

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Anatomi Anabilim Dalı

900 MHZ ELEKTROMANYETİK ALANA MARUZ BIRAKILAN
RATLARDA KARNOZİNİN CEREPELLUMDAKİ PURKİNJE
HÜCRE SAYISI ÜZERİNE ETKİSİ

Hazırlayan
Ayla ARSLAN

Danışman
Doç. Dr. Niyazi ACER

Yüksek Lisans Tezi

Ağustos 2015
KAYSERİ

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Anatomi Anabilim Dalı

900 MHZ ELEKTROMANYETİK ALANA MARUZ BIRAKILAN
RATLARDA KARNOZİNİN CEREBELLUMDAKİ PURKİNJE
HÜCRE SAYISI ÜZERİNE ETKİSİ

Hazırlayan
Ayla ARSLAN

Danışman
Doç. Dr. Niyazi ACER

Yüksek Lisans Tezi

Ağustos 2015
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmada tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Ayla ARSLAN

İmza:

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

”900 MHz Elektromanyetik alana maruz bırakılan ratlarda karnozinin cerebellumdaki Purkinje hücre sayıları üzerine etkisi” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tez Hazırlayan**Ayla ARSLAN****Danışman****Doç. Dr. Niyazi ACER****Anabilim Dalı Başkanı****Prof. Dr. Harun ÜLGER**

Doç. Dr. Niyazi ACER danışmanlığında **Ayla ARSLAN** tarafından hazırlanan **”900 MHz Elektromanyetik Alana Maruz Bırakılan Ratlarda Karnozinin Cerebellumdaki Purkinje Hücre Sayısı Üzerine Etkisi”** konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü **Anatomi** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

18/08/2015

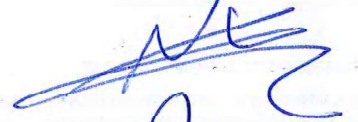
JÜRİ

Danışman : Doç. Dr. Niyazi ACER (Anatomi Anabilim Dalı)

Üye : Prof. Dr. Erdoğan UNUR (Anatomi Anabilim Dalı)

Üye : Yrd. Doç. Dr. Mehmet Demir
(Sütçü İmam Üniv. Anatomi Anabilim Dalı)

İmza



ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih
ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

18/08/2015

Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Anatomi Anabilim Dalında başladığım Yüksek Lisans Programının ilk gününden itibaren çalışmalarımın her aşamasında bilgi, öneri, yardımlarını esirgemeyen, akademik ortamda olduğu kadar insani ilişkilerde de sonsuz desteğiyle gelişmeme katkıda bulunan danışman hocam sayın Doç. Dr. Niyazi ACER'e, bilgileriyle bana yol gösteren Anatomi Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Kenan AYCAN, Prof. Dr. Harun ÜLGER, Prof. Dr. Erdoğan UNUR, Doç. Dr. Tolga ERTEKİN ve Yrd. Doç. Dr. Mehtap NİSARİ. Öğr. Gör. Dr. Ayşe SAĞIROĞLU'ya samimiyetle teşekkür ederim.

Tez çalışmamın histolojik aşamasında çok yardımları bulunan Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR, Doç. Dr. Mehmet Fatih SÖNMEZ, Araş. Gör. Gözde Özge ÖNDER, Biyolog Derya KARABULUT'a, Uzm. Hakan KESİCİ'ye, Erciyes Üniversitesi Mühendislik Fakültesi öğretim üyeleri Doç. Dr. Ömer Galip SARAÇOĞLU, Öğr. Gör. Dr. Ulvi DAĞDELEN ve tüm Anatomi Anabilim Dalı personeline, Doktora öğrencilerine, Yüksek lisans öğrencileri ve arkadaşlarım Süheyla AKARGÖL, Adem TOKPINAR ve Muhammet DEĞERMENCİ'ye, Pediatri Nöroloji Servisi Sorumlu Hemşiresi Ayten AKYÜREK, çalışma arkadaşlarıma ve Semiha DÖNMEZ'e, hayatımın her aşamasında dualarını her zaman yanımda hissettiğim ve bana kattıkları değerler için aileme en derin duygularıyla teşekkür ederim.

900 MHZ ELEKTROMANYETİK ALANA MARUZ BIRAKILAN RATLARDA KARNOZİNİN BEYİNCİKTEKİ HÜCRE SAYISI ÜZERİNE ETKİSİ

Ayla ARSLAN

Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Anatomi Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Ağustos 2015

Danışman: Doç. Dr. Niyazi ACER

ÖZET

Özellikle uzun süre cep telefonu kullanımının, insan sağlığı için risk oluşturduğunu gösteren raporlar bildirildiğinden beri, cep telefonlarının yaydığı elektromanyetik alana (EMA) maruz kalmanın biyolojik etkilerinin bilim adamları arasında yarattığı endişe büyümektedir. Çalışmamızda 16 haftalık dişi ratlarda 900 MHz EMA'a maruz kalmanın beyincik Purkinje hücre sayıları üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Ayrıca EMA'ye maruz kalmanın beyincik Purkinje nöronlarında oluşturduğu azalmaya karşı korumak için karnozinin potansiyel yeteneği araştırılmıştır. Çalışmamızda 24 dişi rat kullanılmıştır. Kontrol grubu (KG), elektromanyetik alana maruz kalan grup (EMAG), ve karnozin enjekte edilerek elektromanyetik alana maruz kalan (EMA+CG) olmak üzere 3 grup rat kullanılmıştır. EMAG grubundaki ratlar pozlama tüpü içinde 28 gün boyunca günde 1 saat 900 MHz EMA'a maruz kalırken, karnozin uygulanan grup yüksek doz (20 mg) karnozin ve düşük doz (2 mg) karnozin uygulanan grup olarak 2 alt gruba ayrılmıştır. Deneyin sonunda, dişi ratların tümü kurban edilmiş ve Purkinje hücrelerinin sayısı stereolojik sayım tekniği kullanılarak hesaplanmıştır. Histopatolojik değerlendirmeler, beyincik kesitlere ayrılarak yapılmıştır. Sonuçlar, EMAG grup beyinciğindeki Purkinje hücrelerinin toplam sayısı, KG göre daha düşük olduğunu göstermiştir ve istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$). Ayrıca, EMAG ve EMA + 20 mg karnozin uygulanan gruplar arasında ortalama Purkinje hücre sayıları arasında anlamlı farklılıklar vardı ($p < 0.05$). Bu nedenle, 900 MHz EMA'a uzun süreli maruz kalmanın dişi rat beyincik Purkinje hücresi sayılarında azalmaya neden olduğu düşünülmektedir. Bu çalışma, EMA maruziyeti sonrasında azalan Purkinje hücre sayısını, yüksek doz karnozin profilaksisi ile önleyebileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Purkinje hücresi, Elektromanyetik alan, Beyincik, Karnozin, Stereoloji, Optik disektör

**CARNOSINE EFFECTS TO THE NUMBER OF PURKINJE CELLS IN
CEREBELLUM FOLLOWING EXPOSURE TO
900 MHZ ELECTROMAGNETIC FIELD**

Ayla ARSLAN

Erciyes University, Graduate School of Health Science

Department of Anatomy

Master's Thesis, August 2015

Supervisor: Assort Prof. Niyazi ACER

ABSTRACT

The biological effects of electromagnetic field (EMF) exposure from mobile phones have growing concern among scientists since there are some reports showing increased risk for human health, especially in the use of mobile phones for a long duration.

In the presented study, the effects on the number of Purkinje cells in the cerebellum of 16-week (16 weeks) old female rats were investigated following exposure to 900 MHz EMF. Also, the potential ability of carnosine to protect against impairment of the Purkinje neurons in cerebellum due to exposure of EMF was investigated.

Twenty-four female rats were used. Three groups of rats, a control group (KG), an electromagnetic field exposed group (EMFG) and electro magnetic field exposed and injected carnosine group (EMF+CG) were used in this study. Each group consist of 6 female rats. While EMFG group rats were exposed to 900 MHz EMF (1h/day for 28 days) in an exposure tube, Carnosine administered group was divided by two subgroup: Carnosine with low-dose carnosine administered (2mg), DS with high-dose carnosine administered (20mg).

At the end of the experiment, all of the female rats were sacrificed and the number of Purkinje cells was estimated using a stereological counting technique. Histopathological evaluations were also done on sections of the cerebellum. Results showed that the total number of Purkinje cells in the cerebellum of the EMFG was lower than those of KG, there was significantly as statistically ($p<0.05$). Also, there was differences between the EMF and EMF+20 mg carnosine regarding the mean cell count of the Purkinje ($p<0.05$).

Therefore, it is suggested that long duration exposure to 900 MHz EMF leads to decreases of Purkinje cell numbers in the female rat cerebellum. The current study indicates that exposure to EMF decreases the number of Purkinje cell and that high-dose carnosine prophylaxis can prevent these effects.

Keywords: Purkinje cell, Electromagnetic Field, Cerebellum, Carnosine, Stereology, Optic Dissector

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	iii
ONAY	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
KISALTMALAR.....	x
TABLO LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİL LİSTESİ	xiv
RESİM VE GRAFİK LİSTESİ	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1.MERKEZİ SİNİR SİSTEMİ EMBRİYOLOJİSİ	4
2.2.CEREBELLUM EMBRİYOLOJİSİ.....	7
2.3.CEREBELLUM HİSTOLOJİSİ.....	9
2.3.1.KORTEKSTE YERALAN AFFERENT FİBRİLLER	12
2.3.2.SEREBELLAR KORTEKSİN İŞLEYİŞ DÜZENİ	13
2.4.CEREBELLUM (BEYİNCİK) ANATOMİSİ	14
2.4.1.Cerebellumun Dış Yapısı.....	15
2.4.2.Cerebellumun İç Yapısı	17
2.4.3.Cerebellumun Fonksiyonel Anatomisi	19
2.5.CEREBRUM (BEYİN) ANATOMİSİ	21
2.6.KARNOZİN	22
2.6.1.Karnozinin Kimyasal Yapısı.....	22
2.6.2.Karnozinin Sistemik Etkileri.....	24
2.7.ELEKTROMANYETİK ALAN	25
2.7.1.Yük ve Alan Kavramı.....	25
2.7.1.1.Elektrik Alan.....	26
2.7.1.2.Manyetik Alan.....	26
2.7.1.3. Elektromanyetik Alan.....	26
2.7.2.Elektromanyetik Alanın Biyolojik Etkileri.....	27

2.8.STEREOLOJİK METODLAR VE SEÇİMİ.....	29
2.8.1.Disektör.....	30
2.8.1.1.Fiziksel Disektör	30
2.8.1.2.Optik Disektör.....	30
3.MATERYAL VE METHOD	32
3.1.Deney ortamının hazırlanması :.....	32
3.2.Deney gruplarının oluşturulması	33
3.3.EMA'nın oluşturulması.....	34
3.4.Karnozinin hazırlanması ve uygulanması	36
3.5.Dokuların alınması ve örneklerinin hazırlanması.....	36
3.6.Beyinlerin çıkarılması ve tespiti	36
3.7.Doku takibi aşamaları	37
3.8.Hücre Sayım Aşamaları	40
3.9.İstatistiksel Yöntemler	46
4.BULGULAR	47
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	55
6.KAYNAKLAR	22
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR

MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
Str	: Stratum
Nuc	: Nucleus
Tr	: Tractus
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
GABA	: Gamma aminobutirik asit
EMF	: Electromagnetic Field (Elektromanyetik alan)
EMA	: Elektromanyetik alan
IR	: Infrared (Kızılötesi)
Hz	: Hertz
MHz	: Megahertz
GSM	: Global system for mobile (Küresel mobil sistem)
SAR	: Specific absorption rate (Özgül soğurma oranı)
WHO	: World Health Organization (Dünya sağlık örgütü)
Ip	: Intraperitoneal
IV	: Intravenöz
SSF	: Kesit Örnekleme Oranı
ASF	: Alan Örnekleme Oranı
TSF	: Kalınlık Örnekleme Oranı
KaÖÖ	: Kalınlık Örnekleme Oranı
SRÖ	: Sistematik rastgele örnekleme
KG	: Kontrol Grubu
EMAG	: Elektromanyetik alana maruz kalan grup
EMA+CG	: Karnozin enjekte edilerek elektromanyetik alana maruz bırakılan grup

N	: Toplam nöron sayısı
Hort	: Ortalama disektör yüksekliği
t	: Kesit kalınlığı
tort	: Ortalama kesit kalınlığı
h	: Disektör yüksekliği
RF	: Radyofrekans
D	: Dendrit
BC	: Basket hücresi
PKJ	: Purkinje hücreleri
Gr	: Granüler tabaka
Mol	: Moleküler tabaka
Pia	: Pia matter
Nm	: Nanometre
Inf	: Inferior
Sup	: Superior
E	: Elektrik alanı
D	: Elektrik akı yoğunluğu
H	: Manyetik alan
B	: Manyetik akı yoğunluğu
V	: Dalganın ortalama hızı
μm	: Mikron
f	: Frekans

I	: Dalga şiddeti
m	: Metre
kg	: Kilogram
cm	: Santimetre
ml	: Mililitre
T	: Tesla
Nv	: Partiküllerin sayısal yoğunluğu
Q-	: Disektör Partikül Sayısı
W	: Watt
H+E	: Hematoksilen-Eozin

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1: Vermis cerebelli ve buna karşılık gelen hemispherium cerebelli kısımları	16
Tablo 3.1: Işık mikroskobu doku hazırlama tekniği.....	38
Tablo 3.2: Hematoksilen-Eozin boyama tekniği.....	39
Tablo 3.3: Hücre sayımında kullanılan değerler.	43
Tablo 4.1. Kontrol Grubu Purkinje Hücre sayıları.....	49
Tablo 4.2. EMAG Grubu Purkinje Hücre sayıları	50
Tablo 4.3. EMA+2 mg Karnozin Grubu Purkinje Hücre sayıları.....	50
Tablo 4.4. EMA+20 mg Karnozin Grubu Purkinje Hücre sayıları	51
Tablo 4.5: Toplam Purkinje hücre sayıları.	51
Tablo 4.6: İkili karşılaştırmada kullanılan grupların istatistiksel p değerleri (Mann Whitney-U testi)	53
Tablo 4.7: Hata katsayı değerleri,	54
Tablo 5.1. Literatür taraması sonucu yapılan çalışmalarda Purkinje hücre sayıları	62

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1:	A)18 günlük geç presomit bir embriyonun arkadan görünüşü B)Yaklaşık 20. gününde dorsal görünüm. (28).....	5
Şekil 2.2 :	A)Yaklaşık 22 günlük bir insan embriyosunun arkadan görünüşü B)Yaklaşık 23.günde bir insan embriyosunun arkadan görünüşü (28)	5
Şekil 2.3:	28. Günlük bir insan embriyosunda beyinden geçen sagittal kesit (28)	6
Şekil 2.4:	İnsan gelişiminin yaklaşık 32. gününde beyinden geçen sagittal bir kesit (28).....	7
Şekil 2.5 :	Metensefalonun tavanından geçen sagittal kesitlerde cerebellumun gelişimi (28)	8
Şekil 2.6:	Cerebellar korteksin gelişim evreleri (28).	8
Şekil 2.7:	BV: Kan damarları, Mol: Moleküler tabaka GR: Granüler tabaka WM: Beyaz cevher Pia: Pia matter (30)	9
Şekil 2.8:	D: Dendrid, BC: Basket hücreleri, PKJ: Purkinje hücreleri, Gr: Granüler tabaka, Mol: Moleküler tabaka, Pia: Pia matter (30)	10
Şekil 2.9:	G: Golgi tip 2 hücreleri D: Dendrid PKJ: Purkinje hücreleri BC: Basket hücreleri (30).	11
Şekil 2.10:	BV: Kan damarları Gr: Granüler tabaka Mol: Moleküler tabaka WM: Beyaz cevher Pia: Pia mater (30).....	12
Şekil 2.11:	Beyincikteki hücre ve fibriller (34)	13
Şekil 2.12:	Vermis cerebelli ve hemispherium cerebellinin üstten görünüşü (40)	16
Şekil 2.13:	Cerebellumun Çekirdekleri (41).....	18
Şekil 2.14.	Cerebellumun fonksiyonel gelişimi (43).	20
Şekil 2.15:	Beynin lobları (44).....	22
Şekil 2.16:	Karnozinin kimyasal yapısı.....	22
Şekil 2.17:	Karnozinin metabolizması (I: Dekarboksillenme II: Metillenme III: Asetillenme).....	23
Şekil 2.18:	Dokularda karnozin sentezi (52)	24

RESİM VE GRAFİK LİSTESİ

Sayfa No

Resim 3.1: Deney hayvanlarının normal kafeste görünümü.	33
Resim 3.2: EMAG ve EMA+CG ratlar için hazırlanan düzenek.....	34
Resim 3.3: EMAG ve EMA+CG grubu ratların EMA'a maruz kalmaları	35
Resim 3.4: RF kaynağı	35
Resim 3.5: Ratların eter anestezisinden sonraki görünümleri	36
Resim 3.6: Çıkarılan beyin ve beyincik görünümleri.	37
Resim 3.7 : Etüv içinde formaldehitte bekletilen lamlar ve kesitten sonra konulan lamlar.....	40
Resim 3.8: Stereoinvestigator'ün masa üstünde tıklanarak çalıştırılması.	44
Resim 3.9: Kesitlerde Purkinje hücreleri tabakasının işaretlenmesi.	44
Resim 3.10: Kesit üzerine tarafsız sayım çerçevesinin otomatik olarak sistem tarafından atılması.....	45
Resim 3.11: Tarafsız sayım çerçevesi içerisine denk gelen hücrelerin işaretlenmesi.....	45
Resim 4.1: Kontrol grubu cerebellum mikroskopik genel histolojik görünümü.	47
Resim 4.2 : EMAG grubu rat cerebellumlarının mikroskopik olarak genel histolojik görünümü.	48
Resim 4.3 : EMA +2 mg Karnozin grubu cerebellum mikroskopik genel histolojik görünümü.	48
Resim 4.4: EMA +20 mg Karnozin grubu cerebellum mikroskopik genel histolojik görünümü.	49
Grafik 4.1. Gruplar arası karşılaştırma	52

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Teknolojinin gelişimine paralel olarak üretimi artan cihazların ve bunların yaydığı elektromanyetik alanın canlılar üzerindeki etkisi bilinmektedir. Doğal olarak günlük yaşamımızda cep telefonlarının yaygın kullanılması, cep telefonlarının yaydığı elektromanyetik alana maruz kalmamanın imkansızlığını da beraberinde getirmektedir (1).

Cep telefonu iletişimde yaygın olarak 900-1800 MHz radyo dalgası kullanılmaktadır. Bu nedenle aşırı cep telefonu kullanımında yoğun bir biçimde elektromanyetik alanın etkisine maruz kalma söz konusudur (2).

Elektro manyetik alanın hayvan beyin dokusu ve bunların fizyolojik faaliyetleri üzerindeki olumsuz etkileri bildirilmiştir (3). Doğum öncesi ve doğum sonrası dönemlerde, hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda elektromanyetik alan araştırmalarına göre iyonize ve ultraviyole radyasyon dahil olmak üzere, radyasyonun çeşitli şekillerinde hücresel geri dönüşümlü ya da dönüşümsüz yapısal veya işlevsel değişiklikler olduğu bildirilmiştir. Elektromanyetik alanlar sinaptik plastisite düzenlenmesi, nörotransmitter salınımı, nöronal hayatta kalma, öğrenme ve bellek de dahil olmak üzere birçok nöronal fonksiyonu etkileyebileceği bildirilmiştir. In vivo çalışmalarda sinir hücrelerinin kan-beyin bariyeri engelleri, nöroendokrin, nöroelektrofizyoloji, ve santral sinir sistemi kanser oluşumunda DNA'ları incelerken, in vitro çalışmalarda; hücre proliferasyonu, DNA hasarı, gen ekspresyonu, protein sentezi, embriyonik gelişim ve kanser promosyonu incelenmiştir (4).

İngiltere, İsveç ve ABD; Elektromanyetik alanların (EMA) akut myeloid lösemi riskini artırdığını rapor etmişlerdir. 1979'da ABD'de çocukluk kanserleri ve yüksek gerilim hatları ilişkisi 18 yaşındaki 344 çocukta araştırılmış ve hatta yakınlık arttıkça çocuklarda löseminin önemli ölçüde artış gösterdiği bildirilmiştir. Evleri hat yakınında bulunan yetiskinler için de löseminin 2 kat arttığı gözlenmiştir (5). 1996 yılında yüksek gerilim hatları yakınında yaşayan çocuklarda lösemi görülme riskinin diğerlerine göre 1,5 katı fazla olduğu Amerikan Bilimler Akademisi tarafından kabul edilmiştir (6). Son zamanlardaki çalışmalarda ratlarda postnatal veya prenatal dönemde 900 MHz Elektro manyetik alanın maruziyetinin santral sinir sistemi üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Elektromanyetik alan maruziyeti ratlarda dental gyrus granül hücrelerinin sayısında azalmaya neden olmuştur (4). Ayrıca ratların prenatal 900 MHz elektromanyetik alana maruz kaldıktan sonra cornu ammonisteki toplam piramidal hücre sayısında azalma olduğu bildirilmektedir (7). 16 haftalık dişi ratların Purkinje hücre sayılarında 900 MHz elektromanyetik alan maruziyetinden sonra azaldığı bildirilmiştir (8). Literatürde EMA sonrası hücre sayımı çalışmalarında genellikle 900 MHz EMA kullanılmıştır. Biz de bu yüzden çalışmamızda 900 MHz EMA kullandık.

Karnozin merkezi sinir sistemi de dahil olmak üzere vücudun birçok dokusunda bulunan endojen bir dipeptittir (9). In vitro ve in vivo çalışmalardan elde edilen bulgulara göre anti-oksitatif, anti-glutamerjik, eksitotoksiste, serebral iskemik model ve diğer beyin hasarlarında çeşitli nöronları koruyucu özellikleri olduğu gösterilmiştir (10-12). Deneysel beyin iskemisinde karnozin mortaliteyi azalttığı ve hayvanların nörolojik fonksiyonlarına yararlı etki gösterdiği kanıtlanmıştır (13). Stvolinsky ve arkadaşları (14) yaptıkları çalışmada ratlarda karnozinin anti-iskemik etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada karnozinin ratlara intraperitoneal (i.p) enjeksiyonundan 30-45 dk sonra plazma seviyesi zirveye ulaşmıştır.

Rajanikant ve arkadaşları (15) yapmış olduğu karnozinin farelerde serebral iskemide nöroprotektör etkisi adlı çalışmada, karnozinin farelerde nöroprotektör etkinin yüksek olması için 500-1000 mg/kg karnozine ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir. Kelsey Serfozo ve arkadaşları (16) yapmış olduğu iskemik inmede endojen nöroprotektif ajan olan karnozinin güvenliği ve etkinliği adlı çalışmada, ratlara karnozin dozu 14 gün boyunca intravenöz (i.v) olarak 100, 500, 1000 ve 2000 mg /kg olarak verilmiştir. Yüksek dozun herhangi bir toksisite etkisinin olmadığı ve karnozinin hücre ölümünü azalttığı

sonucuna varılmıştır. Faddah ve arkadaşları (17) yapmış olduğu karnozin ve siklosporin A'nın ratlarda travmatik beyin hasarı sonrasında beyin hasarını hafifletmesi adlı çalışmada, 40 günlük 40-60 gr ağırlığında ratlar 7 gün boyunca intraperitoneal (i.p) olarak 200 mg/kg karnozin tedavisi almışlardır. Stvolinsky ve arkadaşları (13) beyin iskemisi oluşturulan deneklerde karnozinin nöroprotektör etkisi olduğunu göstermişlerdir. Kozan ve arkadaşlarının (18) yaptığı çalışmada penisilin enjeksiyonundan sonraki anaflaktik şokta karnozin uygulanmış ve olumsuz etkilerin azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca karnozinin ileride epilepsi ve sinir sistemini koruyucu, nörotoksik etkilerin koruyucu etkisi olabileceği ifade edilmiştir. Karnozin Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların önlenmesine yardımcı olur ve nörolojik belirtilerin azaltılmasında anti-enflamatuvar etki sağlar (19).

Bu çalışmalar ışığında literatür taramasından sonra bizde karnozin ve elektromanyetik alana maruz kalan grubumuza 28 gün boyunca, elektromanyetik alana maruz bırakmadan 30 dk öncesinde ip olarak 100 mg/kg ve 10 mg/kg karnozin verilmesinin uygun olduğu anlaşılmıştır.

Çalışmamızda elde edilme kolaylığı, insan beyinciği ile anatomik ve fonksiyonel benzerliği olması nedeniyle rat beyinciği seçilmiştir.

Cerebellumun belirgin davranışları öğrenmeyi, özellikle motor sorumlulukları öğrenme yolu ile yapabildiği bilinmektedir (20). Cerebellar korteks histolojik olarak üç tabakadan oluşur. Purkinje hücreleri, içte granüler tabaka ile dışta moleküler tabaka arasında belirli aralıklar ile yerleşmiş büyük hücrelerden oluşan tabakadır (21). Purkinje hücreleri normal serebellar gelişme ve olgunlaşmada önemli rolü olduğu ve granül hücrelerini gelişmesi üzerine indüktif etkisi olabildiği düşünülmüştür (22). Stereolojide prensipler geliştirilirken, disektör ve fraksiyonlama (parçalama) gibi bazı alt dalları da beraberinde getirmiştir. Toplam obje sayısının hesaplanmasında en yeni ve en etkili olarak tanımlanan optik tanımlama metodu olduğu bilinmektedir (23).

Bu çalışmada amacımız, ratların EMA maruziyeti sonrasında EMA'nın beyincik Purkinje nöronlarında oluşturduğu azalmaya karşı karnozinin koruyucu yeteneğini değerlendirmektir.

2.GENEL BİLGİLER

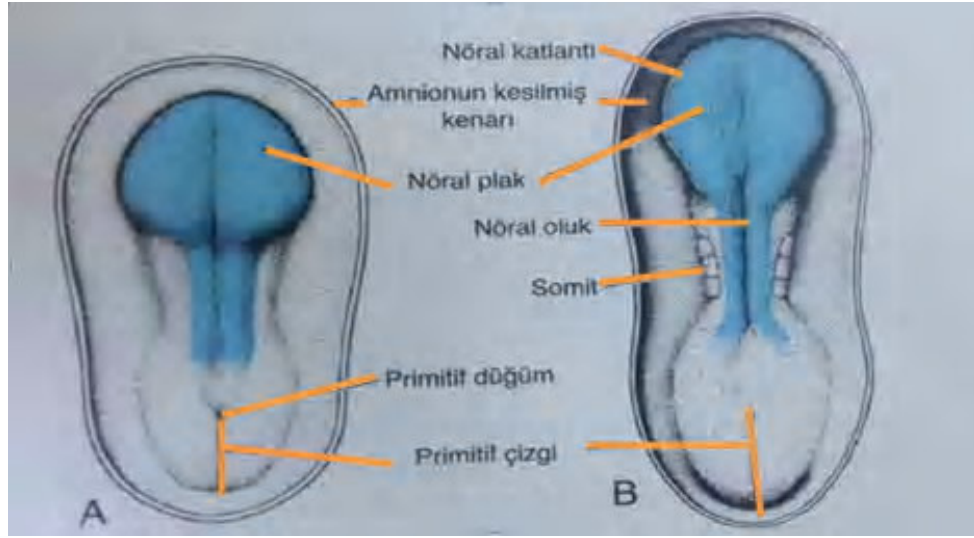
Sinir sistemi embriyonun ektoderm tabakasından gelişir. Sinir sistemi anatomik olarak merkezi ve periferik sinir sistemi olmak üzere iki kısımda incelenir. Merkezi sinir sistemi yapıları nöral borudan (tubus neuralis), periferik sinir sistemi yapıları nöral krista (crista neuralis)'den gelişir. Merkezi sinir sisteminin alt yapıları olan medulla spinalis, truncus cerebri, cerebellum, cerebrum gibi yapılar fertilizasyondan sonra 4. hafta içinde ortaya çıkmaya başlarlar (24).

Beyin sapındaki duysal çekirdeklerin kaynağı lamina alaris, motor çekirdeklerin kaynağı lamina basalis'tir. Lamina basalis orijinli yapı taşımayan beyin bölümlerinde, doğrudan motor fonksiyonla görevli yapılar bulunmaz. Beyincik, beyin sapının lamina alaris'lerinin dorsal bölümlerinin kalınlaşmasından gelişir. Beyindeki ventriküler sistemin kaynağı canalis neuralis'tir (25-26).

Miyelinleşmede öncelik, ilk işleve başlama ve filogenetik yaşa bağlıdır. Sinir sisteminin histogenezinde, dış etkenlerin yanında nöral tübün kapanma bozuklukları rol oynar (27).

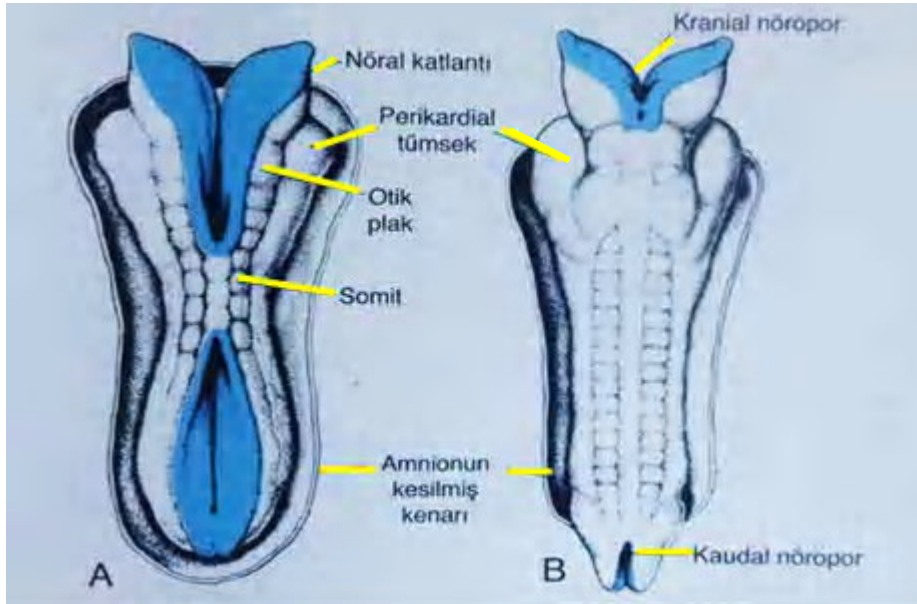
2.1.MERKEZİ SİNİR SİSTEMİ EMBRİYOLOJİSİ

Sinir sistemi, ektodermal orijinli nöral plak (lamina neuralis)'tan gelişir. Nöral plak gelişimin 3. haftasının başında belirir. Embriyonun sırt (dorsal) tarafında notochorda üzerindeki ektoderm kalınlaşarak nöral plak oluşur.



Şekil 2.1: A) 18 günlük geç presomit bir embriyonun arkadan görünüşü B) Yaklaşık 20.gününde dorsal görünüm. (28).

Sonra nöral plağın ortasında sulcus neuralis denen oluk oluşur. Sulcus neuralislerin yan duvarlarında plica neuralis denen katlantılar meydana gelir. Sulcus neuralisler derinleşerek plica neuralisler ile birleşir. Sonuç olarak sulcus neuralisler nöral tüp (tubus neuralis) şeklini alırlar.

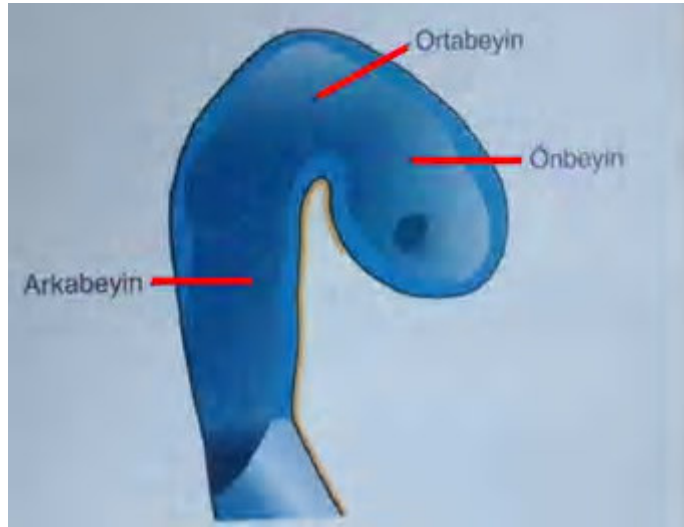


Şekil 2.2 : A) Yaklaşık 22 günlük bir insan embriyosunun arkadan görünüşü B) Yaklaşık.23. günde bir insan embriyosunun arkadan görünüşü (28)

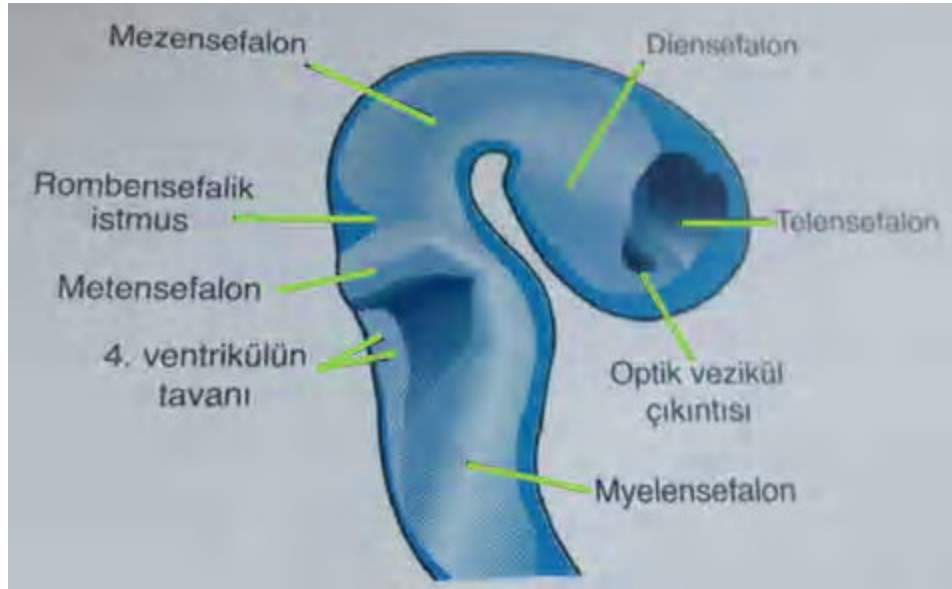
Nöral tüpün oluşumu gelişimin 4. haftasının ortalarında tamamlanır. Bu nöral tüp, rostral kısımda farklılaşarak beyin ve beyinciği oluşturur, kaudal kısımları da medulla spinalisi oluşturur. Nöral tüpün içinde kalan nöral kanalın rostral kısmı beyin ventriküler sistemine ve diğer bölümleri de medulla spinalisin canalis centralisine dönüşür. Ayrıca sulcus neuralis oluştuğunda her iki taraftaki plica neuralisleri oluşturan dış yan hücreler, nöral tüpe dahil olmayan fakat nöral tüple ektoderm arasındaki ektodermal hücre şeridini oluştururlar. Bu hücre şeridine crista neuralis denir. Bu hücreler farklılaşarak spinal ve kranial sinirlerin duyuşal gangliyonlarını, otonom sinir sistemi gangliyonlarını oluşturur (25, 27, 29).

Nöral tüpte primer beyin vezikülleri denen 3 genişleme vardır. Bunlar ;

- Ön beyin vezikülü (prosensefalon)
- Orta beyin vezikülü (mezensefalon)
- Arka beyin vezikülü (rombensefalon)



Şekil 2.3 : 28. Günlük bir insan embriyosunda beyinden geçen sagittal kesit (28)

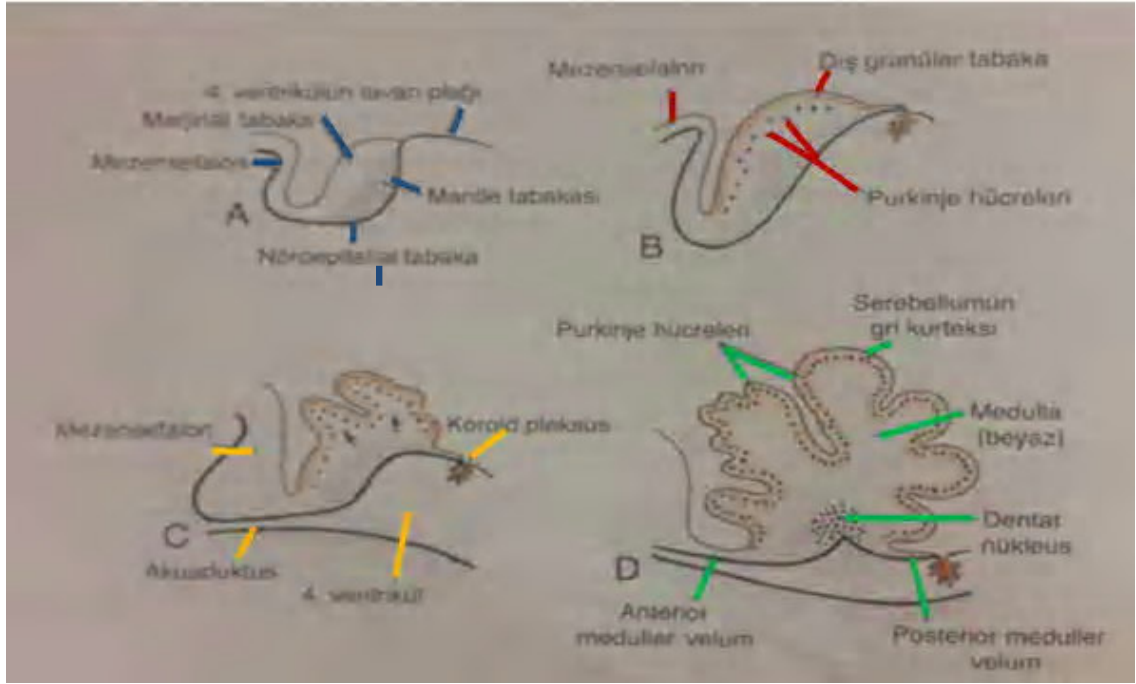


Şekil 2.4: İnsan gelişiminin yaklaşık 32. Gününde beyinden geçen sagittal bir kesit (28)

6. haftada prosensefalon diensefalon ve telensefalon olarak 2 kısıma ayrılır. Diensefalon 6. haftadan sonra epitalamus, talamus ve hipotalamus'u oluşturur. Mezenşefalon daha az gelişime uğrar. Rombensefalon, myelensefalon ve metensefalon olarak iki kısıma ayrılır. Myelensefalon kısmından medulla oblongata gelişirken, metensefalon kısmından pons ve cerebellum gelişir. Tubus neuralisin diğer kısımlarında da medulla spinalis gelişir. (25, 27, 28).

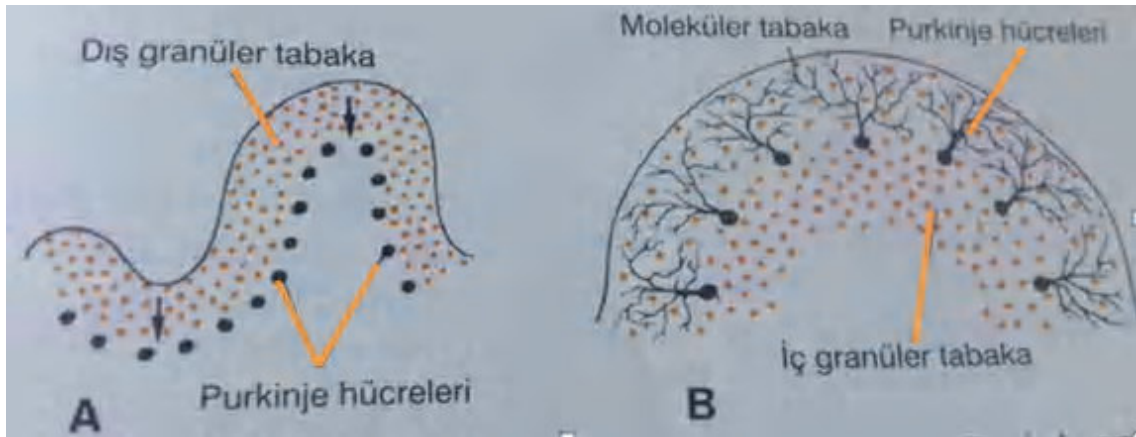
2.2. CEREBELLUM EMBRİYOLOJİSİ

Cerebellum, metensefalonun lamina alarislerinin dorsal bölümlerinden gelişir. Cerebellum gelişimin 40-45. günlerinde oluşmaya başlar. Lamina alarislerin dorsolateral kısımları iç yana kıvrılarak labium rombensefalikum (rombik dudakları) oluştururlar. Bunlar daha sonra lamina cerebellarisleri (primordium cerebellare) oluştururlar. 12 haftalık bir embriyoda primordium cerebellare vermis denilen solucanımsı orta hat bölümünde buna bağlanmış sağ-sol hemispherium cerebelliler şeklindedir. Hemisferlerin gelişimi vermisin gelişimine göre daha hızlı olur. 4.ayın sonuna doğru beyincikte yarıklar(fissurae) ve folialar ortaya çıkar (28).



Şekil 2.5 :Metensefalonun tavanından geçen sagittal kesitlerde serebellumun gelişimi (28)

Primordium cerebellare (lamina cerebellaris, cerebellar plak) str. ependymole (germinole), str. palliale ve str. marginale tabakalarından oluşan bir yapıdır. Gelişme ilerledikçe germinal tabakadan çıkan bazı hücreler serebellar plağın yüzeyinde lamina corticalis superficialis (lamina granularis externa) denen tabakayı oluştururlar. Eş zamanlı çoğalan bazı nöroepitel hücreler ikinci bölünme periyodunda marginal tabakaya geçerek Purkinje hücre tabakasını meydana getirirler (28).

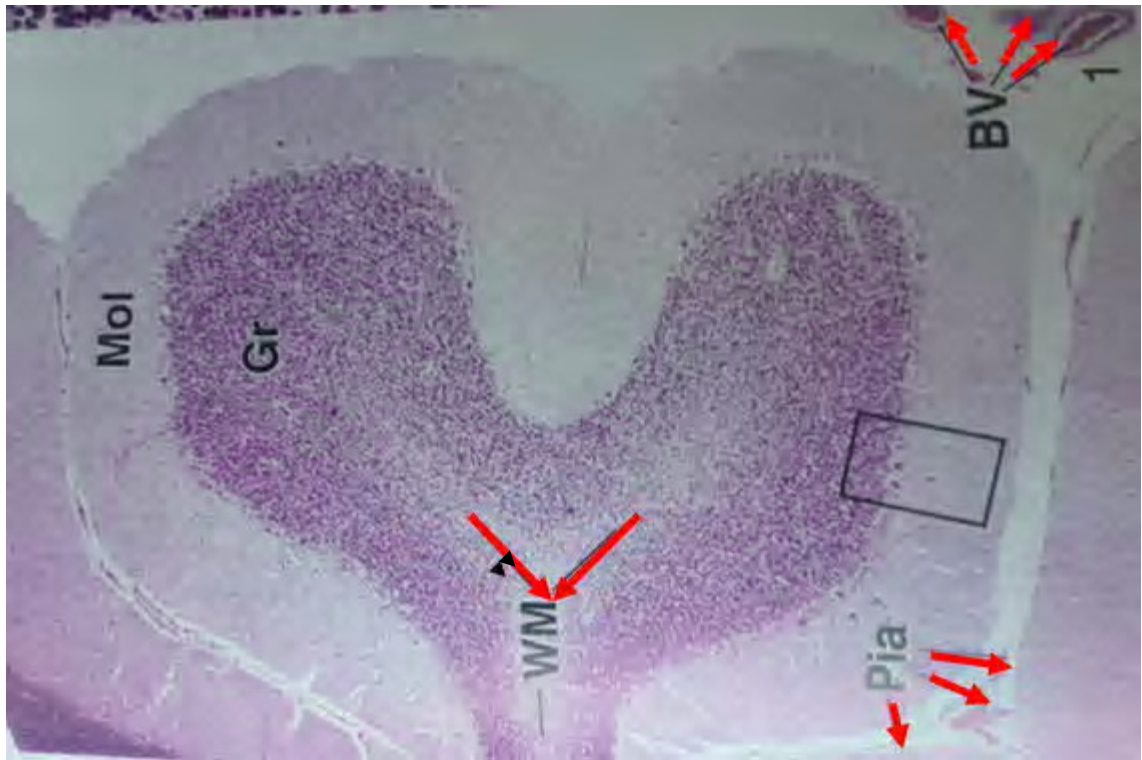


Şekil 2.6: Cerebellar korteksin gelişim evreleri (28).

Gelişimin 6. ayında lamina corticalis superficialiste granuler, basket, stellat ve golgi hücreleri oluşur. Bu hücreler Purkinje hücrelerine doğru göç ederek cortex cerebelliği oluştururlar. Bu oluşum 1,5 yaşına kadar devam eder. Bu yüzden süt çocuklarının viral enfeksiyonlara karşı kullandığı antiviral ilaçlar serebellar nöronların oluşumunu bozarlar. Beyincikteki derin paraventriculer çekirdekler (nuc. fastigi, nuc. dentatus, nuc. interpositus) str. pallialedeki nonmigrate (göç etmeyen) nöroblastlarca oluşturulur (27,29).

2.3.CEREBELLUM HİSTOLOJİSİ

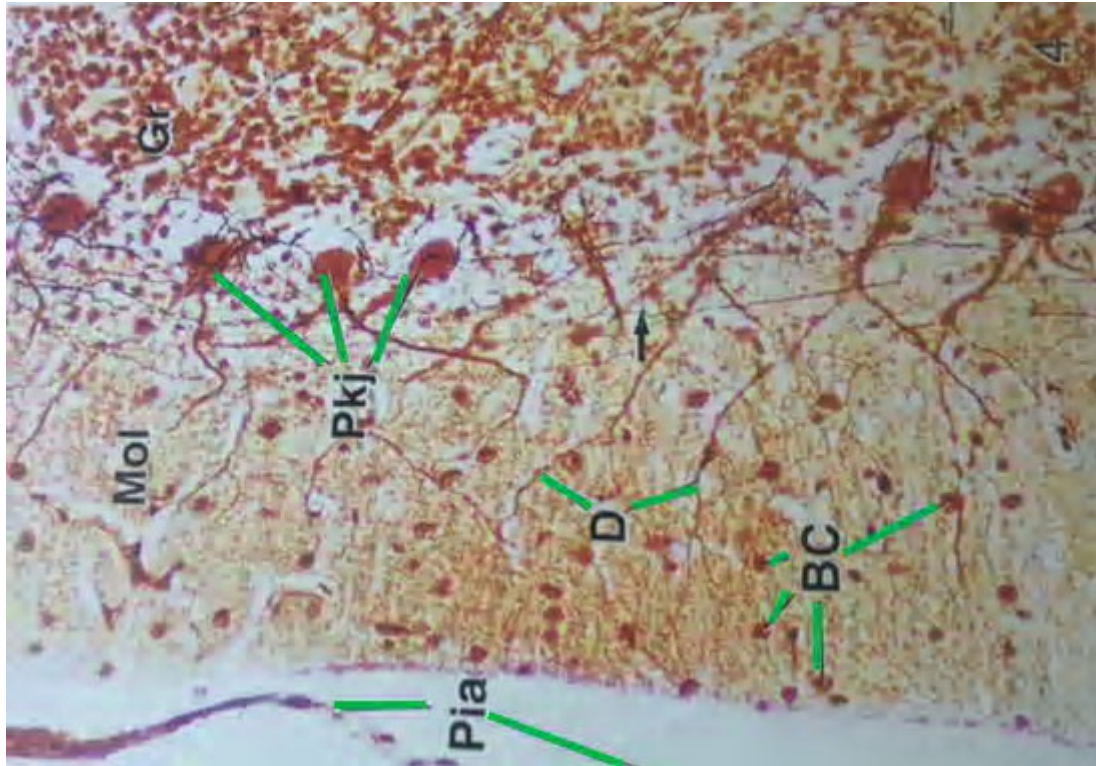
Beyincik sagittal kesitlerde dallanmış ağaç görünümündedir ve üç tabakadan oluşur. Bunlar dıştan içe doğru; granüler tabaka (nükleer tabaka), Purkinje hücre tabakası (gangliyoner tabaka) ve moleküler tabaka (pleksiform tabaka)'dır (26).



Şekil 2.7: BV: Kan damarları, Mol: Moleküler tabaka, Gr: Granüler tabaka, WM: Beyaz cevher, Pia: Pia matter (30)

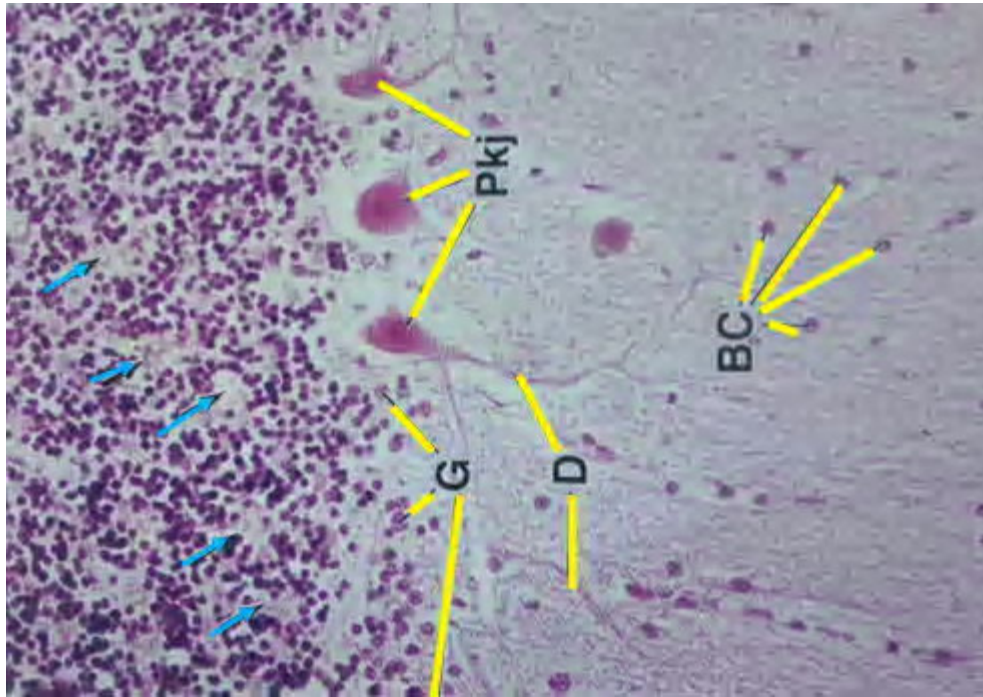
1-Granüler tabaka: En küçük nöronlardır. Hematoksilen eozin preparatlarında bu tabakada çok sıkı bir araya gelmiş koyu boyanmış çekirdeklerin çoğu bu nöronlara

aittir. Görünümleri lenfosit benzer. Kısa 3-6 dentriti cerebelluma giren mossy fibrillerinin aksonlarıyla sinapslaşır. Bu sinaptik alanlara sinaptik glomerulu adı verilir. Koyu boyalı çekirdekler arasındaki açık renk alanlardır. Aksonu myelinsizdir. Granüler nöronlar Purkinje hücrelerinin dentridleri, basket hücreleri ve golgi hücreleri ile sinaps yaparlar. Tek bir Purkinje hücresi dentriti ile paralel fibriller arasında 200-300 bin kadar sinapsın olduğu açıklanmıştır. Golgi nöronları (iç stellat hücre), granuler hücreler ile Purkinje hücreleri arasındaki yıldız şeklindeki nöronlardır (30,31).



Şekil 2.8: D: Dentrid, BC: Basket hücreleri, PKJ: Purkinje hücreleri, Gr: Granüler tabaka, Mol: Moleküler tabaka, Pia: Pia matter (30).

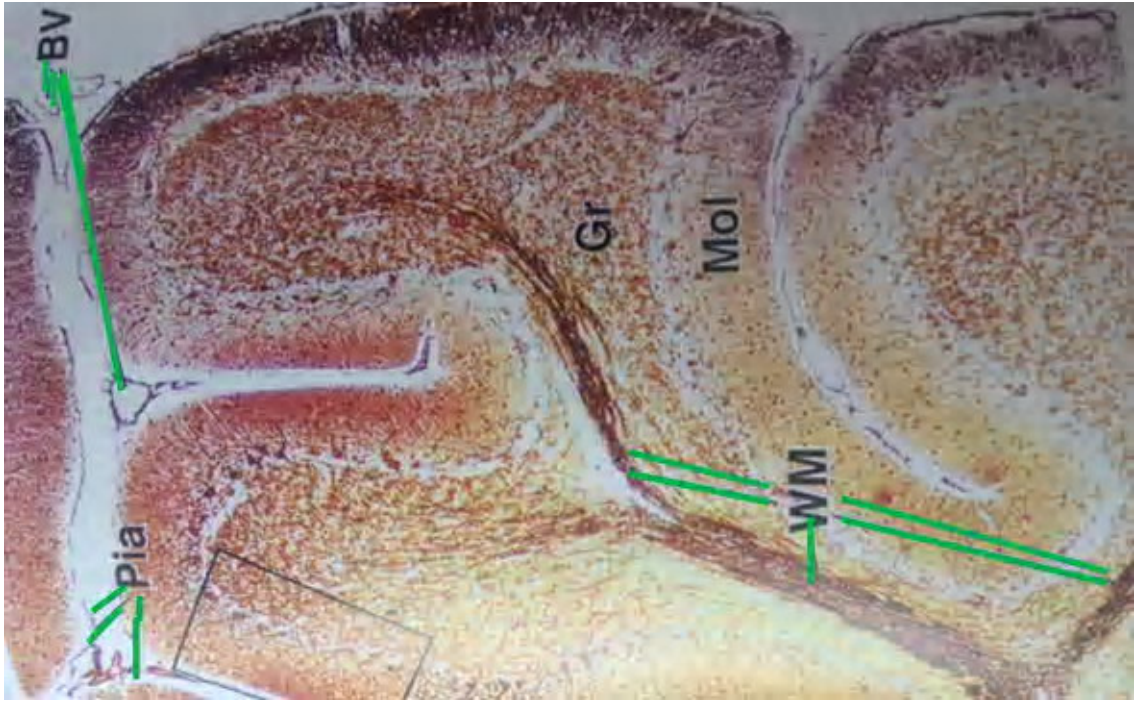
2-Purkinje hücre tabakası: Granüler tabakanın dışında, tek sıra şeklinde dizilmiş, armut şeklindeki büyük Purkinje hücrelerinin olduğu tabakadır. Purkinje hücreler MSS'nin en büyük nöronlarından birisidir. 50-80 nm gövde çaplı, boyu 60 mikron, eni 30 mikrondur. Nükleusları çok belirgindir. 15-30 milyon civarındaki sayısıyla beyinde en çok bulunan nöronlar arasındadır (31).



Şekil 2.9 :G:Golgi tip 2 hücreleri D:Dentrid PKJ:Purkinje hücreleri BC:Basket hücreleri (30).

Nöronların büyük gövdeleri granüler hücre tabakasının dışı bakan yüzünde tek tabaka oluşturacak şekilde dizilmişlerdir. Işık mikroskopunda dikkat çekici şekilde Nissl tanecikleri ile çevrelenmiş tek bir veziküler çekirdek görülür. Elektron mikroskopunda incelendiğinde primer ve sekonder dendritler düz yüzeylidir. Her bir Purkinje hücresi 10000'den fazla sinaptik kontak için önemli derecede yüzey artıran dendritik dikenlere sahiptir. Aksonu beyaz cevhere geçerek bir kısmı intracerebellar çekirdeklerde bir kısmı korteksin bazı yerlerinde sonlanır. Beyaz cevhere geçerken myelin kılıf kazanır. Sinapsları granüler nöronların paralel fibrilleri, tırmanıcı fibriller, dış stellat hücre, basket hücrelerinin kollateralleri, basket hücre aksonu ile Purkinje hücreleri arasındadır. Purkinje hücreleri cerebellum dışına bilgi gönderen tek hücredir ve GABA'yı nörotransmitter olarak kullanarak daima inhibitör uyarı yollar (32).

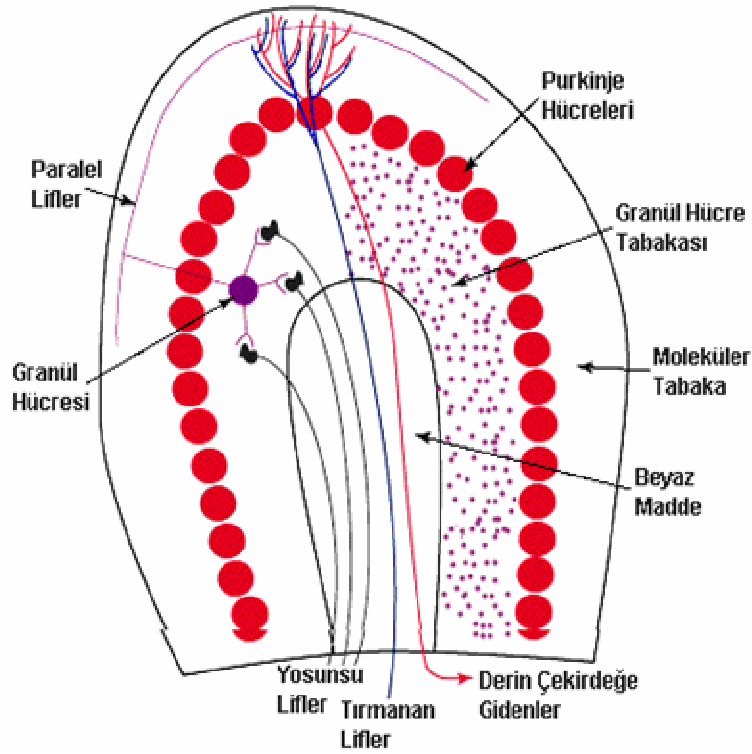
3-Moleküler tabaka : Az sayıdaki nöronlar yıldız biçimindedir. Bulunduğu yere göre ikiye ayrılırlar. Yüzeyel stellat hücre; yüzeyde yer alır. Düzensiz dallanmalar gösteren dendrit ve kısa aksonu vardır. Derin stellat hücre (basket nöronları); yüzeyel stellat hücrelerinden daha büyüktür. Bir basket hücresi aksonu 6-7 tane purkinje hücresiyle sinaps yapar (33).



Şekil 2.10: BV: kan damarları Gr: Granüler tabaka Mol: Moleküler tabaka WM: Beyaz cevher Pia: Pia mater (30)

2.3.1.KORTEKSTE YERALAN AFFERENT FİBRİLLER

Mossy Fibrilleri: Granüler tabakaya girince bol dallanmalarla üzüm şeklinde sinaptik sonlanma yaparlar veya bunların merkezini oluşturduğu cerebellar glomeruli şeklinde sonlanır. Çevrelerinde granül nöron dendritleri, golgi akson terminalleri, hatta bazılarında Golgi nöron dendritleri yer alır. Glomerulus oval veya küre biçimlidir. İçindeki bütün sinapslar aksodendritik tiptedir. Mossy fibrilleri eksitatördür. Böylece granül hücre dendritlerini eksite eder. Varsa golgi dendritinide eksite etmektedir. Tersine golgi hücresi inhibitör internörondur. Aksodendritik sinapsla granül hücresinin inhibe eder (33).



Şekil 2.11: Beyincikteki hücre ve fibriller (34)

Tırmanıcı Fibriller: Dallanmadan granüler tabakayı geçer, tek bir Purkinje hücrelerine ulaşınca dallanmaya başlar. Bu dallar Purkinje hücrelerinin dendritleri ile sinapslaşır (33).

2.3.2.CEREBELLAR KORTEKSİN İŞLEYİŞ DÜZENİ

Kortekse gelen fibriller (Mossy ve Tırmanıcı) kortekse eksteroseptör, proprioseptör ve retiküler formasyondan (beyin sapı) bilgi taşırlar. İkisi de eksitatördür. Tırmanıcı fibriller tek bir Purkinje hücreleri ile sinaps yaptığından etkisi tek bir purkinje hücrelerinedir. Mossy fibrilleri eksitatör etkileriyle yüzlerce granüler nöronu eksite ederek bunların binlerce Purkinje hücrelerini eksite etmesini sağlar. Purkinje hücreleri inhibitör etkilidir. Aksonu intracerebellar ve vestibüler çekirdeklere inhibitör etkiyi ulaştırır. Böylece cerebellum ve beyin sapındaki motor kontrol merkezleri inhibe edilir. Granüler nöronların dışındaki nöronların hepsi (Basket, Stellat ve Golgi) inhibitör internöronlardır. Eksitatör uyarı serebellumdan inhibitör uyarı şeklinde çıkar (31).

2.4.CEREBELLUM (BEYİNCİK) ANATOMİSİ

Herophilus (325-380 BC) beyinciği beynin farklı bir bölümü olarak tanımlamıştır. Aristotle (384-322 BC) porencephalis olarak tanımlamış ve beyinciğin beynin ana kütesine ait olmadığını belirtmiştir. Galen (131-200 AD) vermis cerebelliği solucan benzeri tanımlamıştır. Vermise ait ilk güzel çizim Heister'e (1717) aittir. Haller beyincik hemisferlerini lobi adı altında tarif etmiştir. Malacarne şuan kullanılan terimlerin çoğunu ifade etmiş ve folia veya laminatte sayılarını 500-700 olarak tanımlamıştır. Ayrıca zeka geriliği olan bir beyincikte 340 folia olduğunu bulmuştur. Rolande 1809'da balıklar, sürüngenler ve memelilerde istemli hareketlerin aksamalarının sonuçlarını incelemiştir. Armut biçimli hücre olarak Purkinje tanımı 1937'de Prag'da yapılmıştır. 1876'da Ferrier köpeklerde baş, boyun elektriksel uyarımı, göz yanıtlarını beyincikle ilgili gözlemlerini rapor etmiştir. 1891'de Luciani köpeklerde beyinciğin tamamen ortadan kaldırılmasının sonuçlarını açıklamıştır. Sherrington 1900'de 'proprioceptif system' olarak bireysel kaslar ile vücudun kaslarının bir bütün olarak çalıştığını tanımlamıştır. Bu kavram 40 yıldan beri beyincik fizyolojisinde etkilidir (35).

Beyincik oksipital lobdan tentorium cerebelli ile ayrılır. Fossa cranii posterior'da yer alır. Arka beynin en büyük parçasıdır. Yetişkinlerde beyin beyincik oranı yaklaşık 1/10, bebeklerde ise bu oran 1/20'dir. Beyincik pons ve medulla oblongatanın dorsalinde uzanır ve 4. ventrikül ile buradan ayrılır. (Üç taraflı eşleştirilmiş pedunculus cerebellarisler ile beyin sapına katılan ve beyincikle ilgili tüm afferent ve efferent lifleri içerir.) Beyinciğin temel iç organizasyonu beyaz maddenin yoğun olduğu yüzeyel korteksdür. Korteks çok kıvrık, dar çıkıntılı, folialıdır ve sulcus ile gyrusların arasına girer. Beyaz madde içinde gömülü nöronal hücre gövdeleri fastigial, globose, emboliform ve dentate çekirdeklerini içerir. Bunlar derin cerebellar çekirdekler olarak bilinirler. Genel olarak beyinciğe afferent girişlerin çoğu serebral kortekste son bulur. Korteksten çıkışı kortikal Purkinje hücrelerinin aksonları tarafından taşınır. Bu aksonlar serebellar efferent liflerin çıkıntılarını cerebellar çekirdeklerin içine bağlar. Beyincik beynin motor alanlarına duysal bağlantı sağlanmasında önemli rol oynar. Ayrıca hareketleri koordine etmeye çalışır, motor öğrenme ve refleksde de görevlidir (36).

Beyincik, motor sistemin adaptif bileşenlerinden biridir. Gerçek hareketleri istenilen hareketlerle eşleştirerek komutları ayarlar (37).

2.4.1.Cerebellumun Dış Yapısı

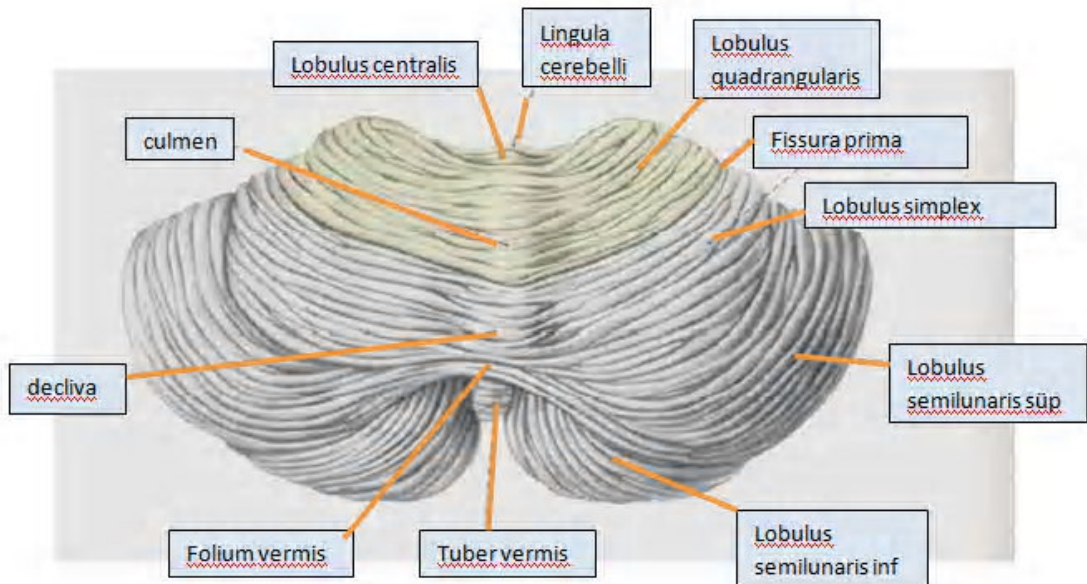
Cerebellum, sağda ve solda olmak üzere hemispherium cerebelli denilen iki hemisfer ile ortada bunları birleştiren vermis cerebelli'den oluşur. Her iki hemisfer arasında önde incisura cerebelli anterior, arkada incisura cererbelli posterior denen çentikler bulunur. Alt yönde iki hemisfer arasında vallecula cerebelli denilen aralık vardır. Incisura cerebelli posterior'a falx cerebelli denen duramater uzantısı yerleşir. Hemisferlerin dış yüzünde folia cerebelli denen kıvrımlar vardır. Bu kıvrımların arasında fissura cerebelli denilen yarıklar bulunur (38). Cerebellum, lobus cerebelli anterior, lobus cerebelli posterior ve lobus flocculonodularis olarak üç lobdan oluşur. Bu lobe yapılar topluca corpus cerebelli olarak adlandırılır. Lobus cerebelli anterior ve lobus cerebelli posterior fissura prima ile, lobus cerebelli posterior ve lobus flocculonodularis ile fissura posterolateralis ile birbirlerinden ayrılır (27).

Vermis cerebelli önden arkaya doğru, lingula, lobulus centralis, culmen, declive, folium, tuber, pyramis, uvula ve nodulus denilen parçalarından oluşur. Larsell isimli araştırmacı (39), vermis cerebelli'nin kısımlarını numaralandırmış bunlara karşılık gelen hemispherium cerebelli lobuluslarına da, başlarına H harfi koyarak, aynı rakamları vermiştir. Vermis cerebelli'nin I numaralı kısmına karşılık gelen hemispherium cerebelli lobulusu yoktur.

Larsell'in sınıflandırmasına göre vermis cerebelli ve hemispherium cerebelli kısımları aşağıdaki gibi numaralandırılmıştır (39).

Tablo 2.1: Vermis cerebelli ve buna karşılık gelen hemispherium cerebelli kısımları

FONKSİYONEL BÖLÜM	VERMIS CEREPELLİ KISMI	HEMISPHERIUM CEREPELLİ KISMI
Lobus Anterior	Lingula (I) Lobus centralis (II, III) Culmen (IV, V)	Ala lobuli centralis (HII, HIII) Lobulus quadrangularis superior (HIV, HV)
Lobus Posterior	Declive (VI) Folium vermis (VII-A) Tuber vermis (VII-B) Pyramis vermis (VIII) Uvula vermis (IX)	Lobulus quadrangularis inferior (HVI) Lobulus semilunaris superior (HVII-A) Lobulus semilunaris inferior (HVII-A) Lobulus paramedianus (HVII-B) Lobulus biventer (HVIII) Tonsilla cerebelli (HIX)
Lobus Flocculonodularis	Nodus vermis (X)	Flocculus (HX)

**Şekil 2.12:** Vermis cerebelli ve hemispherium cerebellinin üstten görünüşü (40)

1-Lobus cerebelli anterior: Fissura primanın önünde kalan kısımdır. Filogenetik bölünmeye göre paleocerebellum buraya uyar. Fonksiyonel yönden spinocerebellum olarak adlandırılır. Lobus anterior musküler tonusun ayarlamasında görevlidir. Lobus anterior'a uyan vermis kısımları derin yarıklarla lingula, lobulus centralis ve culmen olarak üç alt bölüme ayrılır (29).

2- Lobus cerebelli posterior: Lobus medius cerebelli olarak da adlandırılır. Fissura prima ile fissura posterolateralis arasındaki corpus cerebelli parçasıdır. Motor aktivitenin koordinasyonunda görevlidir. Filogenetik olarak neocerebellum olarak adlandırılır. Vermis cerebelli'nin fissura prima'nın postero-inferiorunda kalan kısmına declive denir. Declive hizasında serebellar hemisferlerin lobulus simplex kısımları bulunur. Horizontal yarık ile declive arasındaki vermis kısmı kesitlerde yaprağa benzediğinden folium vermis olarak adlandırılır. Aşağısında kalan kısma tuber vermis denir. Tuber vermisin antero-inferiorundaki kısma pyramis vermis denir. Pyramis vermis üzerinde fissura secunda denen yarık bulunur. Fissura secunda'nın önündeki vermis kısmı uvula vermis olarak adlandırılır. Uvula hizasındaki hemisfer kısmı tonsilla cerebelli'dir (29).

3-Lobus flocculonodularis: Lobus cerebelli posterior ile fissura posterolateralis denen yarıkla ayrılır. Filogenetik olarak archiocerebellum olarak adlandırılır. Vestibular sistemden impulslar alır (vestibulo cerebellum). Hasarlarında denge bozuklukları oluşur (29).

2.4.2.Cerebellumun İç Yapısı

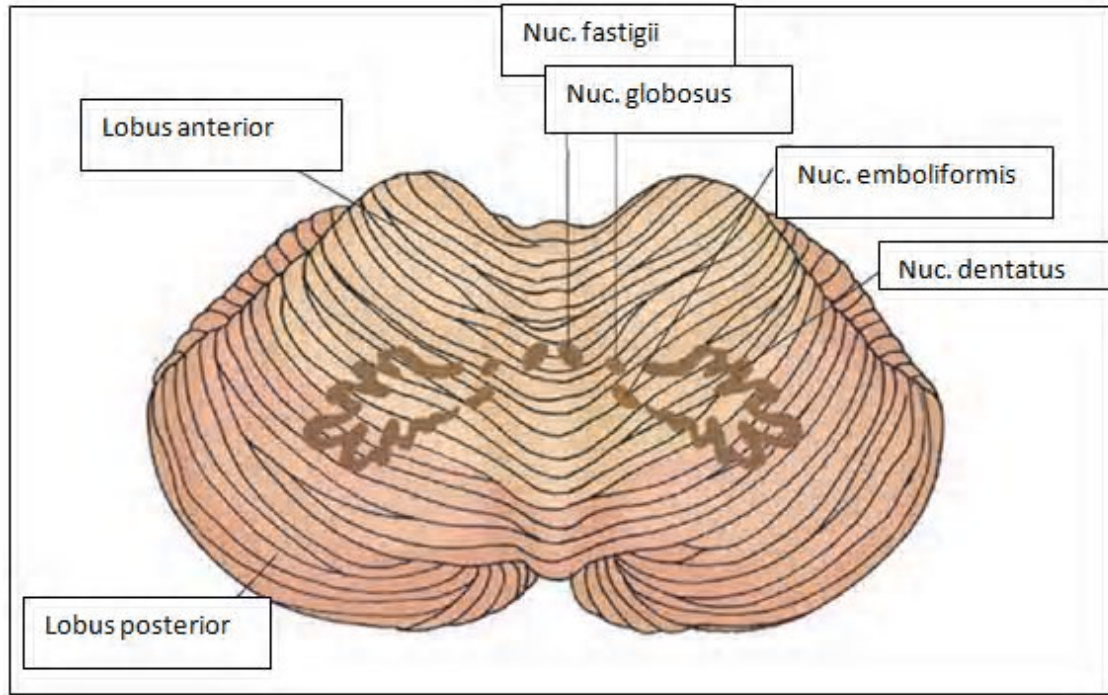
Beyin de olduğu gibi beyincik de dışta gri, içte beyaz cevherden oluşur. Beyinciğin dış yüzünü saran kısma cortex cerebelli denir. Beyinciğin beyaz cevherine corpus medullare, yapraklarına laminae alba denir. Cortex cerebelli üç katmanlıdır.

1.Dış tabaka: Stratum moleculare tabakasıdır. Bu tabakada yıldız ve sepet hücreleri bulunur. Bu hücreler internöron olarak fonksiyon yaparlar (27).

2.Orta tabaka: Stratum gangliosum (Purkinje hücre tabakası) olarak bilinir. Purkinje hücrelerinin yan yana dizilmiş hücre gövdelerinden oluşur. Purkinje hücreleri cerebellar korteksin tek çıkış nöronlarıdır ve inhibitör nöronlardır (27).

3.İç tabaka: Stratum granulosum tabakasıdır. Küçük hücrelerden oluşur. Mossy lifleri bu tabakada yer alır (27).

Beyaz cevhere gömülmüş halde bulunan gri cevher kitlelerine nuclei cerebelli denir. Beyincikte 4 çift çekirdek bulunur. Dıştan içe doğru bunlar; nuc. dentatus, nuc. emboliformis, nuc. globosus, nuc. fastigii'dir.



Şekil 2.13: Cerebellumun Çekirdekleri (41)

1-Nuc. dentatus (nuc. lateralis cerebelli) : En büyük beyincik çekirdeğidir. Burada Purkinje hücrelerinin aksonları sonlanır. Burada başlayan lifler, nuc. dentatusun hilum nuclei dentati kısmından çıkar. Pedunculus cerebellaris superior'dan geçerek beyinciği, talamus aracılığıyla beyin korteksine bağlar.

2-Nuc. emboliformis (nuc. interpositus anterior) : Nuc dentatusun medialinde yer alır.

3-Nuc. globosus (nuc. interpositus posterior) : Nuc emboliformisin medialindeki küçük hücre gruplarıdır.

4-Nuc. fastigii (nuc. medialis cerebelli) : Vermisin üst ön kısmında, orta hatta yakındır. 4. ventrikülün tavanına yakın olarak bulunur.

Cerebellum ile santral sinir sisteminin çeşitli kısımları arasında uzanan yollara pedunculi cerebellares denir. Bunlardan pedunculus cerebellaris superior

mezensefalon'la, pedunculus cerebellaris medius pons'la, pedunculus cerebellaris inferior medulla oblongata ile beyincik arasındaki bağlantıyı sağlayan lifler bulunur (42).

1-Pedunculus cerebellaris superior (brachium conjunctivum): Afferent lif taşımakla beraber, esas olarak efferent liflerden oluşur. Pedunculus cerebellaris superior içinde nuc. emboliformis, nuc. globosus, nuc. dentatus'dan başlayan efferent lifler nuc. ruber ve colliculus inferior'dan gelen afferent lifler ile tractus spinocerebellaris yer alır. Efferent liflerin büyük bölümü mezensefalon'un alt bölümünde çaprazlaşır. Yalnız nuc. fastigii'den kaynak olan lifler çaprazlaşmaz. Pedunculus cerebellaris superior içindeki lifler colliculus inferior seviyesinde çapraz yapar (42).

2-Pedunculus cerebellaris medius (brachium pontis): En kalın olan kısımdır ve afferent liflerden oluşur. Pons'un posterolateral bölümünden çıkarak beyinciğin beyaz cevheri ile devam eder. Bu lifler pons çekirdeklerindeki (nuc. pontis) sinir hücrelerinin aksonları olup, hemen hemen hepsi çapraz yaparak karşı tarafın beyincik korteksinde sonlanır. Beyin korteksini beyincik korteksine bağlayan ve tr.corticopontocerebellaris denen bu yol, özellikle kasların, sinerjik hareketleri bakımından önemlidir (42).

3-Pedunculus cerebellaris inferior: Medulla oblongata ile cerebellumu birbirine bağlar. İçinde tr. spinocerebellaris posterior, tr. sipinocerebellaris anterior'a ait liflerin bir kısmı, tr. cuneocerebellaris ve tr. olivocerebellaris corpus restiforme denen yapıyı oluşturur. Corpus restiforme sadece afferent lifler içerir. Bu ayakçığın iç yanını oluşturan küçük bölüme cor juxtarestiforme, dış yanını oluşturan büyük bölüme cor restiforme denir (27).

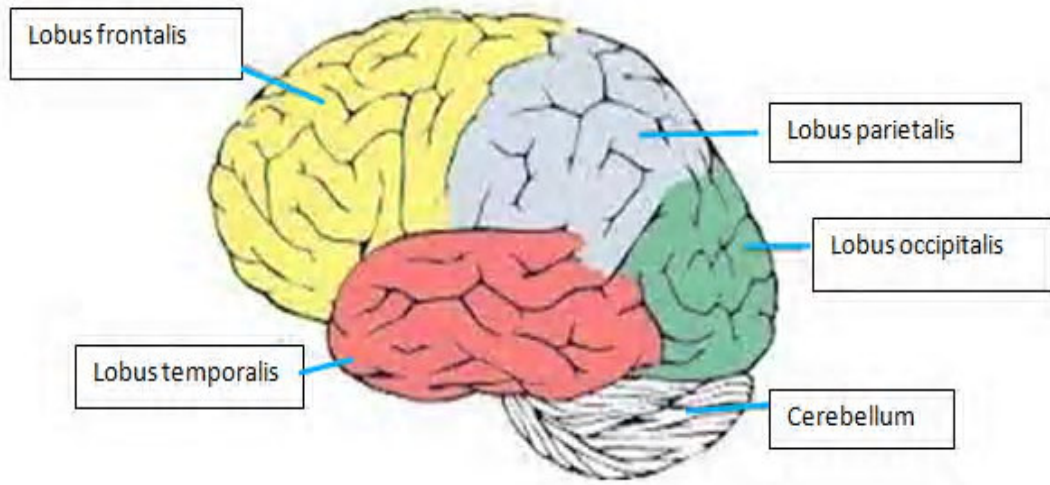
2.4.3.Cerebellumun Fonksiyonel Anatomisi

Beyincik, omurilik ve beynin diğer kısımlarıyla bağlantılara sahip 3 fonksiyonel alt bölüme sahiptir. Bunlar vestibulocerebellum (archiocerebellum), spinocerebellum (paleocerebellum) ve cerebrocerebellum (neocerebellum)'dur.

2.5.CEREBRUM (BEYİN) ANATOMİSİ

Beyin merkezi sinir sisteminin cavitas cranii içinde yer alan parçasıdır. İnsan beyni yaklaşık 1400 gr ağırlığında olup vücut ağırlığının % 2'sini oluşturur. Dikkat, şuurluluk, duygusal davranışlarımız, uyuma gibi olaylar beyin tarafından oluşturulur. Hafıza, hayal kurma, düşünme gibi kompleks fonksiyonlarda beyin tarafından yapılır. Beynin önemli fonksiyonlarından biri de motor aktiviteyi, endokrin ve somatik fonksiyonları ve organların düzenli çalışmasını kontrol etmektir (42). Beyin makroskopik olarak beyin yarım küreleri, beyin sapı ve beyincik olmak üzere üç ana bölüme ayrılır. Ancak gelişimsel olarak rombensefalon (myelensefalon ve metensefalon), mezensefalon ve prosensefalon (diensefalon ve telensefalon) olarak üç kısımda incelenir. Medulla oblongata (bulbus), pons ve mezensefalon üçlüsüne beyin sapı (truncus cerebri) denir (29).

Cerebrumun her iki beyin yarım küresi (hemispherium cerebelli), fissura longitudinalis cerebri denen yarıkla birbirinden ayrılır. Sağ ve sol hemisfer, bu yarığın derinliklerinde yer alan corpus callosum v.b komissural demetlerle birbirine bağlanır. Her bir hemisfer içinde kadavrada ve canlıda içleri beyin omurilik sıvısı (BOS) ile dolu (ventriculus lateralis) bulunur. Bu boşluğu çevreleyen beyin dokusu, nöronların gövdeleri, uzantıları, nöroglia ve kan damarlarından oluşmuş duvar şeklindedir. Duvarın dış bölümü nöronların hücre gövdeleri tarafından yapılmış olup cortex cerebri adını alır (27). Nöronların hücre gövdelerinin oluşturduğu doku gri renkte görüldüğünden substantia grisea (gri cevher), sinir lifleri tarafından yapılan doku beyaz görüldüğünden substantia alba (beyaz cevher) terimi kullanılır. Bir hemispherium cerebride en dışta cortex cerebri, içte substantia alba tabakası vardır. Substantia albada miyelinli nöronlar bulunmaktadır. Bu lifler hemispherium cerebriden bazı merkezleri birbirine bağlar. Beyin hemisferlerinin yüzeyinde gyrus denilen çıkıntılı kıvrımlar ve çıkıntıların arasında sulcus denilen oluklar bulunur. Bu sulcusa göre hemisferler loblara ayrılır. Bu loblar kafa kemiklerinin isimlerine göre lobus frontalis, lobus parietalis, lobus temporalis, lobus occipitalis ve derinde yer alan lobus insularis olarak bölümlere ayrılır (27).



Şekil 2.15: Beynin lobları (44)

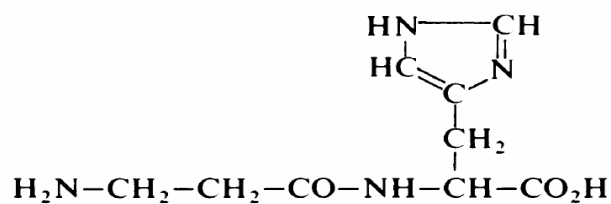
Hemispherium cerebri 4 ana yapıdan oluşur. Bunlar;

- 1.Dış yüzünü oluşturan substantia grisea encephali, cortex cerebri veya pallidum
- 2.Bunun altında substantia alba encephali
- 3.Substantia alba içindeki nucleus basalis denilen substantia grisea kitleleri
- 4.İç ve orta kısımdaki rinensefalon denilen yapılar yer alır.

2.6.KARNOZİN

2.6.1.Karnozinin Kimyasal Yapısı

Karnozin B-alanil-L-histidin yapısında, suda çözünebilen bir dipeptittir (45).

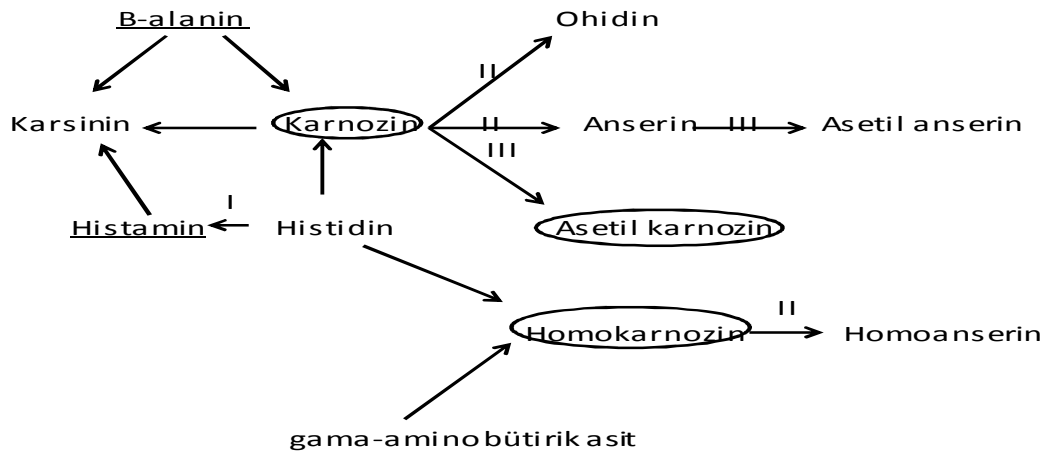


Şekil 2.16: Karnozinin kimyasal yapısı

Karnozin, karnozin sentetaz ile B alanin ve L histidin amino asitlerinden sentezlenir.

Karnozin + H₂O₂ = L histidin + Beta alanin den oluşur (46).

Karnozini sadece B alanini hücre içine taşıyan transport sisteme sahip hücreler sentezleyebilir. İskelet kası hücreleri ve oligodentrositlerde bulunduğu, hücre farklılaşması arttıkça da hücrenin B alanin alımının arttığı gözlenmiştir (47). Karnozin, iskelet kası ve beyin gibi uyarılabilir, bölünmeyen ve uzun ömürlü dokularda fazla miktarda bulunur (48). Kas dokusundaki karnozin düzeylerinin açlık, travma ve şoktan sonra düştüğü bildirilmiştir (49).



Şekil 2.17: Karnozinin metabolizması (I: dekarboksillenme II: metillenme III: asetillenme)

Doku karnozin düzeyleri, asetilasyon, metilasyon ve hidroliz reaksiyonları ile kontrol edilir. Karnozinin asetilasyonu sonucu N-asetil karnozin, metilasyonu sonucu da anserin oluşur (50). Karnozinin diğer ilgili bileşiği olan homokarnozin de, gama-amino bütirik asit (GABA) ve histidinin birleşmesiyle oluşur (51).

membranları üzerinde koruyucu etkiye sahiptir ve inflamasyonu azaltır. Ayrıca yara tedavi edici özelliği de bulunmaktadır (53). Deneysel beyin iskemisinde karnozin mortaliteyi azalttığı ve hayvanların nörolojik fonksiyonlarına yararlı etki gösterdiği kanıtlanmıştır (13). Faddah ve arkadaşlarının (17) yapmış olduğu çalışmada, karnozin in vitro inme modelinde oksijen-glikoz yokluğu durumunda mortalitenin azaltılmasında işlevsel yeteneği geliştirmek ve hassas biyokimyasal belirteçlerin seviyesini azaltmak için sıçan ve gerbillerde global iskemi sonrasında nöronal kültürleri koruduğu gösterilmiştir.

Karnozinin kardiyak iskemide iskeminin zararlı etkilerinden korur ve kalbin kas tabakasının kasılmasında etki gösterir (14). Karnozin kaslarda asit-baz dengesinin korunmasına katkıda bulunmak için tamponlama özelliğinden dolayı, daha iyi sonuçlar elde etmek için sporcular tarafından kullanılır (54). Kozan ve arkadaşlarının (18) yaptığı çalışmada penisilin enjeksiyonundan sonraki anafilaktik şokta karnozin uygulanmış ve olumsuz etkilerin azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca karnozinin ileride epilepsi ve sinir sistemini koruyucu, nörotoksik etkilerin koruyucu etkisi olabileceği ifade edilmiştir. Karnozin Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların önlenmesine yardımcı olur ve nörolojik belirtilerin azaltılmasında anti-enflamatuvar etki sağlar (19). Farelerde yapılan çalışmalarda karnozinin özellikle D karnozinin spinal kord yaralanmalarında hasarı azalttığı bildirilmiştir (55).

2.7.ELEKTROMANYETİK ALAN

James Clark Maxwell, 1864 yılında ışığın elektromanyetik dalgalarından oluştuğunu keşfetmesiyle ışığın değişen bir elektrik alanı (E) ve yine değişik elektrik alana dik olan bir manyetik alan (H)'den oluştuğu teorisini ortaya koymuştur. Maxwell, bu elektromanyetik dalgaların uzay boşluğunda yaklaşık olarak 3,108m/s'lik bir hızla ilerlediklerini göstermiştir. (Elektromanyetik teorelin temeli olan Maxwell'in elde ettiği denklemler, zamanla değişen bir elektrik alan bir manyetik alan oluşturması gibi, zamanla değişen bir manyetik alanında bir elektrik alan oluşturacağını söyler.) Buradan Maxwell teorisi ile elektrik ve manyetik alanlar arasında çok önemli bağlantıları gerçekteşirmiştir (56-58.)

2.7.1.Yük ve Alan Kavramı

Yük, bir cismin üzerinde biriken elektrik yükleri olarak tanımlanır. Yükü taşıyan parçacıklar elektron ve protondur. Bilindiđi gibi proton artı, elektron eksi yüklü olarak

kabul edilir. Cisim artı yüklüyse taşıdığı protonlar elektronlardan fazladır, eksi yüklüyse elektronlar protonlardan fazladır. Aynı işaretli yükler birbirini iterken, zıt yüklü cisimler birbirini çekerler. Yükler arası etkileşimler, yükler arasında oluşan kuvvetlerin sonucudur (58).

Alan kavramı, yükler tarafından yüklerin etrafında oluşturulan, yüklerin karakterine göre değişen, yüklerin birbirlerine olan etkilerini ve bu etkilerin yönünü açıklamak için kullanılan bir kavramdır. Alan, enerji ve momentum taşıyabilir. Bu özeliğiyle madde ve enerji kadar gerçektir. Alan kavramlarından en önemlileri elektrik alan, manyetik alan ve bu ikisinin birleştirilmesiyle oluşturulan elektromanyetik alandır (57).

2.7.1.1.Elektrik Alan

Elektrik yükü maddenin ana özelliklerinden biridir ve temel parçacıklardan oluşur. Yüklü parçaların oluşturduğu fiziksel olguya elektrik denir. Elektrik akımı, elektrik yüklerinin bir noktadan başka bir noktaya hareket etmesine denir (58).

Elektromanyetik alanın insanların üzerinde iki türlü etkisi vardır. Kısa dönemde oluşan, baş ağrısı, halsizlik, yorgunluk ile uzun dönemde oluşan, moleküler ve kimyasal bağlara hücre yapısına olan etkileridir (59).

Elektrik alan ve E vektörü ile gösterilir E bir vektördür ve yönü vardır. Alan şiddeti uzaklığın karesi ile ters orantıdır. Elektrik akı yoğunluğu D ile gösterilir. Elektrik alan vektörü, elektrik alan çizgileri oluşturur ve çizgilerin nereden nereye gittiğini gösterirler (58).

2.7.1.2.Manyetik Alan

Gözlemciye göre düzgün ivmesiz hareket eden yüklerin oluşturduğu alandır. Manyetik alanda elektrik alan gibi vektörel yani büyüklüğü ve yönü olan bir kavramdır. Manyetik alan H ile gösterilir. Manyetik akı yoğunluğu B ile gösterilir ve yüklerin hareket yönüne diktir. Akım geçiren herşey manyetik alan oluşturur. Mıknatıslar manyetik oluştururlar, dünyanın iç kesimlerinde de manyetik alan vardır (56).

2.7.1.3. Elektromanyetik Alan

Yüklü parçacıklar hareket etmiyorsa orada sadece elektrik alandan bahsedilir. Ancak hareket ediyorsa elektrik alanla birlikte manyetik alanda oluşur. Elektrik alanla

manyetik alanın birleşmesiyle elektromanyetik alan oluşur. Elektromanyetik alan belli bir frekansta salınan ve birbirleri arasında belli mesafede salınan bir dizi dalgadır (56).

Tüm canlı ve cansız varlıklarda zayıf ya da güçlü manyetik alanları mevcuttur. Bizler görünür ışığın titreşimi olan 10^{12} Hz'den biraz daha az titreşimli IR (Infrared, kızıl ötesi) elektromanyetik dalga yaymaktayız. Vücudumuz besinleri yakmakla oluşan ısıyı, vücut sıcaklığını 37^0 C'de sabit tutmak için etrafa vermek zorundadır ve bunuda IR ile yapıyoruz (60).

Elektromanyetik alan (EMA), elektromanyetik enerji taşıyan dalga hareketi olarak da tanımlanır. Uzay boşluğunda ışık hızında bir doğru boyunca yayılır. Elektromanyetik dalgaların saniyede yaptığı salınım sayısı yani kendilerini tekrarlama sıklığı frekans (f)'dir. Frekans birimi Hertz (Hz)'dir. Birim yüzeyden geçen ortalama güç ise Elektro Manyetik dalga şiddeti olarak adlandırılır ve şiddet (I) ile gösterilir. Birimi m'dir. Dalganın ortalama hızı ise (V) ile gösterilir (56).

2.7.2.Elektromanyetik Alanın Biyolojik Etkileri

Cep telefonları yaydığı elektromanyetik alanın vücut dokusu, sistemler ve bunların fizyolojik faaliyetlerine etkisinin olabileceği çeşitli çalışmalarda ortaya çıkmıştır (2, 3, 61, 62). Ancak cep telefonlarındaki elektromanyetik alanın yaydığı potansiyel olumsuz etkilerin insan merkezi sinir sistemi üzerindeki etkileri hala tartışılmaktadır (63). EMA'nın hayvan beyin dokusu ve bunların fizyolojik faaliyetlerini üzerindeki olumsuz etkileri bildirilmiştir (3, 4, 64). Doğum öncesi ve doğum sonrası dönemlerde, hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda elektromanyetik alan araştırmalarına göre iyonize ve ultraviyole radyasyon dahil olmak üzere, radyasyonun çeşitli şekillerinde hücresel geri dönüşümlü yada dönüşümsüz yapısal veya işlevsel değişiklikler olduğu bildirilmiştir (4).

EMA'lar sinaptik plastisite düzenlemesi, nörotransmitter madde salınımı nöronal hayatta kalma, öğrenme ve bellek de dahil olmak üzere birçok nöronal fonksiyonu etkileyebileceği bildirilmiştir. In vivo çalışmalarda; sinir hücrelerinin kan-beyin bariyeri engelleri, nöroelektrofizyoloji ve santral sinir sistemi kanser oluşumunda DNA'ları incelerken, in vitro çalışmalarda; hücre proliferasyonu, DNA hasarı, gen ekspresyonu, protein sentezi, embriyonik gelişim ve kanser promosyonu incelenmiştir (4). Son zamanlardaki çalışmalarda ratlarda postnatal veya prenatal dönemde 900 MHz elektromanyetik alan maruziyetinin santral sinir sistemi üzerine etkileri

değerlendirilmiştir (61, 65). Elektromanyetik alan maruziyeti ratlarda gyrus dentatus granül hücrelerinin sayısında azalmaya neden olmuştur (4).

Ayrıca sıçanlarda prenatal 900 MHz elektromanyetik alana maruz kaldıktan sonra cornu ammanis toplam piramidal hücre sayısında azalma olduğu bildirilmiştir (7). 16 haftalık dişi sıçanların Purkinje hücre sayılarında 900 MHZ elektromanyetik alan maruziyetinden sonra azaldığı bildirilmiştir (8). Birçok çalışmada elektromanyetik alanların baş dönmesi ve bulantı gibi vücutta olumsuz etkilere neden olduğu belirtilirken, bazı çalışmalarda Parkinson hastalığı, depresyon ve kanser gibi vakalarda faydalı, tönopatik etkilerinin olduğu ifade edilmiştir (66).

Yüksek frekanslı elektromanyetik dalgaların endokrin ve sinir sistemi üzerinde olumsuz etkilerinin olabileceğine gösteren pek çok çalışma yapılmıştır. Cep telefonu frekasındaki radyasyona bir aylık maruziyetin bağışıklık sistemine pozitif yada negatif yönde etkili olmadığı bildirilmiştir (67).

Bir ay boyunca 900 MHz EMA kalan ratların kortizol seviyelerinde artış görülürken, testesteron seviyelerinde azalma olmuştur (68).

Yapılan bir çalışmada 1,5 T'lik manyetik alana maruz kalan gönüllü insanlarda kalsiyum ve demir düzeylerinde belirgin azalma olduğu bildirilmiştir (69).

Diğer bir çalışmada Radyo-Tv istasyonlarında çalışan teknisyenlerin östrojen, progesteron ve testesteron seviyelerinde yükselme olduğu ifade edilmiştir (70).

Cep telefonunun çok kullanılmasının saç ve yüz derisinde yapısal değişikliklere neden olarak, saç dökülmesine veya aşırı kıllanma olabileceği bildirilmiştir (71).

Yapılan çalışmalarda gömleğin kalp üzerine yakın cep kısmında cep telefonunun taşınmasının kalp ritm bozukluklarına neden olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca kalp pili kullanıcılarında pillerin etkilendiği kalp kasları üzerinde hücresel değişiklikler meydana getireceği de ifade edilmiştir (72).

Kadınların erkeklere göre daha fazla cep telefonu kullandığı düşünülmektedir. EMA'a maruz kalan bayanlarda erkeklere göre birçok patolojinin daha fazla sıklıkla görülebileceği bildirilmiştir (4, 64).

Cep telefonlarının kulağa yakın kullanılması denge fonksiyonlarının etkilenmesine, kulağın fonksiyonu ile ilgili, yapılarında değişiklik olduğu bildirilmiştir (73).

Erkeklerin özellikle telefonların yan ceplerinde tasımlarından dolayı üreme ve cinsel fonksiyonlarının, sperm kalitesinin olumsuz etkilendiği bildirilmiştir (74).

1994'te ABD'de ve Finlandiya'da yapılan araştırmalar elektromanyetik alanların çok sık etkisinde kalan işçilerde Alzheimer hastalığının normal insanlara göre erkeklerde 4-9 kat, kadınlarda 3-4 kat daha sık görüldüğünü ortaya koymuştur. 1998'de yapılan araştırmada radyo operatörleri, endüstriyel donanım işçileri, telefon hattı işçileri, trafo merkezlerinde çalışan işçilerde Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı ve başka nörolojik hastalıkların daha fazla görüldüğü ortaya çıkmıştır (75).

2.8.STEREOLOJİK METODLAR VE SEÇİMİ

Stereoloji, yapıların iki boyutlu görüntülerinden, onların üç boyutlu özelliklerinin anlaşılmasıyla ilgilenen bir bilim dalıdır. Stereoloji son 20 yılda hızla ilerlemiş, değişik ihtiyaçlara yönelik yeni yöntemler çıkararak bu yöntemlerin morfolometrik çalışmalarda aranan standartlar haline gelmesini sağlamıştır. Özellikle tanecik (hücre ve glomerül) sayısı hesaplanmasına getirdiği yeni anlayışla morfolometrik araştırmalarda bir öge haline gelmiştir. Ayrıca stereolojik yöntemler, tarafsızlık (gerçek değerlerden sistematik bir sapma göstermeyen) ve etkinlik (daha kısa zamanda daha az hatalı iş yapmayı sağlayan) gibi özellikleri nedeniyle morfolometrik araştırmalarda merkezi bir konuma yerleşmektedir. Stereolojik yöntemlerin büyük bir kısmını kolayca anlaşılması uygulanabilmesi, bu yöntemleri daha da çekici hale getirmektedir (76).

Stereolojik metotlar kullanılarak hacim, yüzey alanı ve hücre sayısı gibi matematiksel işlemler hızlı, kolay ve doğru bir şekilde kısa bir süre içerisinde yapılmaktadır (7, 77-79).

Doku içindeki hücre veya hücre içi elemanlarının sayısı bulunmak istendiğinde, yapı kesitler haline getirilerek mikroskop altında incelenir. Mikroskop altında incelenen yapıların tümü, gerçekte üç boyutlu yani uzunluk, genişlik ve yüksekliğe sahip öğelerdir. Oysa bunların mikroskopik incelemelerinde kullanılan kesit görüntüleri, yapıların iki boyutu (x ve y eksenleri) hakkında bir fikir verirken, derinlik (z eksen) ile ilgili olarak araştırmacıya doğrudan bilgi sağlayamazlar (76). Son yıllarda sistematik rastgele örnekleme (SRÖ) modeli olarak tarif edilen, tarafsız ve etkin bir örnekleme modeli geliştirilmiştir. Bu model temelde bileşenlerine ayırarak incelenmesi gereken yapılarda bir örnekleme yapılacağı zaman, tüm bileşenlerine yapıyı temsil edebilme açısından eşit olasılıklı şans verilmesi temeline dayanmaktadır. Çalışmalarda doğru

sonuca ulaşmanın şartlarından en başta geleni işlemlerin her aşamasında sistematik rastgele örnekleme koşuluna bağlıdır. İstatiksel olarak, etkin bir örnekleme, ne kadar çok örnek üzerinde uygulanırsa, yapının her noktasına eşit örnekleme şansı tanıdığı için, homojen ve verimli bir örnekleme elde etme şansı da o kadar artar (80).

2.8.1.Disektör

Disektör metodu, ilk defa 1984 yılında Sterio tarafından tarif edilmiştir. Bu metodla; doku ya da organ içerisindeki partikül sayısı; kesitlerin alınma yönü sayılacak olan partikül büyüklüğü, doku içindeki yönelimi ve dokunun histolojik işlemler sırasında büzüşme ve genişlemesi gibi hesaplama hatalarına sebep olabilen tüm hata kaynaklarından bağımsız olarak tarafsız bir biçimde hesaplanabilmektedir (81).

İki tür disektör vardır.

2.8.1.1.Fiziksel Disektör

Disektörün ilk ortaya çıkan biçimidir. Bu yöntemde iki tane ardışık veya birbirlerinden belli bir uzaklıkla ayrılmış olan iki kesit alınır, birinde bulunup, diğerinde bulunmayan partiküller sayılır. İki kesit arasındaki mesafe disektör yüksekliği adını alır. Ve yapılan sayım sonucunda, disektör yükseklikleri boyunca örneklenebilen disektör partiküllerinin, yani partikül uçlarının sayısı bulunur. Bu da, çalışılan partiküllerinin sayısal yoğunluğunu (N_v) verir. Fiziksel disektör, ardışık veya birbirlerinden belli bir aralıkla ayrılmış olan iki fiziksel kesitin, aynı partiküllerin izdüşümlerini içeren ortak alanları karşılaştırılarak uygulanır.

2.8.1.2.Optik Disektör

Fiziksel disektörün teorik mantığından yola çıkarak oluşturulan optik disektör metodu, oldukça pratik ve en etkin yöntemdir. Bu yöntem öncelikle araştırmacıyı fiziksel olarak iki ayrı kesitte karşılaştırma yapma zahmetinden kurtarır. Tek bir kalın kesit hacmi içerisinde ardı ardına optik kesitlerden faydalanarak, seçilen örnekleme alanında partikül sayımı yapılmasına olanak sağlar (82). Elektron mikroskopu ve bazı özel (kalın kesitlerin kullanılmadığı) durumlarda ışık mikroskopu düzeyindeki çalışmalarda kullanılması zorunlu olan fiziksel disektör, ışık mikroskopunda partikül sayımı için tek alternatif değildir. Işık mikroskopu düzeyindeki birçok çalışmada kullanılabilecek nispeten daha yeni bir yöntem, prensipleri 1986'da Gundersen tarafından tarif edilen optik disektör veya sayım kutusudur (83).

Optik disektör fiziksel olarak karşılaştırılan iki kesit çifti yerine, kalın bir kesit hacmi içerisinde, bir dizi sanal optik kesitle ilerleyerek, karşılaşılan partikülleri sayma esasına dayanır. Teorik olarak, kalınlık içindeki her sanal kesit, bir sonrakine göre referans kesit, bundan bir sonraki kesit ise öncekine göre gözlem kesitidir. Dolayısıyla birinde bulunup diğerinde bulunmayan partiküller, disektör partikülü olarak sayılırlar. Fakat pratik uygulamada, sayısal açıklığı yüksek bir mercek (daha ince optik kesitler alabilmek için) kullanılarak, kesit kalınlığı ve disektör sondasının yüksekliği boyunca tarama yapılarak, karşılaşılan partiküller sayılır (83).

Doku üzerinde tespit edilen herhangi bir örnekleme alanında, şeffaf olan kalın bir kesit içerisinde optik olarak ilerlemek, bu yöntemin özünü oluşturur. Örnekleme alanına gelindiğinde ise öncelikle kesitin üst yüzeyine odaklama yapılarak, ilk net görüntünün elde edildiği düzey, kesitin üst düzeyi olarak belirlenir. Daha sonra önceden belirlenmiş olan bir derinliğe kadar inilerek, kesitin yüzeyinde bulunması muhtemel olan artefaklardan korunmak için belli bir güvenlik mesafesi kadar ilerlenilir (84).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Deneyler Erciyes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nda onaylandıktan sonra gerçekleştirildi. Ratlar Erciyes Üniversitesi Deneysel Hayvan Araştırmaları Merkezi (DEKAM)'nden elde edildi. Histopatolojik işlemler E.Ü. Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Elde edilen preparatlarda hücre sayımı ise E.Ü. Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

3.1.Deney ortamının hazırlanması:

Çalışmada deney hayvanı olarak 200 gram ağırlığında 24 adet Wistar-Albino tipi (Bu türün bulunması ve literatüre uyumlu olması nedeniyle) 16 haftalık (16 haftalık ratların adolesan grubunda sayılmalarından dolayı) dişi ratlar kullanılmıştır. Ratlar DEKAM'da 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortam sağlandığı ve aspiratörle sürekli havalandırılan 25 ± 2 °C lik, nem oranının % 40-50 civarında olduğu odada tutuldu. Polipropilen yapıda standart kafeslerde (40 cm × 26 cm × 18 cm) barındırıldı. Dengeli bir diyet ve sınırsız su ile beslendiler. Ratlar bu şekilde 5 gün boyunca kafeslerinde dinlendirilerek ortama uyumları sağlandıktan sonra, deneylere başlandı. Düzenli kafes temizliği yapılarak ratların serbestçe yem ve suya erişimleri sağlandı (Resim 3.1). Deney süresince ratlar stres olmadan normal laboratuvar koşulları altında yaşadılar.



Resim 3.1: Deney hayvanlarının normal kafeste görünümü.

3.2. Deney gruplarının oluşturulması

Çalışmamızda ratlar 3 gruba ayrıldı.

1. Kontrol grubu (KG), 2. Elektro manyetik alana maruz kalan grup (EMAG), 3. Elektro manyetik alana maruz kalarak karnozin verilen grup (EMA+CG).

1. Kontrol grubu (KG): 6 adet rat kullanıldı. KG çalışma boyunca düzeneğe yerleştirilmedi ve elektro manyetik alana maruz bırakılmadı. Bu gruba ait ratlara serum fizyolojik intraperitoneal (ip) olarak enjekte edildi.
2. EMAG grubu: 6 tane rat kullanıldı. EMAG çalışma boyunca düzeneğe yerleştirildi ve elektro manyetik alana maruz bırakıldı.
3. Elektromanyetik alana maruz kalarak karnozin verilen grup (EMA+CG): 2 alt gruba ayrılmıştır. Yapılan literatür taramasına göre karnozin bu gruba 10 mg/kg ve 100 mg/kg karnozin intraperitoneal (ip) olarak uygulandı. Bu gruba ait ratlar düzeneğe yerleştirildi, elektromanyetik alana maruz bırakıldı ve karnozin verildi (Resim 3.3).
 - a. Bu alt grupta 6 rat kullanıldı ve ratlar Elektromanyetik alana maruz kalarak 2 mg (10 mg/kg) karnozin ip enjeksiyonu yapıldı.
 - b. Bu alt grupta 6 rat kullanıldı ve ratlar Elektromanyetik alana maruz kalarak 20 mg (100 mg/kg) karnozin ip enjeksiyonu yapıldı.

Konu ile ilgili yapılan çalışmaları incelediğimizde ve literatür ışığında EMA+CG grubundaki ratları EMA'a maruz bırakmadan 30 dk öncesinde ip olarak karnozin uygulanmıştır (14).

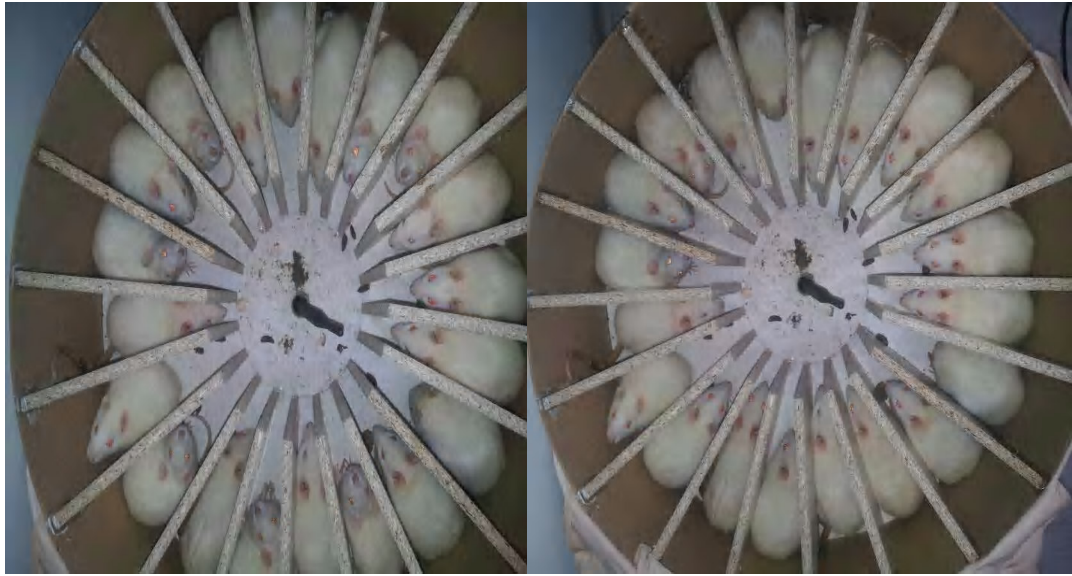
Kontrol grubundaki ratlar deney süresince ayrı bir odada bekletilmişlerdir. Elektromanyetik alana maruz bırakma işlemi 28 gün boyunca günde 1 saat olmak üzere her gün aynı saatte (11:00-12:00) yapılmıştır. Resim 3.2'de deney hayvanlarının içerisine konulduğu düzenek görülmektedir.



Resim 3.2: EMAG ve EMA+CG ratlar için hazırlanan düzenek

3.3.EMA'nın oluşturulması

EMA oluşturmak için RF kaynağı olarak 900 ve 1800 MHz'de çalışan ve 0-4 Watt çıkış verebilen (CW=Continuous Wave) RF jeneratörü kullanıldı. 900 MHz yarım dalga dipol anten ile sıçanlara RF elektromanyetik radyasyon uygulandı. RF jeneratör 2 Watt güçte çalışırken, ortalama $1,04 \text{ mW/cm}^2$ güç ortalama SAR $0,008 \text{ W/kg}$ uygulandı (85). RF jeneratör 2 Watt güçte çalıştırıldı. Dipol anten yakınına maruz kalan ratlar ortalama $1,04 \text{ mW/cm}^2$ güç yoğunluklu radyasyona maruz bırakıldı. RF kaynağı 44 cm boyunda ve 8,5 cm enindeydi. RF jeneratörü E.Ü. Mühendislik Fakültesi öğretim üyeleri tarafından yapılmıştır (Şekil 3.4).



Resim 3.3: EMAG ve EMA+CG grubu ratların EMA'a maruz kalmaları



Resim 3.4: RF kaynağı

3.4.Karnozinin hazırlanması ve uygulanması

Karnozin ratlara EMA ile beraber 10 mg /kg ve 100 mg/kg olarak uygulandı. Deneyde kullandığımız hayvanlar yaklaşık 200 mg ağırlığındaydı. Toz halindeki karnozin hassas terazide tartıldıktan sonra SF ile sulandırıldı. Karnozin her bir hayvana uygun dozda 0,5 ml ip olarak uygulandı. Karnozin deney süresince buzdolabında -20 derecede saklandı.

1000 mg için rata 10 mg karnozin uygulanmak istenirse 200 mg'lık rata 2 mg karnozin uygulanacak şekilde hesaplama yapıldı. Yine aynı şekilde 1000 mg için rata 100 mg karnozin uygulamak için 200 mg'lık rata 20 mg karnozin yapılmıştır.

Bir günde EMA+2 mg karnozin uyguladığımız 6 rat için toplamda 12 mg karnozin ip olarak uygulandı.

Bir günde EMA+20 mg karnozin uyguladığımız 6 rat için toplamda 120 mg karnozin ip olarak uygulandı.

Bir günde KG'da bulunan 6 rattan her bir rata 0,5 ml olmak üzere SF verildi.

3.5.Dokuların alınması ve örneklerinin hazırlanması

28 günlük deneyin tamamlanmasının ardından 24 saat sonra tüm ratlar eter anestezisi altında sakrifiye edildi. Ardından beyincik dokusu çıkarıldı. Doku takibi ve boyama aşamaları gerçekleştirildi.



Resim 3.5: Ratların eter anestezisinden sonraki görünimleri

3.6.Beyinlerin çıkarılması ve tespiti

Ratlar servikal dislokasyon yöntemi kullanılıp dekapite edildiler. Kafaları orta hatta üstten deri insizyonu ile kemiğe kadar kesilip deri ve derialtı dokulardan serbestleştirildiler. Pens yardımıyla kafa kemikleri üstten küçük boyutlarda nazikçe

kırılarak beyinleri görünür hale getirildi. Beyinler beyin sapı hizasından kesilip çıkartıldı, tartıldı ve 3 gün fiksasyon solüsyonu içinde $+4^{\circ}\text{C}$ 'de bekletildiler. Tespit solüsyonlarında 12'şer saat bekleyen dokular aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiş olan doku hazırlama metodu ile bloklandı (Tablo 3.1).



Resim 3.6: Çıkartılan beyin ve beyincik görünüşleri.

3.7.Doku takibi aşamaları

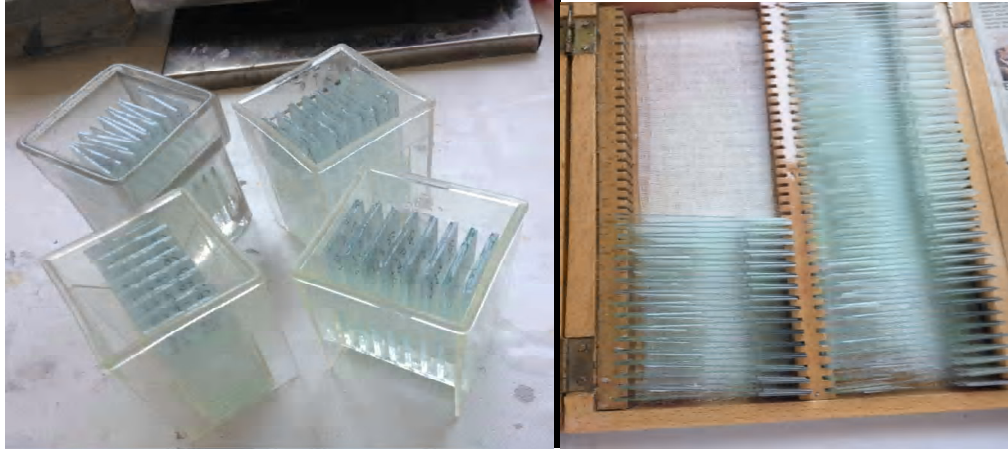
Bir gece akan musluk suyunda bırakılan dokular tespit işlemi tamamlandıktan sonra artan alkol serilerinden geçirilerek sudan kurtarıldı, ksilol ile seffaflandırıldıktan sonra parafine gömülerek bloklandı. Alınan $50\mu\text{m}$ 'luk kesitler polilizin kaplı lamlara yayıldı. 37°C 'lik etüvde 1 gece bekletildi (Resim 3.7). Hazırlanan lamlar standart histolojik yöntemler kullanılarak ksilol ile parafini uzaklaştırıldı ve dereceli alkol serilerinden geçirilip sulandırıldı. Genel histolojik yapıyı görmek amacıyla kesitler hematoksil-eozin (H+E) ile boyanarak önce artan alkol serilerinden daha sonra ksilolden geçirilerek incelendi. Dokular kalın kesitli alındığından düşmemesi için jelatinli su hazırlandı. 500 ml suya 5 gr jelatin konuldu ve suyun ısısı 70 derece olacak şekilde 8-10 dk karıştırıldı. Daha sonra kabın içine konularak işlem gerçekleştirildi. Yine boyama öncesi dokuların düşmemesi için etüvde 1 gece formaldehitte bekletildiler.

Tablo 3.1: Isık mikroskobu doku hazırlama teknigi.

Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Musluk suyu	1 gece
2	%50 Alkol	1 saat
3	%70 Alkol	1 saat
4	%80 Alkol	1 saat
5	%96 Alkol	1 saat
6	Absolü Alkol	1 saat
7	Absolü Alkol	1 saat
8	Absolü Alkol	1 saat
9	%50 Ksilen- Alkol	10 dakika
10	%70 Ksilen-Alkol	10 dakika
11	Ksilen	20 dakika
12	Ksilen	20 dakika
13	Ksilen	20 dakika
14	Eriyik parafin	1 gece
15	Bloklama	

Tablo 3.2: Hematoksilen-Eozin boyama tekniği.

Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Etüv (60 °C)	1 saat
2	Ksilen I	20 dakika
3	Ksilen II	20 dakika
4	Ksilen III	20 dakika
5	Absolu Alkol I	20 dakika
6	Absolu Alkol II	20 dakika
7	%96 Alkol	20 dakika
8	%80 Alkol	20 dakika
9	%70 Alkol	20 dakika
10	%50 Alkol	20 dakika
11	Akarsu	5 dakika
12	Hematoksilen	5-8 dakika
13	Akarsu	5 dakika
14	Eozin	3-5 dakika
15	Akarsu	5 dakika
16	%50 Alkol	10 dakika
17	%70 Alkol	10 dakika
18	%80 Alkol	10 dakika
19	%96 Alkol	10 dakika
20	Absolu Alkol I	10 dakika
21	Absolu Alkol II	10 dakika
22	Ksilen I	20 dakika
23	Ksilen II	20 dakika
24	Kapatma	



Resim 3.7: Formaldehitte etüvde bekletilen lamlar ve kesitten sonra konulan lamlar

3.8.Hücre Sayım Aşamaları

Çalışmamızda cerebellum içerisinde bulunan Purkinje hücrelerini saymak için optik parçalama yöntemi kullanılmıştır.(8). Bunun için beyincikler sagittal planda mikrotomda kesilmiş ve sonrada boyanmıştır. Kesit kalınlığı da $50\mu\text{m}$ olarak belirlenmiştir. Buna göre her bir rat beyinciğinden 140-180 arasında kesit elde edildi. Daha önceki yapılan çalışmalar da kullanılarak cerebellumda bulunan Purkinje sinir yapı özellikleri belirlendi (86). Sistemik olarak yapılan örneklemede (ssf:1/20) her 20 kesitten bir tanesi alındı ve bu şekilde her bir rattan ortalama 6 ila 10 kesit elde edildi. Cerebellumdaki Purkinje sayıları ve analizleri bilgisayar destekli stereolojik görüntü analiz cihazında optik parçalama metodu kullanılarak hesaplandı. Hücre sayım alanlarının belirlenmesi ve sınırlarının çizilmesi Stereoinvestigator stereolojik analiz yazılımı (Macrobrightfield, Denmark) kullanılarak yapıldı (Resim 3.8). Seçilen cerebellum kesitinde x-y basamaklarında $200 \times 200 \mu\text{m}$ adımlarla örnekleme yapıldı ve bu seçilen alanlar $100\times$ ’lük objektifde optik disektör probuda kullanılarak analiz edildi. Optik disektör sayımında tarafsız olarak ayarlanmış olan %20’lik sayım çerçevesi kullanıldı. Böylece, örnekleme yapılan alanının fraksiyonu (asf) $587/40.000\mu\text{m}^2$ olarak hesaplandı. Tüm bu işlemler literatürde kullanılan değerler alınarak hesaplandı (87). Yapılacak olan sayımda çalışılan yapının kesitlerde ortaya çıkan izdüşüm sınırlarının iyi belirlenmesi, sayımın doğruluğu açısından kritik öneme sahiptir. Belirlediğimiz sistematik tekdüze rastgele örnekleme aralığımıza uygun olarak elde edeceğimiz kesitler arasında bir seri örnek kesit elde edeceğimizi belirtmiştik. Bunun için parçalama

oranımız 1/20. Bu şekilde elde ettiğimiz kesitler üzerinde optik disektör kurallarına göre sayımlar yapıldı. Bunun için yazılım bize çok geniş imkanlar sundu.

Her kesite 5X'lik büyütmede bakılıp mikrovida ile netlik kazandırıldıktan sonra cerebellum bölgesi arandı. Cerebellum bulunduğu lamın üzerinden 5X'lik okuler uzaklaştırılıp üzerine immersiyon yağı döküldü. Netliğiyle oynanmadan 100X'lük büyütmeye geçirilen görüntü üzerindeki tarafsız sayım çerçevesinin içinde kalan hücreler mikrovida oynatılarak belirlenip shtereom programında sayıldı (Resim 3.9, Resim 3.10, Resim 3.11). Aldığımız kalın kesitler üzerinde (50 mikrometre) ilgilendiğimiz alanın sınırları belirlendikten sonra hangi adım aralıklarıyla ilerlememiz gerektiği ve bu adımlardan kaçta kaçını sayım yapmak üzere örnekleyeceğimizi belirledik. Optik disektör metodunda kalın kesit içerisinde yazılımın derinlik özelliği sayesinde derinlik ayarlarını (z ekseni) ayarladık. Yani kesit içerisinde bir sondaj yaparak derinliğine bir üç boyutluluk oluşturularak nöron sayımı yaptık. Bu işlem yapılırken bir takım kurallara dikkat etmek gerekir. Bu kurallardan en önemlisi kesitin üst ve alt yüzlerinin bir kısmının dışarı çıkarılacağı bir güvenlik kuşağı oluşturmaktır. Bu aralık yazılım sayesinde gerektiği kadar uzatılabilir. Basitçe kesit içerisine optik olarak belirli bir miktar girene kadar karşılaşılan ve kesitin karşı yüzüne belirli bir mesafede yakında olan nöronlar sayılmayarak gerçekleştirilir. Bu alt ve üst güvenlik aralıkları çıkarıldığında geriye kesitin ortasında sayım yapılan bir hacim kalır. Bu bölgenin kesit kalınlığına oranı bize örneklemenin kalınlık örnekleme payını verir (88).

Yapılacak nöron sayımlarında kesit kalınlığınca optik olarak ilerleyerek bu seyir esnasında karşımıza çıkacak olan nöronların sayımı söz konusu olduğundan bu nöronların hangileri sayılacak ve hangileri sayılmayacak sorunu karşımıza çıkar. Dolayısıyla sayımlarımıza dahil edeceğimiz nöronların çekirdekleri odaklama anında ilk göründükleri andan tarafsız sayım çerçevesi içerisinde düşen hücreleri belirledik. Sayım çerçevesinin boyutları, adımlama ve derinlik ile ilgili bilgiler yazılıma girilen veriler tarafından kolayca adapte edilecektir.

Kesit kalınlığını en net yerden bozuk yani bulanık olan bölge seçilerek yazılım tarafından ölçüldü. Tüm kesitlerin kesit kalınlığı (t) bu şekilde ölçülüp ortalama kesit kalınlığı (t_{ort}) ölçüldü. Kesit alırken oluşan artefaktların yol açacağı sayım hatalarından kurtulmak için kesitin 5 mikron üstünden ve altından toplam 5 mikron mesafeli bir güvenlik aralığı bırakıldı. Tüm kesitin yüksekliğinden 10 mikronluk

güvenlik kuşağı çıkartılarak disektör yüksekliği (h) belirlendi. Bu yolla ortalama disektör yüksekliği hesaplandı (h_{ort}). Kalınlık örnekleme oranı (KaÖÖ) h_{ort}/t_{ort} şeklinde her rat için ayrıca hesaplandı. Çalışmamızda $h_{ort} = 40$ mikron, $t_{ort} = 50$ mikron'dur.

Optik parçalama metodunun son basamağında ise örnekleme yapılan yerin kesit kalınlığı belirlenmektedir. Kesitin üst kısmında $5\mu m$ üst güvenlik zonu bırakıldıktan sonra $40\mu m$ 'lik disektör yüksekliği ayarlanan bölgede sayım yapılmaktadır. Bütün bu tip ölçümler stereoloji sistemine uyumu sağlanmış dijital bir mikrokator ile yapıldı. Bundan dolayı, en son örnekleme basamağı genellikle kalınlık örnekleme fraksiyonu olarak (tsf) olarak adlandırılır ve $[Disektör\ yüksekliği]/[ortalama\ kesit\ kalınlığı]$ ile hesaplanır. Toplam kesitlerin ortalama kalınlığı $40 \pm 3.06\mu m$ olarak hesaplandı. Bütün kesitlerdeki örneklemler tamamlandıktan sonra örneklenen hücrelerin disektör partikülleri (Q-) olarak hesaplandı. Toplam Nöron sayısı (N) olarak kabul edilerek aşağıdaki formül ile hesaplandı;

$$Toplam\ Nöron\ sayısı\ (N) = \frac{1}{ssf} \times \frac{1}{asf} \times \frac{1}{tsf} \times \sum Q$$

$$N = 1/(1/20) \times 1/(25 \times 25 / 150 \times 150) \times 1/(35/50) \times 156$$

$$N = 20 \times 36 \times 1.43 \times 156 = 160.457$$

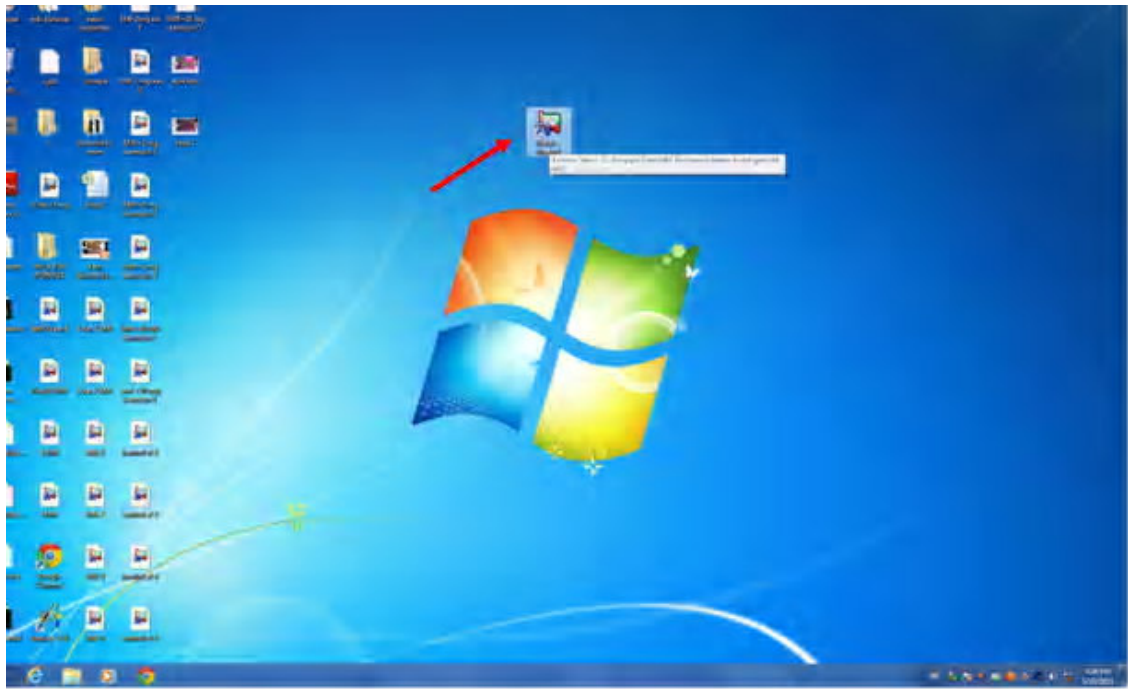
Yukarıda bir rat cerebellumunda bulunan toplam Purkinje hücre sayısı örnek olarak hesaplanmıştır (Tablo 3.3).

Tablo 3.3: Hücre sayımında kullanılan değerler.

Parametreler	Kullanılan değerler
Hücre sayısı	156
Sayım çerçevesi alanı (XY) (μm^2)	625.0
Disector yüksekliği (Z) (μm)	35.0
Disector hacmi (XYZ) (μm^3)	21875.0
Güvenlik kuşağı (μm)	10.0
Şekil değişkeni	19.13
Sayım çerçevesi genişliği (X) (μm)	25.0
Sayım çerçevesi yüksekliği (Y) (μm)	25.0
Örnekleme gridi (X) (μm)	150.0
Örnekleme gridi (Y) (μm)	150.0
Sampling Grid Area (XY) (μm^2)	22500.0
Kesit kanlılığı	20
Kesit örnekleme oranı (ssf)	20
Alan örnekleme oranı (asf)	0.027
Kalınlık örnekleme oranı (tsf)	0.7
Toplam hücre sayısı	160.457

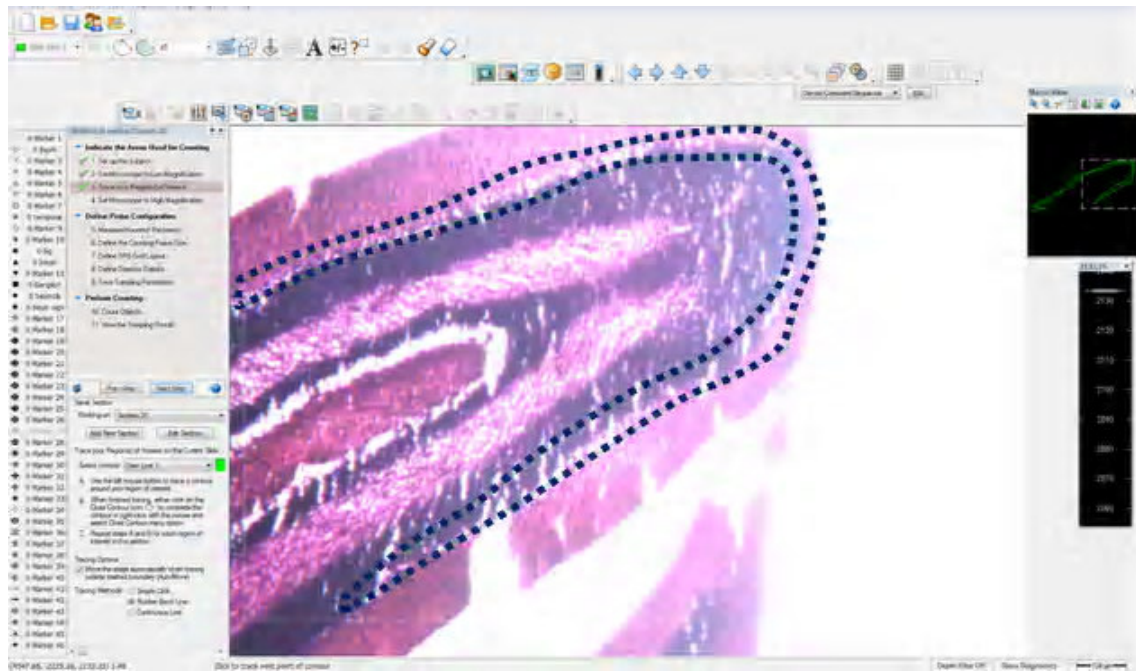
Ayrıca lam ve mikroskop temizliği %40 eter, %60 alkol içeren solüsyon hazırlanarak yapıldı.

Hata katsayısı, örnekleme planının yeterliliğini gösteren bir kontrol ölçeğidir ki her bir rat için sayılan kesit sayısı ve her kesit için hesaplanan disektör partikül sayısı kullanılarak yazılım tarafından otomatik olarak hesaplanmaktadır.

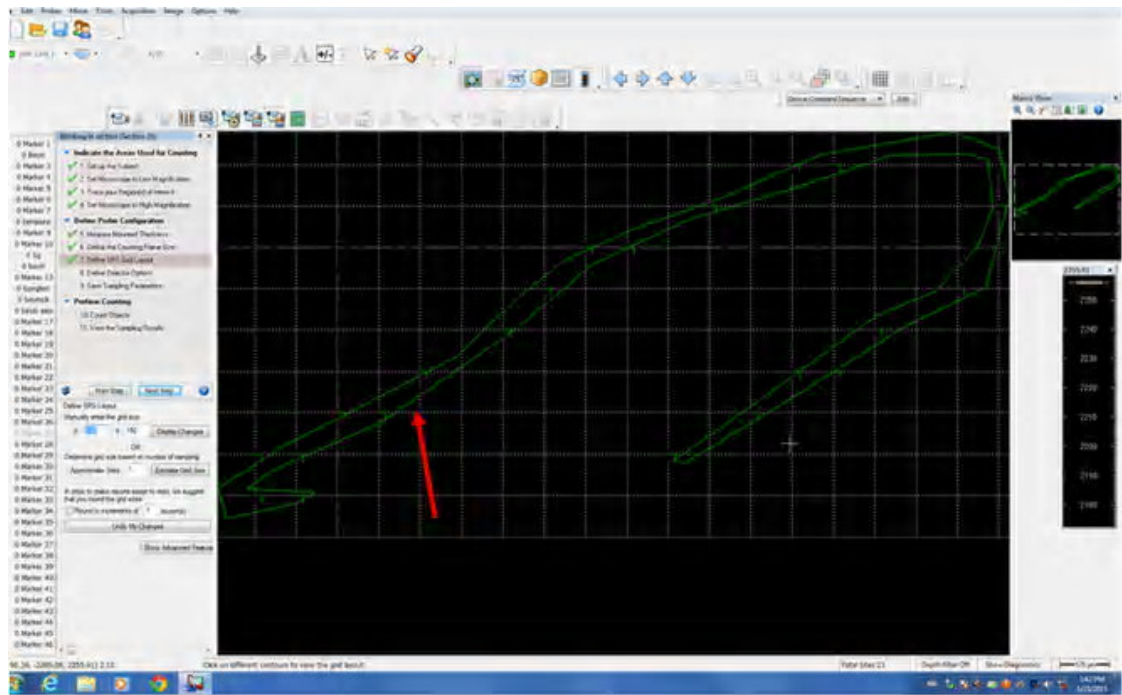


Resim 3.8: Stereoinvestigator'ün masa üstünde tıklanarak çalıştırılması.

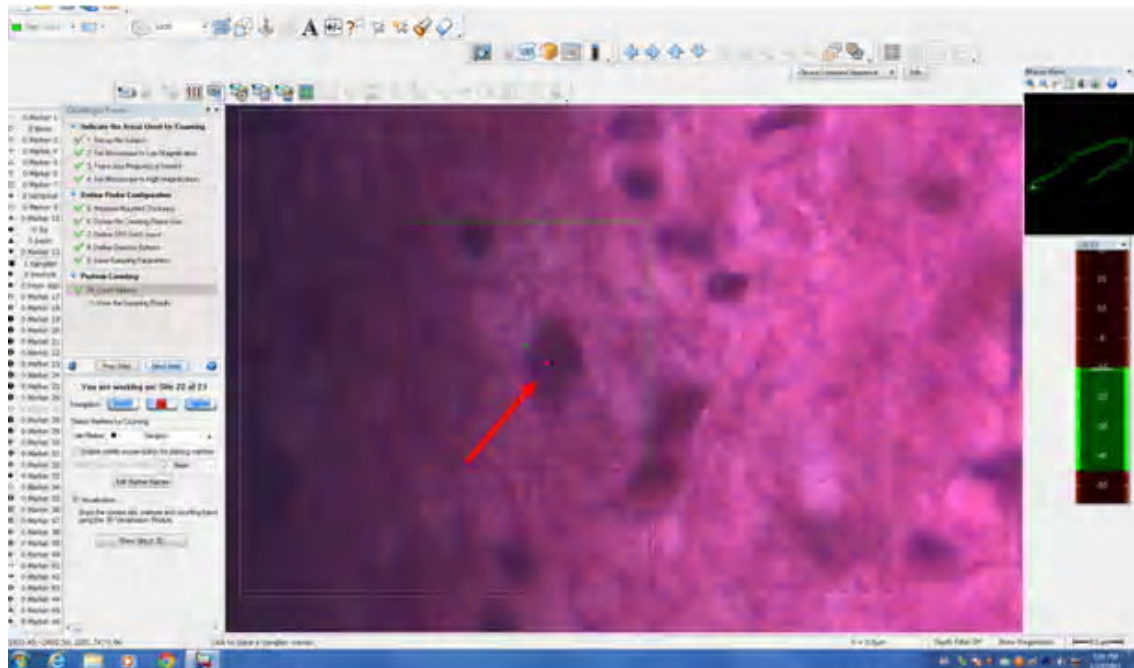
Stereoinvestigator çalıştırıldı (Resim 3.8). Mikroskobun 5'lik büyütmesiyle dokunun sınırları çizildi (Resim 3.9).



Resim 3.9: Kesitlerde Purkinje hücreleri tabakasının işaretlenmesi.



Resim 3.10: Kesit üzerine tarafsız sayım çerçevesinin otomatik olarak sistem tarafından atılması.



Resim 3.11: Tarafsız sayım çerçevesi içerisine denk gelen hücrelerin işaretlenmesi.

Mikroskobun yüzlük büyütmesiyle üst ve alt güvenlik kuşağı belirlendi. Daha sonra tarafsız sayım çerçevesinin içine gelen hücreler işaretlendi (Resim 3.11).

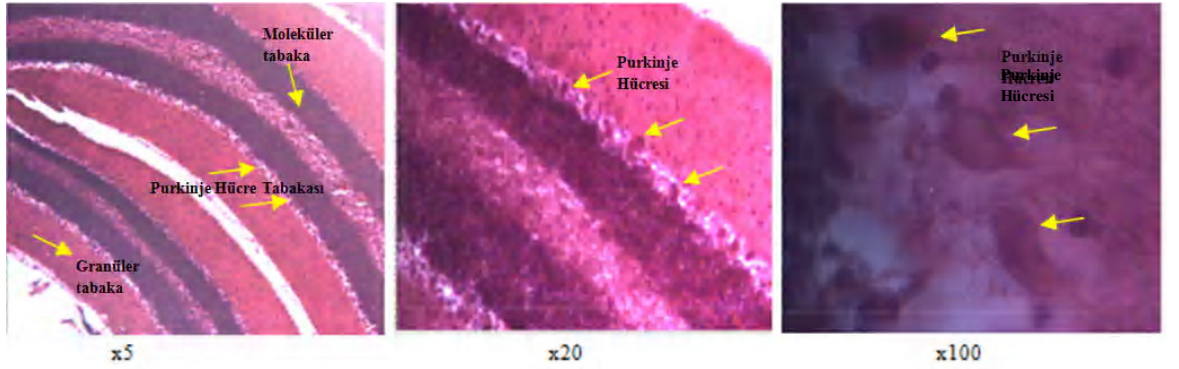
3.9.İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER

İstatistiksel analiz için ''SPSS for windows''programının 10.0 versiyonu kullanılmıştır. Grupların ortalama toplam nöron sayıları arasındaki farklılık ''Mann-Whitney U'' testi ile değerlendirilmiştir.

Anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edildi.

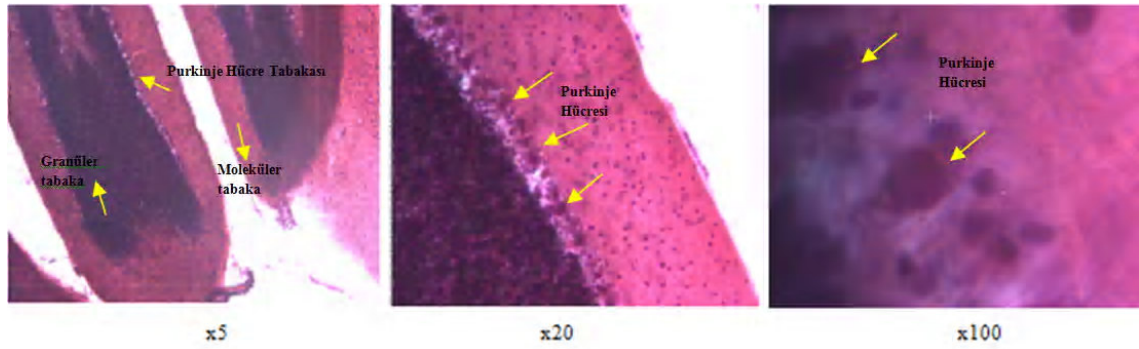
4.BULGULAR

Çalışmamızda 24 adet rat kullanılmıştır. Kontrol grubu 6 rat, EMAG grubunda 6 rat, EMA +20mgr Karnozin grubunda 6 rat ve EMA+2 mg Karnozin grubunda kullanılan 6 rat dokuları analiz edilmiştir.



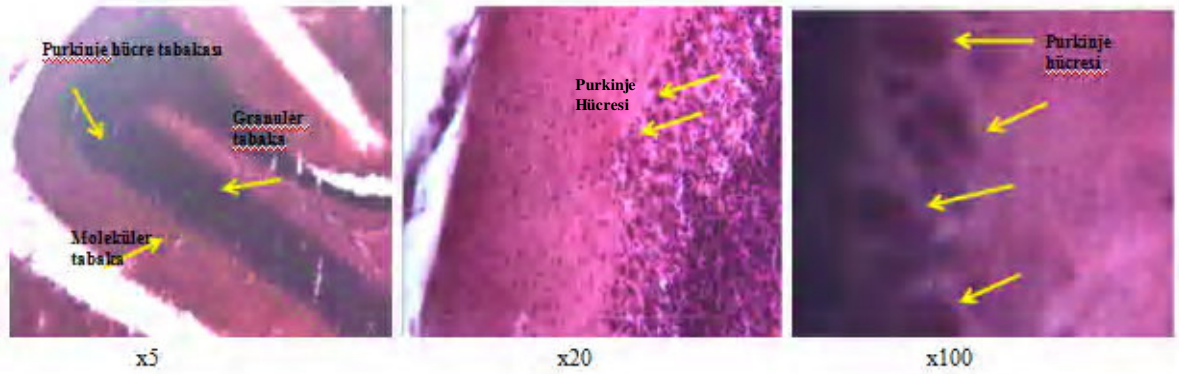
Resim 4.1: Kontrol grubu Cerebellum mikroskopik genel histolojik görünümü.

Kontrol grubundaki ratların Cerebellum dokuları normal morfolojik yapıya sahip olup granüler, Purkinje ve moleküler tabakaları kolayca ayırt edilebiliyordu. Daha ayrıntılı mikroskopik incelemelerde Purkinje hücreleri sıra halinde düzenli olarak ve hücre çekirdekleri normal morfolojilerinde görülmekteydi (Resim 4.1).



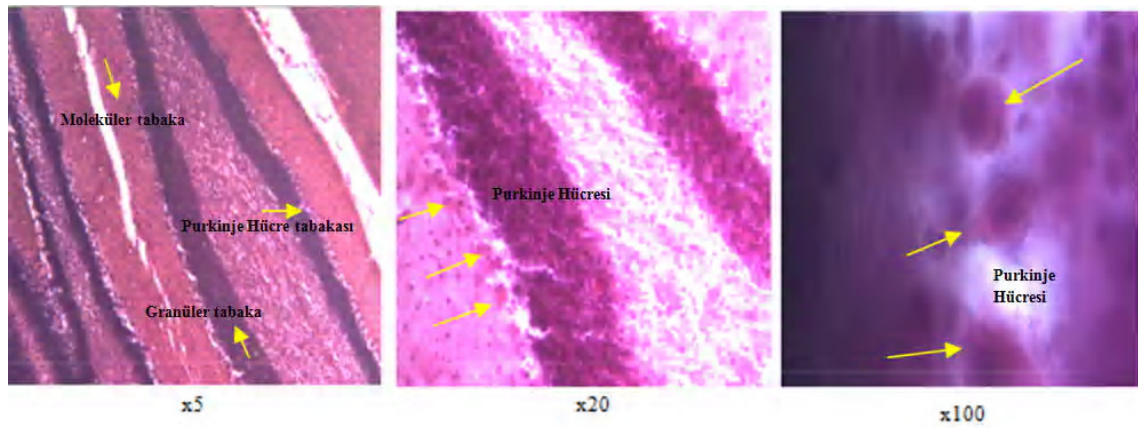
Resim 4.2: EMAG grubu Cerebellum mikroskopik genel histolojik görünümü.

EMAG grubundaki ratların cerebellum dokuları incelendiğinde yer yer dokularda bozulma görülürken bu durumun doku kesit aşamasından mı yoksa EMA'nın yaptığı etkiden dolayı mı olduğu kesin olarak belirlenememiştir. Yine cerebellum tabakaları incelendiğinde granüler, Purkinje ve moleküler tabakaları kolayca ayırt edilebiliyordu. Daha ayrıntılı mikroskopik incelemelerde Purkinje hücreleri sıra halinde düzenli olarak ve hücre çekirdekleri normal morfolojilerinde görülmekteydi (Resim 4.2).



Resim 4.3: EMA +2 mgr Karnozin grubu Cerebellum mikroskopik genel histolojik görünümü.

Cerebellum tabakaları incelendiğinde granüler, Purkinje ve moleküler tabakaları kolayca ayırt edilebiliyordu. Daha ayrıntılı mikroskopik incelemelerde Purkinje hücreleri sıra halinde düzenli olarak ve hücre çekirdekleri normal morfolojilerinde görülmekteydi (Resim 4.3, Resim 4.4).



Resim 4.4: EMA +20 mgr Karnozin grubu Cerebellum mikroskopik genel histolojik görünümü.

Tablo 4.1. Kontrol Grubu Purkinje Hücre sayıları

KONTROL	Toplam Purkinje Hücre Sayısı	$X - \bar{X}$	$(X - \bar{X})^2$
1	199.067	-45237	2046387935
2	292.083	47779	2282834289
3	208.852	-35453	1256885745
4	181.657	-62647	3924701922
5	292.083	47779	2282834289
6	292.083	47779	2282834289
Varyasyon Katsayısı=			0.20
Standart sapma=			48.43635
Standart Hata=			19.77406
Art. Ort:			244.305

Tablo 4.1’de Kontrol grubuna ait rat Cerebellumunda bulunan Purkinje hücre sayıları verilmiştir. Buna göre ortalama 244.305 ± 48.436 Purkinje sayısı hesaplanmıştır.

Tablo 4.2. EMAG Grubu Purkinje Hücre sayıları

EMAG	Toplam Purkinje Hücre Sayısı	$X - \bar{X}$	$(X - \bar{X})^2$
1	145.379	33622	1130439041
2	187.597	75840	5751749840
3	98.525	-13232	175089705
4	67.414	-44343	1966288847
5	83.134	-28623	819290621
6	88.493	-23264	541215490
Varyasyon Katsayısı==			0,37
Standart sapma=			41.60143
Standart Hata=			16.983.71
Art. Ort:			111.758

Tablo 4.2’de EMAG grubuna ait rat cerebellumunda bulunan Purkinje hücre sayıları verilmiştir. Buna göre ortalama 111.758 ± 41.601 Purkinje sayısı hesaplanmıştır.

Tablo 4.3. EMA+2 mg Karnozin Grubu Purkinje Hücre sayıları

EMA + 2mg	Toplam Purkinje Hücre Sayısı	$X - \bar{X}$	$(X - \bar{X})^2$
1	194.794	47352.19	2242229786.74
2	141.628	-5813.69	33799005.67
3	112.984	-34457.94	1187349825.29
4	101.650	-45791.57	2096868102.88
5	164.821	17379	302022110
6	168.774	21332	455064221
Varyasyon Katsayısı=			0.20
Standart sapma=			30.04124
Standart Hata=			11.35452
Art. Ort:			147.442

Tablo 4.3’de EMA+2mg grubuna ait rat Cerebellumunda bulunan Purkinje hücre sayıları verilmiştir. Buna göre ortalama 147.442 ± 30.04 Purkinje sayısı hesaplanmıştır.

Tablo 4.4. EMA+20 mg Karnozin Grubu Purkinje Hücre sayıları

EMA+ 20mg	Toplam Purkinje Hücre Sayısı	$X - \bar{X}$	$(X-X)^2$
1	261.544	72097.51	5198050228.74
2	121.230	-68216.89	4653543899.75
3	199.386	9939.57	98795074.22
4	199.741	10294.11	105968708.03
5	143.812	-45635	2082535261
6	210.967	21521	463132150
Varyasyon Katsayısı=			0.24
Standart sapma=			45.82944
Standart Hata=			18.70979
Art. Ort:			189.447

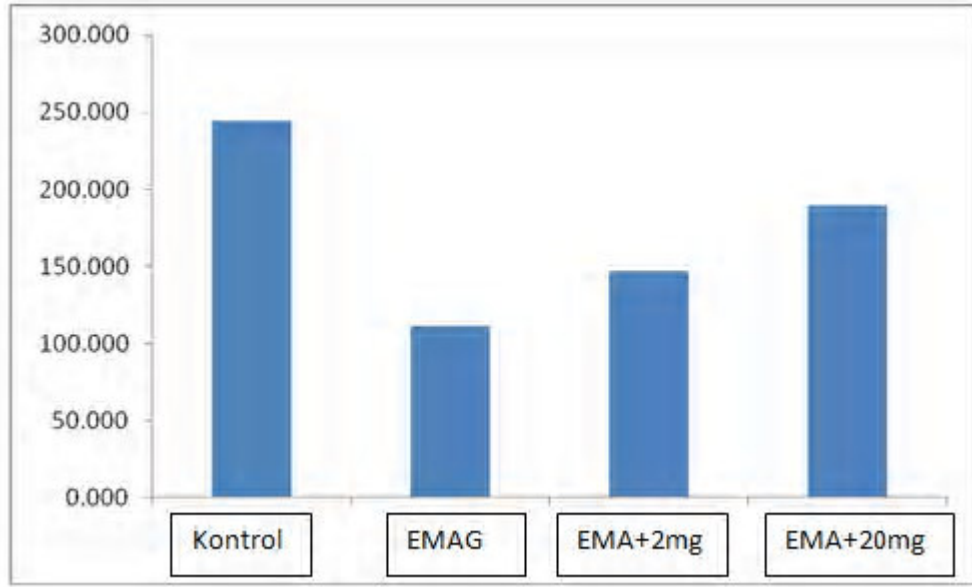
Tablo 4.4’de EMA+20 mg grubuna ait rat Cerebellumunda bulunan Purkinje hücre sayıları verilmiştir. Buna göre ortalama 189.447 ± 45.82 Purkinje sayısı hesaplanmıştır.

Tablo 4.5: Toplam Purkinje hücre sayıları.

denek no	kontrol	EMAG	EMA+2Kar	EMA+20Kar
1	199.067	145.379	194.794	261.544
2	292.083	187.597	141.628	121.230
3	208.852	98.525	112.984	199.386
4	181.657	67.414	101.650	199.741
5	292.083	83.134	164.821	143.812
6	292.083	88.493	168.774	210.967
Ortalama	244.305	111.758	147.442	189.447

Tablo 4,5’de Tüm gruplara ait rat cerebellumunda bulunan Purkinje hücre sayıları verilmiştir.

Grafik 4.1. Gruplar arası karşılaştırma,



Çalışmamız sonucu gruplara arası istatistiksel karşılaştırma yapılmış ve kontrol grubuna göre EMAG grubunda istatistiksel olarak azalma tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Yine kontrol grubu ile EMA+2 mg Karnozin arasında kontrol grubuna göre hücre sayılarında azalma olduğu tespit edilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$) (Grafik 4.1). EMAG grubu ile EMA+20 mg Karnozin grubu arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

EMAG grubu purkinje hücre sayıları kontrol ve EMA+2mgr ve EMA+20mg Karnozin grubuna göre daha düşük sayıda bulunurken ($p < 0.05$), EMA+2 mg Karnozin grubu ile EMF grubu Purkinje hücre sayıları arasında istatistiksel fark tespit edilmedi ($p > 0.05$).

Gruplar arası p değerleri Tablo 4.6 'de verilmiştir. Kontrol gurubuna göre EMAG gurubu Purkinje hücre sayısında %50'den fazla azalma olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.5).

Tablo 4.6: İkili karşılaştırmada kullanılan grupların istatistiksel p değerleri (Mann Whitney-U testi)

İkili karşılaştırılan gruplar	P değeri
Kontrol-EMAG	0.040*
Kontrol-EMA+2 mg	0.040*
Kontrol-EMA+20 mg	0.240
EMAG-EMA+2 mg	0.132
EMAG-EMA+20 mg	0.026*
EMA+2 mg-EMA+20 mg	0.093

*:p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı, EMAG:Elektromanyetik alan, EMA+2 mg Kar:EMA+2mg Kar, EMA+20 mg Kar:EMA+20mg Karnozin

Her bir rata ait Purkinje hücre sayıları Tablo 4,5 'de görülmektedir. Bunun yanısıra gruplar arası ortalama, minimum, maksimum ve standart sapma değerleri Tablo 4,1-4,4'te verilmiştir. Kontrol grubunda bulunan Cerebellum Purkinje hücre sayıları 244.305, EMAG grubunda 11.758, EMA+2 mg Karnozin 147.442 ve EMA+20 mg Karnozin ise 189.447 olarak bulunmuştur (Tablo 4,1).

Her bir rata ait varyasyon katsayıları ise 0.20 ila 0.37 arasında tespit edilmiştir (Tablo 4,1-4,4).

Her bir rata ait hata katsayısı değerleri yazılım tarafından otomatik olarak hesaplanmıştır. Buna göre Gundersen (m=0 ve 1 değerlerine göre) ve Schmitz-Hof ve Cruz-Orive/Geiser'a göre hesaplamalar yapılmıştır. Aşağıda her bir rata ait ve her bir gruba hata katsayıları tablo şeklinde verilmiştir (Tablo 4,5).

Hata katsayısı hesaplama stereolojik olarak yapılan çalışmalarda önem arz etmektedir. Hata katsayısı değerlerine bakılarak çalışmanın dizaynı ya da örneklem seçimi ve örneklem sayısı gibi parametreler değiştirilerek çalışmadan daha doğru sonuçlar elde edilebilir. Çalışma sonucu elde edilen hata katsayıları incelendiğinde bu değerlerin bir miktar yüksek olduğu görülmektedir. Ancak Cruz-Orive/Geiser'e göre daha düşük değer aldığı görülmektedir. Dolayısıyla araştırmada elde ettiğimiz hata katsayı değerleri çalışmamızın uygun hata ile tamamlandığını göstermektedir.

Tablo 4.7: Hata katsayı değerleri

Kontrol	Hata Katsayısı (Gundersen), m=0	Hata Katsayısı (Gundersen), m=1	1, tahmini Hata Katsayısı (Schmitz-Hof)	2, tahmini Hata Katsayısı (Schmitz-Hof)	Tahmini Hata Katsayısı (Cruz-Orive/Geiser)
1	0.17	0.10	0.116	0.100	0.003
2	0.32	0.12	0.141	0.104	0.204
3	0.16	0.12	0.145	0.121	0.000
4	0.15	0.13	0.137	0.134	0.048
Ortalama	0.20	0.12	0.13	0.11	0.06
EMAG					
1	0.15	0.12	0.171	0.122	0.005
2	0.38	0.18	0.199	0.162	0.228
3	0.33	0.18	0.209	0.167	0.167
4	0.16	0.10	0.114	0.095	0.139
5	0.18	0.10	0.115	0.094	0.115
6	0.19	0.17	0.194	0.164	0.063
Ortalama	0.23	0.14	0.167	0.134	0.120
EMA+2 mg kar 1	0.17	0.16	0.225	0.156	0.089
2	0.15	0.14	0.161	0.140	0.020
3	0.19	0.15	0.201	0.149	0.007
4	0.15	0.15	0.182	0.151	0.000
5	0.16	0.12	0.154	0.120	0.111
6	0.18	0.11	0.145	0.110	0.165
7	0.16	0.12	0.159	0.115	0.044
Ortalama	0.17	0.14	0.175	0.134	0.062
EMA+20 mg kar1	0.33	0.16	0.203	0.149	0.230
2	0.28	0.16	0.181	0.146	0.021
3	0.15	0.14	0.182	0.139	0.064
4	0.13	0.04	0.049	0.031	0.047
5	0.13	0.07	0.085	0.061	0.081
6	0.25	0.12	0.137	0.107	0.083
Ortalama	0.21	0.12	0.140	0.106	0.088

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

EMA'nın biyolojik etkileri 19. yüzyıl başından beri çalışma konusu olmuştur. 1950'den bu yana yoğun bir şekilde çalışılmaktadır. Birçok çalışmada elektromanyetik alanların baş dönmesi, yorgunluk, uykusuzluk ve bulantı gibi vücutta olumsuz etkilere neden olduğu bildirilmiştir (89). EMA'nın bazı çalışmalarda Parkinson hastalığı ve depresyon gibi nöropsikiyatrik patolojilerde terapötik etkileri olduğu düşünülmüştür (66). Düşük frekanslı EMA sonrasında immun sistem hücrelerinin işleyişinin değiştiğini ve tümör oluşumunu hızlandığı rapor edilmiştir (90). 900 MHz EMA'a maruz bırakılan ratlarda kortizol seviyeleri incelenmiş ve kortizol seviyelerinde artış olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanısıra testosteron seviyelerinde de azalma olduğu bildirilmiştir (68). Ayrıca 1800 MHz'lik EMA maruziyeti sonrasında ratların serum T3 ve T4 seviyelerinde artış olduğu rapor edilmiştir (91). Elektromanyetik alanların hücre ve doku üzerine etkisinin yanı sıra sinir, kardiyovasküler ve oküler sistemleri de etkileyebileceği bildirilmiştir (92). Yapılan diğer bir çalışmada farelerin bilişsel işlevleri üzerine cep telefonu radyasyonunun etkisi incelenmiştir. 4 gün boyunca mevcut olan cep telefonun 900 MHz EMA yayacak şekilde farelere günde 2,5 saat uygulanmış. İstatiksel analize göre öğrenme sırasında EMA'a maruz kalan hayvanların sham grubundaki hayvanlara kıyasla sonradan kazanılan uzaysal (mekansal) bilginin aktarımında eksiklik olduğu bulunmuştur (93). Cep telefonunun çok kullanılmasının saç ve yüz derisinde yapısal değişikliklere neden olarak, saç dökülmesine ya da zıt olarak aşırı kıllanmaya neden olabileceği bildirilmiştir (71) Yapılan çalışmalarda bir kişi eğer cep telefonunu gömleğin kalbe yakın kısmında taşıması sonucu kalp ritim bozukluğuna neden olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca cep telefonu taşımanın kalp pili kullanıcılarında kalp pillerinin etkilendiği, kalp kasları üzerinde hücresel değişiklikler meydana getireceği de ifade edilmiştir.(72). Cep telefonlarının konuşma esnasında kulağa yakın

olarak kullanılması sonucu vücut denge fonksiyonlarını etkilediği, kulağın işitme fonksiyonları ile ilgili yapılarında değişiklik olduğu bildirilmiştir (73). Erkeklerin özellikle telefonların yan ceplerinde taşımalarından dolayı üreme ve cinsel fonksiyonlarının ve sperm kalitesinin olumsuz etkilendiği rapor edilmiştir (74). Ayrıca kadınların erkeklere göre daha fazla cep telefonu kullandığı düşünülmektedir. EMA maruziyeti sonrasında kadınlarda erkeklere göre birçok patolojinin daha fazla sıklıkla görülebileceği bildirilmiştir (4, 64).

Yine yapılan bir çalışmada fibromiyaljili hastaların düşük frekans ve yoğunluğundaki elektromanyetik alana maruziyet sonucu ağrı ve yorgunluğu azalttığı, aynı zamanda hücre metabolizmasını iyileştirerek, kan oksijenizasyonunu artırdığı bildirilmiştir. Böylece düşük yoğunluktaki EMA'nın dirençli depresyon ve multiple skleroz semptomlarını da azaltabileceği de düşünülmektedir (94). 1997'de Lai ve arkadaşları (95) radyofrekans dalgalarına maruz kalmanın rat beyin hücrelerinde DNA kırıkları oluşturduğunu bildirmiştir. Yine yapılan çalışmalarda EMA maruziyetinden sonra in vitro modellerdeki en sık görülen bulgulardan biri oksidatif strese bağlı hücrelerde hasar oluşması olduğu bildirilmiştir (96). Genellikle radyo frekansa maruz kaldıktan sonra memeli beyin morfolojisi, biyolojisi, nöronal ağ fonksiyonlarını araştırmak için çoğunlukla kemirgenler kullanılmıştır (96). Yine yapılan çalışmalarda RF'nin nörotransmitterler üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Erişkin ratlarda günlük 1 saat boyunca 1800 MHz EMA sonrasında seratonin düzeyleri artmış, dopamin seviyeleri azalmıştır (97). Maskey ve arkadaşlarının (98) yaptıkları bir çalışmada fareler 1 ay boyunca gün de 5 saat 835 MHz'lik RF'ye maruz bırakılmışlardır. Bunun sonucunda EMA'a karşı koruyucu olarak kullanılan red ginseng extract (RG)'nin radyoprotektif etkisinin olduğu bildirilmiştir. Beynin fizyolojik süreçleri için gerekli olan serbest radikallerin, EMA odaklı oksidatif stresin olası etkisine bağlı oluşabileceğine, özellikle EMF'nin nörodejeneratif hastalıkların etyolojisinde katkısının bulunabileceğine yönelik çalışmalar bulunmaktadır (99).

Konu ile ilgili yapılan çalışmaları incelediğimizde bazı çalışmalarda EMA uygulaması sonucu beyincik Purkinje hücre sayıları stereolojik olarak incelenirken bazılarında ise hipokampus içerisinde bulunan piramidal hücreler sayılmıştır (8).

Sönmez ve arkadaşlarının (8) yapmış oldukları çalışmada 16 haftalık dişi sıçanlarda 900 MHz EMA maruziyeti oluşturmuşlar ve maruziyet sonrasında beyincikteki Purkinje

hücre sayılarında azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada kontrol grubu, sham grubu ve elektromanyetik alana maruz kalan grup olarak sıçanlar 3 gruba ayrılmış ve EMA grubundaki sıçanlar, 28 gün boyunca günde 1 saat EMA'a maruz bırakılmışlardır. Kruskal Wallis testine göre istatistiksel analiz yapılmış ve karşılaştırma için Mann-Whitney U testi uygulanmıştır. Disektör partikül sayısı kontrol grubu (n=5) 209, sham grubunda (n=6) 180 ve elektromanyetik alana maruz kalan grup (n=6) 209 olarak bulunmuştur. Sayılan adım sayısı kontrol grubunda 152, sham grubunda 145, elektromanyetik alana maruz kalan grupta 148 olarak tespit edilmiştir. EMA'a maruz kalan grupta beyincikteki Purkinje hücre sayısında diğer gruplara göre önemli ölçüde azalma olduğu bildirilmiştir.

Konu ile ilgili yapılan bir çalışmada 835 MHz EMA maruz kalan farelerde piramidal hücre sayısında azalma olduğu bildirilmiştir (98). Yine yapılan başka bir çalışmada korteks, hipokampus ve bazal ganglionlarda EMA sonrasında hücre hasarı olduğu rapor edilmiştir (3).

Odacı ve arkadaşları (100) dişi sıçanlarda doğum öncesi diklofenik sodyumun Purkinje hücre sayısı üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışmalarında 16 haftalık dişi sıçanlar kullanılmıştır. Diklofenik sodyum uygulanan grupta kontrol grubuna göre Purkinje hücre sayısında anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir.

Odacı ve arkadaşlarının (4) yaptıkları başka bir çalışmada 900 MHz'lik EMF'nin gyrus dentatus granüler hücre sayısı üzerine etkisiyle ilgili çalışmada sıçanlar gebeliğin ilk günü ve son günü boyunca günde 1 saat EMA'a maruz bırakılmışlardır. EMA maruziyeti her gün aynı saatte yapılmıştır. Kontrol grubundan da 5, EMA'a maruz bırakılan grupta da 6 hayvan kullanılmıştır. Sonuç olarak toplam granüler hücre sayısında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu bildirilmiştir. Toplam granüler hücre sayısı kontrol grubu (n=5) 1.235.000 bulunurken elektromanyetik alana maruz bırakılan grupta (n=6) 994.000 olarak bulunmuştur.

Baş ve arkadaşlarının (7) yaptıkları diğer bir çalışmada 900 MHz'lik EMA'ın yetişkin dişi sıçanlarda hipokampusteki piramidal hücre sayısı üzerine etkisi incelenmiştir. Bu çalışmada da 16 haftalık dişi sıçanlar kullanılmış ve 28 gün boyunca günde 1 saat EMA'a maruz bırakılmıştır. Piramidal hücre sayılarında önemli sayıda azalma olduğu tespit edilmiştir. Toplam piramidal hücre sayısı kontrol grubunda (n=6) 595.000, sham

grubunda (n=6) 600.000 ve elektromanyetik alana maruz bırakılan grupta (n=6) 504.000 olarak hesaplanmıştır

Yapılan başka bir çalışmada gelişmekte olan rat beyinciğinde alkole bağlı hücre kaybı üzerine melatoninin etkisi incelenmiştir. Ratlar doğumdan sonra 4-9 günler arasında alkol ve alkol+melatonine maruz bırakılmıştır. Bu çalışmada cerebellar vermisteki hücreler stereolojik olarak sayılmıştır. Sonuç olarak beyin gelişimi sırasında alkole maruz kalan grupta Purkinje hücre sayılarında belirgin azalma tespit edilmiştir. Çalışma sonucu melatoninin alkolün yan etkisini azaltmada etkili olmadıkları bildirilmiştir. (101)

Yine başka bir çalışmada yenidoğan civcivlerde pineal bezin çıkarılması sonucunda Purkinje hücre sayılarında azalma olduğu bildirilmiştir. Çalışmada 5 kontrol (pinealektomi yapılmayan), 5 sham ve 5 pinealektomi yapılan hayvan kullanılmıştır. Her bir hayvanın granüler, moleküler ve beyaz cevher hacmi hesaplanmış ve hacimler arasında belirgin fark bulunmamıştır. Pinealektomi yapılan grupta Purkinje hücre sayılarında belirgin azalma olduğu tespit edilmiştir. Purkinje hücre sayısı kontrol grubunda 314484 ± 14597 , Sham grubunda 353709 ± 3715 ve pinealektomi yapılan grupta 193746 ± 4533 olarak hesaplanmıştır (102).

Literatürde cerebellar yaralanmalar sonucu Purkinje hücre sayısında azalma olduğu bildirilmektedir (103).

Wei-Jung Chen ve arkadaşlarının (104) ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada nikotinin doğum öncesi cerebellar vermis gelişiminde etkisini incelenmişlerdir. Doğum öncesi özellikle ilk iki trimesterde nikotine maruz kalmanın cerebellar vermis gelişimi sırasında Purkinje hücrelerini azaltıp azaltmadıklarını belirlemek için çalışmayı planlamışlardır. Doğum öncesi ratlara 0 mg, 15 mg ve 25 mg nikotin subkutan olarak enjekte edilmiş, 21 gün sonra ratlar sakrifiye edilmişlerdir. Çalışma sonucunda doğum öncesi dönemde nikotin maruziyeti ile ratların önbeyin ve beyincik ağırlıklarında fark olmadığı tespit edilmiştir. Tüm gruplarda Purkinje hücre tabaka hacimlerinde belirgin fark bulunamadığı ancak Purkinje hücre sayısında azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir.

Yine Wei-Jung A Chen ve arkadaşlarının (105) yaptıkları başka bir çalışmada gebelik öncesi ve gebelik süresince nikotine maruz bırakılan ratların hipokampus ve

beyinciklerinde hücre sayılarını incelemişlerdir. Sonuç olarak piramidal, granüler, Purkinje hücre sayılarında azalma olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda 3 grup rat kullanılmış olup birinci gruptaki ratlar kontrol grup olup herhangi bir işleme maruz bırakılmamıştır. Kontrol grubunda toplam Purkinje sayısı 244.305, EMAG grubunda 111.758, EMA+2 mg karnozin uygulanan grupta 147.442 ve EMA+20 mg karnozin uygulanan grupta 189.447 olarak bulunmuştur.

Lycopersicon esculentum gibi bir antioksidan maddenin doğum öncesi ve doğum sonrası dönemlerde cerebellumun granül ve Purkinje hücrelerini EMA kaynaklı apoptoz ve nörodejenerasyona karşı koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir. (106)

Stvolinsky ve arkadaşları (14) karnozinin ratlarda beyinde hipoksi oluşturularak iskemi üzerine etkisi incelenmişlerdir. Çalışmada ratlarda çift taraflı karotid arter tıkanıklığı oluşturulmuş, karnozinin intraperitoneal enjeksiyondan sonra 30-45 dk zirve seviyede etkisinin azaldığı bulunmuştur. Karnozinin mortaliteyi azalttığı ve nörolojik fonksiyonları iyileştirdiği bildirilmektedir. Sonuç olarak karnozinin anti-iskemik bir ilaç olarak ilerde kullanılacağı sonucuna varılmıştır.

Akut böbrek yetmezliği olan sıçanlarda karnozinin koruyucu etkisi ile ilgili çalışma yapılmış, iskemik perfüzyon modeliyle akut böbrek yetmezliği oluşturulmuş, akut böbrek yetmezliği sol böbrek arter ve ven tıkanıklığı ile reperfüzyonu takiben 45 dk sonra gerçekleştirilmiştir. 2 hafta sonra nefrektomi yapılarak reperfüzyondan 24 saat sonra karnozin intracerebroventriküler olarak enjekte edilmiştir. Sonuçta karnozinin iskemi sonrasında böbrek hasarını azalttığı bildirilmiştir (107).

Rajanikant ve arkadaşlarının (15) yaptıkları çalışmada farelerde beyin iskemisi sonucunda karnozinin nöroprotektör etkisi olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada fokal iskemi modeli oluşturularak serebral arterlerde tıkanıklık oluşturulmuş, iskemiden 30 dk öncesinde karnozin intraperitoneal olarak farelere enjekte edilmiştir. Çalışmada 40 fare kullanılmış olup 4 grup oluşturulmuştur. Kontrol grubuna sadece saline verilmiş, diğer 3 gruba 100 mg/kg, 500 mg/kg ve 1000 mg/kg karnozin enjekte edilmiştir. İskemiden 24 saat sonra fareler kurbanı edilmiştir. Çalışma sonucunda karnozinin nöroprotektif etkisinin olması için 500 mg/kg ve 1000 mg/kg a ihtiyaç olduğu tespit edilmiştir.

Min ve arkadaşlarının (108) yaptıkları çalışmada karnozinin nöronları koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. Yine karotid arter tıkanması sonucu beyin iskemisi oluşturulan

sıçanlarda karnozinin koruyucu etkisi incelenmiş, iskemiden 45 dk öncesi 150 mg/kg karnozin ip olarak ratlara verilmiştir. Sonuç olarak karnozinin anti-iskemik etkisi olduğu bildirilmiştir (109). Karnozin ve siklosporinin travmatik beyin hasarında etkisi incelenmiş, sıçanlara hasar öncesi 7 gün boyunca ip olarak 200 mg/kg karnozin enjekte edilmiştir. Sonuç olarak karnozinin travmatik beyin hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (17). Hipkiss ve arkadaşlarının (45) yaptıkları çalışmada karnozinin sinir hücrelerini oksidatif stres hasarına karşı koruyucu etkisini göstermişlerdir. Yaşlanmaya bağlı olarak ortaya çıkan görme bozukluklarını geciktirmekte ve kataraktı da etkili şekilde önlediği bildirilmiştir. Stvolinsky ve arkadaşlarının (14) çalışmalarında deneysel beyin iskemisinde karnozin mortaliteyi azalttığı ve hayvanların nörolojik fonksiyonlarına yararlı etki gösterdiği kanıtlanmıştır.

Faddah ve arkadaşlarının (17) yapmış olduğu çalışmada, karnozin in vitro inme modelinde oksijen-glikoz yokluğu durumunda mortalitenin azaltılmasında işlevsel yeteneği geliştirmek ve hassas biyokimyasal belirteçlerin seviyesini azaltmak için sıçan ve gerbillerde global iskemi sonrasında nöronal kültürleri koruduğu gösterilmiştir. Stvolinsky ve arkadaşları (13) beyin iskemisi oluşturulan deneklerde karnozinin nöroprotektör etkisi olduğunu göstermişlerdir. Kozan ve arkadaşlarının (18) yaptığı çalışmada penisilin enjeksiyonundan sonraki anaflaktik şokta karnozin uygulanmış ve şokun olumsuz etkilerini azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca karnozinin ileride epilepsi ve sinir sistemini koruyucu, nörotoksik etkilerin koruyucu etkisi olabileceği ifade edilmiştir. Farelerde yapılan çalışmalarda karnozinin özellikle D karnozinin omurilik yaralanmalarında hasarı azalttığı bildirilmiştir. Spinal iskemi oluştururken hayvanlarda T5-T8 seviyesinde laminektomi yapılmış, T6-T7 seviyesinde anevrizma klembi kullanılmıştır. Karnozin omurilik hasarından 1 ve 6 saat sonrasında 150 mg/kg intraperitoneal olarak uygulanmış, farelerde L ve D karnozin enjekte edilmiştir. D karnozinin hasarı azaltmada daha etkili olduğu ortaya çıkarılmıştır (110). Yapılan çalışmalarda abdominal aorta iskemi reperfüzyonuna bağlı gelişen akciğer hasarına karnozinin etkisi incelenmiş, sonuçta karnozinin iskemi sonrası oluşan akciğer hasarını önlemede yararlı etkileri olduğu düşünülmüştür. Çalışmada 24 hayvan kullanılmış, iskemide aort 30 dk boyunca klemplenmiştir. Reperfüzyondan 60 dk sonra klemp kaldırılmış, klemp kaldırılmadan 10 dk öncesinde karnozin 250 mg/kg olarak intraperitoneal enjekte edilmiştir. Karnozinin abdominal aorta iskemisinde gelişen akciğer hasarını azalttığı ortaya çıkarılmıştır (111). Boldyrev ve arkadaşlarının (112)

yaptıkları çalışmada serbest radikallere karşı karnozin ve taurinin koruyuculuğu incelenmiştir. Karnozinin serbest radikal düzeyini azalttığı, hücre canlılığını arttırdığı saptanmıştır. Ayrıca yapılan başka bir çalışmada karnozinin retina hasarı sonrasında retinadol gangliyon hücreleri koruyucu etkisi olduğu açıklanmıştır (113).

Purkinje hücre sayısının bazı hastalıklarda azaldığı bilinmektedir. Farelerde otoimmün ensefalit oluşturulmuş ve sonuçta cerebellum Purkinje sayısı belirlenmiştir. Sonuçta otoimmün ensefalit sonucu cerebellum Purkinje sayısında azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir (114).

Purkinje hücre sayısının hesaplandığı literatür incelendiğinde normal olgularda 200 ila 400 bin civarında hesaplandığı bildirilmektedir.

Çalışmalar incelendiğinde karnozinin cerebellum Purkinje sayısı üzerine etkisini inceleyen bir araştırma bulunmamaktadır (Tablo 5.1). Bunun yanı sıra melatonin gibi nöroprotektif ajanların kullanıldığı çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Bunun dışında EMA'nın Purkinje hücre sayısında azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir. Aynı zamanda X ışınlarının ve alkolün Purkinje hücre sayılarında azalmaya neden olduğu da bildirilmiştir (115, 116).

Tablo 5.1. Literatür taraması sonucu yapılan çalışmalarda Purkinje hücre sayıları

Rat özellikleri/bölge	Cinsiyet	Sakrifiye yaşı	Maruz kaldığı süre	Toksik ajan veya grup	Hücre Sayısı	Metot	Kaynak
Wistar serebellum	Erkek	Adolesan	Adolesan 10 gün	Demir Flunarizin Demir+Flunarizin Kontrol	200.201 298.658 282.658 310.441	Optik Fraksiyon	Kozan ve ark. 2009
Sprague-dawley Serebellar vermis	Erkek ve dişi	Postnatal 10 gün	Prenatal	Nikotin 15 mg Nikotin 25 mg Placebo Kontrol	217.444 221.348 216.077 202.315	Optik Disektör	Chen ve Edwards, 2003
Wistar Serebellum	Erkek	4 haftalık 20 haftalık	Embriyonik 5-15 gün Embriyonik 5-15 gün	Kontrol Diklofenik sodyum Kontrol Diklofenik sodyum	383.873 296.218 416.111 262.363	Optik Fraksiyon	Rağbetli ve ark.2007
Sprague-dawley Serebellar vermis	Erkek ve dişi	Postnatal 10 gün	Prenatal	Alkol 2,5/kg Alkol 4,5/kg Alkol 6,5/kg Kontrol	426.000 355.000 345.000 453.000	Optik Disektör	Maier ve West, 2001
Wistar serebellum	Erkek	Postnatal 7 hafta	Embriyonik 14 Embriyonik 15 Embriyonik 16 Kontrol	X ışınlama X ışınlama X ışınlama Kontrol	117.500 196.300 285.100 304.800	Optik Fraksiyon	Li ve ark. 2002

Çalışmamız sonucunda EMA’A maruz kalan ratların cerebellum Purkinje hücre sayılarının kontrol grubuna göre düşük bulunduğu tespit edildi. 2 mg karnozinin EMA ile beraber uygulandığında EMAG grubuna kıyasla hücre sayısında artışa neden olduğu ancak aralarındaki farkın istatistiksel öneme sahip olmadığı tespit edildi. Ancak 20 mg karnozin uygulandığında hücre sayısının kontrol grubuna yaklaştığı tespit edildi. Sonuçta karnozinin 20 mg gibi bir ortalama dozda nöroprotektif etkisinin olduğu ortaya çıkarılmıştır.

6.KAYNAKLAR

1. Juutilainen J, de Seze R. Biological effects of amplitude-modulated radiofrequency radiation. *Scandinavian Journal of Work Environment Health* 1998; 24: 245-254.
2. Koyu A, Cesur G, Özgüver F et al. Effects of 900 MHz electromagnetic field on TSH on thyroid hormones in rats. *Toxicology Letters* 2005; 157: 257-26.
3. Salford LG, Brun AL, Eberhardt JL, Malmgren L, Persson BR. Nerve cell damage in mammalian brain after exposure to microwaves from GSM mobile phones. *Environmental Health Perspectives* 2003; 111: 881-883.
4. Odacı E, Baş O, Kaplan S. Effects of prenatal exposure to a 900 MHz electromagnetic field on the dentate gyrus of rats; a stereological and histopathological study. *Brain Research* 2008; 1238: 224-229.
5. Feychting M, Ahlbom A. Magnetic Fields, Leukemia, And Central Nervous System Tumors In Swedish Adults Residing Near High-Voltage Power Lines. *Epidemiology* Cambridge, Mass 1994; 5: 501-509.
6. Taktak F, Tiryakioğlu, Yılmaz İ. GPS’de kullanılan elektromanyetik dalgaların insan sağlığına etkilerinin irdelenmesi.2.Ulusal Mühendislik Ölçmeleri Sempozyumu, 23 Kasım 2005, 641, 2005.
7. Odacı E, Kaplan S, Acer N, Uçak K, Çolakoğlu S. 900 MHz electromagnetic field exposure affects qualitative and quantitative features of hippocampal pyramidal cell in adult rat. *Brain Research* 2009; 1265: 178-185.

8. Sönmez OF, Odacı E, Baş O, Kaplan S. Purkinje cell number decreases in the adult female rat cerebellum following exposure to 900 MHz electromagnetic field. *Brain Research* 2010; 1356: 95-101.
9. Bonfinti L, Peretto P, De Marchis S, Fasolo A. Carnosine related dipeptides in the mammalian brain. *Prog Neurobiol* 1999; 59: 333-353.
10. Boldyrev A, Bulygina E, Leinsoo T et al. Protective of neuronal cells against reactive oxygen species by carnosine and related compounds. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 2004; 137: 81-88.
11. Boldyrev A, Song R, Lawrence D, Carpenter DO. Carnosine protects against excitotoxic cell death independently of effects on reactive oxygen species. *Neuroscience* 1999; 94: 571-577.
12. Zhang, X, Song L, Cheng X et al. Carnosine pretreatment protects against hypoxia-ischemia brain damage in the neonatal rat model. *Eur J Pharmacol* 2011; 667: 202-207.
13. Stvolinsky SL, Kukley ML, Dobrota D et al. Carnosine an endogenous neuroprotector in the ischemic brain. *Cell Mol Neurobiol* 1999; 19: 45-56.
14. Stvolinsky SL, Dobrota D. Anti-ischemic Activity of Carnosine. *Biochemistry* 2000; 65: 849-55.
15. Rajanikant GK, Daniel Zemke, Marie-Claude et al. Carnosine is neuroprotective against permanent focal cerebral ischemia in mice *Stroke* 2007; 38: 3023-31.
16. Ok-Nam Bae, Kelsey Serfozo, Seung-Hoon Baek et al. Safety and efficacy evaluation of carnosine, an endogenous neuroprotective agent for ischemic stroke. *2012 Stroke*. 2013; 44: 205-1217.
17. Faddah LM, Nayira A, Abdel Baky et al. Carnosine and Cyclosporine A alleviate brain damage after traumatic brain injury in rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2012; 6: 3305-3312.
18. Kozan R, Sefil F, Bağırıcı F. Anticonvulsant effect of carnosine on penicilin-induced epileptiform activity in rats. *Brain Res* 2008; 1239: 249-255.

19. Boldyrev A, Fedorava T, Steparava M, Dobratvorskaya I, Illarioshkin S. The Carnosin increases efficiency of DOPA therapy of Parkinson's disease; a pilot study. *Rejuvenatron Res* 2008: 821-827.
20. Lalonde R ve Botez MI. The cerebellum and lerning processes in animals. *Brain Res Rev* 1990; 15: 325-332.
21. Altman J and Das GD. Postnatal origin of microneurones in the rat brain. *Nature* 1965; 207: 953-956.
22. Daughty ML, Lohof A, Selimi F, Delhay-Bouchoud N, Mariani J. Afferent-target cell interactions in the cerebellum: negative effect of granule cells on purkinje cell development in lurcher mice. *J Neurosci* 1999; 19: 3448-3456.
23. West MJ, Slomianka L, Gundersen HJG. Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator. *The Anatomical Record* 1991; 231: 482-497.
24. Erdoğan G, Emel K. *Embriyoloji Atlası*. Esnaf Ofset Matbaacılık, Sivas 1997: syf 180-181.
25. Dere F, *Atlaslı Nöroanatomi Fonksiyonel Nöroloji*, 4. baskı, Nobel Kitabevi, Adana 2012: 11-106.
26. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. *Temel Histoloji* (7.baskı), Çeviri editörü: Prof. Dr. Yener Aytekin, Editör yardımcısı: Dr. Seyhun Solakoğlu, Barış Kitapçılık, İstanbul, 1993: syf 196.
27. Mehmet Yıldırım. *Temel Nöroanatomi*, Nobel Kitabevi, İstanbul, 2000: syf 11.
28. Sadler TW. *Medical Embriyoloji-Langmann*. Çeviren: A. Can Başaklar, Palme Yayınları, Ankara, 2011; syf 293.
29. Gökman GF. *Sistematik Nöroanatomi*. Nobel Tıp Kitabevi, İzmir, 2003: syf 625
30. HR Michael. *Histology a Text and Atlas*. Wojciech Pawlina, Baltimore, 2006: syf 361.
31. Öber A, Gamze Tİ. *Histoloji*, Nobel Yayın Dağıtım, 2010: syf 163.
32. Netter FH. *Temel histoloji atlası*, Güneş Tıp Kitabevi, Ankara, 2009: syf 121-122.
33. Parker Ş. *Histoloji*, Uludağ Üniversitesi Basımevi, 2.baskı, Bursa, 1993.

34. <http://www.bioon.com/bioline/neurosci/course/cerebell.html> (23.06.2015)
35. Barlow J. Beyincik ve adaptif kontrol, 2008; 22:94–95.
36. Drake R. L. Grays anatomi, 2011.
37. Russell LS. Intelligent motion control with an artificial cerebellum. Thesis, University of Auckland, 1998: 21-26.
38. Taner D. Fonksiyonel Nöroanatomi, (10. Baskı), ODTÜ Yayıncılık, Ankara, 2011: syf 89.
39. Sarsılmaz M. İnsan anatomisi, Nobel Yayınevi, İstanbul, 2010 syf 402-408.
40. http://intranet.tdmu.edu.ua/data/kafedra/internal/anatomy/classes_stud/uk/stomat/ntn/2/15%20%D0%94%D0%BE%D0%B2%D0%B3%D0%B0%D1%81%D1%82%D0%B8%D0%B9%20%D0%BC%D0%BE%D0%B7%D0%BE%D0%BA.%20IV%20%D0%A8%D0%BB%D1%83%D0%BD%D0%BE%D1%87%D0%BE%D0%BA.%20%D0%9F%D1%80%D0%BE%D0%BC%D1%96%D0%B6%D0%BD%D0%B8%D0%B9%20%D0%BC%D0%BE%D0%B7%D0%BE%D0%BA..htm (22.05.2015).
41. <http://what-when-how.com/neuroscience/brainstem-ii-pons-and-cerebellum-part-2> (24.05.2015)
42. Arıncı K, Elhan A. Anatomi (4. Baskı), Günes Kitabevi, Ankara, 2006: syf 299-313.
43. http://psychology.wikia.com/wiki/Cerebellar_nucleus#Anatomy (29.05.2015)
44. <http://m.medicastore.com/index.php?mod=penyakit&id=687> (29.05.2015)
45. Hipkiss AR. Carnosine, a protective anti aging peptide? Int Biochem Cell Bio 1998; 30: 863-68.
46. Murphey WH, Patchen L, Lindmark DG. Carnosine; a fluorometric assay and demonstration of two electroporetic forms in human tissue extracts. Clin Chim Acta 1972; 42: 309-314.
47. Bakardjiev A, Baver K. Biosynthesis release, and uptake op carnosine in primary cultures. Biochemistry 2000; 65: 779-82.

48. Barger G, Tutin F. Carnosine constitution and synthesis. *Biochem J* 1918; 12: 402-7.
49. Garibella SE, Sinclair AJ. Carnosine; physiological properties and therapeutic potential. *Age and aging* 2000; 29: 207-210.
50. Lenney JF, George RP, Weiss AM et al. Human serum carnosinase: characterization, distinction from cellular carnosinase, and activation by cadmium. *Clinica chimica acta, International Journal of Clinical Chemistry* 1982; 123: 221-31.
51. Bondarenko TI, Makletsova MG, Sukhomovskii BI. Concentration of free amino acids and homocarnosine dipeptide in the cerebrospinal fluid of children with hydrocephalus. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni Korsakova* 1983; 83: 1484-8.
52. Lenney JF, Kan SC, Homocarnosine A. Hog kidney dipeptidase with A broader specificity than carnosine. *Arch Biochem Biophys* 1997; 184: 257-266.
53. Fujii T, Takaoka M, Muraoka T et al. Preventive effect of L-carnosine on ischemia/reperfusion-induced acute renal failure in rats. *Eur J Pharmacol* 2003; 474: 261-7.
54. Budzen S, Rymaszewska J. The biological role of carnosine and its possible applications in Medicine. *Adv Clin Exp Med* 2013; 22: 739-744.
55. Di Paola R, Impellizzeri D, Salinari AT et al. Administration of carnosine in the treatment of acute spinal cord injury. *Biochem Pharmacol* 2011; 82: 1478-1489.
56. Griffiths. DJ. Elektromanyetik Teori. Arte Güven Yayınları, İstanbul, 1996: 404.
57. Susskind C. Elektrik Mühendisliği dergisi, 1978; 259: 276-278.
58. Çınar K. Elektromanyetik alan. *Bilim Teknik Dergisi*, 2006: syf 79-81.
59. JR Goldsmith. Epidemiological Evidence of Radio Frequency effects on health in military. Broadcasting and Occupational study Bioelectromagnetic Society, Tampa, 1998; 1: 47-57.
60. Sarvas J. Basic Mathematical and Electromagnetic Concepts of the Biomagnetic Inverse Problem. *Phys Med Bio* 1987; 32: 11-22.

61. Manikonda, PK, Rajendra P, Devendronoth D et al. Influence of extremely low frequency magnetic fields on Ca signaling and NMDA receptor functions in rat hippocampus. *Neuroscience Letters* 2007; 413: 145-149.
62. Mausset AL, de Seze R, Montpeyroux F, Privat A. Effects of radiofrequency exposure on the GABAergic system in the rat cerebellum: clues from semi-quantitative immunohistochemistry. *Brain Res* 2001; 912: 33-46.
63. Hiatenen M. Establishing the health risks of exposure to radio frequency fields requires multidisciplinary Research. *Scand J Work Environ Health* 2006; 32: 169-170.
64. Bas O, Odaci E, Mollaoglu H, Ucok K, Kaplan S. Chronic prenatal exposure to the 900 megahertz electromagnetic field induces pyramidal cell loss in the hippocampus of newborn rats. *Toxicol Ind Health* 2009; 25 :377-84.
65. Panagopoulos DJ, Chavdoula ED, Nezis IP, Margaritis LH. Cell death induced by GSM 900-MHz and DCS 1800-MHz mobile telephony radiation. *Mutation Research* 626; 69-78.
66. Bassett CA. Beneficial effects of electromagnetic fields. *J Cell Biochem* 1993; 4: 387-93.
67. Adiloğlu AK ve ark. Cep telefonlarından yayılan elektromanyetik alanın sıçan bağışıklık sistemi üzere etkileri. *Nobel med* 2012; 8: 41-48.
68. Koyu A, Cesur G, Özgüner F, Elmas O. Cep telefonlarından yayılan 900 MHZ alanın serum kortizol ve testesteron hormonu üzeri etkisi. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 2005: 426-30.
69. Akdag T, Tiftik AM, Sarıyıldız L. 1,5 T (Tesla)'lık Manyetik Alana Maruziyet Sonrası Bazı Biyokimyasal Parametrelerde Gözlenen Değişiklikler. *J Clin Anal Med* 2012; 3: 435-7.
70. Dasdağ S, Balcı K, Kaya H, Çelik MS. Homone levels of people occupationally expased to radrofrequencies. *Biochem Arc* 1999; 15: 255-60.
71. Vianale G, Reale M, Amerio P et al. Extremely low frequency electromagnetic field enhances human keratinocyte cell growth and decreases proinflammatory chemokine production. *Br J Dermatol* 2008; 158: 1189-96.

72. Andrzejak R, Poreba R, Poreba M et al. The influence of the call with a mobile phone on heart rate variability parameters in healthy volunteers. *Ind Health* 2008; 46: 409-17.
73. Parazzini M, Brazzale AR, Paglialonga A et al. Effects of GSM cellular phones on human hearing: the European project "GUARD". *Radiat Res* 2007; 168: 608-13.
74. Chung MK, Lee SJ, Kim YB et al. Evaluation of spermatogenesis and fertility in F1 male rats after in utero and neonatal exposure to extremely low frequency electromagnetic fields. *Asian J Androl* 2005; 7: 189-94.
75. Özgüner F, Mollaoglu H. Manyetik alanın organizma üzerindeki biyolojik etkileri *SDÜ Tıp Fak Derg* 2006; 13: 38-41.
76. Weibel ER. Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. *Int Rev Cytol* 1969; 26: 235-302.
77. Acer N, Sahin B, Usanmaz M, Tatolu H, Irmak Z. Comparison of point counting and planimetry methods for the assessment of cerebellar volume in human using magnetic resonance imaging: A stereological study. *Surg Radiol Anat* 2008; 30: 335-339.
78. Acer N, Sahin B, Ucar T, Usanmaz M. Unbiased estimation of the eyeball volume using the Cavalieri principle on computed tomography images. *J Craniofac Surg* 2009; 20: 233-7.
79. Acer N, Cankaya MN, Işçi O et al. Estimation of cerebral surface area using vertical sectioning and magnetic resonance imaging: A stereological study. *Brain Res* 2010; 1310: 29-36.
80. Gundersen HJG and Jensen EB. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microscopy* 1987; 147: 229-263.
81. Sterio DC. The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector. *J Microscopy* 1984; 134: 127-136.
82. Gundersen HJG. Stereology of arbitrary particles. *J Microscopy* 1992; 143: 3-45.
83. <http://members.tripod.com/stereoloji/stereo.html> (23.05.2015).

84. Canan S, Şahin B, Ünal B et al. A method for estimation of the total number of the particles: The Türkiye Klinikleri J Med Sci 2002; 22: 30-46.
85. Aslan A, Nevres Aydoğan H, Atay T, Çömlekçi S. Cep telefonlarından yayılan 900 mhz frekans elektromanyetik alana kısa ve uzun dönem maruziyetin sıçanların kemik dokusu üzerine etkisi. Dicle Tıp Dergisi 2011; 38: 452-453.
86. Richard JM, Eva ME, Richard ISP. Purkinje cell degeneration, a new neurological mutation in the mouse. Nat Acad Sci USA 1976; 73: 208-212.
87. Gulturk S, Kozan R, Bostanci MO, Sefil F, Bagirici F. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase prevents iron-induced cerebellar Purkinje cell loss in the rat. Acta Neurobiol Exp (Wars) 2008; 68: 26-31.
88. Canan S, Pakkenberg B, Kaplan S, Aslan H. A stereological investigation on the effects of forebrain ischemia on hippocampal neuron number in chick. Neuroscience Research Communications 2002; 30: 27-33.
89. Savitz DA, Loomis DP. Magnetic field exposure in relation to leukemia and brain cancer mortality among electric utility workers. Am J Epidemiol 1995; 141: 123-34.
90. Simkó M, Mattsson MO. Extremely low frequency electromagnetic fields as effectors of cellular responses in vitro: possible immune cell activation. J Cell Biochem 2004; 93: 83-92.
91. Koyu A, Gökalp O, Özgüner F et al. Subkronik 1800 MHz elektromanyetik alan uygulamasının TSH, T3, T4, kortizol ve testosteron hormon düzeylerine etkisi. Genel Tıp Derg 2005; 15: 101-105.
92. Braune S, Riedel A, Schulte-Mönting J, Raczek J. Influence of a radiofrequency electromagnetic field on cardiovascular and hormonal parameters of the autonomic nervous system in healthy individuals. Radiat Res 2002; 158: 352-6.
93. Fragopoulou AF, Miltiadous P, Stamatakis A et al. Whole body exposure with GSM 900 MHz affects spatial memory in mice. Pathophysiology 2010; 17: 179-87.

94. Sutbeyaz N, Sezer F, Koseoglu SK. Low-frequency pulsed electromagnetic field therapy in fibromyalgia: a randomized, double-blind, sham-controlled clinical study. *Clin J Pain* 2009; 25: 722–728.
95. Lai H, Singh NP. Melatonin and a spin-trap compound block radiofrequency electromagnetic radiation-induced DNA strand breaks in rat brain cells. *Bioelectromagnetics* 1997; 18: 446-54.
96. Gherardini L, Ciuti G, Tognarelli S, Cinti C. Searching for the perfect wave: the effect of radiofrequency electromagnetic fields on cells. *Int J Mol Sci* 2014; 15: 5366-87.
97. Aboul Ezz HS, Khadrawy YA, Ahmed NA, Radwan NM, El Bakry MM. The effect of pulsed electromagnetic radiation from mobile phone on the levels of monoamine neurotransmitters in four different areas of rat brain. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013; 17: 1782-8.
98. Maskey D, Lee JK, Kim HR, Kim HG. Neuroprotective effect of ginseng against alteration of calcium binding proteins immunoreactivity in the mice hippocampus after radiofrequency exposure. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 812641.
99. Consales C, Merla C, Marino C, Benassi B. Electromagnetic fields, oxidative stress, and neurodegeneration. *Int J Cell Biol* 2012; 2012: 683897
100. Odaci E, Cihan OF, Aslan H, Ragbetli MC, Prenatal diclofenac sodium administration increases the number of Purkinje cells in female rats: a stereological study. *Int J Dev Neurosci* 2010; 28: 145-51.
101. Jedidiah J, Grisel and Wei-Jung A Chen. Antioxidant Pretreatment Does Not Ameliorate Alcohol-Induced Purkinje Cell Loss in the Developing Rat Cerebellum, *Clinical and Experimental Research* 2005; 7: 1223–1229.
102. Tunç AT, Turgut M, Aslan H et al. Neonatal pinealectomy induces Purkinje cell loss in the cerebellum of the chick: a stereological study. *Brain Res* 2006; 1067: 95-102.
103. Dusart I, Satela C. Loss of purkinje cell loss in adult rat cerebellum following protracted axotomy, degenerative changes and regenerative attempts of the severed axons. *J Comp Neurol* 1994; 347: 211-32.

104. Wei- Jung A Chen, Russell B Edwards. Prenatal nicotine exposure does not cause purkinje cell loss in the developing rat cerebellar vermis. *Neurotoxicol Teratol* 2003; 25: 633-7.
105. Wei- Jung A Chen, King KA, Lee RE. Effects of nicotine exposure during prenatal or perinatal period on cell numbers in adult rat hippocampus and cerebellum. *Life Sci* 2006; 79: 2221-7.
106. Köktürk S, Yardimoglu M, Celikozlu SD, Dolanbay EG, Cimbiz A. Effect of *Lycopersicon esculentum* extract on apoptosis in the rat cerebellum, following prenatal and postnatal exposure to an electromagnetic field. *Exp Ther Med* 2013; 6: 52-56.
107. Kurata H, Fujii T, Tsutsui H, et al. Renoprotective effects of l-carnosine on ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 319: 640-7.
108. Min J, Senut MC, Rajanikant K et al. Differential neuroprotective effects of carnosine, anserine, and N-acetyl carnosine against permanent focal ischemia. *J Neurosci Res* 2008; 86: 2984-91.
109. Stvolinsky S, Kukley M, Dobrota D, Mezesova V, Boldyrev A. Carnosine protects rats under global ischemia. *Brain Res Bull* 2000; 53: 445-8.
110. Di paola R, Impellizzeri D, Salinari AT et al. Administration of carnosine in the treatment of acute spinal cord injury. *Biochem pharmacol* 2011; 82: 1478-1489.
111. Alaçam B, Ek RO, Yıldız Y et al. The Effect of Carnosine on Lung Injury Induced by Abdominal Aortic Ischemia-Reperfusion. *ADÜ Tıp Fak. Dergisi* (Sayı 3), 2010, Cilt 11, ss 41-47.
112. Boldyrev AA, Johnson P, Wei Y, Tan Y, Carpenter DO. Carnosine and taurine protect rat cerebellar granular cells from free radical damage. *Neurosci Lett* 1999; 263: 169-72.
113. Russo R, Adornetto A, Cavaliere F et al. Intravitreal injection of forskolin, homotaurine, and L-carnosine affords neuroprotection to retinal ganglion cells following retinal ischemic injury. *Mol Vis* 2015; 21: 718-29.

114. MacKenzie-Graham A, Tiwari-Woodruff SK, Sharma G, Aguilar C et al. Purkinje cell loss in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neuroimage* 2009; 48: 637-51.
115. Maier SE, West JR. Regional differences in cell loss associated with binge-like alcohol exposure during the first two trimesters equivalent in the rat. *Alcohol* 2001; 23: 49–57.
116. Li HP, Miki T, Gu H, et al. The effect of the timing of prenatal X-irradiation on Purkinje cell numbers in rat cerebellum. *Dev Brain Res* 2002: 139.

**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ
YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
KAYSERİ-TÜRKİYE**

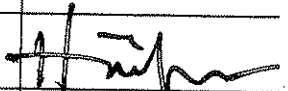
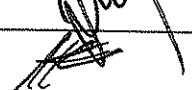
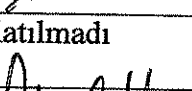
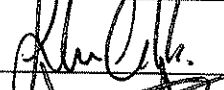
ETİK KURULUN ADI :Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

ETİK KURULUN ADRESİ :Erciyes Üniversitesi

Tarih :12.06.2013 **Toplantı Sayısı :06** **Karar No :13/82**

Etik Kurul Toplantısı 12.06.2013 tarihinde Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel

Etik Kurul **Prof.Dr. Harun ÜLGER** Başkanlığında gerçekleştirilmiştir.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü	İmza
Harun Ülger	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Abdullah İnci	Prof. Dr.	Vet. Fakültesi	
Özlem Canöz	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Coşkun Tez	Prof. Dr.	Fen Fakültesi	
Fusun Ferda Erdoğan	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Ahmet Öztürk	Doç. Dr.	Tıp Fakültesi	
M. Betül Aycan	Doç. Dr.	Ecz. Fakültesi	Katılmadı
Gökçen Yuvalı Çelik	Doç. Dr.	Ecz. Fakültesi	
Servet Kesim	Yard. Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	
Aydın Alan	Yard. Doç. Dr.	DEKAM	Katılmadı
Serap A. Eroğlu	Avukat	Kurumla ilişkisi olmayan üye	Katılmadı
Asiye Gökbelen	Yar.Sevenler Der. Bşk.	Sivil Top. Kuruluşu Temsilcisi	Katılmadı

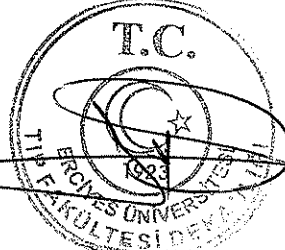
Üniversitemiz Tıp Fakültesinden Prof. Dr. Kenan AYCAN tarafından sunulan sunulan "900 MHz'lik Elektromanyetik Alana Maruz Bırakılan Ratlarda Karnozinin Cerebellumdaki Purkinje Hücre Sayısı Üzerine Etkisi" adlı araştırma projesi incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih :12.06.2013

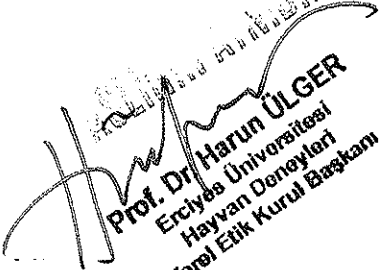
Etik Kurul Başkanı İmzası

Etik Kurul Başkanı : Prof. Dr. Harun ÜLGER

ASLI GİBİDİR



Mehmet TEKİN
Fakülte Sekreteri


Prof. Dr. Harun ÜLGER
Erciyes Üniversitesi
Hayvan Deneyleri
Yerel Etik Kurul Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Ayla ARSLAN

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 13.05.1986 – Ankara

Medeni Durumu: Bekar

Yabancı Dil : İngilizce – İyi

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Anatomi Anabilim Dalı	2015
Lisans	Erciyes Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu	2009

AKADEMİK VE MESLEKİ DENEYİM

Yıl	Kurum	Görev
2011-	Erciyes Üniversite Tıp Fakültesi Fevzi Mercan Çocuk Hastanesi (PNS) / Kayseri	Hemşire
2010	Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi, (ÇYBÜ) / Ankara	Hemşire

Yurt dışı kongre katılımları

1. Acer N, Unur E, Sönmez M F, Zararsız G, **Arslan A**, Bilgen M, Ertekin T, Erkan M, Coşkun A. Evaluation of Tympanic Cavity Volume by Using CT Scan. International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery. Submit edildi.
2. Sağiroğlu A, Acer N, Ertekin T, Kurtoğlu E, **Arslan A**, Ilıca T, Zararsız G, İçer S. Estimation of caudate nucleus volume with using of three different methods in magnetic resonance imaging. Journal of anatomy. Submit edildi.
3. Kurtoğlu E, Acer N, Akargöl S, **Arslan A**, Çınar Ş, Ilıca T, Turgut M. Comparison of four different techniques used for the estimation of the brain volume using **MRI** Journal of Experimental and Clinical Medicine Deneysel ve Klinik Tıp Dergisi. Asian and African Stereology congress. 6-8 November 2012, Samsun, Turkey.
4. Acer N, Unur E, Sönmez M.F, Zararsız G, **Arslan A** , Bilgen M, Ertekin T, Coşkun A, "Evaluation Of Tympanic Cavity Volume By Using Ct Scan With The Matlab And Imagej", 3. International Scientific Writing&Stereology Workshop Çalıştayı, Samsun, Türkiye, 8-12 Nisan 2014, pp.15-16

Yurt içi kongre katılımları

1. Sağiroğlu A, Acer N, Ertekin T, **Arslan A**, Kurtoğlu E, Ilıca T. MR görüntülerinde nuc.caudatus hacminin iki farklı yöntem kullanılarak hesaplanması. 15.Ulusal Anatomi Kongresi, 5-8 Eylül 2013, Samsun.
2. Öztürk Ö, **Arslan A**, Sağiroğlu A, Acer N , Kurtoğlu E, Ilıca T. Nuc.lentiformis hacminin iki farklı yöntem kullanılarak hesaplanması. 15.Ulusal Anatomi Kongresi, 5-8 Eylül 2013, Samsun.
3. Özcelik Ö, Yılmaz S, **Arslan A**, Nisari M, Ertekin T, Unur E, Aycan K. Interparietal Bone (Inca Bone) in adult human skull. 14.Ulusal Anatomi Kongresi, 28 Haziran- 1 Temmuz 2012, Ankara.
4. Çınar Ş, Özcelik Ö, Atay A, **Arslan A**, Aycan K. Anket Çalışması: Tıp Fakültesi Dönem 6 Öğrencilerinin Sosyo-Demografik Özellikleri ve Anatomi Eğitimi Hakkındaki Düşünceleri. Anatomi Günleri 2013, Kayseri.

Katıldığı kurslar

1. Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Bakım Kursu, Haziran 2012, Kayseri, Türkiye.
2. MriStudio 8-9 Mayıs, 2014, Erciyes Üniversitesi, Sürekli Eğitim Merkezi, Kayseri, Türkiye.
3. International Scientific Writing&Stereology Workshop Çalıştayı, 8-12 Nisan 2014, Samsun, Türkiye.
4. Amasya Üniversitesi Eğitim Fakültesi, Pedagojik Formasyon Sertifikası, Ağustos. 2015, Amasya, Türkiye