



**2600 MHz RADYOFREKANS RADYASYON MARUZİYETİNİN VE
EKSOJEN MELATONİN UYGULAMASININ SIÇAN BEYİN DOKUSU
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

Kevser DELEN

**DOKTORA TEZİ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MAYIS 2021

KEVSER DELEN tarafından hazırlanan “**2600 MHz Radyofrekans Radyasyon Maruziyetinin ve Eksojen Melatonin Uygulamasının Sıçan Beyin Dokusu Üzerindeki Etkileri**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: DOÇ. DR. BAHİRİYE SIRA V ARAL

Biyofizik Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tez Savunma Tarihi: **24/05/2021**

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Yasemin DÜNDAR
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

KEVSER DELEN tarafından hazırlanan “**2600 MHz Radyofrekans Radyasyon Maruziyetinin ve Eksojen Melatonin Uygulamasının Sıçan Beyin Dokusu Üzerindeki Etkileri**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan: PROF. DR. GÖKNUR GÜLER ÖZTÜRK
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI, GAZİ ÜNİVERSİTESİ

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu
onaylıyorum/onaylamıyorum

.....

Tez Savunma Tarihi: **24/05/2021**

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Yasemin DÜNDAR
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

KEVSER DELEN tarafından hazırlanan “**2600 MHz Radyofrekans Radyasyon Maruziyetinin ve Eksojen Melatonin Uygulamasının Sıçan Beyin Dokusu Üzerindeki Etkileri**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Üye: PROF. DR. GÜLNUR TAKE KAPLANOĞLU
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI, GAZİ
ÜNİVERSİTESİ

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu
onaylıyorum/onaylamıyorum

.....

Tez Savunma Tarihi: **24/05/2021**

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Yasemin DÜNDAR
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

KEVSER DELEN tarafından hazırlanan “**2600 MHz Radyofrekans Radyasyon Maruziyetinin ve Eksojen Melatonin Uygulamasının Sıçan Beyin Dokusu Üzerindeki Etkileri**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Üye: PROF. DR. CÜNEYT GÖKSOY
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI, SAĞLIK BİLİMLERİ
ÜNİVERSİTESİ

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu
onaylıyorum/onaylamıyorum

.....

Tez Savunma Tarihi: **24/05/2021**

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Yasemin DÜNDAR
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

KEVSER DELEN tarafından hazırlanan “**2600 MHz Radyofrekans Radyasyon Maruziyetinin ve Eksojen Melatonin Uygulamasının Sıçan Beyin Dokusu Üzerindeki Etkileri**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Üye: PROF. DR. SERDAR DEMİRTAŞ

BİYOFİZİK ANABİLİM DALI, SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu

onaylıyorum/onaylamıyorum

.....

Tez Savunma Tarihi: **24/05/2021**

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Yasemin DÜNDAR
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

KEVSER DELEN tarafından hazırlanan “**2600 MHz Radyofrekans Radyasyon Maruziyetinin ve Eksojen Melatonin Uygulamasının Sıçan Beyin Dokusu Üzerindeki Etkileri**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Üye: DOÇ. DR. ŞEVİN GÜNEY

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI, GAZİ ÜNİVERSİTESİ

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu

onaylıyorum/onaylamıyorum

.....

Tez Savunma Tarihi: **24/05/2021**

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Yasemin DÜNDAR
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

24/05/2021

Kevser DELEN

2600 MHz RADYOFREKANS RADYASYON MARUZİYETİNİN VE EKSOJEN MELATONİN UYGULAMASININ SIÇAN BEYİN DOKUSU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

(Doktora Tezi)

Kevser DELEN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mayıs 2021

ÖZET

Radyofrekans radyasyon (RFR) cep telefonları, radarlar, baz istasyonları, Wi-Fi modemler, mikrodalga fırınlar gibi pek çok kaynaktan yayılmakta ve elektromanyetik spektrumun iyonlaştırıcı olmayan kısmında bulunmaktadır. İyonlaştırıcı enerjiye sahip olmamasına rağmen Radyofrekans (RF) alanların insan sağlığı için olumsuz etkileri olabileceği düşünülmektedir. Teknolojik gelişmeler RFR maruziyetimizi gün geçtikçe arttırmakta bu durum RF alanların biyolojik etkileri konusundaki endişeleri de beraberinde getirmektedir. RFR maruziyetinin biyolojik etkilerine yönelik çalışmalardan elde edilen sonuçlar çelişkilidir. Ancak bu çalışmaların sonuçlarını kıyaslamak deney sistemlerinin farklılıkları nedeniyle her zaman mümkün olamamaktadır. Bu alanda yapılacak olan yeni çalışmalar kıyaslamaları kolaylaştırmak ve RFR kaynaklı biyolojik etkileri aydınlatmak için büyük önem taşımaktadır. Bu tez çalışmasında 30 gün süresince uygulanan 2600 MHz RFR maruziyetinin sıçan beyin dokusu biyokimyası ve histolojisi üzerindeki etkilerinin ve melatoninin olası koruyucu etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. 36 adet sıçan rasgele 6 gruba ayrılmıştır: Kontrol, melatonin, sham, sham melatonin, RFR ve RFR melatonin. 30 gün boyunca (30dk/gün, 5gün/hf) 2600 MHz RF radyasyon uygulaması (gri cevherde 1 g doku başına SAR: 0,44 W/kg, 10 g doku başına SAR: 0,295) ve cilt altı melatonin enjeksiyonu (7gün/hf, 10mg/kg) uygulanmıştır. Deney süreci sonunda gruplara ait beyin doku örnekleri alınarak, sol hemisferde biyokimyasal analizler, sağ hemisferde ise histolojik analizler gerçekleştirilmiştir. Radyofrekans radyasyon uygulamasının sıçanların beyin dokusunda GSH, GSH Px, SOD düzeylerinde azalmaya neden olurken MPO, MDA ve NOx düzeylerinde artışa yol açtığı gözlenmiştir ($p<0,05$). Radyofrekans radyasyon uygulamasının beyin dokusunda yapısal bozulmaya yol açtığı, apoptozis artışına neden olduğu gözlenmiştir. Eksojen melatonin uygulamasının bu etkileri normalize ettiği tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasında 30 gün boyunca uygulanan, günde 30 dakikalık RFR maruziyetinin beyin dokusunda oksidatif, apoptotik ve dejeneratif etkilerinin olabileceği ve RF alanların beyin tümörü için risk faktörü olabileceği gösterilmiştir. Çalışma bulguları dikkate alındığında RFR maruziyetinin mümkün olduğunca sınırlandırılması ve RFR'ın etkilerine karşı koruyucu olarak melatonin takviyesi tavsiye edilebilir.

Bilim Kodu	: 1008
Anahtar Kelimeler	: Radyofrekans Radyasyon, Oksidatif Stres, Beyin Dokusu, Melatonin, Apoptozis
Sayfa Adedi	: 130
Danışman	: Doç. Dr. Bahriye SIRAV ARAL

EFFECTS OF 2600 MHz RADIOFREQUENCY RADIATION EXPOSURE AND EXOGENOUS
MELATONIN ON RAT BRAIN TISSUE

(Ph. D. Thesis)

Kevser DELEN

GAZİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

May 2021

ABSTRACT

Radiofrequency radiation (RFR) is located in the non-ionizing part of the electromagnetic spectrum and it is emitted from many sources such as mobile phones, radars, base stations, Wi-Fi modems, microwave ovens. Although it does not have ionizing energy, Radiofrequency (RF) fields may have adverse effects on human health. Technological developments increase our RFR exposure day by day, concerns about the biological effects of RF fields also increasing. Studies on the biological effects of RFR exposure have conflicting results, but comparing the results of these studies is difficult due to differences in experimental designs. Therefore, new studies in this area are of great importance for understanding the biological effects of RFR. In this thesis study, it was aimed to investigate the effects of 2600 MHz RFR exposure for 30 days and the possible protective effect of melatonin on rat brain tissue biochemistry and histology. 36 rats randomly divided into 6 groups: control, melatonin, sham, sham melatonin, RFR and RFR melatonin. 2600 MHz RFR exposure (30 min / day, 5 days / week, gray matter SAR: 0,44 W / kg for 1 g and gray matter SAR: 0,295 for 10 g) and subcutaneous melatonin injection (7 days / week, 10mg / kg) was applied for 30 days. At the end of the experiment, brain tissue samples were taken. Biochemical analyzes were performed in the left hemisphere, and histological analyzes were performed in the right hemisphere. In this study, radiofrequency radiation decreased GSH, GSH Px, SOD levels and increased MPO, MDA and NOx levels ($p < 0,05$) in the brain tissue of rats. It was observed that radiofrequency radiation exposure caused structural deterioration and increased apoptosis in the brain tissue. On the other hand, exogenous melatonin administration normalized these effects. In this thesis, it was showed that 30 minutes of RFR exposure per day for 30 days can have oxidative, apoptotic and degenerative effects on brain tissue and RF fields may be a risk factor for brain tumor. Considering the findings of this study, RFR exposure should be limited as much as possible, and melatonin supplementation may be recommended as protection against RFR effects.

Science Code : 1008
Key Words : Radiofrequency Radiation, Oxidative stress, Brain tissue, Melatonin, Apoptosis
Page Number : 130
Supervisor : Assoc.Prof. Dr. Bahriye SIRAV ARAL

TEŞEKKÜR

Tez danışmanım değerli hocam Doç. Dr. Bahriye SIRAV ARAL'a doktora sürecim boyunca her daim yol gösterdiği ve destek olduğu için teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın tamamlanmasında gösterikleri desteklerden ötürü Arş. Gör. Dr. Cemile Merve SEYMEN'e, Dr. Öğr. Üyesi Dilek KUZAY AKSOY'a, doktora öğrencisi Armağan KOÇ'a, Arş.Gör.Sinem ORUÇ'a, Prof.Dr.Korkut YEĞİN'e ve Prof.Dr.Gülnur TAKE KAPLANOĞLU'na teşekkür ederim.

Deney sürecindeki yardımları için veteriner hekim Şeyda DİKER'e ve veteriner hekim Elif ERGÜVEN KAYA'ya, tüm Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi personeline ve bilim için feda edilmiş olan 36 adet deney hayvanına teşekkürü borç bilirim.

Bu çalışma 01/2018-05 kodlu bilimsel araştırma projesince desteklenmiştir. Projeyi destekleyen Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

Son olarak canım aileme üzerimdeki tüm emekleri için ve her zaman yanımda oldukları için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Elektrik Alan	5
2.2. Manyetik Alan.....	6
2.3. Elektromanyetik Alan	7
2.4. Elektriksel İletkenlik	7
2.5. Elektriksel Geçirgenlik.....	8
2.6. Özgül Soğurma Oranı (SAR – Specific absorption rate)	9
2.7. Güç Yoğunluğu	9
2.8. Elektromanyetik Spektrum.....	10
2.8.1. Statik alanlar	13
2.8.2. Çok düşük frekanslı elektromanyetik alanlar	15
2.8.3. Radyofrekans radyasyon	15
2.8.4. Kızılötesi radyasyon	16
2.8.5. Görünür ışık.....	17
2.8.6. Morötesi (UV) dalgalar	17
2.8.7. X ve Gama ışınları.....	17

Sayfa

2.9. Elektromanyetik Alanların Biyolojik Etkileri	18
2.9.1. Statik alanların biyolojik etkileri	18
2.9.2. Çok düşük frekanslı elektromanyetik alanların biyolojik etkileri	19
2.9.3. Radyofrekans radyasyonun biyolojik etkileri.....	20
2.10. Radyofrekans Radyasyonun Biyolojik Doku ile Etkileşimi	22
2.11. Dokularda Radyofrekans Enerji Soğurumunu Etkileyen Faktörler	24
2.11.1. Dielektrik özellikler.....	24
2.11.2. Doku geometrisi ve boyutu	26
2.11.3. Doku oryantasyonu ve alan polarizasyonu.....	27
2.11.4. Frekans ve modülasyon	27
2.11.5. Mesafe (yakın alan – uzak alan).....	28
2.11.6. Çevresel faktörler ve maruziyet süresi	29
2.12. Radyofrekans Radyasyon ile İlgili Limitler	30
2.13. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC)	31
2.13.1. Grup 1 (insan için karsinojen)	31
2.13.2. Grup 2 (insan için muhtemel / olası karsinojen)	32
2.13.3. Grup 3 (insan için karsinojen değil)	32
2.13.4. Grup 4 (insan için muhtemelen kanser yapıcı değil).....	32
2.14. Mobil İletişim Teknolojileri	33
2.15. Beyin Dokusu.....	33
2.16. Serbest Radikaller ve Oksidanlar	34
2.16.1. Serbest radikaller ve oksidanların oluşumu.....	35
2.16.2. Serbest oksijen türleri (ROS, Reactive oxygen species)	35
2.16.3. Serbest nitrojen türleri (RNS, Reactive nitrogen species).....	36
2.16.4. Serbest radikallerin etkileri.....	37
2.17. Oksidatif stresin hücre üzerindeki etkisi	38

Sayfa

2.17.1. Oksidatif stres ve yaşlanma	39
2.17.2. Oksidatif stres ilişkili hastalıklar	40
2.17.3. Oksidatif stres ve nörodejeneratif hastalıklar	40
2.17.4. Oksidatif stres ve depresyon.....	42
2.17.5. Oksidatif stres ve kardiyovasküler hastalıklar.....	42
2.17.6. Oksidatif stres ve kanser.....	43
2.18. Antioksidan Savunma Sistemi	43
2.19. Melatonin	45
2.20. Apoptozis	47
2.21. Glial Fibriller Asidik Protein (GFAP).....	48
3. GEREÇ YÖNTEM	49
3.1. Deney Hayvanları.....	49
3.2. Deney Grupları.....	49
3.3. Radyofrekans Radyasyon Maruziyet Sistemi ve Uygulaması	50
3.4. Elektrik Alan ve SAR Değerleri	51
3.5. Melatoninin hazırlanması ve uygulaması.....	51
3.6. Beyin Dokusu Hazırlanması	52
3.7. Oksidatif analizler	52
3.7.1. Dokuda MDA tayini	52
3.7.2. Dokuda GSH tayini	53
3.7.3. Dokuda NOx tayini.....	53
3.7.4. Dokuda GSH-Px tayini.....	54
3.7.5. Dokuda SOD tayini	54
3.7.6. Dokuda MPO takibi.....	55
3.8. Histolojik Yöntem.....	56
3.8.1. Hematoksilen – eozin boyama yöntemi	56

	Sayfa
3.8.2. İmmünohistokimyasal yöntem	56
3.8.3. TUNEL yöntemi	57
3.9. İstatistiksel Analiz	58
4. BULGULAR	59
4.1. Vücut Ağırlığı	59
4.2. Elektrik Alan ve SAR Değerleri	59
4.3. Oksidatif Analizler	60
4.3.1. Glutasyon düzeyleri	60
4.3.2. MDA düzeyleri	61
4.3.3. NOx düzeyleri	62
4.3.4. SOD düzeyleri	64
4.3.5. GSH-Px düzeyleri.....	65
4.3.6. MPO düzeyleri.....	66
4.4. Histolojik Analizler	67
4.4.1. Hematoksilen eozin boyama bulguları	67
4.4.2. GFAP immünohistokimya boyama bulguları.....	75
4.4.3. TUNEL bulguları.....	83
5. TARTIŞMA	89
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	101
KAYNAKLAR	103
EKLER.....	125
Ek 1. Etik Kurul Onayı	126
ÖZGEÇMİŞ	128

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Farklı dokuların elektriksel iletkenlik değerleri	8
Çizelge 2.2. 100 kHz - 300 GHz frekans aralığında elektromanyetik alan maruziyeti için temel kısıtlamalar	30
Çizelge 2.3. Bilgi teknolojileri ve iletişim kurumu tarafınca belirlenen limitler değerler...	31
Çizelge 3.1. Deney grupları	49

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Pozitif ve negatif yükler için elektrik alan vektörünün yönü	5
Şekil 2.2. Elektromanyetik dalga yayılımı.....	7
Şekil 2.3. Elektromanyetik dalga	12
Şekil 2.4. Elektromanyetik spektrum.....	13
Şekil 2.5. RFR maruziyetinin biyolojik etkileri.....	22
Şekil 2.6. Anteni çevreleyen elektromanyetik alan bölgeleri	29
Şekil 2.7. Oksidatif hücre hasarının mekanizması.....	39
Şekil 2.8. Melatonin sentezi.....	46
Şekil 4.1. Deneyin 1. ve 30. günleri vücut ağırlığı ortalama değerleri	59
Şekil 4.2. 2600 MHz'de sagittal düzlem SAR dağılımı	60
Şekil 4.3. Beyin dokusunda GSH düzeylerinin ortalama değerleri	61
Şekil 4.4. Beyin dokusunda MDA düzeylerinin ortalama değerleri.....	62
Şekil 4.5. Beyin dokusunda NOx düzeylerinin ortalama değerleri	63
Şekil 4.6. Beyin dokusunda SOD düzeylerinin ortalama değerleri	64
Şekil 4.7. Beyin dokusunda GSH-Px düzeylerinin ortalama değerleri.....	65
Şekil 4.8. Beyin dokusunda MPO düzeylerinin ortalama değerleri.....	66
Şekil 4.9. H skor ortalama değerleri	83
Şekil 4.10. Apoptotik indeks ortalama değerleri	87

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. RFR maruziyet sistemi	50
Resim 3.2. Sham maruziyeti uygulaması.....	51
Resim 4.1. Kontrol grubu beyin korteksine ait kesitler	68
Resim 4.2. Kontrol grubu beyin hipokampüsüne ait kesitler.....	69
Resim 4.3. Sham kontrol grubu beyin korteksine ait kesitler	69
Resim 4.4. Sham kontrol grubu beyin hipokampüsüne ait kesitler	70
Resim 4.5. Sham melatonin grubu beyin korteksine ait kesitler.....	70
Resim 4.6. Sham kontrol grubu beyin hipokampüsüne ait kesitler	71
Resim 4.7. Melatonin grubu beyin korteksine ait kesitler	71
Resim 4.8. Melatonin grubu beyin hipokampüsüne ait kesitler.....	72
Resim 4.9. Radyasyon grubu beyin korteksine ait kesitler	73
Resim 4.10. Radyasyon grubu beyin hipokampüsüne ait kesitler	73
Resim 4.11. Radyasyon ve melatonin uygulanan gruba ait beyin korteksi kesitler	74
Resim 4.12. Radyasyon ve melatonin uygulanan gruba ait beyin hipokampüsü kesitler....	75
Resim 4.13. Kontrol grubuna ait beyin korteksi	76
Resim 4.14. Kontrol grubuna ait hipokampüs	76
Resim 4.15. Sham kontrol grubuna ait beyin korteksi.....	77
Resim 4.16. Sham kontrol grubuna ait hipokampüs	77
Resim 4.17. Sham melatonin grubuna ait beyin korteksi	78
Resim 4.18. Sham melatonin grubuna ait hipokampüs	78
Resim 4.19. Melatonin grubuna ait beyin korteksi	79
Resim 4.20. Melatonin grubuna ait beyin hipokampüs	79
Resim 4.21. Radyasyon uygulanan gruba ait beyin korteksi	80
Resim 4.22. Radyasyon uygulanan gruba ait hipokampüs	80
Resim 4.23. Radyasyon ve melatonin uygulanan gruba ait beyin korteksi	81

Resim	Sayfa
Resim 4.24. Radyasyon ve melatonin uygulanan gruba ait hipokampus	82
Resim 4.25. Kontrol grubu beyin korteksi (A) ve hipokampusu (B).....	84
Resim 4.26. Sham kontrol grubu beyin korteksi (A) ve hipokampusu (B)	84
Resim 4.27. Sham melatonin grubu beyin korteksi (A) ve hipokampusu (B).....	85
Resim 4.28. Melatonin grubu beyin korteksi (A) ve hipokampusu (B)	85
Resim 4.29. Radyasyon grubu beyin korteksi (A) ve hipokampusu (B)	86
Resim 4.30. Radyasyon ve melatonin uygulanan gruba ait beyin korteksi (A) ve hipokampusu (B).....	86

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
m^3	Metreküp
m^2	Metrekare
$^{\circ}C$	Derece Celsius
μL	Mikrolitre
μg	Mikrogram
mg	Miligram
q	Elektrik yükü
λ	Dalga Boyu
Σ	Elektriksel İletkenlik (Siemens/metre)
μ	Manyetik Geçirgenlik
V/m	Volt /metre
Wb/m^2	Weber/metrekare
ρ	Yoğunluk (kg/m^3)
v	Dalga hızı
h	Planck sabiti ($6,62607015 \times 10^{-34} J \cdot s$)
c	Işık hızı ($3 \times 10^8 m/s$)
Kısaltmalar	Açıklamalar
AC	Zamana göre değişen şiddette akım
AD	Alzheimer Hastalığı
AM	Genlik Modülasyonu
B	Manyetik Akı Yoğunluğu
BTK	Bilgi Teknolojileri ve İletişim Kurumu
CW	Sürekli Dalga
DC	Zamana göre değişmeyen sabit akım
E	Elektrik Alan
EEG	Elektroensefalografi
ELF	Oldukça Düşük Frekanslı

Kısaltmalar	Açıklamalar
EMF	Elektromanyetik Alan
f	Frekans (1/s)
F	Elektrik kuvvet
G	Nesil
GFAP	Glial fibriller asidik protein
GSH	Glutasyon
GSH Px	Glutasyon peroksidaz
GSM	Küresel Mobil İletişim Sistemi
H	Manyetik Alan
IARC	Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
ICNIRP	Uluslararası İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyondan Korunma Komisyonu
IR	Kızılötesi
J	Akım Yoğunluğu
MDA	Malondialdehid
MHz	Megahertz
MPO	Myeloperoksidaz
MRI	Manyetik Rezonans Görüntüleme
MW	Mikrodalga
NO	Nitrik oksit
RFR	Radyo Frekans Radyasyon
RNS	Serbest nitrojen türleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
S	Güç Yoğunluğu
SAR	Özgül Soğurma Oranı
SOD	Süperoksit dizmutaz
T	Tesla
TUNEL	TdT-mediated-dUTP nick end labeling
UV	Mor ötesi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Tüm elektromanyetik dalgaların frekans ve dalga boylarına göre sıralanması ile meydana gelen elektromanyetik spektrum: İyonlaştırıcı olmayan ve iyonlaştırıcı olan olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. İyonlaştırıcı olmayan elektromanyetik (EM) dalgaların, iyonlaştırıcı dalgalardan temel farkı dokularda iyonlaşmaya yol açabilecek yeterli enerjiye sahip olmaması ve kümülatif (birikim) etkisinin bulunmamasıdır. Radyofrekans Radyasyon (RFR) elektromanyetik spektrumun iyonlaştırıcı olmayan bileşenlerinden biridir ve kimyasal bağları koparabilecek veya dokuda iyonlaşmaya neden olabilecek yeterli enerjiye sahip değildir [1]. Ancak RFR maruziyetinin biyolojik etkileri olabileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır.

Teknolojik gelişmelerin insan yaşamı için pek çok faydası olmaktadır. Fakat bu gelişmelerin bir sonucu olarak günlük yaşantımızda maruz kaldığımız RFR düzeyi de gün geçtikçe artmaktadır. Doğal (Dünya, uzay, güneş) ve yapay (insan yapımı) pek çok RFR kaynağı bulunmaktadır. Yapay RFR kaynaklarına bireysel (cep telefonu, kablosuz telefon, bluetooth kulaklık vb.), mesleki (radarlar, yüksek frekanslı dielektrik ısıtıcılar vb.) ve çevresel (baz istasyonları, yayın antenleri vb.) olarak maruz kalmaktayız.

Cep telefonu kullanımının glioma ve akustik nöroma tümörlerinin oluşumunda risk faktörü olabileceğini gösteren epidemiyolojik çalışmalar neticesinde RFR, 2011 yılında Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansı (IARC, International Agency for Research on Cancer) tarafından grup 2B karsinojen sınıfına dâhil edilmiştir [2]. Belpomme ve ark. günümüze dek yapılmış insan ve hayvan çalışmaları göz önüne alındığında, IARC sınıflandırmasının en azından grup 2A olarak yükseltilmesi gerektiğini vurgulamışlardır [3]. Amerikan Ulusal Toksikoloji Programı ise, RFR'ın IARC sınıflamasına göre grup 1'e dâhil edilmesi gerektiğini savunmaktadır [4].

Beyin dokusu RF alanlara yakın maruziyet altında kalmaktadır. Aynı zamanda beyin dokusu yüksek oksijen tüketimi ve antioksidan enzim aktivitesinin düşüklüğü nedeniyle oksidatif hasara daha duyarlıdır [5]. Bu nedenle RF alanların beyin dokusu üzerine etkilerinin incelenmesi gerekmektedir. Sinir hücrelerinin yenilenme özelliğinin olmayışı da meydana gelebilecek hücresel kayıpların telafisini önlemektedir.

RFR'ın sinir sistemi üzerine etkilerine dair yapılan çalışmalarda baz istasyonları yakınında yaşayan bireylerde baş ağrısı, hafıza değişiklikleri, baş dönmesi, depresif semptomlar, uyku bozuklukları gibi nöropsikiyatrik yakınmaların daha fazla olduğu [6], RFR maruziyetinin EEG (Elektroensefalografi) aktivitesinde değişimlere yol açtığı [7], RF alanların santral sinir sistemi üzerine etkilerinin olduğu ve pek çok ciddi hastalığa yol açabileceği [8] gösterilmiştir. RFR'ın indüklediği nöronal aktivite değişimlerinin beyin dokusundaki bölgesel kan akımı değişimi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir [9]. RFR maruziyetinin kan beyin bariyerinde zedelenmeye sebep olabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur [10, 11]. Kan beyin bariyeri, beyin dokusunun inflamasyonun zararlı etkilerinden korunmasında adeta bir kalkan gibi rol oynamaktadır. RFR maruziyetinin kan beyin bariyeri yapısında hasara yol açması, beyin dokusunda inflamasyon oluşumunun tetiklenmesine sebep olabilir.

Oksidatif stres, serbest oksijen radikalleri ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması sonucunda meydana gelmektedir. RF alanlar serbest radikal seviyelerinde artış, peroksidasyon aktivasyonu, DNA (Deoksiribo nükleik asit) hasarı ve antioksidan enzim aktivitelerinde değişime neden olarak dokularda oksidatif hasara yol açmaktadır [12]. Beyin dokusu gram doku başına üretilen toksik madde miktarının diğer dokulara kıyasla fazla olması nedeniyle serbest radikal hasarına karşı daha duyarlıdır [13].

Melatonin, serbest radikal süpürücü etkisi ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerindeki etkileri ile antioksidan savunma sisteminin önemli bir bileşenidir [14]. Melatonin kan beyin bariyeri, hücre membranı gibi bariyerlerden geçebilmektedir. Melatonin lipid ve suda çözünebilen yapısı sayesinde tüm subsellüler bileşenlere dağılmaktadır. Bu özelliği ile melatonin tek bir hücresel bileşen üzerinde etkisi sınırlı olan antioksidanlara (örneğin; vitamin E - lipid hücre membranı, vitamin C - sitozolün aköz ortamı) üstünlük kazanmaktadır [13]. RFR ile birlikte uygulanan melatoninin, RFR maruziyetinin yol açtığı oksidatif hasara karşı koruyucu olabileceğini gösteren çalışmalar yapılmıştır [15-17].

Bu çalışma RFR maruziyetinin beyin dokusu üzerindeki yapısal, oksidatif ve apoptotik etkilerinin tümünün bir arada değerlendirildiği ilk çalışma olmasının yanında, beyin dokusunda 2600 MHz frekansının etkilerinin de değerlendirildiği ilk çalışma olması bakımından önemlidir. Bu tez çalışmasında 30 gün süresince günde 30 dakika 4G (Generation, 4. Nesil) frekans bandında yer alan bir frekans olan 2600 MHz RFR

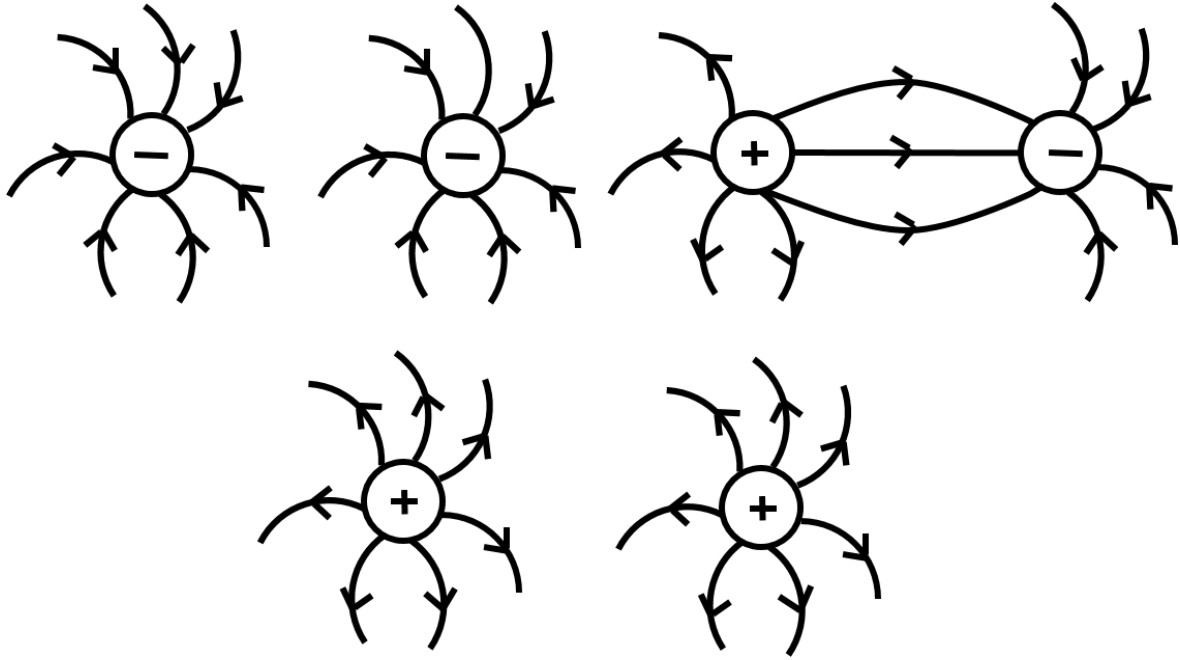
uygulamasının wistar albino cinsi sıçanların beyin dokusu üzerine etkilerinin ve RFR ile birlikte uygulanan melatoninin olası koruyucu etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Elektrik Alan

Elektrik alan, elektrik yükleri tarafından yüklerin hareketinden bağımsız olarak üretilir. Noktasal bir elektrik yük, küresel simetrik paternde ve sonsuz boyutlu tüm doğrultularda uzanan elektrik alan üretir. Yüklü bir çubuk (örneğin bir güç hattı), etrafında küresel simetrik paternde bir elektrik alanı üretir [18].

Elektrik alan yönü pozitif yükler için yük merkezinden dışarı doğru iken, negatif yüklerde elektrik alan vektörü yük merkezine doğrudur (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Pozitif ve negatif yükler için elektrik alan vektörünün yönü

Pratikte, tek bir yükün veya yüklü bir objenin izole edilmesi mümkün değildir ve sonsuz boyutlu alan çizgileri yerine başka bir yükte (iletkende mevcut olan bir yük veya iletken bir objede elektrik alanın indüklediği bir yük) sonlanan elektrik alanlar oluşmaktadır. Bu nedenle bir noktada oluşan elektrik alan paterni, ortamda bulunan yüklerin ve objelerin dağılımına göre şekillenmektedir. Uluslararası birimler sisteminde (Système International d'Unités-SI) elektrik alan birimi V/m'dir [18].

Elektrik alan,

$$E = F/q \quad (2.1)$$

eşitliği (E: Elektrik alan, F: Elektrik kuvvet, q: birim yük) ile ifade edilir.

Elektrik alanların yayılımı çevredeki binalar, ağaçlar, insanlar vb. gibi iletkenlerin varlığından etkilenmektedir. Bu nedenle elektrik alanlar kolayca kalkanlanabilmektedir. Elektrik alan, yüklü parçacıklar üzerine kuvvet uygulamaktadır. Bu kuvvet, elektriksel olarak iletken materyallerde (biyolojik dokular gibi) akım indüklemektedir. İletken nesnelere elektrik alan uygulandığında ise, yüzey yük dağılımında değişim olmaktadır [19].

RF alanların vücudu etkileyen esas bileşeni elektrik alandır. Vücut içerisindeki elektrik alan, indüklenmiş elektrik alan ($E_{induced}$, E_{ind}) olarak adlandırılmaktadır. İndüklenen elektrik alanlar, vücut içerisinde bulunan polar moleküller (su molekülü) ve serbest yükler (elektronlar, iyonlar) üzerinde kuvvet uygulamaktadır. Bunun sonucunda EM enerji, kinetik enerjiye dönüşmektedir. Kinetik enerji polar moleküllerin rotasyonu ve serbest yüklerin hareketi ile sonuçlanmaktadır. Polar moleküllerin rotasyonu ve serbest yüklerin hareketi ile kinetik enerji ısıya dönüşmektedir. İndüklenen elektrik alan 10 MHz'in altında ve yeterince güçlü ise sinirde uyarı veya membranda yıkım gibi etkilere yol açabilecek elektrik kuvvet oluşumuna neden olabilmektedir [20].

2.2. Manyetik Alan

Manyetik alanlar, elektrik yüklerinin hareketi neticesinde oluşmaktadır. Manyetik alanlar manyetik akı yoğunluğu (B; birim alandaki manyetik kuvvet çizgileri) veya manyetik alan şiddeti (H) ile ifade edilebilir. Manyetik akı yoğunluğunun birimi Weber/m² (Wb/m²) veya SI birimler sisteminde Tesla (T)'dir. SI birimler sisteminde eskiden kullanılan birim olan Gauss, Teslanın 10 000'de 1'idir. Manyetik alan şiddeti birimi ise Amper/metre (A/m)'dir. Manyetik alanların tanımlanmasında daha sık olarak manyetik akı yoğunluğu kullanılır [18, 21]. Manyetik alan (H) ile manyetik akı yoğunluğu (B) arasındaki ilişki;

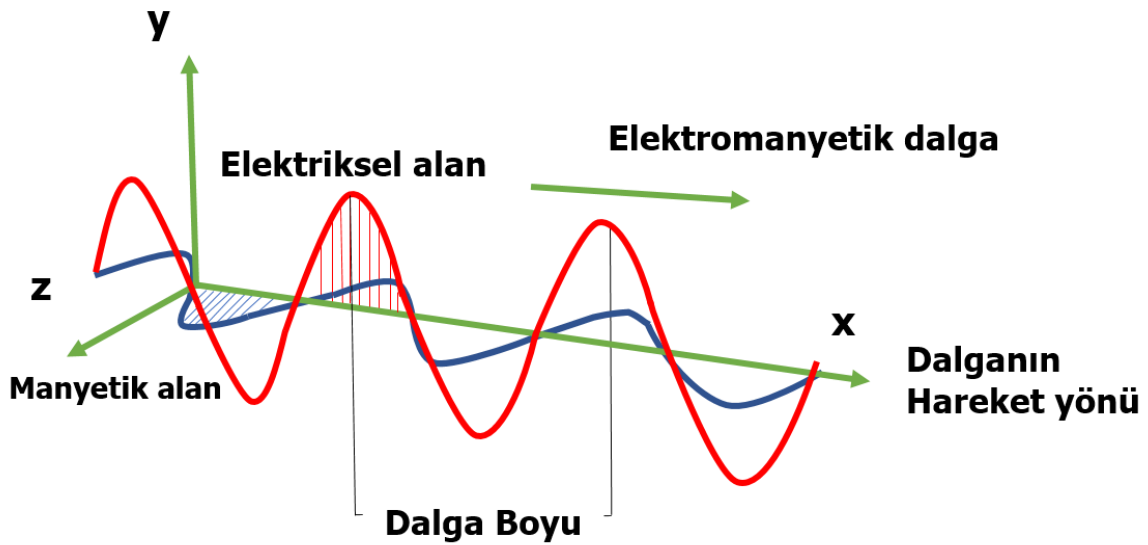
$$B = \mu.H \quad (2.2)$$

şeklindedir (μ : Manyetik geçirgenlik).

Manyetik alanlar sadece yüksek bağıl geçirgenliğe sahip materyaller (demir, demir alaşımı gibi ferromanyetik materyaller) kullanılarak kalkanlanabilmektedir.

2.3. Elektromanyetik Alan

Alan kelimesi, fizikte etki altında olan bölgeyi tanımlamak için kullanılmaktadır. Elektromanyetik alan kavramı televizyon yayınlarının, cep telefonu sinyallerinin ulaştığı bölgeyi ifade etmektedir [19]. Elektromanyetik alanlar zamanla değişen elektrik ve manyetik alanların kombinasyonudur. Zamanla değişen elektrik alan, manyetik alan oluşumunu indüklemektedir. Zamanla değişen manyetik alan ise elektrik alan oluşumunu indüklemektedir. Elektromanyetik alan şiddeti, kaynaktan uzaklaştıkça azalmaktadır. Elektromanyetik dalganın elektrik alan bileşeni ile manyetik alan bileşeni birbirlerine ve yayılım doğrultusuna dik olmaktadır (Şekil 2.2) [22].



Şekil 2.2. Elektromanyetik dalga yayılımı

2.4. Elektriksel İletkenlik

Elektriksel iletkenlik, kısmen yüklü parçacıkların (iyonların) translasyonel (öteleme) hareketinden kaynaklanmaktadır. Ancak elektriksel iletkenliğe esas katkı sağlayan moleküllerin, özellikle su molekülünün, engellenmiş (hindered) rotasyonudur. Elektriksel iletkenlik kısmen de yüklü partiküllerin (iyonların) translasyonel hareketine bağlıdır. Su molekülü, dışarıdan bir elektrik alan uygulanmadığında rasgele yönelmiş durumda olan kalıcı dipol momentine sahiptir. Elektrik alan uygulandığında, dipol momentini kısmen

elektrik alan doğrultusunda yönelir. Su molekülünün viskozitesi nedeniyle dipol momentinin elektrik alan doğrultusunda yönelmesi için, elektrik alanın iş yapması gerekmektedir. Bu durum, enerji transferi sonucunda sıvıda ısınmaya neden olur [23]. Farklı dokulara ait elektriksel iletkenlik değerleri [24] çizelge 2.1’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Farklı dokuların elektriksel iletkenlik değerleri [24]

Doku	Elektriksel iletkenlik σ (S/m)
Beyin (beyaz cevher)	0,02
Beyin (gri cevher)	0,02
Yağ	0,035
Kalp	0,05
Kemik (korteks)	0,02
Lens (korteks)	0,30
Karaciğer	0,02
Kan	0,70
Böbrek	0,05
Kas	0,2
Tendon	0,25
Dalak	0,03
Deri (kuru)	0,0002
Deri (ıslak)	0,0004

2.5. Elektriksel Geçirgenlik

Elektriksel geçirgenlik, materyalin polarize olabilirliğinin ölçüsüdür [25]. Dokuların elektriksel iletkenliği ve geçirgenliği, elektrik ve manyetik alanlar ile etkileşimi belirleyen önemli faktörlerdir. Canlı organizmalar, elektriksel özellikleri birbirinden farklı pek çok dokudan oluşmaktadır. Dokuların elektriksel geçirgenliği, su ve elektrolit içeriklerine göre şekillenmektedir [21]. Dokunun su içeriği arttıkça dielektrik sabiti ve iletkenlik artmaktadır.

2.6. Özgül Soğurma Oranı (SAR – Specific absorption rate)

RF alanların gözlenen biyolojik etkilerinin, enerji birikim hızının diferansiyeline bağlı olduğu belirtilmektedir [26]. RF elektromanyetik enerji emilimi, özgül soğurma oranı (SAR – specific absorption rate) terimi ile tanımlanmaktadır. Özgül soğurma oranı birim kütle başına EM enerjinin soğrulma hızıdır. Birimi W/kg veya mW/g'dır [26, 27]. SAR değeri birim kütle başına emilen enerji değişimini veya daha basit ifade ile birim kütle başına emilen gücü belirtmektedir. SAR vücuda penetre olan elektromanyetik alan yoğunluğunun ve biyolojik dokunun dielektrik özelliklerinin bir fonksiyonudur [28].

SAR hesaplaması, akım yoğunluğu veya elektrik alan değeri kullanılarak yapılabilir.

$$SAR = \frac{J^2}{\sigma \cdot \rho_m} = \frac{\sigma \cdot E^2}{\rho_m} \quad (W \cdot kg^{-1}) \quad (2.3)$$

J: Akım yoğunluğu

E: Elektrik alan

σ : Elektriksel iletkenlik

ρ : Yoğunluk (kg/m^3)

6 GHz altındaki frekanslarda elektromanyetik enerji doku derinliklerine penetre olmaktadır. Bu nedenle bu frekanslar için maruziyetin değerlendirilmesinde, SAR değerlerinin dikkate alınması gerekmektedir [20].

2.7. Güç Yoğunluğu

İlerleme doğrultusuna dik, bir saniye içerisinde birim yüzeye düşen elektromanyetik enerji miktarı, güç yoğunluğu olarak tanımlanmaktadır. Güç yoğunluğunun (S) birimi W/m^2 'dir [29].

Yüksek frekanslarda (6 GHz üzeri) RF alanların emilimi daha yüzeysel olduğu için, bu frekanslarda maruziyetin güç yoğunluğu ile ifade edilmesinin daha faydalı olacağı belirtilmektedir [20].

Elektrik ve manyetik alan değerleri, vericiden bir dalga boyu uzaklıkta (uzak alan) [30] veya daha ileri mesafelerde, uzayda aynı noktada pik (zirve) seviyelerine ulaşmaktadır. Diğer bir deyişle, elektrik ve manyetik alanlar bir fazdadır ve güç yoğunluğu, elektrik ve manyetik alan değerlerinin çarpımı sonucunda elde edilebilmektedir. Uzak alanda E ve B alan oranı sabittir. Bu oran serbest uzay için $E/H = 377$ ohm'dur [29].

$$S = EH \quad (2.4)$$

$$S = E^2/377 = 377H^2 \quad (2.5)$$

S: Güç Yoğunluğu (Watt/metre-kare)

E: Elektrik Alan (Volt/metre)

H: Manyetik Alan (Amper/metre)

Güç yoğunluğu (tepe ve averaj), RF alan emilimini etkileyen fiziksel unsurlardan bir tanesidir [31]. Dalgalar kaynaktan uzaklaştıkça daha geniş bir bölgeye yayıldıkları için, güç yoğunluğu kaynaktan uzaklaştıkça azalmaktadır. Uzak alanda güç yoğunluğu, mesafenin karesi ile ters orantılı olarak değişmektedir [29].

2.8. Elektromanyetik Spektrum

Radyasyon, enerjinin uzayda veya bir ortam içerisinde dalga veya parçacık halinde ilerlemesi (veya yayılması) sürecidir. Elektromanyetik radyasyon terimi enerji yayılımının elektrik ve manyetik alanlar ile taşındığı, dalga benzeri taşıma modunu ifade etmektedir. Elektrik ve manyetik alanlar birbirine ve dalganın ilerleme doğrultusuna dik olarak yayılmaktadır [32].

Elektromanyetik spektrum, tüm elektromanyetik dalgaların frekanslarına göre sınıflandırması ile meydana gelmektedir. Elektromanyetik spektrumda bulunan tüm bileşenler benzer fiziksel karakteristiklere sahiptir. Bu bileşenleri birbirinden ayıran özellik frekansları ve dalga boylarıdır. Frekans değiştikçe elektromanyetik dalganın madde ile etkileşimi ve bunun sonucu olarak ortaya çıkan biyolojik etkiler de değişmektedir. Frekansın tersi ($1/f$) periyottur ve bir tam dalga deseninin oluşması için gerekli süre olarak tanımlanmaktadır. Bir tam dalga deseninin oluştuğu uzaklık ise, dalga boyu olarak ifade

edilmektedir (Şekil 2.3). Bir dalganın frekansı, dalga boyu ve hızı arasındaki ilişki şu şekildedir;

$$\lambda = v/f \text{ (m)} \quad (2.6)$$

λ : Dalga boyu (m)

f: Frekans (Hz, 1/s)

v: Dalga hızı (m/sn)

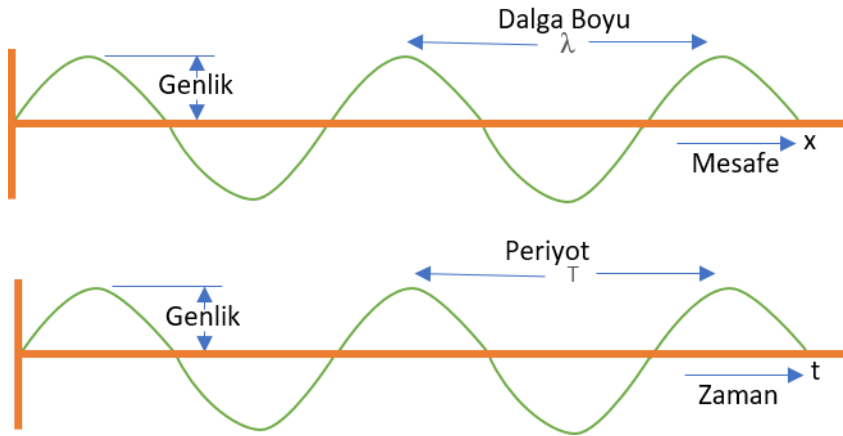
Frekans, elektromanyetik alanların önemli bir parametresidir. Elektrik ve manyetik alan kaynaklarının frekans karakteristikleri çeşitlilik göstermektedir ve bu durum elektrik ve manyetik alanların belirlenmesinde önemlidir [21]. Frekans saniyedeki titreşim sayısıdır. SI birimler sisteminde birimi Hertz (Hz)'dir. Ülkemizde şehir cereyanında kullanılan şebeke frekansı 50 Hz'dir. Yüksek frekanslarda ifade kolaylığı açısından kilohertz (kHz, 10^3 Hertz), megahertz (MHz, 10^6 Hertz), gigahertz (GHz, 10^9 Hertz) vb. kavramlar kullanılmaktadır. Frekans değişimi elektromanyetik alanların yayılımını, dokuların elektriksel iletkenliklerini ve elektriksel geçirgenliklerini etkilemektedir. Bir elektromanyetik dalganın frekansı ile fotonun enerjisi arasındaki ilişki şu şekildedir;

$$E = h.f \quad (2.7)$$

E: Enerji (J)

f: frekans (Hz, 1/s)

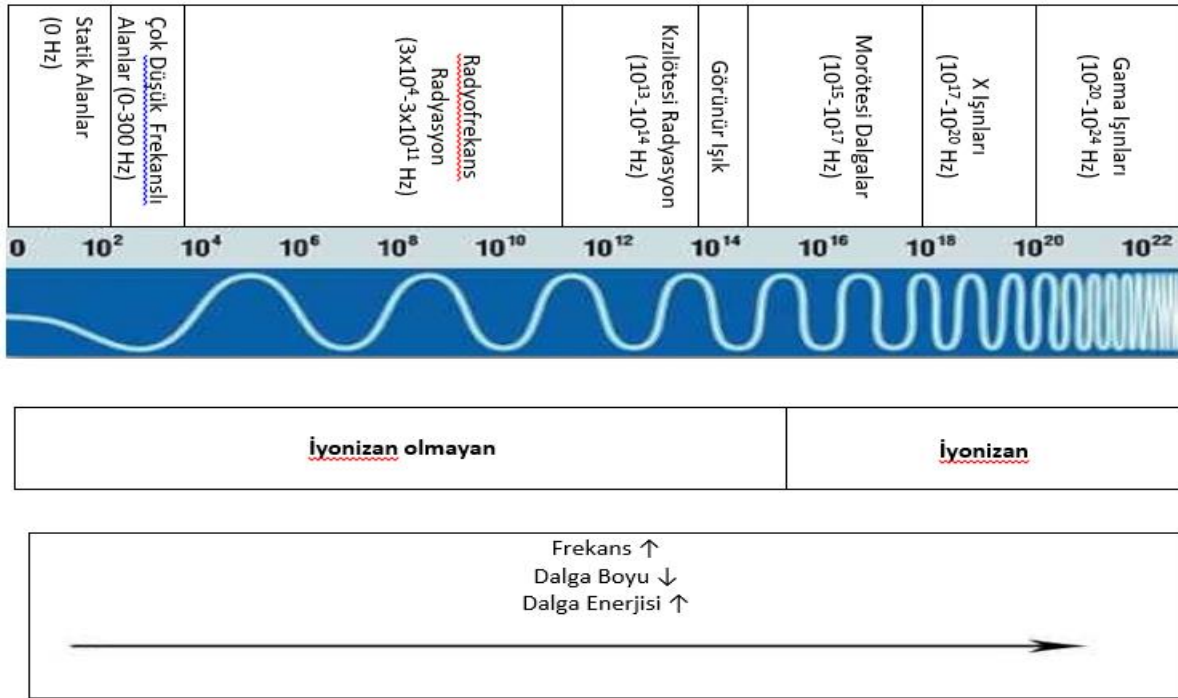
h: Planck sabiti ($6.62607015 \times 10^{-34}$ J.s)



Şekil 2.3. Elektromanyetik dalga

Elektromanyetik (EM) spektrum, iyonlaştırıcı olmayan ve iyonlaştırıcı olmak üzere iki bileşenden oluşmaktadır (Şekil 2.4). İyonlaştırıcı olmayan kısım, moleküllerin kimyasal bağlarını direkt olarak kırabilecek yeterli enerjiye sahip değildir [1]. Bu nedenle, biyolojik etkiler açısından iyonlaştırıcı kısım kadar tehlikeli olmadığı düşünülmektedir. Ancak, düşük enerjiye sahip olmalarına rağmen, spekturumun iyonlaştırıcı olmayan bileşenlerinin karsinogen olabileceğini gösteren çalışmalar yapılmıştır.

Elektrik ve manyetik alan kaynakları doğal olabildiği gibi, insan yapımı olan pek çok kaynak da mevcuttur. Elektromanyetik dalgalar boşlukta ve serbest uzayda ışık hızında (c) yayılırlar ancak insan vücudu gibi dielektrik ortamlarda daha yavaş hızda yayılırlar [32].



Şekil 2.4. Elektromanyetik spektrum

2.8.1. Statik alanlar

Elektrik veya manyetik alan kaynağının uzaysal olarak sabit olduğu ve kaynak akımının ve/veya elektriksel potansiyel farkının zamanla değişmediği, sabit olduğu durumda statik alanlar oluşmaktadır [21]. Statik alanlar durgun alanlardır, yoğunluğu ve doğrultusu zamanla değişim göstermez bu nedenle frekansı 0 Hz'dir.

Statik elektrik alan

Statik elektrik alanlar atmosferde doğal olarak bulunan alanlardır. Güneşli günlerde (açık hava şartlarında) statik elektrik alan değerleri 100 V/m düzeylerinde iken, fırtınalı hava şartlarında ise 3 000 V/m düzeylerine kadar çıkabilmektedir. Statik alanların bir diğer örneği ise, sürtünme kaynaklı yük boşalmasıdır. İnsan yapımı statik elektrik kaynağı örneklerinden biri olan yüksek voltajlı doğru akım (DC – direct current) güç hatlarında 20 kV/m düzeylerine ulaşabilen statik elektrik alan üretilir. DC ile çalışan elektrikli trenlerin içerisinde ise 300 V/m statik elektrik alan oluşabilmektedir [18]. Statik elektrik alanlar insan ve hayvan vücuduna penetre olma özelliğine sahip değildir. Bu alanlar vücut yüzeyine daima dik olarak gelmekte ve yüzey yük yoğunluğunu indüklemektedirler [21]. Statik elektrik alanların vücut tarafından algılanması 10 kV/m düzeylerinden yükseklerle çıkıldıkça mümkün olmaktadır.

Statik manyetik alan

Dünya yüzeyinde yaklaşık 35-70 μT (0,35 – 0,7 G) arasında değişmekte olan jeomanyetik alan bulunmaktadır. Jeomanyetik alan seviyeleri belli bir aralıkta dalgalanma göstermekle birlikte, statik manyetik alan olarak kabul edilmektedir. Doğal statik manyetik alan örneği olan jeomanyetik alanların bazı hayvan türlerinin göç ve çevre uyumu davranışları üzerinde etkili oldukları düşünülmektedir [33]. Elektrikli trenlerde farklı seviyelerde statik manyetik alan meydana gelmektedir. Alüminyum, klorin vb. üretimi yapılan endüstrilerde de statik manyetik alan oluşmaktadır. Daimi mıknatıslarla oluşturulan statik manyetik alanlar Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) sistemlerinde kullanılmaktadır. Statik elektrik alanların aksine, statik manyetik alanlar canlı dokuya penetre olabilmektedir. Statik manyetik alanların biyolojik doku ile etkileşimi 3 mekanizma ile olmaktadır;

- İyonik iletim akımları (kan akımı, sinir impuls iletimi gibi) ile elektrodinamik etkileşimler sonucu dokularda elektrik alan ve elektrik potansiyel indüklenmektedir. Yüksek akım yoğunluğu ($> 1 \text{ T}$) olduğu durumlarda bu mekanizma önem arz etmektedir [21]. 15 T düzeyinde aort kan akımında yaklaşık %10 azalma olduğu belirlenmiştir [33].
- Bir diğer mekanizma manyetomekanik etki olarak adlandırılmaktadır. Biyolojik yapıların güçlü manyetik alanlara yönelmesi sonucu oluşan manyetomekanik etki düşük yoğunluklu alanlara duyarlı biyolojik türler için söz konusu olmaktadır. Bazı

bakteriler, kuşlar ve balıklar bu türlere örnek olarak verilebilir. Arıların bu manyetik alanları yol bulmada kullandıkları bilinmektedir [21, 34].

- Zeeman etkisi olarak adlandırılan üçüncü mekanizma ise, manyetik alanların moleküllerin enerji seviyesini değiştirmesi prensibine dayanmaktadır. Zeeman etkisi sonucu serbest radikal oluşumuna yol açan biyolojik süreçlerde değişim meydana gelmesi ve serbest radikal konsantrasyonunda artış olabilmektedir [21].

2.8.2. Çok düşük frekanslı elektromanyetik alanlar

Elektromanyetik spektrumun 0 – 300 Hz frekans aralığında bulunan elektromanyetik alanlar Çok düşük frekanslı (ÇDF - ELF- Extremely low-frequency fields) elektromanyetik alanlar olarak sınıflandırılmaktadır. Elektrikle çalışan tüm cihazlar, akım taşıyan teller (elektrik hatları, elektrik kabloları vb.) ELF elektromanyetik alan kaynaklarıdır. Yıldırım, iyonosferik akımlar vb. atmosferik süreçler de ELF elektromanyetik alan oluşturmaktadır. Dış (eksternal) elektrik ve manyetik alanlara maruz kalmak vücutta elektrik alan ve akım indüklenmesine yol açar. Bunun sonucunda uyarılabilir dokularda (sinir, kas) uyarı (stimulus) oluşabilir. Elektrik alanların kalkanlanabilme özelliğinin bir sonucu olarak, insan ve hayvan vücudu ELF elektrik alanların uzaysal dağılımında bozulmaya yol açmaktadır. Bu nedenle vücut içerisinde oluşan elektrik alanın büyüklüğü dış elektrik alandan 5 – 6 kat daha az olmaktadır. İndüklenen akımın farklı dokulardaki dağılımını dokuların elektriksel iletkenlikleri belirlemektedir [18]. Dokuların manyetik geçirgenlikleri hava ile aynı olduğu için, elektrik alanlarda gözlenen bu değişim manyetik alanlarda olmamaktadır. Dış ELF manyetik alan büyüklüğü, doku içerisindeki manyetik alan ile aynı olmakta ve indüklenen elektrik akımı dokuların iletkenliklerine göre değişmektedir.

2.8.3. Radyofrekans radyasyon

Radyofrekans radyasyon mikrodalga ve radyo dalgalarını kapsayan elektromanyetik spektrumun 30 kHz – 300 GHz frekans aralığında yer alan, spekturumun iyonlaştırıcı olmayan bileşenidir. Dünya, Güneş ve uzay doğal RFR kaynaklarıdır. Cep telefonları, radarlar, baz istasyonları, Wi-Fi veya Bluetooth cihazlar, radyo ve televizyon vericileri, mikrodalga fırınlar, manyetik rezonans görüntüleme (MRG) cihazları ise insan yapımı RFR kaynaklarından bazılarıdır. İnsan yapımı kaynaklara kıyasla doğal RFR kaynakları olan Dünya, Güneş ve iyonosferden düşük düzeyde RFR yayılımı olmaktadır. Doğal RFR

kaynakları geniş spektrum bandına sahiptir. Yalnızca 30 MHz – 30 GHz frekans aralığına sahip elektromanyetik dalgalar atmosferi geçebilirler. 30 MHz'den düşük frekanslarda iyonosfer EM dalganın uzaya geri yansıtılmasına neden olur. 30 GHz üzeri frekanslarda ise (kısıtlı bir frekans aralığı haricinde) EM dalganın zayıflama miktarı yüksek olmaktadır [30].

İnsan yapımı RFR kaynağı olarak verilebilecek en popüler örnek olan kablosuz teknoloji, son yıllarda büyük gelişme göstermiştir ve günümüzde hayatın her alanına yayılmış durumdadır. Tıp, endüstri, iletişim, ulaşım gibi pek çok sektörde bu teknolojiden faydalanılmaktadır. Kablosuz iletişimdeki gelişmelerin bir neticesi olarak baz istasyonlarının sayısının artmakta ve bu sayede özellikle yerleşim alanlarında kaliteli sinyal elde edilmesi ve kapsama alanında artış sağlanmaktadır [35].

Radyofrekans elektromanyetik dalgalar yüklü parçacıklardan kaynaklanır ve dalga benzeri bir davranış ile yayılım gösterirler. Elektrik alan ve manyetik alan bileşenleri birbirlerine ve dalganın yayılım doğrultusuna dik şekilde yayılmaktadır. Yayılım paterni kaynağın ve dağılımın tipine bağlı olarak şekillenmektedir. Yönsüz (nondirectional) yayılıma sahip noktasal bir kaynak için, elektromanyetik alan düzeyleri mesafenin karesi ile ters orantılı olarak ($\sim 1/r^2$) azalmaktadır. Yönlü yayılıma sahip noktasal bir kaynak için ise, elektromanyetik alan düzeyleri mesafe ile ters orantılı olarak ($\sim 1/r$) azalmaktadır. Cep telefonu, radyo veya televizyon anteni gibi sabit vericilerde yönlü ve yönsüz yayılım üreten kaynaklar bir arada bulunmaktadır. Bu nedenle yayılım paterni daha karmaşıktır ve elektromanyetik alan düzeylerindeki azalma, mesafenin tersi ($\sim 1/r$) ile mesafenin karesinin tersi ($\sim 1/r^2$) arasında olmaktadır [30].

2.8.4. Kızılötesi radyasyon

Kızılötesi radyasyon (Infrared, IR) elektromanyetik spektrumun mikro dalga ile görünür ışık arasında bulunan, dalga boyu 760 nm ile 100 000 nm aralığında olan bileşenidir. Kızılötesi radyasyon 0 K (Kelvin, -273,15 Celsius - $^{\circ}\text{C}$) üzeri sıcaklığa sahip olan tüm yüzeylerden yayılmaktadır ve radyasyon enerjisi sıcaklık arttıkça artmaktadır. IR radyasyon, görünür ışıkla aynı optik özelliklere sahiptir, yansıma ve kırılmaya uğrar [36].

Kızılötesi radyasyon, gözle görünmemekte ancak sıcaklık hissi olarak algılanabilmekte veya gece görüş gözlüğü veya kızılötesi kameralar aracılığı ile belirlenebilmektedir. Kızılötesi

radasyonun nöral stimölasyon, yara iyileşmesi ve kanser tedavisinde fayda sağlayan fotostimölasyon ve fotobiyomodölasyon etkilerine sahip olduğu düşünölmektedir [37].

2.8.5. Görünör ışık

İnsan gözü ile görölebilen, dalga boyu 400 nm ile 700 nm arasında değışen elektromanyetik spektrumun kıızılötesi dalgalar ile morötesi dalgalar arasında yer alan dar alan görünör ışık bölgesidir. Görünör ışık ciltte bulunan kromoforlar tarafından soğurulmaktadır. Bu nedenle lazer tedavisi, yoğun pulslu ışık terapisi ve fotodinamik terapi gibi uygulamalarda görünör ışıktan yararlanılmaktadır. Morötesi (UV) veya kıızılötesi (IR) bileşenleri olmadan yalnızca görünör spektrumda bulunabilen geniş spektrumlu ışık kaynağının olmaması nedeni ile görünör ışığın etkileri ile ilgili sınırlı bilgi bulunmaktadır [38].

2.8.6. Morötesi (UV) dalgalar

Morötesi dalgalar, elektromanyetik spektrumun görünör ışık ile X ışınları arasında kalan bölgedir. Dalga boyu 100 – 400 nm arasında bulunan mor ötesi (UV – ultraviolet, morötesi) dalgalar UV-A, UV-B ve UV-C olarak 3 kısıma ayrılmaktadır. Bunların içerisinde UV-A, en yüksek dalga boyuna ve en düşük frekansa sahip iken UV-C en düşük dalga boyuna ve en yüksek frekansa sahiptir [39]. UV-C ozon tabakası tarafından filtre edilir ve Dünya yüzeyine ulaşamaz. Ancak ozon tabakasında meydana gelen incelmeler UV-C maruziyeti açısından risk taşımaktadır [40]. UV-B insan vücudu tarafından büyük ölçüde emilir. UV-B'nin başlıca etkileri cilt, göz ve immun sistem üzerinde gözlenmektedir [41]. UV radyasyonun DNA hasarına yol açtığı bilinmektedir. Farklı dalga boyunda UV ışınları, farklı tipte DNA hasarına neden olmaktadır [42]. Bireysel UV radyasyon maruziyeti fiziksel, kimyasal veya biyolojik dozimetreler kullanılarak ölçölebilmektedir [39].

2.8.7. X ve Gama ışınları

X ve Gama Işınları elektromanyetik spektrumun iyonlaştırıcı kısmında bulunan, yüksek enerjiye sahip bileşenleridir. İyonizan radyasyon atom ve hücreler ile etkileşime girerek moleküler yapıda değışime, DNA hasarına yol açarak biyolojik süreçlerde gözlemlenebilir etkilere neden olmaktadır [43].

2.9. Elektromanyetik Alanların Biyolojik Etkileri

Elektromanyetik alanlar direkt veya indirekt mekanizma ile organizma üzerinde biyolojik etkilere yol açabilirler. Bu etkiler termal veya termal olmayan mekanizma ile olabilmektedir. Biyolojik etki uyarana yanıt olarak ortaya çıkan fiziksel, biyokimyasal veya davranışsal değişimlerdir. Bu değişimler geri dönüşümlü (reversible) olabileceği gibi geri dönüşümsüz (irreversible) de olabilmektedir. Biyolojik etkiler kısa süreli veya düşük düzeyde olduğunda sağlık üzerinde etkilere yol açmayabilmektedir. Ancak oluşan etkilerin uzun süre devam etmesi, organizma tarafından etkilerin kompanse edilememesi durumlarında sağlık da etkilenecektir [44].

2.9.1. Statik alanların biyolojik etkileri

Statik alanların sağlık üzerine etkilerine yönelik sınırlı sayıda araştırma yapılmıştır. Mevcut çalışmalar statik alan maruziyetinin ciddi biyolojik etkileri olmadığı doğrultusunda sonuçlar içermektedir. 2 T üzeri seviyelerde statik manyetik alanlara maruz kalmanın baş dönmesi, mide bulantısı, ağızda metalik tat vb. geçici etkilere yol açabildiği belirtilmektedir [45]. 35 kV/m (0 Hz) statik elektrik alan maruziyetinin (7, 14 ve 21 gün) fare lökosit, eritrosit ve hemoglobin seviyeleri üzerinde etkisinin olmadığı gösterilmiştir [46]. İnsan fibroblast hücre hattında (NHDF cell line) 3 gün süresince uygulanan statik manyetik alanın (0,4, 0,55 ve 0,7 T) oksidatif etkisinin olmadığı belirtilmiştir [47]. Bir başka çalışmada ise 7, 14, 21 ve 35 gün sürelerince uygulanan statik elektrik alan maruziyetinin (27,5 kV/m, 34,7 kV/m ve 56,3 kV/m) fare karaciğer dokusunda AST, ALT, SOD, MDA, GSH Px düzeyleri üzerindeki etkisi incelenmiş ve 7 ve 14 günlük 56,3 kV/m düzeyinde uygulanan maruziyetin SOD seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artışa yol açtığı gösterilmiştir. Gözlemlenen bu etkinin geçici olduğu ve oksidatif hasara yol açmadığı vurgulanmıştır [48]. Alüminyum üretiminde çalışan işçilerde kanser riskine ilişkin yapılmış birtakım çalışmalar bulunmaktadır. Ancak bu çalışmalarda işçilerin polisiklik aromatik hidrokarbon maruziyetleri değerlendirilmiş, statik alan maruziyetine ilişkin analiz yapılmamıştır [49-51]. İşçilerin statik alan maruziyetinin değerlendirildiği birkaç çalışma ise kanser açısından artmış risk olmadığını belirtmiştir [45]. Statik elektrik ve manyetik alanların insanlar için karsinojenik olmadığı (Grup 3) IARC tarafından 2002 yılında belirtilmiştir [52].

2.9.2. Çok düşük frekanslı elektromanyetik alanların biyolojik etkileri

Düşük frekanslı elektromanyetik alanların biyolojik etkilerine yönelik yapılan çalışmalarda akut etkilerden ziyade kansere odaklanılmıştır. Kanser dışında nörodejeneratif hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar ve üreme sistemi üzerine etkileri araştırılmıştır [44].

Wertheimer ve Leeper 1976-77 yıllarında yaptıkları saha çalışmalarında yüksek gerilim hattı yakınında ikamet eden çocuklarda lösemi görülme oranının, kontrol grubu çocuklara kıyasla fazla olduğunu gözlemlemişlerdir [53]. Wertheimer ve Leeper 1982 yılında yayınladıkları çalışmalarında yüksek gerilim hattı yakınında ikamet eden erişkinlerde de bazı kanserlerin (lenfoma, meme, uterus, sinir sistemi) görülme oranının istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu ancak yüksek gerilim hattı ile kanser ilişkisinin erişkinlere kıyasla çocuklarda daha belirgin olduğunu belirtmişlerdir [54]. IARC tarafından, 2002 yılında yapılan değerlendirme sonucunda;

- ELF manyetik alanların çocukluk çağı lösemisi ile ilişkisine dair sınırlı kanıtlar bulunduğu,
- ELF manyetik alanların çocukluk çağı lösemisi dışındaki diğer tüm kanser türleri ile ilişkisine dair yeterli düzeyde kanıt bulunmadığı,
- ELF elektrik alanların insanlarda kansere yol açtığına dair yeterli düzeyde kanıt bulunmadığı,
- ELF elektrik alanların deney hayvanlarında karsinojenik olup olmadığına ilişkin veri bulunmadığı belirtilmiştir.

Tüm bu veriler doğrultusunda, ELF manyetik alanlar grup 2B karsinojen olarak sınıflandırılırken, ELF elektrik alanların ise insanlar için karsinojenik olmadığı (Grup 3) belirtilmiştir [52].

IARC tarafından yapılan bu değerlendirme sonrasında ELF elektrik ve manyetik alanların biyolojik etkilerine dair yürütülen çalışmalarda birbiri ile çelişen sonuçlar ortaya konmuştur. EM alanların demans riskinde % 5,7, Alzheimer hastalığı riskinde ise % 9,4 oranında artışa neden olduğu bildirilmiştir [55]. İsviçre’ de yapılan bir kohort çalışmasında 15 yıldan uzun süre yüksek gerilim hatlarına yakın mesafede (ortalama manyetik alan değeri $\geq 0,5$ mT) yaşam sürdüren yetişkinlerde Alzheimer hastalığı riskinin 2 katına çıktığı gösterilmiştir [56].

Bu çalışmaların aksine ELF elektromanyetik alanların nörodejeneratif hastalıklar ile ilişkisinin bulunmadığını belirten epidemiyolojik çalışmalar da bulunmaktadır [57].

ELF alanlara mesleki maruziyetin depresyon, anksiyete, stres ve uyku kalitesinde bozulmaya yol açtığı saptanmıştır [58].

ELF elektrik ve manyetik alanların insan üreme sistemi üzerinde etkisinin olmadığı gösterilmiştir [57]. Maternal manyetik alan maruziyeti ile abortus (düşük) riski arasında ilişki gösterilmiştir ancak bu bulgular yetersiz olarak değerlendirilmiştir [59].

ELF alanların deney hayvanlarında birtakım hormonların seviyesini değiştirebildiği gösteren çalışmalar bulunmaktadır ancak bu konudaki insan çalışması oldukça azdır [60]. ELF elektromanyetik alanların nöroendokrin sistem üzerindeki etkisinin insan sağlığını etkileyecek düzeyde olmadığı belirtilmiştir [57].

Özetle, ELF alanların kardiyovasküler sistem üzerinde ciddi etkilerinin olmadığı ve bu konudaki çalışmaların sonuçlarının tutarlılık göstermediği bildirilmiştir [61].

2.9.3. Radyofrekans radyasyonun biyolojik etkileri

RF/Mikrodalga radyasyon maruziyetinin (3 kHz–300 GHz) biyolojik etkileri maruziyetin süresi ve uygulanma şekli (sürekli, aralıklı), akut ve kronik maruziyet, uygulamanın yapıldığı hücre, doku veya organizma türü gibi pek çok parametreye bağlı olarak değişmektedir [62].

Radyofrekans radyasyonun biyolojik etkilerine dair yapılmış in vitro, in vivo ve insan çalışmaları bulunmaktadır. İnsan çalışmaları daha az sayıdadır ve bireysel farklılıklar nedeniyle elde edilen sonuçların analizi kolay olmamaktadır. Hücresel çalışmalar izole bir ortam olması, RFR ölçümlerinin maruz kalan bölgede gerçekleştirilebilmesi, maruziyetin kontrol edilebilmesi ve incelenen etkilerin analizinin direkt olarak yapılabilmesi gibi avantajlar taşıdığı için önemlidir. Ancak in vitro çalışmaların sonuçlarının organizma için yorumlanması her zaman doğru sonuç vermemektedir. Hücresel düzeyde gözlenen biyolojik etkiler, koruma ve tamir mekanizmalarının devreye girmesi sonucunda organizmada gözlenmeyebilir. Organizma yanıtı (koruma ve tamir mekanizmaları) yokluğu in vitro çalışmaların en önemli dezavantajlarından biridir [63].

Cep telefonu ve baz istasyonu gibi kaynaklardan yayılan RFR maruziyetinin karsinojenik etkisinin olup olmadığı önemli bir endişe konusudur. İn vitro RFR çalışmaları karsinojenik etkinin araştırılması amacıyla genotoksisite üzerine yoğunlaştırılmış durumdadır. Kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar ile birlikte uygulandığında, RFR'ın antitümör ajanı olarak da kullanılabileceğini gösteren in vitro çalışmalar da bulunmaktadır [63].

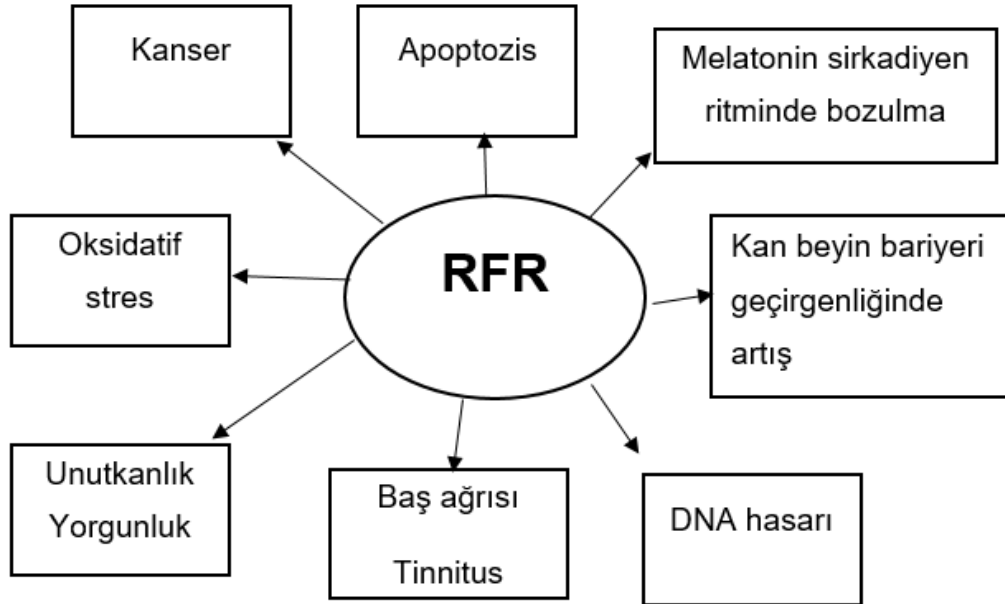
RFR maruziyetinin sitogenetik hasara yol açtığını [64, 65] gösteren az sayıda çalışmanın aksine, RFR uygulamasının genotoksik etkisinin bulunmadığını gösteren çok sayıda in vitro çalışma bulunmaktadır [66-68]

RFR maruziyetinin deney hayvanlarında farklı dokularda apoptotik etkilerinin olduğu, oksidatif stres artışına, DNA hasarına, antioksidatif savunma mekanizmasında bozulmaya yol açtığı, lipid peroksidasyonunu indüklediği, kan beyin bariyeri geçirgenliğinde artışa ve melatonin seviyesinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Şekil 2.5) [15, 16, 69-75]. Hem yakın alan [76], hem de uzak alan [77] RFR maruziyetinin sıçanlarda kalp ve beyin doku tümörlerinin insidansını arttırdığı tespit edilmiştir. RFR maruziyetinin melatonin ve testosteron sirkadiyen ritimlerinde bozulmaya neden olduğu gösterilmiştir [73]. Wi-Fi maruziyetinin sıçanlarda sperm sayı ve hareketliliği üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir [78]. Hamilelik süresince RFR maruziyeti uygulanan sıçanların yavrularında over rezervinde azalma olduğu gösterilmiştir [79]. RFR maruziyetinin biyolojik etkisinin olmadığını belirten in vivo çalışmalar da bulunmaktadır [80-82]. Melatonin takviyesinin RFR maruziyetinin neden olduğu oksidatif hasarı düzeltici etkisinin olduğu tespit edilmiştir [15, 16, 83]. Benzer şekilde, antioksidan etkisi bilinen L-karnitin uygulanmasının RFR'ın oksidatif etkilerine karşı koruyucu olduğu, diğer bir antioksidan olan selenyumun ise koruyucu etkisinin olmadığı gösterilmiştir [72].

Epidemiyolojik çalışmalar mesleki RFR maruziyetinin mikronukleus frekansında artışa [84], DNA hasarına [85], mitotik aktivitede azalmaya [86], kromozomal anomaliye [87] neden olduğunu göstermektedir. Cep telefonu kullanımı ile ilişkili olarak mikronukleus artışı, sitolojik anomaliler [88, 89] ve DNA hasarı [90] gözlemlendiğini belirten insan çalışmaları yapılmıştır. Cep telefonu ve kalp pilinin elektromanyetik etkileşimine ilişkin yapılan çalışmalarda 250 farklı kalp pili modeli incelenmiştir. Hastaların % 30'unda cep telefonu kalp piline 10-15 cm yakınlıkta olduğunda, kalp pilinde problem olduğu gözlemlenmiştir. Kalp pilini cep telefonunda korumak için güvenli mesafe 20 cm olarak

belirtmiştir [91]. RFR maruziyetinin zararlı etkisinin bulunmadığını [92, 93], cep telefonu kullanımı ile tümör ilişkisinin olmadığını [94] belirten insan çalışmaları da mevcuttur.

Kablosuz telefon kullanımı ile ilişkili artmış glioma riski nedeniyle, 2011 yılında RFR IARC tarafından Grup 2B karsinojen sınıfına dâhil edilmiştir [2]. Amerikan Ulusal Toksikoloji Programı RFR'ın IARC sınıflamasına göre Grup 1'e dâhil edilmesi gerektiğini savunmaktadır [4]. Belpomme ve ark. ise günümüze dek yapılmış insan ve hayvan çalışmaları göz önüne alındığında, IARC sınıflandırmasının en azından Grup 2A olarak yükseltilmesi gerektiğini vurgulamışlardır [3].



Şekil 2.5. RFR maruziyetinin biyolojik etkileri

2.10. Radyofrekans Radyasyonun Biyolojik Doku ile Etkileşimi

Canlı organizma veya doku RF alana maruz kaldığında, RF enerji saçılıma uğrar ve dokuya penetre olurken enerji miktarı azalır. Enerji Emilimi, RF alanın frekansına ve maruz kalan dokuya bağlı olarak değişmektedir. Suyun dielektrik sabiti yüksek olduğu için, elektromanyetik dalganın frekans bağımlı dokuya nüfuz etmesi (penetrasyonu) büyük ölçüde dokunun su içeriğine bağlıdır [32].

RFR'ın biyolojik yapılarla etkileşimi 3 aşamalı bir sürecin neticesi olarak düşünülebilir. Bu aşamalar;

1. EM dalgaların canlı sisteme girişi (penetrasyon) ve yayılması,
2. Dalgaların biyolojik dokularla birincil etkileşimi,
3. Birincil etkileşim sonrasında indüklenen olası ikincil etkileşim olarak belirtilmiştir.

Etkileşim kelimesi elde edilen sonuçların, hem EM alan aktivitesine, hem de canlı organizmanın reaksiyonlarına bağlı olarak değiştiğini ifade etmektedir. Canlı sistemlerin dış faktörlerin indüklediği etkilere karşı güçlü bir kompensasyon (telafi) kapasitesi bulunmaktadır [62]. RFR'ın biyolojik etkilere neden olabilmesi için biyolojik sisteme penetre olması ve iç (internal) elektromanyetik alanları indüklemesi gerekmektedir [32].

RF alanların biyolojik doku ile etkileşimi termal veya termal olmayan mekanizmalar aracılığı ile olmaktadır. Termal mekanizma RFR maruziyetinin yol açtığı sıcaklık artışı ile ilişkilidir. RF alanlar yeterli yoğunlukta olduğunda dokuda ısı artışına yol açmaktadır. Bu durum mikrodalga fırınların çalışmasının temel prensibidir [3].

RF elektrik alanlar salınan akım üretirler. Bu akımın dokuya hızlı transferi moleküler hareketin artmasına sebep olarak lokal sıcaklık artışına yol açar. Sıcaklık artışı biyokimyasal reaksiyonları, enzim aktivitesini ve hücre canlılığını doğrudan etkileyebilmektedir [23]. Elektromanyetik enerji dokuda ısınmaya yol açabilecek düzeyde olsa bile vücuttaki termoregülatuar mekanizmalar nedeniyle, bir seviyeye dek dokuda sıcaklık artışı meydana gelmez [95]. Hipotalamusta 0,2 - 0,3 °C sıcaklık artışının termoregülatör yanıtları başlattığı gösterilmiştir [96]. Termal etkilerin tümü, maruz kalan dokunun elektriksel parametrelerine, özellikle de elektriksel iletkenliklerine bağlıdır [23].

Termal olmayan mekanizmalar ise, sıcaklık artışı ile ilişkili olmayan mekanizmalardır ve RF elektrik veya manyetik alanların dokuda meydana getirdiği birtakım değişiklikler sonucu ortaya çıkmaktadır [23]. Termal olmayan etkiler canlı hücreler ile iyonlar (kalsiyum, potasyum vb.) arası karmaşık etkileşimlerin neticesinde ortaya çıkmaktadır ve büyük moleküllerin (protein ve DNA) davranışı ile ilişkilidir [95]. Mikrodalga maruziyetinin termal olmayan düzeyde uygulandığında protein katlanmasında bozulmaya yol açabileceği belirtilmektedir [97]. Düşük yoğunlukta uygulanan RF alanların serbest oksijen türleri (ROS, reactive oxygen species) artışına, kalsiyum seviyelerinde değişikliğe, epigenetik mekanizmalar ile gen ekspresyonunda değişime yol açtığı bilinmektedir. Bu mekanizmaların

herhangi biri kansere yol açabileceği gibi fizyolojik değişimlere veya farklı hastalıkların oluşumuna da sebep olabilir [3].

Deney hayvanları ile ilgili çalışmalar aynı SAR düzeylerinde farklı biyolojik yanıtlar gözlemlendiğini göstermektedir. Bu durumun sebebi olarak frekans, deney hayvanının türü, cinsiyeti, yaşı, ağırlığı gibi unsurlar sıralanabilir. Bunların yanı sıra bireysel duyarlılık, genetik yatkınlık, altta yatan fonksiyonel veya metabolik bir hastalık olması durumu, çevresel faktörler (sıcaklık, nem, ışık, gürültü, koku), maruziyet süresi, maruziyet sayısı, uygulamanın tüm vücut veya vücudun yalnızca belli bir bölgesinde olması durumu, uygulamalar arası geçen süre, araştırmacı ile hayvan etkileşimi gibi unsurlar da ortaya çıkan biyolojik yanıtlar üzerinde etkilidir [31].

2.11. Dokularda Radyofrekans Enerji Soğurumunu Etkileyen Faktörler

RF/MW soğurumunda etkili olan fiziksel unsurlar: Frekans, polarizasyon, modülasyon (AM, FM, Pulsu, CW), güç yoğunluğu (tepe ve ortalama değerleri), alan paterni (yakın alan, uzak alan), alanın homojenliği, RF alanı gönderen ve yayan ekipman türü, uygulamanın yapıldığı kabın malzemesi, uygulama yapılan kabın boyutları olarak sıralanabilmektedir. Enerji soğurumunda etkili olan biyolojik faktörler: Dokuların dielektrik özellikleri, doku geometrisi ve boyutları, alanın polarizasyonuna göre doku-hayvan veya bireyin oryantasyonudur. Bunlara ek olarak sıcaklık ve nem gibi çevresel faktörler, ortamda bulunan metal objeler de RF enerji soğurumu üzerinde etkili olabilmektedir [31].

2.11.1. Dielektrik özellikler

Dokuların dielektrik özellikleri elektromanyetik alanların büyüklüğü ve uzaysal dağılımı üzerinde etkili olmaktadır. Dielektrik sabiti arttıkça dokunun iletkenliği azalır. Dokuların dielektrik özellikleri büyük ölçüde içerdikleri su miktarı ile ilişkilidir. Dokular içerdikleri su miktarına göre 3 gruba ayrılabilir. Yüksek su ihtiva eden dokular göz, kas, karaciğer ve böbrek; düşük su ihtiva eden dokular yağ dokusu ve kemik olarak belirtilmektedir. Orta seviyede su içermekte olan dokular ise beyin, akciğerler ve kemik iliğidir [22].

Dokuların dielektrik özellikleri frekans ile değişmektedir. Frekans arttıkça dokuların bağıl geçirgenliğinin azaldığı, elektriksel iletkenliğinin ise arttığı belirtilmiştir [98].

1 kHz'den düşük frekanslarda ve 10 kHz - 100 MHz aralığındaki frekanslarda dokularda dielektrik özelliklerin değişimi hücre membranı ve hücre içi ve dışı elektrolit etkileşimlerine bağlı olarak gerçekleşmektedir. 100 MHz üzeri frekanslarda ise dokunun aköz (sulu) içeriği dielektrik özellikleri belirlemede etkili olmaktadır [98]. Pollacco ve ark. sıçanların kas ve yağ dokusunda elektriksel geçirgenliğin doku su içeriği ile bağlantılı olduğunu, su içeriğinin azalmasının elektriksel geçirgenliği arttırdığını gözlemlemişlerdir. Bu durumun su içerisinde bulunan ve elektriksel iletkenliği arttıran serbest iyonlardan kaynaklandığını belirtmişlerdir [99].

Sıcaklık arttıkça elektriksel iletkenliğin arttığı gösterilmiştir. Fu ve ark. 36 °C ile 60 °C arası farklı sıcaklıklarda, farklı frekanslarda (42,58 – 64 – 128 – 170 – 298 – 400 – 468 MHz), farklı dokuların (domuz uterus, karaciğer, mesane, iskelet kası ve yağ dokusu) dielektrik özelliklerini incelemişlerdir. 36 °C ile 50 °C arasında tüm dokularda iletkenlik artışının olduğunu, 50 °C ile 60 °C arasında bazı dokuların iletkenliklerinde azalma olduğunu ve frekans arttıkça dokuların dielektrik sabitinde azalma olduğunu gözlemlemişlerdir [100].

Sağlıklı dokular ile kanserli dokuların da dielektrik özelliklerinin farklı olduğu bilinmektedir. Elektriksel geçirgenliğin ve iletkenliğin kanser dokusunda sağlıklı dokuya göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir [98]. Dokuların dielektrik özellikleri, doku yapısı ve içeriği (su miktarı, tümör varlığı vb.) hakkında bilgi vermesi nedeniyle tıbbi tanı ve tedavide fayda sağlayabilir.

Dokuların dielektrik özellikleri frekansa bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Bu değişikliğe yol açan temel unsur düşük frekanslarda hücre membranının yüklenmesidir. Hücre membranının iletkenliği düşüktür ve kapasitansı 0,01 F/m² (Farad/metrekaire)'dir. Düşük frekanslarda hücre membranının empedansı yüksektir ve akım primer olarak ekstrasellüler boşluğa doğru olmaktadır. Yüksek frekanslarda ise akım hem intrasellüler hem ekstrasellüler boşluklara doğru olmaktadır. Yüksek frekanslarda (1 – 300 GHz) elektrik özellikler, büyük ölçüde dokunun su içeriğine bağlı olarak değişmektedir [101].

Dielektrik özellikler yaşa bağlı olarak da değişmektedir. Elektriksel iletkenliğin yaş ile azalması nedeniyle kemik iliğinde maruziyetin çocuklarda erişkinlere göre 10 kat kadar fazla olabildiği tespit edilmiştir [102]. Elektriksel özellikler dikkate alındığında, baş bölgesinde erişkinlere kıyasla çocuklarda RF enerjinin emilimi 2 kattan daha fazla olabilmektedir [103].

Çocuklarda beynin bazı bölgelerinde (korteks, hipokampus ve hipotalamus) ve gözde maksimum SAR değerlerinin erişkinlere göre daha yüksek olduğu ancak tüm kafa değerlendirildiğinde maksimum SAR değerlerinde yaşa bağlı değişimin olmadığı gösterilmiştir [102].

2.11.2. Doku geometrisi ve boyutu

Bir cisme dışarıdan RF alan maruziyeti uygulandığında en yüksek SAR düzeyinin cismin yüzeyinde olduğu, kıvrımlı yüzeylerde ise, cismin çeşitli kısımlarında yüksek SAR düzeylerinin gözlemlendiği belirtilmiştir [22].

Yetişkinlere göre çocukların kafa boyut ve şekli farklıdır. İnsan kafa modelleri kullanılarak yapılan hesaplamalar neticesinde, kafa boyutu küçüldükçe ölçülen SAR düzeylerinin de azaldığı ancak beyinde emilen enerji yüzdesinin arttığı gösterilmiştir [104]. Bunun tam aksine, kafanın geometrik özelliklerinin maksimum SAR düzeyleri üzerinde etkisinin olmadığı, bireysel anatomik farklılıkların sonucu olarak ölçüm değerlerinin değişkenlik gösterdiği belirtilmiştir [102].

Kafa derisi de çocuklarda yetişkinlere göre daha incedir. Bu nedenle RF alanların yayılımı ve penetrasyonu yetişkinlere göre daha fazla olmaktadır. Anatomik oranların farklılığı neticesinde de erişkinlere göre çocukların beyin dokusunda maruziyet düzeyinin daha fazla olduğu ifade edilmiştir [102]. Bir başka çalışmada çocuklarda erişkinlere kıyasla baş bölgesinde cep telefonu radyasyonu soğurumunun daha fazla olduğu gösterilmiştir [96].

Radyasyonun maksimum soğrulduğu frekans, rezonans frekansı (MHz frekans seviyeleri için) olarak ifade edilmektedir. Rezonans frekansı bireyin boyu ile ters orantılı olarak değişmekte, boy arttıkça rezonans frekansı azalmaktadır. Bu nedenle rezonans frekansı erişkinler ile çocuklarda farklılık göstermekte ve çocuklarda daha yüksek olarak hesaplanmaktadır. Diğer bir deyişle, yüksek frekanslar çocuklar tarafından daha fazla soğrulmakta ve çocuklar RF alanların biyolojik etkileri yönünden (özellikle gelişmekte olan sinir sistemi nedeniyle) daha fazla risk altında kalmaktadır [105].

2.11.3. Doku oryantasyonu ve alan polarizasyonu

RF alanlara maruz kalan objenin uzun eksenini, elektrik alanına paralel ise maksimum SAR düzeyine ulaşıldığı (soğurumun maksimum olduğu) gösterilmiştir. Sıçan boyutunda bir model üzerinde 10 MHz RFR alan maruziyeti uygulandığında, elektrik alanının sıçan modelinin uzun eksenine paralel olduğu durumda ortalama SAR değerinin, elektrik alanının uzun eksene dik olduğu duruma kıyasla 20 kat fazla olduğu belirlenmiştir [22].

Elektrik ve manyetik alanlar vektörel büyüklüklerdir. Büyüklüklerinin (şiddetlerinin) yanı sıra doğrultuları da bulunmaktadır. Statik alanların (doğru akım, DC – direct current) doğrultusu ve büyüklüğü zamanla değişmez, sabittir. Zamanla değişen alanların (alternatif akım, AC – alternating current) doğrultusu genellikle sabittir ancak şiddeti değişmektedir. Bu alan tanımlanan yönde salınır, bu durum doğrusal polarizasyon olarak ifade edilir. RF alanların madde ile etkileşimi (iletim, soğurma, yansıma ve saçılma) genellikle dalga polarizasyonuna bağlıdır [106]. Farklı vektörel büyüklüklere sahip alanların bir arada bulunduğu, karmaşık maruziyetin söz konusu olduğu durumlarda, alan vektörleri birbirlerine eklenerek bileşke alan meydana gelmektedir. DC alanlarda bileşke alan farklı yoğunluk ve genellikle farklı yönelime (oryantasyon) sahip olurken, AC alanlar için durum daha karmaşıktır. AC alanların zamanla değişen yoğunluğu ile alan vektörü düzlemde bir elipsi izleyerek, uzayda rotasyona uğrar. Bu durum eliptik veya sirküler polarizasyon olarak adlandırılır [107]. Düzlem dalga modeli dışındaki dalga tiplerinde, polarizasyon genellikle noktadan noktaya değişmektedir [106].

2.11.4. Frekans ve modülasyon

Frekans değişimi dokunun dielektrik özelliklerini değiştirerek, enerji Emilimi üzerinde etkili olmaktadır. Bunun yanı sıra frekans değiştiğinde RF alanların gücü ve uzaysal yayılımı da değişmektedir [22].

RF alan modülasyonunun alan değerlerini belirlemede frekans kadar etkili olduğu düşünülmektedir. Radyo iletişiminde bilginin uzak mesafelere aktarılabilmesi için, taşıyıcı olarak adlandırılan bir sinyal tarafından taşınması gerekmektedir. İletilecek bilgiye (veri) bağlı olarak parametrelerin belirli şekilde değişmesi ile oluşan işlem modülasyon olarak tanımlanmaktadır. Modülasyon, iletilen sinyal sürekli olduğunda (ör: mikrofona) analog

olarak adlandırılırken, giriş sinyali ikili veri akışı olduğunda dijital olarak adlandırılmaktadır. Modüle edilen parametreye göre modülasyon: Amplitüd modüle (AM), frekans modüle (FM) veya faz modüle (PM) olarak üçe ayrılmaktadır [108].

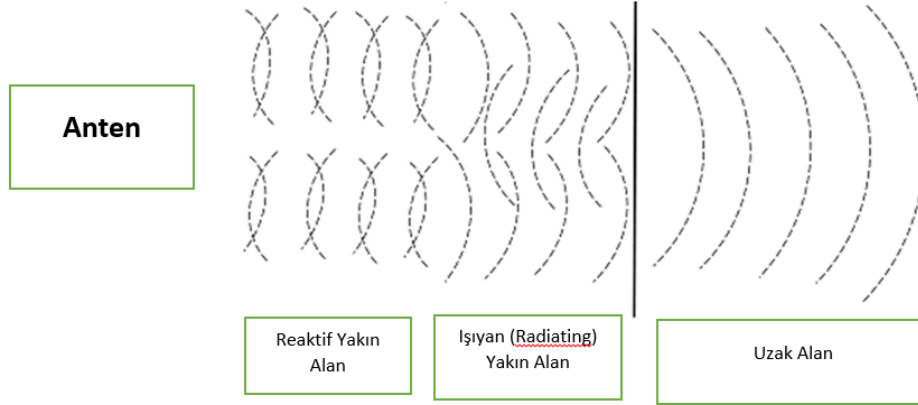
RF dalga uzayda belli bir zaman periyodunu aşkın süre boyunca yayılım gösterdiğinde, bu dalga sürekli dalga (CW - continuous wave) olarak adlandırılmaktadır. RF dalga uygulamasının açılıp kapatılarak pulslu veya genlik ya da amplitüd modülasyonlu şekilde yapılması da mümkündür [106]. Pulslu mikrodalga alanların, biyolojik yanıtların ortaya çıkmasında sürekli alanlara göre, daha etkili olduğu belirtilmiştir [109].

2.11.5. Mesafe (yakın alan – uzak alan)

RF alan kaynağı ile organizma arasındaki mesafe, organizma tarafından emilen RFR miktarını etkileyen unsurlardan biridir. RF alan maruziyetinin yakın veya uzak alanda olması dalga formunun farklılaşmasına yol açmakta ve oluşan alan değerlerinin değişmesine neden olmaktadır. Bhargava ve ark. [96] 3 farklı mesafe (0,5 cm - 3 cm ve 6 cm) ile 60 dakika süresince 900 MHz (5 W güç) RFR maruziyetinin farklı dokularda (beyin, yağ dokusu, deri, kemik, göz) sıcaklık artışı ve SAR seviyesi üzerine etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmalarında, mesafe azaldıkça RFR soğurumunun arttırdığını ve bu nedenle en yüksek RFR yayılımının deri dokusunda olduğunu belirtmişlerdir.

RF alan kaynağı çevresindeki uzay, yakın alan ve uzak alan (fraunhofer) olarak iki kısma ayrılmaktadır (şekil 2. 6). Yakın alan da kendi içerisinde iki kısma ayrılmaktadır: Reaktif yakın alan ve ışıma yapan (radiating) yakın alan (fresnel). Yakın alan ve uzak alan koşulları fiziksel özellikler üzerinde etkili olmaktadır. Her bölgede elektromanyetik alan yapısı değişiklik göstermektedir [110]. Işıma kaynağı ile uzak alan arası bölge, yakın alan olarak tanımlanır. Reaktif yakın alan ise, fresnel alanı ile anten arasındaki bölgedir. Uzak alan basitçe kaynaktan bir dalga boyu kadar mesafe ötesini ifade etmektedir ancak anten özelliklerine göre değişim gösterebilir. Yakın alanda fiziksel koşullar karmaşıktır vericiler ve absorberlar (soğurucu) arasında etkileşimler meydana gelir [30]. Yakın alanda bağlı elektrik ve manyetik alan büyüklükleri, akım veya yüklerin ve elektrik sisteminden olan uzaklığın bir fonksiyonudur. Elektrik alan, manyetik alandan veya tam tersi manyetik alan, elektrik alandan daha büyük olabilir [111]. Yakın alanda elektrik ve manyetik alanlar bağlantılı değildir, dalga empedansı noktadan noktaya farklılık göstermektedir. Yakın

alandaki elektrik ve manyetik alanlar uniform değildir ve güç antenden uzaklaştıkça daha az değişiklik göstermektedir [112].



Şekil 2.6. Anteni çevreleyen elektromanyetik alan bölgeleri

Düzlem dalga elektrik ve manyetik alanların homojen ve birbirine dik olarak ilerlediği dalga modelidir. Uzak alanda RF dalgalar, kaynak konfigürasyonundan bağımsız olarak ve düzlem dalga modeline göre yayılım göstermektedir. Uzak alanda güç, antenden uzaklaştıkça azalır ve bu azalma tekdüze (monoton) bir biçimde olmaktadır. Uzak alanda elektrik alan yoğunluğu (E , V/m) değeri ile güç yoğunluğu değeri (S , W/m²); $S = E^2/Z_0$ formülüne göre birbirlerine dönüştürülebilmektedir. Z_0 serbest uzayın empedans değeridir, 377 ohm dur. $H = E/Z_0$ formülü kullanılarak manyetik alan (H) değeri de hesaplanabilmektedir. Uzak alanda dalga enerjisi korunur ve mesafe (mesafenin tersi veya mesafenin karesinin tersi yasalarına göre) ile azalır [30, 112].

2.11.6. Çevresel faktörler ve maruziyet süresi

Çevresel faktörler RF alanların yayılımında etkili olmaktadır. Uygulama alanında bulunan metal yüzeyler yansıma ve saçılma artışlarına yol açarak alan değerlerini değiştirebilir [31]. Uygulamanın tek hayvana yapılması veya aynı kafes içerisinde birden fazla hayvana yapılması, hayvanın uygulama esnasında hareketli olup olmaması, ortamın nem, sıcaklık ve aydınlatma özellikleri vb. faktörler de RF alan değerlerinin üzerinde etkili olmaktadır. RF alanlara maruz kalma süresi de organizma tarafından emilen enerji miktarını etkilemektedir.

2.12. Radyofrekans Radyasyon ile İlgili Limitler

Uluslararası İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyondan Korunma Komisyonu (ICNIRP - International Commission on Non Ionizing Radiation Protection) tarafından 100 kHz - 300 GHz frekans aralığında, ortalama ≥ 6 dakika üzeri süreler için belirlenen limit değerler çizelge 2. 2’de verilmiştir [20]. Elektromanyetik alanlar ile ilgili limitler, özellikle RFR limitleri ülkeler arasında büyük farklılıklar göstermektedir. Birçok ülke ICNIRP kılavuzunu dikkate almakta ve ihtiyatlı davranarak limitleri daha kısıtlı tutmaktadır. Ülkemizde elektromanyetik alanlar ile ilgili limitlerin belirlenmesinde sorumlu kuruluş olan Bilgi Teknolojileri ve İletişim Kurumu (BTK)’dur. BTK tarafından ihtiyat ilkesini göz önünde bulundurularak, ortam için ve tek bir cihaz için ayrı limit değerler belirlenmiştir. BTK tarafından oluşturulan limit değerler çizelge 2. 3’de verilmiştir [113].

Çizelge 2.2. 100 kHz - 300 GHz frekans aralığında elektromanyetik alan maruziyeti için temel kısıtlamalar

Maruziyet türü	Frekans aralığı	Tüm vücut ortalama SAR (W/kg)	Lokal Baş/Gövde SAR (W/kg)	Lokal Ekstremiteler SAR (W/kg)	Lokal Sab (W/m ²)
Mesleksel Maruziyet	100 kHz-6GHz	0,4	10	20	-
Mesleksel Maruziyet	6 – 300 GHz	0,4	-	-	100
Genel Halk Maruziyeti	100 kHz-6GHz	0,08	2	4	-
Genel Halk Maruziyeti	6 – 300 GHz	0,08	-	-	20

(Ortalama ≥ 6 dakika üzeri süreler için. (Sab: Emilen güç yoğunluğu)) [20].

Mesleksel maruziyet, maruziyet ve maruziyetin riski ile ilgili bilgiye sahip yetişkin popülasyondan oluşmaktadır ve bu gruptaki bireylerin risklerin önüne geçilmesi amaçlı gerekli önlemleri aldığı kabul edilmektedir. Genel halk maruziyeti ise, her yaş grubundan bireyden oluşmaktadır, bu gruptaki bireyler maruziyetin farkında değildir ve önlem alması beklenmez. Bu nedenlerden ötürü, genel halk maruziyeti için limit değerler daha düşük olarak belirlenmektedir [114].

Termal olmayan düzeyde RFR maruziyetinin önemli biyolojik etkilere yol açmadığı ICNIRP tarafından belirtilerek, limitler belirlenirken RF elektromanyetik alanların termal düzeyde etkileri göz önüne alınmıştır [20]. RFR maruziyetinin termal olmayan düzeyde

uygulandığında dahi pek çok biyolojik etkiye yol açtığı bilinmektedir. Bu nedenle mevcut limitlerin termal olmayan etkilerin göz önünde bulundurularak güncellenmesi gerekmektedir.

Çizelge 2.3. Bilgi teknolojileri ve iletişim kurumu tarafınca belirlenen limitler değerler [113]

Frekans Aralığı (MHz)	E-alan şiddeti (V/m)	
	Tek Cihaz Limit Değeri	Ortam Limit Değeri
0,010-0,15	19,3	65,25
0,15-1	19,3	65,25
1-10	$19,3/f^{1/2}$	$65,25/f^{1/2}$
10-400	6,2	21
400-789	$0,305f^{1/2}$	$1,03f^{1/2}$
790-2000	$0,275f^{1/2}$	$0,96f^{1/2}$
2 000-94 000	12,3	42,93

2.13. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC)

Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (International Agency for Research on Cancer - IARC) 1965 yılında kurulmuş olan, Dünya Sağlık Örgütü (WHO – World Health Organization) bünyesinde bulunan, kanser araştırmaları konusunda özelleşmiş bir kuruluştur. IARC kanser araştırmalarında uluslararası işbirliğini teşvik etmeyi amaçlamaktadır. 1969 yılında IARC tarafından insanların maruz kaldığı ajanlar (kimyasallar, virüsler, radyasyon vb.) içerisinde insanlar için karsinojen olma riski bulunanların değerlendirilmesi ve her ajan için monograf yayınlanmasını amaçlayan bir program başlatıldı. Kansere neden olma ihtimali bulunan ajanlar (veya karışımlar) ve insanların bu ajanlara olan maruziyet koşulları değerlendirilerek IARC tarafından karsinojen ajanlar 4 gruba ayrılmıştır [52].

2.13.1. Grup 1 (insan için karsinojen)

Karsinogenisitesine dair insanlarda yeterli kanıt bulunan ajanlar bu grupta yer almaktadır. Günümüze dek 120 ajan bu gruba dâhil edilmiştir. Sigara, gama radyasyon, asbest, benzen, alkolü içecekler, HIV (Human Immunodeficiency Virus / İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü), Hepatit B virüsü (HBV), Hepatit C virüsü (HCV), HTLV tip 1 (İnsan T-lenfotropik virüsü, Human T-lymphotropic virüs), tamoksifen, X ışınları ve Gama ışınları grup 1'e örnek olarak verilebilir.

2.13.2. Grup 2 (insan için muhtemel / olası karsinojen)

Karsinojenisitesine dair insanlarda yeterli kanıt bulunmayan ancak deney hayvanlarında karsinojenik etkisine dair güçlü kanıtlar bulunan ajanlar bu grupta yer almaktadır. Bu grup A ve B olarak iki alt gruba ayrılmıştır.

Grup 2A (insan için muhtemel karsinojen)

Karsinojenisitesine dair insanlarda sınırlı kanıtlar bulunan ve deney hayvanlarında kansere yol açtığına dair yeterli kanıt bulunan ajanlar bu grupta yer almaktadır. Günümüze dek 88 ajan bu gruba dâhil edilmiştir. Morötesi dalgalar (UV, ultraviyole), formaldehit, anabolik steroidler, mesleki maruziyet olarak kuaför ve berberler de bu grupta sınıflandırılmıştır.

Grup 2B (insan için olası karsinojen)

Karsinojenisitesine dair insanlarda sınırlı kanıtlar bulunan ve deney hayvanlarında kansere yol açtığına dair yeterli kanıt bulunmayan ajanlar bu grupta yer almaktadır. Aynı zamanda insanlarda kansere yol açtığına dair yeterli kanıt bulunmayan ancak deney hayvanlarında kansere yol açtığına dair yeterli kanıt bulunan ajanlar da bu grupta yer almaktadır. Günümüze dek 313 ajan bu gruba dâhil edilmiştir. 2002 yılında ELF manyetik alanlar, 2011 yılında ise RF alanlar bu sınıfa dâhil edilmiştir [32, 52]. Ayrıca benzin, metronidazol, streptozotosin, tripan mavisi bu grupta yer almaktadır.

2.13.3. Grup 3 (insan için karsinojen değil)

Karsinojenisitesine dair insanlarda yeterli kanıtın bulunmadığı, deney hayvanlarında ise yetersiz veya sınırlı kanıtların bulunduğu ajanlar bu grupta yer almaktadır. Günümüze dek 499 ajan bu gruba dâhil edilmiştir. ELF elektrik alanlar ve statik alanlar, floresan lambalar, saç boyama ürünleri (kişisel kullanım), HTLV (İnsan T-lenfotropik virüsü, Human T-lymphotropic virüs) tip 2 bu gruba dâhildir.

2.13.4. Grup 4 (insan için muhtemelen kanser yapıcı değil)

Karsinojenisitesine dair insanlarda ve deney hayvanlarında yeterli kanıtın bulunmadığı ajanlar bu grupta yer almaktadır [52].

2.14. Mobil İletişim Teknolojileri

Mobil iletişim teknolojileri 1. Nesil (G, Generation) olarak adlandırılan analog teknoloji ile başlamış ve günümüzde 5 G teknolojisine kadar ilerlemiştir. Her yeni nesilde iletişimin kalitesi ve hızında artış sağlanmıştır.

İlk nesil mobil sistemler 1980'lerin başında gelen analog (veya yarı analog) sistemlerdi ve aynı zamanda NMT (Nordic Mobile Telephone) olarak da adlandırılıyorlardı. 1 G esas olarak konuşma hizmeti sunmaktaydı [115]. Frekans aralığı 824- 894 MHz olan 1 G teknolojisinin düşük konuşma kalitesi ve düşük pil ömrü gibi dezavantajları bulunmaktaydı [116]. 1990'lı yıllarda kullanılmaya başlanan ikinci nesil mobil sistemler (2 G) ile kısa mesaj ve düşük hızlı veri hizmetleri kullanılmaya başlandı. [115]. 2000'li yıllarda kullanılmaya başlanan üçüncü nesil (3 G) mobil teknoloji ile, daha yüksek veri aktarım hızı, artırılmış kapasite ve multimedya desteği sağlandı. 3 G teknolojisi 1,8 – 2,5 GHz frekans aralığında çalışmaktadır ve yüksek hızlı internet hizmeti için kullanılan 15 – 20 MHz bant genişliğine sahiptir [116]. 2010 yılında ise daha ileri bir teknoloji olan dördüncü nesil kablosuz telefon teknolojisi olarak tanımlanan 4 G teknolojisi ile iletişim hızı, kalitesi ve güvenliği daha da arttırılmıştır. 4 G teknolojisi 2 – 8 GHz frekans aralığına sahiptir ve 4 G sayesinde kullanıcılar HSPA (high-speed packet Access, yüksek hızlı paket erişimi) aracılığı ile internete erişebilir ve e-posta gönderebilir. Mobil teknolojide artan talebin karşılanması için 4 G'nin yeterli olmayabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle artmış kapasiteye sahip olan bir teknoloji ihtiyacı doğmuştur. 5 G ile birlikte 4 G mobil teknolojinin sunduğu kapasitenin 1000 katı ve üzeri kapasite kazanılabilmektedir. 5 G teknolojisinin veri aktarım hızı 4 G'ye kıyasla 10 kat fazladır [116, 117].

2.15. Beyin Dokusu

Beyin dokusu serebrum, serebellum ve beyin sapından oluşmaktadır. Kemirgen beyin dokusu (farede ~ 0,4 g, sıçanda ~ 2 g), insan beyin dokusuna (~ 1300 g) kıyasla oldukça küçüktür ve lisensefaliktir yani sulkus ve girus içermemektedir. Serebrum longitudinal fissur ile iki hemisfere ayrılmaktadır. Serebrumda longitudinal fissur haricinde fissur de bulunmamaktadır. Serebellum iki lateral hemisfer ve orta hatta yer alan vermisten oluşmaktadır. Beyin sapı pons ve medulla oblongatadan oluşmaktadır [118]. Bulbus olfaktorius sıçanda insana kıyasla oldukça büyüktür. Bu nedenle koku alma duyuları fazla

gelişmiştir ve bu hayvanların çevrelerini algılamada baskın olarak koku duyusunu kullandıkları düşünülmektedir. [119]. Kemirgenlere kıyasla beyaz cevher insanda oldukça geniştir. Bu nedenle nöron sayısı ve nöronal süreçler de insanda daha gelişmiştir [118].

Beyin dokusunu sinir sisteminin yapısal ve fonksiyonel birimi olan nöronlar ile destek hücreleri olan glial hücreler oluşturmaktadır. Olfaktör nöronlar ve nöral kök hücreler haricinde, olgun nöronların mitoz kabiliyeti bulunmadığı bilinmektedir. Mitoz kabiliyetinin bulunmaması, beyin dokusunda meydana gelen hücre kayıplarının telafisinin mümkün olamamasına neden olabilir. Ancak beyin çeşitli bölgelerinde nöron oluşumuna dair yeni bulgular da bulunmaktadır [120].

2.16. Serbest Radikaller ve Oksidanlar

Son yörüngesinde bir veya daha fazla sayıda eşlenmemiş elektron bulunduran atom veya moleküller serbest radikal olarak adlandırılmaktadır. Serbest radikaller son yörüngelerinde bulunan eşlenmemiş elektron sebebiyle oldukça reaktif özelliktedirler ve bu nedenle biyomoleküllerde oksidatif hasara sebep olabilirler. Serbest radikaller yüklü veya yüksüz olabilir. Serbest radikaller bağ kırılması, elektron transfer reaksiyonları sonucu oluşurlar [121]. Serbest radikaller düşük/orta seviyelerde organizma için faydalı ve birtakım fizyolojik süreçler için gereklidir ancak yüksek seviyelerde zararlı etkileri olmaktadır. Serbest radikaller nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$), süperoksit (O_2^-), hidroksil ($\text{OH}\cdot$), peroksil ($\text{ROO}\cdot$), nitrojen dioksit ($\text{NO}_2\cdot$) ve lipid peroksil ($\text{LOO}\cdot$)'dir. Radikal olmayan (oksidanlar) bileşikler, organizmada kolaylıkla serbest radikal reaksiyonlarına yol açabildikleri için oksidanlar olarak adlandırılmaktadır. Diğer bir deyişle, oksidanlar serbest radikal oluşumuna sebep olabilen serbest radikal kaynaklarıdır. Hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet (moleküler) oksijen ($^1\text{O}_2$), ozon (O_3), hipokloröz asit (HOCl), peroksinitrit (ONOO^-), nitroz asit (HNO_2), dinitrojen trioksit (N_2O_3) oksidanlardır. Radikal bileşikler radikal olmayanlara kıyasla daha az stabil oldukları için reaktiviteleri daha güçlüdür [122]. Serbest radikaller ve oksidanlar, serbest oksijen türleri (ROS) ve serbest nitrojen türleri (RNS) olarak 2 grupta sınıflandırılmaktadır. Moleküler oksijenden köken alan molekül ve radikaller ROS, nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$) kökenli oksidanlar ise RNS olarak adlandırılmaktadır.

2.16.1. Serbest radikaller ve oksidanların oluşumu

Organizmada enzimatik veya nonenzimatik reaksiyonlarla sürekli olarak ROS ve RNS üretilmektedir. Serbest radikaller ve oksidanlar mitokondride ATP (adenozin trifosfat) üretimi sırasında meydana gelen yan ürünlerdir. Bu yan ürünlerin büyük kısmını ROS oluşturmaktadır ancak RNS de hücrel redoks süreci sonucunda meydana gelmektedir [123]. Serbest radikal ve oksidan oluşumu endojen veya eksojen faktörler sonucunda gerçekleşmektedir. Vücuda alınan oksijenin % 80'inden fazlasını enerji üretimi amacıyla kullanan mitokondri en önemli endojen serbest radikal kaynağıdır. Endojen serbest radikaller hücre içerisinde üretilir ve hücreyi çevreleyen alana salınır. Mitokondri, lizozom, endoplazmik retikulum, nukleus, peroksizom, plazma membranı ve sitozol dâhil olmak üzere tüm hücrel komponentler serbest radikal üretiminde rol oynar [124]. Endojen serbest radikaller, hücre içi otooksidasyon veya küçük moleküllerin inaktivasyonu süreçleri sonucunda meydana gelmektedir [125]. Hava kirliliği, sigara, alkol, toksinler, inflamasyon, radyasyon (iyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan), egzersiz, yüksek sıcaklık, bazı ilaçlar (parasetamol, bleomisin, doksorubisin, etanol, halotan, metronidazol), ağır metaller (Fe, Cu, Co, Cr) veya geçiş metalleri (Cd, Hg, Pb, As) vs. gibi faktörler ise, eksojen serbest radikal kaynaklarıdır [126, 127].

2.16.2. Serbest oksijen türleri (ROS, Reactive oxygen species)

Moleküler oksijenden türemiş olan metabolitler reaktif oksijen türleri olarak adlandırılmaktadır. Biyolojik serbest radikallerin pek çoğu oksijen içermektedir. Vücuda hücrelerce alınan oksijenin büyük çoğunluğu mitokondriyal solunum sırasında suya dönüştürülür. Oksijenin % 5'inden daha azı serbest oksijen türlerine dönüşür [125]. Süperoksit, peroksit ve hidroksil radikalının primer serbest oksijen türleri olduğu düşünülmektedir [128]. Serbest oksijen türleri peroksit, süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil ($OH^{\cdot}$) radikallerinin yanı sıra oksidanlar olan hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet (moleküler) oksijen (1O_2), ozon (O_3), hipokloröz asit ($HOCl$) gibi oksidanları da içermektedir. Oksidan bileşiklerin de organizma için toksik etkileri olabilmekle birlikte, biyolojik sistemlerde gözlenen zararlı etkilerin büyük çoğunluğu serbest oksijen radikalleri aracılığıyla olmaktadır. Süperoksit anyonu, moleküler oksijenin 1 elektron alarak indirgenmesi sonucunda meydana gelmektedir. Süperoksit radikali enzimatik veya nonenzimatik süreçler sonucunda meydana gelmektedir. Süperoksit radikali pek çok serbest oksijen türünün

prekürsörü ve oksidatif zincir reaksiyonunun mediyatörüdür. Süperoksit radikalının hidrojen peroksit'e dönüşümü spontan olarak veya süperoksit dizmutazın katalizlediği bir reaksiyon ile gerçekleşebilir [129]. Hidrojen peroksit katalaz enzimi aracılığıyla peroksizomlarda suya dönüştürülür. Hidrojen peroksit (H_2O_2) aslında bir serbest radikal değildir ancak Fe^{+2} veya Cu^{+1} varlığında fenton reaksiyonu [13, 130], veya haber weiss reaksiyonu [131] aracılığıyla en reaktif serbest radikal olan, hidroksil radikalının oluşumuna neden olabildiği için serbest oksijen türleri kapsamında yer almaktadır. Peroksidaz ve katalaz enzimleri aracılığı ile H_2O_2 hücresel ortamdan uzaklaştırılır [130].

2.16.3. Serbest nitrogen türleri (RNS, Reactive nitrogen species)

Serbest nitrogen türleri: Nitrik oksit ($NO\cdot$) ve Nitrojen Dioksit ($NO_2\cdot$) radikallerini ve radikal olmayan Peroksinitrit ($ONOO^-$), Nitrik asit (HNO_2), Dinitrojen Trioksit (N_2O_3) vb. bileşikleri içermektedir [127, 132]. Nitrik oksit ($NO\cdot$) biyolojik sistemlerde farklı kaynaklarca oluşabilen bir moleküldür. $NO\cdot$ kaynakları nitrik oksit sentaz (NOS) bağımlı olan ve nitrik oksit sentaz (NOS) bağımsız olanlar olarak iki grupta sınıflandırılmaktadır [133].

$NO\cdot$ ile O_2 reaksiyonu sonucunda nitrat ve nitrit iyonları oluşur. $NO\cdot$ 'nin bir elektron ile oksidasyonu Nitronyum katyonu (NO_2^+), bir elektron indirgenmesi ile de nitroksil anyonu (NO^-) oluşur. Bu iki iyon $NO\cdot$ ile reaksiyona girerek, N_2O ve OH oluşturur. $NO\cdot$, H_2O_2 ve $HOCl$ gibi çeşitli radikaller ile reaksiyona girerek, N_2O_3 ve NO_2^- oluşumunda rol oynar [62]. Süperoksitin, $NO\cdot$ ile difüzyon kontrollü reaksiyonu sonucu oldukça oksidan özelliğe sahip olan peroksinitrit ($ONOO^-$) meydana gelir [134].

$NO\cdot$ nitrojenden türeyen en önemli fizyolojik serbest radikaldır ve 30 dalton moleküler ağırlığı ile doğada bulunan en küçük 10 molekülden biridir [132]. Nitrik oksit ($NO\cdot$) sigara dumanında da bulunan toksik bir gaz olmasının yanı sıra çeşitli biyolojik süreçlerde önemli rol oynamaktadır [135]. Normal fizyolojik koşullarda $NO\cdot$, önemli nöroprotektif ve toksik kimyasalların süpürülmesi ile antioksidan etkileri bulunmaktadır [136]. Endotel kökenli gevşetici faktör olarak tanımlanan $NO\cdot$ önemli hücresel fonksiyonlarda görevli bir sinyal molekülü ve hücresel hasarın güçlü bir mediyatörüdür [137].

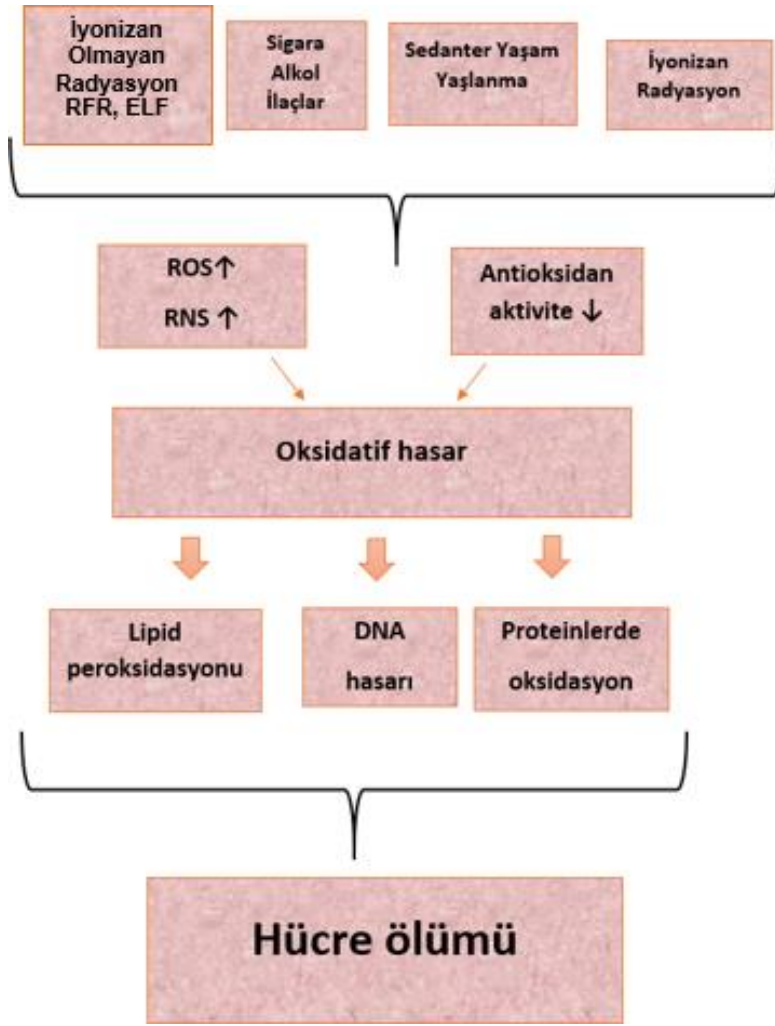
2.16.4. Serbest radikallerin etkileri

ROS ve RNS düşük veya orta konsantrasyonlarda hücrel yapıların sinyal transdüksiyonu, protein fonksiyonu, maturasyon süreçleri, gen ekspresyonu ve konak savunma sistemi için gereklidir [123, 126, 138]. Bunlara ek olarak tiroksin ve prostaglandin gibi moleküllerin biyosentezinde de serbest oksijen türlerinin rolü bulunmaktadır [128]. Serbest oksijen türleri, eşlenmemiş elektron varlığı ($O^{\cdot-2}$ ve $OH^{\cdot}$) veya diğer moleküllerden elektron koparma kabiliyetleri (H_2O_2 , $HOCl$) sebebiyle biyomoleküller ile kolaylıkla etkileşime girebilir ve hücrel yapılarda hasara neden olabilir. Tüm biyolojik yapılar içerisinde bu hasara en duyarlı olan yapılar: Enzimler, lipid membranlar ve DNA'dır [139]. ROS ve RNS yüksek konsantrasyonlarda organizma için toksik etkiye sahip olmaktadır [140]. Serbest radikallerin DNA ile etkileşime girmesi, DNA hasarına (tek veya çift zincir kırıkları, DNA tamir sisteminde bozulma vb.) ve bunun sonucu olarak protein sentezinde bozulmaya yol açmaktadır. Enzim inaktivasyonu, lipid peroksidasyonu ve lipid yapıda parçalanmaya sekonder membran bütünlüğünde bozulma da serbest radikallerin zararlı etkileridir. Serbest radikallerin meydana getirdiği hasarın önlenememesi hücre ölümü ile sonuçlanabilmektedir. Serbest radikallerin mutasyon yapıcı etkisinin olduğu ve karsinogenezin (kansere oluşumu) tüm aşamalarında rolü bulunduğu belirtilmiştir [141].

NO_x sitotoksitesinin peroksinitrit ile ilişkili olduğu belirtilmektedir. İn vivo peroksinitrit oluşumunun inme, miyokard enfarktüsü, kronik kalp yetmezliği, kronik inflamatuvar hastalıklar, kanser ve nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde önemli rolü olduğu gösterilmiştir [137]. Peroksinitrit, süperoksitin $NO^{\cdot}$ ile difüzyon kontrollü reaksiyonu sonucu meydana gelmektedir [134]. $NO^{\cdot}$ ve süperoksit miktarında 10 kat gibi orta seviyede bir artış peroksinitrit miktarında 100 kat artışa sebep olmaktadır. Peroksinitrit DNA, lipid ve proteinler ile oksidatif reaksiyonlar aracılığıyla direkt olarak veya radikal aracılı mekanizma ile indirekt olarak etkileşime girmektedir. Bu etkileşim hücrelerde oksidatif hasar, nekroz veya apoptozis artışına yol açmaktadır [137]. RNS düzeylerinde meydana gelen artış yanlış moleküler şaperonlarda eksiklik, katlanmış proteinlerin birikimi ve nöronal ölüm sonucu nörodejeneratif hastalıklara gidişte etkili olmaktadır [142]. ROS ve RNS miktarı, toplam antioksidan aktivitenin üzerinde olduğunda oksidatif stres olarak adlandırılan durum meydana gelmektedir [132].

2.17. Oksidatif stresin hücre üzerindeki etkisi

Serbest radikal miktarında artış veya antioksidan seviyesinde azalma sonucu serbest radikaller ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması oksidatif hasar oluşumuna neden olmaktadır. ROS ve RNS seviyelerinde meydana gelen artış hücrelerdeki proteinler, lipidler ve DNA da hasara yol açabilmektedir ve bu nedenle hücre için toksik etkiye sahip olabilmektedir (Şekil 2.7) [138]. DNA nın oksidatif hasarı sonucu 2- hidroksi adenin, 8-oksoadenin, 5-hidroksisitozin, sitozin glikol, tiamin ve glikol gibi mutajenik lezyonlar meydana gelmektedir. 8-okso-7,8-dihidro-guanin (8-oxoGuo) ve 8-okso-7,8dihidro-2'deoksiguanozin (8-oxodG) mutajenik lezyonları DNA oksidatif hasarı sonucu en sık gözlenen lezyonlardır. En sık tekrarlayan lezyon ise 8-oxoGuo lezyonudur ve G-T transversiyonuna yol açabilir [143]. DNA hasarı sonucunda ATP üretim kapasitesinde azalma, ROS üretiminde artış ve kaspaz sinyal yolağının aracılığı ile apoptozis meydana gelmektedir. Lipid oksidasyonu ise mitokondri membranı ve plazma membranında rüptüre, ER (endoplazmik retikulum) membranında ise şişmeye (intraseküler kalsiyum artışına bağlı olarak) yol açarak nekrozisle sonuçlanmaktadır [139]. Oksidatif stresin yaşlanma süreci de dâhil olmak üzere pek çok hastalığın fizyopatolojisinde rolü olduğu düşünülmektedir.



Şekil 2.7. Oksidatif hücre hasarının mekanizması [138]

2.17.1. Oksidatif stres ve yaşlanma

1956 yılında Denham Harman tarafından öne sürülen Yaşlanmada Serbest Radikal Teorisi ile serbest radikallerin yaşlanma sürecinde temel rolü oynadığı belirtilmiştir [127, 144]. Bu teori üzerine yapılan çalışmalar iyi beslenme, vücut ağırlığının dengede tutulması ve serbest radikal reaksiyonlarının minimize edilmesi ile doğuştan beklenen yaşam süresinin arttırılabileceğini öngörmektedir [144].

Hücresel yaşlanma kronik oksidatif strese bağlı homeostazın bozulması sonucu ortaya çıkan fizyolojik bir süreç olarak tanımlanmaktadır. Oksidatif stres yaşlanmanın doğal bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır ve yaşlanma üzerinde etkisi olduğu düşünülmektedir. Oksidatif stresin telomer kısalmasına neden olduğu ve böylelikle, yaşlanma ile ilişkili olabileceğini belirten çalışmalar bulunmaktadır. Oksidatif stres ilişkili yaşlanmanın mekanizması tam

olarak bilinmemektedir. ROS ve RNS (RONS) seviyelerinin artışının hücrel yaşlanmaya neden olduğu düşünülmektedir. Hücre yaşlanması sürecinde, hücrede yapısal ve moleküler birtakım değişimler meydana gelmektedir. Yaşlanan hücreler geri dönüşsüz olarak senesens ilişkili sekretuar fenotip (senescence associated secretory phenotype- SASP) kazanmaktadır. Bu hücrelerden interlökinler, kemokinler ve büyüme faktörleri, matriks metalloproteinaz (MMPs) enzimi gibi yıkıcı enzimlerin ve ekstrasellüler matriks (ECM) komponentlerinin sekresyonu olmaktadır [145]. ROS ve RNS SASP'ın çeşitli bileşenlerini etkileyerek hücrel yaşlanmayı etkileyebilir. Örneğin ROS ve RNS yaş ile ilişkili kronik hastalıklar olan kanser, Alzheimer hastalığı, aterosklerozis, osteoartrit gibi hastalıklarla bağlantısı olduğu bilinen MMPs ekspresyonunu indükleyebilmektedir [146].

Oksidatif stres, hücrel yaşlanma ve SASP faktörleri, kardiyovasküler hastalıklar, akut ve kronik böbrek hastalıkları, nörodejeneratif hastalıklar, makular dejenerasyon ve kanser gibi akut ve kronik seyirli birçok hastalığın patolojik süreçlerinde rol oynamaktadır [145].

2.17.2. Oksidatif stres ilişkili hastalıklar

Oksidatif stres kanser, kardiyovasküler hastalıklar, yaşlanma, artrit, diyabet, metabolik hastalıklar, aterosklerozis, nörodejeneratif hastalıklar (Alzheimer, Parkinson vb.) gibi birçok hastalığın başlangıcında veya ilerleyişinde rol oynamaktadır [123].

2.17.3. Oksidatif stres ve nörodejeneratif hastalıklar

Beyin dokusu poliansature yağ asitleri ve demir bakımından zengindir. Fazla miktarda yağ içermesi ve yüksek metabolizmaya sahip olması nedeniyle beyin dokusu oksidatif hasara daha duyarlıdır [147].

Nörodejeneratif hastalıklar heterojen bir grup hastalık olup, progresif (ilerleyici) ve geri dönüşsüz nöron kaybı ile karakterizedir. Nörodejeneratif hastalıklar için en önemli risk faktörü yaştır. Mitokondrinin ROS üretimi ile yaşlanma sürecine katkısı olduğu varsayılmaktadır [148]. Alzheimer Hastalığı (Alzheimer's disease - AD), Parkinson Hastalığı (Parkinson's disease PD), Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS), Huntington Hastalığı (HD), Multiple Skleroz (MS) nörodejeneratif hastalıklardır. Klinik ve preklinal çalışmalar nörodejeneratif hastalıklarda, beyin dokusunda ve perifer dokularda oksidatif parametrelerin

arttığını ve antioksidan seviyelerinin düştüğünü belirtmektedir [147, 149]. Heterojen bir hastalık grubu olmalarına rağmen bu hastalıklarda benzer mitokondriyal etkilenim olduğu düşünülmektedir [148].

Beyin dokusunda oluşan oksidatif hasar nörodejenerasyona sebep olabilmektedir. Postmortem incelemelerde nörodejeneratif hastalığı (Alzheimer, Parkinson, ALS) bulunan bireylerin etkilenen beyin dokusu bölgelerinde ROS artışı olduğu gösterilmiştir [150]. Nitrik oksitin AIDS hastalığının nörodejeneratif süreçlerinde rol oynayabileceği belirtilmektedir [135]. Oksidatif stresin Alzheimer Hastalığı ile ilişkili olduğu, antioksidan ve antiinflamatuvar tedavi uygulanmasının hastalığın progresyonunu geciktirmekte faydalı olabileceği belirtilmiştir [151].

Serbest radikallerin MS lezyonu oluşumunun başlangıç ve ilerleme safhalarında doku hasarında artışa neden olduğu düşünülmektedir. Hücrelerin serbest radikallere karşı direncini arttıran Fumarik Asit Esterlerinin (FAE) MS tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir [152].

Oksidatif stresin stres granülü oluşumunda artış meydana getirdiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır [153, 154]. Stres yanıtında önemli role sahip olan ve yanlış katlanan proteinlerin birikimin önleyen stres granülleri nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde rol oynamaktadır [155]. Glukoz yoksunluğu, ısı stresi, ozmotik stres ve oksidatif stres stres granülü oluşumuna neden olabilen faktörlerdir [155, 156]. Stres granülü oluşumunun (granül kinetiği, kompozisyonu vb.) kendisini oluşturan stresle ilişkili şekilde olduğu belirtilmektedir [156].

ROS artışı sonucu oluşan oksidatif hasarın nörodejeneratif hastalıklara yol açabileceği düşünülmektedir. Ancak bunun aksine farklı mekanizmalar sonucu oluşan nörodejenerasyon, ROS artışına ve oksidatif hasara yol açıyor da olabilir. Oksidatif hasar varlığı mı nörodejenerasyon oluşumuna veya var olan dejenerasyonun artmasına sebep olmakta, yoksa oluşmuş olan nörodejenerasyon mu oksidatif hasar meydana getirmekte sorusunun cevabı halen tam olarak bilinmemektedir [157].

2.17.4. Oksidatif stres ve depresyon

Oksidatif stresin depresyon patofizyolojisinde önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Liu ve ark. 1990 – 2015 yılları arasında yayınlanmış olan 115 makaleyi inceledikleri metaanaliz çalışmalarında depresyon tanılı bireylerin antioksidan seviyelerinin (total antioksidan kapasite, serum paranoksaz, ürik asit, albümin, yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol, çinko) kontrol grubuna göre düşük olduğunu, oksidan parametre seviyelerinin (alyuvar-RBC- MDA, serum MDA ve 8F2 isoprotanaz) ise yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca depresyon tedavisi sonrasında ise bireylerin antioksidan seviyelerinde azalma ve oksidan parametre seviyelerinde artış olduğunu belirtmişlerdir [158].

Majör depresyon tanılı bireylerde oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunda artış olduğu ve depresyon hastalarının antioksidan tedaviden fayda görebilecekleri belirtilmiştir [159].

Bir diğer çalışmada major depresif bozukluk ve yaygın anksiyete bozukluğu teşhisi bulunan bireylerde, lipid peroksidasyonu göstergesi olan MDA düzeylerinin sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksek olduğu gözlenirken, bir antioksidan olan vitamin E seviyelerinin ise sağlıklı bireylerde daha yüksek olduğu gözlenmiştir [160].

2.17.5. Oksidatif stres ve kardiyovasküler hastalıklar

Kardiyovasküler hastalıklar Dünya genelinde erişkinlerde ölümün en yaygın sebebi olan kalp ve damarların hastalıklarını içeren bir grup hastalıktır. Sedanter yaşam, sigara, alkol, kötü beslenme, yaş, obezite kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörleridir. Serbest radikaller düşük konsantrasyonlarda kontrollü olarak üretilmekte, endotel fonksiyonunun ve vasküler kontraksiyon-relaksasyonun düzenlenmesi ile damar bütünlüğünün sağlanmasında rol oynamaktadır [161]. Günümüze dek yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular, oksidatif stresin hipertansiyon, hiperkolesterolemi, ateroskleroz ve kalp yetmezliği dâhil olmak üzere pek çok kardiyovasküler hastalığın patogenezinde rol oynadığını düşündürmektedir [162].

Hipertansif bireylerde sağlıklı bireylere kıyasla, oksidatif stres parametrelerinde yükseklik ve antioksidan seviyelerinde düşüklük olduğu ifade edilmiştir [163]. Vasküler oksidatif stresin spontan (genetik) ve deneysel hipertansiyon ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [161]. Antihipertansif kullanmayan düşük – orta düzeyde hipertansiyonlu hastaların lipid

peroksidasyonu düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olmadığı ve oksidatif stresin hipertansiyonun patogeneğinde erken fazda etkili olmadığı belirtilmiştir [164]. Oksidatif stresin hipertansiyon patogeneğinde oynadığı rol halen tam olarak bilinmemektedir [163]. Yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilebilmesi için oksidatif stres ve hipertansiyon ilişkisinin, altta yatan mekanizmaların aydınlatılması önem arz etmektedir.

Kalp yetmezliği olan hastaların sağlıklı bireylere göre plazma MDA ve süperoksit düzeylerinin yüksek olduğu, süperoksit dizmutaz, katalaz ve glutatyon seviyelerinin ise düşük olduğu gözlenmiştir. Hastalığın şiddeti ile MDA ve süperoksit yüksekliğinin ve antioksidan düzeylerinin düşüklüğünün bağlantılı olduğu belirtilmiştir. Bir antioksidan olan E vitamininin kalp yetmezliği tedavisinde faydalı olabileceği vurgulanmıştır [165]. Egzersiz intoleransı kalp yetmezliği hastalarında en yaygın görülen komplikasyondur. Kalp yetmezliği bulunan hastaların egzersiz intoleranslarının oksidatif stres ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [166].

2.17.6. Oksidatif stres ve kanser

Kanser hücrelerinin yüksek enerji ihtiyacı mitokondriyal solunum ile karşılanır bu nedenle de ROS üretimi kanser hücrelerinde daha fazladır [167]. Tümörler genellikle inflamatuvar fagositler tarafından infiltre edilir, bu durum tümör dokusunda yüksek miktarda ROS oluşumuna yol açar [168].

Oksidatif stres, kanser oluşumu ve gelişimini üzerinde etkili olabilir. Serbest radikaller DNA mutasyonlarına yol açabilmektedir. DNA mutasyonu karsinogenezin önemli bir basamağıdır ve oksidatif DNA lezyonlarının varlığı çeşitli tümörlerde gösterilmiştir [169]. Kanserli bireylerde oksidatif stres seviyelerinin yüksek olduğu, antioksidan ajan uygulamasının faydalı etkilerinin olabileceği gösterilmiştir [170].

2.18. Antioksidan Savunma Sistemi

Serbest radikalleri nötralize eden ve serbest radikal aracılı moleküler yıkımı azaltan ajanlar antioksidan olarak adlandırılmaktadır [171]. Serbest radikal miktarı arttığında hücrelerde savunma mekanizmaları devreye girer. Bunlar: Önleyici mekanizmalar, tamir mekanizmaları, fiziksel savunma ve antioksidan savunma olarak sıralanabilir. Endojen ve

eksojen pek çok yol ile serbest radikaller nötralize edilir [172]. Canlı hücrelerde çok miktarda düşük (vitamin C ve E, karotenoidler, flavonoidler vs.) ve yüksek moleküler ağırlıklı antioksidan enzim bulunmaktadır. En önemli antioksidan enzimler: Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve TRX (Tiorredoksin) sistemidir [173, 174].

Antioksidanlar eksojen olarak dışarıdan alınabileceği gibi endojen olarak vücudumuzda üretilmektedir. Endojen antioksidanlar enzimatik ve nonenzimatik olarak iki gruba ayrılmıştır. Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GR), paraoksanaz 1 (PON1) enzimatik antioksidanlar iken, glutatyon, melatonin, ürik asit, albümin, bilirubin, selenyum, transferin, seruloplazmin, koenzim Q, alfa lipoik asit ise nonenzimatik antioksidanlardır [175]. Eksojen antioksidanlara örnek olarak bazı vitaminler (vitamin A, C, E ve B9) verilebilir [132].

Antioksidan savunma sistemi, serbest radikal artışının belli bir seviyeye kadar organizma için zararlı olmasını önleyebilir. Fizyolojik koşullarda, antioksidanların hücresel seviyeleri ile aktiviteleri arasında denge bulunmaktadır. Bu denge organizmanın sağlığı ve canlılığın devamı için önemlidir [175].

Hücresel antioksidan savunma sistemleri primer ve sekonder olarak ikiye ayrılmaktadır. Primer savunma küçük antioksidan moleküllerini ve çeşitli antioksidan enzimlerini (CAT, SOD, GSH Px gibi) içermektedir. Sekonder savunma ise proteolitik ve lipolitik enzimleri ve DNA tamir sistemlerini kapsamaktadır [176]. Serbest radikallerin indüklediği oksidatif strese yanıt olarak devreye giren savunma mekanizmaları koruyucu mekanizmalar, tamir mekanizmaları, fiziksel savunma ve antioksidan savunmayı içermektedir [175]. Koruyucu mekanizmalar, serbest radikal oluşumunun önlenmesini amaçlamaktadır. Koruyucu mekanizmalar zararlı bir ürünün, daha az zararlı bir ürüne dönüştürülmesi ile meydana gelecek hasarın azaltılmasını sağlamaktadır [177]. Oksidatif strese karşı koruyucu olarak antioksidan savunma tek başına yeterli olamamaktadır. Tamir mekanizmaları ile bu eksiklik kapatılmaya çalışılmaktadır [178].

Oksidatif stresin pek çok patofizyolojik koşulun (yaşlanma, diyabet, kanser, miyokard enfarktüsü, inme, Parkinson hastalığı vb.) bir parçası olmasının anlaşılması, antioksidan

moleküllerin öneminin artmasını sağlamıştır. Antioksidan tedavi ile oksidatif stres ilişkili hastalıkların önlenmesinin mümkün olabileceği düşünülmektedir [176].

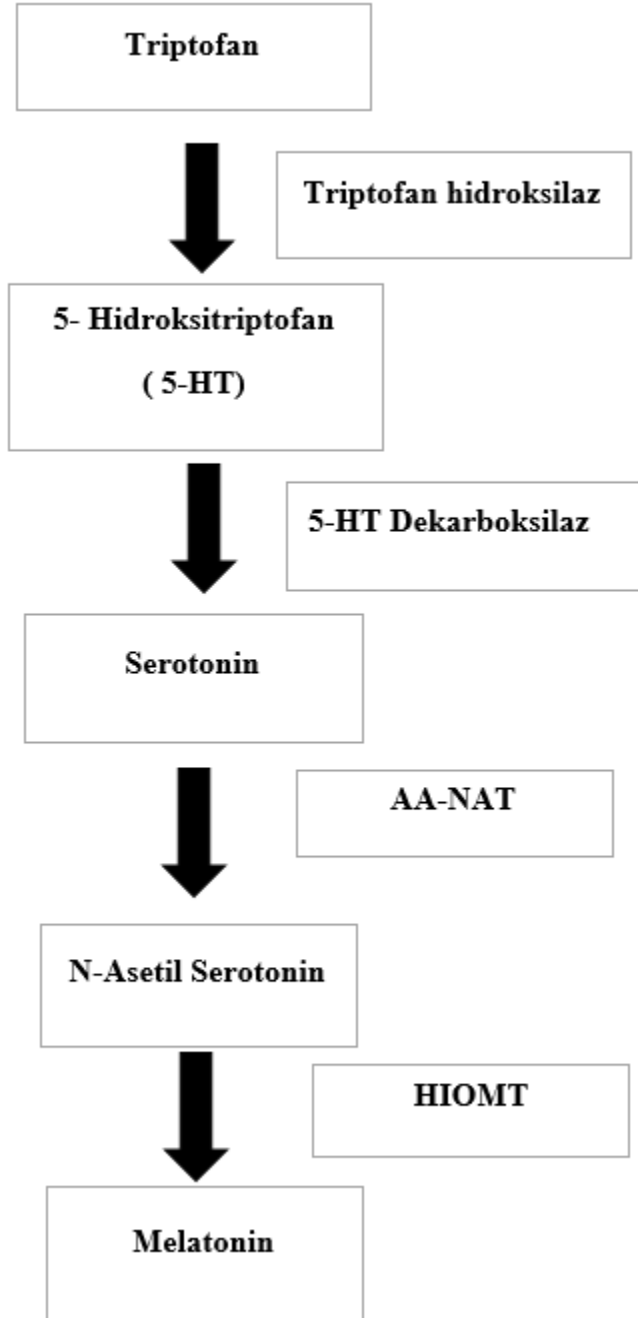
2.19. Melatonin

Melatonin ilk defa 1958 yılında Aaron Lerner ve ark. tarafından sığır pineal bez ekstraktından (doku parçalanması sonucu oluşan homojenat) izole edilmiştir [179]. Yapılan bu keşif sonrası melatonin ve pineal beze ilişkin araştırmalar yoğunlaşmıştır.

Melatonin esansiyel bir aminoasit olan triptofandan sentezlenir. Triptofanın triptofan hidroksilaz enzimi ile hidroksile olması sonucu 5-hidroksitriptofan (5-HT) oluşmaktadır. 5-HT'nin dekarboksilasyonu ile de serotonin meydana gelmektedir. Serotoninin Arilalkil Amin N-asetil transferaz (AA-NAT) aracılığıyla asetilasyonu (N-Asetil Serotonin) sonrasında N-asetilserotonin-O-metiltransferaz (ASMT) olarak da bilinen, Hidroksiindol-O-metiltransferaz (HIOMT) ile metilasyonu sonucunda Melatonin (5 - Metoksi - N - asetiltriptamin) oluşmaktadır (Şekil 2.8) [180]. Melatonin sentezi büyük oranda pineal bezde olmaktadır. Retinohipotalamik yol aracılığıyla alınan aydınlık bilgisine yanıt olarak melatonin sentezi gerçekleşmektedir. Aydınlık bilgisi retinohipotalamik yoldan, sirkadiyen ritme sahip olan suprakiazmatik çekirdeğe (SCN - suprachiasmatic nucleus) ulaşır. Bu şekilde sirkadiyen ritmin fazları ile aydınlık – karanlık döngüsünün senkronizasyonu sağlanır. Suprakiazmatik çekirdeğe gelen impulslar daha sonra süperior servikal gangliona ve son olarak pineal beze ulaşır. Bu yolak karanlıkta uyarılır, süperior servikal bölgenin ışık ile uyarılması sonucu ise inhibe olur [181]. Melatonin üretimi görünür ışığın dar bir bandında (460 – 480 nm, mavi ışık) gerçekleşir. Bu durum melatonin sentezinin gün içindeki inhibisyonunu açıklar [182].

Melatonin pinealositlerde depolanmaz, sentez sonrası pineal kapillerler vasıtasıyla kana salınır, yarı ömrü yaklaşık 20 dakikadır. Bu nedenle melatonin sentezinde meydana gelebilecek herhangi bir değişiklik melatoninin dolaşımdaki seviyesinde de hızlı bir değişime yol açmaktadır [180]. Diğer bir ifade ile melatonin sekresyonu sadece melatonin biyosentezine bağlı olarak değişmektedir. Yapılan çalışmalar melatonin sentez ve salınımindaki değişimlerin melatonin üretim oranı ve N-asetilserotonin miktarı ile ilişkili olduğunu göstermiştir [183]. Melatonin sentezinde hız kısıtlayıcı enzim olan N-Asetil Transferaz (NAT) aktivitesinin, sıçan pineal bezinde gündüze göre gece 15 kat fazla olduğu,

bu sirkadiyen ritmin sürekli karanlıkta kalma durumunda veya kör sıçanlar için de geçerli olduğu ve sürekli ışık alma (aydınlık) ile baskılandığı belirtilmiştir [184].



Şekil 2.8. Melatonin sentezi

(AA-NAT: Arilalkil Amin N-asetil transferaz, HIOMT: Hidroksiindol-O-metiltransferaz) [180]

Pineal bez dışında retina, Harderian bezi, serebellum, timus, iskelet kası, kalp, testis, over, dalak ve gastrointestinal sistemde de melatonin sentez ve salınımı olmaktadır [185-187]. Ekstrapineal organlardaki melatonin sentezi sirkadiyen ritme bağlı değildir ve sürekli olarak

devam etmektedir. Ekstrapineal melatonin salınımı düşük düzeydedir ve dolaşımdaki melatoninin büyük çoğunluğunu pineal bezden salınan melatonin oluşturmaktadır [186]. Serbest radikal hasarına yanıt olarak pineal melatonin antioksidan sistemin aktive olmasında rol alırken, ekstrapineal melatonin serbest radikal süpürücü aktivite gösterilmesinde etkili olmaktadır [187]. Amfifilik yapısı sayesinde melatonin membranlardan kolaylıkla geçebilmektedir [188].

Melatonin hedef dokulardaki etkilerini reseptör aracılı olan ve reseptör aracılı olmayan iki ayrı mekanizma ile gösterebilmektedir. Melatoninin G protein kenetli reseptörler olan, MT1 (Mel1a veya ML1a) ve MT2 (Mel1b veya ML1b) olarak isimlendirilmiş iki membran reseptörü bulunmaktadır. Ayrıca bazı hücrelerin sitozolüne yerleşik, G protein kenetli olmayan ve melatonine düşük afinitesi olan, MT3 olarak isimlendirilmiş bir membran reseptörü daha bulunmaktadır. Reseptör bağımlı fonksiyonlar sirkadiyen ritmin düzenlenmesi, enzim regülasyonu, detoksifikasyon, immün sistem yanıtı, uykunun düzenlenmesi, kemik gelişimi ve kanser inhibisyonu vb. fonksiyonlardır [182, 189]. Melatonin reseptörden bağımsız olarak serbest radikal detoksifikasyonu süreçlerinde de rol oynamaktadır [182]. Melatoninin dendrit oluşumunu uyarıcı etkisinin hem reseptör aracılı hem reseptör aracılı olmayan mekanizmalar ile gerçekleştiği belirtilmektedir [190].

Antioksidan enzimlerin aktiviteleri karanlık – aydınlık döngüsüne uyan bir ritm sergilemektedir. Gün içerisinde antioksidan enzim aktivitesinde meydana gelen değişimin melatoninin sirkadiyen ritmi ile bağlantılı olabileceği düşünülmektedir [130]. Deney hayvanlarının sürekli ışığa maruz bırakılarak endojen melatonin siklusunun baskılanması sonucunda, antioksidan enzim aktivitelerinde gece görülen yükselişin de baskılandığı gösterilmiştir [191]. Pinealektomi yapılan hayvanlarda GSH-Px aktivitesinde baskılanma olduğu tespit edilmiştir [14]. Melatoninin direkt serbest radikal süpürücü etkisi ve indirekt antioksidan etkisi bulunmaktadır [171].

2.20. Apoptozis

Apoptozis embiyogenez, doku homeostazı ve immün sistem regülasyonu gibi normal fizyolojik koşullar altında gerçekleşen programlı hücre ölümüdür. Apoptozis fiziksel ve kimyasal pek çok uyarıcı ile de indüklenebilmektedir. Apoptoza giden hücrelerde kromatin yoğunlaşması, hücre ve çekirdekte büzülme (shrinkage), apoptotik cisimcik oluşması,

komşu hücreler veya makrofajlar tarafından inflamasyon ile ilişkili olmaksızın fagositoza uğraması gibi morfolojik değişimler gözlenmektedir [192]. Apoptozisin tespiti için kullanılan pek çok yöntem mevcuttur. TUNEL (TdT-mediated-dUTP nick end labeling) boyama yöntemi apoptozisin son safhasında meydana gelen DNA hasarının saptanmasını sağlayan bir yöntemdir [193]. Histopatolojik prosedür kullanılarak çekirdekte DNA kırıklarını tespit eden TUNEL yöntemi ilk kez 1992 de tanımlanmıştır [194].

2.21. Glial Fibriller Asidik Protein (GFAP)

Glial hücreler nöronlara yapısal ve metabolik destek sağlayan, beyin homeostazının sürdürülmesinde önemli olan hücrelerdir. Nöronal canlılığın korunması, nöronlar ile glial hücrelerin etkileşimine bağlıdır [195]. Bir glial hücre türü olan astrositlerin iskeletinin temel bileşeni olan ara filaman (intermediate filament, IF) ağı, hücre bütünlüğü ve dayanıklılığının sağlanmasında rol oynamaktadır. Glial fibriller asidik protein (GFAP), vimentin, nestin ve sinemine ek olarak astrositlerdeki ana IF proteindir [196].

Astrositler kan beyin bariyeri geçirgenliğinin kontrolü, nörogenez ve sinaptogenez ve ekstrasellüler homeostazisin sürdürülmesi gibi beyin fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Hücresel yaşlanmanın neticesi olarak meydana gelen astrosit fonksiyon kaybının, nörodejeneratif hastalıklara gidişte etkili olduğu düşünülmektedir [197]. Beyin dokusunda meydana gelen her türlü hasar ve nörolojik hastalıklar astrosit aktivasyonuna yol açmaktadır. Aktivasyonu artmış olan bu astrositler, reaktif astrosit olarak adlandırılmaktadır. Reaktif astrositler glial filamentlerin birikimi (çoğunlukla GFAP) ile karakterizedir [198]. Olgun astrositlerde primer ana filaman protein GFAP (Glial Fibriller Asidik Protein)'dır [199].

3. GEREÇ YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme Deneysel Araştırma Merkezinden temin edilen ortalama 250 – 300 g ağırlığında 36 adet Wistar albino cinsi, erkek sıçan kullanıldı (Etik kurul onay kodu: G.Ü.ET-17.039). Deney süresince laboratuvar sıcaklığı ortalama $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ olarak ayarlandı. Denekler 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsünde tutuldu. Deneklere içme suyu olarak çeşme suyu verildi. Tüm denekler ad libitum beslendi. Deney başlangıcı itibari ile her hafta ağırlık takibi yapılarak elde edilen sonuçlar kaydedildi.

3.2. Deney Grupları

Çalışmada 36 hayvan rasgele 6 gruba ayrılmıştır(n=6).

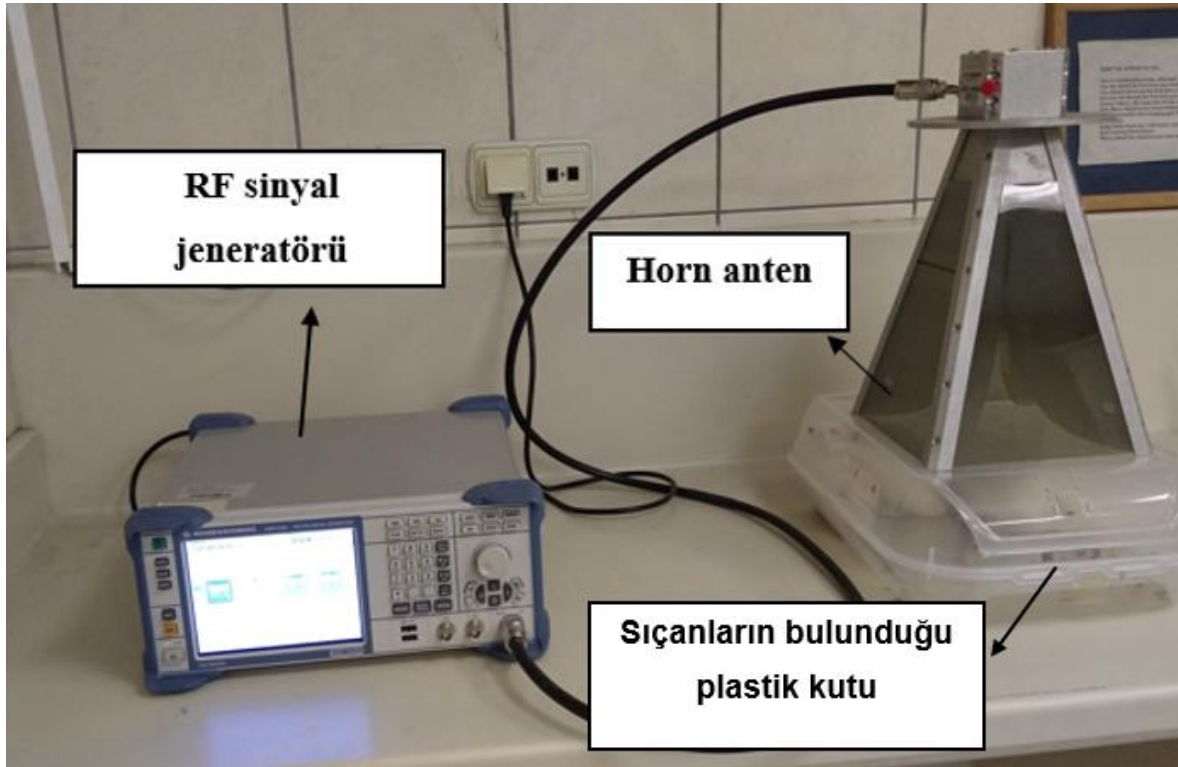
Çizelge 3.1. Deney grupları

Gruplar	Gerçekleştirilen uygulama
Kontrol	Herhangi bir uygulama yapılmamıştır.
Sham	Maruziyet sistemi kapalı tutularak, RFR grubu ile aynı uygulamalar (5 gün/hf) gerçekleştirilmiştir.
RFR	30 gün boyunca (5 gün/hf), günde 30 dk 2600 MHz RFR uygulaması gerçekleştirilmiştir.
Melatonin	30 gün boyunca günde tek doz melatonin (7gün/hf, 10 mg/kg, s.c) uygulaması gerçekleştirilmiştir.
Sham Melatonin	Maruziyet sistemi kapalı tutularak, RFR grubu ile aynı uygulamalar (5 gün/hf) yapılmıştır ve 30 gün boyunca günde tek doz melatonin (7gün/hf, 10 mg/kg, s.c) uygulaması gerçekleştirilmiştir.
RFR Melatonin	30 gün boyunca günde 30 dakika RFR (5 gün/hf) ve günde tek doz melatonin (7gün/hf, 10 mg/kg, s.c) uygulamaları gerçekleştirilmiştir.

3.3. Radyofrekans Radyasyon Maruziyet Sistemi ve Uygulaması

1 haftalık alışma periyodu (adaptasyon) sonrası uygulamalara başlanmıştır. EMA jeneratörü (Rohde & Schwartz vektör sinyal jeneratörü, Model SMBV100A, frekans aralığı 9 kHz – 3,2 / 6 GHz) kullanılarak 2600 MHz RFR uygulamaları yapılmıştır.

Uygulamalar horn anten (ETS Lindgren, Model 3164-03, Frekans aralığı: 400 MHz-6 GHz) kullanılarak yapılmıştır. Sıçanlar plastik kutulara (34 x 24 x 13 cm) 3'erli konularak, RFR uygulamaları yapılmıştır (Resim 3.1).



Resim 3.1. RFR maruziyet sistemi



Resim 3.2. Sham maruziyeti uygulaması

3.4. Elektrik Alan ve SAR Değerleri

Çalışma öncesi EMA probu (Narda-EMR 300, Tip 8.3 probu) kullanılarak, EMA ölçümleri jeneratör on – off durumlarında iken gerçekleştirilmiştir. E alan değerleri uygulamanın yapıldığı kutunun ortasında ve köşelerinde ölçülmüştür. Deneylerin gerçekleştirildiği odada da elektrik alan ölçümleri yapılarak, arka plan elektrik alan değerleri kaydedilmiştir.

SAR hesaplamalarının gerçekleştirilmesinde CST (computer simulation technology, bilgisayar simülasyon sistemi) voxel modeli sıçan kullanılmıştır. IEEE/IEC 62704-1 yöntemi kullanılarak tüm vücut ve beyin dokusu (gri cevher) SAR düzeyleri 1 g ve 10 g doku başına hesaplanmıştır.

3.5. Melatoninin hazırlanması ve uygulaması

100 mg melatonin (Lot: 4O2HH-RH), 100 μ l (%10 saf) alkol içerisinde çözülüp, üzerine 9900 μ l PBS (pH = 7,4) eklenmiştir. Melatonin solüsyonu günlük olarak hazırlanmıştır ve

10 mg/kg dozunda cilt altı (subkutan, sc) uygulanmıştır. Melatonin uygulamaları 30 gün boyunca her gün aynı saatte (17.00) yapılmıştır.

3.6. Beyin Dokusu Hazırlanması

30 günlük deney süresi sonunda sıçanlar derin anestezi altında (45 mg/kg ketamin, 5 mg/kg xylazine) kardiyak kan alımı ile dekapite edilmiştir. Hayvanlara ait beyin dokularının sağ hemisferi oksidatif hasar parametrelerini değerlendirmek üzere ayrılırken, sol hemisfer histolojik değerlendirmeler için ayrılmıştır.

3.7. Oksidatif analizler

3.7.1. Dokuda MDA tayini

Dokuda Malondialdehid (MDA) düzeyleri, Sunredbio marka ELISA kiti kullanılarak spektrofotometrik yöntemle çalışıldı. Kitler çalışılmadan önce 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

Doku sıcaklıkları 2 – 8 °C de sabit tutularak 0,1 gr tartılıp 1000 mikrolitre PBS (Phosphate-buffered saline, Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi - pH 7,4) ile homojenize edildi. 3000 rpm de 20 dk santrifüj edildi.

Kit prosedürü

Standardın seri dilüsyonu talimatlara uygun şekilde gerçekleştirildi. 50 µl standart, 50 µl Streptavidin-HRP kuyucuklara eklendi. 40 µl doku homojenatı örnekleri her bir kuyucuğa pipetlendi. Daha sonra örneklerin üzerlerine 10 µl MDA-Antibody ve 50 µl Streptavidin-HRP eklenerek 60 dakika süresince (37 °C de) inkübasyona bırakıldı. Bu aşamayı takiben 30X'lik yıkama solusyonu distile su ile dilüe edilerek hazırlandı. Yıkama aşamasının ardından 50 µl chromogen solution A ve B her bir kuyucuğa eklendi. Ardından 37 °C de 10 dakika süresince inkübasyona bırakıldı. Reaksiyonun durdurulması için tüm kuyucuklara 50 µl stop solüsyonu eklendi. Numunelerin optik dansitesi spektrofotometrede 450 nm absorbansta okundu. Doku MDA düzeyleri nmol olarak gr doku başına hesaplandı.

3.7.2. Dokuda GSH tayini

Dokuda glutatyon (GSH) düzeyleri, Sunredbio marka ELISA kiti kullanılarak spektrofotometrik yöntemle çalışıldı. Kitler çalışılmadan önce 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

Doku sıcaklıkları 2 – 8 °C de sabit tutularak 0,1 gr tartılıp 1000 mikrolitre PBS (pH 7,4) ile homojenize edildi. 3000 rpm de 20 dk santrifüj edildi.

Kit prosedürü

Standardın seri dilüsyonu talimatlara uygun şekilde gerçekleştirildi. 50 µl standart, 50 µl Streptavidin-HRP kuyucuklara eklendi. 40 µl doku homojenatı örnekleri her bir kuyucuğa pipetlendi. Daha sonra örneklerin üzerlerine 10 µl GSH-antibody ve 50 µl Streptavidin-HRP eklenerek 60 dakika süresince inkübasyona bırakıldı (37 °C de). Bu aşamayı takiben, 30X'lik yıkama solüsyonu distile su ile dilüe edilerek hazırlandı. Yıkama aşamasının ardından 50 µl chromogen solution A ve B her bir kuyucuğa eklendi. Ardından 37 °C de 10 dakika süresince inkübasyona bırakıldı. Reaksiyonun durdurulması için tüm kuyucuklara 50 µl stop solüsyonu eklendi. Numunelerin optik dansitesi spektrofotometrede 450 nm absorbansta okundu. Doku GSH düzeyleri mg/L olarak gr doku başına hesaplandı.

3.7.3. Dokuda NOx tayini

Dokuda Nitrik oksit (NO) düzeyleri, Sunredbio marka ELISA kiti kullanılarak spektrofotometrik yöntemle çalışıldı. Kitler çalışılmadan önce 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

Doku sıcaklıkları 2 – 8 °C de sabit tutularak 0,1 gr tartılıp 1000 mikrolitre PBS (pH 7,4) ile homojenize edildi. 3000 rpm de 20 dk santrifüj edildi.

Kit prosedürü

Standardın seri dilüsyonu talimatlara uygun şekilde gerçekleştirildi. 50 µl standart, 50 µl Streptavidin-HRP kuyucuklara eklendi. 40 µl doku homojenatı örnekleri her bir kuyucuğa pipetlendi. Sonrasında, örneklerin üzerlerine 10 µl NO-antibody ve 50 µl Streptavidin-HRP

eklenerek 37 °C de 60 dakika süresince inkübasyona bırakıldı. Bu aşamanın ardından, 30X'lik yıkama solusyonu distile su ile dilüe edilerek hazırlandı. Yıkama aşamasının ardından 50 µl chromogen solution A ve B her bir kuyucuğa eklendi. Ardından 37 °C de 10 dakika süresince inkübasyona bırakıldı. Reaksiyonun durdurulması için tüm kuyucuklara 50 µl stop solüsyonu eklendi. Numunelerin optik dansitesi spektrofotometrede 450 nm absorbansta okundu. Doku NOx düzeyleri µmol/gr olarak hesaplandı.

3.7.4. Dokuda GSH-Px tayini

Dokuda Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) düzeyleri, Sunredbio marka ELISA kiti kullanılarak spektrofotometrik yöntemle çalışıldı. Kitler çalışılmadan önce 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

Doku sıcaklıkları 2 – 8 °C de sabit tutularak 0,1 gr tartılıp 1000 mikrolitre PBS (pH 7,4) ile homojenize edildi. 3000 rpm de 20 dk santrifüj edildi.

Kit prosedürü

Standardın seri dilüsyonu talimatlara uygun şekilde gerçekleştirildi. 50 µl standart, 50 µl Streptavidin-HRP kuyucuklara eklendi. 40 µl doku homojenatı örnekleri her bir kuyucuğa pipetlendi. Takiben, örneklerin üzerlerine 10 µl GSH-Px-antibody ve 50 µl Streptavidin-HRP eklenerek 60 dakika boyunca 37 °C de inkübasyona bırakıldı. Bu aşamanın ardından 30X'lik yıkama solusyonu distile su ile dilüe edilerek hazırlandı. Yıkama aşamasının ardından 50 µl chromogen solution A ve B her bir kuyucuğa eklendi. Ardından 37 °C de 10 dakika süresince inkübasyona bırakıldı. Reaksiyonun durdurulması için tüm kuyucuklara 50 µl stop solüsyonu eklendi. Numunelerin optik dansitesi spektrofotometrede 450 nm absorbansta okundu. Doku GSH-Px düzeyleri ng/ml olarak hesaplandı.

3.7.5. Dokuda SOD tayini

Dokuda Süperoksit Dismutaz (SOD) düzeyleri, Sunredbio marka ELISA kiti kullanılarak spektrofotometrik yöntemle çalışıldı. Kitler çalışılmadan önce 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

Doku sıcaklıkları 2 – 8 °C de sabit tutularak 0,1 gr tartılıp 1000 mikrolitre PBS (pH 7,4) ile homojenize edildi. 3000 rpm de 20 dk santrifüj edildi.

Kit prosedürü

Standardın seri dilüsyonu talimatlara uygun şekilde gerçekleştirildi. 50 µl standart, 50 µl Streptavidin-HRP kuyucuklara eklendi. 40 µl doku homojenatı örnekleri her bir kuyucuğa pipetlendi. Sonrasında, örneklerin üzerlerine 10 µl SOD-antibody ve 50 µl Streptavidin-HRP eklenerek 37 °C de 60 dakika süresince inkübasyona bırakıldı. Bu aşamanın ardından, 30X'lik yıkama solusyonu distile su ile dilüe edilerek hazırlandı. Yıkama aşamasının ardından 50 µl chromogen solution A ve B her bir kuyucuğa eklendi. Ardından 37 °C de 10 dakika süresince inkübasyona bırakıldı. Reaksiyonun durdurulması için tüm kuyucuklara 50 µl stop solüsyonu eklendi. Numunelerin optik dansitesi spektrofotometrede 450 nm absorbansta okundu. Doku SOD düzeyleri ng/ml olarak hesaplandı.

3.7.6. Dokuda MPO takibi

Dokuda Myeloperoksidaz (MPO) düzeyleri, Sunredbio marka ELISA kiti kullanılarak spektrofotometrik yöntemle çalışıldı. Kitler çalışılmadan önce 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

Doku sıcaklıkları 2 – 8 °C de sabit tutularak 0,1 gr tartılıp 1000 mikrolitre PBS (pH 7,4) ile homojenize edildi. 3000 rpm de 20 dk santrifüj edildi.

Kit prosedürü

Standardın seri dilüsyonu talimatlara uygun şekilde gerçekleştirildi. 50 µl standart, 50 µl Streptavidin-HRP kuyucuklara eklendi. 40 µl doku homojenatı örnekleri her bir kuyucuğa pipetlendi. Bu aşamayı takiben örneklerin üzerlerine 10 µl MPO-antibody ve 50 µl Streptavidin-HRP eklendi ve örnekler 37 °C de 60 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı. Sonrasında, 30X'lik yıkama solusyonu distile su ile dilüe edilerek hazırlandı. Yıkama aşamasının ardından 50 µl chromogen solution A ve B her bir kuyucuğa eklendi. Ardından 37 °C de 10 dakika süresince inkübasyona bırakıldı. Reaksiyonun durdurulması için tüm kuyucuklara 50 µl stop solüsyonu eklendi. Numunelerin optik dansitesi spektrofotometrede 450 nm absorbansta okundu. Doku MPO düzeyleri ng/ml olarak hesaplandı.

3.8. Histolojik Yöntem

Işık mikroskopik incelemelerin gerçekleştirilmesi için, gruplara ait tüm beyin dokusu örnekleri ilk olarak % 10' luk nötral formaldehit solüsyonunda en az 72 saat tespit edilerek rutin takip işlemlerinin ardından parafin bloklar elde edildi ve hazırlanan parafin bloklardan 4-5 mikron kalınlığında kesitler alındı [200].

3.8.1. Hematoksilen – eozin boyama yöntemi

Beyin doku kesitleri 60 °C etüvde 30 dakika bekletildi. Kesitler, parafinden arındırılma amacıyla 2x15 dakika ksilole alındı. Bir sonraki aşamada lamalar sırasıyla azalan (% 100, % 96, % 80, % 70, % 50) alkol serilerinden geçirilerek havada kurutuldu. Akar suda 10 dakika yıkamanın ardından, 10-15 dakika Harris Hematoksilen'de boyandı ve akar suda 10 dakika yıkandı. Glasiyel aset2 ik asit (2 – 3 damla) + % 70 alkol karışımına batırıldıktan sonra yeniden akar suda 10 dakika yıkandı. Eozin'de 5-10 dakika bekletilen lamalar, tekrar akar suda 10 dakika yıkandı. Lamalar artan dereceli (% 50, % 70, % 80, % 96, % 100) alkol serilerinden geçirildi. Ksilole 2x15 dakika alındı ve sonrasında entellan ile kapatıldı. Gruplara ait örnekler dejeneratif değişimler açısından değerlendirildi.

3.8.2. İmmünohistokimyasal yöntem

İmmünohistokimyasal boyama antijen-antikor bağlanması prensibine dayalı olan, doku ve hücrelerdeki enzimlerin ve makromoleküllerin lokalizasyonunu belirlemede histokimyasal prosedürlere kıyasla daha kesin sonuçlar sunması nedeniyle sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir [201]. GFAP immünohistokimya yöntemi astrositlerin görüntülenmesinde kullanılabilmektedir [196]. İmmünohistokimya analizlerinin değerlendirilmesinde H skor yöntemi tercih edilebilmektedir. H skor yöntemi, artmış nükleer immunoreaktivitenin semikantitatif olarak analiz edildiği bir hesaplamaadır. Boyanan hücre yoğunluğunun, boyanan hücre yüzdesi ile çarpımı ile H skor hesaplaması gerçekleştirilir [202].

Kesitler 37 °C'deki etüvde bir gece tutulduktan sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak amacıyla etüv sıcaklığı 57 °C'ye çıkarılarak 1 saat daha bekletildi. Camlar deparafinizasyonu tamamlamak için 2 kez 15' er dakika ksilolde bırakıldıktan sonra sırasıyla % 100'lük, % 96'lık ve % 80'lik alkol serilerinden 10'ar dakika geçirilerek sudan, 2 kez 5'er dakika distile

sudan geçirilerek alkolden kurtarıldı [203]. Bu aşamayı takiben, mikrodalga fırında 1 M sitrat tamponuna (pH: 6,0) etkin bırakılarak, doku içerisinde formaldehitin kapattığı reseptör bölgelerinin açığa çıkarılmasını sağlandı. Oda sıcaklığında soğutulduktan sonra Pap pen ile kesit üzerindeki dokuların etrafı çizildi. Camlar % 3'lük hidrojen peroksit ile etkin bırakılarak dokularda endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Camlar PBS (pH: 7,4) ile yıkandı. Ultra V Block uygulanarak özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi sağlandı. Bloklama aşamasının ardından kesitler yıkanmadan 1:300 oranında PBS ile dilüe edilmiş GFAP (bs-0199R) primer antikoru 1 gece etkin bırakıldılar (+4 °C).

Süre sonunda dokular PBS ile yıkamayı takiben 10 dakika süresince biyotinli sekonder antikor (Lot: 1754084A, LifeTech) uygulanarak, primer antikora bağlanması sağlandı. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra enzimin biyotine bağlanması amacıyla, dokular 10 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksine (Lot: 1754084A, LifeTech) etkin bırakıldı. Camlar tekrar PBS ile yıkandı. Bir sonraki aşamada kromojen olarak DAB (Lot: 38703, DAB Chromogen/Substrate Kit, ScyTek) uygulandı ve immün reaksiyonun (gözle görülebilen) açığa çıkması sağlandı. Zemin boyamasında Harris'in Hematoksileni kullanılarak, camlar entellan ile kapatıldı.

Dokuda GFAP pozitif hücreler saptandı ve hücreler tüm bölgeler için tüm grup ve tüm deneklerde incelenerek, yoğunlukları belirlendi ve istatistik uygulaması için veriler oluşturuldu. Uygulanan primer antikorlar için “ 0=Hiç Yok, 1=Zayıf Tutulum, 2=Azdan Ortaya Değişen Tutulum, 3=Orta Dereceli Tutulum, 4=Ortadan Yoğuna Değişen Tutulum, 5=Yoğun Tutulum” sayısal veriler olarak kabul edildi. H Skor değerleri oluşturuldu.

3.8.3. TUNEL yöntemi

Beyin dokusunda DNA parçalanmasının ve apoptotik hücre ölümünün tespiti amaçlı in situ apoptozis saptama kiti (Millipore Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit, Temecula, CA 92590) kullanıldı. Parafin bloklardan elde edilen kesitler 37 °C'deki etüvde bir gece tutuldu. Daha sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak için etüv sıcaklığı 57 °C'ye çıkarılarak bu ısıda 1 saat tutuldular. Camlar deparafinizasyonu tamamlamak amacıyla 2 kez 15'er dakika ksilol'e etkin bırakıldı. Daha sonra 10'ar dakika sırasıyla % 100, % 96 ve % 80'lik etil alkol serilerinden geçirildiler. Kesitler alkolden arındırılmak amacıyla iki kez 5'er

dakika distile sudan geçirildikten sonra 20 µg/ml proteinaz K ile 15 dakika süresince inkübe edildi.

Distile su ile yıkama aşamasının ardından dokular 5 dakika boyunca %3'lük hidrojen peroksit ile etkin bırakılarak, dokularda endojen peroksidaz enziminin aktivitesi bloke edildi. Kesitler PBS ile yıkandı ve dengeli tamponda 5 dakika, 37 °C nemli ortamda TdT enziminde (77 µL Reaksiyon Buffer + 33 µL TdT Enzim) 60 dakika inkübe edildi. Bu aşamanın devamında oda sıcaklığında 10 dakika önceden ısıtılmış olan durdurma/yıkama tamponunda bekletildi. Sonrasında 30 dakika Anti-Digoxigenin'de inkübe edildi. PBS ile yıkama her aşamada gerçekleştirildi. Yıkamayı takiben, TUNEL pozitif hücrelerin saptanması amacıyla DAB ile boyama yapıldı. Zemin boyamasında Harris'in Hematoksileni kullanılarak, camlar entellan ile kapatıldı.

Hazırlanan preparatlar Leica DCM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, mikroskop altında değerlendirildi ve sisteme bağlı LAS programında resimleri çekildi.

Her grup ve her denek için 100 hücre sayılarak, TUNEL (+) hücrelerin sayısı saptandı ve istatistiksel veriler oluşturuldu.

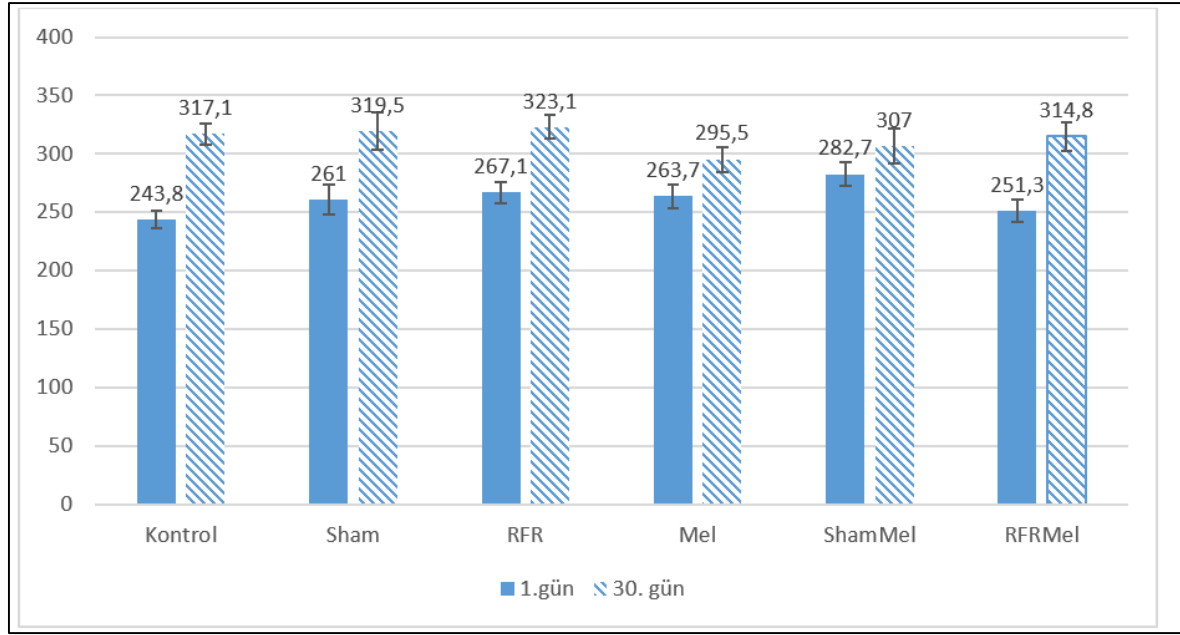
3.9. İstatistiksel Analiz

SPSS 15.0 (SPSS; LEAD Technologies, Chicago, IL) programı kullanıldı. Gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık bulunup bulunmadığı Kruskal Wallis ve Mann Whitney U testleri ile değerlendirildi. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlığı

Gruplar arasında vücut ağırlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

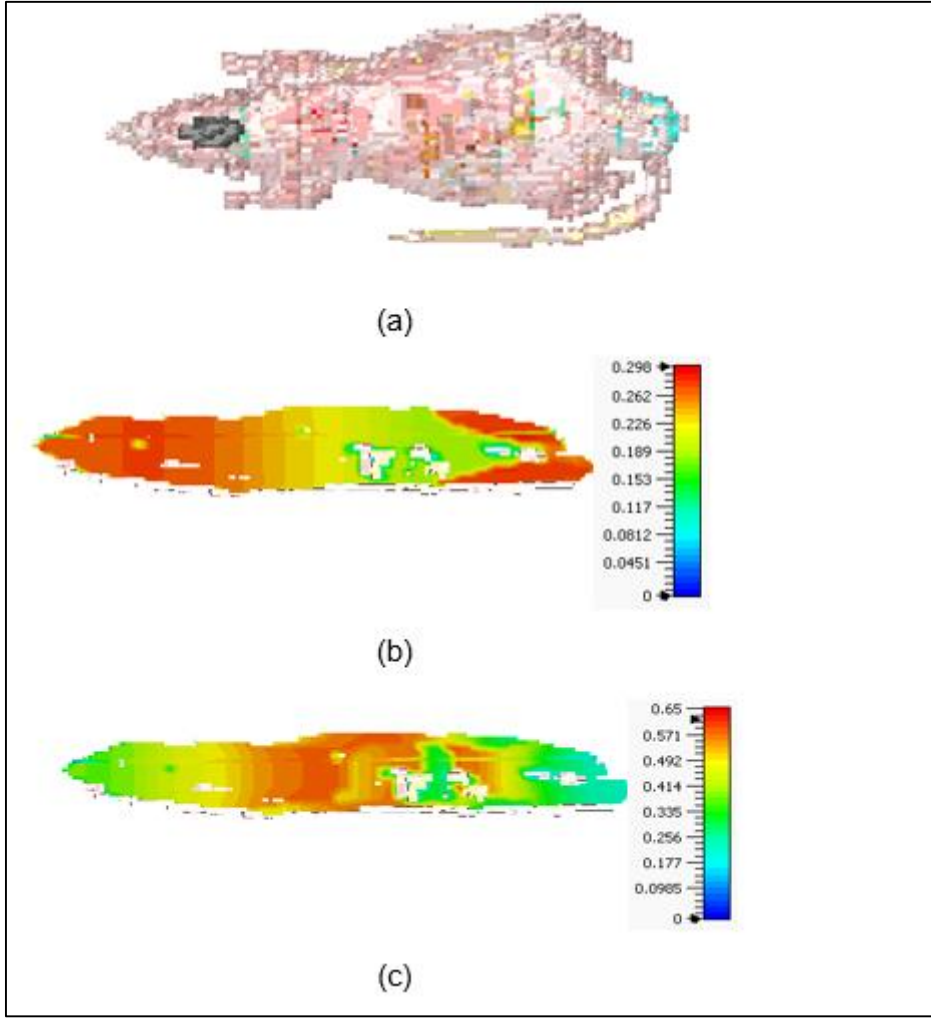


Şekil 4.1. Deneyin 1. ve 30. günleri vücut ağırlığı ortalama $\pm$ standart hata değerleri

4.2. Elektrik Alan ve SAR Değerleri

Deneyin gerçekleştirildiği kutunun 5 farklı noktasında elektrik alan değerleri ölçülmüştür, ortalama E alan değeri 21,4 V/m olarak bulunmuştur. Deneyin gerçekleştirildiği odada arka plan elektrik alan değeri 0,88 V/m olarak ölçülmüştür.

Tüm vücut için SAR değerleri, 1 ve 10 g doku başına sırasıyla 0,616 W/kg ve 0,297 W/kg olarak hesaplanmıştır. Beyin gri cevherinde SAR 1 ve 10 g doku başına sırasıyla 0,44 W/kg ve 0,295 W/kg olarak hesaplanmıştır. Sagital düzlemde sıçan voksel modeli ve SAR dağılımları Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2. 2600 MHz'de sagital düzlem SAR dağılımı

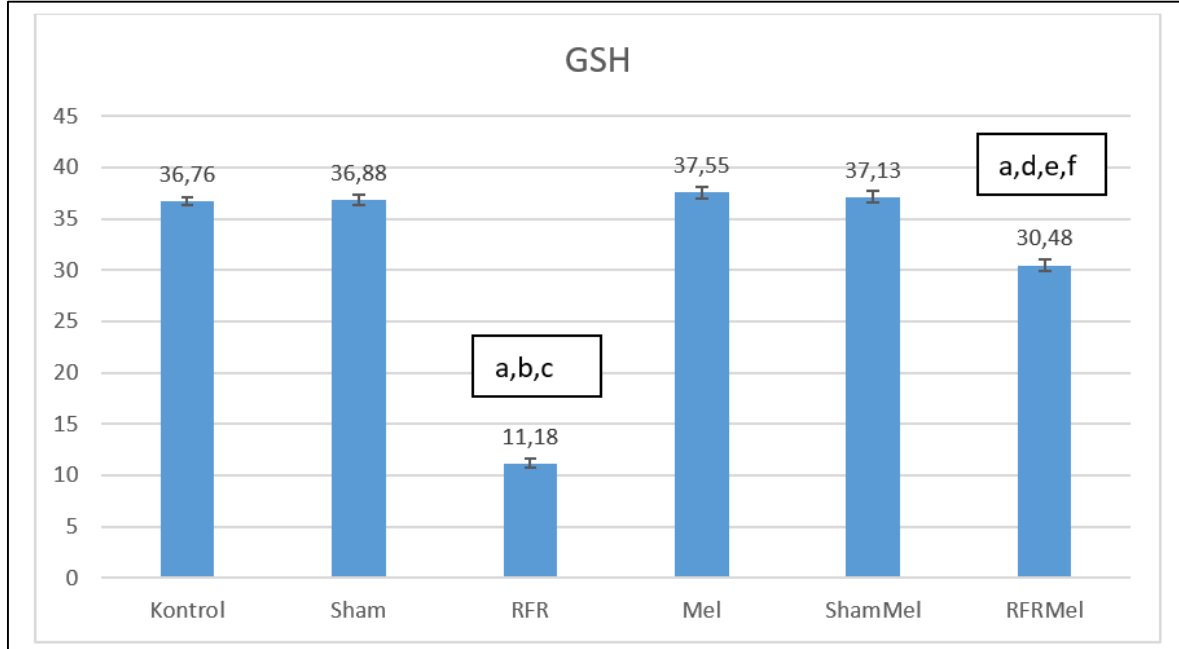
- (a) beyni koyu renkte vurgulanmış sıçan voksel modeli,
- (b) 10 g doku başına sagital kesim tüm vücut SAR dağılımı,
- (c) 1 g doku başına sagital kesim tüm vücut SAR dağılımı.

4.3. Oksidatif Analizler

4.3.1. Glutasyon düzeyleri

30 gün boyunca (5 gün / hafta) günde 30 dk RFR uygulanan RFR grubunda, beyin dokusu GSH seviyeleri kontrol ve sham gruplarına göre istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır. Kontrol ve sham grupları arasında GSH düzeyleri açısından anlamlı fark gözlenmemiştir. RFR ve Melatoninin birlikte uygulandığı RFR + Mel grubunda RFR grubuna göre GSH seviyeleri anlamlı düzeyde yüksek olarak bulunmuştur. Mel ve Sham

Mel grupları arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. RFR + Mel grubunda beyin dokusu GSH seviyeleri, Mel ve Sham + Mel gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Beyin dokusunda GSH düzeylerinin ortalama $\pm$ standart hata değerleri (mg/L)

^a: Kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^b: Sham grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^c: RFR Melatonin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^d: RFR grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

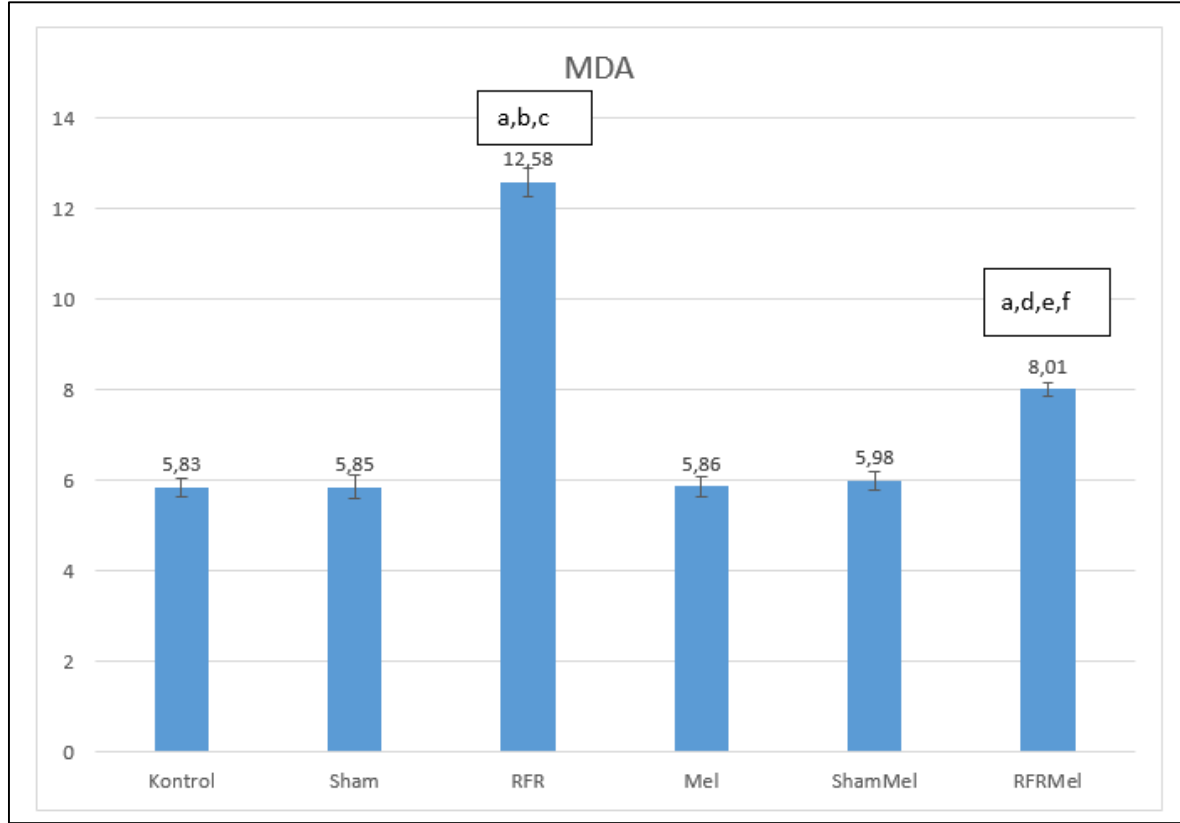
^e: Melatonin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^f: Sham Melatonin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$)

4.3.2. MDA düzeyleri

RFR grubunda beyin dokusu MDA seviyeleri, kontrol ve sham gruplarına göre istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır. Kontrol ve sham grupları arasında MDA düzeyleri açısından anlamlı fark gözlenmemiştir. RFR + Mel grubunda, RFR grubuna göre MDA seviyeleri anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Mel ve Sham Mel grupları arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. RFR + Mel grubunda beyin dokusu MDA seviyeleri Mel ve

Sham + Mel gruplarına göre istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Beyin dokusunda MDA düzeylerinin ortalama $\pm$ standart hata değerleri (nmol/ml)

^a: Kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^b: Sham grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^c: RFR Melatonin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^d: RFR grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

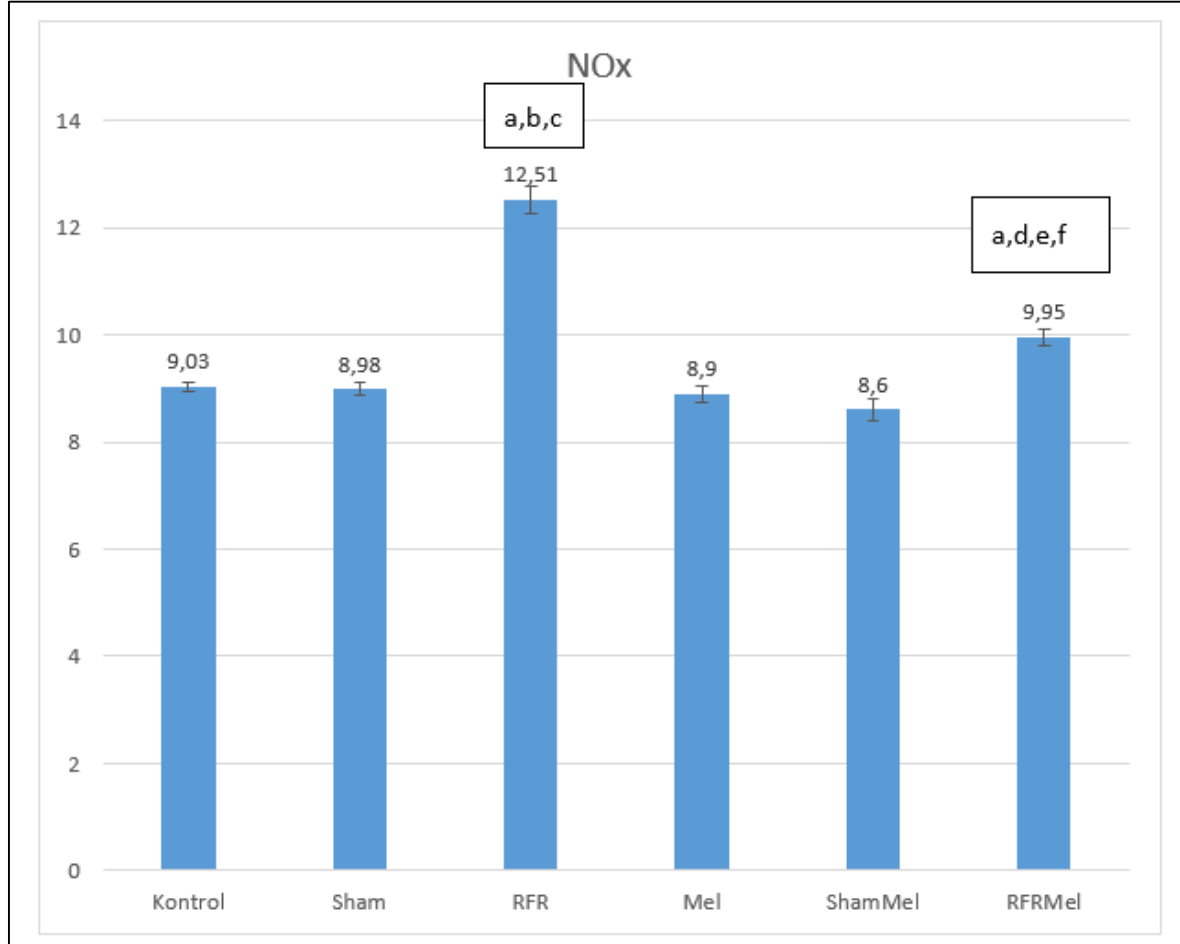
^e: Melatonin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^f: Sham Melatonin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$)

4.3.3. NOx düzeyleri

RFR grubunda beyin dokusu NOx seviyeleri kontrol ve sham gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Kontrol ve sham grupları arasında NOx düzeyleri açısından anlamlı fark gözlenmemiştir. RFR + Mel grubunda ise, RFR grubuna göre NOx seviyelerinin anlamlı düzeyde düşük olduğu saptanmıştır. Mel ve Sham Mel

grupları arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. RFR + Mel grubunda beyin dokusu NOx seviyeleri Mel ve Sham + Mel gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptanmıştır (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Beyin dokusunda NOx düzeylerinin ortalama $\pm$ standart hata değerleri ($\mu\text{mol/gr}$)

^a: Kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^b: Sham grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^c: RFR Melatonin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

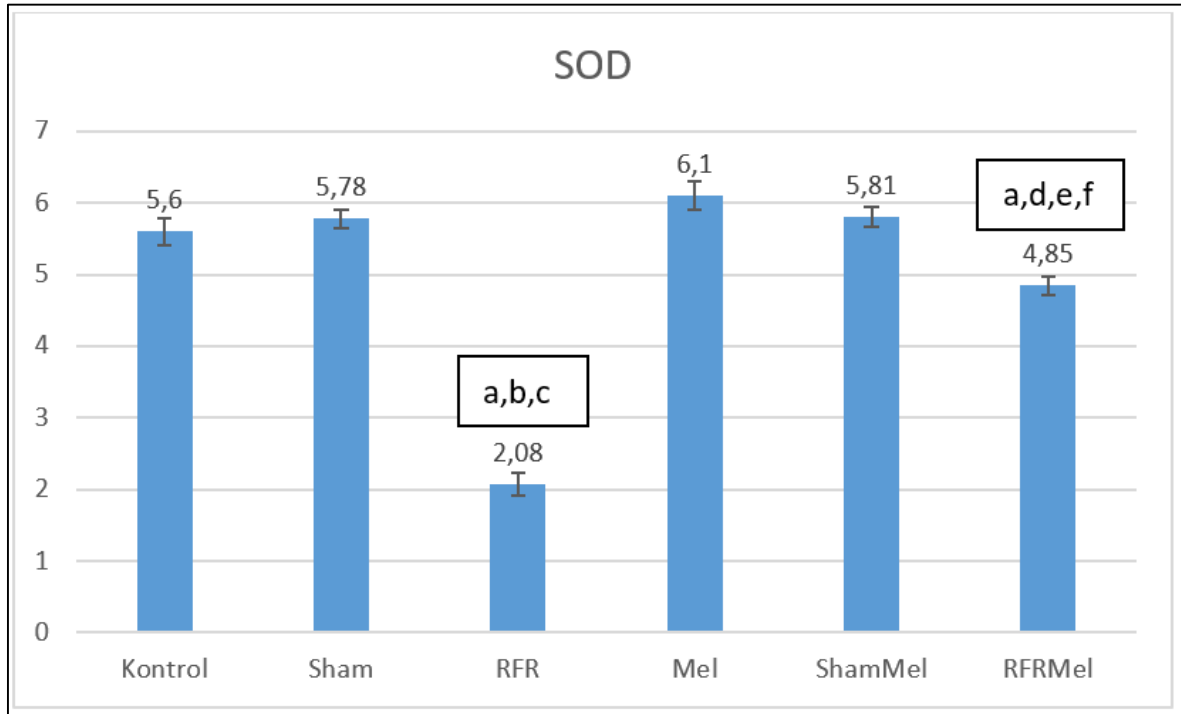
^d: RFR grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^e: Melatonin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^f: Sham Melatonin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$)

4.3.4. SOD düzeyleri

RFR grubunda beyin dokusu SOD seviyeleri, kontrol ve sham gruplarına göre istatistiksel açıdan anlamlı düşük düzeyde saptanmıştır. Kontrol ve sham grupları arasında SOD düzeyleri açısından anlamlı fark gözlenmemiştir. RFR ve Melatoninin birlikte uygulandığı RFR + Mel grubunda, RFR grubuna göre SOD seviyeleri anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Mel ve Sham Mel grupları arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. RFR + Mel grubunda beyin dokusu SOD seviyeleri Mel ve Sham + Mel gruplarına göre istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Beyin dokusunda SOD düzeylerinin ortalama $\pm$ standart hata değerleri (ng/ml)

^a: Kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^b: Sham grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^c: RFR Melatonin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

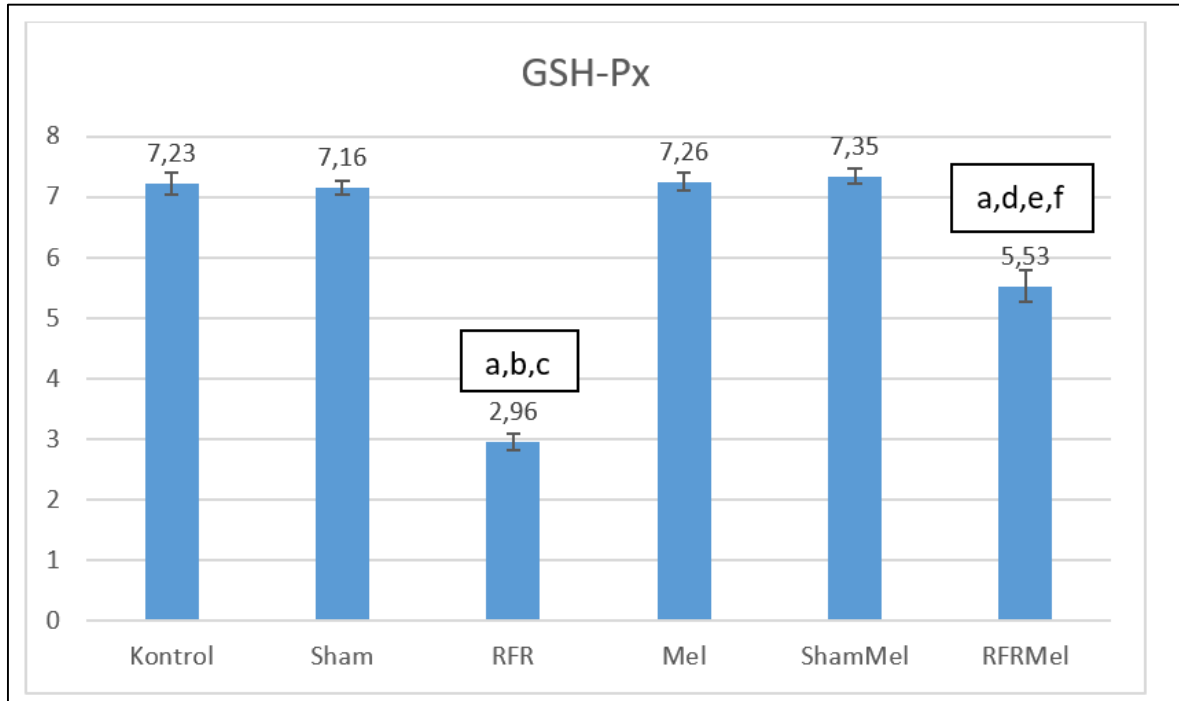
^d: RFR grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^e: Melatonin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^f: Sham Melatonin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,05$)

4.3.5. GSH-Px düzeyleri

RFR grubunda beyin dokusu GSH-Px seviyeleri, kontrol ve sham gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptanmıştır. Kontrol ve sham grupları arasında GSH-Px düzeyleri açısından anlamlı fark gözlenmemiştir. RFR ve Melatoninin birlikte uygulandığı RFR + Mel grubunda, RFR grubuna göre GSH-Px seviyeleri anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Mel ve Sham Mel grupları arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. RFR + Mel grubunda beyin dokusu GSH-Px seviyeleri, Mel ve Sham + Mel gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptanmıştır (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Beyin dokusunda GSH-Px düzeylerinin ortalama $\pm$ standart hata değerleri (ng/ml)

^a: Kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^b: Sham grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^c: RFR Melatonin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

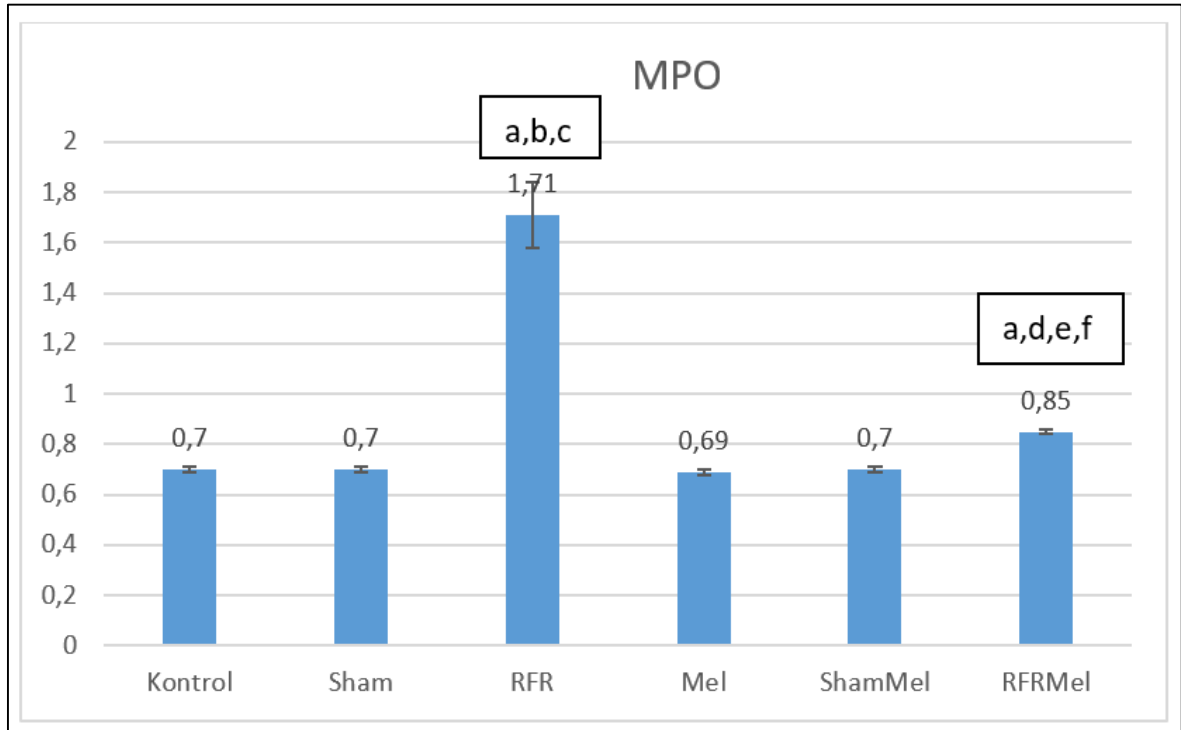
^d: RFR grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^e: Melatonin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^f: Sham Melatonin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$)

4.3.6. MPO düzeyleri

RFR grubunda beyin dokusu MPO seviyeleri, kontrol ve sham gruplarına göre istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır. Kontrol ve sham grupları arasında MPO düzeyleri açısından anlamlı fark gözlenmemiştir. RFR + Mel grubunda, RFR grubuna göre MPO seviyeleri anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Mel ve Sham Mel grupları arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. RFR + Mel grubunda beyin dokusu MPO seviyeleri, Mel ve Sham + Mel gruplarına göre istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Beyin dokusunda MPO düzeylerinin ortalama $\pm$ standart hata değerleri (ng/ml)

^a: Kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^b: Sham grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^c: RFR Melatonin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^d: RFR grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

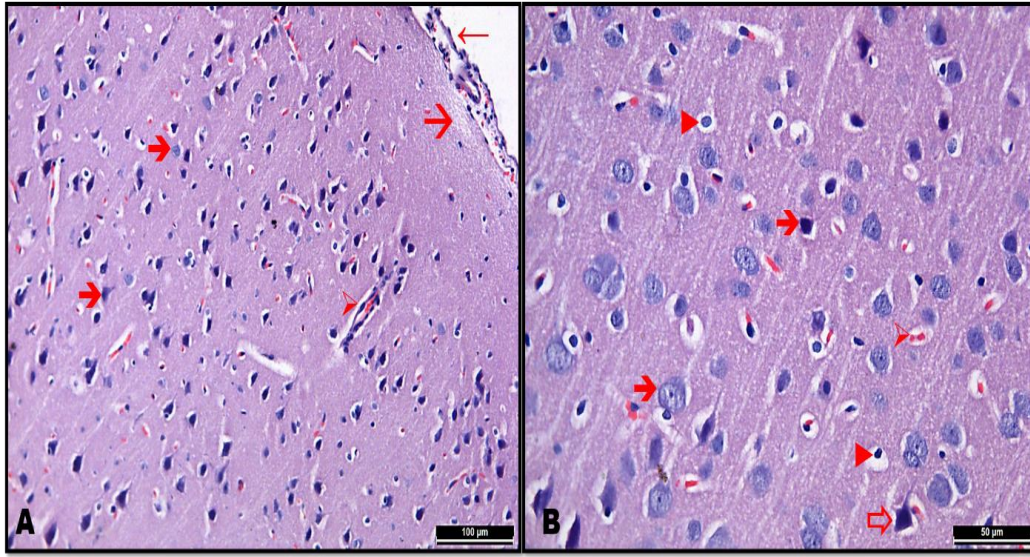
^e: Melatonin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$),

^f: Sham Melatonin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde farklılık mevcut ($p < 0,005$)

4.4. Histolojik Analizler

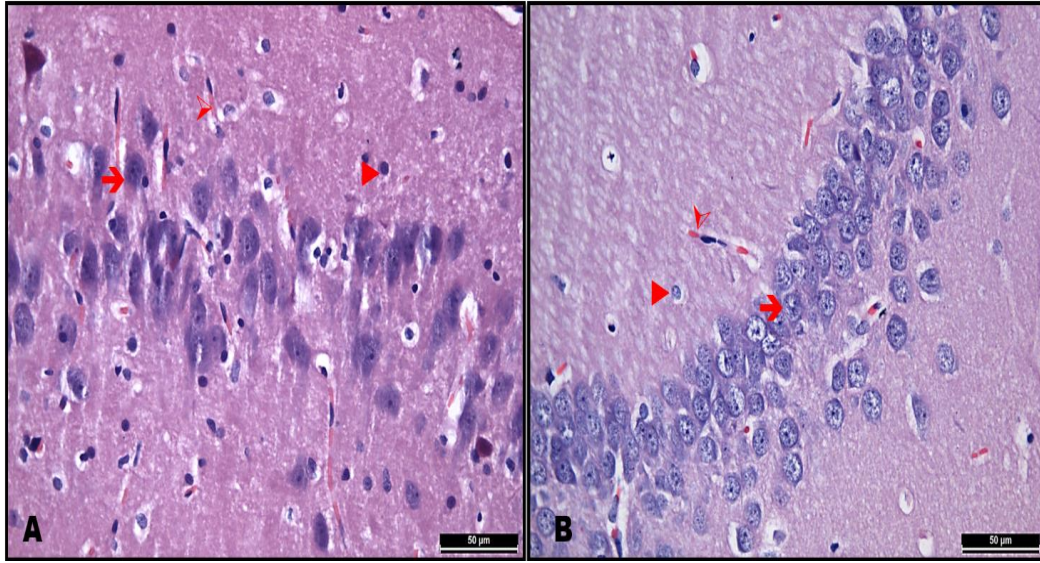
4.4.1. Hematoksilen eozin boyama bulguları

Kontrol, Sham Kontrol, Sham Melatonin ve Melatonin gruplarında beyin dokusuna ait Hematoksilen-Eozin boyama ile yapılan küçük büyültmeli incelemelerde beyni çevreleyen kan damarlarından zengin gevşek bağ dokusu özelliğindeki pia mater normal yapısı ile izlendi. Pia mater altında, beyin korteksinin ilk ve nörondan fakir tabakası olan moleküler tabaka da yine normal yapısı ile ayırt edildi. Moleküler tabaka altında seyreden diğer substantia grisea (korteks) tabakaları ise yoğun miktarda ve farklı morfolojilerdeki hücre gövdeleri (soma/perikaryon) ve uzantıları ile ayırt edilen multipolar nöronlar, bu nöronların arasındaki destek nöroglia hücreleri ve kan damarları ile normal seyirlerinde görüldü (Resim 4. 1A, 4. 3A, 4. 5A ve 4. 7A). Bu gruplara ait kortekste yapılan büyük büyültmeli incelemelerde de piramidal nöronlar ile diğer nöronlar, destek nöroglia hücreleri ve kan damarları normal yapıları ile izlendi (Resim 4. 1B, 4. 3B, 4. 5B ve 4. 7B). Bu gruplara ait hipokampus Cornu Ammonis 3 ve 1 (CA3 ve CA1) bölgelerinde yapılan büyük büyültmeli incelemelerde Kontrol ve Sham Kontrol grupları CA3 bölgesinde farklı nöron tipleri, nöroglia hücreleri ve kan damarları ile normal yapıları ile ayırt edildi (Resim 4. 2A, 4. 4A). Sham Melatonin ve Melatonin uygulanan gruplarda ise, normal seyrinde izlenen CA3 bölgesine ilaveten, diğer gruplara kıyasla nöronların daha bazofilik boyanan nöroplazmalara sahip olduğu gözlemlendi. Aktivitesinin daha yüksek olduğu düşünülen bu nöronların melatonin grubunda, diğer gruplara kıyasla görece daha yoğun olarak izlendiği dikkati çekti (Resim 4. 6A, 4. 8A). Kontrol, Sham Kontrol, Sham Melatonin ve Melatonin gruplarına ait CA1 bölgelerinde ise yapının nöron, nöroglia hücreleri ve kan damarları ile normal görünümünde olduğu izlendi (Resim 4. 2B, 4. 4B, 4. 6B ve 4. 8B).



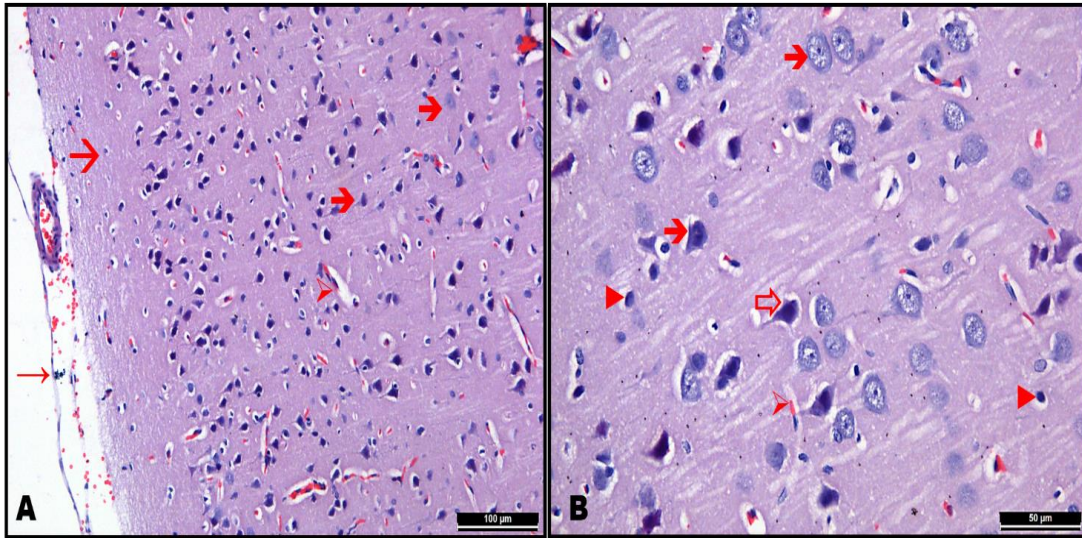
Resim 4.1. Kontrol grubu beyin korteksine ait kesitler

→: pia mater, →: moleküler tabaka, →: multipolar nöron, ►: nöroglia hücreleri, ➤: kan damarları ve ⇨: piramidal nöron izleniyor (Hematoksilen Eozin x200 [A] x400 [B]).



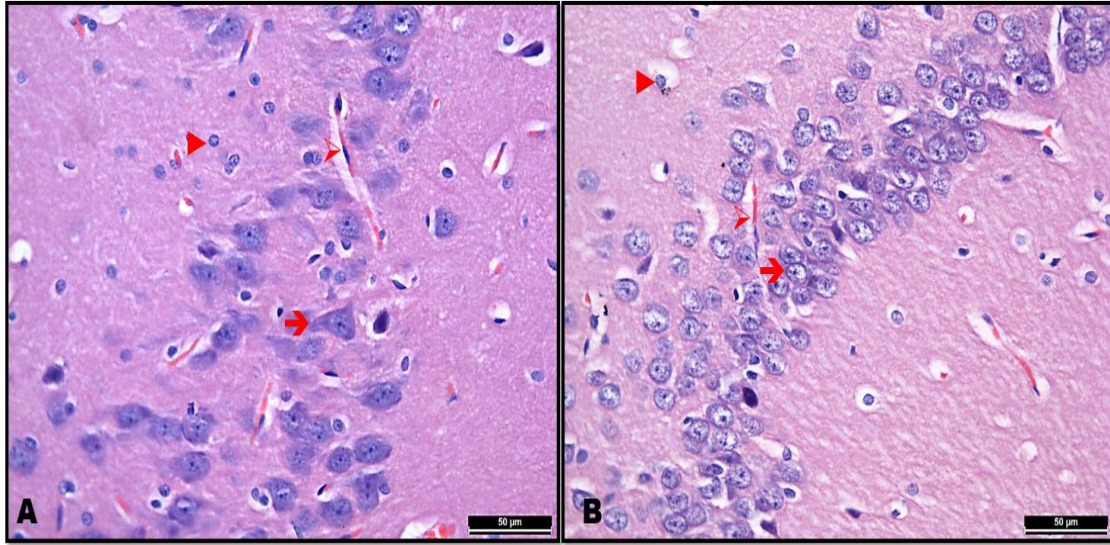
Resim 4.2. Kontrol grubu beyin hipokampusüne ait kesitler

→: nöron, ▶: nöroglia hücreleri ve ➤: kan damarları izleniyor (Hematoksilen Eozin x400 [A: CA3, B: CA1]).



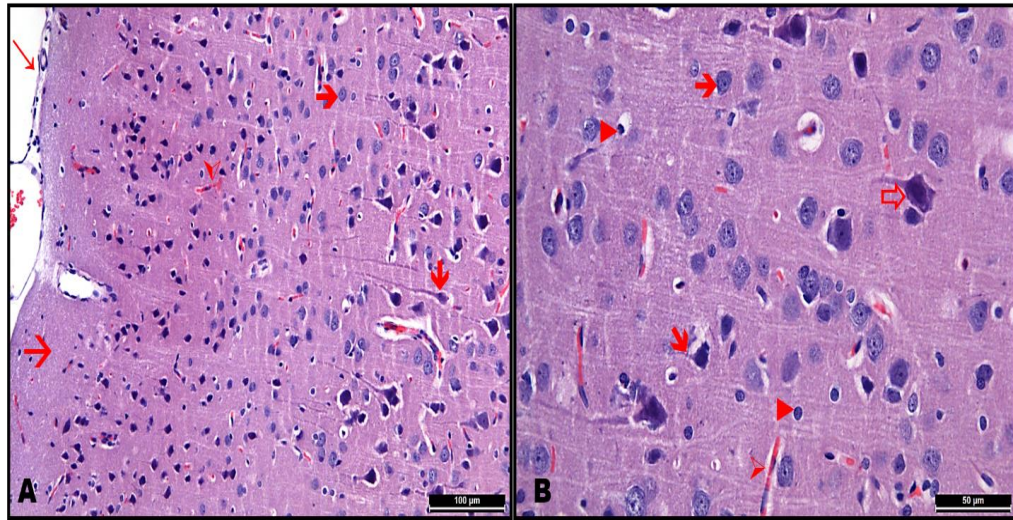
Resim 4.3. Sham kontrol grubu beyin korteksine ait kesitler

→: pia mater, →: moleküler tabaka, ➤: multipolar nöron, ▶: nöroglia hücreleri ve ➤: kan damarları izleniyor (Hematoksilen Eozin x200 [A] x400 [B]).



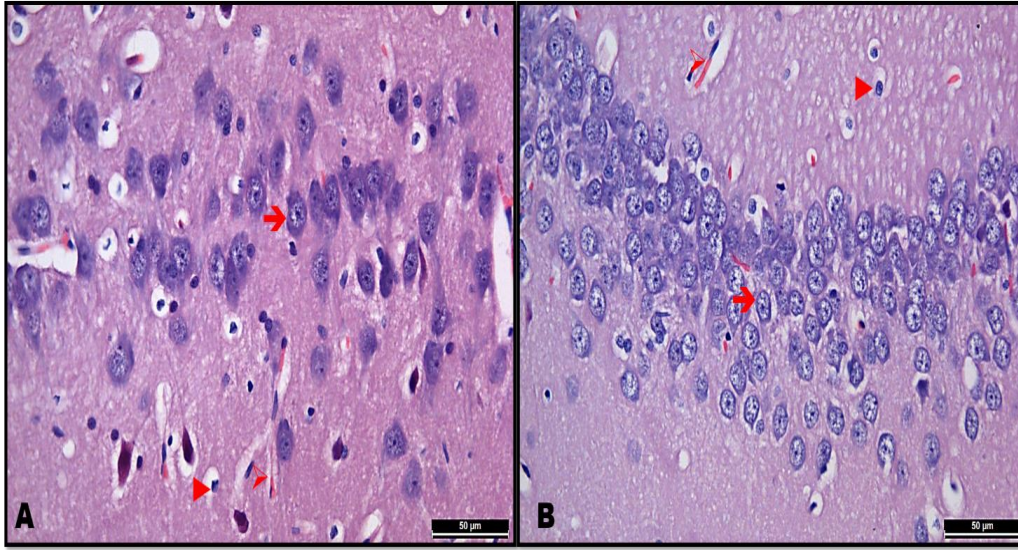
Resim 4.4. Sham kontrol grubu beyin hipokampusüne ait kesitler

→: nöron, ▶: nöroglia hücreleri ve ➤: kan damarları izleniyor (Hematoksilen Eozin x400 [A: CA3, B: CA1]).



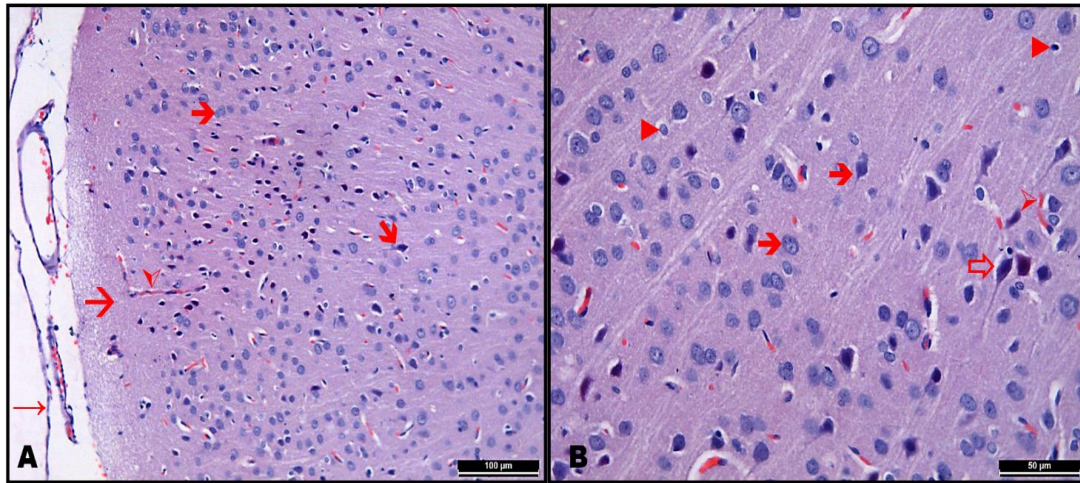
Resim 4.5. Sham melatonin grubu beyin korteksine ait kesitler

→: pia mater, →: moleküler tabaka, ➔: multipolar nöron, ▶: nöroglia hücreleri, ➤: kan damarları ve ⇒: piramidal nöron izleniyor (Hematoksilen Eozin x200 [A] x400 [B]).



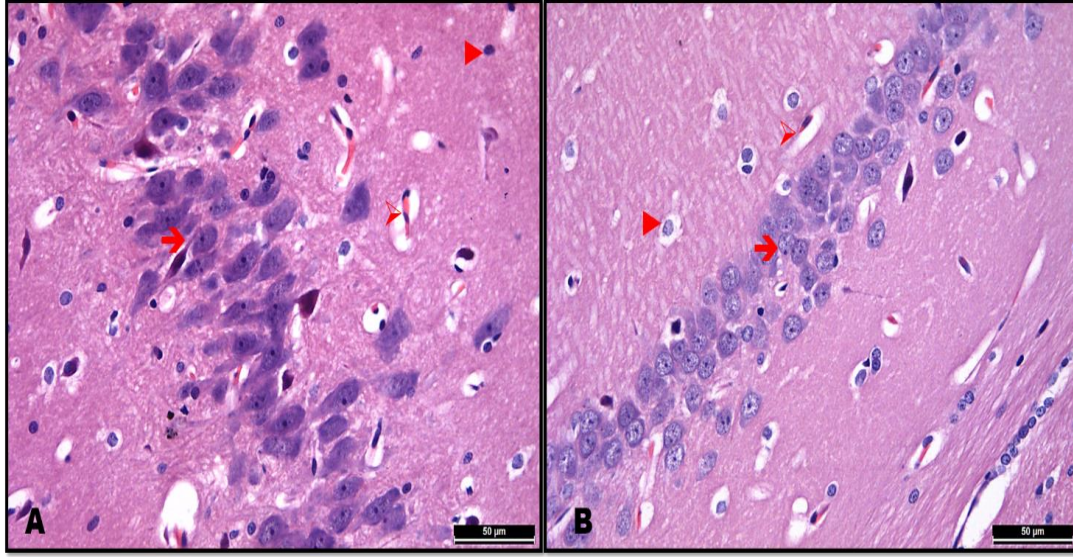
Resim 4.6. Sham kontrol grubu beyin hipokampusuna ait kesitler

→: nöron, ►: nöroglia hücreleri ve ►: kan damarları izleniyor (Hematoksilen Eozin x400 [A: CA3, B: CA1]).



Resim 4.7. Melatonin grubu beyin korteksine ait kesitler

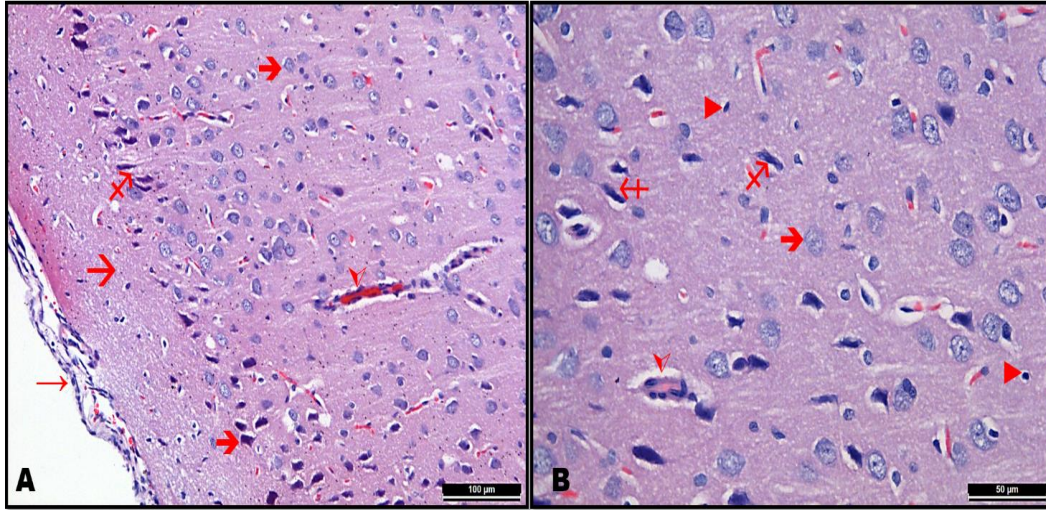
→: pia mater, →: moleküler tabaka, →: multipolar nöron, ►: nöroglia hücreleri, ►: kan damarları ve ⇒: piramidal nöron izleniyor (Hematoksilen Eozin x200 [A] x400 [B]).



Resim 4.8. Melatonin grubu beyin hipokampüsüne ait kesitler

➔: nöron, ►: nöroglia hücreleri ve ➤: kan damarları izleniyor (Hematoksilen Eozin x400 [A: CA3, B: CA1]).

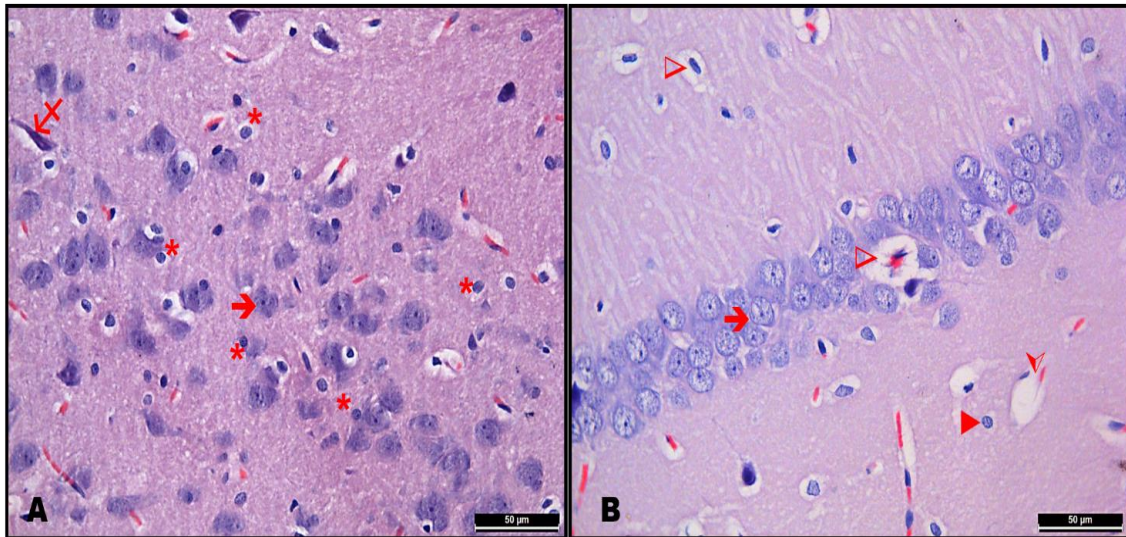
RFR grubunda beyin dokusuna ait Hematoksilen-Eozin boyama ile yapılan küçük büyültmeli incelemelerde, pia mater ve altında seyreden moleküler tabaka yine normal yapıları ile izlendi. Korteksin diğer tabakalarında dilate damarların varlığı dikkati çekti (Resim 4. 9A). Bu grubun korteksine ait hem küçük ve hem de büyük büyültmeli incelemelerde en dikkat çekici bulgu, piramidal nöronlarda daha yoğun olarak görülmekle birlikte, nöronların normal morfolojik görüntülerini kaybederek, apoptotik görünümlü bir yapı sergiledikleriydi (Resim 4. 9A ve 4. 9B). Bu grubun hipokampus CA3 bölgesinde yapılan incelemelerde: Anormal morfolojili nöronların görülmeye devam ettiği, nöronların bu bölgede görece azaldığı ve bunun yerine nöroglia hücresi olan astrositlerin görece arttığı tespit edildi.



Resim 4.9. Radyasyon grubu beyin korteksine ait kesitler

→: pia mater, →: moleküler tabaka, →: multipolar nöron, ▶: nöroglia hücreleri, ➤: dilate kan damarları ve ⌘: anormal morfolojili piramidal nöron izleniyor (Hematoksilen Eozin x200 [A] x400 [B]).

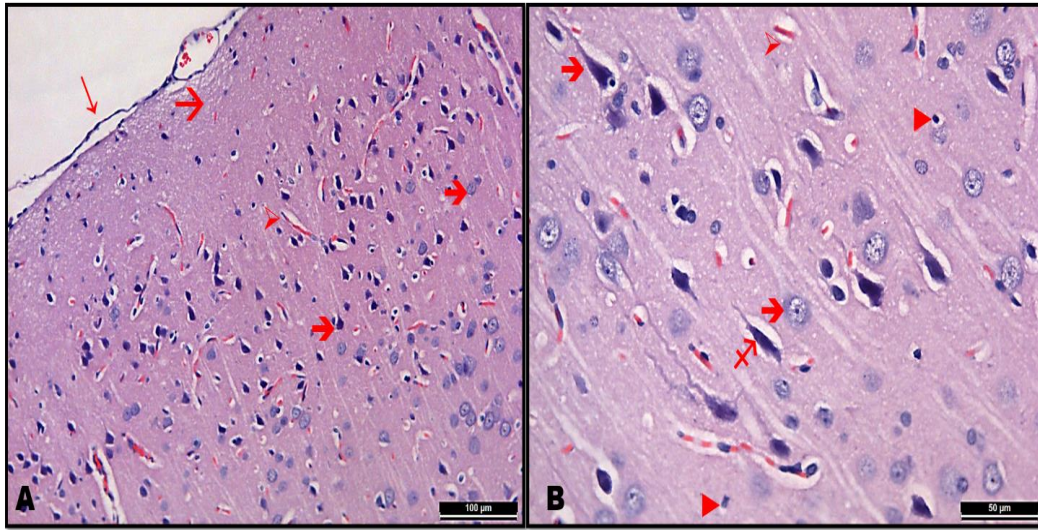
CA3 bölgesinde seyreden nöronların diğer gruplara kıyasla normal seyrinden çıkarak, daha dağınık yerleşim gösteren bir hal aldığı yine bu bölgedeki bir diğer dikkat çekici bulgu olarak nitelendirildi (Resim 4. 10A). CA1 bölgesinde yapılan incelemelerde ise dilate damarlar ve nöroglia hücreleri çevresinde görülen ödem en dikkat çekici bulgular olarak ayırt edildi (Resim 4. 10B).



Resim 4.10. Radyasyon grubu beyin hipokampusüne ait kesitler

→: nöron, ▶: nöroglia hücreleri, ➤: kan damarları, ⌘: anormal morfolojili nöron, *: astrosit ve Δ: ödem izleniyor (Hematoksilen Eozin x400 [A: CA3, B: CA1]).

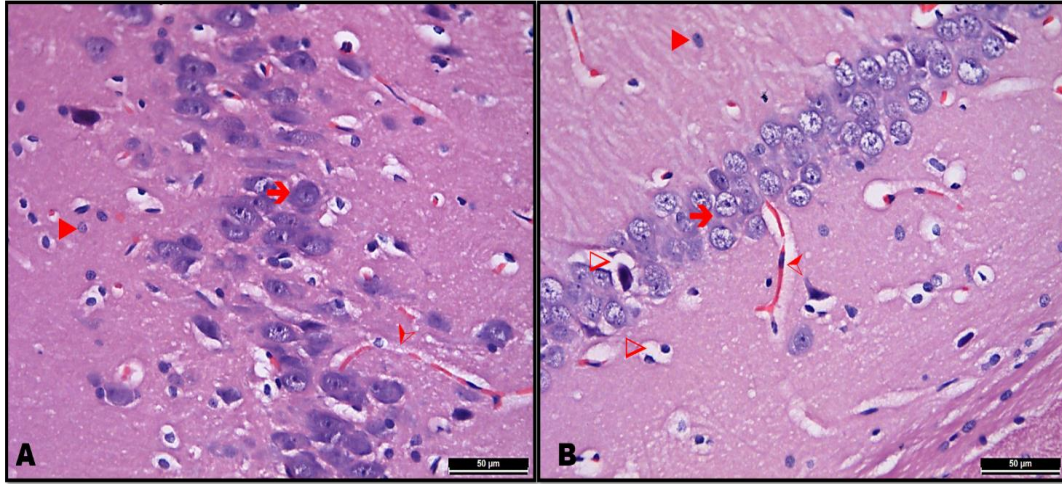
Radyasyon ve Melatoninin birlikte uygulandığı RFR + Mel grubunda, beyin dokusuna ait Hematoksilen-Eozin boyama ile yapılan küçük büyütmeli incelemelerde pia mater ve moleküler tabaka normal seyrinde izlenirken, dilate damarların yer yer varlığını sürdürdüğü tespit edildi (Resim 4. 11A). Bu grubun küçük ve büyük büyütmeli incelemelerinde korteks genel olarak değerlendirildiğinde, anormal morfolojili piramidal nöronların yer yer varlığını devam ettirdiği ancak radyasyon uygulanan gruba göre yoğunluklarının görece azaldığı tespit edildi (Resim 4. 11A ve 4. 11B).



Resim 4.11. Radyasyon ve melatonin uygulanan gruba ait beyin korteksi kesitler

→: pia mater, →: moleküler tabaka, →: multipolar nöron, ►: nöroglia hücreleri, ►: kan damarları ve ↗: anormal morfolojili piramidal nöron izleniyor (Hematoksilen Eozin x200 [A] x400 [B]).

Hipokampus CA3 bölgesinde yapılan büyük büyütmeli incelemelerde, RFR grubunda gözlenen azalan nöron yoğunluğunun ve dağınık yerleşiminin bu grupta normal seyrine dönerek, kontrol gruplarına benzer yapıya dönüştüğü en dikkat çekici bulgu olarak nitelendirildi (Resim 4. 12A). CA1 bölgesinde ise damar dilatasyonunun, nöron ve nöroglia çevresi ödemin yer yer devam ettiği ancak bunun dışında yapının genel olarak kontrol grupları ile eşdeğer olduğu dikkati çekti (Resim 4. 12B).

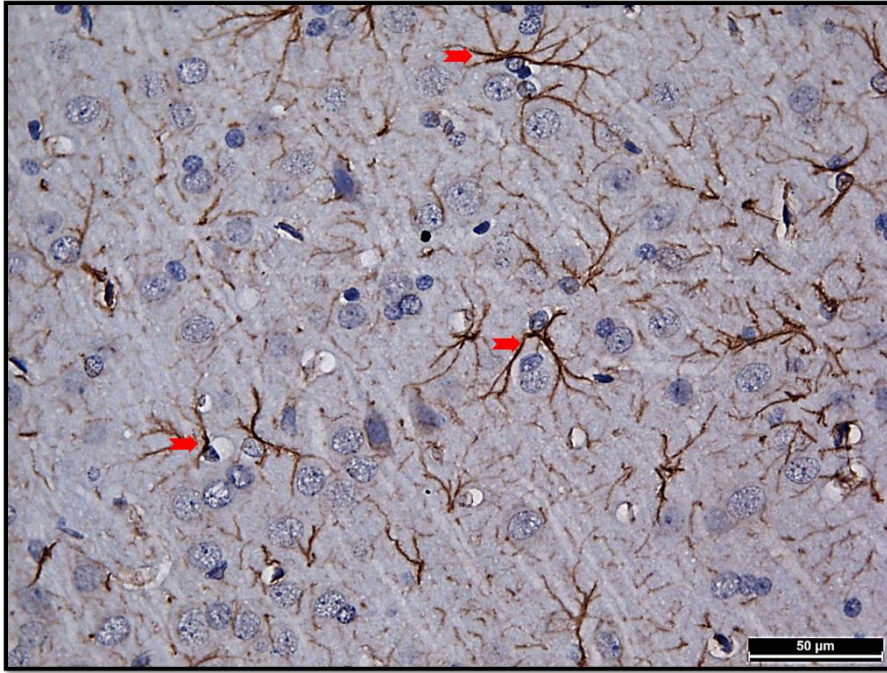


Resim 4.12. Radyasyon ve melatonin uygulanan gruba ait beyin hipokampüsü kesitler

➔: nöron, ►: nöroglia hücreleri, ➤: dilate kan damarları ve Δ : ödem izleniyor (Hematoksilen Eozin x400 [A: CA3, B: CA1]).

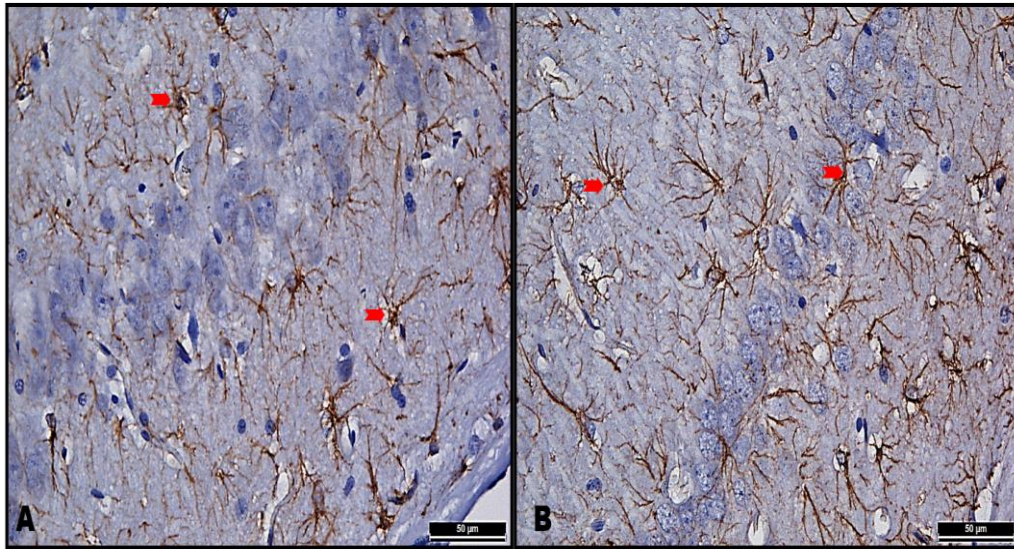
4.4.2. GFAP immünohistokimya boyama bulguları

GFAP (Glial Fibriler Asidik Protein) ile yapılan immün boyamalar sonucunda Kontrol, Sham, Sham Melatonin ve Melatonin gruplarına ait korteks ile hipokampus CA3 ve CA1 bölgelerinde GFAP immünreaktivitesinin, nöronların arasında seyreden bazı astrositlerde pozitif olduğu tespit edildi. Pozitif immünreaktivite gösteren bu astrositlerde GFAP tutulumunun kuvvetli olduğu izlendi (Resim 4. 13, 4. 14 A-B, 4. 15, 4. 16 A-B, 4. 17, 4. 18 A-B, 4. 19 ve 4. 20 A-B).



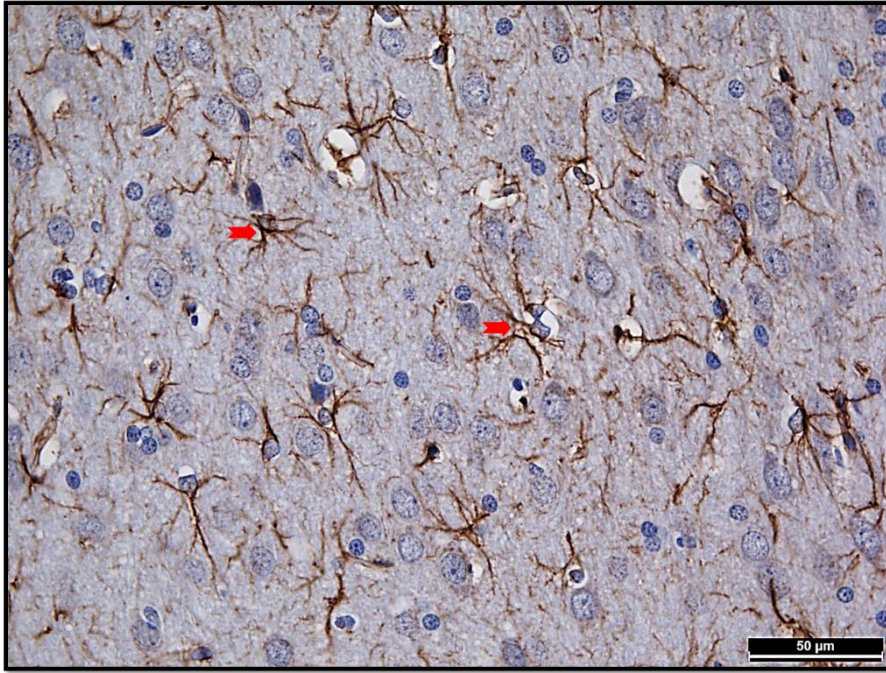
Resim 4.13. Kontrol grubuna ait beyin korteksi

➔: GFAP immünreaktivitesi gösteren astrositler uzantıları ile birlikte izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen x400).



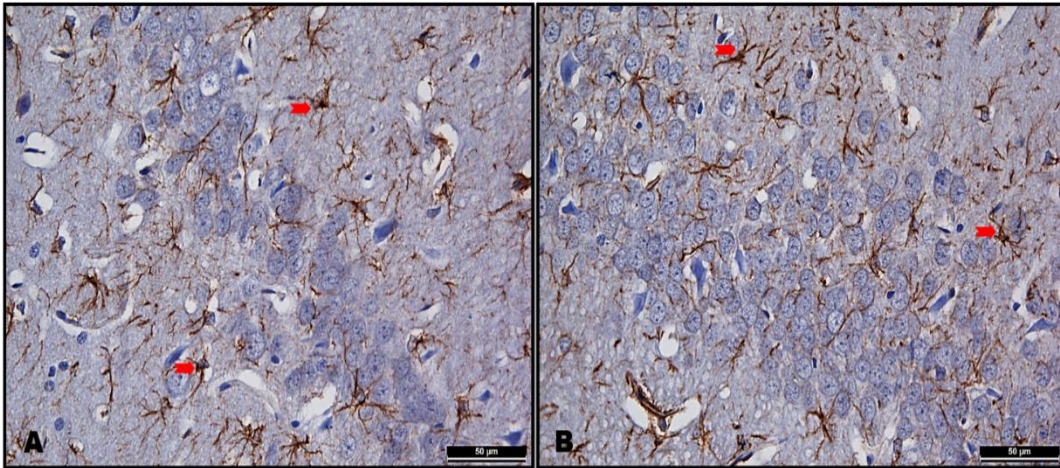
Resim 4.14. Kontrol grubuna ait hipokampus

➔: GFAP immünreaktivitesi gösteren astrositler uzantıları ile birlikte izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen x400 [A: CA3, B: CA1]).



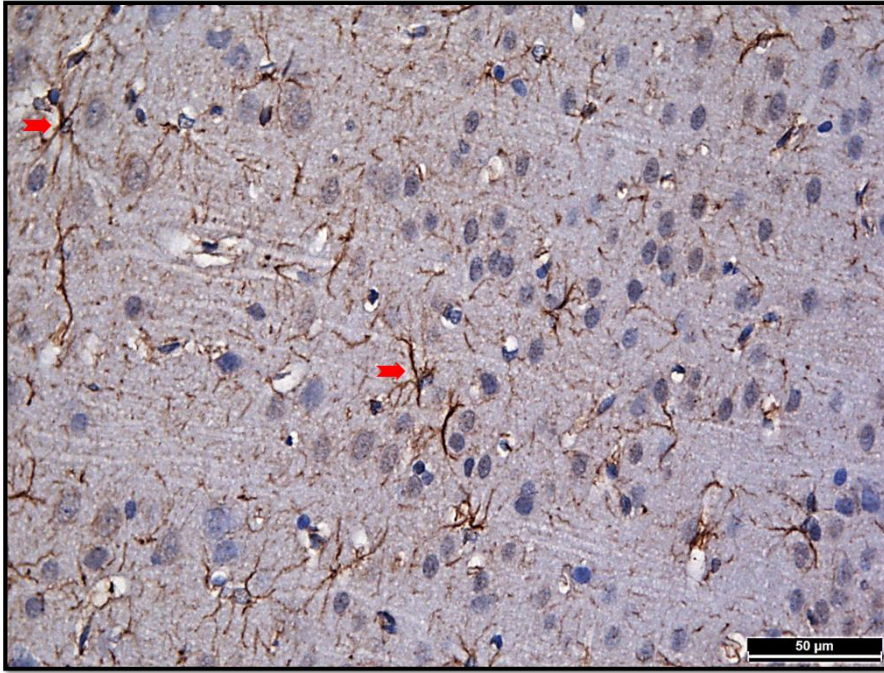
Resim 4.15. Sham kontrol grubuna ait beyin korteksi

➡: GFAP immünreaktivitesi gösteren astrositler uzantıları ile birlikte izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen x400).



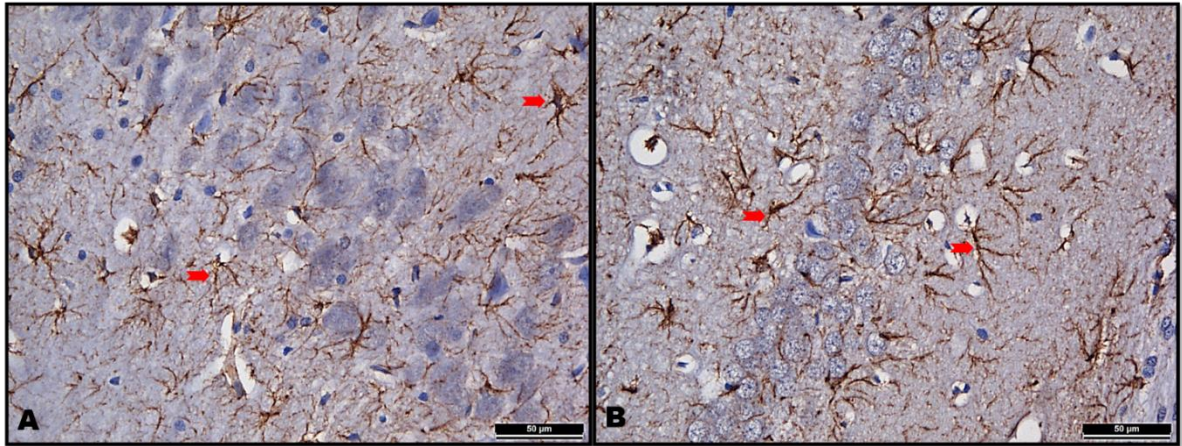
Resim 4.16. Sham kontrol grubuna ait hipokampus

➡: GFAP immünreaktivitesi gösteren astrositler uzantıları ile birlikte izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen x400 [A: CA3, B: CA1]).



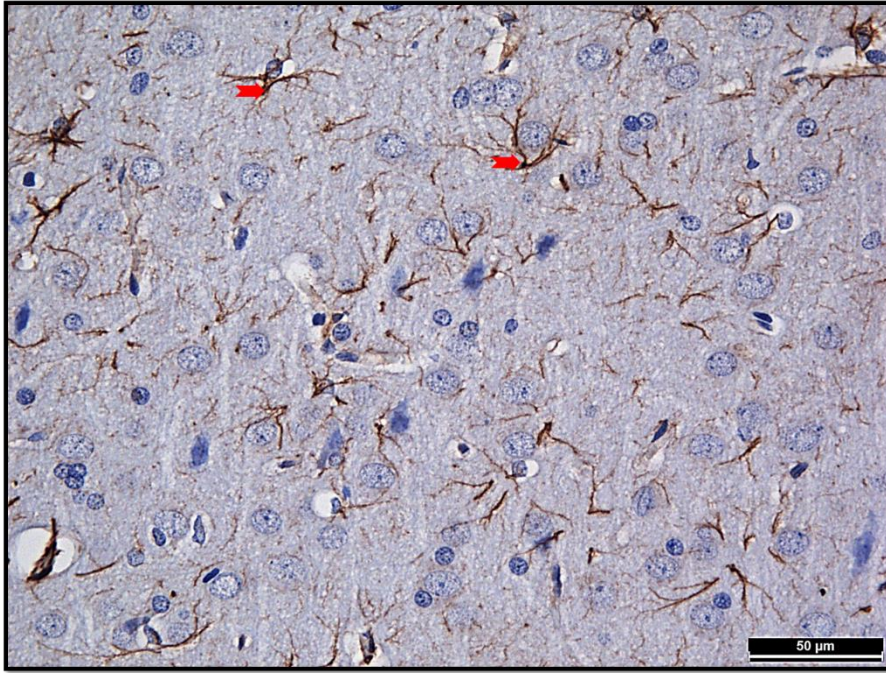
Resim 4.17. Sham melatonin grubuna ait beyin korteksi

➔: GFAP immünreaktivitesi gösteren astrositler uzantıları ile birlikte izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen x400).



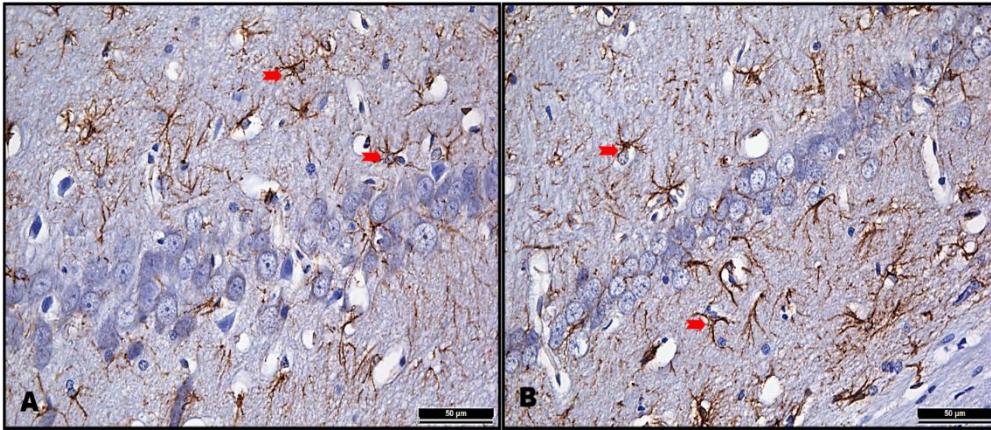
Resim 4.18. Sham melatonin grubuna ait hipokampus

➔: GFAP immünreaktivitesi gösteren astrositler uzantıları ile birlikte izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen x400 [A: CA3, B: CA1]).



Resim 4.19. Melatonin grubuna ait beyin korteksi

➔: GFAP immünreaktivitesi gösteren astrositler uzantıları ile birlikte izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen x400).

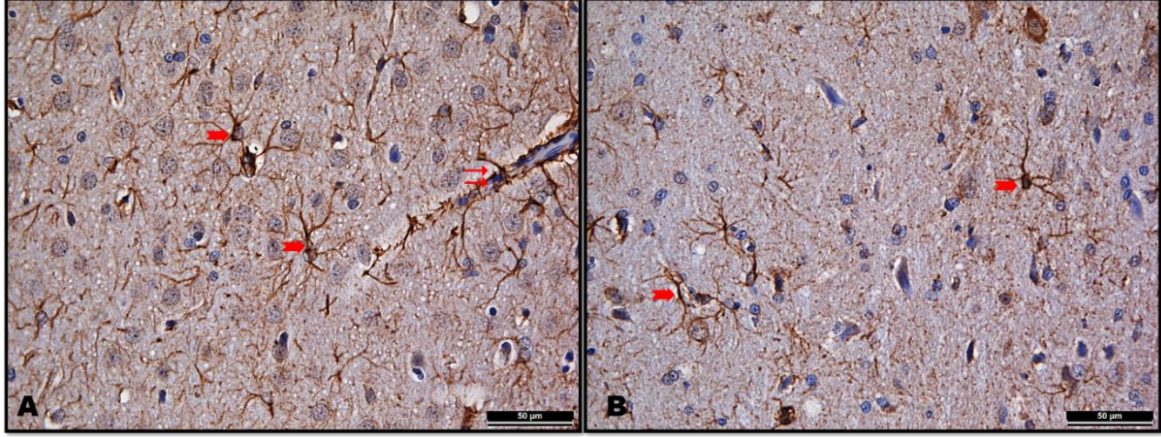


Resim 4.20. Melatonin grubuna ait beyin hipokampus

➔: GFAP immünreaktivitesi gösteren astrositler uzantıları ile birlikte izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen x400 [A: CA3, B: CA1]).

RFR grubunda yapılan incelemelerde, hem kortekste ve hem de hipokampus CA3 ve CA1 bölgelerinde diğer gruplara kıyasla çok daha fazla sayıda astrositte şiddetli GFAP tutulumu ayırt edildi. Korteks bölgesine ait astrositlerde, hipokampüse kıyasla çok şiddetli GFAP tutulumu dikkati çekti. Kortekste yapılan incelemelerde kan damarı çevresinde (perivasküler alanda), kan beyin bariyerine ait olduğu düşünülen astrositlerde de yine GFAP pozitif

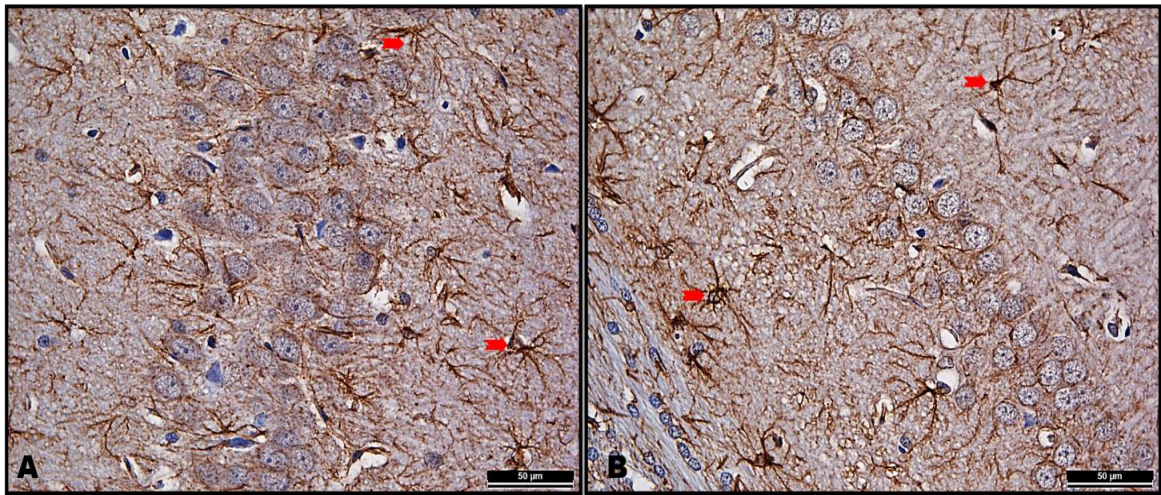
hücreler ayırt edildi (Resim 4. 21, 4. 22 A-B). CA3 bölgesinde görülen GFAP (+) astrositlerin görece diğer bölgelere kıyasla daha yoğun olduğu dikkati çekti.



Resim 4.21. Radyasyon uygulanan gruba ait beyin korteksi

➡: GFAP immünreaktivitesi gösteren astrositler uzantıları ile birlikte ve ⇨: perivasküler alanda kan beyin bariyerine ait GFAP immünreaktivitesi gösteren astrositler uzantıları ile birlikte izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen x400).

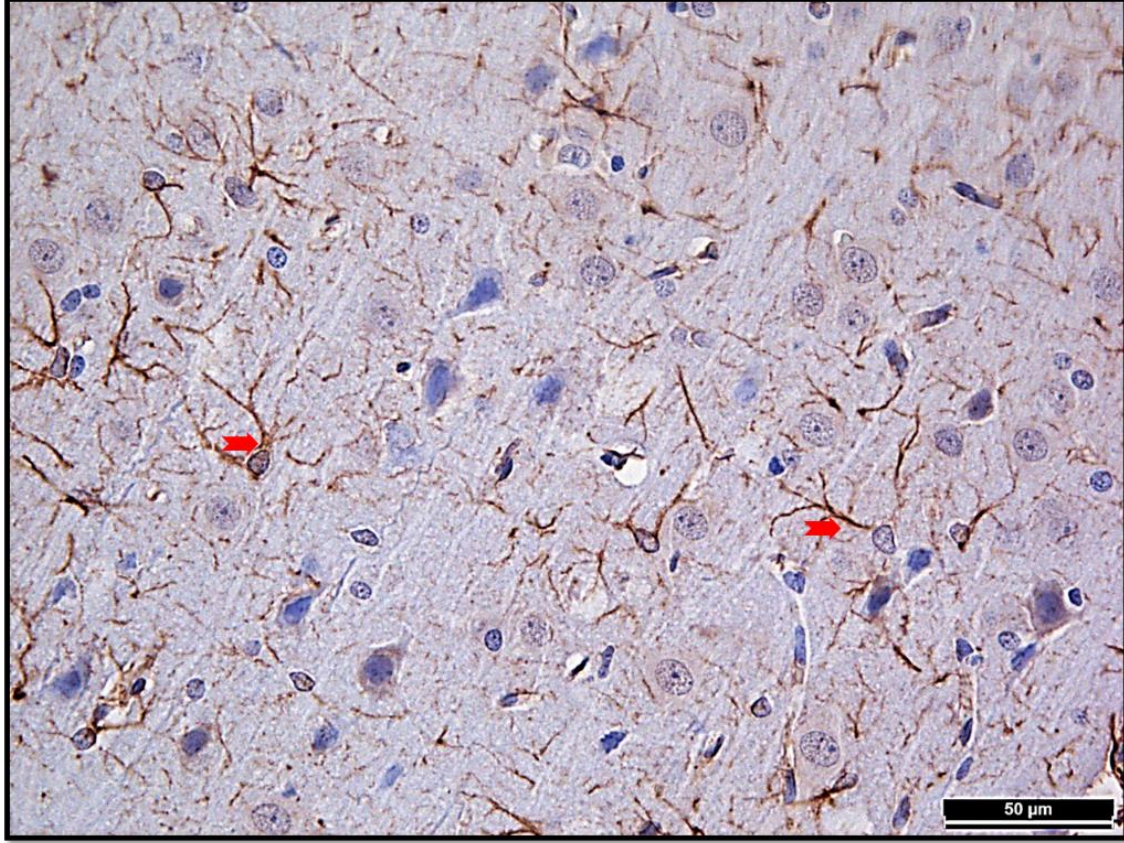
Astrositlerin, sinir hücre hasarında hasarlanan nöronların yerini alarak o bölgenin rejenere edilmesinde görevli olduğu düşünüldüğünde bu bulgunun, Hematoksilen-Eozin boyamalarda aynı bölgede görülen görece azalmış ve dağınık yerleşim gösteren nöron yoğunluğu bulgusu ile örtüştüğü dikkati çekti (Resim 4. 22A).



Resim 4.22. Radyasyon uygulanan gruba ait hipokampus

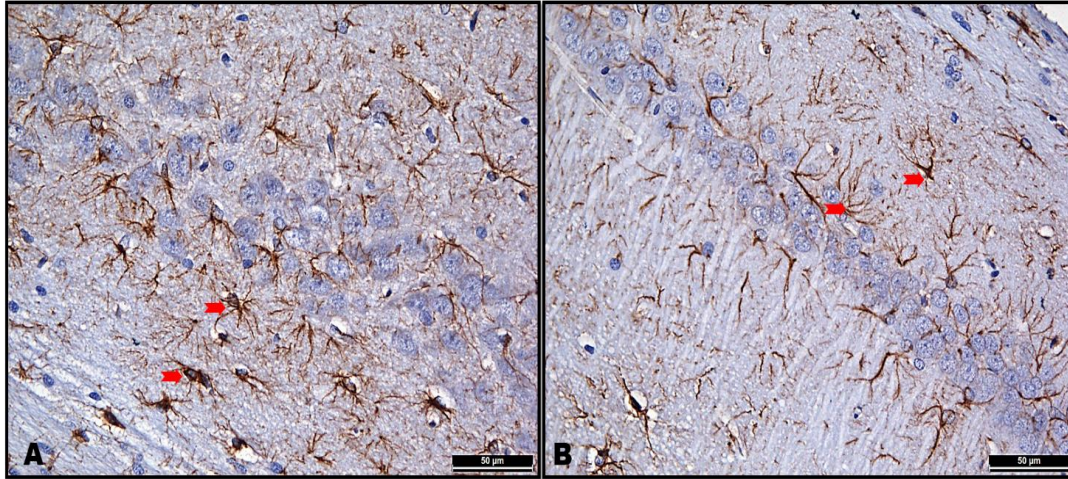
➡: GFAP immünreaktivitesi gösteren astrositler uzantıları ile birlikte izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen x400 [A: CA3, B: CA1]).

Radyasyon ve Melatoninin birlikte uygulandığı grupta ise GFAP immünreaktivitesi gösteren astrositlerin yoğunluk ve şiddet olarak kontrol grupları ile eşdeş olduğu, ancak bu gruba ait beyin bölgeleri kendi içerisinde değerlendirildiğinde en yoğun immünreaktivite gösteren bölgenin yine CA3 bölgesi olduğu tespit edildi (Resim 4. 23, 4. 24A-B).



Resim 4.23. Radyasyon ve melatonin uygulanan gruba ait beyin korteksi

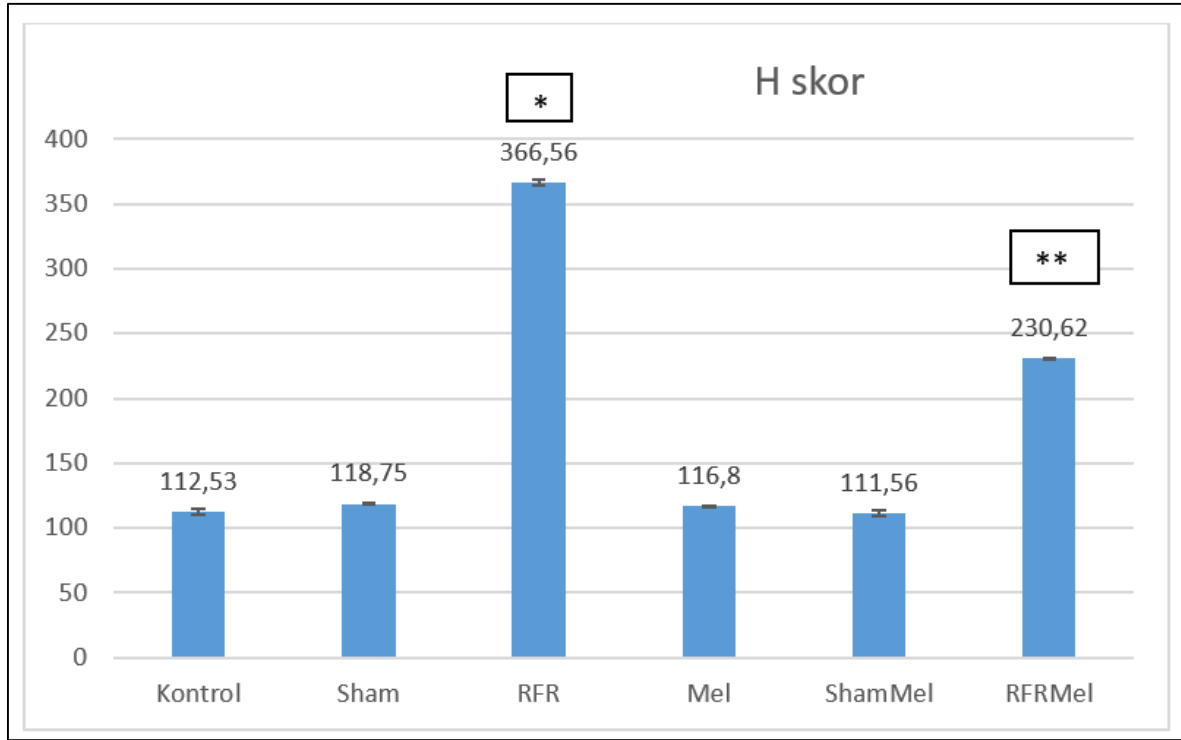
➔: GFAP immünreaktivitesi gösteren astrositler uzantıları ile birlikte izleniyor ( mm nperoksidaz-Hematoksilen x400).



Resim 4.24. Radyasyon ve melatonin uygulanan gruba ait hipokampus

➔: GFAP immünreaktivitesi gösteren astrositler uzantıları ile birlikte izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen x400 [A: CA3, B: CA1]).

GFAP immünoreaktivitesi, RFR grubunda kontrol, sham ve RFR melatonin gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Ek olarak, RFR melatonin grubunda kontrol, melatonin ve sham melatonin gruplarından anlamlı olarak daha yüksek H skor değerleri gözlemlendi ($p < 0,05$) (Şekil 4.9).



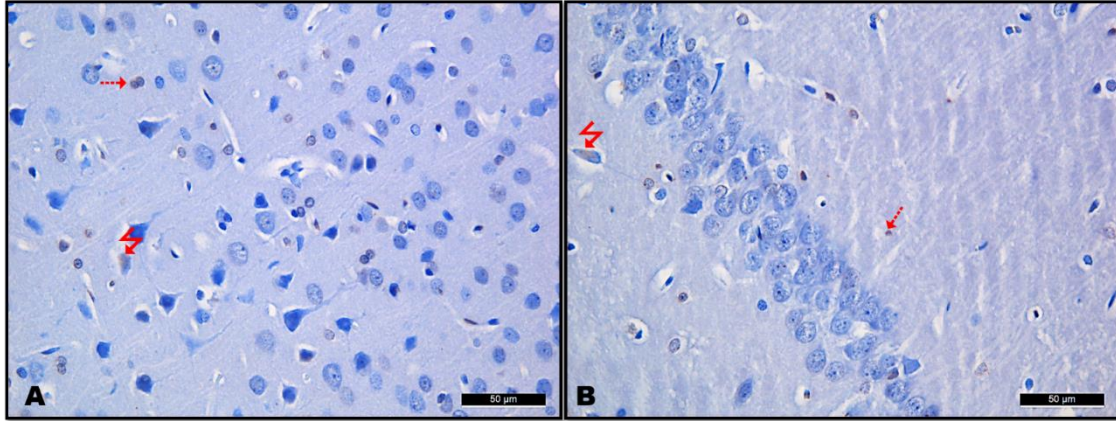
Şekil 4.9. H skor ortalama $\pm$ standart hata değerleri

* : Kontrol, sham ve RFR Melatonin gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı fark var ($p < 0,05$)

** : Kontrol, RFR, Melatonin ve Sham Melatonin gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı fark var ($p < 0,05$)

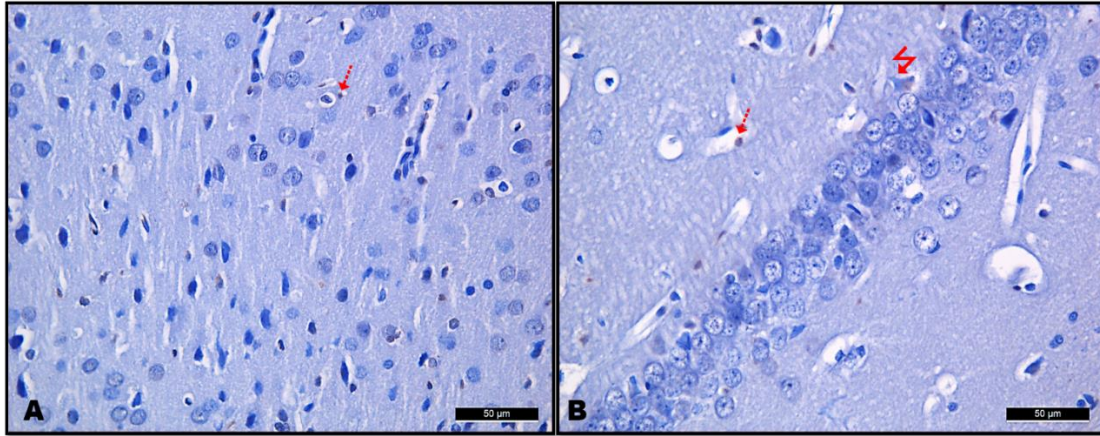
4.4.3. TUNEL bulguları

Dokuda DNA fragmantasyonuna bağlı apoptotik hücreleri saptamak için uygulanan TUNEL yöntemi sonucunda Kontrol, Sham Kontrol, Sham Melatonin ve Melatonin gruplarına ait korteks ve hipokampus bölgelerinde çok az sayıda TUNEL (+) nöron ve yer yer yine çok az sayıda TUNEL (+) nöroglia hücresi tespit edildi (Resim 4. 25-28 A ve B).



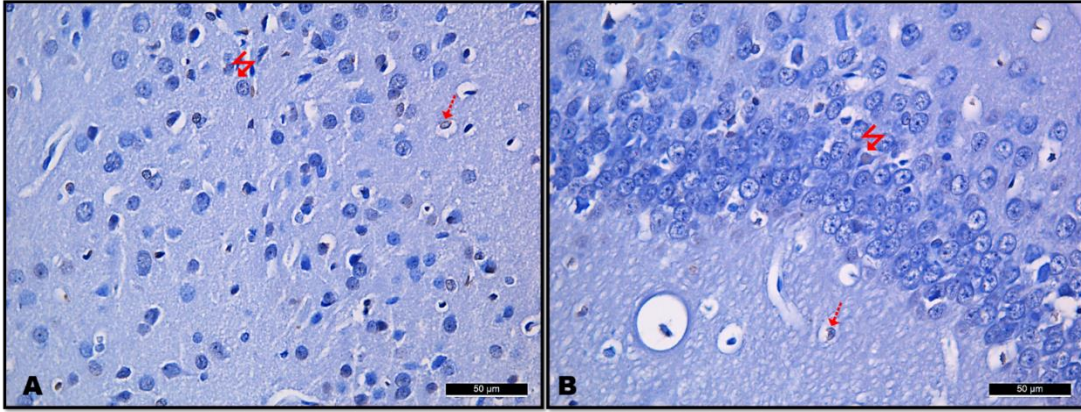
Resim 4.25. Kontrol grubu beyin korteksi (A) ve hipokampüsü (B)

↗ : TUNEL (+) nöronlar ve ↗ : TUNEL (+) nöroglia hücreleri izleniyor (TUNEL-Hematoksilen x400).



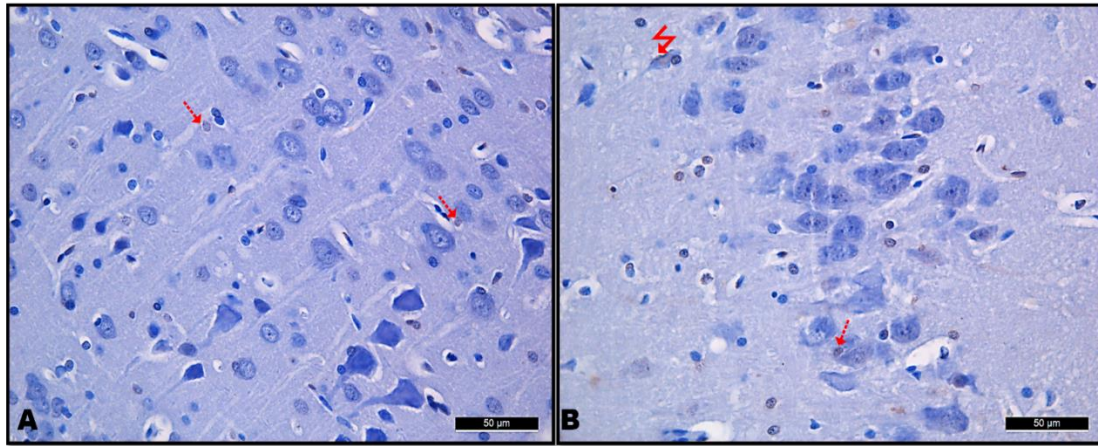
Resim 4.26. Sham kontrol grubu beyin korteksi (A) ve hipokampüsü (B)

↗ : TUNEL (+) nöronlar ve ↗ : TUNEL (+) nöroglia hücreleri izleniyor (TUNEL-Hematoksilen x400).



Resim 4.27. Sham melatonin grubu beyin korteksi (A) ve hipokampüsü (B)

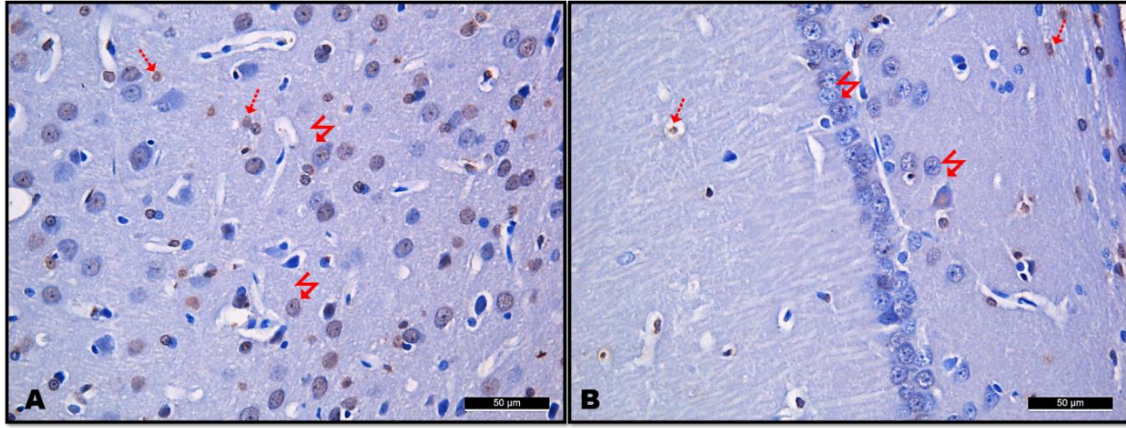
↗ : TUNEL (+) nöronlar ve → : TUNEL (+) nöroglia hücreleri izleniyor (TUNEL-Hematoksilen x400).



Resim 4.28. Melatonin grubu beyin korteksi (A) ve hipokampüsü (B)

↗ : TUNEL (+) nöronlar ve → : TUNEL (+) nöroglia hücreleri izleniyor (TUNEL-Hematoksilen x400).

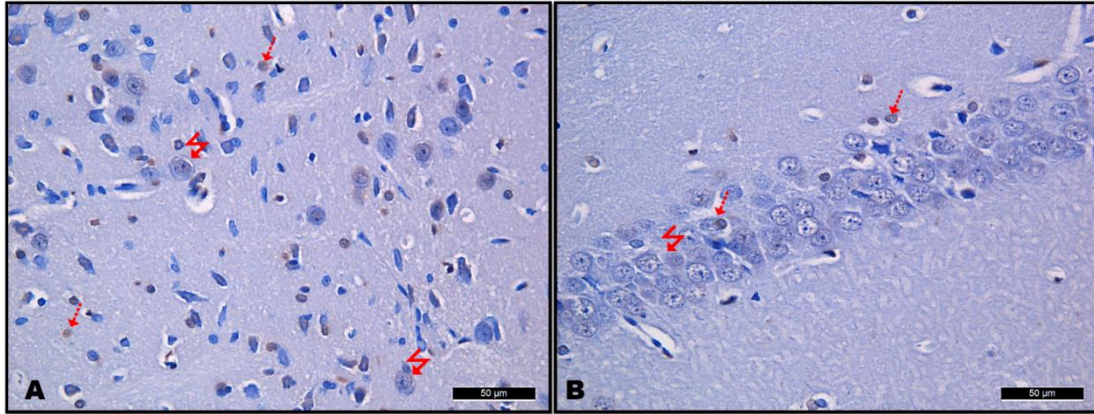
Buna karşın, Radyasyon uygulanan grupta hem korteks ve hem de hipokampüste çok sayıda TUNEL (+) nöron ve nöroglia hücresi ayırt edildi. Kortekste görülen TUNEL (+) hücrelerin, hipokampüse kıyasla görece daha fazla olduğu dikkati çekti. Bu bulgunun, Hematoksilen-Eozin boyamalarda bu gruba ait kortekste görülen anormal morfolojili nöron yoğunluğu ile örtüştüğü tespit edildi. Kortekste hem nöron ve hem de nöroglial hücrelerde görülen apoptozisin, hipokampüste daha çok nöroglial hücrelerde ayırt edildiği dikkati çekti (Resim 4. 29A-B).



Resim 4.29. Radyasyon grubu beyin korteksi (A) ve hipokampüsü (B)

↗ : TUNEL (+) nöronlar ve ↘ : TUNEL (+) nöroglia hücreleri izleniyor (TUNEL-Hematoksilen x400).

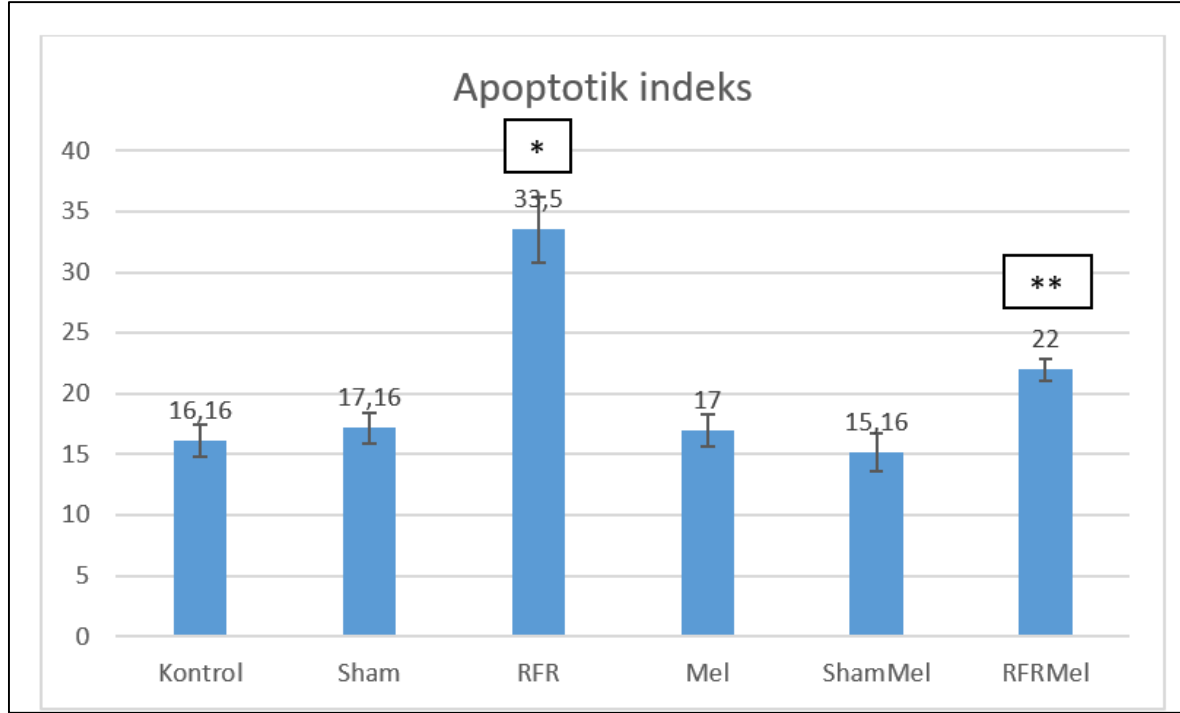
Radyasyon ve Melatoninin birlikte uygulandığı grupta yapılan incelemelerde, hem korteks ve hem de hipokampüste, çoğunluğu nöroglial hücrelerde olmak üzere yine yer yer nöronlarda da TUNEL (+) hücreler tespit edildi. TUNEL (+) hücre yoğunluğunun, radyasyon uygulanan grup ile aynı şiddette olmadığı, ancak oranın kontrol grupları seviyesine de henüz indirgenmemiş olduğu dikkati çekti (Resim 4. 30 A-B).



Resim 4.30. Radyasyon ve melatonin uygulanan gruba ait beyin korteksi (A) ve hipokampüsü (B)

↗ : TUNEL (+) nöronlar ve ↘ : TUNEL (+) nöroglia hücreleri izleniyor (TUNEL-Hematoksilen x400).

RFR grubunda apoptotik indeks değerlerinin kontrol ve sham gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü ($p < 0,005$). Apoptotik indeks değerlerinin RFR melatonin grubunda, RFR grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük olduğu gözlemlendi ($p < 0,05$). Ayrıca RFR melatonin grubunda apoptotik indeks değerleri melatonin ve sham melatonin gruplarına göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu ($p < 0,05$) (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Apoptotik indeks ortalama $\pm$ standart hata değerleri

* : Kontrol ve sham grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı fark var ($p < 0,005$)

** : RFR, Melatonin ve Sham Melatonin gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı fark var ($p < 0,05$)

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında 30 gün süresince günde 30 dakika 2600 MHz RFR uygulamasının (1 g doku başına SAR: 0,44 W/kg, 10 g doku başına SAR: 0,295 W/kg), sıçanların beyin dokularında oksidatif parametrelerde (MDA, MPO ve NOx) artışa, antioksidan seviyelerinde (GSH-Px, GSH ve SOD) ise azalmaya yol açtığı, eksojen melatonin uygulamasının oksidatif etkileri anlamlı düzeyde geriletmediği tespit edilmiştir. Aynı zamanda RFR maruziyetinin beyin dokusunda yapısal değişimleri indüklediği, apoptozis ve DNA hasarı artışına neden olduğu, eksojen melatonin uygulamasının (10 mg/kg) ise apoptozis ve DNA hasarında azalmaya yol açarak, RFR maruziyetinin olumsuz etkilerine karşı koruyucu olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen bulgular 2021 Ocak ayında Bioelectromagnetics dergisinde yayınlanmıştır [204].

Gelişen teknoloji ile birlikte, insanoğlunun RFR maruziyeti gün geçtikçe artmaktadır. Ev, okul, iş yeri, caddeler, sokaklar vb. hemen her yerde RFR yayılımı yapan kaynak veya kaynaklar mevcuttur. RF alanların neden olabileceği biyolojik etkiler bu nedenle çok büyük önem taşımaktadır. Cep telefonları, en yaygın kullanılmakta olan RFR kaynaklarıdır. Cep telefonu kullanımı ile beyin tümörü riski arasında ilişki bulunduğu ve kullanım miktarı (yıl ve maruziyet saati) arttıkça riskin de arttığı belirtilmiştir [205]. Cep telefonu kullanımı ile beyin tümörü ilişkisi nedeni ile RF alanlar, IARC tarafından 2011 yılında grup 2B karsinojen olarak sınıflandırılmıştır [2]. IARC danışma heyeti (advisory group), RF alanlara dair sınıflandırmanın güncellenmesinin gerekli ve yüksek öncelikli olduğunu belirtmişlerdir [206].

Normal hücrel metabolik süreçlerin kaçınılmaz bir sonucu olarak serbest radikal oluşumu meydana gelmektedir ancak patolojik koşullarda oluşan serbest radikal miktarı çok daha fazla olabilmektedir. Serbest radikaller bir veya birden fazla sayıda eşlenmemiş elektron içeren, yüksek reaktiviteye sahip kimyasal moleküllerdir [207]. Serbest radikaller (OH⁻, NOx, H₂O₂ vb.) lipid peroksidasyonuna, proteinlerde oksidasyon ve parçalanmaya (degradasyon), bazı enzimlerde oksidasyona yol açmaktadır [208]. Serbest radikallerde meydana gelen artış hücrelerdeki proteinler, lipidler ve DNA da hasara yol açmakta ve bu nedenle organizma için toksik etkiye sahip olmaktadır [140]. Nitrik oksit (NOx), nitrozatif hasarı indükleyen hücrel moleküller ile etkileşime girebilen nitrojen içermeyen bir radikaldir. Nitrik oksitin nörotoksik etkilerinin, birden fazla mekanizma aracılığıyla

meydana geldiği belirtilmektedir. Bu mekanizmalar şu şekilde sıralanmıştır: NO_x mitokondriyal solunum zincirini inhibe ederek, ATP sentezinin azalması ve enerji yetersizliğinin oluşmasına neden olmaktadır. Glutamat alımını bloke ederek, yüksek seviyelerde hücre dışı glutamat birikimini takiben, eksitotoksik hücre ölümüne neden olmaktadır. Ayrıca NO_x, süperoksit radikaliyle reaksiyona girerek hücrel bileşenlere zarar veren oldukça reaktif peroksinitrit radikalini oluşturabilmektedir [209]. Nitrik oksitin nörodejeneratif süreçlerde de rol oynayabileceği belirtilmektedir [135]. Bu çalışmada termal olmayan düzeyde 2600 MHz RFR uygulamasının (1 g doku başına SAR: 0,44 W/kg, 10 g doku başına SAR: 0,295 W/kg) sıçan beyin dokusunda NO_x düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede artışa yol açtığı, eksojen verilen melatoninin ise bu artışı önlediği saptanmıştır.

Lipid peroksidasyonu, hücrel membranların serbest radikal aracılı hasarı sonucu meydana gelen bir süreçtir. Bu süreçte, malondialdehit (MDA) gibi aldehitler de dâhil olmak üzere birkaç nispeten kararlı son ürün oluşur. MDA, lipid peroksidasyonunun ilk parçalanma ürünlerinden biridir [210]. MDA'nın sitotoksik ve mutajenik etkilerinin olduğu ve aterosklerozisin başlangıcında rol oynayabildiği belirtilmektedir [211]. Alzheimer hastalığı, diyabet ve bazı kanser türlerinde de MDA düzeylerinde yükseklik bulunduğu belirtilmiştir [175]. Bu çalışmada RFR'ın lipid peroksidasyonuna yol açtığı, RFR ile birlikte verilen melatoninin ise RFR kaynaklı lipid peroksidasyonunu önleyebildiği gözlenmiştir.

Myeloperoksidaz (MPO), endojen olarak serbest radikal üreterek, bir antimikrobiyal enzim (bakteri, mantar, virüs, çok hücreli organizmalar ve memeli hücreleri üzerinde etkili) işlevi görmektedir [131]. Hidrojen peroksit (H₂O₂) ve klorid rekasiyonunu katalizleyerek, güçlü bir oksidan olan hipokloröz asit (HOCl) oluşumuna neden olur [212]. HOCl, biyolojik moleküller ile etkileşerek sekonder radikallerin oluşumuna yol açar [131]. MPO kökenli oksidanların (HOCl, kloraminler, OH⁻ radikali vd.) fazla üretilmesinin doku hasarına neden olduğu ve myeloperoksidazın inflamatuvar hastalıkların başlangıcında ve ilerlemesinde (progresyon) etkili rol oynadığı belirtilmektedir. Nörodejeneratif hastalıklarda MPO, MPO kökenli oksidanlar ve lipid peroksidasyonunun beyin dokusunda artmış olduğu gösterilmiştir [213]. Bu çalışmada, RFR maruziyetinin beyin dokusunda MPO düzeylerinde artışa yol açtığı, eksojen melatonin uygulamasının ise bu artışı normalize ettiği gösterilmiştir.

Organizmada serbest radikal hasarından korunmaya yönelik mekanizmalar gelişmiştir. Serbest radikallere karşı temel savunma, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT), indirgenmiş glutatyon (GSH), askorbik asit gibi antioksidanlar tarafından yapılmaktadır [208]. SOD ve GSH-Px enzimatik antioksidanlardır. GSH-Px hidrojen peroksit ve lipid peroksit detoksifikasyonunu sağlamaktadır [175]. SOD, süperoksitin (O_2) H_2O_2 ve suya dönüşümünü katalizleyen önemli bir antioksidandır. İnsanlarda SOD enziminin 3 izoformu mevcuttur. SOD1 (Cu-Zn-SOD) sitoplazmada ve mitokondri membranları arası boşlukta, SOD2 (Mn-SOD) mitokondri matriksinde, SOD3 (Cu-Zn-SOD) hücre dışı ortamda bulunmaktadır [214]. GSH (glutatyon), detoksifiye edici enzimlerin birkaçının kofaktörüdür, hidroksil radikalini ve moleküler oksijeni süpürücü etkiye sahiptir, plazma membranı boyunca aminoasit transportunda rol alır. Aynı zamanda GSH, vitamin C ve E gibi önemli antioksidanların aktif formlarına dönmelerini sağlayabilmektedir. Bu özellikleri ile GSH oksidatif strese karşı koruyucu olmaktadır [175]. Bu çalışmada RFR'ın antioksidan enzim düzeylerinde baskılanmaya neden olduğu, güçlü bir antioksidan olan melatoninin RFR ile birlikte verilmesi durumunda antioksidan enzim düzeylerinde RFR kaynaklı azalmanın önlenebildiği saptanmıştır.

Oksidatif stres serbest radikaller ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması sonucu meydana gelen bir durumdur. Oksidatif stres lipid peroksidasyonu, protein ve nükleik asitlerin değişimi ile meydana gelen hücresel hasar neticesinde, mitokondri aracılı apoptozise neden olarak hücre ölümü ile sonuçlanabilmektedir [212]. Oksidatif stres kardiyovasküler hastalıklar, kanser, nörolojik hastalıklar, diyabet gibi pek çok hastalığın ve yaşlanmanın patofizyolojisinde önemli role sahiptir [175]. Beyin dokusunda oksidatif, hasar nörodejenerasyona sebep olabilir [150]. Bu tez çalışmasında RFR maruziyetinin sıçan beyin dokusunda oksidatif parametrelerde artışa, antioksidan enzim düzeylerinde ise azalmaya yol açarak oksidatif stres oluşumuna neden olduğu gözlenmiştir.

RFR maruziyetine sekonder olarak ortaya çıkan oksidatif stresin, RF alanların biyolojik etkilerinin altında yatan sebeplerden biri olabileceği düşünülmektedir. RF alanların oksidatif etkilerine yönelik pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların sonuçları deney sistemlerinin farklılıkları (maruziyet süresi, frekans, güç yoğunluğu, SAR, deney hayvanı, hücre, doku farklılığı vb.) nedeni ile çelişkili bulgular içermektedir. Bu çelişkilerin ortadan kaldırılabilmesi ancak yapılacak yeni çalışmalar ile mümkün olabilmektedir. Beyin dokusu, yüksek oksijen tüketimi ve antioksidan enzim aktivitesinin düşüklüğü nedeniyle oksidatif

hasara daha duyarlıdır [5]. Alkis ve ark. [215] RFR maruziyetinin beyin dokusu üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Farklı frekanslarda (900 MHz, 1800 MHz ve 2100 MHz – SAR değerleri 1 g doku için sırasıyla 0,0845 W/kg, 0,04563 W/kg ve 0,03957), 6 ay (2 saat/gün) süresince uygulanan RFR'ın sıçan beyin dokusunda oksidatif etkilerinin olduğu saptanmıştır. Bilgici ve ark. [216] 900 MHz RFR maruziyetinin (3 hafta, 1 saat/gün, SAR: 1,08 W/kg) sıçan beyin dokusu ve serum üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. RFR uygulanan sıçanların beyin dokusunda MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış olduğu ancak NOx düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değişim olmadığı gözlenmiştir. Serum NOx seviyesinin ise RFR uygulaması ile istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış gösterdiği belirtilmiştir. Kesari ve ark. [217] 35 gün (2 saat/gün) boyunca 2,45 GHz (güç yoğunluğu: 0,34 mW/cm², SAR: 0,11 W/kg) RFR uygulamasının wistar sıçanların beyin dokusunda, antioksidan enzimlerin düzeylerinde düşmeye (SOD, GPx), katalazda artışa, histon kinaz aktivitesinde azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir. 900 MHz RFR uygulamasının (10 ay, 2 saat/gün) sıçan beyin dokusunda MDA seviyelerinde artışa neden olduğu ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmadığı belirtilmiştir [218]. Chauhan ve ark. 2,45 GHz RFR uygulamasının (35 gün, 2saat/gün, güç yoğunluğu: 0,2 mW/cm², SAR: 0,14 W/kg) sıçanların bazı dokularında (beyin, karaciğer ve dalak) lipid peroksidasyonunda artışa yol açtığını göstermişlerdir [219]. Bir başka çalışmada ise, RFR maruziyeti uygulanan (900 MHz, 60 gün, 1 saat/gün) sıçanların beyin, karaciğer ve böbrek dokularında MDA seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış, total antioksidan kapasite seviyelerinde ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma olduğu saptanmıştır [220]. Esmekaya ve ark. [221] RFR maruziyetinin wistar albino cinsi sıçanların akciğer, kalp ve karaciğer dokuları üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmalarında 3 hafta (20 dk/gün, SAR: 1,20 W/kg) 900 MHz RFR uygulamasının MDA, NOx düzeylerinde kontrol ve sham gruplarına kıyasla artışa neden olduğu ($p < 0,05$), GSH seviyesinde ise azalmaya yol açtığı ($p < 0,05$) belirtilmiştir. Ozguner ve ark. [222] RF alanların sıçan miyokard dokusunda oksidatif etkilerini araştırdıkları çalışmalarında RFR maruziyetinin (10 gün, 30 dakika/gün, SAR: 0,016 W/kg) SOD, CAT ve GSH-Px enzim aktivitelerini azalttığı, MDA ve NOx seviyelerini arttırdığı saptamışlardır. Kamali ve ark. [223] Wi-Fi maruziyetinin (10 hafta, 24 saat/gün) antioksidan enzim seviyelerinde (CAT, GSH Px ve SOD) azalmaya yol açtığını saptamışlardır. RFR maruziyetinin TBARS ve GSH seviyelerinde ise, değişime neden olmadığını gözlemlemişlerdir. Bu çalışmaların aksine, RFR uygulamasının oksidatif etkilerinin bulunmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Demirel ve ark. [224] sıçanlara 20 gün süresince, 3 G cep telefonu (SAR: 0,5 W/kg)

kullanarak RFR maruziyeti uyguladıktan sonra, gözde (GSH-Px ve CAT) ve kanda (MDA ve GSH) oksidatif etkiler yönünden incelemeler yapmışlardır. RF alanların göz ve kan üzerinde oksidatif etkisinin bulunmadığını saptamışlardır. Bir başka çalışmada, insan MCF10A (meme epiteli) hücre hattında 2 saat RFR maruziyetinin (837 MHz, 837 MHz ve 1950 MHz birlikte) oksidatif etkisinin bulunmadığı gösterilmiştir [225]. Höytö ve ark. [226] iki farklı hücre hattında (insan nöroblastoma SH-SY5Y ve fare fibroblast L929) uyguladıkları CW (sürekli dalga) ve GSM modüle RFR maruziyetinin (872 MHz, 1 saat ve 24 saat) tek başına oksidatif stresi indükleyen etkisinin bulunmadığını saptamışlardır. GSM modüle RFR uygulamasının, lipid peroksidasyonunu indükleyen bir ajan (terbütilhidroperoksit, t-BOOH) ile birlikte uygulandığında lipid peroksidasyonunu artırıcı etkisinin yalnızca SH-SY5Y hücre hattında gözlemlendiği belirtilmiştir. ROS üretimini indükleyen bir ajan (menandion) ile birlikte RFR uygulamasının ise sadece fare fibroblast hücre hattında kaspaz-3 aktivitesinde artışa yol açtığı gösterilmiştir. Gannes ve ark. farklı frekanslarda uyguladıkları RF alan maruziyetinin sıçan beyin dokusunda nöronal hasara yol açmadığını göstermişlerdir [10].

Bu doktora tez çalışmasında 30 gün (30 dk / gün, 5 gün / hafta) süresince uygulanan 2600 MHz RFR maruziyetinin sıçan beyin dokusunda oksidatif parametrelerde artışa, antioksidan seviyelerinde ise azalmaya yol açtığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada RFR maruziyeti haftada 5 gün olarak gerçekleştirilmiştir. Uygulamanın aralıksız olarak 30 gün boyunca gerçekleştirilmesi durumunda gözlenen etkilerin daha fazla olabileceği düşünülmektedir. Günde 30 dakika gibi kısa süreli bir maruziyetin dahi bu derecede hasara yol açması RFR'ın etkilerini gösterme açısından çok önemlidir.

RF alanların oksidatif etkilerinin altında yatan sebeplerden biri melatonin salınımını etkilemesi olabilir. Uzun süreli (> 25 dk/gün) cep telefonu kullanımının melatonin üretiminde azalmaya yol açabileceği belirtilmiştir [227]. Qin ve ark. [73] 32 gün (2 sa/gün) 1800 MHz RF maruziyetinin melatonin ve testosteron sirkadiyen ritimlerinde bozulmaya neden olduğunu ve melatoninin RF maruziyetine daha duyarlı olduğunu saptamışlardır. Kesari ve ark. [71] 45 gün (2 sa/gün) 900 MHz mikrodalga radyasyonun beyin dokusu üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, RF maruziyetinin ROS üretiminde artış, GSH-Px ve SOD seviyelerinde azalmaya neden olduğunu, bunun yanında melatonin seviyesinde azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada melatonin uygulaması sonrasında RF alanların indüklediği oksidatif hasarda azalma meydana geldiği gözlenmiştir.

Bu durumun olası sebeplerinden biri, RF alanların melatonin sentezinde veya salınımında azalmaya yol açmış olması olabilir.

Melatonin serbest oksijen ve serbest nitrojen türlerini direkt nötrazile edebilen etkili bir antioksidandır. Antioksidan özelliğinin yanı sıra melatonin uyku düzeni, immun sistem yanıtı, kanser inhibisyonu ve detoksifikasyon gibi pek çok süreçte rol oynamaktadır [182]. Melatoninin oksidatif stres varlığında, antioksidan enzimlerin aktivitesinde artışı tetiklediği bilinmektedir. Sewerynek ve ark. [228] LPS (lipopolisakkarit) uygulanan sıçanlarda melatoninin GSH-Px aktivitesini arttırdığını göstermişlerdir. Travmatik beyin hasarı oluşturulan farelerde melatonin uygulanmasının beyin dokusunda antioksidan seviyelerinde artışa yol açabildiği belirtilmiştir [229]. Bir diğer çalışmada, Okatani ve ark. maternal melatonin enjeksiyonunu (10 mg/kg) takiben 1., 2. ve 3. saatlerde anne serumu ve fetüs beyin dokusunda antioksidan (GSH-Px ve SOD) düzeylerini ölçmüşlerdir. Enjeksiyon sonrası 1. saatte GSH-Px ve SOD aktivitelerinin pik (uç) değere ulaştığını gözlemlemişlerdir. Maternal melatonin enjeksiyonunun fetüsü fetal hipoksi, preeklampsi gibi nörodejeneratif koşullara karşı koruyucu etkisinin olabileceği belirtilmiştir [230].

Melatonin düzeylerinin psikiyatrik bozukluğu olan bireylerde, uyku problemi olan kişilerde ve kanser hastalarında (meme, akciğer, prostat) sağlıklı bireylere göre daha düşük olduğu ve hastalık evresine göre farklılık gösterdiği (ileri evre kanserde melatonin konsantrasyonlarının azaldığı) bildirilmiştir [231]. Yaşlanma ile birlikte melatonin tepe düzeylerinde ve nokturnal melatonin düzeylerinde azalma meydana geldiği tespit edilmiştir [231, 232]. Bu azalmanın, yaş ile birlikte antioksidan savunmanın azalması ile bağlantılı olduğu belirtilmiştir [233]. Avrupa ülkelerinde, 55 yaş üstü bireylerde insomnia (uykuya dalma veya uyku halini sürdürme güçlüğü) tedavisinde melatonin reçeteli olarak kullanılmaktadır [234]. Yaş ile ilişkili hastalıkların önlenmesi, yaşam süresinin ve yaşam kalitesinin artırılması için ileri yaştaki bireylere melatonin takviyesinin faydalı olabileceği bildirilmiştir [233]. Melatoninin analjezik ve anksiyolitik etkilerinin bulunduğu ve jet lag kaynaklı yorgunluğun önlenmesinde, vardiyalı çalışma durumunda, depresyonda kullanımının faydalı olabileceği belirtilmiştir [234]. Uyku problemi yaşayan bireylerde, düşük yan etki profili nedeni ile melatoninin uyku ilacı kullanımından daha yararlı olabileceği belirtilmiştir [235]. Bu çalışmaların aksine, Buscemi ve ark. melatonin kullanımının, sekonder uyku bozukluklarında veya jet lag üzerinde etkisinin bulunmadığını,

kısa süreli kullanım için güvenli olduğunu ancak uzun vadeli kullanımı üzerine ileri araştırmaların yapılması gerektiğini vurgulamıştır [236].

Bu çalışmada RFR maruziyetine (2600 MHz, 30 gün, 30 dk/gün, 1 g doku için SAR: 0,44 W/kg, 10 g doku için SAR: 0,295 W/kg) sekonder ortaya çıkan oksidatif hasarın melatonin enjeksiyonu ile azaldığı gözlenmiştir. Bizim çalışmamıza benzer şekilde Bilgici ve ark. sıçanlara 3 hafta (1 sa/gün, SAR 1,08 W/kg) 900 MHz RF uygulamasının beyin dokusunda lipid ve protein oksidasyonunu arttırdığını ve sarımsak tozunun RF radyasyonun neden olduğu oksidatif strese karşı koruyucu etkisinin olduğunu göstermişlerdir [216]. Köylü ve ark. ise tarafından yapılan çalışmada, 2 hafta (5 gün/hf, 30 dk/gün) 900 MHz RFR maruziyetinin sıçanların beyin dokusu ve hipokampusunda lipid peroksidasyonunu arttırdığı, melatonin uygulamasının (100 mikrogram/kg, sc, MW maruziyeti öncesinde) hipokampusta lipid peroksidasyonunu azalttığı ancak beyin korteksinde meydana gelen lipid peroksidasyon artışının melatonin uygulamasından etkilenmediği saptanmıştır [17]. Bir antioksidan olan kafeik asit fenil esterinin RF alanların kalp dokusu üzerindeki etkileri açısından koruyucu rolü olabileceği belirtilmiştir [222].

Melatonin kan beyin bariyerinden geçebilmektedir [182]. Bu nedenle beyin dokusunda RF alanların etkileri açısından diğer antioksidanlardan daha üstün bir koruma sağlayacağı düşünülmektedir. Bu sebeple çalışmamızda antioksidan olarak melatonin tercih edilmiştir. Çalışmamızda RFR uygulamasını takiben her gün saat 17.00'de melatonin enjeksiyonu yapılmıştır. Gün içinde RFR'a maruz kaldıktan sonra koruyucu amaçlı gece alınan melatoninin etkisini gözlemlemeyi amaçladığımız için, çalışmamızda melatonin uygulaması RFR maruziyeti sonrasında yapılmıştır.

Bu çalışmada RFR maruziyetinin sıçan beyin dokusunda oksidatif ve dejeneratif değişimleri indüklediği gözlenmiştir. Literatürde bu çalışma ile benzer sonuçlar gösteren araştırmalar mevcuttur. Motawi ve ark. 60 gün, günde 2 saat (SAR: 1,13 W/kg) 900 MHz RFR uygulamasının sıçan beyin dokusu üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. RFR maruziyetinin sıçan beyin dokusunda oksidatif değişimlere yol açtığı, apoptotik hücre ölümünü tetiklediği ve nöronal hasar oluşturduğu belirtilmiştir [5]. Sharma ve ark. 3 hafta (5 gün / hafta, 4 sa / gün) 2100 MHz RF (beyin doku SAR: 0,453 W/kg) radyasyon uygulamasının wistar sıçanların beyin dokusunda oksidatif stresi indüklediğini, dejenerasyona yol açtığını ve sıçanların kognitif fonksiyonlarını etkilediğini göstermişlerdir [8]. Bir başka çalışmada ise,

2,45 GHz RFR uygulamasının (35 gün, 2 saat/gün) sıçanların farklı dokularında (beyin, karaciğer, testis, böbrek ve dalak) histolojik değişikliklere neden olduğu ve nöronal hasara yol açtığı gösterilmiştir [219].

RFR elektromanyetik spektrumun iyonlaştırıcı olmayan bileşenlerinden biridir ve moleküllerin kimyasal bağlarını direkt olarak kırabilecek yeterli enerjiye sahip değildir. Bu nedenle RF alanların DNA hasarına yol açması indirekt veya sekonder bir etki sonucu meydana gelmekte şeklinde düşünülmektedir. RF radyasyona sekonder DNA hasarının olası sebeplerinden birinin hücrelerde artan serbest radikaller olduğu belirtilmektedir [237]. TUNEL boyama yöntemi apoptozisin son safhasında meydana gelen DNA hasarının saptanmasını sağlayan bir yöntemdir [193]. TUNEL boyamasının DNA fragmentasyonunun bir belirteci olduğu ve bu yöntemin apoptoz ve nekrozu ayırt etmek için kullanılabileceği bildirilmiştir [238]. Bu çalışmada RFR maruziyetinin sıçan beyin dokusunda TUNEL pozitif hücre sayısında artışa neden olduğu, melatonin takviyesinin (10 mg/kg) ise beyin dokusunda TUNEL pozitif hücre sayısında azalma sağladığı gözlenmiştir. Melatonin + RFR grubunda TUNEL pozitif hücre sayısının Melatonin ve Sham Melatonin gruplarına göre anlamlı yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ek olarak RF alanların oluşturduğu DNA hasarının melatonin takviyesi ile tamamen önlenemediği gösterilmiştir. Bu nedenle RF radyasyona sekonder DNA hasarının sadece serbest radikal artışına bağlı olmadığı, bu konu ile ilgili ileri araştırmaların yapılması gerektiği düşünülmektedir. Bizim çalışmamızın aksine Akdag ve ark. yaptıkları çalışmalarında 1 yıl süre ile 2,45 GHz RFR uygulaması yapılan sıçanların beyin, karaciğer, böbrek, deri ve testis dokularında DNA hasarında artış olduğunu (comet assay yöntemi ile) ancak bu artışın sadece testis dokusunda istatistiksel olarak anlamlı olduğunu, beyin dokusundaki artışın anlamlı olmadığını göstermişlerdir [74]. RFR maruziyetinin sıçan beyin dokusunda DNA hasarına yol açtığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır [215, 217]. Güler ve ark. [239] 1800 MHz RFR maruziyetinin tavşan beyin dokusunda DNA hasarında artışa neden olduğunu ancak maruziyetin TUNEL boyama üzerinde etkisinin olmadığını göstermişlerdir. Bir başka çalışmada ise, 900 MHz RFR maruziyetinin (35 gün, 3 saat/gün) fare testis dokusunda oksidatif stres ve DNA hasarına yol açtığı ve melatonin uygulamasının (5 mg/kg, içme suyu ile) bu etkilerde azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir [240].

RF alanların doku histopatolojisi üzerinde etkileri olabildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Gülüne ve ark. [241] sıçanlara hamilelik boyunca uygulanan (günde 60 dk) 900

MHz RFR maruziyetinin erkek yavruların hipokampusu üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmalarında, RFR maruziyetinin hipokampuste nöronal hasara yol açtığı ve bu hasarın omega 3 veya melatonin ile azaltılabileceğini göstermişlerdir. Narayanan ve ark. [242] RFR uygulamasının hipokampuste morfolojik değişimlere yol açtığını belirtmişlerdir. Bir diğer çalışmada, 2450 MHz RF radyasyonun (35 gün, 2 saat/gün) sıçan beyin dokusunda piramidal nöron yoğunluğunda azalma, perivasküler boşlukta genişleme, serebral kortikal nöronlarda dejenerasyon gibi nörodejeneratif etkilere yol açtığı gösterilmiştir [219]. Aydoğan ve ark. tarafından gerçekleştirilen çalışmada, 2100 MHz RFR maruziyetinin (10 ve 40 gün, 6 saat/gün) parotis bezinde histopatolojik değişimleri indüklediği ve maruziyet süresi arttıkça bezde ortaya çıkan değişimlerin de arttığı gözlenmiştir [243]. Bu çalışmaların aksine, Grafström ve ark. RF radyasyonun (55 hafta, haftada 1 kez 2 saat, 900 MHz) sıçan beyin dokusunda histopatolojik değişimlere yol açmadığını tespit etmişlerdir [244].

Bu çalışmada RF radyasyonun beyin korteksinde ve özellikle hipokampus CA3 bölgesinde yapısal dejenerasyonlara yol açtığı, nöron ve nöroglia hücrelerinde kayba neden olduğu ve nöronlara bağlı kaybın ilgili bölgelerde artan astrosit yoğunluğu ile kompanse edildiği gözlenmiştir. Kortekste hem nöron ve hem de nöroglial hücrelerde görülen apoptozisin, hipokampuste daha çok nöroglial hücrelerde ayırt edildiği dikkati çekmiştir. Sinir hücrelerinin yenilenme yetenekleri olmadığı için nöronlarda meydana gelen apoptozis nörodejeneratif hastalıklara gidişe yol açabilmektedir. Glial hücrelerde oluşacak apoptozis ise malignite riski taşıyabilmektedir [237]. Bu çalışmada RF alanların hem nöronlarda hem de glia hücrelerinde apoptozise yol açtığı gösterilmiştir. Bu nedenle RF alanların hem nörodejeneratif hastalıklar için hem de beyin tümörü için risk faktörü olabileceği söylenebilir. Ayrıca, melatoninin uygulamasının RFR maruziyetinin yol açtığı yapısal dejenerasyonların giderilmesinde etkin rol oynadığı tespit edilmiştir.

Nörodejeneratif hastalıkların ve beyin dokusunda meydana gelen hasarın, astrositlerden sentezlenen GFAP miktarında artışa yol açtığı bildirilmiştir [245]. Demans ve Alzheimer hastalığı tanılı hastalarda GFAP seviyelerinin yüksek olduğu gösterilmiştir [198]. Beyin hasarı sonrasında GFAP pozitif hücre sayısının arttığı tespit edilmiştir [246]. RFR maruziyetinin astrosit aktivasyonunda artışa neden olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur. Brillaud ve ark. [247] 15 dakika 900 MHz (SAR: 6 W/kg) RFR uygulamasından 2 ve 3 gün sonra sıçan beyin dokusunda (frontal korteks ve striatumda) GFAP boyamasında istatistiksel olarak anlamlı derecede artış olduğunu, maruziyeti takiben 6 ve 10 gün sonra yapılan

incelemelerde ise, GFAP boyamasında anlamlı bir farklılık olmadığını tespit etmiştir. Gözlenen bu artışın glial hücre hipertrofisi sonucu meydana gelmiş olabileceği belirtilmiştir. Akut mikrodalga maruziyetinin glial hipertrofi veya hiperplaziyi indüklediğini belirten bir başka çalışmada ise 15 dakika 900 MHz (SAR: 6 W/kg) RFR uygulamasının beyin dokusunda GFAP immünoreaktivitesinde artışa yol açtığı gözlenmiştir [248]. Bu çalışmada RFR maruziyeti uygulanan grupta GFAP immunoreaktivitesinin kontrol, sham ve RFR melatonin gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, H skor analizi ile doğrulanmıştır. RFR grubunda H skor düzeylerinin, kontrol, sham ve RFR melatonin gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, melatonin uygulamasının GFAP immünoreaktivitesinde ve H skor seviyelerinde azalmaya yol açtığı saptanmıştır.

RFR maruziyetinin zararlı etkilerini araştıran çalışmalar ile birlikte, faydalı etkilerini gösteren çalışmalar da yapılmıştır. RF alanların indüklediği oksidatif stresin kanser tedavisinde kullanılabileceği belirtilmektedir. Çiğ ve Nazıroğlu [249] kaynaktan çeşitli uzaklıklarda (0, 1, 5, 10, 20 ve 25 cm) gerçekleştirilen, farklı frekanslarda (900 MHz, 1800 MHz ve 2450 MHz) RF alan uygulamasının insan meme kanseri hücre hattında oksidatif stres ve apoptozis üzerine etkilerini araştırmışlardır. 0, 1 ve 5 cm mesafede uygulanan RF alanların oksidatif stres ve apoptozisi indüklediği gösterilmiştir. 10 cm mesafenin RF alanların zararlı etkileri açısından koruyucu olduğu belirtilmiştir.

Fiziksel veya kimyasal ajanların düşük dozlarda uygulanması sonucunda, bu ajanların yüksek dozlarının meydana getireceği zararlı etkilere karşı kazanılan direnç adaptif yanıt olarak tanımlanmaktadır [250]. RF/Mikrodalga radyasyon maruziyetinin, iyonlaştırıcı radyasyona karşı adaptif yanıt gelişimini indüklediği saptanmıştır [251]. GSM cep telefonu ile uygulanan RF maruziyetinin bakteriyel enfeksiyonlara karşı direnç gelişimini sağladığı gösterilmiştir [252]. Bu nedenle RF alanların radyoterapi (ışın tedavisi) alan immunsuprese bireylerde enfeksiyon gelişimini azaltıcı yönde etkisinin olabileceği belirtilmiştir [253]. RF ile indüklenen adaptif yanıtın iyonlaştırıcı radyasyonun yol açtığı hematopoetik doku hasarında azalmayı sağladığı bildirilmiştir [254].

RF alanların biyolojik etkilerinin mekanizması halen tam olarak bilinmemektedir. RF alanların dokular ile etkileşiminin, termal ve termal olmayan olarak adlandırılan 2 temel mekanizma aracılığı ile olduğu düşünülmektedir. Termal etkileşim, doku sıcaklığında RF

alan etkisiyle meydana gelen artış sonucunda ortaya çıkan biyolojik etkileri kapsamaktadır. Doku sıcaklığının artması protein ve enzimlerin yapısında bozulmaya neden olarak pek çok olumsuz sonuç doğurmaktadır. ICNIRP tarafından RF alanlar ile ilgili limitler belirlenirken, termal etkiler göz önüne alınmıştır [255] ve RFR maruziyetinin termal olmayan düzeyde etkili olmadığı belirtilmiştir [20]. Ancak RF alanların termal olmayan düzeyde de zararlı etkilerinin bulunduğunu belirten pek çok çalışma mevcuttur. Bu tez çalışmasında da termal olmayan düzeyde uygulanan RFR maruziyetinin beyin dokusunda oksidatif, apoptotik ve dejeneratif etkileri olabildiği tespit edilmiştir. Günlük hayatın hemen her alanında maruz kalmakta olduğumuz RF alanların biyolojik etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi için yeni çalışmaların yapılması büyük önem arz etmektedir.

Özetle bu çalışmada termal olmayan düzeyde uygulanan 2600 MHz RFR'ın sıçan beyin dokusu üzerindeki oksidatif ve apoptotik etkileri araştırılmıştır. Aynı zamanda antioksidan özelliği bulunan bir nörohormon olan melatonin uygulamasının, RFR ile birlikte uygulandığında koruyucu etkisinin bulunup bulunmadığı incelenmiştir. 30 gün süre ile uygulanan RFR'ın sıçan beyin dokusunda hem glial hücrelerde hem de nöronlarda apoptozis artışı ve oksidan seviyelerinde artış ile birlikte antioksidan seviyelerinde azalmaya yol açarak oksidatif stres oluşumuna neden olduğu saptanmıştır. Ayrıca RFR maruziyetinin beyin dokusunda dejeneratif değişimlere neden olduğu gözlenmiştir. Yüksek doz eksojen melatonin uygulamasının RFR'ın yol açtığı oksidatif stresi, apoptozisi ve dejenerasyonu azalttığı tespit edilmiştir. Bu tez çalışması termal olmayan düzeyde uygulanan RFR maruziyetinin beyin dokusu üzerindeki oksidatif, apoptotik ve dejeneratif etkilerinin bir arada değerlendirildiği ilk çalışmadır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında 30 gün boyunca, günde 30 dakika (gri cevherde 1 g doku için SAR: 0,44 W/kg, 10 g doku için SAR: 0,295) olarak uygulanan RFR'ın sıçan beyin dokusunda enzimatik antioksidanlar olan GSH-Px ve SOD ile enzimatik olmayan antioksidan olan GSH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmaya yol açtığı, diğer bir deyişle antioksidan aktivitede baskılanmaya neden olduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda nörodejeneratif hastalıklar ile ilişkili olduğu belirtilen ve nörotoksik etkileri olduğu gösterilmiş olan Nitrik oksit radikalinin, inflamatuvar hastalıkların başlangıcında ve progresyonunda önemli bir faktör olan Myeloperoksidaz düzeylerinin ve lipid peroksidasyonu belirteci olan MDA düzeylerinin, RFR uygulaması ile arttığı gösterilmiştir. RFR uygulamasının vücut ağırlığı üzerinde etkisinin bulunmadığı gözlenmiştir. Ayrıca, antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri bulunan melatoninin RFR ile birlikte uygulandığında, RFR'ın oksidatif etkilerine karşı koruyucu olduğu gözlenmiştir. Melatonin uygulamasının RFR ile birlikte olması durumunda antioksidan düzeylerinde artışa neden olduğu, tek başına melatonin uygulanan grupta ise kontrol grubuna kıyasla antioksidan düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı saptanmıştır. Nörodejeneratif hastalıklar ve beyin dokusunda meydana gelen hasar durumlarında sentezi artan glial fibriler asidik proteininin (GFAP), RFR maruziyeti uygulanan sıçanların beyin dokusunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek immunoreaktivite gösterdiği gözlenmiştir. RFR maruziyetinin apoptoziste artışa yol açtığı TUNEL boyama yöntemi ile saptanmıştır. RFR ile birlikte Melatonin uygulamasının, TUNEL pozitif hücre sayısında azalmaya yol açtığı ancak melatoninin RFR'ın neden olduğu apoptotik etkileri tam olarak düzeltilemediği gözlenmiştir. RF alanların termal olmayan düzeyde biyolojik etkiye yol açmadığı düşünülmektedir. Fakat bu çalışmada, termal olmayan düzeyde uygulanan (gri cevherde 1 g doku için SAR: 0,44 W/kg, 10 g doku için SAR: 0,295) 2600 MHz RFR'ın sıçan beyin dokusu üzerinde oksidatif, apoptotik ve dejeneratif etkileri olduğu saptanmıştır.

Günlük hayatta RF alan maruziyetinin mümkün olduğunca kısıtlı tutulması önemlidir. RF alanların şiddeti mesafe arttıkça azalacağından, cep telefonu ile konuşurken kulaklık kullanımı, mikrodalga fırın çalıştırıldığında yakınında bulunmamak gibi RF kaynağından olabildiğince uzak konumda olmaya yönelik tedbirler alınmalıdır. RFR maruziyetinin zararlı etkilerinden korunma amaçlı eksojen antioksidan takviyesi faydalı olabilir. Yan etki profili açısından güvenli olduğu belirtilen melatonin RFR'a karşı koruyucu ajan olarak seçilebilir, ancak kullanım dozuna yönelik ileri araştırmaların yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Stuchly, M. A. (1979). Interaction of radiofrequency and microwave radiation with living systems. *Radiation and Environmental Biophysics*, 16(1), 1-14.
2. International Agency for Research on Cancer. (2011). Iarc classifies radiofrequency electromagnetic fields as possibly carcinogenic to humans. *IARC press release No.208, Lyon, France*.
3. Belpomme, D., Hardell, L., Belyaev, I., Burgio, E., and Carpenter, D. O. (2018). Thermal and non-thermal health effects of low intensity non-ionizing radiation: An international perspective. *Environmental Pollution*, 242(Part A), 643-658.
4. Hardell, L. and Carlberg, M. (2019). Comments on the us national toxicology program technical reports on toxicology and carcinogenesis study in rats exposed to whole-body radiofrequency radiation at 900 mhz and in mice exposed to whole-body radiofrequency radiation at 1,900 mhz. *International Journal of Oncology*, 54(1), 111-127.
5. Motawi, T. K., Darwish, H. A., Moustafa, Y. M., and Labib, M. M. (2014). Biochemical modifications and neuronal damage in brain of young and adult rats after long-term exposure to mobile phone radiations. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 70(2), 845-855.
6. Abdel-Rassoul, G., El-Fateh, O. A., Salem, M. A., Michael, A., Farahat, F., El-Batanouny, M., and Salem, E. (2007). Neurobehavioral effects among inhabitants around mobile phone base stations. *Neurotoxicology*, 28(2), 434-440.
7. Lustenberger, C., Murbach, M., Dürr, R., Schmid, M. R., Kuster, N., Achermann, P., and Huber, R. (2013). Stimulation of the brain with radiofrequency electromagnetic field pulses affects sleep-dependent performance improvement. *Brain Stimulation*, 6(5), 805-811.
8. Sharma, A., Sharma, S., Shrivastava, S., Singhal, P. K., and Shukla, S. (2019). Mobile phone induced cognitive and neurochemical consequences. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 102(2019), 101684.
9. Aalto, S., Haarala, C., Brück, A., Sipilä, H., Hämäläinen, H., and Rinne, J. O. (2006). Mobile phone affects cerebral blood flow in humans. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 26(7), 885-890.
10. de Gannes, F. P., Masuda, H., Billaudel, B., Poque-Haro, E., Hurtier, A., Lévêque, P., Ruffié, G., Taxile, M., Veyret, B., and Lagroye, I. (2017). Effects of gsm and umts mobile telephony signals on neuron degeneration and blood-brain barrier permeation in the rat brain. *Scientific Reports*, 7(1), 1-11.
11. Sirav, B. and Seyhan, N. (2016). Effects of gsm modulated radio-frequency electromagnetic radiation on permeability of blood-brain barrier in male & female rats. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 75(Part B), 123-127.

12. Yakymenko, I., Tsybulin, O., Sidorik, E., Henshel, D., Kyrylenko, O., and Kyrylenko, S. (2016). Oxidative mechanisms of biological activity of low-intensity radiofrequency radiation. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 35(2), 186-202.
13. Reiter, R. J. (1995). Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain 1. *The FASEB Journal*, 9(7), 526-533.
14. Baydas, G., Gursu, M. F., Yilmaz, S., Canpolat, S., Yasar, A., Cikim, G., and Canatan, H. (2002). Daily rhythm of glutathione peroxidase activity, lipid peroxidation and glutathione levels in tissues of pinealectomized rats. *Neuroscience Letters*, 323(3), 195-198.
15. Ozguner, F., Bardak, Y., and Comlekci, S. (2006). Protective effects of melatonin and caffeic acid phenethyl ester against retinal oxidative stress in long-term use of mobile phone: A comparative study. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 282(1-2), 83-88.
16. Oktem, F., Ozguner, F., Mollaoglu, H., Koyu, A., and Uz, E. (2005). Oxidative damage in the kidney induced by 900-mhz-emitted mobile phone: Protection by melatonin. *Archives of Medical Research*, 36(4), 350-355.
17. Köylü, H., Mollaoglu, H., Ozguner, F., Nazýroölu, M., and Delibap, N. (2006). Melatonin modulates 900 mhz microwave-induced lipid peroxidation changes in rat brain. *Toxicology and Industrial Health*, 22(5), 211-216.
18. WHO. (2007). *Extremely low frequency fields. Sources, measurements and exposures*. Spain: World Health Organization, 20-35.
19. Staebler, P. (2017). *Human exposure to electromagnetic fields: From extremely low frequency (elf) to radiofrequency. Concepts of electromagnetic fields*. (First Edition). John Wiley & Sons, 1-10.
20. International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection. (2020). Guidelines for limiting exposure to electromagnetic fields (100 khz to 300 ghz). *Health Physics*, 118(5), 483-524.
21. International Agency for Research on Cancer. (2002). *Non-ionizing radiation, part 1: Static and extremely low-frequency (elf) electric and magnetic fields*. IARC Press Lyon France: World Health Organization International Agency for Research on Cancer, 35-45.
22. Chou, C. K., Bassen, H., Osepchuk, J., Balzano, Q., Petersen, R., Meltz, M., Cleveland, R., Lin, J., and Heynick, L. (1996). Radio frequency electromagnetic exposure: Tutorial review on experimental dosimetry. *Bioelectromagnetics: Journal of the Bioelectromagnetics Society, The Society for Physical Regulation in Biology and Medicine, The European Bioelectromagnetics Association*, 17(3), 195-208.
23. Challis, L. (2005). Mechanisms for interaction between rf fields and biological tissue. *Bioelectromagnetics*, 26(S7), S98-S106.
24. Gabriel, S., Lau, R., and Gabriel, C. (1996). The dielectric properties of biological tissues: Iii. Parametric models for the dielectric spectrum of tissues. *Physics in Medicine & Biology*, 41(11), 2271.

25. Markx, G. H. and Davey, C. L. (1999). The dielectric properties of biological cells at radiofrequencies: Applications in biotechnology. *Enzyme and Microbial Technology*, 25(3-5), 161-171.
26. National Council on Radiation Protection and Measurements. (1981). *Radiofrequency electromagnetic fields: Properties, quantities and units, biophysical interaction, and measurements; recommendations of the national council on radiation protection and measurements*. Bethesda, MD: National Council on Radiation Protection and Measurements, 1-5.
27. Marshall, S. V. and Brown, R. F. (1983). Experimental determination of whole body average specific absorption rate (sar) of mice exposed to 200–400 mhz cw. *Bioelectromagnetics: Journal of the Bioelectromagnetics Society, The Society for Physical Regulation in Biology and Medicine, The European Bioelectromagnetics Association*, 4(3), 267-279.
28. Staebler, P. (2017). *Human exposure to electromagnetic fields: From extremely low frequency (elf) to radiofrequency*. (First Edition). John Wiley & Sons, 89-125.
29. Advisory Group on Non-ionising Radiation. (2012). *Health effects from radiofrequency electromagnetic fields: Report of the advisory group on non-ionising radiation*. Report of the Advisory Group on Non-ionising Radiation, 11-27.
30. Frei, P. and Rösli, M. (2014). Exposure to radiofrequency electromagnetic fields in our everyday environment. *Epidemiology of Electromagnetic Fields*, 125.
31. Michaelson, S. M., Elson, E. C., and Anderson, C. (2006). *Interaction of nonmodulated and pulse modulated radiofrequency fields with living matter: Experimental results*. (Third Edition). CRC Press, 54-59.
32. IARC. (2013). Iarc working group on the evaluation of carcinogenic risks to humans non-ionizing radiation, part 2: Radiofrequency electromagnetic fields. *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*, 102(Pt 2), 1.
33. World Health Organization. (2006). *Environmental health criteria static fields*. China: World Health Organization, 19-49.
34. Tenforde, T. (1994). Interaction mechanisms and biological effects of static magnetic fields. *Automedica*, 271-293.
35. Israel, M., Ivanova, M., Zaryabova, V., and Shalamanova, T. (2015). *Electromagnetic fields in biology and medicine. Chapter 20, nonionizing radiation: Exposure assessment and risk*. (1st Edition). Boca Raton: CRC Press, 334-355.
36. Donlon, C. J., Minnett, P. J., Jessup, A., Barton, I., Emery, W., Hook, S., Wimmer, W., Nightingale, T. J., and Zappa, C. (2014). *Ship-borne thermal infrared radiometer systems*. Elsevier, 305-404.
37. Tsai, S.-R. and Hamblin, M. R. (2017). Biological effects and medical applications of infrared radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 170(197-207).

38. Mahmoud, B. H., Ruvolo, E., Hexsel, C. L., Liu, Y., Owen, M. R., Kollias, N., Lim, H. W., and Hamzavi, I. H. (2010). Impact of long-wavelength uva and visible light on melanocompetent skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 130(8), 2092-2097.
39. Diffey, B. L. (2002). Sources and measurement of ultraviolet radiation. *Methods*, 28(1), 4-13.
40. Santos, A. L., Oliveira, V., Baptista, I., Henriques, I., Gomes, N. C., Almeida, A., Correia, A., and Cunha, Â. (2013). Wavelength dependence of biological damage induced by uv radiation on bacteria. *Archives of Microbiology*, 195(1), 63-74.
41. Coohill, T. P. (1996). Stratospheric ozone loss, ultraviolet effects and action spectroscopy. *Advances in Space Research*, 18(12), 27-33.
42. Schuch, A. P. and Menck, C. F. M. (2010). The genotoxic effects of DNA lesions induced by artificial uv-radiation and sunlight. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 99(3), 111-116.
43. International Agency for Research on Cancer. (2001). *International agency for research on cancer monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Ionizing radiation. Part 2: Some internally deposited radionuclides*. IARC Press Lyon France: World Health Organization International Agency for Research on Cancer, 31-79.
44. Staebler, P. (2017). *Human exposure to electromagnetic fields: From extremely low frequency (elf) to radiofrequency. Biological effects of electromagnetic fields*. (First Edition). John Wiley & Sons, 125-152.
45. Feychting, M. (2005). Health effects of static magnetic fields—a review of the epidemiological evidence. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 87(2-3), 241-246.
46. Di, G., Gu, X., Lin, Q., Wu, S., and Kim, H. B. (2018). A comparative study on effects of static electric field and power frequency electric field on hematology in mice. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 166(2018), 109-115.
47. Pawłowska-Góral, K., Kimsa-Dudek, M., Synowiec-Wojtarowicz, A., Orchel, J., Glinka, M., and Gawron, S. (2016). Effect of static magnetic fields and phloretin on antioxidant defense system of human fibroblasts. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(15), 14989-14996.
48. Lin, Q., Dong, L., Xu, Y., and Di, G. (2018). Studies on effects of static electric field exposure on liver in mice. *Scientific Reports*, 8(1), 1-9.
49. Spinelli, J. J., Demers, P. A., Le, N. D., Friesen, M. D., Lorenzi, M. F., Fang, R., and Gallagher, R. P. (2006). Cancer risk in aluminum reduction plant workers (canada). *Cancer Causes & Control*, 17(7), 939-948.
50. Romundstad, P., Andersen, A., and Haldorsen, T. (2000). Cancer incidence among workers in six norwegian aluminum plants. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 461-469.

51. Rønneberg, A., Haldorsen, T., Romundstad, P., and Andersen, A. (1999). Occupational exposure and cancer incidence among workers from an aluminum smelter in western Norway. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 207-214.
52. International Agency for Research on Cancer. (2002). *Non-ionizing radiation, part 1: Static and extremely low-frequency (elf) electric and magnetic fields. Iarc monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*. Lyon France: World Health Organization International Agency for Research on Cancer, 331-338.
53. Wertheimer, N. and Leeper, E. (1979). Electrical wiring configurations and childhood cancer. *American Journal of Epidemiology*, 109(3), 273-284.
54. Wertheimer, N. and Leeper, E. (1982). Adult cancer related to electrical wires near the home. *International Journal of Epidemiology*, 11(4), 345-355.
55. Rösli, M., Lötscher, M., Egger, M., Pfluger, D., Schreier, N., Lötscher, E., Locher, P., Spoerri, A., and Minder, C. (2007). Mortality from neurodegenerative disease and exposure to extremely low-frequency magnetic fields: 31 years of observations on Swiss railway employees. *Neuroepidemiology*, 28(4), 197-206.
56. Huss, A., Spoerri, A., Egger, M., Rösli, M., and Study, S. N. C. (2009). Residence near power lines and mortality from neurodegenerative diseases: Longitudinal study of the Swiss population. *American Journal of Epidemiology*, 169(2), 167-175.
57. Staebler, P. (2017). *Human exposure to electromagnetic fields: From extremely low frequency (elf) to radiofrequency*. (First Edition). John Wiley & Sons, 143-152.
58. Bagheri Hosseinabadi, M., Khanjani, N., Ebrahimi, M. H., Haji, B., and Abdollahfard, M. (2019). The effect of chronic exposure to extremely low-frequency electromagnetic fields on sleep quality, stress, depression and anxiety. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 38(1), 96-101.
59. WHO. (2007). *Extremely low frequency fields. Reproduction and development*. Spain: World Health Organization, 239-255.
60. Karasek, M. and Woldanska-Okonska, M. (2004). Electromagnetic fields and human endocrine system. *The Scientific World Journal*, 4(S2), 23-8.
61. WHO. (2007). *Extremely low frequency fields. Cardiovascular disorders*. Spain: World Health Organization, 207-221.
62. Vander Vorst, A., Rosen, A., and Kotsuka, Y. (2006). *Rf/microwave interaction with biological tissues. Rf/microwave interaction mechanisms in biological materials*. United States of America: IEEE Press, 63-93.
63. Advisory Group on Non-ionising Radiation (AGNIR). (2012). *Health effects from radiofrequency electromagnetic fields: Report of the advisory group on non-ionising radiation*. Report of the Advisory Group on Non-ionising Radiation, 80-116.

64. Zotti-Martelli, L., Peccatori, M., Scarpato, R., and Migliore, L. (2000). Induction of micronuclei in human lymphocytes exposed in vitro to microwave radiation. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 472(1-2), 51-58.
65. Zotti-Martelli, L., Peccatori, M., Maggini, V., Ballardin, M., and Barale, R. (2005). Individual responsiveness to induction of micronuclei in human lymphocytes after exposure in vitro to 1800-mhz microwave radiation. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 582(1-2), 42-52.
66. McNamee, J., Bellier, P., Gajda, G., Miller, S., Lemay, E., Lavallee, B., Marro, L., and Thansandote, A. (2002). DNA damage and micronucleus induction in human leukocytes after acute in vitro exposure to a 1.9 ghz continuous-wave radiofrequency field. *Radiation Research*, 158(4), 523-533.
67. Pickard, W. F., Bisht, K. S., Leal, B. Z., Meltz, M. L., Roti Roti, J. L., Straube, W. L., and Moros, E. G. (2001). Cytogenetic studies in human blood lymphocytes exposed in vitro to radiofrequency radiation at a cellular telephone frequency (835.62 mhz, fdma). *Radiation Research*, 155(1), 113-121.
68. Bisht, K. S., Moros, E. G., Straube, W. L., Baty, J. D., and Roti, J. L. R. (2002). The effect of 835.62 mhz fdma or 847.74 mhz cdma modulated radiofrequency radiation on the induction of micronuclei in c3h 10t½ cells. *Radiation Research*, 157(5), 506-515.
69. Odacı, E., Ünal, D., Mercantepe, T., Topal, Z., Hancı, H., Türedi, S., Erol, H., Mungan, S., Kaya, H., and Çolakoğlu, S. (2015). Pathological effects of prenatal exposure to a 900 mhz electromagnetic field on the 21-day-old male rat kidney. *Biotechnic & Histochemistry*, 90(2), 93-101.
70. Türedi, S., Hancı, H., Topal, Z., Ünal, D., Mercantepe, T., Bozkurt, I., Kaya, H., and Odacı, E. (2015). The effects of prenatal exposure to a 900-mhz electromagnetic field on the 21-day-old male rat heart. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 34(4), 390-397.
71. Kesari, K. K., Kumar, S., and Behari, J. (2011). 900-mhz microwave radiation promotes oxidation in rat brain. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 30(4), 219-234.
72. Gumral, N., Naziroglu, M., Koyu, A., Ongel, K., Celik, O., Saygin, M., Kahriman, M., Caliskan, S., Kayan, M., and Gencel, O. (2009). Effects of selenium and l-carnitine on oxidative stress in blood of rat induced by 2.45-ghz radiation from wireless devices. *Biological Trace Element Research*, 132(1-3), 153.
73. Qin, F., Zhang, J., Cao, H., Yi, C., Li, J. X., Nie, J., Chen, L. L., Wang, J., and Tong, J. (2012). Effects of 1800-mhz radiofrequency fields on circadian rhythm of plasma melatonin and testosterone in male rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 75(18), 1120-1128.
74. Akdag, M. Z., Dasdag, S., Canturk, F., Karabulut, D., Caner, Y., and Adalier, N. (2016). Does prolonged radiofrequency radiation emitted from wi-fi devices induce DNA damage in various tissues of rats? *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 75(Part B), 116-122.

75. Sirav, B. and Seyhan, N. (2011). Effects of radiofrequency radiation exposure on blood-brain barrier permeability in male and female rats. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 30(4), 253-260.
76. Wyde, M., Cesta, M., Blystone, C., Elmore, S., Foster, P., Hooth, M., Kissling, G., Malarkey, D., Sills, R., and Stout, M. (2018). Report of partial findings from the national toxicology program carcinogenesis studies of cell phone radiofrequency radiation in hsd: Sprague dawley® sd rats (whole body exposures). *BioRxiv*, 055699.
77. Falcioni, L., Bua, L., Tibaldi, E., Lauriola, M., De Angelis, L., Gnudi, F., Mandrioli, D., Manservigi, M., Manservigi, F., and Manzoli, I. (2018). Report of final results regarding brain and heart tumors in sprague-dawley rats exposed from prenatal life until natural death to mobile phone radiofrequency field representative of a 1.8 ghz gsm base station environmental emission. *Environmental Research*, 165, 496-503.
78. Mahmoudi, R., Mortazavi, S., Safari, S., Nikseresht, M., Mozdarani, H., Jafari, M., Zamani, A., Haghani, M., Davari, M., and Tabatabaie, A. (2015). Effects of microwave electromagnetic radiations emitted from common wi-fi routers on rats'sperm count and motility. *International Journal of Radiation Research*, 13(4), 363-368.
79. Calis, P., Seymen, M., Soykan, Y., Delen, K., Aral, B. S., Take Kaplanoglu, G., and Karcaaltincaba, D. (2019). Does exposure of smart phones during pregnancy affect the offspring's ovarian reserve? A rat model study. *Fetal and Pediatric Pathology*, 1-11.
80. Colak, C., Parlakpinar, H., Ermis, N., Tagluk, M. E., Colak, C., Sarihan, E., Dilek, O. F., Turan, B., Bakir, S., and Acet, A. (2012). Effects of electromagnetic radiation from 3g mobile phone on heart rate, blood pressure and ecg parameters in rats. *Toxicology and Industrial Health*, 28(7), 629-638.
81. Frei, M. R., Dusch, S. J., Guel, V., Meltz, M. L., and Jauchem, J. R. (1997). Frequency of micronuclei in the peripheral blood and bone marrow of cancer-prone mice chronically exposed to 2450 mhz radiofrequency radiation. *Radiation Research*, 147(4), 495-500.
82. Pickard, W., Bisht, K., Prihoda, T., Meltz, M., LaRegina, M., Roti, J. R., Straube, W., and Moros, E. (2001). Micronuclei in the peripheral blood and bone marrow cells of rats exposed to 2450 mhz radiofrequency radiation. *International Journal of Radiation Biology*, 77(11), 1109-1115.
83. Ayata, A., Mollaoglu, H., Yilmaz, H. R., Akturk, O., Ozguner, F., and Altuntas, I. (2004). Oxidative stress-mediated skin damage in an experimental mobile phone model can be prevented by melatonin. *The Journal of Dermatology*, 31(11), 878-883.
84. Garaj-Vrhovac, V. (1999). Micronucleus assay and lymphocyte mitotic activity in risk assessment of occupational exposure to microwave radiation. *Chemosphere*, 39(13), 2301-2312.
85. Garaj-Vrhovac, V. and Orešćanin, V. (2009). Assessment of DNA sensitivity in peripheral blood leukocytes after occupational exposure to microwave radiation: The alkaline comet assay and chromatid breakage assay. *Cell Biology and Toxicology*, 25(1), 33-43.

86. Othman, O. E., Aly, M. S., El Nahas, S. M., and Mohamed, H. M. (2003). Mutagenic potential of radio-frequency electromagnetic fields. *Cytologia*, 68(1), 35-43.
87. Othman, O. E. M. S., Aly, M. S., and El Nahas, S. M. (2001). Aneuploidy in workers occupationally exposed to electromagnetic field detected by fish. *Cytologia*, 66(2), 117-125.
88. Gandhi, G. and Singh, P. (2005). Cytogenetic damage in mobile phone users: Preliminary data. *International Journal of Human Genetics*, 5(4), 259-265.
89. Yadav, A. S. and Sharma, M. K. (2008). Increased frequency of micronucleated exfoliated cells among humans exposed in vivo to mobile telephone radiations. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 650(2), 175-180.
90. Gursatej, A. (2005). Genetic damage in mobile phone users: Some preliminary findings. *Indian Journal of Human Genetics*, 11(2), 99-104.
91. Vander Vorst, A., Rosen, A., and Kotsuka, Y. (2006). *Rf/microwave interaction with biological tissues. Biological effects*. United States of America: IEEE Press, 130-135.
92. Maes, A., Van Gorp, U., and Verschaeve, L. (2006). Cytogenetic investigation of subjects professionally exposed to radiofrequency radiation. *Mutagenesis*, 21(2), 139-142.
93. Maes, A., Collier, M., Slaets, D., and Verschaeve, L. (1995). Cytogenetic effects of microwaves from mobile communication frequencies (954 mhz). *Electro-and Magnetobiology*, 14(2), 91-98.
94. Schüz, J., Jacobsen, R., Olsen, J. H., Boice Jr, J. D., McLaughlin, J. K., and Johansen, C. (2006). Cellular telephone use and cancer risk: Update of a nationwide danish cohort. *Journal of the National Cancer Institute*, 98(23), 1707-1713.
95. Nikita, K. S. and Kiourti, A. (2012). *Electromagnetic fields in biological systems. Chapter 5 mobile communication fields in biological systems*. (First Edition). Boca Raton: CRC Press, 277-346.
96. Bhargava, D., Leeprechanon, N., Rattanadecho, P., and Wessapan, T. (2019). Specific absorption rate and temperature elevation in the human head due to overexposure to mobile phone radiation with different usage patterns. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 130, 1178-1188.
97. de Pomerai, D., Daniells, C., David, H., Allan, J., Duce, I., Mutwakil, M., Thomas, D., Sewell, P., Tattersall, J., and Jones, D. (2000). Non-thermal heat-shock response to microwaves. *Nature*, 405(6785), 417-418.
98. Pethig, R. (1984). Dielectric properties of biological materials: Biophysical and medical applications. *IEEE Transactions on Electrical Insulation*, EI-19(5), 453-474.

99. Pollacco, D. A., Farina, L., Wismayer, P. S., Farrugia, L., and Sammut, C. V. (2018). Characterization of the dielectric properties of biological tissues and their correlation to tissue hydration. *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation*, 25(6), 2191-2197.
100. Fu, F., Xin, S. X., and Chen, W. (2014). Temperature-and frequency-dependent dielectric properties of biological tissues within the temperature and frequency ranges typically used for magnetic resonance imaging-guided focused ultrasound surgery. *International Journal of Hyperthermia*, 30(1), 56-65.
101. Foster, K. R. (2000). Thermal and nonthermal mechanisms of interaction of radio-frequency energy with biological systems. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 28(1), 15-23.
102. Christ, A., Gosselin, M.-C., Christopoulou, M., Kühn, S., and Kuster, N. (2010). Age-dependent tissue-specific exposure of cell phone users. *Physics in Medicine & Biology*, 55(7), 1767.
103. Gandhi, O. P., Morgan, L. L., De Salles, A. A., Han, Y.-Y., Herberman, R. B., and Davis, D. L. (2012). Exposure limits: The underestimation of absorbed cell phone radiation, especially in children. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 31(1), 34-51.
104. Martinez-Burdalo, M., Martin, A., Anguiano, M., and Villar, R. (2004). Comparison of fdtd-calculated specific absorption rate in adults and children when using a mobile phone at 900 and 1800 mhz. *Physics in Medicine & Biology*, 49(2), 345.
105. Conil, E., Hadjem, A., Lacroux, F., Wong, M., and Wiart, J. (2008). Variability analysis of sar from 20 mhz to 2.4 ghz for different adult and child models using finite-difference time-domain. *Physics in Medicine & Biology*, 53(6), 1511.
106. National Council on Radiation Protection and Measurements. (1981). *Radiofrequency electromagnetic fields: Properties, quantities and units, biophysical interaction, and measurements*. Bethesda, MD: National Council on Radiation Protection and Measurements.
107. World Health Organization. (2007). *Extremely low frequency fields. Biophysical mechanisms*. Spain: World Health Organization, 97-118.
108. Staebler, P. (2017). *Human exposure to electromagnetic fields: From extremely low frequency (elf) to radiofrequency. Sources of electromagnetic fields*. (First Edition). John Wiley & Sons, 55-65.
109. ICNIRP. (1996). International commission on non-ionizing radiation protectionstatement-health issues related to the use of hand-held radiotelephones and base transmitters. *Health Physics*, 70(4), 587-593.
110. Vander Vorst, A., Rosen, A., and Kotsuka, Y. (2006). *Rf/microwave interaction with biological tissues. Fundamentals of electromagnetics*. United States of America: IEEE Press, 30-39.
111. Barnes, F. S. and Greenebaum, B. (2006). *Biological and medical aspects of electromagnetic fields*. (Third Edition). CRC Taylor & Francis Group, 1-30.

112. Vecchia, P., Matthes, R., Ziegelberger, G., Lin, J., Saunders, R., and Swerdlow, A. (2009). Exposure to high frequency electromagnetic fields, biological effects and health consequences (100 khz-300 ghz). *International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection*, 378.
113. Elektronik haberleşme cihazlarından kaynaklanan elektromanyetik alan şiddetinin uluslararası standartlara göre maruziyet limit değerlerinin belirlenmesi, kontrolü ve denetimi hakkında yönetmelikte değişiklik yapılmasına dair yönetmelik. (17 Nisan 2018). *Resmi Gazete*.
114. ICNIRP. (1998). Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic, and electromagnetic fields (up to 300 ghz). *Health Physics*, 74(4), 494-522.
115. Shukla, S., Khare, V., Garg, S., and Sharma, P. (2013). Comparative study of 1g, 2g, 3g and 4g. *Journal of Engineering, Computers & Applied Sciences*, 2(4), 55-63.
116. Vora, L. J. (2015). Evolution of mobile generation technology: 1g to 5g and review of upcoming wireless technology 5g. *International Journal of Modern Trends in Engineering and Research*, 2(10), 281-290.
117. Talwar, S., Choudhury, D., Dimou, K., Aryafar, E., Bangerter, B., and Stewart, K. (2014). Enabling technologies and architectures for 5g wireless. *IEEE MTT-S International Microwave Symposium (IMS2014)*, 1-4.
118. Treuting, P. M., Dintzis, S. M., and Montine, K. S. (2017). *Comparative anatomy and histology: A mouse, rat, and human atlas*. Academic Press, 403-445.
119. Maynard, R. L. and Downes, N. (2019). *Anatomy and histology of the laboratory rat in toxicology and biomedical research*. Academic Press.
120. Eurell, J. A. and Frappier, B. L. (2006). *Dellmann's textbook of veterinary histology*. (6th Edition). Blackwell Publishing.
121. Akpoyraz, M. and Durak, İ. (1995). Serbest radikallerin biyolojik etkileri. *Ankara Tıp Mecmuası*, 253-262.
122. Baborun, T., Soobrattee, M., Luximon-Ramma, V., and Aruoma, O. (2006). Free radicals and antioxidants in cardiovascular health and disease. *Internet Journal of Medical Update*, 1(2), 25-41.
123. Pham-Huy, L. A., He, H., and Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science: IJBS*, 4(2), 89.
124. Machlin, L. J. and Bendich, A. (1987). Free radical tissue damage: Protective role of antioxidant nutrients. *The FASEB Journal*, 1(6), 441-445.
125. Rao, P. S., Kalva, S., Yerramilli, A., and Mamidi, S. (2011). Free radicals and tissue damage: Role of antioxidants. *Free Radicals and Antioxidants*, 1(4), 2-7.
126. Kunwar, A. and Priyadarsini, K. (2011). Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *Journal of Medical & Allied Sciences*, 1(2), 53.

127. Phaniendra, A., Jestadi, D. B., and Periyasamy, L. (2015). Free radicals: Properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11-26.
128. Bhattacharya, S. (2015). Reactive oxygen species and cellular defense system. *Free Radicals in Human Health and Disease*, 17-29.
129. Turrens, J. F. (2003). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *The Journal of Physiology*, 552(2), 335-344.
130. Rodriguez, C., Mayo, J. C., Sainz, R. M., Antolín, I., Herrera, F., Martín, V., and Reiter, R. J. (2004). Regulation of antioxidant enzymes: A significant role for melatonin. *Journal of Pineal Research*, 36(1), 1-9.
131. KLEBANOFF, S. J. (1980). Oxygen metabolism and the toxic properties of phagocytes. *Annals of Internal Medicine*, 93(3), 480-489.
132. Irshad, M. and Chaudhuri, P. (2002). Oxidant-antioxidant system: Role and significance in human body. *Indian Journal of Experimental Biology*, 40(November), 1233-1239.
133. Aicardo, A., Martinez, D. M., Campolo, N., Bartesaghi, S., and Radi, R. (2016). Biochemistry of nitric oxide and peroxynitrite: Sources, targets and biological implications. *Biochemistry of Oxidative Stress*, 49-77.
134. Beckman, J. S. and Koppenol, W. H. (1996). Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: The good, the bad, and ugly. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 271(5), C1424-C1437.
135. Dawson, T. M., Dawson, V. L., and Snyder, S. H. (1992). A novel neuronal messenger molecule in brain: The free radical, nitric oxide. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 32(3), 297-311.
136. HARVEY, B. H. (1996). Affective disorders and nitric oxide: A role in pathways to relapse and refractoriness? *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, 11(4), 309-319.
137. Pacher, P., Beckman, J. S., and Liaudet, L. (2007). Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews*, 87(1), 315-424.
138. Moylan, J. S. and Reid, M. B. (2007). Oxidative stress, chronic disease, and muscle wasting. *Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine*, 35(4), 411-429.
139. Mani, S. (2015). Production of reactive oxygen species and its implication in human diseases. *Free Radicals in Human Health and Disease*, 3-15.
140. Nojima, Y., Bono, H., Yokoyama, T., Iwabuchi, K., Sato, R., Arai, K., and Tabunoki, H. (2019). Superoxide dismutase down-regulation and the oxidative stress is required to initiate pupation in *bombyx mori*. *Scientific Reports*, 9(1), 1-13.

141. Guyton, K. and Kensler, T. W. (1993). Oxidative mechanisms in carcinogenesis. *British Medical Bulletin*, 49(3), 523-544.
142. Uehara, T., Nakamura, T., Yao, D., Shi, Z.-Q., Gu, Z., Ma, Y., Masliah, E., Nomura, Y., and Lipton, S. A. (2006). S-nitrosylated protein-disulphide isomerase links protein misfolding to neurodegeneration. *Nature*, 441(7092), 513-517.
143. Jacob, K. D., Hooten, N. N., Trzeciak, A. R., and Evans, M. K. (2013). Markers of oxidant stress that are clinically relevant in aging and age-related disease. *Mechanisms of Ageing and Development*, 134(3-4), 139-157.
144. Harman, D. (1992). Free radical theory of aging. *Mutation Research/DNAging*, 275(3-6), 257-266.
145. Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., and Bonaduce, D. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging*, 13, 757.
146. Chandrasekaran, A., Idelchik, M. d. P. S., and Melendez, J. A. (2017). Redox control of senescence and age-related disease. *Redox Biology*, 11(91-102).
147. Singh, R. P., Sharad, S., and Kapur, S. (2004). Free radicals and oxidative stress in neurodegenerative diseases: Relevance of dietary antioxidants. *Journal, Indian Academy of Clinical Medicine*, 5(3), 218-225.
148. Lin, M. T. and Beal, M. F. (2006). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature*, 443(7113), 787-795.
149. Niedzielska, E., Smaga, I., Gawlik, M., Moniczewski, A., Stankowicz, P., Pera, J., and Filip, M. (2016). Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Molecular Neurobiology*, 53(6), 4094-4125.
150. Andersen, J. K. (2004). Oxidative stress in neurodegeneration: Cause or consequence? *Nature Medicine*, 10(7), S18-S25.
151. Pan, X.-d., Zhu, Y.-g., Lin, N., Zhang, J., Ye, Q.-y., Huang, H.-p., and Chen, X.-c. (2011). Microglial phagocytosis induced by fibrillar β -amyloid is attenuated by oligomeric β -amyloid: Implications for alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, 6(1), 1-18.
152. Lee, D.-H., Gold, R., and Linker, R. A. (2012). Mechanisms of oxidative damage in multiple sclerosis and neurodegenerative diseases: Therapeutic modulation via fumaric acid esters. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(9), 11783-11803.
153. Henao-Mejia, J. and He, J. J. (2009). Sam68 relocalization into stress granules in response to oxidative stress through complexing with tia-1. *Experimental Cell Research*, 315(19), 3381-3395.
154. Lian, X. J. and Gallouzi, I.-E. (2009). Oxidative stress increases the number of stress granules in senescent cells and triggers a rapid decrease in p21waf1/cip1 translation. *Journal of Biological Chemistry*, 284(13), 8877-8887.

155. Chen, L. and Liu, B. (2017). Relationships between stress granules, oxidative stress, and neurodegenerative diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1809592.
156. Buchan, J. R., Yoon, J.-H., and Parker, R. (2011). Stress-specific composition, assembly and kinetics of stress granules in *saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Cell Science*, 124(2), 228-239.
157. Van Raamsdonk, J. M., Vega, I. E., and Brundin, P. (2017). Oxidative stress in neurodegenerative disease: Causation or association? *Oncotarget*, 8(7), 10777.
158. Liu, T., Zhong, S., Liao, X., Chen, J., He, T., Lai, S., and Jia, Y. (2015). A meta-analysis of oxidative stress markers in depression. *PloS One*, 10(10), 1-17.
159. Maes, M., Mihaylova, I., Kubera, M., Uytterhoeven, M., Vrydags, N., and Bosmans, E. (2010). Increased plasma peroxides and serum oxidized low density lipoprotein antibodies in major depression: Markers that further explain the higher incidence of neurodegeneration and coronary artery disease. *Journal of Affective Disorders*, 125(1-3), 287-294.
160. Bal, N., Acar, S. T., Yazici, A., Yazici, K., and Tamer, L. (2012). Altered levels of malondialdehyde and vitamin e in major depressive disorder and generalized anxiety disorder. *Dusunen Adam: Journal of Psychiatry & Neurological Sciences*, 25(3), 206.
161. Touyz, R. M. (2004). Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension: What is the clinical significance? *Hypertension*, 44(3), 248-252.
162. Hamilton, C. A., MILLER, W. H., Al-Benna, S., Julia Brosnan, M., DRUMMOND, R. D., McBRIDE, M. W., and DOMINICZAK, A. F. (2004). Strategies to reduce oxidative stress in cardiovascular disease. *Clinical Science*, 106(3), 219-234.
163. Redón, J., Oliva, M. R., Tormos, C., Giner, V., Chaves, J., Iradi, A., and Sáez, G. T. (2003). Antioxidant activities and oxidative stress byproducts in human hypertension. *Hypertension*, 41(5), 1096-1101.
164. Cracowski, J.-L., Baguet, J.-P., Ormezzano, O., Bessard, J., Stanke-Labesque, F., Bessard, G., and Mallion, J.-M. (2003). Lipid peroxidation is not increased in patients with untreated mild-to-moderate hypertension. *Hypertension*, 41(2), 286-288.
165. Ghatak, A., Brar, M. J. S., Agarwal, A., Goel, N., Rastogi, A. K., Vaish, A. K., Sircar, A. R., and Chandra, M. (1996). Oxy free radical system in heart failure and therapeutic role of oral vitamin e. *International Journal of Cardiology*, 57(2), 119-127.
166. Nishiyama, Y., Ikeda, H., Haramaki, N., Yoshida, N., and Imaizumi, T. (1998). Oxidative stress is related to exercise intolerance in patients with heart failure. *American Heart Journal*, 135(1), 115-120.
167. Pelicano, H., Carney, D., and Huang, P. (2004). Ros stress in cancer cells and therapeutic implications. *Drug Resistance Updates*, 7(2), 97-110.

168. Shacter, E., Williams, J. A., Hinson, R. M., Sentürker, S., and Lee, Y.-j. (2000). Oxidative stress interferes with cancer chemotherapy: Inhibition of lymphoma cell apoptosis and phagocytosis. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 96(1), 307-313.
169. Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M., and Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1-40.
170. Mantovani, G., Macciò, A., Madeddu, C., Mura, L., Gramignano, G., Lusso, M. R., Massa, E., Mocci, M., and Serpe, R. (2003). Antioxidant agents are effective in inducing lymphocyte progression through cell cycle in advanced cancer patients: Assessment of the most important laboratory indexes of cachexia and oxidative stress. *Journal of Molecular Medicine*, 81(10), 664-673.
171. Reiter, R. J., ACUÑA-CASTROVIEJO, D., TAN, D. X., and Burkhardt, S. (2001). Free radical-mediated molecular damage: Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 939(1), 200-215.
172. Jacob, R. A. (1995). The integrated antioxidant system. *Nutrition Research*, 15(5), 755-766.
173. Poprac, P., Jomova, K., Simunkova, M., Kollar, V., Rhodes, C. J., and Valko, M. (2017). Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases. *Trends in Pharmacological Sciences*, 38(7), 592-607.
174. Lehoux, S. (2006). Redox signalling in vascular responses to shear and stretch. *Cardiovascular Research*, 71(2), 269-279.
175. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84.
176. Cadenas, E. (1997). Basic mechanisms of antioxidant activity. *Biofactors*, 6(4), 391-397.
177. Sies, H. (1997). Physiological society symposium: Impaired endothelial and smooth muscle cell function in oxidative stress. *Experimental Physiology*, 82(2), 291-5.
178. Halliwell, B. (1999). Antioxidant defence mechanisms: From the beginning to the end (of the beginning). *Free Radical Research*, 31(4), 261-272.
179. Lerner, A. B., Case, J. D., Takahashi, Y., Lee, T. H., and Mori, W. (1958). Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes¹. *Journal of the American Chemical Society*, 80(10), 2587-2587.
180. Simonneaux, V., Garidou, M.-L., Ribelayga, C., and Pévet, P. (2005). *Melatonin: Biological basis of its function in health and disease. Mechanisms underlying seasonal regulation of melatonin synthesis in rodents*. U.S.A.: CRC Press, 19-29.

181. Singh, M. and Jadhav, H. R. (2014). Melatonin: Functions and ligands. *Drug Discovery Today*, 19(9), 1410-1418.
182. Reiter, R. J., Tan, D. X., and Galano, A. (2014). Melatonin: Exceeding expectations. *Physiology*, 29(5), 325-333.
183. Korf, W., Schomerus, C., and Stehle, J. H. (1998). The pineal organ, its hormone melatonin, and the photoneuroendocrine system. *Advances in Anatomy, Embryology and Cell Biology*, 146, 1-100.
184. Klein, D. C. and Weller, J. L. (1970). Indole metabolism in the pineal gland: A circadian rhythm in n-acetyltransferase. *Science*, 169(3950), 1093-1095.
185. Bubenik, G. A. (2002). Gastrointestinal melatonin: Localization, function, and clinical relevance. *Digestive Diseases and Sciences*, 47(10), 2336-2348.
186. Hardeland, R. (2017). Melatonin more than just a pineal hormone. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 1(4), 1-4.
187. Acuña-Castroviejo, D., Escames, G., Venegas, C., Díaz-Casado, M. E., Lima-Cabello, E., López, L. C., Rosales-Corral, S., Tan, D.-X., and Reiter, R. J. (2014). Extrapineal melatonin: Sources, regulation, and potential functions. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 71(16), 2997-3025.
188. Hardeland, R. (2009). Melatonin: Signaling mechanisms of a pleiotropic agent. *Biofactors*, 35(2), 183-192.
189. Jockers, R., Delagrange, P., Dubocovich, M. L., Markus, R. P., Renault, N., Tosini, G., Cecon, E., and Zlotos, D. P. (2016). Update on melatonin receptors: Iuphar review 20. *British Journal of Pharmacology*, 173(18), 2702-2725.
190. Domínguez-Alonso, A., Valdés-Tovar, M., Solís-Chagoyán, H., and Benítez-King, G. (2015). Melatonin stimulates dendrite formation and complexity in the hilar zone of the rat hippocampus: Participation of the Ca^{++} /calmodulin complex. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(1), 1907-1927.
191. Albarran, M., Lopez-Burillo, S., Pablos, M., Reiter, R., and Agapito, M. T. (2001). Endogenous rhythms of melatonin, total antioxidant status and superoxide dismutase activity in several tissues of chick and their inhibition by light. *Journal of Pineal Research*, 30(4), 227-233.
192. Kyrylkova, K., Kyryachenko, S., Leid, M., and Kioussi, C. (2012). *Methods in molecular biology. Chapter 5 detection of apoptosis by tunel assay*. Odontogenesis: Humana Press, 41-47.
193. Hirose, H., Sakuma, N., Kaji, N., Suhara, T., Sekijima, M., Nojima, T., and Miyakoshi, J. (2006). Phosphorylation and gene expression of p53 are not affected in human cells exposed to 2.1425 ghz band cw or w-cdma modulated radiation allocated to mobile radio base stations. *Bioelectromagnetics: Journal of the Bioelectromagnetics Society, The Society for Physical Regulation in Biology and Medicine, The European Bioelectromagnetics Association*, 27(6), 494-504.

194. Gavrieli, Y., Sherman, Y., and Ben-Sasson, S. A. (1992). Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *Journal of Cell Biology*, 119(3), 493-501.
195. Baydas, G., Nedzvetskii, V. S., Tuzcu, M., Yasar, A., and Kirichenko, S. V. (2003). Increase of glial fibrillary acidic protein and s-100b in hippocampus and cortex of diabetic rats: Effects of vitamin e. *European Journal of Pharmacology*, 462(1-3), 67-71.
196. Middeldorp, J. and Hol, E. (2011). Gfap in health and disease. *Progress in Neurobiology*, 93(3), 421-443.
197. Siracusa, R., Fusco, R., and Cuzzocrea, S. (2019). Astrocytes: Role and functions in brain pathologies. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 1114.
198. Kashon, M. L., Ross, G. W., O'Callaghan, J. P., Miller, D. B., Petrovitch, H., Burchfiel, C. M., Sharp, D. S., Markesbery, W. R., Davis, D. G., and Hardman, J. (2004). Associations of cortical astrogliosis with cognitive performance and dementia status. *Journal of Alzheimer's Disease*, 6(6), 595-604.
199. Halliday, G. M., Cullen, K. M., Kril, J. J., Harding, A. J., and Harasty, J. (1996). Glial fibrillary acidic protein (gfap) immunohistochemistry in human cortex: A quantitative study using different antisera. *Neuroscience Letters*, 209(1), 29-32.
200. Ünal, S. G., Take, G., Erdoğan, D., Göktas, G., and Sahin, E. (2016). The effect of di-n-butyl phthalate on testis and the potential protective effects of resveratrol. *Toxicology and Industrial Health*, 32(5), 777-790.
201. Gartner, L. P. (2017). *Textbook of histology. Chapter 1 - introduction to histology and basic histological techniques*. (Fourth Edition). Elsevier, 1-53.
202. John, T., Liu, G., and Tsao, M. (2009). Overview of molecular testing in non-small-cell lung cancer: Mutational analysis, gene copy number, protein expression and other biomarkers of egfr for the prediction of response to tyrosine kinase inhibitors. *Oncogene*, 28(1), S14-S23.
203. Oktar, G., Demir, A. N., Elmas, C., Arslan, M., Goktas, G., Iriz, E., Erer, D., Zor, M., and Tatar, T. (2015). The histopathological effects of levosimendan on liver injury induced by myocardial ischemia and reperfusion. *Bratislavske Lekarske Listy*, 116(4), 241.
204. Delen, K., Sirav, B., Oruç, S., Seymen, C. M., Kuzay, D., Yeğin, K., and Take Kaplanoglu, G. (2021). Effects of 2600 mhz radiofrequency radiation in brain tissue of male wistar rats and neuroprotective effects of melatonin. *Bioelectromagnetics*, 42(2), 159-172.
205. Pareja-Peña, F., Burgos-Molina, A. M., Sendra-Portero, F., and Ruiz-Gómez, M. J. (2020). Evidences of the (400 mhz–3 ghz) radiofrequency electromagnetic field influence on brain tumor induction. *International Journal of Environmental Health Research*, 1-10.

206. IARC. (2019). *Report of the advisory group to recommend priorities for iarc monographs during 2020–2024 in: Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Lyon, France.
207. Desai, N., Sharma, R., Makker, K., Sabanegh, E., and Agarwal, A. (2009). Physiologic and pathologic levels of reactive oxygen species in neat semen of infertile men. *Fertility and Sterility*, 92(5), 1626-1631.
208. Matés, J. M., Pérez-Gómez, C., Olalla, L., Segura, J. M., and Blanca, M. (2000). Allergy to drugs: Antioxidant enzymic activities, lipid peroxidation and protein oxidative damage in human blood. *Cell Biochemistry and Function*, 18(2), 77-84.
209. Tikamadas, R., Zhang, P., and Liu, B. (2016). Mediators of neuroinflammation. *Oxidative Stress and Antioxidant Protection: The Science of Free Radical Biology and Disease*; Armstrong, D., Stratton, RD, Eds, 39-55.
210. Sultana, R., Cenini, G., and Butterfield, D. A. (2013). *Biomarkers of oxidative stress in neurodegenerative diseases. Molecular basis of oxidative stress*. New Jersey Canada: John Wiley&Sons, 359-376.
211. Mateos, R., Lecumberri, E., Ramos, S., Goya, L., and Bravo, L. (2005). Determination of malondialdehyde (mda) by high-performance liquid chromatography in serum and liver as a biomarker for oxidative stress: Application to a rat model for hypercholesterolemia and evaluation of the effect of diets rich in phenolic antioxidants from fruits. *Journal of Chromatography B*, 827(1), 76-82.
212. Ambrosone, C. B., Ahn, J., Singh, K. K., Rezaishiraz, H., Furberg, H., Sweeney, C., Coles, B., and Trovato, A. (2005). Polymorphisms in genes related to oxidative stress (mpo, mnsod, cat) and survival after treatment for breast cancer. *Cancer Research*, 65(3), 1105-1111.
213. Van der Veen, B. S., de Winther, M. P., and Heeringa, P. (2009). Myeloperoxidase: Molecular mechanisms of action and their relevance to human health and disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, 11(11), 2899-2937.
214. Förstermann, U. (2010). Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 459(6), 923-939.
215. Alkis, M. E., Bilgin, H. M., Akpolat, V., Dasdag, S., Yegin, K., Yavas, M. C., and Akdag, M. Z. (2019). Effect of 900-, 1800-, and 2100-mhz radiofrequency radiation on DNA and oxidative stress in brain. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 38(1), 32-47.
216. Bilgici, B., Akar, A., Avci, B., and Tuncel, O. K. (2013). Effect of 900 mhz radiofrequency radiation on oxidative stress in rat brain and serum. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 32(1), 20-29.
217. Kesari, K. K., Behari, J., and Kumar, S. (2010). Mutagenic response of 2.45 ghz radiation exposure on rat brain. *International Journal of Radiation Biology*, 86(4), 334-343.

218. Dasdag, S., Akdag, M. Z., Kizil, G., Kizil, M., Cakir, D. U., and Yokus, B. (2012). Effect of 900 mhz radio frequency radiation on beta amyloid protein, protein carbonyl, and malondialdehyde in the brain. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 31(1), 67-74.
219. Chauhan, P., Verma, H., Sisodia, R., and Kesari, K. K. (2017). Microwave radiation (2.45 ghz)-induced oxidative stress: Whole-body exposure effect on histopathology of wistar rats. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 36(1), 20-30.
220. Ragy, M. M. (2015). Effect of exposure and withdrawal of 900-mhz-electromagnetic waves on brain, kidney and liver oxidative stress and some biochemical parameters in male rats. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 34(4), 279-284.
221. Esmekaya, M. A., Ozer, C., and Seyhan, N. (2011). 900 mhz pulse-modulated radiofrequency radiation induces oxidative stress on heart, lung, testis and liver tissues. *General Physiology and Biophysics*, 30(1), 84-9.
222. Ozguner, F., Altinbas, A., Ozaydin, M., Dogan, A., Vural, H., Kisioglu, A. N., Cesur, G., and Yildirim, N. G. (2005). Mobile phone-induced myocardial oxidative stress: Protection by a novel antioxidant agent caffeic acid phenethyl ester. *Toxicology and Industrial Health*, 21(7-8), 223-230.
223. Kamali, K., Taravati, A., Sayyadi, S., zahra Gharib, F., and Maftoon, H. (2018). Evidence of oxidative stress after continuous exposure to wi-fi radiation in rat model. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(35), 35396-35403.
224. Demirel, S., Doganay, S., Turkoz, Y., Dogan, Z., Turan, B., and Firat, P. G. B. (2012). Effects of third generation mobile phone-emitted electromagnetic radiation on oxidative stress parameters in eye tissue and blood of rats. *Cutaneous and Ocular Toxicology*, 31(2), 89-94.
225. Hong, M. N., Kim, B. C., Ko, Y. G., Lee, Y. S., Hong, S. C., Kim, T., Pack, J. K., Choi, H. D., Kim, N., and Lee, J. S. (2012). Effects of 837 and 1950 mhz radiofrequency radiation exposure alone or combined on oxidative stress in mcf10a cells. *Bioelectromagnetics*, 33(7), 604-611.
226. Höytö, A., Luukkonen, J., Juutilainen, J., and Naarala, J. (2008). Proliferation, oxidative stress and cell death in cells exposed to 872 mhz radiofrequency radiation and oxidants. *Radiation Research*, 170(2), 235-243.
227. Burch, J., Reif, J., Noonan, C., Ichinose, T., Bachand, A., Koleber, T., and Yost, M. (2002). Melatonin metabolite excretion among cellular telephone users. *International Journal of Radiation Biology*, 78(11), 1029-1036.
228. Sewerynek, E., Abe, M., Reiter, R. J., Barlow-Walden, L. R., Chen, L., McCabe, T. J., Roman, L. J., and Diaz-Lopez, B. (1995). Melatonin administration prevents lipopolysaccharide-induced oxidative damage in phenobarbital-treated animals. *Journal of cellular biochemistry*, 58(4), 436-444.

229. Ding, K., Wang, H., Xu, J., Li, T., Zhang, L., Ding, Y., Zhu, L., He, J., and Zhou, M. (2014). Melatonin stimulates antioxidant enzymes and reduces oxidative stress in experimental traumatic brain injury: The nrf2–are signaling pathway as a potential mechanism. *Free Radical Biology and Medicine*, 73, 1-11.
230. Okatani, Y., Wakatsuki, A., and Kaneda, C. (2000). Melatonin increases activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in fetal rat brain. *Journal of Pineal Research*, 28(2), 89-96.
231. Scholtens, R. M., van Munster, B. C., van Kempen, M. F., and de Rooij, S. E. (2016). Physiological melatonin levels in healthy older people: A systematic review. *Journal of Psychosomatic Research*, 86, 20-27.
232. Zhao, Z.-Y., Xie, Y., Fu, Y.-R., Bogdan, A., and Touitou, Y. (2002). Aging and the circadian rhythm of melatonin: A cross-sectional study of chinese subjects 30–110 yr of age. *Chronobiology International*, 19(6), 1171-1182.
233. Kędziora-Kornatowska, K., Szewczyk-Golec, K., Czuczejko, J., Lumen, K. v. M. d., Pawluk, H., Motyl, J., Karasek, M., and Kędziora, J. (2007). Effect of melatonin on the oxidative stress in erythrocytes of healthy young and elderly subjects. *Journal of Pineal Research*, 42(2), 153-158.
234. Andersen, L. (2016). The analgesic effects of exogenous melatonin in humans. *Danish Medical Journal*, 63(10), B5289.
235. Costello, R. B., Lentino, C. V., Boyd, C. C., O'Connell, M. L., Crawford, C. C., Sprengel, M. L., and Deuster, P. A. (2014). The effectiveness of melatonin for promoting healthy sleep: A rapid evidence assessment of the literature. *Nutrition Journal*, 13(1), 1-17.
236. Buscemi, N., Vandermeer, B., Hooton, N., Pandya, R., Tjosvold, L., Hartling, L., Vohra, S., Klassen, T. P., and Baker, G. (2006). Efficacy and safety of exogenous melatonin for secondary sleep disorders and sleep disorders accompanying sleep restriction: Meta-analysis. *British Medical Journal*, 332(7538), 385-393.
237. Phillips, J. L., Singh, N. P., and Lai, H. (2009). Electromagnetic fields and DNA damage. *Pathophysiology*, 16(2-3), 79-88.
238. Sharma, R., Masaki, J., and Agarwal, A. (2013). Sperm DNA fragmentation analysis using the tunel assay. *Spermatogenesis*, 121-136.
239. Güler, G., Ozgur, E., Keles, H., Tomruk, A., Vural, S. A., and Seyhan, N. (2016). Neurodegenerative changes and apoptosis induced by intrauterine and extrauterine exposure of radiofrequency radiation. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 75, 128-133.
240. Pandey, N. and Giri, S. (2018). Melatonin attenuates radiofrequency radiation (900 mhz)-induced oxidative stress, DNA damage and cell cycle arrest in germ cells of male swiss albino mice. *Toxicology and Industrial Health*, 34(5), 315-327.

241. Koç, G. E., Kaplan, S., Altun, G., Gümüş, H., Deniz, Ö. G., Aydın, I., Önger, M. E., and Altunkaynak, B. Z. (2014). Neuroprotective effect of melatonin and omega-3 on the hippocampus of rat that prenatally exposed to 900 mhz electromagnetic fields. *Deneyisel ve Klinik Tıp Dergisi*, 31(2), 130.
242. Narayanan, S. N., Kumar, R. S., Potu, B. K., Nayak, S., Bhat, P. G., and Mailankot, M. (2010). Effect of radio-frequency electromagnetic radiations (rf-emr) on passive avoidance behaviour and hippocampal morphology in wistar rats. *Upsala Journal of Medical Sciences*, 115(2), 91-96.
243. Aydogan, F., Unlu, İ., Aydın, E., Yumusak, N., Devrim, E., Samim, E. E., Ozgur, E., Unsal, V., Tomruk, A., and Ozturk, G. G. (2015). The effect of 2100 mhz radiofrequency radiation of a 3g mobile phone on the parotid gland of rats. *American Journal of Otolaryngology*, 36(1), 39-46.
244. Grafström, G., Nittby, H., Brun, A., Malmgren, L., Persson, B. R., Salford, L. G., and Eberhardt, J. (2008). Histopathological examinations of rat brains after long-term exposure to gsm-900 mobile phone radiation. *Brain Research Bulletin*, 77(5), 257-263.
245. Schmidt-Kastner, R., Wietasch, K., Weigel, H., and Eysel, U. (1993). Immunohistochemical staining for glial fibrillary acidic protein (gfap) after deafferentation or ischemic infarction in rat visual system: Features of reactive and damaged astrocytes. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 11(2), 157-174.
246. Hausmann, R., Riess, R., Fieguth, A., and Betz, P. (2000). Immunohistochemical investigations on the course of astroglial gfap expression following human brain injury. *International Journal of Legal Medicine*, 113(2), 70-75.
247. Brillaud, E., Piotrowski, A., and De Seze, R. (2007). Effect of an acute 900 mhz gsm exposure on glia in the rat brain: A time-dependent study. *Toxicology*, 238(1), 23-33.
248. Mausset-Bonnefont, A.-L., Hirbec, H., Bonnefont, X., Privat, A., Vignon, J., and De Seze, R. (2004). Acute exposure to gsm 900-mhz electromagnetic fields induces glial reactivity and biochemical modifications in the rat brain. *Neurobiology of Disease*, 17(3), 445-454.
249. Çiğ, B. and Nazıroğlu, M. (2015). Investigation of the effects of distance from sources on apoptosis, oxidative stress and cytosolic calcium accumulation via trpv1 channels induced by mobile phones and wi-fi in breast cancer cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1848(10), 2756-2765.
250. Mortazavi, S. and Mortazavi, S. (2016). Oxidative mechanisms of biological activity of low-intensity radiofrequency radiation. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 35(4), 303.
251. Mortazavi, S., Mosleh-Shirazi, M., Tavassoli, A., Taheri, M., Mehdizadeh, A., Namazi, S., Jamali, A., Ghalandari, R., Bonyadi, S., and Haghani, M. (2013). Increased radioresistance to lethal doses of gamma rays in mice and rats after exposure to microwave radiation emitted by a gsm mobile phone simulator. *Dose-Response*, 11(2), 281-292.

252. Mortazavi, S., Motamedifar, M., Namdari, G., and Taheri, M. (2012). Pre-exposure to radiofrequency radiations emitted from a gsm mobile phone increases resistance to a bacterial infection in balb/c mice. *Journal of Biomedical Physics and Engineering*, 2, 139-146.
253. Mortazavi, S., Motamedifar, M., Namdari, G., Taheri, M., Mortazavi, A., and Shokrpour, N. (2014). Non-linear adaptive phenomena which decrease the risk of infection after pre-exposure to radiofrequency radiation. *Dose-Response*, 12(2), 233-245.
254. Cao, Y., Xu, Q., Jin, Z.-D., Zhou, Z., Nie, J.-H., and Tong, J. (2011). Induction of adaptive response: Pre-exposure of mice to 900 mhz radiofrequency fields reduces hematopoietic damage caused by subsequent exposure to ionising radiation. *International Journal of Radiation Biology*, 87(7), 720-728.
255. International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection. (2010). Guidelines for limiting exposure to time-varying electric and magnetic fields (1 hz to 100 khz). *Health Physics*, 99(6), 818-836.

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı**



Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

**Sayın Doç. Dr. Bahriye SIRAV ARAL
Biyofizik Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi**

Araştırmacı grubu Bahriye SIRAV ARAL, Kevser DELEN, Dilek KUZAY, Merve SEYMEN, Gülnur TAKE KAPLANOĞLU'dan oluşan, G.Ü.ET-17.039 kod numaralı ve *"2600 MHz Radyo Dalgalarının Erkek Sıçanlarda Kan-Beyin Bariyeri Geçirgenliğine Etkisi ve Melatoninin Nöroprotektif Rolü"* başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-17.039 and entitled *"Effect of 2600 MHz radio waves on blood-brain barrier permeability in male rats and neuroprotective role of melatonin"* is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

Hayvan Türü: Wistar Albino(Erkek)
Hayvan Sayısı: 36

Ek:1 Liste

Ek 1 (devam). Etik Kurul Onayı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ :02.06.2017		TOPLANTI SAYISI : 05	
ADI-SOYADI		İMZA	
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)			
Uzm.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)			
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU			
Prof.Dr.Tuncay PEKER			
Prof.Dr.Fatma AKAR			
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK			
Doç.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ			
Doç.Dr.Süleyman YEŞİL			
Doç.Dr.Emre BARIŞ			
Doç.Dr.İpek SÜNTAR			
Doç.Dr.Neşet Volkan ASAR			
Vet.Hek.Burcu AVCI			
Osman İÇ			

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : DELEN, Kevser
Uyruğu : T.C.

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik ABD	2016-devam ediyor
Lisans	Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi	2008-2014

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2016-devam ediyor	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi	Araştırma Görevlisi
2015-2016	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	Araştırma Görevlisi
2014-2015	Polatlı Duatepe Devlet Hastanesi	Tabip

Yabancı Dil

İngilizce: 83,75

Yayınlar

1. Tokdemir, Ç. P., Seymen, C. M., Soykan, Y., **Delen, K.**, Aral, B., Take, K. G., Karçaaltıncaba, D. (2019). Does Exposure of Smart Phones during Pregnancy Affect the Offspring's Ovarian Reserve? A Rat Model Study. *Fetal and Pediatric Pathology*, 10, 1-11. Doi: 10.1080/15513815.2019.1692112 (Yayın No: 5709334).
2. **Delen, K.**, Aral, B., Oruç, S., Seymen, C. M., Kuzay, D., Yeğin, K., Take, K. G. (2021). Effects of 2600 MHz Radiofrequency Radiation in Brain Tissue of Male Wistar Rats and Neuroprotective Effects of Melatonin. *Bioelectromagnetics*, 42, 159-177. Doi: 10.1002/bem.22318 (Yayın No: 6899346).

3. Yavaş, M. C., Yeğin, K., Oruç, S., **Delen, K.**, Sırav, B. (2021). Analysis of thiol/disulphide homeostasis and oxidant-antioxidant status as a result of exposure to radio-frequency electromagnetic fields. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 40(1), 84-91. Doi: 10.1080/15368378.2021.1874970 (Yayın No: 6938531).
4. Seymen, C. M., **Delen, K.**, Oruç, S., Take, K. G., Kuzay, D., Aral, B. (2021). 2600 MHz Radiofrequency Radiation Exposure and Protective Role of Melatonin: Effects on Epididymis. *European Journal of Medical and Educational Technologies*, 14(1), 1-8. Doi: 10.30935/ejmets/9685 (Yayın No: 6615208).

Bildiriler

1. **Delen, K.**, Oruç, S., Çalış, P., Sırav, B., Karçaaltıncaba, D. 2100 MHz RF Uygulanan In vivo Deney Sisteminde Maruziyet Değerlendirmesi. 28-29. Ulusal Biyofizik Kongresi, 6-9 Eylül 2017, İstanbul.
2. Oruç, S., **Delen, K.**, Sırav, B., Canseven, A.G. Radyo Frekans Radyasyon Maruziyetimiz Soğurucu Kullanılarak Azaltılabilir mi? 28-29. Ulusal Biyofizik Kongresi, 6-9 Eylül 2017, İstanbul.
3. Çalış, P., Seymen, M., Soykan, Y., **Delen, K.**, Sırav, B., Kaplanoğlu, G., Karçaaltıncaba, D. (2018). Akıllı Telefonlardaki Radyofrekans Alanının Over Rezervi Üzerine Etkisi: Hayvan Modeli Çalışması. TSRM Uluslararası Üreme Sağlığı ve İnfertilite Kongresi (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:5176740)
4. Kuzay, D., Sırav, B., Özer, Ç., Oruç, S., **Delen, K.** (2018). Effects of 2100 MHz Radio Frequency and 50 Hz Very Low Frequency Radiation on Oxidative Stress of Brain Tissue and Plasma of Diabetic and Non Diabetic Rats. 1st International EurasianConference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2018) (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:4727884)
5. **Delen, K.**, Oruç, S., Koç, A., Kuzay, D., Seymen, M., Kaplanoğlu, G., Sırav, B. 2600 MHz Radyofrekans Radyasyonun Deri ve Karaciğer Dokusu Hidroksiprolin Düzeyleri Üzerine Etkisi. 31. Ulusal Biyofizik Kongresi, 9-12 Ekim 2019, Adana.
6. Koç, A., **Delen, K.**, Oruç, S., Kuzay, D., Seymen, M., Kaplanoğlu, G., Sırav, B. The Effects of 2600 MHz Radio Waves On Testical Tissue of Male Rats and The Protective Role of Melatonin. 1. Uluslararası & 24. Ulusal Multidisipliner Klinik Toksikoloji Kongresi, 25-27 Mayıs 2019, Konya.

7. Oruç, S., **Delen, K.**, Kuzay, D., Sıray, B. Melatonin uygulanan ve uygulanmayan ratlarda 2600 MHz radio-frekans radyasyonun serebellum üzerine etkileri, 18. Ulusal Sinir Bilim Kongresi, 6-9 Kasım 2020, Ankara.

Projeler

1. 2600 MHz radyo dalgalarının erkek sıçanlarda kan-beyin bariyeri geçirgenliğine etkisi ve melatoninin nöroprotektif rolü, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı, (Tamamlandı).
2. Farklı sürelerde uygulanan 2100 MHz Radyofrekans Radyasyonun normal ağırlıktaki ratlar ile obez ratların beyin dokusu ve serumlarında inflamatuvar ve oksidatif etkileri, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı, (Yürürlükte).

Kurslar

1. Kök Hücre Yaz Kursu 2017, Kök Hücre, Hacettepe Üniversitesi Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi, 10.07.2017 -14.07.2017
2. XX. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu, Deney Hayvanları Uygulama ve Etik, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi, 23.05.2017 -31.05.2017
3. Tıpta İletişim Becerileri Temel Eğitimi (Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıpta İletişim Becerileri Kurulu ve Tıp Eğitimi ABD.)



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..