



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**PRENATAL DÖNEMDE ELEKTROMANYETİK ALANA  
MARUZ KALAN SIÇAN HİPOKAMPUSU ÜZERİNE  
GARCINIA KOLA, TİMOKİNON VE MOMORDICA  
CHARANTIA'NIN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**DOKTORA TEZİ**

**Ömür Gülsüm DENİZ**

**Samsun  
Ağustos-2018**



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**PRENATAL DÖNEMDE ELEKTROMANYETİK ALANA  
MARUZ KALAN SIÇAN HİPOKAMPUSU ÜZERİNE  
GARCINIA KOLA, TİMOKİNON VE MOMORDICA  
CHARANTIA'NIN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**DOKTORA TEZİ**

**Ömür Gülsüm DENİZ**

**Danışman  
Prof. Dr. Süleyman KAPLAN**

**Samsun  
Ağustos-2018**

**TEZ ONAY SAYFASI**



## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca akademik anlamda donanımlı bir şekilde yetişmemde büyük bir emeğe sahip olan Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı ve tez danışmanım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Süleyman KAPLAN'a,

Tez çalışmamın stereolojik analizlerinin bir kısmını kendi analiz sistemlerinde yapmama olanak sağlayan Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Başkanı Sayın Doç. Dr. Levent TÜMKAYA'ya,

Tez çalışmama ait davranış testlerinin yapılmasında kendi cihazlarını kullanmamıza izin veren Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Doç. Dr. Süleyman Sırrı BİLGE'ye,

Tez dönemim boyunca güzel kalbini ve yardımlarını hiçbir şekilde esirgemeyen can dostum, kardeşim Arş. Gör. Gamze ALTUN'a,

Tez çalışmalarım boyunca desteklerini esirgemeyen değerli arkadaşlarım Dok. Öğr. Elfide Gizem KIVRAK, Arş. Gör. Burcu DELİBAŞ, Arş. Gör. Adem KOCAMAN, Arş. Gör. Erkan ERENER, Öğr. Gör. Süleyman Emre KOCACAN ve Dok. Öğr. Işınsu Aydın ALKAN'a,

Tez resimlerimin çiziminde büyük bir emeğe sahip olan sevgili arkadaşım Öğr. Gör. Sefa Ersan KAYA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen ve bugünlere gelmemde büyük bir emeğe sahip olan ve varlıklarıyla beni her zaman mutlu eden sevgili annem Saliha DENİZ, değerli babam İsmet Hızır DENİZ, kardeşlerim Havva GÜNAYDIN ve Yusuf DENİZ'e teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez, bugünlere gelmemde büyük bir emeğe sahip olan aileme ve tüm hocalarıma atfedilmiştir.

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.TIP.1901.14.015 nolu proje ile desteklenmiştir.

## ÖZET

### PRENATAL DÖNEMDE ELEKTROMANYETİK ALANA MARUZ KALAN SIÇAN HİPOKAMPUSU ÜZERİNE GARCINIA KOLA, TİMOKİNON VE MOMORDICA CHARANTIA’NIN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

**Amaç:** Bu çalışmada, prenatal dönemde cep telefonlarının yaydığı elektromanyetik alan (EMA) etkisinin hipokampus üzerindeki muhtemel etkilerine dikkat çekilmesi ve bu etkilerin çeşitli antioksidan maddelerle azaltılıp azaltılmayacağına ortaya konulması amaçlandı.

**Materyal ve Metot:** Her grupta 8-10 haftalık, 200-250 gr ağırlığında *Wistar albino* türü 3 adet gebe sıçan bulunacak şekilde 42 dişi sıçan 14 eşit gruba ayrıldı. Çalışma içerisinde yer alan EMA grupları 21 gün boyunca günde 1 saat (sa) ve 2 sa olmak üzere 900 Megahertz (MHz) EMA’ya maruz bırakıldı. Ayrıca Kontrol (Kont), *Garcinia kola* (GK), *Momordica charantia* (MC) ve timokinon (TİM) gruplarına ait sıçanlar herhangi bir EMA’ya tabi tutulmadı. Sham grupları ise ilgili EMA düzeneğinde bekletilmesine karşın herhangi bir EMA uygulaması yapılmadı. Doğumdan 28 gün sonra sıçanlar davranış testlerine tabi tutuldu. Daha sonra, beyin dokularından alınan örnekler histopatolojik, stereolojik, fonksiyonel ve immunohistokimyasal yöntemlerle değerlendirildi. Sıçan cornu ammonis (CA)’indeki piramidal nöron sayısı optik parçalama yöntemi kullanılarak hesaplandı. Ayrıca kan örneklerinde süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi enzimlerin aktivite tayinleri yapıldı.

**Bulgular:** Analizler, EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarının CA’sındaki toplam piramidal nöron sayısında diğer gruplara göre önemli ölçüde azalma olduğunu göstermiştir ( $p<0,01$ ). Ayrıca sonuçlarımız MC’nin koruyuculuğunun verilen diğer antioksidan maddelere göre daha fazla olduğunu göstermiştir ( $p<0,01$ ).

**Sonuç:** 900 MHz EMA, beyinde olumsuz değişikliklere neden olabilmektedir. Bu bağlamda, GK, MC ve TİM’in meydana gelen bu olumsuz etkileri düşürebildiği gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Elektromanyetik alan; *Garcinia kola*; Hipokampus; *Momordica charantia*; Stereoloji; Timokinon

Ömür Gülsüm DENİZ, Doktora Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Ağustos-2018

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF EFFECTS OF GARCINIA KOLA, THYMOQUINONE AND MOMORDICA CHARANTIA ON THE RAT HIPPOCAMPUS EXPOSED TO ELECTROMAGNETIC FIELD IN THE PRENATAL PERIOD

**Aim:** In this study, it was aimed to highlight the possible effects of the electromagnetic field (EMF) emitted by the mobile phones on the hippocampus during the prenatal period to investigate whether these possible effects can be reduced with various antioxidant substances.

**Material and Methods:** 42 female rats were divided into 14 equal groups with 3 pregnant, 8-10 weeks old *Wistar albino* rats that are 200-250 g of weight in each group. The study groups of EMF were exposed to 900 Megahertz (MHz) EMF for 21 days, 1 hour (hr) and 2 hrs per day. Also, the rats in the groups of Control (Cont), *Garcinia kola* (GK), *Momordica charantia* (MC), thymoquinone (TIM) were not exposed to EMF. While the Sham groups were kept in the EMF exposure system, they were not exposed to EMF. 28 days after birth, rats were subjected to behavioral tests. After that, the samples taken from the brain tissues of the rats were evaluated with histological, stereological, functional and immunohistochemical methods. The numbers of pyramidal neurons in rat cornu ammonis (CA) were determined with optic fractionator method. Moreover, the activities of the superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) enzymes were evaluated in the blood samples.

**Results:** The analysis indicated that the total pyramidal neuron number in the CA of EMF (1 hr) and EMF (2 hrs) groups decreased significantly ( $p<0.01$ ). Also, our results showed that the protective effect of MC was more potent than the other antioxidant substances ( $p<0.01$ ).

**Conclusion:** 900 MHz EMF can cause hazardous changes in the brain. At this point, it can also be suggested that GK, MC and TIM can reduce these hazardous effects.

**Keywords:** Electromagnetic field; *Garcinia kola*; Hippocampus; *Momordica charantia*; Stereology; Thymoquinone

Ömür Gülsüm DENİZ, Ph.D. Thesis

Ondokuz Mayıs University - Samsun, August-2018

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>A.Ö.O.</b>	: Alan örnekleme oranı
<b>CA</b>	: Cornu ammonis
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>COX</b>	: Siklooksijenaz
<b>DK</b>	: Değişim katsayısı
<b>EMA</b>	: Elektromanyetik alan
<b>EMD</b>	: Elektromanyetik dalga
<b>GK</b>	: <i>Garcinia kola</i>
<b>GSH-Px</b>	: Glutasyon peroksidaz
<b>GST</b>	: Glutasyon S-transferaz
<b>HK</b>	: Hata katsayısı
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>Hz</b>	: Herzt
<b>Ig</b>	: Immünoglobulin
<b>INIRC</b>	: International Non-Ionising Radiation Committee
<b>IRPA</b>	: International Radiation Protection Association
<b>Ka.Ö.O.</b>	: Kalınlık örnekleme oranı
<b>KBGZ</b>	: Karanlık bölgeye geçiş süresi
<b>K.Ö.O.</b>	: Kesit örnekleme oranı
<b>LO</b>	: Lipooksijenaz
<b>MC</b>	: <i>Momordica charantia</i>
<b>MHz</b>	: Megahertz
<b>NADH</b>	: Nikotinamid adenin dinükleotid
<b>NMDA</b>	: N-metil-D-aspartik asit
<b>OHDA</b>	: Hidroksidopamin
<b>ÖSH</b>	: Özgül soğurma hızı
<b>PBS</b>	: Phosphate buffered saline
<b>PG</b>	: Prostoglandin
<b>PPr</b>	: Propoksur
<b>PRX</b>	: Peroksiredoksin
<b>ROS</b>	: Reaktif oksijen türleri

<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>SRÖ</b>	: Sistemik rastgele örnekleme
<b>T</b>	: Tesla
<b>TİM</b>	: Timokinon
<b>TPX</b>	: Tioredoksin





## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	vi
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	viii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	6
2.1. Elektriksel Alan.....	6
2.2. Manyetik Alan.....	6
2.3. Elektromanyetik Alan Oluşumu ve Genel Özellikleri.....	7
2.3.1. Özgül Soğurma Hızı.....	9
2.3.2. Elektromanyetik Alanın Canlılar Üzerine Olan Biyolojik Etkileri.....	10
2.4. Elektromanyetik Alanın Canlılar Üzerindeki Olası Etki Mekanizmaları.....	13
2.5. Hipokampus Yapısı ve Fonksiyonları.....	17
2.5.1. Hipokampus Embriyolojisi.....	18
2.5.2. Hipokampus Anatomisi.....	19
2.5.3. Hipokampus Histolojisi.....	20
2.6. <i>Momordica charantia</i> (Kudret narı).....	21
2.7. Çörek otu ( <i>Nigella sativa</i> ).....	23
2.7.1. Timokinon.....	23
2.8. <i>Garcinia kola</i> (Acı kola).....	25
<b>3. MATERYAL VE METOT</b> .....	28
3.1. Deney Hayvanları.....	28
3.2. Hayvan Gruplarının Oluşturulması.....	29
3.3. Deney Düzenegi ve Elektromanyetik Alana Maruziyet.....	33
3.4. Doku Örneklerinin Hazırlanması.....	34
3.4.1. Perfüzyon.....	34
3.4.2. Histolojik Doku Takip İşlemleri.....	34
3.4.3. Kesit Alma.....	36
3.4.4. Cresyl Violet Boyama İşlemi.....	36
3.5. İmmünohistokimyasal Analizler.....	36
3.6. Biyokimyasal Analizler.....	38

3.6.1. Deneklerden Serum Örneklerinin Alınması .....	38
3.6.2. Katalaz Enzim Aktivitesi Analizi .....	38
3.6.3. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesi Analizi.....	38
3.7. Lokomotor Aktivite Tayini .....	39
3.8. Pasif Sakınma Testi.....	40
3.9. Stereolojik Analizler .....	41
3.9.1. Stereoloji.....	41
3.9.2. Tarafsız Sayım Çerçevesi .....	41
3.9.3. Optik Parçalama Yöntemi ve Uygulanışı .....	42
3.10. İstatistiksel Analiz.....	45
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>46</b>
4.1. Stereolojik Bulgular .....	46
4.1.1. CA1 Bölgesinde Elde Edilen Bulgular .....	46
4.1.2. CA2 Bölgesinde Elde Edilen Bulgular .....	50
4.1.3. CA3 Bölgesinde Elde Edilen Bulgular .....	55
4.1.4. Tüm Hipokampustaki Nöron Sayısına İlişkin Elde Edilen Bulgular .....	60
4.2. Histokimyasal Bulgular.....	65
4.2.1. CA1 Bölgesinin Cresyl Violet ile Boyanması Sonucu Elde Edilen Histolojik Bulgular .....	65
4.2.2. CA2 Bölgesinin Cresyl Violet ile Boyanması Sonucu Elde Edilen Histolojik Bulgular .....	70
4.2.3. CA3 Bölgesinin Cresyl Violet ile Boyanması Sonucu Elde Edilen Histolojik Bulgular .....	74
4.3. İmmünohistokimyasal Değerlendirme .....	78
4.3.1. Ki67 Antikoru ile Elde Edilen Bulgular .....	78
4.4. Davranış Testi Bulguları .....	80
4.4.1. Grupların Lokomotor Aktivitelerinin Değerlendirilmesi .....	80
4.4.2. Pasif Sakınma Testi ile Retansiyon Süresinin Değerlendirilmesi .....	82
4.4.3. Birinci Günde Karanlık Bölgeye Geçiş Zamanının Değerlendirilmesi.....	82
4.4.4. İkinci Günde Karanlık Bölgeye Geçiş Zamanının Değerlendirilmesi .....	84
4.5. Biyokimyasal Bulgular.....	86
4.5.1. Grupların Ortalama Katalaz Enzim Aktivitesi .....	86
4.5.2. Grupların Ortalama Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesi .....	89

<b>5. TARTIŞMA</b> .....	92
5.1. Elektromanyetik Alan ve Hipokampus .....	93
5.2. <i>Momordica charantia</i> .....	98
5.3. Timokinon .....	101
5.4. <i>Garcinia kola</i> .....	105
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....	108
<b>KAYNAKLAR</b> .....	112
<b>EKLER</b> .....	134
Hayvan Etik Onay Belgesi .....	134
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	135

## 1. GİRİŞ

Hızlı bir ivme ile gelişen teknolojik cihazlar beraberinde getirdiği kolaylıkların yanı sıra yaydıkları elektromanyetik alan (EMA) nedeniyle insan sağlığı üzerinde olumsuz etkiler doğurmaktadır. Bununla ilgili olarak EMA'ya maruziyette manyetik alanın şiddeti ve frekansı gibi parametrelerin yanısıra maruziyet süresinin de etkisi yadsınamaz. Cep telefonu kullanımının, özellikle küçük yaşlarda sıklıkla görülmesi tehlikenin boyutlarını göz önüne sermektedir. Bu hususta yapılan bilimsel araştırmalar, cep telefonu kullanırken EMA'ya maruz kalma nedeniyle ortaya çıkabilecek sağlık sorunlarını belirlemeye ve olası önlemleri almaya yöneliktir. Cep telefonlarının yaydığı EMA nedeniyle, bu cihazların kulak ve baş bölgesine yakın bir konumda kullanılması sonucu bu bölgelerdeki yapıların maruziyet riski yüksektir. Beyin dokusu çevresel ortamda karşılaşılan tehlikeli maddelerin emilimine açıktır (Hussein ve ark., 2016). Bu bağlamda, EMA'nın merkezi ve çevresel sinir sistemi üzerine etkileri ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça önemlidir (Bilgici ve ark., 2013; Erdem Koç ve ark., 2016; Altun ve ark., 2017; Deniz ve ark., 2017a; Shaddel ve ark., 2017).

Modern yaşamı kolaylaştırmak için uygulanabilir çözümler sunan teknolojik gelişmeler insan sağlığı üzerinde birçok olumsuz etkiye neden olduğu kanıtlanmış olup cep telefonu, yüksek gerilim hattı, radyo ve televizyon vericileri, tıbbi ve endüstriyel aletlerin ortaya çıkardığı riskler bu kapsamda ele alınmıştır (Kaszuba-Zwońska ve ark., 2015; Miah ve Kamat, 2017). Özellikle cep telefonu kullanımının hızlı bir şekilde yaygınlaşması nedeniyle yaydığı EMA dalgaları giderek artan geniş bir kitleyi ilgilendirmektedir (Sienkiewicz ve ark., 1998). Cep telefonlarından yayılan EMA dalgalarının olumsuz etkileri çoğunlukla oksidatif stres aracılığı ile ortaya çıkmaktadır (Hyland, 2000; Consales ve ark., 2012). Bu konuda en bilinen mekanizma elektromanyetik radyasyonun hücre membranında yer alan nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) oksidazı uyararak reaktif oksijen türlerini (ROS) ürettiği ve oksidatif strese ve ardından hücre hasara yol açtığı şeklindedir. Böylece hücre dışı süperoksit üretimi meydana gelmektedir (Consales ve ark., 2012).

Elektromanyetik dalga üreten cep telefonları ve baz istasyonlarının güç ve frekansları, insan sağlığı üzerinde farklı etkilere yol açabilir. Frekans, elektromanyetik dalganın belli süre ve belli noktalaradaki titreşim sayısıdır. Bununla birlikte bu dalganın bir saniyedeki periyodu 1 Herzt (Hz) dir. 1 megahertz (MHz) ise saniyede 1 milyon

periyoda karşılık gelmektedir. Tüm maddeler zayıf ya da güçlü manyetik etkilere sahiptir. İnsanlar, doğanın bir parçası olduklarından yaşadıkları çevrenin EMA'sından etkilenir. Ancak bunun yanısıra kendi manyetik alanları da vardır. Bu manyetik alanlar olağan bir dengede seyretmektedir. Bu dengenin kimyasal ajanlar, haberleşme frekansları, elektrik güç taşımlarından gelen sinyaller nedeniyle bozulması insan sağlığı üzerinde olumsuz etkiler ortaya çıkarır. EMA dalgalarının olumsuz etkileri termal ve kimyasal (termal olmayan) olmak üzere iki farklı etki ile ortaya çıkar (Söderqvist ve ark., 2008; Duhaini, 2016). Bununla ilgili olarak, yüksek frekanslı EMA dalgaları beraberinde ısıya bağlı etkiler de ortaya çıkabilir. Düşük frekanslı EMA dalgaları ise kimyasal değişikliklerle etkisini ortaya koyabilir (Kaplan ve ark., 2016).

Günümüzde, EMA dalgalarından kaynaklı olası riskler nedeniyle EMA ölçümünün gerekliliği ortaya çıkmıştır. EMA'nın muhtemel olumsuz etkileri doğrudan hissedilememekle birlikte bu etkilerin uzun zaman sonra birikerek ortaya çıkması söz konusu olabilir. Araştırmacılar bu fikirden yola çıkarak özellikle 900 MHz ve 1800 MHz EMA'nın insan sağlığı üzerine olan olumsuz etkilerine odaklanmıştır (Bas ve ark., 2009a; Duhaini, 2016; Erdem Koç ve ark., 2016). Çünkü cep telefonu iletişimde yaygın olarak 900 ve 1800 MHz radyo dalgası kullanılmaktadır. Bu nedenle cep telefonu kullanımının artışı yoğun bir biçimde EMA etkisine maruz kalınmasına neden olmaktadır (Koyu ve ark., 2005; Panagopoulos ve ark., 2007). Global System for Mobile Communications (GSM) operatörleri çoğunlukla 900 MHz frekansta çalıştığı için bu frekanstaki etkiler yaygın bir biçimde araştırılmaktadır (Koyu ve ark., 2005; Panagopoulos ve ark., 2007). Biz de bu noktadan yola çıkarak, çalışmamızda *Wistar albino* cinsi sıçanlara 900 MHz EMA uyguladık.

Cep telefonu kullanım yaşının düşmesi, EMA'nın ortaya çıkaracağı muhtemel olumsuz etkilerin de gelecekte artarak gözleneceğini düşündürmektedir (Söderqvist ve ark., 2007; Söderqvist ve ark., 2008). Çocuklar için bir oyun aracı olarak görülen cep telefonları, erişkinlere kıyasla çocukluk ve ergenlik döneminde daha fazla kullanılmaktadır. Gerek insan gerekse hayvan çalışmalarında EMA'nın olumsuz etkilere neden olduğunu ortaya koyan çok sayıda çalışma mevcuttur (Bas ve ark., 2009a; Sonmez ve ark., 2010; Erdem Koç ve ark., 2016; Deniz ve ark., 2017a; Deniz ve ark., 2017b). Elde edilen tüm bu bulguların yanısıra EMA'nın biyolojik sistemler üzerinde herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığını ileri süren çalışmalar da bulunmaktadır

(Heredia-Rojas ve ark., 2004; Chung ve ark., 2005; Chater ve ark., 2006). Bu bağlamda, EMA maruziyetinin değişik frekans ve sürelerde çeşitli organizmalarda ve farklı türlerde ortaya koyacağı sonuçlar araştırılmalıdır.

Cep telefonlarının beyne yakın kullanımından dolayı EMA maruziyeti sonrası en çok merkezi sinir sisteminin etkilenmesi olasıdır. Bu etkiler, nörotransmitter salınımı, öğrenme ve bellek fonksiyonu, beyin, beyincik ve bazal gangliyonlarda görülmektedir (Odaci ve ark., 2008; Bas ve ark., 2009a; Bas ve ark., 2009b; Sonmez ve ark., 2010; Bilgici ve ark., 2013; Erdem Koç ve ark., 2016; Deniz ve ark., 2017a). EMA maruziyeti sonrası, oksidatif savunma mekanizmaları zayıflayabilir ve organlarda toksisite oluşabilir. Semptomatik olarak baş ağrısı, yorgunluk, yüksek tansiyon, baş dönmesi ve dikkat dağınıklığı gibi tablolar oluşabilir (Söderqvist ve ark., 2007; Söderqvist ve ark., 2008). Deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalar önemli sonuçlara işaret etse de, EMA'nın insan sağlığı üzerine olan etkileri organizmanın karmaşık yapısından dolayı tam anlamıyla anlaşılammıştır. Yapılan deneysel çalışmaların ileriye yönelik epidemiyolojik verilerle desteklenmesi gerekmektedir.

EMA'nın kognitif fonksiyonları etkilediği, yapılan stereolojik ve elektrofizyolojik çalışmalarla ortaya konmuştur (Odaci ve ark., 2008; Baş ve ark., 2009a; Baş ve ark., 2009b; Şahin ve ark., 2015; Kerimoğlu ve ark., 2016; Razavinasab ve ark., 2016). Bu bağlamda, kognitif fonksiyonlarda meydana gelen nöron hasarına bağlı zayıflamanın birçok nörodejeneratif hastalığı tetikleme riski yadsınamaz (Terzi ve ark., 2016). Özellikle Alzheimer hastalığı günümüzde karşılaşılan en yaygın nörodejeneratif hastalıklar arasındadır. Hastalığın ilerlemesinde ve patogenezinde oksidatif stres mekanizmaları ön plana çıkmaktadır. Bu noktada, redoks reaksiyonu nedeniyle oluşan hidroksil, amiloid beta prekürsör proteininin sentezini indükleyebilir (Stam, 2010). EMA'ya maruziyet hücre içi dengeyi bozabilir ve intraselüler kalsiyum iyon seviyelerinde meydana gelen artış ile amiloid beta üretimi artabilir. Bunun sonucunda, merkezi sinir sisteminde senil plak üretimi meydana gelebilir (Sobel ve Davanipour, 1996). Bu anlamda, çalışmamızda kullandığımız metodlar, EMA'nın öğrenme ve bellek üzerine olan olası etkilerini ortaya koyarken, nöropatolojik değişimlere de işaret etmektedir. EMA, hücre ölümünü uyarır ve embriyonik gelişim sırasında nöronal kök hücrelerin nöronlara farklılaşmasını inhibe eder (Salford ve ark., 2003). Bununla birlikte, EMA'nın nöronal kök hücrelerin çoğalması ve farklılaşması

üzerindeki etkileri tam olarak anlayamamıştır. Bu konu ile ilgili çalışmalar hızla devam etmektedir (Chen ve ark., 2014; Eghlidospour ve ark., 2017).

Güncel çalışmalardan yola çıkarak yaptığımız çalışmamızda, cep telefonlarının yaydığı 900 MHz EMA'nın sıçan hipokampusu üzerine olan olası etkilerine dikkat çekmek amaçlanmıştır. Ayrıca, EMA'ya maruz kalan hipokampal bölgede meydana gelen olası dejeneratif etkiye karşın *Garcinia kola* (GK), *Momordica charantia* (MC) ve timokinon (TİM)'in olası etkileri araştırılmıştır. Çalışmamızda ortaya konulan sonuçlar, prenatal dönemde maruz kalınan EMA'nın yeni doğan hipokampusu üzerine olan etkilerinin tartışılması bakımından da önem taşımaktadır. Ayrıca, cep telefonu kullanımının küçük yaşlara ulaşması nedeniyle ileriye dönük olumsuz etkilerin varlığına dikkat çekmektedir.

Doğu Afrika ve Suudi Arabistan'da yetişen geleneksel bir bitki olan GK; antidiyabetik, antihepatoksik, nörodejeneratif ve yaşlanma karşıtı etkilere sahip oksidatif ve DNA hasarını önleyici rolü olan önemli bir antioksidandır (Penduka ve ark., 2014). TİM; *Nigella sativa* (çörek otu) bitkisinin etken maddesidir. Çörek otu yağının içerisindeki etken maddeler antikanser, antimikrobiyal, immünomodülatör, antioksidan özelliklere sahiptir (Ragheb ve ark., 2009). Benzer şekilde MC'nin de antikanser, antidiyabetik, antiinflamatuvar, antikolesterol ve antiviral etkileri bulunmaktadır. Özellikle mikrobiyal hastalıklar ve menstrual problemlerin tedavisinde (Joseph ve Jini, 2013) ve aynı zamanda reaktif oksijen türlerinden kaynaklı hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır (Lin ve ark., 2011; Shan ve ark., 2012). MC'nin tüm bu etkilerinin yanısıra *in vitro* nöroprotektif etkileri de bulunmaktadır. Beyinde antioksidan homeostasisinin yenilenmesine ve serbest radikallerin temizlenmesine olanak sağlar (Malik ve ark., 2011). Bu bilgiler ışığında; çalışmamızda kullanılan maddelerin, beynin medyal ve temporal lobunda yer alan ve kognitif fonksiyonlarda önemli role sahip hipokampus bölgesindeki nöron popülasyonu üzerine etkisinin stereolojik, davranışsal, biyokimyasal immünohistokimyasal ve histopatolojik analizlerle incelenmesinin literature önemli katkı sağlayacağı kanısındayız. Elde edilen stereolojik bulgular, öğrenme-hafıza ve lokomotor aktivite ile ilgili davranış testleri ile de desteklenmiştir. Bu kapsamda, cep telefonlarının yaydığı EMA'ya maruziyetin öğrenme ve hafıza üzerindeki etkisi ve olası nöroprotektif maddelerin muhtemel etkileri geniş bir perspektifte ele alınmıştır. EMA maruziyeti sonrası ortaya çıkan oksidatif stresin

gruplara göre etkileri ise incelenen serum örneklerinde spektrofotometrik analizler yapılarak saptanmıştır.

Son yıllarda, EMA maruziyetinin beyindeki etkilerine ilişkin yapılan deneysel çalışmaların bir çoğu bilişsel fonksiyonlar üzerinde yoğunlaşmıştır (Odacı ve ark., 2008; Şahin ve ark., 2015; Kerimoğlu ve ark., 2016). EMA'nın erişkin hipokampusu üzerine olan etkilerinin yanısıra prenatal dönemde maruziyetin yol açtığı sonuçları içeren çalışmalar da son yıllarda oldukça önem kazanmıştır (Odacı ve ark., 2008; Erdem Koç ve ark., 2016). EMA'nın prenatal ve postnatal dönemde hipokampal bölgede farkedilebilir bir nöron kaybına yol açtığı farklı araştırmacılar tarafından ortaya konulmuştur (Baş ve ark., 2009a; Baş ve ark., 2009b; Erdem Koç ve ark., 2016). Bu kayıp, bazı çalışmalarda elektrofizyolojik ölçümler ile de desteklenmiştir (Razavinasab ve ark., 2016). Bu bağlamda, ortaya konulan sonuçlar muhtemel etkileri daha iyi anlamaya yönelik bir farkındalık yaratmaktadır. Çalışmamızda, 900 MHz EMA'nın öğrenme üzerine etkileri metodolojik açıdan kapsamlı bir şekilde ele alınıp birçok soruya cevap bulsa da, beraberinde yeni soruları da ortaya koymaktadır. GK, MC ve TİM'in, EMA maruziyeti sonrası nöron sayısı üzerine olan nöroprotektif etkilerinin nöron sağkalımı mı yoksa nörogenesis yönünde mi olduğu cevaplanması gereken başlıca sorudur.

Sonuç olarak, özellikle cep telefonu gibi mobil cihazların yaydığı 900 ya da 1800 MHz lik EMA merkezi sinir sistemini etkileyerek öğrenme ve hafıza, motor koordinasyon, emosyonel fonksiyon gibi bir takım beyin faaliyetlerini olumsuz etkileyebileceği düşünülmektedir. Gelecekte, daha detaylı elektronik donanıma sahip modellerle farklı frekanslardaki EMA'nın insan beyni üzerine etkileri araştırılarak, elde edilen sonuçlarla tartışmalar detaylandırılabilir. Bununla ilgili olarak çalışmamız, yeni moleküler çalışmalara zemin hazırlamakta ve EMA'nın nöronal düzeydeki etkilerine ilişkin yeni fikirlerin çıkış noktası niteliği taşımaktadır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Elektriksel Alan

Maddenin ana niteliklerinden biri olan elektrik yüklü elektronların bir yerden bir yere göç etmesi veya birikmesi, elektriksel alan olgusunun temelini oluşturur. Negatif yüklü elektronlar ve pozitif yüklü protonlar bu alanın içerisinde bulunan en küçük taşıyıcı parçacıklardır (Hayt ve Buck, 2006). Bir elektrik alanını temsil eden bir elektrik yükü, E vektörü ile gösterilir ve bu ifade bir elektrik yükünün başka bir yük üzerine itme ya da çekme kuvvetini temsil eder. E vektörü doğrusal olarak eksi yüke doğru yönelmiştir. Artı yük ise radyal olarak yükten dışarı doğru uzanmaktadır. R kadar uzaklığa sahip olan bir artı birim yük, belli bir kuvvet ve ivme ile hareket eder (Siingha ve ark., 2005). Elektrik alan vektörü, elektrik alan çizgilerini oluşturarak çizgilerin yönünü belirler. Birbiri ile kesişmeyen elektrik alan çizgileri, artı kutuptan eksi kutba doğru yönelir. Birbiri ile kesişmemesinin yanısıra birbirlerini bükler. Metre başına düşen gerilim (Volt/metre) ile elektrik alan şiddeti ölçülür ve bu şiddet kaynaktan uzaklaştığı sürece hızla azalır (Siingha ve ark., 2005; Zhdanov, 2009).

### 2.2. Manyetik Alan

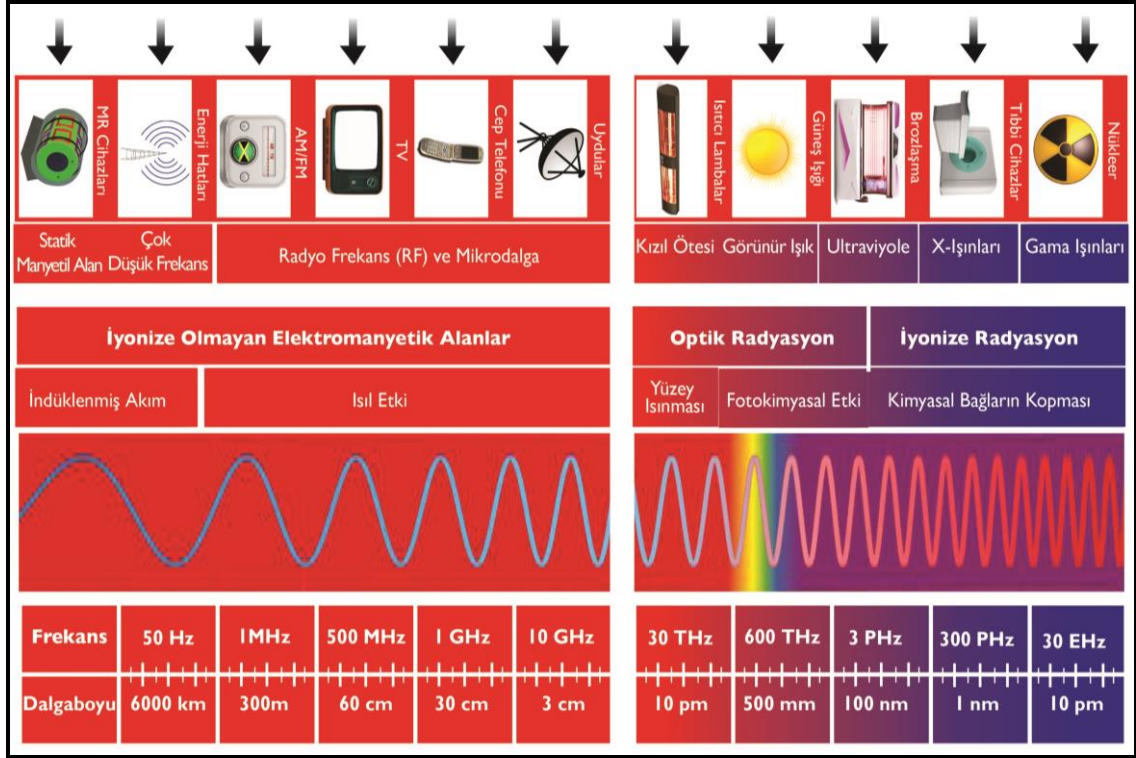
Manyetik alan durağan yüklerin değil hareketli yüklerin oluşturmuş olduğu bir alan olup atomların içindeki elektronların çekirdek etrafında ve kendi ekseninde dönmeleri sonucu oluşur. Manyetik alan gözle görülemez de etkileri hissedilebilir. Ayrıca, etkileri teknolojinin gelişmesi ile birlikte artan ve vektörel bir büyüklük olan bu alanın ölçülebilmesi mümkün kılınmış olup ölçü birimi Tesla (T) ile ifade edilmiştir (Siingha ve ark., 2005; Funk ve ark., 2009). Bunun yanısıra, gauss ve milligauss ifadeleri de, büyüklük alanının gücü ve birim sistemine bağlı olarak kullanılır (Siingha ve ark., 2005). Yüklerin hareket yönüne dik olan manyetik alan vektörü B ile simgelenir. Ancak elektrik alan gibi bir yükte başlayıp diğer bir yükte sonlanmazlar. Ters yönde uzanan ve birbirleri ile kesişmeyen alan çizleri kendi üzerine kapanan eğriler oluşturur.

Çevrede bulunan tüm maddeler zayıf ya da güçlü bir manyetik alana sahiptir. Dolayısıyla, tabiatın bir parçası olan insanın da bir manyetik alanı mevcuttur (Siingha ve ark., 2005; Funk ve ark., 2009). Bioelektrik yüklerin hareketi ile birlikte insan vücudunda bir manyetik alan meydana gelir. Biot-Savar teorisine göre hareketli elektrik

yükleri manyetik alan tarafından oluşturulur. Kalp, sinir ve kas dokusu gibi insanın temel dokularının sahip olduğu manyetik sinyaller ile buldukları çevreye ait manyetik alan uyum içerisindedir (Hayt ve Buck, 2006).

### **2.3. Elektromanyetik Alan Oluşumu ve Genel Özellikleri**

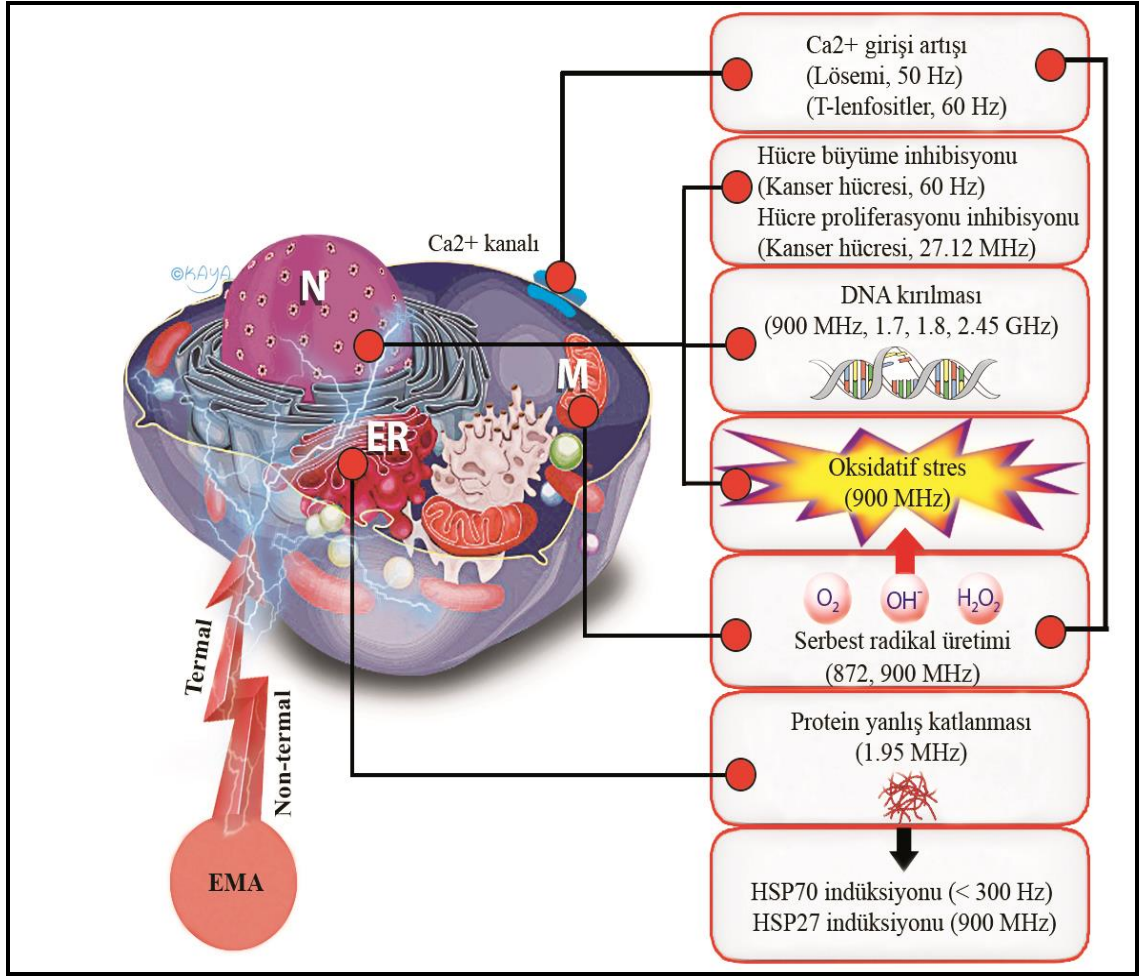
Manyetik alan ve elektrik alan kavramları yüklerin durmasına ya da hareket etmesine bağlı olarak değişkenlik gösterir. Manyetik alan doğrusal hareket eden yükler tarafından oluşturulurken elektrik alan ise duran yüklerin oluşturduğu bir alanı temsil eder. Faraday ve Maxwell'in görüşüne göre, bir manyetik alanın zaman içerisinde bir elektrik alan oluşturabilirken, zamana bağlı olarak bir elektrik alan da bir manyetik alan oluşturabilir. Bu kapsamda, EMA'nın manyetik alan ve elektrik alanın birleşmiş hali olduğu gerçeği ön plana çıkmaktadır. Bir başka tanımla, EMA, bu alanın elektrik yüklü hareketli taneciklerin bir güç etkisinde kalması ve atomun içerisinde bulunan elektronların kendi ve çekirdek etrafında dönmesi ile oluşur (Behari, 1999; Hayt ve Buck, 2006). Bunun yanısıra, uzayda veya bir ortamda yayılan EMA ve manyetik alan dalgalarına elektromanyetik dalga (EMD) adı verilir. EMD'ler en yüksek frekansta en büyük enerjiyi içerir. EMD'nin şekli EMA'nın özelliklerini etkiler. Frekanslarına göre çeşitli EMD'lerden söz edilebilir. Buna "elektromanyetik spektrum" adı verilir. Bu spektrumda iyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan iki çeşit elektromanyetik ışımdan söz edilir (Ahlbom ve ark., 2004). Morötesi, radyo dalgaları, X, kızıl ötesi, gama, kozmik dalgalar ve mikrodalga EMD kapsamında değerlendirilir. Teknolojinin gelişimi ile birlikte günlük hayatın bir parçası olan kablosuz iletişim araçları da EMD yayar (Behari, 1999) (Şekil 1). Radyo dalgaları, görünür ışınlar, infrared ve lazer ışınlar, mikro dalgalar ve ultraviyole gibi iyonlaştırıcı olmayan ışımlar hücrenin molekülleri arasında bulunan atomik bağı yıkabilecek güce sahip olmayan fotonların oluşturduğu EMD sınıfında iken (Vijayalaxmi, 2016; Repacholi, 2017) iyonlaştırıcı elektromanyetik ışımlar ise elektronların atomlardan ayrılmasına yol açan foton enerjisine sahip EMD sınıfındadır. Oldukça yüksek frekansa sahiptirler. Nötron, proton, alfa, beta, X ve gama ışınları gibi yüksek dozdaki iyonlaştırıcı ışımlar hücre organellerine zarar vererek, DNA zincirinin bozulmasına neden olur (Feinendegen ve Cuttler, 2018).



**Şekil 1.** İyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon kaynaklarının frekanslara göre dağılımını gösteren elektromanyetik spektrumu (Gangwar ve Chishti, 2014'den uyarlanmıştır)

EMD, dokular üzerinde termal ve termal olmayan olmak üzere iki temel etki gösterir. Yüksek frekanslı EMD ısıya bağlı olarak doku üzerinde bir zarar verirken düşük frekanslı EMD etkisi dokuda kendini kimyasal (termal olmayan) olarak gösterir (Foster, 2000) (Şekil 2). Termal etkiler EMD enerjisinin soğurulmasıyla ısıya dönüşmesi sonucunda oluşurken birçok biyolojik değişikliği de tetikler. EMD'nin manyetik ve elektrik alan vektörü biyolojik doku içerisindeki yüklü moleküllere bir kuvvet uygulayarak moleküllerin hareket etmesine neden olur. Bu hareket sonrasında, meydana gelen kuvvetin sürekli yer değiştirmesi doku içerisinde bir sürtünmeye yol açar ve ısı açığa çıkar. Doku, sıcaklık dengesini sağlayıncaya kadar açığa çıkan ısı devam eder. Bu ısının uzaklaştırılmasında kan dolaşımının rolü vardır (Foster, 2000; Rothman, 2000). Isı artışına bağlı olmadan gerçekleşen termal olmayan etkiler ise EMD'nin doğrudan doku üzerine olan etkisi olarak tanımlar. Termal olmayan EMD'nin insan organizması üzerine etkilerinin ortaya konulduğu mekanizmalar tam anlamıyla anlaşılmasa da cep telefonlarının DNA, beyin, duyu sistemi ve enzim sistemi üzerine olası etkilerini inceleyen epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar devam etmektedir

(Bilgici ve ark., 2013; Erdem Koç ve ark., 2016; Razavinasab ve ark., 2016; Deniz ve ark., 2017a; Mortazavi ve ark., 2017; Su ve ark., 2018).



Şekil 2. EMA'nın hücresel düzeydeki etkileri (Gye ve Park, 2012'dan uyarlanmıştır). N; nükleus, ER; endoplazmik retikulum, M; mitokondri

### 2.3.1. Özgül Soğurma Hızı

EMA'nın sağlık üzerine etkisinin tespit edilmesinde özgül soğurma hızı (ÖSH)'in ölçülmesi oldukça önemlidir. ÖSH, elektromanyetik enerjinin vücut dokuları tarafından soğurulma hızını temsil eder ve bu hız vücut sıcaklığının 1°C artışı durumunda bir kilogram doku başına 4 W güç soğurulmasını gösterir. Birimi ise W/kg olarak ifade edilir. İnsanların genel yaşam ortamında sınır değer 0,08 W/kg olarak kabul edilmiştir. Vücudun bir kısmının maruz kalması durumunda ise ısı transferi sonucu sıcaklık artışı azalacağından ÖSH değerinin üst sınırı 6 dakika boyunca 10 gr doku için 2 W/kg olarak belirlenmiştir. Bu durumda, ÖSH'in üst sınırı "Peak ÖSH" değeri olarak

ifade edilir (Bernardi ve ark., 2003). ÖSH'in direkt ölçümü mümkün olmasa da sınır değerlerin belirlenmesinde kolay ölçülebilen güç yoğunluğu, elektrik alan şiddeti ve manyetik alan şiddeti gibi parametreler kullanılır.

Elektromanyetik enerji miktarı, kaynağın çıkış gücü, kaynağa olan uzaklık ve yayılım ortamı gibi değişkenlere bağlı olarak farklılık gösterir. Bu bağlamda, International Non-Ionising Radiation Committee (INIRC) ve International Radiation Protection Association (IRPA) insan sağlığı hususunda EMA ile ilgili limitleri belirleyen en önemli kuruluşlardır. Bu kuruluşlar tarafından, insanda ortalama vücut sıcaklığını 1°C arttıran elektromanyetik enerjinin soğurulması sonucunda kan dolaşımında ortaya çıkan 4 W/kg değeri sınır değer olarak kabul edilmiştir. Bu sınır değere göre dokuların absorbe edebileceği en yüksek EMA gücü kg başına 4 W'dır (Bernardi ve ark., 2003; Hadjem ve ark., 2005). Yapılan çalışmalarda bu değer; kaynağa olan uzaklık, maruziyet yaşı gibi değişkenlerden etkilendiği ortaya konulmuştur. Kaynağa ne kadar yakın olunursa absorbe edilen ÖSH değeri o derecede artar (Aboul Ez ve ark., 2013; Kim ve ark., 2017).

ÖSH değeri, dokunun içerisindeki elektrik alan şiddetinin ölçülmesi ile saptanabilir. Ancak bu ölçüm ancak tıbbi deneklerle sağlanabilir. Bu nedenle ÖSH ölçümü, insanın elektromanyetik özelliklerini simule eden tuzlu su ya da çeşitli kimyasal jellerle yapılan robotlar üzerinde yapılabilir. Bununla birlikte bu ölçümler, sayısal tekniklerle oluşturulan bilgisayar simülasyonu üzerinde de yapılabilir. Bilgisayar modellemeli bu yöntem ÖSH değerini ölçmeye ilişkin bir çok çalışmada kullanılmıştır (Panagopoulos ve ark., 2013; Ghazali ve ark., 2016).

### **2.3.2. Elektromanyetik Alanın Canlılar Üzerine Olan Biyolojik Etkileri**

Yaşanılan çevrede doğal ortamda bulunan düşük seviyedeki EMA'ya karşın insan vücudu herhangi bir savunma mekanizması geliştirmemiştir (Yasser et al., 2001; Ozguner ve ark., 2005). EMA ve dalgalar, çeşitli şiddet ve güçlerde canlı üzerinde çeşitli etkilere yol açar (Ikehara ve ark., 1998; Burchard ve ark., 1999). Bu etkiler bilimsel literatürde yer alan birçok çalışmada EMA'nın vücut ağırlığı, organ histolojisi ve morfolojisi, kan elektrolit düzeyleri, hematolojik ve biyokimyasal parametreler, hormon seviyeleri üzerine olan etkileri şeklinde karşımıza çıkmaktadır (Yasser ve ark., 2001; Ozguner ve ark., 2005). EMA'nın canlılar üzerine olumsuz etkilerinden söz eden çalışmaların yanısıra (Deniz ve ark., 2017a; Deniz ve ark., 2017b; Mortazavi ve ark.,

2017; Su ve ark., 2018) terapötik etkilerinin altını çizen araştırmalar da bulunmaktadır (Galloni ve ark., 2005; Galloni ve ark., 2009; Valentini ve ark., 2011). şüphesizki, EMA'nın olumlu ve olumsuz etkilerinin şekillenmesinde frekansının etkisi yadsınamaz. Bunun yanısıra çalışmalardaki metodolojik yaklaşımların farklılık ihtiva etmesi, ayrıca kullanılan istatistiksel yöntemler ve öne çıkarılan kriterlerin farklılığı EMA'nın olumlu ve olumsuz etkilerinin ortaya çıkmasında rol oynayabilir (Valentini ve ark., 2011).

Teknolojinin gelişimi ile birlikte yaşamı kolaylaştıran birçok alet EMA'ya maruziyeti günden güne artırmaktadır. Bu durum, EMA'nın canlı üzerindeki etkilerini araştırma ihtiyacını doğurmuştur. Epidemiyolojik alışmalar, yüksek gerilim hatlarının kanser insidansını arttırdığını ortaya koymuştur (Saffer ve Thurstan, 1995; Moulder ve Foster, 1999; Minder ve Pfluger 2001). Bunun yanısıra EMD'nin hücrel etkileri genetik yapı ve gelişme siklusları üzerinde ortaya çıkar. Yapılan çalışmalarda kromozom ve kromatin iplikleri üzerindeki değişiklikler dikkat çekmiştir. Bu noktada, EMA maruziyetinin sıçanlarda oksidatif strese neden olarak DNA hasarı ve peroksidasyona neden olduğu ortaya konulmuştur (Yokus ve ark., 2005; Duan ve ark., 2015).

EMA'nın hücrel düzeyde meydana getirdiği değişiklikler organ ve sistemleri de etkilemektedir. EMA'nın hücrel etkilerinin beyin dokusunu etkilediği çalışmaların yanısıra genital sistem üzerindeki etkileri de testislerin morfolojisi üzerinde kendini göstermiştir. Bu durum özellikle seminifer tübül genişliği, germinal epitel yüksekliğindeki azalma, tübüler hacimdeki azalma şeklinde belirtilmiştir (Çetkin ve ark., 2017). 1 sa'lik maruziyet sonrası genital sistemde hücrel düzeyde meydana gelen etkiler, DNA oksidasyonu sonucunda sperm motilitesi ve canlılığının azalması şeklinde gözlemlenmiştir (Odacı ve ark., 2016). Bilimsel literatürde testis morfolojisinin yanısıra ovaryumda meydana gelen değişikliklerden de söz edilmektedir (Okatan ve ark. (2018). Bu bağlamda, granüloza hücrelerinde şişme, teka ve zona granüloza tabakalarında incelme, mitotik aktivitede azalma gibi histopatolojik bulgular EMA maruziyeti sonrası bildirilmiştir. Okatan ve ark. (2018) tarafından yapılan bu çalışmada ayrıca EMA'nın sekonder folikül sayısı üzerine etkisi kaydedilmiştir. Süperoksit dismutaz, katalaz gibi biyokimyasal parametreler incelenerek oksidatif stresin varlığı ortaya konulmuş olup bu etki sonrasında EMA'ya maruz kalan grupta sekonder folikül sayısında azalma olduğu

bildirilmiştir. Anti-müllerian hormon düzeylerinin de kontrol grubuna kıyasla EMA maruziyet grubunda arttığı bildirilmiştir (Okatan ve ark., 2018).

EMA, immün sistem üzerinde de önemli etkilere yol açmıştır. 30 gün boyunca günde 1 ve 2 sa maruz kalan gruplarda immünglobulin (Ig)G, IgA, IgE, IgM düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla bir azalma olduğu gözlemlenmiş, bununla birlikte monosit ve lenfosit sayılarında anlamlı artış kaydedilmiştir (El-Gohary ve Said, 2017). Başka bir çalışmada ise EMA'nın sıçan timus ve dalak dokularında patolojik değişimlere yol açtığı bildirilmiştir (Hancı ve ark., 2015).

EMA'nın üriner sistem üzerine etkileri araştırıldığında ise 1 sa'lik maruziyetin böbrekte; distal ve proksimal dilatasyon, vakuolizasyon, glomerüllerde dejenerasyon gibi patolojilere yol açtığı izlenmiştir. Ayrıca, mesane dokusuna ait değişici epitelde dejenerasyon ve stromal düzensizlik meydana geldiği gözlenmiştir (Türedi ve ark., 2017). 900 MHz EMA'nın üriner sistem üzerine prenatal etkileri incelendiğinde total böbrek hacminde artma görülürken glomerül sayısında azalma saptanmıştır (Ulubay ve ark., 2015).

EMA'nın prenatal ve postnatal etkileri incelendiğinde, kardiyovasküler sistem üzerine yapılan deneysel çalışmalar kalp kası liflerinde düzensizlik olduğuna işaret etmiş, hücresel düzeyde apoptotik etkiler saptanmıştır. Elektron mikroskopik incelemede miyofibriller dejenerasyona mitokondride krista kaybı ve Z bantlarındaki yapısal bozukluklar eşlik etmiştir (Türedi ve ark., 2015; Kerimoğlu ve ark., 2016).

EMA'nın organ ve sistemler üzerine etkisi incelendiğinde, araştırmacılar özellikle sinir sistemi üzerine olan etkilerine odaklanmıştır. Cep telefonlarının beyne yakın kullanımı nedeniyle EMA maruziyetinin, merkezi sinir sistemi üzerindeki etkisi oldukça önemlidir. Düşük frekanslı EMA'ya maruz bırakılan sıçanların beyin dokularında lipid peroksidasyonunun arttığı ve bunun sonucunda frontal korteksteki olumsuz etkilerin meydana geldiği bildirilmiştir (Jelencovic ve ark., 2006). Postnatal dönemde ise uzun süreli EMA etkisi, dişi sıçanların beyinciğinde Purkinje hücre kaybına yol açtığı ortaya konulmuştur (Sonmez ve ark., 2010).

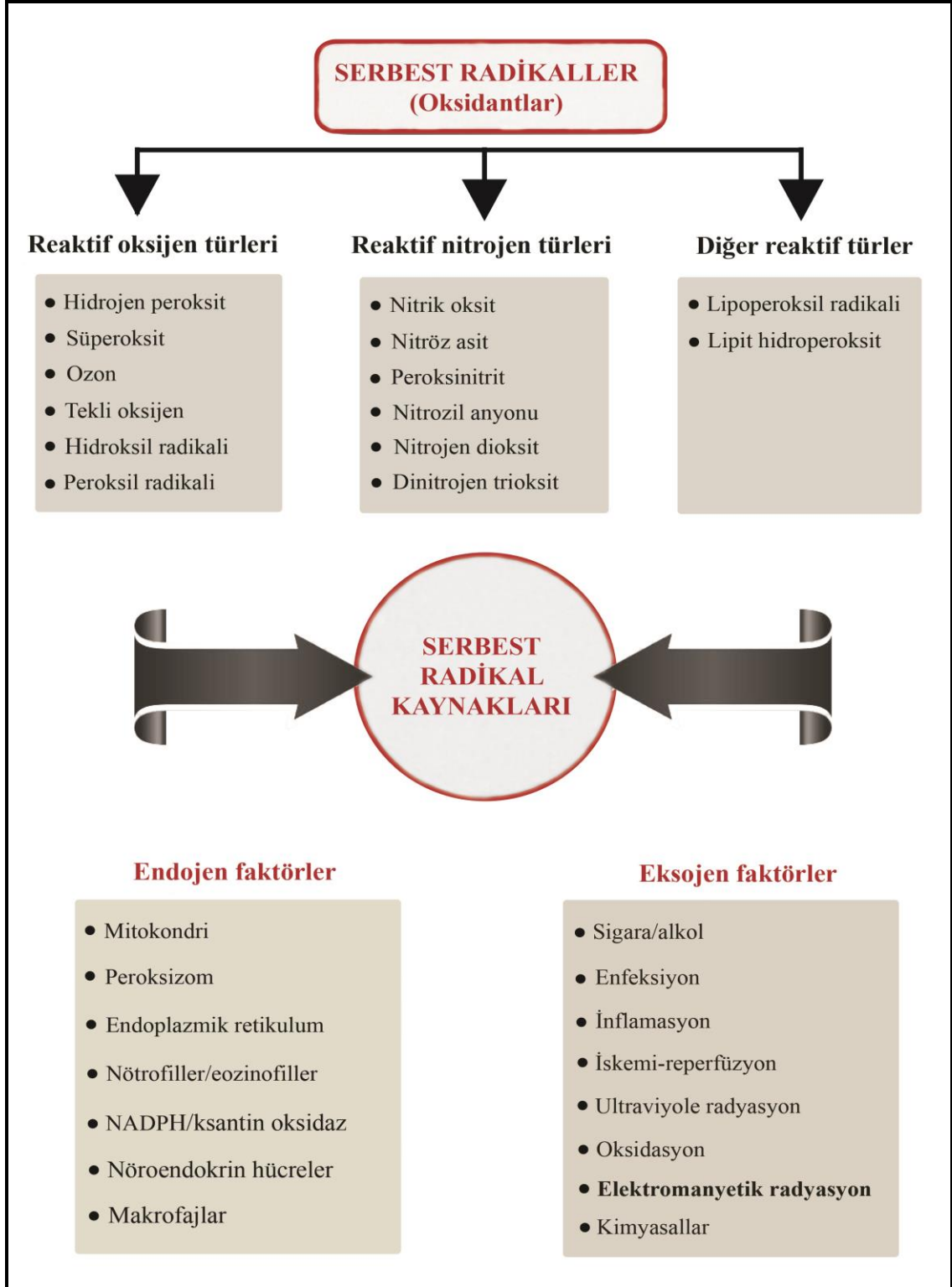
Günlük yaşantının bir parçası haline gelen cep telefonlarının yaydığı EMA'nın etkisine maruz kalmamız kaçınılmazdır. Literatürde bulunan sonuçlar birbiri ile çelişse de baş bölgesine yakın kullanımı nedeniyle cep telefonlarının merkezi sinir sistemine olan etkisi yukarıda da bahsedildiği gibi yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Cep

telefonlarının yaydığı EMA, canlı organizmalar üzerine olan etkileri nedeniyle araştırmacılar için odak noktası olmuştur. Cep telefonu ile ilişkili teknolojik gelişimler beraberinde ekonomiye önemli katkı sağlamaktadır. Bu hususta uluslararası boyutta faaliyet gösteren uluslararası şirketlerin yapılan çalışmalar üzerindeki etkisi büyüktür. Bu nedenle çalışmaların detaylı bir şekilde planlanması, uygun istatistiksel analizlerin yapılması ve tamamen kör çalışma olarak analiz edilmesi ön görölmektedir. Ayrıca yapılan deneysel çalışmaların ileriye yönelik olarak epidemiyolojik çalışmalarla desteklenmesi EMA etkisinin kalıcı hasara neden olup olmadığı noktasını aydınlatacağı kanısındayız (Valentini ve ark., 2011).

#### **2.4. Elektromanyetik Alanın Canlılar Üzerindeki Olası Etki Mekanizmaları**

EMA'ya maruz kalan dokularda, direk olarak ya da ortaya çıkan serbest radikallerin hücrede etkileşimi sonucunda olumsuz etki meydana gelmektedir (Moustafta ve ark., 2001). Yörüngelerinde bir veya daha çok sayıda eşleşmemiş elektron taşıyan serbest radikaller, metabolik faaliyetlerin yan ürünü olarak ortaya çıkmasının yanısıra EMA, ısı, intoksikasyon gibi çevresel toksik faktörlerin oksijeni, süperoksit, hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) gibi radikallere dönüştürebilen serbest radikal kaynaklarının etkisi sonucunda da oluşabilmektedir (Fang, 2002; Hanukoglu, 2006; Arı ve ark., 2012) (Şekil 3). EMA'nın termal olmayan etkileri, serbest radikal üretimine yol açarken, hücresel düzeyde buna bağlı olarak çeşitli değişikliklere neden olduğu bildirilmektedir (Fang, 2002). Kimyasal reaksiyona giren serbest radikaller tepkimeye girdiği maddeden bir bağ kopararak elektron kazanır ve tepkimeye girdikleri maddeyi de serbest radikal şekline dönüştürürler (Lander, 1997).

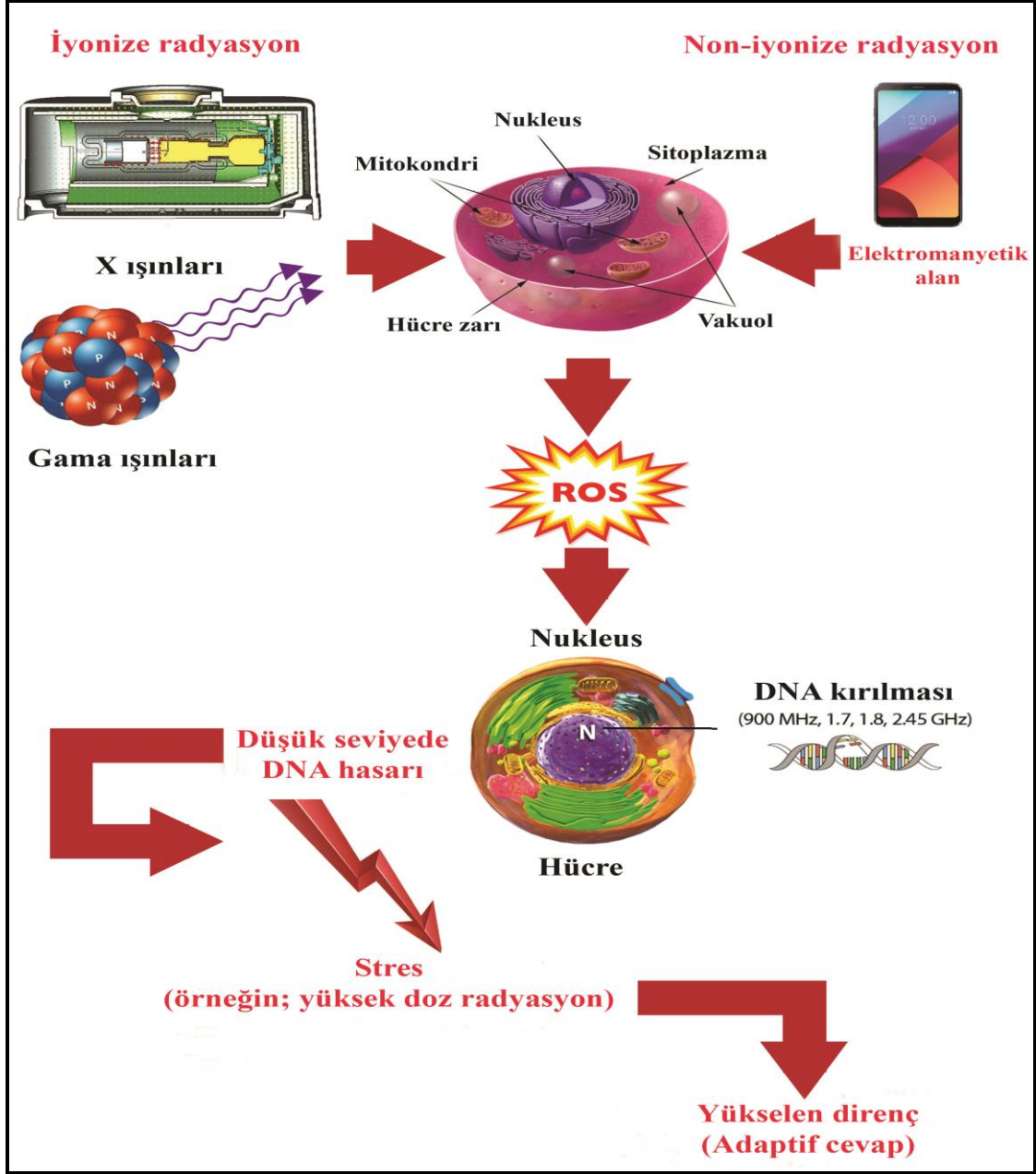




**Şekil 3.** Serbest radikal çeşitleri ve kaynakları (Bisht ve Dada, 2017'dan uyarlanmıştır)

EMA, serbest radikallerin dokudaki yoğunluğunu artırarak oluşturduğu oksidatif stres ile biyokimyasal tepkimeler meydana getirir. Oksidatif stres ile birlikte değişen

reaksiyonlar sonucu meydana gelen hücre hasarı organizma tarafından tolere edilebilse de protein ve DNA yapısında çeşitli dejenerasyonlar meydana gelir (Florence, 1995) (Şekil 4).



**Şekil 4.** İyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan EMA maruziyeti nedeniyle meydana gelen oksidatif strese karşı hücrede meydana gelen adaptif mekanizma. Adaptif mekanizma, EMA maruziyeti sonrasında oluşan hasarın derecesine karşı dejeneratif etkileri minimize ederek organizmayı koruyarak direnç gösterir (Mortazavi ve ark., 2016'dan uyarlanmıştır)

Bazı oksijen radikalleri, membran içerisinde kolaylıkla hareket edebildikleri için bir takım oksidatif reaksiyonlara yol açarak membran akışkanlığının bozulmasına yol açar. Ayrıca membran permeabilitesinde de artışa neden oldukları bildirilmiştir. Bu etkiler sonucunda, hücre yaşlanması ve ölümü meydana gelir (Dröge, 2002). Hücre membranı serbest radikallerin bu etkilerine karşın yüksek düzeyde duyarlılığa sahiptir. Serbest radikallerin organizmada oluşum hızı ile bu radikallerin organizmadan temizlenme hızı arasındaki oksidatif denge bozulduğunda ortaya “oksidatif stres” meydana gelir (Hanukoglu, 2006). Bir anlamda, oksijen kullanımına bağlı olarak prooksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması ile oksidatif stres oluşur (Kopani ve ark., 2006; Zablocka ve Janusz, 2008). Bu dengenin bozulmasında hidroksil radikali, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gibi reaktif oksijen türlerinin artması veya bu reaktif ajanlara karşın oluşan savunmadaki bir azalmadan söz edilebilir (McCord, 2000). Oksidatif stresin organizmada herhangi bir denge bozukluğuna yol açmaması durumunda, olumsuz bir etki meydana gelmez. Bununla birlikte, antioksidanların yetersizliği ve oksidan maddelerin artışı durumunda metabolizma işleyişi bozulur ve birçok dokuda moleküler düzeyde dejenerasyon meydana gelir (Halliwell, 1994).

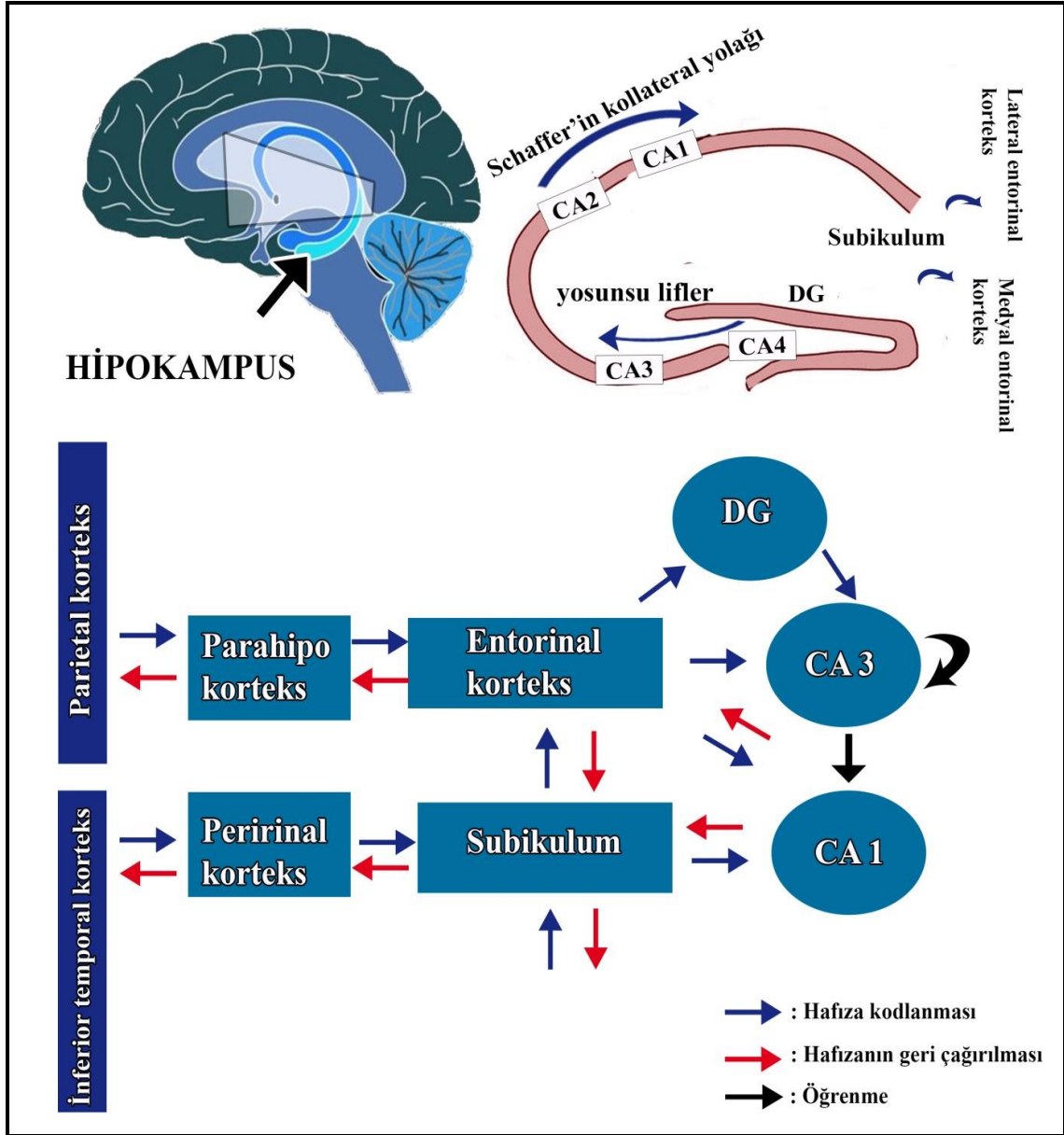
Canlı organizmalarda karbonhidrat, lipid ve DNA gibi maddelerin oksidasyonunu engelleyen antioksidan savunma sistemleri bulunmaktadır (Borek, 2004). Bu bağlamda, hücre ve dokular H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, süperoksit ve hidroksil radikallerine karşın enzimatik savunma sistemi geliştirerek serbest radikallerin etkilerini nötralize eden antioksidan sistemlere sahiptir. Antioksidanlar, serbest radikal oluşumunu önlemesinin yanısıra neoplastik süreçleri de inhibe ederler (Rikans ve Hornbrook, 1997; Deniz ve ark., 2017a). Antioksidanlar, endojen ve eksojen kaynaklı olmak üzere ikiye ayrılır (Deniz ve ark., 2017a). Hücrede, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT), tioredoksin (TPX), peroksiredoksin (PRX) gibi antioksidan enzimler bulunur. GST, ksenobiyotik ürünlerin glutatyona indüklenmesini sağlar. SOD, süperoksit radikalini hidrojen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye dönüştüren tepkimeyi katalizlerken, CAT, GSH-Px, PRX ve TPX ise H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi suya katalizler (Yu ve Huang, 2015).

Sonuç olarak, antioksidanlar serbest radikal üretimini engelleyerek etkilerini ortaya koyarlar. Aynı zamanda serbest radikal oluşumunu indükleyen ROS'u da etkisiz hale getirirler. Bu sayede, meydana gelen hücre hasar onarılır.

## 2.5. Hipokampus Yapısı ve Fonksiyonları

Beynin kıvrılmış bir gri cevher parçası olan, 5-8 cm uzunluğundaki hipokampus, temporal korteksin lateral ventrikülünün alt boynuzunun tabanı boyunca C harfi şeklinde uzanır. Ayrıca filogenetik olarak beynin en eski bölümlerinden birisidir (Isaacson, 2002; Hussein ve George, 2009). Cornu ammonis (CA) adını dış yüzünün koç boynuzuna benzemesi nedeniyle almıştır. Şeklinin denizatına benzemesi nedeniyle, “at” anlamına gelen hippos, “deniz” anlamına gelen kampos isimlerinin birleşmesi ile hipokampus adını almıştır. CA1, CA2 ve CA3 hipokampusu oluşturan ana yapılarıdır (Amaral ve Insausti, 1990).

Çevreden gelen duysal uyarılar, hipokampusun bir kısmını aktive ederek, sinyallerin limbik sistemin diğer kısımlarına iletilmesine neden olur. Bunun sonucunda uygun davranış modelleri oluşturur (Isaacson, 2002; Wixted ve ark., 2014). Hipokampus, bilginin depolanması ve kısa süreli bellekten uzun süreli aktarılmasının yanısıra retiküler aktivitenin ve duygulanım durumunun düzenlenmesi ve yön bulmada önemli role sahiptir (Isaacson, 2002). Hipokampusun bilişsel aktivite üzerine olan rolünden ötürü, beynin bu bölgesinde meydana gelecek olan herhangi bir hasar bellek fonksiyonunda önemli bozukluklara yol açabilir (Isaacson, 2002; Wixted ve ark., 2014). Limbik sistemin önemli bir ögesi olan hipokampal formasyon; subikular kompleks, entorinal korteks, CA1, CA2, CA3 ve CA4 bölgeleri ve dentat giristan oluşmaktadır (Amaral ve Insausti, 1990) (Şekil 5). Hipokampusun bir diğer bölgesi olan dentat girus ise U şeklinde bir alandır (Sadler, 1990).



**Şekil 5.** Hipokampal formasyonu oluşturan yapılar. DG; dentat girus, CA; cornu ammonis (Kang ve ark., 2015'dan uyarlanmıştır)

### 2.5.1. Hipokampus Embriyolojisi

Koroid fissür kavisinin dış parçasından gelişen hipokampusun gelişimi nöral progenitör hücrelerin göç etmesi ve çoğalması ile başlar (Sadler 1990; Collins, 1995). Temporal lobun medial yüzeyinde, gestasyonel yaşamın 13 ve 14. haftalarında hipokampal fissür ile çevrili henüz katlanmamış bir yapı vardır. Bunu takiben, dentat girusun ve CA'nın katlanması 15. ve 16. haftalarda başlasa da hipokampal sulkus açık kalmıştır. CA1, CA2 ve CA3 alanları çizgisel olarak seyretmektedir (Isaacson, 2002).

18. ve 20. haftalarda fetal hipokampus, erişkin hipokampusu gibi görünür (Sadler, 1990). Embriyonel hayatta kalınlaşan hemisfer duvarının yanısıra, ventrikülün medial kenarına doğru meydana gelen çıkıntı hipokampusu oluşturur (Collins, 1995). Ayrıca 11-19. embriyonik günlerde, hipokampusun CA bölgesinde bulunan piramidal nöronların çoğu gelişirken, 17. embriyonal günden başlayarak postnatal dönem boyunca, dentat girus bölgesinde bulunan granüler nöronların gelişimi devam eder (Gokcimen ve ark., 2007).

### **2.5.2. Hipokampus Anatomisi**

Hipokampusu, tüm ventriküler yüzeyi kendi hücrelerinin aksonlarıyla oluşturmuş olan “alveus” tabakası örter. Alveustan gelip fimbriyaya dâhil olan lifler, miyelinli liflerden oluşan fornixin başlangıcını oluşturur. Medialde alveus lifleri birbirine yaklaşır ve ön ucu gyri hippocampinin beyaz cevherinde sonlanan, “fimbria hippocampi” yi meydana getirir ve arka ucu alveus ile birlikte crus fornicis’i meydana getirir. CA olarak da adlandırılan hipokampus, hücresel düzeydeki değişikliklerden ötürü CA1, CA2, CA3 ve CA4 olarak 4 farklı alana ayrılmıştır (Barr ve Klernam, 1988; Amaral ve Insausti, 1990). CA2 büyük piramidal nöronların dizilimi ile oluşturmuş bir bölge olup histolojik kesitlerde bir bant biçiminde gözlenir. Dağınık dizilimli piramidal nöronlara sahip CA3 bölgesi, CA1 bölgesine Schaffer kollateral lifleri ile bağlanmıştır. Ayrıca, CA1 bölgesine gelen bilgilerin bir kısmı entorinal korteksten gelir. Bu bağlamda, CA1 bölgesi CA3 ve entorinal korteksten gelen bilgileri karşılaştırarak herhangi bir uyumsuzluk olup olmadığını kontrol eder (Amaral ve Insausti, 1990; Tien ve ark., 1992). Uzaysal öğrenme ve bellek için önemli olan CA1 subikuluma, CA4 ise dentat girusa yakın olan bölgelerdir. CA3 ile dentat girus arasında yer alan CA4 bölgesi ise dentat girusun hilusu olarak bilinmektedir (Williams, 1995). Bu bölgedeki nöronlar CA3 bölgesi ve entorinal korteksten bilgileri alır. CA1 ve CA3 arasındaki güçlü bağlantı referans hafızada oldukça önemlidir. Hipokampal formasyonun en gelişmiş bölgesi hipoksik hasara duyarlıdır (Amaral ve Insausti, 1990). Bununla birlikte, CA2 ve CA3 bölgeleri ise hipoksik hasara dirençli bir bölgedir (Amaral ve Insausti, 1990; Tien ve ark., 1992). CA1 ve CA3’deki nöron sayıları adölesan dönemden sonra artar. Bu durum, adölesan dönemde uzaysal öğrenme ve bellek gelişiminin bir kanıtıdır (Suzuki ve ark., 2005).

Hipokampus, posterior serebral arter ve buradan çıkan dallar ile beslenir. Arteriyel yönden oldukça zengindir (Erdem ve ark., 1993). CA1 ve CA2 bölgeleri geniş ventral intrahipokampal arterler ile beslenirken, CA3 ve CA4 bölgeleri, küçük ventral intrahipokampal arterler ile beslenir (Erdem ve ark., 1993; Tatu ve Vuillier, 2014). Ayrıca, dentat girusun distal kısmı ventral hipokampal arterin dalları tarafından beslenir. Öte yandan, hipokampus venöz drenajı, subependimal intrahipokampal ve sulkal venlerin süperfisyel hipokampal venlere drene olmasıyla gerçekleşir. Bu venler tarafından oluşan 2 adet venöz ark, önde inferior ventriküler ven aracılığı ile arkada ise medial atrial ven ile bazal vene drene olur (Tatu ve Vuillier, 2014).

### **2.5.3. Hipokampus Histolojisi**

Hipokampusun histolojik yapısı incelendiğinde aselüler olan apikal seviyede; stratum lakünozum, stratum radiatum, stratum lusidumdan oluşurken granüler hücrelerin bulunduğu bazal seviyede; alveus, stratum pyramidalis ve stratum oriens oluştuğu ortaya konmuştur (Ahmed ve Mehta, 2009). Beynin filogenetik olarak en eski bölgesi olan hipotalamusta ve beynin diğer bölgelerinde yoğun bir nöral ağ bulunmaktadır. En derinde yer alan tabaka olan alveus, ventrikül yüzeyine yakın lokalizedir ve subikulum ile hipokampusu ait piramidal nöronların aksonlarını içerir. Fimbria/fornikse uzanan aksonlar alveus bölgesinden geçer (Barry ve ark., 1995). Ayrıca, subkortikal alandan gelen alveus lifleri hipokampusu geçerek CA1 bölgesi ve subikulumun iç tabakasına uzanırlar. Piramidal nöronların bazal dendritleri ile internöronların yer aldığı bir tabaka olan stratum oriens'te yer alan birçok nöronun aksonu alveus liflerine katılır. Diğer aksonlar ise stratum molekülare'ye kadar uzanmaktadır (Barry ve ark., 1995). Piramidal ve golgi tip II hücrelerinin çoğunlukta bulunduğu stratum pyramidalis kısmında piramidal hücrelerin gövdeleri bulunur. Piramidal hücrelerin tabanları ise hipokampusun ventriküler yüzeyine yöneliktir. Bazal ve apikal dendritleri hipokampusun en ince tabakalarından biri olan stratum lusidum'a uzanırken, aksonları stratum oriens'ten geçerek alveus liflerine katılır. Hipokampusu asıl şeklini veren stratum pyramidalis tabakasında bulunan piramidal nöronların dizilim şeklidir. Stratum pyramidalis tabakasında, birçok internöronun gövdesi ve yosunsu (mossy) lifler ile yapılan sinapslar bulunmaktadır (Raisman ve ark., 1965). Hücresel yönden yoğun olan stratum lusidum'da motor tip piramidal nöronlar çoğunlukta bulunur ve bu tabaka sadece CA3 bölgesinde bulunmaktadır. Ayrıca bu tabakada, dentat

girustaki granüler hücreler ile CA3 bölgesinde bulunan piramidal nöronlar arasında bağlantı sağlayan beyindeki en gelişmiş ağ olan yosunsu (mossy) lifler bulunur. Bu lifler, CA1 ve CA2 bölgelerinde bulunmaz (Barry ve ark., 1995). Stratum radiatum, komissural ve septal lifler ile Schaffer kollateral liflerini içerir. Ayrıca bu tabakanın yüzeyinde bazı internöronlar da bulunur (Raisman ve ark., 1965). İnce bir tabaka olan stratum lakünozum genellikle en yüzeysel tabaka olan stratum molekülare ile birlikte anılır ve Schaffer kollateral liflerini içerir. Ayrıca, bu tabakada, süperfisyal tabakadan entorinal kortekse uzanan lifler de bulunmaktadır (Raisman ve ark., 1965; Carpenter ve Sutin, 1983). Stratum molekülare'de ise piramidal nöronların apikal dentritik uzantıları ve perforan lifler bulunur (Raisman ve ark., 1965; Barry ve ark., 1995).

Hipokampal bölge içerdiği nöron tipleri ve bulundurduğu nöronal ağ yoğunluğu nedeniyle en çok araştırma yapılan bölgedir (Bas ve ark., 2009a, Bas ve ark., 2009b; Erdem Koç ve ark., 2016; Deniz ve ark., 2017a). Hipokampusun histolojisi, anatomisi ve fonksiyonları ile ilgili kapsamlı bir bilgiye ulaşmak mümkün olsa da bu konudaki çalışmalar artan bir ivme ile araştırılmakta ve güncellenmektedir.

## **2.6. *Momordica charantia* (Kudret narı)**

Antik çağlardan bu yana birçok bitki çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Günümüzde de bu alternatif yöntemler geçerliliğini korumaktadır. Buna bağlı olarak sanayi gün geçtikte hızla büyümektedir. Bu nedenle bu konuda geniş sayıda bilimsel araştırma yapılmaktadır (Grover ve Yadav, 2004). Bu tür bitkilerden biri olan ve tedavi seçeneği olarak düşünülen kabakgiller (Cucurbitaceae) familyasına ait MC, ince ve tırmanıcı bir bitkidir ve Çin, Malaya, Hindistan, Tropikal Afrika, Orta Doğu, Tayland ve Amerika gibi tropikal bölgelerde yetişir (Taylor, 2002; Grover ve Yadav, 2004; Panda ve ark., 2015). Triterpen, protein, steroid, lipit, fenolik bileşikler ve lipit içeren MC; kabızlık, diyabet, ateş, iltihap ve deri hastalıklarında terapötik olarak kullanılmaktadır (Grover ve Yadav, 2004). Yapılan deneysel çalışmalarda, MC'nin oksidatif strese karşı doğal bir antioksidan olduğu gösterilmiştir (Liu ve ark., 2010; Lin ve ark., 2011; Thenmozhi ve Subramanian, 2011).

Hipoglisemik etkisi de kanıtlanan MC'nin olgun meyveleri ülser ve yara iyileşmesi tedavisinde etkin olarak kullanılmaktadır (Garau ve ark., 2003; Grover ve Yadav, 2004; Kumar ve ark., 2010). MC'nin insan ve hayvan çalışmalarında hipoglisemik etkisini araştıran çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Joseph ve Jini, 2013;



Habicht ve ark., 2014; Castellanos-Campos ve ark., 2016; Mahmoud ve ark., 2017; Mahvish ve ark., 2017; Cortez-Navarrete ve ark., 2018; Han ve ark., 2018). Bu antioksidan madde hipoglisemik etkilerini bağırsaklardan glukoz emilimini engelleyerek, periferde ve iskelet kasında glukoz kullanımı uyararak veya pankreasın  $\beta$  hücrelerinden insülin salınımını uyararak gerçekleştirebilir (Joseph ve Jini, 2013). MC'nin yapısında bulunan lektin insülin benzeri aktiviteye sahiptir. Periferal dokulara etki ederek iştahı baskılar ve kan glukoz düzeyini düşürür. Lektinin bioaktif özelliği, 2 insülin benzeri reseptörün bir arada olmasından kaynaklanır (Virdia ve ark., 2003; Shetty ve ark., 2005; Kumar ve ark., 2010).

Asya ülkelerinde MC; kızamık, hepatit ve parazitlerin tedavisinde kullanılmaktadır (Jagessar ve ark., 2008). Bununla ilgili olarak bu bitkinin tohumları, karaciğer ve dalak hastalıkları ile diyabet, yüksek kolesterol ve bağırsak hastalıklarının tedavisinde kullanılır (Kumar ve ark., 2010; Gupta ve ark., 2011). Ayrıca; romatizma, septik şişlikler ve mide ağrısının tedavisinde MC'nin kökleri kullanılır (Gupta ve ark., 2011). Tüm bu etkilerin yanısıra lenfoma, meme kanseri, lenfoid lösemi, cilt ve prostat kanseri gibi tümörlerin tedavisinde MC antikanser özellik gösterir (Jia ve ark., 2017).

MC'nin yapısında bulunan momordin, alfa ve beta momorcharin, cucurbitacin B sitotoksik etkiye sahiptir (Grover ve Yadav, 2004). Bu konu ile ilgili *in vitro* çalışmalar, HIV, herpes, Epstein-Barr gibi virüslere karşı alfa ve beta momorcharin olarak bilinen proteinleri sayesinde antiviral etkisini ortaya koyar (Huang, 1990; Puri ve ark., 2009; Johnsona ve ark., 2011). Özellikle momordin, *in vivo* olarak Hodgkin lenfomanın tedavisinde sitotoksik etki gösterir (Terenzi ve ark., 1996). Öte yandan, bitkide bulunan diğer fitokimyasalların meme tümörü ve prostat karsinomunu bloke ettiği deneysel çalışmalarda bildirilmiştir (Cunnick ve ark., 1990). Bununla birlikte, interlökin-7'nin bağırsak salgısını azaltması, lenfosit sayısını düşürmesi ve doğal öldürücü hücre popülasyonunu artırmasıyla kanser hastalıklarında bağışıklık yanıtını oluşturarak antikanser etki yaratabilir (Anilakumar ve ark., 2015). Antiviral etkilerinin yanısıra, salmonella, pseudomonas, *Helicobacter pylori*, staphylococcus, *Escherichia coli*, streptobacillus gibi bakterilere karşı antibakteriyel etki gösterir (Costa ve ark., 2010). Mantar türlerine karşı ise etanolik meyvesi ve tohum ekstraktlarının orta derecede etkili olduğu bildirilmiştir (Santos ve ark., 2012).

MC'nin güçlü bir antioksidan olması dışında potansiyel nöroprotektif etkilere de sahip olduğu bilinmektedir. Bu noktada, serebral iskemi-reperfüzyon sonrası meydana gelen nöronal hasara karşı beyinde antioksidan dengesini yenileyerek serbest radikallerin temizlenmesine yardım eder (Malik ve ark., 2011). Farmakolojik ve biyolojik özellikleri sebebiyle terapötik açıdan önemli olan MC doza bağlı farklılıklar nedeniyle akut ve kronik toksisite gösterebilir (Jia ve ark., 2017).

## 2.7. Çörek Otu (*Nigella sativa*)

Akdeniz ülkeleri başta olmak üzere çoğu ülkede ve Türkiye'de yaygın olarak bulunan ve TİM, antosiyaninler, alkaloidler gibi kimyasallar içeren çörek otu (*Nigella sativa*) Ranunculaceae (dügün çiçeğigiller) familyasına aittir (Paarakh, 2010; Desai ve ark., 2015). Antikanserojen, antiülserojen, antidiyabetik, antibakteriyel ve immünolojik etkiye sahip olan çörek otu geleneksel olarak yanıklar, deri enfeksiyonları, astım, öksürük, diyabet ve eklem ağrısı gibi rahatsızlıklar için terapötik etkiye sahip olabilir (Khan, 1999; Ahmad ve ark., 2013). Bununla birlikte, *Nigella sativa*'nın biyoaktivitesi özellikle içerdiği TİM (C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>) maddesinden ileri gelmektedir (Bourgou ve ark., 2010). TİM'in sağlık üzerine olan etkileri birçok araştırmacı tarafından çalışılmıştır (Woo ve ark., 2012; Darakhshan ve ark., 2015).

### 2.7.1. Timokinon

Koyu sarı renkte kristallere sahip olan monoterpen kinon yapısındaki TİM, çörek otunun temel biyoaktif bileşenidir. Antimikrobiyal, antifungal, antioksidan, antidiyabetik, antiinflamatuvar etkilerinin yanı sıra kardiyoprotektif, hepatoprotektif ve gastroprotektif etkileri de yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Fararh ve ark., 2005; El-Aarag ve ark., 2017; Darakhshan ve ark., 2015). TİM üzerine yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar, süperoksit radikali, hidroksil radikali gibi oksijen radikallerini temizleyici özellikte olduğunu göstermiştir (Kruk ve ark., 2000; Badary ve ark., 2003; Gökce ve ark., 2016; Gülşen ve ark., 2016). Bahsedilen tüm bu etkilerin, TİM'in antioksidan etkinliğinin bir sonucu olarak ortaya çıktığı öne sürülmektedir (Ismail ve ark., 2010). Antioksidan aktiviteyi gösteren temel mekanizma, 5-lipoksijenaz sentezinin inhibisyonu yolu ile gerçekleşmektedir (Badary ve ark., 2003). Bu antioksidatif etkiyi göstermede, DNA hasarını gösteren 8-OHdG, malonildialdehid düzeyi (MDA), CAT,

SOD, GSH-Px gibi hücre içi antioksidan etkiyi gösteren biyokimyasal parametrelerin kullanılması dikkat çekmektedir (Sheikh ve ark., 2012; Silachev ve ark., 2015).

TİM'in, özellikle hipoglisemik etkileri üzerine literatürde birçok deneysel çalışma bulunmaktadır (Hawsawi ve ark 2001, El-Mahmoudy ve ark 2005; Bamosa ve ark., 2015). TİM'in insülin sekresyonunda artışa yol açarak, glikoneogenezi engelleyerek kan glukoz seviyesinde düşüşe neden olduğu belirtilmiş olsa da henüz insülin üzerindeki etkisini hangi moleküler mekanizmalarla ortaya koyduğu tam anlamıyla bilinmemektedir (Fararh ve ark., 2005; Pari ve Sankaranarayanan, 2009). TİM'in sahip olduğu antioksidan özellik, diyabetten kaynaklanan oksidatif stresin azaltılmasında rol alır. Ayrıca TİM, pankreastaki  $\beta$ -hücre bütünlüğünün korunmasında etkili olduğu için diyabette klinik bir öneme sahiptir (Kanter, 2009).

TİM; pankreas kanseri, göğüs kanseri, lösemi, prostat kanseri ve yumurtalık kanseri gibi birçok kanser tipi üzerinde gen mutasyonlarını inhibe ederek antitümoral etki göstermektedir (Brown ve ark., 2014; Dirican ve ark., 2014; Harpole ve ark., 2014; Azimi ve ark., 2015; Dehghani ve ark., 2015). Bu antioksidan madde özellikle G1/S fazı üzerinde etki göstererek ve kaspaz enzim yolunu aktive ederek antikanser özelliğini ortaya koymaktadır (Raghuandhakumar ve ark., 2013; Alhazmi ve ark., 2014).

İnflamasyon; lipooksijenaz (LO) ve siklooksijenaz (COX) enzimleri tarafından düzenlenmektedir. COX yolağında sentezlenen prostaglandinler (PG) ve LO yolağında sentezlenen lökotrienler alerji ve inflamasyonda rol oynar. Bu bağlamda, TİM antiinflamatuvar etkisini, araşidonik asit metabolizmasındaki LO ve COX enzimlerini inhibe ederek gösterir (El Mezayen ve ark., 2006; Shaterzadeh-Yazdi ve ark., 2018). Bu nedenle, COX ve LO inhibisyonu, TİM'in antiinflamatuvar etkinliğindeki kilit noktadır (Mansour ve Tornhamre, 2004).

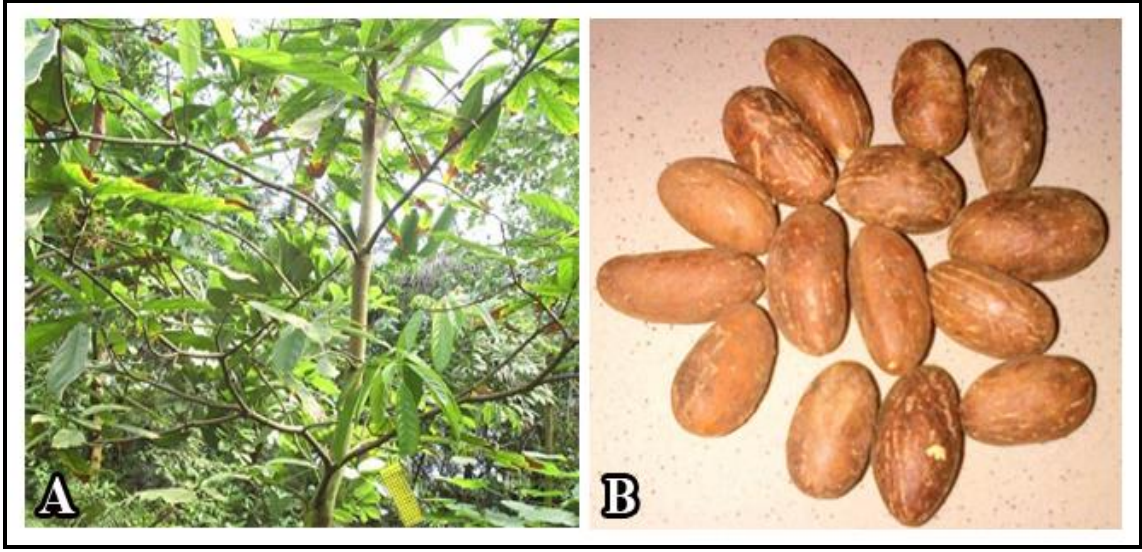
TİM'in antibakteriyel etkileri incelendiğinde, özellikle, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Typhimurium* ve *Shigella flexneri* suşları üzerindeki etkinliği kanıtlanmıştır. Bununla birlikte, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* suşlarını da inhibe ettiği gösterilmiştir (Kapil ve ark., 2015). TİM'in antibakteriyel etkinliğinin yanısıra plazma membranına bağlı enzimlere ve polipeptidlere bağlanabilme özelliği sebebiyle antifungal etkisi de bildirilmiştir (Taha ve ark., 2010).

TİM'in sıçanlarda LD50 miktarı; intraperitoneal uygulamalarda 57,5 mg/kg, oral uygulamalarda ise 2,4 g/kg olarak kaydedilmesine karşın, yukarıda bahsedilen antioksidan, antibakteriyel, antikanser, antiinflamatuvar özelliğinin yanısıra TİM'in toksisitesine ilişkin literatürde yeterli bilgi bulunmamaktadır (Al-Ali ve ark., 2008). Bu anlamda, *Nigella sativa*'nın tıpta yaygın kullanımı nedeniyle bu maddenin antioksidan ve toksik etkisine ilişkin doz araştırmalarının detaylı olarak yapılması metabolik yolların anlaşılabilmesi adına önemlidir.

### **2.8. *Garcinia kola* (Acı kola)**

Orta ve Batı Afrika'da yetişen, Guttiferae familyasına ait GK genişliği 1,5 m, yüksekliği ise 12-15 m olan dikotiledon bir bitkidir. Güney Nijerya'da yağmur ormanı kuşağında belirgin olarak bulunur. Tohumlarının sahip olduğu acı tat nedeniyle Nijerya'da "acı kola" ismi ile de anılır. Kolaviron garcinia, biflavonoid-1a-glukozit, kuercetin, kumarin, garnikoik asit, benzofenon, ksanon gibi maddeler GK'nın ana kimyasal içeriğini oluşturur (Yakubu ve Quadri, 2012; Buba ve ark., 2016) (Şekil 6).

Flavonoidlerin antiinflamatuvar etkileri, oksidatif hasar ve iltihap tarafından tetiklenen böylece oksidatif hasara karşı koruma sağlayan bir protein olan Nrf2'yi aktive etme yetenekleri ile ortaya çıkar (González-Gallego ve ark., 2007). Bu noktada, içerisinde biflavonoid grubunda yer alan kolaviron adlı bileşiğin analjezik ve anti-enflamatuvar özellikleri farelerde araştırılmış ve sonuçta zayıf analjezik fakat çok güçlü bir anti-enflamatuvar aktivite sergilediği bulunmuştur (Olaleye ve ark., 2000). Bunun bir sonucu olarak, GK'nın tohumu bir biflavonoid olan kolaviron bileşiğini içermesi nedeniyle antilipidemik, antidiyabetik ve anti-aterojenik etkiler gösterir. Bu bağlamda, koroner kalp hastalıklarının tedavisinde önemli bir seçenektir (Udenze ve ark., 2012). Kolaviron, aynı zamanda hiperglisemide kan şekerini düşürücü etki göstermektedir (Adaramoye ve Adeyemi, 2006). Benzer şekilde kuercetin, yüksek glikoz kaynaklı hasara karşı önleyici etki göstermektedir (Zhao ve ark., 2014). Bunun yanısıra GK; antibakteriyel, antidiyabetik, antioksidatif ve antiinflamatuvar etkilere sahip olduğundan öksürük, baş ağrısı, sarılık, bronşit, dizanteri gibi hastalıkların tedavisinde kullanılır (Ekene ve Erhirhie, 2014; Buba ve ark., 2016).



Şekil 6. GK bitkisi (A) ve tohumları (B) (Ekene ve Erhirhie, 2014; Adedara ve ark., 2015'dan uyarlanmıştır)

GK'nın tohumlarının, *Plesiomonas shigelloides*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium* gibi bakteri suşlarına karşı antibakteriyel etki gösterdiği bildirilmiştir (Adegboye ve ark., 2008; Seanego ve Ndip, 2012). Ayrıca, bitkinin kabuğundan, tohumundan ve kökünden elde edilen ekstraktlar *Plasmodium falciparum* isimli parazitin büyümesini engellediğini ortaya koymuştur (Tona ve ark., 1999). Bununla birlikte, Influenza A, HIV-1, Ebola, *Venezuelan equine encephalomyelitis* gibi virüslerin tedavisinde GK'ya ait tohumların etkili olduğu bildirilmiştir (Buba ve ark., 2016).

Diyabet, kanser, artrit gibi hastalıkların patogeneğinde reaktif oksijen radikallerinin rolü büyüktür. Bununla ilgili olarak, reaktif oksijen radikallerini temizlemede rol alan antioksidanların bu hastalıkların tedavisindeki etkinliği yadsınamaz (Borek, 2004). Bu anlamda, GK'nın kimyasal içeriğinde bulunan flavonoidler, C vitamini ve fenolik asit gibi kimyasallar karaciğer, beyin ve böbrek gibi organlarda oksidatif stres sonucu meydana gelen hasarın onarımında rol alabilirler (Ogunmoyole ve ark., 2012; Oloyede ve ark., 2013). Bu bilgiler ışığında, GK'nın antifungal, antihipertansif, hipolipidemik ve antikanserojenik etkileri içerdiği kimyasalların özellikleri ile açıklanabilir (Buba ve ark., 2016). Bununla birlikte bilimsel literatür incelendiğinde, GK'nın nöroprotektif etkinliğine ilişkin yeterli bilgiye ulaşılamamaktadır. Ayrıca sahip olduğu çeşitli fitokimyasallar sebebiyle, GK'nın

antioksidan özelliğini değişik hayvan modelleri üzerinde ve çeşitli dozlarda açıklayabilen moleküler çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu bağlamda, GK ile ilgili terapötik etkilerin varlığı araştırılmalı ve literatüre bu anlamda katkı sağlanmalıdır.

### 3. MATERYAL ve METOT

#### 3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızın deneysel kısmı, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'ndan 27/12/2013 tarih ve 2013/65 sayılı etik kurul onayı alınarak ve deney hayvanlarının refahı göz önünde bulundurularak Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Havanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır. 8-10 haftalık, 200-250 gr ağırlığındaki *Wistar albino* cinsi sıçanların bakımı ve beslenmesi bu merkezde yapılmış olup hayvanlara standart sıçan yemi ve yeteri kadar musluk suyu verilmiştir. Sıçanlar, oda sıcaklığı  $22\pm 2$  °C olan, % 40-50 neme sahip, 12 sa'lik aydınlık-karanlık siklusu bulunan bir ortamda muhafaza edilmiştir (Şekil 7).

Deneysel kısım tamamlandıktan sonra; biyokimyasal ve immünohistokimyasal değerlendirmeler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda, davranış testleri Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda, stereolojik analizler ise Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı ve Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.



Şekil 7. Çalışmaya ait *Wistar albino* türü sıçanlar

### 3.2. Hayvan Gruplarının Oluşturulması

Çalışmamızda 42 adet *Wistar albino* türü erişkin dişi sıçanlar rastgele seçilerek her grupta 3 dişi sıçan olacak şekilde 14 grup oluşturuldu:

1. **Grup:** Saf kontrol grubu (n:3)
2. **Grup:** Sham (1 sa) grubu (n:3)
3. **Grup:** Sham (2 sa) grubu (n:3)
4. **Grup:** EMA (1 sa) grubu (n:3)
5. **Grup:** EMA (2 sa) grubu (n:3)
6. **Grup:** EMA (1 sa)+GK grubu (n:3)
7. **Grup:** EMA (2 sa)+GK grubu (n:3)
8. **Grup:** EMA (1 sa)+MC grubu (n:3)
9. **Grup:** EMA (2 sa)+MC grubu (n:3)
10. **Grup:** EMA (1 sa)+TİM grubu (n:3)
11. **Grup:** EMA (2 sa)+TİM grubu (n:3)
12. **Grup:** GK grubu (n:3)
13. **Grup:** MC grubu (n:3)
14. **Grup:** TİM grubu (n:3)

Deney süreci öncesinde, her grupta yer alan dişi sıçanlar erkek sıçanlarla birlikte ayrı kafeslerde çiftleşmeye bırakılmıştır. Ertesi gün dişi sıçanlardan vajinal yayma örneği alınmış olup lamda sperm varlığı tespit edilenlerin gebeliğin 0. gününde olduğu kabul edilmiştir. 21 günün sonunda doğan yavruya herhangi bir işlem yapılmaksızın 28 gün boyunca uygun koşullarda yaşamaları sağlanmıştır. Doğumdan 28 gün sonra her bir anne sıçanın rastgele iki erkek yavrusu alınmıştır. Böylece, başlangıçta her grupta 3 gebe sıçan olduğundan ve her bir anne sıçanın iki erkek yavrusunun alınmasından dolayı her grupta 6 yavru hayvan bulunacak şekilde aşağıdaki gruplar oluşturulmuştur:



### **1. Grup: Saf kontrol grubu**

Bu grupta yer alan sıçanlar gebelikleri süresince herhangi bir işleme tabi tutulmamış olup standart topak yem ile beslenmiştir ve içme suyu olarak musluk suyu verilmiştir.

### **2. Grup: Sham (1 sa) grubu**

Bu grupta yer alan sıçanlar hergün 08:00-09:00 saatleri arasında 21 gün boyunca günde 1 sa olmak üzere özel bir EMA düzeneği içerisine belli bir stres yaşatmak için yerleştirilmiş ancak EMA maruziyetine tabi tutulmamışlardır. Deney süresince standart topak yem ve musluk suyu ile beslenmişlerdir.

### **3. Grup: Sham (2 sa) grubu**

Bu grupta yer alan sıçanlar her gün 08:00-09:00 saatleri arasında 21 gün boyunca günde 2 sa olmak üzere özel bir EMA düzeneği içerisine yerleştirilmiş ancak EMA maruziyetine tabi tutulmamışlardır. Deney boyunca sıçanların standart topak yem ve musluk suyu ile beslenmeleri sağlanmıştır.

### **4. Grup: EMA (1 sa) grubu**

EMA maruziyetini sağlamak için içerisine en fazla 16 sıçanın yerleştirilebileceği büyüklükte ve yüksekliği 20 cm, yarıçapı 25 cm olan polikarbonattan yapılmış özel bir düzenek kullanılmıştır (Şekil 8). Bu grupta yer alan sıçanlar bu düzenek içerisinde 900 MHz EMA'ya eşit uzaklıkta olup her gün 10:00-11:00 saatleri arasında, 21 gün boyunca günde 1 sa (Bas ve ark., 2009b; Erdem Koç ve ark., 2016) manyetik alana maruz bırakılmışlardır. Deney boyunca sıçanların standart topak yem ve musluk suyu ile beslenmeleri sağlanmıştır.

### **5. Grup: EMA (2 sa) grubu**

Bu grupta yer alan sıçanlar belirtilen özel düzenek içerisinde 900 MHz EMA (Erdem Koç ve ark., 2016)'ya 21 gün boyunca günde 2 sa (Cinar ve ark., 2013; Son ve ark., 2015) 15:00-17:00 saatleri arasında maruz bırakılmıştır. Deney boyunca standart topak yem ve musluk suyu ile beslenmişlerdir.

### **6. Grup: EMA (1 sa)+GK grubu**

Sıçanlar deney boyunca standart topak yem ve musluk suyu ile beslenmişlerdir. Herbir sıçana 09:00-10:00 saatleri arasında 200 mg/kg GK (Akpantah ve ark., 2005) gavaj ile verilmiştir. GK tohumları, Nijerya'dan doğrulatarak güvenilir bir şekilde getirilmiştir. Ardından taze GK tohumları dilimlenip hava ile kurutulmuş, elektrikli bir

karıştırıcı ile toz haline getirilerek kullanılacağı zamana kadar steril plastik bir kap içinde saklanmıştır. GK'nın (200 mg/kg) stok çözeltisi her gün belli miktardaki GK'nın belli orandaki distile su ile çözülmesi ile taze olarak hazırlanmıştır (Yakubu ve Quadri, 2012; Adedara ve ark., 2015). GK gavaj ile sıçanlara verildikten sonra, bu grupta yer alan sıçanlar belirtilen özel düzenek içerisinde 900 MHz EMA'ya her gün 10:00-11:00 saatleri arasında günde 1 sa olmak üzere 21 gün boyunca maruz bırakılmışlardır.

#### **7. Grup: EMA (2 sa)+GK grubu**

Her bir sıçana 14:00-15:00 saatleri arasında 21 gün boyunca 200 mg/kg GK gavaj ile verilmiştir. Daha sonra bu grupta yer alan sıçanlar belirtilen özel düzenek içerisinde 900 MHz EMA'ya her gün 15:00-17:00 saatleri arasında günde 2 sa olmak üzere 21 gün boyunca maruz bırakılmışlardır. Sıçanlar deney sürecince standart topak yem ve musluk suyu ile beslenmişlerdir.

#### **8. Grup: EMA (1 sa)+MC grubu**

Deney sürecince sıçanlar standart topak yem ve musluk suyu ile beslenmişlerdir. Her bir sıçana her gün 10:00-11:00 saatleri arasında 20 mg/kg MC (Virdi ve ark., 2003) gavaj ile verilmiştir. MC özütü için, olgun MC meyveleri Samsun ili Çarşamba ilçesinde bir meyve bahçesinden satın alınarak meyve türü Ondokuz Mayıs Üniversitesi Botanik Enstitüsü'ne tanımlattırılmıştır. Daha sonra belli miktardaki MC meyvesi belli orandaki zeytinyağına eklenmiş ve 30 gün bekletilmiştir. 30 günün sonunda MC meyvelerinin zeytinyağı içinde tam olarak çözüldüğü görülmüştür. Elde edilen solüsyon ince elekten süzülerek santrifüj edilmiş, santrifüj sonrası yağ kısmı ayrılarak kullanıma hazır hale getirilmiştir (Pişkin ve ark., 2014). MC gavaj ile sıçanlara verildikten sonra, bu grupta yer alan sıçanlar belirtilen özel düzenek içerisinde 900 MHz EMA'ya hergün 11:00-12:00 saatleri arasında günde 1 sa olmak üzere 21 gün boyunca maruz bırakılmışlardır.

#### **9. Grup: EMA (2 sa)+MC grubu**

Her bir sıçana her gün 12:00-13:00 saatleri arasında 20 mg/kg MC gavaj ile verilmiştir. Sonrasında bu grupta yer alan sıçanlar belirtilen özel düzenek içerisinde 900 MHz EMA'ya her gün 13:00-15:00 saatleri arasında günde 2 sa olmak üzere 21 gün boyunca tabi tutulmuştur. Sıçanlar deney boyunca standart topak yem ve musluk suyu ile beslenmişlerdir.

#### **10. Grup: EMA (1 sa)+TİM grubu**

Sıçanlar deney süresince standart topak yem ve musluk suyu ile beslenmişlerdir. Her bir sıçana her gün 10:00-11:00 saatleri arasında 10 mg/kg TİM (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) gavaj ile verilmiştir (Hosseinzadeh ve ark., 2007). Sonrasında bu grupta yer alan sıçanlar belirtilen özel düzenek içerisinde 900 MHz EMA'ya her gün 11:00-12:00 saatleri arasında günde 1 sa olmak üzere 21 gün boyunca maruz bırakılmışlardır.

#### **11. Grup: EMA (2 sa)+TİM grubu**

Her bir sıçana her gün 12:00-13:00 saatleri arasında 10 mg/kg TİM gavaj ile verilmiştir. Daha sonra bu grupta yer alan sıçanlar, belirtilen özel düzenek içerisinde 900 MHz EMA'ya her gün 13:00-15:00 saatleri arasında günde 2 sa olmak üzere 21 gün boyunca maruz bırakılmışlardır. Sıçanlar deney süresince standart topak yem ve musluk suyu ile beslenmişlerdir.

#### **12. Grup: GK grubu**

Sıçanlar, deney süresince standart topak yem ve musluk suyu ile beslenmişlerdir. Her bir sıçana her gün 10:00-11:00 saatleri arasında 200 mg/kg GK gavaj ile verilmiştir.

#### **13. Grup: MC grubu**

Her bir sıçana her gün 10:00-11:00 saatleri arasında 20 mg/kg MC gavaj ile verilmiştir. Sıçanlar deney sürecince standart topak yem ve musluk suyu ile beslenmişlerdir.

#### **14. Grup: TİM grubu**

Sıçanlar deney sürecince standart topak yem ve musluk suyu ile beslenmişlerdir. Her bir sıçana her gün 10:00-11:00 saatleri arasında 10 mg/kg TİM gavaj ile verilmiştir.

Grupların oluşturulması ve deney süresinin tamamlanmasından sonra 28 günlük olan yavru sıçanlara pasif sakinme ve lokomotor aktivite testleri uygulanmıştır. Davranış testlerinin tamamlanmasının ardından deney süresi bitiminde tüm sıçanlar, intraperitoneal ketamin (10 mg/100 mg vücut ağırlığına, Ketazol®, Richter pharma, Wels, Avusturya) ve prilokain hidroklorür (0,25 mg/100 mg vücut ağırlığına, Citanest®, AstraZeneca, İstanbul) karışımı uygulaması ile genel anestezi altına alınmıştır. Anestezi altında sıçanlara kardiyak perfüzyon yapılarak ardından beyin dokuları çıkarılmıştır.



Şekil 8. 900 MHz EMA maruziyet deney düzeneği

### 3.3. Deney Düzeneği ve Elektromanyetik Alana Maruziyet

Çalışmamızda, ilgili gruplardaki sıçanlara EMA uygulanabilmesi için, EMA kaynağı olarak 900-1800 MHz frekansta çalışabilen, 2 watt çıkışlı sinyal jeneratörü (Microwave Test Transmitter, Set Electronic Ltd, Türkiye), polikarbonattan yapılmış 16 bölmeli yuvarlak bir kafes, elektromanyetik dalgalar yayabilen monopol bir anten ve elektrik alan yoğunluğunu ölçmek için kullanılan bir EMA metreyi içeren özel bir EMA maruziyet düzeneği (Holaday Sanayi A.Ş., Adapazarı, Türkiye) (Bilgici ve ark., 2013) kullanılmıştır. Düzenekte ilgili gruplarda EMA maruziyetini gerçekleştirebilmek için monopol anten eşit EMA dağılımının sağlanması amacıyla polikarbonat kafes içerisine dik bir şekilde konulmuştur. Polikarbonat kafes içerisinde bulunan sıçanların maruz kaldığı stresi azaltmak için kafes üzerinde 1 cm çapında hava delikleri açılmıştır. Maruziyet için ilgili sıçanlar birbirine eşit uzaklıkta ve baş kısımları monopol antene dönük olacak şekilde konumlandırılmıştır (Ulubay ve ark., 2015). EMA gruplarına ait sıçanlar 21 gün boyunca aynı noktada günde 1 sa ve 2 sa olmak üzere EMA maruziyetine tabi tutulmuşlardır.

### **3.4. Doku Örneklerinin Hazırlanması**

#### **3.4.1. Perfüzyon**

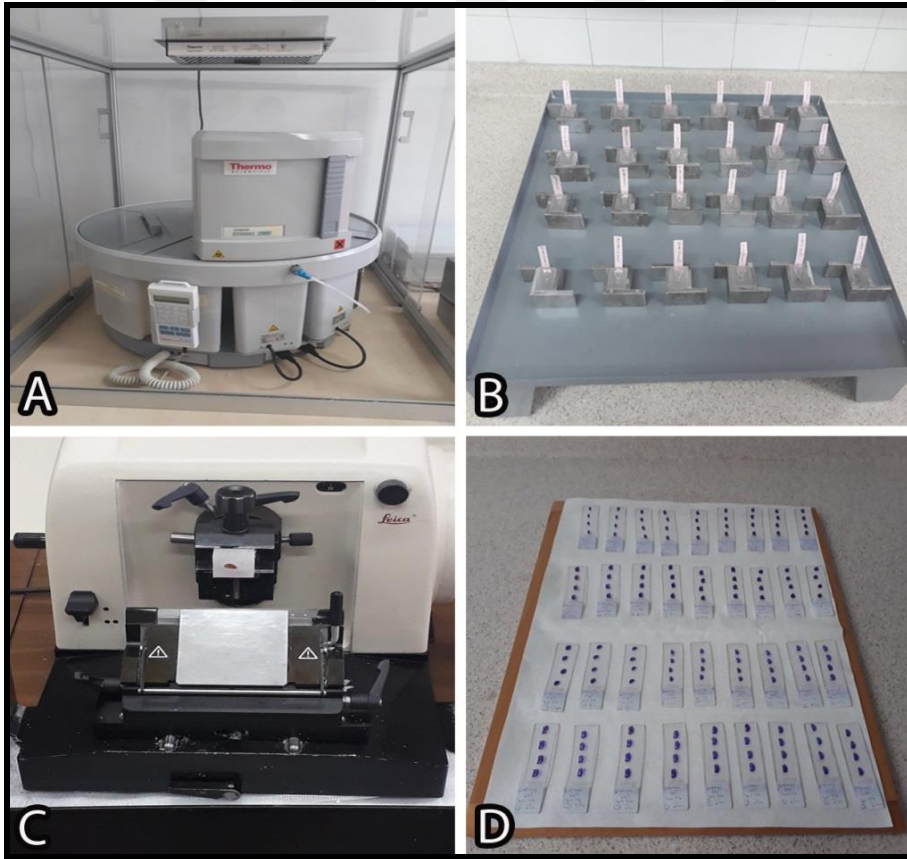
Intraperitoneal olarak ketamin (10 mg/100 mg vücut ağırlığına; 50 mg/ml, Ketalar®, Pfizer, İstanbul) ve prilokainhidroklorür (0,25 mg/100mg vücut ağırlığına, % 2, Citanest®, AstraZeneca, İstanbul) uygulanması ile birlikte 28 günlük (Bas ve ark., 2009b) olan tüm yavru sıçanlar anestezi altına alındı. Bir ızgara üzerine yatırılan yavru sıçanların göğüs kafesi açıldı ve kalbi ortaya çıkarıldı. Plastik bir kanül ile kalbin sol ventrikülünün apeksinden girilerek %0,9 serum fizyolojik verildi ve çapraz bir şekilde sağ atriyum kesildi. Kan tamamen uzaklaştırıldığında %10'luk nötral formalin ile birlikte dokular fikse edildi (Altun ve ark., 2017). Yavru sıçanlarda meydana gelen tetanik kasılmalar tespit işleminin başarılı bir şekilde yapıldığının göstergesiydi. Sıçanların vücudunun sertleşmesinin ardından, dekapitasyon işlemi uygulandı. Sonrasında beyin dokuları kafatasından çıkarıldı ve çıkarılan dokular gruplara ait şişelere yerleştirildi. 2 hafta boyunca %10'luk formalin kullanılarak post fiksasyon işlemi devam etti. Solüsyonlar 3 günde bir değiştirildi. Beyinlerin sağ ve sol hemisferleri birbirinden ayrıldı. Işık mikroskopik ve stereolojik analizler için sağ hemisferler kullanıldı.

#### **3.4.2. Histolojik Doku Takip İşlemleri**

2 haftalık postfiksasyon süresinin tamamlanmasını takiben sağ beyin hemisferleri doku takip kasetlerine yerleştirilip uygun etiketleme yapılarak akarsuda bir gece boyunca bekletildi ve formaldehit dokudan uzaklaştırıldı. Akarsuda tutulan dokular öncelikle alkol serilerinden (%70, %80, %96, %100) geçirilerek dehidrate edildi. Sonrasında ksilen ile şeffaflaştırılan dokuların paraplast ile infiltrasyonu sağlandı (Tablo 1). Doku takip posedürleri Thermon Shandon Citadel marka doku takip cihazı kullanılarak yapıldı (Şekil 9A). Sıcak parafin içerisinde alınan dokular düzgün bir zemin üzerinde kare şekli verilen içleri parafin ile doldurulmuş L demirleri içerisine gömüldü (Şekil 9B). Daha sonra tüm gruplar hazırlanan dikdörtgen şeklindeki küçük kartonların L demirleri içerisine dokuya değmeyecek şekilde yerleştirilmesiyle isimlendirildi ve böylece doku takip işlemi süreci tamamlandı (Altun ve ark., 2017; Kivrak ve ark., 2017).

**Tablo 1.** Beyin dokularına ait doku takip aşamaları

Kimyasallar	Süre
% 70'lik alkol	1 saat
% 80'lik alkol	1 gece
% 96'lık alkol	1 saat
% 100'lük alkol	2 saat
% 100'lük alkol	2 saat
% 100'lük alkol	2 saat
Ksilen	1 saat
Ksilen	1 saat
Ksilen	1 saat
Paraplast	1 saat 30 dakika
Paraplast	1 saat 30 dakika



**Şekil 9.** Fikse edilen beyin dokuları doku takip cihazına konulmuş (A), takip sonrası L biçimli demir kalıplar ile gömme işlemi yapılmıştır (B). Leica marka mikrotom kullanılarak kalın ve ince kesitler alınmıştır (C), kesitler deparafinize edildikten sonra cresyl violet ile boyanmıştır (D)

### 3.4.3. Kesit Alma

Parafine gömülü kesitlerden ışık mikroskopik ve stereolojik analizler için rotary mikrotom (Leica RM2125RT) kullanılarak 5 µm ve 20 µm kalınlığında kesitler alındı. Stereolojik analizler için uygulanacak olan sistematik rastgele örnekleme stratejisi pilot çalışma sonucunda (West ve ark., 1991; Brown, 2017), transvers düzlemde 1/6 oranında 20 µm'lik kalın kesitler ve immünohistokimyasal işlemler için 1/18 oranında 5 µm'luk ince kesitler olarak belirlendi (Şekil 9C). Bu bağlamda, çalışmada doğru kesit örneklemesinin, doğru ölçülerde adım aralığının ve sayım çerçevesinin kullanılmasını sağlamak için bir pilot çalışma yapmanın önemi yadsınamaz (Brown, 2017). Bu yüzden stereolojik analizlerin en etkili ve güvenilir bir şekilde yapılması için pilot çalışma sonucu bir hayvandan elde edilen ve belli bir sistematik rastgele örnekleme (SRÖ) doğrultusunda alınan kesitler için hesaplanan hata katsayısı (HK) değerinin uygun olduğu (<0,05) saptanarak (Altunkaynak ve ark., 2012) çalışmaya devam edildi. Sonrasında tüm gruplara ait alınan kesitler su sıcaklığı 42°C olan ve içerisinde dokuların lama daha kuvvetli bir şekilde yapışması için toz jelatin bulunan benmari havuzuna (Leica HI1210) konuldu. Benmari havuzundan alınan kesitler, boyama işlemlerinin yapılabilmesi için lamlara alındı. Lamlara alınan kesitler 58°C'lik sıcaklıktaki etüvde bir gece süresince bekletilerek dokulardan paraplastın uzaklaştırılması sağlandı. Her bloktan ortalama 36 adet kesit elde edildi ve ışık mikroskopik ve stereolojik analiz için dokular cresyl violet ile boyandı.

### 3.4.4. Cresyl Violet Boyama İşlemi

Sıçanlara ait beyin dokusu kesitleri 100 ml distile suda 0,1 gr cresyl violetin çözülmesi ile elde edilen cresyl violet boyama prosedürüne göre boyandı (Tablo 2). Tüm gruplardaki kesitler boyamaya dâhil edilmeden önce tek bir kesitte pilot çalışma yapılarak boyanın dokuya nüfuz etme süresi belirlendi. Daha sonra tüm gruplara ait lamlar belirlenen pilot boyama prosedürüne uygun bir şekilde cresyl violet (İkinci ve ark., 2013; Kivrak ve ark., 2017) ile boyanarak entellan ile kapatıldı ve birkaç gün boyunca temiz bir zemin üzerinde bekletilerek kuruması sağlandı (Şekil 9D).

### 3.5. İmmünohistokimyasal Analizler

İmmünohistokimyasal analizler için her sıçandan 5 µm kalınlığında alınan kesitler öncelikle deparafinize edildi. %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 10 dk ve ardından phosphate

buffered saline (PBS) ile 5 dk boyunca yıkandı. PBS ile yıkanan kesitler, pH değeri 6 olan antijen retrievallı sitrat tamponunda 5 dk boyunca mikrodalga içerisinde 600 watt'da bekletildi. Bu işlemi takiben 1:200 oranında dilüsyona sahip primer antikorda (anti-Ki67, proliferasyon belirteci, Sigma Aldrich, St. Louis, MO) +4°C'de bir gece boyunca bekletildikten sonra PBS ile 10 dk yıkandı. Daha sonra kesitler sırası ile biotinli antikor da 30 dk bekletilip PBS ile yıkandıktan sonra, streptavidin HRP ile 20 dk süresince muamele edildikten sonra tekrar PBS ile 5 dk boyunca yıkandı. Bu işlemlerin ardından kesitler, dokudaki immün reaksiyonun gösterilmesi amacıyla AEC/DAB solüsyonunda rengi değişinceye dek bekletildikten sonra 3 ayrı distile su kabında 5'er dk yıkandı ve Mayer hematoksilen ile ters boyamalar yapıldı. Son olarak kesitler distile su ile yıkandı ve immün kapatma medyumu ile kapatılarak kamera ataçmanlı (Carl Zeiss, Germany) ışık mikroskopunda (Olympus BX43, Center Valley, PA) X100'lük büyütmede görüntüler elde edildi.

**Tablo 2.** Cresyl violet boyama prosedürü

<b>Kimyasallar</b>	<b>Süre</b>
Ksilen (x4)	30 dakika
% 100'lük alkol (x2)	10 dakika
% 96'lık alkol	10 dakika
% 80'lik alkol	10 dakika
% 70'lik alkol	10 dakika
Distile su	5 dakika
Cresyl violet	4 dakika
Distile su	5 dakika
% 70'lik alkol	5 dakika
% 80'lik alkol	5 dakika
% 96'lık alkol	5 dakika
Cresyl violet ayrıştırıcısı	Daldırıp çıkarma
% 96'lık alkol	5 dakika
% 100'lük alkol	5 dakika
Ksilen (x2)	40 dakika
Entellan	Kapama



### **3.6. Biyokimyasal Analizler**

#### **3.6.1. Deneklerden Serum Örneklerinin Alınması**

Biyokimyasal analizlerin yapılabilmesi için perfüzyon işlemi esnasında anestezi altındaki sıçanların kalplerinden 1 ml'lik kan örnekleri alınarak biyokimya tüplerine konuldu. Alınan kan örnekleri, 4°C'de 2000 devirde 15 dk santrifüj (Hettich, Tuttlingen, Almanya) edilerek serumları ayrıştırıldı. Serum örnekleri -80°C'de saklandı. Serum örneklerinde CAT ve SOD enzim aktiviteleri absorbans değerleri ölçülerek analiz edildi.

#### **3.6.2. Katalaz Enzim Aktivitesi Analizi**

Aerobik solunum sırasında hücreler tarafından inorganik bir haberci olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretilir. Düşük seviyede, strese bağlı proteinlerin ve antioksidan enzimlerin ekspresyonunu uyararak oksidanlara karşı yanıt oluşmasını sağlar. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> molekülünün oksijen ve suya indirgenmesi reaksiyonu CAT enzimi tarafından indüklenir. CAT enzimi peroksidatik aktiviteye sahiptir ve düşük molekül ağırlıklı alkollerin elektron vericisi olarak kullanılmasını sağlar (Madeo ve ark., 1999; Martins ve English, 2014). Oksidatif etkiyi saptamak için biz de çalışmamızda CAT assay kit (Cayman Chemical Company, ABD) kullanarak CAT aktivitesini ölçtük. Kullanılan yöntemdeki ana prensip CAT enziminin metanol ile reaksiyona girmesi esasına dayanır. Bu reaksiyonda formaldehit kromojen görevi görmekte olup reaksiyon sonucu pembe bir renk çıkmasına neden olur. İlgili reaksiyonlar sonrasında örneklerin absorbansları UV-Vis spektrofotometre (Shimadzu UV-MINI 1240; Shimadzu; İstanbul, Türkiye) cihazı kullanılarak 540 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

#### **3.6.3. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesi Analizi**

Ksantin oksidaz ve mitokondriyal elektron zinciri gibi enzimler tarafından üretilen yüksek reaktif radikaller süperoksit anyonların (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) hücre ve dokularda birikimi ile farklı patolojilerde ortaya çıkar (Viggiano ve ark., 2003). Aerobik canlılarda oksijenin toksik etkilerine karşı koyulabilmesi için bu molekülün ve diğer oksidan radikallerin birikimi önlenmelidir. Canlı dokularda oksijen toksisitesi meydana geldiğinde oksijen dismutasyonunu katalizleyenve bir metalloenzim olan SOD tarafından başlatılan enzimatik bir savunma mekanizması devreye girer (Peltola ve ark., 1992; Olawale ve Emmanuel, 2005; Assady ve ark., 2011). Oksidatif stresin

değerlendirilmesi için çalışmamızda, SOD assay kiti (Cayman Chemical Company, ABD) kullanarak SOD enzim aktivitesi ölçüldü. Kullanılan SOD analiz kitinin çalışma prensibi ksantin-ksantinoksidaz tepkimesi sonucunda süperoksit radikalleri açığa çıkarılarak tetrazolium bileşiği ile tepkimeye girmesi ve mor renkli reaksiyonun oluşması esasına dayanır. Örnek içerisinde bulunan SOD, süperoksit radikallerini ortamdaki ksantini uzaklaştırarak tetrazolium bileşiğinin oksijen ile reaksiyonunu inhibe eder. Deney sonrası elde edilen mor renkli solüsyonların, 450 nm dalga boyunda, UV-Vis spektrofotometre (Shimadzu UV-MINI 1240; Shimadzu; İstanbul, Türkiye) kullanılarak absorban değerleri ölçüldü (Ukeda ve ark., 1999).

### 3.7. Lokomotor Aktivite Tayini

Deney sürecinin tamamlanmasını takiben 28 günlük yavru sıçanlara perfüzyon işlemi öncesinde, EMA'nın depresif bir bozukluğa neden olup olmadığını ve kullanılan ilgili antioksidanların EMA üzerindeki muhtemel etkilerini test etmek amacıyla lokomotor aktivite testi lokomotor aktivite cihazı (Ugo Basile, Varese, İtalya) kullanılarak uygulandı. Bu cihaz sayesinde 39x28x26 cm boyutlarında kapalı bir kutunun altında bulunan ızgara şeklindeki alanda yavru sıçanların beş dakika boyunca yatay ekseninde yaptıkları gezinme hareketleri, hareket sensörleri ile belirlenerek kaydedildi (Şekil 10).

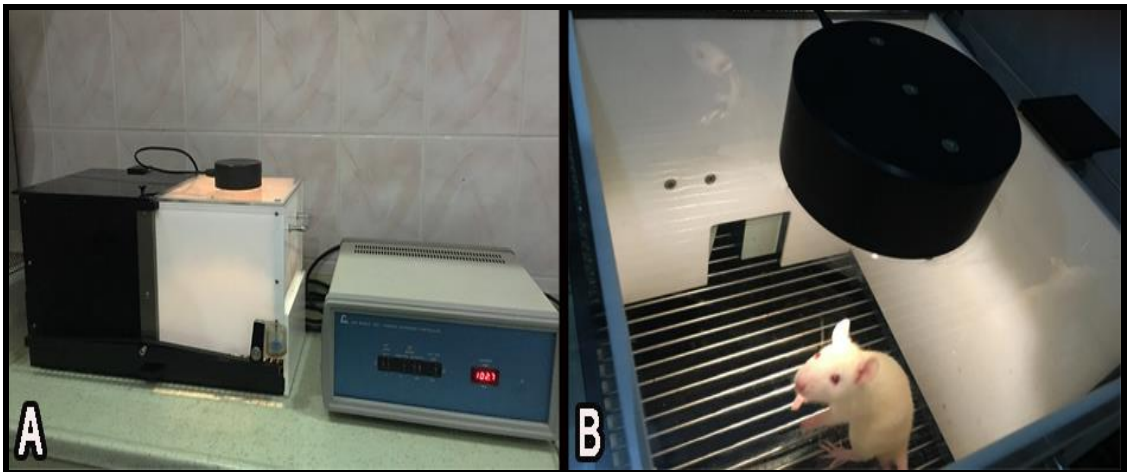


Şekil 10. Lokomotor aktivite ölçüm sistemi

### 3.8. Pasif Sakınma Testi

Perfüzyon işlemi öncesinde gerçekleştirilen lokomotor aktivite testini takiben 28 günlük yavru sıçanlar öğrenmeyi ve hafızayı değerlendirmeye yönelik pasif sakınma testine tabi tutuldular. Bu testin gerçekleştirilmesinde giyotin bir kapıyla ayrılmış olan 25x15x15 cm boyutlarında biri aydınlık diğeri karanlık iki bölmeden oluşan pasif sakınma cihazı (Ugo Basile, Varese, İtalya) kullanıldı (Şekil 11A).

Pasif sakınma testinin birinci aşaması olan öğrenim periyodundan önce sıçanlar teker teker aydınlık bölgeye konularak ortam koşullarına alışması için 30 sn lik bir bekleme süresi sağlandı. Daha sonra aydınlık bölgede bulunan sıçanların hepsinin sırasıyla karanlık bölgeye geçmeleri sağlandı. Alıştırma periyodundan sonra testin birinci aşamasında öğrenme gününde aydınlık bölgeye konulan yavru sıçanların giyotin kapının otomatik olarak açılması ile karanlık bölmeye geçişine izin verildi (Şekil 11B). Yavru sıçanlar, karanlık tarafa geçtikten sonra hafif bir elektrik şokuna (0,5 mA, 3 sn) maruz bırakıldılar. Yavru sıçanın aydınlık bölmeden karanlık bölmeye geçiş süresi cihaz üzerinden okunarak “karanlık bölgeye geçme süresi (KBGZ)” ya da “latens zamanı” olarak kaydedildi. Elektrik şokundan sonra yavru sıçanlar kafeslerine yerleştirilerek kaldırıldı. Bu işlem ile sıçanlar elektrik şokuna maruz kalma bilgisini edinmiş oldular. Öğrenme sürecinden 24 sa sonra aynı işlem tekrarlanarak sıçanların karanlık bölmeye geçiş süresi “retansiyon zamanı” olarak ölçüldü. Bununla birlikte, aydınlık bölgede maksimum bekleme süresi 300 sn olarak belirlendi.



Şekil 11. Pasif sakınma testi düzeneği (A) ve testin uygulanması esnasında sıçanların karanlık bölgeye geçişi (B)

### **3.9. Stereolojik Analizler**

#### **3.9.1. Stereoloji**

Histolojik yapıların 2 boyutlu görüntülerinden 3 boyutlu bilgilerine ulaşılmasını sağlayan stereoloji biliminde, son otuz yıl boyunca önemli bir ilerleme sağlanmıştır. Stereolojik yöntemlerin temelini etkinlik ve tarafsızlık ilkesi oluşturmaktadır. Tarafsızlık ilkesi gerçek değerden sistematik bir sapma göstermemek anlamına gelirken etkinlik ilkesi ise gerçek değere kısa zamanda az hata ile ulaşmayı tanımlar (Altunkaynak ve ark., 2012). Tarafsız ve güvenilir stereolojik yöntemler, ince bir yapıdan yola çıkarak sistematik özelliklerine kadar biyolojik yapıların bütünü ve bileşenlerinin bilgisini verir (Geuna and Herrera-Rincon, 2015). Bu bağlamda, SRÖ kuralı stereolojik yöntemlerin uygulanmasındaki temeli oluşturur. Analizi yapılacak olan dokudan eşit aralıklarla örnekler alınarak dokunun her noktasına eşit örnekleme şansı verilir (Gundersen ve Jensen, 1987; Altunkaynak ve ark., 2012). Örnekleme oranının tarafsızlık ilkesinin yanısıra, etkinlik ilkesine de hizmet etmesi gerekmektedir. Bu nedenle bu aralığın belirlenmesi pilot çalışmaya dayandırılmaktadır. Pilot çalışma sonrası sonuçlar, kabul edilebilir güvenilirlik aralığında olduğunda, örnekleme stratejisi diğer dokulara da uygulanabilir (Canan ve ark., 2002; Altunkaynak ve ark., 2012). Bununla birlikte, SRÖ yaklaşımı; doku örnekleme, kesit örnekleme ve alan örnekleme gibi stereolojik analizin her adımında uygulanmalıdır (Garcia-Finana ve ark., 2003; Turgut ve ark., 2007). İstatistiksel açıdan bakıldığında, örnek sayısı arttıkça gerçek değere daha çok yaklaşılabilecektir. Bu bağlamda, özellikle bireyler arası farklılıklar da azalacaktır (Gundersen ve Jensen, 1987). Özetle, ilgilenilen yapının doğru bir şekilde değerlendirilmesi, yapının her bileşeninin SRÖ kuralları çerçevesinde eşit örnekleme şansına sahip olması ile mümkündür (Cruz-Orive, 1999; Gundersen ve ark., 1999).

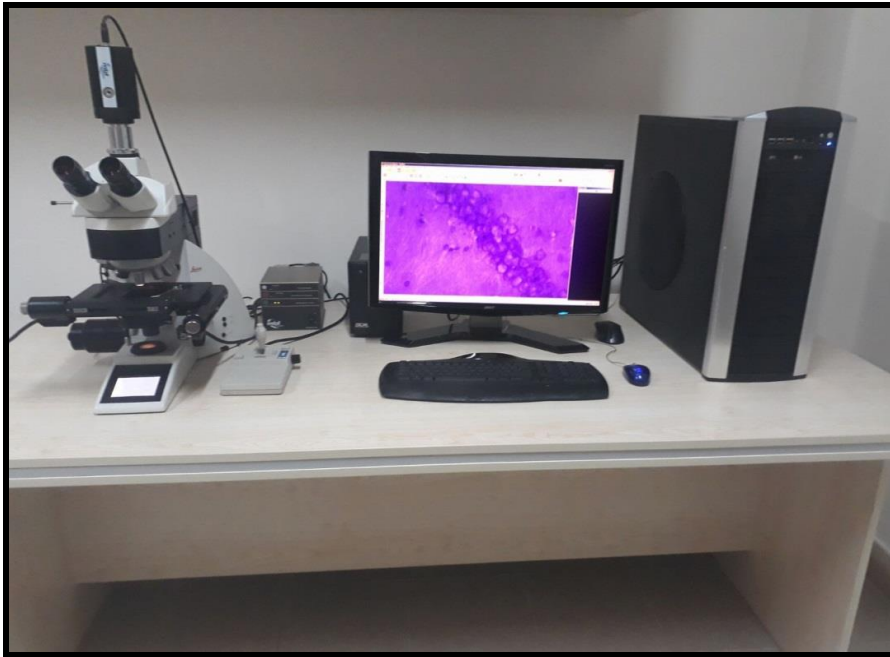
#### **3.9.2. Tarafsız Sayım Çerçevesi**

Stereolojik yöntemlerin tarafsız ve güvenilir sonuçlar ortaya koymasında, SRÖ stratejisinin yanısıra kullanılan araçların da önemi vardır. Partikül sayımında kullanılan tarafsız sayım çerçevesi, gerçeğe en yakın verilerin elde edilmesi ve her taneciğin sadece bir defa sayılmasını sağlar. Gundersen tarafından 1977'de geliştirilen tarafsız sayım çerçevesinden önce kullanılan sayım çerçeveleri aynı taneciğin bir defadan daha fazla sayıda sayılmasına yol açmıştır (Mayhew ve Gundersen, 1996). Tarafsız sayım çerçevesi; bir kalın ve düz, bir de ince ve kesikli iki tip çizgiden oluşan 4 kenara sahip

basit bir kare şeklindedir. Sayım kuralları açısından diğer sayım çerçeveleri ile arasında farklılıklar bulunur. Tarafsız sayım çerçevesinde ince ve kesikli çizgiler (yeşil kenar) “dâhil” kenarları, kalın ve devamlı çizgiler de (kırmızı kenar) “hariç” kenarları temsil eder. Hariç kenarlara isabet eden hücre çekirdekleri sayılmazken, dâhil kenarlara isabet eden ve çerçevenin içerisinde yer alan hücre çekirdekleri sayıma dâhil edilir. Tarafsız sayım çerçevesi, tanecik sayımı için en etkin ve doğru sayım çerçevesidir (Gundersen, 1977).

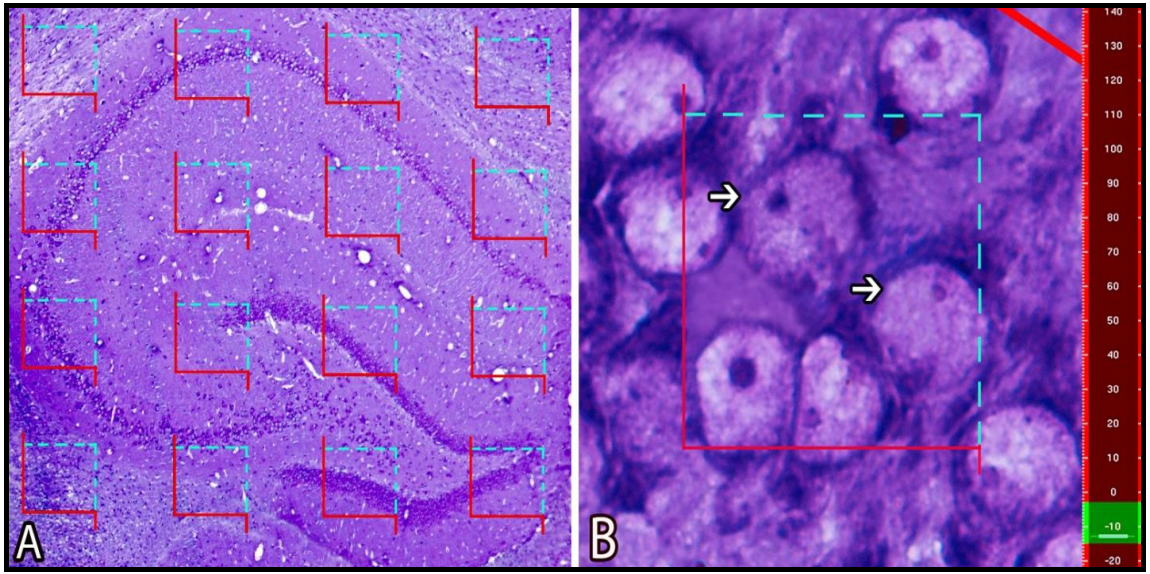
### 3.9.3. Optik Parçalama Yöntemi ve Uygulanışı

İlgili çalışmada tarafsız ve güvenilir stereolojik yöntemlerden biri olan optik parçalama tekniği kullanarak 28 günlük sıçanların hipokampusunda bulunan toplam piramidal nöron sayısı, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı ve Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı’nda yer alan bilgisayar destekli ve özel bir yazılıma sahip stereoloji analiz sistemi (Stereoinvestigator 9.0., MicroBrield Field; Colchester; USA) kullanılarak hesaplandı (Şekil 12). Bu noktada, stereolojik analizlere başlanılmadan önce sayım için kullanılacak en iyi parametrelerin belirlenmesi adına bir pilot çalışma yapıldı.



Şekil 12. Stereoloji analiz sistemi

Optik parçalama tekniği, kalın kesitlerdeki toplam hücre veya parçacık sayısının hesaplanmasına olanak sağlamaktadır. Bu yöntemin uygulanmasında stereolojik bir sonda olan optik disektör ve SRÖ kuralı birlikte uygulanır (Gundersen ve ark., 1988) (Şekil 13). Optik parçalama yöntemi, histolojik doku takip işlemleri sırasında yapıda meydana gelen büzüşme ya da genişlemeden, taneciklerin büyüklüğü yönelimi ve şeklinden etkilenmez. Bu nedenle stereolojide kullanılan en etkin tanecik sayım yöntemleri arasındadır (West ve ark., 1991).



**Şekil 13.** Optik parçalama (A) ve optik disektör (B) yöntemi hipokampus bölgesinde yapılan nöron sayısı analizlerinde kullanılmıştır. Beyaz oklar tarafsız sayım çerçevesi içerisinde sayılabilen nöronları göstermektedir. Orijinal büyütme (B): X100

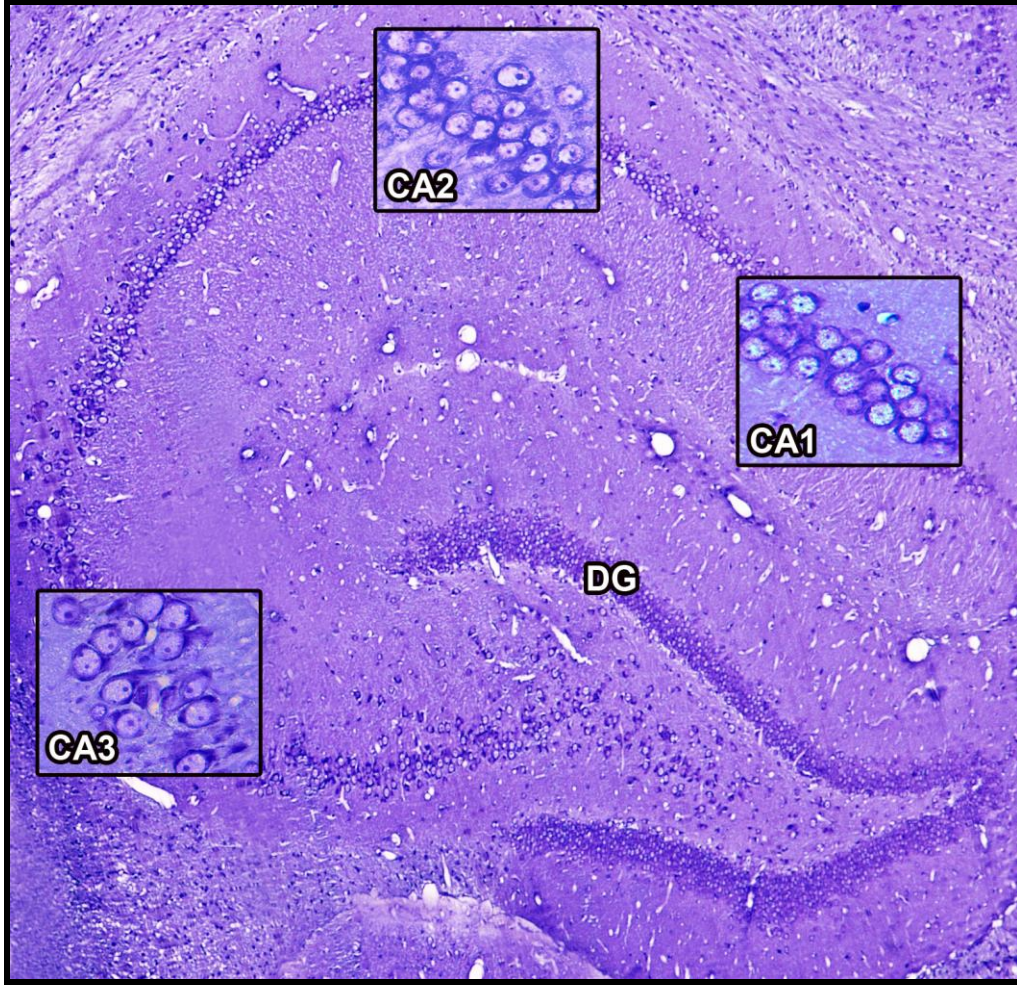
Çalışmamızda her sıçan beyninden 20 µm kalınlığında ve SRÖ kuralına uygun bir şekilde 1/6 örnekleme aralığında transvers kesitler alındı. Bu işlem, alınan ilk kesitten itibaren sırasıyla 5 kesit atılıp 6. kesitin lam üzerine alınması ile gerçekleştirilmiştir. Kesit alma işlemi sonunda her bloktan ortalama 36 adet beyin kesiti elde edilmiştir. Dolayısıyla, optik parçalama yöntemine göre toplam hücre sayısını hesaplamada gerekli parametrelerden biri olan, kesit örnekleme oranı (K.Ö.O.) belirlenmiştir (K.Ö.O.=1/6). İlgili kesitlerde CA1, CA2 ve CA3 bölgeleri bir atlas (Paxinos ve Watson, 2007) yardımıyla belirlendikten (Şekil 14) sonra bu bölgelerde yer alan piramidal nöronlar daha önce yapılan bir pilot çalışma stratejisine göre optik parçalama tekniği ile sayılmıştır. Bu pilot çalışma doğrultusunda, sayım çerçevesinin

boyutu  $625 \mu\text{m}^2$ , adım aralığı  $22,500 \mu\text{m}^2$  ve alan örnekleme oranı (A.Ö.O.)  $625 \mu\text{m}^2/22,500 \mu\text{m}^2$  olarak belirlenmiştir. Ayrıca, 't' ibaresi ortalama kesit kalınlığını ifade etmesi ile disektör yüksekliği/t formülü kullanılarak kalınlık örnekleme oranına (Ka.Ö.O.) ulaşılmıştır.

Kesitlerin stereolojik olarak incelenmesi sonucu elde edilen toplam nöron sayısı çalışma boyunca kullanılan örnekleme oranları da dikkate alınarak tarafsız sayım çerçevesi içine düşen noktalar işaretlendikten sonra, aşağıda ifade edilen formül ile hesaplanmıştır (Gundersen, 1986). Bu noktada, tarafsız sayım çerçevesinin öngördüğü sayım kuralları çerçevesinde sayılabilir kenarlara çekirdeğinin geniş profili degen nöronlar sayılmıştır.

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

"N", toplam hücre sayısını, " $\sum Q$ " toplam disektör hücre sayısını temsil etmektedir. Ayrıca çalışma bünyesinde yer alan her hayvan için HK değeri ve gruplardaki hayvan sayısının yeterli olup olmadığının saptanması için her grupta değişim katsayısı (DK) değeri hesaplanmıştır (Olesen ve ark., 2017).



Şekil 14. CA bölgeleri ve dentat girus (DG)'a ait histolojik panoramik görüntü

### 3.10. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda elde ettiğimiz gruplara ait sayısal veriler SPSS programı (SPSS version 21,0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak istatistiksel açıdan değerlendirildi. Kullanılan veriler, ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Gruplara ait verilerin normallik ve homojenlik testleri sonucunda tüm grupların normal dağılım gösterdiği saptandı. Gruplar arasındaki farklılıklar One-Way ANOVA, Tukey testleri ile değerlendirildi. Yapılan istatistiksel değerlendirmede  $p < 0,05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



## 4. BULGULAR

EMA'ya maruz bırakılan sıçan hipokampusunda GK, TİM ve MC'nin etkilerinin stereolojik, fonksiyonel, biyokimyasal, histopatolojik ve immünohistokimyasal yöntemlerle araştırılması amacıyla kurgulanan bu çalışmada her sıçana ait histolojik kesitler uygun bir şekilde elde edildikten sonra ilgili hipokampus görüntüleri üzerinde optik parçalama metodu kullanılarak CA1, CA2 ve CA3 bölgeleri ile tüm hipokampus alanında ayrı ayrı "ortalama nöron sayısı" hesaplandı.

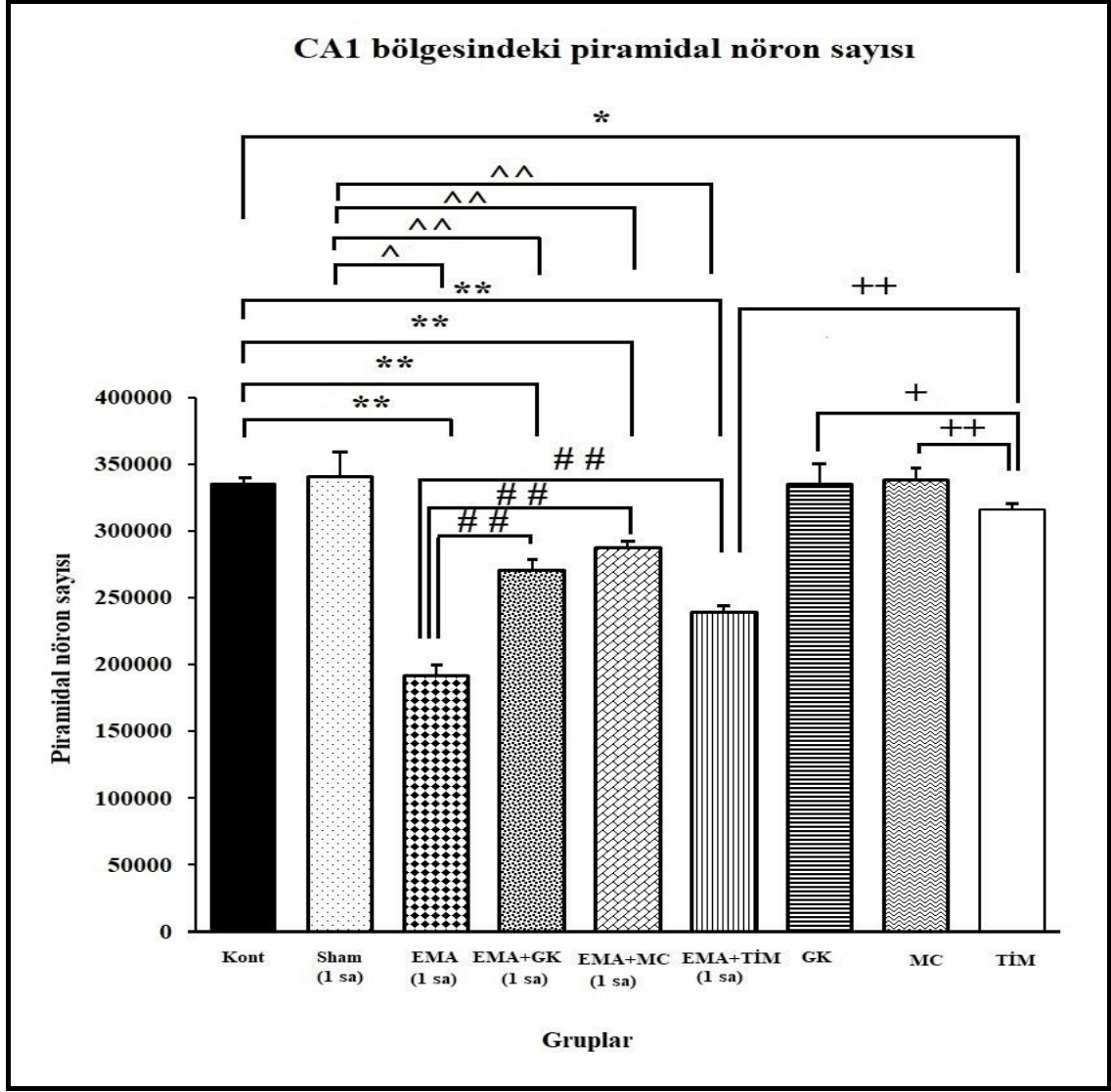
### 4.1. Stereolojik Bulgular

#### 4.1.1. CA1 Bölgesinde Elde Edilen Bulgular

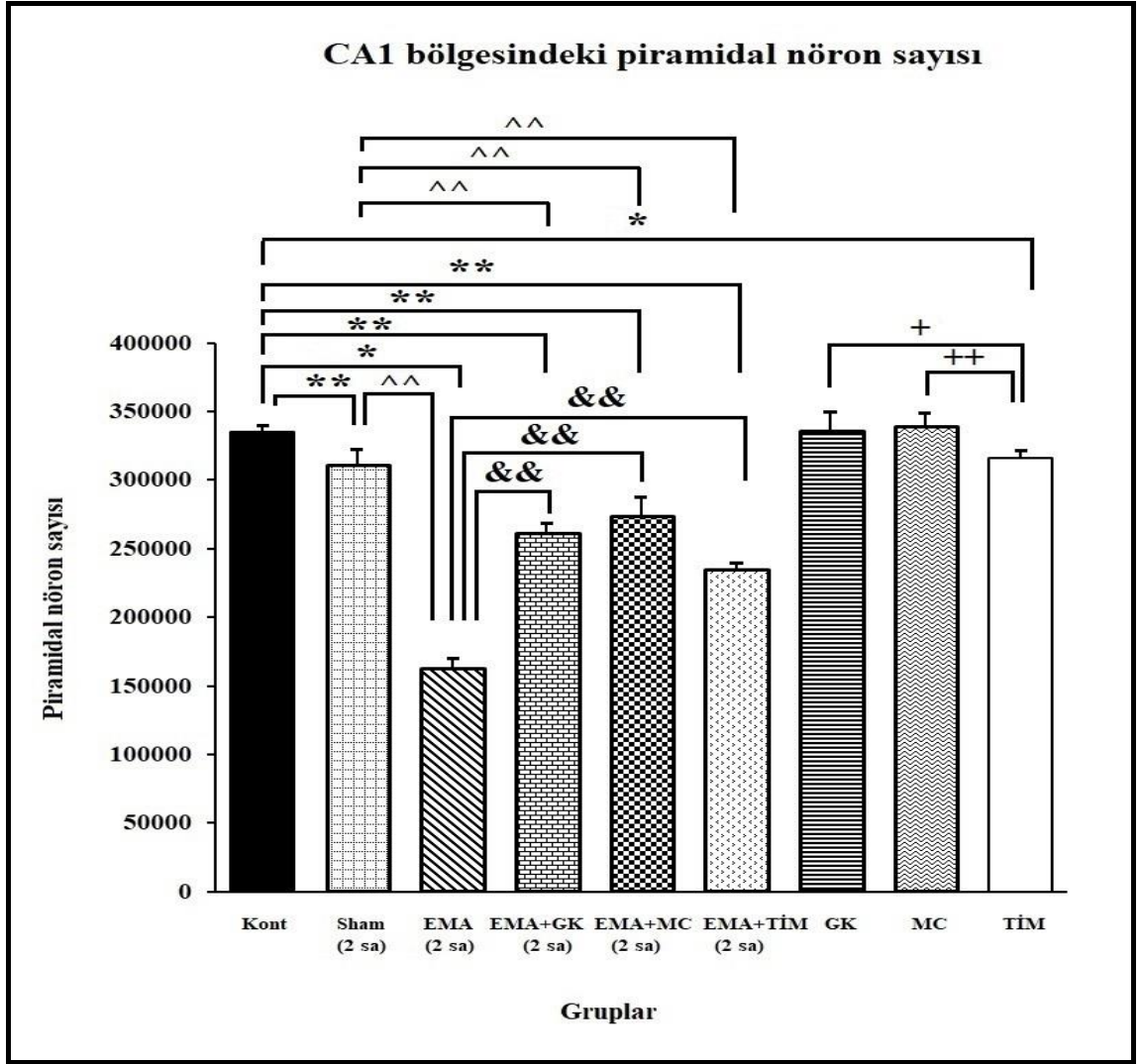
CA1 alanında ortalama piramidal nöron sayısının değerlendirilmesi sonucu elde edilen bulgular, HK ve DK değerleri aşağıdaki tablo ve grafiklerde gösterilmiştir (Tablo 3; Şekil 15, 16, 17).

**Tablo 3.** CA1 bölgesindeki ortalama nöron sayısı±standart sapma, HK ve DK değerleri

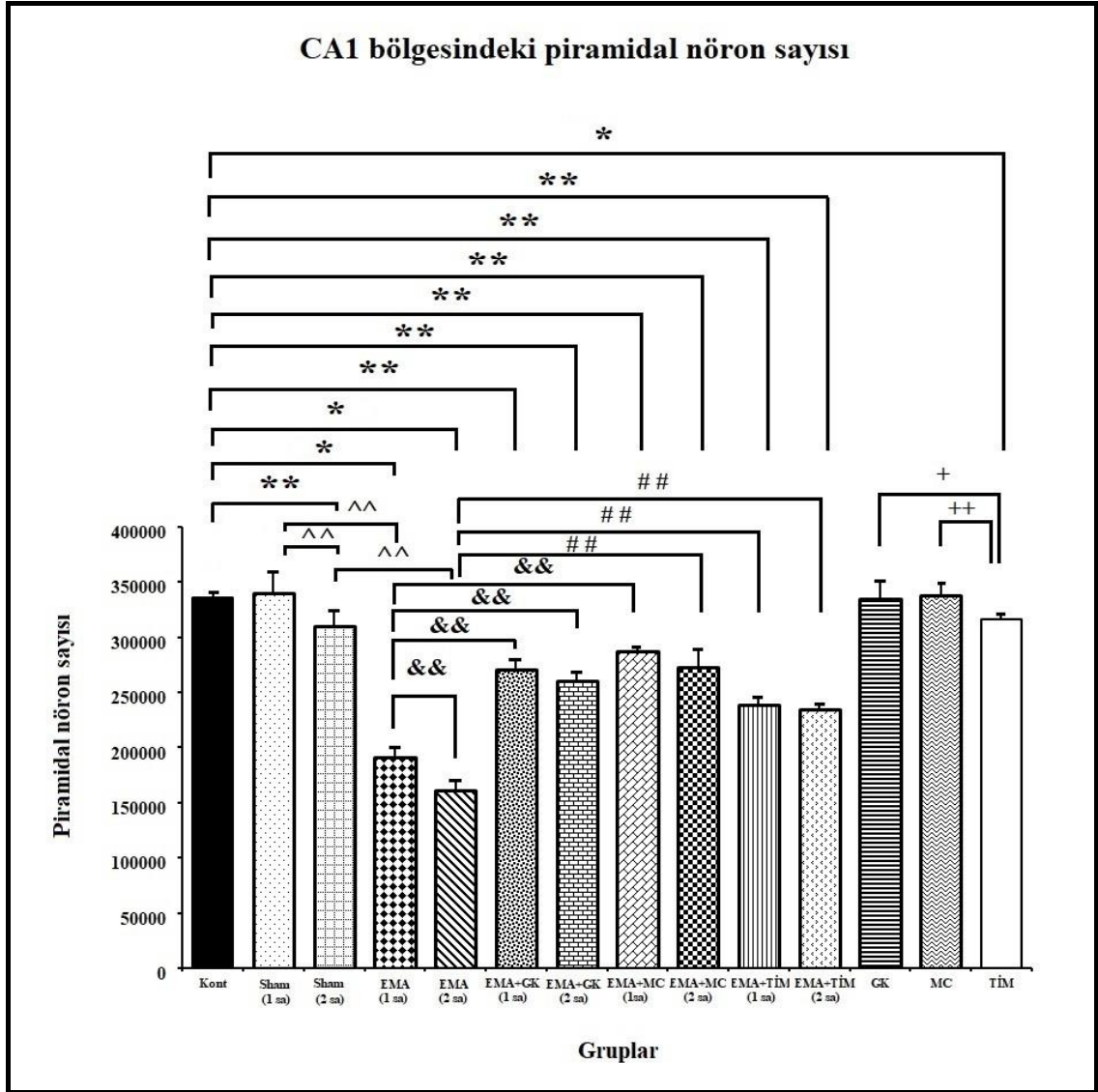
Gruplar	Nöron sayısı (ortalama±standart sapma)	HK	DK
<b>Kont</b>	335348.1300±3188.01	0,030	0,008
<b>Sham (1 sa)</b>	340901.52±17772.68	0,030	0,047
<b>Sham (2 sa)</b>	310815.68±11058.18	0,032	0,032
<b>EMA (1 sa)</b>	192108.58±5955.78	0,040	0,028
<b>EMA (2 sa)</b>	162200.47±6419.90	0,044	0,036
<b>EMA (1 sa)+GK</b>	270784.3167±7275.80	0,034	0,024
<b>EMA (2 sa)+GK</b>	261333.98±5919.22	0,034	0,020
<b>EMA (1 sa)+MC</b>	287679.19±3048.72	0,033	0,009
<b>EMA (2 sa)+MC</b>	273405.59±14679.13	0,034	0,049
<b>EMA (1 sa)+TİM</b>	239549.06±4023.94	0,036	0,015
<b>EMA (2 sa)+TİM</b>	234739.46±4465.93	0,036	0,017
<b>GK</b>	335686.06±13042.28	0,030	0,035
<b>MC</b>	338592.25±9777.86	0,030	0,026
<b>TİM</b>	316315.01±3738.30	0,032	0,010



**Şekil 15.** 1 sa boyunca EMA'ya maruziyet sonrası hipokampusun CA1 bölgesindeki piramidal nöron sayısının gruplar arasındaki farklılıklarını gösteren grafik. İstatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar "+, ^, \*" ile gösterilirken,  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar "++, ^^, \*\*, ##" ile gösterilmiştir



**Şekil 16.** 2 sa boyunca EMA'ya maruziyet sonrası hipokampusun CA1 bölgesindeki piramidal nöron sayısının gruplar arasındaki farklılıkları gösteren grafik. İstatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar "+, \*" ile gösterilirken,  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar "++, ^^, \*\*, &&" ile gösterilmiştir



**Şekil 17.** Hipokampusun CA1 bölgesindeki piramidal nöron sayısı bakımından tüm gruplar arasındaki farklılıklar ilgili grafikte gösterilmiştir. İstatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “+,” ile gösterilirken,  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “++,” “^^,” “\*\*,” “&&,” “##” ile gösterilmiştir

Hipokampusun CA1 bölgesindeki gruplara ait nöronların stereolojik analizinin istatistiksel değerlendirmesi sonucunda; EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarına ait ortalama nöron sayısında Kont grubundaki ortalama nöron sayısına göre ileri derecede azalma olduğu görülmüştür ( $p < 0,01$ ). Ayrıca EMA (2 sa) grubuna ait ortalama nöron sayısında EMA (1 sa) grubundaki ortalama nöron sayısına göre önemli derecede azalma olduğu saptanmıştır ( $p < 0,01$ ). Bunlara ek olarak; EMA (1 sa)+GK, EMA (1 sa)+MC, EMA (1 sa)+TİM gruplarının ortalama nöron sayıları ile EMA (1 sa) grubu arasında bir

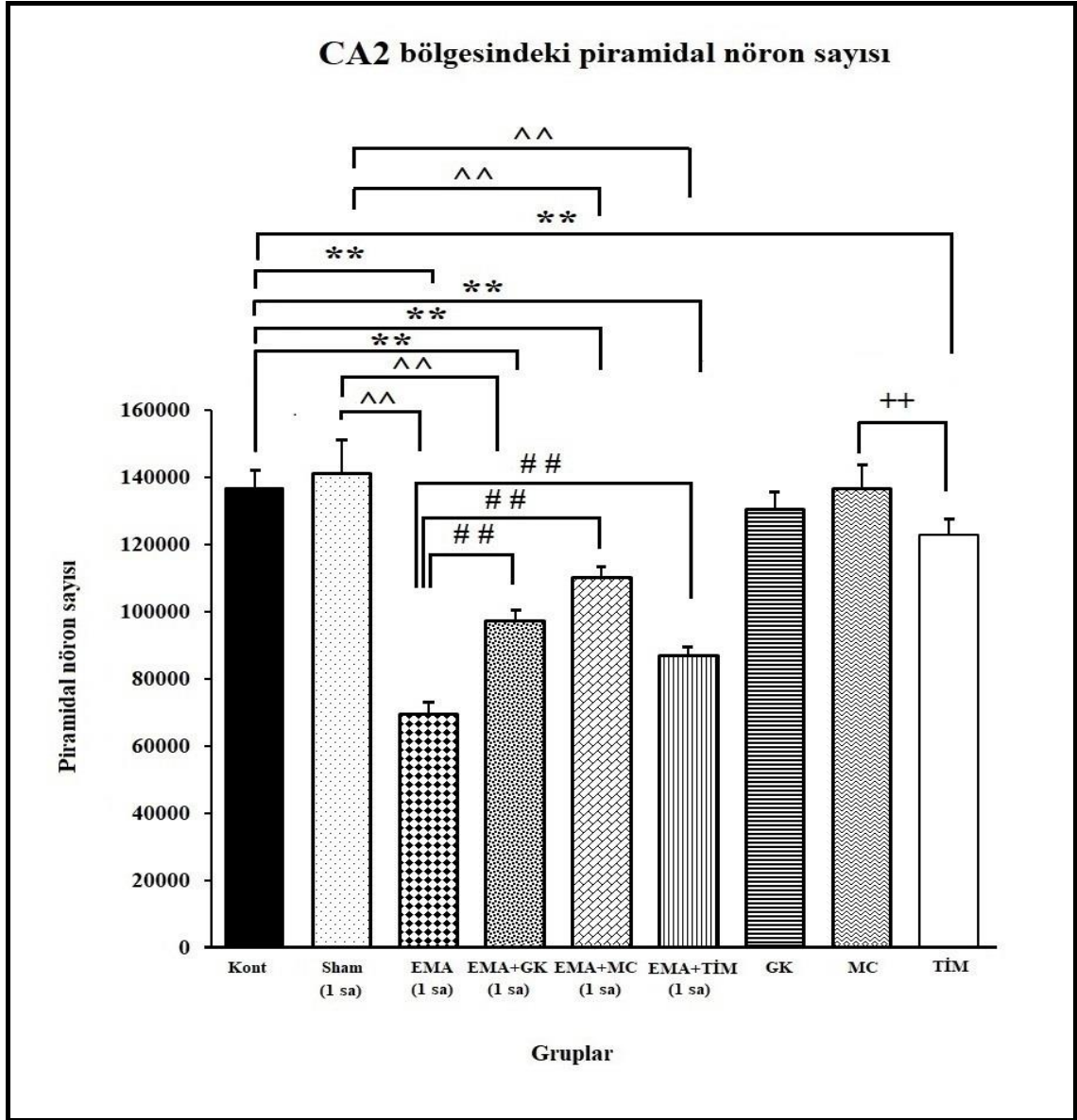
karşılaştırma yapıldığında; bahsedilen gruplardaki ortalama nöron sayısının EMA (1 sa) grubundaki ortalama nöron sayısından ileri derecede daha fazla olduğu ( $p<0,01$ ) tespit edilmiştir. Ayrıca, EMA (2 sa)+GK, EMA (2 sa)+MC, EMA (2 sa)+TİM gruplarının ortalama nöron sayıları ile EMA (2 sa) grubu karşılaştırıldığında; bahsedilen gruplardaki ortalama nöron sayısının EMA (2 sa) grubundaki ortalama nöron sayısından istatistiksel olarak ileri derecede daha fazla olduğu ( $p<0,01$ ) tespit edilmiştir. Buna ek olarak, Sham (2 sa) grubundaki ortalama nöron sayısı ile Kont ve Sham (1 sa) gruplarındaki ortalama nöron sayısı kıyaslandığında, Sham (2 sa) grubunda ortalama nöron sayısının ileri derecede azaldığı görülmüştür ( $p<0,01$ ). Kont grubu ile MC ve GK grupları karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmazken ( $p>0,05$ ), ortalama nöron sayısından anlamlı ölçüde daha az olduğu saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Ayrıca, TİM grubundaki ortalama nöron sayısı Sham (2 sa) grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

#### **4.1.2. CA2 Bölgesinde Elde Edilen Bulgular**

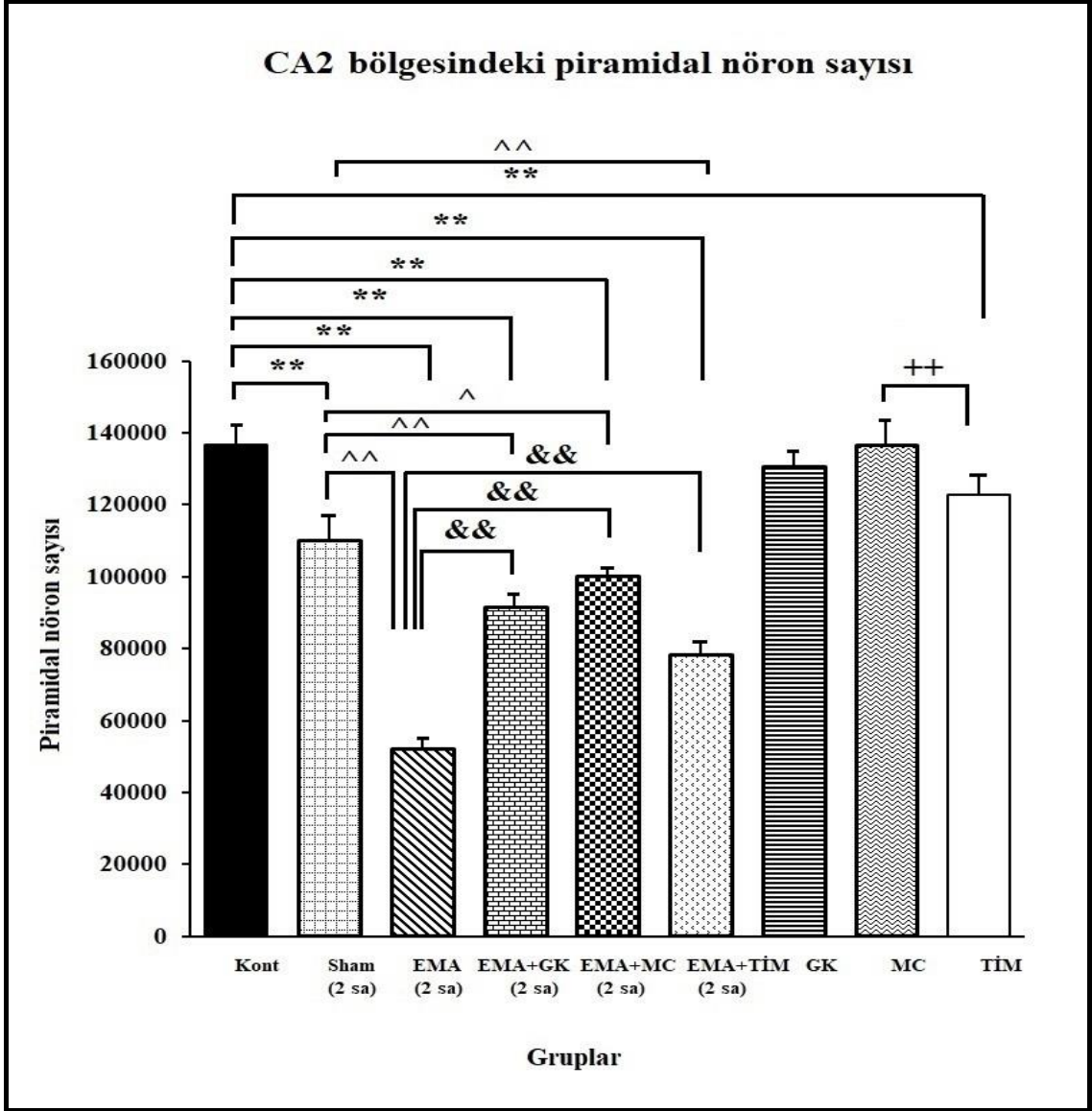
CA2 alanında ortalama nöron sayısının değerlendirilmesi sonucu elde edilen bulgular, HK ve DK değerleri aşağıdaki tablo ve grafiklerde gösterilmiştir (Tablo 4; Şekil 18, 19, 20).

**Tablo 4.** CA2 bölgesindeki ortalama nöron sayısı±standart sapma, HK ve DK değerleri

<b>Gruplar</b>	<b>Nöron sayısı (ortalama±standart sapma)</b>	<b>HK</b>	<b>DK</b>
<b>Kont</b>	136638.82±5029.98	0,048	0,033
<b>Sham (1 sa)</b>	141026.90±10039.07	0,047	0,064
<b>Sham (2 sa)</b>	110037.07±7303.23	0,054	0,060
<b>EMA (1 sa)</b>	69547.29±3076.73	0,067	0,040
<b>EMA (2 sa)</b>	52156.77±2419.83	0,077	0,042
<b>EMA (1 sa)+GK</b>	97231.85±2740.25	0,057	0,025
<b>EMA (2 sa)+GK</b>	91439.80±3121.83	0,058	0,031
<b>EMA (1 sa)+MC</b>	110080.45±2928.25	0,053	0,024
<b>EMA (2 sa)+MC</b>	99993.64±1953.83	0,056	0,017
<b>EMA (1 sa)+TİM</b>	87176.77±1914.40	0,060	0,020
<b>EMA (2 sa)+TİM</b>	78205.15±3090.58	0,063	0,019
<b>GK</b>	130648.55±4487.19	0,049	0,031
<b>MC</b>	136542.61±6542.02	0,048	0,043
<b>TİM</b>	122902.29±5154.50	0,051	0,038

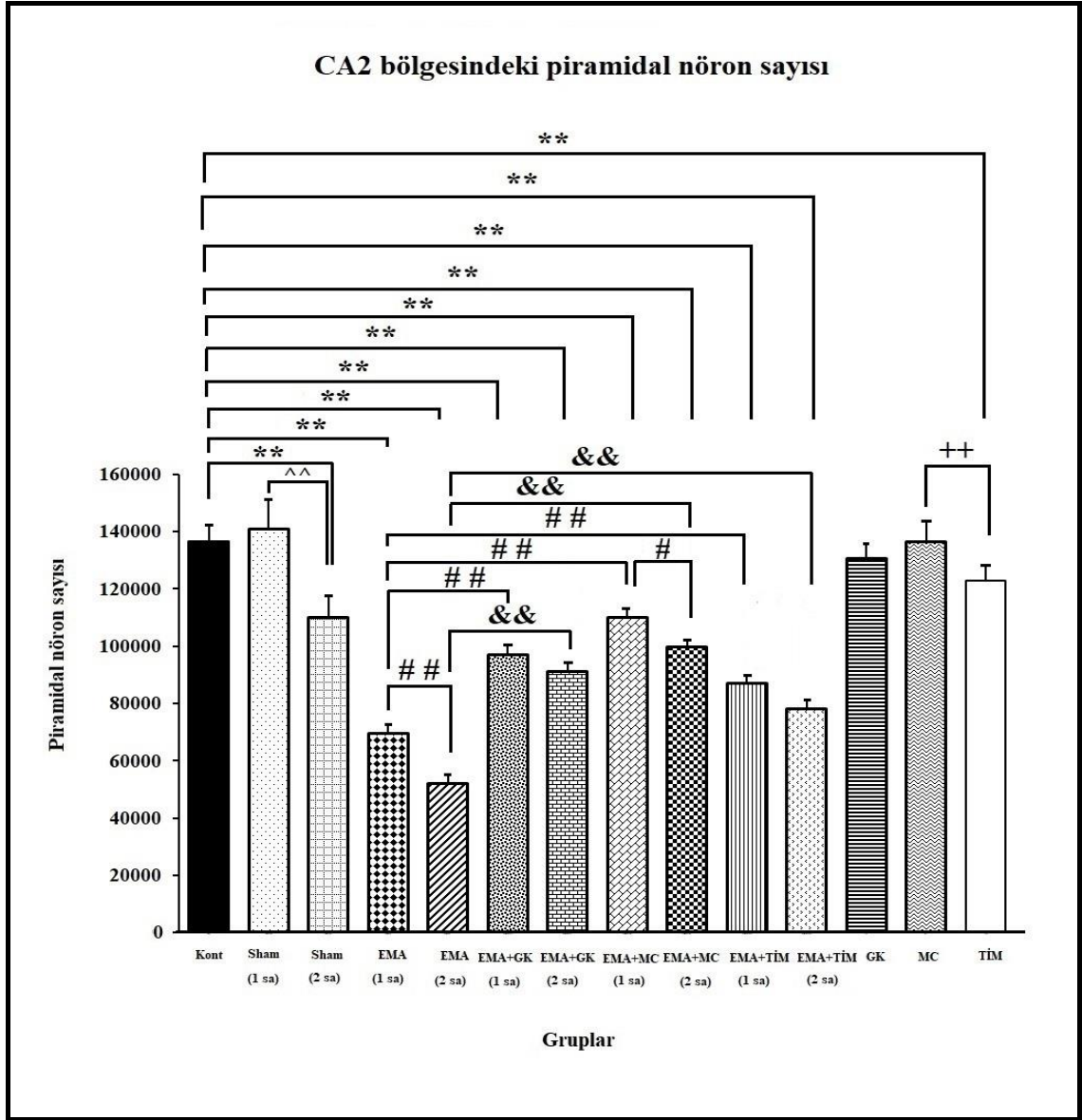


**Şekil 18.** 1 sa boyunca EMA'ya maruziyet sonrası hipokampusun CA2 bölgesindeki piramidal nöron sayısının gruplar arasındaki farklılıklarını gösteren grafik. İstatistiksel olarak  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “++”, “^^”, “\*\*”, “##” ile gösterilmiştir



**Şekil 19.** 2 sa boyunca EMA'ya maruziyet sonrası hipokampusun CA2 bölgesindeki piramidal nöron sayısının gruplar arasındaki farklılıklarını gösteren grafik. İstatistiksel olarak  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “++”, “^^”, “\*\*”, “&&” ile gösterilmiştir





**Şekil 20.** Hipokampusun CA2 bölgesindeki piramidal nöron sayısı bakımından tüm gruplar arasındaki farklılıklar grafikte gösterilmiştir. İstatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “#” ile gösterilirken,  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “++”, “^^”, “\*\*”, “&&”, “##” ile gösterilmiştir

Hipokampusun CA2 bölgesindeki gruplara ait nöronların stereolojik analizinin istatistiksel değerlendirmesi sonucunda, EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarına ait ortalama nöron sayısında Kont grubundaki ortalama nöron sayısına göre ileri derecede azalma olduğu görülmüştür ( $p < 0,01$ ). Ayrıca EMA (2 sa) grubuna ait ortalama nöron sayısında EMA (1 sa) grubundaki ortalama nöron sayısına göre önemli derecede azaldığı saptanmıştır ( $p < 0,01$ ). Bunlara ek olarak; EMA (2 sa)+MC grubundaki

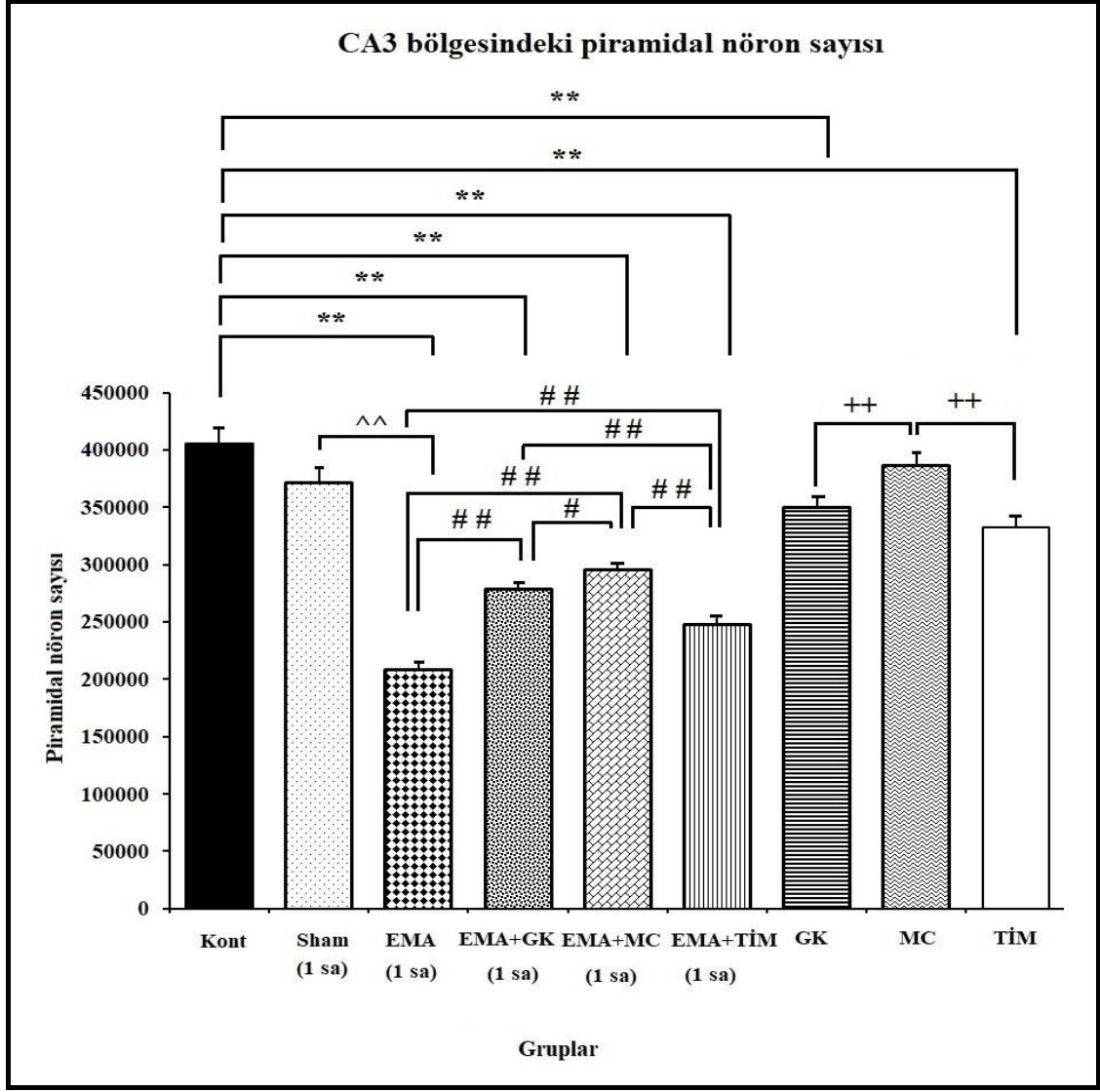
ortalama nöron sayısında EMA (1 sa)+MC grubundaki ortalama nöron sayısına göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalma olduğu gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). Bunun dışında, EMA (1 sa)+GK, EMA (1 sa)+MC, EMA (1 sa)+TİM gruplarının ortalama nöron sayıları ile EMA (1 sa) grubu arasında bir karşılaştırma yapıldığında; bahsedilen gruplardaki ortalama nöron sayısının EMA (1 sa) grubundaki ortalama nöron sayısından ileri derecede daha fazla olduğu ( $p<0,01$ ) tespit edilmiştir. EMA (2 sa)+GK, EMA (2 sa)+MC, EMA (2 sa)+TİM gruplarının ortalama nöron sayıları ile EMA (2 sa) grubu karşılaştırıldığında; bahsedilen gruplardaki ortalama nöron sayısının EMA (2 sa) grubundaki ortalama nöron sayısından istatistiksel olarak önemli derecede daha fazla olduğu ( $p<0,01$ ) gözlenmiştir. Kont grubu ile MC ve GK grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmazken ( $p>0,05$ ), TİM grubundaki ortalama nöron sayısının Kont grubundaki ortalama nöron sayısından ileri derecede daha az olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,01$ ). Buna ek olarak, TİM grubundaki ortalama nöron sayısı Sham (2 sa) grubu ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ). Ayrıca, Sham (2 sa) grubundaki ortalama nöron sayısı ile Kont ve Sham (1 sa) gruplarındaki ortalama nöron sayısı kıyaslandığında, Sham (2 sa) grubunda ortalama nöron sayısının ileri derecede azaldığı görülmüştür ( $p<0,01$ ).

#### **4.1.3. CA3 Bölgesinde Elde Edilen Bulgular**

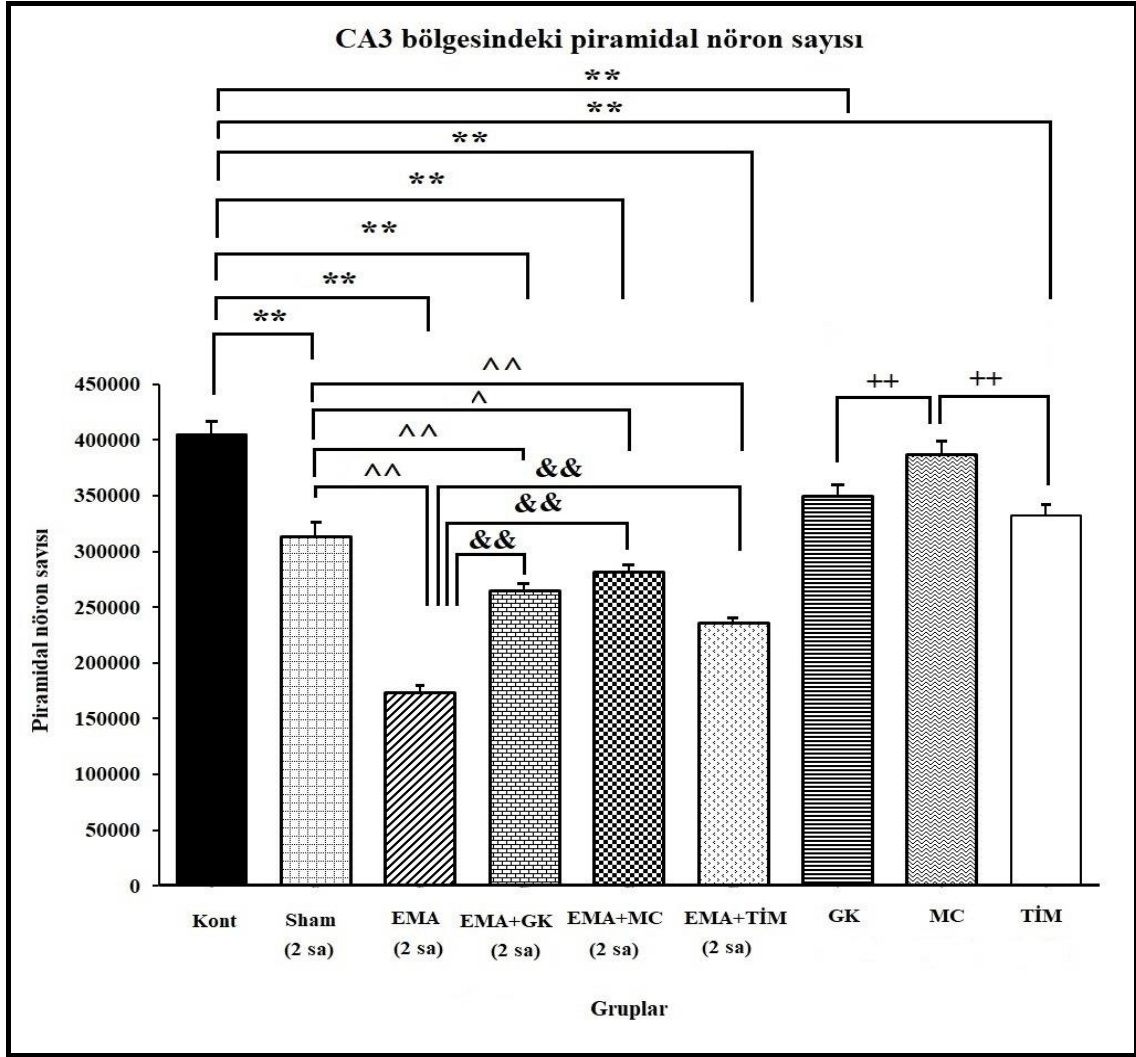
CA3 alanında ortalama nöron sayısı değerlendirilmesi sonucu elde edilen bulgular, HK ve DK değerleri aşağıdaki tablo ve grafiklerde gösterilmiştir (Tablo 5; Şekil 21, 22, 23).

**Tablo 5.** CA3 bölgesindeki ortalama nöron sayısı±standart sapma, HK ve DK değerleri

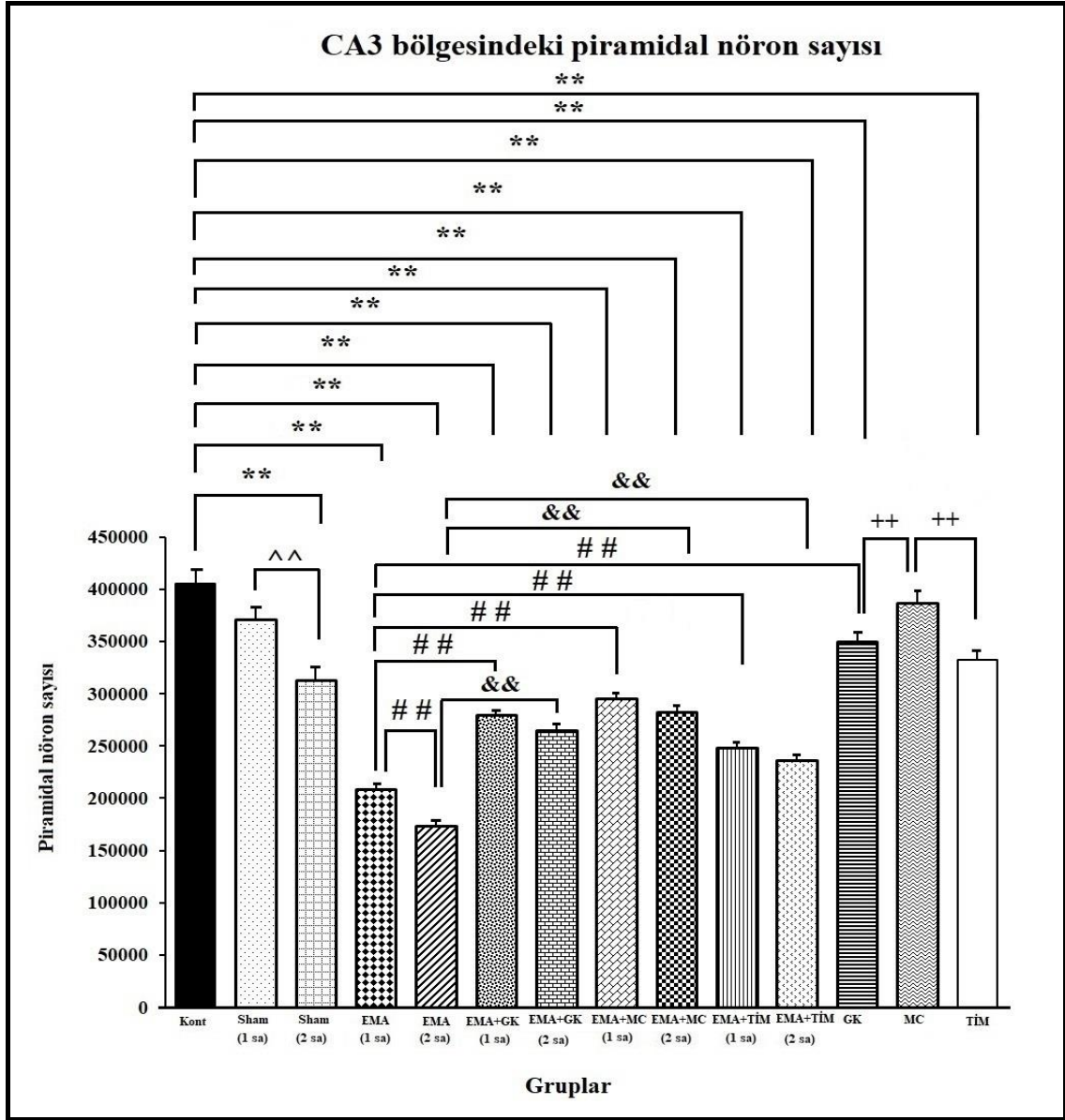
<b>Gruplar</b>	<b>Nöron sayısı (ortalama±standart sapma)</b>	<b>HK</b>	<b>DK</b>
<b>Kont</b>	405382.31±12909.45	0,028	0,029
<b>Sham (1 sa)</b>	371470.08±11665.48	0,029	0,028
<b>Sham (2 sa)</b>	313221.79±11587.44	0,032	0,033
<b>EMA (1 sa)</b>	208884.63±5726.28	0,038	0,025
<b>EMA (2 sa)</b>	173313.16±5489.31	0,042	0,028
<b>EMA (1 sa)+GK</b>	279456.60±3415.50	0,033	0,011
<b>EMA (2 sa)+GK</b>	264959.07±4871.06	0,034	0,016
<b>EMA (1 sa)+MC</b>	295684.70±3526.66	0,032	0,010
<b>EMA (2 sa)+MC</b>	282179.20±6069.49	0,033	0,019
<b>EMA (1 sa)+TİM</b>	248414.71±4425.00	0,036	0,016
<b>EMA (2 sa)+TİM</b>	236353.30±3305.39	0,036	0,012
<b>GK</b>	350316.14±7730.72	0,030	0,020
<b>MC</b>	386878.84±10837.82	0,029	0,025
<b>TİM</b>	332033.58±8656.94	0,031	0,023



**Şekil 21.** 1 sa boyunca EMA'ya maruziyet sonrası hipokampusun CA3 bölgesindeki piramidal nöron sayısının gruplar arasındaki farklılıklarını gösteren grafik. İstatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “#” ile gösterilirken,  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “++”, “^^”, “\*\*”, “##” ile gösterilmiştir



**Şekil 22.** 2 sa boyunca EMA'ya maruziyet sonrası hipokampusun CA3 bölgesindeki piramidal nöron sayısının gruplar arasındaki farklılıklarını gösteren grafik. İstatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “^” ile gösterilirken,  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “+”, “^^”, “\*\*”, “&&” ile gösterilmiştir



**Şekil 23.** Hipokampusun CA3 bölgesindeki piramidal nöron sayısı bakımından tüm gruplar arasındaki farklılıklar grafikte gösterilmiştir. İstatistiksel olarak  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “++”, “^^”, “\*\*”, “&&”, “##” ile gösterilmiştir.

Hipokampusun CA3 bölgesindeki gruplara ait nöronların stereolojik analizinin istatistiksel değerlendirmesi sonucunda, EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarına ait ortalama nöron sayısında Kont grubundaki ortalama nöron sayısına göre ileri derecede azalma olduğu görülmüştür ( $p < 0,01$ ). Ayrıca EMA (2 sa) grubuna ait ortalama nöron sayısında EMA (1 sa) grubundaki ortalama nöron sayısına göre ileri derecede azalma olduğu saptanmıştır ( $p < 0,01$ ). Bunlara ek olarak; EMA (1 sa)+GK, EMA (1 sa)+MC, EMA (1 sa)+TİM gruplarının ortalama nöron sayıları ile EMA (1 sa) grubu arasında bir

karşılaştırma yapıldığında; bahsedilen gruplardaki ortalama nöron sayısının EMA (1 sa) grubundaki ortalama nöron sayısından ileri derecede daha fazla olduğu ( $p<0,01$ ) tespit edilmiştir. EMA (2 sa)+GK, EMA (2 sa)+MC, EMA (2 sa)+TİM gruplarının ortalama nöron sayıları ile EMA (2 sa) grubu karşılaştırıldığında; bahsedilen gruplardaki ortalama nöron sayısının EMA (2 sa) grubundaki ortalama nöron sayısından istatistiksel olarak önemli derecede daha fazla olduğu ( $p<0,01$ ) gözlenmiştir. Buna ek olarak, Sham (2 sa) grubundaki ortalama nöron sayısı ile Kont ve Sham (1 sa) gruplarındaki ortalama nöron sayısı karşılaştırıldığında, Sham (2 sa) grubunda ortalama nöron sayısının ileri derecede azaldığı görülmüştür ( $p<0,01$ ). Kont grubu ile MC grupları karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmazken ( $p>0,05$ ), GK ve TİM gruplarındaki ortalama nöron sayısının Kont grubundaki ortalama nöron sayısından ileri derecede daha az olduğu gözlendi ( $p<0,01$ ). Buna ek olarak, TİM grubundaki ortalama nöron sayısı Sham (2 sa) grubu ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

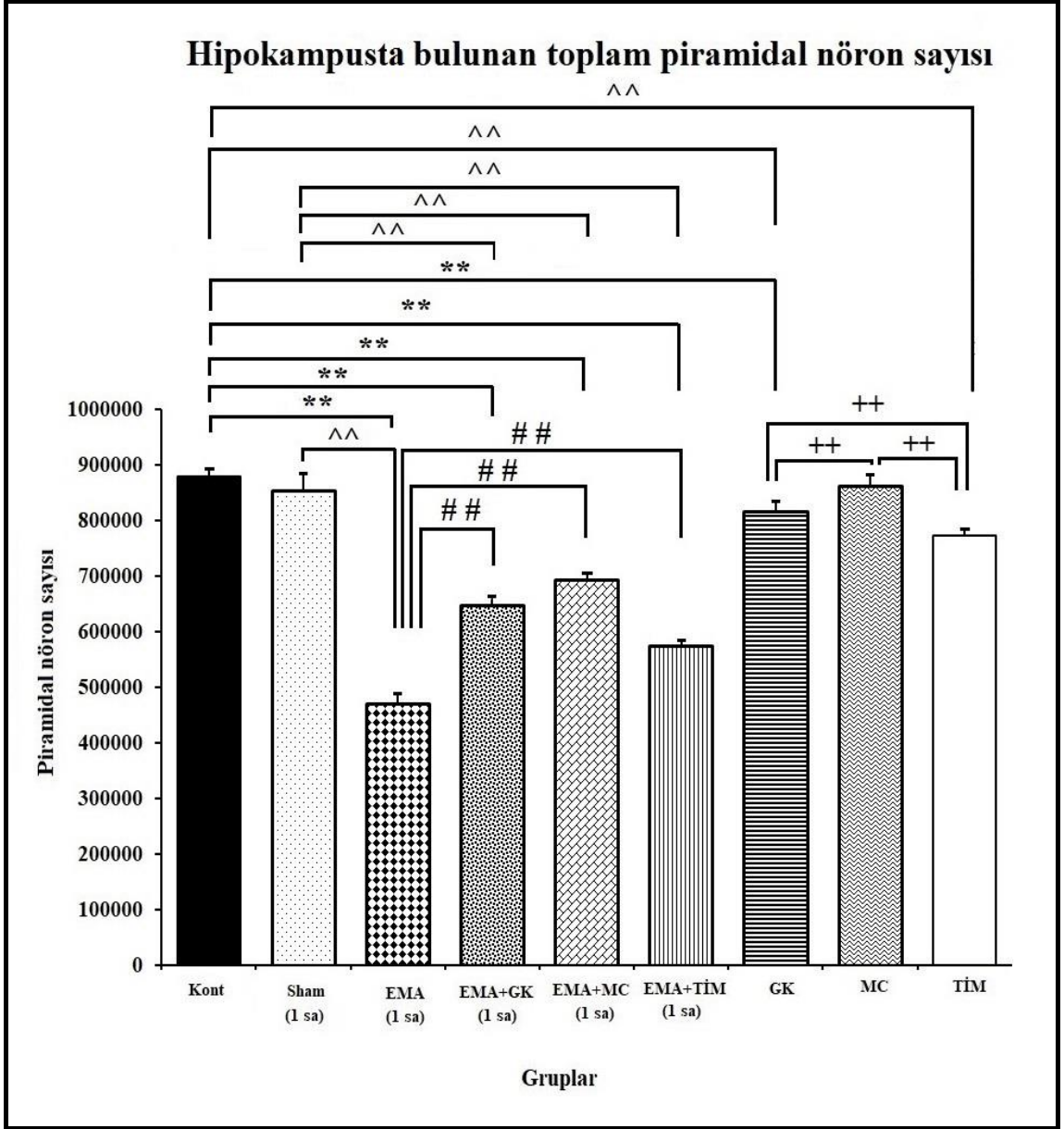
#### **4.1.4. Tüm Hipokampustaki Nöron Sayısına İlişkin Elde Edilen Bulgular**

Hipokampusun tüm alanlarında (CA1, CA2 ve CA3) yapılan ortalama nöron sayısı hesaplanması sonucu elde edilen bulgular toplanarak hipokampustaki gruplara ait toplam piramidal nöron sayısı değerine ulaşıldı. Bu değerler aşağıdaki tablo ve grafiklerde sunulmuştur (Tablo 6; Şekil 24, 25, 26).

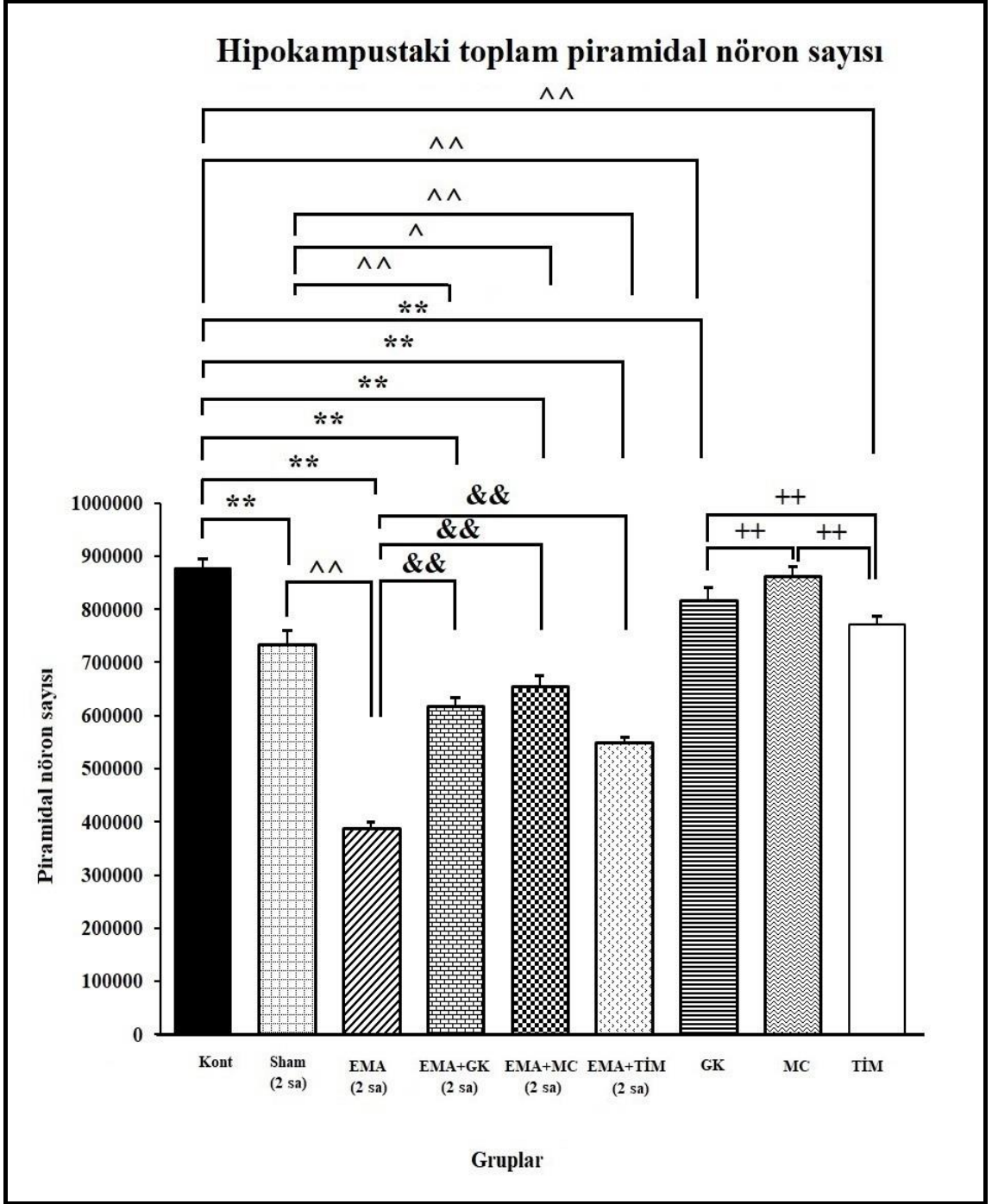
**Tablo 6.** Hipokampus toplam nöron sayısı (ortalama  $\pm$  standart sapma), HK ve DK değerleri

<b>Gruplar</b>	<b>Nöron sayısı (ortalama<math>\pm</math>standart sapma)</b>	<b>HK</b>	<b>DK</b>
<b>Kont</b>	877369.27 $\pm$ 13767.81	0,019	0,014
<b>Sham (1 sa)</b>	853398.51 $\pm$ 27808.68	0,019	0,029
<b>Sham (2 sa)</b>	734074.54 $\pm$ 25997.85	0,021	0,032
<b>EMA (1 sa)</b>	470540.50 $\pm$ 13238.09	0,025	0,025
<b>EMA (2 sa)</b>	387670.41 $\pm$ 9624.81	0,028	0,022
<b>EMA (1 sa)+GK</b>	647472.78 $\pm$ 9332.45	0,022	0,013
<b>EMA (2 sa)+GK</b>	617732.88 $\pm$ 13236.94	0,022	0,019
<b>EMA (1 sa)+MC</b>	693444.33 $\pm$ 8037.72	0,021	0,010
<b>EMA (2 sa)+MC</b>	655578.44 $\pm$ 19449.97	0,022	0,027
<b>EMA (1 sa)+TİM</b>	575140.55 $\pm$ 4895.99	0,023	0,007
<b>EMA (2 sa)+TİM</b>	549297.91 $\pm$ 7547.22	0,024	0,011
<b>GK</b>	816650.78 $\pm$ 20901.61	0,020	0,023
<b>MC</b>	862013.71 $\pm$ 19087.93	0,019	0,020
<b>TİM</b>	771306.81 $\pm$ 11816.30	0,020	0,013

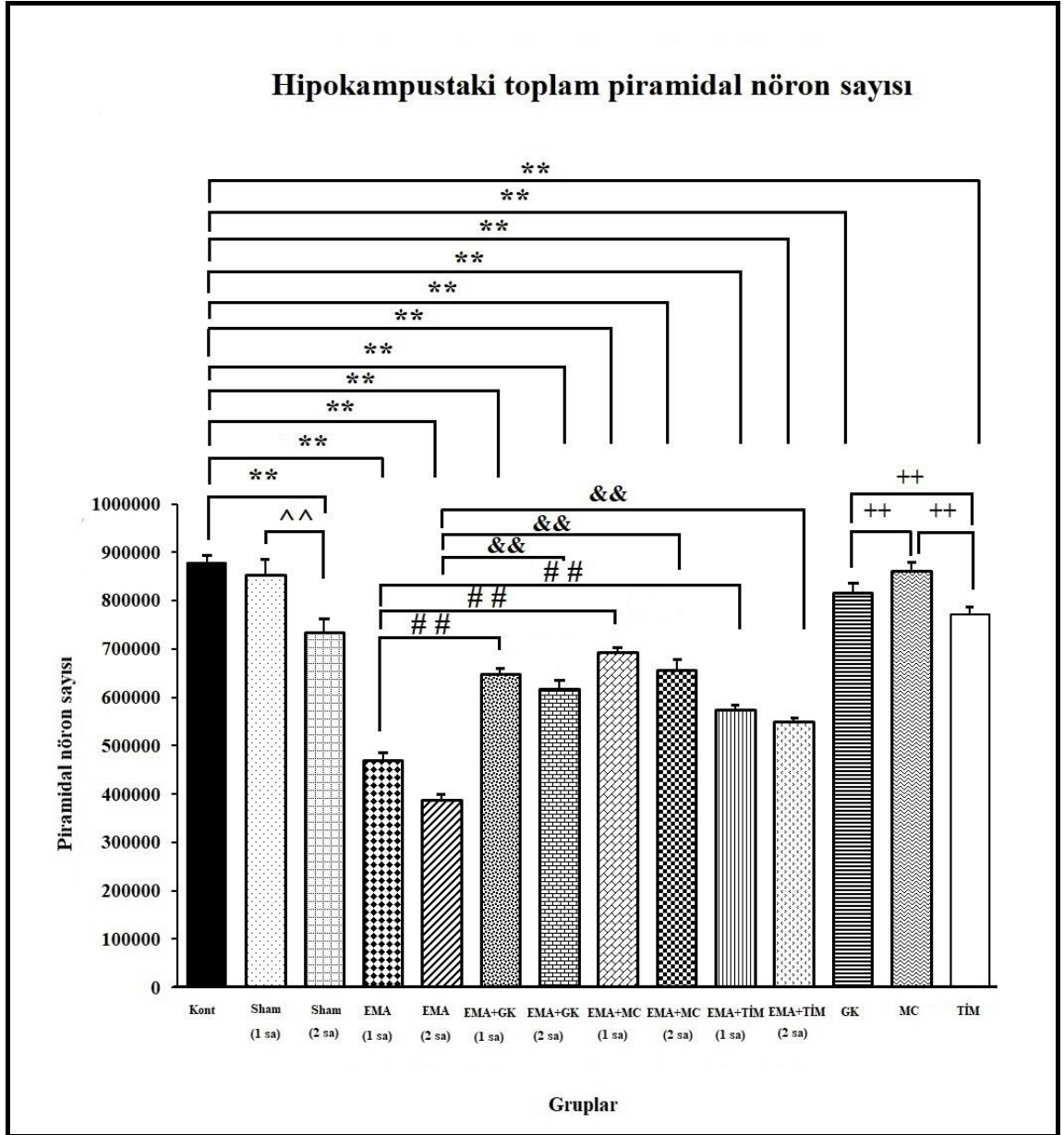




**Şekil 24.** 1 sa EMA'ya maruziyet sonrası tüm hipokampustaki toplam piramidal nöron sayısının gruplar arasındaki farklılıklarını gösteren grafik. İstatistiksel olarak  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “++”, “^^”, “\*\*”, “##” ile gösterilmiştir



**Şekil 25.** 2 sa EMA'ya maruziyet sonrası tüm hipokampustaki toplam piramidal nöron sayısının gruplar arasındaki farklılıklarını gösteren grafik. İstatistiksel olarak  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “++”, “^^”, “\*\*”, “&&”, “##” ile gösterilmiştir



**Şekil 26.** Hipokampustaki toplam piramidal nöron sayısı bakımından tüm gruplar arasındaki farklılıklar grafikte gösterilmiştir. İstatistiksel olarak  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “++”, “^^”, “\*\*”, “&&”, “##” ile gösterilmiştir

Hipokampusta gruplara ait toplam nöron sayısının stereolojik analizinin istatistiksel değerlendirmesi sonucunda, EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarına ait ortalama nöron sayısında, Kont grubundaki ortalama nöron sayısına göre ileri derecede azalma olduğu görülmüştür ( $p < 0,01$ ). Ayrıca EMA (2 sa) grubuna ait ortalama nöron sayısının EMA (1 sa) grubundaki ortalama nöron sayısına göre ileri derecede azaldığı saptanmıştır ( $p < 0,01$ ). Bunlara ek olarak; EMA (1 sa)+GK, EMA (1 sa)+MC, EMA (1

sa)+TİM gruplarının ortalama nöron sayıları ile EMA (1 sa) grubu arasında bir karşılaştırma yapıldığında; bahsedilen gruplardaki ortalama nöron sayısının EMA (1 sa) grubundaki ortalama nöron sayısından ileri derecede daha fazla olduğu ( $p<0,01$ ) tespit edilmiştir. Ayrıca, EMA (2 sa)+GK, EMA (2 sa)+MC, EMA (2 sa)+TİM gruplarının ortalama nöron sayıları ile EMA (2 sa) grubu karşılaştırıldığında; bahsedilen gruplardaki ortalama nöron sayısının EMA (2 sa) grubundaki ortalama nöron sayısından istatistiksel olarak ileri derecede daha fazla olduğu ( $p<0,01$ ) tespit edilmiştir. Buna ek olarak, Sham (2 sa) grubundaki ortalama nöron sayısı ile Kont ve Sham (1 sa) gruplarındaki ortalama nöron sayısı kıyaslandığında, Sham (2 sa) grubunda ortalama nöron sayısının ileri derecede azaldığı gözlenmiştir ( $p<0,01$ ). Kont grubu ile MC grupları karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmazken ( $p>0,05$ ), GK ve TİM grubundaki ortalama nöron sayısının Kont grubundaki ortalama nöron sayısından ileri derecede daha az olduğu saptanmıştır ( $p<0,01$ ). Ayrıca, TİM grubundaki ortalama nöron sayısı Sham (2 sa) grubu ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

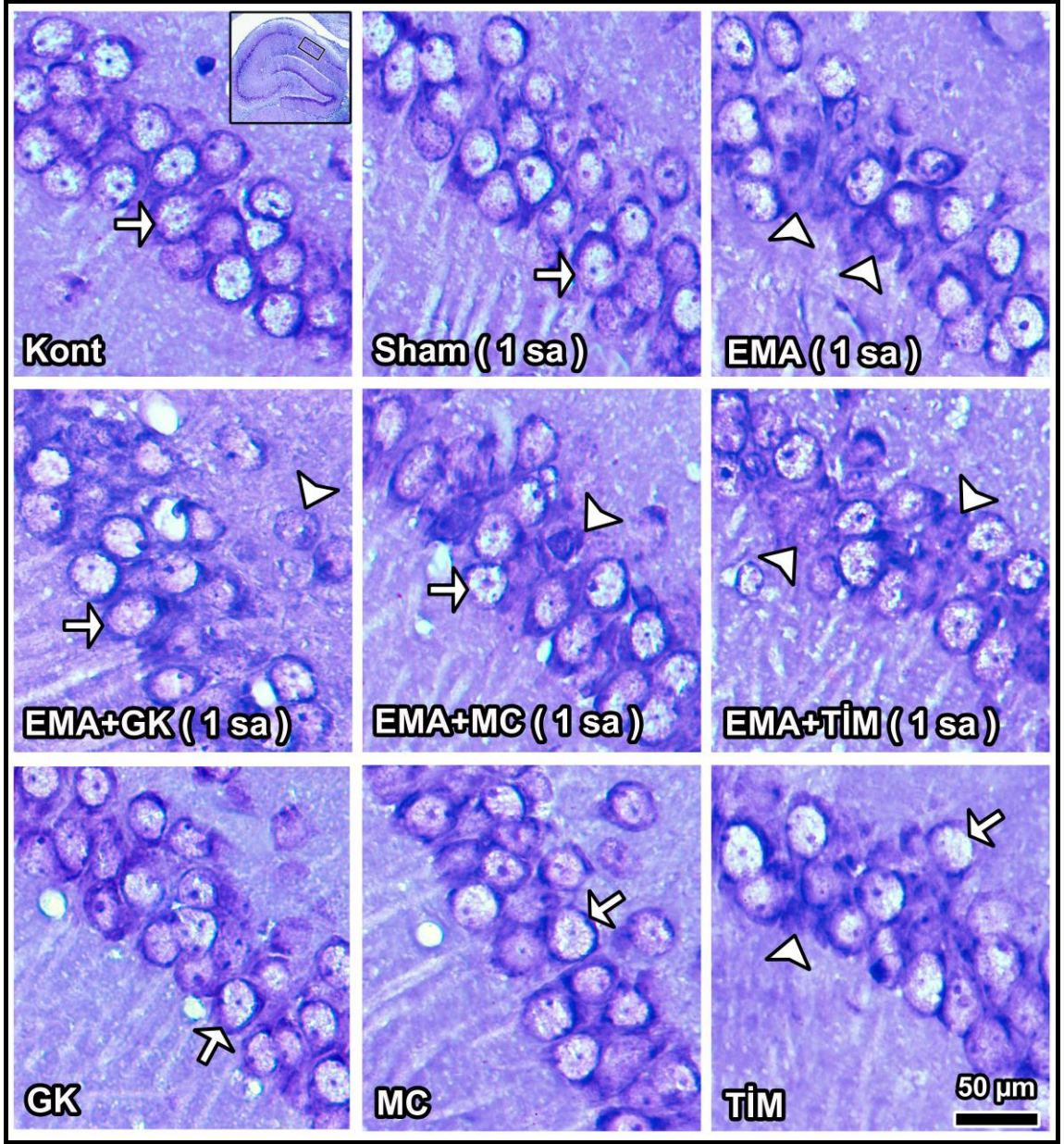
#### **4.2. Histokimyasal Bulgular**

Histolojik bulgular kapsamında tüm deney gruplarından elde edilen beyin hipokampus CA bölgelerinde cresyl violet ve immün boyama yapılmış olup, kesitler ışık mikroskopuyla incelenmiştir. Bunun sonucunda elde edilen bulgular aşağıda sunulmaktadır:

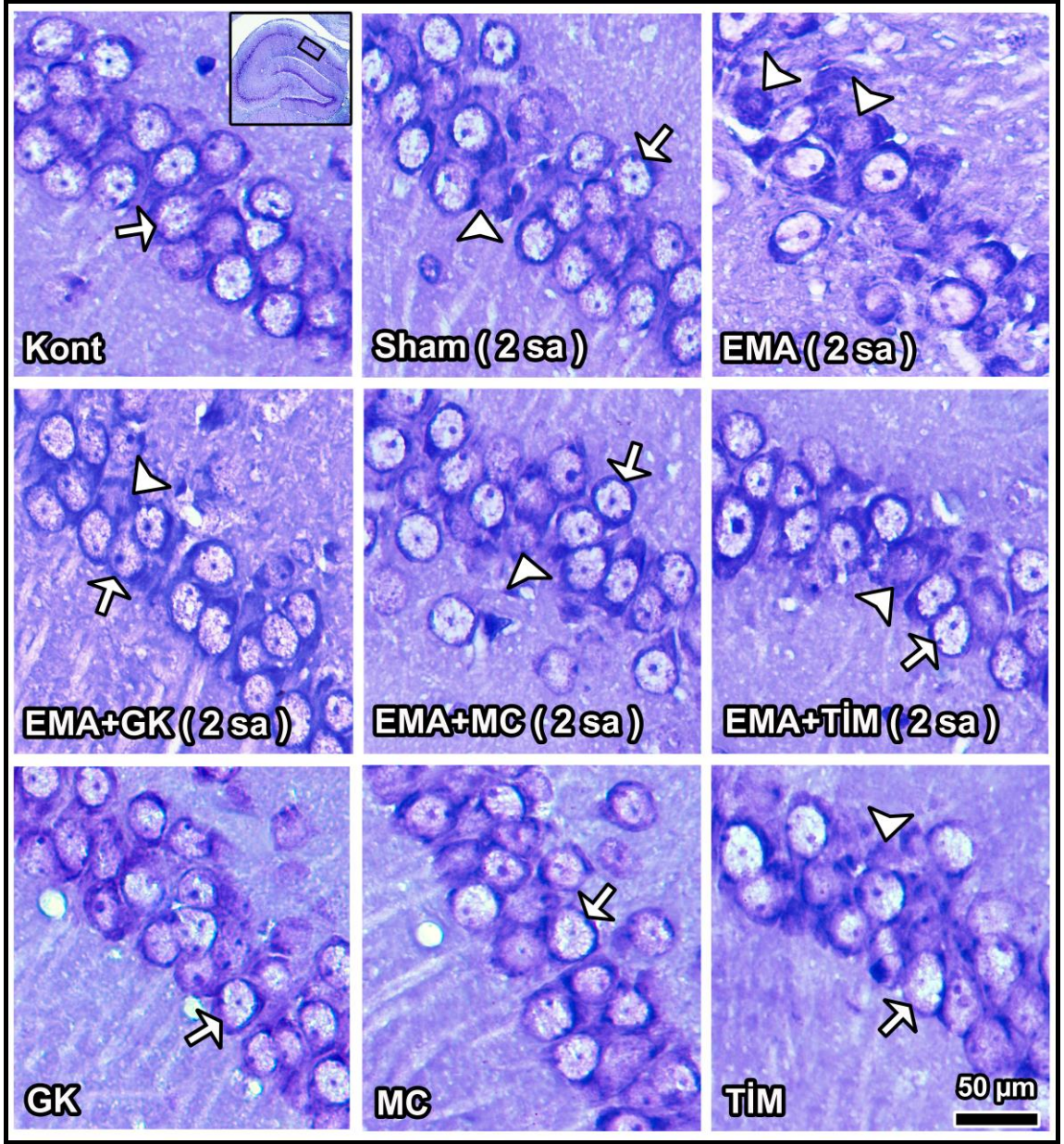
##### **4.2.1. CA1 Bölgesinin Cresyl Violet ile Boyanması Sonucu Elde Edilen Histolojik Bulgular**

Sunulan çalışmadaki tüm grupların CA1 bölgesinin histolojik incelemesinde (Şekil 27, 28, 29), Kont, MC, GK ve Sham (1 sa) gruplarına ait kesitlerde, hipokampus CA1 bölgesinin genel yapısının ve nöronların normal görünümde olduğu izlendi. Işık mikroskopik düzeyde yapılan incelemede buradaki piramidal nöronların perikaryonlarının sınırlarının belirgin olduğu saptandı. TİM grubunda ise MC ve GK gruplarına göre daha fazla sayıda koyu boyanmış çekirdek ve sitoplazma sınırları iyi seçilemeyen çok sayıda nöron gözlemlendi. EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarına ait piramidal nöron sayısında Kont grubuna göre önemli derecede hücresel yoğunluk azalması saptandı. EMA (2 sa) grubundaki dejenerasyon ve hücre azalmasının EMA (1

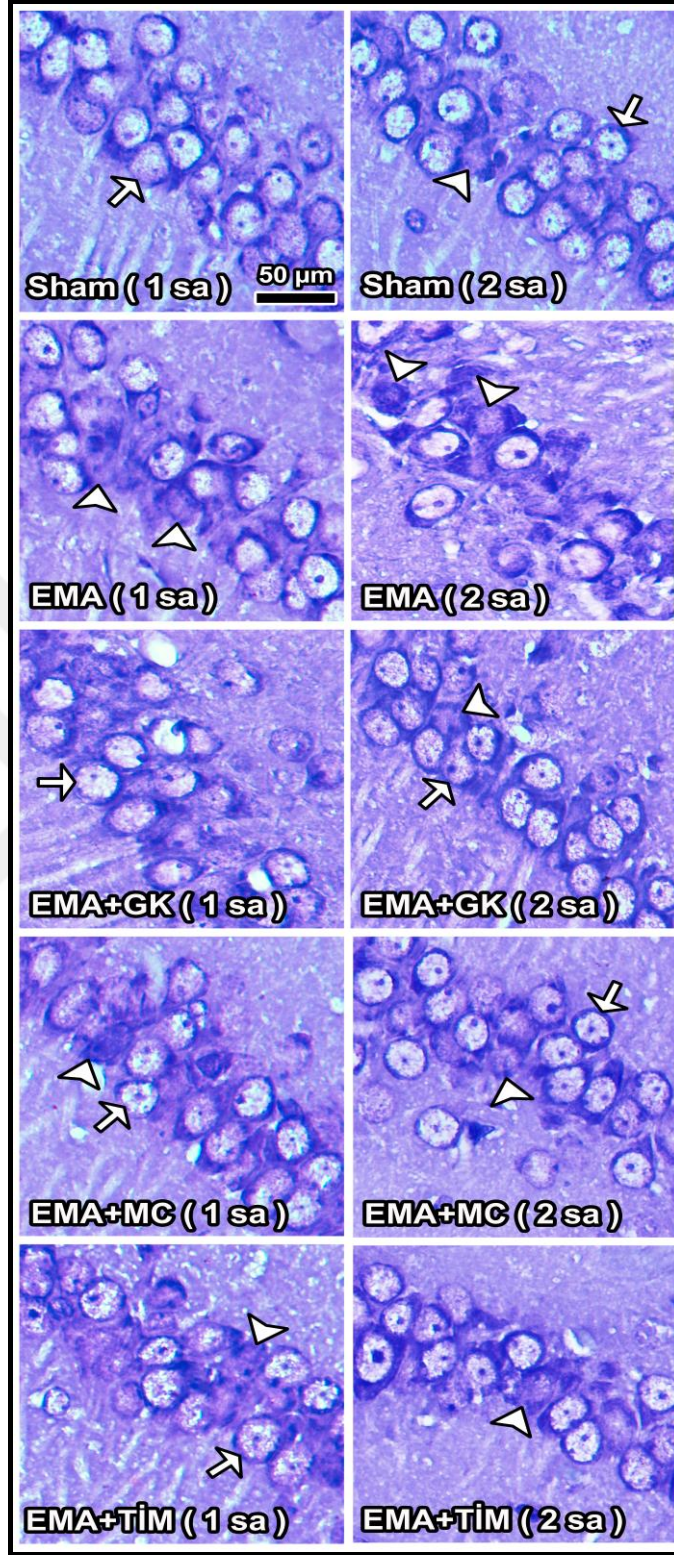
sa) grubuna göre daha yüksek oranda olduğu dejenere nöron sayının fazla olması, buna karşılık normal yapıdaki nöronların az sayıda olmasıyla karakterizedydi. Bu gruplarda yer alan hücrelerin hücre sınırları net bir şekilde ayırt edilememesinin yanı sıra dar ve koyu boyanmış sitoplâzmaya sahip nöronlar ile dejenere olmuş hücre artığı olası yapılar sıkça gözlenmekteydi. Kullandığımız antioksidanlar, EMA'nın oluşturduğu hücre kaybını önemli ölçüde azaltırken, TİM maddesinin kullanılan antioksidanlar içinde en az koruyucu özellikte olduğu görüldü. Bu durum piramidal nöronların oluşturduğu tabakada hücre yoğunluğunun önemli ölçüde azalması ile karakterizedydi. Ayrıca, EMA (1 sa)+GK, EMA (1 sa)+MC, EMA (1 sa)+TİM, EMA (2 sa)+GK, EMA (2 sa)+MC, EMA (2 sa)+TİM gruplarında hücre ve çekirdek sınırları net olarak gözlenebilen sağlıklı nöronlar EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarına kıyasla daha fazlaydı.



Şekil 27. 1 sa boyunca EMA'ya maruz kalma sonrasında hipokampusun CA1 bölgesinde cresyl violet ile boyanmış kesitlerde nöronlar izlenmektedir. Beyaz oklar sağlıklı nöronlara işaret ederken, beyaz ok başları dejenerere nöronları göstermektedir. Orijinal büyütme: X100



**Şekil 28.** 2 sa boyunca EMA'ya maruz kalma sonrasında hipokampusun CA1 bölgesinde cresyl violet ile boyanmış kesitlerde nöronlar izlenmektedir. Beyaz oklar sağlıklı nöronlara işaret ederken, beyaz ok başları dejenere nöronları göstermektedir. Orijinal büyütme: X100

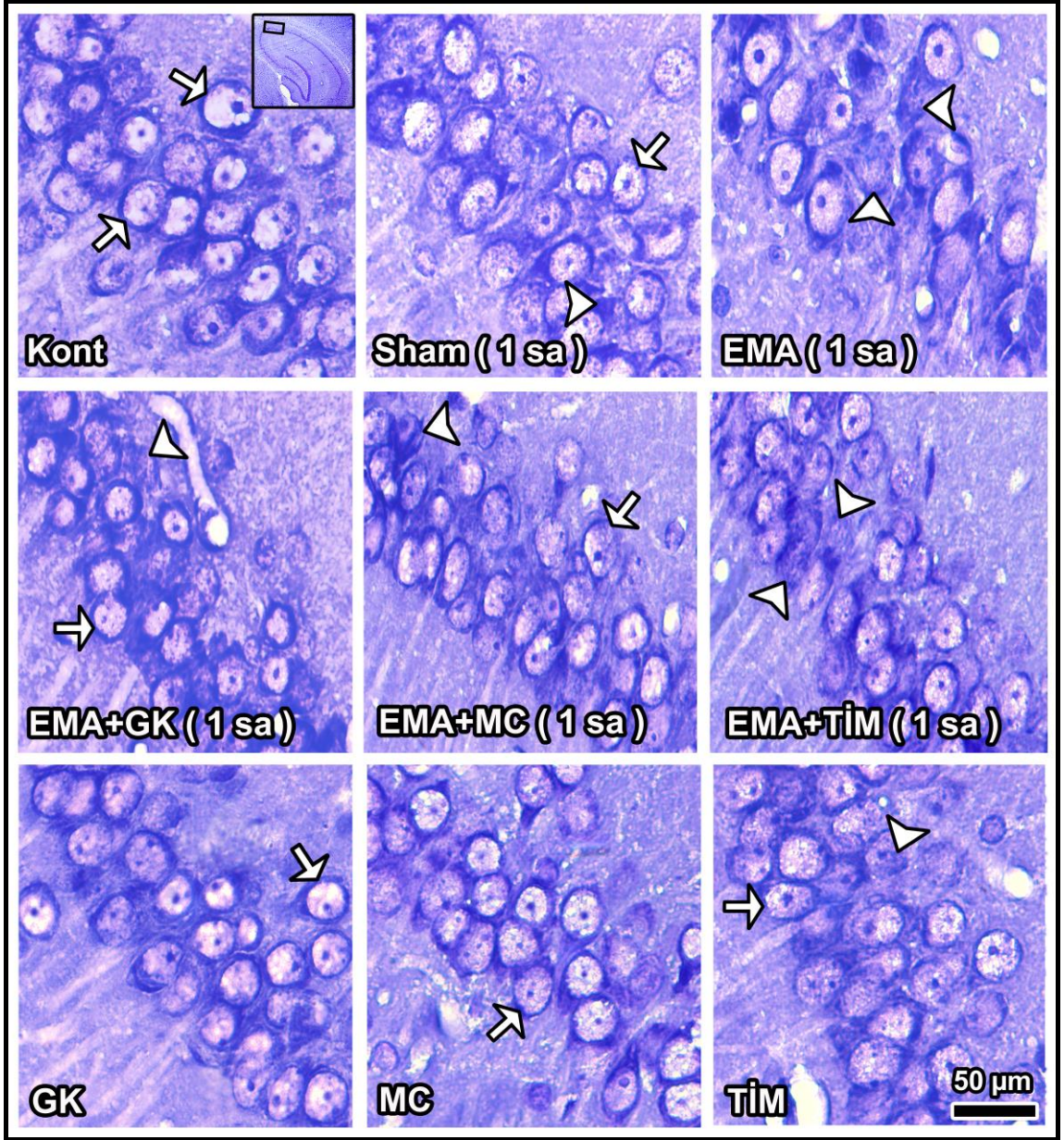


**Şekil 29.** 1 ve 2 sa boyunca EMA'ya maruz kalma sonrasında hipokampusun CA1 bölgesinde cresyl violet ile boyanmış kesitlerde nöronlar izlenmektedir. Beyaz oklar sağlıklı nöronlara işaret ederken, beyaz ok başları dejeneren nöronları göstermektedir. Orijinal büyüme: X100

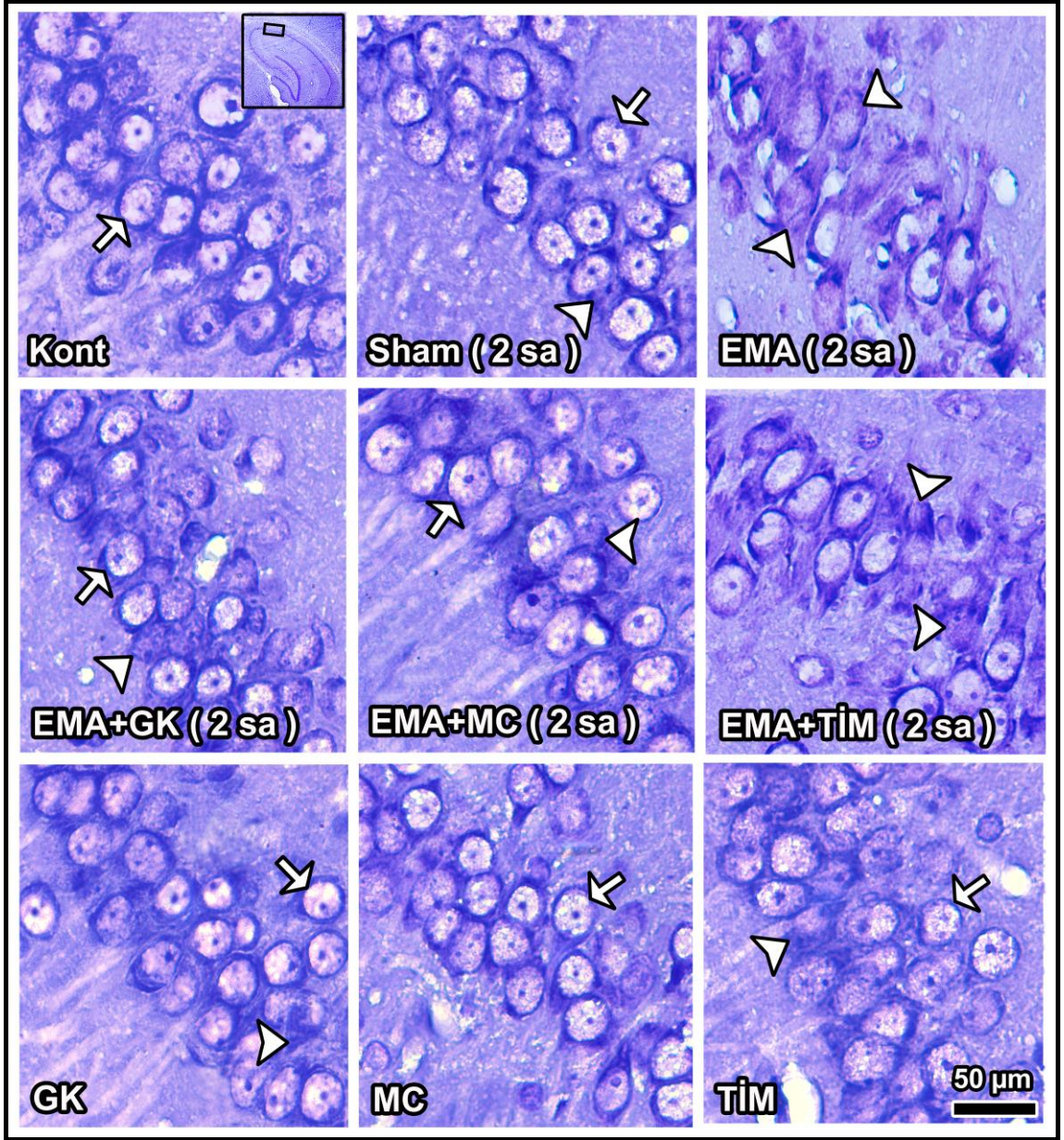


#### **4.2.2. CA2 Bölgesinin Cresyl Violet ile Boyanması Sonucu Elde Edilen Histolojik Bulgular**

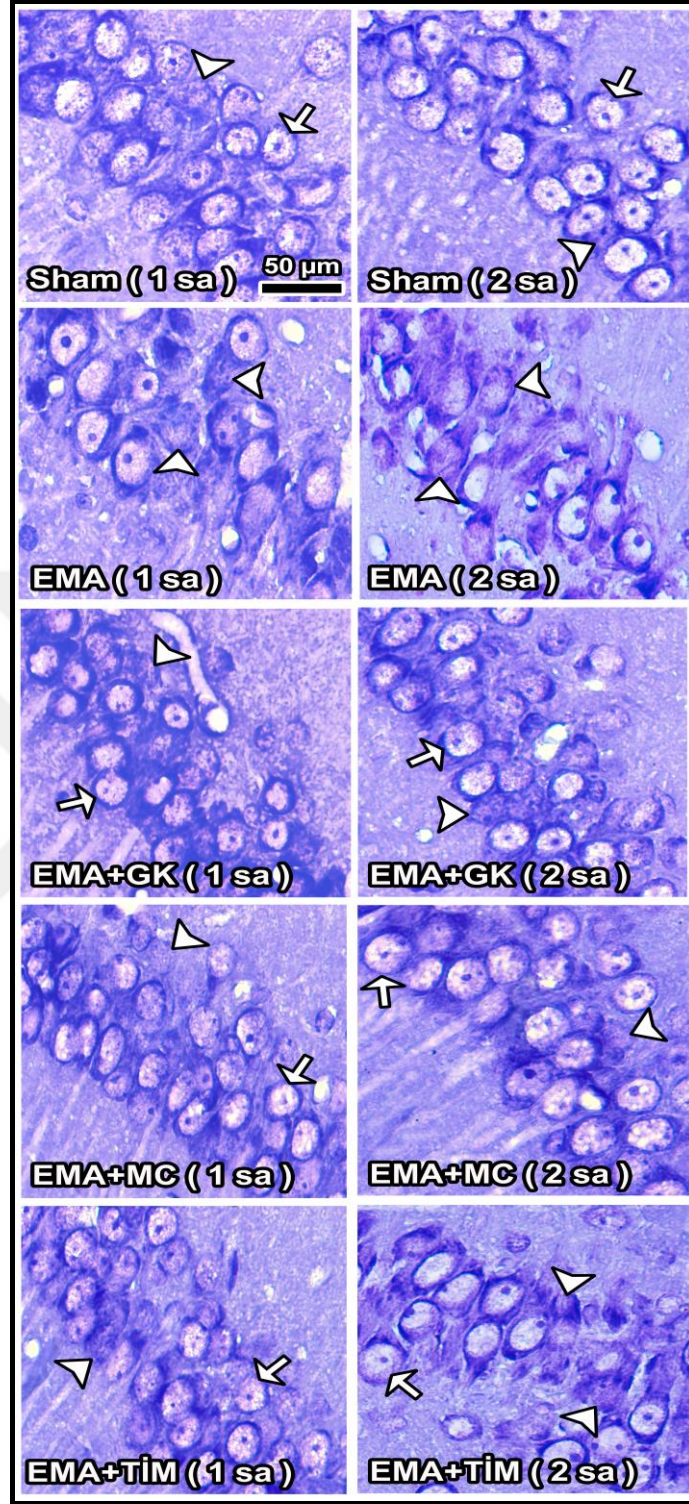
EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarında beyin hipokampus CA2 bölgesinin genel yapısı incelendiğinde (Şekil 30, 31, 32), ökromatik özelliği kaybolmuş çekirdeğe, dar ve koyu boyanmış sitoplâzmaya sahip nöronlara rastlandı. Özellikle EMA (2 sa) grubunda EMA (1 sa) grubuna göre önemli derecede hücre kaybının olduğu gözlemlendi. Bu gruptaki nöronların çoğunda hücre sınırları belirgin değildi. Özellikle dejenere olmaya doğru giden nöronların sınırları da seçilememekteydi. Hatta bazı alanlarda bu hasarlı nöronların hücre sınırları tespit edilemez düzeydeydi. Yapı bütünlüğü gösteren nöronlar bile boyut olarak küçülmüşlerdi. Buna ek olarak, EMA (1 sa)+GK, EMA (1 sa)+MC, EMA (1 sa)+TİM, EMA (2 sa)+GK, EMA (2 sa)+MC, EMA (2 sa)+TİM gruplarında yer alan sağlıklı görünümdeki nöronların EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarına kıyasla daha yoğun olduğu gözlemlendi. Kont, Sham (1 sa), GK ve MC gruplarına ait deneklerin hipokampus CA2 bölgelerinde hücreler düzgün şekilli olup sağlıklı görünümdeydi. EMA+MC (1 sa) grubunda nöron yoğunluğu EMA (2 sa)+MC grubuna göre daha fazlaydı ve çekirdekçikleri de daha belirgindi. TİM grubunda ise MC ve GK gruplarına göre daha fazla koyu boyanmış çekirdek ve sitoplâzmaları ile hasarlı görünümlü nöronlara rastlanmıştır.



**Şekil 30.** 1 sa boyunca EMA'ya maruz kalma sonrasında hipokampusun CA2 bölgesinde cresyl violet ile boyanmış kesitlerde nöronlar izlenmektedir. Beyaz oklar sağlıklı nöronlara işaret ederken, beyaz ok başları dejenere nöronları göstermektedir. Orijinal büyütme: X100



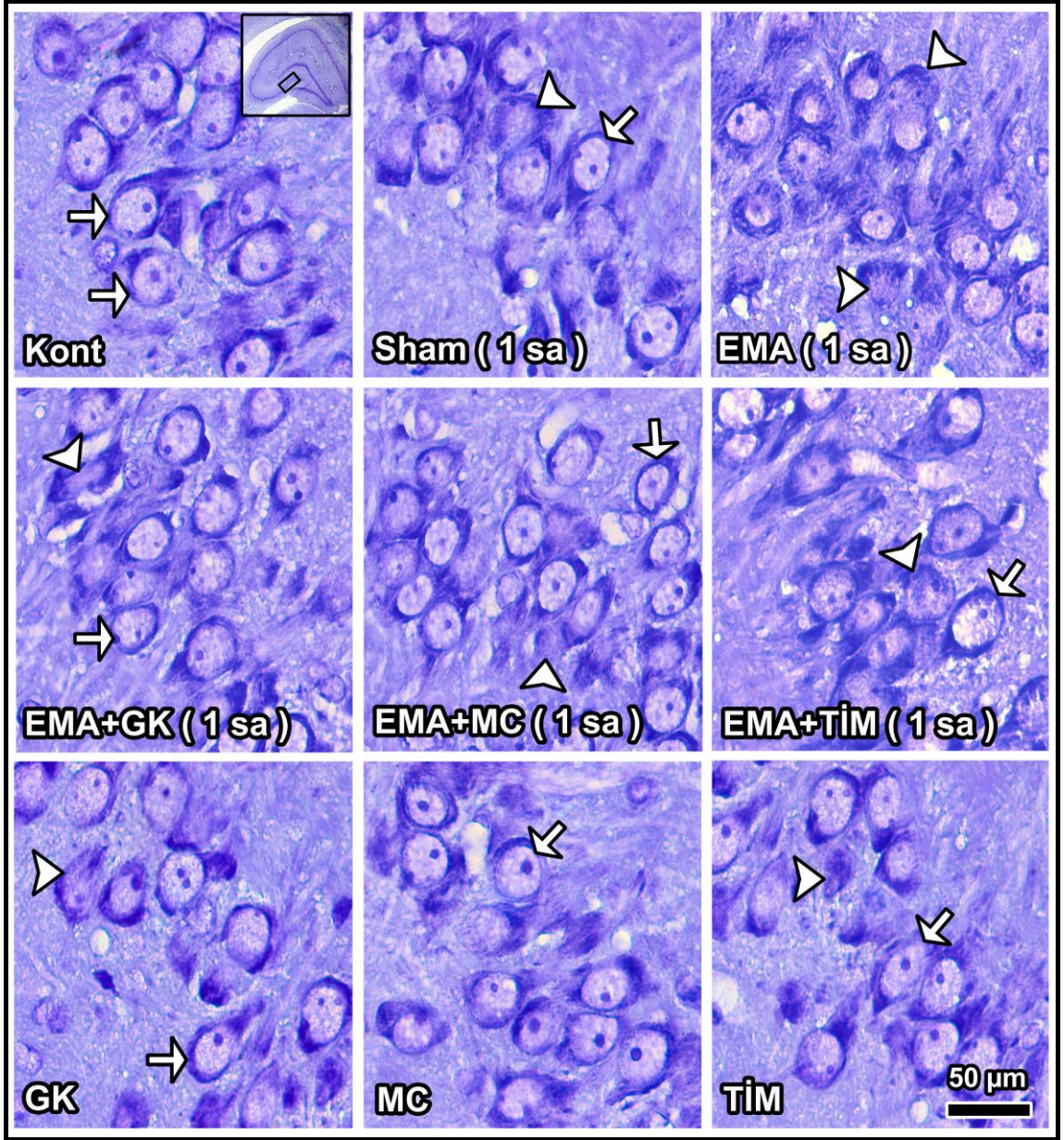
**Şekil 31.** 2 sa boyunca EMA'ya maruz kalma sonrasında hipokampusun CA2 bölgesinde cresyl violet ile boyanmış kesitlerde nöronlar izlenmektedir. Beyaz oklar sağlıklı nöronlara işaret ederken, beyaz ok başları dejenere nöronları göstermektedir. Orijinal büyütme: X100



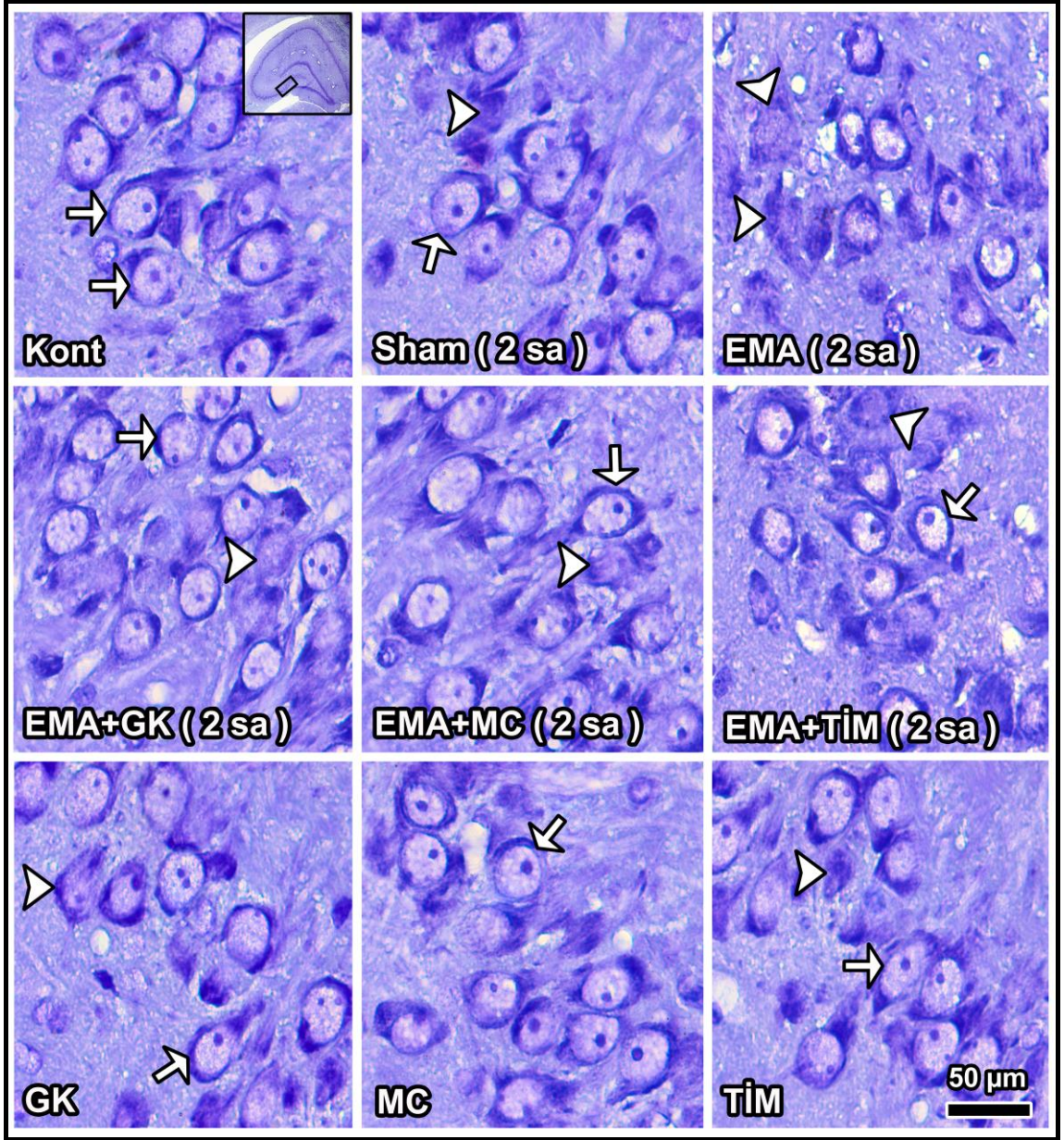
**Şekil 32.** 1 ve 2 sa boyunca EMA'ya maruz kalma sonrasında hipokampusun CA2 bölgesinde cresyl violet ile boyanmış kesitlerde nöronlar izlenmektedir. Beyaz oklar sağlıklı nöronlara işaret ederken, beyaz ok başları dejenere nöronları göstermektedir. Orijinal büyütme: X100

### **4.2.3. CA3 Bölgesinin Cresyl Violet ile Boyanması Sonucu Elde Edilen Histolojik Bulgular**

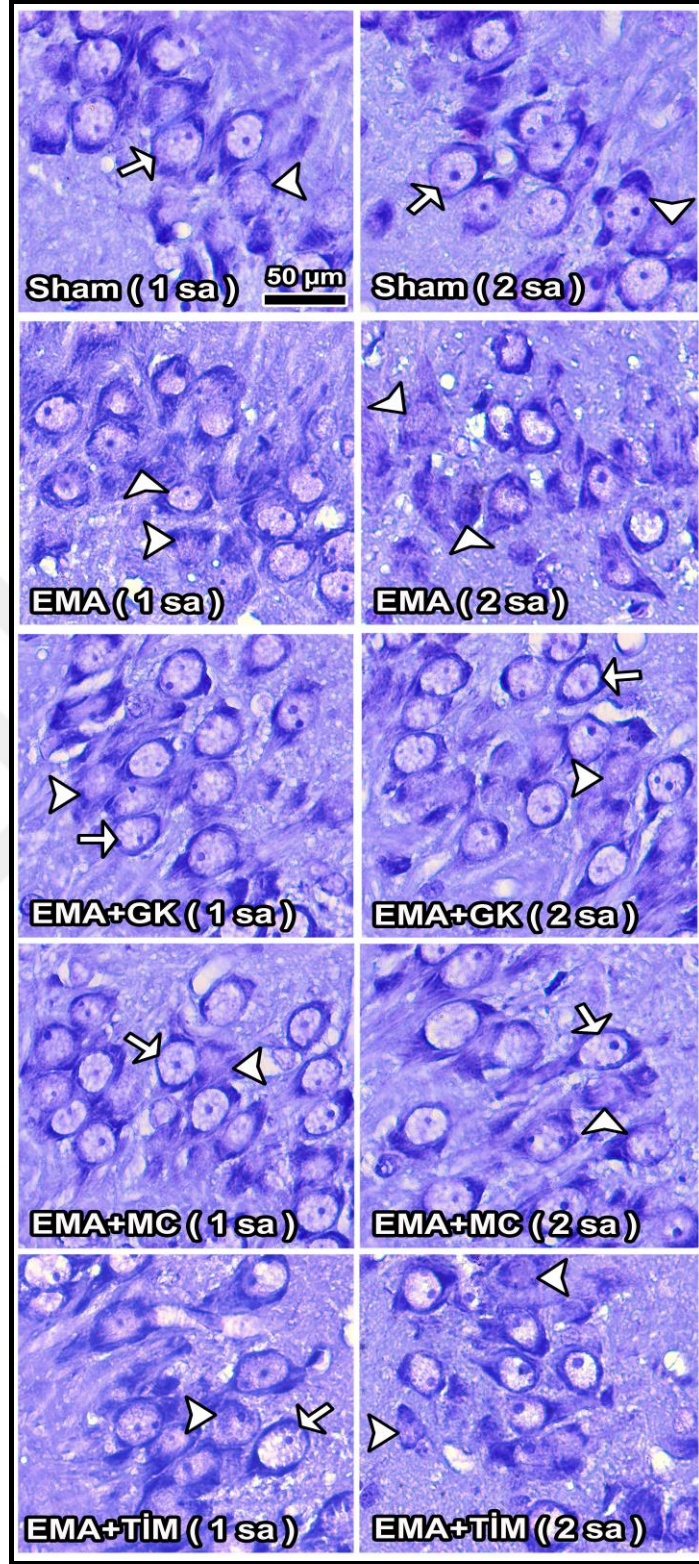
Kont, MC ve GK gruplarına ait kesitlerde, hipokampus CA3 bölgesinin genel yapısının ve nöronların morfolojilerinin normal görünümde olduğu gözlemlendi (Şekil 33, 34, 35), TİM ve GK gruplarında ise MC grubuna göre daha fazla sayıda koyu boyanmış çekirdek ve sitoplazmaları hasarlı görünümlü nöronlara rastlandı. EMA (1 sa)+GK, EMA (1 sa)+MC, EMA (1 sa)+TİM, EMA (2 sa)+GK, EMA (2 sa)+MC, EMA (2 sa)+TİM gruplarında yer alan sağlıklı görünümdeki nöronlar EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarına kıyasla daha fazla sayıdaydı. EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarına ait piramidal nöronların sayısında diğer gruplara oranla önemli derecede azalma gözlemlendi. EMA (2 sa) grubundaki dejenerasyon ve hücre azalması, EMA (1 sa) grubuna göre daha fazlaydı. EMA'ya maruz kalan gruplardaki hücrelerin çoğunda hücre sınırları net bir şekilde ayırt edilememekteydi, ayrıca dar ve koyu boyanmış sitoplazmaya sahip nöronların fazla sayıda olduğu saptandı. EMA'ya maruz kalmanın hücre çekirdeğinin boyutlarında da azalmaya neden olduğu niteliksel olarak fark ediliyordu. Hipokampusun diğer bölgelerinde (CA1 ve CA2) de gözlemlendiği gibi CA3 bölgesinde de TİM grubunda Kont, GK, MC, gruplarına göre önemli derecede hücre azalması olduğu, hücre yoğunluğundaki azalmayla kendini kesitlerde gösteriyordu.



**Şekil 33.** 1 sa boyunca EMA'ya maruziyet sonrası hipokampusun CA3 bölgesinde cresyl violet ile boyanmış kesitlerde nöronlar izlenmektedir. Beyaz oklar sağlıklı nöronlara işaret ederken, beyaz ok başları dejenere nöronları göstermektedir. Orijinal büyütme: X100



**Şekil 34.** 2 sa boyunca EMA'ya maruziyet sonrası hipokampusun CA3 bölgesinde cresyl violet ile boyanmış kesitlerde nöronlar izlenmektedir. Beyaz oklar sağlıklı nöronlara işaret ederken, beyaz ok başları dejenere nöronları göstermektedir. Orijinal büyüme: X100



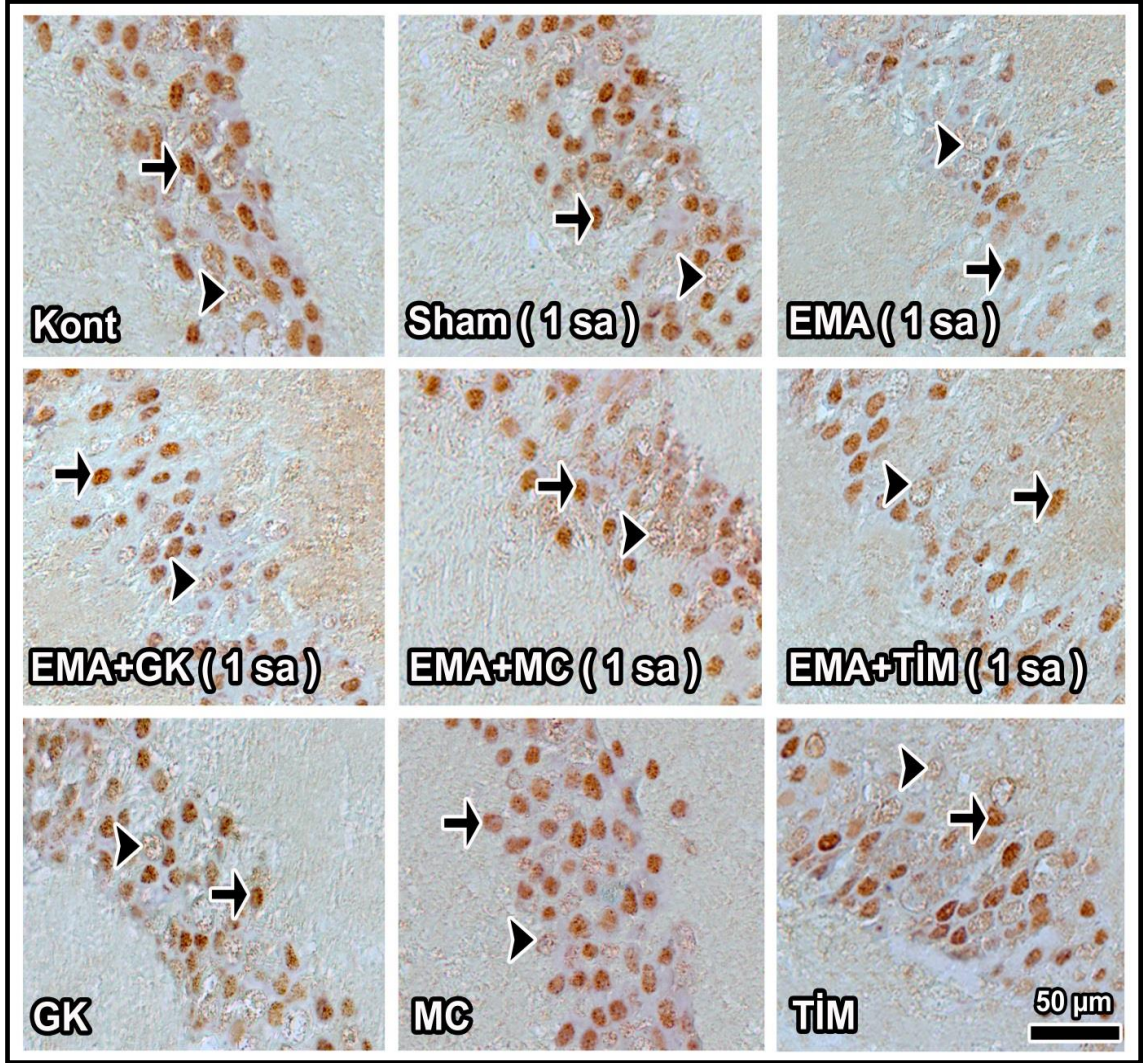
**Şekil 35.** 1 ve 2 sa boyunca EMA'ya maruziyet sonrası hipokampusun CA3 bölgesinde cresyl violet ile boyanmış kesitlerde nöronlar izlenmektedir. Beyaz oklar sağlıklı nöronlara işaret ederken, beyaz ok başları dejenere nöronları göstermektedir. Orijinal büyütme: X100



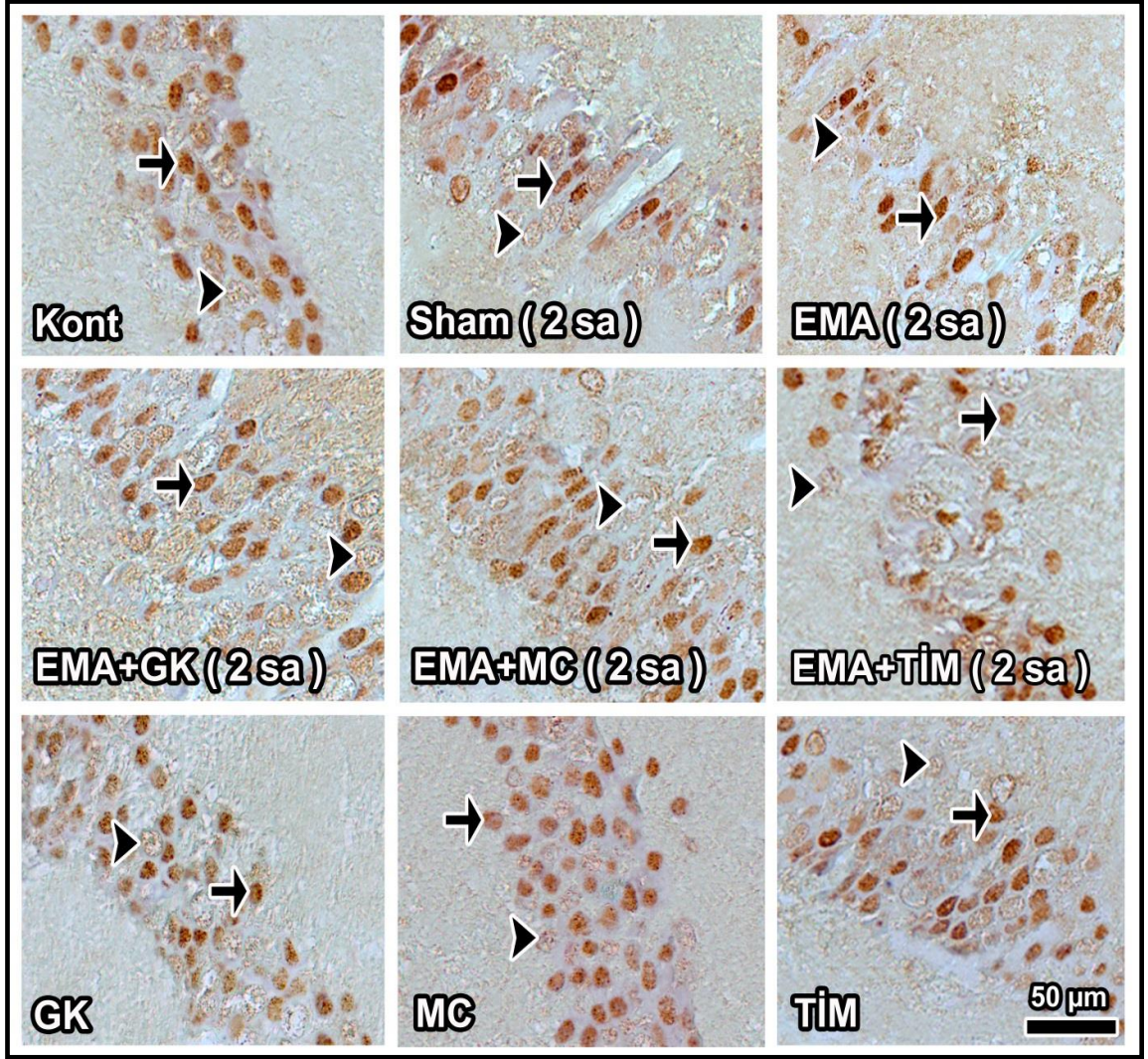
### **4.3. İmmünohistokimyasal Değerlendirme**

#### **4.3.1. Ki67 Antikoru ile Elde Edilen Bulgular**

Anti-Ki67 kullanılarak yapılan immünohistokimyasal analizlerde gruplara ait hipokampus örnekleri incelenmiş olup (Şekil 36, 37), dentat girus bölgesindeki hücrelerin değerlendirilmesi yapılmıştır. Bu bölgedeki hücrelerin sitoplâzmalardaki boyanma yoğunluğu hücreden hücreye farklılık göstermekteydi. Mitotik aktivitenin yüksek oranda görüldüğü alanlar koyu kahverengi boyanırken aktivitenin zayıf olduğu alanlarda ise boyanma gözlenmemiştir. Koyu boyanan alanlar göz önünde tutularak gruplar arası değerlendirme yapılmıştır. Bu bağlamda; EMA (1 sa), EMA (1 sa)+TİM ve TİM gruplarında Kont grubuna kıyasla oldukça az oranda anti-Ki67 (+) hücreye rastlanmıştır. Bununla birlikte, MC, GK ve Sham (1 sa) gruplarında Kont grubu ile benzer oranda anti-Ki67 (+) hücre izlenmiştir. Ayrıca; EMA (2 sa), Sham (2 sa) ve EMA (2 sa)+TİM gruplarında Kont grubuna kıyasla daha düşük oranda anti-Ki 67 (+) hücre gözlenmiştir.



**Şekil 36.** Gruplar arasındaki mitotik aktivite immünohistokimyasal boyama baz alınarak karşılaştırılmıştır. 1 sa boyunca EMA'ya maruziyet sonrası hipokampusun dentat girus bölgesindeki gruplara ait hücreler anti-Ki67 antikoruna ile işaretlenmiş olup pozitif reaksiyon gösterenler kahverengi olarak izlenmektedir. Siyah oklar anti-Ki67 (+) hücreleri gösterirken, siyah ok başları anti-Ki67 ile boyanmayan hücreleri göstermektedir (Mayer hematoxilen). Orijinal büyütme: X100



**Şekil 37.** Gruplar arasındaki mitotik aktivite immünohistokimyasal yöntemlerle karşılaştırılmıştır. 2 sa boyunca EMA'ya maruziyet sonrası hipokampusun dentat girus bölgesindeki gruplara ait hücreler anti-Ki67 antikoruna ile işaretlenmiş olup pozitif reaksiyon gösterenler kahverengi olarak izlenmektedir. Siyah oklar anti-Ki67 (+) hücelere işaret ederken, siyah ok başları anti-Ki67 ile boyanmayan hücreleri göstermektedir (Mayer hematoxylin). Orijinal büyütme: X100

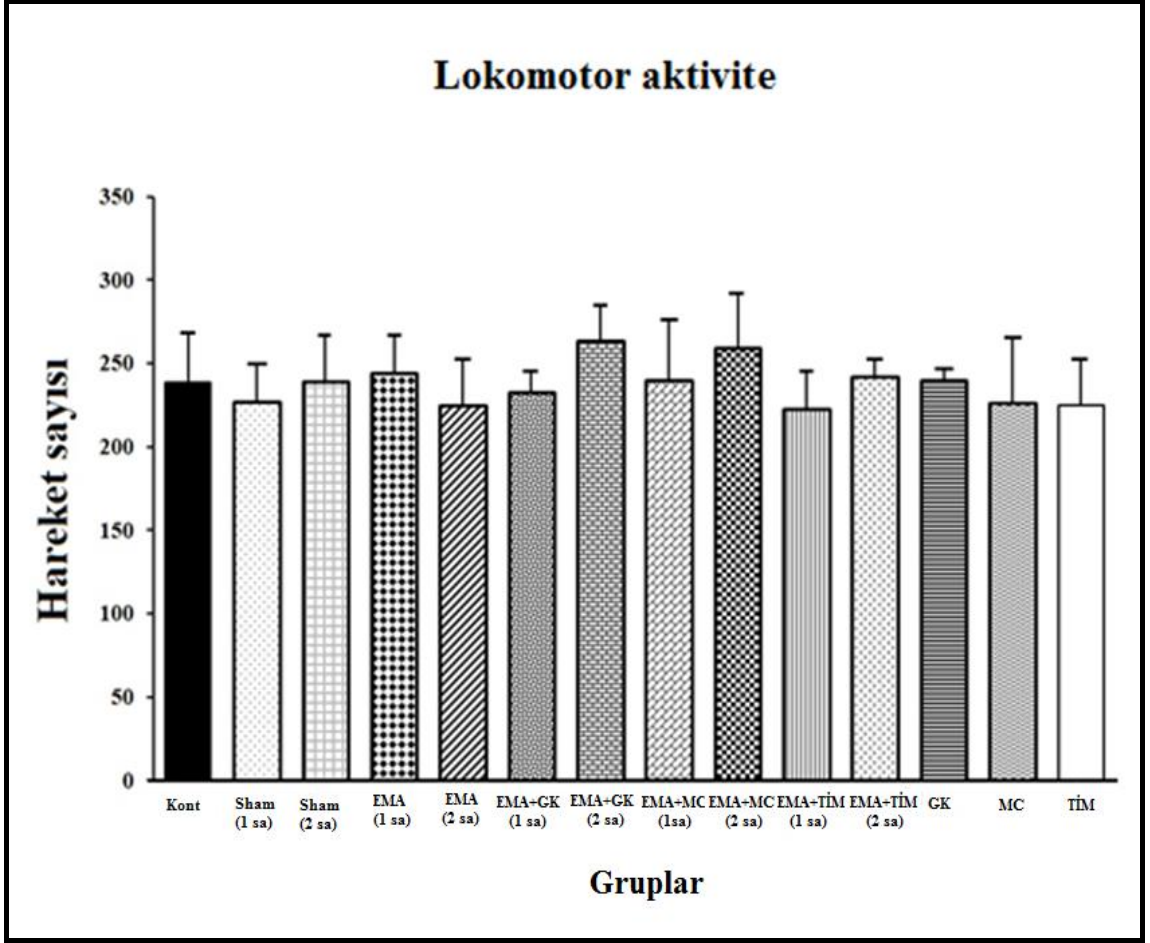
#### 4.4. Davranış Testi Bulguları

##### 4.4.1. Grupların Lokomotor Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Pasif sakınma testi öncesinde sıçanlar lokomotor aktivite testine tabi tutulmuştur. Bu noktada, hayvanların 5 dakika içerisindeki toplam adım sayıları tespit edilmiştir. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde gruplar arasında herhangi bir anlamlı farka rastlanmamıştır ( $p > 0,05$ ) (Tablo 7, Şekil 38).

**Tablo 7.** Tüm gruplardaki sıçanlara ait ortalama hareket sayısı±standart sapma değerleri

<b>Gruplar</b>	<b>Hareket sayısı (ortalama±standart sapma)</b>
<b>Kont</b>	238,50±50,32
<b>Sham (1 sa)</b>	226,66±22,92
<b>Sham (2 sa)</b>	238,83±37,54
<b>EMA (1 sa)</b>	244,00±36,75
<b>EMA (2 sa)</b>	225,00±42,92
<b>EMA (1 sa)+GK</b>	232,66±26,01
<b>EMA (2 sa)+GK</b>	263,83±40,62
<b>EMA (1 sa)+MC</b>	239,83±37,69
<b>EMA (2 sa)+MC</b>	259,16±38,80
<b>EMA (1 sa)+TİM</b>	222,33±61,43
<b>EMA (2 sa)+TİM</b>	242,33±18,45
<b>GK</b>	240,16±35,08
<b>MC</b>	226,00±64,15
<b>TİM</b>	224,83±52,51



**Şekil 38.** 1 sa ve 2 sa EMA maruziyetinin tüm gruplarda hayvanların 5 dakikadaki hareket sayıları üzerine etkilerini gösteren grafik. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır ( $p>0,05$ )

#### 4.4.2. Pasif Sakınma Testi ile Retansiyon Süresinin Değerlendirilmesi

Gruplara ait tüm sıçanlar aydınlık bölmeden karanlık bölmeye geçtiklerinde uygulanan elektrik şokunun ardından onları tehdit eden bir unsurun varlığını öğrenmiş oldular. Bu öğrenmeyi takiben 24 sa sonra hayvanlar tekrar test alanına getirilmiş ve KBGZ'leri tespit edilmiştir. Bu bağlamda, istatistiksel olarak 24 sa sonra KBGZ değerlendirilerek gruplar arasında istatistiksel açıdan görülen farklılıklar değerlendirilmiştir.

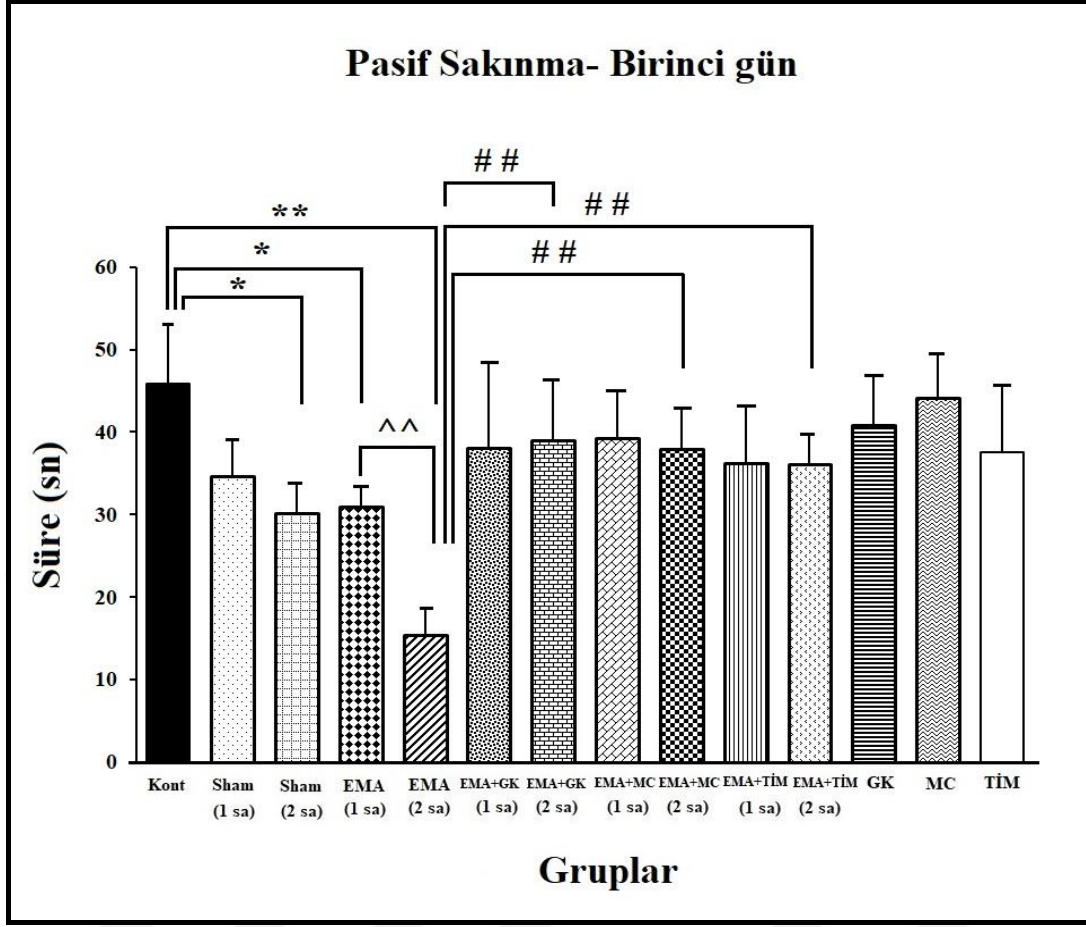
#### 4.4.3. Birinci Günde Karanlık Bölgeye Geçiş Zamanının Değerlendirilmesi

Birinci günün sonunda elde edilen KBGZ ortalama verileri değerlendirildiğinde (Tablo 8, Şekil 39), Kont grubuna kıyasla EMA (1 sa) ve Sham (2 sa) gruplarında istatistiksel açıdan sürenin anlamlı olarak daha kısa olduğu bulunurken ( $p<0,05$ ), EMA

(2 sa) grubunda ise ileri derecede anlamlı olarak daha kısa olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,01$ ). Bununla birlikte, Kont grubu ve diğer gruplar arasında herhangi bir fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ). Ayrıca EMA+GK (2 sa), EMA+MC (2 sa) ve EMA+TİM (2 sa) gruplarının birinci gün KBGZ değerlerinde EMA (2sa) grubuna kıyasla ileri derecede anlamlı olarak bir artış tespit edilmiştir ( $p<0,01$ ). Bununla birlikte EMA (1sa) ile EMA+GK (1 sa), EMA+MC (1 sa) ve EMA+TİM (1 sa) grupları arasında herhangi bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Tablo 8.** Grupların birinci gün sonunda KBGZ (ortalama±standart sapma) değerleri (saniye)

<b>Gruplar</b>	<b>KBGZ (ortalama±standart sapma)</b>
<b>Kont</b>	45,89±7,84
<b>Sham (1 sa)</b>	34,63±4,53
<b>Sham (2 sa)</b>	30,16±3,44
<b>EMA (1 sa)</b>	30,91±2,29
<b>EMA (2 sa)</b>	17,62±4,87
<b>EMA (1 sa)+GK</b>	38,11±17,46
<b>EMA (2 sa)+GK</b>	37,44±6,60
<b>EMA (1 sa)+MC</b>	40,83±6,39
<b>EMA (2 sa)+MC</b>	38,81±4,10
<b>EMA (1 sa)+TİM</b>	35,57±6,35
<b>EMA (2 sa)+TİM</b>	36,11±3,66
<b>GK</b>	40,82±6,02
<b>MC</b>	44,15±5,32
<b>TİM</b>	37,55±8,17



Şekil 39. Birinci gün sonunda deneklerin karanlık bölmeye geçme zamanları

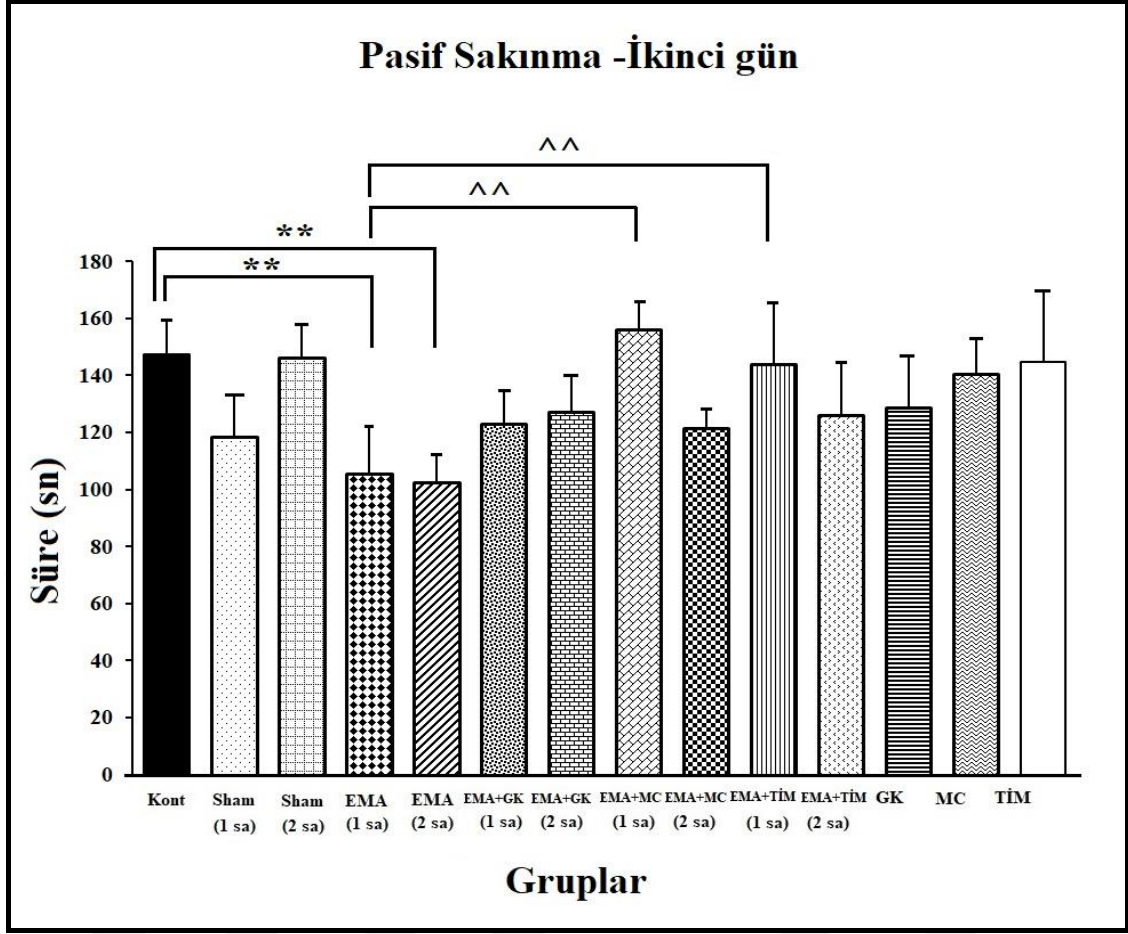
#### 4.4.4. İkinci Günde Karanlık Bölgeye Geçiş Zamanının Değerlendirilmesi

İkinci gün sonunda elde edilen KBGZ ortalama bulguları değerlendirildiğinde (Tablo 9, Şekil 40), Kont grubuna kıyasla EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarında istatistiksel açıdan sürenin ileri derecede anlamlı olarak daha kısa bulunduğu tespit edilmiştir ( $p < 0,01$ ). Bununla birlikte, Kont grubu ve diğer gruplar arasında herhangi bir fark saptanmamıştır ( $p > 0,05$ ). Ayrıca EMA+MC (1 sa) ve EMA+TİM (1 sa) gruplarının ikinci gün KBGZ’da, EMA (1 sa) grubuna kıyasla ileri derecede anlamlı olarak bir artış tespit edilmiştir ( $p < 0,01$ ). Bununla birlikte EMA (2sa) ile EMA+GK (2 sa), EMA+MC (2 sa) ve EMA+TİM (2 sa) grupları arasında herhangi bir fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).

**Tablo 9.** Grupların ikinci gün sonunda KBGZ (ortalama±standart sapma) değerleri (saniye)

<b>Gruplar</b>	<b>KBGZ (ortalama±standart sapma)</b>
<b>Kont</b>	147,30±12,39
<b>Sham (1 sa)</b>	118,38±14,47
<b>Sham (2 sa)</b>	146,18±12,38
<b>EMA (1 sa)</b>	105,71±16,47
<b>EMA (2 sa)</b>	102,51±10,15
<b>EMA (1 sa)+GK</b>	122,88±11,98
<b>EMA (2 sa)+GK</b>	127,10±12,13
<b>EMA (1 sa)+MC</b>	156,05±10,09
<b>EMA (2 sa)+MC</b>	121,51±6,28
<b>EMA (1 sa)+TİM</b>	144,10±21,47
<b>EMA (2 sa)+TİM</b>	125,88±18,12
<b>GK</b>	128,61±17,75
<b>MC</b>	140,50±12,74
<b>TİM</b>	144,68±24,56





Şekil 40. İkinci gün sonunda deneklerin karanlık bölmeye geçme zamanları

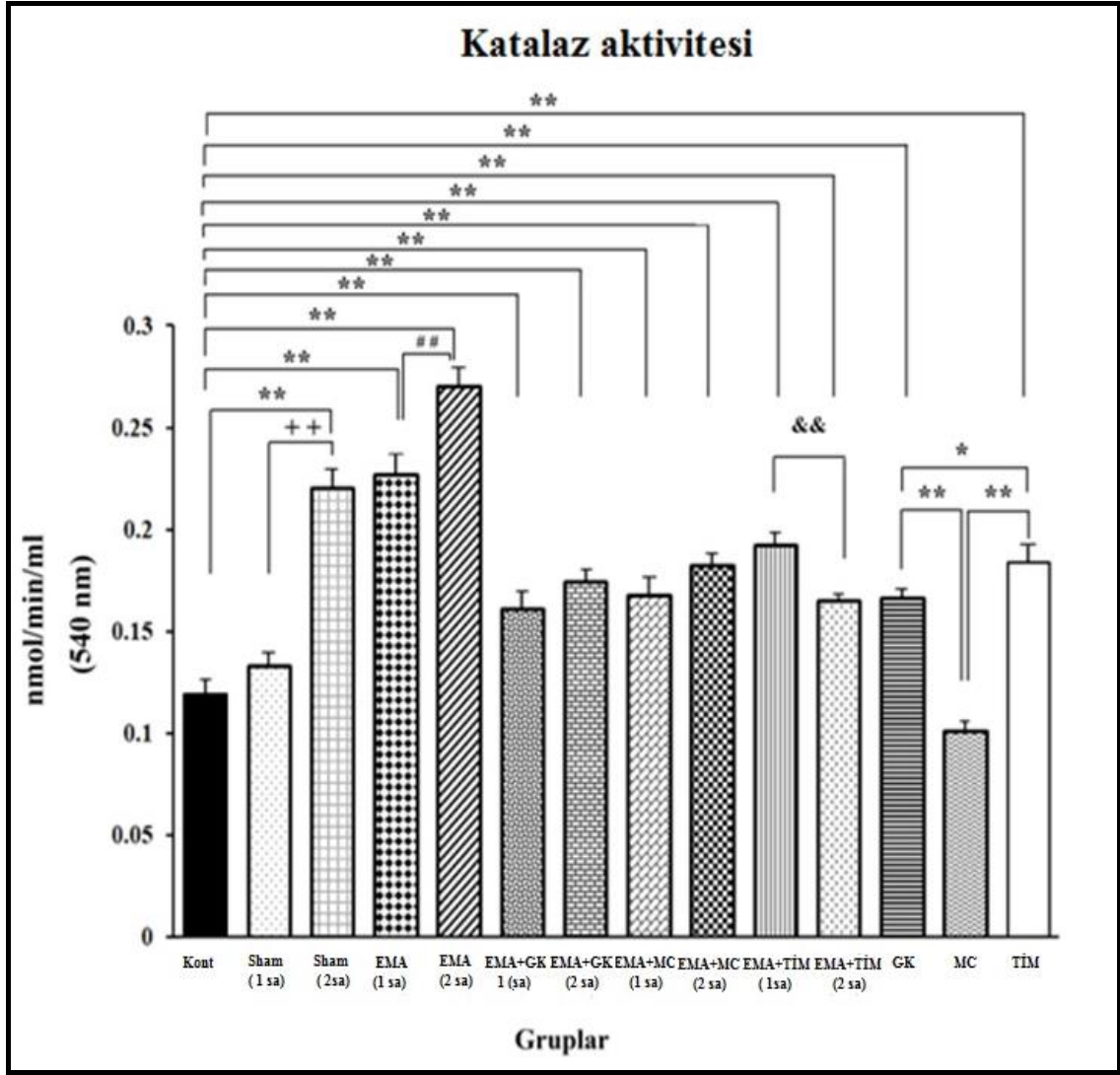
#### 4.5. Biyokimyasal Bulgular

##### 4.5.1. Grupların Ortalama Katalaz Enzim Aktivitesi

Çalışmamızda oluşturulan tüm gruplara ait deneklerden alınan kan serum örneklerinde CAT enzimi aktivitesi ölçülmüştür. Elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve grafikte sunulmuştur (Tablo 10, Şekil 41).

**Tablo 10.** Tüm gruplara ait CAT enzim aktivite (nmol/min/ml (540 nm); ortalama±standart sapma) değerleri

<b>Gruplar</b>	<b>CAT enzim aktivitesi (ortalama±standart sapma)</b>
<b>Kont</b>	0,119±0,011
<b>Sham (1 sa)</b>	0,133±0,018
<b>Sham (2 sa)</b>	0,220±0,030
<b>EMA (1 sa)</b>	0,226±0,019
<b>EMA (2 sa)</b>	0,270±0,023
<b>EMA (1 sa)+GK</b>	0,161±0,012
<b>EMA (2 sa)+GK</b>	0,174±0,012
<b>EMA (1 sa)+MC</b>	0,167±0,014
<b>EMA (2 sa)+MC</b>	0,182±0,035
<b>EMA (1 sa)+TİM</b>	0,192±0,020
<b>EMA (2 sa)+TİM</b>	0,165±0,018
<b>GK</b>	0,175±0,016
<b>MC</b>	0,101±0,047
<b>TİM</b>	0,183±0,087



**Şekil 41.** Tüm gruplara ait ortalama CAT enzim aktivite değerlerinin grafiği. İstatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “\*” ile gösterilirken,  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “+”, “&&”, “##” ile gösterilmiştir

Gruplara ait CAT aktivite ölçümleri değerlendirildiğinde; Kont grubuna kıyasla Sham (2 sa), EMA (1 sa), EMA (2 sa), EMA+GK (1 sa), EMA+GK (2 sa), EMA+MC (1 sa), EMA+MC (2 sa), EMA+TİM (1 sa), EMA+TİM (2 sa) ile TİM ve GK gruplarında ileri derecede anlamlı olarak bir artış tespit edilmiştir ( $p < 0,01$ ). Bunun aksine Kont grubu ve MC grubu arasında, benzer şekilde Kont grubu ve Sham (1 sa) grubu arasında herhangi bir fark görülmemiştir ( $p > 0,05$ ). EMA (1 sa) grubunda, EMA (2 sa) grubuna kıyasla ileri derecede anlamlı olarak düşük aktivite düzeyi gözlenmiştir ( $p < 0,01$ ). Benzer şekilde; Sham (1 sa) grubunda, Sham (2 sa) grubuna kıyasla ileri derecede anlamlı olarak düşük aktivite düzeyine rastlanmıştır ( $p < 0,01$ ). EMA+TİM (1

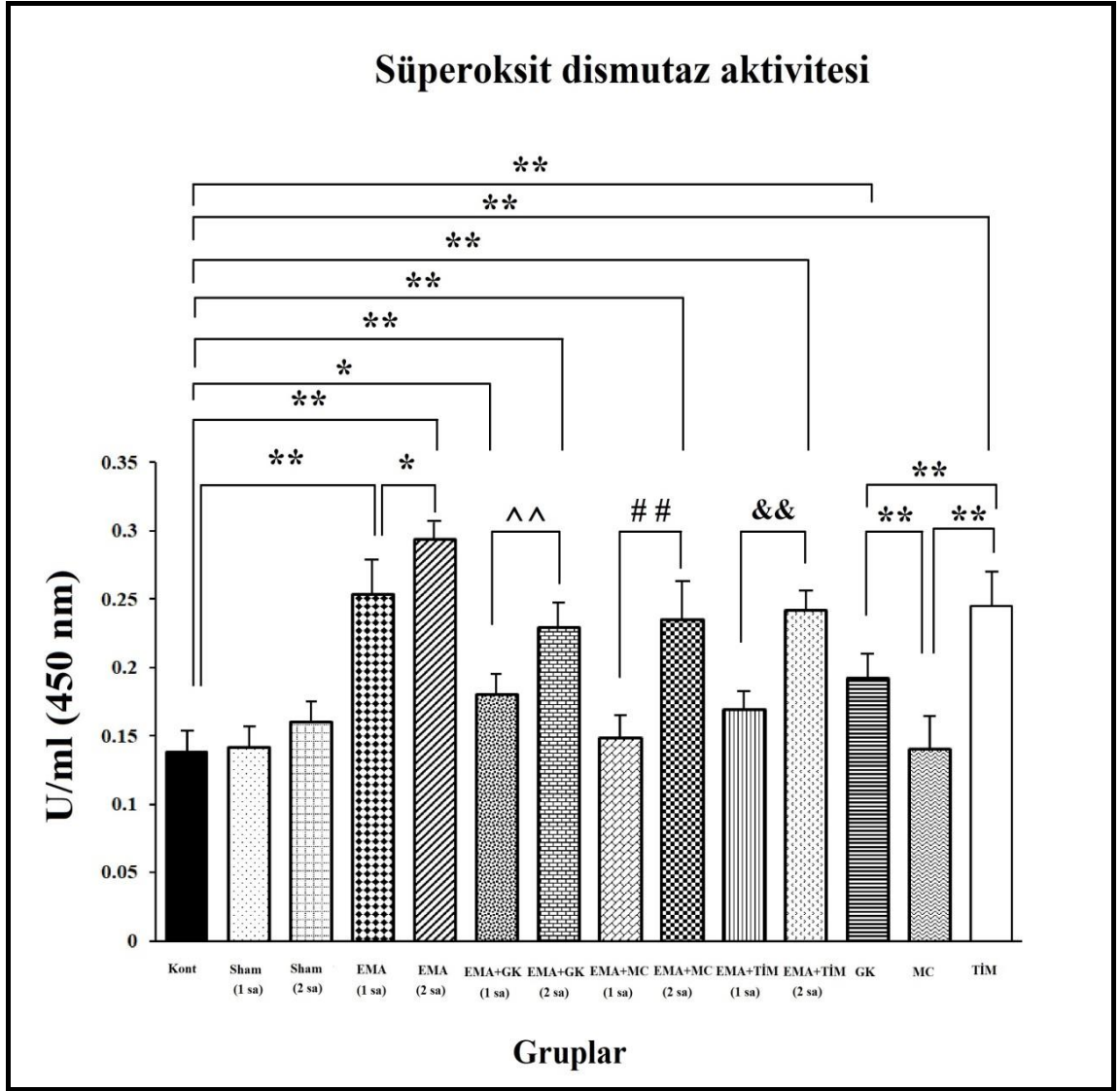
sa) grubunda EMA+TİM (2 sa) grubuna kıyasla ileri derecede anlamlı olarak yüksek düzeyde aktivite bulgulanmıştır ( $p<0,01$ ). Sadece antioksidan uygulanan gruplar değerlendirildiğinde, MC grubundaki aktivite miktarının TİM ve GK gruplarına kıyasla ileri derecede anlamlı olarak daha düşük seviyede olduğu izlenmiştir ( $p<0,01$ ). Bununla birlikte, TİM grubunda GK grubuna kıyasla anlamlı olarak daha yüksek oranda aktivite ölçümü saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

#### 4.5.2. Grupların Ortalama Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesi

Çalışmamızda oluşturulan tüm gruplara ait deneklerden alınan kan serum örneklerinde SOD enzimi aktivitesi ölçülmüştür. Elde edilen bulgular aşağıdaki tabloda ve grafikte sunulmuştur (Tablo 11, Şekil 42).

**Tablo 11.** Tüm gruplara ait SOD enzim aktivite (U/ml (450 nm); ortalama±standart sapma) değerleri

Gruplar	SOD enzim aktivitesi (ortalama±standart sapma)
Kont	0,136±0,016
Sham (1 sa)	0,140±0,019
Sham (2 sa)	0,160±0,013
EMA (1 sa)	0,253±0,014
EMA (2 sa)	0,293±0,030
EMA (1 sa)+GK	0,180±0,012
EMA (2 sa)+GK	0,228±0,016
EMA (1 sa)+MC	0,147±0,023
EMA (2 sa)+MC	0,235±0,017
EMA (1 sa)+TİM	0,167±0,018
EMA (2 sa)+TİM	0,241±0,266
GK	0,192±0,011
MC	0,140±0,012
TİM	0,245±0,027



**Şekil 42.** Tüm gruplara ait ortalama SOD enzim aktivite değerlerinin grafiği. İstatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “\*” ile gösterilirken,  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı olan farklılıklar “^^, \*\*, &&, ##” ile gösterilmiştir

Gruplara ait SOD enzim aktivitesi değerlendirildiğinde, Kont grubuna kıyasla EMA (1 sa), EMA (2 sa), EMA+GK (2 sa), EMA+MC (2 sa), EMA+TİM (2 sa) ile TİM ve GK gruplarında ileri derecede anlamlı olarak bir artış gözlenmiştir ( $p < 0,01$ ). Bununla birlikte Kont grubuna kıyasla EMA+GK (1 sa) grubunda anlamlı olarak bir artış saptanmıştır ( $p < 0,05$ ). Ayrıca EMA (1 sa) grubunda, EMA (2 sa) grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük aktivite miktarı bulgulanmıştır ( $p < 0,05$ ). EMA+GK, EMA+MC ve EMA+TİM gruplarında 2 sa’lik EMA maruziyeti sonrasında saptanan enzim aktivite miktarları 1 sa’lik maruziyet sonrası saptanan aktivite miktarlarına kıyasla ileri derecede

anlamli olarak daha yuiksek olarak gozlenmistir ( $p < 0,01$ ). Buna ek olarak, MC grubundaki aktivite miktarı TİM ve GK gruplarına kıyasla ileri derecede anlamli olarak daha duik oranda gozlemlenmistir ( $p < 0,01$ ). Ayrıca TİM grubunda GK grubuna kıyasla ileri derecede anlamli olarak daha yuiksek oranda aktivite oiumüne rastlanmistir ( $p < 0,01$ ).



## 5. TARTIŞMA

Günlük hayatta birçok cihaz tarafından yayılan EMA biyolojik yapılar üzerinde çeşitli etkiler oluşturan önemli bir etkidir (Mokarram ve ark., 2017). Özellikle mobil iletişim için kullanılan kaynakların yaygın olması nedeniyle EMA'ya maruziyet endişe verecek düzeye çıkmıştır. Bunun nedeni EMA üreten yeni teknolojiler hakkında kamuoyunun yeterince bilgilendirilmemesi ve sağlığımızı olumsuz yönde etkileyen bu etkenin sonuçları ile ilgili bilimsel tartışmaların yeterince yapılmamasıdır (Wilen ve ark., 2003). Çalışmalar, EMA etkisinin; maruz kalma süresine, elektrik alanının yoğunluğuna ve yaşa bağlı olarak yaşamı etkileyebilen çok sayıda değişikliğe neden olduğunu ve bunların morfolojik, fizyolojik ve davranışsal değişikliklerle kendini gösterdiğini bildirmişlerdir (Baş ve ark., 2013; İkinci ve ark., 2013; Odacı ve ark., 2013). İnsanlarda bu değişikliklere neden olabilecek ana EMA kaynaklarından biri cep telefonlarıdır. Özellikle baş bölgesine yakın bir konumda tutulmaları nedeniyle, cep telefonlarından kaynaklanan EMA'nın beyin ve ilgili yapılar üzerinde olumsuz etkilere sahip olabileceği öne sürülmüştür (Davis ve ark., 2013). Bu bağlamda en hassas organlarımızdan olan beyin, EMA'nın hedef yapılarından biridir (Hao ve ark., 2015). Beynin önemli bir parçasını oluşturan hipokampus; hafıza, öğrenme ve duygulanım gibi çeşitli fonksiyonların kontrolünü sağlayan bir yapıdır. Uzun süreli olarak ilaçlara, kimyasal maddelere veya herhangi bir çevresel faktöre maruziyetin yukarıda belirtilen fonksiyonları etkileyebileceği bilinmektedir (Squire, 2004; Yau ve ark., 2015). Bilimsel çalışmalar EMA'nın bu fonksiyonları etkileyen önemli bir etken olduğunu göstermektedir (Bas ve ark., 2009a; Bas ve ark., 2009b; Baş ve ark., 2013; Erdem Koç ve ark., 2016).

EMA'ya maruziyet serbest radikal üretimini artırıp oksidatif strese yol açarak biyolojik yapıları etkileyebilir. Vücutta sürekli üretilen ROS; SOD, GPX ve CAT gibi antioksidan enzimler tarafından ortadan kaldırılmaya çalışılır. Fakat bazı durumlarda endojen antioksidan savunma sistemi, oksijen radikallerinin aşırı derecede üretimi ve detoksifikasyon sistemlerinin inaktivasyonu nedeniyle bozulabilir. Ayrıca, aşırı serbest radikal üretimi, enzimatik veya enzimatik olmayan antioksidanları tüketerek hücrelere zarar verebilir (Consales ve ark., 2012). Bu bağlamda, EMA'ya maruziyetin apoptotik yolu aktive eden oksidatif stresi indüklediği bilinmektedir (Ozben, 2007). Aşırı miktarda serbest radikal oluşumunun önlenmesi ve ortaya çıkan hücresel hasarın

ortadan kaldırılması bir hücrenin yaşamı için gerekli bir durumdur. Bu nedenle hücrelerde hasara karşı koruyacak çok sayıda antioksidan bulunmaktadır (Birben ve ark., 2012).

Günlük hayatın vazgeçilmez araçlarından biri olan cep telefonları tarafından yayılan EMA'ya maruziyet neredeyse kaçınılmazdır (El-Bediwive ark., 2011; Kaplan ve ark., 2016). EMA'nın postnatal ve özellikle de prenatal dönemde canlı organizmalar üzerindeki etkisi konusunda tartışmalar tüm hızıyla devam etmektedir (Chung ve ark., 2005; Chater ve ark., 2006; Erdem Koç ve ark., 2016; Deniz ve ark., 2017a). EMA'nın canlı organizma üzerindeki biyolojik etkilerini tam anlamıyla ortaya çıkarmak ve kalıcı bir hasara yol açıp açmadığını belirlemek için daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır. Sunulan çalışmada, prenatal dönemde EMA'ya maruziyetin hipokampustaki negatif etkileri üzerinde değişik antioksidanların kullanılmasıyla bu maddelerin koruyucu olup olmadığı stereolojik, biyokimyasal, immünohistokimyasal, fonksiyonel ve histopatolojik yaklaşımlar kullanılarak anlaşılmasına çalışılmıştır.

İlgili parametreler açısından, kullanılan antioksidan maddelerin EMA üzerindeki etkisi ve bu alanın beynin hipokampus bölgesi üzerinde meydana getirmiş olduğu değişiklikler ile ilgili ortaya konan çalışma bulguları güncel araştırmalar ışığında aşağıdaki şekilde açıklanabilir:

### **5.1. Elektromanyetik Alan ve Hipokampus**

Çalışma sonuçları stereolojik olarak incelendiğinde, EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarına ait CA1, CA2 ve CA3 bölgelerindeki ve ayrıca tüm hipokampustaki ortalama piramidal nöron sayısında Kont ve Sham (1 sa) gruplarına kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede azalma gözlenmiştir. Ayrıca EMA (2 sa) grubunda ortalama piramidal nöron sayısı bakımından EMA (1 sa) grubuna nazaran istatistiksel olarak ileri düzeyde azalan yönde bir fark saptanmıştır. EMA maruziyeti sonucu meydana gelen oksidatif stres, hem gelişen hem de yetişkin beynin hücre zarlarında apoptotik sinyal üretimine yol açarak apoptozu indükleyebilir ve embriyonik gelişim sırasında nöral kök hücrelerin nöronlara farklılaşmasını engelleyebilir (Ozben, 2007; Motawi ve ark., 2014). Bu bağlamda, prenatal dönemde EMA'ya maruziyet sonucunda EMA gruplarındaki piramidal nöron sayısındaki azalma, EMA'nın beyinde gerçekleşen nörogenezisi baskılaması sonucunda davranışsal ve nörobiyolojik defektleri artırması şeklinde yorumlanabilir (Odacı ve ark., 2008). Çalışma gruplarımızdan elde edilen histopatolojik



ve immünohistokimyasal bulgular stereolojik analiz bulgularımızı destekler niteliktedir. Ayrıca, özel EMA düzeneği içerisine yerleştirilmiş fakat herhangi bir EMA'ya maruz kalmamış sıçanlardan oluşan Sham (2 sa) grubunun ortalama nöron sayısı, Kont ve Sham (1 sa) gruplarıyla karşılaştırıldığında anlamlı derecede hücre kaybının olduğu tespit edilmiştir. Herhangi bir toksik madde kullanılmadan yalnızca 2 sa'lik stresin sonucunda gözlenen bu hücre kaybının nedeninin, glutamaterjik transmisyon aktivasyonunun indüklenmesi sonucunda ortaya çıktığı söylenebilir, bu durumda N-metil-D-aspartik asit (NMDA) reseptörleri üzerinden gerçekleştiği bildirilmektedir (Li ve ark., 2004; McEwen, 2007).

Cep telefonu kullanımının çocukluk çağına kadar inmesi ve yaygınlaşması EMA'nın insan sağlığı üzerinde çeşitli etkiler oluşturabileceği kanısını yaygınlaştırmaktadır. Stereolojik teknikler kullanılarak EMA'nın etkisini araştıran birçok çalışma mevcuttur ve bu çalışmaların çoğunda yalnızca 900 MHz EMA maruziyeti sonrası meydana gelen değişiklikler değerlendirilmiştir (Odaci ve ark., 2008; Bas ve ark., 2009a; Bas ve ark., 2009b; Sonmez ve ark., 2010). Odaci ve ark. (2008) prenatal dönemleri boyunca 900 MHz EMA'ya maruz bırakılan sıçanların hipokampus bölgesinde yer alan dentat girusundaki granüler nöron sayısında kontrol grubuna kıyasla azalma olduğunu optik parçalama yöntemi kullanılarak bulmuşlardır. Bas ve ark. (2009a) postnatal yaşamda 900 MHz EMA'ya 28 gün boyunca günde 1 sa maruz bırakılan sıçanların hipokampusunun CA bölgesindeki piramidal nöron sayısını optik parçalama tekniğini kullanarak hesaplamış ve kontrol grubuna kıyasla EMA grubunda piramidal nöron sayısında azalma olduğunu saptamışlardır. Çalışmamızla benzerlik gösteren Bas ve ark. (2009b) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise prenatal dönemde günde 1 sa 900 MHz EMA'ya maruz bırakılan sıçanların CA bölgesindeki piramidal nöron sayısının kontrol grubuna nazaran daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, Altun ve ark. (2017) yaptıkları bir çalışmada 900 MHz EMA maruziyetinin sıçan hipokampus ve beyinciğinde hücre azalmasına neden olduğunu bulmuşlardır. Erdem Koç ve ark. (2016) tarafından yapılan bir araştırmada prenatal dönemde günde 1 sa EMA'ya maruz kalan sıçanların CA bölgesindeki piramidal nöronların kontrol grubuna göre önemli derecede azaldığı gözlenmiştir. Şahin ve ark. (2015) tarafından postnatal yaşamda günde 1 sa 30 gün boyunca EMA'ya maruz kalan sıçanların CA bölgesindeki piramidal nöron sayısı optik parçalama tekniği ile hesaplandığında bu

gruptaki nöron sayısının kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğu saptanmıştır. Rağbetli ve ark. (2009) prenatal dönemde EMA'ya maruz bırakılan farelerde CA bölgesindeki piramidal nöron sayısını stereolojik teknikler kullanılarak araştırmışlar, kontrol grubu ile EMA grubu arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark gözlememişlerdir. Kivrak ve ark. (2017)'nin folik asit ve *Boswellia sacra* antioksidanlarının EMA üzerindeki etkilerini incelediği bir çalışmada postnatal yaşamda günde 1 sa olmak üzere 21 gün boyunca 900 MHz EMA'ya maruziyetin sıçan hipokampusundaki piramidal ve granüler nöron sayısında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak azalmaya neden olduğu stereolojik olarak ortaya konmuştur. Kerimoğlu ve ark. (2016)'nın 60 günlük sıçan hipokampusu üzerinde EMA'nın etkilerini inceledikleri çalışmadan elde ettikleri stereolojik bulgular günde 1 sa 900 MHz EMA maruziyetinin piramidal nöron kaybına sebebiyet verdiğini ortaya koymuştur. Bütün bu çalışmalar ışığında, kronik düzeyde EMA maruziyetinin hipokampus üzerinde oluşturduğu etkilerin araştırıldığı ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç vardır (Falcioni ve ark., 2018).

Ki67, mitotik index değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılan ve hücre çoğalmasını gösteren bir proteindir (Scholzen ve Gerdes, 2000). Bu çalışmada, tüm grupların beyin dokularından alınan ince kesitlerde mitotik aktiviteyi gözlemlemek için Ki67 antikoru kullanıldı ve immünohistokimyasal değerlendirmeler yapıldı. Bu değerlendirmeler sonucunda EMA (1 sa) ve EMA (2sa) gruplarına ait hipokampus'un dentat girus bölgesinde Ki67 pozitifliğinin düşük seviyede olduğu gözlemlendi. Bu seviye EMA (2 sa) grubunda EMA (1 sa) grubuna göre daha düşük düzeydeydi. Bu durum hücre siklus kontrolünün ve hücrelerin proliferatif aktivitelerinin EMA'nın etkisiyle bozulmuş olabileceği şeklinde yorumlanabilir. Peißner ve ark. (1999) tarafından sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada EMA maruziyeti sonucu hipokampusta hücre proliferasyonunu değerlendirmek için kullanılan Ki67 antikoru ile immünoreaktif olan hücreler değerlendirilmiş ve kontrol grubuna göre Ki67 pozitif hücrelerin sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Takahashi ve ark. (2002)'nin transgenik fareler üzerinde yaptıkları başka bir çalışmada 14 gün ve 28 gün boyunca günde 90 dakika 1,5 GHz EMA'ya maruz bırakılan sıçanlarda beyin dokusu Ki67 antikoru ile immünohistokimyasal olarak incelenmiştir. Sonuçta EMA grupları ile Sham grubu arasında pozitif hücrelerin sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farka

rastlanmamıştır. Farklı sonuçlar veren bu çalışmalar doğrultusunda, doza bağlı EMA'ya maruziyetin hücre proliferasyonunu ne derecede etkilediği konusunda yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu düşüncesindeyiz.

Çalışmamız bünyesinde sıçanların kan serum örneklerinde CAT ve SOD biyokimyasal analizleri yapıldı. EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarında CAT ve SOD enzim aktivite düzeylerinin Kont ve Sham (1 sa) gruplarına göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu gözlemlendi. Bu durum, EMA'nın serbest radikal oluşumuna neden olan oksidatif strese yol açması sonucunda ortamdaki serbest radikal düzeyinin yükselmesine bağlı olarak söz konusu antioksidan enzim seviyelerinin yükselmesi şeklinde açıklanabilir. Altun ve ark. (2017)'nin çalışmasında da benzer biyokimyasal sonuçlar gözlenmiştir. Bahreyni Toossive ark. (2018) tarafından yapılan başka bir çalışmada prenatal dönem boyunca günde 2 sa EMA'ya maruz kalan farelerin hipokampus dokusunda SOD enzim aktiviteleri incelenmiş ve gruplar arasında bir fark gözlenmemesine karşın EMA grubunda CAT enzim aktivitesinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmıştır. Sharma ve ark. (2017)'nin çalışmasında günde 2 sa 3 ay boyunca 900 MHz EMA'ya maruz bırakılan sıçanlara ait serum örnekleri incelenmiş, EMA grubunda kontrol grubuna kıyasla SOD enzim aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlenirken, CAT enzim aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir. Kivrak ve ark. (2017) günde 1 sa olmak üzere 21 gün boyunca 900 MHz EMA'ya maruz bıraktıkları sıçanların hipokampusunda EMA'nın etkisini araştırmışlar ve kan serum örnekleri incelendiğinde EMA grubunda kontrol grubuna kıyasla CAT enzim aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemişlerdir. Bu durum, EMA maruziyetine bağlı olarak artan serbest radikallerin intrinsik antioksidan korumasını inhibe ederek oksidatif stresin meydana gelmesi sonucunda yüksek düzeyde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşması ve oluşan bu maddenin zararsız hale getirilebilmesi için CAT aktivitesinin arttığı şeklinde yorumlanabilir. Analizlerimiz de yukarıdaki yorumu destekler niteliktedir. Bu çalışmalar ışığında, doza ve süreye bağlı oksidatif stres etkisinin biyokimyasal parametrelerin ve organizma türlerinin zenginleştirilerek kapsamlı bir biçimde araştırılması gerektiği düşüncesindeyiz.

Yukarıda sunulan tüm bulgulara ek olarak çalışmamızda öğrenme ve hafızanın nasıl işlediği ile ilgili veri toplamak için pasif sakınma testi hayvanlar kurbanı edilmeden önce uygulanmıştır. Analizler sonucunda aşağıdaki bulgular elde edilmiştir.

Hayvanların öğrenme durumunu saptamak için birinci günün sonunda elde edilen KBGZ ortalama değerleri incelenmiş ve Kont grubuna kıyasla EMA (1 sa) ve Sham (2 sa) gruplarında KBGZ'nin istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde azaldığı gözlenirken, söz konusu durumun EMA (2 sa) grubunda daha belirgin olduğu saptanmıştır. Deney hayvanlarımızın hafıza durumlarını tespit etmek için ikinci gün sonunda KBGZ ortalama değerleri karşılaştırılmış, Kont grubuna kıyasla EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarında istatistiksel açıdan KBGZ'nin ileri derecede kısaldığı gözlenmiştir. Tüm bu bulgular, EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarında yer alan deneklerin Kont grubuna kıyasla öğrenme ve sonrasında bellek işlevlerinde ileri derecede azalma olduğunu göstermiştir. Bu noktada, EMA maruziyetinin öğrenme ve hafızada önemli bir yere sahip olan kolinerjik sistem aktivitesini olumsuz yönde etkilediği düşünülebilir (Foroozandeh ve ark., 2017). Narayanan ve ark. (2010) tarafından yapılmış bir çalışmada sıçanlar pasif sakinme testine tabi tutulmuş, 28 gün boyunca 900 MHz/1800 MHz EMA'ya maruz kalan gruptaki KBGZ değerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede kısa olduğu saptanmıştır. Bu durum, cep telefonundan yayılan EMA'nın neden olduğu hücre dejenerasyonu nedeniyle hipokampal nöronların kaybı ve değiştirilmiş fonksiyonlarından kaynaklı olabilir. İkinci ve ark. (2013) tarafından yapılan kognitif fonksiyonların değerlendirildiği bir çalışmada hamileliğin 13-21. günleri arasında günde 1 sa 900 MHz EMA'ya maruz bırakılan sıçanlar postnatal 26. gününde pasif sakinme testine tabi tutulmuştur. İlgili çalışma, hafızanın test edildiği ikinci günün sonunda KBGZ'nin EMA grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha kısa olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar hafıza kaybını doku kesitlerinde gördükleri histopatolojik değişikliklere bağlamışlardır.

Çalışmamıza ait doku kesitlerindeki CA1, CA2 ve CA3 bölgeleri histopatolojik olarak incelendiğinde, EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarındaki piramidal nöronların sayısal yoğunluklarının Kont grubuna göre önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. EMA (2 sa) grubunda dejenere nöron sayısının fazla olması, ayrıca çok sayıda morfolojisi bozulmuş sinir hücrelerinin gözlenmesi ile diğer gruplara göre EMA'nın toksik etkisinin bu grupta (EMA (2 sa) daha belirgin olduğu saptanmıştır. Sugimoto ve ark. (1990) hasarlı nöronların; düzensiz hücresel ana hatlar, çekirdek ve sitoplâzmadaki artmış kromatin yoğunluğu olmak üzere üç ana özelliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir. Sugimoto ve ark. (1990) belirttiği gibi çalışmamızda da EMA (1 sa) ve EMA (2 sa)

gruplarında yer alan hücrelerin hücre sınırlarının net bir şekilde ayırt edilememesi ayrıca dar ve koyu boyanmış sitoplâzmaya sahip nöronların kontrol grubundakilerine göre daha fazla sayıda olması dikkatleri çekmiştir. Ayrıca yukarıda bahsedilen bu histopatolojik değişikliklerin EMA (2 sa) grubunda EMA (1 sa) grubuna nazaran daha şiddetli olduğu gözlenmiştir. EMA etkisi ile NADPH oksidaz enziminin indüklenmesi sonucunda oluşan serbest radikallerin (Hussein ve ark., 2016) dokunun EMA'ya maruz kalma süresi ile orantılı olarak artan derecede histopatolojik değişikliklere neden olduğu söylenebilir. Saidhedkar ve ark. (2014) çalışmalarında günde 4 sa olmak üzere 15 gün boyunca 900 MHz EMA'ya maruz bıraktıkları sıçanların hipokampusunda histopatolojik inceleme yapmışlardır. Hipokampusun CA1, CA3 ve dentat girus bölgelerinde büzülmüş, koyu boyanmış ve asimetric morfolojiye sahip çok sayıda dejeneratif hücrelerin varlığını gözlemişlerdir. Hussein ve ark. (2016) tarafından yapılan başka bir çalışmada günde 2 sa olmak üzere 3 ay boyunca 1800 MHz EMA'ya maruz bırakılan sıçanların hipokampusu histopatolojik olarak ışık mikroskopik düzeyde incelendiğinde, kontrol grubuna kıyasla EMA grubunda çok sayıda koyu boyanmış ve vakuolizasyonla karakterize hücrelerin varlığı bildirilmiştir. Ayrıca, EMA grubuna ait hipokampus yarı ince kesitlerinde aksonların miyelin kılıflarında kontrol grubuna göre dejenerasyonların olduğu gözlenmiştir. Ayrıca elektron mikroskopik incelemede EMA grubuna ait hipokampuskesitlerinde kontrol grubuna nazaran piknotik çekirdekli, büzüşmüş hücreler ve sınırları düzensiz şişkin mitokondriler de saptanmıştır.

Tüm bu bilgiler çerçevesinde sunulan çalışmada, prenatal dönemde EMA'nın hipokampus üzerindeki etkileri çok çeşitli parametreler kullanılarak araştırılmış, söz konusu EMA'nın beyin hipokampus bölgesi üzerindeki olumsuz etkileri MC, GK ve TİM gibi antioksidanların EMA'ya karşı ne derece koruyucu olduğu kapsamında stereolojik, fonksiyonel, biyokimyasal, histopatolojik ve immünohistokimyasal analizlerle detaylı bir şekilde incelenmiştir.

## **5.2. *Momordica charantia***

Çalışmamızda CA1, CA2 ve CA3 bölgelerinde ve tüm hipokampusta MC'nin etkilerini stereolojik olarak incelediğimizde, bu bölgelerde Kont ve Sham (1 sa) grupları ile MC grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Ayrıca EMA (1 sa)+MC grubundaki ortalama piramidal nöron sayısı, EMA (1 sa) grubuna kıyasla istatistiksel olarak ileri derecede artan yönde bir fark göstermiştir. Buna ek olarak, EMA

(2 sa)+MC grubu ile EMA (2 sa) grubu ortalama piramidal nöron sayısı bakımından karşılaştırıldığında; bahsedilen gruptaki piramidal nöron sayısının EMA (2 sa) grubundaki piramidal nöron sayısından istatistiksel olarak ileri derecede daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bunun dışında, CA2 bölgesinde EMA (2 sa)+MC grubundaki piramidal nöron sayısında EMA (1 sa)+MC grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde bir azalma olduğu saptanmıştır. Bu bağlamda, MC'ye ait meyvelerin içermiş olduğu polipeptitler, flavonoidler, inorganik mineraller, vitaminler ve glutamik asit gibi biyokimyasalardan ötürü (Gupta ve ark., 2011) serbest radikalleri ortadan kaldırdığı ve bu özelliği ile antidiyabetik ve nöroprotektif etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Ansari ve ark., 2005; Malik ve ark., 2011). Bu yüzden MC'nin, EMA'nın tetiklemiş olduğu artan enerji ihtiyacına cevaben oksijenli solunum düzeyinin ve mitokondriyal aktivitenin artması sonucunda ortamda yüksek miktarda biriken serbest radikal türlerini uzaklaştırarak antioksidan homeostasisini sağladığı ve böylece oksidatif stresi azaltarak nöroprotektif etki gösterdiği düşünülmektedir. EMA'ya maruz bırakılan beyin dokusu üzerinde MC'nin etkisini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır, bu nedenle MC ve EMA ilişkisi üzerindeki çalışmamız özgündür. Diğer taraftan mevcut literatürlere bakıldığında MC'nin nöroprotektif etkinliğini gösteren çok sayıda çalışmanın olduğu gözlenecektir (Malik ve ark., 2011; Nerurkar ve ark., 2011; Okada ve Okada, 2013). Bu bağlamda, Malik ve ark. (2011)'nin yaptığı bir çalışmada diyabetik farelerde oluşturulan iskemi-reperfüzyon kaynaklı serebral hasarda MC'nin iskemi-reperfüzyon sonrası meydana gelen nöronal hasarı azalttığı gösterilmiştir. Bu etkisini, serbest radikal süpürücü aktivitesinin yanı sıra hiperglisemi kaynaklı serbest radikal oluşumunu azaltarak ortaya çıkardığı düşünülmektedir. Okada ve Okada (2013) Alzheimer hastalığında biyolojik belirteç olan amiloid  $\beta$ 'ye bağlı oluşturulan toksisitede MC'nin etkisini incelemişlerdir. Çalışma sonuçları MC'nin serbest oksijen radikalleri oluşumunu azaltarak amiloid  $\beta$  aracılı nöronal hücre ölümüne karşı koruma sağladığını göstermektedir. Söz konusu etkinin, MC'de mevcut olan ve endojen antioksidan savunma kapasitesini arttıran ve hücrel redoks durumunu modüle eden aktif bileşiklere bağlı olarak oluştuğu düşünülmektedir. Nerurkar ve ark. (2011) nörodejeneratif hastalıklar için başlıca risk faktörlerinden biri olan obezitenin çeşitli nörolojik ve nörodejeneratif hastalıkların ilerlemesinde kritik bir bileşen olduğunu öne sürmüşlerdir. Bu bağlamda, Nerurkar ve ark. (2011) obezite modeli oluşturdukları

farelerde yaptıkları çalışmada MC'nin nöroprotektif etkisini incelemişlerdir. Çalışma sonuçları, obeziteye bağlı kan-beyin bariyerindeki fonksiyonel bozulma sonucu meydana gelen nöronal inflamasyonda MC'nin içerdiği biyoaktif kimyasal maddelerden ötürü koruyucu etki oluşturduğunu ortaya koymuştur.

Çalışmamızın deney sürecinin bitiminde sıçan kan örnekleri alınmış ve bu örneklerde CAT ve SOD analizleri yapılmış, EMA+MC (1 sa) ve EMA+MC (2 sa) gruplarında EMA gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalan CAT ve SOD değerleri saptanmıştır. Bu durumda EMA'ya bağlı olarak artan serbest oksijen radikallerine karşı MC'nin bu radikalleri süpürerek koruyucu etki gösterdiğini ve böylece SOD ve CAT enzimlerinin biyosentezini ve indüksiyonunu azalttığını söyleyebiliriz. Daha önce belirtildiği gibi, beyinde MC'nin EMA maruziyetine karşı koruyucu etkisini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Diğer taraftan, MC'nin beyin üzerindeki biyokimyasal etkilerinin farklı oksidatif stres kaynakları kullanılarak araştırıldığı çalışmalara rastlamak mümkündür. Duan ve ark. (2015) tarafından serebral hemoraj modeli oluşturulmuş *Sprague dawley* türü sıçanlarda yapılan bir çalışmada, oluşturulan beyin hasarı modeli sonrası MC'den elde edilen polisakkarit ekstraktının koruyuculuğu değerlendirilmiş ve beyin dokusundaki biyokimyasal analizler SOD enzim aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış olduğunu göstermiştir. Pathakota (2017) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise skopolamin ile indüklenmiş Alzheimer modeli oluşturulan farelerde beyinde meydana gelen dejenerasyona karşı MC'den elde edilen etanol ekstraktının koruyuculuğu çeşitli parametrelerin yanı sıra biyokimyasal olarak da incelenmiştir. Bu bağlamda, beyin dokusunda CAT enzim aktivitesi değerlendirilmiş ve MC verilen hasarlı grupta bu enzim aktivitesinde istatistiksel olarak artan yönde bir fark gözlenmiştir. Çalışma sonuçlarımız ile örtüşmeyen bu sonuçlar, çalışılan hayvan türleri ve MC formlarındaki farklılığa ayrıca muhtemel oksidatif stres etkisine sahip kaynağın oluşturduğu etkiye ve ilgili parametrelerin kan/doku şeklinde farklı biyolojik ortamlarda çalışılmasına bağlı olarak ortaya çıkmış olabilir.

EMA'nın hipokampusta oluşturduğu histopatolojik değişiklikler üzerinde MC'nin koruyuculuğu ışık mikroskopik düzeyde incelendiğinde, EMA+MC (1 sa) ve EMA+MC (2 sa) gruplarında EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarına göre daha fazla sayıda normal görünümlü nörona rastlanmıştır. Ayrıca çalışmaya ait kesitlerimizde

yapılan immünohistokimyasal boyama sonuçları, EMA+MC (1 sa) ve EMA+MC (2 sa) gruplarında EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarına göre KI67 antikoru ile pozitif boyanma düzeyinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Güçlü bir nöroprotektif etkiye sahip olduğu bilinen MC'nin histolojik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi sonucu ortaya çıkan bulgularımız stereolojik sonuçlarımızla benzerlik göstermektedir.

Çalışma kapsamında pasif sakınma testine ait analizlere bakıldığında birinci ve ikinci günün sonunda elde edilen KBGZ ortalama değerlerinde, EMA+MC (1 sa) grubunda EMA (1 sa) grubuna kıyasla istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir. Öğrenme ve sonrasında bellek işlevlerinde EMA maruziyeti sonucu meydana gelen dejeneratif etkilerin MC tarafından minimize edildiği söylenebilir. Joshi ve ark. (2017) tarafından skopolamine bağlı amnezi oluşturulmuş sıçanlarda MC'nin kognitif fonksiyonlar üzerindeki etkisi pasif sakınma testi kullanılarak değerlendirilmiş ve sonuçta bellek ve hafızayı geliştirici düzeyde olumlu etkiye neden olduğu saptanmıştır. Kolinerjik nöronal sistemin yaşlanma ve nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili bilişsel bozukluklarda önemli bir rol oynadığı iyi bilinmektedir (Ellis, 2005). MC'nin etkisi, skopolaminin kolinerjik sistem üzerindeki uyarıcı etkisini azaltması ve beyindeki asetilkolin seviyesini modüle ederek bu şekilde nöroprotektif etki göstermesi şeklinde yorumlanabilir. Bu bağlamda, MC'nin bilişsel işlev bozukluğunun yönetimindeki potansiyelini araştırmak için ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

### **5.3. Timokinon**

Çalışmamızda hipokampusun CA bölgelerinde ve tüm hipokampusta TİM'in hücre sayısı açısından etkisi stereolojik olarak değerlendirilmiştir. Bu bağlamda, TİM'in nöroprotektif etkisi, EMA (1 sa)+TİM grubu ile EMA (1 sa) grubu karşılaştırıldığında gözlenebilmektedir. Çünkü EMA (1 sa)+TİM grubunun, EMA (1 sa) grubuna göre daha fazla sayıda piramidal nörona sahip olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde, EMA (2 sa)+TİM grubu ile EMA (2 sa) grubu ortalama piramidal nöron sayısı bakımından karşılaştırıldığında, TİM'in nöroprotektif olduğu gözlenmiştir. Çünkü EMA (2 sa)+TİM grubu EMA (2 sa) grubuna göre anlamlı düzeyde daha fazla sayıda piramidal nörona sahip olduğu saptanmıştır. Bu noktada, TİM'in EMA tarafından oluşturulan serbest radikalleri ortamdaki temizleyerek koruyucu etki yaptığı söylenebilir. Şu husus da



vurgulanmalıdır ki, TİM'in EMA'ya karşı göstermiş olduğu koruyuculuk çalışmada kullanılan MC ve GK antioksidanlarının nöroprotektiflik derecesine nazaran daha düşük düzeydeydi. TİM gibi bazı lipofilik mitokondri hedefli antioksidanların yararlı etkileri büyük ölçüde, oksijenin ve süperoksit radikallerinin lipofilisitesine bağlıdır. Ayrıca, bu antioksidanların olumlu etkileri, oksijen radikali süpürmede ilgili alana nüfuz etme kapasitesi ve mitokondriyal birikim seviyesi gibi parametrelerle de ilgilidir. Çeşitli özellikteki serbest radikaller için hidrofilik ve lipofilik antioksidanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu kapsamda, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gibi hidrofilik oksidanlar, hidrofilik antioksidanlar (örneğin N-asetilsistein) tarafından daha iyi temizlenirken, mitokondri hedefli antioksidanlar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi süpürmede daha az etkilidirler. Bu öncül antioksidan bileşenin veya nüfuz eden katyonun yapısına bağlı olarak önemli ölçüde değişebilen nöroprotektif etki ile ilgili olarak TİM gibi mitokondri hedefli bileşiklerin kapsamlı bir şekilde incelenmesinin gerekliliğini ortaya koymaktadır (Silachev ve ark., 2015). Yukarıda belirtilen koruyucu etkisine karşın çalışmamızda TİM'in yalnız başına kullanılması sıçan hipokampusundaki piramidal nöronların sayısında Kont grubuna göre önemli derecede azalmaya neden olmuştur. Ayrıca, TİM grubu ile Sham (2 sa) grubu ortalama piramidal nöron sayısı bakımından kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farka rastlanmamıştır. Bu bağlamda; TİM grubundaki ortalama piramidal nöron sayısındaki azalma, deney süresi boyunca her gün bu gruptaki sıçanlara gavaj ile TİM verilmesi sonucu stresin meydana gelmesi ve bu durumun piramidal nöron sayısında azalmaya neden olması şeklinde yorumlanabilir. TİM'in tek başına verildiği anda yaptığı bu olumsuz etkinin nedeninin hangi biyolojik koşulla tetiklendiğinin aydınlatılmasına ihtiyaç vardır. Elektromanyetik radyasyonun beyin üzerinde oluşturmuş olduğu muhtemel etkiler üzerine TİM'in koruyuculuğu ile ilgili literatürde bir çalışma bulunurken (Ahlatci ve ark., 2014), EMA ve TİM ile ilişkili herhangi bir stereolojik çalışmaya rastlanmamış olunması çalışmamızı bu açıdan özgün kılmaktadır. Ahlatci ve ark. (2014)'nin yaptıkları biyokimyasal içerikli çalışmada radyasyona bağlı olarak oluşan nitrozatif strese karşı TİM'in serbest radikallerin oluşumunu inhibe ederek ya da bu radikalleri temizleyerek beyin dokusunu koruduğu bildirilmiştir. Mevcut çalışmalar incelendiğinde, farklı oksidatif stres kaynaklarına bağlı olarak TİM'in nöroprotektif etkilerinin çeşitli araştırmalarla ortaya konulduğu gözlenmiştir (Alhebshi ve ark., 2013; Sedaghat ve ark., 2014). Alhebshi ve ark. (2013) kültüre

edilmiş nöronların amyloid- $\beta$  ile indüklenmesi sonucu meydana gelen oksidatif strese karşı TİM'in koruyuculuğunu araştırmışlardır. Mitokondriyal elektron transport zincirindeki elektron sızıntısından kaynaklanan aşırı düzeydeki serbest radikaller, membran fosfolipidlerinin serbest radikal atağına neden olur ve bu da mitokondriyal membran potansiyeli kaybına yol açar (Qu ve ark., 2011). Bu bağlamda, Alhebshi ve ark. (2013)'nın yaptıkları çalışmada TİM'in hipokampustaki nöronlarda amyloid- $\beta$  indüklenmesine bağlı olarak oluşan mitokondriyal membran potansiyel çöküşünü önemli ölçüde inhibe ettiği gözlenmiştir. Sedaghat ve ark. (2014)'nin yaptığı bir çalışmada, 6-hidroksidopamin (6-OHDA) nörotoksini ile deneysel Parkinson modeli oluşturulan sıçanlarda TİM'in koruyuculuğu araştırılmış ve TİM'in 6-OHDA nörotoksisitesine karşı nöroprotektif etki oluşturduğu saptanmıştır. Hossainzadeh ve ark. (2007) sıçanların hipokampusunda yaptıkları bir çalışmada ise iskemi-reperfüzyon hasarı sonucu ortaya çıkan lipid peroksidasyonuna karşı TİM'in nöroprotektif etki gösterdiğini bulmuşlardır. Buna ilaveten, Gülşen ve ark. (2016)'nın yaptığı bir çalışmada ise travmatik beyin hasarı oluşturulmuş sıçan modelinde TİM'in hipokampusta yer alan nöronları koruduğu gözlenmiştir. TİM'in koruyucu özeliğini vurgulayan yukarıdaki çalışmaların dışında TİM'in beyinde toksik etkilerini inceleyen bir çalışmaya rastlanmıştır (Yong-hao ve ark., 2017). Yong-hao ve ark. (2017) tip-2 diyabet modeli oluşturulmuş sıçanlara 6 hafta boyunca günde 5 mg/kg TİM intraperitoneal olarak enjekte etmişler, beyinde oksidatif stresin kontrol grubuna kıyasla arttığını gözlemişlerdir. TİM'in beyin üzerindeki koruyucu ve toksik etkilerinin; farklı dozlar, çözücüler, veriliş şekilleri, yaşam periyotlarıve farklı hayvan türlerinin kullanımı ile kapsamlı araştırmaya ihtiyaç olduğu açıktır.

Çalışmamızda sıçan kan örneklerinin CAT ve SOD aktivitelerinin biyokimyasal analizleri yapılmış ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir. EMA+TİM (1 sa) ve EMA+TİM (2 sa) gruplarında EMA gruplarına göre CAT ve SOD değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalış saptanmıştır. EMA sonucu indüklenen serbest oksijen radikallerine karşı TİM'in bu radikalleri temizleyerek koruyucu etki gösterdiği söylenebilir. Literatürde EMA kaynaklı beyinde meydana gelen olumsuz etkilere karşı TİM'in göstermiş olduğu biyokimyasal etkilerle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Fakat farklı kaynakların indüklediği biyokimyasal çalışmalara literatürde rastlamak mümkündür (Al-Majed ve ark., 2006; Sheikh ve Mohamadin,

2012). Al-Majed ve ark. (2006)'nın yaptıkları bir çalışmada deneysel beyin iskemi modeli oluşturulmuş sıçanlarda TİM'in etkileri incelenmiş ve hipokampusta TİM ile muamele edilmiş grupta SOD ve CAT aktivitelerinin iskemi grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede bir azalma gösterdiği gözlenmiştir. Yukarıdaki çalışma sonuçları ile bizim sonuçlarımız oksidatif strese karşı TİM'in protektif özelliği ile uyushmaktadır. Sheikh ve Mohamadin (2012) tarafından yapılan bir çalışmada ise propoksür (PPr) ile oksidatif stres modeli oluşturulmuş sıçanlarda, TİM'in beyin üzerindeki etkisi biyokimyasal analizler ile araştırılmıştır. Bu bağlamda, PPr ile oluşturulan oksidatif stres grubuna kıyasla oksidatif stres sonrası TİM verilen grupta SOD ve CAT aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir. Bu çalışmada kontrol, TİM (10 mg/kg), oksidatif stres kaynağı olarak PPr (8,51 mg/kg) ayrıca PPr+TİM (TİM 10 mg/kg+PPr 8,51 mg/kg) grupları bulunmaktadır. Söz konusu maddeler gavaj yoluyla günde bir defa olmak üzere 4 hafta boyunca verilmiştir. Bu bağlamda, EMA'ya ve ayrıca farklı stres kaynaklarına bağlı olarak beyinde oluşabilecek muhtemel etkiler üzerine TİM'in biyokimyasal etkileri kapsamlı bir şekilde araştırılmalıdır.

Çalışmamıza ait kesitler ışık mikroskobu düzeyinde histopatolojik ve immünohistokimyasal açıdan değerlendirilmiştir. EMA'nın hipokampusta oluşturduğu olumsuz etkiler üzerine TİM'in MC ve GK'ya göre düşük düzeyde de olsa serbest radikalleri anlamlı düzeyde temizlediği gözlenmiş ve stereolojik analiz sonuçlarımızı destekler nitelikte bulgular elde edilmiştir.

Çalışmamızda gerçekleştirilen kognitif fonksiyonların değerlendirilmesinde kullanılan pasif sakınma testine ait verilerin sonuçları şu şekilde yorumlanabilir. TİM, EMA (2 sa) grubunda öğrenme üzerinde buna karşılık EMA (1 sa) grubunda hafıza üzerinde olumlu etki göstermiştir. Mevcut çalışmalara bakıldığında, EMA'ya maruz kalan sıçan beyinde TİM'in etkilerini öğrenme ve bellek açısından değerlendiren bir araştırmaya rastlanmamakla birlikte farklı deneysel hayvan modellerinde TİM'in etkilerinin öğrenme ve hafıza açısından değerlendirildiği çalışmalara rastlamak mümkündür (Shao ve ark., 2017; Dalli ve ark., 2018). Dalli ve ark. (2018) hipokampusta streptozosine bağlı nörodejenerasyonda TİM'in kognitif fonksiyonlar üzerindeki etkisini Morris su labirenti testi dışında pasif sakınma testi de kullanarak incelemişlerdir. Yapılan pasif sakınma testinde, streptozosin sonrası TİM verilmiş olan

gruptaki sıçanların TİM verilmeyen gruba göre daha yüksek bellek performansına sahip oldukları saptanmıştır. Shao ve ark. (2017) deneysel status epileptikus modeli oluşturulan sıçanlarda TİM'in hipokampusta meydana gelen dejenerasyon üzerindeki etkisini incelemişlerdir. TİM ile muamele edilen grupta status epileptikus grubuna kıyasla TİM'in öğrenme ve hafızayı geliştirici yönde etki gösterdiği gözlenmiştir.

#### **5.4. *Garcinia kola***

Çalışmamızda CA1, CA2 ve CA3 bölgelerinde ve ayrıca tüm hipokampusta GK'nın etkileri stereolojik olarak incelendiğinde CA1, CA2 bölgeleri ile tüm hipokampusta Kont ve Sham (1 sa) grupları ile GK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Buna karşın, GK grubunun CA3 bölgesinde Kont grubunun aynı bölgesine kıyasla önemli derecede hücre kaybının olduğu gözlenmiştir. Söz konusu olumsuz etkinin hangi mekanizma ile gerçekleştiği konusunda bir bilgi mevcut değildir. Bu konunun detaylı araştırılması gerektiği düşüncesindeyiz. Çünkü, GK'nın biyolojik canlılarda sinir sisteminin düzgün çalışması için önemli bir enzim olan kolinesterazı tutabildiği (Ikpesu, 2014) ve zengin fitokimyasal içeriğinden dolayı da güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (John ve ark., 2015). Yukarıda belirtildiği gibi GK yalnız başına verildiğinde CA3 bölgesinde olumsuz etki göstermekte, buna karşın CA'nın diğer bölgeleri ile tüm hipokampustaki etkisi değerlendirildiğinde şu sonuçlar elde edilmiştir. EMA (1 sa)+GK ve EMA (2 sa)+GK gruplarında sırasıyla EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarına kıyasla daha fazla sayıda piramidal nörona sahip olduğu gözlenmiştir. Bu durum, EMA'nın olumsuz etkilerine karşı GK'nın oksidan-antioksidan homeostazisini sağlayarak EMA kaynaklı oksidatif stresi azalttığı ve böylece nöroprotektif etki gösterdiği şeklinde yorumlanabilir. Literatür kayıtları incelendiğinde, GK'nın EMA'ya bağlı olarak beyin üzerinde oluşturduğu muhtemel etkiler üzerine yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Şu hususu belirtmekte yarar vardır. EMA dışında farklı oksidatif stres kaynakları kullanılarak GK'nın beyin üzerindeki etkisini araştıran az sayıda çalışma bulunmaktadır (Ajayi ve ark., 2012; Oloyede ve Afolabi, 2012). Bu bağlamda, Oloyede ve Afolabi (2012) tarafından yapılan bir çalışmada Fe<sup>+2</sup>'ye bağlı meydana gelen lipid peroksidasyonu üzerine GK'nın beyinde koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir. Ajayi ve ark. (2012) nörotoksin verilen sıçanlarda GK'nın koruyuculuğunu incelemişler, nörotoksine bağlı olarak hipokampusta meydana gelen hücresel dejenerasyon üzerinde

GK'nın nöroprotektif bir etki gösterdiğini saptamışlardır. GK'nın EMA ve farklı oksidatif stres kaynaklarına karşı olası etkilerini inceleyen çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır.

Çalışmamızda sıçan serum kan örneklerinde CAT ve SOD analizleri yapıldı. Bu bağlamda, EMA+GK (1 sa) ve EMA+GK (2 sa) gruplarında sırasıyla EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı azalan yönde bir fark olduğu gözlenmiştir. Söz konusu durum, GK'nın EMA sonucu meydana gelen oksidatif strese karşı koruyuculuk gösterdiği ve ilgili enzimlerin biyosentezini azalttığı şeklinde yorumlanabilir. Çalışmalar incelendiğinde GK'nın EMA üzerine olan etkilerinin biyokimyasal olarak CAT ve SOD gibi oksidatif stres parametreleri açısından incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca literatüre bakıldığında, farklı stres kaynakları üzerinde GK tohumlarının etkisinin CAT ve SOD enzim aktiviteleri açısından değerlendirildiği yalnızca bir çalışma mevcuttur (Joshua ve ark.,2017). Bu bağlamda, Joshua ve ark. (2017)'nin çalışmalarında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye bağlı olarak oluşan oksidatif strese karşı GK'nın etkileri sıçan kan serum örneklerinde SOD ve CAT enzim aktiviteleri açısından değerlendirilmiş ve sonuçlar incelendiğinde GK ile muamele edilmiş grupta H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yönde artan SOD ve CAT değerleri gözlenmiştir. GK ve EMA'nın beyin dokusunda birlikte göstermiş oldukları olası biyokimyasal etkilerin kapsamlı bir şekilde araştırılmasına ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda cresyl violet ile boyanmış kesitlerde ışık mikroskopi düzeyde histopatolojik analizler ve ayrıca KI-67 antikoru ile boyanmış kesitlerde immünohistokimyasal değerlendirmeler yapılmıştır. Her iki analiz sonucu stereolojik analiz sonuçlarımızı destekler niteliktedir. CA bölgelerinde EMA sonucu meydana gelen hücresel kayıp, GK'nın içerdiği antioksidan maddeler sayesinde minimize edilmiştir.

Çalışmamızda uygulanan pasif sakinme testine ait birinci ve ikinci günün sonunda elde edilen KBGZ ortalama değerleri incelendiğinde, birinci günde EMA+GK (2 sa) grubunda EMA (2 sa) grubuna kıyasla istatistiksel olarak ileri derecede olumlu yönde anlamlı bir artış tespit edilmiştir. İkinci günde ise bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu bulgular ışığında, GK'nın antioksidan savunma ve kolinerjik sistemlerin aktivasyonu yoluyla hafızayı güçlendirici bir etkiye sahip olduğu söylenebilir. Mevcut çalışmalar incelendiğinde; EMA, GK ve pasif

sakinma testinin birlikte kullanıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır. Çalışma sonuçlarımıza göre, GK'nın düzensiz kolinerjik nörotransmitter sistemleri ile ilişkili nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde bitkisel bazlı doğal bir etken olarak kullanılabileceği düşüncesindeyiz.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışmamızdan elde edilen stereolojik sonuçlar değerlendirildiğinde, Sham (2 sa) grubunda CA1, CA2, CA3 bölgeleri ile tüm hipokampustaki ortalama piramidal nöron sayısında Kont grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede azalan yönde fark gözlenmiştir. Sham (1 sa) grubu ile Kont grubu arasında yukarıdaki parametreler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

2. EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) grupları Kont grubu ile karşılaştırıldıklarında, EMA gruplarında CA bölgeleri ile tüm hipokampustaki ortalama piramidal nöron sayısında Kont grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalan yönde bir fark gözlenmiştir. Fakat bu farkın EMA (2 sa) grubunda Kont grubuna göre daha fazla olduğu saptanmıştır.

3. EMA (1 sa)+GK grubu ile EMA (1 sa) grubu ortalama piramidal nöron sayısı açısından karşılaştırıldığında, CA bölgeleri ve tüm hipokampusta GK'nın istatistiksel olarak anlamlı derecede koruyucu bir etki gösterdiği gözlenmiştir. Ayrıca, GK'nın EMA maruziyetine karşı nöron koruyucu yöndeki etkisi EMA (2 sa)+GK grubu ile EMA (2 sa) grubunun nöron sayıları karşılaştırıldığında da görülmektedir.

4. Kont grubu ile GK grubu ortalama piramidal nöron sayısı bakımından değerlendirildiğinde, CA1 ve CA2 bölgelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmazken, CA3 bölgesi ve tüm hipokampusta GK'nın olumsuz yönde etki yaptığı gözlenmiştir.

5. EMA (1 sa)+MC grubu ile EMA (1 sa) grubunun ortalama piramidal nöron sayısı karşılaştırıldığında, CA bölgeleri ve tüm hipokampusta MC'nin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde koruyucu bir etki gösterdiği saptanmıştır. Benzer etki EMA (2 sa)+MC grubu ile EMA (2 sa) grubu ortalama piramidal nöron sayısı bakımından karşılaştırıldığında da gözlenmiştir.

6. Kont grubu ile MC grubu ortalama piramidal nöron sayısı bakımından karşılaştırıldığında, CA bölgeleri ve tüm hipokampusta istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

7. EMA (1 sa)+TİM grubu ile EMA (1 sa) grubu ortalama piramidal nöron sayısı açısından karşılaştırıldığında, CA bölgeleri ve tüm hipokampusta TİM'in anlamlı derecede koruyucu bir etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Benzer durum EMA (2 sa)+TİM grubu ile EMA (2 sa) grubu karşılaştırıldığında da tespit edilmiştir. Ayrıca, TİM'in koruyucu etkisinin çalışmada kullanılan diğer antioksidanlara (MC ve GK) göre daha düşük düzeyde olduğu saptanmıştır.

8. TİM'in, EMA maruziyeti olmadan tek başına verildiğinde ortalama piramidal hücre sayısı bakımından CA bölgeleri ve tüm hipokampusta Kont grubuna göre istatistiksel anlamda hücre kaybına neden olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, TİM grubu Sham (2 sa) grubu ile kıyaslandığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır ( $p>0,05$ ). Bu bağlamda, deney süresi boyunca her gün TİM grubunda yer alan sıçanlara gavaj ile TİM verilmesinin strese neden olduğu ve bu yüzden piramidal nöron sayısında azalma gözlemlendiği kanısındayız.

9. Çalışmamız bünyesinde sıçanların kan serum örneklerinde yapılan CAT ve SOD biyokimyasal analizleri değerlendirildiğinde, EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarında CAT ve SOD enzim aktivite düzeylerinin Kont ve Sham (1 sa) gruplarına göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

10. EMA+MC (1 sa) ve EMA+MC (2 sa) gruplarında ise EMA gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalan CAT ve SOD enzim aktivite değerleri saptanmıştır.

11. EMA+GK (1 sa) ve EMA+GK (2 sa) gruplarına ait CAT ve SOD enzim aktivite düzeylerinde sırasıyla EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı azalan yönde bir fark olduğu saptanmıştır.

12. EMA+TİM (1 sa) ve EMA+TİM (2 sa) gruplarında da benzer şekilde EMA gruplarına göre CAT ve SOD enzim aktivite düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalış gözlenmiştir.



13. Yukarıda sunulan tüm bulgulara ek olarak çalışmamızda öğrenme ve hafızanın değerlendirildiği pasif sakinme testi sonuçları birinci gün KBGZ bulguları açısından karşılaştırıldığında, Kont grubuna kıyasla EMA (1 sa) ve Sham (2 sa) gruplarına ait KBGZ değerlerinde istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde bir azalma gözlenirken, söz konusu durumun EMA (2 sa) grubunda daha belirgin olduğu saptanmıştır. Ayrıca, çalışmaya ait deney hayvanlarının hafıza durumlarını tespit etmek için ikinci gün sonunda KBGZ ortalama değerlerinin Kont grubuna kıyasla EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarında istatistiksel açıdan ileri derecede kısaldığı gözlenmiştir.

14. Birinci ve ikinci günün sonunda elde edilen KBGZ ortalama değerlerinde, EMA+MC (1 sa) grubunda EMA (1 sa) grubuna kıyasla istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir.

15. Çalışmamızda elde edilen KBGZ ortalama değerleri, TİM'in EMA (2 sa) grubunda öğrenme üzerinde buna karşılık EMA (1 sa) grubunda hafıza üzerinde olumlu etki gösterdiğini ortaya koymuştur.

16. Birinci günde elde edilen KBGZ ortalama değerlerinde EMA+GK (2 sa) grubunda EMA (2 sa) grubuna kıyasla istatistiksel olarak ileri derecede olumlu yönde anlamlı bir artış tespit edilmiştir. İkinci günde elde edilen KBGZ ortalama değerlerinde ise bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

17. Çalışmamız bünyesinde yapılan lokomotor aktivite testi sonuçlarımız gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farkın olmadığını göstermiştir.

18. Çalışmamıza ait doku kesitlerindeki CA bölgeleri histopatolojik olarak incelendiğinde, EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarındaki piramidal nöronların sayısal yoğunluklarının Kont grubuna göre önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. Bu noktada, MC, GK ve TİM'in EMA'nın olumsuz etkileri üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olduğu söylenebilir.

19. Çalışma sonuçlarımız immünohistokimyasal olarak değerlendirildiğinde, EMA (1 sa) ve EMA (2sa) gruplarına ait hipokampus'un dentat girus bölgesinde Ki-67 pozitifliğinin düşük seviyede olduğu gözlenmiştir. EMA (1 sa)+MC, EMA (1 sa)+GK, EMA (1 sa)+TİM, EMA (2 sa)+MC, EMA (2 sa)+GK ve EMA (2 sa)+TİM gruplarında ise EMA (1 sa) ve EMA (2 sa) gruplarına göre immünoreaktif hücrelerin sayısında artış gözlenmiştir.

Sonuç olarak, prenatal dönemde EMA'ya maruziyet sonucunda hipokampusta gözlenen hücre kaybının MC, GK ve TİM ile azaltıldığı yani bu antioksidanların hücre düzeyinde koruyucu etki gösterdikleri biyokimyasal, davranışsal, histopatolojik, immünohistokimyasal ve stereolojik analiz bulgularımızla gösterilmiştir. Bunun dışında, TİM ve GK antioksidanları tek başına uygulandığında hipokampusta oluşturduğu olumsuz etkilerin hangi mekanizma veya mekanizmalarla gerçekleştiğinin kapsamlı bir biçimde araştırılması gerektiği düşüncesindeyiz.



## KAYNAKLAR

- Aboul Ezz HS, Khadrawy YA, Ahmed NA, Radwan NM, El Bakry MM. The effect of pulsed electromagnetic radiation from mobile phone on the levels of monoamine neurotransmitters in four different areas of rat brain. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013;17(13):1782-1788.
- Adaramoye OA, Adeyemi EO. Hypoglycaemic and hypolipidaemic effects of fractions from kolaviron, a biflavonoid complex from *Garcinia kola* in streptozotocin-induced diabetes mellitus rats. *J Pharm Pharmacol* 2006;58(1):121-128.
- Adedara IA, Awogbindin IO, Anamelechi JP, Farombi EO. *Garcinia kola* seed ameliorates renal, hepatic, and testicular oxidative damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharm Biol* 2015;53(5):695-704.
- Adegboye MF, Akinpelu DA, Okoh AI. The bioactive and phytochemical properties of *Garcinia kola* (Heckel) seed extract on some pathogens. *Afr J Biotechnol* 2008;7(21):3934-3938.
- Ahlatci A, Kuzhan A, Taysi S, Demirtas OC, Alkisa 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.
- Ahlbom A, Green A, Kheifets L, Savitz D, Swerdlow A. Epidemiology of health effects of radiofrequency exposure. *Environ Health Perspect* 2004;112(17):1741-1754.
- 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.
- Ahmed OJ, Mehta MR. The hippocampal rate code: anatomy, physiology and theory. *Trends in Neurosci* 2009;32(6):329-338.
- Ajayi SA, Ojo GB, Nwoha PU, Ofusori DA, Ayoka OA, Falana BA, Tijani AA. The protective effects of aqueous extract of *Garcinia kola* (Linn) on the hippocampus and cerebellum of malnourished mice. *J Neurol Sci* 2012;29(1):57-64.
- Akpantah AO, Oremosu AA, Noronha CC, Ekanem TB, Okanlawon AO. Effects of *Garcinia kola* seed extract on ovulation, oestrous cycle and foetal development in cyclic female sprague-dawley rats. *Niger J Physiol Sci* 2005;20(1-2):58-62.
- 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.

- Alhazmi MI, Hasan TN, Shafi G, Al-Assaf AH, Alfawaz MA, Alshatwi AA. Roles of p53 and caspases in induction of apoptosis in MCF- 7 breast cancer cells treated with a methanolic extract of *Nigella sativa* seeds. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15(22):9655-9660.
- Alhebshi AH, Gotoh M, Suzuki I. Thymoquinone protects cultured rat primary neurons against amyloid  $\beta$ -induced neurotoxicity. *Biochem Biophys Res Commun* 2013;433(4):362-367.
- Al-Majed AA, Al-Omar FA, Nagi MN. Neuroprotective effects of thymoquinone against transient forebrain ischemia in the rat hippocampus. *Eur J Pharmacol* 2006;543(1-3):40-47.
- Altun G, Kaplan S, Deniz OG, Kocacan SE, Canan S, Davis D, Marangoz C. Protective effects of melatonin and omega-3 on the hippocampus and the cerebellum of adult Wistar albino rats exposed to electromagnetic fields. *J Microsc Ultrastruct* 2017;5(4):230-241.
- Altunkaynak, BZ, Onger ME, Altunkaynak ME, Ayranci E, Canan S. A brief introduction to stereology and sampling strategies: Basic concepts of stereology. *Neuroquantology* 2012;10(1):31-43.
- Amaral DG, Insausti R. The hippocampal formation: in the human nervous system. 2<sup>nd</sup> Ed., California, Elsevier Academic Press Inc. 1990; 711-755.
- Anilakumar KR, Kumar GP, Ilaiyaraja N. Nutritional, pharmacological and medicinal properties of *Momordica charantia*. *Int J Nutr Food Sci* 2015;4(1):75-83.
- Ansari NM, Houlihan L, Hussain B, Pieroni A. Antioxidant activity of five vegetables traditionally consumed by South-Asian migrants in Bradford, Yorkshire, UK. *Phytother Res* 2005;19(10):907-911.
- Ari E, Kedrah E, Alahdab Y, Bulut G, Eren Z, Baytekin O, Odabası D. Antioxidant and renoprotective effects of paricalcitol on experimental contrast-induced nephropathy model. *Br J Radiol* 2012;85(1016):1038-1043.
- Assady M, Farahnak A, Golestani A, Esharghian MR. Superoxide dismutase (SOD) enzyme activity assay in *Fasciola* spp. Parasites and liver tissue extract. *Iran J Parasitol* 2011;6(4):17-22.
- Azimi H, Khakshur AA, Abdollahi M, Rahimi R. Potential new pharmacological agents derived from medicinal plants for the treatment of pancreatic cancer. *Pancreas* 2015;44(1):11-15.
- 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.

- Bamosa AO. A review on the hypoglycemic effect of nigella sativa and thymoquinone. *Saudi J Med Medic Sci* 2015;3(1):2-7.
- Bahreyni Toossi MH, Sadeghnia HR, Mohammad Mahdizadeh Feyzabadi M, Hosseini M, Hedayati M, Mosallanejad R, Beheshti F, Alizadeh Rahvar Z. Exposure to mobile phone (900-1800 MHz) during pregnancy: tissue oxidative stress after childbirth. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2018;31(10):1298-1303.
- Barr ML, Klernam JA. *The human nervous system*. 5<sup>th</sup> Ed., Philadelphia, JB Lippincott Comp. 1988; 266-269.
- Barry M, Bannister LH, Standring SM. *Nervous system*. 38<sup>th</sup> Ed., London, Churchill Livingstone. 1995; 1121-1125.
- Bas O, Odaci E, Kaplan S, Acer N, Ucok K, Colakoglu S. 900 MHz electromagnetic field exposure affects qualitative and quantitative features of hippocampal pyramidal cells in the adult female rat. *Brain Res* 2009a;1265:178-185.
- Bas O, Odaci E, Mollaoglu H, Ucok K, Kaplan S. Chronic prenatal exposure to the 900 megahertz electromagnetic field induces pyramidal cell loss in the hippocampus of newborn rats. *Toxicol Ind Health* 2009b;25(6):377-384.
- Baş O, Sönmez OF, Aslan A, İkinci A, Hancı H, Yıldırım M, Kaya H, Akça M, Odacı E. Pyramidal cell loss in the cornu ammonis of 32-day-old female rats following exposure to a 900 megahertz electromagnetic field during prenatal days 13–21. *NeuroQuantology* 2013;11(4):591-599.
- Behari J. Biological effects and health implication of radiofrequency and microwave. *Incemic* 1999;1:449-452.
- Bernardi P, Cavagnaro M, Pisa S, Piuze E. Specific absorption rate and temperature elevation in a subject exposed in the far-field of radio-frequency sources operating in the 10-900-MHz range. *IEEE Trans Biomed Eng* 2003;50(3):295-304.
- Bilgici B, Akar A, Avcı B, Tuncel OK. Effect of 900-MHz radiofrequency radiation on oxidative stress in rat brain and serum. *Electromagn Biol Med* 2013;32(1):20-29.
- Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J* 2012;5(1):9-19.
- Bisht S, Dada R. Oxidative stress: major executioner in disease pathology, role in sperm DNA damage and preventive strategies. *Front Biosci* 2017;9:420-447.
- Borek C. Free radicals: antioxidants and radiation therapy. *J Nutr* 2004;134(11):3207-3209.

- Bourgou S, Pichette A, Marzouk B, Legault J. Bioactivities of black cummin essential oil and its main terpenes from Tunisia. *S Afr J Bot* 2010;76(2):210-216.
- Brown RK, Wilson G, Tucci MA, Benghuzzi HA. The effects of thymoquinone and Doxorubicin on leukemia and cardiomyocyte cell lines. *Biomed Sci Instrum* 2014;50:391-396.
- Brown DL. Bias in image analysis and its solution: unbiased stereology. *J Toxicol Pathol* 2017;30(3):183-191.
- Buba CI, Okhale SE, Muazzam I. *Garcinia kola*: the phytochemistry, pharmacology and therapeutic applications. *Int J Pharmacogn* 2016;3(2):67-81.
- Burchard JF, Nguyen DH, Block E. Macro and trace element concentrations in blood plasma and cerebrospinal fluid of dairy cows exposed to electric and magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 1999;20(6):358-364.
- Canan S, Şahin B, Ünal B, Aslan H, Bilgiç S, Kaplan S. A method for estimation of the total number of the particles: The fractionator. *Turk J Med Sci* 2002;22:30-46.
- Carpenter MB, Sutin J. *Human neuroanatomy*. 8<sup>th</sup> Ed., Baltimore, Williams and Wilkins Press, 1983: 237.
- Castellanos-Campos A, Coronel MAG, Treviño S, Peña-Rosas U, Venegas B, Rodríguez JAM, Marquez-Cabrera T, Moran-Dominguez JA, Díaz A, Muñoz-Arenas G. Aqueous Extract of *Momordica charantia*, reduces hyperglycemia in alloxan-induced diabetic Wistar rats. *Eur J Med Plants* 2016;17(3):1-10.
- Chater S, Abdelmelek H, Douki T, Garrel C, Favier A, Sakly M, Ben Rhouma K. Exposure to static magnetic field of pregnant rats induces hepatic GSH elevation but not oxidative DNA damage in liver and kidney. *Arch Med Res* 2006;37(8):941-946.
- Chen C, Ma Q, Liu C, Deng P, Zhu G, Zhang L, He M, Lu Y, Duan W, Pei L, Li M, Yu Z, Zhou Z. Exposure to 1800 MHz radiofrequency radiation impairs neurite outgrowth of embryonic neural stem cells. *Sci Rep* 2014;4:5103.
- 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.
- Cinar N, Sahin S, Erdinc OO. What is the impact of electromagnetic waves on epileptic seizures? *Med Sci Monit Basic Res* 2013;19:141-145.
- Collins P. *Embryology and development*. 38<sup>th</sup> Ed., London, Churchill Livingstone, 1995; 249.

- Consales C, Merla C, Marino C, Benassi B, Electromagnetic fields oxidative stress and neurodegeneration. *Int J Cell Biol* 2012;2012:1-16.
- Cortez-Navarrete M, Martínez-Abundis E, Pérez-Rubio KG, González-Ortiz M, Villar MM. Momordica charantia administration improves insulin secretion in type 2 diabetes mellitus. *J Med Food* 2018;21(7):672-677.
- Costa JGM, Nascimento EMM, Campos AR, Rodrigues FFG. Antibacterial activity of Momordica charantia (curcubitaceae) extracts and fractions. *J Basic Clin Pharm* 2010;2(1):45-51.
- Cruz-Orive LM. 1999. Precision of Cavalieri sections and slices with local errors. *J Microsc* 1999;193(3):182-198.
- Cunnick JE, Sakamoto K, Chapes SK, Fortner GW and Takemoio DJ. Induction of tumor cytotoxic immune cells using a protein from the bitter melon (Momordica charantia). *Cellular Immunol* 1990;126(2):278.
- Çetkin M, Kızıllan N, Demirel C, Bozdağ Z, Erkılıç S, Erbağcı H. Quantitative changes in testicular structure and function in rat exposed to mobile phone radiation. *Andrologia* 2017;49(10):12761.
- Dalli T, Beker M, Terzioglu-Usak S, Akbas F, Elibol B. Thymoquinone activates MAPK pathway in hippocampus of streptozotocin treated rat model. *Biomed Pharmacother* 2018;99:391-401.
- Darakhshan SA, Bidmeshki PA, Hosseinzadeh CA, Sisakhtnezhad S. Thymoquinone and its therapeutic potentials. *Pharmacol Res* 2015;95:138-158.
- Davis DL, Kesari S, Soskolne CL, Miller AB, Stein Y. Swedish review strengthens grounds for concluding that radiation from cellular and cordless phones is a probable human carcinogen. *Pathophysiology* 2013;20(2):123-129.
- Dehghani H, Hashemi M, Entezari M, Mohsenifar A. The comparison of anticancer activity of thymoquinone and nanothymoquinone on human breast adenocarcinoma. *Iran J Pharm Res* 2015;14(2):539-546.
- Deniz OG, Kaplan S, Selçuk MB, Terzi M, Altun G, Yurt KK, Aslam K, Davis D. Effects of short and long term electromagnetic fields exposure on the human hippocampus. *J Microsc Ultrastruct* 2017a;5(4):191-197.
- Deniz ÖG, Kıvrak EG, Kaplan AA, Altunkaynak BZ. Effects of folic acid on rat kidney exposed to 900 MHz electromagnetic radiation. *J Microsc Ultrastruct* 2017b;5(4):198-205.
- Desai SD, Saheb SH, Das KK, Haseena S. Phytochemical analysis of nigella sativa and its antidiabetic effect. *J Pharm Pharm Sci* 2015;7:527-532.

- Dirican A, Erten C, Atmaca H, Bozkurt E, Kucukzeybek Y, Varol U, Tarhan MO, Karaca B, Uslu R. Enhanced cytotoxicity and apoptosis by thymoquinone in combination with zoledronic acid in hormone- and drug-resistant prostate cancer cell lines. *J BUON* 2014;19(4):1055-1061.
- Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002;82(1):47-95.
- Duan W, Liu C, Zhang L, He M, Xu S, Chen C, Pi H, Gao P, Zhang Y, Zhong M, Yu Z, Zhou Z. Comparison of the genotoxic effects induced by 50 Hz extremely low-frequency electromagnetic fields and 1800 MHz radiofrequency electromagnetic fields in GC-2 cells. *Radiat Res* 2015;183(3):305-314.
- Duhaini I. The effects of electromagnetic fields on human health. *Phys Med* 2016; 32(3):213.
- Eghlidospour M, Ghanbari A, Mortazavi SMJ, Azari H. Effects of radiofrequency exposure emitted from a GSM mobile phone on proliferation, differentiation, and apoptosis of neural stem cells. *Anat Cell Biol* 2017;50(2):115-123.
- Ekene EN, Erhirhie EO. *Garcinia kola*: a review of its ethnomedicinal, chemical and pharmacological properties. *Int J Cur Res Rev* 2014;06(11):1-7.
- El Mezayen R, Marecki JC, Nicolls MR, Canastar A, Dreskin SC. Antiinflammatory effect of thymoquinone in a mouse model of allergic lung inflammation. *Int Immunopharmacol* 2006;6(7):1135-1142.
- El-Aarag B, Hussein W, Ibrahim W, Zahran M. Thymoquinone improves anti-diabetic activity of metformin in streptozotocin-induced diabetic male rats. *J Diabetes Metab* 2017;8(12):1-8.
- El-Bediwi AB, El-kott AF, Saad M, Eid E. Effects of electromagnetic radiation produced by mobile phone on some visceral organs of rat. *J Med Sci* 2011;11(6):256-260.
- El-Gohary OA, Said MA. Effect of electromagnetic waves from mobile phone on immune status of male rats: possible protective role of vitamin D. *Can J Physiol Pharmacol* 2017;95(2):151-156.
- Ellis JM. Cholinesterase inhibitors in the treatment of dementia. *J Am Osteopath Assoc* 2005;105(3):145-158.
- El-Mahmoudy A, Shimizu Y, Shiina T, Matsuyama H, El-Sayeda M, Takewaki T. Successful abrogation by thymoquinone against induction of diabetes mellitus with streptozotocin via nitric oxide inhibitory mechanism. *Int Immunopharmacol* 2005;5(1):195-207.



- Erdem A, Yaşargil G, Roth P. Microsurgical anatomy of the hippocampal arteries. *J Neurosurg* 1993;79(2):256-265.
- 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.
- Falcioni L, Bua L, Tibaldi E, Lauriola M, De Angelis L, Gnudi F, Mandrioli D, Manservigi M, Manservigi F, Manzoli I, Menghetti I, Montella R, Panzacchi S, Sgargi D, Strollo V, Vornoli A, Belpoggi F. Report of final results regarding brain and heart tumors in Sprague-Dawley rats exposed from prenatal life until natural death to mobile phone radiofrequency field representative of a 1.8 GHz GSM base station environmental emission. *Environ Res* 2018;165:496-503.
- Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidant, and nutrition. *Nutrition* 2002;18(10):872-879.
- 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.
- Feinendegen LE, Cuttler JM. Biological effects from low doses and dose rates of ionizing radiation: science in the service of protecting humans, a synopsis. *Health Phys* 2018;114(6):623-626.
- Florence TM. The role of free radicals in disease. *Aust N Z J Ophthalmol* 1995;23(1):3-7.
- Foroozandeh E. Mice learning after 30 minutes exposure to electromagnetic field. *MOJ Toxicol* 2017;3(2):00048.
- Foster KR. Thermal and nonthermal mechanisms of interaction of radio-frequency energy with biological systems. *IEEE T Plasma SCI* 2000;28(1):15-23.
- Funk RH, Monsees T, Ozkucur N. Electromagnetic effects from cell biology to medicine. *Prog Histochem Cytochem* 2009;43(4):177-264.
- Galloni P, Parazzini M, Piscitelli M, Pinto R, Lovisolo GA, Tognola G, Marino C, Ravazzani P. Electromagnetic fields from mobile phones do not affect the inner auditory system of Sprague-Dawley rats. *Radiat Res* 2005;164(6):798-804.
- Galloni P, Lopresto V, Parazzini M, Pinto R, Piscitelli M, Ravazzani P, Marino C. No effects of UMTS exposure on the function of rat outer hair cells. *Bioelectromagnetics* 2009;30(5):385-392.
- Gangwar AK, Chishti F. Study of electromagnetic field and its effect on human body. *IJAREEIE* 2014;3(6):10156-10161.

- Garau C, Cummings E, Phoenix DA and Singh J. Beneficial effect and mechanism of action of *Momordica charantia* in the treatment of diabetes mellitus a mini review. *Int J Diab Metabol* 2003;11:46-55.
- Garcia-Finana M, Cruz-Orive LM, Mackay CE, Pakkenberg B, Roberts N. Comparison of MR imaging against physical sectioning to estimate the volume of human cerebral compartments. *Neuroimage* 2003;18(2):505-516.
- Geuna S, Herrera-Rincon C. Update on stereology for light microscopy. *Cell Tissue Res* 2015;360(1):5-12.
- Ghazali Z, Mat MH, Rahim HA, Syafiq A. A review on level of specific absorption rate due to high power transmission lines: Analysis toward human position posture. *MATEC Web Conf* 2016;78:5.
- Gokcimen A, Rağbetli MÇ, Baş O, Tunc AT, Aslan H, Yazici C, Kaplan S. Effect of prenatal exposure to an anti-inflammatory drug on neuron number in cornu ammonis and dentate gyrus of the rat hippocampus: a stereological study. *Brain Res* 2007;1127(1):185-192.
- González-Gallego J, Sánchez-Campos S, Tuñón MJ. Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. *Nutr Hosp* 2007;22(3):287-293.
- Gökce EC, Kahveci R, Gökce A, Cemil B, Aksoy N, Sargon MF, Kısa Ü, Erdoğan B, Güvenç Y, Alagöz F, Kahveci O. Neuroprotective effects of thymoquinone against spinal cord ischemia-reperfusion injury by attenuation of inflammation, oxidative stress, and apoptosis. *J Neurosurg Spine* 2016;24(6):949-959.
- Grover JK, Yadav SP. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. *J Ethnopharmacol* 2004;93(1):123-132.
- 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(1):3-45.
- Gundersen HJ, Jensen EB. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microsc* 1987;147(3):229-263.
- Gundersen HJ, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, Nyengaard JR., Pakkenberg B, Sorensen FB, Vesterby A. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS* 1988;96(5):379-394.
- Gundersen HJ, Jensen EB, Kieu K, Nielsen J. The efficiency of systematic sampling in stereology reconsidered. *J Microsc* 1999;193(3):199-211.
- Gupta M, Sharma S, Gautam AK, Bhadauria R. *Momordica charantia* linn. (karela): nature's silent healer. *Int J Pharm Sci Rev Res* 2011;11(1):32-37.

- Gülşen I, Ak H, Çölçimen N, Alp HH, Akyol ME, Demir İ, Atalay T, Balahroğlu R, Ragbetli MÇ. Neuroprotective effects of thymoquinone on the hippocampus in a rat model of traumatic brain injury. *World Neurosurg* 2016;86:243-249.
- Gye MC, Park CJ. Effect of electromagnetic field exposure on the reproductive system. *Clin Exp Reprod Med* 2012;39(1):1-9.
- Habicht SD, Ludwig C, Yang RY, Krawinkel MB. *Momordica charantia* and type 2 diabetes: from in vitro to human studies. *Curr Diabetes Rev* 2014;10(1):48-60.
- Hadjem A, Lautru D, Dale C, Wong MF, Hanna VF, Wiart J. Study of specific absorption rate (SAR) induced in two child head models and in adult heads using mobile phones. *IEEE Trans Microw Theory Techn* 2005;53(1):4-11.
- Halliwell B. Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutr Rev* 1994;52(8):253-265.
- Han JH, Tuan NQ, Park MH, Quan KT, Oh J, Heo KS, Na M, Myung CS. Cucurbitane triterpenoids from the fruits of *Momordica charantia* improve insulin sensitivity and glucose homeostasis in streptozotocin-induced diabetic mice. *Mol Nutr Food Res* 2018;62(7):e1700769.
- Hancı H, Türedi S, Topal Z, Mercantepe T, Bozkurt I, Kaya H, Ersöz Ş, Ünal B, Odacı E. Can prenatal exposure to a 900 MHz electromagnetic field affect the morphology of the spleen and thymus, and alter biomarkers of oxidative damage in 21-day-old male rats? *Biotech Histochem* 2015;90(7):535-43.
- Hanukoglu I. Antioxidant protective mechanisms against reactive oxygen species (ROS) generated by mitochondrial P450 systems in steroidogenic cells. *Drug Metab Rev* 2006;38(1-2):171-196.
- Hao Y, Zhao L, Peng R. Effects of microwave radiation on brain energy metabolism and related mechanisms. *Mil Med Res* 2015;2:4.
- Harpole JL, Tucci MA, Benghuzzi HA. Pathophysiological responses associated with exposure to TQ and EGCG using CAO-3 ovarian cancer like cells. *Biomed Sci Instrum* 2014;50:345-352.
- Hawsawi ZA, Ali BA, Bamosa AO. Effect of *Nigella sativa* (Black Seed) and thymoquinone on blood glucose in albino rats. *Ann Saudi Med* 2001;21(3-4):242-244.
- Hayt WH, Buck CA. *Engineering electromagnetics*. 7<sup>th</sup> Ed., Boston, Mc-Graw Hill. 2006; 27-254.

- 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.
- Hosseinzadeh H, Parvardeh S, Nassiri-Asl M, Ziaee T. Effect of thymoquinone and *Nigella sativa* seedsoil on lipid peroxidation level during global cerebral ischemia-reperfusion injury in rat hippocampus. *Phytomedicine* 2007;14(9):621-627.
- Huang TM. Studies on antiviral activity of the extract of *Momordica charantia* and its active principle. *Virology* 1990;5(4):367-373.
- Hussein AAW, George NT. Histological and morphological analysis of the hippocampal subfields in the adult rat. *Fac Med Baghdad* 2009;51(3):323-327.
- Hussein S, El-Sabaa AA, Galal MK. Biochemical and histological studies on adverse effects of mobile phone radiation on rat's brain. *J Chem Neuroanat* 2016;78:10-19.
- Hyland GJ. Physics and biology of mobile telephony. *Lancet* 2000;356(9244):1833-1836.
- Ikehara T, Yamaguchi H, Miyamoto H. Effect of electromagnetic fields on membrane ion transport of cultured cells. *J Med Invest* 1998;45(1-4):47-56.
- Ikpesu TO. Therapeutic potential of *Garcinia kola* with reference to the restoration of inhibited acetylcholinesterase activities in induced *Clarias gariepinus*. *J Basic Appl Sci* 2014;3(4):293-300.
- Isaacson RL. Unsolved mysteries: the hippocampus. *Behav Cogn Neurosci Rev* 2002;1(2):87-107.
- Ismail M, Al-Naqeep G, Chan KW. *Nigella sativa* thymoquinone rich fraction greatly improves plasma antioxidant capacity and expression of antioxidant genes in hypercholesterolemic rats. *Free Radic Biol Med* 2010;48(5):664-672.
- 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.
- Jagessar RC, Mohamed A and Gomes G: an evaluation of the antibacterial and antifungal activity of leaf extracts of *Momordica Charantia* against *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nat Sci* 2008;6(1):1-14.

- Jelencovic A, Janac B, Pesic V, Jovanovic DM, Vasiljevic I, Prolic Z. Effects of extremely low-frequency magnetic field in the brain of rats. *Brain Res Bull* 2006;68(5):355-360.
- Jia S, Shen M, Zhang F, Xie J. Recent advances in *Momordica charantia*: functional components and biological activities. *Int J Mol Sci* 2017;18(12):E2555.
- John AA, Bamidele FP, Ridwan SO. Neuroprotective effect of aqueous extract of *Garcinia kola* on monosodium glutamate-induced cerebellar cortical damage in adult Wistar rats. *European J Med Plants* 2015;5(1):13-22.
- Johnsona DB, Shringib BN, Patidara DK, Chalichema NSS, Javvadia AK. Screening of antimicrobial activity of alcoholic & aqueous extract of some indigenous plants. *Indo-Global J Pharmace Sci* 2011;1(2):186-193.
- Joseph B, Jini D. Antidiabetic effects of *Momordica charantia* (bitter melon) and its medicinal potency. *Asian Pac J Trop Dis* 2013;3(2):93-102.
- Joshi A, Soni P, Malviya S, Kharia A. Memory enhancing activity of *Momordica charantia* by scopolamine induced amnesia in rats. *Int J Comp Adv Pharmacol* 2017;2(1):11-18.
- Joshua PE, Ukegbu CY, Eze CS, Umeh BO, Oparandu LU, Okafor JO, Nkwocha C, Ogara A. Comparative studies on the possible antioxidant properties of ethanolic seedextracts of *Cola nitida* (kola nut) and *Garcinia kola* (bitter kola) on hydrogenperoxide induced oxidativestress in rats. *J Med Plants Res* 2017;12(22):3.
- Kang MG, Byun K, Kim JH, Park NH, Heinsen H, Ravid R, Steinbusch HW, Lee B, Park YM. Proteogenomics of the human hippocampus: The road ahead. *Biochim Biophys Acta* 2015;1854(7):788-797.
- Kanter M. Protective effects of thymoquinone on  $\beta$ -cell damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Med Res* 2009;7(2):64-70.
- Kapil H, Suresh DK, Chandna S. Thymoquinone a natural remedy for treatment of various diseases a review. *J Periodontal Med Clin Pract* 2015;2:5-11.
- Kaplan S, Deniz OG, Önger ME, Türkmen AP, Yurt KK, Aydın I, Altunkaynak BZ, Davis D. Electromagnetic field and brain development. *J Chem Neuroanat* 2016;75:52-61.
- Kaszuba-Zwoińska J, Gremba J, Gałdzińska-Calik B, Wójcik-Piotrowicz K, Thor PJ. Electromagnetic field induced biological effects in humans. *Przegl Lek* 2015;72(11):636-641.

- Kerimoğlu G, Hancı H, Baş O, Aslan A, Erol HS, Turgut A, Kaya H, Çankaya S, Sönmez OF, Odacı E. Pernicious effects of long-term, continuous 900-MHz electromagnetic field through out adolescence on hippocampus morphology, biochemistry and pyramidal neuron numbers in 60-day-old Sprague Dawley malerats. *J Chem Neuroanat* 2016;77:169-175.
- Khan MA, Chemical composition and medicinal properties of *Nigella sativa* Linn. *Int Immunopharmacol* 1999;1(7):15-35.
- Kim JH, Yu DH, Kim HR. Activation of autophagy at cerebral cortex and apoptosis at brainstem are differential responses to 835 MHz RF-EMF exposure. *Korean J Physiol Pharmacol* 2017;21(2):179-188.
- Kivrak EG, Altunkaynak BZ, Alkan I, Yurt KK, Kocaman A, Onger ME. Effects of 900-MHz radiation on the hippocampus and cerebellum of adult rats and attenuation of such effects by folic acid and *Boswellia sacra*. *J Microsc Ultrastruct* 2017;5(4):216-224.
- 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.
- Kopáni M, Celec P, Danisovic L, Michalka P, Biró C. Oxidative stress and electron spin resonance. *Clin Chim Acta* 2006;364(1-2):61-66.
- Kruk I, Michalska T, Lichszteid K, Kładna A, Aboul-Enein HY. The effect of thymol and its derivatives on reactions generating reactive oxygen species. *Chemosphere* 2000;41(7):1059-1064.
- Kumar DS, Sharathnath KV, Yogeswaran P, Harani A, Sudhakar K, Sudha P and Banji D. A medicinal potency of *Momordica charantia*. *Int J Pharmaceu Sci Rev Res* 2010;1(2):95.
- Lander HM. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. *FASEB J* 1997;11(2):118-124.
- Li R, Dozmorov M, Hellberg F, Tian Y, Jilderos B, Wigström H. Characterization of NMDA induced depression in rat hippocampus: involvement of AMPA and NMDA receptors. *Neurosci Lett* 2004;357(2):87-90.
- Lin KW, Yang SC, Lin CN. Antioxidant constituents from the stems and fruits of *Momordica charantia*. *Food Chem* 2011;127(2):609-614.
- Liu CH, Yen MH, Tsang SF, Gan KH, Hsu HY, Lin CN. Antioxidant triterpenoids from the stems of *Momordica charantia*. *Food Chem* 2010;118(3):751-756.
- Madeo F, Frohlich E, Ligr M, Grey M, Sigrist SJ, Wolf DH, Frohlich KU. Oxygen stress: a regulator of apoptosis in yeast. *J Cell Biol* 1999;145(4):757-767.

- Mahmoud MF, El Ashry FE, El Maraghy NN, Fahmy A. Studies on the antidiabetic activities of *Momordica charantia* fruit juice in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharm Biol* 2017;55(1):758-765.
- Mahwish R, Saeed F, Arshad MS, Nisa MU, Nadeem MT, Arshad MU. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of different parts and formulations of bitter gourd (*Momordica Charantia*). *Lipids Health Dis* 2017;16(1):211.
- Malik ZA, Singh M, Sharma PL. Neuroprotective effect of *Momordica charantia* in global cerebral ischemia and reperfusion induced neuronal damage in diabetic mice. *J Ethnopharmacol* 2011;133(2):729-734.
- Mansour M, Tornhamre S. Inhibition of 5-lipoxygenase and leukotriene C4 synthase in human blood cells by thymoquinone. *J Enzyme Med Chem* 2004;19(5):431-436.
- Martins D, English AM. 2014. Catalase activity is stimulated by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in rich culture medium and is required for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> resistance and adaptation in yeast. *Redox Biol* 2014;2:308-313.
- Mayhew TM, Gundersen HJ. If you assume, you can make an ass out of u and me': a decade of the disector for stereological counting of particles in 3D space. *J Anat* 1996;188(1):1-15.
- McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 2000;108(8):652-659.
- McEwen BS. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol rev* 2007;87(3):873-904.
- Miah T, Kamat D. Current understanding of the health effects of electromagnetic fields. *Pediatr Ann* 2017;46(4):172-174.
- Minder CE, Pfluger DH. Leukemia, brain tumors and exposure to extremely low frequency electromagnetic fields in Swiss Railway employees. *Am J Epidemiol* 2001;153(9):825-835.
- Mokarram P, Sheikhi M, Mortazavi SMJ, Saeb S, Shokrpour N. Effect of exposure to 900 MHz GSM mobile phone radiofrequency radiation on estrogen receptor methylationstatus in colon cells of male Sprague dawley rats. *J Biomed Phys Eng* 2017;7(1):79-86.
- Mortazavi SAR, Mortazavi G, Haghani M, Mortazavi SMJ. Oxidative stress, a bridge that links radioadaptive responses induced by ionizing radiation to those induced by non-ionizing radiation. *ROS* 2016;1(3):199-206.

- Mortazavi SMJ, Mostafavi-Pour Z, Daneshmand M, Zal F, Zare R, Mosleh-Shirazi MA. Adaptive response induced by pre-exposure to 915 MHz radiofrequency: a possible role for antioxidant enzyme activity. *J Biomed Phys Eng* 2017;7(2):137-142.
- Motawi TK, Darwish HA, Moustafa YM, Labib MM. Biochemical modifications and neuronal damage in brain of young and adult rats after long-term exposure to mobile phone radiations. *Cell Biochem Biophys* 2014;70(2):845-855.
- Moulder JE, Foster KR. Is there a link between exposure to power frequency electric fields and cancer? *IEEE Eng Med Biol Mag* 1999;18(2):109-116.
- Moustafa MH, Sharma RK, Thornton J, Mascha E, Abdel-Hafez MA, Thomas AJ Jr, Agarwal A. Relationship between ROS production, apoptosis and DNA denaturation in spermatozoa from patients examined for infertility. *Hum Reprod* 2004;19(1):129-138.
- Narayanan SN, Kumar RS, Potu BK, Nayak S, Bhat PG, Mailankot M. Effect of radio-frequency electromagnetic radiations (RF-EMR) on passive avoidance behaviour and hippocampal morphology in Wistar rats. *Ups J Med Sci* 2010;115(2):91-96.
- Nerurkar PV, Johns LM, Buesa LM, Kipyakwai G, Volper E, Sato R, Shah P, Feher D, Williams PG, Nerurkar VR. Momordica charantia (bitter melon) attenuates high-fat diet-associated oxidative stress and neuroinflammation. *J Neuroinflamm* 2011;8(1):1-19.
- 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, İkinci A, Yıldırım M, Kaya H, Akça M, Hancı H, Sönmez OF, Aslan A, Okuyan M, Baş O. The effects of 900 megahertz electromagnetic field applied in the prenatal period on spinal cord morphology and motor behavior in female rat pups. *Neuroquantology* 2013;11(4):573-581.
- 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.
- Ogunmoyole T, Olalekan OO, Fatai O, Makun JO and Kade IJ. Antioxidant and phytochemical profile of aqueous and ethanolic extract of *Garcinia kola*. *J Pharmacognosy Phytother* 2012;4(5):66-74.
- Okada Y, Okada M. Protective effects of plant seed extracts against amyloid  $\beta$ -induced neurotoxicity in cultured hippocampal neurons. *J Pharm Bioallied Sci* 2013;5(2):141-147.



- Okatan DÖ, Kaya H, Aliyazıcıoğlu Y, Demir S, Çolakoğlu S, Odacı E. Continuous 900-megahertz electromagnetic field applied in middle and late-adolescence causes qualitative and quantitative changes in the ovarian morphology, tissue and blood biochemistry of the rat. *Int J Radiat Biol* 2018;94(2):186-198.
- Olaleye SB, Farombi EO, Adewoye EA, Owoyele BV, Onasanwo SA, Elegbe RA. Analgesic and anti-inflammatory effects of kolaviron (*G. kola*) seed extract. *Afr J Biomed Res* 2000;3:171-174.
- Olawale O, Emmanuel OIN. 2005. Superoxide dismutase (SOD) activity and serum calcium level in rats exposed to a locally produced insecticide “rambo insect powder”. *Anim Res Int* 2005;2(1):261-266.
- Olesen MV, Needham EK, Pakkenberg B. The optical fractionator technique to estimate cell numbers in a rat model of electroconvulsive therapy. *J Vis Exp* 2017;125:55737.
- Oloyede OI, Afolabi AM. Antioxidant potential of *Garcinia kola* (leaf). *Int J Acad Res* 2012;2(2):49-54.
- Oloyede OI, Durojaiye O, Adewale OB. Prevention of Fe<sup>2+</sup> induced lipid peroxidation by aqueous extract of *G. Kola* leaf in some rat tissues. *Innov Pharmac Pharmacoth* 2013;1(2):128-132.
- Ozben T. Oxidative stress and apoptosis: impact on cancertherapy. *J Pharm Sci* 2007;96(9):2181-2196.
- 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.
- Paarakh PM. *Nigella sativa* Linn. A comprehensive review. *Indian J Natu Prod Res* 2010;1(4):409-429.
- Panagopoulos DJ, Chavdoula E.D, 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, Johansson O, Carlo GL. Evaluation of specific absorption rate as a dosimetric quantity for electromagnetic fields bioeffects. *PLos One* 2013;8(6):62663.
- Panda BC, Mondal S, Devi KSP, Maiti TK, Khatua S, Acharya K, Islam SS. Pectic Polysaccharide from the Green Fruits of *Momordica charantia* (Karela): structural characterization and study of immunoenhancing and antioxidant properties. *Carbohydr Res* 2015;401:24-31.

- Pari L, Sankaranarayanan C. Beneficial effects of thymoquinone on hepatic key enzymes in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Life Sci* 2009;85(23-26):830-834.
- Pathakota R. Neuroprotective effects of *Momordica charantia* on scopolamine induced Alzheimer's disease. *World J Pharm Pharm Sci* 2017;6(4):2141-2155.
- Peißnera W, Kocherb M, Treuerc H, Gillardona F. Ionizing radiation-induced apoptosis of proliferating stem cells in the dentate gyrus of the adult rat hippocampus. *Brain Res Mol Brain Res* 1999;71(1):61-68.
- Peltola V, Huhtaniemi I, Ahotupa M. Antioxidant Enzyme activity in the maturing rat testis. *J Androl* 1992;13(5):450-450.
- Penduka D, Buwa L, Mayekiso B, Basson AK, Okoh AI. Identification of the antilisterial constituents in partially purified column chromatography fractions of *Garcinia kola* seeds and their interactions with standard antibiotics. *Evid Based Complement Alternat Med* 2014;2014:850347.
- Pişkin A, Altunkaynak BZ, Tümentemur G, Kaplan S, Yazıcı OB, Hökelek M. The beneficial effects of *Momordica charantia* (bitter gourd) on wound healing of rabbit skin. *J Dermatolog Treat* 2014;25(4):350-357.
- Puri M, Kaur I, Kanwar RK, Gupta RC, Chauhan A, Kanwar JR. Ribosome inactivating proteins (RIPs) from *Momordica charantia* for anti viral therapy. *Curr Mol Med* 2009;9(9):1080-1094.
- Qu M, Li L, Chen C, Li M, Pei L, Chu F, Yang J, Yu Z, Wang D, Zhou Z. Protective effects of lycopene against amyloid -induced neurotoxicity in cultured rat cortical neurons. *Neurosci Lett* 2011;505(3):286-290.
- Ragheb A, Attia A, Eldin WS, Elbarbry F, Gazarin S, Shoker A. The protective effect of thymoquinone, an anti-oxidant and anti-inflammatory agent, against renal injury: a review. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2009;20(5):741-752.
- Raghunandhakumar S, Paramasivam A, Senthilraja S, Naveenkumar C, Asokkumar S, Binuclara J, Jagan S, Anandakumar P, Devaki T. Thymoquinone inhibits cell proliferation through regulation of G1/S phase cell cycle transition in N-nitrosodiethylamine-induced experimental rat hepatocellular carcinoma. *Toxicol Lett* 2013;223(1):60-72.
- Rağbetli MC, Aydinlioğlu A, Koyun N, Rağbetli C, Karayel M. Effect of prenatal exposure to mobilephone on pyramidal cell numbers in the mouse hippocampus: a stereological study. *Int J Neurosci* 2009;119(7):1031-1041.
- Raisman G, Covan WM, Powell TPS. The extrinsic afferent, commissural and association of the hippocampus. *Brain* 1965;88(5):963-966.

- Razavinasab M, Moazzami K, Shabani M. Maternal mobile phone exposure alters intrinsic electrophysiological properties of CA1 pyramidal neurons in rat offspring. *Toxicol Ind Health* 2016;32(6):968-979.
- Repacholi MH. A history of the international commission on non-ionizing radiation protection. *Health Phys* 2017;113(4):282-300.
- Rikans LE, Hornbrook KR. Lipid peroxidation, antioxidant protection and aging. *Biochim Biophys Acta* 1997;1362(2-3):116-127.
- Rothman KJ. Epidemiological evidence on health risks of cellular telephones. *Lancet* 2000;356(9244):1837-1840.
- Sadler TW. Langman's medical embryology. 6<sup>th</sup> Ed., Baltimore, Williams & Wilkins Press, 1990; 356.
- Saffer JD, Thurstan SJ. Cancer risk and electromagnetic fields. *Nature* 1995;375:22-23.
- Saikhedkar N, Bhatnagar M, Jain A, Sukhwal P, Sharma C, Jaiswal N. Effects of mobile phone radiation (900 MHz radiofrequency) on structure and functions of rat brain. *Neurol Res* 2014;36(12):1072-1079.
- Salford LG, Brun AE, Eberhardt JL, Malmgren L, Persson BR. Nerve cell damage in mammalian brain after exposure to microwaves from GSM mobile phones. *Environ Health Perspect* 2003;111(7):881-883.
- Santos KK, Matias EF, Sobral-Souza CE, Tintino SR, Morais-Braga MF, Guedes GM, Santos FA, Sousa AC, Rolón M, Vega C, de Arias AR, Costa JG, Menezes IR, Coutinho HD. Trypanocide, cytotoxic, and antifungal activities of *Momordica charantia*. *Pharm Biol* 2012;50(2):162-166.
- Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol* 2000;182(3):311-322.
- Seanego CT, Ndip RN. Identification and antibacterial evaluation of bioactive compounds from *Garcinia kola* (Heckel) seeds. *Molecules* 2012;17(6):6569-6584.
- Sedaghat R, Roghani M, Khalili M. Neuroprotective effect of thymoquinone, the *Nigella sativa* bioactive compound, in 6-hydroxydopamine-induced hemiparkinsonian rat model. *Iran J Pharm Res* 2014;13(1):227-234.
- Shaddel M, Tavakoli P, Mohammadi R. Effects of pulsed electromagnetic fields on peripheral nerve regeneration using allografts in sciatic nerve: an animal model study. *Biomed J Sci Tech Res* 2017;1(6):1-7.

- Shan B, Xie JH, Zhu JH, Peng Y. Ethanol modified supercritical carbon dioxide extraction of flavonoids from *Momordica charantia* L. and its antioxidant activity. *Food Bioprod Process* 2012;90(3):579-587.
- Shao YY, Li B, Huang YM, Luo Q, Xie YM, Chen YH. Thymoquinone attenuates brain injury via an antioxidative pathway in a status epilepticus rat model. *Transl Neurosci* 2017;8:9-14.
- Sharma S, Sharma A, Shukla S. Effect of electromagnetic radiation on vital organs in rats. *Octa J Biosci* 2017;5(1):1-4.
- Shaterzadeh-Yazdi H, Noorbakhsh MF, Hayati F, Samarghandian S, Farkhondeh T. Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of thymoquinone. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 2018;18(1):52-60.
- Sheikh BY, Mohamadin AM. Thymoquinone a potential therapy for cerebral oxidative stress. *Asian J Nat Appl Sci* 2012;1(2):76-92.
- Shetty AK, Kumar GS, Sambaiah K and Salimath PV. Effect of bitter gourd (*Momordica charantia*) on glycaemic status in streptozotocin induced diabetic rats. *Plant Foods Hum Nutr* 2005;60(3):109-112.
- Sienkiewicz Z. Biological effects of electromagnetic fields and radiation. *J Radiol Prot* 1998;18(3):185-193.
- 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 Atmospheric Sol Terr Phys* 2005;67(6):637-658.
- Silachev DN, Plotnikov EY, Zorova LD, Pevzner IB, Sumbatyan NV, Korshunova GA, Gulyaev MV, Pirogov YA, Skulachev VP, Zorov DB. Neuroprotective effects of mitochondria-targeted plastoquinone and thymoquinone in a rat model of brain ischemia/reperfusion injury. *Molecules* 2015;20(8):14487-14503.
- Sobel E, Davanipour Z. Electromagnetic field exposure may cause increased production of amyloid beta and eventually lead to Alzheimer's disease. *Neurology* 1996;47(6):1594-1600.
- 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.
- Son Y, Jeong YJ, Kwon JH, Choi HD, Park JK, Kim N, Lee YS, Lee HJ. The effect of sub-chronic whole-body exposure to a 1,950 MHz electromagnetic field on the hippocampus in the mouse brain. *J Electromagn Eng Sci* 2015;15(3):151-157.

- Söderqvist F, Hardell L, Carlberg M., Mild KH. Ownership and use of wireless telephones: A population-based study of Swedish children aged 7-14 years. *Public Health* 2007;11:7-105.
- Söderqvist F, Carlberg M, Hardell L. Use of wireless telephones and self-reported health symptoms: a population-based study among Swedish adolescents aged 15-19 years. *Environ Health* 2008;21:7-18.
- Squire LR. Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem* 2004;82(3):171-177.
- Stam R. Electromagnetic fields and the blood-brain barrier. *Brain Res Rev* 2010;65(1):80-97.
- Su L, Yimaer A, Xu Z, Chen G. Effects of 1800 MHz RF-EMF exposure on DNA damage and cellular functions in primary cultured neurogenic cells. *Int J Radiat Biol* 2018;94(3):295-305.
- Sugimoto T, Bennett GJ, Kajander KC. Transynaptic degeneration in the superficial dorsal horn after sciatic nerve injury: effects of a chronic constriction injury, transaction and strychnine. *Pain* 1990;42(2):205-213.
- Suzuki M, Hagino H, Nohara S, Zhou SY, Kawasaki Y, Takahashi T, Matsui M, Seto H, Ono T, Kurachi M. Male-specific volume expansion of the human hippocampus during adolescence. *Cereb Cortex* 2005;15(2):187-193.
- Şahin A, Aslan A, Baş O, İkinci A, Özyılmaz C, Sönmez OF, Çolakoğlu S, Odacı E. Deleterious impacts of a 900-MHz electromagnetic field on hippocampal pyramidal neurons of 8-week-old Sprague Dawley male rats. *Brain Res* 2015;1624:232-238.
- 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.
- Takahashi S, Inaguma S, Cho YM, Imaida K, Wang J, Fujiwara O, Shirai T. Lack of mutation induction with exposure to 1.5 GHz electromagnetic near fields used for cellular phones in brains of big blue mice. *Cancer Res* 2002;62(7):1956-1960.
- Tatu L, Vuillier F. Structure and vascularization of the human hippocampus. *Front Neurol Neurosci* 2014;34:18-25.
- Taylor L. Bitter melon (*Momordica charantia*): in herbal secrets of the rainforest, 2<sup>nd</sup> Ed., Texas, USA Sage Press. 2002; 1-5.

- Terenzi A, Boloqnesi A, Pasqualucci L, Flenghi L, Pileri S, Stein H, Kadin M, Biqerna B, Polito L, Tazzari PL, Martelli MF, Stirpe F and Falini B. Anti-CD30 (BER=H2) immunotoxins containing the type-1 ribosome-inactivating proteins momordin and PAP-S (pokeweed antiviral protein from seeds) display powerful antitumor activity against CD30<sup>+</sup>tumor cells in vitro and in SCID mice. *Braz J Haematol* 1996;92(4):872-879.
- Terzi M, Ozberk B, Deniz OG, Kaplan S. The role of electromagnetic fields in neurological disorders. *J Chem Neuroanat* 2016;75:77-84.
- Thenmozhi AJ, Subramanian P. Antioxidant potential of *Momordica charantia* in ammonium chloride-induced hyperammonemic rats. *Evid Based Complement Altern Med* 2011;2011:612023.
- Tien RD, Felsberg GJ, Crain B: Normal anatomy of the hippocampus and adjacent temporal lobe: high-resolution fast spin-echo MR images in volunteers correlated with cadaveric histologic sections. *AJR Am J Roentgenol* 1992;159(6):1309-1313.
- Tona L, Ngimbi NP, Tsakala M, Mesia K, Cimanga K, Apers S, De Bruyne T, Pieters L, Totté J, Vlietinck AJ. Antimalarial activity of extract of 20 crude extracts from nine African medicinal plants used in Kinshasa, Congo. *J Ethnopharmacol* 1999;15(68):193-203.
- Turgut M, Turkkani Tunc A, Aslan H, Yazici AC, Kaplan S. Effect of pinealectomy on the morphology of the chick cervical spinal cord: a stereological and histopathological study. *Brain Res* 2007;1129(1):166-173.
- Türedi S, Hancı H, Topal Z, Ünal D, Mercantepe T, Bozkurt İ, Kaya H, Odacı E. The effects of prenatal exposure to a 900-MHz electromagnetic field on the 21-day-old male rat heart. *Electromagn Biol Med* 2015;34(4):390-397.
- Türedi S, Kerimoğlu G, Mercantepe T, Odacı E. Biochemical and pathological changes in the male rat kidney and bladder following exposure to continuous 900-MHz electromagnetic field on postnatal days 22-59. *Int J Radiat Biol* 2017;93(9):990-999.
- Udenze ECC, Braide VB, Okwesilieze CN, Akuodor GC. Pharmacological effects of *Garcinia kola* seed powder on blood sugar, lipid profile and atherogenic index of alloxan-induced diabetes in rats. *Pharmacologia* 2012;3(12):693-699.
- Ukeda H, Kawana D, Maeda S, Sawamura M. Spectrophotometric assay for superoxide dismutase based on the reduction of highly water-soluble tetrazolium salts by xanthine-xanthine oxidase. *J Biosci Biotechnol Biochem* 1999;63(3):485-488.
- 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* 2015;91(1):35-41.

- Valentini E, Ferrara M, Presaghi F, De Gennaro L, Curcio G. Republished review: systematic review and meta-analysis of psychomotor effects of mobile phone electromagnetic fields. *Postgrad Med J* 2011;87(1031):643-651.
- Viggiano A, Viggiano D, Viggiano A, and Luca BD. Quantitative histochemical assay for superoxide dismutase in rat brain. *J Histochem Cytochem* 2003;51(7):865-871.
- Vijayalaxmi N. Biological and health effects of radiofrequency fields: good study design and quality publications. *Mutat Res* 2016;810:6-12.
- Virdia J, Sivakamia S, Shahanib S, Sutharc AC, Banavalikar MM and Biyanic MK: Antihyperglycemic effects of three extracts from *Momordica charantia*. *J Ethnopharmacol* 2003;88(1):107-111.
- Virdi J, Sivakami S, Shahani S, Suthar AC, Banavalikar MM, Biyani MK. Antihyperglycemic effects of three extracts from *Momordica charantia*. *J Ethnopharmacol* 2003;88(1):107-111.
- 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. *J Anat Rec* 1991;231(4):482-497.
- Wilen J, Sandstrom M, Hansson MK. Subjective symptoms among mobile phone users- A consequence of absorption of radiofrequency field? *Bioelectromagnetics* 2003;24(3):152-159.
- Williams PL. *Gray's anatomy*. 38<sup>th</sup> Ed., New York, Churchill Livingstone. 1995; 1124-1126.
- Wixted JT, Squire LR, Jang Y, Papesh MH, Goldinger SD, Kuhn JR, Smith KA, Treiman DM, Steinmetz PN: Sparse and distributed coding of episodic memory in neurons of the human hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014;111(26):9621-9626.
- Woo CC, Kumar AP, Sethi G, Tan KHB. Thymoquinone: Potential cure for inflammatory disorders and cancer. *Biochem Pharmacol* 2012;83(4):433-451.
- Yakubu MT, Quadri AL. *Garcinia kola* seeds: is the aqueous extract a true aphrodisiac in male wistar rats? *Afr J Tradit Complement Altern Med* 2012;9(4):530-535.
- Yasser M, Randa MM, Belacy SH, Abou-El-Ela Fadel MA. Effects of acute exposure to the radiofrequency fields of cellular phones on plasma lipid peroxide and antioxidant. *J Pharm Biom Anal* 2001;26(4):605-608.
- Yau SY, Li A, So KF. Involvement of adult hippocampal neurogenesis in learning and forgetting. *Neural Plast* 2015;2015:717958.

- Yokus B, Cakır DU, Akdağ MZ, Sert C, Mete N. Oxidative DNA damage in rats exposed to extremely low frequency electro magnetic fields. *Free Radic Res* 2005;39(3):317-323.
- Yong-hao F, Long C, Ying-hui C, Xiao-hong S. Effects of thymoquinone on oxidative stress and cytokine expression in brain of type 2diabetic rats. *Fudan Univ J Med Sci* 2017;44(4):483-488.
- Yu B, Huang Z. Variations in antioxidant genes and male infertility. *Biomed Res Int* 2015;2015:513196.
- Zablocka A, Janusz M. The two faces of reactive oxygen species. *Postepy Hig Med Dosw* 2008;26(62):118-124.
- Zhao LR, Du YJ, Chen L, Liu ZG, Pan YH, Liu JF, Liu B. Quercetin protect against high glucose-induced damage in bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Int J Mol Med* 2014;34(4):1024-1031.
- Zhdanov M. *Geophysical electromagnetic theory and methods*. 1<sup>st</sup> Ed., USA, Elsevier Science. 2009; 449-490.



## 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 -109  
Konu : Araştırma Projeniz hk.

30/12/2013

Prof. Dr. Süleyman KAPLAN  
OMÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

2013/65 numaralı "Prenatal Dönemde Elektromanyetik Alana Maruz Kalan Sığan Hipokampusü Üzerine *Garcinia kola*, Timokinon ve *Momordica charantia*'nın Etkilerinin 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.

Alınan kararlar Kurul kararıdır. Kararla ilgili Kurul üyelerinin atanması etik değildir. İhtisazlarınızı yazılı olarak Etik Kurul sekreterliğine başvurmanız gerekmektedir.

## **ÖZGEÇMİŞ**

**Ad Soyad:** Ömür Gülsüm DENİZ

**Doğum Yeri:** Rize

**Doğum Tarihi:** 02/02/1984

**Medeni Hali:** Bekâr

**Bildiği Yabancı Diller:** İngilizce

**Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):**

**Lisans :** Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü 2004-2008

**Yüksek Lisans:** Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Genel Biyoloji Anabilim Dalı (Histoloji) 2009-2011

**Doktora:** Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı 2012-2018

**E-posta:** omur.denizomu@gmail.com