

### Subkronik 1800 MHz elektromanyetik alan uygulanmasının sıçan tuba uterina ampullası üzerine etkileri

Meryem İlkay Karagül<sup>1</sup>, Ayla Batu<sup>1</sup>, Savaş Aktaş<sup>1</sup>, Tülay Özkaya<sup>1</sup>, Ayşegül Akar<sup>2</sup>,  
Ülkü Çömelekoğlu<sup>3</sup>, Didem Ovla<sup>4</sup>

1Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Mersin

2Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik AD, Mersin

3Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik AD, Mersin

4Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik AD, Mersin

#### Özet

**Amaç:** Günlük yaşantımızda sık ve uzun süreli kullandığımız elektronik cihazlar elektromanyetik alana (EMA) maruz kalmamıza yol açmaktadır. Bu çalışmada EMA maruziyeti oluşturulmuş sıçanlarda tuba uterinin ampulla bölgesinin ışık ve elektron mikroskopik olarak incelenmesi amaçlandı. **Yöntem:** Çalışmamızda 12 adet Wistar cinsi dişi sıçan kullanıldı. Denekler kontrol grubu (n=6) ve EMA grubu (n=6) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Kontrol grubundaki deneklere hiçbir işlem yapılmadı. EMA grubundaki denekler 30 gün boyunca günde 1 saat 1800 MHz EMA'ya maruz bırakıldı. Tuba uterinin ampulla bölgesinde epitel kalınlığı ölçüldü. Tuba uterinin ampulla bölgesi ultrastrüktürel olarak incelendi ve silli epitel hücrelerinde mitokondriyal hasar skorlaması yapıldı. **Bulgular:** Işık mikroskopik incelemede, epitel kalınlığı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi. Elektron mikroskopik incelemede, 1800 MHz EMA maruziyetinin, tuba uterina ampullasındaki silli epitel hücrelerinde ultrastrüktürel değişikliğe yol açtığı belirlendi. Ayrıca, bu hücrelerde mitokondriyal hasarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı. **Sonuç:** Bu çalışmada, EMA'ya bağlı ortaya çıkan mitokondriyal hasarın mitokondriyal apoptotik yolakların aktive olmasına neden olarak hücrel apoptozisi arttırabileceği düşünüldü. Mitokondriyal membranlarının ultrastrüktürel yapısında meydana gelen değişikliklerin, oksidatif hasar ve ROS'un aşırı üretimine neden olarak reproduktif çağıdaki kadınlarda infertilite gelişme olasılığını arttırabileceği kanaatine varıldı.

**Anahtar Sözcükler:** Elektromanyetik alan, infertilite, tuba uterina, üreme sistemi

---

**Yazının geliş tarihi:**26.08.2016 **Yazının kabul tarihi:**27.10.2016

**Sorumlu yazar:** Doç. Dr. Savaş AKTAŞ, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve embriyoloji AD. Mersin. Tel: 0 324 3610684 (1194), e-mail adresi:saktas@mersin.edu.tr

**Not:** Bu çalışma Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimince BAP-SBE HE (TÖ) 2014-2 YL Proje Numarası ile desteklenmiştir. Elektromanyetik Alanlar ve Etkileri Sempozyumunda (EMANET 2015-MERSİN) poster olarak sunulmuştur.

## Effects of subchronic 1800 MHz electromagnetic field exposure on the ampulla of uterine tube in rat

### Abstract

**Aim:** Often and long-term use of electronic devices in our daily life leads to electromagnetic field (EMF) exposure. The aim of this study was to examine the ampulla of the fallopian tube in rat that exposed to EMF by employing light and electron microscopy. **Method:** 12 female Wistar rats were used in this study. Rats were divided into two groups as the control (n=6) and EMF (n=6). Control group animals were not subjected into any action, whereas EMF group animals were exposed to a dose of 1800 MHz EMF for an hour per day in a four weeks period. Epithelial thickness in ampulla of the fallopian tube was measured. Ampulla of fallopian tube were ultrastructurally examined and ciliated epithelial cells were evaluated for mitochondrial damage scoring. **Results:** In light microscopic examination, there was no statistically significant difference among the groups in terms of epithelial thickness. Ultrastructural alternations were evident in ciliated epithelial cells of the ampulla in fallopian tubes after EMF (1800 MHz) exposure. Moreover, mitochondrial damage in ciliated epithelial cells was found to be significantly increased as compared to control group. **Conclusion:** In this study, its interpreted that mitochondrial damage resulted from the EMF might lead the activation of the mitochondrial apoptotic pathways therefore increase the cellular apoptosis. It is concluded that ultrastructural changes observed in mitochondrial membranes may further increase the risk of infertility development in women at reproductive age through oxidative damage and excessive ROS production.

**Keywords:** Electromagnetic field, infertility, reproductive system, uterine tube

### Giriş

Elektromanyetik dalga, bir radyo frekans kaynağından üretilen ve boşlukta yayılan bir alandır. Günlük yaşantımızda sık ve uzun süreli kullandığımız elektronik cihazlar elektromanyetik alana (EMA) maruz kalmamıza yol açmaktadır. EMA'ya sahip cihazlardan biri de mobil telefonlardır ve bu cihazlar 900-1800 MHz dalgalar yaymaktadır.<sup>1</sup> Elektronik cihazlardan üretilen elektromanyetik dalgaların yüksek ya da düşük şiddetteki gücü, insan vücudunda zararlı etkilere yol açmaktadır. Yüksek frekanslı elektromanyetik dalgalar ısıya bağlı zarar verirken, düşük frekanslı elektromanyetik dalganın uzun süre alınmasıyla dokularda kimyasal değişikliklere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır.<sup>2</sup> EMA maruziyetinin dokular üzerinde termal ve termal olmayan etkilere bağlı olarak hücrede biyolojik ve fonksiyonel değişikliklere neden olduğu bilinmektedir.<sup>3-5</sup>

Kadın üreme fonksiyonlarında çok önemli rolü olan tuba uterina (fallop tüpü), fertilizasyonun gerçekleştiği ve zigotun ilk yarıklanmaya başladığı yerdir.<sup>6</sup> Ayrıca erken

embriyonik gelişim için gerekli olan mikro çevrenin oluşmasını sağlar. Tuba uterina; infundibulum (fimbriyumlar), ampulla, isthmus ve uterotubal bileşke olarak dört ana bölgeye ayrılmaktadır.<sup>7,8</sup> Histolojik olarak tuba uterinanın duvarı mukoza, kas tabakası ve seroza tabakasından oluşmaktadır.<sup>9</sup> Bütün bölgelerin silli ve salgı epitel hücrelerinin yanı sıra düz kas hücreleri ve çeşitli bağ dokusu hücreleri gibi heterojen hücre tiplerinden oluştuğu kabul edilmektedir.<sup>10</sup> Epitel tabakasından bulunan silli hücrelerin apikal yüzeylerinde bulunan sillerin, temel fonksiyonu tüp içerisindeki gamet ve embriyoların hareketinin sağlanmasıdır. Salgı hücreleri ise mikrovillus içerir ve bu hücrelerde biriken salgı materyalleri daha sonra oosit ve embriyo beslenmesi için lümeneye salgılanır.<sup>11</sup> Memelilerde gametlerin transferi, fertilizasyon, başlangıçtaki embriyonik gelişim ve implantasyon için uterus embriyo transferinin tuba uterina fonksiyonuna bağlı olduğu bilinmektedir.<sup>8</sup> Tuba uterina işlev bozukluğu potansiyel olarak yaşamı tehdit eden tubal ektopik gebeliğe neden olabilmektedir.<sup>12</sup>

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, kronik veya uzun süreli EMA maruziyetinin üreme üzerine toksik etkileri olduğu ileri sürülmüştür. Düşük frekanslı EMA maruziyetinin, hücrelerde oksidatif strese neden olarak çoğalma ve DNA hasarına yol açtığı gösterilmiştir.<sup>13-15</sup> Yapılan çalışmalarda hücre çoğalması, antijen yüzey özellikleri, gen ekspresyonu, DNA bütünlüğü, apoptozis ve iyon homeostazındaki değişiklikler gibi çeşitli hücre aktivitelerinin oldukça düşük EMA'dan (50-60 Hz) etkilendiği gösterilmiştir.<sup>16</sup> EMA maruziyetinin insan üreme sistemi üzerine gerçek etkisi henüz bilinmemektedir. Üreme sistemi ile ilgili yapılan çalışma raporlarındaki parametrelere göre, EMA maruziyeti erkek germ hücrelerinin ölümüne, üreme organlarında fonksiyonel ve morfolojik değişikliklere sperm motilite bozukluklarına, embriyonik gelişim bozukluklarına ve düşük gebelik oranlarına neden olduğu bildirilmiştir.<sup>17,18</sup> Ayrıca, EMA'nın testiküler mimariyi, leydig hücrelerinde azalmayı, genel olarak subfertilite veya infertilitede artışı etkilediğini gösteren çok sayıda çalışma vardır.<sup>19,20</sup> İnsan ve hayvan çalışmalarında, EMA'ya maruz kalan dişilerde bazı olumsuz etkilere neden olduğu bildirilmiştir ve infertilite, implantasyon oranı, yaşayan fetus, cinsiyet oranı, düşükler, erken doğum, büyüme geriliği, düşük doğum ağırlığı, konjenital malformasyonlar ve prenatal ölümlerin sayısı üzerine EMA'nın potansiyel etkisi değerlendirilmiştir.<sup>21-23</sup> Ayrıca, 60 Hz, günde 16 saat 30 µT EMA'nın östrus döngüsünün uzamasına neden olduğu gösterilmiştir.<sup>24</sup>

EMA maruziyeti hem kadın, hem de erkek infertilitesinin önemli bir kısmını oluşturan henüz fizyopatolojisi tam olarak açıklanamamış bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda cep telefonlarının çevreye yaydığı 1800 MHz'lik elektromanyetik dalgaların sıçan tuba uterina ampullası üzerindeki olası etkisinin ışık ve elektron mikroskopik olarak incelenmesi amaçlandı.

## **Gereç ve Yöntemler**

### *Deney Hayvanları ve Deney Protokolü*

Deney protokolü Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylandı. Çalışmamızda Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarından elde edilen 12 adet Wistar cinsi dişi sıçan kullanıldı. Denekler deney süresince, sıcaklığı 23±1°C, nem oranı %45-65 ve 12 saat gece, 12 saat gündüz koşulları sağlanan laboratuvar ortamında, 35cmX45cmX25cm boyutlarında plastik kafeslerde barındırıldı ve hazır pellet yem ve çeşme suyu ile beslendi. Denekler kontrol grubu (n=6) ve EMA grubu (n=6) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Kontrol grubu EMA'dan etkilenmeyecek şekilde farklı odada barındırıldı. Kontrol grubundaki deneklere 30 gün boyunca hiçbir işlem yapılmadı. EMA grubundaki denekler 30 gün boyunca günde 1 saat 1800 MHz EMA'ya maruz bırakıldı.<sup>25</sup> EMA uygulaması için Everest GSM Simulatör (1800CW2, Adapazarı, Türkiye) kullanıldı. 1800 MHz GSM simulatör, 1750-1850 MHz frekans aralığına, maksimum 0-2 W çıkış gücüne, 2 radyo frekans (RF) çıkış ucuna sahipti. Deneklere EMA uygulanmadan önce, portatif alan metre (PMM 8053, Costruzioni Elettroniche Centro Misura Radioelettriche Srl., Neva, İtalya) ve 100 kHz-3 GHz frekans bölgesinde, 0.3-300 V/m aralığındaki elektrik alan şiddeti ölçen EP-330 elektrik alan probu ile sıçanların yerleştirileceği ortamın elektrik alanı ölçüldü. Uygulama sırasında, sıçanlar 12 dilimli pie cage şeklinde tasarlanmış pleksiglas kafeslerde tutuldu. Elektrik alanının eşit dağılımını sağlamak için, 15 cm yüksekliğindeki anten 12 dilimli pie cage restrainerin orta noktasına yerleştirildi ve sıçanlarla anten arasındaki mesafe 6 cm olarak ölçüldü. Yapılan ölçümlerde EMA'nın özgül soğurma oranı (SAR) ortalama 0.06 W/kg olarak hesaplandı. Deney sonunda tüm deneklerden vajinal smear alındı ve östrus siklusunda sakrifiye edilen deneklerin tuba uterina dokuları alındı.

### Işık Mikroskopik Değerlendirme

Işık mikroskopik inceleme için sol tuba uterina dokuları %10'luk formaldehitte 48 saat tespit edildi ve rutin doku takibinden sonra parafine gömüldü. Parafin bloklardan rotary mikrotom (Leica® RM2125RT, Leica Avusturya-Viyana) ile 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Periyodik Asit-Shiff (PAS) ve Hematoksilen-Eozin (H-E) ile boyandı. Boyanan kesitler ışık mikroskobu (BX50F4, Olympus, Japan) ile incelendi ve mikroskoba monte edilmiş dijital kamera ile fotoğraflandı. Tuba uterinin ampulla bölgesi morfolojik olarak değerlendirildi. Ayrıca X40 objektif büyütmede ampullanın 4 farklı bölgesinden randomize seçilen 10 farklı alanda epitel kalınlığı ölçüldü.

### Elektron Mikroskopik Değerlendirme

Elektron mikroskopik inceleme için sağ tuba uterina dokuları %2.5 gluteraldehit ile 6 saat tespit edildi ve doku takibinden sonra epoksi rezine gömüldü. Bloklardan alınan 70 nm kalınlığındaki kesitler 300 gözenekli bakır gridlere alındı ve uranil asetat ve kurşun sitrat ile kontrastlandı. Boyanan kesitler transmisyon elektron mikroskobu (Jeol® JEM1011, Tokyo, Japonya) ile incelendi ve mikroskoba eklenmiş dijital kamera (Megaview III, Olympus GmbH, Germany) ile fotoğraflandı. Ampulla ultrastrüktürel olarak değerlendirildi ve 10 farklı silli epitel hücrelerinde mitokondriyal ultrastrüktürü X50000 büyütmede randomize seçilen her hücreden 10 mitokondriyon olmak üzere toplamda 100 mitokondriyon incelenerek değerlendirildi. Ultrastrüktürel mitokondriyal hasar düzeyini temsil eden bileşik skor değerlendirme sisteminde (0 ile 5 arasında) aşağıdaki değerlendirme tablosu kullanılmıştır (Tablo 1).<sup>26</sup> Elde edilen sonuçlardan ortalama mitokondriyal hasar skoru elde edilmiştir.

**Tablo 1.** Hücresel Hasar Aşamaları Üzerine Mitokondriyal Hasar Skorlama Sistemi

Hücresel Hasar Evreleri	Mitokondriyal Hasar Skoru	Mitokondriyal Özellikler
Evre I	0.0	Normal görünüm
Evre II/III	1.0	Endoplazmik retikulum şişmesi, minimal mitokondriyal şişme
Evre IV	2.0	Hafif mitokondriyal şişme
	3.0	Orta veya fokal yüksek-genlikli şişme
	4.0	Diffüz yüksek-genlikli şişme, krista membran bütünlüğünün bozulması
Evre V/VI	5.0	Bazı mitokondriyal flokülen dansiteleri ve/veya kalsifikasyonlar ile birlikte yüksek-genlikli şişme

*İstatistiksel Analiz*

Tüm gruplarda parametrelerin normal dağılıma uygunluğu, Shapiro Wilks testi ile kontrol edilmiş ve grupların normal dağılım gösterdiği saptanmıştır. Epitel kalınlığı t-testiyle istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Grupların ortalama mitokondriyal hasar skorları Mann Whitney-U testiyle istatistiksel olarak karşılaştırıldı. İstatistik analizlerde SPSS 11.5 (SPSS Inc., Chicago IL, USA) ve Statistica 6.0 paket programları (StatSoft Inc., Tulsa, OK) kullanıldı ve analizlerde  $p < 0.05$ 'den küçük değerler anlamlı olarak kabul edildi.

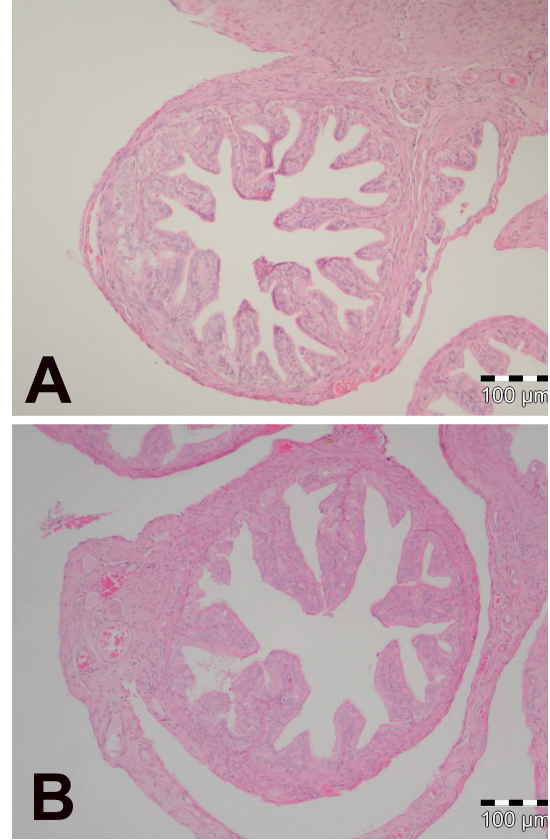
**Bulgular***Işık Mikroskopik Bulgular*

Işık mikroskopik değerlendirmelerde kontrol ve EMA grubuna ait tuba uterina ampullasının normal yapıda olduğu gözlemlendi. Her iki grupta tunika mukoza tabakasındaki tek katlı silli silindirik epitel hücrelerinin ve epitel hücrelerinin altındaki bağ dokusunun normal yapıda olduğu saptandı (Şekil 1A ve Şekil 1B).

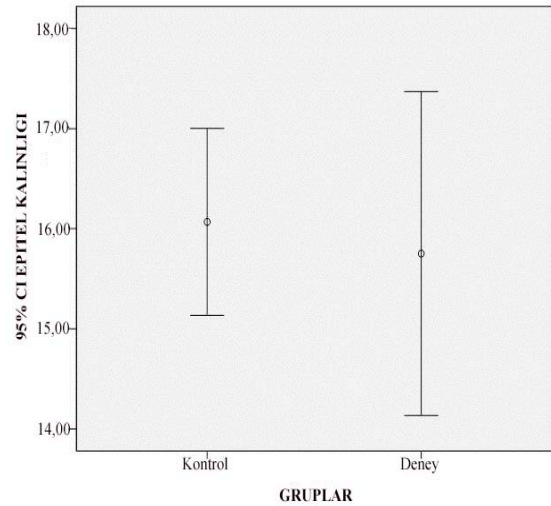
Gruplar arasında epitel kalınlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ( $p=0,871$ ), (Tablo 2, Şekil 2 ve Şekil 3). Ayrıca tunika muskularis ve tunika seroza tabakalarının normal yapıda olduğu izlendi (Şekil 1A,B).

**Tablo 2.** Tuba uterina epitel kalınlık değerleri ( $\mu\text{m}$ )

Gruplar	N	Ortalama	Standart Sapma	p
Kontrol	6	16,06	2,82	0,871
EMA	6	15,75	3,71	



**Şekil 1:** Işık mikroskopik tuba uterina ampulla bölgesi. Kontrol grubu (A); EMA grubu (B). H&E boyama X300.



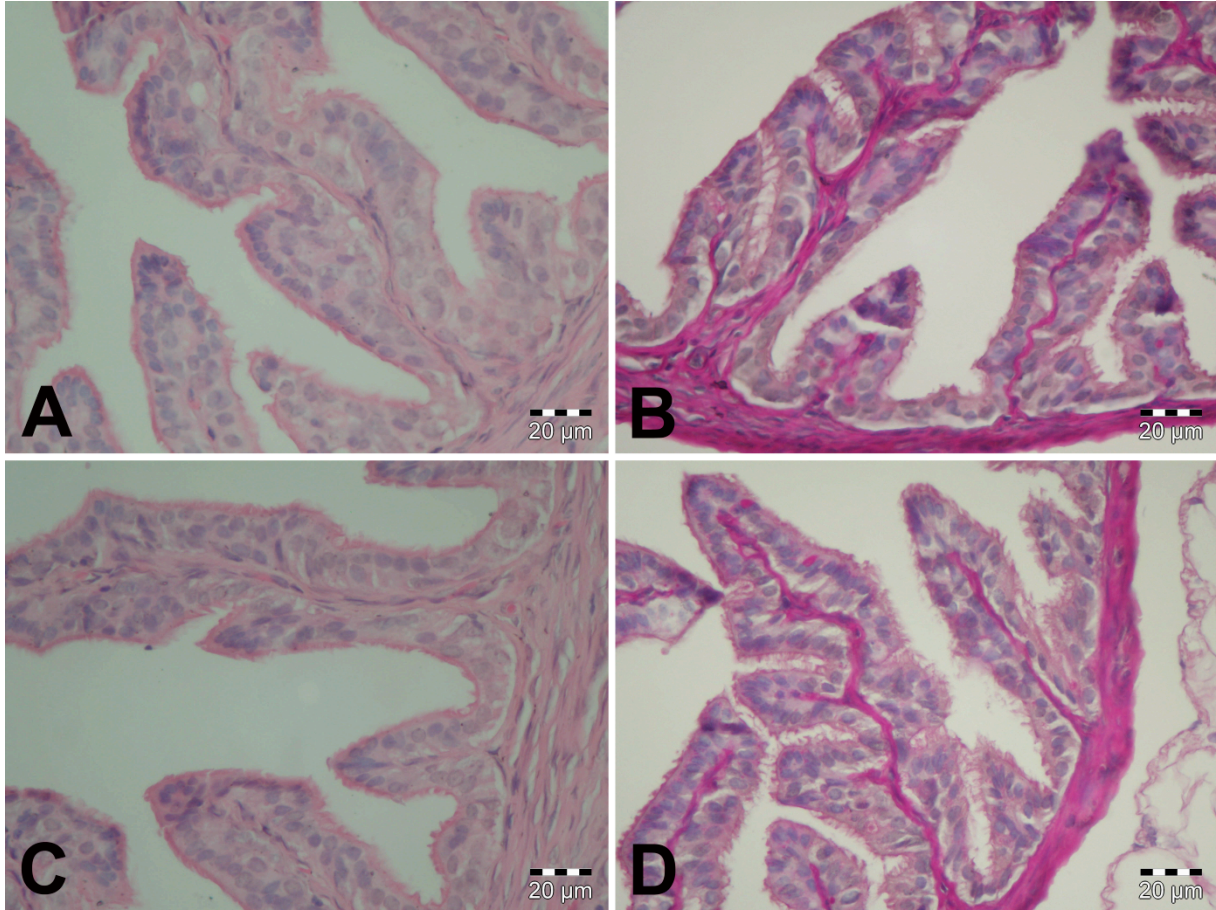
**Şekil 2:** Kontrol ve EMA gruplarında tuba uterina ampulla bölgesi epitel kalınlığı.

*Elektron Mikroskopik Bulgular*

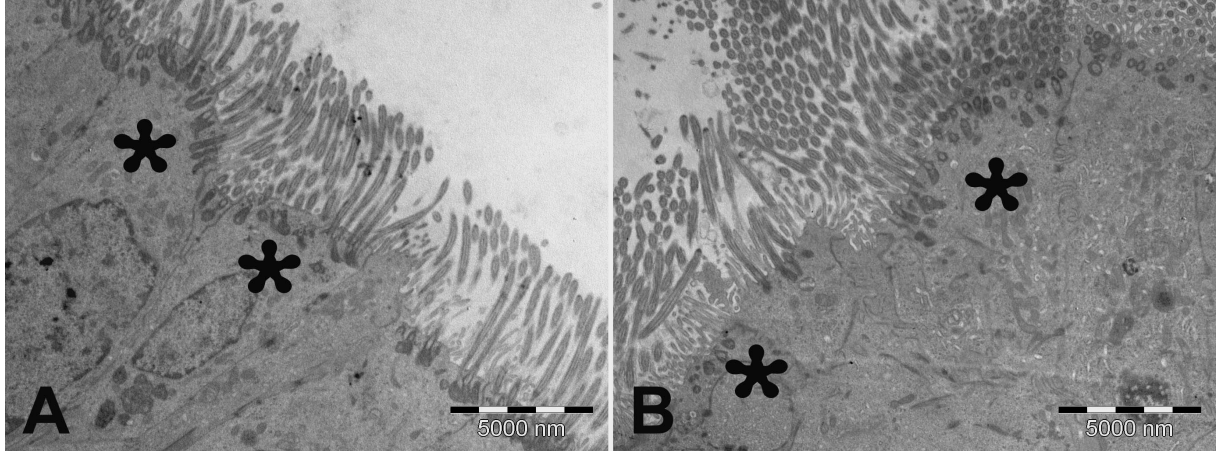
Elektron mikroskopik incelemede; kontrol grubunda, ampulla epitelindeki silli hücrelerin ve salgı hücrelerinin (Şekil 4A), hücrelerarası bağlantı komplekslerinin (Şekil 5A), bazal laminalarının (Şekil 5B) nükleus ve organellerinin normal ince yapıda olduğu saptandı (Şekil 6A ve 6B).

EMA grubunda ise, silli hücrelerin ve salgı hücrelerinin nükleusları normal morfolojik yapıdaydı (Şekil 4B). Ancak silli hücrelerin yan yüzey özelleşmelerinden biri olan desmozomların plak dansitelerinde yer yer azalmalar saptandı (Şekil 5C). Bu hücrelerin sillerinin ve bazal laminasının

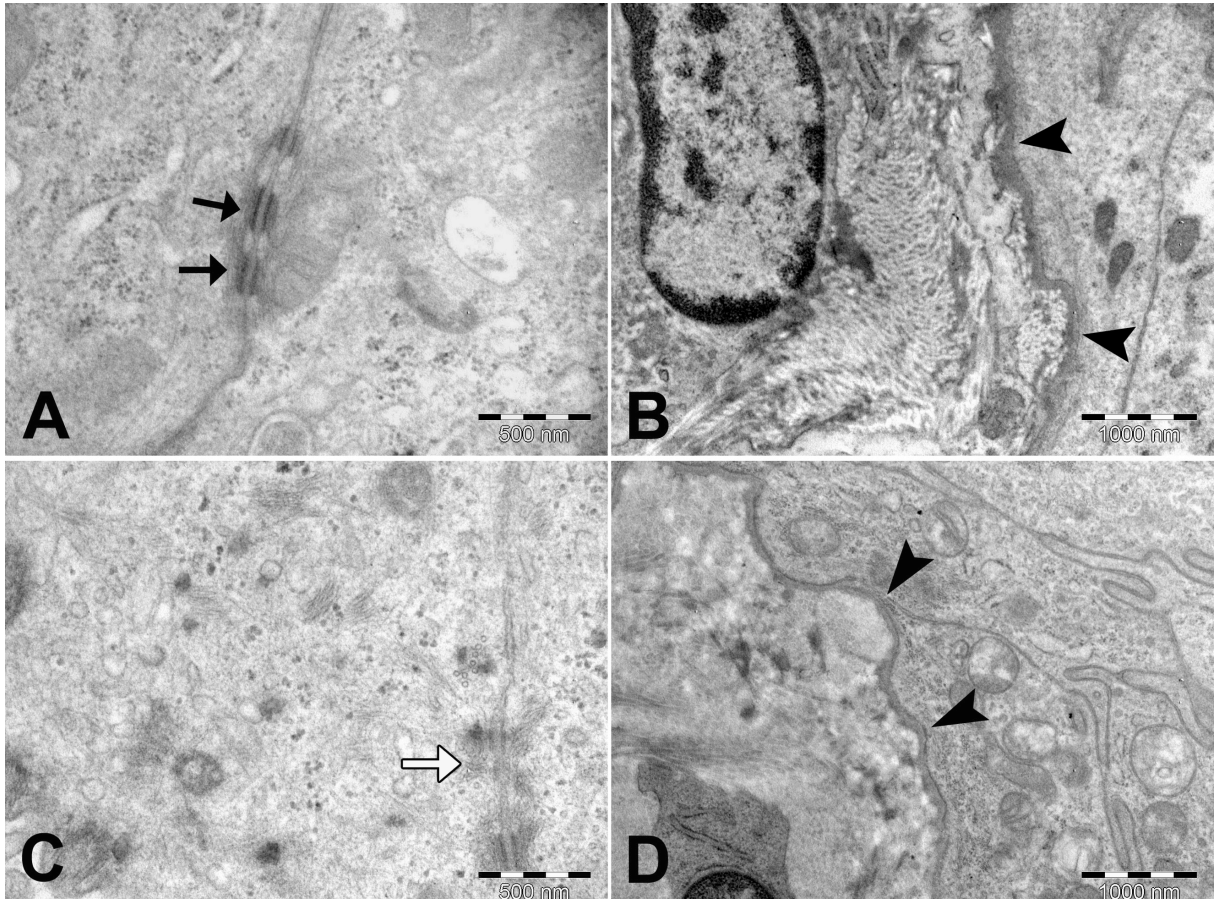
normal ince yapıda olduğu gözlemlendi (Şekil 4B ve Şekil 5D). Hücre organellerinde ise granüllü endoplazmik retikulum sisternalarında yer yer genişlemeler, mitokondriyonların matriks dansitelerinde azalma, krista yapılarında bozulma, krista iç-dış zarında yer yer parçalanmalar ve vakuolizasyon görüldü (Şekil 6C ve 6D). Silli hücrelerde yapılan mitokondriyal hasar skorlamasında ise kontrol grubuna (Şekil 6A ve 6B) göre EMA'ya maruz bırakılan grupta (Şekil 6C ve 6D) mitokondriyal hasarın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ( $p < 0,05$ ), (Tablo 3, Şekil 7).



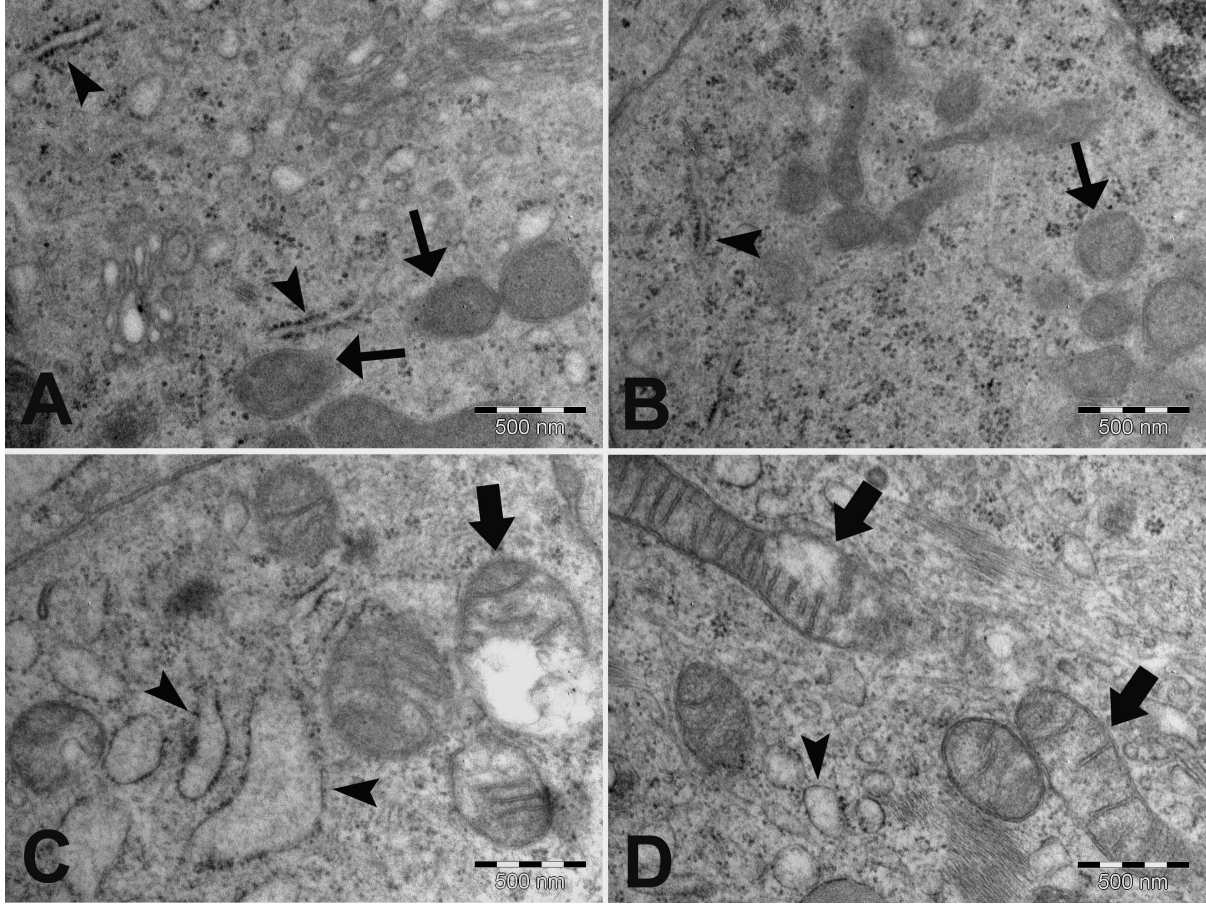
**Şekil 3:** Işık mikroskopik tuba uterina ampulla bölgesi. Kontrol grubu (A, B); EMA grubu (C, D). H&E boyama (A, C), PAS boyama (B, D) X1200.



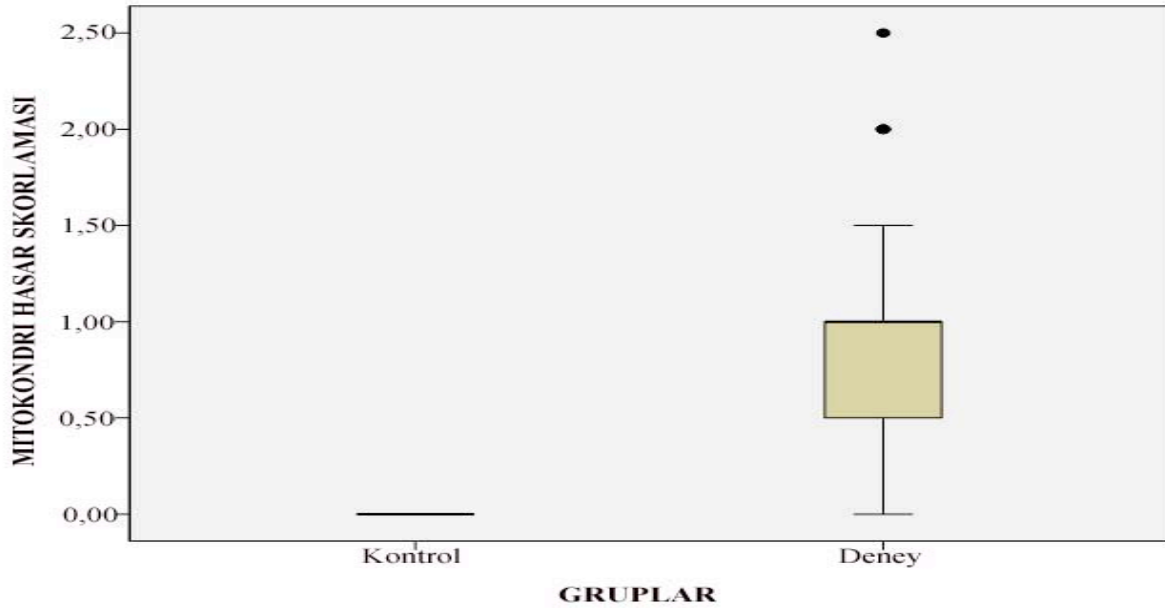
**Şekil 4:** Kontrol (A) ve EMA (B) grubu tuba uterina ampulla bölgesi mukoza epitelinde silli epitel hücreleri (asteriskler), Uranil asetat-kurşun sitrat X6000.



**Şekil 5:** Kontrol (A, B) ve EMA (C, D) grubu tuba uterina ampulla bölgesi mukoza epitelinde silli epitel hücreleri. Kontrol grubunda normal yapıda desmozom plakları (A) (siyah oklar) (X50000). EMA grubunda desmozom plak dansitesinde azalma (beyaz ok) (C), (X50000). Kontrol (B) ve EMA (D) gruplarında normal yapıda bazal lamina (ok başları) (X25000).



**Şekil 6:** Kontrol grubunda (A, B) normal ultrastrüktürel yapıda mitokondriyon (ince oklar) ve granüllü endoplazmik retikulum sisternaları (ok başları), (X50000). EMA grubunda (C, D) mitokondriyal dejenerasyon (kalın oklar) ve granüllü endoplazmik retikulum sistenalarında genişleme (ok başları), (X50000).



**Şekil 7:** Kontrol ve EMA gruplarında tuba uterina silli epitel hücrelerinde mitokondriyal hasar skorlaması.



## **Tartışma**

Elektromanyetik dalgaların dokular üzerinde termal ve termal olmayan (kimyasal) etkileri ile biyolojik fonksiyonlarda değişiklikler yaptığı bilinmektedir.<sup>27</sup> Yapılan çalışmalarda, EMA'nın dokularda reaktif oksijen türlerini (ROS) arttırarak oksidatif strese yol açtığı, serbest radikal ve Ca<sup>+2</sup> artışına bağlı olarak DNA hasarı, protein katlanma kusurları ve Ca<sup>+2</sup>-bağımlı hücre sinyalizasyonunda bozulmalara neden olduğu raporlanmıştır,<sup>17</sup> Ayrıca, EMA'nın fertilité üzerinde olumsuz biyolojik etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir.<sup>20</sup> Literatürde EMA'ya maruz bırakılan erkek sıçan ve farelerde sperm sayısı, hareketliliği ve canlılığında azalma, leydig hücre sayısında azalma, germ hücre apoptozisinde artmaya yol açarak subfertilité ya da infertilitéye neden olduğunu gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır.<sup>16,17</sup> Ancak EMA'nın dişi üreme sistemi ve kadın fertilitésini üzerine etkisi ile ilgili çelişkili sonuçlar bulunmaktadır.<sup>21,22</sup> Guney ve ark.<sup>28</sup> tarafından yapılan bir çalışmada, 30 gün boyunca (30 dakika/gün) 900 MHz EMA'ya maruz kalan dişi sıçanlarda, endometriyal stromada enflamasyonun, endometriyal epitel hücrelerinde apoptozisin arttığı bildirilmiştir. Başka bir çalışmada ise 30 gün boyunca (2 saat/gün) 1800 MHz EMA'ya maruz kalan dişi sıçanlarda, oositte dejeneratif değişikliklerin gözleendiği, granüloza hücrelerinde ise apoptozisin artırdığı gösterilmiştir.<sup>29</sup> Buna karşın Yamashita ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise, 3 gün boyunca (4 saat/gün) 1439 MHz EMA'ya maruz bırakıldıktan sonra overektomi yapılan dişi sıçanlarda, uterus ağırlığında ve serum östrojen seviyelerinde herhangi bir değişiklik saptanmamıştır.<sup>30</sup> Bu nedenle EMA'nın dişi üreme sistemi üzerine etkisinin daha iyi anlaşılması için deneysel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu

çalışmada kadın fertilitésini için önemli olan tuba uterina üzerine EMA'nın etkisinin gösterilmesi planlanmıştır.

Çalışmamızda 30 gün boyunca (1 saat/gün) 1800 MHz EMA'ya maruz bırakılan sıçanların tuba uterina epitel kalınlığında kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık saptanmadı. Alchalabi ve ark. tarafından yapılan çalışmada, 30 gün boyunca (2 saat/gün) 1800 MHz EMA'ya maruz bırakılan sıçanların uterus luminal epitel hücrelerinin kalınlığının arttığı gösterilmiştir.<sup>29</sup> Başka bir çalışmada, 2 hafta boyunca (4 saat/gün) çok düşük frekanslı (50 Hz) EMA'ya maruz bırakılan tuba uterina epitel hücrelerinin kalınlığının arttığı ortaya konulmuştur.<sup>31</sup> Çalışmamızda önceki çalışmalardan farklı olarak, uygulanan EMA'nın frekansı daha yüksek olmasına (1800 MHz) karşın, maruz kalma süresi daha kısaydı (30 gün boyunca 1 saat/gün). Bununla ilişkili olarak EMA'ya maruz bırakılan sıçanlarda, tuba uterina epitel kalınlığında değişikliğin gözlenmemesinde, EMA maruziyet süresinin etkili olabileceği kanaatine varıldı. Bu çalışma ve diğer çalışmalarda, tuba uterina epitel kalınlığında gözlenen farklılıkların frekans, maruz kalma süresi, kullanılan spesifik absorpsiyon oranı ve EMA'nın kaynağı açısından deney tasarımlarındaki varyasyonlardan kaynaklanabileceğini düşündük. EMA maruziyetine bağlı olarak epitel kalınlığında değişime neden olan mekanizmalar henüz açıklanamamasına rağmen, bunun özellikle Ca<sup>+2</sup> gibi küçük moleküllere hücre membranının artan geçirgenliği, serbest radikallerin kimyasal reaksiyonları ve süperoksit dismutaz aktivitesindeki artış nedeniyle olabileceği öne sürülmüştür.<sup>32</sup>

Tuba uterina gametlerin ve embriyonun taşınması, fertilizasyon ve erken embriyo gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır.<sup>10</sup> Bu çalışmada, 1800

MHz EMA maruziyetinin tuba uterina silli epitel hücrelerinde, yan yüzey özelleşmeleri ve hücre organellerinde ultrastrüktürel değişikliklere neden olduğu görüldü. Cervellati ve ark.'nın yapmış olduğu hücre kültürü çalışmasında, 1800 MHz EMA'ya maruz bırakılan HTR-8 / SVneo hücrelerde (ekstravillus trophoblast hücre hattı) gap junction benzeri hücreler arası bağlantıların sayısında ve elektron dansitesinde azalma olduğu raporlanmıştır.<sup>33</sup> Bu çalışmalarla uyumlu olarak çalışmamızda, EMA'ya maruz kalan tuba uterina silli epitel hücreleri arasındaki bazı desmozomların dansitelerinde azalma olduğu saptandı. Bunun sonucunda EMA'nın hücreysel  $Ca^{+2}$  akımında değişikliğe yol açarak,  $Ca^{+2}$  ile ilişkili desmozomal kadherinlerin birleşmesini etkilediği ve buna bağlı olarak desmozomlarda yapısal değişikliklerin ortaya çıkabileceği düşünüldü. Desmozomlarda meydana gelebilecek yapısal değişiklikler hücre şekli ve fonksiyonel bütünlüğünde hasara yol açtığı bilinmektedir.<sup>34</sup> Desmozom dansitesinde görülen azalmanın epitelin yapısal bütünlüğünü bozarak hücrelerin fonksiyonel aktivitelerinde değişikliklere neden olabileceği ve bu durumun erken embriyo gelişimini ve taşınmasını etkileyebileceği ve ektopik (tubal) gebeliğe veya infertiliteye neden olabileceği kanaatine varıldı. EMA maruziyeti sonrasında tuba uterina epitel hücrelerinin intersellüler bağlantılarında meydana gelen değişikliklerin infertilite ile ilişkisini açıklığa kavuşturmak için daha ayrıntılı planlanmış çalışmalara ihtiyaç vardır.

Yapılan çalışmalarda, çok düşük frekanslı (50 Hz) EMA'ya maruz kalan sıçanların uterus epitel hücrelerinde nükleer heterokromatin görünümünün arttığı, mitokondriyonların kondanse olduğu mitokondriyal kristalarda yoğunlaşma ve kayıp olduğu

bildirilmiştir.<sup>35,36</sup> Başka çalışmalarda ise, gebeliğin 13-21. günleri boyunca 900 MHz (1 saat/gün) EMA'ya maruz bırakılmış 21 günlük yenidoğan erkek sıçanların kalp ve karaciğer hücrelerinde, genişlemiş endoplazmik retikulum, mitokondriyal şişme ve krista kaybı olduğu ultrastrüktürel olarak ortaya konulmuştur.<sup>37,38</sup> Çalışmamızda ultrastrüktürel olarak EMA'ya maruz kalan tuba uterina silli epitel hücrelerinin mitokondriyonlarında matriks dansitesinde azalma, krista yapısında bozulma, vakuolizasyon ve mitokondriyon iç-dış zarında yer yer parçalanmalar gözledik. Mitokondriyal solunum zinciri süperoksit radikallerinin ( $O_2$  ve  $H_2O_2$ ) üretildiği temel bölgedir ve EMA'nın deneysel koşullar altında ROS radikallerinden fazla miktarda üretmek için mitokondriyal membranları etkileyebileceği bildirilmiştir.<sup>20</sup> EMA ROS üretimini artırarak ya da antioksidan enzimlerin aktivitesini azaltarak ROS metabolizmasını bozmaktadır. Artan ROS üretiminin azalmış erkek fertilitesi ile ilişkili olduğu, sperm plazma membranında peroksidatif hasara neden olduğu, ayrıca insan sperminde hem DNA zincir kırılmalarını hemde oksidatif baz hasarını indüklediği gösterilmiştir.<sup>39,40</sup> Bu nedenle bizim çalışmamızda saptanan tuba uterina epitel hücrelerinin mitokondriyal membranlarının ultrastrüktürel yapısında meydana gelen değişikliklerin oksidatif hasar ve ROS'un aşırı üretimine neden olarak reproduktif çağıdaki kadınlarda infertilite gelişme olasılığını arttırabileceği düşünüldü. EMA'ya maruz kalan silli epitel hücrelerinde görülen mitokondriyal hasarın ROS üretimindeki değişikliklerle ilişkili olup olmadığının belirlenmesi için süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ve katalaz (KAD) ölçümünü de içine alacak şekilde planlanacak daha

ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca, EMA'ya bağlı ortaya çıkan mitokondriyal değişikliklerin, mitokondriyal apoptotik yolların aktive olmasına neden olarak hücrel apoptozisi arttırabileceği düşünüldü. Nitekim Roshangar ve Rad tarafından yapılan çalışmada, çok düşük frekanslı (50 Hz) EMA maruz kalan sıçanlarda, uterus ve tuba uterina epitelinde apoptotik hücreler gösterilmiştir.<sup>35</sup>

### Sonuç

Bu çalışmada 1800 MHz EMA uygulanmasının tuba uterina ampulla epiteli kalınlığında anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı ancak silli epitel hücrelerinde ultrastrüktürel değişikliklere yol açtığı saptandı. Tuba uterina epitel hücrelerinde meydana gelen bu değişikliklerin neden olduğu hücrel fonksiyon kayıplarının daha ayrıntılı araştırılmasının infertilite tedavisine katkıda bulunacağı düşünüldü.

### Kaynaklar

1. Agarwal A. Cell phones and male infertility: dissecting the relationship. *Reprod Biomed Online* 2007;15(3):266-270.
2. Özen Ş. Mikrodalga frekanslı EM radyasyona maruz kalan biyolojik dokularda oluşan ısıl etkinin teorik ve deneysel incelenmesi. Doktora Tezi, Yayınlanmamış Tezi, Sakarya, 2003.
3. Hossmann KA, Hermann DM. Effects of electromagnetic radiation of mobile phones on the central nervous system. *Bioelectromagnetics* 2003;24:49-62.
4. Bortkiewicz A. A study on the biological effects of exposure mobile-phone frequency EMF. *Med Pr* 2001;52:101-106.
5. Yasser M, Randa MM, Belacy SH, Abou-El-Ela Fadel MA. Effects of acute exposure to the radiofrequency fields of cellular phones on plasma lipid peroxide and antioxidase activities in human

erythrocytes. *J Pharma Biom Analysis* 2001;26:605-608.

6. Kierszenbaum AL, Histoloji ve Hücre Biyolojisi. 2. Baskı, Ankara, Türkiye, Palme Yayınevi, 2006:212-217.
7. Hagiwara H, Ohwada N, Aoki T, Suzuki T, Takata K. Immunohistochemical and electron microscopic observations of stromal cells in the human oviduct mucosa. *Med Mol Morphol* 2008;41:221-226.
8. Shao R, Weijdega B, Fernandez-Rodriguez J, Egecioglu E, Zhu C, Andersson N, Thurin-Kjellberg A, Bergh C, Billig H. Ciliated epithelial-specific and regional-specific expression and regulation of the estrogen receptor- $\beta$ 2 in the fallopian tubes of immature rats: a possible mechanism for estrogen-mediated transport process in vivo. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007;293:147-158.
9. Briceag I, Costache A, Purcarea VL, Cergan R, Dumitru M, Briceag I, Sajin M, Ispas AT. Fallopian tubes--literature review of anatomy and etiology in female infertility. *J Med Life* 2015;8(2):129-31.
10. Lyons RA, Saridogan E, Djahanbakhch O. The reproductive significance of human Fallopian tube cilia. *Hum Reprod Update* 2006;12:363-372.
11. Bahathiq AOS, Ledger WL. Historical background and functional anatomy. Cambridge University Press 2010;1-7.
12. Tay JI, Moore J, Walker JJ. Ectopic pregnancy. *West J Med* 2000;173:131-134.
13. Gul A, Celebi H, Uğraş S. The effects of microwave emitted by cellular phones on ovarian follicles in rats. *Arch Gynecol Obstet* 2009;280(5):729-33.
14. Wolf F, Torsello A, Tedesco B, Fasanella S, Boninsegna A, D'Ascenzo M, Grassi C, Azzena GB, Cittadini A. 50-Hz extremely low frequency electromagnetic fields enhance cell proliferation and DNA damage: possible involvement of a redox mechanism. *Biochim Biophys Acta* 2005;1743:120-129.
15. Canseven AG, Coşkun S, Seyhan N. Effects of various extremely low frequency magnetic fields on the free radical processes, natural antioxidant system and respiratory burst system

- activities in the heart and liver tissues. *Indian J Biochem Biophys* 2008;45(5):326-331.
16. Bernabo N, Tettamanti E, Russo V, Martelli A, Turriani M, Mattoli M, Barboni B. Extremely low frequency electromagnetic field exposure affects fertilization outcome in swine animal model. *Theriogenology* 2010;73:1293-1305.
  17. Gye MC, Park CJ. Effect of electromagnetic field exposure on the reproductive system. *Cerm* 2012;39(1):1-9.
  18. Lee JS, Ahn SS, Jung KC, et al. Effects of 60 HZ electromagnetic field exposure on testicular germ cell apoptosis in mice. *Asian J Androl* 2004;6:29-34.
  19. Khaki AA, Tubbs RS, Shoja MM, Rad JS, Khaki A, Farahani RM, Zarrintan S, Nag TC. The effects of an electromagnetic field on the boundary tissue of the seminiferous tubules of the rat: a light and transmission electron microscope study. *Folia Morphol* 2006;65:105-110.
  20. Behari J, Rajamani P. Electromagnetic Field Exposure Effects (ELF-EMF and RFR) on Fertility and Reproduction. *Bioelectromagnetics Laboratory* 2012:1-37.
  21. Roshangar L, Soleimani Rad J. Ultrastructural alterations and occurrence of apoptosis in developing follicles exposed to low frequency electromagnetic field in rat ovary. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 2007;10(24):4413-4419.
  22. Lahijani MS, Nojooshi SE, Siadat SF. Light and electron microscopic studies of effect of 50 HZ electromagnetic fields on preincubated chick embryo. *Electromag Biol Med* 2007;26:83-89.
  23. Chiang H, Wu RY, Shao BJ, Fu YD, Yao GD, and Lu DJ. Pulsed magnetic field from video display terminals enhances teratogenic effects of cytosine arabinoside in mice. *Bioelectromagnetics* 1995;16:70-74.
  24. Rodriguez M, Petitclerc D, Burchard JF, Nguyen DH, Block E, Downey BR. Responses of the estrous cycle in dairy cows exposed to electric and magnetic fields (60 Hz) during 8-h photoperiods. *Anim Reprod Sci* 2003;15;77(1-2):11-20.
  25. Alchalabi ASH, Aklilu E, Aziz AR, Malek F, Ronald SH, Khan MA. Exposure to 1800 MHz GSM-like radiofrequency electromagnetic field reduces follicular development and overall fertility of female rats. *Asian Pacific Journal of Reproduction* 2015;4(3):1-8.
  26. Crouser ED, Julian MW, Dorinsky PM. Ileal VO<sub>2</sub>-DO<sub>2</sub> alterations induced by endotoxin correlate with the severity of mitochondrial injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1347-1353.
  27. Williams JM. Biological Effects of Microwaves: Thermal and Nonthermal Mechanisms. *Biological Thermal and Nonthermal Mechanisms* 2013;4.4:1-48.
  28. Guney M, Ozguner F, Oral B, Karahan N, Mungan T. 900 MHz radiofrequency-induced histopathologic changes and oxidative stress in rat endometrium: protection by vitamins E and C. *Toxicol Ind Health* 2007;23:411-420.
  29. Alchalabi ASH, Rahim H, Aklilu E, Al-Sultan II, Aziz AR, Malek MF, Ronald SH, Khan MA. Histopathological changes associated with oxidative stress induced by electromagnetic waves in rats' ovarian and uterine tissues. *Asian Pacific Journal of Reproduction* 2016;5(4):301-310.
  30. Yamashita H, Hata K, Yamaguchi H, Tsurita G, Wake K, Watanabe S, Taki M, Ueno S, Nagawa H. Short-term exposure to a 1439-MHz TDMA signal exerts no estrogenic effect in rats. *Bioelectromagnetics* 2010;31(7):573-575.
  31. Rajaei F, Borhani N, Sabbagh-Ziarani F, Mashayekhi F. Effects of extremely low-frequency electromagnetic field on fertility and heights of epithelial cells in pre-implantation stage endometrium and fallopian tube in mice. *Journal of Chinese Integrative Medicine*. 2010;8(1):56-60.
  32. Hafizi L, Gholizadeh M, Karimi M, Hosseini G, Mostafavi-Toroghi H, Haddadi M, Rezaiean A, Ebrahimi M, Meibodi NE. Effects of magnetized water on ovary, preimplantation stage endometrial and fallopian tube

- epithelial cells in mice. *Iran J Reprod Med* 2014;12(4):243-248.
33. Cervellati F, Franceschetti G, Lunghi L, Franzellitti S, Valbonesi P, Fabbri E, Biondi C, Vesce F. Effect of high-frequency electromagnetic fields on trophoblastic connexins. *Reproductive Toxicology* 2009;28:59-65.
  34. Raju P, Wadhwan V, Chaudhary MS. Desmosomes: A light microscopic and ultrastructural analysis of desmosomes in odontogenic cysts. *J Oral Maxillofac Pathol* 2014;18(3):336-340.
  35. Roshangar L, Rad JS. Environmental Electromagnetic Field and. Female Fertility. From Preconception to Postpartum, Dr. Stavros Sifakis (Ed.), Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran, 2012:57-86.
  36. Roushangar L, Rad JS. Ultrastructural alterations and occurrence of apoptosis in developing follicles exposed to low frequency electromagnetic field in rat ovary. *Pak J Biol Sci* 2007;10(24):4413-4419.
  37. Topal Z, Hancı H, Mercantepe T, Erol HS, Keleş ON, Kaya H, Mungan S, Odacı E. Effects of prenatal long-duration exposure to 900-MHz electromagnetic field on the 21-day-old newborn male rat liver. *Turk J Med Sci* 2015;45:291-297.
  38. Turedi S, Hancı H, Topal Z, Unal D, Mercantep T, Bozkurt I, Kaya H, Odacı E. The effects of prenatal exposure to a 900-MHz electromagnetic field on the 21-day-old male rat heart. *Electromagn Biol Med* 2015;34(4):390-397.
  39. Hughes CM, Lewis SE, Mckelvey-Martin VJ, Thompson W. A comparison of baseline and induced DNA damage in human spermatozoa from fertile and infertile men, using a modified comet assay. *Mol Hum Reprod* 1996;13:1240-1247.
  40. Iwasaki A, Gagon C. Formation of reactive oxygen species in spermatozoa of infertile patients. *Fertil Steril* 1992;57:409-416.