



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**PRENATAL DÖNEMDE UYGULANAN
ELEKTROMANYETİK ALANIN YAVRU
SIÇANLARIN TESTİSİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Hatice HANCI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Ersan ODACI

TRABZON – 2013



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**PRENATAL DÖNEMDE UYGULANAN
ELEKTROMANYETİK ALANIN YAVRU
SIÇANLARIN TESTİSİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Hatice HANCI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Ersan ODACI

TRABZON – 2013

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 Hatice HANCI'nın hazırladığı “Prenatal Dönemde Uygulanan Elektromanyetik Alanın Yavru Sıçanların Testisi Üzerine 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

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Ersan ODACI

Prof. Dr. Engin YENİLMEZ

Prof. Dr. Yüksel ALİYAZICIOĞLU

Tarih: .../.../2013

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

Prof. Dr. Ahmet KALKAN
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.

31.12.2012

Hatice HANCI

İTHAF

Yüksek lisans tezimi tüm hayatım boyunca beni destekleyen, daima önümü aydınlatıp yönümü bulmamı sağlayan ve maddi, manevi hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, hayattaki en önemli varlığım aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Akademik hayata adım attığım yüksek lisans öğrenimim boyunca desteğini her daim hissettiğim, bilimselliğin ve çalışmanın ne demek olduğunu öğrendiğim, bilimselliğini ve akılcılığını her zaman örnek aldığım ve alacağım, tezimin hazırlanmasında büyük desteğini ve emeğini gördüğüm çok değerli ve saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Ersan ODACI'ya, yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen değerli hocam K.T.Ü Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Engin YENİLMEZ'e, çalışmanın bir anlamda da dayanışma demek olduğunu öğrendiğim, güler yüzünü ve desteğini benden esirgemeyen çok değerli hocam K.T.Ü Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Esin YULUĞ'a, deney aşamasına katkıda bulunan ve desteğini esirgemeyen değerli hocam K.T.Ü Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Elektrik-Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Haydar KAYA'ya, değerli bilgilerini benimle paylaşan değerli hocam K.T.Ü Tıp Fakültesi Fizyoloji Analim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Sinan CANPOLAT'a, biyokimyasal parametrelerin incelenmesinde yardımlarını esirgemeyen değerli hocam K.T.Ü Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Yüksel ALİYAZICIOĞLU'na ve Arş. Gör. Selim DEMİR'e, Gümüşhane Üniversitesi Kelkit Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Müdürü Yrd. Doç. Dr. İbrahim TURAN'a, çalışmamın her aşamasında yanımda olan, stresli ve yorucu bu süreci dostluklarıyla ve destekleriyle atlatmama yardımcı olan, hayatımın bu ve bundan sonraki döneminde de varlıklarına her daim ihtiyaç duyacağım sevgili dostlarım doktora öğrencileri Sibel TÜREDİ ve Zehra TOPAL'a, çalışmamda desteğini esirgemeyen doktora öğrencisi Ayşe İKİNCİ'ye ve en önemlisi hayatımın her anında bana olan güvenlerini, desteklerini ve inançlarını benden esirgemeyen, ailenin ve sevginin ne demek olduğunu onlarla beraber öğrendiğim, her türlü sıkıntıyı ve mutluluğumu benimle beraber paylaşan çok değerli aileme ve tez çalışmamı 2010.114.001.9 no'lu proje olarak destekleyen KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne sonsuz saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

KABUL ve ONAY

BEYAN

İTHAF

TEŞEKKÜR

İÇİNDEKİLER DİZİNİ	i
TABLolar DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
RESİMLER DİZİNİ	vi
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ.....	vii
1. ÖZET	xi
2. SUMMARY	xii
3. GİRİŞ ve AMAÇ	1
4. GENEL BİLGİLER	3
4.1. İnsan Testis Embriyolojisi	3
4.2. Sıçan Testis Embriyolojisi	5
4.3. İnsan Testis Anatomisi.....	6
4.4. İnsan Testis Histolojisi.....	7
4.4.1. Seminifer Tübüller	8
4.4.2. Seminifer Epitel	9
4.4.2.1. Sertoli Hücresi	9
4.4.2.2. Spermatogenik Hücreler	11
4.4.3. Spermatogenez	12
4.4.4. Seminifer Epitelyum Siklusu	15
4.4.5. İnterstisyel Alan ve Leydig Hücreleri.....	16
4.5. Oksidatif Stres ve Antioksidan Sistem	18
4.5.1. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller	18
4.5.2. Antioksidan Sistem	20
4.5.3. Serbest Radikaller ve Testis Hasarı	21
4.6. Apoptoz.....	22
4.7. Elektromanyetik Alan	24

4.7.1.	Yük ve Alan Kavramı	24
4.7.2.	Elektrik Alan	24
4.7.3.	Manyetik Alan	25
4.7.4.	Elektromanyetik Alan Kavramı	27
4.7.5.	Frekans, Dalga Boyu, Güç yoğunluğu, Anten	28
4.7.5.1.	Frekans	28
4.7.5.2.	Dalga Boyu	28
4.7.5.3.	Güç Yoğunluğu	28
4.7.5.4.	Anten	29
4.7.6.	Elektromanyetik Dalgalar, Spektrum ve Radyasyonun Sınıflandırılması	30
4.7.7.	Bağlantı Mekanizmaları	31
4.7.7.1.	Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alanlar	31
4.7.7.2.	Düşük Frekanslı Manyetik Alanlar	32
4.7.8.	İnsan Vücudu Tarafından Enerjinin Emilimi	32
4.7.9.	Özgül Soğurma Hızı (SAR)	32
4.7.10.	GSM Sistemi	34
4.7.11.	Elektromanyetik Alanın Biyolojik Sistemler Üzerine Etkileri	35
5.	GEREÇ VE YÖNTEM	40
5.1.	Deneysel Çalışma Aşaması	40
5.1.1.	Deney Hayvanları	40
5.1.2.	Laboratuvar Koşulları	40
5.1.3.	Deneysel Çalışma Planı	42
5.1.4.	Deney Düzeneği ve EMA'nın Oluşturulması	43
5.1.5.	Kan ve Doku Numunelerinin Toplanması	50
5.1.6.	Bouin Tespitinin Hazırlanışı	52
5.1.7.	Işık Mikroskobu için Dokuların Hazırlanması	52
5.1.8.	Kesitlerin Alınması	52
5.1.9.	Hematoksilen-Eozin Boyama Yöntemi	53
5.2.	İmmünohistokimyasal İşlemler	54
5.2.1.	TUNEL Boyama	54
5.3.	Biyokimyasal İncelemeler ve Kullanılan Yöntemler	55
5.3.1.	Doku MDA Tayini	55
5.3.2.	Plazma DNA Oksidasyonu (8-OHdG) Tayini	56

5.4.	İstatistiksel Analizler	56
6.	BULGULAR.....	57
6.1.	Testis Ağırlığına Ait Bulgular	57
6.2.	Morfometrik Bulgular	57
6.3.	Morfolojik Bulgular	58
6.4.	Biyokimyasal Parametrelere Ait Bulgular	62
7.	TARTIŞMA	63
8.	SONUÇLAR ve ÖNERİLER	70
9.	KAYNAKLAR	71
10.	ETİK KURUL ONAYI.....	89
11.	ÖZGEÇMİŞ ve KİŞİSEL BİLGİLER	90

TABLOLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1. Çalışma Grupları ve Özellikleri	43
Tablo 2. Fanus Boşken Fanusun Altından Belirlenen Konumlardaki Ölçüm Sonuçları	46
Tablo 3. Fanus Boşken Fanusun Zemininden Belirlenen Konumlardaki Ölçüm Sonuçları	46
Tablo 4. Sıçanlar Fanus İçindeyken Fanusun Altından Belirlenen Konumlardaki Ölçüm Sonuçları	48
Tablo 5. Sıçanlar Fanus İçindeyken Fanusun Zemininden Belirlenen Konumlardaki Ölçüm Sonuçları	48
Tablo 6. Kontrolsüz etkilenme için ICNIRP'nin belirlediği sınır değerler	50
Tablo 7. Türkiye'de kontrolsüz etkilenme için belirlenen sınır değerler	50
Tablo 8. Deney Gruplarının Testis Ağırlığına Ait Ortalama ve Standart Sapmalar	57
Tablo 9. Deney Gruplarına Ait Morfmometrik Ölçümlerin Ortalama ve Standart Sapma Değerleri	57
Tablo 10. Deney Gruplarına Ait AI Değerlendirmesi	60
Tablo 11. Deney Gruplarına Ait Biyokimyasal Parametrelere ait Bulgular	62

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. Elektrik alan vektörleri (Hayt'dan değiştirilerek alınmıştır,112).	25
Şekil 2. Sağ el kuralı (Hayt'dan değiştirilerek alınmıştır,112).	26
Şekil 3. Manyetik alanlar (Hayt'dan değiştirilerek alınmıştır,112).	27
Şekil 4. 1 metrekare (m^2)'lik bir alandan geçen 1 W'luk gücün oluşturduğu 1 W/ m^2 'lik güç yoğunluğu (Stewart'dan değiştirilerek alınmıştır, 115)	29
Şekil 5. Elektromanyetik tayf; iyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon bölgelerinin frekanslara göre dağılımı (123'den değiştirilerek alınmıştır).	31
Şekil 6. Ölçüm Düzeneği ve Ölçüm Noktaları.....	45
Şekil 7. Fanus Boşken (Fanus Altı) Elektrik Alan Şiddetinin x-y Düzlemindeki Dağılımı.....	47
Şekil 8. Fanus Boşken (Fanus İçi, Zemin) Elektrik Alan Şiddetinin x-y Düzlemindeki Dağılımı.....	47
Şekil 9. Sıçanlar Fanusun İçindeyken (Fanus Altı) Elektrik Alan Şiddetinin Zaman Üzerinden Ortalama Değerinin Konumsal Dağılımı	49
Şekil 10. Sıçanlar Fanusun İçindeyken (Fanus İçi, Zemin) Elektrik Alan Şiddetinin Zaman Üzerinden Ortalama Değerinin Konumsal Dağılımı	49

RESİMLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Resim 1. Seminifer Tübülün Genel Histolojik Yapısı	12
Resim 2. Deney Hayvanlarının Barınmasında Kullanılan Tip III Kafesler (A, B).....	41
Resim 3. Elektromanyetik Dalga Düzeneği (Kafes boş)	44
Resim 4. Elektromanyetik Dalga Düzeneği (Kafes dolu)	44
Resim 5. Testislerin Çıkartılması (A, B, C). Testisin Makroskopik Görünümü (D).	51
Resim 6. Kontrol Grubuna (A) Ait Testis Dokusu. Kontrol grubuna ait normal yapıdaki testis dokusunda seminifer tübüller (★) ile aralarındaki interstisyel bağ doku (←) izlenmektedir (H&E, X400).	58
Resim 7. EMA Grubuna (B) Ait Testis Dokusu. Olgunlaşmamış germinal hücrelerin lümene dökülmesi (★) dikkat çekmektedir (H&E, X400).	59
Resim 8. EMA Grubuna (C) Ait Testis Dokusu. Testis dokusunda bozulmuş seminifer tübül yapısı (★), germinal epitelin bazal kompartımandan ayrılması (←) ve intersitisyel alanda ödem (★) dikkati çekmektedir (H&E, X400).	59
Resim 9. Kontrol Grubu (A) Ait Testis Dokusunda Gözlenen TUNEL (+) Hücreler (←) (TUNEL X400).	60
Resim 10. EMA Grubuna (B, C) Ait Testis Dokusunda Gözlenen TUNEL (+) Hücreler (→) (TUNEL X400).	61

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ABP	: Androjen bağlayıcı protein
AI	: Apoptotik İndeks
A/m	: Amper/metre (Manyetik alan şiddet birimi)
AMH	: Antimüllerian hormon
AP	: Apürinidik/apirimidinik bölge
ATP	: Adenozin trifosfat
BEM	: Biyo-elektromanyetik
CAT	: Katalaz
CEPT	: Mesaj ve Telekomünikasyon Avrupa Konferansı
Cu-SOD	: Bakır süperoksit dismutaz
DHEA	: Dehidroepiandrosteron
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
EM	: Elektromanyetik
EMA	: Elektromanyetik alan
eNOS	: Endotelial nitrik oksit sentaz
ETSI	: Avrupa Telekomünikasyon Standartları Enstitüsü
FDMA	: Frequency Division Multiple Access
FSH	: Folikül uyarıcı hormon
GHz	: Gigahertz
GP-x	: Glutasyon peroksidaz
GSH	: Glutasyon
GSH-Rd	: Glutasyon redüktaz
GSM	: Groupe Speciale Mobile
G6PD	: Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz
hCG	: İnsan koryon gonadotropin hormonu
Hz	: Hertz
H&E	: Hematoksilen ve Eozin
ICNIRP	: Uluslararası İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyondan Korunma Komitesi

ICSH	: Erkeklerde intersitisyel hücre uyarıcı hormon
INIRC	: International Non-Ionizing Radiation Committee
IRPA	: International Radiation Protection Agency
ISEL	: In situ end-labeling
kHz	: Kiloherertz
KTÜ	: Karadeniz Teknik Üniversitesi
LH	: Luteinize edici hormon
MDA	: Malondialdehid
MHz	: Megahertz
MIS	: Müllerian inhibitör madde
Mn-SOD	: Manganez süperoksit dismutaz
MSS	: Merkezi sinir sistemi
NAD	: Adenin dinucleotid
NADPH	: Nikotinamid dinükleotid fosfat
PAS	: Periyodik asit shift
PBS	: Phosphate buffer solution
PUFA	: Poliansatüre yağ asitleri
RNA	: Ribonükleik asit
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SAR	: Özgül Soğurma Hızı
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
STRY	: Cinsiyet belirleyici bölge Y
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TDF	: Testis belirleyici faktör
TDMA	: Time Division Multiple Access
TdT	: Terminal deoxynucleotidy transferase
TSH	: Tiroid stimule edici hormon
UHF	: Ultra High Frequency
UV	: Ultraviyole ışın
W/m²	: Watt/metrekare (Güç yoğunluğu birimi)
V/m	: Volt/metre (Elektrik alan şiddet birimi)

Simgeler

c	:	Dalgaların yayılma hızı
Cu⁺²	:	Bakır iyonu
cm	:	Santimetre
D	:	Akı yoğunluğu
E	:	Elektrik alan
ε	:	Elektriksel geçirgenliğine
f	:	Frekans
Fe	:	Demir
gr	:	Gram
H	:	Manyetik alan şiddeti
J	:	Joule
K	:	Kelvin
kg	:	Kilogram
K⁺	:	Potasyum
λ	:	Dalga boyu
m²	:	Metrekare
mT	:	Militesla
mW	:	Miliwatt
μm	:	Mikrometre
μT	:	Mikrotesla
μW	:	Mikrowatt
Na⁺	:	Sodyum
O₃	:	Ozon
ρ	:	Doku yoğunluğu sembolü
σ	:	İletkenlik birimi
T	:	Mutlak sıcaklık
T	:	Tesla
U	:	Foton enerjisi
W	:	Watt
v	:	Dalganın ortalama hızı
&	:	Ve

Formüller

HCl	:	Hidroklorik asit
HOCl	:	Hipoklorik asiti
HRO₂⁻	:	Hidroperoksil
H₂O₂	:	Hidrojen peroksit
H₃PO₄	:	Fosforik asit
NO	:	Nirtik oksit
OH	:	Hidroksil
O₂⁻	:	Süperoksit
RO	:	Alkoksil
RO₂	:	Peroksil
ROO	:	Peroksil
8-OhdG	:	8-Hydroxy-desoxyguanosine

1. ÖZET

Prenatal Dönemde Uygulanan Elektromanyetik Alanın Yavru Sıçanların Testisi Üzerine Etkisi

Bu çalışmada prenatal dönemde uygulanan elektromanyetik alanın (EMA) yavru sıçanların testisi üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı.

Çalışmada 6 adet Spraque Dawley tipi gebe dişi sıçan 2 gruba ayrıldı. 1. Gruba (kontrol grubu) herhangi bir uygulama yapılmadı. 2. Gruba (EMA grubu) deney süresi boyunca, gebeliğin 13-21. günlerinde, her gün aynı saatlerde olmak üzere, 1 saat süreyle 900 megahertz (MHz) EMA etkisi uygulandı. Yeni doğan sıçanlara doğumdan sonra herhangi bir uygulama yapılmadı ve çalışmaya yavru erkek sıçanlar ile devam edildi. Daha sonra yavru erkek sıçanlar 1-E ve 2-E grubu olmak üzere 2 gruba ayrıldı. 1-E Grup (n: 10), saf kontrol grubu anne sıçanlardan elde edilen yeni doğan erkek sıçanlardan; 2-E Grup (n: 10), EMA grubu anne sıçanlardan elde edilen yeni doğan erkek sıçanlardan oluşturuldu. Deney süresinin bitiminde (postnatal 21. gün) hayvanların tümü sakrifiye edilerek testisleri alındı. Testis doku örnekleri ışık mikroskopunda histopatolojik olarak değerlendirildi. Testisteki apoptozisi değerlendirmek için TUNEL (Terminal deoxynucleotidy transferase (TdT) deoxyuridine triphosphate nick end labeling assay) tekniği kullanıldı. Biyokimyasal olarak kanda ve dokuda oksidatif stres parametreleri ve DNA (Deoksiribonükleik asit) oksidasyonu incelendi.

2-E grubunun testis dokusunun histopatolojik olarak değerlendirmesinde seminifer tübül lümeninde germinal epitel hücreleri, seminifer tübül bazal membranında ve germinal epitelinde düzensizlikler izlendi. Aynı grubun morfometrik ölçümlerinde seminifer tübül çapında ve seminifer epitel kalınlığında, 1-E grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma meydana geldiği gözlemlendi. TUNEL tekniği ile değerlendirilen AI (AI= Apoptotik İndeks)'in 2-E grubunda 1-E grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde arttığı görüldü. Biyokimyasal değerlendirmelerde de 2-E Grubu'nun lipid peroksidasyonu ve DNA oksidasyonunun istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı gözlemlendi.

Çalışma sonuçları prenatal dönemde uygulanan 900 MHz EMA'nın yavru sıçanların testis gelişimini olumsuz olarak etkilediğini ve doğumdan sonra da bu etkinin 21. güne kadar testis morfolojisinde düzensizlikler şeklinde devam ettiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Elektromanyetik alan, Oksidatif stres, Apoptozis, Sıçan, Testis.

2. SUMMARY

The Effect of Prenatal Exposure to Electromagnetic Field on The Newborn Rat Testicle

The aim of this study was to investigate the effect of exposure to electromagnetic field (EMF) at prenatal term on the newborn rat testicle.

Six pregnant-female Sprague Dawley rats were divided into 2 groups. No procedure was performed in Group 1 (control group). Group 2 (EMF Group) was exposed to a 900-megahertz (MHz) EMF for 1 h during days 13-21 of pregnancy throughout the experimental period at the same hour every day. No procedure was performed on newborn rats after birth, and the study continued with newborn male rats. These were divided into 2 groups. Group 1-E (n: 10) consisted of newborn male rats which from mothers in the control group and Group 2-E (n: 10) consisted of newborn male rats from mothers from the EMF group. All animals were sacrificed and their testicles extracted at the end of the experimental period (postnatal day 21). Testicular tissue samples were evaluated histopathologically under light microscope. The TUNEL technique was used to determine apoptosis in testicles. Oxidative stress marker levels and DNA oxidation were evaluated biochemically in blood and tissues.

Histopathologically, testicular tissue in Group 2-E showed seminiferous tubule irregularities in the basal membrane, germinal epithelial cells in the lumen, irregularities in the germinal epithelium of seminiferous tubules and a decreased diameter of seminiferous tubules and thickness of germinal epithelium. Apoptotic index assessed using the TUNEL method was statistically significantly higher in Group 2-E than in Group 1-E. Biochemically, we observed increased lipid peroxidation and DNA oxidation.

Our data indicate that the newborn rat testicle exposed to 900 MHz EMF at prenatal term may be adversely affected and that this effect persists after birth in the form of irregularities in testicular morphology up to the 21st day.

Key Words: Electromagnetic field, Oxidative stress, Apoptosis, Rat, Testicle.

3. GİRİŞ ve AMAÇ

21. yüzyılın ilk çeyreğini yaşadığımız şu günlerde, teknolojinin ileri derecede gelişmesi ve buna bağlı olarak elektromanyetik alan (EMA) etkisine sahip olan radyo, televizyon, bilgisayar, cep telefonu gibi cihazların gündelik hayatımızda yoğun olarak kullanılmaları nedeniyle, insanlar sürekli olarak EMA etkisine maruz kalmaktadırlar. Günümüzde bir çok gelişmiş ve gelişmekte olan ülkede nüfusun % 80'den fazlasının cep telefonu kullanması cep telefonu kullanımı ile ortaya çıkan EMA etkisi hakkındaki endişeleri arttırmıştır (1). Yapılan çalışmalar EMA etkisine maruz kalmanın, insan ve hayvan dokuları ve onların fizyolojisi üzerinde olumsuz etkileri olduğunu göstermektedir. Uzun süreli cep telefonunun yaydığı EMA etkisine maruz kalmanın da insan sağlığı açısından riskli olabileceği iddia edilmektedir (2). Bu nedenle cep telefonlarının yaydığı EMA etkisine maruz kalmanın ortaya çıkarabileceği biyolojik etkiler, bilim insanları arasında oldukça ilgi uyandırmıştır.

EMA biyolojik sistemleri etkiler ve bu etkilerini serbest radikallerin ömrünü uzatarak gerçekleştirir (3, 4). Serbest radikaller oksidatif DNA hasarına, protein fonksiyonunun ve lipid peroksidasyonunun bozulmasına sebep olur. Malondialdehid (MDA) doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan önemli zincir reaksiyonlarının bir bozulma ürünüdür ve böylece oksidatif strese neden olur. Antioksidanlar ise süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GP-x) ve katalaz (CAT) da dahil olmak üzere serbest radikallerin yıkımına karşı hücreleri korumaya yardımcı savunma ve tamir sistemleridir. Çalışmalar EMA etkisine maruz kalmanın sıçan dokularında antioksidan enzim aktivitelerini azalttığını göstermektedir. Bu durumda hücresel hasarın oksidatif stres tarafından indüklenmesi apoptozise neden olabilir. Ayrıca serbest oksijen radikalleri apoptotik veya nekrotik hücre ölümünün başlamasında görev alabilir (5).

Yapılan çalışmaların çoğu, EMA'nın farklı frekans aralıklarının hücre çoğalması, morfolojisi, apoptozisi, membran yapı ve fonksiyonu ve DNA kırılması ile ilgili biyolojik yanıtlara neden olabileceğini ortaya koymaktadır (6, 7). Bununla birlikte EMA'nın neden olduğu DNA hasarının kanser gelişimini tetikleyebileceği, lösemi, meme kanseri ve beyin tümörü riskini artırabileceği, testis üzerinde meydana getirdiği

hormonal değişiklikler nedeniyle infertiliteye, ftal kayıplara ve malformasyonlara neden olabileceği de iddia edilmektedir (8, 9). Konuyla ilgili çalışmalar incelendiğinde cep telefonlarının beyne yakın kullanılması nedeniyle beyin ve beyinle ilişkili yapılar üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmaların, diğer dokulara göre daha fazla olduğu dikkati çekmektedir. Bu çalışmalarda 900 megahertz (MHz) EMA'ya maruz kalan hayvanların beyin, korteks, beyincik, hippocampus ve bazal ganglionlarında hasar olduğu ve nöron sayısının azaldığı, girus dentatus da granüler hücrelerin sayısında azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (8, 9, 10).

Gebelik döneminde cep telefonu kullanımının gelişen embriyo/fetüs üzerindeki yaygın etkilerinin de araştırcıların oldukça ilgisini çektiği görülmektedir. Ancak EMA'ların embriyo ve fetüs üzerinde nasıl bir etkisi olduğu veya olabileceği halen tartışma konusudur. Yapılan çalışmaların önemli bir kısmında EMA etkisinin embriyo ve fetüs gelişimini etkileyebileceği, bunun da hayati organların normal gelişim sürecini bozabileceği iddia edilmektedir (11). Yapılan bir çalışmada prenatal dönemde uygulanan 900 MHz EMA etkisine maruziyeti takiben sıçanların cornu ammonis'inde piramidal hücre sayısında bir azalma olduğu gösterilmiştir (2). Yine bazı çalışmalar da fertilizasyondan implantasyon periyodunun sonuna kadar EMA etkisine maruz bırakılan dişi sıçanlarda folliküler kapasitenin azalabileceği, bununda dişilerin üreme potansiyelini olumsuz etkileyebileceği iddia edilmektedir (11).

Tüm bu alışmalar EMA etkisine maruz kalan gebe sıçanların erkek yavrularının testis gelişimini etkileyebileceğini de düşündürmektedir. Bunun nedeni sıçanların gebeliğinin yaklaşık ikinci haftasında başlayan testis gelişimidir (12, 13, 14, 15). alışmalar gebelik döneminde ve sonrasında düşük dalga frekanslı [50 (Hertz) Hz] EMA etkisine maruz kalan farelerde EMA etkisinin germ hücre ölümünü artırdığını ve spermatogenetik hücrelerde apoptozisi indükleyerek yüksek bir apoptotik oran meydana getirdiğini göstermektedir (16).

Konuyla ilgili kaynaklar incelendiğinde prenatal dönemde uygulanan 900 MHz EMA'nın yavru sıçanların testisi üzerine etkisinin incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda histopatolojik, morfometrik ve biyokimyasal yöntemler kullanılarak prenatal dönemde uygulanan 900 MHz'lik EMA'nın 21. günlük yavru sıçanların testisi üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

Erkek üreme sistemi iki testis, spermin depolanmasını ve vücut dışına taşınmasını sağlayan bir kanal sistemi, bu kanala açılan eklenti bezleri ve penisten meydana gelir (17, 18). Erkek üreme organları yerleşim yerlerine göre iç üreme organları ve dış üreme organları olmak üzere iki gruba ayrılır. Testis, epididimis, duktus deferens, duktus ejaculatorius ve genital eklenti bezleri (vezikula seminalis, prostat, bulboüretral bez) iç üreme organlarını meydana getirirken; penis ve skrotum ise, dış üreme organlarını meydana getirir (19).

4.1. İnsan Testis Embriyolojisi

Bir embriyonun genetik ve kromozomal cinsiyeti, fertilizasyon sırasında üreme hücreleri tarafından oluşturulan seks kromozomlarının kombinasyonları (XX, XY) ile belirleniyorsa da, erkek ve dişi morfolojik özellikleri embriyonik gelişimin 7. haftasına kadar ayırt edilemez ve birbirlerine benzerlik gösterir. Bu nedenle bu periyoda seksüel gelişimin farklılaşmamış evresi, bu evredeki gonadlara da farklılaşmamış gonad adı verilmektedir (20, 21).

Gonadlar (overler ve testisler) posterior abdominal duvarın mezotel köşesi (mezodermal epitel), altındaki mezenşim (embriyonik bağ dokusu) ve primordiyal germ hücrelerinden köken alırlar. Gonadal gelişimin ilk safhaları 5. haftada ortaya çıkar, mezonefrozun medialinde, mezotelde bir kalınlaşma meydana gelir. Bu epitelin ve altındaki mezenşimin proliferasyonu ile mezonefrozun medialinde gonadal kabarıklık oluşur. Parmak şeklindeki epitelial kordonlar (primer seks kordonları) altındaki mezenşim içerisine doğru kısa sürede büyürler. Farklanmamış gonad yapısı dışta yer alan korteks ve iç kısımda bulunan medulladan oluşmaktadır. Embriyo XX seks kromozom kompleksine sahip ise farklanmamış gonadın korteksi overe dönüşür, medullası ise geriler. Eğer embriyo XY seks kromozom kompleksini içermekteyse medulla testise dönüşür, korteks bir takım kalıntıları haricinde geriler, dejenere olur (20).

Primordiyal germ hücreleri, yuvarlak, oldukça büyük ilkel üreme hücreleridir ve epiblasttan köken alırlar. Primitif çizgi boyunca göç eden primordiyal germ hücreleri 4. haftada yolk kesesinin allontoise yakın duvarındaki endoderm hücrelerinin arasına yerleşir. Embriyonun katlanması sırasında, yolk kesesinin dorsal kısmı embriyonun içinde kalır. Bu olurken, primordiyal germ hücreleri arka barsağın dorsal mezenteri boyunca gonadal kabartılara göç ederler. 6. haftada primordiyal germ hücreleri alttaki mezenşime girer ve primer cinsiyet kordonlarına dâhil olur ve böylece farklılaşmamış evre sona erer (20).

Seks kromozom kompleksinde bir Y kromozomu taşıyan embriyolarda, genellikle testisler gelişmektedir. Testislerin gelişimi, koordineli bir seri genin indüksiyonu ile sağlanır. Y kromozomunun kısa kolu üzerindeki testis belirleyici faktörler için cinsiyet belirleyici bölge (SRY) geni, farklılaşmamış gonadın testis olarak gelişiminde anahtar fonksiyon görür (22, 23, 24).

Testis belirleyici faktör (TDF), primer seks kordonlarını uyararak, onların farklılaşmamış gonadın medullasının derinlerine doğru uzamasına neden olur, kordonlar burada dallanarak birbirleriyle anastomoz yaparlar ve böylece ağısı görümlü rete testis oluşur. Seks kordonlarının (testiküler kordonların) kalın bir fibröz kapsülü olan tunika albuginea geliştikten sonra, yüzey epiteli ile olan bağlantıları kaybolur. 12. haftada yoğun tunika albugineanın gelişimi, fötusta testiküler gelişim için oldukça karakteristiktir. Genişleyen testis aşamalı olarak dejenere olan mezonefroza ayrılır ve kendi mezenteri olan mesorşium ile asılı hale geçer. Seminifer kordonlar seminifer tübüllere, tubuli rekti ve rete testise farklılaşırlar (20).

Seminifer tübüller, intersitisyel hücreleri (Leydig hücreleri) oluşturan mezenkimden ayrılırlar. 8. haftadan başlayarak Leydig hücreleri, androjen hormonlarını (testosteron ve androstenediyon) salgılamaya başlar. Salgılanan bu hormonlar dış üreme organlarının erkek yönünde farklılaşmasını uyarır. İnsan koryon gonadotropin hormonu (hCG) testosteron üretimini uyarır ve hormonunun miktarı 8-12 haftalık dönemde en yüksek değerine ulaşır. Testosterona ek olarak fetal testisler glikoprotein yapısında bir hormon olan antimüllerian hormon (AMH) veya müllerian inhibitör madde (MIS) adı verilen bir hormonu da salgılamaktadır. Antimüllerian hormon destek hücreleri (Sertoli hücreleri) tarafından üretilir. Hormon üretimi puberteye kadar devam eder ve daha sonra seviyesi azalır. Seminifer tübüllerin, ergenliğe kadar olan dönem boyunca

lümenleri bulunmaz. Ergenlikten başlayarak lümen gelişir ve seminifer tübülleri oluştururlar (20, 22).

Seminifer tübül duvarında destek hücreleri olan Sertoli hücreleri ve primordial sperm hücreleri olan spermatogonia olmak üzere 2 tip hücre bulunur. Sertoli hücreleri testisin yüzey epitelinden gelişirken, spermatogonia ise primordial germ hücrelerinden farklanır. Fötal testiste Sertoli hücreleri seminifer tübüllerde çoğunluğu oluştururken daha sonraki gelişim sırasında, testisin yüzey epiteli düzleşir ve yetişkin testisin dış yüzeyindeki mezoteli oluşturur. Rete testis, efferent duktülleri (duktuli efferentes) oluşturan 15-20 adet mezonefrik tübül ile devam eder ve bu yapılar duktus epididimisi oluşturan mezonefrik duktus ile bağlanır (20, 21).

4.2. Sıçan Testis Embriyolojisi

İnsan ve sıçanlarda embriyonik süreç belirgin şekilde benzerlikler içindedir. Ancak her ne kadar benzerlik içerseler de özellikle gelişim günleri açısından çeşitli farklılıkları vardır. Sıçan testisi de diğer organlara benzer şekilde f tal ve neonatal gelişim sırasında bir dizi değişikliğe uğrar (15). Erken f tal dönemde gonadal taslakların morfolojik ayrıntılarından net bir seksüel ayırım yapmak mümkün değildir. Gonadal taslak mezonefrik sırtın medialinde yer almaktadır ve erken farklanmamış taslaklardan bir testisin farklılaşması seks kordlarının oluşumu ile başlar. Sıçanlarda, seminifer kordlar fertilizasyondan 13 gün sonra oluşur (12). Embriyonik 16. günde, gonadal taslağın kısalma ve kalınlaşması ile testis morfolojisi belirgin bir şekilde gelişir ve artık gubernakulum erkek embriyolarda açıkça belirgindir. Testiküler inişin ilk aşamasında testis kranio-lateral ve dorsalden kaudo-medial ve ventrale doğru hareket eder. Sıçanlarda bu aşama embriyonik 16. ve 21. günler arasında gerçekleşir. Testiküler inişin ikinci aşaması ise embriyonik 22. ve postnatal 2. günler arasında gerçekleşir (25).

Sıçanlarda, primordial germ hücreleri embriyonik 17.5. güne kadar çoğalırlar ve postnatal 2-3. güne kadar sessiz kalırlar (15). Spermatogonial farklılaşma postnatal 12. gün sonlarında meydana gelir. İlk sperm üretimi ise yaklaşık 45. günde başlar ancak optimum üretim 75. günde gerçekleşir. Sertoli hücre öncülleri gebeliğin 17. gününden 19. gününe kadar çoğalmaya başlar ve bölünmeleri doğum sonrası 15-20. günde sona erer. Sıçanlarda, Leydig hücrelerinin f tal Leydig hücreleri ve yetişkin Leydig hücreleri

olmak üzere iki tipi tanımlanmıştır. Fötal Leydig hücreleri prenatal dönemde gelişir ve gestasyonel 15.5. günde testosteron üretebilirler (13, 14). Tepe steroidojenik aktiviteye ise doğumdan hemen önce gestasyonel 19. günde ulaşılır. Gebelikte fetal Leydig hücreleri tarafından salgılanan testosteron erkek ürogenital sisteminin farklılaşması için gereklidir. Sıçanlarda Leydig hücre peroliferasyonu ve farklılaşması ise prepubertal periyotta, postnatal 22-35. günler arasında meydana gelir (26).

4.3. İnsan Testis Anatomisi

Testisler erkekte temel üreme organıdır. Testis torbası (skrotum) olarak adlandırılan deri bir kese içinde, sağ ve solda yerleşik bir çift halde asılı durumda bulunurlar. Her bir testis oval biçimde olup yanlardan basıktır ve yaklaşık olarak aynı büyüklükte dirler. Testislerin büyüklükleri kişisel olarak değişiklik göstermekle beraber, ortalama 4-5 cm uzunluğunda, 2-3 cm genişliğinde, 2-3 santimetre (cm) kalınlığında ve 10-14 gram (gr) ağırlığındadır (17, 19, 27).

Erken fötal dönemde karın boşluğunda böbreklere yakın olarak bulunan testisler, fetüs geliştikçe aşağıya doğru hareket ederek, doğumdan hemen önce kanalis inguinalis vasıtasıyla skrotuma inerler (17, 27). Testislerin fonksiyonlarını yapabilmeleri için karın boşluğundan skrotuma inmeleri zorunludur. Testisler bu inişleri sırasında karın ön duvarı tabakalarını da sürüklerler. Bu nedenle skrotum (deri ve tunika dartos), fascia spermatika eksterna, fascia kremasterika, fascia spermatika interna ve tunika vaginalis testis tabakaları ile kaplıdır (27).

Testisin fascia medialis (iç yan yüz) ve fascia lateralis (dış yan yüz) olmak üzere iki yüzü, margo anterior (ön kenar) ve margo posterior (arka kenar) olmak üzere iki kenarı, ekstremitas superior (üst uç) ve ekstremitas inferior (alt uç) olmak üzere de iki ucu vardır. Testisler skrotum içinde ise funikulus spermatikus aracılığı ile asılı durumda bulunurlar. Testislerin üst ucunda appendiks testis adı verilen küçük yassı bir yapı görülür. Paramezonefrik kanalın üst ucunun kalıntısı olan bu yapı, kadınlarda tuba uterinanın abdominal ucuna karşılık gelmektedir. Testislerin arka kenarının dış kısmı boyunca epididimis yer alır ve funikulus spermatikus da margo posteriora tutunur. Testislerin ön kenarı, her iki yüzü ve uçları visseral periton (epiorşium) ile örtülüdür. Periton, arka kenarın sadece lateral kısmını örter (28).

Tunika vajinalis; tunika albuginea ve tunika vaskulosa ile sarılmıştır. Bu üç tabakaya testis kapsülü denir. Testis kapsülü sempatik ve parasempatik uyarılara yanıt vererek spontan kasılmalar yapar (27, 28). Tunika albuginea testisleri örten kalın, elastikiyeti ve genişleme özelliği olmayan fibröz bir tabakadır. Bu tabaka, testisin arka kenarından içeri girerek vertikal bir bölme oluşturur. Bu bölme mediastinum testis olarak adlandırılır. Mediastinum testis'in ön ve yan kısmından çıkan uzantılara septula testis adı verilir ve bu uzantılar testis parankiminden geçerek tunika albuginea'nın iç yüzüne ulaşarak testisi koni biçiminde lobuluslere böler (lobuli testis). Testis parankimini, lobuli testis içinde bulunan ve kıvrımlı şeklinden dolayı tubuli seminiferi kontorti adı verilen kanalcıklar oluşturur. Her bir testis kanalcığı mediastinum testis yakınında tubulu rekti adı verilen düz bir kanalcıkla uzanır. Bütün lobuluslardan gelen bu kanalcıklar mediastinuma sokulur ve burada rete testis denilen ağı oluşturur. Lobuli testislerde yapılan spermiumlar, duktuli efferentes adı verilen kanallar aracılığıyla rete testisten epididimise gelir. Tunika vaskulosa ise testisin damar ağından oluşan ve tunika albugineanın iç yüzünü örten tabakasıdır (28, 29).

Testisler abdominal aortadan çıkan arteria testikularisler ile kanlanır. Her bir testisin arka tarafından çıkan küçük venler birleşerek plexus pampiniformis adı verilen venöz ağı oluştururlar. Testislerin venöz kanı sağda vena cava inferiora, solda vena renalis'e dökülür. Testisler otonom sinirler ile innerve edilir ve bu sinirler 9-12 torakal spinal segmentten çıkarlar. Bu lifler plexus aortikus ve plexus renalis'ten ayrılarak a. testikularis çevresinde plexus testikularis'i oluştururlar (27, 28).

4.4. İnsan Testis Histolojisi

Erkek üreme sisteminin temel parçası olarak testis, androjenlerin sentezi ile karakterize bir endokrin ve spermatogenez vasıtasıyla bir ekzokrin fonsiyon olmak üzere iki yönlü göreve sahiptir (30, 31). Testisler skrotum içerisinde yer alır ve tunika vajinalis, tunika albuginea ve tunika vaskulosa olmak üzere üç tabakadan oluşan testiküler kapsül ile çevrilidir. Testiküler kapsülün dış tabakası olan tunika vajinalis dışta pariyetal, içte ise viseral bir tabakadan oluşur ve testisin ön ve yan kısımlarında kapsülün orta tabakası olan tunika albugineayı örter. Tunika albuginea fibroelastik bağ dokusundan oluşmuş kalın bir tabakadır. Kapsülün en iç kısmında ise tunika vaskulosa

yer alır ve bu tabaka kan ve lenf damarlarınca zengin ve sinir lifleri içeren gevşek bağ dokusundan oluşur. Tunika albuginea testisin arka yüzünde kalınlaşarak mediastinum testis adı verilen yapıyı oluşturur ve buradan bezin içerisine giren fibröz uzantılar, başka bir ifadeyle septumlar, bezi testiküler lopçuklar denilen yaklaşık 250 adet piramidal bölmeye ayırır. Her bir lopçuk gevşek bağ dokusu ile sarılı 1-4 seminifer tübül içerir. Her seminifer tübül 150-250 mikrometre (μm) çapında, 30-70 cm uzunluğunda ve son derece kıvrıntılıdır. Seminifer tübüleri saran bağ dokusu bol miktarda kan ve lenf damarı, sinirler ve Leydig hücreleri denilen interstisyel hücreleri içerir. Seminifer tübüller testisin ekzokrin kısmını oluşturur ve erkek üreme hücreleri olan spermatozoonları üretirken, interstisyel hücreler de testis androjenlerini salgılar. Her lobülün uç kısmındaki seminifer tübüller daralarak tubuli rekti olarak bilinen kısa segmentler şeklinde uzanır ve bunlar sırayla rete testisle birleşir. Anastomoz yapan rete testis kanalları duktuli efferentes ile epididimin baş kısmına bağlanır (32, 33, 34, 35).

4.4.1. Seminifer Tübüller

Seminifer tübüller fibröz bir bağ dokusu kılıfı (tunica propria), belirgin bir bazal membran ve karmaşık bir germinal ya da seminifer epitel tabakasından meydana gelir. Bazal membran seminifer epitel ile direkt ilişkilidir ve Sertoli hücreleri tarafından sentezlenen laminin, kollajen tip I, kollajen tip IV içerir. Seminifer tübülü saran fibröz tunika propria birkaç fibroblast katmandan oluşmuştur. Bazal membrana yapışık halde olan en içteki katman, düz kas özellikleri de gösteren yassılaştırmış myoid hücreler içerir (35, 36). Fakat peritübüler myoid hücrelerin dokudaki organizasyonları hatırı sayılır derecede türler arası varyasyon gösterir. Fare, hamster ve sıçan gibi laboratuvar kemirgenlerinde; testiste myoid hücre sadece tek katman olarak görünür. Öte yandan insanlarda ve bazı diğer hayvanlarda seminifer tübülün bazal tabakasinda pek çok hücresel tabaka mevcuttur. Myoid hücreler bol miktarda, türe özgü bir şekilde hücrelere dağıtılan aktin filamentleri içerir ve ayrıca miyozin, desmin, vimentin gibi hücre iskeleti proteinleri içermektedir (32, 37). Myoid hücreler hareketsiz spermleri rete testise iletiren ritmik kasılma aktivitelerinden sorumludur. Ayrıca seminifer tübüller arasındaki boşluk kan damarları, lenfatik kanallar ya da sinüzoidler, makrofajlar ve androjen üreten Leydig hücreleri tarafından doldurulmuştur (38).

4.4.2. Seminifer Epitel

Seminifer epitel, Sertoli ya da destek hücreleri ve spermatogenetik hücreler olmak üzere iki tip hücreden meydana gelmektedir (32).

4.4.2.1. Sertoli Hücresi

Sertoli hücreleri sınırları güçlükle ayırt edilebilen, uzun, prizmatik ve düzensiz şekilli hücreler olup bazal membrandan seminifer tübül epiteline kadar uzanır. Bu hücreler germ hücrelerinin desteklenmesinde ve olgunlaşmasında çok önemli rol oynar ve bu nedenle ‘hemşire hücre’ler olarak da bilinirler (34, 39). Puberteye kadar dominant hücre tipi olup puberteden sonra seminifer tübülleri döşeyen hücrelerin yaklaşık %10’unu oluşturur. İleri yaştaki erkeklerde germinal epitel hücrelerinin sayısı azaldığı zaman sertoli hücreleri tekrar seminifer epitelin ana bileşeni olmaya başlar (40). Sertoli hücre öncüllerinin proliferasyonu sıçanlarda fetal yaşamın 17. gününde başlar ve bölünmeler postnatal 15-20. günde sona erer. Sertoli hücre sayısı artık en üst seviyelerdedir ve doğumdan sonra da epitelin bazalinde gözlenmeye başlar (15, 41). Sertoli hücreleri puberteden sonra postmitotiktir. Erişkin testisinde mitotik hücre bölünmesi gözlenmez. Yetişkin sıçanlarda sertoli hücre sayısı her bir testis için yaklaşık 20-46 milyon arasındayken bu sayı insanlarda 41 milyon kadardır (42).

Sertoli hücreleri duyarlı germinal epitele zarar veren herhangi bir faktör tarafından etkilenmez. Örneğin, normal vücut sıcaklığına maruz kaldıklarında dejenere olmazlar ve bu nedenle inmemiş testis vakalarında hayatta kalabilirler (40). Kötü beslenme, alkolizm, belirli ilaçların toksik etkisi ve X ışınlarına maruz kalma gibi durumlarda germinal hücreler ve dolayısıyla spermatogenez etkilenirken seminifer tübüllerde yalnızca Sertoli hücreleri bulunur (35).

Sertoli hücreleri geniş ve düzensiz çekirdekli oval yapıda, epitelin bazaline yerleşik durumdadır ve seminifer tübül epiteline kadar uzanır. Tepe kısımlarında yeni oluşan spermatozoonlar lümene bırakılıncaya kadar spermatidlerin yerleştiği kriptaya benzer bir veya daha fazla girinti olabilir. Yaklaşık 9 ila 12 µm ortalama boyutludur. Sınırları düzgün olmayan ökromatik yapıda bir çekirdeğe ve belirgin bir çekirdekçiğe

sahiptir. Çekirdekçikle beraber çekirdek zarı altında kümelenmiş iki belirgin kromatin yoğunlaşması çoğu memelide özgün olan üçlü görünümü oluşturur. Sitoplazması eozinofilik yapıdadır. Sitoplazmada mikrotübüller ve ara filamanlardan oluşan gelişmiş bir hücre iskeletinin yanı sıra, düz ve granüllü endoplazmik retikulum, bol miktarda mitokondri, lizozomlar, lipid inklüzyonları, heterofajik vakuoller ve yaygın bir golgi aygıtı içerir. Işık mikroskopunda incelendiği zaman kromatinden yoksun olduğu için soluk renkte görünürler. Ayrıca bazı Sertoli hücrelerinde onlara özgü Charcot-Böttcher kristaloidleri bulunur. Bunlar ince, 10-25 µm uzunluğunda fuziform yapıdadır (34, 43).

Sertoli hücrelerinin bazolateral kısımları birbiriyle zonula okludens türü sıkı bağlantılar kurarlar ve bu şekilde kan testis bariyerini oluştururlar. Böylece bazolateral okludens bağlantıları seminifer epiteli bazal (ekstratubuler) ve adlüminal (intratubuler) kompartımana böler. Bazal membranla zonula okludensler arasındaki alana bazal kompartıman, zonula okludenslerden itibaren tübül lümeni tarafındaki alana ise adlüminal kompartıman denir. Spermatogoniyumlar ve preleptoten spermatositler bazal bölümde yer alırken primer spermatositler, sekonder spermatositler ve spermatidler adlüminal bölümde yer alırlar. B tipi spermatogoniyumların mitotik bölünmeleriyle oluşan genç spermatositler bazal kompartımanda bulunur. Gelişme halinde olan bu hücreler zonula okludens adı verilen sıkı bağlantı noktalarını geçerek adlüminal kompartımana ulaşırlar (34, 40, 43 , 44). Ayrıca Sertoli hücreleri gap junction adı verilen bağlantı kompleksleri ile de birleşiktirler ve böylece hücrelerin birbirleri arasında iyon ve kimyasal alışveriş de sağlanır.

Sertoli hücreleri birçok önemli fonksiyona sahiptir Bu fonksiyonları şu şekilde özetleyebiliriz (35, 45, 46, 47):

- 1) Gelişmekte olan spermatojenik hücreleri desteklemek, korumak ve beslemek. Her Sertoli hücresi gelişmekte olan 30-50 germ hücresini destekler.
- 2) Spermiyogenezin sonunda spermatidler tarafından atılan artık (residual) cisimcikler olarak ifade edilen fazla hücre kısımlarını fagosite etmek.
- 3) Olgun spermatidlerin spermiasyon sürecinde aktin aracılı kasılmalarla seminifer tübül lümenine salınımını kolaylaştırmak.
- 4) Seminiferöz tübül lümenine proteinler ve iyonlardan zengin bir sıvı salgılamak.

5) Folikül uyarıcı hormon (FSH) ve testosteron kontrolü ile androjen bağlayıcı protein (ABP) sentezlemek. Bu protein, seminifer tübül içinde spermatogenez için gerekli olan testosteronun yoğunlaşmasını sağlar.

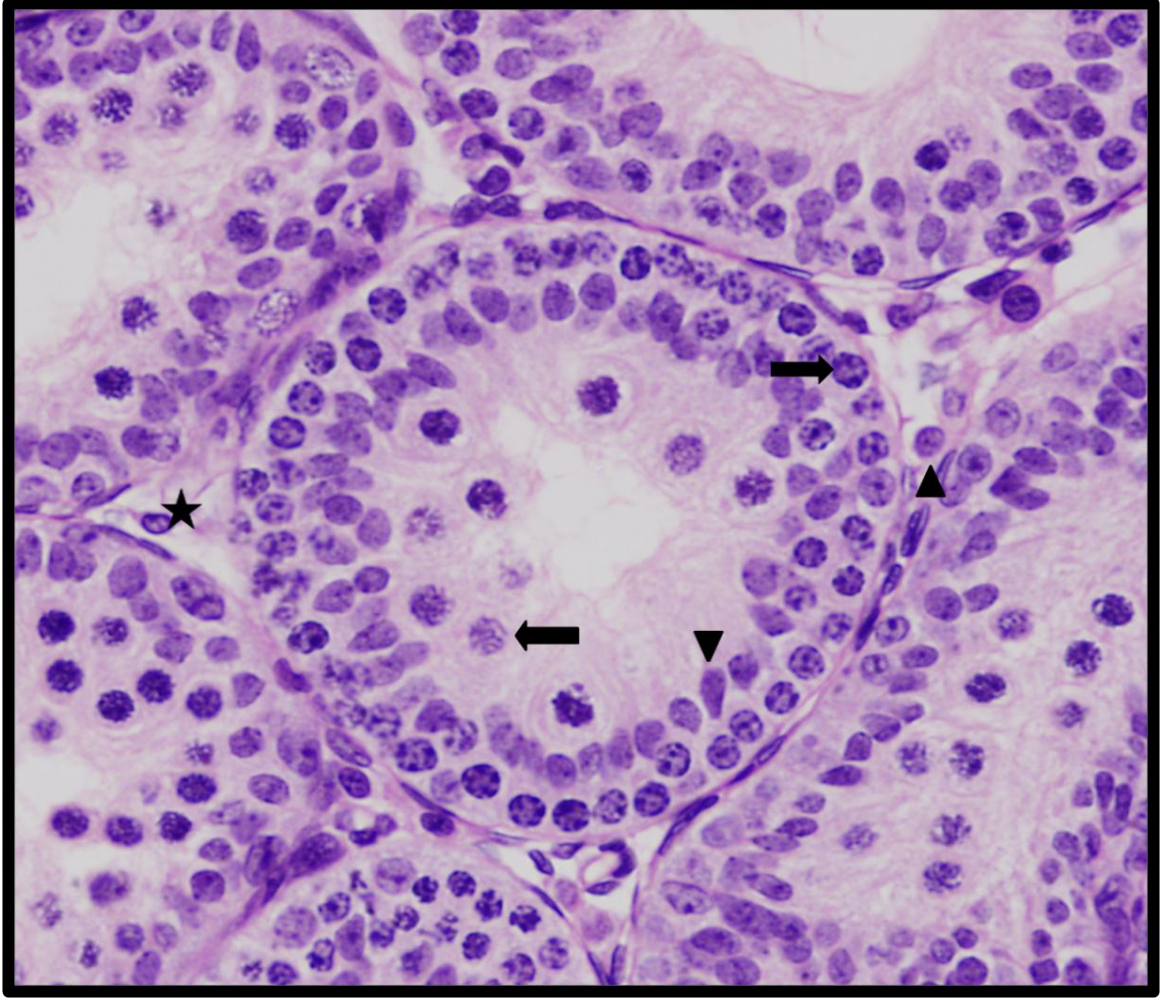
6) Dişi ve erkek üreme organlarının gelişimi sırasındaki Müllarian kanallarının gerilemesini sağlayan glikoprotein yapısında MIH veya AMH üretmek ve salgılamak.

7) Sertoli hücreleri birbirlerine sıkı bağlantı kompleksleri vasıtasıyla irtibatlıdır. Bazolateral okludens bağlantıları ile kan-testis bariyerini oluşturmak ve böylece gelişmekte olan spermatositleri ve spermatidleri otoimmün reaksiyonlardan korumak.

8) Ön hipofiz bezinden FSH sentez ve salınmasını önleyen, inhibin ve uyarıcı aktivin adı verilen peptidleri salgılamak.

4.4.2.2. Spermatogenik Hücreler

Spermatogenik hücreler seminifer tübüllerde, bazal lamina ile lümen arasında yerleşik 4-8 tabaka halinde düzenlenmiş hücre serileridir. Bu hücreler bazal laminadan lümene doğru; spermatogoniumlar, primer spermatositler, sekonder spermatositler, spermatidler ve spermatozoalar şeklinde sıralanmışlardır. Bu germ hücreleri ontogenik olarak farklı hücre tipleri değildirler. Fakat erkek germ hücreleri birbirini izleyen evrelerde sürekli bir değişim sürecindedir (48).



Resim 1. Seminifer Tübülün Genel Histolojik Yapısı

İnterstisyel Alan (★), Leydig Hücresi (▲), Sertoli Hücresi (▼), Spermatogonium (→), Primer Spermatosit (←).

4.4.3. Spermatogenez

Spermatogenez, seminifer tübüllerde gerçekleşen, ana germ hücresi olan spermatogonyumdan spermatozoon oluşumuna kadar olan süreci kapsar. Tüm evreleri spermatogenetik hücre katmanlarında gerçekleşen spermatogenezisin spermatogonia, spermatosit ve spermatid bölünmesi ve/veya farklılaşması ile karakterize, sırasıyla, spermatositogenez, mayoz ve spermiogenez olmak üzere üç ana evresi vardır (49).

Spermatositogenez olarak adlandırılan ilk evrede; spermatogonyumlar mitoz bölünme geçirmeleri sonucunda oluşan hücrelerden spermatositleri meydana getirir.

Mayoz evresi olarak adlandırılan ikinci evrede; spermatositler ardı ardına iki bölünme geçirerek kromozom sayılarını ve DNA miktarını eşit olarak her hücrede yarıya düşürür ve sonucunda spermatitleri oluşturur.

Spermiyogenez olarak adlandırılan son evrede ise spermatitler özenli bir hücre farklılaşması süreci geçirerek spermatozooları meydana getirir (34).

Spermatogenez sürecini başlatan ilk hücre spermatogonyumlardır. Spermatogonyumlar, yaklaşık olarak 12 µm çapında, seminifer tübülün bazal membranının hemen üstünde yer alan ilkel üreme hücreleridir. Bu hücreler yenilenebilen ve farklılaşan hücrelerdir. Spermatogonyumlar, spermatogonial kök hücrelerden köken alırlar ve pubertede başlayan mitotik hücre bölünmeleri ile çoğalarak yeni hücreler oluştururlar. İnsan seminifer epiteline çekirdeklerinin görünümüne göre üç tip spermatogonyum tanımlanır (34, 50).

1) Koyu boyanan tip A spermatogonyumlar: Germinal epitelin kök hücresi olarak kabul edilen, küçük ve kubbe şeklinde hücreler olup, oval ve heterokromatik çekirdeğe sahiptir. Bu hücreler, hücre döngüsüne girmezler ve mitoz bölünme geçirerek yeni koyu ve açık A tipi spermatogonyumlara farklılaşırlar.

2) Açık boyanan tip A spermatogonyumlar: Yuvarlak veya oval, ökromatik çekirdek ile açık sitoplâzmaya sahiptir. Bu hücreler A1, A2, A3 ve A4 olmak üzere dört jenerasyon halinde gözlenir. Birbirini takip eden bu serilerde, mitoz bölünme sonucunda meydana gelen A4 tipi spermatogonyum bölünür ve A ile B arasında bir geçit tipi olan ara spermatogonyumu oluşturur. Bu ara spermatogonyumlar ise B tipi spermatogonyumlara dönüşür.

3) B tipi spermatogonyumlar: Küre şeklinde ve merkezi yerleşimli çekirdekçiğe sahip hücrelerdir. Bazı yazarlara göre bu hücrelerin de B1, B2, B3 ve B4 olmak üzere dört jenerasyonu vardır ve B tipi bu spermatogonyumlar, primer spermatositleri oluştururlar (32).

Primer spermatositler; seminifer tübüldeki en büyük hücrelerdir ve germinal epitelin orta kısmında yer alır. Sitoplâzmalarında kaba kümeler veya ince kromatin iplikler içeren büyük bir çekirdekleri vardır ve sarmalanma sürecinin değişik safhalarındaki kromozomlarının bulunması ile tanınırlar. Bu hücreler birinci mayoz bölünmenin başlamasından hemen önce Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantıların hemen üzerinde, seminifer tübülün adluminal bölümüne göçerler. Dolayısıyla mayoz

bölünmeler kan-testis bariyerinin içinde gerçekleşir. Primer spermatositler 46 kromozom (44+XY) ve 4n DNA içerir (n haploit kromozom sayısı). Oluşumlarından hemen sonra birinci mayoz bölünmenin profaz evresine girerler ve bu bölünmenin profaz aşaması yaklaşık olarak 22 gün sürdüğünden, kesitlerde görülen spermatositlerin çoğu bu aşamada izlenir. Primer spermatositlerin birinci mayoz bölünmeyi tamamlaması sonucunda sekonder spermatositler oluşur (40, 42, 46, 48).

Birinci mayoz bölünme sonucunda oluşan, daha küçük çekirdekli ve yoğun kromatin içeren çekirdeğe sahip sekonder spermatositler 23 kromozom (22+X veya 22+Y) içerir. Sekonder spermatositler çok hızlı bir şekilde interfaz aşaması ve belirgin bir DNA sentezi olmayan ikinci mayoz bölünmeye giderler. Sekonder spermatositlerin bölünmesi 23 kromozom taşıyan iki hücrenin yani spermatidlerin oluşmasıyla sonuçlanır. Böylece mayoz bölünme sürecinin sonunda haploit sayıda kromozom içeren spermatidler oluşur (51).

Spermatitler yaklaşık 7-8 µm çapında, küçük, yuvarlak şekilli ve haploit sayıda kromozom taşıyan hücrelerdir. Yoğunlaşmış kromatin bölgeleri içeren çekirdekleri ile ayırt edilirler. Seminifer tübüllerde lümen yakınında, adluminal bölmeye yerleşik, gruplar halinde ve Sertoli hücreleri ile sıkı bağlantılı şekilde bulunurlar. Olgun spermatidlerin küçük baş kısımları Sertoli hücrelerinin sitoplâzmasına gömülüken, kuyruk kısımları seminifer tübülün lümenine uzanır. Spermatitler, spermiyogenezis denilen hücresel bir değişim geçirirler. Spermiyogenezis, spermatozoon üretiminin son aşamasıdır ve spermatitlerin, son derece özelleşmiş hücreler olan spermiyuma dönüşmesi sürecidir. Spermatidin, olgun spermiyum haline (spermatozoona) dönüştüğü bu hücresel değişim süreci, dört evreye ayrılır (34, 35, 40, 46, 48):

1. Golgi Evresi: Spermatidin sitoplâzması belirgin bir Golgi kompleksi, mitokondriyumlar, bir çift sentriyol, serbest ribozomlar ve granüllü endoplazmik retikulum içerir. Granüllü endoplazmik retikulumda sentezlenen ve döllenme için gerekli olan hidrolitik enzimler, Golgi kompleksinde periyodik asit shift (PAS) (+) yapıdaki proakrozomal granüller şeklinde birikir. Bu granüller birleşerek, membranla sınırlı bir akrozomal vezikülün içinde yer alan tek bir akrozomal granülü oluştururlar. Sentriyoller göç ederek, oluşan akrozomun karşı tarafında hücre yüzeyine yakın bir konuma gelirler. Kamçı aksonem oluşmaya başlar, sentriyoller yeniden çekirdeğe doğru göç ederken, hareket ettikçe aksonemal bileşenleri çevresine sarar.

2. Şapka Evresi: Akrozomal vezikül ve granül, yoğunlaşan çekirdeğin ön yarısını kaplayacak şekilde yayılır ve bundan sonra akrozom adını alır. Akrozomal şapkanın altında yer alan çekirdek kılıfı porlarını yitirerek kalınlaşır ve çekirdek içeriği yoğunlaşır. Akrozom, hiyalüronidaz, nöraminidaz, asit fosfataz ve bazı hidrolitik enzimleri içerir. Bu enzimler oositi çevreleyen korona radiata hücrelerini birbirinden ayırır ve zona pellusidayı sindirir.

3. Akrozomal Evre: Bu evrede, hücrenin akrozomu içeren ön bölümü seminifer tübülün bazaline bakar. Çekirdek uzar ve yoğunlaşır. Çekirdeğin uzaması ve yoğunlaşması, mikrotübüllerden oluşan silindir benzeri bir yapıyla kolaylaştırılır. Bu yapıya manşet denilir. Sentriyollerden hücre yüzeyine dik duranı, spermiyumun kuyruğunu yapacak bir flagellum oluşturur. Diğeri, kuyruğun başlangıç çevresinde bir kuşak oluşturacak şekilde göç eder. Aynı sürede sitoplâzma flagellum çevresinde hareket edip onu sarar. Mitokondriyonlar kuyruğun başlangıç bölümü çevresinde spiral olarak yerleşip spermiyumun gövdesini yaparlar. Spermiyumun kuyruğu motor bir işleve sahiptir. Mitokondriyonlar bunun için gerekli olan enerjiyi sağlar.

4. Olgunlaşma Evresi: Spermiyum olgunlaşıp kuyruklu hale gelince olgunlaşma sürecini tamamladığı Sertoli hücresinden ayrılır ve lümende serbestleşir. Geri kalan sitoplâzma artıkları Sertoli hücrelerince fagosite edilir ve spermatozoonlar tübülün lümenine bırakılır.

4.4.4. Seminifer Epitelyum Siklusu

Seminifer epitelyum siklusu (döngüsü); epitelyumda belli bir hücre evresinin ardışık iki görünümü arasında oluşan maturasyon değişiklikleri dizisi olarak ifade edilebilir (52). İnsanda ve sıçanlarda spermatogenez süreci belirgin şekilde benzerlikler içerse de bazı farklılıklar vardır. Erkek sıçanlarda testislerin skrotuma inmeleriyle beraber sperm üretimi başlar. İlk sperm üretimi yaklaşık 45. günde başlar ancak optimum üretim 75 günde gerçekleşir (53). Sıçanlarda her spermatogenik döngü arasında 12.9 gün bulunurken insanlarda bu süre yaklaşık 16 gündür. Buna ek olarak sıçanlarda bir spermatogenik siklusun tamamlanması için 52-54 gün gerekirken insanlarda bu süre 65 gündür. Sıçanlarda spermatogonial farklılaşma 12. gün sonlarında, insanlarda da 16. gün de başlar ve spermatositlerin gelişimi için sıçanlarda 14 gün,

insanlarda ise 25 gün gereklidir. Sıçanlarda haploid germ hücrelerinden olgun sperme dönüşüm süreci olan spermiyogenezis 7-14 gün iken insanlarda ise bu süreç 8-14 gündür (54, 55).

4.4.5. İnterstisyel Alan ve Leydig Hücreleri

Testislerde seminifer tübüller arasındaki boşluklar bağ dokusu, sinirler, pencere kapillerler ve lenf damarları ile doludur. Bağ dokusu değişik tipte hücreler içerir; bunlar arasında fibroblastlar, farklılaşmamış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Ergenlikte başka bir tip hücre daha işlevsel olarak belirgin hale gelir. Bu, yuvarlak ya da çokgen şekilli, çekirdeği merkezde ve küçük lipid damlacıklarından zengin eozinofilik sitoplazması bulunan hücreler, testisin interstisyel ya da Leydig hücreleridir ve steroid salgılayan hücre özellikleri gösterir (35).

İnterstisyel alanda tek tek ya da gruplar halinde yerleşmiş Leydig hücrelerinin temel işlevi prepubertal ve erişkin testiste spermatogenezin ilerlemesi için gerekli androjenlerin üretimi ve seminifer tübülleri desteklemektir (56). Bu hücreler karakteristik tübüler kristal mitokondriyonlar ile gelişmiş bir granülsüz endoplazmik retikulum içerir ve genellikle kapiller damarlara yakındırlar. Bu hücrelerin sitoplazmasında sadece insanlarda ve sıçanlarında görülen Reinke kristaloidleri de görülmektedir. Puberte ile birlikte görülmeye başlayan, yaşlılıkta ve infertilite vakalarında sayıları artan bu oluşumların fonksiyonları bilinmemektedir (32, 57).

Erişkin insan ve sıçan testisinde Leydig hücrelerinin son popülasyonu oluşmadan önce çoğalma ve farklılaşma olarak tanımlanan iki periyot ayırt edilebilir. Birinci periyot, fetal yaşam boyunca gerçekleşir ve sonucunda fetal Leydig hücre jenerasyonu oluşur. İkinci periyot ise prepubertal dönemde gerçekleşir ve bu sürecin sonunda da yetişkin Leydig hücre jenerasyonu meydana gelir (56, 58).

Bu iki tip Leydig hücre jenerasyonu arasında morfolojik ve biyokimyasal açıdan farklılıklar olmasına rağmen her iki hücre çeşidi de androjen üretmek için benzer özel fonksiyonlara sahiptir. Fetal tip Leydig hücreleri, fetal ve neonatal yaşam boyunca erkeğe ait primer seks karakterlerinin oluşmasından sorumludur ve testosteron ile diğer androjenleri salgılar. Fetal tip Leydig hücreleri tarafından üretilen bu androjenler erkek

üreme kanalının gelişimi için kritiktir. Bunları pubertal erkeğe ait özelliklerden sorumlu yetişkin tip Leydig hücrelerinin oluşması takip eder (59, 60).

Yetişkin Leydig hücreleri neonatal testisin interstisyel alanında mezenşimal kök hücrelerden farklılaşarak gelişmeye başlar. Bu hücreler kök Leydig hücreleri, progenitör Leydig hücreleri, immatür Leydig hücreleri ve yetişkin Leydig hücreleri olmak üzere 4 farklı aşamada tanımlanır. Kök Leydig hücreleri farklılaşmamış hücrelerdir ve belirgin olmayan, kendini yenileme, farklılaşma yeteneğine sahiptirler. Progenitör Leydig hücreleri ise kök Leydig hücrelerinden elde edilir. Bu hücreler iğsi şekillidirler. Luteinizan hormon (LH) reseptörü pozitifdir, yüksek mitotik aktiviteye sahiptirler ve çok az miktarda testosteron üretirler. Progenitör Leydig hücreleri, immatür Leydig hücrelerini meydana getirir. Bunlar yuvarlak yapılı bol miktarda endoplazmik retikulum ek olarak bir miktar da testosteron içerir. Yetişkin Leydig hücreleri ise, progenitör Leydig hücrelerinin bir kısmı tarafından üretilir. Bu hücreler çok yüksek seviyede testosteron üreten son dönem farklılaşmamış hücrelerdir (61).

Testisin endokrin kısmını meydana getiren bu hücrelerin en önemli görevi androjenlerin özellikle de testosteronun sentezi ve salgılanmasıdır. Leydig hücrelerince üretilen testosteron, embriyonal dönemde gonadların normal bir şekilde gelişiminden, pubertal dönemde sperm üretimi ve aksesuar cinsel bezlerinin sekresyonunun başlaması ile sekonder cinsiyet karakterlerinin gelişmesinden ve erişkinlerde spermatogenezin, sekonder cinsiyet karakterlerinin ve cinsel salgı bezlerinin fonksiyonlarının devam ettirilmesinden sorumludur (62).

Erkeklerde serum testosteron seviyesinde bir düşüş olduğu zaman vücut kompozisyonu, duyu durumu, enerji düzeyi, kas gücü, cinsel ve bilişsel işlevlerde değişiklikler meydana gelmektedir (61, 63). Testosteron, pubertal dönem boyunca spermatogenezin devam ettirilmesinde önemli rolleri bulunan Sertoli hücrelerini parakrin olarak etkiler. İntersitisyel hücrelerden salgılanan androjenlerin, prepubertal sıçanlarda Leydig hücre fonksiyonlarını ve farklılaşmasını düzenleyici otokrin etkileri de vardır. Leydig hücrelerinden testosteron dışında, daha az öneme sahip dehidroepiandrosteron (DHEA) ve androstenedion gibi androjenler de salgılanır. İntersitisyel hücrelerden testosteron sentezi ve salgılanması, hipofiz ön lobundan salgılanan LH erkekte intersitisyel hücre uyarıcı hormon (ICSH) tarafından uyarılır (63, 64).

4.5. Oksidatif Stres ve Antioksidan Sistem

4.5.1. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Yörüngelerinde bir veya daha fazla sayıda eşleşmemiş elektronun olduğu atom veya atom grupları serbest radikaller olarak adlandırılmaktadır (65). Bu eşleşmemiş elektron nedeni ile serbest radikal molekülü kararsız konumdadır ve kararlı yapı kazanabilmesi için elektronunu başka bir elektronla eşleştirmesi gerekir. Bu nedenle serbest radikalın kimyasal aktivite potansiyeli yüksektir (66). Serbest radikallerin artması oksidatif strese sebep olur ve hücrelerin lipid, protein, DNA, karbohidratlar gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederek yapılarının bozulmalarına neden olurlar. Ayrıca mitokondrideki aerobik solunum ve kapiller geçirgenliğini bozar, hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu artırır (67). Bu nedenle oksidatif stres, yaşlanma sürecinden (68), kanser (69), kardiyovasküler hastalıklar (70), Down Sendromu (71), dejeneratif nörolojik hastalıklar (72), renal yetmezlik (73), infertilite (74) gibi birçok hastalığın etiyolojisinden sorumlu olduğu düşünülmektedir.

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların intrasellüler ve ekstrasellüler olarak ortadan kaldırılma hızı bir denge içindedir ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır (75). Pro-oksidan ve anti-oksidan sistemler arasındaki dengenin oksidan sistemler lehine bozulması sonucunda gelişen oksidatif stres, lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen ürünlerinin açığa çıkarak biyomoleküllerde hasara neden olduğu bir olaydır (76).

Oksidatif streste etkili olan reaktif oksijen türleri (ROS) olarak süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil ($OH^{\cdot}$), peroksil ($RO_2^{\cdot}$), hidroperoksil ($HO_2^{\cdot}$) gibi serbest radikaller ve hidrojen peroksit (H_2O_2), hipoklorik asiti ($HOCl$) gibi nonradikal türleri sayılabilir. Serbest oksijen radikallerinin (SOR) meydana gelmesi, radikal zincir reaksiyonları ile diğer ürünlerin üretimine yol açar. Süperoksit radikali, organizmada nikotinamid dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz, ksantin oksidaz, siklooksijenaz gibi çeşitli oksidazlar aracılığı ile ve bazı koşullarda da endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) aracılığı ile oksijenin bir elektron redüksiyonu sonucunda meydana gelir. Süperoksit radikali bunlara ek olarak adenosin trifosfat (ATP) sentezi için gerekli olan normal oksidatif fosforilasyon esnasında mitokondrial elektron transport zinciri tarafından üretilir. Normal şartlar

altında $O_2^{\cdot-}$ antioksidan savunma mekanizmaları tarafından hızla elimine edilir. Süperoksit mitokondride manganez süperoksit dismutaz (Mn-SOD), sitoplâzmada bakır süperoksit dismutaz (Cu-SOD) ile H_2O_2 'e dönüştürülür. H_2O_2 ise mitokondride GP-x, lizozomda CAT tarafından H_2O ve O_2 'e parçalanır. H_2O_2 ayrıca demir (Fe), bakır (Cu) gibi elementlerin varlığında reaktif OH radikaline (Fenton reaksiyonu) dönüştürülebilir (77).

Serbest radikallerin zararlı etkilerinden en çok etkilenen yapı membran lipitleridir. Hücre membranındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyona neden olarak doğrudan hücreye zarar verir (78). Lipit peroksidasyonu sırasında biyolojik yapılardan kolayca tespit edilebilen ve peroksidatif hasarın belirteci olan MDA oluşur ve lipit peroksidasyonunun ilerlemesi ile başta membran akışkanlığı olmak üzere, taşıyıcı ve reseptör fonksiyonlu membran proteinlerinin aktiviteleri azalır (79). Membran potansiyeli değişime uğrar ve sonuçta membranların yapısal bütünlüğü bozulur. Proton ve diğer iyonlara karşı geçirgenliğin artması ile total iyon homeostazisi kaybolur, hücre ve organelleri parçalanır (80).

DNA, stabil bir molekül olmasına karşın yaşam boyunca fizyolojik koşullar altında spontan olarak oksidatif hasara uğramaktadır. Örneğin, pürin kaybı ile apürinik alanların oluşması insan genomunda gün içinde 10^4 kez meydana gelebilir Oksidatif strese üretilen ROS, DNA'da baz ve şekerlerde lezyonlara, tek ve çift zincir kırıklarına, abazik bölgelere (AP; apürinidik/apirimidinik bölge) ve DNA-protein çapraz bağlanması gibi bir takım farklı mekanizmalarla değişikliklere neden olur (81). Ancak DNA'da düşük düzeylerdeki oksidatif hasar, minimum hata riski ile etkili bir şekilde onarılabilir (82).

ROS doğrudan DNA onarım enzimlerini ve DNA polimerazı okside eder. Böylece DNA onarım mekanizmasının etkinliği azalır ve replikasyonun doğruluğu kontrol edilemez (82). Mutasyonlara neden olacak şekilde baz sekanslarında değişiklik yaparak nükleik asit fonksiyonunu bozarlar. Geri dönüşsüz DNA hasarı oluşturarak telomer uzunluğunu kısaltırlar. Ayrıca gen ekspresyonunda değişikliklere, replikatif kapasitenin düşmesine neden olurlar (83). ROS tarafından oluşan oksidatif hasar kardiovasküler hastalıklar, immün sistem hastalıkları, kanser, dejeneratif hastalıklar gibi doku fonksiyonlarının bozulması ile karakterize hastalıkların başlıca nedeni olarak

görülmektedir. Ayrıca DNA’da oluşan oksidatif hasar, mutagenезisin, karsinogenезisin ve yaşlanmanın göstergesidir (84, 85).

DNA’ da en fazla oksidatif hasara maruz kalan baz guanindir ve bunun nedeni Cu^{+2} (Bakır) iyonlarının en çok guanin-sitozince zengin bölgelerde bulunmasıdır. Bu iyonların, polianyonik karakterde olan DNA’nın özellikle guanin bazlarına yüksek afinite ile bağlandığı ve H_2O_2 ile etkileşime girerek DNA hasarını başlattığı gösterilmiştir (86). Bu nedenle 8-Hydroxy-desoxyguanosine (8-OHdG) en yaygın ölçümlenen baz hasarıdır. Bu modifiye bazlar, baz çıkararak onarım veya nükleotit çıkararak onarım olarak adlandırılan DNA onarım mekanizmaları tarafından tamir edilir (87).

4.5.2. Antioksidan Sistem

Normal fizyolojik şartlar altında hücreler, oluşan serbest radikal ürünlerinin belirli bir düzeyin altında tutulması ve dolayısıyla onların neden olduğu oksidatif hasarların engellenmesi için enzimatik ve nonenzimatik moleküllerden oluşan antioksidan savunma sistemlerine sahiptirler (88, 89, 90, 91, 92). Antioksidan sistemde görev yapan bu moleküller organizmada sentezlenen (endojen) veya dışarıdan alınan (eksojen) ve oksidan moleküllerin hücreye zarar vermesini önleyen yapılardır (93). Özellikle enzimatik savunma sistemleri reaktif oksijen türevleri ve bunların ara ürünlerini ortadan kaldırma, nötralize etme ya da süpürme yeteneğine sahip molekülleri içerirler (94).

Antioksidanlar, serbest radikal oluşumunu engelleyerek ve oluşan serbest radikalleri etkisiz hale getirerek etki gösterir. Serbest radikal oluşumunu başlatıcı reaktif türevlerini, katalitik metal iyonlarını ve oksijenin konsantrasyonunu azaltarak veya uzaklaştırarak engeller. Antioksidanlar oluşan serbest radikalleri ise 4 farklı mekanizma ile etkisiz hale getirirler (95);

1) Toplayıcı etki: Reaktif oksijen türlerini etkileyerek onları tutmaya ve daha az reaktif başka moleküllere çevirmeye yöneliktir ve enzimler aracılığıyla etki gösterir.

2) Bastırıcı etki: Reaktif oksijen türleri ile etkileşip onlara bir proton ekleyerek aktivite kaybına neden olur, flavinoidler ve vitaminler aracılığıyla etki gösterir.

3) Onarıcı etki

4) Zincir kırıcı etki: Reaktif oksijen türleri ve zincirleme reaksiyon başlatacak olan diğer maddeleri kendilerine bağlayıp reaksiyon zincirini kırarak fonksiyonlarını önler ve hemoglobin, seroplazmin, mineraller ve vitaminler aracılığıyla etki gösterir.

Antioksidanlar enzimatik ve nonenzimatik olarak sınıflandırılırlar. Hücresel seviyede etkili olan enzimatik sistemler içerisinde yer alan SOD, CAT, GP-x birincil antioksidan enzimler olarak kabul edilirler. Bu birincil savunma enzimlerinden başka dolaylı olarak antioksidan sistem içinde glutatyon redüktaz (GSH-Rd) ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) enzimleri de vardır ve bunlar ikincil antioksidan enzimler olarak ifade edilir. Non enzimatik antioksidan savunma sistemleri ise başlıca glutatyon (GSH), vitamin A, C, E, melatonin, albümin, bilirubin, ürik asit, karoten, sistein, transferrin gibi maddelerden oluşmaktadır (95,96).

4.5.3. Serbest Radikaller ve Testis Hasarı

Serbest radikaller, testis gibi steroidojenik dokularda steroid sentezi ve oksidatif fosforilasyon gibi normal hücresel süreçlerin yan ürünleri olarak üretilir (97). Bazı hücreler ROS oluşturmak için oksidaza sahiptirler. Örneğin spermatozoa süperoksit iyon radikali meydana getiren NADPH oksidaz içermektedir (98). Birçok çalışmada düşük miktardaki ROS'un, sperm kapasitasyonu, spermin oositi dölleyebilme yeteneği kazanması, sperm hücresinin oositin zona pellucida tabakasını ve plazma membranını eriterek içeri girmesini sağlayan akrozom reaksiyonu için gerekli olduğu belirtilmektedir. Fakat aşırı miktarda üretilen ROS, oksidatif stres olarak adlandırılan ve spermatozoa ile seminal plazmanın antioksidan kapasitesinin bozulması ile sonuçlanan bir duruma yol açmaktadır (99, 100).

Germ hücreleri gelecek nesillerin gelişimini yönlendiren DNA'nın yeni jenerasyona aktarılmasından sorumlu son derece özelleşmiş hücrelerdir. Türlerin kendine has özelliklerinin devamlılığında ve germ hücre DNA'sının bütünlüğünün sağlanması için gereklidir. Yapılan daha önceki çalışmalar spermatogenik hücrelerin somatik hücrelerden daha düşük mutasyon frekansı olduğunu göstermiştir. Ancak, germ hücreleri DNA hasarına neden olabilen ROS gibi endojen ve eksojen ajanlar tarafından zararlı bir şekilde sürekli olarak etkilenir. Yapılan birçok çalışmada spermatogoniumun ROS'u tolere edebildiği ancak spermatozoaların ROS'a bağlı hasara karşı son derece

duyarlı olduğu gösterilmiştir. Bunun sebebi plazma membranlarının fazla miktarda poliansature yağ asitleri (PUFA) ve sitoplâzmalarının düşük oranda süpürücü enzimleri içermesidir (99, 101).

Spermatozoada oksidatif stres sperm motilitesinde düşüklüğe ve yüksek düzeyde sperm canlılığının azalmasına neden olduğundan dolayı erkek infertilitesi ile yakından ilişkilidir (100). ROS'un primer hedefi, spermatazoanın mitokondriyal membranlardan zengin olan orta parçasıdır. Aksonemal hasara neden olan hücre içi ATP'deki hızlı kayıp ile sperm motilitesinde azalma, ROS'un majör etkisi olarak kabul edilmektedir (102). Spermatogenik olaylardaki değışiklikler, ejakülatta olgunlaşmamış anormal spermlerin oluşmasına neden olmaktadır. Olgunlaşmamış sperm ise aşırı ROS üretimine ve dolayısıyla DNA hasarına yol açmaktadır. İnfertil erkeklerin spermlerinin anormal kromatin yapısı, mikrolezyonlar, kromozom anomalileri, anöploidi ve DNA zincirinde kırılmalar da dâhil olmak üzere çeşitli nükleer değışiklikler içerdđi gösterilmiştir (103).

4.6. Apoptoz

Çok hücreli organizmalarda hücre bölünmesiyle artan hücre sayısı hücre ölümleriyle dengelenir. Eğer bir organizmada bir hücreye artık gereksinim duyulmuyorsa, hücre içi haberci sistemleri aktive edilerek o hücrenin ölüm süreci başlatılır. Bu ölüm süreci Yunanca'da yaprak dökümü anlamına gelen apoptoz diğer bir deyişle programlı hücre ölümüyle gerçekleşir (104, 105). Apoptozis terimi ilk kez 1972 yılında Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR adlı araştırıcılar tarafından kullanılmış ve canlı dokulardaki hücre azalmalarından sorumlu olan, yapısal olarak özgün bir hücre ölüm tipi olarak tanımlanmıştır (106). Apoptoz hücre içinden veya dışından gelen sinyallerle başlatılan, birbirini takip eden ve hücrenin fagositozu ile sona eren olaylar zinciridir. Bu aşamalar sırasıyla; apoptozun başlatılması, hücre içi proteazların (kaspazların) aktivasyonu, hücrede çeşitli morfolojik ve biyokimyasal değışikliklerin oluşması ve fagositoz olarak özetlenebilir (107).

Apoptozis birçok biyolojik süreçte etkin rol oynamaktadır. Dokuların gelişmesi, yaşlanması ve kanama kontrolünün sağlanmasında olduğu gibi, normal dokulardaki hücre topluluklarının korunması sürecinde de meydana gelmektedir. Apoptoz sırasında

ortaya çıkan çeşitli morfolojik değişiklikler ışık ve elektron mikroskopunda tanımlanabilir. Apoptoza uğrayan bir hücrede apoptozisin erken sürecinde laminin ve aktin filamentlerinin kopması sonucunda meydana gelen hücre büzüşmesi ve piknozisi ışık mikroskobu ile açık bir şekilde görülebilir. Kromatin yoğunlaşması sonucunda meydana gelen piknozis apoptozisin en karakteristik özelliğidir. Hücre büzüşmesi ile hücrelerin boyutları küçülür, sitoplazması yoğunlaşır ve organelleri daha sıkı paketlenmiş hale gelir. Apoptotik hücre karanlık eozinofilik sitoplazma ve yoğun nükleer kromatin parçaları ile oval bir kitle olarak görünür. Apoptoz sürecinde hücre büzölmeye ve küçölmeye devam ettikçe içlerinde sitoplazma ve sıkıca paketlenmiş organeller, bazılarında çekirdek parçaları da mevcut olan apoptotik cisimler meydana gelir. Çekirdek de hücre gibi büzöşür ve bazen membranla sarılı olarak birkaç parçaya ayrılabilir (108).

Apoptozise ekstrinsek veya ölüml reseptör yolağı ve intrinsek veya mitokondriyal yolak olmak üzere iki ana yolak neden olmaktadır. Bununla birlikte bu iki yol birleşebilir ve birbirlerini etkileyebilir. T hücre aracılı sitotoksititeyi ve perforin-granzim bağımlı hücre ölümlünü içeren ek bir yolak da mevcuttur. Perforin/Granzim yolağı apoptozisi hem Granzim A hem de Granzim B vasıtasıyla indükleyebilir. Ekstrinsek, intrinsek ve Granzim B yolakları, aynı son noktada yani infaz yolağında birleşirler. Bu yolak kaspaz-3 ayrımıyla başlatılır ve DNA parçalanması, hücre iskeletinin ve çekirdek proteinlerinin yıkılması, proteinlerin çapraz bağlanması, apoptotik cisimlerin oluşması, fagositik hücre reseptörleri için ligandların ekspresyonu ve son olarak da hücrenin fagositik hücreler tarafından fagositozu ile sonuçlanır (108).

Apoptozis tanı yöntemleri içerisinde apoptotik hücre morfolojisinin değerlendirilmesinde kullanılan ışık, floresan, lazerli konfokal, elektron ve faz-kontrast mikroskobu ile inceleme yer alır. DNA fragmentasyonlarının belirlenmesinde agaroz jel elektroforezi, enzimatik yolla DNA fragmentasyonlarının belirlenmesi ISEL (In situ end-labeling), TUNEL, in situ hibridizasyon tekniğı ve Anneksin-V yöntemi ile apoptozise özgü proteinlerin saptanması ve akım sitometri yöntemi kullanılır (109).

4.7. Elektromanyetik Alan

4.7.1. Yük ve Alan Kavramı

Maddenin ana niteliklerinden biri olan yk, kabaca bir cismin üzerinde birikmiş elektrik yükleri tarafından belirlenen bir nicelik olarak ifade edilir ve temel parçacıklardan kaynaklanır (110). Yükü taşıyan temel parçacıklar, negatif işaretili olan elektron ve pozitif işaretili olan protondur. Elektronların bir yerden bir yere göçmesi veya birikmesi elektriksel olguların temelini oluşturur. Yükler arası etkileşim yüklerin cinsleri ile ilgilidir. Aynı işaretili yükler birbirini iterken, farklı olanlar birbirini eker. Yükler arası etkileşimler, yükler arası kuvvetlerin bir sonucudur. Yüklü parçacıkların yol açtığı fiziksel olguya elektrik denir. Elektrik akımı ise, elektrik yüklerinin bir noktadan başka bir noktaya hareket etmesine verilen isimdir. Elektrik yükünün elektronlarca taşındığı bir iletken içindeki akım, birim zamanda iletkenin herhangi bir noktasından geçen yük miktarının ölçüsüdür (111).

Alan kavramı, yükler tarafından yüklerin etrafında oluşan, yüklerin karakterine göre ve yükten uzaklığa, yüklerin hareketine bağlı olarak değişen ve yüklerin birbirlerine olan etkilerini ve bu etkilerin yönünü açıklamak için ortaya konmuş bir kavramdır. Alan, enerji ve momentum taşıyabilmektedir. Bu zellik alanı madde ve enerji kadar gerçek yapmaktadır. Madde ve enerji arasındaki bağlantı kadar, madde ve alan arasında da bir bağlantıdan söz edilir. Alan etkileri, yüklü parçalardan olan uzaklığın karesi ile ters orantılıdır. Alan kavramlarından en önemlileri elektrik alan, manyetik alan ve bu iki alanın Faraday ve Maxwell tarafından birleştirilmesi ile oluşan elektromanyetik alandır (112, 113, 114).

4.7.2. Elektrik Alan

Elektrik alan, bir elektrik yükü tarafından oluşturulan ve birim yüke etki eden vektörel kuvvet olarak ifade edilir. Elektrik alanın birimi olarak volt/metre [V/m] kullanılır. Elektrik alanın genel gösterimi “E” simgesi ile yapılır. Elektrik alan, akı yoğunluğuna (D) ve malzemenin elektriksel geçirgenliğine (ϵ) bağlıdır.

$$D = \epsilon E$$

Akı yoğunluğu vektörü, elektrik alan vektörü ile aynı yöne sahip olan ve şiddeti, elektrik alanı oluşturan yük ile orantılı olan bir vektördür (115, 116, 117).

Elektrik alan Coulomb yasasına göre iki elektrik yükü arasındaki etkileşim sonucu meydana gelir. Deneysel olarak gösterilmiştir ki (118);

1) Zıt kutuplu iki yük birbirini çekerken, aynı kutba sahip iki yük birbirini iter ve böylece yükler bir kuvvet alanı oluşturur.

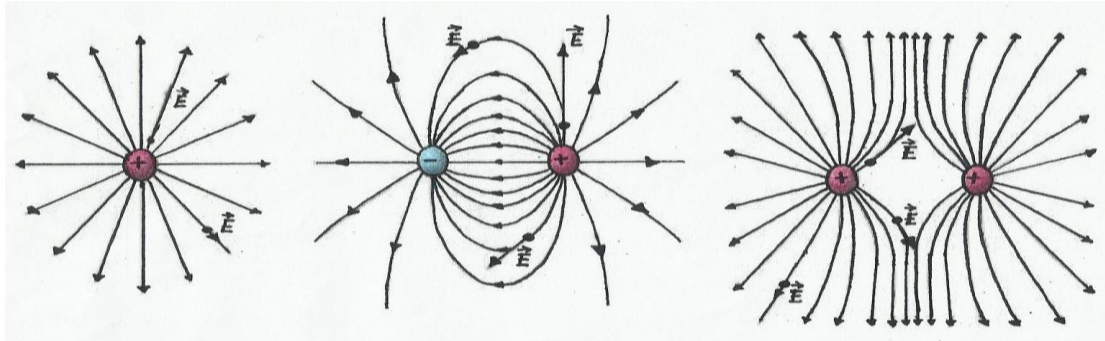
2) Kuvvet yüklerin ürünü ile orantılıdır.

3) Kuvvet yüklerin birleşim çizgilerinde faaliyet gösterir ve böylece kuvvet bir vektör olarak ifade edilir.

4) Kuvvet yükler yakın olduğunda daha yüksektir.

5) Kuvvet, yüklerin yerleştirildikleri ortamın elektriksel özelliklerine bağlıdır.

Elektrik alan vektörü, elektrik alan çizgilerini oluşturur ve çizgilerin nerden nereye gittiğini gösterir. İki zıt kutuplu yük için elektrik alan çizgileri, artıdan çıkıp eksiye son bulur ve birbirlerini kesmezler. Aynı kutuplu yüklerden çıkan çizgiler birbirlerini kesmeyecek şekilde birbirlerini bükerek ve sonsuzda son bulur (Şekil 1), (112).



Şekil 1. Elektrik alan vektörleri (Hayt'dan değiştirilerek alınmıştır,112).

4.7.3. Manyetik Alan

Manyetik alan hem bir şiddet değerine hem de yöne sahip vektörel bir büyüklüktür ve bir gözlemciye göre düzgün doğrusal hareket eden yüklerin oluşturduğu bir alan olarak karşımıza çıkar (116). Manyetik alandan iki şekilde söz edilebilir. Birincisi manyetik akı yoğunluğu (B) olup birimi “Tesla”dır [1 Tesla (T) = 1.000 militesla (mT) = 1.000 mikrottesla (μ T)]. İkincisi ise manyetik alan şiddeti (H) olup

birimi “A/m”(amper/metre) dir. Bu iki büyüklük ortam manyetik geçirgenliği ile birbirine $B=\mu H$ ilişkisi ile bağlıdır (115).

Manyetik alan amper yasasına göre akım taşıyan tellerin iki döngü arasındaki etkileşimini ifade eder. Deneysel olarak gösterilmiştir ki (118);

1) Aynı yöndeki iki akım birbirini çekerken, akımlar zıt yönde olduğu zaman birbirlerini iterler.

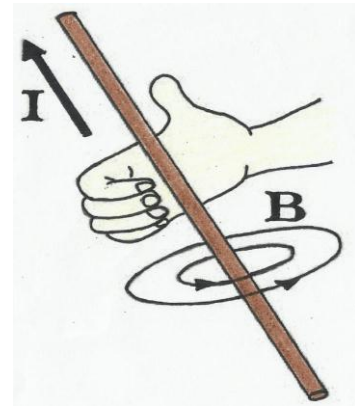
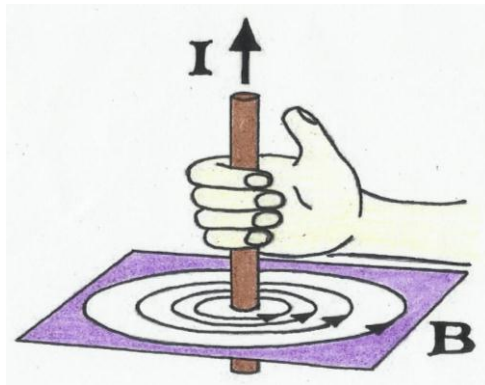
2) Kuvvetin büyüklüğü iki akımın ürünü ve iki akım elemanının uzunluğu ile orantılıdır.

3) Kuvvetin büyüklüğü akım elemanları arasındaki mesafenin karesi ile ters orantılıdır.

4) Kuvvet iki akım elemanının birleşim hattı boyunca birim vektör ile diğer elemanın çapraz ürünü boyunca hareket eder.

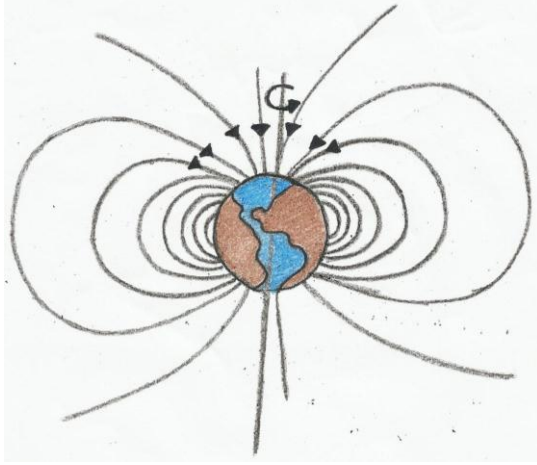
5) Kuvvet, yüklerin yerleştirildikleri ortamın manyetik özelliklerine bağlıdır.

Manyetik alan vektörünün yönü yüklerin hareket yönüne diktir ve elektrik alan vektörünün tersine bir yükte başlayıp diğer yükte sonlanmaz. Tersine alan çizgileri kendi üzerine kapanan eğriler oluştururlar. Elektrik alan çizgileri gibi birbirlerini kesmezler. Elektrikte hareket eden yükler, artı yüklerdir ve eksi yüklerin tersi yönde aktığı kabul edilir. Manyetik alan çizgilerinin sıklığı, elektrik alan çizgilerinde olduğu gibi akım geçen telden radial uzaklığın karesiyle ters orantılı olarak azalır. Bilimsel otoritelerce kabul edilen sağ el kuralında, sağ el başparmağını akım yönünde tutup diğer parmaklarımızı akım yönünde doladığımızda, manyetik alan vektör yönünü buluruz (Şekil 2), (117, 119, 120).



Şekil 2. Sağ el kuralı (Hayt’dan değiştirilerek alınmıştır, 112).

Manyetik alan günlük yaşantımızda her zaman karşımıza çıkmaktadır. Akım geçiren herşey manyetik alan oluşturduğu gibi mıknatıslar ve hatta dűnyanın akışkan olan i kesimleri de manyetik alan oluşturur (şekil 3), (112).



şekil 3. Manyetik alanlar (Hayt'dan değiştirilerek alınmıştır, 112).

4.7.4. Elektromanyetik Alan Kavramı

Elektromanyetik alan belli bir frekansta ve birbirleri arasında belli mesafede salınan bir dizi dalgadır. Manyetik alan hareketli ve elektrik yűklű parçacıkların gű etkisinde kaldıėı bořluk olup, atomların içindeki elektronların kendi çevreleri ve çekirdek çevrelerinde dűnmesi ile oluřur. Durgun elektrik yűkleri çevresinde elektrik alanları oluřturur. Bir ortamda elektrik alanı deėiřtirmek için yűklű cisimleri ivmeli hareket ettirmek gerekir. Yűk hareketliyse ayrıca elektrik yűklerinin çevresinde bir de manyetik alan oluřur. İliřkili olduėu yűklerden ve akımlardan ayrı olarak kendi bařına dűřűnűlen elektromanyetik alan, elektrik alanı ile manyetik alanın karřılıklı etkileřimi sonucu meydana gelir. Elektrik ve manyetik alanın kűkenleri yűklere baėlıyken űzellikleri ise kaynaėa olan mesafeleri ile deėiřim gűsterir (111, 112, 115).

Elektromanyetik alan, belirli kořullar altında elektromanyetik enerji tařıyan bir dalga hareketi olarak da tanımlanabilir. Bořlukta elektrik ve manyetik alan vektűrleri birbirine diktir ve elektromanyetik dalga biçiminde, doėrultusu her iki alana da dik

olarak yayılır. Elektrik alan vektörlerinin değişimi ile manyetik alan vektörlerinin değişimi sinüzoidal eğri biçimindedir (111, 117, 121).

4.7.5. Frekans, Dalga Boyu, Güç yoğunluğu, Anten

4.7.5.1. Frekans

Elektromanyetik dalgaların saniyede yaptığı salınım sayısına yani kendilerini tekrarlama sıklığına frekans denir. Frekansın birimi Hz'dir.

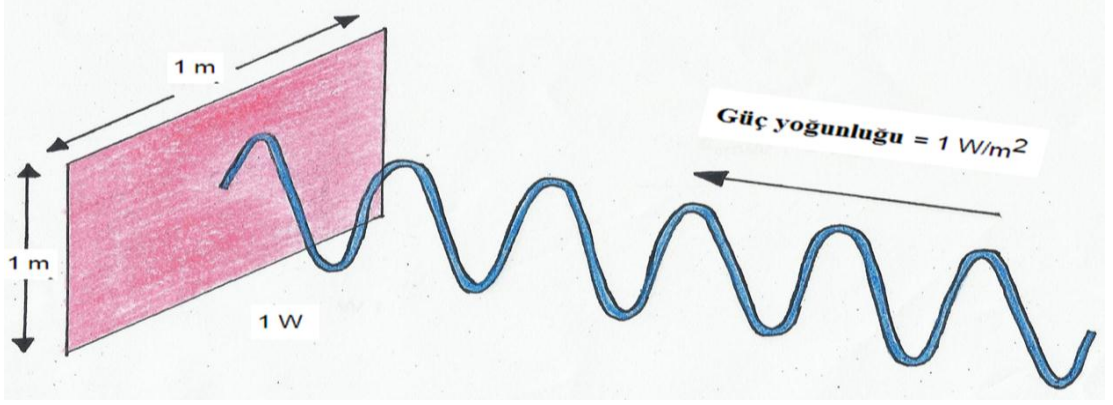
1 Hz saniyede bir salınım; 1 kHz ya da kilohertz saniyede 1000 Hz; 1 MHz ya da megahertz saniyede bir milyon Hz; 1GHz ya da gigahertz saniyede bir milyar Hz ya da 10⁹ Hz'dir (117, 122).

4.7.5.2. Dalga Boyu

Elektromanyetik dalgaların bir salınımda aldıkları yola dalga boyu (λ) denir. Dalga boyunun birimi metre gibi mesafe birimleridir ve dalganın ortalama hızı ise 'v' ile gösterilir. Dalgaların yayılma hızı ise 'c' ile gösterilir ve yayılmaz hızı, frekansı (f) ve dalga boyu (λ) arasında, $c = \lambda \cdot f$ [m/s] şeklinde bir ilişki vardır. Elektromanyetik dalgalar enine dalgalar olup birbirine dik elektrik ve manyetik alan değişimlerinin birbirini doğurması şeklinde ilerlerler (117,122).

4.7.5.3. Güç Yoğunluğu

Güç yoğunluğu birim yüzeyden geçen ortalama güç olarak ifade edilir. Güç genellikle watt (W), miliwatt (mW) ya da mikrowatt (μ W) ile ölçülür. Güç yoğunluğu ise metrekare başına watt olarak ölçülür (W/m^2) ve 'I' simgesi ile gösterilir (115).



Şekil 4. 1 metrekaire (m^2)'lik bir alandan geçen 1 W'luk gücün oluşturduğu 1 W/m^2 'lik güç yoğunluğu (Stewart'dan değiştirilerek alınmıştır, 115).

Elektromanyetik alanların özellikleri kaynağa olan mesafeleri ile değişim gösterir. Kaynaktan birkaç dalga boyu uzaklıkta olan bölge uzak-alan bölgesi olarak adlandırılır. Bu bölgede elektrik alan içeren elektromanyetik dalga ve dik açıda salınan bir manyetik alan beraberce salınım olan yöne doğru hareket eder. Büyüklükleri ise güç yoğunlukları (I) ile ilgilidir. Yakın-alan bölgede ise durum daha karmaşıktır. Yayılan güç miktarı uzak-alan bölge ile hemen hemen aynıken elektromanyetik enerjinin önemli bir kısmı kaynağa yakındır. Böylece kaynağa yakın-alan bölgede depolanan elektromanyetik enerji söz konusuysa, uzak-alan bölgede yayılan elektromanyetik enerji mevcuttur (115).

4.7.5.4. Anten

Anten, elektrik sinyallerini (voltaj ve akım) elektromanyetik dalgalara ya da elektromanyetik dalgaları elektrik sinyallerine dönüştürmek için kullanılan araçtır. Basit teller ve çubuklardan oluşan diziler büyük mikrodalga parabolik, eliptik ve dikdörtgen diyafram sistemlerine kadar uzanır ve böylece elektromanyetik dalgalar sinyallere dönüştürülür (117).

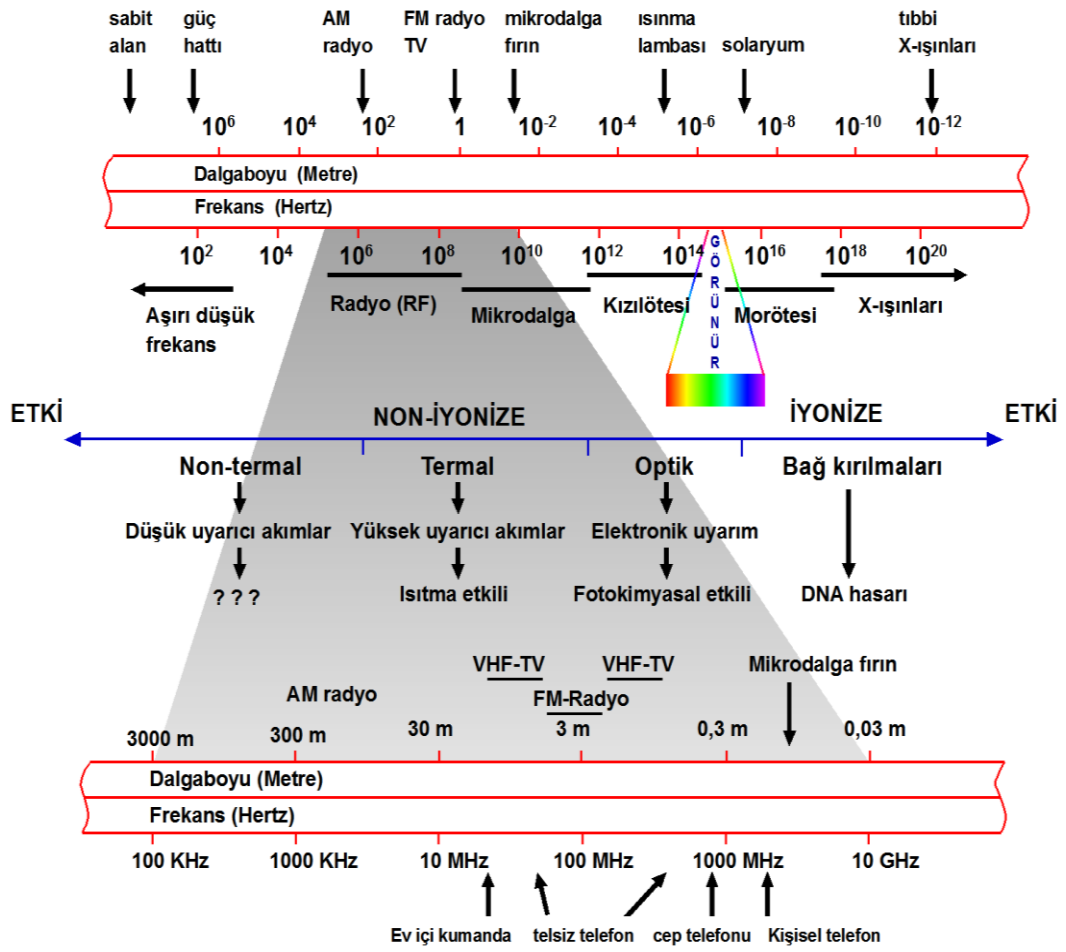
4.7.6. Elektromanyetik Dalgalar, Spektrum ve Radyasyonun Sınıflandırılması

Elektromanyetik dalga elektrik ve manyetik alanların salınımından oluşan bir dalga hareketidir. Elektromanyetik dalgaların dalgaboyu metre, frekansı Hz, foton enerjisi (U) Joule (J) ve mutlak sıcaklığı (T) Kelvin (K) ile karakterizedir. Birimler arası bağlantı göz önüne alındığında frekans arttığında ya da dalga boyu azaldığında, foton enerjisi ve sıcaklık artar. Elektromanyetik dalgalar uzayda ışık hızıyla hareket ederler ve bir elektromanyetik dalganın dalga boyu ve frekansı basit bir matematiksel formül ile ters ilişkilidir: Frekans (f) X dalga boyu (λ) = ışık hızı (c) (123).

Spektrum, elektromanyetik dalga çeşitli frekans bileşenlerine ayrıldığında oluşan dağılım ürünüdür ve ışıınım yani radyasyon enerjinin bir ortamda dalga ve tanecik olarak yayılmasıdır. Elektromanyetik radyasyon ise elektromanyetik dalganın herhangi bir ortamda yayılmasıdır. Bir elektromanyetik dalga genellikle “iyonlaştırıcı elektromanyetik radyasyon” ve “iyonlaştırmayan elektromanyetik radyasyon” olmak üzere ayrılır. İyonlaştırıcı radyasyonun frekansı 3000 THz (1 THz = 10^{12} Hz) den fazla, iyonlaşmayan radyasyonun frekansı ise 3000 THz’ den azdır (123).

Dalga boyu küçüldüğünde ve elektromanyetik radyasyon madde ile karşılaştığında dalga olmaktan çok bir enerji kümesi gibi davranır. Bu enerji kümelerine “kuantum” ya da “foton” denir. Bu tipteki elektromanyetik radyasyonlar X ve gamma ışınlarıdır. Enerjileri çok yükselen bu ışınlar maddelere çarptığında onları iyonlaştırarak, moleköl yapılarını yani yaşamsal fonksiyonlarını bozar. Bu nedenle bu ışınlar iyonlaştırıcı, bir diğer elektromanyetik radyasyon grubu ise iyonlaştırmayan radyasyon grubudur. Bunlar az enerjiliden, yüksek enerjiliye doğru radyo dalgaları, mikrodalgalar, infrared radyasyon, görünür ışınlar, laser ışınları ve ultraviole ışınları olarak sıralanırlar. Mobil iletişim sistemlerinin neden oldukları ışıınım, iyonlaştırıcı olmayan radyasyon bölgesi içinde yer almaktadır (112, 124).

Elektromanyetik dalgalar frekanslarına göre özel adlarla anılan gruplara ayrılırlar. Buna elektromanyetik yelpaze denir. Bu gruplar içinde frekans sınırları kesin bir biçimde belirlenmiş değildir ve ayrıca grupların dalga boyları da farklılık gösterir (112, 124).



Elektromanyetik Tayf (Spektrum)

Şekil 5. Elektromanyetik tayf; iyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon bölgelerinin frekanslara göre dağılımı (123'den değiştirilerek alınmıştır).

4.7.7. Bağlantı Mekanizmaları

4.7.7.1. Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alanlar

Elektrik alanlar vücudun yüzeyinde bir yüzey yükü meydana getirir. Bunun sonucunda vücutta indüklenen akımlar maruziyet koşullarına, beden büyüklüğüne, şekline ve alanda vücudun konumuna bağlıdır (117).

4.7.7.2. Düşük Frekanslı Manyetik Alanlar

Zamanla değişen manyetik alanlar ile insan vücudunun fiziksel etkileşimi indüklenmiş elektrik alanlarının ve elektrik akımlarının sonuçlarıdır. İndüklenen alanın ve akım yoğunluğunun büyüklüğü döngü yarıçapı, dokunun elektriksel iletkenliği ve manyetik akı yoğunluğunun büyüklüğü ve değişim hızı ile orantılıdır (117).

4.7.8. İnsan Vücudu Tarafından Enerjinin Emilimi

İnsan vücudunun soğurma karakteristiği göz önüne alındığında enerjinin emilimi dörde ayrılarak incelenebilir (110);

1) 100 kHz den daha az yaklaşık 20 MHz elektromanyetik alan frekanslarında insan gövdesi için yüzey soğurması belirgindir. Fakat boyun ve bacaklarda enerji soğurulması hızla artar.

2) Yaklaşık 20 MHz ile 300 MHz aralığında frekanslarda vücudun bir kısmındaki rezonans dikkate alınsa bile tüm vücutta yüksek bir emilim meydana gelebilir ve özellikle kafa bölgesi için çok dikkatli olunmalıdır.

3) 300 MHz ile birkaç GHz aralığındaki frekanslarda bölgesel enerji soğurulması meydana gelir ve ısı etkisi mevcuttur.

4) Yaklaşık 10 GHz'den yüksek frekanslarda ise, enerji emilimi tüm vücut yüzeyinde yoğun bir şekilde meydana gelir.

4.7.9. Özgül Soğurma Hızı (SAR)

Dokular tarafından soğurulan elektromanyetik alan dokuda bir sıcaklık artışına neden olur ve böylece dokuda hasar oluşturabilir. EMA'nın dokuda oluşturabileceği hasar, onun enerjisine, doku ile yaptığı etkileşmenin türüne, dokuda soğurulan enerji miktarına ve maruz kalma süresine bağlıdır. Bu şekilde dokunun birim kütlesinde soğurulan enerji “doz” olarak tanımlanır ve özellikle canlı dokularda soğurulan enerji miktarından çok, enerjinin soğurulma hızı önemlidir. Özgül soğurma hızı olarak ifade edilen SAR, EMA'nın vücut tarafından soğurulma hızıdır ve birimi W/kg (Watt/kilogram)'dır. Vücudun 1 kg'ının sıcaklığını 1°C yükselten elektromanyetik enerji

miktarı 4 W olarak tanımlanmıştır. Bu nedenle standartların oluşturulmasında 4 W/kg’lık SAR değeri biyolojik etki gözlenebilecek doz olarak kullanılmıştır. EMA’nın 100 kHz - 10 GHz aralığındaki biyolojik etkilerinin tanımlanmasında genellikle SAR kullanılır (118, 125).

Özgül soğrulma hızının doğrudan ölçülmesi hemen hemen imkansızdır. Bu yüzden sınır değer belirlenmesinde kolay ölçülebilen ve/veya gözlemlenebilen parametreler kullanılır. Bu parametreler elektrik alan şiddeti, manyetik alan şiddeti ve güç yoğunluğudur (118). Dokularda soğrilmaya neden olan parametre ise, dokunun iletkenliğidir ve ‘ σ ’ sembolü ile gösterilir. Elektrik alan şiddeti E (V/m) olan bir ortamda iletkenliği σ (S/m), yoğunluğu ρ (kg/m³) olan ve V hacmine sahip dokuda yutulan SAR değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanır (119).

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

EMA’nın ısıl durumlarının ifade edilebilmesi için “standart adam” kavramı kullanılmaktadır. Genel olarak kabul edilen standart adam 1.75 m boya, 70 kilogram (kg) ağırlığa ve 1.85 m² toplam yüzey alanına sahiptir. SAR’ın birimi Watt/kg olduğu göz önüne alınırsa, standart adamın ağırlığının SAR tanımının bir parçası olduğu görülmektedir. Örneğin standart adamda biriktirilen toplam gücün 7 Watt olduğu bilinirse, vücudun tamamına göre ortalama SAR 7/70 Watt/kg, 0,1 Watt/kg olur (117).

Elektromanyetik etkileşim, elektromanyetik (EM) enerji ile canlı dokular arasındadır. Bu etkileşimle ilgilenen dala da özel olarak biyo-elektromanyetik (BEM) adı verilmiştir. BEM, cihaz-insan etkileşimiyle yani elektromanyetik enerjiyle canlı doku ilişkisi ile ilgilenir. İnsan sağlığı ile ilgili EM etkilere ait limitleri belirleyen uluslararası kuruluşlardan önemli ikisi Uluslararası İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyon Komitesi (INIRC) ve Uluslararası Radyasyondan Korunma Kurumu (IRPA)’dır. Bu kuruluşların belirlediği, temel limitler ve türetilmiş limitler olmak üzere iki tip limit vardır. Temel limit olarak “ortalama insanda vücut sıcaklığını 1°C arttıracak EM enerji yutulmasının zararlı olduğu” düşüncesinden yola çıkılmıştır (124, 126, 127). Bunun sonucu ortalama kan dolaşımında 4W/kg değeri bulunmuştur. Yani, kilogram başına dokuların yutabileceği en yüksek güç 4W’ tır. Uluslararası İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyondan Korunma Komitesi (ICNIRP) genel halk için temel limiti 50 kat

güvenlik payı ile 0.08 W/kg, günün belirli saatlerinde bulunulan iş yerleri için 10 kat güvenlik payı ile 0.4 W/kg SAR değeri olarak belirlemiştir. Temel limitlerden ölçülebilir türetilmiş limitlere geçildiğinde 900 MHz ve 1800 MHz Groupe Speciale Mobile (GSM) sistemleri için sınır değerler, sırasıyla, 42 V/m ve 59 V/m (güç yoğunluğu olarak 4.5 W/m² ve 9 W/m²) olarak belirlenmiştir (119, 124, 128). Ayrıca ortalama 2 W çıkış gücüne sahip 900 MHz’de çalışan bir cep telefonundan 2,2 cm uzaklıkta 400 V/m şiddetinde elektrik alan şiddeti ölçülmüştür. Bu değer 1800 MHz’e 1 W çıkış gücü ile 200 V/m’dir (128, 129).

4.7.10. GSM Sistemi

GSM, mobil iletişim için küresel sistemin kısaltmasıdır. Bu sistemler genellikle 900 MHz veya 1800 MHz bandında çalışan sistemlerdir (115, 130). GSM tarihsel olarak ismini ‘Groupe Speciale Mobile’ olarak adlandırılan dijital hücre teknolojileri için oluşturulmuş çalışma grubundan alır [Mesaj ve Telekomünikasyon Avrupa Konferansı (CEPT)]. Mesaj ve Telekomünikasyon Avrupa Konferansı’nın özellikle hücresel ve kişisel haberleşme sistemleri için teknik standart faaliyetlerinin çoğu artık Avrupa Telekomünikasyon Standartları Enstitüsü (ETSI) tarafından satın alınmıştır (131).

GSM mobil ses ve veri hizmetleri iletmek için kullanılan bir dijital hücresel teknolojidir. GSM dijital teknoloji ve zaman bölmeli çoklu erişim, iletim yöntemlerini kullanması bakımından ilk nesil kablosuz sistemlerden farklıdır. GSM Avrupa’da 900 MHz ve 1.8 GHz bantlarında, Amerika Birleşik Devletleri’nde 850 MHz ve 1.9 GHz bantlarında faaliyet gösterir. Türkiye’de ise kullanılan hücresel haberleşme sistemleri GSM900 ve DCS1800’dür. GSM900’ün çalışma frekans bandı 880–960 MHz, DCS1800’ün frekans bandı ise 1710–1880 MHz’dir. Ayrıca, araç telefonlarında kullanılan NMT de hücresel bir haberleşme sistemidir ve çalışma frekansı 450 MHz’dir (131).

GSM, zaman bölmeli çoklu erişim olarak adlandırılan TDMA ve frekans bölmeli çoklu erişim olarak adlandırılan FDMA tekniklerinin kombinasyonunu kullanır (132). FDMA elemanı 25 MHz bant genişliğinde 200 kHz aralıklı, 124 taşıyıcı frekansa sahip bölme içerir. Taşıyıcılar daha sonra TDMA düzenini kullanarak ayrılır. Zamanın temel

birimi bir patlama periyodu olarak adlandırılır ve yaklaşık 0.577 ms (15/26 ms) sürer. Bu patlama periyotlarının sekizi bir TDMA çerçevesi oluşturacak şekilde gruplandırılmıştır. Bu da yaklaşık 4.615 ms (yani 120/26 ms) sürer ve mantıksal kanalın tanımını için temel birimi oluşturur (115).

GSM şebekesi; bir mobil radyo kısmı, bir abone bilgi parçası, bir radyo ağı, bir devre sistemi ve ağ istihbaratı (veri tabanları) olmak üzere birden fazla kısımdan oluşur. GSM baz istasyonunun amacı, radyo frekansı elektromanyetik alanları aracılığı ile cep telefonları ve mobil veya normal telefon için mevcut bir ağ arasında sinyalleri aktarmaktır. Sahip olduğu hücresel yapı sayesinde aynı anda daha çok kullanıcı haberleşebilir. Baz istasyonlarının sebep olduğu toplam elektromanyetik enerji sabit bir değerde değildir ve kullanıcı yoğunluğuna göre değişir. Baz istasyonu konuşmayı sabit bir kablo üzerinden ya da yönlendirilmiş elektromanyetik dalga demeti halinde hareketli anahtarlama merkezi olarak adlandırılan MAM'lara ulaştırır. Konuşma oradan, "cep telefon sistem sunucusunun" ana bilgisayarına iletilir. Bu bilgisayar konuşmayı alıcı cep telefonunun bulunduğu en yakın baz istasyonuna yollar. Bu şekilde alıcının cep telefonuna ulaşır ve iletişim bu yolla sağlanmış olur (131, 132, 133).

4.7.11. Elektromanyetik Alanın Biyolojik Sistemler Üzerine Etkileri

Elektromanyetik alanın biyolojik sistemlere etkilerini değerlendirmeden önce biyolojik etki ile yan etki arasındaki farkı anlamak önemlidir. Biyolojik etki, sistemde EMA'ya maruziyet sonucunda ölçülebilen ya da dikkate değer fiziksel değişiklikler meydana getirebilen etkidir. Yan etki ise biyolojik etkinin vücudun tolere etme sınırlarının dışına çıktığında oluşan ve bunun sonucunda da zararlı etkilere neden olabilen etkidir. EMA'nın iki tür etkisi vardır. Kısa zamanda hissedilen etkiler diyebileceğimiz bu iki etkiden ilki, baş ağrıları, göz yanmaları, yorgunluk, halsizlik, baş dönmeleri gibi şikayetlerdir (134). Bunlara ek olarak gece uykusuzlukları, gündüz uykulu dolaşım, küskünlük ve sürekli rahatsızlık nedeniyle topluma katılmamak gibi etkiler de ayrıca literatürde rapor edilmiştir (135, 136, 137, 138). Diğer bir etki ise; EMA'nın moleküler ve kimyasal bağlarda, hücre yapısında, vücut koruma sisteminde neden olduğu ve uzun sürede ortaya çıkabilen etkilerdir (128, 129). EMA'nın bahsedilen etkilerinin oluşması EMA'nın frekansına, şiddetine, vücut ölçülerine,

vücudun elektriksel özelliklerine, EMA'nın mesafesine ve en önemlisi etki süresine bağlıdır.

Kaynaklarda gebelik döneminde EMA'a maruz kalmanın pek çok olumsuz sonuçlara yol açabileceği belirtilmiştir. Anselmo ve ark hamilelik boyunca günde iki saat 60 Hz manyetik alana maruz kalan sıçanların yavrularında manyetik alanın beslenme oranını düşürerek somatik maturasyon indeksinde azalma meydana getirdiğini bildirmiştir (139). Okudan ve ark. maruz kalınan EMAnın erken kemik gelişimini olumsuz etkilediğini (140), Whissel ve Persinger manyetik alanın NO (nitrik oksit) seviyesini düşürmesine bağlı olarak çocukluk ve gençlik çağındaki psikolojik ve davranışsal gelişimi etkilediğini (141), Jiang ve ark. da prenatal dönemde maruz kalınan manyetik alanın erkek yavrulardan daha çok dişilerin davranışları üzerinde etkili olduğunu rapor etmişlerdir (142). Li ve ark. tarafından yapılan ve yine gebelikte maruz kalınan EMA etkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada ise anne karnında manyetik alana maruz kalan yavruların kalmayanlara göre daha yüksek oranda astım riski taşıdığı iddia edilmektedir (143).

Yapılan çalışmalar gebelikte EMA etkisinin malformasyonlara kadar gidebilen ciddi sonuçlarının olabileceğini de göstermektedir. Huuskonen ve ark. fertilizasyondan implantasyon periyodunun sonuna kadar olan dönemde (ovulasyondan 70-176 saat sonra) sinüzoidal 10 veya 100 Am⁻¹ 50 Hz manyetik alana maruz kalan Wistar tipi dişi sıçanlarda embriyonun taşınımı ve gelişimi sırasında değişiklikler meydana gelebileceğini göstermiştir (144). Cecconi ve ark. 33 veya 50 Hz ve 1.5 mT EMA ya maruz kalan memeli kadınlarda EMA'nın gelişimsel foliküler kapasiteyi azaltarak üreme potansiyelini etkileyebileceğini belirtmiştir (145). Ayrıca Saito ve ark. tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise fare fetuslarında statik manyetik alanların yüksek dozlarının polidaktili, erimiş kaburga, beyin fıtığı ve kıvrılmış kuyruk gibi malformasyonlara neden olduğu rapor edilmiştir (146).

EMA'nın erkek üreme sistemi üzerine olan etkileri de son yıllarda ciddi araştırma konuları arasına girmiştir. Örneğin Al-Akkas ve ark. yaptıkları bir çalışmada erkek ve dişi sıçanlarda 90 gün süreyle 50 Hz ve 25 mT manyetik alanlara maruziyetin fertilizasyonda azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir (147). Lee ve ark. ise 0.5mT 60 Hz EMA'a maruz kalan farelerde germ hücre ölüm insidansının arttığını ve daha yüksek apoptotik oran meydana geldiğini rapor ederken (148), Kim ve ark. da 14 mT

60 Hz manyetik alana maruz kalma sonucunda spermatogenik hücrelerde apoptozisin indüklenebileceğini belirtmiştir (149). Ramadan ve ark. ise 50 Hz ve 20mT fraksiyone dozlara maruz kalan farelerde EMA'nın sperm sayısında, hareketliliğinde ve günlük sperm üretiminde azalmaya neden olduğunu, ayrıca testis bileşenlerinde de önemli değişiklikler meydana getirdiğini göstermiştir (150). Li ve ark.'nın yaptığı bir diğer çalışmada da güçlü frekansa sahip manyetik alanların (1.6 mG) günlük 2.4 saatten fazla maruziyeti sonucunda insanlarda kötü sperm kalitesi, azalan sperm yoğunluğu, canlılığı ve motilitesi meydana getirebileceği gösterilmiştir (151). Deney hayvanlarında yapılan bazı çalışmalarda günde 4.5 dakika 9.27 GHz'e 295 gün maruziyette testiküler dejenerasyon, günde 5 dakika 10 GHz'e maruziyette ise testiküler lezyon gerçekleşmiştir (152, 153). Meo ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 3 ay süreyle günde 30 dakika ve 60 dakika mobil telefon radyasyonuna maruziyet sonrası testesteron seviyeleri araştırılmış ve serum testesteron seviyesinde düşüş gözlenmiştir (154).

Epidemiyolojik ve deneysel çalışmaların çoğu farklı frekans aralıklarına sahip EMA'ların hücre çoğalması, morfolojisi ve apoptozu (6, 7, 155), hücre zarının yapısı ve fonksiyonu (156) ve DNA kırılması ile ilgili biyolojik yanıtları uyurabileceğini ortaya koymuştur (83, 157, 158, 159). EMA'dan kaynaklanan DNA hasarının kanser gelişimini tetikleyebileceği (160, 161), testiste meydana gelen hormonal değişikliklerin etkileri ile kısırlık oranlarının artabileceği (162, 163), fetal kayıp ve gelişimsel malformasyonlara neden olabileceği gösterilmiştir (164). Ayrıca EMA dokularda serbest radikallerin artmasına neden olarak oksidatif hasara yol açar. Oksidatif strese üretilen ROS, DNA'da baz ve şekerlerde lezyonlara, tek ve çift zincir kırıklarına, abazik bölgelere ve DNA-protein çapraz bağlanması gibi bir takım farklı mekanizmalarla modifikasyonlara neden olur (9). Literatürde 1.7 GHz'lik EMA'nın günde 80 dak/1 gün süreyle maruziyetinde testis DNA'sının termal denatürasyon profilinde değişim görülmüş, 1.6 GHz'lik EMA'nın günde 100 dak/1 gün süreyle maruziyetinde ise interstisiyal hücrelerde değişim olduğu saptanmıştır (165, 166). Yine 9.4 GHz'lik EMA'nın günde 60 dak/10 gün süreyle maruziyetinde sperm hücrelerinde kromozom translokasyonu olduğu, 9.4 GHz'lik EMA'nın günde 0.03 dak/1 gün süreyle maruziyetinde mutasyonlarda artış gözlemlendiği ve 0.019 GHz'lik EMA'nın günde 30 dak/1 gün süreyle akciğer hücrelerinde kromozom aberasyonu olduğu saptanmıştır (167, 168, 169, 170). Ciejska ve ark.'da EMA'nın beyin dokusunda oksidatif DNA

hasarına neden olabileceğini (171) ve ayrıca Jelenković ve ark. da meydana gelen oksidatif stresin beyin dokusunda hasara neden olabileceğini göstermiştir (172).

Yapılan çalışmalarda EMA maruziyeti sonrası kalp hızında azalma, bradikardi, taşikardi olduğu, ayrıca solunum hızında ve nabızda artış meydana geldiği bildirilmiştir (173, 174, 175). Tayefi ve ark gebe sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada EMA'nın prenatal maruziyeti sonucunda sıçan yavrularında oksidatif stres, apoptozis ve kalp kasında morfolojik patolojiye neden olduğunu göstermektedir (5). Ayrıca EMA'nın meydana getirdiği oksidatif stres sonucunda kalp kasında ve genel olarak kalbin yapısında çeşitli hasarlara neden olduğunu gösteren çalışmalarda literatürde yerini almıştır (176, 177).

Literatürde EMA'nın hematolojik sistem ve iyon konsantrasyonu üzerinde de etkili olabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur. EMA maruziyeti sonucunda hematokrit ve lenfosit düzeyinde artma, lökosit hücrelerinde ise azalma meydana geldiği bildirilmiştir. Yapılan çalışmalara bakıldığında EMA maruziyeti sonucunda nikotinamid adenin dinucleotid (NAD) artar iken ATP'nin azaldığı (170), ayrıca EMA maruziyetinde serum glikoz ve ürik asitin, beyinde ise demir ve magnezyumun, eritrosit mobilitelerinin ve eritrositlerden potasyum (K^+) çıkışı ve sodyum (Na^+) girişi ile Na^+ pasif transportunun da arttığı gösterilmiştir (165, 166, 178, 179).

EMA'nın nöroendokrin ve immunolojik sisteme etkileri araştırmacılar tarafından ilgi uyandırmıştır. Yapılan çalışmalarda farklı frekans aralıklarındaki EMA'nın eritrositlerde ve lenfoblastlarda, T ve B lenfositlerde artışa neden olduğu saptanmıştır (165, 180). Bu çalışmalara ek olarak yapılan bazı çalışmalarda da EMA'nın tiroid hormon düzeyi artışa ve tiroid simule edici hormon (TSH) da düşüşe neden olduğu, yine manyetik alanın serum tiroksin düzeyinde düşüşe, LH düzeyinde (181, 182) ve adrenal bezin ağırlığında ise artışa neden olduğu bulunmuştur (183).

Cep telefonlarının beyine yakın kullanılması nedeniyle yaydığı EMA'nın merkezi sinir sistemi (MSS) üzerindeki etkileri de bir çok araştırmacının ilgisini çekmiştir (184, 185, 186). Prenatal ve postnatal dönemlerde hayvan modelleri üzerinde yapılan EMA çalışmaları incelendiğinde, iyonize ve UV-radyasyona karşı meydana gelen hücresel yanıtlar MSS üzerinde geri dönüşümlü veya dönüşümsüz yapısal ve fonksiyonel değişiklikler olarak kendini göstermektedir (187). EMA'nın hücre proliferasyonu, DNA hasarı, gen ekspresyonu, protein sentezi, embriyonik gelişim ve kanser oluşumu üzerine

etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda da EMA'nın zararlı etkilerine yönelik ciddi bulgular mevcuttur (157, 188, 189, 190).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

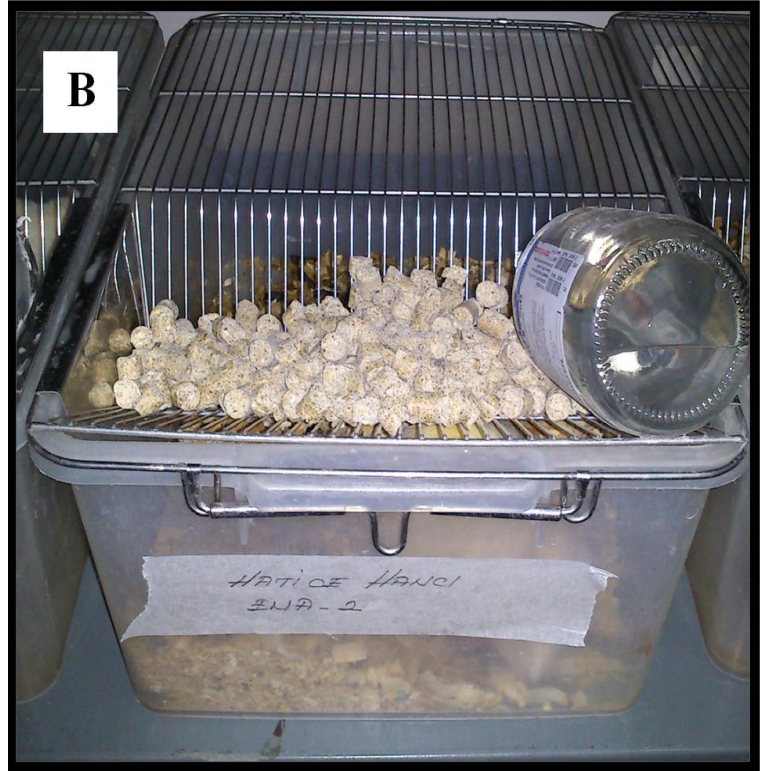
5.1. Deneysel Çalışma Aşaması

5.1.1. Deney Hayvanları

Çalışmaya Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi (KTÜ), Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra başlandı (Tarih: 16.05.2012, Sayı:4). Çalışmada, 6 haftalık 180-250 gr ağırlığında Spraque Dawley cinsi 6 adet dişi sıçan ve 20 adet yavru erkek sıçan kullanıldı. Çalışma grubunu oluşturan sıçanların tamamı KTÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nden sağlandı. Çalışma süresince sıçanların bakımı, beslenme ve barınması için KTÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nde bulunan sıçan takip odaları kullanıldı. Deney için kullanılan sıçanların tamamı Cerrahi Araştırma Merkezi'nden temin edildiği için çevre stresi ve uyum problemi yaşanmadı.

5.1.2. Laboratuvar Koşulları

Deney süresince laboratuvarın sıcaklığı ortalama $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, nisbi nem ortalama 50 ± 5 olarak ayarlandı. 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde aydınlatılma sağlandı. Sıçanlara içme suyu olarak çeşme suyu verildi. Tüm sıçanlara standart sıçan yemi ile beslendi. Çalışma süresince sıçanların barındırılmasında standart Tip III kafesleri kullanıldı (Resim 2).



Resim 2. Deney Hayvanlarının Barınmasında Kullanılan Tip III Kafesler (A, B)

5.1.3. Deneysel Çalışma Planı

Çalışmada iki düzenli siklus gösteren Spraque Dawley tipi dişi sıçanlar kullanıldı. Çalışmanın ilk günü dişi sıçanlar ile erkek sıçanlar, akşam aynı kafese alınarak çiftleşmeye bırakıldı. Ertesi gün vajinal smear ile gebelik tayini yapıldı ve smear örneğinde sperm görülen dişi sıçanlar gebe olarak kabul edildi ve o gün gebeliğin 0. günü olarak kabul edildi. Gebe olduğu tespit edilen 6 adet sıçan ağırlıklarına göre rastgele, her bir grupta 3 gebe sıçan olacak şekilde 2 gruba ayrıldı. Grupların özellikleri ve çalışma sırasında gruptaki sıçanlara uygulanan işlemler şu şekildedir (Tablo 1).

1. Grup: Kontrol grubu sıçanlar (n: 3): Bu grup sıçanlara gebelik süresince herhangi bir uygulama yapılmadı ve normal laboratuvar şartlarında stres olmaksızın yaşatıldı.

2. Grup: EMA etkisine maruz bırakılan grup (n: 3): Bu grup sıçanlara deney süresi boyunca, gebeliğin 13-21. günlerinde, her gün aynı saatlerde olmak üzere (10.00-11.00) 1 saat süreyle 900 MHz'lik EMA etkisi uygulandı.

Her iki gruba ait yeni doğan sıçanlara doğumdan sonra herhangi bir uygulama yapılmadı ve çalışma süresince anneleri ile birlikte doğal beslenmeye bırakıldılar. Her bir anne ve yavruları ayrı kafeslerde tutuldu. Deney süresinin bitiminde (postnatal 21. gün) her iki gruptan elde edilen yavru sıçanlar kendi grupları içerisinde dişi ve erkek olmak üzere cinsiyet ayrımına tabi tutuldu. Çalışmaya her bir gruptan rasgele seçilen 10 yavru erkek sıçan ile devam edildi ve yavru erkek sıçanlar aşağıdaki şekilde isimlendirildi.

1-E Grup (n:10): Kontrol grubu anne sıçanlardan elde edilen, yeni doğan erkek yavru sıçanlar.

2-E Grup (n:10): EMA grubu anne sıçanlardan elde edilen, yeni doğan erkek sıçanlar.

Tablo 1. Çalışma Grupları ve Özellikleri

Gruplar	Uygulama	Denek Sayısı
1. Grup	Herhangi bir uygulama yapılmadı	3
2. Grup	Gebeliğin 13-21. günleri arasında 1 saat 900 MHz EMA etkisi	3
1-E Grup	Herhangi bir uygulama yapılmadı	10
2-E Grup	Herhangi bir uygulama yapılmadı	10

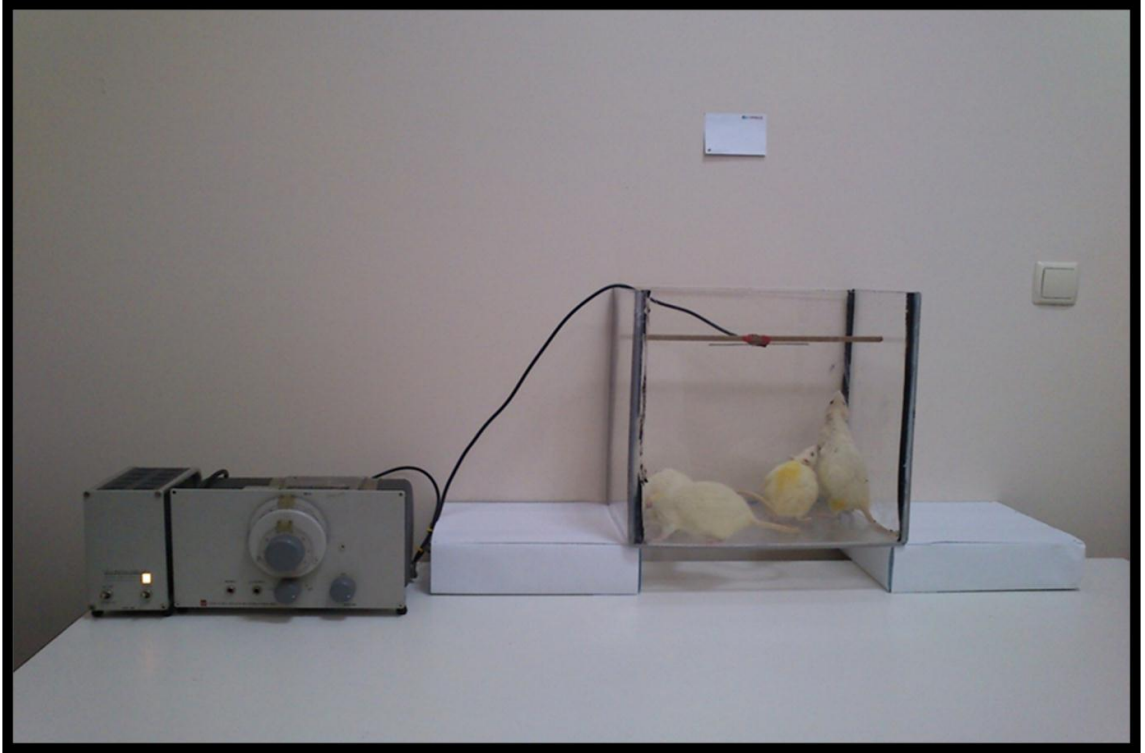
Çalışmanın deney aşaması, kan ve dokuların elde edilmesi işlemlerinin tümü KTÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nde özel olarak hazırlanmış hayvan takip ve cerrahi müdahale odalarında gerçekleştirildi. Uygulamalar her gün aynı saatler arasında (saat 10.00-11.00 arasında) yapıldı (Resim 4). Deney süresinin bitiminde (postnatal 21. gün) sıçanlar dekapitasyon yöntemi ile sakrifiye edildi.

5.1.4. Deney Düzenegi ve EMA'nın Oluşturulması

900 MHz frekanslı EMA oluşturulması için, çıkış gücü yaklaşık 300 mW ve frekansı 900 MHz'e ayarlı bir UHF (Ultra High Frequency) osilatörü kullanılmıştır. Osilatör çıkışı bir koaksiyel kablo yardımıyla 1 mm çapa sahip bakır bir çubuktan yapılmış yarım-dalga dipol antenine bağlanmıştır. Anten, pleksiglass malzemeden yapılmış bir fanusun açık yüzeyinden yaklaşık 7 cm içeriye, orta bölgesine yerleştirilmiştir (Resim 3). Sıçanlar bu fanus içerisine koyularak 1 saat süreyle 900 MHz'lik EMA'a maruz bırakılmışlardır. EMA düzenegi resim 3 ve 4'de gösterilmiştir.

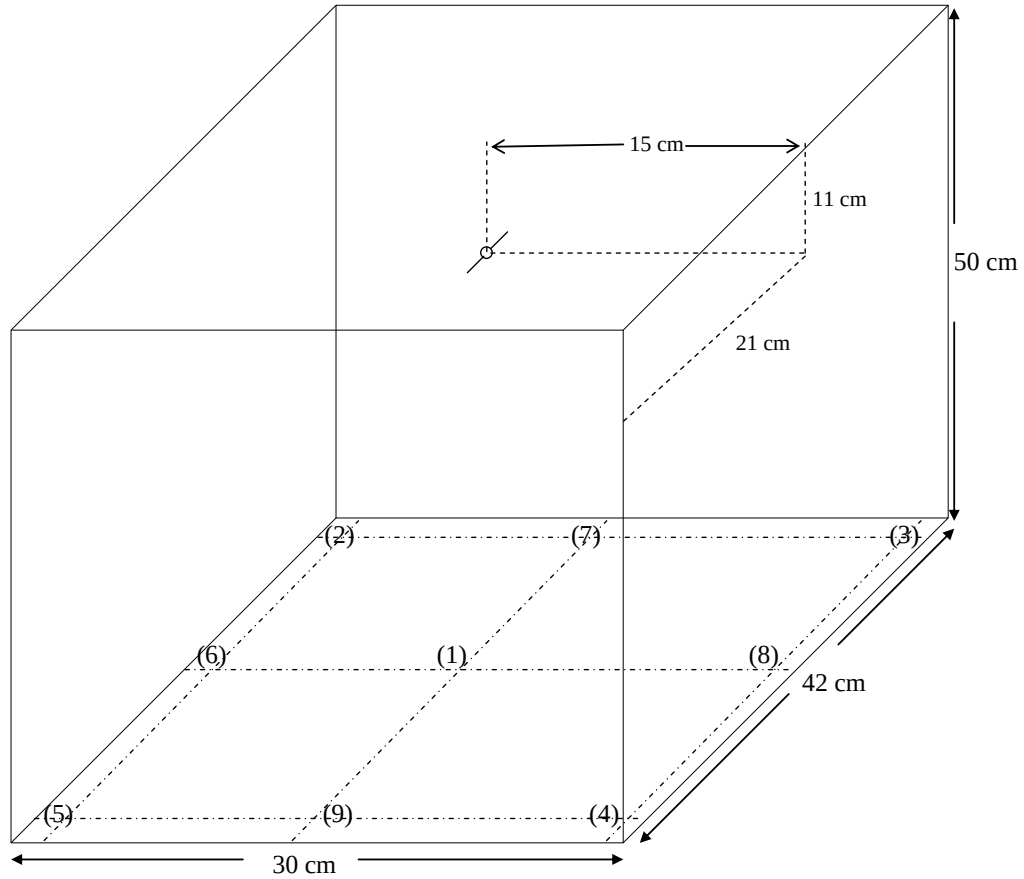


Resim 3. Elektromanyetik Dalga Düzenegi (Kafes boş)



Resim 4. Elektromanyetik Dalga Düzenegi (Kafes dolu)

Fanusun alt yüzeyinde, sıçanlar fanusun içindeyken ve fanus boş durumdayken elektrik alan şiddeti ölçüldü. Bu ölçümler 100 kHz-2.5 GHz ölçme aralığına sahip geniş bantlı bir alan ölçer cihazıyla (Chauvin-Arnoux) yapıldı. Ölçüm düzeneği ve bu düzende elektrik alan şiddeti ölçümlerinin yapıldığı noktalar şekil 6’da verilmiştir. Fanus boşken ve sıçanlar fanus içindeyken fanusun altından ve fanusun zemininden belirlenen konumlardaki ölçüm sonuçları, sırasıyla, şekil 7, şekil 8, şekil 9 ve şekil 10’da verilmiştir. Bu şekillerde ölçüm noktaları dışındaki ara değerler enterpolasyon yapılarak belirlenmiştir. Bu ölçümler, sıçanlar fanus içindeyken ve değilken, fanus içinde sıçanların bulunduğu bölgede elektrik alanının nasıl bir dağılım gösterebileceğini belirlemek amacıyla yapılmıştır.



Şekil 6. Ölçüm Düzeneği ve Ölçüm Noktaları

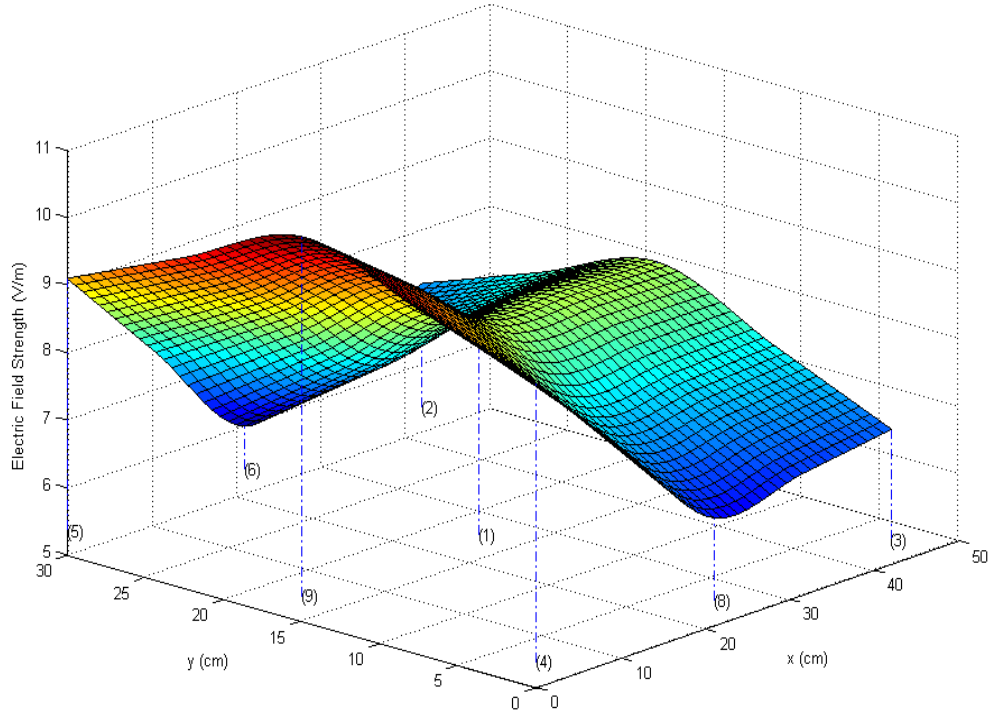
Aşağıda Şekil 7 ve şekil 8’de fanus boşken fanusun altından ve fanusun zemininden yapılan ölçümlere göre (Tablo 2, Tablo 3) elektrik alan şiddetinin dağılımı verilmiştir.

Tablo 2. Fanus Boşken Fanusun Altından Belirlenen Konumlardaki Ölçüm Sonuçları

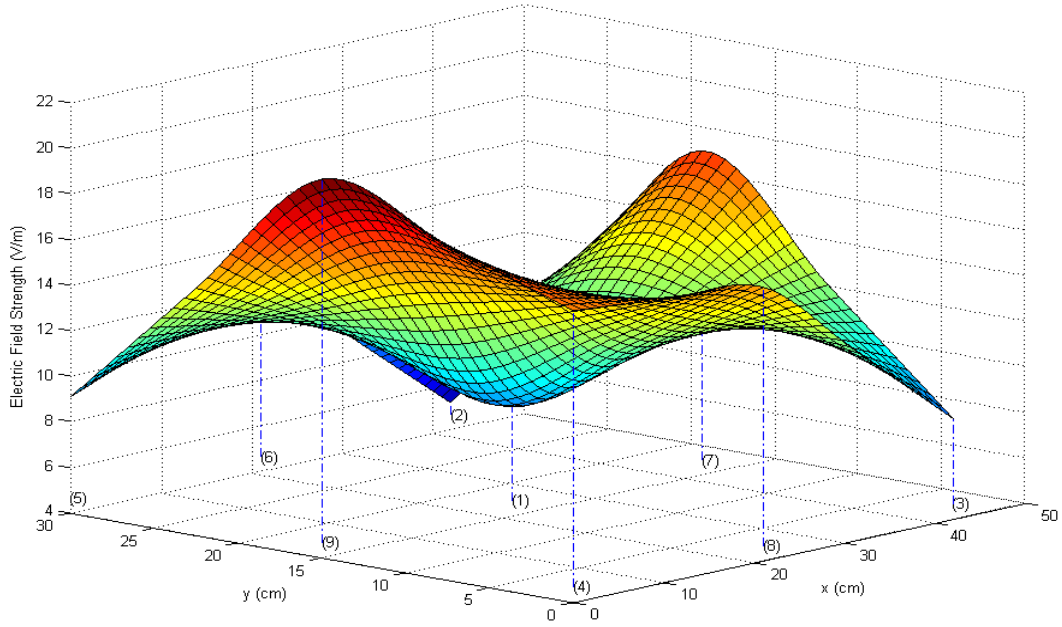
Konum	Alan Değeri (V/m)
1	8.6
2	7.2
3	7
4	9.5
5	9.1
6	6
7	8.5
8	6.6
9	10.7

Tablo 3. Fanus Boşken Fanusun Zemininden Belirlenen Konumlardaki Ölçüm Sonuçları

Konum	Alan Değeri (V/m)
1	8.8
2	5.2
3	8.4
4	16.8
5	9.1
6	12.5
7	18.2
8	16
9	20.6



Şekil 7. Fanus Boşken (Fanus Altı) Elektrik Alan Şiddetinin x-y Düzlemindeki Dağılımı



Şekil 8. Fanus Boşken (Fanus İçi, Zemin) Elektrik Alan Şiddetinin x-y Düzlemindeki Dağılımı

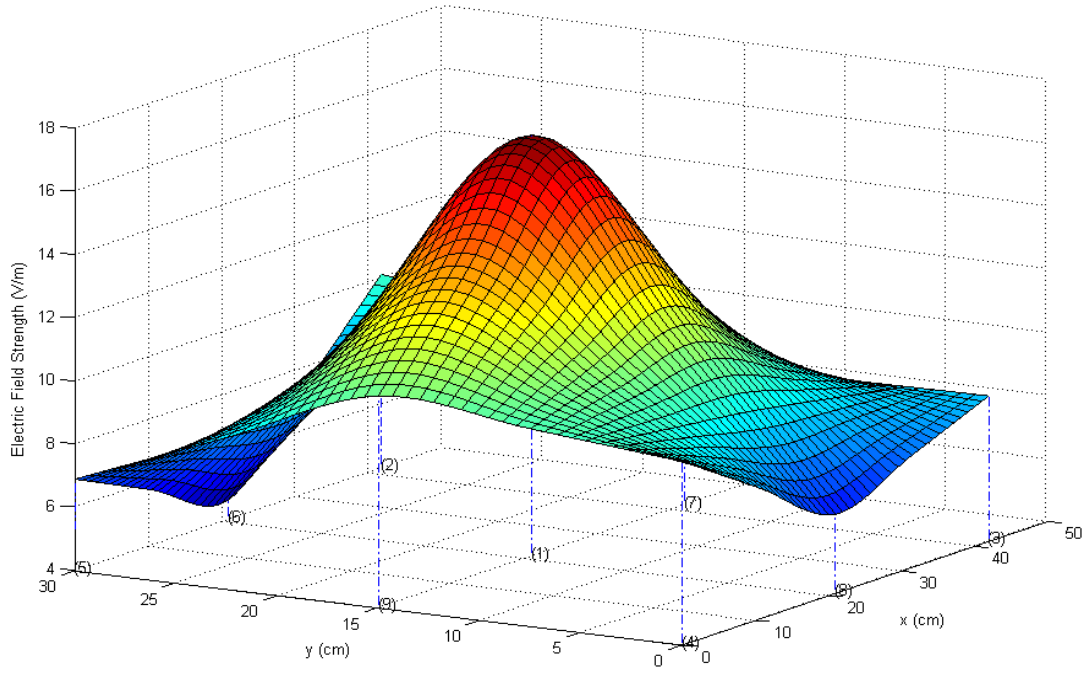
Şekil 9’da ve Şekil 10’da, sıçanların fanus içindeki hareket durumları ve kimi noktalarda kümelenmeleri gözlenerek belirli bir zaman aralığında elde edilen ölçüm sonuçlarının (Tablo 4, Tablo 5) ortalama değerlerinin konumsal dağılımı verilmiştir.

Tablo 4. Sıçanlar Fanus İçindeyken Fanusun Altından Belirlenen Konumlardaki Ölçüm Sonuçları

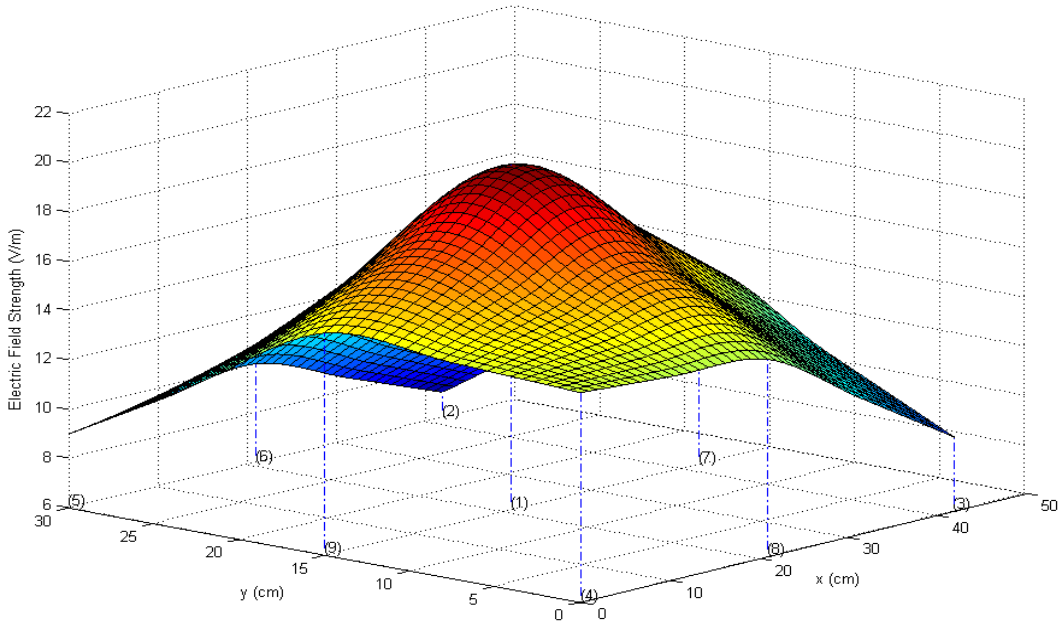
Konum	Alan Değeri (V/m)
1	17.3
2	10.1
3	8.6
4	9.8
5	6.9
6	4.6
7	8.5
8	6.5
9	10.7

Tablo 5. Sıçanlar Fanus İçindeyken Fanusun Zemininden Belirlenen Konumlardaki Ölçüm Sonuçları

Konum	Alan Değeri (V/m)
1	20
2	7
3	9
4	14.5
5	9
6	10
7	14
8	14
9	15



Şekil 9. Sıçanlar Fanusun İçindeyken (Fanus Altı) Elektrik Alan Şiddetinin Zaman Üzerinden Ortalama Değerinin Konumsal Dağılımı



Şekil 10. Sıçanlar Fanusun İçindeyken (Fanus İçi, Zemin) Elektrik Alan Şiddetinin Zaman Üzerinden Ortalama Değerinin Konumsal Dağılımı

Şekil 7 ve Şekil 8’de verilen dağılımlardan, fanus boşken ölçülen elektrik alan şiddetinin konumsal ortalaması fanus altında 8.13 V/m ve zeminde 12.84 V/m iken, Şekil 9 ve Şekil 10’da verilen dağılımlardan, sıçanlar fanus içinde olduklarında ölçülen elektrik alan şiddeti fanus altında 9.22 V/m ve zeminde ise 12.50 V/m olarak tespit edilmiştir. Buna göre, sıçanlar fanus içinde ortalama 10 V/m’lik bir elektrik alan şiddetine (0.265 W/m^2 lik güç yoğunluğuna) maruz bırakılmışlardır.

Bu değer cep telefonlarının görüşme modundayken yakın civarlarında yaratabilecekleri (cep telefonu modeli, konum, baz istasyonuna uzaklık ve bunlara benzer değişik durumlar için ortalama 1-10 V/m) elektrik alan şiddeti değeri olarak kabul edilmiştir. Bu değerler, ayrıca, ülkemizde Bilgi Teknolojileri ve İletişim Kurumu tarafından GSM-900 baz istasyonu sistemlerinde tek bir kaynak için belirlenen sınır değerlerdir (191). Tablo 6 ve 7’de kontrolsüz etkilenme için ICNIRP’nin belirlediği sınır değerler ve Türkiye’deki sınır değerler verilmiştir.

Tablo 6. Kontrolsüz etkilenme için ICNIRP’nin belirlediği sınır değerler, (191).

900MHz için sınır değerler	ICNIRP
Elektrik Alan Şiddeti	41.25 V/m
Manyetik Alan Şiddeti	0.111 A/m
Güç Yoğunluğu	4.5 W/m ²

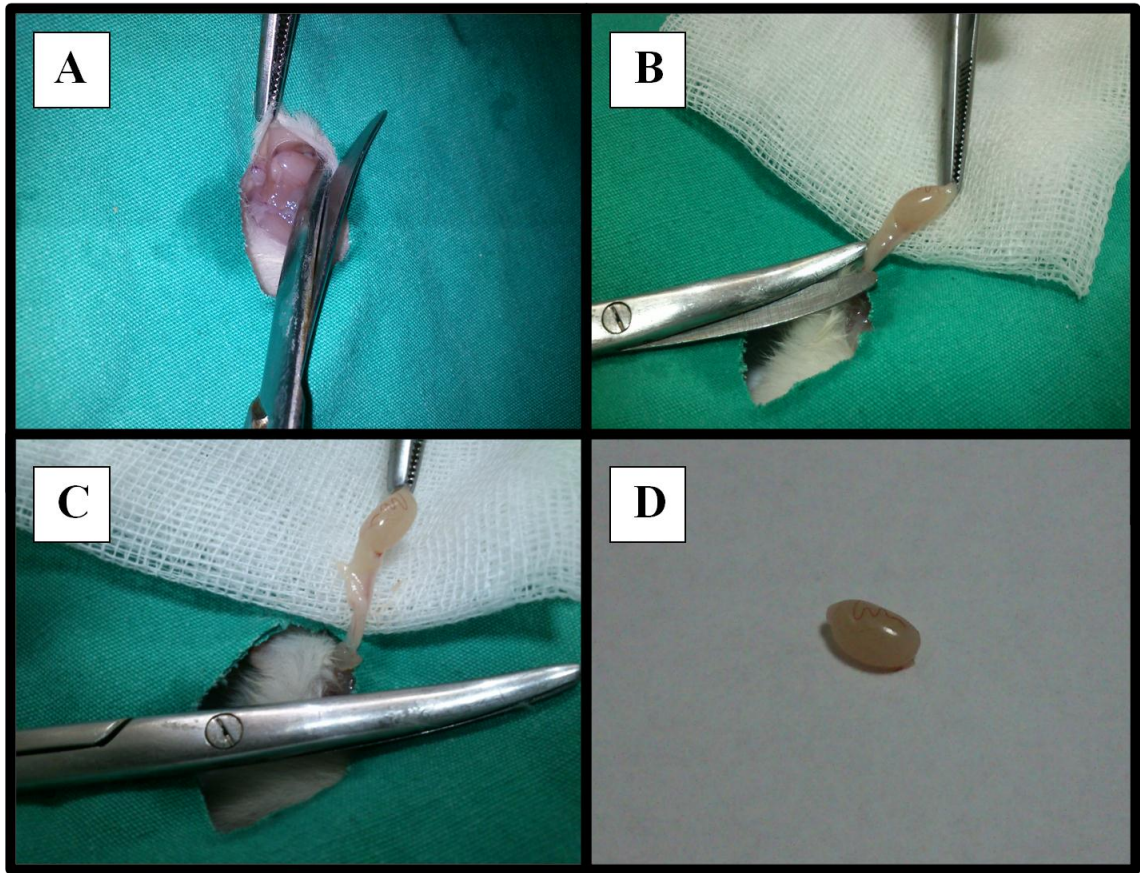
Tablo 7. Türkiye’de kontrolsüz etkilenme için belirlenen sınır değerler, (191).

Frekans	900 MHz	
	Tek bir cihaz için sınır değeri	Ortamanın toplam sınır değeri
Elektrik alan şiddeti	10.23 V/m	41.25 V/m
Manyetik alan şiddeti	0.027 A/m	0.111 A/m
Güç yoğunluğu	0.28 W/m ²	4.5 W/m ²

5.1.5. Kan ve Doku Numunelerinin Toplanması

Tüm hayvanlar deney süresinin bitiminde (postnatal 21. gün) derin anestezi (Ketalar 50 mg/kg) altındayken dekapitasyon yöntemi ile kurban edildi. Ardından biyokimyasal parametreler çalışılması için EDTA (etilen diamin tetra asetik asit)’li

(CBC tüpü) tüpe her bir sıçandan 2 cc kan örneği toplandı ve derhal hayvanların karın bölgesi açılarak testisleri çıkarıldı (Şekil 5). Çevre dokularından iyice temizlenen sağ testisler hassas terazide titizlikle tartıldı, ayrı ayrı kayıt altına alındıktan sonra vertikal olarak ikiye bölündü. Testislerin yarısı histolojik incelemeler için Bouin tespitine alındı. Diğer yarısı ise biyokimyasal analizler için 2 eşit parçaya ayrılarak eppendorf tüplerine konuldu ve - 80 derecede muhafaza edildi. Biyokimyasal analizler için alınan tüm doku ve kan numuneleri için KTÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki soğutucular kullanıldı.



Resim 5. Testislerin Çıkartılması (A, B, C). Testisin Makroskopik Görünümü (D).

5.1.6. Bouin Tespitinin Hazırlanışı

Dokuların tespitinde kullanılacak bouin solüsyonu aşağıdaki şekilde hazırlandı;

- Doymuş Pikrik Asit çözeltisi 75 ml
- Formaldehit (%37) 75 ml
- Glasiyal Asetik Asit 5 ml

Bouin tespitini hazırlamak için önce doymuş pikrik asit çözeltisi formaldehit ile iyice karıştırıldı, sonra üzerine yavaşça glasiyal asetik asit eklenerek tekrar karıştırıldı (192).

5.1.7. Işık Mikroskobu için Dokuların Hazırlanması

Dokuların takip, kesit alma ve boyanma işlemlerinin tümü KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Bouin solüsyonuna alınan testisler 3 gün ışık almayan kuru ortamda oda sıcaklığında saklandıktan sonra aşağıdaki aşamalardan sırasıyla geçirilerek parafin blok haline getirildi.

1. % 70'lik alkol..... 1 gün
2. % 90'lık alkol 1 gün
3. % 96'lık alkol 1 gün
4. % 100'lük alkol 1 gün
5. % 100'lük alkol 1 saat (1 kez)
6. Ksilen 5 dakika (3 kez)
7. Dokular eritilmiş parafin içerisinde 58 °C'de etüvde 3 kez15 dakika bekletildi ve sonrasında tekrar etüv içerisinde 2 saat bekletildi.
8. Dokular bloklandı.

5.1.8. Kesitlerin Alınması

Kesitler KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarındaki tam otomatik mikrotom (LEICA RM 2255, US) yardımıyla dokunun başlangıcına kadar 20 µm'lik kesitlerle trimlendi, dokuya ulaşıncaya 5 µm'lik ince kesitler

alındı. Alınan kesitler 45°C’de benmari içindeki sıcak su üzerinde kırışıkların açılması bekletildi ve lam üzerine alındı.

5.1.9. Hematoksilen-Eozin Boyama Yöntemi

Kesit alma işlemi tamamlandıktan sonra lam üzerine alınan dokular Hematoksilen&Eozin boyaması için zembile yerleştirildi. Parafinin erimesi için 1 saat 58°C etüvde bekletildi ve sırasıyla aşağıdaki işlemlerden geçirildi:

1. Ksilen 5 dakika
2. Ksilen 5 dakika
3. %100’lük alkol 5 dakika
4. %96’lık alkol 5 dakika
5. %70’lik alkol 5 dakika
6. Distile su 2-3 dakika
7. Hematoksilen 35 saniye
8. Musluk suyu 5 dakika
9. Asit alkol 1kez batırılıp çıkartılır
10. Distile su 1 dakika
11. Amonyaklı su 10 saniye
12. Distile su 1 dakika
13. Eozin 30 saniye
14. Distile su 1 dakika
15. % 70’lik alkol 5 dakika
16. % 96’lık alkol 5 dakika
17. %100’lük alkol 5 dakika
18. Ksilen 5 dakika
19. Ksilen 5 dakika
20. Entellan ile kapatıldı.

Hazırlanan preparatlarda seminifer tübül çapı ve germinal epitel kalınlığı KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Stereoloji Laboratuvarında

bulunan Olympus DP 71 (Japan) kameralı ışık mikroskopunda (Olympus, BX51, Japan) Analysis 5 Research (Olympus Soft Imaging Solution, Germany) programı kullanılarak hesaplandı. Seminifer tübüldeki spermatogenetik hücreler ve interstisyel alan, yine aynı mikroskopta incelendi ve fotoğrafları çekilerek dijital ortama aktarıldı.

5.2. İmmünohistokimyasal İşlemler

Testisteki apoptozisi değerlendirmek için TUNEL tekniği kullanılarak seminifer tübül germinal hücrelerinde DNA fragmantasyonları tanımlandı. Nekroz alanları bulunmayan, homojen boyanmış kahverengi nukleuslu TUNEL (+) hücreler apoptotik hücre olarak değerlendirildi. Her testiste 10 seminifer tübülde TUNEL (+) hücre sayısı ve toplam hücre sayısı bakılıp Apoptotik % (AI= TUNEL (+) hücre sayısı / toplam hücre sayısı x 100) hesaplandı (193).

5.2.1. TUNEL Boyama

TUNEL tekniği için In situ cell death detection kit, AP kullanıldı [(11 684 809 910 Roche (Mannheim, Germany)]. Lam üzerine alınan 5 µ'luk kesitler 1 saat 60°C'lik etüvde bekletildikten aşağıdaki işlemlerden geçirildi.

- 1) Oda ısısında 3x5 dk ksilende inkübe edilir.
- 2) %100 etanol 2x5 dk
3. %95 etanol 2x5 dk
4. %70 etanol 2x5 dk
5. Distile su ile yıkanır.
6. Oda ısısında 20 µg/ml Proteinase K 15 dk
7. PBS (phosphate buffer solution)'de yıkanır.
8. %3 H₂O₂'de 15 dk
9. Distile su ile yıkanır.
10. PBS'de 2x5 dk
11. Oda ısısında Large Volume UV (Ultraviyole ışın) block 10 dk
12. 75 µg Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) ve 50 µl TdT/dUTP karışımı ile dokular kaplanır, 37 °C'lik etüvde 1.5 saat nemli ortamda tutulur.

13. PBS’de yıkanır.
14. 100 µ converter peroksidaz dokuyu kapatacak şekilde kaplanır ve 37 °C’lik etüvde inkübe edilir.
15. PBS’de 3x5 yıkanır.
16. 100 µl DAP ile 5 dk karanlıkta oda ısısında beklenir.
17. Distile suda 1x2 kez yıkanır.
18. H&E ile 15 sn boyanır ve çeşme suyu ile yıkanır.
19. %70 etanol 2x5dk
20. %95 etanol 2x5 dk
21. %100 etanol 2x5 dk
22. Ksilen 2x5 dk
23. Kurutulup kapatılır.

5.3. Biyokimyasal İncelemeler ve Kullanılan Yöntemler

5.3.1. Doku MDA Tayini

Gerekli çözeltiler:

Doku homojenizasyon tamponu:

- % 1.15 lik KCl (potasyum klorür) çözeltisine % 0.05’lik (bir litre için 500 µL olacak şekilde) Triton X.100 konarak hazırlandı.
- %1’lik H₃PO₄
- TBA (tiyobarbitürik asit) : 0.67 g TBA tartılıp, 50 mL suda manyetik bar yardımıyla karıştırılarak üzerine 50 mL asetik asit ilave edildi.

MDA standartları:

MDA Standartları tetrametoksipropandan 0.01 M HCl (hidroklorik asit asitle) 50 °C’de 1 saat inkübe edilerek hidrolizle elde edildi. Stok MDA 10 nmol/ml (10 000nM)’dan 10nm/ml, 5 nm/ml, 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125 çözeltileri hazırlandı ve standartlar çift çalışıldı. Standartlara TBA’lı ve %1’lik H₃PO₄ (fosforik asit)’lü ve sonrasındaki uygulamalar yapıldı.

Deneyin Yapılışı:

1. 50mg (0.05g) doku tartıldı ve işlemler buz üzerinde gerçekleştirildi.

2. Tüplerin üzerine önceden hazırlanan 2 mL doku homojenizasyon tamponu koyulur.
 3. 0.05 g olarak tartılan dokular homojenizasyon için uygun tüplere konuldu.
 4. Homojenizasyon buz üzerinde yapıldı.
 5. 3000 rpm’de 10 dk santrifüj edildi.
 6. Santrifüj işlemi sonunda üstte kalan süpernatantlardan 500 µL alınıp, diğer tüplere koyuldu.
 7. Bu tüplerin üzerine 3mL %1’lik H₃PO₄ ve 1mL TBA eklendi.
 8. 100°C’de 45 dk inkübasyona bırakıldı.
 9. Tüpler 4000 rpm’de 10dk santrifüjlendi.
- Elisa pleytlerine 300 µL pipetlendi ve 532 nm’de absorbans okundu (194).

5.3.2. Plazma DNA Oksidasyonu (8-OhdG) Tayini

Plazmada DNA oksidasyonu tayini ‘CSB-E10526r’ katalog numaralı Cusabio ‘Rat 8-Hydroxy-desoxyguanosine (8-OHdG) ELISA Kit’i prosedürüne uygun şekilde yapıldı.

5.4. İstatistiksel Analizler

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, version 13.1, SSPS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanıldı. Her bir gruba ait biyokimyasal ve diğer sayısal veriler ortalama $\pm$ standart sapma (SS) olarak verildi ve Kruskal Wallis varyans analizi (post hoc olarak Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi) ile karşılaştırıldı. Tüm karşılaştırmalarda $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

6. BULGULAR

6.1. Testis Ağırlığına Ait Bulgular

Kontrol ve deney gruplarına ait sıçanların testis ağırlıklarının karşılaştırması Tablo 8’de verilmiştir. Elde edilen istatistiksel verilere göre EMA grubunun testis ağırlığı Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmadı.

Tablo 8. Deney Gruplarının Testis Ağırlığına Ait Ortalama ve Standart Sapmalar

	Testis ağırlığı (gr)	
	Sağ Testis	Sol Testis
Kontrol	0,6800 ± 0,33027	0,6478 ± 0,31424
EMA	0,6030 ± 0,28875	0,6710 ± 0,24260

6.2. Morfometrik Bulgular

Deney gruplarına ait seminifer tübül çapı ve germinal epitel kalınlığına ait yapılan ölçüm sonuçları Tablo 9’da verilmiştir. Elde edilen istatistiksel verilere göre EMA grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında seminifer tübül çapında ve seminifer epitel kalınlığında istatistiksel açıdan anlamlı derecede azalma meydana geldiği gözlemlendi.

Tablo 9. Deney Gruplarına Ait Morfometrik Ölçümlerin Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

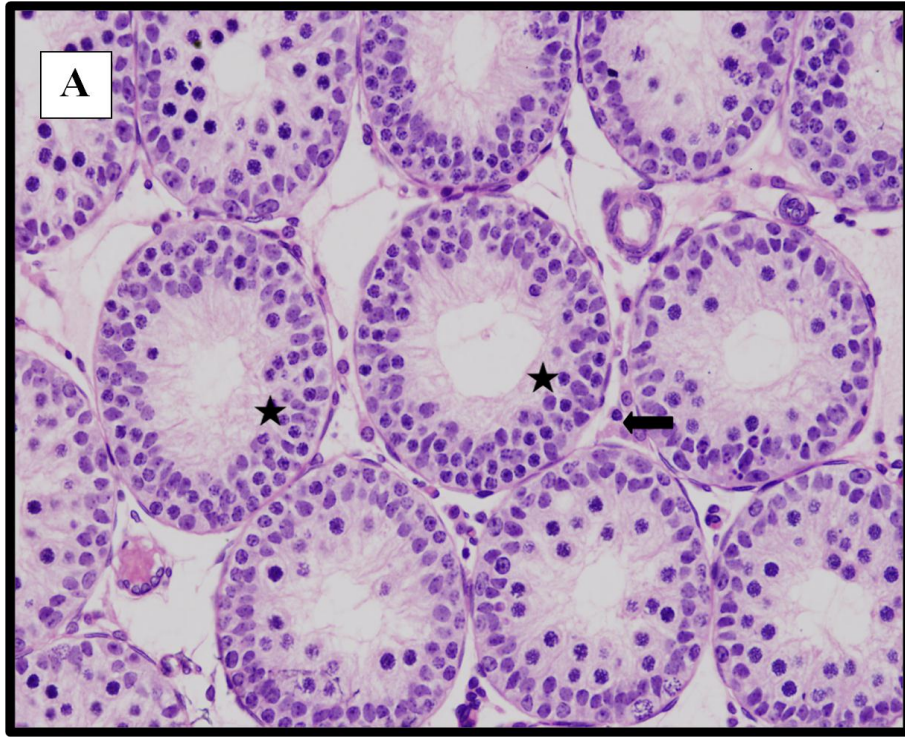
Gruplar	Seminifer Tübül Çapı (µm)	Germinal Epitel Kalınlığı (µm)
Kontrol	110,0398 ± 6,06800	45,1309 ± 1,91190
EMA	94,2854 ^a ± 6,94162	34,6694 ^b ± 3,02063

^a EMA grubundaki değerler kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azalmıştır (p<0,05).

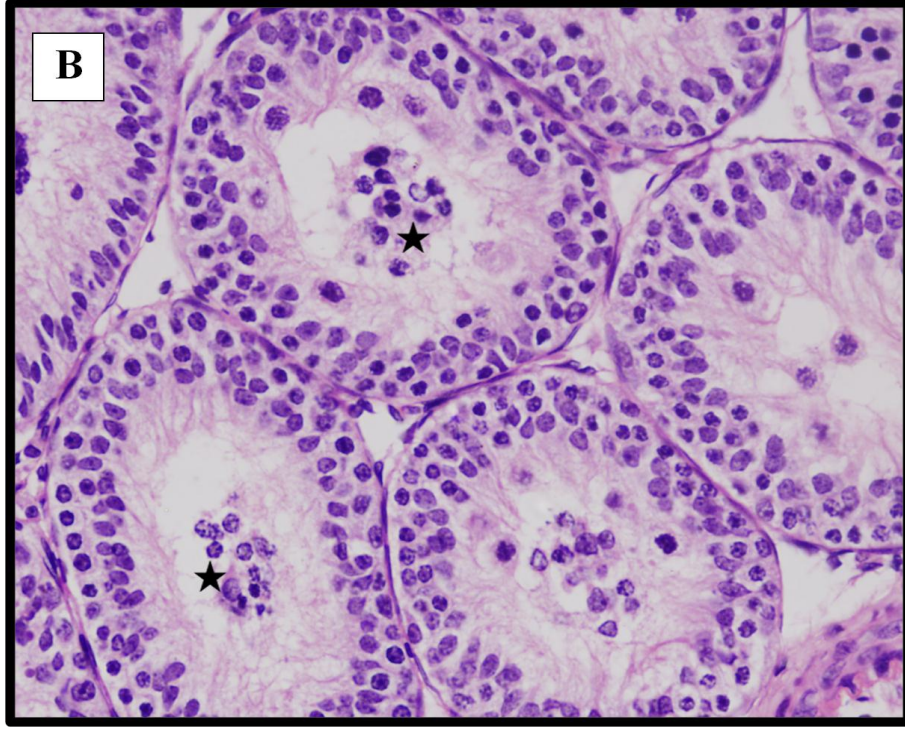
^b EMA grubundaki değerler kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azalmıştır (p< 0,05).

6.3. Morfolojik Bulgular

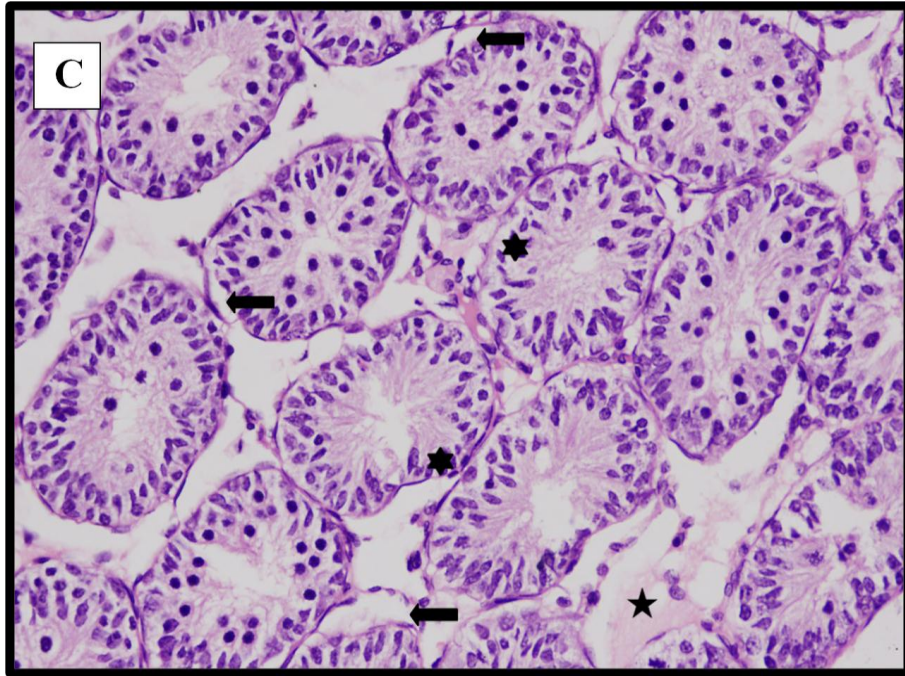
Testis dokusunun histolojik incelemesinde; Kontrol grubuna ait testis kesitlerinde, normal yapıda seminifer tübüller, interstisyel dokuda Leydig hücreleri ve spermatogenik seriye ait hücreler izlendi ve herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı (Resim 6). EMA grubuna ait testis kesitlerinde ise seminifer tübül bazal membranında düzensizlikler, lümende olgunlaşmamış germinal epitel hücreleri, seminifer tübül germinal epitelinde düzensizlikler ve seminifer tübül çapında azalma izlendi (Resim7, Resim 8).



Resim 6. Kontrol Grubuna (A) Ait Testis Dokusu. Kontrol grubuna ait normal yapıdaki testis dokusunda seminifer tübüller (★) ile aralarındaki interstisyel bağ doku (←) izlenmektedir (H&E, X400).



Resim 7. EMA Grubuna (B) Ait Testis Dokusu. Olgunlaşmamış germinal hücrelerin lümene dökülmesi (★) dikkat çekmektedir (H&E, X400).



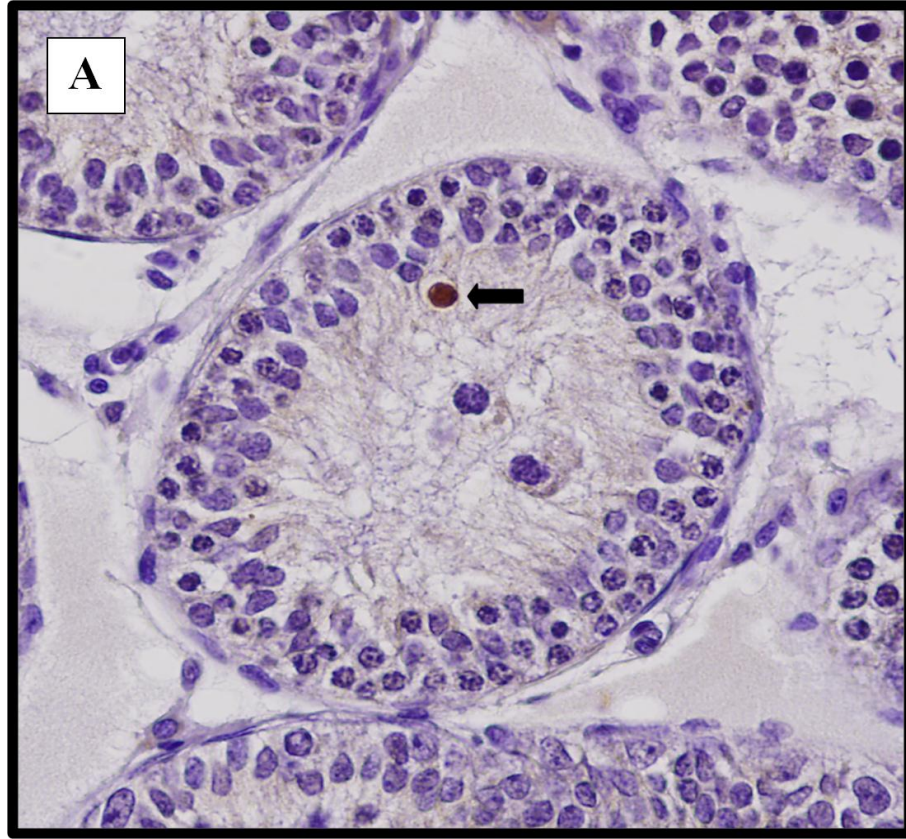
Resim 8. EMA Grubuna (C) Ait Testis Dokusu. Testis dokusunda bozulmuş seminifer tübül yapısı (★), germinal epitelin bazal kompartımandan ayrılması (←) ve intersitisyel alanda ödem (★) dikkati çekmektedir (H&E, X400).

Deney gruplarına ait testis dokularında TUNEL tekniği ile değerlendirilen AI Tablo 10, Resim 9 ve 10'da verildi. Apoptotik indeks değerlendirmesine göre; AI'in EMA grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde arttığı görüldü.

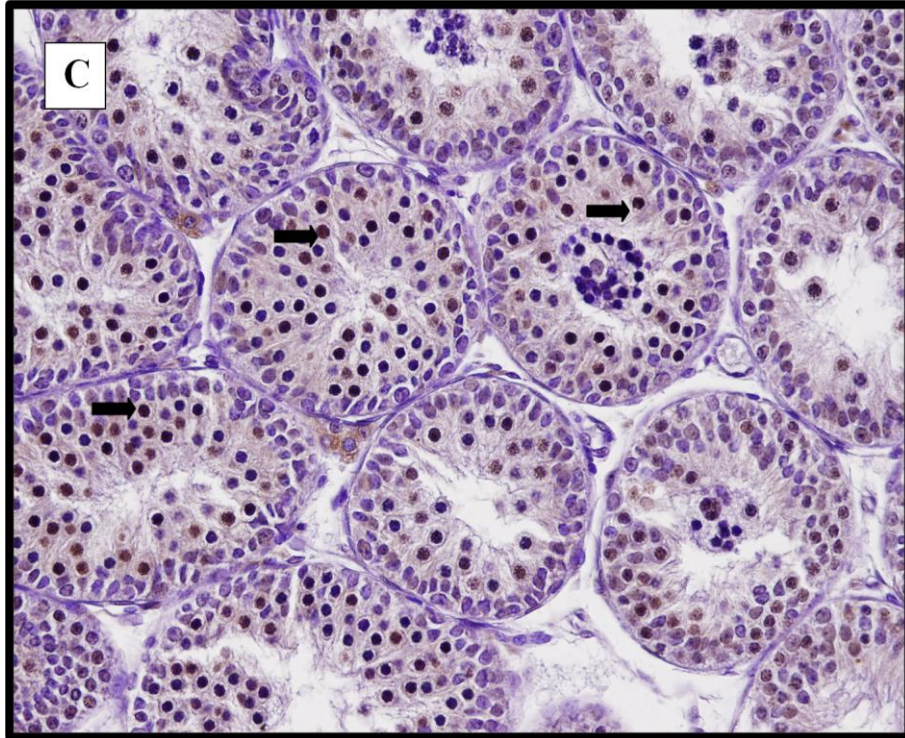
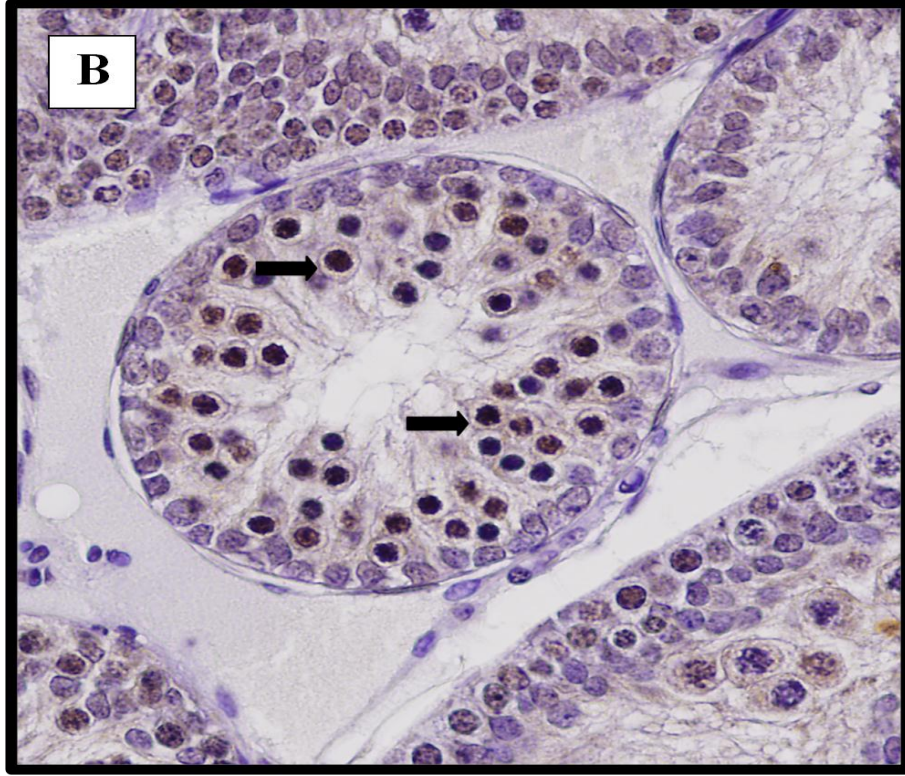
Tablo 10. Deney Gruplarına Ait AI Değerlendirmesi

Gruplar	Apoptotik İndeks (%)
Kontrol	$3,4219 \pm 0,96298$
EMA	$18,3903^a \pm 2,12225$

^a EMA grubundaki değerler kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde artmıştır ($p < 0,05$).



Resim 9. Kontrol Grubu (A) Ait Testis Dokusunda Gözlenen TUNEL (+) Hücreler (←) (TUNEL X400).



Resim 10. EMA Grubuna (B, C) Ait Testis Dokusunda Gözlenen TUNEL (+) Hücreler (➡) (TUNEL X400).

6.4. Biyokimyasal Parametrelere Ait Bulgular

Deney gruplarına ait dokuda MDA ve plazmada DNA oksidasyonu (8-OhdG) sonuçları Tablo 11’de verildi. Elde edilen bulgulara göre doku MDA ve plazmada DNA oksidasyonu seviyesinin EMA grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı gözlemlendi.

Tablo 11. Deney Gruplarına Ait Biyokimyasal Parametrelere ait Bulgular

Gruplar	Doku MDA (nmol/g protein)	Plazma 8-OhdG (ng/mL)
Kontrol	2,0853 ± 0,64484	1,4263 ± 0,58994
EMA	3,2120 ^a ± 0,78694	4,6978 ^a ± 2,69124

^a EMA grubundaki değerler kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde artmıştır (p<0,05).

7. TARTIŞMA

Günümüzde radyo, televizyon, bilgisayar ve cep telefonu gibi cihazların gündelik hayatımıza daha fazla girmeleri ile birlikte insanlar artık EMA etkisine daha fazla maruz kalmaktadırlar (195). Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere tüm dünyada cep telefonu kullanıcılarının sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Teknoloji ile iletişimin bir çok aşamasında, yüksek frekans emisyon spektrumuna sahip yeni teknolojilerde yoğun olarak kullanılmaya başlamıştır. Özellikle cep telefonu kullanımına bağlı olarak EMA'a maruz kalma, canlılarda oluşturacağı olası etkileri hakkındaki endişelerin artmasına neden oldu (196). Cep telefonları ve baz istasyonları tarafından üretilen EMA'nın etkileri, frekansları ve güçleri ile ilgilidir (197). EMA'nın dokular üzerinde termal ve termal olmayan (kimyasal) etkiler olmak üzere iki farklı tür etkisi vardır. Termal etkiler yerel ısı üretimi ile ilişkili iken, termal olmayan etkiler doğrudan sıcaklık değişimi ile ilişkili değil, enerji emiliminin dokularda meydana getirdiği bazı değişiklikler ile bağlantılıdır (198). Yüksek frekanslı EMA'ların biyomoleküllerin sentezi [DNA, ribonükleik asit (RNA) ve protein], hücre bölünmesi, kanser oluşumu, kalsiyum alışverişi, doku ve hücre yüzeyinde membran bağlantıları üzerinde ısı nedeniyle zararlı etkileri vardır. Fizyolojik ve biyokimyasal olarak doku ve hücrelerde solunum yetmezliği, doku ve hücrelerin hormonal cevaplarında değişiklik, nötrofil popülasyonunda azalma, karbonhidrat, nükleik asit ve protein metabolizmasında değişiklik, farklı antijenlere karşı bağışıklık yanıtının etkilenmesi, serbest radikallerin artması gibi etkileri de kaydedilmiştir (199).

Embriyonik dönem, birçok çevresel değişikliğin fetüsün anatomisini ve canlılığını etkileyebilmesi nedeniyle gelişimin kritik bir aşaması olarak kabul edilir. İyonlaştırıcı olmayan radyasyon gibi dış etkenler ve etkileri teratolojik olarak çeşitli türlerde incelenmiştir. GSM sistemlerinin kullanmış oldukları 800 ile 1950 MHz frekans aralığı prenatal dönemde EMA etkisine maruziyette endişe sınırları içerisinde yer almaktadır (200). Dolayısıyla gebelik döneminde cep telefonu kullanımının gelişen embriyo/fetüs üzerindeki yaygın etkilerinin de araştırmacıların oldukça ilgisini çektiği görülmektedir. Ancak EMA'ların embriyo ve fetüs üzerinde nasıl bir etkisi olduğu veya olabileceği halen tartışma konusudur. Yapılan çalışmaların önemli bir kısmında EMA etkisinin

embriyo ve fetüs gelişimini etkileyebileceği, bunun da hayati organların normal gelişim sürecini bozabileceği iddia edilmektedir (11).

Elektromanyetik alanların biyolojik sistemler üzerindeki olası etkilerini değerlendirmek üzere yürütülen araştırmalar tartışmalıdır. Pek çok çalışma EMA'nın spermatogonium üzerine sitotoksik etkileri, artan apoptoz insidansı, spermatogenezin yavaşlaması, germ hücrelerinin dejenerasyonu, testiküler biyopsi skorunda azalma, günlük sperm üretiminde azalma, sıçanlarda doğurganlığın azalması ve insanlarda sperm kalitesi üzerine etkisi gibi spermatogenezis ve erkek fertilitesi üzerine olan olumsuz etkilerini rapor etmiştir (147, 148, 149, 150, 151). Bazı çalışmalarda ise bu çalışmaların aksine, erkek üreme sisteminde EMA'ya bağlı olarak meydana gelen hiçbir değişikliğin olmadığı ifade edilmektedir (201, 202).

Reaktif oksijen türleri (ROS) sürekli olarak metabolik süreçler sırasında küçük miktarlarda üretilir. Son çalışmalar EMA'nın ROS üretimini artırabileceğini böylece oksidatif strese yol açabileceğini göstermiştir. Manyetik alanlar hücrelere penetre olabilir, böylece hücre membran potansiyelini ve iyon konsantrasyonunu değiştirebilir. Bu değişiklikler hücre içinde serbest radikal süreçlerini etkileyebilir. EMA maruziyeti sonucunda serbest radikal oluşumuna bağlı değişiklikler gen ekspresyonunu, sinyal iletimini, enzim regülasyonunu etkileyebilir, hücre zarının yapısını değiştirebilir ve DNA hasarına neden olabilir. Hücresel düzeyde artmış serbest radikal aktivitesi lipid peroksidasyon artışı ile sonuçlanır ve MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür. Lipid peroksidasyon ürünleri membran hasarı sonucu plazma içine salınır ve MDA hücre membran hasarının bir göstergesi olarak kullanılabilir (203, 204, 205).

EMA'nın ROS üretimini artırması ve buna bağlı olarak DNA kırıklarına, kromozomal anomalilere, çeşitli hücre ölümlerine, endojen kimyasal ürünlerin aktivasyonuna ve hücre streslere neden olduğu bildirilmektedir. EMA sonucunda meydana gelen ROS direkt olarak DNA üzerine etkilidir ve en fazla oksidatif hasara maruz kalan baz guanindir. Guanin-sitozince zengin bölgelerde bulunan Cu^{+2} iyonları DNA'nın özellikle guanin bazlarına yüksek afinite ile bağlanır ve H_2O_2 ile etkileşime girerek 8-OHdG oluşumuna neden olur. Böylece DNA hasarını başlatır ve bu nedenle 8-OHdG en yaygın ölçümlenen baz hasarıdır (206, 207). Sıçanlarda yapılan çalışmalarda 900 MHz'lik EMA etkisinden kaynaklanan artan oksidatif stresin, endometriumda histopatolojik bozukluğa yol açtığı (208), hücre döngüsünü etkileyerek ve apoptotik

oranı artırarak prostat kanserine neden olduğu (209), insan fibroblastlarında ve sıçan gronülosa hücrelerinde DNA kırıklarına yol açtığı (210), hamster akciğer hücrelerinde DNA hasarına neden olduğu (211), farelerin epididimal spermatozoalarında ve embriyonik kök hücrelerinde DNA kırıklarına neden olduğu gösterilmiştir (212, 213).

Hücre ölümünün apoptozis, otofajik hücre ölümü ve nekrozis olmak üzere üç formu vardır. Apoptozis genetik olarak kontrol edilir, normal gelişimde ve doku homeostazında önemli bir rol oynar. Bu durum normal gelişim sırasında bazı hücre türlerinde görülen programlanmış hücre ölümü ya da kimyasallar, sıcaklık, kötü beslenme, radyasyon gibi çeşitli dış etkenler tarafından indüklenen stres kaynaklı apoptoz olarak adlandırılır. Genel olarak apoptotik hücre ölümü morfolojik kriterler tarafından tanımlanır ve esas olarak sitoplazmik organeller ve büyük yapısal değişiklikler olmaksızın, nükleer yoğunlaşma ve DNA fragmentasyonu ile karakterize edilir. In vitro bazı çalışmalarda EMA'nın hücre ölümüne, sıçanlar ve fareler üzerinde yapılan in vivo çalışmalarda da DNA hasarına ve apoptozise neden olduğu gösterilmiştir (214).

Türkiye'de kullanılan hücresel haberleşme sistemleri GSM900 ve DCS1800'dür. GSM900'ün çalışma frekans bandı 880–960 MHz, DCS1800'ün frekans bandı ise 1710–1880 MHz'dir (191). GSM900 ve DCS1800 sistemleri arasındaki tek fark kullandıkları frekans bandları olup, ülkemizde GSM900 sistemini Turkcell ve Vodafone operatörleri kullanırken DCS1800 sistemini ise Avea operatörü kullanmaktadır. Bizler çalışmamızda ülkemizde yaygın olarak kullanılan GSM operatörlerinin kullandığı 900 MHz'lik EMA frekansına sıçanları maruz bıraktık. Çalışmamızda günlük hayatımızdaki cep telefonu kullanımına deneysel modelimizi benzetmek amacı ile EMA frekansını sabit tuttuk ve çalışmamızın amacını prenatal dönemde uygulanan 900 MHz'lik elektromanyetik alanın yavru sıçanların testisi üzerine olan etkisini araştırmak olarak belirledik.

Lee ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada EMA etkisine maruz kalma sonucunda testis ağırlığında istatistiksel açıdan bir değişim olmadığını söylerken (215), yine benzer şekilde Ozguner ve arkadaşlarının günde 30 dk haftada 4 kez 5 hafta boyunca 900 MHz EMA etkisine maruz bıraktıkları sıçanların testis ağırlığında herhangi bir değişiklik tespit edememişlerdir (216). Bu çalışmalar çalışma bulgularımızı destekler niteliktedir. Çalışmamızda EMA grubunun testis ağırlığı kontrol grubunun

testis ağırlığı ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu bulgular prenatal dönemde 900 MHz EMA maruziyetinden sonra postnatal dönemde testis dokularında ağırlık kaybına neden olacak ciddi bir parankimal atrofinin ortaya çıkmadığını düşündürmektedir.

Çalışmamızda prenatal dönemde uygulanan 900 MHz'lik elektromanyetik alanın, yavru erkek sıçanların testis seminifer tübüllerinde çeşitli tipte morfolojik hasarlara neden olduğu görülmüştür. Işık mikroskopik düzeyde yaptığımız değerlendirmelerde testis dokusunda seminifer tübül bazal membranında düzensizlikler, lümende germinal epitel hücreleri ve seminifer tübül germinal epitelinde düzensizlikler izlendi. Bu histopatolojik hasarların spermatogenetik döngünün bozulmasına sebep olabileceği kanaatindeyiz. Ozlem ve ark tarafından yapılan bir çalışmada seminifer epitelde şiddetli vakuoler dejenerasyon, nekroz ve deskuamasyon rapor edilmiş ve bu çalışmada elde edilen veriler, çalışma verilerimizi destekler niteliktedir (217).

Çalışmamızda prenatal dönemde uygulanan 900 MHz'lik elektromanyetik alanın, yavru erkek sıçanların testisi üzerindeki etkisini morfometrik olarak ortaya koymak için, seminifer tübül çapı ve seminifer epitel kalınlığı ölçülmüştür. Çalışmamızda EMA maruziyeti sonucunda yavru erkek sıçanların seminifer tübül çapı ve seminifer epitel kalınlığında anlamlı derecede azalma gözlemlendi. Bu bulgumuz bazı çalışmalar tarafından desteklenirken, bazı çalışmalarda ise bizim bulgumuzun tersine sonuçlar rapor elde edilmiştir. Örneğin Saygin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada EMA grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında seminifer tübül çapında ve seminifer epitel kalınlığında istatistiksel açıdan bir fark olmadığı belirtilirken (218), Ozguner ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ise azalma meydana geldiği gösterilmiştir (216). Tenorio ve arkadaşlarının prenatal dönemde maruz kalan EMA etkisi sonucunda testiste meydana gelen morfometrik değişiklikleri incelediği çalışmada da istatistiksel açıdan seminifer tübül çapında ve epitel kalınlığında azalma meydana geldiği rapor edilmiştir (11). Bu çalışmanın sonuçları bizim bulgularımızı destekler niteliktedir.

EMA kaynaklı testis toksisitesi üzerine kemiriciler üzerinde birçok çalışma yapılsa da germ hücrelerindeki apoptozise neden olan süreç üzerinde çok az çalışma yapılmıştır. Apoptozun hangi tipte germ hücrelerini daha çok etkilediğini araştıran çalışmalarda ilk olarak spermatogoniumların, daha sonra ise erken ve geç spermatositler ile spermatidlerde apoptozun gerçekleştiği belirtilmiştir (219). Beumer ve arkadaşları

radasyona bağlı testiküler hasarı germ hücre düzeyinde inceledikleri çalışmalarında spermatogoniumlarda orta düzeyde apoptoz saptarken, erken ile geç spermatosit ve spermatidlerde ileri derecede apoptoz belirlemişlerdir (220). Çalışmamızda testiste EMA kaynaklı apoptozisin olup olmadığını değerlendirmek ve DNA fragmentasyonunu saptamak amacıyla TUNEL tekniği kullandık.

Saygın ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada EMA maruziyeti sonucunda seminifer tübüllerde immunohistokimyasal olarak Kaspaz-8 ve Bax değerlendirmesi yapılmış ve EMA grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında apoptoziste artış olduğu gözlenmiştir (218). Lee ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada da 60 Hz lik EMA'nın TUNEL (+) spermatogoniumların sayısında anlamlı bir artışa neden olduğu ancak akım sitometri yöntemi ile gösterilen hücre sağ kalımında önemli ölçüde bir değişiklik olmadığı gösterilmiştir (148). Bizim çalışmamızda da prenatal dönemde EMA etkisine maruz kalan grupta TUNEL tekniğine göre spermatogenetik hücrelerdeki AI'nın, kontrol grubuna göre artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. TUNEL (+) hücre tutulumunun da diğer spermatogenetik hücrelerle birlikte en çok spermatogoniumlarda yoğunlaştığı görülmüştür. Çalışmamız bu yönüyle de Yin ve arkadaşlarının çalışma sonuçları ile uyumluluk göstermektedir (219). Bu sonuçlara göre EMA kaynaklı germ hücre dejenerasyonunda hedef hücre kitlesini belirlemekte TUNEL tekniğinin kullanımının uygun olduğunu kanaatindeyiz. Ayrıca bu sonuçlardan yola çıkarak prenatal dönemde EMA maruziyetinde başlangıç olarak spermatogoniumlar etkilendiği için seminifer tübüllerde diğer spermatogenetik hücrelerin bütün olgunlaşma safhasında geri dönüşümsüz bir hasar oluşturabileceğini düşünmekteyiz.

Superoksit iyonu ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil ($OH^{\cdot-}$) radikali, peroksil (RO_2) ve alkoksil (RO) radikal ve bununla birlikte radikal olmayan O_2 , ozon (O_3) ve H_2O_2 içeren ROS normal metabolizmalarda oksijen kullanımı boyunca üretilir ve erkek üreme sisteminde gereklidir. Fakat aşırı ROS üretimi lipid peroksidasyona bağlı olarak oksidatif stres ile sonuçlanır. EMA'nın testiste toksik etkiye sebep olan mekanizma için direk oksidatif stres oluşturduğu ve bunu da lipid peroksidasyon üreterek DNA hasarına sebep olduğu görüşünden yola çıkarak bu çalışmada oksidatif stres belirteçlerinden biri olarak doku MDA düzeyleri incelendi. Bunun nedeni artan MDA seviyesinin lipid peroksidasyonu ve dolayısıyla doku hasarını göstermesidir (221). Bizim çalışmamızda doku MDA düzeyleri EMA grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede

yüksek bulundu. EMA'nın etkilerinin diğer dokularda ve testiste araştırıldığı çalışmalarda doku MDA düzeylerinin uygun bir parametre olduğu gösterilmiş ve dokularda oksidatif stres oluşturularak yapılan çalışmalarda da doku hasarının belirteci olarak MDA kullanıldığı görülmüştür (131).

Meral ve arkadaşlarının beyin dokusu üzerinde yaptıkları çalışmada cep telefonları tarafından yayılan EMA'nın MDA seviyesini yükselterek oksidatif strese neden olabileceğini göstermişlerdir (222). Yine Ozguner ve arkadaşlarının 900 MHz EMA yayan cep telefonunun reaktif oksijen türlerinin üretimini nasıl etkilediği ve sonucunda yol açtığı oksidatif stresini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada lipid peroksidasyonu göstermek amacıyla MDA seviyeleri değerlendirilmiş ve kontrol grubuyla kıyaslandığında MDA seviyelerinde artış gözlenmiştir (223).

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Oksijen, O^{2-} grubuna bazı demir-kükürt içeren yükseltgenme-indirgenme enzimleri ve flavoproteinlerin etkisiyle indirgenir. Oksidatif stres sperm hasarı ve infertilite açısından kritik rol oynamaktadır. Spermatozoa ROS'a karşı çeşitli enzimatik antioksidanlar, vitaminler ve glutatyon gibi biyomoleküller ile mücadele etmektedir (224). Son derece etkin olan ve hücre hasarına yol açan süperoksit anyonu, bakırlı bir enzim olan SOD aracılığıyla H_2O_2 ve oksijene çevrilir. Ancak Cu^{+2} iyonları DNA'nın özellikle guanin bazlarına yüksek afinite ile bağlanır ve H_2O_2 ile etkileşime girerek 8-OhdG oluşumuna neden olur. Böylece DNA hasarını başlatır (207). Bu nedenle biz de çalışmamızda DNA oksidasyon göstergesi olan 8-OhdG parametresini inceledik.

Tomruk ve arkadaşlarının gebelik döneminde maruz kalınan cep telefonu kaynaklı EMA'nın yeni doğanlarda oksidatif DNA hasarı üzerine olan etkisini araştırdıkları çalışmalarında kontrol grubu ile EMA grubu arasında istatistiksel bir anlam olmadığını gösterirken (225), Sarkar ve arkadaşlarının fareler üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında EMA'nın testis dokusunda DNA segmentlerine ve kırılmalara neden olduğunu göstermiştir (226). Bizim çalışmamızda da plazmada DNA oksidasyonu seviyesi EMA grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı gözlemlendi.

Sonuç olarak çalışmamızın, prenatal dönemde uygulanan 900 MHz EMA etkisine maruziyetin yavru sıçanların testis gelişimini olumsuz olarak etkilediğini, doğumdan

sonra da bu etkinin 21. güne kadar testis morfolojisinde düzensizlikler şeklinde devam ettiğini göstermektedir.

8. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Prenatal dönemde 900 MHz EMA etkisine maruz bırakılan yavru sıçanların testisi üzerine etkisini araştırdığımız deneysel çalışmamızın sonucunda, Prenatal dönemde uygulanan 900 MHz EMA;

1. Testis ağırlığında bir değişikliğe neden olmamaktadır.
2. Seminifer tübül bazal membranında ve germinal epitelinde düzensizliklere yol açmaktadır.
3. Seminifer tübül lümenine germinal epitel hücrelerinin dökülmesine yol açmaktadır.
4. Testis seminifer tübül çapında azalmaya sebep olmaktadır.
5. Germinal epitel kalınlığında azalmaya sebep olmaktadır.
6. Doku MDA seviyesinde artışa neden olmaktadır.
7. Plazma DNA oksidasyonu seviyesinde artışa neden olmaktadır.

Prenatal dönemde uygulanan EMA etkisinin testis, değişik doku ve organlar üzerinde meydana getirebileceği histopatolojik değişikliklerin elektron mikroskopik ve otoradyografik teknikler gibi daha ileri teknikler kullanılarak çalışılabileceğini ve bu konunun diğer bilim disiplinlerinde çalışan araştırmacılar tarafından da üzerinde çalışılabilir önemde olduğunu düşünmekteyiz.

9. KAYNAKLAR

1. Fychting M, Ahlbom A, Kheifets L (2005). EMF and health. *Annu Rev Public Health* 26: 165-189.
2. Sonmez OF, Odaci E, Bas O, Kaplan S (2010). Purkinje cell number decreases in the adult female rat cerebellum following exposure to 900 MHz electromagnetic field. *Brain Res* 14;1356: 95-101.
3. Simko M, Mattsson MO (2004). Extremely low frequency electromagnetic fields as effectors of cellular responses in vitro: possible immune cell activation. *J Cell Biochem* 93: 83-92.
4. Rollwitz J, Lupke M, Simko M (2004). Fifty-hertz magnetic fields induce free radical formation in mouse bone marrow-derived promonocytes and macrophages. *Biochim Biophys Acta* 1674: 231-238.
5. Tayefi H, Kiray A, Kiray M, Ergur BU, Bagriyanik HA, Pekcetin C, Fidan M, Ozogul C (2010). The effects of prenatal and neonatal exposure to electromagnetic fields on infant rat myocardium. *Arch Med Sci.* 6(6):837-42.
6. Marinelli F, La Sala D, Ciccioiti G, Cattini L, Trimarchi C, Putti S, Zamparelli A, Giuliani L, Tomassetti G, Cinti C (2004). Exposure to 900 MHz electromagnetic field induces an unbalance between pro-apoptotic and pro-survival signals in T-lymphoblastoid leukemia CCRF-CEM cells. *J. Cell Physiol* 198, 324–332.
7. Zhao TY, Zou SP, Knapp PE (2007). Exposure to cell phone radiation up-regulates apoptosis genes in primary cultures of neurons and astrocytes. *Neurosci Lett* 412, 34–38.
8. Bas O, Odaci E, Mollaoglu H, Ucok K, Kaplan S (2009). Chronic prenatal exposure to the 900 megahertz electromagnetic field induces pyramidal cell loss in the hippocampus of newborn rats. *Toxicol Ind Health* 25(6): 377-84.
9. Guler G, Tomruk A, Ozgur E, Seyhan N (2010). The effect of radiofrequency radiation on DNA and lipid damage in non-pregnant and pregnant rabbits and their newborns. *Gen Physiol Biophys* 29(1): 59-66.
10. Odaci E, Bas O, Kaplan S (2008). Effects of prenatal exposure to a 900 MHz electromagnetic field on the dentate gyrus of rats: a stereological and histopathological study. *Brain Res* 31;1238: 224-9.

11. Tenorio BM, Jimenez GC, Morais RN, Torres SM, Albuquerque Nogueira R, Silva Junior VA (2011). Testicular development evaluation in rats exposed to 60 Hz and 1 mT electromagnetic field. *J Appl Toxicol* 31(3): 223-30.
12. Magre S, Jost A (1984). Dissociation between testicular organogenesis and endocrine cytodifferentiation of Sertoli cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 81(24): 7831-4.
13. Wilson ME, Handa RJ (1997). Gonadotropin secretion in infantile rats exposed to ethanol in utero. *Alcohol* 14(5): 497-501.
14. Chen H, Ge RS, Zirkin BR (2009). Leydig cells: From stem cells to aging. *Mol Cell Endocrinol* 306(1-2): 9-16.
15. Dorostghoal M, Sorooshnia F, Zardkaf A (2011). Stereological analysis of Wistar rat testis during early post-natal development. *Anat Histol Embryol* 40(2): 89-94.
16. Chung MK, Lee SJ, Kim YB, Park SC, Shin DH, Kim SH, Kim JC (2005). Evaluation of spermatogenesis and fertility in F1 male rats after in utero and neonatal exposure to extremely low frequency electromagnetic fields. *Asian J Androl* 7(2): 189-94.
17. Tortora GJ, Derrickson B (2009). *Principles Anatomy and Physiology*. 12 rd ed. America: John Wiley & Sons, Inc, 1082-1093.
18. Raff H, Widmair EP, Strang KT (2010). *Vander's Human Physiology. Vander İnsan Fizyolojisi*. 10 th ed. Çeviren: Demirgören S, İzmir Güven Kitapevi, İzmir; 657-665.
19. Yıldırım M (2003). *İnsan Anatomisi*. 6. Baskı. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul; 226-232.
20. Moore KL, Persuad TVN (1993). *Moore and Persuad The Developing Human (Clinically Oriented Embryology)*. Fifth Edition. W.B.Saunders Company, Philadelphia; 265-303.
21. Sadler TW (2004). *Langman's Medical Embryology*. Ninth Edition. Lippincott Williams & Wilkins, USA; 321-362.
22. Drews U (1995). *Color Atlas of Embryology*. Thieme Flexibook, New York; 334-345.
23. Kashimada K, Koopman P (2010). Sry: the master switch in mammalian sex determination. *Development* 137(23): 3921-30.
24. Barsoum IB, Yao HH (2010). Fetal Leydig Cells: Progenitor Cell Maintenance and Differentiation. *J Androl* 31: 11-15

25. Fiegel HC, Rolle U, Metzger R, Gfroerer S, Kluth D (2011). Embryology of the testicular descent. *Semin Pediatr Surg* 20(3): 170-5.
26. Huo S, Xu Z, Zhang X, Zhang J, Cui S (2010). Testicular denervation in prepuberty rat inhibits seminiferous tubule development and spermatogenesis. *J Reprod Dev* 56(4): 370-8.
27. Toprak M, Akkın MS (1996). *Anatomi Ders Kitabı*. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi; İstanbul; 844-861.
28. Sancak B, Cumhuriyet M (1999). *Fonksiyonel Anatom Baş-Boyun ve İç Organlar*. 5. Baskı. ODTÜ yayıncılık, Ankara.
29. Vannini V, Dianzani U, Rosa E (1999). *Anatomi atlası*. 7. Baskı. Çevirenler: Vural F, Özkuş K, Akkın MS, Ertem DA, Tanyeli E, Vural ZE, Birol Basın Yayın Dağıtım ve Ticaret Ltd. Sti, İstanbul; 160-161.
30. Pointis G, Gilleron J, Carette D, Segretain D (2010). Physiological and physiopathological aspects of connexins and communicating gap junctions in spermatogenesis. Review. *Phil. Trans. R. Soc. B* 365; 1607–1620.
31. Ding Y, Tang J, Zou J, She R, Wang Y, Yue Z, Tian J, Xia K, Yin J, Wang D (2011). The effect of microgravity on tissue structure and function of rat testis. *Braz J Med Biol Res* 44(12): 1243-50.
32. Leeson T.S, Leeson C.R, Paparo A.A (1988). *Text/Atlas of Histology*, W.B. Saunders International Edition, Philadelphia; 635-668.
33. Arenas MI, Bethencourt FR, Fraile B, Paniagua R (1997). Immunocytochemical and quantitative study of the tunica albuginea testis in young and ageing men. *Histochem Cell Biol* 107: 469–477.
34. Gartner LP, Hiatt JL (2001). *Color Textbook of Histology*. Second Edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia; 487-508.
35. Junqueira LC, Carneiro J (2003). *Basic Histology Text & Atlas*. Tenth Edition. Lange Medical Books McGraw-Hill, USA; 431-449.
36. Pop OT, Cotoi CG, Pleşea IE, Gherghiceanu M, Enache SD, Mandache E, Hortopan G, Pleşea RM (2011). Histological and ultrastructural analysis of the seminiferous tubule wall in ageing testis. *Rom J Morphol Embryol* 52: 241–248.
37. Maekawa M, Kamimura K, Nagano T (1996). Peritubular myoid cells in the testis: their structure and function. *Arch Histol Cytol* 59(1): 1-13.
38. Albrecht M (2009). Insights into the nature of human testicular peritubular cells. *Ann Anat* 191(6): 532-40.

39. Kopera IA, Bilinska B, Cheng CY, Mruk DD (2010). Sertoli-germ cell junctions in the testis: a review of recent data. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 365(1546): 1593-605.
40. Lowe JS, Alan Stevens A (1997). *Human Histology*. Second ed. Mosby, Spain; Barcelona: 310-319.
41. Vitale R, Fawcett DW, Dym M (1973). The normal development of the blood-testis barrier and the effects of clomiphene and estrogen treatment. *Anat Rec* 176(3): 331-44.
42. De Kretser DM (1992). *The Testes*. Baillière's Clinical Endocrinology and Metabolism. International Practice and Research. London, 6:2; 235-331.
43. Young B, Heath JW (2000). *Wheater's Functional Histology*. Fourth edition. Churchill Livingstone, Sydney, 330-336.
44. Gassei K, Ehmcke J, Wood MA, Walker WH, Schlatt S (2010). Immature rat seminiferous tubules reconstructed in vitro express markers of Sertoli cell maturation after xenografting into nude mouse hosts. *Mol Hum Reprod* 16(2): 97-110.
45. Cheng CY, Mruk DD (2002). Cell junction dynamics in the testis: Sertoli-germ cell interactions and male contraceptive development. *Physiol Rev* 82(4): 825-74.
46. Eroschenko VP (2008). *diFiore's Atlas of Histology with Functional Correlations*. Eleventh Edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia; 409-431.
47. Rey R, Al-Attar L, Louis F, Jaubert F, Barbet P, Nihoul-Fekete C, Chaussain JL, Josso N (1996). Testicular dysgenesis does not affect expression of antimüllerian hormone by Sertoli cells in premeiotic seminiferous tubules. *Am. J. Pathol* 148: 1689–1698.
48. Bloom W, Fawcett DW (1975). *Textbook of histology*. Philadelphia, 796-834.
49. Johnson L, Varner DD, Roberts ME, Smith TL, Keillor GE, Scrutchfield WL (2000). Efficiency of spermatogenesis: a comparative approach. *Anim Reprod Sci* 2;60-61: 471-80.
50. Ryu BY, Orwig KE, Kubota H, Avarbock MR, Brinster RL (2004). Phenotypic and functional characteristics of male germline stem cells in rats. *Dev Biol* 274: 158-170.
51. Dym M, Fawcett DW (1971). Further observations on the numbers of spermatogonia, spermatocytes, and spermatids connected by intercellular bridges in the mammalian testis. *Biol Reprod* 4(2): 195-215.

52. Clermont Y (1972). Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol Rev* 52: 198–236.
53. Soylu S.M (2010). Rat Fizyolojisi. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*.
54. Adler ID (1996). Comparison of the duration of spermatogenesis between male rodents and humans. *Mutat Res* 352: 169–172.
55. Foster WG, Maharaj-Briceño S, Cyr DG (2011). Dioxin-induced changes in epididymal sperm count and spermatogenesis. *Review. Ciência & Saúde Coletiva* 16(6): 2893-2905.
56. Teerds KJ, Rijntjes E, Veldhuizen-Tsoerkan MB, Rommerts FF, de Boer-Brouwer M (2007). The development of rat Leydig cell progenitors in vitro: how essential is luteinising hormone? *J Endocrinol* 194(3): 579-93.
57. Aktaş C (2007). Skrotal Hipertermi Uygulanan Sıçanların Leydig Hücrelerinin Morfolojik Olarak İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Edirne.
58. Chen H, Stanley E, Jin S, Zirkin BR (2010). Stem Leydig cells: from fetal to aged animals. *Birth Defects Res C Embryo Today* 90(4): 272-83.
59. Svechnikov K, Izzo G, Landreh L, Weisser J, Soder O (2010). Endocrine Disruptors and Leydig Cell Function. *Review Article. Journal of Biomedicine and Biotechnology* doi: 10.1155/2010/684504.
60. Svechnikov K, Landreh L, Weisser J, Izzo G, Colón E, Svechnikova I, Söder O (2010). Origin, development and regulation of human Leydig cells. *Horm Res Paediatr* 73(2): 93-101.
61. Midzak AS, Chen H, Papadopoulos V, Zirkin BR (2009). Leydig cell aging and the mechanisms of reduced testosterone synthesis. *Mol Cell Endocrinol* 5;299(1): 23-31.
62. Ross MH, Pawlina W (2006). *Male Reproductive System. Histology. Lippincott Williams&Wilkins Fifth Edition*; 728-759.
63. Chena H, Geb RS, Zirkin BR (2009). Leydig cells: From stem cells to aging. *Review. Molecular and Cellular Endocrinology* 306: 9-16.
64. Gür FM (2010). Sıçanlarda, Prepubertal Dönemde Oluşturulan Epididimal Obstrüksiyonun; Testiste, Androjen Reseptör Dağılımı ve Seminifer Tübül Gelişimine Etkisi. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Elazığ.

65. Maher P, Schubert D (2000). Signaling by reactive oxygen species in the nervous system. *Cell Mol Life Sci* 57: 1287-1305.
66. Gutteridge Jmc, Halliwell B (1991). *Free Radicals in Biology and Medicine*. 2nd Ed, Oxford: Clarendon Press 1-276.
67. Sies H (1993). Strategies of antioxidant defense. Review, *Eur. J. Biochem* 215, 213-219.
68. Wei YH, Lee HC (2002). Oxidative stress, mitochondrial. DNA mutation, and impairment of antioxidant enzymes in aging. *Exp Biol Med* 227: 671–682.
69. Skrzydlewska E, Sulkowski S, Koda M, Zalewski B, Kanczuga-Koda L, Sulkowska M (2005). Lipid peroxidation and antioxidant status in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 11: 403-6.
70. Touyz RM (2004). Reactive oxygen species and angiotensin II signaling in vascular cellsimplications in cardiovascular disease. *Braz J Med Biol Res* 37: 1263-1273.
71. Pastor MC, Sierra C, Doladé M, Navarro E, Brandi N, Cabré E, Mira A, Serés A (1998). Antioxidant enzymes and fatty acid status in erythrocytes of Down's syndrome patients. *Clin Chem* 44(5): 924-9.
72. Liu D, Wen J, Liu J, Li L (1999). The roles of free radicals in amyotrophic lateral sclerosis: reactive oxygen species and elevated oxidation of protein, DNA, and membrane phospholipids. *Faseb J* 13(15): 2318-28.
73. Jackson P, Loughrey CM, Lightbody JH, McNamee PT, Young IS (1995). Effect of hemodialysis on total antioxidant capacity and serum antioxidants in patients with chronic renal failure. *Clin Chem* 41: 1135-1138.
74. Sharma RK, Pasqualotto FF, Nelson DR, Thomas AJ Jr, Agarwal A (1999). The reactive oxygen species - total antioxidant capacity score is a new measure of oxidative stress to predict male infertility. *Hum Reprod* 14: 2801-2807.
75. Shoji H, Koletzko B (2007). Oxidative stress and antioxidant protection in the perinatal period. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 10(3): 324-8.
76. Fukagawa NK (1999). Aging: Is Oxidative Stress a Marker or Is It Causal? doi:10.1046/j.1525-1373.1999.d01-146.
77. Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A (2005). Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc Diabetol* 29;4(1): 5.

78. Cheeseman KH, Slater TF (1993). An Introduction to Free Radical Biochemistry. Br. Med. Bull., Jul; 49(3), 481-93.
79. de Zwart LL, Meerman JH, Commandeur JN, Vermeulen NP (1999). Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. Free Radic Biol Med 26(1-2): 202-26.
80. Altuntaş İ (2007). Otoimmün Tiroid Hastalığının Tanı ve Takibinde Oksidatif DNA Hasar Belirleyicisi 8-OHdG'nin Önemi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
81. Halliwell B (2002). Effect of diet on cancer development: is oxidative DNA damage a biomarker? Free Radic Biol Med 15;32(10): 968-74.
82. Wu LL, Chiou CC, Chang PY, Wu JT (2004). Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. Clin Chim Acta 339(1-2): 1-9.
83. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol 39(1): 44-84.
84. Forlenza MJ, Miller GE (2006). Increased serum levels of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in clinical depression. Psychosom Med 68(1): 1-7.
85. Dröge W (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol Rev 82(1): 47-95.
86. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J (2003). Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. Faseb J 17(10): 1195-214.
87. Helbock HJ, Beckman KB, Ames BN (1999). 8-Hydroxydeoxyguanosine and 8-hydroxyguanine as biomarkers of oxidative DNA damage. Methods Enzymol 300: 156-66.
88. Thomas MJ (1995). The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working? Crit Rev Food Sci Nutr 35(1-2): 21-39.
89. Gutteridge JM, Halliwell B (2000). Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future. Ann N Y Acad Sci 899: 136-47.
90. Matés JM (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. Toxicology 153(1-3): 83-104.
91. Urso ML, Clarkson PM (2003). Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. Toxicology 189(1-2): 41-54.

92. Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, Scoullos M (2006). Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicol Environ Saf* 64(2): 178-89.
93. Jerry P, Liu L, Zeng M, Stamler J.S (2000). An apoptotic model for nitrosative stres. *Biochemistry* 39: 1040-1047.
94. Mruk DD, Silvestrini B, Mo MY, Cheng CY (2002). Antioxidant superoxide dismutase - a review: its function, regulation in the testis, and role in male fertility. *Contraception* 65(4): 305-11.
95. Kayış T (2010). Diazinon'un Subletal Konsantrasyonlarının *Pimpla Turionellae* L.'nin Eşey Oranı ve Bazı Biyokimyasal Parametreleri Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Adana.
96. Machlin LJ, Bendich A (1987). Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *The FASEB Journal* 1: 6;441-445.
97. Hanukoglu I (2006). Antioxidant Protective Mechanisms against Reactive Oxygen Species (ROS) Generated by Mitochondrial P450 Systemes in Steroidogenic Cells. *Drug Metab Rev*; 38: 171-196.
98. Drevet JR (2006). The Antioxidant Glutathione Peroxidase Family and Spermatozoa: A Complex Story. *Mol Cell Endocrinol* 250: 70-79.
99. Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA (2003). Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril* 79: 829-43
100. Nakamura BN, Lawson G, Chan JY, Banuelos J, Cortés MM, Hoang YD, Ortiz L, Rau BA, Luderer U (2010). Knockout of the transcription factor Nrf2 disrupts spermatogenesis in an age-dependent manner. *Free Radic Biol Med* 49(9): 1368-1379.
101. Celino FT, Yamaguchi S, Miura C, Ohta T, Tozawa Y, Iwai T, Miura T (2011). Tolerance of Spermatogonia to Oxidative Stress Is Due to High Levels of Zn and Cu/Zn Superoxide Dismutase. *Plos One* 6(2): e16938. doi:10.1371.
102. Sikka SC (2001). Relative impact of oxidative stress on male reproductive function. *Curr Med Chem* 8: 851-62.
103. Moustafa MH, Sharma RK, Thornton J, Mascha E, Abdel-Hafez MA, Thomas AJ (2004). Relationship between ROS production, apoptosis and DNA denaturation in spermatozoa from patients examined for infertility. *Hum Reprod* 19: 129-38.
104. Mak T (2003). The E. Donnall Thomas Lecture-apoptosis: "this death that makes life live". *Biol. Blood Marrow Transplant* 9:483-488.

105. Güleş Ö, Eren Ü (2008). Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler. Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi (2) 73-78.
106. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer 26(4): 239-57.
107. Oztürk F (2002). Apoptozis. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 9(2) 143-148.
108. Elmore S (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. Toxicol Pathol.: 35(4): 495-516.
109. Tasdemir E, Galluzzi L, Maiuri MC, Criollo A, Vitale I, Hangen E, Modjtahedi N, Kroemer G (2008). Methods for assessing autophagy and autophagic cell death. Methods Mol Biol 445: 29- 76.
110. Durney, C.H, Massoudi H, Iskander M.F (2002). Radiofrequency Radiation Dosimetry Handbook. Fourth Edition. Brooks AFB.
111. Alihemmati A (2006). Gebelik Döneminde Elektromanyetik Alana Maruz Bırakılan Ratlarda ve Yavrularda Melatonin'in Tiroid bezi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Doktora Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, İzmir.
112. Hayt H (1981). Engineering Electromagnetics, Mc-Graw Hill, Newyork.
113. NIRC of the IRPA (1988). Guidelines on limits of Exposure to Radio Frequency EM Fields in the Frequency Range from 100kHz to 300GHz. Health Physics, V. 54-1, pp. 115-123.
114. Edminister J (2000). Teori ve problemlerle elektromanyetik. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara; 313.
115. Stewart W (2000). Mobile Phones and Health. Independent Expert Group on Mobile Phones.
116. Seybold JS (2005). Introduction to RF Propagation, John Wiley & Sons, Inc., New Jersey.
117. Kitchen R (2001). RF and Microwave Radiation Handbook. Newnes, Oxford.
118. Vorst AV, Rosen A, Kotsuka Y (2006). Rf/Microwave Interaction With Biological Tissues. Wiley-Interscience, New Jersey.

119. Ermol C (2008). 900 ve 1800 MHz Mobil Telefonların Oluşturduğu Elektromanyetik Alanın Tendon İyileşmesine Etkisi: Ratlarda Deneysel Çalışma. Uzmanlık Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Isparta.
120. Tekintanğaç Y (2006). Cep Telefonları Tarafından Oluşturulan Elektromanyeti Alanın Kobay EKG'si Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Biyofizik Anabilim Dalı, Van.
121. Tiber PM (2000). Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alan Uygulanan T-Lenfositlerinin Membran Potansiyellerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul.
122. Cleveland RF, Ulcek JL (1999). Questions and Answers about Biological Effects and Potential Hazards of Radiofrequency Electromagnetic Field. Federal Communications Commission Office of Engineering & Technology, OET Bulletin 56, Fourth Edition. Washington.
123. Kato M (2006). Electromagnetics in Biology. Springer, Japan; 31-60.
124. Federal Communications Commission Office of Engineering & Technology (1999). Questions and Answers About Biological Effects and Potential Hazards of Radiofrequency Electromagnetic Fields. Oet Bulletin 56. Fourth Edition.
125. Aral B.S (2008). 900 MHz ve 1800 MHz Radyo Frekans Radyasyonun Kan Beyin Bariyerine Etkisi. Doktora Tezi. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı, Ankara.
126. American National Standard–Safety Levels with Respect to Exposure to Radio Frequency Electromagnetic Fields, 3kHz to 300GHz (1992). ANSI/IEEE C95. New York, IEEE.
127. International Commission on Non–Ionizing Radiation Protection: Guidelines for Limiting Exposure to Time Varying Electric, Magnetic and Electromagnetic Fields (1998). Health Physics 74: 494-522.
128. Kavet R, Stuchly M.A, Bailey W.H. & Bracke T.D (2001). Evaluation Of Biological Effects, Dosimetric Models, And Exposure Assessment Related To Elf Electric–And Magnetic–Field Guidelines. Appl. Occup. Environ. Hyg 16, 1118-1138.
129. Goldsmith JR (1995). Epidemiological Evidence of Radio Frequency (Microwave) Effects on Health in Military, Broadcasting and Occupational Studies. Int J Occup Environ Health 1: 47-57.

130. Tuor M, Ebert S, Schuderer J, Kuster N (2005). Assessment of ELF Exposure from GSM Handsets and Development of an Optimized RF/ELF Exposure Setup for Studies of Human Volunteers. Foundation for Research on Information Technologies Society. Zürich. BAG Reg. No. 2.23.02.-18/02.001778.
131. Yurekli AI (2006). Biological Effects Of Electromagnetic Fields At Mobile Telecommunication Frequencies. Boğaziçi Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Enstitüsü, İstanbul.
132. Kibati M (1999). Wireless Local Loop In Developing Countries: Is It Too Soon For Data? The Case Of Kenya. Massachusetts Institute Of Technology. Technology And Policy Program, Massachusetts.
133. Harte L, Levine R, Livingston G (1999). GSM Superphones. McGraw-Hill, New York.
134. M Sandström (1998). Subjective Symptoms Among Mobile Phone Users in Sweden and Norway, A Swedish–Norwegian Epidemiological Study. Bioelectromagnetic Society. Tampa.
135. Svedenstal BM, Johanson KJ (1995). Fetal Loss In Mice Exposed To Magnetic Fields During Early Pregnancy. Bioelectromagnetics 16, 284-289.
136. Mann K, Roschke J (1996). Effects of pulsed high–frequency electromagnetic fields on human sleep. Neuropsychobiolog 33: 41-47.
137. Borbély AA, Huber R, Graf T, Fuchs B, Gallmann E, Achermann P (1999). Pulsed high–frequency electromagnetic field affects human sleep and sleep electroencephalogram. Neurosci Lett 275: 207-210.
138. Krause CM, Sillanmäki L, Koivisto M, Häggqvist A, Saarela C, Revonsuo A, Laine M, Hämäläinen H (2000). Effects of electromagnetic field emitted by cellular telephones on the EEG during a memory task. NeuroReport 11: 761-764.
139. Anselmo CW, Silva TL, Holanda TG, Prado LV, Cabral-Filho JE, Catanho MT, Medeiros MC (2008). Influence of a 60 Hz, 3 microT, electromagnetic field on the somatic maturation of wistar rat offspring fed a regional basic diet during pregnancy. Braz J Biol 68(3): 641-8.
140. Okudan B, Keskin AU, Aydin MA, Cesur G, Cömlekçi S, Süslü H (2006). DEXA analysis on the bones of rats exposed in utero and neonatally to static and 50 Hz electric fields. Bioelectromagnetics 27(7): 589-92.
141. Whissell PD, Persinger MA (2007). Developmental effects of perinatal exposure to extremely weak 7 Hz magnetic fields and nitric oxide modulation in the Wistar albino rat. Int J Dev Neurosci 25(7): 433-9.

142. Jiang ML, Han TZ, Pang W, Li L (2004). Gender- and age-specific impairment of rat performance in the Morris water maze following prenatal exposure to an MRI magnetic field. *Brain Res* 995(1): 140-4.
143. Li DK, Chen H, Odouli R (2011). Maternal exposure to magnetic fields during pregnancy in relation to the risk of asthma in offspring. *Arch Pediatr Adolesc Med* 165(10): 945-50.
144. Huuskonen H, Saastamoinen V, Komulainen H, Laitinen J, Juutilainen J (2001). Effects of low-frequency magnetic fields on implantation in rats. *Reprod. Toxicol* 15: 49-59.
145. Cecconi S, Gualtieri G, Di Bartolomeo A, Troiani G, Cifone MG, Canipari R (2000). Evaluation of effects of extremely low frequency electromagnetic fields on mammalian follicle development. *Hum. Reprod* 15: 2319-2325.
146. Saito K, Suzuki H, Suzuki K (2006). Teratogenic effects of static magnetic field on mouse fetuses. *Reprod. Toxicol* 22: 118-124.
147. Al-Akhras MA, Elbetieha A, Hasan MK, Al-Omari I, Darmani H, Albiss B (2001). Effects of extremely low frequency magnetic field on fertility of adult male and female rats. *Bioelectromagnetics* 22: 340-344.
148. Lee JS, Ahn SS, Jung KC, Kim YW, Lee SK (2004). Effects of 60 Hz electromagnetic field exposure on testicular germ cell apoptosis in mice. *Asian J. Androl* 6: 29-34.
149. Kim YW, Kim HS, Lee JS, Kim YJ, Lee SK, Seo JN, Jung KC, Kim N, Gimm YM (2009). Effects of 60 Hz 14mT magnetic field on the apoptosis of testicular germ cell in mice. *Bioelectromagnetics* 30: 66-72.
150. Ramadan LA, Abd-Allah ARA, Aly HAA, Saad-El-Din AA (2002). Testicular toxicity effects of magnetic field exposure and prophylactic role of coenzyme q10 and l-carnitine in mice. *Pharmacol. Res* 46: 363-370.
151. Li DK, Yan B, Li Z, Gao E, Miao M, Gong D, Weng XP, Ferber JR, Yuan W (2010). Exposure to magnetic fields and the risk of poor sperm quality. *Reprod. Toxicol* 29: 86-92.
152. Kato M, Honma K, Shigemitsu T, Shiga Y (1994). Circularly Polarized, Sinusoidal, 50 Hz Magnetic Field Exposure Does Not Influence Plasma Testosterone Levels Of Rats. *Bioelectromagnetics* 15, 513-518.
153. Dasdag S, Ketani MA, Akdag Z, Ersay AR, Sari I, Demirtas OC, Celik MS (1999). Whole-body microwave exposure emitted by cellular phones and testicular functions of rats. *Urol Res* 27: 219-223.

154. Meo SA, Al-Drees AM, Husain S, Khan MM, Imran MB (2010). Effects of mobile phone radiation on serum testosterone in Wistar albino rats. *Saudi Med J* 30: 869-73.
155. Repacholi MH (1998). Low-level exposure to radiofrequency electromagnetic fields: health effects and research needs. *Bioelectromagnetics* 19(1): 1-19.
156. Phelan AM, Lange DG, Kues HA, Luty GA (1992). Modification of membrane fluidity in melatonin-containing cell by low-level microwave radiation. *Bioelectromagnetic* 13,131-146.
157. Lai H, Singh NP (1995). Acute low-intensity microwave exposure increases DNA single-strand breaks in rat brain cells. *Bioelectromagnetics* 16,207-210.
158. Lai H, Singh NP (1996). DNA single- and double strand breaks in rat brain cells after acute exposure to low-level radiofrequency electromagnetic radiation. *Int. J. Radiat. Biol* 69,513-521.
159. Lai H, Singh NP (1997). Melatonin and a spin-trap compound block radiofrequency electromagnetic radiation-induced DNA strand breaks in rat brain cells. *Bioelectromagnetics* 18,446-454.
160. Hardell L, Mild K.H, Carlberg M (2002). Case-control study on the use of cellular and cordless phones and the risk for malignant brain tumors. *Int. J. Radiat. Biol* 78,931-936.
161. Hardell L, Mild K.H, Johansson B. (2003). Cellular and cordless telephones and basal cell carcinoma: A case report. *Arch. Environ. Occup. H* 58,380-382.
162. Fejes I, Zavaczki Z, Szollosi J, Koloszar S, Daru J, Kovacs L, Pal A (2005). Is there a relationship between cell phone use and semen quality? *Arch. Androl* 51,385-393.
163. Agarwal A, Deepinder F, Sharma R.K, Ranga G, Li J (2008). Effect of cell phone usage on semen analysis in men attending infertility clinic: an observational study. *Fertil. Steril* 89,124-128.
164. Heynick LN, Merritt JH (2003). Radiofrequency fields and teratogenesis. *Bioelectromagnetics* 24, S174-186.
165. Maes AM (1993). In Vitro Cytogenetic Effects of 2450 MHz Wave on Human Peripheral Blood Lymphocytes; *Bioelectromagnetics* 14: 495-501.
166. Vijayalaxmi, Leal BZ, Szilagyi M, Prihoda TJ, Meltz ML (2000). Primary DNA damage in Human Blood Lymphocytes Exposed in Vitro to 2450 MHz Radiofrequency Radiation. *Rad Res* 153: 479-486.

167. Penafiel LM, Litovitz T, Krause D, Desta A, Mullins JM (1997). Role of modulation on the effect of mirowaves on ornithine decarboxylase activity in L 929 cells. *Bioelectromagnetics* 18: 132-141.
168. Blank M, Goodman R (1997). Do electromagnetic fields interact directly with DNA? 18: 111-115.
169. Zmyslony M, Jajte JM (1998). The role of free radicals in mechanisms of biological function exposed to weak, constant and net magnetic fields. *Med Pr* 49: 177-186.
170. Robison JG, Pendieton AR, Monson KO, Murray BK, O'Neill KL (2002). Decreased DNA repair rates and protection from heat induced apoptosis mediated by electromagnetic field exposure. *Bioelectromagnetics* 23: 106-112.
171. Ciejka E, Kleniewska P, Skibska B, Goraca A (2011). Effects of extremely low frequency magnetic field on oxidative balance in brain of rats. *J Physiol Pharmacol* 62(6): 657-61.
172. Jelenković A, Janać B, Pesić V, Jovanović DM, Vasiljević I, Prolić Z (2006). Effects of extremely low-frequency magnetic field in the brain of rats. *Brain Res Bull* 68(5): 355-60.
173. Korpinen L, Partanen J (1993). Influanace of 50 Hz Electric and Magnetic Fields on the Human Heart. *Bioelectromagnetics* 11: 339-340.
174. Korpinen L, Partanen J (1994). Influanace of 50 Hz Electric and Magnetic Fields on Extrasystoles of Human Heart. *Rev. Environ. Health*. 10: 105-12.
175. Sastre A, Cook M.R. & Graham C (1998). Nocturnal Exposure To Dntermittent 60 Hz Magnetic Fields Alters Human Cardiac Rhythm. *Bioelectromagnetics* 19, 98-106.
176. Ozguner F, Altinbas A, Ozaydin M, Dogan A, Vural H, Kisioglu AN, Cesur G, Yildirim NG (2005). Mobile phone-induced myocardial oxidative stress: protection by a novel antioxidant agent caffeic acid phenethyl ester. *Toxicol Ind Health* 21(9): 223-30.
177. Goraca A, Ciejka E, Piechota A (2010). Effects of extremely low frequency magnetic field on the parameters of oxidative stress in heart. *J Physiol Pharmacol* 61(3): 333-8.
178. Canseven AG, Seyhan N, Aydın A (1997). Effect of Magnetic Field on Concentrations of Blood Plasma Electrolytes. *Med & Biol Eng & Comput* 35,1.43.

179. Braune S, Wrocklage C, Raczek J, Gailus T, Lücking CH (1998). Resting blood pressure increase during exposure to a radio-frequency electromagnetic field. *Lancet* 351(9119): 1857-8.
180. Balcer-Kubiczek EK, Harrison GH (1991). Neoplastic transformation of C3H/10T1/2 cells following exposure to 120-Hz modulated 2. 45-GHz microwaves and phorbol ester tumor promoter. *Radiat Res* 126: 65-72.
181. Berman E, Carter HB, House D (1982). Observations of Syrian hamster fetuses after exposure to 2450-MHz microwaves. *J Microwave Power* 17: 107-112.
182. London SJ, Thomas DC, Bowman JD, Sobel E, Cheng TC & Peters JM (1991). Exposure To Residential Electric And Magnetic Fields And Risk Of Childhood Leukemia. *Am. J. Epidemiol* 134,923-93.
183. Lotz WG, Podgorski P (1982). Temperature and adrenocortical responses in rhesus monkeys exposed to microwaves. *J Appl Physiol* 53: 1565-1571.
184. Mausset A.L, de Seze R, Montpeyroux F, Privat A (2001). Effects of radiofrequency exposure on the GABAergic system in the rat cerebellum: clues from semi-quantitative immunohistochemistry. *Brain Res* 912,33-46.
185. Dubreuil D, Jay T, Edeline JM (2002). Does head-only exposure to GSM 900-MHz electromagnetic fields affect the performance of rats in spatial learning tasks? *Behav. Brain Res* 129,203-210.
186. Dubreuil D, Jay T, Edeline JM (2003). Head-only exposure to GSM 900-MHz electromagnetic fields does not alter rat's memory in spatial and non-spatial tasks. *Behav. Brain Res* 145,51-61.
187. Koyu A, Cesur G, Ozguner F, Akdogan M, Mollaoglu H, Ozen S (2005). Effects of 900 MHz electromagnetic field on TSH and thyroid hormones in rats. *Toxicol. Lett* 157,257-262.
188. Lin JC (1997). Biological aspects of mobile communication fields. *Wirel. Netw* 3,439-453.
189. Xu S, Ning W, Xu Z, Zhou S, Chiang H, Luo J (2006). Chronic exposure to GSM 1800-MHz microwaves reduces excitatory synaptic activity in cultured hippocampal neurons. *Neurosci. Lett* 398,253-257.
190. Arns M, Van Luijckelaar G, Sumich A, Hamilton R, Gordon E (2007). Electroencephalographic, personality, and executive function measures associated with frequent mobile phone use. *Int. J. Neurosci* 117,1341-1360.
191. Tübitak Bülten (2001). Elektromanyetik Dalgalar ve İnsan Sağlığı Sıkça Sorulan Sorular ve Yanıtları.

192. Demir R, Yilmazer S, Öztürk M, Üstünel İ, Demir N, Korgun ET, Akkoyunlu G (2001). Histolojik Boyama Teknikleri. Palme Yayıncılık, Ankara, 9-10.
193. Potten CS, 1996. What is an apoptotic index measuring? A commentary. *Br J Cancer* 74(11): 1743-8.
194. Mihara M, Uchiyama M (1978). Determination of malondialdehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 86: 271.
195. Gye MC, Park CJ (2012). Effect of electromagnetic field exposure on the reproductive system. *Clin Exp Reprod Med* 39(1): 1-9.
196. Pourlis AF (2009). Reproductive and developmental effects of EMF in vertebrate animal models. *Pathophysiology* 16(2-3): 179-89.
197. Irmak MK, Fadillioglu E, Guleç M, Erdogan H, Yagmurca M, Akyol O (2002). Effects of electromagnetic radiation from a cellular telephone on the oxidant and antioxidant levels in rabbits. *Cell Biochem Funct* 20: 279-283.
198. Challis LJ (2005). Mechanisms for interaction between RF fields and biological tissue. *Bioelectromagnetics* 7: 98-106.
199. Cenesiz M, Atakisi O, Akar A, Onbilgin G, Ormanci N (2011). Effects of 900 and 1800 MHz Electromagnetic Field Application on Electrocardiogram, Nitric Oxide, Total Antioxidant Capacity, Total Oxidant Capacity, Total Protein, Albumin and Globulin Levels in Guinea Pigs. *Kvfd* 17 (3): 357-362.
200. Poullietier de Gannes F, Haro E, Hurtier A, Taxile M, Athane A, Ait-Aissa S, Masuda H, Percherancier Y, Ruffié G, Billaudel B, Dufour P, Veyret B, Lagroye I (2012). Effect of in utero wi-fi exposure on the pre- and postnatal development of rats. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 95(2): 130-6.
201. Ryan BM, Symanski RR, Pomeranz LE, Johnson TR, Gauger JR, McCormick DL (1999). Multigeneration reproductive toxicity assessment of 60-Hz magnetic fields using a continuous breeding protocol in rats. *Teratology* 59(3): 156-62.
202. Tablado L, Soler C, Núñez M, Núñez J, Pérez-Sánchez F (2000). Development of mouse testis and epididymis following intrauterine exposure to a static magnetic field. *Bioelectromagnetics* 21(1): 19-24.
203. Tohumoglu G, Canseven AG, Cevik A, Seyhan N (2007). Formulation of ELF magnetic fields' effects on malondialdehyde level and myeloperoxidase activity in kidney using genetic programming. *Comput Methods Programs Biomed* 86(1): 1-9.

204. Chavdoula ED, Panagopoulos DJ, Margaritis LH (2010). Comparison of biological effects between continuous and intermittent exposure to GSM-900-MHz mobile phone radiation: Detection of apoptotic cell-death features. *Mutat Res* 19;700(1-2): 51-61.
205. Garaj-Vrhovac V, Gajski G, Pažanin S, Sarolić A, Domijan AM, Flajs D, Peraica M (2011). Assessment of cytogenetic damage and oxidative stress in personnel occupationally exposed to the pulsed microwave radiation of marine radar equipment. *Int J Hyg Environ Health* 214(1): 59-65.
206. Aruoma OI, Halliwell B, Dizdaroglu M (1989). Iron ion-dependent modification of bases in DNA by the superoxide radical-generating system hypoxanthine/xanthine oxidase. *J Biol Chem* 5;264(22): 13024-8.
207. Kim YJ, Hong YC, Lee KH, Park HJ, Park EA, Moon HS, Ha EH (2005). Oxidative stress in pregnant women and birth weight reduction. *Reprod Toxicol* 19(4): 487-92.
208. Guney M, Ozguner F, Oral B, Karahan N, Mungan T (2007). 900 MHz radiofrequency-induced histopathologic changes and oxidative stress in rat endometrium: protection by vitamins E and C. *Toxicol Ind Health* 23(7): 411-20.
209. Koh EK, Ryu BK, Jeong DY, Bang IS, Nam MH, Chae KS (2008). A 60-Hz sinusoidal magnetic field induces apoptosis of prostate cancer cells through reactive oxygen species. *Int J Radiat Biol* 84: 945-55.
210. Diem E, Schwarz C, Adlkofer F, Jahn O, Rüdiger H (2005). Non-thermal DNA breakage by mobile-phone radiation (1800 MHz) in human fibroblasts and in transformed GFSH-R17 rat granulosa cells in vitro. *Mutat Res* 583: 178-83.
211. Zhang DY, Xu ZP, Chiang H, Lu DQ, Zeng QL (2006). Effects of GSM 1800 MHz radiofrequency electromagnetic fields on DNA damage in Chinese hamster lung cells. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi* 40: 149-52.
212. Aitken RJ, Bennetts LE, Sawyer D, Wiklendt AM, King BV (2005). Impact of radio frequency electromagnetic radiation on DNA integrity in the male germline. *Int J Androl* 28:171-9.
213. Nikolova T, Czyz J, Rolletschek A, Blyszczuk P, Fuchs J, Jovtchev G, et al (2005). Electromagnetic fields affect transcript levels of apoptosis-related genes in embryonic stem cell-derived neural progenitor cells. *Faseb J* 19: 1686-8.
214. Panagopoulos DJ, Chavdoula ED, Nezis IP, Margaritis LH (2007). Cell death induced by GSM 900-MHz and DCS 1800-MHz mobile telephony radiation. *Mutat Res* 10;626(1-2):69-78.

215. Lee HJ, Pack JK, Kim TH, Kim N, Choi SY, Lee JS, Kim SH, Lee YS. (2010). The lack of histological changes of CDMA cellular phone-based radio frequency on rat testis. *Bioelectromagnetics* 31: 528-34.
216. Ozguner M, Koyu A, Cesur G, Ural M, Ozguner F, Gokcimen A, Delibas N (2005). Biological and morphological effects on the reproductive organ of rats after exposure to electromagnetic field. *Saudi Med J* 26: 405-10.
217. Ozlem NH, Nisbet C, Akar A, Cevik M, Karayigit MO (2012). Effects of exposure to electromagnetic field (1.8/0.9 GHz) on testicular function and structure in growing rats. *Res Vet Sci* 93(2): 1001-5.
218. Saygin M, Caliskan S, Karahan N, Koyu A, Gumral N, Uguz A (2011). Testicular apoptosis and histopathological changes induced by a 2.45 GHz electromagnetic field. *Toxicol Ind Health* 27(5): 455-63.
219. Yin Y, Hawkins KL, Devvolf WC, Morgantaler A (1997). Heat stress causes testicular germ cell apoptosis in adult mice. *J Androl* 18: 159–165)
220. Beumer TL, Roepers LH, Gademan SU, Lock MTW, Tycho KB, Kal HB, Rooij DG (2000). Apoptosis Regulation in the testis: Involvement of Bcl-2 Family members. *Mol Repr Development* 56: 353–359,
221. Draper HH, Hadley M (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 186: 421-31.
222. Meral I, Mert H, Mert N, Deger Y, Yoruk I, Yetkin A, Keskin S (2007). Effects of 900-MHz electromagnetic field emitted from cellular phone on brain oxidative stress and some vitamin levels of guinea pigs. *Brain Res* 12;1169: 120-4.
223. Ozguner F, Oktem F, Ayata A, Koyu A, Yilmaz HR (2005). A novel antioxidant agent caffeic acid phenethyl ester prevents long-term mobile phone exposure-induced renal impairment in rat. Prognostic value of malondialdehyde, N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and nitric oxide determination. *Mol Cell Biochem* 277(1-2): 73-80.
224. Prahalathan C, Selvakumar E, and Varalakshmi P, (2004). Remedial effect of DL- α -lipoic acid against adriamycin induced testicular lipid peroxidation. *Molecular and Cellular Biochemistry* 267: 209-214.
225. Tomruk A, Guler G, Dincel AS (2010). The influence of 1800 MHz GSM-like signals on hepatic oxidative DNA and lipid damage in nonpregnant, pregnant, and newly born rabbits. *Cell Biochem Biophys* 56(1): 39-47.
226. Sarkar S, Ali S, Behari J (1994). Effect of low power microwave on the mouse genome: a direct DNA analysis. *Mutat Res* 320: 141-7.

10. 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 : “Prenatal Dönemde Uygulanan Elektromanyetik Alanın Yavru Sıçanların Testisi Üzerine Etkisi”
Çalışmacılar : Prof.Dr.Ersan ODACI, Yük.Lis.Öğr.Hatice HANCI, Prof.Dr.Yüksel ALİYAZICIOĞLU, Y.Doç.Dr.Haydar KAYA
Anabilim Dalı : Histoloji ve Embriyoloji ABD.

Etik Kurul Dosya No 2012/22	Etik Kurul Toplantı Tarihi 15.05.2012	Etik Kurul Toplantı No 2012/17	Etik Kurul Karar No 4
---	---	--	-------------------------------------

Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, Tıp Fakültesi Dekanlığı Toplantı Salonu’nda Prof.Dr.Yavuz ÖZORAN’ın başkanlığında; “Prenatal Dönemde Uygulanan Elektromanyetik Alanın Yavru Sıçanların Testisi Üzerine Etkisi” başlığını taşıyan tez çalışmasının, 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. (15.05.2012)

Prof. Dr. Yavuz ÖZORAN
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

11. ÖZGEÇMİŞ ve KİŞİSEL BİLGİLER

T.C. Kimlik/Pasaport No :
Soyadı, Adı : HANCI, Hatice
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : Vezirköprü-12/10/1987
Medeni hali : Bekar
Telefon : 05415311901
Faks : -
E-Posta : haticehancii@gmail.com
Yazışma adresi : KTÜ Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	: Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	: KTÜ Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı	2013
Lisans	: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü	2009
Lise	: Vezirköprü Anadolu Lisesi	2005

AKADEMİK/ MESLEKİ DENEYİMİ

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

YABANCI DİL İngilizce

UZMANLIK ALANI

YAYINLAR/BİLDİRİLER

ÖDÜLLER/ TEŞVİKLER/ BURSLAR

HOBİLER