

Kronik Cep Telefonu Radyasyonu ve Koruma Amaçlı Uygulanan Melatoninin Ovaryuma Etkisi

Chronic Mobile Phone Radiation and the Possible Protective Effect of Melatonin on Ovary

Sinem Yücel¹, Gülnur Take Kaplanoğlu¹, İskender Kaplanoğlu², Bahriye Sirav Aral³, Cemile Merve Seymen¹

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Etilik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tüp Bebek Ünitesi, Ankara, Türkiye

³Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

ÖZET

Amaç: Çalışmamızda cep telefonu radyasyonuna kronik maruziyetin ovaryum dokusu üzerinde meydana getireceği değişimler ve melatonin kullanımının bu değişimler üzerindeki olası koruyucu etkisinin ışık mikroskopik düzeyde incelenmesi amaçlandı.

Yöntem: 24 adet Wistar albino cinsi dişi sıçan 4 gruba ayrılarak 90 günlük deney süresince; kontrol grubuna hiçbir uygulama yapılmazken, 2. gruba her gün 30 dk 2100 MHz radyasyon uygulaması, 3. gruba her gün subkutan melatonin uygulaması, 4. gruba ise radyasyon uygulamasından 40 dk önce subkutan melatonin ve sonrasında 30 dk radyasyon uygulaması yapıldı. Deney bitiminde değerlendirme için ovaryum dokusundan alınan kesitlere Hematoksilin-Eozin, TUNEL, PCNA boyaları uygulandı ve ışık mikroskopunda resimlendirildi. Yapılan PAS boyamalarında zona pellusida kalınlıkları ölçüldü. Ayrıca her kesitten folikül sayısı yapılarak, değişkenler istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: Hematoksilin-Eozin boyama ile yapılan incelemelerde radyasyon grubunda atreziye giden foliküllerin arttığı ve zona pellusida'nın yer yer kalın yer yer ince düzenlenim gösterdiği dikkati çekti. Radyasyon+Melatonin grubunda atreziye giden folikül sayısının azaldığı belirlendi. Bu bulgu, TUNEL ile desteklendi. PCNA immün boyamasında primordiyal, gelişen foliküller ve korpus luteum'da tutulumun kontrol grubuna karşın daha az sayıda hücrede olduğu izlendi.

Sonuç: Sonuç olarak, melatonin enjeksiyonunun uygulanan melatoninin dozu ya da uygulama süresine bağlı olarak radyasyonun neden olduğu yapısal dejenerasyonları kısmen engelleyebileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Cep telefonu radyasyonu, melatonin, ovaryum.

Geliş Tarihi: 06.03.2017

Kabul Tarihi:13.06.2017

ABSTRACT

Objective: We aim to investigate the possible protective effects of melatonin on ovary in the case of mobile phone radiation exposure by using light microscopic examinations.

Methods: Twenty-four female Wistar albino rats were divided into 4 equal groups. Throughout in 90-day experiment, there was no application performed to control group. The second group was exposed to 2100 MHz radiation for 30 minutes. Subcutaneous melatonin was enjected to the third group. Subcutaneous melatonin enjection was applied 40 minutes before radiation and then radiation was exposed for 30 minutes to the fourth group. At the end of the experiment, ovary tissues were stained by Hematoxylin-Eosin, TUNEL, PCNA and sections were photographed under light microscope. Zona pellusida thickness were measured in PAS stainings. Moreover, number of follicles were counted and all data were statistically analysed.

Results: The number of atretic follicles were increased and zona pellucida were seen in thick and thin formations in radiation group according to Hematoxylin-Eosine staining. Atretic follicles were decreased in Radiation+Melatonin group, this finding was also supported by TUNEL. In PCNA immunostaining; the immunoreactivity was seen in fewer cells compared to control group through primordial follicles, developing follicles and corpus luteum.

Conclusion: In conclusion it was thought that melatonin injection could partially inhibited the structural degenerations caused by radiation depend on the dosage or application period.

Key Words: Mobile phone radiation, melatonin, ovary.

Received: 03.06.2017

Accepted:06.13.2017

GİRİŞ

Günümüzde küreselleşme ve ilerleyen teknolojiye koşut; televizyon, radyo, baz istasyonu, cep telefonu, telsiz ve kablosuz telefonlar gibi iletişim araçlarının kullanımını da yaygınlaştırmıştır. Son yıllarda özellikle cep telefonu kullanımının artışı sonucu, kapsama alanlarının genişletilmesi amacıyla baz istasyonlarının sayısı ve yaygınlığı artmıştır. Zararlı düzeyde elektromanyetik alan (EMA) oluşturan bu kaynaklar, vücuda çok yakın aralıktaki tutulduğu için başta insanlar olmak üzere tüm canlıları etkilemektedir (1,2).

Cep telefonları iletişimi, farklı elektromanyetik sinyaller kullanarak sağlar ve bu sinyaller bulunduğu çevrede yoğun bir EMA oluşturur. EMA'nın insan sağlığı üzerine olumsuz etkilerinin olabileceği düşüncesiyle birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda EMA'nın oksidatif stres, kanser, Parkinson ve Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıkların artışına neden olduğu, bunların yanı sıra depresyon, davranış değişikliği gibi sinirsel fonksiyonlara etki ettiği, ayrıca bağışıklık, endokrin ve üreme sistemlerine de olumsuz etkilerinin olduğu bildirilmiştir (3-6). Düşük şiddette EMA'lara etkin kalmanın hücre bölünmesi, biyomoleküllerin sentezi ve kanser oluşumu üzerine etkili olduğu, protein metabolizmasının, vücuttaki hormonal ve immün yanıtın etkilendiği gözlemlenmiştir (7-9).

Tüm bu etkiler göz önüne alındığında cep telefonlarının neden olduğu EMA ile ilgili daha çok araştırma yapıp bu konudaki mevcut bilgilerin daha üst noktalara taşınması gerekmektedir.

Elektromanyetik alana etkin kalma sonucunda dokularda oluşan hasar, reaktif oksijen moleküllerinin aşırı üretimine ve dokuların prooksidant/antioksidant dengesinin değişmesine bağlıdır. Bu hasarların etkilerinin azaltılması ya da tümüyle ortadan kaldırılması için süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon (GSH), vitamin A, vitamin C, vitamin E ve melatonin gibi antioksidan maddeler kullanılmaktadır (10,11).

Melatonin, hüresel antioksidan savunma sistemini uyarır ve prooksidatif enzim miktarlarının azalmasını sağlar (12). Melatonin yağda ve suda eriyebildiği için kolaylıkla dokulara girerek, hidroksil ve lipit radikallerini uzaklaştırır, aşırı toksik etkiye sahip hidroksil ve peroksil radikallerini detoksifiye eder. Serbest radikalleri doğrudan uzaklaştırabilme erki yanında diğer endojen antioksidan etki düzeneklerini de uyardığı bildirilmiştir (10-15).

Epifiz bezinin salgısı olan melatoninin endokrin ve sirkadiyen ritim üzerine olan etkilerinden ayrıcalık olarak, in vivo in vitro antioksidan etkiye de sahip olduğu gösterilmiştir. MEL' in antioksidanlar içerisinde en güçlü radikal tutucu olduğu ileri sürülmekte, bu nedenle ilgi giderek artmakta ve antioksidan özelliği gün geçtikçe önem kazanmaktadır (10,11).

Literatür bilgilerinden yola çıkarak çalışmamızda elektromanyetik alana kronik olarak etkin kalmanın ovaryum dokusunda oluşturabileceği yapısal değişimler ve bunlara melatoninin olası koruyucu etkisinin incelenmesi amaçlandı. Bu amaçla doku örneklerine Hematoksilin-Eozin, TUNEL ve PCNA immünohistokimya boyamaları yapılarak ovaryum dokusundaki yapısal değişimler incelendi. Ayrıca, folikül sayısı yapıldı ve Periyodik Asit Schiff (PAS) boyaması yapılan kesitlerde zona pellusida kalınlığı ölçülerek istatistiksel değişkenler değerlendirildi.

YÖNTEMLER

Deney Hayvanları ve Gruplandırma

Çalışmada, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme Deneyel Araştırma Merkezi (GÜDAM)' den sağlanan ortalama 200-250 g ağırlığında 24 adet Wistar albino cinsi dişi sıçanlardan her grupta 6 denek olacak şekilde randomize 4 grup oluşturuldu; 1. grup: Kontrol (hiçbir uygulama yapılmayan grup) , 2. grup: Melatonin (10 mg/kg/gün), 3. grup: Cep telefonu radyasyonu (2100 MHz/30dk/gün) ve 4. grup: Melatonin (radyasyondan 40 dk önce 10 mg/kg/gün) + Cep telefonu radyasyonu (2100 MHz/30dk/gün) uygulanan grup (n=6). Uygulamalar 90 gün süresince hergün aynı saatte ve akşamüzeri yapıldı.

Radyasyon kaynağı

Çalışmada EMA kaynağı olarak SAR değeri 0.24 kg/W 2100 MHz' de çalışan EMA jeneratörü (Rohde & Schwartz vektör sinyal jeneratörü, R&S, SMBV100A, Germany) kullanıldı. Uygulamalar horn antenle (ETS Lindgren, Model 3164-03, Frekans aralığı: 400 MHz-6 GHz, USA) yapıldı. Çalışma öncesi EMA jeneratörü ölçümleri EMA probu (Marda-EMR 300, Tıp 8.3 probu, Germany) ile gerçekleştirildi. Deney sırasında 3. ve 4. grubu oluşturan sıçanlar üçerli gruplar halinde pleksiglas kafeslere yerleştirildi.

Melatonin hazırlanması

100 mg melatonin, %100 alkol ve PBS karışımında çözüldü (pH = 7.4). Elde edilen çözünmüş melatonin 10 mg/kg dozunda subkutan uygulandı.

Işık Mikroskopik Yöntem

Süre bitiminde yüksek doz anestezi altında feda edilen deneklerden ovaryum dokuları alınarak öncelikle ağırlıkları ölçüldü. Sonrasında alışımlı histolojik takip yöntemlerinden geçirilen ovaryum dokularından parafin bloklar hazırlandı. 4-5 µ kalınlığında alınan kesitler; yapısal değişimleri inceleyebilmek amacıyla Hematoksilin-Eozin, bazal membran kalınlıklarını ölçmek amacıyla PAS (Periyodik Asit Schiff) ile boyanarak Leica DCM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında değerlendirildi ve fotoğraflandı.

TUNEL Yöntemi

DNA parçalanması ve apoptotik hücre ölümünün belirlenmesi için in situ apoptozis saptama kiti kullanıldı (Millipore Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit, Lot: 2199001. Temecula, CA 92590). Kesitler deparafinizasyon işleminin ve ksilol-alkol-distile su serilerinden geçirilmelerinin ardından 15 dakika 20 µg/ml proteinaz K ile inkübe edildiler. Distile su ile yıkama aşamasından sonra 5 dakika %3'lük hidrojen peroksit ile etkin bırakılan kesitlerde endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. PBS ile yıkanan kesitler 5 dakika dengeli tamponda ve 60 dakika 37°C nemli ortamda TdT enziminde (77 µl Reaksiyon Buffer + 33 µl TdT Enzim, 1µl TdT enzim) inkübe edildiler. Ardından oda sıcaklığında önceden ısıtılmış durdurma/yıkama tamponunda 10 dakika bekletildi ve Anti-Digoxigenin'de 30 dakika inkübe edildiler. Her aşamada PBS ile dikkatle yıkama yapıldı. Yıkamanın ardından TUNEL pozitif hücreleri belirleyebilmek için DAB ile boyama yapıldı. Zemin boyaması için 5-10 dakika Metilen mavisi uygulandı. Son aşamada kesitler artan alkol serilerinden geçirilerek suyu alındıktan sonra 20 dakika şeffaflaştırmak için ksilolde bekletildiler. Ardından entellan ile kapatıldı.

PCNA Yöntemi

Kesitler deparafinizasyon işleminin ardından mikrodalga fırında 1 M sitrat tamponuna (pH: 6. 0) (Lot: CT17813, Thermo Scientific) etkin bırakıldı. Oda ısısında 20 dakika soğutulduktan sonra 15 dakika süreyle hidrojen peroksit (Lot: HP23484, Thermo Scientific) uygulandı. PBS (Phosphate Buffer Saline) (pH: 7.4) ile yıkandıktan 5 dakika Ultra V Block (Lot: TA-060-UB, Thermo Scientific) uygulandı. Bloklama aşamasının ardından kesitler yıkanmadan PCNA Ab-1 Mouse MAb (PC10) (Cat: MS-106-P, Lot: 106P1203E, Thermo Scientific), primer antikoruna etkin bırakılarak 60 dakika bekletildi. Süre bitiminde PBS ile yıkandıktan sonra 20 dakika biyotinli sekonder antikor (Lot: MHL120622, Large Volume Anti-Mouse HRP, Thermo Scientific) uygulandı. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra 20 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksine (Lot: MHL120622, Large Volume Anti-Mouse HRP, Thermo Scientific) etkin bırakıldı. Kesitler tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kromojen olan AEC (3-amino-9-ethylkarbazole) (Lot: HA19767, Thermo Scientific) uygulanarak gözle görülebilen immün reaksiyonun açığa çıkması sağlandı. Zemin boyamasında Mayer'in Hematoksileni (Lot: MH17753, Large Volume Mayer's Hematoxylin, Thermo Scientific) kullanıldı ve kesitler Ultramount ile kapatılarak, Leica DM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında fotoğraflandı.

İstatistiksel Yöntem

Verilerin analizi Windows için SPSS 18.0 paket programında yapıldı. Gruplar arasındaki vücut ağırlığı ve ovaryum kuru ağırlıklarının verileri karşılaştırılarak, sürekli ölçümlü değişkenlerin dağılımının normale uygun olup olmadığı Shapiro Wilk testi ile araştırıldı. Tanımlayıcı istatistikler ortanca (25-75) yüzde olarak gösterildi.

Her denekten Hematoksilin – Eozin ile boyanan kesitlerden gelişigüzel seçilen altı alanda folikül sayısı yapıldı, PAS yöntemi ile boyanan tüm kesitlerden zona pellusida kalınlıkları ölçüldü. Gruplar arasında folikül sayısı ve zona pellusida kalınlıkları ortanca değerleri yönünden farkın önemliliği için Kruskal Wallis testi ile değerlendirildi. Normalite testinin sonuçlarına göre parametrik (ANOVA, Post hoc: Bonferroni) ya da parametrik olmayan (Kruskal Wallis Varyans Analizi, POST HOC: Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U) testler uygulandı. p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

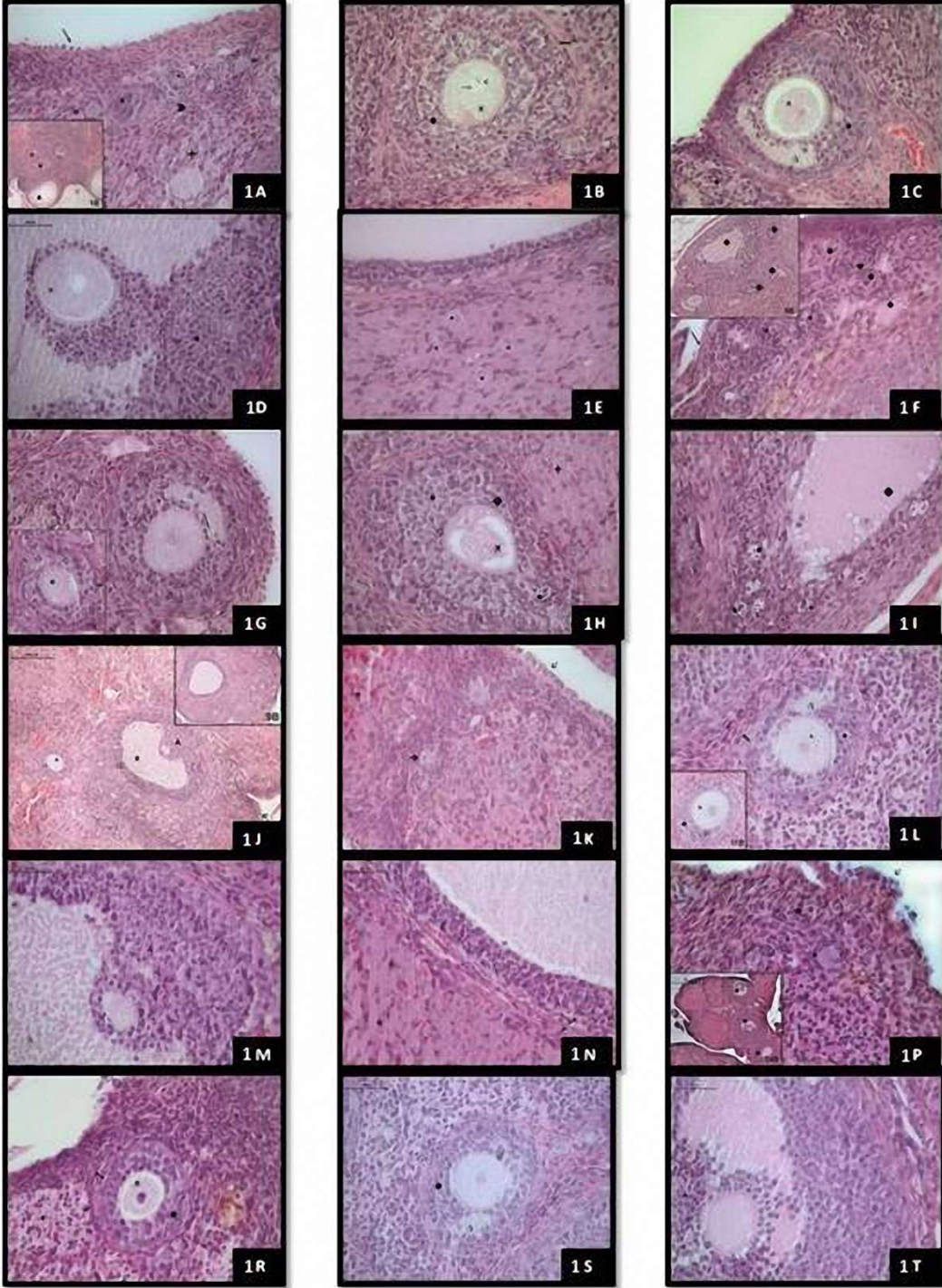
Hematoksilen-Eozin Bulguları

Kontrol ve melatonin gruplarına ait resimlerde ovaryum dokusu normal görünümündeydi (Resim 1A-1E ve Resim 1J-1N). Radyasyon uygulanan gruba ait küçük büyültmeli resimlerde, bir sekonder folikül ve buna karşılık atreziye giden oldukça fazla sayıda folikül ilgiyi çekiyordu. Büyük büyültmeli resimlerde, germinal epitel normal yapıdayken, primordiyal foliküllerin üst korteks bölgesinde yerleştiği ve normal yapı sergilediği ilgiyi çekiyordu. Yine atreziye giden gelişen foliküller belirgindi. Korpus luteum normal yapıdaydı (Resim 1F). Çok sıralı granuloza hücre katmanını içeren primer ve antrum oluşmaya başlayan sekonder foliküllerde, granuloza hücre katmanlarının özellikle orta bölgede dejenerasyona gittiği belirgin olarak ayırt ediliyordu.

Yine bu foliküllerde zona pellusida'nın kalınlığı inceli bir düzende olduğu da dikkati çekiyordu (Resim 1G). Yine çok sıralı granüloza hücre katmanı ile primer foliküllerde atreziye gidişin ilk belirtisi olarak oositin ve zona pellusida'nın düzenleniminin bozulduğu ve bol miktarda apoptotik cisimler içerdiği ilgiyi çekiyordu. Teka interna'da da aynı yapısal değişimler belirgindi. Korpus luteum normal yapıda izleniyordu (Resim 1H, 1I).

Radyasyon + Melatonin uygulanan grupta atreziye giden foliküller ile korpus luteum belirgin olarak ayırt edilirken, yine aynı gruba ait biraz daha ileri büyültmelerde, yüzey epiteli ve üst korteks bölgesinde bulunan primordiyal foliküller ile gelişen foliküller belirgindi (Resim 1P). Bu foliküllerde radyasyon uygulanan grubun aksine, atrezi ayırt edilmeyordu. Çok sıralı granüloza hücre katmanı içeren primer foliküllerde oosit, zona pellusida ve granüloza hücre katmanı ile teka interna ve eksterna oldukça normal yapılarıyla izleniyordu. Korpus luteum yapısı belirgindi (Resim 1R).

Antrum oluşmaya başlamış erken evre sekonder folikülde zona pellusida'daki düzensiz yerleşimin halen sürdüğü ancak granüloza hücre katmanının normal yapıda olduğu ayırt ediliyordu (Resim 1S). Yine kumulus ooforusu oluşmuş tersiyer foliküllerde zona pellusida'daki düzensizlik sürerken diğer yapısal değişimlerin normal yapıya yaklaştığı ayırt ediliyordu (Resim 1T).



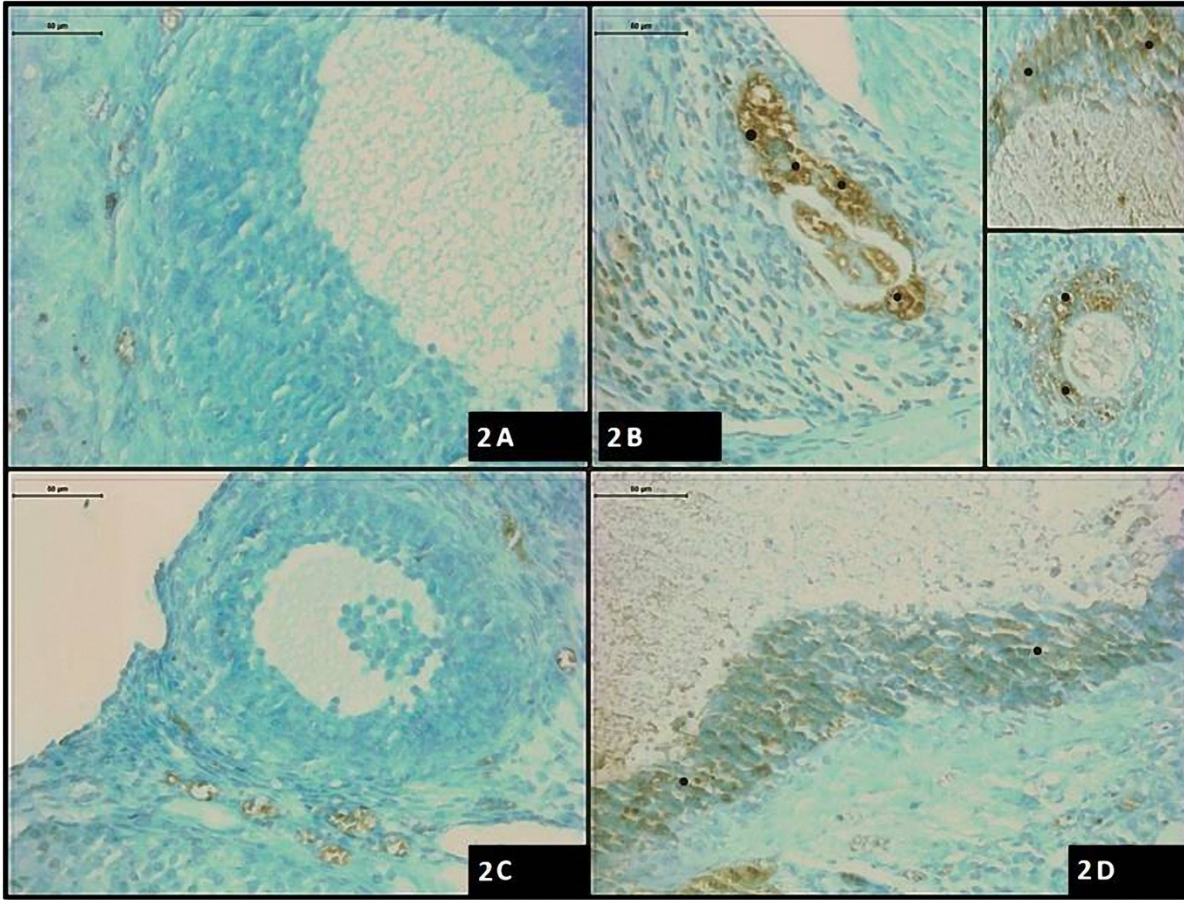
Resim 1. Ovaryum dokusuna ait kesitlerde stroma (▲), primer follikül (★), atretik follikül (◆), korpus luteum (✦), sekonder follikül (△), Graaf follikül (▲▲), granüloza hücre katmanı (●), zona pellusida (⇒), çekirdek (→), çekirdekçik (<), primer oosit (x), antrum (☆), teka interna (◀), teka eksterna (◁), kumulus ooforus (▲), korpus luteumda luteal hücreler (■), primordiyal follikül (→), germinal epitel (ℳ), dejenerasyona giden hücreler (◇), apoptotik cisimcikler (•) izleniyor (Hematoksilen Eozin x100 ve x400).

(1A-1E: Kontrol Grubu, 1F-1I: Radyasyon Grubu, 1J-1N: Melatonin Grubu, 1P-1T: Radyasyon+Melatonin Grubu).

TUNEL Bulguları

TUNEL uygulama yapılmış kontrol ve melatonin gruplarında apoptotik cisim ve hücreler oldukça az olmasına karşın (Resim 2A, 2C); radyasyon uygulanan grupta özellikle atreziye giden foliküllerin yoğunluğuna koşut olarak;

apoptotik hücre ve cisimlerin ağırlıklı olarak granüloza hücre katmanında yaygın olduğu belirdi (Resim 2B). Radyasyon + Melatonin uygulanan grupta ise apoptozis yaygınlığının azaldığı ayırt edildi (Resim 2D).



Resim 2. Ovaryum dokusuna ait kesitlerde apoptotik hücre ve cisimler (•) görülüyor (TUNEL x400). (2A: Kontrol Grubu, 2B: Radyasyon Grubu, 2C: Melatonin Grubu, 2D: Radyasyon+Melatonin Grubu).

PCNA Bulguları

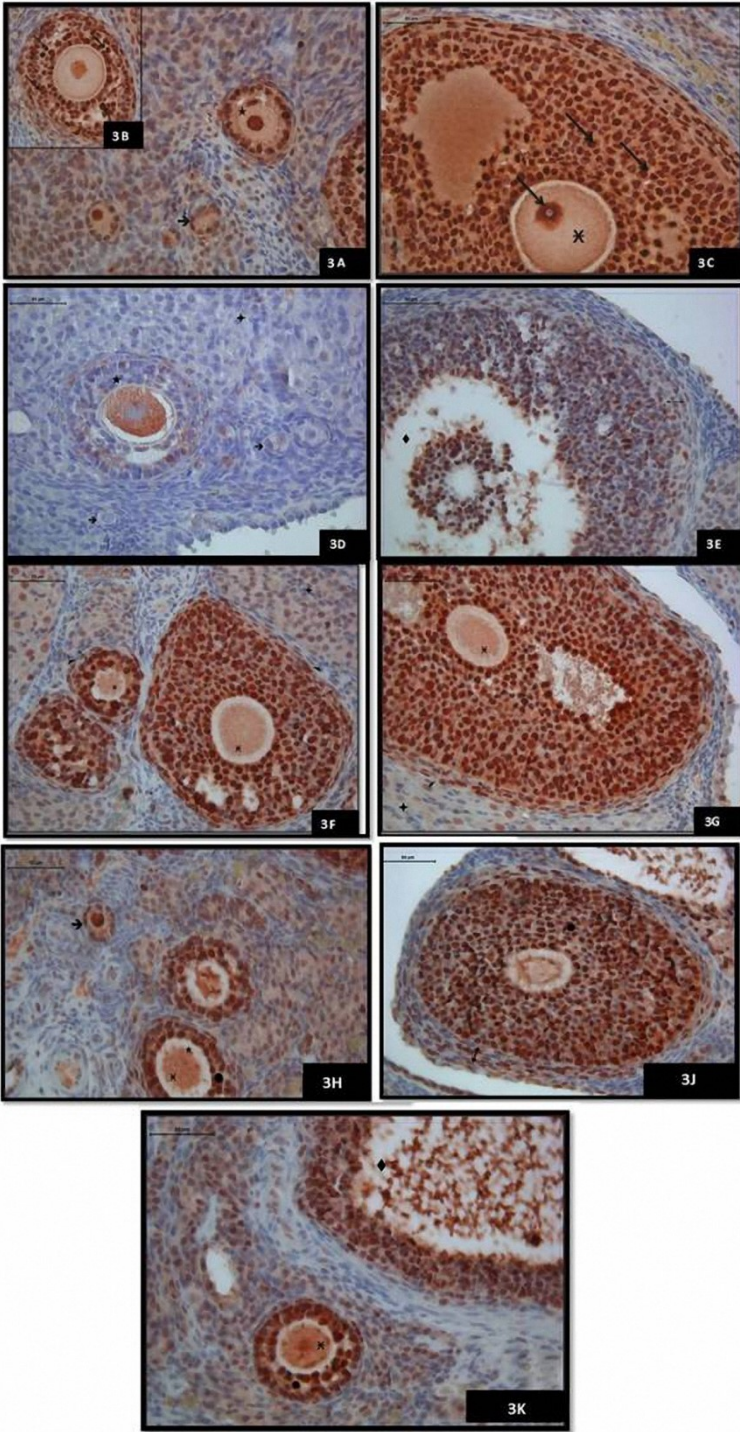
PCNA immünohistokimya boyaması yapılmış kontrol grubunda, primordiyal foliküller ile tek sıralı ve çok sıralı hücre katmanı içeren primer foliküllerde ağırlıklı olarak çekirdek boyanmasının yaygınlığı ilgi çekiciydi (Resim 3A, 3B). Oosit hücre çekirdeğinde de yoğun boyanma ayırt ediliyordu. Korpus luteum'da ise boyanmanın az sayıda hücrede ve zayıf olduğu dikkati çekiyordu. Yine sekonder ve tersiyer foliküllerde de boyanma aynıydı (Resim 3C).

Radyasyon uygulanan grupların PCNA boyamalarında ışık mikroskop düzeyinde görülen değişimlerin belirginliğinin yanı sıra primordiyal, gelişen ve çok sıralı granüloza hücre katmanı içeren primer foliküllerde ve korpus luteum'da tutulumun, kontrol grubuna karşın daha az sayıda hücrede zayıftan ortaya değiştiği izlenirken (Resim 3D); atreziye giden foliküllerde hücrelerin daha PCNA pozitifliğe doğru gittiği dikkati çekiyordu. Aynı durum teka interna'da da dikkati çekiyordu. Tutulumun kontrol grubu ile

karşılaştırıldığında zayıf iken, aynı gruba ait atretik foliküllere oranla kuvvetli olduğu izleniyordu (Resim 3E).

Melatonin uygulanan grupta PCNA tutulumu tüm yapılarda kontrol grubuna eşdeşti (Resim 3F, 3G ve 3H).

Radyasyon + melatonin uygulanan grupta, sadece radyasyon uygulanan gruba karşın, PCNA tutulumunun oldukça belirgin olarak arttığı dikkati çekti. Tutulum granüloza hücrelerinde, oositte, teka interna hücrelerinde (Resim 3J) ve atretik foliküllerde de belirdi (Resim 3K).



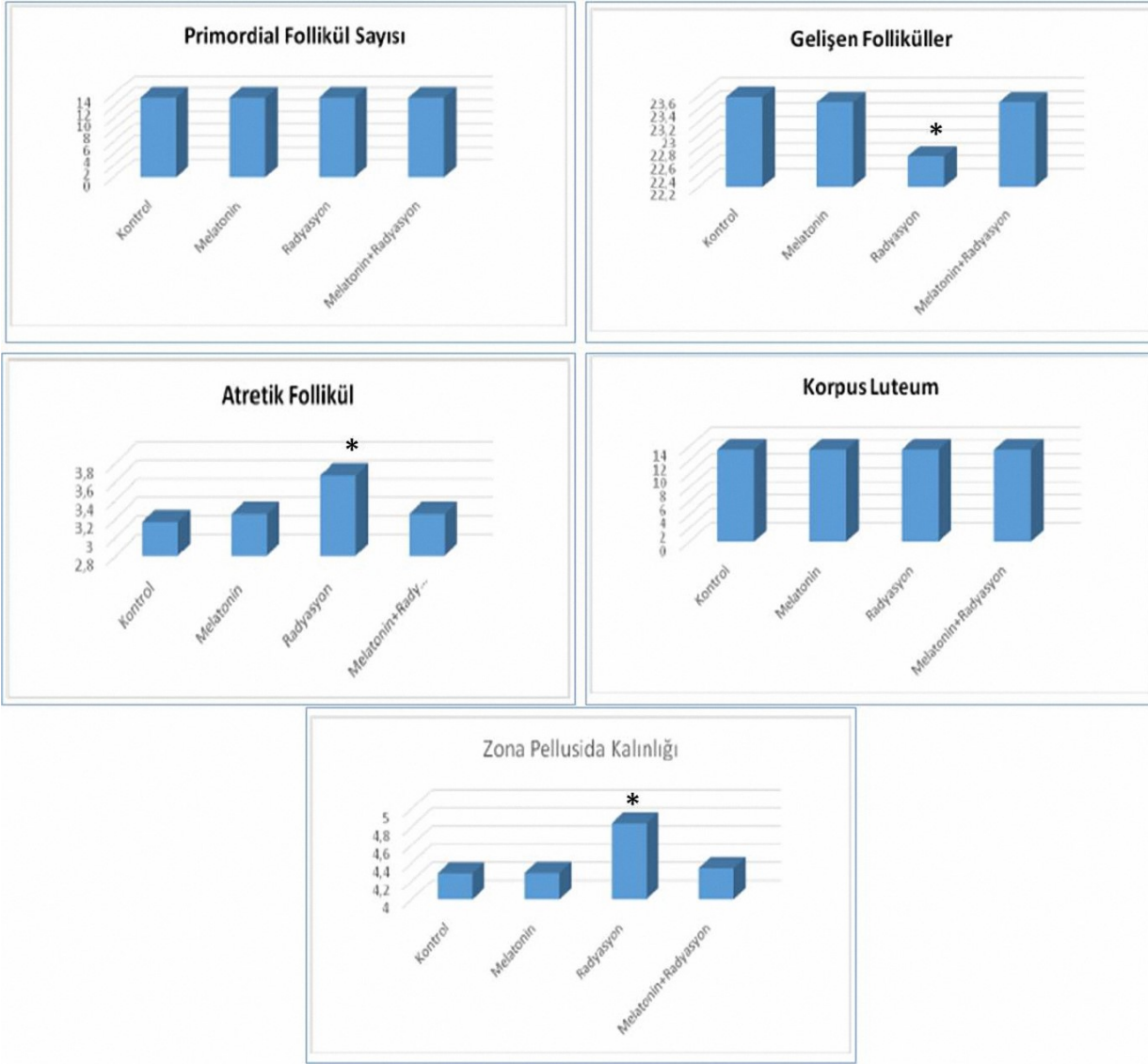
Resim 3. Ovaryum dokusuna ait kesitlerde primordiyal follikül (→), primer follikül (★)'de yoğun, çok sıralı hücre katmanı içeren follikül (→)'de yaygın tutulum (3A ve 3B); primer oosit (x) ve çok sıralı hücre katmanı içeren follikül (→)'de yoğun tutulum (3C); primordiyal follikül (→), granüloza hücreleri (★), korpus luteum (+)'da az sayıda immünreaktivite (3D); atreziye giden follikül (◆), teka interna (◄) da immün pozitif hücreler (3E); primer oosit (x), teka interna (◄), teka eksterna (◁), korpus luteum (+)'da yoğun tutulum (3F ve 3G); primordiyal follikül (→), primer follikül (★), primer oosit (x), granüloza hücre katmanı (★)'nda yoğun tutulum (3H); granüloza hücreleri (★), teka interna (◄) da artmış tutulum (4J); primer oosit (x), granüloza hücre katmanı (★), atretik follikül (◆)'de belirgin immünreaktivite (3K) görülüyor (PCNA Primer Antikoru x400).

(3A-3C: Kontrol Grubu, 3D,3E: Radyasyon Grubu, 3F-3H: Melatonin Grubu, 3I,3K: Radyasyon+Melatonin Grubu).

İstatistiksel Bulgular

Zona pellusida kalınlıkları yönünden yapılan değerlendirmede ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlendi; radyasyon uygulanan grupta zona pellusida kalınlığının diğer gruplarla karşılaştırıldığında artmış olduğu izlendi ($p<0.05$) (Grafik 1).

Primordiyal follikül ve korpus luteum sayısı yönünden yapılan değerlendirmede gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). Gelişen folliküller ve atretik folliküllerin sayısı yönünden yapılan istatistiksel değerlendirmede gruplar arasında farklılık saptandı ($p<0.05$); Radyasyon uygulanan grupta gelişen follikül sayısının istatistiksel olarak anlamlı olarak azaldığı, atretik follikül sayısının ise arttığı belirlendi ($p<0.05$) (Grafik 1).



Grafik 1. Primordiyal follikül, gelişen follikül, atretik follikül, korpus luteum sayımı ile zona pellusida kalınlığına ait istatistiksel grafikler.

TARTIŞMA

Radyasyona etkin kalma sonucunda östradiol düzeyindeki ani düşüş nedeniyle granüloza hücre olgunlaşmasının olumsuz etkilendiği bu bağlamda oosit olgunlaşmasının da geciktiği dolayısıyla döllenmenin bu durumdan olumsuz etkilendiği belirtilmiştir (12). Radyasyona bağlı olarak foliküller atrezinin araştırıldığı çalışmada antrumda makrofajlar saptanmıştır (13).

Bizim çalışmamızda 12 hafta süresince günde 30 dakika 2100 MHz EMA'ya etkin bırakılan sıçanlara ait TUNEL boyamasında, atreziye giden çok sayıda folikül hücrelerinin TUNEL pozitif olduğu, apoptotik hücre ve cisimlerin ise bu foliküllerin granüloza hücre katmanında yaygınlaştığı saptandı.

Ultraviyole radyasyona etkin kalınmadan önce kullanılması durumunda, melatoninin DNA ekspresyonunu düzenleyerek deri yaralarına karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. Ancak bu konuda güneş gibi doğal ultraviyole radyasyon kaynağı da dikkate alınarak ayrıntılı çalışmalar yapılması gerektiği de belirtilmiştir (14).

Çalışmamızda 12 hafta süresince günde 30 dakika 2100 MHz EMA'ya etkin bırakılan sıçanlara ait TUNEL uygulamasında, radyasyonun neden olduğu apoptotik hücre ve cisimlerdeki artmış tepkimenin radyasyon öncesi yapılan derialtı melatonin uygulaması sonrasında azaldığı düşünüldü.

Fare ovariumunda nikotin kaynaklı değişimlere melatoninin etkilerinin incelendiği çalışmada, kontrol grubu, nikotin uygulanan grup, melatonin uygulanan grup ve hem nikotin hem melatonin uygulanan grup olmak üzere dört gruptan oluşan deneyde; nikotin grubuna 40 mg/kg nikotin verilmiş, nikotin ve melatonin grubuna ise aynı miktar nikotine ek olarak 10 mg/kg melatonin verilmiştir. Histolojik değerlendirmeler sonucunda, foliküllerin farklı büyüme aşamalarında nikotin neden olduğu değişimlere melatoninin koruyucu etki gösterebileceği belirtilmiştir (15).

Benzer olarak bizim çalışmamızda da 12 hafta boyunca her gün 10 mg/kg melatonin, radyasyona etkin bırakılan sıçanlara koruma amaçlı uygulanmış ve süre sonunda yapılan incelemelerde, melatonin'in foliküllerdeki atreziyi azalttığı görülmüştür.

Cep telefonu radyasyonunun ovariumlar üzerine toksik etkisi üzerine yapılmış bir çalışmada gebe sıçanlar gebelik süresince kafes altına yerleştirilmiş cep telefonuna etkin bırakılmıştır. Her 12 saatte bir 15 dk konuşma konumuna getirilen telefon 11 saat 45 dk süresince bekleme konumunda bırakılmıştır. Doğum sonrası 21. günde dişi sıçan yavrularının sağ ovariumları alınıp hacimleri ölçülerek, folikül sayısı sayıldığında çalışma grubundaki yavrularda folikül sayısının azaldığı izlenirken, hacimlerinde istatistiksel olarak fark saptanmamıştır (16).

Bizim çalışmamızda ise gerek vücut ağırlığı gerek se ovarium kuru ağırlığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

SONUÇ

Radyasyon uygulamasının belirgin olarak gelişim sürecindeki foliküllerde dejeneratif yönde etkileyerek sayılarında azalmaya neden olduğu, buna karşın atretik folikül sayısını arttırdığı saptanmıştır. Yine radyasyon uygulanan grupta zona pellusida kalınlığının istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı gözlemlenmiştir. Koruma amaçlı yapılan deri altı melatonin uygulamasının ovarium dokusunda atreziyi azalttığı ve doku genelinde yapıyı kontrol grubuna yaklaştırdığı belirlenmiştir. Ancak zona pellusida'daki yapısal değişimi korumada yetersiz kaldığı gözlemlenmiştir. Bu bulgular ışığında, melatonin uygulamasının radyasyonun neden olduğu yapısal dejenerasyonları kısmen engelleyebileceği, bunun da uygulanan melatoninin dozu ya da uygulama süresine bağlı olabileceği kanısına varılmıştır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Warren HG, Prevatt AA, Daly KA, Antonelli PJ. Cellular Telephone Use and Risk of Intratemporal Facial Nerve Tumor. *Laryngoscope* 2003;113: 663-7.
2. Davidson HC, Lutman ME. Survey of Mobile Phone Use and Their Chronic Effects on the Hearing of a Student Population. *International Journal of Audiology* 2007; 46:113-8.
3. Hossmann K, Hermann D. Effects of Electromagnetic Radiation of Mobile Phones on the Central Nervous System. *Bioelectromagnetics* 2003; 24: 49-62.
4. Black D, Heynick L, RF. Effects on Blood Cells, Cardiac, Endocrine and Immunological Functions. *Bioelectromagnetics Supplement* 2003; Suppl 6:S187-95.
5. Maes A, Collier M, Verschaeve L. Cytogenetic Effects of 900 MHz (GSM) Microwaves on Human Lymphocytes. *Bioelectromagnetics* 2001; 22: 91-6.
6. Samantaray S, Sribnick EA, Das A, Knaryan VH, Matzelle DD, Yallapragada RJ Reiter. Melatonin attenuates calpain upregulation, axonal damage and neuronal death in spinal cord injury in rats. *Journal of Pineal Research* 2008; 44:4 348-57.
7. Güler G, Atalay Seyhan N. Collagen Synthesis in Lung and Kidney Tissues Under ELF Electric Fields. *Medical & Biological Engineering & Computing* 1997; Suppl; 1,4.
8. Balcer-Kubiczek EK, Harrison GH. Neoplastic Transformation of C3H/10T1/2 Cellas Following Exposure to 120-Hz Modulated 2.45-GHz Microwaves and Phorbol Ester Tumor Promoter. *Radiat Res* 1991; 126: 65-72.
9. Maes A, Verschave L, Arroyo A, DeWagter C, Vercruyssen L. In Vitro Cytogenetic Effects of 2450 MHz Waves on Human Peripheral Blood Lymphocytes. *Bioelectromagnetics* 1993; 14: 495-501.
10. Assayed ME, Abd El-Aty AM. Protection of Rat Chromosomes by Melatonin Against Gamma Radiation- Induced Damage. *Mutat Res* 2009; 667: 14-20.
11. Weiss JF and Landauer MR. Protection Against Ionizing Radiation by Antioxidant Nutrients and Phytochemicals. *Toxicology* 2003; 189:1-20.
12. Somosy Z. Radiation response of cell organelles. *Micron* 2000; 31: 165-81.
13. Lee C.J, Yoon Y. γ -Radiation-induced follicular degeneration in the reubertal mouse ovary. *Mutat Res* 2005; 578: 247-55.
14. Scheuer C, Pommergaard HC , Rosenberg J, Göngenur I. Melatonin's protective effect against UV radiation: a systematic review of clinical and experimental studies. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2014; 30: 180-8.
15. Mohammadghasemi F, Jahromi SK, hajizadeh H, Homafar MA, Saadat N. The Protective Effect of Exogenous Melatonin on Nicotine-induced Changes in Mouse Ovarian Follicles. *J Reprod Infertil* 2012;13: 143-50.
16. Gül A, Çelebi H, Uğraş S. The effects of microwave emitted by cellular phones on ovarian follicles in rats. *Arch Gynecol Obstet* 2009; 280:729-33.