



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**POSTNATAL 21-49. GÜNLER ARASINDA
UYGULANAN 900 MHZ
ELEKTROMANYETİK ALANIN FARKLI
GELİŞİM DÖNEMLERİNDEKİ ERKEK SIÇANLARIN
HİPOKAMPUS MORFOLOJİSİNE ETKİSİ**

Ali KULABER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Ersan ODACI

TRABZON – 2017

ONAY

Bu tez Yüksek Lisans Tezi Standartlarına Uygun Bulunmuştur.

Prof. Dr. Engin YENİLMEZ

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Ali Kulaber'in hazırladığı "Postnatal 21 – 49. günler arasında uygulanan 900 MHz elektromanyetik alanın farklı gelişim dönemlerindeki erkek sıçanların hipokampus morfolojisine etkisi" başlıklı tez KTÜ Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Prof. Dr. Ersan ODACI

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Engin YENİLMEZ

Prof. Dr. Ersan ODACI

Doç. Dr. Saffet ÖZTÜRK

Tarih: / /2017

Bu tez KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun / /2017 tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ali Osman KILIÇ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

05.05.2017

Ali KULABER

İTHAF

Yüksek lisans tezimi tüm hayatım boyunca beni destekleyen, maddi, manevi hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan aileme ve tez çalışmam boyunca desteklerini esirgemeyen sevdiklerime ithaf ediyorum..



TEŞEKKÜR

Akademik hayata adım attığım yüksek lisans öğrenimim boyunca desteğini her daim hissettiğim, bilimselliğini ve akademisyenliğini her zaman örnek aldığım, tezimin hazırlanmasında desteğini ve emeğini benden esirgemeyen çok değerli ve saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Ersan ODACI'ya, yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen değerli hocam KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Engin YENİLMEZ'e, KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri hocalarım Prof. Dr. Esin YULUĞ ve Yrd. Doç. Gökçen KERİMOĞLU'na, sadece bir hoca değil aynı zamanda bana bir abi olan ve çok değerli zamanını hiç tereddüt etmeden benim için harcayan saygıdeğer ve çok değerli hocam Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Orhan BAŞ'a, deney aşamasına katkıda bulunan ve desteğini esirgemeyen değerli hocam KTÜ Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Elektrik-Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Haydar KAYA'ya, çalışmamın her aşamasında yanımda olan, stresli ve yorucu bu süreci ablalıklarıyla ve destekleriyle atlatmama yardımcı olan ve tezim üzerinde en az benim kadar emeği olan başta Arş. Gör. Hatice HANCI ve doktora öğrencisi Sibel TÜREDİ'ye, manevi desteklerini her daim bana hissettiren yüksek lisans öğrencisi Canan GÜNEY'e, Cansu KAYA'ya ve yine manevi desteklerini benden esirgemeyen asistan ablalarım, abilerime ve yüksek lisans arkadaşlarıma, en önemlisi hayatımın her anında bana olan güvenlerini, desteklerini ve inançlarını benden esirgemeyen, her türlü sıkıntıyı ve mutluluğumu benimle paylaşan değerli aileme ve son olarak tezimi TYL-2016-5494 nolu proje ile destekleyen KTÜ BAP birimine teşekkür ederim.

Ali KULABER

Trabzon, 2017

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ONAY	
BEYAN	
İTHAF	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	xv
1. ÖZET	xviii
2. SUMMARY	xix
3. GİRİŞ ve AMAÇ	1
4. GENEL BİLGİLER	4
4.1. Hipokampus Anatomisi, Histolojisi ve Gelişimi	4
4.1.1. İnsan Hipokampusunun Anatomisi, Histolojisi ve Embriyolojisi	4
4.1.2. Sıçan Hipokampusunun Anatomisi, Embriyolojisi ve Histolojisi	6
4.1.3. Sıçan ve İnsan Beyin Gelişiminin Karşılaştırılması	10
4.2. Elektromanyetik Alan	11
4.2.1. Elektrik alan	11
4.2.2. Manyetik alan	12
4.2.3. Elektromanyetik Alan Çeşitleri ve Dalga Boyları	12
4.2.4. Elektromanyetik Alan Oluşturan Cihazlar	14
4.2.5. Özgül Soğurma Hızı	15
4.3. Elektromanyetik Alanın Biyolojik Sistemler Üzerine Etkisi	16
4.3.1. Elektromanyetik Alanın Canlı Doku Üzerine Etkisi	16
4.3.2. Elektromanyetik Alanın Beyin Üzerinde Etkisi	18
4.3.3. Elektromanyetik Alanın Hipokampus Üzerine Etkisi	19
4.3.4. Düşük Seviyelerdeki Elektromanyetik Alanın Nöron Gelişimi ve Farklılaşması Üzerine Etkisi	20
4.4. Stereoloji	20
4.4.1. Tasarım Temelli Stereoloji	212

4.4.2. Sistematik rastgele örnekleme	23
4.4.3. Optik disektör	245
4.4.4. Optik parçalama	26
5. GEREÇ ve YÖNTEM	28
5.1. Çalışma Planı	28
5.1.1. Etik Kurul Onayı ve Proje Desteği	28
5.1.2. Sıçanların Temini ve Bakımı	28
5.1.3. Sıçanların Gruplandırılması	29
5.1.4. Çalışma Düzenegi, Sham ve EMA Etkilerinin Oluşturulması	30
5.2. Histolojik İşlemler	37
5.2.1. Dokuların Temini	37
5.2.2. Beyin Dokularının Takibi	38
5.2.3. Dokulardan Kesit Elde Edilmesi ve Sistemik Rasgele Örnekleme	38
5.2.4. Kesitlerin Boyanması	4040
5.2.4.1. Cresyl Fast Violet Boyama Yöntemi ile Kesitlerin Boyanması	40
5.2.4.2. Hematoksilen Eozin Boyama Protokolü	41
5.2.4.3. TUNEL Boyama Protokolü	42
5.2.5. Kesitlerde Hipokampus Sınırının Tespiti	43
5.2.6. Kesitlerde Nöronların Tespiti	44
5.3. Stereolojik Analizler	44
5.3.1. Stereoloji Analiz Sistemi	44
5.3.2. Stereolojik Analizlerin Detayları	45
5.3.3. Stereo Investigator Programında Stereolojik Analizin Aşamaları	46
5.4. İstatistiksel Analizler	66
6. BULGULAR	67
6.1. Sıçan Ağırlıklarına Ait Bulgular	67
6.2. Beyin Ağırlığına Ait Bulgular	67
6.3. Elektromanyetik Alan Kafesindeki Sıcaklık ve Nem Bulguları	69
6.4. Hipokampusun Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi	69
6.4.1. Kontrol Gruplarının H&E ve Cresyl Fast Violet ile Boyalı Kesitlerinde Histopatolojik Değerlendirme Bulguları	69

6.4.2. Sham Gruplarının H&E ve Cresyl fast violet ile boyalı kesitlerinde Histopatolojik değerlendirme bulguları	73
6.4.3. EMA Gruplarının H&E ve Cresyl fast violet ile Boyalı Kesitlerinde Histopatolojik Değerlendirme Bulguları	78
6.5. Hipokmapusta TUNEL boyama ile apoptoz değerlendirilmesi	82
6.6. Apoptotik İndeks Sonuçları	86
6.6. Hipokampus CA Bölgesi Nöron Sayısı Verileri	86
7. TARTIŞMA	88
8. SONUÇ VE ÖNERİLER	94
9. KAYNAKLAR	95
9. ETİK KURUL ONAYI	1033
10. ÖZGEÇMİŞ	1044

TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1. Sıçan ve insan MSS nörolasyon karşılaştırması	11
Tablo 2. Türkiye’de kontrolsüz etkilenme için sınır değerler	16
Tablo 3. Çalışma grupları	29
Tablo 4. EMA uygulamasının başlangıcı ve bitişinde, kafes içinden ve altından her gün yapılan ölçümlerin ortalama değerleri	32
Tablo 5. Türkiye’de kontrolsüz etkilenme için sınır değerler	36
Tablo 6. Hayvanlara uygulanan EMA değerlerinin ortalamaları kullanılarak hesaplanan elektrik alan şiddeti, güç yoğunluğu ve SAR değerleri	36
Tablo 7. Cresyl fast violet boyama protokolü	41
Tablo 8. Hematoksilen eozin boyama protokolü	42
Tablo 9. TUNEL boyama protokolü	43
Tablo 10. Stereolojik analizlerde kullanılan veriler	46
Tablo 11. EMA kafesine ait sıcaklık ve nem değerleri	69
Tablo 12. AI’nin gruplara göre ortalama $\pm$ ortalamaların standart hata değerleri ve karşılaştırılması	86
Tablo 13. Tüm grupların hücre sayısı ortalamaları ve stereolojik analiz verileri tablosu	87

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1. Sıçan hipokampusunun şematik resmi	9
Şekil 2. Elektromanyetik spektrum şeması	13
Şekil 3. 29 günlük EMA uygulamasının başlangıcında kafes içinden ölçülen değerlerin ortalamasının x – y düzlemindeki dağılımı	33
Şekil 4. 29 günlük EMA uygulamasının başlangıcında kafes altından ölçülen değerlerin ortalamasının x – y düzlemindeki dağılımı	33
Şekil 5. 29 günlük EMA uygulamasının bitişinde kafes içinden ölçülen değerlerin ortalamasının x – y düzlemindeki dağılımı	34
Şekil 6. 29 günlük EMA uygulamasının bitişinde kafes altından ölçülen değerlerin ortalamasının x – y düzlemindeki dağılımı	34
Şekil 7. 29 günlük EMA uygulamasının başlangıcında ve bitişinde, kafes içinden ölçülen değerlerin ortalamasının x – y düzlemindeki dağılımı	35
Şekil 8. 29 günlük EMA uygulamasının başlangıcında ve bitişinde kafes altından ölçülen değerlerin ortalamasının x – y düzlemindeki dağılımı	35
Şekil 9. Hayvanların günlere göre ağırlıklarındaki değişimi gösteren grafik	67
Şekil 10. Grup 1 deney hayvanlarının beyin ağırlıklarını gösteren grafik	68
Şekil 11. Grup 2 deney hayvanlarının beyin ağırlıklarını gösteren grafik	68

RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa
Resim 1. Sıçan hipokampusunun hücresel seviyedeki tabakaları	9
Resim 2. Sistematik rastgele örnekleme ile kesit belirleme	24
Resim 3. Nöron sayımı sırasında tarafsız sayım çerçevesi görüntüsü.	26
Resim 4. Sıçanların deney süresince içerisinde tutulduğu kafesler	29
Resim 5. EMA Etkisi oluşturma düzeneği ve EMA etkisindeki sıçanlar (daire)	31
Resim 6. Geniş bantlı EMA ölçme cihazı	32
Resim 7. Dijital ısı ve nem ölçme cihazı	37
Resim 8. Deney hayvanından dokuların elde edilmesi	38
Resim 9. 30 µm lik kesitlerin alındığı mikrotom	39
Resim 10. Cresyl fast violet ile boyanmış hipokampus kesitleri	40
Resim 11. Stereoloji analiz sistemi	45
Resim 12. Stereo Investigator 9 programının açılışı	47
Resim 13. Mikroskop ışığının otomatiğe alınması	47
Resim 14. Stereo Investigator 9 programında optik parçalama seçeneği seçme	48
Resim 15. Stereo Investigator 9 programında yeni bir çalışma başlatma	48
Resim 16. Programa çalışma bilgilerinin girileceği ara yüzün açılması	49
Resim 17. Verilerin girilmesi ve bir sonraki adıma geçilmesi	50
Resim 18. Mikroskop ve programda, çalışmada kullanılacak küçük büyütmenin belirlenmesi	50
Resim 19. Kesit üzerinde sayım yapılacak alanın çizilerek belirlenmesi	51
Resim 20. Sayım yapılacak alan için çizilen alanın kapatılarak sayıma hazır hale getirilmesi	51
Resim 21. Programda ve mikroskopta kullanılacak yüksek büyütmeli objektifin belirlenmesi	52

Resim 22. $\times 100$ büyütmenin kullanılması sırasında immersiyon yağının damlatılması	53
Resim 23. $\times 100$ objektifin kullanılmasının ardından objektifin silinip kurulanması	53
Resim 24. Sayım çerçevesi alanının belirlenmesi	54
Resim 25. Sayım çerçevelerinin adım aralığı değerlerine göre şematik olarak belirlenmesi	55
Resim 26. Sayım çerçevelerinin yerleşim düzeninin farklı kombinasyondaki dizilimi	55
Resim 27. Güvenlik kuşağının belirlenmesi	56
Resim 28. Girilen bilgilerin doğrulanıp kaydedilmesi	56
Resim 29. Kesitlerin sembolik görüntüsünün programda belirmesi ve sayılacak alan seçimi	57
Resim 30. Sayım yapılacak alanın seçilmesi ve sayıma başlanması	57
Resim 31. Programın kullanıcıyı sayım yapılacak ilk alana yönlendirmesi	58
Resim 32. Sayım yapılacak sanal hacmin üst sınırının tespiti için üst noktaya çıkılması	59
Resim 33. Sayım yapılacak sanal hacmin üst sınırının tespit edilmesi	59
Resim 34. Sayım yapılacak sanal hacmin alt sınırının tespit edilmesi	60
Resim 35. Sayım yapılacak disektör hacminin belirlenip programda görsel hale gelmesi	60
Resim 36. Belirlenen disektör hacminde sayım çerçevesi kuralları gereğince sayım yapılması	61
Resim 37. Bir sonraki sayım çerçevesine geçilmesi	62
Resim 38. Bir kesitteki tüm çerçevelerin sayılmasından sonra verilen uyarının onaylanması	62
Resim 39. Yeni kesitte sayıma geçilmesi	63

Resim 40. Tüm kesitlerin sayılmasının ardından sayımın bitirilmesi	64
Resim 41. Sayılan kesitlerin tümünün, açılan pencerede özetlenmesi	64
Resim 42. Sayım sonuçlarının exele aktarılması	65
Resim 43. Sayım sonuçlarının exelde görüntülenmesi	66
Resim 44. Kontrol 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun panoromik görüntüsü	70
Resim 45. Kontrol 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü	70
Resim 46. Kontrol 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun panoromik görüntüsü	71
Resim 47. Kontrol 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü	71
Resim 48. Kontrol 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun panoromik görüntüsü	72
Resim 49. Kontrol 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü	72
Resim 50. Kontrol 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun panoromik görüntüsü	73
Resim 51. Kontrol 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü	73
Resim 52. Sham 1 grubuna ait sıçan hipokampusunun görüntüsü	74
Resim 53. Sham 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü	74
Resim 54. Sham 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü	75
Resim 55. Sham 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü	75
Resim 56. Sham 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun panoromik görüntüsü	76
Resim 57. Sham 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü	76
Resim 58. Sham 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun panoromik görüntüsü	77
Resim 59. Sham 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü	77

Resim 60. EMA 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun panoromik görüntüsü	78
Resim 61. EMA 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü	79
Resim 62. EMA 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun panoromik görüntüsü	79
Resim 63. EMA 2 grubuna ait sıçanların hipokampus görüntüsü	80
Resim 64. EMA 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun panoromik görüntüsü	80
Resim 65. EMA 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü	81
Resim 66. EMA 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun panoromik görüntüsü	81
Resim 67. EMA 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü	82
Resim 68. Kontrol 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü	83
Resim 69. Sham 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü	83
Resim 70. EMA 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü	84
Resim 71. Kontrol 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü	84
Resim 72. Sham 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü	85
Resim 73. EMA 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü	85

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

AI	: Apoptotik indeks
AM	: Genlik modülasyonu (amplitude modulation)
CA	: Cornu ammunis
cm	: Santimetre
CREB	: cAMP response element – binding protein
DEMA	: Düşük elektromanyetik alan
DG	: Dentate girus
DGAT	: Dijital Geliştirilmiş Akülü Telekomünikasyon
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
E	: Embriyonik dönem
EC	: Entorhinal korteks
EH_z	: Egzahertz
EMA	: Elektromanyetik alan
eV	: Elektron volt
FM	: Frekans Modülasyonu
GHz	: Gigahertz
GSM	: Groupe Speciale Mobile
H&E	: Hematoksilen eozin
Hz	: Hertz
IBM	: International Business Machines
ICNIRP	: International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection
Kg	: Kilogram
kHz	: Kilohertz
KTÜ	: Karadeniz Teknik Üniversitesi
KTÜCAM	: KTÜ Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi
m	: Metre
MHz	: Megahertz
MRI	: Manyetik rezonans görüntüleme
MSS	: Merkezi sinir sistemi
mT	: Mili tesla
NKH	: Nöronal kök hücreler

PHz	: Petahertz
PN	: Postnatal
SAR	: Özgöl soğurma hızı (Specific absorption rate)
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
SRÖ	: Sistematik rastgele örnekleme
THz	: Terahertz
TUNEL	: Terminal deoxynucleotidy transferase (Tdt) deoxyuridine triphosphate nick end labeling assay
UHF	: Ultra high frequency
V	: Ventrikül
VHF	: Very high frequency
W	: Watt
Wi-Fi	: Kablosuz ağ
ZHz	: Zettahertz

Simgeler

°C	: Santigrat
μ	: Biyolojik ortamın manyetik geçirgenliği
μA	: Mikroamper
μm	: Mikrometre
μV	: Mikrovolt
A	: Amper
B	: Manyetik akım yoğunluğu
E	: Elektrik alanı
E_{rms}	: Elektrik alan yoğunluğu
E	: Dokunun içine nüfuz eden elektrik alan
E	: Foton enerjisi
Em	: Canlı bir sistemdeki maksimum elektromanyetik enerji birikimi
F	: Elektriksel kuvvet
f	: Kesir
F	: Lorenz kuvveti
G	: Gauss
gr	: Gram
Gy	: Gray

H_{rms}	: Manyetik alan yoğunluğu
H	: Bir manyetik alan
h	: Planck sabiti
J	: Akım yoğunluğu
Kv	: Kilovolt
m^2	: Metrekare
m^3	: Metreküp
Mv	: Milivolt
N	: Newton
Nv	: Ortalama hücre yoğunluğunu
σ	: İletkenlik
P	: Periyot
q	: Parçacığın yükü
q	: Hareketli yük
r	: Dairesel yol yarıçapı
T	: Tesla
v	: Frekans
V	: Hacim
v	: Kuvvetin yönü hız
V_{ref}	: Referans hacim
W	: Watt
ϵ	: Biyolojik ortamın dielektrik sabiti
μ_0	: Serbest alanın geçirgenliği
μT	: Mikrottesla
ρ	: Doku yoğunluğu
σ	: Doku iletkenliği

1. ÖZET

Postnatal 21 – 49. Günler Arasında Uygulanan 900 MHz Elektromanyetik Alanın Farklı Gelişim Dönemlerindeki Erkek Sıçanların Hipokampus Morfolojisine Etkisi

Çalışmanın amacı, 900 megahertz (MHz) elektromanyetik alan (EMA) etkisine maruz kalan erkek sıçanların, farklı gelişim dönemlerinde hipokampus morfolojisinde meydana gelebilecek olan değişikliklerin araştırılmasıdır. Çalışmada 21 günlük, 36 adet Sprague Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar her bir grupta eşit sayıda olacak şekilde (n = 6), Kontrol 1, Kontrol 2, Sham 1, Sham 2, EMA 1 ve EMA 2 olarak gruplarına ayrıldılar. EMA gruplarına ait sıçanlara, EMA uygulama kafesi içerisinde 21. günden itibaren 29 gün boyunca günde 1 saat süre ile kesintisiz 900 MHz EMA uygulandı. Sham gruplarına ait sıçanlar 29 gün boyunca günde 1 saat süre ile EMA uygulaması yapılmaksızın EMA kafesinde tutuldular. Kontrol gruplarına ait sıçanlara ise herhangi bir uygulama yapılmadı. Kontrol 1, Sham 1, EMA 1 grupları 50. günde; Kontrol 2, Sham 2 ve EMA 2 grupları ise 79. günde kurban edildiler. 2. grup sıçanlara 50-79. günler arasında herhangi bir uygulama yapılmadı. Kurban edilen sıçanların beyinleri çıkarıldı, rutin histolojik aşamalardan geçirilerek bloklandı ve mikrotom yardımıyla kesildi. Elde edilen kesitler; cresyl fast violet, hematoksilin eozin (H&E) ve TUNEL ile boyandı. Cresyl fast violet ile boyalı kesitlerde stereolojik yöntemler kullanılarak hipokampusun cornu ammonis bölgesinde piramidal nöron sayımı yapıldı. Ayrıca H&E ve cresyl fast violet ile boyanmış kesitlerde histopatolojik, TUNEL metodu ile boyalı kesitlerde apoptotik indeks değerlendirmeleri yapıldı. Histopatolojik değerlendirmelerde EMA gruplarının kesitlerinde hipokampus bölgesinde vakuolizasyon, koyu sitoplazmalı piramidal hücreler, hücre diziliminde düzensizlikler ve hilus bölgesinde kısmi açılmalar tespit edildi. EMA gruplarının apoptotik indeks değerleri diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. Stereolojik analizlerde EMA gruplarının piramidal hücre sayısının diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı ancak EMA grupları arasında anlamlı bir farkın olmadığı tespit edildi. Sonuç olarak çalışma bulgularımızdan yola çıkarak postnatal 21 – 49. günlerde uygulanan 900 MHz EMA'nın erkek sıçanların hipokampus bölgesinde histopatolojik değişikliklere ve piramidal hücre sayısında azalmaya neden olduğunu, EMA maruziyetinin olmadığı 50-79. günler arasında da EMA etkisinin devam ettiğini söyleyebiliriz.

Anahtar Kelimeler: Elektromanyetik alan, Hipokampus, Stereoloji, Sıçan.

2. SUMMARY

The Effect of a 900-MHz Electromagnetic Field Applied Between Postnatal Days 21 and 49 on the Morphology of the Male Rat Hippocampus at Different Stages of Development

The purpose of this study was to investigate potential changes in the morphology of the hippocampus at different stages of development of male rats exposed to 900-megahertz (MHz) electromagnetic field (EMF). Thirty-six Sprague Dawley rats at the age of 21 days were used. Rats were divided equally ($n = 6$) into Control 1, Control 2, Sham 1, Sham 2, EMF 1 and EMF 2 groups. Continuous 900-MHz EMF was applied to the rats in the EMF groups for 1 hour a day over 29 days, starting from postnatal day 21, within an EMF application cage. Sham group rats were placed inside the EMF cage for 1 hour a day over 29 days without EMF exposition. No procedure was performed to the control group rats. The Control 1, Sham 1 and EMF 1 group rats were sacrificed at day 50, and Control 2, Sham 2 and EMF 2 group rats at day 79. No procedure was performed to the '2' group rats between days 50 and 79. The sacrificed rats' brains were removed, embedded in blocks following routine histological procedures and sectioned using a microtome. The sections were stained with cresyl fast violet, hematoxylin and eosin (H&E) and TUNEL. Pyramidal cell numbers at the cornu ammonis were counted using stereological methods in sections stained with cresyl fast violet. Histopathological evaluations were performed in the sections stained with H&E and cresyl fast violet, and apoptotic index evaluations were performed on TUNEL-stained sections. Vacuolization, pyramidal cells with dark cytoplasm and irregularities in cell array in the hippocampus and partial separations in the hilum were determined at histopathological analysis. Apoptotic index values of the EMF (0.05) groups were significantly higher than those of the other groups. Stereological analysis revealed a statistically significant decrease in the pyramidal cell numbers in the EMF groups compared to the other groups, but no difference between the two EMF groups exist. In conclusion, on the basis of our study findings, 900-MHz EMF applied on postnatal days 21-49 caused histopathological changes in the male rat hippocampus, and the effect of EMF persisted between days 50 and 79, when no additional exposure was taken place.

Key Words: Electromagnetic field, Hippocampus, Stereology, Rat.

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Teknolojinin büyük bir hızla gelişmesi günlük hayatımıza sağladığı faydaların yanı sıra sebep olabileceği bireysel ve toplumsal yan etkileri açısından da oldukça önemlidir. Bu gelişmeler sonucu hayatımıza hızlı bir şekilde giren teknolojik cihazların sayısı da artmaktadır. Teknolojik cihazlar içerisinde elektromanyetik alan (EMA) etkisi oluşturan cihazlar oldukça fazladır. Yapılan çalışmalar gittikçe daha fazla EMA etkisine maruz kalmanın patolojik sonuçlarının olacağını göstermektedir. Bu nedenle, EMA'nın insan sağlığı üzerine olan etkilerinin araştırılması önem arz etmektedir (1-3).

Bireysel olarak insan sağlığı üzerinde etkisi olacak en önemli EMA kaynağı çağımızın vazgeçilmezi niteliğindeki cep telefonları ve cep telefonları ile iletişimi sağlayan operatörlerin vericileridir. Çünkü cep telefonları insan vücuduna en yakın kullanılan EMA kaynağıdır. Yapılan çalışmalarda cep telefonlarının oluşturduğu EMA etkisinin canlı doku üzerine oldukça önemli etkileri olduğu yönünde kuvvetli deliller vardır (4,5). Bu etki farklı doku ve organlarda farklı nitelikte kendini gösterir. Yapılan birçok çalışmada belli düzeylerdeki EMA'nın testis, ovaryum, karaciğer, böbrek ve beyin gibi doku/organlarda morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik değişikliklere neden olduğu; bunlarında geriye dönüşümlü/dönüşümsüz patolojilere yol açabileceği rapor edilmiştir (6-8).

Ancak EMA düzeyi belirli bir seviyenin altına indiğinde bu etkilerin farklılaşabileceğini, yüksek EMA maruziyeti sonucunda oluşan etkilerin tam tersi sonuçlar olabileceğini gösteren çalışmalar da vardır. Örneğin düşük EMA (DEMA) 1 militesla (mT), 50 hertz (Hz) etkisine maruz kalan nöronal kök hücrelerin (NKH), yüksek EMA etkisinden farklı sonuçlara neden olduğu rapor edilmiştir. Yapılan bu çalışmada 1 mT, 50 Hz DEMA etkisine maruz bırakılan fare hipkampusunda nörogenезisin uyarılmasıyla, NKH sayısının arttığı ve NKH' den olgun nöral hücreye farklılaşmanın başladığı rapor edilmiştir. Bu çalışmada DEMA uygulamasının 30 gün sonrasında yeni oluşan nöral hücrelerin yaklaşık %50 si yetişkin hale ulaşmış ve DG'a sinaptik ağ vasıtası ile entegre olmuşlardır. (9). Bilindiği üzere yetişkin memeli beyinde NKH'ler iki farklı bölgede gösterilmiştir. Hipokampusun dentate girus (DG) ve beyin lateral ventriküllerinin subventriküler bölgeleri NKH'lerin bulunduğu en önemli iki merkezdir (10, 11). Bu nedenle Piacentini ve ark. (2008) yaptığı çalışma, DG

bölgesinde farklı EMA düzeylerinde de NKH'den yeni nöronların oluşabileceğinin araştırılmasını anlamlı kılmaktadır.

NKH'lerin kendilerini yenileme mekanizması ile ilgili çeşitli görüşler ileri sürülmektedir. Bu konu ile ilgili önemli bilgiler de mevcuttur. NKH'lerin kendilerini yenileme mekanizmasında Notch sinyal mekanizması kontrolündeki özel "stemness" genlerinin oldukça önemli olduğu ile sürülmektedir. Stemness genlerinin kademeli inaktivasyonu ve Ascl – 1, Neurogenin 1 ve neuro D1 genlerini içeren pronöral genlerin aktivasyonu sonucu NKH farklılaşması gerçekleşir (12). Ayrıca cAMP response element – binding protein (CREB) pronöral genlerin düzenlenme sekansına bağlanarak nöronal farklılaşmayı düzenler (13, 14). Özellikle Ca^{+2} sinyal mekanizması NKH farklılaşması için promotörü aktive edilecek olan CREB fosforilasyonunu tetikler (15). Ancak eğer farklılaşma başlamış ise NKH çoğalması, DEMA tarafından inhibe edilir. Böylece farklılaşma sürecinde olan ve yeni sinir hücresi özellikleri kazanan hücre sayısı ve yüzdesi artar (9, 16, 17).

Tüm bu çalışmalar oldukça düşük düzeydeki EMA etkisinin, nöron sayısını ve farklılaşmasını artırdığını göstermektedir. Ancak günlük hayatımızda sıklıkla kullandığımız teknolojik cihazlardan maruz kaldığımız EMA seviyesi oldukça yüksektir. Özellikle cep telefonları ve bunlara ait vericiler tarafından yayılan EMA 900 - 1800 MHz düzeyleri arasındadır. 900 MHz EMA etkisine maruz bırakılan sıçanlarla ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, EMA etkisi kesildikten hemen sonra yapılan çalışmalarda genellikle benzer sonuçların rapor edildiği görülmektedir (6, 7, 18). Sonuçlar sinir hücrelerinde sayıca azalma ve patolojik değişikliklerin göstergesi olan morfolojik değişiklikler olarak özetlenebilir. Bu çalışmaların ortak özelliği 900 EMA etkisi kesildikten hemen sonra sinir dokularının değerlendirilmesidir. Ancak 900 MHz EMA etkisi kesildikten bir müddet sonra, EMA etkisine maruz bırakılan sinir hücrelerinde ne gibi değişiklikler olduğu tam olarak izah edilememiştir.

Yapılan bir çalışmada adolesan dönemlerinin erken ve orta adolesan safhalarında posnatal (PN), (21-49 günler arası) 900 MHz EMA etkisine maruz bırakılan sıçanların, adolesan dönemlerinin sonunda (EMA uygulamasının bitiminden 10 gün sonra) yaptıkları değerlendirmede, EMA grubu sıçanların nöron sayısında istatistiksel olarak artış olduğu ifade edilmektedir (19). Planlanan çalışmanın önemli çıkış noktalarından

birisi budur. Ulusal ve uluslararası önemli birçok kuruluşun yaptığı araştırmalarda 06-15 yaş grubu çocukların %60'ından fazlasının bilgisayar, %50'sinden fazlasının internet ve %24'ünden fazlasının cep telefonu kullandığı tespit edilmiştir. Yine yayınlanan raporlarda, ülkemizde bilgisayar kullanma yaş ortalamasının 8, cep telefon kullanma yaş ortalamasının ise 10'a düştüğü bildirilmektedir (20). Bu istatistikleri ve günümüzde dünyada yedi milyarın üzerinde cep telefonu abonesinin olduğunu bildiren raporları bir arada değerlendirirsek, 15 yaş grubu çocuklardan yaklaşık bir milyar yedi yüz milyon tanesinin cep telefonunun oluşturduğu EMA etkisinin zararlı etkilerinin tehdidi altında olduğu söylenebilir (21-23). Çalışmamızın bir diğer önemli çıkış noktası da budur.

Cep telefonları dünya da yaygın olarak 900-1800 MHz frekans aralıklarında kullanılır. Avrupa ülkelerinde ve Türkiye'de ise 900 MHz frekansında çalışan cep telefonları daha yaygındır (24, 25). Bu nedenle sunulan çalışmada, postnatal (PN) 21-49 günleri arasında (adolesan dönemlerinin erken ve orta adolesan safhaları) 900 MHz EMA etkisine maruz bırakılan farklı gelişim dönemlerindeki erkek sıçanların, hipokampusunda meydana gelebilecek muhtemel değişikliklerin araştırılması hedeflendi.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Hipokampus Anatomisi, Histolojisi ve Gelişimi

4.1.1. İnsan Hipokampusunun Anatomisi, Histolojisi ve Embriyolojisi

Beynin temporal lobu, en büyük boyutta insanlarda olmak üzere sadece primatlarda bulunmaktadır. Serebral kabuğun yaklaşık %17 sini kaplayan, görsel, kokusal, vestibular, duyuşal ve dil fonksiyonlarını kontrol eden bölgeleri bünyesinde barındırmaktadır. Temporal lobun orta kısımlarında yerleşen hipokampal oluşum; parahipokampal girus, subiculum (alt bölge), hipokampus, DG ve bu kısımla ilgili ak maddeyi içermenin yanı sıra forniks içerisine doğru devam eden sinirleri de barındırmaktadır.

Hipokampus, temporal ventrikülün temporal boynuzuna çıkıntı yapan kıvrımlı bir girustur. İlgili bu sinir lifleri serebral kabuğun her kısmını parahipokampal girus ve subiculum denen ve sırasıyla DG kısmına çıkıntı yapan bu yapıları birleştirir. Hipokampus ve subiculum'a ait en büyük efferent çıkıntı forniksten hipotalamusa doğru olanıdır. Fimbria yapısının hemen yanında ki koroid yarık ile temporal lob, hipotalamus orta beyin ve optik bölgeden ayrılır (26).

Serebral kabuğun uç kısımları her bir serebral yarım kürenin dip kısmı çevresinde limbik lob olarak isimlendirilen halkasal bir yapı oluşturur (27). İnsan beyinde kabuğun bu dairesel yapıları arasında en çok göze çarpan kısımları parahipokampal girus ve singülat girustur. Bu giruslar, korpus kallozum'un splenium kısmının arka tarafına doğru isthmus ya da retrosplenial kabuk olarak devam eder. Hipokampal oluşuma dahil olan yapılar, hipokampus, parahipokampal girusa komşu kıvrıntılı bir girus yapısı, beyin zarının serbest ucu olarak ifade edilen ve ak madde ile ilişkili yapı olan DG, alveus, fimbria ve fornikstir (26). Parahipokampal girus yapısı boyunca uzanan ve hipokampusa komşu olan kabuk yapısı entorhinal alan olarak bilinmektedir (28). Subikulum, entorhinal ve hipokampal kabuklar arası bir geçiş bölgesidir. Hipokampus, serebral kabuğun tamamından, temporal kabuk ve subikuluma komşu yapılardan gelen, dolaylı bağlantılara sahiptir.

Hipokampusun bilinen en önemli fonksiyonu, anıların saklanması görevini üstlenmesidir. Limbik lobun diğer kısımları olan, indusium griseum ve fasciolar girus insan beyinde çok küçük yapılar olarak bulunmaktadır. Bu yapılar hipokampusun

devamı niteliğinde, beyin zarının uç kısmında ak maddenin, göze çarpmayan ince bir yapısı olarak bulunmaktadır. Limbik lobda, beyaz cevhere ait, görülebilen bazı kümelenmiş cisimcikler bulunmaktadır. Bunlardan, hipokampusun alveus'u, fimbria' sı ve forniks çıkıntıları temporal lob dahilindedir. Limbik lobun bileşenleri aynı zamanda; amigdala, serebral yarımküredeki çok fonksiyonlu nükle yapıları, diensefalon ve beyin sapının da bulunduğu limbik sistemin birer kısmıdır (26).

Hipokampusun uncus'un ön kısmına doğru dar, yapraksı bir çıkıntı yaptığı ön ucu, yapının en geniş kısmına sahiptir. DG'nin rostral ucunu ifade eden, Giacomini bandı, uncus'un ön yüzeyinden belirsiz transvers bir geçiş yapar. Arka kısma doğru yapı; dar, yatay bir gövde ve ince yukarı doğru çıkan kıvrık bir kuyruktan oluşmaktadır (26). Modern kullanımda, DG'ye dahil edilmeyen ve hipokampusun enine (koronal) bölümlerinde görülen sektörler için terminolojide, subikülümün yanında cornu ammonis (CA) 1 ve DG'nin konkavitesinde ki CA4 olarak belirlenmiştir. CA4 bazı kaynaklar tarafından hillum olarak adlandırılmaktadır. (28, 29). Yetişkin insan beyninde, amigdala, temporal kutup yakınında bulunur ve lateral ventrikülün temporal boynuz ucuna girer ve hipokampustan dolayı gözle görülür girinti biraz daha göze çarpmaktadır. Diseksiyon edilmiş erişkin bir beynin yan ventrikülü yukarıdan açıldığında, hipokampus, alt boynuzun beyaz florası (inferomedial yüzey) olarak görülür. İnsan hipokampusunun ventriküler yüzeyi derin olmayan oluklar içermektedir. Hipokampusun baş kısmı ise hayvan patisinin sırt kısmı görüntüsü izlenimi vermektedir (30, 31).

Hipokampus yapısal olarak, uzunluğu boyunca düzensiz bir görüntüye sahiptir. Çoğunlukla, insan serebral korteksinin (izokorteks) 6 tabakası vardır ve bunların sadece ikisinde, subkortikal beyaz cevhere giren aksonları olan nöronlar ve esas hücreler bulunur. Bununla birlikte, hipokampal oluşumun korteksinde ana hücreler sadece bir katmanda bulunmaktadır (allokorteks). Parahippokampal girusun izokorteksinin en üst katmanıyla kesintisiz olan moleküler katman, büyük oranda aksodendritik sinapslardan oluşur ve komşuluğunda ki hipokampal sulkusa bitişiktir. DG'nin ince bir tabakadan oluşmasına karşın, farklı afferent sinirleri içeren farklı grupların sinapslarını içeren, stratum molekulare, stratum lakunosum, stratum radiatus ve stratum lusidum olmak üzere 4 alt katmandan oluşan hipokampus kısmen daha kalın bir yapıya sahiptir. Hipokampustaki ana hücrelerin katmanına, stratum pyralidae adı verilir. Kesitlerde

hücre gövdeleri üçgen anahatlara sahip olan ve moleküler tabakaya uzanan geniş apikal dendritlere sahip nöronları içerir. DG'nin ana hücreleri, stratum granulosumu oluşturur. Bu hücreler, küçük ve çok sayıdadır. Hipokampal piramit hücrelerinin aksonları, stratum oriens geçerek alveusa giriş yapar. DG'ye ait granül hücrelerinin aksonları, polimorfik tabakadan girusun hilusuna (CA4) geçmekte ve daha sonra, hipokampusun CA3 bölgesinin lusidum katmanına ve pyralidaesine girmektedir (26, 32).

Yetişkin insan hipokampus morfolojisini anlayabilmek için hipokampusun gelişim ve şekillenme sürecinin iyi anlaşılması gerekmektedir. Hipokampus ve DG, embriyonik gelişimin geç döneminde palliumun kenarında tanınabilir hale gelir (33). Serebral korteksin ve buna bağlı subkortikal beyaz maddenin, özellikle de korpus kallosumun radial kısımlarının büyümesi, nispeten küçük hipokampusu, gelişmekte olan temporal lobun medial yüzeyi haline getirmek için aşağıya ve ileri iter. Yetişkin hipokampus oluşumunu karakterize eden katlanma embriyonik gelişimde, döllenmeden sonra 13 ila 20 hafta arasında gerçekleşir (34, 35). Yüzeysel bir girinti olan, hipokampal sulkus, temporal lobun medial yüzeyinde oluşur ve lateral ventrikülün temporal boynuzuna girinti açar. Hipokampal sulkus büyümeye devam ederek daha derine iner ve daralır. 18. haftada bu daralmanın etkisiyle büyük ölçüde küçülür ve kaybolamaya yakın bir hal alır, böylece DG'nin ventral yüzeyi, medial kenar boyunca kortikal alan olan ve parahipokampal girusun mediali boyunca uzanan, hipokampusa bitişik subiculumun yüzeyiyle kaynaşır (26).

4.1.2. Sıçan Hipokampusunun Anatomisi, Embriyolojisi ve Histolojisi

Yetişkin bir sıçan hipokampusu; entorhinal korteks (EC), parasubiculum, presubiculum, subiculum, Ammon'un boynuzu (Ammon's horn) ve DG olmak üzere ana kısımlara sahip iken (Resim 1), tenia tecta ve indusium griseum kısımları ise sıçan hipokampusunun rudiment kısımlarıdır. Her yapıdaki nöronlar kısmen çakışan fakat yine de önemli derecede farklı dalgalar halinde ortaya çıkar: Embriyonik dönemin 16 – 17. (E16-E17) günleri arasında hipokampal rudiment, E15-E17 günleri arasında entorhinal korteks, E16-E19 günleri arasında para- ve presubiculum, E16-E18 günleri arasında subiculum, E15-E17 günleri arasında Ammon boynuzu bölgesinin strata oriens, radiatum, lacunosum-moleculare kısımlarında ki büyük hücreler, Ammon'un boynuzu bölgesinin piramidal hücreleri E17-E19 günleri arasında, dentat hilustaki ve moleküler tabakada ki büyük hücreler E15-E19 arasında oluşmaya başlar. Dentat granül

hücrelerinin oluşumu E17 gününde başlar ve toplam sayısının %10 'una PN 18. günden sonra ulaşır. Yapılarda nörogenezisin üç karakteristik değişim eğilimi vardır: İlk olarak yüzeysel hücrelerden önce derin hücreler oluşur. İkinci olarak, rhinal fisüre yakın olan hücrelerin gelişmesi, bu yapıya uzak yerleşmiş hücrelerden öncedir (rhinalden dentate doğru değişim). Son olarak ise daha sonra oluşan hücreler erken oluşan yüzeysel ve derin hücreler tarafından çevrelenir.

Ammon boynuzu bölgesindeki piramidal hücreler; strata oriens, radiatum, ve lacunosum moleculare bölgelerinin büyük hücrelerinden sonra oluşur. DG'de ise granül hücreleri, hilus ve moleküler tabakadaki büyük hücrelerden sonra meydana gelmektedir. Yapılardaki nöron gelişiminde rhinalden dentate doğru bir sıralama söz konusudur. İlk olarak EC gelişirken, ardından subiculum, sonra Ammon boynuzu bölgesinin CA3 kısmı ve son olarak da DG kısmı nöronal gelişimi tamamlar. Para- ve presubiculum yapıları ise gelişimini bu sıralamadan önemli ölçüde sonra tamamlayan istisna yapılarıdır. Ayrıca CA1 yapısındaki hücreler CA3 komşu hücrelerden de belirgin ölçüde sonra şekillenirler. Bu geç nörogenezis her iki yapıyla belirgin şekilde ilişkide olan talamik girdi ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir.

Hipokampal alanda rhinal fisür yapısından merkezi kortikal kenara ilerledikçe altı farklı bölge karşımıza çıkar. Bunlar: Entorhinal korteks, parasubiculum, presubiculum, subiculum, Ammon boynuzu ve DG'tur. Bu bölge, fimbria ve fornikslere ait belirgin fiber yolları tarafından subkortikal telensefalik (septum) ve diensefalik (çıkıntı gövdesi, ön talamik çekirdekler ve diğerleri) merkezleriyle bağlantılıdır. Hipokampal bölgenin rudiment yapısı, indusium griseum olarak dorsal yönde korpus kallozum üzerinde ve ileri doğrultuda ise tenia tecta olarak anterior koku çekirdeğinin medial bölgesine uzanır.

Entorhinal korteks: E17–18. günlerinde beş farklı tabaka şeklinde incelenmesi mümkündür. Dıştan içe doğru sıralandırıldığında; 1. tabaka dış pleksiform bölge olarak tanımlanır. 2. tabaka büyük stellat hücrelerinin hücre gövdelerini içermektedir. 3. tabaka orta boyutta piramid hücre gövdelerini içerir. 4. tabaka seyrek hücre bölgesi olarak birkaç dağınık büyük piramidal tip hücre içermektedir. 5 – 6. tabakalarda ise medial entorhinal kortekste küçük hücrelerin baskın olduğu, lateral entorhinal kortekste ise orta

ve küçük hücreleri içerir ve yatay yönlü yerleşmiş, orta boy hücreler beyaz cevherin yanında bulunur.

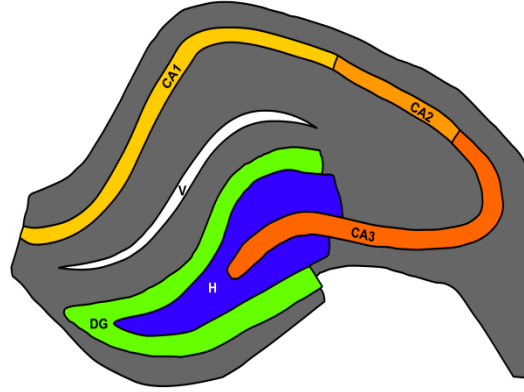
Parasubiculum ve presubiculum: Bu yapılar arka kısımdan orta EC ile ön taraftan subiculum yapıları arasında sıkışmış halde bulunmaktadır. Parasubiculumun dış katmanında orta büyüklükteki hücreler yer alırken, küçük ve sıkıca bir arada duran hücreler presubiculumda yer almaktadır. Derin tabakada yer alan hücreler diğer tabakadakilere benzer küçük ve orta boyuttadır.

Subiculum: Geniş moleküler tabakanın altında dağınık piramidal tabakaya sahip hipokampusun bu tabakasının bir tarafında presubiculumla komşu olan prosubiculum bulunurken diğer tarafı, Ammon boynuzu yapısının CA1 bölgesine komşudur.

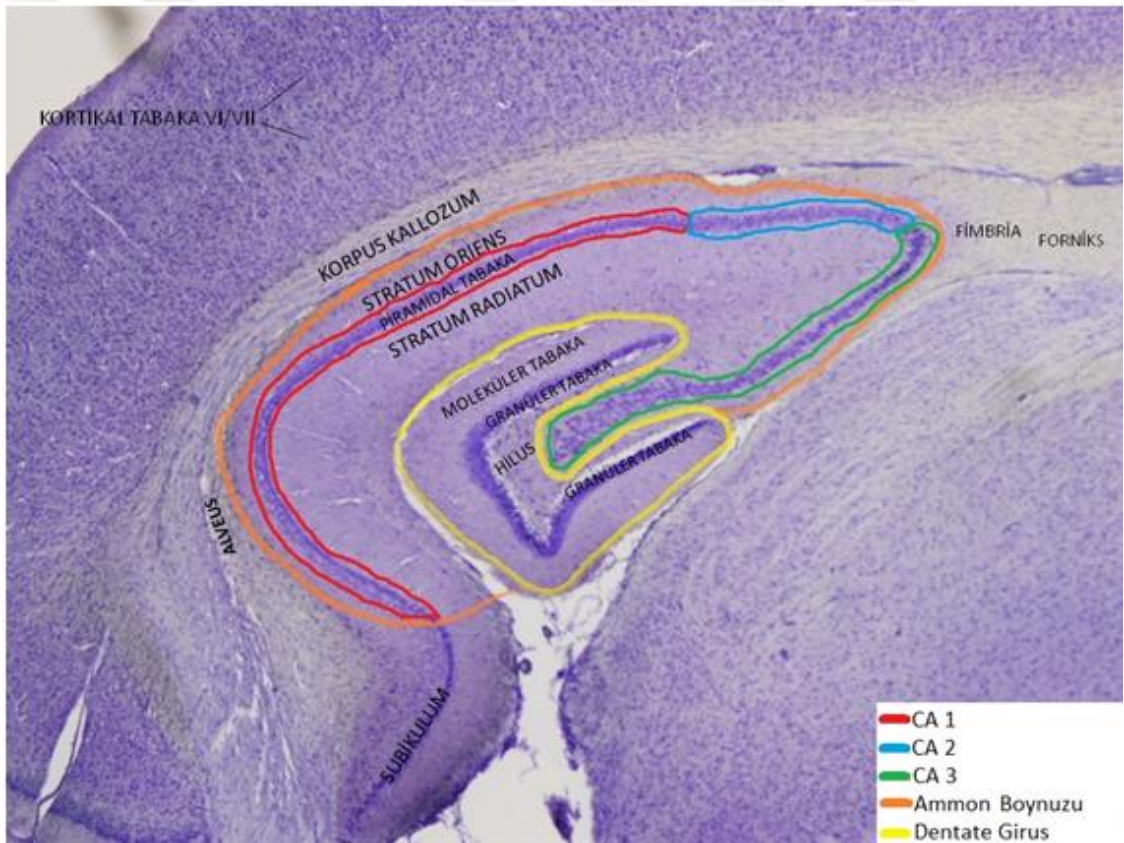
Ammon boynuzu: Bu yapıda ki dar piramidal hücre tabakası prosubiculum tabakasından DG'nin hilusuna kadar uzanmaktadır (36). CA veya Ammon boynuzu ayrıca, hipokampusun esas bölgesi olarak da adlandırılabilir; dış pleksiform tabaka ve stratum oriens olarak da adlandırılan bir iç polimorf katmanla kaplı, sıkça sıralanmış, piramidal hücrelerin bulunduğu ince bir tabaka ile karakterizedir. Piramidal hücrelerin apikal dendritlerini içeren dış pleksiform tabaka genellikle bir takım alt tabakalara bölünür. Bunlar, CA1, CA2 ve CA3 alanlarındaki üç ana alt bölüm olarak tanımlanmaktadır (37).

Dentate girus: Hilus ve moleküler tabaka olmak üzere iki tabaka şeklinde incelenebilir. Dentate hilus piramidal, polimorf ve granüler tabakanın altına diffüz dağılmış veya tabana gömülü küçük hücrelerden oluşur. Bu hücreler sepet hücreleri olarak da tamamlanır. Ammon boynuzunun CA3 kısmı ile ilişkili stratum radiatum ve stratum oriens, hücre yoğunluğundaki ufak bir fazlalık ile ayırt edilebilir (36).

Hipokampusun rudimenter kısmı: Küçük, sıkıca yerleşmiş hücrelerin dar bir şerididir. Korpus kallosumun üzerinde indusium griseum olarak uzanır. Anterior septal bölgede dorsal tenia tecta ya da septo-hipokampal çekirdek olarak, orta hat boyunca ise genu çevresine posterior olarak kıvrılarak uzar. Ventral anterior septal bölgede daha büyük, daha az yoğun diziliimli hücreler derin tabakalara indikçe küçülmektedir. Bu yapılar ventral tenia tecta olarak ön koku çekirdeğinin medial bölümüne komşu olacak şekilde öne doğru devam etmektedir (36).



Şekil 1. Sıçan hipokampusunun şematik resmi. DG: Dentat Girus, CA: Cornu Ammonis, H: Hilus, V: Ventrikül.



Resim 1. Sıçan hipokampusunun hücresel seviyedeki tabakaları. Cresyl fast violet ile boyanmış ve $\times 4$ büyütme ile çekilmiş resimde hipokampusun her bölgesi farklı renkle gösterilmiş ve renkler ile gösterilen alanlar resmin sağ alt köşesinde belirtilmiştir.

4.1.3. Sıçan ve İnsan Beyin Gelişiminin Karşılaştırılması

Deney hayvanlarının embriyonik yaşı, döllenme zamanı bilindiği için tam olarak belirlenebilmektedir. Buna karşın insan gelişiminde döllenme zamanı sadece tahmini olarak yapılabilmektedir. Bu durum insan embriyosunun yaşını tespit etmek için araştırmacıları, evrelere ayırma yöntemine itmiştir. Bu evrelere ayırma yönteminde yaş tayini, bütünsel morfolojik gelişmeler olan, nöral tüpün kapanması, ön ekstremitelerin tomurcuklanması gibi gelişmelerle tespit edilmektedir. Bu evreleme yöntemi ile embriyonik yaş aralığı hiç değilse günlere özel gelişim basamakları boyutuna kadar daraltılabilir. Çoğu yüzeysel morfolojik özellik ortaya çıktıktan sonra, embriyonik aşamanın sona erdiği düşünülür ve fetal dönem başlar. Evreleme yöntemi fetal dönemde kullanılmaz ve embriyonik yaş haftalarla ifade edilir (38).

İnsanda embriyonik yaşın belirlenebilmesi laboratuvar çalışmalarında önemli bir yer tutmaktadır. Özellikle çalışmada kullanılan ilaç, uygulama vs. gibi etmenlerden embriyoların nasıl etkilendiğinin tespitinin yapılabilmesi adına bu olgu daha da önem kazanmaktadır. Bununla birlikte deney hayvanlarının embriyonik gelişim süreci ve hangi yapının hangi evrede oluştuğu, oluşumunu tamamladığı ve bu sürenin insan embriyosundaki gelişim sürecinin hangi safhasına denk geldiği gibi konularda aynı derecede öneme sahiptir.

İnsanlarda gebelik süresi yaklaşık olarak 40 hafta (280 gün) iken sıçanlarda bu süre 3 haftayı birkaç gün ile aşan bir süreye sahiptir (22 – 23 gün). Sıçan yavruları, göz kapakları açılmadan, bulbus olfaktorius, hipokampus ve beyincikteki granüler hücre topluluklarının nörogenezisi başlamadan yaklaşık iki hafta önce dünyaya gelirler. Çoğu nöron sütten kesilmenin ardından çoğalmaya başlar (PN 21. gün). Bunun tam tersine insan türünde doğan yavru göz kapakları açık ve beyincikteki granüler nöronlar çoğalmış bir şekilde dünyaya gelir. Sıçanlarda PN yaşamın ilk üç haftasını insanlardaki orta ve geç doğum öncesi dönemlerle karşılaştırdığımızda bile, sıçan beyni döllenmeden yaklaşık 6 hafta sonra olgun halindeki durumuna yaklaşır; insan beynin aynı olgunlaşma dönemine ulaşması ise yaklaşık 7 kat daha uzun sürer. Bu sebeple, gelişmekte olan beynin mutlak kronolojik yaşı (döllenmeden sonraki günler veya haftalar) ve göreceli gelişimsel yaşı (spesifik yapısal özelliklerin ortaya çıkma zamanı açısından) arasında

$$F = q \times E$$

Burada, F parçacığa etki eden elektriksel kuvvet, q parçacığın yükü ve E parçacığın konumundaki elektrik alandır.

4.2.2. Manyetik Alan

Bir manyetik alan (H) ve bununla ilişkili manyetik akım yoğunluğu (B), yalnızca elektrik yükleri hareket halinde ise yani elektrik akım akışı varsa ortaya çıkar. Bu alan için iki açıklama (ifade) arasındaki ilişki aşağıdaki formülle ifade edilebilir.

$$B = \mu \times H$$

Çoğu biyolojik materyal için $\mu = \mu_0$ olarak kabul edilir. Burada μ_0 serbest alanın geçirgenliğidir (hava). Bu monografide “manyetik alan” terimi “manyetik akım yoğunluğu” ile eşdeğer olarak kullanılmıştır. Manyetik alan, yalnızca, Lorentz kuvveti tarafından verilen hareketli bir “q” yükü üzerine kuvvet uygular ve aşağıdaki formülle ifade edilir.

$$F = qv \times B$$

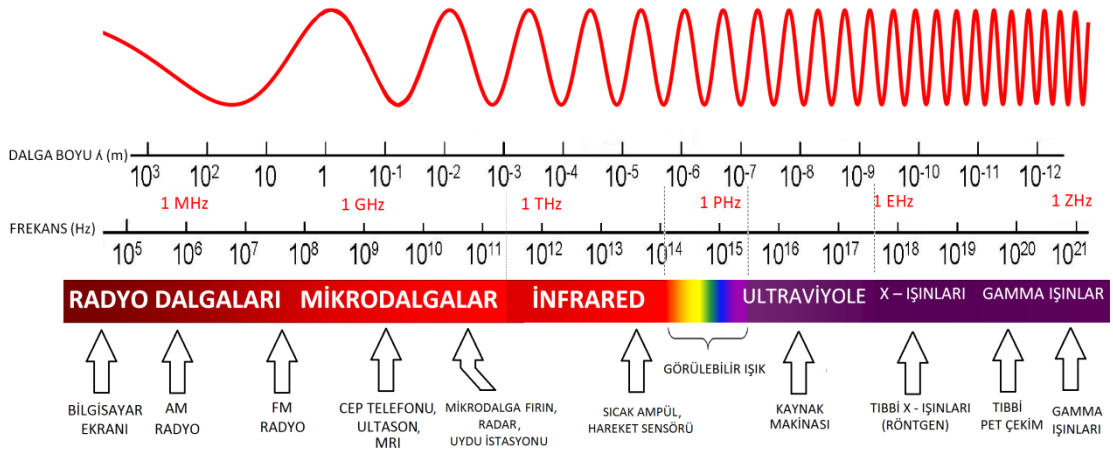
Burada kuvvetin yönü hız v'ye ve manyetik akış yoğunluğu B'ye diktir. Elektrik ve manyetik alanlar genlik ve yön ile karakterize edilen vektör nicelikleridir. Manyetik alan genliği B harfiyle temsil edilir. Birimi Tesladır (T). Manyetik alan Lorentz kuvveti ile ölçüldüğü için birimi coulomb-metre/saniye başına Newton (N)'dur. Tesla, büyük bir birim olduğundan pratikte, Gauss (G) kullanılmaktadır ($100 \mu T = 1 G$). Sabit manyetik alanlar, sabit akımlar olarak da adlandırılan tek yönlü, doğrudan akımlar ve manyetik malzemelerden oluşur. Zamanla değişen manyetik alanlar, elektrik alanları gibi aynı tür alternatif akım kaynakları tarafından üretilir. Zamanla değişen manyetik alanlar da elektrik alanların kaynağıdır. Benzer şekilde, elektrik alanları manyetik alanlar üretir (42).

4.2.3. Elektromanyetik Alan Çeşitleri ve Dalga Boyları

Elektrik ve manyetik alanlar birlikte EMA olarak adlandırılır. EMAlardaki elektrik ve manyetik kuvvetler elektromanyetik radyasyondan kaynaklanır (43). Elektromanyetik dalgaların her biçimi kütsüz enerji biçiminde ve ışık hızında yol alır. Bununla birlikte, içerdüğü enerji doğrudan Planck Yasası gereğince frekansla ilişkilidir.

$$E = h \times \nu$$

Burada E, foton enerjisi joule'dir, h Planck sabiti (6.624 3 10234 j/sn' ye eşittir) ve ν frekanstır (Hz, saniyede ki devir). Frekans, dalga boyu ile ters orantılıdır. EMAların standart ölçüm birimleri frekans ile değişiklik gösterir. Yüksek frekanslarda, radyasyon genellikle elektron volt (eV) niteliğinde enerji şeklinde tanımlanır. Spektrumun bu ucunda (gama ışınları, kozmik ışınlar, X-ışınları), genellikle en az 1 eV gerektiren kimyasal bağları kırmak için yeterli enerji vardır ve bu nedenle bu EMA skalasına "iyonlaştırıcı radyasyon" ismi verilmektedir. Yoğunluk, diğer iyonize radyasyonlarda olduğu gibi Gray (Gy) cinsinden ölçülür. Görünür ışık da dahil olmak üzere ara frekanslarda tanımlanan dalga boylarında "foton" teriminden söz edilir. Mikrodalga ve radyo frekansı EMA'ları genellikle hem frekans hem de yoğunluk olarak Watt (W) cinsinden tanımlanır. Yelpazenin en alt ucunda, yayılmayan ve bağlanmayan ayrı E ve H vardır ve bu nedenle alan yoğunlukları, E alanı için kilovolt (kV)/m ve H alanı için amper/m olacak şekilde ayrı ayrı tanımlanır. Bununla birlikte, 1 MHz ve daha yüksek frekanslarda, elektrik ve manyetik alanlar, eşleşmiş (birleşmiş) alanlar olarak yayılır ve bu nedenle ayırt edilmezler (44). Elektromanyetik spektrumun dağılımı aşağıdaki şemada belirtilmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. Elektromanyetik spektrum şeması.

Elektromanyetik spektrumun üst ucundaki kozmik ışınlar ve X-ışınları kuşkusuz tehlikelidir. DNA'yı parçalayabilir ve iyonlaşmaya neden olabilir, ancak görünür ışık, radyo ve televizyon iletim frekansları ve mikrodalga fırınına da içeren ara frekansların çoğu bu seviyede bir tehlikeye sahip değildir (Şekil 2; 44).

4.2.4. Elektromanyetik Alan Oluşturan Cihazlar

Hem doğal hem de insana ait iyonize olmayan EMA kaynakları vardır. Bir pusulanın iğnesinin Kuzey'i işaret etmesine neden olan dünyanın manyetik alanı, doğal olarak oluşan bir EMA'nın bir örneğidir. İnsan kaynaklı EMA'lar elektromanyetik spektrumun non-iyonize kısmının hem düşük düzeyli EMA hem de radyo frekans kategorilerine girer ve birçok farklı kaynaktan gelebilir.

Düşük düzeyli EMA: Bu seviyedeki EMA'yı oluşturan cihazlar/unsurlar arasında; elektrik hatları, elektrik kabloları, tıraş makineleri, saç kurutma makineleri ve elektrikli battaniyeler gibi elektrikli aletler bulunur (43).

Radyo frekansı radyasyonu: Bu skalanın en yaygın kaynakları arasında; cep telefonları, akıllı sayaçlar, tabletler, dizüstü bilgisayarlar gibi portatif kablosuz cihazlar da dahil olmak üzere kablosuz telekomünikasyon cihazları ve ekipmanları yer almaktadır (42). Amerika Birleşik Devletleri'nde cep telefonları şu anda yaklaşık 1.8 ile 2.2 GHz frekans aralığında çalışmaktadır. Diğer radyo frekansı düzeyinde EMA yayarak çalışan cihazlara bakıldığında; Radyo ve televizyon sinyalleri. AM (genlik modülasyonu) / FM (frekans modülasyonu) radyolar ve eski VHF / UHF televizyonlar cep telefonlarından daha düşük radyo frekanslarında çalışır. Radyo sinyalleri AM veya FM'dir. AM radyo çok uzun mesafelerde yayın yapmak için kullanılırken, FM radyo daha lokalize alanları kapsar (43). Radarlar, uydu istasyonları, manyetik rezonans görüntüleme (MRI) cihazları ve endüstriyel ekipmanlar ve evlerde kullanılan mikrodalga fırınlar, cep telefonlarından biraz daha yüksek radyo frekanslarında çalışırlar. Analog veya DGAT (Dijital Geliştirilmiş Akülü Telekomünikasyon) teknolojisiyle çalışabilen ve tipik olarak cep telefonlarına benzer radyo frekansları yayınlayan kablosuz telefonların sınırlı bir menzili olduğundan yakınında bir üs niteliğinde kaynağa gereksinim duymaktadırlar. Sinyal güçleri genel olarak cep telefonlarınınkinden çok daha düşüktür (42). Cep telefonu şebekeleri, radyo ve televizyon yayınları da dahil olmak üzere anten kuleleri veya baz istasyonları, çeşitli düzeylerde radyo frekansı enerjisi yayarlar (45). Televizyonlar ve bilgisayar ekranları statik elektrik alanlarının yanı sıra çeşitli frekanslarda E ve H üretir. Bazı dizüstü bilgisayarlarda ve masa üstü bilgisayarlarda bulunan likit kristal ekranlar önemsiz

derecede elektrik veya manyetik alanlar oluştururlarken, modern bilgisayarlarda, ekranın ürettiği statik alanları normal seviyelere düşüren iletken ekranlara sahiptir (43).

Kablosuz yerel alan ağları, yaygın olarak Wi-Fi (wireless fiber) olarak bilinir. Bunlar, kablosuz ağ sistemlerinin spesifik türleri ve giderek yaygınlaşan radyo frekans radyasyonu kaynağıdır. Kablosuz ağlar, Wi-Fi özellikli cihazları fiziksel olarak veya bazı veri bağlantısı vasıtasıyla, internete bağlı bir erişim noktasına bağlamak için radyo dalgalarını kullanır. Son yıllarda biraz daha yüksek frekanslarda (5, 5.3 veya 5.8 GHz) çalışan cihazların bulunmasına rağmen, standart Wi-Fi cihazları 2.4 ila 2.5 GHz arasında olmak üzere cep telefonlarına oldukça yakın olan radyo frekanslarında çalışmaktadır (46).

Evde kullanılan elektrikli ev aletleri ve diğer cihazlar için manyetik alan seviyeleri, manyetik alan kaynağına en yakın noktada en yüksek seviyede iken kaynaktan uzaklaşılması ile hızla azalır. Manyetik alanlar çoğu cihaza yaklaşık 1 metre mesafede hızla düşer. Bilgisayar ekranları için, ekrandan 30 - 50 cm uzakıkta, manyetik alan benzer şekilde kayda değer seviyede daha düşüktür (43).

4.2.5. Özgöl Soğerma Hızı

Özgöl soğerma hızı (SAR = Specific absorption rate), insan vücudundaki EMA etkileşimini nicelleştiren en önemli değerışkenlerden biri olarak kabul edilmiştir. Elektromanyetik enerjinin vücut dokuları tarafından soğerulma hızıdır. Kilogram başına watt (W/kg) olarak ölçölür (47). EMA oluşturan cihazların güvenlik kılavuzlarında maksimum, bölgesel ve tüm vücut için ortalama SAR değerı ile ilgili sınırlar önerilmektedir. Maksimum yerel SAR değerının değerlendirilmesi, özellikle vücudun belirli bir bölgesinin yakınındaki bir kaynaktan gelen elektromanyetik radyasyona maruz kalındığında daha fazla önem taşır. Yaklaşık 100 kHz ile 6-10 GHz frekans aralığı SAR için önemli dozimetrik miktardır (48).

SAR değerı, dokunun tipine, EMA etkisi oluşturan cihaza olan uzaklığına ve iletkenliğine göre değerışir. Bu nedenle SAR değerleri bir noktadan diğerine değerışiklikler gösterir (47). SAR doğrudan ölçölmesi neredeyse imkânsızdır. Bu nedenle sınır değerlerin belirlenmesinde kolay gözlemlenebilen ve ölçölülebilen, elektrik alan şiddeti, manyetik alan şiddeti ve güç yoğunluğu değerlerinden yararlanılır (49).

Elektrik alan şiddeti E (V/m) olan bir ortamda dokularda soğrulmaya neden olan doku iletkenliği “ σ ” (S/m), yoğunluğu “ ρ ” (kg/m³) ve “V” hacmine sahip dokuda soğurulan SAR değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanır (19).

$$SAR = \iiint_V \frac{\sigma E^2}{\rho} [W/kg]$$

Özgül soğurma hızı vücut sıcaklığının ölçülmesiyle elde edilebilecek bir değer değildir. Her ne kadar EMA etkisi oluşturan cep telefonu gibi cihazların kullanımı sırasında, etki alanı içerisindeki dokuların ısısında bir miktar artış söz konusu olsa da bu etki SAR değerini değiştirmemektedir (47).

Kaynaklarda gün içerisinde bir bireyin EMA’na maruziyetinin 10 MHz ve 100 Gigahertz (GHz) frekanslarını geçmemesi gerektiği yer almaktadır (48). Cep telefonlarının yaygın olarak kullanıldığı frekans aralıkları 900 MHz ve 1800 MHz olan GSM (Groupe Speciale Mobile) sistemleri için sınır değerleri incelendiğinde, 42 V/m ve 59 V/m, güç yoğunlukları 4.5 W/m² ve 9 W/m² olarak belirlenmiştir. Türkiye’de International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP) sınır değerleri esas alınarak hazırlanan genel yaşam alanlarında GSM 900 ve 1800 MHz sistemleri için sınır değerler Tablo 2’de gösterilmiştir (49).

Tablo 2. Türkiye’de kontrolsüz etkilenme için sınır değerler (49).

	Frekans Aralığı			
	900 MHz		1800 MHz	
	Tek bir cihaz için sınır değeri	Ortamın toplam sınır değeri	Tek bir cihaz için sınır değeri	Ortamın toplam sınır değeri
Elektrik Alan şiddeti (V/m)	10.23	41.25	14.47	58.34
Manyetik Alan şiddeti (A/m)	0.027	0.111	0.038	0.157
Güç yoğunluğu (W/m ²)	0.28	4.5	0.56	9.0

4.3. Elektromanyetik Alanın Biyolojik Sistemler Üzerine Etkisi

4.3.1. Elektromanyetik Alanın Canlı Doku Üzerine Etkisi

Enerjisi hidrojen bağının enerjisinden birkaç derece daha düşük ve mV ila μ V aralığına düşen bir kuantumun enerjisinin (örneğin mikrodalga) oluşturduğu EMA’nın,

yaklaşık yirmi yıl öncesine kadar herhangi bir biyolojik etki oluşturmadığına inanılıyordu. Bu nedenle bu enerjilerin oluşturduğu termal etkiler ihtimal dışı bırakılıyordu. Son derece düşük frekans aralığında, ısıtma etkileri büyük oranda girdap akımlarına ve dielektrik gevşemeye (CXJ tipi, 0-100 Hz) bağlıdır. Poynting teorisine göre, canlı bir sistemdeki maksimum elektromanyetik enerji birikimi şu şekilde verilir:

$$Em = \frac{1}{2} [\epsilon E_{rms}^2 + \mu H_{rms}^2]$$

Burada E_{rms} ve H_{rms} sırasıyla rms elektrik ve manyetik alan yoğunlukları ϵ ve μ ise sırasıyla biyolojik ortamın dielektrik sabiti ve manyetik geçirgenliğidir.

Biyolojik bir yapı, EMA'yı kestiğinde bu biyolojik yapının sahip olduğu sonlu iletkenlik nedeniyle indüklenir. Olay alanı ve indüklenen alan arasındaki ilişki, dalga hareketinin büyüklüğü, polarizasyonu, yönü, olay alanının frekansı, uzunluğu, yerel çevre (vücudun yeryüzüne yakınlığı ve cisimlerin iletkenliği) ve boyutuna bağlıdır. Buna ek olarak vücuttaki organların sahip oldukları elektriksel özellikler de bu ilişkide önemli bir ölçüttür (50).

Düzgün olmayan bir elektrik alanındaki bir cismin varlığı, cisim yüzeyinde artan bir şiddetle bu alan tarafından kuvvet uygulanmasına sebep olur. Yüzey alan yoğunlukları, alanın eğrilik yarıçapına ve alanın yönlendirilmesine bağlıdır. Buna göre, eğer bir insan vücudu dikey bir alanda bulunursa, maksimum yoğunluk kafa bölgesinde oluşur. Alternatif akımlar, elektrik alanına paralel bir yönde, nispeten iyi bir iletken olan cisim boyunca akar ancak kesin akım yolları bilinmemektedir. Yüklerin büyüklüğü ve dağılımı, vücut şekline, alan ve zemin düzlemine göre konum ve yönüne bağlıdır.

Vücuttaki indüklenmiş akım yoğunluğu, manyetik akım yoğunluğunun değişim oranı ile orantılıdır. Uygulanan sinüzoidal alanlar için indüklenen alanlar ve akımlar, doğrusal olarak frekansa bağlıdır.

$$J = \sigma \times Br/2$$

Burada J akım yoğunluğu, σ iletkenlik, B uygulanan manyetik akım yoğunluğu ve r dairesel yol yarıçapıdır (50).

Darbeleri manyetik alanlar tarafından indüklenen akımların büyüklüğü darbenin yükselme ve düşme sürelerine bağlıdır. En yüksek akım yoğunlukları periferik dokulardadır, çünkü bunlar vücuttaki en büyük indüktif halka yarıçapına sahiptir.

Bununla birlikte, doku homojenliği ve vücudun alana olan pozisyonu da mevcut yolu etkiler. Genel olarak, çevresel dokularda yatay bir manyetik alan tarafından indüklenen elektrik alanı, benzer büyüklükteki dikey bir manyetik alan tarafından indüklenen elektrik alanının yaklaşık 1.5 katıdır (51). Yatay bir manyetik alan vasıtası ile baştan ayağa doğru dolaşan akım boyun bölgesinde daha yüksek olur, çünkü küçük kesit akım akışını yoğunlaştırır (48).

Yaklaşık 0.15 m gövde yarıçapı ve 0.2 S/m' lik doku iletkenliğine sahip bir insan için, vücudun uzun eksenine paralel 50 Hz'lik bir manyetik alan, doku çevresinde tesla başına yaklaşık 5 A/m^2 lik bir akım indükleyecektir. Akım yoğunluğu vücut yarıçapıyla orantılı olduğu için, akım yoğunluk değerleri, hayvan ve insan maruziyeti arasında, ölçeklendirme amaçlı kullanılabilir. Farelerin, sıçanların ve insanların 1 mT' lik, 60 Hz' lik değişmeyen manyetik alan maruziyeti için tipik indüklenen akımlar ve alanlar sırasıyla 0.1 - 0.4, 0.3 - 1.3 ve 1 - 20 $\mu\text{A/m}^2$ aralığındadır (52).

4.3.2. Elektromanyetik Alanın Beyin Üzerinde Etkisi

Beyin hücre zarı mikrodalgaların hareketini algılayan kritik bir yapıdır ve yakın geçmişte daha fazla dikkat çekmiştir (53). MSS' nin tüm aktivitesi, nöronal alt sistemler içinde ve arasında sınırlanma, sergi ve uyarılma süreçlerinin dinamik etkileşiminin sonucudur. Bu etkileşimdeki yetersizlik patolojik süreçlere neden olabilir. Gamma amino bütirik asit, memelilerin beyinde ve sinir sisteminde ana uyarıcı nöromediasyonun ana inhibitörü ve glutamati olup muhtemelen beyin aktivitesi esnasındaki reseptörlerin işlevinde kilit rol oynamaktadır. Buna ek olarak kan beyin bariyeri, kanda bulunan ve beyine zararlı olabilecek kimyasal maddelerin nöronlara ulaşmasını önler. Bariyer, maddelerin kan dolaşımı ve beyin interstisyumu arasında çapraz geçiş hızını geciktirir. Bariyer bütünlüğü, beyin travması, beyinin ısısında artış, beyin kılcallarında yüksek ozmolaritede bulunan maddelerin varlığı gibi durumlarda bozulabilmektedir. Mikrodalga alanlarının kan beyin bariyerinin geçirgenliğinde değişikliğe yol açtığı rapor edilmesinin yanında (48), mikrodalga enerjisine maruz kalmanın, sıçanların beyin damarlarındaki flüoresan boyanın beyin dokusunda sızıntıya neden olduğu bildirmiştir (54).

Farklı seviyelerdeki EMA'nın memeli MSS üzerindeki etkileri hala daha tam açıklığa kavuşturulamamış olsa da yapılan çalışmalarla genel ölçüde bir kanaate

varılması mümkün olabilmektedir. Çok sayıda araştırmaya rağmen, EMA'ların doğum kusurlarına veya genetik anormalliklere neden olduğu hipotezini destekleyen çok az kanıt bulunmaktadır. Bununla birlikte, manyetik alanlara maruz kalma hem çocukluk hem de yetişkin çağı çalışmalarında beyin tümörleri gelişimiyle ilişkilendirilmiştir (55-57). Risk oranları düşüktür, ancak meta-analizler istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki göstermektedir. Yakın tarihli raporlarda, Alzheimer hastalığının ortaya çıkma sıklığı EMA maruziyeti ile ilişkili olabileceği ifade edilmektedir. EMA'ya maruz kalma, sinir sistemi hastalıklarında önemli bir faktör gibi görünmemekle birlikte, beyin tümörleri ve Alzheimer hastalığı gibi sinir sistemi bozukluklarının değerlendirilmesinde daha ileri araştırmalara gerek duyulmaktadır (44).

4.3.3. Elektromanyetik Alanın Hipokampus Üzerine Etkisi

Hipokampus; kavrama, öğrenme ve hafıza işlevlerinde görev alır. Hipokampusda meydana gelebilecek anormallikler; lissensefali, korpus kallozumun holoprosensefali ve agenezisi gibi konjenital serebral malformasyonların yanı sıra epilepsi, depresyon, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı ve şizofreni gibi nörolojik ve nöropsikiyatrik bozukluklarla da ilişkilendirilmiştir (58). Bunun yanında oluşturulan hipoteze göre; memeli hipokampusunun DG'nin bilgi (hafıza) örüntüsü ayırımına aracılık ettiği, nemotik bilginin belirgin ve ortogonal tasvirlerinin oluşumunda rol oynadığı ve yaşam boyunca nörogenesis merkezi olarak görev aldığı varsayılmaktadır(59). Ancak nörogenesisin hipokampal fonksiyonuna nasıl katkıda bulunduğu büyük ölçüde bilinmemektedir.

Böylesine önemli ve hayati fonksiyonlara sahip bir yapının herhangi bir nedenle olumsuz yönde etkilenmesi, organizmanın standart koşullarda hayatını devam ettirmesini de olumsuz etkileyecektir. Belirli bir düzeyin üzerindeki EMA'nın hipokampus üzerinde olumsuz etkiler bıraktığını rapor eden birçok bilimsel çalışma, doğabilecek bu olumsuz tabloyu destekler niteliktedir (6, 60). Örneğin, sekiz haftalık sıçanlarla yapılan bir çalışmada hayvanlara uygulanan 900 MHz EMA'nın hayvanların hipokampusunda oluşturacağı etkinin araştırıldığı bir çalışmada, hipokampusun CA bölgesindeki piramidal hücrelerin sayısının, EMA etkisine maruz kalan hayvanlarda, kontrol grubuna göre daha az olduğu ve yine uygulanan EMA'nın hipokampusta histopatolojik bulgulara sebebiyet verdiği rapor edilmiştir (6).

Yine prenatal dönemde gebe sıçanlara uygulanan 900 MHz EMA'nın doğacak olan yavruların DG'de yapacağı etkinin incelendiği bir çalışmada; gebe sıçanlar gebelikleri süresince her gün, günde bir saat 900 MHz EMA etkisine maruz bırakılmışlardır. Yavrular PN dönemde 4. haftalarına ulaştıklarında sakrifiye edilerek DG'sindeki granüler hücreler stereolojik yöntemlerle sayılan bu çalışmada EMA etkisine maruz kalan yavrularda granüler hücre sayısının, kontrol grubuna göre düşük olduğu ve prenatal dönemde uygulanan EMA'nın, hipokampusun bu bölgesindeki nörogenezisi olumsuz yönde etkilediği rapor edilmiştir (60).

4.3.4. Düşük Seviyelerdeki Elektromanyetik Alanın Nöron Gelişimi ve Farklılaşması Üzerine Etkisi

Düşük seviyedeki EMA'nın yüksek seviyelerdeki EMA'dan farklı etkileri olabileceği rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda düşük frekanslarda uygulanan EMA'nın hipokampusun DG bölgesinde nöronal kök hücre çoğalmasını ve nöronal farklılaşmasını tetiklediği rapor edilmesinin yanı sıra erişkin hipokampusunda yeni oluşan nöronların sağ kalma oranlarını arttırdığı da rapor edilmektedir (61). Yine başka bir çalışmada yetişkin sıçan kortikal nöronlarına uygulanan 50 Hz EMA'nın hücrelerin hayatta kalma oranlarını arttırdığı ve bununla birlikte kortikal nöron kültür hücrelerinde apoptoza gitme oranlarını azalttığı rapor edilmiştir (62). Uygulanan 50 Hz düzeyindeki EMA'nın embriyonik sinir kök hücrelerinin çoğalması ve farklılaşması üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanan bir diğer çalışmada, 50 Hz EMA'nın embriyonik sinir kök hücrelerinin çoğalması ve farklılaşması üzerine direkt olarak bir katkısı olmazken, farklılaşmayı düzenleyen genlerin ifadesini olumlu yönde değiştirdiği rapor edilmiştir (63). Bu verilerden çıkarabileceğimiz sonuç yüksek düzeylerde seyreden EMA'nın beyin yapısı ve gelişimine olumsuz etkileri gözlemlenebilirken, düşük seviyelerde seyreden EMA'nın bu etkinin tam tersi etkiler gösterebileceğinin gözlemlenmesidir.

4.4. Stereoloji

Stereoloji terimi Yunanca kökenli stereo (katı) kelimesinden gelir. Stereoloji ise genel olarak katıları inceleyen bir bilim dalı olarak tanımlanır. Basitçe ifade edilmesi gerekirse, geometrik niceliklerin hesaplanması çalışmasıdır. Bir başka ifadeyle stereoloji sayı, hacim, yüzey, uzunluk gibi ilgilenilen yapı ile ilgili nicel veriler elde

etmek için kullanılan yöntem bilimidir (64-66). Stereoloji bilim disiplini içerisinde bu verilerin elde edilebilmesi için tamamı matematiksel ispatlara dayalı olarak geliştirilmiş birçok yöntem vardır (67). Stereolojik yöntemler sadece sağlık bilimleri alanında kullanılan yöntemler değildir. Mühendislik, ziraat, su ürünleri ve yer bilimleri gibi daha birçok bilim alanı tarafından kullanılabilir. Burada önemli olan, ilgilenilen nicel veriyi elde etmek için seçilecek olan stereolojik yöntemdir (68).

Bilindiği üzere doku, hücre, organ gibi biyolojik yapılar 3 boyutludur (3D) ve yapısal özellikleri 2 boyutlu (2B) kesitler üzerinde incelenebilir. Ancak 2B kesitlerden elde edilen görüntülerden yola çıkarak, yapının üç boyutlu özellikleri hakkında veriler elde edildiğinde eğer doğru yöntemler kullanılmazsa doğru sonuçların elde edilmesi mümkün değildir. Çünkü 2B kesitlerden elde edilen görüntüler, gerçekte 3B olan yapıların 2B düzlemdeki yansımasıdır. Bu yansımalar da incelenen yapının gerçek özelliklerini yansıtmaz. Örneğin gerçekte küre şeklinde olan bir hücrenin sınırları 2B kesit yüzeyinde küre şeklinde değil, halka şeklinde görülür (69, 70). Bu nedenle doğru yöntemler kullanılmadığında sadece 2B kesitlerden elde edilen verilerden yola çıkarak yapının 3B özellikleri hakkında veri elde etmek yanıltıcı olabilir (71-74).

Stereolojik yöntemler kullanarak 2B kesitlerden, yapıların 3B özellikleri hakkında bilgi sahibi olmak mümkündür. Burada dikkat edilmesi gereken en önemli noktalar, yapıların histolojik yöntemlerle görülebilir hale getirilebilmesi, doğru yöntemin seçilmesi, stereolojik yöntemlerin temel prensiplerinin doğru olarak uygulanmasıdır. Kısaca stereolojik yöntemler kullanarak, 2B görüntülerde veya kesitlerde yapılan ölçümlerden yola çıkarak gerçekte 3B olan yapıların geometrisine yada yapısına ilişkin anlamlı nicel verilerin elde edilmesi mümkündür (75). Stereolojik yöntemleri kullanarak güvenilir veriler elde etmek için stereolojinin tarafsızlık ve etkinlik prensiplerinin uygulanması oldukça önemlidir. Tarafsızlık çalışma sırasında kişisel veya çalışma şartlarından kaynaklı her türlü subjektif etkinin ortadan kaldırılması, etkinlik ise az zamanda güvenilir veriler elde etmek olarak özetlenebilir (76).

4.4.1. Tasarım Temelli Stereoloji

Biyolojik çalışmalarda stereolojik yöntemler genel olarak dört sayısal veriyi elde etmek için kullanılır. Bunlar sayı, uzunluk, yüzey ve hacim verileridir (69, 77, 70). Sayı, belirli bir popülasyonu oluşturan unsurların miktarıdır ve araştırmacıların ilgisini

eken temel bir niceliktir. Biyolojik yapılarda ilgilenilecek olan nesnelerin sayısının belirlenmesi, sanıldığı kadar basit değildir. Uzunluk, anlaşılması kolay, ancak tanımlanması kolay olmayan bir kavramdır. Uzayda bükülen ve döndürülen nesnelerin uzunluğu göz önüne alındığında, bu kavramın tanımlanmasında bazı sıkıntılarla karşılaşılabilir. Yüzey, her ne kadar bu ifade teorik geometride, yüzey alanı ile aynı anlama gelse de stereolojik yöntemlerin biyolojik çalışmalara uyarlanmasında bu ifade düzgün olmayan bir yüzey alanını ifade etmektedir. Hacim ya da profil alanı, bir nesnenin uzay alanını nasıl doldurduğunun ölçüsüdür. Bir düzlemde gözlemlenen nesnelerin alanı profil ya da kesit alanı olarak adlandırılır (78).

Örneğin, beyinde nöron sayısı hesaplanması, kılcal damarların uzunluğu, zarın yüzey alanı, tümör hacmi gibi unsurlar stereolojik metotlar yardımıyla elde edilebilecek veriler olarak sayılabilir (79). Son zamanlarda stereolojik yöntemlerde yeni kavramlar ortaya çıkmaktadır. Bunlardan en önemlisi tarafsız stereoloji olarak da tanımlanan “tasarıma dayalı” stereolojidir. Tasarıma dayalı stereoloji biyolojik araştırmalarda nicelleme nin güvenilirliğini ve verimliliğini artırmaktadır (80). "Tasarıma Dayalı" terimi, problemleri ve örnekleme şemaları "tasarlanmış" yani ön tanımlı olan yöntemlerin; boyut, şekil, uzaysal yönelim ve mekânsal dağılımdan bağımsız olduğu stereolojide yeni yöntemleri tanımlamak için kullanılır. İncelenecek geometrik özelliklerin bu bağımsızlığa kavuşması için stereolojinin temel kurallarına uyulmalı ve önyargıların yani taraflılığın ortadan kaldırılması için bu kuralların doğru bir şekilde takip edilmesi gerekmektedir (71). Eski stereolojik yöntemler "model temelli" yöntemler olduğundan, bu modelle yapılan çalışmalarda incelenen nesnelerin geometrik özelliklerine dayalı metotlar kullanılmaktaydı. Tasarım temelli yöntemler ise, incelenecek nesnelerin geometrisi hakkında bilgi kullanma ihtiyacını ortadan kaldırır. Hesaplamalarda olası sistematik hata kaynakları ortadan kaldırıldığından daha sağlam veriler elde edilir (80).

Stereolojide farklı veriler elde edilmesi için farklı yöntemler geliştirilmiştir ve bu yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlardan Cavalieri Prensibi ile 2B kesitlerden hacim hesaplaması, disektör (optik ve fiziksel) yöntemi ile belirlenen alandaki nicelik sayısının hesaplanması, parçalama (optik ve fiziksel) yöntemi ile ilgilenilen yapıdaki toplam nicelik sayısının hesaplanması yapılabileceği gibi, yine stereolojik yöntemlerin kullanımıyla ilgilenilen yapıya ait uzunluk, genişlik, yüzey ve yüzey alan hesaplamaları yapılabilmektedir (69, 70, 76). Tasarım temelli stereolojinin

uygulanması için bazı yazılımlar geliştirilmiştir. Bunlardan bir tanesi bu çalışmada da kullanılan Stereo Investigator” bilgisayar yazılımıdır. Bu yazılım sistematik rastgele örnekleme, optik disektör ve optik parçalamanın entegre kullanımıyla hesaplama yaparak sağlıklı, güvenilir ve tarafsız veriler elde edilmesine imkan sağlar (80).

4.4.2. Sistematik Rastgele Örnekleme

Sistematik rastgele örnekleme (SRÖ) stereolojik yöntemlerde kullanılan örnekleme yöntemidir. Kaynaklarda sistematik tekdüze rastgele örnekleme veya sistematik örnekleme olarak da geçmektedir. Bu terimlerin hepsi aynı kavramı ifade eder. SRÖ uygulamaya açıktır ve rastgele örnekleme (İstatistik bilim alanında basit rastgele örnekleme olarak da bilinir) ile karşılaştırıldığında varyansı azaltan mükemmel bir yöntem olduğu gösterilmiştir (69, 70, 71, 74, 77). SRÖ' de, araştırmacı f 'yi bir kesir seçer. Kesir $f = 1 / p$ tam sayı üzerinden 1 olarak seçilir. P sembolü, tekrarlamayı ifade etmek için kullanılır. Bu durumdaki setler aşağıdaki gibidir:

$$S_1 = \{ S_1, S_{p+1}, S_{2p+1}, \dots \}$$

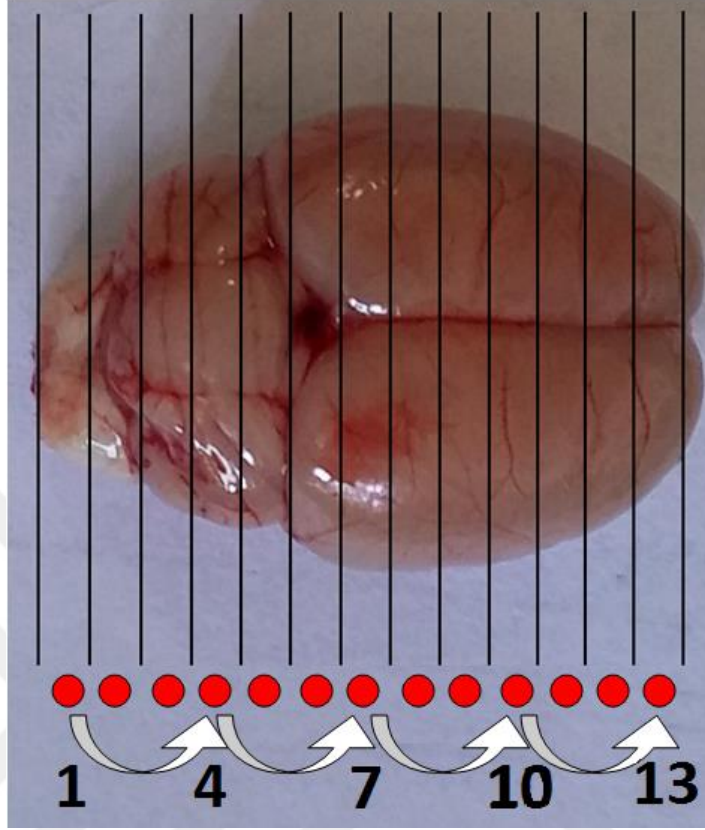
$$S_2 = \{ S_2, S_{p+2}, S_{2p+2}, \dots \}$$

...

$$S_p = \{ S_p, S_{2p}, S_{3p}, \dots \}$$

Bu yöntemde, set rastgele bir şekilde seçildiği sürece tarafsızdır. Seçime rastgele sayı eklemek için başlangıç noktası olarak 1'den p' ye kadar rastgele bir sayı seçilir. Bu kural doğrultusunda yapılan bir düzenleme aşağıdaki şekilde verilmiştir (Resim 2).

$$p = 3 ; f = 1/3$$



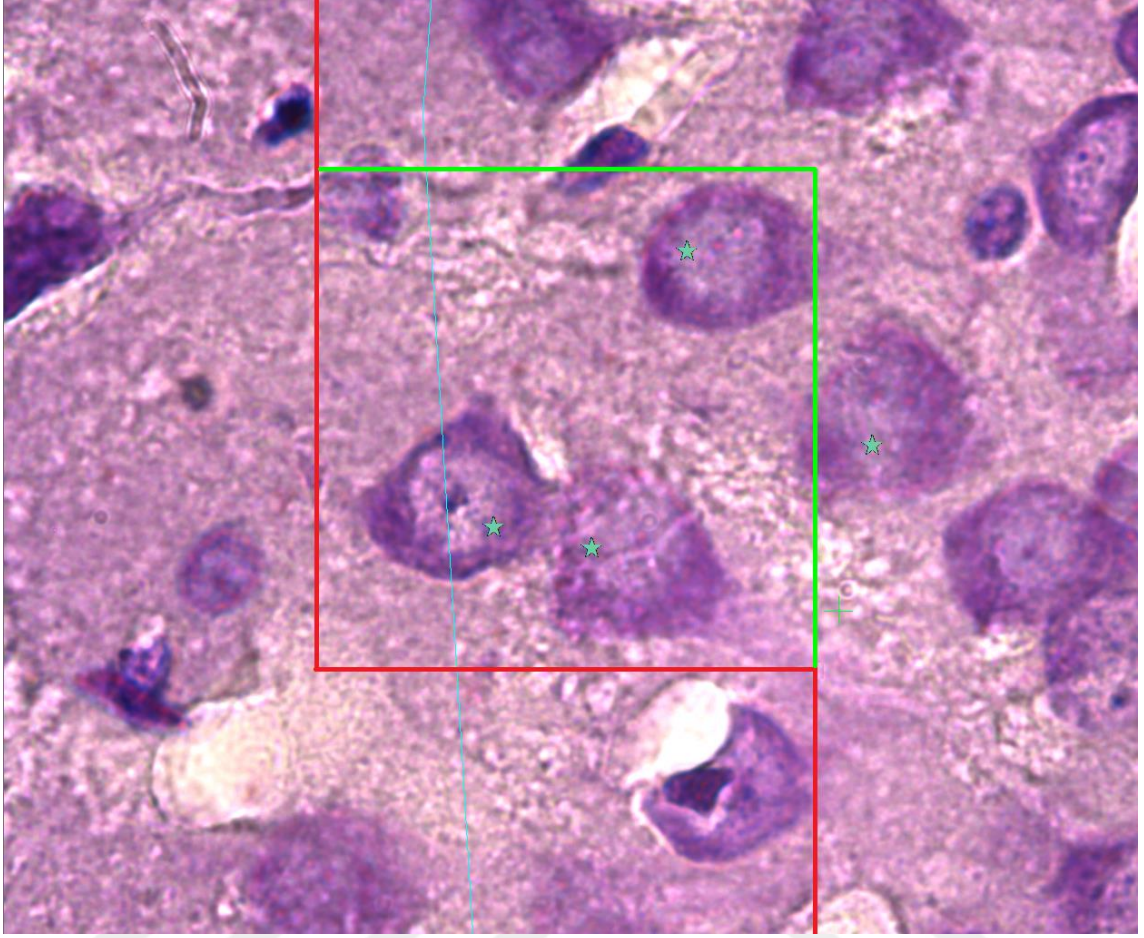
Resim 2. Sistematik rastgele örnekleme ile kesit belirleme

Resimdeki tasarıma göre p döngü sayısını ifade eder. Bu tasarımda $p = 3$ 'tür ve her 3 kesitten bir tanesi seçilecek demektir. f ise kesir oranıdır ve her döngüde seçilen kesit oranını ifade eder. Şekildeki tasarımda, her döngüde yani her 3 kesitte 1 kesit seçildiğinden f değeri $1/3$ 'dir. Şekildeki örnekte ilk üç kesitten rastgele seçilen birinci kesit, sistemin rastgele kısmını, ilk kesit seçildikten sonra p oranında ilerleme ise, sistemin sistematik yanını göstermektedir. Uygulamanın devamında aynı şekilde kesit seçimi yapılmalıdır. Örneğin şekilde ilk 3 kesitten 1 kesit sistematik rastgele örnekleme ile seçildiyse, bir sonraki seçilecek kesit 4 nolu kesittir. Uygulama aynı örnekleme ile devam eder ve örneklemeyle denk gelen kesitler çalışmaya dahil edilir. Bu örnekte seçilecek kesitler 1, 4, 7, 10, 13... şeklinde devam eder (71, 74).

4.4.3. Optik Disektör

Optik disektör kalın bir doku kesitinde ilgilenilen yapıları saymak için (stereoloji terminolojisinde tanecik veya partikül olarak tanımlanır.) kullanılan stereolojik bir

yöntemdir. Optik disektörde kalın doku kesitleri (örneğin sinir sistemi dokularında 30 – 40 μm) boyunca kısa mesafelerde odak düzlemleri ile sanal kesitler oluşturarak, oluşturulan sanal küpler (sanal hacim) içerisinde sayımın yapılması esasına dayanır. Oluşturulan bu sanal hacmin üst ve alt kısımlarında araştırmacının isteğine göre güvenlik kuşakları denen ve sayıma dahil edilmeyen kısımlar belirlenir. Bu iki bölge arasında kalan kısımda ise sayım yapılır. Bu alan içerisinde yapılacak sayım için tarafsız sayım çerçevesi olarak isimlendirilen sanal aparat kullanılır. Tarafsız sayım çerçevesi komşu iki kenar ve bu kenarların uzantıları yasak kenar (Resim 3'te kırmızı ile gösterildi) ve komşu iki kenarı serbest kenar (Resim 3'te yeşil ile gösterildi) olarak tanımlanır (69, 70, 77). Yasak kenarlara ve uzantılarına temas eden tanecikler, sayıma dahil edilmez. Ancak serbest kenarlara isabet eden ve sayım çerçevesi içinde kalan tanecikler sayıma dahil edilir. Optik disektör uygulaması sırasında sanal hacim bu tarafsız sayım çerçevesi ile oluşturulur. Bu çerçeve ile oluşturulan sanal hacim içerisinde ilerlenirken görüntüye gelen tanecikler, bu sayım çerçevesinin kurallarına göre sayıma dahil edilir veya edilmezler. Sanal hacim içerisinde farklı derinliklerde odaklama ile ilerlerken, çerçevenin dışında, kırmızı çizgi veya uzantıları ile temas halinde ya da güvenlik kuşağı içerisinde karşımıza çıkan tanecikler sayıma dahil edilmez (Resim 3; 64, 81).



Resim 3. Nöron sayımı sırasında tarafsız sayım çerçevesi görüntüsü. Görüntüde kırmızı çizgiler yasak kenarları, yeşil ile gösterilen çizgiler ise serbest kenarları ifade etmektedir. Yıldız, sayıma dahil edilen Piramidal nöronları göstermektedir (Cresyl fast violet, $\times 100$), mavi çizgi: Hipokampus sınırlayan çizgi.

4.4.4. Optik Parçalama

Hücrelerin fiziksel olarak çevresindeki dokulardan izole edilmesi mümkün değildir. Hücre sayısı verisinin elde edilmesi gereken çalışmalarda da gerçek sayıya yakın veriler elde etmek oldukça önemlidir. Bu nedenle kullanılan yöntemler de oldukça önem arz etmektedir. İlgilenilen dokuyu kesit haline getirmek ve kesitleri inceleyerek hücre sayısını bulmak oldukça sık kullanılan yöntemlerdendir. Ancak bu durumda dokunun kesilmesi, dokuda var olan hücrelerin de kesilmesine yol açar. Dolayısıyla kesitlerdeki hücre sayısı, dokudaki gerçek hücre sayısından farklıdır ve uygun yöntem seçilmediği takdirde elde edilen hücre sayısı verisi gerçek değerden sapma gösterecektir. Tasarıma dayalı stereolojide gerçek değere yakın ve istatistiksel olarak kabul edilebilir bir hata ile hücre sayısı verisi elde etmek için iki yöntem

kullanılır. Birinci yöntem parçalama yöntemidir ve bu yöntem optik parçalama olarak adlandırılır (69, 79). Yöntem optik disektör ve parçalama yöntemlerinin aynı anda uygulanması esasına dayanır. Optik parçalama uygulaması esnasında kalın kesitler X, Y ve Z düzleminde SRÖ ile belirlenmiş sanal sayım alanlarında, tarafsız sayım çerçevesi kurallarına riayet edilerek hücre sayımı gerçekleştirilir (81). Diğer yöntemde ise tüm sayım alanlarında sayılan hücrelerin sayısı, incelenen sayım alanlarının sayısına bölünerek, tarafsız sanal sayım alanlarındaki ortalama hücre yoğunluğu (N_v) hesaplanır. Elde edilen ortalama hücre yoğunluğu incelenen alanının hacmi (referans hacim = V_{ref}) ile çarpılarak, toplam hücre sayısı elde edilir. Bu yöntem $N_v \times V_{ref}$ yöntemi olarak adlandırılmıştır. Optik parçalama yönteminde sayı tahmini için V_{ref} gerekmediğinden uygulanması daha kolaydır. Optik parçalama, ilgilenilen hacmin şekli ne olursa olsun, herhangi bir üç boyutlu cisimdeki toplam tanecik sayısını tahmin etmek için biyolojik bilimlerde yaygın olarak kullanılan stereolojik yöntemlerdendir. Optik parçalama hücreler, sinapslar, glomerüller ve biyolojik doku içindeki diğer nesnelerin nicelleştirilmesi için uygundur. Optik parçalama uygulamasında da doku kesitlerinin kalın olması gerekir. Analizi yapılacak dokudan herhangi bir yönelimde kesit alınabilir. Optik parçalama ile yapılan hücre sayımları, çalışılan hücrelerin boyut, şekil, uzaysal yönelimi ve mekansal dağılımından etkilenmedikleri için tarafsız bir yöntemdir. Optik parçalama, bir dizi SRÖ yaparak kesit seçmek ve daha sonra X, Y ve Z eksenlerindeki her bir kesiti parçalama ilkesini kullanarak tekrar örnekleme temeline dayanır (69, 79, 81).

5. GEREÇ ve YÖNTEM

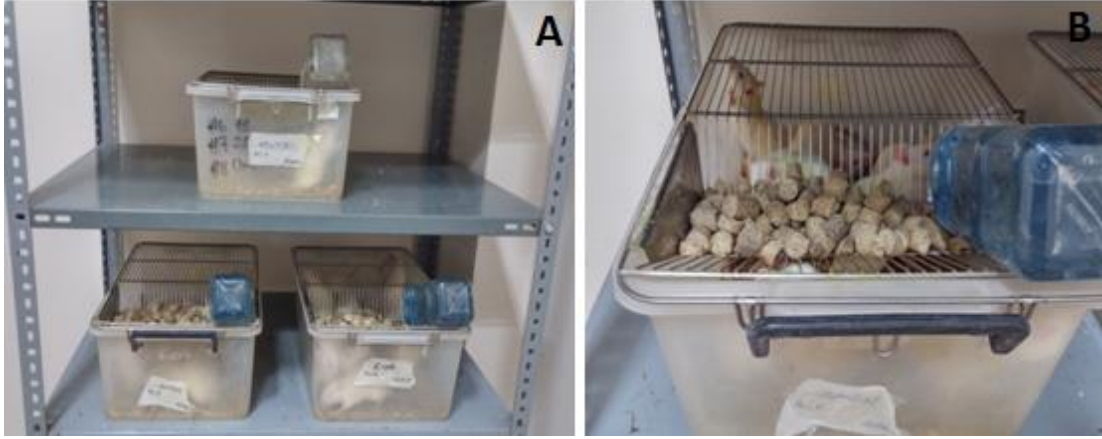
5.1. Çalışma Planı

5.1.1. Etik Kurul Onayı ve Proje Desteği

Çalışmaya Karadeniz Teknik Üniversitesi (KTÜ), Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı alınarak başlandı (Tarih: 02/02/2016; Protokol No: 2016/5). Bu çalışma KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklendi (Proje No: TYL-2016-5494).

5.1.2. Sıçanların Temini ve Bakımı

Çalışmada kullanılan Spraque Dawley cinsi erkek sıçanların elde edileceği anne dişi sıçanlar KTÜ Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (KTÜCAM) temin edildi. Uygun şartlarda KTÜCAM'da çiftleşmeye bırakılan anne sıçanlardan elde edilen yavrular, doğumlarından 21 gün sonra anne sütünden kesilerek dişi ve erkek olarak ayırt edildiler. Çalışmaya 36 erkek sıçan dahil edildi. Çalışmada kullanılacak sıçanlar erkek yavru sıçanlar arasından rastgele seçildiler, tartıldılar ve deney sürecine alındılar. Sıçanlar çalışma süresince KTÜCAM da muhafaza odası olarak adlandırılan bir odada, diplerine odun talaşı serilmiş standart Tip III sıçan kafeslerinde tutuldular (Resim 4). $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, $50\% \pm 10$ nem ve 12'şer saatlik karanlık ve aydınlık döngüde tutulan sıçanlar muhafaza odasından yalnızca Sham ve EMA uygulamaları için çıkarıldılar. Sıçanların deney süresi boyunca standart sıçan yemi (Bayramoğlu Yem ve Un Sanayi Tic. A.Ş., Erzurum, Türkiye) ve suya serbestçe ulaşabilmeleri sağlandı. Çalışma başlangıcından sonuna kadar hayvanlara bu yem ve su dışında herhangi bir yiyecek ya da içecek verilmedi. Sıçanların bakımı, deneyin bütün uygulamaları ve sakrifiye edilmeleri KTÜCAM'da yapıldı.



Resim 4. Sıçanların deney süresince içerisinde tutulduğu kafesler. A; kafeslerin yandan görünümü, B; kafesin üstten görünümü

5.1.3. Sıçanların Gruplandırılması

Çalışmaya dahil edilen 36 sıçan tartıldıktan sonra gruplara ayrıldı. Gruplar, 1 grup ve 2 grup olmak üzere iki ana grup olarak tanımlandı. 1 grup 50. günde sakrifiye edilen sıçanlardan, 2 grup ise 79. günde sakrifiye edilen sıçanlardan oluşturuldu. 1 ve 2 gruplar kendi içinde de üç gruba ayrıldı. Çalışmanın tamamı herbirinde 6 sıçan bulunan altı grup üzerinden gerçekleştirildi. Gruplar, Kontrol 1 (n=6) ve Kontrol 2 (n=6), Sham 1 (n=6) ve Sham 2 (n=6), EMA 1 (n=6) ve EMA 2 (n=6) olarak adlandırıldı. Çalışma grupları ve grupların özellikleri Tablo 3’de özetlendi.

Tablo 3. Çalışma grupları

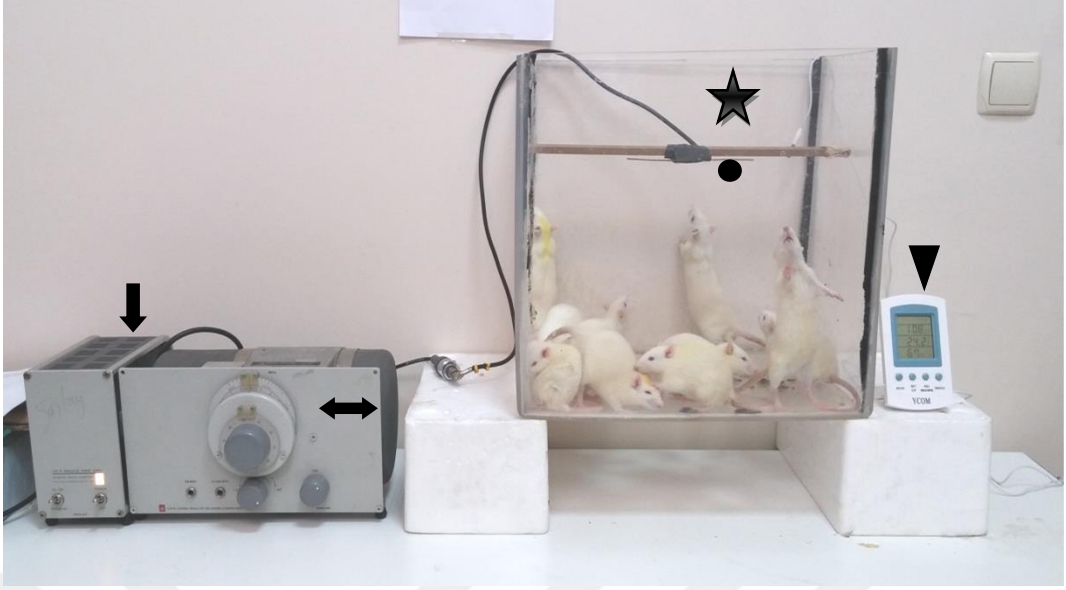
Çalışma grupları	Grupların özellikleri
1. ana grup	Kontrol 1 (n=6) PN 21-49. günlerinde herhangi bir uygulama yapılmayan, PN 50. günde sakrifiye edilen grup
	Sham 1 (n=6) PN 21-49. günlerinde günde bir saat Sham uygulaması yapılan, PN 50. günde sakrifiye edilen grup
	EMA 1 (n=6) PN 21-49. günlerinde günde bir saat EMA uygulaması yapılan, PN 50. günde sakrifiye edilen grup
2. ana grup	Kontrol 2 (n=6) PN 21-49. günlerinde herhangi bir uygulama yapılmayan, PN 79. günde sakrifiye edilen grup
	Sham 2 (n=6) PN 21-49. günlerinde günde bir saat Sham uygulaması yapılan, PN 79. günde sakrifiye edilen grup
	EMA 2 (n=6) PN 21-49. günlerinde günde bir saat EMA uygulaması yapılan, PN 79. günde sakrifiye edilen grup

Kontrol, Sham ve EMA grubu sıçanların her biri Bouin solüsyonu ile farklı yerlerinden işaretlenerek çalışmaya başlandı. Kontrol grubu sıçanlar hariç Sham ve EMA gruplarına dahil olan sıçanlar 21. günlerinden itibaren, Sham ve EMA uygulama prosedürlerine göre her gün aynı zaman diliminde Sham ve EMA etkisine maruz bırakıldılar. Sham ve EMA uygulamalarına sıçanların 49. günlerine kadar her gün, günde 1 saat olmak üzere aralıksız devam edildi.

5.1.4. Çalışma Düzenegi, Sham ve EMA Etkisinin Oluşturulması

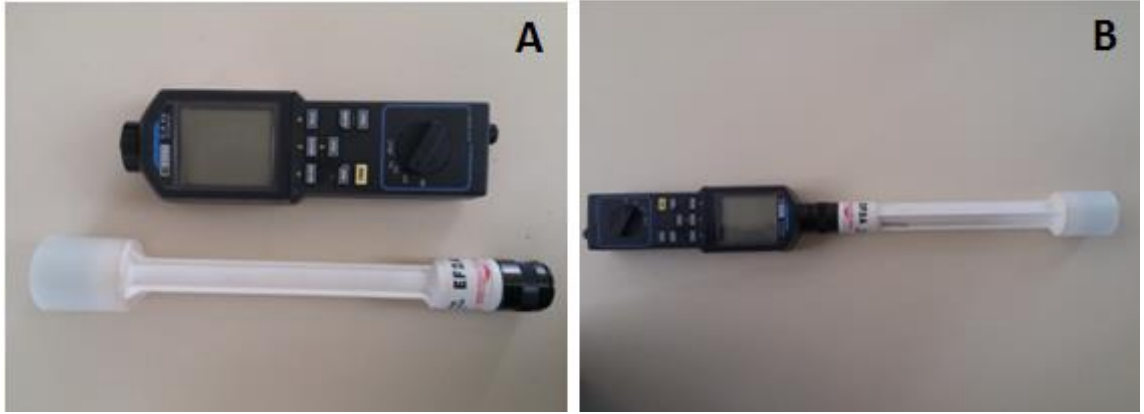
Çalışma süresince Sham ve EMA uygulaması, hayvanların tutulduğu muhafaza odalarından ayrı bir odada, uygulama odası olarak adlandırılan odada gerçekleştirildi. Uygulama odası, Sham ve EMA uygulamaları sırasında sadece bu amaçlar için tahsis edildi. Bu süreç içerisinde odada başka bir çalışmanın yapılmasına izin verilmedi. Sham ve EMA uygulamaları 21 – 49. günler arasında (21. ve 49. günler de dahil) her gün aynı saatte olacak şekilde gerçekleştirildi. Her gün öncelikle Sham uygulaması gerçekleştirildi. Buna göre Sham grubu sıçanlar (Sham 1 ve Sham 2 grup sıçanlar) 21 - 49. günler her gün aynı saatte (gündüz saat 10 – 11 arası) muhafaza odasından alınarak uygulama odasına getirildiler. Uygulama odasında hayvanların serbest hareketine imkan verecek şekilde özel olarak tasarlanmış zemin ölçüleri 40.5 cm, 31.5 cm, yüksekliği ise 40,5 cm olan pleksiglas maddeden yapılmış ve EMA etkisi oluşturma düzeneginin bir parçası olan kafes içerisine alındılar (Resim 4). Bu kafes içerisinde bir saat süreyle, herhangi bir etkiye maruz bırakılmadan tutulan sıçanlar daha sonra muhafaza odalarına geri götürüldüler.

Sham uygulaması sonrasında EMA grubu sıçanlar (EMA 1 ve EMA 2 grubu sıçanlar) uygulama odasına alınarak EMA etkisine maruz bırakıldılar. Bu grup sıçanlar da 21–49. günler arasında, her gün aynı saatte (11 – 12 saatleri arasında) muhafaza odalarından alınarak, uygulama odasına getirildiler. Uygulama odasında Sham grubu sıçanların tutulduğu pleksiglas kafes içerisinde bir saat süreyle 900-MHz EMA etkisine maruz bırakıldılar (Resim 5).



Resim 5. EMA Etkisi oluşturma düzeneği ve EMA etkisindeki sıçanlar, kesintisiz sabit güç kaynağı (ok); osilator (çift yönlü ok); EMA kafesi (yıldız); dijital ısı ve nem ölçer (ok başı); dipol bakır anten (daire).

EMA ve Sham grubu sıçanlar uygulama odasına alınmadan, uygulama odasının köşelerinde ve ortasından EMA ölçümleri yapılarak ortamda kontrolsüz, kaynağı bilinmeyen başka bir EMA etkisinin olup olmadığına bakıldı. Ortamda başka bir EMA etkisinin olmadığı anlaşıldıktan sonra Sham ve EMA uygulamalarına başlandı. Bu ölçümler 100 kHz - 2.5 GHz ölçme aralığına sahip geniş bantlı bir EMA ölçer cihazıyla (C.A 43 Isotropic Electrical Field Intensity Meter, Chauvin Arnoux Group, Paris, France) yapıldı (Resim 6). Aynı cihazla EMA uygulamalarının başlangıcında ve sonunda sıçanlar kafesteyken kafesin altında 9 ayrı noktadan ve kafesin içinde zeminde 9 ayrı noktadan EMA ölçümleri yapıldı. Böylece EMA grubu sıçanların maruz kaldıkları EMA etkisi tespit edildi.



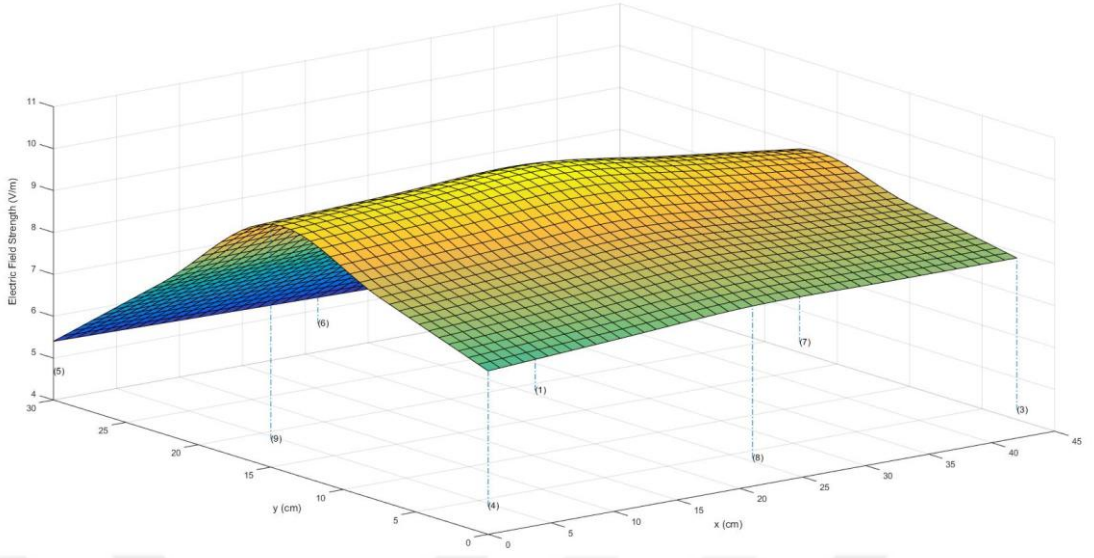
Resim 6. Geniş bantlı EMA ölçme cihazı. A; cihaz kullanılmıyorken başlık aparatının sökülüş hali, B; cihazın kullanıma hazır, başlık aparatı takılmış hali

EMA uygulamasının başlangıcında ve bitiminde; kafes içinden ve kafes altından yapılan ölçüm değerlerinin ortalamasını gösteren sonuçlar Tablo 4’te gösterilmiştir.

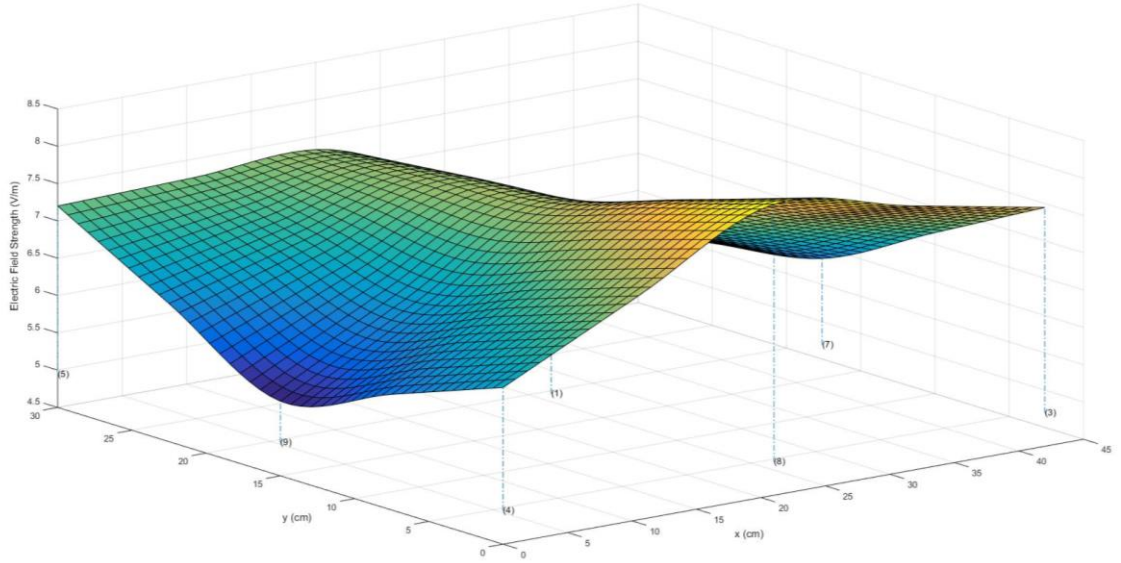
Tablo 4. EMA uygulamasının başlangıcı ve bitişinde, kafes içinden ve altından her gün yapılan ölçümlerin ortalama değerleri.

Ölçüm noktaları	Tüm günlerin ortalama elektrik alan değerleri (V/m)					
	Başlangıç		Bitiş		Başlangıç bitiş ortalaması	
	Kafes içi	Kafes altı	Kafes içi	Kafes altı	Kafes içi	Kafes altı
1	10.0	7.5	9.9	7.4	10.0	7.4
2	5.2	5.6	5.2	5.7	5.2	5.6
3	8.3	7.7	8.3	7.8	8.3	7.7
4	7.9	6.6	8.1	6.5	8.0	6.6
5	5.3	7.2	5.5	12.7	5.4	9.9
6	5.2	7.3	5.6	9.5	5.5	8.4
7	9.2	6.1	9.3	6.4	9.3	6.3
8	8.2	8.4	8.6	8.7	8.4	8.5
9	9.7	5.5	10.4	5.1	10.1	5.3
Ortalama	7.73 ± 1.84	6.87 ± 0.99	7.87 ± 1.97	7.75 ± 2.32	7.8 ± 1.96	7.3 ± 1.49

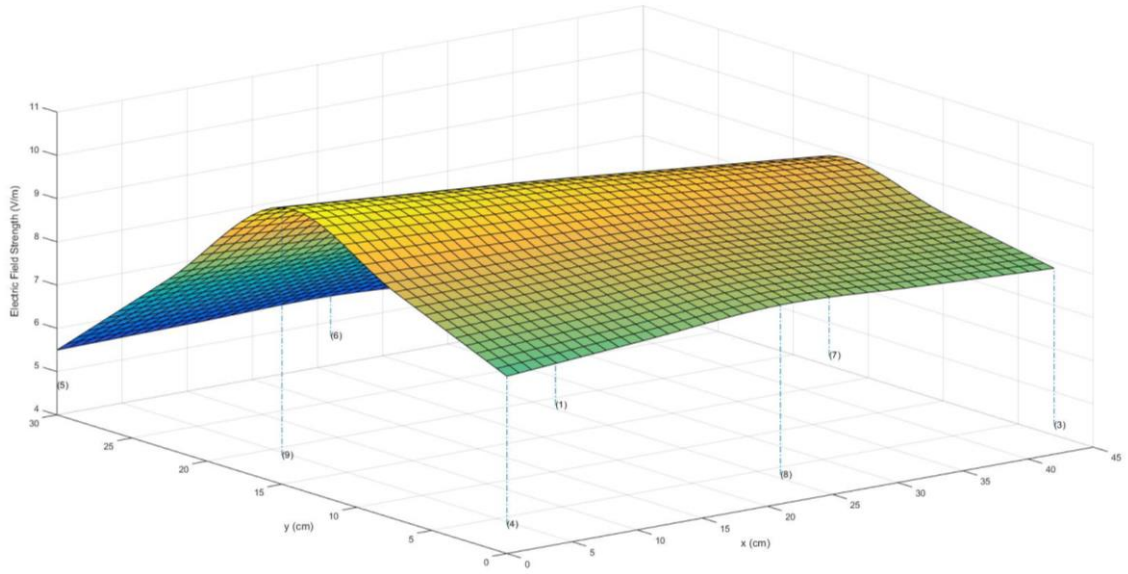
Yapılan bu ölçümlerin x-y düzlemindeki dağılımı grafik üzerinde gösterildi (Şekil 3–8). Grafik üzerindeki ölçüm noktaları ile kafes üzerindeki ölçüm noktaları aynı bölgeleri göstermektedir.



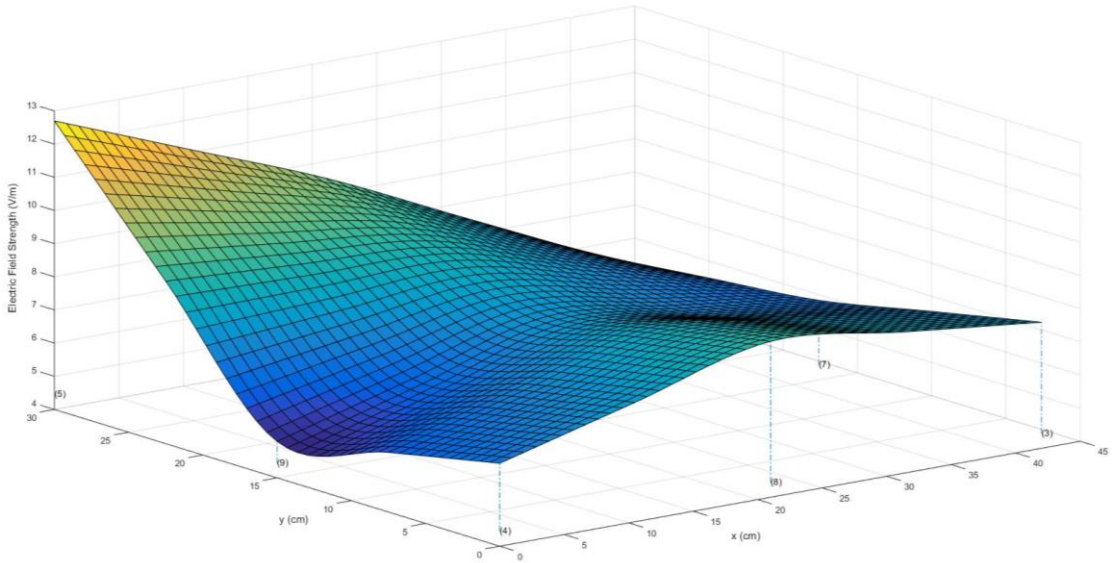
Şekil 3. 29 günlük EMA uygulamasının başlangıcında kafes içinden ölçülen değerlerin ortalamasının x-y düzlemindeki dağılımı.



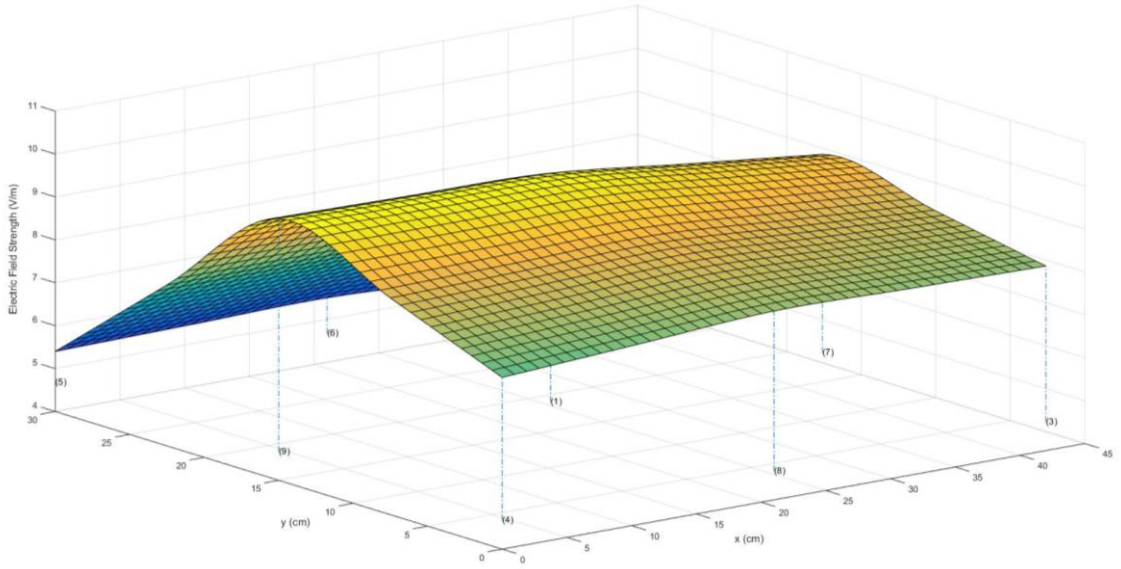
Şekil 4. 29 günlük EMA uygulamasının başlangıcında kafes altından ölçülen değerlerin ortalamasının x-y düzlemindeki dağılımı.



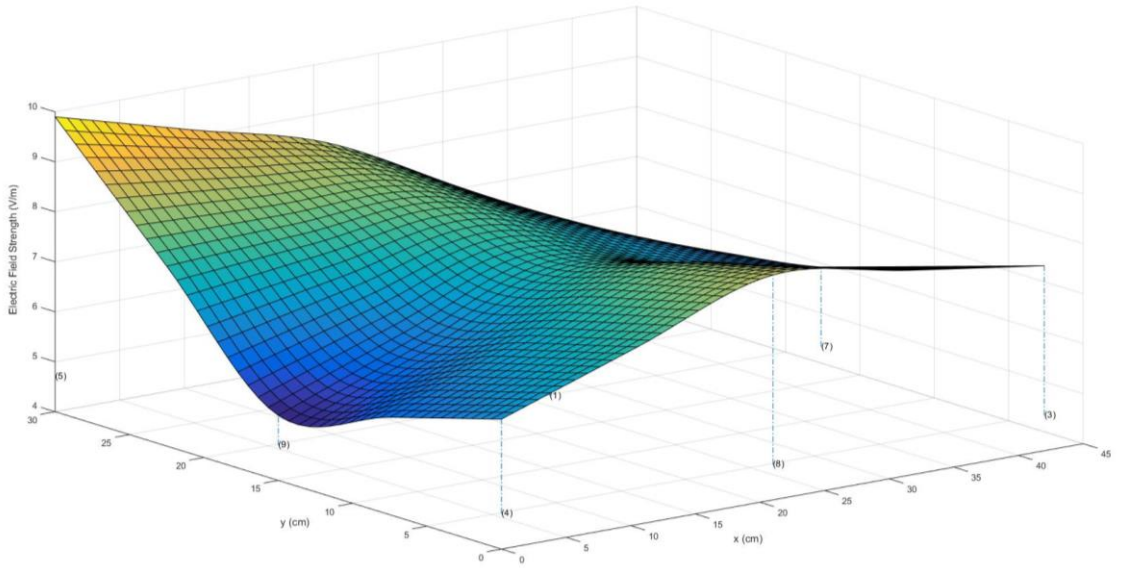
Şekil 5. 29 günlük EMA uygulamasının bitişinde kafes içinden ölçülen değerlerin ortalamasının x-y düzlemindeki dağılımı.



Şekil 6. 29 günlük EMA uygulamasının bitişinde kafes altından ölçülen değerlerin ortalamasının x-y düzlemindeki dağılımı.



Şekil 7. 29 günlük EMA uygulamasının başlangıcında ve bitişinde, kafes içinden ölçülen değerlerin ortalamasının x-y düzlemindeki dağılımı.



Şekil 8. 29 günlük EMA uygulamasının başlangıcında ve bitişinde kafes altından ölçülen değerlerin ortalamasının x-y düzlemindeki dağılımı.

29 günlük uygulama süresince hayvanların ağırlıkları ve hayvanlar kafes içerisindeyken ölçülen EMA'nın başlangıç ve bitiş değerlerinin ortalamaları göz önüne alınarak elektrik alan şiddeti, güç yoğunluğu ve SAR değerleri hesaplandı (Tablo 6). Elde edilen verilere göre kafesteki sıçanların 29 günlük 900 MHz EMA maruziyeti

sonucunda 7.8 V/m’lik elektrik alan şiddeti ve 0.16 W/m² güç yoğunluğuna maruz kaldığı tespit edildi.

Tablo 5. Türkiye’de kontrolsüz etkilenme için sınır değerleri.

Frekans	900MHz		1800MHz	
	Tek bir cihaz için sınır değer	Ortamin toplam sınır değeri	Tek bir cihaz için sınır değer	Ortamin toplam sınır değeri
Elektrik Alan şiddeti	10.23V/m	41.25 V/m	14.47V/m	58.34V/m
Manyetik Alan şiddeti	0.027A/m	0.111A/m	0.038A/m	0.157A/m
Güç yoğunluğu	0.28W/m2	4.5 W/m2	0.56W/m2	9.0W/m2

Türkiye’de yaşam alanlarında, ICNIRP sınır değerleri esas alınarak hazırlanan GSM 900 ve 1800 MHz sistemleri için belirlenen sınır değerler Tablo 5’te gösterilmiştir. Çalışmada elde ettiğimiz değerler Türkiye’de belirlenen değerlerle paralellik göstermektedir.

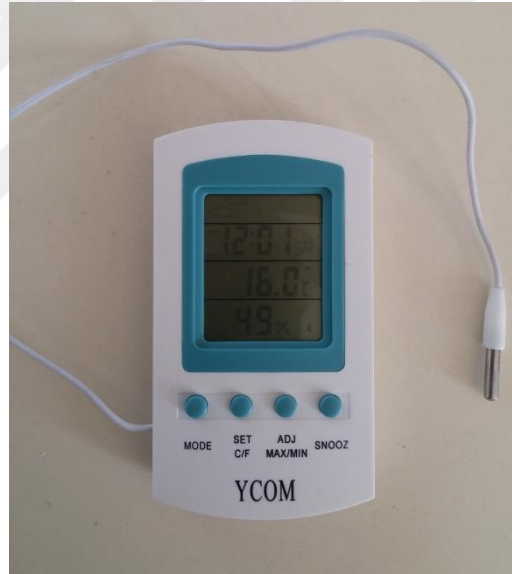
Tablo 6. Hayvanlara uygulanan EMA değerlerinin ortalamaları kullanılarak hesaplanan elektrik alan şiddeti, güç yoğunluğu ve SAR değerleri. Bu değerler, hayvanlar kafes içerisindeyken uygulamanın başlangıcında ve bitişinde ölçülen değerlerin ortalamasıdır.

Tüm vücut 29 günün ortalaması	Elektrik alan şiddeti (V/m)	Güç yoğunluğu (W/m ²)	SAR (W/kg)
Küçük sıçanlar	7.8	0.16	0.0167
Orta sıçanlar	7.8	0.16	0.008
Büyük sıçanlar	7.8	0.16	0.0057

Ayrıca hergün hem Sham hemde EMA uygulamaları sırasında, dijital ısı ve nem ölçen bir cihazla (YCOM KMN-303, YuYau Shuanghe Electron Instrument Co., Ltd. Zhejing-China) sıçanlar kafesteyken kafes içinin ısı ve nem değerleri de ölçüldü (Resim 7).

Sham ve EMA etkisi oluşturma düzeneği esas olarak üç ana parçadan oluşmaktadır. Düzeneğinin esas parçalarını osilatör (1218-BV, Lockable Oscillator, 900-2000 MHz, General Radio Company, Concord, Mas-sachusetts, USA, Serial No. 1483), sabit güç kaynağı (1267-B Regulated Power Supply, General Radio Company,

Concord Massachusetts, USA, Serial No. 903) ve pleksiglas malzemeden yapılmış EMA kafesi oluşturmaktadır. Osilatör EMA kafesi içerisinde 900-MHz'lik EMA oluşturulması için kullanılmaktadır ve osilatörden çıkış gücü yaklaşık 300 mW ve frekansı 900 MHz'e ayarlı yüksek hızlı frekans elde edilebilmektedir. Şehir elektrik şebekesine bağlı olan sabit güç kaynağı, osilatörün çalışması ve sürekli enerji ihtiyacının karşılanması için gereklidir. Düzenekte osilatörün çıkışı bir kablo yardımıyla 15 cm uzunluğunda ve 1 mm çapa sahip bakır bir çubuktan yapılmış yarım-dalga dipol antenine bağlıdır. Anten, EMA kafesinin üst yüzeyinden 11 cm içeriye, kafesin sağ ve sol kenarları arasına yerleştirilmiş bir tahta çubuk üzerine sabit olarak yerleşiktir. EMA kafesi (boyutları 40.5 cm × 31.5 cm × 40.5 cm) Sham ve EMA uygulamaları sırasında sıçanların serbestçe hareketine imkan verecek şekilde (1275.75 cm² taban alanı) özel olarak tasarlanmış ve pleksiglas maddeden imal edilmiştir.



Resim 7. Dijital ısı ve nem ölçme cihazı.

5.2. Histolojik İşlemler

5.2.1. Dokuların Temini

Kontrol 1, Sham 1 ve EMA 1 gruplarına dahil olan sıçanlar Sham ve EMA uygulamalarının bitiminde, PN 50. günde; Kontrol 2, Sham 2 ve EMA 2 gruplarına dahil olan sıçanlar ise PN 79. günde tartılarak servikal dislokasyon yöntemiyle sakrifiye edildiler. Daha sonra makas yardımıyla, kafanın üst kısmının her iki yanından girilerek

kafatası kemikleri kesilerek çıkarıldı. Beyin dokusunun (beyincik, beyin sapı ve beyin) tamamı dura materden ayrılarak çıkarıldı (Resim 8). Beyin, etrafındaki diğer dokulardan izole edilerek tartıldı ve veriler not edildi. Beynin sağ ve sol yarımları birbirinden ayrılarak, sol beyin daha önce hazırlanan %10'luk formaldehit solüsyonu içerisine konularak stereolojik analizler ve histopatolojik değerlendirmeler için saklandı. Beyin dokularının çıkarılma işlemlerinin tamamı KTÜ Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezinde bu amaçlar için düzelenmiş hayvan takip ve cerrahi müdahale odalarında gerçekleştirildi.



Resim 8. Deney hayvanından dokuların elde edilmesi.

5.2.2. Beyin Dokularının Takibi

Beyin dokuları iki hafta süre ile tespit solüsyonun olan %10'luk formaldehit içerisinde muhafaza edildiler. Bir gece süreyle akarsuda yıkanan beyin dokuları bu aşamadan sonra %80'lik alkolde 1 saat, %90'lık alkolde 1 saat, %96'lık alkolde 2 saat, %100'lük alkolde 2 saat ve ksilende 1 saat bekletildiler. Daha sonra parafine alınan dokular 1 gün süreyle oda sıcaklığında bekletildiler ve ilk olarak 40 °C etüvde 1 gece ardından 60 °C etüvde 2 saat tutulduktan sonra parafin bloklara gömüldüler (82).

5.2.3. Dokulardan Kesit Elde Edilmesi ve Sistemik Rasgele Örneklem

Stereolojik çalışmalarda kesit kalınlığının, kesit örneklem oranının ve diğer stereolojik parametrelerin esas çalışmaya başlamadan önce belirlenmesi gerekmektedir. Bu nedenle dokulardan kesit almaya başlamadan önce, kullandığımız hayvanların yaş,

kilo ve beyin dokularının ağırlıkları dikkate alınarak literatür taraması yapıldı. Kaynaklarda, benzer çalışmalarda kesitlerin genel olarak 26-40 μm kalınlığında alındığı ve kesit örnekleme oranlarının kalınlığa göre değiştiği tespit edildi (19). Bizde çalışmamızda kesitlerin 1/7 oranında örnekleme yaparak kranial yönde 30 μm kalınlığında almaya karar verdik.

Bu planlama çerçevesinde parafin bloklara gömülen dokulardan sistematik rasgele örnekleme kurallarına riayet ederek 1/7 oranında kesitler alındı. Bloklar döner kollu mikrotoma (Leica RM2255, Nussloch, Germany) yerleştirildikten sonra hipokampusu ulaşana kadar tıraşlandı. Dokuya ulaşıldıktan sonra 1/7 oranında sistematik rastgele örnekleme gereği altı kesit alındıktan sonra 30 μm kalınlığında yedinci kesit alındı (Resim 9). Kesit elde edilmesine bu şekilde devam edildi. Alınan doku kesitleri benmariye kondu daha sonra boyanmak üzere lamlara alındı. Ayrıca yine aynı mikrotom kullanarak parafin bloklardan 5 μm 'lik kesitler de alındı.



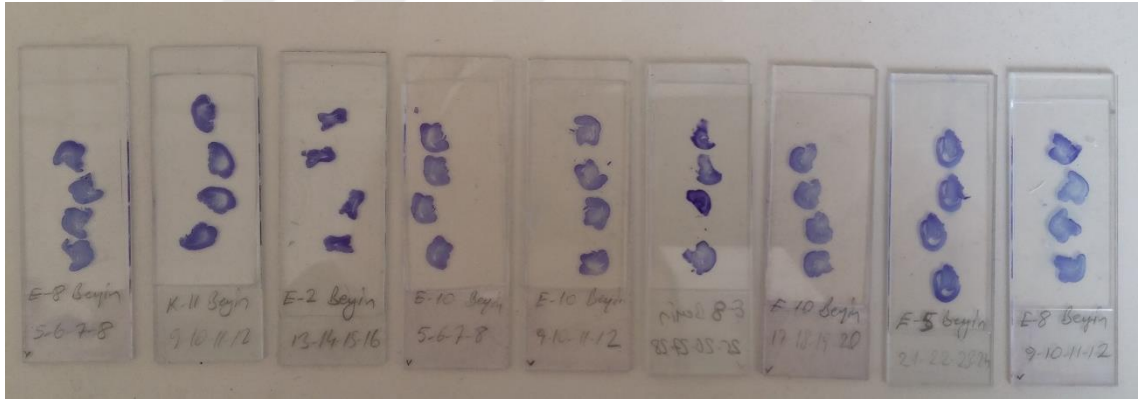
Resim 9. 30 μm 'lik kesitlerin alındığı mikrotom

5.2.4. Kesitlerin Boyanması

Gruplara ait sıçanlardan elde edilen parafin bloklardan kesitler elde edildikten sonra boyama işlemlerine geçildi. Kesitlerde stereolojik yöntemler kullanılarak nöron sayımı yapmak için cresyl fast violet boyası, histopatolojik değerlendirme yapmak için hematoksinen eozin (H&E) boyası kullanıldı. Apoptozu değerlendirmek için TUNEL tekniği ile boyama yapıldı (82).

5.2.4.1. Cresyl Fast Violet Boyama Yöntemi ile Kesitlerin Boyanması

Stereolojik yöntemler kullanılarak nöron sayımı yapmak için, parafin bloklardan 30 µm'lik kesitler alındı ve cresyl fast violet boyası ile boyandı (Resim 10). Cresyl fast violet boyası nöronların çevre dokudan rahatlıkla ayırt edilerek sayımını kolaylaştıran bir boya olduğundan tercih edildi. Stereolojik analizler KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Stereoloji Laboratuvarı'nda bulunan Stereoloji analiz sisteminde yapıldı



Resim 10. Cresyl fast violet ile boyanmış hipokampus kesitleri

Cresyl fast violet boyasını hazırlamak için öncelikle 500 cc distile su içerisine 0,5 gr toz cresyl fast violet boyası kondu ve iyice karıştırıldı. Daha sonra boyanın rengini koyulaştırmak için 9 damla glasiyal acetic acid damlatıldı ve ağzı parafilm ile kapatılarak bir gün boyunca dinlendirildi. Dinlendirilen boya kurutma kâğıdından süzülde ve her kullanımdan önce etüvde 60 °C'de bekletildi. Boya hazırlandıktan sonra kesitler aşağıdaki aşamalardan geçirildi (Tablo 7; 19, 82, 83).

Tablo 7. Cresyl fast violet boyama protokolü.

İşlem sırası	Kimyasal / solüsyon / boya / işlem	Bekleme Süresi
1.	Ksilen.....	20 dk
2.	Ksilen.....	20 dk
3.	% 100'lük alkol.....	10 dk
4.	% 96'lık alkol.....	10 dk
5.	% 80'lik alkol.....	10 dk
6.	% 70'lik alkol.....	10 dk
7.	Distile su.....	10 dk
8.	Cresyl fast violet.....	6 dk
9.	Distile su.....	10 dk
10.	%70'lik alkol.....	5dk
11.	% 96'lık alkol.....	5dk
12.	% 100'lük alkol.....	10 dk
13.	Ksilen.....	Bir gece
14.	Entellan ile kapatma	

5.2.4.2. Hematoksilen Eozin Boyama Protokolü

Histopatolojik değerlendirme yapmak için beyin dokularının parafin bloklarından alınan 5 µm'lik kesitler H&E boyasıyla boyandı. Histopatolojik değerlendirme KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı'nda bulunan DP 71 (Olympus, Tokyo, Japan) kameralı dijital fotoğraf makinasına sahip ışık mikroskopunda (Olympus, BX51, Japan) yapıldı. Kesitlerden fotoğraf çekimi de aynı ışık mikroskobu ve dijital fotoğraf makinası kullanılarak yapıldı. Fotoğraflar dijital ortama aktarıldı. H&E boyası için hazırlanan preparatlar, 60°C'lik etüvde 1 saat bekletilerek deparafinize edildi ve aşağıdaki işlemlerden geçirildi (Tablo 8; 82).

Tablo 8. Hematoksilen eozin boyama protokolü.

İşlem sırası	Kimyasal / solüsyon / boya / işlem	Bekleme Süresi
1-	Ksilen.....	2 x 5 dk
2-	% 100'lük alkol.....	5 dk
3-	% 96'lık alkol.....	5 dk
4-	% 70'lik alkol.....	5 dk
5-	Distile su.....	2-3 dk
6-	Hematoksilen.....	2.30 dk
7-	Musluk suyu.....	5 dk
8-	Asit alkol	1 kez batırılıp çıkarılır
9-	Distile su.....	1 dk
10-	Amonyaklı su.....	10 sn
11-	Distile su.....	1 dk
12-	Eozin	1.45 dk
13-	Distile su.....	1 dk
14-	% 70'lik alkol.....	5 dk
15-	% 96'lık alkol.....	5 dk
16-	% 100'lük alkol.....	5dk
17-	Ksilen	2 x 5 dk
18-	Entellan ile kapatıldı	

5.2.4.3. TUNEL Boyama Protokolü

Hipokampusda apoptozu değerlendirmek için TUNEL tekniği ile boyama yapıldı. TUNEL boyaması içinde beyin dokuları, doku takip işlemlerinden geçirildikten sonra yine aynı mikrotom kullanılarak 5 µm kalınlığında kesitler alındı ve boyandı. Boyanan kesitler yine aynı ışık mikroskobu ve dijital fotoğraf makinası kullanılarak değerlendirildi, fotoğrafları çekildi ve kaydedildi.

Apoptozis değerlendirmesi hücrelerin deoksiribonükleik asit (DNA) fragmentasyonlarına göre yapıldı ve homojen boyanmış kahve renkli hücreler TUNEL pozitif (+) apoptotik hücre olarak kabul edildi (83). Her sıçan için aynı kesitte beş farklı alanda apoptotik ve normal hücreler sayıldı ve apoptotik indeks (AI) aşağıdaki formüle göre hesaplandı (84).

$$AI = \text{TUNEL (+) hücre sayısı} / \text{toplam hücre sayısı} \times 100$$

TUNEL boyama için *in situ* cell death detection kit, AP kullanıldı. Preparatlar 60°C'lik etüvde 1 saat bekletilerek deparafinize edildi. Daha sonra aşağıdaki işlemler yapıldı (Tablo 9; 84).

Tablo 9. TUNEL boyama protokolü.

	Kimyasal / solüsyon / boya / işlem	Bekleme süresi
1-	Ksilen.....	3×5 dk
2-	%100 etanol.....	5 dk
3-	%95 etanol.....	5 dk
4-	%70 etanol.....	5 dk
5-	Distile su ile yıkanır	
6-	%3'lük H ₂ O ₂ 'de bekletilir.....	15 dk
7-	Distile su ile yıkanır	
8-	PBS (fosfat tampon solüsyonu)'de yıkanır.....	2×15dk
9-	Oda ısısında Large Volume UV (Ultra -V) blok solüsyonda 75 µg Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) ve 50	10 dk
10-	µl TdT/dUTP karışımı ile dokuların üzeri kaplanır ve 37°C'lik etüvde 1,5 saat nemli ortamda tutulur.	
11-	PBS'de yıkanır.....	2×5 dk
12-	100 µ Converter peroksidaz dokuyu kapatacak şekilde damlatılır ve 37°C'lik etüvde bekletilir.	30 dk
13-	PBS'de yıkanır.....	2×5 dk
14-	100µl DAB ile karanlıkta oda ısısında bekletilir.....	3-5 dk
15-	Distile su ile yıkanır	
16-	HE ile 15 sn boyanır ve çeşme suyu ile yıkanır	
17-	% 70'lik etanol.....	2×5 dk
18-	% 95'lik etanol.....	2×5 dk
19-	% 100'lük etanol.....	2×5 dk
20-	Ksilen.....	2×5 dk
21-	Kurutulup üzerine entellan damlatılarak lamelle kapatılır	

5.2.5. Kesitlerde Hipokampus Sınırının Tespiti

Stereolojik çalışmalarda çalışılacak yapının sınırlarının bilinmesi ve kullanılan boyama yönteminin ilgilenilen yapıdaki hücrelerin net olarak ayırt edilmesini sağlaması gerekir. Kaynaklarda hipokampus ile ilgili çalışmalarda cresyl fast violet (85, 86) ve toluidin mavisi (87) boyalarının yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir. Cresyl fast violet boyama yönteminin hipokampus bölgesindeki hücrelerin büyüklükleri, yoğunluklar ve ani değişikliklerin fark edilmesini kolaylıkla sağladığı görüldüğünden çalışmamızda cresyl fast violet boyası kullanıldı.

Sıçan hipokampusu cresyl fast violet boyalarında incelendiğinde DG, hilus, CA1, CA2 ve CA3 bölgelerinin hücre büyüklükleri ve farklılıklarıyla birbirinden ayrılmaktadır. DG küçük boyutlu ve yoğun paketlenmiş at nalı şeklinde granüler hücrelerden oluşmaktadır. Hilus, DG ve CA2, CA3 bölgesi arasında yer alan ve

piramidal hücrelerin bulunduğu bölgedir (81, 88). Sıçan hipokampusunda granüler hücre ve piramidal hücre tabakaları arasındaki sınırların Nissl lekeli bölümleri sayesinde tanımlanabilmektedir (89). CA1 hücreleri CA2 ve CA3 nöron hücrelerinden küçüktür (81, 88). CA2 alanı ise tartışmalı olup, CA3 ve CA1 arasında, bu iki alanın birbirine karıştığı dar bir geçiş alanıdır. CA2, CA3'teki gibi büyük hücre gövdeleri içerir. CA2 çeşitli bakımlardan CA3 alanının uç parçası gibidir (90). CA3 nöron hücreleri ise CA1 nöron hücrelerinden büyüktür (88). Ancak bizim amacımız CA bölgesinin toplam nöron sayısını elde etmek olduğundan, CA1, CA2 ve CA3 ayrımı yapmadan nöron sayımı gerçekleştirdik (Resim 1).

5.2.6. Kesitlerde Nöronların Tespiti

Kesitlerdeki nöron sayımına başlamadan önce anatomik olarak DG, hilus ve CA bölgeleri belirlendi. Bu amaç için anatomik atlas kullanıldı (91). Ayrıca kesitlerde hipokampus sınırlarının ve nöronların belirgin bir şekilde görülmesi için cresyl fast violet boyama yöntemi kullanıldı. Cresyl fast violet boyası ile nöronlar, açık mavi zeminde yuvarlak ya da oval şekilde görüntülendi (Resim 1). Nöron sayımında değişik yöntemler tercih edilmekle birlikte yaygın olarak kullanılan hücrelerin organellerinin sayımıdır (85). Bu nedenle çalışmamızda, hücrelerin en büyük organeli olarak da tanımlanan çekirdek esas alındı.

5.3. Stereolojik Analizler

Bu çalışmada tasarım temelli stereoloji sistemine dayalı hazırlanan "Stereo Investigator" bilgisayar yazılımı programın kullanıldı. Bu yazılım sistematik rastgele örnekleme, optik disektör ve optik parçalamanın entegre kullanımıyla hesaplama yaparak sağlıklı, güvenilir ve tarafsız veriler elde etmemize imkan sağlamaktadır.

5.3.1. Stereoloji Analiz Sistemi

Çalışmanın stereolojik analizleri KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Stereoloji Laboratuvarında bulunan stereoloji analiz sisteminde yapıldı. Stereoloji analiz sistemi Leica firmasının üretimi olan stereoloji analiz yazılımı ve donanımını içermektedir. Sistem, MicroBrightField (ABD) firmasının stereolojik araştırmalar için tasarlanmış stereoloji analiz yazılımı (Stereo Investigator 9, Computer Assisted Stereological Toolbox, Leica) içeren bir bilgisayar (Pentium PC, DELL OptiPlex, USA), araştırma mikroskobu (Leica, DM4000B-M, Germany), CCD kamera

(JVC, Japan), Z ekseninde ölçüm yapan ölçüm çubuğu (Heidenhain LIP401 R, Germany), mikrokator göstergesi (Heidenhain ND 221 B, Germany), bilgisayar tarafından kontrol edilerek mikroskop tablasının X ve Y eksenlerinde hareketini bilgisayar kontrollü olarak yönetebilen bir tabla motorundan (Prior ProScan, USA) ve bir adet tabla kontrol çubuğundan (Prior, USA) oluşmaktadır (Resim 11).



Resim 11. Stereoloji analiz sistemi: (1) mikrokator, (2) kamera, (3) mikroskop, (4) otomatik tabla, (5) el kumandası, (6) monitör, (7) bilgisayar kasası

5.3.2. Stereolojik Analizlerin Detayları

Stereoloji analiz sisteminde sayıma geçmeden önce, sistem içerisindeki analiz programında kullanılacak çalışma verilerinin önceden bilinmesi gerekir. Bu nedenle esas çalışmaya başlamadan önce hem literatür taranarak, hem de ön çalışma yaparak, sayım sırasında kullanılacak olan stereolojik analiz verilerinin detayları belirlendi ve belirlenen veriler Tablo 10'da verildi.

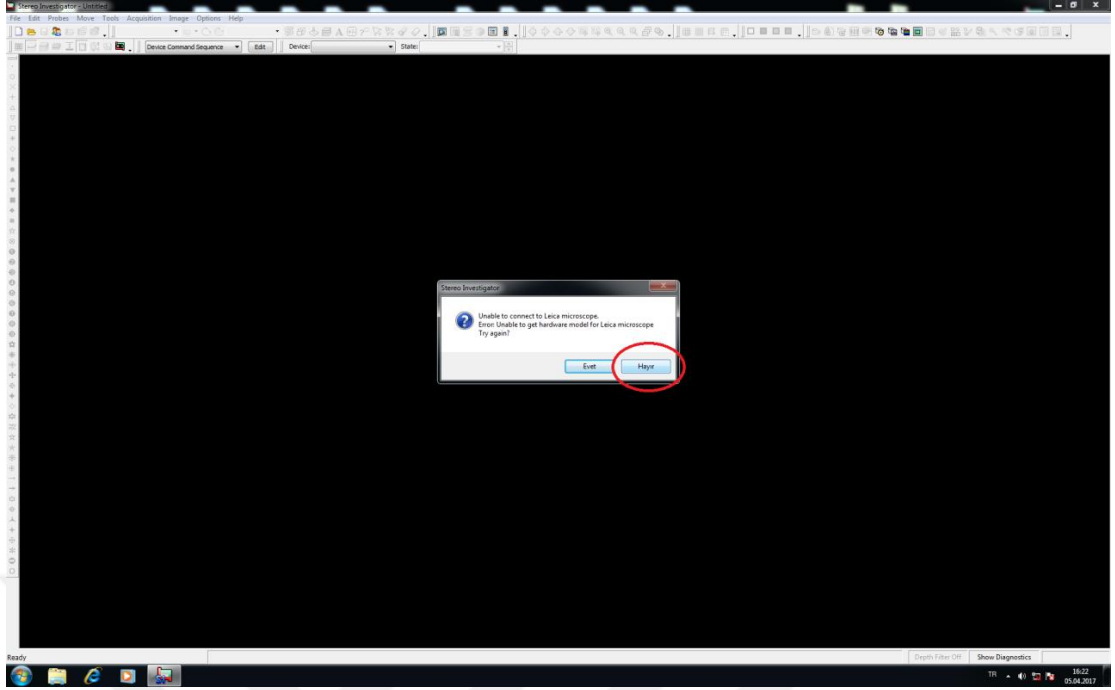
Tablo 10. Stereolojik analizlerde kullanılan veriler.

Stereolojik Analiz Parametreleri	CA için Değerler
Kesit örnekleme oranı	1/7
Tarafsız sayım çerçevesi alanı (μm^2)	1600
Disektör hacmi (μm^3)	40000
Optik disektör yüksekliği (μm)	10
Üst ve alt güvenlik kuşağı (μm)	3
Adım aralığı (μm)	200
Sayım yapılan objektif büyüklüğü (μm)	$\times 100 / \times 2.5$
Objektifin sayısal açıklığı	1.25

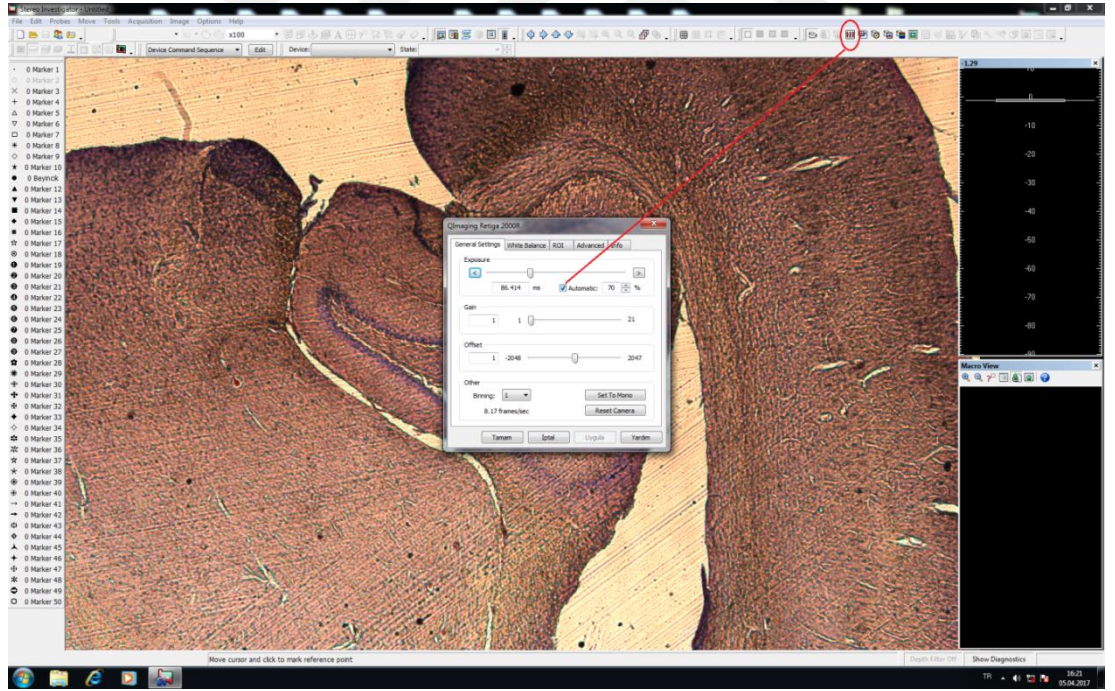
5.3.3. Stereo Investigator Programında Stereolojik Analizin Aşamaları

Stereoloji analiz sisteminde çalışırken analizin tüm aşamaları önemlidir ve hatasız gerçekleştirilmelidir. Bir başka ifadeyle sistemi açmakla başlayan analiz süreci, sistemin kapatılmasına kadar devam eder. Burada KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Stereoloji Laboratuvarında bulunan stereoloji analiz sisteminde hipokampusun CA bölgesinde gerçekleştirdiğimiz nöron sayımının tüm aşamaları özetlendi.

Sistem açılmadan önce, sistem parçalarının bağlantıları ve sistem parçalarındaki olası fiziksel aksaklıklar, tozlanma gibi öncelikli sorunlar kontrol edilmelidir. Bu işlemin ardından önce bilgisayar, daha sonra mikroskop, ardından kamera ve son olarak mikrokatör açılarak sistem hazır hale getirilir. Bu esnada sayılacak dokuları içeren preparatlar hazırlanır. Bu işlem esnasında karışıklığı önlemek amacı ile sadece sayılacak olan hayvana ait preparatlar sayıma hazır hale getirilir. Preparatlar temiz bezle silinerek görüntüyü engelleyebilecek lekeler temizlenir. Yazılım açıldıktan sonra ilk olarak yapılması gereken, ekranda görülen uyarı penceresinde “hayır” butonunu tıklamak ve mikroskobun ışık ayarını otomatiğe getirmektir (Resim 12, 13).

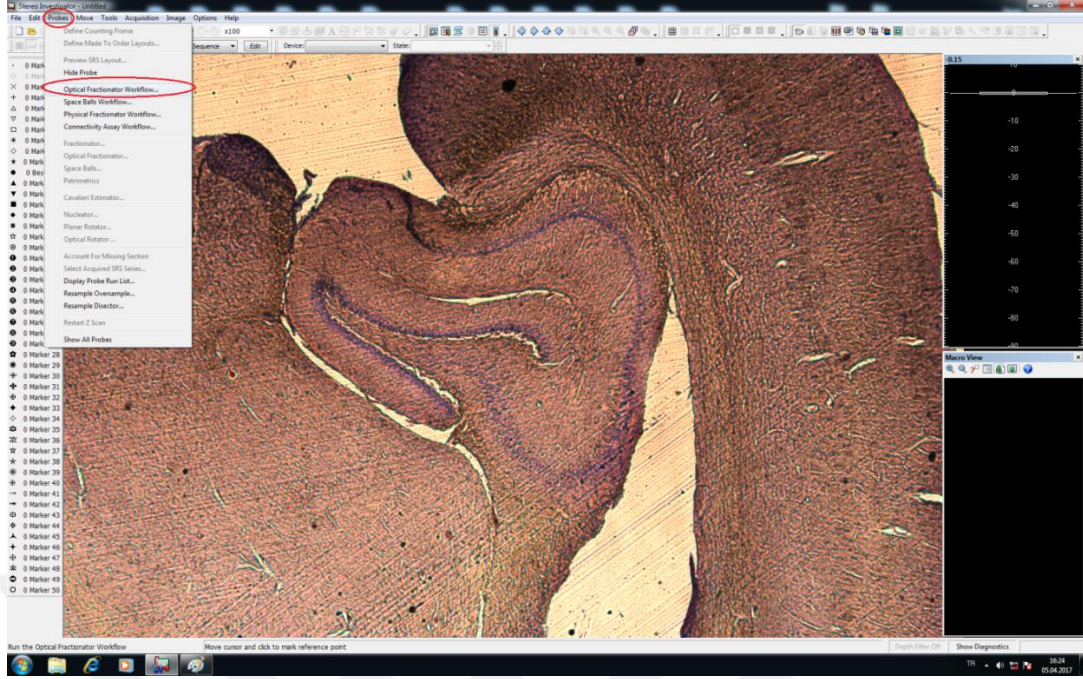


Resim 12. Stereo Investigator 9 programının açılışı.



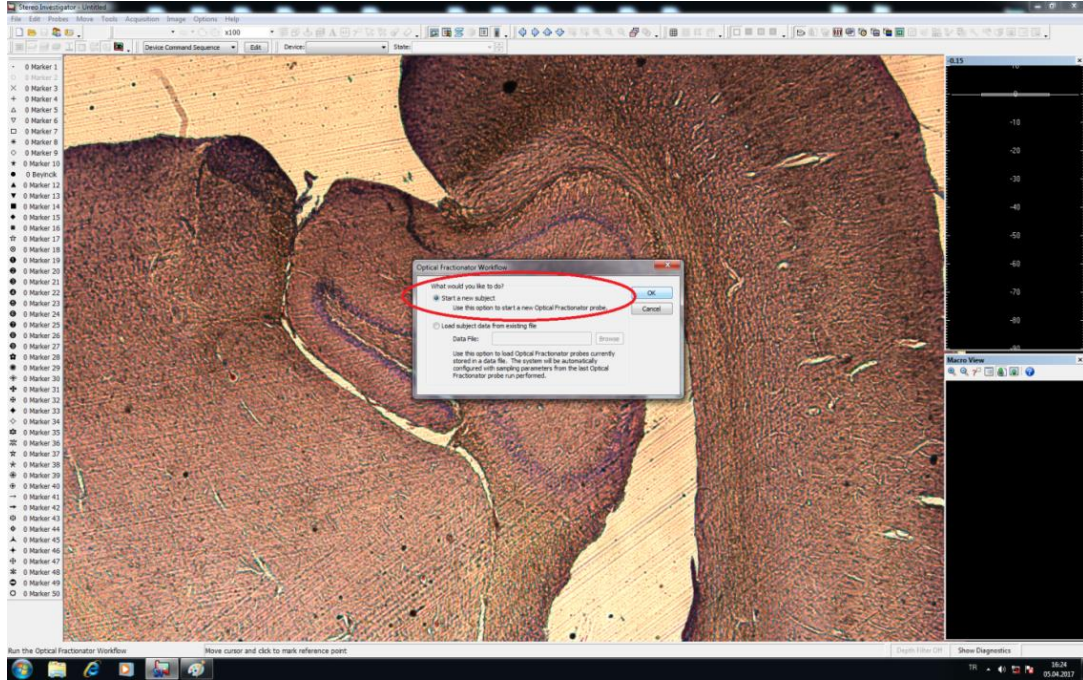
Resim 13. Mikroskop ışığının otomatige alınması.

Ardından “Probe” sekmesinden “Optic Fractionator Workflow” seçeneği seçilir. Açılan küçük pencereden yeni bir çalışmaya başlamak ya da var olan bir çalışmaya devam edebilmek için seçim yapılır (Resim 14).



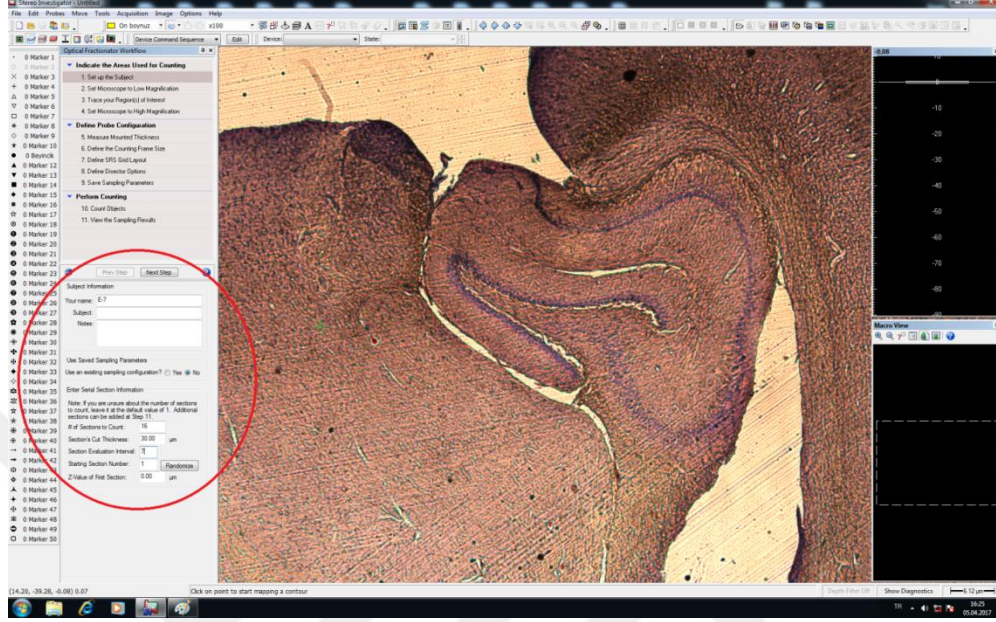
Resim 14. Stereo Investigator 9 programında optik parçalama seçeneği seçme.

Çalışmaya başlarken “Start a new subject” seçeneği işaretlenerek onaylanır. Bu işlemin ardından ekranın sağ tarafına sayımı yapılacak çalışmanın, bilgilerinin girileceği yeni bir pencere açılır (Resim 15).



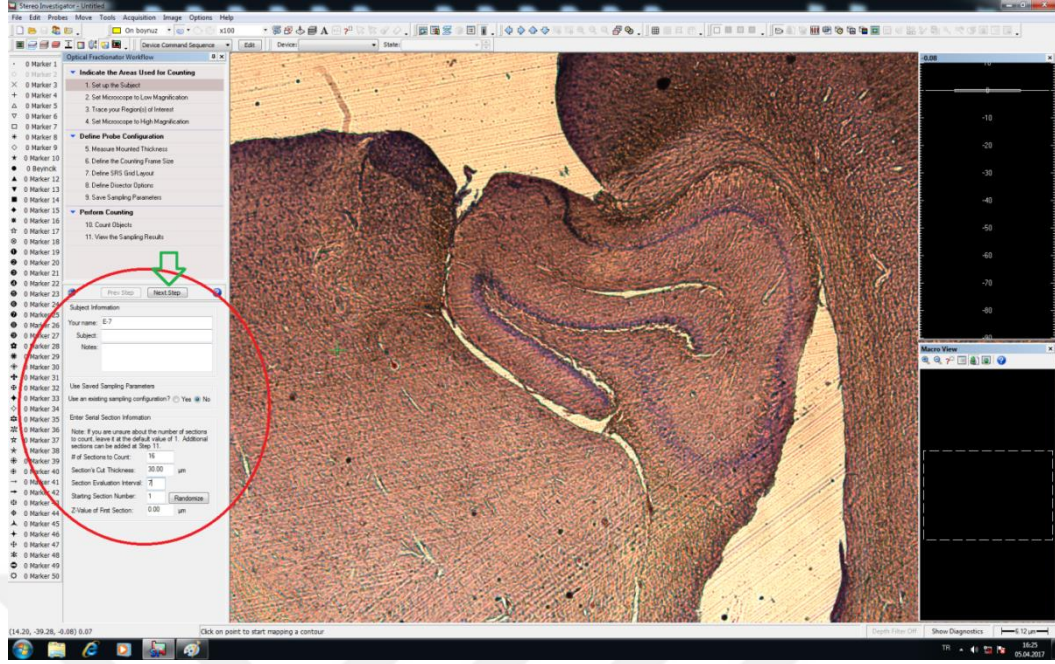
Resim 15. Stereo Investigator 9 programında yeni bir çalışma başlatma.

Bu pencerede sayım boyunca izlenecek on temel adım karşımıza çıkar. İlk adımda sayımın yapılacağı hayvanı tanımlayan isimlendirme kutucuğuna yazılır (Resim 16).



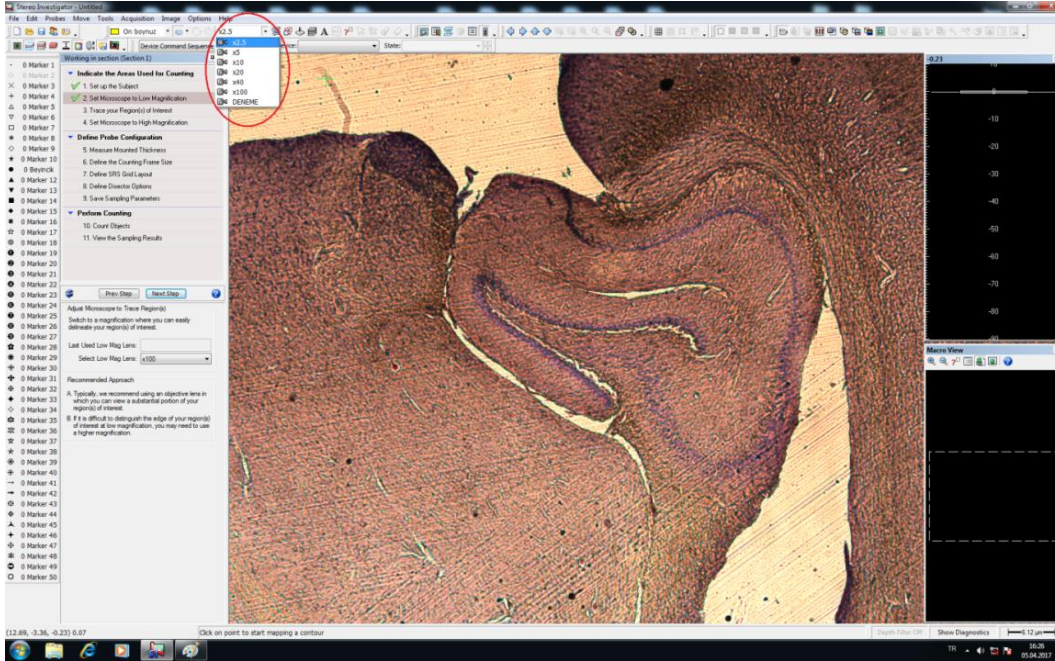
Resim 16. Programa çalışma bilgilerinin girileceği ara yüzün açılması.

Hemen bunun altındaki bölüme ise sadece sayılacak kesit sayısı (beynin boyutuna göre 16–21 arası değişen kesit sayısı), objektifin büyütmesi ($\times 2.5$, $\times 100$), kesit kalınlığı (30 μm) ve örnekleme sıklığı (1/7 örnekleme) bilgileri girilir (veriler bu çalışmada kullanılan verilerdir). Ardından bir sonraki adıma geçmek için “Next step” butonuna tıklanır (Resim 17).



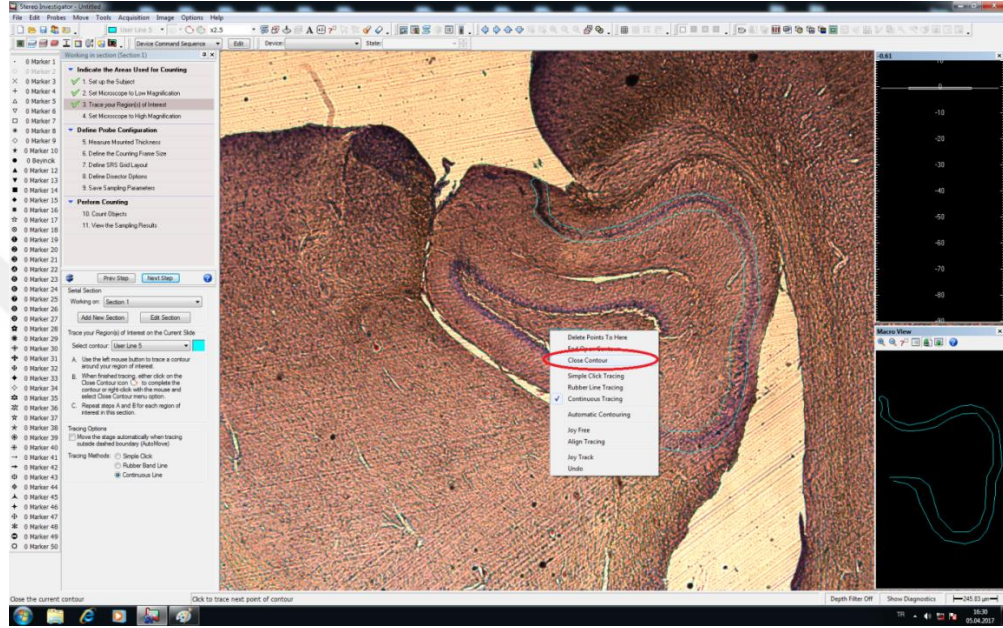
Resim 17. Verilerin girilmesi ve bir sonraki adıma geçilmesi.

İkinci adımda çalışmada kullanılacak düşük büyütme objektifi ($\times 2.5$) seçilmelidir. Bu basamakta dikkat edilmesi gereken nokta, programda seçilen büyütme ile mikroskoba ait objektiflerden seçilen büyütmenin aynı olmasıdır (Resim 18).

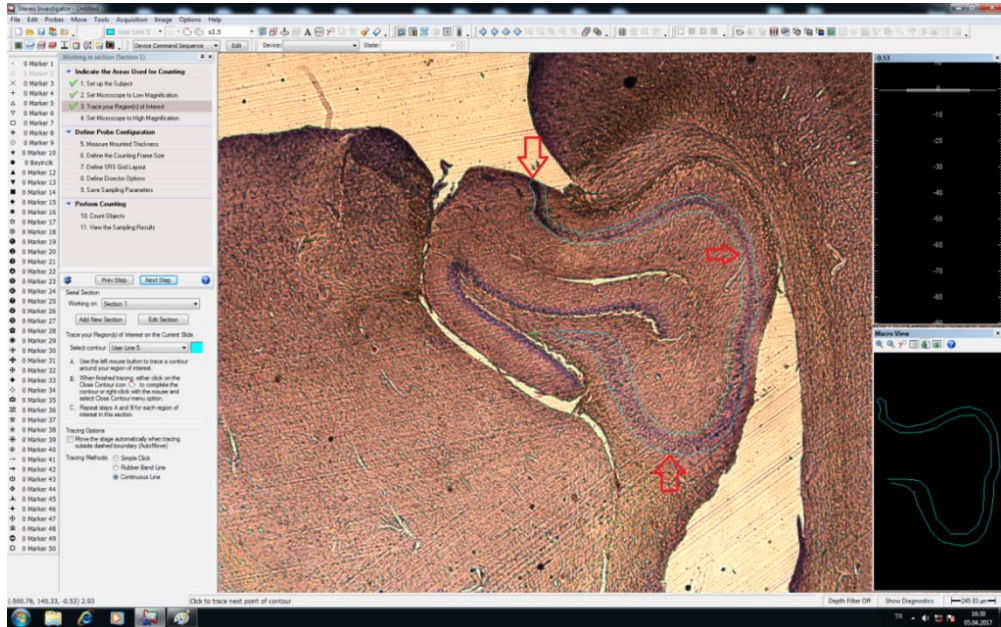


Resim 18. Mikroskop ve programda, çalışmada kullanılacak küçük büyütmenin belirlenmesi.

Üçüncü adımda sayım yapılacak alanın çizilmesi istenir. Bunun için küçük büyütmede sayım yapılacak alan ekrana getirilir ve sayım yapılacak alan çizilir. Çizimi yaparken mesafeler arası tıklanarak çizim yapılabilir. Çizim bitirilirken, çizim alanı üzerine sağ tıklanır ve açılan pencerede “Close Contour” seçeneği ile çizim alanı kapatılır (Resim 19, 20).

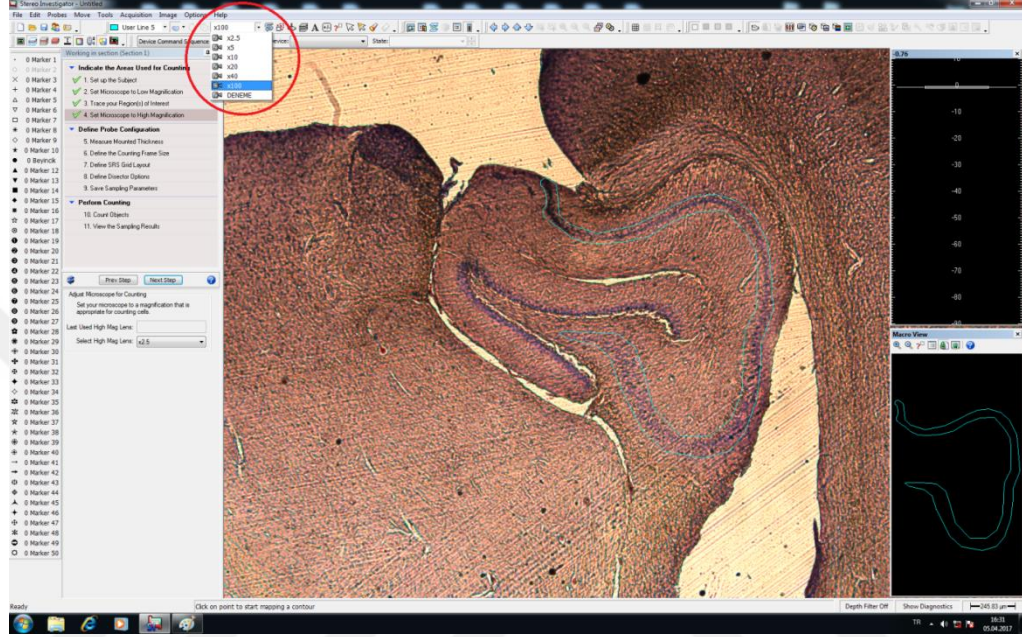


Resim 19. Kesit üzerinde sayım yapılacak alanın çizilerek belirlenmesi.



Resim 20. Sayım yapılacak alan için çizilen alanın kapatılarak sayıma hazır hale getirilmesi.

Dördüncü adımda, çalışmada kullanılacak yüksek büyötmeye sahip objektifi ($\times 100$) seçmemiz istenir. Bunu yaparken ikinci adımda dikkat etmemiz gereken nokta, mikroskoptaki ve yazılım üzerinde seçtiğimiz büyötmeye oranının aynı olmasıdır (Resim 21).



Resim 21. Programda ve mikroskopta kullanılacak yüksek büyötmeli objektifin belirlenmesi.

$\times 100$ büyötmeye kullanıldığı bu basamakta görüntü netliğini sağlamak için immersiye yağ kullanılmalıdır (Resim 22).



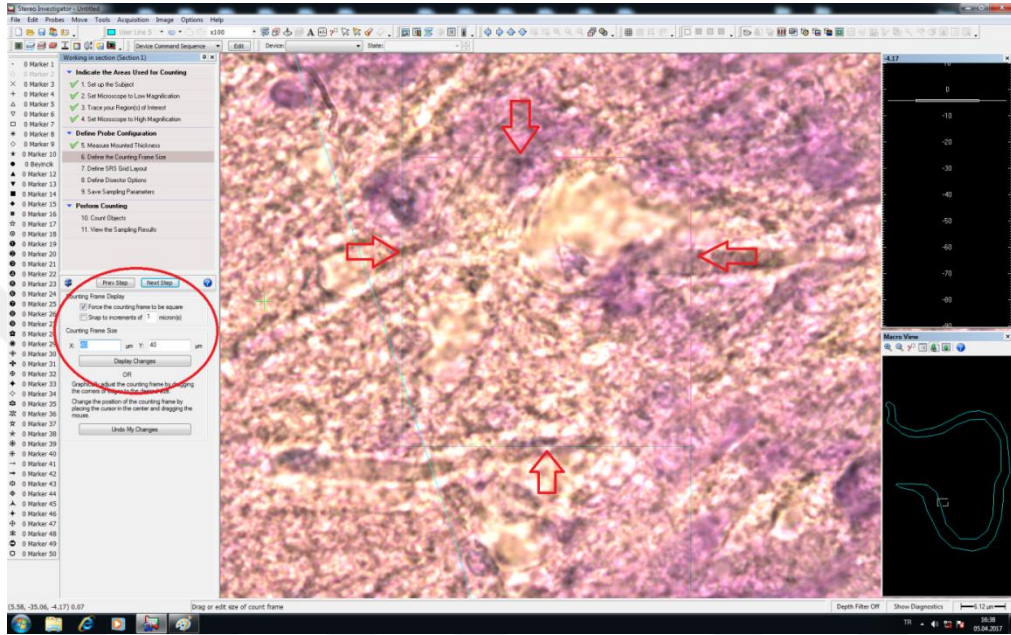
Resim 22. $\times 100$ büyütmenin kullanılması sırasında immersiyon yağının damlatılması.

$\times 100$ objektifinin çalışma sonrası ve çalışmaya verilecek ara sürecinde yağlı bırakılmaması, immersiyon yağından temizlenmesi oldukça önemlidir. Bu sebeple çalışma bittikten sonra veya verilecek aralarda objektif 3'e 7 oranında alkol-eter karışımı ile silindikten sonra, gazlı bez ile iyice kurulanmalıdır (Resim 23).



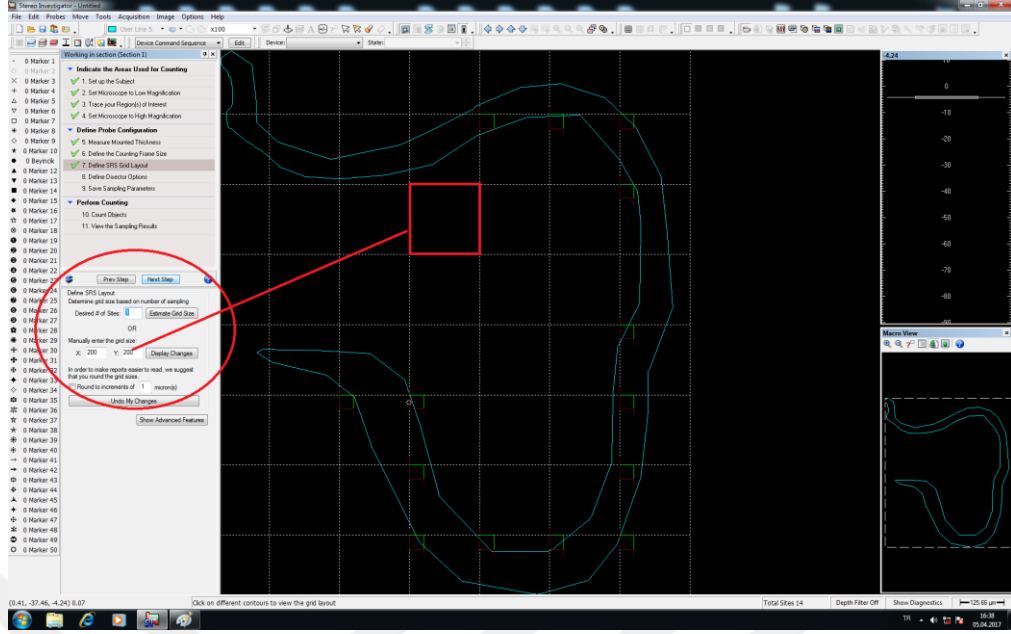
Resim 23. $\times 100$ objektifin kullanılmasının ardından objektifin silinip kurulanması.

Beşinci adımda, program tarafından otomatik olarak ayarlanan ayarları aynen onaylayıp bir sonraki basamağa geçilir. Altıncı adımda sayım çerçevesi alanı belirlenir ($40\ \mu\text{m} \times 40\ \mu\text{m}$). Bu değer çalışmaya göre değiştirilebilir. Çizilen alanın büyüklüğüne göre sistem tarafından belirli miktarda sayım çerçevesi oluşturulur (Resim 24).

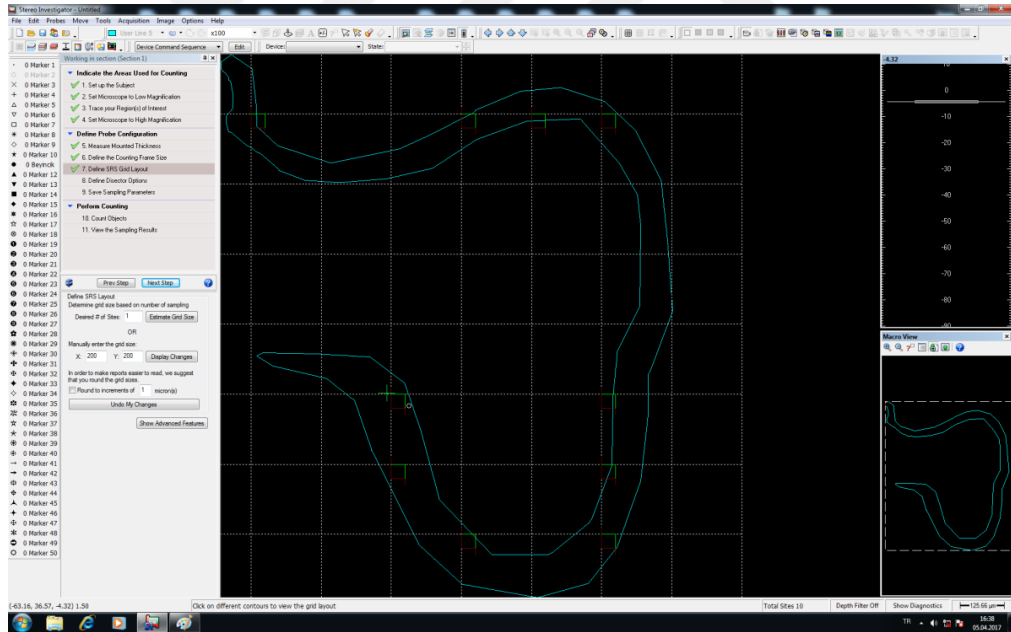


Resim 24. Sayım çerçevesi alanının belirlenmesi.

Yedinci adımda, sistematik rastgele örnekleme karelerinin (grid) alanları belirlenir ($200\ \mu\text{m} \times 200\ \mu\text{m}$). Bu değer aynı zamanda çalışma için geçerli adım aralığını da ifade eder. Çizilen alan üzerine atılan sayım çerçevelerinin sistematik rastgele örnekleme pozisyonlarının gösterildiği ve üzerine tıklanarak bu dizilimlerin farklı kombinasyonlarının seçilebildiği bir kroki karşımıza çıkar. (Resim 25, 26).

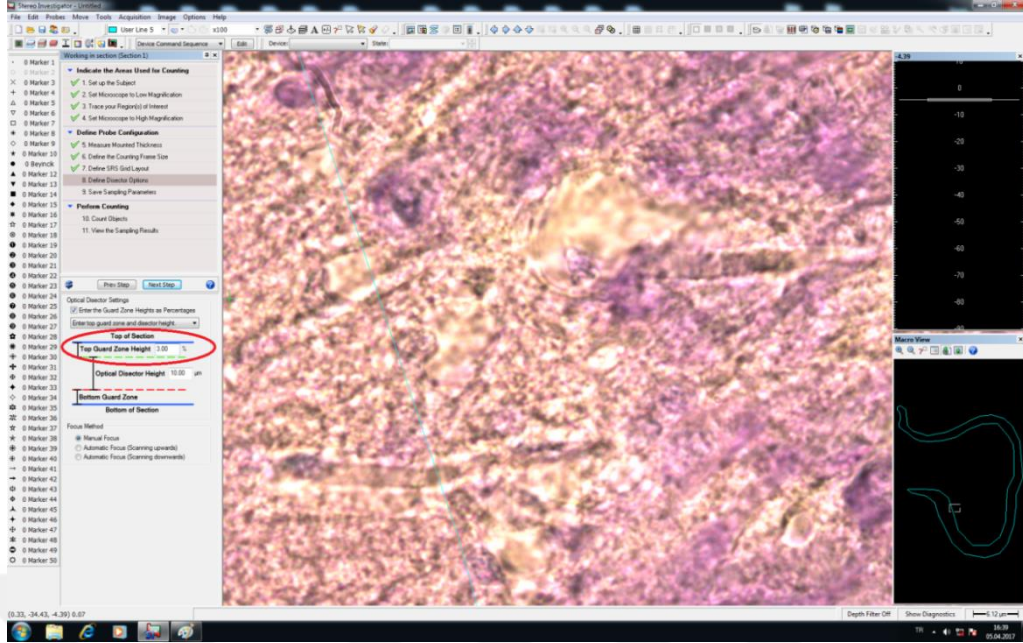


Resim 25. Sayım çerçevelerinin adım aralığı değerlerine göre şematik olarak belirlenmesi.



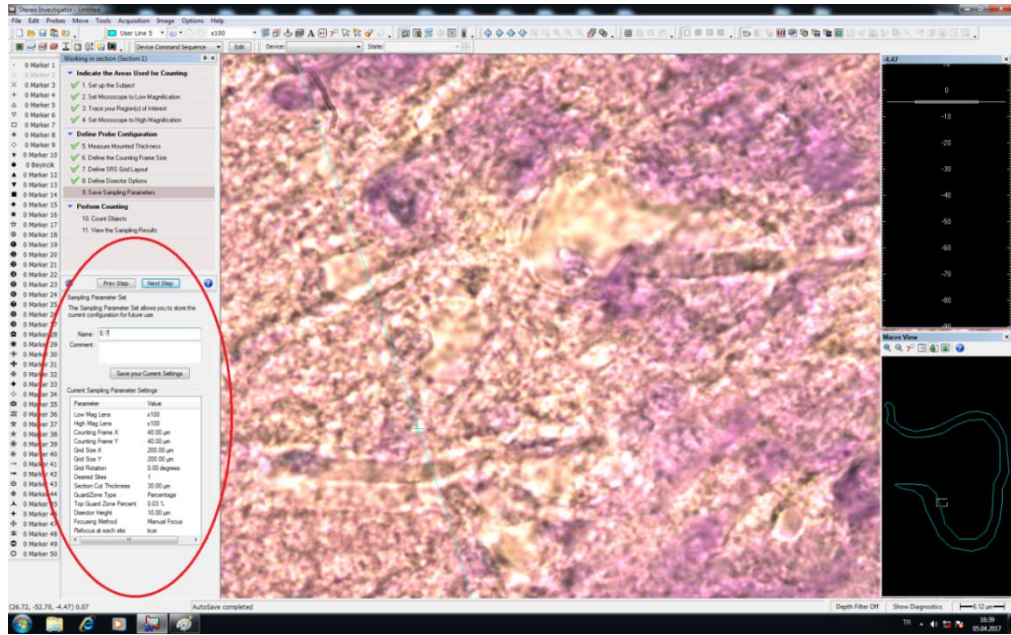
Resim 26. Sayım çerçevelerinin yerleşim düzeninin farklı kombinasyondaki dizilimi.

Sekizinci adımda ise güvenlik kuşağı sınırı belirlenir (3 μ m). Burada üst güvenlik kuşağı belirlendiğinde alt güvenlik kuşağı da otomatik olarak belirir (Resim 27).



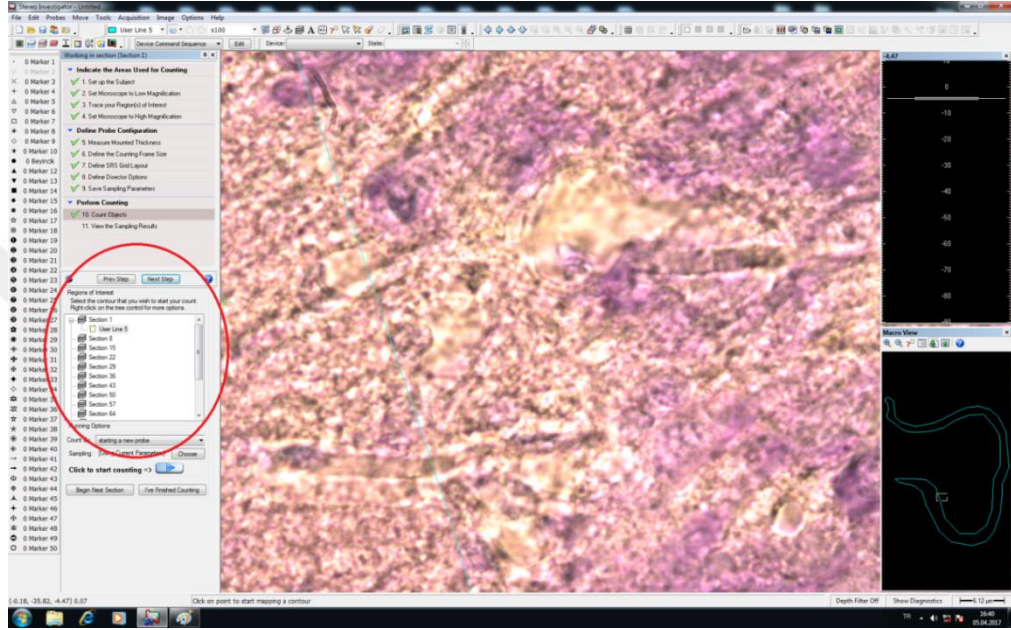
Resim 27. Güvenlik kuşağının belirlenmesi.

Dokuzuncu adımda, bu aşamaya kadar yapılan tüm ayarların ve girilen çalışma verilerinin özetlendiği, bu ayar ve verilerin doğrulanarak kaydedilmesini isteyen bir pencere açılır. Burada ayarlar ve veriler doğrulanarak başlangıçta yazılan isimlendirme ile kayıt yapılır ve bir sonraki adıma geçilir (Resim 28).

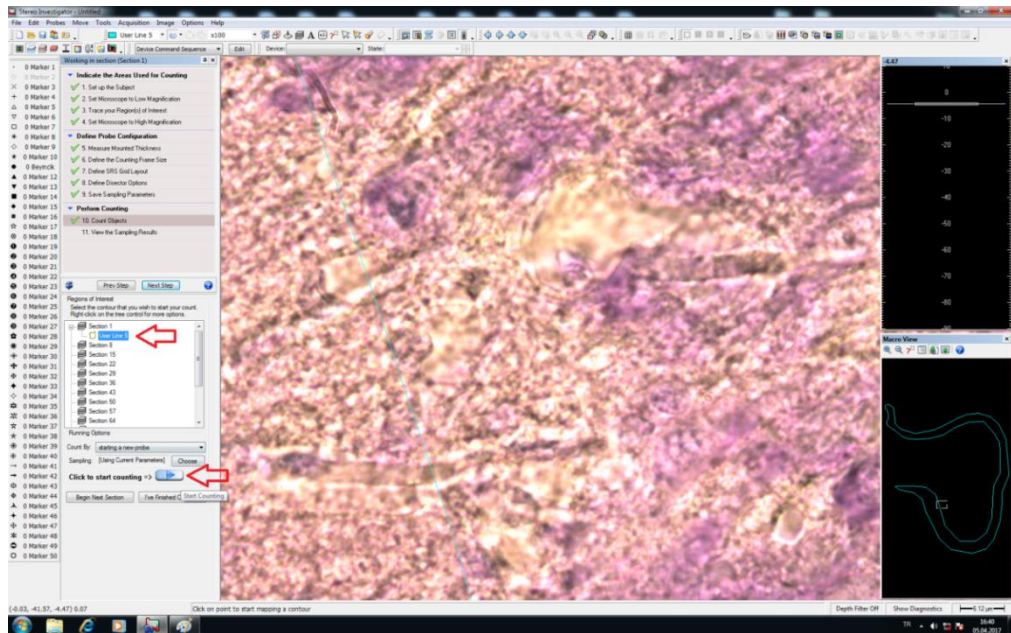


Resim 28. Girilen bilgilerin doğrulanıp kaydedilmesi.

Onuncu adımda sol altta, sayılacak olan kesitlerin örnekleme sıklığına göre numaralandırılmış olarak belirtildiği yeni bir pencere açılır. Sayılacak olan ilk kesitin altında çizdiğimiz ve içerisinde sayım yapacak olduğumuz alanı sembolize eden bir alt sekme açılır. Bu alt sekme seçilir ve “Click Start to Counting” butonuna tıklanır (Resim 29, 30).

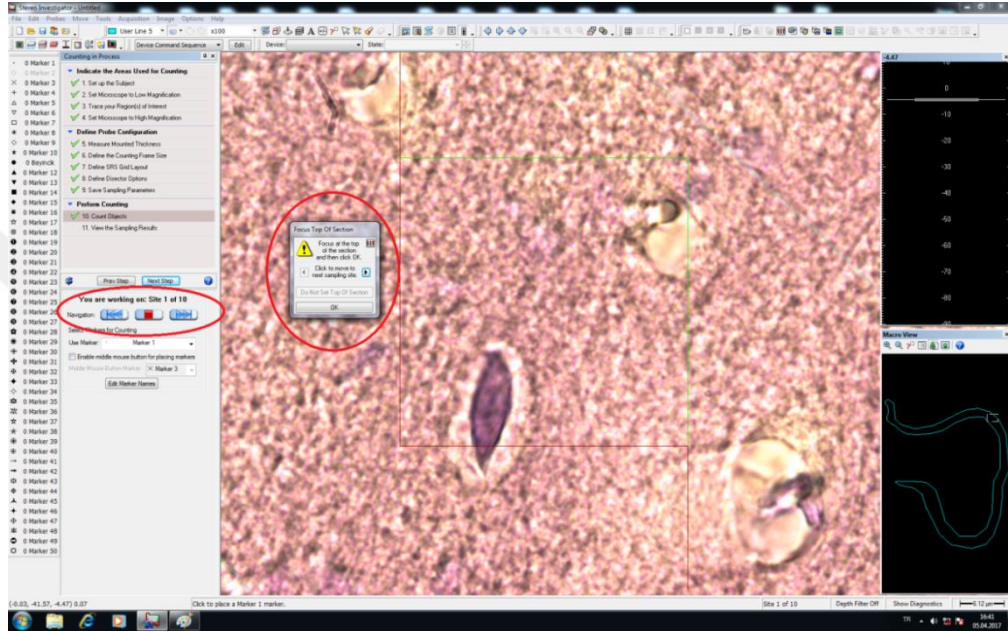


Resim 29. Kesitlerin sembolik görüntüsünün programda belirmesi ve sayılacak alan seçimi.



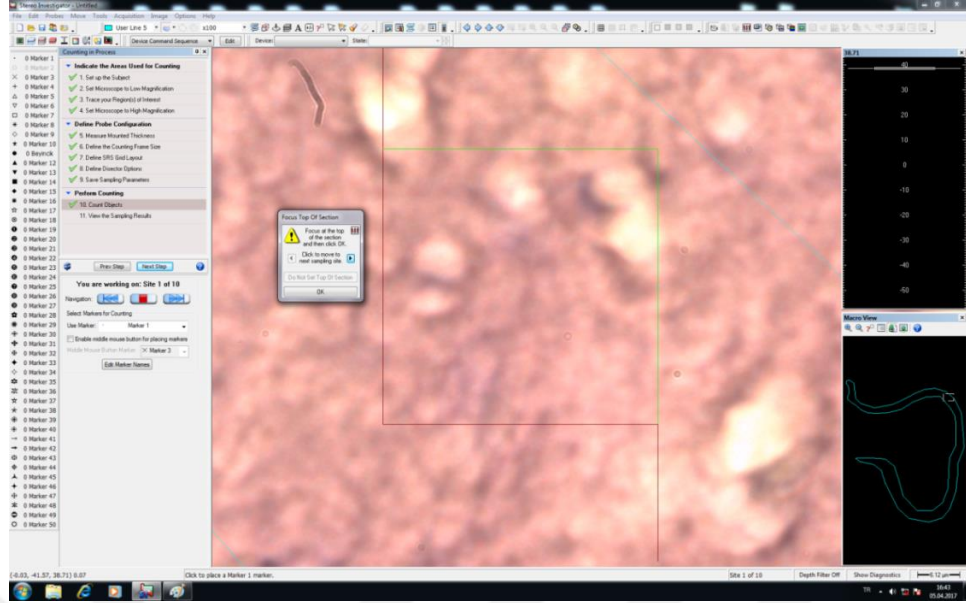
Resim 30. Sayım yapılacak alanın seçilmesi ve sayıma başlanması.

Buton tıklandığında program otomatik olarak sayılacak olan ilk çerçeve üzerine gider (Resim 31). O kesit için belirlenen sayım çerçevesi miktarınca ve sayım çerçevesi kurallarına göre sayıma başlanır. Sayım noktasının üst ve alt noktasını tespit etmemizi isteyen küçük bir pencere açılır. Her tarafsız sayım çerçevesi sayılırken yapılması gereken iki temel kural vardır.



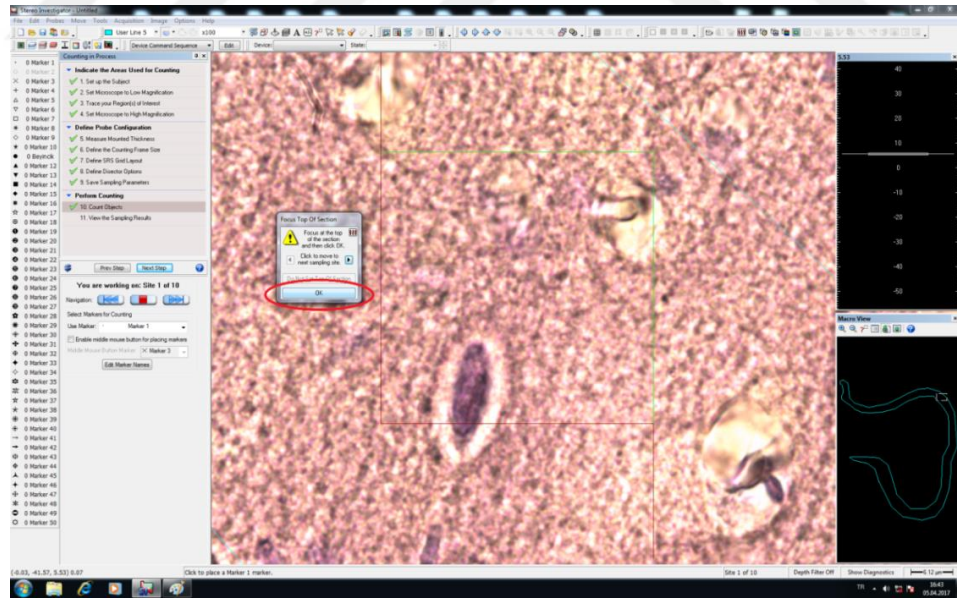
Resim 31. Programın kullanıcıyı sayım yapılacak ilk alana yönlendirmesi.

Öncelikle görüntü bulanıklaşınca kadar joystick aparatındaki mikro vida yardımı ile üst noktaya çıkılır (Resim 32). Daha sonra yavaşça alt noktalara doğru inilmeye başlanır.



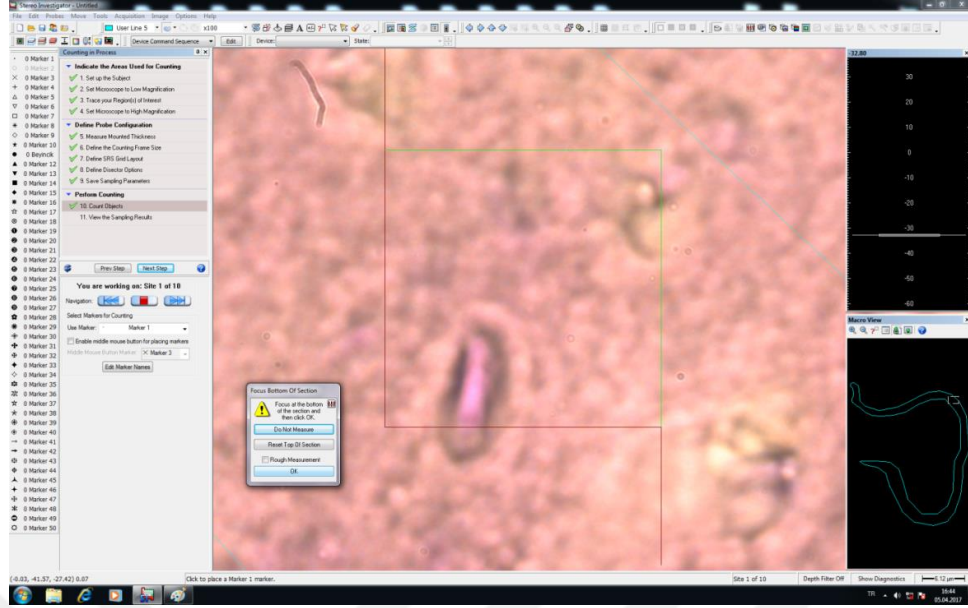
Resim 32. Sayım yapılacak sanal hacmin üst sınırının tespiti için üst noktaya çıkılması.

Görüntünün ilk netleştiği noktada durulur ve açılan ilk küçük pencerede “OK” butonuna basarak üst sınır belirlenmiş olur (Resim 33).



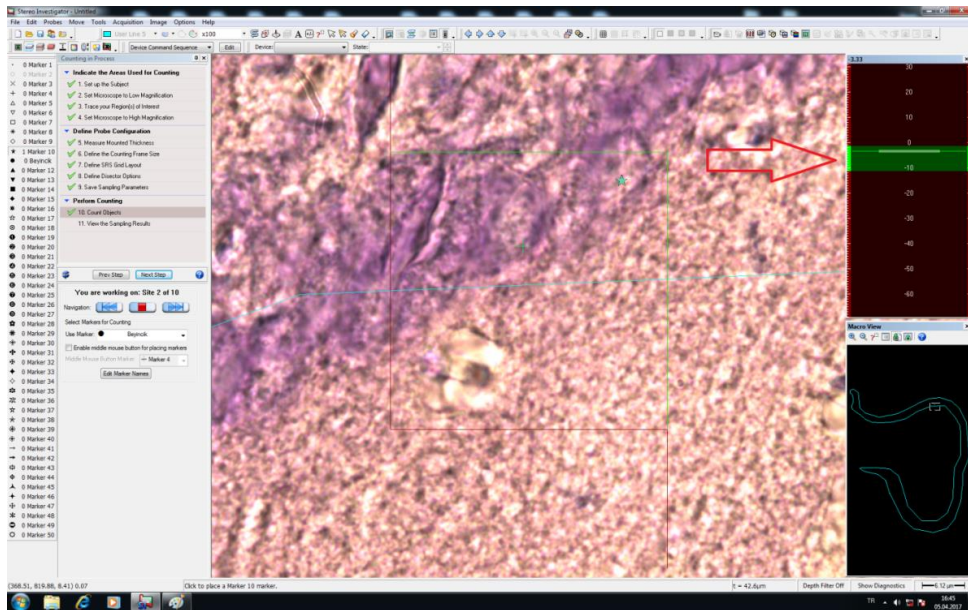
Resim 33. Sayım yapılacak sanal hacmin üst sınırının tespit edilmesi.

Ardından aynı doğrultuda doku içerisinde daha derine inerek, görüntünün bulanıklaştığı noktada açılan ikinci küçük pencere onaylanır ve alt sınır da belirlenmiş olur (Resim 34).



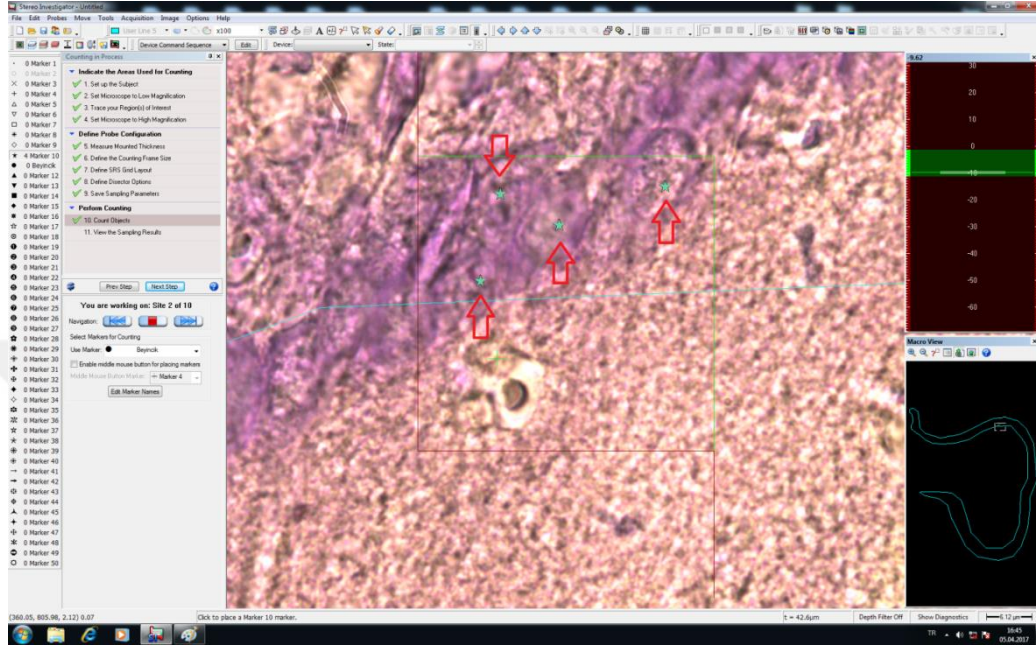
Resim 34. Sayım yapılacak sanal hacmin alt sınırının tespit edilmesi.

Bu esnada ekranın sağ köşesinde “z” ekseninde yaptığımız hareketin miktarını gösteren bir pencere bulunmaktadır ve buradan aşağı ya da yukarı doğru yapılan hareketin miktarı gözlemlenebilir. Alt ve üst noktanın seçiminden sonra bu pencerede sayım yapılacak derinlik değerini gösteren yeşil bir alan oluşur ve sistem otomatik olarak bu yeşil alanın tepe kısmına denk gelen odak noktasına gider (Resim 35).



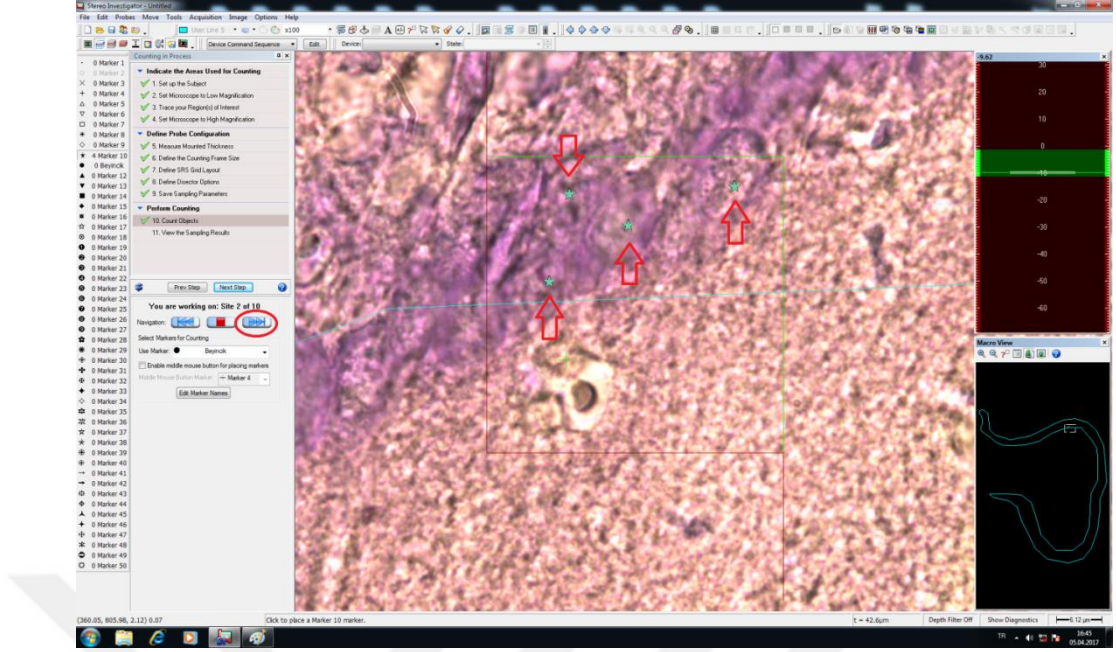
Resim 35. Sayım yapılacak disektör hacminin belirlenip programda görsel hale gelmesi.

Bundan sonra mikrovıda ile bu alan içerisinde aşağı doğru inilir. Bu sırada sayımı yapılacak olan tanecikler (bu çalışmada nöronlar) ile karŐılaŐıldığında, tarafsız sayım erevesi kuralları doğrulusunda üzeri tıklanarak iŐaretlenir (Resim 36).



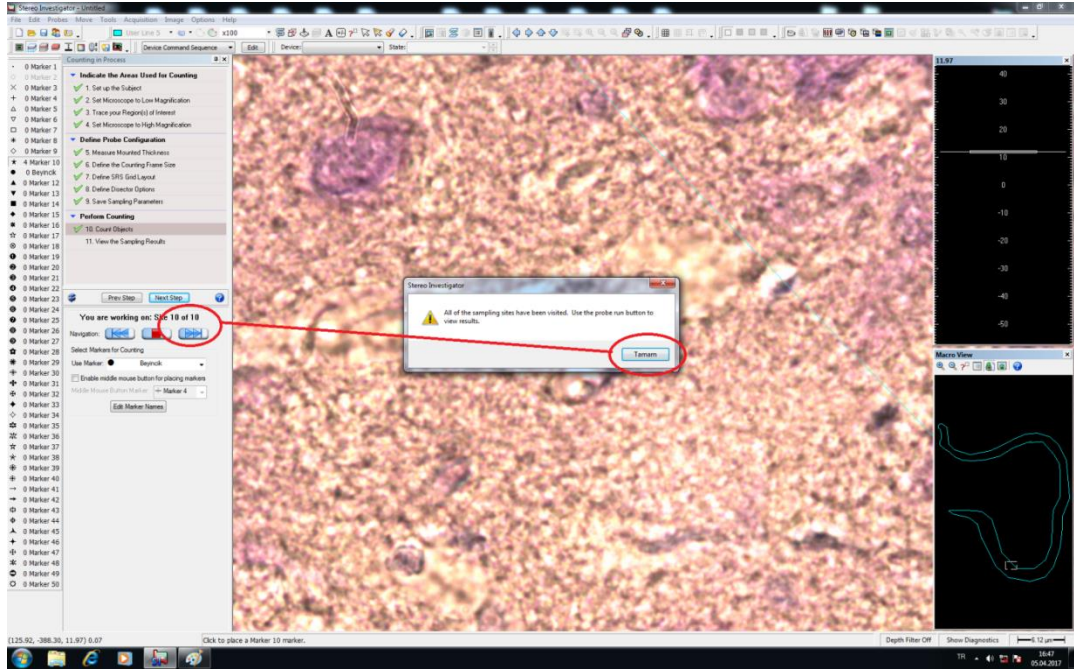
Resim 36. Belirlenen disektör hacminde sayım erevesi kuralları gereğince sayım yapılması.

Bir çerçevede sayım bittikten sonra, bir sonraki çerçeveye geçmek için “>> (ileri)” butonu tıklanır. Böylece her çerçevede aynı kurallar ve yukarıda anlatılan işlemler uygulanarak, sayılması gereken bütün erevesler sırasıyla sayılır (Resim 37).



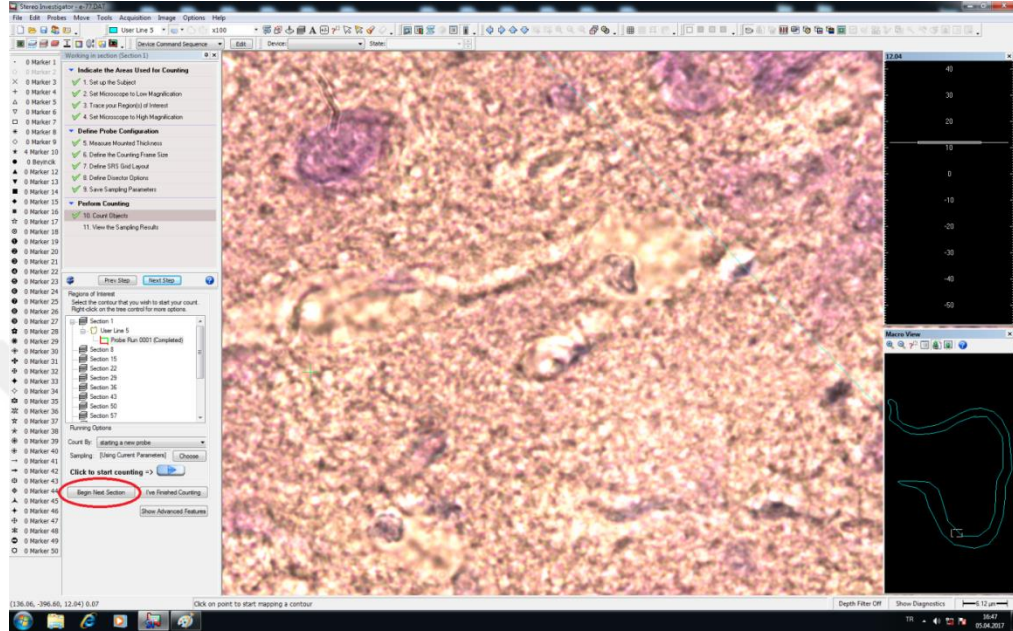
Resim 37. Bir sonraki sayım çerçevesine geçilmesi.

Bir kesitte sayılması gereken bütün çerçeveler bittiğinde ve “ileri” butonuna basıldığında sistem sayılması gereken her çerçevenin sayıldığını belirten bir uyarı verir ve onaylanması istenir (Resim 38).



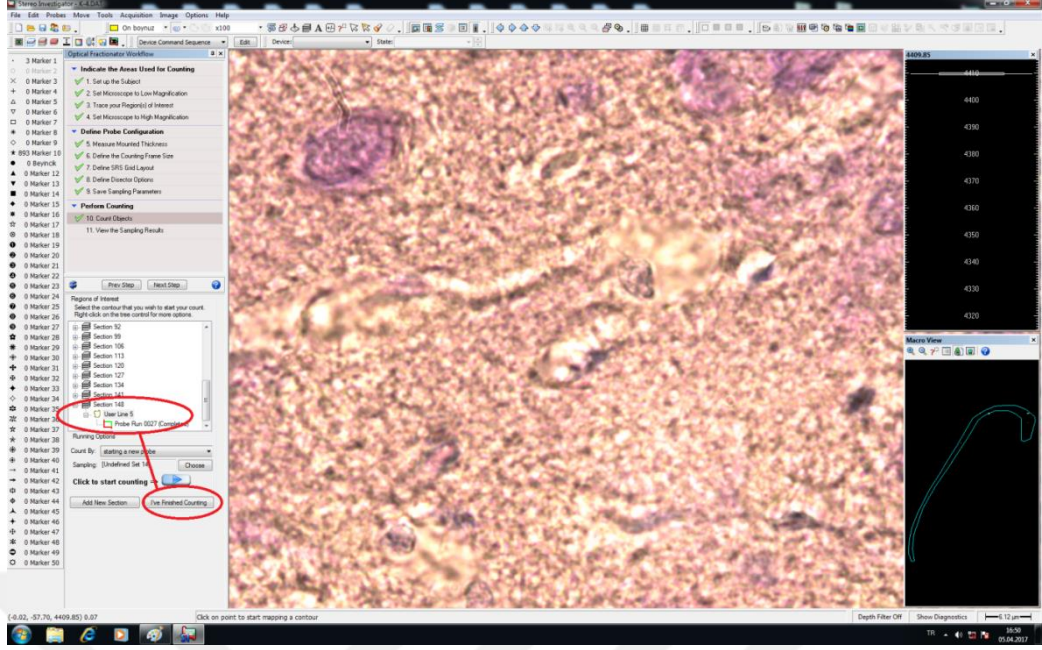
Resim 38. Bir kesitteki tüm çerçevelerin sayılmasından sonra verilen uyarının onaylanması.

Ardından yeni kesit üzerinde sayıma başlamak için “ Begin new section” butonu tıklanır ve sistem sayılması için bir sonraki kesite sizi yönlendirir (Resim 39). Yeni kesitte sırasıyla izleyeceğimiz adım numaraları: 2, 3, 4 ve 10. adımlarıdır.



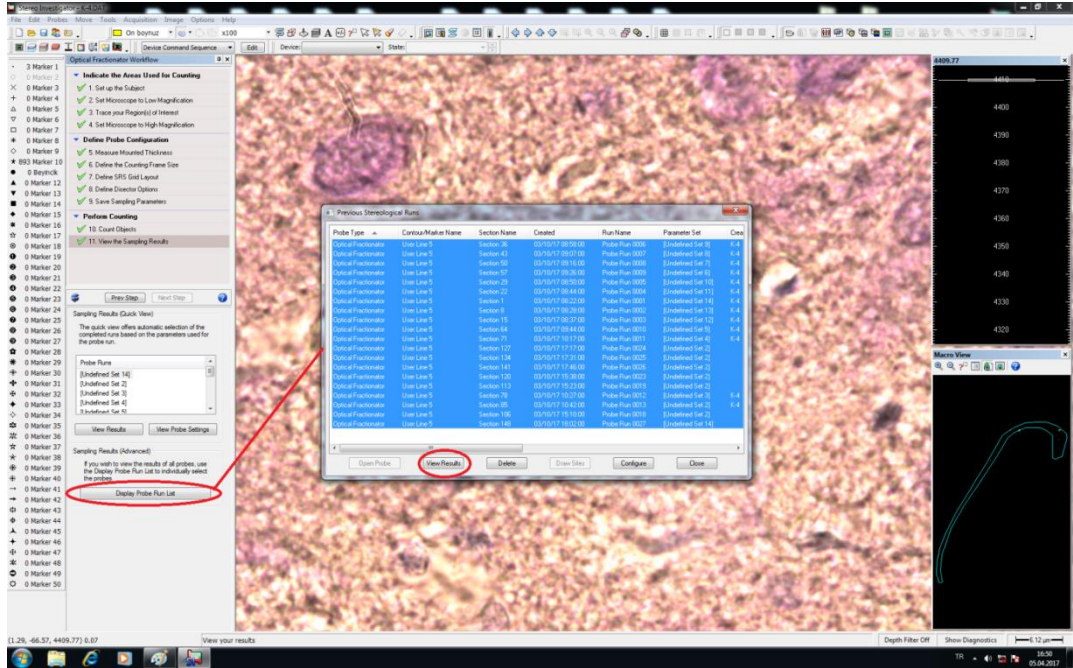
Resim 39. Yeni kesitte sayıma geçilmesi.

Diğer adımlar kaydedilen ayarlardır ve kullanıcı özel olarak açmadığı süreçte sistem o adımları otomatik olarak yapıldı sayarak geçmektedir. Dördüncü adım uygulandıktan sonra program direkt olarak onuncu adıma geçer ve belirlenen sayım çerçevelerinde sayıma başlanır. Belirlenen her kesitte bu basamaklar aynen gerçekleştirilip son kesitte sayıldıktan sonra programda “ I have finished counting” butonu tıklanır ve sayım bitirilir (Resim 40).



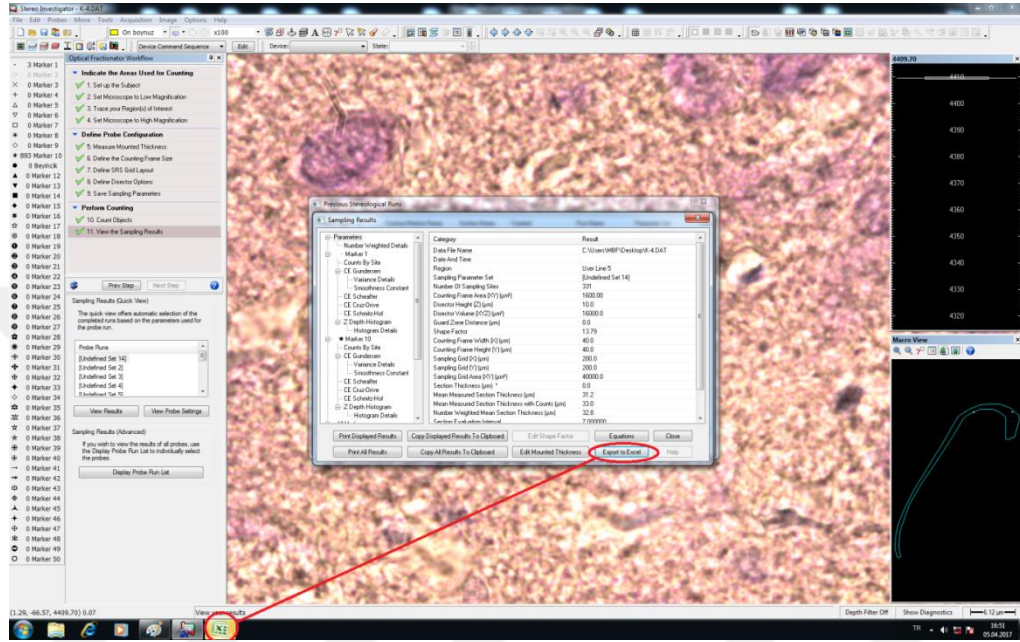
Resim 40. Tüm kesitlerin sayılmasının ardından sayımın bitirilmesi.

Ardından “Display Probe Run List” butonuna tıklanır. Bu buton tıklandıktan sonra saydığımız tüm kesitlerin bulunduğu bir pencere açılır. Bu pencerede “ctrl” ile beraber tüm kesitler seçilir ve “View Results” butonu tıklanır (Resim 41).



Resim 41. Sayılan kesitlerin tümünün, açılan pencerede özetlenmesi.

Bu butona tıklandıktan sonra önümüze açılan yeni pencerede “Export to Excel” butonuna tıklanarak bilgilerin otomatik olarak excel programına aktarılarak analiz edilmesi sağlanır. Analiz edilen bilgiler başlatma çubuğunda excel sekmesi olarak açılır (Resim 42).



Resim 42. Sayım sonuçlarının excele aktarılması.

[illegible]

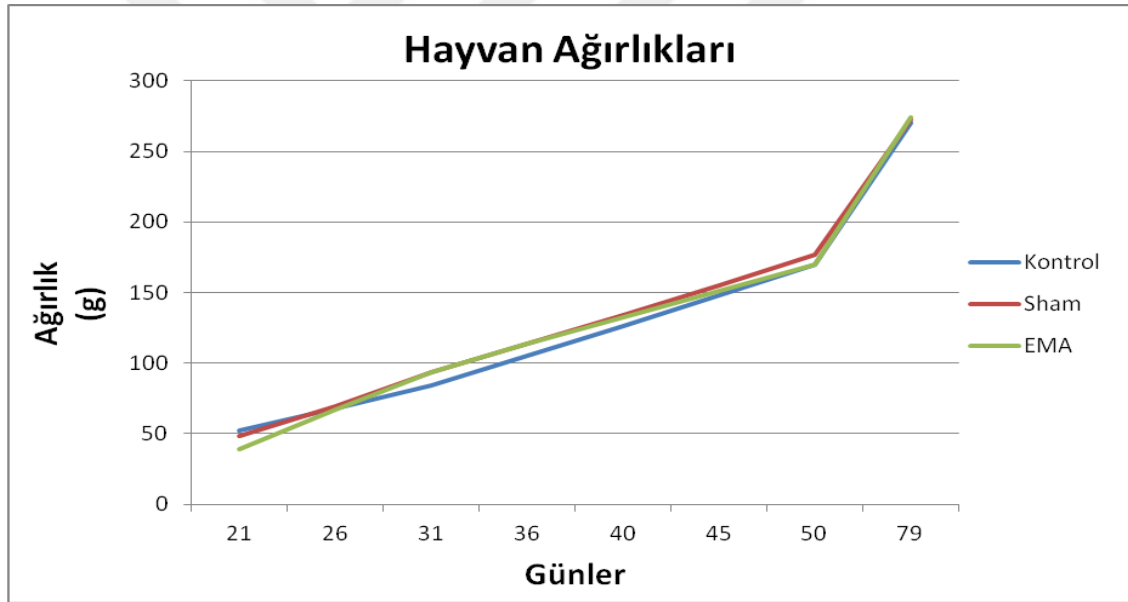
5.4. İstatistiksel Analizler

66

6. BULGULAR

6.1. Sıçan Ağırlıklarına Ait Bulgular

1. ve 2. gruba ait sıçanlar 21. günden 50. güne kadar her 5 günde bir tartıldı. İlave olarak 2 grup sıçanlar 79. günde tekrar tartıldı. Buna göre 50. güne kadar Kontrol, Sham ve EMA gruplarına ait sıçan ağırlık ortalamaları sırası ile: 127.9 ± 69.8 gr, 133.0 ± 70.8 gr, 130.1 ± 72.3 gr olarak tespit edildi. Yapılan bu kilo takibinde 50 güne kadar sıçanların vücut ağırlıklarının birbiriyle aynı oranda arttığı görüldü (Şekil 9). Şekil 9’da görüldüğü üzere 50. günden sonra yapılan ölçümlerde de Kontrol, Sham ve EMA grubu sıçanların ağırlıklarının, birbirine paralel şekilde arttığı gözlemlendi. Yapılan istatistiksel değerlendirmede hayvan ağırlıkları arasında anlamlı bir fark çıkmadı ($p > 0.05$).

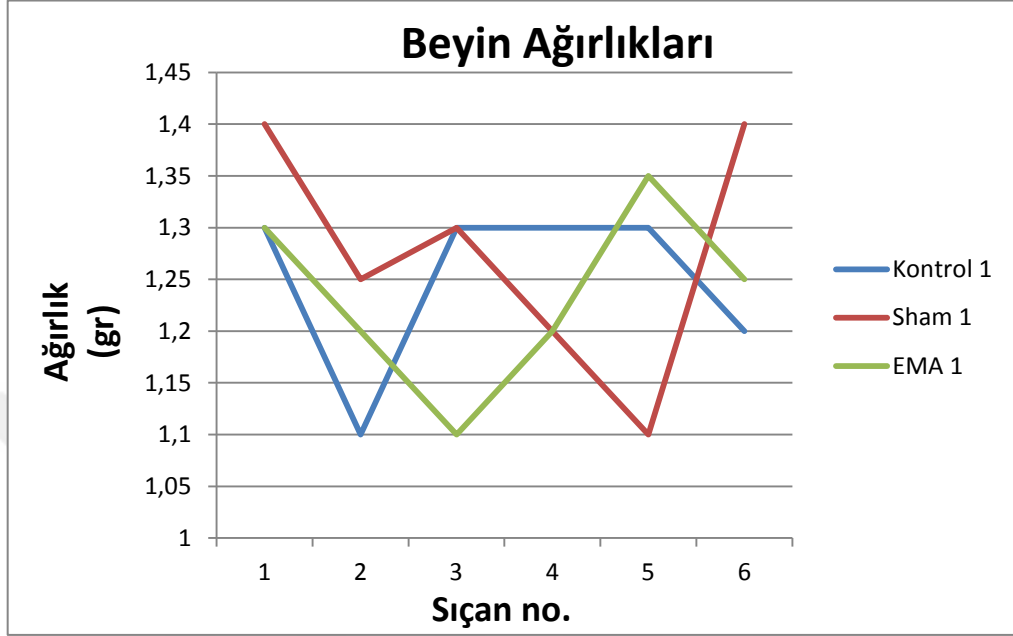


Şekil 9. Hayvanların günlere göre ağırlıklarındaki değişimi gösteren grafik.

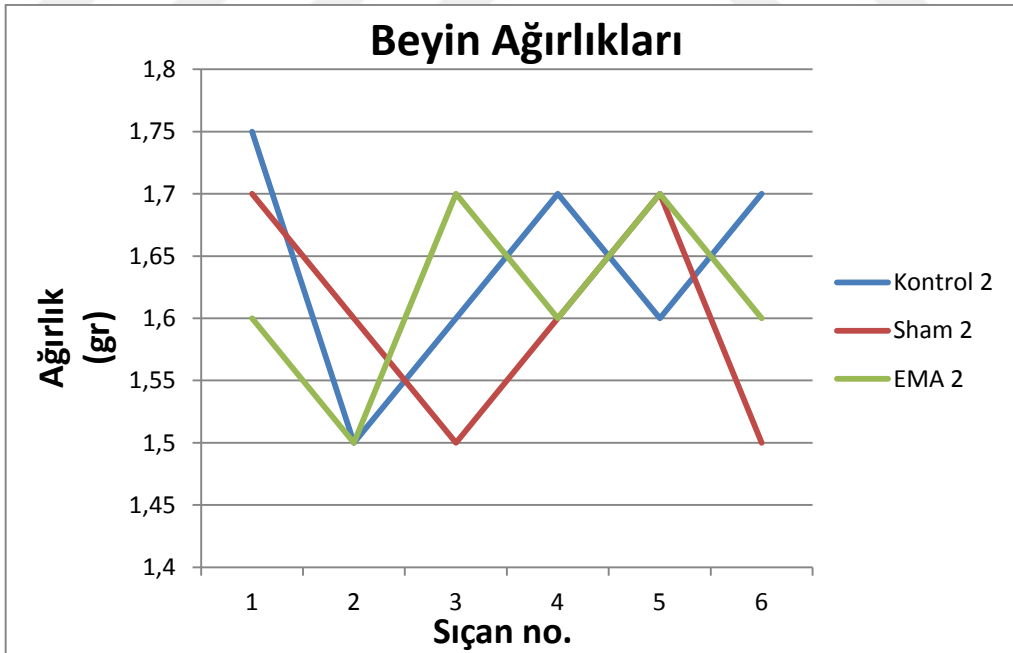
6.2. Beyin Ağırlığına Ait Bulgular

Her gruba ait sıçanların beyinleri sakrifiye edildikleri günde tartıldı. Bu tartımlara göre 1. Grup, Kontrol, Sham ve EMA gruplarının beyin ağırlıkları ortalaması sırasıyla 1.25 ± 0.08 gr, 1.28 ± 0.11 gr, 1.23 ± 0.08 gr olarak tespit edildi. 2. Grup Kontrol, Sham ve EMA grubu beyin ağırlıklarının ortalamaları ise 1.64 ± 0.09 gr, 1.60 ± 0.08 gr, 1.62 ± 0.07 gr olarak bulundu (Şekil 10, 11). Her iki grubun beyin ağırlıkları ile ilgili yapılan

grafiklerde herhangi bir sapma görülmedi. Her iki grup içinde yapılan istatistiksel değerlendirmede hayvan beyin ağırlıkları arasında ($p>0.05$) anlamlı bir fark çıkmadı.



Şekil 10. Grup 1 deney hayvanlarının beyin ağırlıklarını gösteren grafik.



Şekil 11. Grup 2 deney hayvanlarının beyin ağırlıklarını gösteren grafik.

6.3. Elektromanyetik Alan Kafesindeki Sıcaklık ve Nem Bulguları

Sham ve EMA gruplarına ait hayvanlar kafes içerisindeyken hem uygulamalara başlarken ve hem de uygulamalar bittikten sonraki ısı ve nem değerleri ölçüldü ve Tablo 11’de verildi (Tablo 11). Yapılan istatistiksel analizler sonucunda Sham ile EMA grubunun sıcaklık ve nem değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$).

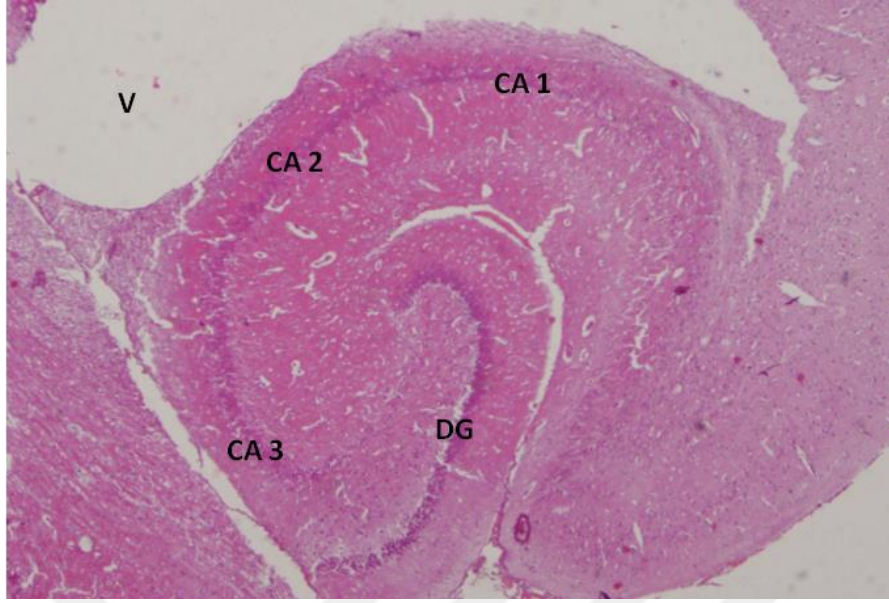
Tablo 11. EMA kafesine ait sıcaklık ve nem değerleri.

Gruplar	Kafes içi sıcaklıkları (°C) (ortalama $\pm$ standart sapma)		Kafes içi nem (gr/m ³) (ortalama $\pm$ standart sapma)	
	Başlangıç	Bitiş	Başlangıç	Bitiş
Sham	24.56 $\pm$ 0.85	24.58 $\pm$ 0.77	73.5 $\pm$ 4.31	74.82 $\pm$ 4.04
EMA	24.52 $\pm$ 0.77	24.65 $\pm$ 0.82	74.85 $\pm$ 4.2	75.25 $\pm$ 4.33

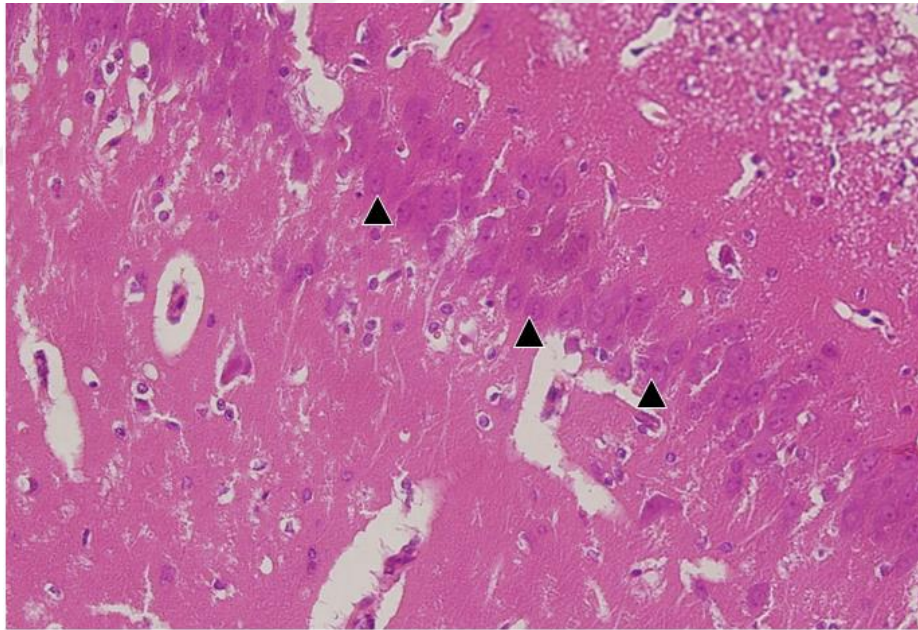
6.4. Hipokampusun Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi

6.4.1. Kontrol Gruplarının H&E ve Cresyl Fast Violet ile Boyalı Kesitlerinde Histopatolojik Değerlendirme Bulguları

Kontrol 1 ve Kontrol 2 gruplarının H&E kesitlerinde hipokampuslar histopatolojik olarak değerlendirildi. Yapılan değerlendirmede, hipokampusun tüm bölgelerinin normal morfolojik yapıda olduğu gözlemlendi. CA bölgesinde yapılan değerlendirmede de herhangi bir patolojiye rastlanmadı (Resim 44–47).



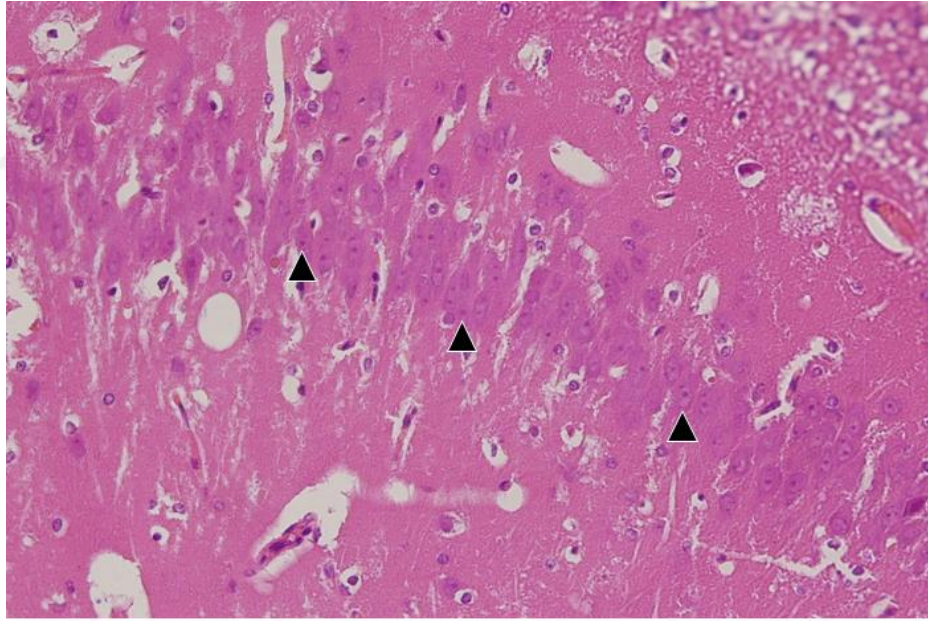
Resim 44. Kontrol 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun panoromik görüntüsü. CA, cornu ammonis (Ammon'un boynuzu); DG, dentate girus; V, ventrikül; (H&E, $\times 4$).



Resim 45. Kontrol 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü. Normal görünümlü piramidal hücreler (ok başı) dikkati çekmekte (H&E, $\times 40$).

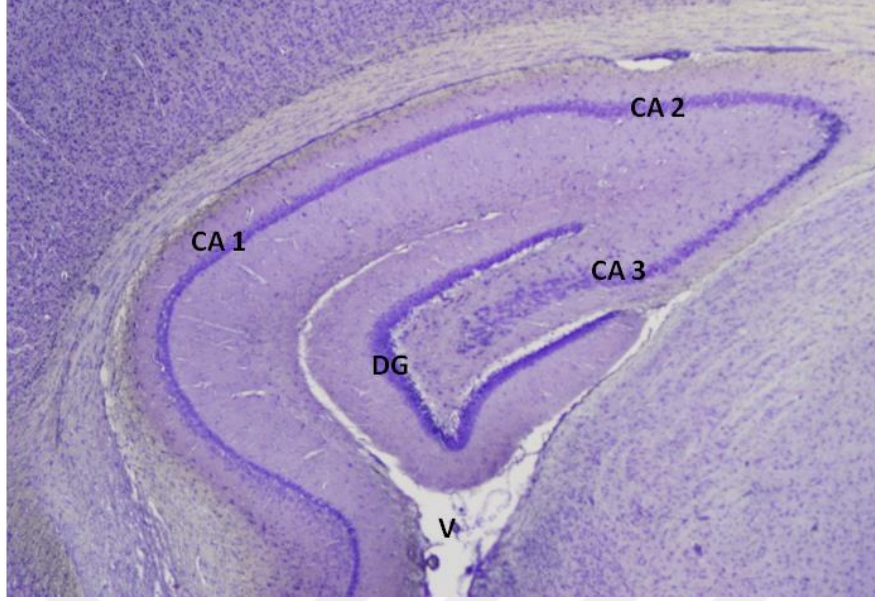


Resim 46. Kontrol 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun panoromik görüntüsü. CA, cornu ammonis; DG, dentate girus; V, ventrikül (H&E, $\times 4$).

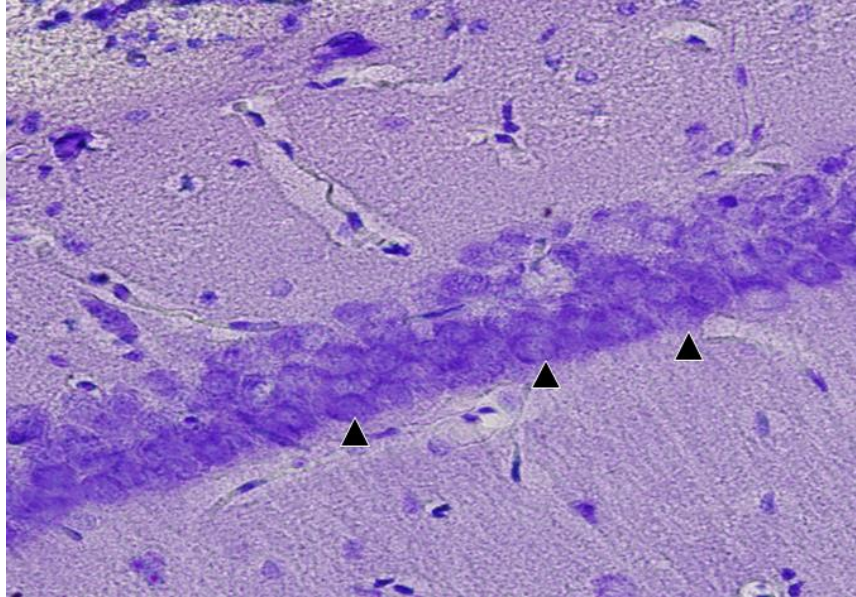


Resim 47. Kontrol 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü. Normal görünümlü piramidal hücreler (ok başı) dikkati çekmekte (H&E, $\times 40$).

Histopatolojik değerlendirme için ek olarak Kontrol 1 ve Kontrol 2 gruplarının cresyl fast violet ile boyalı kesitlerinde de hipokampuslar incelendi. Yapılan değerlendirmede, hipokampus normal morfolojide gözlemlendi ve CA bölgesinde herhangi bir patolojiye rastlanmadı (Resim 48–51).



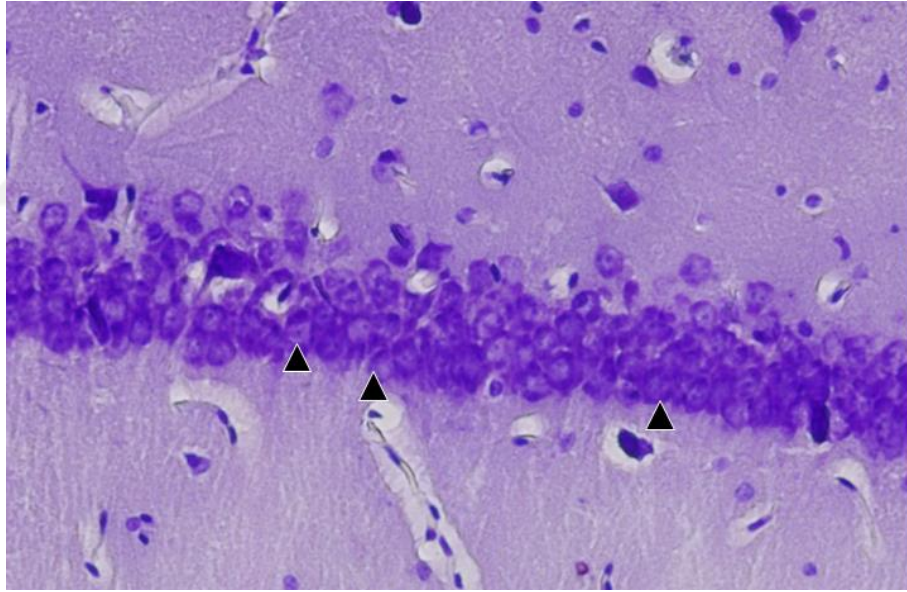
Resim 48. Kontrol 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun panoromik görüntüsü. CA, cornu ammonis; DG, dentate girus; V, ventrikül; (Cresyl fast violet, $\times 4$).



Resim 49. Kontrol 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü. Normal görünümlü piramidal hücreler (ok başı) dikkat çekmekte; (Cresyl fast violet, $\times 40$).



Resim 50. Kontrol 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun panoromik görüntüsü. CA, cornu ammunis; DG, dentat girus; V, ventrikül; (Cresyl fast violet, $\times 4$).

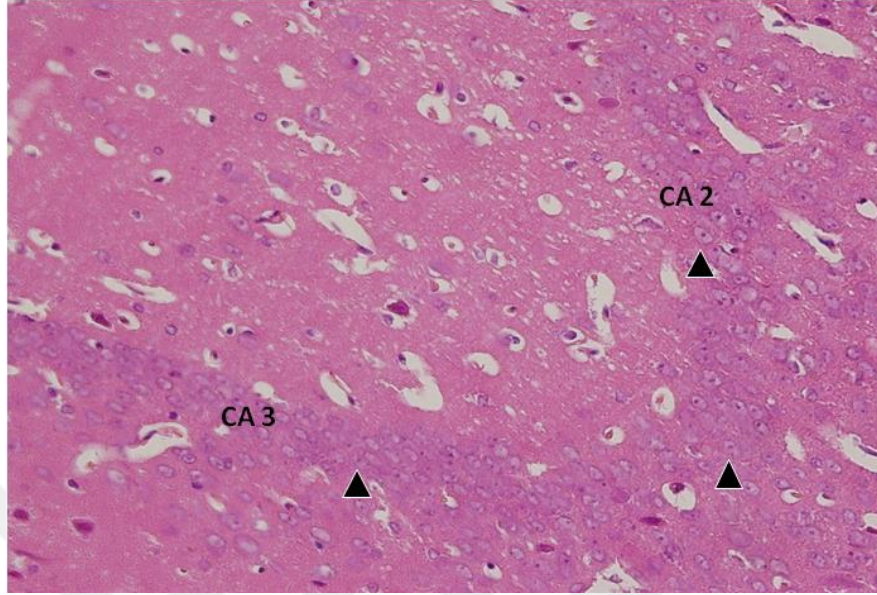


Resim 51. Kontrol 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü. Normal görünümlü piramidal hücreler (ok başı) dikkati çekmekte (Cresyl fast violet, $\times 40$).

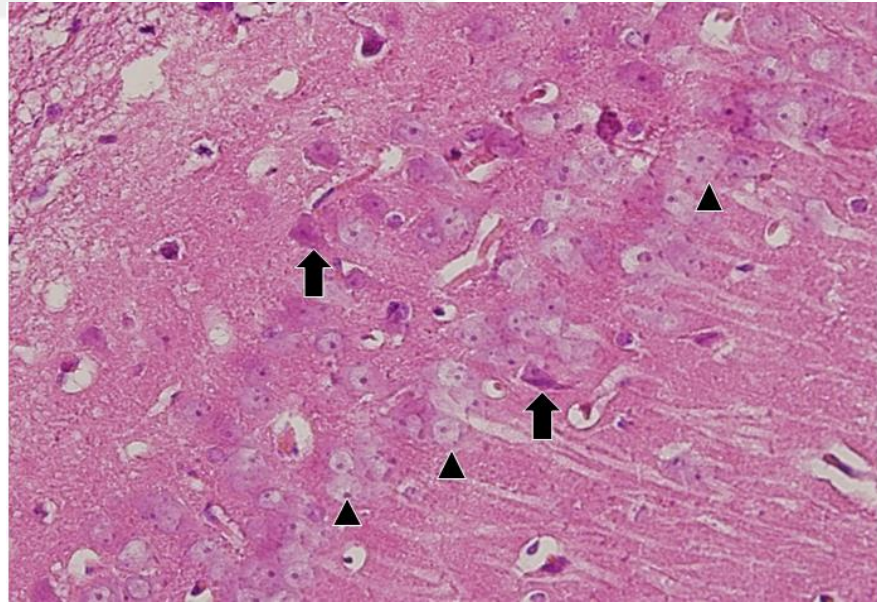
6.4.2. Sham Gruplarının H&E ve Cresyl Fast Violet ile Boyalı Kesitlerinde Histopatolojik Değerlendirme Bulguları

Sham 1 ve Sham 2 gruplarının H&E boyalı kesitlerinde yapılan histopatolojik değerlendirmede: hipokampusun normal morfolojik yapıda olduğu, CA bölgesinde

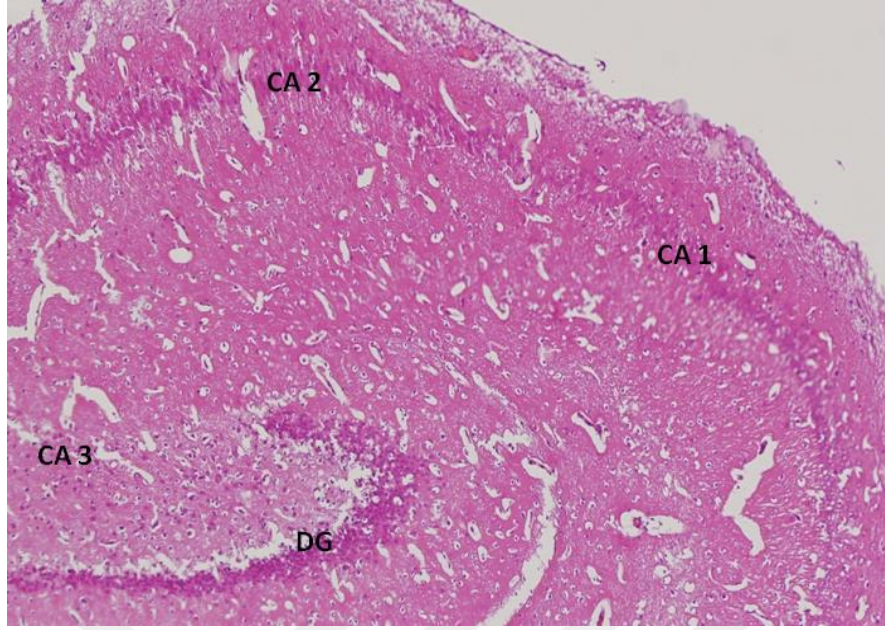
nadiren vakuolizasyon ve yer yer sitoplazması koyu boyalı hücreler olmasına rağmen yaygın patolojik bulgular olmadığı gözlemlendi (Resim 52–55).



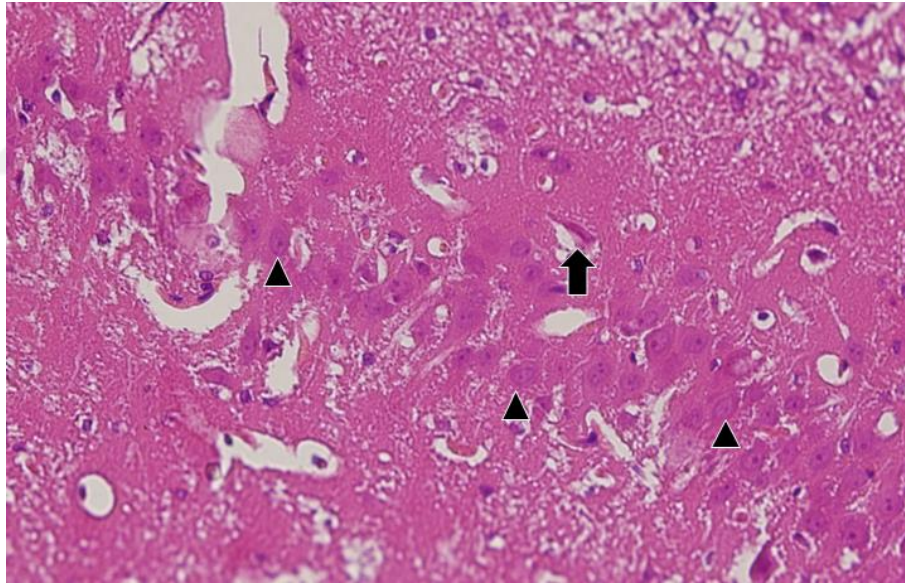
Resim 52. Sham 1 grubuna ait sıçan hipokampusunun görüntüsü. Normal görünümlü piramidal hücreler (ok başı) dikkati çekmekte. CA, cornu ammunis. (H&E, $\times 10$).



Resim 53. Sham 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü. Normal görünümlü piramidal hücreler (ok başı) ve sitoplazması koyu boyanmış hücreler (ok) dikkati çekmekte (H&E, $\times 40$).



Resim 54. Sham 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü. CA, cornu ammonis. DG, dentat girus (H&E, $\times 10$).



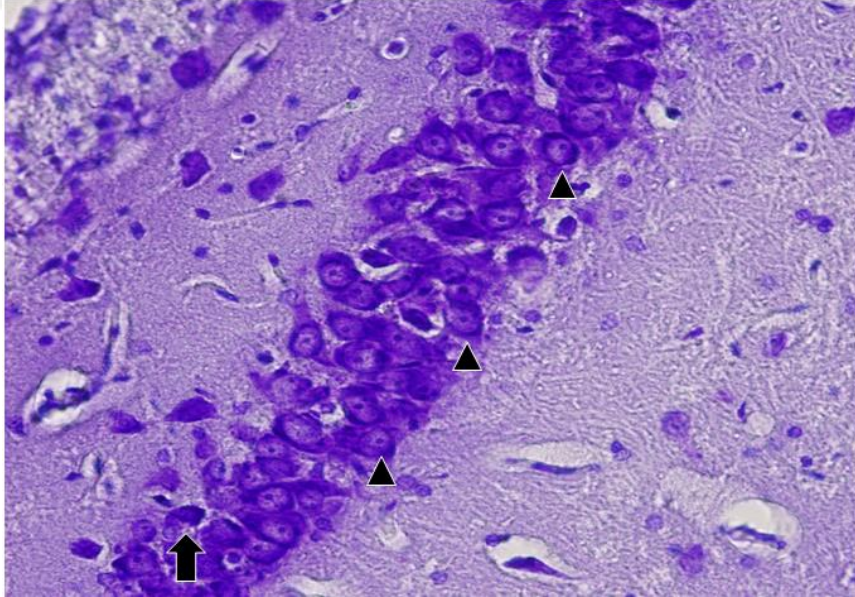
Resim 55. Sham 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunda normal görünümlü piramidal hücreler (ok başı) ve sitoplazması koyu boyanmış hücreler (ok) dikkati çekmekte (H&E, $\times 40$).

H&E değerlendirmesine ek olarak Sham 1 ve Sham 2 gruplarının cresyl fast violet boyalı kesitlerinde de hipokampuslar histopatolojik olarak değerlendirildi. Yapılan değerlendirme sonucunda hipokampus doku bütünlüğü normal olarak incelenirken, Sham 2 grubunda hilus bölgesinde kısmi açılma gözlemlendi. CA bölgesindeki

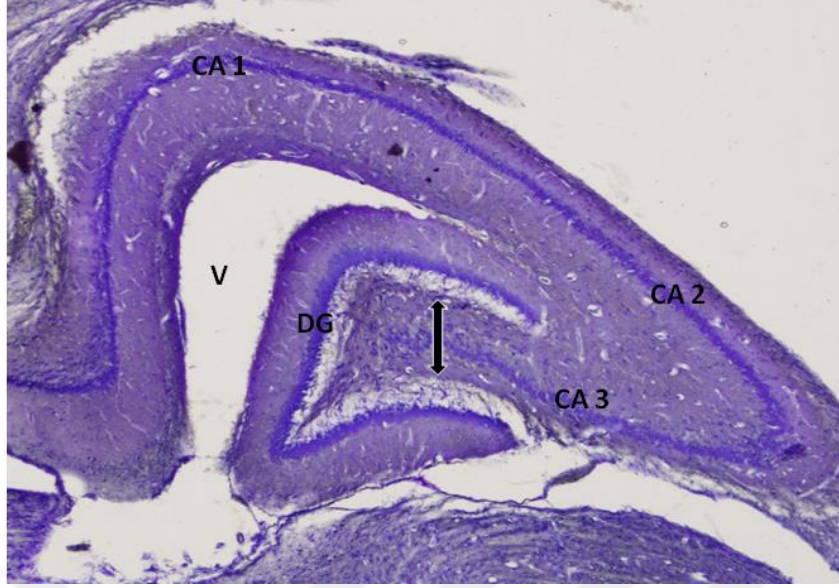
değerlendirmede seyrek vakuolizasyon ve yer yer sitoplazması koyu boyanmış hücreler gözlemlendi (Resim 56–58).



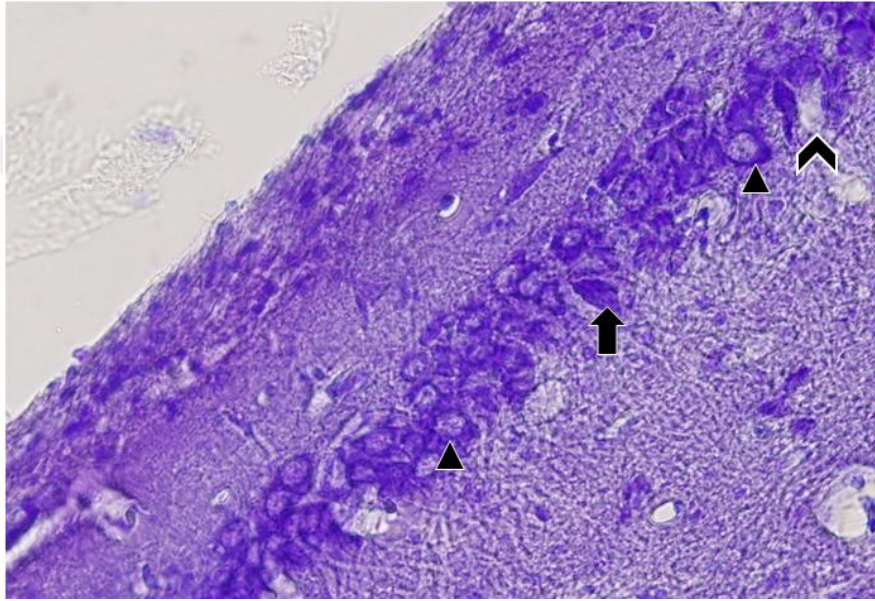
Resim 56. Sham 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun panoramik görüntüsü. CA, Cornu Ammonis (Ammon'un boynuzu); DG, dentat girus; V, ventrikül (Cresyl fast violet, $\times 4$).



Resim 57. Sham 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü. Normal görünümlü piramidal hücreler (ok başı) ve sitoplazması koyu boyanmış hücreler (ok) dikkati çekmekte (Cresyl fast violet, $\times 40$).



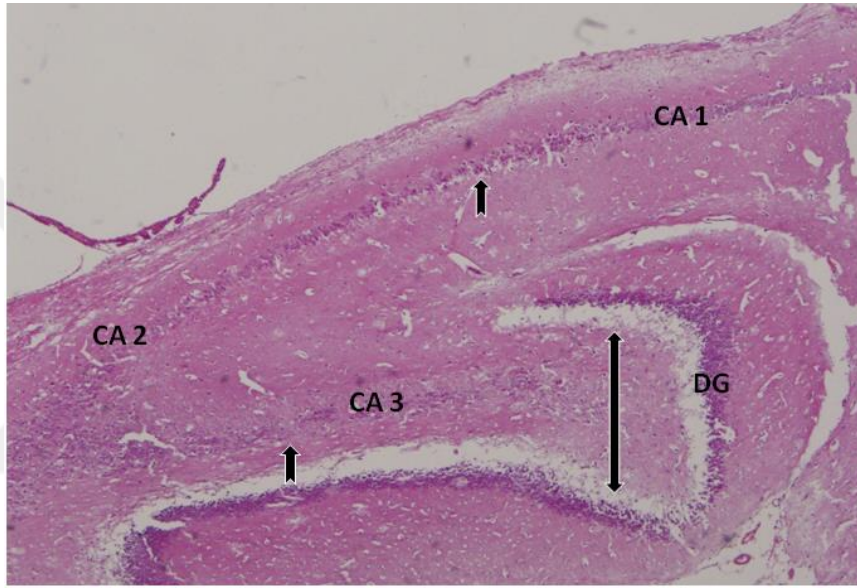
Resim 58. Sham 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun panoromik görüntüsü. CA, Cornu Ammonis (Ammon'un boynuzu); DG, dentate girus; V, ventrikül; hilusta kısmi açılma (çift başlı ok); (Cresyl fast violet, $\times 4$).



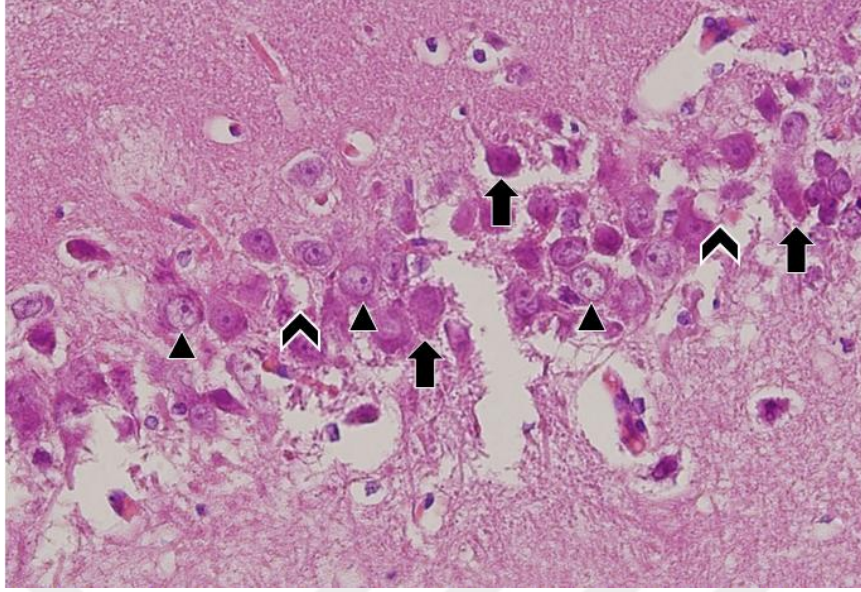
Resim 59. Sham 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü. Normal görünümlü piramidal hücreler (ok başı); sitoplazması koyu boyanmış hücreler (ok) ve vakuolizasyon (çentikli ok başı) dikkati çekmekte; (Cresyl fast violet, $\times 40$).

6.4.3. EMA Gruplarının H&E ve Cresyl Fast Violet ile Boyalı Kesitlerinde Histopatolojik Değerlendirme Bulguları

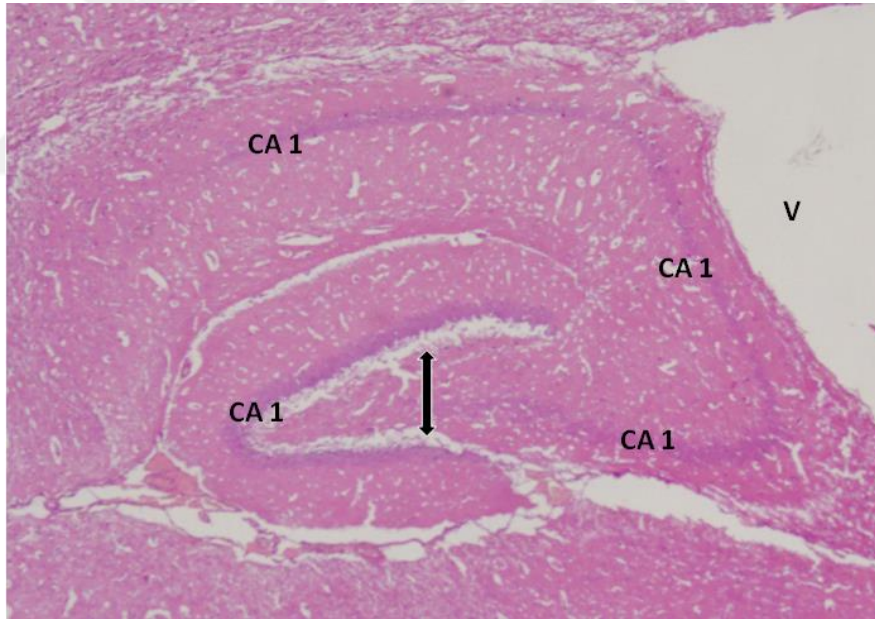
H&E boyalı kesitlerde EMA 1 ve EMA 2 gruplarının hipokampusları histopatolojik olarak değerlendirildiğinde her iki grupta da piramidal tabakada nöronlar arasında yer yer vakualizasyonlar, nöron sitoplazmasının koyu boyanması, nöronlarda yapısal bozukluk, nöron diziliminde düzensizlik ve hipokampusun hilus bölgesinde açılmalar şeklinde histopatolojik bulgulara rastlandı (Resim 60–63).



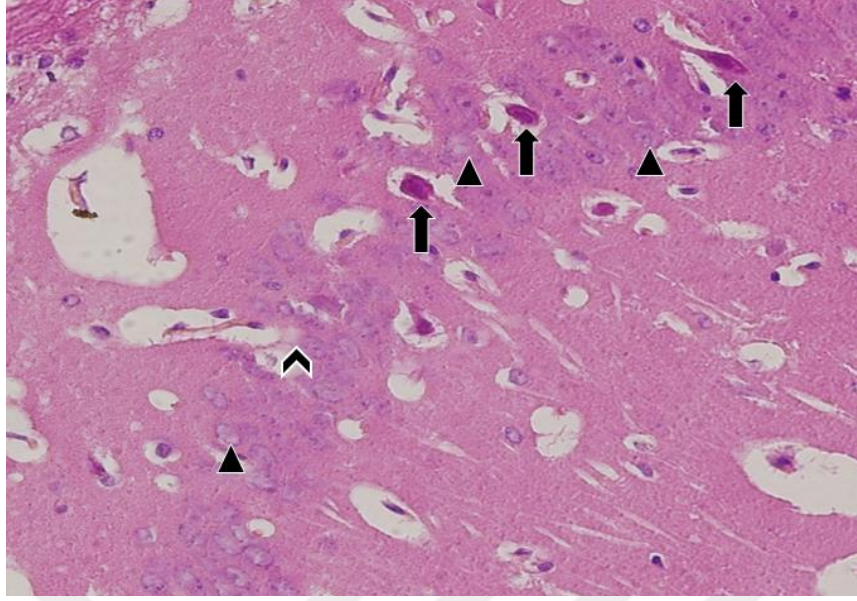
Resim 60. EMA 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun panoramik görüntüsünde hilusta kısmi açılma (çift başlı ok) ve nöron diziliminde düzensizlik (çentikli ok) dikkati çekmekte (H&E, $\times 4$).



Resim 61. EMA 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunda normal piramidal hücre (ok başı) ve koyu sitoplazmalı hücreler (ok) ve vakuolizasyon (çentikli ok başı) dikkati çekmekte (H&E, $\times 40$).

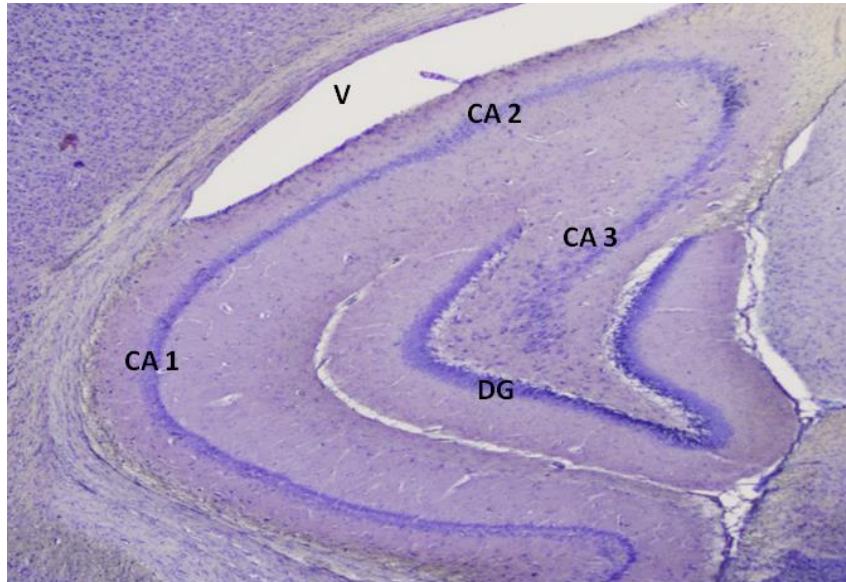


Resim 62. EMA 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun panoramik görüntüsü. hilusta kısmi açılma (çift başlı ok) dikkati çekmekte; V, ventrikül (H&E, $\times 4$).

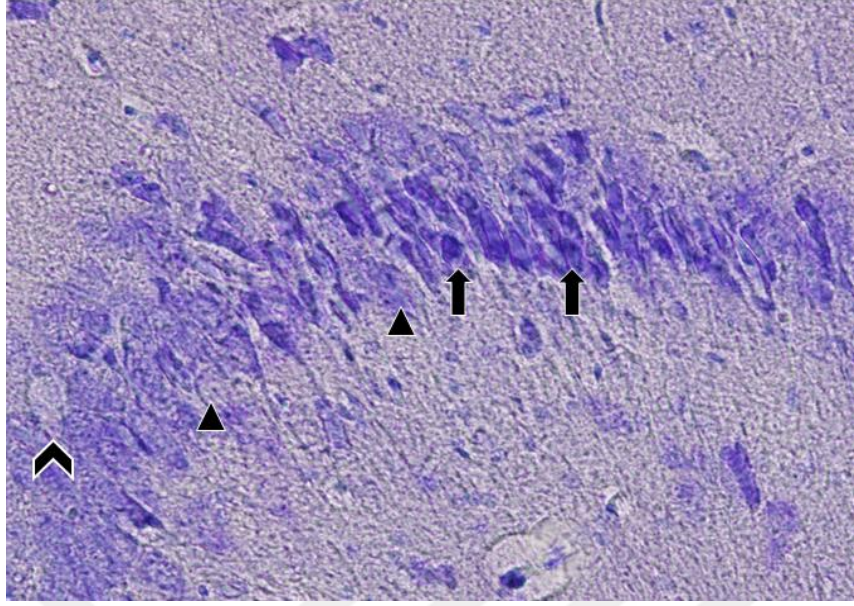


Resim 63. EMA 2 grubuna ait sıçanların hipokampus görüntüsünde normal piramidal hücre (ok başı), koyu sitoplazmalı hücreler (ok) ve vakuolizasyon (çentikli ok başı) dikkati çekmekte (H&E, $\times 40$).

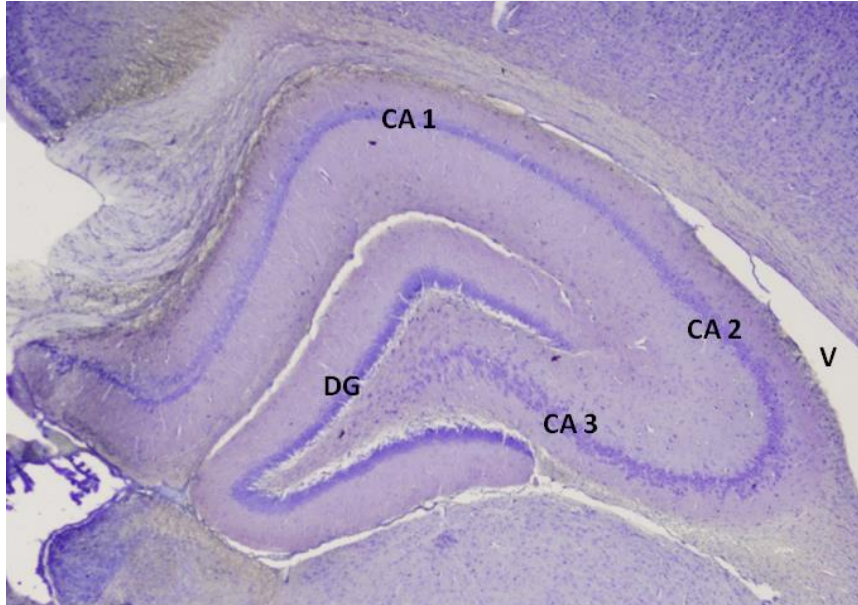
Ek olarak cresyl fast violet ile boyanan EMA 1 ve EMA 2 gruplarına ait kesitlerde, hipokampus patolojik olarak değerlendirildi. Özellikle CA bölgesinde, nöronlardaki yapısal bozukluklar ve sitoplazmaları koyu boyalı hücreler dikkat çekiciydi (Resim 64–67).



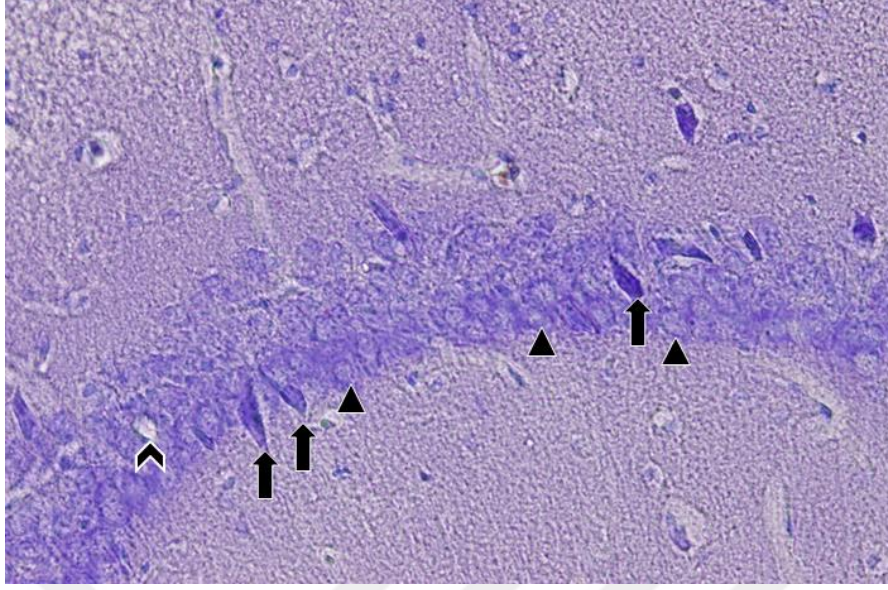
Resim 64. EMA 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun panoramik görüntüsü. CA: cornu ammunis, DG: dentat girus, V: ventrikül; (Cresyl fast violet, $\times 4$).



Resim 65. EMA 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü. Normal piramidal hücreler (ok başı), sitoplazması koyu boyanmış, yapısal değişikliğe uğramış hücreler (ok) ve vakuolizasyonlar (çentikli ok başı) dikkati çekmekte (Cresyl fast violet, $\times 40$).



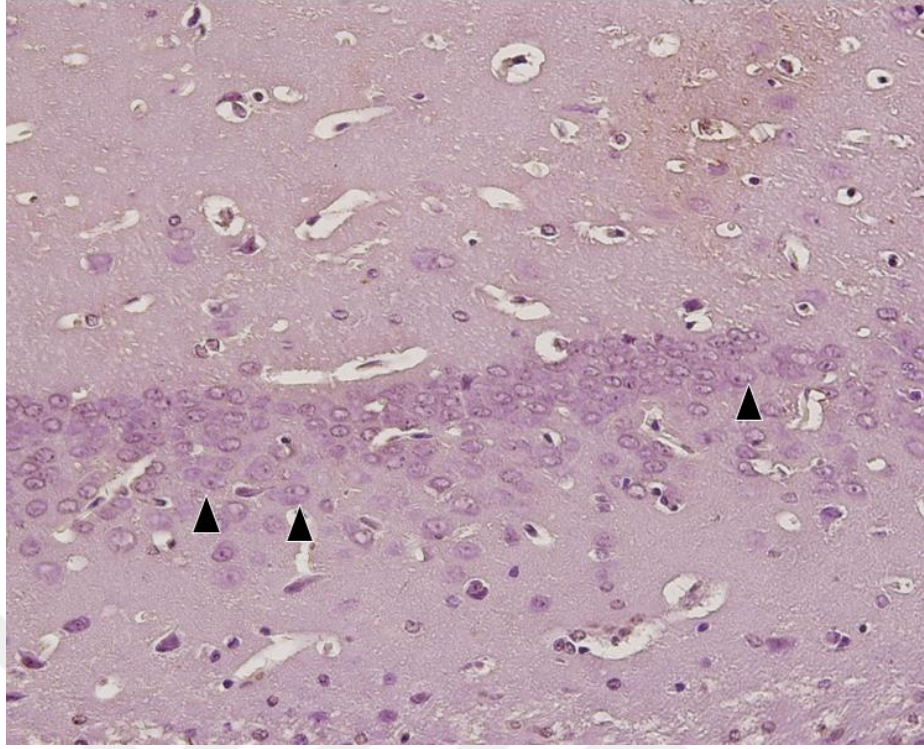
Resim 66. EMA 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun panoramik görüntüsü. CA: cornu ammonis (Ammon' un boynuzu), DG: dentate girus, V: ventrikül (Cresyl fast violet, $\times 4$).



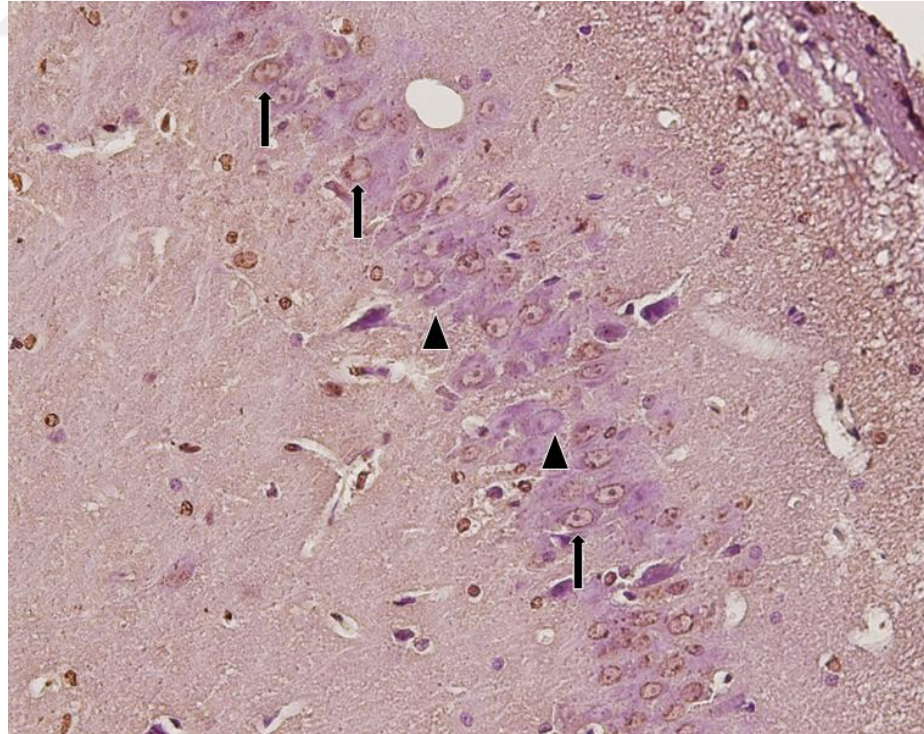
Resim 67. EMA 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü. Normal piramidal hücreler (ok başı), sitoplazması koyu boyanmış hücreler (ok) ve vakuolizasyonlar (çentikli ok başı) dikkati çekmekte (Cresyl fast violet, $\times 40$).

6.5. Hipokmapusta TUNEL boyama ile apoptoz değerlendirilmesi

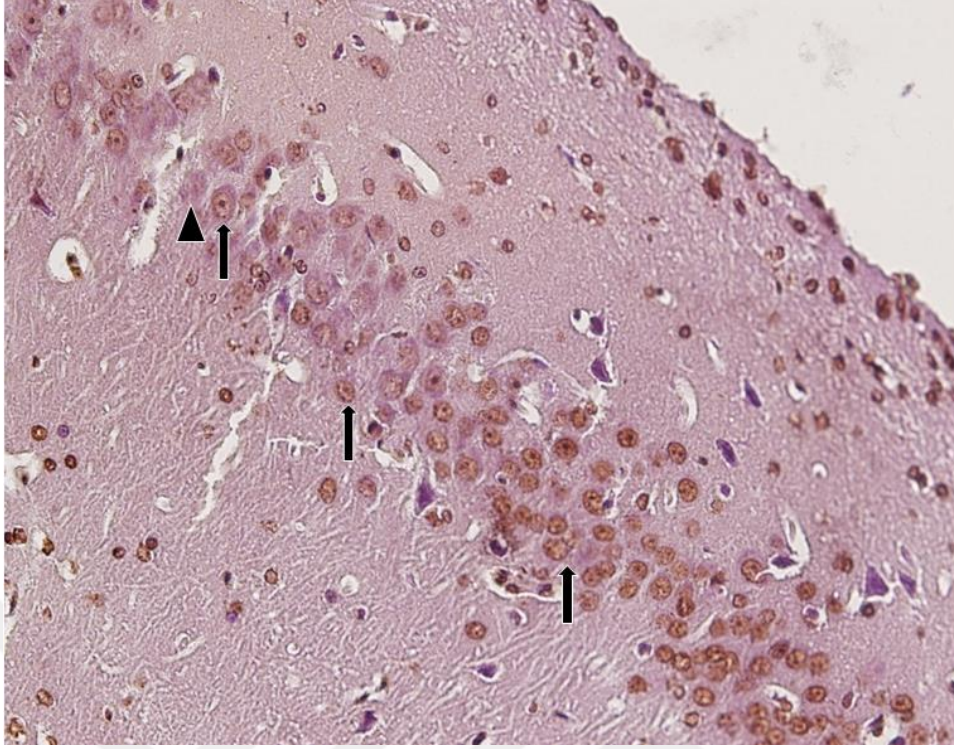
Kontrol, Sham ve EMA gruplarında, TUNEL boyama tekniği ile hipokampusta apoptotik hücrelerin varlığı ve bulunma sıklığı değerlendirildi. Elde edilen sonuçlara göre; Kontrol 1 ve 2 de oldukça az sayıda apoptotik hücelere rastlanırken, Sham 1 ve 2 de kısmen, EMA 1 ve EMA 2 gruplarında ise yoğun apoptotik hücreler gözlemlendi (Resim 68–73).



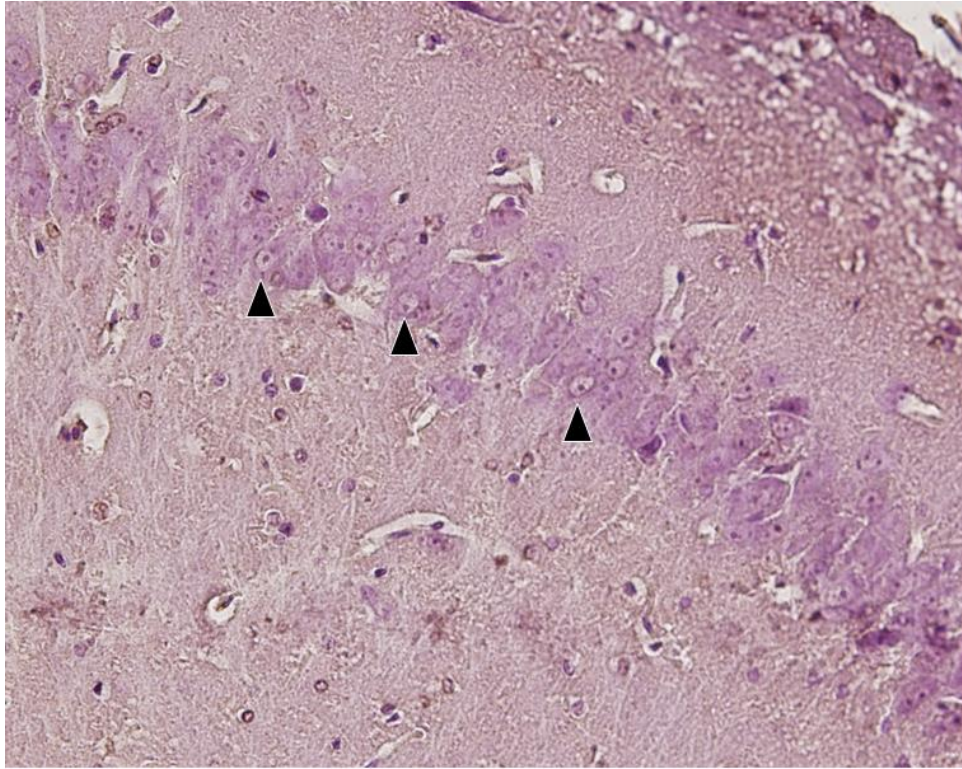
Resim 68. Kontrol 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü. Normal piramidal hücre (ok başı) dikkati çekmekte (TUNEL $\times 40$).



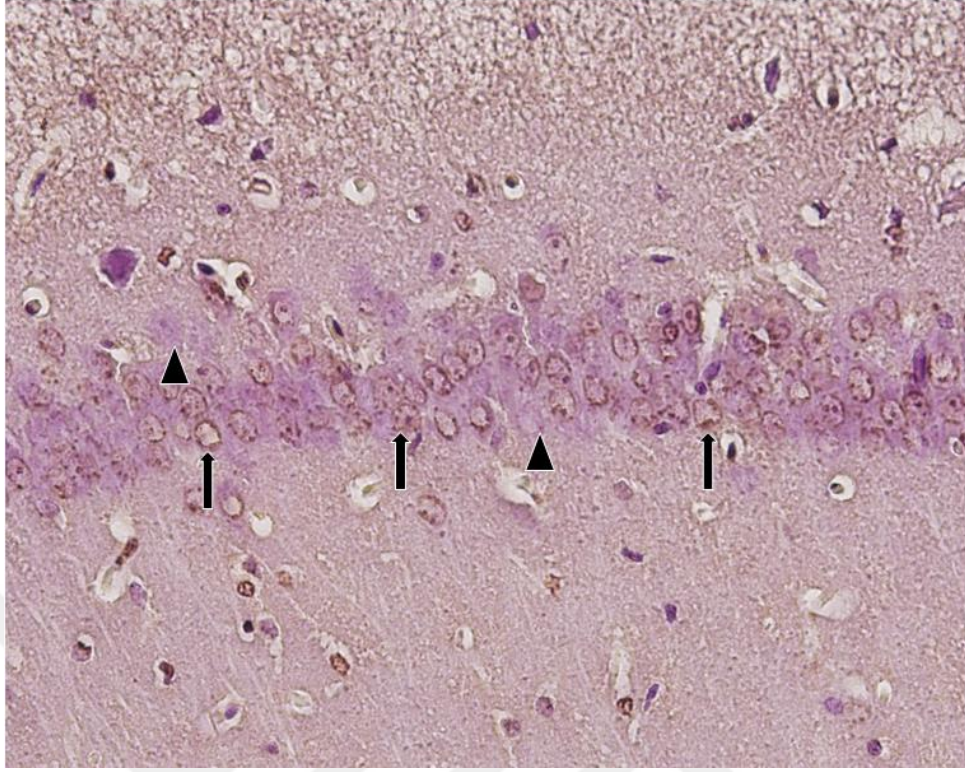
Resim 69. Sham 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü. Normal piramidal hücre (ok başı) dikkati çekmekte, apoptotik hücre (ok) dikkati çekmekte (TUNEL $\times 40$).



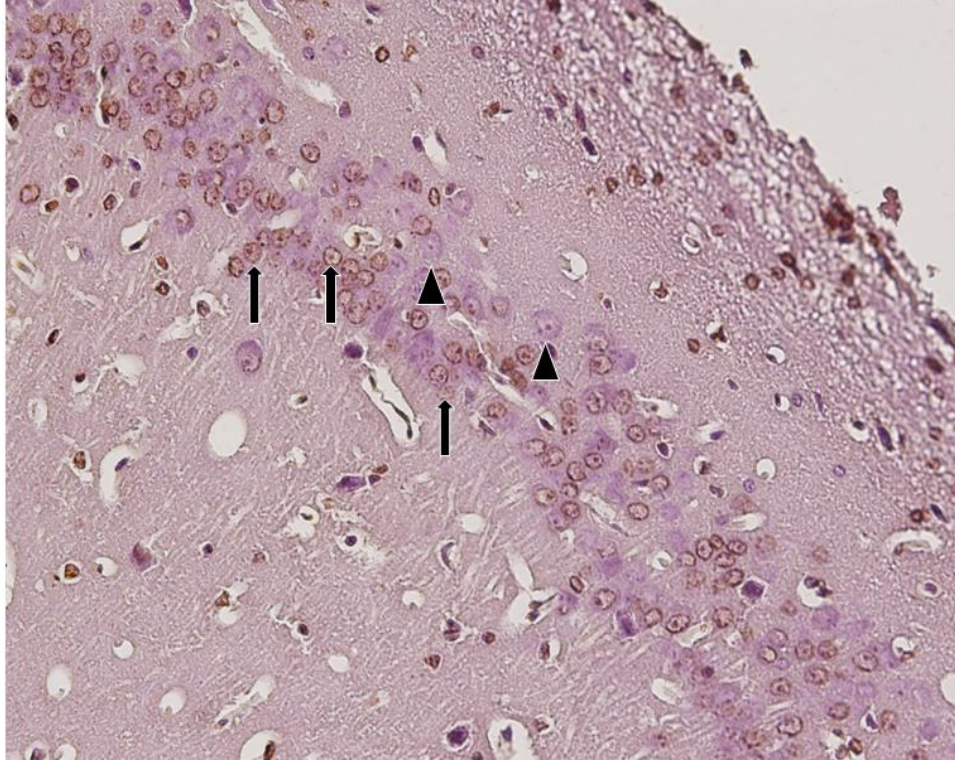
Resim 70. EMA 1 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü. Normal piramidal hücreler (ok başı); apoptotik hücreler (ok) dikkati çekmekte (TUNEL $\times 40$).



Resim 71. Kontrol 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü. Normal piramidal hücreler (ok başı) dikkati çekmekte; (TUNEL $\times 40$).



Resim 72. Sham 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü. Normal piramidal hücreler (ok başı), apoptotik hücreler (ok) dikkati çekmekte (TUNEL $\times 40$).



Resim 73. EMA 2 grubuna ait sıçanların hipokampusunun görüntüsü. Normal piramidal hücreler (ok başı); apoptotik hücreler (ok) dikkati çekmekte (TUNEL $\times 40$).

6.6. Apoptotik İndeks Sonuçları

TUNEL metodu ile boyana kesitlerde 5 farklı noktadan çekilen fotoğraf üzerinde apoptotik hücreler sayılarak AI hesaplandı. Elde edilen verilere göre Grup 1'e ait sıçanların AI'ları istatistiksel olarak kıyaslandığında EMA grubunun AI'nin anlamlı derecede arttığı görüldü ($p<0.05$) (Tablo 12). Aynı şekilde Grup 2'ye ait sıçanların da AI'ları istatistiksel olarak kıyaslandığında EMA grubunun AI'nin anlamlı derecede arttığı görülürken ($p<0.05$), EMA1 ve EMA2 grupları arasında anlamlı bir farkın olmadığı belirlendi ($p>0.05$).

Tablo 12. AI'nin gruplara göre ortalama $\pm$ standart hata değerleri ve karşılaştırılması

Gruplar	Kontrol 1 grubu	Sham 1 grubu	EMA 1 grubu	Kontrol 2 grubu	Sham 2 grubu	EMA 2 grubu
Apoptotik indeks (%) $\pm$ standart sapma	8.5433 $\pm$ 1.547	11.83 $\pm$ 0.8574	30.04 $\pm$ 3.747	8.6883 $\pm$ 0.8440	11.12833 $\pm$ 1.254	29.543 $\pm$ 1.2063

6.6. Hipokampus CA Bölgesi Nöron Sayısı Verileri

Sıçanların hipokampus CA bölgesinde Kontrol 1, Kontrol 2, Sham 1, Sham 2, EMA 1 ve EMA 2 gruplarında bulunan her bir sıçana ait piramidal hücre sayısı, grupların ortalama piramidal hücre sayıları, standart sapmaları ve istatistiksel analiz sonuçları Tablo 13'te verildi. Buna göre grupların kendi içinde yapılan istatistiksel analizler, EMA 1 grubu ile Kontrol 1 ve Sham 1 grupları arasında (sırasıyla $p<0.001$ ve $p<0.001$); EMA 2 grubu ile Kontrol 2 ve Sham 2 grupları arasında (sırasıyla $p<0.001$ ve $p<0.001$) piramidal hücre sayısı bakımından anlamlı düzeyde bir azalma olduğu tespit edildi. Ancak hem 1 grup hem de 2 grup Kontrol ve Sham grupları arasında piramidal hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik yoktu ($p>0.001$). Her grubun birbiri ile karşılaştırılmasında ise EMA 1 ve EMA 2, Kontrol 1 ve Kontrol 2, Sham 1 ve Sham 2 grupları arasında piramidal hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı derecede bir değişim mevcut değildi ($p>0.05$). Her iki grubun CA bölgesi piramidal hücre sayısı ortalamaları bakımından yapılan değerlendirmede de EMA grubunun ortalama piramidal hücre sayısının, Kontrol ve Sham gruplarına göre (sırasıyla $p<0.001$ ve $p<0.001$) anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlendi (Tablo 13).

Tablo 13. Tüm grupların hücre sayısı ortalamaları ve stereolojik analiz verileri tablosu.

Grup	Piramidal hücre sayısı		Grupların piramidal hücre sayısı ortalamaları
	1. Grup (PN 50. gün)	2. Grup (PN 79. gün)	
Kontrol	745715.8 ± 42140.1	711072.8 ± 48054.1	728394.3 ± 46734.6
Sham	709978.5 ± 38421.0	701802.5 ± 54467.7	705890.5 ± 45141.2
EMA	516464.7 ± 84306.6 ^a	506416.8 ± 46094.0 ^b	511440.8 ± 64992.4 ^c

Veriler, ortalama ± standart sapma olarak verildi. n = 6 (her grup için)

^a EMA 1 grubunun piramidal hücre sayısı Kontrol 1 ve Sham 1 gruplarına göre anlamlı düzeyde azaldı (sırasıyla $p<0.001$ ve $p<0.001$).

^b EMA 2 grubunun piramidal hücre sayısı Kontrol 2 ve Sham 2 gruplarına göre anlamlı düzeyde azaldı (sırasıyla $p<0.001$ ve $p<0.001$).

^c EMA gruplarının piramidal hücre sayısı ortalamaları, diğer grupların Kontrol ve Sham gruplarının ortalamalarına göre anlamlı düzeyde azaldı (sırasıyla $p<0.001$ ve $p<0.001$).

7. TARTIŞMA

Her yıl bir yenisiyle tanıştığımız teknolojik cihazların çalışma prensipleri gereği oluşturdukları EMA ile olan etkileşimimiz kaçınılmazdır. Günlük yaşantımızın artık vazgeçilmezleri olan bu cihazların oluşturduğu EMA, ya dolaylı olarak ya da doğrudan bizleri etkilemektedir. Bu etkinin önceki yıllara oranla gittikçe daha da artması, doğal olarak EMA'nın insan sağlığı üzerinde olan etkilerinin de sorgulanmasını gerektirmektedir. Bu açıdan bakıldığında ilerde ciddi sağlık problemleri oluşturacağı kuşkusu, konuyla ilgili bilim insanlarının da ilgisini çekmiştir (5, 92). Son yıllarda yapılan çalışmalarda konu olarak EMA'nın etkilerinin hem toplum sağlığı açısından hem de bireysel olarak insan sağlığı açısından araştırılması önemli araştırma konuları arasına girmiştir (24, 25, 93, 94).

Kuşkusuz günlük hayatımızda aldığı rolle cep telefonları bu cihazlar arasında en sık kullanılan cihazlar arasında yer almaktadır. Özellikle akıllı telefon teknolojisi ile hayatımızda ki yerini ve gereksinimini daha da arttıran cep telefonları ile geçirdiğimiz süre gün içerisinde azımsanamayacak ölçülerdedir (47). İlk kullanıma girdiğinde çoğunlukla erişkinler tarafından kullanılan cep telefonları, günümüzde her yaş grubu insan tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır (21). Yeni nesil cep telefonlarının özellikle çocuklar ve gençler arasında oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak henüz erişkin morfolojik ve anatomik yapısına ulaşmamış çocukların ve gençlerin cep telefonlarının oluşturduğu EMA etkisinden daha fazla etkileneceği aşıkardır (95). Çünkü bu dönemde herhangi bir iç veya dış etken nedeniyle doku, organ ve sistemlerin normal morfolojik gelişimlerinin bozulması ve geriye dönüşümlü ya da dönüşümsüz bazı patolojileri ortaya çıkması mümkündür (4, 96). Literatürde konuyla ilgili yapılan birçok çalışma yer almaktadır. Yapılan bu çalışmalarda prenatal ya da PN dönemlerde uygulanan 900 MHz EMA'nın sıçanların başta beyin (97, 98), testis (99), ovaryum (100), kalp (101) karaciğer (102), böbrek (7) ve daha diğer birçok organı (103) üzerinde olumsuz etkileri olduğu rapor edilmiştir.

Dünyada en yaygın kullanılan iletişim sistemleri GSM-900 ve DCS-1800'dür. GSM-900, 880-960 MHz aralığındaki frekans bantlarını kullanırken, DCM-1800 1710-1880 MHz aralığındaki frekans bantlarını kullanmaktadır. Türkiye'de ise GSM-900 sistemi daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Tüm bu nedenlerden dolayı, bu çalışmanın amacı postnatal 21–49. günleri arasında kesintisiz 900 MHz EMA etkisine maruz kalan

erkek sıçanların, farklı gelişim dönemlerinde hipokampus morfolojilerinde meydana gelebilecek olan muhtemel değişikliklerin stereolojik, histopatolojik ve immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak araştırılması hedeflendi.

Daha öncede vurguladığımız gibi 900 MHz EMA'nın sıçanların beyin, beyincik, omurilik gibi MSS dokuları üzerine olan etkilerini inceleyen birçok çalışma mevcuttur (6, 98, 104, 105). Bu çalışmalar bir bütün olarak incelendiğinde EMA uygulaması bittikten hemen sonra deney hayvanlarının sakrifiye edildiği, kan ve doku örnekleri elde edildikten sonra değişik yöntemler kullanılarak incelendiği dikkati çekmektedir. Ancak yapılan bir çalışmada PN 21. günden itibaren PN 49. güne kadar kesintisiz olarak uygulanan 900 MHz EMA'nın, EMA uygulaması bitiminden bir hafta sonra ortaya çıkabilecek muhtemel sonuçlarını inceledikleri çalışmalarında histopatolojik olarak benzer ama nöron sayısı bakımından farklı sonuçlar rapor etmişlerdir (19). Bu çalışmada, diğer çalışma sonuçlarına benzer olarak hipokampusun hilus, DG, CA1, CA2 ve CA3 bölgelerinde yer yer vakuolizasyon; hilus, DG, CA1, CA2 ve CA3 bölgelerinin sınırlarında düzensizlik ve doku kaybı; hilus, CA1, CA2 ve CA3 bölgelerinde piramidal hücre ve DG bölgesinde granüler hücre bütünlüğünde bozulma ve hücre sitoplazmalarında koyu boyanmalar rapor edilmektedir. Bizim çalışmamızda da EMA grubunun H&E boyalı kesitlerinde sıçanların hipokampuslarının piramidal hücre tabakasında nöronlar arasında yer yer vakualizasyonlar (nöron sitoplazmasının koyu boyanma, nöronlarda yapısal bozukluk, nöron diziliminde düzensizlik ve hipokampusun hilus bölgesinde açılmalar şeklinde histopatolojik bulgulara rastlandı (19, 106). EMA grubunun Cresyl fast violet ile boyanan kesitlerinde de özellikle CA bölgesindeki nöronlarda şekil bozuklukları ve sitoplazmaları koyu boyalı hücreler dikkat çekiciydi.

Bununla birlikte İkinci çalışmasında 900 MHz EMA etkisine maruz kalan sıçanların granüler ve piramidal hücre sayılarının kontrol ve sham gruplarına göre anlamlı derecede arttığı rapor edildi. Bu 900 MHz EMA'nın sıçan hipokampusu nöron sayıları üzerine yapılan çalışmalardan farklı bir sonuçtur. Çünkü daha önceki çalışmalarda, 900 MHz EMA'nın sıçan hipokampusunun granüler ve piramidal hücrelerin sayılarını düşürdüğü bildirilmektedir (6, 98). İkinci'nin çalışması (2016) ve bu çalışmalar (6, 98) arasındaki en önemli benzerlik nöron sayısı hesaplamalarında, bizimde çalışmamızda kullandığımız tarafsız ve etkin yöntemler olarak da tanımlanan

stereolojik yöntemlerin (68) kullanılmasıdır. Aynı yöntemlerin kullanılması bu çalışma sonuçlarının birbirleri ile hiçbir şüpheye neden olmaksızın kıyaslanabilmesini mümkün kılmaktadır. Çalışmalar arasındaki en önemli fark ise EMA uygulaması sonrası sıçanların sakrifiye edildikleri zamandır. Çünkü İkinci'nin çalışmasında sıçanlar EMA uygulamasından bir hafta sonra sakrifiye edilirken, diğer çalışmalarda ise EMA uygulamasından hemen sonra sakrifiye edilmektedirler. İkinci çalışma sonuçlarından yola çıkarak, adolesan dönemde uygulanan 900 MHz EMA uygulamasının hipokampus bölgesinde hücre artışına neden olduğunu ve bu sonucunun ilk defa rapor edileceğini ifade etmektedir.

Bu sonuç bizim çalışmamızın diğer önemli bir çıkış noktasını oluşturmaktadır. Çalışmamızda İkinci ve ark. (2015) çalışmasına benzer bir modelleme yapılarak, aynı tür sıçan, aynı frekansta EMA ve aynı uygulama düzeneği kullanılmıştır. Biz çalışmamızı, iki grup sıçan ile gerçekleştirdik. 1. grup sıçanlar PN 21-49 günlerinde kesintisiz 900- MHz EMA etkisine bırakılan ve EMA uygulaması bittikten hemen sonra (PN 50 günde) sakrifiye edilen sıçan grubundan oluşmaktadır. 2 grup sıçanlar yine aynı dönemde EMA etkisine maruz bırakılan ancak PN 79 günde sakrifiye edilen sıçanlardan oluşmaktadır. 2 grup sıçanlar İkinci'nin çalışma grubuna benzer gruptur. Çünkü bu grup sıçanlar EMA etkisinden 30 gün sonra sakrifiye edilen gruptur. Çalışma sonuçlarımıza göre hem EMA 1 grubu hem de EMA 2 grubunun kendi kontrol ve sham gruplarına göre piramidal hücre sayılarının anlamlı düzeyde azaldığı tespit edildi. Her iki grubun CA bölgesi piramidal hücre sayısı ortalamaları bakımından yapılan değerlendirmede de EMA grubunun ortalama piramidal hücre sayısının, Kontrol ve Sham gruplarına göre anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlendi. Bununla birlikte EMA 1 ve EMA 2 grupları arasında piramidal hücre sayısı bakımından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir değişiklik mevcut. Bu sonuçlar özetle; PN21-49 günlerde uygulanan 900 MHz EMA'nın hipokampus CA bölgesinde piramidal hücre sayısında azalmaya neden olduğunu, bu etkinin EMA uygulamasından 30 sonra bile devam ettiğini göstermektedir. Bir başka ifadeyle çalışmamızın stereolojik analizler sonucu edilen piramidal hücre sayısı verileri, İkinci ve ark. (2015) çalışmasını desteklememektedir.

Kaynaklarda yer alan diğer çalışmalara bakıldığında ise çalışma sonuçlarımıza benzer sonuçların olduğu dikkati çekmektedir. Bu çalışmalarda prenatal ve postnatal dönemlerde EMA uygulaması sonrası hipokampusda piramidal hücrelerin (6, 18, 107,

108), DG bölgesinde granüler hücrelerin azaldığı (60) rapor edilmiştir. Örneğin yetişkin dişi sıçanlara uygulanan 900 MHz EMA etkisinin, EMA grubu sıçanların hipokampusundaki piramidal hücre sayısını Sham ve Kontrol grubu sıçanlara göre anlamlı derecede azalttığı rapor edilmektedir (18).

PN 21-49 günler arasında uygulanan 900 MHz EMA'nın sıçanlar üzerinde oluşturabileceği olası vücut ağırlık değişikliklerini izleyebilmek için sıçanlar çalışma başlangıcından itibaren 5 günde bir tartılarak takip edildi ve ağırlıklarındaki değişiklikler not edildi. Beyin ağırlıkları da sıçanlar kurbanı edildiklerinde hemen hassas terazi yardımıyla tartıldı ve not edildi. Yapılan çalışmalarda 900 MHz EMA etkisine maruz kalma sonucunda sıçanlarda beyin ve vücut ağırlıklarında istatistiksel açıdan herhangi bir değişikliğin olmadığı bildirilmektedir (18, 108). Yine Dhiraj ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada, 835 MHz EMA'nın farelerde vücut ağırlığında anlamlı bir değişikliğe yol açmadığını rapor etmektedirler (109). Bu çalışmaların sonuçları, bizim çalışmamızın vücut ve beyin ağırlıkları bulgularını destekler niteliktedir. Çalışmamızda EMA, Kontrol ve Sham gruplarına ait sıçanların vücut ağırlıklarının zamana göre arttığı ancak aralarında anlamlı bir farklılığın olmadığı görülmüştür. Aynı şekilde beyin ağırlıkları bakımından da gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu.

EMA maruziyeti sonucu ortamda oluşan ısı değişikliklerinin beyin, beyincik gibi MSS dokularını etkileyebileceği, geri dönüşümlü ya da dönüşümsüz bazı sonuçlarının olabileceği iddia edilmektedir. Yapılan bir çalışmada ortamdaki sıcaklık 41°C ise beyin dokusunda herhangi bir hasar oluşmadığı rapor edilmektedir (110). Isı artışında MSS 42 °C ısıya en fazla 40-60 dakika, 43 °C ısıya ise en fazla 10-30 dakika dayanabileceğini göstermektedir. İnsan MSS, 40 ve 43 °C ısıya en fazla 30 dakika-6 saat arasında dayanabilmektedir. Araştırmalar MSS'nin doğrudan sıcaklıktan etkilenmediği, fakat fiziksel değişimler sonucu beyin ve omuriliğin etkilendiği ifade edilmektedir (49, 110, 111). Çalışmamızda Sham ve EMA uygulaması sırasında, kafeslerdeki sıcaklık yaklaşık 24 °C olarak tespit edildi. Bu sıcaklık EMA ve Sham uygulamaları yapılan kafes içerisindeki sıcaklığın beyin dokusunu etkileyecek kadar yüksek olmadığını göstermektedir.

Biyolojik yapılardan alan, sayı, hacim ve uzunluk gibi sayısal verilerin elde edilmesinde kullanılan yöntem oldukça önemlidir. Eğer kullanılan yöntem doğru sonuç elde edilmesini sağlayabilecek bir yöntem değilse, bu durumda elde edilen verilerin

hiçbir bilimsel değeri olmayacaktır. Bu nedenle bu çalışmada hipokampusun CA bölgesinde nöron sayısını elde etmek için kaynaklarda tarafsız ve etkin yöntemler olarak tanımlanan ve matematiksel temeli ispatlanmış olan stereolojik yöntemleri kullanıldı (68, 79). Değişik ekipmanlar kullanarak stereolojik analizlerin yapıldığı bu yöntemin birçok uyarlaması mevcuttur. Örneğin bir araştırma mikroskobu üzerine monte edilen araç ve gereçlerle stereolojik analizler gerçekleştirilebilir ve birçok çalışma yapılabilir (18, 60).

Stereolojik uygulamalarda son zamanlarda yeni kavramlar ortaya çıkmaktadır. Bunlardan en önemlisi tarafsız stereolojidir. Tarafsız stereoloji, tasarıma dayalı stereoloji olarak da tanımlanmaktadır. Tasarıma dayalı stereoloji biyolojik araştırmalarda verilerin güvenilirliğini daha da arttırmaktadır (80). Tasarıma dayalı terimi, problemleri ve örnekleme şemaları önceden tanımlanmış yöntemlerin; objelerin boyut, şekil, uzaysal yönelim ve mekânsal dağılımından bağımsız olarak sayısal verilerinin hesaplanmasını sağlar. Ancak elde edilecek sayısal verinin bu bağımsızlığa kavuşması için stereolojinin temel kurallarına uyulmalı ve bu kuralların doğru bir şekilde uygulanması gerekmektedir (71). Eski stereolojik yöntemler "model temelli" yöntemler olduğundan, bu modellerle yapılan çalışmalarda incelenen yapıların geometrik özelliklerine dayalı metotlar kullanılmaktaydı (89). Tasarım temelli yöntemler ise incelenecek yapıların geometrisi hakkında bilgi kullanma ihtiyacını ortadan kaldırır. Hesaplamalarda olası sistematik hata kaynakları ortadan kaldırıldığından daha sağlam veriler elde edilir (80). Tasarım temelli stereolojinin uygulanması için bilgisayar firmaları tarafından bazı yazılımlar geliştirilmiştir. Biz çalışmamızda MicroBrightField firmasının stereolojik araştırmalar için tasarladığı "Stereo Investigator" stereoloji analiz yazılımını kullandık.

Ancak bu yazılım programları ve bu yazılım programlarının çalıştırıldığı stereoloji analiz sistemleri oldukça pahalı sistemlerdir. Stereolojik çalışmalar pahalı sistemler olmadan da yapılabilir çalışmalardır. Bunun için gerekli olan bir mikroskop, X ve Y düzleminde mikroskop tablasının hareketlerini ölçebilen indikatör (112) ve mikroskobun Z ekseninde hareketini ölçebilen bir mikrokator yeterlidir. Hatta Z eksenindeki hareketler mikroskobun mikrovida ve makrovida hareketlerinden de ölçülebilir. Burada önemli olan mikroskobun Z eksenindeki hareketlerinin kalibre edilmiş olmasıdır (113). Biz çalışmamızda daha önce KTÜ Tıp Fakültesi Temel Tıp

Bilimleri Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'na bir proje kapsamında alınan stereoloji analiz sistemini kullandık. Eğer bu sistem olmasaydı, biz çalışmamızı daha ucuz ve basit ekipmanlar kullanarak da gerçekleştirebilirdik.

Yapılan çalışmalarda hipokampusun diğer beyin yapılarından, hipokampusun kendi bölümlerinin birbirinden kolayca ayrılmasını ve nöronların daha net görülmesini sağlamak için H&E, cresyl fast violet (85, 86) ve toludin mavisi (87) boyaları yaygın olarak kullanılmaktadır. Biz çalışmamızda hem hücrelerin ayrımını daha iyi yapabilmek hemde olası patolojik bulguları daha iyi görebilmek için cresyl fast violet boyalı kesitlerde stereolojik analizleri gerçekleştirdik. H&E ile boyalı kesitleri ise histopatolojik değerlendirme için kullandık. Ancak H&E boyalı kesitlerde gözlemlediğimiz histopatolojik bulguları, cresyl fast violet kesitlerinde de gözlemlediğimizden, çalışma sonunda bu çalışmanın histopatolojik değerlendirmesi için H&E boyalı kesitlerin gereksiz olduğu kanaatine vardık.

Çalışmada TUNEL boyalı kesitler üzerinde yaptığımız AI değerlendirmesinde EMA gruplarının her ikisinde de AI'nın diğer gruplara göre anlamlı derecede arttığı görülmüştür. Bu durumda 900 MHz EMA'nın hipokampusta piramidal hücrelerde apoptoz artışına neden olarak daha fazla hücre kaybına neden olduğunu söyleyebiliriz. Bu sonuç EMA gruplarında nöron sayısında azalmayı da açıklamaktadır. Bir başka ifadeyle; 900 MHz EMA, sıçanların hipokampusunda apoptozise neden olmaktadır ve bu durum nöron kaybına yol açmaktadır diyebiliriz.

Sonuç olarak çalışma sonuçlarımızdan yola çıkarak postnatal 21–49. günleri arasında kesintisiz uygulanan 900 MHz EMA'nın PN 50. günde ve PN 79. günde erkek sıçanların hipokampusunda piramidal hücre kaybına ve histopatolojik değişikliklere neden olduğunu, EMA maruziyetinin olmadığı 50–79. günler arasında da EMA etkisinin devam ettiğini söyleyebiliriz.

8. SONUÇ ve ÖNERİLER

Postnatal 21–49. günler arasında uygulanan 900 MHz EMA'nın farklı gelişim dönemlerindeki erkek sıçanların hipokampus morfolojisine etkisini araştırdığımız deneysel çalışmamızın sonucunda uygulanan 900 MHz EMA'nın;

1. Sıçan beyin ve vücut ağırlıklarında herhangi bir değişikliğe neden olmadığı,
2. Hipokampus bölgesinde vakuolizasyon, koyu sitoplazmalı piramidal hücreler, hücre diziliminde düzensizlikler ve hilus bölgesinde kısmi açılmalara neden olduğu,
3. Hipokampusun piramidal hücre sayısında anlamlı derecede azalmaya neden olduğu,
4. Apoptotik indeks değerlerinde anlamlı derecede artışa neden olduğu tespit edilmiştir.

Bütün bu sonuçlara ek olarak postnatal 21–49. günler arasında uygulanan 900 MHz EMA'nın uygulanan alan ile uygulanmayan alan arasında sıcaklık ve nem farkına sebep olmadığı görülmüştür.

Postnatal 21–49. günler arasında uygulanan EMA etkisinin hipokampus üzerinde meydana getirebileceği histopatolojik değişikliklerin elektron mikroskopik ve otoradyografik teknikler gibi daha ileri teknikler kullanılarak çalışılabileceğini, ayrıca hücrelerin genetik yapılarında incelenebileceği ve bu konunun diğer bilim disiplinlerinde çalışan araştırmacılar tarafından da üzerinde çalışılabilir önemde olduğunu düşünmekteyiz.

9. KAYNAKLAR

1. Hancı H (2013). Prenatal dönemde uygulanan elektromanyetik alanın yavru sıçanların testisi üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Trabzon.
2. Özyılmaz C (2014). 900 MHz Elektromanyetik Alanın Erişkin Erkek Sıçanların Testis Morfolojisi Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Trabzon.
3. Öztürk Okatan D (2016). 900 Megahertz Elektromanyetik Alanın Orta ve Geç Adolesan Dönemdeki Sıçanların Ovaryumu Üzerine Etkisi. Yayınlanmamış Uzmanlık Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Top Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Trabzon.
4. Davis DL, Kesari S, Soskolne CL, Miller AB, Stein Y (2013). Swedish Review Strengthens Grounds for Concluding That Radiation from Cellular and Cordless Phones is a Probable Human Carcinogen. *Pathophysiology* 20: 123–129.
5. Morgan LL, Miller, AB, Sasco A, Davis DL, (2015). Mobile phone radiation causes brain tumors and should be classified as a probable human carcinogen (2A) (review). *Int. J. Oncol* 46: 1865–1871.
6. Şahin A, Aslan A, Baş O, İkinci A, Özyılmaz C, Fikret Söznmez O, Çolakoğlu S, Odacı E (2015). Deleterious impacts of a 900 MHz electromagnetic field on hippocampal pyramidal neurons of 8 weeks old Sprague Dawley male rats. *Brain Research* 1624: 232 – 238.
7. Odacı E, Özyılmaz C (2015). Exposure to a 900 MHz electromagnetic field for 1 hour a day over 30 days does change the histopathology and biochemistry of the rat testis. *Int J Radiat Biol* 91: 547 – 54.
8. Ragy M. M (2015). Effect of exposure and withdrawal of 900-MHz-electromagnetic waves on brain, kidney and liver oxidative stress and some biochemical parameters in male rats. *Electromagn Biol Med* 34: 279–284.
9. Piacentini R, Ripoli C, Mezzogori D, Azzena GB, Grassi C (2008). Extremely low-frequency electromagnetic fields promote in vitro neurogenesis via upregulation of Ca(v)1-channel activity. *J Cell Physiol* 215: 129 – 39.
10. Gage F H (2000). Mammalian neural stem cells. *Science* 287: 1433 – 1438.
11. Ming G L, Song H (2011). Adult neurogenesis in the mammalian brain: significant answers and significant questions. *Neuron* 70: 687-702.
12. Kuwabara T, Hsieh J, Muotri A, Yeo G, Warashina M, Lie DC, Moore L, Nakashima K, Asashima M, Gage FH (2009). Wnt-mediated activation of NeuroD1 and retro-elements during adult neurogenesis. *Nat Neurosci* 12: 1097–1105.

13. Deisseroth K, Singla S, Toda H, Monje M, Palmer TD, Malenka RC (2004). Excitation-neurogenesis coupling in adult neural stem/progenitor cells. *Neuron* 42: 535–552.
14. Jagasia R, Steib K, Englberger E, Herold S, Faus-Kessler T, Saxe M, Gage FH, Song H, Lie DC (2009). GABA-cAMP response element-binding protein signaling regulates maturation and survival of newly generated neurons in the adult hippocampus. *Journal of Neuroscience* 29: 7966 – 7977.
15. Cuccurazzu B, Leone L, Podda MV, Piacentini R, Riccardi E, Ripoli C, Azzena GB, Grassi C (2010). Exposure to extremely low-frequency (50 Hz) electromagnetic fields enhances adult hippocampal neurogenesis in C57BL/6 mice. *Exp Neurol* 226: 173-82.
16. Grassi C, D'Ascenzo M, Azzena GB (2004). Modulation of Cav1 and Cav2.2 channels induced by nitric oxide via cGMP-dependent protein kinase. *Neurochemistry International* 45: 885–893.
17. D'Ascenzo M, Piacentini R, Casalbore P, Budoni M, Pallini R, Azzena GB, Grassi C (2006). Role of L-type Ca^{2+} channels in neural stem/progenitor cell differentiation. *Eur J Neurosci* 23(4): 935 – 944.
18. Bas O, Odaci E, Mollaoglu H, Uçok K, Kaplan S (2009). Chronic prenatal exposure to the 900 megahertz electromagnetic field induces pyramidal cell loss in the hippocampus of newborn rats. *Toxicology and Industrial Health* 25: 377–384.
19. İkinci A (2015). 900 Megahertz Elektromanyetik Alanın Adolesan Erkek Sıçanların Hipokampus Morfolojisi ve Öğrenme Davranışı Üzerine Etkisi. Yayınlanmamış Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Trabzon.
20. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) Haber Bülteni [online] (2013). Available from: <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=15866/>. (31.04.2017).
21. ITU (2014). <http://www.itu.int/en/ITU-D/Statistic/Documents/facts/ICTFactsFigures2014-e.pdf>’ den alındı. (31.04.2017).
22. Valberg PA, van Deventer TE, Repacholi MH (2007). Workgroup report: base stations and wireless networks radiofrequency (RF) exposures and health consequences. *Environ Health Perspec* 115: 416–424.
23. World Health Organization (2010) WHO research agenda for radiofrequency fields. <http://www.vodafone.com.au/doc/who-rf-2010.pdf>’den alındı. (31. 04. 2017).
24. Caplan LS, Schoenfeld ER, O’Leary ES, Leske MC (2000). Breast cancer and electromagnetic fields a review. *Ann Epidemiol* 10: 31-44.
25. Dubreuil D, Jay T, Edeline JM (2002). Does head-only exposure to GSM-900 electromagnetic fields affect the performance of rats in spatial learning tasks? *Behav Brain Res* 129: 203-10.
26. Kiernan J A (2011). Anatomy of the temporal lobe. *Epilepsy Research and Treatment* 2012: 12 pages.

27. P Broca, (1877) . Sur la circonvolution limbique et la scissure limbique. *Bulletins de la Soci' et'e D'anthropologie de Paris* 12: 646–657.
28. Insausti R, Amaral D G (2004). Hippocampal formation in the human nervous system. G. Paxinos and J. K. Mai, Eds. 2nd edition, Amsterdam 871–914.
29. R. Lorente de No (1934). Studies on the structure of the cerebral cortex. II. Continuation of the study of the ammonic system. *Journal of Psychologie and Neurologie* 46: 113–177.
30. PL. Williams Ed (1995). *Gray's Anatomy. The Anatomical Basis of Medicine and Surgery*. New York, NY, USA.
31. Bruni JE, (2009). *Human Neuroanatomy: A Text, Brain Atlas and Laboratory Dissection Guide*. Oxford University Press. New York, 146 – 152.
32. Duvernoy H (2005). *The Human Hippocampus: Functional Anatomy, Vascularization and Serial Sections with MRI*. Berlin, Springer 3rd edition, 5 – 45
33. Rahilly R.O, Müller F (2008). Significant features in the early prenatal development of the human brain. *Annals of Anatomy* 190: 105–118.
34. Lemire RJ, Loeser JD, Leech RW, Alvord EC (1975). Normal and abnormal development of the human nervous system. *Teratology* 14: 359 – 359
35. Kier EL, Kim JH, Fulbright RK, Bronen RA (1997). Embryology of the human fetal hippocampus: mr imaging, anatomy, and histology. *American Journal of Neuroradiology* 18: 525–532.
36. Bayer S. A (1980). Development of the hippocampal region in the rat neurogenesis examined with ³h-thymidine autoradiography. *Journal of comparative neurology* 190: 87 – 114.
37. Witter MP, Amaral DG (2004). Hippocampal formation. *Psychiatry and Behavioral Sciences* 635-704.
38. Bayer S. A, Altman J, Russo R. J, Zhang X (1993). Timetables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat. *Neuro Toxicology* 14: 83 – 144.
39. Ikonomidou C, Turski L (2010). Antiepileptic drugs and brain development. *Epilepsy Res* 88: 11-22.
40. Richard Feynman (1970). *The Feynman Lectures on Physics*. Vol 2, Chapter 1.
41. Griffiths, David J. (1999). *Introduction to Electrodynamics*. 3. Edition. 438.
42. International Agency for Research on Cancer (2002). *IARC MONOGRAPHS Non-Ionizing Radiation, Part 1: Static and Extremely Low-Frequency (ELF) Electric and Magnetic Fields*, 80: 38 – 40.
43. NIH (2016). National Cancer Institute at the National Institutes of Health, *Electromagnetic Fields and Cancer*. <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk/radiation/electromagnetic-fields-fact-sheet>
44. Carpenter DO (1997). Possible effects of electromagnetic fields on the nervous system and development. *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews* 3: 270–274.

45. Schüz J, Mann S (2000). A discussion of potential exposure metrics for use in epidemiological studies on human exposure to radiowaves from mobile phone base stations. *J Expo Anal Environ Epidemiol* 10: 600 – 605.
46. Foster KR, Moulder JE (2013). Wi-Fi and health: review of current status of research. *Health Phys* 105: 561 – 575.
47. Independent Expert Group on Mobile Phones, 2000. Mobile phones and health. <http://webarchive.nationalarchives.gov.uk/20101011032547/http://www.iegmp.org.uk/report/text.htm>,
48. International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP) Guidelines (1998). Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic, and electromagnetic fields (up to 300 GHz). *Health Physics* 4: 494-522.
49. TÜBİTAK-BİLTEN, 2001 Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK-BİLTEN) (2001). Elektromanyetik dalgalar ve insan sağlığı sıkça sorulan sorular ve yanıtları [online]. Available from: <http://www.biltek.tubitak.gov.tr/sandik/gsm.pdf>.
50. Behari J (2003). Biological correlates of electromagnetic field exposure. *IETE Technical Review* 165-174.
51. Litvak E, Foster KR, Repacholi MH (2002). Health and safety implications of exposure to electromagnetic fields in the frequency range 300 Hz to 10 MHz. *Bioelectromagnetics*. 23: 68-82.
52. Stuchly MA, Mild KH (1987). Environmental and occupational exposure to electromagnetic fields. *IEEE Eng Med Biol Mag* 6:15-7.
53. Adcy WR (1981). Tissue interactions with non-ionizing electromagnetic fields, *Physiol Rev* 61: 435-514.
54. Frey AH (1975). Neural function and behavior defining the relationship. *Ann Nr Acad Sci* 247: 433-438.
55. Hardell L, Näsman A, Pålsson A, Hallquist A, Hansson Mild K (1999). Use of cellular telephones and the risk for brain tumours: a case-control study. *Int J Oncol* 15: 113-116.
56. Hardell L, Carlberg M, Hansson Mild K (2006). Pooled analysis of two casecontrol studies on use of cellular and cordless telephones and the risk for malignant brain tumours diagnosed in 1997-2003. *Int Arch Occup Environ Health* 79: 630-9.
57. Hardell L, Carlberg M, Söderqvist F, Mild KH, Morgan LL (2007). Long-term use of cellular phones and brain tumours: increased risk associated with use for Nor=10 years. *Occup Environ Med* 64: 626-32.
58. Ge X, Shi Y, Li J, Zhang Z, Lin X, Zhan J, Ge H, Xu J, Yu Q, Leng Y, Teng G, Feng L, Meng H, Tang Y, Zang F, Toga AW, Liu S (2015). Development of the human fetal hippocampal formation during early second trimester. *Neuroimage* 119: 33-43.
59. Clelland CD, Choi M, Romberg C, Clemenson GD Jr, Fragniere A, Tyers P, Jessberger S, Saksida LM, Barker RA, Gage FH, Bussey TJ (2009).

- A functional role for adult hippocampal neurogenesis in spatial pattern separation. *Science* 325: 210-213.
60. Odacı E, Bas O, Kaplan S (2008). Effects of prenatal exposure to a 800 MHz electromagnetic field on the dentate gyrus of rats: astereological and histopathological study. *Brain Res* 1238: 224 – 229.
 61. Podda MV (2014). Extremely low-frequency electromagnetic fields enhance the survival of newborn neurons in the mouse hippocampus. *European Journal of Neuroscience* 39: 893–903.
 62. Loreto SD, Falone S, Caracciolo V, Sebastiani P, D' Alessandro A, Mirabilio A, Zimmitti V, Amicarelli F (2008). Fifty hertz extremely low – frequency magnetic field exposure elicits redox and trophic response in rat – cortical neurons. *Journal of Cellular Physiology* 219: 334 – 343.
 63. Ma Q, Deng P, Zhu G, Liu C, Zhang L, Zhou Z, Luo X, Li M, Zhong M, Yu Z, Chen C, Zhang Y (2014). Extremely Low-Frequency Electromagnetic Fields Affect Transcript Levels of Neuronal Differentiation-Related Genes in Embryonic Neural Stem Cells. *PLoS ONE* 9(3): e90041
 64. Sterio DC (1994). The unbiased estimation of number and size of arbitrary particles using the disector. *J Microsc* 134: 127-36.
 65. Gundersen HJG (1985). Quantitative analysis of three-dimensional structures in neuroanatomy. In *Quantitative Neuroanatomy in Transmitter Research*. Ed. Agnati LF, Fuxe K, Basingstoke and London: MacMillan Pres, 3-9.
 66. Braendgaard H, Gundersen HJG (1986). The impact of recent stereological advances on quantitative studies of the nervous system. *J Neurosci Methods* 18: 39-78.
 67. Mayhew TM, Gundersen HJ (1996). If you assume, you can make an ass out of u and me': a decade of the disector for stereological counting of particles in 3D space. *J Anat* 188: 1-15.
 68. Howard CV, Reed MG (1998). *Unbiased Stereology: Three dimensional measurement in microscopy*. BIOS Scientific Publishers, Oxford. First edition, 7 – 28.
 69. Canan S, Şahin B, Ünal B, Aslan H (2002). Parçacıkların toplam sayısının hesaplanması için bir metot: parçalama. *TKlin Tıp Bilimleri* 22: 30-46.
 70. Odacı E, Yıldırım Ş, Bahadır A, Canan S, Şahin B, Baş O, Bilgiç S, Kaplan S (2004). Yeni stereolojik yöntemlerin olası hata kaynakları ve çözüm yolları. *T Klin Tıp Bilimleri* 24: 78-87.
 71. Gundersen HJG, Jensen EBV, Kieu K, Nielsen J (1999). The efficiency of systematic sampling in stereology-reconsidered. *J Microsc* 193: 199 – 211.
 72. West MJ (1993). New stereological methods for counting neurons. *Neurobiol Aging* 14: 275-85.
 73. West MJ (1999): Stereological methods for estimating the total number of neurons and synapses: issues of precision and bias. *Trends Neurosci* 22: 51-61.

74. Gundersen HJG, Jensen EB (1987). The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microsc* 147: 229-63.
75. West MJ (2012). Introduction to stereology. *Cold Spring Harb Protoc.* (8)
76. Gundersen HJ, Bagger P, Bendtsen TF, Evans SM, Korbo L, Marcussen N, Møller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B (1988). The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS* 96: 857-81.
77. Ünal B, Canan S, Aslan H, Şahin B, Çataloluk O, Kaplan S (2002). Doku örneklerindeki obje sayılarının hesaplanmasında tarafsız stereolojik metotlar: fiziksel disektör. *T Klin Tıp Bilimleri* 22: 15-24.
78. Gundersen (1986). Stereology of arbitrary particles: A review of unbiased number and size estimators and the presentation of some new ones in memory of William R Thomson. *J Microsc* 143: 3-45.
79. Pakkenberg B, Gundersen HJG (1988). Total number of neurons and glial cells in human brain nuclei estimated by the disector and the fractionator. *J Microsc* 150: 1-20.
80. MBF Bioscience (2017). Stereology, Increase your accuracy and efficiency with Stereology. <http://www.mbfbioscience.com/>'dan alındı.
81. West MJ, Slomianka L, Gundersen HJ (1991). Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator. *Anat Rec* 231: 482 – 497.
82. Bancroft JD, Cook HC (1994). Manual of histological techniques and their diagnostic application. Churchill Livingstone, Edingburg,
83. Lowe J (1996). Techniques in neuropathology. In: Bancroft JD, Stevens A, editors. Theory and practice of histological techniques. New York, Churchill Livingstone. 341-383.
84. Odacı E, Özyılmaz C (2015). Exposure to a 900 mhz electromagnetic field for 1 hour a day over 30 days does change the histopathology and biochemistry of the rat testis. *Int J Radiat Biol* 91: 547 – 554.
85. İkinci A, Odacı E, Baş O (2013a). Effects of ethyl pyruvate administration on female rats' pyramidal cells of cornu ammonis after brain ischemia: a stereological and histopathological study. *Turk J Med Sci* 43: 354-361.
86. İkinci A, Odacı E, Yıldırım M, Kaya H, Akça M, Hancı H, Aslan A, Sönmez F.O, Baş O (2013b). The effects of prenatal exposure to a 900 megahertz electromagnetic field on hippocampus morphology and learning behavior in rat pups. *Neuroquantology* 4: 582-590.
87. Jafarian M, Rahimi S, Behnam F, Hosseini M, Haghir H, Sadeghzadeh B, Gorji A (2010). The effect of repetitive spreading depression on neuronal damage in juvenile rat brain. *Neuroscience* 169: 388-94.
88. Kaae SS, Chen F, Wegener G, Madsen TM, Nyengaard JR (2012). Quantitative hippocampal structural changes following electroconvulsive seizure treatment in a rat model of depression. *Synapse* 66: 667-76.

89. Schmitz C, Hof PR (2007). Design-based stereology in brain aging research. *frontiers in neuroscience*. Chapter 4.
90. Seress L (1988). Interspecies comparison of the hippocampal formation shows increased emphasis on the regio superior in the Ammon's horn of the human brain. *J Hirnforsch* 29: 335-340.
91. Paxinos G, Watson C (1986). *The Rat Brain in stereotaxic coordinates*. Second edition, Avustralya.
92. Salford, LG, Brun, AE, Eberhardt, JL, Malmgren, L, Persson, BR, (2003). Nerve cell damage in mammalian brain after exposure to microwaves from GSM mobile phones. *Environ. Health. Perspect* 111: 881–883.
93. Frey AH (1998). Headaches from cellular telephones: are they real and what are the implications? *Environ Health Perspect* 106: 101–103.
94. Di Lazzaro, V., Capone, F., Apollonio, F., Borea, P.A., Cadossi, R., Fassina, L., Grassi, C., Liberti, M., Paffi, A., Parazzini, M., Varani, K., Ravazzani, P., 2013. A consensus panel review of central nervous system effects of the exposure to low-intensity extremely low-frequency magnetic fields. *Brain Stimul* 6: 469–476.
95. Gultekin D H, Moeller L, (2013). NMR Imaging of Cell Phone Radiation Absorption in Brain Tissue. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 110: 58-63.
96. RNCNIRP (Resolution of Russian National Committee on Non-Ionizing Radiation Protection). *Electromagnetic Fields From Mobile Phones: Health Effect on Children and Teenagers*. Russia. 123182 Moscow. ZhivopisnayaStr. 46 April 2011
97. İkinci A, Mercantepe T, Unal D, Erol HS, Şahin A, Aslan A, Baş O, Erdem H, Sönmez OF, Kaya H, Odacı E (2016). Morphological and antioxidant impairments in the spinal cord of male offspring rats following exposure to a continuous 900MHz electromagnetic field during early and mid-adolescence. *J Chem Neuroanat* 75: 99-104.
98. Kerimoğlu G, Hancı H, Baş O, Aslan A, Erol HS, Turgut A, Kaya H, Çankaya S, Sönmez OF, Odacı E (2016). Pernicious effects of long-term, continuous 900-MHz electromagnetic field throughout adolescence on hippocampus morphology, biochemistry and pyramidal neuron numbers in 60-day-old Sprague Dawley male rats. *J Chem Neuroanat* 77: 169-175.
99. Odacı E, Hancı H, Yuluğ E, Türedi S, Aliyazıcıoğlu Y, Kaya H, Çolakoğlu S (2016). Effects of prenatal exposure to a 900 MHz electromagnetic field on 60-day-old rat testis and epididymal sperm quality. *Biotech Histochem* 91: 9-19.
100. Türedi S, Hancı H, Colakoglu S, Kaya H, Odacı E (2016). Disruption of the Ovarian Follicle Reservoir of Prepubertal Rats Following Prenatal Exposure to a Continuous 900-MHz Electromagnetic Field. *Int J Radiat Biol* 92: 329-37.
101. Kerimoğlu G, Mercantepe T, Erol HS, Turgut A, Kaya H, Çolakoğlu S, Odacı E (2017). Effects of long-term exposure to 900 megahertz electromagnetic field on heart morphology and biochemistry of male adolescent rats. *Biotech Histochem* 11:1-10.

102. Topal Z, Hancı H, Mercantepe T, Erol HS, Keleş ON, Kaya H, Mungan S, Odacı E (2015). The effects of prenatal long-duration exposure to 900-MHz electromagnetic field on the 21-day-old newborn male rat liver. *Turk J Med Sci* 45: 291-297.
103. Hancı H, Türedi S, Topal Z, Mercantepe T, Bozkurt I, Kaya H, Ersöz Ş, Ünal B, Odacı E (2015). Can prenatal exposure to a 900 MHz electromagnetic field affect the morphology of the spleen and thymus, and alter biomarkers of oxidative damage in 21-day-old male rats? *Biotech Histochem* 90: 535-43.
104. Tang J, Zhang Y, Yang L, Chen Q, Tan L, Zuo S, Feng H, Chen Z, Zhu G (2015). Exposure to 900 MHz electromagnetic fields activates the mdk-1/ERK pathway and causes blood-brain barrier damage and cognitive impairment in rats. *Brain Res* 1601: 92-101.
105. Oster S, Daus AW, Erbes C, Goldhammer M, Bochtler U, Thielemann C (2016). Long-term electromagnetic exposure of developing neuronal networks: A flexible experimental setup. *Bioelectromagnetics* 37: 264-78.
106. Quadros LS, Bangera H, Kotian SR, Bhat KM (2016). Effects of lead in various preparatory stages of nagabhasma on function and histopathology of cornu ammonis of hippocampus. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 10: 1 – 4.
107. Bas O, Odacı E, Mollaoglu H, Uçok K, Kaplan S (2009b). Chronic prenatal exposure to the 900 Megahertz electromagnetic field induces pyramidal cell loss in the hippocampus of newborn rats. *Toxicol Ind Health* 25: 377-84.
108. Baş O, Sönmez F.O, Aslan A, İkinci A, Hancı H, Yıldırım M, Kaya H, Akça M, Odacı E (2013). Pyramidal cell loss in the cornu ammonis of 32-day-old female rats following exposure to a 900 Megahertz electromagnetic field during prenatal days. *Neuroquantology* 4: 591-599.
109. Maskey D, Kim M, Aryal B, Pradhan J, Choi IY, Park KS, Son T, Hong SY, Kim SB, Kim HG, Kim MJ (2010). Effect of 835 MHz radiofrequency radiation exposure on calcium binding proteins in the hippocampus of the mouse brain. *Brain Res* 1313: 232 – 241
110. Jiang W, Gu W, Brannström T, Rosqvist R, Wester P (2001). Cortical neurogenesis in adult rats after transient middle cerebral artery occlusion. *Stroke* 32: 1201-1207.
111. Sminia P, van der Zee J, Wondergem J, Haveman J (1994). Effect of hyperthermia on the central nervous system: a review. *Int J Hyperthermia* 10: 1-30.
112. Kaplan S, Canan S, Aslan H, Unal B, Sahin B (2001). A simple technique to measure the movements of the microscope stage along the x and y axes for stereological methods. *J Microsc* 203: 321-325.
113. Broddeke FR, Van Vliet, LJ, Young LI (1997). Calibration of the automated z-axis of a microscope using focus functions. *J. Microsc* 186: 270-274.

9. ETİK KURUL ONAYI

T.C. KARADENİZ
TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ
YEREL ETİK KURUL
BAŞKANLIĞI



KARADENİZ
TECHNICAL UNIVERSITY
ANIMAL CARE AND ETHICS
COMMITTEE

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURUL ONAY BELGESİ**

Çalışmasının Adı : "Postnatal 21-49. Günler Arası Uygulanan 900 MHz Elektromanyetik Alanın Farlı Gelişim Dönemlerindeki Erkek Sıçanların Hipokampus Morfolojisine Etkisi"
Çalışmacılar : Prof.Dr.Ersan ODACI, Yük.Lis.Öğr.Ali KULABER, Y.Doç.Dr.Haydar KAYA
Anabilim Dalı : Histoloji ve Embriyoloji

Etik Kurul Dosya No 2016/ 5	Etik Kurul Toplantı Tarihi 02/02/2016	Etik Kurul Toplantı No 2016-01	Etik Kurul Karar No 6
--	--	---	--------------------------------------

Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, Tıp Fakültesi Dekanlığı Toplantı Salonu'nda Prof.Dr.Bilal KUTRUP'un başkanlığında toplanıp; "Postnatal 21-49. Günler Arası Uygulanan 900 MHz Elektromanyetik Alanın Farlı Gelişim Dönemlerindeki Erkek Sıçanların Hipokampus Morfolojisine Etkisi" başlığını taşıyan tez çalışmanın, Karadeniz Teknik Üniversitesi'nde yürütülmesinin mümkün olduğuna; çalışmacıların bu çalışmayı yürütülebilecek kalifikasyonda olduklarına; araştırmanın dosyada belirtilen haliyle tıbbi etik açıdan uygun olduğuna; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir. (02.02.2016)

Prof. Dr. Bilal KUTRUP

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkan V.

10. ÖZGEÇMİŞ

T.C. Kimlik/Pasaport No :
Soyadı, Adı : KULABER, Ali
Uyruğu : T.C
Doğum tarihi ve yeri : 04.08.1989 / Ardeşen
Medeni hali : Bekar
Telefon :
Faks : -
E-Posta : alikulaber89@gmail.com
Yazışma adresi : KTÜ Tıp Fakóltesi Histoloji ve Embriyoloji
Anabilim Dalı

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	: KTÜ Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı	-
Lisans	: Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakóltesi Biyoloji Bölümü	2014
Lise	: Pazar 75. Yıl İMKB Anadolu Lisesi	2008

AKADEMİK/ MESLEKİ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl -Yıl)
--------	-------	-----------------

YABANCI DİL İngilizce

UZMANLIK ALANI

YAYINLAR/BİLDİRİLER

ÖDÜLLER/ TEŞVİKLER/ BURSLAR

HOBİLER