



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ELEKTROMANYETİK ALANIN SIÇAN TESTİSLERİNDEKİ
ETKİLERİNE KARŞI TİMOKİNON VE LUTEOLİN'İN
KORUYUCULUĞUNUN STEREOLOJİK VE
HİSTOKİMYASAL YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Ahmad YAHYAZADEH

**Samsun
Ağustos-2017**



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ELEKTROMANYETİK ALANIN SIÇAN TESTİSLERİNDEKİ
ETKİLERİNE KARŞI TİMOKİNON VE LUTEOLİN'İN
KORUYUCULUĞUNUN STEREOLOJİK VE
HİSTOKİMYASAL YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Ahmad YAHYAZADEH

Danışman

Doç. Dr. Berrin Zühal ALTUNKAYNAK

SAMSUN

Ağustos-2017

T.C.

ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ahmad YAHYAZADEH tarafından Doç. Dr. Berrin Zuhul ALTUNKAYNAK Danışmanlığında hazırlanan “Elektromanyetik Alanın Sıçan Testislerindeki Etkilerine Karşı Timokinon ve Luteolin’in Koruyuculuğunun Stereolojik ve Histokimyasal Yöntemlerle Araştırılması” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 10 /08/2017 tarihinde yapılan sınav ile Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Doç. Dr. Berrin Zuhul ALTUNKAYNAK, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye: Doç. Dr. Bülent AYAS, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Yrd. Doç. Dr. Fatih Mehmet GÜR, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ercan AYZAZ, Çorum Hitit Üniversitesi

ONAY

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

08/09/2017



Prof. Dr. Ahmet UZUN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca desteğini, özverisini ve bilgisini hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanım ve çok değerli hocam Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Doç. Dr. Berrin Zuhâl ALTUNKAYNAK'a,

Ayrıca değerli jüri üyelerim Doç. Dr. Bülent AYAS, Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ, Yrd. Doç. Dr. Fatih Mehmet GÜR ve Yrd. Doç. Dr. Ercan AYZ'a

Tez çalışmam boyunca yardımlarını hiçbir şekilde esirgemeyen Dok. Öğr. Işınso ALKAN ve Dok. Öğr. Elfide Gizem KIVRAK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, yine tez çalışmalarımda katkıları olan Arş. Gör. Adem KOCAMAN, Arş. Gör. Gamze ALTUN, Arş. Gör. Ömür Gülsüm DENİZ, Arş. Gör. Erkan ERENER ve Arş. Gör. Sümeyye Gümüş UZUN'a teşekkür ederim.

Ayrıca bu tez, eğitim yaşamım boyunca hiçbir zaman desteğini, sevgisini ve fedakarlığını eksik etmeyen sevgili eşim Fariba JAVADZADEH'e ve biricik oğlum Ali ve kızım Noura YAHYAZADEH'e atfedilmiştir.

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Proje Yönetim Ofisi tarafından PYO.TIP.1904.14.018 nolu proje olarak desteklenmiştir.

ÖZET

ELEKTROMANYETİK ALANIN SIÇAN TESTİSLERİNDEKİ ETKİLERİNE KARŞI TİMOKİNON VE LUTEOLİN'İN KORUYUCULUĞUNUN STEREOLOJİK VE HİSTOKİMYASAL YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

Amaç: Bu çalışmada, elektromanyetik alan (EMA) maruziyetinin erkek üreme sistemi üzerine olan olumsuz etkilerini araştırmak ve ortaya çıkabilecek olumsuz etkilerin kullanılan timokinon ve luteolin ile azaltılıp azaltılamayacağını gözlemlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada, 200 gr vücut ağırlığında 12 haftalık 36 erişkin erkek Wistar albino sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar rastgele altı gruba ayrılmıştır: Kontrol (Kont, n=6) grup, EMA'ya maruz bırakılan grup (EMA, n=6), Luteolin uygulanan grup (Lut, n=6), EMA maruziyeti ile birlikte Lut uygulanan grup (Lut+EMA, n=6), timokinon verilen grup (Tim, n=6), EMA maruziyeti ile birlikte Tim verilen grup (Tim+EMA, n=6). Yirmi sekiz günlük deney süresinin sonunda deneklere, anestezi altında kardiyak perfüzyon yapılmıştır. Sonrasında deneklerin testis dokularından alınan örnekler histolojik, stereolojik, biyokimyasal ve immunohistokimyasal yöntemlerle değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Stereolojik değerlendirme sonucunda EMA'ya maruziyetin spermatogenetik seriyi oluşturan primer spermatosit ve spermatid hücrelerde ve ayrıca Leydig hücrelerinin sayısı üzerinde olumsuz etkiye neden olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Bu noktada, Lut ve Tim'in EMA'nın ilgili hücrelerde oluşturduğu hasarlara karşı koruyucu etkiye sahip oldukları ortaya konmuştur ($p<0.05$). Bu bulgulara paralel olarak stereolojik sonuçlar histolojik ve immunohistokimyasal bulgular ile desteklenmiştir.

Sonuç: Elde edilen bulgular 900 MHz EMA maruziyetinin sıçanların testis dokusu üzerinde birtakım olumsuz etkilere neden olduğu ancak Lut ve Tim'in ortaya çıkan hasarları önemli ölçüde azalttığı ve Lut'un Tim'e kıyasla daha fazla koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Luteolin; sıçan; stereoloji; testis; timokinon

Ahmad YAHYAZADEH, Doktora Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi- Samsun, Ağustos-2017

ABSTRACT

INVESTIGATION OF EFFECTS OF THYMOQUINONE AND LUTEOLIN ON RAT TESTIS EXPOSED TO ELECTROMAGNETIC FIELD VIA STEREOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL METHODS

Aim: In this study, it was aimed to investigate the negative effects of exposure to electromagnetic field (EMF) on the male reproductive system, and to observe whether or not the possible adverse effects could be reduced using thymoquinone and luteolin administration.

Materials and Methods: In this study, thirty-six adult male Wistar albino rats weighing 200 g and aged 12 weeks old were used. The animals were randomly divided into 6 groups: control (Cont, n = 6) group, group exposed to EMF (EMF, n = 6), administered luteolin group (Lut, n = 6), administered thymoquinone group (Tim, n = 6), EMF exposed group with Lut, EMF exposed group with Tim (EMF+Tim, n = 6). At the end of the twenty-eight day trial period, the subjects underwent cardiac perfusion under anesthesia. Subsequently, samples taken from the testicular tissues of the subjects were evaluated by histological, stereological, biochemical and immunohistochemical methods. The data obtained were statistically compared.

Results: As a result of the stereological evaluation, it was observed that exposure to EMF caused a deleterious effect on spermatogenic series forming primary spermatocytes and spermatid cells as well as Leydig cells ($p < 0.05$). It has been demonstrated that Lut and Tim had protective effect on the damages due to EMF exposure in the relevant cells ($p < 0.05$). Consistent with these findings, stereological results were supported by histological, biochemical and immunohistochemical findings.

Conclusion: Our findings revealed that exposure to 900 MHz EMF brought about complications on testicular tissue of rats, and Lut and Tim administration significantly reduced the testicular damages. Moreover, Lut had more restorative influence in comparison to Tim.

Keywords: Luteoline; rat; stereology; testis; thymoquinone

Ahmad YAHYAZADEH, Ph.D. Thesis

Ondokuz Mayıs University- Samsun, Ağustos -2017

SİMGELER VE KISALTMALAR

λ	: Dalga boyu
μm	: Mikrometre
$\mu\text{W}/\text{cm}^2$: Mikro Watt/santimetre kare
ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
AÖO	: Alan Örnekleme Oranı
A/M	: Amper/metre
ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
C	: Karbon
Ca^{2+}	: Kalsiyum
CAT	: Katalaz
CE	: Hata katsayısı
cm	: Santimetre
CV	: Değişim katsayı
CYP450	: Sitokrom P450
DCXR	: Dikarbonil/L-Ksiluloz redüktaz
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
E	: Karekök ortalama elektrik alan
EM	: Elektromanyetik
EMA	: Elektromanyetik alan
Lut+EMA	: 900 MHz EMA'ya maruz bırakılan+Luteolin grubu
Tim+EMA	: 900 MHz EMA'ya maruz bırakılan+Timokinon grubu
ER	: Östrojen reseptör
f	: Frekans

FCC	: Federal İletişim Komisyonu
FSH	: Folikül uyarıcı hormon
G	: Gauss
GH	: Büyüme hormonu
GHz	: Gigahertz
gr	: Gram
GR	: Glutasyon redüktaz
GSM	: Mobil iletişim için küresel sistem
GST	: Glutasyon S-transferaz
H	: Manyetik alan şiddeti
HF	: Hiper frekans
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
I	: EM Dalga Şiddet Birimi
IL	: İnterlökin
kHz	: Kiloherz
Kont	: Kontrol grubu
KÖO	: Kesit örnekleme oranı
LH	: Luteinize edici hormon
LPS	: Lipopolisakkarid
LT	: Lökotrien
Lut	: Luteolin
m	: Metre
MAPK	: MAP kinaz
MDA	: Malondialdehit
mg/ml	: Miligram/mililitre
MHz	: Megahertz

MPO	: Miyeloperoksidaz
NADH	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NF-KB	: Nükleer Faktör kappa B
NO	: Nitrik oksit
V/m	: Volt/metre
OH•	: Hidroksil radikali
O₂^{-•}	: Süperoksit anyon radikali
p	: Örnek yoğunluğu
RF	: Radyo frekans
RFR	: Radyofrekans radyasyonu
ROO•	: Peroksil radikal
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SAR	: Özgül soğurma Hızı
SOD	: Süperoksit dismutaz
SRÖ	: Sistematik rastgele örnekleme
SS	: Standart sapma
T	: Tesla
Tim	: Timokinon
TNF	: Tümör nekroz faktörü
UV	: Ultraviyole
v	: Dalganın ortalama hızı
V	: Numune hacmi
W/kg	: Watt/kilogram
W	: Watt

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Tanımlar	4
2.1.1. Frekans	4
2.1.2. Dalga Boyu.....	4
2.1.3. Elektromanyetik Radyasyon.....	4
2.1.4. Anten	4
2.1.5. Spesifik Soğurma Oranı (SAR).....	4
2.1.6. Yük ve Alan Kavramı.....	5
2.1.7. Elektrik Alan	6
2.1.8. Manyetik Alan	7
2.1.9. Manyetik Kuvvet Çizgilerinin Özellikleri.....	7
2.1.10. Elektromanyetik Alan.....	8
2.1.11. EMA'nın Frekanslara Göre Sınıflandırılması	9
2.2. Testis	9
2.2.1. Testis Embriyolojisi.....	9
2.2.2. Testis Anatomisi	10
2.2.3. Testis Histolojisi.....	10
2.2.4. Sperm Analizi (Spermiyogram)	13
2.2.5. Ejakulat Değerlendirilmesinde Terminoloji	14
2.3. Erkek İnfertile Nedenleri.....	15
2.4. EMA ve İnfertilite İlişkisi	16
2.5. Çörek Otu	17
2.5.1. Timokinon	18
2.5.2. Timokinon Toksisitesi	18
2.5.3. Timokinon Anti-Diyabetik Etkisi	19
2.5.4. Anti-Bakteriyel Etki	20
2.5.5. Anti-Fungal Etki.....	20

2.5.6. Anti-Viral Etki.....	21
2.5.7. Anti-Allerjik Etki.....	21
2.5.8. Anti-İnflamatuvar Etkiler	22
2.5.9. Anti-Oksidan Etkileri	23
2.6. Flavonoidler	23
2.6.1. Luteolin.....	25
2.6.2. Luteolin Toksisitesi	26
2.6.3. Luteolin Nöroprotektif Etkisi	26
2.6.4. Antioksidan Etkiler.....	26
2.6.5. Anti-İnflamatuvar Etkiler	27
2.6.6. Östrojenik ve Anti-Östrojenik Etkiler	28
2.6.7. Anti Kanserojen Etkiler	28
3. MATERYAL VE METOT.....	30
3.1. Materyal	30
3.1.1. Deneysel İşlemler ve Hayvanlar.....	30
3.1.2. Grupların Oluşturulması ve Uygulamaları	31
3.2. Metot	31
3.2.1. Biyokimyasal Ölçümler.....	31
3.2.2. Anestezi İşlemleri.....	33
3.2.3. Perfüzyon ve Diseksiyon İşlemleri.....	33
3.2.4. Rutin Histolojik Doku Takip İşlemleri.....	33
3.2.5. Kesit Alımı	35
3.2.6. Hematoksilen-Eozin Boyama Prosedürü.....	35
3.2.7. Sperm Çalışmaları	36
3.2.8. Elektromanyetik Alan Radyasyon Sistemi	37
3.2.9. Mikroskop ve Görüntü Bilgileri	38
3.2.10. İmmünohistokimyasal Boyama	38
3.2.11. Stereolojik Analizler.....	40
3.2.12. İstatistiksel Analiz	42
4. BULGULAR.....	44
4.1. Testis Yaş Ağırlıkları	44
4.2. Ortalama Testis Hacmi.....	45

4.3. Biyokimyasal Analiz Bulguları.....	46
4.3.1. SOD Enzim Aktivitesi.....	46
4.3.2. Serum Testosteron Analizi.....	48
4.4. Sterolojik Analiz Bulguları.....	49
4.4.1. Spermatogonyum Hücre Sayısı.....	49
4.4.2. Primer Spermatozoid Hücre Sayısı.....	50
4.4.3. Spermatozoid Hücre Sayısı.....	52
4.4.4. Sertoli Hücre Sayısı.....	53
4.4.5. Leydig Hücre Sayısı.....	54
4.5. Sperm Morfolojik Analiz Bulguları.....	56
4.6. Histolojik Analiz Bulguları.....	60
4.6.1. Testis Kesitlerinde Hematoksilen-Eozin Boyaması ile Elde Edilen Bulgular.....	60
4.6.2. Spermilerin Hematoksilen-Eozin Boyaması ile Elde Edilen Bulgular.....	73
4.7. İmmünohistokimyasal Analiz Bulguları.....	81
5. TARTIŞMA.....	88
5.1. Testis Yaş Ağırlığı.....	92
5.2. Testis Hacmi.....	93
5.3. Spermatogonyum, Primer Spermatozoid, Spermatozoid, Sertoli, Leydig Hücre Sayısı.....	95
5.4. Sperm Morfolojisi.....	103
5.5. SOD Enzim Aktivitesi.....	106
5.6. Serum Testosteron Seviyesi.....	107
5.7. Histoloji ve Histopatoloji.....	108
5.8. İmmünohistokimya.....	109
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	113
KAYNAKLAR.....	114
EKLER.....	149
Hayvan Etik Onay Belgesi.....	149
ÖZGEÇMİŞ.....	150

1. GİRİŞ

Elektromanyetik alanlar (EMA) doğal kaynaklardan ya da insanlar tarafından üretilen elektronik aletlerden çevreye kontrolsüz olarak yayılmaktadır (Ishisaka ve ark., 2000). Gerilim ve akım miktarına bağlı tüm elektrikli cihazlar, kendi güçleri oranında çeşitli frekans kademelerinde EMA meydana getirirler. Yaşadığımız yüzyılda, insanoğlunun çevresel EMA maruziyeti teknolojinin sürekli ilerlemesi, artan elektrik talebi, mikrodalga fırınlar, bilgisayarlar, televizyon, güvenlik cihazları, radarlar, cep telefonları ve baz istasyonları gibi birçok yapay kaynaklardan yayılan dalgalar ile gittikçe artmaktadır. EMA, dünyanın her yerinde bulunması ve hem insan hem de hayvan sağlığı üzerindeki potansiyel biyolojik etkileri ile giderek artan bir derecede ilgi görmektedir. Böylece, 1960 yılından itibaren EMA'nın insan sağlığı üzerine olan biyolojik etkileri önemli bir bilimsel çalışma konusu haline gelmiştir (Juutilainen, 2005). Yüzlerce bilimsel çalışmanın neticesinde artık günümüzde, elektromanyetik radyasyonun insan vücudu tarafından emildiği ve radyasyonun taşıdığı enerjinin vücutta sorunlara neden olduğu bilinen bir gerçektir. Bazı etkiler tam olarak gözlenirken, daha gözlenemeyen birçok etkinin olabileceği düşünülmektedir.

İnsanların EMA'dan etkilenme derecelerini belirleyen birçok faktör bulunmaktadır. Örnek olarak; vücut ağırlığı, vücut kütle indeksi, kemik yoğunluğu, su ve elektrolit seviyeleri, EMA iletkenliği ve biyolojik reaktifliğini değiştirebilir (Tabrah ve ark., 1998; Vesselinova, 2015). Bu nedenle, EMA'nın etkileri cinsiyet, bedenin doku yoğunluğu, yaşam süresi ve EMA'ya maruz kalma düzeylerine bağlıdır. Bununla birlikte elektromanyetik dalganın frekansı ve gücü; emilmenin ve etkinin en önemli parametreleridir. EMA ile ilgili yapılan çok sayıdaki çalışmada bu dalgalara maruziyetin en önemli sebeplerinden olan cep telefonlarından yayılan dalgaların, düşük frekansta sinaptik plastisite regülasyonunu, nörotransmitter salınımını, sinyal iletimini, nöronal yaşamı, öğrenme ve bellek gibi nöronal fonksiyonları etkilemesidir (Fritze ve ark., 1997, Koivisto ve ark., 2000; Brillaud ve ark., 2007; Manikonda ve ark., 2007; Maskey ve ark., 2010). Epidemiyolojistlerin yaptıkları çalışmalarda EMA ile sağlık durumu arasında bir ilişki olmasına karşın, hücresel düzeylerde herhangi bir etki tam olarak açıklanamamıştır (Frank ve Silesin 1998). Çalışmalar EMA'ya maruziyetin özellikle lösemi ve beyin kanseri sıklığında artışa neden olduğunu göstermektedir

(Wertheimer ve ark., 1995). EMA'lar ve bebeklerdeki lösemi sıklığı artışı arasında doğrudan bir ilişki olduğu gösterilmiştir (London ve ark., 1991).

Uzun süreli cep telefonu kullanımı ile oluşan EMA'nın gebelik esnasında embriyo ve fetüsün organogenezi (Tenorio ve ark., 2011), beyinde hücre gelişimi (Sonmez ve ark., 2010) ve dişi sıçan yavrularda üreme potansiyelini etkilediği tespit edilmiştir. Saito ve ark. (2006), yüksek dozlu statik manyetik alanlara maruz kalan sıçanların fetuslarında polidaktili, erimiş kaburga, serebral herniasyon ve kıvrılmış kuyruk dâhil çeşitli malformasyonlara neden olduğunu göstermişlerdir. Son zamanlarda, statik manyetik alan maruziyetinin sıçan iskelet kasında ısı şok proteini (HSP72) ve norepinefrin yanıtını modüle ettiği tespit edilmiştir (Abdelmelek ve ark., 2006). Lee ve ark. (2004), EMA'nın fare beyinde antioksidan savunma sisteminin bozulmasına neden olduğunu açıklamışlardır. Ayrıca, EMA'nın gen ekspresyonu değişikliklerine ve deoksiribonükleik asit (DNA) hasarına neden olduğu bilinmektedir (Savitz, 1995; Lewy ve ark., 2003). İlginç bir şekilde, EMA maruziyetinden sonra tek ve çift iplikli DNA kırılmalarında artış gözlenmiştir (Svedenstal ve ark., 1999a; 1999b). Sağlık risklerinin değerlendirmesinde, epidemiyolojik çalışmalar birincil derecede öneme sahiptir. Bazı araştırmacılar EMA'ya maruziyetin nevrastenik semptomlarına yol açabileceğini (Bortkiewicz, 2001) ve bazı kanser türlerine yakalanma riskini arttırabileceğini bildirmişlerdir (Hardell ve ark., 2003). Deneysel çalışmalarda EMA dalgalarının sıçanlar üzerinde uzaysal öğrenme ve beyin tümör riskinin oluşumunda etkileri olduğu bildirilmiştir (Lai ve ark., 1989; Prasad ve ark., 2017). Cep telefonlarının GSM sinyalleri, kullanıcıların beyinlerinde elektrofizyolojik aktiviteyi değiştirebilir (Krause ve ark., 2004; Hinrikus ve ark., 2008) ve nörotransmitter sistemini etkileyebilirler (Mausset-Bonnefont ve ark., 2004). Literatürler EMA ve onun muhtemel toksik etkilerinden kaynaklanan olumsuz değişikliklerin genom (McCann ve ark., 1998), mekansal bellek (Tang ve ark., 2015), erkek ve dişi üreme sistemi (Guney ve ark., 2007; Hancı ve ark., 2013), böbrek (Ulubay ve ark., 2014) ve hipokampal piramidal hücreler (Bas ve ark., 2009) gibi pek çok sistemde gözlendiğini açıklamışlardır. Ayrıca, EMA dalgalarının merkezi sinir sistemi, uyku, kalp-damar sistemi ve immün fonksiyonu bozabileceği de belirtilmektedir (Repacholi, 2001). Kazemi ve ark. (2015), periferik kanın tek çekirdekli hücrelerinde; çoğunlukla monositlerde, EMA'nın oksidatif stres indüksiyon kapasitesini arttırdığını gözlemlemişlerdir. İnsan periferik kanının tek-

çekirdekli hücrelerinde yapılan diğer bir çalışmada ROS aktivasyonunun GSM EMA'ya maruz kalma sonucunda meydana gelen lipidler, protein ve DNA hasarının tetiklendiği gösterilmiştir (Lu ve ark., 2012). Erdem ve ark. (2016), sıçanların prenatal dönemde 900 MHz'lik EMA'ya maruziyeti hipokampus cornu Ammonis (CA) piramidal hücrelerinin toplam sayısında azalmaya neden olduğunu tespit etmişlerdir. Odacı ve ark. (2015), 21-günlük erkek sıçan böbrekleri üzerinde 900 MHz elektromanyetik alana prenatal maruziyetin patolojik etkilerini araştırdıkları çalışmalarında elektron mikroskopik olarak deney grubunda peritübüler kılcak damarların ve tipik olmayan parietal tabaka epitel hücrelerinin kaybını saptamışlardır. Ayrıca biyokimyasal analizlerde malondialdehit (MDA) düzeylerinde anlamlı artış ve süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) düzeylerinde anlamlı azalma gözlemlenmiştir.

Yukarıda sunulan araştırmaların sonuçlarında da anlaşıldığı gibi gündün güne çevremizde artmakta olan EMA'nın insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte tüm dokularda, özellikle testis gibi toksik etkilere ve biyolojik değişimlere hassas dokular üzerinde yapılan çalışmalar henüz yeterli düzeye ulaşmamıştır. Bu nedenle, sunulan çalışmada EMA maruziyetinin testis üzerine olan etkilerinin araştırılması ve ortaya çıkabilecek olası olumsuz etkilerin kullanılan Tim ve Lut gibi antioksidanlarla azaltılıp azaltılamayacağını araştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tanımlar

2.1.1. Frekans

Frekans dalganın bir özelliğidir. Bir dalganın frekansı dalga sayısının her saniyede geçmesine denir. Diğer bir ifade ile frekans tek belirli bir zamanda bir olayın geçtiği sayının ölçüm kriteridir. Sabit zaman aralığında frekansın hesaplanması, o aralıkta olayın görülme sıklık sayısını aralık uzunluğuna bölerek elde edilir. Frekansın birimi Hz'dir. 1 Hz yani bir olay saniyede bir kez; 1 kilohertz (KHz) saniyede bin Hz; 1 megahertz (MHz) saniyede bir milyon Hz; 1 gigahertz (GHz) saniyede bir milyar Hz ya da 10^9 Hz'dir (Özyılmaz, 2014).

2.1.2. Dalga Boyu

Bir dalga modelinde tekrarlanan birimleri arasındaki mesafedir. Yaygın olarak Yunanca lamda (λ) harfi ile temsil edilir. Dalgaboyu frekans ile ters orantılıdır. Bu ilişki aşağıdaki formülle söylenebilir.

$$f = \frac{v}{\lambda}$$

Burada f frekans, v dalga hızı, λ ise dalga boyu`nu simgelemektedir (Özyılmaz, 2014).

2.1.3. Elektromanyetik Radyasyon

Elektromanyetik dalgaları oluşturan, elektrik ve manyetik alanlar şeklinde serbest boşluk ya da bir materyal ortamı içinde genel ışık hızında enerji akışına elektromanyetik radyasyon denir; diğer tanımı EMA radyasyon veya EMA enerji dalga teorisine dayanarak, uzayda yayılan dalgaya denir (Özyılmaz, 2014).

2.1.4. Anten

Anten elektrik sinyallerini (voltaj ve akım) EM dalgalara ya da EM dalgaları elektrik sinyallerine dönüştüren araçtır. Anten, radyo dalgalarını yayma ve toplamada kullanılan bir aygıttır (Özyılmaz, 2014).

2.1.5. Spesifik Soğurma Oranı (SAR)

SAR ölçülen kaynaktan vücut radyo frekans (RF) enerjisinin emme oranının bir ölçüsüdür. SAR Federal İletişim Komisyonu (FCC) tarafından belirlenen emniyet

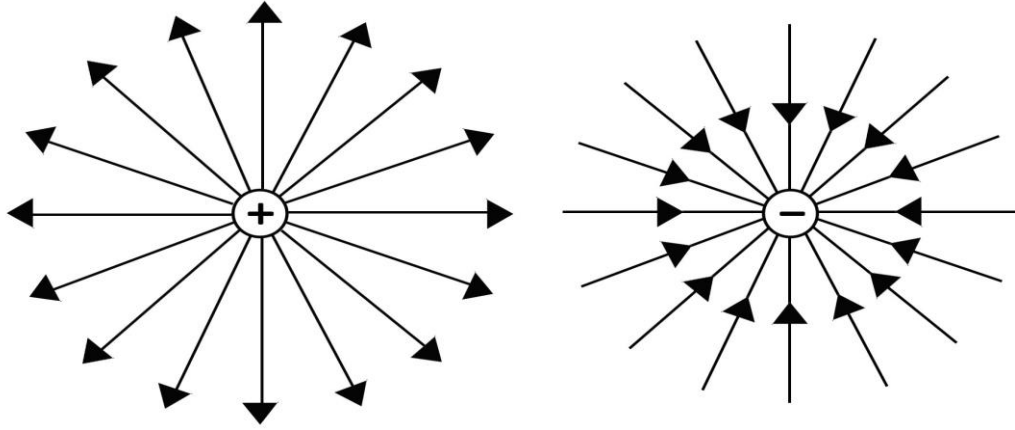
kuralları dâhilinde olmasını sağlamak için cep telefonun radyo frekansına maruz kalma özelliklerini ölçmek için basit bir yol sağlar. Fare primer nöronal kültürlerinin 900 MHz'lik EMA'ya maruz bırakılması, 24 saat boyunca 2 W/kg SAR ve kaspaza bağımsız mitokondriyal aktivasyon yolu ile nöronal apoptoza neden olabilir (Joubert ve ark., 2008). SAR 0,016 (tüm vücut) ve 2 W/kg (baş) arasında değişmektedir. SAR cep telefonlarında; anten tipi ve pozisyon, telefon ve beden arasındaki mesafe ve telefonun güç çıkışı gibi birçok faktörlere bağlıdır (Hardell ve ark., 2005; Cardis ve ark., 2008). İnsan vücudunda elektromanyetik (EM) enerjisinin bir derece sıcaklık artışı için 4 Watt (W) güç emilmesi gerekmektedir (Pakbaş, 2008), ve 0,1 W/kg değerinde bulunan SAR'ın biyolojik fonksiyonlarında değişikliklere neden olduğu kanıtlanmıştır (Hossmann ve ark., 2003). 900 MHz'lik GSM şebekeleri için 42 V/m E ve 10 mW/cm² S (μW/cm²) kabul edilmektedir (Pakbaş, 2008). SAR genellikle tüm vücut üzerinde, ya da küçük bir örnek hacmi (genel olarak 1 g ya da 10 g doku) üzerinde ortalaması alınır. SAR 100 kHz ve 10 GHz (radyo dalgaları) aralığında alanlara maruz kalma seviyesini ölçmektedir. Uzun süreli çevresel EMA'ya maruziyet ortalama 0.08 W/kg (SAR) sınırında bir değer halkın tüm vücut üzerinde bulunmaktadır. Mesleki maruziyette tüm vücut için yeterli korumayı sağlayan ortalama 0,4 W/kg değerinde SAR seviyesi belirlenmiştir (Güçlü, 2007). FCC sınırı kamu maruziyetinin bir SAR seviyesi için kilogram başına 1,6 watt(1,6 W/kg) olarak belirlemiştir (Güçlü, 2007).

2.1.6. Yük ve Alan Kavramı

Fizikte q ile sembolize edilen yük ya da elektrik yükü, elektriksel yük, elektrostatik yük proton'un elektron'a göre miktarının ölçüsünü ifade eden madde birimi özelliğidir. Elektrik yükü, kütle ve hacim gibi, maddenin fiziksel özelliklerindedir. Yük, pozitif ve negatif olmak üzere iki türdür. Pozitif yük protonların elektronlara göre daha fazla olduğunu, tersine negatif yük ise elektronların protonlara göre daha fazla yer aldığını ifade eden bir kavramdır. Kütlede olduğu gibi; kapalı bir sistemde elektrik yükü korunur. Bir sistem geçirimsiz olduğu sürece, içinde yük miktarı ne artar ne de azalır. Alan, yüklerin çevresinde bulunan, yüklerin özelliği ve yükten uzaklığa göre değişen bir ifadedir. Ayrıca bu alan yüklerin birbirlerine olan etkileri ve etkilerin yönlerini açıklamaktadır (Ermol, 2008).

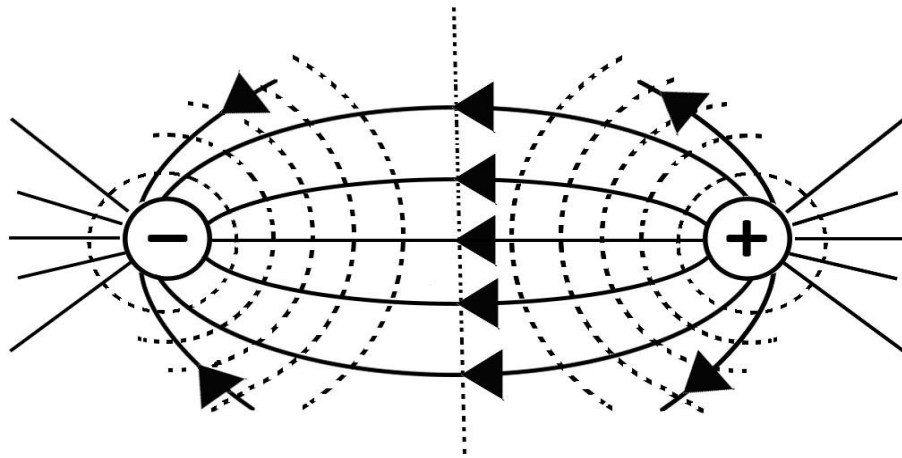
2.1.7. Elektrik Alan

Elektrik alan (EA) yüklü bir parçacık etrafında oluşur. EA elektrostatik alan yoğunluğu olarak da adlandırılır. EA, birim yük başına elektrik gücü olarak tanımlanır. Bir pozitif yükte bulunan EA'nın kuvvet çizgileri yükten uzaklaşırken, negatif yükte ise bu çizgiler yüke doğru çekilirler (Kiray, 2010) (Şekil 1).

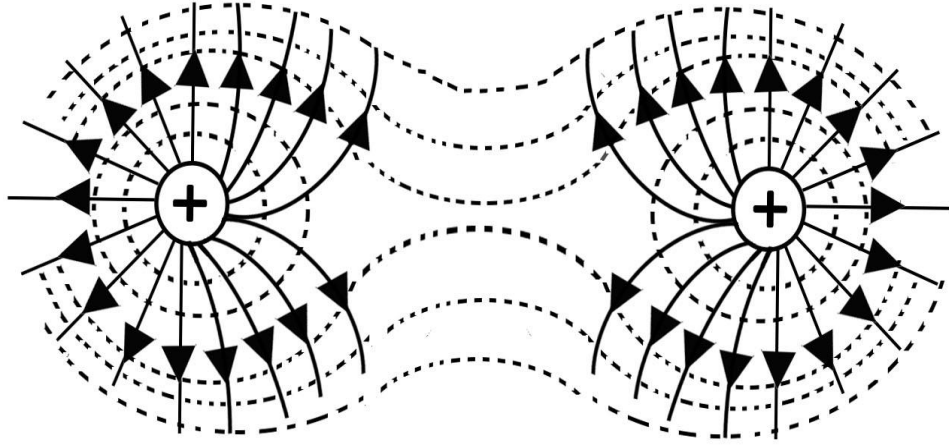


Şekil 1. Elektrik alan çizgileri (Semerci, 2011)

Yüklü bir parçacık başka yük parçacığının elektrik alanına girdiği zaman Coulomb kanununa göre bir kuvvete maruz kalır. Diğer bir ifade ile EA, kuvvet çizgilerinin başka yük ile hissedilebilir bir yüklü parçacık etrafındaki bölgedir. İki pozitif yük veya iki negatif yük birbirlerini F kuvveti ile iterken iki zıt yüklü parçacıklar birbirini çeker (Siingha ve ark., 2005) (Şekil 2, 3).



Şekil 2. Elektrik alan çizgileri (Semerci, 2011)



Şekil 3. Elektrik alan çizgileri (Semerci, 2011)

Bu çekme veya itme kuvveti (F) EA'nı içinde olmalıdır. Bu EA E vektör ile gösterilir. Elektrik kuvvet ve EA'nın vektör miktarı ve yönü vardır (Semerci, 2011). Elektrik akımı elektrik yüklerin hareket durumunda olduğunu ifade eder (Elmas, 2007). EA şiddetinin standart birimi metre başına düşen volt (V/m) 'dir. EA test yük başına düşen birim kuvvet olduğu için EA'nın yönü elektrik kuvvet yönünü takip etmelidir. Ayrıca, elektrik alan şiddetinin yönü test yükünün hareket yönüne göre belirlenir.

2.1.8. Manyetik Alan

Manyetik alanlar akımların akış yeri etrafında bulunan boşlukta elektrik akımları tarafından oluşturulur. Yön ve büyüklük özelliklerine sahip olan ve B vektör ile gösterilen bir niceliktir. Manyetik alanı ölçmek için Amper/metre (A/m) (manyetik alan şiddet SI birim), Tesla (T) (manyetik akım yoğunluğu SI birim) ve Gauss (G) (manyetik akı yoğunluğu CGS birim) birimleri kullanılır. Manyetik alan kaynakları doğada kuzey ve güney manyetik kutba sahip dipolar olarak bulunmaktadır. Manyetik alan yönü sağ el kuralına göre yani akım yönünde sağ el başparmağını tutup diğer parmaklarımızı aynı yönde doladığımızda belirlenir (Semerci, 2011).

2.1.9. Manyetik Kuvvet Çizgilerinin Özellikleri

Manyetik kuvvet çizgilerinin genel özellikleri şunlardır: bu çizgiler birbirler ile kesişmezler; zıt manyetik kutupları arasında en az direnç yolunu ararlar; kutuptan kutuba kapalı döngüleri oluşturmak için çalışır; daha düşük geçirgen alandan yüksek geçirgen bir alana taşıdığı anda dansitesi azalır; kutuplara olan mesafe arttıkça dansitesi

azalır; hiç bir hareket gerçekleşmemiş olmasına rağmen yöne sahip olduğu kabul edilir. Havada kuzey kutbundan güney kutbuna, materyal içinde güney kutbundan kuzey kutbuna akarlar (Semerci, 2011).

2.1.10. Elektromanyetik Alan

Elektromanyetik alan elektrik ve manyetik alanların bir araya gelmesi ile oluşan bir kavramdır. Elektrik ve manyetik alanlar yüke bağlı olarak oluşur. Eğer yükler hareketiz ise elektrik alan ve hareketli ise elektromanyetik alanı oluştururlar (Elmas, 2007). Elektrik alanlar voltaj farklılıkları tarafından oluşturulur. Yüksek voltaj, güçlü bir alan ile sonuçlanır. Elektrik akımı akarken manyetik alanlar oluşturulur. Büyük akım güçlü manyetik alanı oluşturur. Elektromanyetik alanlar çevremizde her yerde mevcuttur ancak insan gözü tarafından görünmez. Elektromanyetik alanlar genellikle elektrik iletkenlerinde değişen akım tarafından oluşturulur. EMA frekansının standart birimi hertz, kısaltılmış Hz (kendilerini tekrarlama sıklığı) ile gösterilir. Sıklıkla daha büyük birimler kullanılmaktadır. 1000 Hz'lik frekans, bir kHz'dir; 1000 kHz'lik frekans, bir MHz'dir; 1000 MHz'lik frekans, bir GHz EM'in dalga boyu frekansile ilişkilidir. Bu dalgalar frekans, dalga boyu veya enerji gibi belirlenmiş bazı özelliklere sahiptir (Semerci, 2011). EM dalganın frekansı (f) megahertz ve dalga boyu (w) metre (m) olarak belirlenir. Serbest uzayda, bu parametreler aşağıdaki formüle göre ilişkilidir:

$$w = 300/f$$

EMA enerjisinin bölgesine elektromanyetik radyasyon spektrumu denir. Bu isteğe bağlı olarak uzun boylu dalgalardan gelişi güzel olan kısa boylu dalgalara uzanır. Uzay boşluğunda EM dalgalar ışık hızı ile bir doğru boyunca yayılırlar. Salınım sayısına yani kendilerini tekrarlama sıklığına f denir ve birimi Hz'dir. I ile gösterilen EM dalga şiddet birimi yüzeyden geçen ortalama güce denir. Birimi metre (M) ile gösterilen λ dalganın bir salınımda aldığı yola denir. EMA dalganın hızı dalga boyu ve yayıldığı ortam ile ilişkili olarak vakumda yaklaşık $3,0 * 10^8$ metre mesafededir. Bir materyal aracılığıyla bir EM dalganın gerçek hızı bu ortamın optik yoğunluğuna bağlıdır. Bir EM dalganın kendi yayılma hızı maddesel bir medyumda boşluğa göre daha azdır. EM dalgasının titreşim yönü ilerleme yönüne diktir (Elmas, 2007).

2.1.11. EMA'nın Frekanslara Göre Sınıflandırılması

Bu sınıflandırılmanın çeşitli referansları bulunmaktadır. Ancak genelde dört farklı tipden oluştuğu kabul edilmektedir. EMA'nın ilk tipi, 300 HZ'nin altında olan son derece düşük frekanslı (ELF) EMA'yı ifade eder ve askeri teçhizat ve demiryolları tarafından üretilmektedir. Ara frekans (IF) EMA olarak bilinen ikinci tip, 300 Hz ile 10 MHz arasında değişen frekanslara sahiptirler ve bu tür EMA 'lar evlerde televizyon ve bilgisayar monitörleri gibi elektrik ekipmanları ve endüstriyel kablolar tarafından üretilmektedir. Üçüncü tip, 10 MHz- 3000 GHz aralığındaki frekanslara sahip olan hiper frekans (HF) EMA'dır ve cep telefonları ile radyo yayıncılığı tarafından üretilir. Ayrıca bu kategorinin bir parçası olan radyo frekanslar (RFS) 100 MHz'in yukarısında bulunan frekanslardır (Elmas, 2007).

2.2. Testis

Erkek üreme sistemi testisler, genital kanallar, yardımcı üreme bezler ve penisten oluşur. Testisler seminifer tübülleri ve interstisyel bağ dokusunu içerir. Testisler ekzokrin ve endokrin salgılama özelliğine sahip bileşik tubular tipte bir çift bezdir. Testisin ekzokrin ürünü, başlıca sperm hücreleridir; endokrin ürünü ise, özelleşmiş hücreler tarafından sentezlenen hormonlar olup bu hormonların başlıcası testosterondur. Testestron vücutta erkek genital organlarının embriyolojik farklılaşmaları için önemlidir, pubertede sperm üretimi, yardımcı bezlerin salgısı ve ikincil cinsiyet özelliklerinin belirmesinde rol oynar. Ergin bireyde, sperm üretiminin ve ikincil cinsiyet özelliklerinin devamında rol oynamaktadır (Rose ve Pawlina, 2011).

2.2.1. Testis Embriyolojisi

Embriyo erkekse genetik olarak, primordiyal germ hücreleri XY kromozom kompleksine sahiptir. Primitif cinsiyet kordonları Y kromozomunun üzerindeki SRY (Testis belirleyici faktörü kodlayan) geninin etkisiyle testis veya meduller kordonları oluşturmak için çoğalarak medullanın derinliklerine doğru hareket ederler. Bu kordonlar bezin hilusuna doğru hareket ederek, bir ağ oluşturacak şekilde dağılırlar.

Gelişim ilerleyerek, tunika albuginea testis kordonlarını yüzey epitelinden ayırır. Testis kordonları dördüncü ayda, atnalı şeklinde gözükerek bu nalın açık uçları rete testisle devam eder. Bu durumda artık primitif germ hücreleri ve Sertoli destek hücreleri testis kordonlarını oluştururlar. İnterstisyel Leydig hücreleri, gonadal mezenşimden

koken alan testis kordonlarının arasında bulunur ve hemen kordonların farklılaşmaya başlaması ile şekillenirler. Gebeliğin sekizinci haftasında, Leydig hücreleri testosteron üretmeye başlarlar. Bundan sonra testisler dış genital organları ve genital kanalları etkileyerek erkek genital sistem morfolojisinin ortaya çıkmasına neden olur. Testis kordonları puberte dönemine doğru lümenleri açılarak seminifer tübüllere dönüşürler. Seminifer tübüller kanalize olduktan sonra rete testis tübülleri ile birleşerek ductuli efferenteslere girerler. Ductuli efferentesler ise mezonefrik kanal (Wolf kanalı)'dan gelişen duktus deferensi rete testise bağlar (Sadler, 2011).

2.2.2. Testis Anatomisi

Büyüklikleri kişiden kişiye değişmekle birlikte, her biri genelde oval şekilli, birleşik bir çift bezdir. Tübüler yapıda olan bu bezler, 4-5 cm uzunluk, 2,5-3 cm en ve 3 cm genişlik boyutlarına sahiptir. Ağırlığı yalnızca 10-14 gr'dır. İç ve dış yüzleri (facies medialis, facies lateralis); ön ve arka kenarları (margo anterior, margo posterior); üst ve alt uçları vardır (extremitas superior, extremitas inferior). Testisler, gebeliğin 7. ayına kadar karın içinde bulunurken 7. aydan, 9. aya kadar periton denilen zarla sarılmış olarak inguinal kanaldan geçer ve skrotum içerisindeki yerini alır. Skrotum deriden bir kılıf olarak testisler için sıcaklık dengesini sağlar (Ishii ve ark., 2005).

2.2.3. Testis Histolojisi

Testis ekzokrin ve endokrin salgılama özelliğinden dolayı karışık bir bezdir. Testisin yapısını en dıştan saran tunika vajinalisdir. İkinci tabaka düzensiz sıkı bağ dokusundan yapılmış tunika albuginea adı verilen kapsüldür. Kapsülün altında bol damar içeren tunika vasküloza adlı diğer bir kapsül bulunur. Bu kapsüller testis içine kıvrımlar yaparak testisi lobüllere (bölmelere) ayırır. Her bir testis yaklaşık 250 lobül içerir (Junqueira ve Carneiro, 2005).

Tunika Vajinalis: Processus vajinalisin üst kısmı embriyolojik gelişim sırasında kapandığında tunika vajinalis oluşur (Garriga ve ark., 2009). Tunika vajinalis peritondan köken alan ve mezotelyal hücrelerden oluşan tek tabakalı seröz bir yapıdır. İki paryetal ve visseral tabakadan oluşarak testisin ön ve yan yüzeylerini çevreler. Pariyetal tabaka skrotumun üzerinde uzanır visseral tabaka ise bazal laminaya yapışmıştır. Testisin, bu seröz boşluklu visseral ve pariyetal tabakalar arasında yer alması,

oluşan sperm hücrelerinin rahat bir şekilde hareket edebilmesini sağlar (Junqueira ve Carneiro, 2006).

Tunika Albuginea: En belirgin tabaka ve düz kas hücreleri içeren yoğun, düzensiz fibroelastik bağ dokudan oluşur. Tunika albuginea testis etrafında iki katmanlı ekojenik bir yapı olarak görülebilir (Dogra ve ark., 2003). Bir bazal lamina tunika albuginea ve vaginalisin arasında yer almaktadır. Düz kas hücreleri testisin epididimise komşu olduğu posterior yüzeyde yoğunluk gösterir. Testis'in arka yüzünden girerek önce, mediastinum testisi oluşturur (Dogra ve ark., 2001). Mediastinum testis'den başlayan bağ dokusu septumları dış kenarlara doğru uzanarak her bir testisi yaklaşık 250-300 kadar lobüle (lobulus testis) ayırır. Her bir lobülde 1-4 adet seminifer tübül bulunmaktadır (Kaya ve ark., 2006). Bir seminifer tübülün uzunluğu ise ortalama 75 cm'dir.

Tunika Vasküloza: Tunika albuginea'nın iç yüzünde ince bir bağ dokusu içerisine gömülmüş olan kan damarları ağlarından oluşan tunika vasküloza yerleşmektedir. Bu tabaka septula testisleri iç taraftan örterek testisin lobüllerini de çevreler (Trainer, 1987; Leeson ve ark., 1988).

Seminifer Tübül Histolojisi: Her tübül 0,2 mm çapında, 30-70 cm uzunluğunda ve kıvrıntılı yapıdadır. Tübüller arasında anastomozlaşma bulunmaktadır. Seminifer tübüllerin duvarı çok katlı epitelden oluşturmaktadır. Tübülleri, bazal membran, düz kas özellikleri gösteren yassı miyoid hücreler ve fibroblastlardan zengin bir bağ dokusu örtüsü çevreler. Seminifer tübüllerin arasında interstisyel hücreler (Leydig) gözükmektedir. Elastik liflerden zengin olan bazal membran kalınlığı yaşlandıkça artar. Tübüller lobulun tepesine doğru mediastinumda düzleşerek tübülü rekti ve rete testisin boşaltıcı bölümlerini oluştururlar. Prizmatik epitel ile döşeli olan rete testis tübülleri birleşerek duktuli efferentesi meydana getirir. Bu tübüller testiste üretilen sıvı ve spermatozoonları epididimisin proksimal bölümüne taşırlar. Seminifer epitel iki tip hücreden oluşmaktadır: 1) Germinal hücre, 2) Sertoli hücresi (Junqueira ve Carneiro, 2006).

1. Germinal Hücreler: Düzenli olarak çoğalarak olgun spermlere farklılaşırlar. Bu hücreler testisin erken gelişimi sırasında gonadal sırtlarını kolonize eden primordial germ hücrelerinden (yolk kesesinden kaynaklanan) elde edilir. Spermatogenik hücreler

komşu Sertoli hücreleri arasında gelişip olgunlaştıkça ilerleyen hücre katmanları halinde organize olurlar. Kalın seminifer epiteli oluşturan hücrelerin çoğu olgunlaşmanın çeşitli aşamalarında bulunan spermatogenik hücrelerdir. Bu hücrelerden bir kısmı, en olgunlaşmamış spermatogenik hücreler, bazal lamina üzerinde yer alırlar ve spermatogonium olarak adlandırılırlar. Buna karşın gelişmekte olan primer spermatositler, sekonder spermatositler, spermatid ve spermatozoa hücrelerinin çoğu lümenine gittikçe yaklaşan bir yerleşim gösterirler. Spermatogoniyumlar diploid hücreler olarak mitoz bölünme ile aynı zamanda primer spermatositleri oluştururlar. Primer spermatositler sekonder spermatositleri oluşturmak için ilk mayoz bölünmeye, ve sekonder spermatositler spermatid denilen haploid hücrelerini oluşturulması için ikinci mayoz bölünmeye girerler. Bu haploid hücreler de organellerin yeniden düzenlenmesi, sitoplazma kaybı ve flagella oluşumu yoluyla spermatozoon'lara (olgun sperm) dönüşürler (Junqueira ve Carneiro, 2006).

2. Sertoli Hücreleri: Sertoli hücreleri spermatogenik hücrelerin korunması, desteklenmesi ve beslenmesi görevlerini üstlenirler. Ayrıca, olgunlaşan spermatidlerin sitoplazmik kalıntılarını fagosite eder, androjen bağlayıcı protein, hormonlar ve spermatogenik hücreleri besleyici fruktoz açısından zengin bir sıvı salgılar ve de kan testis bariyerini oluşturur. Sertoli hücreleri uzun boylu, prizmatik hücrelerdir. Böylece ışık mikroskopunda lateral hücre sınırlarını ayırt etmek imkansızdır. Bu hücreler merkezi olarak konumlanmış çekirdeciği bulunan bazal yerleşimli büyük açık, oval bir çekirdeğe sahiptirler. Sitoplazma, kompozisyonu ve işlevi bilinmeyen Charcot Bottcher kristaloidlerini barındırmaktadır. Sertoli hücrelerinin sitoplazmasının elektron mikroskopik incelenmesinde düz endoplazmik retikulum profillerinin çok fazla sayıda görülmektedir, ancak kaba endoplazmik retikulum (YER) miktarı sınırlıdır. Ayrıca hücrede endolizozomal komplekslere ait çok sayıda veziküller, çok sayıda mitokondri ve iyi gelişmiş golgi aparatı bulunur. Komşu Sertoli hücrelerinin lateral zarları, birbirleri ile tıkayıcı bağlantılar oluşturur ve seminifer tübül lümenini iki izole alt bölüme ayırır. Kan testis bariyeri adı verilen bu yapı gelişmekte olan gametleri bağışıklık sisteminin etkilerinden korumaktadır (Junqueira ve Carneiro, 2006).

3. Leydig Hücreleri: Leydig hücreleri (interstisyel hücreler) küçük endokrin hücre toplulukları halinde tunika vasküloza boyunca dağılarak testosteron hormonu üretmektedirler (Li ve ark., 2016). Leydig hücreleri polihedral şekilli olup yaklaşık 20

mikron çapındadırlar. Bu hücreler tek çekirdekli olmalarına rağmen bazen iki çekirdekli de olabilirler. Bunlar tipik steroid üreten hücreler olarak tübüler kristal mitokondriler, bol miktarda düz yüzlü endoplazmik retikulum ve iyi gelişmiş golgi aparatı içerirler. Bu hücreler aynı zamanda çok sayıda lipid damlacıkları da barındırırlar. Ancak hiçbir salgı vezikülü içermezler. Bunun sebebi testosteronun muhtemelen en kısa sürede kendi sentezi tamamlandıktan sonra salgılanmasıdır. Lipokrom pigmentleri gibi lizozomlar ve peroksizomlar da bu hücrelerde belirgindir (Özellikle yaşlı erkeklerde). Sitoplazma kristalize proteinler olan Reinke kristallerini içermektedir (Junqueira ve Carneiro, 2006).

İnterstisyel Alan: İnterstisyel doku bir gevşek bağ dokusu olarak seminifer tübüller arasında yer almaktadır. İnterstisyel dokuda kollajen lifler, kan ve lenf damarları, sinir lifleri, fibroblastlar, makrofajlar, mast hücreleri, farklılaşmamış mezenşimal hücreler ve testise özgü Leydig hücreleri bulunur (Junqueira ve Carneiro, 2006).

2.2.4. Sperm Analizi (Spermiyogram)

Spermiyogram semenin sıvı ve içeriğinde olan spermin miktar ve kalite yönünden değerlendirilmesidir. Diğer bir ifade ile spermin toplam sayısı, hasarlı ve hasarsız sperm sayısı, olgun olmayan sperm sayısı, hareketliliği (hareket edebilen sperm yüzdesi ve spermlerin hareket etme şekli) ve morfolojisi gibi verilecek bir bilgiye sperm analizi (spermiyogram) denilmektedir. Semen analizinde, semenin hacmi, rengi, miktarı, koku, viskozite, pH'ı, içerdiği akyuvar sayısı ve likefaksiyonu gibi özellikleri değerlendirilir (Menkveld ve ark., 1990; Pryor ve Howards, 1997) (Tablo 1).

Tablo 1. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kriterlerine göre normal semen kriterleri (WHO, 2010)

Semen Analizi Parametreleri	Normal Değerler
Volüm	1,5 ml
pH	≥7,2
Sperm konsantrasyonu	15 (12–16) milyon/ml ve üzeri
Total sperm sayısı	39 (33–46) milyon spermatozoon/ejakulat
Hızlı ileri hareketli, %	32 (31–34)
Sperm morfoloji (normal form, %)	4 (3,0–4,0)
Lökosit	1 milyon/ml' den az
Likefaksiyon	Ejakülasyon sırasında semen ortalama 15 dakika içerisinde kendiliğinden eriyebilmeli olmalıdır
Renk	Normalde semen mat, homojen, ve grimsi
Viskozite	Normalde semen hafifçe visküz yani kıvamlı
Vitalite (yaşama gücü, %)	58 (55–63).

Değişik Anormal Sperm Morfolojileri (yapıları): Normalden iri ve küçük kafalılar, iki kafalı, iki kuyruklu, baş ve gövde anomalileridir.

2.2.5. Ejakulat Değerlendirilmesinde Terminoloji

1. Normozoospermi: Sperm sayısı en az 15 milyon, hareketi en az %40 ve sperm morfolojisi %4 ise normal (Normozoospermi) olarak değerlendirilir.

2. Aspermi: Semen hiç dışarıya çıkmaması.

3. Azoospermi: Semende hiç sperm bulunmaması anlamındadır.

4. Oligospermi:Sperm hücre sayısının az olduğunu anlatır. Sperm sayısı 20 milyon/ml'den azdır.

5. Şiddetli oligospermi: Sperm sayısının 5 milyon/ml 'den az olmasını ifade eden terimdir.

6. Astenospermi: Spermilerin motilitesi yani hareketlerinin zayıf olmasıdır. Sperm hücrelerin azlığı veya zayıflığını anlatan terimdir.

7. Teratozoospermi: Kruger kriterlerine göre normal şekilli sperm sayısı %4'ün altında olan spermier için kullanılır.

8. Polispermi: Sperm sayısı 250 milyon'dan fazla olmasıdır.

9. Hipospermi: Semen hacminin 2-3 ml'lik fizyolojik hacmin altına düşen azalmaya denir.

10. Hiperspermi: Semen hacminin normal değerden fazla olmasıdır.

11. Oligoastenozoospermi: Hem sayı hem de hareket yönünden normal değerlerin altında olan sperm örnekleri için kullanılan bir terimdir.

12. Oligoteratozoospermi: Sperm örneklerin sayı ve morfolojik yapılarının normal değerden az olmasını ifade eden bir terimdir.

13. Oligoastenoteratozoospermi: Sperm örneklerin hareket ve morfolojik yapılarının normal değerden az olmasını ifade eden bir terimdir.

14. Hematospermi: Semende kan hücrelerinin fazla bulunmasıdır.

15. Nekrospermi: Semende örneğinde ölü hücrelerin fazla olmasıdır (WHO, 2001; Makler, 1980).

2.3. Erkek İnfertile Nedenleri

1. Düşük sperm sayısı, sperm olgunlaşmaması, anormal sperm şekli ve sperm düzgün bir şekilde hareket etmemesi: Bu nedenler olumsuz etkileyen faktörlerden olabilir.

2. Enfeksiyon Hastalıkları: Bu hastalıklar iltihaplı durumlarda sperm üretimini olumsuz yönde etkilerken infertiliteye neden olur.

3. İlaça bağlı sebepler: Bazı ilaçlar örneğin tansiyon ve anti-depresan tarzı ilaçların çoğu infertiliteye neden olabilir.

4. Kemoterapi geçirmiş olmak: Genelde kemoterapi öncesinde sperm dondurma işlemi yapılır.

5. Hormonal bozukluklar: Hormonal bozuklukların erkeklerde %2-5 civarında infertiliteye sebep olduğu düşünülmektedir. FSH ve LH uygunsuz üretimi testosteron düzeylerini ve sperm üretimini etkiler.

6. Başışıklık sistemi ile ilgili sorunlar: Bazı erkeklerin kendi vücudunda spermere karşı sperm hareketliliğini azaltan ya da birbirine yapıştıran bir antikor üretilmektedir.

7. Erkek üreme sisteminin yapısı ile ilgili sorunlar: Boşaltıcı kanalların (Vas deferens, epididim) tıkalı olması erkeklerde infertiliteye neden olur. Bu tıkanıklık nedeni konjenital, genetik bozukluklar, veya üriner- genital sistem enfeksiyon ve iltihabı olabilir. Varikozel adlı durum da erkeklerde infertiliteye neden olmaktadır. Bu durumda skrotum içindeki damarlar dilate olarak sperm kalitesini azaltır.

8. İnfertilitenin genetik nedenleri: Anormal sperm hücreleri, hormonal sorunlar ve obezite erkeklerde infertiliteyi etkileyen genetik faktörlerdendir. Seks kromozomlarının kompozisyonlarının XXY olduğu Klinefelter sendromu ise sadece erkeklerde infertiliteyi etkileyen genetik bir durumdur.

2.4. EMA ve İnfertilite İlişkisi

EMA'nin yan etkileri üreme ve gelişimsel sonuçların üzerinde geçmiş yıllarda hayvanları ve insanları kapsayan iki deneyde incelenmiştir (Brent, 1999). Spermatogenik değişimler ve üreme işlevleri konusunda çelişkili bulgular bulunmaktadır. Bir kaç çalışmada, EMA maruziyetinin deney hayvanları ve insanlarda spermatogenez ve üreme kapasitesi üzerindeki herhangi bir olumlu etkisi gösterilememiştir (Ryan ve ark., 1999; Heredia-Rojas ve ark., 2004). Buna karşın, diğer araştırmacılar tarafından yürütölen bazı çalışmalarda EMA'nın spermatogenez üzerinde olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir (Al-Akhras ve ark., 2001; Lee ve ark., 2004, Martínez-Sámano ve ark., 2010). Farelerde 50 Hz'lik EMA spermatogonyumların farklılaşmasında sitotoksik ve sitostatik değişikliklere sebep olur (Haki ve ark., 2008). EMA'nın istatistiksel olarak anlamlı biyolojik tepkiler oluşturabileceği bilinmektedir (Grandolfo ve ark., 1985). Özellikle EMA maruziyetinin erkek sıçanların fertilitte yeteneklerinin azalmasına yol açtığı bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2016).

Erkeklerde infertilite vakalarının etyolojisi bilinmemekle birlikte, infertilite idiyopatik olarak sınıflandırılır. Erkek kısırlığının değerlendirilmesinde semen analizinin ötesine giderek kapsamlı bir geçmiş ile ilgili genetik, endokrin ve diğer bilgilerin yanı sıra morfoloji incelenmesinin tamamlanması da zorunludur (Bin-Meferij ve El-Kott, 2015). Erkek infertilitesinin en önemli nedeninin oksidatif strese ve diğer faktörlere bağlı olduğu düşünölmektedir. Bu faktörler örneğin iyonlaştırıcı radyasyon,

mesleki toksinler, değişen atmosferik koşullar yanı sıra enfeksiyon durumları, oksijen metabolizması, inflamasyon ve yaşam tarzı gibi testis dokusu üzerinde infertiliteyi uyaran pek çok neden vardır (Aitken ve De Iuliis, 2010). EMA'ya çevresel, mesleki veya tesadüfi maruziyet insan sağlığını etkileyebilir; özellikle, genital sistem üzerindeki etkisi ve bunun altında yatan mekanizmalar ile ilgili araştırmalar yapılmıştır (Zhou ve ark., 2013). EM dalgalarına maruz kalan erkeklerde infertilite insidansı son yıllarda kademeli bir artış göstermektedir (Bin-Meferij ve El-Kott, 2015). Yüksek gerilim hatları, mobil iletişim baz istasyonları ve diğer elektromanyetik ortamlarda çalışan erkek bireylerde üreme değerini önemli ölçüde azalmıştır (Jauchem, 2008). Wang ve ark. (2003), Leydig hücrelerinin EMA'ya karşı en hassas hücreler olduğunu ve bu hücrelerin hasarının spermatogenezis ile onun parametrelerini etkileyebileceğini bildirmişlerdir (Wang ve ark., 2003). Özgüner ve ark. (2005), testisler üzerinde 869-894 MHz'lik RFuygulandıktan sonra hem seminifer tübül çapı ve hem epitel kalınlığında azalma göstermişlerdir (Ozguner ve ark., 2005). Salama ve ark. (2010), yetişkin tavşan testislerinin fonksiyon ve yapısı üzerinde cep telefonu radyasyonuna maruz kalmanın etkilerini incelemiş, EMA grubunda sperm konsantrasyon ve canlılıklarında düşüş ile anormal sperm sayısında artış olduğunu ortaya koymuşlardır. Aynı zamanda EMA'ya maruz kalan sıçanlarda CAT ve SOD aktivitelerinde annamlı azalma meydana gelerek bu hayvanların oksidatif strese maruz kaldıklarını göstermişlerdir (Bin-Meferij ve El-Kott, 2015). SOD ve CAT endojen anti-oksidan sisteminin enzimleridir. EMA lipid peroksidasyonunda azalmaya; SOD ve CAT aktivitelerinde de artışa neden olur (Bin-Meferij ve El-Kott, 2015).

2.5. Çörek Otu

Çörek otunun adı *Nigella sativa* olarak da bilinmektedir. Güney Avrupa, Kuzey Afrika ve Güneybatı Asya'ya özgü *Ranunculaceae* (Düğün çiçeğigiller) ailesinden olan bir bitkidir. *Nigella sativa* zengin bir tarihsel ve dinsel arka plana sahip bir mucize bitkisi olarak ortaya çıkmaktadır (Ahmad ve ark., 2013). *Nigella sativa*'nın tohumları dünyada çeşitli hastalıkların tedavisinde yüzyıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda Tibb-e-Nabwi'de düzenli olarak kullanılması tavsiye edilmektedir (Nebevi Tıp). *Nigella sativa* ince bölünmüş yapraklı ve 20-90 cm boyunda büyüyen tek yıllık çiçekli bir bitkidir. *Nigella sativa* tohumları bronşit, astım, ishal, romatizma ve cilt hastalıklarının tedavisinde uygulanmaktadır. Aynı zamanda karaciğer toksisitesi,

hazımsızlık, iştahsızlık, parazitik enfeksiyonlar, emziren annelerde süt üretimini artırma ve bağışıklık sistemini destekleme gibi çeşitli durumlarda kullanılmaktadır (Khaled, 2009; Assayed, 2010; Boskabady ve ark., 2010; Abdel-Zaher ve ark., 2011; Abel-Salam, 2012). Bu bitkinin tedavi edici özelliklerinin çoğu esansiyel yağı ve en aktif kimyasal bileşeni olan Tim varlığına bağlı bulunmaktadır. Bitkinin siyah tohumları ekmek ve turşuda tatlandırıcı gıda olarak kullanılmaktadır (Al-Ali ve ark., 2008). Siyah tohumların ihtiva ettiği çeşitli aktif bileşikler çalışmalara göre izole edilmiştir. Tim (Thymoquinone) (%30-%48), Timohidrokinon (thymohydroquinone), Ditimokinon (dithymoquinone), p-simen (p-cymene) (%7-%15), karvakrol (%6-%12), 4-terpineol (%2-%7) olarak t-anetol (%1-%4), siskiterpen longifolene (%1-%8) α -pinen ve timol *Nigella sativanın* en önemli aktif bileşikleridir (Al-Jassir, 1992). Siyah tohumlar bunlar dışında azda olsa farklı bileşikleri de içermektedir. Tohumlar iki farklı alkaloid türlerini içerir; 1) izokuinolin alkaloidler, örneğin nigellicimine ve nigellicimine-N-oksit, ve 2) pirazo alkaloidler veya nigellidine, nigellicine içermekte olan indazol. Ayrıca, *Nigella sativa* tohumlarında bulunan alfa-hederinin, anti-kanser özellikte oluşu ortaya konulmuştur (Al-Jassir, 1992; Ni ve ark., 1995).

2.5.1. Timokinon

Tim (C₁₀H₁₀O₂; 2-izopropil-5-metil-1,4-benzokinon) çörek otunun biyoaktif molekülüdür (Dehkordi ve Kamkhah, 2008). Tim antioksidan, anti-enflamatuar, nöroprotektive, anti-alerjik, anti-viral, anti-diyabetik ve anti-karsinojenik etkilere sahiptir (Ashraf ve ark., 2011). Tim özellikle süperoksit anyon ve hidroksil radikalleri gibi serbest oksijen radikallerini temizleyen güçlü bir aktiviteye sahiptir (Badary ve ark., 2003). Tim antioksidan etkilerini siklooksijenazlar, lipoksijenazları ve membran lipid peroksidasyonu inhibe ederek kazanmaktadır (Morsi, 2000). Tim'in sürekli deneysel çalışmalarında herhangi bir toksik etkisi olmadığı için geniş güvenlik sınırları içerisinde olduğu kabul edilmektedir (Al-Amri ve Bamosa, 2009). Tim ditimokinonu oluşturmak için kolaylıkla dimerleşir (El-Dakhkhny, 1963).

2.5.2. Timokinon Toksisitesi

Tim'in yararlı farmakolojik etkilerinin oldukça fazla olduğu rapor edilmiştir (Ali ve Blunden, 2003). Ancak Tim'in insan tümör hücrelerinin çeşitli türlerinde sitotoksik olduğu tespit edilmiştir (Worthen ve ark., 1998; Gali-Muhtasib ve ark., 2004; Rooney

ve Ryan, 2005). Tim'in LD50 değerinin belirlenmesi için hematolojik, biyokimyasal, ve hispatolojik çalışmalar yapılmıştır. Tim'in sıçanlarda LD50 değeri intraperitoneal olarak 57,5 mg/kg'dır (Al-Ali ve ark., 2008), ama akut oral uygulamalarında 2,4 g/kg olduğu bildirilmiştir (Badary ve ark., 1998). Tim toksisitesi üzerine literatürde az sayıda bilimsel çalışma bulunmaktadır; *Nigella sativa*'nın yaygın kullanımlı olması sebebi ile bileşenlerinin toksisitelerinin incelenmesi gerekmektedir.

Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, Tim 4, 8, 12,5, 25 ve 50 mg/kg farklı dozlarda intraperitoneal olarak uygulanmış; serum ALT, AST transaminaz ve laktat dehidrogenaz gibi biyokimyasal parametrelerin değiştirmediği bildirilmiştir (Mansour ve ark., 2001). Aynı çalışmada farelerde Tim LD50 değeri periton içine verildiğinde 90,3 mg/kg olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde birçok alışma Tim'in anti-enflamatuar, anti-kanserojen, antioksidan ve hücre koruyucu etkisini belirlemek amacıyla yürütölmüştür. Araştırmacılar Tim'in fareler ve sıçanlarda intraperitoneal olarak 5-2,5 mg/kg dozlarda kullanılmasının zararlı bir etkisine rastlanmamıştır (El-Dakhkhany, 1965; Houghton ve ark., 1995; Mutabagani ve El-Mahdy, 1997; Burits ve Bucar, 2000; Badary ve ark., 2001).

2.5.3. Timokinon Anti-Diyabetik Etkisi

Diabetes mellitus, hiperglisemi ile karakterize metabolik hastalıkların bir grubudur. Diyabet, kronik hiperglisemi, uzun süreli hasar, disfonksiyon ve çeşitli organlarda, özellikle gözler, böbrekler, sinirler, kalp ve kan damarları üzerinde olumsuz etkileri bulunmaktadır (American Diabetes Association, 2014). Diabetes mellitus, birçok fonksiyonel ve yapısal komplikasyonlarla ilişkili yaygın ancak ciddi bir metabolik bozukluktur (Mccall, 1992; Gispén ve Biessels, 2000). Diyabetin serbest radikal üretiminin artışına neden olduğu gösterilmiştir (Baynes, 1991). Diyabet, anti-oksidadan savunma sisteminin aktivitesini azaltarak, kalıcı ve kronik hipergliseminin serbest radikal hasarının artmasına neden olmaktadır (Baynes ve Thorpe, 1996). Tim'in hipoglisemik etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (El-Dakhkhany ve ark., 2002). Yayınlanan bir raporda Tim'in kan şekeri ve insulin düzeylerini iyileştirdiği gösterilmiştir (Fararh ve ark., 2002; 2005). Tim tedavisinin oksidatif stresi azaltarak ve pankreasta β -hücre bütönlüğünü koruyarak diyabete karşı terapötik koruyucu bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Tim'in hipoglisemik etkisi ile insulin salgılanmasında ve kısmen pankreas adacıklarının β -hücrelerinin iyileşmesinin artışında özel bir rol

oynadığı ortaya konulmuştur (Kanter, 2009). Diğer bir çalışmada, diyabetik farelerde, günlük 50 mg/kg dozda 30 gün süreyle ağız yolu ile Tim alınmasının açlık kan şekeri ve gliko- hemoglobin düzeylerini etkin bir şekilde azalttığı, glukoneogenezi azalttığı rapor edilmiştir (Fararh ve ark., 2005). Toplam gliko-hemoglobin, glikoz düşürücü tedavi ve uzun süreli kan şekeri Tim rolü yanıtını izlemek için kullanılan önemli bir parametredir. Tim'in diyabetik durumda yükselmiş glukoz değerlerini düşürdüğü düşünülmektedir (Fararh ve ark., 2005).

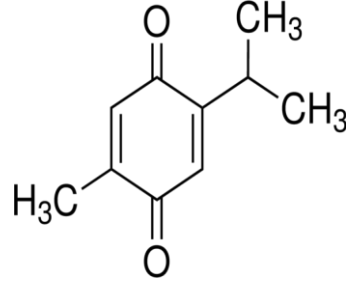
2.5.4. Anti-Bakteriyel Etki

Tim'in *Paenibacillus* larvalarına karşı büyük bir antibakteriyel (8 ila 16 mg/ml arasında değişen MIC değerleri) ekisi olduğu gözlenmiştir (lesar ve ark., 2010). Tim farelerde *Escherichia coli*'ye karşı mortaliteyi azaltabilir (Alkharfy ve ark., 2011). Tim'in, 8-64 ug/ml arasında değişen MIC ile Gram-pozitif bakterilerin büyümesine karşı güçlü bir önleyici olduğunu göstermiştir (Kokoska ve ark., 2008). Tim çok düşük konsantrasyonlarda bile patojen bakterileri etkiler (Chaieb ve ark., 2011). *Nigella sativa* tohumlarının çok sayıda biyolojik aktiviteleri; anti-bakteriyel, anti-fungal, anti-tümör ve hipotansif etkileri bildirilmiştir (Hanafy ve Hatem, 1991; Worthen ve ark., 1998; Zaoui ve ark., 2000; Ferdous ve ark., 2006). Tim ile tedavi edilen farelerin TNF-a ve IL-2'leri nispeten daha düşük seviyelerde gözükmektedir; böylece literatürde sepsis ile ilişkili olarak Tim'in klinik önemine dikkat çekilmektedir (Alkharfy ve ark., 2011).

Tim uygulanması *Streptococcus pyogens* (insanlarda en sık rastlanan patojenlerden biridir) bakterilerinin epitel hücrelerine yapışmasını inhibe edilmesi açısından etkilidir (Hull Vance ve ark., 2010).

2.5.5. Anti-Fungal Etki

Yapılan çalışmalara göre Tim'in antifungal etkisi açıklanmıştır. Tim *C. albicans* enfeksiyonlarının tedavisinde etkili bir şekilde kullanılmaktadır. *Nigella sativa* veya aktif maddelerinin bazılarının antifungal etkisi açısından göz önüne alınması, Tim'in bu konuda yararlı aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada, yüksek konsantrasyonlarda Tim'in *Fusarium Solan* büyümesini önlediği açıklanmıştır (Akhtar ve ark., 2007). Tim mantar hücrelerinin duvarını oluşturan polipeptidlere ya da plazma membrana bağlı enzimler ve proteinlere bağlanabildiğinden anti-fungal aktiviteye sebep olabileceği tespit edilmiştir (Taha ve ark., 2010) (Şekil 4).



Şekil 4. Timokinon'un kimyasal yapısı (Taha ve ark., 2010)

Tim'in, *Trichophyton mentagrophyte* karşı en güçlü antifungal bileşik olduğu saptanmıştır (Inouye ve ark., 2006). Tim MIC değeri *Fusarium solani* için 1 mg/ml ve *Aspergillus niger* için 2 mg/ml'dır (Akhtar ve ark., 2007). *Nigella sativa*'nın anti-dermatofite aktivitesinin Tim'a bağlı olduğu olasılığına işaret etmektedir (Aljabre ve ark., 2005).

2.5.6. Anti-Viral Etki

Viral enfeksiyonlar apoptoza yol açmaktadır. Antioksidanlar hedef hücrelerin viral replikasyonu inhibe ederek virüs tarafından uyarılan apoptozu inhibe eder. Bu sebeple anti-viral ve antioksidan etkileri birbirine bağlantılı olduğu bildirilmiştir (Peterhans, 1997). *Nigella sativa* yağının kullanıldığı *in vivo* tedavide sitomegalovirüs (MCMV) enfeksiyonuna karşı önemli bir anti-viral etkiye sahip olduğu ortaya konulmuştur (Salem and Hossain 2000). Hepatit C virüsü enfeksiyonu olan hastalarda *Nigella sativa* uygulanması, hem viral yüke etkisi hem de antioksidan aktivitesinden dolayı artan oksidatif stresin azalmasına sebep olmuştur (Barakat ve ark., 2013).

2.5.7. Anti-Allerjik Etki

El Gazzar ve ark. (2006), akciğerde allerjik inflamasyon olan fare modelinde yaptıkları bir çalışmada, Tim'in iltihab üzerinde önleyici bir etkisi olduğunu göstermişlerdir. Tim, akciğerde eozinofili, Th2 sitokinleri ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azaltarak allerjik astımın pulmoner inflamasyonunu hafifletir. Aynı zamanda serumda ovalbumin-spesifik IgE ve IgG1'nin yüksek olan seviyelerini de azaltır; IL-4, IL-5 ve IL-13 üzerinde de önleyici bir etki gösterir (El Gazzar ve ark., 2006).

2.5.8. Anti-İnflamatuar Etkiler

Doğal bir bileşik olan Tim'in anti-inflamatuar etkisi de bildirilmiştir (Salem, 2005). Anti-oksidan enzimleri; reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı hücrel savunmanın bir parçasıdır. Hidroksil radikali (OH•), peroksil radikal (ROO•), süperoksit anyon radikali (O₂-•) gibi reaktif oksijen türleri aerobik metabolizma ile birlikte aynı zamanda UV radyasyonu ve çevre kirliliği gibi dışsal kaynaklar nedeni ile hücrelerde sürekli üretilmektedir (Darakhshan ve ark., 2015). Tim; süperoksit anyonu, hidroksi radikal ve tekli moleküler oksijen dahil olmak üzere birkaç ROS'a karşı temizleyici faaliyeti ile güçlü bir fitokimyasal anti-oksidandır (Mansour ve ark., 2002; Nagi ve Mansour, 2000) Bu nedenle, çeşitli hastalıklarda yükseltilmiş ROS seviyelerinden kaynaklanan olumsuz etkileri tamamen antagonize edebilir. Tim ve Tert-bütilhidrokuinon, demire bağlı mikrozomal lipid peroksidasyonunu güçlü bir şekilde inhibe eder (Badary ve ark., 2003). Tim molekül yapısının redoks özellikleri ve hücre içi bileşenlere kolay erişim yeteneği ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Daba ve Abdel-Rahman, 1998; Badary ve ark., 2003) fizyolojik koşullar altında, Tim, glutatyon (GSH), NADH ve NADPH ile, glutathionyl-dihidro-Tim, GSH ile hızlı bir reaksiyondan sonra, ve dihydrothymoquinone, NADH ve NADPH yavaş reaksiyona girer (Khalife ve Lupidi, 2007). GSH, SOD, CAT, glutation-S-transferaz (GST) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi anti-oksidan enzimleri hücrelerin anti-oksidan sisteminde oluşmaktadır. Anti-oksidan enzimler serbest radikal kaynaklı oksidatif hasarı nötralize edilmesinden sorumludur (Harzallah ve ark., 2010). Tim, GST (Badary ve Gamal El-Din, 2001; Kanter ve ark., 2005; Elbarbry ve ark., 2012), GSH-Px (Elbarbry ve ark., 2012), SOD (Mansour ve ark., 2002; Badary ve ark., 2003; Kanter ve ark., 2005) ve glutation redüktaz (Elbarbry ve ark., 2012) ekspresyonunu ve/veya aktivitesini indükler. Tim'in serbest radikal üreten ajanların yol açtığı çeşitli oksidatif hasarlara karşı birçok organlarda koruyucu etkiye sahip olduğu ve aynı zamanda sitoprotektif özellikleri bulunduğu ortaya konulmuştur (Darakhshan ve ark., 2015). Mansour ve ark. (2002), Tim'in anti-oksidatif ve anti-inflamatuar bir etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir. Tim'in özellikle EM radyasyonuna maruz bırakılan sıçanların beyin dokusunda nitrozatif strese karşı anti-oksidan özellikleri gösterilmiştir (Ahlatci ve ark., 2014). Tim'in anti-inflamatuar etkisinin siklooksijenaz, 5-lipoksijenaz ve kısmen membran lipidlerinin enzimatik olmayan peroksidasyonunu inhibe ederek, tromboksan B2 ve

lökotrien (LT) B4 gibi eikosanoidlerin üretimimin önlenmesinden kaynaklı olduğu tespit edilmiştir (Houghton ve ark., 1995). Tim'in GSH, CAT ve SOD aktivitesini arttırdığı, NO ve myeloperoksidaz (MPO) artışının önlenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (Umar ve ark., 2012). Ayrıca, Tim polimorfonükleer hücrelerin çoğalmasını ve aktivasyonunu ortadan kaldırmakta ve sitokin homeostazını korumaktadır. Tim esas olarak NF-kB ve TNF-a üretimlerinin düzenlenmesiyle pro-enflamatuar ve oksidatif stresi azaltır (Sayed ve Morcos, 2007).

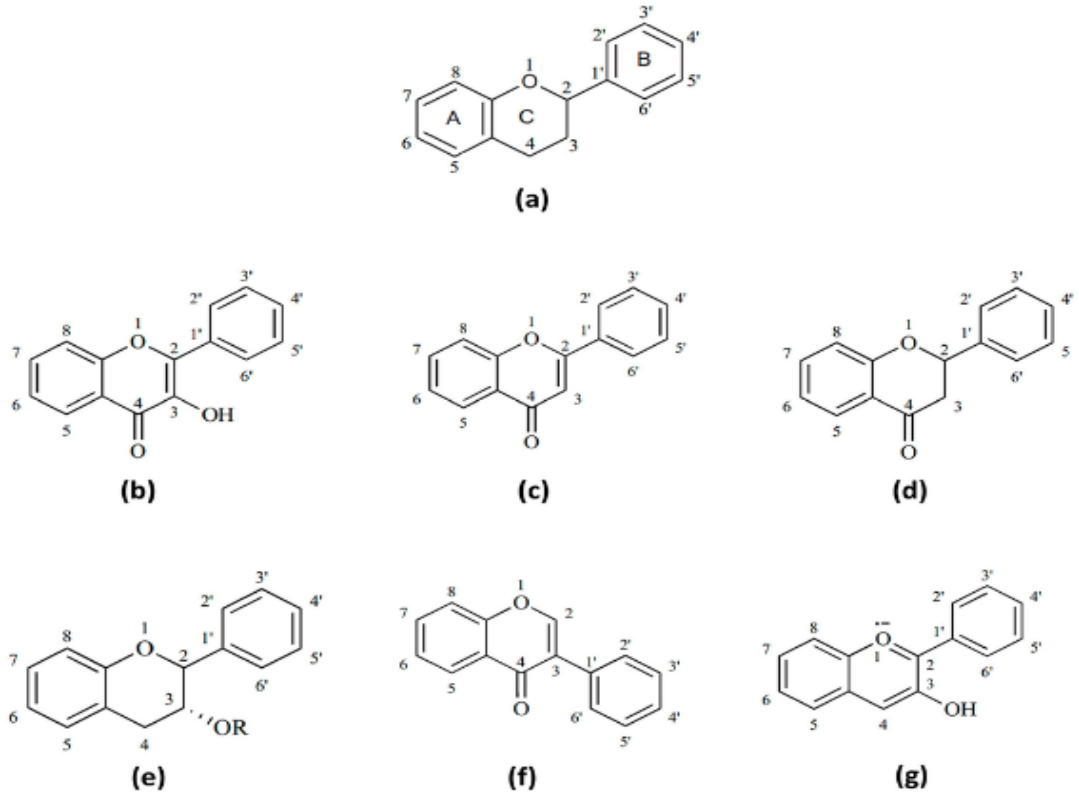
2.5.9. Anti-Oksidan Etkileri

Antioksidanların sağlık açısından faydaları konusunda çok fazla bilimsel çalışma yapılmaktadır (Ali ve Blunden, 2003). Hücrelerde oksidan bileşiklerin zararlı etkilerine karşı antioksidan savunma sistemi bulunmaktadır. Bu sistem, SOD, CAT ve GSH-Px ve E vitamin, selenyum ve GSH gibi nonenzimatik bileşiklerden (antioksidan enzimler) oluşmaktadır. Anti-oksidanların hücre hasarının ilerlemesine neden olan serbest radikallerin ortamdaki uzaklaştırmasında merkezi bir rol oynadığı düşünülmektedir. Hücreleri ve organ sistemlerini reaktif oksijen türlerine karşı korumak için bir antioksidan koruma sistemi gelişmiştir. Tim bir antioksidan olarak güvenli etki göstermektedir (Al-Trad ve ark., 2016). Tim'in süperoksit anyon (O_2^-), tekli oksijen (1O_2) ve hidroksil radikallerinden (HO^{\cdot}) meydana gelen reaksiyon üzerine temizleyici etkisi belirtilmiştir (Kruk ve ark., 2000). Yapılan çalışmalara göre Tim farklı mekanizmalar ile etki göstermektedir. Tim mitokondriyal metabolik enzimleri koruma yolu ile H_2O_2 molekülüne karşı hücreleri korur; hücre içi ROS seviyelerini azaltır, morfolojik yapısını korur; ve sinyal yolları ile ilişkili genlerin ekspresyonunu sağlar (Ismail ve ark., 2016). Bu bulgular, Tim kullanımına bir alternatif olarak oksidatif stres ile mücadeleyi sağlar. Buna ek olarak, Tim antioksidan etkisi ile sıçanlarda GSH-Px, SOD ve CAT aktivitelerini azaltır (Fouad ve Alwadani, 2015).

2.6. Flavonoidler

Flavonoidler 6000'den fazla besin maddesini içerir. Flavonoidler flavan çekirdek ve bir benzo- γ -piron yapısı içeren doğal bir antioksidan grubudur. Flavonoidler; flavonoller, flavonlar, flavon, flavanol, izoflavon ve antosiyanidinler gibi ana sınıflara ayrılmaktadır (Saito ve ark., 2013). Bu bileşikler yeşil bitkiler tarafından sentezlenen, kimyasal yapılarına göre çeşitli farmakolojik özelliklerini gösteren düşük molekül

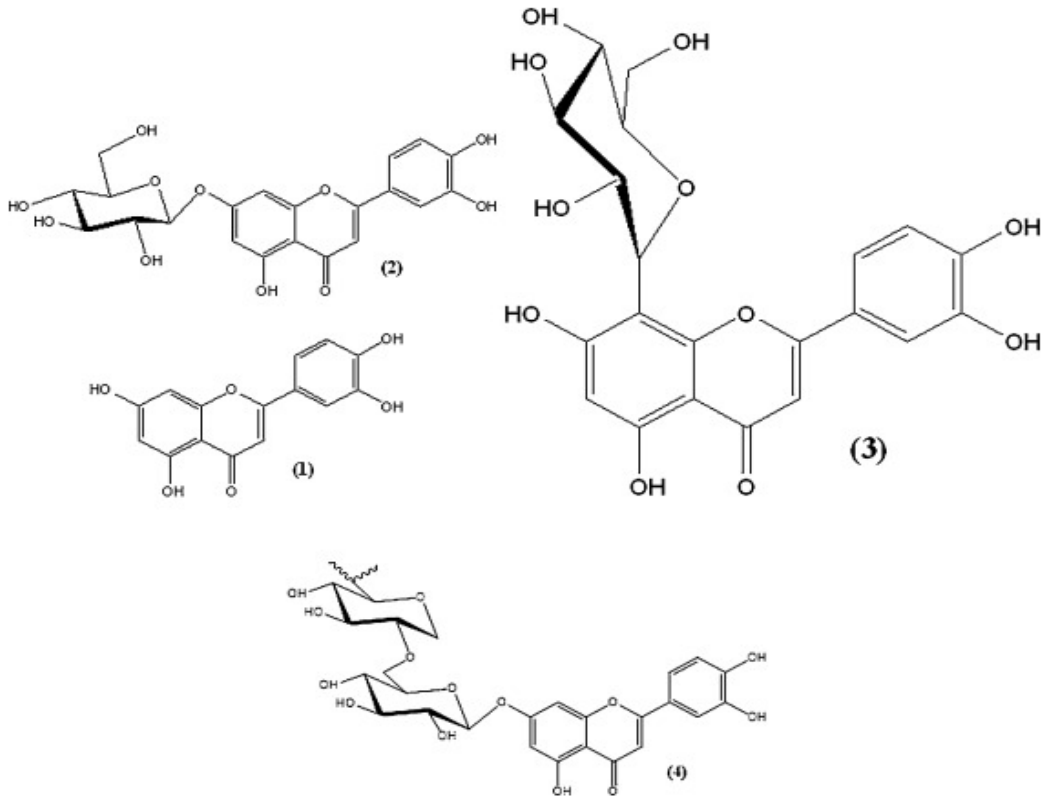
ağırlıklı polifenoller'dir (Heim ve ark., 2002). Şimdiye kadar, 4000 üzerinde doğal flavonoidler farklı bitki yapraklarında, tohumlarda, ağaç kabuklarında ve çiçeklerde tespit edilmiştir (Harborne ve Williams, 2000). Son zamanlarda flavonoidler ile ilgili çalışmaların artma nedeni polifenolik bileşiklerin antioksidan aktivitelerine dayanarak potansiyel sağlık faydalarından kaynaklanmaktadır. Flavonoidler de fonksiyonel hidroksil grupları ve serbest radikalleri temizleyerek antioksidan etkilere aracılık etmektedir (Harborne ve Williams, 2000; Heim ve ark., 2002). Ayrıca flavonoidler, adiponektin düzeylerini arttırırlar, insülin duyarlılığını ve glukoz toleransını düzenlerler, dislipidemiği düzeltir; arttırılmış kan basıncı azalttırlar (Akhlaghi, 2016). Araştırmacılar flavonoidlerin kardiyoprotektif rolü (Kondo ve ark., 1996; Mazur ve ark., 1999), anti-adipojenik etkisi (Li ve ark., 2016) ve serbest radikal süpürücü potansiyelini tanımlamaktadırlar (Korkina ve Afanas'ev, 1997) (Şekil 5).



Şekil 5. Farklı flavonoid sınıfların temel kimyasal yapısı. **(a):** Temel flavonoid iskeletinin yapısı, **(b):** flavonolle, **(c):** izoflavon, **(d)** flavonoidler; **(e):** flavanoller; **(f):** izoflavon ve **(g):** antosiyanin (Leyva-López ve ark., 2016)

2.6.1. Luteolin

Lut (3', 4', 5,7-tetrahydroxyflavone) (Nabavi ve ark., 2015), doğal olarak bir kaç bitki türünde bulunan önemli bir flavon'dur (Peters ve ark., 1986; Kim ve ark., 2000). Kimyasal olarak Lut bir C6-C3-C6 yapı ve iki benzen halkası (A, B), bir oksijen-ihativa eden (C1) halkası ve 2-3 çift karbon bağından oluşmaktadır (Bravo, 1998; Lin ve ark., 2008). Doğal glikosile edilmiş Lut; brokoli, biber, kekik ve kereviz dahil olmak üzere farklı meyve ve sebzelerde mevcuttur (Lin ve ark., 2008; Lopez-Lazaro, 2009). Literatürler Lut'un anti-oksidan, anti-kanser, anti-neoplastik (Chang ve ark., 2005), anti-hepatotoksik, anti-alerjik, anti-osteoporotik (Di Carlo ve ark., 1999), anti-diyabetik (Zarzuelo ve ark., 1996), anti-trombosit ve vazodilatör (Chen ve ark., 1990), anti-enflamatuar ve nöron koruyucu etkiye sahip olduğunu göstermektedirler (Chen ve ark., 2008; Zhang ve ark., 2013). Birçok epidemiyolojik çalışma Lut içeren gıdaların yüksek tüketiminin kronik hastalıklara yakalanma riskinin azalması ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Lopez-Lazaro, 2009) (Şekil 6).



Şekil 6. Luteolin; 1: Luteolin kimyasal yapısı, 2: Luteolin-7-O-glukosid, 3: Luteolin-8-C1-β-D-glukopiranosid, 4: Luteolin-7-O-β-rutinosid (Nabavi ve ark., 2015)

2.6.2. Luteolin Toksisitesi

Lut'un koruyuculuk profili belirsizdir (Harwood ve ark., 2007). Son raporlar, Lut ve analoglarının endokrin sistemi üzerindeki etkilerinden dolayı memeli hücreleri için zararlı olduğunu söylemektedir (Nordeen ve ark., 2013). Bu etki büyük olasılıkla Lut'un östrojenik aktivitesine ve progesteron reseptör aktivasyonunu antagonize etme afinitesine dayanmaktadır (Nordeen ve ark., 2013). Aksine literatürde bulunan başka çalışmalarda ise Lut'un östrojen üretimine veya progesteron reseptörlerine karşı afinitesinin çok az olduğu veya hiç olmadığını bildirilmiştir (Scippo ve ark., 2004). Ayrıca Lut'un anti tümörjenik etkisi bildirilmiştir (Jeon ve Suh, 2013; Wang ve ark., 2014). Üstelik mevcut besin destekleyici ürünlerde de Lut mevcuttur, Lut'un oral absorpsiyonunun toksisiteyi indükleyecek konsantrasyonlara ulaşma olasılığı düşüktür (Nordeen ve ark., 2013).

2.6.3. Luteolin Nöroprotektif Etkisi

Lut'un başka bir farmakolojik faaliyeti oksijen ve nitrojen türlerinin temizleme kapasitesi ile ilişkili olan antioksidan özelliğidir. Lut'un, bağışıklık hücrelerinde (mast hücreleri), mikromolar konsantrasyonlarda sitokin ekspresyon sinyalini, Nükleer Faktör kappa B (NF-KB) sinyalini ve TLR4'ü inhibe ettiği bildirilmiştir (Kim ve ark., 2005; Lee ve ark., 2009; Weng ve ark., 2015). Bunun yanı sıra, Lut mikroglia aktivitesini zayıflatan beyin türevli nörotrofik faktör'e benzer bir davranış gösteren etkiye sahiptir (Lin ve ark., 2010; Patil ve ark., 2014). Lut heme oksijenaz-1 (HO-1) ve glutamat sistein ligaz ekspresyonunda bir azalışa yol açtığı, ayrıca Keap1-Nrf2-ARE yolunu inhibe ettiği açıklanmıştır (Lin ve ark., 2010). Buna ek olarak Lut, GABA reseptörlerinin benzodiazepin bağlanma bölgesine sadece kısmi bir afinite göstermektedir. Lut'un anksiyolitik etkilerinin henüz tanımlanmamış bir mekanizma aracılığı ile olduğu düşünülmektedir (Coleta ve ark., 2008).

2.6.4. Antioksidan Etkiler

Çok sayıda deneysel verilere göre Lut antioksidan etkilere sahiptir (Manju ve ark., 2005). Bilindiği gibi, aşırı ROS üretimi DNA, lipid ve protein hasarı kaynaklı oksidatif stres, kanser, kardiyovasküler ve nörodejeneratif gibi hastalıklar ile sonuçlanır. Lut'un DNA, protein ve lipidlerin ROS kaynaklı hasarı önlediği rapor edilmiştir (Robak ve ark., 1988; Brown ve Rice-Evans, 1998). Lut'un antioksidan etkileri çoklu

mekanizmalar ile açıklanmıştır. Birincisi, Lut kendini okside ederek ROS temizleyicisi olarak işlev görmesidir (Lien ve ark., 1999). İkinci olarak, Lut ROS'u oluşturan oksidazları engellemektedir (Shimoi ve ark., 1994). Üçüncü olarak, Lut GST, glutatyon redüktaz (GR), SOD ve CAT gibi endojen antioksidanları koruyarak ya da düzeylerini arttırarak antioksidan etki göstermektedir (Ross ve ark., 2002; Manju ve Nalini, 2005; Leung ve ark., 2006). Dördüncü olarak, Lut doğrudan hücre bileşenlerinin oksidasyonunu katalize eden enzimleri inhibe edebilir. Örneğin, Lut, karaciğer lipitleri içinde lipoksigenaz, siklooksijenaz ve askorbik asit ile uyarılmış malondialdehid oluşumunu baskılar (Robak ve ark., 1988). Son olarak, Lut'un ROS oluşturulurken geçiş metal iyonlarının şelatlanmasına neden olarak lipoksigenaz reaksiyonunu inhibe ettiği, ya da bir geçişi olmayan metallerin oksidasyonunu baskıladığı düşünülmektedir (Brown ve Rice-Evans, 1998; Ross ve ark., 2002).

2.6.5. Anti-İnflamatuvar Etkiler

Enflamasyon enfeksiyona karşı korunmak ve hasarı iyileştirmek amacı ile gerçekleşen vücudun savunma mekanizmalarından biridir. Yapılan çalışmada, Lut'un anti-inflamatuvar etkileri rapor edilmiştir. Lut sitokinlerin üretimi ve sinyal iletim yollarını baskılama yolu ile anti-inflamatuvar etkiyi göstermektedir (Xagorari ve ark., 2001; Chen ve ark., 2004; Kumazawa ve ark., 2006). *In vivo* hayvan deneylerinde Lut'un lipopolisakkarit (LPS) veya bakteri kaynaklı inflamasyon üzerinde baskılayıcı etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Kotanidou ve ark., 2002; Tormakangas ve ark., 2005). Lut *Chlamydia pneumoniae*'den kaynaklanan akciğer iltihabı üzerinde baskılayıcı etkileri saptanmıştır (Tormakangas ve ark., 2005). Lut'un ön işleme tabi tutulan murin makrofajlarda (RAW 264.7) LPS ile uyarılan TNF α ve IL-6'nın serbest bırakılmasını inhibe edererek LPS-kaynaklı Nükleer Faktör kappa B ve mitojen ile ERK, p38 ve JNK gibi aktive edilmiş protein kinaz (MAPK) ailesi üyelerinin aktivasyonunu bloke ettiği tespit edilmiştir (Xagorari ve ark., 2001; 2002; Chen ve ark., 2004; Chen ve ark., 2007). Lut bu yolları baskılayarak hem akut hem de kronik inflamasyonu inhibe edici etki oluşturmaktadır. Lut lipopolisakarit ile tedavi edilen RAW264.7 hücrelerinde inflamatuvar gen ekspresyonunun azalmasına neden olur (Kure ve ark., 2016).

2.6.6. Östrojenik ve Anti-Östrojenik Etkiler

Östrojenler hedef hücrelerin çoğalması ve farklılaşması ile ilişkili hormonlardır. Östrojenlere yanıt olarak, östrojen reseptörünü (ER) aktifleştirerek, DNA sentezi ve hücre çoğalmasını uyarmaktadır (Colditz ve ark., 2005). Lut düşük konsantrasyonlarda güçlü bir östrojenik aktiviteye sahip olduğu için, hormon terapileri için yararlı bir madde olabileceği düşünülmüştür (Zand ve ark., 2000).

Lut'un anti-östrojenik etkileri de raporlarda gösterilmiştir (Han ve ark., 2002). Bu görünen çelişkili etkinin arkasındaki mekanizmanın; östrojenin düşük ERS bağlantısı ile ilgili bir durum olduğu düşünülmektedir. Lut 17- β -estradiol Lut'den 10^3 - 10^5 kat daha düşük olan östrojenik aktivitesine bağlı olarak, ERS'e bağlanmak için östrojenler ile rekabet ederken anti-östrojenik maddeler gibi işlev görmektedir (Murkies ve ark., 1998; Zand ve ark., 2000). Lut'un androjenlerin östrojene dönüşümünde görev alan aromatazı inhibe etmesinin başka bir anti-östrojenik aktivite mekanizması olduğu düşünülmektedir (Wang ve ark., 1994). Buna ek olarak, Lut ER proteinin bozulmasını güçlendirerek veya ER genin transkripsiyonunu inhibe ederek ER ekspresyon seviyesini azaltmaktadır (Wang ve ark., 2006, Chiu ve Lin, 2008).

2.6.7. Anti Kanserojen Etkiler

Karsinogenez mutasyona uğramış hücrelerin klonal çoğalması ile ortaya çıkan ve uzun sürede gelişen, çok aşamalı bir süreçtir. Literatürde yer alan eski raporlara göre, Lut'un karaciğer mikrozomlarının aktif mutajenlerini üreten kanserojenlerin metabolizmasını inhibe ettiği bulunmuştur (Buening ve ark., 1981; Huang ve ark., 1983). Son zamanlarda Lut'un örneğin CYP1A1, CYP1A2 ve CYP1B1 insan sitokrom P450 gibi 1. aile enzimlerini inhibe ettiği tespit edilmiştir, böylece kanserojenlerin mutajenik aktivasyonunu baskılamaktadır (Kim ve ark., 2005). Bu enzimlerin engellenmesinin örneğin benzo [a] piren diol epoksit (benzo[a]pyrene diol epoxide) gibi aktif mutajenlerin üretimini azalmasına sebep olduğu açıklanmıştır (Miller ve Ramos, 2001). Lut esas olarak hücre döngüsünü düzenleme yoluyla neredeyse her türlü kanserden elde edilen kanser hücrelerinin çoğalmasını inhibe edebilmektedir (Fotsis ve ark., 1997; Knowles ve ark., 2000; Han ve ark., 2002; Ko ve ark., 2002). Lut'un insan mide, ve prostat kanserinde, melanoma hücrelerinde G1 fazında hücre döngüsünü durdurabildiği ortaya konulmuştur (Matsukawa ve ark., 1993; Casagrande ve Darbon, 2001; Kobayashi ve ark., 2002). Lut'un, epidermoid karsinom, lösemi, pankreas tümörü

ve hepatoma içeren kanser hücrelerde pek çok değişik türde apoptotik hücre ölümünü uyararak kanserli hücrelerin ölümüne neden olduğu düşünülmektedir (Huang ve ark., 1999; Lee ve ark., 2002; Cheng ve ark., 2005; Lee ve ark., 2005). Bu mekanizmalara ek olarak Lut, büyüme faktör reseptörleri sinyal yollarında hücre proliferasyon sinyallerini baskılayarak görev yapmaktadır (Lee ve ark., 2007; Stathopoulos ve ark., 2007).

Bu çalışmanın amacı, elektromanyetik alanın sıçan testislerindeki etkilerine karşı Tim ve Lut'un koruyuculuğunun stereolojik, histokimyasal ve biyokimyasal yöntemlerle araştırılmasıdır.



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Deneysel İşlemler ve Hayvanlar

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Etik Kurul tarafından onaylandıktan sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi Proje Yönetim Ofisi tarafından PYO.TIP.1904.14.018 koduyla desteklenmiştir. Deneyler süresince Etik Kurul (2013/66) şartlarının sağlanmasına özen gösterildi. Hayvanların bakımı, beslenme süreci Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde, diğer tüm histolojik çalışmalar ve Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalında yapılmıştır. Çalışmada, 200g vücut ağırlığında ve 12 haftalık 36 erişkin erkek Wistar albino sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar rastgele seçilerek plastik kafesler içerisine yerleştirildi. Deney süresince, sıçanlar laboratuvarında sıcaklık kontrollü bir hayvan odasında (22 ± 1 °C) ve %40-50'lik nem ortamında 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsüne tabi tutuldu. Tüm gruplardaki sıçanlar standart pelet ve musluk suyu ile beslendi (Şekil 7).



Şekil 7. Deney grubuna ait sıçanlar

3.1.2. Grupların Oluşturulması ve Uygulamaları

Çalışmamız altı gruptan oluşmaktadır:

1. grup; Sağlıklı deneklerden oluşan kontrol grubu (**Kont**) (n=6). Deney süresince herhangi bir uygulamaya tabi tutulmayan sağlıklı sıçanlardan oluşmaktadır.

2. grup; EMA'ya maruz bırakılan grup (**EMA**) (n=6): Bu gruptaki sıçanlar pleksiglas kafes içerisinde 28 gün boyunca her gün 12⁰⁰-13⁰⁰ saatleri arasında, 60 dk/gün dozunda 900 MHz frekanslı EMA'ya maruz bırakılmıştır.

3. grup; Sağlıklı deneklerden oluşan ve Lut verilen grup (**Lut**) (n=6): Sağlıklı deneklerden oluşan bu gruptaki sıçanlara 28 gün boyunca hergün 11⁰⁰-12⁰⁰ saatleri arasında intraperitoneal (i.p.) olarak 20 µg/kg/gün (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) dozunda Lut enjeksiyonu yapılmıştır (Zhang ve ark., 2016).

4. grup; Sağlıklı deneklerden oluşan ve Tim verilen grup (**Tim**) (n=6): Sağlıklı deneklerden oluşan bu gruptaki sıçanlara 28 gün boyunca hergün 11⁰⁰-12⁰⁰ saatleri arasında oral olarak 10 mg/kg/gün (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) dozunda Tim tedavisi yapılmıştır (Nagi ve Mansour, 2000; Aras ve ark., 2015).

5. grup; EMA maruziyeti ile birlikte Lut uygulanan grup (**Lut+EMA**) (n=6): Bu gruptaki sıçanlar pleksiglas kafes içerisinde her gün 12⁰⁰-13⁰⁰ saatleri arasında, 60 dk/gün dozunda 900 MHz frekanslı EMA'ya maruz bırakılmıştır. Ayrıca bu sıçanlara 28 gün boyunca hergün 11⁰⁰-12⁰⁰ saatleri arasında intraperitoneal (i.p.) olarak 20 µg/kg/gün dozunda Lut (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) enjeksiyonu yapılmıştır.

6. grup; EMA maruziyeti ile birlikte Tim uygulanan grup (**Tim+EMA**) (n=6): Bu gruptaki sıçanlar pleksiglas kafes içerisinde her gün 12⁰⁰-13⁰⁰ saatleri arasında, 60 dk/gün dozunda 900 MHz frekanslı EMA'ya maruz bırakılmıştır. Ayrıca bu sıçanlara 28 gün boyunca hergün ağız yolu ile 11⁰⁰-12⁰⁰ saatleri arasında 10 mg/kg/gün dozunda Tim (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) tedavisi yapılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Biyokimyasal Ölçümler

Enzimler biyokimyasal reaksiyonların hızlı olmasını sağlarlar. Biyokimyasal sistemlerde SOD bir antioksidan enzim olarak tanımlanmıştır. Birçok kimyasal maddenin, organizmada serbest radikal oluşum hızını arttırabileceği gözlemlenmiştir (Mates ve ark., 1999). Bu nedenle, antioksidan enzimler, serbest radikalleri ve reaktif oksijen türlerini nötralize etmek için önemli bir role sahiptir.

Çalışmamızda, biyokimyasal analizlerin yapılabilmesi için anestezi sonrası perfüzyon aşamasında Wistar albino sıçanlardan kardiyak ponksiyon ile alınan 2 ml kan, EDTA'lı tüplerde toplandı. Elde edilen kan örnekleri, oda sıcaklığında 2000 rpm'de 15 dk boyunca santrifüj edilmiş olup örneklerden elde edilen serum, biyokimyasal analiz için -20 °C'de saklanmıştır.

1. Süperoksit Dismutaz Analizi (SOD): Oksidatif stres belirteci olan SOD enziminin serumdaki seviyesi, SOD assay kit (Cayman Chemical Company, ABD) kullanılarak kolorimetrik yöntemle ölçülmüştür. Yöntemin esası, ksantin-ksantin oksidaz tepkimesi sonrası oluşan süperoksit radikalının SOD tarafından ortadan kaldırılamaması nedeniyle ortamda bulunan tetrazolyum bileşiğinin indirgenmesine dayanır (Durak, 1996). Analiz için kuyucuklara serum ve SOD ve standart numuneleri ile birlikte reaksiyonu başlatmak amacıyla 20 µl ksantin oksidaz enzimi eklendi. Hazırlanan plate, örneklerin renk değişikliği gerçekleşinceye kadar 30 dk boyunca, oda sıcaklığında bekletilmiştir ve bir UV-Vis spektrofotometre (Shimadzu UV-MINI 1240; Shimadzu; İstanbul, Türkiye) ile 440 nm'de örneklerin absorbansı spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

2. Serum Testosteron Düzeyleri: Testosteron hormonu testiste yer alan Leydig hücrelerinde substrat kolesterolden sentezlenerek kan dolaşımına salgılanmaktadır (Miller, 1988; Oh, 2014). Testosteron prototipik ve baskın dolaşımdaki androjenik steroiddir. Embriyojenez sırasında ve ergenlik döneminde erkek fenotipinin gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Bu çalışmadaki tüm deneklerden elde edilen serum örneklerindeki testosteron hormonunun düzeyleri testosteron EIA Kiti (Cayman chemical company, ABD) kullanılarak belirlendi. Söz konusu kitin kullanım talimatlarına göre:

Tüm numuneler ve reaktiflerin oda sıcaklığında ulaşmasına izin verildi. Prosedür aşağıdaki adımlarla gerçekleştirildi: Testlerde 96 kuyucuklu plate kullanıldı.

1. ELISA Tamponu: NSB kuyularına 100 µl ELISA Tamponu ve B0 kuyucuklarına 50 µl ELISA Tamponu eklendi.

2. Testosteron ELISA Standardı: 0 µl Testosteron ELISA Standardı uygun kuyucuklara eklendi.

3. Örnekler: Kuyucuk başına 50 µl örnek eklendi.

4. Testosterone AChE Tracer: her kuyucuğa 50 µl eklendi.

5. İnkübasyon: Plate plastik film (Madde 400012) ile kapatılarak iki saat boyunca inkübe edildi.

6. Kuyucuklar boşalttıktan sonra Yıkama Tamponu (Wash Buffer) ile beş kez yıkandı.

7. Her kuyucuğa 200 µl Ellman Reaktifi eklendi.

8. 5 µl Treceer uygun kuyucuklara eklendi.

9. Plate plastik film ile kapatılarak karanlıkta 60-90 dakika bekletildi.

10. Hazırlanan örneklerin absorbanı, 420 nm'de ölçüldü.

3.2.2. Anestezi İşlemleri

Yirmi sekiz günlük deney süresinin sonunda tüm denekler, 5/1 oranında hazırlanan Ketamin (0,5 ml; 60 mg/kg vücut ağırlığı., Sigma Chemical Comp, St. Louis, MO, USA) /Ksilazin (0,1 ml; 5 mg/kg, Sigma Chemical Comp, St. Louis, MO) karışımının enjeksiyonu ile uygulanan anestezi altında kardiyak perfüzyona tabi tutuldular.

3.2.3. Perfüzyon ve Diseksiyon İşlemleri

Anestezi altına alınan deneklere perfüzyon uygulandı. Deneklerin perfüzyon aşamasında damarlardan vücut kanının uzaklaştırılması için kalbin sol ventriküline serum fizyolojik injekte edildikten sonra %10'luk nötral formalin ile tespit edildi. Sonra deneklerin testislerinden histolojik, biyokimyasal, immünohistokimyasal ve stereolojik analizler için doku örnekleri alındı. Perfüzyonun hemen sonrası testisler hiç bir hasar görmeden diseke edildiler. Sağ testisler %10'luk nötral formalin içerisine konuldu, ve iki hafta boyunca fiksasyon solüsyonunda bekletildi. Bu süreçte fiksasyon solüsyonu her gün değiştirildi. Sol testislerin 1/4'lük parçası diseke edildikten sonra sperm sağlık kontrolü için 2 ml serum fizyolojik içeren ependorflara yerleştirildi. Diğer parçalar ise biyokimyasal analizler için eksi 80 °C'lik derin dondurucuya konularak inceleme yapılacak güne kadar bekletildi.

3.2.4. Rutin Histolojik Doku Takip İşlemleri

Hücre ve dokuların mikroskopik analizi için cam lamlar üzerine çok ince ve yüksek kaliteli kesitlerin monte edilmesi ve yapıları göstermek için ise boyalar ile muamele edilmesi gereklidir. Sağ testis dokuları iki hafta boyunca tespit edildikten sonra, 24 saat akar suda yıkanarak formalin'in uzaklaştırılması sağlandı. Daha sonra

doku takip prosedürü uygulanarak kesit alınmasına uygun hale getirildi. Doku takip prosedürü dört aşamadan oluşmaktadır:

1. Dehidratasyon: Dokuya nüfuz eden bir dehidrant madde ile doku suyunun alınmasını ifade eden bir kavramdır. Dokudan suyun yavaş yavaş çıkarılması genelde %70 alkol ile başlatılır ve dereceli olarak atırılmasının ardından %100 alkol ile bitirilmesi ile gerçekleştirilir.

2. Şeffaflaştırma: Dokuyu infiltrasyon aşamasına hazırlanması için dehidrant (alkol) maddeyi ortadan kaldırmasını ifade eder. Bu aşama ksilen kullanılarak gerçekleştirilebilir.

3. Parafin infiltrasyonu: Dokudaki boşlukların doldurularak kalıcı sertliğin sağlanması ile parafin bloğa gömülecek hale getirilmesi için, parafinin dokuyu şeffaflaştıran ajan ile yer değişmesini ifade eder.

4. Bloklama: Dokular parafin ile bloklanarak kesit alma işlemleri için hazırlandı.

Doku Takibi Prosedürü: Bu işlemler aşağıda belirtildiği gibi yapılmıştır.

Dehidratasyon aşaması (alkol serileri)

1. %70'lik Alkol.....1 saat
2. %80'lik Alkol.....15 saat
3. %96'lık Alkol.....1 saat
4. %96'lık Alkol.....1 saat
5. %100'lük Alkol.....1 saat
6. %100'lük Alkol.....1 saat
7. Şeffaflaştırma aşaması (ksilen serileri)
8. Ksilen.....30 dk
9. Ksilen.....30 dk
10. Parafin infiltrasyon aşaması (parafin serileri)
11. Paraplast1 saat
12. Paraplast1 saat
13. Paraplast1,5 saat

Dokulardan kesitlerin alınabilmesi için paraplastlara gömüldüler.

3.2.5. Kesit Alımı

Çalışmamızın stratejisini belirlemek için bir blok üzerinde ön çalışma yapıldı. Bu stratejiye göre her bloklanmış doku başından sonuna kadar 20 µ kalınlığında transvers kesitler 1/7 sistematik rastgele örnekleme oranıyla rotary mikrotom (Leica RM2125RT) kullanılarak kesildiler. Aynı zamanda 1/49 oranında 8 mikronluk ince kesitler alındı. Örnek kesitlerin alınması esnasında dikkat edilmesi gereken husus, birinci kesitin rastgele alınması ondan sonra ise her 7'inci kesitin sistematik örnekleme ile kesitlerin dokunun bitimine kadar alınmasıdır (Gundersen ve Jensen, 1987; Con ve ark., 2003). Testis dokusu hassas bir doku olduğu için dokunun bütünlüğünü korumak amacıyla benmari suyu 30-35°C'ye kadar ısıtıldı. Kesitler alınmadan önce hazırlanmış benmari suyuna toz jelatin ilave ederek kesitlerin lamlar üzerinde yapışması sağlandı. Mikrotomda alınan kesitler içerisinde jelatinli su bulunduran benmariye alınarak açılması sağlandı. Kesitlerin alt yüzeyine temas eden sudaki jelatin sayesinde, kesitlerin lama kuvvetli bir biçimde yapışması sağlandı. Hazırlanan kesitler (ince ve kalın kesit) 60°C'lik sıcaklıktaki etüvde bir gece boyunca bekletilerek dokudan parafinin uzaklaştırılması ve kesitlerin lama kuvvetli bir biçimde yapışmaları sağlandı. Her bloktan ortalama 20 tane elde edilen kesitler daha sonra hematoksilin-eozin boyama yöntemi ile boyandılar.

3.2.6. Hematoksilin-Eozin Boyama Prosedürü

Hematoksilin-eozin boyaması aşağıdaki protokole göre yapıldı. Yapılan her boyama aşamasının set değişiminde 30 saniye kesitleri dışarıda bekleterek hücre dökülmelerini kurtarmak için kurumaları sağlandı.

1. Ksilen.....10 dk
2. Ksilen.....10 dk
3. Ksilen.....10 dk
4. %100'lük Alkol.....5 dk
5. %96'lık Alkol.....5 dk
6. %80'lik Alkol.....5 dk
7. %70'lik Alkol.....5 dk
8. Akarsuda yıkama.....5 dk
9. Hematoksilin.....2-5 dk
(ince kesitler 5dk ve kalın kesitler 2dk bekletildi)

10. Akarsuda yıkama.....	5 dk
11. Asit-Alkol.....	2 sn
12. Akarsuda yıkama.....	5 dk
13. %80'lik Alkol.....	1 sn
14. Eozin.....	1 sn
15. %80'lik Alkol.....	2 sn
16. %96'lık Alkol.....	2 sn
17. %96'lık Alkol.....	2 sn
18. %100'lük Alkol.....	15 sn
19. Havada kurutma.....	..5-6 dk
20. Ksilen.....	15 dk
21. Ksilen.....	30 dk

3.2.7. Sperm Çalışmaları

1. Epididim Diseksiyonu: Sağ epididimis kuyruğunun son kısımları elde edikten sonra 0.5 cc fosfat taponu (pH: 7,4) içeren petri kabına konularak insülin enjektörü ile diseke edildi. Bu işlem yapıldıktan sonra elde edilen sıvı mikropipet vasıtasıyla falkon tüplere alındı. Bu tüpler vorteks makinasına konularak 1200 devirde bir dakika boyunca santrifüj edilerek spermilerin supernatant (üst yüzey) kısmına çıkmaları sağlandı. Supernatant kısmında toplanmış olan spermier mikropipet ile alınarak bir damla preparat üzerine konularak diğer bir preparat yardım ile sperm yayılması yapıldı. Lamlar oda sıcaklığında kurutularak hematoksilen-eozin boyama işlemleriyle takip edildi.

2. Sperm Boyama: Spermier ihtiva eden lamlar aşağıdaki protokole göre hematoksilen-eozin boyandı.

1. %95 Alkol.....	30 dk
2. %70 Alkol.....	5 dk
3. %50 Alkol.....	5 dk
4. Distile su.....	4 dk
5. Hematoksilen.....	6 dk
6. Çeşme suyu.....	5 dk
7. Eozin.....	1 sn
8. %70 Alkol.....	5 sn

9. %96 Alkol.....5 sn
10. %100'lük Alkol.....20 sn
(havada kurutularak ksilene alındı)
11. Ksilene.....1 dk

Her bir hayvandan 200 tane sperm morfolojik olarak Kruger Strict kriterlerine göre analiz edildi (Kruger ve ark., 1986).

3.2.8. Elektromanyetik Alan Radyasyon Sistemi

Bir önceki araştırmaya göre, EMA maruz kalma prosedürü özel cihaz tarafından gerçekleştirildi (Odaci ve ark., 2008). Bu cihaz bir yuvarlak plastik kafes, elektromanyetik dalgaları yayan monopol anten ve yoğunluk gücünü ölçmek için bir EMA metreden (Holaday Sanayi A.Ş., Adapazarı, Türkiye) oluşmaktadır (Koyu ve ark., 2005). Elektromanyetik dalgaların üretimi için bir jeneratör (pik spesifik absorpsiyon oranı [SAR] 2 W/kg ve ortalama güç yoğunluğu $1\pm 0,4$ mW/cm²dir) kullanıldı (Ozguner ve ark., 2005).

- **Elektromanyetik Alana Maruz Kalma İşlemleri:** EMA maruziyetini gerçekleştirmek için, eşit EMA dağılımından emin olmak için pozlama sisteminin monopol anteni plastik kafesin merkezinde dik olarak yerleştirildi. Bir cm çapında bir hava deliği plastik kafesde hayvanların stresini hafifletmek için icat edildi (Bilgici ve ark., 2013). Sıçanlar, 1 cm'lik bir mesafede başları anten yönünde olduğu şekilde birbirine komşu olarak düzenlendi. Sıçanlar deney süresince 900 MHz'lik EMA'ya 12:00-13:00 saatler arası 60 dk/gün maruz bırakıldı. EMA maruziyeti sırasında sinyal jeneratörünün gücü iki watt olarak belirlendi. Monopol anten kaynaklı EMA'nın güç yoğunluğu EMA probu ile bir saat boyunca her altı dakika (başlangıç kayıt 0.dakikada) ölçüldü (Tablo 2).

Tablo 2. EMA güç yoğunluğunun sonuçları (mV/m)

No	Saat	Baş bölgesine ait ölçüm sonuçları (mV/m)	Gövde bölgesine ait ölçüm sonuçları (mV/m)	Kuyruk bölgesine ait ölçüm sonuçları (mV/m)
1.	12:00	255,2	17,1	10,7
2.	12:06	228,1	12,4	9,1
3.	12:12	211,3	10,2	8,6
4.	12:18	182,4	13,1	8,9
5.	12:24	214,3	11,4	9,2
6.	12:30	198,2	12,7	9,3
7.	12:36	189,1	12,6	8,2
8.	12:42	218,5	11,9	10,1
9.	12:48	229,1	12,4	9,5
10.	12:54	238,3	13,6	9,9
11.	13:00	231,9	12,8	8,1

3.2.9. Mikroskop ve Görüntü Bilgileri

300 piksel çözünürlüğünde aynı zamanda JPEG formatındaki görüntüler bir araştırma mikroskobu (Carl Zeiss mikroskobu GmbH Konigsallee 9-21, Göttingen, Almanya) ve AxioCam ERC 5c kamera (Carl Zeiss mikroskobu GmbH Konigsallee 9-21, Göttingen, Almanya) ile alındı.

3.2.10. İmmünohistokimyasal Boyama

İmmünohistokimya, hücre veya doku antijenlerinin araştırılmasında kullanılmaktadır (Brandtzaeg, 1998). İmmünohistokimya, bilimsel araştırma için önemli bir araçtır ve ayrıca hematoksilen-eozin boyama yöntemi ile belirlenemeyen diferansiyel tanıların aydınlatılması için tamamlayıcı bir tekniktir ve boyama yoluyla görülebilen spesifik antikorların kullanılmasıyla doku bileşenlerini (antijenler) belirlemek için kullanılan çok sayıdaki yöntemi kapsamaktadır (Haines ve West, 2005). Dikarbonil/L-ksiluloz redüktaz (DCXR), kısa zincirli dehidrojenaz/redüktaz (SDR) süper ailesinin bir üyesidir. Ürolojide DCXR genellikle sperm yüzey proteini olan P34H olarak anılır ve NADPH-bağımlı glikoz metabolizmasının bir uronat döngüsünde yer alarak α -dikarbonil ve l-ksilülozu katalizler (Ebert ve ark., 2015). DCXR hücre membranında yer almaktadır ve muhtemelen fosfatidilinositol ile bir etkileşim yoluyla

fonksiyonunu gerçekleştirmektedir. Tavşan poliklonal DCXR antikoru, sperm yüzey proteini P34H ile reaksiyona girmektedir. Bu antikor DCXR etiketlemek amacıyla immünohistokimyasal ve immünohistokimyasal teknikler de kullanılmaktadır.

Çalışmamızda, spermatozoa hücre zarında DCXR bulunan bölgelerin immünohistokimyasal yöntemle boyanması planlanmıştır. Bu amaçla, parafin bloklardan elde edilen 7µm kalınlığındaki kesitlerde, anti-DCXR antikoru primer antikor olarak kullanılmış olup işaretlenmiş olan sekonder antikor “primer antikor-antijen” kompleksine bağlanmıştır. Antikor-antijen kompleksi kromojen solusyonu eklenerek boyanmıştır. Bununla birlikte ters boyamalar için Mayer hematoksilen boyası kullanılmıştır.

- Anti-DCXR Antikoru Boyama İşlemleri

1. Ksilen..... 2 x 30 dk
 2. %96 Alkol..... 2 dk
 3. %80 Alkol..... 2 dk
 4. %70 Alkol..... 2 dk
 5. %60 Alkol..... 2 dk
 6. Distile su ile yıkama.....2 dk
 7. PBS (yıkama)..... 3 x 5 dk
 8. %3 H₂O₂..... 5 dk
- Endojen peroksidazları bloke etmesi için %3 H₂O₂ uygulandı.
9. PBS (yıkama)..... 3 x 5 dk
 10. Süper blok.....5 dk
- Spesifik olmayan immünreaktiviteyi elimine etmek için süper blok (ScyTek Laboratories) uygulandı.
11. Anti-DCXR antikoru..... ..2 saat
- 37 °C’de nemli ortamda primer antikor bağlanması sağlandı.
12. Fosfat tomponu.....3x5 dk
 13. Biotinli sekonder antikor (ScyTek Laboratories).....30 dk
 14. Fosfat tomponu.....3x5 dk
 15. Streptavidin Peroksidaz..... 15 dk
 16. Fosfat tomponu.....4 sn
 17. AEC Kromojen (İnvitrogen)30-50 dk

kırmızı renk sağlanana kadar inkübe edildi.

19. Fosfat tompo.....3x5 dk
- 19.Mayer hematoksileni.....2 dk
20. Distile su ile yıkama.....10 sn
21. %80 Alkol.....2 dk
22. %90 Alkol.....2 dk
23. %100 Alkol.....2 dk
24. Ksilen.....1 dk
25. Ksilen.....1 dk

Tüm kesitler lameller ile kapatılarak incelenmeye hazır hale getirilmiştir.

3.2.11. Stereolojik Analizler

Tüm stereolojik analizler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında yapıldı (Şekil 8). Kalın kesitler üzerinde stereolojik metotlardan olan optik parçalama uygulayarak partikül sayımları etkin ve tarafsız bir şekilde elde edildi. Stereolojik analizleri yapmadan önce her bir deney için kullanılacak en iyi parametreleri belirlemek için pilot çalışma gerçekleştirildi. Bu çalışmada optik parçalama yöntemiyle spermatogonyum, primer spermatosit, spermatid, Sertoli ve Leydig hücreleri sayıldı. Testis hacmi hesaplamasında ise Cavalieri metodu kullanıldı.



Şekil 8. Stereolojik işlemlerin yapıldığı stereo investigator analiz sistemi

1. Optik Parçalama ile Hücre Sayısı Hesaplanması: Testislerde hücre tiplerine göre toplam hücre sayı hesaplamaları için optik parçalama kullanarak gerçekleştirildi (Hausdorf ve ark., 2008). Çalışmamızın örnekleme ve sayım stratejisi pilot çalışmaya dayanılarak belirlendi. Her grupta rastgele olarak alınan birinci kesitin ardından her ardışık 7'inci kesit sistematik alınarak seri kesitler oluşturuldu. Buna göre kesit örnekleme oranı (K.Ö.O) 1/7 olarak belirlendi. Her testisten yaklaşık 15-20 örnek kesit alınarak toplam hücre sayısı hesaplandı (Gundersen ve Jensen, 1987; West ve ark., 1991). Sayım çerçevesinin boyutu $1600 \mu\text{m}^2$, adım aralığı $640\ 000 \mu\text{m}^2$ ve alan örnekleme oranı (A.Ö.O) $1600 \mu\text{m}^2/640\ 000 \mu\text{m}^2$ olarak belirlendi. Kesitler $20 \mu\text{m}$ kalınlıkta alınmıştır. 't' simgesi ortalama kesit kalınlığını temsil edererek disektör yükseklik/t bir kalınlık örnekleme oranı (Ka.Ö.O) kullanıldı.

Çekirdeğin geniş profili optik disektör hacminin sayılabilir pozisyonda olduğunda yani odaklandığında bu hücreler sayıldı. Her hücrenin toplam sayı

değerlendirmesi, sayılan hücrelerin adedi ve örnekleme olasılığı ile hesaplandı (Gundersen, 1986). Her bir hücrenin total sayısı aşağıdaki formülle hesaplandı:

$$N = \sum Q \cdot \frac{1}{K\ddot{O}O} \cdot \frac{1}{A\ddot{O}O} \cdot \frac{1}{Ka.\ddot{O}.O}$$

‘N’, toplam hücre sayısı, ‘ $\sum Q$ ’ toplam disektor hücre sayısı, ‘K.Ö.O’ kesit örnekleme oranı, ‘A.Ö.O’ alan örnekleme oranı ve ‘Ka.Ö.O’ kalınlık örnekleme oranı’dır.

Her birey ve her bir grupta toplam hücre sayısının yeterli olduğuna karar verilmesi için sırasıyla hata katsayı (CE) ve değişim katsayı (CV) değerlerinin hesaplanması yapıldı (Gundersen ve Jensen, 1987; Tunç ve ark., 2007). Testis örnekleme programının hata katsayısı (CE) bir pilot çalışma ile doğrulandı (CE \leq %10 olmalı). CV değerinin hesaplanmasıyla her gruptaki denek sayısının yeterli olup olmadığı hesaplandı.

2. Cavalieri Metodu (Testis Hacmi Hesaplanması): Ardışık testis kesitleri hacim hesaplanması için kullanıldı. Cavalieri prensibi aynı stereoloji program (workstation) ile testis hacmini hesaplamak için kullanıldı. Bir noktalı alan ölçüm cetveli (d = 50 μ m) kullanıldı. Kesit üzerine isabet eden her bir noktanın temsil ettiği alan 2500 μ m²’dir. Örneklenmiş testis kesitleri üzerinde sistematik rastgele bir şekildenoktalı alan ölçüm cetveli uygulandıktan sonra, ilgili yapının alanı isabet eden nokta sayılarından elde edildi. Bu nokta sayımları aşağıdaki formüle göre ilgilenilen yapıların hesaplanması için kullanıldı:

$$A = \sum p \times [a(p)]$$

$\sum P$ toplam nokta sayılarını, ve $a(p)$ ise kesit üzerinde isabet eden noktalı alan ölçüm cetvelinde tek bir nokta alanını belirtmektedir.

$$\sum V = \sum A \times t$$

$$V = t \times a/p \times \sum P$$

$\sum A$ toplam kesit alanı, ve “t” kesit kalınlığını ifade eder.

3.2.12. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS bilgisayar programı (Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi, sürüm 13.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak yapıldı. Gruplara ait verilerin normallik ve homojenlik testleri yapıldıktan sonra One-Way ANOVA ve

Bonferroni post hoc test grupları karşılaştırmak için uygulandı. Sonuçlar ortalama \pm SEM olarak ifade edilmiştir. P değerinin istatistiksel 0.05'ten düşük olarak anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

Ergenlik döneminde erkek sıçanların testisleri üzerinde EMA maruziyeti ve buna karşı Tim ve Lut antioksidant etkilerinin araştırılması amacı ile yapılan bu çalışmada, Kontrol grubu, 900 MHz'lik EMA'ya 28 gün boyunca her gün bir saat süre ile maruz kalan EMA grubu, maruziyetin yanı sıra antioksidan injekte edilen gruplar (Lut+EMA ve Tim+EMA) ve EMA'ya maruz bırakılmayan gruplardaki (Tim, Lut) testislerde bulunan spermatogonyum, primer spermatosit, spermatid, Sertoli ve Leydig hücrelerine ait hesaplamalar streolojik yöntemler ile yapılmış ve testis dokusunun histopatoloji, ağırlık, immünohistokimyasal, biyokimyasal özellikleri analiz edilmiştir.

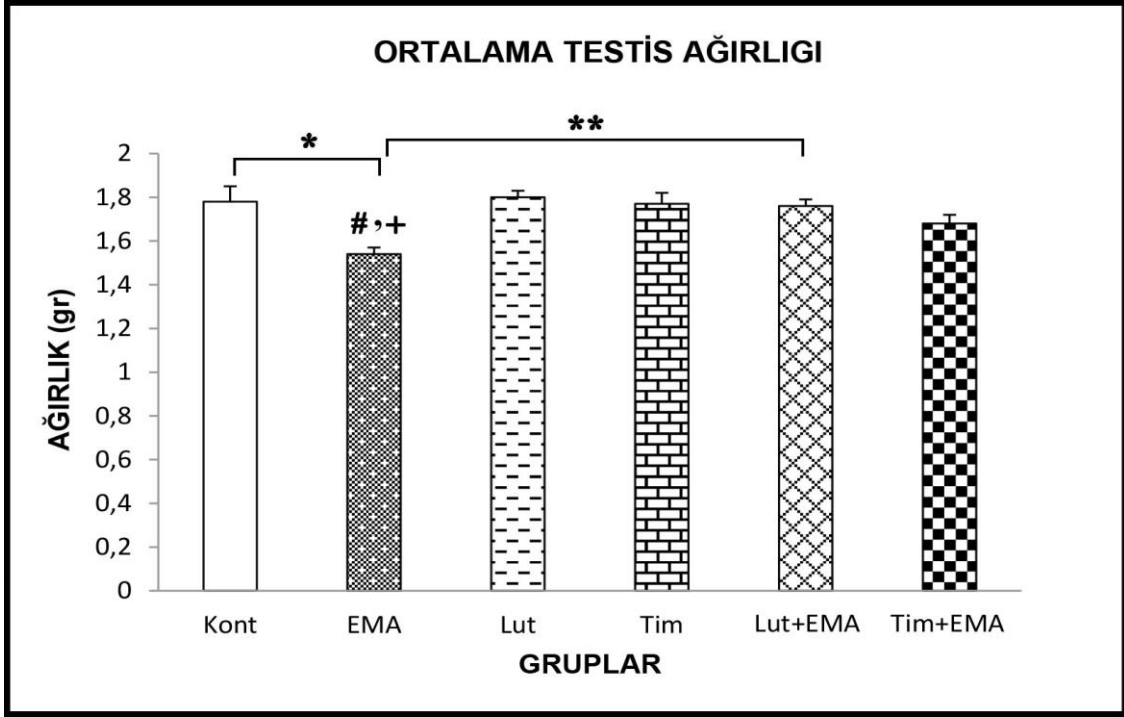
4.1. Testis Yaş Ağırlıkları

Kontrol ve deney gruplarına ait deneklerin testis yaş ağırlıkları aşağıdaki Tablo 3 ve Şekil 9'da görülmektedir.

Dördüncü haftanın sonunda diseksiyon işlemi sonrası tüm gruplarda bulunan deneklere ait testis dokularının ağırlıkları ölçüldü. Testis ağırlıkları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, kontrol ile EMA grubu arasında anlamlı fark olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). Kontrol ile Lut, kontrol ile Lut+EMA, Kontrol ile Tim ve Kontrol ile Tim+EMA grupları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). EMA ile Lut grupları arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p<0.01$). EMA ile Lut+EMA, EMA ile Tim grupları arasında ise anlamlı fark gözlemlendi ($p<0.05$).

Tablo 3. Tüm gruplara ait testis ağırlık değerleri (Ortalama \pm SEM)

Gruplar	Testis Ağırlık Değerleri (gr)	CV Değerleri
Kont	1,78 \pm 0,07	0,08
EMA	1,54 \pm 0,03	0,05
Lut	1,8 \pm 0,03	0,05
Tim	1,77 \pm 0,05	0,07
Lut+EMA	1,76 \pm 0,03	0,04
Tim+EMA	1,68 \pm 0,04	0,06



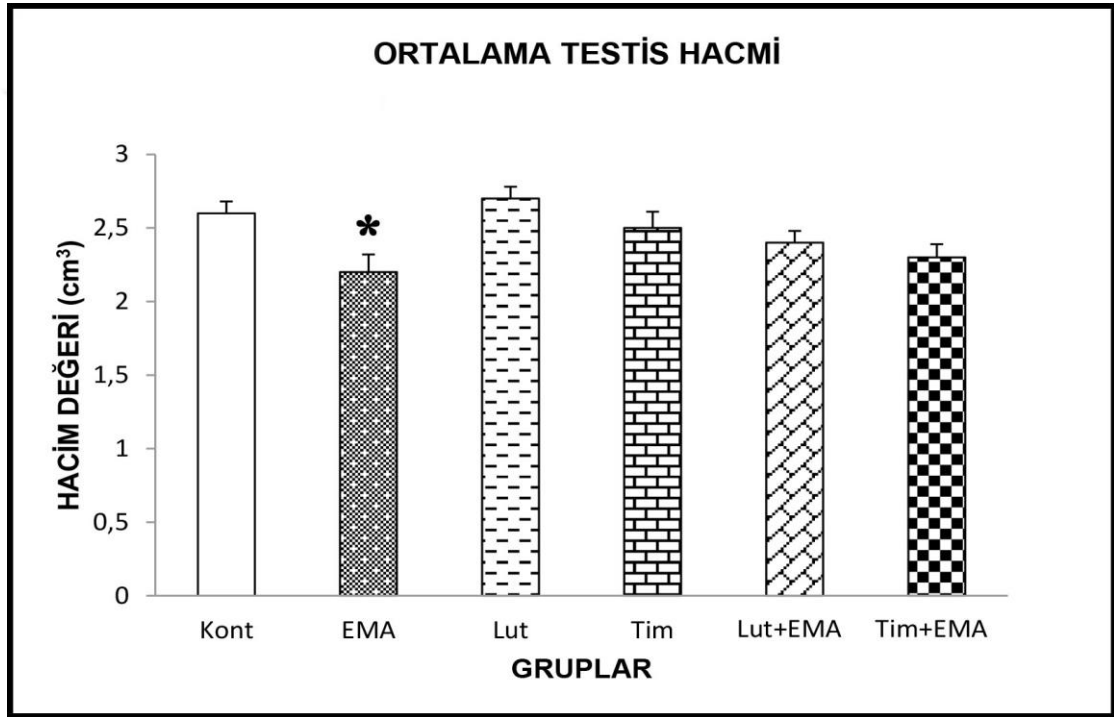
Şekil 9. Kontrol ve deney hayvanlarına ait testis ağırlık değerlerinin grafiği.*; Kont ve EMA grupları arasındaki anlamlı fark ($p<0.05$), **; EMA ve Lut+EMA grupları arasındaki anlamlı fark ($p<0.05$), #; EMA ve Lut grupları arasındaki anlamlı fark ($p<0.01$), +; EMA ve Tim grupları arasındaki anlamlı farkı ($p<0.05$) göstermektedir

4.2. Ortalama Testis Hacmi

Ortalama testis hacim incelendiğinde; Tim+EMA grubu hacminin kontrol grubuna göre azalmış olduğu gözlemlenirken, istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı tespit edilmedi ($p>0.05$). Aynı şekilde kontrol ile EMA, kontrol ile Lut, kontrol ile Lut+EMA ve kontrol ile Tim grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). Lut ile Tim+EMA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlendi ($p<0.05$).

Tablo 4. Tüm gruplara ait ortalama testis hacim değerleri (Ortalama \pm SEM, cm³)

Gruplar	Ortalama Testis Hacimleri	CV Değerleri
Kont	2,6 \pm 0,08	0,06
EMA	2,2 \pm 0,12	0,14
Lut	2,7 \pm 0,08	0,08
Tim	2,5 \pm 0,11	0,1
Lut+EMA	2,4 \pm 0,07	0,08
Tim+EMA	2,3 \pm 0,09	0,08



Şekil 10. Kontrol ve deney hayvanlarına ait ortalama testis hacim değerlerinin grafiği. *; EMA ve Lut grupları arasındaki anlamlı farkı (p<0.05) göstermektedir

4.3. Biyokimyasal Analiz Bulguları

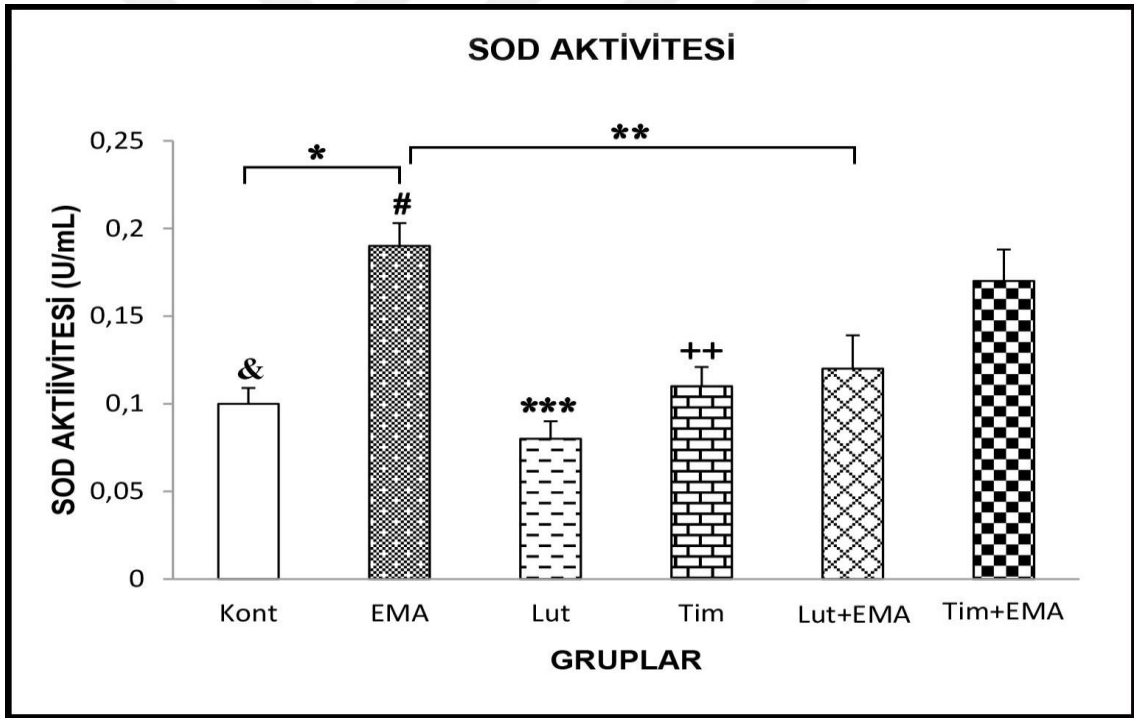
4.3.1. SOD Enzim Aktivitesi

Tüm gruplara ait deneklerin biyokimyasal analizler ile ilgili serumda SOD enzim aktivitesi ölçüldü (Tablo 5, Şekil 11). SOD aktivitesi bakımından istatistiksel olarak, kontrol ile EMA grupları arasında ileri derecede anlamlı fark gözlemlenirken (p<0.01) kontrol ile Tim+EMA grupları arasında da fark anlamlıydı (p<0.05). EMA ile Lut, EMA ile Lut+EMA ve EMA ile Tim grupları arasında ileri derecede anlamlı fark

gözlemlendi ($p < 0.01$). Lut ile Tim+EMA grupları arasında ($p < 0.01$) ayrıca Tim ile Tim+EMA grupları arasında ($p < 0.05$) istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı fark vardı.

Tablo 5. Tüm gruplara ait SOD enzim aktivite değerleri (Ortalama \pm SEM)

Gruplar	SOD (U/ml)	CV Değerleri
Kont	0,1 \pm 0,01	0,12
EMA	0,19 \pm 0,01	0,1
Lut	0,08 \pm 0,01	0,08
Tim	0,11 \pm 0,01	0,07
Lut+EMA	0,12 \pm 0,02	0,13
Tim+EMA	0,17 \pm 0,02	0,09



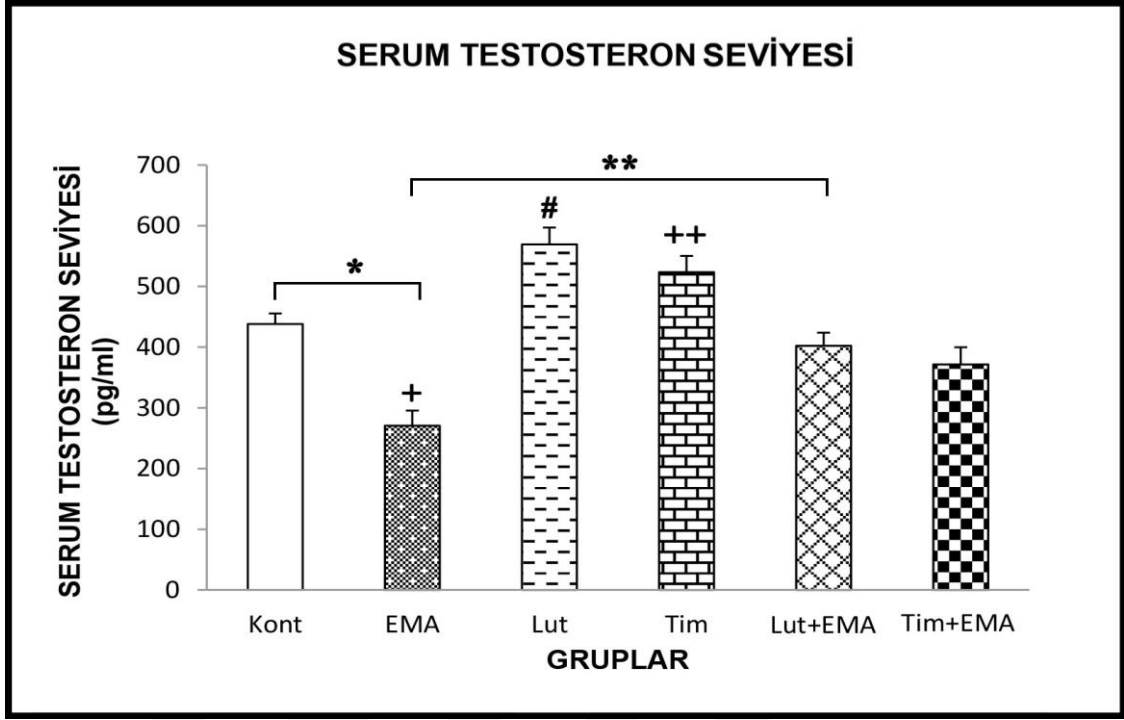
Şekil 11. Kontrol ve deney hayvanlarına ait ortalama SOD aktivite değerlerinin grafiği. *; Kont ve EMA grupları arasındaki ileri derecede anlamlı fark ($p < 0.01$), &; Kont ve Tim+EMA grupları arasındaki anlamlı fark ($p < 0.05$), **; EMA ve Lut+EMA grupları arasındaki ileri derecede anlamlı fark ($p < 0.01$), #; EMA ve Lut, Tim grupları arasındaki ileri derecede anlamlı fark ($p < 0.01$), ***; Lut ve Tim+EMA grupları arasındaki ileri derecede anlamlı fark ($p < 0.01$), ++; Tim ve Tim+EMA grupları arasında anlamlı farkı ($p < 0.05$) göstermektedir

4.3.2. Serum Testosteron Analizi

Tüm gruplara ait deneklerin biyokimyasal analizler ile ilgili serumda testosteron seviyesi ölçüldü (Tablo 6, Şekil 12). Serum testosteron düzeyleri istatistiksel olarak, kontrol ile EMA grupları arasında ileri derecede anlamlı fark gözlemlendi ($p<0.01$). EMA ile Lut, EMA ile Tim ($p<0.01$), EMA ile Lut+EMA ($p<0.05$) grupları arasında anlamlı fark bulundu. Lut ile Lut+EMA ve Lut ile Tim+EMA grupları arasında ileri derece anlamlı fark saptandı ($p<0.01$). Lut+EMA ile Tim grupları arasında ayrıca Tim ile Tim+EMA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$).

Tablo 6. Tüm gruplara ait serum testosteron değerleri (Ortalama \pm SEM)

Gruplar	Serum Testosteron Değerleri	CV Değerleri
Kont	438 \pm 17	0,1
EMA	271 \pm 25	0,15
Lut	569 \pm 28	0,12
Tim	523 \pm 27	0,13
Lut+EMA	402 \pm 22	0,13
Tim+EMA	371 \pm 26	0,15



Şekil 12. Kontrol ve deney hayvanlarına ait ortalama serum testosteron değerlerinin grafiği. *; Kont ve EMA grupları arasındaki ileri derecede anlamlı fark ($p < 0.01$), +; EMA ile Lut, Tim grupları arasında ileri derecede anlamlı fark ($p < 0.01$), **; EMA ve Lut+EMA grupları arasında anlamlı fark ($p < 0.05$), #; Lut ile Lut+EMA, Tim+EMA grupları arasında ileri derecede anlamlı fark ($p < 0.01$), ++; Tim ile Tim+EMA, Lut+EMA grupları arasında anlamlı farkı ($p < 0.05$) göstermektedir

4.4. Sterolojik Analiz Bulguları

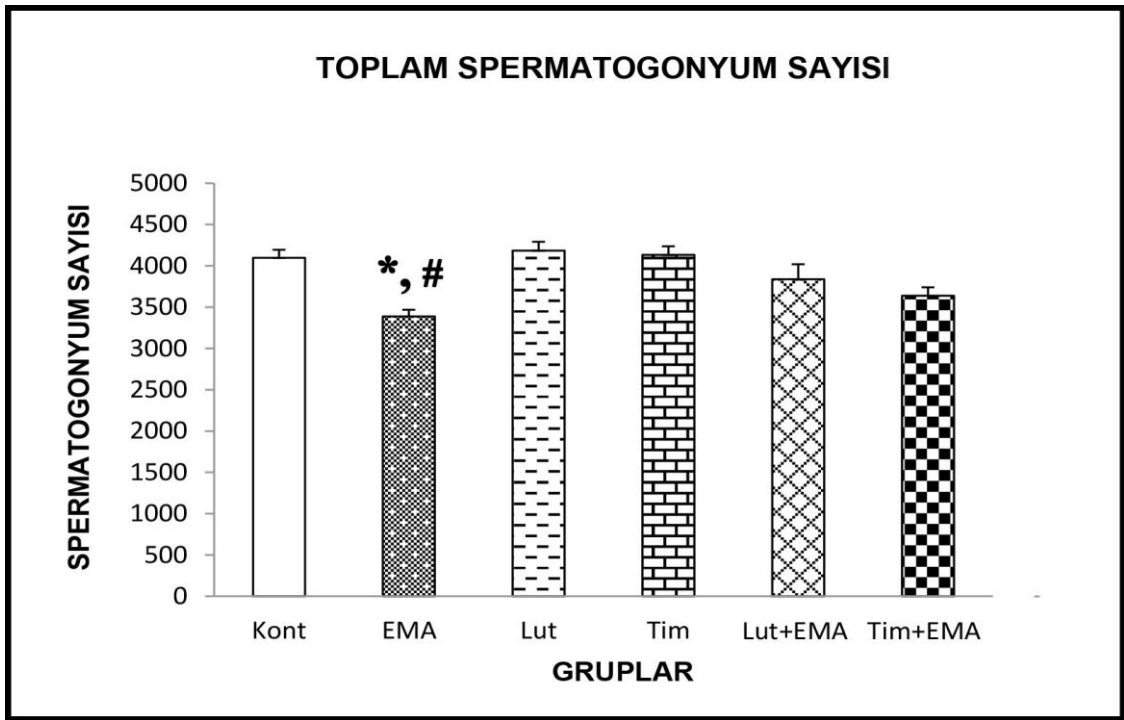
4.4.1. Spermatojonyum Hücre Sayısı

Kontrol ve deney gruplarına ait denklemin toplam spermatojonyum hücre sayılarına ait verileri Tablo 7 ve Şekil 13’de görülmektedir.

Spermatojonyum hücre sayısı istatistiksel olarak incelendiğinde, kontrol ile EMA, kontrol ile Lut, kontrol ile Lut+EMA, kontrol ile Tim ve kontrol ile Tim+EMA grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). EMA ile Lut ve EMA ile Tim grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p < 0.05$) gözlenirken EMA ile Lut+EMA ve EMA ile Tim+EMA grupları arasında anlamlı fark ($p > 0.05$) saptanmadı. Lut ile Tim grupları arasında istatistiksel anlamlı fark gözlemlenmedi ($p > 0.05$). Tim ile Tim+EMA, Tim ile Lut+EMA, Tim+EMA ve Lut+EMA ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenmedi ($p > 0.05$).

Tablo 7. Tüm gruplara ait toplam spermatogonyum hücre sayısı ($\times 10^4$) değerleri (Ortalama \pm SEM)

Gruplar	Toplam Spermatogonyum Sayısı	CV Değerleri
Kont	4097 \pm 97	0,05
EMA	3387 \pm 81	0,06
Lut	4184 \pm 08	0,06
Tim	4132 \pm 05	0,06
Lut+EMA	3837 \pm 82	0,12
Tim+EMA	3638 \pm 03	0,06



Şekil 13. Tüm gruplara ait toplam spermatogonyum hücre sayılarının grafiği.*; EMA ve Lut grupları arasındaki anlamlı fark ($p < 0.05$), #; EMA ve Tim grupları arasındaki anlamlı farkı ($p < 0.05$) göstermektedir

4.4.2. Primer Spermatozoid Hücre Sayısı

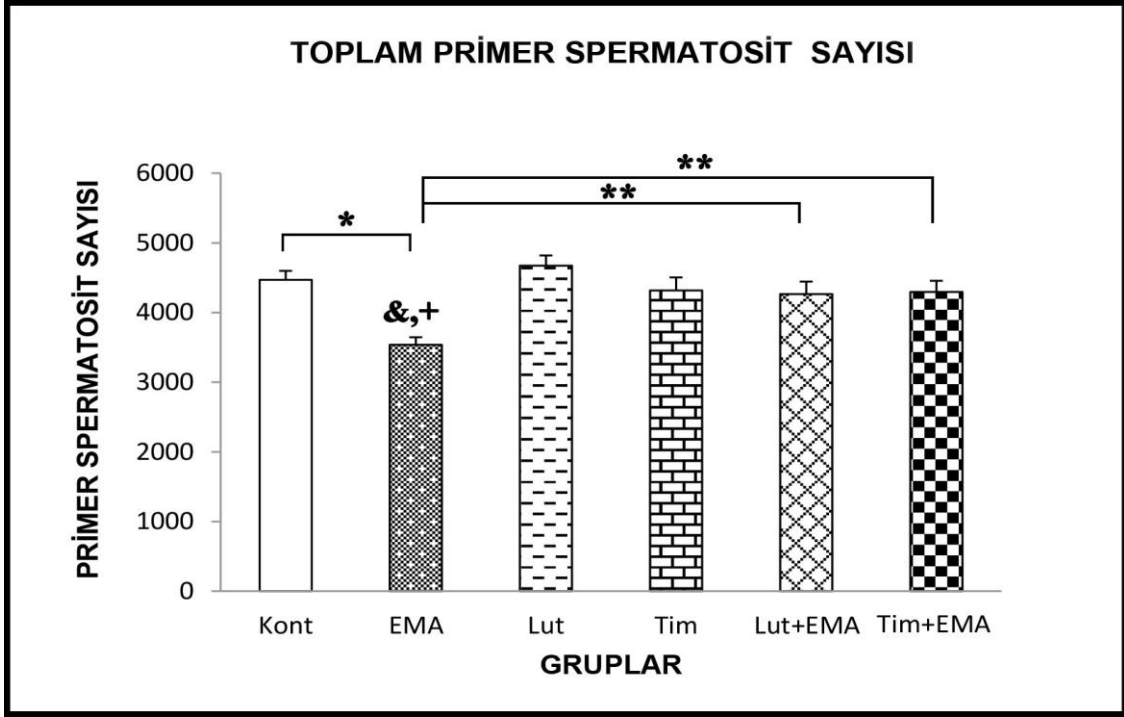
Kontrol ve deney gruplarına ait deneklerin toplam primer spermatozoid hücre sayıları Tablo 8 ve Şekil 14’de görülmektedir.

Primer spermatozoid hücre sayısı istatistiksel olarak incelendiğinde, kontrol ile EMA grupları arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p < 0.01$). Ayrıca kontrol ile Lut, kontrol ile Lut+EMA, kontrol ile Tim ve kontrol ile Tim+EMA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$). EMA ile Lut grupları arasında ileri

derecede anlamlı fark gözlemlendi ($p < 0.01$). EMA ile Lut+EMA, EMA ile Tim grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0.05$). Lut ile Lut+EMA, Lut ile Tim ve Lut ile Tim+EMA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0.05$). Lut+EMA ile Tim ve Lut+EMA ile Tim+EMA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$). Aynı şekilde Tim ile Tim+EMA grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p > 0.05$).

Tablo 8. Tüm gruplara ait toplam primer spermatozit hücre sayısı ($\times 10^4$) değerleri (Ortalama \pm SEM)

Gruplar	Toplam Primer Spermatozit Sayıları	CV Değerleri
Kont	4470 \pm 129	0,06
EMA	3537 \pm 109	0,08
Lut	4673 \pm 146	0,08
Tim	4317 \pm 188	0,11
Lut+EMA	4265 \pm 180	0,1
Tim+EMA	4296 \pm 161	0,08



Şekil 14. Tüm gruplara ait toplam primer spermatozoid hücre sayılarının grafiği.*; Kont ve EMA grupları arasında ileri derecede anlamlı fark ($p<0.01$), &; EMA ve Lut grupları arasında ileri derecede anlamlı fark ($p<0.01$), +; EMA ve Tim grupları arasında anlamlı fark ($p<0.05$), **; EMA ile Lut+EMA, Tim+EMA grupları arasında anlamlı farkı ($p<0.05$) göstermektedir

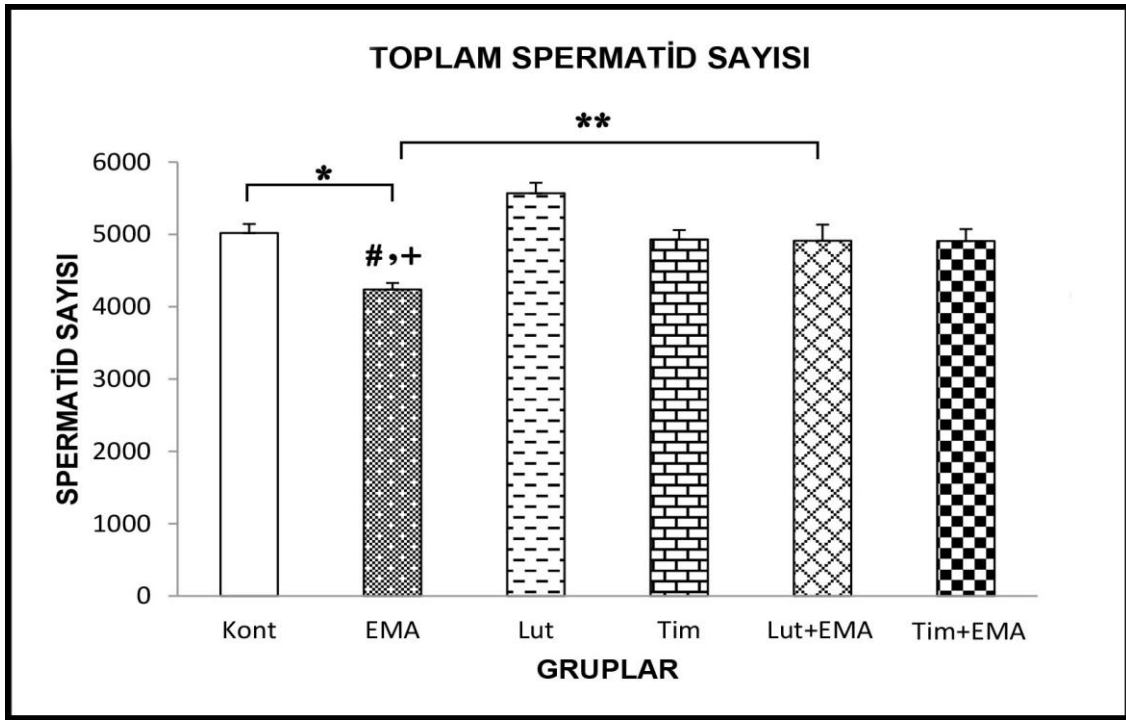
4.4.3. Spermatozoid Hücre Sayısı

Kontrol ve deney gruplarına ait deneklerin toplam spermatozoid hücre sayılarına ait veriler Tablo 9 ve Şekil 15’de görülmektedir.

Spermatozoid hücre sayısının istatistiksel olarak incelenmesinde, kontrol ile EMA grupları arasında anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Kontrol ile Lut, kontrol ile Tim+EMA, kontrol ile Tim ve kontrol ile Tim+EMA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenmedi ($p>0.05$). EMA ile Lut grupları arasında ileri derecede anlamlı fark gözlemlendi ($p<0.01$). EMA ile Lut+EMA ve EMA ile Tim grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$).

Tablo 9. Tüm gruplara ait toplam spermatid hücre sayısı ($\times 10^4$) değerleri (Ortalama \pm SEM)

Gruplar	Toplam Spermatid Sayıları	CV Değerleri
Kont	5019 \pm 125	0,06
EMA	4238 \pm 91	0,05
Lut	5569 \pm 144	0,06
Tim	4931 \pm 131	0,07
Lut+EMA	4912 \pm 223	0,11
Tim+EMA	4908 \pm 165	0,08



Şekil 15. Tüm gruplara ait toplam spermatid hücre sayılarının grafiği.*; Kont ve EMA grupları arasında anlamlı fark ($p < 0.05$), #; EMA ve Lut grupları arasında ileri derecede anlamlı fark ($p < 0.01$), +; EMA ve Tim grupları arasında anlamlı fark ($p < 0.05$), **; EMA ve Lut+EMA grupları arasında anlamlı farkı ($p < 0.05$) göstermektedir

4.4.4. Sertoli Hücre Sayısı

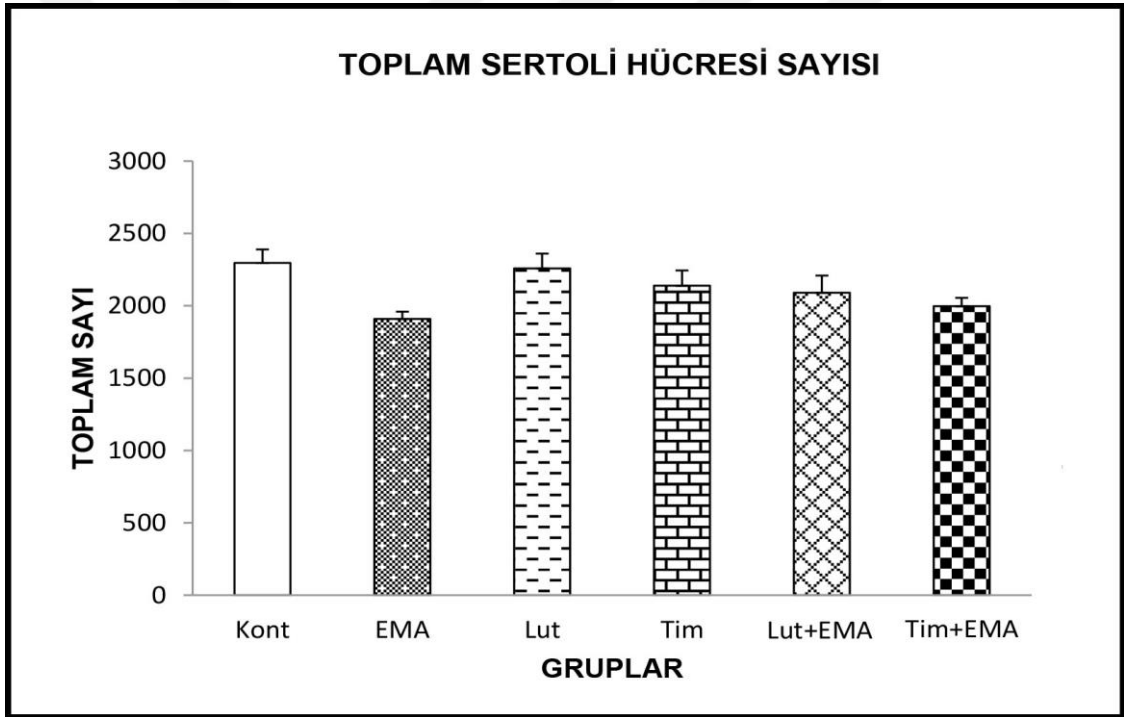
Kontrol ve deney gruplarına ait denklemin toplam Sertoli hücre sayılarına ait veriler Tablo 10 ve şekil 16’de görülmektedir.

Sertoli hücre sayısının istatistiksel olarak incelenmesinde, EMA grubundaki hücre sayısının kontrol grubuna göre azalmış olduğu görülürken, istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı ($p > 0.05$), ayrıca, kontrol ile Lut, kontrol ile

EMA+ Lut, kontrol ile Tim ve kontrol ile Tim+EMA grupları arasında da anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0.05$).

Tablo 10. Tüm gruplara ait toplam Sertoli hücre sayı ($\times 10^4$) değerleri (Ortalama \pm SEM)

Gruplar	Toplam Sertoli Sayıları	CV Değerleri
Kont	2296 \pm 93	0,09
EMA	1909 \pm 50	0,06
Lut	2258 \pm 103	0,11
Tim	2136 \pm 105	0,12
Lut+EMA	2090 \pm 119	0,13
Tim+EMA	1997 \pm 58	0,07



Şekil 16. Tüm gruplara ait toplam Sertoli hücre sayılarının grafiği

4.4.5. Leydig Hücre Sayısı

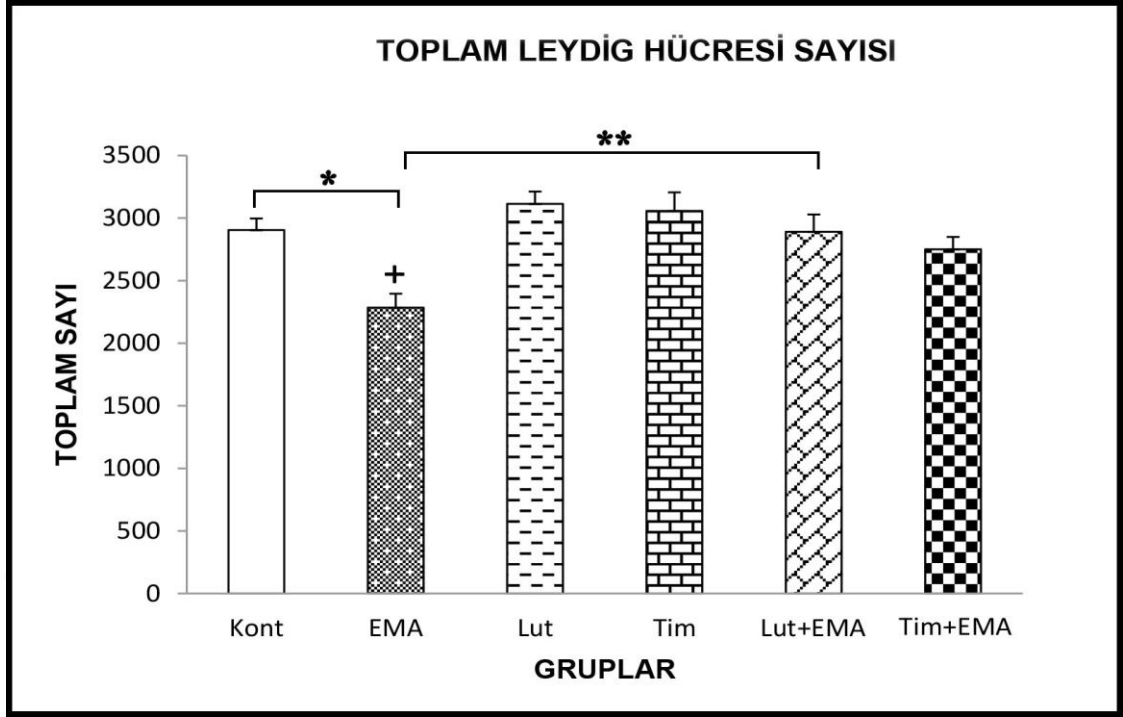
Kontrol ve deney gruplarına ait denklemin toplam Leydig hücre sayıları Tablo 11 ve Şekil 17'de görülmektedir.

Leydig hücre sayısının istatistiksel olarak incelenmesinde, kontrol ile EMA grupları arasında anlamlı fark gözlemlendi ($p<0.05$). Kontrol ile Lut, kontrol ile Lut+EMA, kontrol ile Tim ve kontrol ile Tim+EMA grupları arasında anlamlı bir fark

bulunamadı ($p>0.05$). EMA ile Lut, EMA ile Tim grupları arasında ise istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı fark olduğu gözlemlendi ($p<0.01$). Aynı şekilde EMA ile Lut+EMA grupları arasında da anlamlı fark gözlemlendi ($p<0.05$). EMA ile Tim+EMA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$). Aynı şekilde Lut ile Lut+EMA, Lut ile Tim ve Lut ile Tim+EMA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$). Lut+EMA ile Tim ve Lut+EMA ile Tim+EMA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Tim ile Tim+EMA grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$).

Tablo 11. Tüm gruplara ait toplam Leydig hücre sayısı ($\times 10^4$) değerleri (Ortalama \pm SEM)

Gruplar	Toplam Leydig Sayıları	CV Değerleri
Kont	2904 \pm 93	0,09
EMA	2284 \pm 113	0,06
Lut	3113 \pm 99	0,11
Tim	3057 \pm 148	0,12
Lut+EMA	2890 \pm 138	0,13
Tim+EMA	2750 \pm 99	0,07



Şekil 17. Tüm gruplara ait toplam Leydig hücre sayılarının grafiği.*; Kont ve EMA grupları arasındaki anlamlı fark ($p<0.05$), +; EMA ve Lut, Tim grupları arasındaki ileri derecede anlamlı fark ($p<0.01$), **; EMA ve Lut+EMA grupları arasındaki ileri derecede anlamlı farkı ($p<0.05$) göstermektedir

4.5. Sperm Morfolojik Analiz Bulguları

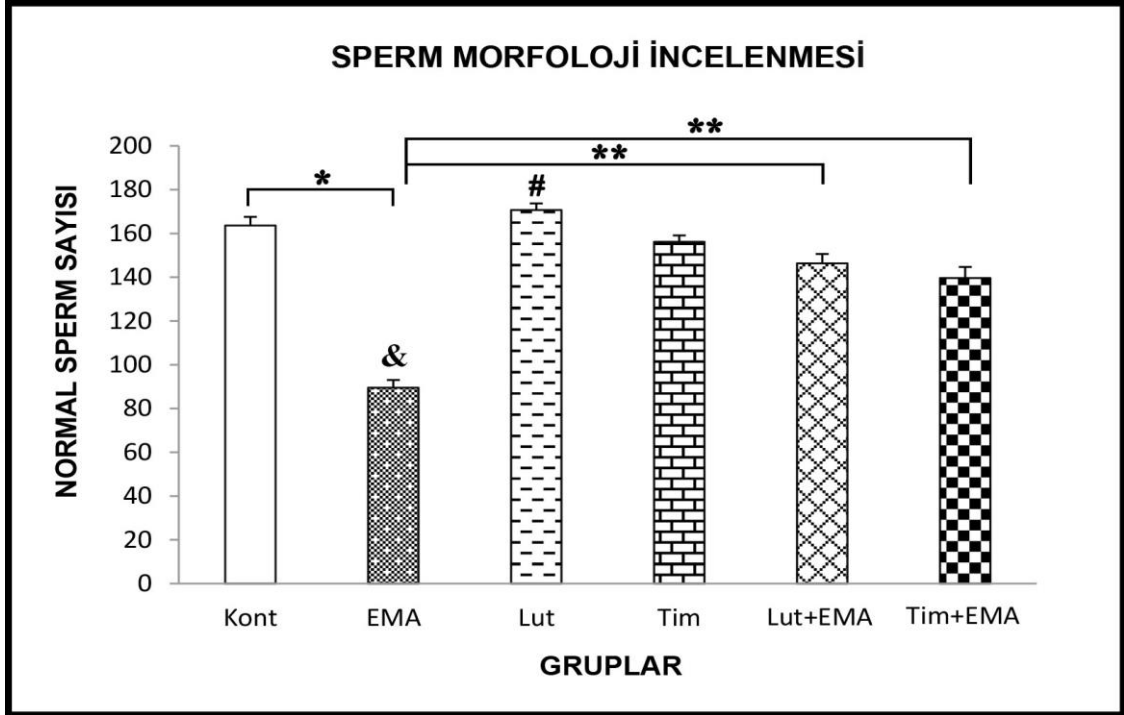
Semen yayma preparatlarından elde edilen sperm morfoloji analizleri Tablo 12 ve Şekil 18-21'de izlenmektedir.

Tablo 12. Tüm gruplara ait sperm morfoloji değerleri (Ortalama ± SEM)

Gruplar	Normal	Baş Anomali	Boyun Anomali	Kuyruk Anomali
Kont	163,6 ± 4,0	2,2 ± 0,3	5,0 ± 0,6	29,2 ± 3,6
EMA	89,5 ± 3,5	5,8 ± 0,9	10,7 ± 1,2	94,0 ± 3,5
Lut	170,7 ± 3,0	4,0 ± 0,8	3,3 ± 0,9	22,0 ± 2,8
Tim	156,2 ± 2,9	4,7 ± 0,9	7,5 ± 1,1	31,7 ± 2,1
Lut+EMA	146,3 ± 4,3	5,8 ± 0,6	8,5 ± 1,4	39,3 ± 4,0
Tim+EMA	139,6 ± 5,1	5,6 ± 1,3	8,6 ± 1,8	46,2 ± 2,7

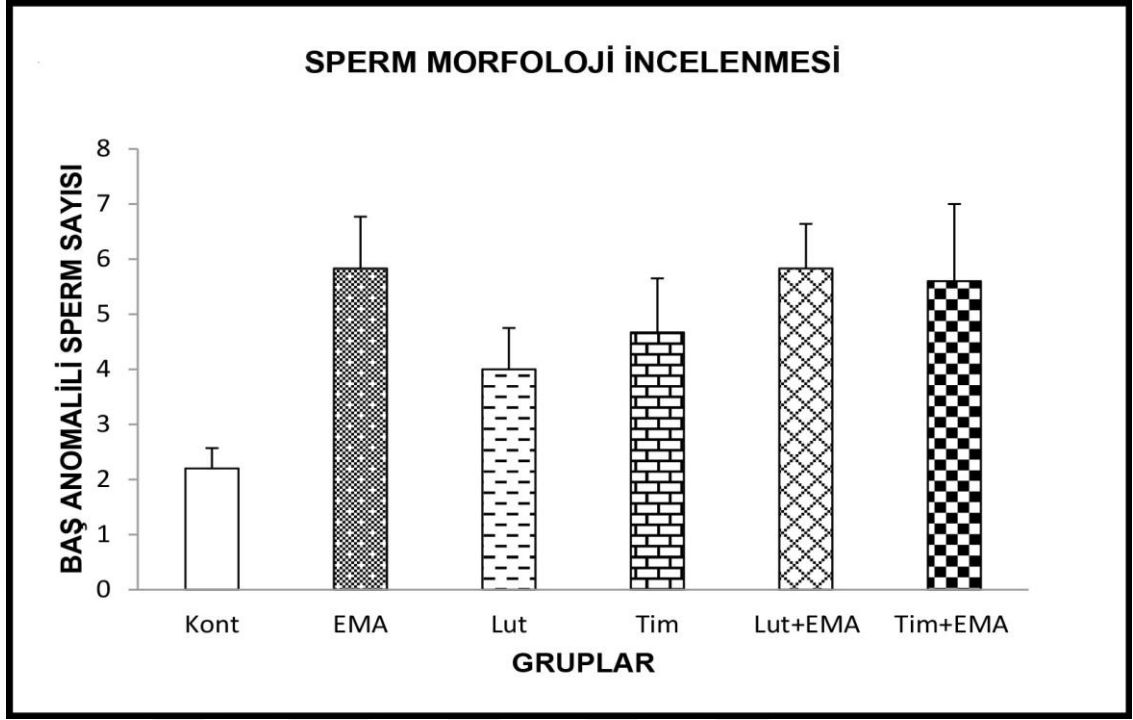
Sperm morfolojisi açısından normal sperm sayısının istatistiksel olarak incelenmesinde, kontrol ile EMA grupları arasında, EMA ile Lut, EMA ile Lut+EMA,

EMA ile Tim, EMA ile Tim+EMA grupları arasında ve Lut ile Lut+EMA, Lut ile Tim+EMA grupları arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p<0.01$).



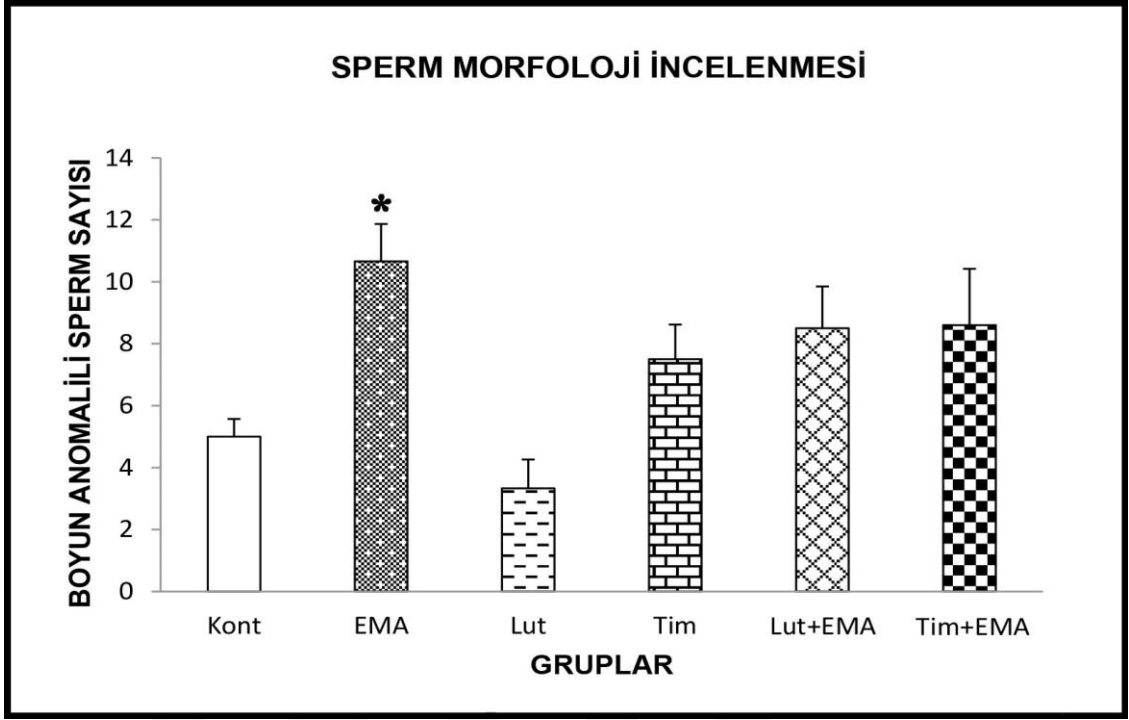
Şekil 18. Tüm gruplara ait normal sperm morfoloji değerlerinin grafiği.*; Kont ve EMA grupları arasındaki ileri derecede anlamlı fark ($p<0.01$), &; EMA ve Lut, Tim grupları arasındaki ileri derecede anlamlı fark ($p<0.01$), **; EMA ve Lut+EMA, Tim+EMA grupları arasındaki ileri derecede anlamlı fark ($p<0.01$), #; Lut ve Lut+EMA, Tim+EMA grupları arasındaki ileri derecede anlamlı farkı ($p<0.01$) göstermektedir

Sperm morfolojisi açısından baş anomalili sperm sayısının karşılaştırmalı incelenmesinde, EMA grubundaki baş anomalisinin, kontrol grubuna göre azalmış olduğu ancak gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$). Ayrıca tüm gruplar arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$).



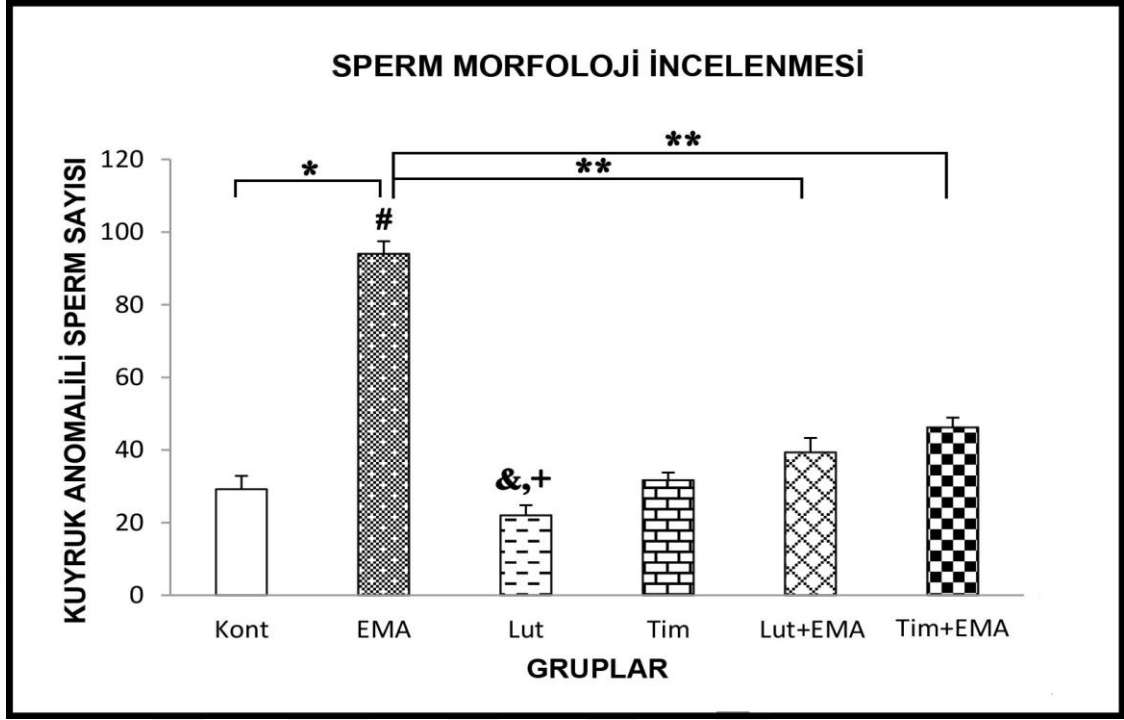
Şekil 19. Tüm gruplara ait baş anomalili sperm morfoloji değerlerinin grafiği

Sperm morfolojisi açısından boyun anomalili sperm sayısının karşılaştırmalı incelenmesinde, kontrol ile diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlemlenmezken ($p>0.05$), EMA ile Lut grupları arasında ise ileri derecede anlamlı fark olduğu gözlemlendi ($p<0.01$).



Şekil 20. Tüm gruplara ait boyun anomalili sperm morfoloji değerlerinin grafiği.*; EMA ve Lut grupları arasındaki ileri derecede anlamlı farkı ($p<0.01$) göstermektedir

Sperm morfolojisi açısından kuyruk anomalili sperm sayısının istatistiksel olarak incelenmesinde, kontrol ile EMA grupları arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p<0.01$). EMA ile Lut, EMA ile Lut+EMA, EMA ile Tim, EMA ile Tim+EMA grupları arasında da ileri derecede anlamlı bir fark gözlemlendi ($p<0.01$). Lut ile Lut+EMA grupları arasında ve Lut ile Tim+EMA grupları arasında ileri derecede anlamlı fark tespit edildi ($p<0.01$).



Şekil 21. Tüm gruplara ait kuyruk anomalili sperm morfoloji değerlerinin grafiği. *; Kont ve EMA, grupları arasındaki ileri derecede anlamlı fark ($p < 0.01$), #; EMA ve Lut, TIM grupları arasında ileri derecede anlamlı fark ($p < 0.01$), **; EMA ve Lut+EMA, Tim+EMA grupları arasında ileri derecede anlamlı fark ($p < 0.01$) &; Lut ve Lut+EMA grupları arasındaki anlamlı fark ($p < 0.05$), +; Lut ve Tim+EMA grupları arasındaki ileri derecedeki farkı göstermektedir

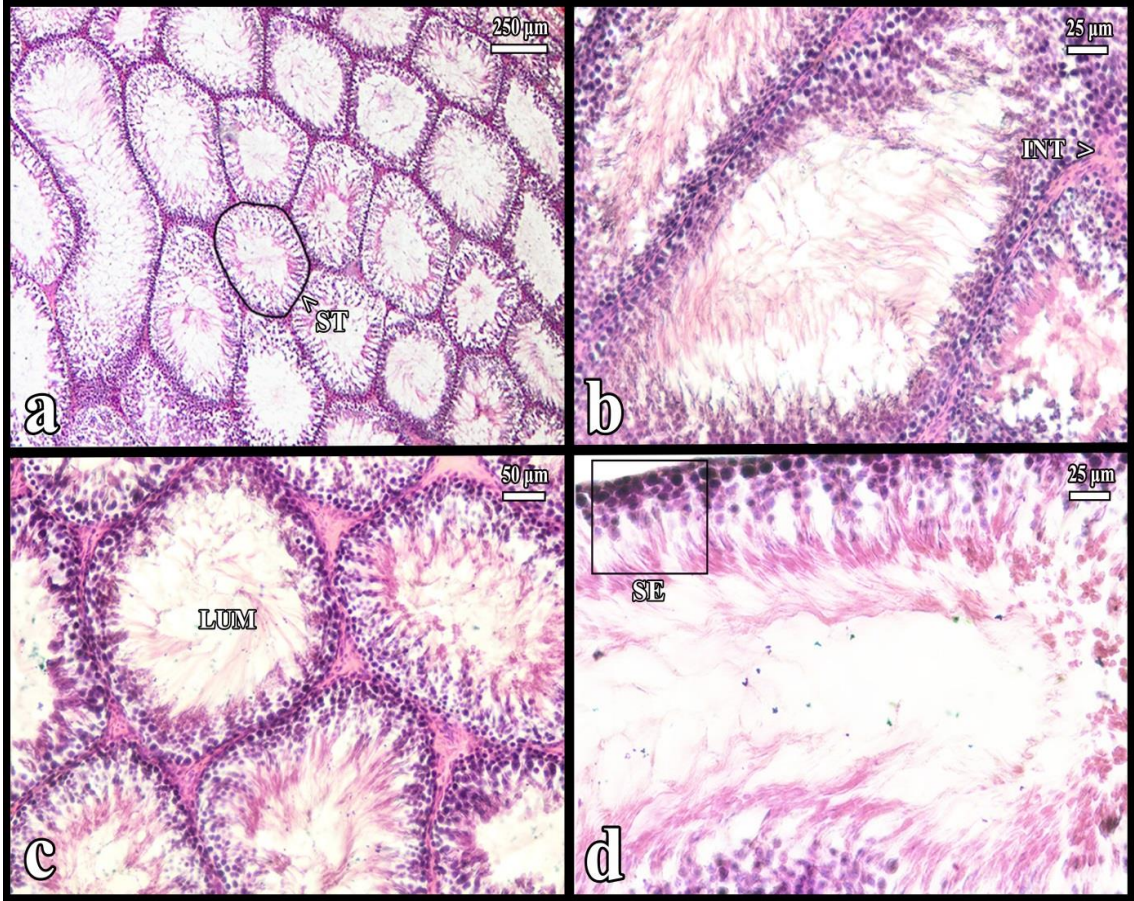
4.6. Histolojik Analiz Bulguları

4.6.1. Testis Kesitlerinde Hematoksilen-Eozin Boyaması ile Elde Edilen Bulgular

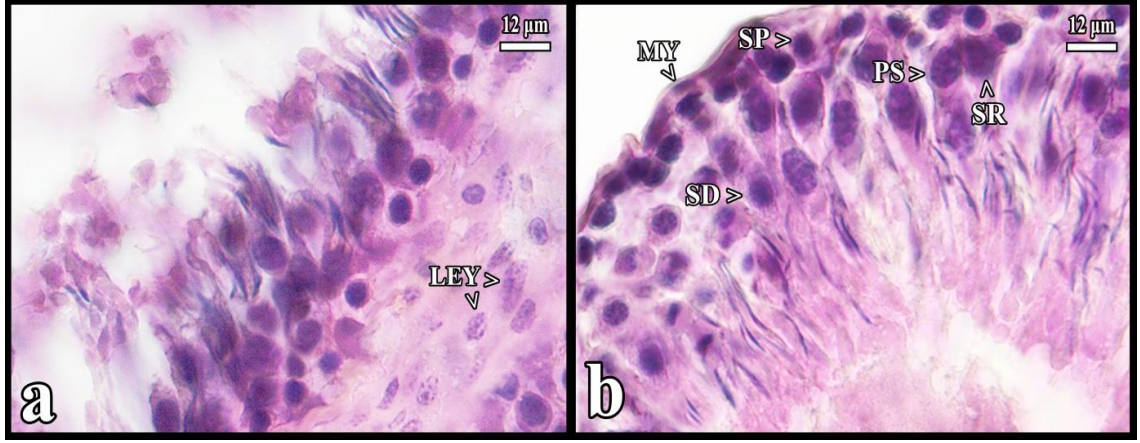
Kontrol ve deney gruplarına ait testis doku örneklerinin hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerinin ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucunda ortaya çıkan histolojik ve histopatolojik sonuçları aşağıda ifade edilmiştir.

1. Kontrol Grubuna Ait Deneklerin Histolojik Bulguları: Kontrol grubuna ait deneklerin testis yapısında bulunan seminifer tübül, seminifer epitel, interstisyel bağ dokusu ve Leydig hücrelerinin histolojik olarak normal görünümde oldukları tespit edildi (Şekil 22, 23). Spermatogenetik seriyi oluşturan spermatogonyumlar, primer spermatosit ve spermatidler seminifer tübüllerin duvarında düzenli olarak dizilmişlerdi. Spermatogonyumlar koyu yuvarlak çekirdekleri ile bazal lamina üzerinde yerleşmekteydiler. Primer spermatositler geniş bir sitoplazma ve açık renkli, aynı zamanda germinal epitelinde en büyük oval çekirdek ile, oval veya üçgen büyük soluk

çekirdekli prizmatik uzun şekilli Sertoli hücrelerinden ayırt edildi. Spermatidler koyu yuvarlak çekirdekli ve seminifer tübülün lümenine yakın yerleşimli hücreler olarak gözlemlendi (Şekil 23). Seminifer tübüller arasında bulunan interstisyel bağ dokusu normal histolojik görünümdeydi (Şekil 22). Seminifer tübüller arasında interstisyel bağ dokusu içerisinde yer almakta olan çok yüzeyli, çekirdekleri hücre ortasında yerleşimli ve eozinofilik sitoplazmaya sahip Leydig hücreleri de ayırt edildi (Şekil 23).

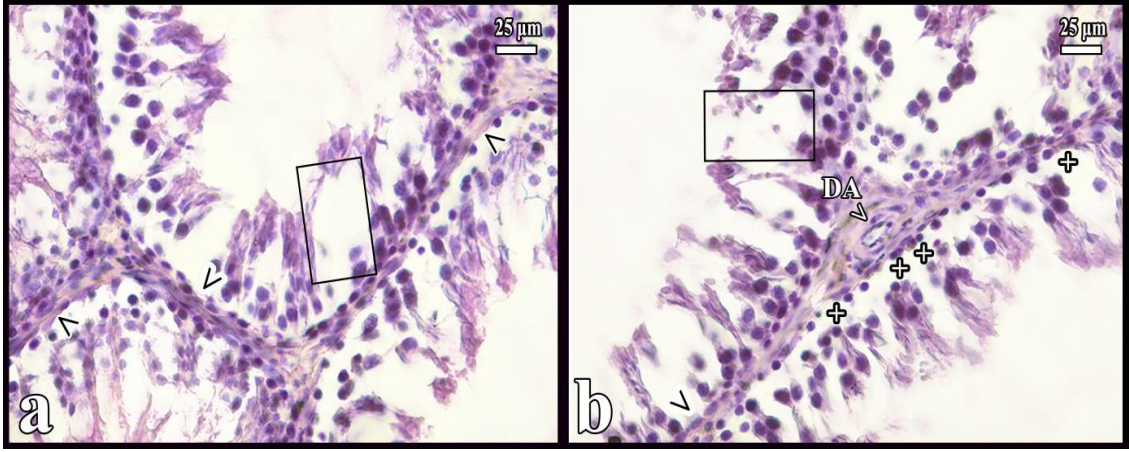


Şekil 22. Kont grubuna ait deneklerin testis dokularının görüntüleri farklı büyütmede izlenmektedir. **a)** ST; Seminifer tübüller, **b)** INT; İnterstisyel alan, **c)** LUM; Tübül lümeni, **d)** SE; Seminifer epiteli gözlenmektedir

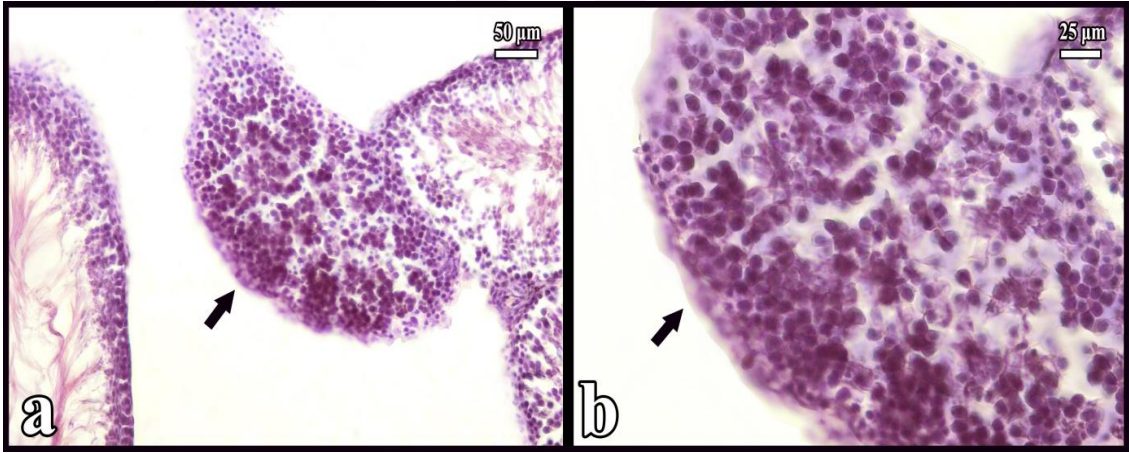


Şekil 23. Kont grubuna ait deneklerin testis dokularının görüntüleri izlenmektedir. a) LEY; Leydig hücreleri, b) SP; Spermatogonyomu, PS; Primer spermatositi, SD; Spermatidi, SR; Sertoli'yi, MY; Myoepiteli göstermektedir

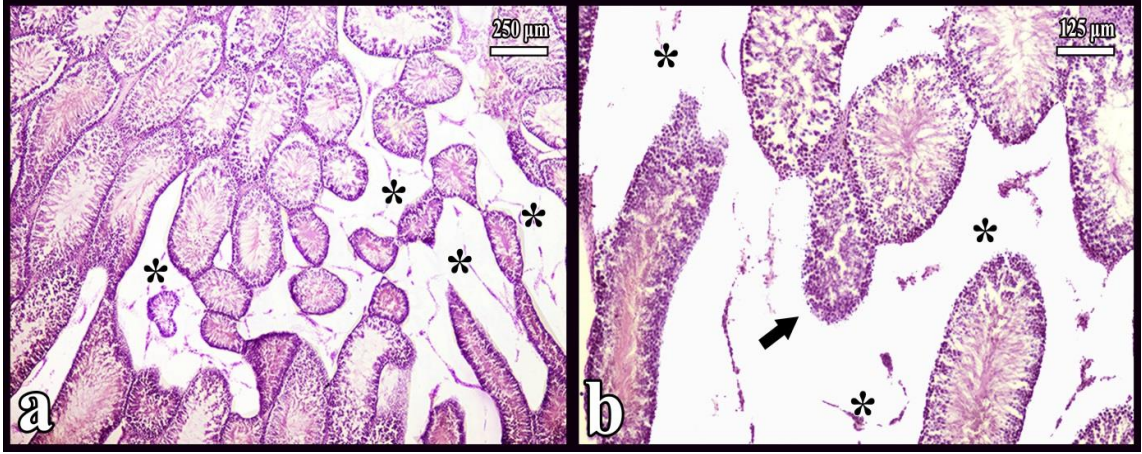
2. EMA Grubuna Ait Deneklerin Histolojik Bulguları: EMA grubuna ait deneklerin testis doku yapısında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli bozulmaların olduğu gözlemlendi. Seminifer tübüllerde yer yer spermatogonyumların bulunmadığı bölgeler ile birlikte spermatogenik hücrelerin tübül duvarından ayrıldığı yerler de izlendi (Şekil 24, 27). Çok az sayıda nekrotik seminifer tübüller testis dokularında tespit edildi (Şekil 25, 26). Seminifer tübüllerin düzensiz şekilleri, aralarında ayrılmalar bulunduğu ve çok az sayıda nekrotik hücrelerin olduğu gözlemlendi (Şekil 24-27).



Şekil 24. EMA grubuna ait deneklerin testis doku görüntüleri izlenmektedir. a ve b'deki **siyah Okbaşı**; spermatogonyumların bulunmadığı bölgeyi, b'deki **DA**; Damarı, b'deki **beyaz +'lar**; spermatogonik hücrelerin tübül duvarından ayrıldığı bölgeleri, **Çerçevelenmiş alanlar**; Spermatogonik hücrelerin bulunmadığı bölgeleri göstermektedir

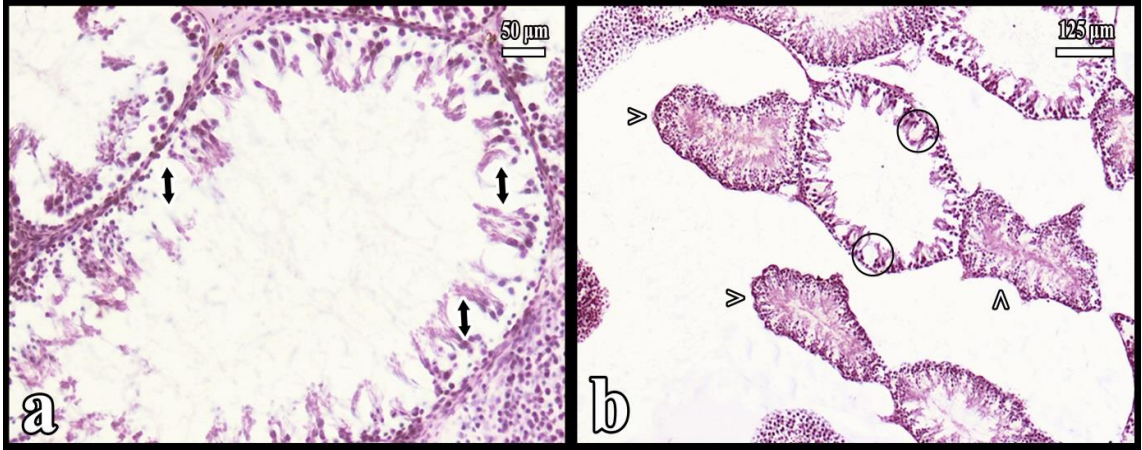


Şekil 25. EMA grubuna ait deneklerin testis doku görüntüleri iki farklı büyütmede izlenmektedir. a'daki ok ile işaretlenmiş kısmın büyütülmüş görüntüsünde b'deki **siyah ok**; Nekrotik seminifer tübülü göstermektedir

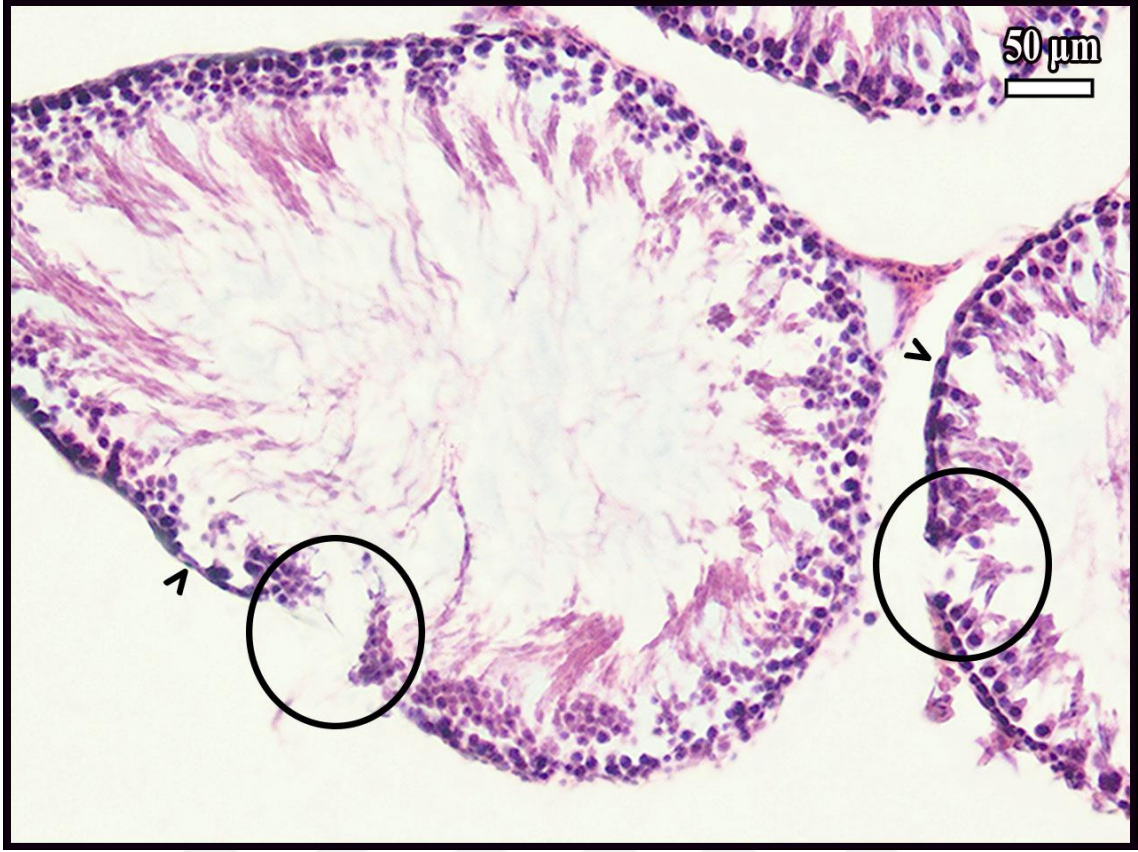


Şekil 26. EMA grubuna ait deneklerin testis doku görüntüleri izlenmektedir. a ve b'deki **yıldızlar**; Seminifer tübüller arasındaki ayrılmaları, b'deki **siyah ok**; Nekrotik seminifer tübülü göstermektedir

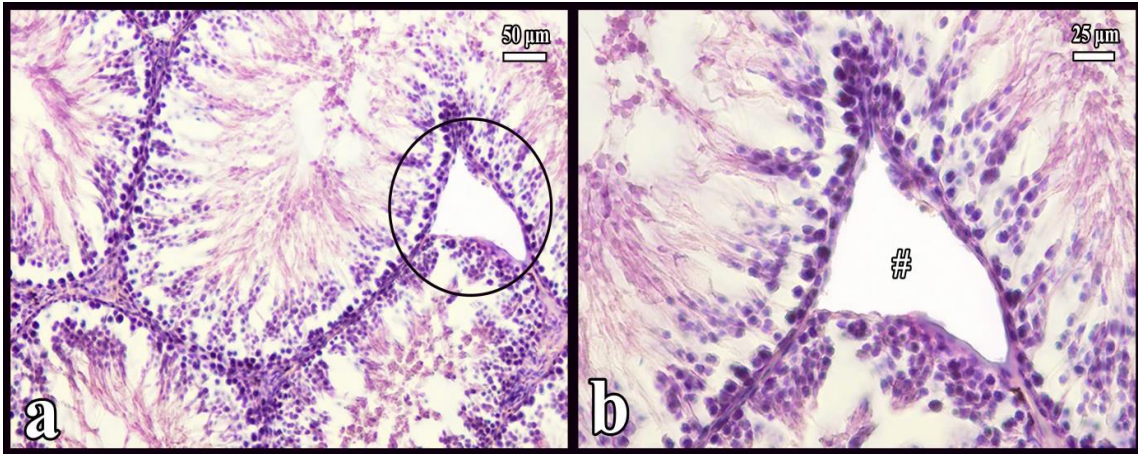
Seminifer epitelinde spermatogenezin duraksadığı yerler gözlemlendi (Şekil 24, 27). Seminifer tübüllerin duvar yapısında bazı bölgelerde incelmeler ve bunun yanı sıra kopmalar tespit edildi (Şekil 28) ve tübüller arasındaki interstisyel bağ dokusunda bozulmalar dikkat çekiciydi (Şekil 29).



Şekil 27. EMA grubuna ait deneklerin testis doku görüntüleri izlenmektedir. a'deki **iki başlı ok**; Germinal epitelin bulunmadığı bölgeyi, b'deki **beyaz oklar**; düzensiz şekilde olan seminifer tübüllerini, **Çerçevelemiş alanlar**; vakuol benzeri yapıların oluştuğu yerleri göstermektedir

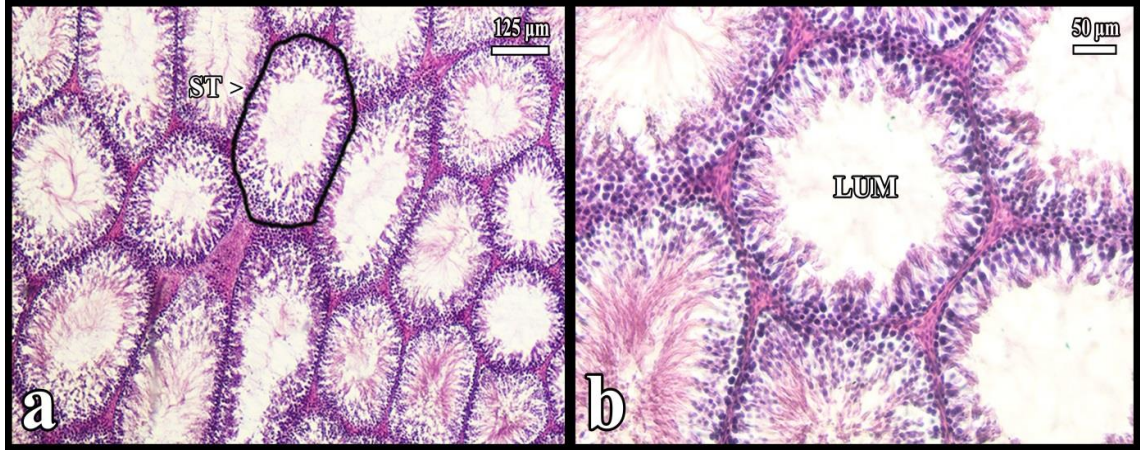


Şekil 28. EMA grubuna ait deneklerin testis doku görüntüsü izlenmektedir. **Daire ile çevrelenmiş alan;** Seminifer tübül duvarındaki kopmaları, **Siyah ok başları;** İncelmış seminifer duvarlarını göstermektedir

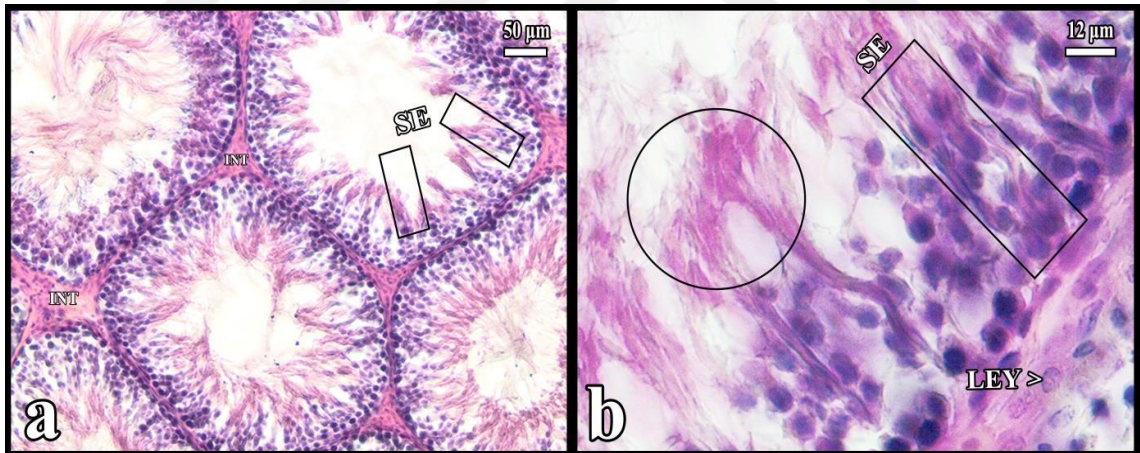


Şekil 29. EMA grubuna ait deneklerin testis doku görüntüleri izlenmektedir. a'daki **daire ile çevrelenmiş alanın** büyütülmüş görüntüsünde b'deki #; İnterstisyel bağ dokusundaki bozulmayı göstermektedir

3. Lut Grubuna Ait Deneklerin Histolojik Bulguları: Lut grubuna ait testislerin histopatolojik incelenmesinde, kontrol grubuna göre önemli fark gözlenmedi ve seminifer tübülü, seminifer tübül lümeni ve epitelinin normal histolojik yapıda olduğu ve yer yer yoğunlaşmış sperm bölgeleri tespit edildi (Şekil 30, 31).



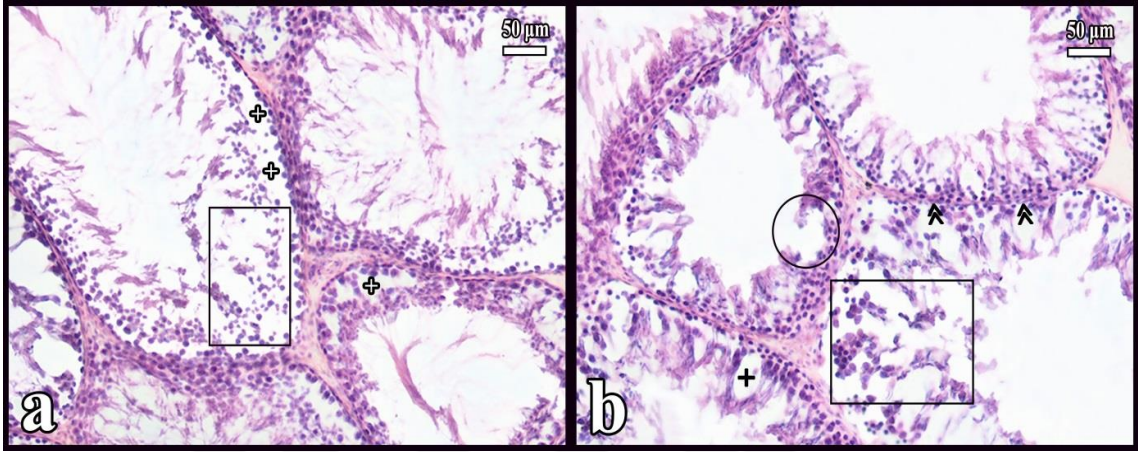
Şekil 30. Lut grubuna ait deneklerin testis doku görüntüleri izlenmektedir. a'daki **çevrelenmiş alan** ve **ST**; Seminifer tübülünü , b'deki **LUM**; Seminifer tübül lümenini göstermektedir



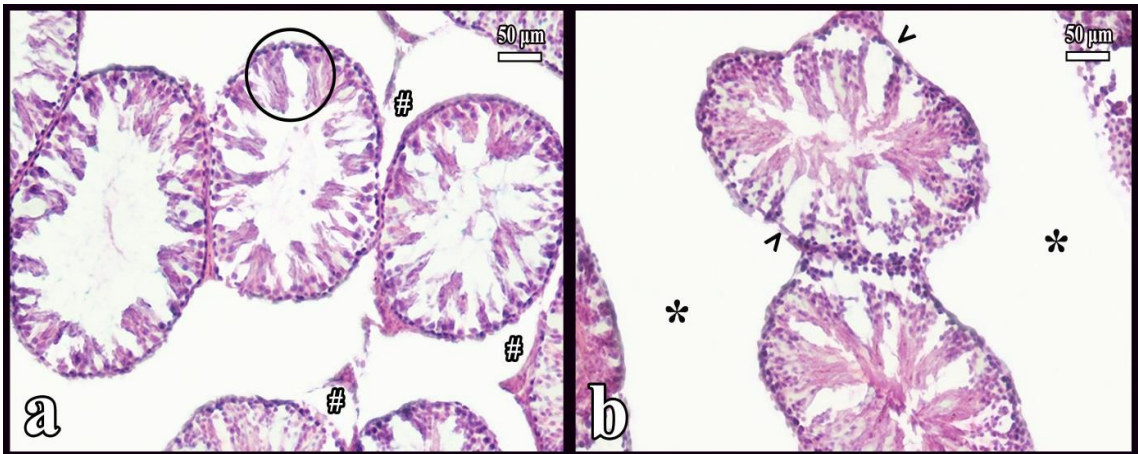
Şekil 31. Lut grubuna ait deneklerin testis doku görüntüleri izlenmektedir. a ve b'deki **dik dörtgen ile çevrelenmiş alan** ve **SE**; Seminifer epitelini, b'deki **daire ile çevrelenmiş alan**; Yoğunlaşmış sperm göstermektedir

4. Lut+EMA Grubuna Ait Deneklerin Histolojik Bulguları: Lut+EMA ait testis dokusunun histopatolojik olarak incelenmesinde, kontrol grubuna göre anlamlı anomaliler izlendi. Seminifer tübül epitelini oluşturan spermatogonik hücrelerin birbirinden ayrılmaları ve epitel dizisinde bozulmaları tespit edildi. EMA grubu gibi

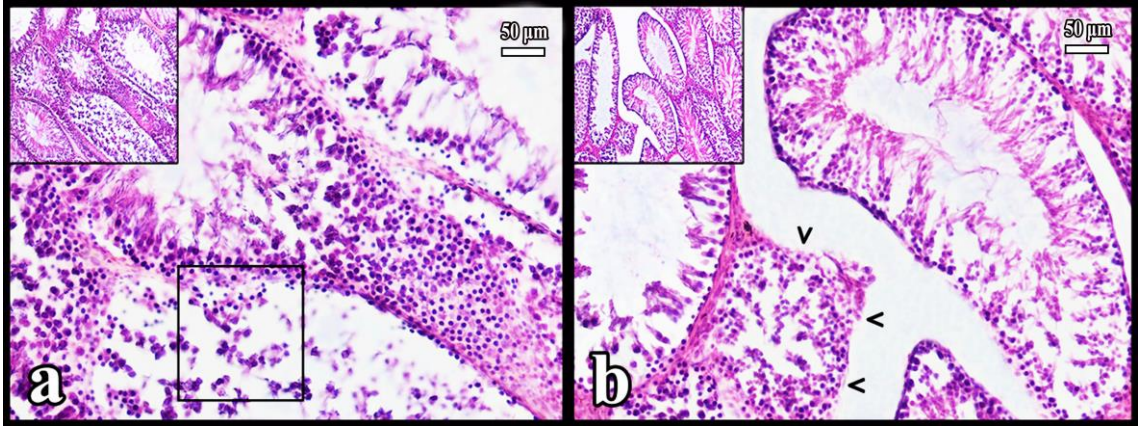
ama az sayıda spermatogenezin duraksadığı alanlar, spermatogenezin hücrelerin tübül duvarından ayrılmaları, vakuoller, düzensiz seminifer tübüller ve spermatogonyumların bulunmadığı bölgeler gözlemlendi (Şekil 32-35). Nekrotik seminifer tübüller çok az sayıda izlenirken, tübüller arasında ayrılmaların fazla olduğu ve incelmış tübül duvarının yanı sıra kontrolsüz mitotik bölünmeler de dikkat çekti (Şekil 33-36).



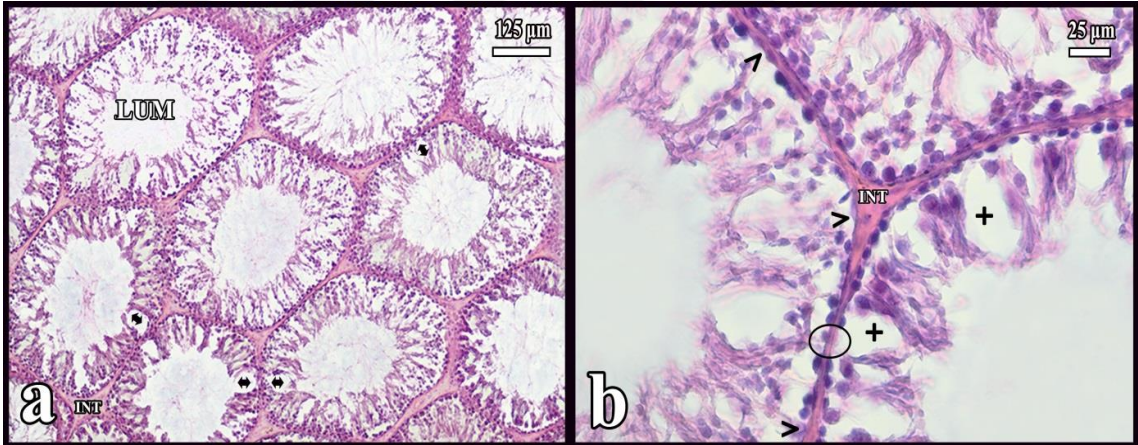
Şekil 32. Lut+EMA grubuna ait deneklerin testis doku görüntüleri izlenmektedir. a ve b'deki **dik dörtgen ile çevrelenmiş alanlar**; Seminifer epitel bütünlüğündeki bozulmaları ve epiteli oluşturan hücreler arasındaki ayrılmaları, a'daki **beyaz +'lar**; Spermatogenezin hücrelerin tübül duvarlarından ayrıldığı bölgeleri, b'deki **daire ile çevrelenmiş alan**; Spermatogenezin duraksadığı bölgeyi, b'deki **siyah +**; Seminifer tübülde vakuolu, b'deki **çift ok başı**; Kalınlaşmış seminifer tübül duvarını göstermektedir



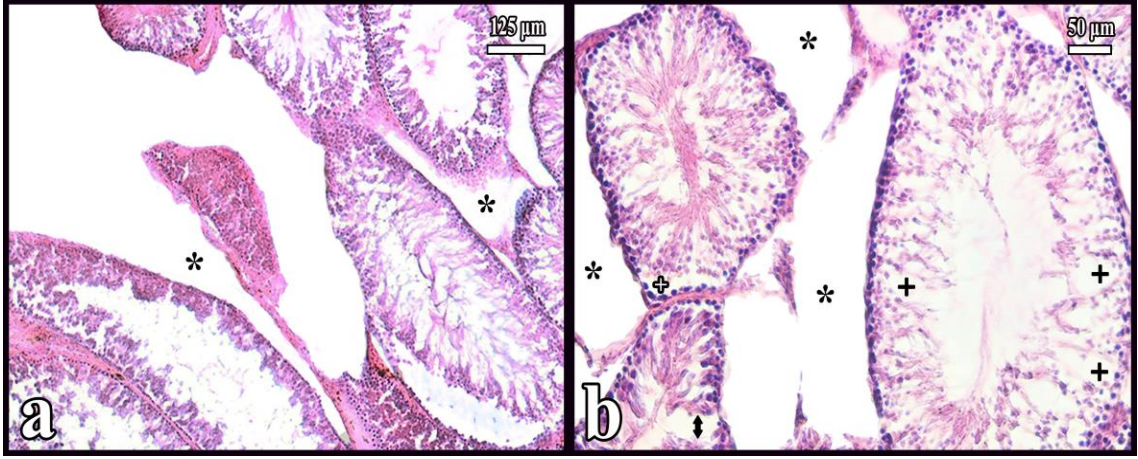
Şekil 33. Lut+EMA grubuna ait deneklerin testis doku görüntüleri izlenmektedir. a'daki **daire ile çevrelenmiş alan**; Spermatogenezin duraksadığı bölgeyi, a'daki **#'lar**; İnterstisyel bağ dokusundaki bozulmayı, b'deki **yıldızlar**; Seminifer tübüllerin birbiriyle ayrılmalarını, b'deki **siyah ok başı**; İncelmış seminifer tübül duvarını göstermektedir



Şekil 34. Lut+EMA grubuna ait deneklerin testis doku görüntüleri izlenmektedir. a'daki **dik dörtgen ile çevrelenmiş alan**; Seminifer epitel butunluğundeki bozulmaları ve epiteli oluşturan hücreler arasındaki ayrılmaları, b'deki **ok başları**; Düzensiz şekilde olan seminifer tübülleri göstermektedir

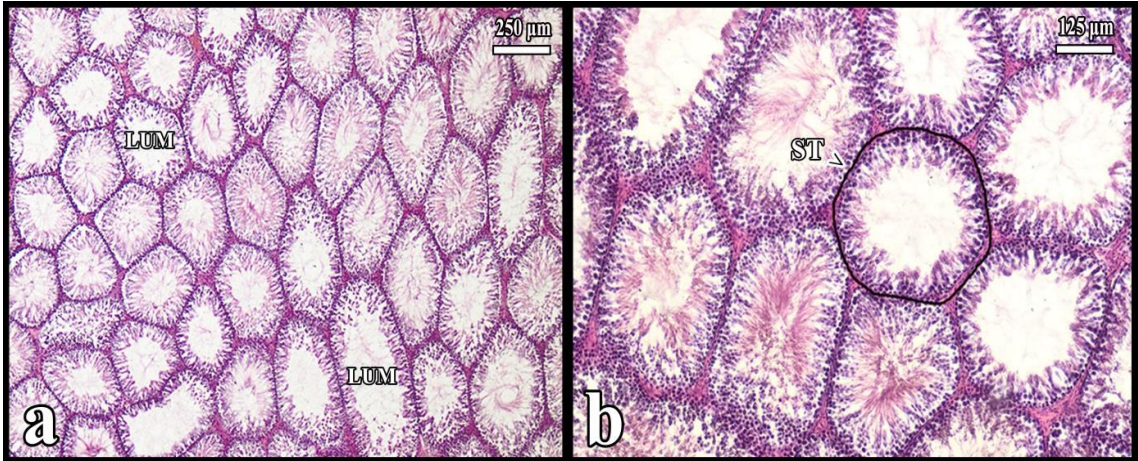


Şekil 35. Lut+EMA grubuna ait deneklerin testis doku görüntüleri izlenmektedir. a'daki **çift başlı ok**; Germinal epitelin bulunmadığı bölgeleri, a'daki **LUM**; Seminifer tübül lümeni, b'deki **siyah +'lar**; Seminifer tübülde vakuolu, b'deki **çevrelenmiş bölge**; Spermatogonyumların bulunmadığı bölgeyi, b'deki **INT**; İnterstisyel bağ dokusunu göstermektedir

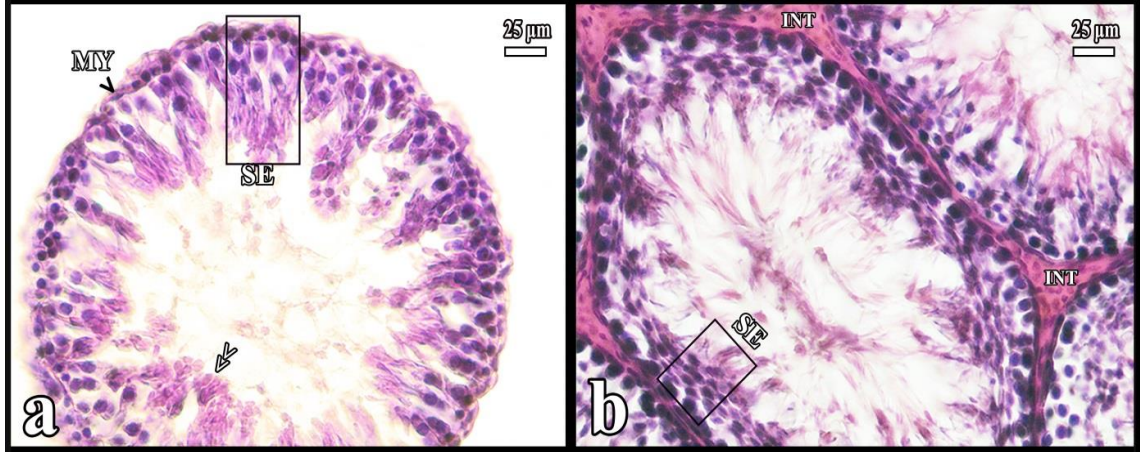


Şekil 36. Lut+EMA grubuna ait deneklerin testis doku görüntüleri izlenmektedir. a ve b'deki **yıldızlar**; Seminifer tübüllerin birbiriyle ayrılmalarını, b'deki **siyah +**; Seminifer tübülde vakuolu, b'deki **beyaz +'lar**; Spermatogenik hücrelerin tübül duvarlarından ayrıldığı bölgeleri, b'deki **iki başlı ok**; Germinal epitelin bulunmadığı bölgeyi göstermektedir

5. Tim Grubuna Ait Deneklerin Histolojik Bulguları: Kontrol ve Lut grupları gibi Tim grubuna ait testis dokularının histolojik yapıları değerlendirildiğimizde, seminifer tübüleri, seminifer epitel serisi, tübül lümenleri ve interstisyel bağ dokuları normal morfolojide gözlemlendi (Şekil 37, 38).

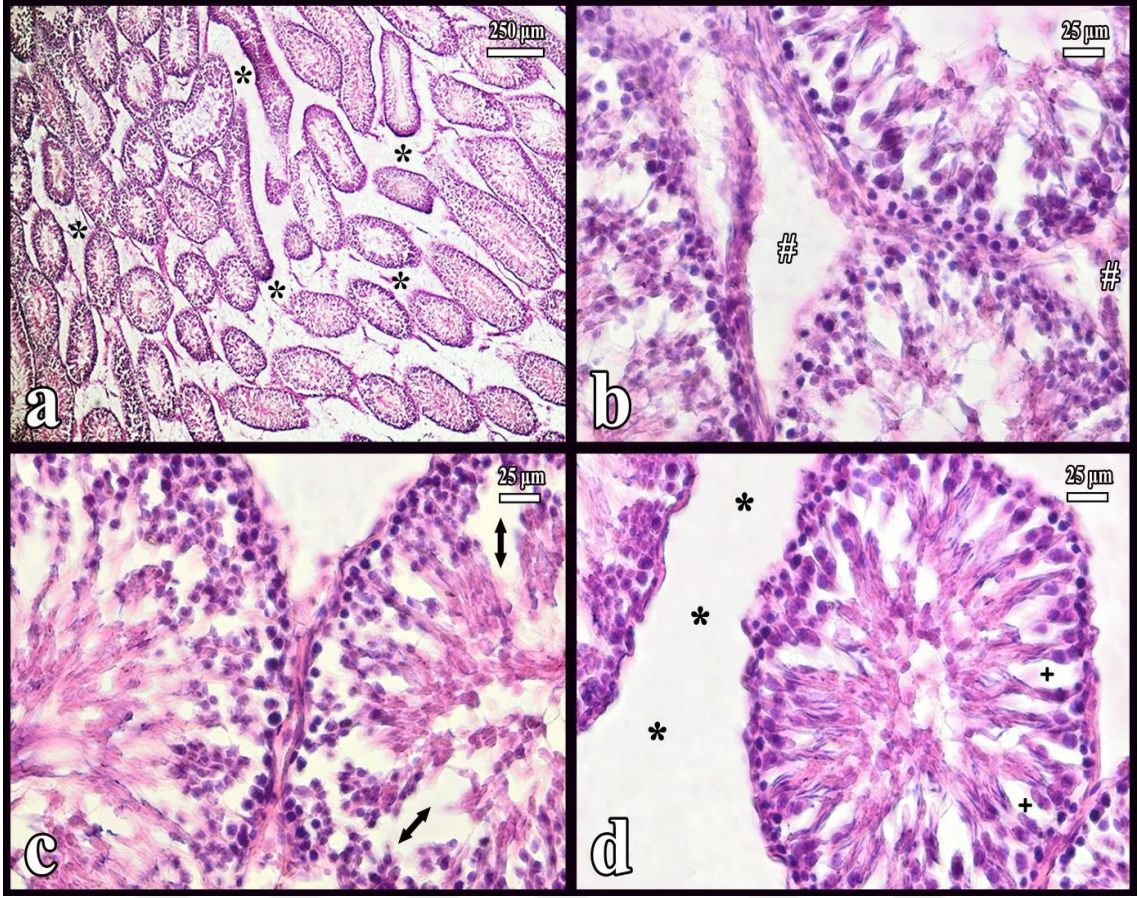


Şekil 37. Tim grubuna ait deneklerin testis doku görüntüleri izlenmektedir. a'daki **LUM' lar**; Seminifer tübül lümenleri, b'deki **çevrelenmiş alan ve ST**; Seminifer tübülü göstermektedir

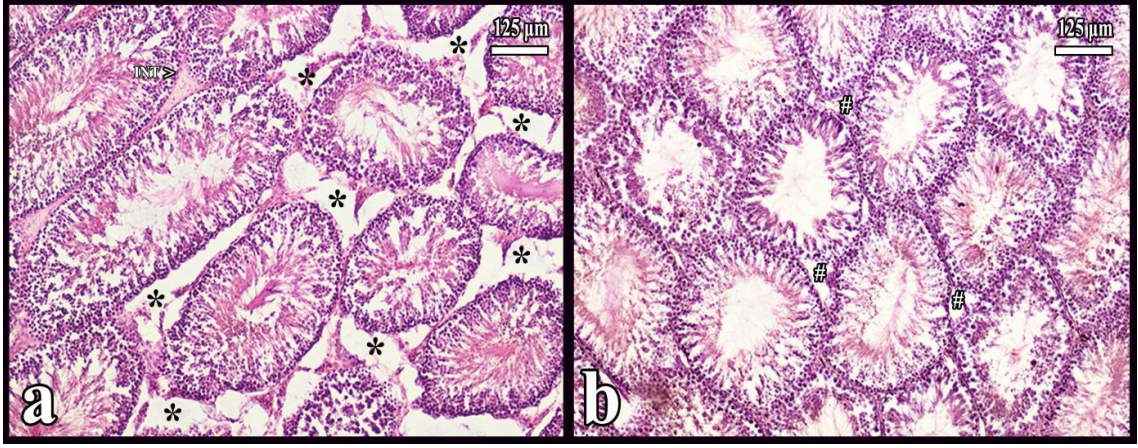


Şekil 38. Tim grubuna ait deneklerin testis doku görüntüleri izlenmektedir. a ve b'deki **dik dörtgen ile çevrelenmiş alanlar**; Seminifer tübüleri, a'daki **MY**; Myoepitel, a'daki **çift ok başı**; Yoğunlaşmış spermleri, b'deki **İNT**; İnterstisyel bağ dokuyu göstermektedir

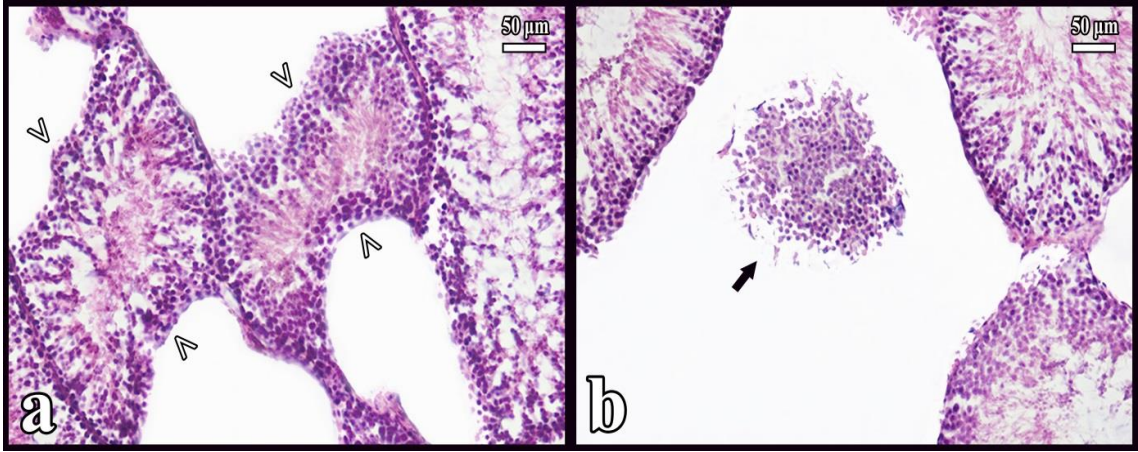
6. Tim+EMA Grubuna Ait Deneklerin Histolojik Bulguları: Tim+EMA grubunun histopatolojik olarak incelenmesinde kontrol grubuna göre seminifer tübüllerinde önemli bozulmalar tespit edildi ve bu hasarların Lut+EMA grubuna göre daha sık olduğu dikkat çekti. Seminifer tübüllerin arasında ayrılmalar, seminifer epitelin bazı bölgelerinde vakuoller, spermatogenik hücrelerin bulunmadığı ve spermiyogenezin duraksadığı alanlar izlendi (Şekil 39-41, 43). İnterstisyel bağ dokusunda yer yer bozulmalar görüldü (Şekil 39, 40). Ayrıca seminifer tübüllerin düzensiz ve nekrotik görüntüleri ile birlikte seminifer epiteli oluşturan hücrelerin arasındaki ayrılmalar da izlendi (Şekil 41, 42).



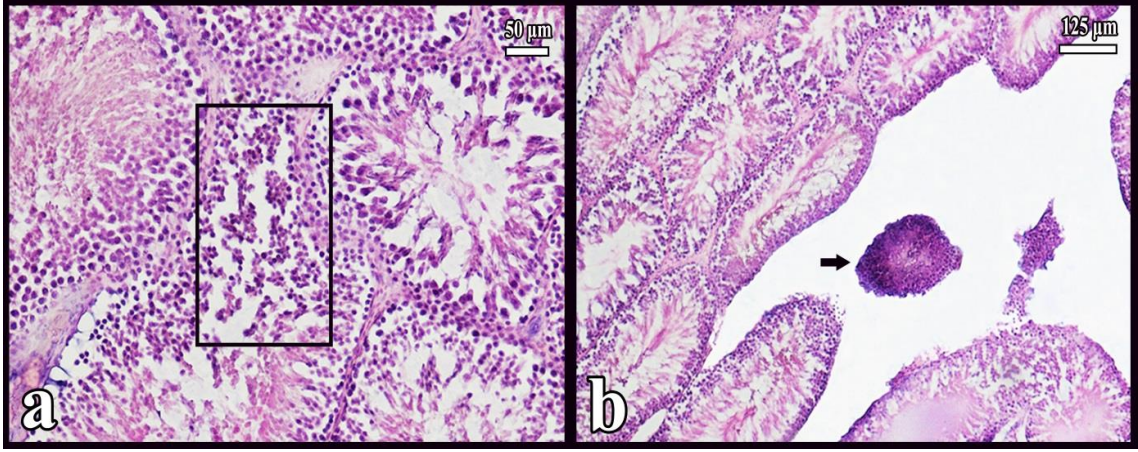
Şekil 39. Tim+EMA grubuna ait deneklerin testis doku görüntüleri izlenmektedir. a ve d'deki yıldızlar; Seminifer tübüllerin birbirinden ayrılmasını, b'deki #'lar; İnterstisyel bağ dokusundaki bozulmaları, c'deki çift başlı ok; Germinal epitelin bulunmadığı bölgeyi, d'deki siyah +'lar; Seminifer tübülde vakuolleri göstermektedir



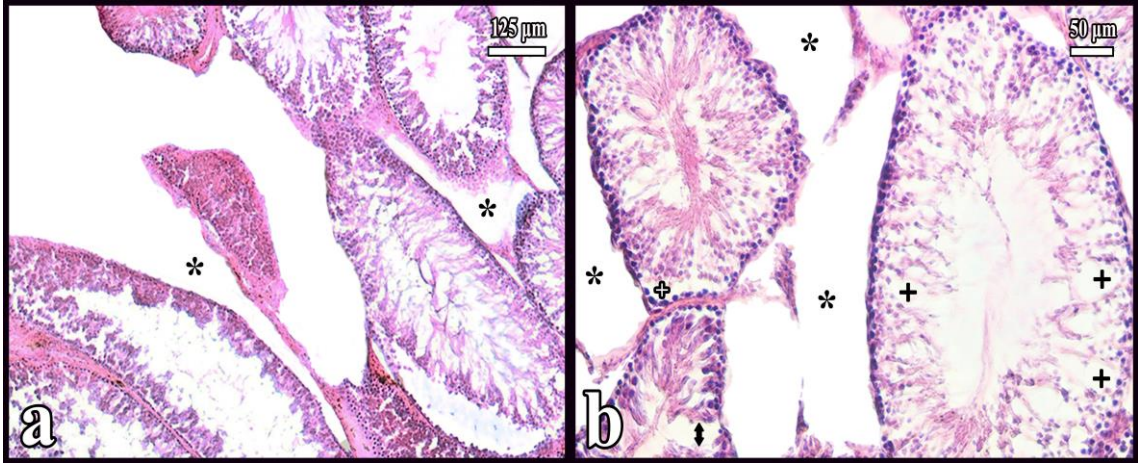
Şekil 40. Tim+EMA grubuna ait deneklerin testis doku görüntüleri izlenmektedir. a'daki **yıldızlar**; Seminifer tübüller arasındaki ayrılmaları, a'daki **INT**; İnterstisyel bağ dokuyu, b'deki **#'lar**; İnterstisyel bağ dokusundaki bozulmayı göstermektedir



Şekil 41. Tim+EMA grubuna ait deneklerin testis doku görüntüleri izlenmektedir. a'daki **beyaz ok başları**; Düzensiz seminifer tübülleri, b'deki **ok**; Nekrotik seminifer tübülü göstermektedir



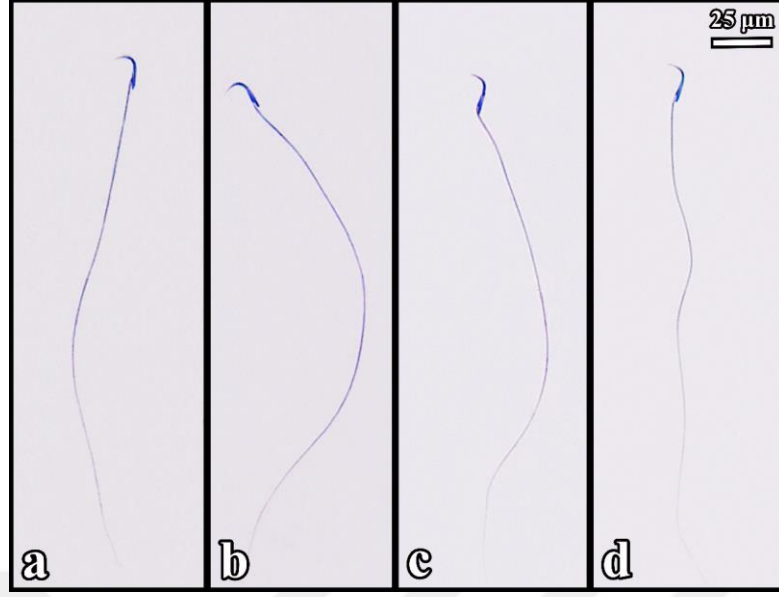
Şekil 42. Tim+EMA grubuna ait deneklerin testis doku görüntüleri izlenmektedir. a'daki **dik dörtgen ile çevrelenmiş alan**; Seminifer epitel bütünlüğündeki bozukluğu ve epiteli oluşturan hücreler arasındaki ayrılmaları, b'deki **ok**; Nekrotik seminifer tübülü göstermektedir



Şekil 43. Tim+EMA grubuna ait deneklerin testis doku görüntüleri izlenmektedir. a ve b'deki **yıldızlar**; Seminifer tübüller arasındaki ayrılmaları, b'deki **siyah +'lar**; Seminifer tübülde vakuoller, b'deki **çift başlı ok**; Germinal epitelin bulunmadığı bölgeyi, b'deki **beyaz +'lar**; Spermatogenik hücrelerin tübül duvarlarından ayrıldığı bölgeleri göstermektedir

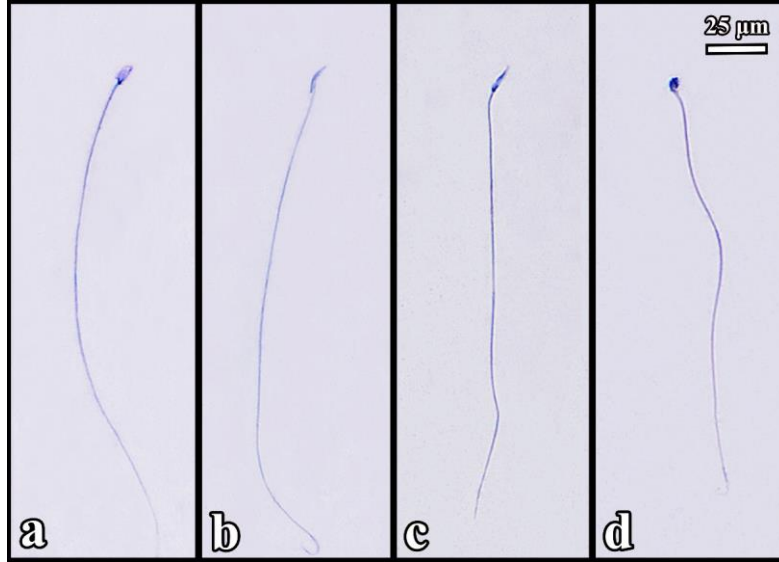
4.6.2. Spermilerin Hematoksilen-Eozin Boyaması ile Elde Edilen Bulgular

1. Normal Sperm Histoloji Bulguları: Elde edilen semen yayma preparatlarında normal sperm hücrelerin baş, boyun ve kuyruk morfolojileri incelendi. Spermilerin histolojik özelliklerini değerlendirdiğimizde, çengel şeklinde baş ve uzun bir kuyruğa sahip oldukları gözlemlendi (Şekil 44).

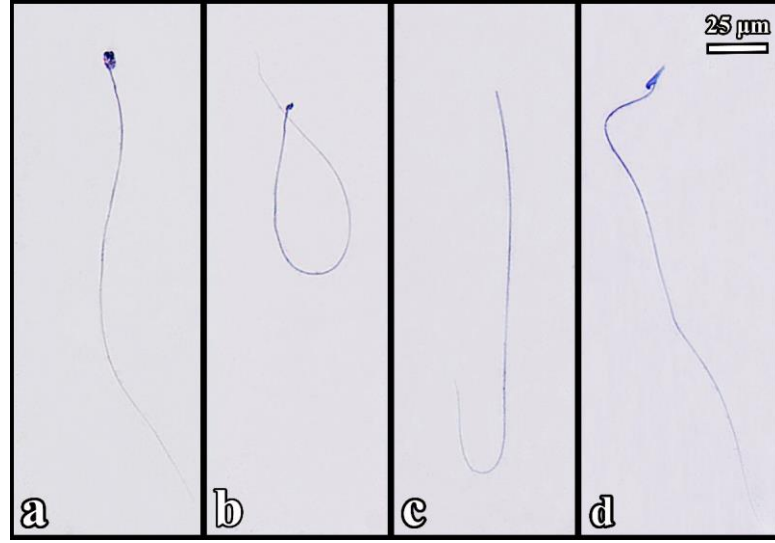


Şekil 44. Tüm gruplara ait deneklerin normal spermleri görünmektedir. a-d'deki **sperm görüntüleri**; Normal sperm morfolojisini göstermektedir

2. Sperm Başı Defektleri: Tüm deneklere ait sperm başı defektleri morfolojik olarak değerlendirildiğinde, çok az sayıda baş anomalileri gözlemlendi. Işık mikroskopik görüntülerde küçük ve oval baş, küçük ve iğne baş (pin-head), amorf baş ve başsız spermler tespit edildi (Şekil 45, 46).

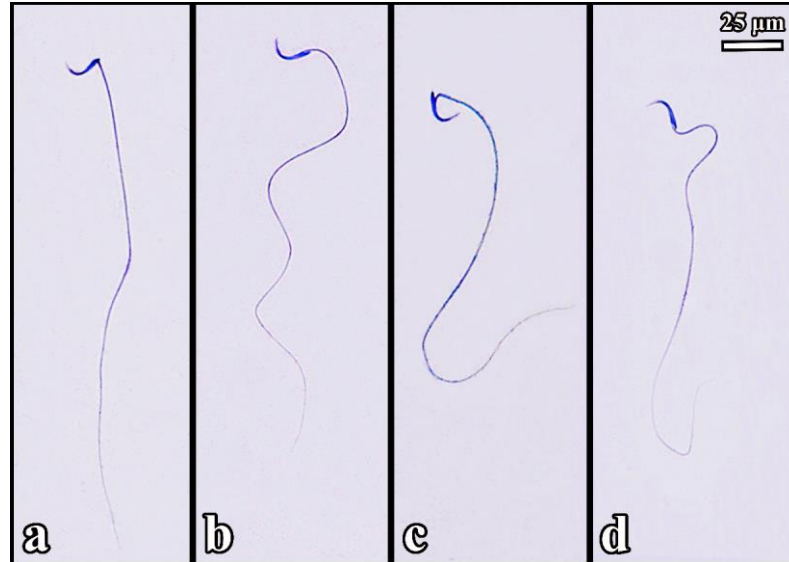


Şekil 45. Tüm gruplara ait deneklerin sperm başı anomalileri görülmektedir. a'daki **sperm görüntü**; Küçük ve oval şekilli başı, b ve c'deki **sperm görüntüleri**; Küçük ve iğne başı (pin-head), d'deki **sperm görüntü**; Çok küçük ve amorf başı göstermektedir

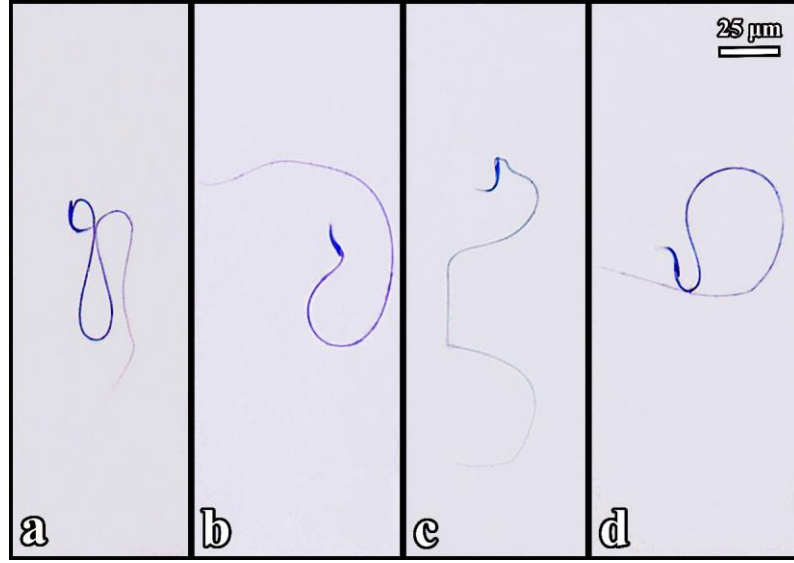


Şekil 46. Tüm gruplara ait deneklerin sperm baş anomalileri görünmektedir. a'daki **sperm görüntü**; Oval başı, b'deki **sperm görüntü**; Çok küçük ve amorf başı, c'deki **sperm görüntü**; Başsız spermi, d'deki sperm **görüntü**; Küçük ve iğne başı (pin-head) göstermektedir

3. Sperm Boyun Defektleri: Deneklere ait sperm görüntülerinde boyun defektleri az sayıda mevcut idi. Spermleri değerlendirdiğimizde bükük (kuyruğun başın uzun eksenine 90° açı ile bağlandığını ifade eden terim) anomalisi, kırık veya eğri boyun anomalisi izlendi (Şekil 47, 48).

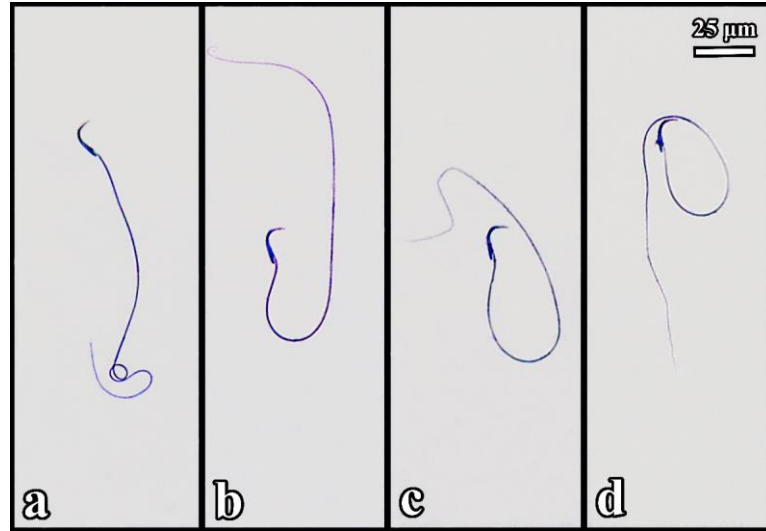


Şekil 47. Tüm gruplara ait deneklerin sperm boyun anomalileri görünmektedir. a ve c'deki **sperm görüntüleri**; Bükük anomalisi, b ve d'deki **spermler görüntüleri**; Kırık veya eğri boyun anomalilerini göstermektedir

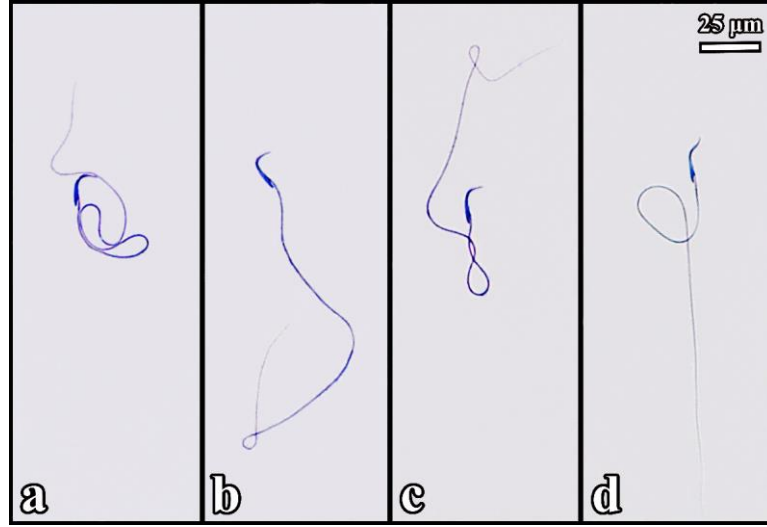


Şekil 48. Tüm gruplara ait deneklerin sperm boyun anomalileri görülmektedir. a ve c'deki **sperm görüntüleri**; Bükük anomaliyi, b ve d'deki **sperm görüntüleri**; Kırık veya eğri anomalileri göstermektedir

4. Sperm Kuyruk Defektleri: Sperm kuyruk defektlerini değerlendirdiğimizde, EMA, Lut+EMA ve Tim+EMA gruplarında çok sayıda anomaliler gözlemlendi. İncelenen preparatlar üzerinde dag defekt, halka ve kırık kuyruk tespit edildi (Şekil 49, 50).

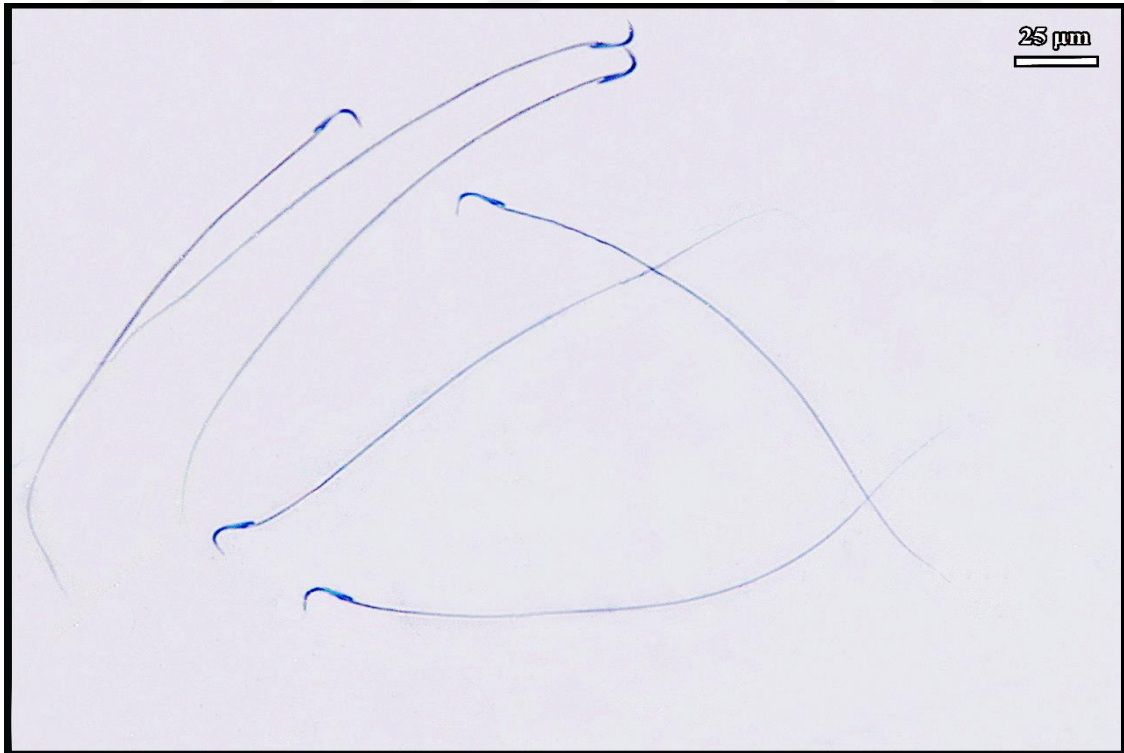


Şekil 49. Tüm gruplara ait deneklerin sperm kuyruk anomalileri görünmektedir. a'daki **sperm görüntü**; Halka kuyruk anomaliyi, b-d'deki **sperm görüntüleri**; Dog defekt anomalilerini göstermektedir



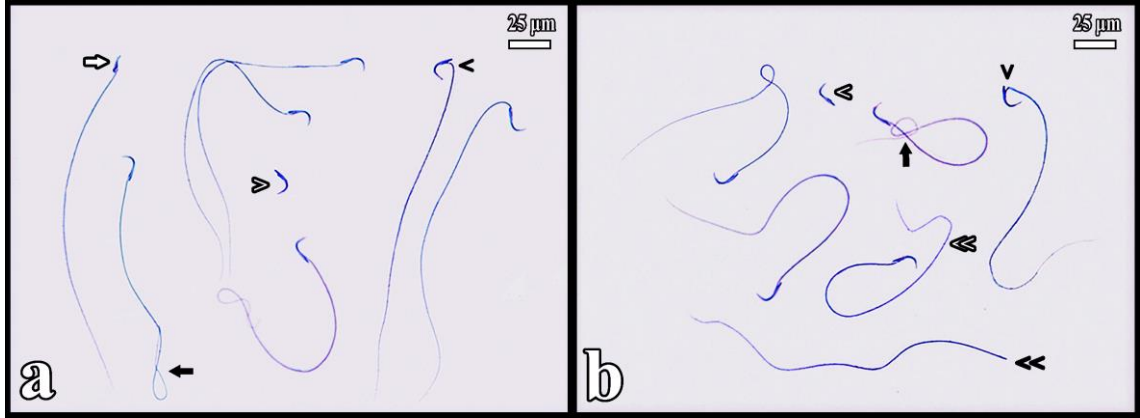
Şekil 50. Tüm gruplara ait deneklerin sperm kuyruk anomalileri görülmektedir. a'daki **sperm görüntüsü**; Halka uyruk ile birlikte olan dog defekt anomalilerini; b, c ve d'deki **sperm görüntüleri**; Halka uyruk anomaliyi göstermektedir

5. Kontrol Grubuna Ait Sperm Morfolojik Bulguları: Kontrol deneklerine ait spermlerin histolojik olarak değerlendirilmesinde çok sayıda normal morfolojiye sahip olan spermler izlendi (Şekil 51).



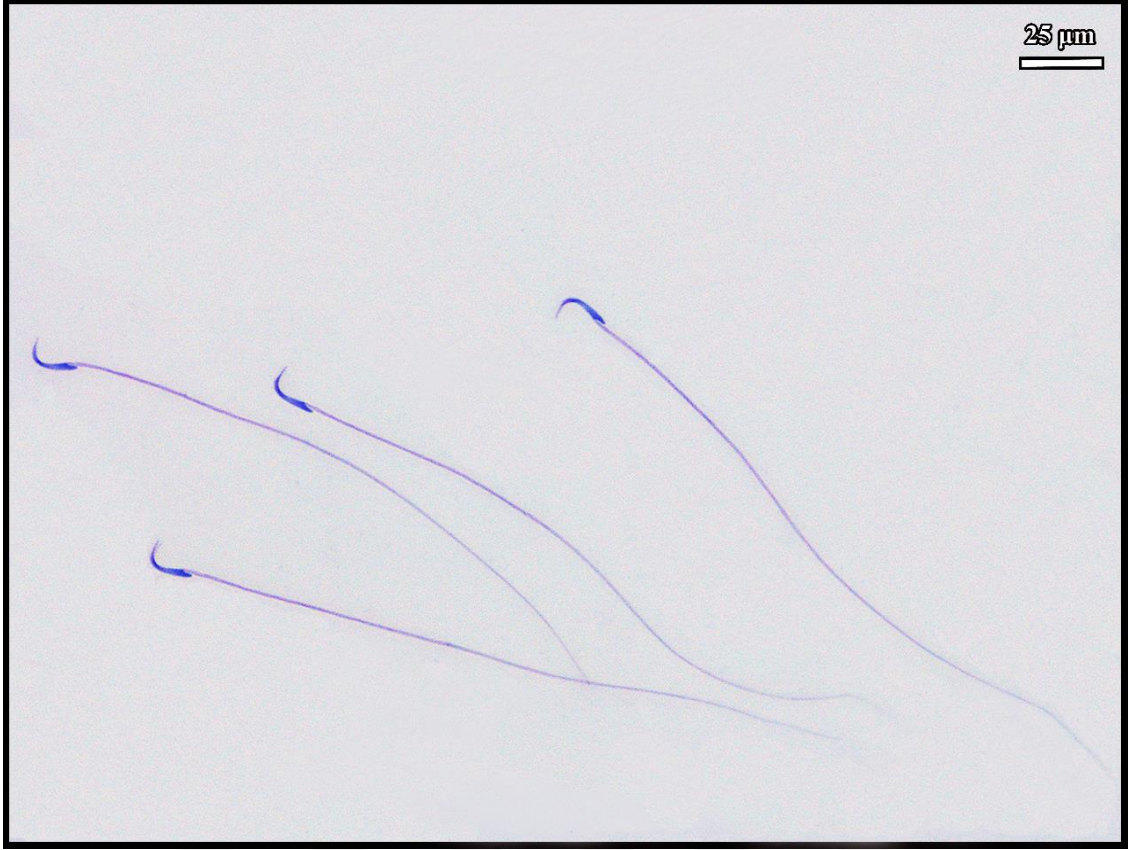
Şekil 51. Kont grubuna ait deneklerin normal sperm morfoloji görüntüleri görünmektedir

6. EMA Grubuna Ait Sperm Morfolojik Bulguları: EMA grubuna ait spermleri histopatolojik olarak incelediğimizde, özellikle çok sayıda kuyruk defekti olduğu dikkat çekti. Sperm görüntülerinde dog defekt, halka kuyruk, bükük boyun, küçük ve oval baş, küçük ve iğne baş, ve kuyruksuz baş anomalileri yoğun olarak gözlemlendi (Şekil 52).



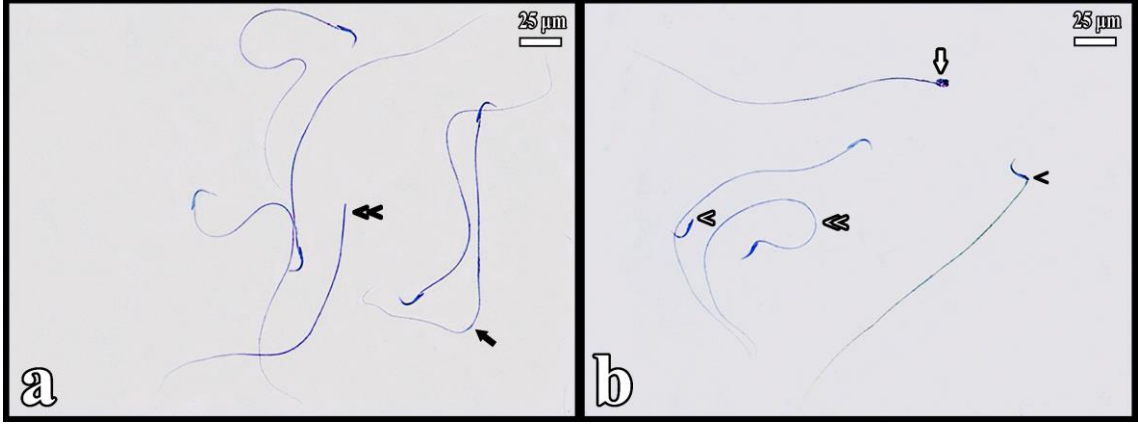
Şekil 52. EMA grubuna ait deneklerin anormal sperm morfoloji görüntüleri görünmektedir. a'daki **beyaz oklar**; Küçük ve iğnebaş anomaliyi, a ve b'deki **siyah oklar**; Halka uyruk anomalileri, a ve b'deki **siyah ok başlar**; Bükük anomalileri, a ve b'deki **beyaz ok başlar**; Kuyruksuz başları, b'deki **çift beyaz ok baş**; Dog defekti, b'deki **çift siyah ok baş**; Başsız spermi göstermektedir

7. Lut Grubuna Ait Sperm Morfolojik Bulguları: Lut grubundaki sperm morfolojik görüntülerinin çoğunluğu normal olarak gözlemlendi (Şekil 53).



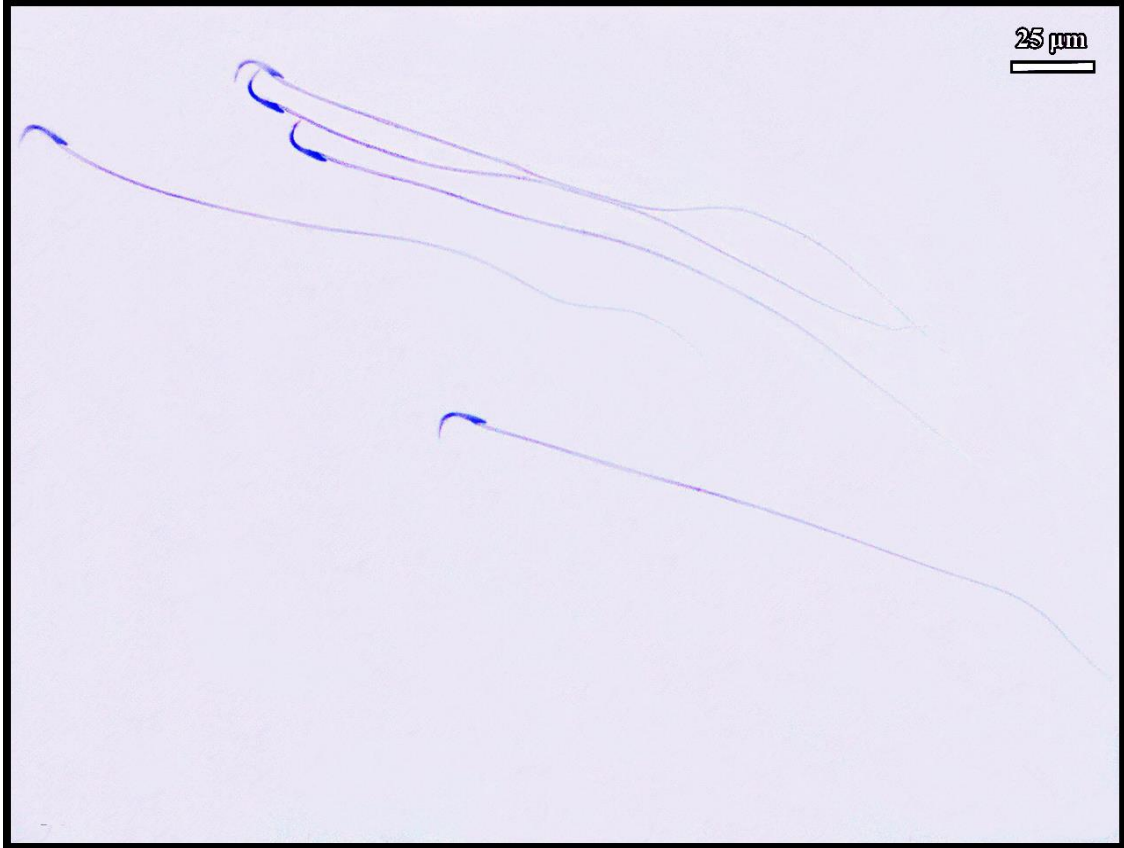
Şekil 53. Lut grubuna ait deneklerin normal sperm morfolojisine sahip oldukları görünmektedir

8. Lut+EMA Grubuna Ait Sperm Morfolojik Bulguları: Lut+EMA grubunun sperm kuyruklarında halka kuyruk ve dog defkt anomalilerinin yoğunluğu dikkat çekmekteydi. Az sayıda küçük ve oval baş, iğne baş ve bükük ve kırık boyun gözlemlendi (Şekil 54).



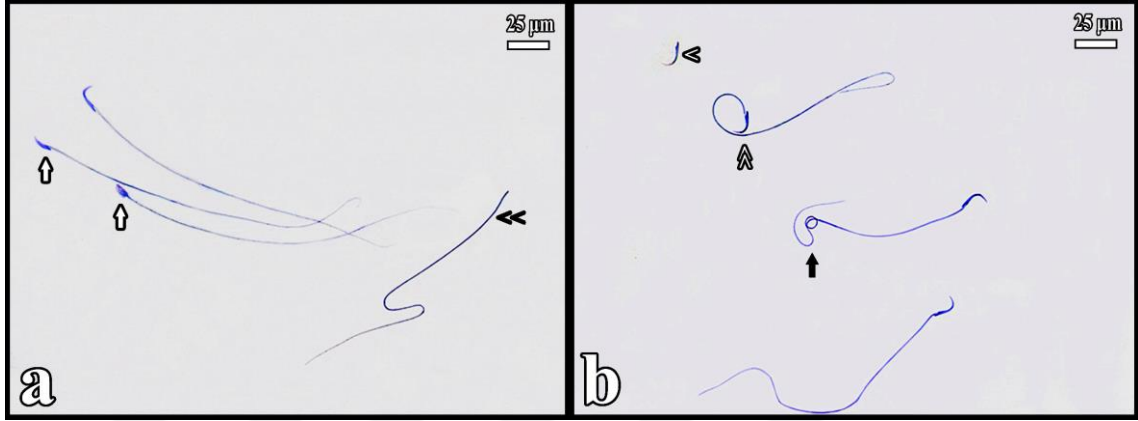
Şekil 54. Lut+EMA grubuna ait deneklerin anormal sperm morfolojik görüntüleri görünmektedir. a'daki **çift siyah ok başı**; Başsız spermi, a'daki **siyah ok**; Halka uyruk anomaliyi, b'deki **siyah ok başı**; Bükük anomaliyi, b'deki **beyaz ok başı**; Ayrılmış başı, b'deki **çift beyaz ok başı**; Dog defekti, b'deki **beyaz ok**; Oval sperm baş anomaliyi göstermektedir

9. Tim Grubuna Ait Sperm Morfolojik Bulguları: Genelde Tim grubuna ait spermelerin baş, boyun ve kuyruk morfolojileri normal izlendi (Şekil 55).



Şekil 55. Tim grubuna ait deneklerin normal sperm morfolojisine sahip oldukları görülmektedir

10. Tim+EMA Grubuna Ait Sperm Morfolojik Bulguları: Tim+EMA grubunda kuyruk defekterin yoğunluğunun baş ve boyun anomalilerine göre fazla olduğu tespit edildi. Yoğun olarak halka kuyruk ve dog defekt ve az olarak da bükük defekt, kırık boyun ve baş anomalileri mevcut idi (Şekil 56).



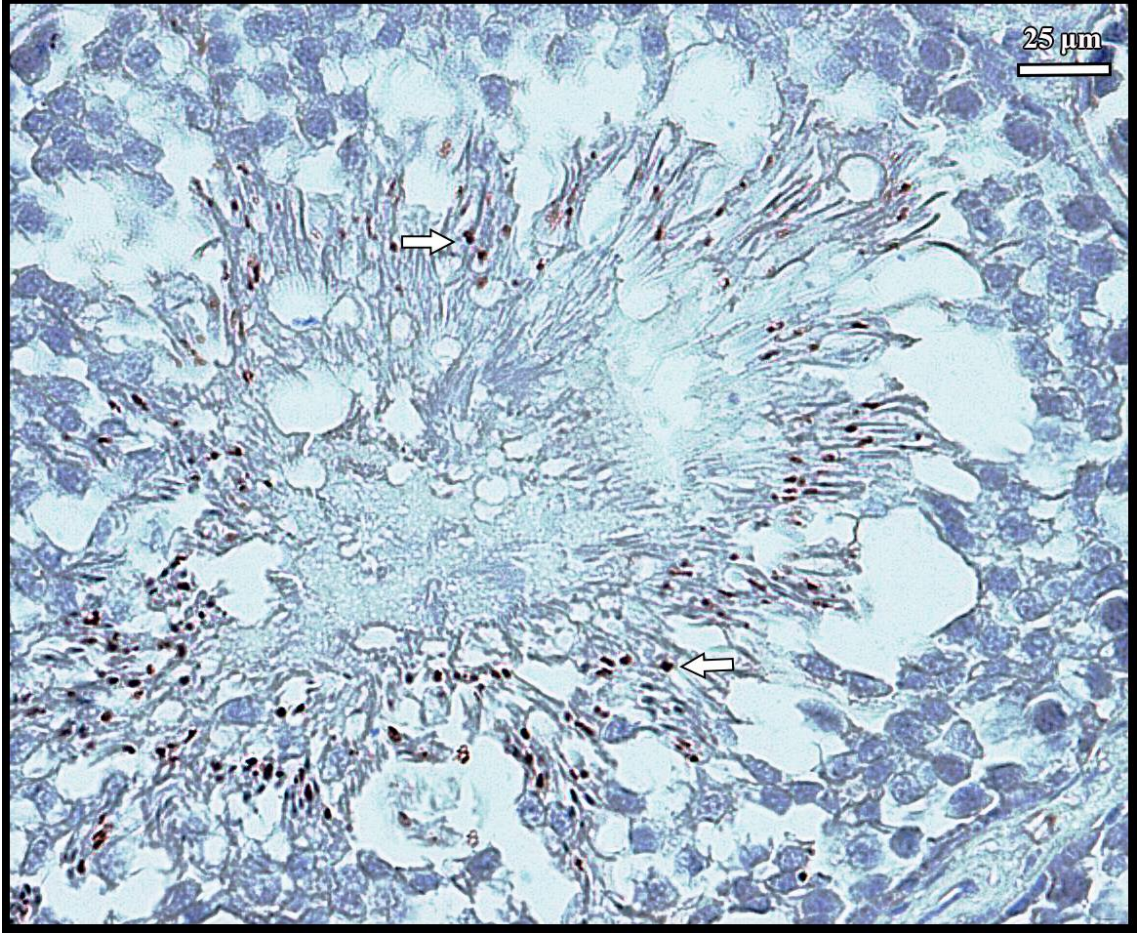
Şekil 56. Tim+EMA grubuna ait deneklerin anormal sperm morfolojiye sahip oldukları görülmektedir. a'daki **çift siyah ok başı**; Başsız spermi, a'daki **beyaz ok**; Sperm baş anomalileri, b'deki **siyah ok**; Halka uyruk anomaliyi, b'deki **beyaz ok başı**; Kuyruksuz başı, b'deki **çift beyaz ok başı**; Dog defekti göstermektedir

4.7. İmmünohistokimyasal Analiz Bulguları

Deney ve kontrol gruplarına ait testis doku örneklerinin DCXR ile boyanmış kesitlerinin ışık mikroskop altında incelenmesi sonucunda kırmızımsı kahverengi boyanan hücreler spermatozoa olgunlaşması için bir belirteçti ve pozitif hücreler olarak kabul edildiler.

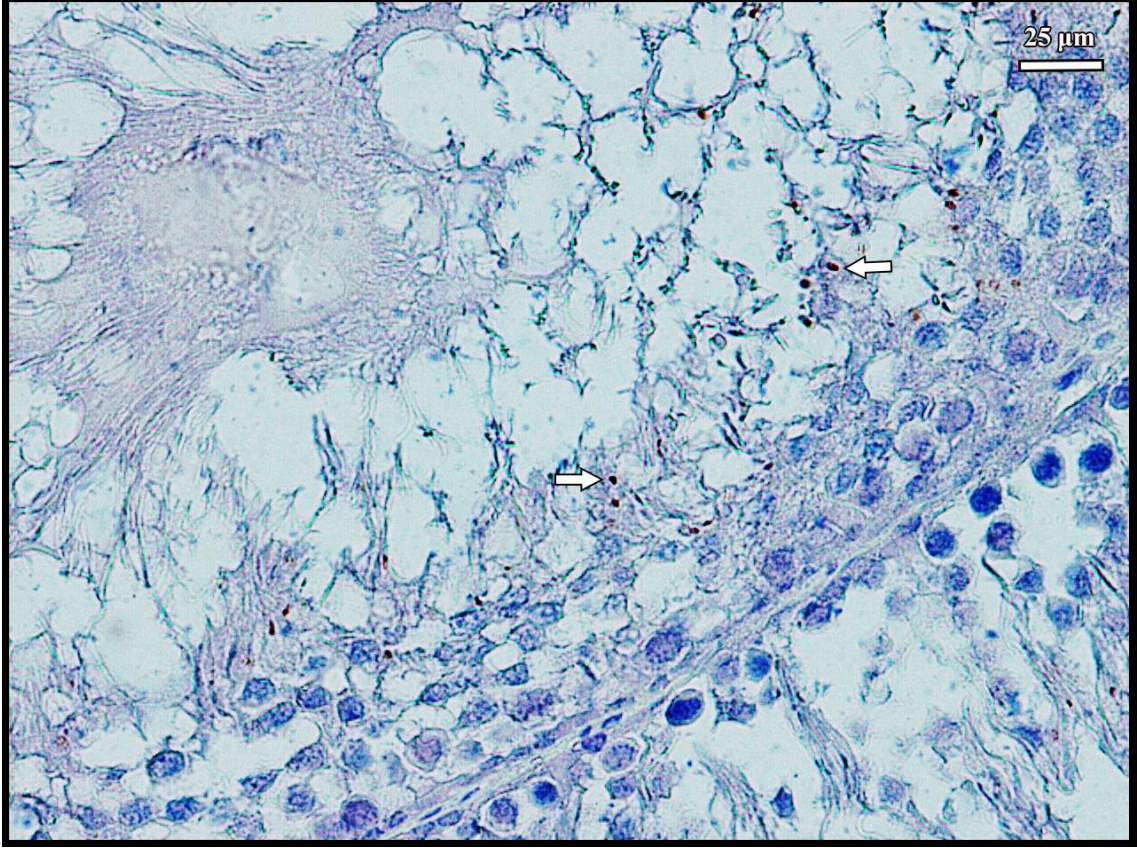
1. Kontrol Grubuna Ait Deneklerin İmmünohistokimyasal Bulgular:

Kontrol grubuna ait deneklerin testis dokularının immünohistokimyasal incelenmesinde spermatozalarda güçlü pozitif immün boyanma izlendi (Şekil 57).



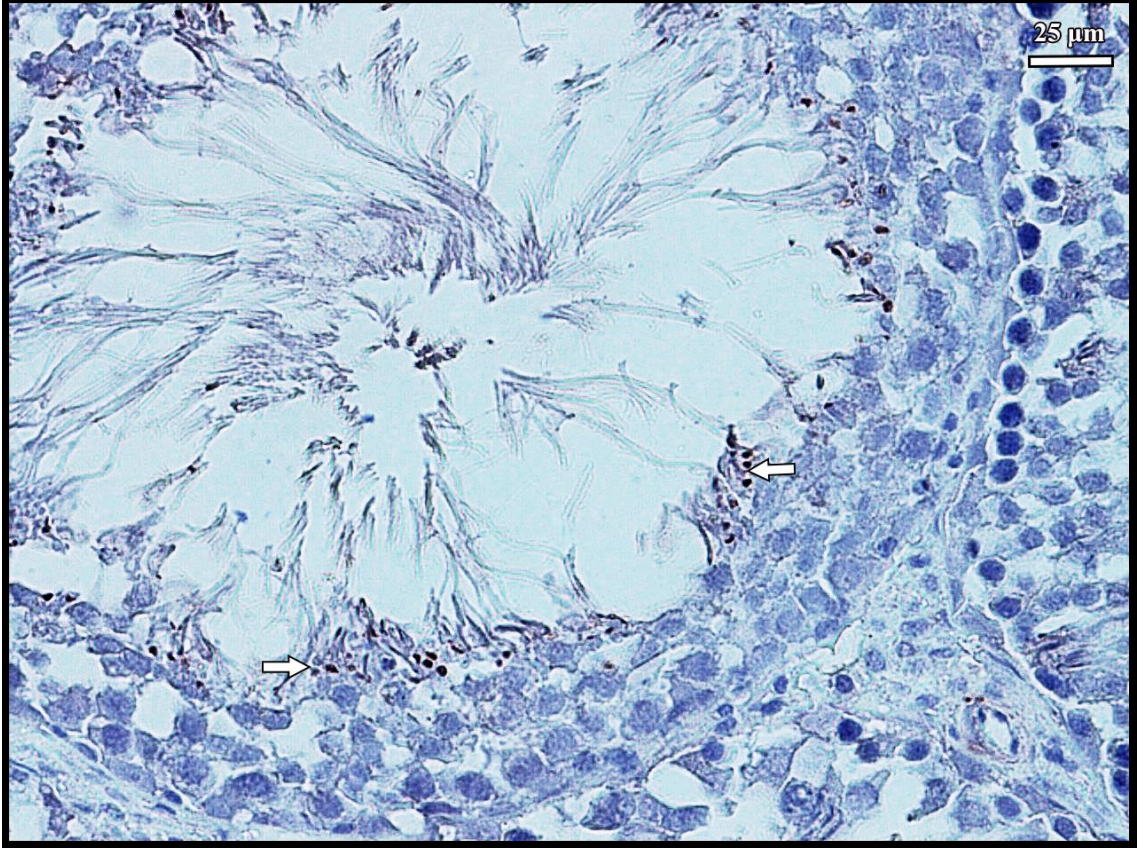
Şekil 57. Kont grubuna ait deneklerin anti-DCXR antibody ile boyanmış testis dokularının görüntüleri izlenmektedir. **Beyaz ok;** Spermatozoa hücrelerinde pozitif immün boyamayı (DCXR ekspresyonunu) göstermektedir

2. EMA Grubuna Ait Deneklerin İmmünohistokimyasal Bulguları: EMA grubuna ait deneklerin testis dokularının immünohistokimyasal incelenmesinde kontrol grubuna göre anlamlı hasar gözlemlendi. EMA guplarında bulunan spermatozoalarda hafif pozitif immün boyanma izlendi (Şekil 58).



Şekil 58. EMA grubuna ait deneklerin anti-DCXR antibody ile boyanmış testis dokularının görüntüleri izlenmektedir. **Beyaz ok;** Spermatozoa hücrelerinde pozitif immün boyamayı (DCXR ekspresyonunu) göstermektedir

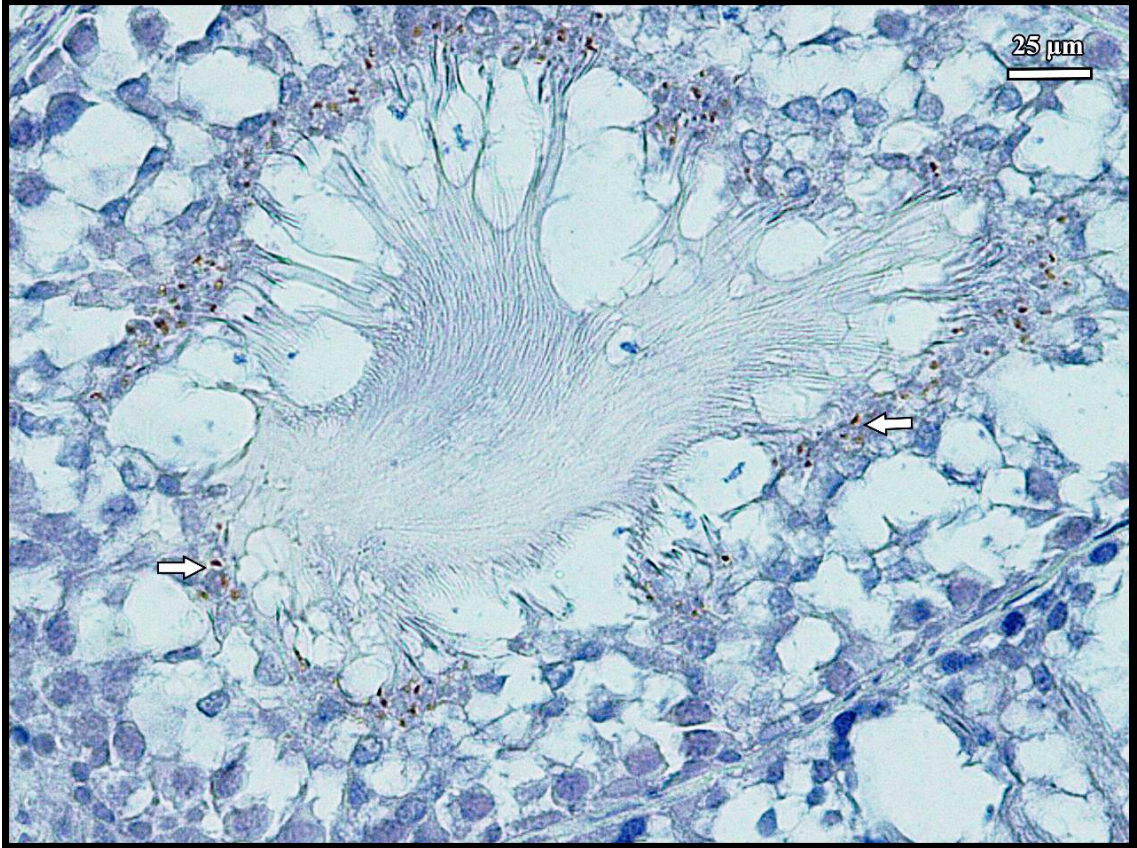
3. Lut Grubuna Ait Deneklerin İmmünohistokimyasal Bulguları: Lut grubuna ait deneklerin testis dokularının immünohistokimyasal incelenmesinde kontrol grubu gibi güçlü pozitif immün boyanma gözlemlendi (Şekil 59).



Şekil 59. Lut grubuna ait deneklerin anti-DCXR antibody ile boyanmış testis dokularının görüntüleri izlenmektedir. **Beyaz ok;** Spermatozoa hücrelerinde pozitif immün boyamayı (DCXR ekspresyonunu) göstermektedir

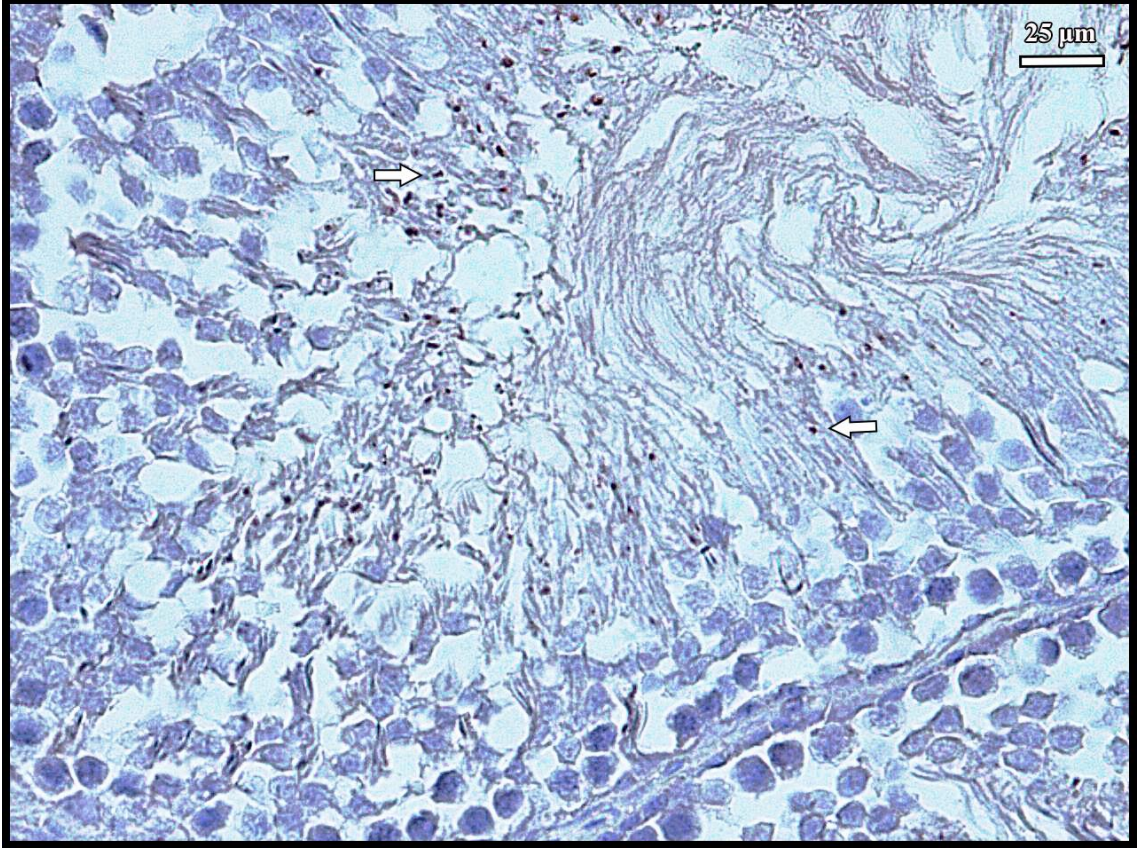
4. Lut+EMA Grubuna Ait Deneklerin İmmünohistokimyasal Bulguları:

Lut+EMA grubuna ait deneklerin testis dokularının immünohistokimyasal incelenmesinde EMA grubuna göre spermatozalarda pozitif immün boyanmanın arttığı izlendi, ama kontrol grubuna göre yoğun olmadığı gözlemlendi (Şekil 60).



Şekil 60. Lut+EMA grubuna ait deneklerin anti-DCXR antibody ile boyanmış testis dokularının görüntüleri izlenmektedir. **Beyaz ok;** Spermatozoa hücrelerinde pozitif immün boyamayı (DCXR ekspresyonunu) göstermektedir

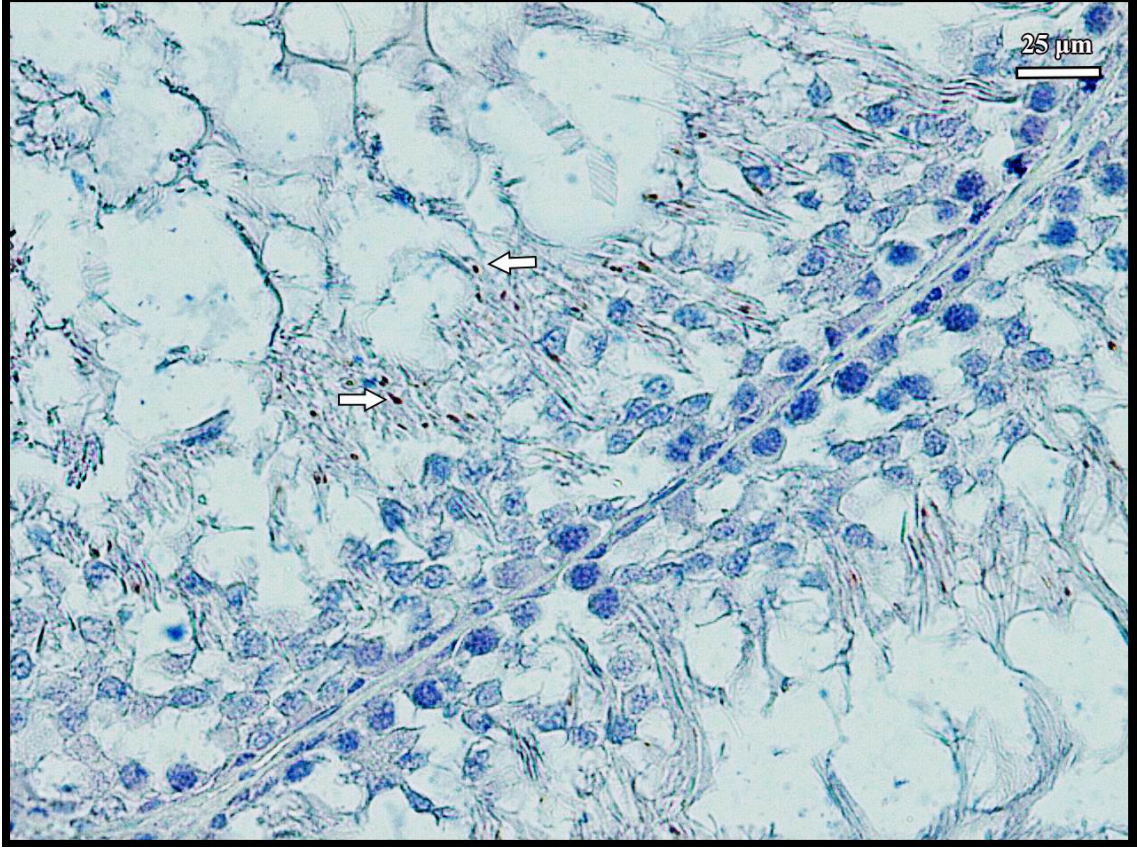
5. Tim Grubuna Ait Deneklerin İmmünohistokimyasal Bulguları: Tim grubuna ait deneklerin testis dokularının immünohistokimyasal incelenmesinde kontrol ve Lut grupları gibi güçlü pozitif immün boyanma gözlemlendi (Şekil 61).



Şekil 61. Tim grubuna ait deneklerin anti-DCXR antibody ile boyanmış testis dokularının görüntüleri izlenmektedir. **Beyaz ok;** Spermatozoa hücrelerinde pozitif immün boyamayı (DCXR ekspresyonunu) göstermektedir

6. Tim+EMA Grubuna Ait Deneklerin İmmünohistokimyasal Bulguları:

Tim+EMA grubuna ait deneklerin testis dokularının immünohistokimyasal incelenmesinde EMA grubuna göre spermatozoalarda pozitif immün boyanmanın arttığı izlendi, ama kontrol grubuna göre yoğun olmadığı dikkat çekti (Şekil 62).



Şekil 62. Tim+EMA grubuna ait deneklerin anti-DCXR antibody ile boyanmış testis dokularının görüntüleri izlenmektedir. **Beyaz ok;** Spermatozoa hücrelerinde pozitif immün boyamayı (DCXR ekspresyonunu) göstermektedir

5. TARTIŞMA

Teknolojinin gelişimiyle birlikte, elektrik veya elektronik cihazların kullanımının yaygınlaşması EMA'nın artışına neden olmaktadır. Özellikle elektromanyetik dalgaları yayan cep telefonlarının yoğun kullanılmasının EMA radyasyonunun artışına sebep olduğu düşünülmektedir. Günlük yaşamda kullanılan bir çok cihazın yaydığı EMA ile EMA maruziyeti yaşamsal organizmaları ve çevreyi etkileyen en önemli fiziksel ajanlardan biridir (Mokarram ve ark., 2017). Dünyada üç milyardan fazla insan bilinçli olarak her gün EMA'ya maruz kalmaktadır (Fragopoulou ve ark., 2010). Günlük hayatta kullanılan bu cihazların sadece yakın çevrede dalga artışına sebep olmadığı, aynı zamanda vücut fonksiyonları üzerinde zararlı etkilerinin varlığından da endişe edilmektedir. EMA radyasyonunu yayan cep telefonları ve diğer elektromanyetik cihazların, insan doğurganlığı için zararlı olduğu düşünülmektedir (Vignera ve ark., 2012). Mobil telefonlar, insan vücudunda absorbe edilebilen 800 ila 2200 MHz arasında bir frekansta, düşük seviyeli bir RF yayarlar (Agarwal ve ark., 2011). Cep telefonları yasal olarak 2 W/kg SAR değeri ile sınırlandırılmıştır (International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection, 2010) ve birçoğu 1,4 W/kg SAR değerine sahiptirler (Agarwal ve ark., 2011). Cep telefonlarının oluşturduğu EMA'ya maruz kalma ve bu durumun malformasyon riski oluşturması ile ilgili endişeler artarak çoğalmakta ve bu konu üzerinde çok sayıda çalışmalar yapılmaktadır (Mahmoudabadi ve ark., 2015).

Cep telefonlarının yaydığı EMA'nin etkileri ile ilgili yapılan araştırmalar, tartışmalı sonuçlar göstermektedir. Literatürde, cep telefonlarının kan-beyin bariyeri, testisler ve beyin tümör riski üzerinde bir etkisi olmadığını bildiren çalışmalar dikkat çekmektedir (Dasdag ve ark., 1999; Muscat ve ark., 2000; Finnie ve ark., 2006; Forgacs ve ark., 2006). Başka bir çalışmada ise, cep telefonunun yaydığı EMA'ya maruz kalan sıçanların testislerinde histolojik olarak değişiklikler gözlenmiştir (Dasdag ve ark., 2003). Bunun yanı sıra EMA'nın insan sağlığı üzerinde olumsuz etkisini ileri süren çalışmalar da bulunmaktadır. Başka bir çalışmada, EMA maruziyetinin (900 MHz) 60 günlük erkek sıçan testislerinde biyolojik ve morfolojik etkilere neden olduğu kanıtlanmıştır (Sehitoglu ve ark., 2015).

Baharara ve ark. (2008), cep telefonununun kaynaklanan 940 MHz'lik EMA'nın oositlerin yapısını değiştirdiğini ve Balb C farelerinin doğurganlık hızını azalttığını göstermişlerdir.

Bütün canlı organizmalar hücrelerden oluşur ve hassas bir elektromanyetik yapıya sahiptirler. Transmembran elektrik alanları ve hücre içindeki hareketli iyon konsantrasyon farklılığından dolayı hücre içi elektrik akımları gibi zayıf geçici endojen elektrik oluşmaktadır. Hücre, doku ve organ seviyesinde tüm fonksiyonlar fizyolojik endojen elektrik alanları tarafından kontrol edilir (Panagopoulos, 2013). Hücre içi elektrik akımlarının; hücre büyümesi, çoğalması, farklılaşması gibi birçok olayı kontrol ettiği ve yüzlerce/binlerce hücrenin bulunduğu dokulardan gelen elektrik akımlarının ise embriyonik gelişim kontrolü, yara iyileşmesi veya doku rejenerasyonunu kontrol ettiği bildirilmiştir (Panagopoulos, 2013). Tüm canlı organlarda bulunan bu ince elektromanyetik ağ kaçınılmaz olarak çevrelerindeki diğer EMA'larla (doğal ya da insan yapımı) etkileşim kurar, ve bu da belirli endojen alanlar tarafından kontrol edilen ilgili hücresel / biyolojik fonksiyonları değiştirir. Bu nedenle, normal koşullar altında canlı organizmalar ile doğal çevre arasında bir elektromanyetik denge oluştuğu açıktır. Eğer bu denge bozulursa, fizyolojik fonksiyonlar da bozulacaktır. EMA maruziyetine bağlı çok sayıda biyolojik etki bildirilmiştir (Goodman ve ark., 1995). Tüm bunlara ek olarak, son otuz yıl boyunca yapılan bir çok epidemiyolojik çalışmalar, elektrik hattı veya trafo tarafından oluşturulan manyetik alanlar ve kansere maruz kalma durumu arasında bir bağlantı olduğunu göstermişlerdir (Feychting ve Ahlbom, 1995; Draper ve ark., 2005).

Modern insan ve çevresi, gelişmekte olan organizmalar için sürekli ve beklenmeyecek biçimde değişen, polarize edilmiş ve bilinmeyen yapay EMA/radyasyon türlerine sürekli ve artan oranda maruz kalmaktadır (Panagopoulos, 2013). Günümüzde, insan ve hayvanların yapay EMA'ya maruziyeti, sürekli olarak artan biyolojik riskler ile sonuçlanabilir. Bunların arasında en ciddi olanları hücre ölümüne, üreme gerilemelerine, işlevsel bozukluklara, kanser indüksiyonuna, kalıtsal mutasyonlara yol açabilecek genotoksisite (DNA hasarı)'dır. Biyolojik maddelerde, tek başına emilen enerjinin miktarı biyolojik etkinin belirlenmesi için yeterli değildir (Panagopoulos ve ark., 2013). Örneğin, EMA radyasyonu lipidler tarafından absorbe edildiğinde, hasar büyüklüğü büyük olasılıkla aynı miktarda enerjinin enzimler tarafından emildiğinden

küçük olur ve muhtemelen bu enerjinin nükleik asitler özellikle DNA tarafından absorbe edildiğinden çok daha küçüktür (Bin-Meferij ve El-Kott, 2015).

Birçok çalışma EMA'nın cinsel hormonlar ve gonadal işlev üzerinde yıkıcı etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Tüm bu etkiler dikkate alındığında insanlar EMA'nın olumsuz etkilerinin farkında olmalıdır. Elektromanyetik dalgaların etkisi farklı frekanslarda değişse de, bu dalgalara maruz kalma ile ilişkili risk kaynaklarına mümkün olduğunca uzak kalmakta fayda vardır. Son on yılda yapılan *in vivo* hayvan çalışmaları, oksidatif stresin cep telefonu radyasyonuna tepki olarak geliştiğini göstermişlerdir (Oktem ve ark., 2005; Oral ve ark., 2006; Ozguner ve ark., 2006; Balci ve ark., 2007). Buna ek olarak, insanların elektromanyetik dalgalardan kaynaklanan oksidatif stres etkilerini azaltmak için doğal antioksidanlar kullanması önerilebilir.

Oksidatif stres, üreme işlev bozukluğu için potansiyel bir sebep olabilir (Martinez ve ark., 2014). Serbest oksijen radikalleri, hücre içi ve dışı yöntemlerle elimine edilerek organizma içinde oksidatif denge oluşturulmaktadır (Shoji ve Koletzko, 2007). Pro-oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin pro-oksidan tarafa kaybı oksidatif strese neden olabilmektedir.

Lipid oksidasyonu oksidatif stres vasıtasıyla biyomoleküllere zarar vermektedir (Fukagawa, 1999). EMA'ya maruz bırakılan farelerde antioksidan enzim aktivitelerinin azaldığı bir çok çalışmada açıklanmıştır (Khadir ve ark., 1999). Aynı zamanda EMA hücre bazında mitoz, apoptoz, ve membran yapısı ve fonksiyonunu değiştirebilir ve DNA kırılmalarına neden olabilir (Marinelli ve ark., 2004; Zhao ve ark., 2007). Buna ek olarak, oksidatif stres sürecinde üretilen ROS'un DNA yapısındaki bazları ve şekerlerin yapısını değiştirerek DNA hasarına yol açtığı düşünülmektedir (Guler ve ark., 2010). ROS, doymamış yağ asitlerini yok edebilir (Agarwal ve ark., 2011).

Antioksidanlar, oksidatif stresi oluşturan ROS'un yok edilmesinde önemli bir rol oynar ve oksidatif strese karşı canlıları korur (Sen, 1995). Metabolik yakıt olarak kullanılan oksijenin, önemli bir kısmının tamamen azaldığı ve toksik olduğu bilinmektedir. Kısmen indirgenmiş oksijen formları ve bazı türevleri, topluca reaktif oksijen türleri ROS olarak adlandırılan reaktif pro-oksidanlardır. Vücuttaki ROS oluşumunu modüle ettiği bilinen birçok faktör vardır (Sen, 1995). ROS'a bağlı toksisiteyi önlemek için, biyolojik yapılar koruyucu mekanizmaları ile fizyolojik antioksidan işlevini yapmaktadır. Bu savunma mekanizmaları ROS veya onun başlattığı

zincir reaksiyonu kırarak engeller ve bu yollar üzerinden hareket ederler. Fizyolojik antioksidanların bağımsız olarak vücut tarafından üretilen ROS'u tamamen detoksifiye edebildikleri görülmektedir. Bu nedenle dışarıdan antioksidanların temini çok önemlidir. Endojen ve eksojen antioksidanlar, ROS'a bağlı hasarı azaltmak için birlikte çalışırlar. ROS, çok sayıda klinik bozukluğun patogeneğinde rol almaktadır. Vücutta önleyici ve antioksidan kuvvetlerin arasındaki hassas denge, sağlık durumu ve uzun ömürün belirlenmesinde çok önemli görünmektedir (Sen, 1995).

İnfertilite insanları psikolojik ve tıbbi açıdan etkileyen kritik bir konudur. Oksidatif stres, erkek fertilité durumunu etkileyen önemli bir faktör olarak tanımlanmıştır (Aitken ve Roman, 2008; Apostoli ve Catalani, 2011; Wright ve ark., 2014).

Birçok çalışma EMA'nın testislerde oksidatif strese neden oluşunu kanıtlamıştır (Hajhosseini ve ark., 2013; Bin-Meferij ve El-Kott, 2015). Ayrıca cep telefonunun oluşturduğu elektromanyetik radyasyonun testiküler doku üzerindeki olası etkilerinin histolojik olarak araştırıldığı ve EMA'nın testis üzerindeki zararlı etkilerini önleyen antioksidanların olası koruyucu rollerini de barındıran çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Al-Damegh ve ark., 2012; Hajhosseini ve ark., 2013).

Antioksidanlar mono- hidroksi/polihidroksi fenol içeren bileşiklerdir ve üç gruba ayrılır, bunlar 1) oksidanların oluşumunu önleyen primer antioksidanlar; 2) diyet veya ardışık antioksidanlar yoluyla okside olmuş molekülleri tamir eden ikincil antioksidanlar; 3) metal makromolekülleri (albümin, seruloplazmin ve transferrin) ve antioksidan enzimleri bağlayan koruyucu antioksidanlardır (Asghari ve ark., 2016). Aşırı ROS oluşumunun önlenmesi ve hücre hasarının onarımı, bir hücrenin yaşamı için gereklidir. Hücreleri hasara karşı koruyacak çok sayıda antioksidan bulunmaktadır. Çalışmamızda EMA maruziyetine karşı Lut ve Tim antioksidanlarının kuruyucu etkileri değerlendirildi.

Tüm gruplara ait sıçanlarda testis ağırlığı, testis hacmi, spermatogonyum, primer spermatosit, spermatid, Sertoli ve Leydig hücrelerinin toplam sayısı araştırıldı. Testis hücre sayısı ve hacim ölçümünü elde etmek için stereolojik yöntemler kullanıldı (Altunkaynak ve Altunkaynak, 2007; Tüfek ve ark., 2015). Kullanılan stereolojik yöntemler tarafsız ve doğru verilerin, etkin ve güvenilir bir şekilde elde edilmesini sağlamaktadır (Gundersen ve Jensen, 1987; West, 2002). Çalışmamızda, Cavalieri ve

optik parçalama prensipleri kullanılarak sırasıyla biyolojik yapıların hassas niceliksel hacimsel ölçümü ve toplam hücre sayılarının hesaplamaları gerçekleştirildi.

Testis, seminifer tübüller (spermatogenez bölgesi) ve Leydig hücreleri (testosteron kaynağı) olmak üzere iki farklı bölümden oluşmaktadır. Sperm üretim süreci, Y kromozomu üzerinde bulunan genler tarafından düzenlenir ve spermatosit aşamasından itibaren yaklaşık 70 gün sürer. Testisler erkek üreme sisteminin bir parçası olarak spermatogenez aracılığıyla sperm üretiminden sorumlu bulunmaktadır. Spermatogenez, spermatozoanın erkek primordiyal üreme hücrelerinden üretildiği süreçtir (Agrimson ve ark., 2016).

5.1. Testis Yaş Ağırlığı

Çalışmamızda dördüncü haftanın sonunda sıçan testislerinin ağırlık değerleri incelenmiştir. Kontrol grubuna göre, EMA'ya maruz bırakılan gruplar içerisinde sadece EMA grubunda testis ağırlığı istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı gözlemlenirken Lut, Lut+EMA, Tim ve Tim+EMA grupları arasında anlamlı fark gözlemlenmemiştir. Lut ile tedavi edilen Lut+EMA grubunda testis ağırlığı EMA grubuna göre anlamlı derecede artış göstermiştir. Testis ağırlığının doğrudan testisin işlevi ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Testiste gözlemlenen kilo kayıplarının, toplam spermatid sayısının ve testosteron hormonunun azalmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (Sadik 2008; Cormier ve ark., 2017). Bu bilgiler göz önüne alındığında, Lut uygulamasının oksidatif stres düzeyini azaltarak spermatid sayısı ve testosteron hormon seviyesini arttırmış, böylelikle testiküler ağırlığının iyileşmesine yol açmıştır. Elde edilen bu sonuçlara dayanarak, 900 MHz'lik EMA'nın testis ağırlığı üzerinde negatif bir etkisi olduğu söylenebilir ve bu çalışma, EMA maruziyetinden kaynaklanan testiküler ağırlık kaybının Lut ile önlenilebilir olduğunu göstermiştir.

Spermatogenezin karmaşık süreci ve germ hücrelerinin olgun cinsiyet hücrelerine dönüşümü, patolojik faktörlerin etkisi altındadır (Agarwal ve ark., 2004). Serbest radikallerin artması, spermelerin efektifliğini (doğurganlık dışıya ait bir özellik), aktivitesini ve proliferasyonunu olumsuz etkiler ve bu radikallerin seviyesi düzenlenmediği takdirde bu hücrelerin normal fonksiyonlarında bozulmalara neden olur (Kaur ve Kaur, 2000; Agarwal ve ark., 2005). Genel olarak testis ağırlığı ve boyutu direkt olarak testisin işlevi ile ilişkilidir. Bu yüzden testislerdeki ağırlık kaybı spermatogenez fonksiyon ve hormon üretiminde bir azalmaya neden olur. Bu azalma

spermatogenez sürecinin aksamalarından ve sperm sayısından kaynaklanmaktadır (Ono ve Sofikitis, 1997; Sadik, 2008).

Aytekin ve ark. (2005), yaptıkları bir çalışmada farelerde günde 12 saat 7 gün boyunca oluşturulan yaklaşık 90 mW/kg SAR değerinde 900 MHz'lik EMA maruziyetinin testis ağırlığını etkilemediğini gözlemişlerdir (Aitken ve ark., 2005). Erkek sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada ise, 8 ay boyunca 8 saatlik 50 Hz frekanslı EMA maruziyetinin testiste ağırlık kaybı ve seminifer tübül ortalama çapında bir azalma dahil olmak üzere testiste histolojik değişikliklere neden olduğunu göstermiştir (Gye ve Park, 2012).

5.2. Testis Hacmi

Stereolojik analiz sonuçlarımıza göre, deney gruplarında ortalama testis hacmi ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark çıkmamıştır. Bu bulgulara dayanarak, 900 MHz'lik EMA'ya maruziyetinin testis haciminde herhangi bir olumsuz etkisi olmadığı söylenebilmektedir. Tenorio ve ark. (2011), düşük frekanslı EMA ve testis gelişimi arasındaki muhtemel etkileşimleri incelemek amacı ile yaptıkları çalışmada, tübül çapı, seminifer tübül alanı seminifer epitel yüksekliği, seminifer tübül toplam hacim parametrelerinin azaldığını tespit etmişlerdir.

Dünyadaki habitat (yetiştirme ortamı) ve kültür çeşitliliğine rağmen, son yıllarda erkek infertilitesinde bir artış gözlenmektedir ve bu durum uluslararası bir sorun haline gelmiştir (Sharma ve ark., 2015). Bilimin gelişme göstermesine rağmen, artmakta olan stres faktörü nedeniyle infertilite oranında artış olduğu düşünülmektedir. EMA erkeklerin üreme kapasitesinde azalmaya neden olması ve infertiliteyi etkilemesi nedeniyle önemli bir faktör olarak görülmektedir (Adamsa ve ark., 2014). Bununla birlikte, EMA'ya maruziyetin insan üreme sistemini etkileyip etkilemediği tartışmalıdır (Roda ve Perry, 2014). Seze ve ark. (1998), 2 saat/gün için 900 MHz frekansında EMA'ya maruziyetinin serum lüteinizan hormon ve folikül uyaran hormon konsantrasyonları üzerinde anlamlı bir etki yaratmadığını açıklamışlardır (Seze ve ark., 1998). Agarwal ve ark. (2009), cep telefonlarını sıkça kullanan pilotların semen analizlerinden elde edilen örnekler ile yaptıkları çalışmada toplam antioksidan kapasite ve DNA hasarında, kontrol grubuna göre önemli bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Buna karşın EMA'nın seminifer tübüllere komşu olan Leydig hücrelerini de etkilediği veya tahrip ettiği (Khillare ve Behari, 2009), seminifer tüpün çapını (Salama ve ark.,

2010) ve testis organlarının ağırlığını azalttığını savunan çalışmalar da bulunmaktadır (Behari ve Kesari, 2010). Üreme kapasitesindeki azalma iki nedenden kaynaklanıyor olabilir. Bunlardan biri, RF elektrik alanının enerji transferiyle oluşturulan termal etkiden kaynaklanan sperm hasarıdır (Challis ve ark., 2005). Diğeri ise, RF-EMA ile indüklenen yükseltilmiş reaktif oksidatif türlerden kaynaklanan DNA ve protein hasarıdır (Campisi ve ark., 2010; Vignera ve ark., 2012). Güler ve ark. (2010), EMA'nın testisler üzerinde DNA hasarına, bu durumun da fetal malformasyonlar ve fetüs kayplarına neden olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmaya göre EMA maruziyeti farelerde germ hücrelerinin ölüm oranını arttırmakta ve fertilizasyon oranını azaltmaktadır. Ayrıca EMA'ya maruziyet spermatojenik hücrelerde apoptozisi harekete geçirerek yüksek bir apoptotik indeksin üretilmesine neden olur (Al-Akhras ve ark., 2001; Lee ve ark., 2004; Chung ve ark., 2005; Kim ve ark., 2009; Luo ve ark., 2013).

Sıçanlarda fertilité üzerine yapılan bir başka çalışmada, EMA maruziyetinin testis dokusunda spermatogenezi etkilediğı ve apoptoza neden olduğı araştırılmıştır (Bin-Meferij ve El-Kott, 2015). EMA'ya maruziyeti testisin yapı ve fonksiyonu üzerinde etkilerinin açıklanmasını amaçlayan çeşitli çalışmalar bulunmakla birlikte, yeni araştırmalar yapılmaya devam edilmektedir. EMA'nın biyolojik etkileri son birkaç yılda hem hayvan, hem de insan dokularında yaygın olarak çalışılmıştır (Juutilainen ve Saali, 1986; Odacı ve ark., 2016). Çalışılan dokulardan bir tanesi olan erkek üreme sistemi, ilaç, termal stres ve EMA gibi çevre koşullarına karşı çok hassastır (Juutilainen ve Saali, 1986).

EMA'nın gelişim üzerindeki toksisitesi ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Erkek ve dişiler çiftleşme öncesi dokuz hafta ve iki hafta süreyle 5,0 mT'lık 50 Hz, sinüs dalgalı EMA'ya maruz bırakıldığında gamet fertilitesi ve fetal gelişiminin etkilenmediğı gözlemlenmiştir (Ohnishi ve ark., 2002). Fakat başka bir grup araştırmacı, *in vivo* koşullarda EMA (1 mt yoğunluk) vasıtasıyla sperm fonksiyonunun azaldığını göstermiştir (Bernabò ve ark., 2007). Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda, EMA'ya maruz bırakılan deney gruplarında üreme endokrin hormonları ve gonadal fonksiyonların değıştiğı gözlenmiştir. Bu etkiler EMA'nın frekansı, maruz kalma süresi ve gücüne göre farklı sonuçlar göstermiştir. İnsanlar modern toplumda ev ve iş faaliyetleri sırasında çeşitli EMA'ya maruziyetten kaçınamazlar, ama EMA'nın

biyolojik tehliksinin de farkında olmalıdırlar. EMA maruziyetini önlemek ve üreme potansiyelini korumak için gerekli önlemlerin alınması gerekmektedir.

Çevresel düzeyde elektrik ve manyetik alanlar serbest radikallerin ömrünü uzatıp insanlarda DNA hasarına yol açabilirler (Lai ve Singh, 2004). EMA'nın biyolojik etkileri genel olarak termal ve termal olmayan etkiler olmak üzere ikiye ayrılabilir (Scientific Committee on Emerging Newly Identified Health Risks, 2015). Termal etkiler, belirli bir alanda EMA tarafından üretilen ısı olarak tanımlanır. Termal olmayan etkiler ısı üretmeden dokuların davranışlarına ve enerji absorpsiyonuna bağlıdır. EMA yüksek nüfuz gücü ile, elektronlar, makromoleküller ve polimer iyonları gibi yüklü parçacıkları hareket ettirebilme kapasitesine sahiptir (Scientific Committee on Emerging Newly Identified Health Risks, 2015). Bu yüzden, EMA doku üzerinde yıkıcı etkisi olabilir. EMA hücre davranışlarının değişikliklerine de neden olmaktadır (Leszczynski ve ark., 2002). EMA ve endokrin sistem ile ilgili yapılan araştırmalar çoğunlukla melatonin ve epifiz bezi tarafından üretilen triptofan üzerine odaklanmıştır (Brainard ve ark., 1999). EMA'nın zararlı etkilerinin çoğu protein sentezi işlemi yoluyla yapılmaktadır (Mancinelli ve ark., 2004; Lin ve ark., 2001). 2017'de yapılan bir çalışmada 2,4 GHz'lik WiFi'nin beyin tümörleri ve diğer nörodejeneratif hastalıklar için önemli risk faktörlerinden biri olabileceği gösterilmiştir (Weeks, 2017). Başka bir çalışmada, polarizasyonlu EMA'nın (insan yapımı) polarize olmayan EMA'ya göre biyolojik olarak daha fazla aktif olduğu tespit edilmiştir (Panagopoulos ve ark., 2015). 2,4 GHz'lik Wi-Fi'ye maruz kalan tavşanlarda yapılan bir başka çalışmada da EMA maruziyetinin kalpte aritmiye ve kan basıncında yükselmeye neden olduğu kanıtlanmıştır (Roychoudhury ve ark., 2009).

Ayrıca *in vivo* sıçan deneylerinde, 900 MHz'lik EMA'nın endometrial histopatolojik bozulmaya yol açan oksidatif stresi arttırdığı gözlenmiştir (Guney ve ark., 2007). Prostat kanser hücrelerinde gerçekleştirilen bir deneyde, 60 Hz'lik sinüzoidal EMA'dan kaynaklanan ROS'un apoptoz ile hücre büyümesini inhibe ettiği ve hücre döngüsünü durdurduğu gösterilmiştir (Koh ve ark., 2008).

5.3. Spermatogonyum, Primer Spermatozoid, Spermatozoid, Sertoli, Leydig Hücre Sayısı

Çalışmamızda testis doku örneklerinden elde edilen stereolojik analiz sonuçları, EMA'ya maruziyet ve spermatogenik hücreler arasındaki ilişkiyi gösterdi. EMA'ya

maruz bırakılan gruplarda toplam spermatogonyum hücre sayısının kontrol grubuna göre azaldığı ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. Lut ve Tim gruplarındaki toplam spermatogonyum hücre sayısının EMA grubuna göre anlamlı derecede arttığı gözlemlenmiştir.

EMA grubunda hesaplanan toplam primer spermatozoid sayısı, kontrol grubuna göre ileri derecede istatistiksel olarak anlamlı bir azalma göstermiştir, Lut+EMA, Tim+EMA gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmamıştır. Lut+EMA ve Tim+EMA primer spermatozoid sayısı EMA grubuna göre anlamlı derecede artmıştır. Bu artışın nedeninin Lut ve Tim'in EMA'ya karşı yarattığı antioksidan etkilerinin olabileceği düşünülmektedir.

Kontrol grubuna göre EMA grubunda spermatid hücre sayısının anlamlı olarak azaldığı ve aksine Lut+EMA, Tim+EMA grupları ile anlamlı bir farkın olmadığı tespit edilmiştir. Lut, Lut+EMA ve Tim gruplarında toplam spermatid hücre sayısının artması EMA grubuna göre anlamlı gözlemlenirken EMA ile Tim+EMA grupları arasında fark anlamlı bulunmamıştır. Diğer sonuçlarımız ile uyumlu olan bu sonuçlar Lut'un EMA maruziyetine karşı güçlü bir antioksidan olduğunu göstermektedir.

EMA grubunda Sertoli hücre sayısı, kontrol grubuna göre azalmış olsada istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenmemiştir. Bu durum Sertoli hücrelerinin EMA maruziyetinden etkilenmediğini göstermektedir. Ayrıca kontrol ile Lut+EMA ve Tim+EMA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir.

EMA grubunda toplam Leydig hücre sayısı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma göstermiştir, ancak Lut+EMA ve Tim+EMA gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma izlenmemiştir. Ayrıca EMA ile Lut+EMA, grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenirken EMA ile Tim+EMA grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Bu çalışma diğer çalışmalar ile uyumlu olarak, testis yapısının EMA maruziyetine hassas olduğunu ve spermatogenezin bu faktörden etkilendiğini, subfertilite veya infertilite ile sonuçlandığını göstermiştir (Ebrahimi-Kalan ve ark., 2011). Kesari ve ark. (2011), erkek sıçanlarda toplam 35 saat süre ile günlük 2 saat boyunca 900 MHzlik (0,9 W/ kg'lık SAR) EMA'ya maruz kalmının üreme sisteminde ROS düzeyinde artışa ve sperm apoptozuna neden olduğunu bildirmiştir.

Gorpinchenko ve ark. (2014), EMA etkisinin DNA yapısı ve insan sperm hareketliliği üzerine yaptıkları araştırmalarda maruziyetin ilk iki saatinde DNA parçalanma düzeyinde artış ile genotoksisiteye neden olduğunu rapor etmişlerdir. Atasoy ve ark. (2013), Wi-Fi cihazlarından kaynaklanan EMA radyasyonu ve genotoksisite arasında korelasyon olduğunu kanıtlamışlardır. Sonuçlar, Wistar albino sıçan testislerinde 20 haftalık 24 saatlik EMA'ya maruziyetinin DNA hasarının biyolojik belirteçlerinde (8-hidroksi-2'-deoksiguanozin seviyeleri ve 8-hidroksiguanozin boyaması) artış olduğunu ortaya koymuşlardır.

Al-Damegh (2012), EMA maruziyetinin testiküler yapı ve enzimatik aktivite üzerinde olumsuz etkisini göstermiştir. 50 Hz'lik EMA'ya maruz bırakılan deneklerde, spermatogonial hücrelerin germinal epitelinden ayrılmaları bildirilmiştir. Ayrıca seminifer tübüllerde olgun sperm sayısının azaldığı ve bazı Sertoli hücrelerinin düzleşmiş olduğu gözlemlenmiştir (Hamdi ve ark., 2011). Bununla birlikte daha yüksek bir frekansta, özellikle 2,45 GHz'lik bir EMA maruziyetinde Wistar sıçanların seminiferous tübüllerinde Leydig hücre sayısının azaldığı ve pozitif boyanan apoptoz hücrelerinin sayısında artış olduğu gösterilmiştir (Saygin ve ark., 2011).

EMA'nın testislerde oksidatif stres üretme yeteneği, testisin spermatogenezi yönlendirmesi için oksijene aşırı bağımlılığından kaynaklanmaktadır. Ancak testis reaktif oksijen metabolitlerinin toksik etkilerine oldukça duyarlı hassas bir dokudur. Bu bağlamda, testis beyine çok benzer (Al-Damegh ve ark., 2012). Oksidatif stres, testis düzeyinde Leydig hücrelerinin steroidojenik (Hales ve ark., 2005) ve germinal epitelinden normal spermatozoa'nın farklılaşma kapasitesini bozabilme özelliğine sahiptir (Naughton ve ark., 2001).

EMA maruziyetinin neden olduğu toksisitenin sonraki nesillerde ortaya çıktığı rapor edilmiştir. Gebe Wistar sıçanlarda erkek yavruların testis bileşenlerinin olgunlaşması üzerinde yapılan çalışmada, 30 dakika boyunca günde üç kez 60 Hz'lik EMA'ya maruziyetin seminifer epitel ve Leydig hücre sayısında azalmalara, Sertoli hücre popülasyonu ve gonadosomatik endekste herhangi bir değişmeye sebep olmadığı gösterilmiştir (Tenorio ve ark., 2011).

Yüksek yoğunluklarda, RF radyasyon termal etkilere yol açan ısıtma özelliklerine sahiptir, doku veya vücut ısısında artışa neden olarak spermatogenezde geri dönüşümlü aksamalara neden olabilmektedir (Jung ve Schill, 2000). Buna karşın,

günlük 21 saat boyunca EMA'ya (60 Hz frekans, 500 µT yoğunluk) maruz bırakılan hamile farelerin erkek yavrularının fertilizasyon gücü ve spermatogenez periyodunun azalmasının istatistiksel olarak önemli ölçüde olmadığı ortaya konulmuştur (Chung ve ark., 2005).

EMA maruziyeti farelerde testiküler germ hücrelerinde hücre ölümüne sebep olur (Kim ve ark., 2009). EMA ve testis dokusu ile ilgili yapılan çalışmada, spermatogenez döngüsünde hücre sayısının önemli ölçüde azaldığını göstermiştir (Iorio ve ark., 2007). 0,5 T ve 60 Hz'lik EMA spermatogonyumda apoptozise ve DNA'da hasara neden olduğu ve canlı hücre yüzdesinde önemli bir değişiklik olmadığı dikkat çekmiştir (Lee ve ark., 2004). Hücresel düzeyde serbest radikal ve $[Ca^{2+}]$ artışı EMA etkisine aracılık edebilir ve hücre büyüme inhibisyonu, protein yanlış katlanması ve DNA kırılmasına yol açabilir. EMA maruziyeti Ca^{2+} -bağlı hücre sinyalleşmesini bozabilir. İnsan lösemi T hücre dizisi Jurkat hücrelerinde, 50 Hz, 0,5 mT'lik EMA Ca^{2+} seviyelerini arttırarak kolera toksinin etkisi ve protein tirozin kinaz önleyici sistemin engellenmesi de açıklanmıştır (Lindström ve ark., 1998). 60 Hz, 22 mT'lik EMA'ya maruz kalan timik lenfositlerde, Ca^{2+} girişi mitojen tarafından aktive edilen sinyal iletimi sırasında artış göstermiştir, bu nedenle EMA'nın Ca^{2+} kanallarının düzenlenmesi üzerinde rolü olduğu düşünülmektedir (Liburdy, 1992). 900 ve 872 MHz'lik RF EMA kimyasal olarak insan SH-SY5Y nöroblastom hücrelerinde sekonder DNA hasarı ile sonuçlanan, uyarılmış reaktif oksijen türlerin (ROS) üretimini arttırabilmektedir (Zeni ve ark., 2007; Luukkonen ve ark., 2009).

Her iki cinsiyet üzerinde de EMA maruziyetinin zararlı etkileri farklı pozlamalar üzerinde çalışılmıştır (Poulris, 2009). Üreme sistemi sinir ve endokrin sistemleri tarafından kontrol edildiğinden, bu tür EMA gibi çevresel kirleticiler, bu iki sistemi etkileyeceğinden genital sistemi de etkilemektedir (Gye ve Park, 2012). Dişi sıçanlar ve nöroendokrin değişiklikler arasındaki ilişki üzerine yapılan çalışmalar nöroendokrin bozuklukların fertilitate problemlerini ortaya çıkaran en önemli faktör olduğunu bildirmiştir (Nelson ve ark., 1995).

Panagopoulos ve ark. (2010), GSM 900/1800 MHz'lik cep telefonuna maruz kalmanın yetişkin *Drosophila melanogaster* oositlerinde DNA hasarına neden olduğunu ve üreme sisteminin kapasitesini azalttığını ileri sürmüşlerdir. Ayrıca EMA radyasyonunun tüm hücre tipi yumurta hücrelerinde (oosit, folikül hücreleri ve kardeş

hücreleri) ve son evre dışındaki tüm oogenez evrelerinde hücre ölümüne yol açtığını ve EMA'nın yumurta hücrelerinde bol miktarda dejenerasyona neden olduğunu açıklamışlardır (Panagopoulos ve ark., 2007).

GSM 900/1800 MHz cep telefonunun oogenez üzerindeki etkisi ile ilgili bir diğer çalışmada; EMA *Drosophila melanogaster* ve *Drosophila virilis*'in doğurganlığını etkilediğini, oogenez EMA biyoaktivitesinin belirlenmesinde bir biyolojik belirteç olarak foliküllerin apoptotik hücre ölümünü indüklediğini bildirmişlerdir (Margaritis ve ark., 2014). İnsan ve hayvan çalışma modellerinin çoğunda erkek üreme sisteminin ince yapısında EMA'nın olumsuz etkisi gösterilmiştir. Dişi sıçanların erkek yavruları, 60Hz frekans ve 1 mT yoğunluğunda EMA'ya maruziyet sonrası seminifer tübüllerin sayı, yükseklik ve hacminde; Leydig hücrelerinin çap ve sayısında azalma gözlenmiştir (Tenorio ve ark., 2011).

Spermatogenezin endokrin kontrolü, hipotalamus-hipofiz-testis eksenini boyunca nöroendokrin aktivite tarafından yönetilir. Hipotalamik sinyal hipofiz bezine güçlü bir pulsatil tarzda salınır ve bu sinyal transmembran GnRH reseptörü aracılığı ile etkili olan decapeptid gonadotropin salgılatıcı hormon dur (GnRH). Hipofiz gonadotropilerden kaynaklanan 2 büyük endokrin sinyal olan FSH ve LH farklı, heterodimerik glikoprotein hormonlardan oluşur ve testisi etkiler. Hem FSH (direkt olarak) ve hem LH (dolaylı olarak testosteron androjen reseptörü aracılığıyla) Sertoli hücre faktörlerinin düzenlenmesi yoluyla spermatogenez üzerinde etki yapmaktadır. Genel olarak, ergenlik döneminde gonadotropinler Sertoli, Leydig ve kök germ hücreleri ve onların işlevlerini koruyarak normal spermatogenez ve sperm üretimini sağlamaktadır (Ramaswamy ve Weinbauer, 2015). Hipotalamik-pituiter-testis eksenini boyunca gerçekleşen etkileşimlerin karmaşıklığı, normal spermatogenezin başlatılması ve sürdürülmesi süreçlerinin toksik etkilere bağlı olarak bozulmalara eğilim gösterdiğini hatırlatır (Ramaswamy ve Weinbauer, 2015). Genellikle spermatogenez için germ hücrelerinde androjen reseptör (AR) sinyalleşmesinin gerekli olmadığı bilinmektedir, ve bu nedenle hücrenin biyolojik döngüsünde yerini alan LH salınım ve etkileşimi spermatogenez uyarıcı karmaşık birkaç somatik hücre tipini ve dolaylı sinyal yollarını dizisini içermektedir (Ramaswamy ve Weinbauer, 2015). Spermatogenezin sağlanma ve sürdürülmesinde LH-testosteron sinyal yolunun kritik rolü ile ilgili kanıtlar çeşitli hayvan modelleri ve deneysel yaklaşımlardan elde edilmiştir (Sharpe, 1994; Smith ve

Walker, 2014). LH- testosteron sinyalleşme aktivasyonu ergenlik başlamadan önce spermatogenezin başlamasına yol açmaktadır (Ramaswamy ve Weinbauer, 2015). Leydig hücreleri, LH'nin etkisi altında steroid üretime geçerek spermatogenezin düzenlenmesinde kritik bir rol oynayan testosteron ve 17 β -östradiol üretir (Cheng ve Mruk, 2010). Testosteronun spermatogenez üzerindeki etkileri oldukça spesifiktir, ve sertoli hücreleri vasıtasıyla dolaylı olarak etkilerini göstermektedirler (Sharpe, 1990). Bu olaylar esas olarak farelerin germinatif döngüsünün VII ve VIII evrelerinde görülür (Russell ve ark., 1981; Sharpe ve ark., 1990).

EMA'ya maruziyet ve epifiz bezi fonksiyonları arasındaki nedensel ilişki ile ilgili birçok çalışma vardır (Stevens ve ark., 1992). Tartışılır olmasına rağmen, EMA'ya maruziyet çeşitli hayvan türlerinde ışık gibi epifiz bezinin salgı aktivitesini etkileyebildiği düşünülmektedir. Gerçekten, EMA'nın statik maruziyeti çeşitli türlerde melatoninin döngüsel salgılanmasını etkileyebilir (Reiter, 1993). Altı hafta boyunca 50 Hz'lik EMA'ya maruz bırakılan Long-Evans sıçanların epifiz ve dolaşımdaki melatonin düzeylerinin araştırılmasında, bu düzeylerin azalmış olduğu gözlemlenmiştir (Kato ve ark., 1994). İneklerde, dört hafta boyunca (günde 16 saat) 60 Hz'lik EMA'ya maruziyet, dolaşımdaki melatonin ve prolaktin seviyeleri ile östrus döngüsünü değiştirmiştir (Rodriguez ve ark., 2003; 2004). Yetişkin Djungarian hamsterlerin 60 Hz'lik EMA'ya maruz bırakılması akut olarak epifiz ve dolaşımdaki melatonin düzeylerinin bozulmasına neden olduğunu göstermiştir (Yellon, 1994).

EMA maruziyeti pineal bezi doğrudan etkiler ve melatoninin biyolojik etkisini kötüleştirir (Stevens ve Davis, 1996). Melatonin, hipotalamusta LHRH pulsunu düzenleyerek gonadotropin FSH ve LH'yi etkiler. Sonuçta, gonadal sex steroid üretimini değiştirerek üreme siklusunda değişiklikler yaratır (Lincoln ve Maeda, 1992; Malpoux ve ark., 1993). Ayrıca EMA'ya maruziyet hipofiz bezinde, GH, TSH, FSH, LH ve ACTH'yi de etkileyebilir (Bortkiewicz, 2001). Çalışmamız literatür ile uyumlu sonuçlar göstermiştir. 900 MHz'lik EMA maruziyeti, canlıların spermatogenezisini düzenliyen hipotalamus-hipofiz-testis devresi ile birlikte üreme endokrin sistemini olumsuz yönde etkileyerek spermatogenik epiteli oluşturan hücrelerin bozulmasında önemli rol oynadığı düşünülmektedir.

Spermatozoa oksidatif strese oldukça duyarlıdır. Oksidatif strese olan bu savunmasızlık, antioksidan enzimini barındıran sitoplazma yoksunluğundan,

peroksidatif DNA hasarının indüksiyonu için hedef olmasından (Oger ve ark., 2003; Aitken ve ark., 2004), ve ROS üreticisi (Aitken ve ark., 2003; Koppers ve ark., 2008) olduğundan kaynaklanmaktadır. Bu etki, germinal hücrelerde hücre dışı yağ asidi sentaz (Fas) ve yağ asidi sentaz ligandı (FasL) ve hücre içi (mitokondriyal) apoptotik yolların aktivasyonuna yol açar ve apoptotik hasara neden olur (Mathur ve D'Cruz, 2011). Bu nedenle EMA radyasyonunun nükleer ve mitokondriyal DNA üzerindeki etkileri spermatozoada yapısal ve işlevsel kusurları ortaya çıkarabilir (Aitken ve ark., 2005). Normal koşullar altında, spermatozoon DNA iplikçikleri sülfoksidasyon yoluyla belirli enzimlerle sıkıca sarılır. Bununla birlikte oksidatif stres, bazların oksidatif değişimine, DNA ipliklerinin kırılmasına ve genomuna zarar vermeye yol açar (Maynard ve ark., 2009).

Erkek infertilitesinin gerçek insidansı, infertilite yoğunluğunda çeşitlilik bulunması nedeniyle bilinmemektedir. Bununla birlikte, düşük doğurgan çiftlerin %30-50'sinde erkek eşler; yetersiz hareketli sperm, düşük sperm sayısı ile birlikte anormal boyut ve şekilde olan sperm morfoloji nedeniyle semen sıvısının sub-optimal (uygun olmayan) kalitesine sahiptirler. Erkeklerde infertilite durumlarının etiyojisi %50'sinden fazlasında bilinmemektedir ve idiyopatik infertilite olarak sınıflandırılır (Bin-Meferij ve El-Kott, 2015).

Spermatozoa ve oosit birleşmesi için spermatozoa'nın yapısal olarak normal olması gerekmektedir. Normal döngüler ve geleneksel *in vitro* fertilizasyonda (IVF) dölleme ve gebelik oranları ile birlikte en önemli üç semen parametrelerinin, yani sperm konsantrasyonu, progresif motilite ve morfoloji arasında olan korelasyonu çeşitli araştırmalarda gösterilmiştir (Kruger ve ark., 1988; Enginsu ve ark., 1991; WHO, 2001). Baş normal ise (normal şekil, normal bir boyut, ve bir akrozoma sahip) ve orta parça veya kuyruk defektleri yoksa bir sperm hücresi morfolojik olarak normal kabul edilir (Kruger ve ark., 1988; Enginsu ve ark., 1991). Diğer bir ifade ile, sperm morfolojisi değerlendirilmesi için sıkı kriterler kullanımının teratozoospermi ve astenozoospermi vakalarında dölleme ve gebelik oranlarının tahmininde önemli bir faktör olduğu ileri sürülmektedir (Kruger ve ark., 1986; Enginsu ve ark., 1991). Bir kaç çalışmada morfolojinin, fertilizasyon oranlarının belirlenmesinde daha sınırlı bir değere sahip olduğu gösterilmiştir (Bartoov ve ark., 1993; Robinson ve ark., 1994). Halbuki, bu farklı sonuçlar boyama tekniklerindeki farklılıklar, sperm hazırlama protokolleri ve

morfolojik sınıflandırma sistemlerinden kaynaklanabilir (Kruger ve ark., 1986; Menkveld ve ark., 1990). Belirli bir meni örneğinde morfolojik olarak normal sperm yüzdesi, numunenin *in vitro* fertilizasyon ve gebeliği elde etme kabiliyetini etkilemektedir (Kruger ve ark., 1988; Yue ve ark., 1995). Embriyo kalitesinin de sperm morfolojisi ve özellikle sperm baş anomalilerden etkilendiği bilinmektedir, bu nedenle embriyonezin erken aşamalarında spermin önemli bir rola sahip olduğu düşünülmektedir (Parinaud ve ark., 1993).

Sperm morfolojisinin, motilite ve konsantrasyondan bağımsız olarak hücre fertilizasyon kapasitesinde yararlı bir biyomarker olduğu bilinmektedir (Grow ve ark., 1994; Ombelet ve ark., 1994). Boyanan semen, smear üzerinde sperm morfolojisinin değerlendirilmesi, morfolojik değişimler veya sperm baş, orta parça ve kuyruk parçalarının anormalliklerini açıklamaktadır. Bu anormallikler öncelikle çeşitli biyokimyasal ve morfolojik değişiklikliğini (akrozom oluşumu, flagellar gelişimi, kromatin yoğunlaşması ve çekirdeğin yeniden organizasyonu ve sitoplazma) takiben son sperm farklılaşma karmaşıklığını ve morfogenezdeki çok önemli aşamayı modüle eden veya bozan çoklu genetik veya mikro makro çevre faktörlerinin etkisini yansıtmaktadır. Hazırlanan ve boyanan semen preparatlarında normal ve anormal sperm hücreleri ışık mikroskobu altında incelenerek bir dizi özellik gösterilmiştir. Son zamanlarda, konvansiyonel mikroskopi ile sperm anormalliklerinin sayısının kesin olarak analiz edilmesinin teşhis veya araştırma için yararlı bir yaklaşım olacağı ileri sürülmüştür (Menkveld ve ark., 1990; Mitchell ve ark., 2015). Çalışmamızda, sıçan spermatozoasında karşılaşılan çeşitli baş, boyun ve kuyruk parça defektleri sayı ve morfolojik olarak araştırılmıştır.

Sperm fonksiyonu ve erkek infertilitesi, ROS ve indüklenen oksidatif stresle ilişkilidir (Tremellen, 2008; Sun ve ark., 2011; Lavranos ve ark., 2012). ROS direkt olarak sperm membranındaki doymamış yağ asitlerine saldırabilir, lipid peroksidasyonunu indükleyebilir, membran bütünlüğüne zarar verebilir, aksonem yapısını yok edebilir ve nihayetinde sperm aktivitesini ve doğurganlığı azaltabilir (Wang ve ark., 2003; Tremellen, 2008; Lavranos ve ark., 2012). Erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde, uygun genetik, endokrin analizlerin yanı sıra kapsamlı bir fiziksel incelemesi ile tamamlayıcı analizler yapılmalıdır (Krausz, 2011). Semen analizi ile bir erkeğin sperminin sağlığını analiz edererek, bazı durumlarda doğurganlık durumu

tahmin edilebilir. Çalışmamızda 200 adet sperm morfolojisi Kruger'in strict kriterlerine göre değerlendirilmiş ve normal morfolojiye sahip sperm sayısı % olarak verilmiştir (Kruger ve ark., 1988).

5.4. Sperm Morfolojisi

Sonuçlarımıza göre normal sperm morfoloji sayısı, kontrol %81,8; EMA %44,8; Lut %85,4; Lut+EMA %73,2; Tim %78,1; Tim+EMA %69,8 oranındaydı. Baş anomalili sperm sayısı, kontrol %1,1; EMA %2,9; Lut %2; Lut+EMA %2,9; Tim %2,4; Tim+EMA %2,8 oranındaydı. Boyun anomalili sperm sayısı, kontrol %2,5; EMA %5,4; Lut %1,7; Lut+EMA %4,3; Tim %3,8; Tim+EMA %4,3 oranındaydı. Kuyruk anomalili sperm sayısı, kontrol %14,6; EMA %47; Lut %11; Lut+EMA %19,6; Tim %15,8; Tim+EMA %23,1 oranındaydı.

Ayrıca gruplara ait deneklerin sperm morfolojilerinin istatistiksel olarak incelenmesinde, EMA grubundaki normal sperm sayısının kontrol grubuna göre anlamlı olarak ileri derecede azaldığı gözlemlendi. Ayrıca Lut, Lut+EMA, Tim, Tim+EMA gruplarında EMA grubuna göre normal sperm sayısı ileri derecede artmıştır. Sonuçlar göz önüne alındığında, Lut ve Tim'in, EMA'dan kaynaklanan zararlı etkilerinin normal sperm sayısının azalmasına karşı güçlü bir antioksidan olduğu söylenebilmektedir, ancak Tim olumsuz etkiyi azaltmada Lut'e göre daha düşük derece etkiye sahiptir.

Sperm baş anomalilerinin ışık mikroskop altında incelenmesinde, EMA grubunda baş defektli sperm sayısının kontrol grubuna göre artmış olduğu ancak gruplar arasında anlamlı fark bulunmadığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, 900 MHz'lik EMA'nın sperm baş defektleri üzerinde herhangi bir olumsuzluğa yol açmadığını göstermiştir. Spermilerin boyun defekt sayısının EMA grubunda kontrol grubuna göre artmış olduğu, ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı aksine Lut grubuna göre ileri derecede anlamlı bir şekilde arttığı tespit edilmiştir. Lut grubunda spermilerin boyun defektlerinin kontrol grubuna göre azalmış olduğu fakat istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlenmiştir.

Sperm görüntülerinde kuyruk defektlerini istatistiksel olarak incelediğimizde, EMA grubundaki kuyruk anomalili sperm sayısı kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmıştır ve bu sayı EMA grubunda, Lut, Lut+EMA, Tim, Tim+EMA gruplarına göre de anlamlı bir artış göstermiştir. Lut grubundaki kuyruk defektli sperm sayısı Lut+EMA ve Tim+EMA gruplarına göre anlamlı olarak azalmıştır. Kuyruk

defektlerinin sonuçlarına göre, Lut ve Tim maddelerinin uygulanmasının Lut+EMA ve Tim+EMA gruplarındaki anomal kuyrukların azalmasında önemli rol oynadığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda, Lut ve Tim tedavilerinin EMA'ya maruz kalan sperm defektlerini yüksek oranda azalttığını ve sperm kalitesi üzerinde etkili olduğu ve fertilitiyi olumlu yönde iyileştirdiğini düşünmekteyiz. EMA'nın sperm morfolojik defektleri üzerinde yapılan çalışmalarda, EMA'nın spermin baş ve boyun kısmında etkisini araştıran çalışmalara rastlanmamasının yanında kuyruk anomalisi üzerine etkilerini gösteren bir araştırma da tespit edilememiştir. Sperm kuyruk anomalisi üzerine yapılan bazı EMA dışı çalışmalarda anomali nedenleri açıklanmıştır. Farelerde, normal gelişiminde rol oynayan bazı genlerde meydana gelen noksanlıklar, kuyruk başının etrafına sarılmasına yol açmışlardır (Yeung ve ark., 2009). Epididimal ortam sperm olgunlaşması ve depolanması için korunaklı bir alan oluşturur ve epididimal enzimlerin reaktif oksijen türlerini (ROS) düzenlerler (Drevet, 2006). EMA'ya maruziyet sonrasında, semende daha yüksek ROS seviyeleri belirlenmiştir (Agarwal ve ark., 2014). Artmış ROS üretimi ile genel anormal sperm morfolojisi arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Nallella ve ark., 2006). Sperm membran oksidasyonu, membran akışkanlığında azalmaya veya membrana bağlı fonksiyonlarda bozukluklara, örneğin iyon taşınmasında hasara yol açabilmektedir (Agarwal ve ark., 2014). Ayrıca, SOD'un sperm hücrelerinin kuyruk anormallikleri ile pozitif yönde ilişkili olduğu da doğrulanmıştır. Spermatidler, CuZn SOD'unun düşük ekspresyonuna sahiptir, ve spermatogenezde ROS etkisine daha duyarlıdır, bu da kuyruk kusurlarına yol açabilmektedir (Patricio ve ark., 2016). Ayrıca, yüksek konsantrasyonlarda 17 β -östradiol bulunan farelerin seminiferöz epitelinin germinatif hücrelerinde direkt bir antiapoptotik etki gözlenmiştir (D'Souza ve ark., 2005). Östrojenler efferent kanallarda ve epididimde sıvı emilimini düzenleyerek, sperm konsantrasyonlarını ve spermlerin bir dizi hareketli, morfolojik ve biyokimyasal özellik kazanmasını etkiler (Goyal ve ark., 1997; Joseph ve ark., 2011).

EMA maruziyeti erkeklerde sperm fertilizasyonu azaltabilir (Krewski ve ark., 2007). Araştırmalara göre radyasyon yoğunluğunun ve EMA süresinin erkek üreme kapasitesinin parametreleri üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. Bu parametreler, konsantrasyon (Yan ve ark., 2007), hareketlilik, morfoloji (Dasdag ve ark., 2003),

sperm hücrelerinin canlılığı (Yan ve ark., 2007; Campisi ve ark., 2010; Adamsa ve ark., 2014) ve sperm apoptozunu (Kesari ve ark., 2011) içermektedir.

Tavşanlarda, 50 Hz'lik EMA, sperm motilitesinde değişikliklere neden olup canlılıklarını da azaltmaktadır (Roychoudhury ve ark., 2009). Bu işlem, hücre içi kalsiyum homeostazına müdahale ederek sperm fonksiyonun bozukluğuna sebep olmaktadır. İnsanlarda cep telefonlarının yaydığı EMA'nın sperm hareketliliğine etkisini gösteren çalışmalar mevcuttur (Davoudi ve ark., 2002; Fejes ve ark., 2005). 2450 MHz'lik EMA'ya maruziyet testis üzerinde DNA segmentlerinin yeniden düzenlenmesi ve DNA'nın kırılması ile sonuçlandığını göstermektedir (Sarkar ve ark., 1994).

İnsan spermine uygulanan 1 saatlik 2 W/kg gücünde cep telefonundan kaynaklanan 900 MHz'lik EMA'nın sperm morfolojisini ve sperm-zona bağlanmasını azaltması ile birlikte akrozom reaksiyonunu değiştirmedeği tespit edilmiştir. Bu çalışma EMA'ya maruziyetin spermin fertilizasyon yeteneğini azalttığını göstermiştir (Fabra ve ark., 2011).

Süper düşük frekanslı (SLF)-EMA'ya maruz kalan spermatozoanın hücre içi Ca^{2+} seviyelerinin anlamlı derecede azalttığı gösterilmiştir. Sonuç olarak, SLF-EMA'ya maruz kalmış spermlerde azalmış bir motilite, çözünebilir zona pelusidalarle birlikte inkübe edildiğinde oldukça az bir reaktivite ve oosit penetrasyon yeteneğinde bir azalma gözlemlenmiştir. 2 veya 4 saat inkübasyondan sonra, plazma zarı üzerinde ve akrozomda morfolojik hasar ile ilgili işaretlerin görülmesiyle birlikte dölleme oranı azalmıştır. *In vivo* koşullarda yapılan bir çalışmada, 1 mT'lik EMA'nın sperm fonksiyonlarının azalmasına neden olduğu bildirilmiştir (Bernabò ve ark., 2007; Bernabò ve ark., 2010).

Literatürde bulunan bazı çalışmalarda ise SLF-EMA'nın sperm üzerinde olumlu etkisi bildirilmiştir. İnsan sperminde, 50 Hz, 5 mT'lık SLF-EMA'ya maruziyetin 3 saat içerisinde sperm motilitesinin artışına neden olduğu ve bu etkinin 21 saat boyunca devam ettiği gözlenmiştir. Buna karşın 50 Hz, 5 mT'lık sinüs dalgalı EMA ve 50 Hz, 2.5 mT'lık SLF-EMA sperm hareketliliğini etkilememiştir. Bu nedenle, sperm hareketi üzerinde SLF-EMA'nın olumlu etkisinin EMA'nın türü ve gücüne bağlı olduğu düşünülmektedir (Iorio ve ark., 2007).

La Vignera ve ark. (2012), cep telefonunun yaydığı EMA'nın erkek üreme sistemi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda RF-EMR'ye maruz bırakılan insan spermatozoasında azalmış motilite, morfolojik anormallikler ve oksidatif stresin arttığını gözlemlemişlerdir. Cep telefonu kullanan erkeklerin sperm konsantrasyonunun, hareketliliğinin azaldığını ve morfolojilerinin de bozulduğunu gösterilmiştir. Oluşan anormalliklerin doğrudan cep telefonu kullanım süresiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (La Vignera ve ark., 2012).

5.5. SOD Enzim Aktivitesi

Biyokimyasal analizlerin incelemesinde EMA grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak SOD enzim aktivitesi anlamlı derecede artmıştır; aynı zamanda Tim+EMA grubunda da önemli artış gözlemlenmiştir. Lut, Lut+EMA ve Tim grupları EMA grubu ile karşılaştırdığında SOD aktivitesinin anlamlı derecede azaldığı, ancak EMA grubu ile Tim+EMA grubu karşılaştırıldığında hiçbir fark bulunamamıştır. Lut grubunda SOD aktivitesi, Tim+EMA grubuna göre ileri derecede azalma gözlenirken Tim ile Tim+EMA grupları arasında anlamlı fark bulunmuştur. Bu sonuçlar EMA'ya maruz bırakılan ve Lut uygulanan sıçanlarda, Lut'un SOD aktivitesini azalttığı ve erkek üreme sisteminin birçok zararlı etkiden korunmasında önemli bir rol oynadığı, vücudun içindeki antioksidan enzim düzeylerini kontrol etmek için güçlü bir antioksidan kaynağı olduğunu göstermiştir. Çalışmamızla uyumlu olarak bir çok çalışma, cep telefonları tarafından üretilen EMA'nın SOD aktivitesi üzerindeki etkisini araştırmışlardır (Irmak ve ark., 2002; Yurekli ve ark., 2006). Irmak ve ark. (2002), antioksidan seviyesi ile ilgili bir çalışmalarında tavşanların 900 MHz EMA'ya maruziyetleri sonucunda SOD aktivitesinin anlamlı derecede arttığını gözlediler. Yurekli ve ark. (2006), sıçanlardaki GSM baz istasyon frekansının 945 MHz'lik EMA oluşturmasının oksidatif stres üzerine etkisini araştırdılar ve 3.67 W/m²'lik bir güç yoğunluğundaki EMA uygulaması sonucunda SOD aktivite seviyesinin arttığını gösterdiler.

Sheweita ve ark. (2016), sıçanlarda benzo[a]pirenin toksisitesini araştırmışlardır, bu toksisitenin azaltılmasında doğal antioksidan olan Tim'in rolünü incelemişlerdir, ancak ulaştıkları sonuçlar Tim'in testis dokusu üzerindeki toksik etkileri azaltmadığını göstermiştir. Ayan ve ark. (2016), sıçan testis dokusunda iskemi-reperfüzyon hasarına

karşı Tim'in koruyucu etkilerini belirlemesi için yaptıkları çalışmada, Tim'in yükselmiş SOD aktivitesini düşürdüğünü göstermişlerdir.

Bilimsel literatürler incelendiğinde Lut'un elektromanyetik alanın oluşturduğu oksidatif stresin üzerindeki etkisinin biyokimyasal olarak incelenmesinde SOD enzim aktivitesi açısından oksidatif stresi arttırdığı görülmektedir. Bizim çalışmamızda ise SOD aktivitesinin azalmasının gözlemlendiği ve Lut'un önemli bir koruyuculuğa sahip olduğu ortaya konmuştur. Bütün bunlar göz önüne alındığında bu noktada daha ileri düzeyde çalışmaya ihtiyaç duyulduğu kanısındayız.

5.6. Serum Testosteron Seviyesi

Çalışmamızda serum testosteron seviyesini incelediğimizde, EMA grubunda serum testosteron seviyesi istatistiksel olarak kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. EMA ve Lut+EMA grupları arasında olan fark, Lut'un EMA maruziyetinden kaynaklanan olumsuz etkilere karşı koruyucu olduğunu kanıtlamıştır. Testosteron seviyesindeki bu azalmanın oksidatif stresin artmasının yanı sıra Leydig hücre sayılarındaki azalmadan kaynaklandığı düşünülmektedir. LUT'un güçlü bir antioksidan olarak, yükselmiş ROS'un azalmasında ve antioksidan enzim aktivitesinin dengeye ulaşmasında önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca, LUT, Leydig hücrelerinde cAMP'ye bağlı steroidojenik gen düzenlemesinin geliştirilmesi yoluyla testosteron üretimini artırdığına dair bulgularda bulunmaktadır (Cormier ve diğerleri 2017). Bununla birlikte Lut'un uygulanması EMA'ya karşı anlamlı olarak serum testosteron seviyesini arttırırken Tim'in herhangi bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda alınan sonuçlar bu veriyi destekler niteliktedir. Yüksek seviyedeki testosteron normal spermatogenez, seminifer epitelyumun fonksiyonu ve seminifer tübüllerin yapısal morfolojisi ve fizyolojisinin korunması için gereklidir (Holdcraft ve Braun, 2004). Cep telefonundan yayılan radyasyonun hayvanlarda üreme morfolojisini ve serum testosteron hormonu seviyesini etkilediği çok açıktır. Cep telefonu veya mikrodalga ışınları, hücresel membranın polarizasyon durumuna etki edebilir. Bu noktada, hücresel zarın yetersiz polarizasyonu, testosteron sentezine zarar verebilir ve sonuçta infertiliteye neden olabilecek çeşitli anormalliklerden sorumlu olabilir (Meo ve ark., 2010). Moe ve ark (2010), 3 ay boyunca 60 dakika/gün olarak cep telefonu radyasyonuna maruz kalmanın, albino sıçanlardaki serum testosteron seviyesini kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde azalttığını bulmuştur (Meo ve ark., 2010). EMA'ya kronik maruziyetin

erkek plazma testosteronunu azaltabileceği ve erkeklerde üreme işlevlerini muhtemelen etkileyebileceği gösterilmiştir (Wang ve ark., 2016). Kesari ve Behari (2012), tarafından yapılan bir çalışmada, Wistar albino türü sıçanların cep telefonundan yayılan radyasyona 45 gün boyunca 2 saat/gün olarak maruziyeti sonucunda kandaki testosteron seviyesinde önemli derecede bir azalma olduğu rapor edilmiştir. 900 MHz'lik EMA'ya maruz bırakılan sıçanlarda testis üzerine yapılan araştırmada testosteron serum düzeylerinin azalması saptanmıştır (Lee ve ark., 2010).

İnsan vücudunda apoptoz ve mitoz sürekli denge içindedir. Ancak EMA üzerine yapılan çalışmalar EMA'nin hücre proliferasyonunu bozma kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir (Lin, 1997; Tumkaya ve ark., 2016). Erkek farelerde, 60 Hz'lik EMA'ya maruziyet önemli ölçüde seminifer tübüllerde germ hücre ölümü ve anomalisini arttırmıştır. 60 Hz'lik EMA, spermatogonium hücrelerinde pozitif apoptotik yoğunluğunu arttırmıştır, ancak flow sitometri uygulamasında hücre sağ kalımını anlamlı bir derecede değiştirmemiştir (Lee ve ark., 2004). Benzer bir şekilde, 60 Hz'lik EMA (14 ve 200 μ T) farelerde spermatojenik hücrelerin apoptozunu indüklemiştir (Kim ve ark., 2009).

Liu ve ark. (2013), 50 gün boyunca günde 2 saat 900 MHz'lik EMA'ya ($0,66 \pm 0,01$ W/kg) maruz kalan sıçanlarda ROS düzeyinin arttığını ve bax, bcl-2 genleri, sitokrom c gibi proteinler ve kaspase-3 sinyal yolağının aktifleşmesi ile sperm apoptozuna yol açtığını tespit etmişlerdir.

5.7. Histoloji ve Histopatoloji

Hematoksilen-eozin ile boyanan testis dokularını histolojik ve histopatolojik olarak ışık mikroskobu altında inceldiğimizde, EMA'ya maruz bırakılmayan deney hayvanlarının testislerini oluşturan interstisyel bağ doku ve seminifer tübül yapısında değişiklikler gözlenmemiştir. Seminifer tübüller arasında ayrılmalar ve bu tübüllerin duvarında kopmalar bulunmamaktadır. Ayrıca seminifer epitelinin oluşturduğu spermatojenik hücrelerin normal görünümde olduğu tespit edilmiştir. Lut ve Tim uygulanan gruplarda ise sperm yoğunluğunun belirgin şekilde arttığı izlendi ve bu yoğunluk artışı Lut grubunda daha fazla belirgindi.

Çalışmamızda EMA maruziyeti sonucu testis yapısında gözlemlenen histopatolojik bozukluklar, elde ettiğimiz stereolojik analiz bulgularını destekler niteliktedir. EMA grubuna ait testis doku yapısında, seminifer tübüller arasında

ayrılmalar ve bazı tübüllerde dejenerasyon belirgin olarak gözlenmiştir. Ayrıca interistisyel bağ dokusunda yer yer bozulmalar dikkat çekmiştir. Bunun yanı sıra seminifer tübüllerin duvarında yer yer kopmalar gözlenmiştir. Seminifer tübüllerin duvarında incelmelerin yanında yer yer kalınlaşmalar da gözlenmiştir. Seminifer epitelinin oluşturan spermatogenetik hücrelerin bulunmadığı bölgeler dikkat çekmiştir. Ayrıca seminifer epitelinde vakuoller ve spermatogenezin duraksadığı alanların yoğunlukta olduğu tespit edilmiştir.

EMA ile birlikte uygulanan Tim ve Lut grupları testis dokularının histolojik yapıları incelendiğinde, testis dokularının histolojik yapı hasarının EMA grubuna göre azaldığı, seminifer tübüller ve interstisyel bağ dokularında hasarların hafiflediği gözlenmiştir. Tim+EMA ve Lut+EMA gruplarında spermatogenetik seriye ait hücrelerin vakuoller ve spermatogenezin duraksadığı alanların EMA grubuna göre önemli derecede azaldığı tespit edildi. Bahsedilen gruplarda seminifer tübül dejenerasyonları çok az sayıda gözlenirken Lut+EMA grubunda dejenerasyon gözlenmedi. Ayrıca seminifer tübüllerin duvarında kopmaların azaldığı alanların varlığı dikkat çekmekteydi. Lut+EMA gruplarına ait testis dokularında izlenen hasar Tim+EMA grubuna göre azalmıştır ve bu sonuçlar diğer bulgularımızla uyumlu olarak Lut ve Tim'in EMA'ya karşı güçlü antioksidan olduğunu doğrulamaktaydı. Bu çalışmanın diğer çalışmalara karşı avantajı, EMA maruziyetine karşı daha önceden kullanılmayan Lut ve Tim gibi antioksidanların kullanılarak EMA'nın yan etkisine karşı bu maddelerin koruyucu etkilerinin araştırılmasıdır.

5.8. İmmünohistokimya

Son yıllarda, moleküler biyoloji teknikleri, sperm olgunlaşmasında yer alan ve potansiyel olarak kontraseptifler için hedeflenmiş olabilen, sperm membran yüzey proteinlerini kodlayan genlerin tanımlanmasını ve klonlanmasını sağlamıştır (Naz ve ark., 1993; Primakoff ve ark., 1994). Bu çalışmada, testis dokularından elde edilen kesit örneklerinde anti-DCXR antikoru kullanılarak bu proteinlerin aktiflik dereceleri belirlenmeye çalışıldı.

Spermatogenetik seride yer alan spermatozoa hücreleri, DCXR antikoru ile boyanmış ve güçlü pozitif immünoreaktivite göstermişlerdir. Kontrol, Lut ve Tim gruplarının spermatozoa hücrelerinde güçlü pozitif boyanma gözlenmekteydi. EMA grubunda, kontrol grubuna göre az sayıda pozitif boyanan spermatozoa hücreleri dikkat

çekmekteydi. Lut+EMA ve Tim+EMA grupları EMA grubu ile karşılaştırıldığında pozitif spermatozoa sayılarında artış olduğu tespit edildi, ancak Tim+EMA grubunda Lut+EMA grubuna göre pozitif boyanan spermatozoların az sayıda olduğu izlenmiştir.

Elde ettiğimiz sonuçlar, Lut ve Tim'in antioksidan aktivitelerinin EMA maruziyetinden kaynaklanan hücre kaybına karşı koruma sağladığını göstermiştir. Bu sonuçlar histopatolojik sonuçlar ile uyumlu olarak EMA'ya maruziyetin pozitif boyanan spermatozoların sayısında azalma göstermiş, bu da EMA'nın testis dokusu üzerinde olumsuz etkisini göstermiştir. EMA'nın olumsuz etkilerine karşı Lut ve Tim uygulanması sonrasında spermatozoların pozitifliğinin artması ise bu maddelerin EMA'nın olumsuz etkisi üzerinde koruyucu olduğunu destekler niteliktedir.

Ebert ve ark. (2015), DCXR, sperm yüzey proteini P34H'in, üreme sisteminde gamet etkileşimi ve başarılı bir dölleme için gerekli olan sperm olgunlaşmasında bir marker olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca DCXR'nin erkek fertilitasını öngörmek için güçlü bir biyolojik marker görevi görebileceğini iddia edilmektedir. Bununla birlikte, başka birçok faktör dölleme kabiliyetini belirlediği için yalnızca sperm yüzeyinde DCXR varlığı üretkenliği kanıtlamak için yeterli değildir; bazı durumlarda örneklerin bu proteinin normal seviyesine sahip olmasına karşın infertiliteye sahip olduğu gösterilmiştir (Boue ve Sullivan 1996; Ebert ve ark., 2015).

Lut tedavisi antioksidan savunma sistemini hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidanları arttırarak güçlendirmektedir (Kasala ve ark., 2016). Bununla birlikte Lut tedavisinin oksidatif strese karşı etkili olduğu gözlenmiştir (Ashokkumar ve Sudhandiran, 2008).

Flavonoidler arasında Lut'un farmakolojik etkilerini sergileyen önemli bir fonksiyonel bileşen olduğu bildirilmektedir. Örneğin, Lut'un antioksidan (Wölfle ve ark., 2012), antikanser etkisi (Cai ve ark., 2011), anti-inflamatuvar (Wu ve ark., 2005), hepatosit büyüme faktörü üzerindeki inhibe edici etkisi (Lee ve ark., 2006), hepatit (Xiong ve ark., 2017), antialerjik (Kimata ve ark., 2000) ve antiplatelet ve vazodilatatör etkinliğe sahip olduğu bulunmuştur (Chen ve ark., 1990). Yuan ve ark. (2014), yaptıkları çalışmada flavonoid'in erkek farelerin üreme sisteminin yapısal ve fonksiyonel hasarına ve spermatojenik hücrelerdeki azalmış apoptoz üzerine, oksidatif stresin engellenmesiyle yararlı koruyucu etkisi olduğunu göstermişlerdir. Lut, hem oksijenaz-1 (HO-1) ekspresyonunu indükleyerek anti-enflamatuvar ve antioksidan etki

göstermektedir (Xiong ve ark., 2017). Lut'un esasen protein kinaz C (epsilon) (PKC) ve Src aktivitesini azaltarak UV'nin indüklediği cilt kanserine karşı güçlü kimyasal önleyici etkinlik uyguladığı ortaya konmuştur (Byun ve ark., 2010).

Çeşitli epidemiyolojik araştırmalar, flavonoidlerin meme, prostat ve akciğer kanserine karşı anti-kanser ve kimyasal önleyici özelliklerinin kanser hücrelerinin proliferasyonunu inhibe etmelerinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Birt ve ark., 2001; Manthey ve Guthrie, 2002). Ko ve ark. (2002), Lut'un insan miyeloid lösemi hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği ve apoptozu indüklediğini bildirmişlerdir.

Tim, *Nigella sativa* bitkisinde bulunan bir fitokimyasal bileşiktir ve bitkinin biyolojik etkilerinin çoğundan sorumludur (Tüfek ve ark., 2015). Ancak, Tim'i EMA, testis ve sperm üretimi üzerindeki etkisi esasen bilinmemektedir. Bu sorunu çözmek için, Tim'in erişkin sıçan testislerindeki EMA ile ilişkili değişiklikler üzerindeki olası yararlı etkileri ve bunların fonksiyonları araştırılmıştır. Çörek otu (*Nigella satvia*) bitkisi, birçok hastalığın tedavisinde kullanılan bir tıbbi bitkidir (Ali ve Blunden, 2003). Çörek otu tohumlarının aktif bileşeni olan Tim, farmakolojik olarak aktif bir kinondur (Mansour ve ark., 2002).

Son zamanlarda hayvan çalışmaları, *Nigella satvia* tohum ekstraktlarının gastroprotektif (Kanter ve ark., 2005), anti-tümör (Salomi ve ark., 1991; David ve ark., 1998), anti-anksiyete (Perveen ve ark., 2009), anti-mikrobiyal (Hanafy ve Hatem, 1991; Salem ve Hossain, 2000) ve anti-inflamatuar gibi birçok terapötik etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Houghton ve ark., 1995). Literatürde bulunan çalışmalar, Tim'in testiküler oksidatif stresin önlenmesinde çok etkili olduğunu açıklamaktadır (Gökçe ve ark., 2010; Mabrouk ve Ben Cheikh, 2015). Bashandy (2007), *Nigella sativa* yağını hiperlipidemik sıçanlara uygulamış ve bu uygulamanın üreme verimliliğini arttırdığını, hiperlipidemiye bağlı doğurganlığın azalmasına yönelik ekstra koruma sağladığını göstermiştir.

Tim uygulamasının sıçanlarda kronik toluen maruziyetinin neden olduğu testiküler hasardan sonra spermatogenez üzerinde potansiyel bir tedavi olarak yararlı olduğu gösterilmiştir (Kanter, 2011). Testislerin elektron mikroskopik incelemesinde, Tim Sertoli ve spermatid hücrelerindeki mitokondriyal dejenerasyonu, düz endoplazmik retikulumun (SER) dilatasyonunu ve hücre içi boşlukların genişlemesini önlemede etkili olduğu bildirilmiştir. Tim'in süperoksit anyon radikal ve hidroksil radikalleri dahil olmak üzere çeşitli oksijen türlerini elimine etme etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır

(Kruk ve ark., 2000; Mansour ve ark., 2002). Ayan ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada Tim'in sıçan testis dokusunda oksidatif strese bağlı iskemi-reperfüzyonda koruyucu bir rol oynadığını göstermişlerdir. Tim ile tedavi edilen hayvanlarda SOD aktivitesi ve MDA seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığını tespit etmişlerdir. Alyoussef ve Al-Gayyar (2016a), Tim'in testiküler doku iltihaplarını iyileştirdiğini ve *in vivo*, *in vitro* sodyum nitrit tarafından uyarılan seks hormonlarının normal dengesini eski haline getirdiğini rapor etmişlerdir. Alyoussef ve Al-Gayyar (2016b), yaptıkları bir diğer çalışmada, deney gruplarında Tim ile oksidatif stresin bloke edilmesi, normal inflamatuvar sitokin dengesinin restorasyonu ve apoptozun bloke edilmesi ile sodyum nitritle indüklenen testis doku hasarlarını azalttığını gözlemlemişlerdir. Sheikhabaei ve ark. (2016), Tim'in ilgili genlerin düzenlenmesini etkileyerek testiste bulunan germ hücre apoptozisine karşı koruduğunu bulmuşlardır. Gokce ve ark. (2010), testiküler parametreleri üzerinde Tim tedavisinin koruyucu etkileri olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmalar çörek otunun yetişkin erkek sıçanların doğurganlık ve üreme sistemi kapasitesinde artışına neden olduğu gösterilmiştir (Al-Sa'aidiva ark., 2009; Mohammad ve ark., 2009).

Bu çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlara göre, erkek sıçanların üreme kapasitesinin artırılması muhtemelen Tim ve Lut ile ilişkilidir. Üreme kapasitesinin iyileşmesinde payı bulunan bir başka sebep ise SOD düzeyinin azalması ve üreme organlarında antioksidan enzimlerin restorasyonudur. Ayrıca uyguladığımız antioksidanların diğer çalışmalarla uyumlu olarak oksijen radikallerini ve bunların reaksiyon ürünlerini içeren ROS azalmasında önemli rol oynadığını da düşünmekteyiz.

Bu sonuçlar Lut'un, Tim maddesine göre daha güçlü bir antioksidan olduğunu da göstermiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. EMA grubunda kontrol grubuna göre testis ağırlığının azaldığı ve histopatolojik olarak EMA'nın testiküler hasara neden olduğu gösterilmiştir.

2. EMA grubunda spermatogenetik hücreleri oluşturan primer spermatosit, spermatid sayıları, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede azaldığı gözlemlenmiş ancak spermatogonyum hücre sayısında herhangi bir değişiklik gözlemlenmemiştir.

3. EMA grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında Sertoli hücre sayısında anlamlı fark olmadığı, ancak Leydig hücre sayısında anlamlı fark olduğu saptanmıştır.

4. EMA grubunda normal sperm ve kuyruk anomali sperm sayılarında kontrol gruba göre anlamlı bir azalış olduğu gözlemlenmiştir.

5. Lut+EMA ile EMA gruplarının incelenmesinde tüm parametreler (stereoloji, biyokimya ve sperm morfolji ile elde edilen değerler ve testis yapısı) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlenmiştir. Lut'un EMA'dan kaynaklanan olumsuz etkilere karşı koruyuculuğu ve güçlü antioksidan etkisi gözler önüne serilmiştir.

6. Tim+EMA ile EMA gruplarının testis ağırlık, SOD enzim aktivite, serum testosteron seviye, Leydig hücre ve spermatid hücre sayısı arasında anlamlı fark olmadığı ve Tim'in EMA hasarına karşı tedavisinin bu parametreler üzerinde önemli ölçüde koruyucu etki göstermediği gözlemlenmiştir. Buna karşın, Tim+EMA ile EMA gruplarının, primer spermatosit sayısı, normal sperm sayısı ve kuyruk anomalili sperm sayısı arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu, Tim'in EMA maruziyeti üzerindeki etkisinin bu parametrelerin düzeltilmesinde önemli rol oynadığı gözlemlenmiştir.

7. Lut+EMA, EMA+ Tim gruplarında Lut ve Tim maddelerin uygulamasının testis yapısı, primer spermatosit, normal sperm sayı ve kuyruk anomalili sperm sayısı üzerinde olumlu etkilerinin olduğu ancak Lut'un Time kıyasla EMA uygulanan sıçanlardaki bozukluklar üzerinde fazla onarıcı olduğu düşünülmektedir. Çalışmada elde edilen biyokimyasal bulgular da bu sonuçları desteklemektedir.

KAYNAKLAR

- Abdelmelek H, Molnar S, Servais S, Cottet-Emard JM, Pequignot J M, Favier R, Sakly M. Muscle HSP72 and norepinephrine response to static magnetic field in rat. *J Neural Transm (Vienna)* 2006;113(7):821-827.
- Abdel-Zaher AO, Abdel-Rahman MS, Elwasei FM. Protective effect of *Nigella sativa* oil against tramadol-induced tolerance and dependence in mice: role of nitric oxide and oxidative stress. *Neurotoxicology* 2011;32(6):725–733.
- Abel-Salam BK. Immunomodulatory effects of black seeds and garlic on alloxan-induced diabetes in albino rat. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2012;40(6):336–340.
- Adamsa JA, Galloway TS, Mondal D, Esteves SC, Mathews F. Effect of mobile telephones on sperm quality: A systematic review and meta-analysis. *Environ Int* 2014;70:106–112.
- Ahmad A, Husain A, Mujeeb M, Khan SA, Najmi AK, Siddique NA, Damanhoury ZA, Anwar F. A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb. *Asian Pac J Trop Biomed* 2013;3(5):337-352.
- Agarwal A, Nallella KP, Allamaneni SS, Said TM. Role of antioxidants in treatment of male infertility:an overview of the literature. *Reprod Biomed Online* 2004;8(6):616-627.
- Agarwal A, Said T. Oxidative stress, DNA damage and apoptosis in male infertility:a clinical approach. *BJU Int* 2005;95(4):503–507.
- Agarwal A, Desai NR, Makker K, Varghese A, Mouradi R, Sabanegh E, et al. Effects of radio frequency electromagnetic waves (RF-EMW) from cellular phones on human ejaculated semen: an invitro pilot study. *Fertil Steril*. 2009;92:1318–1325.
- Agarwal A, Singh A, Hamada A, Kesari K. Cell phones and male infertility: a review of recent innovations in technology and consequences. *Int Braz J Urol* 2011;37(4):432-354.
- Agarwal A, Virk G, Ong C, du Plessis SS. Effect of oxidative stress on male reproduction. *World J Mens Health* 2014;32(1):1-17.
- Agrimson KS, Onken J, Mitchell D, Topping TB, Chiarini-Garcia H, Hogarth C A, Griswold MD. Characterizing the Spermatogonial Response to Retinoic Acid During the Onset of Spermatogenesis and Following Synchronization in the Neonatal Mouse Testis. *Biol Reprod* 2016;95(4):81.
- Ahlatci A, Kuzhan A, Taysi S, Demirtas OC, Alkis HE, Tarakcioglu M, Demirci A, Caglayan D, Saricicek E, Cinar K. Radiation-modifying abilities of *Nigella sativa* and thymoquinone on radiation-induced nitrosative stress in the brain tissue, *Phytomedicine* 2014;21(5):740–744.

- Aitken RJ, Ryan AL, Curry BJ, Baker MA. Multiple forms of redox activity in populations of human spermatozoa. *Mol Hum Reprod* 2003;9(11):645-661.
- Aitken RJ, Koopman P, Lewis SE. Seeds of concern. *Nature* 2004;432(7013):48-52.
- Aitken RJ, Bennetts LE, Sawyer D, Wiklendt AM, King BV. Impact of radio frequency electromagnetic radiation on DNA integrity in the male germline. *Int J Androl* 2005;28(30):171-179.
- Aitken RJ, Roman SD. Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. *Oxid Med Cell Longev* 2008;1(1):15-24.
- Aitken R, De Iuliis G. On the possible origins of DNA damage in human spermatozoa. *Mol Hum Reprod* 2010;16(1):3-13.
- Akhlaghi M. Non-alcoholic Fatty Liver Disease: Beneficial Effects of Flavonoids. *Phytother Res* 2016;30:1559-1571.
- Akhtar N, Alakloby OM, Aljabre SHM, Alqurashi ARM, Randhawa MA. Comparison of antifungal activity of thymoquinone and amphotericin B against *Fusarium solani* in-vitro. *Scientific J King Faisal Univ* 2007;8(1):137-145.
- Al-Akhras MA, Elbetieha A, Hasan MK, Al-Omari I, Darmani H, Albiss B. Effects of extremely low frequency magnetic field on fertility of adult male and female rats. *Bioelectromagnetics* 2001;22(5):340-344.
- Al-Ali A, Alkhawajah AA, Randhawa MA, Shaikh NA. Oral and intraperitoneal LD50 of thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa*, in mice and rats. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 2008;20(2):25-27.
- Al-Amri AM, Bamasa AO. Phase I safety and clinical activity study of thymoquinone in patients with advanced refractory malignant disease. *Shiraz E Med J* 2009;10(3):107-111.
- Al-Damegh MA. Rat testicular impairment induced by electromagnetic radiation from a conventional cellular telephone and the protective effects of the antioxidants vitamins C and E. *Clinics (Sao Paulo)* 2012;67(7):785-792.
- Al-Jassir MS. Chemical composition and microflora of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds growing in Saudi Arabia. *Food Chem* 1992;45(4):239-242.
- Al-Sa'aidi JAA, Al-Khuzai ALD, Al-Zobaydi NFH. Effect of alcoholic extract of *Nigella sativa* on fertility in male rats. *Iraqi J Vet Sci* 2009;23(suppl 2):123-128.
- Al-Trad B, Al-Batayneh K, El-Metwally S, Alhazimi A, Ginawi I, Alaraj M, Alkofahi E, Aljumaili O, Kosba A. *Nigella sativa* oil and thymoquinone ameliorate albuminuria and renal extracellular matrix accumulation in the experimental diabetic rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2016;20(12):2680-2688.
- Altunkaynak BZ, Altunkaynak ME. Relationship of body weight and volume of liver. A morphometrical and stereological study. *Saudi Med J* 2007;28(6):891-895.

- Aljabre SH, Randhawa MA, Akhtar N, Alakloby OM, Alqurashi AM, Aldossary A. Antidermatophyte activity of ether extract of *Nigella sativa* and its active principle, thymoquinone. *J Ethnopharmacol* 2005;101(1-3):116-119.
- Alkharfy KM, Al-Daghri NM, Al-Attas OS, Alokail MS. The protective effect of thymoquinone against sepsis syndrome morbidity and mortality in mice. *Int Immunopharmacol* 2011;11(2):250–254.
- Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella Sativa*. *Phytotherapy Res* 2003;17(4):299-305.
- Alyoussef A, Al-Gayyar MM. Thymoquinone ameliorated elevated inflammatory cytokines in testicular tissue and sex hormones imbalance induced by oral chronic toxicity with sodium nitrite. *Cytokine* 2016a;83:64-74.
- Alyoussef A, Al-Gayyar MM. Thymoquinone ameliorates testicular tissue inflammation induced by chronic administration of oral sodium nitrite. *Andrologia* 2016;48(5b):501-508.
- Ammar ESM, Gameil NM, Shawky NM, Nader MA. Comparative evaluation of anti-inflammatory properties of thymoquinone and curcumin using an asthmatic murine model. *Int Immunopharmacol* 2011;11(12):2232–2236.
- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2014;37 (Suppl 1):S81-90.
- Apostoli P, Catalani S. Metal ions affecting reproduction and development. *Met Ions Life Sci* 2011;8:263–303.
- Aras S, Gerin F, Aydin B, Ustunsoy S, Sener U, Turan BC, Armutcu F. Effects of sodium arsenite on the some laboratory signs and therapeutic role of thymoquinone in the rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015;19(4):658-663.
- Asghari A, Khaki AA, Rajabzadeh A, Khaki A. A review on Electromagnetic fields (EMFs) and the reproductive system. *Electron Physician* 2016;8(7):2655-2662.
- Ashokkumar P, Sudhandiran G. Protective role of luteolin on the status of lipid peroxidation and antioxidant defense against azoxymethane-induced experimental colon carcinogenesis. *Biomed Pharmacother* 2008;62(9):590–597.
- Ashraf SS, Rao MV, Kaneez FS, Qadri S, Al-Marzouqi AH, Chandranath IS, Adem A. *Nigella sativa* extract as a potent antioxidant for petrochemical-induced oxidative stress. *J Chromatogr Sci* 2011;49(4):321–236.
- Assayed ME. Radioprotective effects of black seed (*Nigella sativa*) oil against hemopoietic damage and immunosuppression in gamma-irradiated rats. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2010;32(2):284–296.

- Atasoy HI, Gunal MY, Atasoy P, Elgun S, Bugdayci G. Immunohistopathologic demonstration of deleterious effects on growing rat testes of radiofrequency waves emitted from conventional Wi-Fi devices. *J Pediatr Urol*. 2013;9(2):223-229.
- Ayan M, Tas U, Sogut E, Caylı S, Kaya H, Esen M, Erdemir F, Uysal M. Protective effect of thymoquinone against testicular torsion induced oxidative injury. *Andrologia*. 2016;48(2):143-151.
- Badary OA, Nagi MN, Al-Shabanah OA, Al-Sawaf HA, Al-Sohaibani MO, Al-Bekairi AM. Thymoquinone ameliorates the nephrotoxicity induced by cisplatin in rodents and potentiates its antitumor activity. *Can J Physiol Pharmacol* 1997;75(12):1356–1361.
- Badary OA, Al-Shabanah OA, Nagi MN, Al-Bekairi AM, Elmazzar MA. Acute and subchronic toxicity of thymoquinone in mice. *Drug Dev Res* 1998;44(2–3):56-61.
- Badary OA, Gamal El-din AM. Inhibitory effect of thymoquinone against 20-methylcholanthrene-induced fibrosarcoma tumorigenesis. *Cancer Detect Prev* 2001;25(4):362–368.
- Badary OA, Taha RA, Gamal el-Din AM, Abdel-Wahab MH. Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. *Drug Chem Toxicol* 2003;26(2):87–98.
- Baharara J, Oryan S, Ashraf A. The effects of microwaves (940 MHz) on ovary and fertility of Balb/C mouse. *Science J Tarbiat moalem University*. 2008;7(3-4):931-940.
- Balci M, Devrim E, Durak I. Effects of mobile phones on oxidant/antioxidant balance in cornea and lens of rats. *Curr Eye Res* 2007;32(1):21–25.
- Barakat EM, El Wakeel LM, Hagag RS. Effects of *Nigella sativa* on outcome of hepatitis C in Egypt. *World J Gastroenterol* 2013;19 (16):2529-2536.
- Bartoov B, Eltes F, Pansky M, Lederman H, Caspi E, Soffer Y. Estimating fertility potential via semen analysis data. *Hum Reprod* 1993;8(1):65-70.
- Bas O, Odaci E, Mollaoglu H, Uçok K, Kaplan S. Chronic prenatal exposure to the 900 megahertz electromagnetic field induces pyramidal cell loss in the hippocampus of newborn rats. *Tox Ind Health* 2009(6);25:377-384.
- Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991;40(4):405-412.
- Baynes JW, Thorpe SR. The role of oxidative stress in diabetic complications. *Curr Opin Endocrinol* 1996;3:277-284.
- Behari J, Kesari KK. Effects of microwave at 2.45 GHz radiations on reproductive system of male rats. *Toxicol Environ Chem* 2010;92(6):1135–1147.

- Bernabò N, Tettamanti E, Pistilli MG, Nardinocchi D, Berardinelli P, Mattioli M, Barboni B. Effects of 50 Hz extremely low frequency magnetic field on the morphology and function of boar spermatozoa capacitated in vitro. *Theriogenology* 2007;67(4):801–815.
- Bernabò N, Tettamanti E, Russo V, Martelli A, Turriani M, Mattoli M, Barboni B. Extremely low frequency electromagnetic field exposure affects fertilization outcome in swine animal model. *Theriogenology* 2010;73(9):1293–1305.
- Bilgici B, Akar A, Avci B, Tuncel O K. Effect of 900 MHz radiofrequency radiation on oxidative stress in rat brain and serum. *Electromagn Biol Med* 2013;32(1):20–29.
- Bin-Meferij MM, El-Kott AF. The radioprotective effects of *Moringa oleifera* against mobile phone electromagnetic radiation-induced infertility in rats. *Int J Clin Exp Med* 2015;8(8):12487-12497.
- Birt DF, Hendrich S, Wang W. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacol Ther* 2001;90(2-3):157-177.
- Bortkiewicz A. A study on the biological effects of exposure mobile-phone frequency EMF. *Med Pr* 2001;52(2):101–106.
- Boskabady MH, Mohsenpoor N, Takaloo L. Antiasthmatic effect of *Nigella sativa* in airways of asthmatic patients. *Phytomedicine* 2010;17:707–713.
- Boue F, Sullivan R. Cases of human infertility are associated with the absence of P34H an epididymal sperm antigen. *Biol Reprod* 1996;54(5):1018–1024.
- Brainard GC, Kavet R, Kheifets LI. The relationship between electromagnetic field and light exposures to melatonin and breast cancer risk: a review of the relevant literature. *J Pineal Res* 1999;26(2):65–100.
- Brandtzaeg P. The increasing power of immunohistochemistry and immunocytochemistry. *J Immunol Methods* 1998;216(1-2):49–67.
- Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* 1998; 56(11):317–333.
- Brent RL. Reproductive and teratologic effects of low-frequency electromagnetic fields: a review of in vivo and in vitro studies using animal models. *Teratology* 1999;59(4):261–286.
- Brillaud E, Piotrowski A, Seze R. Effect of an acute 900MHz GSM exposure on glia in the rat brain: A time-dependent study. *Toxicology* 2007;238(1):23-33.
- Brown JE, Rice-Evans CA. Luteolin-rich artichoke extract protects low density lipoprotein from oxidation in vitro. *Free Radic Res* 1998;29(3):247–255.
- Buening MK, Chang RL, Huang MT, Fortner JG, Wood AW, Conney AH. Activation and inhibition of benzo(a)pyrene and aflatoxin B1 metabolism in human liver microsomes by naturally occurring flavonoids. *Cancer Res* 1981;41(1):67–72.

- Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother Res* 2000;14(5):323–328.
- Byun S, Lee KW, Jung SK, Lee EJ, Hwang MK, Lim SH, Bode AM, Lee HJ, Dong Z. Luteolin inhibits protein kinase C(epsilon) and c-Src activities and UVB-induced skin cancer. *Cancer Res* 2010;70(6):2415-2423.
- Cai X, Ye T, Liu C, Lu W, Lu M, Zhang J, Wang M, Cao P. Luteolin induced G2 phase cell cycle arrest and apoptosis on non-small cell lung cancer cells. *Toxicology in Vitro* 2011;25(7):1385–1391.
- Campisi A, Gulino M, Acquaviva R, Bellia P, Raciti G, Grasso R, Musumeci F, Vanella A, Triglia A. Reactive oxygen species levels and DNA fragmentation on astrocytes in primary culture after acute exposure to low intensity microwave electromagnetic field. *Neurosci Lett* 2010;473(1):50–55.
- Cardis E, Deltour I, Mann S, Moissonnier M, Taki M, Varsier N, Wake K, Wiart J. Distribution of RF energy emitted by mobile phones in anatomical structures of the brain. *Phys Med Biol* 2008;53(11):2771-2783.
- Casagrande F, Darbon JM. Effects of structurally related flavonoids on cell cycle progression of human melanoma cells: regulation of cyclin-dependent kinases CDK2 and CDK1. *Biochem Pharmacol* 2001;61(10):1205–1215.
- Chaieb K, Kouidhi B, Jrah H, Mahdouani K, Bakhrouf A. Antibacterial activity of Thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa* and its potency to prevent bacterial biofilm formation. *BMC Complement Altern Med* 2011;11:29.
- Challis LJ. Mechanisms for interaction between RF fields and biological tissue. *Bioelectromagnetics* 2005;Suppl 7:98–106.
- Chang J, Hsu Y, Kuo P, Kuo Y, Chiang L, Lin C. Increase of Bax/Bcl-XL ratio and arrest of cell cycle by luteolin in immortalized human hepatoma cell line. *Life Sci* 2005;76(16):1883–1893.
- Chen YT, Zheng RL, Jia ZJ, Ju Y. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Free Radical Biol Med* 1990;9(1):19–21.
- Chen CC, Chow MP, Huang WC, Lin YC, Chang YJ. Flavonoids Inhibit Tumor Necrosis Factor- α -Induced Up-Regulation of Intercellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) in Respiratory Epithelial Cells through Activator Protein-1 and Nuclear Factor- κ B: Structure-Activity Relationships. *Mol Pharmacol* 2004;66(3):683–693.
- Chen CY, Peng WH, Tsai KD, Hsu SL. Luteolin suppresses inflammation-associated gene expression by blocking NF- κ B and AP-1 activation pathway in mouse alveolar macrophages. *Life Sci* 2007;81(23-24):1602–1614.
- Chen HQ, Jin ZY, Wang XJ, Xu XM, Deng L, Zhao JW. Luteolin protects dopaminergic neurons from inflammation-induced injury through inhibition of microglial activation. *Neurosci Lett* 2008;448(2):175–179.

- Cheng AC, Huang TC, Lai CS, Pan MH. Induction of apoptosis by luteolin through cleavage of Bcl-2 family in human leukemia HL-60 cells. *Eur J Pharmacol* 2005;509(1):1–10.
- Cheng CY, Mruk DD. The biology of spermatogenesis: the past, present and future. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2010;365(1546):1459-1463.
- Chiu FL, Lin JK. Downregulation of androgen receptor expression by luteolin causes inhibition of cell proliferation and induction of apoptosis in human prostate cancer cells and xenografts. *Prostate* 2008;68(1):61–71.
- Chung MK, Lee SJ, Kim YB, Park SC, Shin DH, Kim SH, Kim JC. Evaluation of spermatogenesis and fertility in F1 male rats after in utero and neonatal exposure to extremely low frequency electromagnetic fields. *Asian J Androl* 2005;7(2):189–194.
- Coleta M, Campos MG, Cotrim MD, Lima TC, Cunha AP. Assessment of luteolin (3',4',5,7-tetrahydroxyflavone) neuropharmacological activity. *Behav Brain Res* 2008;189(1):75–82.
- Colditz GA. Estrogen, Estrogen Plus Progestin Therapy, and Risk of Breast Cancer. *Clin Cancer Res* 2005;11(2 Pt 2):909–917.
- Con N, Canbilen A, Bradley PM. Quantitative features of the nucleus rotundus in the brain of pre and post hatch chicks. *Brain Res Dev Brain Res* 2003;146(1-2):71-77.
- Cormier M, Ghouili F, Roumaud P, Bauer W, Touaibia M, Martin LJ. Influences of flavones on cell viability and cAMP-dependent steroidogenic gene regulation in MA-10 Leydig cells. *Cell Biol Toxicol* 2017. doi: 10.1007/s10565-017-9395-8.
- Daba MH, Abdel-Rahman MS. Hepatoprotective activity of thymoquinonein isolated rat hepatocytes. *Toxicol Lett* 1998;95(1):23–29.
- Darakhshan S, Bidmeshki Pour A, Hosseinzadeh Colagar A, Sisakhtnezhad S. Thymoquinone and its therapeutic potentials. *Pharmacol Res* 2015;95-96:138-158.
- Dasdag S, Ketani MA, Akdag Z, Ersay AR, Sari I, Demirtas OC, Celik MS. Whole-body microwave exposure emitted by cellular phones and testicular function of rats. *Urol Res* 1999;27(3):219-223.
- Dasdag S, Akdag MZ, Aksen F, Yılmaz F, Bashan M, Mutlu Dasdag M, Salih Celik M. Whole body exposure of rats to microwaves emitted from a cell phone does not affect the testes. *Bioelectromagnetics* 2003;24(3):182-188.
- David RW, Omar AG, Peter AC. The in vitro antitumor activity of some crude and purified components of black seed (*Nigella sativa*). *Anticancer Res* 1998;18(3A):1527-1532.
- Davoudi M, Brossner C, Kuber W. The influence of electromagnetic waves on sperm motility. *Urol Urogynaecol* 2002;19:18–22.

- Dehkordi FR, Kamkhah AF. Antihypertensive effect of *Nigella sativa* seed extract in patients with mild hypertension. *Fundam Clin Pharmacol* 2008;22(4):447–452.
- Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, Capasso F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci* 1999;65(4):337–353.
- Dogra VS, Gottlieb RH, Rubens DJ, Liao L. Benign intratesticular cystic lesions: US features. *Radiographics* 2001;21:S273–281.
- Dogra VS, Gottlieb RH, Oka M, Rubens DJ. Sonography of the scrotum. *Radiology* 2003;227(1):18–36.
- Draper G, Vincent T, Kroll ME, Swanson J. Childhood cancer in relation to distance from high voltage power lines in England and Wales: a case-control study. *BMJ* 2005;330(7503):1290.
- Drevet JR. The antioxidant glutathione peroxidase family and spermatozoa: a complex story. *Mol Cell Endocrinol* 2006;250(1-2):70-79.
- D'Souza R, Gill-Sharma MK, Pathak S, Kedia N, Kumar R, Balasinor N. Effect of high intratesticular estrogen on the seminiferous epithelium in adult male rats. *Mol Cell Endocrinol* 2005;241(1-2):41-48.
- Durak I, Canbolat O, Kavutcu M, Öztürk HS, Yurtaslani Z. Activities of total, cytoplasmic and mitochondrial superoxide dismutase enzymes in sera and pleural fluids from patients with lung cancer. *J Clin Lab Anal* 1996;10(1):17-20.
- Ebert B, Kisiela M, Maser E. Human DCXR - another 'moonlighting protein' involved in sugar metabolism, carbonyl detoxification, cell adhesion and male fertility. *Biol Rev Camb Philos Soc* 2015;90(1):254-278.
- Ebrahimi-Kalan A, Roudkenar MH, Halabian R, Milan PB, Zarrintan A, Roushandeh AM. Down-regulation of metallothionein 1 and 2 after exposure to electromagnetic field in mouse testis. *Iran Biomed J* 2011;15(4):151-156.
- Elbarbry F, Ragheb A, Marfleet T, Shoker A. Modulation of hepatic drug metabolizing enzymes by dietary doses of thymoquinone in female New Zealand White rabbits. *Phytother Res* 2012;26(11):1726–1730.
- El-Dakhakhny M. Studies on the chemical constituents of Egyptian *Nigella sativa* L. seeds. The essential oil. *Planta Med* 1963;11(4):465–470.
- El-Dakhakhny M. Studies on the Egyptian *Nigella sativa* L: Some pharmacological properties of its seed's active principle in comparison to its dihydro-compound and its polymer. *Arzneimittelforschung* 1965;15(10):1227–1229.
- El-Dakhakhny M, Madi NJ, Lember N, Ammon HP. *Nigella sativa* oil, nigel-lone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. *J Ethnopharmacol* 2002;81(2):161–164.

- El Gazzar M, El Mezayen R, Marecki JC, Nicolls MR, Canastar A, Dre-skin SC. Anti-inflammatory effect of thymoquinone in a mouse model of allergic lung inflammation. *Int Immunopharmacol* 2006;6(7):1135–1142.
- Elmas O. 50 Hz elektromanyetik alan maruziyetinin kalp üzerine anlık etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Isparta, Uzmanlık Tezi, 2007; 3-8.
- Enginsu ME, Dumoulin J, Pieters M, Bras M, Evers JL, Geraedts JP. Evaluation of human sperm morphology using strict criteria after diff-quick staining: correlation of morphology with fertilization in vitro. *Hum Reprod* 1991;6(6): 854–859.
- Erdem Koç G, Kaplan S, Altun G, Gümüş H, Gülsüm Deniz Ö, Aydın I, Emin Onger M, Altunkaynak Z. Neuroprotective effects of melatonin and omega-3 on hippocampal cells prenatally exposed to 900 MHz electromagnetic fields. *Int J Radiat Biol* 2016;92(10):590-595.
- Ermol C. 900 ve 1800 MHz model telefonların oluşturduğu elektromanyetik alanın tendon iyileşmesine etkisi: Ratlarda deneysel çalışma. Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Isparta, Uzmanlık Tezi, 2008; 11.
- Fabra I, Roig JV, Sancho C, Mir-Labrador J, Sempere J, García-Ferrer L. Cocaine-induced ischemic colitis in a high-risk patient treated conservatively. *Gastroenterol Hepatol* 2011;34(1):20–23.
- Fararh KM, Atoji Y, Shimizu Y, Takewaki T. Insulinotropic properties of *Nigella sativa* oil in Streptozotocin plus Nicotinamide diabetic hamster. *Res Vet Sci* 2002;73(3):279-282.
- Fararh KM, Shimizu Y, Shiina T, Nikami H, Ghanem MM, Takewaki T. Thymoquinone reduces hepatic glucose production in diabetic hamsters. *Res Vet Sci* 2005;79(3):219-223.
- Fejes I, Zavaczki Z, Szollosi J, Koloszar S, Daru J, Kovacs L, Pál A. Is there a relationship between cell phone use and semen quality? *Arch Androl* 2005;51(5):385–393.
- Ferdous AJ, Islam SN, Ahsan M, Hasan CM, Ahmed ZU. In vitro antibacterial activity of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds against multiple drug-resistant isolates of *Shigella* spp. and isolates of *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli*. *Phytotherapy Research* 2006;6(3):137–140.
- Feychting M, Ahlbom A. Childhood leukemia and residential exposure to weak extremely low frequency magnetic fields, *Environ. Health Perspect* 1995;103suppl 2:59-62.
- Finnie JW, Blumbergs PC, Cai Z, Manavis J, Kuchel TR. Effect of mobile telephony on blood-brain barrier permeability in the fetal mouse brain. *Pathology* 2006;38(1):63-65.

- Forgács Z, Somosy Z, Kubinyi G, Bakos J, Hudák A, Surján A, Thuróczy G. Effect of whole-body 1800MHz GSM-like microwave exposure on testicular steroidogenesis and histology in mice. *Reprod Toxicol* 2006;22(1):111-117.
- Fotsis T, Pepper M S, Aktas E, Breit S, Rasku S, Adlercreutz H, Wahala K, Montesano R, Schweigerer L. Flavonoids, dietary-derived inhibitors of cell proliferation and in vitro angiogenesis. *Cancer Res* 1997;57(14):2916–2921.
- Fragopoulou AF, Koussoulakos SL, Margaritis LH. Cranial and postcranial skeletal variations induced in mouse embryos by mobile phone radiation. *Pathophysiology* 2010;17(3):169-177.
- Frank AL, Slesin N. *Nonionising Radiation*. 14th Stanford, Appleton & Lange. 1998; 526-535.
- Frey AH. Headaches from cellular telephone: are they real and what are the implications?. *Environ Health Perspect* 1998;106(3):101–103.
- Fritze K, Wiessner C, Kuster N, Sommer C, Gass P, Hermann DM, Kiessling M, Hossmann K A. Effect of global system for mobile communication microwave exposure on the genomic response of the rat brain. *Neuroscience* 1997;8(3):627-639.
- Forgacs Z, Somosy Z, Kubinyi G, Bakos J, Hudak A, Surjan A, Thuroczy G. Effect of whole-body 1800MHz GSM-like microwave exposure on testicular steroidogenesis and histology in mice. *Reprod Toxicol* 2006;22(1):111-117.
- Fouad AA, Alwadani F. Ameliorative effects of thymoquinone against eye lens changes in streptozotocin diabetic rats. *Environ Toxicol Pharmacol* 2015;40(3):960-965.
- Fukagawa NK. Aging: is oxidative stress a marker or is it causal? *Proc Soc Exp Biol Med* 1999;222(3):293–298.
- Gali-Muhtasib H, Diab-Assaf M, Boltaze C, Al-Hmaira J, Hartig R, Roessner A, Schneider-Stock R. [SU1] Thymoquinone extracted from black seed triggers apoptotic cells death in human colorectal cancer cells via a p53-dependent mechanism. *Int J Oncol* 2004;25(4):857-866.
- Gispén WH, Biessels J. Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus. *Trends Neurosci* 2000;23(11):542-549.
- Gökçe A, Oktar S, Koc A, Gonenci R, Yalcinkaya F, Yonden Z, Duru M. Protective effect of thymoquinone in experimental testicular torsion. *Urol Int* 2010;85(4):461-465.
- Goodman EM, Greenebaum B, Marron MT. Effects of Electro- magnetic Fields on Molecules and Cells. *International Rev Cytol* 1995;158:279-338.
- Gorpinchenko I, Nikitin O, Banyra O, Shulyak A. The influence of direct mobile phone radiation on sperm quality. *Cent European J Urol* 2014;67(1):65-71.

- Goyal HO, Bartol FF, Wiley AA, Khalil MK, Chiu J, Vig MM. Immunolocalization of androgen receptor and estrogen receptor in the developing testis and excurrent ducts of goats. *Anat Rec* 1997;249(1):54-62.
- Grandolfo M, Vecchia P, Grandolfo M, Michaelson S M, Rindi A, Eds., "Natural and man-made environmental exposures to static and ELF electromagnetic fields," in *Biological Effects and Dosimetry of Nonionizing Radiation; Static and ELF Electromagnetic Fields*. New York: Plenum Press, 1985; 49–70.
- Grassi C, D'Ascenzo M, Torsello A, Martinotti G, Wolf F, Cittadini A, Azzena GB. Effects of 50 Hz electromagnetic fields on voltage-gated Ca²⁺ channels and their role in modulation of neuroendocrine cell proliferation and death. *Cell Calcium* 2004;35(4):307-315.
- Grow DR, Oehninger S, Seltman HJ, Toner JP, Swanson RJ, Kruger TF, Muasher SJ. Sperm morphology as diagnosed by strict criteria: probing the impact of teratozoospermia on fertilization rate and pregnancy outcome in a large in vitro fertilization population. *Fertil Steril* 1994;62(3):559–567.
- Guler G, Tomruk A, Ozgur E, Seyhan N. The effect of radiofrequency radiation on DNA and lipid damage in non-pregnant and pregnant rabbits and their newborns. *Gen Physiol Biophys* 2010;29(1):59–66.
- Gundersen HJ. Stereology of arbitrary particles. A review of unbiased number and size estimators and the presentation of some new ones, in memory of William R. Thompson. *J Microsc* 1986;143(Pt 1):3-45.
- Gundersen HJG, Jensen EB. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microsc* 1987;147(Pt 3):229-263.
- Gundersen HJ, Bagger P, Bendtsen TF, Evans SM, Korbo L, Marcussen N, Møller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, et al. The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS* 1988;96(10):857-881.
- Guney M, Ozguner F, Oral B, Karahan N, Mungan T. 900 MHz radiofrequency-induced histopathologic changes and oxidative stress in rat endometrium: protection by vitamins E and C. *Toxicol Ind Health* 2007;23(7):411–420.
- Güçlü GG. 50 Hz elektromanyetik alanlar ve biyolojik etkileri. İstanbul Teknik Üniversitesi Enerji Enstitüsü, İstanbul, Yüksek Lisans Tezi, 2011; 8-11.
- Gye MC, Park CJ. Effect of electromagnetic field, exposure on the reproductive system. *Clin Exp Reprod Med* 2012;39(1):1–9.
- Haines DM, West KH. Immunohistochemistry: forging the links between immunology and pathology. *Vet Immunol Immunopathol* 2005 (1-2);108:151–156.
- Hajhosseini L, Khaki A, Merat E, Ainehchi N. Effect of rosmarinic acid on Sertoli cells apoptosis and serum antioxidant levels in rats after exposure to electromagnetic fields. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 2013;10(6):477-480.

- Halawani E. Antibacterial Acativity of Thymoquinone and Thymohydroquinone of *Nigella sativa* L. and Their Interaction with Some Antibiotics. *Advances in Biological Research* 2009;3(5-6):148–152.
- Hales DB, Allen JA, Shankara T, Janus P, Buck S, Diemer T, Hales KH. Mitochondrial function in Leydig cell steroidogenesis. *Ann NY Acad Sci* 2005;1061:120–134.
- Hamblin DL, Wood AW. Effects of mobile phone emissions on human brain activity and sleep variables. *Int J Radiat Biol* 2002;78(8):659–669.
- Hamdi BA, Roshangar L, Khaki AA, Soleimani Rad J. Histological Study of Testes and Sperm Parameters in Adult Mice Exposed to 50 Hz Electromagnetic Field during Developmental Period. *Annals Biol Sci* 2011;2(5):455–462.
- Han DH, Denison MS, Tachibana H, Yamada K. Relationship between estrogen receptor-binding and estrogenic activities of environmental estrogens and suppression by flavonoids. *Biosci Biotechnol Biochem* 2002;66(7):1479–1487.
- Hanafy MS, Hatem ME. Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cumin) *J Ethnopharmacol* 1991;34(2-3):275–278.
- Hancı H, Odacı E, Kaya H, Aliyazıcıoğlu Y, Turan İ, Demir S, Çolakoğlu S. The effect of prenatal exposure to 900-MHz electromagnetic field on the 21-old-day rat testicle. *Reprod Toxicol* 2013;42:203-209.
- Harborne JB, Williams CA. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 2000;55(6):481–504.
- Hardell L, Mild KH, Carlberg M. Further aspects on cellular and cordless telephones and brain tumours. *Int J Oncol* 2003;22(2):399–407.
- Hardell L, Carlberg M, Hansson Mild K. Use of cellular telephones and brain tumour risk in urban and rural areas. *Occup Environ Med* 2005;62:390-394.
- Hardell L, Sage C. Biological effects from electromagnetic field exposure and public exposure standards. *Biomed Pharmacother* 2008;62(2):104–109.
- Harwood M, Danielewska-Nikiel B, Borzelleca JF, Flamm GW, Williams GM, Lines TC. A critical review of the data related to the safety of quercetin and lack of evidence of in vivo toxicity, including lack of genotoxic/carcinogenic properties. *Food Chem Toxicol* 2007;45(11):2179–2205.
- Harzallah HJ, Neffati A, Skandrani I, Maaloul E, Chekir-Ghedira L, Mahjoub M. Antioxidant and antigenotoxic activities of *Globularia alypum* leaves extracts. *J Med Plant Res* 2010;4(19):2048–2053.
- Hattori M, Tonooka A, Zaitzu M, Mikami K, Suzue-Yanagisawa A, Uekusa T, Takeuchi T. Overexpression of aquaporin 1 in the tunica vaginalis may contribute to adult-onset primary hydrocele testis. *Adv Urol* 2014;2014:202434.

- İkinci A, Odacı E, Yıldırım M, Kaya H, Akça M, Hancı H, Aslan A, Sönmez OF, Baş O. The effects of prenatal exposure to a 900 megahertz electromagnetic field on hippocampus morphology and learning behavior in rat pups. *NeuroQuantology* 2013;11(4):582–590.
- Ilhan A, Gurel A, Armutcu F, Kamilsı S, Iraz M, Akyol O, Ozen S. Ginkgo biloba prevents mobile phone-induced oxidative stress in rat brain. *Clinica Chimica Acta* 2004;340(1-2):153-162.
- Imai N, Kawabe M, Hikage T, Nojima T, Takahashi S, Shirai T. Effects on rat testis of 1.95-GHz W-CDMA for IMT-2000 cellular phones. *Syst Biol Reprod Med* 2011;57(4):204–209.
- Inouye S, Uchida K, Takizawa T, Yamaguchi H, Abe S. Evaluation of the effect of terpenoid quinones on *Trichophyton mentagrophytes* by solution and vapor contact. *J Infect Chemother* 2006;12(2):100-104.
- International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection. Guidelines for limiting exposure to time-varying electric and magnetic fields (1 Hz to 100 kHz). *Health Phys* 2010;99(6):818-836.
- Iorio R, Scrimaglio R, Rantucci E, Delle Monache S, Di Gaetano A, Finetti N, Francavilla F, Santucci R, Tettamanti E, Colonna R. A preliminary study of oscillating electromagnetic field effects on human spermatozoon motility. *Bioelectromagnetic* 2007;28(1):72–75.
- Irmak MK, Fadillioğlu E, Güleç M, Erdoğan H, Yağmurca M, Akyol O. Effects of electromagnetic radiation from a cellular telephone on the oxidant and antioxidant levels in rabbits. *Cell Biochem Funct* 2002;20(4):279-283.
- Ishii T, Matsuki S, Iuchi Y, Okada F, Toyosaki S, Tomita Y, Ikeda Y, Fujii J. Accelerated impairment of spermatogenic cells in SOD1-knockout mice under heat stress. *Free Radic Res* 2005;39(7):697-705.
- Ishisaka R, Kanno T, Inai Y, Nakahara H, Akiyama J, Yoshioka T, Utsumi K. Effects of a magnetic fields on the various functions of subcellular organelles and cells. *Pathophysiology* 2000;7(2):149–152.
- Ismail N, Ismail M, Azmi NH, Abu Bakar MF, Basri H, Abdullah MA. Modulation of Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Stress in Human Neuronal Cells by Thymoquinone-Rich Fraction and Thymoquinone via Transcriptomic Regulation of Antioxidant and Apoptotic Signaling Genes. *Oxid Med Cell Longev* 2016;2016:2528935.
- Hausdorf J, Lemmens MA, Kaplan S, Marangoz C, Milz S, Odaci E, Korr H, Schmitz C, Maier M. Extracorporeal shockwave application to the distal femur of rabbits diminishes the number of neurons immunoreactive for substance P in dorsal root ganglia L5. *Brain Res* 2008;1207:96–101.
- Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem* 2002;13(10):572–584.

- Heredia-Rojas JA, Caballero-Hernandez DE, Rodriguez-de la Fuente AO, Ramos-Alfano G, Rodriguez-Flores LE. Lack of alterations on meiotic chromosomes and morphological characteristics of male germ cells in mice exposed to a 60 Hz and 2.0 mT magnetic field. *Bioelectromagnetics* 2004;25(1):63–68.
- Hermo L, Pelletier RM, Cyr DG, Smith CE. Surfing the wave, cycle, life history, and genes/proteins expressed by testicular germ cells. Part 2: Changes in spermatid organelles associated with development of spermatozoa. *Microsc Res Tech* 2010;73(4):279–319.
- Hinrikus H, Bachmann M, Lass J, Tomson R, Tuulik V. Effect of 7, 14 and 21 Hz modulated 450MHz microwave radiation on human electroencephalographic rhythms. *Int J Radiat Biol* 2008;84(1):69–79.
- Holdcraft RW, Braun RE. Hormonal regulation of spermatogenesis. *Int J Androl* 2004;27(6):335–342.
- Hossmann K A, Hermann D M. Effects of electromagnetic radiation of mobile phones on the central nervous system. *Bioelectromagnetics* 2003;24(1):49-62.
- Houghton PJ, Zarka R, de las Heras B, Hoult JR. Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta Med* 1995;61(1):33–36.
- Huang MT, Wood AW, Newmark HL, Sayer JM, Yagi H, Jerina DM, Conney AH. Inhibition of the mutagenicity of bay-region diolepoxides of polycyclic aromatic hydrocarbons by phenolic plant flavonoids. *Carcinogenesis* 1983;4(12):1631–1637.
- Huang YT, Hwang JJ, Lee PP, Ke FC, Huang JH, Huang CJ, Kandaswami C, Middleton E Jr, Lee MT. Effects of luteolin and quercetin, inhibitors of tyrosine kinase, on cell growth and metastasis-associated properties in A431 cells overexpressing epidermal growth factor receptor. *Br J Pharmacol* 1999;128(5):999–1010.
- Hull Vance S, Benghuzzi H, Tucci M. Inhibition of bacterial attachment to kidney epithelial cells using thymoquinone - *biomed* 2010. *Biomed Sci Instrum* 2010;46:69-74.
- Jacobson CF, Miller MG. Species difference in 1, 3-dinitrobenzene testicular toxicity: in vitro correlation with glutathione status. *Reprod Toxicol* 1998;12(1):49–56.
- Jajte J, Grzegorzczak J, Zmyslony M, Rajkowska E. Effect of 7 mT magnetic field and iron ions on rat lymphocytes: apoptosis, necrosis and free radical processes. *Bioelectrochemistry* 2002;57(2):107-111.
- Jauchem JR, Ryan KL, Frei MR. Cardiovascular and thermal responses in rats during 94 GHz irradiation. *Bioelectromagnetics* 1999;20(4):264-267.

- Jauchem JR. Effects of low-level radio-frequency (3kHz to 300GHz) energy on human cardiovascular, reproductive, immune, and other systems: a review of the recent literature. *Int J Hyg Environ Health* 2008;211(1-2):1–29.
- Jeon YW, Suh YJ. Synergistic apoptotic effect of celecoxib and luteolin on breast cancer cells. *Oncol Rep* 2013;29(2):819–825.
- Johansson O. Disturbance of the immune system by electromagnetic fields-A potentially underlying cause for cellular damage and tissue repair reduction which could lead to disease and impairment. *Pathophysiology* 2009;16(2-3):157-177.
- Jones R, Mann T, Sherins R. Peroxidative breakdown of phospholipids in human spermatozoa, spermicidal properties of fatty acid peroxides, and protective action of seminal plasma. *Fertil Steril* 1979;31(5):531-537.
- Joseph A, Shur BD, Hess RA. Estrogen, efferent ductules, and the epididymis. *Biol Reprod* 2011;84(2):207-217.
- Joubert V, Bourthoumieu S, Leveque P, Yardin C. Apoptosis is induced by radiofrequency fields through the caspase-independent mitochondrial pathway in cortical neurons. *Radiat Res* 2008;169(1):38–45.
- Jung A, Schill W. [Male infertility. Current life style could be responsible for infertility]. *MMW Fortschr Med* 2000; 142(37):31–33.
- Jung KA, Ahn HS, Lee YS, Gye MC. Effect of a 20 kHz sawtooth magnetic field exposure on the estrous cycle in mice. *J Microbiol Biotechnol* 2007;17(3):398-402.
- Junqueira L, Carneiro J. *Temel Histoloji*. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi. 2006; 418-430.
- Juutilainen J, Saali K. Development of chick embryos in 1 Hz to 100 kHz magnetic fields. *Radiat Environ Biophys* 1986;25(2):135–140.
- Juutilainen J. Developmental affects of electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics* 2005;Suppl 7:S107–115.
- Kandeel FR, Swerdloff RS. Role of temperature in regulation of spermatogenesis and the use of heating as a method for contraception. *Fertil Steril* 1988;49(1):1–23.
- Kang SS, Lee JY, Choi YK, Kim GS, Han BH. Neuroprotective effects of flavones on hydrogen peroxide-induced apoptosis in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Bioorg Med Chem Lett* 2004;14(9):2261–2264.
- Kanter M. Protective Effects of Thymoquinone on β -cell Damage In Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *T A D* 2009;7(2):64-70.
- Kanter M, Demir H, Karakaya C, Ozbek H. Gastroprotective activity of Nigellasativa L oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol-inducedgastric mucosal injury in rats. *World J Gastroenterol* 2005;11(42):6662–6666.

- Kanter M. Thymoquinone reestablishes spermatogenesis after testicular injury caused by chronic toluene exposure in rats. *Toxicol Ind Health*. 2011;27(2):155-166.
- Karamzade A, Mirzapour H, Kheirollahi M. Genetics Aspects of Male Infertility. *J Isfahan Med Sc* 2013;31(246):1149–1162.
- Karin M. Mitogen activated protein kinases as targets for development of novel anti-inflammatory drugs. *Ann Rheum Dis* 2004;63(Suppl 2):ii62–ii4.
- Kasala ER, Bodduluru LN, Barua CC, Gogoi R. Antioxidant and antitumor efficacy of Luteolin, a dietary flavone on benzo(a)pyrene-induced experimental lung carcinogenesis. *Biomed Pharmacother* 2016;82:568-577.
- Kato M, Honma K, Shigemitsu T, Shiga Y. Circularly polarized 50-Hz magnetic field exposure reduces pineal gland and blood melatonin concentrations of Long-Evans rats. *Neurosci Lett* 1994;166(1):59–62.
- Kaur R, Kaur K. Effects of dietary selenium (SE) on morphology of testis and cauda epididymis in rats. *Indian J Physiol Pharmacol* 2000;44(3):265-272.
- Kaya M, Polat S, Mete UÖ, Tap Ö, Özgür H. Özel Histoloji Ders Notları. Adana Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları. 2006; 156-161.
- Khaki A, Ranjbar M, Rahimi F, Ghahramanian A. The effects of electromagnetic field (EMFs) on ovary in rat. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011;38(suppl S1):269.
- Khalife K H, Lupidi G. Nonenzymatic reduction of thymoquinone in physiological conditions. *Free Radic Res* 2007;41(2):153–161.
- Kazemi E, Mortazavi SM, Ali-Ghanbari A, Sharifzadeh S, Ranjbaran R, Mostafavi-Pour Z, Zal F, Haghani M. Effect of 900 MHz Electromagnetic Radiation on the Induction of ROS in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells. *J Biomed Phys Eng* 2015;5(3):105-114.
- Kerimoğlu G, Aslan A, Baş O, Çolakoğlu S, Odacı E. Adverse effects in lumbar spinal cord morphology and tissue biochemistry in Sprague Dawleymale rats following exposure to a continuous 1-h a day 900-MHz electromagnetic field throughout adolescence. *J Chem Neuroanat* 2016;78:125-130.
- Kesari KK, Behari J. Evidence for mobile phone radiation exposure effects on reproductive pattern of male rats: role of ROS. *Electromagn Biol Med* 2012;31(3):213-222.
- Khadir R, Morgan JL, Murray JJ. Effects of 60 Hz magnetic field exposure on polymorphonuclear leukocyte activation. *Biochim Biophys Acta* 1999;1472(1-2):359–367.
- Khaled AAS. Gastroprotective effects of Nigella Sativa oil on the formation of stress gastritis in hypothyroidal rats. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol* 2009;1(2):143–149.

- Kesari KK, Kumar S, Behari J. Effects of Radiofrequency Electromagnetic Wave Exposure from Cellular Phones on the Reproductive Pattern in Male Wistar rats. *Appl Biochem Biotechnol* 2011;164(4):546-59.
- Khillare B, Behari J. Effect of amplitude-modulated radiofrequency radiation on reproduction pattern in rats. *Electromagn Biol Med* 2009;17:43-55.
- Kim JS, Kwon CS, Son K H. Inhibition of alpha-glucosidase and amylase by luteolin, a flavonoid. *Biosci Biotechnol Biochem* 2000;64(11):2458-2461.
- Kim HJ, Lee SB, Park SK, Kim HM, Park YI, Dong MS. Effects of hydroxyl group numbers on the B-ring of 5,7-dihydroxyflavones on the differential inhibition of human CYP 1A and CYP1B1 enzymes. *Arch Pharm Res* 2005;28(10):1114-1121.
- Kim JS, Jobin C. The flavonoid luteolin prevents lipopolysaccharide-induced NF-kappa B signalling and gene expression by blocking I kappa B kinase activity in intestinal epithelial cells and bone-marrow derived dendritic cells. *Immunology* 2005;115(3):375-387.
- Kim YW, Kim HS, Lee JS, Kim YJ, Lee SK, Seo JN, Jung KC, Kim N, Gimm YM. Effects of 60 Hz 14 microT magnetic field on the apoptosis of testicular germ cell in mice. *Bioelectromagnetics* 2009;30(1):66-72.
- Kimata M, Inagaki N, Nagai H. Effects of luteolin and other flavonoids on IgE-mediated allergic reactions. *Planta Med* 2000;66(1):25-29.
- Kiray M. Elektromanyetik alana maruz kalan sıçan beyin dokusunda oksidatif stres üzerine karnitinin immunohistokimyasal ve yapısal etkileri. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Doktora Tezi, 2010; 13.
- Knowles LM, Zigrossi DA, Tauber RA, Hightower C, Milner JA. Flavonoids suppress androgen-independent human prostate tumor proliferation. *Nutr Cancer* 2000;38(1):116-120.
- Ko WG, Kang TH, Lee SJ, Kim YC, Lee BH. Effects of luteolin on the inhibition of proliferation and induction of apoptosis in human myeloid leukaemia cells. *Phytother Res* 2002;16(3):295-298.
- Kobayashi T, Nakata T, Kuzumaki T. Effect of flavonoids on cell cycle progression in prostate cancer cells. *Cancer Lett* 2002;176(1):17-23.
- Koh EK, Ryu BK, Jeong DY, Bang IS, Nam MH, Chae KS. A 60-Hz sinusoidal magnetic field induces apoptosis of prostate cancer cells through reactive oxygen species. *Int J Radiat Biol* 2008;84(11):945-955.
- Koivisto M, Krause CM, Revonsuo A, Laine M, Hamalainen H. The effects of electromagnetic field emitted by GSM phones on working memory. *Neuro Report* 2000;11(8):1641-1643.

- Kokoska L, Havlik J, Valterova I, Sovova H, Sajfrtova M, Jankovska I. Comparison of chemical composition and antibacterial activity of *Nigella sativa* seed essential oils obtained by different extraction methods. *J Food Prot* 2008;71(12):2475–2480.
- Kondo K, Hirano R, Matsumoto A, Igarashi O, Itakura H. Inhibition of LDL oxidation by cocoa. *Lancet* 1996;348(9040):1514.
- Kooti W, Mansouri E, Ghasemiboroon M, Harizi M, Ashtary-Larky D, Afrisham R. The Effects of Hydroalcoholic Extract of *Apium graveolens* Leaf on the Number of Sexual Cells and Testicular Structure in Rat. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* 2014;9(4):e17532.
- Koppers AJ, De Iuliis GN, Finnie JM, McLaughlin EA, Aitken RJ. Significance of mitochondrial reactive oxygen species in the generation of oxidative stress in spermatozoa. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(8):3199-3207.
- Korkina LG, Afanas'ev IB. Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Adv Pharmacol* 1997;38:151–163.
- Kotanidou A, Xagorari A, Bagli E, Kitsanta P, Fotsis T, Papapetropoulos A, Roussos C. Luteolin Reduces Lipopolysaccharide-induced Lethal Toxicity and Expression of Proinflammatory Molecules in Mice. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165(6):818–823.
- Koyu A, Cesur G, Ozguner F, Akdogan M, Mollaoglu H, Ozen S. Effects of 900 MHz electromagnetic field on TSH and thyroid hormones in rats. *Toxicol Lett* 2005;157(3):257-262.
- Krause CM, Haarala C, Sillanmaki L, Koivisto M, Alanko K, Revonsuo A, Laine M, Hamalainen H. Effects of electromagnetic field emitted by cellular phones on the EEG during an auditory memory task: a double blind replication study. *Bioelectromagnetics* 2004;25(1):33–40.
- Krausz C. Male infertility: pathogenesis and clinical diagnosis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2011;25(2):271-85.
- Krewski D, Glickman BW, Habash RW, Habbick B, Lotz WG, Mandeville R, Prato FS, Salem T, Weaver DF. Recent advances in research on radiofrequency fields and health: 2001–2003. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 2007;10(4):287–318.
- Kruger TF, Menkweld R, Stander F SH, Lombard CJ. Sperm morphological features as a prognostic factor in IVF. *Fertil Steril* 1986;46(6):1118–1123.
- Kruk I, Michalska T, Lichszteld K. The effect of thymol and its derivatives on reactions generating reactive oxygen species. *Chemosphere* 2000;41(7):1059–1064.
- Kruger TF, Acosta AA, Simmons KF, Swanson RJ, Matta JF. Predictive value of abnormal sperm morphology in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1988;49(1):112-117.

- Kumar S, Behari J, Sisodia R. Impact of microwave at X-band in the aetiology of male infertility. *Electromag Biol Med* 2012;31(3):223–232.
- Kumar S, Nirala JP, Behari J, Paulraj R. Effect of electromagnetic irradiation produced by 3G mobile phone on male rat reproductive system in a simulated scenario. *Indian J Exp Biol* 2014;52(9):890-897.
- Kumazawa Y, Kawaguchi K, Takimoto H. Immunomodulating effects of flavonoids on acute and chronic inflammatory responses caused by tumor necrosis factor alpha. *Curr Pharm Des* 2006;12(32):4271–4279.
- Kure A, Nakagawa K, Kondo M, Kato S, Kimura F, Watanabe A, Shoji N, Hatanaka S, Tsushida T, Miyazawa T. Metabolic Fate of Luteolin in Rats: Its Relationship to Anti-inflammatory Effect. *J Agric Food hem* 2016;64(21):4246-4254.
- Kyrylkova K, Kyryachenko S, Leid M, Kioussi C. Detection of apoptosis by TUNEL assay. *Methods Mol Biol* 2012;887:41-47.
- La Vignera S, Condorelli RA, Vicari E, D'Agata R, Calogero AE. Effects of the exposure to mobile phones on male reproduction: a review of the literature. *J Androl* 2012;33(3):350-356.
- Lai H, Carino MA, Horita A, Guy A W. Low-level microwave irradiation and central cholinergic systems. *Pharma Biochem Behav* 1989;33(1):131–138.
- Lai H, Singh NP. Single- and double-strand DNA breaks in rat brain cells after acute exposure to radiofrequency electromagnetic radiation. *Int J Radiat Biol* 1996;69(4):513–521.
- Lai H, Singh NP. Magnetic-field-induced DNA strand breaks in brain cells of the rat. *Environ health perspect* 2004;112(6):687–694.
- Iesar J, Havlik J, Kloucek P, Rada V, Titera D, Bednar M, Stropnický M, Kokoska L. In vitro growth-inhibitory effect of plant-derived extracts and compounds against *Paenibacillus* larvae and their acute oral toxicity to adult honey bees. *Vet Microbiol* 2010;145(1-2):129–133.
- Lavranos G, Balla M, Tzortzopoulou A, Syriou V, Angelopoulou R. Investigating ROS sources in male infertility: A common end for numerous pathways. *Reprod Toxicol* 2012;34(3):298–307.
- Lawler JM, Song W. Specificity of antioxidant enzyme inhibition in skeletal muscle to reactive nitrogen species donors. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;294(5):1093-1100.
- Lee BC, Johng HM, Lim JK, Jeong JH, Baik KY, Nam TJ, Lee JH, Kim J, Sohn UD, Yoon G, Shin S, Soh KS. Effects of extremely low frequency magnetic field on the antioxidant defense system in mouse brain: a chemiluminescence study. *J Photochem Photobiol B* 2004;73(1-2):43–48.

- Lee LT, Huang YT, Hwang JJ, Lee PP, Ke FC, Nair MP, Kanadaswam C, Lee MT. Blockade of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase activity by quercetin and luteolin leads to growth inhibition and apoptosis of pancreatic tumor cells. *Anticancer Res* 2002;22(3):1615–1627.
- Lee HJ, Wang CJ, Kuo HC, Chou FP, Jean LF, Tseng TH. Induction apoptosis of luteolin in human hepatoma HepG2 cells involving mitochondria translocation of Bax/Bak and activation of JNK. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005;203(2):124–131.
- Lee WJ, Wu LF, Chen WK, Wang CJ, Tseng TH. Inhibitory effect of luteolin on hepatocyte growth factor/scatter factor-induced HepG2 cell invasion involving both MAPK/ERKs and PI3K-Akt pathways. *Chem Biol Interact* 2006;160(2):123–133.
- Lee SH, Lee SJ, Kim JH, Park BJ. Chemical carcinogen, N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, is a specific activator of oncogenic Ras. *Cell Cycle* 2007;6(10):1257–1264.
- Lee JK, Kim SY, Kim YS, Lee WH, Hwang DH, Lee JY. Suppression of the TRIF-dependent signaling pathway of Toll-like receptors by luteolin. *Biochem Pharmacol* 2009;77(8):1391–400.
- Lee JS, Ahn SS, Jung KC, Kim YW, Lee SK. Effects of 60 Hz electromagnetic field exposure on testicular germ cell apoptosis in mice. *Asian J Androl* 2004;6(1):29–34.
- Lee HJ, Pack JK, Kim TH, Kim N, Choi SY, Lee JS, Kim SH, Lee YS. The lack of histological changes of CDMA cellular phone-based radio frequency on rat testis. *Bioelectromagnetics* 2010;31(7):528–534.
- Leeson TS, Leeson CR, Paparo AA. *Text/Atlas of Histology*. WB. Saunders Co, Philadelphia. 1988;82:603-609.
- Leszczynski D, Joenvaara S, Reivinen J, Kuokka R. Non-thermal activation of the hsp27/p38MAPK stress pathway by mobile phone radiation in human endothelial cells: molecular mechanism for cancer-and blood-brain barrier-related effects. *Differentiation* 2002;70(2–3):120–129.
- Leung HW, Kuo CL, Yang WH, Lin CH, Lee HZ. Antioxidant enzymes activity involvement in luteolin-induced human lung squamous carcinoma CH27 cell apoptosis. *Eur J Pharmacol* 2006;534(1-3):12–18.
- Lewy H, Massot O, Tuitou Y. Magnetic field (50 Hz) increases N-acetyltransferase, hydroxy-indole-O-methyltransferase activity and melatonin release through an indirect pathway. *Int J Radiat Biol* 2003;79(6):431–435.
- Leyva-López N, Gutierrez-Grijalva EP, Ambriz-Perez DL, Heredia JB. Flavonoids as Cytokine Modulators: A Possible Therapy for Inflammation-Related Diseases. *Int J Mol Sci* 2016;17(6).

- Li DK, Yani B, Li Z, Gao E, Miao M, Gong D, Weng X, Ferber JR, Yuan W. Exposure to magnetic fields and the risk of poor sperm quality. *Reprod Toxicol* 2010;29(1):86–92.
- Li J, Zhang J, Wang M. Extraction of Flavonoids from the Flowers of *Abelmoschus manihot* (L.) Medic by Modified Supercritical CO₂ Extraction and Determination of Antioxidant and Anti-Adipogenic Activity. *Molecules* 2016;21(7).
- Li X, Wang Z, Jiang Z, Guo J, Zhang Y, Li C, Chung J, Folmer J, Liu J, Lian Q, Ge R, Zirkin BR, Chen H. Regulation of seminiferous tubule-associated stem Leydig cells in adult rat testes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016;113(10):2666–2671.
- Liburdy RP. Calcium signaling in lymphocytes and ELF fields. Evidence for an electric field metric and a site of interaction involving the calcium ion channel. *FEBS Lett* 1992;301(1):53–59.
- Lien E J, Ren S, Bui H H, Wang R. Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radic Biol Med* 1999;26(3-4):285–294.
- Lim do Y, Jeong Y, Tyner AL, Park J H. Induction of cell cycle arrest and apoptosis in HT-29 human colon cancer cells by the dietary compound luteolin. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007;292(1):G66–75.
- Lin JC. Biological aspects of mobile communication fields. *Wirel Netw* 1997;3(6):439–453.
- Lin H, Blank M, Rossol-Haseroth K, Goodman R. Regulating genes with electromagnetic response elements. *J Cell Biochem* 2001;81(1):143–148.
- Lin Y, Shi R, Wang X, Shen HM. Luteolin, a flavonoid with potentials for cancer prevention and therapy. *Curr Cancer Drug Targets* 2008;8(7):634–646.
- Lin CW, Wu MJ, Liu IY, Su JD, Yen JH. Neurotrophic and cytoprotective action of luteolin in PC12Cells through ERK-dependent induction of Nrf2-driven HO-1 expression. *J Agric Food Chem* 2010;58(7):4477–4486.
- Lincoln GA, Maeda KI. Reproductive effects of placing micro-implants of melatonin in the mediobasal hypothalamus and preoptic area in rams. *J Endocrinol* 1992;132(2):201–215.
- Liu C, Duan W, Xu S, Chen C, He M, Zhang L, Yu Z, Zhou Z. Exposure to 1800 MHz radiofrequency electromagnetic radiation induces oxidative DNA base damage in a mouse spermatocyte-derived cell line. *Toxicol Lett* 2013;218(1):2–9.
- London SJ, Thomas DC, Bowman JD, Sobel E, Cheng TC, Peters JM. Exposure to residential electric and magnetic fields and risk of childhood leukemia. *Am J Epidemiol* 1991;134(9):923–937.
- Lindström E, Mild KH, Lundgren E. Analysis of the T cell activation signaling pathway during ELF magnetic field exposure, p56lck and [Ca²⁺]_i-measurements. *Bioelectrochem Bioenerget* 1998;46(1):129–137.

- Lopez-Lazaro M. Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini Rev Med Chem* 2009;9(1):31–59.
- Lu Y S, Huang BT, Huang YX. Reactive oxygen species formation and apoptosis in human peripheral blood mononuclear cell induced by 900MHz mobile phone radiation. *Oxid Med Cell Longev* 2012;2012:740280.
- Luo Y, Wang X, Chen Y, Xu S, Ding G, Shi C. Effects of electromagnetic radiation on morphology and TGF- β 3 expression in mouse testicular tissue. *Toxicology* 2013;310:8–14.
- Luukkonen J, Hakulinen P, Maki-Paakkanen J, Juutilainen J, Naarala J. Enhancement of chemically induced reactive oxygen species production and DNA damage in human SH-SY5Y neuroblastoma cells by 872 MHz radiofrequency radiation. *Mutat Res* 2009;662(1-2):54–58.
- Mabrouk A, Ben Cheikh H. Thymoquinone supplementation reverses lead-induced oxidative stress in adult rat testes. *Gen Physiol Biophys* 2015;34(1):65-72.
- Mahmoudabadi FS, Ziaei S, Firoozabadi M, Kazemnejad A. Use of mobile phone during pregnancy and the risk of spontaneous abortion. *J Environ Health Sci Eng* 2015;13:34.
- Malpaux B, Daveau A, Maurice F, Gayrard V, Thiery JC. Short-day effects of melatonin on luteinizing hormone secretion in the ewe: evidence for central sites of action in the mediobasal hypothalamus. *Biol Reprod* 1993;48(4):752–760.
- Mancinelli F, Caraglia M, Abbruzzese A, d'Ambrosio G, Massa R, Bismuto E. Non-thermal effects of electromagnetic fields at mobile phone frequency on the refolding of an intracellular protein: myoglobin. *J Cell Biochem* 2004;93(1):188–196.
- Manikonda PK, Rajendra P, Devendranath D, Gunasekaran B, Channakeshava, Aradhya R S, Sashidhar R B, Subramanyam C. Influence of extremely low frequency magnetic fields on Ca²⁺ signaling and NMDA receptor functions in rat hippocampus. *Neurosci Lett* 2007;413(2):145-149.
- Manju V, Balasubramanian V, Nalini N. Rat colonic lipid peroxidation and antioxidant status: the effects of dietary luteolin on 1,2-dimethylhydrazine challenge. *Cell Mol Biol Lett* 2005a;10(3):535–555.
- Manju V, Nalini N. Chemopreventive potential of luteolin during colon carcinogenesis induced by 1,2-dimethylhydrazine. *Ital J Biochem* 2005b;54(3-4):268–275.
- Mansour MA, Ginwai OT, El-Hadiya T, El-Khatib AS, Al-Shabanah OA, Al-Sawaf HA. Effects of volatile oil constituents of *Nigella sativa* on carbon tetrachloride-induced Hepatotoxicity in mice: evidence for antioxidant effects of thymoquinone. *Res Commun MolPathol Pharmacol* 2001;110(3-4):239–251.

- Mansour MA, Nagi MN, El-Khatib AS, Al-Bekairi AM. Effects of thy-moquinone on antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation and DT-diaphorase in different tissues of mice: a possible mechanism of action. *Cell Biochem Funct* 2002;20(2):143–151.
- Manthey JA, Guthrie N. Antiproliferative activities of citrus flavonoids against six human cancer cell lines. *J Agric Food Chem* 2002;50(21):5837-5843.
- Margaritis LH, Manta AK, Kokkaliaris KD, Schiza D, Alimisis K, Barkas G, Georgiou E, Giannakopoulou O, Kollia I, Kontogianni G, Kourouzidou A, Myari A, Roumelioti F, Skouropoulou A, Sykioti V, Varda G, Xenos K, Ziomas K. Drosophila oogenesis as a bio-marker responding to EMF sources. *Electromagn Biol Med* 2014;33(3):165-189.
- Marinelli F, La Sala D, Ciccotti G, Cattini L, Trimarchi C, Putti S, Zamparelli A, Giuliani L, Tomassetti G, Cinti C. Exposure to 900 MHz electromagnetic field induces an unbalance between pro-apoptotic and pro-survival signals in T-lymphoblastoid leukemia CCRF-CEM cells. *J Cell Physiol* 2004;198(2):324–332.
- Makler A. The improved ten-micrometer chamber for rapid sperm count and motility evaluation. *Fertil Steril*. 1980;33(3):337-338.
- Martínez-Sámamo J, Torres-Durán PV, Juárez-Oropeza MA, Elías-Viñas D, Verdugo-Díaz L. Effects of acute electromagnetic field exposure and movement restraint on antioxidant system in liver, heart, kidney and plasma of Wistar rats: a preliminary report. *Int J Radiat Biol* 2010;86(12):1088-1094.
- Martinez CS, Torres JGD, Pecanha FM, Anselmo-Franci JA, Vassallo DV, Salaices M, Alonso MJ, Wiggers GA. 60-day chronic exposure to low concentrations of HgCl₂ impairs sperm quality: hormonal imbalance and oxidative stress as potential routes for reproductive dysfunction in rats. *Plos ONE* 2014;9(11):e111202.
- Maskey D, Pradhan J, Aryal B, Lee CM, Choi IY, Park KS, Kim SB, Kim HG, Kim MJ. Chronic 835-MHz radiofrequency exposure to mice hippocampus alters the distribution of calbindin and GFAP immunoreactivity. *Brain Res* 2010;1346:237-246.
- Matés JM1, Pérez-Gómez C, Núñez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem* 1999;32(8):595-603.
- Mathur PP, D'Cruz SC. The effect of environmental contaminants on testicular function. *Asian J Androl* 2011;13(4):585-5591.
- Matsukawa Y, Marui N, Sakai T, Satomi Y, Yoshida M, Matsumoto K, Nishino H, Aoike A. Genistein arrests cell cycle progression at G2-M. *Cancer Res* 1993;53(6):1328–1331.

- Mausset-Bonnefont AL, Hirbec H, Bonnefont X, Privat A, Vignon J, de Seze R. Acute exposure to GSM 900-MHz electromagnetic fields induces glial reactivity and biochemical modifications in the rat brain. *Neurobiol Dis* 2004;17(3):445–454.
- Mazur A, Bayle D, Lab C, Rock E, Rayssiguier Y. Inhibitory effect of rocyanidin-rich extracts on LDL oxidation in vitro. *Atherosclerosis* 1999;145(2):421–422.
- Mccall AL. The impact of diabetes on the CNS. *Diabetes* 1992;41(5):557-570.
- McCann J, Dietrich F, Rafferty C. The genotoxic potential of electric and magnetic fields: an update. *Mutat Res* 1998;411(1):45-86.
- Menkveld R, Stander FSH, Kotze TJW, Kruger TF, van Zyl JA. The evaluation of morphological characteristics of human spermatozoa according to stricter criteria. *Hum Reprod* 1990;5 (5):586–592.
- Miller KP, Ramos KS. Impact of cellular metabolism on the biological effects of benzo[a]pyrene and related hydrocarbons. *Drug Metab Rev* 2001;33(1):1–35.
- Miller WL. Molecular biology of steroid hormone synthesis. *Endocr Rev* 1988;9(3):295-318.
- Mitchell V, Sigala J, Ballot C, Jumeau F, Barbotin A L, Duhamel A, Rives N, Rigot JM, Escalier D, Peers MC. Light microscopy morphological characteristics of the sperm flagellum may be related to axonemal abnormalities. *Andrologia* 2015;47(2):214–220.
- Meo SA, Al-Drees AM, Sufia H, Khan MM, Imran MB. Effects of mobile phone radiation on serum testosterone in Wistar albino rats. *Saudi Med J* 2010;31(8):869-873.
- Mohammad AM, Mohamad MJ, Darka H. Effects of black seeds (*Nigella sativa*) on spermatogenesis and fertility of male albino rats. *Res J Med Med Sci* 2009;4(2):386-390.
- Mokarram P, Sheikhi M, Mortazavi SMJ, Saeb S, Shokrpour N. Effect of Exposure to 900 MHz GSM Mobile Phone Radiofrequency Radiation on Estrogen Receptor Methylation Status in Colon Cells of Male Sprague Dawley Rats. *J Biomed Phys Eng* 2017;7(1):79-86.
- Morsi NM. Antimicrobial effect of crude extracts of *Nigella sativa* on multiple antibiotics-resistant bacteria. *Acta Microbiol Pol* 2000;49(1):63–74.
- Murkies AL, Wilcox G, Davis SR. Phytoestrogens. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83(2):297–303.
- Muscat JE, Malkin MG, Thompson S, Shore RE, Stellman SD, McRee D, Neugut AI, Wynder E. Handheld cellular telephone use and risk of brain cancer. *JAMA* 2000;284(23):3001-3007.
- Mutabagani A, El-Mahdy SAM. A study of the anti-inflammatory activity of *Nigella sativa* L. and thymoquinone. *Saudi Pharm J* 1997;5(2):110–113.

- Maynard S, Schurman SH, Harboe C, de Souza-Pinto NC, Bohr VA. Base excision repair of oxidative DNA damage and association with cancer and aging. *Carcinogenesis* 2009;30(1):2-10.
- Nabavi SF, Braidy N, Gortzi O, Sobarzo-Sanchez E, Daglia M, Skalicka-Woźniak K, Nabavi SM. Luteolin as an anti-inflammatory and neuroprotective agent: A brief review. *Brain Res Bull* 2015;119(Pt A):1-11.
- Nagao A, Seki M, Kobayashi H. Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids. *Biosci Biotechnol Biochem* 1999;63(10):1787–1790.
- Nagi MN, Mansour MA. Protective effect of thymoquinone against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats: a possible mechanism of protection. *Pharmacol Res* 2000;41(3):283–289.
- Nallella KP, Sharma RK, Aziz N, Agarwal A. Significance of sperm characteristics in the evaluation of male infertility. *Fertil Steril* 2006;85(3):629-634.
- Naughton CK, Nangia AK, Agarwal A. Pathophysiology of varicoceles in male infertility. *Hum Reprod Update* 2001;7(5):473–481.
- Naz RK, Morte C, Garcia-Framis V, Kaplan P, Martinez P. Characterization of a sperm-specific monoclonal antibody and isolation of 95-kilodalton fertilization antigen-2 from human sperm. *Biol Reprod* 1993;49(6):1236–1244.
- Nelson JF, Karelus K, Bergman MD, Felicio LS. Neuroendocrine involvement in aging: evidence from studies of reproductive aging and caloric restriction. *Neurobiol Aging* 1995;16(5):837–843.
- Ni CZ, Atta-ur-Rahman JC, Malik S, Hasan SS, Choudhary MI. Nigellidine-a new indazole alkaloid from the seed of *Nigella sativa*. *Tetrahedron Lett* 1995;36(12):1993–1994.
- Nordeen SK, Bona BJ, Jones DN, Lambert JR, Jackson TA. Endocrine disrupting activities of the flavonoid nutraceuticals luteolin and quercetin. *Horm Cancer* 2013;4(5):293–300.
- Odaci E, Bas O, Kaplan S. Effects of prenatal exposure to a 900 MHz electromagnetic field on the dentate gyrus of rats: a stereological and histopathological study. *Brain Res* 2008;1238:224-229.
- Odacı E, Ünal D, Mercantepe T, Topal Z, Hancı H, Türedi S, Erol H S, Mungan S, Kaya H, Çolakoğlu S. The pathological effects of prenatal exposure to a 900-MHz electromagnetic field on the 21-day-old male rat kidney. *Biotech & Histochem* 2015;90(2):93–101.
- Odacı E, Hancı H, Yuluğ E, Türedi S, Aliyazıcıoğlu Y, Kaya H, Çolakoğlu S. Effects of prenatal exposure to a 900 MHz electromagnetic field on 60-day-old rat testis and epididymal sperm quality. *Biotech Histochem* 2016;91(1):9-19.

- Oger I, Da Cruz C, Panteix G, Menezo Y. Evaluating human sperm DNA integrity: relationship between 8-hydroxydeoxyguanosine quantification and the sperm chromatin structure assay. *Zygote* 2003;11(4):367-371.
- Oh S. Disturbance in testosterone production in Leydig cells by polycyclic aromatic hydrocarbons. *Dev Reprod* 2014;18(4):187-195.
- Ohnishi Y, Mizuno F, Sato T, Yasui M, Kikuchi T, Ogawa M. Effects of power frequency alternating magnetic fields on reproduction and pre-natal development of mice. *J Toxicol Sci* 2002;27(3):131-138.
- Oktem F, Ozguner F, Mollaoglu H, Koyu A, Uz E. Oxidative damage in the kidney induced by 900-MHz-emitted mobile phone: protection by melatonin. *Arch Med Res* 2005;36(4):350-355.
- Ombelet W, Fourie FL, Vandeput H, Bosmans E, Cox A, Janssen M, Kruger T. Teratozoospermia and in vitro fertilization; a randomised prospective study. *Hum Reprod* 1994;9(8):1479-1484.
- Ono K, Sofikitis N. A Novel Mechanism to Explain the Detrimental Effect of left cryptorchidism on Right Testicular functions. *Yanago Acta medical* 1997;40:79-89.
- Oral B, Guney M, Ozguner F, Karahan N, Mungan T, Comlekci S, Cesur G. Endometrial apoptosis induced by a 900-MHz mobile phone: preventive effects of vitamins E and C. *Adv Ther* 2006;23(6):957-973.
- Ozguner M, Koyu A, Cesur G, Ural M, Ozguner F, Gokcimen A, Delibas N. Biological and morphological effects on the reproductive organ of rats after exposure to electromagnetic field. *Saudi Med J*. 2005;26(3):405-410.
- Ozguner F, Bardak Y, Comlekci S. Protective effects of melatonin and caffeic acid phenethyl ester against retinal oxidative stress in long-term use of mobile phone: a comparative study. *Mol Cell Biochem* 2006;282(1-2):83-88.
- Özyılmaz C. 900 MHz elektromanyetik alanın erişkin erkek sıçanların testis morfolojisi üzerine etkisi. *Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Yüksek Lisans Tezi*, 2014; 22-30.
- Pakbaş İ. Cep telefonlarından yayılan 900 Mhz elektromanyetik alanın rat immün sistemi üzerine etkilerinin araştırılması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Isparta, Uzmanlık Tezi*, 2008; 2-12.
- Panagopoulos DJ, Chavdoula ED, Nezis IP, Margaritis LH. Cell death induced by GSM 900-MHz and DCS 1800-MHz mobile telephony radiation. *Mutat Res* 2007;626 (1-2):69-78.
- Panagopoulos DJ, Chavdoula ED, Margaritis LH. Bioeffects of mobile telephony radiation in relation to its intensity or distance from the antenna. *International Journal of Radiation Biology* 2010;86(5):345-357.

- Panagopoulos DJ. Electromagnetic Interaction between Environmental Fields and Living Systems Determines Health and Well-Being, Kwang MH and Yoon SO, *Electromagnetic Fields: Principles, Engineering Applications and Biophysical Effects*, United States, Nova Science. 2013; 87-130.
- Panagopoulos DJ, Johansson O, and Carlo GL. Evaluation of Specific Absorption Rate as a Dosimetric Quantity for Electromagnetic Field Bioeffects. *PLoS One* 2013;8(6):e62663.
- Panagopoulos DJ, Johansson O, Carlo GL. Polarization: A Key Difference between Man-made and Natural Electromagnetic Fields, in regard to Biological Activity. *Sci Rep* 2015;5:14914.
- Parinaud J, Mieusset R, Vieitez G, Labal B, Richoilley G. Influence of sperm parameters on embryo quality. *Fertil Steril* 1993;60(5):888–892.
- Patricio A, Cruzb DF, Silva JV, Padrãob A, Correiab BR, Korrodi-Gregóriob L, Ferreirac R, Maiaa N, Almeidaa S, Lourenc J, Silva V, Fardilha M. Relation between seminal quality and oxidative balance in sperm cells. *Acta Urológica Portuguesa* 2016;33(1):6-15.
- Perveen T, Haider S, Kanwal S, Haleem DJ. Repeated administration of *Nigella sativa* decrease 5-HT Turnover and produces Anxiolytic effects in rats. *Pak J Pharm Sci* 2009;22(2):139-144.
- Patil SP, Jain PD, Sancheti JS, Ghumatkar PJ, Tambe R, Sathaye S. Neuroprotective and neurotrophic effects of apigenin and luteolin in MPTP induced Parkinsonism in mice. *Neuropharmacology* 2014;86:192–202.
- Peterhans E. Oxidants and antioxidants in viral diseases: disease mechanisms and metabolic regulation. *J Nutr* 1997;127(5 Suppl):962S–965S.
- Peters NK, Frost JW, Long SR. A plant flavone, luteolin, induces expression of *Rhizobium meliloti* nodulation genes. *Science* 1986;233(4767):977–980.
- Poulris AF. Reproductive and development effects of EMF in vertebrate animal models. *Pathophysiology* 2009;16(2-3):179–189.
- Prasad M, Kathuria P, Nair P, Kumar A, Prasad K. Mobile phone use and risk of brain tumours: a systematic review of association between study quality, source of funding, and research outcomes. *Neurol Sci*. 2017;38(5):797-810.
- Primakoff P. Sperm proteins being studied for use in a contraceptive vaccine. *Am J Reprod Immunol* 1994;31(4):208–210.
- Pryor JL, Howards SS. Varicocele. *Urol Clin N Am*. 1987;14(3):499-513.
- Ramaswamy S, Weinbauer GF. Endocrine control of spermatogenesis: Role of FSH and LH/ testosterone. *Spermatogenesis* 2015;4(2):e996025.

- Reiter RJ. Static and extremely low frequency electromagnetic field exposure: reported effects on the circadian production of melatonin. *J Cell Biochem* 1993;51(4):394–403.
- Repacholi M H. Health risks from the use of mobile phones. *Toxicol Lett* 2001;120(1-3):323–331.
- Robak J, Shridi F, Wolbis M, Krolikowska M. Screening of the influence of flavonoids on lipoxygenase and cyclooxygenase activity, as well as on nonenzymic lipid oxidation. *Pol J Pharmacol Pharm* 1988;40(5):451–458.
- Robinson JN, Lockwood GM, Dokras A, Egan DM, Nicholson SC, Ross C, Barlow D H. Does isolated teratozoospermia affect performance in vitro fertilization and embryo transfer? *Hum Reprod* 1994;9(5):870–874.
- Roda C, Perry S. Mobile phone infrastructure regulation in Europe: Scientific challenges and human rights protection. *Environ Sci Pol* 2014;37:204–214.
- Rodriguez M, Petitclerc D, Burchard JF, Nguyen DH, Block E, Downey BR. Responses of the estrous cycle in dairy cows exposed to electric and magnetic fields (60 Hz) during 8-h photoperiods. *Anim Reprod Sci* 2003;77(1-2):11–20.
- Rodriguez M, Petitclerc D, Burchard JF, Nguyen DH, Block E. Blood melatonin and prolactin concentrations in dairy cows exposed to 60 Hz electric and magnetic fields during 8 h photoperiods. *Bioelectromagnetics* 2004;25(7):508–515.
- Rooney S, Ryan MF. Effects of alphahederin and thymoquinone constituents of *Nigella Sativa* on human cancer cell lines. *Anticancer Res* 2005;25(3B):2199–2204.
- Ross JA, Kasum CM. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annu Rev Nutr* 2002;22:19–34.
- Ross M, Pawlina W. *Histology: A text and Atlas: with correlated cell and molecular biology*. 6th Ed., Philadelphia, Place. 2011;784–785.
- Roychoudhury S, Jedlicka J, Parkanyi V, Rafay J, Ondruska L, Massanyi P, Bulla J. Influence of a 50 hz extra low frequency electromagnetic field on spermatozoa motility and fertilization rates in rabbits. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*. 2009;44(10):1041–1047.
- Russell LD, Malone JP, MacCurdy DS. Effect of the microtubule disrupting agents, colchicine and vinblastine, on seminiferous tubule structure in the rat. *Tissue Cell* 1981;13(2):349–367.
- Ryan BM, Symanski RR, Pomeranz LE, Johnson TR, Gauger JR, McCormick DL. Multigeneration reproductive toxicity assessment of 60-Hz magnetic fields using a continuous breeding protocol in rats. *Teratology* 1999;59(3):156–162.
- Sadik NA. Effects of diallyl sulfide and zinc on testicular steroidogenesis in cadmium-treated male rats. *J Biochem Mol Toxicol* 2008;22(5):345–353.

- Sadler TW. *Medikal Embriyoloji (Langman)*. 11. Baskı, Ankara, Palme Yayınevi. 2011; 247-248.
- Saito K, Suzuki H, Suzuki K. Teratogenic effects of static magnetic field on mouse fetuses. *Reprod. Toxicol* 2006;22(1):118–124.
- Saito K, Yonekura-Sakakibara K, Nakabayashi R, Higashi Y, Yamazaki M, Tohge T, Fernie AR, The flavonoid biosynthetic pathway in arabidopsis: Structural and genetic diversity. *Plant Physiol Biochem* 2013;72:21–34.
- Salama N, Kishimoto T, Kanayama HO. Retracted: Effects of exposure to a mobile phone on testicular function and structure in adult rabbit. *Int J Androl* 2010;33(1):88–94.
- Salem ML, Hossain MS. Protective effect of black seed oil from *Nigella sativa* against murine cytomegalovirus infection. *Int J Immunopharmacol* 2000;22(9):729-740.
- Salem ML. Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *Int Immunopharmacol* 2005;5(13-14):1749–1770.
- Salomi MJ, Nair SC, Panikkar KR. Inhibitory effects of *Nigella sativa* and saffron (*Crocus sativus*) on chemical carcinogenesis in mice. *Nutr Cancer* 1991;16(1):67-72.
- Samir Bashandy AE. Effects of fixed oil of *Nigella sativa* on male fertility in normal and Hyperlipidemic rats. *Int J Pharmacol* 2007;3:27-33.
- Sarkar S, Ali S, Behari J. Effect of low power microwave on the mouse genome: a direct DNA analysis. *Mutat Res* 1994;320(1-2):141–147.
- Savitz DA. Overview of occupational exposure to electric and magnetic fields and cancer: advancements in exposure assessment. *Environ Health Perspect* 1995;103(Suppl 2):69–74.
- Sayed AA, Morcos M. Thymoquinone decreases AGE-induced NF-kappaB activation in proximal tubular epithelial cells. *Phytother Res* 2007;21(9):898–899.
- Saygin M, Caliskan S, Karahan N, Koyu A, Gumral N, Uguz A. Testicular apoptosis and histopathological changes induced by a 2.45 GHz electromagnetic field. *Toxicol Ind Health* 2011;27(5):455–463.
- Scientific Committee on Emerging Newly Identified Health Risks. Potential health effects of exposure to electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics* 2015;36(6):480-484.
- Scippo ML, Argiris C, Van De Weerd C, Muller M, Willemsen P, Martial J, Maghuin-Rogister G. Recombinant human estrogen, androgen and progesterone receptors for detection of potential endocrine disruptors. *Anal Bioanal Chem* 2004;378(3):664–669.

- Sehitoglu I, Tumkaya L, Kalkan Y, Bedir R, Cure M C, Zorba OU, Cure E, Yuce S. Biochemical and histopathological effects on the rat testis after exposure to electromagnetic field during fetal period. *Arch Esp Urol* 2015;68(6):562-568.
- Semerci M. Telekomünikasyon cihazlarından kaynaklı elektromanyetik alan şiddeti ölçüm yöntemleri: Samsun il merkezi saha çalışması. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, Yüksek Lisans Tezi*, 2011; 7-10.
- Sharpe RM. Regulation of spermatogenesis. In: Knobil E, Neill JD. *The Physiology of Reproduction*. New York, Raven Press, Ltd. 1994; 1363-1434.
- Shehu A, Mohammed A, Magaji RA, Muhammad MS. Exposure to mobile phone electromagnetic field radiation, ringtone and vibration affects anxiety-like behaviour and oxidative stress biomarkers in albino wistar rats *Metab Brain Dis* 2016;31(2):355-362.
- Sheikhbahaei F, Khazaei M, Rabzia A, Mansouri K, Ghanbari A. Protective Effects of Thymoquinone against Methotrexate-Induced Germ Cell Apoptosis in Male Mice. *Int J Fertil Steril* 2016;9(4):541-547.
- Sheweita SA, Al-Shora S, Hassan M. Effects of benzo[a]pyrene as an environmental pollutant and two natural antioxidants on biomarkers of reproductive dysfunction in male rats. *Environ Sci Pollut Res Int* 2016;23(17):17226-17235.
- Sen CK. Oxygen toxicity and antioxidants state of the art. *Indian J Physiol Pharmacol* 1995;39(3):177-196.
- Seze R, Fabbro-Peray P, Miro L. GSM radiocellular telephones do not disturb the secretion of antepituitary hormones in humans. *Bioelectromagnetics*. 1998;19(5):271-278.
- Sharma P, Parmar J, Verma P, Goyal P. Radiation induced oxidative stress and its toxicity in testes of mice and their prevention by *Tinospora cordifolia* extract. *J Reprod Health Med* 2015;1(2):64-75.
- Sharpe RM. Intratesticular control of steroidogenesis. *Clin Endocrinol* 1990;33(6):787-807.
- Sharpe RM, Maddocks S, Kerr JB. Cell-cell interactions in the control of spermatogenesis as studied using Leydig cell destruction and testosterone replacement. *Am J Anat* 1990; 188(1):3-20.
- Shimoi K, Masuda S, Furugori M, Esaki S, Kinae N. Radioprotective effect of antioxidative flavonoids in gamma-ray irradiated mice. *Carcinogenesis* 1994;15(11):2669-2672.
- Shoji H, Koletzko B. Oxidative stress and antioxidant protection in the perinatal period. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2007;10(3):324-328.
- Siingha D, Singh RP, Kamra AK, Gupta PN, Singh R, Gopalakrishnan V, Singh AK. Review of electromagnetic coupling between the Earth's atmosphere and the space environment. *J Atmos Sol Terr Phy* 2005;67:637-658.

- Smith LB, Walker WH. The Regulation of Spermatogenesis by Androgens. *Semin Cell Dev Biol* 2014;30:2–13.
- Sonmez OF, Odaci E, Bas O, Kaplan S. Purkinje cell number decreases in the adult female rat cerebellum following exposure to 900 MHz electromagnetic field. *Brain Res* 2010;1356:95–101.
- Stathopoulos GT, Sherrill TP, Cheng DS, Scoggins RM, Han W, Polosukhin VV, Connelly L, Yull FE, Fingleton B, Blackwell TS. Epithelial NF-kappaB activation promotes urethane-induced lung carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104 (47):18514–18519.
- Stevens RG, Davis S, Thomas DB, Anderson L E, Wilson B W. Electric power, pineal function, and the risk of breast cancer. *FASEB J* 1992;6(3):853–860.
- Stevens RG, Davis S. The melatonin hypothesis: electric power and breast cancer. *Environ Health Perspect* 1996;104(Suppl 1):135–140.
- Sun Z, Niu R, Wang B, Jiao Z, Wang J, Zhang J, Jiao Z, Wang J, Zhang J, Wang S, Wang J. Fluoride-induced apoptosis and gene expression profiling in mice sperm in vivo. *Arch Toxicol* 2011;85(11):1441–1452.
- Svedenstal BM, Johanson KJ, Mattsson MO, Paulsson LE. DNA damage, cell kinetics and ODC activities studied in CBA mice exposed to electromagnetic fields generated by transmission lines. *In vivo* 1999a;136:507–513.
- Svedenstal BM, Johanson KJ, Mild KH. DNA damage induced in brain cells of CBA mice exposed to magnetic fields. *In vivo* 1999b;13(6):551–552.
- Tabrah F L, Ross P, Hoffmeier M, Gilbert F Jr. Clinical report on long-term bone density after short-term EMF application. *Bioelectromagnetics* 1998;19(2):75–78.
- Taha M, Abdel Azeiz AZ, Saudi W. Antifungal effect of thymol, thymoquinone and thymohydroquinone against yeasts, dermatophytes and non-dermatophyte molds isolated from skin and nails fungal infections. *Egypt J Biocem Mol Biolog* 2010;28(2):109-126.
- Tang J, Zhang Y, Yang L, Chen Q, Tan L, Zuo S, Feng H, Chen Z, Zhu G. Exposure to 900MHz electromagnetic fields activates the mcp-1/ERK pathway and causes blood-brain barrier damage and cognitive impairment in rats. *Brain Res*. 2015;160:92-101.
- Tenforde TS, Gaffey CT, Moyer BR, Budinger TF. Cardiovascular alterations in Macaca Monkeys exposed to stationary magnetic fields: experimental observations and theoretical analysis. *Bioelectromagnetics* 1983;4(1):1-9.
- Tenorio BM, Jimenez GC, Morais RN, Torres SM, Nogueira RA, Junior VAS. Testicular development evaluation in rats exposed to 60 Hz and 1 mT electromagnetic field. *J Appl Toxicol* 2011;31(3):223–230.

- Tormakangas L, Vuorela P, Saario E, Leinonen M, Saikku P, Vuorela H. In vivo treatment of acute Chlamydia pneumoniae infection with the flavonoids quercetin and luteolin and an alkyl gallate, octyl gallate, in a mouse model. *Biochem Pharmacol* 2005;70(8):1222–1230.
- Trainer TD. Histology of the normal testis. *Am J Surg Pathol*. 1987;11(10):797-809.
- Tremellen K. Oxidative stress and male infertility: a clinical perspective. *Hum Reprod Update* 2008;14(3):243–258.
- Tüfek NH, Altunkaynak ME, Altunkaynak BZ, Kaplan S. Effects of thymoquinone on testicular structure and sperm production in male obese rats. *Syst Biol Reprod Med* 2015;61(4):194-204.
- Tumkaya L, Kalkan Y, Bas O, Yilmaz A. Mobile phone radiation during pubertal development has no effect on testicular histology in rats. *Toxicol Ind Health* 2016;32(2):328-336.
- Tunç A T, Aslan H, Turgut M, Ekici F, Odaci E, Kaplan S. Inhibitory effect of pinealectomy on the development of cerebellar granule cells in the chick: a stereological study. *Brain Res* 2007;1138:214–220.
- Ulubay M, Yahyazadeh A, Deniz ÖG, Kıvrak EG, Altunkaynak BZ, Erdem G, Kaplan S. Effects of prenatal 900 MHz electromagnetic field exposures on the histology of rat kidney. *Int J Radiat Biol* 2014;1(1):1-25.
- Umar S, Zargan J, Umar K, Ahmad S, Katiyar CK, Khan HA. Modulation of the oxidative stress and inflammatory cytokine response by thymoquinone in the collagen induced arthritis in Wistar rats. *Chem Biol Interact* 2012;197(1):40–46.
- Wang C, Makela T, Hase T, Adlercreutz H, Kurzer MS. Lignans and flavonoids inhibit aromatase enzyme in human preadipocytes. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1994;50(3-4):205–212.
- Wang L, Li W, Lin M, Garcia M, Mulholland D, Lilly M, Martins-Green M. Luteolin, ellagic acid and puniceic acid are natural products that inhibit prostate cancer metastasis. *Carcinogenesis* 2014;35(10):2321–2330.
- Wang SM, Wang DW, Peng RY, Gao YB, Yang Y, Hu WH, Chen HY, Zhang YR, Gao Y. [Effect of electromagnetic pulse irradiation on structure and function of Leydig cells in mice] . *Zhonghua Nan Ke Xue* 2003;9(5):327–330.
- Wang TT, Milner MJ, Milner JA, Kim YS. Estrogen receptor alpha as a target for indole-3-carbinol. *J Nutr Biochem* 2006;17(10):659–664.
- Wang X, Sharma R, Sikka S, Thomas A, Falcone T, Agarwal A. Oxidative stress is associated with increased apoptosis leading to spermatozoa DNA damage in patients with male factor infertility. *Fertil Steril* 2003;80(30):531–535.

- Wang Z, Fei Y, Liu H, Zheng S, Ding Z, Jin W, Pan Y, Chen Z, Wang L, Chen G, Xu Z, Zhu Y, Yu Y. Effects of electromagnetic fields exposure on plasma hormonal and inflammatory pathway biomarkers in male workers of a power plant. *Int Arch Occup Environ Health* 2016;89(1):33-42.
- Weeks MD. Wi-Fi and neurological diseases. <http://weeksmid.com/2015/03/wifi-and-neurological-diseases/>, 2017.
- Weng Z, Patel AB, Panagiotidou S, Theoharides TC. The novel flavone tetramethoxyluteolin is a potent inhibitor of human mast cells. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135(4):1044–1052.
- Wertheimer N, Savitz DA, Leeper E. Childhood cancer in relation to indicators of magnetic fields from ground current sources. *Bioelectromagnetics* 1995;16(2):86–96.
- West MJ, Gundersen HJ. Unbiased stereological estimation of the number of neurons in the human hippocampus. *J Comp Neurol* 1990;296(1):1–22.
- West MJ, Slomianka L, Gundersen HJ. Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator. *Anat Rec* 1991;231(4):482-497.
- West MJ. Design-based stereological methods for counting neurons. *Prog Brain Res* 2002;135:43-51.
- Wölfle U, Heinemann A, Esser PR, Haarhaus B, Martin SF, Schempp CM. Luteolin prevents solar radiation-induced matrix metalloproteinase-1 activation in human fibroblasts: a role for p38 mitogen-activated protein kinase and interleukin-20 released from keratinocytes. *Rejuvenation Res* 2012;15(5):466-475.
- World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, 5. Aufl. World Health Organization, Geneva, 2010.
- Worthen DR, Ghosheh O, Crooks PA. The in vitro anti-tumor activity of some crude and purified components of black seed, *Nigella Sativa*. *Anticancer Res* 1998;18(3A):1527-1532.
- Wright C, Milne S, Leeson H. Sperm DNA damage caused by oxidative stress: modifiable clinical, lifestyle and nutritional factors in male infertility. *Reprod Biomed Online* 2014;28(6):684–703.
- Wu MJ, Weng CY, Ding HY, Wu PJ. Anti-inflammatory and antiviral effects of *Glossogyne tenuifolia*. *Life Sciences* 2005;76(10):1135–1146.
- Xagorari A, Papapetropoulos A, Mauromatis A, Economou M, Fotsis T, Roussos C. Luteolin inhibits an endotoxin-stimulated phosphorylation cascade and proinflammatory cytokine production in macrophages. *J Pharmacol Exp Ther* 2001;296(1):181–187.

- Xiong J, Wang K, Yuan C, Xing R, Ni J, Hu G, Chen F, Wang X. Luteolin protects mice from severe acute pancreatitis by exerting HO-1-mediated anti-inflammatory and antioxidant effects. *Int J Mol Med* 2017;39(1):113-125.
- Vesselinova L. Body mass index as a risk prediction and prevention factor for professional mixed low-intensity EMF burden. *Electromagn Biol Med* 2015;34(3):238–243.
- Yan JG, Agresti M, Bruce T, Yan YH, Granlund A, Matloub HS. Effects of cellular phone emissions on sperm motility in rats. *Fertil Steril* 2007;88(4):957–964.
- Yellon SM. Acute 60 Hz magnetic field exposure effects on the melatonin rhythm in the pineal gland and circulation of the adult Djungarian hamster. *J Pineal Res* 1994;16(3):136–144.
- Yeung CH, Tüttelmann F, Bergmann M, Nordhoff V, Vorona E, Cooper TG. Coiled sperm from infertile patients: characteristics, associated factors and biological implication. *Hum Reprod* 2009;24(6):1288-1295.
- Yuan D, Wang H, He H, Jia L, He Y, Wang T, Zeng X, Li Y, Li S, Zhang C. Protective effects of total flavonoids from *Epimedium* on the male mouse reproductive system against cyclophosphamide-induced oxidative injury by up-regulating the expressions of SOD3 and GPX1. *Phytother Res* 2014;28(1):88-97.
- Yue A, Meng FJ, Jorgensen N, Ziebe S, Nyboe Andersen A. Sperm morphology using strict criteria after Percoll density separation. *Hum Reprod* 1995;10(7):1781–1785.
- Yurekli AI, Ozkan M, Kalkan T, Saybasili H, Tuncel H, Atukeren P, Gumustas K, Seker S. GSM base station electromagnetic radiation and oxidative stress in rats. *Electromagn Biol Med* 2006;25(3):177-188.
- Zand RS, Jenkins DJ, Diamandis EP. Steroid hormone activity of flavonoids and related compounds. *Breast Cancer Res Treat* 2000;62(1):35–49.
- Zaoui A, Cherrah Y, Lacaille-Dubois MA, Settaf A, Amarouch H, Hassar M. Diuretic and hypotensive effects of *Nigella sativa* in the spontaneously hypertensive rat. *Therapie* 2000;55(3):379–382.
- Zarei S, Mortazavi SM, Mehdizadeh AR, Jalalipour M, Borzou S, Taeb S, Haghani M, Mortazavi SA, Shojaei-Fard MB, Nematollahi S, Alighanbari N, Jarideh S. A Challenging Issue in the Etiology of Speech Problems: The Effect of Maternal Exposure to Electromagnetic Fields on Speech Problems in the Offspring. *J Biomed Phys Eng* 2015;5(3):151-154.
- Zarzuelo A, Jiménez I, Gámez MJ, Utrilla P, Fernandez I, Torres MI, Osuna I. Effects of luteolin 5-O-beta-rutinoside in streptozotocin-induced diabetic rats *Life Sci* 1996;58 (25):2311–2316.

- Zhang G, Yan H, Chen Q, Liu K, Ling X, Sun L, Zhou N, Wang Z, Zou P, Wang X, Tan L, Cui Z, Zhou Z, Liu J, Ao L, Cao J. Effects of cell phone use on semen parameters: Results from the MARHCS cohort study in Chongqing, China. *Environ Int* 2016;91:116-121.
- Zhang X, Liu X, Pan L, Lee I. Magnetic fields at extremely low-frequency (50 Hz, 0.8 mT) can induce the uptake of intracellular calcium levels in osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;396(3):662-666.
- Zhang YC, Gan FF, Shelar SB, Ng KY, Chew EH. Antioxidant and Nrf2 inducing activities of luteolin, a flavonoid constituent in *Ixeris sonchifolia* Hance, provide neuroprotective effects against ischemia-induced cellular injury. *Food Chem Toxicol* 2013;59:272–280.
- Zhang Q, Yang J, Wang J. Modulatory effect of luteolin on redox homeostasis and inflammatory cytokines in a mouse model of liver cancer. *Oncol Lett* 2016;12(6):4767–4772.
- Zhao T Y, Zou S P, Knapp P E. Exposure to cell phone radiation up-regulates apoptosis genes in primary cultures of neurons and astrocytes. *Neurosci Lett* 2007;412(1):34–38.
- Zhou JX, Ding GR, Zhang J, Zhou YC, Zhang YJ, Guo GZ. Detrimental effect of electromagnetic pulse exposure on permeability of in vitro blood-brain-barrier model. *Biomed Environ Sci* 2013;26 (2):128–137.
- Zeni O, Di Pietro R, d'Ambrosio G, Massa R, Capri M, Naarala J, Juutilainen J, Scarfi MR. Formation of reactive oxygen species in L929 cells after exposure to 900 MHz RF radiation with and without co-exposure to 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone. *Radiat Res* 2007;167(3):306–311.

EKLER

Hayvan Etik Onay Belgesi



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
SAMSUN

Sayı : B.30.2.ODM.0.20.09.00-050.04 –110
Konu : Araştırma Projeniz hk.

30/12/2013

Doç. Dr. B. ZUHAL ALTUNKAYNAK
OMÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

2013/66 numaralı “Elektromanyetik Alanın Sıçan Testislerindeki Etkilerine Karşı Timokinon ve Luteolin’in Koruyuculuğunun Stereolojik ve Histokimyasal Yöntemlerle Araştırılması.” konu başlıklı Projeniz; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’nun 27.12.2013 tarihli toplantısında görüşülmüş, Hayvan Hakları ve Deney Etiği açılarından uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Araştırmanın yürütüldüğü süreç içinde etik kurallar ve hayvan haklarına uygunluk yönünden sorumluluk araştırmacılara ait olmak kaydıyla ve 6 aylık dönemler halinde Çalışma Raporu verilmesi şartıyla çalışmanıza başlamanız uygun görülmüştür.

Doç. Dr. Ahmet GÜZEL
HADYEK Başkan V.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Ahmad YAHYAZADEH

Doğum Yeri: İran-Macoo

Doğum Tarihi: 23.08.1978

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller: Farsça, Türkçe, İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Lisans: Urmia Üniversitesi Veteriner Fakültesi Urmia Iran 1996-2002.

Doktora : Ondokuz mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı 2012-2017

E-Posta: yahyazadeh.ahmad@yahoo.com

