



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ELEKTROMANYETİK ALANA MARUZ KALAN SIÇAN  
BEYİNİ ÜZERİNE OMEGA 3 VE MELATONİNİN  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Gamze ALTUN**

**Danışman**

**Prof. Dr. Süleyman KAPLAN**

**Samsun**

**Haziran-2014**

## TEŞEKKÜR

‘Elektromanyetik Alana Maruz Kalan Sıçan Beyni Üzerine Omega 3 ve Melatonin’in Etkilerinin Araştırılması’’ adlı tezin hazırlanmasında bilgi ve desteğini esirgemeyen Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı ve tez danışmanım olan Sayın Prof. Dr. Süleyman KAPLAN’a teşekkürlerimi sunarım.

Bilgi ve deneyimleriyle beni aydınlatan Sayın Doç. Dr. B. Zühal Altunkaynak’a, Sayın Doç. Dr. M. Eyüp Altunkaynak’a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Mehmet Emin Önger’e, Sayın Yrd. Doç. Dr. Ebru ELİBOL’a ve Sayın Uzm. Dr. Aysin Pınar TÜRKMEN’e teşekkür ederim. Kıymetli katkıları için Sayın Prof.Dr.Cafer MARANGOZ’a teşekkür ederim.

Tez çalışması boyunca deneysel aşamaların uygulanmasında yardımlarını esirgemeyen sevgili yüksek lisans ve doktora arkadaşlarım Araş.Gör.Süleyman KOCACAN’a, Araş.Gör. Ömür Gülsüm DENİZ’e, Araş. Gör. Kıymet Kübra YURT’a, Araş. Gör. Adem KOCAMAN’a, Yüksek Lisans Öğrencisi Elfide Gizem KIVRAK’a, Yüksek Lisans Öğrencisi Işinsu AYDIN’a, Yüksek Lisans Öğrencisi Sümeyye GÜMÜŞ UZUN’a, Yüksek Lisans Öğrencisi Ayşe KÖYLÜ’ye, Yüksek Lisans Öğrencisi Gülay YILDIZ’a, Stajyer Öğrenci Hanife ARSLAN’a, Sefa Ersan KAYA’ya ve personelimiz Selahattin ESEN’e teşekkür ederim.

Emek ve sevgilerini eksik etmeyen sevgili annem Aysel YAYLA’ya, babam YUSUF YAYLA’ya, kızkardeşlerim Gonca BAHADIR ve Gülce YAYLA’ya , desteğini esirgemeyen kayınpederim İLYAS ALTUN ve kayınvalidem Aynur ALTUN’a teşekkür ederim. Canım oğlum Göktuğ ALTUN ve kıymetli eşim Bülent ALTUN’a tez çalışmam süresince gösterdikleri sabır ve destek için teşekkür ederim. Ayrıca beni yetiştiren ikinci annem Havva YAYLA’ya ve ikinci babam Talip YAYLA’ya da özlem dolu teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum PYO. TIP.1904.13.023 no’lu bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Proje Yönetim Ofisi tarafından desteklenmiştir.

## ÖZET

### ELEKTROMANYETİK ALANA MARUZ KALAN SIÇAN BEYİNİ ÜZERİNE OMEGA 3 VE MELATONİN'İN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

**Amaç:** Cep telefonlarının özellikle beyne yakın kullanımı nedeniyle ortaya çıkabilecek olası ciddi sağlık sorunlarının önlenmesi için büyük önem taşımaktadır.

**Materyal ve Metot:** Bu çalışmada her bir grubun 6 adet 12 haftalık erişkin *wistar albino* sıçandan oluştuğu 4 grup mevcuttur. Çalışma gruplarından olan EMA (EMA), EMA+Melatonin (EMA+MEL), EMA+Omega 3 (EMA+w3) grupları, 15 gün süresince günde 60 dakika 900 megahertz (MHz) EMA'ya maruz bırakıldılar. Kontrol grubuna ait sıçanlar özel elektromanyetik alan düzeneğine konulmadı ve dolayısıyla elektromanyetik alana maruz bırakılmadılar. Deney süresi sonunda sıçanların amacıyla 2 gün süresince pasif sakınma testi uygulandı. Daha sonra sıçanlar kardiyak perfüzyon işlemine tabi tutularak beyin dokuları histolojik işlemler için çıkarıldı. CA (cornu ammonis)'da bulunan piramidal ve granüler hücre sayısı optik parçalama tekniği kullanılarak hesaplandı. Ayrıca deneklerden alınan kan örneklerinde elektromanyetik alanın neden olabileceği lipid peroksidasyonu ve ortaya çıkan antioksidan etkiyi göstermek için total glutatyon ve katalaz aktivitesi tayinleri yapıldı.

**Bulgular:** Elde edilen sonuçlar EMA grubunun CA'sındaki piramidal hücre ve granüler hücre sayısının kontrol, EMA+MEL ve EMA+w3 gruplarına göre önemli bir şekilde düşüş gösterdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca dentat girus ve hipokampusun CA3 bölgesinde stereolojik analizler sonucunda w3'ün antioksidan etkinliğinin melatonin'e göre daha fazla olduğu gözle çarpılmaktadır. Bununla birlikte CA3 bölgesinde EMA, Kontrol ve EMA+MEL grupları arasında herhangi bir istatistiksel farklılık görülmemektedir.

**Sonuç:** Elde edilen bulgular 900 MHz EMA maruziyetinin sıçanların piramidal hücre sayılarında düşüşe neden olduğunu göstermiştir. Ayrıca stereolojik sayım sonuçlarına bakarak; melatonin ve omega-3'ün EMA maruziyetinin olumsuz etkilerini önemli ölçüde minimize ettiği ileri sürülebilir.

**Anahtar Kelimeler:** EMA; hipokampus; melatonin; omega 3; rat; stereoloji, bellek

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF OMEGA 3 AND MELATONIN ON RAT BRAIN EXPOSED TO ELECTROMAGNETIC FIELD.

**Aim:** Life-long exposure from mobile phones, starting at a young age, is becoming increasingly common among the new generations of mobile phone users. Especially, evaluation of the possible adverse effects of electromagnetic field (EMF) exposure on the human brain due to the close proximity of the mobile phone is a great importance.

**Material and Method:** In the presented study we have four groups of pregnant rats each group consists of six rats. Each rat group (EMF, EMF+Mel, EMF+w3) was exposed to 900 MHz. The Each group was exposed for 60 min/day from the first to the last day of the gestation period in a special assembly for 15 days. But also, control group were not placed into the exposure area. After the exposure time for 15 days and passive avoidance test for 2 days, the each group underwent cardiac perfusion at the end of the 17 days. Pyramidal cell number and granular cell number in rat cornu ammonis was estimated using the optical fractionator technique. Also, total Glutathione and Catalase activity measured in serum samples to show antioxidant status and lipid peroxidation.

**Results:** Results showed that the total number of pyramidal cells in the cornu ammonis of the EMF were significantly lower than those of the cont, sham, EMF+MEL, MEL and EMF+w3. But also antioxidant efficiency of w3 was more compare to antioxidant efficiency of melatonin in dentate gyrus and CA3 region of hippocampus.

**Conclusion:** Our experiment showed that prenatal exposure to 900 MHz, EMF results in neuronal damage in the CA of the hippocampus of the rat. It was observed that melatonin and omega-3 reduced the effect of the EMF exposure.

**Keywords:** Electromagnetic fields; hippocampus; melatonin; omega 3; rat; stereology; passive avoidance.

Gamze ALTUN, Master Thesis  
Ondokuz Mayıs University - Samsun, June-

## SİMGELER VE KISALTMALAR

µm: Mikrometre

ALA: Alfa linoleik asit

AÖO: Alan Örnekleme Oranı

C: Karbon

CA: Cornu ammonis

CA1: Cornu ammonis 1

CA2: Cornu ammonis 2

CA3: Cornu ammonis 3

CAT: Katalaz

cm: santimetre

ÇDYA: Çoklu doymamış yağ asitleri

DG: Dentat Girus

DHA: Dokosaheksaenoik asit

DK: Değişim katsayısı

DNA: Deoksiribonükleik asit

DTNB:5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzoik asit), Ellman's ajanı.

EEG: Elektroensefalografi

EM: Elektromanyetik

EMA: EMA

EMA+MEL: 900 MHz EMA'ya maruz bırakılan+Melatonin grubu

EMA+W3: 900 MHz EMA'ya maruz bırakılan+Omega-3 grubu EMD: EMD

EPA: Eikosapentenoik asit

FSH:Folikül Stimüle Edici Hormon

GHz: Gigahertz

GR: Glutasyon redüktaz

GSM: Mobil iletişim için küresel sistem

GSH: Glutasyon

GSH-Px: Glutasyon peroksidaz

İp: İntraperitoneal

KBB: Kan beyin bariyeri

Kont: Kontrol gubu  
KÖO: Kesit örnekleme oranı  
LA: Linoleik asit  
LH:Luteinleştirici Hormon  
m: Metre  
MEL: Melatonin  
mg/ml: Miligram/mililitre  
MHz: Megahertz  
MN: Mikronükleus  
mV/m: Milivolt/metre  
NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat  
NAT: N-asetiltransferaz  
Nm: Nnaometre  
NO: Nitrik oksit  
NOS: Nitrik oksit sentaz  
OH: Hidroksil radikali  
PUFA: Çoklu doymamış yağ asidi  
PVN: Periventriküler çekirdek  
RF: Radyo frekans  
RFR: Radyofrekans radyasyonu  
ROS: Reactive oxygen species (Reaktif oksijen türleri)  
SAR: Specific Absorption Rate (Özgül soğurma Hızı)  
SFA: Doymuş yağ asidi  
SOD: Süperoksit dismutaz  
SRÖ: Sistemik rasgele örnekleme  
SS: Standart sapma  
UV: Ultraviyole  
W/kg: Watt/kilogram  
w: Omega  
W: Watt  
w3: Omega-3 grubu  
λ: Dalga b

## İÇİNDEKİLER

<u>TEŞEKKÜR.....</u>	<u>ii</u>
<u>ÖZET.....</u>	<u>iii</u>
<u>ABSTRACT .....</u>	<u>iv</u>
<u>SİMGELER VE KISALTMALAR .....</u>	<u>vi</u>
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2.GENEL BİLGİLER .....</b>	<b>3</b>
2.1.Elektrik Alan .....	3
2.2.Manyetik Alan .....	4
2.3.Elektromanyetik Alan .....	5
2.4. Elektromanyetik Radyasyonun Canlılarla Etkileşimi .....	6
2.5.Özgül Soğurma Oranı (SAR).....	6
2.6.Elektromanyetik Radyasyon Kaynakları .....	6
2.7.Cep Telefonu Teknolojisi .....	7
2.8. Hipokampus.....	7
2.8.1. Hipokampusun Embriyolojisi ve Histolojisi .....	7
2.8.2. Hipokampal Formasyon.....	9
2.8.3. Hipokampus ve Bellek .....	12
2.8.4. Öğrenme ve Bellek Ölçüm Yöntemi Olarak Pasif Sakınma .....	20
2.9.MELATONİN.....	21
2.9.1. Melatonin Fizyolojisi ve Sentezi .....	21
2.9.2. Melatonin Reseptörleri.....	23
2.9.3.Melatonin Etkileri ve Antioksidan Özelliği.....	24
2.10.Omega 3 Yağ Asitleri .....	24
2.10.1. Esansiyel Yağ Asitleri .....	24
2.10.2 Omega- 3 Yağ Asitlerinin Metabolizması .....	25
2.10.3. Omega–3 Yağ Asitleri Kaynağı .....	26
2.11. Oksidatif Stres .....	18
2.11.1. Oksidatif Stres ve Enzimlerin Antioksidan Savunmadaki Rolü .....	18
2.11.2. Lipid Peroksidasyonu ve Serbest Radikaller .....	19
<b>3. MATERYAL ve METOD .....</b>	<b>29</b>
3.1. Deney Hayvanları .....	29
3.2. Grupların Oluşturulması.....	29
3.3. Deney Düzenegi.....	32
3.4. Doku Örneklerinin Hazırlanması .....	34
3.4.1. Perfüzyon.....	34
3.4.2. Rutin Histolojik Doku Takip İşlemi .....	28
3.4.3. Kesit Alma .....	38
3.4.4. Boyama .....	39

3.5. Stereolojik Analizler .....	40
3.5.1. Hipokampusun Sınırlarının Belirlenmesi .....	41
3.5.2. Kesit Örnekleme Oranı (KÖÖ).....	43
3.5.3. Alan Örnekleme Oranı (AÖÖ) .....	43
3.5.4. Stereolojik Analiz Yönteminin Uygulanması.....	43
3.5.5. Tarafsız Sayım Çerçevesi.....	45
3.6. Pasif Sakınma.....	38
3.6.1 Pasif Sakınma Test Düzenegi .....	46
3.6.2. Pasif Sakınma Testinin Uygulanması .....	39
3.8. Biyokimyasal Analizler .....	48
3.8.1. Deneklerden Serum Örneği Alınması .....	48
3.8.2.Katalaz Tayin Yöntemi .....	49
3.8.3.Total Glutasyon Tayin Yöntemi.....	50
3.9. İstatistiksel Değerlendirme.....	51
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>52</b>
4.1.Stereolojik Bulgular .....	52
4.1.1. Hipokampus CA1 Bölgesinin Ortalama Piramidal Nöron Sayısı .....	54
4.1.2. Hipokampus CA2 Bölgesinin Ortalama Piramidal Nöron Sayısı .....	55
4.1.3. Hipokampus CA3 Bölgesinin Ortalama Piramidal Nöron Sayısının Karşılaştırılması.....	48
4.1.4. Hipokampus Dentat Girus Bölgesinin Ortalama Granüler Hücre Sayısı .....	49
4.1.5.Bölgelere Göre Yüzde Değişim Oranları .....	58
4.6.Pasif Sakınma Testi Bulguları.....	59
4.6.1. Deneklerin Ortalama Karanlık Bölmeye Geçiş Zamanı .....	59
4.6.2 Deneklerin Ortalama Retansiyon Zamanı.....	60
4.7. Biyokimyasal Analiz Bulguları .....	62
4.7.1. Total Glutasyon Hesaplanmasında Standart Solüsyonlara Ait Bulgular .....	62
4.7.2. Gruplara Ait Total Glutasyon Tayininde Ortalama Absorbans Değerlerinin Zamanla Değişimi.....	62
4.7.3. Grupların Ortalama Total Glutasyon Miktarları.....	63
4.7.4. Grupların Ortalama Katalaz Miktarları .....	64
4.8. Işık Mikroskopi Bulguları .....	65
4.8.1. Grupların CA1 Bölgesinde Görülen Işık Mikroskobik Bulgular .....	65
4.8.2. Grupların CA2 Bölgesinde Görülen Işık Mikroskobik Bulgular .....	59
4.8.3. Grupların CA3 Bölgesinde Görülen Işık Mikroskobik Bulgular .....	69
4.8.4. Grupların Dentat Girus Bölgesinde Görülen Işık Mikroskobik Bulgular .....	71
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>73</b>
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>79</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>81</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>81</b>



## 1. GİRİŞ

Modern dünyada yaşamı kolaylaştırmak için pratik çözümler sunmaya hizmet eden teknolojik gelişim, ortaya koyduğu faydalı sonuçların yanı sıra doğal dengenin bozulması yolu ile insan sağlığı üzerinde birçok olumsuz etkiye yol açmaktadır. Manyetik alan, hareket eden yükleri tarafından zamanla değişen elektrik alanlardan ya da temel parçacıklar tarafından içsel olarak üretilen vektörel bir büyüklüğü tanımlar. Gözle görülemez de sonuçları zaman içinde ortaya çıkar. Elektromanyetik alanın (EMA) kaynağı, elektrik alan ve manyetik alandır. Bir EMA içindeki herhangi bir hareketlilik elektromanyetik dalga (EMD) olarak yayılır (İnce, 2008).

EMD kavramı ilk olarak James Clerk Maxwell tarafından ortaya atılmış ardından Heinrich Hertz tarafından doğrulanmıştır. Maxwell, elektrik ve manyetik alanların dalga benzeri yapılarını ve simetrilerini açığa çıkaran alan dalga formu denklemleri elde etmiştir. EMD, frekans ve dalga boyları ile karakterize olup birçok doğal ve insan yapımı kaynak tarafından yayılmakta ve hayatımızda önemli bir yer kaplamaktadır. EMD, bir diğer deyişle elektromanyetik ışınımın madde ile etkileşimi üç yolla olur: Yansıma, soğurma ve aktarma. Bu etkileşim yolunu EMA'nın dalga boyu belirler. Radyo dalgaları radyo antenleri ile alınır, mikrodalgalar bazı maddeleri ısıtma özelliğine sahiptir. Görülebilir ışık görme hücrelerini etkilerken, mor ötesi ışın ve X ışınları atom ve atomdan daha küçük parçacıklarla etkileşir (Yükseksöylemez, 2005)

EMD'lerin oluşturduğu biyolojik cevapları ortaya koymak amacıyla deney hayvanlarından elde edilen sonuçlar insanda ortaya çıkabilecek benzer etkilere dayanak oluşturmaktadır. Cep telefonu ve kablosuz haberleşmenin yaygınlaşmasından yola çıkılarak yapılan çalışmalar dikkat çekmektedir. Özellikle cep telefonlarından yayılan 900 megahertz (MHz) dalga boyundaki EMA'nın insan dokuları üzerinde oluşturduğu etkiyi ortaya koymak amacıyla birçok çalışmalar yapılmıştır (Yağmur ve ark., 2003, Wertheimer ve Leeper, 1979, Lai ve Singh, 1997, Ivancsits ve ark. 2002; Winker ve ark., 2005 ). Cep telefonlarının ortaya çıkardığı maruziyet insan sağlığı üzerine iki yolla etki etmektedir. İlki sosyal hayattaki konuşmalar esnasında özellikle kafa kısmının maruz kaldığı etkin yol, bir diğeri ise miktarı artan baz istasyonlarının insan vücudunun tamamına etki ettiği yoldur. Epidemiyolojik, deneysel ve klinik çalışmalar bu olumsuz etkilerin insan sağlığını uzun vadede tehdit ettiğine dikkat çekmektedir. Bununla birlikte farklı frekanslarda EMA yayılan diğer kablosuz haberleşme cihazları da insan sağlığı

üzerine etkiler oluşturmaktadır (Sevgi, 2000). Çalışmaların büyük bir çoğunluğunda kanser oluşturma etkisi üzerinde durulmakta olup, 'iyonlaştırıcı elektromanyetik radyasyon' olarak tanımlanan X ve gamma ışınlarına maruz kalan kişilerde kanser sıklığının arttığı bildirilmiştir (Yağmur ve ark. 2003). 1982 yılından itibaren yapılan kanser araştırmalarında, belli elektrik işlerinde çalışan işçiler ile başka işlerde çalışan işçiler arasında kıyaslama yapıldığında, elektrik işlerinde çalışanlarda beklenenden daha fazla lösemi vakası görüldüğü bildirilmektedir. Bu çalışmalardan ilki, 1985 yılında yapılmıştır (Milham, 1985). Çok düşük frekanslı EMA'ların biyolojik etkilerini inceleyen çalışmalarda, 1979 yılında Wertheimer ve Leeper'in çok düşük frekanslı EMA maruziyeti ile çocukluk çağı kanserleri arasındaki ilişkiyi göstermeleri dikkat çekmiştir (Wertheimer ve Leeper, 1979). Bununla birlikte kanser çalışmalarında, akut EMA maruziyetinin sıçan beyni hücrelerinde DNA kırılmalarına neden olduğu, bu durumun hücresel fonksiyonları etkileyerek kanser, nörodejeneratif hastalıklar ve hücre ölümlerine yol açtığı saptanmıştır (Lai ve Singh, 1997). Düşük frekanslı EMA maruziyeti, insan diploit hücre kültüründe, tüm hücreli canlılar ve bazı virüslerin genetik bilgilerini taşıyan DNA yapısında kırılmalara yol açmaktadır (Ivancsits ve ark. 2002; Winker ve ark., 2005). Bu çalışmaların yanı sıra tersi görüş bildiren, çok düşük frekanslı EMA maruziyetinin DNA ve RNA sentezine ve hasarına yol açmadığını öne süren çalışmaların da bulunması dikkat çekicidir (Harada ve ark., 2001; Luceri ve ark., 2005). Melatoninin (MEL) önemli bir antioksidan ve doğal anti kanser ajanı olduğunun bilinmesinin yanı sıra psikolojik etkileri nedeniyle birçok araştırmaya konu olmuştur (Lieberman ve ark., 1984). Yapılan başka bir çalışmada ise EMA'nın pineal bez tarafından salgılanan ve birtakım kanser hücrelerinin büyümesini engellediği öne sürülen MEL düzeyini azalttığı ve bu yolla kanser gelişimini arttırdığı da bildirilmektedir (Aksoy, 2006).

Sağlık etkileri açısından EMA'nın sinir sistemi hastalıkları ve beyin fonksiyonları üzerinde de önemli etkilerini ortaya koyan çalışmalar olmuştur. Yapılan çalışmalarda 900 MHz EMA maruziyetinin beyincikte Purkinje hücresi sayısını azalttığı saptanmıştır (Sönmez ve ark., 2010). Bunun yanı sıra beynin bellek fonksiyonlarında anahtar rol oynayan hipokampus bölgesindeki granüler hücre ve piramidal hücre sayılarında da önemli derece azalmaya yol açtığı histolojik ve stereolojik çalışmalarla kanıtlanmıştır (Odacı ve ark., 2008; Baş ve ark., 2009; Sonmez ve ark, 2010). 900 MHz

EMA maruziyetinin yol açtığı nöronal hasar sonucu korteks, beyincik, hipokampus ve bazal gangliyonların zarar gördüğü yapılan çalışmalarda da ortaya çıkmıştır (Maskey ve ark., 2010b). Deneysel ve klinik çalışmalar, ayrıca EMA'nın nörotransmitterlere ve kan beyin bariyeri (KBB) geçirgenliğine etki ettiğini de ortaya koymuştur (Mausset ve ark., 2001; Maskey ve ark., 2010b).

EMA'nın insan sağlığı üzerine olan etkisi, cep telefonunun keşfinden önce araştırmacılar tarafından yeterince ilgi görmemiştir. Günümüzde yaygın olarak kullandığımız cep telefonları, elektrikli ev aletleri ve kablosuz iletişim cihazları manyetik bir kirliliğe sebep olmaktadır. Bu manyetik kirliliğe maruziyetin ortadan kalkması elbette mümkün değildir. Ancak alınan önlemler ile birlikte insan sağlığı üzerine olumsuz etkilerinin düşük seviyede kalması sağlanabilir. Canlı organizmaların karmaşık yapısı sebebiyle EMA'nın organizma üzerindeki etkisini tamamiyle anlamak mümkün değildir. EMA'nın insan sağlığı ve doğaya olan etkilerini daha iyi anlamak amacıyla yapılan çalışmaların artırılması ve konunun toplum açısından önemine dikkat çekilmesi gerekmektedir. Bu çalışma, cep telefonlarının yaydığı EMA'nın nöronlar üzerinde oluşturabileceği muhtemel dejeneratif etkiyi ortaya koyma, ve bu etkiye karşı MEL ve w3'ün antioksidan özelliğinden yola çıkarak olası nöroprotektif rollerini test etme amacını taşımaktadır. Çalışmayı özgün kılan taraf ise çeşitli yöntemlerle EMAnın ortaya çıkardığı etkileri daha belirgin bir şekilde altını çizerek öne sürmesidir.

## **2.GENEL BİLGİLER**

### **2.1.Elektrik Alan**

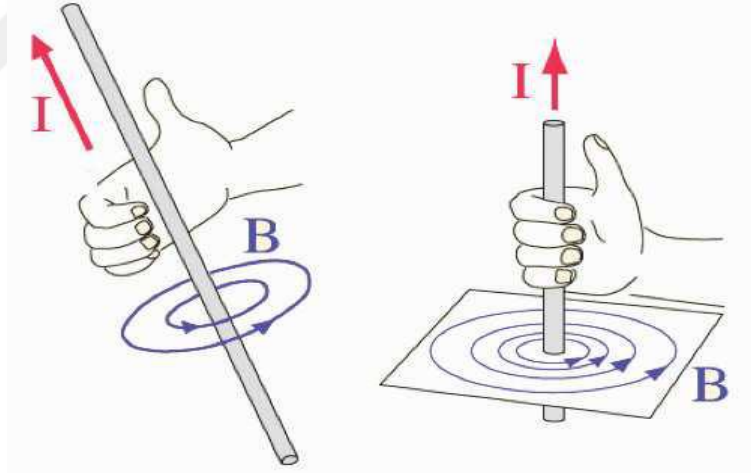
Elektrik ve manyetizma ile ilgili ilk bilgiler milattan önceki (MÖ) tarihlere dayanır. Manyetizmanın yaklaşık MÖ 2000 yıllarında bilindiği saptanmıştır. Eski Yunanlıların MÖ 700 yıllarında elektrik ve manyetizma olaylarını gözlemledikleri bilinmektedir. Elektrik alanı kavramı ilk kez Michael Faraday tarafından kullanılmıştır. Kütlelere etki eden yerçekimi gücü gibi elektrik alanı gücü de elektrik yüklerine etki etmektedir. Elektrik alanları durgun ya da hareketli elektrik yüklü parçacıklardan kaynaklanır. Elektrik yükünün en küçük taşıyıcısı elektrondur. Uluslararası birim sisteminde (Système International d'Unités, [SI]), yük birimi olarak Coulomb (C) kullanılır. Elektrik yüklerinin davranışı ile ilgili temel yasa Coulomb Yasası'dır. Bu yasaya göre aynı işaretli yüklü cisimler birbirini iter. Ters işaretli yüklü cisimler birbirini çeker. Bu durum Kütle Çekim Yasası'na benzer. Her iki yasada da çekim kuvvetleri, iki yük arasındaki mesafenin karesi ile ters ve yüklerle ya da kütlelerle doğru orantılıdır. Her hangi bir yükün ya da yük dağılımının çevresinde daima bir elektrik alan oluşur. Elektrik alanının birimi Newton/Coulomb (NC) dur. Elektrik alanın aynı zamanda birim mesafeye düşen elektrik potansiyeli olduğu da söylenebilir (Sagdilek, 2009). Elektrik alan oluşumu ortamda yüklerin varlığına bağlıdır (Elmas, 2007). Elektrik alan vektörü, elektrik alan çizgilerini oluşturur ve çizgilerin nereden nereye doğru gittiğini gösterir (Semerci, 2011). İki zıt kutuplu yük için elektrik alan çizgileri, artıdan çıkıp eksiye son bulur. İki farklı çizgi hiçbir zaman bir diğer çizgiyi kesmez. Aynı kutuplu iki artı veya eksi yük içinse, yüklerden çıkan çizgiler birbirlerini kesmeyecek bir biçimde birbirlerini bükerek ve sonsuzda son bulur (Semerci, 2011).

### **2.2.Manyetik Alan**

Mıknatıslar yeryüzünde doğal olarak bulunabildikleri gibi yapay olarak da üretilirler. Mıknatıslardan etkilenen ve mıknatıs haline getirilebilen maddelere manyetik cisim denir. Bir mıknatısın kuzey ve güney olmak üzere iki kutbu vardır. Manyetik alan çizgileri kuzey kutbundan çıkarak güney kutbunda sonlanır. (Sagdilek, 2009). Manyetik alan, bir noktada  $v$  hızıyla hareket eden bir  $q$  yükünde ( $F$ ) kuvvetini oluşturan alan vektörüdür. Manyetik alan çizgileri, elektrik alan çizgilerinin aksine bir yükte başlayıp bir yükte son bulmazlar. Tersine, alan çizgileri kendi üzerine kapanan ve

akımı çevreleyen eğriler oluştururlar ve elektrik alan çizgilerinde olduğu gibi birbirlerini kesmezler. Manyetik alan çizgilerinin sıklığı, akım geçen telden radyal uzaklığın karesiyle ters orantılı olarak azalır (elektrik alan çizgilerinde olduğu gibi) (Semerci, 2011). Sağ el kuralında, sağ el başparmağını akım yönünde tutup diğer parmaklarımızı akım yönünde doladığımızda, manyetik alan vektör yönünü buluruz (Şekil 1).

James Clerk Maxwell'in formüle göre tüm yasalar elektromanyetizmayı açıklar niteliktedir. Birincisi Gauss Yasası'dır. Herhangi bir kapalı yüzeyden geçen toplam elektrik akısının bu yüzey içindeki net yüke bölümüne eşit olduğunu ifade eder. İkincisi Manyetizmada Gauss Yasası olarak bilinir. Kapalı bir yüzeyden geçen net manyetik akının sıfır olduğunu ifade eder. Üçüncü denklem Faraday'ın Endüksiyon Yasası'dır. Zamanla değişen bir manyetik alan içine yerleştirilen iletken halkada bir akım indüklendiğini ifade eder. Dördüncü yasa ise kapalı bir halka üzerinde alınan manyetik alan çizgisel integralinin, iki teriminin toplamına eşit olduğunu belirtir.



Şekil 1. Sağ el kuralı, B: Manyetik akı yoğunluğu; I: Akım yönü (Semerci, 2011)

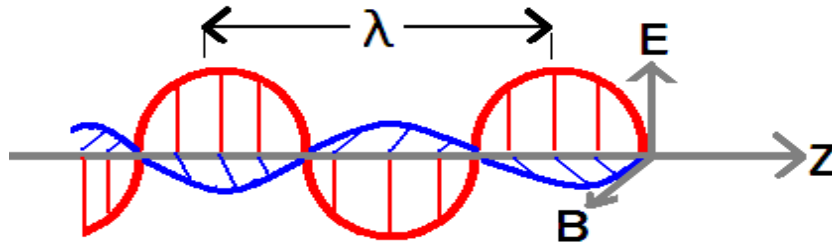
### 2.3. Elektromanyetik Alan

EMA, hareket halindeki elektrik yüklü taneciklerin, bir gücün etkisi altında kaldıkları boşluktur. EMD ise bir radyo frekans kaynağından üretilen ve boşlukta yayılan dalgadır (Seçkin, 2010). Elektromanyetik dalgalar uzayda ışık hızı ile yayılırlar bu nedenle Maxwell ışığın bir elektromanyetik dalga olduğunu ileri sürmüştür (Sagdilek, 2009). Bir ortamda elektrik alanı değiştirmek için yüklü cisimleri ivmeli

hareket ettirmek gerekir. Dolayısıyla ivmeli hareket eden yükler EMD yayar. İlişkili olduğu yüklerden ve akımlardan ayrı olarak kendi başına düşünülen EMA, elektrik alanı ile manyetik alanın karşılıklı etkileşimi sonucu oluşur (Şekil 2). Bir EMA, belirli koşullar altında, elektromanyetik enerji taşıyan bir dalga hareketi olarak da tanımlanabilir. Boşlukta elektrik ve manyetik alan vektörleri birbirine diktir ve EMD biçiminde, doğrultusu her iki alana da dik olarak yayılır (Elmas, 2007).

#### 2.4. Elektromanyetik Radyasyonun Canlılarla Etkileşimi

EMD termal ve termal olmayan olmak üzere iki tip etki ortaya koyar. EM dalga ile ışınlanan cisimde, gelen dalganın alan şiddeti yeterince küçükse ısı oluşmaz. Bu durum frekansa da bağlıdır; IEEE (Uluslararası Elektrik Elektronik Mühendisleri Enstitüsü)'nin standartlarına göre ısı etkileri 1 MHz üzerindeki frekanslarda oluşur. Cismin EMD ile etkileşmesi, artan moleküler hareket ve sürtünmeden dolayı sistemde ısı artışı ile termal etkileri meydana getirir. İyon, moleküler dipol veya kolloid parçacıklar gibi yükler elektriksel alanlarda daima hareket halindedir. Uygun şartlarda (iletkenlik, dielektrik sabiti, frekans, alan şiddeti) organizmanın özelliklerine bağlı olarak; termal olmayan etkiler, termal etkilerden daha aktif olabilir.



Şekil 2. Elektromanyetik Alan. B: manyetik Alan; E: Elektrik Alan, λ: Dalga Boyu (Semerci, 2011'den uyarlanmıştır.)

#### 2.5. Özgül Soğurma Oranı (SAR)

Elektromanyetik radyasyonun biyolojik sistemlerle etkileşme mekanizmalarını incelemek için kullanılan en önemli büyüklük “özümlü soğurma oranı” (SAR=Specific Absorbption Rate)'dir. SAR, vücudun birim kütlesine birim zamanda geçen enerji olarak da ifade edilir (Yükseksöylemez, 2005). Birimi Watt/kilogramdır (W/kg).

## **2.6.Elektromanyetik Radyasyon Kaynakları**

Elektromanyetik dalganın üretilmesindeki en yaygın yöntem, bobin-kondansatör titreşimcileri ile belirli frekanslarda elektrik voltajlarının ayarlanması ve bu voltajın uygulandığı bir anten üzerindeki elektrik yüklerinin ivmelendirilmesiyle radyasyonun yayılmasıdır. Elektromanyetik dalgaların kullanım alanları oldukça geniştir. Radyofrekans bölgesinde yayın yapan ve toplumsal maruziyete sebep olan başlıca elektromanyetik radyasyon kaynakları arasında uydular, yer istasyonları, TV ve radyo istasyonları, cep telefonları ve baz istasyonları sayılabilir (Yükseksöylemez, 2005).

## **2.7.Cep Telefonu Teknolojisi**

Cep telefonları iyonize etmeyen radyasyonun bir türü olan radyo dalgalarını kullanarak çalışırlar. Radyo, televizyon sinyalleri gibi uzun yıllardır kullanılan radyo dalgalarının insanlar, hayvanlar, dokular ve hücreler üzerine etkilerini göstermek için çok sayıda çalışma yapılmıştır. Çoğu çalışmada radyo dalgalarının zararlı etkileri bulunmamışken, bazı çalışmalarda ise bunun tam aksi sonuçlar elde edilmiştir. 2011 yılında uluslar arası telekomünikasyon birliğinin raporuna göre dünya çapında yaklaşık 5,9 milyar cep telefonu kullanıcısı bulunmaktadır (Kıran, 2013 ).

## **2.8. Hipokampus**

### **2.8.1. Hipokampusun Embriyolojisi ve Histolojisi**

Hipokampus, beynin medial temporal lobunda bulunan lateral ventrikülün alt boynuz tabanı boyunca uzanan bellek ve yön bulmadan sorumlu bölgedir. Beynin sağ ve sol hemisferleri birbirinden ayrı olarak gelişirken aralarında orta çizgi üzerinde bir derinleşme (Fissura interhaemisphaerica) meydana gelir. Bu yarık içindeki mezenkimden falx cerebri gelişir. Hemisferler kalınlaşıp korteksi veya palliumu yaparken, diencephalon'un üst bölümünde kalan ve foramen monroi (interventriküler foramen)'nin üst sınırını oluşturan kısımda, nöroblastlar gelişmediğinden (Sadler, 1996), sadece tek sıralı epandim hücrelerinin bulunduğu bu bölge oldukça ince kalır ve üstü mezenkim ile örtülür. Buradan gelişen plexus choroideus yan ventriküller içine doğru büyür ve daha sonra bu uç kalınlaşarak hipokampusu oluşturur (Petorak, 1984). Hipokampus polimorfik, piramidal ve moleküler olmak üzere üç ana tabakadan oluşmaktadır. Bu üç tabakadaki hücrelerin dendrit ve aksonlarının farklı şekilde

düzenlenmesiyle ikincil tabakalar oluşmuştur. Bu tabakalar dıştan içe doğru şu stratum moleküllere, stratum piramidale, stratum polimorfe olarak sıralanır. Stratum moleküllere yüzeysel bir tabakadır, çok az sayıda nöron bulundurur. Diğer tabakalardan gelen zengin lif ağını içeren bir lamina gibi de düşünülmektedir. Stratum piramidale piramidal hücreler tarafından oluşturulur ve piramidal hücrelerin tabanları hipokampusun ventriküler yüzeyine dönüktür. Karakteristik olarak bu tabakada küçük piramidal ve Golgi tip II hücreleri bulunmaktadır (Kaplan, 1990). Büyük ve küçük piramidal hücreler arasındaki morfolojik farklılıkların çoğu, dendritlerin gelişimindeki varyasyonlardan ileri gelmektedir. Bazı hücrelerin her iki kutbundan da zengin pleksus ağı çıktığı için her iki taraftan piramit gibi görünmektedir. Piramidal hücrelerin bazal ve apikal dendritleri komşu tabakalara, aksonları ise stratum orienssten geçerek alveusa girerler. Hipokampusun sepet hücreleri çoğunlukla stratum oriens ve stratum piramidale arasındaki geçiş zonunda bulunurlar. Bu hücrelerin aksonları alveusa geçmez. Fakat aksi yönde ilerleyerek piramidal hücre gövdelerinin çevresinde yoğun pleksus yaptıktan sonra stratum radiatum'a geçerler. Piramidal hücre aksonları geriye dönebilen kolletareller verebilirler. Bunların çoğu stratum radiatum'a girerler. Diğerleri ise stratum oriense geçerek forniks yoluyla hipokampusu terk ederler. Düzenli sıralanan piramidal hücreler hipokampusun şeklini belirler. Piramidal tabakada, diğer bütün tabakalara giden ve değişik yollar takip eden kısa aksonlu hücreler de mevcuttur. Bu hücreler hipokampusun iç aktivitesini düzenlemektedirler (Petorak, 1984; Demir, 1999). Poliform tabaka ise neokorteksin en iç tabakasına benzemektedir. Bu tabakada nöronların aksonları forniks tabakasında bulunurken diğerleri ise aksonlarını moleküler tabakaya gönderir. Bu özelliklerinden dolayı neokorteksteki Martinotti hücrelerinden ayırmak zor olabilir (Kaplan, 1990). Dentat girus da hipokampus gibi üç ana tabakaya sahip olmakla birlikte hipokampustan farklı yönü piramidal hücre tabakası yerine granüler hücre tabakasının bulunmasıdır. Dentat girusun polimorfik tabakasını değişik tipte modifiye piramidal hücreler ve sepet hücreleri oluşturur. Dentat girusun lifleri hipokampal formasyonun dışına çıkmazlar. Bu lifler herhangi bir yere uğramadan hipokampusa direkt gelmektedirler. Dentat girusun açık tarafı fimbriaya yönelik C şeklindedir. Diğer tarafı ise hipokampal sulkusun dorsal yüzeyini oluşturur. Moleküler tabakası bu sulkusa komşu, polimorfik tabakası ise fimbriaya yakın yerleşmiştir (Kaplan,1990).



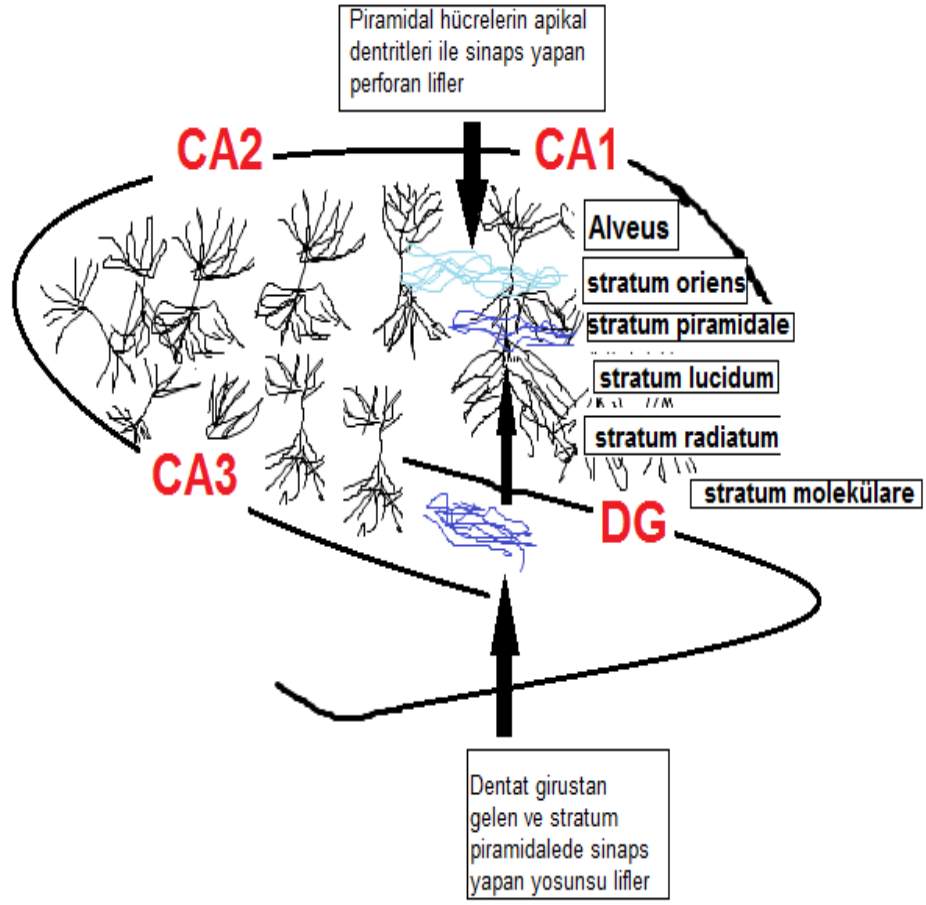
## 2.8.2. Hipokampal Formasyon

Limbik Sistem içerisinde önemli bir role sahip olan hipokampal formasyon CA1, CA2, CA3 alanları ile subikular kompleks, entorinal korteks ve dentat giristan oluşmaktadır (Çabuş, 2012). CA1, CA2 ve CA3 hipokampusu oluşturan ana yapılarıdır. Anatomik olarak yüzeyini oluşturmak üzere yukarı ve içeri doğru kıvrılır. Hipokampusun bir ucu amigdaloit çekirdeklerle bitişirken diğer kenarlarından biri temporal lobun ventromedial korteksini oluşturan parahipokampal girusla kaynaşır (Amed, 2009).

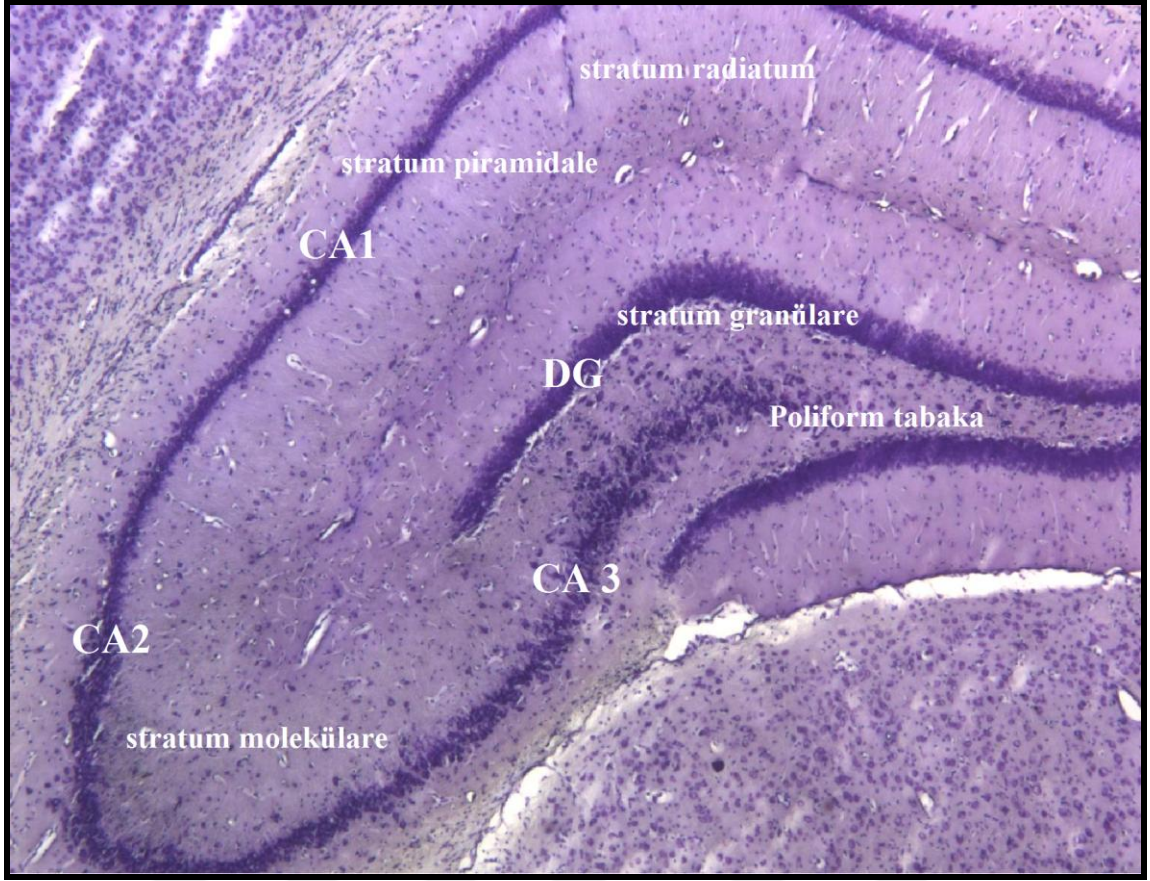
Hipokampus histolojik olarak bazal seviyede alveus, stratum oriens, stratum pyramidale; apikal seviyede stratum lucidum, stratum radiatum, stratum lakünozum tabakalarından oluşur (Şekil 3 ve 4). Bazal seviyede granüler hücreler bulunurken apikal seviye ise çoğunlukla aselülerdir. Alveus en yüzeysel tabakadır. Piramidal hücrelerin kommissural liflerini içerir. Stratum oriens tabakası sepet hücreleri ve piramidal nöronların bazal dendritlerini içerir. Stratum pyramidale piramidal nöronların somalarını bulundurur. Yosunsu lifler bu tabakada sinaps yapar. Stratum lucidumda yosunsu lifler transvers ekseninde uzanır ve sonlanırlar. Stratum radiatum schaffer kolletarellerini bulundurur. Hipokampal formasyonun ikinci yapısı dentat gir ustur. Dentat gir usta bulunan ana hücreler olan granüler hücrelerin somaları ortadaki granüler tabakada bulunurlar. Bu hücrelerin aksonları yosunsu lifleri oluşturur. CA3 bölgesindeki piramidal hücrelerin aksonlarının bazalinde stratum radiatumda sonlanırlar. Granüler tabakadaki diğer önemli hücreler ise sepet hücreleridir. Bu hücreler GABAerjik lifleri verirler. En alttaki polimorfik tabaka ise granüler hücrelerle ilişkili olarak lokal bağlantıları sağlar (Ahmed, 2009).

Hipokampal formasyonun bir diğer elemanı ise subikulumdur. Subikulum presubikulum ve parasubikulumdan oluşur. Üç tabakalı kortekse sahiptir. Moleküler tabakası piramidal hücrelerin apikal dendritlerini; piramidal hücre tabakası aynı hücrelerin somalarını içerir ve en altta bir polimorfik tabaka vardır. Subikulum CA1 bölgesini entorinal kortekse (EC) bağlar (O'Mara, 2005).

EC hipokampal formasyonun en rostralinde yer alan yapı olup parahipokampal girusun ön kısmını meydana getirir. Altı tabakalı korteks yapısına sahiptir (Öncü, 2012).



Şekil 3. Hipokampus tabakaları ve sinaps bölgeleri( Öncü, 2012'den uyarlanmıştır.)



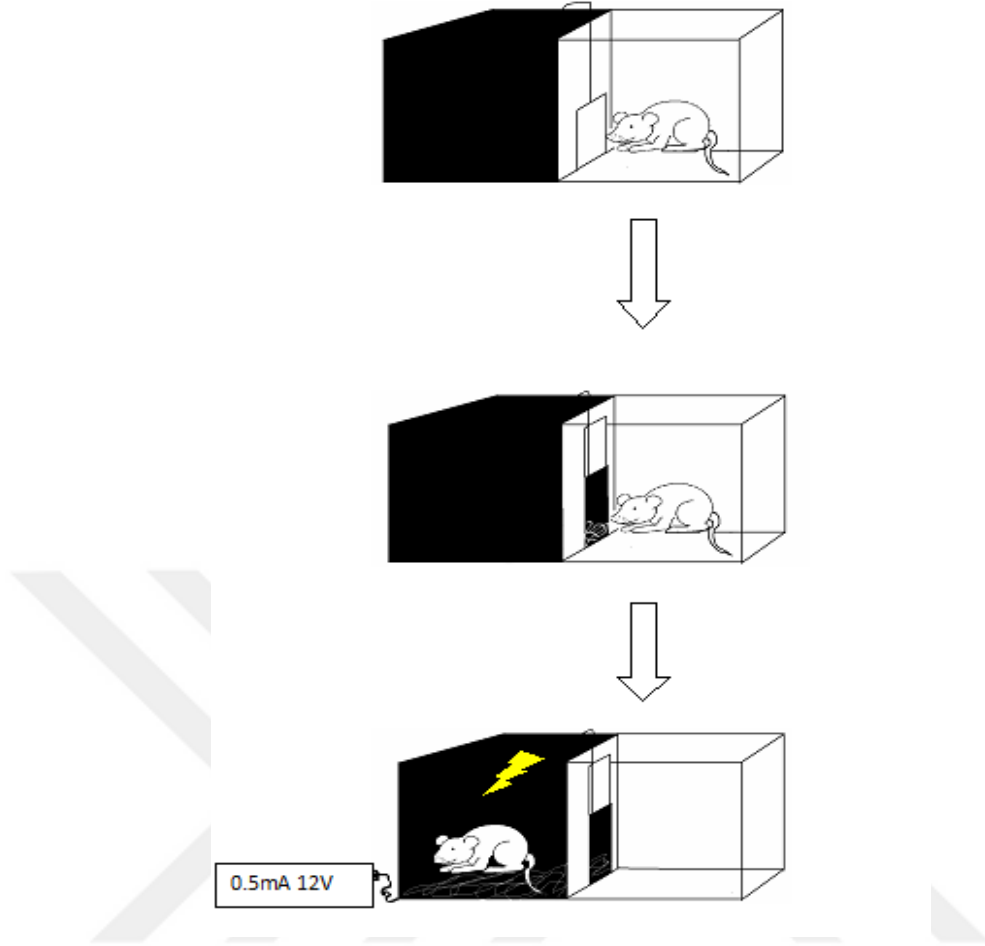
Şekil 4. Sıçan hipokampusu histolojik tabakaları ( x5, Kresil Viyole boyaması)

### 2.8.3. Hipokampus ve Bellek

Yapılan yeni çalışmalarla da hipokampusun bellek üzerinde önemli bir rol oynadığı ortaya konulmuştur. Çevreden gelen duysal uyarılar hipokampusun küçük bir kısmını aktive eder ve limbik sistemin diğer kısımlarına sinyaller iletilir. Böylece gelen sinyallerle uygun davranış modelleri başlatılır. Hipokampusta meydana gelen dejenerasyon ile bellek fonksiyonu önemli oranda azalma gösterir (Albert, 2008). Hipokampus, yeni öğrenilen bilgilerin depolanması, anıların kısa süreli bellekten uzun süreli belleğe aktarılması gibi işlemlerde görev aldığından bu kısımda meydana gelebilecek bir hasar belirtilen fonksiyonların bozulmasına neden olur. Bununla birlikte sembolik ve sözel anıların da bellekte tutulmasının mümkün olmayacağı ortaya konulmuştur ( Guyton, 2001; Songur, 2001).

#### 2.8.4. Öğrenme ve Bellek Ölçüm Yöntemi Olarak Pasif Sakınma

Pasif sakınma testi serotonerjik, kolinerjik ve glutamaterjik nörotransmitterlere duyarlı bir test olup deneğin normal davranışını kullanır. Sıçanlar aydınlık ortamlar yerine daha çok karanlık ortamları tercih eder. Pasif sakınma düzeneği sıçan gibi kemirgenlerde öğrenme ve bellek performansını değerlendirmek amacıyla kullanılan bir davranışsal araştırma metodudur. Bu test eşit boyuttaki biri hafif karanlık diğeri ise aşırı aydınlık iki bölmeli, tabanı ızgara ve birbirinden bir giyotin kapı ile ayrılmış bir düzenek üzerinde uygulanır (Şekil 5). Denek aydınlık bölmeye konulduktan sonra karanlık bölümü tercih eder. Deneğin belli bir sürede (300 sn–120 sn) karanlık bölmeye geçmesi beklenir. Denek karanlık bölüme geçtiği sırada kapı kapatılır. Sonrasında belli bir süre ve sıklıkta uygun şiddette elektrik şoku ortama verilir. Bu eğitimden 24 saat ve 48 saat sonra hayvanın kendisine şok verilen başlangıçta tercih ettiği bölme yerine, aydınlık bölmeyi tercih etmesi pasif sakınma olarak kabul edilir (Madjid ve ark. 2006). Pasif sakınma düzeneğinde zaman değerleri iki başlıkta incelenir: Şok uygulandıktan sonra deneğin karanlık bölümden aydınlık bölüme tamamen geçme süresi olarak kaydedilen ‘Gecikme Süresi’ ve 24 ile 48 saat sonra deneğin aydınlık bölmeye konulduktan sonra karanlık bölmeye geçtiği süre olan ‘Bellek Süresi’dir (Narayanan ve ark., 2010).



Şekil 5. Pasif Sakınma Düzenegi Şematik Görüntüsü.

## 2.9.Melatonin

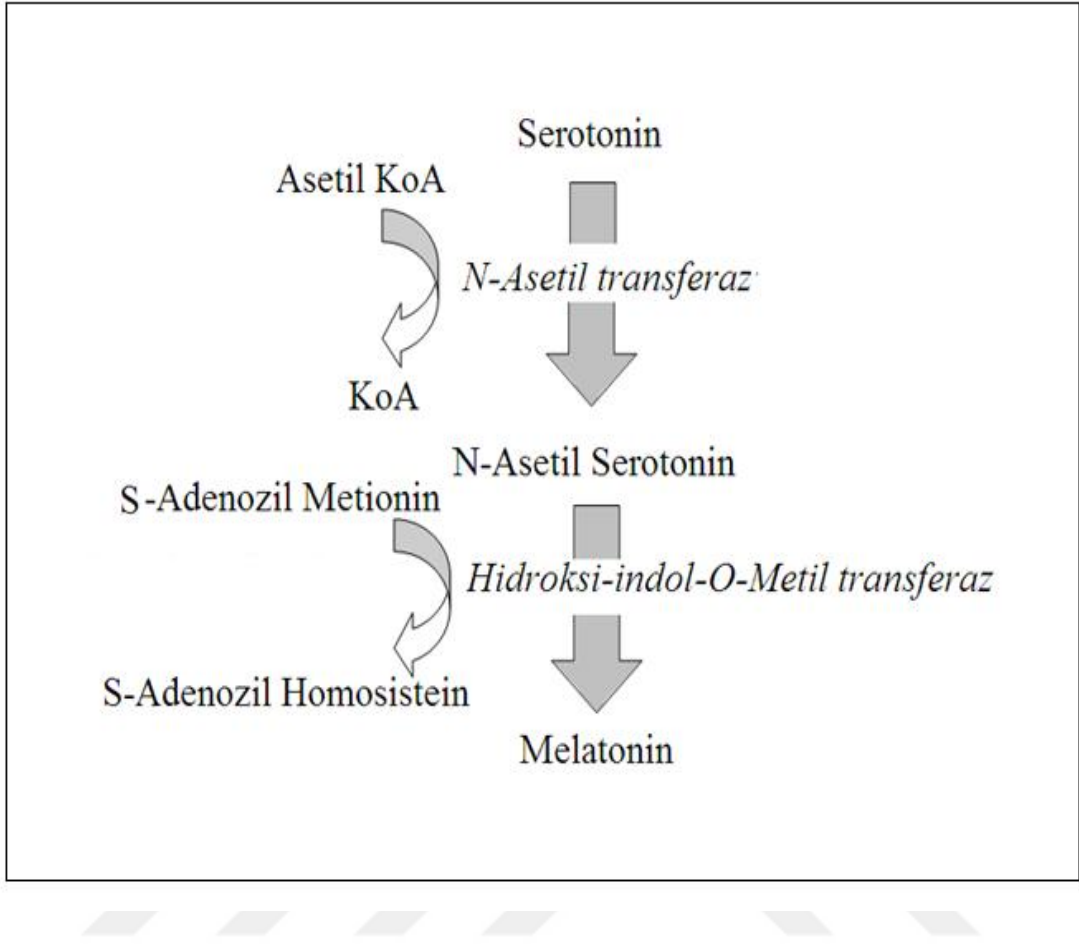
### 2.9.1. Melatonin Fizyolojisi ve Sentezi

MEL (N-asetil-5-metoksitriptamin) (MEL), immünmodülatör, anti-stres ve anti-aging özellikleriyle tanınan ve majör olarak beyindeki serebral yarıküreler arasındaki pineal bez hücreleri tarafından (Szczeapanik, 2007) ve bunun yanı sıra over, lens ve kemik iliği hücreleri (Pandi-Perumal ve ark., 2008) ile safra ve gastrointestinal sistemden sentezlenip salgılanan bir hormondur.

MEL, iki enzim etkisi ile serotoninden sentezlenir (Şekil 4). Enzimlerden biri hız sınırlayıcı olarak da kabul edilen N-asetil transferaz (NAT), diğeri ise hidroksiindol-o-metil transferaz (HIOMT) olup, indol halkasının metile edilmesi ile görevlidir. Pineal bezde serotonin miktarı gündüz yüksek seviyede iken gece düşer, ışık şiddeti ve süresi gibi etkenler serotoninin miktarını değıştirir. Bezdeki MEL miktarı ise serotoninin ritminin

tersi yöndedir; yani MEL sentezi gündüz eser miktarda iken gece artar. Gece serotonin miktarının azalması da MEL sentezinin artmasının bir sonucudur. Geceleri pineal bezde, kanda, serebrospinal sıvıda ve idrarda MEL miktarı fazla olduğu gözlemlenir. Gece 20.00– 23.00 arası yükselen MEL düzeyi 01.00– 05.00 arası doruk değerlere ulaşır ve sabah 07.00– 09.00 arasında ise azalmaya başlar. Sağlıklı kişilerde plazma MEL düzeyi gündüz 0–20 pg/ml, gece 20–200 pg/ml (ortalama 60–70 pg/ml) dir. Bir günde yaklaşık 30 mg (%80 i gece) MEL üretilir). Retinada sentezlenen MEL retinal pigment epitel fonksiyonunun ve foto reseptörlerdeki gece-gündüz varyasyonuna karşı retinanın vereceği yanıtın düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Beyer ve ark., 1998; Maldonado ve ark., 2010).

Pineal bezde MEL sentezi suprakiazmatik nükleus tarafından kontrol edilir (Pandi-Perumal ve ark., 2008). MEL sentezinde birinci basamak bir indol aminoasit olan triptofanın (Anisimov ve ark., 2006; Maldonado ve ark., 2010; Paredes ve Reiter, 2010; Rodriguez-Naranjo ve ark., 2012) pinealositler içine alınması ve orada pinealositlerde triptofan hidroksilaz enziminin katalizlediği bir reaksiyonla 5-hidroksitriptofan'a hidroksillenmesidir. Bu bileşik, 5-hidroksitriptofan dekarboksilaz enzimi ile 5-hidroksitriptamin (Serotonin)'e dekarboksillenir, pineal bir enzim olan N-asetiltransferaz (NAT) tarafından N-asetil serotonine dönüştürülür. Bu bileşik de MEL sentez hızını tayin eden enzim olan hidroksiindol-o-metil transferaz enziminin etkisiyle MEL (N-asetil 5-metoksitriptamine) dönüşür (Şekil6), (Şener, 2010).



Şekil 6. Serotoninden MEL Sentezi.

### 2.9.2. Melatonin Reseptörleri

MT1 reseptörleri hipokampus, serebellum dahil olmak üzere nöronal yerleşim göstermektedir. Ayrıca suprakiazmatik nükleus, hipotalamus, talamus preoptik alan, retinanın pleksiform tabakası ve serebral korteksin pek çok bölgesinde MT1 reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir (Reppet, 1996). Nöronal olmayan MT1 reseptörleri, serebral ve caudal arterlerde, hipofizyal pars tuberaliste, ovaryum, böbrek ve ince bağırsaklarda bulunmuştur. MT2 reseptörlerinin memeli hücrelerinde özellikli dağılımı henüz iyi açıklanmamıştır (Luchetti, 2010). Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarda MT1 MEL reseptörünün meme kanseri hücreleri üzerine önemli bir işlevi bulunmaktadır (Gingert, 2010).

### **2.9.3.Melatonin Etkileri ve Antioksidan Özelliği**

MEL hormonunun endokrin sistemin düzenlenmesi, immun fonksiyonların artırılması, düz kas tonusunun ayarlanması ve gonadal fonksiyonların baskılanması gibi fizyolojik işlevlerinin yanı sıra güçlü bir antioksidan olduğu ortaya konulmuştur (Longoni, 1997). Yapılan çalışmalarda MEL bu özelliği sayesinde dokularda meydana gelen lipid peroksidasyonu sonucu oluşan oksidatif hasarı önlediği ifade edilmiştir (Brzezinski, 1998). MEL, serbest radikal toplayıcısı olarak yüksek derecede lipofilik bir özelliğe sahiptir bu nedenle serbest radikal toplayıcı etkisini göstermek için herhangi bir bağlanma bölgesine ve reseptöre gerek duymaz (Lanaş, 1991; Reiter 1996; Hataya, 2001).

### **2.10.Omega 3 Yağ Asitleri**

#### **2.10.1. Esansiyel Yağ Asitleri**

Yağ asitleri; doymuş yağ asitleri (Saturated fatty acids, SFA), tek bağlı doymamış yağ asitleri (Monounsaturated fatty acids, MUFA) ve çok bağlı doymamış yağ asitleri (Polyunsaturated fatty acids, PUFA) olmak üzere 3 ana gruba ayrılırlar. SFA ve MUFA insan ve hayvan vücudunda sentezlenebilmelerine karşın bazı PUFA'lar (linoleik asit,  $\alpha$ -linolenik asit) sentezlenemezler. Aynı tür PUFA serisinin öncüsü olan dört çeşit doymamış yağ asidi vardır. Bunlar metil terminali ya da karbonuna en yakın çift bağ lokalizasyonuna göre isimlendirilirler. Omega-9 ve omega-7 vücutta sentez edilmesine karşın omega-6 bitkilerden, omega-3 (w3) balık ve diğer deniz canlılarından diyetle alınabilir (Akçay, 2007).

İlk defa Evans ve Burr tarafından 1929 yılında bazı yağ asitlerinin esansiyel olduğu fikri ortaya atılmıştır. Yağsız diyetle beslenen denekler üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda; büyümenin gecikmesi, böbrek fonksiyon bozuklukları, cilt sorunları, üreme fonksiyon bozuklukları gibi belirtiler ortaya çıkmış ve bu problemlerin özellikle linoleik asit (Omega-6) adlı yağ asidi eksikliğinden kaynaklandığı gösterilse de devam eden araştırmalarla linolenik asidin (w3) de vücut için esansiyel olduğu ortaya konulmuştur. 1930'lardan beri esansiyel olduğu bilinen bu yağ asitlerinin sağlık yönünden faydaları konusundaki farkındalık 1990'lardan beri artmıştır (Holman,1998). Linoleik, linolenik ve araşidonik asitler temel olarak gereksinim duyulan ve çoğu organizmalar için esansiyel olan yağ asitleridir. Araşidonik asit (AA), linoleik asitten



sentezlenebilirken, diğ erleri türlere göre esansiyel özellik gösterir (Baş pınar ve Kurtođ lu, 2003). Esansiyel yağ asitlerinde; zincirdeki C atomlarının sayısı, çift bağ sayısı önem taş ır. Omega sayısı; terminal metil grubundan itibaren ilk çift bağ taşıyan C atomunu tanımlar (Ş ekil 6), (Baş pınar ve Kurtođ lu, 2003). Esansiyel yağ asitleri omega 6 (Konjuge linoleik asit=CLA, gamma linolenik asit, dihomo-gamma linolenik asit, araş idonik asit) ve w3 yağ asitlerini (eikosopentaenoik asit=EPA ve dokosahekzaenoik asit=DHA) iç ermektedir. Esansiyel yağ asitleri biyolojik hücre membranlarının asıl yapısal bileş enleri olup sağ lıklı hücre fonksiyonları için omega-6, ve w3 yağ asitlerinin dengeli bir şekilde tüketmek gerekmektedir (Simopoulos, 1991).

### **2.10.2 Omega- 3 Yağ Asitlerinin Metabolizması**

w3 ihtiyacı anne karnında baş lar ve tüm yaş am boyunca devam eder. Diyetle alınan linoleik asit (LA),  $\Delta$ -6 desatür az enzimi yardımıyla  $\gamma$ -linolenik asite (GLA)dönüşür. GLA'da zincir uzunluğu arttırılarak dihomo- $\gamma$ -linolenik asit (DGLA) meydana gelir. DGLA'dan 1.seri prostaglandinler sentezlenir. DGLA'dan  $\Delta$ -5 desatür az enzimi ile araş idonik asit (AA)oluş ur. AA ise, 2.seri prostanooidler ve 4.seri lökotrienlerin öncüsüdür. Diyetle alınan (ALA)  $\Delta$ -6 desatür az, zincir uzatma ve  $\Delta$ -5 desatür az reaksiyonları ile eikosapentaenoik asit (EPA) sentezlenir. ALA, özellikle kanola yağ ında bulunur. EPA, 3.seri prostanooidler, 5.seri Lökotrienler ile dokosahekzoenoik asid (DHA)'in öncüsüdür. EPA'nin sentezinde rol alan desatür az enzimleri bazı faktörlerden etkilenir. Alkol, doymuş yağ lar, kolesterol, adrenalin, trans-yağ asitleri ve glukokortikoidler desatür az enzimlerinin aktivitelerini inhibe ederler. Yaş lanma, açlık ve protein eksikliğ i  $\Delta$ -6 desatür az aktivitesini azaltır. Yağ dan fakir beslenme ve özellikle kalori kısıtlaması  $\Delta$ -6 desatür az aktivitesini artırırken, glikozdan zengin beslenme  $\Delta$ -6 desatür az aktivitesini azaltır.  $\Delta$ -6 desatür az aktivitesi için ç inko ve magnezyum gibi iyonlara da gereksinim vardır (Okuyan, 2011). EPA, etkilerini çoğ unlukla sentezledikleri eikozanooidler aracılığ ıyla gerçekleştirir. w3 ve omega-6 yağ asitlerinde EPA ve AA'dan oluş an türevler yapı ve biyolojik aktivite açısından birbirinden farklıdır. AA'dan oluş an tromboksan A2 (TXA2), prostoglandin E2 (PGE2) ve lökotrien B4 (LTB4) eikozanooidlerin güçlü inflamatuvar etkileri vardır. TXA2, trombosit agregasyonunu ve dü z kas kontraksiyonunu artırır. PGE2, süperoksit oluş umuna yardım eder ve tümör büyümesini artırır. LTB4 ise güçlü bir kimyasal

uyarandır. Sonuç olarak omega-6 yağ asitleri inflamasyonu uyaran ajanların üretimini artırır, vazokonstrüksiyon yapar ve immün sistemin performansını inhibe eder (Alexander ve ark. 1986, Alexander 1986). EPA'dan türevlenen protoglandin E3 (PGE3), tromboksan A3 (TXA3) ve Lökotrien B5 (LTB5) aktiviteleri AA'dan oluşan eikozanoidlerden %90 daha azdır. Sentezleri vazodilatasyon yapar. Omega-3 alımındaki artış sitokin üretimi ve fonksiyonlarını etkiler. w3 aynı zamanda tümör nekrozis faktör (TNF) ve interlökin-1 (IL-1) üretimini azaltır (Endres ve ark. 1989).

### **2.10.3. Omega-3 Yağ Asitleri Kaynağı**

EPA ve DHA gibi uzun zincirli w3 yağ asitleri, algler ve planktonlar gibi bitkilerin yanı sıra bunlarla beslenen balıklarda bulunmaktadır (DeGomez ve Brenner, 1975).

## **2.11. Oksidatif Stres**

### **2.11.1. Oksidatif Stres ve Enzimlerin Antioksidan Savunmadaki Rolü**

Oksidatif stres, antioksidanlar ve serbest radikaller arasındaki dengenin serbest radikaller lehine döndüğü durumlarda ortaya çıkar. EMA maruziyette artan serbest radikaller lipidler, proteinler ve nükleik asitler üzerine etki ederek membran bütünlüğünün bozulmasına sebep olur. Proteinlerde yapısal ve fonksiyonel bozukluklara yol açar ayrıca gen mutasyonlarına sebebiyet verir. İnsan vücudu bu etkilere karşı koyabilmek için antioksidan savunma sistemlerine sahiptir (Yu,1999).

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) ölçümü, yüksek reaktiviteleri, düşük konsantrasyonları ve yarı ömürlerinin kısa oluşu sebebiyle oldukça güçtür. Bu nedenle çeşitli indirekt yöntemler kullanılarak oksidatif hasarın etkisi ortaya konulabilir. Oksidatif hasarın meydana gelmesi ile hücre hasar oluşur. Hücre içinde süperoksit ve hidrojen peroksit ile oluşan hasara karşı ilk savunma antioksidan enzimler olan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ile olur (Halliwell,1997; Kmath, 1998). ROS'lara karşı organizmadaki ilk enzimsel savunma süperoksit dismutaz enzimiyle gerçekleşir. SOD, bakır ( $Cu^{+2}$ ) ve çinko ( $Zn^{+2}$ ) içeren bir enzim olup süperoksit radikalini hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürmektedir (Sinclair ve ark., 1990; Vincent, 2004). Katalaz tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan bir hem grubu içeren enzimdir. Hücrede %20

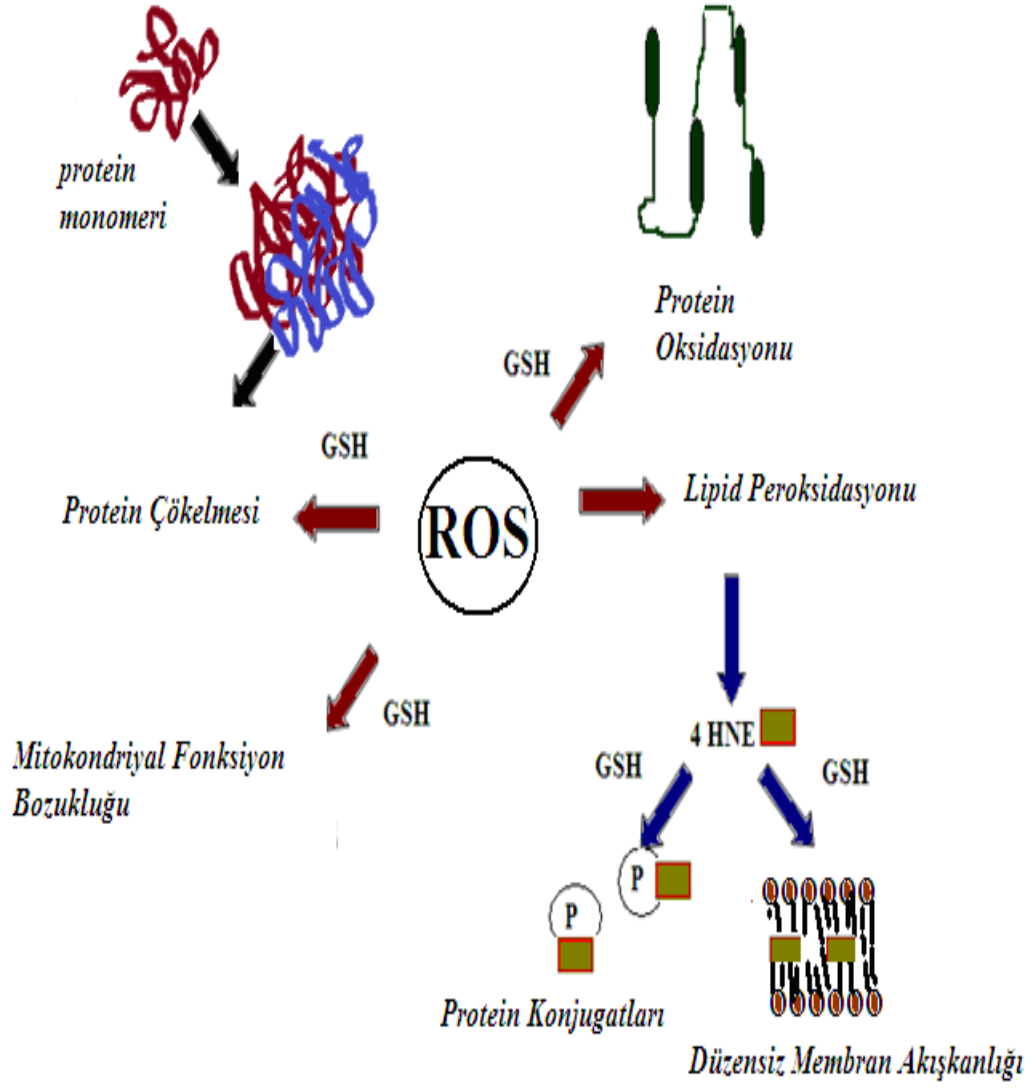
oranında sitoplâzma ve %80 oranında peroksizomlarda yerleşmiştir. Katalaz, hidrojen peroksit oluşum hızının düşük olduğu ya da elektron vericisinin yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu durumlarda peroksidatik reaksiyonla etkisini gösterir (Fridovich, 1983). Normal koşullarda hücrede bulunan hidrojen peroksitin detoksifikasyonundan esas olarak glutatyon peroksidaz sorumludur. GSH-Px lipit peroksidasyonunun başlamasını ve gelişimini engelleyici özellikte olan bir enzimdir (Şekil 7). Selenyuma bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki farklı tipi vardır ve bağımsız olanın sadece lipit hidroperoksitleri, buna karşılık selenyuma bağımlı olanın, hidrojen peroksiti ve lipit hidroperoksitleri metabolize ettiği saptanmıştır (Sinclair ve ark., 1990). GPx, hidrojen peroksiti indirgenmiş glutatyonla bağlayarak suya indirgenmesini sağlamaktadır. Bu reaksiyon sırasında indirgenmiş glutatyonu (GSH) yükseltgenmiş glutatyonla çevirir (GSSG) (Pajovic ve ark., 1999).

### **2.11.2. Lipid Peroksidasyonu ve Serbest Radikaller**

Lipid peroksidasyonu, poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif hasarıdır. Oluşan son ürünler, yeni oksidatif risk yaratabilir (Halliwell, 1997; Kmath, 1998). Serbest radikaller tarafından başlatılan ve membran yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olay olan lipid peroksidasyonu, bir kez başladıktan sonra oto katalitik zincir reaksiyonları şeklinde yürümektedir (Sinclair ve ark., 1990; Kılıç ve ark., 1988).

Lipid peroksidasyonu tüm hücrelerde ve dokularda normalde düşük düzeylerde meydana gelir. Lipid peroksidasyonunu hipoksi, hiperoksi, bakır ve demir toksisitesi ve antioksidan yetersizlikleri uyarır (Gutteridge ve ark. 1995).

Lipid peroksidasyonuna en duyarlı bileşikler membran fosfolipidlerinin yapısında bulunan doymamış uzun zincirli yağ asitleri, araşidonik asit ve doksaheksoenoik asittir (Gutteridge ve ark. 1995).



**Şekil 7.** Oksidatif stresten korunmada GSH' nin antioksidan fonksiyonları (Bharath ve ark., 2002' den uyarlanmıştır.).

### 3. MATERYAL ve METOD

#### 3.1. Deney Hayvanları

Çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'ndan 05.06.2013 tarihinde 2013/20 sayılı Etik Kurul onayı alındıktan sonra başlatılmış olup tüm çalışma süreci deney hayvanları çalışma etiğine uygun şekilde yürütülmüştür. Çalışmanın deneysel kısmı ve histolojik çalışmalar Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda 12 haftalık, ortalama 230–280 g ağırlığında 24 adet *Wistar albino* erkek sıçan (Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Laboratuvarı) kullanılmıştır. Sıçanlar altları plastik, üstü tel olan özel kafeslere yerleştirilmiştir. Çalışma boyunca sıçanlar oda ısısında ( $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), % 40–50 nem ortamında, 12 saatlik aydınlık-karanlık siklusu bulunan ortamda takip edilmiştir. Sıçanlara yeteri kadar çeşme suyu ve standart sıçan pellet yemi verilmiştir.

#### 3.2. Grupların Oluşturulması

Sıçanlar, rasgele seçilerek ve her grupta 6 erkek sıçan bulunacak şekilde dört alt gruba ayrılmıştır:

1. grup: Saf Kontrol grubu (Kont ) (n:6),
2. grup: 900 MHz EMA maruz bırakılan EMA grubu (n:6),
4. grup: 900 MHz EMA+MEL maruz bırakılan EMA+MEL grubu (n:6),
5. grup: 900 MHz EMA+Omega–3 maruz bırakılan EMA+w3 grubu (n:6), (Tablo 1).

Deneye başlamadan önce ağırlıkları 230–280 g arasında değişen her gruptaki sıçanlar ayrı ayrı çalışma grubu kafeslerine konuldu ve günde 60 dakika 15 gün süresince saat 15.00-16.00 saatleri arasında EMA maruziyetine tabi tutuldular.

**Tablo 1.** Grupların oluşturulması

I.grup	Kont (n:6),
II. grup	EMA (n:6),
III. grup	EMA+MEL (n:6),
IV. grup	EMA+w3 (n:6),

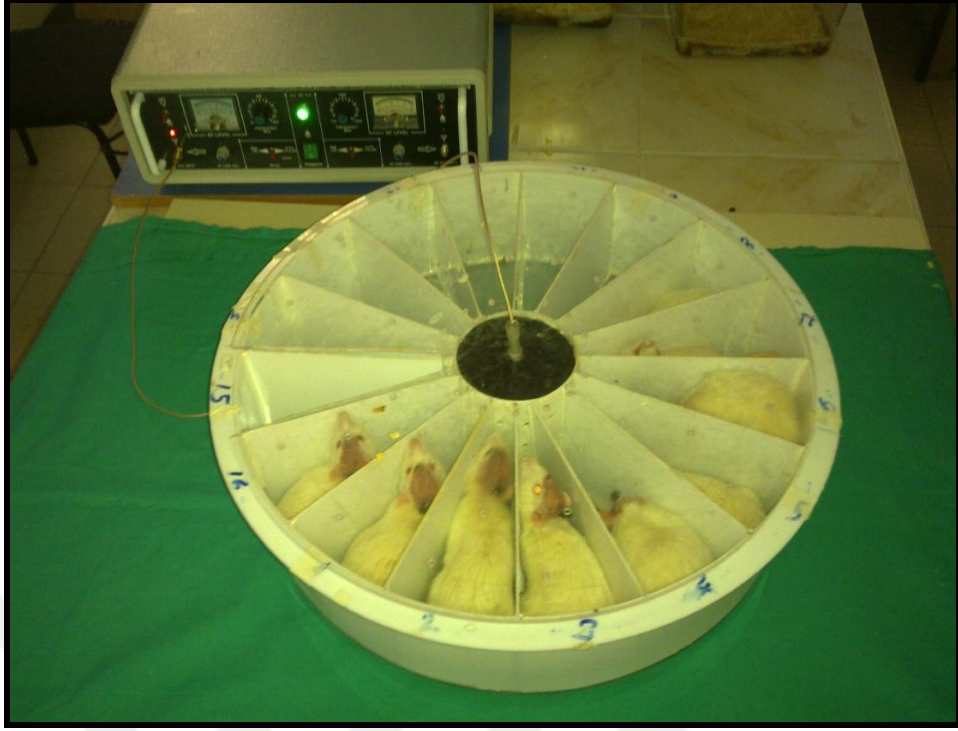
Altı hayvandan oluşan deney sonrası gruplar oluşturuldu. Deney süresinin ardından erkek sıçanlara anestezi altında kardiyak perfüzyon yapıldıktan sonra beyinleri çıkartıldı.

### **I. GRUP: SAF KONTROL GRUBU (Kont)**

Bu grup sıçanlar standart diyet (pellet yem) ile deney süresince ortalama 15 gün boyunca beslendi. Diyet kısıtlaması yapılmadı. İçme suyu olarak musluk suyu verildi. Bu grubun bulunduğu kafes manyetik alandan uzak bir ortamda tutuldu. Bu gruptaki sıçanlar 15 günlük bekleme süresinin ardından pasif sakınma testine 2 gün süresince tabi tutulmuş ve sonrasında kardiyak perfüzyon yapıp beyin dokuları çıkarılmıştır.

### **II. GRUP: 900 MHz ELEKTROMANYETİK ALANA MARUZ KALAN GRUP (EMA)**

Standart sıçan pellet yem ile deney süresince ortalama 15 gün beslenmişlerdir. İçme suyu olarak musluk suyu verildi. Manyetik alan maruziyetini sağlamak için aşağıdaki şekilde gösterilmiş olan içine en fazla 16 sıçanın sığabileceği büyüklükteki yarıçapı 25 cm, yüksekliği 20 cm olan pleksiglas kafes kullanılmıştır (Şekil 8). Bu grup sıçanlar, pleksiglas kafes içerisinde 900 MHz frekanslı EMA eşit uzaklıkta günde 60 dakika olmak üzere 15 gün boyunca EMA maruz bırakılmışlardır. Ayrıca her bir sıçanın her gün 15.00-16.00 saatleri arasında manyetik alana maruz bırakılmasına özen gösterilmiştir. On beşinci günün sonunda her bir hayvana pasif sakınma testi uygulanmış ve 2 günlük test süresinin ardından kardiyak perfüzyon işlemleri yapıp beyin dokuları çıkartılmıştır.



Şekil 8. 900 MHz EMA maruz kalma deney düzeneği

### III. GRUP: 900 MHz ELEKTROMANYETİK ALANA MARUZ KALAN VE MELATONİN UYGULANAN GRUP (EMA+MEL)

Bu gruptaki denekler standart sıçan pellet yem ile deney süresince ortalama 15 gün beslenmişlerdir. İçme suyu olarak musluk suyu verilmiştir. Her bir sıçana deney süresince akşam 16<sup>00</sup> - 17<sup>00</sup> saatleri arasında intraperitoneal (ip) olarak 50 mg/kg/gün MEL (Lyophilized MEL Powder M5250 10 gr, Sigma) enjeksiyonu yapılmıştır. Manyetik alan maruziyetini sağlamak için yukarıdaki şekilde gösterilmiş olan içine en fazla 16 sıçanın sığabileceği büyüklükteki yarıçapı 25 cm, yüksekliği 20 cm olan pleksiglas kafes içerisinde 900 MHz frekanslı manyetik alana eşit uzaklıkta günde 60 dakika, olmak üzere 15 gün boyunca maruz bırakılmışlardır (Şekil 8). Her bir sıçanın her gün aynı saatte manyetik alana maruz bırakılmasına özen gösterilmiştir. 15. günün sonunda her bir hayvana pasif sakınma testi uygulanmış ve 2 günlük test süresinin ardından kardiyak perfüzyon işlemleri yapıp beyin dokuları çıkartılmıştır.

### III. GRUP: 900 MHz ELEKTROMANYETİK ALANA MARUZ KALAN VE MELATONİN UYGULANAN GRUP (EMA+W3)

Bu grupta yer alan hayvanların yemlerine standart sıçan pellet yem ile aynı özelliklere sahip ancak % 10 oranında DHA ve EPA başta olmak üzere omega-3 yağ asitlerine zengin balık yağı (Sigma Aldrich, Co) eklenmiştir. Sıçanlar hazırlanan bu diyet yem ile beslenmişlerdir. İçme suyu olarak musluk suyu verilmiştir. Manyetik alan maruziyetini sağlamak için yukarıdaki şekilde gösterilmiş olan içine en fazla 16 sıçanın sığabileceği büyüklükteki yarıçapı 25 cm, yüksekliği 20 cm olan pleksiglas kafes içerisinde 900 MHz frekanslı manyetik alana eşit uzaklıkta günde 60 dakika, olmak üzere 15 gün boyunca maruz bırakılmışlardır (Şekil 8). Her bir sıçanın her gün aynı saatte manyetik alana maruz bırakılmasına özen gösterilmiştir. 15. günün sonunda her bir hayvana pasif sakinme testi uygulanmış ve 2 günlük test süresinin ardından kardiyak perfüzyon işlemleri yapılarak beyin dokuları çıkartılmıştır.

**Tablo 2.** Çalışma ve kontrol gruplarının tanımlanması

I. grup	6 adet Wistar albino sıçan	Saf Kontrol grubu (Kont ), EMA maruz bırakılmadı.
II. grup	6 adet Wistar albino sıçan	900 MHz EMA maruz bırakılan grup (EMA grubu)
III. grup	6 adet Wistar albino sıçan	900 MHz EMA maruz bırakılan ve 50 mg/kg/gün intraperitoneal (ip) MEL enjekte edilen grup (EMA+MEL grubu)
IV. grup	6 adet Wistar albino sıçan	900 MHz EMA maruz bırakılan ve w3 diyet yem ile beslenen grup (EMA+w3 grubu)

### 3.3. Deney Düzenegi

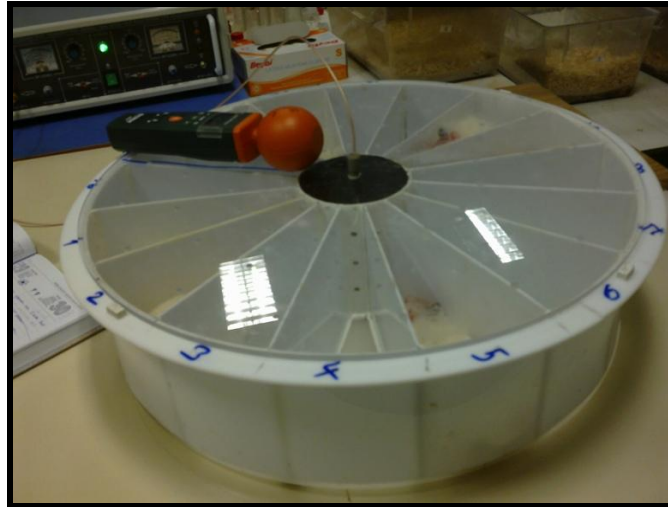
EMA kaynağı olarak 900–1800 MHz’de çalışan ve 1–2 Watt çıkışlı (PW=Pulse Wave) EMA jeneratörü (Microwave Test Transmitter, Set Electronic Ltd, Türkiye) kullanılmıştır (Şekil 9).





**Şekil 9.** Sinyal jeneratörü

Sıçanlar, 900 MHz yarım dalga monopol anten ile EMA maruz bırakılmıştır. Kullanılan antenler cep telefonu antenine eşdeğer, dairesel polarizasyonlu, yönlü antenlerdir. Sinyal jeneratör 2 Watt güçte çalıştırılmıştır ve monopol anten yakın alanındaki güç yoğunluğu deney süresince elektrik alan probu (Extech RF EMF strengthmeter) ile hassas bir şekilde ölçülmüştür (Şekil 10). Bu ölçümler 0. dakikada başlatılmak üzere her altı dakikada bir kaydedilerek her günün sonunda 11 ölçüm elde edilmiştir (Tablo 3).



**Şekil 10.** Elektrik alanı ölçüm sistemi

Kontrol grubuna ait hayvanlara herhangi bir işlem uygulanmadı ve EMA grubu ile aynı çevre şartlarında tutuldular. EMA+MEL, EMA+W3 ve EMA grubuna ait

sıçanlar 25 cm yarıçapındaki ve 20 cm yüksekliğindeki 16 bölmeli pleksiglas kafese yerleştirildi. Kafes içerisine konulan sıçanlar monopul antene eşit mesafede tutuldu.

**Tablo 3.** 13.06.2012 tarihli elektrik alan ölçer probu ile alınan hassas ölçüm sonuçları (mV/m)

No	Saat (03.02.2014)	Sıçan baş bölgesi ölçüm sonuçları (mV/m)
1.	16.00	144,0
2.	16.06	136,7
3.	16.12	200,1
4.	16.18	166,1
5.	16.24	160,9
6.	16.30	152,1
7.	16.36	144,0
8.	16.42	136,7
9.	16.48	167,5
10.	16.54	152,1
11.	17.00	136,7

### 3.4. Doku Örneklerinin Hazırlanması

#### 3.4.1. Perfüzyon

Hayvanlar perfüzyon işlemine alınmadan önce tartıldı. Sıçanların ortalama ağırlığı 280,15 gr ağırlığındaydı ve 17. günün sonunda yani deney sürelerinin sonunda, perfüze edilerek beyin dokuları çıkarıldı. Hayvanlar, perfüzyona alınmadan 12 saat önce aç bırakıldı ve perfüzyon işlemi için gerekli olan tüm solüsyonlar ve maddeler bir gün öncesinden hazırlandı. Deney süresi bitiminde tüm sıçanlara intraperitoneal (10 mg/100mg vücut ağırlığına) ketamin (50 mg/ml, Ketazol®, Richter pharma, Wels, Avusturya) ve (0,25 mg/100mg vücut ağırlığına) prilokain hidroklorür (% 2, Citanest®, AstraZeneca, İstanbul) uygulaması ile genel anestezi sağlandı (Şekil 11). Derin anestezi altına alınan sıçanlar (alt ekstremite refleksi ile Kontrol edildi) sırt üstü bir ızgara üzerine tespit edildikten sonra pens ve makas yardımıyla diyaframın altından, yukarı-sağa ve sola doğru ilerleyerek göğüs kafesi açıldı, kalp ortaya çıkarıldı (Şekil 12). Kalp

çalışır durumdayken perfüzyon setinin dokuya saplanacak olan plastik kanülü sol ventrikül apeksine yakın bir noktadan girilerek kalbe yerleştirildi. Bu işlem ile eş zamanlı olarak bir mikromakas yardımıyla sağ atriyumda küçük bir kesi oluşturuldu. Venöz kanın geldiği izlendi. Sağ atriumdan çıkan kanın rengi yaklaşık 1–1,5 dakika boyunca berraklaşmaya kadar plastik kanül aracılığı ile intrakardiyak yoldan % 0,9'luk serum fizyolojik verildi. Serum fizyolojik ile vücuttaki kan damarlarının lümenleri kandan temizlendikten sonra yine aynı yol kullanılarak yaklaşık 3–4 dakika süreyle tamponlanmış % 10'luk nötral formalin verilerek tespit sağlandı. Perfüzyon işlemi boyunca sıçanlar gözlemlendi ve formalin fiksasyonunun belirtisi olan ekstremitelerdeki tetanik kasılmalar izlendi. Çalışmamızda kullanılan sıçanların tümü perfüzyon işlemi sırasında düzensiz kasılmalar (formol dansı) gösterdiler. Perfüzyonun bitiminden hemen sonra hayvanların dekapitasyonu yapıldı ve cinsiyetin doğrulanması için perfüzyon işleminin ardından genital bölge diseke edildi ardından beyin çıkarma işlemine geçildi. Kafatasının beyin ve kas kısmı uzaklaştırıldıktan sonra beyin ve beyinciğin çıkartılması için kafatası kemikleri kemik makasıyla (Guj) dikkatli bir şekilde kırıldı. Beyin ve beyinciğin hasar görmemesine azami derecede dikkat edildi, beyinleri tamamen (beyincik ve diğer beyin bölgeleri ile birlikte) çıkarıldı, çıkartılan beyinlerin toplam yaş ağırlıkları hassas elektronik terazi ile tartılıp kaydedildi. Daha sonra % 10'luk formol içeren özel şişelere konuldu ve iki hafta tespit solüsyonu içerisinde post fiksasyona tabi tutuldular. Bu arada tespit solüsyonu birkaç kez değiştirildi. İki hafta fiksatif içerisinde bırakılan beyinlerin sol ve sağ beyin yarım küreleri birbirinden ayrıldı ve histolojik takip işlemine alındı (Tablo 4). Çalışmanın sağ beyin yarım kürelerinde devam edilmesine karar verildi. Perfüzyon tekniği fiksasyon sırasında oluşan artefaktı minimum değere düşürmek amacı uygulandı.



**Şekil 11:** Deneklere perfüzyon öncesi anestezi için yapılan enjeksiyon ve anestezide kullanılan solüsyonlar.



**Şekil 12:** Deneklere uygulanan kardiyak perfüzyon işlemi.

### **3.4.2. Rutin Histolojik Doku Takip İşlemi**

Beyinler % 10'luk formol tespit solüsyonundan çıkarıldı ve bir gün boyunca akarsuda yıkandı. Yıkama işleminin ardından Tablo 4'de gösterilen doku takibi işlemlerine geçildi. Doku takibi, Thermon Shandon Citadel marka doku takip cihazında yapıldı. Sıçanların sağ beyin yarım küreleri rutin histolojik doku takip işlemlerinden sonra 60°C sıcaklığındaki paraplast içine metal 'L'demiri yardımı ile gömüldüler (Tablo 4; Şekil 13).

**Tablo 4.** Beyin dokularının takibinde kullanılan kimyasallar ve süreleri

Kimyasal Solusyon	Süre
% 70'lik alkol	1 gece
% 80'lik alkol	1 saat
% 96'lık alkol	1 saat
% 100'lük alkol	1 saat
% 100'lük alkol	1 saat
% 100'lük alkol	1 saat
Ksilen+% 100'lük alkol	20 dakika
Ksilen	30 dakika
Ksilen	30 dakika
Paraplast (Tekkim)	1 saat (60 C'lik etüvde)
Paraplast	1 saat
Paraplast	1 saat

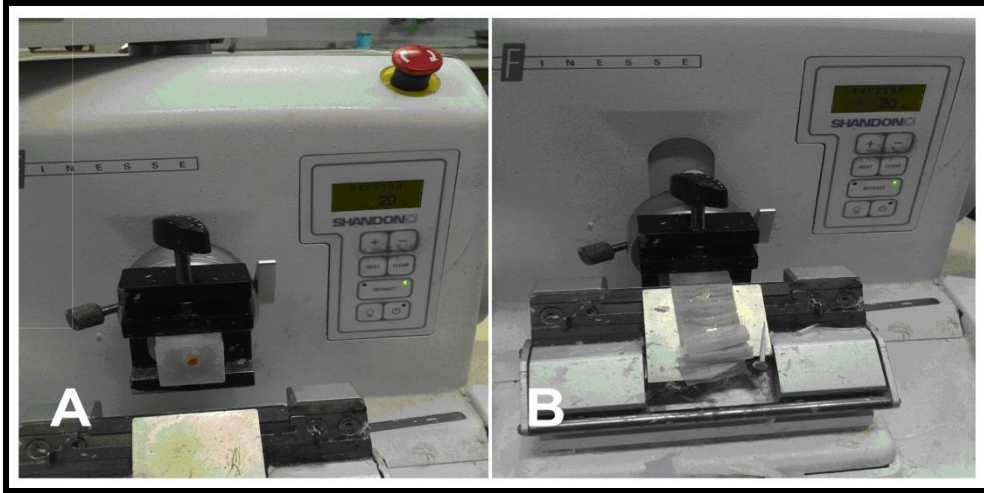


**Şekil 13.** Doku takip cihazı ve doku takibi sonrasında L demirine gömülmüş beyin dokuları

### 3.4.3. Kesit Alma

Çalışma için seçilen beyin dokularından kesitlerin elde edilme aşamasına geçmeden önce bir ön çalışma yapılarak çalışmanın stratejisi belirlendi. Ön çalışma sonrasında çalışmamız için sagittal düzlemde kesitlerin alınmasının uygun olduğuna karar verildi. İlk kesitin rasgele seçilmesinden sonra kesitlere 1/6 oranında sistematik rasgele örnekleme (SRÖ) kuralı uygulandı. Hazırlanan bloklar, sagittal düzlemde, tek kullanımlık çelik bıçaklar kullanılarak rotary mikrotomu (Leica RM2125RT) ile 20 µm kalınlığında alındı (Şekil 15). Her 1/18 oranında 7 µm'lik ince kesitler alındı. Kesit almaya başlamadan önce 42 °C'ye kadar ısıtılan benmari içindeki suya (dokunun özelliğine göre % 5 lik jelatin (100 ml saf suda 5 gr jelatinin çözündürülmesi şeklinde) toz jelatin (Tekkim) ilave edildi. Böylelikle kesitlerin lama yapıştırılması ve boyanması gibi işlemler esnasında lamdan düşmeleri engellenmiş oldu.

Her bloktaki beyin horizontal düzlemde tümüyle kesildi. Alınan kesitlerin bu havuzda tamamen açılması sağlandı. Daha sonra ise bir gece etüvde bekletilen kesitlerin paraplasttan uzaklaştırılarak lama yapışması sağlanmış oldu. Bu örnekleme sonucunda her bir hayvandan ortalama 40 kesit elde edildi, örnekleme sonucu seçilen kesitler kresil viyole boyama yöntemi ile boyandı (Tablo5).



Şekil 14. Rotary mikrotom (Leica RM2125RT) ile kesit alımı (A, B).



#### 3.4.4. Boyama

100 ml distile suya 0,1 gr kresil viyole katılarak kresil viyole boyası ve 500 ml % 96'lık alkol içine 10 damla glisial asetik asit katılarak kresil viyole ayrıştırıcısı hazırlandı. Alınan kesitler kresil viyole ile boyandı (Şekil 15). Kesitlerin boyanması sırasında kullanılan boya ve solüsyonlar aşağıda belirtildiği gibi hazırlandı.

Standart kresil viyole boyaması için yapılan işlemler aynı prosedürde gerçekleştirilirken dokunun özelliğine göre boyada bekletilme süresi, deneme çalışmaları sonucunda, boyanın sıçan beyin dokusuna nüfuz etme süresi dikkate alınarak üç dakika olarak belirlendi. Boyama işlemi öncesinde, kresil viyole çözeltisi (1g/1000 ml) etüve konularak yaklaşık 55°C sıcaklığa kadar ısıtıldı. Daha sonra kesitlerinin boyanması için sırasıyla aşağıdaki işlemler yapıldı (Tablo 5).

**Tablo 5.** Kesitlerin boyanmasında kullanılan kimyasallar ve süreleri

Kullanılan Kimyasallar	Süreleri
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	10 dakika
Kresil viyole	3 dakika
Distile su	2 dakika
% 70'lik alkol	5 dakika
% 80'lik alkol	5 dakika
% 96'lık alkol	5 dakika
Kresil viyole ayrıştırıcısı	7 dakika
% 96'lık alkol	10 dakika
% 100'lük alkol	10 dakika
Ksilen (x2)	30 dakika
Entellan (SIGMA)	Kapama

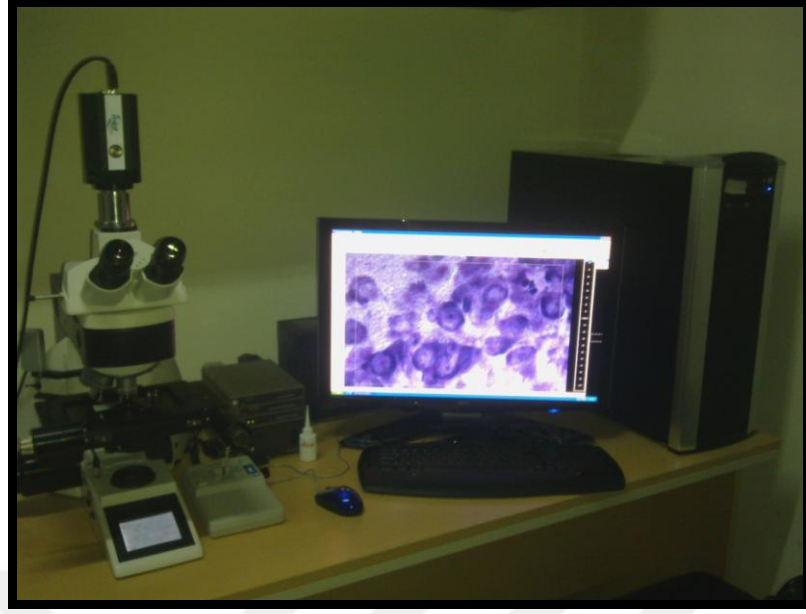


Şekil 15. Kresil viyole boyaması sonrası kesitlerin görünüm.

### 3.5. Stereolojik Analizler

Stereolojik metotlardan birisi olan optik parçalama tekniği kullanarak mikroskopik kesitlerdeki hipokampuste bulunan toplam nöron sayısı hesaplandı. Örnekleme yapılırken uygun hata katsayı değerinin ( $\leq 0,05$ ) elde edilmesi için işlemler bu kural çerçevesinde uygulandı. Stereolojik sayıma geçmeden önce sayım kurallarının belirlenebilmesi için ön çalışma yapıldı. Böylelikle etkin ve tarafsız sayım gerçekleştirildi. Daha seri bir şekilde sayım işlemine geçildi. Çalışmada, nöron sayısı hesaplaması için özel bir yazılıma sahip bilgisayar destekli stereolojik analiz sistemi (Stereoinvestigator 9.0., MicroBrieldField; Colchester; USA) kullanıldı (Şekil 17).



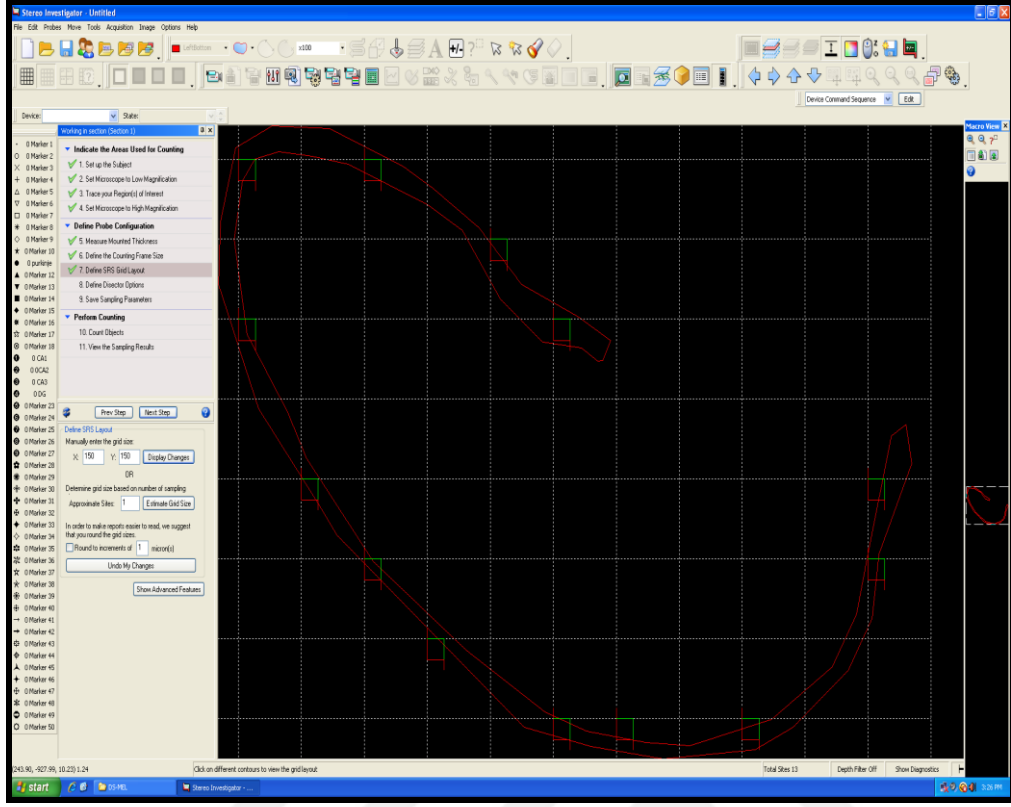


Şekil 16. Stereoloji Analiz Sistemi.

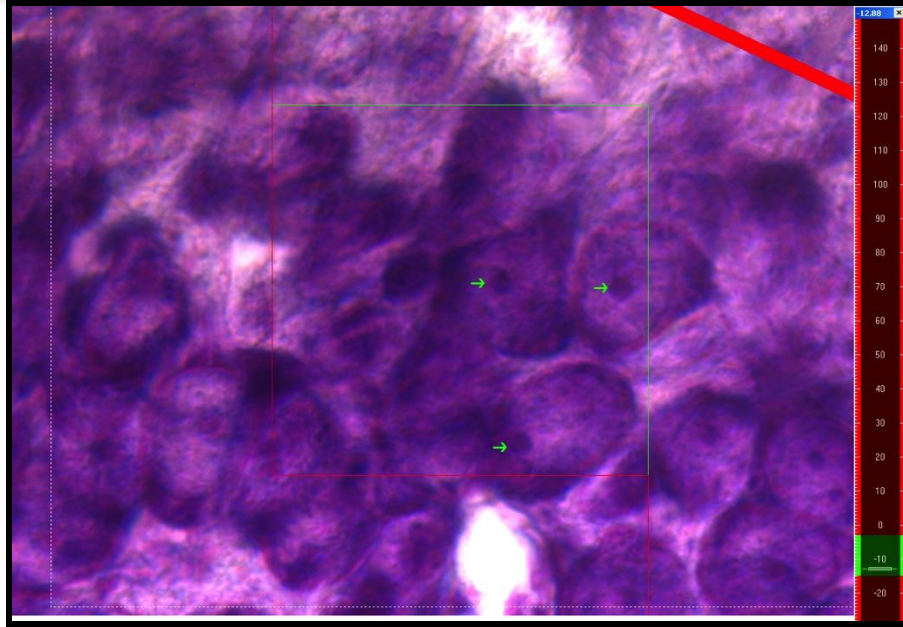
### 3.5.1. Hipokampusun Sınırlarının Belirlenmesi

Hipokampusun CA1, CA2 ve CA3 bölgelerinde bulunan piramidal nöronların toplam sayısı optik parçalama tekniğiyle (Gökcimen ve ark., 2007, Bas ve ark., 2009) hesaplandı. Optik parçalama, optik disektör sayımıyla parçalamanın bir karışımıdır (Gundersen, 1986). Hipokampusun bu bölgelerinin sınırları George Paxinos'un Rat Brain Atlas'ı aracılığıyla belirlendi ( Paxinos ve Watson, 2007 )

Bu atlasta yer alan sınırlar kabul edilerek hipokampusun CA1, CA2, CA3 ve DG bölgelerinde bulunan piramidal nöron ve granüler hücre sayıları sistematik olarak örneklenmiş optik disektörlerle sayıldı. Buradaki optik parçalama uygulaması, bir pilot çalışma sonrası elde edilmiştir (Şekil 17, 18).



Şekil 17. Optik parçalama tekniğinde kullanılan stereolojik sayım sondası.



Şekil 18. Optik disektör ile z ekseni boyunca ilerleme.

### 3.5.2. Kesit Örnekleme Oranı (KÖO)

Sistemik rasgele örnekleme (SRÖ) ile her 6. kesitin alınmasının yeterli olacağı yapılan pilot çalışma ile belirlenmiş oldu. Dolayısıyla kesit örnekleme oranı (KÖO) 1/6 olarak belirlendi. Her altıncı kesitin örneklenmesi sonucunda hipokampusu içeren toplam 25–30 kesit elde edildi.

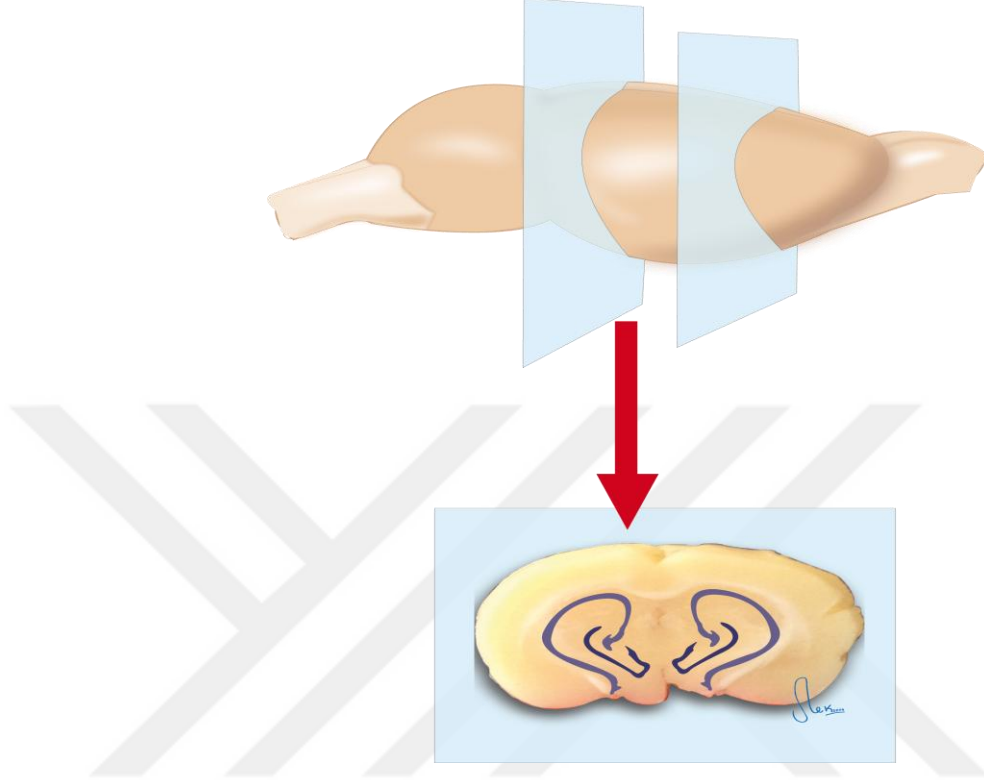
### 3.5.3. Alan Örnekleme Oranı (AÖO)

Toplam hücre sayısını hesaplamak için gerekli bir başka parametre alanörnekleme oranıdır. Stereolojik çalışmalar yapılırken sistemik rasgeleörnekleme göre seçilen kesitlerde, ilgilenilen bölgenin alanı mikroskopta belli aralıklarla x ve y eksenleri boyunca taranır. Böylece "x, y adımlama alanı" tanımlanmış olur. Adım alanı  $150 \times 150 = 22500 \mu\text{m}^2$  olarak ve sayım çerçevesi alanı  $40 \times 40 = 1600 \mu\text{m}^2$  olarak pilot çalışma aşamasında belirlenmiştir. Böylece optik parçalama yöntemine göre toplam hücre sayısını hesaplamada gerekli parametrelerden biri olan, alan örnekleme oranı belirlenmiştir ( $AÖO = 1600/22500$ ) (Tablo 6). Bu çerçeveler sayım alanlarını temsil etmektedirler. Yani her bir adım, alanın sadece bir kısmının sayımı için kullanılmıştır.

### 3.5.4. Stereolojik Analiz Yönteminin Uygulanması

Her sıçan beyninden 20  $\mu\text{m}$  kalınlıkta ve sistemik rasgele örnekleme yöntemine uygun olarak 1/6 aralığında koronal kesitler alındı (Şekil 19). Bu işlem, alınan ilk kesitten itibaren sırasıyla beş kesit atılıp altıncı kesitin alınması ile gerçekleştirilmiştir. Kesit alma işlemi beyin dokusunun sonuna kadar devam ettirilmiş ve her sıçan 25–30 kesit alınmıştır. Böylece optik parçalama yöntemine göre toplam hücre sayısını hesaplamada gerekli parametrelerden biri olan, kesit örnekleme oranı belirlenmiştir ( $KÖO = 1/6$ ). Boyanan kesitler içerisinde hipokampusa ait olanlar ayrılmış ve bu kesitlerde sayım yapılmıştır. Optik parçalama ve optik disektör metodunun uygulanması için stereoloji cihazının ilgili programı çalıştırılmıştır. Çalışmaya başlamadan önce bir hayvana ait olan tüm kesitlerde hipokampus olup olmadığına bakılarak hipokampus alanına sahip kesitler ayrılmıştır. Bu kesitlerde hipokampusun CA1, CA2, CA3 ve DG bölgeleri atlas aracılığıyla belirlenmiştir (Paxinos ve Watson, 2007) ve sonrasında bu bölgelerde piramidal hücre ve granüler hücre sayımı yapılmıştır.

Kesitler, mikroskoba yerleştirilip, hipokampus bölgesi x4 büyütmede tespit edildikten sonra mikroskop objektifi x100 (sayısal açıklık 1,25) büyütmeye getirilerek kesitler analiz edilmiştir (Tablo 6).



Şekil 19. Hipokampustan alınan kesit yönü.

Tablo 6. Stereoloji analizinde kullanılan değerler

Kesit kalınlığı	20 $\mu\text{m}$
Kesit örnekleme oranı	1/6
Tarafsız sayım çerçevesi alanı	1600 $\mu\text{m}^2$
Adım aralığı	150 $\mu\text{m}$
Adım alanı	22500 $\mu\text{m}^2$
Optik disektör yüksekliği (h)	8 $\mu\text{m}$
Üst güvenlik kuşağı	1 $\mu\text{m}$
Sayım yapılan objektif büyüklüğü	100x

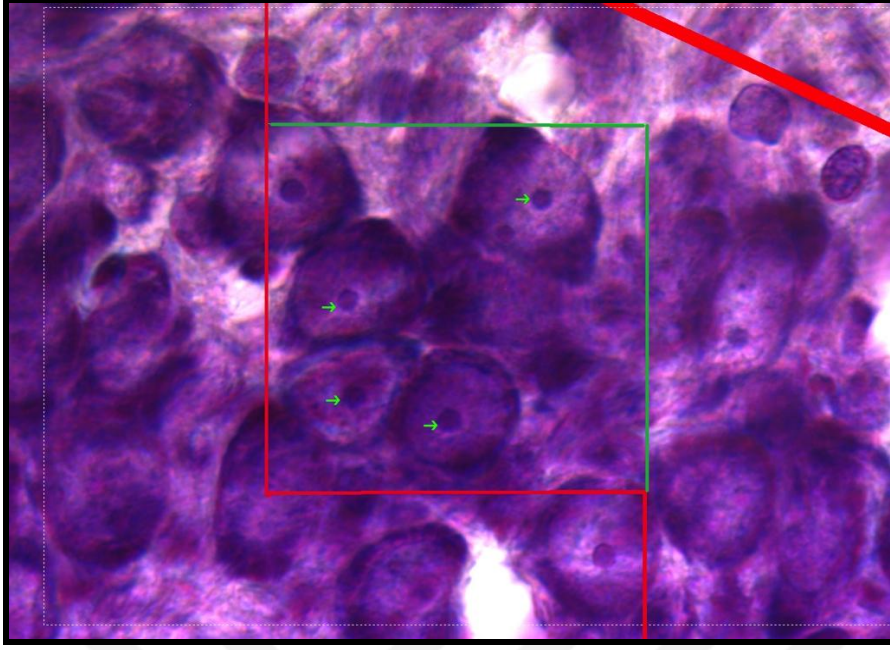
Görüntü kalibrasyonu sağlandıktan sonra, mikroskoptaki kesit görüntüsünde x ekseninde 150  $\mu\text{m}$  ve y ekseninde 150  $\mu\text{m}$  aralıklarla adımlamalar yapılmıştır. Böylece

bu iki eksendeki adımlama alanı, Alan (x, y adımlama) = 150  $\mu\text{m}$  x 150  $\mu\text{m}$  = 22500  $\mu\text{m}^2$  olarak hesaplanmıştır (Tablo 6).

Her bir adımdaki sayım çerçevesine denk gelen nöronlar belirli kurallar çerçevesinde 8  $\mu\text{m}$ 'lik derinlikte sayılmıştır. Üst güvenlik kuşağı 1  $\mu\text{m}$  olarak belirlenmiştir. Tüm bu belirlemeler çalışma öncesinde yapılan bir ön çalışma ile saptanmıştır. Böylelikle, hipokampusun belirli bir parçasında bulunan nöronları doğrudan sayarak, o parçadaki sayıyı bulduktan sonra, parçalama oranlarını kullanarak tüm yapıdaki toplam tanecik sayısı hesaplanmıştır.

### 3.5.5. Tarafsız Sayım Çerçevesi

Stereolojide gerçeğe en yakın verilerin elde edilmesi, sayım esnasından her taneciğin sadece bir kez örneklenmesi kuralına dayanır. 1977'de Gundersen tarafından geliştirilen tarafsız sayım çerçevesinden önce değişik sayım çerçeveleri kullanılmıştır. Ancak, bunların kullanımı sırasında taneciklerin bir defadan daha fazla sayılması gibi hatalar ortaya çıkmıştır (Mayhew ve Gundersen, 1996). Tarafsız sayım çerçevesi, bir kalın ve düz, bir de ince ve kesikli iki tip çizgiden oluşan dört kenara sahip basit bir dikdörtgen veya karedir. Sayım kuralları açısından diğer sayım çerçevelerinden farklıdır. Temel olarak, ince ve kesikli çizgiler (yeşil kenar) "dâhil" kenarlar, kalın ve devamlı çizgiler de (kırmızı kenar) "hariç" kenarlardır. Kesikli çizgilere rastlayan tanecikler sayılırken, devamlı çizgilere isabet eden tanecikler sayım dışı bırakılır. Tarafsız sayım çerçevesi, tanecik sayımı için en etkin ve güvenilir sayım çerçevesidir. Bu çerçeve ile tanecik izdüşümleri en doğru biçimde sayılır. Bu durum geometrik hesaplamalarla da kanıtlanmıştır (Gundersen, 1977) (Şekil 20).



**Şekil 20.**Tarafsız Sayım Çerçevesi

### **3.6. Pasif Sakınma**

#### **3.6.1 Pasif Sakınma Test Düzeneği**

Pasif sakınma test düzeneği 7 x7 cm boyutlarında giyotin kapı ile birbirine açılan biri aydınlık diğeri karanlık iki bölmeden oluşmaktadır. 30 x 20 x20 cm boyutlarındaki aydınlık bölümü pleksiglasdan yapılmış olup beyaz ışık ile aydınlatılmaktadır. Karanlık bölüm ise tahtadan yapılmış olup yine 30 x 20x 20 cm ölçülerindedir. Şok uygulanan bu bölümün tabanı birbirine paralel iletken tellerden oluşan çelik ızgaradır ve 0,5 mA, 12 V gücündeki şok aletine bağlanmıştır ( Şekil 5 ve 21).



Şekil 21.Pasif Sakınma Test Düzeneği

### 3.6.2. Pasif Sakınma Testinin Uygulanması

Pasif sakınma deneyleri başlamadan birkaç gün öncesinde, hayvanlar her gün deney odasına getirilip ortama alışmaları sağlandı. Deney gününde hayvanlar testlere başlamadan en azından bir saat önce deney odasına getirildiler. Deneylerin birinci gününde, testin birinci aşaması olan edinim periyodundan önce, alıştırma periyodu uygulandı. Alıştırma esnasında sıçanlar, pasif sakınma düzeneğine alışmaları amacıyla tek tek özenle kafeslerinden alınarak aydınlık bölüme yerleştirildiler. Aydınlık bölüme teker teker alınan sıçanların hepsinin ilk 60 sn içerisinde karanlık bölüme geçtikleri gözlemlendi.

Her sıçandan sonra kafes ve alt tabla % 70 lik etil alkol ile temizlenerek, sıçanların dikkatini dağıtabilecek etkenler ortadan kaldırıldı. Bu aşamada sıçanların ayak tabanlarına, herhangi bir elektroşok uygulaması yapılmadı. Testin alıştırma periyodundan sonra sıçanlar kendi kafeslerine alındılar. Test, 24 adet sıçan üzerinde uygulandı.

Karanlık bölüme geçen sıçanlara tabanda bulunan tel ızgara aracılığı ile 3sn süre ile 0,5 mA elektrik şoku uygulandı. Sıçanların aydınlık bölüme konulmasıyla, aydınlık alandan karanlık bölüme geçme süresi kronometre ile tutularak kaydedildi. Bu süre 'Karanlık Bölüme Geçme (KBG) Süresi' ya da 'Latens Zamanı' olarak adlandırılır.



EMA maruziyetin 15. gününde pasif sakinmanın öğrenme deneyi gerçekleştirildi. Elektrik şokuna maruz kalan sıçanlar 10 sn içinde kendi kafeslerine geri konuldular. Bu kısımda sıçanların elektroşoka maruz kalma bilgisini öğrenmeleri ve depolamaları gerekmektedir. Öğrenme sürecinden 24 saat sonra sıçanlar yeniden aydınlık bölüme bırakıldılar ve karanlık bölüme geçme süreleri 'Retansiyon Zamanı (RZ)' olarak ölçüldü (Şekil 22).



Şekil 22. Pasif Sakınma Testinin Periyotları. Sırası ile alışma, öğrenme ve depolama süreleri.

### 3.8. Biyokimyasal Analizler

#### 3.8.1. Deneklerden Serum Örneği Alınması

Maruziyet süreci sonrasında yapılan perfüzyon işlemi esnasında deneklerin kalplerinden 1 ml intrakardiyak kan EDTA'lı tüpler içerisine alınarak 4°C'de 2000 devirde 15 dk Hettich EBA 20 santrifüj cihazında (Hettich, Tuttlingen, Almanya) santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri biyokimyasal analizlerin yapılacağı zamana

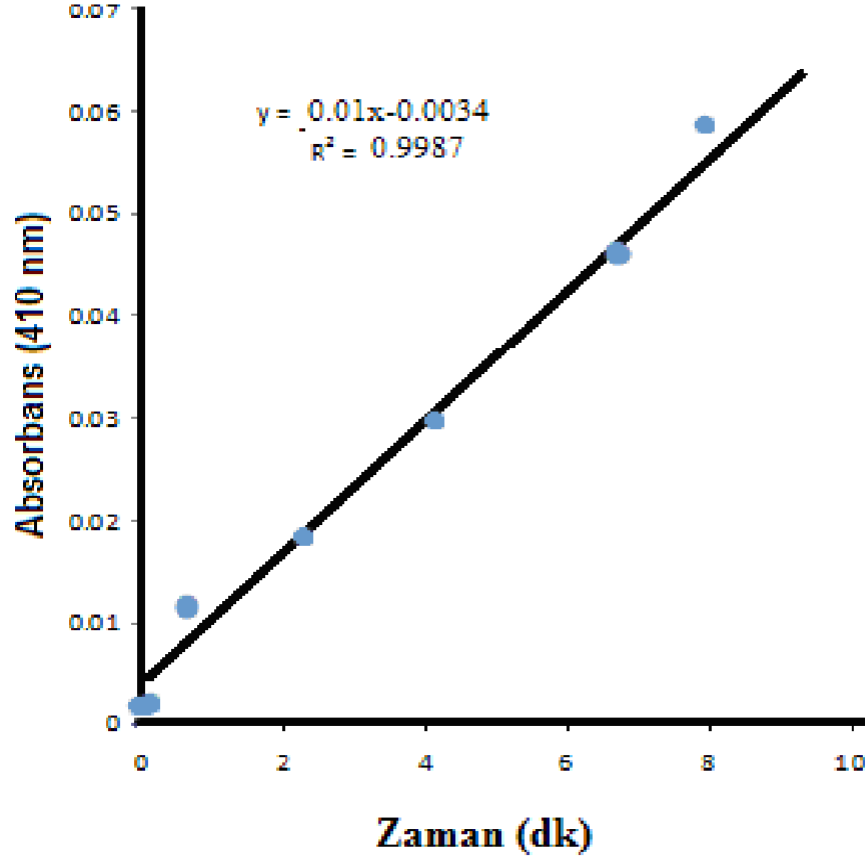


kadar -80 °C’de saklandı. Elde edilen serum örneklerinde total Glutasyon (GSH) ve katalaz (CAT) enzim aktivitelere bakıldı.

### **3.8.2.Katalaz Tayin Yöntemi**

Spektrofotometrik ölçüm yöntemi ile katalazın peroksidatik aktivitesinden yararlanılarak ölçüldü. Katalaz düşük molekül ağırlıklı alkollerle elektron alışverişinde bulunur. Örnekte bulunan katalaz enzimi, substrattaki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’ yi 37 °C’de pH 7,4’de H<sub>2</sub>O ve O<sub>2</sub>’ye dönüştürür. Geriye kalan parçalanmamış substrat (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), kromojen madde ile sarı renkli stabil bir kompleks oluşturur. Kromojen maddenin şiddeti formaldehitte değişir. Oluşan rengin şiddeti katalaz konsantrasyonu ile ters orantılı olup 540 nm’de ölçüm yapılır. Bir ünite katalaz (U/ml) birim zamanda 25 °C’de 1mol formaldehitin yapısını değiştiren enzim aktivitesidir. Katalaz düzeyleri Cayman Chemical Assay kit (Cayman Chemical Company, USA) kullanılarak UV-1240 Shimadzu spektrofotometre cihazında çalışıldı. Formaldehit standart eğrisi Şekil 23’de verilmiştir.

## FORMALDEHİT STANDART EĞRİSİ



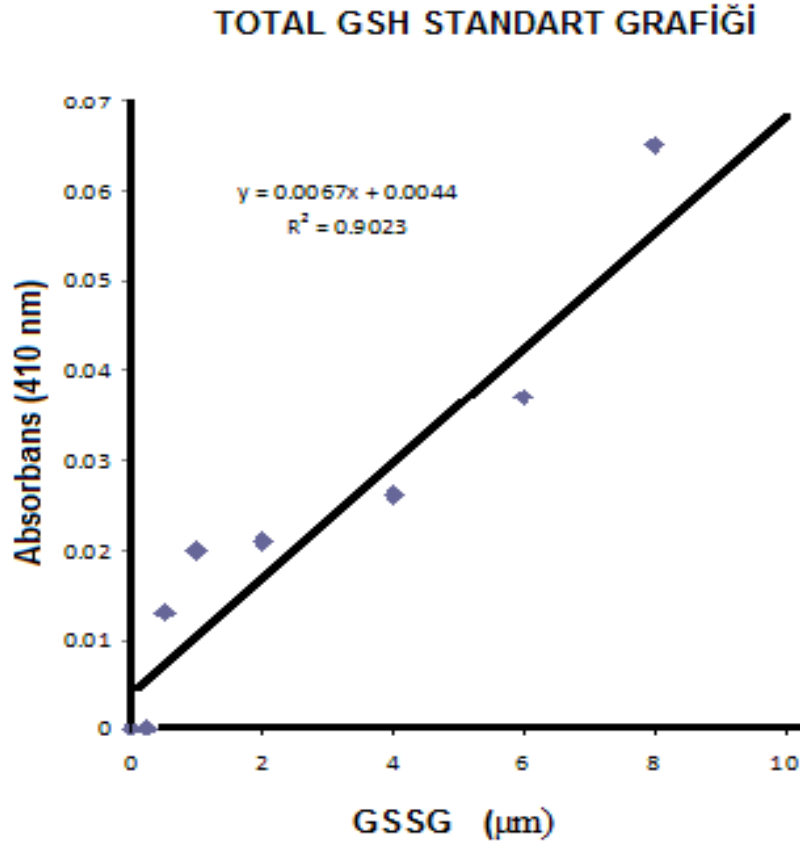
Şekil 23. Formaldehit standart eğrisi.

### 3.8.3. Total Glutasyon Tayin Yöntemi

Total GSH miktarı, DTNB, NADPH ve GR varlığında enzimatik döngü prosedürü ile ölçülmektedir. GSH DTNB tarafından okside edilirken, ortamda bulunan GSSG ve diğer çözünür tiyol bileşikleri ile GSH'ın oluşturduğu disülfid bağlanmaları GR enzimi varlığında NADPH'nin indirgenmesi ile GSH'a dönüştürülmektedir. Meydana gelen sarı renkli 2-nitro-5-tiyobenzoik asitin miktarı 410 nm'de ölçülmektedir (Anderson, 1985). Elde edilen absorbans değerleri standart GSH grafiği ile derişim değerlerine dönüştürülmektedir.

Total glutasyon düzeyleri Cayman Chemical Assay kit (Cayman Chemical Company, USA) kullanılarak UV-1240 schimadzu spektrofotometre cihazında çalışıldı.

Her 5 dakikada bir toplam 6 defa absorbans değerleri ölçüldü. Total Glutatyon standart grafiği Şekil 24'te verilmiştir.



Şekil 24. Total glutatyon (GSH) Standart Grafiği

### 3.9. İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmadan elde edilen sayısal veriler SPSS programı (SPSS version 21,0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ile istatistiksel açıdan değerlendirildi. Grupların birbiriyle karşılaştırılmasında One Way ANOVA, Tukey testi kullanıldı. Gruplar arasında yapılan istatistiksel değerlendirmelerde gözlenen  $p < 0,05$  fark değeri anlamlı olarak kabul edildi. Ayrıca  $p < 0,01$  değerleri ise ileri derecede anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1.Stereolojik Bulgular

EMA maruz bırakılan sıçan hipokampusunda MEL ve w3'ün etkilerinin stereolojik yöntemle araştırılması amacıyla yapılan bu çalışmada; günde 1 saat 900 MHz EMA uygulanan EMA grubu, günde 1 dakika 900 MHz EMA uygulanan ve 50mg/kg/gün melatonin enjekte edilen EMA+MEL grubu, günde 60 dakika 900 MHz EMA uygulanan ve w3 karışımından oluşan pellet yemlerle beslenen EMA+w3 grubu ile hiçbir işlemin yapılmadığı Kont grubunun optik parçalama sonucu elde edilen ortalama hipokampus piramidal nöron ve granüler hücre sayıları ayrıca grup ortalama hipokampus piramidal nöron sayıları ve ortalama standart hata ile (Tablo 7-10'da) belirtilmiştir.

Tablo 7. Grupların CA1 bölgesinde bulunan ortalama piramidal nöron sayısı ve ortalama standart hata (OSH)

Grup	Nöron Sayısı ( Ortalama $\pm$ OSH )	DK
Kont	255606 $\pm$ 12624	0,11
EMA	169668 $\pm$ 9066 **	0,10
EMA+W3	256828 $\pm$ 7440	0,09
EMA+MEL	254389 $\pm$ 6462	0,07

\*\* = p<0,01

Tablo 8. Grupların CA2 Bölgesinde bulunan ortalama piramidal nöron sayısı ve ortalama standart hata (OSH)

Grup	Nöron Sayısı ( Ortalama $\pm$ OSH )	DK
Kont	41820 $\pm$ 4237**	0,12
EMA	22965 $\pm$ 3067	0,06
EMA+W3	36468 $\pm$ 2791	0,08
EMA+MEL	49169 $\pm$ 8298**	0,06

\*\* = p<0,01

Tablo 9. Grupların CA3 Bölgesinde bulunan ortalama piramidal nöron sayısı ve ortalama standart hata (OSH)

Grup	Nöron Sayısı ( Ortalama $\pm$ OSH )	DK
Kont	164117 $\pm$ 24051	0,06
EMA	152303 $\pm$ 4651	0,08
EMA+W3	216931 $\pm$ 31463**	0,07
EMA+MEL	158328 $\pm$ 11093	0,07

\*\* = p<0,01

Tablo 10. Grupların dentat girus bölgesinde bulunan ortalama granüler hücre sayısı ve ortalama standart hata (OSH)

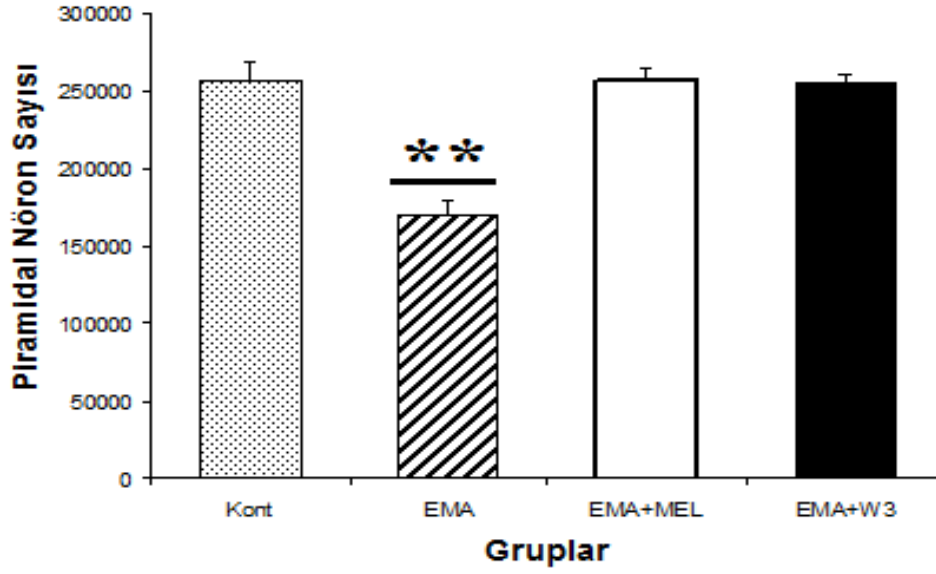
Grup	Nöron Sayısı ( Ortalama $\pm$ OSH )	DK
Kont	500603 $\pm$ 22204**	0,07
EMA	430244 $\pm$ 42528	0,06
EMA+W3	581541 $\pm$ 39475*	0,09
EMA+MEL	521893 $\pm$ 33047	0,11

\*\* =  $p < 0,01$ , \* =  $p < 0,05$

#### 4.1.1. Hipokampus CA1 Bölgesinin Ortalama Piramidal Nöron Sayısı

Tablo 11’de EMA grubu ile diğer grupların piramidal nöron sayıları karşılaştırılmıştır. Kont grubu ile EMA+MEL ve EMA+W3 gruplarının piramidal nöron sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). EMA grubunun ortalama piramidal nöron sayıları ile Kont, EMA+MEL ve EMA+W3 gruplarının ortalama piramidal nöron sayıları arasında ileri derecede anlamlı fark gözlenmiştir ( $p < 0,01$ ) (Şekil 25, Tablo 7).

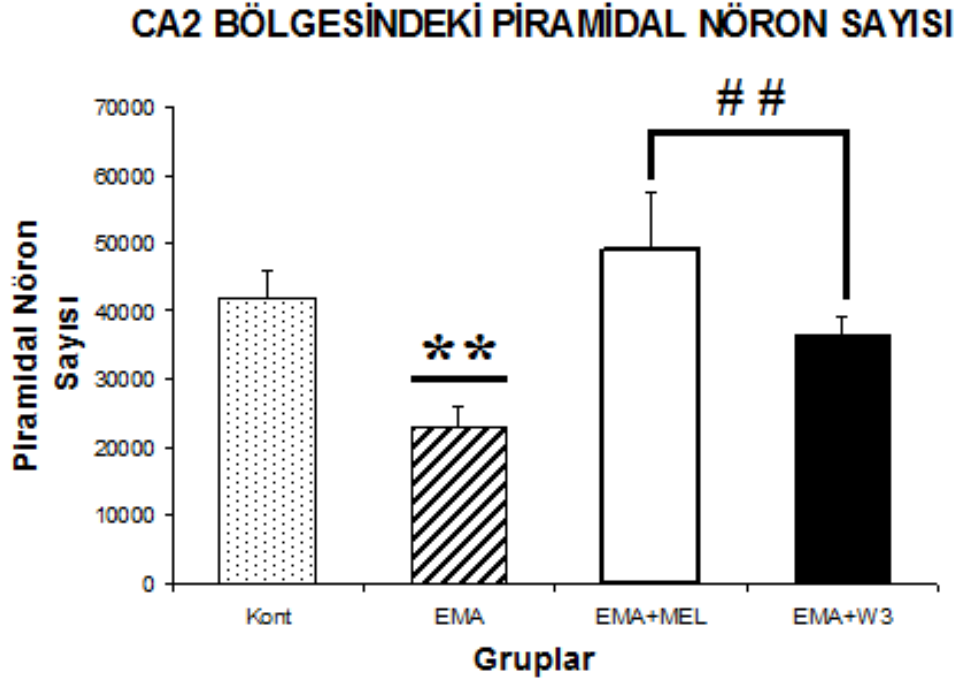
## CA1 BÖLGESİNDEKİ PİRAMİDAL NÖRON SAYISI



Şekil 25. Hipokampus CA1 bölgesindeki piramidal nöron sayısının gruplar arasındaki farkını gösteren grafik. ( \*\*:p< 0,01)

### 4.1.2. Hipokampus CA2 Bölgesinin Ortalama Piramidal Nöron Sayısı

Tablo 12’de Kontrol grubu ile diğer grupların piramidal nöron sayıları karşılaştırıldığında Kontrol grubu ile EMA+MEL ve EMA+W3 arasında herhangi bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Ancak EMA grubunun EMA+MEL, EMA+W3 ve Kontrol grubundan ileri derecede anlamlı olduğu gözlenmiştir ( $p<0,001$ ). Bununla birlikte EMA+MEL ve EMA+W3 grubundaki piramidal nöron sayıları karşılaştırıldığında ileri derecede anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir ( $p< 0,01$ ), (Şekil 26, Tablo 8).



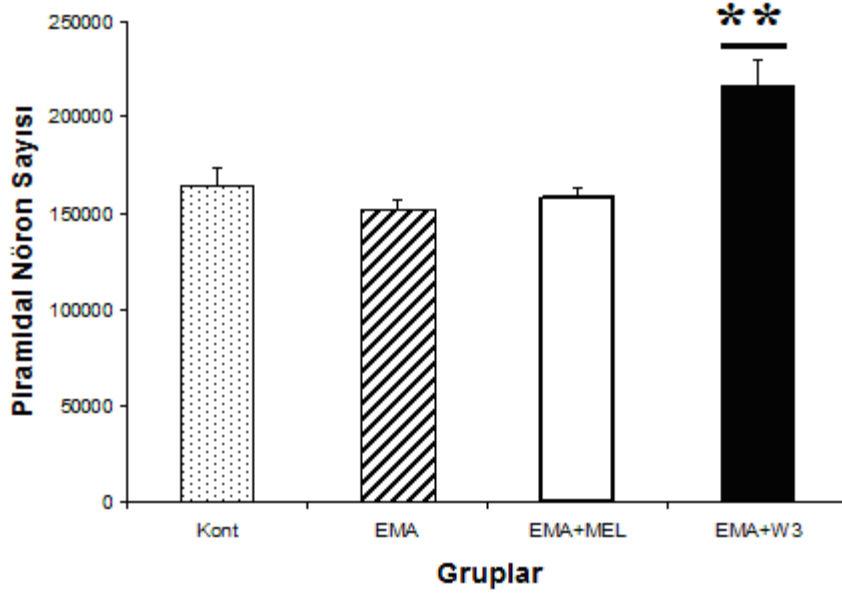
**Şekil 26.** Hipokampus CA2 bölgesindeki piramidal nöron sayısının gruplar arasındaki farkını gösteren grafik. .( \*\*,##:  $p < 0,01$ )

#### **4.1.3. Hipokampus CA3 Bölgesinin Ortalama Piramidal Nöron Sayısının Karşılaştırılması**

Tablo 13'te Kont ile diğer grupların piramidal nöron sayıları karşılaştırıldığında Kont grubu ile EMA+MEL ve EMA grubu arasında herhangi bir fark bulunmazken ( $p > 0,05$ ), EMA+W3 grubunun, Kont grubu, EMA+MEL ve EMA gruplarından ileri derecede anlamlı farklılık göstermesi dikkat çekmektedir ( $p < 0,001$ ) (Şekil 27, Tablo 9).



## CA3 BÖLGESİNDEKİ PİRAMİDAL NÖRON SAYISI

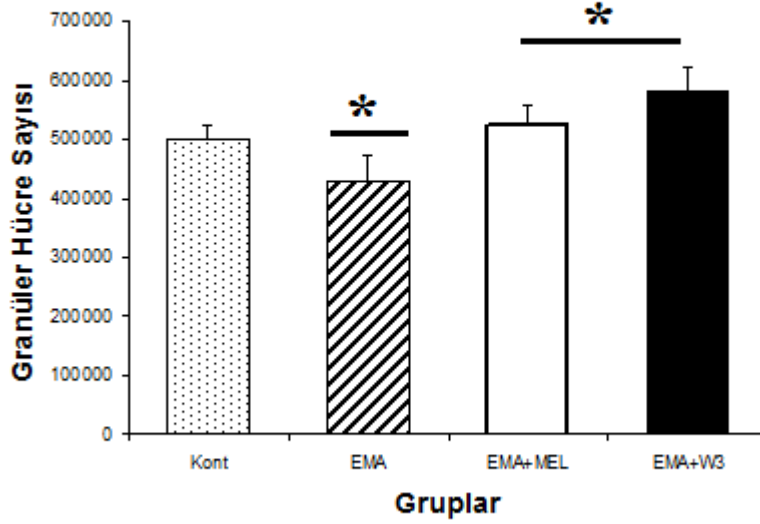


Şekil 27. Hipokampus CA3 bölgesindeki piramidal nöron sayısının gruplar arasındaki farkını gösteren grafik. . (\*\*:  $p < 0,01$ )

### 4.1.4. Hipokampus Dentat Girus Bölgesinin Ortalama Granüler Hücre Sayısı

Tablo 10'da Kont ile diğer grupların granüler hücre sayıları karşılaştırıldığında Kont grubu ile EMA+MEL grubu arasında anlamlı fark görülmedi ( $p > 0,05$ ). Ancak EMA grubunun dentat girusta bulunan granüler hücre sayısının diğer gruplardan anlamlı olarak farklı olduğu ( $p < 0,001$ ) aynı zamanda EMA+W3 grubunun, Kont grubu, EMA+MEL ve EMA gruplarından granüler hücre sayısı bakımından ileri derecede anlamlı farklılık gösterdiği tespit edildi ( $p < 0,001$ ), (Şekil 28, Tablo 10).

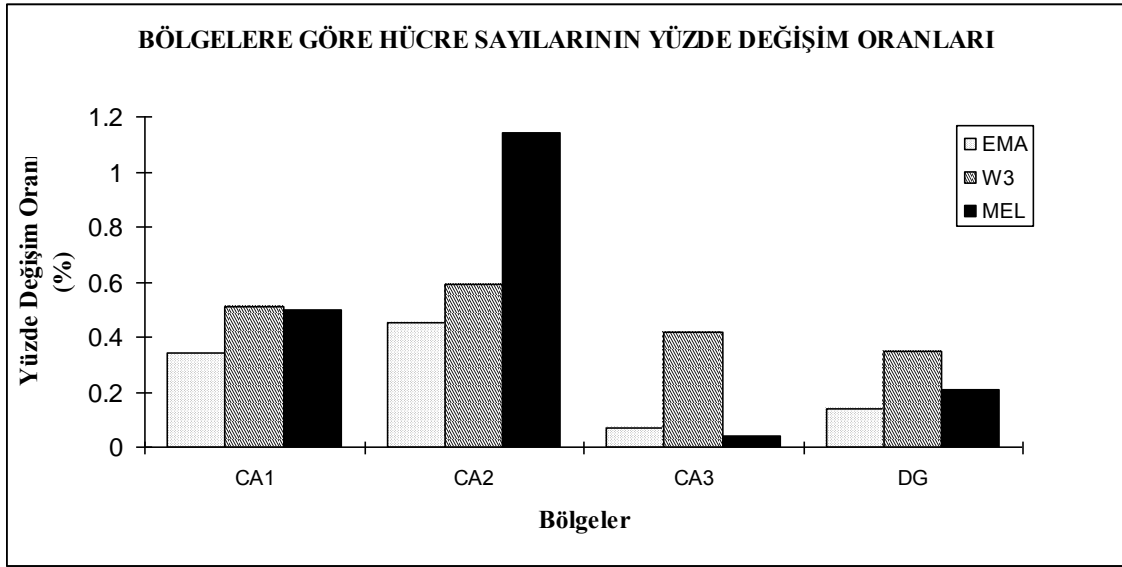
## DENTAT GİRUS BÖLGESİNDEKİ GRANÜLER HÜCRE SAYISI



**Şekil 28.** Hipokampus dentat girus bölgesindeki granüler hücre sayısının gruplar arasındaki farkını gösteren grafik. (\*:p< 0,05)

### 4.1.5. Bölgelere Göre Yüzde Değişim Oranları

CA1, CA2, CA3 ve dentat girus bölgelerindeki hücre sayılarının EMA, EMA+W3, EMA+MEL gruplarına göre yüzde değişim oranları verilmiştir (Şekil 29). Buna göre EMA grubunun CA1, CA2, CA3 ve dentat girus bölgelerinde yüzde değişimleri sırasıyla % 34, 5, % 45, %7 ve %14 şeklinde olup elektromanyetik alan maruziyete sonrası CA2 bölgesindeki nöron kaybının diğer bölgelere oranla daha fazla olduğu dikkat çekmiştir (Şekil 29). Bununla birlikte elektromanyetik alan maruziyeti sonrası 50 mg/kg/gün dozunda melatonin enjeksiyonu yapılan gruptaki nöron kaybının önlenmesi CA1, CA2, CA3 bölgeleri ve ve dentat girusta sırasıyla % 50, %114, %4, %21 oranında izlenmiştir (Şekil 29). CA1 ve CA2 bölgelerindeki ortaya çıkan olumlu etki CA3 ve dentat Girus bölgelerine oranla daha belirgindir. Ayrıca elektromanyetik alan maruziyeti sonrası 15 mg / kg / gün dozunda omega-3 alımı olan grupta granüler hücre kaybının önlenmesi CA1, CA2, CA3 bölgeleri ve ve dentat girusta sırasıyla %51, %59, %42, %35 oranında görülmüştür. Buna göre CA2 bölgesinde izlenen oran CA1, CA3 ve dentat girusa göre daha fazladır (Şekil 29).



**Şekil 29.** EMA, EMA+W3 ve EMA+MEL gruplarında ortaya çıkan hücre sayısındaki değişimlerin yüzde oranları.

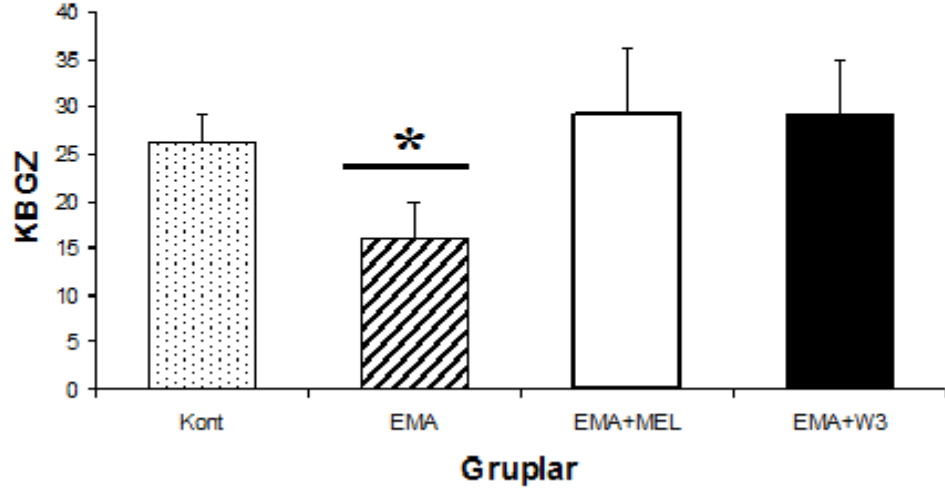
#### **4.6.Pasif Sakınma Testi Bulguları**

Deney gruplarından elde edilen birinci gün ve ikinci gün aydınlık bölümden ‘karanlık bölüme geçme zamanlarının (KBGZ) ortalamaları ve lokomotor aktivite ölçüm değerlerinin ortalamaları sunulmuştur (Tablo 11). Birinci gün elde edilen KBGZ ortalama değerleri ve lokomotor aktivite ölçüm değerlerinin ortalamaları açısından karşılaştırıldığında, EMA+MEL, Kont ve EMA+W3 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ). Ancak EMA grubu diğer gruplarla kıyaslandığında anlamlı derece fark gözlemlendi. EMA grubunun 24 saat sonraki KBGZ değerlerinin diğerlerine oranla daha kısa olduğu ortaya konuldu ( $p<0,005$ ), (Şekil 27).

##### **4.6.1. Deneklerin Ortalama Karanlık Bölmeye Geçiş Zamanı**

Birinci gün KBGZ (Retansiyon zamanı-RZ) ortalama değerleri (Tablo 13) açısından karşılaştırıldığında, EMA grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ( $p<0,05$ ), (Tablo 13, Şekil 29).

## BİRİNCİ GÜN KARANLIK BÖLMEME GEÇME ZAMANLARI



Şekil 30. Birinci gün sonunda deneklerin karanlık bölme geçme zamanları

Tablo 11. Grupların birinci gün sonunda ortalama KBGZ ve ortalama standart hatası (OSH) (\*:  $p < 0,05$ )

Grup	Ortalama KBGZ ± OSH
Kont	29±6
EMA	16±4 *
EMA+ MEL	29±7
EMA+W3	26±3

\*= ( $p < 0,05$ )

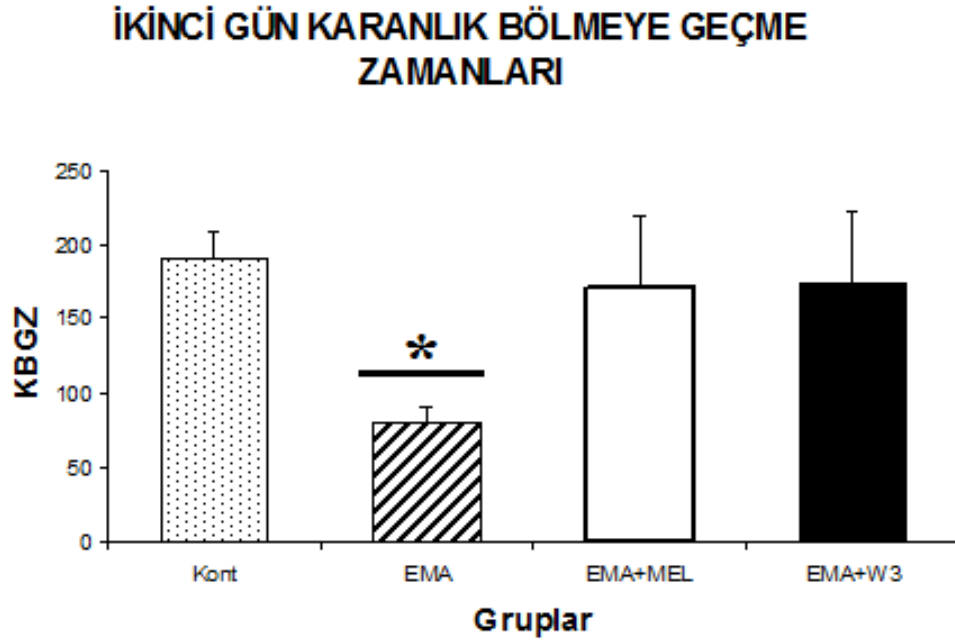
### 4.6.2 Deneklerin Ortalama Retansiyon Zamanı

İkinci gün KBGZ (Retansiyon zamanı-RZ) ortalama değerleri (Tablo 13) açısından karşılaştırıldığında, EMA grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ( $p < 0,05$ ) (Tablo 14, Şekil 31).

**Tablo 13.** Grupların ikinci gün sonunda ortalama KBGZ (Retansiyon zamanı) ve Ortalama Standart Hata

Grup	Ortalama KBGZ $\pm$ OSH
Kont	190 $\pm$ 19
EMA	79 $\pm$ 12*
EMA+ MEL	173 $\pm$ 50
EMA+W3	171 $\pm$ 48

\*= p< 0,05

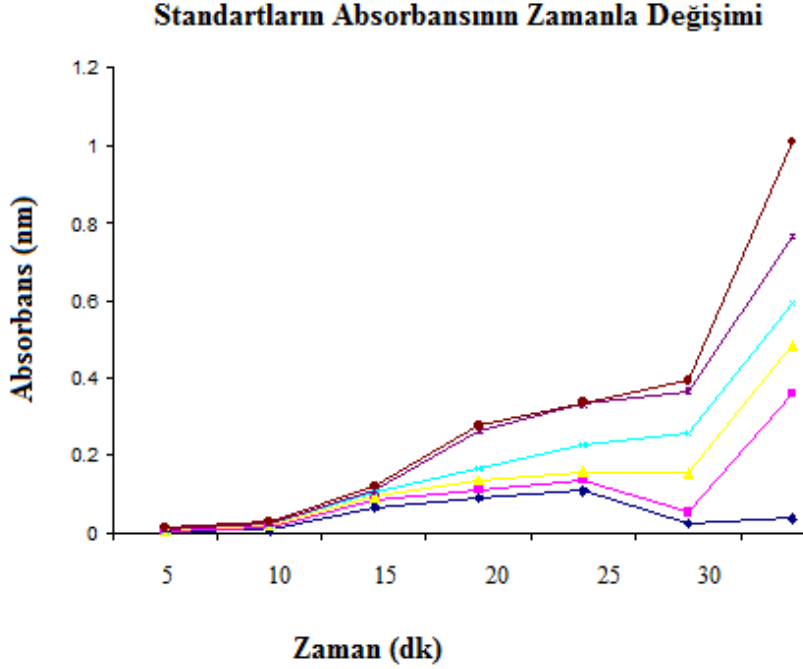


**Şekil 31.** İkinci gün sonunda deneklerin karanlık bölme geçme zamanları(\*: p< 0,05 )

## 4.7. Biyokimyasal Analiz Bulguları

### 4.7.1. Total Glutasyon Hesaplanmasında Standart Solüsyonlara Ait Bulgular

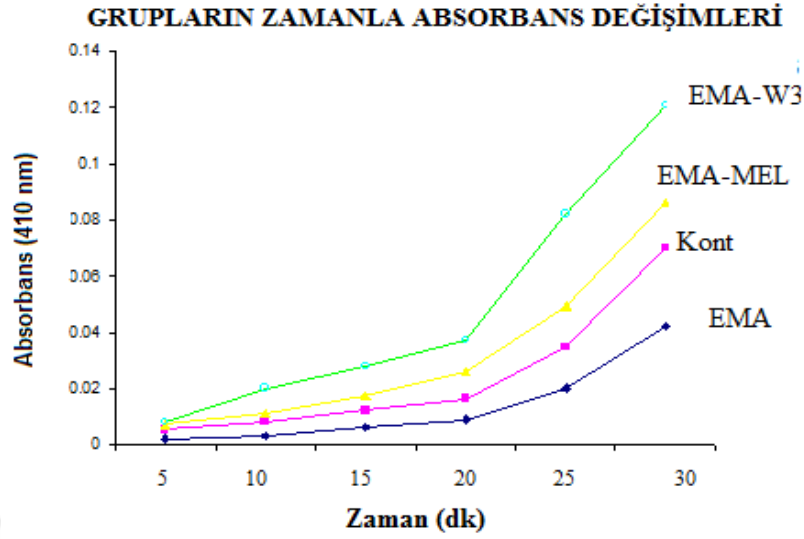
Her standardın 5.-30. dakikalar arasındaki verilerin 5.-30. dakikalar arasındaki Total GSH absorbans değerlerinin zamanla değişimleri şekilde verilmiştir (Şekil 32).



Şekil 32. Standartların 5.-10.dakikalar arasındaki Total GSH absorbans değerlerinin değişim grafiği.

### 4.7.2. Gruplara Ait Total Glutasyon Tayininde Ortalama Absorbans Değerlerinin Zamanla Değişimi

Gruplara ait serum örneklerinden analiz edilen spektrofotometrik verilerin 5.-30. dakikalar arasındaki Total GSH absorbans değerlerinin zamanla değişimleri şekilde verilmiştir (Şekil 33).



Şekil 33. Grupların 5.-30.dakikalar arasındaki total GSH absorbans değerlerinin değişim grafiği.

#### 4.7.3. Grupların Ortalama Total Glutasyon Miktarları

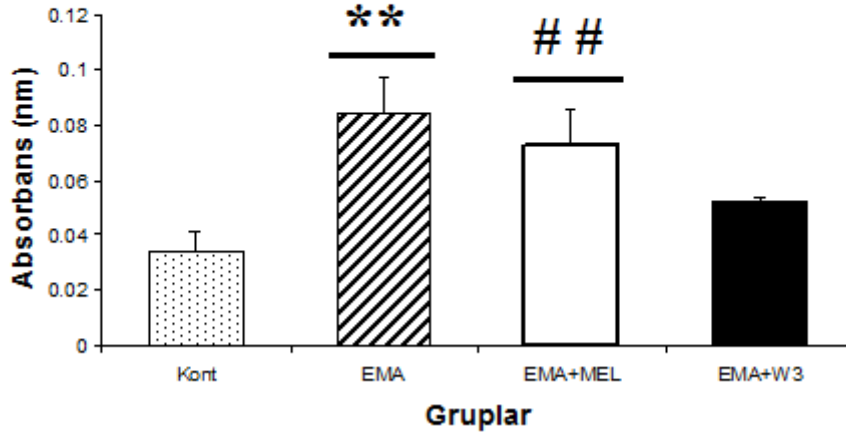
EMA, EMA+MEL, EMA+W3 ve Kont gruplarına ait ortalama total GSH absorbans değerleri ve ortalama standart hataları Tablo 14’te verilmiştir. Kontrol grubu ile diğer gruplar arasında ileri derecede anlamlı fark görülmüştür ( $p < 0,01$ ). Bunun yanı sıra EMA grubu EMA+W3 ve EMA+MEL grupları arasında ileri derecede anlamlı fark görülmüştür ( $p < 0,01$ ). EMA ile EMA+MEL grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görülmemiştir ( $p > 0,05$ ) (Şekil 34).

Tablo 14. Grupların ortalama total GSH absorbans oranları ve ortalama standart hatası (OSH)

Grup	Ortalama total GSH absorbans oranı $\pm$ OSH
Kont	0,034 $\pm$ 0,007
EMA	0,084 $\pm$ 0,013**
EMA+MEL	0,073 $\pm$ 0,012**
EMA+W3	0,052 $\pm$ 0,002

\*=  $p < 0,01$

### Total GSH Absorbans Ölçümleri



Şekil 34. Glutasyon absorbans değerleri. (\*\*, ##:  $p < 0,01$ )

#### 4.7.4. Grupların Ortalama Katalaz Miktarları

EMA, EMA+MEL, EMA+W3 ve Kont gruplarına ait ortalama katalaz absorbans değerleri ve ortalama standart hataları Tablo 15’de verilmiştir. Kont grubu ile EMA+MEL ve EMA grupları arasında ileri derecede anlamlı fark görüldü ( $p < 0,01$ ). Bununla birlikte Kontrol grubu ile EMA+W3 grubu arasında ve EMA ile EMA+MEL grubu arasında istatistiksel açıdan bir fark görülmedi ( $p > 0,05$ ). Bununla birlikte EMA grubu ile EMA+MEL grupları arasında ileri derecede anlamlı fark görüldü ( $p < 0,001$ ), (Şekil 35).

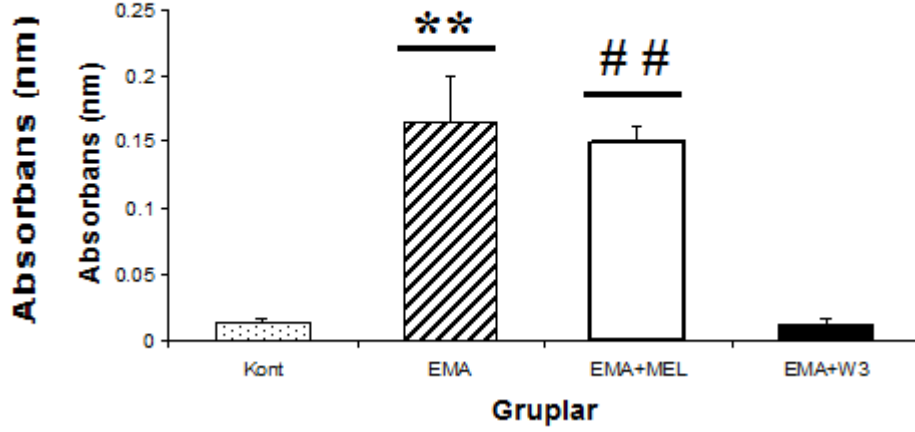
Tablo 15. Katalaz absorbans oranları ve ortalama standart hatası (OSH)

Grup	Ortalama Total GSH absorbans oranı $\pm$ OSH
Kont	0,014 $\pm$ 0,003
EMA	0,165 $\pm$ 0,035**
EMA+MEL	0,012 $\pm$ 0,005**
EMA+W3	0,149 $\pm$ 0,013

\*\*=  $p < 0,01$



### Total Katalaz Absorbans Ölçümleri



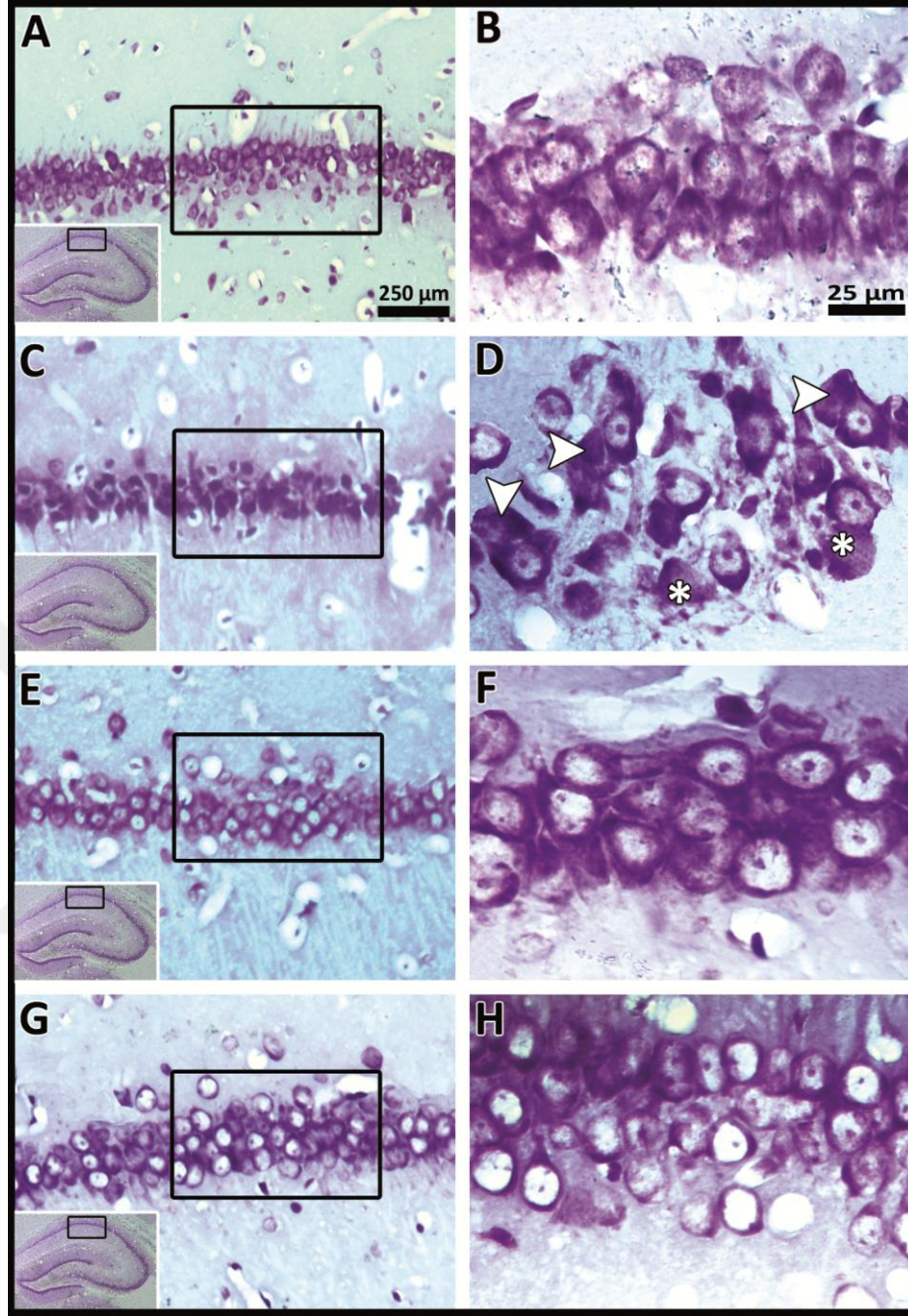
Şekil 35. Katalaz absorbans değerleri. (\*\*, ##:  $p < 0,01$ )

#### 4.8. Işık Mikroskopi Bulguları

##### 4.8.1. Grupların CA1 Bölgesinde Görülen Işık Mikroskopik Bulgular

EMA, EMA+MEL, EMA+W3 ve Kontrol grubunun CA1 bölgelerinde stereolojik analiz sonucu EMA grubundaki piramidal nöron sayılarında diğer gruplara kıyasla ileri derecede azalma olduğu saptandı ( $p < 0,001$ ). Işık mikroskopik görüntülerde de hücrelerdeki azalma ortaya konulmuştur. Bunun yanı sıra EMA grubuna ait görüntülerde heterokromatik boyanmış nöronlara (beyaz ok başı) ve çekirdekçiği görünmeyen nöron gövdelerine rastlandı. Ayrıca bazı bölgelerde çekirdeği seçilemeyen, büzüşmüş bir takım nöron kalıntıları (beyaz yıldız) da görünmekteydi (Şekil 34).

Kontrol, EMA+MEL ve EMA+W3 gruplarının CA1 bölgesinde bulunan nöronlar ise normal görünümdeydi. Histopatolojik incelemede nöronların sınırları düzgün ve nöronlar piramidal görünümdeydi. Bu gruba ait hücrelerin çekirdekçikleri net bir şekilde seçiliyordu. Ayrıca EMA grubundaki nöronal dizilimin diğer gruplara kıyasla dağınık olduğu dikkat çekti (Şekil 36).



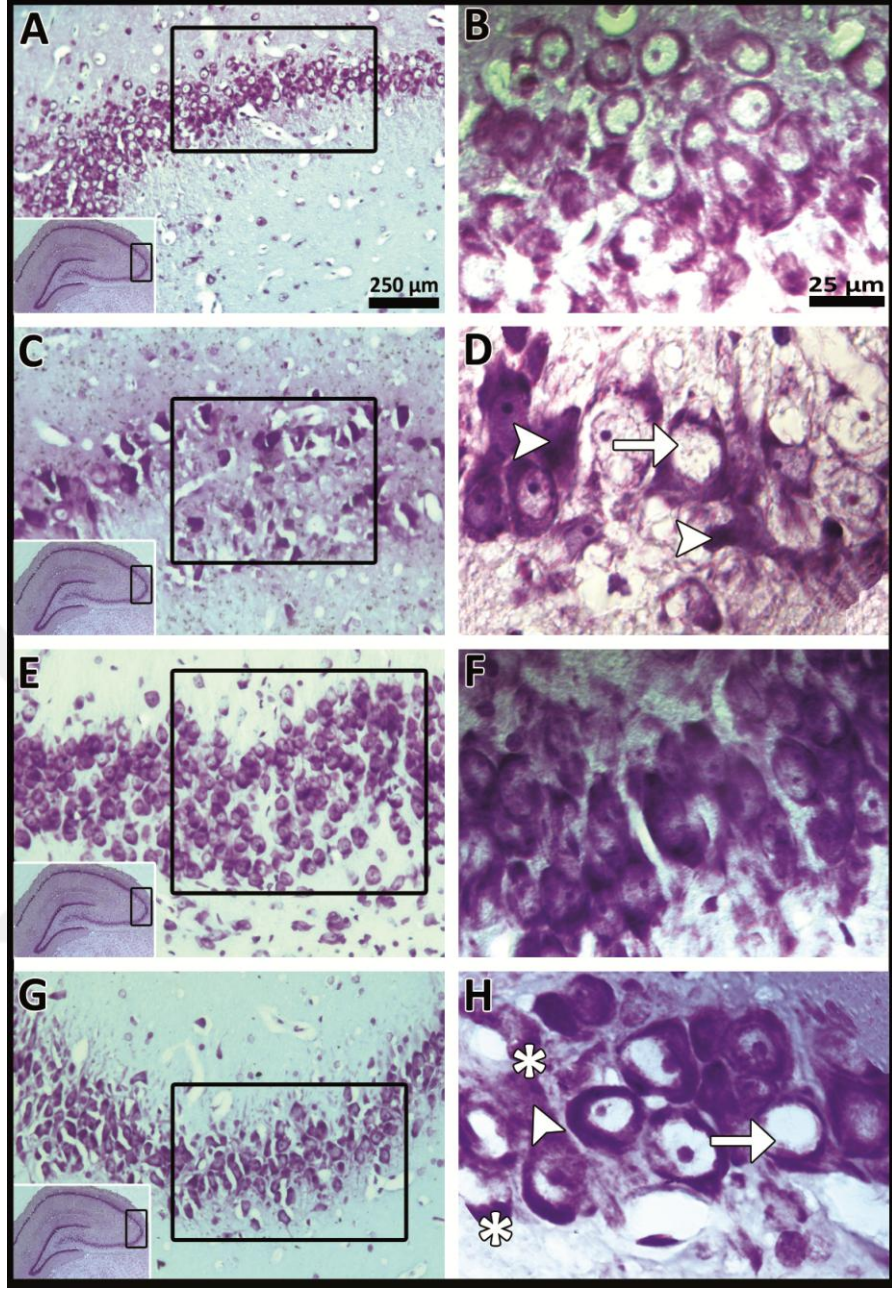
**Şekil 36.** Kont, EMA, EMA+MEL ve EMA+W3 Grubu hipokampus CA1 bölgesine ait kresil viyole ile boyanmış histolojik görüntüler yer almaktadır. A ve B’ de kontrol grubuna ait sırasıyla x5 lik, x20 lik ve x100 lük büyütmedeki hipokampus yapısı görülmektedir. C, D’de EMA grubuna ait sırasıyla x5 lik, x20 lik ve x100 lük büyütmedeki hipokampus yapısı görülmektedir. E, F’de EMA+MEL grubuna ait sırasıyla x5 lik, x20 lik ve x100 lük büyütmedeki hipokampus yapısı görülmektedir. G,H’ da EMA+W3 grubuna ait sırasıyla x5 lik, x20 lik ve x100 lük büyütmedeki hipokampus yapısı görülmektedir (250 µm lik bar x5lik ve x20lik büyütmeleri, 25 µm lik bar x100lük büyütme yi temsil etmektedir.)

#### 4.8.2. Grupların CA2 Bölgesinde Görülen Işık Mikroskopik Bulgular

EMA, EMA+MEL, EMA+W3 ve Kont grubunun CA2 bölgelerinde stereolojik analiz sonucu EMA grubundaki piramidal nöron sayıları ile EMA+W3 ve Kont grupları arasında herhangi bir fark görülmezken EMA+MEL grubuna ait nöron sayıları diğer gruplara kıyasla ileri derecede anlamlı olarak fark gösterdi ( $p < 0,01$ ). Işık mikroskopik görüntülerde de bu azalma ortaya konulmuştur. EMA grubuna ait görüntülerde heterokromatik boyanmış nöronların CA1 bölgesine göre daha sık görünüyör olması dikkat çekti (Şekil 35, beyaz ok başı). EMA ve EMA+W3 grubuna ait nöronların bir kısmında çekirdekçik içeriği görülemedi ( Şekil 35, beyaz ok)

Kontrol, EMA+MEL ve EMA+W3 grubunun CA2 bölgesinde bulunan nöronlar normal görünümdeydi. Histopatolojik incelemede nöronların sınırları düzgün ve piramidal görünümdeydi. Bununla birlikte EMA+W3 grubunda nöronal kalıntılara (beyaz yıldız) rastlandı (Şekil 37).





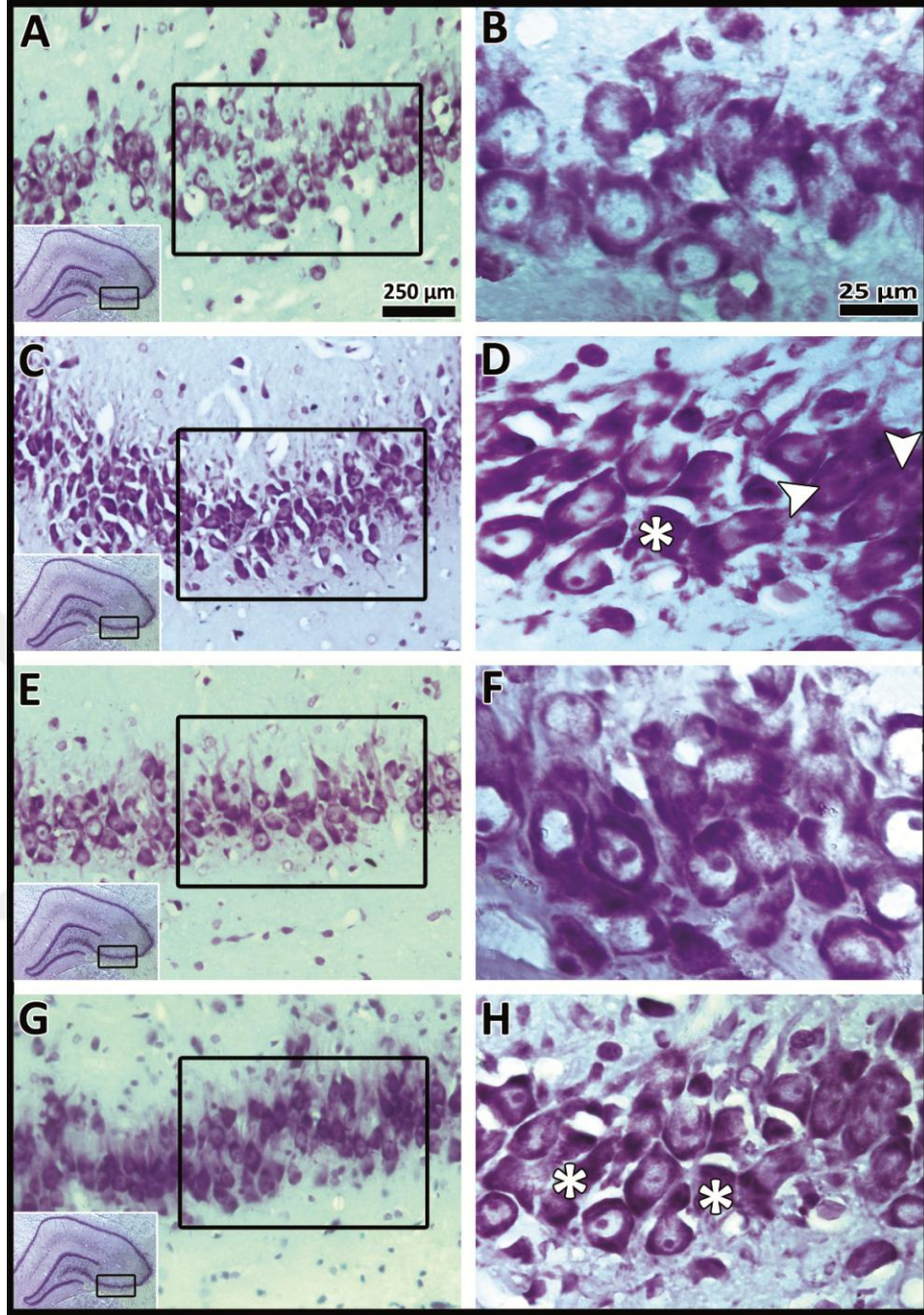
**Şekil 37.** Kont, Kont, EMA, EMA+MEL ve EMA+W3 hipokampus CA2 bölgesine ait kresil viyole ile boyanmış histolojik görüntüler yer almaktadır. A ve B’ de kontrol grubuna ait sırasıyla x5 lik, x20 lik ve x100 lük büyütmedeki hipokampus yapısı görülmektedir. C, D’de EMA grubuna ait sırasıyla x5 lik, x20 lik ve x100 lük büyütmedeki hipokampus yapısı görülmektedir. E, F’de EMA+MEL grubuna ait sırasıyla x5 lik, x20 lik ve x100 lük büyütmedeki hipokampus yapısı görülmektedir. G,H’ da EMA+W3 grubuna ait sırasıyla x5 lik, x20 lik ve x100 lük büyütmedeki hipokampus yapısı görülmektedir (250 µm lik bar x5lik ve x20lik büyütmeleri, 25 µm lik bar x100lük büyütme yi temsil etmektedir.)

#### 4.8.3. Grupların CA3 Bölgesinde Görülen Işık Mikroskopik Bulgular

EMA, EMA+MEL, EMA+W3 ve Kont grubunun CA3 bölgelerinde stereolojik analiz sonucu EMA grubundaki piramidal nöron sayılarında diğer gruplara kıyasla ileri derecede azalma olduğu saptandı ( $p<0,001$ ). Ayrıca EMA+W3 grubunda CA3 bölgesindeki piramidal nöron sayısının diğer gruplara kıyasla ileri derece anlamlı olarak fazla olduğu saptandı ( $p<0,001$ ). Işık mikroskopik görüntülerde de bu artma ortaya konulmuştur. EMA grubuna ait görüntülerde heterokromatik boyanmış nöronlara CA1 ve CA2 bölgelerinde aynı gruba ait nöronlara kıyasla daha sık rastlandı (Şekil 36, beyaz ok başı).

Kontrol, EMA+MEL ve EMA+W3 grubunun CA3 bölgesinde bulunan nöronlar sağlıklı görünümdeydi. Nöronların sınırları oldukça belirgindi. Bununla birlikte dejenerasyon sonucu ortaya çıkan nöron kalıntıları EMA ve EMA+W3 gruplarında dikkat çekti ( beyaz yıldız) (Şekil 38).



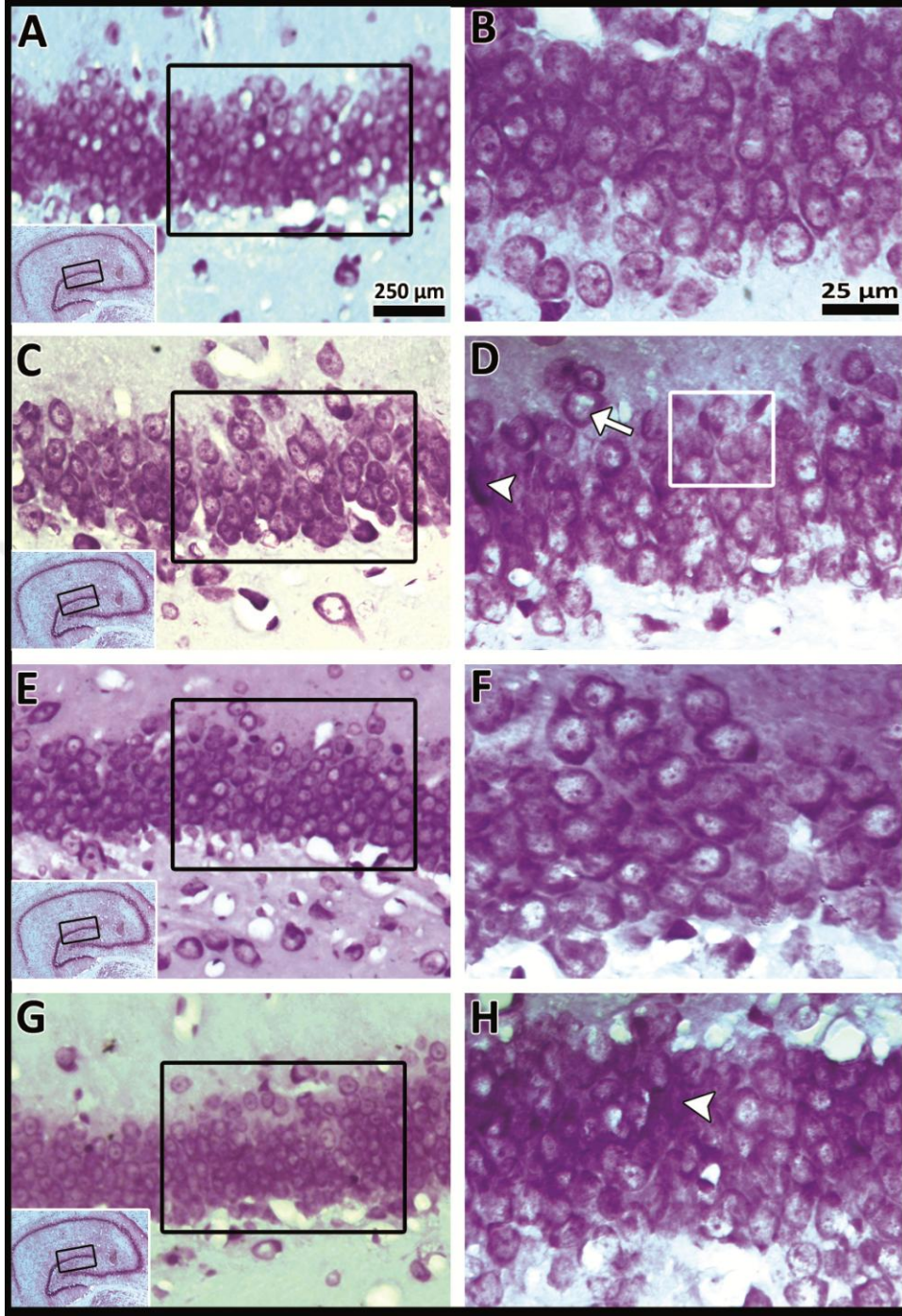


**Şekil 38.** Kont, EMA, EMA+MEL, EMA+W3 ve Grubu hipokampus CA3 bölgesine ait kresil viyole ile boyanmış histolojik görüntüler yer almaktadır. A ve B’ de kontrol grubuna ait sırasıyla x5 lik, x20 lik ve x100 lük büyütmedeki hipokampus yapısı görülmektedir. C, D’de EMA grubuna ait sırasıyla x5 lik, x20 lik ve x100 lük büyütmedeki hipokampus yapısı görülmektedir. E, F’de EMA+MEL grubuna ait sırasıyla x5 lik, x20 lik ve x100 lük büyütmedeki hipokampus yapısı görülmektedir. G, H’ da EMA+W3 grubuna ait sırasıyla x5 lik, x20 lik ve x100 lük büyütmedeki hipokampus yapısı görülmektedir (250 µm lik bar x5lik ve x20lik büyütmeleri, 25 µm lik bar x100lük büyütme yi temsil etmektedir.)

#### **4.8.4. Grupların Dentat Girus Bölgesinde Görülen Işık Mikroskopik Bulgular**

EMA, EMA+MEL, EMA+W3 ve Kont grubunun dentat girus bölgelerinde stereolojik analiz sonucu EMA grubundaki granüler hücre sayılarında diğer gruplarla arasında ileri derecede anlamlı fark olduğu saptandı ( $p<0,001$ ). Nöron sayısının EMA grubunda azaldığı ışık mikroskopi bulguları ile desteklendi. Ayrıca EMA+W3 grubunda dentat girus bölgesindeki granüler sayısının diğer gruplara kıyasla ileri derece anlamlı olarak arttığı saptandı ( $p<0,001$ ). Işık mikroskopik görüntülerde de granüler hücre yoğunluğuna rastlandı. EMA grubuna ait görüntülerde bazı granül hücre çekirdeklerinin heterokromatik boyanmış (beyaz ok başı) olduğu, bazı granüler hücrelerin çekirdekçiklerinin olmadığı (beyaz ok) ve hücrelerin çekirdek sınırlarının belirsiz olduğu (beyaz kare içine alınan alan) görüldü. Bununla birlikte EMA+W3 grubuna ait kesitler incelendiğinde granüler hücrelerin yoğunluğunun diğer gruplara kıyasla daha sık olduğu görülürken dizilimleri EMA ve EMA+MEL gruplarına kıyasla daha düzgün olarak izlendi. EMA+W3 grubunda da heterokromatik boyanan çekirdekler dikkat çekti (beyaz ok başı), (Şekil 39).





**Şekil 39.** Kont, EMA, EMA+MEL, EMA+W3 ve Grubu hipokampus CA3 bölgesine ait kresil viyole ile boyanmış histolojik görüntüler yer almaktadır. A ve B’ de kontrol grubuna ait sırasıyla x5 lik, x20 lik ve x100 lük büyütmedeki hipokampus yapısı görülmektedir. C, D’de EMA grubuna ait sırasıyla x5 lik, x20 lik ve x100 lük büyütmedeki hipokampus yapısı görülmektedir. E, F’de EMA+MEL grubuna ait sırasıyla x5 lik, x20 lik ve x100 lük büyütmedeki hipokampus yapısı görülmektedir. G, H’ da EMA+W3 grubuna ait sırasıyla x5 lik, x20 lik ve x100 lük büyütmedeki hipokampus yapısı görülmektedir (250 µm lik bar x5lik ve x20lik büyütmeleri, 25 µm lik bar x100lük büyütme yi temsil etmektedir.)



## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızın ana fikri günümüzde yaygın kullanılan cep telefonlarının insan sağlığı üzerine ne derece etkili olduğunu anlamaya yöneliktir. Cep telefonları çalışırken özellikle kullanıcının kafa bölgesine çok yakın konumda tutulur. Bu kullanım sonucunda, cihazlardan kaynaklanan yakın alan güç yoğunlukları nedeniyle kullanıcılar bazı durumlarda zararlı seviyede EMA'ya maruz kalırlar. Bu durum özellikle birçok çalışmayı bu konu üzerine yöneltmiştir (Sönmez ve ark., 2010). Yapılan bu çalışma ile EMA maruziyetinin bir etkisi olarak EMA grubunun bireylerinin hipokampus piramidal nöron sayısının ve dentat girusta bulunan granüler hücre sayısının diğer gruplara göre oldukça düşük olduğu görülmüştür.

Beynin bir parçası olan hipokampus öğrenme ve sonrasında öğrenilen bilgiyi depolayarak belleği de içine alan bazı davranışsal ve bilişsel işlevleri kontrol etmekle yükümlü bölgedir (Odacı ve ark., 2008). Dünyadaki telefonların çoğu 900 MHz frekansında çalışmaktadır. Küresel mobil iletişim (GSM) uyarınca da dünyadaki cep telefonları için en popüler standart 900 MHz'dir (Odacı ve ark., 2008). Bu nedenle bu çalışmada 900 MHz dalga frekansı seçilmiştir. Zararlı çevre şartları prenatal dönemde gerçekleşen beyindeki nörogenezisi derinden etkilemektedir, bu noktada; bu tür koşullar aynı zamanda nörobiyolojik veya davranışsal defektleri arttırmış olabilir (Odacı ve ark., 2008). Bugüne kadar yüksek hassasiyette nöron sayımı gerçekleştirilen stereoloji teknikleriyle yapılan birkaç çalışma mevcuttur, bu çalışmalarda sadece 900 MHz EMA maruziyeti sonrası meydana gelen değişiklikler değerlendirilmiştir (Odacı ve ark., 2008; Sonmez ve ark., 2010). Sunulan çalışmada ise bu unsurların yanı sıra MEL ve w3'ün de etkisi araştırılmıştır.

Odacı ve ark., (2008) sıçanlarda prenatal dönemleri boyunca 900 MHz EMA maruz bırakılan grubun bireylerinin dentat girusundaki granüler nöron sayısında kontrol grubuna kıyasla azalmaya rastlamışlardır. Çalışmalar göstermektedir ki kantitatif yapılan analizler sonrasında EMA maruz bırakılan sıçanların hipokampusunda sadece hücre sayısının azalmasının yanı sıra nöron hücrelerinde bir çok morfolojik bozulmalar da olmuştur (Baş ve ark., 2009). Bu çalışmalarda ortaya çıkan sonuçlar çalışmamızdaki stereolojik bulgularla örtüşür niteliktedir.

Benzer bir çıkış noktası ile yola çıkan Baş ve ark., (2009) prenatal dönemlerinde 900 MHz EMA maruz bırakılan dört haftalık sıçanların hipokampus CA

bölgelerindeki toplam piramidal nöron sayısının kontrol grubuna kıyasla azaldığını saptamışlardır.

Sönmez ve ark., (2010) 28 gün boyunca bir saat EMA maruz bıraktıkları dişi sıçanların beyincik Purkinje hücre sayılarında hiçbir işlemin olmadığı Kontrol grubu ile sham grubu beyincik Purkinje sayılarına göre belirgin bir düşüşün olduğunu yaptıkları çalışma sonucunda göstermişlerdir. Bas ve ark., (2009) Kontrol, EMA (EMA) uygulanan ve EMA düzeneği uygulanıp EMA maruz bırakılmayan sham grubu ile yapılan çalışmalarında, 28 gün boyunca bir saat süreyle EMA maruz kalan EMA grubu yetişkin dişi bireylerin hipokampusunda piramidal nöron sayısındaki anlamlı düşüşü bulgulamışlardır. Tüm bunlardan yola çıkarak yapılan çalışmalar EMA maruziyetinin özellikle sinir sistemi gelişimi üzerine olumsuz etki yaptığını ortaya koyar niteliktedir. Öte yandan Saygın (2009), yapmış olduğu deneyde dört hafta boyunca haftada yedi gün ve günde 60 dakika 3,21 W/kg gücünde 2,45 GHz dalga frekansında EMA'ya maruz bırakılan sıçanların, serum hormon değerlerinden FSH ve LH değerlerinde bariz değişiklik gözlenmezken, testosteron değerlerinde değişiklik saptandığını ileri sürmüştür. Total testosteron seviyesinin Kont grubuna göre anlamlı olarak azaldığını sonuçlarında belirtmiştir.

Çalışmalarda ortaya konan olumsuz etkilerin aksine EMA tedavi amaçlı kullanımına yönelik çalışmalar da yapılmıştır. MEL ve w3'ün etkilerinin cep telefonu frekansında EMA kullanılarak yapılan ve hipokampus CA bölgesinin piramidal nöron sayısına ve dentat girusdaki granüler hücre sayısına etkilerinin değerlendirilmesi açısından çalışma özgünlük taşımaktadır. Ancak farklı alanlarda kullanıldığı bazı çalışmalar mevcuttur. Pineal bezden salgılanan MEL, direk radikal süpürücü ve antioksidan olarak bilinir (Kuş ve Sarsılmaz, 2002). Bununla birlikte, MEL yüksek lipofilik bir yapıya sahip olduğu çok iyi bilinmektedir. Hücrenin tüm komponentlerine kolayca girebilir ve bu özelliği beyin dokusundaki koruyuculuğunu açıklamaktadır. Kavaklı ve ark.nın 2007 de yaptığı bir diğer çalışma ise melatoninin iskemik reperfüzyon sonucu oluşan beyin hasarını önemli ölçüde azalttığını kanıtlamıştır.Melatoninin yüksek bir lipofilik yapıya sahip olması hücrenin tüm birimlerine kolayca girebileceği gerçeğini ortaya koyar.Bu yüzden antioksidan etkinliği ve serbest radikal süpürücü özelliği yadsınamaz (Kuş ve Sarsılmaz, 2002, Kavaklı ve ark.,2007).

MEL antikanser ve antioksidan etkinliğinin yanı sıra yapılan çalışmalarda özellikle hipokampus bölgesinde NMDA ( N-metil- D Aspartat) reseptör etkinliğini arttırdığı 2006'da Sütçü ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile bulgulanmıştır (Sütçü ve ark., 2006). Çalışmamızdaki pasif sakınma test bulgularına baktığımızda omega3 ve melatoninin öğrenme ve bellek üzerine koruyucu etkisini görebiliriz.

Bu çalışmalarda MEL koruyucu etkisinin olduğu özellikle CA2 bölgesindeki nöron sayısında izlenen artışla ortaya konmuştur. Bu noktada MEL, EMA uygulama sonucu oluşan hasarı azalttığı sonucuna varılabilir. Genellikle MEL dışarıdan verilmiş ve fizyolojik MEL salgılanması devam etmiştir. NMDA reseptörü, öğrenme ve bellek oluşumu olaylarını içeren uzun süreli potansiyasyonun uyarılmasında kritik bir faktör olarak bilinir(Rison ve Stanton, 1995; Stanton, 1996; Martin ve ark., 2000).MEL'in antioksidan özelliği ile ilgili ortaya konan sonuçlar çalışmamızda elde ettiğimiz verilerle de desteklenmiştir.

Son günlerde birçok araştırmaya konu olmuş w3 yağ asidi olup, özellikle kalp-damar sistemi üzerinde gösterdiği koruyucu etkiler nedeniyle ün kazanmıştır. EPA ve DHA iki önemli w3 yağ asidi olup balık yağı içinde bulunmaktadır (Bousquet ve ark., 2011). Balık yağı özellikle EPA ve DHA için önemli bir besin kaynağıdır. Yapılan araştırmalar sonucunda ÇDYA'larının plazma lipid düzeyinin regülasyonu, insülin etkisi, kalp damar sistemi ve bağışıklık sistemi, sinir gelişimi ve görme duyusu gibi normal sağlık koşullarındaki ve kronik hastalıkların mekanizmalarında rol oynayan çeşitli fizyolojik olaylarda etkisi gösterilmiştir. w3 yağ asitlerinin bir diğer özelliği de oksidatif stres üzerindeki etkisidir. Yapılan araştırmalar sonucunda EPA ve DHA' nın ayrı ayrı veya birlikte kullanımından sonra oksidatif stresin azaldığı gösterilmiştir. Bu etkinin olası mekanizmasının ÇDYA'ların immün modülasyon etkisine ve lökosit aktivasyonunu azaltmasına bağlı olduğu düşünülmüştür (Navaei, 2007). Ayrıca Navaei, (2007) total venöz yetmezlik oluşturulmuş sıçan epigastrik ada flebinde omega-3 yağ asidinin flep yaşayabilirliği üzerine olumlu etkisi olduğunu yaptığı çalışmasıyla ortaya koymuştur.

Yapılan bu çalışma ile birlikte, EMA'ya maruziyette omega-3 kullanımı ile EMAın insan sağlığı üzerine olan olumsuz etkilerinin azaltılabileceği sayısal verilerle desteklenmiş olup w3'ün protektif etkisini daha çok ortaya koymaya yönelik araştırma yapılmalıdır. Özellikle yaptığımız çalışmada EMA+W3 grubunda, dentat girus ve CA3

bölgelerinde Kont grubundan farklı olarak izlenen nöron artışı w3'ün beyinde oluşturduğu antioksidan etkiye yönelik yeni araştırmalar yapılmalıdır. Bu durum omega-3'ün nörogenezise sebep olması ile açıklanabilir ancak yeni immünohistokimyasal çalışmalar yapılarak sonuçların desteklenmesi gerekmektedir.

Bununla birlikte sunulan çalışmada stereolojik bir yöntem olan optik parçalama yöntemi kullanılmıştır. Stereolojik yöntemlerin gerçekte üç boyutlu olan canlı ya da cansız yapıların, iki boyutlu düzlemdeki özelliklerinden yola çıkarak geometrik ve sayısal özellikleri hakkında bilgi edinilmesini sağlamasıdır. Etkinlik ve tarafsızlık özelliği ile nicelikleri gerçeğe en yakın değerlerde sunar. Çalışmada sayısal verilerini elde ettiğimiz yapı hipokampus CA1, CA2, CA3 bölgelerinin ve dentat girusun toplam piramidal nöronlarıdır. Optik parçalama yöntemi ile yaptığımız hücre sayımında, hipokampus CA1, CA2 ve CA3 alanlarındaki ortalama nöron sayısı ve dentat girus bölgesindeki granüler hücre verileri bulgulanmıştır. Çalışma, EMA, EMA+MEL, EMA+w3 ve Kont grupları olmak üzere dört gruptan oluşmaktadır (Tablo 1). Bu sonuçlardan yola çıkarak EMA grubunun CA1 ve CA2 bölgeleri ile dentat girusta nöron sayısında ileri derecede anlamlı bir azalmaya neden olduğu yapılan istatistiksel analizler sonucunda gösterilmiştir ( $p < 0,001$ ). Bununla birlikte CA 3 bölgesinde EMA maruziyetinin nöron sayısı üzerine etkisi bulunmamaktadır ( $p > 0,05$ ). Sunulan çalışmada biyokimyasal analiz sonuçları değerlendirilmiş olup EMA ve EMA+MEL grupları arasında istatistiksel açıdan bir fark görülmezken ( $p > 0,05$ ). EMA ve EMA+MEL gruplarının katalaz ve glutatyon enzim absorbans ölçümleri Kont ve EMA+W3 'den daha yüksek çıkmıştır (Tablo 14 ve Tablo 15). EMA maruziyeti sonucu meydana gelen serbest radikaller reaktif ve karasız maddelerdir Oksidan ve antioksidan arasındaki denge serbest radikal artışı ile bozulabilir ve bu bozulma il ortaya oksidatif stres çıkar (Moustafa, 2001). Serbest radikallerin etkilerini önleyen çeşitli antioksidan enzimatik ve non enzimatik sistemler bulunur. Kim ve ark., yaptıkları çalışmada, 2.45 GHz EMA'ya maruziyetin, sıçan kalbindeki oksidan ve antioksidan sistem üzerine etkilerini incelemişlerdir. Sıçanlar 2.45 GHz ışıma 6 gün süreyle günde 15 dakika maruz bırakılmışlardır. Sonuçta EMA'ya maruz kalan kalp dokusunda süperoksid radikali, lipid peroksidaz, okside protein ve lipofuksin gibi oksidatif stres göstergelerinin arttığını, antioksidan sistemin zayıfladığını tespit etmişlerdir (Kim ve ark., 2004). İlhan ve ark. cep telefonlarının oluşturduğu EMA'nın beyin dokusunda GPx

aktivitelerini düşürdüğünü göstermiştir (İlhan ve ark., 2004). Bediz ve ark. 50 Hz EMA maruz kalan sıçan eritrosit ve beyinlerinde glutasyon seviyelerinin düştüğünü göstermiştir (Meral ve ark., 2007). Meral ve ark., cep telefonlarının oluşturduğu EMA'nın kobay beyin dokusunda antioksidan enzim aktivitelerini düşürdüğünü gözlemişlerdir (Bediz ve ark., 2006). Çalışmamızdaki bulgular bu çalışmalarla örtüşmekte olup EMA grubundaki katalaz ve glutasyon enzim aktivitelerindeki artışın MEL enjekte edilen grupla aynı düzeyde olması MEL serbest radikal temizleyici antioksidan etkisinin yemlerine w3 içeren balık yağı katılmış grupla kıyaslandığında, w3'ün antioksidan etkisinin daha güçlü olduğu sonucunu ortaya koymaktadır ( Tablo 14 ve 15). Çalışmamızın ortaya koyduğu sonuçlar omega-3 yağ asidi içeren balık yağı ile beslenen grupta serumdaki redükte glutasyon (GSH) absorbans değerleri incelendiğinde kontrol grubuna oranla istatistiksel açıdan anlamlı olmasa da yüksek düzeyde olduğu gözlenmiştir. Bu durum, Gutteridge ve ark. tarafından 1995'te öne sürülen omega-3 türevi olan DHA lipid peroksidasyonuna en duyarlı bileşiklerden biri olduğu bilgisinin bir kez daha altını çizer nitelikteydi. Normal koşullarda hücrede bulunan hidrojen peroksitin detoksifikasyonundan esas olarak glutasyon peroksidaz sorumludur. GPx, hidrojen peroksiti indirgenmiş glutasyonla(GSH) bağlayarak suya indirgenmesini sağlamaktadır. Bu reaksiyon sırasında GSH yükseltgenmiş glutatyona çevirir(GSSG) (Pajovic ve ark., 1999). Çalışmamızda EMA ve EMA+MEL gruplarından elde ettiğimiz yüksek serum GSH miktarlarının sebebi GSSG'ye dönüşmemesi ve hidrojen peroksiti bağlayamaması olarak izah edilebilir.Bu durumda Kont ve EMA+W3 grubunda bulunan düşük GSH ve yüksek GSSG miktarları,omega-3'ün serbest radikal süpürücü özelliğinin melatonine kıyasla daha etkin olduğunu öne sürer niteliktedir. İnsanda katalaz reaksiyonu için tercih edilen elektron vericisi glutasyon olduğundan ve GSH GSSG ye dönüşümü EMA ve EMA+MEL gruplarında gerçekleşmediği için katalaz miktarı serumda istatistiksel açıdan yüksek bulunmuştur.Hipokampus dokusunda SOD, CAT ve GSH oranlarını da kontrol ederek elde edilen veriler diğer çalışmalarda olduğu gibi(Meral ve ark.,2007;Bediz ve ark.2006) desteklenebilir. Bununla birlikte EMA+MEL ve EMA gruplarına ait katalaz ve GSH aktivitelerinin yüksek çıkması ortamdaki serbest radikal düzeyinin yüksek olduğu ve bu yüzden antioksidan enzimlerin seviyesinin yüksek çıktığı sonucuna da varılabilir.

Sonuç olarak 15 gün boyunca, günde bir saat 900 MHz EMA maruziyeti sonucu hipokampus CA bölgesinin piramidal nöron ve dentat girus bölgesinin granüler hücre sayısı azalması birçok çalışmada gösterilmiş olup, MEL ve w3 ün nöroprotektif etkinliği ve antioksidan savunmadaki etkisi histolojik ve biyokimyasal sonuçlarla ortaya konulmuştur. Ayrıca yeni çalışmalar için bir çıkış noktası oluşturmaktadır.



## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

900 MHz EMA prenatal dönem boyunca (0–15 günler arası) günde bir saat olmak kaydıyla maruz bırakılan EMA grubu erişkin sıçanların beyin hipokampus piramidal nöron sayılarında anlamlı bir azalmanın olduğu yaptığımız bu çalışma ile gösterilmiştir. Bu çalışmada w3, hipokampusun CA3 ve dentat girus bölgelerinde etki göstermiştir. Ortaya konulan biyokimyasal sonuçlar ile MEL antioksidan savunma etkisinin w3'e oranla daha fazla olduğu da ortaya konan sonuçlar arasında yer alabilir. Hipokampus CA2 bölgesinde MEL'in nöprotektif etkinliği w3'e kıyasla daha fazla dikkat çekmektedir. Hipokampusun CA1,CA2 bölgeleri ve dentat girusta, Kont grubu ile EMA grubunun ortalama piramidal nöron ve granüler hücre sayıları arasındaki fark istatistiksel olarak ileri derece anlamlı bulunmuştur ( $p<0,01$ ). Bu noktada EMA dalgalarının nörogenezisi olumsuz yönde etkilediği sonucuna ulaşılabilir. Hipokampusun CA3 bölgesinde Kont grubu ve EMA grubu arasında herhangi bir fark görülmemiştir ( $p>0,05$ ).

Kont grubu ile EMA+MEL grubunun piramidal nöron sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). EMA uygulanan ve bununla birlikte intraperitoneal (i.p) olarak 50 mg/kg/gün MEL enjeksiyonu yapılan bu grupta MEL EMA maruziyetinin etkilerini azalttığı düşünülebilir. MEL ve w3'ün hipokampus CA1, CA2 ve CA3 bölgelerinde nöroprotektif etkisi açıkça gözlenmektedir.

Kont grubu ve EMA+w3 grubunun piramidal nöron sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). 900 MHz EMA maruz bırakılan ve w3 diyet yem ile beslenen bu grupta (EMA+w3) w3 yağ asitlerinin EMA maruziyetinin etkilerini azalttığı düşünülebilir.

Stereolojik analiz sonuçları ve histopatolojik bulgulara ek olarak yapılan Pasif sakınma testinde de EMA grubundaki deneklerin diğer gruplara kıyasla öğrenme ve sonrasında bellek işlevlerinde anlamlı derecede azalma görüldüğü yapılan pasif sakınma testleri ile saptandı ( $p< 0,05$ ).





## KAYNAKLAR

- Ahmed OJ, Mehta MR, The hippocampal rate code: anatomy, physiology and theory. Trends in Neurosci. 2009; 32: 329–338.
- Akçay YD. Beslenme. Ulukaya E. Editör. Lippincott's Illustrated Reviews Serisinden: Biyokimya İstanbul, Nobel Tıp Kitap evleri, 2007; 360–361.
- Aksoy H. EMAların insan lenfosit kültürü ve bazı bitkiler üzerine genetik etkileri. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2006.
- Albert B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Hücrenin moleküler biyolojisi. Ankara, TÜBA, 2008.
- Anderson ME. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. Methods in Enzymol. 1985; 113: 548– 555.
- Anderson KD, Rouse TM, Randolph JG: A controlled trial of corticosteroids in children with corrosive injury of the esophagus. N Engl J Med 1990; 323: 637–640.
- Anisimov VN., Popovich IG., Zabezhinski MA., Anisimov SV., Vesnushkin GM., Vinogradova IA. MEL as antioxidant, geroprotector and anti carcinogen. Biochim Biophys Acta. 2006;1757:573–589
- Bas O, Odaci E, Kaplan S, Acer N, Uçok K, Colakoglu S. 900 MHz electromagnetic field exposure affects qualitative and quantitative features of hippocampal pyramidal cells in the adult female rat. Brain Res. 2009;1265:178–185.
- Bas O, Odaci E, Mollaoglu H, Uçok K, Kaplan S. Chronic prenatal exposure to the 900 megahertz electromagnetic field induces pyramidal cell loss in the hippocampus of newborn rats. Tox Ind Health. 2009;25: 377–384.
- Başpınar N, Kurtoğlu F. Vitaminler Ders Kitabı. Isparta. S.Ü. Veteriner Fak. Yayınevi Ünitesi, 2003.
- Bediz CS, Baltacı AK, Mogulkoc R, Oztekin E. Zinc supplementation ameliorates electromagnetic field-induced lipid peroxidation in the rat brain. Tohoku J Exp Med. 2006; 208(2):133–140.
- Bektaşlı M. Beyin ve kafa tabanı ışınlamalarında radyasyona toleransı düşük olan hipokampusün aldığı dozların araştırılması. İstanbul Üniversitesi, Sağlık

Bilimleri Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı Tıbbi Radyofizik Programı, Yüksek Lisans Tezi, 2008.

Beyer CE, Steketee JD, Saphier D. Antioxidant properties of MEL-an emerging mystery. *Biochem Pharmacol.* 1998;56:1265–1272.

Bharath S, Hsu M, Kaur D, Rajagopalan S, Andersen JK. Glutathione, iron and Parkinson's disease. *Biochem Pharmacol.* 2002; 64: 1037–1048.

Bousquet M, Calon F, Cicchetti F. Impact of omega-3 fatty acids in Parkinson's disease. *Ageing Res.* 2011;10: 453–463.

Brzezinski, A. MEL in humans. *N. Engl. J. Med.* 1997; 336: 186–195.

Çabuş N, Aluminyum Sülfatın toksik dozda sıçan hipokampusu hücre popülasyonlarına etkisi Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Denizli, Yüksek lisans Tezi, 2012.

De Gomez Dumm INT, Brenner RR. Oxydative desaturation of alpha linolnic, linoleic ve stericacids by human liver microsomes. *Lipids.* 1975; 10: 315–317.

Demir Ş. Etanolün hipokampus ve serebellum hücrelerine etkileri. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Samsun, Uzmanlık Tezi, 1999.

Elmas O. 50 Hz EMA maruziyetinin kalp üzerine anlık etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Uzmanlık Tezi, 2007, Isparta.

Fridovich I, Kono Y. Isolation and characterization of the pseudo catalase of lactobacillus plantarum. *J Biol Chem.* 1983; 258: 6015–6019.

Girgert R, Hanf V, Emons G, Grundker C. Signal transduction of the MEL receptor MT1 disrupted in breast cancer cells by electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics.* 2010; 31:237–245.

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 girus of the rat hippocampus: A stereological study. *Brain Res.* 2007;1127:185–192.

Grases G, Colom MA, Fernandez RA, Costa-Bauzá A, Grases F. Evidence of Higher oxidative status in depression and anxiety. *Clin. Biochem,* 1995; 41: 1819–1827.

- Guan Z, Long Y, Cai G, et al. The research progress of using electromagnetic technology in treatment of bone diseases. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*. 2000;17:226–30.
- Gundersen HJG. Notes on the estimation of the numerical density of arbitrary particles: the edge effect. *J Microsc*. 1977;111:219–22.
- Gutteridge JMC. Lipid peroksidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*. 1995; 41:1819–1828.
- Guyton AC, Hall JE. *Tıbbi Fizyoloji*. Cavuşoğlu H Editör. Baskı. İstanbul: Nobel; 2001.
- Halliwell B. Antioxidant and human disease. A general introduction. *J Nutr*. 1997; 55:44–52.
- Harada S, Yamada S, Kuramata O, Gunji Y, Kawasaki, M, Miyakawa T, Yonekura H, Sakurai S, Bessho K, Hosono R, Yamamoto H. Effects of high ELF magnetic fields on enzyme-catalyzed DNA and RNA synthesis in vitro and on a cell-free DNA mismatch repair. *Bioelectromagnetics*. 2001; 22: 260 – 266.
- Hataya, Y., Akamizu, T., Takaya, K., Kanamoto, N., Ariyasu, H., Saijo, M., Moriyama, K., Shimatsu, A., Kojima, M., Kangawa, K., Nakao, K.: A low dose of ghrelin stimulates growth hormone (GH) release synergistically with GH-releasing hormone in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86: 552–555.
- Holman RT. The Slow Discovery of the importance of  $\omega$ 3 essential fatty acids in human health *J Nutr*. 1998;128: 427–433. .
- Ilhan A, Gurel A, Armutcu F, Kamilsı S, Iraz M, Akyol O, Ozen S. Ginkgo biloba prevents mobile phone-induced oxidative stress in rat brain. *Clinica Chemica Acta*. 2004; 340: 153–162.
- İnce T, Yurdakök K. Elektromanyetik kirlilik ve çocuk sağlığı. *Katkı Pediatri Dergisi*. 2008; 30: 519–44.
- Kamath U, Rao G, Raghobama C, Rai L, Rao P. Erythrocyte indicators of oxidative stress in gestational diabetes. *Acta Paediatr*. 1998; 87: 676–679.
- Kaplan S. 4 ve 20 haftalık erkek ve dişi sıçanların hipokampusundan nöronal asimetri. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Sağlık Bilimler Enstitüsü, Doktora Tezi, 1990, Samsun.
- Kavaklı A, Acet A, Parlakpınar H, Akpolat N, Şahna E. Ratlarda beyin iskemisi-reperfüzyonu sonucu oluşan morfolojik değişikliklere MEL ve pinealektomi'nin etkisi. *FÜ Sağ Bil Derg*. 2007;21: 63–66.

- Kılıç N, Malhatun E, Elmalı E, Altan N. An investigation into the effects of the sulfonyl urea glyburide on glutathione peroxidase activity in streptozotocin-induced diabetic rat muscle tissue. *G. General Pharmacology*. 1988; 30: 399–401.
- Kıran D. Cep telefonlarının yaydığı elektromanyetik dalgaların sıçan mesane morfolojisi ve ürotelyal bariyer fonksiyonu üzerine etkileri Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Tıpta Uzmanlık Tezi, 2013.
- Kim MJ, Rhee SJ. Green tea catechins protect rats from microwave-induced oxidative damage to heart tissue. *J Med Food*. 2004; 7:299–304.
- Kurtuluş A. Sıçanlarda elektrik akımına bağlı hipokampal hasarın stereolojik yöntemlerle değerlendirilmesi. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı, Denizli, Uzmanlık Tezi, 2005
- Kuş İ., Sarsılmaz M. Pineal Bezin Morfolojik Yapısı ve Fonksiyonları. *T Klin Tıp Bilimleri*. 2002; 22: 221–226.
- Lieberman HR., Waldhauser F., Garfield G., Lynch HJ., Wurtmanz RJ. Effects of MEL on human mood and performance. *Brain Res*. 1984; 323: 201- 207.
- Martin SJ., Grimwood PD., Morris RG. Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annu. Rev. Neurosci*. 2000; 23, 649–711.
- Lai H, Singh NP. Acute exposure to a 60 Hz magnetic field increases DNA strand breaks in rat brain cells. *Bioelectromagnetics*. 1997; 18: 156–165.
- Lanaş O. Olinescu, R., Bădescu, I.: MEL involvement in oxidative processes. *Endocrinologie*. 1991; 29: 147–153.
- Longoni, B., Salgo, M.G., Pryor, W.A., Marchiafava, P.L.: Effects of MEL on lipid peroxidation induced by oxygen radicals. *Life Sci*. 1998; 62: 853- 859.
- Luchetti F, Canonico B, Betti M, Arcangeletti M, Pilolli F, Piroddi M, et al. MEL signaling and cell protection function. *The FASEB Journal* 2010; 24: 3603–3624.
- Madjid N, Tottie EE, Lüttgen M.: Interactions with cholinergic and glutamatergic mechanisms. *JPET. Neurosci Biobehav*. 2006; 316: 581–591.
- Maldonado MD, Mora-Santos M, Naji L, Carrascosa-Salmoral MP, Naranjo MC, Calvo JR. Evidence of MEL synthesis and release by mast cells. possible modulatory role on inflammation. *Pharmacol Res*. 2010; 62: 282–287.

- Maskey D, Kim M, Aryal B, Pradhan J, Choi IY, Park KS, Son T, Hong SY, Kim SB, Kim HG, Kim MJ. Effect of 835 MHz radio frequency radiation exposure on calcium binding proteins in the hippocampus of the mouse brain. *Brain Res.* 2010;1313:232–241.
- Mausset AL, Seze R, Montpeyroux F, Privat A. Effects of radio frequency exposure on the GABAergic system in the rat cerebellum: clues from semi-quantitative immuno histochemistry. *Brain Res.* 2001;912: 33–46.
- Mayhew TM, Gundersen HJG. If you assume, you can make an ass out of you and me: a decade of the disector for stereological counting of particles in 3D space. *J Anat.* 1996;188:1–15.
- Meral I, Mert H, Mert N, Deger Y, Yoruk I, Yetkin A, Keskin S. Effects of 900 MHz electromagnetic field emitted from cellular phone on brain oxidative stress and some vitamin levels of guinea pigs. *Brain Res.* 2007; 1169: 120–124.
- Milham S. Mortality in Workers Exposed to Electromagnetic Fields. *Environ Health Perspect.* 1985;297–300.
- Moustafa YM, Moustafa RM, Abou-El-Ela SH, Ali FM. Effect of acute exposure to the radiofrequency fields of cellular phones on plazma lipid peoxide and antioxidase activities in human erythrocytes. *J.Pharm.Biomed.Anal.* 2001; 26:605–8.
- 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: 91–96.
- Navaei A. Omega–3 yağ asidi'nin total venöz yetmezlik oluşturulmuş ada fleplerde yaşayabilirlik üzerine etkisinin araştırılması (deneysel çalışma). Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Uzmanlık Tezi, 2007, Ankara.
- Odaci E, Bas O, Kaplan S. Effects of prenatal exposure to a 900 MHz electromagnetic field on the dentate girus of rats: A stereological and histopathological study. *Brain Res.* 2008;1238:224–229.
- Ogren SO, Eriksson TM, Elvander-Tottie E, D'Addario C, Ekström JC, Svenningsson P, Meister B, Kehr J, Stiedl O. The role of 5HT1A receptors in learning and memory. *Behav Brain Res.* 2008; 195: 1: 54–77.

- Okuyan HM, Etanol uygulamasının böbrek dokusunda oluşturduğu hasar ve bu hasara karşı omega-3 yağ asitlerinin koruyucu etkisinin incelenmesi. Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hatay, Yüksek Lisans Tezi, 2011.
- O'Mara S, The subiculum: what it does, what it might do, and what neuroanatomy has yet to tell us. *J Anat.*, 2005. 207: 271–282.
- Öncü SK. Aksoy H. EMAların insan lenfosit kültürü ve bazı bitkiler üzerine genetik etkileri. Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, 2012.
- Pajovic SB, Saicic ZS, Spasic MB. Effects of progesterone and estradiol benzoate on glutathione dependent antioxidant enzyme activities in the female rats. *General Physio. and Biophysic.* 1999, 18: 35–44.
- Pandi-Perumal SR, Trakht I, Srinivasan V, Spence DW, Maestroni GJM, Zisapel N, Cardinali DP. Physiological effects of MEL: Role of MEL receptors and signal transduction pathways. *Prog Neurobiol.* 2008;85:335–353.
- Paredes SD, Reiter RJ. MEL: Helping cells cope with oxidative disaster. *Free rad res.* 2010;2: 99–111.
- Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in stereotaxic coordinates.* Academic Press yayınevi, Australia. 2007; 49-90.
- Petorak İ. *Medikal Embriyoloji.* 1. Baskı, İstanbul, Osman Aykaç Matbaası. 1984; 235–236.
- Reiter R.J. Functional aspects of the pineal hormone MEL in combating cell and tissue damage induced by free radicals. *Eur. J. Endocrinol.* 1996; 134: 412–420.
- Reppert SM, Weaver DR, Godson C. MEL receptors step in to the light: Cloning and classification of subtypes. *Trends Pharmacol Sci* 1996; 17: 100–102.
- Rison RA., Stanton P.K. Long-term potentiation and N-methyl-D-aspartate receptors: foundations of memory and neurologic disease? *Neurosci. Biobehav.* 1995; 19, 533–552.
- Rodriguez-Naranjo MI, Moya ML, Cantos-Villar E, Garcia-Parrilla Comparative evaluation of the antioxidant activity of MEL and related indoles. *J Food Compost Anal.* 2012; 28: 16–22.
- Sadler TW. *Langman's Medikal Embriyoloji,* 7. Baskı, Palme Yayınları. 1996;381.

- Sagdilek E. Çok düşük frekanslı ve zayıf elektromanyetik alanların trombosit agregasyonu üzerine etkileri. Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimler Enstitüsü, Doktora Tezi, İzmir. 2009.
- Saygın M. 2450 MHz dalga frekanslı elektromanyetik alanın sıçanların testislerinde oluşturduğu fizyolojik ve yapısal değişikliklerin araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2009, Isparta.
- Semerci M. Telekomünikasyon cihazlarından kaynaklı EMA şiddeti ölçüm yöntemleri: Samsun il merkezi saha çalışması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, Yüksek Lisans Tezi, 2011.
- Sevgi L. Elektromanyetik kirlilik, cep telefonları ve baz istasyonları. Emo İstanbul Şubesi Bülteni, 2000.
- Simopoulos AP. Omega -3 fatty acids in health and disease and in growth and development. Am. J. Clin. Nutr. 1991;54:438–463.
- Sinclair AJ, Barnett AH, Lunec J. Free radicals and antioxidant systems in health and disease. Br J Hosp Med 1990; 43: 334–44.
- Songur A, Ozen OA, Sarsılmaz M. Hippocampus. J Med Sci. 2001; 21: 427–431.
- 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.
- Stanosz S, Stanosz M, Wysocki K. The appreciation of bone growth factor in women with osteoporosis exposing on free transition magnetic field. Pol Merkuriusz Lek. 2004. 17: 229–31.
- Stanton, P.K. . LTD, LTP, and the sliding threshold for long-term synaptic plasticity. Hippocampus. 1996; 6, 35–42.
- Sutcu, R., Yonden, Z., Yilmaz, A., and Delibas, N., MEL increases NMDA receptor subunits 2A and 2B concentrations in rat hippocampus. Mol. Cell Biochem. 2006; 283,101–105.
- Szczepanik M. MEL and its influence on immune system. J Physiol Pharmacol 2007; 58(6): 115–124.

- Şener G. Karanlığın hormonu: MEL. Marmara Ecza Derg. 2010; 14;112–120.
- Trock DH. Electromagnetic fields and magnets. Investigational treatment for musculoskeletal disorders. Rheum Dis Clin North Am. 2000. 26(1):51–62
- Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. Endocr Rev. 2004;25: 612–628.
- Wertheimer N, Leeper E. Electrical wiring configuration sand childhood cancer, Am J Epidemiol. 1979; 109: 273–284.
- Yagmur F, Bozbıyık A, Hancı H. Elektromanyetik dalgaların insan biyokimyası üzerine etkileri. Sted. 2003; 12: 296–97.
- Yu BP. Approaches to anti-aging intervention: the promises and the uncertainties. Mech of Ageing Dev,1999; 111: 73- 87.
- Yükseksöylemez M. Radyofrekanslı EMAların insan dokularına etkileri üzerine bir inceleme. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, Yüksek Lisans Tezi, 2005.



## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Gamze ALTUN

Doğum Yeri: SAMSUN

Doğum Tarihi: 10.06.1982

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl): İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

İmaretçioğlu Tıbbi Aletler Tic. A.Ş.- Kalite Kontrol Mikrobiyoloji Laboratuvarı (2009-2010) - Analist

CRM Tıbbi İlaç Araştırma Organizasyon Ltd.Şti. (2010-2011)- Saha Koordinatörü

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD (2011-Halen) – Araştırma Görevlisi

E-posta: gamzeyayla.omu@gmail.com