

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**900 MEGAHERTZ ELEKTROMANYETİK ALANIN ORTA VE
GEÇ ADOLESAN DÖNEMDEKİ SIÇANLARIN OVARYUMU
ÜZERİNE ETKİSİ**

Uzmanlık Tezi

Dr. Derya ÖZTÜRK OKATAN

TRABZON 2016

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**900 MEGAHERTZ ELEKTROMANYETİK ALANIN ORTA VE
GEÇ ADOLESAN DÖNEMDEKİ SIÇANLARIN OVARYUMU
ÜZERİNE ETKİSİ**

Uzmanlık Tezi

Dr. Derya ÖZTÜRK OKATAN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ersan ODACI

TRABZON 2016

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın başından sonuna her aşamasında bilgi ve tecrübeleriyle bana her zaman destek olan, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren değerli danışman hocam Prof. Dr. Ersan ODACI'ya bilgileriyle ve tecrübeleriyle benden desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilin Dalı Başkanı Prof. Dr. Engin YENİLMEZ'e, Prof. Dr. Esin YULUĞ'a, Yrd. Doç. Gökçen KERİMOĞLU'a, çalışmamda bana destek olan Prof. Dr. Yüksel ALİYAZICIOĞLU, Yrd. Doç. Selim DEMİR, Yrd. Doç. Haydar KAYA'a teşekkür ve saygılarımı sunarım. Çalışmamın bütün aşamalarında benden desteğini esirgemeyen canım kardeşim Elif ÖZTÜRK'e, deneyimizi gerçekleşmesine büyük katkı sağlayan Opr. Dr. Ali Ertan OKATAN'a, Uzm. Dr. Burcu KEMAL OKATAN'a, çalışmamızda bize destek olan Arş. Gör. Hatice HANCI'ya ve emeği geçen bütün çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım. Bütün hayatım boyunca benim en büyük destekçim, her şeyim aileme, eşime ve hayatımın anlamı biricik kızıma sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca TTU-2015-5240 nolu projemize destek veren KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkürlerimi sunarım...

ÖZET

900 Megahertz Elektromanyetik Alanın Orta ve Geç Adolesan Dönemdeki Sıçanların Ovaryumu Üzerine Etkisi

Bu çalışmanın amacı orta ve geç adolesan dönemlerinde 900 MHz elektromanyetik alan (EMA) etkisine maruz kalan sıçanların ovaryumlarında meydana gelen değişikliklerin histolojik ve biyokimyasal yöntemler kullanarak araştırılmasıdır. Çalışmada 34 günlük 24 adet Spraque Dawley tipi dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar her grupta eşit sayıda olmak üzere kontrol, sham ve EMA gruplarına ayrıldılar. EMA grubu sıçanlar, postnatal 35-59. günleri arasında, her gün aynı saatte, bir saat süreyle EMA kafesi içerisinde 900 megahertz EMA etkisine maruz bırakıldılar. Sham grubu sıçanlar ise postnatal 35-59. günler arasında EMA grubu ile aynı süre ve zamanda, herhangi bir etkiye maruz bırakılmadan EMA kafesi içerisine tutuldular. Kontrol grubuna ise herhangi bir işlem yapılmadı. Çalışmanın bitiminde (postnatal 60 gün) sıçanların anestezi altında ovaryumları çıkarıldı, kan örnekleri alınarak sakrifiye edildi. Sağ ovaryum dokuları rutin doku takip işlemlerinden geçirildikten sonra, kesildi ve hematoksilin eozin, peryodik asit shift ve masson trikrom ile boyanarak ışık mikroskobunda histopatolojik değerlendirmeleri ve skorlamaları yapıldı. Hematoksilin eozin boyalı ovaryum kesitlerinde follikül sayımı yapıldı. Apoptozisi değerlendirmek için TUNEL yöntemi kullanıldı. Sol ovaryum dokusunda ve kan örneklerinde ise biyokimyasal olarak malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), 8-Hidroksi-Deoksiguanozin (8-OHdG), 3-nitrotiroz (3-NT) ve anti müllerian hormon (AMH) değerlerine bakıldı. Serumda toplam antioksidan (TAS) ve oksidan (TOS) durumlarına bakıldı, oksidatif stres indeksi (OSI) hesaplaması yapıldı. Yapılan histopatolojik değerlendirmelerde, EMA grubunun ovaryum dokusunun zona granuloza ve teka tabakalarında incelleme, granuloza hücrelerinde küçülme, hiperkromazi, mitotik aktivitede azalma, folliküllerde ve stromada lökosit infiltrasyonu izlendi. EMA grubunda sekonder follikül sayısının diğer gruplara göre anlamlı derecede azaldığı gözlemlendi. Biyokimyasal olarak EMA ve sham grubunun doku SOD, CAT ve AMH, EMA grubunun 3-NT değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttıkları saptandı. EMA ve Sham grubunun serum CAT ve 8-OHdG değerlerinin kontrol grubuna göre, EMA grubunun TOS ve OSI değerlerinin

kontrol ve sham gruplarına göre anlamlı derecede arttığı saptandı. Sonuç olarak orta ve geç adolesan dönemde uygulanan 900 megahertz EMA'nın sıçan ovaryumunun morfolojisinde ve biyokimyasında değişikliklere neden olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Elektromanyetik alan, orta ve geç adolesan dönem, ovaryum, sıçan



SUMMARY

The Effect of 900 Megahertz Electromagnetic Field on The Rats Ovarian of Mid and Late Adolescent Period

The purpose of this study was to evaluate changes taking place in the ovaria of rats exposed to the effect of a 900-Megahertz electromagnetic field (EMF) in middle and late adolescence using histological and biochemical methods. Twenty-four 34-day-old female Sprague Dawley rats were assigned equally into control, sham or EMF groups. EMF group rats were exposed to the effect of a 900-Megahertz EMF for 1 hour a day, at the same time every day between postnatal days 35 and 59, while inside an EMF cage. Sham group rats were kept inside the EMF cage for the same time between postnatal groups 35 and 50 without being exposed to any effect. No procedure was performed on control group rats. At the end of the study (postnatal day 60), rats' ovaria were removed under anesthesia, blood specimens were taken, and the animals were sacrificed. Right ovary tissues were subjected to routine procedures, sectioned and stained with hematoxylin and eosin, periodic acid shift and Masson's trichrome. Histological evaluation and scoring was performed under light microscopy. Follicles were counted in ovary sections stained with hematoxylin and eosin. The TUNEL method was used to evaluate apoptosis. Malondialdehyde, glutathione, catalase (CAT) superoxide dismutase (SOD), 8-hydroxy-deoxyguanosine (8-OHdG), 3-nitrotyrosin (3-NT) and anti-mullerian hormone (AMH) values were investigated biochemically in left ovary tissue and blood specimens. Total antioxidant status (TAS) and total oxidant status (TOS) were investigated in serum, and the oxidative stress index was calculated (OSI). Histopathological examination of EMF group ovary tissue revealed thinning in the zona granulosa and theca layers, shrinking in granulosa cells, hyperchromasia, reduced mitotic activity and leukocyte infiltration in the follicles and stroma. Secondary follicle numbers in the EMF group were significantly lower than in the other groups. In terms of biochemistry, EMF and sham group SOD, CAT and AMH levels and EMF group 3-NT values increased significantly compared to the control group. EMA and sham group serum CAT and 8-OHdG values increased significantly compared to the control group, and EMF group TOS and OSI values were significantly higher

compared to the sham and control groups. In conclusion, 900-Megahertz EMF applied in middle and late adolescence may cause changes in the morphology and biochemistry of the rat ovarium.

Key words: Electromagnetic field, middle and late adolescence, ovarium, rat



İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
ÖZET.....	ii
SUMMARY	iv
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR ve SEMGELER LİSTESİ.....	ix
TABLolar LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiv
RESİMLER LİSTESİ	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Ovaryum Morfolojisi.....	4
2.1.1. İnsan Ovaryumunun Anatomisi	4
2.1.2. İnsan Ovaryumunun Embriyolojisi.....	5
2.1.3. İnsan Ovaryumunun Histolojisi	7
2.1.4. Ovaryumun Görevleri	16
2.1.5. Sıçan Ovaryumunun Histolojisi ve Anatomisi	20
2.1.6. Sıçanların Prenatal ve Postnatal Gelişim Dönemleri ve Özellikleri	22
2.1.7. Sıçan Ovaryumunun Postnatal Gelişimi	27
2.2. Elektromanyetik Alan.....	29
2.2.1. Yük ve Alan Kavramı	29
2.2.2. Elektrik Alan ve Manyetik Alan	30
2.2.3. Elektromanyetik Alanın Anlamı	31
2.2.4. Frekans, Dalga Boyu, Güç yoğunluğu, Anten	32
2.2.5. Elektromanyetik Dalgalar, Spektrum ve Radyasyonun Sınıflandırılması.....	34
2.2.6. Düşük ve yüksek Frekanslı Elektromanyetik Alanlar	35
2.2.7. İnsan Vücudu Tarafından Enerjinin Emilimi.....	36
2.2.8. Özgül Soğurma Hızı (SAR).....	36
2.2.9. Elektromanyetik Alan Oluşturan Cihaz ve Sistemler	37
2.2.10. Cep Telefonu Sistemi.....	38

2.3. Elektromanyetik Alanın Biyolojik Sistemler Üzerine Etkileri.....	39
2.3.1. Elektromanyetik Alanın Canlı Doku Üzerine Etkisi	39
2.3.2. Elektromanyetik Alanın Doku, Organ ve Sistemlerin Gelişimi Üzerine Etkisi	40
2.3.3. Elektromanyetik Alanın Üreme Sistemi Üzerine Etkisi	41
3. MATERYAL VE YÖNTEM	42
3.1. Etik Kurul Onayı ve Finansal Destek.....	42
3.2. Deney Hayvanlar, Gruplar ve Deneysel Çalışma Planı	42
3.3. Deney Düzenegi ve EMA'nın oluşturulması	44
3.4. Histolojik İşlemler.....	51
3.4.1. Overlerin çıkarılması	51
3.4.2. Doku Takip Protokolü	52
3.4.3. Hematoksilen Eozin Boyası Boyama	52
3.4.4. Over Foliküllerinin Değerlendirilmesi.....	53
3.4.5. Peryodik Asit Shift Boyası Boyama	54
3.4.6. Masson Trikrom Boyama	55
3.4.7. İmmünohistokimyasal İşlemler.....	56
3.5. Biyokimyasal Analiz	57
3.5.1. Doku Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Belirlenmesi.....	57
3.5.2. Serum MDA Düzeylerinin Belirlenmesi	59
3.5.3. Anti Müllerian Hormon (AMH) Seviyelerinin Belirlenmesi	61
3.5.4. Nitrotirozin (3-NT) Seviyelerinin Belirlenmesi	62
3.5.5. Süperoksit Dismutaz (SOD) Seviyelerinin Belirlenmesi.....	62
3.5.6. 8-Hidroksi-Deoksiguanozin (8-OHdG) Seviyelerinin Belirlenmesi ...	63
3.5.7. Katalaz (CAT) Seviyelerinin Belirlenmesi.....	64
3.5.8. Glutasyon (GSH) Seviyelerinin Belirlenmesi	64
3.5.9. Toplam Oksidan Durumun (TOS) Belirlenmesi.....	65
3.5.10. Toplam Antioksidan Durumun (TAS) Belirlenmesi	65
3.5.11. Oksidatif Stres İndekslerinin (OSI) Hesaplanması.....	66
3.6. İstatistiksel Analiz	66
4. BULGULAR	67
4.1. Vücut ve Over Ağırlıklarına Ait Bulgular.....	67

4.1.1. Vücut Ağırlığı Bulguları	67
4.1.2. Overlerin Ağırlıkları Bulguları	67
4.1.3. Kafes İçi Isı ve Nem Sonuçlar	68
4.2. Morfolojik Bulgular	70
4.2.1. Folikül Sayısı	70
4.2.2. Histopatolojik Değerlendirme.....	71
4.2.3. Apoptoz	80
4.3. Biyokimyasal Parametrelere Ait Bulgular	82
4.3.1. Doku Biyokimyası	82
4.3.2. Serum Biyokimyası.....	83
5. TARTIŞMA	85
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	91
7. KAYNAKLAR	92

KISALTMALAR ve SEMBOLLER LİSTESİ

a	: Arteria
AI	: Apopitotik indeks
A/m	: Amper/ Metre
A/m ²	: Amper / Metrekare
aER	: Agranüler Endoplazmik Retikulum
AMH	: Anti Müllerian Hormon
B	: Manyetik alan
BPF	: Büyümekte Olan Primer Folikül
C	: Dalga'nın Yayılma Hızı
c	: İlişkili Isı Kapasitesi
CAT	: Katalaz
cm	: Santimetre
Dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
E	: Elektrik alan
ELF-EMF	: Extremely Low Frequency-Electromagnetic Field
EMA	: Elektromanyetik Alan
EMF	: Electromagnetic Field
F	: Frekans
FSH	: Folikül Stimulan Hormon
GER	: Granüllü Endoplazmik Retikulum
GHz	: Gigahertz
GnRH	: Gonodotropin Relasing Hormon
Gr	: Gram
GSM	: Group Special Mobil
GSH	: Glutasyon
H&E	: Hematoksilen Eozin
H	: Hertz
hCG	: Human koryonik gonodotropin
Hf	: Hafta

Hz	: Hertz
I	: Güç Yoğunluğu
IF-EMF	: İntermediate Frequency-Electromagnetic Field
J	: Joule
J	: Spesifik Enerji Emilim
K	: Kelvin
kHz	: Kilohertz
KTÜ	: Karadeniz Teknik Üniversitesi
LF-EMF	: Low frequency-electromagnetic field
LH	: Luteinizan hormon
lig	: Ligamentum
m	: Muskulus
m	: Metre
M	: Soğurucunun Tüm Kütlesi
m ²	: Metrekare
MHz	: Megahertz
mm	: Milimetre
MÖ	: Milattan önce
MSH	: Malondialdehit
n	: Nervus
N/Wb	: Newton/ Weber
n	: Sayı
°C	: Santigrad derece
OMI	: Oosit Maturasyon İnhibitörü
OSI	: Oksidatif Stres İndeksleri
P	: Güç
PAS	: Peryodik Asit Schiff
PKOS	: Polikistik over sendromu
PNG	: Postnatal gün
RF-EMF	: Radyofrekans
SAR	: Spesifik Absorption Rate
SOD	: Süperoksid dismutaz

t	: Isı artışı (C)
T	: Mutlak sıcaklığı
T	: Tesla
TAS	: Toplam Antioksidan Durumu
TdT	: Terminal Deoxynucleotidy Transferase
TOS	: Toplam Oksidan Durumu
TUNEL	: Terminal Deoxynucleotidy Transferase (Tdt) Deoxyuridine Triphosphate Nick End Labeling Assay
U	: Foton Enerjisi
v	: Vena
V	: Voltaj
W	: Watt
Wkg^{-1}	: Kütle Başına Watt
ZP	: Zona Pellucida
λ	: Dalga Boyu
ρ_m	: Kütle Yoğunluğu
σ	: İletkenlik
μm	: Mikrometre
3-NT	: 3-Nitrotirozin
8-OHdG	: 8-Hidroksi-Deoksiguanozin

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1.	Sıçanlarda Prenatal ve Postnatal Gelişim Dönemleri ve Özellikleri.....	23
Tablo 2.	İnsan Prenatal Gelişiminin Sıçanlarınkı ile Karşılaştırılması	26
Tablo 3.	İnsan ile Sıçanların Postnatal Peryodlarının Karşılaştırılması	27
Tablo 4.	Türkiye’de Kontrolsüz Etkilenme İçin Belirlenen Sınır Değerler	46
Tablo 5.	Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Başlangıcında Kafesin İç Zemininden Belirlenen Konumlardaki Ölçüm Sonuçları	47
Tablo 6.	Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Başlangıcında Kafesin İç Zemininde Ortalama Elektrik Alan Şiddeti, Güç Yoğunluğu, SAR Değerleri.....	47
Tablo 7.	Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Başlangıcında Kafesin Altından Belirlenen Konumlardaki Ölçüm Sonuçları.....	48
Tablo 8.	Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Başlangıcında Kafesin Altında Ortalama Elektrik Alan Şiddeti, Güç Yoğunluğu, SAR Değerleri	48
Tablo 9.	Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Bitiminde Kafesin İç Zemininde Belirlenen Konumlardaki Ölçüm Sonuçları.....	49
Tablo 10.	Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Bitiminde Kafesin İç Zemininde Ortalama Elektrik Alan Şiddeti, Güç Yoğunluğu, SAR Değerleri	49
Tablo 11.	Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Bitiminde Kafesin Altında Belirlenen Konumlardaki Ölçüm Sonuçları.....	50
Tablo 12.	Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Bitiminde Kafesin Altında Ortalama Elektrik Alan Şiddeti, Güç Yoğunluğu, SAR Değerleri	50
Tablo 13.	Vücut, Sağ ve Sol Over Ağırlıklarının Gruplara Göre Ortalama± Ortalamaların Standart Hata Değerleri ve Karşılaştırılması	68
Tablo 14.	Folikül Sayılarının Gruplara Göre Ortalama ± Ortalamaların Standart Hata Verileri ve Karşılaştırılması.....	71
Tablo 15.	Histopatolojik Skorumaları	72
Tablo 16.	Apoptotik indeks’in Gruplara Göre Ortalama ± Ortalamaların Standart Hata Değerleri ve Karşılaştırılması.....	80

Tablo 17. Doku Biyokimyası Verilerinin Gruplara Göre Ortalama $\pm$

Ortalamaların Standart Hata Değerleri ve Karşılaştırması..... 83

Tablo 18. Serum Biyokimyası Verilerinin Gruplara Göre Ortalama $\pm$

Ortalamaların Standart Hata Değerleri ve Karşılaştırması..... 84



ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1. Uzak-Alan, Yakın-Alan Bölgelerinde Elektromanyetik Alanların Kaynağa Olan Uzaklığıyla Değişmesi.....	32
Şekil 2. Frekans	33
Şekil 3. Dalga Boyu	33
Şekil 4. Güç Yoğunluğu	34
Şekil 5. Elektromanyetik Dalgalar.....	34
Şekil 6. Elektromanyetik Spektrum	35
Şekil 7. Deney Düzenegi ve EMA Kafesinin Ölçüm Noktalarının Şematik Gösterimi (A: Güç Kaynağı, B: Osilatör, C: EMA Kafesi)	45
Şekil 8. Deney Düzenegi ve Sıçanlara EMA Uygulamasının Şematik Gösterimi ...	45
Şekil 9 Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Başlangıcında Kafesin İç Zemininde Elektrik Alan Şiddetinin Zaman Üzerinden Ortalama Değerinin Konumsal Dağılımı	47
Şekil 10. Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Başlangıcında Kafesin Altında Elektrik Alan Şiddetinin Zaman Üzerinden Ortalama Değerinin Konumsal Dağılımı	48
Şekil 11. Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Bitiminde Kafesin İç Zemininde Elektrik Alan Şiddetinin Zaman Üzerinden Ortalama Değerinin Konumsal Dağılımı	49
Şekil 12. Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Bitiminde Kafesin Altında Elektrik Alan Şiddetinin Zaman Üzerinden Ortalama Değerinin Konumsal Dağılımı	50
Şekil 13. Doku MDA Ölçümünde Kullanılan Standart Grafiği	59
Şekil 14. Serum MDA Ölçümünde Kullanılan Standart Grafiği	61
Şekil 15. AMH Tayininde Kullanılan Standart Grafiği	61
Şekil 16. 3-NT Tayininde Kullanılan Standart Grafiği	62
Şekil 17. SOD Tayininde Kullanılan Standart Grafiği	63
Şekil 18. 8-OHdG Tayininde Kullanılan Standart Grafiği	63

Şekil 19. Katalaz Tayininde Kullanılan Standart Grafiği	64
Şekil 20. Glutasyon Tayininde Kullanılan Standart Grafiği	65
Şekil 21. Sıçanların 35-60. Günler Arasındaki Vücut Ağırlığı Artışı	67
Şekil 22. Sham Grubu Deney Başlangıç ve Bitişinde Kafes İçi Isı Ölçüm Sonuçları.....	68
Şekil 23. EMA Grubu Deney Başlangıç ve Bitişinde Kafes İçi Isı Ölçüm Sonuçları.....	69
Şekil 24. Sham Grubu Deneyin Başlangıç ve Bitişinde Kafes İçi Nem Ölçüm Sonuçları.....	69
Şekil 25. EMA Grubu Deneyin Başlangıç ve Bitişinde Kafes İçi Nem Ölçüm Sonuçları.....	70

RESİMLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Resim 1. Ovaryum	8
Resim 2. Primordial folikül	9
Resim 3. Erken primer folikül	10
Resim 4. Büyümekte olan primer folikül	11
Resim 5. Sekonder folikül	12
Resim 6. Graf folikül	13
Resim 7. Korpus luteum	15
Resim 8. Atretik folikül	16
Resim 9. Sıçanların çalışma süresince barındırıldığı standart Tip III kafesler	42
Resim 10. Geniş Bantlı EMA Ölçer Cihazı	44
Resim 11. Sıçanlardan sağ ve sol overlerin çıkarılması	51
Resim 12. Kontrol grubu (HE, ×400)	73
Resim 13. EMA grubu (H&E, ×400)	73
Resim 14. Sham grubu (H&E, ×400)	74
Resim 15. Kontrol grubu (H&E, ×200)	74
Resim 16. EMA grubu (H&E, ×200)	75
Resim 17. Sham grubu (H&E, ×200)	75
Resim 18. Kontrol grubu (Masson trikrom, ×100)	76
Resim 19. EMA grubu (Masson trikrom, ×100)	77
Resim 20. Sham grubu (Masson trikrom, ×100)	77
Resim 21. Kontrol grubu (PAS, ×400)	78
Resim 22. EMA grubu (PAS, ×400)	79
Resim 23. Sham grubu (PAS, ×400)	79
Resim 24. Kontrol grubu (TUNEL, ×400)	80
Resim 25. EMA grubu (TUNEL, ×400)	81
Resim 26. Sham grubu (TUNEL, ×400)	81

1. GİRİŞ

Teknolojinin ilerlemesiyle birlikte gündelik hayatımızı kolaylaştıran birçok cihaz ve sistemin EMA etkisi oluşturmaları ve bunların sayılarının her geçen gün artması insan sağlığı açısından ciddi tehlike oluşturma sınırlarını zorlamaktadır. Çünkü hayatı kolaylaştırmanın yanı sıra bu cihazların amacının dışında da yaygın olarak kullanılması, EMA etkisine maruz kalmayı daha da arttırmıştır. Örneğin diz üstü bilgisayar, tablet, cep telefonu gibi araçlar, esas görevleri olan iletişimi sağlamanın da ötesinde eğlence, oyun oynama gibi çok daha farklı amaçlar için de kullanılmaktadır. Bu durum özellikle erişkin dönem öncesinde, çocukluk ve adolesan dönemlerinde oldukça yaygındır.

Çocukluk ve adolesan dönemlerinde EMA etkisine maruziyetin sonuçları hem cep telefonu kullanımının sıklığı hemde erişkinlerle kıyaslandığında doku, organ ve sistemlerin gelişimini tamamlamamış olması ve henüz erişkin durumuna gelmemesi nedeniyle daha da vahim olabilir. Çünkü henüz morfolojik özelliklerini ve gelişimlerini tam olarak kazanmamış organ ve sistemlerin, küçük bir çevresel etken nedeniyle normal gelişimlerini değiştirmeleri mümkündür. Bu nedenle günümüzde dünyada yaklaşık 7 milyar cep telefonu kullanıcısı olduğunu ve bunların önemli kısmının erişkin dönemden önceki yaşam dönemlerindeki kişiler olduklarını düşünürsek, cep telefonunun oluşturduğu EMA etkisinin araştırılmasının ne denli önemli olduğu daha iyi anlaşılacaktır (1).

Konuyla ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde cep telefonunun oluşturduğu EMA etkisinin önemli sonuçlarının rapor edildiği görülmektedir. Örneğin uzun süreli cep telefonu kullanımının temporal lobda glioma riskini arttırdığını iddia eden çalışmalar vardır. Her ne kadar riskin, maruz kalınan doz ile ilgili olabileceği ve kişiden kişiye de değişebileceği ifade edilsede, uzun süreli kullanımında glioma riskinin olması, bilim insanları arasında cep telefonunun oluşturduğu EMA etkisi ile ilgili endişeleri giderek arttırmaktadır (1).

Cep telefonu kullanımının zararlı etkileri sadece glioma riskini arttırması ile sınırlı değildir. Cep telefonun uzun süreli kullanımı sosyal sonuçları da oldukça önemlidir. Çünkü sürekli cep telefonu ile meşguliyet insanların sosyal yaşamını kısıtlar, aile ilişkilerini de etkiler, onları yalnızlığa sürükler. Bunların ötesinde uzun

sürekli cep telefonu kullanımının baş ağrısı, kanda pıhtılaşma, tinnitus ve işitme problemlerine de neden olabileceği bilim insanları tarafından iddia edilmektedir (1,2). Bu ve buna benzer daha birçok iddia nedeniyle cep telefonunun oluşturduğu EMA etkisine maruziyetin insan sağlığı üzerindeki etkileri gittikçe daha fazla dikkat çekmektedir.

Ancak bu etkilerin şiddeti ve şiddetin insan sağlığı üzerine olan etkileri yapılan birçok çalışmaya rağmen hala tartışma konusudur. Birçok araştırma raporunda cep telefonu kullanımının çocuklar ve adolesanlar üzerindeki zararlı etkileri hakkında yeterli veri bulunmadığından bahisle, biran önce gerekli önlemlerin alınması gerektiği ifade edilmektedir (2). Örneğin cep telefonu ile konuşurken hopörlörden konuşmak, konuşmak yerine mesaj çekmek gibi basit önlemlerin dahi koruyucu olabileceği belirtilmektedir (1).

Toplumu cep telefonu kullanımı konusunda bilinçlendirmenin, yetkili makamlarca EMA etkilerinin azaltılması doğrultusunda çalışmalar yapılmasının, bu kapsamda broşür, afiş, reklam filmi hazırlayarak toplumun uyarılmasının, tüm bunların yanısıra cep telefonu sağlayıcı şirketleri daha az EMA etkisi oluşturan cep telefonları üretmeye sevk etmenin, dolayısıyla topluma daha sağlıklı yaşam koşulları sunabilme imkanı sağlamak açısından tüm bunların katkılarının olabileceği düşünülebilir. Ancak bunların yanısıra cep telefonunun canlı doku üzerinde, özellikle sinir ve üreme sistemi gibi hayati fonksiyonları yerine getiren sistemler ve bu sistemleri oluşturan organ ve dokular üzerine etkilerinin olup olmadığının bilimsel yöntemler kullanılarak araştırılması da oldukça fazla önem taşımaktadır. Çünkü cep telefonlarının oluşturduğu EMA'nın, bu önemli organ ve dokular üzerine eğer herhangi bir etkisi yok ise toplumu gereksiz yere endişeye sevk etmenin, gereksiz zaman ve para harcamanın da herhangi bir haklı gerekçesi yoktur.

Konuyla ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, çalışmalarda EMA'nın insan sağlığı ve üreme fonksiyonları üzerine zararlı etkilerini ortaya koymak amacıyla çok fazla çalışmanın olmadığı görülmektedir. Özellikle cep telefonunun oluşturduğu EMA etkisinin kadın üreme sistemine etkisini araştıran çalışmalar neredeyse yok denecek kadar azdır. Bu nedenle çalışmamızda 900 megahertz (MHz) EMA etkisine maruz bırakılan orta ve geç adolesan dönemdeki sıçanların ovaryumlarında meydana

gelebilecek olan değişikliklerin histolojik ve biyokimyasal yöntemler kullanılarak incelenmesi amaçlandı.

Dünyada yaygın olarak kullanılan cep telefonu frekansı 900-1800 MHz frekanslarıdır. Hem ülkemizde hem de Avrupa'da ise 900 MHz frekansında çalışan cep telefonları daha yaygındır. Bu nedenle çalışmamızda orta ve geç adolesan dönemlerindeki sıçanlar 900 MHz'lik EMA etkisine maruz bırakıldı. Çalışmamızda gerçek cep telefonu kullanıcılarını modellemek için sıçanlar EMA etkisine maruz bırakılırken, EMA etkisi uygulanan kafes içerisinde serbestçe hareket etmelerine izin verilmiştir. Böylece sıçanların sıkıştırılmadan dolayı yaşayabilecekleri stresin ortadan kaldırılması amaçlanmıştır. Yine çalışmamızda deneysel modelimizi günlük hayatımızdaki cep telefonu kullanımına benzetmek amacı ile EMA frekansı 900 MHz'de sabit tutuldu. Ayrıca uzun süreli cep telefonu kullanıcılarını da modelleyebilmek için sıçanlar 1 saat süreli ve kesintisiz EMA etkisine maruz bırakıldılar.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ovaryum Morfolojisi

2.1.1. İnsan Ovaryumunun Anatomisi

Ovariumlar dişide pelvik kavitede (pelvis minör), uterusun sağında ve solunda fossa ovarica denen çukurun içine yerleşik bir çift üreme organıdır. Erkeklerde homologu testistir. Oosit oluşumundan ve üreme hormonlarının sentezinden sorumludur.

Dişiler ayakta dik pozisyondayken ovaryumun uzun eksenı vertikaldedir. Ovariumun facies medialis ve facies lateralis olmak üzere iki yüzü vardır. Pelvis boşluğına bakan yüzü facies medialisdir. Bu yüz tuba uterina ile örtülüdür. Bağırsak ve kolon sigmoideuma komşudur. Facies lateralis dış yüzüdür. Fossa ovaricayı örten parietal periton ile komşudur. Böylece nervus (n) obturatorius, arteria (a), vena (v). obturatorius, ekstraperitoneal dokudan ayrılır. Ovariumun extremitas tubaria ve extremitas uterina adı verilen iki ucu vardır. Extremitas tubaria üst ucuadır. V. iliaca externa ile komşudur. Fimbria ovarica ve ligamentum (lig) suspensorium ovarii bu uca tutunur. Lig. suspensorium ovarii içinden plexus ovaricustan ovariuma gelen dallar ve a.v. ovarica bulunur. Bu ligament a.v. iliaca eksternanın üzerinden geçer ve arka kısımda musculus (m) psoas majörü örten peritonla devam eder. Extremitas uterina alt uçadır. Üst uçtan daha dardır. Pelvis tabanına bakar. Lig. ovarii proprium bu uçtan başlar ve uterusun dış köşesine tutunur. Bu ligament düz kas lifleri içerir ve lig. latum uterinin iki yaprağı arasındadır. Ovariumun margo mesoovaricus ve margo liber adı verilen iki kenarı vardır. Margo mesoovaricus ön kenardır. Mesoovarium (bir periton plikasıdır) ile lig. latum uterinin arka-üst yüzeyine tutunur. Mesovarium içinde damarlar ve sinirler bulunur. Bu damarlar ve sinirlerin ovariuma girip çıktığı yere hilum ovarii adı verilir. Margo liber arka kenardır. Konveks bir kenardır ve yönü üretere doğrudur.

Ovarium 3 cm uzunluğunda, 1,5 cm genişliğinde, 1 cm kalınlığında, 4-6 gr ağırlığındadır. Dış yüzü tunica albuginea adı verilen kalın bir tabaka ile sarılıdır. Ovarium dışta korteks içte medulla olmak üzere iki kısımdan oluşur. ovariumun

hilum ovarii dışındaki dış kısmını korteks oluşturur. Foliküller kortekste yer alır. İç kısmı oluşturan medullada çok sayıda damar ve elastik lif yer alır. Tunica albuginea kortekste bağ dokusunun kalınlaşması ile oluşur.

Arterler

Ovariumu besleyen arter a. ovarica'dır. A. ovarica pars abdominalis aortadan L2 vertebra seviyesinde ayrılır, karın arka duvarından aşağı iner, a. ve v. iliaca ları çaprazlar, lig. suspensorium içine girer, mesovarium içinde ovariuma giden dallarını verir. Bu dallar hilum ovarii'den içeri girer, foliküllerin çevresinde dağılır. A. ovarica ise lig. latum uteri içinde medialde devam edip tuba uterinaya dağılır ve a. uterinayla anastamoz yapar. A. uterinanın ramus ovaricusu ovariumuda besler.

Venler

Ovariumun venleri hilum ovarii'den çıkar ve plexus pampiniformisi oluşturur. Plexus pampiniformis lig. latum uteri içinde yer alır. Plexus uterina ile bağlantılıdır. Plexus pampiniformis v. ovaricayı oluşturur. V. ovarica, a. ovarica ile seyrederek pelvis minordan çıkar. Sol v. ovarica v. renalis sinistraya, sağ v. ovarica v. cava inferiora dökülür.

Lenfatikler

Ovariumdan çıkan lenf damarları a. ovarica boyunca seyreder, nodi lymphatici preaortici ve nodi lymphatici aortici lateraleye drene olur.

Sinirler

Ovarium plexus ovaricus tarafından inerve edilir. plexus ovaricus; plexus aorticus, plexus hipogastricus superior, plexus hipogastricus inferior, plexus renalisten gelen dallardan oluşur. Bu sinirler a. ovarica ile aşağıya iner. Ovarium, lig. latum uteri ve tuba uterinaya dağılır. Parasempatik lifler n. vagustan, sempatik lifler medulla spinalisin T10-11 segmentlerinden gelir (3-5).

2.1.2. İnsan Ovaryumunun Embriyolojisi

Embriyonun cinsiyeti fertilizasyon aşamasında genetik açıdan belirlenmiştir. Fakat gelişimin 7. haftasına kadar gonadlar dişi veya erkeğe ait morfolojik özellikte değildir.

Gonadların gelişimi mezonefrozun medial kenarındaki sölem epitelinin çoğalarak kalınlaşmasıyla başlar. Epitelin altındaki mezenşimin çoğalıp yoğunlaşmasıyla mezenkimal blastem oluşur. Böylece her iki tarafta dorsal mezenter ile mezonefroz arasında longitudinal uzanan kabartı oluşur ki buna gonodal (genital) kabarıklık denir. Bu bölge gelişimin 6. haftasına kadar germ hücreleri içermez.

Primordial germ hücreleri epiblasttan köken alır. Primitif çizgi boyunca göç ederek 3. haftada yolk kesesinin allontoise yakın duvarına gelirler. Buradaki hücrelerin arasına yerleşirler. 4. haftada son bağırsağın mezenterinin dorsali boyunca ameboid hareketle ilerlerler. 5. haftanın sonunda primitif gonadlara gelirler. 6. haftada gonodal kabarıklığa ulaşırlar. Primordial germ hücrelerinin gonadların farklılaşmasında indükleyici etkileri vardır. Gonodal kabarıklıktaki epitel hücreleri proliferasyon olarak altındaki mezenşime gömülürler. Burada primer germ kordonlarını oluştururlar. Bunlar düzensiz kordonlardır. Primordial germ hücreleri bu kordonlara yerleşir. Bu evredeki gonadlara farklılaşmamış gonadlar denir. Bu farklılaşmamış gonadlarda bir korteks ve bir medulla ayırd edilebilir.

Primer germ kordonları medullaya uzanır. Burda mezenşim tarafında ayrılarak hücre kümeleri halini alır. Daha sonra bu hücre kümeleri dejenere olarak overin medullasını oluşturacak olan vasküler stromaya bırakır. Yüzeyel sölem epiteli proliferasyon olur. 7. haftada bu epitelden sekonder (kortikal) germ kordonları gelişir. Kortikal kordonlar kortekste yer alır. Primordial germ hücreleri kortikal kordonlara yerleşir. 16. haftada kortikal kordonlar izole hücre kümelerine ayrılır. Bu hücreler proliferasyon olmaya devam ederler. Primordial germ hücrelerini sararlar. Primordial germ hücrelerinden oogonyumlar, etrafını saran hücrelerdende tek katlı yassı folikül hücreleri gelişir. Böylece primordial folikül meydana gelir (6).

Oogonyumlar fetal hayatta mitozla çoğalırlar. 3. ayda bir kısmı 1. mayoz bölünmeye girerek primer oosit oluşur. Primer oosit birinci mayoz bölünmenin profazının diploten evresinde duraksar. Daha fazla büyümesi folikül hücreleri tarafından sentezlenen oosit maturasyon inhibitörü (OMI) tarafından engellenir. 8. ayda oogonyumların tamamı ve bir kısım primer oosit dejenere olur.

Ovaryum yüzey epiteli tek katlı kübik özellikte germinal epitele dönüşür. Hilusta mezoteli şeklinde devam eder. Germinal epitel fibröz bir kapsülle kortekste ki foliküllerden ayrılır. Mezonefroz gerilerken, ovaryum ondan ayrılır ve kendi

mezenteri mezoveryumla asılıdır. Ovaryumun süspansör ligamenti kranial genital ligamentten, ovaryumun lig. propriası ve uterusun round ligamenti kaudal genital ligamentten oluşur (7,8).

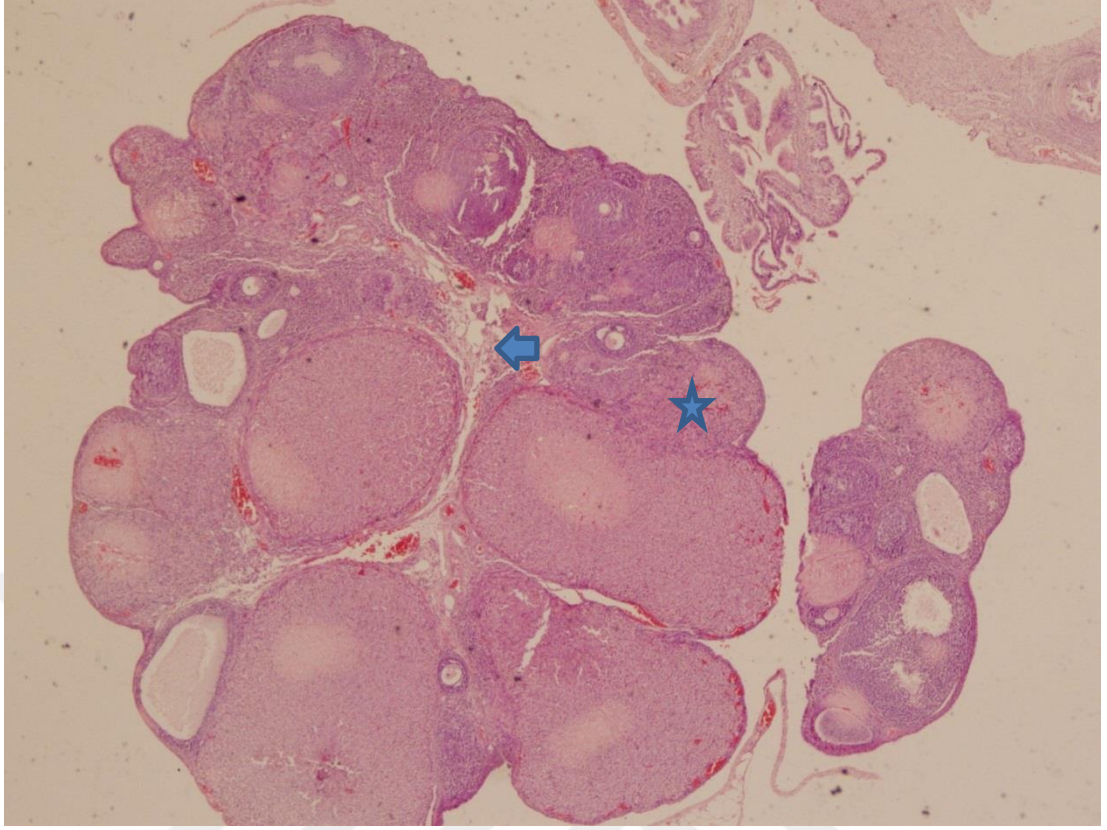
2.1.3. İnsan Ovaryumunun Histolojisi

Ovaryum dış yüzeyi tek katlı kübik, bazı bölgeleri yassı hücrelerden oluşan germinal epitelle örtülüdür. Germinal epitelin hemen altında sıkı bağ dokusundan oluşan tunika albuginea yer alır. Ovaryum korteks ve medulla olarak adlandırılan iki bölgeden oluşur. Korteks, ovaryumun periferik bölgesinde yer alır. Bu bölümde çok sayıda ovaryum folikülleri, korpus luteum ve hücrelerce zengin bağ dokusu bulunur. Folikül etrafındaki stromada dağınık yerleşimli düz kas lifleri bulunur. Medulla, ovaryumun merkezi bölgesinde yer alır. Bu bölgede gevşek bağ dokusu, kan damarları, lenf damarları ve sinirler bulunur. Korteks ile medulla arasında belirgin bir sınır yoktur (Resim 1). Damar ve sinir yapılarının ovaryuma girip çıktığı bölgeye hilus denir. Hilusta buluna ovaryan hilar hücreler burdaki vasküler boşluklar ve miyelinsiz sinir lifleri ile ilişkilidir. Bu hücreler reinke kristaloidleri içermektedir. Gebelik ve menopoz başlangıcındaki hormonal değişikliklere yanıt verdiği düşünülmektedir. Ayrıca bu hücrelerin androjen saldığı düşünülmektedir. Hücrelerin hiperplazisi veya tümörleri maskülarizasyona yol açmaktadır (5, 9, 10).

Oogenezis fetal yaşamda başlar. Fetusta 5 milyon olan oosit sayısı doğumda 600.000-800.000 civarındadır. Pubertede foliküller küçük gruplar halinde olgunlaşma sürecine girer ve bu süreçte bir oosit olgun ovum haline ulaşır ve ovaryumdan atılır. Bazı sikluslarda birden fazla ovum atılabilir. Geride kalan oositler atreziye uğrarlar. Reprodüktif dönem boyunca yaklaşık 400 matür ovum üretilir.

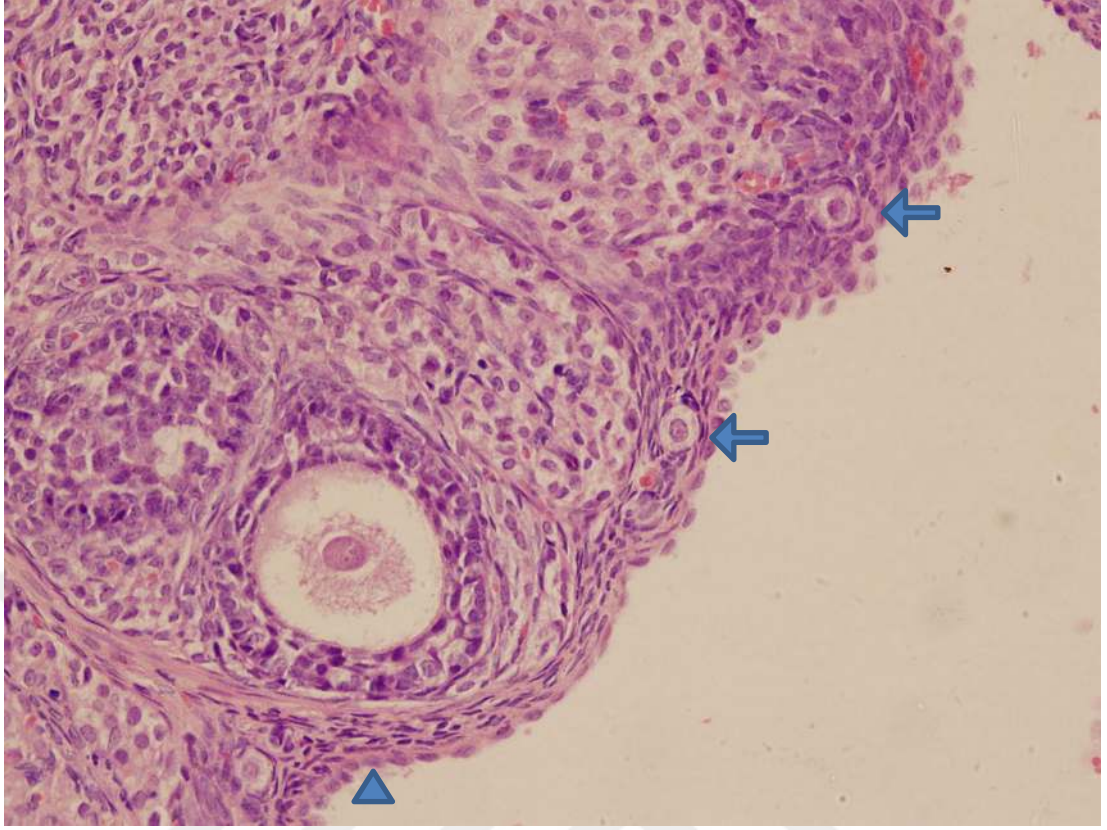
Foliküller gelişimlerine göre üç evrede tanımlanabilir (9).

- Primordial folikül
- Büyümekte olan folikül: primer folikül (preantral folikül), sekonder folikül (antral folikül)
- Olgun folikül: graaf folikülü



Resim 1. Ovaryum (H&E, ×40), Ok: Medulla, Yıldız: Korteks (resim çalışmamızdaki kontrol grubu sıçan dokularından elde edilen prepratlerden alınmıştır)

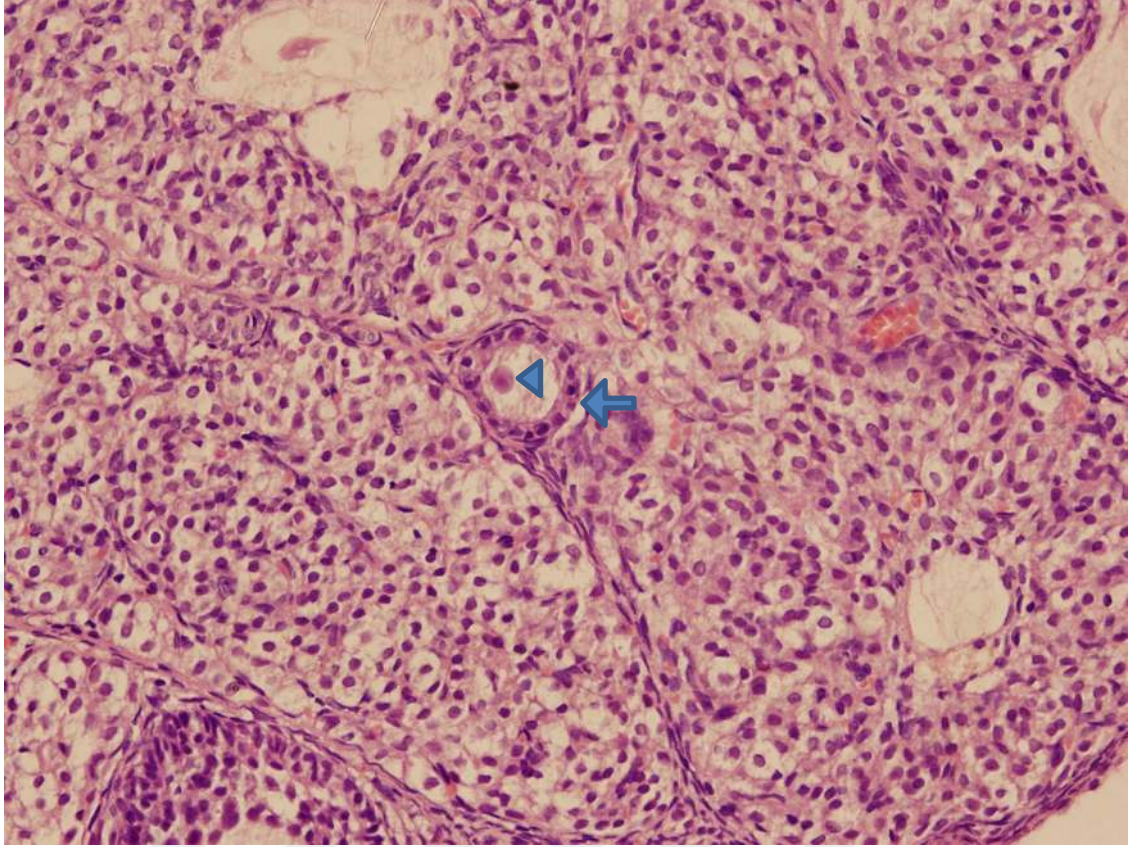
Primordial Folikül: İlk fetal yaşamda ortaya çıkarlar. Olgun ovaryumda tunika albugineanın hemen altında yer alırlar. Oosit birinci mayoz bölünmenin profazının diploten evresinde duraksamıştır. Oosit etrafında tek sıra halindeki yassı folikül hücreleri oositi sıkıca sarmıştır. Folikül hücreleri dış yüzeyi bazal lamina ile bağ dokusundan ayrılır. Primordial folikül 25-30µm çapındadır. Oosit büyük eksantrik bir nükleusa sahiptir (Resim 2). Nükleusta dağılmış kromatin ve bir veya daha fazla nükleolus bulunur. Oositin stoplazması ooplazma olarak adlandırılır. Ooplazmada balbiani cisimciği bulunur. Balbiani cisimciği endoplazmik retikulum, golgi vezikülleri ve membranları, lizozomların ve mitokondriyumların oluşturduğu bir organel kümesidir. Ayrıca insan oositlerinde anüler lameller, ooplazmada yaygın mitokondriyumlar ve veziküller bulunur. Anüler lameller nüklear zarf kesit dizilerinden oluşur. Bu kesitler morfolojik olarak nüklear por yapısıyla özdeş por yapıları içerir (5,9,11).



Resim 2. Primordial Folikül (H&E, ×400); Ok: Primordial Folikül, Ok Başı: Germinal Epitel (resim çalışmamızdaki kontrol grubu sıçan dokularından elde edilen prepratlerden alınmıştır).

Primer Folikül (Preantral Folikül): Primordial folikül büyüme evresine girdiğinde oositte, folikül hücrelerinde ve çevresindeki stromada değişiklikler oluşur. Oosit büyür. Folikül hücreleri proliferasyon olarak kübik şekil alır. Kübik tek sıra halindeki folikül hücrelerinin oositi sardığı bu evrede erken primer folikül olarak adlandırılır (Resim 3). Oosit büyüdükçe özel proteinler salgılar. Bu proteinler bir araya gelerek zona pellusidayı (ZP) oluşturur. ZP, oositle folikül hücreleri arasında ekstraselüler bir örtüdür. Işık mikroskopunda PAS boya ile koyu boyanan homojen ve refraktil bir tabaka olarak net görülür.

İnsanda ZP’de üç tip glikoprotein bulunur. Bunlar ZP-1, ZP-2, ZP-3 tür. ZP-3 spermatozoa bağlanma reseptörüdür. Ayrıca akrozom reaksiyonunu indükler. ZP-2 sekonder spermatozoa bağlanma proteinidir. ZP-3’ün görevi bilinmemektedir. ZP ile oosit arasındaki aralığa perivitellin aralık denir.



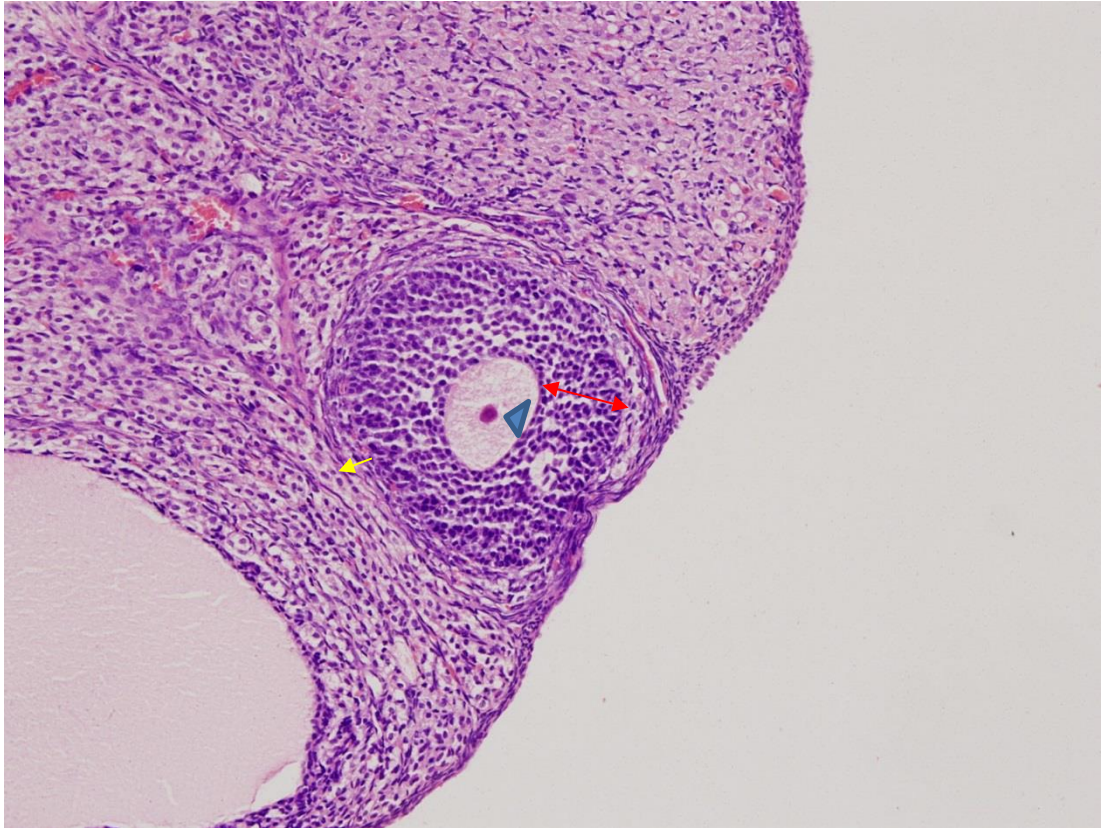
Resim 3. Erken Primer Folikül (H&E, ×400); Ok: Tek Tabakalı Folikül Hücreleri, Ok Başı: Primer Oosit (resim çalışmamızdaki kontrol grubu sıçan dokularından elde edilen prepratlerden alınmıştır)

Oosit etrafındaki tek tabakalı folikül hücreleri mitotik proliferasyonla çok katlı bir tabaka oluşur. Bu tabakaya stratum granulozum, hücrelere de granüler hücre denir. Bazal membrana komşu granuloza hücreleri prizmatik hale gelir. Granüllü endoplazmik retikulumlar (GER) folikülün büyümesiyle granuloza hücreleri arasında oluklu bağlantılar oluşur. Ayrıca granuloza hücrelerinde ince uzantılar oluşur. Bu uzantılar oosit mikrovilluslarıyla iç içe geçer. Bazıları oolemma içine doğru invaje olur, oolemma ile temas edebilir ama stoplazmik devamlılık göstermez.

Foliküle komşu stromal hücreler, bazal laminanın hemen dışında bir bağ dokusu hücre kılıfı oluşturur. Bu yapıya teka folikülü denir. Teka folikülü teka interna ve teka eksterna olmak üzere iki tabakaya özelleşir. Teka interna bazal laminaya komşu iç tabakadır. Zengin küçük damar ağı ve kübik salgı hücreleri ile karakterizedir. Ayrıca fibroblastlar ve kollajen demetleride bulunur. Salgı hücreleri ultrastrüktürel olarak steroid üreten hücre özelliğindedir. Çok sayıda luteinizan

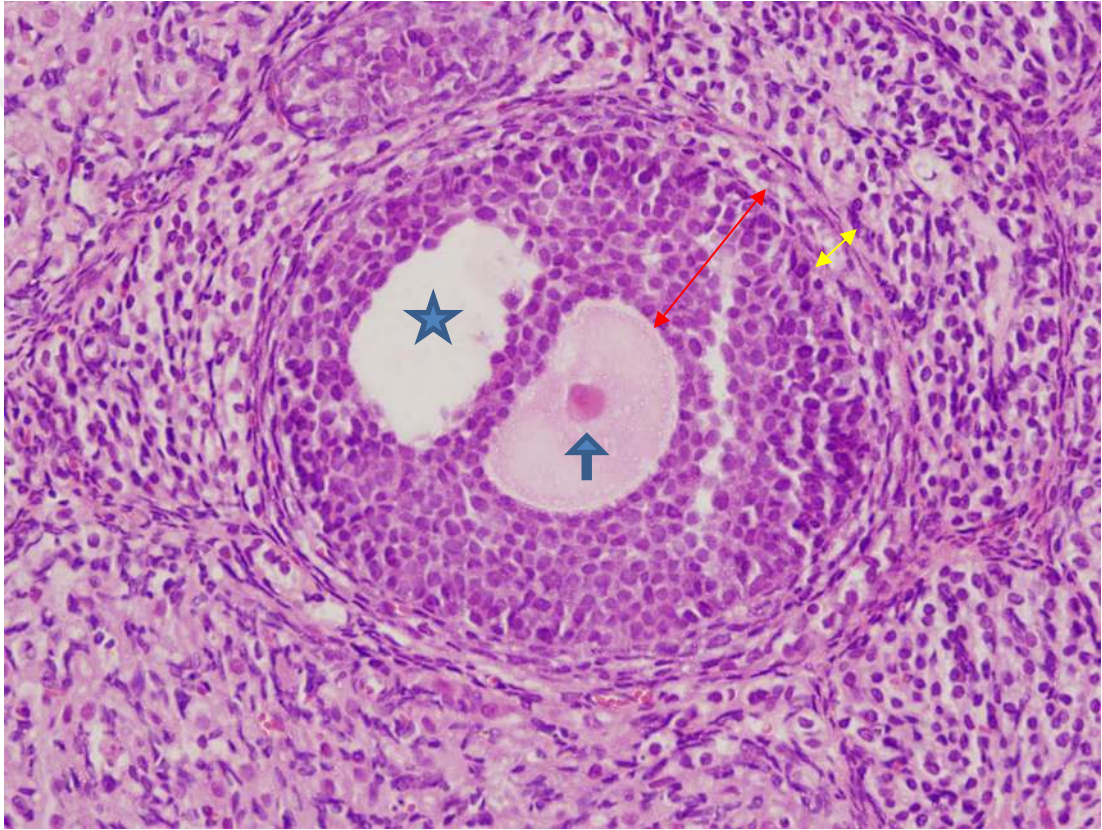
hormon (LH) reseptörüne sahiptir. Luteinizan hormon etkisiyle östrojen prekürsörü olan androjenleri sentezlerler. Teka eksterna teka internanın dışında yer alır. Bağ dokusu hücrelerinden oluşur. Çoğunlukla düz kas hücreleri ve kollajen lif demetleri içerir.

Oosit olgunlaştıkça organellerin dağılımı değişir. Bir balbian cisimciğinden çok sayıda golgi oluşur ve stoplazmaya yayılır. Mitokondriyumların, GER'in, serbest ribozomların, küçük veziküllerin ve multiveziküler cisimlerin miktarı artar. Kortikal granüller oluşur. Kortikal granüller içinde birçok proteaz içeren özelleşmiş salgı vezikülleridir. Vezikül membranı nüklear membrandan köken alır. Önce nükleus çevresinde oluşurlar. Sonra oolemma altına doğru ilerleyerek burda yer alırlar. Spermle birleşen oosit aktive olur. Kortikal granüller ekzositoz yoluyla salgılarını perivitellin aralığa bırakır. Oluşan reaksiyon sonucu polispermi engellenir (5,9) (Resim 4).



Resim 4. Büyümekte Olan Primer Folikül (BPF) (H&E, $\times 400$); Çift Yönlü Kırmızı Ok: Zona Granuloza, Folikül Hücreleri Çok Tabakalı, Ok Başı: Primer Oosit, Sarı Ok: Teka Tabakası (resim çalışmamızdaki kontrol grubu sıçan dokularından elde edilen prepatlardan alınmıştır)

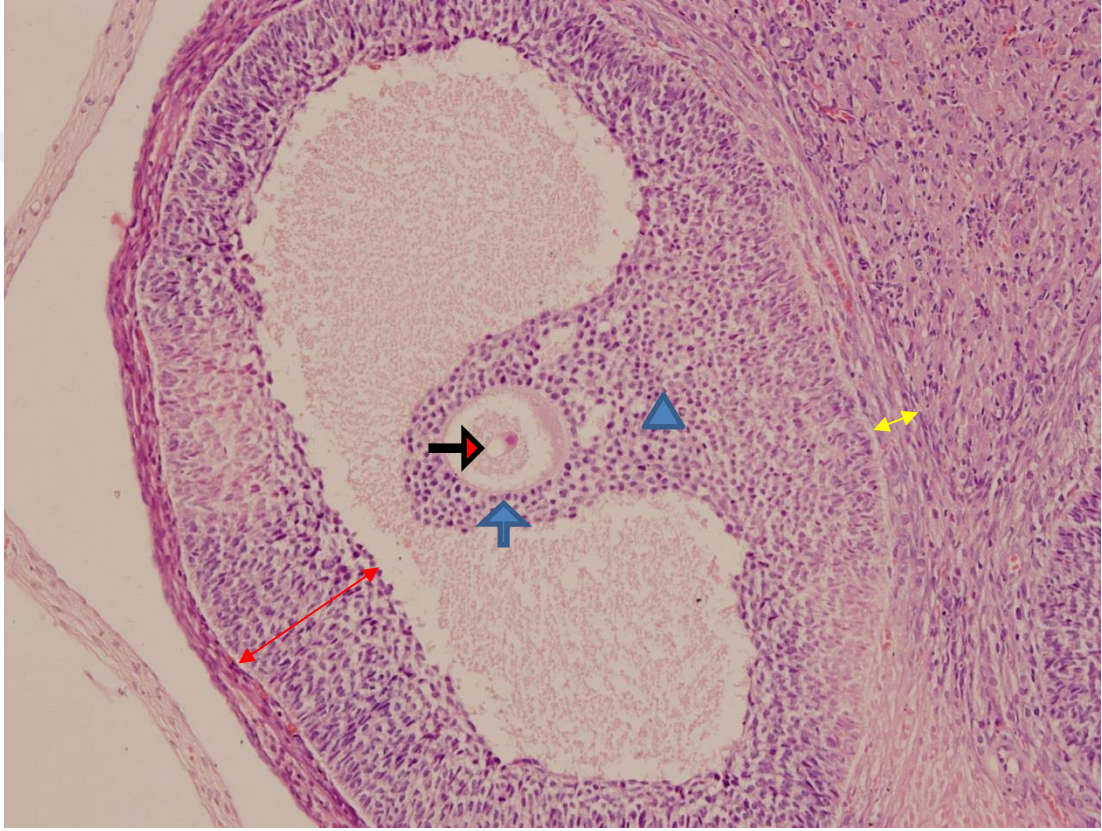
Sekonder Folikül (Antral Folikül): Granuloza hücrelerinin proliferasyonu ile stratum granulosum 6-12 tabaka kalınlığına ulaşınca granuloza hücreleri arasında içi sıvı dolu kaviteler oluşmaya başlar. Kavitelerin oluşmasıyla folikül sekonder folikül adını alır. Bu sıvıya likör foliküli denir. Likör foliküli hyaluronan bakımından zengindir. Kaviteler birleşerek antrumu oluşturur (Resim 5). Granuloza hücreleri arasında bu hücrelerce salınan koyu boyana, PAS (+) olan ekstraselüler materyaller görülebilir. Bunlara Call-Exner cisimcikleri denir. Bu cisimcikler hyaluronan ve proteoglikan içerir. Sekonder folikülün çapı arttıkça antrumda genişler (5, 9).



Resim 5. Sekonder Folikül (H&E, ×400); Çift Yönlü Kırmızı Ok: Zona Granuloza, Çift Yönlü Sarı Ok: Teka Tabakası, Ok:Primer Oosit, Yıldız: Folikül Kavitesi (resim çalışmamızdaki kontrol grubu sıçan dokularından elde edilen prepratlardan alınmıştır)

Graaf Folikülü: Çapı yaklaşık 10 cm ya da daha fazladır. Tek ve geniş bir antrumu vardı. Antrum arttıkça stratum granulosum tabakası inceler. Granuloza hücrelerinde mitotik aktivite azalır. Granuloza hücrelerinin serbest antral yüzdeki LH reseptörü sayısı artar. Oosit kenara yaklaşmıştır. Antruma doğru çıkıntı yapan,

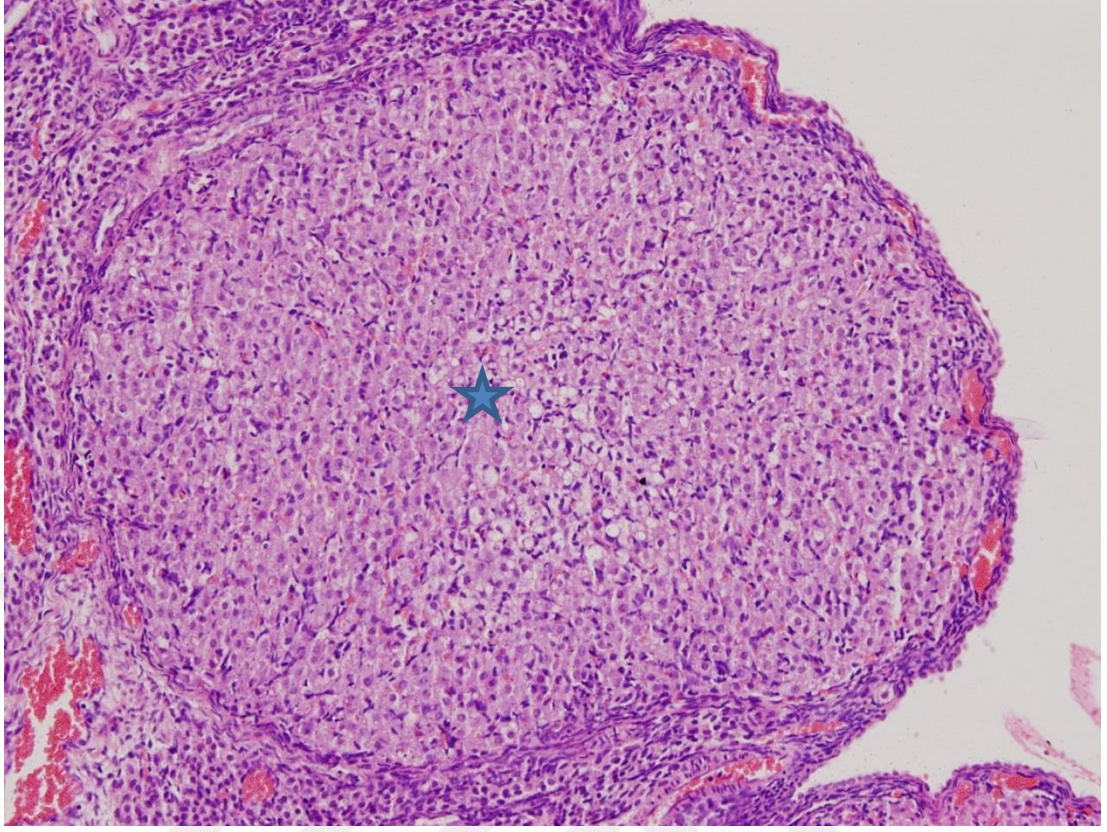
oosit ile ilişkili granulaza hücrelerine kumulus ooforus denir. Oositin etrafını çevreleyen kumulus hücrelerine korona radiata denir. Bu hücrelerin ZP'yi penetre eden mikrovillusları vardır. Bu mikrovilluslar oluklu bağlantılar aracılığıyla oosit mikrovillusları ile bağlantı kurarlar. Granuloza hücreleri arasındaki boşluk genişledikçe kumulus hücreleriyle granuloza hücreleri arasındaki ilişki zayıflar. Böylece ovulasyona hazırlık yapılır. Ovulasyonla oosit kumulus hücreleriyle birlikte atılır. Teka tabakası daha belirgindir (5,9) (Resim 6).



Resim 6. Graaf Folikülü (H&E, ×400); Kırmızı Ok: Oosit, Mavi Ok: Korona Radiata, Ok Başı: Kumulus Ooforus, Çift Yönlü Kırmızı Ok: Zona Granuloza, Çift Yönlü Sarı Ok Teka Tabakası (resim çalışmamızdaki kontrol grubu sıçan dokularından elde edilen prepatlardan alınmıştır)

Corpus Luteum: Ovulasyondan sonra geri kalan folikül yapısı kollabe olur. Corpus luteuma dönüşür. Teka internadaki kan damarlarından folikül lümenine kanama olur. Kan pıhtılaşır. Bu yapıya corpus luteum hemorajikum denir. Daha sonra stromadan gelen fibroblastlar, kollajen lifler folikül kavitesine invaze olur. Granuloza ve teka interna tabakasındaki hücreler luteinizasyonla farklılaşarak

granuloza lutein ve teka lutein hücrelerine dönüşürler. Bu hücreler büyük steroid sentezleyen hücre özelliğindedir. Sitoplazmalarında bol miktarda lipid damlacıkları, gelişmiş agranüler endoplazmik retikulum (aER) ve tubuler kristal mitokondriyonlar bulunur. Sitoplazmalarında bulunan lipokrom pigmentinden ötürü taze preparatlarda sarı görülürler. Granuloza lutein hücreleri büyüktür ve merkezi yerleşimlidir. Folikül stimulan hormon (FSH) ve LH uyarısına yanıt olarak progesteron ve östrojen salgırlar. Teka lutein hücreleri daha küçük, koyu boyanan ve periferik yerleşimli hücrelerdir. Luteinizan hormon uyarısına yanıt olarak androstenodion ve progesteron üretirler. Teka internadan gelen kan damarları granuloza tabakasına doğru büyür. Zengin damarsal bir ağ oluştururlar. Bu yapı salgıladığı hormonlarla endometriumu zigotun implantasyonu için hazırlar. Eğer gebelik gerçekleşirse embriyonun trofoblast hücrelerinde üretilen human koryonik gonodotropin (hCG) etkisiyle büyümeye ve hormon sentezlemeye devam eder. Bu durumda gebelik korpus luteumu adını alır. 9-10 hafta devam eder. Sonrasında geriler. Fertilizasyon ve implantasyon gerçekleşmezse korpus luteum 14 gün aktif kalır. Menstruasyon korpus luteumu denir. Human koryonik gonodotropin ve diğer luteotropinler yokluğunda hormon üretimi azalır. Ovulasyondan 10-12 gün sonra dejenerasyon başlar. Korpus luteumda involüsyon başlar. Hücreler lipidle dolar, küçülürler ve otoliz gerçekleşir. Dejenere hücrelerde hyalin materyal birikimi corpus luteum albicans adını alır. Küçülerek ovaryum korteksinin derinlerine doğru gömülür (5,9,10) (Resim 7).

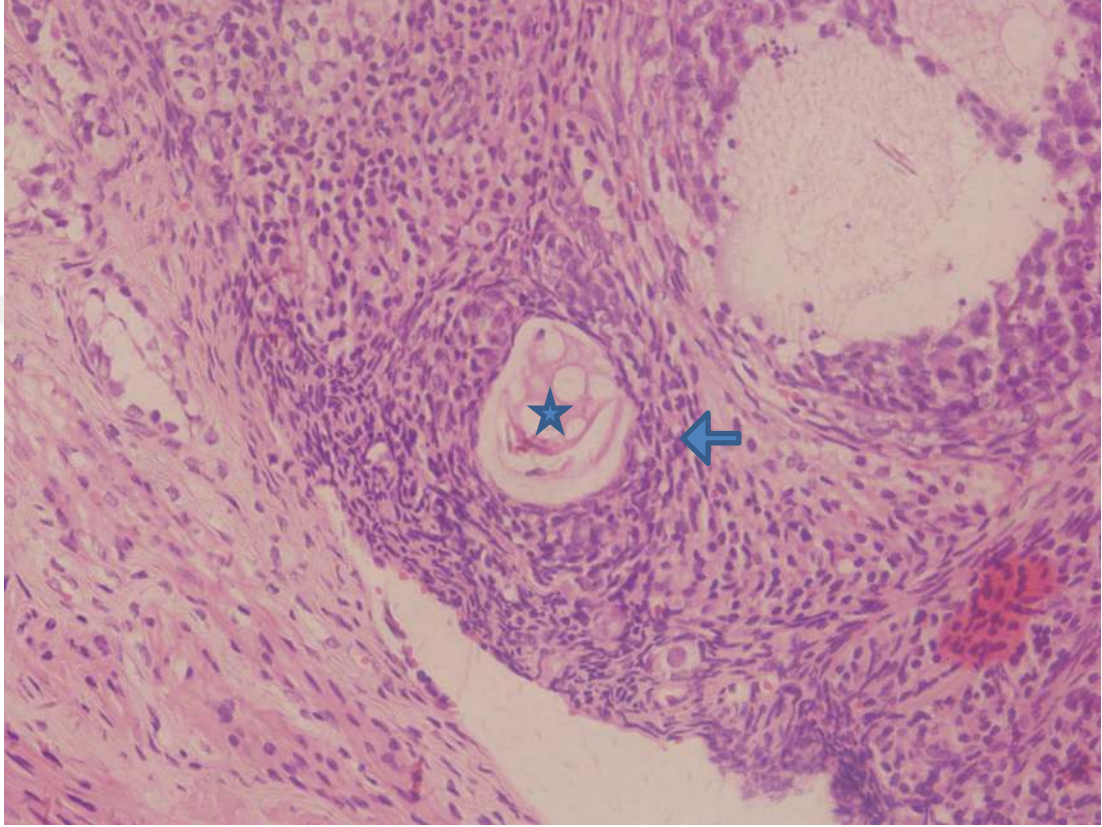


Resim 7. Korpus Luteum (H&E, ×400); Yıldız: Luteal Hücreler (resim çalışmamızdaki kontrol grubu sıçan dokularından elde edilen prepratlerden alınmıştır)

Atretik Folikül: Foliküllerin çoğu fetal gelişim sırasında, postnatal erken dönemde, pubertede atreziye uğrar. Puberteden sonra foliküller gruplar halinde her menstruel siklusta gelişmeye başlar. Bunlardan bir tanesi tam olgunlaşırken geri kalanlar gelişimin çeşitli evrelerinde atreziye uğrar. Primordial folikül ve büyümekte olan küçük foliküller immatür oositlerinin küçülmesi ve dejenere olmasıyla atreziye uğrar. Granuloza hücrelerinde de benzer değişiklikler olur. Atretik foliküller fagosit olarak ortadan kaybolurlar (9, 10) (Resim 8).

Büyük foliküllerde süreç daha karmaşıktır. Matür oositler daha geç dejenere olurlar. Oositlerdeki dejenerasyon folikül duvarındaki dejeneratif değişikliklerden sonra gerçekleşir. Granuloza hücrelerinde hidrolitik enzimler, endonükleazlar aktive olur, mitoz durur ve apoptoz başlar. Granuloza tabakası nötrofil, makrofaj, vaskülarize bağ dokusu kordonları tarafından invaze olur. Granuloza hücreleri antruma dökülür. Teka interna hücreleri hipertrofiye uğrar. Dejenerasyon süresince folikül kollabe olur. Folikül kavitesine bağ dokusu invazyonu olur. ZP yavaş yavaş

yıkılırken katlanarak kollabe olur. Dejenere hücreler ve ZP tarafından fagosit edilir. Bazal membran folikül hücrelerinden ayrılıp, kalınlaşıp, dalgalı hyalin bir tabaka oluşturur, bu yapıya camsı membran denir. Geç evrede atreziye uğrayan foliküller için karakteristiktir (5, 9, 11, 12).



Resim 8. Atretik Folikül (H&E, ×400); Ok: Atretik Folikül, Yıldız: Camsı Membran (resim çalışmamızdaki kontrol grubu sıçan dokularından elde edilen prepatlardan alınmıştır)

Folikül dejenere olurken bir kısım luteal hücre korunur. Steroid salgılamaya devam eder. Bu yapılara interstisyel hücre denir (11).

2.1.4. Ovaryumun Görevleri

Ovaryumun birbiriyle ilişkili iki temel fonksiyonu vardır.

- 1) Steroidogenezis: Steroid hormon sentezi
- 2) Gametogenezis: Gametlerin oluşumu

Ovaryumdan başlıca üretilen hormonlar östrojenler, progesteron ve androjenlerdir. Ayrıca ovaryumdan inhibin, aktivin ve relaksinde salınır (10).

Östrojenler: 3 tip östrojen vardır. β -östrodiol, östron, östriyol dür. Östrojenik gücü en çok olan β -östrodiol dür. β -östrodiol östrondan 12, östriyolden 80 kat etkilidir (11). Overlerden salınan en önemli östrojen β -östrodiyoldür. Overlerde östron salgısı çok az miktardadır. Östronun çoğu adrenal korteks ve overin teka hücrelerinden salınan androjenlerin periferde dönüşümünden oluşur. Östriyol özellikle karaciğerde oluşur. β -östrodiol ve östronun oksidasyon ürünüdür (13).

Progestinler: En önemlisi progesterondur. Az miktarda 17- α -hidroksiprogesteronda bulunur. Menstrüel siklusun luteal fazında (2. yarısında) corpus luteumdan salınır. Foliküler fazda (1. yarısında) plazmada az miktarda progesteron vardır. Ovaryum ve adrenal korteksten salınır (13).

Östrojen ve progestinlerin sentezi: Östrojen ve progestinler steroid yapıda hormonlardır. Bu hormonlar başlıca kandan alınan kolesterol ve az miktarda asetil koenzim-A'dan sentez edilir. Sentez sırasında ilk progesteron ve testosteron oluşur. Progesteronun çoğu, testosteronun tümü granuloza hücrelerinde östrojene dönüşür. Teka hücrelerinde aromataz enzimi olmadığından östrojen üretilemez (10). Menstrüel siklusun luteal fazında hormonların çoğu progesterona dönüşür (13).

Östrojenlerin Görevleri: Dış ve iç genital organların büyümesini ve olgunlaşmasını sağlar. Meme dokusunda stromanın, kanal sisteminin gelişmesini ve memede yağ birikimini sağlar. İskelet sisteminde osteoblastik aktiviteyi artırır. Uzun kemiklerin cismi ile epifizin erken birleşmesine neden olur. Östrojenler total vücut proteinini hafifçe artırır. Metabolik hızı biraz artırırlar. Derialtı yağ dokusunu artırırlar. Meme, derialtı, kalçada yağ birikimine neden olarak özgün kadın görüntüsünün oluşmasına neden olur. Derinin yumuşak ve düzgün olmasını sağlarlar. Ayrıca derinin normale göre daha çok damarlanmasını sağlarlar. Böbrek tubullerinden sodyum ve su geri emilimine neden olur. Ancak bu etkisi hafiftir (3, 9, 13).

Progesteronun Görevleri: Menstruasyonun luteal fazında endometriumda sekretuar değişikliklere neden olarak embriyonun implantasyonu için endometrumu hazırlar. Ayrıca uterus kontraksiyonlarının frekansını ve şiddetini azaltarak implante olan embriyonun atılmasını engeller. Fallop tüpünün mukozasında sekretuar

değişiklikler yapar bölünen embriyonun ilerlerken beslenmesini sağlar. Memede alveolar hücrelerin proliferasyonuna neden olur. Lobul ve alveol gelişimini hızlandırır. Memeyi laktasyon için hazırlar (9, 13).

Anti Müllerian Hormon: Anti Müllerian Hormon (AMH) erkeklerde fetal testisten salgılanarak mülleryen sistemin gelişimini engeller. Kadınlarda çoğunlukla primer ve preantral foliküllerde granuloza hücrelerinde, sınırlı miktarda da büyük foliküllerde üretilir (14,15). Primordial foliküllerin primer foliküle gelişimini ve FSH'nın preantral ve antral foliküllere stimülasyonunu inhibe eder (15). Anti Müllerian Hormonun over rezerviyle ilişkili olduğu belirtilmiştir (16). Primordial folikül havuzundan büyüme evresine geçiş yapmış folikülleri gösterdiğinden over rezervinin kantitatif bir markeridir (17). Anti Müllerian Hormon siklusta daha az dalgalanmalar gösterdiğinden over rezervini göstermede iyi bir belirteçtir (18). Anti Müllerian Hormon üretiminin siklus döneminden bağımsız olmasından ötürü ölçümü FSH ve inhibin testlerinden avantajlıdır (14).

Anti Müllerian Hormon polikistik over sendromlu (PKOS) kadınlarda sağlıklı kadınlara göre 2-3 kat artmıştır. Bu PKOS'lu kadınlarda çok sayıda erken folikül bulunmasıyla uyumludur (19). Bunun nedeni PKOS'ta folikülogenezis bozulmuştur. Preantral ve küçük antral foliküller sayıca çoğaldığından folikülogenezde aşırı yığılma olur. Anti Müllerian Hormon düzeyi artar (20). Anti Müllerian Hormon gelişmekte olan folliküllerin sayısını gösterdiğinden PKOS'da bozulmuş ovaryan follikülleri göstermede belirteç olarak kullanılabilir (21). Granuloza hücreli over kanserlerinde de miktarı arttığı belirtilmiştir (22).

İnhibin: Korpus luteumdan salınır. Folikül stimülan hormon salınımını baskılar (3).

Relaksin: Serviksi yumuşatarak ve pelvis ligamentlerini gevşeterek doğumu kolaylaştırır. Zayıf androjenler teka interna hücrelerinde üretilir (10).

Puberte cinsel erişkin dönemin başlaması, menarş menstruasyonun başlamasıdır. Puberte öncesi serum FSH ve LH düzeyleri çok düşüktür. Puberte ile birlikte hipotalamustan gonodotropin relasing hormon (GnRH) pulsatil salgılanmaya başlar. Bu da adenohipofizden LH ve FSH salgılanmasını uyarır. Puberte FSH ve LH salgılanmasının artmasıyla başlar. Genellikle 9-10 yaşlarında başlar. 11-16 (ortalama 13) yaşları arasında ovaryan siklus peryotlarının başlamasıyla en yüksek düzeye

gelir. Ovaryan sikluslar menarşdan menopoza (40-50 yaş) kadar ortalama 28 günlük peryodlar şeklinde devam eder. Her siklusta bir oosit atılır. Bu süre zarfında ortalama 400 oosit atılır. Ovaryan siklusun foliküler ve luteal faz olmak üzere iki fazı vardır, Ovulasyon bu iki faz arasında olur.

- **Foliküler Faz:** Ortalama 14 gün sürer. 6-12 primordial folikül gelişmeye başlar. İlk olarak oositin çapı artar. Tek katlı folikül hücreleri çoğalarak çok katlı tabaka halini alır. 5-7. günlerde dominant folikül seçimi olur. Siklusun ilk birkaç gününde FSH ve LH seviyeleri artmaya başlar. Folikül stimülan hormon folikül gelişiminde etkili ana hormondur. Granuloza hücrelerinin proliferasyonunu sağlar. Teka interna ve eksterna tabakalarının oluşumunu sağlar. Granuloza hücreleri folikül sıvısı salgılamasıyla hücreler arasında boşluklar (antrum) oluşur. Folikül stimülan hormon granuloza ve teka hücrelerini uyarır. Östrojen sentezi ve folikül sıvısına salınımı artar. Folikül sıvısındaki östrojen granuloza hücrelerindeki FSH reseptörlerini arttırır. Granuloza hücrelerinin FSH'ya duyarlılığı artar. Folikül stimülan hormon östrojenle birlikte granuloza hücrelerinde LH reseptör üretimini arttırır. Östrojenin artması ve LH'nın yükselmeye başlaması ile birlikte teka hücrelerinin proliferasyonu ve sekresyonu artar. Boşluklar birleşerek büyük bir antrum oluşur. Oosit 125-150µm çapa ulaşır ve folikül kenara yaklaşır. Folikül sıvısında östrojen en yüksek düzeye geldikten sonra folikül FSH'ya duyarsızlaşır ve FSH'dan bağımsız büyümeye devam eder. Kanda artan östrojen FSH salınımını inhibe eder. Folikül stimülan hormondaki küçük artışa LH'nın ani artışı eşlik eder. Ani LH artışı ovülasyonu indükler. Luteinizan hormon pikinden 10-12 saat sonra ovulasyon gerçekleşir.

- **Ovulasyon:** Büyüyen folikül yüzeyindeki dokuya bası yapar. Bu bölgede kan akımı durur. Beyaz görülür ve foliküler stigma denir. Teka eksternadan salınan proteolitik enzimler teka tabakasının ayrışmasına neden olur. İyice büyüyen folikül stigmanın yırtılmasını sağlar. Oosit kumulus hücreleriyle dışarı atılır.

Ovulasyondan hemen önce 1. mayozun profazının diploten evresinde olan primer oosit 1. mayozunu tamamlar. Sekonder oosit oluşur. Sekonder oosit haploten yapıdadır. 150µm çapındadır. Sitoplazması çok az olan haploten yapıdaki diğer hücreye 1. polar cisim denir. Sekonder oosit hemen 2. mayoza girer. 2. Mayozun

metafaz evresinde duraksar. Eğer spermle fertilize olursa 2. mayozunu tamamlar. Şayet fertilizasyon gerçekleşmezse yaklaşık 24 saat sonra dejenere olur.

- **Luteal Faz:** Ortalam 14 gün sürer. Oosit atıldıktan sonra geriye kalan folikülün granuloza ve teka hücrelerinin morfolojisi değişir. Lutein hücrelerine dönüşerek korpus luteum oluşur. Korpus luteumda salgılanan östrojenlerin çoğu progesterona dönüştürülür. Progesteronla endometrium sekretuar faza geçer. Korpus luteumun gelişimi ve devam etmesinde LH etkilidir. Luteal fazın sonunda LH azalır. Korpus luteum dejenere olur. Gebelik gerçekleşirse hCG etkisiyle korpus luteum devamlılığını korur (9,13).

2.1.5. Sıçan Ovaryumunun Histolojisi ve Anatomisi

Sıçan Ovaryumunun Histolojisi ve Anatomisi

Overlerin görüntüsü ve boyutları östrus siklusu evresine göre değişkendir. Ovaryumun yüzeyi mezoovariumun devamı şeklinde olup modifiye haldedir. Hücreler tek tabaka halinde yüzeyi kaplar. Yüzey epiteli tek katlı skuamoz epitelden kübik, prizmatik, yalancı çok katlı prizmatığe kadar değişebilir. Östrus siklusundaki değişikliklere yüzey epiteli ile beraber altındaki parankim de eşlik eder.

Mezoovarium her bir overde, overi, fallop tüpünü ve over bursalarını beraber sarar. Stroma overin gövdesini oluşturur. Stroma ince kollojen lifler, fibroblast ve benzeri hücrelerin karışımından oluşur. Yüzey epitelinin altında ince bir stroma yapısı vardır, bu kısma tunika albuginea denir.

Kemirgenlerin overlerinde histolojik olarak rete ovary görülebilir. Bu yapı mezonefrik kanalların hücrelerinin embriyonik gelişim sırasında gonadlara göçü ile oluşur. Yetişkin sıçanlarda rete ovary farklı tübül yapılarıyla anastomoz yapar ve stromada gömülüdür. Yüzeyi kübikten kolumnar epitele kadar değişken bir epitelle kaplıdır (23, 26).

Cinsel olgunluktaki sıçanların kortekslerinde çok sayıda, gelişimin farklı aşamalarında olan folikül yapıları bulunur.

Primordial Folikül

Fetal gelişimin erken aşamalarında oluşur ve foliküler gelişimin en erken aşamasıdır. Tipik olarak tunika albugineanın hemen altında, korteksin periferinde yer

alır. Ortada bir primer oosit ve etrafını saran tek katlı yassı folikül hücrelerinden oluşur. Primer oosit birinci mayoz bölünmede duraksamıştır. Her östrus siklusunda bir grup primordial folikül primer foliküle dönüşerek gelişmeye başlar. Gelişim süreci erken tersiyer folikül oluşuncaya kadar hormonal stimülasyondan bağımsızdır.

Primer Folikül

Primordial folikülün diferansiyasyonu ile oluşur. Tek katlı yassı hücreler tek katlı prizmatik hücrelere dönüşür.

Sekonder Folikül

Tek katlı prizmatik hücreler çoğalarak çok tabakalı dizilim gösterir. Bu tabakaya zona granuloza denir. Hücrelerde granuloza hücreleri denir. Zona granuloza ile primer oosit arasında glikoproteinden ve asit proteoglikanlardan ZP yapısı oluşur. Sekonder folikül büyüdükçe granuloza hücreleri arasında içi sıvı dolu veziküller oluşur. Bu aşamada veziküler folikül olarak adlandırılır. Over stroması folikülün etrafını konsantrik bir tabaka halinde sararak teka folikülünü oluşturur. Bu tabaka bazal membran ile ZP'den ayrılır.

Tersiyer Folikül

Zona granulozadaki boşluklar büyüyerek birleşirler. Büyük merkezi bir boşluk oluşur. Bu boşluğa antrum denir. Antrum folikül sıvısıyla doludur ve granuloza hücreleriyle çevrilidir. Oosit eksantrik yerleşim gösterir. Oosit çevreleyen hücrelere korona radiata denir. Zona glomerulozada korona radiataya kadar uzanan hücre yığımında kumulus ooforus denir.

Teka tabakası iki kısımdan oluşur:

- Teka interna,
- Teka eksterna

Teka interna vakuolize sitoplazmalı, veziküler nükleuslu poligonal hücrelerden oluşur. Sitoplazmalarında çok sayıda lipid damlacıkları, çok sayıda mitokondriyon ve aER bulunur. Bu nedenle steroid sentezi yapan hücre özelliği gösterir. Androstendiyon sentezinin çoğu bu hücrelerde yapılır. Teka eksterna hücreleri iğ şeklindedir ve endokrin fonksiyonları yoktur.

Preovulatuvar Graaf Folikülü

Az sayıda tersiyer folikül fazla morfolojik değişim göstererek graaf folikülü oluştururlar. Antrumun daha fazla büyümesiyle zona granuloza inceler. Kumulus

ooforusu oluşturan granuloza hücreleri dejenere olur. Primer oosit zona granulozadan ayrılır. Antrumda serbestçe yüzer. Primer oosit ovulasyondan hemen önce 1. mayozunu tamamlar ve sekonder oosit oluşur.

Corpus Luteum

Sekonder oositin atılmasının ardından folikülde kalan teka ve granuloza hücreleri hipertrofiye ve hiperplaziye uğrar. Buna luteinizasyon denir. Luteinizan hormon ve prolaktinin etkisiyle gerçekleşir. Bazal membran zona granuloza ve teka internadan ayrılarak dejenere olmaya başlar. Teka internadaki damarlardan foliküle kanama olur. Bu aşamada korpus luteum büyük eozinofilik bir yapıdadır. Over yüzeyinden çıkıntı yapacak şekilde veya kortikomeduller kavşakta gömülü halde olacak şekilde farklı lokasyonlarda bulunabilir. Olgunlaşmamış korpus luteumlar daha bazofilik görünür. Her bir korpus luteum sonraki birkaç siklusta matürasyonuna devam eder. Sonuç olarak sıçan overinde bulunduğu siklustan önceki üç siklusun korpus luteumunda bulunur.

Korpus luteum dejenere oldukça küçülür. Fibroz doku gittikçe artar. Sarı kahverengi lipofuksin pigmentleri ile karakterizedir. Sonuçta korpus luteum yaygın fibröz dokudan oluşan bir yapı haline gelir. Bu aşamada korpus albicans olarak adlandırılır. Sıçanlarda korpus albicans tam regresyona uğrar, kalıntı kalmaz.

Atretik Folikül

Gelişime girip olgunlaşmayan foliküller farklı aşamalarda atreziye uğrar. Kemirgenlerde dejenerasyona uğrayan tersiyer foliküllerden interstisyel bez yapıları oluşur. Bu bezler teka interna hücrelerinin agregasyonu ile oluşur. Genellikle dejenere ZP etrafında düzenlenirler, küçük interstisyel hüce kümeleri halinde medullaya yayılmış geçici yapılardır (23).

2.1.6. Sıçanların Prenatal ve Postnatal Gelişim Dönemleri ve Özellikleri

Sıçanların prenatal ve postnatal gelişim dönemleri ve özellikleri Tablo 1’de verilmiştir (24).

Sıçanlarda potsnatal 0. günden (PNG0) PNG7’ye kadar geçen dönem neonatal dönem, PNG8-PNG20’ye kadar ki dönem infantil dönem olarak tanımlanır.

PNG33-PNG37 arası prepubertal dönem, PNG38-PNG46 arası ise pubertal dönem olarak adlandırılır (25, 26).

Tablo 1. Sıçanlarda Prenatal ve Postnatal Gelişim Dönemleri ve Özellikleri

Gün	Evre	Boyut (mm)	Özellik	Yer
1	1	0,07	1 hücreli	Fallop tüpü
2	2	0,08×0,06	2 hücreli	
3	3	0,08×0,05	4 hücreli	
	3,5		8-12 hücreli	
	3,25	0,08×0,04	Morula	
4	6	0,08×0,03	Erken blastosist	
5	7	0,12×0,05	Blastosist	
6	6	8	0,28×0,07	Uterus
	6,75	9		
7	7,25	10	0,3×0,1	
	7,75	11	0,5×0,1	
8	8,5	12	1,04×0,26	
9	9	13	1	
	9,5	14	1,5	
10	10	15	2	
	10,5	16	2,4	
11	11	17	3,3	

Tablo 1'in Devamı

	11,5	18	3,8	26-28. somitler(üst lumbal); 3 Visseral ark; kol tomurcuklarının şekillenmesi
	11,75	19	4,2	29-31. somitler(alt lumbal); visseral arklar I-IV; servikal katlantılar; apendikular kıvrımlar ve tomurcuklar
	11,875	20	5	32-33. somitler(üst sakral)
12	12	21	5,1	34-35. somitler(alt sakral); derin servikal sinüsler
	12,125	22	5,2	36. somit(kaudal); olfaktor çukurlar
	12,25	23	5,6	37-38. somitler(kaudal); umblikal herniasyonun başlaması
	12,375	24	6	39-40. somitler(kaudal)
	12,5	25	6,2	41-42. somitler(kaudal); oksipital somitlerin dağılması; 4 visseral ark; derin servikal sinuslar; kol tomurcuklarının yüksekliği ve uzunluğu yaklaşık olarak 8-14. Somitler düzeyinde; bacak tomurcuklarının 28-31. Somit düzeyinde; vücudun dönerek spiral formasyon oluşturması; kuyruk ve allontoik sapın plasentaya yükselmesi
	12,75	26	7	43-45. somitler(kaudal); mandibular maksillar ve frontonasal çıkıntılar; servikal sinusların kapanması; meme bantları; el plaklarının diferansiyasyonu; kol tomurcuklarının vaskülarizasyonu ve brakial sinirin girmesi; umblikal herninin başlaması
13	13	27	8	46-48. somitler(kaudal); yüz çıkıntılarının ve yarıklarının belirginleşmesi; burnun uzaması; servikal sinusların kapanması; primordial meme bezleri; el ve ayak plaklarının dönmesi; umblikal herninin büyümesi
	13,5	28	8,5	49-51. somitler(kaudal); 1. Visseral yarığın dış kulak kanalına dönüşmesi; el plaklarında prekartilajın yoğunlaşması
14	14	29	9,5	52-55. somitler(kaudal); 1 ve 2. Servikal arkta aurikular çıkıntılar;
	14,5	30	10,5	56-60. somitler(kaudal); vücudun açılması; mandibular prekartilaj; dış kulak yolunun dairesel açıklığının oluşması; plevraperitoneal kanalın daralması
15	15	31	12	61-63 somitler(kaudal); yüz yarıklarının kapanması; plevraperitoneal kanalların kapanması; diyaframın tamamlanması
	15,5	32	14,2	64. somit(kaudal); kulak kepçesinin ileri çıkması; umblikal herni maksimum boyutta
16		33	15,5	65. somit(genellikle son kaudal); burnun göğsü havalandırması; metamorfozun son aşaması

Tablo 1'in Devamı

17-18	34	16-20	1. fetal evre; göz kapaklarının hızla büyümesi(18. Günün sonunda gözler tamamen kapalıdır); damak tamamlanır; kulak kepçesi kulak kanalını sarar; umbilikal herni geri çekilir	
19-22 (antenatal)	35	20-40	2. fetal evre; göz kapakları kapalı; fetal membranlar ve plasenta gelişimin üst noktasında; kuyruk büyüyerek 10 mm'ye ulaşır; 22. Gün doğum	
Postnatal	Postpartum 1-16	35	Postpartum 1-16. Gün; doğumdan sonra fetüs emen ve nefes alan yavrulara dönüşür; göz kapakları kapalı kalır; dış kulak yolu peridermle kapalıdır	
	Postpartum 17+	36	Postpartum 17+; periderm ve göz kapakları kaybolur; 3 gün sonra aktif beslenmeye başlar; 1 hafta sonra süttten kesilir	

Tirelli et al. (27) ise Postnatal 21. günden (PNG21) PNG60'a kadar ki dönemi adolesan dönem olarak tanımlamakta ve adolesan dönemide kendi içinde erken adolesan dönem (PNG21-PNG34 günler arası), erken adolesan dönem (PNG34-PNG46 günler arası) ve geç adolesan dönem (PNG46-PNG60 günler arası) olmak üzere üç döneme ayırmaktadırlar (27).

İnsan prenatal gelişiminin sıçanların gelişimi ile karşılaştırılması

Deneysel olarak yapılan hayvan çalışmalarından elde edilen çalışma sonuçları genellikle insan çalışmaları için önemli bir fikir vermektedir. Ayrıca hayvan çalışmalarından elde edilen bulgular, aynı şartları yaşayabilecek olan insanlar içinde çok önemli veriler ortaya koyar. Bu durumda çalışılan hayvan ile insanın gelişim dönemlerinin, prenatal ya da postnatal olmasından ziyade aynı gelişim dönemlerinde olması önemlidir.

Hayvan çalışmalarında insan gelişimine daha fazla benzerlik göstermesi nedeniyle en fazla tercih edilen hayvan sıçanlardır. Bu nedenle Tablo 2'de insan prenatal gelişimi sıçanların gelişimi ile karşılaştırılmalı olarak verilmiştir (28).

Tablo 2. İnsan Prenatal Gelişiminin Sıçanlarındaki ile Karşılaştırılması

Aşamalar	Evre	İnsan		Sıçan	
		Uzunluk (mm)	Yaş (Gün)	Uzunluk (mm)	Yaş (Gün)
Tek hücreli	1	0.2	0-2		1
Blastomerik	2	0.2	2-4		2-3
Blastodermik	3	0.4	4-6		4-5
Blaminar Embriyo Aşaması					
Blaminar plak	4-1	0.1	6-14		6-7
Birincil yolk kesesi	4-2				
İkincil yolk kesesi	4-3	0.2-0.4			
Trilaminar Embriyo Aşaması					
Primitif çizgi	5-1	0.4-1	15-17		8-9
Notokord	5-2	1-2	17-20		
Erken Somit Evresi					
Nöral oluğun tam açıklığı	6-1	1.5-2	20-21		9½
Nöral tüp oluşumu	6-2	1.5-4	21-26	1.3-3	10-10¾
	6-3	3-5	26-30	3-4,1	11
Ekstremitte Gelişim Evreleri					
Proksimal ekstremitte tomurcukları	7-1	4-6	28-32	4-4,5	11
Proksimal ve distal ekstremitte tomurcukları	7-2	5-8	31-35	4-6	11,5
Proksimal ekstremitenin iki segmenti	7-3	7-10	35-38	5,8-8	13
Proksimal ve distal ekstremitenin iki segmenti	7-4	8-12	37-42	8-9,5	13½
Dijital ışınlar, ayak plakları	7-5	10-14	42-44	10	14
Dijital tüberküller	7-6	13-21	44-51	12,5	15½
Rakamlar, ayak tüberkülleri	7-7	19-24	51-53	16	17
Geç Embriyonel Evre					
Farklanmış ekstremiteler	8-1	22-23	52-56	19	17½
Göz kapaklarının füzyonu	8-2	27-35	56-60	22	19½
Fetal dönem	9	31-200	60-182+	25	19-21
Perinatal dönem	10	201-450	180-266+	Doğum sonrası	Doğum sonrası

İnsan postnatal gelişiminin sıçanların gelişimi ile karşılaştırılması

İnsanlarla sıçanların postnatal peryodlarının benzerlik gösterdiği belirtilmiştir. Bu peryodlar aşağıdaki Tablo 3’de belirtilmiştir (25, 26, 29).

Tablo 3. İnsan ile Sıçanların Postnatal Peryodlarının Karşılaştırılması

Dönem insan/rat	İnsan	Rat
Yenidoğan/neonatal	0-28. gün	PNG 0-7
İnfant/infantil	1-23. ay	PNG 8-20
Çocuk/juvenil	2-12. yıl	PNG 21-32
Peripubertal	Tanımlanmadı	PNG 33-37
Adolesan/puberte	12-16. yıl	PNG 38-46

2.1.7. Sıçan Ovaryumunun Postnatal Gelişimi

Doğumdan itibaren postnatal 46. güne kadar sıçan ovaryumunun gelişimi anlatılırken foliküller aşağıdaki tanımlamalara göre anlatılacaktır.

Primordial folikül: Etrafı tek katlı yassı folikül hücreleri ile çevrili primer oosit

Büyümekte olan primer folikül (BPF): Etrafı çok katlı kübik folikül hücreleriyle (zona granuloza) çevrili primer oosit

Sekonder folikül: Etrafı çok katlı kübik folikül hücreleriyle (zona granuloza) çevrili primer oosit. Zona granulozada içi folikül sıvısıyla dolu boşluklar (antrum) vardır.

Graaf folikülü: Zona granulozadaki boşluklar birleşmiş ve tek bir boşluk (antrum) oluşmuştur. Folikülün çapı yaklaşık 0.9–1.0 mm. Primer oosit eksantrik yerleşim gösterir. Primer oositin etrafında korona radiata ve kumulus hücreleri mevcuttur. Zona granuloza etrafında teka tabakaları bulunur (30,31).

Neonatal peryod: Doğum-postnatal 7. gün

Postnatal 3. günde (PNG 3) ovaryumda primordial, primer ve BPF görülür. Foliküllerin merkezinde büyük çekirdek bulunur. Foliküller stroma hücreleri tarafından çevrelenmiştir.

Erken infantil peryod: Postnatal 8-17. gün

Büyümekte olan primer folikülün büyümesiyle çekirdek de genişler. Primordial folikül periferik çevrenin incilmesiyle sınırlanır. 10 günle beraber over merkezinde erken antral gelişim görülür. Büyümekte olan primer folikül ve erken antral folikül yetişkin dönemdeki foliküllere göre immatürdür.

Olgunlaşmamış BPF özelliği: İri granuloza hücresi, iri teka hücreleri ve bu iki tabaka arasında güçlükle ayırt edilebilen bazal membrandan oluşur. ZP yoktur.

Olgunlaşmamış foliküllerin diğer özellikleri: Granuloza hücreleri arasında zayıf adezyon, primer oosit bulunur ve ZP yoktur.

Erken infantil dönem boyunca medulladaki BPF ve erken antral folikül kademeli olarak yetişkin dönemdekilere benzer (14. gün). Bu matürasyon sürecinde granuloza hücreleri oosite yapışmaya başlarlar ve küçülürler. Çekirdekleri büyük bazofiliktir. Teka hücreleri uzayarak tabakaları meydana getirir (14. gün). İnterstisyel stroma genişler ancak interstisyel bezler yoktur.

Geç infantil peryod: Postnatal 15-20. gün

İmmatür foliküller artık yoktur. PNG 15'de ZP görülür. Subjektif olarak BPF ve erken antral foliküllerin miktarı birbirine yakındır. İnterstisyum belirgin hale gelir. PNG 18'de hilus ayırt edilir. Büyük antral foliküller medulla içinde görülebilirler. Bu foliküller peripubertal dönemdeki ve matür ovaryumdaki ovulatuvar folikülden ayırt edilebilir.

Erken ve geç infantil sıçan ovaryumları embriyonik gelişimi anımsatan bir histolojik özelliğe sahiptir. Preantral foliküller kortikal yüzeye dik bir şekilde lineer yayılırlar. Merkeze yakın olanlar daha gelişmiştir. Bu düzen yetişkin ovaryumunda görülmez.

Juvenil peryod: Postnatal 21-32. gün

Bu dönemin belirgin özelliği granuloza hücrelerindeki apoptoz ve folikül atrezisidir. Apoptoz çoğunlukla medullada bulunan BPF ve erken antral foliküllerde piknotik nükleusların küçük kümelenmeleriyle meydana gelir. Kortekstekiler gelişmeye devam ederek orta büyüklükteki antral folikülleri oluştururlar. Evre ilerledikçe BPF ve küçük antral foliküllerde apoptoz daha da artar ve interstisyel bezler kademeli olarak artar.

Postnatal 21. Gün: Medullada nekrotik oosit kalıntıları (eozinofilik ZP)

Postnatal 26-28. gün: Foliküler atrezi belirgindir. Medullada ZP kalıntıları daha önceki evrelere kıyasla en üst düzeydedir.

Peripubertal peryod: Postnatal 33-37. gün

Bu dönemin ayırd edici bulgusu korteksin periferel bölgesinde ovulatuvar folikülün (çapı 0,9-1 mm) görülmesidir. Bu folikül geniş bir antruma, primer oosite sahiptir. Oosit korona radiata ile çevrilidir. Ovaryum iyi gelişmiş bir hilus, interstisyum, interstisyel bez, çeşitli boyutlarda BPF ve sekonder foliküllerin dengeli dağılımıyla olgunlaşır.

Pubertal peryod: Postnatal 38-46. gün

Ovulasyonla atılacak olan folikül çapı 0,9-1 mm çapa ulaşır. Ovulasyondan sonra korpus luteum oluşur. İlk ovulasyon döngüsünde yaklaşık 2-5 korpus luteum oluşur. Bundan sonra korpus luteum sayısı artar. Gerilemeye başlayan korpus luteumlar çeşitli evrelerde görülür (26, 29, 31).

2.2. Elektromanyetik Alan

2.2.1. Yük ve Alan Kavramı

Elektriklenmenin keşfi milattan önce (MÖ) 600'lü yıllarda Yunanlıların kehribar taşının ovulmasıyla hafif kütleli cisimleri kendine çektiğini gözlemlediği yıllara dayanmaktadır. Ancak elektrik yüklü kütlelerin birbirlerini çektiği gibi aynı zamanda itebileceğinin farkına varılması 1600'lü yıllara bulmaktadır. 1735'de, Du Fay, aslında iki farklı yükün varlığını anlayan ilk kişiydi. Bu iki farklı elektrik yükü pozitif ve negatif olarak adlandırdı (32).

Bu elektrik pozitif veya negatif yüklerinin cisim üzerinde birikmesiyle oluşan nicelik yük olarak adlandırılır. Cisimlerin birbirini itmesinin sebebi aynı yükle yüklenmiş olmalarıdır. Farklı yüklerle yüklendikleri durumda ise cisimler birbirlerini çekerler. Yükler arasındaki bu etkinin sebebi, yükler arasındaki kuvvettir (32,33).

Pozitif yük olarak adlandırılan protonlar sabittir ancak negatif yük olarak adlandırılan elektronlar ise hareketlidir. Bir madde üzerinde elektron sayısının artması ya da azalması esnasındaki elektron hareketi elektriğin temelini oluşturur. Negatif yük olan elektronların bir noktadan diğer noktaya hareketine elektrik akımı

denir. Bir iletkenin herhangi bir noktasındaki birim zamanda geçen elektrik akımı ise yük miktarının ölçüsüdür (33).

Uzayda bir bölgenin her noktası bazı özelliklere sahipse burada bir alanın var olduğu kabul edilir. Alan, uzay ve zamanda gözlenebilir bir niceliğin veya büyüklüğün süreklilik gösteren dağılımı olarak da tanımlanmaktadır. Söz konusu gözlenen nicelik, uzayda değişim gösterip zamanla değişmiyorsa statik alandan, tersi durumda ise zamanla değişken alandan söz edilir. Matematiksel tanımlamada alanın uzayın bir fonksiyonu olduğu kabul edilir. Alandaki herhangi bir nokta, uzayda öbür noktalara göre konumu cinsinden belirlenir. Ölçülen özellik, doğrultudan bağımsızsa skaler, doğrultuya bağlıysa vektördür. Alanın sınıflandırılmasında çeşitli yollar vardır. Temel olarak bunlar; gözlenebilir bir nicelik olan maddi alanlar ve herhangi bir maddi özelliği sergilemeyip, belli koşullar altında uzayın bir noktasında ortaya çıkacak bazı gizli etkileri sergileyen maddi olmayan alanlar olarak ikiye ayrılabilir. Örneğin bir gazın sıcaklığı, bir sıvının hızı ya da yoğunluğu maddi alan tanımlarken, elektrik alan ve manyetik alan gibi kavramlar maddi olmayan alanı tanımlarlar (34, 35).

2.2.2. Elektrik Alan ve Manyetik Alan

Elektrik alan, elektrik yüklerinin var olduğu ortamda birim yüke etki eden kuvvet olarak tanımlanır, birimi de metre başına gerilimdir. V/m olarak yada Newton/Coulomb olarak ifade edilir. Başka bir deyişle uzayda, E elektrik alan içerisinde yükler arasındaki elektrikselsel F kuvvetinin, herhangi bir noktadaki q_0 yüküne olan etkisi elektrik alanıdır ve bağıntısı $E = F / q_0$ şeklindedir. Yüke ve yüklü iletkeneye yaklaştıkça elektrik alanlar kuvvetlenir, aksi durumda yani uzaklaştıkça da hızla zayıflar. Sabit uzaklıkta ise gerilimin artmasıyla elektrik alanın şiddeti de artar (36-38). İletken bir maddenin akım geçen bir noktasından alınan enine kesitten geçen elektrik akımına akım yoğunluğu denir ve genellikle akım yoğunluğu tabiri elektrik alan yerine kullanılır. Birimi ise Amper / Metrekare (A/m^2) dir (37).

Manyetik alan, içerisinde akım geçen bir iletkenin civarındaki hareketli yüklere uyguladığı kuvvet olarak tanımlanır. Birimi Newton/ Weber (N/Wb) veya Amper/ Metre (A/m) dir. Düzgün v hızıyla hareket eden q yüküne etkiyen kuvvettir.

Bağıntısı $F=q.(v \times B)$ şeklindedir. Manyetik alan, manyetik akı yoğunluğuna eşittir ve manyetik akı yoğunluğu vektör miktarıdır ve B ile gösterilir. Birimi Tesla (T) dır ($=Wb/m^2$) veya Gaus ($G=T \times 10^{-4}$) dur. Manyetik akı ve manyetik alan yoğunluğu arasındaki ilişki $B= \mu.H$ şeklindedir (μ : Manyetik ortam geçirgenliği, H: Manyetik alan şiddeti)

Elektrik alan gibi manyetik alan da vektörel bir alandır. B manyetik alan vektörünün yönü yüklerin hareket yönüne diktir. Manyetik alan çizgileri, elektrik alan çizgileri gibi bir yükte başlayıp başka bir yükte son bulmazlar, kendi üzerine kapanan eğriler oluştururlar. Manyetik alan, akım şiddetine ve hareketli yükün hızına bağlıdır (36, 39-41) (Şekil 1).

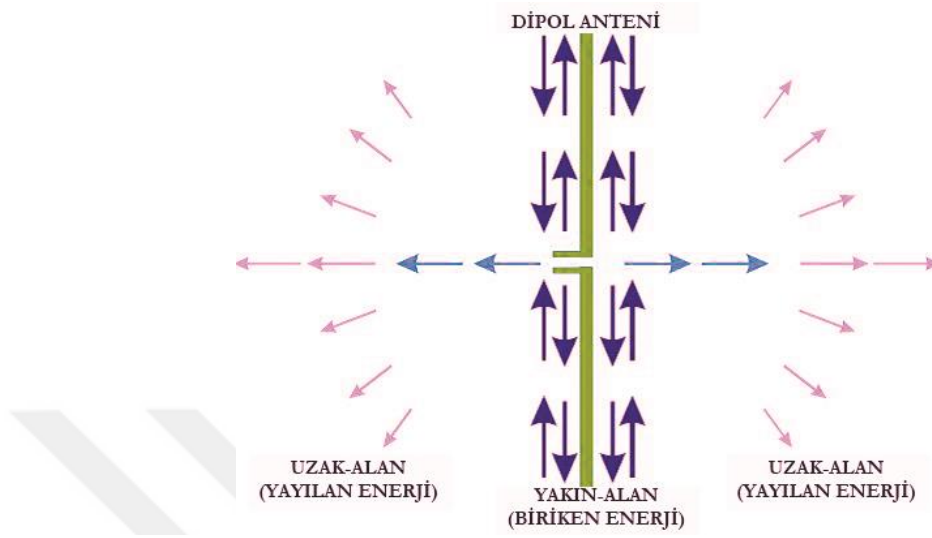
2.2.3. Elektromanyetik Alanın Anlamı (Elektromanyetizma)

Düşük frekanslarda elektrik alan elektrostatik yasalarla hesaplanabilir. Aynı şekilde düşük frekanslarda manyetik alan magnetostatik yasalarla hesaplanabilir. Ancak frekans arttığında, elektrik ve manyetik alanlar birbirlerinden ayrılamazlar, birinin varlığı söz konusu ise diğeri de mevcuttur. Her durumda birbirleriyle bağlantılıdır. Elektrik alan ve manyetik alanların titreşmesi ile oluşan elektromanyetik dalgalar EMA'ı tanımlar. Bu durum EMA'ı oluşturur, elektromanyetizma ile incelenir ve Marxwell denklemleriyle tarif edilir (34, 37).

Elektrik akımı bir iletkenin geçtiğinde oluşturduğu manyetik alanın yönü Ambrose'nin sağ el kuralı veya Marxwell'in burğu kuralı ile yönü tespit edilir. Ancak EMA'ı oluşturan elektromanyetik dalgalar ise her iki alana diktir. Bu alanlardaki ivmeli hareketin sonucunda sinüzoidal eğri şeklinde yayılım gösterir (34, 40).

Elektromanyetik alanların özellikleri alanın kaynağa olan uzaklığıyla değişir. Birkaç dalga boyundan daha fazla uzaklıkta ise uzak-alan bölgesidir. Kaynağa bir metre civarında veya frekanstan daha uzak mesafede olan bu bölgede, birbirine dik, bir elektrik alan (E) ve bir manyetik alanın (B) salınımıyla oluşan elektromanyetik dalga hareketi ve gücü aynı doğrultudadır. Yakın-alan bölgesinde ise durum biraz daha karışıktır. Dışarıya yayılım uzak-alan bölgesi gibidir. Ancak antenin yakınında önemli miktarda elektromanyetik enerji depolanır. Bu yüzden dışarıya yayılan net

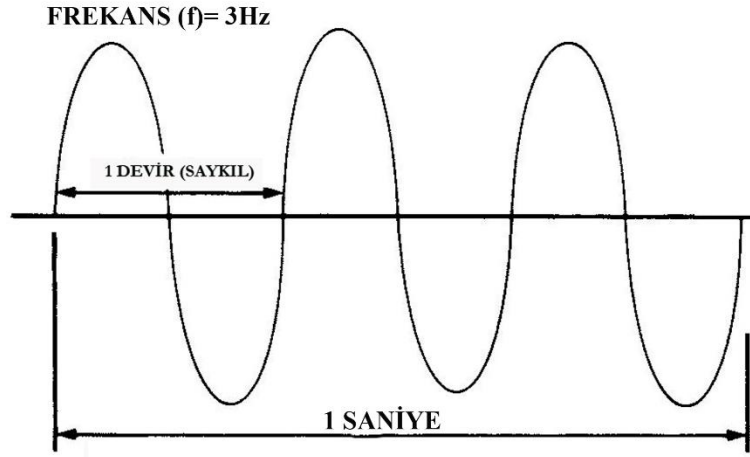
enerjinin yanı sıra ileri geri salınan daha yoğun bir enerji birikimi oluşur (Şekil 1) (42) .



Şekil 1. Uzak-alan, Yakın-Alan Bölgelerinde Elektromanyetik Alanların Kaynağa Olan Uzaklığıyla Değişmesi (42)

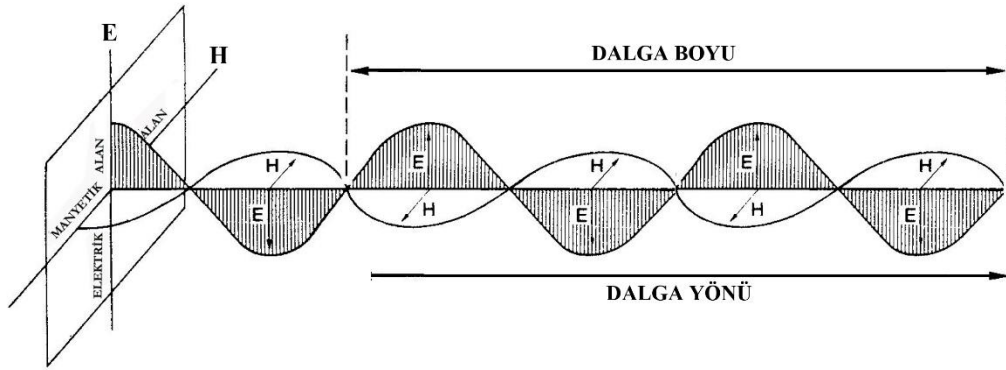
2.2.4. Frekans, Dalga Boyu, Güç Yoğunluğu, Anten

Frekans (f) : Birim zamanda oluşan devir (saykıl) sayısıdır. Ses dalgaları, elektrik dalgalar ya da elektromanyetik dalgalar gibi örneklem sayılarını arttırabileceğimiz dalga kavramı içeren niceliklerin, uluslararası birim zaman olarak kabul edilen, bir saniyede kendini tekrar etme sayısıdır, birimi hertz (Hz)'dir (Şekil 2) (43).



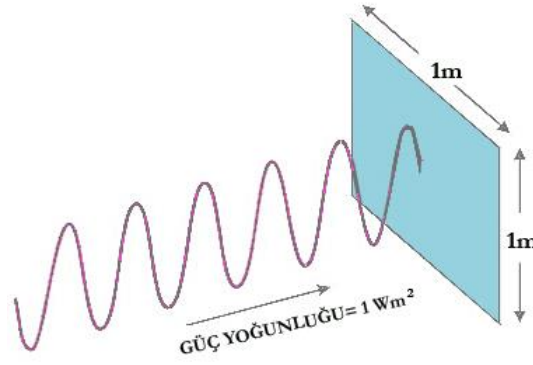
Şekil 2. Frekans (43 nolu kaynaktan değiştirilerek alındı)

Dalga boyu (λ) : Frekansın boyudur, yani dalganın saniyede kat ettiği yolun uzunluğudur. Elektromanyetik dalgaların, ilişkili iki karakteristiği dalga referans yöntemi olarak kullanılır. Bunlar frekans ve dalga boyudur. Dalganın yayılma hızını (c) bulabilmek için bu iki değerden yararlanılır ve bağıntısı; $c = \lambda \cdot f$ şeklindedir. Elektromanyetik yayılma aynı zamanda onun dalga boyuyla tanımlanır (Şekil 3) (43).



Şekil 3. Dalga Boyu (43 nolu kaynaktan değiştirilerek alındı)

Güç Yoğunluğu (I): Dalganın yayılım yönüne dik birim alandan geçen elektromanyetik dalgaların yoğunluğu ya da gücüdür. Söz konusu birim alan uluslararası kabulü 1 m^2 'lik alandır. Watt (W) ile ölçülür ve m^2 başına düşen watt (W/m^2) şeklinde ifade edilir (43) (Şekil 4).

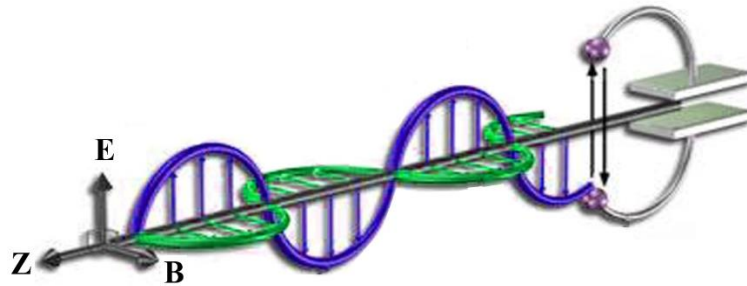


Şekil 4. Güç Yoğunluğu (42 nolu kaynaktan değiştirilerek alındı)

Anten: Radyo frekans enerjilerini yaymaya veya almaya yarayan her türlü alet için kullanılan genel bir terimdir. Basit teller ve çubuk şeklinde olabileceği gibi, mikrodalga parabolik, oval ve dikdörtgen mikrodalga sistemi şeklinde de olabilen geniş çeşitleri vardır. Bazı antenler alıcı ya da dönüştürücü olarak kullanılırken bazıları ikisini de yapar (43).

2.2.5. Elektromanyetik Dalgalar, Spektrum ve Radyasyonun Sınıflandırılması

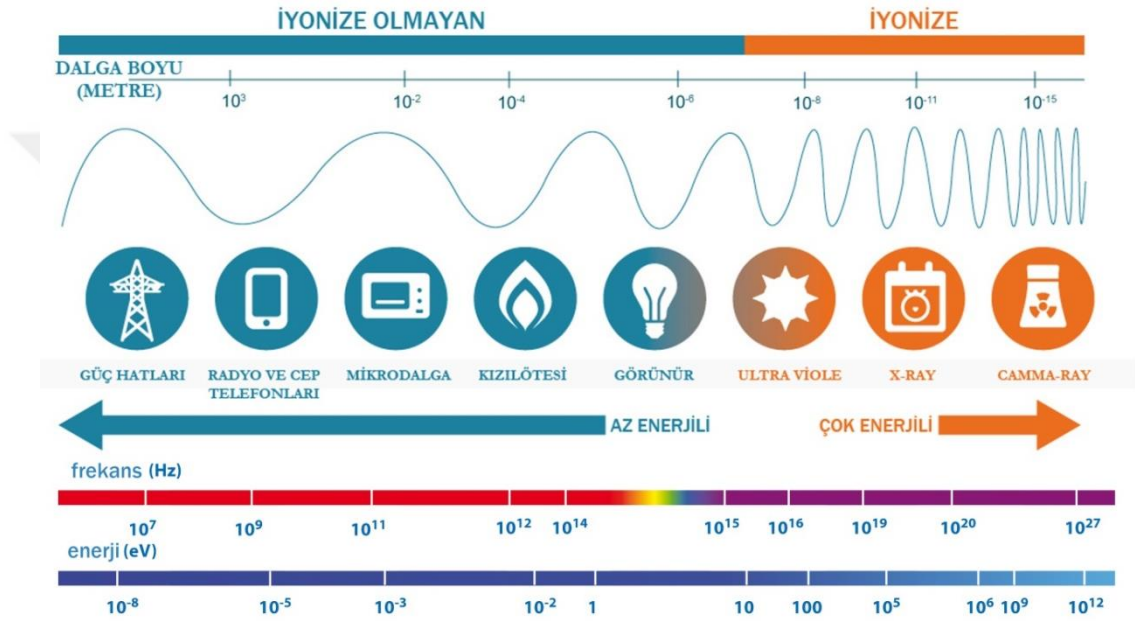
Elektrik ve manyetik alanların dalga hareketlerinin uzay ve zaman değişimleri arasındaki ilişki bir başka dalga hareketi elektromanyetik dalgayı oluşturur. Dalgaboyu (λ), metre (m), frekans (f), Hertz (H), foton enerjisi (U), Joule (J) ve mutlak sıcaklığı (T) Kelvin (K) cinsinden tanımlanır (Şekil 5) (37,39).



Şekil 5. Elektromanyetik Dalgalar (44 nolu naynaktan değiştirilerek alındı)

Elektromanyetik dalgaların çeşitli frekanslara ayrışmasıyla oluşan dağılıma tayf /spektrum denir. Elektromanyetik bir dalga genelde iyonlaştıran radyasyon ve

iyonlaştırmayan radyasyon olarak ikiye ayrılır. 3000 THz ($1 \text{ THz} = 10^{12} \text{ Hz}$) frekanstan daha büyükse iyonlaştıran radyasyondur. Bu tip radyasyon maddenin içinden geçerek atomların elektronlarını kopararak onları iyonlaştırır ancak bunun olabilmesi için foton, minimum kuantum enerjisine (12 eV) sahip olmalıdır. Frekans boyu 3000 THz'den daha az ise iyonlaştırmayan radyasyondur. Söz konusu frekansta, dalgaboyu 100 nm ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$), foton enerjisi 12.4 eV ($1 \text{ eV} = 1.60 \times 10^{-19} \text{ J}$) ve 143,666 °C sıcaklık vardır (Şekil 6) (38, 39).



Şekil 6. Elektromanyetik Spektrum (45 ve 46 nolu kaynaklardan değiştirilerek/çakıştırılarak elde edildi)

2.2.6. Düşük ve yüksek Frekanslı Elektromanyetik Alanlar

Geleneksel olarak elektromanyetik frekanslar salınımlı frekanslarına göre sınıflandırılırlar. Aşırı düşük frekans (ELF-EMF, extremely low frequency-electromagnetic field), düşük frekans (LF-EMF, low frequency--electromagnetic field), orta frekans (IF-EMF, intermediate frequency--electromagnetic field) frekansları 0-300 kHz arasında yer alır. 300 kHz- 300 MHz aralığı radyofrekansı (RF-EMF), 300MHz-300GHz mikrodalga ve radar frekansları şeklindedir. Elektromanyetik spektrumda 0-10 kHz aralığı düşük frekanslı EMA, 10 kHz-300 GHz aralığı ise yüksek frekanslı EMA şeklinde sınıflandırılır (47, 48).

2.2.7. İnsan Vücudu Tarafından Enerjinin Emilimi

Elektromanyetik alanlarda, insan vücudunun çeşitli bölgeleri enerji emilimi/soğurma açısından farklılıklar gösterir. Bu soğurma karakteristiğini göz önünde bulundurduğumuzda artan frekansa göre soğurulma şu şekillerde gerçekleşir. 100 kHz'den 20 MHz'e insan gövdesinde yüzey soğurması belirgin olur ancak boyun ve bacaklarda enerji soğurulma hızı artar. 20 MHz'den 300 MHz'e vücudun bir kısmındaki rezonans dikkate alınsa da tüm vücutta yüksek emilim meydana gelebilir. Bu durumda özellikle baş bölgesine dikkat edilmesi gerekir. 300 MHz'den birkaç GHz'e bölgesel enerji soğurulması meydana gelir ve ısı etkisi oluşur. Yaklaşık 10 GHz'den yüksek frekanslarda ise tüm vücut yüzeyinde yoğun bir enerji emilimi meydana gelir (43).

2.2.8. Özgül Soğurma Oranı

Bir soğurucuda, elektrik ve manyetik alanlardan yüklü parçacıklara enerji transferi Özgül Soğurma Oranı (SAR: Spesific Absorption Rate) olarak tanımlanmaktadır. “Özgül” kitle normalizasyonu, “soğurma” enerjinin soğurulması, “oran” enerji emilim değişiminin zamanla oranıdır. Genelde SAR, insan vücudunda RF enerjinin soğurulma oranı olarak ifade edilir. Birim kütle başına watt (Wkg^{-1}) şeklindedir. Tüm vücut ortalama SAR ve bölgesel SAR birbirinden farklıdır (37,49).

Tüm vücut ortalama SAR(=Ortalama SAR) hesaplaması

$$\text{Ortalama SAR} = \int v(P_c) dV / M$$

P: Güç

V: Voltaj

M: Soğurucunun tüm kütlesi

Bölgesel SAR hesaplaması

$$SAR = P / \rho_m = \sigma |E|^2 / \rho_m = \omega \epsilon_0 \epsilon'' |E|^2 / \rho_m$$

σ : İletkenlik

ρ_m : Kütle yoğunluğu

E : Elektrik alan (49)

Radyo frekansının sıcaklığı yönünden tartışmalara yardımcı olabilmek için ‘standart adam’ üzerinden hareket etmek uygundur. Söz konusu ‘standart adam’ tanımı 1.75 m boyunda, 70 kg ağırlığında ve toplam yüzey alanı 1.85 m² olan bir insandır. Radyo frekanslarına maruz kalan kişinin doku kitlesi SAR tanımının bir parçasıdır örneğin standart adamda biriken toplan enerji 7 W ise tüm vücut SAR değeri 7/70 Wkg⁻¹ ya da 0.1 Wkg⁻¹ dır (37,43).

NRPB raporunda “kötü durum” ifadesi spesifik enerji Emilimi ve soğukluk etkisi ihmal edilen sıcaklık sağlaması ile ilişkili aşağıdaki bağlantı vardır.

$$t = J / (c \times 4180)$$

t: Isı artışı (°C)

J: spesifik enerji emilim (Jkg⁻¹)

c: ilişkili ısı kapasitesi (=0.85)

Ayrıca $J \text{ (Jkg}^{-1}\text{)} = \text{SAR (Wkg}^{-1}\text{)} \times \text{maruz kalma (saniye)}$

Böylece 2 Wkg⁻¹ bir SAR 30 dakikada, soğutma ihmal edilirse, 1°C ısı artışına sebep olur (43).

SAR kavramı canlı sistemlerinde RF/mikrodalga radyasyonunun etkileşim miktarını belirlemede basit ve kullanışlı bir araç sağlar. Çeşitli türlerde farklı maruz koşulları altında, deneysel olarak gözlenebilen biyolojik etkileri karşılaştırmaya olanak sağlar. SAR, kusurlu da olsa, hayvan bilgileri sonuçlarından, RF radyasyonuna maruz kalan insanların potansiyel tehlikelerini belirlenmesine araç sağlar ve hipertermi tedavisinin planlanmasını ve etkili bir şekilde yürütülmesini kolaylaştırır (37).

2.2.9. Elektromanyetik Alan Oluşturan Cihaz ve Sistemler

Elektromanyetik alanı bir iletken üzerinden geçen akımın oluşturduğu elektrik ve manyetik alanın ivmeli hareketinden oluşan bir dalga hareketi olduğunu açıklamıştık.

Haliyle bu prensip göz önünde bulundurulduğunda günlük hayatımızda kullandığımız küçük elektronik aletlerden (mikrodalga fırın, saç kurutma makinesi, elektrik süpürgesi, televizyon vs.) yüksek gerilim hatlarına ve baz istasyonlarına birçok cihaz ve de sistem EMA üretmektedir. İnsanoğlunun günlük hayatında bilişim teknolojilerinin yaşamın ayrılmaz bir parçası haline gelen bilgisayar, cep telefonu vb. cihazlarla sürekli EMA'a maruz kalmaktadır (50).

2.2.10. Cep Telefonu Sistemi

Cep telefonu, radyo frekanslarını kullanarak iletişim kurma, bilgi gönderme ya da alma gibi işlevleri gerçekleştirir. Cep telefonunun radyo frekansları cihazın içindeki devreler ve antenle birlikte yayılır. Yayılan sinyaller anten düzeneği olan baz istasyonu tarafından başka bir alıcıya aktarmasıyla işlevi gerçekleştirmiş olur. Baz istasyonları 10-30 m yüksekliğinde tekil kulelere, yada binaların üzerindeki kısa kulelere monte edilirler ve burada makro-hücre ağı kurarak hizmet ederler. Telefon anteninden 2.2 cm uzaklıkta bir 2 W, 900 MHz telefonda ölçülen EMA 400 V/m civarında, bir 1 W, 1800 MHz telefonda ise 200 V/m civarındadır. İki telefonda da maksimum manyetik alan 1 μ T civarında ölçülmüştür. Ayrıca antene 2.2 cm uzaklıkta iki telefonda da ölçülen maksimum yoğunluk kabaca 200 V/m civarındadır (Bu güneşli bir günde güneş radyasyonunun dörtte bir yoğunluğu kadardır). Bu alanlar ve yoğunluklar, antenin vücut ve kafaya uzun mesafede olduğu durumdaki değerler 8.34 Hz ve 217 Hz atım yapan RF alanlarda, telefonun yanındaki manyetik alan aynı frekanslarda salınım yapar ve büyüklüğü birkaç μ T'dır (42).

Cep telefonu ve onun baz istasyonu tarafından oluşturulan elektromanyetik (EM) radyasyon GSM 900 sistemi için 890-960 MHz frekans aralığındadır. 890- 960 MHz aralığında cep telefonları düşük güçte (2 watt yada daha az) EM alan yayarken, baz istasyonlarında bu yayılma çok daha güçlüdür ve 935-960 MHz aralığındadır. Cep telefonları vücuda yakın tutulduğunda yada kullanıldığında, özellikle baş bölgesine, alan yakınındaki yerlerde yayılım incelenmelidir. Öte yandan, uzak-alan hususları ile birlikte baz istasyonu modellenmelidir. Baz istasyonlarıyla ilgili bir başka endişe de EM yayılımının sürekliliğidir. Bu yüzden baz istasyonlarına yakın

yaşayanlar günlük telefon kullanıcılarından daha büyük sağlık riski endişesi vardır (51, 52).

2.3. Elektromanyetik Alanın Biyolojik Sistemler Üzerine Etkileri

2.3.1. Elektromanyetik Alanın Canlı Doku Üzerine Etkisi

Elektromanyetik alanın biyolojik sistemler üzerine etkisini göstermek için birçok araştırma yapılmış ve halen yapılmaya devam edilmektedir. Artacho-Cordon ve ark. EMA'nın hücrelerde Ca^{2+} permeabilitesini ve membran yapısını değiştirebildiğini, lokal pH ve / veya sıcaklık değişikliklerine neden olabileceğini ve hücre iskeletinin organizasyonunu etkileyebileceğini belirtmişlerdir. Orta frekansta EMA'nın (100-300 kHz) mikrotübül polimerizasyonunu bozabileceğini, hücre sinyal yollarında değişiklik yapabileceğini, iyon regülasyonunu ve Ca^{2+} veya cAMP gibi sekonder mesajcıları değiştirebileceğini söylemişlerdir. Bu değişikliklerin, hücre döngüsünün ilerlemesini, çoğalmasını ve apoptotik kaskadı etkileyebileceğini belirtmişlerdir (47). Elektromanyetik alan maruziyetinin hücrede serbest radikal seviyesini artırarak hücre aktivasyonuna neden olabileceği, oluşan reaksiyonların deoksiribonükleik asit (DNA) hasar insidansında artışa neden olarak tümör gelişim riskini arttırabileceği bildirilmiştir (53).

Yine yapılan bir çalışmada 1.800 MHz kaynaklı EMA'nın insan fibroblast ve sıçan granüloza hücrelerinde DNA kırığına yol açtığı rapor edilmiştir (54). Bir başka çalışmada 50 dakika (dk) mobil telefona maruz kalındığında, antenin komşu olduğu beyin dokusunda glukoz metabolizmasının arttığı gösterilmiştir (55). Elektromanyetik alan'ın ısı değişikliklerine neden olabileceği, bununda sekonder değişiklikler oluşturabileceği, hücre zarı bütünlüğünde yapısal değişiklikler yapabileceği belirtilmiştir (56). Elektromanyetik alan'ın nontermal etkisini araştıran bir çalışmada da birçok sinyal iletim yolunun etkilendiği, bundan dolayı protein fosforilasyonunu etkilediği görülmüştür. Isı şok protein ekspresyonu ve aktivitesinde etkili olduğu belirtilmiştir. Ayrıca kan beyin bariyeri üzerindede değişikliklere neden olduğu da rapor edilmiştir (57).

In vivo ve in vitro çalışmalar da EMA maruziyetinin üreme hormonlarında, gonadal fonksiyonda, embriyonik gelişimde, gebelik ve fetal gelişimde değişikliklere yol açtığı rapor edilmektedir. Bu etkilerin EMA süresi ve gücüne göre farklılıklar gösterdiği belirtilmiştir (58). Yetişkin kök hücreleri uygunsuz uyaranlar altında karsinogeneze katkıda bulunabildiği, patolojik değişiklikler yapabildiği, kronik hastalıkla sonuçlanabildiği belirtilmiştir. Bu uyaranların dokuda ve kök hücrede dengesizliklere yol açan biyofiziksel ve biyokimyasal faktörlere yolaçabileceği rapor edilmiştir (59). Bütün bunların yanı sıra hepatosellüler karsinomda 27.12 MHz EMA'nın mitotik iği bozarak hücre çoğalmasını engellediği gösterilmiştir (60). Ayrıca insan meme kanseri tedavisinde gama ışımasının tek başına kullanıldığında ortaya çıkan ciddi yan etkilerinden dolayı, alternatif olarak EMA ve gama ışıması beraber muamele edildiğinde, büyüme, anjiyogenez ve metastazı önleyici etkileri olduğu gösterilmiştir (61).

2.3.2. Elektromanyetik Alanın Doku, Organ ve Sistemlerin Gelişimi Üzerine Etkisi

Elektromanyetik alan'ın farklı organlar ve sistemler üzerine etkisini araştıran birçok çalışma da mevcuttur. Örneğin Sahin ve ark. sıçanlarda yaptığı çalışmada hipokampusta piramidal nöron kaybına neden olduğunu, İkinci ve ark. postnatal 21-46 günleri arasında 900 MHz EMA maruziyetinin erkek sıçanlarda spinal kordlarında atrofi ve düzensizlik, artan vakuolizasyonu, miyelin kalınlaşma, perikaryonda düzensizlik ve hafif infiltrasyon bulguları olduğunu bildirmişlerdir (62,63). Başka bir çalışmada EMA'nın iskelet sistemi üzerine etkilerini değerlendirmek amacıyla 10 haftalık (hf) erkek sıçanlara 28 gün 900 Mhz EMA uygulanmıştır. Elektromanyetik alan'ın kemiğin direk olarak makrometrik parametrelerini etkilemediğini, kemiğin mineralizasyonu (EMA grubunda azalma) ile turnoveri süresinin yoğunluğunu etkilediği (EMA grubunda azalma) ve böylece mekanik dayanıklılığını etkilediği (EMA grubunda azalma) belirtilmiştir (64). 12 hf'lık erkek farelerin EMA'ya maruz bırakıldığı bir çalışmada ise TSH, T3,T4 seviyelerine bakıldığında EMA grubunda TSH, T3,T4 seviyelerinde anlamlı düşüşler olduğu ifade edilmektedir (65).

Yine başka bir çalışmada 900 MHz EMA'nın kas kasılmasında sinyal yüksekliğini etkilediği (non termal etkiyle) rapor edilmiştir (66). Erkek sıçanlarda EMA'nın kalp üzerine etkilerine bakıldığı bir çalışmada kalp hızı ve EKG bulguları değerlendirilmiştir. Çalışmada ilk anda 900 MHz EMA'nın kas kasılmasını etkilediği ancak daha sonradan vücudun bunu telafi ettiği ifade edilmektedir (67). Gebelik döneminde 900 MHz EMA'ya maruz bırakılan sıçanların dişi yavrularının postnatal 32. günde beyincikleri incelendiğinde EMA grubunda purkinje hücre sayısında anlamlı derecede azalma, purkinje hücre diziliminde bozulma ve seyreklik tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada piknotik hücreler ve dark stoplazmalı nöronlarında görüldüğü ifade edilmektedir (68).

2.3.3. Elektromanyetik Alanın Üreme Sistemi Üzerine Etkisi

Elektromanyetik alan'ın üreme sistemi üzerine de etkilerini araştıran çalışmalara bakılacak olursa, 915 MHz radyofrekans uygulanan 12 hf'lık erkek sıçanların testislerinin morfolojisinde ve sıçanların sperm sayısında önemli bir değişiklik görülmediği ifade edilmektedir (69). Bir başka çalışmada dişi sıçanlar düşük frekanslı EMA etkisine maruz bırakılmış, daha sonrasında çiftleştirilerek gebe kalanların implantasyon zamanı, endometriyum ve tuba epiteli incelenmiş ve blastosist sayısına bakılmıştır. Bu çalışmada EMA'nın blastosist sayısını azalttığı, tuba epitel yüksekliğini ve sayısını arttırdığı şeklinde patolojik etkilerinin olduğunu rapor edilmektedir (70).

Elektromanyetik alan uygulanan erkek sıçanlarda üreme hormonu seviyesine (FSH, LH, inhibin B, aktivin B, prolaktin, testosteron) bakıldığında ise erken dönemde (15. gün) bir değişikliğe rastlanmazken uzun dönemde (30. gün) EMA grubunda testosteron ve inhibin B'nin düşük olduğu, FSH, LH, aktivin B, prolaktin seviyelerinin yüksek olduğu bildirilmiştir (71). Ayrıca düşük frekanslı manyetik alanın erkek ve dişi sıçanlar da hipotalamus-hipofiz-gonad sisteminde ciddi bozukluklara yol açtığı ve fertilité üzerine olumsuz etkilerinin olduğu belirtilmiştir (72).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onayı ve Finansal Destek

Çalışmaya Karadeniz Teknik Üniversitesi (KTÜ), Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı alınarak başlandı (Tarih: 03/03/2015; Protokol No: 2015/9). Bu Çalışma KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: TTU-2015-5240).

3.2. Deney Hayvanlar, Gruplar ve Deneysel Çalışma Planı

Çalışmaya başlamak için KTÜ Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkez’inden 24 tane 34 günlük Spraque Dawley cinsi dişi sıçanlar temin edildi. Sıçanlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda, sınırsız beslenme şartlarında muhafaza edildi. İçme suyu olarak çeşme suyu, beslenmesi için standart sıçan yemi Bayramoğlu Yem ve Un Sanayi Tic. A.Ş., Erzurum, Turkey) verildi. Sıcaklık $22\pm2^{\circ}\text{C}$, nem $\% 50\pm5$ olacak şekilde ayarlandı. Sıçanlar çalışma süresince standart Tip III kafeslerde barındırıldı (Resim 9). Sıçanların bakımı, deneyin bütün uygulamaları ve sıçanların sakrifiye edilmesi KTÜ Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkez’inde yapıldı. Böylece çevresel stres ve uyum problemi yaşanmadı. Sıçanların çalışma süresince 35., 40., 45., 50., 55. ve 60. günlerde vücut ağırlıkları ölçüldü.



Resim 9. Sıçanların Çalışma Süresince Barındırıldığı Standart Tip III Kafesler

Sıçanlar rastgele olarak, herbirinde eşit sayıda sıçan olacak şekilde kontrol, sham ve EMA grubu olmak üzere üç gruba ayrıldı. Kontrol grubu (n=8) sıçanlara herhangi bir uygulama yapılmadı. Sham grubu (n=8) sıçanlara postnatal 35. günden itibaren 59. güne kadar (35 ve 59. günlerde dahil toplam 25 gün - sıçanların orta ve geç adolesan dönemleri) (27) hergün saat 09:00-10:00 arasında 1 saat süreyle, deneyin yapıldığı sistem içerisinde yer alan EMA kafesine konuldular. Ancak bu süre boyunca EMA etkisine maruz bırakılmadılar.

Deney grubu (n=8) sıçanlara 35. günden itibaren 59. güne kadar (35 ve 59. günlerde dahil toplam 25 gün - sıçanların orta ve geç adolesan dönemleri) (27) hergün saat 10:00-11:00 arasında deneyin yapıldığı sistem içerisinde yer alan EMA kafesine konuldular ve 1 saat süreyle, kesintisiz olarak kafes içinde 900 MHz'lik EMA etkisine maruz bırakıldılar. EMA ve Sham uygulamalarının başlangıcında ve sonunda sıçanlar kafesteyken kafesin altında 9 noktadan ve kafesin içinde zeminde 9 noktadan EMA ölçümleri yapıldı. Bu ölçümler 100 kHz - 2.5 GHz ölçme aralığına sahip geniş bantlı bir alan ölçer cihazıyla (C.A 43 Isotropic Electrical Field Intensity Meter, Chauvin Arnoux Group, Paris, France) yapıldı (Resim 10). Ayrıca hem sham hemde EMA uygulamalarının başlangıcında ve sonunda, hergün YCOM KMN-303 model dijital termometre ile (YuYau Shuanghe Electron Instrument Co., Ltd. Zhejing-China) sıçanlar kafesteyken kafes içinin ısı ve nem ölçümleri de yapıldı.



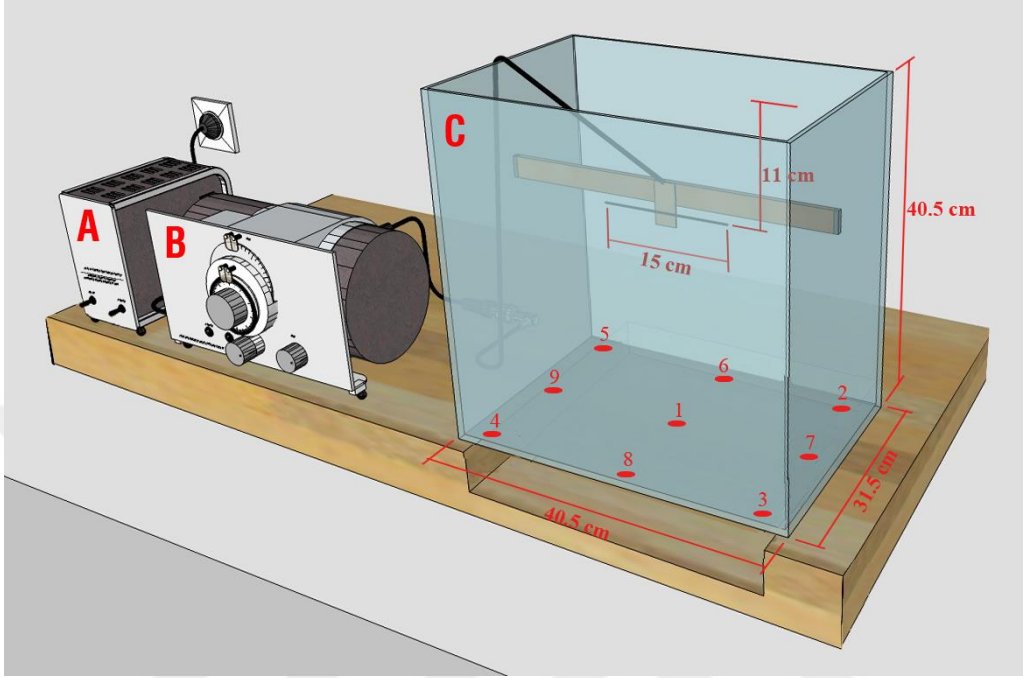
Resim 10. Geniş Bantlı Elektromanyetik Alan Ölçer Cihazı

3.3. Deney Düzenegi ve Elektromanyetik Alan'ın oluşturulması

Deney düzeneginin esas parçalarını osilatör (1218-BV, Lockable Oscillator, 900-2000 MHz, General Radio Company, Concord, Massachusetts, USA, Serial No. 1483), güç kaynağı (1267-B Regulated Power Supply, General Radio Company, Concord Massachusetts, USA, Serial No. 903) ve EMA kafesi oluşturmaktadır.

Elektromanyetik alan kafesi içerisinde 900 MHz'lik EMA oluşturulması için çıkış gücü yaklaşık 300 mW ve frekansı 900 MHz'e ayarlı yüksek hızlı frekans elde edilebilen osilatör kullanıldı. Osilatörün çalışması ve sürekli enerji ihtiyacının karşılanması için, elektrik şebekesine bağlı sabit güç kaynağı kullanıldı. Osilatörün çıkışı bir kablo yardımıyla 15 cm uzunluğunda ve 1 mm çapa sahip bakır bir çubuktan yapılmış yarım-dalgı dipol antenine bağlandı. Anten, EMA kafesinin üst yüzeyinden 11 cm içeriye, kafesin sağ ve sol kenarları arasında yerleştirilmiş bir tahta çubuk üzerine sabitlendi. Elektromanyetik alan düzenegi ve EMA kafesinde EMA

şiddeti ölçümlerinin yapıldığı noktalar şekil 7’de, deney düzeneği ve sıçanlara EMA uygulaması da Şekil 8’de gösterilmiştir.



Şekil 7. Deney Düzeneği ve EMA Ölçüm Noktalarının Şematik Gösterimi (A: Güç Kaynağı, B: Osilatör, C: Elektromanyetik Alan Kafesi) (Yüksek Mimar Elif Öztürk tarafından EMA sisteminin orijinaline uygun olarak çizilmiştir).



Şekil 8. Deney Düzeneği ve Sıçanlara EMA Uygulamasının Şematik Gösterimi (Yüksek Mimar Elif Öztürk tarafından EMA sisteminin orijinaline uygun olarak çizilmiştir).

Ülkemizde GSM-900 baz istasyon sistemlerinde tek bir cihaz için belirlenen elektrik alan şiddeti, manyetik alan şiddeti ve güç yoğunluğu sınır değerleri Tablo 4’de verilmiştir. Yaptığımız ölçümlerde EMA grubunu EMA etkisine maruz bırakırken 9 ayrı noktadan ölçülen elektrik alan şiddeti değerlerinin, ülkemiz için belirlenen sınır değerlere yakın değerler olduğu tespit edildi. Sıçanlar EMA kafesinin içindeyken deneyin başlangıcında kafesin iç zemininden ve kafesin altından; sıçanlar EMA kafesinin içindeyken deneyin bitiminde kafesin iç zemininden ve kafesin altından belirlenen dokuz ayrı noktadaki EMA ölçüm sonuçları, ortalama elektrik alan şiddeti, güç yoğunluğu ve SAR değerleri Tablo 5-12’de verilmiştir. Sıçanlar kafesin içindeyken deneyin başlangıcında kafesin iç zemininden ve kafesin altından; sıçanlar kafesin içindeyken deneyin bitiminde kafesin iç zemininden ve kafesin altından belirlenen dokuz ayrı noktadaki EMA şiddetinin zaman üzerinden ortalama değerinin konumsal dağılımları ise Şekil 9-12’de verilmiştir.

Tablo 4. Türkiye’de Kontrolsüz Etkilenme İçin Belirlenen Sınır Değerler (73)

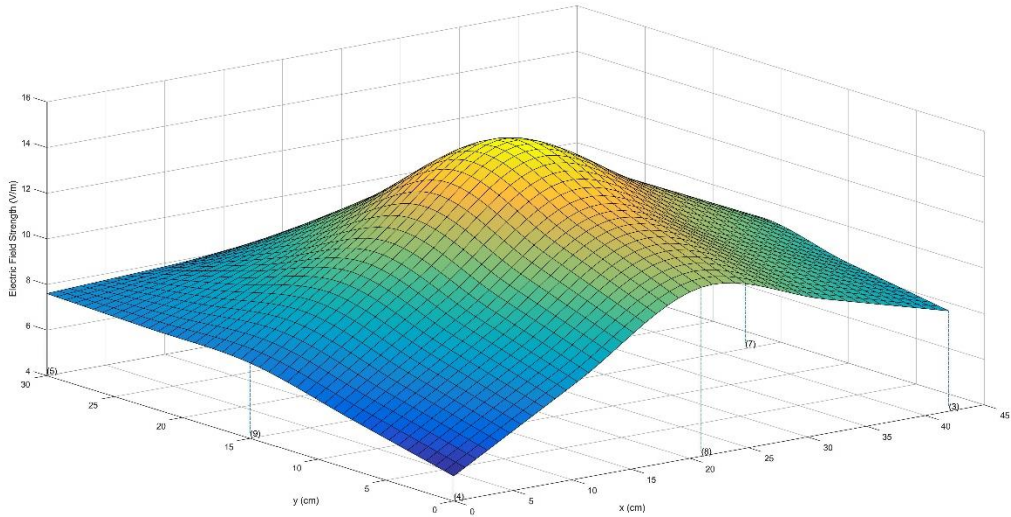
Frekans	900 MHz	
	Tek bir cihaz için sınır değer	Ortaman toplam sınır değeri
Elektrik alan şiddeti	10.23 V/m	41.25 V/m
Manyetik alan şiddeti	0.027 A/m	0.111 A/m
Güç yoğunluğu	0.28 W/m ²	4.5 W/m ²

Tablo 5. Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Başlangıcında Kafesin İç Zemininden Belirlenen Konumlardaki Ölçüm Sonuçları

Konum	Alan değeri (V/m)
1	15,12
2	4,752
3	8,436
4	5,116
5	7,616
6	8,104
7	9,9
8	11,432
9	7,316

Tablo 6. Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Başlangıcında Kafesin İç Zemininde Ortalama Elektrik Alan Şiddeti, Güç Yoğunluğu, SAR Değerleri

Ortalama elektrik alan şiddeti		8,64 V/m
Güç yoğunluğu		0,198 W/m ²
SAR değerleri	Küçük sıçanlar için	0,021 W/kg
	Orta sıçanlar için	0,0098 W/kg
	Büyük sıçanlar için	0,0071 W/kg



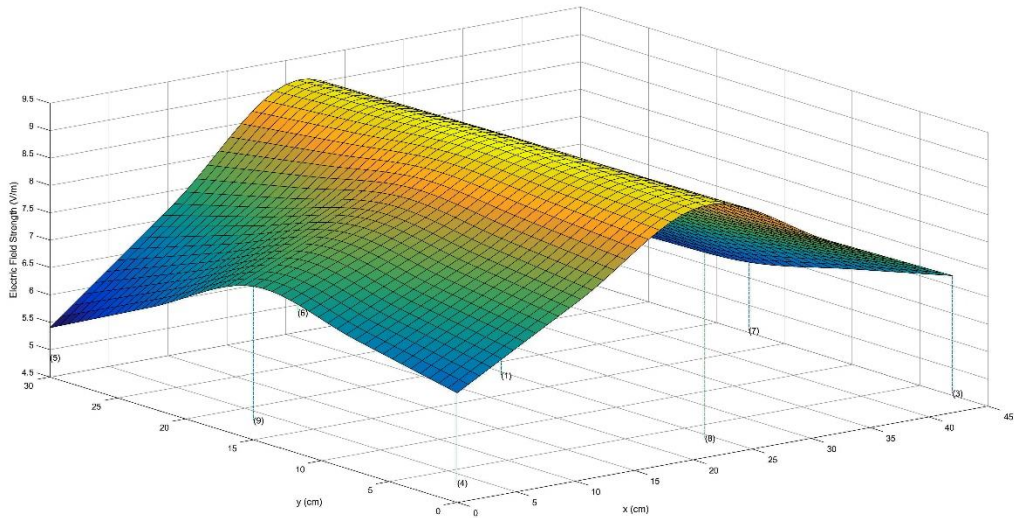
Şekil 9. Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Başlangıcında Kafesin İç Zemininde Elektrik Alan Şiddetinin Zaman Üzerinden Ortalama Değerinin Konumsal Dağılımı

Tablo 7. Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Başlangıcında Kafesin Altından Belirlenen Konumlardaki Ölçüm Sonuçları

Konum	Alan değeri (V/m)
1	9,228
2	5,912
3	7,004
4	6,516
5	5,448
6	9,124
7	6,136
8	9,12
9	7,364

Tablo 8. Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Başlangıcında Kafesin Altında Ortalama Elektrik Alan Şiddeti, Güç Yoğunluğu, SAR Değerleri

Ortalama elektrik alan şiddeti		7,32 V/m
Güç yoğunluğu		0,142 W/m ²
SAR değerleri	Küçük sıçanlar için	0,014 W/kg
	Orta sıçanlar için	0,007 W/kg
	Büyük sıçanlar için	0,005 W/kg



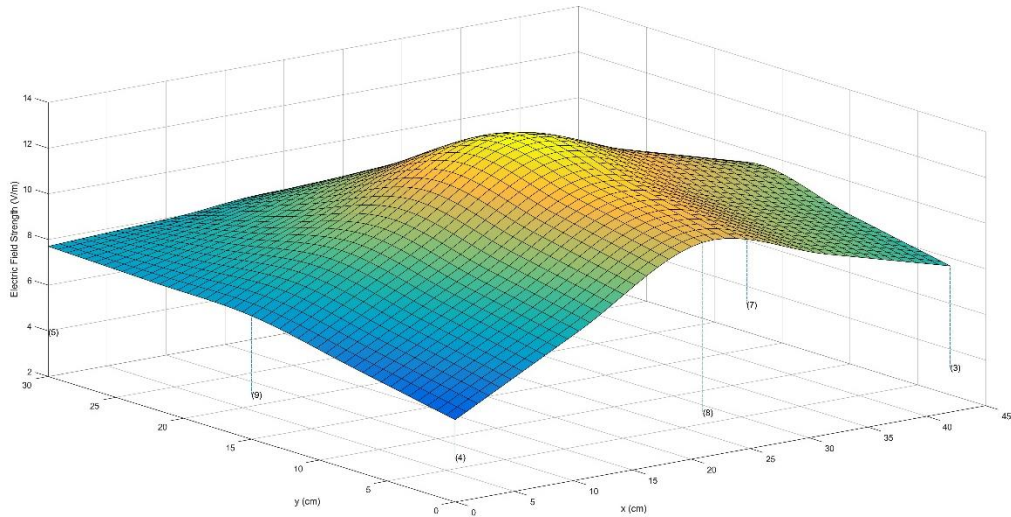
Şekil 10. Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Başlangıcında Kafesin Altında Elektrik Alan Şiddetinin Zaman Üzerinden Ortalama Değerinin Konumsal Dağılımı

Tablo 9. Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Bitiminde Kafesin İç Zemininde Belirlenen Konumlardaki Ölçüm Sonuçları

Konum	Alan değeri (V/m)
1	13,364
2	4,4
3	8,424
4	5,62
5	7,724
6	8,196
7	10,24
8	11,468
9	7,436

Tablo 10. Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Bitiminde Kafesin İç Zemininde Ortalama Elektrik Alan Şiddeti, Güç Yoğunluğu, SAR Değerleri

Ortalama elektrik alan şiddeti		8,54 V/m
Güç yoğunluğu		0,193 W/m ²
SAR değerleri	Küçük sıçanlar için	0,02 W/kg
	Orta sıçanlar için	0,0096 W/kg
	Büyük sıçanlar için	0,0069 W/kg



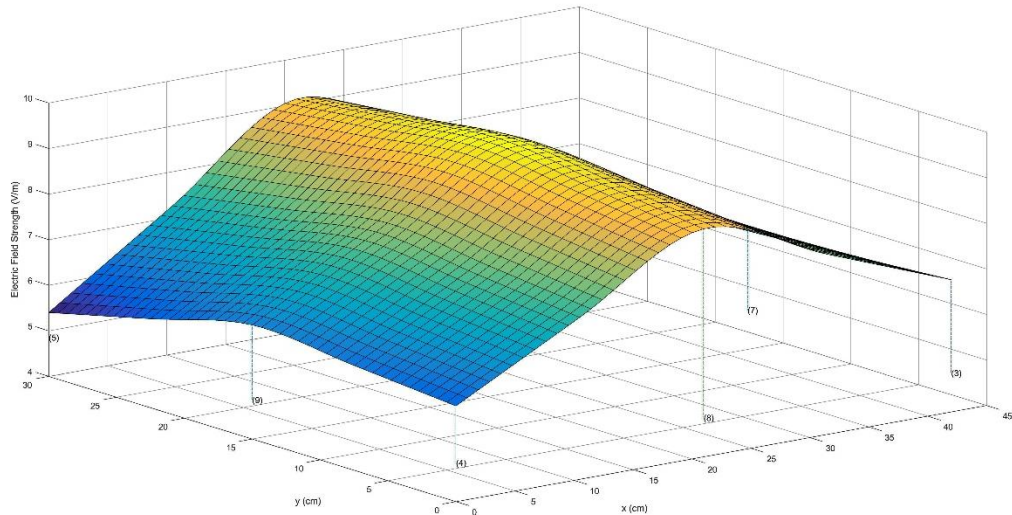
Şekil 11. Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Bitiminde Kafesin İç Zemininde Elektrik Alan Şiddetinin Zaman Üzerinden Ortalama Değerinin Konumsal Dağılımı

Tablo 11. Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Bitiminde Kafesin Altında Belirlenen Konumlardaki Ölçüm Sonuçları

Konum	Alan değeri (V/m)
1	9,684
2	6,54
3	6,972
4	6,18
5	5,444
6	9,14
7	6,688
8	9,036
9	6,556

Tablo 12. Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Bitiminde Kafesin Altında Ortalama Elektrik Alan Şiddeti, Güç Yoğunluğu, SAR Değerleri

Ortalama elektrik alan şiddeti		7,36 V/m
Güç yoğunluğu		0,144 W/m ²
SAR değerleri:	Küçük sıçanlar için	0,015 W/kg
	Orta sıçanlar için	0,0072 W/kg
	Büyük sıçanlar için	0,005 W/kg



Şekil 12. Sıçanlar Kafesin İçindeyken Deneyin Bitiminde Kafesin Altında Elektrik Alan Şiddetinin Zaman Üzerinden Ortalama Değerinin Konumsal Dağılımı

3.4. Histolojik İşlemler

3.4.1. Overlerin çıkarılması

Deney süresinin bitiminde (postnatal 60. gün) sıçanlara anestezi altındayken (50 mg/kg, Ketalar, 10 mg/kg ksilazin hidroklorid) dorso-ventral pozisyonda diseksiyon tahtasına yatırılıp abdominal orta hattın bisturi ile abdominal deri insizyonu yapıldı. Periton geçilerek, sağ ve sol overler çıkarıldı (Resim 11). Her iki over çevre dokulardan iyice temizlenip hassas tartıda ağırlıkları ölçüldü. Biyokimyasal analiz için abdominal aorttan kan örnekleri alındıktan sonra kansızlaştırma ile sıçanlar sakrifiye edildi. Sol over hızlı bir şekilde buzlu % 0,09 NaCl'lük izotonikte yıkanıp biyokimyasal analizler için eppendorf tüpünde -80°C muhafaza edildi. Sağ over histolojik analizler için % 10'luk formaldehidde fikse edildi. Alınan kan örnekleri 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Plazma kısmı eppendorf tüpüne konularak biyokimyasal analizler için -80°C muhafaza edildi.



Resim 11. Sıçanlardan Sağ ve Sol Overlerinin Çıkarılması

3.4.2. Doku Takip Protokolü

Sağ over dokuları 48 saat % 10'luk formaldehid çözeltisinde 48 saat fikse edildi. Ardından aşağıda belirtildiği gibi önce alkol serilerinde dehidrate edildi. Ardında ksilen serilerinde saydamlaştırıldıktan sonra etüvde parafin serilerinde bekletildi. Ardından parafin bloklara gömüldü (74).

1-	% 70'lik Alkol.....	24 saat
2-	% 90'lık Alkol.....	24 saat
3-	% 96'lık Alkol.....	24 saat
4-	% 100'lük Alkol.....	24 saat
5-	% 100'lük Alkol.....	15 dk
6-	% 100'lük Alkol.....	15 dk
7-	Ksilen	30 dk
8-	Ksilen	30 dk
9-	Ksilen	30 dk
10-	Dokular eritilmiş parafin içinde 58°C'lik etüvde 15 dk, 15 dk, 30 dk bekletildi	
11-	Dokular bloklandı	

3.4.3. Hematoksilen Eozin Boyası Boyama

Parafin bloklardan mikrotom (Leica RM2255) kullanılarak her 50 µm'de bir 5 µm'lik kesitler alındı (26). Bu kesitler hematoksilen eozin (H&E) boyasıyla boyandı. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı'nda bulunan DP 71 (Olympus, Japan) kameralı dijital fotoğraf makinasına sahip ışık mikroskobunda (Olympus, BX51, Japan) her kesitin bütün alanında primordial folikül, erken primer folikül, geç primer folikül, sekonder folikül, graaf folikülü, atretik folikül sayımı yapıldı (31). Histopatolojik değerlendirmeler, skoreleme ve kesitlerden fotoğraf çekimi de aynı ışık mikroskobu ve dijital fotoğraf makinası kullanılarak yapıldı. Fotoğraflar dijital ortama aktarıldı. Peryodik asit schiff, masson trikrom ve terminal deoxynucleotidy transferase (Tdt) deoxyuridine triphosphate nick end labeling assay (TUNEL) boyaması içinde doku takip işlemlerinden geçirildikten sonra yine aynı mikrotom kullanılarak 5µm

kalınlığında kesitler alındı ve boyandı. Boyanan kesitler yine aynı ışık mikroskobu ve dijital fotoğraf makinası kullanılarak değerlendirilmeleri yapıldı, fotoğrafları çekilerek görüntüleri kaydedildi.

Hematoksilen Eozin Boyama Protokolü: Lamel üzerine alınarak hazırlanan preparatlar, 60°C'lik etüvde 1 saat bekletilerek deparafinize edilir ve aşağıdaki işlemlerden geçirilir (74).

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

3.4.4. Over Foliküllerinin Değerlendirilmesi

Herbir sıçan için sağ over dokusundan 50 µm'de 5 µm'lik kesitler alınıp H&E ile boyanan preparatlarda kesitlerin bütün alanında primordial folikül, erken primer folikül, geç primer folikül, sekonder folikül, graaf folikülü, atretik folikül sayımı yapıldı. Folliküllerin ayırımında aşağıdaki kriterler esas alındı (5,31).

Primordial folikül: Primer oositin etrafı tek katlı yassı folikül hücreleri ile çevrili.

Erken primer folikül: Primer oositin etrafı tek katlı kübik folikül hücreleriyle çevrili.

Büyümekte olan primer folikül (BPF): Primer oositin etrafı çok katlı kübik folikül hücreleriyle (zona granuloza) çevrili. Zona granuloza etrafında teka interna ve teka eksterna tabakaları bulunabilir.

Sekonder folikül (antral folikül): Primer oositin etrafı çok katlı kübik folikül hücreleriyle (zona granuloza) çevrili. Zona granulozada içi folikül sıvısıyla dolu boşluklar var. Zona granuloza etrafında teka interna ve teka eksterna tabakaları mevcut.

Graaf folikülü: Zona granulozadaki boşluklar birleşmiş ve tek bir boşluk oluşmuş(antrum). Zona granuloza incelmış. Primer oosit eksantrik yerleşim göstermiş. Primer oosit etrafında korona radiata ve kumulus hücreleri mevcut. Zona granuloza etrafında teka tabakaları mevcut.

Atretik folikül: Primordial folikül ve büyümekte olan küçük foliküllerde granuloza hücrelerinin ve immatür oositlerin küçülmesi, dejenere olması. Büyük foliküllerde granuloza hücrelerinde apoptoz. Granuloza tabakası nötrofil, makrofaj, vaskularize bağ dokusu kordonları tarafından invazyonu, granuloza hücreleri antruma dökülmüş. Folikül kollabe olur. Folikül kavitesine bağ dokusu invazyonu. Zona pellusida kollabe. Camsı membran görünümü (5,31).

Gruplara ait bütün sıçanların over dokularına histopatolojik değerlendirmede (folikül hücrelerinde mitotik aktivitede azalma, folikül hücre boyutlarında azalma, zona granuloza tabakasında azalma, granuloza hücrelerinde hiperkromazi, teka tabakası kalınlığında azalma, foliküllerde infiltrasyon artışı, stromada infiltrasyon) skorlama (0 = yok, 1 = hafif, 2 = orta, 3 = yoğun) yapıldı.

Mitotik aktivite değerlendirilmesi: Mitotik aktivite H&E boyalı kesitlerde 0 ile 3 arasında skorlama yapılarak değerlendirildi. Skorlamada ışık mikroskopunda mitoz bölünme aşamalarından herhangi birinde olan hücreler sayılarak değerlendirme yapıldı. Kontrol grubu hayvanlarının değerlendirildiği kesitlerde, sekonder (antral) foliküllerdeki granuloza hücrelerinde mitoz bölünme aşamalarında ortalama 7-8 hücre vardı. Bu nedenle mitoz bölünme aşamalarındaki hücre sayısı 7-8

ve üzeri normal kabul edilerek 0 (mitotik aktivitede azalma yok) olarak skorlandı. Mitoz bölünme aşamalarındaki hücre sayısı 5-6 ise 1 (mitotik aktivitede hafif azalma), mitoz bölünme aşamalarındaki hücre sayısı 3-4 ise 2 (mitotik aktivitede orta düzeyde azalma), mitoz bölünme aşamalarındaki hücre sayısı 1-2 veya hiç yok ise 3 (mitotik aktivitede yoğun azalma) olacak şekilde skorlama yapıldı.

3.4.5. Peryodik Asit Schiff Boyası

Peryodik Asit Schiff (PAS) boyası yapılarak ZP, bazal membran ve histopatolojik değerlendirmeler yapıldı.

Peryodik Asit Schiff Boyası Boyama Protokolü: Preparatlar 60°C'lik etüvde 1 saat bekletilerek deparafinize edilir. Daha sonra aşağıdaki işlemlerden geçirilir (74).

- 1- Periyodik Asit..... 3-5 dk
- 2- Suda yıkanır
- 3- Preparatlar iyice kurutulur
- 4- Schiff pipetle doku üzerini kaplayana kadar dökülür. 5-20 dk arası bekletilir(dokular kırmızı olana kadar).
- 5- Suda yıkanır
- 6- Hematoksilen boyasında bekletilir..... 2 dk
- 7- Suda yıkanır
- 8- Asit alkole batırılıp çıkarılır
- 9- Suda yıkanır
- 10- Amonyakta tutulur..... 5-10 sn
- 11- Suda yıkanır
- 12- Alkol serilerinden geçilir
- 13- Kurutulup üzerine entellan damlatılarak lamelle kapatılır

3.4.6. Masson Trikrom Boyama

Masson trikrom boyaması yapılarak histopatolojik değerlendirme (fibrozis) yapıldı.

Trikrom için Bovin hazırlanışı: 750 cc picrik asit, 50 cc asetik asit ve 200 cc formaldehit karıştırılarak hazırlandı.

Masson Trikom Boyası Boyama Protokolü: Preparatlar 60°C'lik etüvde 1 saat bekletilerek deparafinize edilir (74).

- 1- Ksilen..... 5 dk
- 2- Alkol..... 5 dk
- 3- BOVİN solüsyonunda 56°C'de etüvde 1 saat bekletilir.
- 4- Suda tutulur (dokuların sarı rengi beyaza dönene kadar).
- 5- Mayer Hematoksilende bekletilir..... 2 dk
- 6- Suda yıkanır
- 7- Trikom Kombine boyada bekletilir..... 5 dk
- 8- Suda yıkanır
- 9- Alkol
- 10- Kurutulup üzerine entellan damlatılarak lamelle kapatılır

3.4.7. İmmünohistokimyasal İşlemler

Ovaryumda apoptozu değerlendirmek için TUNEL tekniğiyle boyama yapıldı. Hücrelerin DNA fragmentasyonları tanımlandı. Homojen boyanmış kahverenkli hücreler TUNEL (+) apoptotik hücre olarak tanımlandı (75). Her sıçan için aynı kesitte beş farklı alanda foliküllerde granüler hücreler ve teka hücrelerinde apoptotik ve normal hücreler sayıldı. Apoptotik indeks (AI) hesaplandı (AI: TUNEL (+) hücre sayısı / toplam hücre sayısı X100) (76).

Terminal Deoxynucleotidy Transferase (Tdt) Deoxyuridine Triphosphate Nick End Labeling Assay Boyası Boyama Protokolü: Terminal deoxynucleotidy transferase (Tdt) deoxyuridine triphosphate nick end labeling assay tekniği için in situ cell death detection kit, AP kullanıldı. Preparatlar 60°C'lik etüvde 1 saat bekletilerek deparafinize edilir. Daha sonra aşağıdaki işlemler yapılır.(74).

- 1- Ksilen..... 3×5 dk
- 2- %100 Etanol..... 5 dk
- 3- %95 Etanol..... 5 dk

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

3.5. Biyokimyasal Analiz

Elektromanyetik alan'dan over dokusunun etkilenip etkilenmediğini belirlemek amacıyla over ve kan dokusunda biyokimyasal parametrelere bakıldı. Over dokusunda ve kan örneklerinde oksidatif stres belirleyicileri olarak MDA, GSH, CAT, SOD, DNA hasarını belirlemek için 8-OHdG, protein hasarını belirlemek için 3-NT ölçümü yapıldı ve AMH seviyesi ölçüldü. Serumda TAS, TOS ölçümü ve OSI hesaplaması yapıldı.

3.5.1. Doku Malondialdehit Düzeylerinin Belirlenmesi

MDA ölçümü, Mihara ve Uchiyama yöntemi (77) modifiye edilerek yapıldı. Bu metodun esası, MDA'nın asidik ortamda tiyobarbitürik asit (TBA) ile

oluşturduğu molekülün renginin 532 nm'deki absorbansının ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

Doku MDA Ölçümünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

1) Doku homojenizasyon tamponu (0.01 M Fosfat Tampon Çözeltisi (PBS), pH 7.4): 10 adet PBS tableti (Medicago, 09-2051-100, Uppsala, Sweden) içerisinde yaklaşık 900 mL saf su bulunan beherde çözüldü ve çözeltinin pH'sı, pH metrede (Hanna Instrument, HI 9321, USA) 7.4'e ayarlandı. pH'sı ayarlanan çözeltinin son hacmi 1 L'ye tamamlandı.

2) % 1'lik H₃PO₄ çözeltisi: Bir miktar saf su üzerine 2.94 mL % 85'lik H₃PO₄ (Sigma, 04107, St. Louis, MO, USA) alındı ve son hacim saf su ile 250 mL'ye tamamlandı.

3) TBA çözeltisi: 0.67 g TBA (Sigma T5500, St. Louis, MO, USA) tartıldı, 50 mL saf su ve 50 mL asetik asit (Sigma, A6283, St. Louis, MO, USA) ilave edilerek magnetik bar yardımıyla karıştırılıp çözüldü.

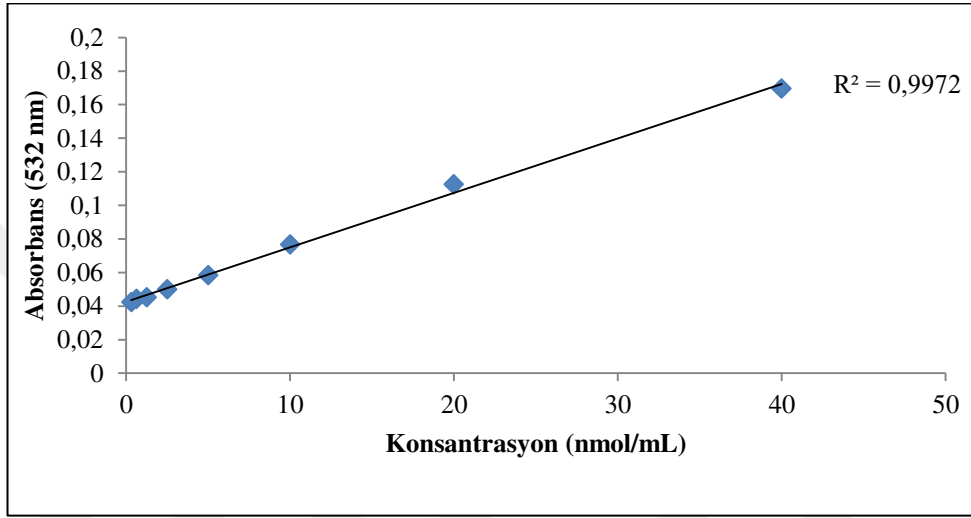
4) Standart çözeltiler: 82.5 µL 1,1,3,3 tetrametoksipropan (Sigma, T1642, St. Louis, MO, USA) 0.01 M 50 mL HCl (Sigma, 258148, St. Louis, MO, USA) çözeltisine ilave edildi. Çözelti 50°C'de 1 saat inkübe edildi. Bu şekilde hazırladığımız ana stok çözeltisinden çeşitli oranlarda dilüsyonlar yapılarak 40, 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625 ve 0.3125 nmol/mL'lik standart çözeltiler ve kör hazırlandı.

Örneklerin Hazırlanışı: Alınan dokuların her birinden yaklaşık 50'şer mg'lık kesimler yapıldı. Sonrasında bu dokular 2 mL fosfat tamponu (PBS, pH=7.4) içerisinde 9500 rpm (4x10s, 40°C)'de Ultra-Turrax homejenizatör (model T25, Jane and Kunkel, Germany) ile homojenize edildi. Homojenatlar 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Santrifüj sonucu elde edilen süpernatantlar 1:10 oranında PBS ile seyreltilerek MDA ölçümü gerçekleştirildi.

Doku MDA Ölçümü:

1. 500 µL homojenata 3 mL % 1'lik H₃PO₄ eklenerek karıştırıldı.
2. Karışıma 1 mL % 0,672'lik TBA eklenip karıştırıldıktan sonra 60 dakika kaynar su banyosunda inkübe edildi.
3. Süre sonunda tüpler oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı ve sonrasında oda sıcaklığında 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.

4. Santrifüj sonucu süpernatant kısımlardan 200'er µL alınıp 96 kuyucuklu pleytlere yüklenerek mikropleyt okuyucu spektrofotometrede (Versamax, Molecular Devices, California, USA) 532 nm dalga boyunda absorbanlar okundu. Elde edilen standart absorban sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek MDA standart grafiği çizildi (Şekil 13). Bu grafikten yararlanılarak doku MDA miktarı nmol MDA/gram ıslak doku olarak hesaplandı.



Şekil 13. Doku MDA Ölçümünde Kullanılan Standart Grafiği

3.5.2. Serum MDA Düzeylerinin Belirlenmesi

Rat serum örnekleri biyokimyasal analizler yapılana kadar -80 C°'de saklandı. Serum örneklerinde malondialdehit miktarı Yagi tarafından geliştirilen TBARS (Tiobarbituric Acid Reactive Substance) metodu kullanılarak tayin edildi (78). Lipid peroksidasyon ürünü (MDA) ile tiyobarbitürik asit (TBA) arasındaki reaksiyon sonucu oluşan kırmızı renk spektrofotometrik olarak ölçüldü. Tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girerek aynı rengi veren suda çözünür maddeleri uzaklaştırmak için serum lipidleri proteinle birlikte fosfotungistik asit/sülfirik asit sistemiyle çöktürüldü.

Serum MDA Ölçümünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

1) **0,084 N Sülfirik Asit (H₂SO₄):** 577 µL % 97'lik H₂SO₄ (Sigma, 320501, St. Louis, MO, USA)'den alınıp, hacim deiyonize su ile 250 mL'ye tamamlandı.

2) % 10'luk Fosfotungistik Asit ($H_3(W_3O_{10}) \cdot 4H_2O$): 5.55 g fosfotungistik asit (Sigma P4006, St. Louis, MO, USA) 50 mL deiyonize suda çözüldü.

3) Tiyoarbitürik asit (TBA) çözeltisi: 0.67 g TBA (Sigma T5500, St. Louis, MO, USA) tartıldı, 50 mL saf su ve 50 mL asetik asit (Sigma, A6283, St. Louis, MO, USA) ilave edilerek magnetik bar yardımıyla karıştırılıp çözüldü.

4) Standart çözeltiler: 82.5 µL 1,1,3,3 tetrametoksipropen (Sigma, T1642, St. Louis, MO, USA) 0.01 M 50 mL HCl (Sigma, 258148, St. Louis, MO, USA) çözeltisine ilave edildi. Çözelti 50°C'de 1 saat inkübe edildi. Bu şekilde hazırladığımız ana stok çözeltisinden çeşitli oranlarda dilüsyonlar yapılarak 40, 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625 ve 0.3125 nmol/mL'lik standart çözeltiler ve kör hazırlandı.

Serum MDA Ölçümü:

1. Deney tüplerine 150'şer µL serum, 1200'er µL H_2SO_4 ve 150'şer µL fosfotungistik asit eklendi, tüpler iyice karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi.

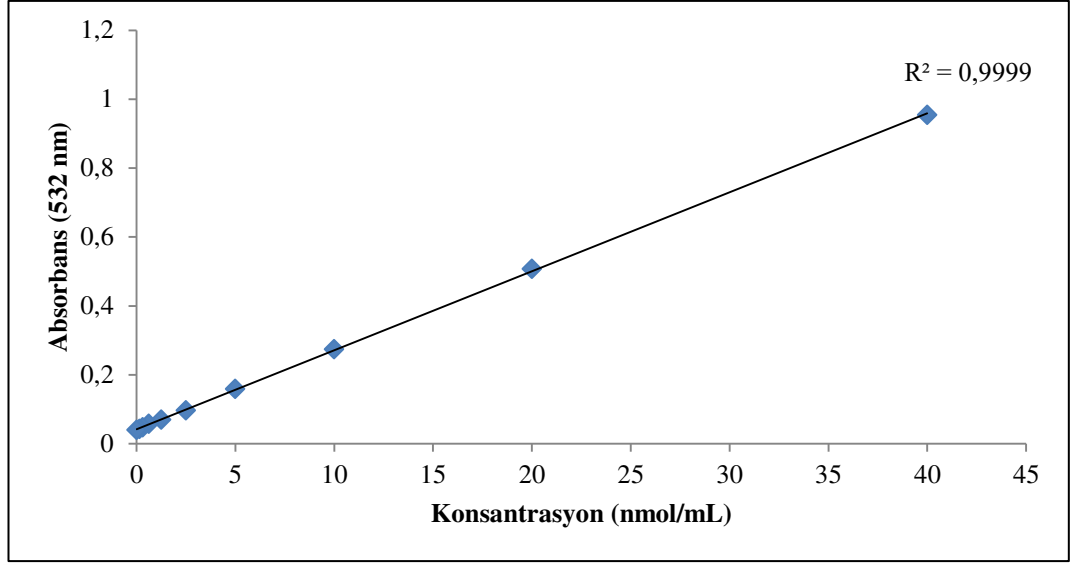
2. Karışımlar 1500 g'de 10 dakika santrifüj edildi ve üst fazlar atıldı.

3. Geriye kalan çökelek kısımları üzerine 2'şer mL saf su eklendi ve yeniden çözününceye kadar vortekslendi.

4. Tüplere 500'er µL TBA eklendi ve 1 saat 100 °C'de inkübe edildi.

5. İnkübasyonun ardından tüpler 1000 g' de 10 dakika santrifüjlendi.

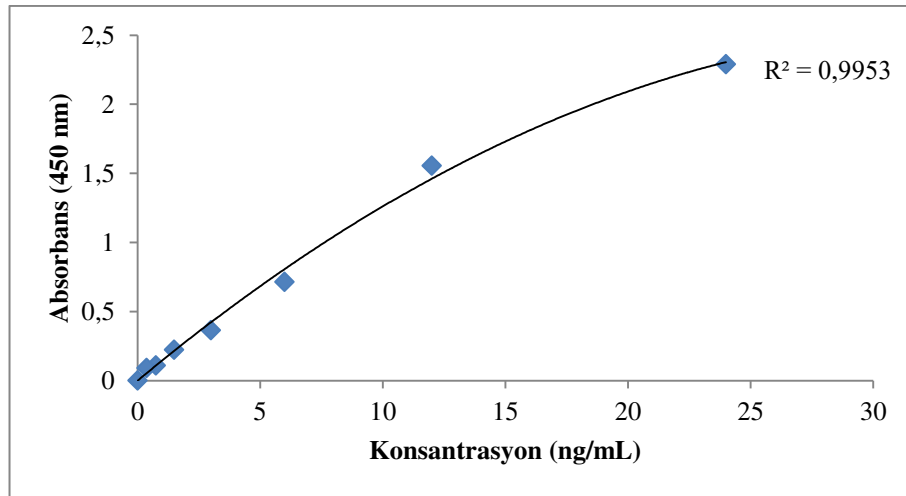
6. Üstteki berrak kısımlardan 200'er µL alınarak 96 kuyucuklu pleytlere yüklenerek mikropleyt okuyucu spektrofotometrede (Versamax, Molecular Devices, California, USA) 532 nm dalga boyunda absorbanlar okundu. Elde edilen standart absorban sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek MDA standart grafiği çizildi (Şekil 14). Bu grafikten yararlanılarak serum MDA miktarı nmol/mL olarak hesaplandı.



Şekil 14. Serum MDA Ölçümünde Kullanılan Standart Grafiği

3.5.3. Anti Müllarian Hormon (AMH) Seviyelerinin Belirlenmesi

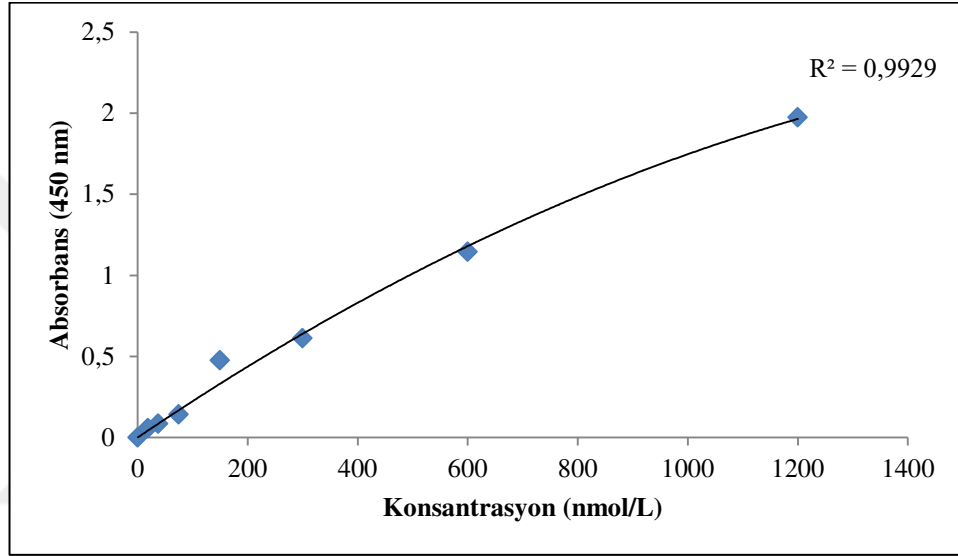
Serum ve doku örneklerindeki AMH seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda iki antikorlu sandviç ELİSA kit (SunRed, Cat No: 201-11-1246, Shanghai, China) kullanılarak belirlendi. Örneklerin absorbanları mikrolept okuyucu spektrofotometrede (Versamax, Molecular Devices, California, USA) 450 nm dalga boyunda okundu. Sonuçlar ng/mL cinsinden verildi (Şekil 15).



Şekil 15. Anti Müllarian Hormon Tayininde Kullanılan Standart Grafiği

3.5.4. 3-Nitrotirozin Seviyelerinin Belirlenmesi

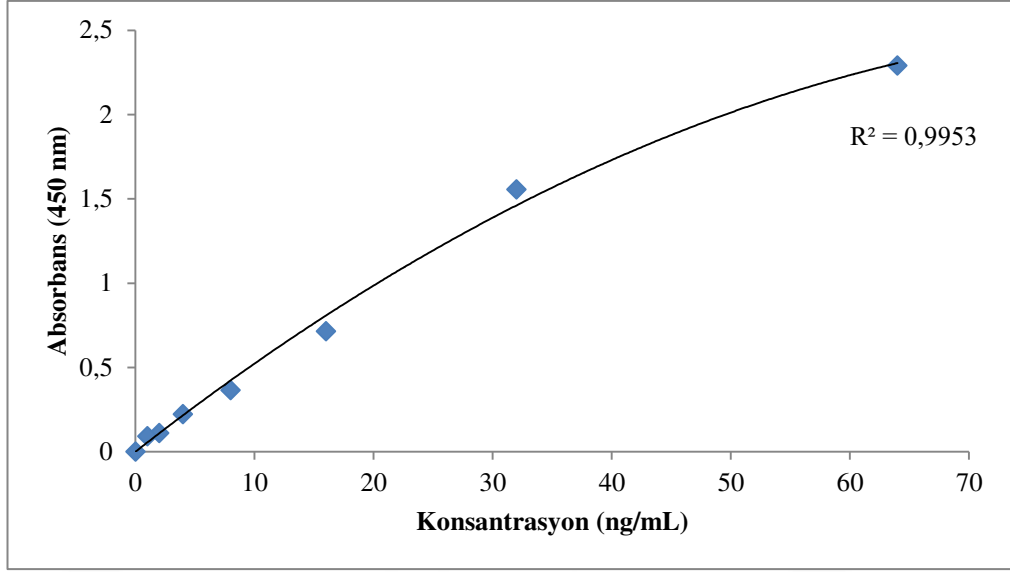
Serum ve doku örneklerindeki 3-NT seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda iki antikorlu sandviç ELİSA kit (SunRed, Cat No: 201-11-0020, Shanghai, China) kullanılarak belirlendi. Örneklerin absorbanları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede (Versamax, Molecular Devices, California, USA) 450 nm dalga boyunda okundu. Sonuçlar nmol/L cinsinden verildi. (Şekil 16)



Şekil 16. 3-Nitrotirozin Tayininde Kullanılan Standart Grafiği

3.5.5. Süperoksit Dismutaz (SOD) Seviyelerinin Belirlenmesi

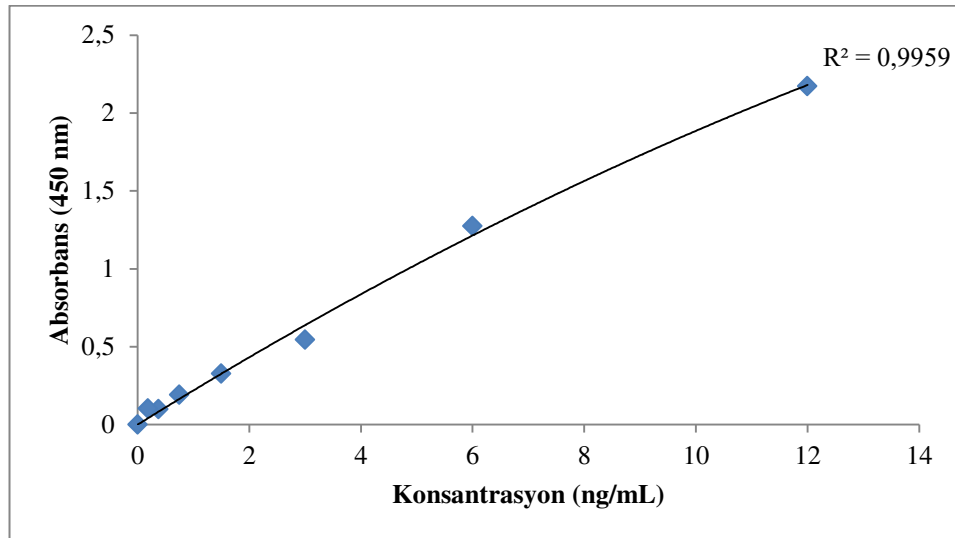
Serum ve doku örneklerindeki SOD seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda iki antikorlu sandviç ELİSA kit (SunRed, Cat No: 201-11-0169, Shanghai, China) kullanılarak belirlendi. Örneklerin absorbanları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede (Versamax, Molecular Devices, California, USA) 450 nm dalga boyunda okundu. Sonuçlar ng/mL cinsinden verildi (Şekil 17).



Şekil 17. SOD Tayininde Kullanılan Standart Grafiği

3.5.6. 8-Hidroksi-Deoksiguanozin Seviyelerinin Belirlenmesi

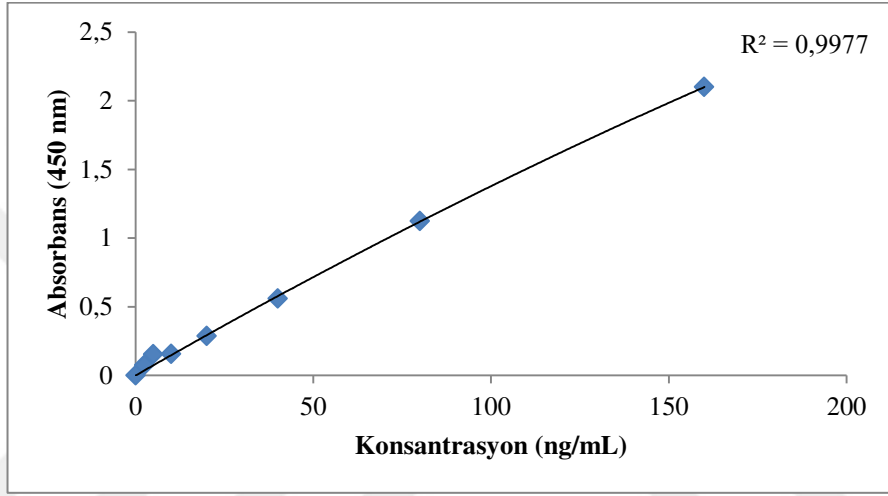
Serum ve doku örneklerindeki 8-OHdG seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda iki antikorlu sandviç ELİSA kit (SunRed, Cat No: 201-11-0032, Shanghai, China) kullanılarak belirlendi. Örneklerin absorbansları mikrolept okuyucu spektrofotometrede (Versamax, Molecular Devices, California, USA) 450 nm dalga boyunda okundu. Sonuçlar ng/mL cinsinden verildi (Şekil 18).



Şekil 18. 8-Hidroksi-Deoksiguanozin Tayininde Kullanılan Standart Grafiği

3.5.7. Katalaz Seviyelerinin Belirlenmesi

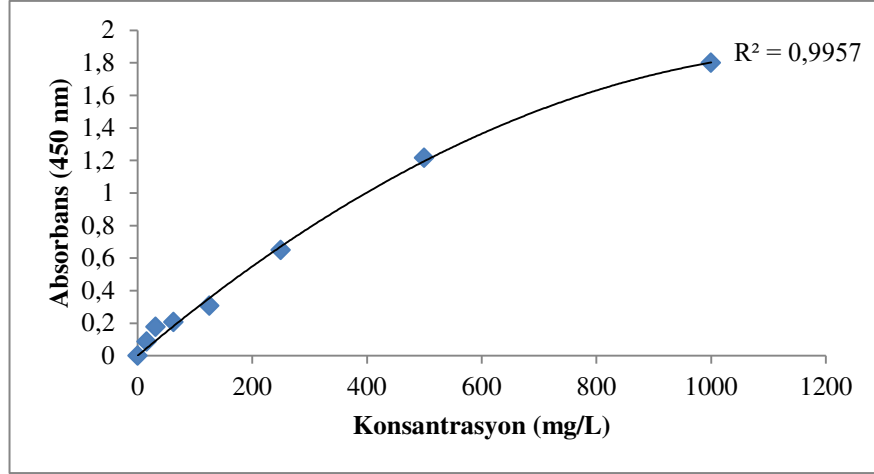
Serum ve doku örneklerindeki CAT seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda iki antikorlu sandviç ELİSA kit (SunRed, Cat No: 201-11-5106, Shanghai, China) kullanılarak belirlendi. Örneklerin absorbansları mikrolept okuyucu spektrofotometrede (Versamax, Molecular Devices, California, USA) 450 nm dalga boyunda okundu. Sonuçlar ng/mL cinsinden verildi (Şekil 19).



Şekil 19. Katalaz tayininde kullanılan standart grafiği

3.5.8. Glutasyon Seviyelerinin Belirlenmesi

Serum ve doku örneklerindeki glutasyon (GSH) seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda iki antikorlu sandviç ELİSA kit (SunRed, Cat No: 201-11-5134, Shanghai, China) kullanılarak belirlendi. Örneklerin absorbansları mikrolept okuyucu spektrofotometrede (Versamax, Molecular Devices, California, USA) 450 nm dalga boyunda okundu. Sonuçlar mg/L cinsinden verildi (Şekil 20).



Şekil 20. Glutatyon tayininde kullanılan standart grafiği

3.5.9. Toplam Oksidan Durumun Belirlenmesi

Serum ve doku örneklerindeki TOS seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda kolorimetrik kit (Rel Assay Diagnostics, Cat No: RL0024, Gaziantep, Turkey) kullanılarak belirlendi. Total oksidan durum tayini; farklı oksidan türlerinin Fe^{+2} 'nin Fe^{+3} 'e yükseltgemesine, oluşan Fe^{+3} 'ün kromojen ile renkli bir kompleks oluşturmasına ve oluşan bu kompleksin spektrofotometrik olarak 530 nm'de ölçümüne dayanmaktadır. Elde edilen veriler standart ile oranlanarak numunedeki total oksidan kapasite $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv/L biriminden bulundu.

3.5.10. Toplam Antioksidan Durumun Belirlenmesi

Serum ve doku örneklerindeki TAS seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda kolorimetrik kit (Rel Assay Diagnostics, Cat No: RL0017, Gaziantep, Turkey) kullanılarak belirlendi. Total antioksidan durum tayini; serumda bulunan antioksidanların koyu yeşil-mavi renkli ABTS reaktifini renksiz hale indirgemesi esasına dayanır. Absorbanstaki değişim 660 nm'de spektrofotometrik olarak izlenir ve elde edilen veriler standart ile oranlanarak, numunedeki total antioksidan kapasite mmol trolox equivalent/L biriminden bulunur.

3.5.11. Oksidatif Stres İndekslerinin Hesaplanması

Serum ve doku örneklerindeki OSI'lerinin seviyeleri;

$$OSI=[(TOS, \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ equivalent/L})/(\text{TAS}, \mu\text{mol Trolox equivalent/L}) \times 100]$$

formülü kullanılarak hesaplandı (79).

Histolojik değerlendirme için yapılan doku takibi, parafin bloklama, bloklardan kesit alınması, kesitlerin boyanması, folikül sayımı, apoptoz ve bütün histopatolojik değerlendirmeler KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD'da yapıldı. Biyokimyasal analizler KTÜ Tıp Fakültesi Biyokimya AD'da yapıldı.

3.6. İstatistiksel Analiz

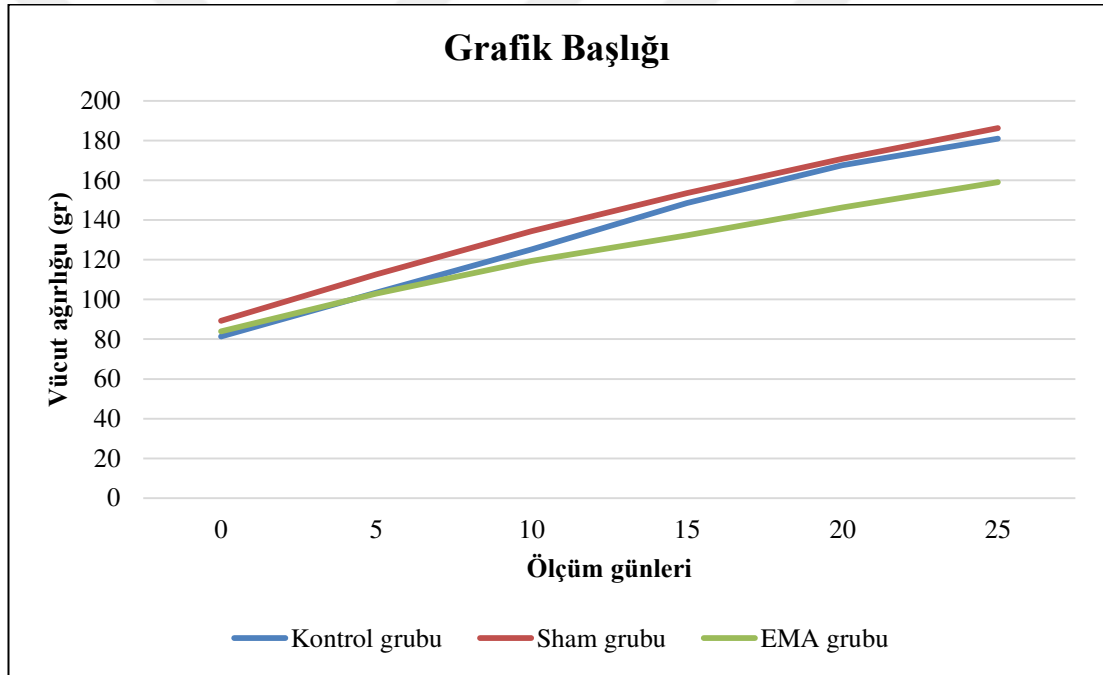
İstatistiksel analizde SPSS (Statistical Package for the Social Sciences version 20.0, SSPS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanıldı. Gruplara ait bütün sayısal veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi. Değişkenlerin öncelikle normal dağılım gösterip göstermediklerine bakıldı. Normal dağılım gösterenlerde varyans analizi yapıldı. Post hoc Student-Newman-Keuls testi yapıldı. Normal dağılım göstermeyenlere Kruskal Wallis testi ve Mann Whitney testi yapıldı. Histolojik skorlama sonuçlarını değerlendirmede Chi-Square testi kullanıldı. $P < 0.05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Vücut ve Over Ağırlıklarına Ait Bulgular

4.1.1. Vücut Ağırlığı Bulguları

Çalışma süresince tüm sıçanların 35, 40, 45, 50, 55 ve 60. günlerinde vücut ağırlıkları ölçüldü (Şekil 21). Sıçanların 60. (adolesan dönemin bitişi-reproduktif dönem başlangıcı) gün vücut ağırlıklarının istatistiksel olarak karşılaştırılmasında, gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 13).



Şekil 21. Sıçanların 35-60. Günler Arasındaki Vücut Ağırlığı Artışı

4.1.2. Overlerin Ağırlıkları Bulguları

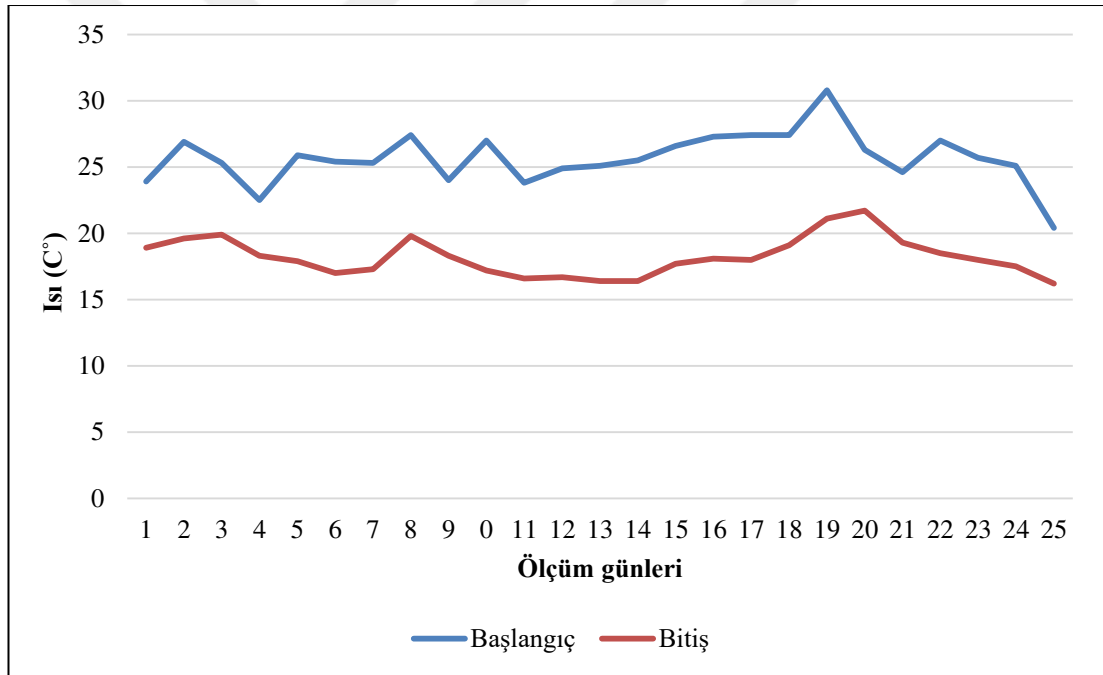
Sıçanların sağ overlerinin ağırlıkları karşılaştırıldı. İstatistiksel olarak gruplar arasındaki fark anlamlı değildi ($P=0.059$) (Tablo 13). Aynı şekilde sıçanların sağ ve sol overlerinin ağırlıkları karşılaştırıldı ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (sırasıyla $P=0.680$; $P=0.270$) (Tablo 13).

Tablo 13. Vücut, Sağ ve Sol Over Ağırlıklarının Gruplara Göre Ortalama $\pm$ Ortalamaların Standart Hata Değerleri ve Karşılaştırılması

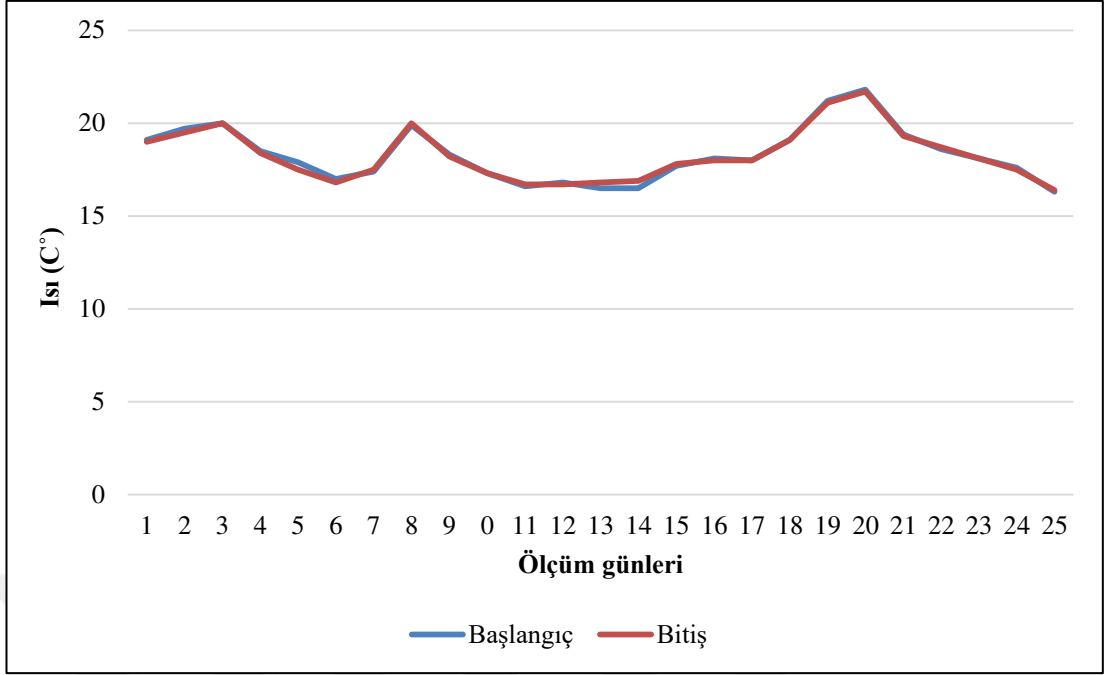
	Kontrol grubu	EMA grubu	Sham grubu
Vücut ağırlığı (gr)	180.9750 $\pm$ 2.8544	159 $\pm$ 13.3001	186.31 $\pm$ 2.8679
Sağ over (gr)	0.0713 $\pm$ 0.0066	0.0788 $\pm$ 0.0099	0.070 $\pm$ 0.0053
Sol over (gr)	0.0788 $\pm$ 0.0039	0.0713 $\pm$ 0.0058	0.069 $\pm$ 0.0029
Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi			

4.1.3. Kafes İçi Isı ve Nem Sonuçlar

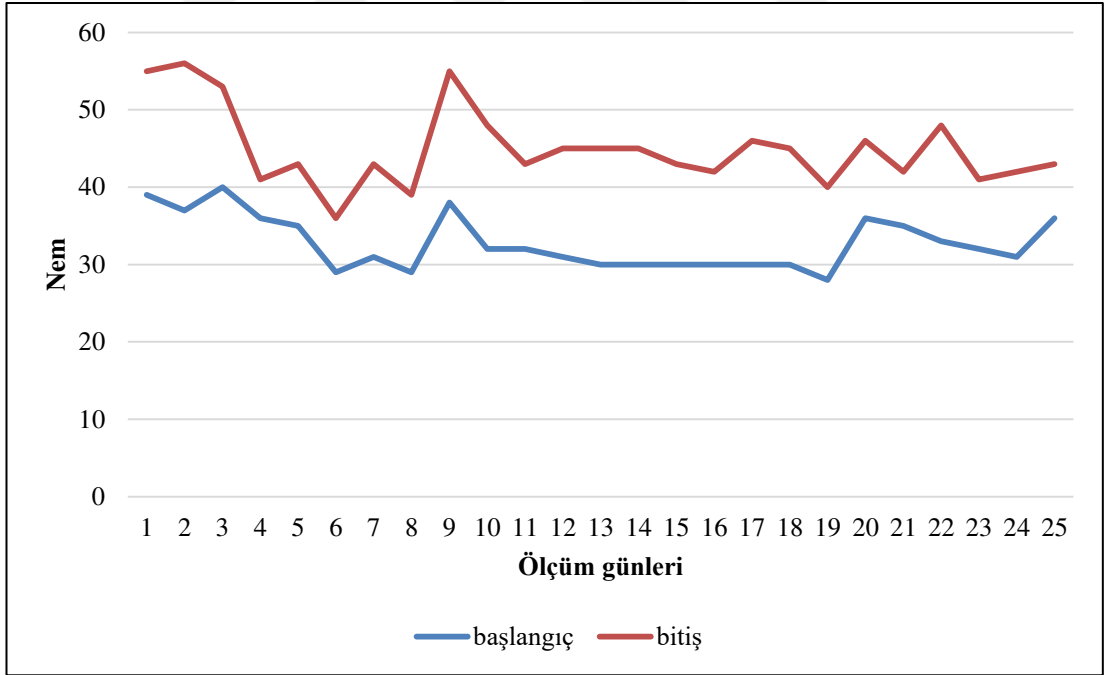
EMA ve Sham gruplarının deneyin başlangıcında ve bitişinde kafesin içinden ölçülen ısı ve nem ölçüm sonuçları Şekil 22-25'te verilmiştir.



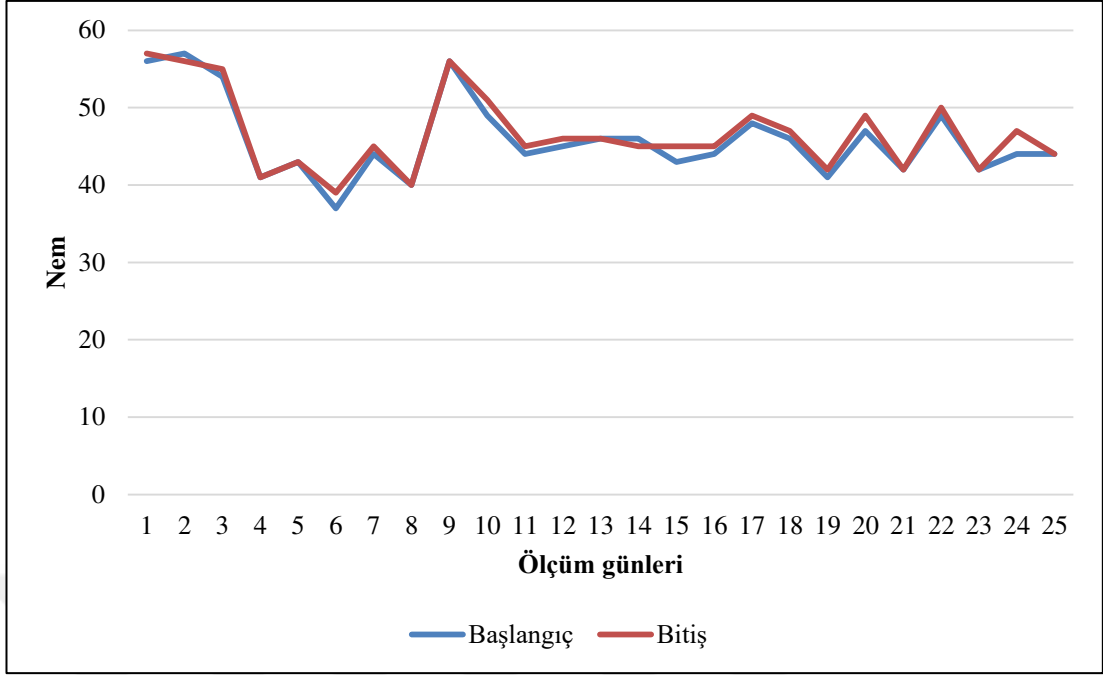
Şekil 22. Sham Grubu Deney Başlangıç ve Bitişinde Kafes İçi Isı Ölçüm Sonuçları



Şekil 23. EMA Grubu Deney Başlangıç ve Bitişinde Kafes İçi Isı Ölçüm Sonuçları



Şekil 24. Sham Grubu Deneyin Başlangıç ve Bitişinde Kafes İçi Nem Ölçüm Sonuçları



Şekil 25. EMA Grubu Deneyin Başlangıç ve Bitişinde Kafes İçi Nem Ölçüm Sonuçları

4.2. Morfolojik Bulgular

4.2.1. Folikül Sayısı

Kontrol, EMA ve sham gruplarında follikül sayısı değerlendirmeleri sağ ovaryum dokularından elde edilen kesitler üzerinde yapıldı. Yapılan sayımlar sonucunda elde edilen primordial folikül ($P=0,370$), primer folikül ($P=0,803$), BPF ($P=0,113$) ve graaf folikülü ($P=0,051$) sayılarının istatistiksel olarak karşılaştırmalarında gruplar arasındaki anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 14). Sekonder foliküllerin sayılarının istatistiksel olarak karşılaştırılmasında ise EMA grubu sekonder follikül sayısının kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlendi ($P=0.012$). Ancak sekonder follikül sayıları açısından EMA ve sham grubu arasında ($P=0,141$), kontrol ve sham grubu arasında ($P=0,093$) istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Atretik hücre bakımından yapılan istatistiksel analizlerde de gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilemedi ($P=0,314$) (Tablo 14).

Tablo 14. Folikül Sayılarının Gruplara Göre Ortalama $\pm$ Ortalamaların Standart Hata Verileri ve Karşılaştırması

	Kontrol grubu	EMA grubu	Sham grubu
Primordial folikül	239.625 $\pm$ 27.3534	315.5 $\pm$ 40.8603	241.3750 $\pm$ 19.8907
Primer folikül	88.625 $\pm$ 9.4395	83.25 $\pm$ 7.1881	93 $\pm$ 20.0730
BPF	236.875 $\pm$ 18.5774	156.25 $\pm$ 28.1727	203.2500 $\pm$ 17.8503
Sekonder folikül	194.375 $\pm$ 22.2806	101.25 $\pm$ 22.5331 ^a	143.75 $\pm$ 19.3296
Graaf folikülü	135.375 $\pm$ 29.5894	97.5 $\pm$ 19.0469	163.1250 $\pm$ 10.5092
Atretik folikül	17.375 $\pm$ 2.3294	17.25 $\pm$ 1.9616	13.3750 $\pm$ 2.0782
^a EMA grubunda Sekonder folikül sayısının kontrol grubuna göre azaldığı tespit edildi (p=0.012). Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi.			

4.2.2. Histopatolojik Değerlendirme

Gruplara ait sıçanların over dokularının histopatolojik değerlendirmesinde (folikül hücrelerinde mitotik aktivitede azalma, folikül hücre boyutlarında azalma, zona granuloza tabakasında azalma, granuloza hücrelerinde hiperkromazi, teka tabakası kalınlığında azalma, foliküllerde lökosit infiltrasyonu artışı, stromada lökosit infiltrasyonu) skorlama (0 = yok, 1 = hafif, 2 = orta, 3 = yoğun) yapıldı ve gruplar arasında karşılaştırmalar yapıldı. Değerlendirmeler H&E, masson trikrom ve PAS boyalı kesitler üzerinde yapıldı.

Hematoksilen Eosin Boyalı Kesitlerin Histopatolojik Değerlendirilmesi

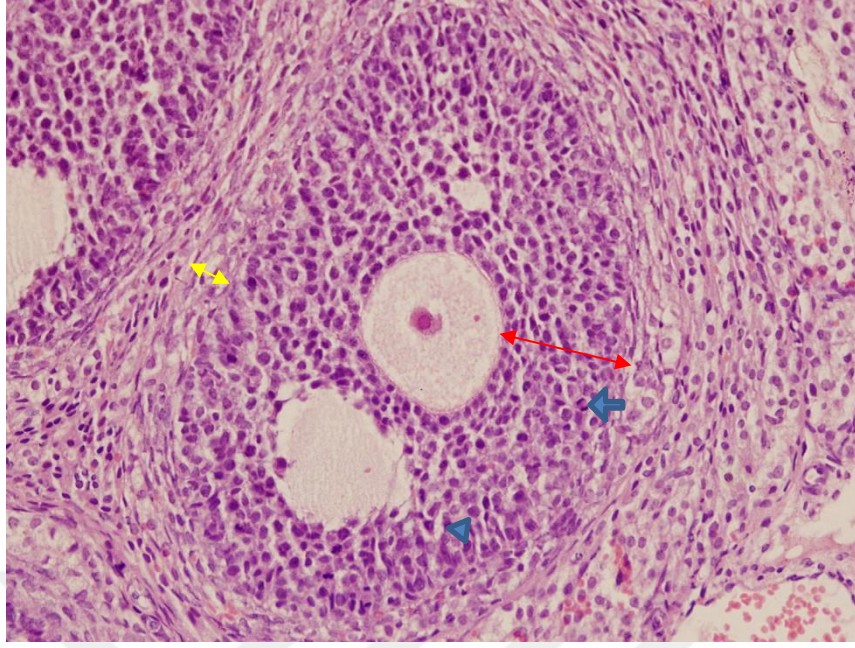
Kontrol grubunun H&E boyalı kesitlerinin değerlendirilmesinde normal morfolojide granuloza hücreleri, zona granuloza ve teka tabakası dikkati çekmekteydi. Normal morfolojide stroma ve granuloza hücreleri mevcuttu (Resim 12). EMA grubunun H&E boyalı kesitlerinin değerlendirilmesinde, folikül hücrelerinin mitotik aktivitesinde anlamlı derecede azalma bulundu (P=0.001) ve bu azalma düzeyinin orta şiddette olduğu belirlendi. Yine EMA grubunda folikül hücre boyutlarında anlamlı derecede azalma bulundu (P=0.026) ve bu azalma düzeyinin hafif şiddette olduğu belirlendi. EMA grubunda zona granuloza tabakasında anlamlı derecede azalma bulundu (P=0.000) ve bu azalma düzeyinin orta şiddette olduğu belirlendi. EMA grubunda granuloza hücrelerinde hiperkromazide anlamlı derecede artış bulundu (P=0.001) ve bu artış düzeyinin orta şiddette olduğu belirlendi. EMA grubunda teka tabakası kalınlığında anlamlı derecede azalma bulundu (P=0.000) bu

azalma düzeyinin yoğun şiddette olduğu belirlendi. EMA grubunda foliküllerde lökosit infiltrasyonunda anlamlı derecede artış bulundu ($P=0.022$) ve bu azalma düzeyinin orta şiddette olduğu belirlendi (Resim 13). Sham grubunun değerlendirilmesinde, kontrol grubuna benzer şekilde normal morfolojik yapı izlendi (Resim 14) (Tablo 15).

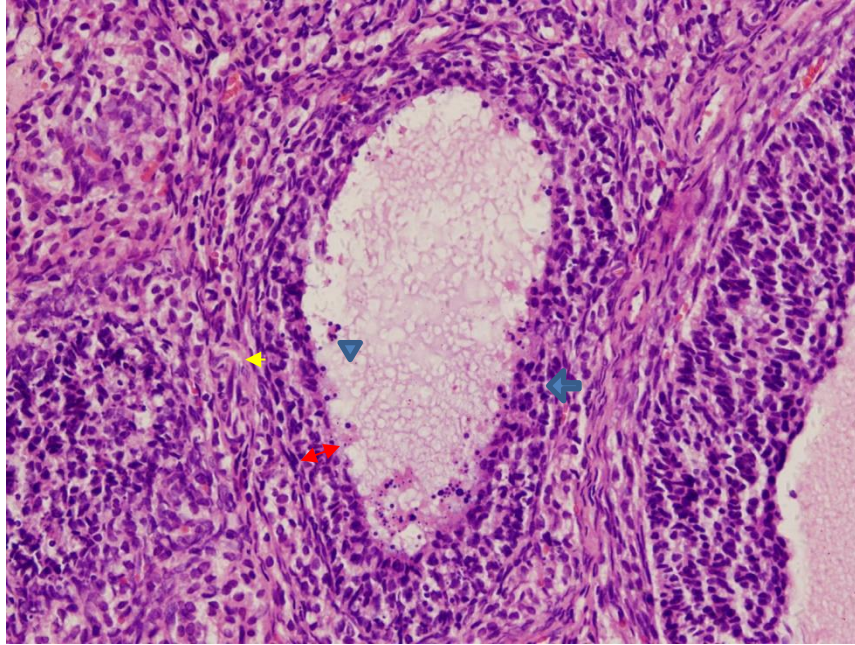
Stroma açısından yapılan değerlendirmelerde kontrol grubu kesitlerinde normal morfolojide stroma izlenirken (Resim 15) EMA grubuna ait kesitlerde stromada anlamlı derecede infiltrasyon artışı vardı ($P=0.024$) ve bu azalma düzeyinin hafif şiddette olduğu belirlendi (Resim 16). Sham grubunda ise yine kontrol grubuna benzer şekilde normal yapıda ovaryum stroması gözlemlendi (Resim 17). Ödem ve konjesyon bulguları açısından yapılan değerlendirmelerde de gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktu (Resim 15-17) (Tablo 15).

Tablo 15. Histopatolojik Skorlama Ortalamaları

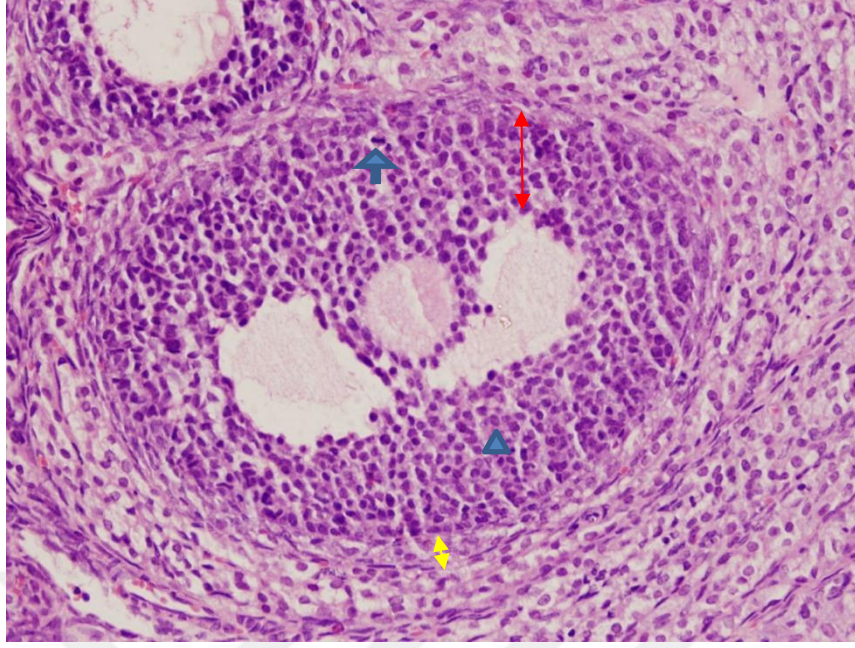
	Kontrol	EMA	Sham
Folikül hücrelerinde mitotik aktivitede azalma	0,125±0,125	2,25±0,3659 ^a	0,125±0,125
Folikül hücre boyutlarında azalma	0±0	0,875±0,295 ^b	0,25±0,1636
Granuloza hücrelerinde hiperkromazi	0,25±0,1636	1,875±0,2265 ^c	0,5±0,1889
Zona granuloza tabakasında azalma	0±0	2,125±0,295 ^d	0±0
Teka tabakası kalınlığında azalma	0,125±0,125	2,5±0,1889 ^e	0,25±0,1636
Foliküllerde lökosit infiltrasyonu artışı	0,5±0,1889	1,875±0,3503 ^f	0,625±0,1829
Stromada lökosit infiltrasyonu	0,125±0,125	0,5±0,1889 ^g	0±0
^a EMA grubunda mitotik aktivite kontrol ve sham grubuna göre azalmıştır ($P=0,001$) ^b EMA grubunda folikül hücre boyutu kontrol ve sham grubuna göre azalmıştır ($P=0,026$) ^c EMA grubunda granuloza hücrelerinde hiperkromazi kontrol ve sham grubuna göre artmıştır ($P=0,001$) ^d EMA grubunda zona granuloza tabakasında kontrol ve sham grubuna göre azalmıştır ($P=0,000$) ^e EMA grubunda teka tabakasında kontrol ve sham grubuna göre azalmıştır ($P=0,000$) ^f EMA grubunda foliküllerde lökosit infiltrasyonu kontrol ve sham grubuna göre artmıştır ($P=0,022$) ^g EMA grubunda stromada lökosit infiltrasyonu kontrol ve sham grubuna göre artmıştır ($P=0,024$) Veriler ortalama ± standart hata olarak verildi			



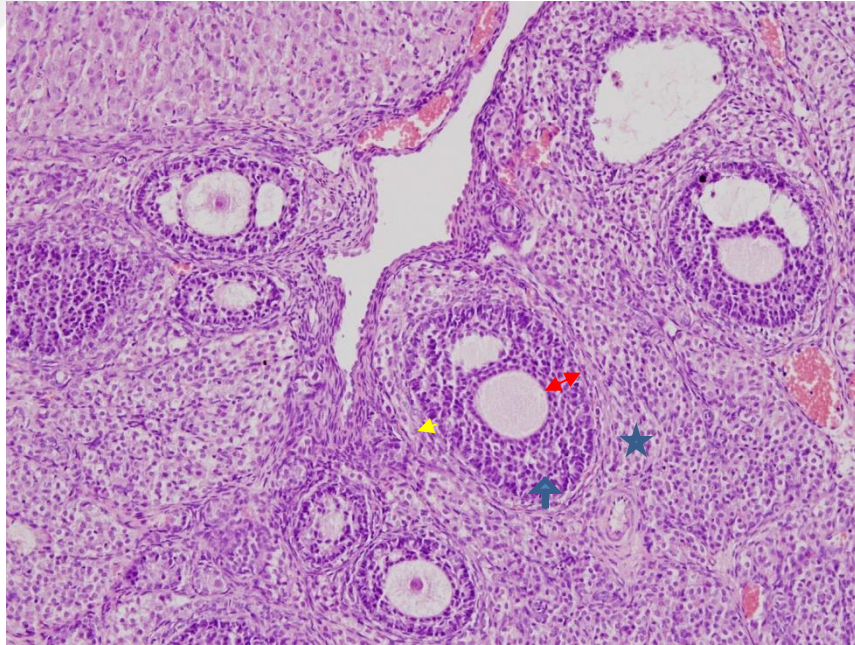
Resim 12. Kontrol Grubu (HE, ×400),: Zona Granuloza (çift yönlü kırmızı ok) ve Teka Tabakası (çift yönlü sarı ok) Normal Kalınlıkta, Granuloza Hücreleri (Ok Başı) Normal Boyutlarda, Ok: Mitotik Hücre



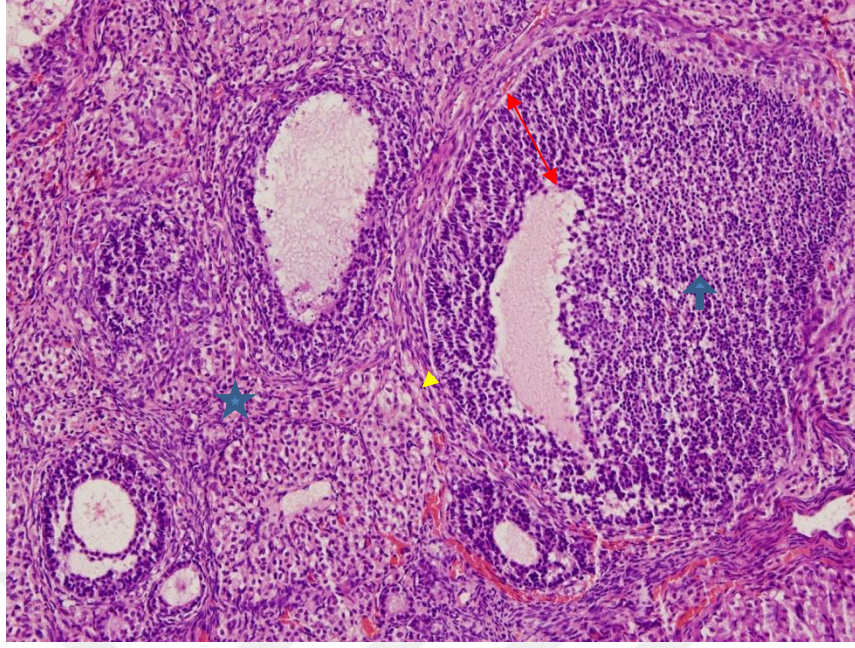
Resim 13. EMA Grubu (H&E, ×400), İncelmiş Zona Granuloza (çift yönlü kırmızı ok) ve Teka Tabakası (sarı ok), Ok: Granuloza Hücrelerinin Boyutları Küçülmüş ve Hiperkromazi Mevcut, Mitotik Aktivite Azalmış, Ok Başı: Lökosit İnfiltrasyonu



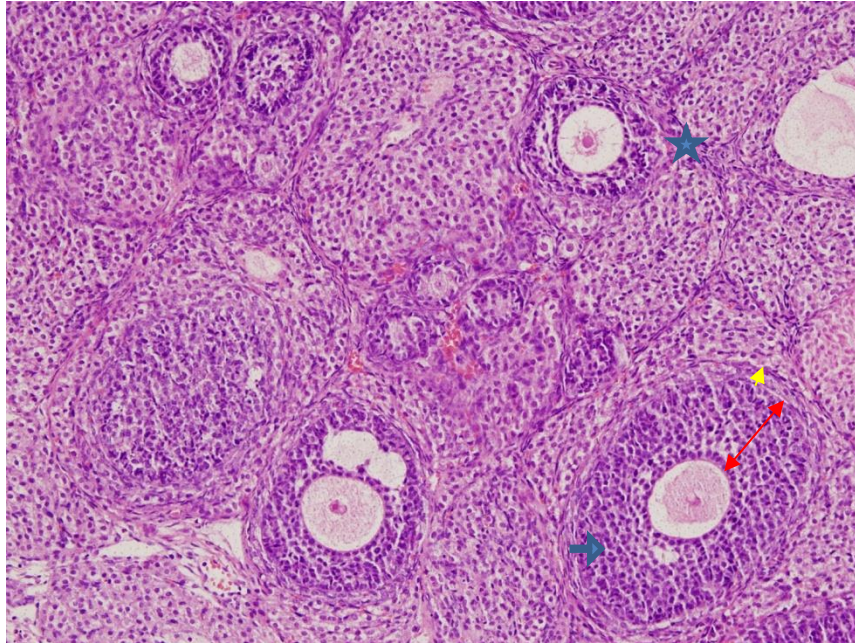
Resim 14. Sham Grubu (H&E, ×400), Zona Granuloza (çift yönlü kırmızı ok) ve Teka Tabakası (çift yönlü sarı ok) Normal Kalınlıkta, Granuloza Hücreleri (Ok Başı) Normal Boyutlarda, Ok: Mitotik Hücre



Resim 15. Kontrol Grubu (H&E, ×200), Yıldız: Stroma, Ok: Granuloza Hücreleri, çift yönlü kırmızı ok: Zona Granuloza, sarı ok: Teka Tabakası. Normal Morfolojide Stroma ve Granuloza Hücreleri



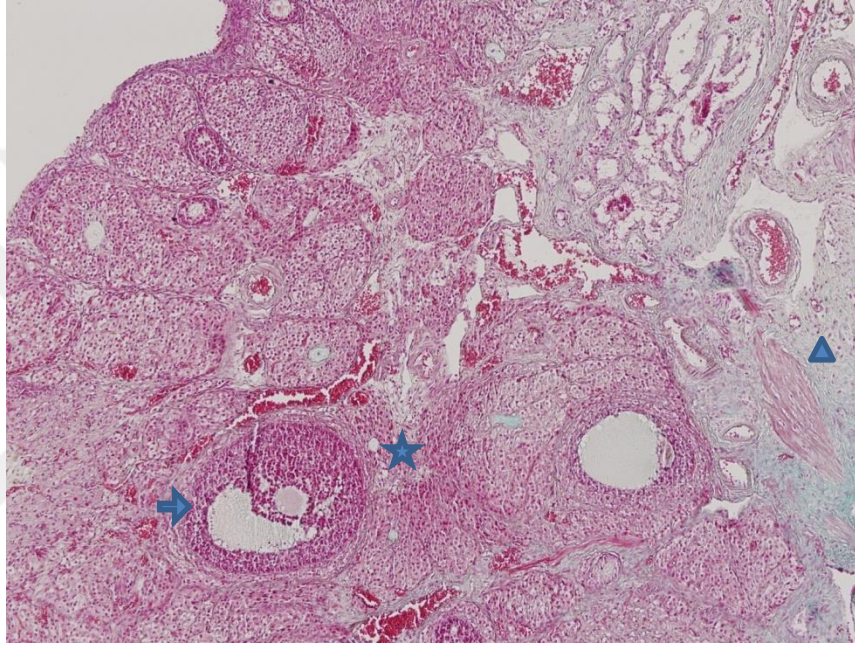
Resim 16. EMA Grubu (H&E, ×200), Ok: Granuloza Hücreleri, Yıldız: Stroma, (çift yönlü kırmızı ok) Zona Granuloza, (sarı ok) Teka Tabakası, Folikül ve Stromada Lökosit İnfiltrasyonu, Hiperkromatik Granuloza Hücreleri, Granuloza Hücrelerinde Küçülme



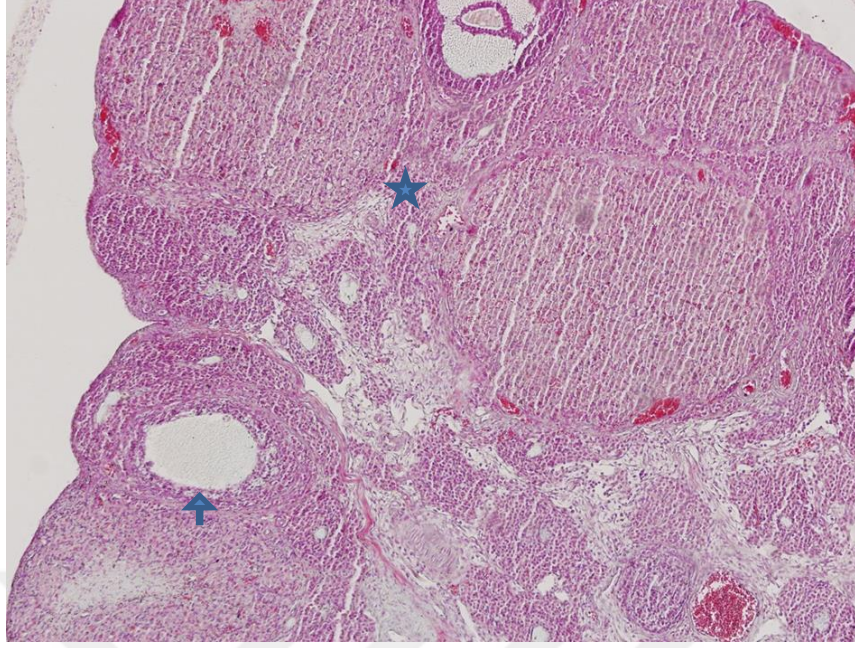
Resim 17. Sham Grubu (H&E, ×200) Çift yönlü kırmızı ok: zona granulosa, sarı ok: teka tabakası, ok: granuloza hücresi, yıldız: stroma. Normal morfolojide stroma ve granuloza hücreleri

Masson Trikrom Boyalı Kesitlerin Histopatolojik Değerlendirilmesi

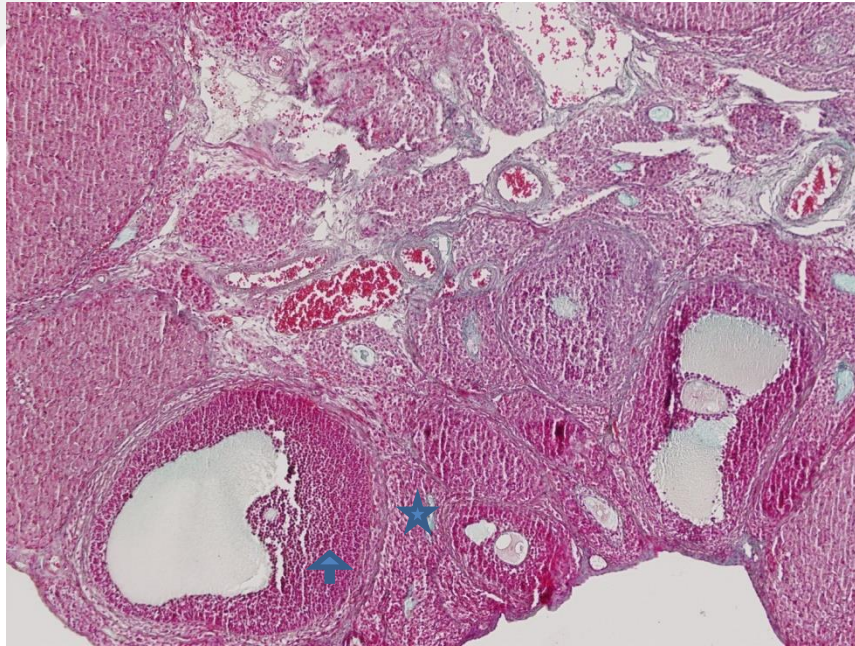
Masson trikrom boyası ile boyanan ovaryum kesitlerinin ışık mikroskop altında yapılan değerlendirilmesinde kontrol, sham ve EMA gruplarının stromasının normal morfolojik yapıda bağ dokusu özellikleri gösterdikleri izlendi (Resim 18-20). Fibrozis açısından yapılan değerlendirmede gruplar arasında herhangi bir farklılık olmadığı gözlemlendi. Ancak EMA grubunda yer yer bozulmuş granuloza hücrelerinin varlığı dikkat çekmekteydi (Resim 19).



Resim 18. Kontrol Grubu (Masson Trikrom, $\times 100$) Yıldız: Stroma, Üçgen: Medulla, Ok: Granuloza Hücreleri. Normal Yapıda Stromal Bağ Dokusu ve Granuloza Hücreleri



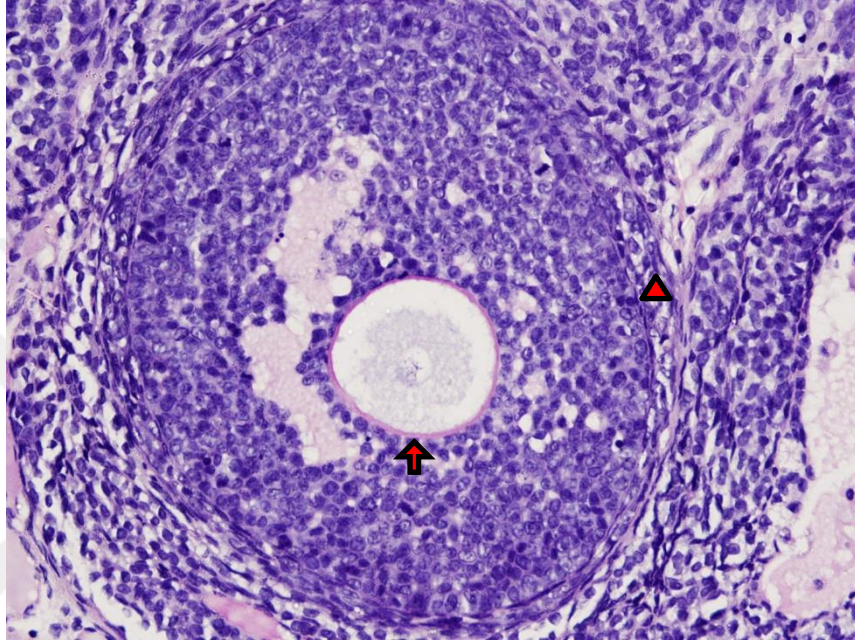
Resim 19. EMA grubu (Masson Trikrom, ×100) Yıldız: Stroma, Ok: Granuloza Hücreleri. Normal Yapıda Stromal Bağ Dokusu, Bozulmuş Granuloza Hücreleri



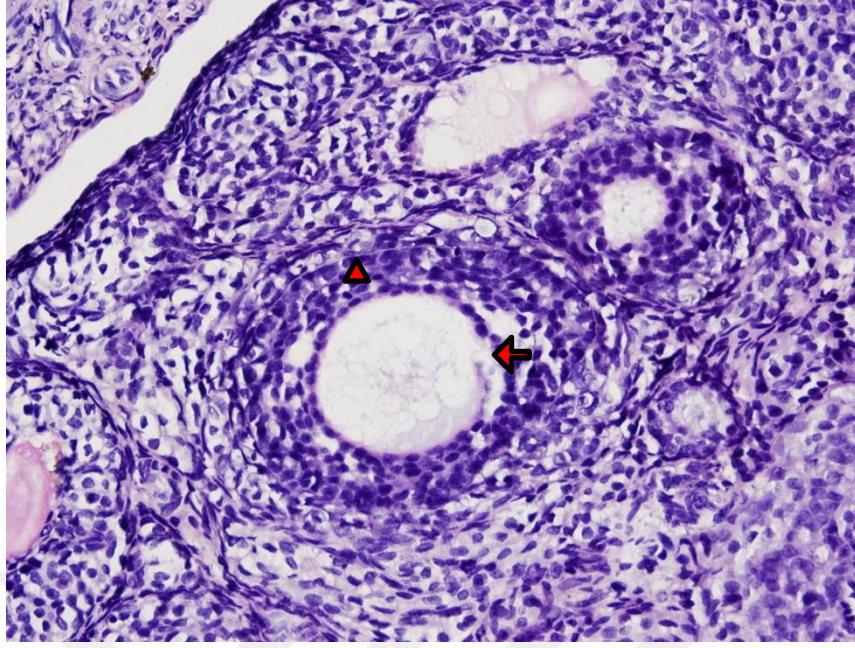
Resim 20. Sham Grubu (Masson Trikrom, ×100) Yıldız:Stroma, Ok: Granuloza Hücreleri. Normal Yapıda Stromal Bağ Dokusu ve Granuloza Hücreleri

Peryodik Asit Schiff Boyalı Kesitlerin Histopatolojik Değerlendirilmesi

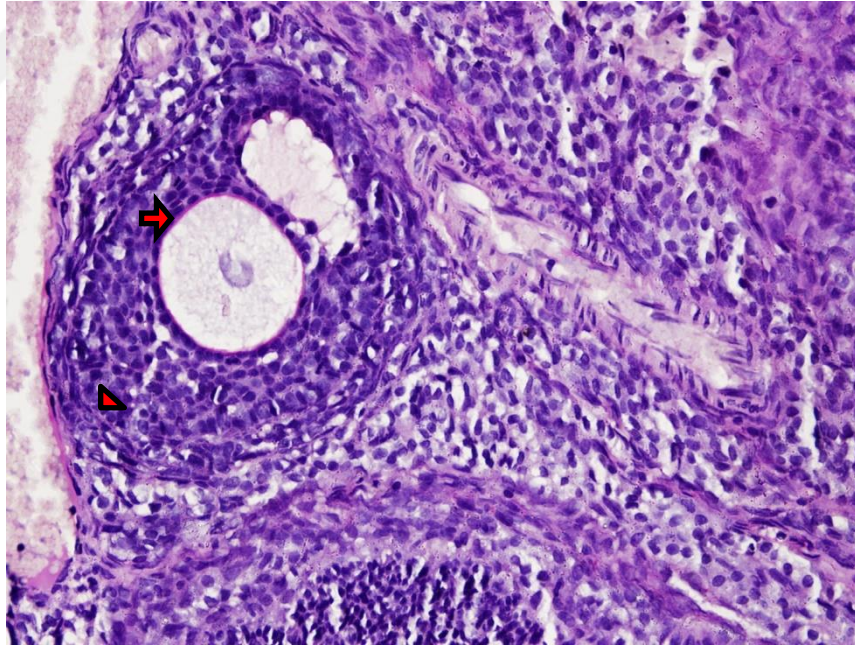
Peryodik Asit Schiff boyası ile boyanan kesitlerde yapılan değerlendirmelerde, kontrol grubu ve sham grubu kesitleri normal görünümündeydi. Ancak EMA grubunun kesitlerinde ZP'da incelme ve ZP bütünlüğünde bozulmalar gözlemlendi (Resim 21-23).



Resim 21. Kontrol Grubu (PAS, $\times 400$), ok: Zona Pellusida İntakt, Ok Başı: Bazal Membran



Resim 22. EMA Grubu (PAS, $\times 400$), Ok: Zona Pellusida İncelmiş ve Bütünlüğü Bozulmuş, Ok Başı: Bazal Membran



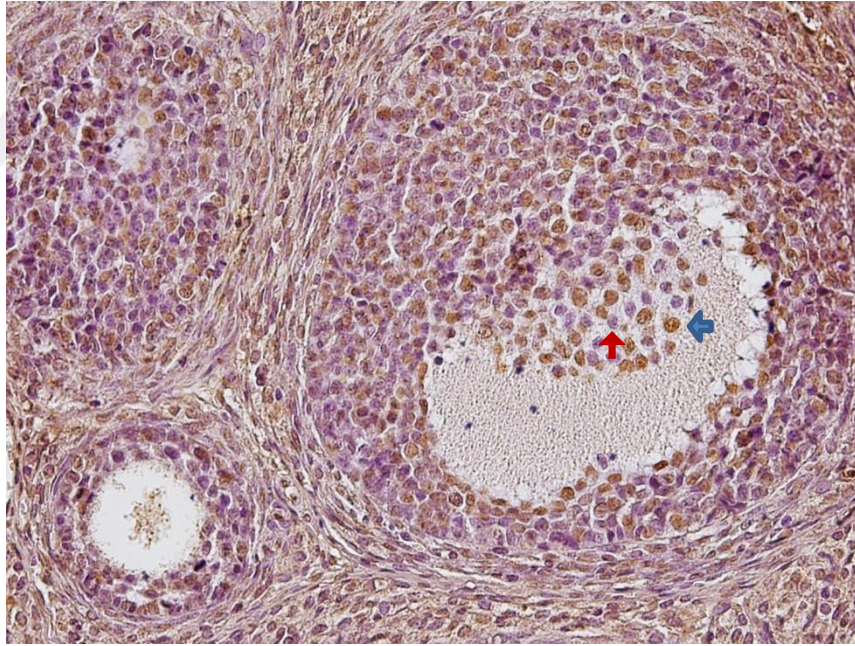
Resim 23. Sham Grubu (PAS, $\times 400$), Ok: Zona Pellusida İntakt, Ok Başı: Bazal Membran

4.2.3. Apoptotik indeks

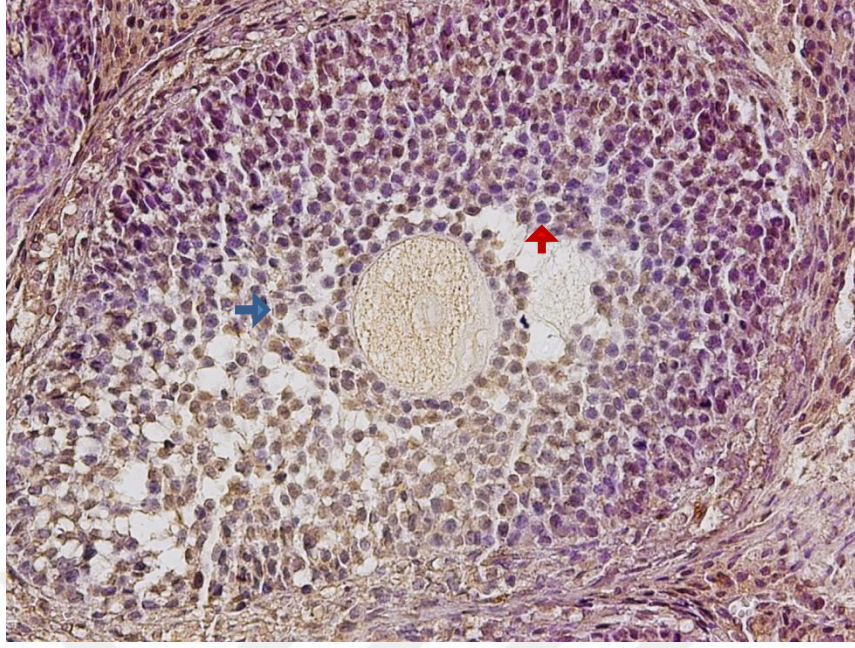
Kontrol, EMA ve sham gruplarına ait sıçanların sağ over dokularından elde edilen kesitlerdeki foliküllerinin AI'ları karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($P=0,21$) (Tablo16). Kontrol, EMA ve sham gruplarına ait apoptotik ve normal hücreler resim 24-26'da gösterildi.

Tablo 16. Apoptotik indeks'in Gruplara Göre Ortalama $\pm$ Ortalamaların Standart Hata Değerleri ve Karşılaştırılması

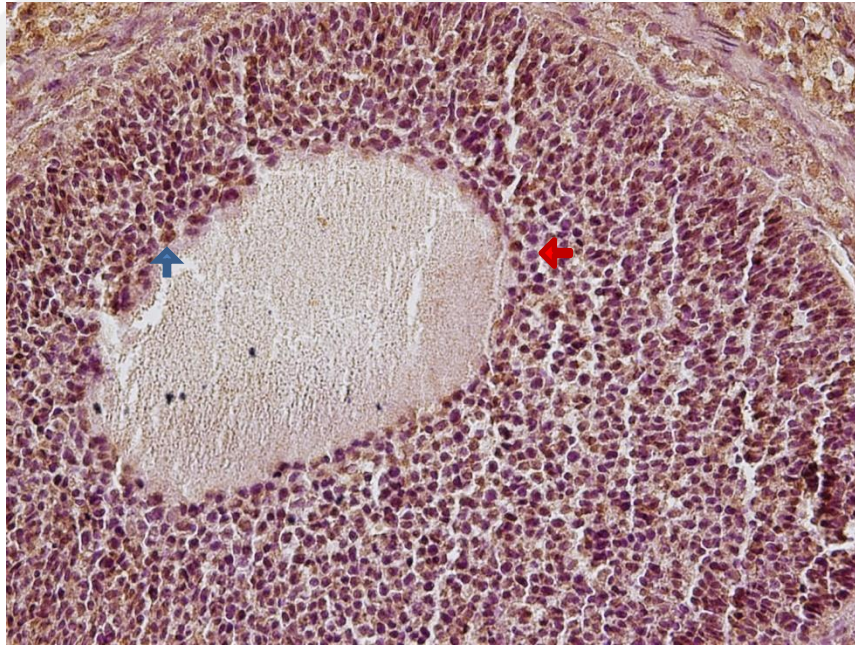
	Kontrol grubu	EMA grubu	Sham grubu
Apoptotik indeks (%)	35.225 ± 4.4196	47.275 ± 4.0555	42.525 ± 3.4823
Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi			



Resim 24. Kontrol Grubu (TUNEL, $\times 400$), Kırmızı Ok: Normal Hücre, Mavi Ok: Apoptotik Hücre



Resim 25. EMA Grubu (TUNEL, ×400), Kırmızı Ok: Normal Hücre, Mavi Ok: Apoptotik Hücre



Resim 26. Sham Grubu (TUNEL, ×400), Kırmızı Ok: Normal Hücre, Mavi Ok: Apoptotik Hücre

4.3. Biyokimyasal Parametrelere Ait Bulgular

4.3.1. Doku Biyokimyası

Doku biyokimyası için sıçanların sol overleri kullanıldı. Gruplar doku AMH düzeyleri bakımından karşılaştırıldıklarında EMA ve sham grubu değerlerinin kontrol grubuna göre arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ($P=0.000$). EMA ve sham grupları arasındaki fark ise anlamlı değildi. Gruplar doku SOD düzeyleri açısından karşılaştırıldıklarında EMA ve sham grubu değerlerinin kontrol grubuna göre arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($P=0.000$). Bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı. EMA ve sham grupları değerleri arasında ise anlamlı bir farklılık yoktu. Gruplar doku CAT düzeyleri açısından karşılaştırıldıklarında EMA ve sham grubu değerlerinin kontrol grubuna göre arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ($P=0.000$). EMA ve sham grupları değerleri arasında ise anlamlı bir farklılık yoktu. Grupların 3-NT düzeyleri karşılaştırıldığında EMA grubunun değerlerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı gözlemlendi ($P=0.000$). Sham grubunun hem kontrol hem de EMA gruplarının karşılaştırılmasında ise aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi. Grupların doku MDA ($P=0,412$), GSH ($P=0,493$), 8-OHdG ($P=0,796$) düzeyleri bakımından karşılaştırıldıklarında üç grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi (Tablo 17).

Tablo 17. Doku Biyokimyası Verilerinin Gruplara Göre Ortalama $\pm$ Ortalamaların Standart Hata Değerleri ve Karşılaştırması

	Kontrol grubu	EMA grubu	Sham grubu
AMH (ng/mg protein)	5.2738 $\pm$ 0.2628	7.5529 $\pm$ 0.6746 ^a	8.5613 $\pm$ 0.6612 ^a
SOD (ng/mg protein)	14.975 $\pm$ 0.9265	22.1 $\pm$ 2.3611 ^b	23.55 $\pm$ 2.1875 ^b
CAT (ng/mg protein)	46.475 $\pm$ 2.6243	61.4167 $\pm$ 5.9314 ^c	68.9375 $\pm$ 4.4128 ^c
MDA (nmol/g doku)	415.8875 $\pm$ 35.9419	508.6833 $\pm$ 72.6412	449.6857 $\pm$ 36.5114
GSH (mg/g doku)	9.2375 $\pm$ 0.2232	9.5743 $\pm$ 0.2322	9.5071 $\pm$ 0.1688
3-NT (nmol/mg protein)	0.38 $\pm$ 0.0189	0.5186 $\pm$ 0.0529 ^d	0.4813 $\pm$ 0.0327
8-OHdG (ng/g doku)	93.6375 $\pm$ 2.4513	95.7571 $\pm$ 3.3216	95.7 $\pm$ 2.7442
Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi ^a EMA ve sham grubu AMH değeri, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak arttı (p=0.000). ^b EMA ve sham grubu SOD değeri, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak arttı (p=0.000). ^c EMA ve sham grubu CAT değeri, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak arttı (p=0.000). ^d EMA grubunun 3-NT değeri, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak arttı (p=0.000).			

4.3.2. Serum Biyokimyası

Grupların serum CAT, 8-OHdG düzeyleri karşılaştırıldığında EMA ve sham grubu değerlerinin kontrol grubuna göre istatistiksel düzeyde arttığı tespit edildi (sırasıyla P=0.000, P=0.000). EMA ve sham grupları karşılaştırıldığında ise aralarında herhangi bir fark tespit edilemedi. Serum TOS ve OSI düzeyleri bakımından yapılan karşılaştırmada ise EMA grubu değerlerinin sham ve kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı tespit edildi (sırasıyla P=0.000; P=0.000). Sham ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark yoktu. Grupların serum AMH (P=0,151), MDA (P=0,193), SOD (P=0,457), GSH (0,828), 3-NT (P=0,151) ve TAS (P=0,095) düzeyleri karşılaştırıldığında da gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edildi (Tablo 18).

Tablo 18. Serum Biyokimyası Verilerinin Gruplara Göre Ortalama $\pm$ Ortalamaların Standart Hata Değerleri ve Karşılaştırması

	Kontrol grubu	EMA grubu	Sham grubu
AMH (ng/mL)	5.219 $\pm$ 0.6628	6.1148 $\pm$ 0.4558	6.5463 $\pm$ 0.1265
MDA (nmol/mL)	1.3093 $\pm$ 0.1014	1.072 $\pm$ 0.1122	1.2649 $\pm$ 0.0598
SOD (ng/mL)	15.1125 $\pm$ 0.6454	15.9857 $\pm$ 0.4543	16.2625 $\pm$ 0.8256
GSH (mg/L)	577.15 $\pm$ 36.9788	556.3167 $\pm$ 23.7807	572.1571 $\pm$ 7.0429
CAT (ng/mL)	48.175 $\pm$ 4.4729	59.1 $\pm$ 1.6881 ^a	66.5875 $\pm$ 1.3499 ^a
3-NT (nmol/L)	519.675 $\pm$ 25.6642	569.4625 $\pm$ 18.3853	572.45 $\pm$ 16.6779
8-OHdG (ng/mL)	4.2571 $\pm$ 0.4235	5.015 $\pm$ 0.1972 ^b	5.5088 $\pm$ 0.0714 ^b
TOS (μ mol H ₂ O ₂ Equi/L)	8.1275 $\pm$ 1.2207	14.79 $\pm$ 1.4773 ^c	8.1475 $\pm$ 1.0256
TAS (mmol trolox Equi/L)	0.7674 $\pm$ 0.0505	0.8205 $\pm$ 0.0186	0.7674 $\pm$ 0.0505
OSI	1.18 $\pm$ 0.3102	1.7988 $\pm$ 0.1685 ^d	0.8829 $\pm$ 0.1029
Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi			
^a EMA ve sham grubunun CAT değeri, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak arttı (p=0.000).			
^b EMA ve sham grubunun 8-OHdG değeri, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak arttı (p=0.000).			
^c EMA grubunun TOS değeri, kontrol ve sham grubuna göre istatistiksel olarak arttı (p=0.000).			
^d EMA grubunun OSI değeri, kontrol ve sham grubuna göre istatistiksel olarak arttı (p=0.000).			

5. TARTIŞMA

Yapılan birçok çalışmaya rağmen EMA'nın biyolojik sistemler üzerine etkisi bilim insanları arasında ciddi tartışma konularındandır. EMA'nın bir çok doku, organ ve sistem üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmaların yanısıra EMA'nın üreme sistemi üzerine olan etkilerini farklı frekanslarda ve farklı sürelerde inceleyen birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada 12 ay boyunca, günde 24 saat 2.4 GHz radyofrekans radyasyon etkisine maruz bırakılan yetişkin erkek sıçanların sperm baş defektinde artış, epididim ve veziküloseminalis ağırlığında azalma, seminifer tubul çapı ve tunika albuginea kalınlığında azalma tespit edilmiştir (80). Roushangar ve ark. 4 ay süreyle, günde 4 saat, 3 mT (50Hz) EMA etkisine maruz bırakılan yetişkin dişi sıçanların over dokularını elektron mikroskop altında inceledikleri çalışmalarında; ZP'da incelme, granuloza hücrelerinde küçülme, mikrovilluslarında kaybolma veya kısılma, oositte ya da komşu hücrelerle temasının kaybolması, apoptoz görüntüsü (nüklear materyalde yoğunlaşma, otofajik vakuoller, apoptotik cisimcikler) rapor etmişlerdir (81). Yine çalışmalarında oositte organellerin seyrek ve sitoplazmaya yayıldığı, sitoplazmik lameller artış, ER'nin kaybolduğu veya ayırd edilemediği, mitokondrinin küçüldüğü, ooplazmada birkaç lipid damlacığının bulunması, nükleusun düzensiz görünümde ve nükleolusun kontrol grubuna göre gelişmemiş olduğu da rapor edilmiştir. Düzensiz görünümde bazal membran, bazı foliküllerde bozulma, bazal membrana komşu granuloza hücrelerinin mitokondrisinde bozulma, sitoplazmada veziküller rapor edilen çalışmada teka interna hücrelerinde nüklear yoğunlaşma, dilate nüklear membran, az sayıda lipid damlacıkları görüldüğü de ifade edilmektedir. Kan damarlarının yanında ve stromal hücreler arasında sıkça makrofaj içeren fagositik vakuoller ve apoptotik cisimciklerin varlığında rapor edilen çalışmada Tünel (+) hücre sayısında artış ifade edilmektedir (81).

Yine Roushangar ve ark. yaptıkları başka bir çalışmada 50 Hz EMA etkisine maruz bıraktıkları gebe farelerden elde ettikleri 2 günlük yavru farelerin over dokularını incelediklerinde oositlerin daha az belirgin olduğunu, bazı oositlerin etrafının kısmen pregranuloza hücreleriyle çevrildiğini, bazı oositlerin stroma hücreleri arasında dağıldığını ve bazı primordial folikülerin oositinin çift nükleuslu

olduğunu bildirmişlerdir. Folikül yuvalarının daha yoğun görüldüğünü, bununda stroma hücrelerinin daha gevşek olmasından kaynaklandığını belirtmişler. Elektron mikroskopik incelemelerde kontrol grubunda büyük irregüler nükleus, çok yoğun bir nükleolus olmasına karşın, EMA grubunda irregüler membranlı küçük nükleus, heterokromatik multinükleus ve vakuollü sitoplazma görüldüğü ifade edilmiştir. Yetişkin dönemde yapılan incelemelerde ise kontrol grubunun oositlerinin ve folikül yapılarının sağlıklı yapıda olduğu ifade edilirken EMA grubunda ZP’de incelleme ve bütünlüğünde bozulma olduğu rapor edilmektedir ki bu bizim çalışma bulgularımızla uyumludur (82). Bizde çalışmamızda H&E boyalı kesitlerde ışık mikroskop altında yaptığımız değerlendirmede EMA grubunda zona granuloza tabakasında anlamlı derecede azalma ancak bu azalma düzeyinin orta şiddette olduğunu tespit ettik. Ayrıca bu çalışmada granuloza tabakasında ayrışmalar, vakuolizasyon, oosit nükleusunda parçalanmalar, düzensiz nükleolus, folikül atrezisi ve apoptotik evrede granuloza hücrelerinin varlığında rapor edilmiştir (82).

Türedi ve ark. prenatal dönemlerinde 900 MHz EMA etkisine maruz kalan dişi yavruların postnatal 34. günde inceledikleri over doklarında primordial ve tersiyer folikül sayısının azaldığı, atretik folikül ve atretik indeksin arttığı, foliküllerde hasar, vazokonjesyon ve stromada az oranda da olsa fibroziste artış olduğunu rapor etmişlerdir (83). Biz ise çalışmamızda sadece sekonder folikül sayısında anlamlı bir azalma ve folikül hücrelerinde bozulmalar tespit ettik. Çalışma sonuçlarımızda diğer tip folikül sayılarında ve fibroziste anlamlı bir fark bulamadık. Türedi ve ark. çalışma sonuçları ile bizim sonuçlarımız bu açıdan bakıldığında farklılıklar göstermektedir. Bunun nedeninin her ne kadar uygulanan EMA etkisi her iki çalışmada da 900 MHz olsada, EMA maruziyetinin bizim çalışmamızda orta ve geç adolesan dönemde, Türedi ve ark. çalışmasında ise prenatal dönemde olması olabilir (83).

Gul ve ark. yaptıkları çalışmalarında gebe sıçanların kafeslerinin altına kafesle temas edecek şekilde cep telefonu koyarak sıçanları, telefonu 11 saat 45 dk bekleme modunda, 15 dk konuşma modunda olacak şekilde çalıştırarak, günde 12 saat EMA etkisine maruz bırakmışlardır. Çalışma sonuçlarımıza benzer şekilde vücut ağırlıklarının karşılaştırılmasında herhangi bir anlamlı değişiklik olmadığı ifade edilen çalışmada dişi yavruların 21. günde sağ overleri incelenmiş ve over hacminin

ve toplam follikül sayısının EMA uygulanan grupta kontrol grubuna göre azaldığı tespit edilmiştir (84). Bizim çalışmamızda ise toplam follikül sayısına bakılmamış olup, her bir follikülün sayısı ayrı ayrı hesaplanmıştır. Sonuçlarımızda sadece EMA grubunun sekonder folikül sayısının kontrol grubuna göre azaldığı, primordial folikül, primer folikül, BPF ve graaf folikülü asit sayılarında ise gruplar arasında herhangi bir farklılık yoktu. Bakacak ve ark. 15 gün boyunca günde 15 dk 900 MHz EMA etkisine maruz bıraktıkları 4 aylık sıçanları, EMA maruziyeti sonrasında östrus safhasında sakrifiye ederek, her bir overden rastgele beş kesitte primordial folikül sayımı yapmışlardır. EMA grubu primordial follikül sayıları kontrol grubuna göre azalmış olarak çıkan bu çalışmanın sonuçları bizim çalışma sonuçlarımızı desteklememektedir (85). Çünkü bizim çalışmamızda EMA grubu ile kontrol grubu arasında herhangi bir farklılık yoktu. Bunun en önemli nedeni yine EMA etkisine maruz bırakılan sistemlerin birbirinden farklı olması, Bakacak ve ark. östrus safhasında sıçanları sakrifiye etmeleri ve EMA etkisine maruz bırakma süresinin farklılığı olabilir. Ayrıca Bakacak ve ark. çalışmalarında sadece rastgele alınan tüm kesitlerde sayım yapılmış olup, biz de ise over dokusunun tamamında sayım yapılmıştır (50 µm de bir alınan tüm kesitlerde). Bakacak ve ark. çalışması ile bizim çalışma arasındaki sonuç farklılığının en önemli nedeni sayım yönteminin farklı olması da kuvvetle muhtemeldir.

Cecconi ve ark. yaptıkları hücre kültürü çalışmasında fare preantral folikül kültürüne 5 gün 33 Hz ve 50 Hz EMA uygulamışlar. 3 güne kadar folikül gelişiminde etkilenme olmadığı, 5. günde 33 Hz uygulananlarda kontrolle karşılaştırıldığında büyümede azalma olduğu, 50 Hz de ise fark olmadığı rapor edilmiştir. Her iki frekansta da antrum şekillenmesinde ileri derecede bozulmalar, bozulmuş antruma sahip folikül granuloza hücrelerinde DNA sentezinde ve östradiol salınımında azalma bildirilmiştir (86). Bu çalışmada EMA'nın preantral foliküllerin büyümesini azaltması, antrum formasyonunda bozulmaya neden olması, bizim çalışmamızda EMA grubunda sekonder folikül sayısındaki azalmayı açıklar niteliktedir.

Uzun süre EMA maruziyetinin birçok organ ve sistemde bozukluklara neden olduğu TOS ve OSI'de artışa, antioksidanlarda ise azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (87). Çalışmamızda plazma TOS düzeyi EMA grubunda kontrol ve

sham grubuna göre yüksek bulunmuştur. Plazma TAS düzeyine baktığımızda gruplar arasında fark bulunamadı. OSI hesaplaması yapıldı. EMA grubunda kontrol ve sham grubuna göre yüksek bulunmuştur. Çenesiz ve ark. yaptıkları çalışmada, her gün 4 saat olmak üzere 20 gün süreyle bir gruba 900 MHz, diğer gruba 1800 MHz EMA uygulanmış olup, her iki grupta da TOS değerlerini kontrol grubuna göre yüksek bulmuşlardır. Toplam antioksidan durumu değerleri ise gruplar arasında herhangi bir anlamlı farklılık göstermemiştir (88). Çalışma sonuçlarımız TAS ve TOS değerleri açısından, Çenesiz ve ark. çalışması ile benzerdir.

Çalışmamızda dokuda CAT ve SOD aktivitesi artmışken, serumda sadece SOD aktivitesi arttı. Bazı çalışmalar da ise doku SOD aktivitesinde azalma rapor edilmiştir (76). Örneğin Odacı ve Özyılmaz yaptıkları çalışmalarında testis dokusunun SOD seviyesinin EMA grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğunu bildirmişlerdir (76). Ancak Nihal Büyüksulu ve ark. EMA'nın sıgır eritrositlerindeki SOD'a etkisini araştırdıkları çalışmalarında SOD aktivitesinde artış rapor etmişlerdir (89). Bununla birlikte daha önceki çalışmalarda H_2O_2 'nin SOD'u inaktive ettiği rapor edilmiştir (90). Fakat SOD tek başınayken H_2O_2 'nin inhibitör etkisinin daha çok ortaya çıktığını, SOD ve CAT beraberken CAT'ın oluşan H_2O_2 'yle reaksiyona gireceğinden H_2O_2 düzeyinin SOD'un üzerinde inhibitör etki oluşturmayacağı şeklinde yorumda bulunmuşlardır (89). Bizde çalışmamızda EMA'dan ötürü serbest radikallerin arttığını dolayısıyla da SOD ve CAT aktivasyonunda arttığını düşünmekteyiz.

Serbert radikaller proteinler ve aminoasitlerde oksidatif hasara neden olmaktadır (91). Sypniewska ve ark. çalışmalarında ısının ve 35 GHZ mikrodalga maruziyetinin sıçan alveolar makrofajlarındaki lizisten sorumlu bazı proteinlerin açığa çıkmasına ve 3-NT seviyesinde artışa neden olduğunu ifade ederek bu değişiklikleri inflamasyon ve oksidatif stresle ilişkilendirmişlerdir (92). Erdal ve ark. ise 45 gün süreyle, günde 4 saat manyetik alan uyguladıkları 8 hf'lık erkek ve dişi sıçanların karaciğer dokularında MDA ve 3-NT değerleri arasında; manyetik alan uygulanan dişi sıçanların değerlerinin hem kendi gruplarının kontrollerine hemde manyetik alan uygulanan erkek sıçanların MDA ve 3-NT değerlerine göre anlamlı düzeyde artış rapor ettiler (93). Bu sonuçlar bizim dişi sıçanlarla yaptığımız çalışma

sonuçlarıyla uyumludur. Ayrıca bu çalışma EMA'nın dişi ve erkeklerdeki etkisinin farklı olup olmadığı sorusunu da aklımıza getirmektedir.

Çalışmamızda doku MDA seviyesi EMA grubunda yüksek tespit edilmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Serum MDA seviyelerinde değişiklik görülmemiştir. Elektromanyetik alan etkisiyle MDA artışını gösteren yayınlar olmasına karşın (94,95) değişikliğin bulunmadığı yayınlarda mevcuttur. Uzar ve ark. sıçanlarla yaptıkları bir çalışmada bir grup prenatal dönemden postnatal 21. güne kadar EMA etkisine maruz bırakılmış, diğer grup ise yavrular doğduktan sonra postnatal 21. güne kadar EMA etkisine maruz bırakılmıştır. Çalışmada omurilik MDA düzeylerine bakıldığında prenatal + postnatal grupta kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artış saptanırken, sadece postnatal uygulama yapılan grupta kontrol grubuna göre bir değişiklik bildirilmemiştir. Araştırmacılar bunun nedeninin ya embriyonik dönemde EMA'dan daha çok etkilenilmesi veya uzun süre EMA maruziyetinin MDA seviyesini arttırması olabileceğini ifade etmişlerdir (96). Erdal ve ark. da MDA seviyesinde anlamlı bir artış olmamasının nedeninin EMA maruziyet süresine bağlı olabileceğini ifade etmişlerdir (93). Bodera ve ark. çalışmalarında EMA etkisine maruz bıraktıkları sıçanların kan, böbrek ve beyinlerinde MDA değerlerinin EMA grubunda kontrol grubuna göre arttığını ancak karaciğerde bir değişiklik olmadığını rapor etmişlerdir. Buraya kadar tartışılan tüm çalışmalardan yola çıkarak oksidatif stresin dokular, maruziyet süresi, SAR değerleri, çevresel faktörler ve maruziyet düzenine farklı olmasından ötürü farklılık gösterebileceği ileri sürülebilir (97).

Yine Amara ve ark. manyetik alan uyguladıkları erkek sıçanların beyin dokularında yaptıkları çalışmalarında, hipokampus MDA seviyesinin arttığını, frontal kortekste ise MDA seviyesi değişmezken 8-OHdG seviyesinin değiştiğini rapor etmişlerdir (98). Bu ve buna benzer diğer çalışmalara dayanarak çalışmamızdaki MDA seviyesinin değişmemesinin EMA maruziyet süresinden ya da organların EMA'dan etkilenmesinin farklı olmasından kaynaklanabileceğini söyleyebiliriz.

8-Hidroksi-Deoksiguanozin DNA'da oksidatif hasar sonucu oluşan bir üründür (99). Çalışmamızda dokuda gruplar arasında 8-OHdG seviyesinde fark bulunmazken, serumda EMA ve sham grubu 8-OHdG değerleri anlamlı düzeyde artmıştır. Lopucki ve ark. düşük doz manyetik alana maruz bıraktıkları insan plasenta

kotiledonları arasında 8-OHdG açısından herhangi bir fark bulamamışlardır (100). Farklı çalışmalarda ise dokuda ve serumda 8-OHdG seviyesinde artış rapor edilmiştir (101,102). Bu çalışmalardan yola çıkarak çalışmamızdaki ovaryum dokusu 8-OHdG düzeylerinde herhangi bir değişiklik gözlenmezken, serum 8-OHdG seviyesindeki artışın diğer dokulardaki EMA etkisinden kaynaklanabileceği şeklinde bir yorum yapabiliriz.

Literatürde EMA'nın AMH düzeyine etkilerini gösteren bir çalışmaya rastlamadık. Fakat sıçanlarda over dejenerasyonu ve/veya folikül sayısı ile AMH düzeyine bakılan farklı çalışmalar vardır (103). Said ve ark. γ radyasyona resveratrolün koruyucu etkilerini araştırdığı çalışmalarında γ radyasyonla uygulanan grupta kontrole göre primordial ve preantral folikül sayısının azaldığı, apoptotik folikül yüzdesinin arttığı, serum AMH seviyesinin de azaldığı rapor edilmiştir (104). Çalışmamızda primordial ve preantral folikül seviyesinde gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu. Serum AMH seviyesinde de gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Çalışmamızda dokuda AMH düzeyi EMA ve sham grubunda kontrole göre artmış bulundu. EMA grubundaki bu artışın acaba preantral foliküllerin sekonder foliküle geçişinin bozulmasından mı kaynaklandığı sorusunu aklımıza getirmiştir. Fakat sham grubundaki artışı açıklayamadık.

Sonuç olarak; çalışma sonuçlarından yola çıkarak orta ve geç adolesan dönemde 900 MHz EMA maruziyetinin ovaryumda oksidatif stresi arttırdığını, ovaryum morfolojisinde ve folikül kalitesinde bozulmalara, mitotik aktivitede ve sekonder follikül sayısında azalmalara yol açtığını söyleyebiliriz.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Orta ve geç adolesan dönemde 900 MHz EMA etkisine maruz bırakılan dişi sıçanların ovaryumlarında meydana gelebilecek olan değişikliklerin araştırıldığı deneysel çalışmamızın sonucunda, orta ve geç adolesan dönemde uygulanan 900 MHz EMA;

- Sekonder folikül sayısında azalmaya yol açmıştır.
- Granuloza hücre boyutunda azalma, hiperkromazi, mitotik aktivitede azalma, zona granuloza ve teka tabakasında incelmeye, folikül ve stromada lökosit infiltrasyonuna neden olmuştur.
- Zona pellusida da incelmeye ve ZP bütünlüğünde bozulmaya neden olmuştur.
- Ovaryum dokusunda SOD, CAT, 3-NT, AMH'yi arttırmıştır.
- Serumda CAT, 8-OHdG, TOS ve OSI'yi arttırmıştır.

Çalışma bulgularından yola çıkarak, orta ve geç adolesan dönemde uygulanan 900 MHz EMA'nın ovaryum üzerinde oluşturabileceği etkilerin elektron mikroskobu, PCR, akım sitometri, otoradyografi gibi daha ileri teknoloji ve teknikler kullanılarak araştırılmasının oldukça önemli olduğunu söyleyebiliriz. Bundan sonra EMA'nın ovaryum üzerine etkisini araştırarak araştırmacıların farklı dokulardaki EMA etkilerinin farklı olabileceğini unutmamaları gerektiğini, çalışmalarını bu öneri ve uyarılar doğrultusunda planlamalarını tavsiye ederiz.

7. KAYNAKLAR

1. Davis DL, Kesari S, Soskolne CL, Miller AB, Stein Y. Swedish Review Strengthens Grounds for Concluding That Radiation from Cellular and Cordless Phones is a Probable Human Carcinogen. Pathophysiology. 2013; 20, 123–129
2. Resolution of Russian National Committee on Non-Ionizing Radiation Protection. Electromagnetic Fields From Mobile Phones: Health Effect on Children and Teenagers. Russia. 123182 Moscow. Zhivopisnaya Str. 46 April 2011
3. Scanlon VC, Sanders T. Essentials of Anatomy And Physiology. 5. Edition. F.A. Davvis Campany Philadelphia, 2007; 242-243
4. Sancak B, Cumhuri M. Fonksiyonel Anatomi. Metu Press, Ankara, 329-331
5. Standring S. Gray's Anatomy, Churchill Livingstone Elsevier. 40th Edition. 2008
6. Ie-Ming Shih, Female Genital System: Functional anatomy <http://pathology2.jhu.edu/shihlab/index.cfm> 10.06.2016
7. Sadler TW. Langman Medikal Embriyoloji. 11. Baskıdan Çeviri Palme Yayıncılık, Ankara, 2011; 246-249
8. Moore KL, Persaud TVN. The Developing Human. Clinically oriented embryology. 8th Ed. Saunders Elsevier, Philadelphia, 2008.
9. Ross MH, Pawlina W. Histology : A Text and Atlas : with Correlated Cell and Molecular Biology. 7th edition. Woiters Kluwer, 2016;835-848,
10. Kierszenbaum AL. Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş. Palme Yayıncılık, Ankara, 2006. 566-575
11. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Basic Histology. 8. Baskı. Barış kitabevi, İstanbul, 423-431,
12. Kuehn W. Color Atlas of Cytology, Histology, and Microscopic Anatomy. 4th edition. Thieme Stuttgart, New York, 2013; 400-412,
13. Guyton AC, Hall J E: Tıbbi Fizyoloji. Çavuşoğlu H (Çev) 10. basım. İstanbul: Nobel Tıp Kitap Evleri; 2001.
14. Hofman BA, Schorge JO, Schaffer JI, Halvorson LM, Bradshaw KD, Cunningham FG. Williams Jinekoloji. 2. Baskıdan Çeviri. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2015

15. La Marca A, Volpe A. Anti-Mullerian Hormone (AMH) in Female Reproduction: Is Measurement of Circulating AMH a Useful Tool? Clin Endocrinol. 2006; 64(6):603-610
16. Nelson SM, La Marca A. The Journey from The Old to The New AMH Assay: How to Avoid Getting Lost in The Values. Reprod. Biomed. Online 2011; 23, 411–420.
17. Visser JA, Themmen AP. Anti-Müllerian Hormone and Folliculogenesis. Molecular and Cellular Endocrinology. 2005; 234(1-2):81-6
18. Van Disseldorp J, Lambalk CB, Kwee J, Looman CWN, Eijkemans MJC, Fauser BC, Broekmans FJ. Comparison of Inter- and Intra-Cycle Variability of Anti-Mullerian Hormone and Antral Follicle Counts. Human Reproduction. 2010; Vol.25, No.1 pp. 221–227
19. Hoffman BI, Schorge JO, Svhafter JI, Halvorson LM, Bradshaw KD, Cunningham FG. Williams jinekoloji. İstanbul. Nobel Tıp Kitabevi. 2015
20. Pellat L, Hanna L, Brinmat M, Galea R, Brain H, Whitehead S. Granulosa Cell Production of Anti Müllerian Hormone is Increased in Polycystic Ovaries. J Clin Endocrinol Metab 2007; 92(1): 240-5.
21. Demir M. Over Rezerv Tayininde En İyi Belirteç: Anti-Mülleriyen Hormon (AMH). Türk Klinik Biyokimya Derg. 2013; 11(2): 79-85
22. La Marca A, Volpe A. The Anti-Mullerian Hormone and Ovarian Cancer. Human Reproduction Update. 2007; Vol.13, No.3 pp. 265–273
23. part 3: female reproductive system-OECD <https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/43754782.pdf>
24. Hill, M.A. (2016) Embryology Rat Timeline. Retrieved June 11, 2016, from https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/Rat_Timeline
25. Ojeda SR, Advis JP, Andrews WW. Neuroendocrine Control of The Onset of Puberty in The Rat. Fed Proc. 1980; 39: 2365–71.
26. Picut CA, Dixon D, Simons ML, Stump DG, Parker GA, Remick AK. Postnatal Ovary Development in The Rat: Morphologic Study and Correlation of Morphology to Neuroendocrine Parameters Toxicol Pathol. 2015; 43(3): 343–353.
27. Tirellia E, Laviola G, Adriania W, Ontogenesis of Behavioral Sensitization and Conditioned Place Preference Induced by Psychostimulants in Laboratory Rodents. Neuroscience and Biobehavioral Reviews. 2003; 27 (1-2): 163–178.

28. Jirasek JE. Prenatal Development: Growth, Differentiation, and Their Disturbances. Glob. Libr. Women's Med. (ISSN: 1756-2228) 2009; DOI 10.3843/GLOWM.10104
29. Barrow PC, Barbellion S, Stadler J. Preclinical Evaluation of Juvenile Toxicity. Methods Mol Biol. 2011; 691: 17–35.
30. Pedersen T, Peters H. Proposal for a Classification of Oocytes and Follicles in The Mouse Ovary. J Reprod Fertil. 1968; 17:555–7.
31. Roshangar L, Hamdi BA, Khaki AA, Rad JS, Soleimani-Rad S. Effect of Low-Frequency Electromagnetic Field Exposure on Oocyte Differentiation and Follicular Development. Advanced Biomedical Research. 2014, 3:76
32. Page L, Adams NI, Principles of Electricity, Third Edition, D.Van Nostrand Company, Inc. Princeton, New Jersey, Nisan 1958; syf 1
33. Durney CH, Massoudi H, Iskander MF. Radiofrequency Radiation Dosimetry Handbook. Fourth Edition. Brooks AFB, 2002
34. Akhunlar A. Elektroteknik'in Esasları I. Matbaa 2. İstanbul. Baskı Teknisyenleri Basımevi, 1975
35. Gürdal O. Elektromanyetik Alan Teorisi. Bursa. Bursa Orhangazi Üniversitesi Yayınları, 2015
36. Purcell EM. Elektrik ve Magnetizma. Berkley Fizik Programı Cilt 2. Türk Tarih Kurumu Basımevi, Ankara, 1974
37. Vorst AV, Rosen A, Kotsuka Y. RF/ Microwave Interaction with Biological Tissues. John Wiley & Sons, INC., Publication, USA, 2006
38. Demir T. Elektromanyetik alanların etkileri [tez]. Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi; 2005
39. Kato M (Editor), Electromagnetics in Biology, Springer, Japonya 2006 syf:31-32
40. Williams D, Mandal NG, Sharma A. Electricity and Magnetism, Anaesthesia and Intensive Care Medicine 12:9 , 423-425
41. Çınar K, Bilim ve Teknik Ağustos 2006 syf: 80-81
42. Stewart SW. Mobile Phones and Health. Independent Expert Group on Mobile Phones, 2000
43. Kitchen R. RF and Microwave Radiation Safety Handbook. Second Edition. Newnes, 2001

44. <http://www.lisefizik.com/lise4/em.htm> 02 02/06/2016
45. <https://www.mirion.com/introduction-to-radiation-safety/what-is-radiation/01062016>
46. <http://sci.esa.int/education/50368-the-electromagnetic-spectrum/> 30 05 2016
47. Artacho-Cordon F, Salinas-Asensio Mdel M, Calvente I, Rios-Arrabal S, Leon J, Roman-Marinetto E, Olea N, Nunez MI. Could Radiotherapy Effectiveness be Enhanced by Electromagnetic Field Treatment? *Int J Mol Sci.* 2013; 17;14(7):14974-95.
48. Aslan A, Düşük ve Yüksek Frekans Elektromanyetik Alanların Kırık İyileşmesine Etkileri, *Kafkas Tıp Bilimleri Dergisi* 2012; 2(1):34-42
49. Durney CH, Massoudi H, Iskender MF. Radiofrequency Radiation Dosimetry Handbook, Fourth Edition. 1986; 61-62
50. Elektromanyetik alanların etkileri. TMMOB Elektrik Mühendisleri Odası İzmir Şubesi. 2010
51. Yurekli AI, Ozkan M, Kalkan T, Saybasili H, Tuncel H, Atukeren P, Gumustas K, Seker S. GSM Base Station Electromagnetic Radiation and Oxidative Stress in Rats. *Electromagnetic Biology and Medicine.* 2006; 177-188
52. World Health Organization, What effects do mobile phones have on people's health? November 2006
53. Simko M. Induction of Cell Activation Processes by Low Frequency Electromagnetic Fields. *Biological Effects of Electromagnetic Radiation The ScientificWorld Journal.* 2004 4(S2), 4–22
54. Diem E, Schwarz C, Adlkofer F, Jahn O, Rüdiger H. 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* 2005; 583:178-83
55. Volkow ND, Tomasi D, Wang GJ, Vaska P, Fowler JS, Telang F, Alexoff D, Logan J, Wong C. Effects of Cell Phone Radiofrequency Signal Exposure on Brain Glucose Metabolism. *JAMA.* 2011; 305, 808–813.
56. Racuciu M, Miclaus S, Creanga D. On The Thermal Effect Induced in Tissue Samples Exposed to Extremely Low-Frequency Electromagnetic Field. *Journal of Environmental Health Science & Engineering.* 2015; 13:85.

57. Leszczynski D, Joenvaara S, Reivinen J, Kuokka R. Non-Thermal Activation of The hsp27/p38MAPK Stress Pathway by Mobile Phone Radiation in Human Endothelial Cells: Molecular Mechanism for Cancer- and Blood-Brain Barrier-Related Effects. *Differentiation*. 2002;70:120-9.
58. Gye MC, Park CJ. Effect of Electromagnetic Field Exposure on The Reproductive System. *Clin Exp Reprod Med*. 2012; 39(1):1-9
59. Maziarz A, Kocan B, Bester M, Budzik S, Cholewa M, Ochiya T, Banas A. How Electromagnetic Fields can Influence Adult Stem Cells: Positive and Negative Impacts. *Stem Cell Research & Therapy*. 2016; 7:54
60. Zimmerman JW, Pennison MJ, Brezovich I, Yi N, Yang CT, Ramaker R, Absher D, Myers RM, Kuster N, Costa FP, Barbault A, Pasche B. Cancer Cell Proliferation is Inhibited by Specific Modulation Frequencies. *Br J Cancer*. 2012; 106: 307-13
61. Cameron IL, Sun LZ, Short N, Hardman WE, Williams CD. Therapeutic Electromagnetic Field (TEMF) and Gamma Irradiation on Human Breast Cancer Xenograft Growth, Angiogenesis and Metastasis. *Cancer Cell Int*. 2005; 5: 23.
62. Sahin A, Aslan A, Bas O, Ikinci A, Ozyılmaz C, Sonmez OF, Colakoğlu S, Odacı E. Deleterious Impacts of A 900-MHz Electromagnetic Field on Hippocampal Pyramidal Neurons of 8-Week-Old Sprague Dawley Male Rats. *Brain Res*. 2015 Oct 22;1624:232-8
63. Ikinci A, Mercantepe T, Unal D, Erol HS, Sahin A, Aslan A, Bas O, Erdem H, Sonmez OF, Kaya H, Odacı E. Morphological and Antioxidant Impairments in The Spinal Cord of Male Offspring Rats Following Exposure to A Continuous 900 MHz Electromagnetic Field During Early and Mid-Adolescence. *Journal of Chemical Neuroanatomy*. 2015
64. Sieron-Stoltny K, Teister L, Cieslar G, Sieron D, Sliwinski Z, Kucharzewski M, Sieron A. The Influence of Electromagnetic Radiation Generated by a Mobile Phone on the Skeletal System of Rats. *BioMed Research International*. 2015; Article ID 896019, 11 pages
65. Koyu A, Cesur G, Ozguner F, Akdogan M, Mollaoglu H, Ozen S. Effects of 900MHz Electromagnetic Field on TSH and Thyroid Hormones in Rats. *Toxicology Letters*. 2015; 257–262
66. Mortazavi SM, Rahimi S, Talebi A, Soleimani A, Rafati A. Survey of the Effects of Exposure to 900 MHz Radiofrequency Radiation Emitted by a GSM Mobile Phone on the Pattern of Muscle Contractions in an Animal Model J *Biomed Phys Eng*. 2015 Sep 1;5(3):121-32.

67. Elmas O, Comlekci S, Koylu H. Effects of Short-Term Exposure to Powerline-Frequency Electromagnetic Field on the Electrical Activity of the Heart. *Arch Environ Occup Health*. 2012;67(2):65-71
68. Odacı E, Hancı H, İkinci A, Sonmez OF, Aslan A, Sahin A, Kaya H, Colakoglu S, Bas O. Maternal Exposure to a Continuous 900-MHz Electromagnetic Field Provokes Neuronal Loss and Pathological Changes in Cerebellum of 32-Day-Old Female Rat Offspring. *J Chem Neuroanat*. 2015
69. Trosic I, Matausic-Pisl M, Pavicic I, Marjanovic AM. Histological and Cytological Examination of Rat Reproductive Tissue After Short-Time Intermittent Radiofrequency Exposure. *Arh Hig Rada Toksikol* 2013;64:513-519
70. Rajaei F, Borhani N, Sabbagh-Ziarani F, Mashayekhi F. Effects of extremely low-frequency electromagnetic field on fertility and heights of epithelial cells in pre-implantation stage endometrium and fallopian tube in mice. *Journal of Chinese Integrative Medicine*: 2010; Issue 1, 56-60
71. Sepehrimanesh M, Saeb M, Nazifi S, Kazemipour N, Jelodar G, Saeb S. Impact of 900 MHz Electromagnetic Field Exposure on Main Male Reproductive Hormone Levels: a *Rattus Norvegicus* Model. *International Journal of Biometeorology*. 2014; 1657-1663
72. Al-Akhras MA, Elbetieha A, Hasan MK, Al-Omari I, Darmani H, Albiss B. Effects of Extremely Low Frequency Magnetic Field on Fertility of Adult Male and Female Rats. *Bioelectromagnetics*. 2001; 22(5): 340-4.
73. Elektromanyetik dalgalar ve İnsan Sağlığı Sıkça Sorulan Sorular ve Yanıtlar. *Tübitak Bülten*. 2001
74. Bancroft JD, Cook HC. *Manual of Histological Technics and Their Diagnostic Application*, Churchill Livingstone, Edingburg, 1994.
75. Bage R, Bosu WT, Rodriguez-Martinez H.. Ovarian Follicle Apoptosis at the Onset of Standing Estrus in Virgin and Repeat-Breeder Dairy Heifers. *Theriogenology*. 2001; 56:699–712.
76. Odacı E, Özyılmaz C. Exposure to a 900 MHz Electromagnetic Field for 1 Hour a Day over 30 Days does Change the Histopathology and Biochemistry of the Rat Testis. *Int J Radiat Biol*. 2015 Jul;91(7):547-54.
77. Mihara M, Uchiyama M. Determination of Malonaldehyde Precursor in Tissues by Thiobarbituric Acid Test. *Anal Biochem*. 1978; 86: 271-278
78. Yagi K. Assay of Blood Plasma or Serum. *Methods of Enzmology* 1984; 105: 328-331

79. Turkmen S, Mentese S, Mentese A, Sumer AU, Saglam K, Yulug E, Turedi S, Gunduz A (2013). The Value of Signal Peptide-CUB-EGF Domain-Containing Protein 1 and Oxidative Stress Parameters in the Diagnosis of Acute Mesenteric İschemia. *Academic Emergency Medicine*. 2013; 20: 257-264.
80. Dasdag S, Taş M, Akdag MZ, Yegin K. Effect of Long-Term Exposure of 2.4 GHz Radiofrequency Radiation Emitted from Wi-Fi Equipment on Testes Functions. *Electromagn Biol Med*. 2015; 34(1): 37–42
81. Roushangar L, Rad JS. Ultrastructural Alterations and Occurrence of Apoptosis in Developing Follicles Exposed to Low Frequency Electromagnetic Field in Rat Ovary. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2007;10(24):4413-4419
82. Roshangar L, Hamdi BA, Khaki AA, Rad SJ, Soleimani-Rad S. Effect of Low-Frequency Electromagnetic Field Exposure on Oocyte Differentiation and Follicular Development. *Advanced Biomedical Research*. 2014; 3:76
83. Turedi S, Hancı H, Colakoglu S, Kaya H, Odacı E. Disruption of the Ovarian Follicle Reservoir of Prepubertal Rats Following Prenatal Exposure to a Continuous 900-MHz Electromagnetic Field. *Int J Radiat Biol*. 2016; 92(6): 329-37
84. Gul A, Çelebi H, Uğraş S. The Effects of Microwave Emitted by Cellular Phones on Ovarian Follicles in Rats. *Arch Gynecol Obstet*. 2009; 280:729–733
85. Bakacak M, Bostancı MS, Attar R, Yıldırım ÖK, Yıldırım G, Bakacak Z, Sayar H, Han A. The Effects of Electromagnetic Fields on the Number of Ovarian Primordial Follicles: An Experimental Study. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences*. 2015; 31, 287-292
86. Cecconi S, Gualtieri G, Di Bartolomeo A, Troiani G, Cifone MG, Canipari R. Evaluation of the Effects of Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields on Mammalian Follicle Development *Hum. Reprod*. 2000; 15 (11):2319-2325
87. Kunt H, Şentürk I, Gönül Y, Korkmaz M, Ahsen A, Hazman Ö, Bal A, Genç A, Songur A. Effects of Electromagnetic Radiation Exposure on Bone Mineral Density, Thyroid, and Oxidative Stress Index in Electrical Workers. *OncoTargets and Therapy* 2016;9 745–754
88. Çenesiz M, Atakiş O, Akar A, Önbilgin G, Ormancı N. 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 *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 2011; 17 (3): 357-362
89. Büyüksulu N, Çelik Ö, Atak Ç. The Effect of Magnetic Field on the Activity of Superoxide Dismutase. *Journal of Cell and Molecular Biology*. 2006; 5: 57-62.

90. Symonyan MA, Nalbandyan RM. Interaction of Hydrogen Peroxide with Superoxide Dismutase from Erythrocytes. *FEBS Lett.* 1972; 28, 22-24.
91. Stadtman ER, Levine RL. Free Radical-Mediated Oxidation of Free Amino Acids and Amino Acid Residues in Proteins. *Amino Acids.* 2003; 25, 207–218
92. Sypniewska RK, Millenbaugh NJ, Kiel JL, Blystone RV, Ringham HN, Mason PA, Witzmann FA. Protein Changes in Macrophages Induced by Plasma From Rats Exposed to 35 GHz Millimeter Waves. *Bioelectromagnetics.* 2010; 31:656-663
93. Erdal N, Gürgül S, Tamer L, Ayaz L. Effects of Long-term Exposure of Extremely Low Frequency Magnetic Field on Oxidative/Nitrosative Stress in Rat Liver. *J Radiat Res.* 2008; 49, 181-187
94. Kerman M, Senol N. Oxidative Stress in Hippocampus Induced by 900 MHz Electromagnetic Field Emitting Mobile Phone: Protection by Melatonin. *Biomedical Research* 2012; 23 (1): 147-151
95. Hajhosseini L, Khaki A, Merat E, Ainehchi N. Effect of Rosmarinic Acid on Sertoli Cells Apoptosis and Serum Antioxidant Levels in Rats After Exposure to Electromagnetic Fields. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2013; 10(6):477-480
96. Uzar E, Yılmaz HR, Yılmaz M, Uz E, Yürekli VA, Dundar B, Koyuncuoğlu HR, Comlekci S. Effects of 50 Hz Electric Field on Malondyaldehyde and Nitric Oxide Levels in Spinal Cord of Rats at Prenatal Plus Postnatal Period *Turk J Med Sci* 2011; 41 (1): 65-72
97. Boder P, Stankiewicz W, Antkowiak B, Paluch M, Kieliszek J, Sobiech J, Niemcewicz M. Influence of Electromagnetic Field (1800 MHz) on Lipid Peroxidation in Brain, Blood, Liver and Kidney in Rats. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health.* 2015;28(4):751 – 759
98. Amara S, Douki T, Garel C, Favier A, Sakly M, Rhouma KB, Abdelmelek H. Effects of Static Magnetic Field Exposure on Antioxidative Enzymes Activity and DNA in Rat Brain. *Gen. Physiol. Biophys.* 2009; 28: 260–265
99. Kasai H, Nishimura S. Hydroxylation of Deoxyguanosine at the C-8 Position by Ascorbic Acid and Other Reducing Agents. *Nucleic Acids Res.* 1984; 12:2137–2145.
100. Lopucki M, Schmerold I, Dadak A, Wiktor H, Niedermüller H, Kankofer M. Low Dose Magnetic Fields do not Cause Oxidative DNA Damage in Human Placental Cotyledons In Vitro. *Virchows Arch.* 2005; 446: 634–639

101. Gürler HŞ, Bilgici B, Akar AK, Tomak L, Bedir A. Increased DNA Oxidation (8-OHdG) and Protein Oxidation (AOPP) by Low Level Electromagnetic Field (2.45 GHz) in Rat Brain and Protective Effect of Garlic. *International Journal of Radiation Biology*, October 2014; 90(10): 892–896
102. Yokus B, Cakır DU, Akdağ MZ, Sert C, Mete N. Oxidative DNA Damage in Rats Exposed to Extremely Low Frequency Electro Magnetic Fields. *Free Radical Research*, March 2005; 39(3): 317–323
103. Ersoy GS, Eken M, Tal R, Oztekin D, Devranoglu B, Kaygusuz EI, Cevik O. N-acetylcysteine Leads to Greater Ovarian Protection Than Enoxaparin Sodium in a Rat Ovarian Torsion Model. *Reproductive BioMedicine Online*. 2016
104. Said RS, El-Demerdash E, Nada AS, Kamal MM. Resveratrol Inhibits Inflammatory Signaling Implicated in Ionizing Radiation-Induced Premature Ovarian Failure Through Antagonistic Crosstalk Between Silencing Information Regulator 1 (SIRT1) and Poly (ADP-ribose) Polymerase 1 (PARP-1). *Biochemical Pharmacology*. 2016; 103: 140–150