

ANESTEZİ ÇALIŞANLARINDA SEMEN ANALİZİ PARAMETRELERİ VE SEMİNAL PLAZMA OKSİDATİF STRES ARASI İLİŞKİ

THE RELATIONSHIP BETWEEN SPERMIOGRAM PARAMETERS AND OXIDATIVE STRESS OF SEMINAL PLASMA OF STAFF OF ANESTHESIA UNIT

Ercan YENİ*, Özcan EREL**, Doğan ÜNAL*, Ayhan VERİT*, Halil ÇİFTÇİ*, İ. Halil KILIÇ***

* Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, ŞANLIURFA

** Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, ŞANLIURFA

*** Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji Anabilim Dalı, ŞANLIURFA

ABSTRACT

Introduction: Many studies evaluating possible hazards of anaesthetic gases on the staff have been carried, which generally focus on the fertility potentials, spontaneous abortion, genetic damage, congenital malformations, cancer, haematopoietic and psychomotor diseases and the development of behavioral disorders.

In this study, the spermiogram values of the staff in the department of anaesthesia and possible changes in their seminal plasma oxidative stress parameters and the relation among the changes were investigated.

Materials and Methods: The sexually active volunteer males who had been working in the anaesthesia department for at least 6 months were included in the study. The volunteers with pathologies such as varicocele, hormonal pathologies, urogenital infections and smoking, which could affect the results, were excluded. Being within the same age group and not receiving any anesthetic substance for the last 6 months, 20 fertile volunteers were selected as the control group. The semen samples were obtained through masturbation, following a 3-day sexual abstinence. Some of the samples were evaluated with respect to the WHO criteria. The plasma was separated by centrifugation of the samples for 10 minutes at 2500 rpm and it was stored at -80 °C. To determine antioxidative status of semen plasma a commercially available kit and to determine oxidative status total peroxide levels were measured.

Results: The spermiogram parameters in the control and the anaesthesia group were 55.75±11.68/28.43±11.17, $p<0.001$ in density, 56.60±7.31/31.38±15.60, $p<0.001$ in motility and 58.25±9.75/49.75±19.31, $p=0.268$ in morphology, respectively. The seminal TAC and TP values in the groups were determined as 3.49±0.38, 3.52±0.41 mmol Trolox equiv./L, $p=0.702$ and 39.70±4.35/38.15±7.24 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L $p=0.293$, respectively.

Conclusion: The gonadal function disorders after exposure to anaesthetic agents in acute high dosage or chronic low doses have been defined and this situation has been associated with oxidative stress. In this study, although the sperm parameters in the males of anaesthesia department were determined to be within the normal values according to the WHO criteria, the number of sperms and motility were found to be significantly low, when compared with the control group. On the other hand, the seminal TAC and TP levels in two groups were insignificant. Disorders were determined in the sperm parameters, especially the number and motility of sperms, but it was concluded that this couldn't be explained with the seminal oxidative stress; hence, further investigation is necessary.

Key Words: Anesthetic gases, spermiogram parameters, oxidative stress

ÖZET

Son yıllarda anestezi gazlarının çalışanlar üzerindeki olası zararlarını değerlendirmeye yönelik bir çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar fertilite potansiyelleri, spontan abortus, genetik hasar, doğumsal malformasyonlar, kanser, hematopoetik ve psikomotor hastalıklar ile davranış bozukluğu gelişimi üzerine yoğunlaşmıştır. Bu çalışmada, anestezi ünitesinde çalışan erkeklerin semen analizi değerleri ve seminal plazma oksidatif stres parametrelerindeki olası değişiklikleri ve bu değişiklikler arasındaki ilişkiyi araştırdık.

En az 6 aydır anestezi ünitesinde aktif olarak görev yapan araştırma görevlisi, anestezi teknisyeni ve yardımcı sağlık personelinden gönüllü erkekler çalışmaya alındı. Varikosel, hormonal patolojiler, ürogenital enfeksiyon ve sigara içimi gibi sonuçlara etki edebilecek patolojisi olanlar çalışmadan çıkarıldı. Benzer yaş grubunda, 6 ay içinde anestezi almamış, fertil gönüllü 20 birey kontrol grubu olarak alındı. Semenler 3 günlük cinsel perhizi takiben mastürbasyonla elde edildi. Bir kısmıyla WHO kriterlerine göre semen analizi değerlendirildi. Kalan semen 2500

devirde 10 dakika santrifüje edilerek plazması ayrıldı ve -80°C depolandı. Seminal plazmanın antioksidatif durumunu saptamak için toplam antioksidan kapasite (TAK) ölçümünde yaygın olarak kullanılan Randox-TAS kiti, oksidatif durumunu saptamak için toplam peroksit (TP) düzeyi ölçüldü.

Anestezi çalışması 21 erkekte uygun şartları uygun 16'sının sonuçları değerlendirildi. Grupların yaş ortalamaları farksızdı. Spermiogram parametreleri kontroller ve anestezi çalışanlarında sırasıyla; yoğunlukta $55.75 \pm 11.68 / 28.43 \pm 11.17$, $p < 0.001$; motilitede $56.60 \pm 7.31 / 31.38 \pm 15.60$, $p < 0.001$ ve morfolojide $58.25 \pm 9.75 / 49.75 \pm 19.31$, $p = 0.268$ olarak bulundu. Gruplarda sırasıyla seminal TAK 3.49 ± 0.38 , 3.52 ± 0.41 mmol Trolox equiv./L, $p = 0.702$ ve TP $39.70 \pm 4.35 / 38.15 \pm 7.24$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L $p = 0.293$ saptandı.

Akut yüksek doz veya kronik düşük dozlarda anestezi ajanlarının etkisi altında kalınması sonrası gonadal fonksiyonlarda bozulmalar tanımlanmış ve bu durum oksidatif stres ile açıklanılmaya çalışılmıştır. Çalışmamızda anestezi çalışan erkeklerde sperm parametreleri (motilite hariç) WHO kriterlerine göre normal değerler içinde olmakla beraber, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sperm sayısı ve hareketliliğinin anlamlı şekilde düşük olduğu belirlendi. Seminal TAK ve TP düzeylerinde iki grup arasındaki farkın ise anlamsız olduğu belirlendi. Anestezi çalışanlarında sayı ve hareketlilik başta olmak üzere sperm parametrelerinde bozulmanın olduğu ancak bunun seminal oksidatif stres ile açıklanamayacağı ve bu konuda ileri çalışmaların gerekliliği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Anestezik gazlar, semen analizi parametreleri, oksidatif stres

GİRİŞ

İnfertilite sorunu olan çiftlerin yaklaşık yarısında erkek suçlanmaktadır¹. İnfertilite etiyolojisi erkeklerle ilgili varikosel, hormonal veya immünolojik patolojiler gibi bir çok patolojinin varlığı bilinmekle beraber olguların %30-40'ında infertiliteyi açıklayıcı hiçbir neden bulunamaz². İnfertilitenin bu grubu 'nedeni bilinmeyen infertilite' olarak adlandırılır^{2,3}. Nedeni bilinmeyen infertilitenin yüksek prevalansı kimyasal atıklar, pestisidler, civa-kurşun-kadmiyum vb ağır metaller, araba gazları ve hava kirliliği gibi çevresel faktörleri; sigara-alkol-kokain vb madde bağımlılıkları, aşırı kilo veya zayıflık, stres, kozmetik ürün, kayganlaştırıcı ve uygunsuz antibiyotik kullanımı gibi beslenme ve yaşam biçimi özelliklerini; boya ve plastik üretiminde çalışma, X-ray, elektromanyetik radyasyon ve anestezik gazların etkisi altında kalmak gibi mesleki faktörleri, konunun suçlusu olarak gündeme getirmiştir⁴.

Son yıllarda anestezik gazların çalışanlar üzerindeki olası zararlarını değerlendirmeye yönelik bir çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar fertilite potansiyelleri, spontan abortus, genetik hasar, doğumsal malformasyonlar, kanser, hematopoetik ve psikomotor hastalıklar ile davranış bozukluğu gelişimi üzerine yoğunlaşmıştır^{5,6}. Akut yüksek doz veya kronik düşük dozlarda anestezi ajanlarının etkisi altında kalınması sonrası gonadal fonksiyonlarda bozulmalar tanımlanmış ve bu durum oksidatif stres ile açıklanılmaya çalışılmıştır^{7,8}. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda sperm plazma membranı peroksidatif hasarının sperm hücre fonksiyon bozukluğuna ve do-

layısı ile infertiliteye yol açtığı tespit edilmiş, bu da semen ve plazmada reaktif oksijen türlerinin (ROS) artması ve antioksidan kapasitenin düşmesi ile ilişkilendirilmiştir⁹⁻¹¹.

Bu çalışmada anestezi ünitesinde görev yapan erkek personelin semen analizi verileri ve seminal plazma oksidatif stres parametrelerinde herhangi bir değişikliğin olup olmadığını ve bu değişiklikler arasındaki olası ilişkiyi araştırdık.

GEREÇ ve YÖNTEM

En az 6 aydır anestezi ünitesinde aktif olarak görev yapan araştırma görevlisi, anestezi teknisyeni ve yardımcı sağlık personelinin gönüllü erkekler çalışmaya alındı. Varikosel, hormonal patolojiler, ürogenital enfeksiyon ve lökospemi varlığı gibi sonuçlara etki edebilecek patolojisi olanlar çalışmadan çıkarıldı. Benzer yaş grubunda, son 6 ay içinde anestezi almamış ve son iki yıl içinde çocuk sahibi olmuş gönüllü 20 birey kontrol grubu olarak alındı.

Semen Örneklerinin Toplanması ve Hazırlanması

Tüm katılımcılardan 15 gün arayla 2 yada 3 kez olmak üzere, üç günlük cinsel perhizi takiben sabun, krem, tükürük ve benzeri maddeler kullanılmadan masturbasyon ile semen örnekleri toplandı. Örneklerin toplanmasında steril ve geniş ağızlı cam kaplar kullanıldı. Örnekler 37°C'de enkübe edildi. Semen likefiye olduktan sonra bir kısmı WHO kriterlerine göre, sayı, motilite, morfoloji, volüm, pH ve lökosit varlığı yönünden değerlendirilmek üzere ayrıldı. Diğer kısmın 2500 devirde 10 dakika santrifüje edilmesi ile

ayrılan seminal plazma -80°C’de depolandı. Sayı ve motilite ‘Makler kamera’ ile değerlendirildi. Morfoloji için semen örneği lama damlatılıp yayıldı, tespit edildi ve takiben Gimsa ile boyanarak değerlendirildi^{12,13}.

Toplam Antioksidan Kapasite Ölçümü

Depolanan tüm seminal plazma örneklerinin toplam antioksidan kapasite düzeyleri ticari olarak bulunan Randox-TAS kiti (Randox, Ireland) kullanılarak otomatik analizörde (Aeorset, Abbott, USA) ölçüldü. Test, mavi-yeşil renkli ABTS radikal katyonunun renk kaybı prensibine dayanmaktadır¹⁴. Bu yöntemde, hidrojen peroksit methmyoglobin ile reaksiyona girerek ferrilmetmyoglobin oluşturur. Oluşan ferrilmetmyoglobin ABTS molekülünü oksitler ve karakteristik mavi-yeşil renkli ABTS radikale dönüştürür. Semende antioksidan moleküller ABTS radikalini redüklerler ve karakteristik renginin kaybına neden olurlar. Test sonuçları mmol Trolox equiv./L olarak belirtildi.

Toplam Peroksit Ölçümü

Semen plazmalarının toplam peroksit düzeyleri (TP) enzimatik yöntemle ölçüldü¹⁵. Yöntemde, peroksidaz enzimi çeşitli peroksitleri kullanarak dimetilbenzidin molekülünü oksitler ve oluşan renkli ürünün absorbansı ortamdaki TP düzeyini yansıtır. Semen plazma ve standart örneklerinden 10 µL alınıp 200 µL test ayırıcı ile karıştırıldı ve 450 nm de ilk absorbans ölçülüp 20 dakika inkübasyonunun sonunda 50 µL 2N H₂SO₄ ilave edilerek reaksiyon durduruldu ve son absorbans alındı. Testte kalibratör olarak 5.0 µmol/L dilüsyonda hidrojen peroksit kullanıldı. Testin sonuçları µmol H₂O₂ Equiv./L olarak verildi.

Gruplar arası farklar SPSS istatistik programı (version 11.5) kullanılarak Mann Whitney U testi ile değerlendirildi.

BULGULAR

Anestezi personeli 21 erkekten 16’sının çalışma şartlarını sağladığı belirlendi ve sonuçları değerlendirmeye alındı. Anestezi çalışanlarında yaş dağılımı 25-35 ve ortalaması 32, kontrol grubu yaş dağılımı 20-40 ve ortalaması 33 idi. Gruplar yaş ortalamaları açısından farksızdı (p=0.276). Ortalama sperm yoğunluğu kontrol grubunda 55.75±11.68 iken anestezi çalışanlarında

28.43±11.17 olarak bulundu. Gruplar arasındaki fark oldukça anlamlıydı (p<0.001). Ortalama sperm motilitesi kontrol grubunda 56.60±7.31, anestezi çalışanlarında ise 31.38±15.60 olarak belirlendi ve istatistiksel fark oldukça anlamlı bulundu (p<0.001). Ortalama sperm morfolojisi kontrol grubunda 58.25±9.75 ve anestezi çalışanlarında 49.75±19.31 olarak bulundu. Morfoloji yönünden gruplar arasındaki fark anlamlı değildi (p=0.268). Seminal plazma oksidatif stres parametreleri incelendiğinde seminal plazma TAK ortalaması kontrol grubunda 3.49±0.38 ve anestezi çalışanlarında 3.52±0.41 mmol Trolox equiv./L olarak belirlendi. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsızdı (p=0.702). Seminal plazma TP ortalaması kontrol grubunda 39.70±4.35, anestezi çalışanlarında ise 38.15±7.24 µmol H₂O₂ equiv./L olarak bulundu ve farklar istatistiksel olarak önemsizdi (p=0.293). Semen volüm ortalaması kontrol grubunda 4.70±0.92 ml, anestezi çalışanlarında 4.37±1.31 ml idi. Gruplar arasında fark belirlenemedi (p=0.489). Seminal pH ortalaması kontrol grubunda 7.52±0.47 ve anestezi çalışanlarında 7.46±0.46 olarak bulundu. Gruplar arasında fark yoktu (p=0.717). Sonuçlar Tablo 1’de özetlendi.

TARTIŞMA

Son yıllarda, biyolojik, kimyasal ve sosyoekonomik bir çok çevresel faktörün insan yaşamı üzerine olumsuz etkilerini bildiren çalışmaların sayısı gittikçe artmaktadır. İnsan sağlığı düşünülmeden, salt üretimi ve kârlılığı artırmaya yönelik gelişen teknoloji, üretimde birçok zararlı madde ve enerji türlerinin kullanımı vb. olumsuzluklar, çevresel faktörler içinde çalışma ortamı ile ilgili olanları ön plana çıkarmaktadır^{4,16}.

Anestezi personeli çalışma koşulları gereği, oldukça yoğun ve süregen bir şekilde, kaçak ve atıklar nedeniyle anestezi gazlara, kullanılan cihaz ve ilaçlar nedeniyle radyoaktif maddelere, ameliyathane ve cerrahi malzemelerin temizlik ve sterilizasyonunda kullanılan kimyasal maddelere, HIV-hepatit ve benzerleri gibi infeksiyöz ajanlara ve yoğun strese maruz kalmaktadırlar^{5,6}. Atık ve/veya kaçak anestezi gazları çalışanların zarar gördüğü önemli, belki de en önemli etkenlerdir. Atık gazlar, hastanın ekshale ettiği solunum ile anestezi cihazı arasındaki bağlantılardan, uyandırma veya yoğun bakım odasında hastanın

			Semen Analizi Parametreleri					Oksidatif Stres Parametreleri	
Grup	n	Yaş	Volüm (ml)	pH	sayı (10 ⁶)	Motilite (%)	Morfoloji (%)	TAK	TP
Hasta	16	32	4.37±1.31	7.46±0.46	28.43±11.17	31.38±15.60	49.75±19.31	3.52±0.41	38.15±7.24
Kontrol	20	33	4.70±0.92	7.52±0.47	55.75±11.68	56.60±7.31	58.25±9.75	3.49±0.38	39.70±4.35
P		0,276	0.489	0.717	<0.001	<0.001	0.268	0.702	0.293

Tablo 1. Hasta ve kontrollerde semen analizi ve oksidatif stres parametreleri. Sonuçlar ortalama±SD olarak gösterilmiştir (TAK: Total Antioksidan Kapasite; TP: Total Peroksit; p<0.05 anlamlı, Mann Whitney U test).

ekshale solunumundan kaynaklanır. Kaçak gazlar ise yetersiz anestezi cihazı, uygunsuz bağlantılar ve maskelerden kaynaklanmaktadır. Olası olumsuz etkilenmeler ve bu etkilenmelerin şiddeti, kullanılan anestezi gazının tipi, ortamdaki yoğunluğu ve etkilenme süresi gibi etkene bağlı faktörler ile cinsiyet, yaş ve sigara içimi gibi kişisel faktörlere bağlı olarak değişmektedir¹⁷. Horeauf ve arkadaşları atık anestezi gazlarının zararlarını araştırdıkları çalışmalarında, düşük konsantrasyonlarda anestezi gazlarının etkisi altında kalan kişilerde, günde 11-20 sigara içenlerle karşılaştırılabilir, genetik bozukluklar saptadılar. Öte yandan kişide sigara bağımlılığının ilave olarak bulunması halinde genetik hasarın yaklaşık iki katına çıktığını belirlediler¹⁸. Aitkend, ameliyathane personeline anestezi gazlarının yüksek dozları etkisi altında kalındığında halsizlik, uykuya meyil, eforla bağdaşmayan kas ağrıları ve baş ağrısı gibi belirtiler gözlediğini; öte yandan anestezi gazlarının eser miktarlarda bile önemli ölçüde performans düşüklüğüne neden olduğunu rapor etti⁶.

Anestezi ajanlarının fertilite üzerine olan olumsuz etkileri ve bu etkinin nasıl oluştuğu henüz tartışmalıdır. Gerek hayvan¹⁹⁻²¹ gerekse insan çalışmalarında^{22,23} fertilite potansiyelinde önemli bir etkilenmenin olmadığını bildiren çalışmalara karşın hayvan çalışmalarında özellikle kronik veya yüksek dozlarda sperm parametrelerinin ve seksüel davranışların bozulduğu, fertilite potansiyelinin olumsuz etkilendiği rapor edildi²⁴⁻²⁶. Bunlara ilaveten insan üreme yeteneğinin de zarar gördüğünü bildiren bir çok klinik çalışma yayınlandı²⁷⁻³¹. Bununla birlikte fertilite yeteneğindeki etkilenmenin nasıl oluştuğu çok açık değildir. En çok kabul gören görüşler genetik hasar ve/veya merkezi etkilenmenin olabileceğidir^{5-7,18,24,27}.

Erkek infertilitesinin önemli nedenlerinden birinin sperm fonksiyon bozukluğu olması,

sperm plazma membranının peroksidatif hasarının sperm hücre fonksiyon bozukluğuna yol açması ve bu durumunda semen ve plazmada reaktif oksijen türlerinin artması ve antioksidan kapasitenin düşmesi ile ilişkili olabileceği^{9-11,32,33} gerçeğinden hareketle anestezi ajanlarına bağlı gonadal fonksiyonlarda bozulma nedenlerinden birinin de oksidatif stres olabileceği ileri sürülmüştür^{7,8}.

Çalışmamızda anestezi ünitesinde çalışan erkeklerde spermiogram parametreleri motilite hariç WHO kriterlerine göre normal sınırları içinde olmakla birlikte kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sayı ve motilitede istatistiksel olarak anlamlı, morfoljide ise anlamsız düşüklükler belirlendi. Bununla birlikte gruplar arasında seminal total antioksidan kapasite ve total peroksit düzeylerindeki farkın ise anlamsız olduğu belirlendi.

Sonuç olarak, anestezi çalışanlarında sayı ve motilite başta olmak üzere sperm parametrelerinin olumsuz etkilendiği, bununla birlikte bu bozukluğun seminal plazmanın oksidatif stresinden kaynaklanmadığı ve sperm parametrelerindeki bozulmanın nedenini açıklamak için ileri çalışmaların gerekli olduğu kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

- 1- **Howards SS:** Treatment of male infertility. New Eng J Med, 332(5): 312, 1995.
- 2- **Tonneau P, Bujan L, Multigner L, Miesusset R:** Occupational heat exposure and male fertility: A review. Hum Reprod, 13: 2122-2125, 1998.
- 3- **Neumann F:** Effects of drugs and chemical on spermatogenesis. Arch toxicol, 7: 109-11, 1984.
- 4- **Comhaire FH, Dhooze W, Mahmoud A, Depuydt C:** A strategy for the prevention of male infertility. Verh K acad Geneesk Belg, 61: 441-452, 1996.
- 5- **Rozgaj R, Kasuba V, Jazbec A:** Preliminary study of cytogenetic damage in personnel exposed to anesthetic gasses; Mutagenesis, 16(2): 139-143, 2001.

- 6- **Aitkend AR, Smith G:** Textbook of Anaesthesia, Third edition, Churchill Livingstone, Toronto, 293-303, 1996.
- 7- **Wiesner G, Hoerauf K, Schogendorfer K, et al:** High-level, but not low-level, occupational exposure to inhaled anesthetics is associated with genotoxicity in the micronucleus assay. *Anesth Analg*, 92: 118-22, 2001.
- 8- **Cao G, Prior RL:** Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clin Chem*, 44(6): 1309-1315, 1998.
- 9- **Janaszewska A, Bartosz G:** Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma. *Scand J Clin Lab Invest*, 62: 231-236, 2002.
- 10- **Whittington K, Harrison SC, Williams KM, et al:** Reactive oxygen species production and the outcome of diagnostic tests of sperm function. *Int J Androl*, 22: 236-242, 1999
- 11- **Öner-İyidoğan Y, Genç S, Koçak H, Akkuş E:** Seminal plazma süperoksid dismutaz ve total antioksidan düzeylerinin erkek infertilitesine etkileri. *Türk Üroloji Dergisi*, 29, 296-300, 2003.
- 12- **Kadioğlu TC, Tellaloğlu S:** Semen analizi. *Türk Üroloji Dergisi*, 24: 115-121, 1998.
- 13- **Makler A:** The improved ten mikrometer chamber for rapid sperm count and motility evaluation. *Fertil Steril* 33: 337, 1980.
- 14- **Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A:** A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci*, 84: 407-412, 1992.
- 15- **Roob JM, Khoschrosur G, Tiran A, et al:** Vitamin E attenuates oxidative stress induced by intravenous iron in patients on hemodialysis. *J Am Soc Nephrol*, 11: 539-549, 2000.
- 16- **Figa-Talamanca I, Traina ME, Urbani E:** Occupational exposures to metals, solvents and pesticides: Recent evidence on male reproductive effects and biological markers. *Occup Med*, 51(3): 174-188, 2001.
- 17- **Natarajan D:** Cytogenetic damage in operating room personnel. *Anaesthesia*, 45: 574-77, 1990.
- 18- **Hoerauf KH, Wiesner G, Schroegendorfer KF et al:** Waste anaesthetic gases induce sister chromatid exchanges in lymphocytes of operating room personnel. *Br J Anaesth*, 82: 764-6, 1999.
- 19- **Kundomal YR, Baden JM:** Inhaled anaesthetics have no effect on fertility in *Drosophila melanogaster*. *Br J Anaesth*, 57(9): 900-3, 1985.
- 20- **Kennedy GL Jr, Smith SH, Keplinger ML, Cailandra JC:** Reproductive and teratologic studies with halothane. *Toxicol Appl Pharmacol*, 35(3): 467-74, 1976.
- 21- **Mazze RI:** Fertility, reproduction, and postnatal survival in mice chronically exposed to isoflurane. *Anesthesiology*, 63(6): 663-7, 1985.
- 22- **Beilin Y, Bodian CA, Mukherjee T, et al:** The use of propofol, nitrous oxide, or isoflurane does not affect the reproductive success rate following gamete intrafallopian transfer (GIFT): A multicenter pilot trial/survey. *Anesthesiology*; 90(1): 36-41, 1999.
- 23- **Henderson J, Baker HW, Hanna PJ:** Occupation-related male infertility: A review. *Clin Reprod Fertil*; 4(2): 87-106, 1986.
- 24- **Arena AC, Pereira OC:** Neonatal inhalatory anesthetic exposure: reproductive changes in male rats. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*; 133(4): 633-40, 2002.
- 25- **Kumar P, Prasad AK, Mani U, Maji BK, Dutta KK:** Trichloroethylene induced testicular toxicity in rats exposed by inhalation. *Hum Exp Toxicol*; 20(11): 585-9, 2001.
- 26- **Oropeza-Hernandez LF, Quintanilla-Vega B, Albores A, Fernandez-Guasti A:** Inhibitory action of halothane on rat masculine sexual behavior and sperm motility. *Pharmacol Biochem Behav*; 72(4): 937-42, 2002.
- 27- **Zhang Q, Rosenberg M, Kugel G, et al:** Effect of nitrous oxide on intracellular events of GT1-7 GnRH-secreting neurons. *Anesth Prog*, 50(2): 53-61, 2003.
- 28- **Ahlborg G Jr, Axelsson G, Bodin L:** Shift work, nitrous oxide exposure and subfertility among Swedish midwives. *Int J Epidemiol*, 25(4): 783-90, 1996.
- 29- **Rowland AS, Baird DD, Weinberg CR, et al:** Reduced fertility among women employed as dental assistants exposed to high levels of nitrous oxide. *N Engl J Med*, 327: 993-7, 1992.
- 30- **Veulemans H, Steeno O, Masschelein R, Groeseneken D:** Exposure to ethylene glycol ethers and spermatogenic disorders in man: A case-control study. *Br J Ind Med*, 50: 71-8, 1993.
- 31- **Ratcliffe JM, Schrader SM, Clapp DE, et al:** Semen quality in workers exposed to 2-ethoxyethanol. *Br J Ind Med*, 46: 399-406, 1989.
- 32- **Sikka SC, Rajasekaran M, Hellstrom WJ:** Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility. *J Androl*; 16(6): 464-81, 1995.
- 33- **Gavella M, Lipovac V, Sverko V:** Superoxide anion production and some sperm-specific enzyme activities in infertile men. *Andrologia*, 27(1): 7-12, 1995.