

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

**YENİ NESİL 5G RADYOFREKANS RADYASYONUN
SIÇAN SİTOKİN DÜZEYLERİ VE KEMİK GELİŞİMİ
ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yasin KARAMAZI

**BİYOFİZİK ANABİLİM DALI DOKTORA PROGRAMI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMANI
Prof. Dr. Mustafa EMRE**

ADANA-2023

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

**YENİ NESİL 5G RADYOFREKANS RADYASYONUN
SIÇAN SİTOKİN DÜZEYLERİ VE KEMİK GELİŞİMİ
ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yasin KARAMAZI

**BİYOFİZİK ANABİLİM DALI DOKTORA PROGRAMI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMANI
Prof. Dr. Mustafa EMRE**

**Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından TDK-2021-
13488 nolu proje ile desteklenmiştir.**

ADANA-2023

KABUL VE ONAY

Biyofizik Anabilim Dalı Doktora Programı Çerçevesinde yürütölmüş olan
“Yeni Nesil 5G Radyofrekans Radyasyonun Sıçan Sitokin Düzeyleri ve Kemik Gelişimi
Üzerine Etkisinin Araştırılması”

adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tarihi: 23 / 01 / 2023

TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof. Dr. Mustafa EMRE
Çukurova Üniversitesi
Başkan

Prof. Dr. Cemil SERT
Harran Üniversitesi
Üye

Prof. Dr. Mehmet Zölküf AKDAĞ
Dicle Üniversitesi
Üye

Doç. Dr. Figen ÇİÇEK
Çukurova Üniversitesi
Üye

Doç. Dr. Ayper BOĞA PEKMEZEKMEK
Çukurova Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Tez, Yönetim Kurulunun / / tarih ve
ile kabul edilmiştir.

sayılı kararı

Prof. Dr. Behice DURGUN
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS / DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI

ETİK BEYANI

Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesini okuduğumu ve anladığımı ve Çukurova 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 kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tez olarak sunduğum bu çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda bu konuda hakkımda yapılacak tüm yasal işlemleri ve aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

23 /01/2023

Yasin KARMAZI

Kayıtlı olunan Program : Biyofizik ABD – Doktora

Tezin Konusu : **Yeni Nesil 5G Radyofrekans Radyasyonun Sıçan Sitokin Düzeyleri ve Kemik Gelişimi Üzerine Etkisinin Araştırılması**

Tezin Türü : Yüksek Lisans ☐ Doktora ☒

Danışmanın Adı-Soyadı : Prof. Dr. Mustafa EMRE

Danışmanın İletişim Bilgileri : Ç.Ü Tıp Fakültesi Biyofizik ABD

Tele

E-Po

Öğre

Tele

E-Po

Adre

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmalarım süresince büyük emeği geçen, her konuda derin bilgi ve tecrübeleriyle her zaman bana yol gösteren tez danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa EMRE'ye en içten dileklerimle sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Deneyisel çalışmalarımın yürütülmesinde kıymetli desteğini esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Salih ÇETİNER'e teşekkürü özellikle bir borç bilir saygılarımı sunarım. Deneyisel çalışmalarında, kemik gelişiminin belirlenmesinde gösterdikleri yardım ve katkıları için Erciyes Üniversitesi Temel Tıp Bilimleri Anatomi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi değerli hocam Sayın Prof. Dr. Harun ÜLGER'e ve Araş. Gör. Dr. Sümeyye UÇAR'a, immün sistem çalışmalarında spektrofotometrik ve flow sitometrik analizler sırasında benden hiçbir desteklerini esirgemeyen Çukurova Üniversitesi, Balcalı Hastanesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Merkez Laboratuvarı değerli personelleri Sayın Belma ÇELİK'e ve Sayın Nevin TÜRKAN'a, tez çalışmamın analiz sürecinde değerli yardım ve katkılarını esirgemeyen Çukurova Üniversitesi Temel Tıp Bilimleri Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Gülşah SEYDAOĞLU'na ve değerli arkadaşlarım Araş. Gör. Dr. Gülsevin AKSOY'a, Araş. Gör. Dr. Murat TOKUŞ'a ve Dr. Çağır ÇOŞKUN'a çok teşekkür ederim. Ayrıca deneyisel çalışmalarımın önemli bir bölümünün yürütüldüğü Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneyisel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde benimle birlikte emek harcayan, yardım ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli arkadaşım Araş. Gör. Çağır AVCI başta olmak üzere tüm SABİDAM personeline ve Anabilim Dalı sekreterimiz Sayın Perihan YEŞİL'e sonsuz teşekkürler.

Tez çalışmama maddi destek sağlayan Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje No: TDK-2021-13488) teşekkür ederim.

Ayrıca bu tez çalışmama destekleri için Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsüne'de çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince fedâkarlık göstererek her zaman beni destekleyen aileme en büyük teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	iii
ETİK BEYANI	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
ÖZET	xviii
ABSTRACT	xix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. Mobil İletişim Teknolojisinin Tarihçesi.....	6
2.2. Yeni Nesil 5G Teknolojisi.....	7
2.3. Elektrik Alan	8
2.4. Manyetik Alan.....	10
2.5. Elektromanyetik Alan.....	11
2.6. Radyofrekans-Elektromanyetik Alanların Biyolojik Etkileri.....	13
2.7. Radyasyon	15
2.8. Radyasyon Kaynakları	16
2.8.1. İyonlaştıran Radyasyon ve Biyolojik Etkileri	18
2.8.2. İyonlaştırmayan Radyasyon ve Biyolojik Etkileri	19
2.9. Sitokinler	19
2.9.1. Sitokinlerin Tarihçesi	20
2.9.2. Sitokinlerin Genel Özellikleri.....	21
2.10. Sitokinlerin Fonksiyonel Sınıflandırılması.....	23
2.10.1. Doğal İmmün Sistemi Düzenleyen Sitokinler	24
2.10.2. Edinsel (Adaptive) İmmün Sistemi Düzenleyen Sitokinler	25
2.10.3. Hematopoezisi Düzenleyen Sitokinler	27
2.11. Pro-İnflamatuar Sitokinler.....	28
2.11.1. Tümör Nekrozis Faktör (TNF)	28
2.11.1.1. TNF'nin Biyolojik Etkileri.....	29

2.11.2. İnterferon (IFN).....	29
2.11.2.1 IFN'lerin Biyolojik Etkileri.....	31
2.12. Anti-İnflamatuar Sitokinler	33
2.12.1. İnterlökin (IL).....	33
2.12.2. İnterlölin-4 (IL-4).....	34
2.12.2.1. IL-4'ün Biyolojik Etkileri	35
2.12.3. İnterlökin-10 (IL-10)	35
2.12.3.1. IL-10'nun Biyolojik Etkileri	36
2.13. Apoptozis	37
2.13.1. Apoptozisin Morfolojik Evreleri	38
2.14. Kemiğin Genel Özellikleri	39
2.15. Kemik Hücreleri	41
2.15.1. Osteoprogenitor Hücreler	42
2.15.2. Osteoblastlar	42
2.15.3. Osteositler.....	43
2.15.4. Osteoklastlar	43
2.16. Kemik Yapımında Rol Alan Düzenleyiciler	44
2.17. Kemik Büyümesi.....	45
2.17.1. Endokondral Kemikleşme	45
2.17.2. İntramembranöz Kemikleşme	45
2.18. Kemiğin Biyoelektriksel Özellikleri.....	46
3. GEREÇ VE YÖNTEM	47
3.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması	47
3.2. Radyofrekans Elektromanyetik Alan Uygulama Düzeneği	47
3.3. Spesifik Absorpsiyon Oranı (SAR).....	50
3.4. Sitokin Düzeyleri İçin Deneysel Gruplarının Oluşturulması	51
3.5. Anneksin-V (FITC/PI) Yöntemi	53
3.6. ELISA Tayin Yöntemi ve Değerlendirme.....	55
3.7. Kemik Gelişimi İçin Deneysel Grupların Oluşturulması	56
3.8. Sıçanlarda Gebelik Olgusunun Oluşturulması	58
3.9. Erişkin Dönem Erkek Sıçanlardan Doku Alınması.....	59
3.10. Prenatal Dönem Kemik Çalışmaları	60

3.10.1. İkili İskelet Boyama Yöntemi	61
3.10.2. Kemik Gelişimi Morfolojik Ölçümleri.....	64
3.11. Neonatal Dönem Çalışmaları	65
3.12. İstatistiksel Analiz	66
4. BULGULAR	67
4.1. Erişkin Dönem Bulguları.....	67
4.1.1. 6 GHz RF-EMA'nın Vücut Ağırlığı Üzerine Etkisi	67
4.1.2. 6 GHz RF-EMA'nın Organ Ağırlığı Üzerine Etkisi	69
4.1.3. Kan Hücrelerinde Anneksin-V Düzeylerinin Değerlendirilmesi ..	70
4.1.4. Plazmada Pro-İnflamatuar ve Anti-İnflamatuar Sitokin Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	73
4.2. Isı Ölçüm Bulguları.....	75
4.3. Gestasyonel Dönem Bulguları.....	75
4.3.1. Prenatal Fetüs Bulguları	75
4.3.2. Kemik Gelişimi Bulguları	77
4.3.3. Ön Ekstremitte Kemiklerin Morfolojik Bulguları.....	77
4.3.3.1. Clavicula'ların Morfolojik Bulguları	77
4.3.3.2. Scapula'ların Morfolojik Bulguları	80
4.3.3.3. Humerus'ların Morfolojik Bulguları	84
4.3.3.4. Radius'ların Morfolojik Bulguları.....	88
4.3.3.5. Ulna'ların Morfolojik Bulguları.....	91
4.3.4. Arka Ekstremitte Kemiklerin Morfolojik Bulguları.....	94
4.3.4.1. Femur'ların Morfolojik Bulguları	95
4.3.4.2. Tibia'ların Morfolojik Bulguları	98
4.3.4.3. Fibula'ların Morfolojik Bulguları.....	102
4.4. Neonatal Dönem Bulguları.....	105
5. TARTIŞMA	106
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	120
KAYNAKLAR.....	121
ÖZGEÇMİŞ.....	132

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No:	Sayfa No
Şekil 2.1.	Mobil iletişim sisteminin gelişim süreci 6
Şekil 2.2.	Elektrik alan şiddetinin noktasal yüklerin etrafında oluşturduğu doğrultu, yönleri ve çizgileri. A) +q noktasal yük etrafında, B) -q noktasal yük etrafında, C) Zıt işaretli yükler etrafında, D) Negatif yükler etrafında, E) Pozitif yükler etrafında. 9
Şekil 2.3.	Manyetik alan çizgileri. 10
Şekil 2.4.	Mıknatısın manyetik alan çizgileri 11
Şekil 2.5.	Elektromanyetik dalganın yayılımı. 12
Şekil 2.6.	Biyolojik bir S sistemine tanecik ya da dalgasal biçimde bir enerji uygulandığında, etkileşim sonrası S sistemi S' sistemine dönüşürken enerji parametrelerinde (foton veya tanecik enerjisi, şiddet, kütle, hız, frekans, dalga boyu, vs.) değişimler 15
Şekil 2.7.	Elektromanyetik Spektrum..... 16
Şekil 2.8.	Sitokinlerin şematik gösterimi..... 20
Şekil 2.9.	Kemik dokusunun mikroskobik yapısı ve hücreleri..... 39
Şekil 2.10.	Kemik hücreleri..... 42
Şekil 3.1.	RF-EMA uygulama düzeneği. A) RF ışıma kaynağı, B) Özel uygulama kafesi, C) Kontrol ve RFR grupları için Faraday kafesleri 48
Şekil 3.2.	RF-EMA maruziyet düzeneği. A) 6 GHz RF-EMA uygulanan deneysel kafes sistemi ve RF jeneratörü, B) Uygulama kafesinin üstten görünüş simülasyonu..... 49
Şekil 3.3.	Ortam Ölçümleri. A) ElectroSmog meter cihazı B) 4 kanallı termometre cihazı, C) Uygulama kafesinin 4 köşesinden RF-EMA'ya maruziyet öncesi ve sonrası ısı değişimlerinin ölçülmesi 50
Şekil 3.4.	6 GHz'de SAR simülasyonları. A) Erişkin sıçan voksel modeli, B) 1 g ortalama kütle için erişkin erkek sıçan horizontal kesit tüm vücut SAR dağılımı, C) 1 g ortalama kütle için gebe dişi sıçanda prenatal fetüs horizontal kesit tüm vücut SAR dağılımı..... 51
Şekil 3.5.	Erkek sıçanlardan kan alınması. A) Genel anestezi altındaki sıçan, B) Anestezi altındaki erkek sıçanın sırt üstü yatırılarak kardiyak ponksiyon yöntemi uygulaması, C) Kalpten 5cc _lik enjektör yardımıyla kan alma işlemi. 52
Şekil 3.6.	Plazma örneklerinin alınması. A) Kanın EDTA içeren kan tüpüne alınımı, B) Santrifüj cihazı, C) Plazmanın kandan ayrılması, D) Plazmanın endorf tüpe aktarılması saklanması..... 58

Şekil 3.7.	Gebe sıçanların tespit edilmesi. A) Çiftleştirilmek üzere erkek ve dişi sıçanların aynı kafeslere alımı, B) Vaginal smear testi, C) Nikon Eclipse E200 model düz tip endüstriyel mikroskop, D) Gebe sıçanlarda spermium/spermatozomların tespit edilmesi.....	59
Şekil 3.8.	Gebe sıçanlara sezeryan uygulanması. A) Gebe sıçan anestezi altında sezeryana hazırlanması, B) Karın ön duvarı kesilerek uterusun çıkartılması, C) Fetüslerin anne sıçandan ayrılması.	60
Şekil 3.9.	Fetüslerde uzunluk ölçümleri. A) Baş-kuyruk, B) Occipital-frontal, C) Parietal-parietal.....	61
Şekil 3.10.	Fetüslerin derileri soyularak gözlerinin ve iç organlarının çıkartılması.....	61
Şekil 3.11.	İkili iskelet boyama yöntemi. A) Fetüsün iskelet sistemi, B) Ön ekstremit kemikleri, C) Arka ekstremit kemikleri.....	64
Şekil 3.12.	ImageJ programında yapılan kemik ölçümleri. A) Kemik total boy uzunluğu ölçümü, B) Kemikleşme sergileyen bölgenin ölçümü, C) Total yüzey alanı ölçümü, D) Kemikleşme sergileyen bölgenin yüzey alan ölçümü	65
Şekil 3.13.	Neonatal dönemdeki yavru sıçanlarda cinsiyet tayini. A) Yeni doğan neonatal yavru, B) Anüs ile ürogenital mesafe uzunluğu.....	65
Şekil 4.1.	Erkek sıçanların haftalık ağırlık değişimleri.....	68
Şekil 4.2.	Dişi sıçanların haftalık ağırlık değişimleri	69
Şekil 4.3.	6 GHz RF-EMA'nın VR, EAR, LAR ve NR hücre yüzde etkisinin flow sitometrik analiz yöntemi ile gruplar arasında değerlendirilmesi.....	71
Şekil 4.4.	6 GHz RF-EMA'nın kan hücre yüzdelерinin gruplar arasında zamanla değişimleri (n=10). A) VR, B) EAR, C) NR ve D) LAR hücre yüzdesi. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir. *, istatistiksel olarak anlamlı (p <0,05)	71
Şekil 4.5.	Pro-inflamatuar (TNF- α , IFN- γ) ve anti- inflammatuar (IL-4, IL-10) sitokinlerin plazma düzeylerinin zamana bağlı değişimleri (n=10). A) TNF- α , B) IFN- γ , C) IL-4 ve D) IL-10. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir. *, istatistiksel olarak anlamlı (p <0,05).....	73
Şekil 4.6.	Clavicula'lara ait verilerin gruplar arasında değişimleri (n=20). A) Total kemik uzunluğu, B) Kemikleşme sergileyen bölge ortalama uzunluğu, C) Kemikleşme yüzde oranı. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (One-Way ANOVA). **, istatistiksel olarak anlamlı (p<0.01), ***, istatistiksel olarak anlamlı (p<0.0001)	79
Şekil 4.7.	Clavicula'lara ait görüntüler. A) Kontrol grubu, B) Grup-I, C) Grup-II, D) Grup-III.....	79
Şekil 4.8.	Scapula'lara ait verilerin gruplar arasında değişimleri (n=20). A) Total kemik uzunluğu, B) Kemikleşme sergileyen bölge ortalama uzunluğu, C) Kemikleşme yüzde oranı. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak	

	gösterilmiştir (One-Way ANOVA). ***; istatistiksel olarak anlamlı (p<0.001), ****; istatistiksel olarak anlamlı (p<0.0001)	82
Şekil 4.9.	Scapula'lara ait görüntüler. A) Kontrol grubu, B) Grup-I, C) Grup-II, D) Grup-III.....	83
Şekil 4.10.	Humerus'lara ait verilerin değişimleri (n=20). A) Total kemik uzunluğu, B) Kemikleşme sergileyen bölge ortalama uzunluğu, C) Kemikleşme yüzde oranı. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (One-Way ANOVA). *; istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05), ***; istatistiksel olarak anlamlı (p<0.001), ****; istatistiksel olarak anlamlı (p<0.0001).....	86
Şekil 4.11.	Humerus'lara ait görüntüler. A) Kontrol grubu, B) Grup-I, C) Grup-II, D) Grup-III.....	87
Şekil 4.12.	Radius'lara ait verilerin değişimleri (n=20). A) Total kemik uzunluğu, B) Kemikleşme sergileyen bölge ortalama uzunluğu, C) Kemikleşme yüzde oranı. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (One-Way ANOVA). *; istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05), ***; istatistiksel olarak anlamlı (p<0.001), ****; istatistiksel olarak anlamlı (p<0.0001).....	90
Şekil 4.13.	Radius ve ulna'lara ait görüntüler. A) Kontrol grubu, B) Grup-I, C) Grup-II, D) Grup-III	90
Şekil 4.14.	Ulna'lara ait verilerin değişimleri (n=20). A) Total kemik uzunluğu, B) Kemikleşme sergileyen bölge ortalama uzunluğu, C) Kemikleşme yüzde oranı. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (One-Way ANOVA). ****; istatistiksel olarak anlamlı (p<0.0001).....	93
Şekil 4.15.	Femur'lara ait verilerin değişimleri (n=20). A) Total kemik uzunluğu, B) Kemikleşme sergileyen bölge ortalama uzunluğu, C) Kemikleşme yüzde oranı. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (One-Way ANOVA). ***; istatistiksel olarak anlamlı (p<0.001), ****; istatistiksel olarak anlamlı (p<0.0001).....	96
Şekil 4.16.	Femur'lara ait görüntüler. A) Kontrol grubu, B) Grup-I, C) Grup-II, D) Grup-III.....	97
Şekil 4.17.	Tibia'lara ait verilerin değişimleri (n=20). A) Total kemik uzunluğu, B) Kemikleşme sergileyen bölge ortalama uzunluğu, C) Kemikleşme yüzde oranı. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (One-Way ANOVA). ***; istatistiksel olarak anlamlı (p<0.001), ****; istatistiksel olarak anlamlı (p<0.0001).....	100
Şekil 4.18.	Tibia ve Fibula'lara ait görüntüler. A) Kontrol grubu, B) Grup-I, C) Grup-II, D) Grup-III	101
Şekil 4.19.	Fibula'lara ait verilerin değişimleri (n=20). A) Total kemik uzunluğu, B) Kemikleşme sergileyen bölge ortalama uzunluğu, C) Kemikleşme yüzde oranı. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (One-Way	

ANOVA). ***; istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.001$), ****; istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.0001$)..... 104

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge No:	Sayfa No
Çizelge 2.1. İyonlaştıran ve iyonlaştırmayan radyasyon	18
Çizelge 2.2. Sitokinlerin genel fonksiyonel sınıflandırılması.	23
Çizelge 2.3. Kemik yapımı, yıkımı, morfojenezi ve onarımında rol alan lokal ve sistemik düzenleyiciler	44
Çizelge 3.1. Sitokin düzeyleri için deney gruplarının oluşturulması.	51
Çizelge 3.2. Kemik gelişimi morfolojik bulguları için deney gruplarının oluşturulması.	57
Çizelge 3.3. İkili iskelet sistemi boyama yöntemi protokolü.....	62
Çizelge 4.1. Haftalık periyotlarla erişkin erkek sıçanların ortalama vücut ağırlık (g) dağılımları	67
Çizelge 4.2. Haftalık periyotlarla erişkin dişi sıçanların ortalama vücut ağırlık (g) dağılımları	68
Çizelge 4.3. Erişkin erkek sıçanların ortalama organ ağırlık (g) dağılımları	70
Çizelge 4.4. Sıçan kan hücrelerinin gruplar arasında dağılımı	72
Çizelge 4.5. Sıçan ortalama plazma seviyelerinde pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar sitokin düzeylerinin gruplar arasında dağılımı.....	74
Çizelge 4.6. Uygulama kafesinin tüm köşelerinden RFR kaynağı açık ve kapalı durumda iken ısı değişimlerinin dağılımı	75
Çizelge 4.7. 18 günlük prenatal dönem total fetüs sayıları.....	76
Çizelge 4.8. Prenatal dönem fetüslere ait ortalama baş-kuyruk uzunluğu, occipital-frontal uzunluk, parietal- parietal uzunluk ve ağırlık verilerinin dağılımı	76
Çizelge 4.9. Clavicula'lara ait verilerin gruplar arasında dağılımları.	80
Çizelge 4.10. Scapula'lara ait verilerin gruplar arasında dağılımları.....	84
Çizelge 4.11. Humerus'lara ait verilerin gruplar arasında dağılımları	88
Çizelge 4.12. Radius'lara ait verilerin gruplar arasında dağılımları	91
Çizelge 4.13. Ulna'lara ait verilerin gruplar arasında dağılımları.....	94
Çizelge 4.14. Femur'lara ait verilerin gruplar arasında dağılımları	98
Çizelge 4.15. Tibia'lara ait verilerin gruplar arasında dağılımları	102
Çizelge 4.16. Fibula'lara ait verilerin gruplar arasında dağılımları.	105
Çizelge 4.17. Yavru sıçanlarda cinsiyet tayini.	105

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

C	: Coulomb
E	: Elektrik alan
B	: Manyetik alan
T	: Tesla
G	: Gauss
%	: Yüzde
f	: Frekans
I	: Dalga şiddeti
λ	: Dalga boyu
V	: Dalganın ortalama hızı
α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gamma
Ca⁺²	: Kalsiyum
P	: Fosfor
kg	: Kilogram
cm	: Santimetre
ml	: Mililitre
W	: Watt
kD	: kilodalton
EMA	: Elektromanyetik alan
RF	: Radio frekans
MHz	: Megahertz
GHz	: Gigahertz
WLAN	: Wireless local area networks
OP	: Osteoporoz
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
IFN	: İnterferon
IL	: İnterlökin

5G	: 5. Jenerasyon
MIMO	: Çoklu giriş-çoklu çıkış
LPS	: Lipopolisakkarid
Ip	: Intraperitonel
Iv	: Intravenöz
PS	: Fosfatidil serin
PBS	: Fosfatlı tampon solusyonu
FITC	: Fluorescein isothiocyanate
PI	: Propidium iodide
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ROS	: Reaktif oksidasyon ürünler
PD	: Güç yoğunluğu
UV	: Morötesi Dalgalar
CSIF	: Cytokine Synthesis Inhibitory Factor
RD	: Radyo dalgaları
MD	: Mikrodalga
EMD	: Elektromanyetik Dalga
HSC	: Hematopoietik kök hücreler
DD	: Death domain
WHO	: World Health Organization (Dünya sağlık örgütü)
SAR	: Specific Absorption Rate (Özgül soğurma oranı)
CW	: Continuous Wave
TRP	: Transient Receptor Potential (geçici reseptör potansiyel)
VGCC	: Voltaj Kapılı Ca^{+2} Kanalları
PRR	: Pattern Recognition Receptors (Örgü Tanıma Reseptörleri)
NK	: Natural Killer
TLR	: Toll-like receptor
PAMPs	: Patojen İlişkili Moleküler Örgüler
DAMPs	: Hasar İlişkili Moleküler Örgüler
MHC	: Major Histo-compatibility Complex
LAK	: Lenfokinle aktive edilmiş killer
Th	: T helper

ÖZET

Yeni Nesil 5G Radyofrekans Radyasyonun Sıçan Sitokin Düzeyleri ve Kemik Gelişimi Üzerine Etkisinin Araştırılması

Günümüzde teknolojik sistemler inanılmaz bir hızla ve sürekli gelişim göstermektedir. Teknolojik ilerlemeler ile birlikte yeni teknolojik cihazların frekanslarının 5G orta band aralığında uyarlanması düşünüldüğü için, çalışmamızda 6 GHz Radyofrekans Elektromanyetik Alan (RF-EMA) kullandık. Tez Çalışmamız iki aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada, 6 GHz (0.083 W/kg SAR) RF-EMA'nın immün sistem üzerindeki olası etkileri araştırma amaçlandı. Bu aşamada, ağırlıkları 250-300 g arasında değişen toplam 10 adet Wistar Albino türü erişkin erkek sıçan kullanıldı. RF-EMA uygulama öncesi tüm sıçanlardan kardiyak ponksiyon yöntemi ile kan alınarak (2cc) kontrol grubu (0.gün) olarak seçildi. Aynı sıçanlar 6 hafta boyunca 4 saat/gün 6 GHz RF-EMA'ya maruz bırakıldı. RF-EMA uygulama sonrası aynı sıçanlardan 2.kez kan alımı (2cc) yapılarak radyofrekans radyasyon (RFR) grubu (42.gün) olarak seçildi. Sıçan kan hücrelerinde canlı, erken/geç apoptotik ve nekrotik hücre yüzde oranlarının belirlenmesi için anneksin- V kiti kullanılarak flow sitometrik yöntemle analiz edildi. Alınan kanların plazmaları ayrıldı. ELISA yöntemi kullanılarak pro-inflamatuar (TNF- α , IFN- γ ,) ve anti-inflamatuar (IL-10, IL-4) sitokin düzeylerine bakıldı.

Çalışmamızın ikinci aşamasında kemik gelişimi takibi için 10 adet Wistar Albino cinsi erişkin dişi sıçan ve 8 adet erişkin erkek sıçan kullanıldı. Çalışma, 2 erkek ile 2/3 dişi sıçandan oluşan kontrol ve üç maruziyet gruba bölündü. Kontrol RF-EMA'ya maruz kalmadı. Maruziyet gruplarına 6 hafta boyunca 4 saat/gün 6 GHz (0.054 W/kg SAR) RF-EMA uygulandı. 6. hafta sonunda tüm gruplarda gebelik işlemleri gerçekleştirildi. Gestasyonel dönemin 18. gününde her gruptan iki adet gebe sıçan anestezi altında sakrifiye edilerek fetüsler alındı. Tüm fetüslerde parietal-parietal, occipital-frontal, baş-kuyruk uzunlukları ölçüldü. Ayrıca, kemikleşmeyi değerlendirmek için her bir gruptaki 20 adet fetüslerde ön ve arka ekstremitelere ait tüm kemikler Imagej programı kullanılarak ölçüldü.

Canlı hücrelerin % oranlarında istatistiksel olarak anlamlı artış saptanırken, erken apoptotik ve nekrotik hücrelerin % oranlarında istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu ve geç apoptotik süreçteki hücrelerin % oranlarında gruplar arasında istatistiksel olarak kayda değer herhangi bir değişiklik olmadığı belirlendi. Bununla birlikte, RF-EMA uygulaması sonrasında TNF- α ve IFN- γ 'nın plazma düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu saptanırken, IL-4 plazma düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan artış ve IL-10 plazma düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan azalma olduğu tespit edildi. RF-EMA uygulamasına maruz kalan gruplardaki tüm fetüslerde kemik gelişimi, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artış gösterdi.

Sonuç olarak, yakın gelecekte hayatımıza girmesi muhtemel olan yeni nesil 5G sistemlerinden yayılan 6 GHz RF-EMA, immün sistem ve kemik gelişimi üzerinde olumlu etkilere sahip olduğu tespit edildi.

Anahtar kelimeler: 6 GHz RF- EMA, sıçan, kan, sitokin, fetüs, kemik.

ABSTRACT

Investigation of the Effect of Next Generation 5G Radiofrequency Radiation on Rat Cytokine Levels and Bone Development

At the present time, technological systems show are developing at an incredible speed and continuously. Since the new technological devices consider the adaptation in the mid band range 5G, 6 GHz RF-EMF were used in the present study. Our study consists of two stages. First stage we aimed to investigate the possible effects of 6 GHz (0.083 W/kg SAR) RF-EMF on the immune system. This stage 10 Wistar Albino male rats were used weights range between 250-300g. Before RF-EMF applications, blood samples were collected from all rats by cardiac puncture method (2cc). These rats were selected as the control groups (0.day). The same rats, after 4 day adaptation period by placing in the special application cage were exposed to the 6 GHz RF-EMF application for 4 hour/day during 6 weeks. After RF-EMF applications, blood samples (2cc) were re-collected from the same rats. These rats were selected as the radiofrequency radiation (RFR) groups (42.day). Blood samples both of the groups worked at the same day. Flow cytometric analysis in which annexin-V kit used, was performed to determine the percentage the ratio of viable cell, the early apoptotic cell, the late apoptotic and necrotic cell. Plasma was separated of the blood samples. Pro-inflammatory (TNF- α , IFN- γ) and anti-inflammatory (IL-10, IL-4) cytokine levels were measured by using the ELISA method.

In the second stage of our study, 10 Wistar Albino adult female and 8 male rats were used for bone development. Study rats were divided into control and three exposure groups that consist of 2 male and 2/3 female. The control was not RF-EMF exposure. 6 GHz (0.054 W/kg SAR) RF-EMF was applied to the exposure groups for 4 hours/day during 6 weeks. At the end of 6 weeks, all groups were performed pregnancy procedures. On the 18 th days of the gestational period, two pregnant rats from each of groups were sacrificed under anesthesia and taken all fetus. parietal-parietal, occipital-frontal, head-tail lengths were measured in all fetus. Moreover, all bones of the anterior and posterior extremities were calculated by using Imagej program in 20 fetus in each of group to evaluate ossification.

The ratio of % viable cells were increased this difference was statistically significant. The ratio of % cells in the early apoptotic and necrotic decreased statistically significant and the ratio of % cells in the late apoptotic were no statistically meaningful differences by compared to between groups. In addition to after RF-EMF application, there was a statistically significant increase in plasma levels of TNF- α and IFN- γ , while were not detected statistically significant increase in plasma levels IL-4 and were no statistically significant decrease on plasma levels IL-10. Bone development in all fetus was increased statistically significantly in the groups exposed to RF-EMF application compared to the control group.

Consequently, 6 GHz RF-EMF emitted from new generation 5G systems, which is likely to enter our lives in the near future, were detected a positive effects on the immune system and bone development.

Key words: 6 GHz RF- EMF, rat, blood, cytokine, fetus, bone.

1. GİRİŞ

Günlük yaşantımızda en önemli ve vazgeçilmez unsurların başında hiç şüphesiz kablosuz iletişim sistemlerinin yaygın kullanımı gelmektedir. Özellikle son yıllarda mobil iletişim teknolojilerinin inanılmaz bir hızla ve sürekli gelişimleri ve gittikçe artan kullanıcı sayısı bu sistemlerde yüksek veri hızı, düşük gecikme süresi ve yüksek kapasitesine (bant genişliği) olan talebin artmasına neden olmuştur. Bu sistemlerin gelişimine paralel olarak yaşamımıza giren teknoloji ürünleri bir taraftan yaşantımıza kolaylıklar sağlarken diğer taraftan birtakım olumsuzlukları beraberinde getirmişlerdir. Hızla gelişen teknoloji ile birlikte günlük hayatın birçok alanında RF-EMA'lara maruziyet giderek artmaktadır. RF-EMA'ların etkisini uzun süre sonra göstermesi ve muhtemel olan zararlı etkileri kamuoyu tarafından yeteri kadar bilinmemektedir (1).

Genel olarak, günlük yaşantıda kullanılan RF (3 kHz - 300 GHz) bölgesinde yer alan elektromanyetik dalgalar; baz istasyonları, cep telefonları, yerel alan ağları, kablosuz iletişim ağları, radyo frekans tanımlama sistemleri, radyo ve televizyon yayınları, endüstriyel ve medikal uygulamalar dahil olmak üzere çeşitli alanlarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (2).

5. generasyon (5G), birçok standart uygulamaları ve kablosuz ağ alt yapı bağlantıları ile çok daha hızlı ve pratik yollarla yaşantımızı kolaylaştırmayı amaçlayan yeni bir teknoloji sistemidir. Bu yeni sistem önceki nesillere kıyasla daha yüksek performanslı veri iletim hızı, çok düşük gecikme süreleri, güçlü güvenilirlik özellikleri ve gelişmiş ağ kapasitesi olanaklarına sahiptir (3).

Wilhelm Conrad Röntgen tarafından 1895 yılında keşfedilen radyasyon (ışınım), canlıya ve maddeye nüfuz edebilen enerji yayılımı ya da aktarımı olarak tanımlanabilen, elektromanyetik dalgalar veya enerjetik parçacıklardır (4). Radyasyon, yaşadığımız çevrede tüm canlıları doğrudan ya da dolaylı olarak etkileyen önemli bir faktördür. Günümüze kadar gerek cep telefonu gerekse RF- EMA kaynaklı radyasyonun sağlık üzerindeki etkisine ilişkin yapılan anketler, insan ve hayvan modellemeleri kullanılarak çok sayıda in vivo, in vitro ve epidemiyolojik çalışmalar yapılmıştır (5-7). Ancak son yıllarda RF-EMA'lara maruz kalınmasından ve olası olumsuz etkileri konusunda

potansiyel sağlık riski ve güvenlikle ilgili kamuoyu endişeleri giderek artış göstermektedir (8, 9).

RF-EMA'ların biyolojik sistemlerdeki enerji iletişimi; biyolojik dokulardaki giricik (penetrasyon), soğrulma (absorbsiyon), dağılım, g depolanması ve vücut tarafından üretilen elektrik ve manyetik alan tarafından belirlenebilir. Bu parametreler bireyden bireye vücut büyüklüğü, cinsiyet, yaş ve fiziksel özelliklere bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Canlılar genellikle bulundukları ortama bağlı olarak aynı anda birden fazla RF-EMA'lara maruz kalabilmekte ve bu durum dokularda ısı artışına neden olmaktadır (10).

Elektromanyetik alanın yoğunluğu, yeni nesil cep telefonların kullanımına paralel olarak artış göstermektedir. Cep telefonlarının kullanım süresinin artması ile birlikte artan elektromanyetik radyasyona maruziyet insan vücudunda makromoleküler düzeyde biyolojik hasarlara neden olmaktadır (11). Bununla birlikte, insan vücudunda var olan doğal EMA dengesinin bozulması sonucunda hücrelerde yapısal ve işlevsel farklılıklar oluşur. Hücre diferansiyasyonu (farklılaşması) ve proliferasyonu (oğalma) temel bir hücresel süreç olup normal kültür koşullarında hücre çoğalma hızı her hücre için neredeyse aynıdır. Ancak, RF-EMA maruziyetine bağlı olarak hücre proliferasyon hızı ve dolayısıyla hücre döngüsü dağılımı etkilenmektedir (12).

RF-EMA'ların, insan ve deney hayvan modelleri kullanılarak lenfosit sayısı ve alt tipleri, kan hücreleri, hücre kültürü ve immün sistem üzerine etkisinin değerlendirildiği birçok çalışma vardır (13-15). Bu doğrultudaki çalışmalar sonucunda elde edilen veriler, başka bir çalışmanın sonucuyla çoğu zaman tutarlı olmadığı hatta aynı çalışmada bile bulguların tutarlı olmadığı görülebilmektedir. Bu durumun ortaya çıkış nedeni, bireysel farklılıklar veya farklı deney koşulları olabilir (1). Bununla birlikte, insan vücudunda var olan doğal EMA dengesinin bozulması sonucunda da hücrelerde yapısal ve işlevsel farklılıklar ortaya çıkabilmektedir (16).

Çeşitli evresel kaynaklı uyaranlara hızlı yanıt verebilen immün sistemi radyasyonun öncelikli hedefleri arasında yer almaktadır. İmmün sistem; canlılarda hastalık yapıcı tüm zararlı etkenlere (enfeksiyon, toksik, tümör, kanser vb.) karşı vücudun savunma mekanizmasını oluşturan hücre, doku ve moleküllerin oluşturduğu

sistemdir. Çocukluk döneminde tanı konulan immün sistem bozukluklarının birçoğu kalıtsal nedenlerle ortaya çıkarken, erişkinlikte ise çevresel faktörlerin (RF-EMA'lar, kimyasal maddeler vb.) etkisi daha belirgindir.

Canlı olan hücrelerde yaşam süresinin sona ermesi durumu fizyolojik ve patolojik şartlarda iki farklı mekanizma ile gerçekleşir. Bunlar, apoptoz ve nekroz olaylarıdır. Apoptoz, önemli bir programlı hücre ölüm olup nörodejeneratif hastalıklar, otoimmün bozukluklar, iskemik hasar ve birçok kanser türü dâhil olmak üzere birçok durumlarda görülür (17). Nekroz ise hücre, doku veya organların çeşitli uyarılar ile geri dönüşümü olmayacak şekilde hasar görerek yaşamsal işlevlerini ve bütünlüğünü yitirmesi sonucu gerçekleşen travmatik ya da patolojik ölüm olayıdır (18). RF-EMA'lara maruz kalma süresi ve sıklığı, canlılık oranlarındaki farklılıklar ve apoptoz ile doğrudan ilişkilidir. Apoptozisin morfolojik evrelerinin regülasyonunda Bcl-2 ailesi gibi moleküller, kaspazlar, p53, sitokrom-c, geçici reseptör potansiyel (TRP), voltaj kapılı Ca^{+2} kanalları (VGCC), reseptörler ve mitokondriyonlar işlev görür (18, 19). RF-EMA'lara maruz kalan canlı hücrelerinde, apoptotik süreç üzerindeki etkilerini değerlendiren çalışmalarda, maruz kalma koşulları (frekans, sinyal tipi, sıklık, süre vb.) ve biyolojik parametreler ile ilgili veriler etkin rol oynamaktadır (20).

5G RF-EMA ağ sistemlerinin geliştirilmesine yönelik uluslararası bir rekabet söz konusudur. Bu yeni sistemlerin oluşturduğu akut veya kronik maruziyeğin immün sistem hücrelerine etkisi üzerine yapılmış çalışmalar oldukça sınırlıdır. Son zamanlarda yapılan birkaç çalışmada daha çok sitokin aktivitesi üzerinde yoğunlaşmıştır (21-23). Sitokinler, immün yanıtları düzenleyerek immün sistemde merkezi rol oynayan protein grubudur. İnflamasyon ve enfeksiyon uyarılarına karşılık immün yanıtta sitokinler çeşitli biyolojik etkilere sahiptir (24, 25). RF-EMA ile immün sistem etkileşimleri sonucunda özellikle sitokinlerin hipersensitivite reaksiyonlarının ve otoimmün bozuklukların indüklenmesinde aktif rol oynayabileceği düşünülmektedir (26).

Diğer taraftan, özellikle yüksek frekanslı RF-EMA maruziyesinin kemik dokusuna etki mekanizması üzerine günümüze kadar tatmin edici çalışmalar bulunmamaktadır. Bilindiği gibi kemik, kalsiyum ve fosforun hidroksiapatit kristalleri

biçiminde kollajen yapı üzerine depolanmasıyla yapısal ve metabolik fonksiyonları için kendi mimari yapısını ve kitlesini düzenleyen oldukça karmaşık bir dokudur. Kemik dokunun regülasyonuna birçok hücre, protein, enzim, sitokin ve hormon aracılık eder (27). Kemik dokusunda ortaya çıkan herhangi bir defekt, aralarında osteoporoz (OP), osteopeni ve osteomalazi gibi çeşitli iskelet sistemi hastalıklarında fizyo-patolojik temeli oluşturur.

Kemikte piezoelektrik, pyroelektrik, ferroelektrik ve biyofloresans gibi biyoelektrik potansiyellerin keşfinden sonra RF-EMA'ların kemik hücrelerinin bazı davranışlarını etkileyebileceği iddia edilmiştir. RF-EMA'ların kemik, kemik gelişimi, kemik hücreleri ve kemikle ilgili hastalıklarda önemli bazı biyolojik etkilere sahip olduğu bildirilen çalışmalarda, kemik dokusunun mineralizesinin hızla kaybedilmesi, kemiğin trabeküler yapı dağılımı ve kemik dokusunda depolanan minerallerin kristal özelliklerinin değişimi ile karakterize osteoporozda kemik kaybının önlediği gözlenmiştir (28). Bunlarla birlikte, RF-EMA uygulamasının kemik trabekül maturasyonunu, kemik formasyonunu, kemik hacmini, osteoblastlarda alkalen fosfataz (ALP) aktivitesini uyarak kırıkta hücre farklılaşmasını arttırdığı, epifizial büyümede ve kemik kırıklarının onarımında etkili olduğu saptanmıştır (28, 29). Aynı zamanda, RF-EMA'nın proteoglikan ve kollajen sentezini uyarak fibrokartilaj kalsifikasyonunu ve enkonral kemikleşmeyi artırdığı, öte yandan bazı hormonal değişiklikler gerçekleştirerek veya osteoklastik aktiviteyi baskılayarak, osteoblastik aktiviteyi arttırdığı ifade edilmiştir (30).

RF-EMA kaynaklarının doğası gereği ve yaygın uygulama alanları göz önüne alındığında, maruziyet durumlarına ve zarar verme potansiyeline ilişkin etkilerinin tam olarak belirlenmesi kamuoyu için spesifik öneme sahiptir. Özellikle immün sistem hücreleri, çevresel uyaran kaynaklı çeşitli pertürbasyonlara uyum sağladığı bilinmektedir. Ancak, kullanılan frekans aralığı çeşitlilik gösteren RF-EMA'ların immün sistemi tarafından tolere edilebilecek ya da uyum sağlayacak değerini/değerlerini bildiren tatmin edici çalışmalar yok denecek azdır. Bu durum göz önünde bulundurularak çalışmamızda, uzun süreli (42 gün) 5G (6 GHz, 0.083 W/kg SAR) RF-EMA'nın immün sistemi üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık. Çalışmamızda, 6 GHz RF-EMA maruziyetinin sıçan kan hücrelerinde; canlı hücre,

erken/geç apoptotik hücre ve nekrotik hücre yüzde oranları incelendi. Ayrıca sıçan plazma seviyelerinde; pro-inflamatuar sitokin (TNF- α ile IFN- γ) ve anti-inflamatuar sitokin (IL-4 ile IL-10) düzeylerine etkisi araştırıldı.

Diğer taraftan, RF-EMA kaynaklarının kemik dokusunda neden oldukları belirtilen çeşitli kronik hastalıklar veya sağlık sorunları açısından tüm araştırmacıların üzerinde anlaşıtı neden-sonuç ilişkileri de henüz tam olarak gösterilememiştir. Bu bağlamda çalışmamızın bu aşamasında da, 5G (6 GHz, 0.054 W/kg SAR) RF-EMA'nın prenatal fetüslerde kemik gelişimi üzerine etkisi incelendi.

Günlük yaşantıda kullanılan teknolojik cihazların frekansları giderek artırlmaktadır (31). 5G teknoloji sistemine geçilmesiyle günlük yaşantımızda kullandığımız birçok teknolojik aletlerin frekansları 5G'nin orta band aralığına (3.5 - 6 GHz) uyarlanması planlanmaktadır (32). Bu yüzden çalışmamızda kan hücreleri, plazma sitokin düzeyleri ve fetal kemik gelişimi üzerinde meydana gelebilecek etkileri inceleyebilmek için çalışmamızda 6 GHz RF-EMA kullandık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mobil İletişim Teknolojisinin Tarihçesi

Mobil iletişim teknolojisi, ilk kez Amerika’da 1973 yılında ortaya çıkmış ve kablosuz telefonun bulunması ile başlayıp, günümüze kadar inanılmaz hızla gelişmeler ortaya koymuştur. Bu teknolojik sistemlerin gelişim süreci, ticari olarak kullanıma başlamasından sonraki yaklaşık 10 yıllık dönemler içerisinde yeni bir nesil olarak geliştirilmiştir. Mobil sistemlerdeki gelişim süreci (1G’den 5G’ye) Şekil 2.1’de gösterilmiştir. Mobil iletişim sistemlerinin ortaya çıkmasında ve geliştirilmesinde en önemli etken, kullanıcı sayısındaki artış ile birlikte kullanıcıların daha etkili ve hızlı bir şekilde gereksinimlerinin sağlanması ve her geçen gün bu sistemlere olan ilginin artmasıdır.



Şekil 2.1. Mobil iletişim sisteminin gelişim süreci.

1982 yılında 1. nesil olarak kullanıma sunulan ve 1G olarak adlandırılan mobil haberleşme sistemi ile ülkemizde ilk kez yurtiçi sesli görüşmeler başlatılmış, 90’lı yıllarda 2G ile uluslararası sesli görüşme ve mesaj iletimi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, 2000’li yıllarda 3G teknolojisine geçilmesiyle ilk görüntülü görüşmeler sağlanmıştır. 2010 yılında 4G/4.5G teknolojileri ile daha kaliteli ve hızlı servisler sağlayan teknolojilere geçişler yapılmıştır (33). Günümüzde ülkemizde yeni nesil 5G

teknolojisi alt yapı çalışmaları başlatılmıştır. 5G teknolojisi sayesinde; veri iletim hızının 10 Gbps ve daha yüksek hızlarda olması, veri iletim sistemindeki gecikme süresinin en aza indirgenilmesi, yüksek kapasite sistemi ile veri hacmi etkileşimi bant genişliğinde yüksek miktarlarda veri transferi gerçekleştirilmesi mümkün olabilmektedir. Bunlarla birlikte, enerji verimliliğinde 1000 kata kadar ulaşan iyileştirmeler, cihazların kullanım ömürlerinin arttırılması, küçük boyutlarda baz istasyonları ile kapsama alanların genişletilmesi ve daha geniş coğrafi alanda hizmet verilebilmesi mümkün olacaktır.

2.2. Yeni Nesil 5G Teknolojisi

Yeni nesil 5G teknolojileri, bit başına daha az güçle daha yüksek veri aktarım hızlarına, düşük gecikme süreleri, üstün performans ve geniş kapsama alanları özellikleri ile yoğun kullanıcı sayısına sahip çeşitli kablosuz cihaz (cep telefonu, telsiz, tablet, bilgisayar, akıllı robot vs.) uygulamalarında kullanılması hedeflenen geleceğin teknoloji sistemidir.

Yeni 5G spektrumu radyo standartında genel olarak frekans band aralığı, 1GHz'nin altından 100 GHz'e kadar değişen aralıkta çalışacak şekilde tasarlanmıştır. Her ne kadar band aralığı geniş kapsamlı olsa bile, mevcut imkânlar ve uygunluk durumlarına göre 5G frekansı belirlenmektedir. Çeşitli haberleşme kuruluşları ve bazı araştırmacılar tarafından 5G hizmetlerinin sunulabileceği band aralığı farklı şekillerde açıklanmıştır. En genel anlamda, 5G spektrumunda band aralığı 6 GHz altı (sub-6 GHz) ve 6 GHz üstü (top-6 GHz) şeklinde iki kategoride incelenirken, daha spesifik olarak 1 GHz altı (sub-1 GHz), 3 GHz altı (sub-3 GHz) ve 3 GHz üstü (-3 GHz), mm-dalga altı (sub-mmWave) ve mm-dalga (mmWave) frekansları şeklinde sınıflandırılan çalışmalar da mevcuttur (34, 35).

5G'de kullanılacak antenlerin tasarlanmasında, zamanla değişen kullanım yoğunluğu ve radyo yayılım koşulları uyarlanarak radyasyon modellemelerinden faydalanılır. Bu modellemeler sayesinde, enerjinin uygun bir şekilde yönlendirilmesi ile kullanıcılara gelişmiş kapasitede ve daha iyi performanslarda veri hızı sağlanır. Yayılan ışınları belirli bir açıda yönlendirebilmek için birçok elemanla karakterize ve baz istasyonları ürünleri olan çoklu giriş-çoklu çıkış (MIMO) antenlerinden yararlanır. 5G

teknolojisinde kullanılacak MIMO, çok yüksek veri hızları sunmak için geliştirilmiş bir teknoloji ürünüdür. Kullanıcılara daha fazla avantaj sağlamak için çok yollu ortamlar aracılığıyla aynı anda daha fazla veri akışı göndererek, sistem kalitesini ve veri hızlarını çok ileri düzeyde artırmaktadır. 6 GHz altı 5G bantlarını kapsayan farklı elemanlı MIMO antenleri de tasarlanmıştır. Elemanlar, 5G uygulaması için iki farklı türde yayılan amplifikatör entegrasyonlu yapılardan oluşur (36). MIMO'da eş zamanlı çoklu iletimin sağlanması için, alıcı ve verici uçlarda çoklu anten sistemleri gereklidir. Vericideki çoklu antenlerden aynı anda birden fazla veri akışı gönderilirken alıcı ucundaki antenlerden aynı anda birden fazla veri akışı toplanır. Bununla birlikte, 6 GHz'e kadar frekans bantları için spektrum neredeyse dolmuş durumdadır. 5G'nin altyapısı diğer kablosuz teknolojilerden oldukça farklı olması nedeniyle, bu teknoloji sistemleri için anten tasarlanmasında frekans aralıklarının daha yüksek frekanslara çıkarılması gerekmektedir.

2.3. Elektrik Alan

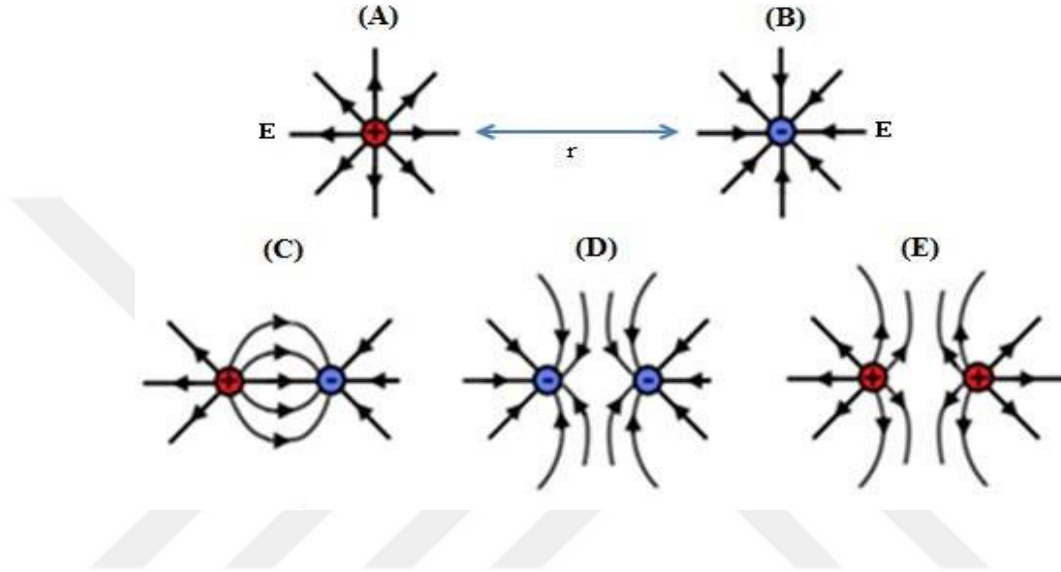
Alan kavramı; belirli bir bölgeye dağılmış olarak bulunan ve o bölgedeki herhangi bir cisimle etkileşen fiziksel bir niceliktir. Elektrik alan, uzayda belli bir noktada sabit noktasal bir yüke başka bir noktasal yük tarafından uygulanan itme/çekme kuvvet etkisi ya da birim yük başına uygulanan kuvvet olarak tanımlanır. Elektrik alan, vektörel bir nicelik olup $\mathbf{E}$ harfi ile temsil edilir ve Uluslararası birimi (SI) olarak Newton/Coulomb veya Volt/metre kullanılır. Elektrik yükü, elektromanyetik etkileşimlerini belirleyen atom altı parçacıklardır. İki yük arasındaki elektriksel kuvvet (Coulomb kuvveti) vektörel bir nicel olup büyüklüğü [2.1] ile;

$$\mathbf{F} = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q_1 q_2}{r^2} \mathbf{e}_r \quad [2.1]$$

Şeklinde gösterilir. Denklem [2.1]'de $\mathbf{F}$; Parçacık tarafından hissedilen elektrik kuvveti, $\frac{1}{4\pi\epsilon_0} = k$ ($9 \times 10^9 \text{ N.m}^2.\text{C}^{-2}$) Coulomb sabiti, r ; noktasal iki yük arasındaki uzaklık, $\mathbf{e}_r$; $\mathbf{F}$ elektrik kuvvet doğrultusunda birim vektörü, q_1 ve q_2 ; parçacığın yük büyüklükleridir.

Noktasal iki yük arasındaki elektriksel kuvvet büyüklüğü, yüklerin çarpımlarıyla doğru, yükler arasındaki mesafenin karesi ile ters orantılıdır. Bu yüklerin birbirleri

üzerinde oluşturdıkları elektriksel kuvvetin doğrultusu da her zaman yükleri birleştiren doğru boyuncadır. Noktasal iki yük arasındaki elektriksel kuvvet yükler zıt işaretli ise çekici, yükler aynı işaretli ise itici olur ki bu da bize yükün elektrik alanının hangi tarafa (içeri/dışarı) yöneldiğini gösterir. Pozitif ve negatif yükler bir araya getirilirse, elektrik alan çizgileri, pozitif yükten çıkıp negatif yükte sonlanacak şekilde yönelim gösterir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Elektrik alan şiddetinin noktasal yüklerin etrafında oluşturduğu doğrultu, yönleri ve çizgileri.
A) +q noktasal yük etrafında, **B)** -q noktasal yük etrafında, **C)** Zıt işaretli yükler etrafında, **D)** Negatif yükler etrafında, **E)** Pozitif yükler etrafında.

Denklem [2.1]'de noktasal yükleri birbirine eşit ve q olarak olarak tanımlarsak ($q_1=q_2=q$), **E** elektrik alan şiddeti:

$$\mathbf{E} = (\mathbf{F} / q)$$

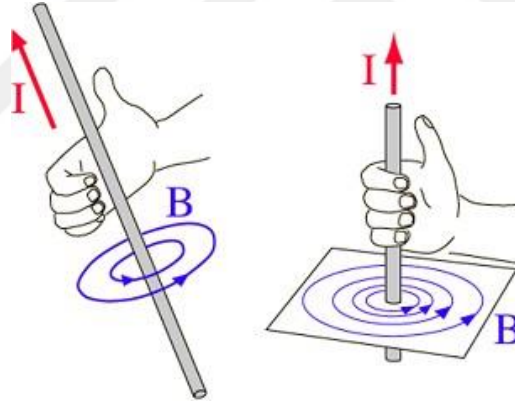
$$\mathbf{E} = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q}{r^2} \mathbf{e}_r \quad [2.2]$$

Şeklinde gösterilir. Burada, **E**; Noktasal yükler etrafında oluşan elektrik alan şiddet vektörüdür. Elektrik alan şiddet değerini, bir elektrik alanda birim yüzeye dik doğrultudaki kuvvet çizgileri sayısı belirler (37).

2.4. Manyetik Alan

Hareketli ve elektrik yüklü parçacıkların kuvvet etkisi ile bir iletken üzerinde yer değiştirmesi sonucu oluşturdıkları alana manyetik alan adı verilir. Manyetik alan doğrudan gözle görülebilen veya kolayca hissedilebilen bir olgu olmayıp çeşitli faktörlere bağlı olarak etkileri zamanla ortaya çıkmaktadır (38). Manyetik alan, vektörel bir nicelik olup B harfi ile temsil edilir ve birimi ‘Amper/metre’ (A/m) olarak ölçülür. SI birimler sisteminde manyetik alanın birimi olarak Nikola Tesla’nın (Sırp bilim adamı) ismi kullanılmaktadır. Bu birim günlük olaylarda çok büyük bir birim olduğu için pratikte Tesla (T) yerine Gauss (G) kullanımı tercih edilir (1Tesla =10⁴ Gauss).

Manyetik alan vektörünün yönü belirleyebilmek için, sağ el kuralından faydalanılır. Baş parmak akım yönünü gösterirken, diğer dört parmaklar ise iletken bir tele dolandığında manyetik alan vektörünün yönünü temsil eder (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Manyetik alan çizgileri.

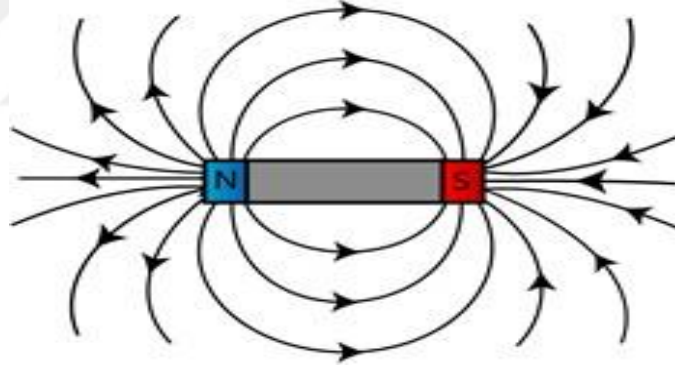
Herhangi bir manyetik alanda, v hızıyla hareket eden q yüklü parçacığa etkiyen manyetik kuvvet, **Lorentz kuvveti** olarak adlandırılır ve vektörel bir nicelik olup büyüklüğü [2.3] ile;

$$\mathbf{F}_B = q\mathbf{v} \times \mathbf{B} \quad [2.3]$$

$$F_B = qvB\sin \theta \quad [2.4]$$

Şeklinde formülize edilir. Burada F_B manyetik kuvveti olarak tanımlanır. Formül [2.4]'de, şayet v hızı, manyetik alan ile aynı doğrultuda ($\theta = 0$ veya 180°) ise F_B değeri sıfır, manyetik alana dik doğrultuda ($\theta = 90^\circ$) ise F_B değeri maksimum olacaktır.

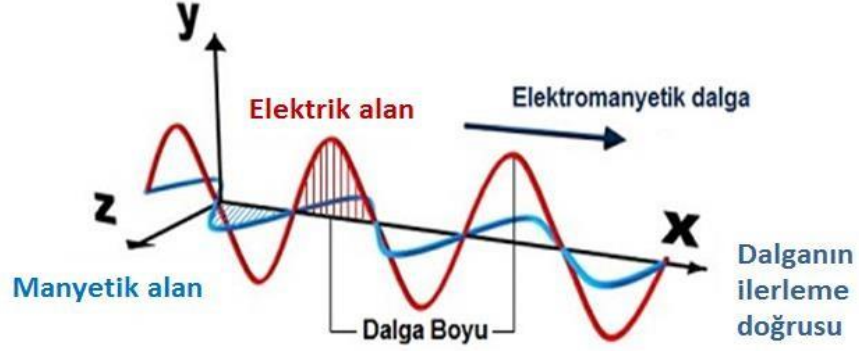
Manyetik kuvvetin büyüklüğü ve yönünü, parçacığın yüküne, hızına ve manyetik alanın yönü ve büyüklüğüne bağlıdır. Manyetik alan ve manyetik kuvvetinin yönünü ve etkisini daha iyi anlayabilmek açısından manyetik alan çizgilerinden faydalanılır. Örneğin, mıknatıslarda manyetik alan çizgileri, N kutbundan S kutbuna doğru kapalı devre oluşturur (Şekil 2.4). İki mıknatısta eş kutuplar birbirini iterken, zıt kutuplar birbirini çekmektedir. Manyetik alan çizgilerinin sık olduğu uç noktalarda manyetik alan şiddeti daha büyük değerlerdedir. Mıknatısın kutuplarından uzaklaştıkça bu alan zayıflar. Manyetik alan çizgileri birbirlerine paralel olup daima manyetik alana teğettir. Yaşadığımız çevrede manyetik alanlarla hemen her yerde karşılaşırız. Akım geçiren her şey, manyetik alanı meydana getirir. Dünyanın manyetik alanını ise akışkan olan iç kesimleri oluşturmaktadır (38, 39).



Sekil 2.4. Mıknatısın manyetik alan çizgileri.

2.5. Elektromanyetik Alan (EMA)

Elektrik yüklü ve hareketli parçacıklardaki elektronların (anyon ve katyon), kendi eksenleri etraflarında ve çekirdek dönmeleri sonucu oluşan alana elektromanyetik alan adı verilir. Diğer bir ifadeyle, elektrik alan ile manyetik alan birleşimiyle oluşan, belirli bir frekansta ve birbirleriyle belirli bir mesafe uzakta bir dizi dalga biçiminde salınan alanlardır. EMA, taşıdığı elektromanyetik enerji ile bir doğru boyunca uzayda ışık hızı ile yayılım gösterir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Elektromanyetik dalganın yayılımı.

Elektirik alan ve manyetik alan vektörleri yayılma doğrultusunda her zaman birbirleriyle kesişirler. Elektromanyetik dalgalar (EMD), belirli bir enerji ve momentuma sahip olup tüm dalga hareketlerindeki kırılma, girişim, kırınım ve yansıma özellikleri gösterirler. EMD'lerin birim zamanda yaptığı salınım sayısına ya da kendilerini tekrarlama sıklığına frekans (f) adı verilir. Frekans, skaler bir nicelik olup birim olarak Hertz (Hz) kullanılır. EMD'nin bir salınımda kat ettiği yola dalga boyu (λ) adı verilirken, birimi metre (m) olarak gösterilir. Birim yüzeye uygulanan ortalama güç ise EMD şiddeti olarak tanımlanır. Şiddet, I harfi ile temsil edilir. Dalganın ortalama hızı ise v ile gösterilirken, birim olarak m/s kullanılır (40). EMD'da dalga hızı, dalga boyu ve frekansı arasındaki ilişki;

$$V = \lambda \cdot f \quad [2.5]$$

Bağıntısı ile gösterilir. Denklem [2.5]'te görülebileceği gibi dalga boyu ile frekans arasında ters orantı vardır. EMD, boşlukta ışık hızı ile hareket ettiği için $V = c$ ışık hızı olarak temsil edilen c şeklinde gösterilir. EMD'lerin yaydığı enerji (foton enerjisi), frekans ile Planck sabiti (h ; $6.62 \times 10^{-34} \text{ J.s}$) çarpımından elde edilir.

$$E = h \cdot f \quad [2.6]$$

Denklem [2.5]'e göre frekans ve ışık hızı düzenlendiğinde, EMD'nin yaydığı enerji;

$$E = h \cdot c / \lambda \quad [2.7]$$

Bağıntısı elde edilir.

2.6. Radyofrekans-Elektromanyetik Alanların Biyolojik Etkileri

Canlılar bulundukları ortama bağlı olarak aynı anda birden fazla RF-EMA kaynaklarına maruz kalabilmekte ve bu durum sonucunda dokularda ısı artışı ile fiziksel, kimyasal ve biyolojik değişimler meydana gelmektedir (10, 41). Dokuda ısı etkisi; yerel veya tüm vücutta RF-EMA soğurulma veya enerji depolanması ile ortaya çıkar. Ortaya çıkan termal etkilerin belirlenmesinde elektriksel güç yoğunluğu cinsinden ifade edilebilen Özgül Soğurma Oranı (SAR, Specific Absorbtion Rate) büyüklüğü kullanılmaktadır. SAR, EMA'ya maruziyeti takiben insan vücudu tarafından soğurulan enerji değerinin bir ölçüsü olarak tanımlanır ve birim olarak Watt/kg şeklinde gösterilir. En genel anlamda, etkileşim mekanizmalarının ana belirleyicisi olarak; vücudun kaynağa olan uzaklığı, kaynaktan yayılan güç, maruziyet süresi vb. gösterilebilir.

Dokularda veya tüm vücutta ısı etkisi, bazen uygun kabul edilen dozlarda veya daha yüksek değerlerde ortaya çıkarken bazende tehlike sınırları altındaki düşük dozlarda bile ortaya çıkabilmektedir. Genel olarak, düşük doza uzun süreli maruz kalmak, yüksek doza kısa süreli maruziyetten daha riskli olduğu kabul edilmektedir (41). Elektromanyetik enerjinin tüm vücut tarafından absorbe edilerek ısıya dönüşümü ve vücut sıcaklığını arttırması, ısının kan dolaşımı yoluyla uzaklaştırılarak dengelenmesine kadar devam etmektedir. Günlük hayatımızda kullandığımız cep telefonları gibi RF-EMA kaynaklarının yol açabileceği sıcaklık artışı, gerçekte çok düşük değerlerde olduğu için vücudun normal mekanizmaları yoluyla kolaylıkla etkisizleştirilebilmektedir. Isıl olmayan etkilere bağlı birçok fizyolojik ve epigenetik mekanizmalardaki bozukluk nedeniyle, RF-EMA maruziyetinin etkili olduğu hastalıklar arasında baş ağrısı, kronik yorgunluk, kalp ritim bozukluğu, infertilite ve beyin aktivitelerinde değişiklikler (depresyon, uyku bozukluğu, dikkat bozuklukları vb.) bulunmaktadır (42).

Cep telefonu kullanımı kaynaklı kanser olasılığını artırdığını bildiren insan ve deney hayvanları çalışmalarında, RF-EMA'ların kanser hücrelerinin yaşam sürelerini uzatabileceği gibi, bu cihazların beynin yakın bölgesinde uzun süre tutulması durumunda beyin kanserlerini ve diğer kanser türlerini tetikleyebileceği ifade edilmiştir (43). Bunların yanı sıra, çocuklarda beyin dokusu erişkinlere kıyasla 1.5-3 kat daha fazla RF-EMA'lardan etkilenir. Özellikle, cep telefonların beyine yakın bölgede

tutulması durumunda glukoz kullanımında artışa neden olduğu gözlenmiştir (44). Gebelik esnasında sık telefon kullanımı embriyo ve fetüsün bilişsel gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir (45). İnfertilitenin önemli nedenleri arasında son 30 yıl içerisinde sperm sayısındaki ciddi boyutlarda düşüşün (%50-60) bir nedeni olarak, RF-EMA kaynaklarına maruziyet kaynaklı olduğu, aynı zamanda sperm fonksiyonu, hareketi ve canlılığı gibi çeşitli parametrelerin değişiminde doğrudan cep telefonu kullanımı ilişkilendirilmiştir (46). Yüksek enerjili RF-EMA'lar, biyolojik dokularda DNA hasarına yol açabilen hücresel ve moleküler değişimlere yol açabilmektedir. Ancak, ortaya çıkması muhtemel bu sağlık problemleri yüksek deneysel dozlar ve sürelerde daha fazla ortaya çıkabilmektedir (47).

RF-EMA'ların günümüzde en çok üzerinde araştırılmış konularından başında tüm hastalıkların ortak mekanizması olarak kabul edilen hücresel stres etkisi gelir. Uzun süreli RF-EMA'lara maruz kalınması sonucunda serbest radikal konsantrasyonlarının artışına ve hücre membranlarında lipid peroksidasyona neden olarak temel hücresel fonksiyonlarda bozulmalara ve ilerleyici hücre ölümlerine yol açtığı saptanmıştır (48). Aynı zamanda, mitokondriyal membran potansiyelini ve dolayısıyla enerji verimini değiştirerek hücre canlılıklarının azalmasına ve apoptozun artmasına neden olmaktadır (49).

RF-EMA'ların biyolojik termal etkileri, SAR değerlerinin belirli bir limitte yani bir dokuda 30 dakika içerisinde 1 °C'lik ısınma artışına yol açması halinde kabul edilir. Dokular için bu değerler 4 W/kg olarak belirlenmiştir (50). Cep telefonları gibi RF-EMA yayan kaynaklar için Avrupa Birliği standartlarında ortalama SAR sınırı kafa için 2 W/kg, tüm vücut için 0,4 W/kg olarak belirlemiştir (50). Son yıllarda RF-EMA'ların, kan hücreleri ve immün sistemi üzerinde etkili olduğunu bildiren bazı raporlarda bu etkiler, bazı araştırmacılara göre 10 mW/cm² ve üzerindeki güç yoğunluğundaki radyasyonlarda görülebilmekte iken bazı araştırmacılara göre de 0,5 mW/cm² ve civarındaki güç yoğunluklarında görülebilmektedir (51).

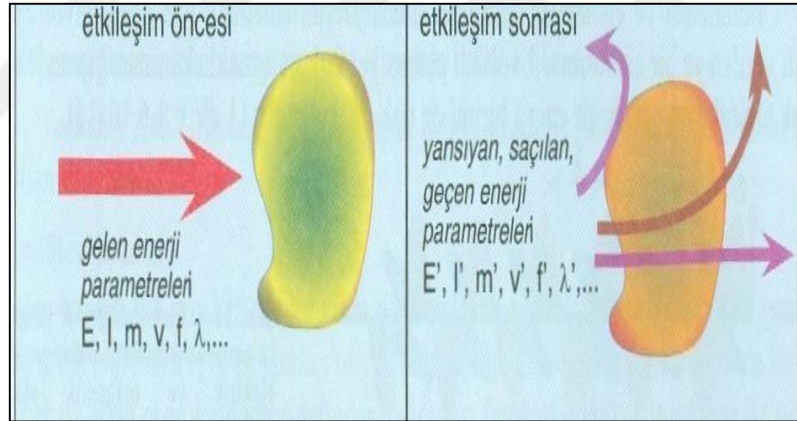
Çalışmamızda ortalama güç Yoğunluğu (PD) ise, yaklaşık 11,80 µW/cm² olarak hesaplandı. Bununla birlikte, RF-EMA kaynakları apoptosis ve nekroz olaylarını doğrudan etkileyen önemli bir faktör olduğundan, 6GHz RF-EMA'nın apoptozu

indükleyebileceği çalışmamızın hipotezi olmuştur. Bu bakımdan çalışmamızda sıçan kan hücrelerinde apopitotik evreler (erken, geç) incelenmiştir.

2.7. Radyasyon

Wilhelm Conrad Röntgen tarafından 1895 yılında x-ışınlarının ve Curie tarafından 1900 yılların başında radyoaktivitenin keşfi ile birlikte radyasyon, radyasyonun etkileri ve radyasyondan korunma konularına ilgiler artmıştır. Noktasal bir enerji kaynağından çıkan yarıçaplar doğrultusunda çevreye yüklü, kütleli ve enerjetik (enerjinin bir formdan diğerine dönüşümü) tanecik ya da dalgasal enerji yayılması ya da aktarılması olayına radyasyon (ışınım) adı verilir.

Doku, hücre ve organizma gibi biyolojik sistemlere herhangi bir tür enerji uygulandığında, hem biyolojik sistemlerin işlevlerinde ve özelliklerinde hem de enerji parametrelerinde değişimler ortaya çıkar (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Biyolojik bir S sistemine tanecik ya da dalgasal biçimde bir enerji uygulandığında, etkileşim sonrası S sistemi S' sistemine dönüşürken enerji parametrelerinde (foton veya tanecik enerjisi, şiddet, kütle, hız, frekans, dalga boyu vs.) değişimler (4).

Elektromanyetik radyasyon etkileşim sonucunda biyolojik sistemde meydana gelen değişimler olumlu yönde ise, sistemde varlığı bilinen bozukluklar enerji uygulaması ile giderilmeye çalışılır ki bu yöntemler tedaviye yönelik uygulamalar grubuna girer. Ayrıca söz konusu bu etkileşim sonrası değişen enerji parametreleri, tanısal amaçlı enerji uygulamalarında olduğu gibi sistemin yapısı ve işlevi hakkında da bilgi vermektedir. Tanısal amaçlı çalışmalarda uygulanan enerjinin, biyolojik

Doğal radyasyon kaynakları; insan yapımı olmayan doğanın bir parçasıdır. Bu radyasyonlar dış ve iç kaynaklı olabilirler. Dış kaynaklı olarak güneş, en çok bilinen doğal radyasyon kaynağıdır. Ayrıca, yer kabuğundaki radyoaktif elementlerden yayılan ışınlamalar (terrestrial), uzay boşluklarından gelen kozmik ışınlamalar, toprakların yapısında bulunan radyoaktif elementler, solunum ve yiyecekler yoluyla alınan radyasyonlar bu gruba örnek verilebilir. İç kaynaklı olanlar ise canlı vücudunda doğal halde bulunan Potasyum-40, Radyum-226, Karbon-14 vb. radyoaktif izotopların yaydığı radyasyonlar örnek gösterilebilir.

Tüm canlıları etkisi altına alan ve çevre radyasyonu (background radiation) olarak da adlandırılan bu doğal kaynaklar, yaşadığımız bölgelerdeki binaların yapı malzemelerine, yüksekliklerine, iklim şartlarına, toprak bileşimlerine ve hava koşullarına bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (52). Maruz kaldığımız radyasyonun %88'ni doğal radyasyon kaynakları oluşturur.

Yapay radyasyon kaynakları; bilimsel destekli teknolojilerin katkısıyla ve insan yapımı olarak üretilen radyasyonlardır. Gelişmiş ülkelerde yapay radyasyon kaynaklarından olan radyasyon maruziyetinin yaklaşık %50'sini medikal görüntüleme oluşturmaktadır. Aynı zamanda, tüketici ürünlerinde kullanılan radyoaktif maddeler, endüstriyel uygulamalarda kullanım, nükleer bomba denemeleri ve nükleer enerji alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu sınıfta yer alan radyasyon, total radyasyon maruziyetinin %12'sini oluşturmaktadır (52).

Elektromanyetik spektrum incelenecek olunursa bu EMD'ler hücre ya da dokularda etki derecesine göre, iyonlaştıran ve iyonlaştırmayan radyasyonlar olarak iki kategoride incelenir (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. İyonlaştıran ve iyonlaştırmayan radyasyonlar.

İyonlaştıran Radyasyonlar	İyonlaştırmayan Radyasyonlar
Alfa (α) parçacıkları	Radyo dalgaları
Beta (β) parçacıkları	Mikro dalgalar
Nötronlar	Kızılötesi ışınlar
X- ışınları	Görünür ışık
Gama (γ) ışınları	Morötesi Dalgalar (UV)

2.8.1. İyonlaştıran Radyasyon ve Biyolojik Etkileri

Yüksek enerjili fotonlardan oluşan ışınlar, bir atoma çarptıklarında o atomun dış yörüngesinde bulunan elektronu kopararak, atomun yüklü veya iyon haline gelmesine sebep olur. Bu olaya iyonlaştıran radyasyon adı verilir (53). İyonlaştıran radyasyonlar başlıca parçacık tipi ve dalga tipi radyasyon olmak üzere ikiye gruba ayrılır.

Parçacık tipi radyasyon; çok hızlı hareket edebilen, gözle görülemeyecek kadar küçük, belirli bir kütle ve yeterli düzeyde enerjiye sahip küçük parçacıklar olarak tanımlanırlar. Alfa (α) parçacıkları, beta (β) parçacıkları, nötronlar, protonlar ve elektronlar başlıca bilinen parçacık tipi radyasyon tipleridir.

Dalga tipi radyasyon; belirli bir enerjiye sahip fakat kütsüz olan parçacıklar olarak tanımlanırlar. Bu grupta başlıca x-ışını ve gama (γ) ışınları yer alırlar. Bu iki ışınların birbirinden farkı, x-ışını atomu çevreleyen elektron bulutunda oluşurken, gama ışınları ise atomun çekirdeğinde oluşmasıdır.

İyonlaştıran radyasyonlar yeterli düzeyde enerji taşıdıklarından ve atomların yapısını ve elektrik yüklerini değiştirebildiğinden molekül bağlarını kırabilir veya mekanizmalarını bozarak yeni ve farklı moleküller oluşumuna neden olabilirler. Aynı zamanda, hücreler radyasyondan tamamen etkilenerek normal olmayan büyüme hızı nedeniyle bölünme özelliğini kaybedebilirler. Bu radyasyonla etkileşim sonrası açığa çıkan serbest radikaller, hücrelere sızarak olumsuz kimyasal tepkimelere yol açabilirler.

Böylece, iyonlaştıran radyasyonlar canlı organizmaların hücre yapılarında ve mekanizmalarında hasarlara sebep olabilmektedirler (52, 53).

2.8.2. İyonlaştırmayan Radyasyon ve Biyolojik Etkileri

Canlılarda atomik bağları kırmak veya iyon oluşturabilmek için yeterli enerjiye sahip olmayan ışınlara iyonlaştırmayan radyasyon adı verilir. Elektromanyetik spektrumundaki kızılötesi ışınlar, görünür ışık, radyo dalgaları, mikrodalgalar ve morötesi dalgalar iyonlaştırmayan radyasyon türleri içerisinde yer alırlar.

İyonlaştırmayan radyasyonların biyolojik doku etkileşimleri, dalganın gücüne, maruz kalma süresine ve dalga kaynağına olan uzaklığa bağlı olarak canlılar üzerinde ısı etkileri oluşturmakla birlikte bazı olumsuz etkilere de neden olabilmektedirler (53). İyonlaştırmayan radyasyon kaynaklarına maruziyetin, iyonlaştıran radyasyonlara kıyasla daha az zararlı olduğu bilinmesine rağmen, uzun vadeli durumu olumsuz etkilere yol açmaktadır. Bu konuda yapılan bazı in vitro ve in vivo çalışmalarda, RF-EMA'ların erkeklerde sperm hücrelerinin fizyolojisini ve morfolojisini etkileyerek spermatogenez, sperm parametrelerini, hareketliliği ve erkek gamet konsantrasyonunu değiştirebilen bir mekanizma olduğu gösterilmektedir (53-54).

Radyasyon maruziyeti sonrası yapısı değişen çok sayıda molekülün işlevlerinin başka benzerleri tarafından sağlanması sonrası hücrede radyasyon etkisine bağlı önemli bir hasar oluşturmaz iken, DNA gibi anahtar molekül olarak bilinen makro moleküllerde meydana gelen değişimler, doğrudan hücrenin yapısını etkilemektedir. İyonlaştırmayan radyasyona maruz kalan canlı dokularında oluşan hasar onarılamadığı takdirde, hasarın derecesine bağlı olarak genetik mutasyona ve bunun sonucunda da kanser gelişimine veya hücre ölümüne yol açmaktadır (55).

2.9. Sitokinler

Sitokinler, hastalıkların fizyopatolojisinde etkili, immün yanıtları düzenleyerek bağışıklık sisteminde merkezi rol oynayan terapotik potansiyele sahip düzenleyici bir protein grubudur. Sitokinler, vücutta çeşitli hücreler tarafından sentezlenen, hormonlara benzeyen, ancak düşük molekül ağırlıklı (20–30 kDa) multi fonksiyonel polipeptidlerdir

(Şekil 2.8). Aynı zamanda, hücreler arasında sinyal taşıyan solubl (çözünür) mediyatörler olarak da tanımlanabilmektedir (22). Günümüzde 100'den fazla sitokin tanımlanmış olmakla birlikte sayıları gittikçe artmaktadır.



Şekil 2.8. Sitokinlerin şematik gösterimi.

2.9.1. Sitokinlerin Tarihçesi

Biyolojik dokularda büyük bir öneme sahip olan sitokinlerin keşfi, ilk kez 1926'da Hans Zinsser ve Takeo Tamiya tarafından yapılan çalışma ile sitokinlerin lökositlerden salgılandığı ve damar duvarı fonksiyonlarını etkilediği ortaya çıkarılmıştır (56). Bir yıl sonra, Arnold Rich tarafından tüberküline duyarlı hale getirilen dokunun süpernatından geçirgenlik faktörleri ile alerji ve enfeksiyona etki mekanizması incelenerek enfeksiyon hastalıklarında ve antijene bağımlı immün yanıtta sitokinlerin rolü belirlenmiştir. 1950-1970 yılları arasında sitokin adı verilen, spesifik fonksiyonları olan bir çok farklı tipte hücresel proteinler tespit edilmiştir. 1980'li yıllardan itibaren moleküler klonlama ile sitokinlerin karakterizasyonu yapılarak yeni sitokinler ortaya çıkarılmıştır (57). Son yıllarda, sitokinlerin molekül yapılarına ve biyolojik aktivitelerine yönelik yeni teknikler geliştirilerek, çeşitli hastalıkların ortaya çıkış nedenlerindeki rolleri kolayca tespit edilebilmektedir.

2.9.2. Sitokinlerin Genel Özellikleri

Sitokinler, immün ya da inflamatuvar yanıtla katılan hücrelerin etkileşimlerinin artırılması için uyarılmış lökositler, monositler, lenfositler, makrofajlar ve bazı somatik hücreler tarafından salgılanırlar (22). Sitokinlerin esas üretim yeri birincil olarak lökositlerdir. Fibroblastlar, endotel hücreleri, schwann hücreleri ve çeşitli dokuların epiteli tarafından da ayrıca üretilirler. Hücre kültürü ortamında bazı hücreler spontan olarak sitokin salgılayabilse de genel olarak sitokinlerin çoğu hücre aktivasyonundan hemen sonra salgılanmaktadır (58). Sinyal proteinleri olarak da adlandırılan sitokinler, çok aktif maddeler olduğundan dolayı çok düşük miktarlarda bile etkili olabilmektedir. Sitokinler etki mekanizmalarını hedef hücre yüzeyinde bulunan spesifik reseptörlere bağlanarak gösterirler. Birden fazla sitokin değişik tipteki hücreler üzerinde aynı etkiyi gösterebilir ya da iki sitokin birbirlerinin etkisini ortadan kaldırabilir, artırabilir hatta daha farklı bir etkiye de sebep olabilirler (antagonist veya sinerjik etki). Sitokinler, değişik tipteki hücreler üzerinde etkili olabildiği gibi, değişik tip hücreler tarafından salgılanabilir ve aynı hedef hücre üzerinde farklı etkiler gösterebilirler. Bu etkilerin bazıları anlık iken bazıları dakikalar, saatler ya da günler sonra ortaya çıkabilmektedir.

Sitokin salınımı ve sekresyonu, kısa süreli ve kendini sınırlayıcı özelliktedir. Çoğu sitokinlerde hücrel yanıt, hedef hücrelerdeki gen ekspresyon değişimleri yoluyla oluşur. Böylece, hedef hücreler proliferasyon olabilirler veya yeni fonksiyonlar geliştirebilirler. Genellikle preform moleküller olarak hücrede hazır halde bulunmazlar ve depolanmazlar. Sentezleri, yeni gen transkripsiyonu başlatılarak gerçekleşir. Rekombinant DNA teknolojisi yardımıyla çok sayıda sitokin üretilmektedir. Sitokin yapımında gerçekleştirilen hücrel yanıtların birçoğu yeni m-RNA ve protein sentezi ile sağlanmaktadır (59). Çok küçük konsantrasyonlarda bile özgül reseptörleri hedef hücreye bağlanarak etkileşim gösterebilirler. Normal hücrelerin fonksiyonlarını sürdürülebilmesi için gerekli iletişim ve etkileşme, hücrelerarası sinyal iletişimi ile gerçekleşmektedir. Sitokin reseptörleri hücre dışı bir sinyali hücre içi bir sinyale dönüştürmekle işlev görürler. Ancak, belli bir biyolojik etkiyi oluşturmak için gerekli sitokin miktarı oldukça düşüktür. Bir hücrede farklı sitokinler aynı sinyal yollarını uyarabilir ya da farklı hücrelerde bir sitokin farklı sinyal yollarını tetikleyebilmektedir. Hangi sürecin uyarılması hücre içinde sitokinin tetiklediği sinyal

yoluna ve bağlandığı reseptörlere, reseptörlerin etkileşim gösterdiği alt birimlere ve transkripsiyon faktörlerine bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (60). Bu transkripsiyonel aktivasyonlar genellikle geçicidir ve sitokin kodlayan mRNA'lar stabil değildir. Bu yüzden sitokin salınımı geçicidir. Dinlenme durumundaki hücrelerden sitokin salgılanması durmaktadır.

Sitokinler bağışıklık sisteminde rol alan immün yanıt ve inflamatuvar hücrelerin çok yönlü iletişim ve etkileşiminden sorumlu oldukları gibi aynı zamanda bağ doku, sinir sistemi, cilt ve diğer organların somatik hücreleri arasında da iletişimi ve etkileşimi sağlamaktadır. Sitokinlerin hücre içerisini paraziter enfeksiyonlardan koruma, hücre büyümesi, yara iyileşmesi, hematopoez, fibrozis ve çeşitli biyolojik olaylarda önemli rolleri taşıdıkları bilinmektedir (61).

Hem doğal hem de spesifik immün sisteminin aktif bir şekilde fonksiyon gösterebilmeleri ve metabolizmalarını devam edebilmeleri için sitokinlere ihtiyaç duyarlar. Sitokinler yabancı ajan ve antijenlere karşı organizmada immün sisteminin reaksiyonlarının kontrol ve regülasyonu, hücreler arasındaki ilişkilerin kontrol edilmesi, lokal ve sistemik inflamatuvar cevabı desteklemesi ve hematopoez olayını düzenlemesi gibi birçok fizyolojik olaylarda önemli role sahiptirler (62).

Günümüzde sitokinler biyolojik yanıtın önemli bir düzenleyicisi olarak çeşitli hastalıkların tedavisinde ve klinik çalışmalarda kullanılmaktadır (63). Sitokin terimi, büyük bir protein grubunu belirtmek için kullanılan genel bir terimi ifade eder. Ancak, belirli türde olanları tanımlamak için kullanılan sitokinler salgıladıkları hücre tipine göre isimlendirilirler. Bunlar başlıca;

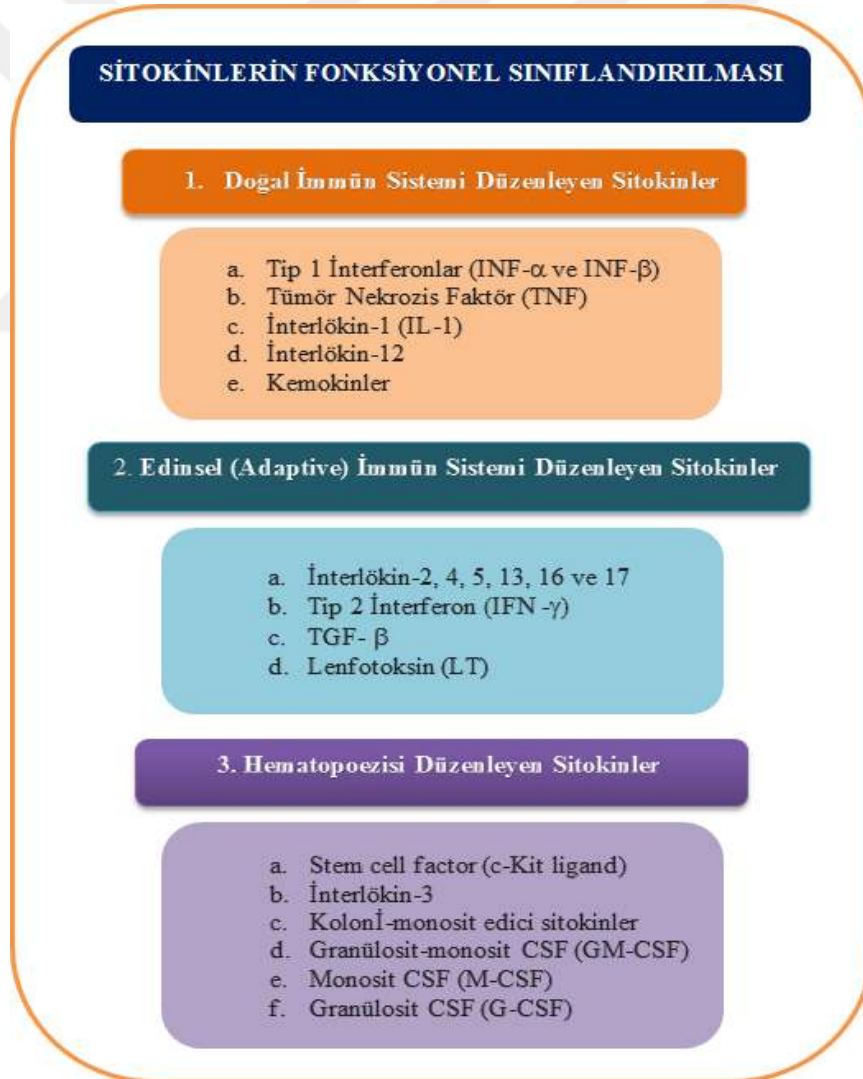
- Monokinler; mononükleer tek çekirdekli olan fagositik hücreler tarafından salgılanan sitokinler,
- Lenfokinler; aktive lenfositler ve Th hücreleri tarafından salgılanan sitokinler,
- İnterlökinler; lökositlerden salgılanan ve lökositler arasında iletişimi sağlayarak önemli işlevi bulunan sitokinler,
- Kemokinler; lökosit geçişlerden sorumlu olan küçük sitokinlerdir.

Bu sitokinler bazen birlikte bazen de tek başlarına hareket ederek farklı işlevleri meydana getirmektedirler. Sitokinlerin kendilerini salgılayan hücreler üzerine etkisine otokrin, yakın çevresindeki hücreler üzerine etkilerine parakrin, kendisine uzak hücreler üzerine etkisine endokrin etki adı verilir. Aynı zamanda, sitokinler herhangi bir enfeksiyon etkenine karşılık gösterilen yanıtın tipini de belirleyebilmektedir.

2.10. Sitokinlerin Fonksiyonel Sınıflandırılması

Sitokinler, fonksiyonel olarak işlev ve etkilerine göre başlıca üç ana kategoride incelenirler (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. Sitokinlerin genel fonksiyonel sınıflandırılması.



2.10.1. Doğal İmmün Sistemi Düzenleyen Sitokinler

Doğal immün sistem, doğuştan gelen, sonradan öğrenilmeyen, oldukça hızlı yanıtı ve non-spesifik yapıda olan immün sistemidir. Doğal immün sistem başlıca; polimorf nükleer, lökosit, monosit, makrofaj, mast hücresi, eozinofil, granülosit ve bazofil granülosit gibi özelleşmiş hücre ve moleküllerden oluşmaktadır. Bu hücre ve moleküllerin bazıları olası mikrobiyal saldırılara karşılık fagositozla inflamatuvar yanıtı başlatarak organizmanın ilk koruma hattını oluştururlar. Doğal immün yanıtın hücreleri, çeşitli biyolojik yapılar ve aktiviteler sonucu oluşan enfeksiyonu, apoptotik ve nekrotik hücreleri Örgü Tanıma Reseptörleri (Pattern Recognition Receptors, PRR) aracılığıyla tanırlar. PRR, İmmün sistemi hücreleri aracılığıyla mikrobiyal patojenler veya genel hücresel etkileşimler ile ilgili molekülleri tanımak amacıyla üretilen proteinlerdir. PRR'ler aracılığı ile geniş ölçüde mikrobiyal patojenle ilişkili bileşenler, nekrotik hücre ölümü, doku hasarı ve stres faktörleri altında kalan organizmanın salgıladığı maddelere immün yanıt oluşturulur (64).

Doğal immün sistemin ana bileşenleri başlıca; epitelyal bariyerler (deri, gözyaşı, mukoza, tükürük ve sekresyonlar vs.), fagositler (nötrofiller, mononükleer hücreler vs.), kopleman sistemi ve doğal öldürücü hücreler (NK, Natural killer) hücrelerden oluşmaktadır. Doğal immün sistemin tüm mekanizmaları, mikroorganizmaları spesifik olarak tanıyarak reaksiyon gösterirler. Ancak, enfeksiyona yol açmayan yabancı maddelere karşı da herhangi bir tepkide bulunmazlar. Doğal immünitenin elemanları (Makrofaj, nötrofil vb.) —Toll-like reseptörlerl (TLR) aracılığıyla dolaşımdaki mikroorganizmaları tanırlar. TLR'ler, doğal immün sistemi regüle eden en önemli moleküller olarak bilinirler (65).

Hücre içi patojenlere karşı doğal immün sistem savunması, virüs enfekte hücreleri öldüren NK ve sitokinler aracılığı ile konak hücrelerde viral çoğalmayı durduran tip I interferonlar tarafından sağlanır. Mikroorganizların yüzey kısmında bulunan ve PRR tarafından tanınan hücrelerin patojenleri; Patojen İlişkili Moleküler Örgüler (PAMPs) ve Hasar İlişkili Moleküler Örgüler (DAMPs) adı verilen iki farklı moleküller aracılığıyla gerçekleştirilir. Doğal immün sistemde uyaran mikrobial moleküller, aynı tip mikroorganizmalar tarafından paylaşılması ve enfeksiyon etkenleri üzerinde yer almaları nedeni ile bunlara PAMPs adı verilir. PAMPs'ler sadece mikroplar

tarafından sentezlenirler. PRR'ler, PAMPs'leri kolayca tanıyıp doku ve mikroplar arasında ayırt edebilmektedir. Her tip PAMPs spesifik bir mikrop grubunun karakteristiği olup yapıları genellikle mikroorganizmanın bütünlüğü, canlılığının devamı ve patojenitesi için gereklidir (66).

Doğal immün sistem reseptörleri, herhangi bir hasara uğramış ya da nekroz olmuş hücrelerden açığa çıkan molekülleri de tanıyabilmektedirler. Bu moleküllere DAMPs adı verilir. DAMPs'ler, enfeksiyon ya da doku zedelenmesi sonucu konakçı hücrelerden salınan sitozolik protein veya mitokondriyal olarak bilinirler. Bunlar alarmin olarak da adlandırılırlar. Bu moleküllere, S100 proteinleri, adenosin trifosfat (ATP) ve ısı şok proteinleri (HSP) örnek gösterilebilir. DAMPs'lere karşı gelişen yanıtlar sayesinde hasara uğramış hücreler yok edilerek doku onarım mekanizmaları uyarılır. Bununla birlikte, DAMPs hücre dışına bırakıldığı zaman, doğal immün sistem hücreleri üzerindeki PRR'ler tarafından kolayca tanınabilmekte ve proinflatuar sitokinlerin salınımına neden olabilmektedirler. Doğal immünyeteye aracılık eden grup içerisinde yer alan sitokinler başlıca, çeşitli viral enfeksiyonlara ve bakterilere karşı vücutta koruma sağlamak için inflammatuar reaksiyonları başlatırlar (59).

2.10.2. Edinsel (Adaptive) İmmün Sistemi Düzenleyen Sitokinler

Kazanılmış bağışıklık olarak da isimlendirilen bu bağışıklık tipini, dokulara invaze olan (patojenik mikroorganizmaların epitelyal bariyerleri geçerek lenfoid dokulara yayılması) mikroorganizmalara özgü moleküller ve diğer yabancı antijenlere karşı daha fazla etkinlik gösteren, etkisi uzun süren (günler içerisinde) ancak yavaş başlayan, etkene özgül savunma, hızlı ve güçlü bir immün yanıtın oluşmasını sağlayan konak savunma mekanizmaları belirler. Edinsel immün yanıtın ortaya çıkmasındaki temel görevleri üstlenen başlıca hücreler; hücresel (T hücre aracılı) ve humoral (B hücre aracılı) lenfositlerdir. Lenfositler her bir antijene özgü ayrı ayrı reseptörler üreten tek hücre grubudur. Aynı zamanda, edinsel immünitinin anahtar elemanları olarak bilinirler (59).

Efektör T-lenfositler, makrofajlar tarafından yutulan mikropların sindirilip yok edilmeleri için fagositik hücreleri harekete geçirerek hücre içi (intraseküller) patojenleri ortadan kaldırırken, B lenfosit ve ürünleri olan antikorlar ise, hücre dışındaki

(ekstrasellüler) patojenleri yok etme işlevi üstlenirler. Edinsel bağışıklığın öne çıkan önemli bir işlevi bellek fonksiyonlarına sahip olmalarıdır. Hafızaları sayesinde tekrarlayan herhangi bir karşılaşmalarda antijenleri kolayca tanımlayıp daha hızlı ve etkili bir immün yanıt göstermektedirler. Böylece virüs, bakteri, mantar ve bazen de parazit gibi doğal bağışıklıkta imha edilemeyen yabancı partiküllerle etkileşime bağlı olarak ve enfeksiyonlara karşı daha etkili savunma sağlayan edinsel bağışıklık devreye girerek bireyin canlılık süresi boyunca devam eder (67).

Bu grupta yer alan sitokinler, birbirinden farklı çok sayıda antijenleri ayırt edebilen ve antijene özgü spesifik reseptörleri taşıyan tek hücre olan lenfositler tarafından sentezlenirler. Bunlar, T ve B lenfositlerin aktivasyonunu, farklılaşmasını ve çoğalmasını da uyarmasının yanı sıra antijene karşı gösterilen immün yanıtın tipini belirlemekle işlev görürler (68). Antikorların burada önemli işlevi, hücre dışı mikroorganizmaların yok edilmesine yardımcı olmaktır. T hücreleri çoğu zaman B hücrelerinin antikor üretmesine katkı sağlayarak hücre dışı mikroorganizmalara karşı edinsel immün yanıtta katılmaktadırlar.

İmmün sistem sitokinleri, viral enfeksiyonlarda konağın spesifik olmayan ilk antiviral savunma basamağını oluşturarak virüslere karşı adaptif immün yanıt mekanizmasını belirlemektedir. Edinsel immün savunma mekanizması, hücre içi farklı bölmelerdeki PRR'ler ya da viral moleküllerin transmembran reseptörleri tarafından tanınmasıyla başlatılır. Burada PPR'ler, sitoplazmadaki farklı sitokinlerin salınımını uyaran yapısal değişiklikleri harekete geçirir. Sentezlenen sitokinlerin türü, hücre tipine ve virüslere bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Hücreleri ve virüsleri tanıyan bu örgü reseptörleri başlıca; TLR-2, TLR-3, TLR-4, TLR-8, TLR-9, melanom farklılaşması ile ilişkili gen 5 (MDA5) ve metillenmemiş CpG retinoik aside bağlı gen I (RIG-I) türleridir. Edinsel yanıtta, virüs enfekte olmuş hücreler tarafından TNF, IFN ve IL gibi bazı sitokinler ile MIP-1 α ve β , monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) gibi kemokinlerin sentezi başlatılarak, hem pro-inflamatuar hem de anti-inflamatuar etkileri ile immün aktivasyon sonucu virüslere karşılık olarak hücrelerde korunma sağlanmaktadır. Edinsel immün yanıtlar virüsleri, alerjenleri, toksinleri ve organizmaları etkili bir şekilde yok edebilmek için doğal immün yanıtlarla entegre bir şekilde çalışırlar (69).

2.10.3. Hematopoezisi Düzenleyen Sitokinler

Hematopoez, vücuttaki kan hücrelerinin yapımı olarak adlandırılır (hemato=kan, poiesis / poietic = üretim). Kemik iliğinde kendi kendini yenileyen hematopoietik kök hücreler (HSC) tarafından canlılık süresince üretilmeye devam edilen dinamik bir süreçtir. Bu süreç, bir tip kök hücreden farklı kan hücrelerinin gelişmesidir. HSC'lerin aktivasyonu, çoğunlukla uyku veya hareketsiz durumda azalırken, olgunlaşmış kan hücrelerini yenilemek için hücre döngüsüne katılımı oldukça hızlıdır. Tüm hematopoietik soyları, vücuttaki çeşitli yaralanma veya enfeksiyonlara yanıt olarak sıklıkla farklılaşabilir, çoğaltılabilir ve uygun koşullar altında kas, epitelyal ve nöronal hücre oluşumuna neden olabilirler (70). Kan hastalıkları genellikle pro-inflamatuar sitokinlerin aşırı üretiminden kaynaklandığı için bu faktörlerin HSC üretimi ya da fonksiyonu üzerindeki etkisinin belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Aynı zamanda HSC'ler, TLR'ler ve PRR'lerin aktivasyonu ile doğrudan aktive edilebilmektedirler. İmmün sistem aracılığıyla inflamasyonu düzenleyen bu gruptaki sitokinler, antijen ile uyarılmış CD_4^+ ve CD_8^+ T lenfositler tarafından indüklenerek inflamatuvar lökositlerin aktivasyonunu sağlarlar (59).

Bu sınıf içerisinde bulunan başlıca sitokinler; kemik iliği strome hücreleri, lökositler ve diğer bazı hücre tipleri tarafından sentezlenirler. Bu sitokinler, immatür lökositlerin farklılaşmasında ve uyarılmasında önemli rol üstlenirler.

2.11. Pro-İnflamatuar Sitokinler

Proinflamatuvar sitokinler, çoğunlukla aktive makrofajlar tarafından sentezlenir ve inflamatuvar reaksiyonların up-regülasyonunda işlev görürler. Pro-inflamatuar sitokinlerin sentezindeki artış, çeşitli bakteriyel ve viral enfeksiyonlar sırasında aşırı inflamasyon sonucu konak için yıkıcı etkilere neden olabilmektedir. Aynı zamanda, bu sitokinlerin nöropatik ve inflamatuvar ağrıyı indüklediği hatta artırdığı düşünülmektedir (71). Bununla birlikte, pro-inflamatuar sitokinlerin aktivasyonu yoluyla SARS-CoV-2'nin, doku hasarı, otoantikor mekanizmaları ve immün komplekslerin oluşumunu desteklenmektedir (72).

2.11.1. Tümör Nekrozis Faktör (TNF)

TNF, sistemik inflamasyonda bir dizi hastalıkların başlangıcında ve inflamatuvar yanıtta önemli rol oynayan bir hücre sinyal proteinidir. İmmün sistemin doğal regülasyonunda yer alan, özellikle monositler, T lenfositler, NK hücreleri, nötrofiller, eozinofiller, makrofajlar ve mast hücreleri gibi birçok hücre tipi başta olmak üzere, endotel hücreleri, nöronlar, miyositler, adipositler, fibroblastlar ve düz kas gibi çeşitli hücreler tarafından salgılanmaktadır (73). Bakteriyel enfeksiyonlara karşı gelişen akut sendromlarda TNF- α 'nın ilk görevi, bağışıklık hücrelerini regüle etmesidir. Aynı zamanda apoptotik hücre ölümü ve inflamasyon süreçlerini tetikleyerek tümörjenez ve viral replikasyonun baskılanmasında rol oynayan önemli pro-inflamatuvar sitokinden biridir (63).

TNF- α , 19 protein, 212 aminoasidin dizilimi ile çoğunlukla makrofaj ve monositler tarafından salgılanan, üç monomerli bir glikoprotein yapısında olan bir sitokin üyesidir (74). TNF- α ilk olarak 1975 yılında tümör nekrozuna neden olabilen yüksek konsantrasyonlu bir molekül olarak ortaya çıkarılmıştır (75). Gen ekspresyonu, transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel şekilde düzenlenmektedir. TNF- α geni, insanda MHC kompleksi içerisinde 6. kromozom (6p21.3) üzerinde ve başlıca aktif makrofajlar, NK hücreleri, B ve T lenfositlerin hem aktivasyonu ile eksprese edilirler (76). Bunlarla birlikte, monositler, fibroblastlar, lipopolisakkaritler, keratinositler, kupffer hücreleri, bazofiller, düz kas hücreleri ve tümör hücreleri gibi birçok hücre tiplerinden sentezlenebilirler. Ayrıca, güneşten yayılan ultraviyole (UV) ışığı, bazı kimyasal maddeler, mitojenler, virüsler ve ozmotik stres gibi birçok faktör de TNF- α _nın sentez ve salınımının tetiklenmesinde rol oynamaktadırlar. TNF- α , hücrelerin yüzeyinde yer alan TNFR1'e bağlanarak etkisini gösterir. Bağlandığı reseptörün geni, 12. kromozomun kısa olan kolunda yer alır. 10. eksonda meydana gelen mutasyonlar sonucunda, TNFR ilişkili periyodik sendrom (TRAPS) olarak bilinen oto-inflamatuvar bir durum ortaya çıkmaktadır (74). Bu durumun, otoimmün hastalıklardaki inflamasyonun başlatılması ve sürdürülebilirliğinde önemli etkinlikleri bulunmaktadır.

TNF- α , hücresel proliferasyon, farklılaşma, apoptozis ve inflamasyon süreçlerinde, farklı hücre ve moleküllere karşı immünolojik reaksiyonların regüle

edilmesi, neoplazmaların lokal veya vasküler invazyonu ve tümör vaskülatürünün yok edilmesi dahil olmak üzere birçok patolojik ve fizyolojik anormalliklerde önemli rollere sahiptir (77).

2.11.1.1. TNF'lerin Biyolojik Etkileri

TNF'ler, biyolojik etkiler iki farklı reseptör aracılığıyla gerçekleştirilir. Bunlar; TNFR1 ve TNFR2 olarak gösterilirler. TNFR2 genellikle kendiliğinden düzenleyici döngüyü temsil ederken, bu reseptör uyarıldığında TNFR1 aktivitesi ile, anti-apoptotik yollarda inhibe ve apoptotik reaksiyonlarda aktivasyon meydana gelir (76). Hücrelerdeki TNF reseptörler 3 ana sinyal yolu aracılığıyla etkilerini gösterirler. Birincisi; sitoplazmik kuyruk üzerinde —death domainl (DD) içerir. DD içeren bu reseptörlerin etkinliği ile hücre içerisindeki Fas-aracılı DD ve TNF-R aracılı DD gibi moleküller aktif hale gelir. Bu moleküllerin aktivasyonu ile apoptozis uyarılır. İkincisi; bir ya da daha fazla TNF-R aracılı faktör (TRAF) aktivasyonu ile mitojenle aktive olan protein kinaz (mitogen activated protein kinases, MAPK), nükleer faktör kappa B inhibitör (NFκB) kinaz ve fosfotidilinositol 3-kinaz (PI3K) gibi hücre proliferasyonu, farklılaşması ve apoptozunda rol oynayan sinyal ileti yollarının aktivasyonu ortaya çıkar. Bu sinyal yolları aktivasyonu TNF-α ile neoplastik hücrelerin artışına ve ya tahribatına ve aynı zamanda kanserli hücrelerin büyümesine neden olabilirler. Üçüncüsü; bu gruptaki reseptörün sinyal ileti sistemine önemli katkısının olduğu ancak bu etkisinin tam olarak belirlenmesi için daha fazla araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır (78).

2.11.2. İnterferon (IFN)

IFN'ler, immün sistem hücreleri tarafından salgılanan antiviral aktiviteye sahip doğal proteinlerdir. İlk olarak 1957 yılında Isaacs ve Lindenmann tarafından keşfedildikten sonra inaktif virüslere cevaben konakçı hücreler tarafından spontan olarak üretilen ve salgılanan maddelerin tespiti ile ortaya çıkarılmıştır (79). İnterferon kelimesi, 'interference on' İngilizce teriminden türetilmiştir. IFN'ler yapısal ve biyokimyasal özelliklerine göre incelendiğinde, 17-25 kilodalton (kDa) arasında değişen molekül ağırlıklarına sahip suda çözünebilen endojen maddelerdir. İnsan ve diğer

memeli hücrelerinde farklı ajanlar (lökositler, fibroblast, T hücreleri vb.) tarafından sentezi gerçekleştirilir. Asitlere ve ısıya karşı dayanma dirençleri oldukça yüksektir. Hücre içi asidite derecesi pH=2 olan ortamlara kadar inaktive olmazlar. Isı derecesi 56 °C'ye kadar ilk 30 dakikada boyunca hiçbir etkilenme olmazken, 70 °C'ye kadar ısıda 10 dakika süre içerisinde %30-40 oranında inaktive olabilmektedirler.

IFN- γ , temel olarak T lenfositler, NK hücreleri ve makrofajlar tarafından sentezlenirler. Virüs, bakteri ve parazitlere karşı immün yanıt gösteren immün yanıtta önemli etkinliği olan immünomodülatör sitokin olarak da tanımlanırlar. IFN- γ 'nın kendine özgü reseptörü vardır. Olgunlaşmış bir IFN γ proteini vücutta birbirinin homoloğu iki polipeptit zincirinden glikozillenmiş olarak bulunup 146 aminoasit içerir (80). Önemli bir makrofaj indükleyici olan IFN- γ , fagosit olan mikropların ortadan kaldırılmasına yardımcı olur. Hem doğal hem de edinsel immün yanıtta oldukça önemli fonksiyonlara sahip bir sitokin üyesi olan IFN- γ etkilerini IFN- γ R1, IFN- γ R2 reseptörü olarak adlandırılan Tip II sitokin reseptörlerine bağlanarak gösterir. Bu reseptörler, iki ayrı kromozom üzerinde bulunan ve genler tarafından kodlanan, ligand bağlayıcı α zinciri ile aksesuar bağlayıcı β zinciri olmak üzere iki zincirden meydana gelir. IFN- γ 'nın sinyal oluşumu ise, hem IFN- γ reseptör zincirlerini hem de IFN- γ 'yi içeren çok alt birimli bir kompleksin oluşumu ile gerçekleştirilir. IFN- γ spesifik hedef genlerin ekspresyonunu indüklemeye ya da inhibe etme yeteneği özelliği sayesinde hemen hemen bütün hücre tiplerindeki spesifik hücre reseptörleri ile etkileşerek biyolojik etkilerini gösterir.

Günümüze kadar insan ve hayvanlarda yirmiden fazla farklı tipte IFN geni ve proteini tanımlanmıştır. Genel olarak, doğal immünitede hücre, doku, organ ve organizma düzeyinde bir antiviral durumların indüklenmesi sinyal verdikleri reseptör türüne bağlı olarak IFN'ler; Tip I IFN'ler, Tip II IFN ve Tip III IFN şeklinde üç ana sınıfta toplanırlar (81).

Tip I IFN'ler, vücutta viral enfeksiyonlara karşı ilk savunma hattını oluşturur. Enfeksiyon sırasında bakteri, virüs, tümör hücreleri, parazit, mantar ve bulaşıcı maddeler tarafından uyarıldıklarında karşı bir tepki olarak doğrudan veya dolaylı olarak doğal immün sistemin hücreleri de dâhil olmak üzere vücudun hemen her hücre tipi

tarafından salgılanabilirler. Tip I IFN'ler, yardımcı Th1 hücrelerinin (T Hepler Cells1) gelişimini stimüle ederek sınıf 1 MHC moleküllerinin ekspresyonunu ve NK hücrelerinin sitolitik etkinliklerinin artırılmasına aracılık ederler. Tip I IFN'ler antiviral bağışıklık sistemindeki aktiviteleri ile çok önemli rol üstlenirler. Antiviral aktivitelerine ek olarak otoimmün hastalıkların patogeneziinde önemli etkinlikler gösterirler (82). Bu grupta yer alan IFN'lerin, IFN- α ve alt tipleri, IFN- β ve alt tipleri ile etkinlikleri daha az bilinen IFN δ , IFN ϵ , IFN κ , IFN τ , IFN ω ve IFN δ gibi aile üyeleri mevcuttur.

Tip II IFN'ler, doğal immün sistemde antiviral yanıt esnasında sitotoksik T hücreleri, tip-1 T yardımcı hücreleri ve ağırlıklı olarak NK hücreleri tarafından sentezlenirler. Tip II IFN aktivasyonu IL-12 aracılığıyla gerçekleştirilirken, IFNGR1 ve IFNGR2 zincirlerinden oluşan IFNGR'ye bağlanarak etkisini gösterir. Tip II IFN reseptörü IFN- γ ile bağlanması ile birlikte, Janus Aktive Kinazlar (JAK1 ve JAK2) aktive edilir. Hem tip I hem de tip II IFN'ler, JAK ve sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) yollarının aktivasyonunu düzenleyen mekanizmalara sahip olması nedeniyle sinyalleşmede kritik işleve sahiptirler. Aynı zamanda bunlar, aktive edici ve negatif düzenleyici özellikleri sayesinde, vücuttaki enfeksiyonla mücadelede oluşabilecek hasarları en aza indirmek ve dengeli bir immün yanıt oluşturabilmek için birbirleriyle uyum içinde çalışırlar (83). Tip II IFN, yalnızca lenfositler tarafından üretilen, kendine özgü ve daha spesifik olarak sentezlenmiş olan IFN- γ 'ı içerir (80).

Tip III IFN'ler, epitelyal bariyer yüzeylerinde viral replikasyonu inhibe ederken diğer taraftan inflamatuvar hasarı sınırlandırmaktadır. Bununla birlikte, tip III IFN'lerin hem doğal hem de adaptif immün sistemindeki işlevleri sayesinde sistemik otoimmün hastalıkların patogeneziinde etkili olabileceği görülmüştür (82). Tip III IFN'ler (dört IFN λ alt tipi) IFN λ 1 (IL-29), IFN λ 2 (IL-28A), IFN λ 3 (IL-28B) ve IFN λ 4 alt ailesi üyelerinden oluşur.

2.11.2.1 IFN'lerin Biyolojik Etkileri

IFN'ler, viral protein sentezi ve viral nükleik asit sentezi inhibasyonunu destekleyerek ve doğal ve edinsel immün yanıtın belirlenmesinde önemli rol oynarlar.

Bunlarla birlikte, hücrelerde apoptozisi destekleyerek virütik enfeksiyonları sınırlandırmaya yardımcı olurlar.

Günümüzde IFN'ler, in vivo ve in vitro üretilbildikleri gibi rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak da sentezlenebilen, antiviral bir ajan olarak çeşitli hastalığın tedavisinde terapötik olarak kullanılan ve glikoprotein ailesinin içinde yer alan ilk sitokinlerdir (84). Bunlar, vücuttaki çeşitli hücrelerde viral replikasyonu inhibe ederek immün yanıtı destek olurlar.

Doğal protein olan IFN'ler, infekte hücrede protein kinaz indüksiyonu yaparak protein sentezini azaltıp viral RNA sentezini engellerler. Ayrıca virüs replikasyonunda translasyon ve transkripsiyonu inhibasyonu sağlarlar. Diğer taraftan, hepatosit yüzeyinde lökosit antijeni olan majör histo-uyumluluk kompleksi (MHC, Major Histocompatibility Complex) antijenlerinin ekspresyonunu arttırarak, infekte hepatositin yüzeyine bulaşmış virüs antijenlerinin sitotoksik T hücreleri tarafından algılanmasında ve infekte hepatositin yok edilmesinde modülatör görevi üstlenirler. IFN'ler aynı zamanda, antijen sunumunu yükseltmesiyle doğal öldürücü hücreler ile makrofajlar gibi immün sistem hücrelerini indükleyerek konak savunmasını arttırmaya destek olurlar. Bağışıklık sisteminde IFN'ler ayrıca bazı tümör hücreleri tarafından da üretilbildiği belirlenmiştir (85).

IFN'lerin molekülleri vücutta antiviral, antiproliferatif ve immünomodülatör etkiler göstermektedir. Vücuttaki etki mekanizmaları;

- Antiviral etki; virüsün hücre içerisinde paketlenmesi, viral partiküllerin hücrelere penetrasyonu ve replikasyonu engellenek viral mRNA yıkımı ile viral protein sentezi inhibe edilir. Farklı tipteki virüslerin inhibe edilmesi, antiviral etkide birden fazla mekanizmanın olduğunu göstermektedir.
- Antiproliferatif etki; bu etki birden fazla mekanizmaya bağlı olarak ortaya çıkar. Normal bir hücrede geri dönüşümlü iken, neoplazik bir hücrede geri dönüşümsüz sitostaz yapar. Bununla birlikte, onkogen bir virüs tarafından gerçekleşen transformasyon etkisini inhibe eder. Ayrıca bu etki ile HBV'ye bağlı hepatosellüler kanser gelişimi önlebilmektedir.

- İmmünomodulator etki; immün sisteme olası herhangi bir tehdide karşılık genellikle olumlu yönde immün fonksiyonlarını desteklemeye yardımcı olur. Hücre yüzeyinde bulunan MHC antijenlerinin ekspresyonunu ve NK hücre etkinliğini artırır.

Bu özellikleri sayesinde, viral enfeksiyonlar ve bazı kanser türlerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar (86).

2.12. Anti-İnflamatuvar Sitokinler

Temel anti-inflamatuvar özellik gösteren sitokinler, patojenlere karşı oluşan immün yanıtların baskılanması veya istenmeyen aşırı tepkilerinin düzenlenmesinde önemli rol üstlenirler. Bunlar, aynı zamanda patojenlere karşı oluşacak immün yanıt esnasında pro-inflamatuvar görevindeki sitokinlerin sentezini inhibe ederek aşırı inflamasyon nedeniyle konağın zarar görmesini engellemektedir (22).

2.12.1. İnterlökin (IL)

IL'ler, hücre yüzeylerinde bulunan yüksek afiniteli reseptörlere bağlanarak birçok hücre ve dokularda reaksiyonların başlamasında doğal kaynaklardan elde edilen büyük bir protein grubundan oluşur. Kelime anlamıyla; iletişim anlamında inter ve lökositlerde bulunmasından lökin'den oluşmuştur. İmmün sistemden sentezlenen sitokinlerin önemli bir grubunu oluşturan interlökinler, ilk kez beyaz kan hücreleri lenfositlerince ekspresse edildiği belirlenmiştir (87). İmmün sistem hücrelerinin uyarılmasında interlökinler aktif rol oynarlar (88).

IL'lerin immün sisteminde ana işlevi, inflamasyon ve immün yanıtlar sırasında hücre ve dokularda meydana gelebilecek farklılaşma, büyüme ve aktivasyonu düzenlemektir. Başlangıçta lökositler tarafından salgılandığı, fakat daha sonra diğer birçok vücut hücresi tarafından da üretildiği ortaya çıkarılmıştır. İmmün sistem hücrelerinin farklılaşması, büyümesi ve aktivasyonu yanı sıra olgunlaşma, çoğalma, göç ve yapışmada etkinlik gösterirler. Ayrıca vücutta pro- ve anti-inflamatuvar özellikleri ile birlikte hem parakrin hem de otokrin özelliklere de sahiptirler. IL'ler, 1970'li yıllarda keşfedilmesine karşın günümüze kadar halen daha ayrıntılı biçimde tanımlanamamıştır.

Bunların bilinen çeşitli türleri, vücudun immün sistemini oluşturan temel öğeler olduğu kabul edilmektedir.

2.12.2. İnterlökin-4 (IL-4),

IL-4, immünomodülatör etki gösteren ve insanda 20 kDa molekül ağırlığına sahip glikoprotein olan anti-inflamatuar bir sitokindir. Çoğunlukla antijenle aktive CD4⁺ T lenfositlerinden özellikle Th2 alt grubundan ve aralarında mast hücreleri, makrofajlar, B hücreleri, eozinofil, bazofil ve doğal tip lenfoid hücrelerinin de bulunduğu birçok hücre tarafından sentezlenip ortama salınırlar. Otoimmün, alerjik olaylar ve bulaşıcı hastalıklar başta olmak üzere birçok hastalığa karşı potansiyel terapötik stratejilerin tasarlanmasında ve geliştirilmesinde spesifik etki mekanizmasına sahiptir. İmmün sistemde bu olayları regüle ederek çeşitli hücre tiplerinin büyüme, etkinlik ve farklılaşmasında önemli rol oynar (22, 89). Ayrıca, B hücrelerin immünoglobulin E (IgE) üretimi üzerindeki etkisinden dolayı fizyolojik olaylarda temel işlevi, IgE veya inflammatuar yanıtlarla hücre aracılı fonksiyonları ve alerjik hastalıkları düzenlenmektedir. IL-4 geni, 10 kb (kilobaz) büyüklüğünde 4 ekzondan ve 299 amino asit (aa) ile insan gen haritasını kodlayan genler 5. kromozon (5q23-31) üzerinde yer alır.

İnsan IL-4'ü, 800 aa'lık bir glikoproteinden oluşmuş ve yüksek afiniteli bir reseptör olan IL-4R bağlanarak etkisini gösterir. İnsan IL-4R'ü başlıca B ve T hücreleri, mast hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar, bazofiller, endotel hücreleri, keratinositler, hepatositler, stromal hücreleri ve nöroblastlarda bulunur. IL-4R büyük bir integral membran glikoproteini olup, 130 kDa molekül ağırlığında ve hematopoietin reseptör süper ailesinin bir üyesi olan 560'ı hücre içinde olmak üzere toplam 815 aa'ten oluşur. IL-4R'ü herhangi bir endojen kinaz aktivite göstermeyen sitokin reseptörü γ_c proteini ile bir kompleks oluşturur. Gen ekspresyonu, sinyal iletimi ve proliferatif yanıtları indüklemek için hücre içi alanları kullanır (89). Bununla birlikte, hücre dışında bulunan sitokin reseptörü WSXWS motifi ile tip I hematopoietin reseptörlerine benzer özelliklere sahiptir.

2.12.2.1. IL-4'ün Biyolojik Etkileri

IL-4, otoimmün, alerji ve bulaşıcı hastalıklar başta olmak üzere birçok hastalığa karşı potansiyel terapötik stratejilerin tasarlanmasında ve geliştirilmesinde çeşitli spesifik işlevlere sahiptir. Bu bağlamda IL-4;

- Birçok fizyolojik olaylarda görülen bir pleiotropik sitokin olup, immünomodülatör mekanizmaları indüklemenin yanı sıra Th1 ve Th2 hücrelerin paradigmasını değiştirerek otoimmün hastalıkların tedavilerinin geliştirilmesinde,
- İmmün yanıt ve fonksiyon reaksiyonlarının etkilerinin belirlenmesinde,
- Sitokin sentezi yapan T hücrelerine proliferatif etkisi ile çoğu antijene karşılık B hücrelerinin IgE antikor üretimini tetikleyerek çeşitli alerjik hastalıkların tedavilerinin geliştirilmesinde,
- B lenfositleri ile monositler üzerindeki IgE'nin düşük afiniteli reseptörü CD₂₃⁺'ün belirmesinde,
- T lenfositler, NK ve lenfokinle aktive edilmiş killer (LAK) hücreleri gibi sitotoksik hücrelerin fonksiyonel proliferasyonu ve aktivitelerinde,
- Tümör hücrelerine karşı makrofajların sitotoksitesini, parazit, C2 proteini ve doku plazminojen aktivator yapımı üzerine indükleyici etkisinin belirlenmesinde,
- TNF- α ve IL-1 gibi proinflatuar sitokinlerin ekspresyonunun up-regülasyonu ile IL-1 reseptör antagonistleri ve tip II IL-1 reseptörleri gibi anti-inflatuar sitokinlerin ekspresyonunun yukarı doğru düzenlenmesinde,
- Periferik kan nötrofillerinin karışık inflamatuvar yanıtlarını indükleyebilmesi, TNF- α ve IL-8 ekspresyonunu artırabildiği ve IL-1 β ekspresyonunu önemli ölçüde inhibe edilmesinde

Önemli rollere sahiptir (88, 90).

2.12.2. İnterlökin-10 (IL-10)

IL-10, immün yanıtta en önemli anti-inflatuvar sitokin olarak bilenen IL-10, 160 aa'den oluşup insan kromozomun uzun kolunda yer alır. İnsanda 18.5 kDa molekül ağırlığına sahip bir homodimer yapıdadır. Genel olarak IL-10 sentezi, T ve B

lenfositleri, monositler, nötrofiller, makrofajlar, keratinositler ve çeşitli tümör hücreleri dahil olmak üzere çeşitli hücre tipi tarafından gerçekleştirilir. IL-10, süpressif bir sitokin olup ilk olarak Th2 (Thelper 2) hücrelerinden ekspresse edilen ve sitokin sentezi engelleyen faktör (CSIF, Cytokine Synthesis Inhibitory Factor,) olarak tanımlanmıştır. İnsan IL-10R geni, kromozom 11q23.3 üzerinde bulunan tip II sitokin ailesi üyesidir. Bu reseptör Jak1 ve Tyk2 Janus kinazlar ile bağlı iki zincirden meydana gelir (91).

IL-10, birbirlerinin viral homologu olan IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28A, IL-28B ve IL-29 süper sitokin ailesinden oluşur. Bu son üç interlökinler (IL-28A, IL-28B ve IL-29) aynı zamanda tip III IFN ailesi içinde yeni bir alt aile (IFN- λ 1, IFN- λ 2 ve IFN- λ 3) oluşturur. IL-10 ile IFN aile üyelerinin, yapısal ilişkileri birbirlerine çok benzer ve hatta özdeş reseptörleri kullanmalarına rağmen, biyolojik fonksiyonları farklılık göstermektedir. Çeşitli enfeksiyonlar sırasında IL-10 ve aile üyeleri, inflamasyonu sınırlandırmak, doku epitel katmanlarının bütünlüğünü ve homeostazını korumak amacıyla çeşitli immün yanıt hücreleri ile konak savunma mekanizmalarını indükler. Aynı zamanda, bu üyeler bakteriyel ya da viral enfeksiyonlar sonrasında dokuda iyileşme sürecini hızlandırmaktadırlar (92).

2.12.3.1. IL-10'nun Biyolojik Etkileri

Temel anti-inflamatuar özellik gösteren IL-10, patojenlere karşı oluşan immün yanıtların baskılanması veya istenmeyen aşırı tepkilerinin düzenlenmesinde önemli rol üstlenir. IL-10 gibi anti-inflamatuvar sitokinler, inflamasyonun başlamasından birkaç saat sonra üretilir ve inflamatuvar yanıtları kontrol eden koordineli mekanizmaları modüle eder. Mikrobiyal antijenlere karşı olarak immün yanıtları negatif yönde regüle eder. Aynı zamanda patojenlere karşı oluşacak immün yanıt esnasında pro-inflamatuar görevindeki sitokinlerin sentezini inhibe ederek aşırı inflamasyon nedeniyle konağın zarar görmesini engellemektedir. Bununla birlikte, çeşitli viral enfeksiyonlar veya bakteriyel sonrasında dokuda iyileşme sürecini hızlandırmasını sağlar (92, 93). Bunların yanında IL-10;

- T lenfosit, makrofajlar, NK hücreleri, periferik kandaki mononükleer hücreleri, Th1 hücreleri ve dendritik hücreler üzerinde MHC II molekülünün sentezlerini engelleyerek aktivasyonlarının önlenmesinde,

- Anti-viral aktivite ile lenfotoksin ve IFN salınımının azalmasında,
- Hücresel immün yanıtların baskılamasında,
- Monositler üzerindeki intersellüler adezyon molekülünün (ICAM-1) belirginleşmesinin önlenmesinde

Önemli ölçüde etkinlik gösterir (93, 94).

2.13. Apoptozis

Apoptozis, canlılarda embriyo dönemi ile başlayıp ölüm esnasına kadar süren çeşitli genler ile ilişkili birçok fizyolojik veya patolojik olayda görülen aktif bir sistem olup, Yunanca apo (ayrı) ve ptozis (düşen) kelimelerinden türetilen programlanmış hücre ölümüdür. Bu kavram tanımlanırken aynı zamanda sonbahar aylarında ağaçtan düşen yaprak dökümü olayından esinlenmiştir (95). 1920'li yıllarda ışık mikroskopunun keşfi ve yeni boya yöntemlerinin geliştirilmesiyle birlikte hücre ölümü hakkında ilk bilgiler ortaya çıkarılarak nekroz olarak tanımlanmıştır. 1972 yılında Avusturyalı bilim insanı J.F.K. Kerr tarafından ilk kez, iskemiye (koagülasyon nekrozunun en önemli nedeni) maruz kalan dokuda nekrozdan daha farklı hücre ölümü gösterilerek —apoptozis“ adı verilmiştir (95). En genel ifade ile apoptozis, fonksiyonları bozulmuş, üretimi ve gelişimi düzensiz, yaşlı ya da genetik olarak hasarlı hücrelerin güvenli bir şekilde ortadan kaldırılmasını sağlayan, çeşitli genlerle düzenlenen, protein sentezi ve enerjiye gereksinim duyan, programlı bir olaydır. Apoptozisin temel işlevi, hemostatik bir mekanizmanın sağlanması amacıyla organizmada doku homeostazının ve hücre popülasyonunun korunmasıdır.

Canlının en temel birimi olan hücrede, tüm canlılık işlevleri tek başına yürütülebilir. Bununla birlikte, bir tek hücre de tamamen bağımsız yaşayabilir ve davranışsal olarak farklılık gösterebilir. Her hücrede görülen muhtemel olaylar başlıca; doğma, çoğalma (proliferasyon), farklılaşma (diferansiasyon) ve ölüm'dür (apoptozis). Canlı metabolizmasında yaşamın sağlıklı bir şekilde sürdürülmesi söz konusu bu olayların dengeli bir şekilde devam etmesine bağlıdır. Canlı olan hücrelerde yaşam süresinin sona ermesi durumu fizyolojik ve patolojik şartlarda gerçekleşen diğer bir mekanizma da nekroz olayıdır. Nekroz; bir ya da daha fazla sayıda hücre, doku veya organın dışarıdan gelen (hipoksi, aşırı ısı değişikliği, toksin

vb.) çeşitli fiziksel ve kimyasal uyaranlar ile geri dönüşümü olamayacak şekilde hasar görerek yaşamsal işlevlerini ve bütünlüğünü yitirmesi sonucu gerçekleşen travmatik ya da patolojik ölümdür (18).

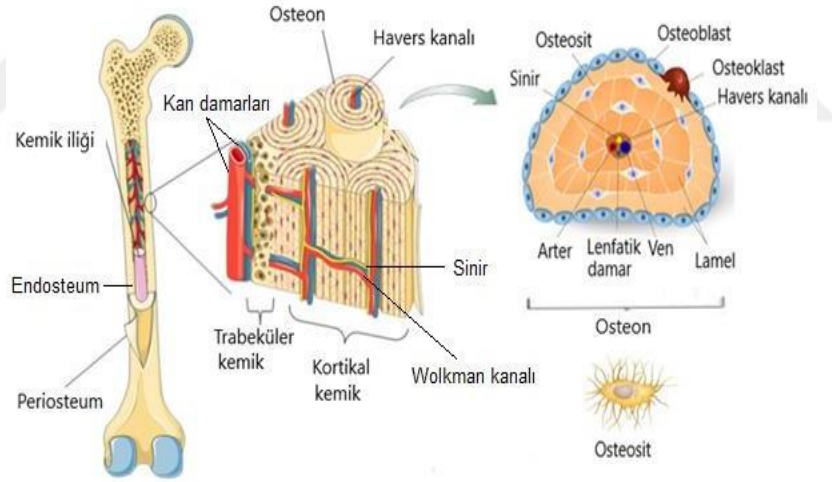
2.13.1. Apoptozisin Morfolojik Evreleri

Apoptoziste esas morfolojik olay, nükleusun kondansesi ve sonrasında parçalara ayrılmasıdır. Normal bir hücre apoptoza uğradığında, aktin ve laminin filamentlerinin durdurulması ile sitoplazmada endoplazmik retikulum genişler, sisterna veziküller ve vakuoller şişerek organeller birbirine yaklaşır. Organeller oldukça sağlam yapıda ve hücre membranı apoptozisin geç evrelerine kadar bütünlüğünü korumaya devam eder. Çekirdekte DNA degradasyonu, endonükleazlar tarafından yapısal proteinlerin parçalanması ve yoğunlaşan kromatin sonucu kondensasyon başlar. Hücrede bir taraftan büzülme ve küçülme devam ederken diğer taraftan artık normal hücrelerden daha kolay ayırt edilebilen ve makrofajların tanıyabileceği hale dönüşür. Plazma membranında hücre kavşakları parçalanması ve nükleus yıkımının gerçekleşmesi ile dış kısımları membranla çevrili, sıkıca paketlenmiş organeller, iç kısımlarında sitoplazma ve bazılarında ise çekirdek parçaları bulunan apoptotik hücre veya cisimcikler ortaya çıkar. Apoptotik cisimcikler makrofajlar tarafından kolayca tanınır ve fagosite edilirken, bunlarda inflamasyon görülmez (96). Fizyolojik koşullar altında, fagositik hücreler tarafından apoptotik cisimlerin tanınmasını sağlayan plazma membranında bazı değişimler ortaya çıkar. Plazma membranında görülen bu değişikliklerden en önemli olanı fosfatidil serinin (PS) lokallizasyonudur. Normal şartlarda PS, plazma membranının iç yüzeyinde bulunurken, apoptozisin erken evrelerinde membranın dış yüzeyine translokasyonu gerçekleşir. Bu değişim sonucunda makrofajlar ve komşu hücreler, PS'nin hücre dış yüzeyine çıkmasıyla hücreyi tanımasına ve apoptotik cisimciklerin fagositozunun (sindirilme) gerçekleşmesine olanak sağlar (97). Böylece dokularda herhangi bir reaksiyonun ortaya çıkışı önlenir.

2.14. Kemiğin Genel Özellikleri

Kemik, mineralleşme adı verilen bir işlemle kalsiyum (Ca^{+2}) ve fosfat (PO_4^{-3}) hidroksiapatit kristalleri şeklinde doyunlaştırılmış vücuttaki en sert ve bükülmez destek bağ dokusundan biridir. Hücreler ve hücreler arası maddeden oluşur. Kemiğin hücreler arası maddesinin içerisinde kollajen lifler ve inorganik elemanlar bulunur. Bu özelliğiyle kemik iskelet sisteminin en önemli yapı taşını oluşturur. Destek bağ dokusu olmasının yanı sıra kemiğin kan hücrelerinin üretildiği kemik iliğini içermesi, Ca^{+2} mineralinin deposu olması nedeniyle metabolizmada önemli işlevlere sahip olduğu bilinmektedir (98).

Kemiğin iç ve dış yüzeyleri, kemik hücreleri ve bağ dokusu tabakalardan oluşur. Dış tabakaya periosteum, iç tabakaya ise endosteum adı verilir (Şekil 2.9). Bunların temel işlevleri, kemiğin beslenebilmesi, büyüebilmesi ve onarımı için gerekli yeni osteoblastları sentezlemektir.



Şekil 2.9. Kemik dokusunun mikroskopik yapısı ve hücreleri.

Kemik, hücreler arası maddesinin mineralize olma özelliği ile diğer dokulardan ayrılır. Kemiğin mineral ve kollajen içeren bileşik bir materyaldir. Mineral içerik normal bir kemikte, gücü ve sertliği sağlarken, kollajen içerik ise kemiğin yumuşaklığını ve enerji absorbe edebilme yeteneğini sağlar. Kollajen, insan vücudunda yaklaşık %30'luk oranla en fazla miktarda bulunan bir proteindir. Osteogenezis

imperfekta'da gözlenen kemik kırıklarına eğilim, kollajen anomalilerin kemik gücünü ne ölçüde etkileyebileceğini gösteren bir durumdur. Ayrıca, kemik sert bir doku olduğundan, özel histolojik teknikler ile inceleme yapılması gerekmektedir (99). İnsan kemik yapısı incelendiğinde, kemik dokusundaki kollojen liflerinin doku içerisindeki dağılımı, organizasyonuna ve histolojik özelliklerine göre primer (olgunlaşmamış trabeküler kemik) ve sekonder kemik (olgunlaşmış kompakt kemik) olmak üzere ikiye ayrılır. Bu iki kemik türünün organizasyonu farklı olmasına rağmen aynı histolojik elemanlara sahiptirler. Ağırlıklarının %70'ini inorganik madde veya mineraller, % 5-8'ini su, geriye kalan kısımlarında organik madde veya ekstrasellüler matriks oluşturur. Kemik dokusu organik ve inorganik kısımlardan oluşur.

Kemik organik kısmının, % 98'ini Tip 1 kollajen ve nonkollajenöz proteinler, geriye kalan % 2'sini ise kemik hücreleri meydana getirir. Organik matriks kemiğin biyokimyasal ve biyomekanik özellikleri belirler (100).

Kemik inorganik kısmının, % 95'ini Ca^{+2} hidroksiapatit kristalleri meydana getirir. İnorganiklerin başında kalsiyum, sitrat, magnezyum, fosfat gibi maddeler gelir. Gelişmiş bir kemikte lifler paralel belirli aralıklarla ve aralarında porlar bırakacak şekilde yerleşmiş olup aralarında hidroksiapatit kristalleri bulunur. Hidroksiapatit kristallerinin kemik dokusunda işlevi, kollajenlerle birlikte kemik sertliğini ve gücünü sağlamasıdır. Kemik ağırlığının yaklaşık %50'sini, inorganik maddeler oluşturmaktadırlar (101).

Kemiğin yapısı iç içe geçmiş ve farklı parçalardan oluşan karmaşık bir ağ görüntüsündedir. Kemik yapısal olarak; Haversian kanalları, Volkmann kanalları ve kemik matrisi olarak üç farklı bölümün toplamı olarak basitleştirilebilir. Haversian kanalları kemiğin uzunluğuna paralel olarak uzanır, ortalama 5 mm uzunluğunda ve yaklaşık 50 mikron çapındadır. Volkmann kanalları Havers kanallarını birbirine bağlayan enine küçük kanallar olup ortalama çapı 5 μm , uzunluğu ise yaklaşık 0,5 mm kadardır. Kanalların her ikisi de kemik matriksinden çok daha iletken olan kan damarları, sinir dokuları ve gevşek bağ dokusu içerirler.

Kemiğin en temel birimi osteon'dur. Bir kemiğin boyuna doğru paralel uzanan merkezsiz kanallara Havers kanalları adı verilir. Bu kanalların çevresini konsantrik

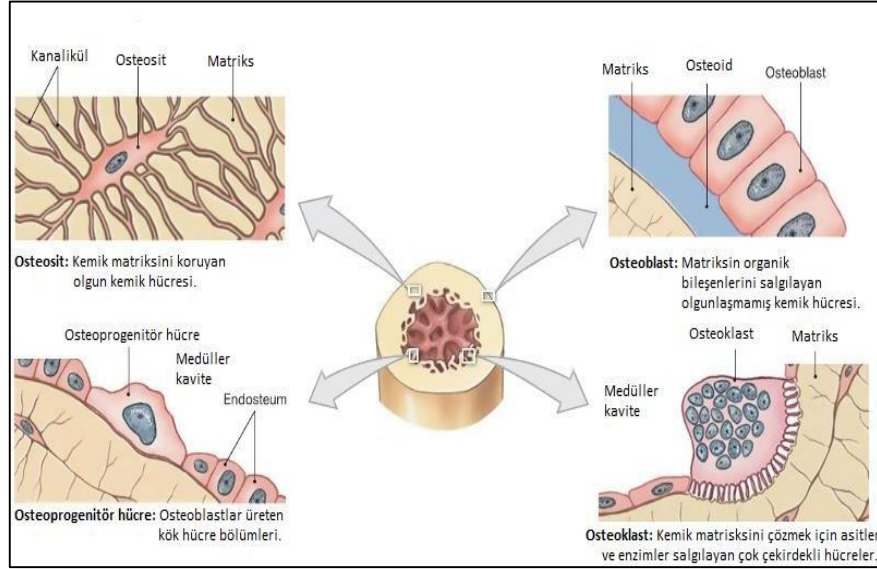
(eşmerkezli) dairesel lameller sarar. Lamellerin üzerine osteositlerin yerleşmesi için daha geniş bir yüzey alanı oluşturan ve lakuna adı verilen boşluklar bulunur (100). Havers kanalları içerisinde, osteositler için gerekli olan, kemiğin dış yüzündeki ve kemik iliğindeki kan damarlarıyla bağlantılı, kan damarları (osteonal arter), lenf damarları ve sinirler yer alır. Bir kemiğin boyuna dik olarak uzanan damarlar ise wolkmann kanalları adı verilen boşluklara yerleşmiştir. Kemik içerisinde kanalikuli adı verilen dallanmış ince kanalcıklar bulunur. Osteositler birbirleriyle bağlantılarını bu kanalcıklar aracılığıyla sağlarlar. Osteositlerin hücreler arası sıvısı, kanalikuli ve lakunada bulunur. Kan damarlarından kanalikuliler içerisine hücreler arası sıvı yayılarak osteositler için hayati rol üstlenirler.

Anatomik olarak kemiğin yapısı incelendiğinde, iskelet sistemi yassı kemikler (kranium, mandibula, ileum) ile uzun kemiklerden (tibia, femur, humerus) oluşur. Yassı kemiklerin oluşumu; uzun kemiklerin kalınlaşması, kısa kemiklerin büyümesi ve intramembranoz (bağ dokusu kaynaklı kemikleşme) ile gerçekleşir. Appendikuler iskelet veya uzun kemikler ise endokondral ossifikasyon (kıkırdığın yerini kemik dokusu alması) ile oluşur (102). Ossifikasyon (kemikleşme), osteoblastlar tarafından kemiğin şekillendirilmesi işlemidir.

Canlının içinde bulunduğu fizyolojik süreçlerden kemik gelişimi etkilenmektedir. Kemiğin yaşam boyunca, biyomekanik kuvvetlere karşı şekil değiştirmesi işlemi modellenme (modeling) olarak tanımlanır. Fetal yaşamda iskelet sisteminin olduğu dönem itibari başlayan ve tüm yetişkinlik boyunca devam eden normal kemik yapının korunması, mikro düzeyde hasar görmüş kemiklerin uzaklaştırılarak yerine yenisinin yapımı, kemik dokuda yapım ve yıkım olaylarının dengeli bir şekilde devam etmesi durumuna ise yeniden şekillenme (remodeling) adı verilir (103). Kemiğin vücuttaki gerekli tüm işlevlerini eksiksiz olarak gerçekleştirebilmesi, doku matriksinin organik ve inorganik elemanlarla uyumlu birlikteliğine bağlıdır.

2.15. Kemik Hücreleri

Kemik dokusunda başlıca dört farklı tip hücre işlev görür. Bu hücreler sırasıyla; osteoprogenitör hücre, osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlar'dır (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Kemik hücreleri.

2.15.1. Osteoprogenitor Hücreler

Kemik dokusu diğer destek dokularda olduğu gibi embriyonik mezenşimden gelişir. Canlılarda genel olarak doğum sonrası işlev ve yapı bakımından farklılaşmamış hücre topluluklarına osteoprogenitor veya osteojenik hücreler adı verilir. Bu hücreler embriyonik bağ dokusu hücreleridir. Osteoprogenitor hücreler normal kemik büyümesi sırasında aktif işlev görürler. Kemikte olası herhangi bir yaralanmada, kırık iyileşme bölgesinde veya kemiğin iç kısmında yeniden düzenlenme esnasında bu hücreler aktive edilerek mitozla bölünüp çoğalırlar. Osteoprogenitor hücreler kemik oluşumundan sorumlu osteoblastlara dönüşme özelliğine sahiptirler (104, 105).

2.15.2. Osteoblastlar

Kemik oluşumundan sorumlu hücreler olarak tanımlanırlar. Osteoblastlar, ossifikasyon bölgelerinde ve gelişim gösteren kemiklerin periosteumunun kemiğe teması olan bölgelerinde yer alırlar. Sitoplazmaları granüllü endoplazmik retikulumca oldukça zengindir. İyi gelişmiş uzun mitokondrilere ve golgi kompleksine sahiptirler. Bu hücreler iyi metabolik aktivite ve yüksek seviyelerde alkalin fosfataz aktivitesi gösterebilmektedirler. Bu durum kemik matriksinde Ca^{+2} depolanma işlevi osteoblastlar tarafından düzenlendiğini gösterir (98).

Osteoblastlar kemik matriksinin ana yapısı olan tip I kollajen ile beraber, kemik matriksinin kollajen dışındaki proteinlerin yaklaşık %40-50'sini oluşturan osteonektin ve osteokalsin gibi kemik kalitesinden sorumlu proteinlerin üretilmesini sağlarlar. Ayrıca, osteoindüksiyon kapasitesine sahip kemik morfojenik proteinleri (BMP) sentezinde de rol oynarlar. Osteoblastlar, epitel hücrelere benzer olarak kemik yüzeylerinde yan yana dizilim gösterirler. Matriks sentezini yapmaya başladıkları anda şekilleri kübikten prizmatığe dönüşmektedir. Osteoblastlar sitoplazmik uzantıları sayesinde komşu osteoblastlar ile temaslarını sağlarlar (105).

2.15.3. Osteositler

Kemik matriksi içinde ca^{+2} tuzlarının birikmesiyle kireçleşmiş olan osteoblastlara osteosit adı verilir. Osteositler, lakünler içinde bulunan osteoblast kaynaklı olgun kemik hücreleridir. Sağlıklı $1mm^3$ kemikte yaklaşık 20-30 bin arasında osteosit bulunur. Kemik dokusu içerisinde % 95 oranla en fazla miktarda bulunan hücre tipidir. Osteoblasttan osteosite geçişte hücrelerin boyutu küçülerek yassı elips şekline dönüşürler. Osteositler zamana bağlı olarak veya yaşlandıkça, hücre ve organellerinin boyutları küçülür. Osteositlerin çekirdekleri küçük, mitokondrileri az sayıda, sitoplazmaları bazofilik ve seyrek, endoplazmik retikulum ve golgileri oldukça küçüktür. Ancak, çekirdek kromatinleri yoğunluğu osteoblastlara oranla daha fazladır. Kemik matriksinin devamlılığı ile aktifliğinde bu hücreler çok önemli işleve sahiptirler. Bu hücrelerin ölümü ile birlikte kemik matriksinde rezorbsiyon görülmeye başlar (106).

2.15.4. Osteoklastlar

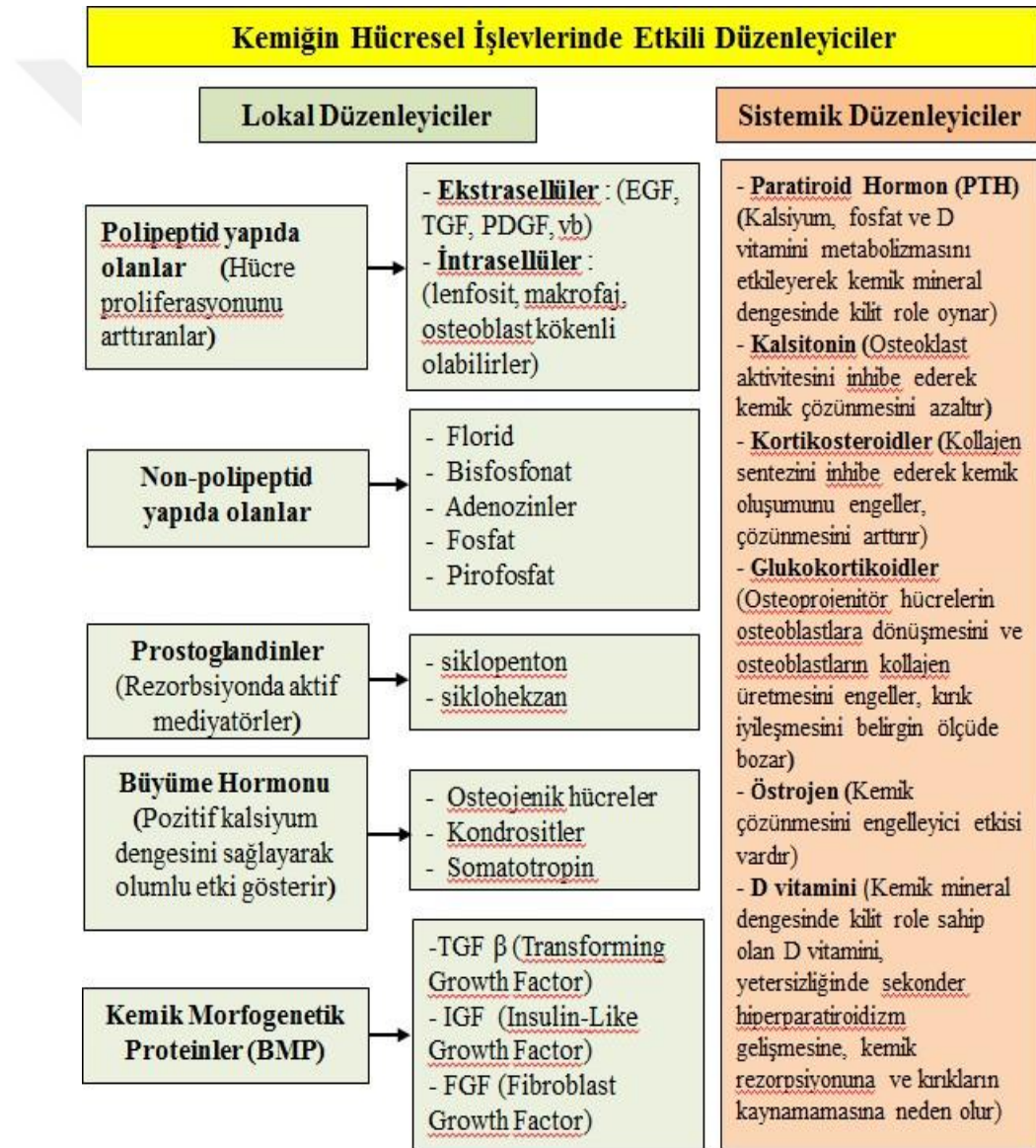
Osteoklastlar, çok çekirdekli hücreler olarak kemiğin yeniden şekillenme süresince çözünerek etrafındaki dokular tarafından emilmesinden sorumludurlar. Monositlerin birleşmesiyle oluşurak işlev ve köken bakımından makrofajlara çok benzerler. Osteoklastlar, vücut sıvılarında ca^{+2} derişiminin homeostatik düzenlenmesinde ve ca^{+2} 'nin kemik dokusundan kana salınmasında önemli rol üstlenirler. Osteoklastlar, bir taraftan kemik matriksine saldıran kollajenaz, asit, diğer proteolitik enzimleri salgılanmasını destekleyerek kalsifiye olmuş temel maddeleri serbest hale getirirken,

diğer taraftan kemik rezorpsiyonu esnasında oluşan artık maddelerin ortadan kaldırılmasında etkin olarak rol üstlenirler (105).

2.16. Kemik Yapımında Rol Alan Düzenleyiciler

Kemik yapımı, onarımı ve şekillenmesi gibi hücresel işlevlerin uyumlu yürütülebilmesi, çeşitli düzenleyici faktörler aracılığı ile sağlanır. Kemik hücresel işlevlerinde etkili düzenleyiciler (Çizelge 2.3)'de özetlendirilmiştir.

Çizelge 2.3. Kemik yapımı, yıkımı, morfojenezi ve onarımında rol alan lokal ve sistemik düzenleyiciler.



2.17. Kemik Büyümesi

Kemiklerin çoğu fetal dönemde kıkırdak olarak şekillenirken daha sonra ossifikasyonla gövde kısımdan başlayarak normal kemik oluşmaya başlar. Mezenkimal hücreler, mandibula ve kafatasındaki bazı kemikler doğrudan kemik oluşturduğu için bunlardan ayrı tutulurlar. Farklı şekilde gelişme gösteren kemiğin büyümesi; endokondral kemikleşme ve intramembranöz olarak iki farklı şekilde ifade edilir (107).

2.17.1. Endokondral Kemikleşme

Bu kemikleşme modelini, kemikleşmenin ilk başladığı alanlarda kemiğin şeklini andıran küçük bir hiyalin kıkırdak oluşturmaktadır. Bu modelde, kemiklerin çoğu fetal gelişim döneminde kıkırdak olarak şekillenirken daha sonra ossifikasyonla gövde kısımda kemikleşme oluşmaya başlanır. Endokondral kemikleşme başlıca, omurga kemikleri, ekstremit kemikleri, pelvis kemikleri gibi kısa ve uzun kemiklerden oluşmaktadır. Erişkin kemiklerin olgunlaşması (sekonder kemik) için ilk oluşan kemik dokusunun (primer kemik) yıkılarak lamelli kemik dokusuna dönüşmesi gereklidir. (107, 108).

2.17.2. İntramembranöz Kemikleşme

Bu kemikleşme modelinde, mezenkim dokusu yoğunlaşması içerisinde kemikleşme görülür. Bu modelde, bağ dokusu kıkırdağa dönüşmeden direkt olarak kemik dokusuna dönüşür. Bu kemikleşme modelini çoğu yassı kemikler oluşturur. Ayrıca, kafatasının occipital, frontal, parietal ve temporal kemikleri ile maxilla ve mandibula kemiklerinin bazı kısımları bu kemikleşme ile oluşur. Diğer taraftan bu kemikleşme, kısa kemiklerin büyümesine ve kalınlaşmasına katkı sağlar (108).

RF-EMA maruziyetine bağlı olarak kemik dokusunda kemikleşmenin ilerlediği önceki çalışmamızda ortaya çıkarılmıştı (109). Bu bağlamda uzun süreli 6 GHz RF-EMA uygulaması sonucunda kemikleşmenin artacağı çalışmamızın diğer bir hipotezi olmuştur.

2.18. Kemiğin Biyoelektriksel Özellikleri

Kemiklerin piezoelektrik özelliği ilk kez Fukada ve Yasuda'nın 1957 yılında yaptıkları çalışmayla ortaya çıkarılmıştır (110). Bir kemikte biyoelektriksel özellik, kemiğin stres oluşumuna cevap olarak elektriksel potansiyelin üretilmesidir. Kemik uyarımı genel olarak elektriksel kaynaklı olup kemik mekanik enerjiyi elektrik sinyallerine dönüştürerek fonksiyonel aktiviteyi ve mitozisi kontrol eder. Kemiğin mekanik direncinin sağlanması, kemikte yapım ve yıkım olaylarının dengede olmasına bağlıdır. Uyarılar sonucunda kemikte yapım ve yıkım olaylarının gerçekleştirildiği Wolff'un çalışmasında, dış kuvvetler doğrultusunda ince bir kemik laminalarının geliştiğini gözlemlemesine dayandırılmaktadır (111).

Wolff yasası; kemiklerin üzerine uygulanan fiziksel stres, darbe, yük veya kuvvetlere karşılık olarak kemik yeniden şekillenerek yoğunluk kazandığı ve daha dirençli hale geldiğini ifade eder. Wolff yasasına göre; kemik dokusunun yapımı ve yıkımı fonksiyonel kuvvetlerin yönüne, kütlelerin azalması ya da artması ise fonksiyonel kuvvetlerin miktarına bağlı olarak değişmektedir (111).

İnsan vücudunun ana iskeletini oluşturan kemik piezoelektrik özellik sergiler, yani kemiğe stres uygulandığında, kemiğin kendi içinde bir akım oluşur. Piezoelektrik, mekanik gerilmelere yanıt olarak dokularda elektriksel değişimler meydana getirir.

Kemiğin piezoelektrik özelliği kollajen lifler aracılığıyla gerçekleşir. Kollajen matriks miktarı artınca gerilme azalır ve bu alana daha çok osteoblast geçişi ile kemikleşme hızlanır. Mezenkimal hücrelerin kemik hücrelerine dönüşümü için uygun biyomekanik ortam gereklidir. Kemik kırığının konkav kısmı, negatif elektrik yüküyle yüklüdür ve ilk olarak kallus dokusu burada meydana gelir. Konveks kısmı da, negatif yüklü olup, bu tarafta ise osteoliz meydana gelmektedir. Elektriksel indüklenme, kemik matrikste kalsifikasyonu, proteoglikan sentezini ve osteoblast sentezini hızlandırır (112).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması

Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı uyarınca alınan; Karar No:4/11 esasına uygun olarak yürütülmüştür. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (SABİDAM) yetiştirilen, ağırlıkları 200-250 g arasında değişen 10 adet Wistar Albino cinsi erişkin dişi ve ağırlıkları 250-300 g arasında değişen 20 adet Wistar Albino cinsi erişkin erkek sıçan kullanıldı. Deney süresi boyunca tüm sıçanlar sirkadiyen ritme uygun olarak (12 saat aydınlık / karanlık), ortamın sıcaklığı 24 ± 2 °C ve nemi % 40-60 olan laboratuvar ortamında barındırılarak adlibitum pelet yem ve çeşme suyu ile beslenmeleri sağlandı.

3.2. Radyofrekans Elektromanyetik Alan Uygulama Düzenegi

Bu çalışmada, RF-EMA uygulaması için Set Elektronik Ltd. Şti. (Sakarya, Turkey) tarafından dizaynı yapılan; beslenme kaynağı 220~230 V, çalışma sıcaklığı -40°C ~ +60°C, sabit frekans modülasyonlu ve frekansı 5.8 – 6 GHz'de çalışan, gücü 0-2 Watt (ayarlanabilir özellikte), Continuous Wave (CW) biçimde sinüzoidal dalga yayan, 50 Ω çıkışlı, modeli FR6GX-2W olan RF jeneratörü kullanıldı (Şekil 3.1.A). RF jeneratöründen çıkan, her yöne eşit biçimde dağılım gösteren, tek bir iletken levhadan oluşmuş ve çeyrek dalga boyuna ($\lambda/4$) sahip monopol anten kullanıldı.

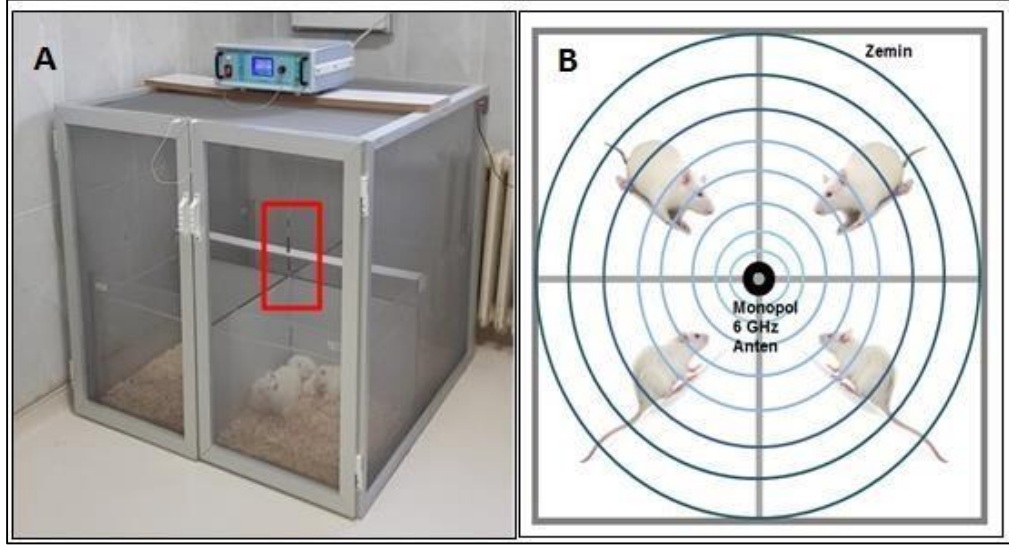
Deney grubundaki dişi ve erkek sıçanların RF- EMA' ya maruz bırakılacağı ve içerisinde rahatlıkla barınabileceği genişlikte 4 eşit bölmeden oluşan 90 cm x 90 cm x 42 cm boyutunda özel uygulama kafesi temin edildi (Şekil 3.1.B). Kafes içerisindeki hayvanların sağlıklı ve uzun süreli yaşamaları ve uygulanan RF- EMA kaynağının yaydığı elektromanyetik radyasyon etkisinin tam olarak gözlemlenebilmesi amacıyla, kafes boyutlarına ve hijyen kurallarına özen gösterildi. Uygulanan EMA'nın etkisinin bozulmaması için, kafeslerin temizliği düzenli periyotlarla yapılarak ortamın sıcaklık ve nemi sabit değerlerde tutulması sağlandı.

Dış ortamda bulunan RF-EMA kaynaklarının olası olumsuz etkilerinden deney hayvanlarının korunması ve deney düzeneği içinde oluşturulan elektromanyetik radyasyonun etkisinin sınırlandırılarak dış ortama çıkışının engellenmesi açısından çalışmamızda iki adet, boyutları 100 cm x 100 cm x 90 cm olan Faraday kafesi temin edilerek kullanıldı (Şekil 3.1.C). Faraday kafeslerinin iletkenliğinin sağlanması ve güvenli koruma için alüminyum profil ve geçirgenliği optimal düzeyde tutabilen alüminyum ağ sistemi kullanıldı. İki kafesin iletken kısımlarına bakır iletken metal bağlantısı yapılarak izoleli krokodil kablolarla her iki Faraday kafesinin topraklaması sağlandı. Çalışmamızda Faraday kafesleri, hem kontrol hem de deney grupları için kullanılmıştır.



Şekil 3.1. RF-EMA uygulama düzeneği. **A)** RF jeneratörü, **B)** Özel uygulama kafesi, **C)** Kontrol ve RFR grupları için Faraday kafesleri.

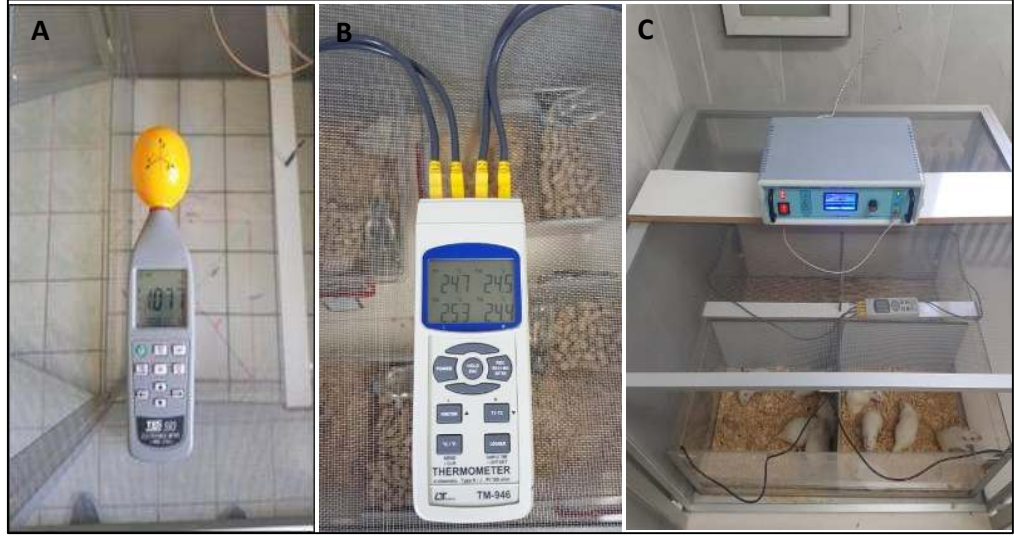
Sıçanlara RF-EMA uygulaması öncesi Faraday kafesinin üst orta noktasına yerleştirilen RF jeneratöründen çıkan monopoll anten, özel uygulama kafesinin ortasına (yerden yükseklik: 35 cm), deneklerin vücuduna aynı mesafede eşit yayılacak şekilde sabitlenmesi sağlandı (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. RF-EMA maruziyet düzeneği. **A)** 6 GHz RF-EMA uygulanan deneysel düzenek ve RF jeneratörü, **B)** Uygulama kafesinin üstten görünüş simülasyonu.

Deney öncesi RF jeneratörü gücü kapalı durumda ve 1 Watt'ta çalışır durumda iken monopol antene yakın alan (özel uygulama kafesinin orta noktası) ile kafesin dört köşesinden yansıma ve maruz kalma seviyelerini 3-boyutlu olarak ölçebilen ElectroSmog meter (TES-593, Taiwan) taşınabilir cihaz ile elektrik alan (E), manyetik alan (B) ve güç yoğunluğu (PD) ölçüldü (Şekil 3.3.A). RF-EMA parametreleri; ortalama $E = 6,29 \pm 4\% \text{ V/m}$, $B = 0,016 \pm 9\% \text{ A/m}$ ve $PD = 11,80 \mu\text{W/cm}^2$ olarak kaydedildi.

Laboratuvar ortam sıcaklığının $24 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de RF-EMA uygulamasına bağlı olarak oluşabilecek olası ısı değişimleri, deney öncesinde ve sonrasında 4 kanallı Termometre (Type K/J, Pt 100 Ohm, Model: TM- 946) ölçüm cihazı kullanılarak takip edildi (Şekil 3.3.B). Termometre cihazının 4 kanalı, uygulama kafesinin 4 ayrı köşesine yerleştirilerek, RFR kaynağı kapalı ve açık durumda iken ısı değişimleri ölçüldü (Şekil 3.3.C).



Şekil 3.3. Ortam ölçümleri. A) ElectroSmog meter cihazı, B) 4 kanallı termometre cihazı, C) Uygulama kafesinin 4 köşesinden RF-EMA'ya maruziyet öncesi-sonrası ısı değişimlerinin ölçülmesi.

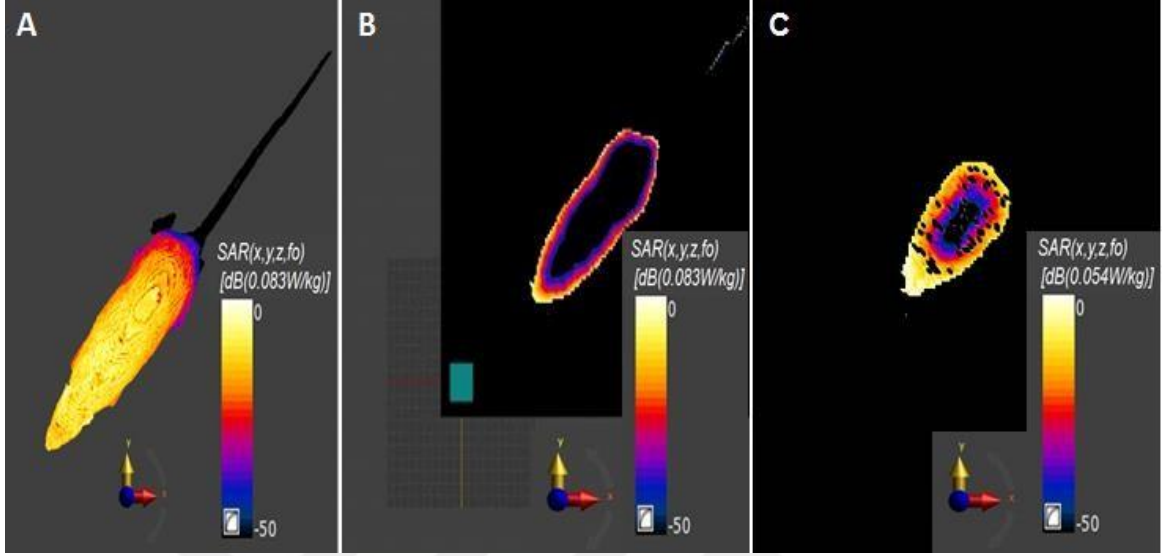
Deney sistemin güç düzeyleri toplumsal amaçlarla kullanılan yeni nesil 5G teknolojik ürünlerin gösterdiği etkiye benzer değerde tutuldu. Laboratuvar çalışma ortamı gürültü maruziyet değeri 100 dB'e kadar etkin olan RF-EMA korumalı odada gerçekleştirilmiştir.

3.3. Spesifik Absorpsiyon Oranı (SAR)

Çalışmamızda SAR değerleri, ölçülen elektrik alan (V/m), manyetik alan (A/m) ve güç yoğunluğu ($\mu\text{W}/\text{cm}^2$) referans alınarak tüm vücut üzerinde hesaplanmıştır. SAR değerlerinin hesaplanması için Zurich MedTech AG'ye (Zurich, Switzerland) ait Zaman Domeninde Sonlu Farklar yöntemini (FDTD; Finite-Difference Time Domain) temel alan Sim4Life 7.0.2 programı kullanıldı. Hacimsel bir piksel (voksel) sıçan üç boyutlu model simülasyonları, Zurich MedTech AG'ye ait ViZoo 1.0 (Virtual Zoo) programı kullanılarak oluşturuldu. Benzetim için IEE/IEC62704-1 ortalama alma yöntemi kullanıldı. Voksel sıçan modelinde 1 g ortalama kütle için uzamsal-ortalama SAR dağılımı yapıldı.

Çalışmamızda SAR değeri erişkin sıçanlarda tüm vücut üzerinde ortalama 0.083 W/kg olarak hesaplanırken (Şekil 3.4.A,B), gebe dişi sıçanların prenatal fetüslerinde ortalama 0.054 W/kg olarak hesaplandı (Şekil 3.4.C). Ölçülen SAR değerleri, literatürde

aynı şart, yönelim ve anten gücü için hesaplanmış SAR değerleri referans alınarak gerçekleştirilmiştir (113, 114).



Şekil 3.4. 6 GHz’de SAR simülasyonları. **A)** Erişkin sıçan vksel modeli, **B)** 1g ortalama kütle için erişkin erkek sıçan horizontal kesit tüm vücut SAR dağılımı, **C)** 1g ortalama kütle için gebe dişi sıçanda prenatal fetüs horizontal kesit tüm vücut SAR dağılımı.

3.4. Sitokin Düzeyleri için Deneysel Grupların Oluşturulması

Çalışmamızda erkek sıçanların kan hücrelerinde Anneksin-V kiti kullanılarak flow sitometrik yöntemi ile canlı hücre, apoptotik süreçteki hücreler (erken, geç) ve nekrotik hücre % oranları ve ELISA yöntemi ile ortalama plazma seviyelerinde pro-inflamatuar (TNF- α ile IFN- γ) ve anti-inflamatuar (IL-4 ve IL-10) sitokin düzeyleri belirlenmesi için kontrol (0.gün) ve Radyofrekans Radyasyon (RFR) grubu (42.gün) olmak üzere çalışma 2 gruba ayrıldı (Çizelge 3.1).

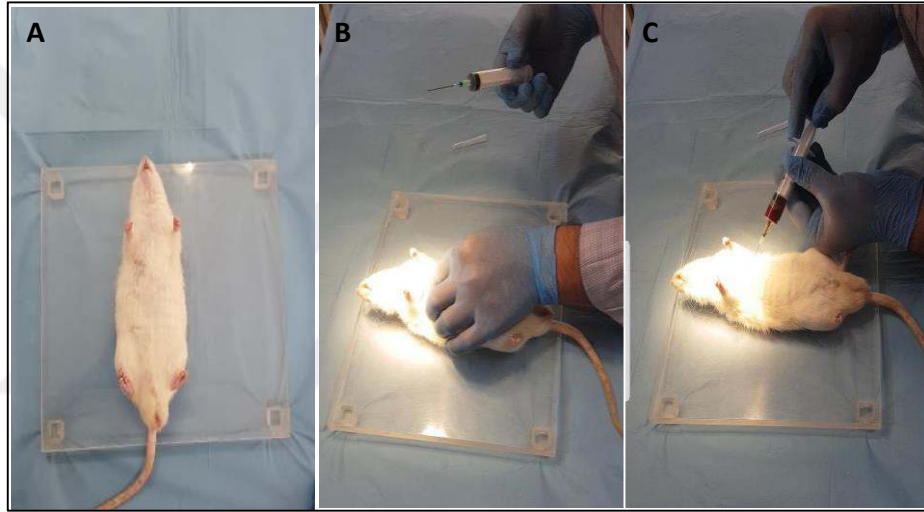
Çizelge 3.1. Sitokin düzeyleri için deney gruplarının oluşturulması.

<u>RF-EMA</u>	<u>N</u>	<u>Kontrol (0.gün)</u>	<u>RFR (42.gün)</u>
6 GHz	10	-	+

- : Maruz kalmamış

+ : Maruz kalmış

Kontrol Grubu (0.gün): Bu grupta, totalde 10 adet erkek sıçan kullanılarak RF-EMA uygulama öncesi olarak adlandırıldı. Tüm sıçanlara intraperioteneal (i.p.) olarak xylazin (0.05 mg/kg) ve ketamin (0.1 mg/kg) enjeksiyon uygulaması yapıldı (Şekil 3.5.A). Anestezi altındaki sıçanların her biri tamamen uyutulduğundan emin olduktan hemen sonra sırt üst yatılarak kardiyak ponksiyon yöntemi ile kan almak için kalp atımının en güçlü olduğu yer belirlendi (Şekil 3.5.B). Daha sonra 5cc _lik enjektör yardımıyla sıçanlardan kan örnekleri (yaklaşık 2cc) alınarak EDTA içeren tüplere aktarıldı (Şekil 3.5.C). Kan Alma işlemi tamamlandıktan sonra, bu sıçanlar kendi içerisinde tek tek numaralandırılarak normal kafeslerine yerleştirildi.



Şekil 3.5. Erkek sıçanlardan kan alınması. **A)** Genel anestezi altındaki sıçan, **B)** Anestezi altındaki erkek sıçanın sırt üstü yatırılarak kardiyak ponksiyon yöntemi uygulaması, **C)** Kalpten 5cc _lik enjektör yardımıyla kan alma işlemi.

Kan örnekleri tamamlandıktan hemen sonra aynı gün içerisinde flow sitometrik yöntemle Anneksin-V kiti (Beckman Coulter, USA) kullanılarak canlı hücre, apoptotik süreçteki hücreler (erken, geç) ve nekrotik hücre % oranları değerlendirilerek analizleri yapıldı. Daha sonra EDTA içeren kan tüpleri santrifüj cihazında (Marka; Nuve, Model; NF 1200, Türkiye), 3000 RPM'de 30 dakika boyunca santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Plazma örnekleri numaralandırılmış ependorf tüplere aktararak enzim bağlı immünosorbent tayin yöntemi (ELISA; Enzyme Linked Immunosorbent Assay) çalışma gününe kadar -20°C derin dondurucuda bekletildi.

RFR Grubu (42.gün): Bu grup, RF-EMA uygulama sonrası olarak adlandırıldı. Bu grubu, 6 GHz RF-EMA uygulaması öncesi çalışmanın ilk günü sadece kanları alınan ve sayıları 10 adet olan aynı sıçanlar oluşturmaktadır. Bu gruptaki tüm sıçanlar deney öncesi kan alma işlemleri tamamlandıktan 1 gün sonra standart sıçan kafeslerinden çıkartılarak, Faraday kafesinin içerisine konulmuş 4 eşit bölmeli özel uygulama kafesi içerisine yerleştirildi. 4 günlük adaptasyon süreyi takiben tüm sıçanlar her gün saat 10:00-14:00 arası RF-EMA uygulanan düzenekte 6 hafta boyunca 4 saat/gün 6 GHz (0.083 W/kg SAR) RF-EMA'ya maruz bırakıldılar (Şekil 3.2.A,B).

RF-EMA uygulaması tamamlandıktan sonra (6 hafta), deney öncesinde yapıldığı gibi deney sonunda da bu erkek sıçanlara intraperitoneal (i.p.) olarak deney hayvanlarının vücut ağırlığı prosedürüne göre xylazin (0.05 mg/kg) ve ketamin (0.1 mg/kg) enjeksiyon uygulaması yapıldı. Anestezi işlemlerini takiben numaralandırılmış RFR grubundaki tüm erkek sıçanlardan kan örnekleri alındı. Kan örnekleri tamamen toplandıktan hemen sonra aynı gün içerisinde flow sitometrik yöntemle Anneksin-V kiti kullanılarak canlı hücre, apoptotik süreçteki hücreler (erken, geç) ve nekrotik hücre yüzde oranları değerlendirildi ve analizleri yapıldı. Daha sonra bu kan alınan tüpler de, çalışmanın başında yapıldı gibi santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Plazma örnekleri numaralandırılmış ependorf tüplere yerleştirilerek ELISA yöntemle pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar sitokin düzeyleri çalışma gününe kadar -20°C derin dondurucuda saklandı.

3.5. Anneksin-V (FITC/PI) Yöntemi

Hücre membran lipidlerinden biri olan fosfatidilserin (PS), normal hücrelerde hücre zarının iç tarafında ve sitoplazmik yüzde yerleşim göstermektedir. Hücre membran bütünlüğünün bozulmadığı erken apoptotik dönemde yer değiştirme meydana gelir. Sağlıklı bir hücre çeşitli nedenlerle apoptotik sürece girmesi ile birlikte PS molekülleri hücre zarının dış yüzüne geçiş yapar. Anneksin-V, hücre zarının dış yüzeyine geçiş yapan PS'ye bağlanabilen bir protein olup floresan bir madde olan Fluorescein isothiocyanate (FITC) ile işaretlenerek apoptotik hücre oranı belirlenebilmektedir. FITC Annexin-V Apoptosis Detection Kiti aracılığıyla, hücrelerdeki apoptoza bağlı olarak hücre membranı bütünlüğünün bozulması, her türlü

hücre hattı ve primer hücrelerden flow sitometri sistemiyle analizi edilerek hücre ölümü tespit edilebilmektedir. Aynı zamanda, nekrotik sürece girmiş hücreleri tespit etmek amacıyla diğer floresan bir madde olarak Propidium iodide (PI) kullanılmaktadır.

Aynı anda FITC Annexin-V (yeşil floresan) ve non-vital boya olan PI Annexin-V (kırmızı floresan) ile boyanılması ile birlikte, canlı hücrelerin (FITC (-) PI(-)), erken apoptotik hücrelerin (FITC(+) PI(-)), nekrotik hücrelerin (FITC(-) PI(+)) ve geç apoptotik hücrelerin (FITC(+) PI(+)) birbirinden ayırt edilmesi mümkün olabilmektedir. Çalışmamızda, sıçan uyumlu FITC Annexin-V Apoptosis Detection Kiti (Beckman Coulter, USA) içeriği olarak, 20 testlik olmak üzere sırasıyla conjugate reagent (1x 0.1mg/mL BSA), Binding Buffer (1x 1.7mL) ve Propidium iodide (1x 0.25mg) kullanıldı.

Reaktiflerin hazırlanması:

1. Konsantre olan (10 kat) Binding buffer 1.7mL (İmmunotech, SAS) distile su ile dilue edilerek (10 kez) kullanıma hazır hale getirildi. Hazırlanan buffer buz kalıbı üzerine konuldu.
2. 250µg Propidium Iodide (Invitrogen, USA) üzerine 1mL hazırlanmış Binding Buffer eklenerek çözülmesi sağlandı. Bu karışım da benzer şekilde buz kalıbı üzerine yerleştirildi.
3. Lyse (Beckman Coulter, France)×10 şeklinde örnek sayısına göre ayarlama yapıldı.
4. Reaktifler kullanıldıktan sonra 2-8⁰C de bekletildi.

Anneksin-V Çalışma prosedürü:

1. Flow sitometri tüpleri numaralandırılarak hazır hale getirildi.
2. Kan örnekleri hücre konsantrasyonları 5×10^{-3} hücre/ml oranında Phosphate Buffered Saline (PBS) ile dilue edildi (5 µl kan, 995 µl dilue).
3. Her örnekten 200µl dilue yapılan kan alınıp, polstren tüplere aktararak üzerine 200µl soğuk PBS eklendi.
4. 500g ayarda, +4⁰C sıcaklıkta ve 5 dk süreyle santrifüj edildikten sonra üstteki süpernatant atıldı.

5. Kalan süspansiyona Binding Buffer 100µl eklendi.
6. Daha sonra her bir tüpe 1µl Annexin-V FITC ve 5µl PI boyaları konuldu.
7. Hazırlanan tüpler karanlık ortamda buz kalıbı üzerinde 15 dk boyunca inkübe edildi.
8. Her bir tüpe daha önceden hazırlanmış olan Binding Buffer'den 400 µl ilave edildi (Binding Buffer x 10 distile su ile dilue edilir)
9. Hazırlanan örnekler analiz edilmek üzere Flow Sitometri (Marka; Beckman Coulter, Model; Navois 10C13L, USA) cihazına yerleştirildi.

Flow Sitometrik analiz ve değerlendirme:

Annexin-V pozitif hücrelerin belirlenmesinde Flow Sitometrik yöntem kullanılarak FS INT / SSINT ANNEXIN LOG ile canlı hücrelerin (FITC (-) PI(-)), erken apoptotik süreçteki hücrelerin (FITC(+) PI(-)), nekrotik hücrelerin (FITC(-) PI(+)) ve geç apoptotik süreçteki hücrelerin (FITC(+) PI(+)) % oranları değerlendirildi.

3.6. ELISA Tayin Yöntemi ve Değerlendirme

ELISA, enzim ile işaretli antikorlar (konjugat) ve substrat kullanılarak plazma, serum ve hücre kültür sıvılarında bilinen ya da şüpheli etken/antijen varlığının veya antikor tespitinin araştırılması amacıyla kullanılan bir yöntemdir. Eğer bir örnekte bilinen bir antijen tayini yapılacak ise, bu örnek katı faz yüzeye bağlanmış ve aranan antijene özgü enzim ile işaretli antikor (konjugat) ile birlikte reaksiyona girmesi sağlanır. Böylece, örnekte aranan antijene özgü antikor varsa antijenle reaksiyona girerek antijen-antikor kompleksi oluşturulur. Reaksiyon sonucunda enzimlerin kromojenik substratlarıyla birleştirilmesiyle kompleks görünür hale getirilir. Substratın yapısındaki kromajen maddelerin yapısına bağlı olarak mavi, yeşil, sarı, vb. renklerde ürünler meydana gelir. Her bir aşama arasında fosfatlı tampon solusyonu (PBS, wash buffer) ile yıkama işlemi gerçekleştirilir. Yıkama ile özgül olmayan bağlanmalar giderilmektedir. İnkübasyon süresi sonunda renk değişimine göre spektrofotometrik olarak ölçümü ile aranan antikorun miktarı değerlendirilir.

Pro-inflamatuar (TNF- α ile IFN- γ) ve anti-inflamatuar (IL-4, IL-10) sitokinlerin ortalama plazma seviyeleri ELISA yöntemini kullanarak spektrofotometrik analiz ile

değerlendirildi. ELISA testinin direkt, indirekt ve sandviç gibi farklı ELISA uygulama yöntemleri olmasına karşın uygulamalarda en sık tercih edileni sandviç ELISA yöntemidir. Çalışmamızda sandviç ELISA yöntemi ile 96 testlik sıçan spesifik ELISA (TNF- α : SEA133Ra, IFN- γ : SEA049Ra, IL-4: SEA077Ra, IL-10: SEA056Ra) (Wuhan USCN Business Co., Ltd. | USCN life science KIT INC., China) kiti kullanıldı.

ELISA Çalışma prosedürü:

1. -20°C'de bekletilen plazma örnekleri ve elisa kitler, çalışma yapılmadan önce derin dondurucudan çıkartılarak oda ısısında çözünmeleri sağlandı.
2. Reaktifler prosedüre göre 0,5 ml Standart dilüe edildi.
3. Sırasıyla 10 dk oda ısısında bekletirek, 100µl standart dilue ve 100µl plazma örneği alınarak mikrolatelerin kuyularına aktarıldı.
4. Plate'nin üzeri kapatılarak inkübatöre yerleştirilip 37°C'de 60 dk inkübe edildi.
5. Plate kuyulardaki bağlanmamış antikorları uzaklaştırmak amacıyla plateler 5 kez yıkandı.
6. Tüm plate kuyularındaki solüsyonun içerisine 100 µl reaktif (kromojen) A çözeltisi eklenerek 37°C'de 60 dk inkübe edilip 3 kez yıkama yapıldı.
7. Daha sonra, Tüm plate kuyularındaki solüsyonun içerisine 100 µl reaktif B çözeltisi eklenerek 37°C'de 30 dk inkübe edilip 5 kez yıkama yapıldı.
8. Plate kutularına 90 µl Substrat ilave edilerek 37°C'de 15 dk inkübe edilerek kompleks mavi renge dönüştürüldü.
9. İnkübasyon işlemlerini takiben plate kuyularına 50 µl stop solüsyonu eklenerek kompleks sarı dönüştürülüp reaksiyon sonlandırıldı.
10. Renk değişimi sonrası mikrolateler Spektrofotometre (Marka; Chromate awareness technology inc, Model; 4300, Nerherlands) analiz ile 450 nm'de okutularak sonuçlar değerlendirildi.

3.7. Kemik Gelişimi için DeneySEL Grupların Oluşturulması

Çalışmamızın bu aşamasında 6 GHz (0.054 W/kg SAR) RF-EMA'nın doğum öncesi (prenatal) fetüslerin kemik gelişimi üzerine etkisini belirlemek için çalışma başlıca; kontrol grubu, grup-I, grup-II ve grup-III olmak üzere 4 gruba ayrıldı (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Kemik gelişimi morfolojik bulguları için deney gruplarının oluşturulması.

Gruplar	N		Erkek	Dişi
	<u>Erkek</u>	<u>Dişi</u>	<u>6 GHz RFR</u>	<u>6 GHz RFR</u>
Kontrol	2	3	-	-
Grup-I	2	2	+	-
Grup-II	2	3	+	+
Grup-III	2	2	-	+

- : Maruz kalmamış

+ : Maruz kalmış

Kontrol Grubu (n=5): Bu grupta, 2 adet erkek ve 3 adet dişi sıçan olmak üzere toplam 5 adet sıçan kullanıldı. Sıçanlar içerisinde yaşadıkları standart kafesleri ile birlikte topraklanması sağlanmış Faraday kafeslerinden birine yerleştirildi. Dış ortamdaki olası elektromanyetik radyasyonlardan korunması sağlanarak, bu gruptaki sıçanlar hiçbir işleme maruz bırakılmadılar (Şekil 3.6.B).

Grup-I (n=4): Bu grupta, 2 adet erkek ve 2 adet dişi sıçan olmak üzere toplam 4 adet sıçan kullanıldı. Dişi sıçanlar standart kafeslerinde hiçbir işleme maruz kalmazken (Şekil 3.6.B), erkek sıçanlar 6 hafta boyunca her gün saat 10:00-14:00 arası RF dalgası uygulanan düzenekte 4 saat/gün 6 GHz RF-EMA'ya maruz bırakıldılar (Şekil 3.6.A).

Grup-II (n=5): Bu grupta, 2 adet erkek ve 3 adet dişi sıçan olmak üzere toplam 5 adet sıçan kullanıldı. Hem erkek hem de dişi sıçanlar diğer Faraday kafesinin içerisine konulmuş 4 eşit bölmeli özel uygulama kafesi içerisine yerleştirilerek, 6 hafta boyunca her gün saat 10:00-14:00 arası RF dalgası uygulanan düzenekte 4 saat/gün 6 GHz RF-EMA'ya maruz bırakıldılar (Şekil 3.6.A).

Grup-III (n=4): Bu grupta, 2 adet erkek ve 2 adet dişi sıçan olmak üzere toplam 4 adet sıçan kullanıldı. Erkek sıçanlar standart kafesinde hiçbir işleme maruz kalmazken (Şekil 3.6.B), dişi sıçanlar 6 hafta boyunca her gün saat 10:00-14:00 arası RF dalgası uygulanan düzenekte 4 saat/gün 6 GHz RF-EMA'ya maruz bırakıldılar (Şekil 3.6.A).

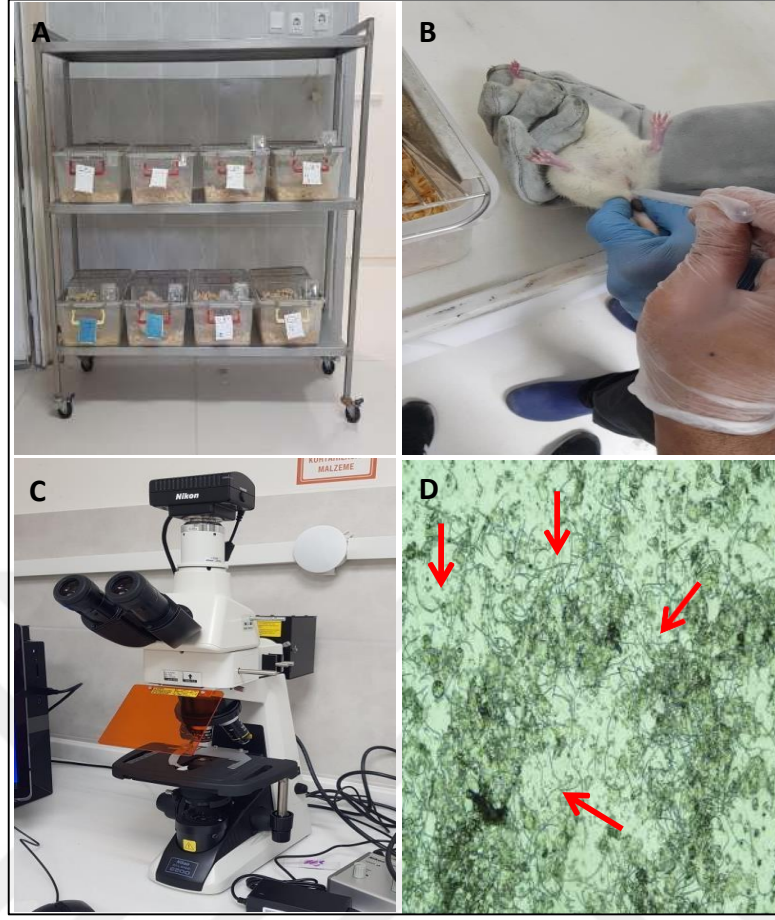


Şekil 3.6. Sıçanların yerleştirildiği deneysel düzenek. **A)** Deney grupları düzeneği, **B)** Kontrol grubu düzeneği.

3.8. Sıçanlarda Gebelik Olgusunun Oluşturulması

Deney hayvanları 6 hafta boyunca 4 saat/gün 6 GHz RF-EMA uygulamasına maruz bırakıldıktan hemen sonra çiftleştirilmek üzere her kafeste bulunan 2' şer adet dişi sıçan, 1' er adet erkek sıçanın kafesine akşamın geç saatlerinde götürülmesi sağlanarak hayvanların çiftleştirme işlemleri gerçekleştirildi (Şekil 3.7.A). Tüm gruplardaki gebe sıçan sayısı; her bir grupta en az 10 adet fetüs üzerinde ölçüm yapılmak istenmesi, bazı sıçanlardan hedeflenen sayının altında fetüs alınması, diseksiyon ve ikili iskelet boyama yöntemi aşamasında oluşabilecek kayıplar gibi nedenler göz önüne alınarak belirlendi.

Ertesi gün sabahın erken saatlerinde dişi sıçanlar kafesten ayrılarak vaginal smear metodu ile muayene edildi (Şekil 3.7.B). Yapılan vaginal smear sonrasında, Nikon Eclipse E200 model düz tip endüstriyel mikroskop kullanılarak vajinasında spermium/spermatozom tespit edilen sıçanlar işaretlenerek 0,5 günlük gebe kabul edildi (Şekil 3.7.C,D). Çiftleştirme işlemleri tamamlanan erkek ve dişi sıçanlar ayrılarak tekrar ayrı kafeslerde tutuldu.



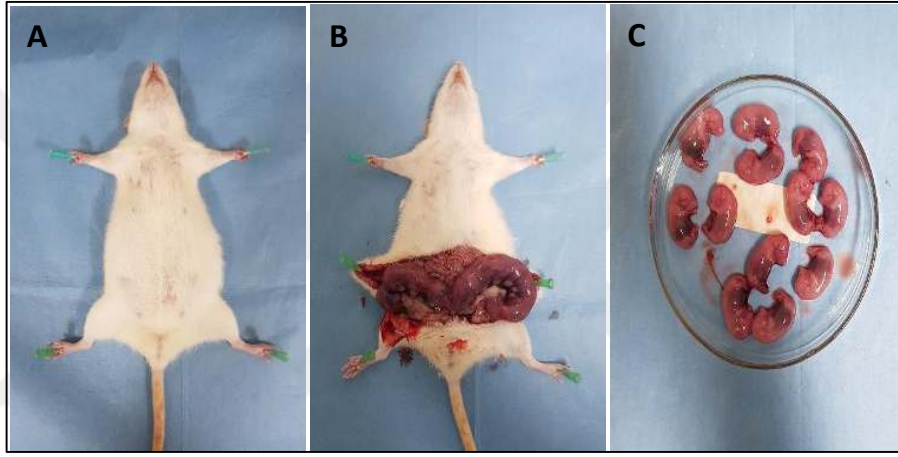
Şekil 3.7. Gebe sıçanların tespit edilmesi. **A)** Çiftleştirilmek üzere erkek ve dişi sıçanların aynı kafeslere alımı, **B)** Vaginal smear testi, **C)** Nikon Eclipse E200 model düz tip endüstriyel mikroskop, **D)** Gebe sıçanlarda spermium/spermatozomların tespit edilmesi.

3.9. Erişkin Dönem Erkek Sıçanlardan Doku Alınması

Kan alma işlemlerin tamamlanması ile birlikte, 6 hafta boyunca 6 GHz RF-EMA'ya maruziyet işlemleri sona eren erkek sıçanların herbirinden anestezi altında iken sağ-sol testis, sağ-sol böbrek, karaciğer, akciğer ve kalp dokuları alınarak hassas terazi yardımıyla ağırlıkları kaydedildi. Daha sonra dokuları alınan tüm gruplardaki bu erkek sıçanlara servikal dislokasyon ile ötenazi yapıldı.

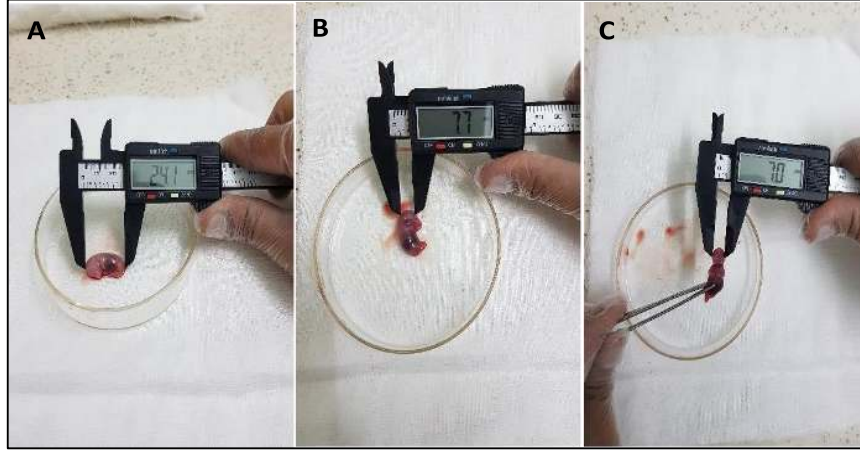
3.10. Prenatal Dönem Kemik Çalışmaları

Dişi sıçanların gebelik işlemleri tamamlandıktan sonra, her gruptan 2 adet gebe dişi sıçan gestasyonel dönemin 18. günde intraperioteneal (i.p.) olarak sıçanların vücut ağırlığı prosedürü dikkate alınarak xylazin (0.05 mg/kg) ve ketamin (0.1 mg/kg) enjeksiyon uygulaması yapıldı (Şekil 3.8.A). Gebe sıçanlar anestezi altında iken kesim tahtası üzerine yatırılarak abdominal bölgesine transvers kesi atılıp karın ön duvarları açıldı (Şekil 3.8.B). Sezeryan operasyonu ile uterus içerisinden hasar görmeden çıkartılan tüm fetüsler plasentalar ile ayrılarak anne sıçan ile birlikte sakrifiye edildi (Şekil 3.8.C). Her grup için aynı işlemlere devam edildi.



Şekil 3.8. Gebe sıçanlara sezeryan uygulanması. **A)** Anestezi altındaki gebe sıçanın sezeryana hazırlanması, **B)** Karın ön duvarı kesilerek uterusun çıkartılması, **C)** Fetüslerin anne sıçandan ayrılması.

Tüm fetüsler alındıktan hemen sonra her gruptaki fetüslerin total sayısı tespit edilip intrauterin pozisyonlarında standartize edilerek her bir fetüse ait baş-kuyruk (boy) uzunluğu (mm), occipital-frontal uzunluk (mm), parietal-parietal arası uzunluk (mm) dijital kumpas ile ölçüldü (Şekil 3.9.A,B,C). Daha sonra tüm fetüslerin ağırlıkları hassas terazi yardımıyla ölçülerek kayıt altına alındı. Tüm gruptan alınan tüm fetüsler, kemik gelişimi takibi için ikili iskelet sistemi boyama yöntemine ayrılmak üzere ayrı ayrı %70'lik etil alkol içerisine alındı.



Şekil 3.9. Fetüslerde uzunluk ölçümleri. A) Baş-kuyruk, B) Occipital-frontal, C) Parietal-parietal.

3.10.1. İkili İskelet Boyama Yöntemi

İkili iskelet boyama yöntemi, deneysel ve teratolojik çalışmalarda elde edilen verilerin doğru ve güvenilir olması nedeniyle en sık tercih edilen yöntemdir. İskelet sistemini oluşturan kemik ve kıkırdakların, çeşitli boyama çözeltileri kullanılarak farklı renklerde ya da aynı rengin farklı tonlarında boyanması işlemi ikili iskelet boyama yöntemi kullanılarak yapılır. Diğer bir ifadeyle, ikili iskelet boyama yöntemi ile iskelet sisteminin ortaya çıkarılması sağlanır. Çalışmamızda alınan tüm fetüsler ikili iskelet boyama yöntemi kullanılarak boyandı. Boyama işlemi protokolüne geçmeden önce tüm fetüsler, %70'lik etil alkol içinde 4-7 gün bekletilerek fetüslerin dokularındaki sıvının tamamen çekilmesi sağlandı. Daha sonra %70'lik etil alkol içerisinden alınarak saf asetonunda 1-3 gün süreyle bekletilerek fetüsler yağlarından arındırıldı. Bu işlemler sonrasında tüm fetüslerin derileri soyulup, gözleri ve iç organları çıkarıldı (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. Fetüslerin derileri soyularak gözlerinin ve iç organlarının çıkartılması.

Yapılan tüm bu işlemler süresince zarar gören fetüsler çalışmaya dâhil edilmedi. Tüm gruplardaki fetüslerin iskelet sistemi, aşağıdaki çizelgede belirtilen ikili iskelet sistemi boyama yöntemi protokolü ile ortaya çıkarıldı (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. İkili iskelet sistemi boyama yöntemi protokolü.

Teknik Aşamalar	Solüsyonlar	Zaman
Tespit	% 70'lik Etil Alkol	4-7 gün bekletilir.
Yağdan Arındırma	Saf Aseton	1-3 gün bekletilir.
Boyama	<u>Boyama solüsyonlarının hazırlanması</u> 1. solüsyon: 100 ml %70'lik Etil Alkol + 300 mg Alcian Blue 2. solüsyon: 100 ml %95'lik Etil Alkol + 100 mg Alizarin Red S 3. solüsyon: 1. Solüsyon + 2. Solüsyon + 100 ml Glacial Asetik Asit 4. solüsyon: 1. Solüsyon + 2. Solüsyon + 3. Solüsyon + 1700 ml %70'lik Etil Alkol ile hazırlanır.	7 gün süreyle 38-40°C de etüvde bekletilir.
Şeffaflaştırma	1) %1'lik KOH 2) %1'lik KOH (80 ml) +%20'lik Gliserin (20 ml) 3) %1'lik KOH (50 ml) +%50'lik Gliserin (50 ml) 4) %1'lik KOH (20 ml) +%80'lik Gliserin (80 ml)	1-3 gün 5-7 gün 5-7 gün 5-7 gün bekletilir.
Saklama	%100'lük Gliserin	

Boyama Solüsyonlarının Hazırlanması: Ayrı ayrı hazırlanan bütün solüsyonların belirli yöntemlerle birleştirilmesi ile boyama solüsyonu elde edildi.

Boyama solüsyonların hazırlanması:

1. solüsyon: 300 mg Alcian Blue'nun 100 ml %70'lik Etil Alkol içerisinde sürekli karıştırılıp eritilmesi ile oluşturuldu.

2. solüsyon: 100 mg Alizarin Red-S'nin 100 ml %95'lik Etil Alkol içerisinde sürekli karıştırılıp eritilmesi ile oluşturuldu.

3. solüsyon: Önceden hazırlanmış olan birinci solüsyonun içerisine azar azar ikinci solüsyonun ilave edildi. Bu iki solüsyonun tamamen karıştırılmasından sonra hazırlanan bu karışımın içerisine 100 ml Glacial Asetik Asit ilave edilerek elde edildi.

4. solüsyon: Daha önceden hazırlanan 3. solüsyonun içerisine 1700 ml %70'lik Etil Alkol ilave edilerek elde edildi.

Boyama süreci: Boyamaya hazır hale getirilen tüm fetüsler, cam kaplarda yukarıda açıklanmış olan yönteme göre hazırlanan boya solüsyonu içerisine konuldu. İçerisinde fetüsler ile solüsyonun bulunduğu cam kapların ağızları streç film ile kapatılarak hava ile temasının engellenmesi sağlandı. Daha sonra bu cam kaplar etüvde 38-40°C'de 7 gün süreyle bekletilerek dokuların ve kemiklerin boyanması sağlandı. 7. gün bitiminden hemen sonra, tüm fetüsler akan musluk suyu altında 2 saat süre ile yıkanarak su ile tepkimeye girmesi sağlandı. Bu işlemler tamamlandıktan sonra şeffaflaştırma işlemlerine geçildi.

Şeffaflaştırma aşaması: Şeffaflaştırma toplam olarak 4 farklı aşamadan oluşmaktadır.

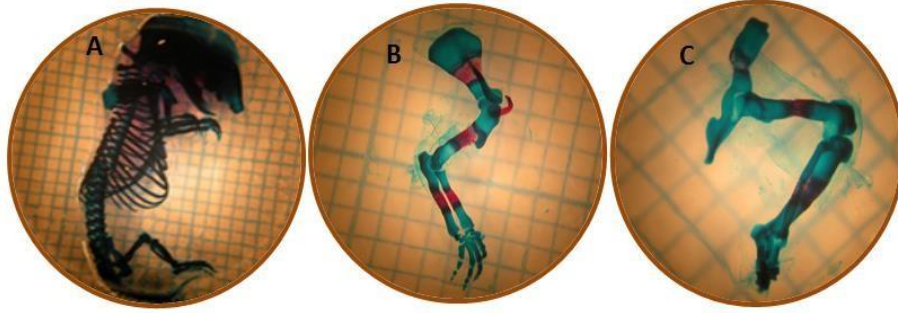
1. aşama: Boyalama yapılan tüm fetüsler 1 gün süreyle %1'lik KOH içerisinde bekletildi.

2. aşama: Fetüsler bu aşamada 5 gün süreyle 80 ml %1'lik KOH ve 20 ml %20'lik gliserinden oluşan karışım içerisinde bekletildi.

3. aşama: Fetüsler bu aşamada 5 gün süreyle 50 ml %1'lik KOH ve 50 ml %50'lik gliserinden oluşan karışım içerisinde bekletildi.

4. aşama: Fetüsler bu aşamada 20 cc %1'lik KOH ve 80 ml %80'lik gliserinden oluşan solüsyon içinde 5-7 gün süreyle bekletildi.

Şeffaflaştırma aşamaları sonrasında, tüm fetüslerin ikili iskelet boyama yöntemi işlemleri tamamlanarak fetüslerin iskelet sistemi ortaya çıkarıldı (Şekil 3.11). Daha sonra tüm ön-arka ekstremite kemiklerinin ayrılması sağlanarak kemiklerin ölçüm işlemleri aşamalarına geçildi.

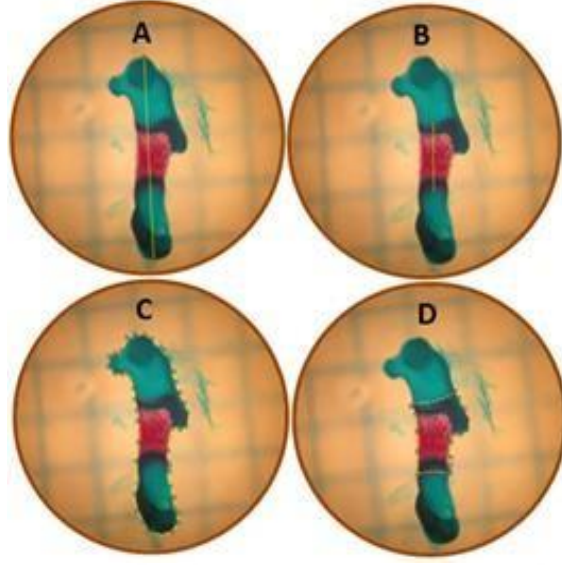


Şekil 3.11. İkili iskelet boyama yöntemi. **A)** Fetüsün iskelet sistemi, **B)** Ön ekstremitte kemikleri, **C)** Arka ekstremitte kemikleri.

3.10.2. Kemik Gelişimi Morfolojik Ölçümleri

İskelet sistemini oluşturan kemik ve kıkırdak yapıları ikili iskelet boyama yöntemi ile ortaya çıkarılan tüm fetüslerin morfometrik ölçümleri için ön ve arka ekstremitte kemiklerinin görüntüleri incelendi. Stereo mikroskoba Nikon E5700 marka fotoğraf makinası montalanarak milimetrik kâğıt üzerine yerleştirilen fetüsün ön ve arka ekstremitte kemikleri fotoğrafları çekildi. Kaydedilen tüm görüntüler bilgisayar ortamına aktarılarak fetüslerin kemik ve kıkırdak alanları üzerinde ImageJ (<https://imagej.nih.gov/ij/download.html>) yazılım programı aracılığıyla ölçümler alındı. Sonuçların doğru ve güvenilir olması açısından, ölçüm işlemlerine başlanılmadan önce orjinal görüntü ile fotoğraf görüntüsü arasında kalibrasyon ayarı yapıldı. Kalibrasyon ayarının yapılması için, öncelikle ölçüm alınacak fotoğraf ImageJ programı ile açıldı. ImageJ programında Straight Line menüsü seçilerek fotoğraf üzerinde boş alanda milimetrik kâğıtta orjinali 1mm olan mesafe ölçüldü. Ölçüm yapıldıktan sonra ImageJ programında sırasıyla, Analyze – Set Scale – Knowndistance menüleri kullanılarak uygun kalibrasyon ayarı gerçekleştirildi.

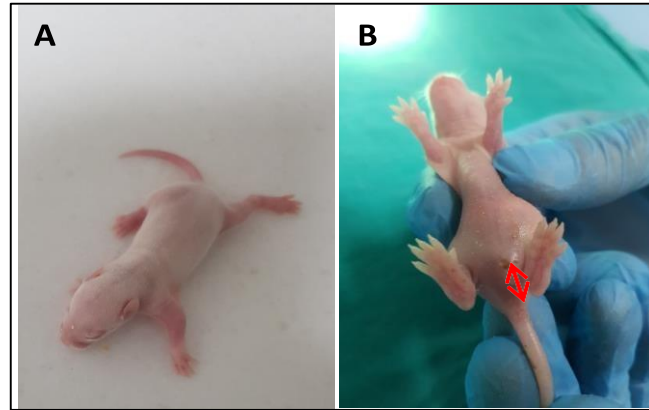
Kalibrasyon ayarı yapıldıktan sonra ImageJ programının Wand Tool özelliği ile fetüslerin ön ve arka ekstremitte kemikleri üzerinde ölçüm yapılacak yüzey alan ve uzunluğu manuel olarak belirlenerek sonuçlar mm olarak ölçüldü. Kemikleşme yüzde oranı ise kemikleşme yüzey alanının tüm kemik yüzey alanına oranı (Kemikleşme Gösteren Yüzey Alanı / Total Kemik Yüzey Alanı) x 100 formülü kullanılarak hesaplandı (Şekil 3.12).



Şekil 3.12. ImageJ programında yapılan kemik ölçümleri. **A)** Kemik total boy uzunluğu ölçümü, **B)** Kemikleşme sergileyen bölgenin ölçümü, **C)** Total yüzey alanı ölçümü, **D)** Kemikleşme sergileyen bölgenin yüzey alan ölçümü.

3.11. Neonatal Dönem Çalışmaları

Kontrol ve grup-II'de geriye kalan diğer birer adet gebe sıçanlar normal gebelik sürecini tamamlayarak doğum yapmaları sağlandı. Yeni doğan yavru sıçanlarda neonatal dönem (1-7 gün) sonunda cinsiyet tayini yapıldı (Şekil 3.13).



Şekil 3.13. Neonatal dönemdeki yavru sıçanlarda cinsiyet tayini. **A)** Yeni doğan yavru, **B)** Anüs ile ürogenital mesafe uzunluğu.

Total yavru sayısı, erkek ve dişi sayısı kaydedildikten sonra sakrifiye edilmeyen bu yavru sıçanlar anneleri ile birlikte başka araştırmalarda kullanılmak üzere SABİDAM'a teslim edildi.

3.12. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren değişkenlerin iki grup arasındaki karşılaştırmaları için student-t testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen bağımlı iki sayısal ölçümü karşılaştırmada Wilcoxon Signed Rank testi kullanıldı. Çalışmada kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sayısal ölçümlerse ortalama ve standart sapma (gerekli yerlerde ortanca ve minimum - maksimum) olarak özetlendi. Normal dağılım gösteren ikiden fazla grubun karşılaştırılmasında ise Tek Yönlü ANOVA (One-Way ANOVA) testi kullanılmış olup, çoklu karşılaştırmalar için Tukey testi kullanıldı. Verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics Versiyon 20.0 paket programı kullanıldı (SPSS referansı: IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0 Armonk, NY: IBM Corp.). Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı. Grafiklerin çiziminde ise GrahPad prism 5.0 yazılımı kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Erişkin Dönem Bulguları

Deney hayvanlarının vücut ağırlığı üzerine 6 GHz (0.083 W/kg SAR) RF-EMA'nın etkisini değerlendirmek için her iki gruptaki erişkin erkek ve dişi sıçanlar kullanılırken, organ ağırlığı üzerine etkisi değerlendirmek için her iki gruptan sadece erkek sıçanlar kullanıldı. Ölçüm işlemleri kontrol ve RFR grubundaki erkek ve dişi sıçanlar arasında gerçekleştirildi.

4.1.1. 6 GHz RF-EMA'nın Vücut Ağırlığı Üzerine Etkisi

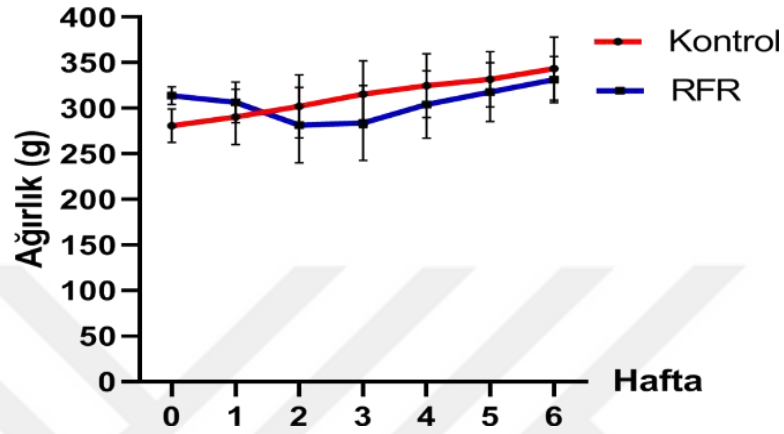
Deney hayvanlarının vücut ağırlığı ölçümleri, 6 GHz (0.083 W/kg SAR) RF-EMA uygulamasının ilk gününden başlayarak 6 hafta süre boyunca haftalık düzenli olarak takip edildi (Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2).

Çizelge 4.1. Haftalık periyotlarla erişkin erkek sıçanların ortalama vücut ağırlık (g) dağılımları.

Süre	N	Gruplar				P*
		Kontrol (g)		RFR (g)		
		<u>Ort± SS</u>	<u>Min-Max</u>	<u>Ort± SS</u>	<u>Min-Max</u>	
1.Hafta	10	280.74±18.49	245-310	313.93±9.86	302-330	0.000
2.Hafta	10	290.56±30.50	246-336	306.35±22.41	272-340	0.204
3.Hafta	10	302.04±34.78	252-358	281.54±41.52	208-352	0.247
4.Hafta	10	315.36±36.70	248-368	283.80±41.10	212-346	0.087
5.Hafta	10	324.83±35.11	266-376	304.33±37.12	236-364	0.221
6.Hafta	10	331.98±30.59	278-380	317.73±32.40	254-370	0.325

RF-EMA uygulamasının ilk haftasında erkek sıçanların vücut ağırlık ölçümleri iki grup arasında karşılaştırıldığında sayısal farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ($p<0.05$). Uygulamanın 2. ve 3. haftasında, RFR grubu erkek

sıçanların vücut ağırlığı ortalama verileri kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olmayan düşüş tespit edildi ($p>0.05$). Daha sonraki haftalarda ise normal vücut ağırlıkları değişimleri ölçümlerinde kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olmayan artışlar tespit edildi (Şekil 4.1), ($p>0.05$).

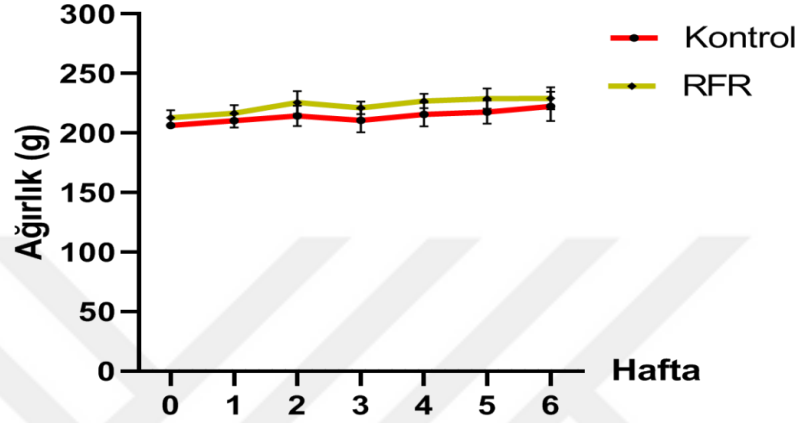


Şekil 4.1. Erkek sıçanların haftalık ağırlık değişimleri.

Çizelge 4.2. Haftalık periyotlarla erişkin dişi sıçanların ortalama vücut ağırlık (g) dağılımları.

Süre	N	Gruplar				P*
		Kontrol (g)		RFR (g)		
		<u>Ort± SS</u>	<u>Min-Max</u>	<u>Ort± SS</u>	<u>Min-Max</u>	
1.Hafta	5	206.28±2.21	203-208	212.76±6.37	206-222	0.085
2.Hafta	5	210.38±5.72	204-218	216.52±6.75	208-224	0.159
3.Hafta	5	214.42±8.57	204-224	225.56±9.67	210-236	0.090
4.Hafta	5	210.54±10.17	202-222	221.10±5.27	212-226	0.085
5.Hafta	5	215.72±10.04	206-230	226.84±5.95	218-234	0.066
6.Hafta	5	217.56±9.81	204-228	228.92±8.60	216-240	0.087

Dişi sıçanların normal gelişimleri, ilk 3 haftaya kadar düzenli artış gösterirken 3-4. hafta aralığında her iki gruptaki tüm deneklerin ağırlık ortalamalarında düşüş gözlemlendi. Daha sonraki haftalarda gelişimler tekrar düzeldi. Dişi sıçanların tüm haftalık ortalama verileri her iki grup arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilemedi (Şekil 4.2), ($p>0.05$).



Şekil 4.2. Dişi sıçanların haftalık ağırlık değişimleri.

4.1.2. 6 GHz RF-EMA'nın Organ Ağırlığı Üzerine Etkisi

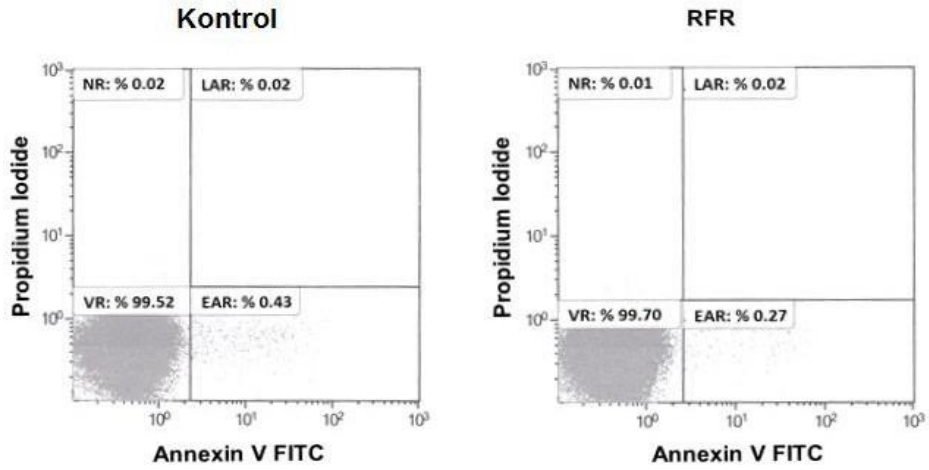
RF-EMA uygulaması işlemlerinin sonunda (42. gün) anestezi altında organları alınan tüm erişkin erkek sıçanlar sakrifiye edildi. Kontrol grubunu oluşturan erkek sıçanlar herhangi bir işleme maruz bırakılmamışken, RFR grubu erkek sıçanlar 6 hafta boyunca 4 saat/gün 6 GHz RF-EMA'ya maruz bırakıldılar. Her iki gruptaki erişkin erkek sıçanlardan; sağ-sol testis, sağ-sol böbrek, karaciğer, akciğer ve kalp dokuları alınarak ağırlıkları kaydedildi (Çizelge 4.3). Erişkin erkek sıçanların organ ağırlık verileri, RFR grubu ile kontrol grubu arasında sadece karaciğer organ ağırlığı bakımından anlamlı bir farklılık saptandı ($p<0.05$). RFR grubundaki karaciğer ağırlığı kontrol grubuna göre daha düşüktü. Diğer organlar bakımından kontrol ve RFR grubu arasında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık saptanamadı ($p>0.05$).

Çizelge 4.3. Erişkin erkek sıçanların ortalama organ ağırlık (g) dağılımları.

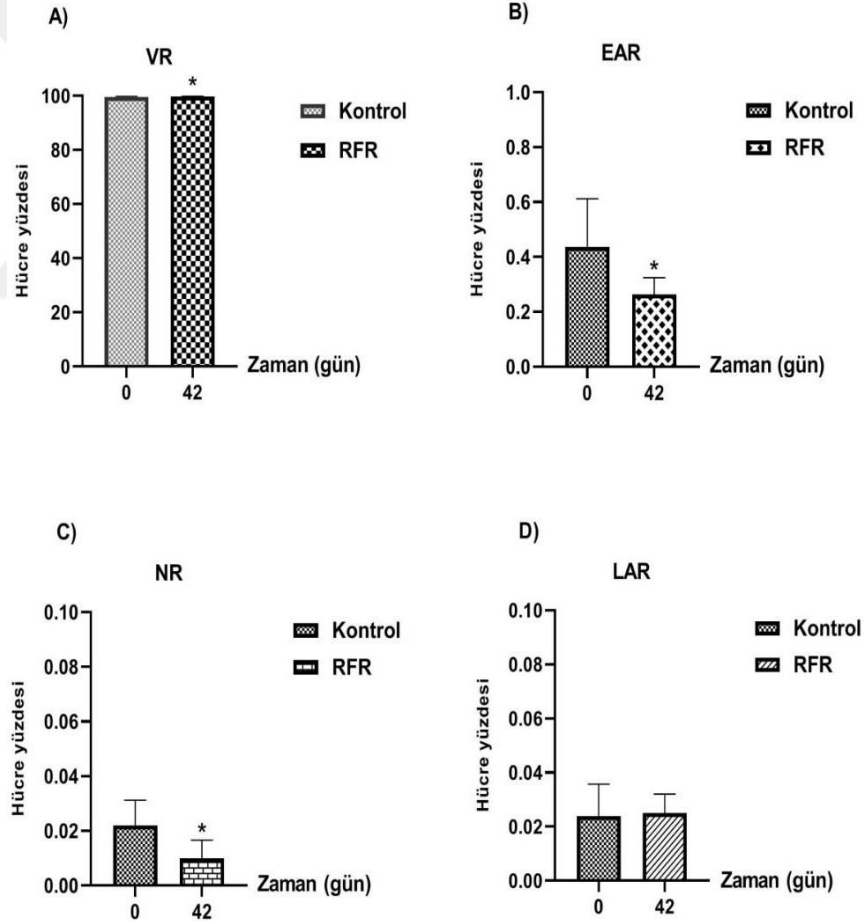
Organ Ağırlıkları (g)	N	Gruplar				P*
		Kontrol		RFR		
		<u>Ortalama±SS</u>	<u>Min-Max</u>	<u>Ortalama±SS</u>	<u>Min-Max</u>	
Testis (Sağ)	10	1.39±0.24	0.98-1.73	1.47±0.22	1.12-1.87	0.477
Testis (Sol)	10	1.29±0.26	0.68-1.64	1.49±0.24	1.08-1.87	0.089
Böbrek(Sağ)	10	1.32±0.17	1.06-1.60	1.32±0.16	1.11-1.55	0.989
Böbrek (Sol)	10	1.30±0.12	1.08-1.49	1.32±0.17	1.07-1.59	0.816
Karaciğer	10	12.09±1.47	9.61-14.03	10.74±1.02	9.49-12.93	0.028
Akciğer	10	2.35±0.39	2.00-3.34	2.39±0.30	1.95-2.79	0.795
Kalp	10	1.23±1.15	0.99-1.45	1.35±0.25	1.06-1.93	0.200

4.1.3. Kan Hücrelerinde Anneksin-V Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Çalışmamızda, erkek sıçanların 6 GHz RF-EMA uygulama öncesi (kontrol) ve 6 GHz RF-EMA uygulama sonrası (RFR grubu) kan hücreleri iki grupta incelendi. Sıçan kan hücrelerinde canlılık oranı (VR), erken apoptotik oran (EAR), geç apoptotik oran (LAR) ve nekrotik oran (NR) yüzdeleri Şekil 4.3 ve Şekil 4.4’de gösterildi. 6 GHz RF-EMA kan hücreleri üzerinde önemli etkiye sahipti.



Şekil 4.3. 6GHz RF-EMA'nın VR, EAR, LAR ve NR hücre yüzde etkisinin flow sitometrik analiz yöntemi ile gruplar arasında değerlendirilmesi.



Şekil 4.4. 6 GHz RF-EMA'nın kan hücre yüzdelерinin gruplar arasında zamanla değışimleri (n=10). **A)** VR, **B)** EAR, **C)** NR ve **D)** LAR hücre yüzdesi. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir. *, istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$).

Sıçan kan hücrelerinde 6 GHz RF-EMA uygulamasının farklı günlerdeki (Kontrol; 0. Gün, RFR; 42. gün) dağılımları incelendiğinde; % VR ortalama verileri, kontrol grubu (99.53 ± 0.19) RFR grubu (99.70 ± 0.07) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artış belirlenmiştir (Çizelge 4.4), ($p=0.017$).

Diğer taraftan % EAR ortalama verileri, kontrol grubu (0.44 ± 0.18) RFR grubu (0.26 ± 0.06) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düşüş belirlenmiştir (Çizelge 4.4), ($p=0.014$).

Bununla birlikte % NR ortalama verileri, kontrol grubu (0.02 ± 0.01) RFR grubu (0.01 ± 0.01) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düşüş belirlenmiştir (Çizelge 4.4), ($p=0.008$).

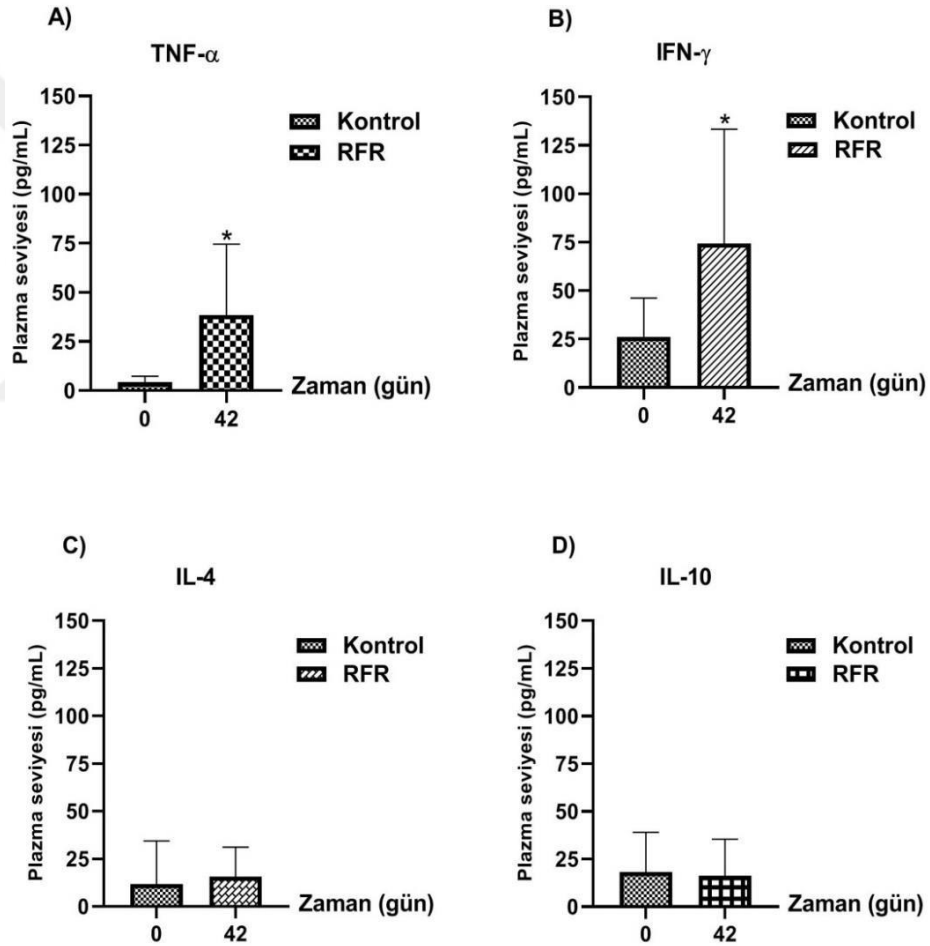
Öte yandan, % LAR ortalama verileri, kontrol grubu (0.02 ± 0.01) ve RFR grubu (0.03 ± 0.01) karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel olarak herhangi bir değişiklik saptanamamıştır (Çizelge 4.4), ($p=0.748$).

Çizelge 4.4. Sıçan kan hücrelerinin gruplar arasında dağılımı.

Kan hücreleri % oranları	N	Kontrol Grubu (0.gün)		RFR Grubu (42.gün)		P*
		Ort $\pm$ SS	Medyan (Min-Max)	Ort $\pm$ SS	Medyan (Min-Max)	
Canlılık FITC (-) PI (-)	10	99.53 ± 0.19	99.47 (99.31-99.78)	99.70 ± 0.07	99.69 (99.62-99.79)	0.017
Erken apoptotik FITC (+) PI (-)	10	0.44 ± 0.18	0.50 (0.20-0.63)	0.26 ± 0.06	0.27 (0.18-0.34)	0.014
Nekrotik FITC (-) PI (+)	10	0.02 ± 0.01	0.02 (0.01-0.04)	0.01 ± 0.01	0.01 (0.00-0.02)	0.008
Geç apoptotik FITC (+) PI (+)	10	0.02 ± 0.01	0.03 (0.01-0.04)	0.03 ± 0.01	0.03 (0.01-0.03)	0.748

4.1.4. Plazmada Pro-inflamatuar ve Anti-inflamatuar Sitokin Düzeylerinin Değerlendirilmesi

6 GHz RF-EMA uygulama öncesi (kontrol) ve uygulama sonrası (RFR grubu) sıçanların kan plazmalarında sitokin düzeyleri iki grupta incelendi. Plazmada, pro-inflamatuar (TNF- α ile IFN- γ) ve anti-inflamatuar (IL-4, IL-10) sitokin düzeylerinin seviyeleri (pg/mL) Şekil 4.5'de gösterildi. 6 GHz (0.083 W/kg SAR) RF-EMA maruziyeti, pro-inflamatuar sitokin düzeylerinde önemli etkilere neden olurken, anti-inflamatuar sitokin düzeylerinde önemli etkilere sahip değildi.



Şekil 4.5. Pro-inflamatuar (TNF- α , IFN- γ) ve anti- inflammatuar (IL-4, IL-10) sitokinlerin plazma düzeylerinin zamana bağlı değişimleri (n=10). **A)** TNF- α , **B)** IFN- γ , **C)** IL-4 ve **D)** IL-10. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir. *, istatistiksel olarak anlamlı (p < 0,05).

ELISA yöntemi ile ilgili sitokin bulguları incelendiğinde; ortalama plazma TNF- α seviyesi, kontrol grubu (4.3 ± 3.1 pg/mL) RFR grubu (38.5 ± 36.0 pg/mL) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artış belirlenmiştir (Çizelge 4.5), ($p=0.005$).

Ortalama plazma IFN- γ seviyesi, kontrol grubu (26.1 ± 20.1 pg/mL) RFR grubu (74.4 ± 59.0 pg/mL) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artış belirlenmiştir (Çizelge 4.5), ($p=0.039$).

Diğer taraftan, ortalama plazma IL-4 seviyesi, kontrol grubunda 11.8 ± 22.7 pg/mL iken RFR grubunda 15.6 ± 15.5 pg/mL olarak ölçüldü (Çizelge 4.5). Benzer şekilde, ortalama plazma IL-10 seviyesi, kontrol grubunda 18.2 ± 20.9 pg/mL iken RFR grubunda 16.2 ± 19.3 pg/mL olarak tespit edildi (Çizelge 4.5). Ortalama plazma IL-4 ile ortalama plazma IL-10 konsantrasyonları her iki grup arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir değişiklik tespit edilemedi ($p>0.05$).

Çizelge 4.5. Sıçan ortalama plazma seviyelerinde pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar sitokin düzeylerinin gruplar arasında dağılımı.

Plazma seviyesi (pg/mL)	N	Kontrol Grubu (0.gün)		RFR Grubu (42.gün)		P*
		Ort $\pm$ SS	Medyan (Min-Max)	Ort $\pm$ SS	Medyan (Min-Max)	
TNF-α	10	4.3 $\pm$ 3.1	3.8 (2.0-12.8)	38.5 $\pm$ 36.0	26.9 (4.5-86.5)	0.005
IFN-γ	10	26.1 $\pm$ 20.1	22.1 (5.0-68.9)	74.4 $\pm$ 59.0	64.3 (11.3-169.0)	0.039
IL-4	10	11.8 $\pm$ 22.7	3.6 (0.9-75.3)	15.6 $\pm$ 15.5	9.5 (0.9-39.2)	0.445
IL-10	10	18.2 $\pm$ 20.9	13.9 (0.1-67.9)	16.2 $\pm$ 19.3	11.8 (0.3-67.4)	0.721

4.2. Isı Ölçüm Bulguları

RF-EMA'ya maruziyeti takiben (4 saat) RFR cihazı açık iken ve kapalı iken ölçülen ısı değişim verilerinde istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık saptanamadı (Çizelge 4.6.), ($p>0.05$).

Çizelge 4.6. Uygulama kafesinin tüm köşelerinden RFR kaynağı açık ve kapalı durumda iken ısı değişimlerinin dağılımı.

Isı (°C)	Cihaz Açık		Cihaz Kapalı		P*
	<u>Ort±ss</u>	<u>Min-Max</u>	<u>Ort±ss</u>	<u>Min-Max</u>	
T ₁	24.80±0.27	24.3-25.1	25.23±0.60	24.5-26.0	0.152
T ₂	25.07±0.25	24.8-25.4	25.25±0.56	24.4-25.8	0.484
T ₃	24.88±0.77	24.0-25.7	25.10±0.58	24.2-25.6	0.592
T ₄	24.98±0.90	23.8-26.0	24.82±0.69	23.7-25.5	0.726

4.3. Gestasyonel Dönem Bulguları

Gebelik işlemi tamamlandıktan sonra her gruptan iki adet gebe dişi sıçan gestasyonel dönemin 18.gününde i.p. olarak xylazin (0.05 mg/kg) ve ketamin (0.1 mg/kg) enjeksiyon uygulaması ile anestezi işlemleri sonrası fetüsler alınarak sakrifiye edildi.

4.3.1. Prenatal Fetüs Bulguları

Her gruptaki 2 adet gebe sıçandan tüm fetüsler alındıktan sonra total fetüs sayısı tespit edilerek (Çizelge 4.7) her bir fetüse ait baş-kuyruk (boy) uzunluğu (mm), occipital-frontal uzunluk (mm), parietal-parietal arası uzunluk (mm) ve ağırlık (g) ölçümleri yapıldı (Çizelge 4.8). Ölçüm alınan tüm fetüslerin baş-kuyruk uzunluğu, occipital-frontal uzunluğu, parietal-parietal arası uzunluk ve ağırlıkları için, kontrol grubu ile diğer tüm gruplar karşılaştırıldığında ortaya çıkan sayısal farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ($p < 0.05$).

Çizelge 4.7. 18 günlük prenatal dönem total fetüs sayıları.

Gruplar	1.dişi sıçan	2.dişi sıçan	Total
Kontrol	11	11	22
Grup-I	7	10	17
Grup-II	12	11	23
Grup-III	10	9	19

Çizelge 4.8. Prenatal dönem fetüslere ait ortalama baş-kuyruk uzunluğu, occipital-frontal uzunluk, parietal- parietal uzunluk ve ağırlık verilerinin dağılımı.

Ölçümler	N	Gruplar				P*
		Kontrol	Grup-I	Grup-II	Grup-III	
		Ort±SS (Min-Max)	Ort±SS (Min-Max)	Ort±SS (Min-Max)	Ort±SS (Min-Max)	
Baş-Kuyruk Uzunluğu (mm)	10	23.91±0.72 ^{b,c,d} (23.1-25.5)	25.28±0.93 ^a (23.2-26.3)	25.08±0.90 ^a (24.0-26.7)	25.62±0.48 ^a (24.9-26.6)	0.000
Occipital-Frontal uzunluk (mm)	10	7.80±0.18 ^{c,d} (7.56-8.14)	7.73±0.17 ^{c,d} (7.45-7.96)	8.16±0.25 ^{a,b} (7.75-8.42)	8.28±0.36 ^{a,b} (7.43-8.72)	0.000
Parietal-Parietal uzunluk (mm)	10	6.23±0.18 ^d (6.03-6.61)	6.53±0.24 (6.05-6.81)	6.56±0.33 (6.17-7.05)	6.78±0.33 ^a (6.25-7.13)	0.001
Fetüs ağırlıkları (g)	10	1.30±0.08 ^{b,c,d} (1.18-1.42)	1.50±0.09 ^a (1.32-1.63)	1.43±0.07 ^a (1.30-1.54)	1.49±0.08 ^a (1.33-1.57)	0.000

*One-Way ANOVA; p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

b: Grup-I ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

c: Grup-II ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

d: Grup-III ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

4.3.2. Kemik Gelişimi Bulguları

Her bir gruptaki 2 adet gebe dişi sıçandan gestasyonel dönemin 18. gününde alınan fetüslerin ön ve arka ekstremite kemikleri üzerinde ölçümler yapıldı. Bu ölçümlerde; kemik total uzunluğu, kemikleşme sergileyen bölgenin uzunluğu, kemik total alanı ve kemikleşme sergileyen bölgenin alanı ölçüldü. Alan ölçüm verileri kullanılarak kemiklerin kemikleşme yüzdesi hesaplandı. Her bir fetüse ait sağ ve sol taraflı olmak üzere toplamda 20 adet kemik incelendi.

Fetüslerin ön ve arka ekstremite kemikleri ikili iskelet boyama yöntemi sürecinden sonra ortaya çıkarıldı. Tüm gruplardaki fetüslerin ön (5 adet) ve arka (3 adet) ekstremite kemiklerinin bağlantılarının ayrılması sağlanarak stereomikroskop aracılığıyla görüntüleri alındı. İncelemeye alınan tüm ekstremite kemiklerin morfometrik ölçümlerinde doğru ve güvenilir sonuç sağlaması açısından görüntü alınımı sırasında milimetrik kağıt klavuz olarak kullanıldı. Morfometrik ölçümler sonucunda elde edilen veriler tüm gruplar arasında karşılaştırıldı.

4.3.3. Ön Ekstremitte Kemiklerin Morfolojik Bulguları

Ön ekstremitede; clavícula, scapula, humerus, radius ve ulna kemikleri üzerinde ölçümler yapıldı.

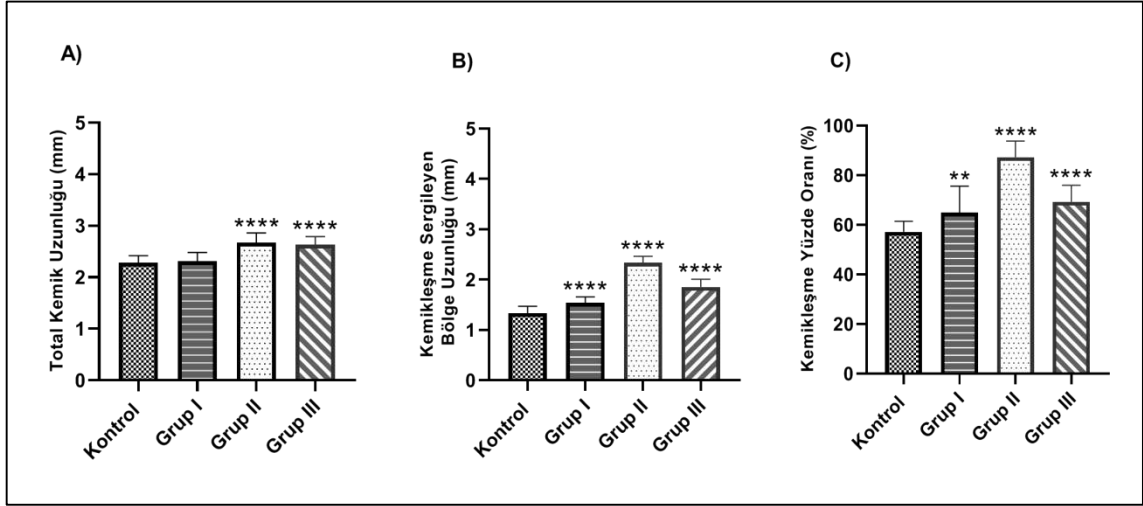
4.3.3.1. Clavícula'ların Morfolojik Bulguları

Kontrol Grubu Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet clavícula incelendi. Ölçüm alınan clavícula'ların total kemik uzunluğu ortalama 2.28 ± 0.14 mm, kemikleşme sergileyen bölgenin ortalama uzunluğu 1.34 ± 0.13 mm ve ortalama kemikleşme yüzdesinin ise 57.17 ± 4.27 olarak ölçüldü (Çizelge 4.9). Kontrol grubuna ait total kemik uzunluğu verileri, grup-II ve grup-III verileri ile karşılaştırıldığında sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı iken ($p < 0.05$), grup-I ile karşılaştırıldığında anlamlı olmadığı tespit edildi ($p > 0.05$). Bununla birlikte, bu gruptaki kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu ve kemikleşme yüzdesi verileri, tüm gruplarla karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.6), ($p < 0.05$).

Grup-I Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet clavícula incelendi. Ölçüm alınan clavícula'ların total kemik uzunluğu ortalama 2.32 ± 0.17 mm olduğu tespit edildi. Aynı zamanda, bu gruba dâhil edilen clavícula'ların kemikleşme sergileyen bölgenin ortalama uzunluğu 1.54 ± 0.12 mm ve kemikleşme yüzdesi ortalama 64.94 ± 10.73 olarak hesaplandı (Çizelge 4.9). Grup-I'deki clavícula'lara ait total kemik uzunluğu verileri grup-II ve grup-III verileri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı iken ($p < 0.05$), kontrol ile anlamlı olmadığı tespit edildi ($p > 0.05$). Bununla birlikte, bu gruptaki kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu verileri, tüm gruplarla karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı iken ($p < 0.05$), kemikleşme yüzde verileri grup-III dışında diğer iki grupta istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.6), ($p < 0.05$).

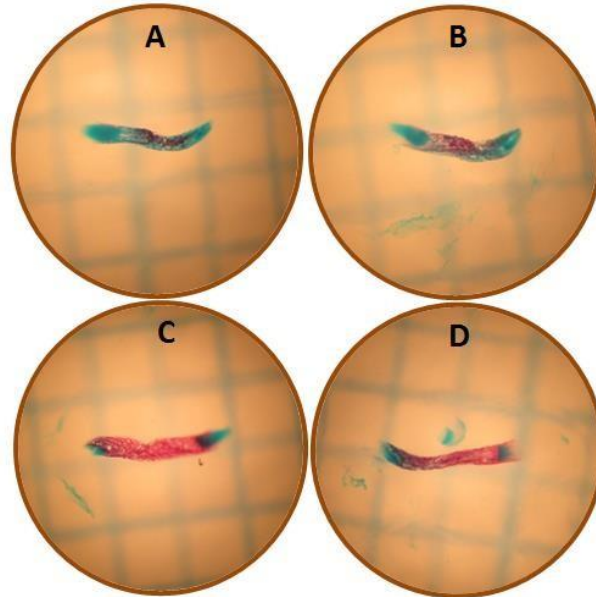
Grup-II Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet clavícula incelendi. Bu grupta ölçüm alınan clavícula'ların total kemik uzunluğu ortalama 2.67 ± 0.20 mm, kemikleşme sergileyen bölgelerin ortalama uzunluğu 2.34 ± 0.12 mm ve kemikleşme yüzdesi ortalama 87.31 ± 6.45 olarak ölçüldü (Çizelge 4.9). Grup-II'ye ait clavícula total kemik uzunluğu verileri, kontrol ve grup-I verileriyle karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p < 0.05$) ancak, grup-III ile karşılaştırıldığında sonuçların anlamlı olmadığı tespit edildi ($p > 0.05$). Bununla birlikte, bu gruptaki kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu ve kemikleşme yüzdeleri verileri, tüm gruplarla karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.6), ($p < 0.05$).

Grup-III Bulguları: Bu gruba da 10 adet fetüs üzerinde 20 adet clavícula incelendi. Ölçüm alınan clavícula'ların total kemik uzunluğu ortalama 2.63 ± 0.16 mm olduğu belirlendi. Bununla birlikte, bu grupta incelemeye dâhil edilen clavícula'larda kemikleşme sergileyen bölgelerin ortalama uzunluğu 1.85 ± 0.16 mm ve kemikleşme yüzdesi ortalama 69.30 ± 6.65 olarak ölçüldü (Çizelge 4.9). Grup-III'e ait clavícula total kemik uzunluğu verileri, grup-II dışında diğer iki grupta istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). Ayrıca, bu gruptaki kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu verileri, tüm gruplarla karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı iken ($p < 0.05$). Kemikleşme yüzdeleri verileri ise grup-I dışında diğer iki grupta istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.6), ($p < 0.05$).



Şekil 4.6. Clavicula'lara ait verilerin gruplar arasında değişimleri (n=20). **A)** Total kemik uzunluğu, **B)** Kemikleşme sergileyen bölge ortalama uzunluğu, **C)** Kemikleşme yüzde oranı. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (One-Way ANOVA). **, istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.01$), ***, istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.0001$).

Tüm gruplarda incelemeye alınan clavicula'ların tümünde kemikleşmenin olduğu, özellikle corpus claviculae bölgesinde geniş bir alanda kemikleşmenin yoğunlaştığı ve bu kısımlarının kırmızıya boyandığı gözlemlendi. Clavicula'ların diğer dar uç alanlarının ise kıkırdak yapıda olup mavi renk ile boyandığı gözlemlendi (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Clavicula'lara ait görüntüler. **A)** Kontrol grubu, **B)** Grup-I, **C)** Grup-II, **D)** Grup-III.

6 GHz RF-EMA'ya maruziyet sonucu tüm clavícula'ların kemik total uzunluğu, kemikleşme sergileyen bölgenin uzunluğu ve kemikleşme yüzde oranı kontrol grubuna kıyasla tüm gruplarda artış olduğu tespit edildi. Vücutta ilk olarak kemikleşmeye başlayan clavícula'da, kıkırdak yıkımının erken başlaması 6 GHz RF-EMA'nın fetüs iskelet sisteminin gelişiminde olumlu etkisinin olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.9. Clavícula'lara ait verilerin gruplar arasında dağılımları.

Gruplar	N	Total Kemik Uzunluğu (mm)	Kemikleşme Sergileyen Bölge Uzunluğu (mm)	Kemikleşme Yüzde Oranı (%)
		Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS
		(Min-Max)	(Min-Max)	(Min-Max)
Kontrol	20	2.28±0.14 ^{c,d} (2.04-2.54)	1.34±0.13 ^{b,c,d} (1.09-1.53)	57.17±4.27 ^{b,c,d} (48.10-65.38)
Grup-I	20	2.32±0.17 ^{c,d} (2.05-2.73)	1.54±0.12 ^{a,c,d} (1.25-1.81)	64.94±10.73 ^{a,c} (48.84-86.15)
Grup-II	20	2.67±0.20 ^{a,b} (2.24-2.94)	2.34±0.12 ^{a,b,d} (2.18-2.64)	87.31±6.45 ^{a,b,d} (75.23-97.06)
Grup-III	20	2.63±0.16 ^{a,b} (2.32-2.88)	1.85±0.16 ^{a,b,c} (1.65-2.15)	69.30±6.65 ^{a,c} (60.87-86.36)
P*		0.000	0.000	0.000

*One-Way ANOVA; p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

b: Grup-I ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

c: Grup-II ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

d: Grup-III ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

4.3.3.2. Scapula'ların Morfolojik Bulguları

Kontrol Grubu Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet scapula incelendi. Ölçüm alınan scapula'ların total kemik uzunluğu ortalama 3.78±0.18 mm olduğu hesaplandı. Ayrıca, bu gruba dâhil edilen scapula'ların kemikleşme sergileyen

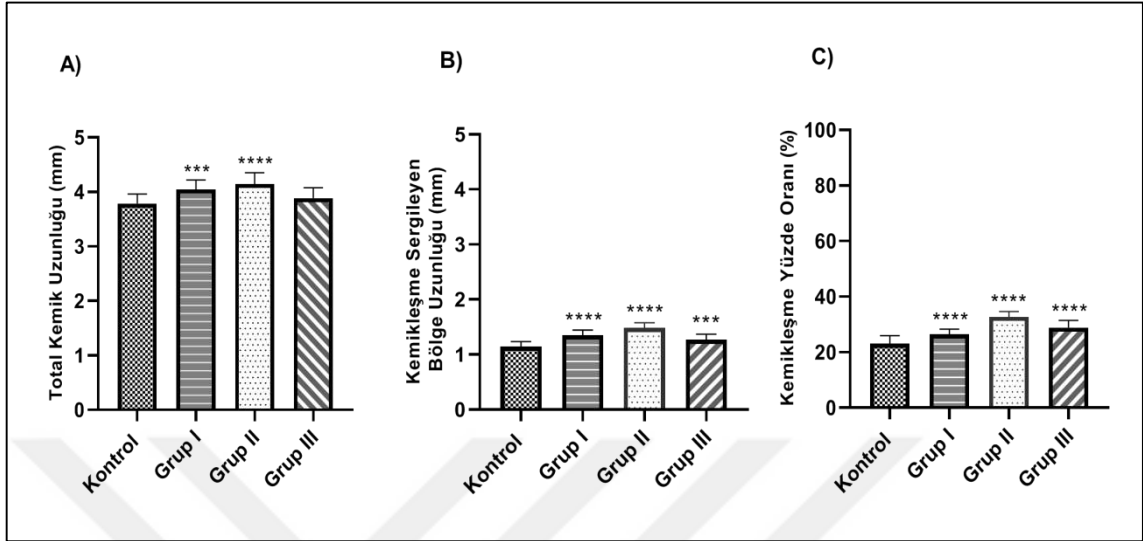
bölgeye ait uzunluk ortalaması 1.14 ± 0.09 mm ve ortalama kemikleşme yüzdesi ise 23.02 ± 2.92 olarak ölçüldü (Çizelge 4.10). Kontrol grubundaki scapula'ların total kemik uzunluk verileri, grup-III dışında diğer iki grupta istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). Bu gruptaki kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu ve kemikleşme yüzdeleri verileri tüm gruplarla karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.8), ($p < 0.05$).

Grup-I Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet scapula incelendi. Ölçüm alınan scapula'ların total kemik uzunluğu ortalama 4.04 ± 0.17 mm olduğu hesaplandı. Aynı zamanda, bu gruptaki scapula'ların kemikleşme sergileyen bölgenin ortalama uzunluğu 1.35 ± 0.10 mm ve kemikleşme yüzdesi ortalama 26.48 ± 1.82 olarak ölçüldü (Çizelge 4.10). Grup-I'deki scapula'lara ait total kemik uzunluğu verileri, grup-II dışında diğer iki grupta istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). Bu gruptaki kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu ve kemikleşme yüzdeleri verileri, diğer gruplar ile karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.8), ($p < 0.05$).

Grup-II Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet scapula incelendi. Ölçüm alınan scapula'ların total kemik uzunluğu ortalama 4.15 ± 0.21 mm olduğu hesaplandı. Bu grupta incelemeye alınan scapula'larda kemikleşme sergileyen bölgelerin ortalama uzunluğu 1.48 ± 0.10 mm ve kemikleşme yüzdesi ortalama 32.70 ± 1.92 olarak belirlendi (Çizelge 4.10). Grup-II'ye ait scapula'ların total kemik uzunluğu verileri, grup-I dışında diğer iki grupta istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). Bu grupta, kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu ve kemikleşme yüzdeleri verileri, diğer tüm gruplarla karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.8), ($p < 0.05$).

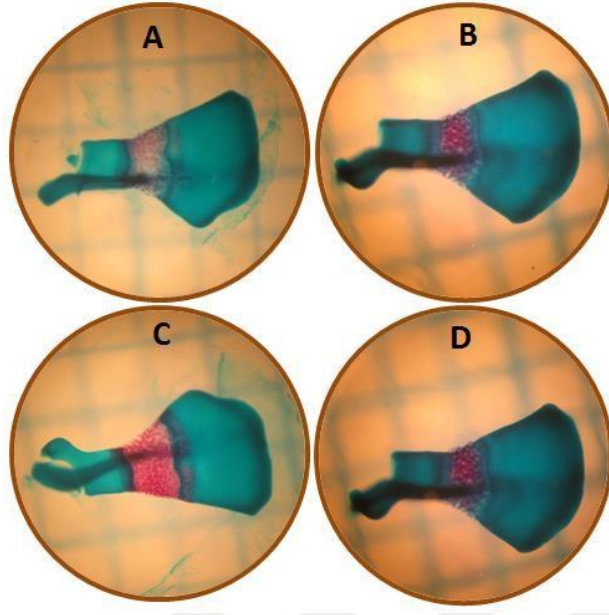
Grup-III Bulguları: Bu grupta da 10 adet fetüs üzerinde 20 adet scapula incelendi. Ölçüm alınan scapula'ların total kemik uzunluğu ortalama 3.89 ± 0.19 mm olduğu hesaplandı. Bu grupta incelemeye alınan scapula'larda kemikleşme sergileyen bölgelerin ortalama uzunluğu 1.27 ± 0.10 mm ve kemikleşme yüzdesi ortalama 28.87 ± 2.61 olarak belirlendi (Çizelge 4.10). Grup-III'e ait scapula'ların total kemik uzunluğu verileri, kontrol haricinde diğer grupların verileri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı iken ($p < 0.05$), kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu ve

kemikleşme yüzdeleri verileri, tüm gruplarla karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.8), ($p<0.05$).



Şekil 4.8. Scapula'lara ait verilerin gruplar arasında değişimleri (n=20). **A)** Total kemik uzunluğu, **B)** Kemikleşme sergileyen bölge ortalama uzunluğu, **C)** Kemikleşme yüzde oranı. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (One-Way ANOVA). ***, istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.001$), ****, istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.0001$).

Genel olarak scapula'larda kemikleşme başladığı, kemikleşmenin tüm gruplarda spina scapulae'nın gövdeye tutunduğu yer ve bu bölgenin medial-lateral hattı boyunca yoğunlaştığı gözlemlendi. Scapula kemiğinin ön tarafındaki fossa subscapularis'in orta kısmı, arka tarafındaki supraspinatus ve fossa infraspinatus arasında kalan bölge ise yoğun bir şekilde kırmızı renk ile boyandığı gözlemlendi. Benzer şekilde scapula kemiğinin özellikle cavitas glenoidalis, processus coracoideus ve acromion kısımları mavi renk ile boyanmış olduğu ortaya çıkarıldı (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Scapula'lara ait görüntüler. **A)** Kontrol grubu, **B)** Grup-I, **C)** Grup-II, **D)** Grup-III.

6 GHz RF-EMA'ya maruziyet sonucu fetüs scapula'larının total kemik uzunluğu, kemikleşme sergileyen bölgenin uzunluğu ve kemikleşme yüzde oranlarında farklılıklar meydana geldiği tespit edildi. Öyle ki, kontrol grubuna kıyasla fetüslerin scapula'larındaki total kemik uzunluğu tüm gruplarda arttığı, kemikleşme sergileyen bölge uzunluklarının da benzer olarak tüm gruplarda arttığı ve kemikleşme yüzde oranı da aynı şekilde diğer tüm gruplarda arttığı ortaya çıkarıldı. Bu durum, yüksek frekanslı RF-EMA'nın scapula gelişimine olumlu yönde katkı sağladığını göstermektedir.

Çizelge 4.10. Scapula'lara ait verilerin gruplar arasında dağılımları.

Gruplar	N	Total Kemik Uzunluğu (mm)	Kemikleşme Sergileyen Bölge Uzunluğu (mm)	Kemikleşme Yüzde Oranı (%)
		Ortalama±SS (Min-Max)	Ortalama±SS (Min-Max)	Ortalama±SS (Min-Max)
Kontrol	20	3.79±0.18 ^{b,c} (3.35-4.04)	1.14±0.09 ^{b,c,d} (0.93-1.31)	23.02±2.92 ^{b,c,d} (17.85-27.37)
Grup-I	20	4.04±0.17 ^{a,d} (3.74-4.35)	1.34±0.10 ^{a,c,d} (1.17-1.54)	26.48±1.82 ^{a,c,d} (22.72-29.96)
Grup-II	20	4.15±0.21 ^{a,d} (3.76-4.44)	1.48±0.10 ^{a,b,d} (1.31-1.66)	32.70±1.92 ^{a,b,d} (28.40-35.71)
Grup-III	20	3.88±0.19 ^{b,c} (3.52-4.23)	1.27±0.10 ^{a,b,c} (1.12-1.53)	28.87±2.61 ^{a,b,c} (23.87-32.12)
P*		0.000	0.000	0.000

*One-Way ANOVA; p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

b: Grup-I ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

c: Grup-II ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

d: Grup-III ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

4.3.3.3. Humerus'ların Morfolojik Bulguları

Kontrol Grubu Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet humerus incelendi. Ölçüm alınan humerus'ların total kemik uzunluğu ortalama 4.05±0.25 mm olduğu hesaplandı. Ayrıca bu gruba ait humerus'ların kemikleşme sergileyen bölgeye ait uzunluk ortalaması 1.17±0.08 mm ve ortalama kemikleşme yüzdesi ise 20.54±2.65 olarak ölçüldü (Çizelge 4.11). Kontrol grubundaki humerus'ların total kemik uzunluk verileri, grup-III dışında diğer iki grupla istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (p<0.05). Bu gruptaki kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu ve kemikleşme yüzdeleri

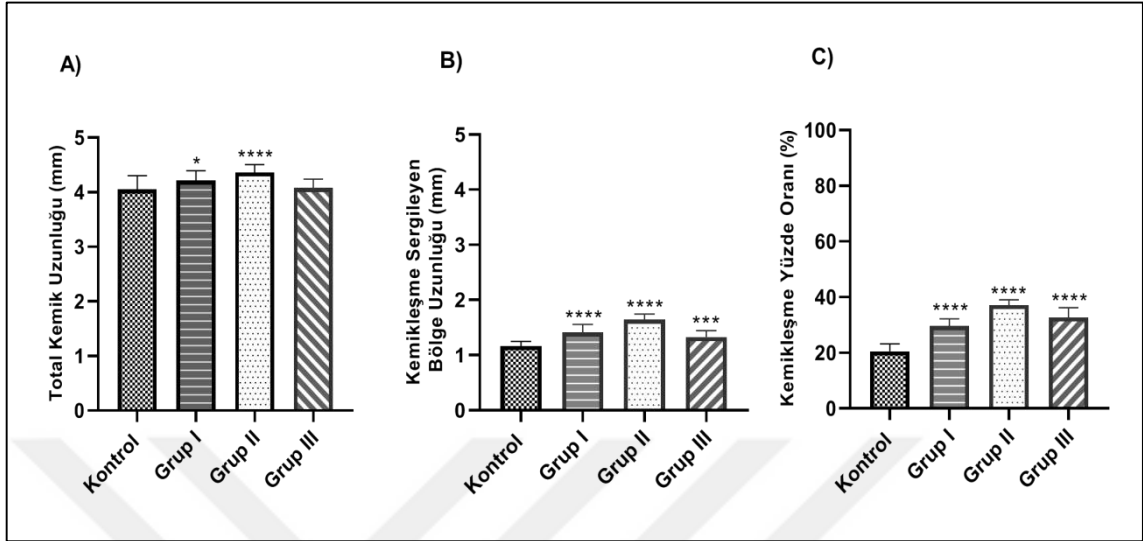
verileri tüm gruplarla karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.10), ($p<0.05$).

Grup-I Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet humerus incelendi. Bu grupta ölçüm alınan humerus'ların total kemik uzunluğu ortalama 4.22 ± 0.18 mm olduğu belirlendi. Aynı zamanda bu gruptaki humerus'ların kemikleşme sergileyen bölgenin ortalama uzunluğu 1.41 ± 0.14 mm ve kemikleşme yüzdesi ise ortalama 29.60 ± 2.61 olarak tespit edildi (Çizelge 4.11). Grup-I'deki humerus'lara ait total kemik uzunluğu verileri, kontrol hariç diğer gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Diğer taraftan, kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu verileri, grup-III dışında diğer iki grupta istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Kemikleşme yüzdeleri verileri ise tüm gruplar arasında karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.10), ($p<0.05$).

Grup-II Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet humerus incelendi. Ölçüm alınan humerus'ların total kemik uzunluğu ortalama 4.36 ± 0.15 mm olduğu hesaplandı. Bu grupta incelemeye alınan humerus'larda kemikleşme sergileyen bölgelerin ortalama uzunluğu 1.64 ± 0.10 mm ve kemikleşme yüzdesi ise ortalama 37.12 ± 1.89 olarak ölçüldü (Çizelge 4.11). Grup-II'ye ait humerus'ların total kemik uzunluğu verileri, grup-I hariç diğer gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı iken ($p<0.05$), kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu ve kemikleşme yüzdeleri verileri tüm gruplarla karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.10), ($p<0.05$).

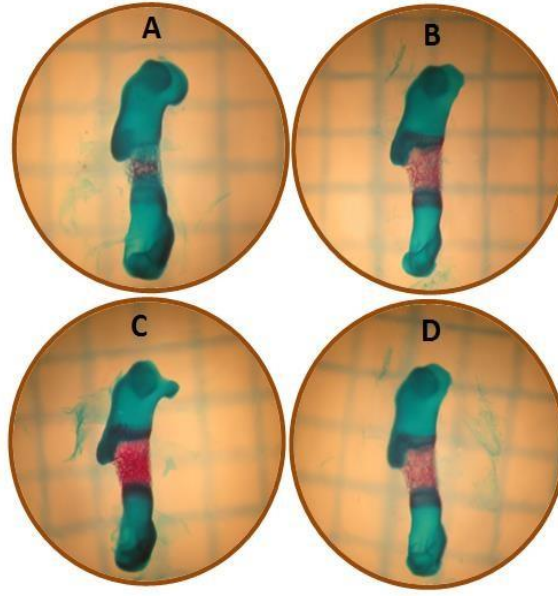
Grup-III Bulguları: Bu grupta da 10 adet fetüs üzerinde 20 adet humerus incelendi. Ölçüm alınan humerus'ların total kemik uzunluğu ortalama 4.08 ± 0.16 mm olduğu hesaplandı. Bununla birlikte bu grupta incelemeye dâhil edilen humerus'larda kemikleşme sergileyen bölgelerin ortalama uzunluğu 1.33 ± 0.12 mm ve kemikleşme yüzdesi ortalama 32.69 ± 3.50 olarak ölçüldü (Çizelge 4.11). Grup-III'e ait humerus'ların total kemik uzunluğu verileri, grup-II hariç diğer gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Bununla birlikte, kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu grup-I hariç diğer gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı iken ($p<0.05$), kemikleşme yüzdeleri

verileri, tüm gruplar arasında karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.10), ($p<0.05$).



Şekil 4.10. Humerus'lara ait verilerin değişimleri (n=20). **A)** Total kemik uzunluğu, **B)** Kemikleşme sergileyen bölge ortalama uzunluğu, **C)** Kemikleşme yüzde oranı. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (One-Way ANOVA). *, istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$), ***, istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.001$), ****, istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.0001$).

İncelenen tüm gruplarda humerus kemiğinin corpus humerus bölgesinden başlayan kemikleşme sentralinin proksimal ve distal uçlara doğru yayıldığı ve proksimalde tuberositas deltaidea'ya kadar uzandığı gözlemlendi. Kemikleşmenin başladığı alanlarda kırmızı rengin hâkim olduğu gözlemlendi. Bununla birlikte proksimal ve distal uçtaki bölgelerin kıkırdak yapıda olduğu ve bu alanların mavi renk ile boyandığı tespit edildi. Diğer taraftan, kıkırdak yıkımına ve kemikleşmenin başladığı bölgelere yakın kısımlarda ise kırmızı ile mavi karışımı koyu siyah bir renk olduğu gözlemlendi (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Humerus'lara ait görüntüler. **A)** Kontrol grubu, **B)** Grup-I, **C)** Grup-II, **D)** Grup-III.

Makroskopik olarak incelenen kontrol grubundaki humerus'lar diğer gruplarla karşılaştırıldığında total kemik uzunluğunun daha kısa, kemikleşme sergileyen bölge uzunluğunun daha dar bir alanlarda ve kemikleşme yüzde oranının daha küçük değerlerde olduğu belirlendi. Elde ettiğimiz veriler sonucunda yüksek frekanslı RF-EMA'nın humerus kemiğinin gelişimi üzerinde olumlu etkiler gösterdiği ortaya çıkarıldı.

Çizelge 4.11. Humerus'lara ait verilerin gruplar arasında dağılımları.

Gruplar	N	Total Kemik Uzunluğu (mm)	Kemikleşme Sergileyen Bölge Uzunluğu (mm)	Kemikleşme Yüzde Oranı (%)
		Ortalama±SS (Min-Max)	Ortalama±SS (Min-Max)	Ortalama±SS (Min-Max)
Kontrol	20	4.05±0.25 ^{b,c} (3.54-4.42)	1.16±0.08 ^{b,c,d} (1.02-1.30)	20.54±2.64 ^{b,c,d} (12.73-23.60)
Grup-I	20	4.21±0.18 ^a (3.85-4.49)	1.41±0.14 ^{a,c} (1.09-1.66)	29.60±2.61 ^{a,c,d} (22.56-33.06)
Grup-II	20	4.35±0.15 ^{a,d} (4.10-4.56)	1.64±0.10 ^{a,b,d} (1.49-1.87)	37.12±1.88 ^{a,b,d} (33.70-39.90)
Grup-III	20	4.08±0.16 ^c (3.85-4.43)	1.32±0.12 ^{a,c} (1.05-1.57)	32.69±3.50 ^{a,b,c} (24.01-36.97)
P*		0.000	0.000	0.000

*One-Way ANOVA; p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

b: Grup-I ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

c: Grup-II ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

d: Grup-III ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

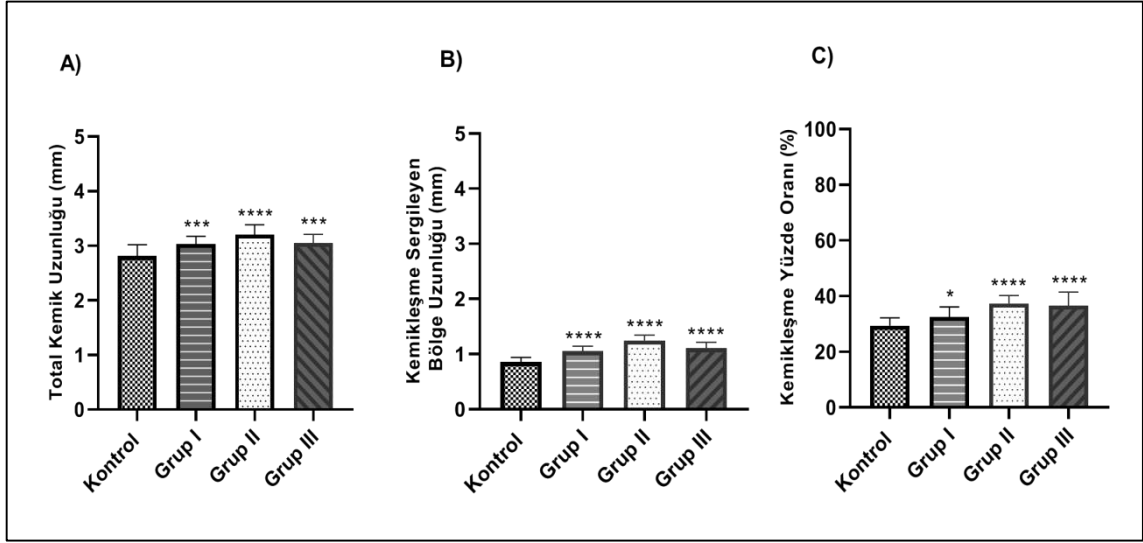
4.3.3.4. Radius'ların Morfolojik Bulguları

Kontrol Grubu Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet radius incelendi. Ölçüm alınan radius'ların total kemik uzunluğu ortalama 2.82±0.20 mm olduğu hesaplandı. Ayrıca bu gruba ait radius'ların kemikleşme sergileyen bölgeye ait uzunluk ortalaması 0.86±0.08 mm ve ortalama kemikleşme yüzdesi ise 29.37±2.88 olarak hesaplandı (Çizelge 4.12). Kontrol grubundaki radius'ların total kemik uzunluğu, kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu ve kemikleşme yüzdeleri diğer gruplar arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.12), (p<0.05).

Grup-I Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet radius incelendi. Bu grupta ölçüm alınan radius'ların uzunluğu total kemik uzunluğu ortalama 3.04 ± 0.14 mm olduğu ölçüldü. Aynı zamanda bu gruptaki radius'ların kemikleşme sergileyen bölgenin ortalama uzunluğu 1.05 ± 0.09 mm ve kemikleşme yüzdesi ortalama 32.57 ± 3.54 olarak hesaplandı (Çizelge 4.12). Grup-I'deki radius'lara ait total kemik uzunluğu ve kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu verileri, grup-III hariç diğer gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı iken ($p < 0.05$), kemikleşme yüzdeleri verileri tüm gruplarla karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.12), ($p < 0.05$).

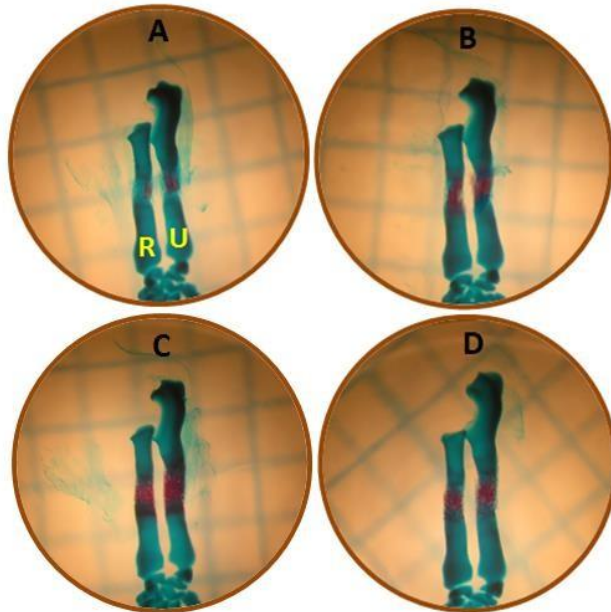
Grup-II Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet radius incelendi. Ölçüm alınan radius'ların bu grupta total kemik uzunluğu ortalama 3.20 ± 0.18 mm olduğu hesaplandı. Bu grupta incelemeye alınan radius'larda kemikleşme sergileyen bölgelerin ortalama uzunluğu 1.25 ± 0.09 mm ve kemikleşme yüzdesi ortalama 37.38 ± 2.84 olarak tespit edildi (Çizelge 4.12). Grup-II'ye ait radius'ların total kemik uzunluğu ve kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu verileri, tüm gruplarla karşılaştırıldığında sayısal farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). Kemikleşme yüzdeleri verileri, grup-III haricindeki diğer gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.12), ($p < 0.05$).

Grup-III Bulguları: Bu grupta da 10 adet fetüs üzerinde 20 adet radius incelendi. Ölçüm alınan radius'ların total kemik uzunluğu ortalama 3.05 ± 0.16 mm olduğu hesaplandı. Diğer taraftan yine bu grupta incelemeye dâhil edilen radius'larda kemikleşme sergileyen bölgelerin ortalama uzunluğu 1.11 ± 0.11 mm ve kemikleşme yüzdesi ortalama 36.59 ± 4.84 olarak ölçüldü (Çizelge 4.12). Grup-III'e ait radius'ların total kemik uzunluğu ve kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu verileri, grup-I hariç diğer gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p < 0.05$). Kemikleşme yüzdesi verileri ise grup-II hariç diğer gruplarla karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.12), ($p < 0.05$).



Şekil 4.12. Radius'lara ait verilerin değişimleri (n=20). **A)** Total kemik uzunluğu, **B)** Kemikleşme sergileyen bölge ortalama uzunluğu, **C)** Kemikleşme yüzde oranı. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (One-Way ANOVA). *, istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$), ***, istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.001$), ****; istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.0001$).

İncelenen tüm radius'larda kemikleşme gözlemlendi. Radius'ların kemikleşme bölgeleri incelendiğinde corpus radi'nin central kısmında yoğun kırmızı rengin oluştuğu belirlendi. Bununla birlikte distal ve proksimal uçlarda bulunan yapıların tamamının kıkırdak yapıda ve bu alanların mavi renge boyandığı gözlemlendi (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Radius ve ulna'lara ait görüntüler. **A)** Kontrol grubu, **B)** Grup-I, **C)** Grup-II, **D)** Grup-III.

Tüm radius'larda kemikleşme alanları makroskopik olarak incelendiğinde, kontrol grubundaki radius'lar diğer gruplardaki radius'larla karşılaştırıldığında total kemik uzunluğunun en kısa, kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu en dar ve kemikleşme yüzdeleri verileri en düşük olduğu tespit edildi. Bu sonuçlar, yüksek frekanslı RF-EMA'nın radius kemiğinin gelişimine olumlu bir şekilde katkı sağladığını göstermektedir.

Çizelge 4.12.Radius'lara ait verilerin gruplar arasında dağılımları.

Gruplar	N	Total Kemik Uzunluğu (mm)	Kemikleşme Sergileyen Bölge Uzunluğu (mm)	Kemikleşme Yüzde Oranı (%)
		Ortalama±SS (Min-Max)	Ortalama±SS (Min-Max)	Ortalama±SS (Min-Max)
Kontrol	20	2.82±0.20 ^{b,c,d} (2.46-3.12)	0.86±0.08 ^{b,c,d} (0.65-0.98)	29.37±2.88 ^{b,c,d} (22.79-32.67)
Grup-I	20	3.04±0.14 ^{a,c} (2.74-3.24)	1.05±0.09 ^{a,c} (0.89-1.21)	32.57±3.54 ^{a,c,d} (27.69-42.42)
Grup-II	20	3.20±0.18 ^{a,b,d} (2.87-3.45)	1.25±0.09 ^{a,b,d} (1.09-1.41)	37.38±2.84 ^{a,b} (31.54-43.87)
Grup-III	20	3.05±0.16 ^{a,c} (2.75-3.35)	1.11±0.11 ^{a,c} (0.84-1.31)	36.59±4.84 ^{a,b} (30.40-47.73)
P*		0.000	0.000	0.000

*One-Way ANOVA; p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

b: Grup-I ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

c: Grup-II ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

d: Grup-III ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

4.3.3.5. Ulna'ların Morfolojik Bulguları

Kontrol Grubu Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet ulna incelendi. Ölçüm alınan ulna'ların total kemik uzunluğu ortalama 3.83±0.23 mm olduğu

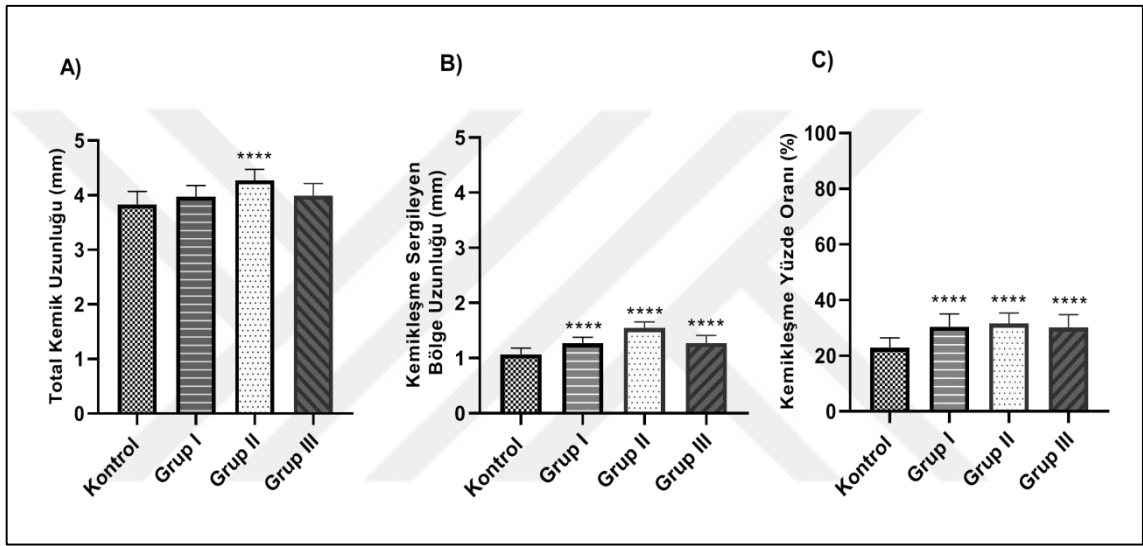
hesaplandı. Ayrıca bu gruba ait ulna'ların kemikleşme sergileyen bölgeye ait uzunluk ortalaması 1.07 ± 0.11 mm ve ortalama kemikleşme yüzdesinin ise 22.90 ± 3.59 olarak ölçüldü (Çizelge 4.13). Kontrol grubundaki ulna'ların total kemik uzunluk verileri, grup-I ve grup-III verileri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık yoktu ($p > 0.05$). Ancak, grup-II verileri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$). Kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu ve kemikleşme yüzdeleri diğer gruplar arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.14), ($p < 0.05$).

Grup-I Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet ulna incelendi. Ölçüm alınan ulna'ların total kemik uzunluğu verileri ortalama 3.98 ± 0.20 mm olduğu belirlendi. Aynı zamanda bu gruptaki ulna'ların kemikleşme sergileyen bölgenin ortalama uzunluğu 1.27 ± 0.11 mm ve kemikleşme yüzdesi ortalama 30.45 ± 4.58 olarak ölçüldü (Çizelge 4.13). Grup-I'deki ulna'lara ait total kemik uzunluğu verileri, grup-II'deki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı iken ($p < 0.05$), diğer gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$). Bununla birlikte, kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu verileri grup-III hariç diğer gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı iken ($p < 0.05$), kemikleşme yüzdeleri verileri sadece kontrol ile istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.14), ($p < 0.05$).

Grup-II Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet ulna incelendi. Ölçüm alınan ulna'ların total kemik uzunluğu ortalama 4.27 ± 0.20 mm olduğu hesaplandı. Bu grupta incelemeye alınan ulna'larda kemikleşme sergileyen bölgelerin ortalama uzunluğu 1.54 ± 0.11 mm ve kemikleşme yüzdesi ortalama 31.54 ± 3.86 olarak ölçüldü (Çizelge 4.13). Grup-II'ye ait ulna'ların total kemik uzunluğu ve kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu verileri, tüm gruplarla karşılaştırıldığında sayısal farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p < 0.05$). Kemikleşme yüzdeleri verileri ise kontrol haricindeki diğer gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak herhangi bir farklılık tespit edilemedi (Şekil 4.14), ($p > 0.05$).

Grup-III Bulguları: Bu grupta da 10 adet fetüs üzerinde 20 adet ulna incelendi. Ölçüm alınan ulna'ların total kemik uzunluğu bu grupta ortalama 3.99 ± 0.22 mm olduğu belirlendi. Bununla birlikte yine bu grupta incelemeye alınan ulna'larda kemikleşme

sergileyen bölgelerin ortalama uzunluğu 1.27 ± 0.14 mm ve kemikleşme yüzdesi ortalama 30.10 ± 4.65 olarak hesaplandı (Çizelge 4.13). Grup-III'e ait ulna'ların total kemik uzunluğu, kontrol ve grup-I verileri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık yoktu ($p > 0.05$). Ancak, grup-II verileri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$). Bununla birlikte, kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu verileri grup-I hariç diğer gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı iken ($p < 0.05$), kemikleşme yüzdeleri verileri sadece kontrol ile istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.14), ($p < 0.05$).



Şekil 4.14. Ulna'lara ait verilerin değişimleri (n=20). **A)** Total kemik uzunluğu, **B)** Kemikleşme sergileyen bölge ortalama uzunluğu, **C)** Kemikleşme yüzde oranı. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (One-Way ANOVA). ****; istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.0001$).

Ulna kemiklerinde kemikleşmenin central alanında yoğun olarak meydana geldiği ve bu alanların kırmızı renk ile boyandığı gözlemlendi. Ulna kemiklerinin uç kısımları incelendiğinde kırmızı rengin azaldığı ve geriye kalan bu kemik alanlarının kıkırdak yapıda ve mavi renk ile boyandığı gözlemlendi (Şekil 4.13). Ulna kemiklerinin distal ve proksimal uçlarına doğru kemikleşmelerin kaybolduğu ve bu bölgelerde kıkırdak yapısının tamamlanmasına bağlı olarak siyaha yakın (kırmızı ve mavi karışımı) bir rengin oluştuğu gözlemlendi. Bu alanlar yapılan ölçümlerde kemikleşmeye dâhil edildi.

Fetüslerin ulna kemiklerinde kemikleşme alanları makroskopik incelendiğinde, kontrol grubundaki ulna'lar diğer gruplardaki ulna'larla karşılaştırıldığında total kemik uzunluğu en kısa, kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu en dar alanda ve kemikleşme yüzde oranlarının en düşük değerlerde olduğu tespit edildi. Bu verilerden, yüksek frekanslı RF-EMA'nın ulna kemiğinin gelişimine olumlu yönde katkı sağladığı sonucuna varıldı.

Çizelge 4.13. Ulna'lara ait verilerin gruplar arasında dağılımları.

Gruplar	N	Total Kemik Uzunluğu (mm)	Kemikleşme Sergileyen Bölge Uzunluğu (mm)	Kemikleşme Yüzde Oranı (%)
		Ortalama±SS (Min-Max)	Ortalama±SS (Min-Max)	Ortalama±SS (Min-Max)
Kontrol	20	3.83±0.23 ^c (3.38-4.18)	1.07±0.11 ^{b,c,d} (0.88-1.26)	22.90±3.59 ^{b,c,d} (17.62-31.21)
Grup-I	20	3.98±0.20 ^c (3.59-4.30)	1.27±0.11 ^{a,c} (1.08-1.55)	30.45±4.58 ^a (22.99-38.76)
Grup-II	20	4.27±0.20 ^{a,b,d} (3.86-4.54)	1.54±0.11 ^{a,b,d} (1.31-1.71)	31.54±3.86 ^a (21.34-36.41)
Grup-III	20	3.99±0.22 ^c (3.58-4.39)	1.27±0.14 ^{a,c} (0.88-1.48)	30.10±4.65 ^a (25.37-42.94)
P*		0.000	0.000	0.000

*One-Way ANOVA; p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

b: Grup-I ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

c: Grup-II ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

d: Grup-III ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

4.3.4. Arka Ekstremitte Kemiklerin Morfolojik Bulguları

Arka ekstremitte; femur, tibia ve fibula kemikleri üzerinde ölçümler yapıldı.

4.3.4.1. Femur'ların Morfolojik Bulguları

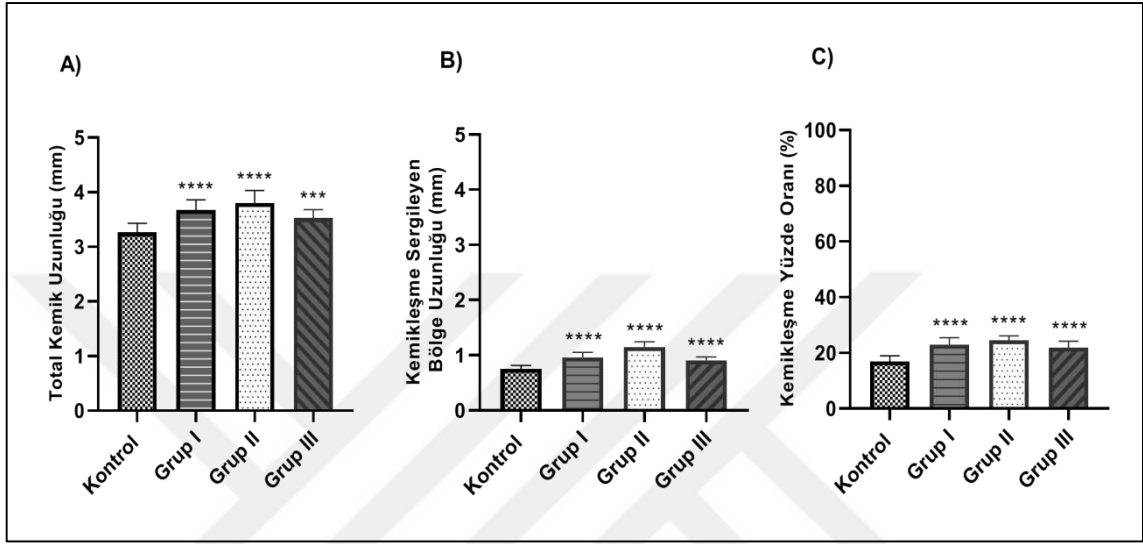
Kontrol Grubu Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet femur incelendi. Ölçüm alınan femur'ların total kemik uzunluğu ortalama 3.26 ± 0.17 mm olduğu hesaplandı. Bununla birlikte bu gruptaki femur'ların kemikleşme sergileyen bölge ortalama uzunluğu 0.75 ± 0.06 mm ve ortalama kemikleşme yüzdesinin ise 16.97 ± 1.98 olarak ölçüldü (Çizelge 4.14). Kontrol grubuna ait tüm femur verileri diğer grupların verileri ile karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi (Şekil 4.15), ($p < 0.05$).

Grup-I Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet femur incelendi. Ölçüm alınan femur'ların total kemik uzunluğu bu grupta ortalama 3.67 ± 0.19 mm olduğu hesaplandı. Aynı zamanda bu gruptaki femur'ların kemikleşme sergileyen bölgenin ortalama uzunluğu 0.96 ± 0.09 mm ve kemikleşme yüzdesi ortalama 22.93 ± 2.49 olarak ölçüldü (Çizelge 4.14). Grup-I'deki femur'lara ait total kemik uzunluğu ve kemikleşme yüzdeleri verileri, kontrol verileri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı iken ($p < 0.05$), diğer gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$). Bununla birlikte, kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu verileri grup-III hariç diğer gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.15), ($p < 0.05$).

Grup-II Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet femur incelendi. Bu grupta ölçüm alınan femur'ların uzunluğu total kemik uzunluğu ortalama 3.80 ± 0.23 mm olduğu belirlendi. Bu grupta incelemeye alınan femur'larda kemikleşme sergileyen bölgelerin ortalama uzunluğu 1.15 ± 0.10 mm ve kemikleşme yüzdesi ortalama 24.55 ± 1.56 olarak hesaplandı (Çizelge 4.14). Grup-II'ye ait femur total kemik uzunluğu ve kemikleşme yüzdesi verileri grup-I hariç diğer gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). Bununla birlikte, kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu verileri diğer tüm gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.15), ($p < 0.05$).

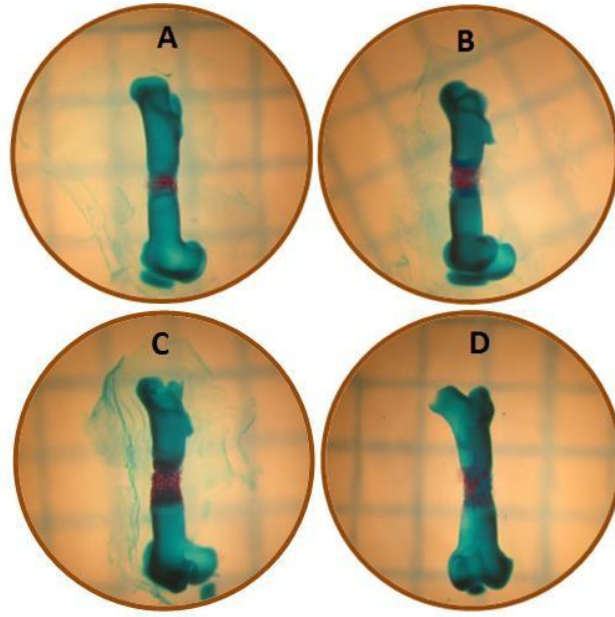
Grup-III Bulguları: Bu gruba da 10 adet fetüs üzerinde 20 adet femur incelendi. Ölçüm alınan femur'ların total kemik uzunluğu bu grupta ortalama 3.53 ± 0.15

mm olduğu hesaplandı. Diğer taraftan yine bu grupta incelemeye alınan femur'larda kemikleşme sergileyen bölgelerin ortalama uzunluğu 0.91 ± 0.06 mm ve kemikleşme yüzdesi ortalama 21.83 ± 2.37 olarak ölçüldü (Çizelge 4.14). Grup-III'e ait tüm femur verileri grup-I hariç diğer gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.15), ($p < 0.05$).



Şekil 4.15. Femur'lara ait verilerin değişimleri (n=20). **A)** Total kemik uzunluğu, **B)** Kemikleşme sergileyen bölge ortalama uzunluğu, **C)** Kemikleşme yüzde oranı. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (One-Way ANOVA). ***; istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.001$), ****; istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.0001$).

İncelenen tüm femur kemiklerde kemikleşmenin başladığı gözlemlendi. Kemikleşme corpus femoris'in centralinde daha yoğun olduğu ve bu alanın kırmızı renge boyandığı gözlemlendi. Distal ve proksimal uçlara doğru ilerleyen kemikleşmede, distal uç kısımda kemikleşme daha fazla oranda iken proksimal uç kısımda trochanter minor, trochanter major, collum femoris ve caput femoris'in kıkırdak yapıda ve mavi renk ile boyandığı gözlemlendi. Benzer şekilde, extremitas distalis kısımda femur kondilleri'de mavi renge boyandığı gözlemlendi (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. Femur'lara ait görüntüler. **A)** Kontrol grubu, **B)** Grup-I, **C)** Grup-II, **D)** Grup-III.

Makroskopik olarak incelenen tüm fetüs femur kemiklerinde kemikleşme, kontrol grubundaki femur'lar diğer üç gruptaki femur'larla karşılaştırıldığında, total kemik uzunluğunun en kısa, kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu en dar ve kemikleşme yüzdeleri verileri en düşük değerlerde olduğu tespit edildi. Bu sonuçlar, femur kemiğinin gelişiminde yüksek frekanslı RF-EMA'nın olumlu rol oynayabileceğini gösterir.

Çizelge 4.14. Femur'lara ait verilerin gruplar arasında dağılımları.

Gruplar	N	Total Kemik Uzunluğu (mm)	Kemikleşme Sergileyen Bölge Uzunluğu (mm)	Kemikleşme Yüzde Oranı (%)
		Ortalama±SS (Min-Max)	Ortalama±SS (Min-Max)	Ortalama±SS (Min-Max)
Kontrol	20	3.26±0.17 ^{b,c,d} (3.03-3.38)	0.75±0.06 ^{b,c,d} (0.66-0.90)	16.97±1.98 ^{b,c,d} (13.33-20.79)
Grup-I	20	3.67±0.19 ^a (3.32-3.92)	0.96±0.09 ^{a,c} (0.83-1.18)	22.93±2.49 ^a (17.80-27.61)
Grup-II	20	3.80±0.22 ^{a,d} (3.24-4.13)	1.15±0.10 ^{a,b,d} (1.01-1.46)	24.55±1.56 ^{a,d} (22.06-27.51)
Grup-III	20	3.53±0.15 ^{a,c} (3.29-3.84)	0.91±0.06 ^{a,c} (0.82-1.04)	21.83±2.39 ^{a,c} (15.85-28.04)
P*		0.000	0.000	0.000

*One-Way ANOVA; p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

b: Grup-I ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

c: Grup-II ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

d: Grup-III ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

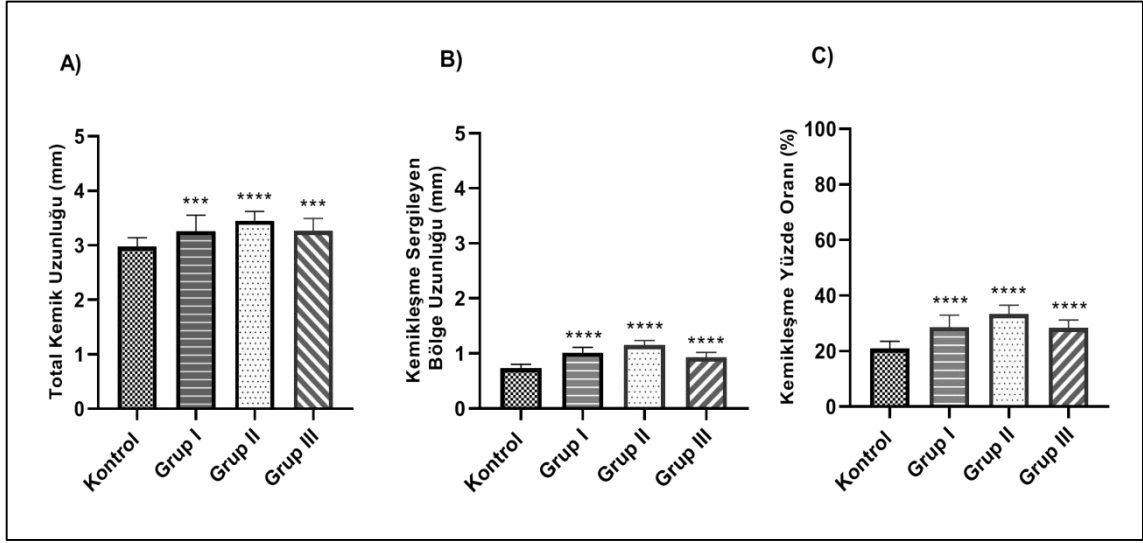
4.3.4.2. Tibia'ların Morfolojik Bulguları

Kontrol Grubu Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet tibia incelendi. Ölçüm alınan tibia'ların total kemik uzunluğu ortalama 2.98±0.16 mm olduğu hesaplandı. Bununla birlikte bu gruptaki tibia'ların kemikleşme sergileyen bölge ortalama uzunluğu 0.73±0.07 mm ve ortalama kemikleşme yüzdesinin ise 20.97±2.55 olduğu belirlendi (Çizelge 4.15). Kontrol grubuna ait tüm tibia verileri diğer grupların verileri ile karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.17), (p<0.05).

Grup-I Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet tibia incelendi. Ölçüm alınan tibia'ların bu grupta total kemik uzunluğu ortalama 3.26 ± 0.29 mm olduğu hesaplandı. Aynı zamanda bu gruptaki tibia'ların kemikleşme sergileyen bölgenin ortalama uzunluğu 1.01 ± 0.10 mm ve kemikleşme yüzdesi ortalama 28.62 ± 4.31 olarak ölçüldü (Çizelge 4.15). Grup-I'deki tibia'lara ait total kemik uzunluğu ve kemikleşme yüzdeleri verileri, grup III verileri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$). Ancak, diğer gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$). Bununla birlikte, kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu verileri diğer tüm gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.17), ($p < 0.05$).

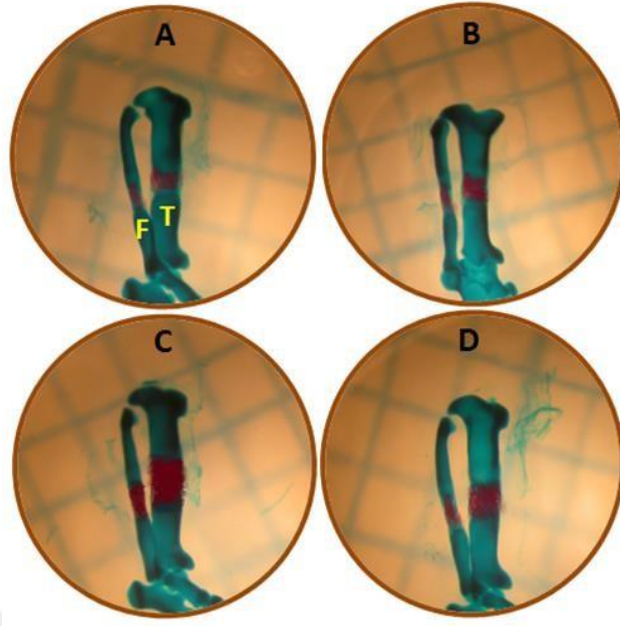
Grup-II Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet tibia incelendi. Ölçüm alınan tibia'ların bu grupta total kemik uzunluğu ortalama 3.45 ± 0.17 mm olduğu hesaplandı. Bu grupta incelemeye alınan tibia'larda kemikleşme sergileyen bölgelerin ortalama uzunluğu 1.15 ± 0.08 mm ve kemikleşme yüzdesi ortalama 33.38 ± 3.19 olarak ölçüldü (Çizelge 4.15). Grup-II'ye ait tüm tibia verileri diğer gruplarla karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.17), ($p < 0.05$).

Grup-III Bulguları: Bu gruba da 10 adet fetüs üzerinde 20 adet tibia incelendi. Ölçüm alınan tibia'ların bu grupta total kemik uzunluğu ortalama 3.27 ± 0.23 mm olduğu belirlendi. Bununla birlikte yine bu grupta incelemeye alınan tibia'larda kemikleşme sergileyen bölgelerin ortalama uzunluğu 0.93 ± 0.09 mm ve kemikleşme yüzdesi ise ortalama 28.34 ± 2.89 olarak ölçüldü (Çizelge 4.15). Grup-III'e ait tibia total kemik uzunluğu ve kemikleşme yüzdesi verileri, grup-I hariç diğer gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). Bununla birlikte, kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu verileri diğer tüm gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.17), ($p < 0.05$).



Şekil 4.17. Tibia'lara ait verilerin değişimleri (n=20). **A)** Total kemik uzunluğu, **B)** Kemikleşme sergileyen bölge ortalama uzunluğu, **C)** Kemikleşme yüzde oranı. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (One-Way ANOVA). ***; istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.001$), ****; istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.0001$).

Tibia kemiğinde yapılan incelemede kemikleşmenin olduğu, kemikleşmenin çoğunlukla corpus tibia kısmının centralinde yoğunlaştığı ve bu alanın kırmızı renge boyandığı gözlemlendi. Kemikleşme distal ve proksimal uç kısımlara doğru ilerlediği belirlendi. Distal uç kısmın tamamı kırık yapıda iken, proksimal uç kısımda tibia kondilleri kırık yapıda ve mavi renge boyandığı gözlemlendi. Benzer şekilde, malleolus medialis ve facies articularis inferior'unda mavi renk ile boyandığı belirlendi (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. Tibia ve Fibula 'lara ait görüntüler. **A)** Kontrol grubu, **B)** Grup-I, **C)** Grup-II, **D)** Grup-III.

Makroskopik olarak incelenen tüm fetüs tibia kemiklerinde kemikleşme, kontrol grubundaki tibia'lar diğer tüm gruplardaki tibia'larla karşılaştırıldığında, total kemik uzunluğunun en kısa, kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu en dar ve kemikleşme yüzdeleri verileri en düşük değerlerde olduğu tespit edildi. Bu veriler, fetüs tibia kemiğinin gelişiminde yüksek frekanslı RF-EMA'nın olumlu yönde etki sağladığını göstermektedir.

Çizelge 4.15. Tibia'lara ait verilerin gruplar arasında dağılımları.

Gruplar	N	Total Kemik Uzunluğu (mm)	Kemikleşme Sergileyen Bölge Uzunluğu (mm)	Kemikleşme Yüzde Oranı (%)
		Ortalama±SS (Min-Max)	Ortalama±SS (Min-Max)	Ortalama±SS (Min-Max)
Kontrol	20	2.98±0.16 ^{b,c,d} (2.52-3.15)	0.73±0.07 ^{b,c,d} (0.62-0.85)	20.97±2.55 ^{b,c,d} (14.97-25.60)
Grup-I	20	3.26±0.29 ^{a,c} (2.58-3.65)	1.01±0.10 ^{a,c,d} (0.85-1.15)	28.62±4.31 ^{a,c} (20.28-34.41)
Grup-II	20	3.45±0.17 ^{a,b,d} (3.11-3.70)	1.15±0.08 ^{a,b,d} (0.99-1.32)	33.38±3.19 ^{a,b,d} (28.01-39.01)
Grup-III	20	3.27±0.23 ^{a,c} (2.78-3.61)	0.93±0.09 ^{a,b,c} (0.68-1.09)	28.34±2.89 ^{a,c} (22.08-33.15)
P*		0.000	0.000	0.000

*One-Way ANOVA; p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

b: Grup-I ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

c: Grup-II ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

d: Grup-III ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

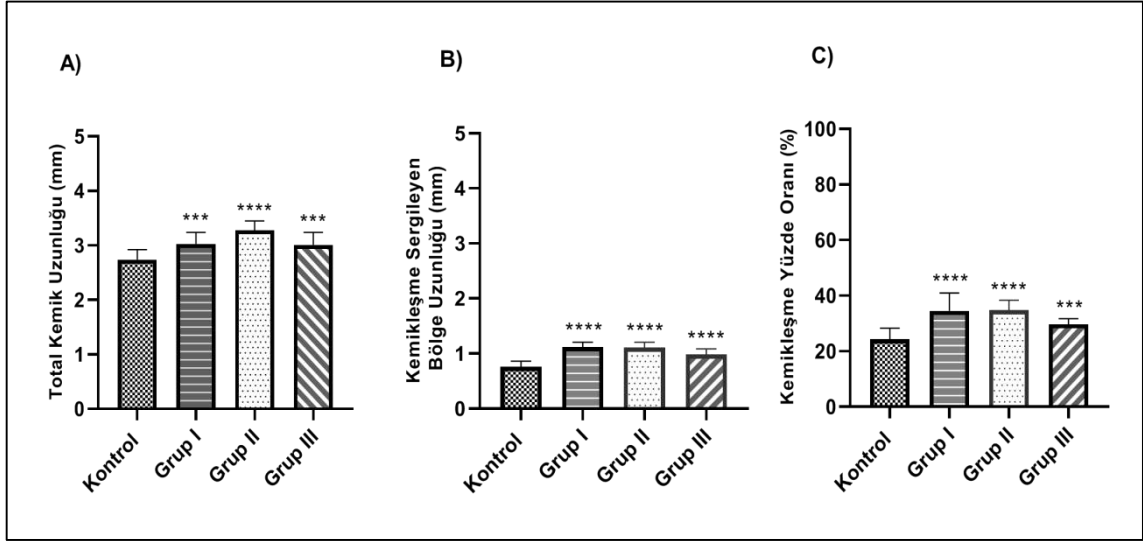
4.3.4.3. Fibula'ların Morfolojik Bulguları

Kontrol Grubu Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet fibula incelendi. Ölçüm alınan fibula'ların total kemik uzunluğu ortalama 2.74±0.18 mm olduğu belirlendi. Bununla birlikte bu gruptaki fibula'ların kemikleşme sergileyen bölge ortalama uzunluğu 0.76±0.11 mm ve ortalama kemikleşme yüzdesinin ise 24.29±3.99 olarak hesaplandı (Çizelge 4.16). Kontrol grubuna ait tüm fibula verileri diğer grupların verileri ile karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.19), (p < 0.05).

Grup-I Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet fibula incelendi. Ölçüm alınan fibula'ların bu grupta total kemik uzunluğu ortalama 3.03 ± 0.21 mm olduğu belirlendi. Aynı zamanda bu gruptaki fibula'ların kemikleşme sergileyen bölgenin ortalama uzunluğu 1.11 ± 0.09 mm ve kemikleşme yüzdesi ortalama 34.51 ± 6.44 olarak ölçüldü (Çizelge 4.16). Grup-I'deki fibula'lara ait total kemik uzunluğu ve kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu verileri, grup-III hariç diğer gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). Bununla birlikte, kemikleşme yüzdesi verileri grup-II hariç diğer gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.19), ($p < 0.05$).

Grup-II Bulguları: Bu gruba ait 10 adet fetüs üzerinde 20 adet fibula incelendi. Bu grupta ölçüm alınan fibula'ların total kemik uzunluğu ortalama 3.28 ± 0.17 mm olarak hesaplandı. Bu grupta incelemeye alınan fibula'larda kemikleşme sergileyen bölgelerin ortalama uzunluğu 1.11 ± 0.10 mm ve kemikleşme yüzdesi ortalama 34.81 ± 3.54 olarak ölçüldü (Çizelge 4.16). Grup-II'ye ait fibula'ların total kemik uzunluğu verileri diğer tüm grupların verileriyle karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). Diğer taraftan, kemikleşme sergileyen bölgelerin uzunluğu ve kemikleşme yüzdesi verileri, grup-I hariç diğer gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.19), ($p < 0.05$).

Grup-III Bulguları: Bu gruba da 10 adet fetüs üzerinde 20 adet fibula incelendi. Ölçüm alınan fibula'ların total kemik uzunluğu ortalama 3.01 ± 0.23 mm olarak ölçüldü. Bununla birlikte yine bu grupta incelemeye alınan fibula'larda kemikleşme sergileyen bölgelerin ortalama uzunluğu 0.98 ± 0.10 mm ve kemikleşme yüzdesi ortalama 29.73 ± 1.93 olarak hesaplandı (Çizelge 4.16). Grup-III'e ait fibula'ların total kemik uzunluğu verileri, grup-I hariç diğer gruplardaki veriler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). Diğer taraftan, kemikleşme sergileyen bölgelerin uzunluğu ve kemikleşme yüzdesi verileri, diğer tüm grupların verileriyle karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.19), ($p < 0.05$).



Şekil 4.19. Fibula'lara ait verilerin değişimleri (n=20). **A)** Total kemik uzunluğu, **B)** Kemikleşme sergileyen bölge ortalama uzunluğu, **C)** Kemikleşme yüzde oranı. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (One-Way ANOVA). ***; istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.001$), ****; istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.0001$).

İncelenen tüm fibula kemiklerinde kemikleşmenin olduğu, kemikleşmenin gövde kısmında yoğunlaştığı ve bu alanın kırmızı renk ile boyandığı belirlendi. Kemikleşme distal ve proksimal uç kısımlara doğru ilerlediği gözlemlendi. Distal ve proksimal uç kısımlarda fibula kondilleri kıkırdak yapıda olup mavi renge boyandığı gözlemlendi. Benzer şekilde, extremitas distalis'de malleolus lateralis ile extremitas proximalis'de caput fibulae henüz daha kıkırdak yapıda oldukları için mavi renk ile boyandığı belirlendi (Şekil 4.18).

Makroskopik olarak incelenen tüm fibula kemiklerinde kemikleşmenin 6 GHz RF-EMA'ya maruziyet sonucu total kemik uzunluğu, kemikleşme sergileyen bölgenin uzunluğu ve kemikleşme yüzde oranlarında önemli değişimler meydana geldiği belirlendi. Öyle ki, kontrol grubuna kıyasla RF-EMA'ya maruz kalan gruplarda fibula'ların total kemik uzunluğunu daha uzun, kemikleşme sergileyen bölge uzunluğu daha geniş ve kemikleşme yüzdeleri verileri daha yüksek değerlerde olduğu tespit edildi. Bu sonuçlar, fibula kemiğinin gelişiminde 6 GHz RF-EMA'nın olumlu yönde katkı sağladığını göstermektedir.

Çizelge 4.16. Fibula'lara ait verilerin gruplar arasında dağılımları.

Gruplar	N	Total Kemik Uzunluğu (mm)	Kemikleşme Sergileyen Bölge Uzunluğu (mm)	Kemikleşme Yüzde Oranı (%)
		Ortalama±SS (Min-Max)	Ortalama±SS (Min-Max)	Ortalama±SS (Min-Max)
Kontrol	20	2.74±0.18 ^{b,c,d} (2.25-3.03)	0.76±0.11 ^{b,c,d} (0.54-0.98)	24.29±3.97 ^{b,c,d} (14.81-32.65)
Grup-I	20	3.02±0.21 ^{a,c} (2.57-3.39)	1.11±0.09 ^{a,d} (0.96-1.26)	34.51±6.44 ^{a,d} (24.66-49.41)
Grup-II	20	3.27±0.17 ^{a,b,d} (2.94-3.62)	1.11±0.10 ^{a,b,d} (0.92-1.41)	34.81±3.54 ^{a,d} (29.55-40.96)
Grup-III	20	3.01±0.23 ^{a,c} (2.28-3.26)	0.98±0.10 ^{a,c} (0.73-1.14)	29.73±1.93 ^{a,b,c} (26.37-33.33)
P*		0.000	0.000	0.000

*One-Way ANOVA; p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

b: Grup-I ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

c: Grup-II ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

d: Grup-III ile karşılaştırıldığında anlamlıdır.

4.4. Neonatal Dönem Bulguları

Kontrol ve Grup-II'de geriye kalan diğer 1 adet gebe dişi sıçanların normal gebelik sürecini tamamlamak üzere normal doğum yapması sağlandı. Yavru sıçanlar neonatal dönem sonunda (7.gün) cinsiyet tayini yapılarak erkek ve dişi sayıları ile total yavru sayısı tespit edildi (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. Yavru sıçanlarda cinsiyet tayini.

Gruplar	Erkek	Dişi	Total
Kontrol	4	3	7
Grup-II	5	5	10

5. TARTIŞMA

Dünya genelinde gerek cep telefonu gerekse insan yapımı RF-EMA kaynakların kullanım yoğunluğu, çeşitliliği ve coğrafi bölge dağılımı giderek artış göstermektedir. Bu cihazların kullanımı ile birlikte, RF-EMA maruziyetine bağlı olarak immün sistem üzerindeki etkileri henüz daha tam olarak bilinmemesi nedeni ile bu alanların sağlık ve güvenlik konusundaki risklerin değerlendirilmesinde tolare edilebilir ortak bir karar alınamamıştır. İnsan ve deney hayvanları modelleri ile yapılan çalışmalarda bazı kısıtlamalar söz konusudur. Bu durumun nedeni olarak, insanların normal yaşamlarında EMA yayan kaynaklara maruziyet durumu ile birebir aynı ortamın tam olarak oluşturulamaması, insan ile deney hayvanları boyutlarındaki kayda değer farklılıklar, anatomik ve postür farklılığı, beyin yapısı farklılığı gibi çeşitli etkenler ileri sürülmüştür (115).

Çalışmamızda, 6 hafta boyunca 4 saat/gün 0.083 W/kg SAR 6 GHz RF-EMA maruziyetinin sıçan kan hücrelerinde canlılık, apopitotik (erken, geç) ve nekrotik yüzde oranlarına etkisi RF-EMA uygulama öncesi (kontrol) ve sonrasında (RFR grup) anneksin-V kiti kullanılarak flow sitometrik analiz ile değerlendirildi. Ayrıca, ortalama plazma seviyelerinde pro-inflamatuar (TNF- α ile IFN- γ) ve anti-inflamatuar (IL-4 ile IL-10) sitokin düzeylerine etkisi RF-EMA uygulama öncesi (kontrol) ve sonrasında (RFR grup) ELISA yöntemi kullanılarak spektrofotometrik analiz ile değerlendirildi.

Çalışmamızda, canlı, erken apopitotik ve nekrotik hücre yüzde oranları kontrol grubu ile RFR grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edildi ($p < 0.05$). Geç apopitotik hücre yüzde oranında gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir değişiklik saptanmadı ($p > 0.05$).

Literatürdeki bazı çalışmalarda, RF-EMA maruziyeti sonrasında çalışmamıza benzer olarak canlı, apopitotik ve nekrotik hücre oranlarında önemli etkilere neden olabileceği belirtilmiştir (116, 117). RF- EMA'ların hücre canlılık, apoptozis ve nekroz mekanizmaları üzerine etkilerinin belirlenmesinde genellikle düşük frekanslı RF-EMA kaynakları kullanılmıştır. Bu doğrultuda yapılan bir çalışmada, GSM modülasyonlu 900 MHz RF-EMA sinyalinin Wistar sıçanların C6 beyin tümörleri üzerindeki etkisi in vivo olarak araştırılmıştır. SAR değerlerinin 0 W/kg (kontrol), 0,25 W/kg ve 0.5 W/kg

olduğu durumlarda, 45 dakika/gün kısıtlama olmak üzere haftada 5 gün boyunca maruz kalan sıçanlarda canlılık, nekrotik ve hücre bölünmesi üzerinde hiçbir değişim göstermezken, apoptotik hücre oranlarında SAR'a bağlı bir azalma olduğu bildirilmiştir (118). Benzer şekilde, Skovierova H ve ark. tarafından kablosuz güç şarj sistemleri tarafından üretilen EMA'nın (87 kHz, 0,3–1,2 μ T,) 30 dakika boyunca normal insan astrositlerinde (HA) ve kanser hücre hatları (T98G ve SH-SY5Y) üzerindeki etkisi morfolojik ve hücresel düzeyde araştırılmıştır. Flow sitometrik analiz yapılarak, kontrollere kıyasla maruz kalan gruplarda HA, T98G ve SH-SY5Y'de canlı hücre oranında artış gözlenmiştir. Bununla birlikte, HA, T98G ve SH-SY5Y'de erken ve geç apoptotik hücre oranlarında azalma saptanmıştır, Ancak nekrotik hücre oranında T98G'de düşüş tespit edilirken, HA ve SH-SY5Y'de artış olduğu rapor edilmiştir (119).

Çalışmamızın aksine, bazı araştırmacılar tarafından da farklı frekanslı RF-EMA maruziyetinin canlı hücre, apoptotik ve nekrotik oranlarında olumsuz etkilere neden olabileceği ifade edilmiştir (120, 121). Bu doğrultuda yapılan bir çalışmada, 8 gün boyunca 6 saat/gün 900 MHz RF-EMR'ye (0.033 W/kg SAR, 26 V/m $\pm$ 9%, 0.067 A/m) maruz kalan insan fetal hücrelerine etkisi araştırılmıştır. 900 MHz RF-EMR grubu ile maruz kalmayan kontrol grubu karşılaştırıldığında, canlı hücre oranlarında azalma, apoptotik (erken, geç) ve nekrotik hücre oranlarında artış olduğunu tespit etmişlerdir (14). Bir başka çalışmada, 935 MHz (4 W/kg $\pm$ 0.16 SD SAR) RF-EMF'nin N9 mikrogial ve SH-SY5Y nöroblastom hücrelerinde apoptoz değişimi üzerine etkileri incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, 2 saat süreyle maruz bırakılan kontrol ile 24 saat süreyle maruz bırakılan deney grupları karşılaştırıldığında SH-SY5Y hücrelerinde deney grubunda canlı hücrelerin fraksiyonunda önemli bir azalma saptanırken, geç apoptotik ve nekrotik hücrelerin yüzdesinde önemli bir artış tespit edilmiştir. Ancak, erken apoptotik hücre yüzde oranında gruplar arasında anlamlı herhangi bir farklılık olmadığı rapor edilmiştir (122). Benzer şekilde bir çalışmada da, 28 gün boyunca 1 saat/gün (0,042 W/kg SAR) 900, 1800 ve 2450 MHz elektromanyetik radyasyonlara (EMR) maruz kalan erkek sıçanların amigdala hücrelerinde canlı, apoptoz (erken/geç) ve nekroz hücreleri üzerine etkisi flow stometrik yöntemle değerlendirilmiştir. EMR uygulaması sonucunda, canlı hücre % oranında maruz kalmayan kontrole kıyasla tüm EMR gruplarında azalma gözlenirken, erken apoptoz hücre % oranı tüm EMR uygulamalarında indüklendiği ancak 2450 MHz'ye kıyasla 900 ve 1800 MHz'de bu

oranın daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan, geç apoptoz ve nekroz hücre % oranlarında 900 ve 1800 MHz'de herhangi bir değişim saptanmazken, 2450 MHz EMR'da kontrole kıyasla artış olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonucu olarak 2450MHz EMR'ye uzun süreli maruz kalma, deney hayvanlarında stres kaynaklı kaygı benzeri davranışların gelişmesine neden olabileceğini ifade edilmiştir (123).

Çalışmamızda, 6 GHz RF-EMA maruziyeti erken apoptotik evrede önemli etkilere neden olurken, geç apoptotik evrede anlamlı herhangi bir değişiklik tespit edilemedi. Ancak, 6 GHz üzerindeki frekanslarda RF-EMA'ya akut (≤ 1 saat) olarak maruz kalma, apoptozun her iki evresinde de istatistiksel olarak önemli etkilere neden olabileceği rapor edilmiştir (20). Günümüze kadar RF-EMA maruziyeti ile ilgili yapılan çalışmalarda, hücre proliferasyonu, farklılaşması, apoptozis ve nekrozis üzerindeki etkisine dair kesin bir kanıt gösterilememiştir. Ancak, RF-EMA ile hücre etkileşiminde hücrede protein, nükleik asit ve lipid yapılarının bozulabileceği bildirilmiştir (124). Çalışmamızda, yüksek frekanslı (6 GHz) RF-EMA'nın uzun süreli maruziyeti, sıçan kan hücrelerinde olumsuz herhangi bir etkiye neden olmadı. Bu durum, 6 GHz RF-EMA'nın immün sistem hücrelerinin normal fonksiyonlarını yerine getirmesinde, hücresel stresi regüle eden proteinlerin ekspresyonunda ve moleküllerin artışında önemli rol üstlenebileceğini düşündürmektedir.

Hemostatik bir mekanizmanın sağlanması amacıyla organizmada hücre popülasyonunun ve doku homeostazının korunması apoptozun en temel işlevlerinden birisidir (18). Hücre içerisinde Ca^{+2} konsantrasyonundaki kontrolsüz artış apoptotik süreç ile ilişkili iyon kanallarında meydana gelen bozukluğu gösterir (125). Bu kanallar içerisinde yer alan Ca^{2+} kanalları, Ca^{2+} akımını düzenleyerek hücre içi metabolik olayları düzenlemekle işlev görürler (126). İyon kanallarındaki işlev bozukluğu sonucunda, RF-EMA'ya maruz kalan hücrelerin elektrokimyasal dengesinde ve homeostazını belirleyen hücre içi iyonik konsantrasyonlarında değişimler meydana gelmektedir. Bu konuda çok düşük frekanslı (50 Hz) RF-EMA maruziyeti apoptozu indükleyerek hücre içi Ca^{2+} seviyelerini ve hücre homeostazını değiştirebileceği öne sürülmüştür (127).

Diğer taraftan, hücre membranında yer alan katyon kanalları aracılığı ile hücre içerisine Ca^{+2} girişi, potansiyel olarak geçici reseptör potansiyeli (TRP) kanalları ve/veya

voltaj kapılı kalsiyum kanalları (VGCC) tarafından gerçekleşir (128). Bu kanallar doğrudan plazma zarında Ca^{+2} kanalları gibi davranmakta ve hücre içerisine Ca^{+2} girişini modüle etmektedir. Aktive olan TRPV1 kanalından hücre içerisine Ca^{+2} artışı ile apoptoz, inflamasyon ve kanser gibi olayların patolojik süreçlerinin gelişimine yol açar (129). Yukarıdaki bilgiler göz önüne alındığında çalışmamızdaki apoptotik ve nekrotik hücre oranlarındaki düşüşün bir nedeni olarak, 6 GHz RF-EMA'nın TRP kanallarını ve VGCC aktivasyonunu indükleyebileceğine işaret etmektedir.

Çalışmamızda, pro-inflamatuar sitokin düzeylerine 6 GHz (0.083 W/kg SAR) RF-EMA uygulamasının etkisi incelendiğinde, RFR grubundaki TNF- α verileri ile IFN- γ verileri, kontrol grubuna kıyasla plazma konsantrasyonlarında artış olduğu gözlemlendi. Her iki grup arasında ortaya çıkan farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0.05$).

Günümüzde 5G sistemlerin yaygınlaşan kullanımı ile bu sistemlerden yayılan RF-EMA'ların sitokin düzeylerine üzerindeki etkileri konusunda yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır. Bununla birlikte RF-EMA kaynaklı inflammatuar yanıtların immün sistem fonksiyonları üzerindeki olumlu/olumsuz etkilerine ilişkin tartışma henüz daha çözülebilmemiş değildir. Çünkü immün sistem hücreleri doğal olarak çevresel kaynaklı çeşitli pertürbasyonlara uyum sağlayabilmesi nedeniyle insan kaynaklı RF- EMA'ların hangi değerlerini tolere edebileceğini bildiren çalışmalar yeterli değildir (1).

Bu konuda farklı değerlerdeki (900-1800-2450 MHz) RF- EMA maruziyetinin pro-inflamatuar sitokinler üzerindeki yanıtları araştırılmıştır. Sıçanlar ($n=24$) 900 MHz (0,59 mW/kg SAR), 1800 MHz (0,58 mW/kg SAR) ve 2450 MHz (0,66 mW/kg SAR) frekanslarında mikrodalga (MD) radyasyona, gigahertz enine elektromanyetik (GTEM) odasında 60 gün boyunca 2 saat/gün ve 5 gün/hafta maruz bırakılmıştır. Hipokampal süpernatantlarda MD'ye maruz bırakılan hayvanda TNF- α ve IFN- γ seviyelerinde, 900 ve 1800 MHz gruplarındaki değerlerine kıyasla 2450 MHz grubunda önemli ölçüde artış olduğu bildirilmiştir (130). Başka bir çalışmada 2.45 GHz (0.4060 W/kg SAR) RF-EMA'nın ince ve kaba siyah karbon (BC) parçacıkları ile birleşik etkisi incelenmiştir. RAW 264.7 hücre hattı makrofajlarında hücre hasarına ve inflammatuar tepkiye neden olup olmadığını analiz edilmiştir. Çalışmanın 24. saatinde EMA ve BC'nin birleşik etkisi yoluyla TNF- α 'nın artışına neden olduğunu ve apoptozu aktive

ederek hızlandırdığı rapor edilmiştir (26). Diğer bir çalışmada sıçanlarda inflamatuvar yanıt üzerine 1966.1 MHz (2 ve 0.36 W/kg SAR) RF-EMA maruziyeti 16 hafta boyunca 2 saat/gün araştırılmıştır. RF-EMA'nın dolaşımdaki TNF- α seviyesini istatistiksel olarak kayda değer arttırdığı bildirilmiştir (131).

Benzer şekilde çalışmamızda da 6 GHz (0.083 W/kg SAR) RF-EMA pro-inflamatuvar TNF- α ve IFN- γ sitokinlerin sentezini önemli ölçüde artırdığı gözlemlendi. Bulgularımıza göre, 6 GHz RF-EMA etkisi ile immün sistemin etkilenebileceği ve pro-inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunun desteklenebileceği söylenebilir. Öte yandan, RF-EMA'ların pro-inflamatuvar sitokinlerin indüklenmesinde önemli bir aktivasyona sahip olmadığını bildiren çalışmalarda mevcuttur (25, 132).

Bu konuda, RF-EMA'ların insan immün hücreleri üzerindeki in vitro etkileri kapsamında yapılan bir çalışmada (1950 MHz, 1 mW/g SAR), insan kan hücreleri üzerinde, aralıklı modda ve 8 saat süre boyunca maruziyet gerçekleştirilmiştir. Hücre içi TNF- α ve IFN- γ düzeylerinde olumlu/olumsuz etkilere neden olmadığı bildirilmiştir (132). Diğer taraftan, RF-EMA maruziyetinin edinsel immün yanıtın modülasyona etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada, fare modeli (n=10) kullanılarak denekler 2450 MHz (0,478 W/kg SAR) RF-EMA'ya maruz bırakılmıştır. Deney grubunun TNF- α ve IFN- γ düzeyleri kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir (25).

Çalışmamızda TNF- α ve IFN- γ düzeylerindeki artışların nedeni olarak, uygulanan RF-EMA'nın frekans ve maruziyet süresine bağımlılıktan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Öte yandan, TNF- α ve IFN- γ düzeylerindeki artışın direkt ve sadece RF-EMA'nın etkisi ile olmayabileceği, bu kaynakların yarattığı emosyonel stresin de katkısının olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca elde ettiğimiz bu sonuçlar, frekans ve süre ile ilişkili olarak immün sistemin diğer stresör faktörler varlığında RF-EMA'ya adapte olmasına bağlı olarak gelişmiş olabileceğini düşündürmektedir. Çünkü RF-EMA etkileşiminde çeşitli çevresel faktörler (gürültü, aydınlık/karanlık, ısı vb.) deneklerde stres kaynaklı davranışların gelişiminde etkili olabilmektedir. Bu doğrultuda cep telefonu kaynaklı RF-EMA'ların neden olabileceği potansiyel zararlar üzerine yoğunlaşılacak bir çalışmada başta kanser olmak üzere yüksek tansiyon, stress, hafıza kaybı gibi sağlık sorunlarına yol açtığı bildirilmiştir (133). Bu

sonuçlardan, RF-EMA ile pro-inflamatuar sitokinlerin etkileşimlerinin, immün sistemi modüle edici etkisi tartışmalıdır.

Çalışmamızda, ELISA yöntemi kullanarak kontrol ve 6 GHz (0.083 W/kg SAR) RF-EMA'ya maruz kalan sıçanlarında anti-inflamatuar sitokinlerin (IL-4 ve IL-10) plazma düzeyleri karşılaştırıldı. IL-4 ve IL-10'nun ortalama plazma konsantrasyonları gruplar arasında karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak kayda değer herhangi bir değişiklik saptanamadı ($p>0.05$). Verilerimiz, 6 GHz RF-EMA maruziyetini takiben, anti-inflamatuar yanıtlar üzerinde önemli etkilere neden olmadığını göstermektedir. Çalışmamıza benzer olarak bazı çalışmalarda RF-EMA'nın IL-4 ile IL-10 düzeylerinde herhangi bir değişime neden olmadığı gösterilmiştir (134, 135).

Bu doğrultuda yapılan bir çalışmada, T hücrelerine 2.14 GHz (0,2 W/kg SAR) RF-EMA'nın etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada serum IL-4 protein konsantrasyonlarında herhangi bir değişim olmadığını bildirilmiştir (136). Başka bir çalışmada, 900 MHz (0,13 W/kg SAR) RF-EMA'nın sıçan lenfosit alt grup yüzdelere ve lenfositler üzerindeki aktivasyonuna etkisi araştırılmıştır. Çalışmada, sıçanlar sırasıyla 1 ve 4 hafta boyunca haftada 5 gün süreyle 30 dakika/gün RF-EMA'ya maruz bırakılmıştır. Hem serum IL-4, IL-10'nun düzeylerinde ve hem de serum TNF- α ve IFN- γ 'nın düzeylerinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir (137). Son zamanlarda deneklerin bağışıklık sistemi üzerine RF-EMA'lerin araştırıldığı bir çalışmada, 900 MHz (1.194 W/kg SAR) RF-EMA'ye farklı sürelerde (15, 30, 45 ve 60 dakika) ve iki farklı mesafede (0 ile 5 cm) olası etkileri araştırılmıştır. Maruz kalan IL-10 başlangıçta artış gösterdiği, ancak maruz kalma süresine bağlı olarak azalarak kontrol grubuna yakın değerlere ulaştığı gözlenmiştir. Bu sonuçlardan RF-EMA'nın IL-10 yüzdesi üzerine etkisinin geçici olduğu sonucuna varılmıştır (138).

Bu sonuçlar, RF-EMA'ların anti-inflamatuar sitokinlerin ekspresyonunda ve inflammatuar reaksiyonların fizyolojik fonksiyonunun düzenlenmesinde önemli rollere sahip olmadığını göstermektedir. Bununla birlikte, RF-EMA ile anti-inflamatuar sitokinlerin etkileşimlerinin immün sistemi modüle edici etkisi tartışmalıdır. Çünkü bazı araştırmacılar tarafından RF-EMA maruziyeti kaynaklı anti-inflamatuar sitokin düzeylerinde olumsuz etkilere neden olabileceği bildirilmiştir (139, 140).

Bu doğrultuda yapılan bir çalışmada, aşırı düşük frekanslı EMA'nın (50 Hz) günlük farklı manyetik akı yoğunluklarının (1, 100, 500 ve 2000 μ T) insan serum albümini (HSA) enjekte edilen sıçanlarda pro ve anti-inflamatuar sitokin üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışmada HSA enjekte edilen ve 60 gün boyunca maruz bırakılan denekler, ön stimülasyon ve stimülasyon sonrası olmak üzere iki aşamada değerlendirilmiştir. IFN- γ ve IL-4 serum seviyeleri de sadece 100 μ T'ye maruz kalan sıçanlarda ön stimülasyon aşamasına göre önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir (141). Başka bir çalışmada, düşük frekanslı EMA'nın (50 Hz) anti-inflamatuar sitokin üretimi üzerindeki modülatör etkileri araştırılmıştır. Hem THP-1 monositleri hem de THP-1 makrofajları kullanılarak 2, 3 ve 6 saat süreyle maruziyetin IL-10 sitokin protein konsantrasyonda zamana bağlı olarak azalma meydana geldiği ifade edilmiştir (142).

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda farklı prosedür ve yöntemler kullanılarak uygulanan RF-EMA kaynaklarına maruziyetin, immün sistemi üzerine etkilerinin belirlenmesinde henüz tam olarak kesin sonuçlar elde edilememiştir. Çalışmamızda pro-inflamatuar sitokinlerin düzeylerindeki değişikliklerin muhtemelen deney hayvanların vücutlarında yerel bazı reaksiyonların etkisi sonucu gelişmiş olabileceğini düşündürmektedir. Çünkü çalışmamızda maruziyet gruplarıdaki sıçanların çoğunda zaman içerisinde cilt yara oluşumu gözlemlendi. Bu konuda RF-EMA maruziyetinin hem akut ve kronik yaralardaki inflammatuar faktörlerin modülasyonunda önemli etkiye sahip olabileceği rapor edilmiştir (143). Çalışmamızda, anti-inflamatuar sitokinlerin düzeylerinde herhangi bir değişim olmamasının bir nedeni olarak da uyguladığımız 6 GHz RF-EMA'nın düşük SAR değerinin (0.083 W/kg) 5G için International Commission on Non-ionizing Radiation Protection (ICNIRP)'nin müsaade edilen değer aralığına (113) uyumlu olmuş olmasından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda RF-EMA uygulaması süresince takip edilen erkek sıçanların vücut ağırlıklarında zaman içerisinde kayda değer düşüş saptanırken (ilk üç hafta) daha sonraki haftalardaki normal vücut ağırlıkları değişimlerinin düzeldiği belirlendi. Yapılan ölçümlerde ilk hafta dışında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir değişiklik saptanamadı (Çizelge 4.1). Dişi sıçanların vücut ağırlıkları ise ilk 3 haftaya kadar düzenli artış gösterirken, 3-4. hafta aralığında her iki gruptaki tüm deneklerin ağırlık ortalamalarında düşüş gözlemlendi. Daha sonraki haftalarda normal

gelişimlerin düzeldiği gözlemlendi. Dişi sıçanların tüm haftalık ortalama verileri her iki grup arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli herhangi bir değişiklik saptanamadı (Çizelge 4.2). Deney hayvanlarının vücut ağırlıklarındaki bu değişikliklerin muhtemelen RF-EMA uygulamasının ortamda yarattığı bazı stres faktörlerinin etkisi ile kilo kaybına uğradıklarını son haftalarda ise toparlanarak ortama adapte olduklarını düşündürmektedir. Kontrol ve diğer gruplarda gözlenen ağırlık değişimleri doğal süreç olarak değerlendirildiğinde, 6 GHz RF-EMA'nın sıçanlardaki ağırlık artışlarına herhangi bir etkisinin olmadığı sonucuna varıldı. Bununla birlikte, 6 GHz RF-EMA uygulaması deney hayvanlarının organ ağırlıkları üzerinde de (karaciğer dokusu dışında) önemli değişikliklere neden olmadı (Çizelge 4.3). Çalışmamızı destekleyen bir çok çalışmalar mevcuttur (144, 145).

Çalışmamızın son aşamasında, 6 GHz (0.054 W/kg SAR) RF-EMA'nın sıçan fetal gelişim sürecinde kemik gelişimi üzerine etkisi araştırıldı. Günümüzde gebelik döneminde anneler hemen her ortamda çeşitli RF-EMA kaynaklarına maruz kalmaktadırlar. RF-EMA'ların canlılara etkisi bariz olmakla birlikte bu etki mekanizmalarının her frekans için aynı olmadığı, farklı etkileşimlerinin de bulunduğu bilinmektedir (146). Dünya genelinde 5G teknolojik ürünlerden faydalanma söz konusu olduğu için bu sistemlerden yayılan radyasyonlara maruz kalmamış bireylerin bulunması neredeyse mümkün değildir.

RF-EMA'ların kemik oluşumu ve yapısı üzerine etkileşimine ilişkin yapılan birçok çalışmada farklı mekanizmalar gösterilmiştir. Yapılan bu çalışmalarda etkileşim mekanizmaları, fiziksel-fizyolojik süreç, hücresel-moleküler süreçler ve kemik metabolizmasına etki şekli ile osteogenezisi uyarma mekanizmaları açıklanmıştır (146, 147). Erişkin dönem öncesi kemik gelişiminin metabolik aktivitesinde, yapım olayları yıkımdan daha baskın durumda iken, gelişme çağında normal kemik yapının modellenmesi ve erişkin dönemde başlayıp yaşam boyu devam eden denge durumu söz konudur. Bu denge kemikte osteoblast ile osteoklast aktivitelerinin eşgüdümlü olması ile mümkün olabilmektedir (148). Aksi durumda kemik büyüme faktörlerinde ve hormonlarda bazı değişimler ortaya çıkar. Bu durum sonucunda osteoblast ve osteoklastların aktivitelerinde dengesizlikler, iskelet sisteminde kemik kütlesinin

azalması (osteoporoz) ya da artması (osteopetroz) ile karakterize bazı anomallik durumların ortaya çıkışına neden olabilmektedir.

Fetal gelişim, elektromanyetik radyasyonlara karşı gelişimin en hassas olduğu aşamalarından birisidir. Çünkü prenatal dönemde doku gelişimi ve organogenez zararlı ajanlara karşı yetişkinlerden daha fazla etkilenmektedir. RF-EMA uygulamalarında birçok farklı parametre (SAR, modülasyon tipi, frekans vb.) fetal gelişimde doğrudan etkili olmaktadır. RF-EMA maruziyet periyotlarına bağlı olarak bu dönemde farklı sonuçlar ortaya çıkmaktadır (149, 150). Maruziyeti takiben insan hamileliğinin en yaygın komplikasyonları olarak, embriyonik gelişimin durması, embriyo/fetal ölümler, büyümede azalma, düşük/erken doğumlar, malformasyonlar veya neonatal ölüm olayları meydana gelmektedir (149, 150).

Bu bilgiler ışığında çalışmamızda 6 GHz RF-EMA'nın fetal gelişim sürecinde kemik gelişimi üzerine etkilerini incelenmeye değer bulduk. Çalışmamızın bu aşamasında 6 GHz (0.054 W/kg SAR) RF-EMA'nın, gestasyonel dönemin 18. gününde alınan prenatal fetüslerde; toplam sayı, ağırlık (g), baş-kuyruk (mm), parietal-parietal (mm), oksipital-frontal uzunlukları (mm) ve ekstremitte kemiklerde kemikleşme üzerine etkisi morfolojik olarak değerlendirildi.

Gebe sıçanlara yapılan sezeryan işleminden sonra alınan her bir fetüsün normal gelişimini (organogenez) tamamladığı gözlemlendi. Gestasyonel dönemde tüm gruplardaki 2 adet gebe dişi sıçandan alınan tüm fetüslerde; total ağırlık, baş-kuyruk, oksipital-frontal ve parietal-parietal uzunluk ortalama veriler, gruplar arasında karşılaştırıldığında sonuçların istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı bir artış olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Verilerimize göre, 6 GHz RF-EMA uygulamasının fetal gelişime önemli katkı sağladığı söylenebilir.

Çalışmamıza benzer olarak literatürde RF-EMA'ların prenatal dönem üzerinde çeşitli etkilerinin araştırıldığı bazı çalışmalarda, RF-EMA'nın fetal gelişimi kayda değer destekleyebileceği rapor edilmiştir (109, 151-153).

Bu doğrultuda yapılan bir çalışmada, farelerde doğum öncesi gelişim üzerindeki 88.5 ve 950 MHz frekans aralığındaki RFR'nin olası etkileri araştırılmıştır. İki gruba ayrılan on iki çift fare, farklı güç yoğunluklarına (168 nW/cm^2 ile 1053 nW/cm^2) sahip

bölmelere yerleştirilerek RFR uygulamasına maruz bırakılmıştır. Bu farelerden toplanan on sekiz adet yeni doğan yavrular makro ve mikroskopik olarak incelenmiştir. Maruz kalan gruptaki farelerde bir taraftan yenidoğan sayısında ilerleyici bir düşüş gözlenirken, diğer taraftan bazılarında geri dönüşü olmayan kısırılık tespit edilmiştir. Ancak, yeni doğanların doğum öncesi vücut ağırlığı, baş-kıç uzunluğu, sakral, lomber ve koksigeal omur sayısında herhangi bir anormal gelişimin olmadığını bildirmişlerdir (154).

Gerçekleştirilen bir başka çalışmada da erişkin dişi sıçanlar 915 MHz frekansında mikrodalga (MD) radyasyona (3.57 W/kg SAR) maruz bırakılmıştır. Sıçanlar gebeliğinin 1. gününden 21. gününe kadar 6 saat/gün maruziyeti takiben malformasyon hızı, rezorpsiyon hızı, ortalama yavru boyutu, fetal ağırlık ve canlı/ölü fetüs sayılarında önemli teratojenik belirtilerin olmadığı Jensh ve ark. (1982) tarafından rapor edilmiştir (155).

Başka bir çalışmada da, gebe fareler gebeliğin 6. gününden 17. gününe kadar 100 dakika/gün 2450 MHz (CW, 28 mW/cm²) EMA'ya maruz bırakılmıştır. Gebe farelerde gebelik insidansı ve canlı, ölü, rezorbe ve total fetüs sayılarında kontrole kıyasla herhangi bir değişim olmadığı ancak, alınan fetüslerin (18. günlük) ağırlıklarında düşüş olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca uygulanan EMA maruziyetinde sadece minor iskelet değişimlerinde artış olduğu Berman ve ark. (1982) tarafından gözlemlenmiştir (153).

Konuyla ilgili yapılan başka bir çalışmada da Berman ve ark. (1992) gebe sıçanları gebeliğin 1. gününden 19. gününe kadar 22 saat/gün farklı SAR prosedüründeki (0,07- 2,4- 4,8 W/kg) 970 MHz MD'ya maruz bırakmıştır. Çalışmada embriyo mortalitesi, fetal ağırlığı, annenin doğurganlığı ve iskelet kemikleşmesi değerlendirilmiştir. 4,8 W/kg SAR ile maruz kalma durumunda, kontrole kıyasla fetal ağırlığında ortalama %12'lik bir azalma olduğu fakat incelenen diğer tüm parametreler üzerinde önemli ölçüde farklılık olmadığı bildirilmiştir (156).

Çeşitli seviyelerde RF-EMA'lara maruziyetin embriyonik veya fetal gelişim üzerine her ne kadar olumsuz etkisi olmadığını bildiren çalışmalar çoğunlukta olsa da ikna edici bir kanıt henüz daha yoktur. Çalışmamızda prenatal fetüslerin total vücut

ağırlıkları ile boy uzunluklarında kontrol grubundan diğer maruz kalan gruplara doğru artış olduğu, tüm gruplar arasında oluşan bu farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.8). Bulgularımız, 2.45 GHz RF-EMA'ya maruz kalan gebe sıçanlarda prenatal fetüs üzerindeki etkilerine ilişkin yakın zamanda yaptığımız diğer çalışmamızın verilerini desteklemekteyken (109) Sangun Ö ve arkadaşlarının 2.45 GHz'lik bir EMA'nın prenatal büyüme ve gelişmesi üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmasını desteklememektedir (157). Bu tür çalışmalar arasındaki bu belirgin farklılıkların nedeni olarak; uygulanan RF-EMA'ların frekans ve SAR değeri, maruziyet süresi, deney hayvanlarda bireysel farklılıklar ve çevresel stres faktörlerinin katkısının olabileceği gösterilebilir. Bu konu üzerine yoğunlaşılan birkaç çalışmada da RF-EMA maruziyetinin bazı karakteristik bağlantılarla sağlık riskini artırdığına dair bulgular rapor edilmesine rağmen, yapılan bazı epidemiyolojik çalışmalarda gebelik ile ilişkili doğrudan bir bağlantı kurulamadığı da açıkça ifade edilmiştir (155, 158). Genel bir bakışla söylenecek olunursa, RF-EMA'ların gebelikte embriyo veya fetal gelişim üzerine güçlü bir yan etkisi olmadığı, bununla birlikte, zayıf RF-EMA etkisinin zor anlaşılan yanları ve organizmanın duyarlılığı üzerine ek çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Çalışmamızda 6 GHz (0.054 W/kg SAR) RF-EMA'nın kemik gelişimi üzerine etkileri ikili iskelet sistemi boyama yöntemi kullanılarak incelendi. Bu yöntem aracılığı ile fetüslerde iskelet sisteminin ortaya çıkarılması ve gelişim düzeyleri belirlenebilmektedir (159). Bu bağlamda çalışmamızda Inouye'un (1976) metodunu kullanarak, fetüslerde iskelet sisteminin kıkırdak kısımları Alcian blue, kemik kısımları ise Alizarin red ile boyalanması sağlanarak ortaya çıkarıldı (160).

Prenatal dönemde alınan tüm fetüsler için ikili iskelet boyama yöntemi kullanılarak ön ve arka ekstremiteler kemikleri ortaya çıkarıldıktan sonra tüm kemiklerde; total kemik uzunluğu (mm), kemikleşme sergileyen bölge (mm) ve kemikleşme yüzde oranı (%) hesaplandı. Bulgularımız, bu konuda daha önce ikili iskelet boyama yöntemi kullanılarak yaptığımız RFR'nin kemik gelişimi üzerine etkilerini değerlendirdiğimiz önceki çalışma sonuçlarıyla uyumluydu (109).

Çalışmamızda, 6 GHz RF-EMA'nın sıçan fetüslerinin ön (Clavicula, Scapula, Humerus, Radius ve Ulna) ve arka (Femur, Tibia ve Fibula) ekstremitelerindeki bütün

kemiklerin; total kemik uzunlukları, kemikleşme sergileyen bölgelerin uzunlukları ve kemikleşme yüzde oranları verileri kontrol grubu ve diğer tüm gruplar arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır (Çizelge 4.9 - Çizelge 4.16), ($p=0.000$).

Yaptığımız detaylı literatür araştırmasında iskelet boyama yöntemi kullanılarak RF-EMA'ların iskelet sistemi üzerinde olası etkilere neden olduğu ve kemik kıkırdak oranlarının ölçülerek değerlendirildiği çok sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (144, 161). Çalışmamıza benzer olarak gerçekleştirilen bir çalışmada, RF-EMA'nın fare fetüs üzerindeki teratojenik etkileri araştırılmıştır. Dişi fareler gebelik süresince günlük 15 dk aralıklarla 45 dakika boyunca RF sinyallerine (2.0 W/kg SAR) aynı anda maruz bırakılmıştır. Maruziyet gruplarındaki 18 günlük prenatal fetüslerde iskelet kusurları, büyüme geriliği, kafa büyüklüğündeki değişiklikler ve diğer morfolojik anormallikler (iç/dış organ) açısından herhangi bir olumsuz etkiye yol açmadığı Lee ve ark. (2009), tarafından rapor edilmiştir (162).

Bir başka çalışmada gebe fareler embriyonik gelişimin gerçekleştiği prenatal dönemde 5 gün boyunca 6 dk/gün süreyle yayılan 900 MHz (0,6-0,94 W/kg SAR) RFR'ye maruz bırakılmıştır. Maruz kalan gruplardaki gebe farelerin fetüslerinin fetal gelişiminde ve kemik oluşumu (kraniyal kemikleri ossifikasyonu, göğüs kafesi kaburgaları ossifikasyonu ve Meckel kıkırdağı) üzerinde ilgili kontrollere göre varyasyonların olduğu ortaya çıkarılmıştır. Ancak 900 MHz RFR'nin fetüslerin kemik gelişiminde meydana getirdiği bu bozuklukların geçici olduğu ve postnatal dönemde düzeldiği bildirilmiştir (163).

Konuyla ilgili Akdağ ve ark. (2010) tarafından yapılan bir çalışmada da 30 adet erkek sıçan üzerinde maruz kalmayan sham ve maruz kalan deney gruplarında uzun süreli (10 ay, 2 saat/gün) aşırı düşük frekanslı manyetik alan (100 μ T ve 500 μ T) etkisi araştırılmıştır. Elde ettikleri verilerden, sıçan kemiklerinin özellikle kortikal kemik kalitesi ve kemik gücünün biyokimyasal özelliklerini etkileyebileceği bildirilmiştir. Ek olarak, aşırı düşük MA'nın kemik mineralizasyonu üzerinde etkisinin olabileceği, fakat MA'nın kemik yapısının içsel özelliklerini etkilemediği rapor edilmiştir (164).

Başka bir çalışmada, deney hayvanları üzerine mikrodalgaların (CW) teratojenik potansiyeli üzerine etkileri Berman ve ark. (1982) tarafından araştırılmıştır. Çalışmada, Suriye hamsterleri gebeliklerinin 6-14. günleri arasında 100 dakika/gün süreyle 20 mW/cm² PD, 2450 MHz frekanslı (6 mW/g SAR) CW ile 30 mW/cm² PD, 2450 MHz frekanslı (9 mW/g SAR) CW'ye maruz bırakılmıştır. Düşük PD ve SAR değerlerindeki CW'nin fetal hayatta kalma, iskelet sisteminin oluşumunda ve fetüs vücut ağırlığında önemli bir değişikliğe yol açmadığı gözlemlenmiştir. Ancak, yüksek PD ve SAR değerlerindeki CW'ye maruziyetin fetal rezorpsiyonlarında artışa, iskelet sistemi oluşumunda ve fetüs ağırlığında azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (165).

Bunlara ek olarak, farklı frekanslı RF-EMA'ların prenatal maruziyetine bağlı kemik gelişimi üzerine etkilerinin incelendiği birkaç çalışmada ossifikasyonda gerilik, kemik mineral dokusunda minimal değişimler, iskelet bozuklukları ve femur uzunluğunda artış meydana geldiği bildirilmiştir (158, 166, 167).

Kemik dokusunda sistemik düzenlenme, moleküler kontrol mekanizmaları ve yeniden şekillenme üzerine bazı çalışmalarda çeşitli hormon, yerel faktör ve sitokinlerin etkili olduğu gösterilmiştir (148, 168-170).

Kemiklerin gelişiminde, onarımında ve yeniden şekillenmesinde çeşitli hücresel aktivitelere aracılık eden elektrik potansiyeller, kemiğe uygulanan yüklere veya deformasyona ve gerilimlere bağlı oluşan temel sinyallerdir. Genellikle 1 mV/cm'den 100 mV/cm'ye kadar büyüklükte RF-EMA kaynakları vücutta doğal olarak bulunan ve birçok metabolik aktiviteyi kontrol altında tutan elektriksel yükleri ve bunların oluşturduğu düşük elektrik akımlarını indüklemektedir. Bu kaynaklar kemik hücrelerini mekanik stresle aynı doğrultuda indüklemekte ve kemikte yeniden şekillenme, gelişim ve büyüme üzerine pozitif katkı sağladığı bildirilmektedir (171).

Bu konuda düşük frekanslı (10 ve 90 Hz) RF-EMA'nın kemik iyileştirici özellikleri üzerine Luben ve ark. (1982) tarafından in vitro çalışma gerçekleştirilmiştir. RF-EMA'nın hormonal sinyalleşme, paratiroid hormonunun ve osteoklast aktive edici faktörün inhibisyonu gibi etkilerinin yanı sıra endotelial hücre proliferasyonu ve kapiler oluşumu üzerinde uyarıcı etkileri olabileceği gösterilmiştir (172). Aynı zamanda bazı çalışmalarda EMA kaynakları kemik dokusunda bir taraftan osteoblast aktivitesini

arttırırken diğ er taraftan osteoklast oluşumu  nemli  l  de azalttığı ve mezenkimal k  k h  crelerin farklılaşmasını desteklediği vurgulanmıştır (173, 174).

 alışmamızda da, imm  n sistemi  zerinde 6 GHz RF-EMA etkisi ile pro-inflamatuar sitokin d  zeylerinde  nemli artış g  sterdiği tespit edildi. Buna bağlı olarak, pro-inflamatuar sitokinlerin up-reg  lasyonu ile aynı zamanda kemik formasyonunda osteoblastların ind  ksiyonuna ve diferansiyasyonuna  nemli katkı sağlayabileceğini d  ş  nd  rmektedir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda farklı prosedür ve yöntemler kullanılarak uygulanan RF-EMA kaynaklarına maruziyetin, immün sistem ve kemik gelişimi üzerine etkilerinin belirlenmesinde henüz daha kesin sonuçlar elde edilememiştir. Çalışmamızda 6 GHz RF-EMA maruziyeti sıçan kan hücrelerinde gruplar arasında her ne kadar önemli değişiklikler saptanmış olsa da, 6 GHz RF-EMA uygulamalarının immün sistem üzerinde pozitif etkilerinin olduğunu söylemek için henüz daha çok erken. Bu doğrultuda daha çok sayıda araştırmalara ihtiyaç vardır. Diğer taraftan, çalışmamızda 6 GHz RF-EMA maruziyeti pro-inflamatuar sitokin düzeylerinde gruplar arasında önemli değişiklikler meydana getirse de, anti-inflamatuar sitokinler düzeylerinde herhangi bir etkiye neden olmadı. Oysa immün sistemin belirli bir düzen içerisinde işlevlerini gerçekleştirebilmesi, pro-inflamatuar ile anti-inflamatuar sitokinlerin kendi içerisindeki dengeli dağılımına bağlıdır. Yani, pro-inflamatuar sitokinlerin ekspresyonu arttığında buna bağlı olarak anti-inflamatuar sitokinlerin inhibisyonunun artması gerekir. Ancak, elde ettiğimiz veriler, IL-4 ve IL-10 gibi anti-inflamatuar sitokinlerin, TNF- α ve IFN- γ gibi pro-inflamatuar sitokinlerle güçlü bir etkileşime sahip olmadığını göstermektedir.

Çalışmamızın son aşamasında, sıçan prenatal fetüslerinde kemik gelişimi üzerine 6 GHz RF-EMA uygulamasına maruz kalan gruplardaki tüm fetüslerde kemik verileri, kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde artış gösterdi. Ancak, bu artışlara direk ve sadece 6 GHz RF-EMA uygulamasının etkili olamayacağını, pro-inflamatuar sitokin düzeylerindeki artışlarında dolaylı yoldan kemik gelişimine katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

Bununla birlikte, cinsiyet ve çeşitli yaş gruplarında artan farklı frekanslarda RF-EMA'lara maruziyet yoğunluğu ve süresinin insanlarda neden olabileceği olası sağlık ve güvenlik etkilerinin daha net ve kesin olarak belirlenebilmesi açısından daha ileri deneysel ve epidemiyolojik çalışmalara ihtiyaç duyulduğunun kanaatindeyiz. Çalışmamızın, immün sistem ve kemik gelişimi üzerine yapılacak araştırmalar için önemli bir yol gösterici olarak bilim dünyasına katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. **Emre M.** The Effects of Radiofrequency and Low Frequency Electromagnetic Fields on the Immune System. *J Immunol Clin Microbiol.* **2018**;3(4):68-80.
2. **Saygın M, Çalışkan S, Köylü H.** Kablosuz Ağ ve Testisler. *SDÜ Tıp Fak Derg.* **2011**;18(3): 110-115.
3. **Yanık C, Gingir E, Özkan S.** Possible Health Effects of 5G Technology: A Literature Review. *Chj.* **2021**;2(2):72-78.
4. **Pehlivan F.** Biyofizik. Pelikan Kitapevi. Ankara. 9. Baskı. **2017**:374-375.
5. **Kaszuba-Zwońska J, Gremba J, Galdzińska-Calik B, Wójcik-Piotrowicz K, Thor PJ.** Electromagnetic field induced biological effects in humans. *Przegl. Lek.* **2015**;72:636-641.
6. **Diab AK.** The Impact of the Low Frequency of the Electromagnetic Field on Human. *Adv Exp Med Biol.* **2020**;1237:135-149.
7. **Karimi A, Moghaddam FG, Valipour M.** Insights in the biology of extremely low-frequency magnetic fields exposure on human health. *Mol Biol Rep.* **2020**;47(7):5621-5633.
8. **Karipidis K, Mate R, Urban D, Tinker R, Wood A.** 5G mobile networks and health—a state-of-the-science review of the research into low-level RF fields above 6 GHz. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* **2021**;31(4): 585–605.
9. **Velghe M, Aerts S, Martens L, Joseph W, Thielens A.** Protocol for personal RF-EMF exposure measurement studies in 5th generation telecommunication networks. *Environ Health,* **2021**;20(1):36.
10. **Majchrzak E, Dziatkiewicz G, Paruch M.** The Modelling Of Heating A Tissue Subjected To External Electromagnetic Field. *Acta Of Bioengineering And Biomechanics,* **2008**;10(2):29-37.
11. **Christopher B, Mary YS, Khandaker MU, Jojo PJ.** Empirical study on specific absorption rate of head tissues due to induced heating of 4G cell phone radiation. *Radiation Physics and Chemistry,* **2021**;178(08910):1-5.
12. **Choi J, Min K, Jeon S, Kim N, Pack JK, Song K.** Continuous Exposure to 1.7 GHz LTE Electromagnetic Fields Increases Intracellular Reactive Oxygen Species to Decrease Human Cell Proliferation and Induce Senescence. *Sci Rep.* **2020**;10:9238.
13. **Kim HS, Park JS, Jin YB, Choi HD, Kwon HJ, Pack JK, et al.** Effects of exposure to electromagnetic field from 915 MHz radiofrequency identification system on circulating blood cells in the healthy adult rat. *Bioelectromagnetics,* **2018**;39:68-76.
14. **Emre M, Boğa A, Çetiner S, Tunç E, Demirhan O.** The Effects of Exposure to 900 MHz Radiofrequency Radiation and Nicotine on Apoptotic Ratio of Human Fetal Cells. *SEE J Immunol.* **2021**;4(1):1-7.
15. **Lamkowski A, Kreitlow M, Radunz J, Willenbockel M, Stierner M, Fichte LO, et al.** Analyzing the impact of 900 MHz EMF short-term exposure to the expression of 667 miRNAs in human peripheral blood cells. *Sci Rep.* **2021**;11(1):4444.

16. **Miyakoshi J.** Cellular and molecular responses to radio-frequency electromagnetic fields. proceedings of the IEEE. **2013**;101(6):1492-1502.
17. **Elmore S.** Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. Toxicologic Pathology, **2007**;35(4):495–516.
18. **Coşkun G,Özgür H.** Apoptoz ve Nekrozun Moleküler Mekanizması. Arşiv, **2011**;20(3):145-158.
19. **Nagata S.** Apoptosis by death factor. Cell, **1997**;88:355-365.
20. **Romeo S, Zeni O, Scarfi MR, Poeta L, Lioi MB, Sannino A.** Radiofrequency electromagnetic field exposure and apoptosis: A scoping review of in vitro studies on mammalian cells. Int. J. Mol. Sci. **2022**;23(4):2322.
21. **Arthamin MZ, Sulalah A, Resvina R, Widodo C, Endharti AT, Widjajanto E, et al.** Exposure of 1800 MHz radiofrequency with SAR 1,6 W/kg Caused a significant reduction in CD4+ T cells and release of cytokines in-vitro. Iran J Immunol. **2020**;17(2):154-166.
22. **Akdoğan M, Yöntem M.** Sitokinler. Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi, **2018**;3(1):36-45.
23. **Abbate A, Toldo S, Marchetti C, Kron J, Tassell BWV, Dinarello CA.** Interleukin-1 and the Inflammasome as Therapeutic Targets in Cardiovascular Disease. Circ Res. **2020**;126(9):1260-1280.
24. **Dinarello CA.** Historical Review of Cytokines. Eur J Immunol. **2007**;37:34-45.
25. **Aghajari S, Mortazavi SMJ, Kalani M, Nematollahi S, Habibzadeh P, Farjadian S.** The Immunomodulatory Effect of Radiofrequency Electromagnetic Field on Serum Cytokine Levels in A Mouse Model of Hindlimb Unloading. Cell J. **2021**;22(4):401-405.
26. **Sueiro-Benavides RA, Leiro-Vidal JM, Salas-Sánchez AA, Rodríguez-González JA, Ares-Pena FJ, López-Martín ME.** Radiofrequency at 2.45 GHz increases toxicity, pro-inflammatory and pre-apoptotic activity caused by black carbon in the RAW 264.7 macrophage cell line. Sci Total Environ. **2021**;765:142681.
27. **Meram İ.** The effects of estrogen treatment on the trace elements and vitamins in menopausal women. Mersin Üni. Tıp Fak. Derg. **2001**;4:472-478.
28. **Sert C, Deniz M, Düz MZ, Akşen F, Kaya A.** The preventive effect on bone loss of 50 Hz, 1 mT electromagnetic field in ovariectomized rats. Journal of Bone and Mineral Metabolism, **2002**;20(6):345-349.
29. **Satter Syed A, Islam MS, Rabbani KS, Talukder MS.** Pulsed electromagnetic fields for the treatment of bone fractures. Bangladesh Med Res Counc Bull. **1999**;25(1):6-10.
30. **Yildiz M, Cicek E, Cerci SS, Cerci C, Oral B, Koyu A.** Influence of electromagnetic fields and protective effect of CAPE on bone mineral density in rats. Arch Med Res. **2006**;37(7):818-21.
31. **Küçükbağrıçık Y, Büyükatalay EÖ.** New generation mobile phone frequencies and biological effects. Genel Tıp Derg. **2021**;31(3):309-312.

32. **Aerts S, Verlock L, den Bossche MV, Kolombiya D, Martens L, Tornevic C, et al.** In-situ Measurement Methodology for the Assessment of 5G NR Massive MIMO Base Station Exposure at Sub-6 GHz Frequencies. in IEEE Access, **2019**;7:184658-184667.
33. **Özduman A, Gök B, Gökçen H.** Mobil Telefon Kullanıcılarının Mobil Bağımlılık Durumu ve 5G Teknolojisi Kabullenme Niyeti Modellerinin Geliştirilmesi. Bilişim Teknolojileri Dergisi, **2020**;13(3):269-288.
34. **Al-Yasir YIA, Ojaroudi Parchin N, Tu Y, Abdulkhaleq AM, Elfergani ITE, Rodriguez J, et al.** A Varactor-Based Very Compact Tunable Filter with Wide Tuning Range for 4G and Sub-6 GHz 5G Communications. Sensors. **2020**;20(16):4538.
35. **Celaya-Echarri M, Azpilicueta L, Rodríguez-Corbo FA, Lopez-Iturri P, Ramos V, Alibakhshikenari M, et al.** Towards Environmental RF-EMF Assessment of mmWave High-Node Density Complex Heterogeneous Environments. Sensors. **2021**;21(24):8419.
36. **Hussain R, Abou-Khousa M, Iqbal N, Algarni A, Alhuwaimel SI, Zerguine A, et al.** A Multiband Shared Aperture MIMO Antenna for Millimeter-Wave and Sub-6GHz 5G Applications. Sensors (Basel). **2022**;22(5):1808.
37. **Serway R A, Jewett J W.** Physics for Scientists and Engineer 9nd ed (Çolakoğlu K): 904-937. İstanbul, Palme Yayıncılık, **2008**.
38. **Özgüner F, Mollaoğlu H.** Manyetik alanın organizma üzerindeki biyolojik etkileri. S.D.Ü. Tıp Fak. Derg. **2006**;13(1):38-41.
39. **Funk RH, Monsees T, Ozkucur N.** Electromagnetic effects from cell biology to medicine Prog Histochem Cytochem **2009**;43(4):177-264.
40. **Griffiths DJ.** Elektromanyetik teori. 2nd ed (Karaoğlu B): 404. İstanbul, Arte Güven Yayınları, **1996**.
41. **Yağmur F, Bozbıyık A, Hancı H.** Elektromanyetik Dalgaların İnsan Biyokimyası Üzerine Etkileri. Sted. **2003**;12:296-97.
42. **Erdoğan M, Şahin E, Dinçel S.** Are The Devices That Creates Electromagnetic Area As Innocent As We Thought? Journal of Human Rhythm, **2019**;5(1):41-53.
43. **Kan P, Simonsen SE, Lyon JL, Kestle JR.** Cellular phone use and brain tumor: a meta-analysis. J Neurooncol. **2008**;86(1):71-8.
44. **Volkow ND, Tomasi D, Wang GJ, Vaska P, Fowler JS, Telang F, et al.** Effects of Cell Phone Radiofrequency Signal Exposure on Brain Glucose Metabolism. JAMA. **2011**;305(8):808-813.
45. **Sudan M, Birks LE, Aurrekoetxea JJ, Ferrero A, Gallastegi M, Guxens M, et al.** Maternal cell phone use during pregnancy and child cognition at age 5 years in 3 birth cohorts. Environ Int. **2018**;120:155-162.
46. **La Vignera S, Condorelli RA, Vicari E, D'Agata R, Calogero AE.** Effects of the Exposure to Mobile Phones on Male Reproduction: A Review of the Literature. Journal of Andrology, **2012**;33:350-356.

47. **Gandhi G, Singh P, Kaur G.** Perspectives Revisited - The Buccal Cytome Assay in Mobile Phone Users, *International Journal of Human Genetics*, **2015**;15(4):173-182.
48. **Kıvrak EG, Yurt KK, Kaplan AA, Alkan I, Altun G.** Effects of electromagnetic fields exposure on the antioxidant defense system. *Journal of Microscopy and Ultrastructure*, **2017**;5(4):167-176.
49. **Esmekaya MA, Seyhan N, Kayhan H, Tuysuz MZ, Kurşun AC, Yağcı M.** Investigation of the effects of 2.1 GHz microwave radiation on mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi_m$), apoptotic activity and cell viability in human breast fibroblast cells. *Cell Biochem Biophys*. **2013**;67(3):1371-8.
50. **Karimian R, Ardakani MD, Ahmadi S, Zaghloul M.** Human Body Specific Absorption Rate Reduction Employing a Compact Magneto-Dielectric AMC Structure for 5G Massive-MIMO Applications. *Eng.* **2021**;2(4):501-511.
51. **Elder J.** Ocular Effects of Radiofrequency Energy, *Bioelectromagnetics Supplement*, **2003**;6(6):148-161.
52. **Coşkun Ö.** İyonize Radyasyonun Biyolojik Etkileri. *Teknik Bilimler Dergisi*, **2011**;1(2):13-17.
53. **Çimen B, Erdoğan M, Oğul R.** İyonlaştırıcı Radyasyon ve Korunma Yöntemleri. *S.Ü. Fen Fakültesi Fen Dergisi*, **2017**;43(2):139-147.
54. **Yadav H, Rai U, Singh R.** Radiofrequency radiation: A possible threat to male fertility. *Reprod Toxicol.* **2021**;100:90-100.
55. **Arslan N.** The Effects of Radiation on Biological Systems. *Nucl Med Semin.* **2017**;3:178-183.
56. **Zinsser H, Tamiya T.** An Experimental Analysis Of Bacterial Allergy. *J Exp Med.* **1926**;44(6):753-776.
57. **Dayer JM.** From supernatants to cytokines: a personal view on the early history of IL-1, IL-1Ra, TNF and its inhibitor in rheumatology *Arthritis Res Ther.* **2018**;20:101.
58. **Tilg H.** Cytokines and liver diseases. *Can J Gastroenterol.* **2001**;15:661-8.
59. **Güner İ, Özmen D, Bayındır O.** Sitokinler. *T Klin J Med Sci.* **1997**;17:65-74.
60. **Campbell IL.** Cytokine-mediated inflammation, tumorigenesis, and disease-associated JAK/STAT/SOCS signaling circuits in the CNS. *Brain Res Rev.* **2005**;48(2):166-177.
61. **Anapalı M, Balkan E.** Role of Cytokines in Liver Fibrosis. *Kafkas J Med Sci.* **2021**;11(1):111-122.
62. **Yılmaz Ö, Turgay N.** Sitokin ilişkili Hücre İçi Sinyal İletimi ve Paraziter Enfeksiyonlardaki Önemi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, **2009**;33(4):301-306.
63. **Dinarello CA.** Proinflammatory cytokines. *Chest.* **2000**;118(2):503-508.
64. **Özbek M, Hitit M, Ergün E, Beyaz F, Ergün L.** Toll Benzeri Reseptörler. *MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg.* **2017**;5(2):180-192.
65. **Beutler B, Jiang Z, Georgel P, Crozat K, Croker B, Rutschmann S, et al.** Genetic analysis of host resistance: Toll-like receptor signaling and immunity at large. *Annu. Rev. Immunol.* **2006**;24:353-389.

66. **Herwal H, Egesten A.** On PAMPs and DAMPs. *J Innate Immun.* **2016**;8(5):427–428.
67. **Songu M, Katılmış H.** Immune system and protection from infections. *J Med Updates,* **2012**;2(1):31-42.
68. **Carroll MC.** The complement system in regulation of adaptive immunity. *Nat Immunol.* **2004**;5(10):981–986.
69. **Warrington R, Watson W, Kim HL, Antonetti FR.** An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology,* **2011**;7(1):S1.
70. **Lotem J, Sachs L.** Cytokine control of developmental programs in normal hematopoiesis and leukemia. *Oncogene* **2002**;21:3284–3294.
71. **Alexander GM, van Rijn MA, van Hilten JJ, Perreault MJ, Schwartzman RJ.** Changes in cerebrospinal fluid levels of pro-inflammatory cytokines in CRPS. *Pain.* **2005**;116(3):213-219.
72. **Darif D, Hammi I, Kihel A, Saik IEL, Guessous F, Akarid K.** The pro-inflammatory cytokines in COVID-19 pathogenesis: What goes wrong? *Microbial Pathogenesis,* **2021**;153:104799.
73. **Falvo JV, Tsytsykova AV, Goldfeld AE.** Transcriptional Control of the TNF Gene. *Curr. Dir. Autoimmun.* **2010**;11:27–60.
74. **Çayakar A.** Nedir Bu Tümör Nekrozis Faktör Alfa? *Türkiye Klinikleri J Intern Med.* **2018**;3(2):67-76.
75. **Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B.** An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci.* **1975**;72(9):3666-70.
76. **Mercogliano MF, Bruni S, Mauro F, Elizalde PV, Schillaci R.** Harnessing Tumor Necrosis Factor Alpha to Achieve Effective Cancer Immunotherapy. *Cancers (Basel).* **2021**;13(3):564.
77. **Sharif PM, Jabbari P, Razi S, Keshavarz-Fathi M, Rezaei N.** Importance of TNF-alpha and its alterations in the development of cancers. *Cytokine,* **2020**;130:155066.
78. **Şenel S, Kılıçkap S.** Anti-tumor necrosis factor therapy and cancer. *Cumhuriyet Med J.* **2010**;32:132-136.
79. **Isaacs A, Lindenmann J.** Virus interference. I. The interferon. *Proc. Biol. Sci.* **1957**;147:258–267.
80. **Ustacelebi S.** Antiviral İlaçlar ve Etki Mekanizmaları, *ANKEM Derg.* **1999**;13:284- 288.
81. **Walter MR.** The Role of Structure in the Biology of Interferon Signaling. *Front Immunol.* **2020**;11:606489.
82. **Goel RR, Kotenko SV, Kaplan MJ.** Interferon lambda in inflammation and autoimmune rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* **2021**;27:1–14.
83. **Gill N, Chenoweth MJ, Verdu EF, Ashkar AA.** NK cells require type I IFN receptor for antiviral responses during genital HSV-2 infection. *Cell Immunol.* **2011**;269:29–37.
84. **Gutterman JU.** Cytokine therapeutics: lessons from interferon alpha. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **1994**;91(4):1198–1205.

85. **Alspach E, Lussier DM, Schreiber RD.** Interferon γ and Its Important Roles in Promoting and Inhibiting Spontaneous and Therapeutic Cancer Immunity. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* **2019**;11(3):a028480.
86. **Dogruk Kacar S, Ozuguz P.** Dermatolojide Kullanılan Sistemik İmmünmodülatör ve Antiproliferatif İlaçlar Özel Sayısı. *Türkiye Klinikleri J Dermatol-Special Topics,* **2014**;7(2):71-9.
87. Wikipedia Erişim: [<http://tr.wikipedia.org/wiki/interlökin>], Erişim Tarihi: 27 Şubat 2021.
88. **Baykal Y, Karaayvaz M, Kutlu M.** İnterlökinler. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.* **1998**;18(2):77-84.
89. **Ryan JJ.** Interleukin- 4 and its receptor: Essential mediators of the allergic response. *J Allergy Clin Immunol.* **1997**;99:1-5.
90. **Lavoie-Lamoureux A, Moran K, Beauchamp G, Mauel S, Steinbach F, Lefebvre-Lavoie J, et al.** IL-4 activates equine neutrophils and induces a mixed inflammatory cytokine expression profile with enhanced neutrophil chemotactic mediator release ex vivo. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* **2010**;299(4):L472-82.
91. **Taniyama T, Takai S, Miyazaki E, Fukumura R, Sato J, Kobayashi Y, et al.** The human interleukin-10 receptor gene maps to chromosome 11q23.3. *Hum. Genet.* **1995**;95(1):99-101.
92. **Huaxing Wei, Bofeng Li, Anyuan Sun, Feng Guo.** Interleukin-10 Family Cytokines Immunobiology and Structure. *Adv. Exp. Med. Biol.* **2019**;1172:79-96.
93. **Miller AB, Sears ME, Morgan LL, Davis DL, Hardell L, Oremus M, et al.** Risks to health and well-being from radio-frequency radiation emitted by cell phones and other wireless devices. *Front. Public Health,* **2019**;7:223.
94. **Corinti S, Albanesi C, Sala A, Pastore S, Girolomoni G.** Regulatory activity of autocrine IL 10 on dendritic cell functions. *J Immunol.* **2001**; 166:4312-8.
95. **Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR.** Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetic. *Br J Cancer,* **1972**;26(4):239-257.
96. **Ellis RE, Yuan J, Horvitz HR.** Mechanisms and functions of cell death. *Annu. Rev. Cell Biol.* **1991**;7:663-698.
97. **Yildirim İH, Kocak N, Yildirim SC.** Programlı Hücre Ölümü; Literatür Bilgilerinin Türkçe Derlemesi. *Dicle Üniv. Vet. Fak. Derg.* **2012**;2(3):58-66.
98. **Verma GP.** Fundamentals of Histology: 105-119. India, New Age International, **2001**.
99. **Junquera LC, Carnerio J, Kelley RO.** Basic Histology, 6 th ed (Published by Prentice-Hall International Inc): 136-153. Manchester, United Kingdom, International Edition, **1989**.
100. **Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R.** Bone biology. *J Bone Joint Surg Am.* **2010**;77:1256-1275.
101. **Ross M, Pawlina W.** Histology a Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology, 6th ed 218- 244. Philadelphia, Macmillan Company, **2011**.
102. **Reginato A, Wang W, Olsen B.** Developmental biology of bone. In: Marcus R, Feldman DD, Kelsey J (Eds): Osteoporosis. San Diego, **2001**;1:189-212.

103. **Raisz LG.** Physiology and pathophysiology of bone remodeling. Clin Chem. **1999**;45(8):1353-1358.
104. **Akay MT.** Genel histoloji. 6.baskı 126–149. Ankara, Palme Yayıncılık, **2006**.
105. **Gokcimen A.** Genel Tıbbi Histoloji. 975-7929-82-4. Isparta, SDÜ Basımevi, **2006**.
106. **Gupta MC, Maitra S.** Bone grafts and bone morphogenetic proteins in spine fusion. Cell Tissue Bank. **2002**;3(4):255-67.
107. **Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL.** Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi. 385-388. Gökbel H. (Edt), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, **2015**.
108. **Unur E, Ülger H, Ekinci N.** Anatomi. 7-11. Kıvılcım Kitapevi, Kayseri, **2014**.
109. **Cantürk Tan F, Karamazi Y, Ucar S, Dasdag S, Yalçın B, Tan B.** The prenatale effect to ossification of exposure to radiofrequency-electromagnetic field. Acta Physiologica, **2018**;225:66-66.
110. **Fukada E, Yasuda I.** On the piezoelectric effect of bone. J. Phys. Soc. Jpn. **1957**;12(10):1158-1162.
111. **Rubin CT, Hausman MR.** The cellular basis of Wolff's Law. Orthopedic Surgery and Degenerative Arthritis, **1988**;14(3):503-515.
112. **Hastings GW, Mahmud FA.** Electrical effects in bone. J Biomed Eng. **1988**;10:515-521.
113. **Persia S, Carciofi C, Barbiroli M, Volta C, Bontempelli D, Anania G.** Radio Frequency Electromagnetic Field Exposure Assessment for future 5G networks. 2018 IEEE 29th Annual International Symposium on Personal, Indoor and Mobile Radio Communications (PIMRC), **2018**:1203-1207.
114. **Alkis ME, Bilgin HM, Akpolat V. Dasdag S, Yegin K, Yavas MC, et al.** Effect of 900-, 1800-, and 2100-MHz radiofrequency radiation on DNA and oxidative stress in brain. Electromagnetic Biology and Medicine, **2019**;38(1):32–47.
115. **Qubty D, Schreiber S, Rubovitch V, Boag AG, Pick C.** No Significant Effects of Cell phone Electromagnetic Radiation on Mice Memory or Anxiety: Some Mixed Effects on Traumatic Brain Injured Mice. Neurotrauma Reports, **2021**;2(1):381-390.
116. **Pirozzoli M, Marino C, Lovisolo G, Laconi C, Mosiello L, Negroni A.** Effects of 50 Hz electromagnetic field exposure on apoptosis and differentiation in a neuroblastoma cell line. Bioelectromagnetics, **2003**;24:510-516.
117. **Kaszuba-Zwoinska J, Wojcik K, Bereta M, Ziomber A, Pierzchalski P, Rokita E, et al.** Pulsating Electromagnetic Field Stimulation Prevents Cell Death Of Puromycin Treated U937 Cell Line. Journal Of Physiology and Pharmacology, **2010**;61(2):201-205.
118. **Ouadah NS, Lecomte A, Robidel F, Olsson A, Deltour I, Schüz J, et al.** Possible effects of radiofrequency electromagnetic fields on in vivo C6 brain tumors in Wistar rats. J Neurooncol. **2018**;140(3):539-546.
119. **Skovierova H, Pavelek M, Okajcekova T, Palesova J, Strnadel J, Spanik P, et al.** The biocompatibility of wireless power charging system on human neural cells. Applied Sciences, **2021**;11(8):3611.

120. **Lin YY, Wu T, Liu JY, Gao P, Li KC, Guo QY, et al.** 1950MHz Radio Frequency Electromagnetic Radiation Inhibits Testosterone Secretion of Mouse Leydig Cells. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **2018**;15(1):17.
121. **Li DY, Song JD, Liang ZY, Oskouei K, Xiao XQ, Hou WZ, et al.** Apoptotic Effect of 1800 MHz Electromagnetic Radiation on NIH/3T3 Cells. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **2020**;17(3):819.
122. **Zielinski J, Ducray AD, Moeller AM, Murbach M, Kuster N, Mevissen M.** Effects of pulse-modulated radiofrequency magnetic field (RF-EMF) exposure on apoptosis, autophagy, oxidative stress and electron chain transport function in human neuroblastoma and murine microglial cells. *Toxicol In Vitro*, **2020**;68:104963.
123. **Gupta SK, Patel SK, Tomar MS, Singh SK, Mesharam MK, Krishnamurthy S.** Long-term exposure of 2450 MHz electromagnetic radiation induces stress and anxiety like behavior in rats. *Neurochemistry International*. **2019**;128:1-13.
124. **Panganiban RA, Snow AL, Day RM.** Mechanisms of radiation toxicity in transformed and non-transformed cells. *Int J Mol Sci*. **2013**;14(8):15931-58.
125. **Çiftçi N.** Hücre İçi Kalsiyum Sinyali, Apoptoz ve kanser progresyonunda kalsiyum kanallarının (Voc, Trp ve Soc Kanalları) rolü. *MCBU-SBED*, **2017**;4(3):1021-1027.
126. **Emre M.** Voltage-gated calcium channels and molecular features. *Archives Medical Review Journal*, **2018**;27(1):1-17.
127. **Barbier E, Dufy B, Veyret B.** Stimulation of Ca²⁺ influx in rat pituitary cells under exposure to a 50 Hz magnetic field. *Bioelectromagnetics*, **1996**;17:303-11.
128. **Parate D, Franco-Obregón A, Fröhlich J, Beyer C, Abbas AA, Kamarul T, et al.** Enhancement of mesenchymal stem cell chondrogenesis with short-term low intensity pulsed electromagnetic fields. *Sci Rep*. **2017**;7(1):9421.
129. **Çiğ B, Nazıroğlu M.** 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. *Biochim Biophys Acta*. **2015**;1848(10 Pt B):2756-65.
130. **Megha K, Deshmukh PS, Banerjee BD, Tripathi AK, Ahmed R, Abegaonkar MP.** Low intensity microwave radiation induced oxidative stress, inflammatory response and DNA damage in rat brain. *NeuroToxicology* **2015**;51:158–165.
131. **Singh KV, Gautam R, Meena R, Nirala JP, Jha SK, Rajamani P.** Effect of mobile phone radiation on oxidative stress, inflammatory response, and contextual fear memory in Wistar rat. *Environ Sci Pollut Res Int*. **2020**;27(16):19340-19351.
132. **Tuschl H, Novak W, Molla-Djafarari H.** In vitro Effects of GSM modulated Padiofrequency Fields on Human Immune Cells. *Bioelectromagnetics*, **2006**;27:188-196.
133. **Boga A, Emre M, Sertdemir Y, Akillioglu K, Binokay S, Demirhan O.** The effect of 900 and 1800MHz GSM-like radiofrequency irradiation and nicotine sulfate administration on the embryonic development of *Xenopus laevis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2015**;113:378-390.

134. Ikeda K, Shinmura Y, Mizoe H, Yoshizawa H, Yoshida A, Kanao S, et al. No effects of extremely low frequency magnetic fields found on cytotoxic activities and cytokine production of human peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Bioelectromagnetics*, **2003**;24:21-31.
135. Ozturk H, Saribal D, Gelmez YM, Deniz G, Yilmaz A, Kirectepe A, Ercan AM. Extremely low frequency electromagnetic fields exposure during the prenatal and postnatal periods alters pro-inflammatory cytokines levels by gender. *Electromagn Biol Med*. **2022**;41(2):163-173.
136. Ohtani, S, Ushiyama A, Maeda M, Ogasawara Y, Wang J, Kunugita N, et al. The effects of radio-frequency electromagnetic fields on T cell function during development, *Journal of Radiation Research*, **2015**;56(3):467–474.
137. Adiloğlu AK, Koyu A, Pakbaş İ. Özgüner MF. Cep telefonlarından yayılan 900 MHz elektromanyetik alanın sıçan bağışıklık sistemi üzerine etkilerinin araştırılması. *Nobel Med*. **2012**;8(2):41-48.
138. Arthamin MZ, Sulalah A, Widodo RC, Endharti AT, Widjajanto E. The effects of 900 MHz electromagnetic radiation CD4+ T cells, IL-2, IL-10 and IL-17a in peripheral blood mononuclear cells cultures. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, **2021**;25(5):5267-5275.
139. Pinton G, Ferraro A, Moro MBL. Specific low-frequency electromagnetic fields induce expression of active KDM6B associated with functional changes in U937 cells, *Electromagnetic Biology and Medicine*, **2020**;39(2):139-153.
140. Gao H, Dong Z, Gong X, Dong J, Zhang Y, Wei W, et al. Effects of various radiation doses on induced T-helper cell differentiation and related cytokine secretion. *Journal of Radiation Research*, **2018**;59(4):395–403.
141. Sobhanifard M, Eftekharian MM, Solgi G, Nikzad S, Salehi I, Sani KG, et al. Effect of Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields on Expression of T-bet and GATA-3 Genes and Serum Interferon- γ and Interleukin-4. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, **2019**;39(2):125-131.
142. Bouwens M, de Kleijn S, Ferwerda G, Cuppen JJ, Savelkoul HFJ, Verburg-van Kemenade BML. Low-frequency electromagnetic fields do not alter responses of inflammatory genes and proteins in human monocytes and immune cell lines. *Bioelectromagnetics*, **2012**;33:226-237.
143. Pesce M, Patruno A, Speranza L, Reale M. Extremely low frequency electromagnetic field and wound healing: implication of cytokines as biological mediators. *Eur Cytokine Netw*. **2013**;24(1):1-10.
144. Alchalabi ASH, Aklilu E, Aziz AR, Rahim H, Ronald SH, Malek MF, et al. Impact of electromagnetic radiation exposure during pregnancy on embryonic skeletal development in rats. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, **2017**;6(3):104-111.

145. **Lerchl A, Krüger H, Niehaus M, Streckert JR, Bitz AK, Hansen V.** Effects of mobile phone electromagnetic fields at nonthermal SAR values on melatonin and body weight of Djungarian hamsters (*Phodopus sungorus*). *J Pineal Res.* **2008**;44(3):267-72.
146. **Funk RH, Monsees TK.** Effects of electromagnetic fields on cells: physiological and therapeutical approaches and molecular mechanisms of interaction. A review. *Cells Tissues Organs*, **2006**;182(2):59-78.
147. **Ciombor DM, Lester G, Aaron RK, Neame P, Catterson B.** Low frequency EMF regulates chondrocyte differentiation and expression of matrix proteins. *J Orthop Res.* **2002**;20(1):40-50.
148. **Kong YY, William JB, Penninger MJ.** Osteoprotegerin ligand: a regulator of immune responses and bone physiology. *Immunol Today*, **2010**;21(10):495-502.
149. **Pacchierotti F, Ardoino L, Benassi B, Consales C, Cordelli E, Eleuteri P, et al.** Effects of Radiofrequency Electromagnetic Field (RF-EMF) exposure on male fertility and pregnancy and birth outcomes: Protocols for a systematic review of experimental studies in non-human mammals and in human sperm exposed in vitro. *Environ Int.* **2021**;157:106806.
150. **Mahmoudabadi FS, Ziaei S, Firoozabadi M, Kazemnejad A.** Use of mobile phone during pregnancy and the risk of spontaneous abortion. *J Environ Health Sci Eng.* **2015**;13:34.
151. **Tsarna E, Reedijk M, Birks LE, Guxens M, Ballester F, Ha M, et al.** Associations of Maternal Cell-Phone Use During Pregnancy With Pregnancy Duration and Fetal Growth in 4 Birth Cohorts, *American Journal of Epidemiology*, **2019**;188(7):1270-1280.
152. **Ogawa K, Nabae K, Wang J, Wake K, Watanabe S, Kawabe M, et al.** Effects of gestational exposure to 1.95-GHz W-CDMA signals for IMT-2000 cellular phones: Lack of embryotoxicity and teratogenicity in rats. *Bioelectromagnetics*, **2009**;30:205-212.
153. **Berman E, Carter HB, House D.** Reduced weight in mice offspring after in utero exposure to 2450-MHz (CW) microwaves. *Bioelectromagnetics*, **1982**;3(2):285-91.
154. **Magras IN, Xenos TD.** RF radiation-induced changes in the prenatal development of mice. *Bioelectromagnetics*, **1997**;18:455–461.
155. **Jensh RP, Weinberg I, Brent RI.** Teratologic studies of prenatal exposure of rats to 915 MHz microwave radiation. *Radiat. Res.* **1982**;92:160-171.
156. **Berman E, Weil C, Phillips PA, Carter HB, House DE.** Fetal and maternal effects of continual exposure of rats to 970 MHz circularly-polarized microwaves. *Electromagn. Biol. Med.* **1992**;11:43-54.
157. **Sangun O, Dundar B, Darici H, Comlekci S, Doguc DK, Celik S.** The effects of long-term exposure to a 2450 MHz electromagnetic field on growth and pubertal development in female Wistar rats. *Electromagn Biol Med.* **2015**;34(1):63-71.
158. **Atay T, Aslan A, Heybeli N, Aydoğan HN, Baydar ML, Ermol C, et al.** Effects of 1800 MHz electromagnetic field emitted from cellular phones on bone tissue. *Balkan Med J.* **2009**;26(4):292-296.
159. **Menegola E, Broccia ML, Giavini E.** Atlas of rat fetal skeleton double stained for bone and cartilage. *Teratology*, **2001**;64(3):125-133.

160. **Inouye M.** Differential staining of cartilage and bone in fetal mouse skeleton by Alcian blue and Alizarin red S. *Cong Anom.* **1976**;16:171–173.
161. **Varsier N, Dahdouh S, Serrurier A, De la Plata JP, Anquez J, Angelini ED, et al.** Influence of pregnancy stage and fetus position on the whole-body and local exposure of the fetus to RF-EMF. *Physics in Medicine & Biology*, **2014**;59(17):4913.
162. **Lee HJ, Lee JS, Pack JK, Choi HD, Kim N, Kim SH, et al.** Lack of teratogenicity after combined exposure of pregnant mice to CDMA and WCDMA radiofrequency electromagnetic fields. *Radiation research.* **2009**;172(5):648-52.
163. **Fragopoulou AF, Koussoulakos SL, Margaritis LH.** Cranial and postcranial skeletal variations induced in mouse embryos by mobile phone radiation. *Pathophysiology.* **2010**;17(3):169-77.
164. **Akdag MZ, Dasdag S, Erdal N, Buyukbayram H, Gurgul S.** The effect of long-term extremely low-frequency magnetic field on geometric and biomechanical properties of rats bone. *Electromagn Biol Med.* **2010**;29(1-2):9-18.
165. **Berman E, Carter HB, House D.** Observations of Syrian hamster fetuses after exposure to 2450-MHz microwaves. *J Microw Power*, **1982**;17(2):107-12.
166. **El-Sayed A, Badr HS, Yahia R, Salem SM, Kandil AM.** Effects of thirty minute mobile phone irradiation on morphological and physiological parameters and gene expression in pregnant rats and their fetuses. *African Journal of Biotechnology*, **2011**;10(26):19670-19680.
167. **Tabrah FL, Ross P, Hoffmeier M, Gilbert F Jr.** Clinical report on long-term bone density after short-term EMF application. *Bioelectromagnetics.* **1998**;19(2):75-8.
168. **Hadjidakis JD, Androulakis II.** Bone remodeling. *Ann NY Acad Sci.* **2006**;1092:385-396.
169. **Leibbrandt A, Penninger JM.** RANK/RANKL: Regulators of immune responses and bone physiology. *Ann NY Acad Sci.* **2008**;1143. 123-150.
170. **Sims NA.** Influences of the IL-6 cytokine family on bone structure and function. *Cytokine.* **2021**;146:155655.
171. **Chalidis B, Sachinis N, Assiotis A, Maccauro G.** Stimulation of bone formation and fracture healing with pulsed electromagnetic fields: biologic responses and clinical implications. *Int J Immunopathol Pharmacol.* **2011**;24(1 Suppl 2):17–20.
172. **Luben RA, Cain CD, Chen MC, Rosen DM, Adey WR.** Effects of electromagnetic stimuli on bone and bone cells in vitro: inhibition of responses to parathyroid hormone by low-energy low-frequency fields. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **1982**;79:4180–4184.
173. **Chang WHS, Chen LT, Sun JS, Lin FH.** Effect of pulse-burst electromagnetic field stimulation on osteoblast cell activities. *Bioelectromagnetics*, **2004**;25(6):457–465.
174. **Ferroni L, Tocco I, De Pieri A, Menarin M, Fermi E, Piattelli A, et al.** Pulsed magnetic therapy increases osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells only if they are pre-committed. *Life Sci.* **2016**;152:44-51.

ÖZGEÇMİŞ

19...renimini
El...tesi Fen
Fa...Erciyes
Ür...Lisans
pro...iversitesi
Sa...8 yılında
me...Biyofizik
Ar...İngilizce
bilmektedir.