

Radyofrekansın Hipertansif ve Normal Sıçanlarda Duktus Epididimis Üzerine Etkileri

The Effects of Radio Frequency on Ductus Epididymis in Hypertensive and Normal Rats

Gökçe Nur Arık¹, Dilek Kuzay², Cemile Merve Seymen¹, Çiğdem Özer³, Tayfun Göktaş⁴, Bahriye Sirav Aral⁵
Fatih Şentürk⁵, Gülnur Take Kaplanoğlu¹

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Ahi Evran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Kırşehir, Türkiye

³Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

⁴Lokman Hekim Üniversitesi, Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

⁵Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

ÖZET

Amaç: Çalışmamızda 2100 MHz radyofrekans (RF)'in hipertansif ve normotensif sıçanlarda ki androjen reseptör dağılımına etkilerinin histokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemlerle belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: 24 Wistar albino cinsi erkek sıçan 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna 1 ml/gün/1 ay çeşme suyu gavaj ile verildi. Deneysel hipertansiyon grubuna 60 mg/kg L-NAME (çeşme suyunda çözünmüş) gavaj ile 1 ay süresince uygulandı. RF grubu 2 ay süresince 60 dk/5 Gün/2100 MHz radyofrekans uygulandı. Deneysel hipertansiyon modeli oluşturulan ve radyofrekans uygulanan gruba ise 1 ay süre ile 60 mg/kg L-NAME gavaj ile verildi ve 2 ay süresince 60 dk/5 Gün/2100 MHz radyofrekans dalgaboyuna maruz bırakıldı. Deney bitiminde deneklerin duktus epididimis dokularına Masson's Trikrom ve Androjen Reseptör (AR) boyamaları uygulandı.

Bulgular: Histokimyasal boyamalarda, hipertansiyon grubunda tübül epitel hücrelerinde stereosilyalarda silinme ve spermium miktarında azalma görülürken, radyasyon grubunda stereosilya yapılarının pinopod şeklinde düzenlenim gösterdiği tespit edildi. Her iki uygulamanın birlikte yapıldığı grupta ise tübül epitel hücrelerinde yoğun dejenerasyon ve baş/kuyruk anomalisi gösteren spermiumlar izlendi. AR immünohistokimyasal boyamalarında hipertansif sıçanlarda tutulumun yoğun olduğu, buna karşılık her iki uygulamanın birlikte yapıldığı grupta tutulumun zayıfladığı görüldü.

Sonuç: Hipertansiyon ve 2100 MHz RF maruziyetinin sıçan duktus epididimisinde belirgin hasara neden olduğu ve AR dağılımını olumsuz etkilediği belirlendi

Anahtar Sözcükler: Radyofrekans, Hipertansiyon, Epididimis Androjen Reseptör

Geliş Tarihi: 25.01.2018

Kabul Tarihi: 20.03.2018

ABSTRACT

Aim: To determine the effects of 2100 MHz radiofrequency (RF) on distribution of androgen receptor (AR) in hypertensive and normotensive rats by histochemical and immunohistochemical ways.

Methods: 24 Wistar albino male rats were divided into 4 groups. 1 ml/day tap water tap water was given to the control group by gavage. 1 mg of L-NAME (dissolved in tap water) was given to experimental hypertension group (1 month/gavage). RF group was exposed to 60 minutes/5 days/2100 MHz RF for 2 months. Hypertension+RF applied group was administered with a dose of 60 mg/kg L-NAME for 1 month by gavage and was exposed to 60 minutes/5 days/2100 MHz RF for 2 months. Masson's Trichrom and AR stainings were performed to ductus epididymis.

Results: Stereociliums were pinopodically arranged in RF group by histochemical staining, while tubular epithelial cells opening in connection units, deletion in stereocilium and reduction in the amount of spermium were found in hypertensive group. Intense tubular epithelial cells degeneration and spermiums with head/tail anomalies were observed in last group. Strong AR immunoreactivity was seen in hypertensive group while the intensity decreased in last group.

Conclusion : Both hypertension and 2100 mHz RF cause damage in ductus epididymis and adversely effect AR distribution.

Key Words: Radiofrequency , Hypertension, Epididymis, Androgen Receptor

Received: 01.25.2018

Accepted: 03.20.2018

Proje, Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından TIP.A3.16.008 proje koduyla desteklenmiştir.

ORCID ID. G.N.A.0000-0003-0129-8358, D.K.0000-0002-1460-9883, C.M.S.0000-0002-8945-3801, Ç.Ö. 0000-0002-2705-4522, T.G.0000-0002-6727-3084, B.S.A.0000-0001-6003-6556, F.Ş.0000-0002-2436-3362, G.T.K.0000-0002-3661-3488

Yazışma Adresi /Address for Correspondence: Prof.Dr. Gülnur Take Kaplanoğlu, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı 06500 Beşevler, Ankara, Türkiye E-posta: gulnurtake@gmail.com

©Telif Hakkı 2020 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi - Makale metnine <http://medicaljournal.gazi.edu.tr/> web adresinden ulaşılabilir.

©Copyright 2020 by Gazi University Medical Faculty - Available on-line at web site <http://medicaljournal.gazi.edu.tr/>

doi:<http://dx.doi.org/10.12996/gmj.2020.85>

GİRİŞ

1960'lardan itibaren günlük hayatta özellikle evimizde etkisinde kaldığımız elektromanyetik alanlar çok sayıda çalışmaya konu olmuştur ve söz konusu elektromanyetik alan etkileri halen tartışma konusudur. Cep telefonları, kablosuz telefonlar, yayın kuleleri, vericiler gibi kaynağı elektrik olan teknolojiler radyo dalgaları (RF) olarak da adlandırılan düşük frekanslı elektromanyetik dalgalar üretmektedir (1). 3 kHz ile 300 GHz aralığındaki RF olarak adlandırılan dalga boyu non-iyonize radyasyon grubunda olup, bu dalga boyu elektronları iyonlaştırmak için gerekli enerjiye sahip değildir. Ancak hücrel ısıyı artırmasıyla dejeneratif değişikliklere neden olmaktadır (2). Radyofrekansın (RF) bu etkisi maruz kalınan dalga boyu, maruz kalınma süresi ve sıklığıyla bağlantılıdır. Bu değişkenler, hücrede ısı ve stres aracılı yollar üzerinden etki göstermektedir (3). Sonuç olarak hücrelerde serbest radikallerde artışa, oksidatif strese, Ca²⁺ kanallarında hasarlanmaya, hücrel büyümede inhibisyona, hücrel homeoastazide değişikliklere, DNA kırıklarına ve proteinlerin yanlış katlanması gibi dejenerasyonlara neden olmaktadır (1, 4, 5). Radyofrekans (RF)'in ayrıca apoptozis ve endokrin fonksiyonlar aracılığı ile üreme sisteminde de olumsuz etkiler oluşturduğu gösterilmiştir (3, 6-11). Germ hücre ölümü, östrus döngüsünde bozulma, üreme hormon düzeylerinde artış, üreme organlarında hacim değişimleri, ayrıca sperm motilitesi, seminifer tübül çapı ve total serum testosteron düzeylerinde azalma radyofrekans (RF)' in üreme sistemleri üzerindeki olumsuz etkileri olarak bildirilmektedir (1, 12).

Hipertansiyon (HT); yetişkinlerde (>18) yapılan standart ölçümlerde sistolik kan basıncının ≥ 140 mmHg ve diyastolik kan basıncının ≥ 90 mmHg ölçülmesi olarak tanımlanmaktadır (13). İnme, kalp krizi, böbrek hastalıkları gibi morbidite ve mortaliteye temel oluşturmasıyla dünya genelinde önemli bir hastalık olarak tanımlanır (14). Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde, yetişkinlerin yaklaşık üçte biri hipertansiyon hastasıdır. Hastaların çoğunda, hipertansiyona lipid anomalileri, glukoz intoleransı veya diyabet gibi birçok hastalık eşlik etmektedir (15). Yapılan epidemiyolojik, klinik ve deneysel çalışmalar androjenlerin de kan basıncının düzenlenmesinde etkin olabileceğini savunmaktadır (16). 60 yaş civarındaki erkeklerde kan basıncı aynı yaş grubundaki kadınlardan yaklaşık 6-7 mmHg daha yüksektir (17). Ancak menopoz sonrası kadınlarda baskın hale gelen androjen ile birlikte kan basıncında yükselmeler gözlenmektedir (18, 19). Yapılan klinik çalışmalar, androjenlerin kardiyovasküler sistem ve renin anjiyotensin sistemini etkilediği ortaya koymaktadır (20). Buradan yola çıkarak kardiyovasküler sistem ve kan basıncı arasındaki mekanizmaya östrojen ve testosteron hormonları ve renin-anjiyotensin sistemi (RAS) arasındaki yolakta dahil edilmektedir (21).

Anjiyotensin-II, RAS'ın efekör molekülüdür ve kan basıncını anjiyotensin tip-I reseptör (AT1R) ve anjiyotensin tip-II reseptör (AT2R) etkileşimiyle gerçekleştirmektedir (22, 23). Çalışmalar AT2R'ün dişilerde kan basıncının azaltılmasında anahtar role sahip olduğunu göstermektedir (24). Östrojen ve testosteron steroid hormonlarından özellikle östrojen, kan basıncının düşmesinde önemli bir etkiye sahiptir (11). Ancak androjen - AT2R mekanizması tam olarak aydınlatılmış değildir (20). Araştırmacılar androjenlerle ilgili bu yolağı aydınlatmak adına yaptıkları çalışmada, testosteronun vazokonstriktif AT1R ve ACE ekspresyonunu arttırdığını ve artan androjen sentezinin AT2R ekspresyonunu azalttığını, androjenlerin AT2R ekspresyonu üzerinde negatif etki göstermesiyle kan basıncının düzenlenmesine hem dişilerde hem de erkeklerde negatif etki ettiğini göstermişlerdir (20). Vasküler AT2R ekspresyonunun erkeklerde kadınlardan daha az olması, testosteronun AT2R reseptör ekspresyonunu downregüle etmesiyle ilişkilendirilmiş ve testosteronun bu aktivitesinin androjen reseptör (AR) aracılı ERK1/2 MAP kinaz sinyal yolağıyla gerçekleştiği ifade edilmiştir (20). Buradan yola çıkılarak androjenler ve hipertansiyon arasındaki diğer bir mekanizmanın da AR aracılı olduğu söylenebilir (25).

AR, steroid ve nükleer reseptör süperale grubuna aittir (26). AR-aracılı gen ekspresyonu erkeklerde seksüel farklılaşma ve pubertel değişimlerden sorumludur (27). AR, androjenlerin hedefli olan prostat, iskelet kası, karaciğer, adrenal bez, prostat, böbrek, merkezi sinir sistemi ve epididimis gibi dokularda sentezlenmektedir ve 5 α -dihidrotestosteron ile testosteron gibi endojen androjenlerin bağlanmasıyla aktive olmaktadır (28). Androjenlerin böbrek proksimal tübülünde sodyum emilimine direkt etki ettiği bildirilmiştir (29).

Ancak androjenler ve hipertansiyon arasındaki olası mekanizma tam olarak açıklanamamış olsa da, androjenlerin AR'e bağlanarak anjiyotensinojen konsantrasyonunu veya renin salınımını arttırdığı bunun sonucunda da proksimal tübüldeki Na⁺ geri emilimi artırarak, makula densadan Na⁺ salınımı azalttığı belirtilmektedir. Bu durum anjiyotensin-II aracılığıyla efferent direncin artmasına ve afferent arteriolar basıncın azalmasına neden olmakta ve sonuç olarak glomerüler kapiller basınç artarak glomerüler hasarla ilişkili olan sistemik kan basıncında artışa neden olmaktadır. Arteriyal basıncın artmasıyla oluşan renal mikrovasküler değişimler glomerüler hipertansiyon veya glomerüler hasara neden olmaktadır (25).

Yapılan çalışmalarda, hipertansif dişi ve erkek bireylerde testosteron seviyelerinin, normotensif bireylere nazaran daha yüksek olduğu gözlenmiştir (30).

Kaynak verilerinden yola çıkılarak bu çalışmada, deneysel hipertansiyon modeli oluşturulmuş sıçanlarda androjen reseptör dağılımının ve yüksek düzey elektromanyetik alanın etkisinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi amaçlandı. Bu sayede hipertansiyon-androjen- elektromanyetik alan üçgeninin aydınlatılması ve literatüre katkı sağlanması hedeflendi.

YÖNTEMLER*Deneysel Hayvanları ve Gruplandırma*

Çalışmada Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden (GÜDAM) temin edilen ağırlıkları 250 \pm 20 gr arasında değişen 24 adet erkek, erkek Wistar Albino sıçan kullanıldı. Sıçanların her biri ayrı kafeslerde 12 saat aydınlık-karanlık siklusunda, 24 \pm 2 °C'lik ortamda, standart sıçan yemi ve musluk suyu ile serbest olarak beslendi. Deneye başlamadan önce bütün hayvanların sistolik kan basıncı, diyastolik kan basıncı, ortalama arteriyel basınç ve kalp hızı değerleri ölçüldü. Sıçanlar rastgele seçilmek koşuluyla, 1 ay süreyle 1ml/gün gavaj yoluyla çesme suyu verilen kontrol grubu (n:8), 1 ay süreyle 1 ml çesme suyunda çözünmüş 60 mg/kg (L-NAME) L-N^G-Nitroarginine methyl esterin gavajla verildiği hipertansiyon indüklenen grup (n:8), 60 dk/5gün/8 hafta süresince RF uygulanan grup ve 1 ay süreyle çesme suyunda çözünmüş 60 mg/kg L-NAME'e ve 60 dk/5gün/8 hafta süresince RF'a maruz bırakılan grup olmak üzere 4 deney grubuna ayrıldı. Hipertansiyon indüksiyonu

Hayvanlara 1 ay süre ile 1 ml çesme suyunda çözünmüş 60 mg/kg L-NAME gavaj ile verildi (31). 1 ayın sonunda sistolik kan basıncı 140 mmHg, diyastolik kan basıncı 90 mmHg'nin üstünde olanlar hipertansif kabul edildi.

Radyofrekans Uygulaması

60 dakika/5 gün/8 hafta boyunca uygulama gerçekleştirilmiş olup, uygulama 3'lü gruplara ayrılan sıçanların, SAR değerleri hesaplanarak tasarlanmış pleksiglas kutularda antenin altına konulması ile yapıldı. Deneysel hayvanlarına özgü GSM modülasyonu RF alan uygulamaları Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalında mevcut bulunan (Rohde & Schwartz, SMBV100A, 9 kHz- 3.2 GHz) sinyal jeneratörü, sinyal jeneratörü ile üretilen RF sinyaller ise (ETS-Lindgren) Horn Anten aracılığıyla ortama yayıldı. Bu çalışma GÜDAM'da bulunan araştırma odalarında gerçekleştirildi.

Işık Mikroskopik Yöntem

Gruplara ait tüm doku örnekleri ışık mikroskopik inceleme için ilk olarak % 10' luk nötral formalinde tespit edilerek rutin takip işlemlerinin ardından parafin bloklar elde edildi. Parafin bloklardan 4-5 mikron kalınlığında kesitler alındı (32). Histopatolojik inceleme için kesitler Masson's Trikrom ile boyandı. Sonrasında Leica DCM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde histopatolojik değişimleri incelenen ve sisteme bağlı Leica Q Vin 3 programında fotoğrafları çekildi.

İmmünohistokimyasal Yöntem

İmmünohistokimyasal analizler için polilizinli lamlara alınan kesitler 37 °C'deki etüvde bir gece, 57 °C'ye 1 saat daha bekletildi. Deparafinizasyonu tamamlamak için ksilol ve dereceli alkol serilerinden kesitler, 2 kez 5'er dakika distile suda yıkandı (33). Doku içerisinde formaldehitin kapattığı reseptör bölgelerinin açığa çıkarılmasını sağlamak amacıyla mikrodalga fırında 1 mM sitrat tamponuna (pH: 6. 0) etkin bırakıldı. 20 dk oda ısısında soğutulduktan sonra kesitler distile su ile yıkandı ve % 3'lük hidrojen peroksitte inkübe edildi. Daha sonra, camlar PBS (Phosphate Buffer Saline) (pH: 7.4) ile yıkandıktan sonra özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi amacıyla Ultra V Block uygulandı.

Ardından kesitler yıkanmadan anti-AR 1/100 dilüsyonda (Santa Cruz H-280, sc-13062, Lot#E2512) primer antikoruna 1 gece etkin bırakıldı. Süre sonunda kesitler PBS ile yıkandıktan sonra biyotinli sekonder antikor ile inkübe edildi. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kesitler streptavidin peroksidaz enzim kompleksine etkin bırakıldı. Son olarak DAB kromojeni uygulanarak gözle görülebilen immün reaksiyonun açığa çıkması sağlandı. Zemin boyamada Harris Hematoksilini kullanılarak, dokular entellan ile kapatıldı.

BULGULAR

Masson's Trikrom Boyama Bulguları

Kontrol grubunda duktus epididimis epitel, yalancı çok katlı prizmatik stereosilyalı yapısı ile normal olarak izlendi. Tübül çevresinde düz kas hücreleri ve stromaya ait bağ dokusu belirgindi. Lümeninde, spermium yığımları gözlemlendi (Resim 1A).

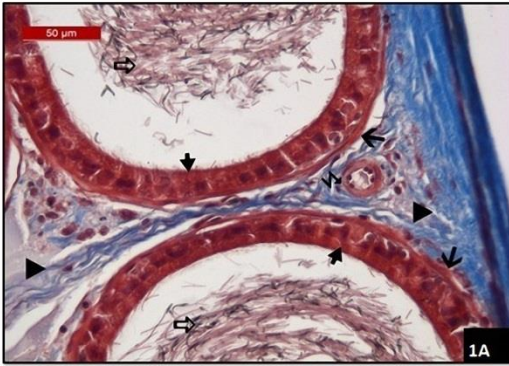
Deneysel hipertansiyon grubunda duktus epididimise ait tübüllerin bir grubunda epitelde dejeneratif değişimler izlenirken, bir grup tübül ise normal yapıları ile izlendi. Dejeneratif değişim gösteren tübüllerde, yer yer hücre yan yüz bağlantı birimlerinde açılmalar ve hücrel ayrılmalar belirgindi. Özellikle dejenerasyon izlenen tübüllerde, stereosilyalarda silinme dikkati çekti. Bu tübüllerde, lümeninde spermium yığılımının son derece az olduğu gözlenirken bu durumun, stereosilya silinmesine bağlı olarak ortaya çıktığı düşünüldü. Çevre bağ doku incelendiğinde, tübül çevresinde düz kas hücrelerinin normal

organizasyonda olduğu gözlenirken, ara bağ dokuda fibrozisi destekleyen kollajen lif artışı ilgiyi çekti (Resim 1B).

Radyofrekans grubuna ait tübül epitel hücrelerinde doku genelinde yan yüz bağlantı birimlerinde açılmaların belirgin olduğu izlendi. Stereosilyaların pinopodlar şeklinde küt-kalın yapı haline dönüştükleri dikkati çekti. Tübül lümenlerinin spermium yığımları içerdiği belirgindi. Tübülü çevreleyen düz kas hücreleri normal yapıları ile izlenirken, çevre bağ dokuda kontrol grubuna karşın, artmış ancak deneysel hipertansiyon modeli oluşturulan gruba karşın daha zayıf kollajen lif dağılımı dikkati çekti (Resim 1C).

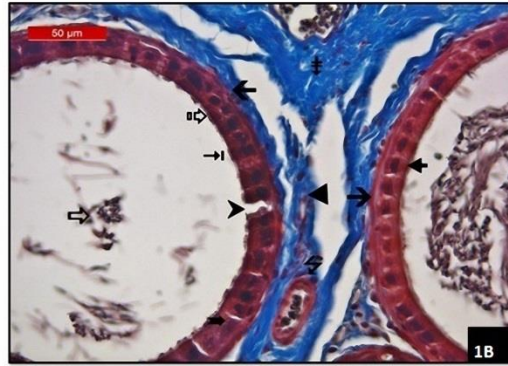
Deneysel hipertansiyon modeli oluşturulan ve radyofrekans uygulanan gruba ait duktus epididimis tübül yapılarının birbirinden farklılık gösterdiği ilgiyi çekti. Bir grup tübülde deneysel hipertansiyon modeli oluşturulan grupta gözlenen stereosilyalarda silinme ve hücre yan yüz bağlantı birimlerinde açılmalar dikkati çekerken, bir grup tübülde çok daha yoğun dejeneratif değişimler ilgiyi çekti. Bu tip tübüllerde tübül epitel hücrelerinin hipertrofiye uğradığı, yan yüz bağlantı birimlerinde derin aralıklar olduğu, bir bölümünde bazal membrandan ayrılmaların gerçekleştiği ve bir grup tübül hücrelerinin nekroze olup, tübül bütünlüğünün bozulduğu belirlendi. Bu tip tübüllerde, tübülü saran düz kas hücre katmanının göreceli olarak kalın olduğu ve çevre bağ dokusunda diğer gruplardan ayrıcalık olarak yoğun fibrozisin varlığı dikkati çekti. Bu tip dejeneratif tübüllerde, baş/kuyruk anomali gösteren ve sayıca azalmış spermiumlar dikkati çekti. Damarlar normal yapıda izlendi (Resim 1D).

SHAM KONTROL



1A

HIPERTANSİYON



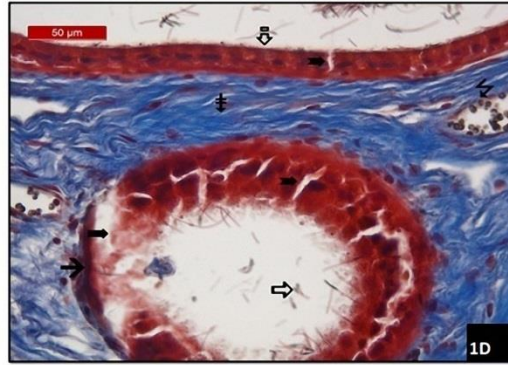
1B

RADYASYON



1C

HIPERTANSİYON+RADYASYON



1D

Resim 1A: Kontrol grubuna ait duktus epididimis kesitinde; yalancı çok katlı prizmatik stereosilyalı epitel (➔), düz kas hücresi (➔), stromaya ait bağ doku (➤), kan damarı (↯) ve spermium (⇌) izleniyor (Masson's Trikrom x400). **Resim 1B:** Deneysel hipertansiyon modeli oluşturulan gruba ait duktus epididimis kesitinde; yalancı çok katlı prizmatik stereosilyalı epitel (➔), düz kas hücresi (➔), stromaya ait bağ doku (➤), kan damarı (↯), spermium (⇌), epitelde dejeneratif değişimler (➔), hücrel ayrılmalar (➤), hücre yan yüz bağlantı birimlerinde açılma (➔), stereosilyalarda silinme (⊕) ve kollajen lifler (‡) izleniyor (Masson's Trikrom x400). **Resim 1C:** Radyofrekans uygulanan gruba ait duktus epididimis kesitinde; düz kas hücresi (➔), stromaya ait bağ doku (➤), kan damarı (↯), spermium (⇌), hücre yan yüz bağlantı birimlerinde açılma (➔), kollajen lifler (‡) ve pinopodlar şeklindeki küt-kalın stereosilya (➔) izleniyor (Masson's Trikrom x400). **Resim 1D:** Deneysel hipertansiyon modeli oluşturulan ve radyofrekans uygulanan gruba ait duktus epididimis kesitinde; düz kas hücresi (➔), kan damarı (↯), spermium (⇌), hücre yan yüz bağlantı birimlerinde açılma (➔), kollajen lifler (‡), stereosilyalarda silinme (⊕) ve yoğun dejenerasyon göstererek bazal membrandan ayrılan tübül epitel hücreleri (➔) izleniyor (Masson's Trikrom x400).

AR İmmünohistokimya Boyama Bulguları

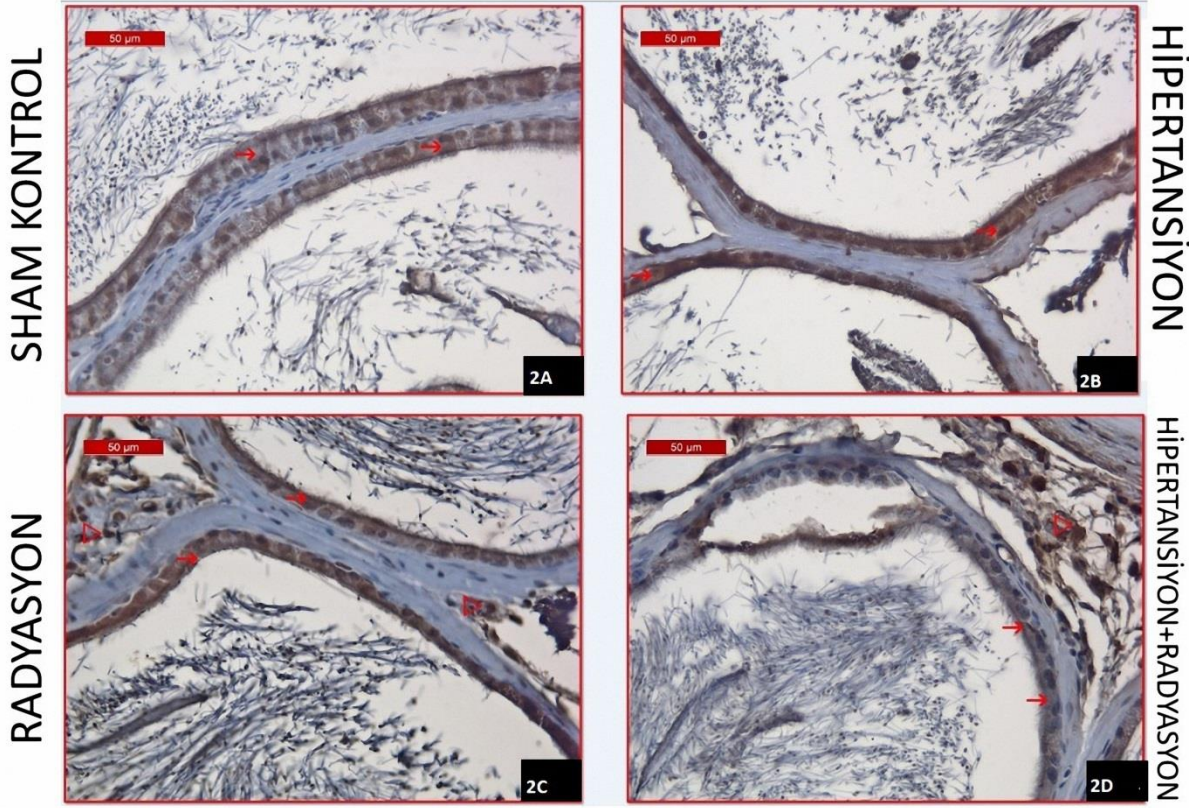
Kontrol grubunda duktus epididimiste epitel hücrelerinin genelinde androjen reseptör (AR) tutulumu izlendi (Resim 2A).

Deneysel hipertansiyon grubunda AR tutulumunun, doku genelinde kontrol grubuna karşın arttığı dikkati çekti (Resim 2B).

Radyofrekans grubunda tübül epitel hücrelerinde yoğun AR tutulumu izlenirken, stromal hücrelerde de AR tutulumunun varlığı belirgindi (Resim 2C).

Deneyel hipertansiyon modeli indüklenen ve radyofrekans uygulanan grupta özellikle dejenere tübüllere ait epitel hücrelerinde AR tutulumunun diğer

gruplara nazaran azaldığı izlenirken; radyofrekans grubuna benzer şekilde, stromal hücrelerde immünreaktivite varlığı tespit edildi (Resim 2D).



Resim 2A: Kontrol grubuna ait duktus epididimis kesitinde, AR tutulumu gösteren epitel hücreleri (→) izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen x400). **Resim 2B:** Deneyel hipertansiyon modeli oluşturulan gruba ait duktus epididimis kesitinde, AR tutulumu gösteren epitel hücreleri (→) izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen x400). **Resim 2C:** Radyofrekans uygulanan gruba ait duktus epididimis kesitinde, AR tutulumu gösteren epitel hücreleri (→) ve AR tutulumu gösteren stromal hücreler (▷) izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen x400). **Resim 2D:** Deneyel hipertansiyon modeli oluşturulan ve radyofrekans uygulanan gruba ait duktus epididimis kesitinde, AR tutulumu gösteren epitel hücreleri (→) ve AR tutulumu gösteren stromal hücreler (▷) izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen x400).

Bu bulgular ışığında, deneyel hipertansiyon modeli ile birlikte radyofrekans uygulamasının duktus epididimiste AR tutulumunu azalttığı sonucuna varıldı.

TARTIŞMA

Gün geçtikçe artan oranlarda maruz kaldığımız elektromanyetik alan ile ilgili olarak literatürdeki bilgi birikimi zaman içerisinde artmış olsa da, elektromanyetik alanın hücresel etkisi ve bununla ilişkili hastalıkların mekanizması tam olarak aydınlatılmış değildir. Mekanizması tam olarak aydınlatılmamış bu hastalıklar arasında kanser, nörodejeneratif davranış bozuklukları, baş ağrısı, uyku bozuklukları, depresyon, dikkat problemleri, hipertansiyon ve erkek infertilitesi sayılabilmektedir (34, 35).

Yapılan literatür incelemelerinde hipertansif sıçanlarda serum testosteron seviyelerinin incelendiği çok sayıda makaleye rastlanmıştır (32, 31, 37). Huisman ve ark. Güney Afrika popülasyonunda yaptıkları çalışmada testosteronun kardiyovasküler risk ve kan basıncına etkilerini dişi ve erkeklerde araştırmışlardır.

Sonuç olarak erkeklerin %25'i kadınların %16'ında hipertansiyon tespit edilmiş ve erkeklerde testosteronun kadınlara nazaran daha yüksek olduğu belirleyip (%18.5), hem kadın hem de erkeklerde hipertansiyon gruplarında testosteronun normotensif gruplara nazaran daha yüksek olduğunu gözlemişlerdir (30).

Reckelhoff ve ark. kardiyovasküler hastalıklar ve bağlantılı olarak hipertansiyon ile renal yetmezlikte, erkeklerin kadınlara oranla daha büyük risk içerdiğini ve bu mekanizmada androjen reseptörün temel rollerden birini üstlendiğini ifade etmişlerdir (25).

Bu örnekler ışığında serum testosteron seviyeleri ve hipertansiyon ilişkisi ile ilgili tüm literatür taramalarında henüz konunun tam olarak aydınlatılmadığı ve konu ile ilgili histolojik bir çalışmanın bulunmadığı belirlendi. Literatürdeki bu açığı göz önüne alarak bu çalışmada spermiyum maturasyonunda önemli role sahip olan duktus epididimis dokusunda testosteronun düzeyini yansıtan androjen reseptörünün dağılımı immünohistokimyasal yöntemlerle incelendi. Çalışmanın sonucunda, normotensif sıçanlarla karşılaştırıldığında hipertansif grupta duktus epididimiste AR tutulumunun arttığı belirlendi.

Bu bulgu Huisman ve ark (30) bulgularını destekler düzeyde doku testosteron düzeyinin artmasının bir sonucu olarak değerlendirildi.

Yapılan incelemelerde elektromanyetik alanın testiküler fonksiyon ve testosteron salınımından sorumlu Leydig hücrelerine etkisinin araştırıldığı makalelere rastlanmış olup, duktus epididimisi inceleyen histolojik bir çalışma bulunamamıştır (43). Nisbet ve ark.'nın iki günlük, erkek Wistar sıçanlar ile yaptıkları çalışmada deney grupları 90 gün boyunca, günde 2 saat 1.8/0.9 GHz dalga boyuna maruz bırakılmış ve bu dalga boyunun testiküler fonksiyon ve yapısı üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışma sonucunda, toplam serum testosteron seviyelerinin, 900 GHz ve 1800MHz dalga boyunda elektromanyetik alana maruz kalan gruplarda, kontrol grubuna nazaran daha yüksek olduğunu ve bu dalga boylarının seminifer tübül epitel hücrelerinde dejenerasyona ve nekroze neden olduğu gözlemlenmiştir.

Shahin ve ark. erkek sıçanlarda 2.45 GHz dalga boyunun erkek üreme sisteminde oksidatif ve nitrosative stres ile hücre hasarını incelemeyi amaçlamışlar ve çalışmalarında bu dalga boyunun seminifer tübül çapında azalmaya ve non-uniform değişimlere, Leydig hücrelerinde bozulmalara, yan yüz bağlantı birimlerinde açılmalara ve seminifer epitelde dejeneratif değişimlerin yanısıra oksidatif ve nitrosative stresin serum testosteron miktarında düşüşe ve bununla bağlantılı olarak oksidatif strese artışa neden olduğunu göstermişlerdir (36).

Bulgularımıza göre, 2100 mHz elektromanyetik alan uygulamasının duktus epididimiste testosteron seviyesindeki artışa paralel eksprese edilen AR tutulumunda artışa neden olduğu belirlenmiştir.

SONUÇ

Serum testosteron seviyeleri ve hipertansiyon ilişkisi ile ilgili yapılan literatür taramalarında konu ile ilgili histolojik bir çalışmanın bulunmadığının belirlenmesi üzerine, literatürdeki bu açığı gidermeye yönelik olarak spermium maturasyonunda önemli role sahip olan duktus epididimis dokusunda hipertansiyon ve elektromanyetik alan ilişkisini histokimyasal olarak, testosteron düzeyini yansıtan androjen reseptör dağılımının da immünohistokimyasal olarak incelendiği bu çalışma sonucunda, hipertansif sıçanlarda androjen reseptör seviyesinde artış belirlenmiştir. 2100 mHz dalga boyuna maruz kalan hipertansif sıçanlarda ise duktus epididimis tübül epitel hücrelerinde dejenerasyon ve androjen reseptör tutulumunda azalma tespit edilmiştir.

Tüm bu bulgular literatür verilerine göre değerlendirildiğinde, hipertansiyon ve elektromanyetik alan maruziyetinin duktus epididimis dokusunda oksidatif stresi arttırdığı ve buna bağlı dejeneratif değişikliklerin olaylandığı görülmüştür. Bu bulgu, artan oksidatif stresin Leydig hücrelerinde hasara neden olarak testosteron salınımını azalttığı, sonuç olarak da duktus epididimis dokusunda androjen reseptör immünreaktivitesinin düşmesine yol açtığı şeklinde yorumlanmıştır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

KAYNAKLAR

- Gye MC, Park CJ. Effect of Electromagnetic Field Exposure on The Reproductive System. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine* 2012;39:1-9.
- Lee JS, Ahn SS, Jung KC, Kim Y-W, Lee SK. Effects Of 60 Hz Electromagnetic Field Exposure On Testicular Germ Cell Apoptosis In Mice. *Asian Journal of Andrology* 2004;6:29-34.
- 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. *Toxicology And Industrial Health* 2011;27:455-63.
- Lindström E, Mild KH, Lundgren E. Analysis Of The T Cell Activation Signaling Pathway During ELF Magnetic Field Exposure, P56 Lck And [Ca²⁺] I-Measurements. *Bioelectrochemistry And Bioenergetics* 1998;46:129-37.
- 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. *Toxicology And Industrial Health* 2007;23:411-20.
- Harrington J, McBride D, Sorahan T, Paddle G, Van Tongeren M. Occupational Exposure To Magnetic Fields In Relation To Mortality From Brain Cancer Among Electricity Generation And Transmission Workers. *Occupational and Environmental Medicine* 1997;54:7-13.
- London SJ, Thomas DC, Bowman JD, Sobel E, Cheng T-C, Peters JM. Exposure To Residential Electric And Magnetic Fields And Risk Of Childhood Leukemia. *American Journal Of Epidemiology* 1991;134:923-37.
- Reichmanis M, Perry FS, Marino AA, Becker RO. Relation Between Suicide And The Electromagnetic Field Of Overhead Power Lines. *Physiological Chemistry And Physics* 1979;11:395-403.
- Sobel E, Dunn M, Davanipour Z. Elevated Risk Of Alzheimer's Disease Among Workers With Likely Electromagnetic Field Exposure. *Occupational Health And Industrial Medicine* 1997;3:121.
- Verkasalo PK, Kaprio J, Varjonen J, Romanov K, Heikkilä K, Koskenvuo M. Magnetic Fields Of Transmission Lines And Depression. *American Journal Of Epidemiology* 1997;146:1037-45.
- Silva-Antonioli MM, Tostes RC, Fernandes L, Fior-Chadi DR, Akamine EH, Carvalho MHC, et al. A Lower Ratio Of AT1/AT2 Receptors Of Angiotensin II Is Found In Female Than In Male Spontaneously Hypertensive Rats. *Cardiovascular Research* 2004;62:587-93.
- Ozguner M, Koyu A, Cesur G, Ural M, Ozguner F, Gokcimen A, et al. Biological And Morphological Effects On The Reproductive Organ Of Rats After Exposure To Electromagnetic Field. *Saudi Medical Journal* 2005;26:405-10.
- Arcı M, Birdane A, Güler K, Yıldız B, Altun B, Ertürk Ş. Tük Hipertansiyon Uzlaşı Raporu. *Türk Kardiyoloji Derneği Araştırmaları* 2015;43:402-9.

- Nosalski R, McGinnigle E, Siedlinski M, Guzik TJ. Novel Immune Mechanisms In Hypertension And Cardiovascular Risk. *Current Cardiovascular Risk Reports* 2017;11:12.
- Weber MA, Schiffrin EL, White WB, Mann S, Lindholm LH, Kenerson JG, et al. Clinical Practice Guidelines For The Management Of Hypertension In The Community. *The Journal Of Clinical Hypertension* 2014;16:14-26.
- Kienitz T, Quinkler M. Testosterone And Blood Pressure Regulation. *Kidney And Blood Pressure Research* 2008;31:71-9.
- Stamler J, Stamler R, Riedlinger WF, Algera G, Roberts RH. Hypertension Screening Of 1 Million Americans: Community Hypertension Evaluation Clinic (CHEC) Program, 1973 Through 1975. *Jama* 1976;235:2299-306.
- Reckelhoff JF. Gender Differences In The Regulation Of Blood Pressure. *Hypertension* 2001;37:1199-208.
- Pripp U, Hall G, Csemiczky G, Eksborg S, Landgren B-M, Schenck-Gustafsson K. A Randomized Trial On Effects Of Hormone Therapy On Ambulatory Blood Pressure And Lipoprotein Levels In Women With Coronary Artery Disease. *Journal Of Hypertension* 1999;17:1379-86.
- Mishra JS, Hankins GD, Kumar S. Testosterone Downregulates Angiotensin II Type-2 Receptor Via Androgen Receptor-Mediated ERK1/2 MAP Kinase Pathway In Rat Aorta. *Journal Of The Renin-Angiotensin-Aldosterone System* 2016;17:1470320316674875.
- Maric-Bilkan C, Manigrasso MB. Sex Differences In Hypertension: Contribution Of The Renin-Angiotensin System. *Gender Medicine* 2012;9:287-91.
- Siddiqui AH, Hussain T. Enhanced AT 1 Receptor-Mediated Vasocontractile Response To ANG II In Endothelium-Denuded Aorta Of Obese Zucker Rats. *American Journal Of Physiology-Heart And Circulatory Physiology* 2007;292:H1722-H7.
- Stennett AK, Qiao X, Falone AE, Koledova VV, Khalil RA. Increased Vascular Angiotensin Type 2 Receptor Expression And NOS-Mediated Mechanisms Of Vascular Relaxation In Pregnant Rats. *American Journal Of Physiology-Heart And Circulatory Physiology* 2009;296:H745-H55.
- Sampson AK, Moritz KM, Jones ES, Flower RL, Widdop RE, Denton KM. Enhanced Angiotensin II Type 2 Receptor Mechanisms Mediate Decreases In Arterial Pressure Attributable To Chronic Low-Dose Angiotensin II In Female Rats. *Hypertension* 2008;52:666-71.
- Reckelhoff JF, Granger JP. Role Of Androgens In Mediating Hypertension And Renal Injury. *Clinical And Experimental Pharmacology And Physiology* 1999;26:127-31.
- Freedman LP. *Molecular Biology Of Steroid And Nuclear Hormone Receptors*: Springer Science & Business Media 1998.
- Gao W, Bohl CE, Dalton JT. *Chemistry And Structural Biology Of Androgen Receptor*. *Chemical Reviews* 2005;105:3352-70.
- Keller ET, Ershler Wb, Chang C. The Androgen Receptor: A Mediator Of Diverse Responses. *Front Biosci* 1996;1:D59-71.
- Blantz RC, Peterson Ow, Blantz ER, Wilson CB. Sexual Differences In Glomerular Ultrafiltration: Effect Of Androgen Administration In Ovariectomized Rats. *Endocrinology* 1988;122:767-73.
- Huisman H, Schutte A, Van Rooyen J, Malan N, Malan L, Schutte R, et al. The Influence Of Testosterone On Blood Pressure And Risk Factors For Cardiovascular Disease In A Black South African Population. *Ethnicity And Disease* 2006;16:693.
- Dillenburg DR, Mostarda C, Moraes-Silva IC, Ferreira D, Bós DdSG, Duarte AAM, et al. Resveratrol And Grape Juice Differentially Ameliorate Cardiovascular Autonomic Modulation In L-NAME-Treated Rats. *Autonomic Neuroscience* 2013;179:9-13.
- Ünal SG, Take G, Erdoğan D, Göktas G, Sahin E. The Effect Of Di-N-Butyl Phthalate On Testis And The Potential Protective Effects Of Resveratrol. *Toxicology And Industrial Health* 2013;32:777-90.
- Oktar GL, Demir Amac N, Elmas C, Arslan M, Goktas G, Iriz E, Et Al. The Histopathological Effects Of Levosimendan On Liver Injury Induced By Myocardial Ischemia And Reperfusion. *Bratisl Lek Listy* 2015;116:241-7.
- Carpenter DO. Human Disease Resulting From Exposure To Electromagnetic Fields. *Reviews On Environmental Health* 2013;28:159-72.
- Shariful Islam SM. Awareness And Self-Reported Health Hazards Of Electromagnetic Waves From Mobile Phone Towers In Dhaka, Bangladesh: A Pilot Study. *Advances In Public Health* 2014;2014.
- Shahin S, Mishra V, Singh S, Chaturvedi C. 2.45-Ghz Microwave Irradiation Adversely Affects Reproductive Function In Male Mouse, *Mus Musculus* By Inducing Oxidative And Nitrosative Stress. *Free Radical Research* 2014;48:511-25.