzeyden (100 W/m^2) 3000 kez daha fazla mikrodalga güç yoğunluğuna sürekli bir şekilde maruz kaldığı belirtilmiştir.

Lancranjan ve ark. (23) 3.6 ve 10 GHz frekans aralığındaki ve cm^2 başına on ile yüzlerce mikrowat güç yoğunluklu MW'ya ortalama 8 yıl mesleki olarak maruz kalan 31 mikrodalga teknisyeninin gonadal fonksiyonunu çalışmış ve bu 31 teknisyenden 22'sinde spermatogenezde azalma olduğunu ve cinsel iç güdüde kayıp olduğunu rapor etmiştir. Uygulamaya üç ay ara verildiğinde bahsedilen durumlarda azalma görülmüş.

Marha ve arkadaşları (24) RF alanlarında çalışanlarda şu etkileri gözlemişler; spermatogenezde azalma doğumların cinsiyet oranında değişme, menstrual siklusa değişiklik, fetal gelişimde gecikme, yenidoğan bebeklerde konjenital defekt ve emziren annelerin laktasyonunda azalma. Bu çalışmalara göre, bu tür etkiler thermal mikrodalga uygulama şiddetlerinde meydana gelmiş (100 W/m^2 'den daha büyük). Gürültü veya genel çalışma koşulları gibi ko faktörler bu raporlarda dikkate alınmamış.

Kısa dalga diathermy'e erken hamilelik dönemi boyunca maruz kalan kadınların çocuklarında görülen doğuştan gelen defektlerle ilgili bulgular rapor edilmiştir (1). Bununla birlikte ne hamilelik nede hamile kalma terapötik mikrodalga diathermy uygulamalarından etkilenmiştir (1).

Gunn. S.A ve ark. (17) yaptıkları çalışmada 24 GHz, 1.5 cm dalga boylu 0.250 W/cm^2 (250 mW/cm^2) güç yoğunluğundaki mikrodalgayı 350-400 gr. ağırlığında olan Wistar albino ratlara 5., 10 ve 15.dakika uygulamışlar ve mikrodalga radyasyonunun testis morfolojisi üzerine etkisini araştırmışlar. Bu araştırmanın sonuçlarına göre 5 dakikalık uygulama sonrası testislerde hafif

ödem olduğu, interstisiyel dokunun etkilenmediği ve birkaç testiste tubüler dejenerasyon olduğu gözlenmiş, 10 dakikalık uygulamadan sonraki 6.günde scrotal deride üçüncü derecede yanık olduğu, mikroskopik olarak testislerde pıhtılaşma nekroz alanları olduğu, uygulamadan sonraki 13.günde deri yanmalarının iyileştiği saptanmış. 15 dakikalık uygulamadan sonraki 6.günde scrotal deride üçüncü dereceden yanık olduğu, testislerde birçok opak alanlar olduğu, hemoraji ve bozulmalar görüldüğü, mikroskopik olarak seminifer tubüllerde yaygın koagülasyon nekrozları görüldüğü, interstisiyel ve vasküler dokularda nekroz olduğu gözlenmiş. Uygulamadan sonraki 29.günde derinin iyileştiği tesbit edilmiş.

Saunders R.D ve Kowalczyk C.I (21) mouse testisi üzerine 2.45 GHz akut far-field mikrodalga uygulamasının etkisini araştırmışlar. Bu çalışmada erkek C3H mice'a bir anechoic chamber içinde 2.45 GHz mikrodalga uygulaması yapılmış. Yapılan uygulamanın güç yoğunluğu ve uygulama süreleri 1000 Wm^{-2} , 5 dakika ile 100 Wm^{-2} , 260 dakika olup testisteki doz oranları 66 Wkg^{-1} ile 7 Wkg^{-1} arasında değişmiş. Uygulamadan 6 gün sonra mice'lar öldürmüş ve testisler histolojik olarak değerlendirilmiş. Kantitatif olarak X-ışınına duyarlı hücrelerde (spermatogonia type B) veya ısıya duyarlı hücrelerde (erken primer spermatocyte'ler, geç primer ve sekonder spermatocyte'ler) veya sperm miktarında anlamlı etkiler görülmemiş. Bu sonuçların insanlara uyarlanması 100 Wm^{-2} 'lik maksimum müsaade edilebilir uygulama düzeyinde yapılan akut uygulamanın 1 ile 3.5 MHz aralığında ve 300 MHz ile 100 GHz aralığındaki frekansların testis üzerinde etkisinin olmadığını bu araştırmacılar ileri sürmüşlerdir.

Saunders ve Kowalczyk (15) yaptıkları başka bir çalışmada 2.45 GHz mikrodalga radyasyonunun ve ısının farelerin spermatogenic epitelyumuna etkisini araştırmışlar. Anestezi edilen erkek C3H mice'ın vücudunun arka

yarısına 2.45 GHz uygulama yapılmış ve testisler üzerinde oluşan etkiler direkt ısınmayla karşılaştırılmış. Gözlenen etkilerin mikrodalga uygulamasının primer etkisinin ısı tahribatı olduğu hipotezine uygun olduğu tesbit edilmiş. Uygulamadan sonraki 6.günde belirlenen tahribat spermatocyte'lerin azalmasından germinal epitelyumun geniş bir şekilde nekrozuna varan ciddi aralıktaymış. Çalışmada spermatocyte'lerin azalması için gerekli eşik etkinin 39°C olduğu ve LD⁶₅₀ (6 gün sonra hücrelerin yüzde 50'sinin öldüğü)'nin ise 41°C olduğu saptanmış. Absorbe olan mikrodalga gücü ile ilgili olarak etki eşiğinin 20 Wkg⁻¹'e karşılık geldiği ve LD⁶₅₀'nin ise 30 Wkg⁻¹ olduğu bulunmuş.

Gasinska ve Hill (16) yaptıkları çalışmada spermatogenezin farklı stajelerine ısının yanıtını uygulamadan sonraki 14., 28. ve 35.günlerde testis tubüllerindeki hücre tiplerinin değerlendirilmesi ile saptamışlar. CBA mice'ların testisi radyofrekans ekipmanı kullanılarak ısıtılmış ve diğer testis thermo-couple ile kontrol edilmiştir. Elde edilen bulgular, 14.günde testisin ağırlığının kontrolün sadece %65'i olduğu ve 28.günde %88'e az bir şekilde yükseldiğini göstermiştir. Sperm başlarının ve geç spermatidlerin miktarı 14.günde %33 azalmış, fakat 28.günde %88 oranında artmış. 43°C'lik ısı uygulamasından sonraki 35.günde tubüllerde büzülme ve hücre azalması görülmüş. İncelenen tubüllerin %64'ü normal görünümdeymiş. Elde edilen bulgular 43°C'lik sıcaklığın stem hücreleri etkilediğini ve testis bölgesinde yerleşen insan tümörlerinin tedavisinde hyperthermi uygulamayı düşünen klinisyenlerin dikkatli olmalarını bildirmiştir.

Abadir ve ark. (42) yaptıkları çalışmada 5 dakika 1 W/cm²'lik ultrasound uygulamasından veya 5 dakikalık 3 watt mikrodalga uygulamasından kaynaklanan hyperthermi'nin ratların testislerinde tahrip edici olduğunu ve X-ışını ile

hyperthermi kombinasyonunun etkilenen tubüllerin miktarını spermatogenezin azalma derecesini artırdığını saptamışlar.

Fahim ve ark. (18) yaptıkları çalışmada testicular sıcaklığın 15 dakika için 45°C'ye 5 dakika için 65°C'ye yükseldiği şiddette 2450 MHz mikrodalga radyasyonunu ratlara uygulamışlar. Her iki uygulamada en azından 10 ay infertiliteye neden olmuş. Diğer taraftan, 5 dakikalık 39°C testikular sıcaklık artışına neden olan düşük şiddetteki mikrodalga radyasyon uygulaması yaklaşık 2 hafta kadar süren ve uygulama yapılan hayvanların %30'unda oluşan bir steriliteye neden olmuş. Akut testicular sıcaklığın 39°C'ye yükselmesi ile birlikte görülen kısa süreli sterilite spermatogenik hücre popülasyonlarında irreversibl fonksiyonel değişiklikler olmadığını belirtir.

Kequn ve ark. (19) yaptıkları çalışmada 2450 MHz, 15 dakika uyguladıkları mikrodalga radyasyonunun rat testisleri üzerindeki etkisini elektron mikroskopisi ve ışık mikroskopisi düzeyinde araştırmışlar. Ratlar ışınlamadan sonraki farklı intervallerde dekapite edilmiş (1.,7.,14. ve 70.günlerde) tesbit edilen FSH ve LH hücrelerinin hücre çapı, çekirdek çapı ve sitoplazmanın çekirdeğe oranı kontrollerle karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmamış. Elektron mikroskopik düzeyde FSH ve LH hücreleri incelendiğinde FSH hücrelerinin mitokondrilerinin bir çoğunun erimiş ve kristaları kırılmış, kristalar arasındaki mesafe büyümüş, fakat LH hücrelerinde kırık kristae'lar yokmuş, FSH hücrelerinin granüllü endoplazmik retikulum'u LH hücrelerinden daha fazla genişmiş.

Mikrodalga ve RF Radyasyonunun Sperm ve Testikular Fonksiyon Üzerine Etkisi

Sperm miktarı, sperm morfolojisi ve testikular fonksiyon fertilitiyi belirleyen önemli parametreler olduğundan RF ve Mikrodalga radyasyonunun

bu parametreler üzerine etkisi gerek in vivo gerekse in vitro şartlarda öteden beri çalışılmaktadır.

Normal ve mikrodalgayla ışınlanmış ratlardaki germ hücre dejenerasyonunu araştıran Johnson L ve ark. (26) yaptıkları çalışmada Spraque-Dawley ratlara frekansı 1.3 GHz ve SAR: 6.3 mW/g olan puls module edilmiş (600 puls/sn, 1 µsn puls genişliği) mikrodalga radyasyonu ile günde 6 saat 9 gün boyunca ışınlama yapmışlar. Işınlamadan sonraki 6.5, 13.0, 26.0 ve 52.günlerde ratlar öldürülmüş. Plazma FSH ve LH konsantrasyonları, nuclear çekirdek, parankimdeki çekirdeğin yüzdesi, farklı hücrelerin yaşam süresi ayrıca günlük potansiyel sperm üretimi yuvarlak çekirdekli spermatidler, preleptoten veya pakiten primer spermatocyte'ler type B spermatogonia için belirlenmiş. Test edilen parametrelerde farklılıklar ışınlamayı izleyen zaman periyotları arasında bulunmamış ($P>0.05$). Pakiten spermatocyte'ler baz alındığında testis başına sperm üretimi haricinde ($P<0.05$), mikrodalga ışınlamasının değerlendirilen parametreler üzerine etkisinin olmadığı saptanmış.

Akut tüm vücut mikrodalga uygulamasının ratların testicular fonksiyonu üzerindeki etkisini araştıran Lebovitz ve ark. (28) yaptıkları çalışmada Spraque-Dawley ratlara ortalama spesifik absorpsiyon doz oranı 9 mW/g olan sürekli dalgalı mikrodalga radyasyonunu (MWR, 1.3 GHz) 8 saat uygulamışlar. Daha sonra ratlar seminifer epitelyumdaki spermatogenezin 0.5,1,2 ve 4.siklusuna karşılık gelen uygulamayı izleyen 6.5, 13.0, 26.0 ve 52.0 günlerde dekapite edilmiş. Dekapitasyondan sonra ratların testis, epididymis ve seminal veziküllerinin net kütlesi, testisin gram başına ve testis başına günlük sperm üretimi DSP (Daily sperm production) ve epididymal sperm miktarı belirlenmiş. FSH ve LH ratların dekapitasyonu anında elde edilen plazma örneklerinden saptanmış. Sonuçta testis başına DSP değerinin

değişmediği, epididymal sperm miktarının 26.günde anlamlı bir şekilde daha düşük olduğu, testis, epididymis ve seminal vezikül kütlelerinin değişmediği, FSH ve LH miktarlarında herhangi bir anlamlılık olmadığı belirlenmiş. Ayrıca 9 mW/g'da yapılan mikrodalga radyasyon uygulamasının akut thermogenez oluşturduğu ve hypertherminin indüklenmesi için uygun olduğu saptanmış olmakla birlikte bu uygulamanın testikular fonksiyonun bozulması için uygun olmadığı sonucuna varılmış.

Memeli germ hücreleri üzerine RF radyasyonunun direkt nonthermal etkisini araştırmak için Cleary ve ark. (36) in vitro metodlar uygulamışlar. Bu otörler fare spermatozoa'larına izothermal koşullar ($37\pm 0.2^{\circ}\text{C}$) altında 0 ile 90 W/kg SAR'te 27 veya 2450 MHz sürekli dalgalı (CW) RF radyasyonunu 1 saat in vitro olarak uygulamışlar. 50 W/kg veya daha büyük düzeyde yapılan her iki frekanstaki RF radyasyon uygulaması ışınlanmış epididymal spermin in vitro olarak fare ovumunu fertilize etme yeteneğinde istatistiksel olarak anlamlı azalmalar oluşturmuş ($P<0.05$). SAR'ın bu aralığının üzerindeki 27 veya 2450 MHz RF radyasyonunun etkilerinde belirgin farklılıklar dedekte edilmemiş. RF radyasyonu spermatozoa morfolojisi, ultrastrüktürü veya kapasitasyonunda dedekte edilebilir etkiler oluşturmamış. İn vitro fertilizasyondaki azalma, indirekt ısı etkisinden daha çok spermatozoa üzerine RF radyasyonunun direkt etkisine bağlanmış. Bu sonuca ulaşmada spermin RF uygulaması boyunca ısınmadığı gerçeği ve fare spermatozoalarının thermal sensitivitesi çalışmalarının sonuçları baz alınmıştır.

Lebovitz ve ark. (34) yaptıkları başka bir çalışmada ise pulsus module edilmiş mikrodalga radyasyonunun ve geleneksel ısının ratların sperm oluşumu ve testicular fonksiyonu üzerine etkisini araştırmışlar. Bu çalışmada pulsus module edilmiş mikrodalda radyasyonu 4.2 mW/g ve 7.7 mW/g SAR düzeyinde 90 dakika uygulanmış. Ratlar uygulamadan sonraki 6.5, 13.0, 26.0

ve 52.0 günlerde öldürülmüş ve öldürülen ratların testis, epididymis ile seminal vezikülleri tesbit edilmiş. Testis başına DSP, epididymal sperm miktarı, gram parankim başına DSP, plazma FSH, LH miktarları saptanarak sham grubuyla karşılaştırılmış. Bir grup rat'ada 43°C'ye kadar 60 dakikalık geleneksel ısı uygulaması yapılmış. Ayrıca ratların kolon ve intratesticular sıcaklığı da saptanmış. 7.7 mW/g'da yapılan uygulama sonrası testis başına DSP'deki epididymal sperm miktarındaki, gram parankim başına DSP ve total testis kütlesindeki mikrodalga radyasyonunun indüklediği azalmalar anlamlıymış. Ancak 4.2 mW/g grubunda yapılan ölçümlerin anlamlı olmadığı saptanmış.

Geleneksel ısı uygulaması etkisinin oldukça anlamlı olduğu ve epididymal sperm miktarında belirgin bir sapmanın 41°C'deki uygulamadan sonra olduğu saptanmış.

İn vivo olarak rat epididymisindeki spermatozoa'ya mikrodalga ışınlamasının etkisini araştıran Limin ve ark. (35) 300-450 gr ağırlığındaki ratların unilateral epididymisine 2450 MHz mikrodalga radyasyonu 30 dakika uygulamışlar. Scrotal sıcaklık 30 dakika içinde 42°C'ye yükselmiş. Kontrol lateral testis mikrodalgayı engelleyen materyal ile kaplanarak korunmuş. Çalışma ışınlamadan sonraki 1,4,7,15 ve 28.günlerde elde edilen cauda epididymal spermeler değerlendirilerek yapılmış. Sonuçlar motile sperm yüzdesinin ve bilateral cauda epididymisteki spermin total miktarının azalma eğilimi gösterdiği bulunmuş. Işınlanan lateraldeki tüm bu değişiklikler 4,7,15 ve 28.günlerde oldukça belirginmiş (Kontrol lateral ile karşılaştırıldığında) ($P<0.05$). Sonuçta epididymise uygulanan mikrodalga ışınlamasının sperm olgunlaşma işlemini ve sperm depolama ortamını değiştirebildiği ileri sürülmüştür.

Saunders ve ark. (43) yaptıkları çalışmada erkek C3H farelere 2.45 GHz sürekli dalgalı mikrodalga radyasyonunu günde 6 saat 8 hafta boyunca toplam 120 saat uygulamışlar. Çalışmada birçok organizasyonlar tarafından zararlı biyolojik etkilerin eşiği olarak kabul edilen 4 W/kg SAR değeri kullanılmıştır. 2.45 GHz mikrodalga radyasyonunu kronik olarak erkek mice'lara uygulanmasının erkek germ hücrelerindeki mutajenik yanıtı indüklediğine dair bulgunun mevcut olmadığı sonucuna varılmış.

Beechey ve ark. (27) yaptıkları çalışma 2.45 GHz mikrodalga radyasyonunu günde 30 dakika, haftada 6 gün olmak üzere iki hafta 1.0, 100 veya 400 Wm⁻² düzeyinde hybrid erkek mice'lara uygulamışlar. Uygulamadan sonraki 2-3 gün ve 30.günlerde tesbit edilen spermatocytelerdeki kromozom aberasyon frekansında anlamlı bir değişiklik olmadığı gözlenmiş. Uygulamadan sonraki 12-13.günlerde öldürülen micelerin sperm miktarında güç yoğunluğunun artışı ile küçük fakat anlamlı bir yükselme rapor edilmiş.

2.45 GHz mikrodalga radyasyon uygulaması yapılan erkek mice'lardaki sperm miktarı ve sperm anormalitesini araştıran Kowalczuk ve ark. (31) 2.45 GHz, 44 W/kg mikrodalga radyasyonunu 30 dakika kadar erişkin erkek micelerin vücutlarının arka yarısına uygulamışlar ve sperm miktarındaki azalma ile anormal sperm morfolojisini değerlendirmişler. Her bir parametredeki yanıt uygulamadan sonraki 2-4 haftada maksimalmiş. Bu mikrodalgaların spermatidler ve spermatocyte'ler üzerinde en büyük etkisinin olduğuyla uyuşmuştur. Azalan erkek fertilitésinin azalan hamilelik oranıyla ilişkili olduğu ve preimplantasyon canlılığıyla daha az ilişkisi olduğu sonucuna varılmış.

Embriyogenez boyunca uygulanan mikrodalga radyasyonunun erkek Japon bildircinlarının üremesi üzerine etkisini araştıran Mc Ree ve ark. (32) embriyogenezin ilk 12 günü boyunca Japon bildircinlarının embriyolarına 2.45

GHz CW mikrodalga radyasyonunu sürekli olarak uygulamışlar. Uygulanan mikrodalga'nın güç yoğunluğu 5 mW/cm^2 ve SAR değeri 4.03 mW/g olup, erkeklerin üreme kapasitesinin değerlendirilmesi 23.haftada yapılmış. Manuel olarak toplanan semen örneklerindeki spermatozoa miktarı ve motilite anlamlı bir şekilde azalmış. Bununla birlikte uygulama yapılan bıldırcınların spermatozoal canlılığı ve morfolojik karakteristikleri kontrolden farklı değilmiş. Relative testicular ağırlıklar uygulama yapılan erkeklerde anlamlı bir şekilde değişmemiş. Uygulama yapılan erkekler sham kontrol dişileriyle çiftleştirildiğinde, fertile yumurtaların yüzdesi anlamlı bir şekilde azalmış. Sham kontrol dişileriyle uygulama yapılan erkeklerin çiftleşmesinden elde edilen fertile yumurtaların yüzdesinin $\%72.5$ olduğu, bununla birlikte sham kontrol dişileriyle sham kontrol erkeklerin çiftleşmesinden kaynaklanan fertile yumurtaların yüzdesinin $\%80.4$ olduğu saptanmış. Bu çalışmada elde edilen bilgiler, bıldırcınlar embriyogenez boyunca 2.45 GHz CW mikrodalgaya maruz kaldıklarında üreme kapasitelerinin azaldığını gösterir.

Hall ve ark. (37) yaptıkları çalışmada Hindi spermlerine sıcaklığı kontrol edilebilen 2.45 GHz mikrodalga radyasyonu uygulamışlar. Sıcaklık 25 veya 40.5°C 'de korunmuş. Spermilere yapılan uygulama toplam 30 dakika SAR değeri ise 10 veya 50 mW/g imiş. Çalışmadan elde edilen bulgular, bu deneylerde kullanılan koşullarda mikrodalga radyasyonunun Hindi sperminin fertilizasyon kapasitesini etkilemediğini göstermiştir.

Hall ve ark. (38) yaptıkları başka bir çalışmada ise Hindi spermlerine sıcaklığı kontrol edilebilen mikrodalga sistemiyle 2.45 GHz frekanslı ve $1,10$ veya 50 mW/g SAR değerli mikrodalga radyasyonunu 30 dakika uygulamışlar. Mikrodalga uygulamasından önce ve sonra şu parametreler araştırılmış; yüzde canlılık, yüzde anormal sperm ve laktat dehidrogenaz (LDH) ile

Glutamik Oxalik Transaminaz (GOT) enzimleri. Bu parametreler test edilen koşullar altında mikrodalga uygulamasıyla anlamlı bir şekilde değişmemiş.

Berman ve ark. (44) yaptıkları çalışmada 2450 MHz sürekli dalgalı mikrodalga radyasyonu ile 5 mW/cm²'de hamileliğin 6.gününden başlayarak rat 90 günlük olana dek günde 4 saat veya 10 mW/cm²'de 90.günden başlayarak beş gün günde 5 saat; veya 90.günden başlayarak 4 hafta, haftada 5 gün, günde 4 saat uygulama yapılmış. Mikrodalga uygulaması yapılmış erkek ratlardan elde edilen bulgular sham uygulaması yapılmış olanlarla karşılaştırıldığında germ hücre mutagenezi ile ilgili anlamlı bulgular dedekte edilmemiştir.



MATERYAL ve METOD

Çalışmada kullanılan Deney Hayvanları:

Araştırmamızda kullanılan deney hayvanları 200-250 gr ağırlığında 10-12 haftalık erişkin erkek Spraque-Dawley ratlar olup, bu ratlar Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri uygulama ve Araştırma Merkezi (DÜSAM)'inden temin edilmiştir.

Araştırmamızda 4 deney (uygulama) 4 sham (kontrol) grubunun her bir grubunda onar (n=10) rat olmak üzere toplam 80 rat kullanılmıştır. Ratlar, optimal ısı olan 22°C'de, 10 saat karanlık, 14 saat aydınlık, ortalama %45 nispi neme sahip ortamda deney süresince barındırıldılar. Su ve pellet yem adlibitum olarak verildi.

Mikrodalga Ekipmanı ve Deney Düzeneği:

Çalışmada kullanılan mikrodalga aleti bir güç kaynağı (phywe 6868) ve bu kaynağa bağlı bir klystron (phywe 6869) ile klystrondan elde edilen mikrodalgayı ortama yönelten bir antenden oluşmuştur (Resim 1). Mikrodalga ekipmanından elde edilen radyasyonun frekansı 9450 MHz, dalga boyu 3.2 cm olup güç yoğunluğu 2.652 mW/cm² ve ortalama SAR (Spesifik Absorbition Rate) 1.80 W/kg dir. Güç yoğunluğu elektrik alan ölçme setiyle (Elektrofielemeter phywe No:11500.00, güç kaynağı phywe No:11725.93, Avometre phywe No:07026.00) tesbit edilen elektrik alan şiddetiyle hesaplandı (2). Ortalama spesifik absorblanma oranı (SAR) ise ışınlamadan önce ve sonra tayin edilen rektal sıcaklık farkları ortalamasının tesbitiyle hesaplandı (21).

Mikrodalga uygulaması 70x47x47 cm boyutundaki bir anechoic chamber içinde yapıldı. Burada mikrodalga yayan anten ile özel olarak dizayn edilmiş,

20x10.5x10 cm boyutunda olan delikli ve ratların içine konulduğu plexiglas kafes arasındaki mesafe Far-Field bölgede olup 32 cm idi.



Resim 1: Mikrodalga uygulamasının yapıldığı ekipman ve deney düzeneği.

Mikrodalga uygulaması alttan ratın testis ve epididymisi ile tüm genital organlarını ve tüm vücudu ışınlıyacak şekilde (ratın uyanık olduğu durumda) yapıldı. Mikrodalga radyasyonunun elektrik alan bileşeni ratların vücutlarının uzun eksenine paralel fakat manyetik alan bileşeni bu eksene diktir. Ratların konulduğu plexiglas kafeste, antenden 32 cm mesafede ölçülen elektrik alan şiddeti 100 V/m idi.

Mikrodalga uygulaması:

Sprague-Dawley ratların seminifer epitelyumunun 1, 2, 3, ve 4. siklüslerine karşılık gelen 13.0, 26.0, 39.0 ve 52.0 gün boyunca (45,46) günde 1 saat 9450 MHz CW (Continuous wave) mikrodalga uygulaması yapılmıştır. Yapılan mikrodalga ve sham uygulama grupları (uygulama periyoduna bağlı olarak) I. II. III. ve IV. olmak üzere toplam 4 gruba ayrılmıştır.

Her mikrodalga ve sham uygulaması yapılan gruptaki ratların uygulamadan önce ve sonraki rektal sıcaklıkları Jenway 2103 dijital termometre ile ölçüldü. Rektal sıcaklık ölçümü yapmak için dijital termometrenin probu ratların rektumuna 2.5 cm kadar daldırıldı.

I.Grup:

Sprague-Dawley ratların seminifer epitelyumunun 1.siklusuna karşılık gelen 13 gün boyunca günde 1 saat ratlara mikrodalga ışınlaması yapıldı. Aynı grubun sham uygulaması ise yine 13 gün boyunca günde 1 saat plexiglas kafes ve anechoic chamber içine konuldu fakat mikrodalga ışınlaması yapılmadı.

II.Grup:

II.gruptaki ratlara I.grupta olduğu gibi günde 1 saat mikrodalga ışınlaması ve sham uygulaması yapıldı. Ancak bu gruptaki ratlara 26 gün boyunca mikrodalga ve sham uygulaması yapıldı.

III.Grup:

Bu gruptaki Sprague-Dawley ratlara ise 39 gün boyunca günde 1 saat her gün mikrodalga ve sham uygulaması yapıldı.

IV-Grup:

Sprague-Dawley ratların seminifer epitelyumunun tüm siklüsü olan 52 gün boyunca bu gruptaki ratlara günde 1 saat mikrodalga ışınlaması ve sham uygulaması yapıldı.

Sham Uygulaması:

Mikrodalga uygulaması yapılan ratlardan elde edilen bulguları karşılaştırmak için her bir mikrodalga uygulaması yapılan gruba karşılık sham grupları dizayn edildi. Sham gruplarında kullanılan deney düzeneğinde deney grubunda kullanılan anechoic chamber ve plexiglas kafes'e benzer ekipman kullanıldı (Resim 2). Sham grubunun deney grubundan ayrılan yönü sham grubunda sadece mikrodalga uygulaması yapılmamasıdır. Bu gruptaki ratlar'a günde 1 saat 13.0, 26.0, 39.0 ve 52.0 gün boyunca sham uygulaması yapıldı.



Resim 2: Sham uygulaması amacıyla kullanılan deney düzeneği.

Mikrodalga ışınlaması sonrası uygulanan procedür:

Mikrodalga uygulama (Deney) ve sham grubundaki ratlar uygulamaların bittiği günü izleyen bir sonraki günde intramusküler olarak verilen 35 mg/kg

dozundaki ketalar anestezisi altında sakrifiye edildiler. Sakrifikasyondan sonra sırayla Şu işlemler yapıldı.

-Ratların sağ ve sol testisleri, sağ ve sol epididymisleri, semina vezikalis ve prostatları izole edilerek ağırlıkları dijital tartı aleti (Mettler AJ150) ile belirlendi (Resim 3).

-Ratların sol cauda epididymisi insizyondan sonra 0.5 M fosfat tamponu (K_2HPO_4 , KH_2PO_4) (pH=7.40) ile Homojenize edildi. Elde edilen bu homojenatlardan mililitredeki sperm sayısı ve sperm morfolojisi saptandı.

-İzole edilen sağ testis ve epididymis %10'luk nötral formalinde fikse edilerek histopatolojik inceleme için histolojik takibe alındı.



Resim 3: İzole edilen genital organların ağırlıklarının saptanması.

Sperm miktarı ve morfolojisinin tesbit edilmesi:

Gerek mikrodalga uygulama grubu ve gerekse sham uygulaması yapılan gruptaki ratların sol cauda epididymisi 0.5 M fosfat tamponu ile Homojenize edildikten sonra elde edilen Homojenat içeriği aşağıdaki şekilde olan sperm sayma solüsyonu ile 1/50 oranında dilue edilerek ml'deki sperm miktarı Hemacytometry ile saptandı (47,48,49).

Sperm solüsyonu

-Sodyum Bikarbonat	5 gr
-%35 Formalin	1 ml
-Distile su	100 ml

Mikrodalga ve sham uygulaması yapılan ratların normal ve anormal formdaki sperm yüzdesi ile sperm morfolojisi her örnekten bir çift ince yayma preparat hazırlanıp şu işlemler gerçekleştirildikten sonra değerlendirildi.

1-Havada kurutulan yaymalar metanol ile tesbit edildi.

2-Su ile yıkandı.

3-Hematoksilende 1 dakika tutuldu.

4-Su ile yıkandı.

5-Asit alkol çözeltisinde 2-3 dakika boyunca tutuldu.

6-Su ile yıkandı.

7-%2'lik bikarbonat çözeltisinde 10-20 sn tutuldu.

8-Su ile iyice yıkandı.

9-%0.3'lük Eozin çözeltisinde 20 sn tutuldu.

10) Su ile yıkanıp temiz lamelle kapatıldı.

Sonuçta elde edilen preparatta sperm sayısı yeterli ise 200 hücre, yeterli değilse preparattaki tüm yayma incelenerek normal ve anormal sperm formları saptandı (50,51).

Histopatolojik inceleme için yapılan histolojik takip:

Histopatolojik inceleme amacıyla, sağ testis ve sağ epididymisler izole edilerek %10'luk nötral formalinde fikse edildi. Rutin histolojik takiplerden sonra, dokular parafin bloklara gömüldüler. Parafin bloklardan kızaklı mikrotom (Leica jung Histoslidle 2000) yardımıyla 5 µm kalınlığında kesitler elde edildi. Elde edilen parafin kesitleri, Hematoksilen-Eozin boyası ile boyanarak, ışık mikroskopik değerlendirilmesi yapıldı (52). Işık mikroskopik değerlendirmesi yapılan bulgular Olympus BH2 mikroskop ile fotoğraflandılar. Seminifer tubül ve epididymal kanal çapları oküler mikrometre ile ölçüldü.

İstatistiksel Yöntem

Elde edilen verilerden deney ve sham grupları arasında anlamlı fark olup olmadığını tesbit etmek amacıyla Non parametrik bir test olan Mann Whitney U testi kullanıldı (53).

Sperm miktarı açısından deney grupları arasında anlamlı bir fark olup olmadığı ve sham grupları arasında anlamlı bir fark olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (ANNOVA) ile test edildi (54). Deney ve sham gruplarında testis ve epididymis tubül çapları arasında anlamlı farklılık olup olmadığı bağımsız student t testi ile belirlendi (53).

BULGULAR

Olgun ve erkek olan Sprague-Dawley ratlara günde 1 saat 13.0, 26.0, 39.0 ve 52.0 gün boyunca mikrodalga uygulandı. Uygulamadan sonraki gün ratlar sakrifiye edilerek ratların epididymal sperm miktarı, sperm morfolojisi, genital organların ağırlıkları ve testis ile epididymisin histolojisi incelendi ve sham grubuyla karşılaştırıldı. Bu inceleme sonucunda şu bulgular elde edildi.

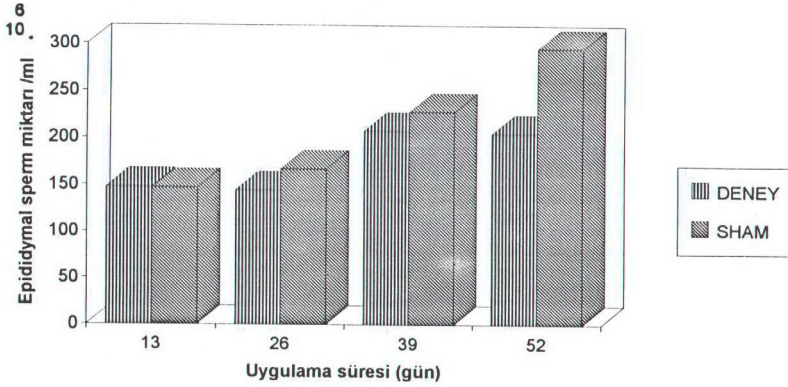
Sperm miktarı

Bu çalışmada mikrodalga ve sham uygulaması yapılan ratların epididymal sperm miktarı hemacytometry ile tesbit edildi. Mikrodalga uygulaması yapılan deney grubu ile sham grubu birbirleriyle Mann Whitney U testi ile karşılaştırıldı (Tablo 2). Bu karşılaştırmaya göre 13,26 ve 39 gün boyunca mikrodalga uygulaması yapılan gruplarla sham grupları arasında anlamlı bir fark olmadığı saptandı ($P>0.05$). Bununla birlikte 52 gün boyunca uygulama yapılan gruplar arasında oldukça anlamlı farklılık vardı (Grafik 1) ($P<0.01$).

Gruplar arasında epididymal sperm miktarı yönünden yapılan karşılaştırma ANNOVA (Varyans Analizi) testi ile yapıldı. Mikrodalga uygulaması yapılan deney grupları arasında anlamlı farklılık olduğu saptandı ($F=7.69$), ($P<0.001$). Sham grupları arasında yapılan karşılaştırmada da oldukça anlamlı farklılık olduğu belirlendi ($F=27.08$) ($P<0.001$).

Tablo 2: Mikrodalga ve sham uygulaması yapılan gruplara ait sperm miktarları

	Deney grubu Epididymal sperm miktarı $\times 10^6 \bar{X} \pm SD$	Sham grubu Epididymal sperm miktarı $\times 10^6 \bar{X} \pm SD$	P
13 gün	147.62 \pm 18.26	146.87 \pm 31.99	$P>0.05$
26 gün	144.25 \pm 41.48	166.90 \pm 23.50	$P>0.05$
39 gün	207.65 \pm 11.37	228.1 \pm 40.25	$P>0.05$
52 gün	204.85 \pm 55.77	295.4 \pm 52.61	$P<0.01^*$



Grafik 1: Mikrodalga ve sham uygulaması yapılan gruplara ait ml'deki sperm miktarları.

Sperm Morfolojisi

Hem mikrodalga hemde sham uygulaması yapılan ratların her birinde elde edilen spermlele bir çift yayma yapıldı. Bu preparatlar havada kurutularak Hematoksilen-Eozin ile boyandı. Elde edilen bu yayma preparatlarındaki en az 200 hücre sayılarak sperm morfolojisi yönünden değerlendirme yapıldı.

Değerlendirme kriteri olarak normal ve anormal formdaki hücrelerin yüzdeleri alınıp deney ve sham grubu istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Anormal formlu hücre olarak Başsız Kuyuksuz, Kısa Kuyruklu, Kırık Kuyruklu ve Kıvrık Kuyruklu spermlele dikkate alındı (32,49,50).

Yapılan karşılaştırma sonucunda morfolojik açıdan 13 gün boyunca uygulama yapılan grup ile sham grubu arasında anlamlı bir farklılık olmadığı belirlendi ($P>0.05$) (Tablo 3). 26 günlük uygulama grubunda ise sham grubu ile yapılan karşılaştırmada normal formdaki sperm yüzdesinin anlamlı bir

şekilde azaldığı ($P<0.05$) ve anormal formdaki sperm yüzdesinin arttığı ($P<0.05$) bulundu (Tablo 4). 39 gün boyunca uygulama yapılan grupta normal formdaki hücre yüzdesinin azaldığı ($P<0.05$) toplam anormal formdaki hücre yüzdesinin anlamlı bir şekilde arttığı (Grafik 3) ($P<0.05$), Başsız ve kuyruksuz formdaki hücre yüzdesinde anlamlı bir şekilde arttığı ($P<0.05$, $P<0.05$) belirlendi (Tablo 5). 52 gün boyunca uygulama yapılan grupta normal formdaki sperm yüzdesinin oldukça anlamlı bir şekilde azaldığı (Grafik 2) ($P<0.001$), toplam anormal formdaki sperm yüzdesi ile kıvrık kuyruklu sperm yüzdesinde oldukça anlamlı bir şekilde arttığı ($P<0.001$, $P<0.001$) bulundu (Tablo 6).

Tablo 3: 13 gün boyunca mikrodalga radyasyonu ve sham uygulaması yapılan grubun normal ve anormal formdaki sperm yüzdeleri

	Deney $\bar{X}\pm SD$	Şam $\bar{X}\pm SD$	P
Normal form	85.55±4.30	85.71±3.95	$P>0.05$
Anormal form	14.43±4.29	14.28±3.95	$P>0.05$
Başsız	2.31±1.40	1.59±1.39	$P>0.05$
Kuyruksuz	3.47±3.33	1.84±1.43	$P>0.05$
Kısa kuyruk	0.31±0.21	0.39±0.38	$P>0.05$
Kırık kuyruk	0.82±1.37	0.70±0.82	$P>0.05$
Kıvrık kuyruk	7.50±3.14	9.73±2.94	$P>0.05$

Tablo 4: 26 gün boyunca mikrodalga radyasyonu ve sham uygulaması yapılan grubun normal ve anormal formdaki sperm yüzdeleri

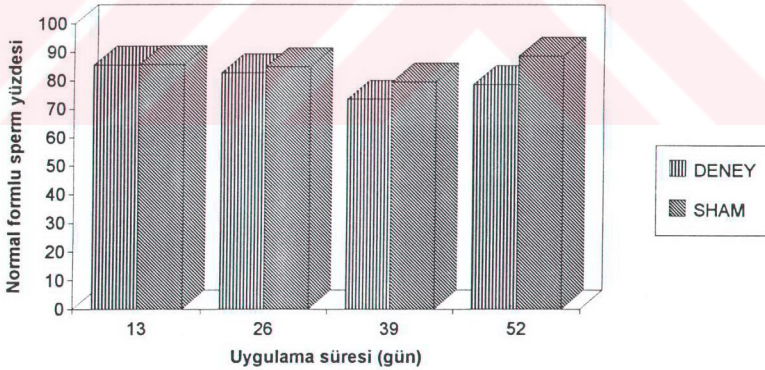
	Deney X±SD	Sham X±SD	P
Normal form	82.73±2.55	84.86±1.44	P<0.05*
Anormal form	17.31±2.58	15.11±1.44	P<0.05*
Başsız	4.35±1.81	3.03±1.11	P>0.05
Kuyruksuz	1.09±0.64	1.74±0.79	P>0.05
Kısa kuyruk	0.71±0.64	1.26±1.99	P>0.05
Kırık kuyruk	0.78±0.80	0.96±0.57	P>0.05
Kıvrık kuyruk	10.36±2.28	8.11±2.70	P>0.05

Tablo 5: 39 gün boyunca mikrodalga radyasyonu ve sham uygulaması yapılan grubun normal ve anormal formdaki sperm yüzdeleri

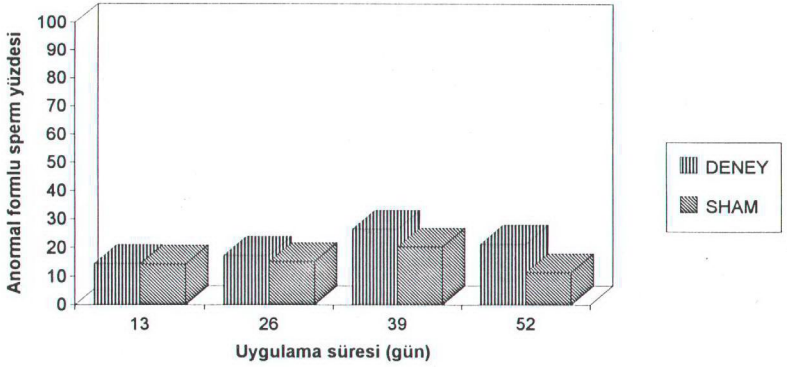
	Deney X±SD	Sham X±SD	P
Normal form	73.55±5.28	79.67±3.09	P<0.05*
Anormal form	26.44±5.28	20.32±3.09	P<0.05*
Başsız	4.07±3.38	0.73±0.59	P<0.05*
Kuyruksuz	2.38±1.26	1.12±0.58	P<0.05*
Kısa kuyruk	0.53±0.46	0.45±0.46	P>0.05
Kırık kuyruk	1.73±1.79	0.67±0.80	P>0.05
Kıvrık kuyruk	17.72±7.38	17.33±3.36	P>0.05

Tablo 6: 52 gün boyunca mikrodalga radyasyonu ve sham uygulaması yapılan grubun normal ve anormal formdaki sperm yüzdeleri

	Deney $\bar{X} \pm SD$	Sham $\bar{X} \pm SD$	P
Normal form	78.70 \pm 4.09	88.64 \pm 2.45	P<0.001*
Anormal form	21.29 \pm 4.09	11.35 \pm 2.45	P<0.001*
Başsız	1.21 \pm 0.61	0.86 \pm 0.49	P>0.05
Kuyruksuz	2.28 \pm 0.94	2.52 \pm 0.63	P>0.05
Kısa kuyruk	0.47 \pm 0.50	0.14 \pm 0.14	P>0.05
Kırık kuyruk	0.21 \pm 0.31	0.02 \pm 0.06	P>0.05
Kıvrık kuyruk	17.10 \pm 3.54	7.82 \pm 2.28	P<0.001*



Grafik 2: Mikrodalga ve sham uygulaması yapılan gruplara ait normal formlu sperm yüzdeleri.



Grafik 3: Mikrodalga ve sham uygulaması yapılan gruplara ait **anormal** formlu sperm yüzdeleri.

Genital organ ağırlıkları

Mikrodalga ve sham uygulaması yapılan gruplardaki ratlar sakrifiye edildikten sonra sağ testis, sol testis, sağ epididymis, sol epididymis, semina vesicalis ve prostat gibi genital organların ağırlıkları ölçülerek istatistiksel olarak karşılaştırıldılar.

13 gün boyunca mikrodalga radyasyonuna maruz kalan grubun genital organ ağırlıklarında anlamlı bir değişiklik olmadığı gözlemlendi ($P>0.05$)(Tablo 7). 26 günlük uygulama grubunda ise sağ testis ve sol epididymis ağırlıklarında anlamlı değişiklikler olduğu saptandı ($P<0.05$, $P<0.05$) (Tablo 8) (Grafik 4,5). 39 günlük uygulama grubunda sadece sol epididymiste anlamlı farklılık ($P<0.05$) saptanmakla birlikte 52 günlük grupta ise sadece sağ epididymiste anlamlı değişiklik olduğu belirlendi ($P<0.05$) (Tablo 9,10) (Grafik 6,7).

Tablo 7: 13 gün boyunca mikrodalga radyasyonu ve sham uygulaması yapılan gruba ait genital organ ağırlıkları

	Deney $\bar{X}\pm SD$	Sham $\bar{X}\pm SD$	P
Sağ Testis	1.22±0.16	1.25±0.09	P>0.05
Sol Testis	1.21±0.14	1.23±0.11	P>0.05
Sağ Epididymis	0.20±0.07	0.19±0.04	P>0.05
Sol Epididymis	0.18±0.08	0.18±0.04	P>0.05
Semina Vesicalis	0.75±0.10	0.79±0.24	P>0.05
Prostat	0.65±0.15	0.64±0.15	P>0.05

Tablo 8: 26 gün boyunca mikrodalga radyasyonu ve sham uygulaması yapılan gruba ait genital organ ağırlıkları

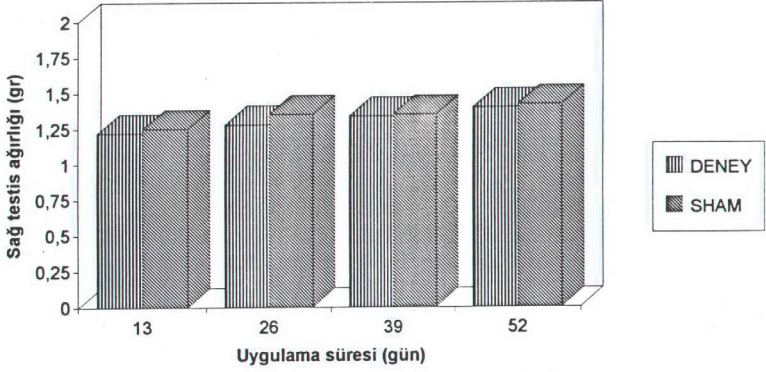
	Deney $\bar{X}\pm SD$	Sham $\bar{X}\pm SD$	P
Sağ Testis	1.28±0.06	1.35±0.05	P<0.05*
Sol Testis	1.31±0.05	1.32±0.04	P>0.05
Sağ Epididymis	0.23±0.02	0.21±0.02	P>0.05
Sol Epididymis	0.25±0.01	0.22±0.03	P<0.05*
Semina Vesicalis	0.87±0.31	0.64±0.18	P>0.05
Prostat	0.76±0.19	0.64±0.13	P>0.05

Tablo 9: 39 gün boyunca mikrodalga radyasyonu ve sham uygulaması yapılan gruba ait genital organ ağırlıkları

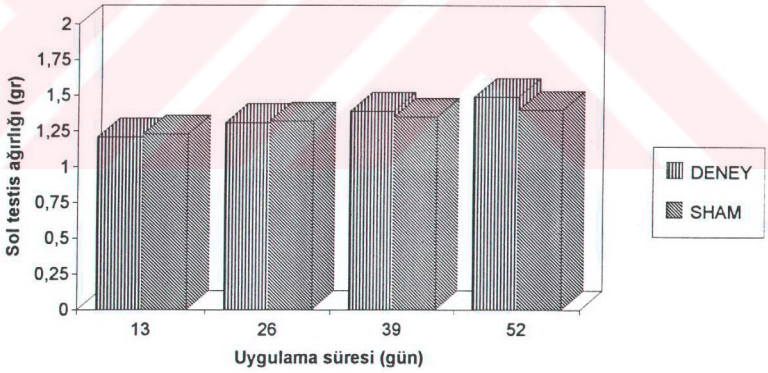
	Deney $\bar{X}\pm SD$	Sham $\bar{X}\pm SD$	P
Sağ Testis	1.34±0.06	1.35±0.08	P>0.05
Sol Testis	1.39±0.10	1.35±0.07	P>0.05
Sağ Epididymis	0.29±0.05	0.25±0.009	P>0.05
Sol Epididymis	0.29±0.03	0.25±0.01	P<0.05*
Semina Vesicalis	1.26±0.27	1.40±0.17	P>0.05
Prostat	0.70±0.28	0.92±0.14	P>0.05

Tablo 10: 52 gün boyunca mikrodalga radyasyonu ve sham uygulaması yapılan gruba ait genital organ ağırlıkları

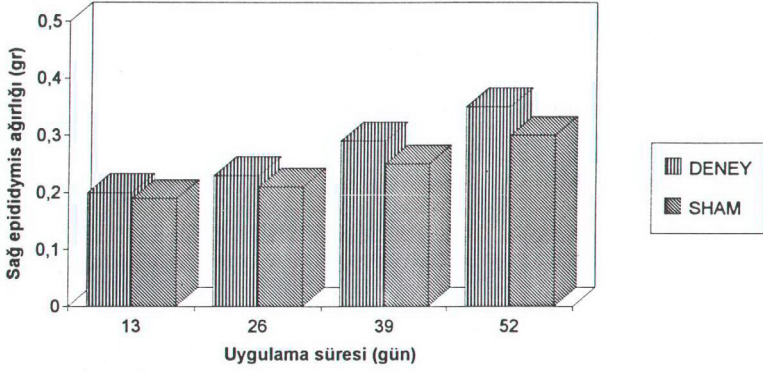
	Deney $\bar{X}\pm SD$ (g)	Sham $\bar{X}\pm SD$ (g)	P
Sağ Testis	1.40±0.04	1.42±0.07	P>0.05
Sol Testis	1.49±0.06	1.40±0.05	P>0.05
Sağ Epididymis	0.35±0.02	0.30±0.02	P<0.05*
Sol Epididymis	0.29±0.03	0.30±0.03	P>0.05
Semina Vesicalis	1.41±0.15	1.37±0.14	P>0.05
Prostat	0.75±0.17	0.73±0.14	P>0.05



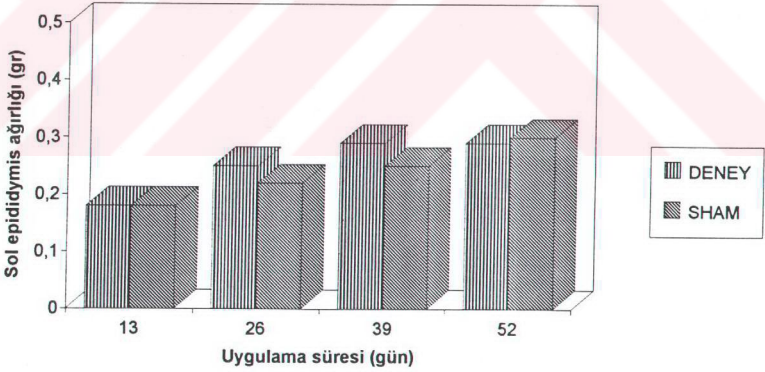
Grafik 4: Mikrodalga ve sham uygulaması yapılan gruplara ait sağ testis ağırlığı.



Grafik 5: Mikrodalga ve sham uygulaması yapılan gruplara ait sol testis ağırlığı.



Grafik 6: Mikrodalga ve sham uygulaması yapılan gruplara ait sağ epididymis ağırlığı.



Grafik 7: Mikrodalga ve sham uygulaması yapılan gruplara ait sol epididymis ağırlığı.

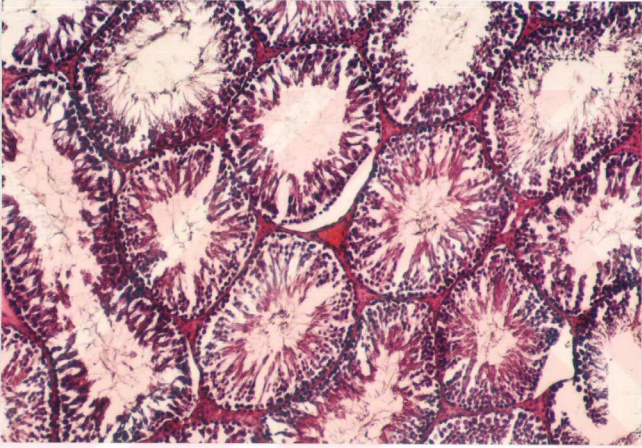
Rektal sıcaklık değişimi

İşinlamadan önceki ve sonraki sıcaklıklar saptanarak bu sıcaklık farkları alındı ve tüm gruplar için istatistiksel karşılaştırma yapıldı (Tablo 11).

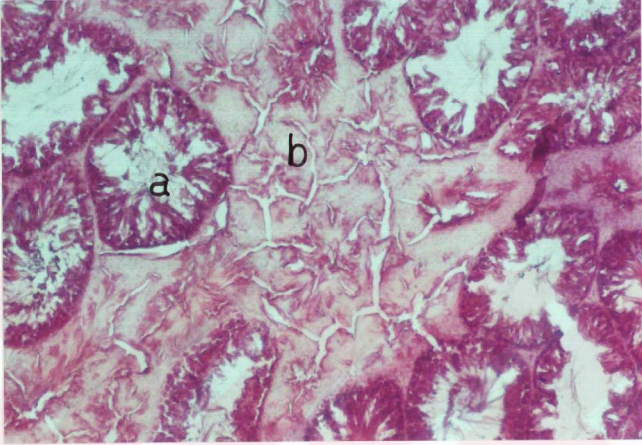
Rektal sıcaklıklarla ilgili olarak yapılan ölçüm ve değerlendirme sonucunda, ışınlamadan önceki sıcaklık açısından anlamlı farklılık olmadığı, ancak ışınlamadan sonraki rektal sıcaklıklarda 26 ve 39 günlük gruplarda anlamlı artışlar olduğu ($P<0.01$, $P<0.001$), ışınlamadan önceki ve sonraki rektal sıcaklık farkı yönünden 13, 26 ve 39 günlük gruplarda anlamlı artışlar meydana geldiği saptandı ($P<0.05$, $P<0.001$, $P<0.001$).

Testisin Histopatolojik Bulguları

13 gün sham uygulaması yapılan grupta herhangi bir patoloji saptanmazken (Resim 4a) 13 gün boyunca mikrodalga uygulaması yapılan testis kesitlerinde ise normal seminifer tubüller yanında nekrotik tubüllerde rastlandı (Resim 4b).

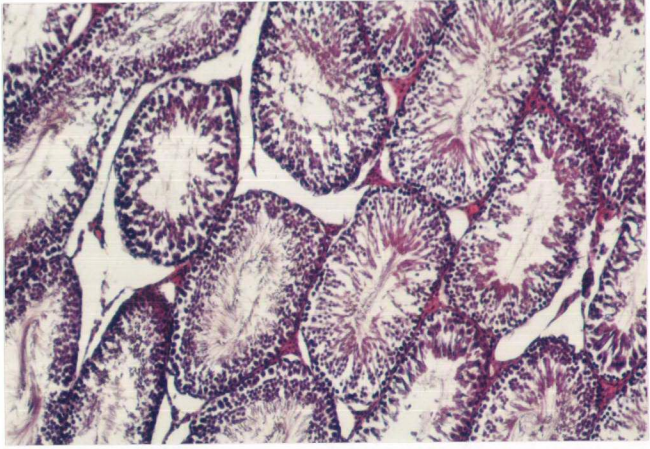


Resim 4a: 13 gün sham uygulaması yapılan (kontrol) grubun rat testisinin ışık mikroskopik görünümü. Normal testis dokusu izlendi. Herhangi bir patolojiye rastlanmadı (H-E (Hematoksilen-Eozin), orjinal büyütme X 41).



Resim 4b: 13 gün boyunca mikrodalga uygulaması yapılan gruba ait rat testisinin ışık mikroskopik görünüm. Bazı seminifer tubüller normal olarak izlenirken, Normal seminifer tubüllerin (a), yanısıra nekrotik tubüllerde (b) izlenmektedir (H-E, orjinal büyütme X41).

26 günlük sham grubuna ait testis kesitlerinde testisin parankim dokusu normal olarak izlenirken (Resim 5a) 26 gün boyunca mikrodalga uygulaması yapılan grubun testis kesitlerinde ise interstisiyel ödem, yer yer tubüller nekroz ve atrofi izlendi (Resim 5b).

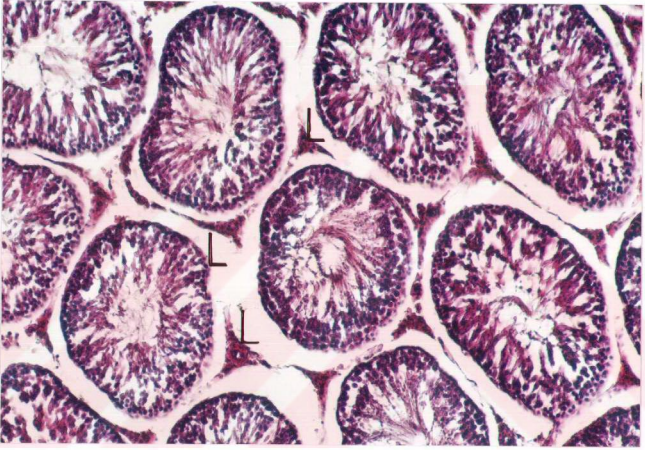


Resim 5a: 26 gün sham uygulaması yapılan rat testisinin histolojik görünümü (H-E, orjinal büyütme X 41).

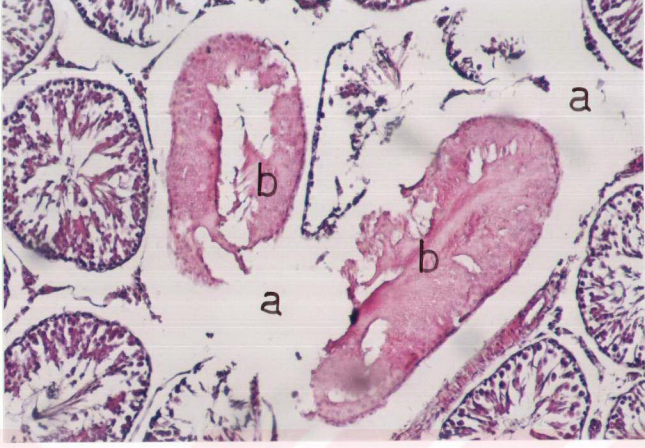


Resim 5b: 26 gün boyunca mikrodalga uygulaması yapılan rat testisinin histolojik görünümü. İnterstisyel ödemle (a) beraber seyreden tubüller nekroz (b) ve atrofi (b) izlenmektedir (H-E, orjinal büyütme X 41).

39 günlük sham grubuna ait testis kesitlerinde patoloji izlenmezken (Resim 6a), 39 gün boyunca mikrodalga uygulanan rat testis kesitlerinde ileri derecede interstisiyel ödem perfore ve nekroze olmuş tubüller oldukça belirgin bir şekilde seçilmekteydi (Resim 6b).

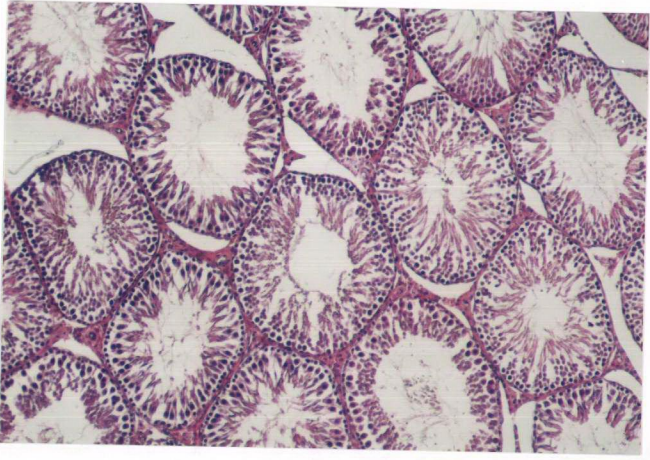


Resim 6a: 39 gün sham uygulaması yapılan rat testisinin histolojik görünümü. Enine olarak kesiti alınmış seminifer tubüllerin ve Leydig hücrelerinin (L) muntazam görünümü izlenmektedir (H-E, orjinal büyütme X 41).

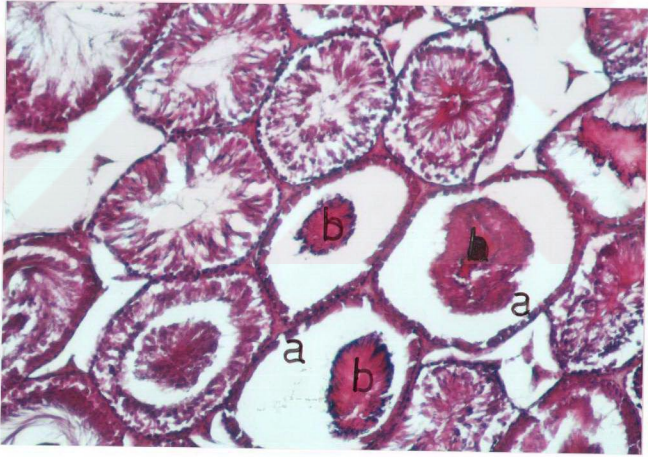


Resim 6b: 39 gün boyunca mikrodalga uygulaması yapılan rat testisinin histolojik görünümü, ileri derecede interstisiyel ödem (a), tamamen nekroze ve perfore olmuş tubüller (b) izlenmektedir (H-E, orjinal büyütme X 41).

52 günlük sham grubuna ait testis kesitleri normal olarak izlenirken (Resim 7a); 52 gün boyunca mikrodalga uygulanan rat testis kesitlerinde bazı tubüllerin germinal epitelinde silinme ve lümende biriken nekrotik hücre artıkları (Resim 7b) ayırt edilmekteydi.



Resim 7a: 52 gün sham uygulaması yapılan rat testisinin histolojik görünümü. Gelişimini tamamlamış seminifer tubüller ve Leydig hücreleri izlenmektedir (H-E, orjinal büyütme X 41).



Resim 7b: 52 gün boyunca mikroalga uygulaması yapılan rat testisinin histolojik görünümü. Bazı seminifer tubül epitellerinde silinme (a) ve lümende yığılma gösteren nekrotik hücre artıkları (b) ayırt edilmektedir (H-E, orjinal büyütme X 41).

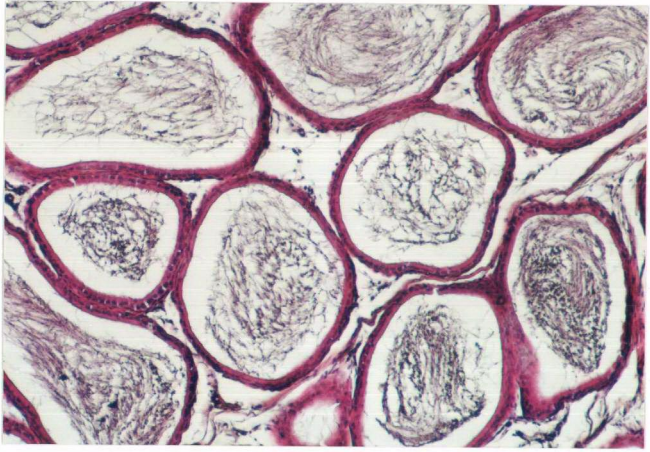
Oküler mikrometre ile testis kesitlerindeki seminifer epitelyum çaplarında yapılan ölçümler sonucunda mikrodalga ve sham uygulaması yapılan gruplar arasında seminifer tubül çapı yönünden anlamlı farklılık olmadığı saptandı ($P>0.05$) (Tablo 12).

Tablo 12: Mikrodalga ve sham uygulaması yapılan gruplara ait **seminifer epitelyum** çapları.

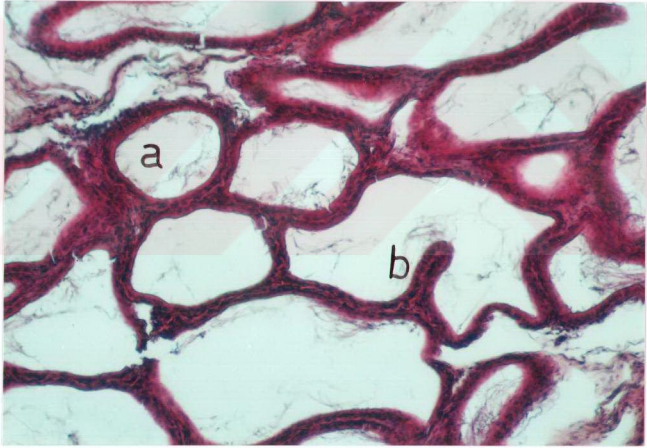
	Deney grubu seminifer Epitelyum çapı $\bar{X} \pm SD$ (μm)	Sham grubu seminifer Epitelyum çapı $\bar{X} \pm SD$ (μm)	t	P
13 gün	226.0 \pm 24.445	235.875 \pm 21.73	-1.909	$P>0.05$
26 gün	247.185 \pm 17.865	241.5 \pm 18.93	1.953	$P>0.05$
39 gün	246.625 \pm 34.235	245.56 \pm 16.62	0.250	$P>0.05$
52 gün	236.625 \pm 20.455	234.625 \pm 40.618	0.393	$P>0.01$

Epididymis'e ait Histolojik Bulgular

13 gün sham uygulaması yapılan grubun epididymis kesitlerinde herhangi bir patoloji izlenmezken (Resim 8a), 13 gün boyunca mikrodalga uygulaması yapılan ratların epididymis kesitlerinde atrofi ve yer yer papillamsı yapılar seçildi (Resim 8b).

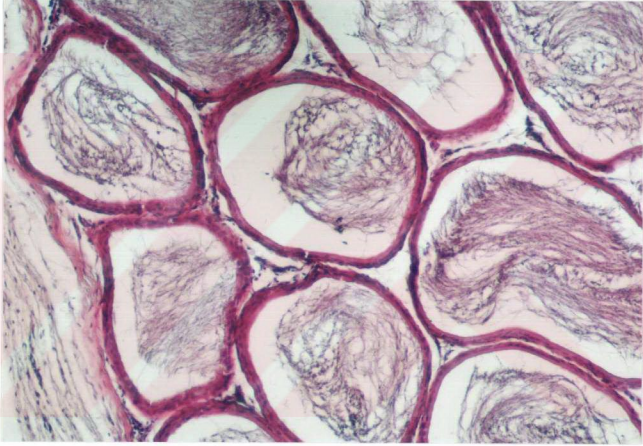


Resim 8a: 13 gün sham uygulaması yapılan gruba (kontrol) ait rat epididymisinin histolojik görünümü (H-E, orjinal büyütme X 41).

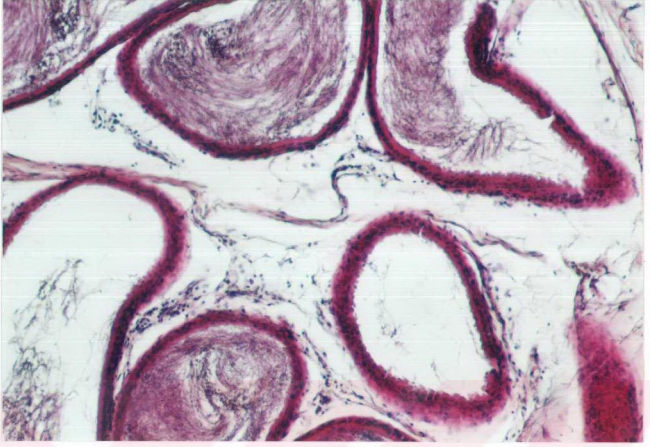


Resim 8b: 13 gün boyunca mikrodalgas uygulaması yapılan rat epididymisinin histolojik görünümü. Bazı epididym kanallarında atrofi (a) izlenirken bazılarında papillamsı yapılar (b) seçilmektedir (H-E, orjinal büyütme X 41).

26 gün sham uygulaması yapılan grubun epididymis kesitlerinde epididymisin parankimal dokusu normal olarak izlenirken (Resim 9a); 26 gün boyunca mikrodalga uygulaması yapılan gruptaki ratların epididymis kanalının mukoza epitelinde yer yer metaplazi, interstisiyel ödem ve mononükleer hücre infiltrasyonu belirgin olarak izlenmektedir (Resim 9b).

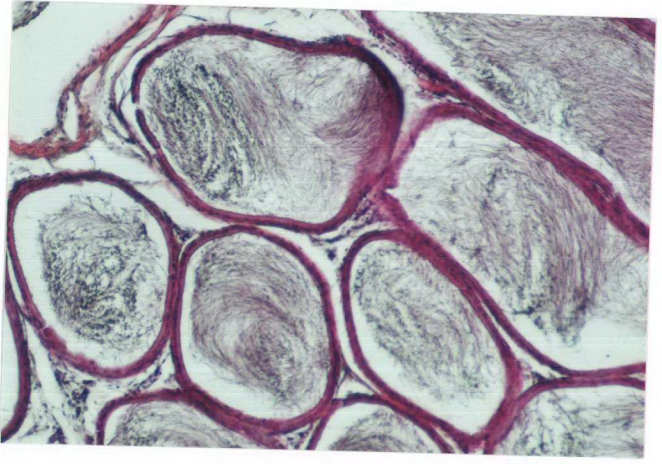


Resim 9a: 26 gün sham uygulaması yapılan rat epididymisinin histolojik görünümü (H-E, orjinal büyütme X 41).

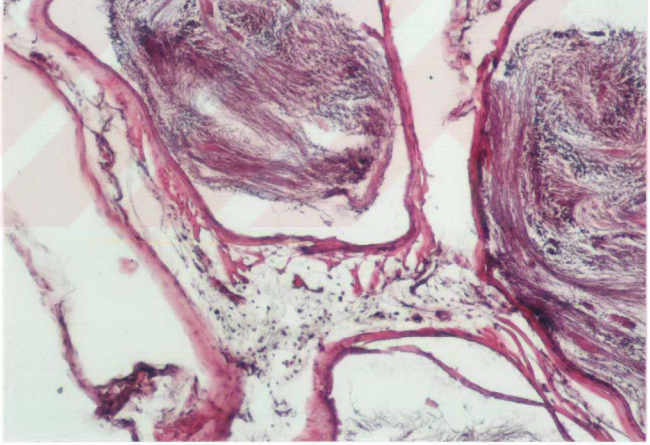


Resim 9b: 26 gün boyunca mikrodalga uygulaması yapılan rat epididymisinin histolojik görünümü. Epididym kanalının mukoza epitelinde metaplazi, interstisyel ödem ve iltihabi hücre infiltrasyonu izlenmektedir (H-E, orjinal büyütme X 41).

39 gün sham uygulaması yapılan ratların epididymal kesitlerinde epididymis normal olarak izlenirken (Resim 10a), aynı süre boyunca mikrodalga uygulaması yapılan rat epididymis kesitlerinde ise kanal duvarlarında düzensizlikler, interstisyel ödem ve fibroblastik aktivitede artış olduğu gözlemlendi (Resim 10b).

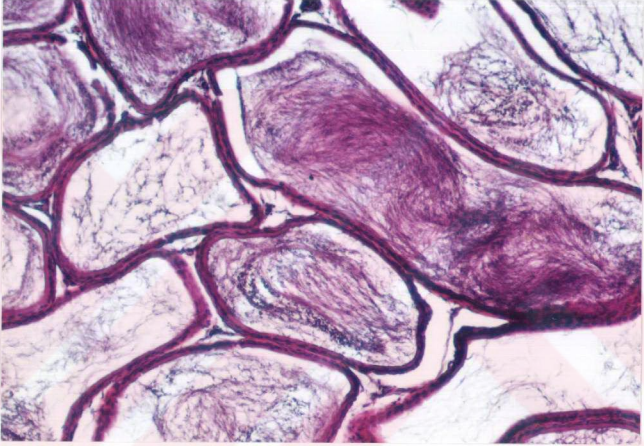


Resim 10a: 39 gün sham uygulaması yapılan rat epididymisinin histolojik görünümü (H-E, orjinal büyütme X 41).

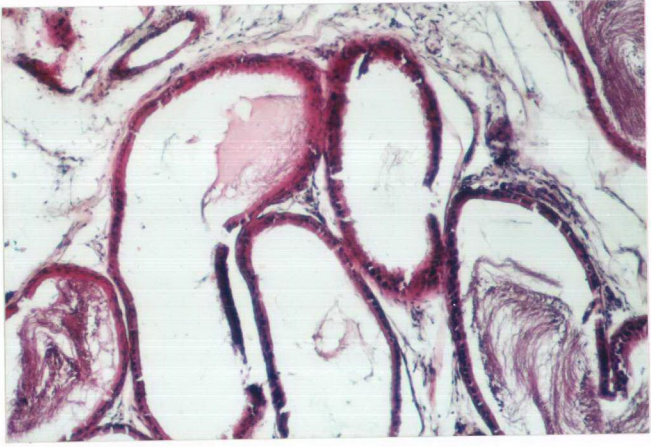


Resim 10b: 39 gün boyunca mikrodalga uygulaması yapılan rat epididymisinin histolojik görünümü epididym kanal duvarlarında düzensizlikler interstisyel ödem ve fibroblastik aktivitede artış izlenmektedir (H-E, orjinal büyütme X 82).

52 gün sham uygulaması yapılan grubun epididymis kesitlerinde herhangi bir patoloji izlenmezken (Resim 11a), 52 gün boyunca mikrodalga uygulaması yapılan deney grubunun epididymis kesitlerinde interstisyel ödem, fibroblastik aktivitede artış yanında yer yer duvarı perfore olmuş epididymal kanal kesitlerine rastlandı (Resim 11b).



Resim 11a: 52 gün sham uygulaması yapılan rat epididymis kesiti. Lümenleri farklı miktarlarda spermium ihtiva eden epididymal kanal kesitleri (H-E, orjinal büyütme X 41).



Resim 11b: 52 gün boyunca mikrodalga uygulaması yapılan rat epididymisinin histolojik görünümü. İnterstisyel ödem, fibroblastik aktivite artışı yanında perfore olmuş epididym kanal kesitleri izlenmektedir (H-E, orjinal büyütme X 41).

Epididymal tubül çaplarında yapılan ölçümler sonucunda 26 ve 52 gün boyunca mikrodalga uygulaması yapılan grupların epididymal tubül çaplarının anlamlı bir şekilde değiştiği saptandı ($P<0.001$, $P<0.001$) (Tablo 13).

Tablo 13: Mikrodalga ve sham uygulaması yapılan gruplara ait **epididymal tubül çapları**.

	Deney grubu Epididymal tubül çapı $X \pm SD$ (μm)	Sham grubu Epididymal tubül çapı $X \pm SD$ (μm)	t	P
13 gün	237.9 \pm 20.735	239.4 \pm 22.33	-0.348	$P>0.05$
26 gün	215.5 \pm 39.335	241.31 \pm 30.1	-4.661	$P<0.05^*$
39 gün	235.535 \pm 23.425	228.205 \pm 26.91	1.678	$P>0.05$
52 gün	236.04 \pm 20.28	221.195 \pm 22.02	3.396	$P<0.01^*$

TARTIŞMA

Çalışmamızda, infertilitenin önemli kriterleri olan sperm miktarı, morfolojisi ile testiste spermatogenezi oluşturan germ hücrelerine ve epididymis morfolojisine mikrodalga radyasyonunun etkisi araştırıldı.

Işınlama kaynağı olarak mikrodalga radyasyonunun seçilmesinin nedeni teknolojinin ve bilimin gelişimine paralel olarak RF radyasyonu ve mikrodalga radyasyonunun kullanımının artması ve bu radyasyona maruz kalan birey sayısının gün geçtikçe çoğalmasındır. Bu nedenle mikrodalga radyasyonunun biyolojik etkileri ile ilgili çalışmalar gün geçtikçe artmakta ve bu konuda bazı güvenlik standartları ile bir takım kriterler belirlenmektedir (1,2,13).

Bu çalışmada 9450 MHz frekanslı mikrodalga radyasyonu Sprague-Dawley ratlara seminifer epitelyumdaki spermatogenezin 1, 2, 3 ve 4.sikluslarına karşılık gelen 13.0, 26.0, 39.0 ve 52.0 gün boyunca günde 1 saat kronik olarak uygulandı. Uygulama sonrası sperm miktarı ve morfolojisi ile genital organ ağırlıklarında meydana gelebilecek değişiklikler saptandı. Ayrıca spermatogenezin farklı siklusları boyunca spermatogenezde meydana gelebilecek değişiklikler, testislerdeki seminifer epitelyumun incelenmesiyle belirlendi. Kronik mikrodalga uygulaması sonucu spermatozoa'ların depo edildiği organ olan epididymiste oluşabilecek değişiklikler histolojik açıdan değerlendirilmeye çalışıldı.

Uygulamadan önce ve sonra rektal sıcaklıkların ölçülmesiyle mikrodalganın biyolojik sistemle etkileşimi sonucu oluşabilecek sıcaklık değişiklikleri saptanmaya çalışıldı.

Sperm miktarı

Mikrodalga ve RF radyasyonunun epididymal sperm miktarı ve günlük sperm oluşumuna etkisi ile ilgili olarak yapılan bazı çalışmalarda mikrodalga radyasyonunun akut veya kronik olarak uygulanmasının ratların epididymal sperm miktarı ve günlük sperm oluşumuna anlamlı etkisinin olmadığı rapor edilmiştir (26,31). Bununla birlikte Lebowitz ve ark. yaptıkları başka bir çalışmada pulsu module edilmiş (PM) 1.3 GHz, 7.7 mW/g mikrodalga radyasyonunun 90 dakika uygulanması sonucu uygulamadan sonraki 6.5, 13.0, 26.0 ve 52.0 günlerde tesbit edilen epididymal sperm miktarı ve günlük sperm oluşumunda anlamlı değişiklikler oluştuğunu rapor etmişler (34).

Yaptığımız çalışmada ise kronik olarak uygulanan düşük şiddetli mikrodalga radyasyonunun uygulama süresine bağlı olarak epididymal sperm miktarında azalma meydana getirdiği ve bu azalmanın spermatogenezin tüm siklusu boyunca yapılan (52 gün) mikrodalga uygulaması sonucu anlamlı bir şekilde arttığı tesbit edildi ($P<0.01$) (Tablo 2). Bu sonuç uygulama süresinin artışıyla biyolojik sistemde oluşabilecek etkininde artabileceği düşüncesiyle uyusmaktadır.

13, 26 ve 39 gün boyunca düşük şiddetli mikrodalga uygulamasının epididymal sperm miktarını anlamlı bir şekilde değiştirmemesi gerek akut gerekse kronik uygulama yapılan bazı çalışmalarla (26,31) uyusmakla birlikte 52 gün boyunca uygulama yapılan gruptan elde edilen sonuçla bu tür çalışmalar (26,31) uyusmamaktadır. Bunun nedeni bu çalışmalarda kullanılan RF radyasyonun frekansının, güç yoğunluğunun veya SAR değerinin ve uygulama süresinin farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Cleary ve ark. (36)'nın yaptıkları in vitro çalışmada RF radyasyonunun spermin ovumu fertilize etme yeteneğini azaltması, Yue-Limin ve ark. (35)'nin yaptıkları çalışmada epididymal sperm miktarının ratlara uygulanan

mikrodalga radyasyonu uygulaması sonucu azaldığının tesbit edilmesi, Kowalczuk ve ark. (31) mikrodalga radyasyonunun sperm miktarını azalttığını tesbit etmeleri, bazı in vitro çalışmalarda mikrodalga uygulamasının spermin fertilizasyon kapasitesini etkilemediği rapor edilmekle birlikte (37,38) Embriyogenez boyunca uygulanan mikrodalga radyasyonunun Japon bildircinlerin spermatozoa miktarını azalttığı ve bu bildircinlerin üreme kapasitesini azalttığının rapor edildiği (32) pozitif bulgular 52 günlük uygulama sonucu sperm miktarının belirgin bir şekilde azaldığı sonucunu desteklemektedir.

Sperm Morfolojisi

Sperm miktarı, motilitesi ,canlı sperm miktarı, günlük sperm oluşumu ve testisin endokrin fonksiyonu gibi parametreler fertilitiyi etkileyen etkenler olmakla birlikte normal ve anormal formlu sperm miktarında fertilitiyi etkileyen önemli parametrelerden biridir (55,56).

Eğer bir bireyin sperm mikarı yeterli fakat anormal formlu sperm miktarı fazlaysa o birey infertil olabilir. Bu nedenle RF veya mikrodalga radyasyonunun sperm morfolojisine herhangi bir etkisinin olup olmadığı, sperm miktarı kadar önemlidir.

Yaptığımız çalışmada 13.0, 26.0, 39.0 ve 52.0 gün süreyle uygulanan mikrodalga uygulaması sonucunda 13 günlük uygulamanın dışında 26, 39 ve 52 günlük uygulama gruplarında anormal formlu sperm yüzdesinin uygulama süresine bağlı olarak anlamlı bir şekilde arttığı ($P<0.05$, $P<0.05$, $P<0.001$) saptandı (Grafik 3).

Kowalczuk ve ark. (31) yaptıkları çalışmada 2,45 GHz mikrodalga radyasyonunun anormal sperm miktarını artırdığını ve sperm morfolojisini değiştirdiğini rapor etmişler. Yue-Limin ve ark. yaptıkları çalışmada mikrodalga radyasyonunun sperm olgunlaşma işlemini etkilediğini ileri sürmüşler

(35). Bu bulgular 26.0, 39.0 ve 52.0 günlük uygulama sonucu elde ettiğimiz anormal formlu sperm miktarının arttığı ve sperm morfolojisinin değişebildiği sonucunu destekliyor.

Elde ettiğimiz sonuçları destekleyen bu bulgulara karşın mikrodalga ve RF radyasyonunun sperm morfolojisini etkilemediğine dair verilerde rapor edilmiştir (30,32,36,37,38). Bununla birlikte Beechey ve ark. (27) yaptıkları çalışmada, günde 30 dakika haftada 6 gün iki hafta boyunca uygulama yapmışlar ve bu uygulama sonucu anormal formlu sperm miktarının güç yoğunluğunun artışıyla artma eğilimi göstermesine karşın istatistiksel olarak anlamlı artış saptayamamışlar. Bu veri 13 günlük uygulama sonucu elde ettiğimiz bulguyu desteklemektedir.

26, 39 ve 52 günlük uygulama ile elde edilen verilerin bazı çalışmaların bulgularıyla çelişmesinin nedeni bu çalışmalardan bazılarının in vitro koşullarda yapılmış olması (36,38) ve diğer çalışmalarda kullanılan uygulama sürelerinin çalışmamızda kullandığımız sürelerden farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Genital organ ağırlıkları

Spermatogenezde meydana gelebilecek olası bir değişiklik genital organ ağırlıklarında etkileyebileceği düşüncesiyle mikrodalga uygulaması sonucu sağ testis, sol testis, sağ epididymis, sol epididymis, semina vesicalis ve prostat ağırlıklarındaki değişiklikler tesbit edildi.

Mikrodalga ve sham uygulaması sonucu yapılan karşılaştırmada sağ testis, sağ epididymis ve sol epididymis ağırlıklarının değiştiği saptandı (Tablo 8,9,10).

Sperm üretimi üzerine pulsü module edilmiş mikrodalga radyasyonu ve geleneksel ısının etkisini araştıran Lebowitz ve ark. (34) yaptıkları çalışmada 1.3 GHz ve 7.7 mW/g pulsü module edilmiş mikrodalga radyasyonunu 90

dakika kadar ratlara uygulamışlar. Uygulamadan sonraki 6,5 ve 26.günde total testikular kütlelerin değiştiği ve ayrıca uygulamadan sonraki 13, 26 ve 52.günde sol epididymis kütlelerinin de değiştiğini rapor etmişler. Bununla birlikte Lebowitz ve Johnson (28) yaptıkları çalışmalarda akut olarak 8 saat 9 mW/g düzeyinde 1.3 GHz frekanslı mikrodalga uygulamasından sonraki 6.5, 13.0, 26.0 ve 52.0 günlerde ratların total testikular kütlelerinde, sol epididymis ve semina vesicalis ağırlıklarında herhangi bir değişiklik olmadığını ayrıca aynı frekanslı 6,3 mW/g düzeyindeki mikrodalga radyasyonunu günde 6 saat, 9 gün uygulamaları sonucunda testis, epididymis ve semina vesicalis kütlelerinin değişmediğini de rapor etmişlerdir (29). Ayrıca yapılan diğer çalışmalarda da testikular ağırlığın değişmediği bildirilmiştir (26,27,32).

Testis ve Epididymisin Histolojik Yapısı:

Non-iyonize elektromanyetik radyasyonun reproduktif etkileri konusunda yapılan çalışmalara gösterilen ilgi bu radyasyona mesleki olarak maruz kalan personelin ve birey sayısının artışıyla yoğunlaşmıştır (57).

Memeli testikular dokunun thermal duyarlılığı Chowdhury ve Steinberger (40), Setchell ve Waites (58), Meistrich ve ark (41) tarafından rapor edilmiştir. Carnie ve Leach (59) su banyosundaki 32 ile 43°C'lik sıcaklığı 4 saat kadar anestezi edilmeyen farelere uygulamışlar. Testikular hücrelerdeki tahribat 41°C'de yapılan 30 dakikalık uygulamadan sonra meydana gelmiş. Testikular tahribat uygulama süresi ve sıcaklıkla doğru orantılı olup 30 dakikalık uygulama sonrası epididymal sperm miktarındaki azalma için eşik sıcaklık 43°C olarak tesbit edilmiş.

Zamana ve şiddete bağlı olarak germinal hücrelerde mikrodalga radyasyonunun etkileri Varma ve Traboulary (14) tarafından rapor edilmiştir. Bu araştırmacılar 1,7 GHz frekanslı mikrodalga'nın 10-200 mW/cm² ve 20-100 dakika arasında değişen farklı doz ve farklı süreli uygulamalarının mice

testislerinde dozun ve sürenin artışına bağlı olarak 1.derece yanıktan tutunda seminifer epitelyumuda farklı dejenerasyonlara varan değişik patolojiler saptamışlar.

Yaptığımız araştırmada 13 gün boyunca mikrodalga uygulaması yapılan ratların testisinde nekrotik tubüllere rastlandı (Resim 4b). 26 günlük grupta ise nekroz ve atrofiye olmuş tubüllerin yanısıra interstisiyel ödem'de gözlendi (Resim 5b). 39 günlük grupta interstisiyel ödemin daha ileri derecede olduğu, perfore ve nekroze olmuş tubüllerin oldukça belirgin olduğu saptandı (Resim 6b). 52 günlük grupta ise bazı tubüllerin germinal epitelinde silinme ve lümende birikmiş nekrotik hücre artıkları saptandı (Resim 7b).

Mikrodalga uygulaması sonucu testis morfolojisinde elde ettiğimiz bulgularda uygulama süresine bağlı olarak testiste oluşan dejenerasyonların arttığı gözlenmektedir. Bu sonuç, Varma ve Traboulary (14)'nin elde ettiği bulguları ve 24 GHz, 250 mW/cm² şiddetindeki mikrodalga radyasyonunu 5, 10 ve 15 dakika ratlara uygulayan ve uygulama sonucu süreye bağlı olarak hafif ödem, tubüler dejenerasyon, 3.derecede yanık, testislerde pıhtılaşma nekroz alanları, hemoraji, interstisiyel ve vasküler dokularda nekroz gibi gözlemleri rapor eden Gun ve ark. (17)'nin verilerini desteklemektedir. Ayrıca 2,45 GHz mikrodalga radyasyonunu C3H mice testisine uygulayan Saunders ve Kowalczyk (15)'un gözlediği spermatocyte'lerin azalmasından germinal epitelyumun geniş bir şekilde nekrozuna varan bulgular, Gasinska ve Hill (16)'in mikrodalga hypertherminin mice testisini etkilediğine dair gözlemler, Fahim ve ark.'nın (18) yaptıkları çalışmada elde ettikleri infertilite ile ilgili bulgular, Kequn W.X.O ve ark (19)'nin 2450 MHz, mikrodalğanın 15 dakika kadar ratlara uygulanması sonucu testislerde tesbit ettikleri ışık mikroskopik ve elektron mikroskopik düzeydeki bulgular, bunun dışında mesleki olarak RF ve mikrodalgaya maruz kalan bireylerde elde edilen spermatogenezde

azalma, oligospermi ve infertilite ile ilgili bulguların yanısıra testikular biyopsi sonuçları (22,24) çalışmamızda elde ettiğimiz verileri genel olarak desteklemektedir.

Kronik mikrodalga uygulamasının ratların epididymis morfolojisini etkilediği, epididymiste atrofi, interstisiyel ödem, fibroblastik aktivitede artış gibi gözlemleri saptadığımız bulgular bize mikrodalga radyasyonunun sperm depolama ortamını etkileyebildiğini gösterir. Bu anlamda elde ettiğimiz sonuç Limin Y ve ark (35)'nin çalışmalarında elde ettikleri sonucu destekler.

Çalışmamızda elde ettiğimiz verileri destekleyen raporların dışında mikrodalga ve RF radyasyonunun testisler üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığına (21) ve mesleki olarak mikrodalgaya maruz kalan bireylerde fertilité açısından herhangi bir değişiklik olmadığını belirten raporlarda mevcuttur (25).

Kronik olarak ratlara uygulanan mikrodalga ışınlaması ile elde edilen testikular dejenerasyonlar ölçülen rektal sıcaklık değişimiyle karşılaştırıldığında oluşan testis dejenerasyonlarının muhtemelen mikrodalğanın indüklediği ısıdan kaynaklanabileceği düşüncesiyle uyusmaktadır. Ayrıca bu düşünce Saunders ve Kowalczyk (15)'un çalışmasında ileri sürdüğü ve testislerde oluşan değişikliğin mikrodalğanın primer etkisinden biri olan ısı tahribatından kaynaklandığı hipotezine uymaktadır.

Testislerin ısıya duyarlı olduğu ve bu nedenle testislerde oluşan değişikliklerin mikrodalğanın indüklediği ısıdan kaynaklanabileceği savunulmasına karşın, kronik düşük düzeydeki uygulamaların küçük hayvanların testisinde ölçülebilir sıcaklık artışı olmaksızın spermatogenezis ve üreme fonksiyonunda bozulmalara neden olabileceğine dair raporlar'da mevcuttur (1). Gerçekten, memeli hücreler üzerine RF ve mikrodalga radyasyonunun etkileri ile ilgili olarak son zamanlarda yapılan in vitro çalışmalar radyasyonun

indüklediği direkt nonthermal değişikliklerle ilgili kesin bulguları verir (36,60-64). Bu in vitro bilgiler reproduktif toksisite üzerine mikrodalga'nın direkt nonthermal etkilerinin dikkate alınması gerektiğini vurgular.

Mikrodalga ve RF radyasyonunun testisler üzerine etkisi ile ilgili olarak yapılan uygulamanın akut bir uygulamamı olduğu yoksa tekrar edilen kronik bir uygulamamı olduğu durumunda önemlidir. Örneğin ratlara testikular sıcaklığın 36°C'ye yükseldiği koşullarda 60 dakikalık beş mikrodalga uygulaması yapılması durumunda, tüm hayvanların spermatogenik epitelyumunun tahrip olduğu, benzer bir şekilde testikular sıcaklığın 40°C'ye yükseldiği 10 ile 27 dakikalık 5 uygulamanın spermatik tubülleri ciddi bir şekilde dejenere ettiği rapor edilmiş (57). Oysa 70 dakikadan daha fazla 40°C'lik akut sıcaklık artışının 36°C'deki tekrar edilen daha kısa süreli uygulamalar kadar tahribat oluşturmadığı vurgulanmış (57). Bu sonuçlar mikrodalga'nın testikular doku üzerine doz oranına veya doz fonksiyonuna bağlı etkilerinin basit thermal eşik yanıtı uymadığını belirtir. Ayrıca tekrar edilen uygulamalar sonucu dejenerasyonun daha fazla olması kronik uygulama sonucu elde ettiğimiz bulguları destekler.

Testislerin sıcaklık değişikliklerine duyarlı olduğu, vücudun dış kısmında scrotal bölgede bulunan testisin sıcaklığının vücut sıcaklığından daha düşük olduğu ve testis sıcaklığının normal vücut sıcaklığına erişmesi durumunda bile testisdeki spermatogenezin etkilenebileceği bilinir (55,56). Testislerde oluşan bu thermal tahribatın nedeni spermatogenez olayının başlangıcında spermatidlere doğru bölünerek gelişen başlangıçtaki hücrelerin bölünememesinden kaynaklanıyor (16).

Chowdhury ve Steinberger 15 dakika 43°C'lik uygulamalardan sonra rat testislerinde ısıya duyarlı iki tip hücre grubu olduğunu belirlediler. Bunlar erken ve geç primer spermatocytler ve bölünen spermatocytlerdi (40). Ayrıca

Saunders ve Kowalczyk (15) primer ve sekonder spermatocytelerin 2,45 GHz mikrodalga radyasyonuna veya direkt ısıya çok duyarlı olduklarını rapor etmişlerdir.

Testiste bulunan spermatogonialardan biri, primer veya sekonder spermatocytelerden biri tahrip edildiğinde tüm spermatogenez zinciri dejenere olur (16). Ayrıca ısının germ hücrelerini bir arada tutan sitoplazmik köprülerde protein denaturasyonuna neden olabildiği ve sınırdaki hücrelerin bir kısmında tahribata neden olabildiği ileri sürülmüştür (16). Ayrıca ısının hem spermatogonia ve hemde preleptotene spermatocyteleri etkileyen ve hücre siklusu kinetiğini regüle eden sertoli hücrelerindeki mitojenik polipeptidleri tahrip ederek proliferen olan hücrelerin ölümüne de neden olduğu ileri sürülmüştür (16).

Kronik mikrodalga uygulaması sonucu epididymal sperm miktarındaki azalma, anormal sperm miktarının uygulama süresine bağlı olarak artışı, sperm formasyonunda görülen değişiklik, testis ve epididymis ağırlıklarının değişmesi, testis ve epididymis morfolojisinde tesbit edilen dejenerasyonlar muhtemelen mikrodalgaın indüklediği ısının testislerde ısıya duyarlı germ hücrelerini tahrib etmesinden kaynaklanabilir.

Ratların vücut büyüklüklerinin, geometrilerinin ve fizyolojik yanıtlarının farklı olmasından ötürü (21) elde ettiğimiz sonuçları insanlara genelleştirmemiz doğru olmaz. Ancak elde ettiğimiz sonuçlar düşük densiteli uzun süreli kronik mikrodalga uygulamasının ratların testis ve epididymis morfolojisinde dejenerasyonlar meydana getirebileceğini ve bazı testikular parametreleri etkileyebileceğini göstermiştir. Bununla birlikte mikrodalga ve RF radyasyonunun spermler ve testis üzerine etkisi ile ilgili mekanizmaların saptanabilmesi için daha ileri veya moleküler düzeyde çalışmalar yapılması gerekir.

SONUÇ

9450 MHz, 2.65 mW/cm² ve 1.80 W/kg'lık mikrodalga radyasyonunun Sprague-Dawley ratlara günde 1 saat 13.0, 26.0, 39.0 ve 52.0 gün boyunca uygulanması ile elde edilen sonuçlar şunlardır.

1-Epididymal sperm miktarı uygulama süresine bağlı olarak azalmakla birlikte sadece 52.0 günlük uygulama grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldı (P<0.05).

2-Anormal formlu sperm yüzdesinin 26.0, 39.0 ve 52.0 günlük uygulama gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde değiştiği saptandı (P<0.05, P<0.05, P<0.001).

3-Testis ve epididymis ağırlıklarının 26.0, 39.0 ve 52.0 günlük uygulama gruplarında anlamlı bir şekilde değiştiği bulundu (P<0.05, P<0.05, P<0.05).

4-Testis ve epididymis'in mikroskopik olarak incelenmesi sonucu mikrodalga uygulaması yapılan ratların testisinde nekrotik tubüller, interstisiyel ödem, perfore ve nekroze olmuş tubüller, spermatogenezde azalma, bazı tubüllerin germinal epitelinde silinme gözlemlendi. Mikrodalga uygulaması yapılan ratların epididymisinde ise atrofi, interstisiyel ödem, mononükleer hücre infiltrasyonu, fibroblastik aktivitede artış olduğu gözlemlendi.

Uzun süreli kronik mikrodalga uygulamasının ratların epididymal sperm miktarını, sperm morfolojisini, testis ile epididymis ağırlıklarını, testis ve epididymis morfolojisini etkileyebileceğini ve bu etkinin mikrodalga'nın indüklediği ısıdan kaynaklanabileceği sonucuna vardık.

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, kronik mikrodalga radyasyon uygulamasının ratların sperm miktarı, morfolojisi, testis ve epididymis morfolojisi üzerine etkisini araştırmaktır. Olgun erkek Sprague-Dawley ratlara ortalama spesifik absorbe doz oranı 1.80 W/kg ve güç yoğunluğu, 2.65 mW/cm² olan sürekli mikrodalga radyasyonu (9450 MHz) seminifer epitelyumun 1, 2, 3, ve 4. sıkluslarına karşılık gelen 13.0, 26.0, 39.0 ve 52.0 gün boyunca günde 1 saat uygulandı.

Uygulamadan sonraki gün ratlar ketalar anestezisi altında sakrifiye edildi ve daha sonra epididymal sperm miktarı, sperm morfolojisi, testis, epididymis, semina vezikalis ile prostatın net ağırlıkları saptandı. Testis ve epididymis mikroskopik olarak incelendi. Bu parametreler sham grupları ile karşılaştırıldı.

Epididymal sperm miktarı sadece 52.0 günlük uygulama grubunda anlamlı bir şekilde azaldı (P<0.05). Anormal sperm yüzdesinin 26.0, 39.0 ve 52.0 günlük uygulama grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde değiştiği bulundu (P<0.05, P<0.05, P<0.001). Testis ve epididymis ağırlıklarının 26.0, 39.0, 52.0 günlük uygulama gruplarında anlamlı bir şekilde değiştiği belirlendi (P<0.05, P<0.05, P<0.05). Uygulama yapılan deney grubundaki ratların testisinde nekrotik tübüller, intestisiyel ödem, perfore ve nekroze olmuş tübüller, spermatogenezde azalma, bazı tübüllerin germinal epitelinde silinme gözlemlendi. Mikrodalga ışınlanması yapılan ratların epididymisinde ise atrofi, interstisiyel ödem, mononükleer hücre infiltrasyonu, fibroblastik aktivitede artış olduğu gözlemlendi.

Uzun süreli kronik mikrodalga uygulamasının ratların epididymal sperm miktarını, sperm morfolojisini, testis ile epididymis ağırlıklarını, testis ve epididymis morfolojisini etkileyebileceğinin ve çalışmada gözlenen semptomların frekansının uygulama süresine bağlı olarak arttığına sonucuna vardık.



SUMMARY

The aim of the present study is to investigate the effect of chronic microwave radiation on the rat sperm count sperm morphology, testis and epididymis morphology.

Adult male Spraque-Dawley rats were irradiated for 1h a day (1h/day) to continuous wave microwave radiation (9450 MHz) at a mean specific absorbed dose rate of 1.80 W/kg and power density 2.65 mW/cm² during the days 13.0, 26.0, 39.0 and 52.0 corresponding to 1, 2, 3 and 4 cycles of seminiferous epithelium.

On the day following exposure, rats were sacrificed under ketalar anesthesia, and then epididymal sperm count, sperm morphology and net mass of testis, epididymis, seminal vesicles and prostat were determined. Testis and epididymis were examined microscopically. These parameters were compared with those of sham groups.

Epididymal sperm count decreased significantly only in 52 day exposure group ($P < 0.05$). The percent of anormal sperm form were found statistically significant in 26.0, 39.0 and 52 day exposure groups ($P < 0.05$, $P < 0.05$, $P < 0.001$) respectively. The weights of testis and the epididymis were found to change significantly for 26.0, 39.0 and 52.0 day exposure groups ($P < 0.05$, $P < 0.05$, $P < 0.05$) respectively. Necrotic tubules, interstitial edema, the perfored and necrosed tubules, decrease in the spermatogenesis and destruction of germinative epithelium in some tubules were observed on the testis of rats in the exposed experimental groups. Atrophy, interstitial edema, mononuclear cell infiltration, increases of fibroblastic activity were observed on the epididymis irradiated by microwave.

We concluded that chronic long period microwave radiation could affect rat epididymal sperm count, sperm morphology, the weights of testis, epididymis, morphology of testis and epididymis, and the frequency of the symptoms mentioned here increased depending on the duration of exposure.



KAYNAKLAR

1. Elder J.A, Czernski P.A, Stuchly M.A, Mild K.H, Sheppard A.R.
Radiofrequency Radiation In: Nonionizing Radiation Protection. Ed
Suess M.J. Benwell-Morison, D.A Second Edition. WHO, Copenhagen,
117-173, 1989.
2. Michaelson S.M, Microwave and Radiofrequency Radiation. In:
Nonionizing Radiation Protection, Ed: Suess. M.J. WHO, Copenhagen,
97-174, 1982.
3. Rojavin M.A, and Ziskin M.C, Effect of millimeter waves on survival of
UVC-Exposed Escherichia coli, Bioelectromagnetics, 16:188-196, 1995.
4. Najdovski L, Dragas A.Z, and Kotnik V, The killing activity of microwaves
on some non-sporogenic and sporogenic medically important bacterial
strains, J. Hosp. Infect, 19 (4): 239-247, 1991.
5. Rosaspina S, Anzanel D, and Salvatorelli G, Microwave sterilization of
enterobacteria, Microbios, 76,263-270, 1993.
6. Kazbekov E.N, and Vyacheslavov L.G, Effects of Microwave Irradiation
on some membrane-related processes in Bacteria, Gen. Physiol.
Biophys, 6,57-64, 1987.
7. Sarkar S, Ali S, Behari J, Effect of low power microwave on the mouse
genome: a direct DNA analysis, Mutat. Res. 320 (1-2):141-7, 1994.
8. Lai H and Singh N.P, Acute low. Intensity Microwave Exposure
Increases DNA single-Strand Breaks in Rat Brain cells,
Bioelectromagnetics, 16,207-210, 1995.

9. Meltz M.L, Eagan P, and Erwin D.N, Proflavin and Microwave Radiation: Absence of a Mutagenic Interaction, *Bioelectromagnetics*, 11,149-157, 1990.
10. Maes A, Verschaeve, Arroyo A, De Wagter C, and Vercnuysen. L, In vitro cytogenetic effects of 2450 MHz waves on Human Peripheral Blood Lymphocytes, *Bioelectromagnetics*, 14, 1495-501, 1993.
11. Garaj Vrhovac V, Horvat D and Karen Z, The relationship between colony forming ability, chromosome aberrations and incidence of micronuclei in V79 chinese hamster cells exposed to microwave radiation, *Mutat.Res.* 263,143-149, 1991.
12. Kolosova L.I, Akoev G.N, Avelev V.D, Riabchikova O.V, and Babu K.S, Effect of low-Intensity Millimeter wave electromagnetic Radiation on Regeneration of Sciatic Nerve in Rats, *Bioelectromagnetics*, 17:44-47, 1996.
13. Roberts, M.R, Michaelson Jr.S.M and Lu S.T, The biological effects of radiofrequency radiation: a critical review and recommendations, *Int. J. Radiat. Biol*, 50 (3):379-420, 1986.
14. Varma M.M, and Traboulay E.E, Biological effects of microwave radiation on the testes of swiss mice, *Experientia*, 31,3, 301-302, 1975.
15. Saunders R.D and Kowalczyk C.I, Effects of 2,45 GHz microwave radiation and heat on mouse spermatogenic epithelium, *Int. J. Radiat. Biol*, 40 (6), 623-632, 1981.
16. Gasinska A, Hill S, The effect of hyperthermia on the mouse testis, *Neoplasma*, 37 (3), 357-366, 1990.
17. Gun S.A, Gould T.M, and Anderson WA.D, The Effect of microwave Radiation on morphology and function of rat testis, *Lab. Invest*, 10 (2), 301-314, 1961.

18. Fahim M.S, Fahim Z, Der R, Hall D.G, Harman J, Heat in male contraception (hot water 60°C, infrared, microwave, and ultrasound). *Contraception*, 11,549-62, 1975.
19. Kequn W.X.O, Wenyu C, Dehua Y, Jie Y, Guangrong L and Huaxun R, A morphologic study of microwave influence on male fertility. III. Light microscopic study on the influence of microwave irradiation to rat testes upon ganadotroph cells, *Acta Acad Med Sichvan*, 16 (3),199-203, 1985.
20. Grigorev V.V, Ogurtsov R.P, Zubzhitskii I.U.W, Immunomorphologic changes in the testes upon exposure to a microwave electromagnetic field. *Arkh. Anat. Gistol. Embriol*, 80 (12), 69-75, 1981.
21. Saunders R.D and Kowalczyk C.I, The effect of acute far field exposure at 2,45 GHz on the mouse testis. *Int. J. Radiat. Biol*, 39 (6), 587-596, 1981.
22. Rosenthal D.S and Beering S.C, Hypogonadism after Microwave Radiation, *Journal of the American Medicine Association (JAMA)*, 205 (4),245-247, 1968.
23. Lancranjan I, et al, Gonadic function in workmen with long-term exposure to microwaves, *Health Physics*, 29,381-383, 1975.
24. Marha K, Musil J, and Tuha H, *Electromagnetic fields and the life Environment*, San Fracisco Press, Inc, San Francisco, California 29-47, 1971.
25. Barron C.I, and Baraff A.A, Medical considerations of exposure to microwaves (radar). *Journal of American Medical Association*, 168, 1194, 1958.

26. Johnson L, Lebovitz R.M, and Samson W.K, Germ cell degeneration in normal and microwave-Irradiation Rats: Potential sperm production Rates at different Developmental steps in spermatogenesis. *The Anatomical Record*, 209 (4), 501-507, 1984.
27. Beechey C.V, Brooker D, Kowalczyk C.I, Saunders R.D and Searle A.G, Cytogenetic effects of microwave irradiation on male germ cells of the mouse, *Int.J.Radiat. Biol*, 50 (5), 909-918, 1986.
28. Lebovitz R.M and Johnson L, Acute Whole-Body Microwave Exposure and Testicular Function of Rats, *Bioelectromagnetics*, 8 (1), 37-43, 1987.
29. Lebovitz R.M, and Johnson L, Testicular function of rats following exposure to microwave radiation, *Bioelectromagnetics*, 4 (2), 107-14, 1983.
30. Cairnie A,B and Harding R.K, Cytological studies in mouse testis Irradiated with 2,45 GHz Continuous-wave microwaves, *Radiation Research*, 87, 100-108, 1981.
31. Kowalczyk C.I, Saunders R.D, Stapleton, H.R, Sperm count and sperm abnormality in male mice after exposure to 2,45 GHz microwave radiation, *Mutat.Res*, 122 (2), 155-61, 1983.
32. Mc Ree D.I, Thaxton J.P, Parkhurst C.R, Reproduction in male Japanese Quail exposed to microwave radiation during embryogeny. *Radiation Research*, 96 (1), 51-8, 1983.
33. Saunders R.D, Darby S.C, Kowalczyk C.I, Dominant lethal studies in male mice after exposure to 2,45 GHz microwave radiation, *Mutat. Res*, 117 (3-4), 345-56, 1983.

34. Lebovitz R.M, Johnson L, and Samson W.K, Effects of pulse-modulated microwave radiation and conventional heating on sperm production, *J.Appl. Physiol*, 62 (1), 245-52, 1987.
35. Limin Y, Ziqiang L, and Bangliang Y, Effect of microwave irradiation on spermatozoa of rat epididymis in vivo, *J.West. China Univ. Med. Sci*, 19 (3),257-260, 1988.
36. Cleary S.F, Liu L.M, Graham R and East. J, In vitro fertilization of mouse ova by spermatozoa Exposed Isothermally to Radio-frequency Radiation, *Bioelectromagnetics*, 10,361-369, 1989.
37. Hall C.A, Mc Ree D.I, Galvin M.J, White N.B, Thaxton J.P, Christensen V.L, Influence of in vitro microwave radiation on the fertilizing capacity of turkey sperm, *Bioelectromagnetics*, 4 (1), 43-54, 1983.
38. Hall C.A, Galvin M.J, Thaxton, J.P, Mc Ree D.I, Interaction of microwave radiation with turkey sperm, *Radiat. Environ. Biophys*, 20 (2), 145-52, 1982.
39. Şeker S, Çerezci O, Elektromanyetik Alanların Biyolojik etkileri. Güvenlik standartları ve korunma yöntemleri, Boğaziçi Üniversitesi Yayınları, Yayın No:479, İstanbul, 95-127, 1991.
40. Chowdhury A.K, and Steinberger E, Early changes in the germinal epithelium of rat testes following exposure to heat, *J. Reprod. Fert*, 22,205-212, 1970.
41. Meistrich M.L, Eng V.W.S and Loir M, Temperature effects on the kinetics of spermatogenesis in the mouse, *Cell Tissue Kinet*, 6,379-393, 1973.
42. Abadir R, Harman J, Fahim M, Enhancement of ionizing radiation effect on the testes of rats by microwave or ultrasound-induced hyperthermia, *J. Med*, 10 (1-2), 1-12, 1979.

43. Saunders R.D, Kowalczyk C.I, Beechey C.V, Dunford R, Studies of the induction of dominant lethals and translocations in male mice after chronic exposure to microwave radiation, *Int. J. Radiat. Biol*, 53 (6), 983-92, 1988.
44. Berman E, Carter H.B, House D, Tests of mutagenesis and reproduction in male rats exposed to 2,450 MHz (CW) microwaves, *Bioelectromagnetics*, 1 (1),65-76, 1980.
45. Clermont Y, and Harvey S.C, Duration of cycle of the seminiferous epithelium of normal, hypophysectomized and hypophysectomized-hormone treated albino rats, *Endocrinology*, 76,80-89, 1965.
46. Leblond C.P and Clermont Y, Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat, *Annals New York Academy of Sciences*, 55,548-573, 1952.
47. Flores A.L.J.C, Kinkead T, Carboni A.A, Menon M and Seethalaksimi L, Effects of sialoadenectomy and epidermal growth factor on testicular function of sexually mature male mice, *The Journal of Urology*, 152,554-561, 1994.
48. Rao M.V, Mehta A.R, Sharma A.K, Path J.S, George R.K, Effect of testosterone on Diethylstilbestrol Toxicity and comparison to a recovery study in the rat epididymis and vas deferens, *Reprod. Toxicol*, 7 (5),453-61, 1993.
49. Kaur R, Parshad V.R, Effects of dietary selenium on differentiation, morphology and functions of spermatozoa of the house rat. *Rattus rattus* L, *Mutat Res*, 309 (1) 29-35, 1994.

50. Gray L.E, Ostby Jr.J, Linder R, Goldman J, Rehnberg G, and Coeper R, Carbendazim-Induced Alterations of Reproductive development and function in the rat and hamster, *Fundam. Appl. Toxicol*, 15 (2),281-97, 1990.
51. Kendirci A, Erkek İnfertilitesinin Değerlendirilmesi, Doktora Tezi, Ç.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 33-35, 1995.
52. Reynolds G, *Handbook of Histological Techniques*, 2nd Edition, Department of Histopathology, London, 5-36, 1990.
53. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V, *Biyoistatistik*, 3.Baskı, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, 58, 114-117, 1990.
54. Saunders B.D, Trapp R.B, *Basic and Clinical Biostatistics*, Second Edition, Appleton and Lange, Prentice-Hall International Inc, USA, 126-129, 1994.
55. Guyton A.C, Hall J.E, *Textbook of Medical physiology*, Ninth Edition, W.B.Saunders company. Philadelphia, Pennsylvania, 1003-1016, 1994.
56. Ganong W.E, *Ganong Tıbbi Fizyoloji*, Editör: Doğan A, Barış kitabevi, İstanbul, 449-495, 1995.
57. Cleary S.F, *Reproductive Toxic Effects of Electromagnetic Radiation*, *Reproductive Toxicology*, Edit. Mitorsch R.J, Second Edition, Raven Press. Ltd. New York, 263-279, 1995.
58. Setchell B.P, Waites G.M.H, The effect of local heating of the testis on the flow and composition of rete testis fluid in the rat with some observations on the effects of age and unilateral castration, *J.Reprod. Fertil*, 30,225-33, 1972.

59. Carnie A.B, Leach K.E, Quantitative studies of cytological damage in mouse testis produced by exposure to heat, *Can. J.Genet. Cytol*, 22,93-102, 1980.
60. Cleary S.F, Garber F, Lu L.M, Effects of X-band microwave exposure on rabbit erythrocytes, *Bioelectromagnetics*, 3,453-66, 1982.
61. Cleary S.F, Liu L.M, Garber F, Erythrocytes hemolysis by radiofrequency fields, *Bioelectromagnetics*, 6,313-22, 1985.
62. Cleary S.F, Cellular effects of electromagnetic radiation, *IEEE Eng Med and Biol*, 26-30, 1987.
63. Cleary S.F, Liu L.M, Merchant R, Glioma proliferation modulated in vitro by isothermal radiofrequency radiation exposure, *Radiat.Res*, 121,38-45, 1990.
64. Cleary S.F, Liu L.M, Merchant R, Lymphocyte proliferation induced by radiofrequency radiation under isothermal conditions. *Bioelectromagnetics*, 11,47-46, 1990.