



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA
TEZİ**

**RADYOFREKANS ALANLARIN İNSAN
KOLOREKTAL KARSİNOM HÜCRELERİNDE
KASPAZ-BAĞIMLI APOPTOZ ÜZERİNE ETKİLERİ**

ARIN TOMRUK

BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

MAYIS 2017



**RADYOFREKANS ALANLARIN İNSAN KOLOREKTAL KARSİNOM
HÜCRELERİNDE KASPAZ-BAĞIMLI APOPTOZ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Arın TOMRUK

**DOKTORA TEZİ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MAYIS 2017

Arın TOMRUK tarafından hazırlanan “Radyofrekans Alanların İnsan Kolorektal Karsinom Hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz Üzerine Etkileri” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Biyofizik Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

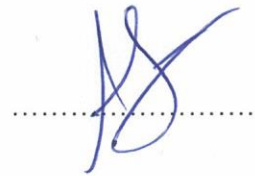
Danışman: Doç. Dr. Göknur GÜLER ÖZTÜRK
Biyofizik Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Başkan : Prof. Dr. Feride İffet ŞAHİN
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Doç. Dr. Aylin SEPİCİ DİNÇEL
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Doç. Dr. Ayşe Begüm TEKİNAY
Malzeme Bilimleri ve Nanobiyoteknoloji Bölümü, Bilkent Üniversitesi,
UNAM Araştırma Enstitüsü
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Doç. Dr. İsmail Cengiz KOÇUM
Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı, Başkent Üniversitesi Mühendislik Fakültesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Tez Savunma Tarihi: 09 /05 /2017

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

Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

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

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

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



Arın TOMRUK

09/05/2017

RADYOFREKANS ALANLARIN İNSAN KOLOREKTAL KARSİNOM HÜCRELERİNDE
KASPAZ-BAĞIMLI APOPTOZ ÜZERİNE ETKİLERİ
(Doktora Tezi)

Arın TOMRUK

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mayıs 2017

ÖZET

Radyofrekans (RF) ve Mikrodalga (MW) radyasyona kısa süreli ya da uzun süreli maruziyetler; toplum ve çevre sağlığı üzerindeki olumlu/olumsuz sağlık ve biyolojik etkileri ya da oluşturabilecekleri riskler açısından henüz netlik kazanamamış, tartışmaya açık konular arasında yer alsa dahi Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından 2011 yılında RF alanları insanlarda kanser oluşturmaya mümkün olan Grup 2B sınıfına dahil etmiştir. Kanser gelişim süresinde; tümör baskılayıcı fonksiyon, DNA onarımı ve apoptoz kritik önem taşımaktadır. Kanser hücreleri bu süreçte programlanmış hücre ölümüne karşı direnç geliştirmektedir. Bu nedenle, radyo frekans alanların kanserin oluşumu ya da tedavi edici etkisinin araştırılması söz konusu olduğunda; öncelik, Elektromanyetik (EM) alanların apoptoz mekanizması üzerindeki olası etkilerini araştırmak yaklaşımlardan biri olmalıdır. Çalışmada, insan kolorektal adenokarsinoma hücre hattı olan HT-29 hücreleri kullanıldı. HT-29 hücreleri, farklı frekanslarda [1800 MHz; 2100 MHz; 2600 MHz] ve farklı uygulama sürelerinde (3 saat sürekli, 6 saat kesikli [3saat RF Alan Maruziyet sistemi açık /1saat RF Alan Maruziyet sistemi kapalı/3saat RF Alan Maruziyet sistemi açık], 6 saat sürekli) RF Alanlara maruz bırakılarak, programlı hücre ölümü yolağı ve sağkalım mekanizmalarında aktif rol oynayan 4 Kaspazın [Başlatıcı Kaspaz (Kaspaz-8; Kaspaz-9), Uyarıcı Kaspaz (Kaspaz-3) ve Yangı Kaspaz (Kaspaz-12)] gen ifadenme düzeyleri kantitatif real time PCR yöntemi ile SYBR Green I boyası kullanılarak analiz edilmiştir. Kaspaz-bağımlı apoptoz süreci değerlendirildiğinde; 2100 MHz RF radyasyonun uygulanan 3 saat sürekli ve 6 saat kesikli maruziyet sürelerinde Başlatıcı Kaspazlar olan Kaspaz-8 ve Kaspaz-9' un gen ifadenme düzeyinde anlamlı seviyede artış olduğu tespit edilmiştir. Kaspaz-3' ün gen ifadenme düzeyinin ise sadece 6 saat kesikli maruziyet süresinde anlamlı bir artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bu doğrultuda; 2100 MHz RF radyasyonun hem ölüm reseptör yolağı Başlatıcı Kaspazı olan Kaspaz-8' i, hem de iç mitokondriyal yolağı Başlatıcı Kaspazı olan Kaspaz-9' u aktive edebileceği, Başlatıcı Kaspazların 3 saat maruziyet sonrasında Uyarıcı Kaspaz olan Kaspaz-3' ü aktive edebileceği yönünde bir görüş belirtilebilmektedir. Ancak; Kaspaz-12' nin gen ifadenme düzeyinde kendi negatif kontrol ve sham gruplarına göre bir değişim olmaması, Kaspaz-9 ve Kaspaz-3 aktivasyonunun Endoplazmik Retikulum Stresine bağlı gelişen bir apoptoz olmadığını göstermektedir. Apoptoz birçok patolojik ve fizyolojik olayda etkin rol almaktadır. Bu nedenle apoptotik sürece müdahale ederek yeniden düzenlenmesi, önemli tedavi yöntemlerini gündeme getirebilmektedir. Bu tez çalışması, Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi tarafından desteklenen **01/2013-17 proje kodlu Doktora Tez projesinden** temin edilen **Hücre Hattı ve Hücre Hattına ait Besiyeri**; 01/2013-17 proje kodlu Doktora Tez projesi ile **eş zamanlı çalışılması** planlanan **01/2015-10 proje kodlu Bağımsız Araştırma projesinden** temin edilen **Kaspaz gen ekspresyon kitleri, Hücre Hattına ait Besiyeri ve laboratuvar sarf malzemeleri** kullanılarak tamamlanmıştır.

Bilim Kodu : 1008
Anahtar Kelimeler : Radyofrekans alan, HT-29, apoptoz, kaspaz aktivasyonu, in vitro
Sayfa : 114
Danışman : Doç. Dr. Göknur GÜLER ÖZTÜRK

THE EFFECTS OF RADIOFREQUENCY FIELDS ON CASPASE-DEPENDENT APOPTOSIS IN
HUMAN COLORECTAL CARCINOMAS CELLS
(PhD Thesis)

Arin TOMRUK

GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES
May 2017

ABSTRACT

Although effects of exposure to radiofrequency (RF) and microwave (MW) radiation for short and long periods of time on environmental health and community health have not been clarified yet; World Health Organisation (WHO) and International Agency for Research on Cancer (IARC) included exposure to RF fields in Group 2B, which can cause cancer in 2011. Tumor suppressing function, DNA repair and apoptosis have critical importance in the developmental period of cancer. In this process, cancer cells develop resistance to programmed cell death. Therefore, when it comes to researching the cancer causing or curing effects of radio frequency fields, an approach to be adopted should be to first study the probable effects of EM fields on apoptosis mechanism. This study uses HT-29 cells- which is a human colorectal adenocarcinoma cell line. HT-29 cells were analysed in differing frequencies [1800 MHz; 2100 MHz; 2600 MHz] and by exposing the respondents to RF fields in differing lengths of application (3 hours continuously, 6 hours discontinuously [RF field exposition system is on for 3 hours/ it is off for 1 hour/ it is on for 3 hours], 6 hours continuously) and by analysing the expression of caspases (caspase-8; caspase-9, caspase-3 and caspase-12) which play active roles in cell death path and in survival mechanisms through real time PCR method. It was found gene expression level of initiator caspases (caspases-8 and caspases-9) significantly increased when 2100 MHz RF radiation was applied for 3 hours continuously and 6 hours intermittently. Caspase-3 gene expression levels were, however, found to increase significantly only during 6 hour intermittent exposure. Accordingly, it can be said that 2100 MHz RF radiation can activate both caspase-8 - death receptor path starter- and caspase-9 – internal mitochondrial path starter caspase,- and that the starter caspases can activate caspase-3 after 3 hours of exposure. Yet, the fact that there was no change in gene expression levels of caspase-12 according to its own negative control and sham groups indicated that caspase-9 and caspase-3 activation was not developing apoptosis due to endoplasmic reticulum stress. Apoptosis plays active roles in many pathological and physiological actions. Therefore, interfering in the apoptotic process and re-arranging it can bring new methods of treatment into discussion. This thesis was completed by using **Cell Line and Cell Line Medium** obtained from the project for doctoral thesis supported by Gazi University Unit of Scientific Research Projects and carrying **the project code of 01/2013-17** and from **Caspase Gene Expression Kids, Cell Line Medium and Laboratory Consumables-** an independent research project with the project code of 01/2015-10 and which was planned to be conducted synchronally with doctoral thesis project carrying the project number 01/2013-17.

Science code : 1008
Key words : Radiofrequency field, HT-29, apoptosis, caspase activation, in vitro
Number of pages : 114
Advisor : Assoc. Prof. Dr. Gökür GÜLER ÖZTÜRK

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans ve Doktora Eğitimim süresince akademik kişiliğinin yanı sıra insani yönüyle de her anlamda örnek aldığım, eğitimim süresince bilgi, birikim ve desteğini hiçbir zaman benden esirgemeyen çok değerli Danışman Hocam Doç. Dr. Gökür GÜLER ÖZTÜRK' e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmanın yapılmasına olanak sağlayan Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Feride İffet ŞAHİN' e ve çalışmalarımda bilgisini desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Yunus Kasım TERZİ' ye en içten teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımda destek olan tüm Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AbD Uzman ve akademisyen arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Güven ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim, beni bugünlere fedakarlıklarla getiren çok değerli Halalarım Sema TOMRUK ve Yıldız TOMRUK' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AbD laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi tarafından desteklenen **01/2013-17 proje kodlu Doktora Tez projesinden** temin edilen **Hücre Hattı ve Hücre Hattına ait Besiyeri**; 01/2013-17 proje kodlu Doktora Tez projesi ile **eş zamanlı çalışılması** planlanan **01/2015-10 proje kodlu Bağımsız Araştırma projesinden** temin edilen **Kaspaz gen ekspresyon kitleri, Hücre Hattına ait Besiyeri ve laboratuvar sarf malzemeleri** kullanılarak tamamlanmıştır.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Elektromanyetik Dalgalar ve Spektrum	5
2.2. Radyofrekans Alanlar	6
2.3. Radyofrekans Alan Kaynakları	7
2.3.1. Doğal radyofrekans alan kaynakları	7
2.3.2. Yapay radyo frekans alan kaynakları	8
2.4. Apoptoz	21
2.5. Kanser Oluşum Mekanizmaları	25
2.5.1. Sinyal iletim yolları	26
2.6. Kolorektal Kanser	29
2.7. Radyofrekans Alan-Kanser İlişkisi	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	37
3.1.1. Hücre hattı	37
3.1.2. Kullanılan cihazlar.....	37
3.1.3. Hücre kültürünün hazırlanması	40
3.1.4. Hücre pasajlama işlemi.....	41

	Sayfa
3.1.5. Tripan mavisi boyama yöntemi ile canlı ve ölü hücre oranının tespiti	41
3.1.6. Kantitatif Gerçek Zamanlı (Real Time) PZR, yöntemi ile kaspaz genlerinin ifadelenmesi	43
3.1.7. RF alan maruziyet grupları	51
4. BULGULAR	55
4.1. Farklı Frekanslarda Uygulanan RF E Alan Optimizasyonu	55
4.2. Farklı Frekans ve Uygulama Sürelerinde RF Alanlara Maruz Bırakılan İnsan Kolorektal Karsinoma Hücrelerinde Hücre Canlılığının Tripan Mavisi Boyama Yöntemi ile Değerlendirilmesi	56
4.3. Farklı Frekans Ve Uygulama Sürelerinde RF Alanlara Maruz Bırakılan İnsan Kolorektal Karsinoma Hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz'un Başlıca 4 Gen İfadelenmesi Üzerinden İncelenmesi	59
4.3.1. Farklı Frekanslarda RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde kaspaz-8; Kaspaz-9; Kaspaz-3; Kaspaz-12 genlerinin ifadelenme düzeylerinin kantitatif değerlendirmesi: 1800 MHz Frekans RF radyasyon maruziyeti	60
4.3.2. Farklı Frekanslarda RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde kaspaz-8; kaspaz-9; kaspaz-3; kaspaz-12 genlerinin ifadelenme düzeylerinin kantitatif değerlendirmesi: 2100 MHz frekans RF radyasyon maruziyeti	66
4.3.4. Farklı Frekanslarda RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde kaspaz-8; kaspaz-9; kaspaz-3; Kaspaz-12 genlerinin ifadelenme düzeylerinin kantitatif değerlendirmesi: 2600 MHz frekans RF radyasyon maruziyeti	73
4.4. Farklı Frekans ve Uygulama Sürelerinde RF Alanlara Maruz Bırakılan İnsan Kolorektal Karsinoma Hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz'un Başlıca 4 Gen İfadelenmesi Üzerinden İncelenmesi:	79
4.4.1. 1800 MHz RF radyasyona farklı uygulama sürelerinde maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde başlatıcı-uyarıcı-yangı kaspazların gen ifadelenme düzeyleri	79
4.4.2. 2100 MHz RF radyasyona farklı uygulama sürelerinde maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde başlatıcı-uyarıcı-yangı Kaspazların gen ifadelenme düzeyleri	81
4.4.3. 2600 MHz RF radyasyona farklı uygulama sürelerinde maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde başlatıcı-uyarıcı-yangı kaspazların gen ifadelenme düzeyleri	82

	Sayfa
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	85
KAYNAKLAR	97
ÖZGEÇMİŞ	107

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Radyofrekans alan kaynaklarının frekans, dalga boyu ve enerjileri.....	8
Çizelge 2.2. ICNIRP 1998 yönergesi ile IEEE C95.1-2005 standardının karşılaştırılması.....	13
Çizelge 3.1. Vektör sinyal jeneratörünün teknik özellikleri.....	38
Çizelge 3.2. Horn antenin teknik özellikleri	39
Çizelge 3.3. Template primer karışımı.....	46
Çizelge 3.4. Çoklu reaksiyonlar için hazırlanan master mixler	46
Çizelge 3.5. Negatif kontrol reaksiyonu hazırlanışı.....	47
Çizelge 3.6. Semi-kantitatif gerçek zamanlı PZR yöntemi ile analiz edilen genlerin listesi ve primer dizileri	50
Çizelge 3.7. RT-PCR Reaksiyonu koşulları	50
Çizelge 3.8. 1800 MHz RF alan maruziyet deney grupları: 1. Deney Grupları	52
Çizelge 3.9. 2100 MHz RF alan maruziyet deney grupları: 2. Deney Grupları	52
Çizelge 3.10. 2600 MHz RF alan maruziyet deney grupları: 3. Deney Grupları	53
Çizelge 4.1. Uluslararası iyonlaştırıcı olmayan radyasyondan korunma komitesi (ICNIRP)'nin belirlediği sınır değerler	55
Çizelge 4.2. Çalışmada uygulanan RF alanların E ve B alan, güç yoğunluğu ölçüm değerleri	56
Çizelge 4.3. 1800 MHz, 2100 MHz ve 2600 MHz limit değerleri	56
Çizelge 4.4. 1800 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: <i>Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyleri (Ct değeri±SD)</i>	60
Çizelge 4.5. 1800 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: <i>Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyleri (Ct değeri±SD)</i>	62
Çizelge 4.6. 1800 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: <i>Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyleri (Ct değeri±SD)</i>	63

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.7. 1800 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: <i>Endoplazmik Retikulum Stresinin İndüklediği Apoptoz-Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyleri (Ct değeri±SD)</i>	65
Çizelge 4.8. 2100 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: <i>Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyleri (Ct değeri±SD)</i>	67
Çizelge 4.9. 2100 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: <i>Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyleri (Ct değeri±SD)</i>	68
Çizelge 4.10. 2100 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: <i>Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyleri (Ct değeri±SD)</i>	70
Çizelge 4.11. 2100 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: <i>Endoplazmik Retikulum Stresinin İndüklediği Apoptoz-Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyleri (Ct değeri±SD)</i>	71
Çizelge 4.12. 2600 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: <i>Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyleri (Ct değeri±SD)</i>	73
Çizelge 4.13. 2600 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: <i>Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyleri (Ct değeri±SD)</i>	75
Çizelge 4.14. 2600 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: <i>Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyleri (Ct değeri±SD)</i>	76
Çizelge 4.15. 2600 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: <i>Endoplazmik Retikulum Stresinin İndüklediği Apoptoz-Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyleri (Ct değeri±SD)</i>	78

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Elektromanyetik dalga	5
Şekil 2.2. Elektromanyetik spektrum.....	5
Şekil 2.3. Radyofrekans alan-yakın alan ve uzak alan bölgeleri	7
Şekil 2.4. Yapay radyofrekans alan kaynakları	8
Şekil 2.5. Radyofrekans alanların biyolojik dokularla etkileşim mekanizmaları	10
Şekil 2.6. Su molekülü-RF E alan etkileşimi.....	11
Şekil 2.7. DNA hasarı sebep ve sonuçları (Hoeijmakers, 2009).....	21
Şekil 2.8. Apoptoz-ölüm reseptör ve mitokondriyal yolları.....	22
Şekil 3.1. Radyofrekans radyasyon maruziyet sistemi	37
Şekil 3.2. Vektör sinyal jeneratörü.....	38
Şekil 3.3. Horn anten	39
Şekil 3.4. Elektromanyetik alan ölçüm cihazı (NARDA EMR 300 cihazı) ve probu ...	40
Şekil 3.5. Thoma lamı-hücre canlılık sayımı	42
Şekil 3.6. Canlı hücre ve ölü hücrenin gösterimi.....	42
Şekil 3.7. Çalışmada yapılan absorbans ölçümleri ve konsantrasyon tayinlerine örnekler.....	44
Şekil 3.8. Çalışmada yapılan absorbans ölçümleri ve konsantrasyon tayinlerine örnekler.....	45
Şekil 3.9. Çalışmada yapılan absorbans ölçümleri ve konsantrasyon tayinlerine örnekler.....	45
Şekil 4.1. 1800 MHz, 2100MHz ve 2600 MHz radyofrekans alanlara 3 saat boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde hücre canlılığı yüzde oranları	57
Şekil 4.2. 1800MHz, 2100MHz ve 2600 MHz radyofrekans alanlara 6 saat kesikli [3 saat RF maruziyet sistemi açık/1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/3 saat RF maruziyet sistemi açık] maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde hücre canlılığı yüzde oranları	58
Şekil 4.3. 1800MHz, 2100MHz ve 2600MHz radyofrekans alanlara 6 saat sürekli maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde hücre canlılığı yüzde oranları	59

Şekil	Sayfa
Şekil 4.4. 1800MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi [3 saat sürekli; 6 saat kesikli; 6 saat sürekli] boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyi	61
Şekil 4.5. 1800MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi (3 saat sürekli, 6 saat kesikli, 6 saat sürekli) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyi	62
Şekil 4.6. 1800 MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi (3 saat, 6 saat: 3 saat RF maruziyet sistemi açık/ 1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/ 3 saat RF maruziyet sistemi açık, 6 saat) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyi	64
Şekil 4.7. 1800 MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi (3 saat, 6 saat: 3 saat RF maruziyet sistemi açık/ 1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/ 3 saat RF maruziyet sistemi açık, 6 saat) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyi	65
Şekil 4.8. 2100MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi[3 saat sürekli, 6 saat kesikli, 6 saat sürekli] boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyi	67
Şekil 4.9. 2100MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi[3 saat sürekli, 6 saat kesikli, 6 saat sürekli] boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyi	69
Şekil 4.10. 2100 MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi (3 saat, 6 saat: 3 saat RF maruziyet sistemi açık/ 1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/ 3 saat RF maruziyet sistemi açık, 6 saat) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyi	70
Şekil 4.11. 2100 MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi (3 saat, 6 saat: 3 saat RF maruziyet sistemi açık/ 1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/ 3 saat RF maruziyet sistemi açık, 6 saat) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyi	72
Şekil 4.12. 2600MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi(3 saat sürekli, 6 saat kesikli, 6 saat sürekli) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyi	74
Şekil 4.13. 2600 MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi (3 saat, 6 saat: 3 saat RF maruziyet sistemi açık/ 1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/ 3 saat RF maruziyet sistemi açık, 6 saat) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyi	75
Şekil 4.14. 2600 MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi (3 saat, 6 saat: 3 saat RF maruziyet sistemi açık/ 1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/ 3 saat RF maruziyet sistemi açık, 6 saat) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyi	77

Şekil	Sayfa
Şekil 4.15. 2600 MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi (3 saat, 6 saat: 3 saat RF maruziyet sistemi açık/ 1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/ 3 saat RF maruziyet sistemi açık, 6 saat) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyi.....	78
Şekil 4.16. 1800 MHz radyofrekans radyasyona 3 saat boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-bağımlı apoptoz da yer alan başlıca 4 genin ifadenme düzeyleri	79
Şekil 4.17. 1800 MHz radyofrekans radyasyona 6 saat(3 saat RF maruziyet sistemi açık/ 1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/ 3 saat RF maruziyet sistemi açık) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde kaspaz-bağımlı apoptozda yer alan başlıca 4 genin ifadenme düzeyleri.....	80
Şekil 4.18. 1800 MHz radyofrekans radyasyona 6 saat boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde kaspaz-bağımlı apoptoz da yer alan başlıca 4 genin ifadenme düzeyleri	80
Şekil 4.19. 2100 MHz radyofrekans radyasyona 3 saat boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-bağımlı apoptoz da yer alan başlıca 4 genin ifadenme düzeyleri	81
Şekil 4.20. 2100 MHz radyofrekans radyasyona 6 saat(3 saat RF maruziyet sistemi açık/ 1 saat RF maruziyet sistemi kapalı / 3 saat RF maruziyet sistemi açık) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-bağımlı apoptoz da yer alan başlıca 4 genin ifadenme düzeyleri.....	81
Şekil 4.21. 2100 MHz radyofrekans radyasyona 6 saat boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-bağımlı apoptoz da yer alan başlıca 4 genin ifadenme düzeyleri	82
Şekil 4.22. 2600 MHz radyofrekans radyasyona 3 saat boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-bağımlı apoptoz da yer alan başlıca 4 genin ifadenme düzeyleri	82
Şekil 4.23. 2600 MHz radyofrekans radyasyona 6 saat (3 saat RF maruziyet sistemi açık/1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/3 saat RF maruziyet sistemi açık) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde kaspaz-bağımlı apoptoz da yer alan başlıca 4 genin ifadenme düzeyleri.....	83
Şekil 4.24. 2600 MHz radyofrekans radyasyona 6 saat boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-bağımlı apoptoz da yer alan başlıca 4 genin ifadenme düzeyleri.....	83
Şekil 5.1. Farklı frekanslarda Radyo frekans alanlara maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde olası apoptoz süreci.....	94

1. GİRİŞ

Dünyada ve Ülkemizde hızla gelişen ve yaygın bir kullanıma sahip olan Radyofrekans (RF)- Mikrodalga (MW) tabanlı kablosuz iletişim teknolojisinin ve bu teknolojiye ait cihazlardan yayılan iyonize olmayan (non-iyonizan) Elektromanyetik (EM) radyasyonun, toplum ve çevre sağlığı açısından herhangi bir sağlık etkisi oluşturup / oluşturmadığı halen tartışılan önemli konular arasında yer almaktadır. Bunun yanı sıra, araştırmacılar; iyonize (iyonizan) radyasyonda olduğu gibi, non-iyonizan EM alanların da tedavi amaçlı kullanılıp / kullanılamayacağı konusunda da araştırmalarını sürdürmektedirler.

Canlı organizmaların elektriksel yapısı; hücre zarlarının elektriksel özelliklerinden köken almaktadır. İnsan vücudundaki, hareketli biyoelektrik yükler de Biot-Savart yasası doğrultusunda manyetik (B) alan meydana getirmektedir. Buna ek olarak; göz: [AC B alan (0-10 Hz) 10^{-7} G], kalp: [AC B alan (0-40 Hz) 2×10^{-6} G], kas: [AC B alan iskelet kası (1-100 Hz) 10^{-7} G] gibi pek çok organın da, kendine ait doğal EM alanları mevcuttur (Bold, Toros, & Şen, 2003). Bu açıdan; insan vücudu kendine özgü elektriksel özelliğe sahip hücrelerden oluşan, adeta elektromanyetik bir makine olarak tanımlanabilmektedir. Bu elektromanyetik sistem, 1 – 250 μ V arasında çok küçük gerilimlerdeki elektriksel uyarılarla çalışan, 500.000 km'ye varan sinir ağına sahip dev bir elektriksel donanımdan meydana gelmektedir. Tüm canlı sistemler; Dünyanın doğal Elektrik (E) ve Manyetik (B) Alanları, Güneşten kaynaklı doğal radyasyon ve yıldızlar, kozmik mikrodalgalar ve doğal radyoaktivite ile büyük bir uyum içerisinde yaşamaktadır. Ancak bilim insanları; EM spektrumun 0 Hz – 300 GHz frekans aralığında yer alan yapay kaynaklardan (cep telefonu, baz istasyonları, mikrodalga fırınlar, radarlar, yüksek gerilim hatları (YGH), TV ve Radyo vericileri, bilgisayarlar, elektrikli ev aletleri, vb.) yayılan EM alan seviyelerinin; doğada var olan (Güneş, Dünya) EM alan seviyelerinden 1000 kat daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir (Yakymenko, Sidorik, Kyrylenko ve Chekhun, 2011). Bu doğrultuda; her ne kadar teknolojik gelişmeler, peşi sıra insanlar için pek çok yenilik ve kolaylık getirse de, oluşturdukları/oluşturabilecekleri EM kirlilik, insanın çevre doğal alanları ile arasındaki uyumun bozulmasına neden olabilmektedir.

Çevresel pek çok olumsuz faktörün yanı sıra, teknolojinin gelişimi ile birlikte doğal olmayan EM alanların da hızla artışı sonucunda; çeşitli kanser tiplerinin görülme sıklığında da artışın meydana gelmesi, bilim insanlarının EM alan - kanser arasındaki ilişkiyi

araştırmalarına neden olmuştur. Yapılan bu çalışmaların bir kısmı, EM alanlar ve kanser oluşumu arasında sıkı bir ilişki olduğunu gösterirken, bir kısmı ise var olan kanserlerin EM alanlarla tedavi edilebileceği dşncesini akla getirmektedir.

Kanser, % 85-90 evresel kanserojenlere, % 10-15'i ise kalıtıma bağlı olarak gelişen bir hastalıktır. Genetik bir hastalık olarak bilinmesine rağmen; hücreler karsinogenez sürecinde (“normal bir hücrenin, kanserli hücre haline gelmesi”) evresel faktörlerin de etkisiyle bazı biyolojik karakteristikler kazanabilmektedirler. Tümör hücreleri, aktif proliferasyon (oğalma) durumuna geçerken ve sürekli oğalıırken gelişme sinyallerini, kendileri üretilip bağımsız bir hücreye dönüşmektedirler. Hücre membranında yer alan reseptör tirozin kinazlar, sitoplazmik kısımlarında aktivasyondan sorumlu bir bölge içermektedirler. İstirahat halinde, bu reseptörlerin inaktif ve aktif konformasyonları denge halinde bulunmaktadır. Bu reseptörlere büyüme faktörleri bağlandıktan sonra, reseptörler aktifleşmekte ve sitoplazmadaki hedef proteinler ile etkileşerek sinyal iletimini gerçekleştirmektedirler. Bu reseptörler kendi kendilerini fosforile ederek aktivasyon sağlamaktadırlar. Ancak, karsinogenez sürecinde, tirozin kinaz aktivitesi ligand etkisinden bağımsız otofosforilasyonu sağlayan bir protein tarafından bozulabilmektedir. Sitoplazmik tirozin kinazların sürekli aktivasyonu ve onkogenik sinyal iletimi, transformasyon, tümör büyümesi, migrasyon-motilite ve invazyon artışı ile anjiyogenez gibi malign fenotipe özgü hücresel olayları hızlandırmaktadır (Doğan ve G, 2004). Bunlara ek olarak, reseptörler de veya sinyal aktarıcı proteinler de meydana gelen mutasyonlar veya bu proteinlerin aşırı üretimleri, hücrelerin büyüme faktörlerinden veya diğer mitotik faktörlerden bağımsız hale gelmesine ve böylece kendi başına giden hücre bölünmesine yol açmaktadır. Bu gen anormallikleri, genellikle dominant olup, kanser hücrelerinin en erken saptanan nitelikleri olarak sayılabilmektedir (zcan ve Dikmen, 2015).

Kanser hücrelerinde ortak bir özellik olarak, programlanmış hücre ölümüne karşı direnç gelişmektedir. DNA'nın kendini eşleme (replikasyon), DNA onarım ya da kromozom düzenleme aşamalarında oluşabilecek bir hata ile hücre döngüsü, durum düzelene kadar durmaktadır. Onarımı imknsız DNA hasarı ya da kromozomal hasarlarda ise hücreler apoptoza girmektedir. Apoptoz, farklı biyolojik olaylar sonucunda oluşan gereksiz, hasarlı ya da zararlı hücrelerin, enflamasyon olmaksızın yok edililişini sağlayarak, organizmanın i dengesinin devamlılığını sağlamaktadır. Fizyolojik ve patolojik birçok olayda hayati role sahip apoptoz, gerek biyokimyasal yöntemlerle gerekse genetik bileşenleri aracılığıyla ya

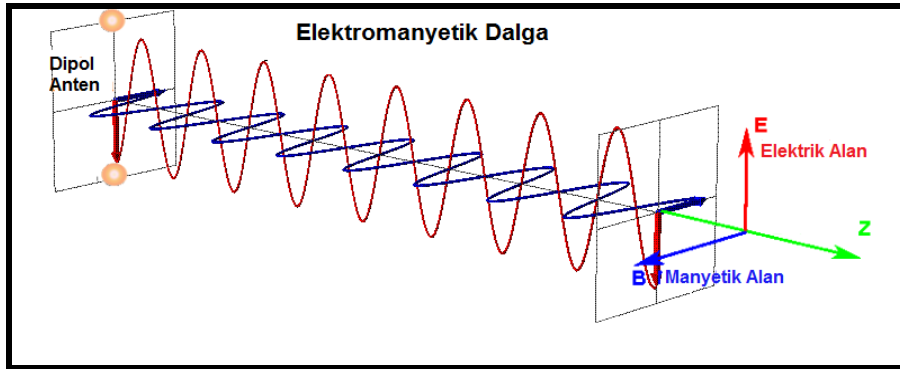
aktive ya da inhibe edilerek; kanser, AIDS ve otoimmün bozukluklar gibi pek çok hastalığın tedavisi için de olanaklar gündeme getirmektedir (Tomatır, 2003; Alberts ve diğerleri, 1994). Bu nedenle, radyofrekans alanların kanserin oluşumunda ya da tedavisinde etkisinin araştırılması söz konusu olduğunda öncelikle EM alanların apoptoz mekanizması üzerindeki olası etkilerini araştırmak yaklaşımlardan biri olmalıdır.

Bu amaçla bu çalışmada da, radyofrekans alanların farklı şiddet ve farklı uygulama sürelerinde oluşturabileceği değişimlerin araştırılması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

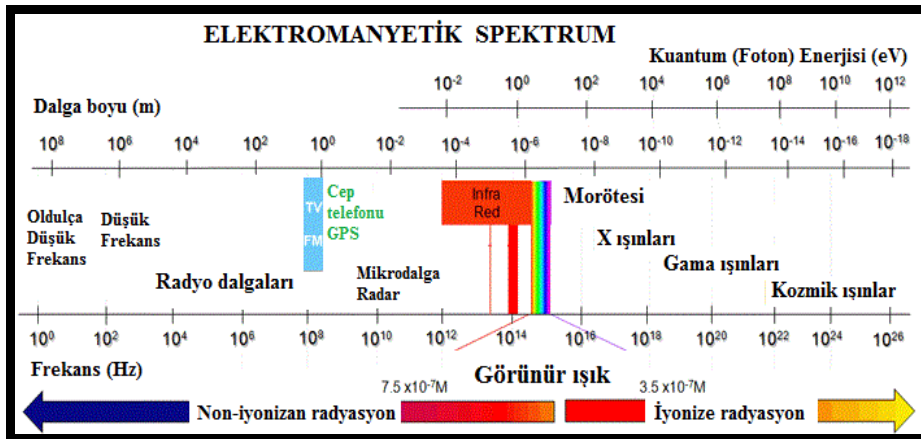
2.1. Elektromanyetik Dalgalar ve Spektrum

Elektromanyetik dalga; ışımının dalga teorisine göre, uzayda veya maddesel bir ortamda yayılan ve salınım yapan elektrik ve manyetik alanın oluşturduğu kabul edilen dalgalara verilen addır. Sinüzoidal olarak ilerleyen EM dalgasında birbirini takip eden iki tepe noktası arasındaki uzaklık, dalga boyu (λ) olarak tanımlanmaktadır. Elektromanyetik dalganın frekansı (f) ise, birim zamandaki titreşim sayısı olarak tanımlanmaktadır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Elektromanyetik dalga

Elektromanyetik dalgalar frekanslarına göre farklı fiziksel özellikler göstermektedirler. Frekans veya dalga boylarına göre adlandırılarak bir cetvel halinde sıralanmalarına Elektromanyetik Spektrum adı verilmektedir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Elektromanyetik spektrum

Elektromanyetik spektrumda; elektromanyetik dalgalar başlıca 9 ana başlıkta sınıflandırılmıştır: Bunlar düşük frekanstan yüksek frekansa doğru oldukça düşük frekans (Extremely Low Frequency, ELF), düşük frekans (Low Frequency, LF), radyo dalgaları (Radiofrequency, RF), mikrodalga (Microwave, MW), kızılötesi (Infrared, IR), görünür ışık, morötesi (Ultraviolet, UV), X-ışınları ve Gama (γ) ışınlarıdır. Mor ötesi radyasyonun bir kısmı ile X-ışınları ve Gama ışınları iyonize radyasyon olarak tanımlanır (Stedwell ve Polfer, 2013) .

Bu çalışmada; 1800 MHz, 2100 MHz, 2600 MHz frekanslarındaki Radyofrekans alanların kanser hücreleri üzerindeki etkileri incelenmiştir.

2.2. Radyofrekans Alanlar

Radyofrekans alanlar 3 kHz-300 GHz frekansları aralığındaki elektromanyetik alanlardır. Sahip oldukları enerji ile biyolojik yapılarda iyonlaşmaya neden olmadıkları için; elektromanyetik spektrumun non-iyonizan bölümünde yer almaktadırlar.

Radyofrekans alanları kaynağına olan uzaklığa bağlı olarak; yakın alan ve uzak alan olmak üzere iki kategoride sınıflandırabilmemiz mümkündür. Bu uzaklık Rayleigh yaklaşımı ile hesaplanmaktadır.

λ : kaynağın oluşturduğu EM alanın dalga boyu,

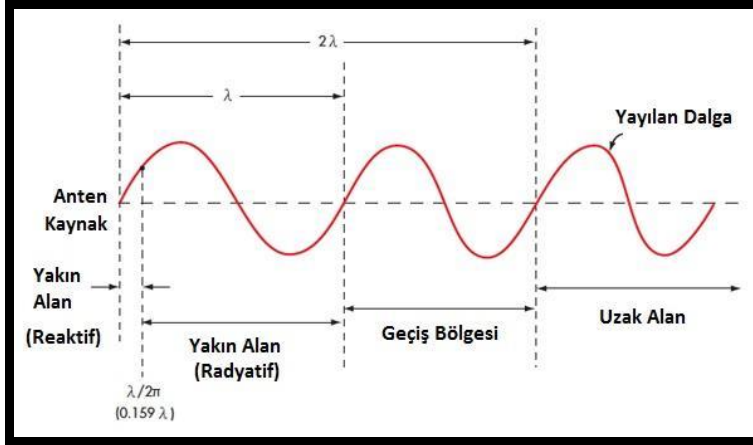
D: antenin maksimum uzunluğu,

R: Kaynağa olan uzaklık olmak üzere

Eğer $R > 2D^2/\lambda$ ise, bu mesafe uzak alan (far field), kaynak ile uzak alan arasında kalan bölge ise yakın alan (near field) olarak tanımlanır (Matthes, 1996) (Şekil 2.3). Yakın alana; kaynakla birebir ilgilenen kişiler, genellikle çalışanlar maruz kalırlar. Yakın alan kendi içinde Reaktif bölge ve Fresnel bölgesi olmak üzere iki kısma daha ayrılır:

Reaktif yakın alan bölgesinde, EM alan değerini hesaplamak ya da güç yoğunluğu (S) cinsinden söylemek mümkün değildir.

Fresnel yakın alan bölgesi ise reaktif yakın alan bölge ile uzak alan arasında kalan bölgedir.



Şekil 2.3. Radyofrekans alan-yakın alan ve uzak alan bölgeleri

Uzak alan ise düzlem dalga yaklaşımının yapılabildiği bölgedir. Bu bölgede, elektromanyetik dalgaların yayılımı genellikle birbirine dik olup, bu dalgaların ölçümü yapılabilmekte ve hesaplanabilmektedir [Fresnel zone-plate].

Bu araştırmada, radyofrekans alanların uzak alan etkisini araştırılmıştır.

2.3. Radyofrekans Alan Kaynakları

Radyofrekans alan kaynakları, doğal kaynaklar ve yapay kaynaklar olmak üzere iki grupta toplanabilir. RF alan kaynaklarının biyolojik etkileri; maruziyet süresi, maruz kalınan alanın güç yoğunluğu, frekansı, polarizasyonu, maruz bırakılan bölgenin yakın alan ya da uzak alan oluşu, maruz kalan canlının vücut boyutları gibi faktörlere bağlıdır. Radyasyondan korunmak için; radyasyon kaynağının fiziksel özellikleri, alan özellikleri ve bu alanların biyolojik sistemlerle etkileşiminin bilinmesi gerekmektedir (Matthes, 1996).

2.3.1. Doğal radyofrekans alan kaynakları

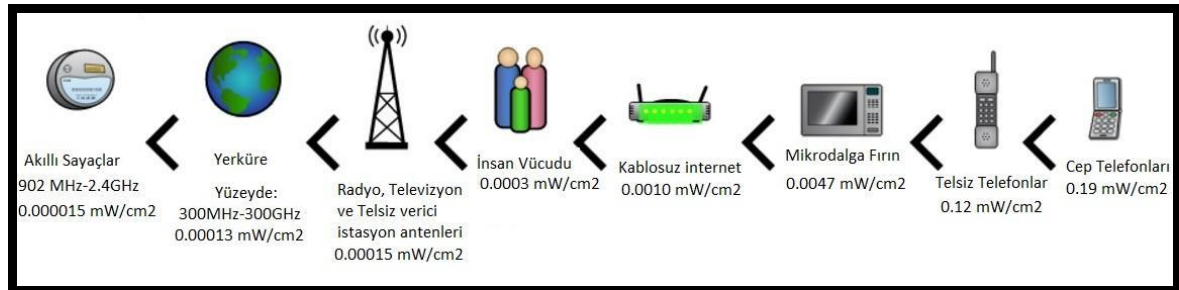
Dünyanın özelliklerinden, Güneşten, atmosferden ve uzayın derinliklerinden kaynaklı elektromanyetik alanlar mevcuttur. Dünyanın etrafındaki atmosfer, iyonosfer ve magnetosfer, derin uzaydan kaynaklı radyasyona karşı dünyayı korur. Bu korumayı delerek geçen elektromanyetik alan frekans aralığı 10 MHz – 37,5 GHz'dir. 300 GHz frekansa kadar dünyanın yaydığı radyasyonun güç yoğunluğu (S) 0,003 W/m²'dir (Matthes, 1996; Michaelson ve Lin, 1987; Lin, 1994).

2.3.2. Yapay radyo frekans alan kaynakları

Yapay radyofrekans alan kaynakları, insan eliyle üretilmiş kaynaklardır. Bu radyasyon kaynakları evlerde kullanılan mikrodalga fırın, cep telefonu ve telsiz telefonlardır. Çevremizde ise, iletişim için ya da farklı amaçlarla kullanılan askeri radarlar, trafik radarları, baz istasyonları, TV ve Radyo vericileri, uzaktan kumanda cihazları, Radyofrekans'lı Kimlik Belirleme (RFID - Radiofrequency Identification), güvenlik sistemleri, medikal alanda kullanılan diatermi üniteleri ve MRI cihazları; sanayide kullanılan eritme fırınları başlıca radyofrekans alan kaynaklarıdır (Zamanian ve Hardiman, 2005). Günümüzde en yaygın kullanıma sahip yapay radyofrekans alan kaynağı cep telefonlarıdır. Cep telefonları hem beyin gibi önemli ve hassas bir organa çok yakın mesafede kullanılmaktadır, hem de gelişme sürecinde bulunan çocuklar da dahil olmak üzere her yaştan bireyler tarafından çok yaygın bir şekilde kabul görmektedir. Başlıca radyofrekans alan kaynaklarının frekans, dalga boyu, güç yoğunlukları ve sahip oldukları enerjileri Çizelge 2.1 ve Şekil 2.4'de belirtilmiştir.

Çizelge 2.1. Radyofrekans alan kaynaklarının frekans, dalga boyu ve enerjileri

Radyofrekans Alan Kaynağı	Frekans (f)	Dalga Boyu (λ)	Enerji - E (eV)
Mikrodalga (MW)	1,6-30 GHz	187-10 mm	$0,66 \times 10^{-5}$ - $0,12 \times 10^{-3}$
TV, FM Radyo	54 -1600 MHz	5,55 m - 0,187 m	$0,22 \times 10^{-6}$ - $0,66 \times 10^{-5}$
Kısa Dalga	1605 - 54 MHz	187 - 5,55 m	66×10^{-8} - $0,22 \times 10^{-6}$
AM radyo	500 - 1500 kHz	600 -200 m	$2 - 6 \times 10^{-9}$



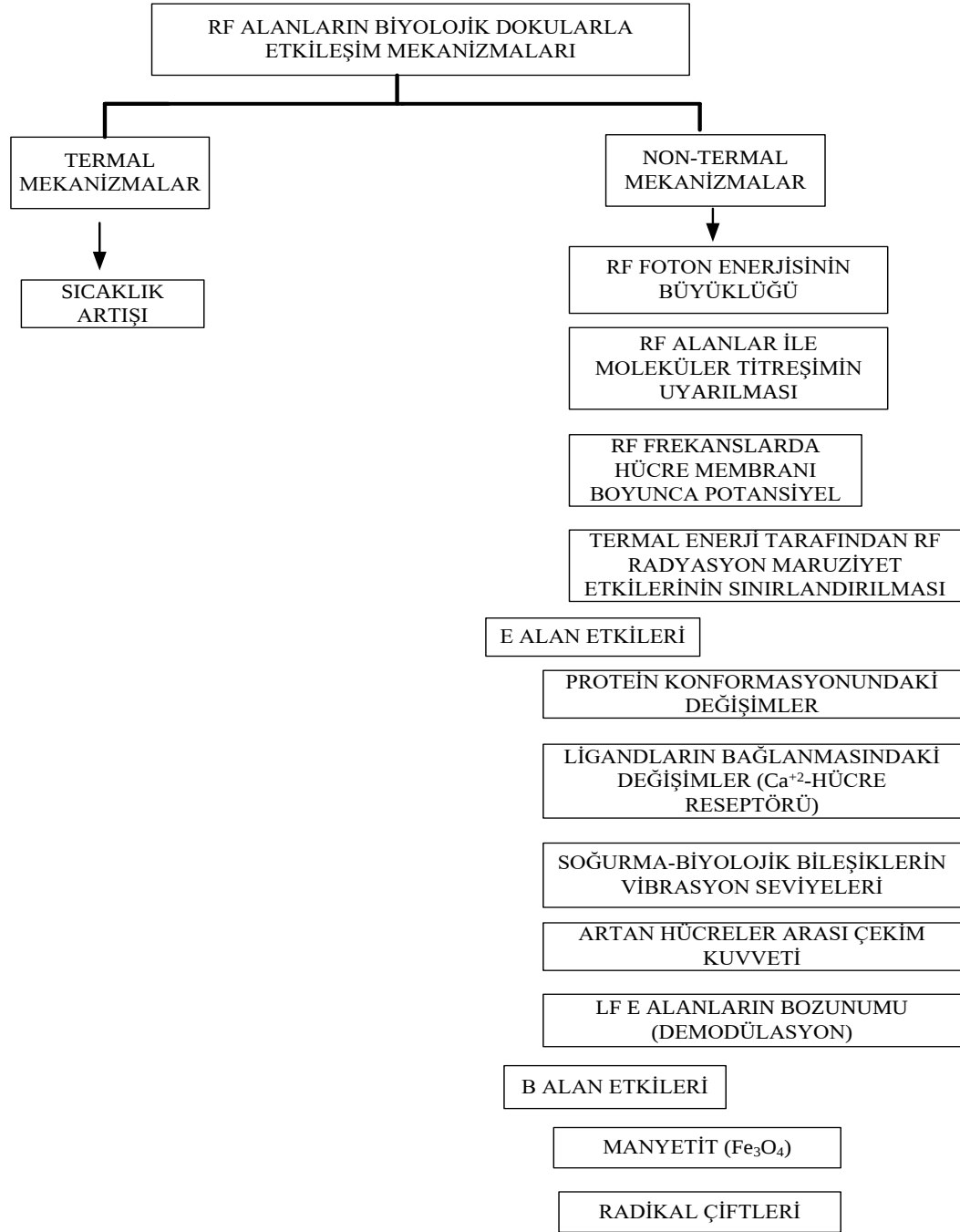
Şekil 2.4. Yapay radyofrekans alan kaynakları

RF alanların etki mekanizmaları ve güvenlik standartları

Cep telefonları, baz istasyonları, radyo-televizyon vericileri, radarlar gibi RF ve MW tabanlı kablosuz iletişim teknolojileri; çevre elektromanyetik kirlilik kaynaklarını oluşturabilmektedir. EM spektrumun non-iyonizan ışıma bölgesinde yer alan Radyofrekans (3 kHz – 300 MHz) ve Mikrodalga (300 MHz – 300 GHz) alanlarının kuantum enerjileri ($1,24 \times 10^{-3}$ – $4,12 \times 10^{-5}$ eV); moleküller arası değişimlere neden olabilecek ya da genetik materyaldeki en zayıf kimyasal bağı (Van der Waals bağı 0,04-0,08 eV/molekül) kırabilecek enerjiden dahi oldukça düşük seviyede oldukları için canlı sistemler üzerinde doğrudan bir etki oluşturmamaları düşünülmektedir.

Canlı sistemlerde herhangi bir değişikliğe neden olabilecek minimal enerjiyi hesaplamak oldukça zordur. Bir yaklaşım doğrultusunda; insan vücudunun sağlıklı vücut sıcaklığı 36,5 °C, hasta iken vücut sıcaklığı 40 °C'ye kadar çıkmaktadır.

Bazı dokularda bu $\Delta T = 3,5$ °C sıcaklık farkı önemli etkilere neden olabilmektedir. Bu sıcaklık artışı $1,47 \times 10^{-4}$ eV'a karşılık gelmektedir (Stuchly, 1979). Bu doğrultuda; moleküler düzeydeki biyolojik etkileri henüz tam olarak kesinlik kazanmasa da, bilim insanları tarafından biyo-etki mekanizmaları; Termal ve Termal olmayan etkileşim mekanizmaları ile açıklanabilmektedir.

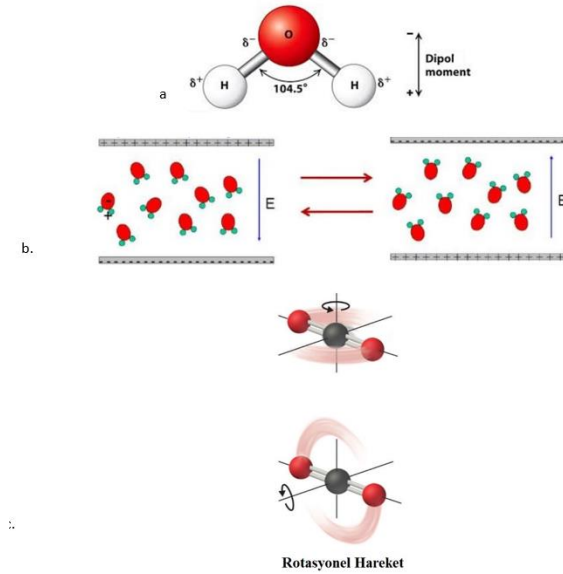


Şekil 2.5. Radyofrekans alanların biyolojik dokularla etkileşim mekanizmaları

Söz konusu mekanizmalarda; esas olarak E ve B alanların biyolojik dokularla etkileşimlerinin temel alındığı görülmektedir. **Termal etkileşim mekanizması**, çoğu biyolojik dokunun elektriksel iletkenliğine bağlı olarak soğurduğu RF enerjisi sonucunda doku ısısında artışın meydana gelmesi prensibine dayanmaktadır. Radyofrekans E alan bileşeni etkileştikleri biyolojik sistemlerde elektriksel yükleri harekete geçirerek salınımlı bir elektriksel akımın oluşmasına neden olmaktadır. Oluşan bu elektriksel akım, moleküler

hareketi dolayısıyla kinetik enerjiyi arttırarak yükler arasındaki enerji transferinin de (hızlı hareket eden yükler sahip oldukları enerjilerini daha yavaş hareket eden yüklere aktararak bu yüklerin daha hızlı hareket etmelerine neden olmaktadır.) artmasına neden olmaktadır (Balzano ve Sheppard, 2003). Böylece canlı sistemini oluşturan yüklerin hızlarının birbirlerine eşit olması sağlanarak, sistemdeki ısının yayılması ve bölgesel ısı artışlarının meydana geldiği görülmektedir.

Radyofrekans alanların biyolojik sistemler ile etkileşim mekanizmaları bir başka şekilde; **Alan-Dipol Etkileşimi** ile de açıklanabilmektedir. Canlı bir sisteme dışarıdan uygulanan RF/MW alanların E alan bileşeni; kalıcı bir dipol momente sahip su gibi molekülleri, alana paralel konumlandırma eğilimine girmektedir. Su gibi viskoziteye sahip moleküler dipollerin rastgele hareketleri, uygulanan E alanın etkisiyle rotasyonel harekete zorlanarak, alan doğrultusunda yönlendirilmeye çalışılmaktadır. Bu esnada bulundukları sıvı ortama enerji transferi gerçekleşmesi ile de ortamda ısı artışı meydana gelmektedir (Challis, 2005).



Şekil 2.6. Su molekülü-RF E alan etkileşimi

Radyofrekans / Mikrodalga alan maruziyetinden kaynaklı dokuda meydana gelen ısı artışı ve ardından gelişen ani sağlık etkilerine karşı; 1998 yılında Uluslararası İyonize Olmayan Radyasyondan Korunma Komisyonu [International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP)] 0 Hz - 300 GHz frekans aralığındaki EM alanlar için, Elektrik Elektronik Mühendisleri Enstitüsü [Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE)] ise 2006 yılında 3 kHz – 300 GHz frekans aralığındaki EM alanlar için

güvenlik limitleri içeren yönergeler yayınlamışlardır (The International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection, 1998). (The Institute of Electrical and Electronics Engineers Standards , 2005). Bu yönergelerden, 1998 yılında yayınlanan ICNIRP güvenlik limitleri; kısa-süreli ve acil sağlık etkilerini temel almaktadır. Acil sağlık etkileri; periferik sinirler ve kasların uyarılması, iletken nesnelerle temastan kaynaklı yaşanan şoklar ve yanıklar, EM alan maruziyeti süresince enerji soğurulmasından kaynaklı doku sıcaklığında meydana gelen ısı olarak belirtilmektedir (The International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection, 1998). Elektrik Elektronik Mühendisleri Enstitüsü'nün 2005 yılında yayınladığı yönergesinde, genel halkın yoğun bir şekilde maruz kaldığı E, B ve EM alanlara karşı özel sınırlamalar getirilmesi ve bu yönde önlemler alınması; ayrıca literatürdeki mevcut çalışmalardan elde edilen bulgular doğrultusunda, halkın maruz kaldığı indüklenmiş ve kontak akımlar neticesinde oluşan olumsuz sağlık etkilerinin en aza indirilmesi gerektiği konusunda 3 aşamalı güvenlik limitleri oluşturulması gerekliliği ifade edilmektedir. Özellikle; yönergede belirtilen ilk güvenlik limit değerleri (3 kHz-5 MHz frekans aralığı) elektrostimülasyon uygulaması ile meydana gelebilecek olumsuz etkileri en aza indirmeyi hedeflemektedir. İkinci belirtilen güvenlik limit değerleri (100 kHz- 300 GHz frekans aralığı) ısınma ile oluşabilecek olumsuz sağlık etkilerine karşı korumayı hedeflemektedir. Yönergede yer alan üçüncü güvenlik limit değerleri (0,1- 5 MHz olan geçiş frekans bölgesi) ise hem elektrostimülasyon, hem de ısısal etkiler sonucunda oluşabilecek olumsuz etkilere karşı korumayı hedeflemektedir (The Institute of Electrical and Electronics Engineers Standards, 2005). Geçiş bölgesinde, elektrostimülasyon temelli limitler genellikle düşük iş hacimli (duty cycle) maruziyetler için sınırlandırılırken, termal temelli limitler sürekli dalga alanları için sınırlandırılmaktadır. 10 MHz-10 GHz frekans aralığında yer alan temel sınırlamaların amacı vücutta meydana gelen aşırı ısınmaya engel olmaktır. Bu doğrultuda, Radyofrekans radyasyondan kaynaklanan bölgesel ısı artışı 1 °C' den az olacak güvenlik limitleri belirlenmektedir (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. ICNIRP 1998 yönergesi ile IEEE C95.1-2005 standardının karşılaştırılması

Parametre	Uluslararası İyonize Olmayan Radyasyondan Korunma Komisyonu (ICNIRP-1998)	Elektrik Elektronik Mühendisleri Enstitüsü (IEEE-C95.1-2005)
Frekans Aralığı	~ 100 kHz - 300 GHz	~ 100 kHz - 300 GHz
Tüm-vücut Rezonansının Tanımlanması	Evet	Evet
Dozimetrelerin dâhil edilmesi	Evet	Evet
DeneySEL literatür veri tabanı	Geniş	Çok Geniş (~ 1300 alıntı)
En önemli biyolojik etki noktası	Davranışsal Bozukluk (~1 °C'lık sıcaklık artışına bağlı)	Davranışsal Bozukluk (~1 °C'lık sıcaklık artışına bağlı)
Davranış bozukluklarına neden olan tüm-vücut ortalama SAR değerleri	1 - 4 W/kg	~ 4 W/kg
Tüm-vücut ortalama SAR değeri limitleri: ❖ Uygulanan Frekans Aralığı	Mesleki Maruziyet: 0,4 W/kg Genel Halk Maruziyeti : 0,08 W/kg ❖ 100 kHz-10 GHz	Kontrollü Çevre: 0,4 W/kg Eylem Düzeyi: 0,08 W/kg 100 kHz-3 GHz
Maksimum uzaysal-ortalama SAR değeri (Bölgesel maruziyet) • Ortalama Hacim • Ortalama Zaman	Mesleki Maruziyet: 10 W/kg Genel Halk Maruziyeti: 2 W/kg • Ortalama Hacim 10 gr doku (yakın) • Ortalama Zaman : Mesleki Maruziyet: 6 dak. Genel Halk Maruziyeti: 6 dak.	Kontrollü Çevre: 10 W/kg Eylem Düzeyi: 2 W/kg • Ortalama Hacim 10 gr doku (küp şeklinde) • Ortalama Zaman : Kontrollü çevre: 6 dak. Eylem Düzeyi: 30 dak.
Limitler (Kollar ve Bacaklar için) • Üst Limit • Alt Limit ❖ Uygulanabilir Frekans Aralığı Ortalama Zaman ($f > 100$ kHz) • Üst Limit • Alt Limit	Kollar-Bacaklar için; Üst Limit Değeri: 20 W/kg Alt Limit Değeri : 4W/kg ❖ 100 kHz $< f \leq 10$ GHz Ortalama Zaman: 6 dak. ($f \leq 10$ GHz) ❖ 300 GHz' de 10 sn' ye düşer. ❖ 300 GHz' de 10 sn' ye düşer.	El-ayak, Kulak kepçesi için; Üst Limit Değeri: 20 W/kg Alt Limit Değeri: 4W/kg ❖ 100 kHz $< f \leq 3$ GHz Ortalama Zaman: 6 dak. ($f \leq 3$ GHz) 300 GHz' de 10 sn' ye düşer. 6 dak. ($3 \text{ kHz} \leq f \leq 1.34 \text{ MHz}$) E^2 ve H^2 1.34 MHz $< f \leq 100$ MHz için farklı ortalama zamanlara sahiptirler; fakat ikisi de 100 MHz de 30 dak.' ya kadar eşittir. 100 MHz $< f \leq 5$ GHz arası için ortalama zaman 30 dak.' dır, ve 300 GHz' de 10 sn' ye düşer.
Limitler (İndüklenmiş ve Kontak Akımlar için) • Üst Limit • Alt Limit ❖ Uygulanabilir Frekans Aralığı	Kollar-Bacaklar için Üst Limit Değeri: 40 mA Alt Limit Değeri : 20 mA 100 kHz $\leq f \leq 110$ MHz	Her bir ayaktan yere Üst Limit Değeri: 90 mA Alt Limit Değeri: 20 mA 100 kHz $\leq f \leq 110$ MHz

Kaynak: (Gülersoy, 2009)

Radyofrekans radyasyona tüm vücut maruz kalan bir bireyde görülebilecek olası sağlık etkileri için eşik değer Özgül Soğurma Oranı (ÖSO; [Specific Absorption Rate, (SAR)]) olarak da bilinen 4 W/kg'dır. 1971 yılında, Herman P. Schwan; EM alan-canlı sistem etkileşim mekanizmasında belirleyici en uygun parametrenin doku içerisinde indüklenmiş akım yoğunluğu olduğunu ileri sürmüştür (Schwan, 1971). 1982 yılında, Amerikan Ulusal Standartlar Enstitüsü (American National Standards Institute, ANSI) RF güvenlik standardı için temel dozimetri parametresi olarak SAR'ı benimseyen ilk kuruluştur. SAR vücudun soğurduğu EM enerji veya vücudun enerji soğurma hızı olarak ifade edilir. Radyofrekans enerjiiyi soğuran vücudun 1 kg'ının sıcaklığını 1 °C artıran EM enerji miktarı 4 Watt'tır. Bu nedenle, standartların oluşturulmasında 4 W'luk SAR değeri biyolojik etki görülebilecek doz olarak kullanılmaktadır.

Elektrik alan şiddetinin ölçülmesi yöntemiyle yapılan SAR hesabı:

$$SAR = \frac{\sigma E_i^2}{\rho} \quad SAR = \frac{\sigma E_i^2}{\rho} \text{ ile ifade edilmektedir.}$$

E_i : V/ m cinsinden dokudaki elektrik alan şiddetinin etkin değeri

σ : S/m cinsinden vücut dokusu iletkenliği

ρ : kg/m³ cinsinden vücut dokusu yoğunluğunu belirtmektedir.

Bir noktadaki sıcaklığın zamanla artış oranı da;

$$SAR = c_i \frac{dT}{dt} \int t_0 \text{ ile hesaplanır.}$$

C_i : j/kg K cinsinden vücut doku ısı kapasitesi

dT/dt : K/s cinsinden vücut dokusu sıcaklığının başlangıç anındaki türevidir.

Güvenlik limitleri belirlenirken; bilimsel çalışmalarda dokudaki termal değişimi göstermek amacıyla gelişmiş matematiksel yöntemler kullanılarak bilgisayar ortamında hesaplanan SAR değeri baz alınarak 10 GHz frekansa kadar olan radyofrekans alanlar için maksimum kabul edilebilir sıcaklık artışı (olumsuz zaman-sıcaklık eşik değerleri) da belirlenmiştir. Güvenlik limit değerleri için belirleyici faktör olarak kabul edilen SAR değeri ile ilgili göz önünde bulundurulması gereken önemli konular:

- Tüm frekanslarda tutarlı olması,
- Her koşulda uygulanabilir olması,
- Maruziyet parametrelerinin değerlendirilebilir olması,
- Sebep-sonuç ilişkisi olması
- Anlaşılabilir olması
- Kabul edilebilir nitelikte olması şeklindedir.

Elektromanyetik spektrumda, non-iyonizan bölümünde yer alan Düşük Frekanslı Alanlarda, kHz mertebesindeki frekanslardaki elektrik ya da manyetik enerjinin küçük bir bölümü dokular ya da biyolojik sistemler tarafından soğurulmaktadır. 1998 yılında yayınlanan ICNIRP yönergesinde de düşük frekanslı E ve B alan maruziyetlerinde göz ardı edilebilecek boyutta enerji soğurulduğundan ve sonuçta ölçülemeyecek kadar da vücut sıcaklık artışından bahsedilmektedir. Artan frekans ile birlikte kademeli olarak indüklenmiş elektrik akımlarından kaynaklı EM alan enerji soğurulmasında da artış olduğu görülmektedir ki, bu olay etkileşim mekanizmalarının temelini oluşturmaktadır. 100 kHz ve 10 MHz frekans aralığında hem indüklenmiş elektrik akım yoğunluğu hem de dokudaki termal değişimi gösteren SAR birlikte değerlendirilmektedir. 10 MHz ve 10 GHz frekans aralığında ise dozimetrik değerlendirme kullanılmaktadır. Yüksek frekanslardaki EM enerjiler (Kızılötesi ve Morötesi) için ise yüzeysel soğurulma görülmektedir. Bu nedenle 10 GHz'den yüksek frekanslardaki EM alanlar için değerlendirmek amacıyla güç yoğunluğu kullanılmaktadır. İyonize radyasyon için ise soğurulan radyasyon dozu maruziyet limitleri oluşturulurken temel alınmaktadır.

Özgül Soğurma Oranı, uygulanabilirliği ve değerlendirilebilirliği açısından bakıldığında, mevcut yönergelerde yer alan 10 MHz-10 GHz frekans aralığı üzerinde termal etkilerden dolayı olumsuz sağlık etkilerinin olabileceği yönünde kabul edilebilir maruziyet limitleri için, zaman-sıcaklık eşik değerleri ölçümünün dikkate alınması gerekliliğini vurgulamaktadır. Ancak, mevcut güvenlik limitlerinin belirlendiği, karmaşık yapıda bilgisayar modelleri üzerinde gelişmiş matematiksel bir platformda hesaplanan SAR dağılımının, insan vücudundaki sıcaklık dağılımı ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde farklı olduğu tespit edilmiştir.

Özgül soğurma oranı, dış enerji kaynakları tarafından soğurulan gücü, yalnızca enerji akışını göz önüne alarak, kaynağın türünü dikkate almadan vermektedir. Gelen enerji

doğrudan ya da dolaylı olarak biyolojik mekanizmaları tetikleyerek, hedef dokularda ya da tüm vücutta birtakım değişikliklere neden olmaktadır. İnsan vücudunda termal homeostazın kontrolü oldukça zordur. Sıcaklık artışı, fizyolojik olarak düzenlenen kan akışının soğutma mekanizması ile etkisiz hale gelmektedir. Kan akışı, termal homeostazın devamlılığında hayati bir role sahip olup, hedeflenen bölgede işlevselliğin sağlanması açısından en uygun koşulların oluşturulması için ısı alış-verişini düzenlemektedir. Bu nedenle, ısı tedavileri (hipertermi) onkolojik uygulamalarda kullanılan tedavi yöntemleri arasında yer almaktadır.

Gerek Uluslararası İyonize Olmayan Radyasyondan Korunma Komisyonu 1998 yönergesinde, gerekse Elektrik Elektronik Mühendisleri Enstitüsü C95.1-2005 standardında düşük frekansların yüzeydeki etkilerini (elektrostimülasyon, elektroşoklar ve yanıklar) ve yüksek frekanslarda dokuda meydana gelen ısı artışını göz önünde bulundurmuşlardır. Gerçekleştirilen çalışmaların pek çoğu in vitro araştırmalar olmasına rağmen, in vivo çalışmalar üzerinde durmuşlardır. Kanseri ve üremeyi konu alan epidemiyolojik çalışmalar ise hem sınırlı sayıda olmaları hem de sonuçlar arasında tutarsızlıklar olması sebebiyle, güvenlik limitlerinin oluşturulması konusunda bilime dayalı maruziyet kriterleri açısından yeterli görülmemiştir (van Rhoon, ve diğerleri, 2011). Ayrıca, öğrenme ve davranış çalışmalarının sonucunda, yaklaşık 4 W/kg'lık SAR'da 30-60 dakikalık maruziyet sonrasında vücut sıcaklığında 1 °C artış olduğu tespit edilmiş, deney hayvanlarının davranışlarında bozukluklarının olduğu gözlemlenmiştir (de Lorge, 1984) (de Lorge ve Ezell, 1980). Bu çalışma sonuçları referans alınarak, insanlar için RF radyasyon maruziyet limit değeri 4 W/kg olarak belirlenmiştir. Teorik olarak bu değerin 10'da 1'i alınarak mesleki maruziyet (0,4 W/kg), mesleki maruziyet limit değerinin de 5'te 1'i alınarak genel halk maruziyet (0,08 W/kg) limitleri oluşturulmuştur. Mevcut limit değerleri sağlıklı bireyler için, kısa süreli etkiler dikkate alarak oluşturulmuştur. Tanımlanan sağlıklı birey 70 kg ağırlığında 1,7 m boyunda bir erkek olarak seçilmiştir. Deney hayvanları üzerinde gözlenen biyolojik etkilerin insana uyarlanması gereklidir. Uyarlama yapılabilmesi için, EM alanların biyolojik sistemler ile etkileşim mekanizmasının çözümlenmesine yönelik doğru biyolojik ve fiziksel parametrelerin belirlenmesi, analiz edilmesi ve elde edilen sonuçların insana ölçümlendirilmesi, yorumlanması gerekmektedir. Ancak, mevcut limit değerler belirlenirken toplumda yer alan hasta bireyler, hamileler, çocuklar, yaşlılar göz önünde bulundurulmamıştır. Özellikle limit değeri olarak kabul edilen 4 W/kg'ın çok altında uygulanan RF alanların canlılar

üzerinde önemli etkiler oluşturabildiği de bilimsel bir gerçektir. Bu açıdan değerlendirildiğinde de, ulusal ve uluslararası standartların yeniden oluşturulabilmesinde; EM alanların canlılar ile etkileşiminde, etkin maruziyet şiddetinin, uygulama süresinin ve doğrultusunun belirlenebilmesi büyük önem taşımaktadır.

Radyofrekans alanların DNA ile olası etkileşim mekanizması

Radyofrekans enerjisi canlı bir yüzeye çarptığında enerjisinin bir kısmı yansır bir kısmı vücut içine girerek absorbe olur. Radyofrekans alanlara maruz kalan bir organizmada soğurulan enerjiye bağlı olarak oluşabilecek olası biyolojik etkilerin tespiti üç temel fiziksel parametre ile mümkün olabilmektedir: *i. frekans, ii. şiddet, iii. maruziyet süresi*. Canlı sistemlerde biyo-etkilerin tetiklenmesi ya da başlatılabilmesi için EM alanların etkileştikleri sistemlerde farklı cevaplara/sonuçlara yol açabilecek olaylar zincirine neden olması gerekmektedir. Elektromanyetik alan-canlı sistem etkileşimi sonrasında; sistemin yük dağılımında, kimyasal yapısında ya da enerjisinde değişim meydana gelmektedir. Yapılan çalışmalar, sistemdeki bu değişimlerin farklı biyolojik etkilerin oluşum zincirindeki ilk aşamaları olduğunu göstermektedir (Weaver, Vaughan ve Astumian, 2000) (Varlberg, van Deventer ve Repacholi, 2007). Moleküler seviyedeki değişim, biyolojik yapının karmaşıklığı ölçüsünde cevaplar üretmek için yükseltilir ki bu cevaplar organizma için farklı sonuçlar doğurabilir (Apollonio, ve diğerleri, 2008). Konformasyon değişimi, atom yer değişimlerini içermektedir; vibrasyonel uyarılmalarda olduğu gibi ve spesifik modlar konformasyonel değişime sürüklenmelerde önemli olabilmektedirler. Eğer RF soğurulması, vibrasyonel dinamikleri konformasyon değişimini etkileyerek değiştiriyorsa, enzim fonksiyonlarını da etkilediği düşünülebilir. Yüksek sıcaklığın fonksiyonu etkilediği bilinmektedir ve sıcaklıktaki yükselme, tüm vibrasyonel modların uyarılma seviyelerinde ısı dağılımının sürdürülmesi ile tutarlı olarak artması şeklinde düşünülebilmektedir. Eğer etkili ve biyolojik olarak aktif modlarsa, RF soğurulması birkaç spesifik modun uyarılma seviyesini artırabilir ve fonksiyonunu etkileyebilir (Prohofsky, 2004). Enerji transferi ile rastgele hareket eden molekül ve yüklerin kinetik enerjilerinde meydana gelen artış ile ortamın ısınması sağlanmaktadır. Sisteme transfer edilen enerji (ϵ) termal enerjiden ($1/2$ kBT, serbestlik derecesi) büyük olduğu takdirde biyolojik cevap oluşmaktadır. Radyofrekans enerjinin soğurulması ile hücre iskeletinin temel bileşenlerinden olan mikrotübüllerin titreşim yapıları etkilenmektedir. Ancak, DNA molekülü için titreşim frekansının 10 GHz olduğu kabul edilmektedir. Radyofrekans radyasyonun foton

enerjisinin moleküler bağların kırılması için yeterli olmadığı ve bu yüzden DNA'nın kararlı yapısını, bütünlüğünü bozabilecek düzeyde olmadığı halen tartışma konusudur (Challis, 2005).

Bu nedenle, RF/MW alanların biyolojik sistemler ile etkileşimini biyokimyasal mekanizma ile de açıklamak mümkündür. Normal metabolik işleyişin yanı sıra çeşitli dış etkenlerin etkisiyle hücre içerisinde ikincil mesajcılar olarak da adlandırılan iyon, molekül ve radikaller oluşmaktadır. Yaşam süreleri çok kısa olmasına rağmen yüksek aktiviteye sahip ara ürünler olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile kolaylıkla reaksiyona girerek bu bileşenler üzerinde kimyasal değişimlere neden olabilmektedir. Bu değişimlere, uzun ömürlü kollajen, elastin ve kromozomlarda meydana gelen oksidatif değişimler, karbonhidratların parçalanması ve lipid peroksidasyonu nedeniyle mitokondri ve lizozom gibi karakteristik membran elemanlarında tespit edilen değişimler örnek verilebilmektedir (Harman, 1972). DNA kararlı yapıda bir molekül olmasına rağmen hücre içerisindeki diğer moleküller (lipitler, proteinler, karbonhidratlar) gibi serbest radikaller ile etkileşerek oksidatif hasara uğrayabilmektedir. Serbest radikaller, hasara uğramış biyomoleküllerin onarılmasından sorumlu tek biyolojik molekül olan DNA ile etkileşime girerek, DNA üzerinde lezyonlar oluşturabilmektedir. Bu lezyonlar; baz veya şeker lezyonları, tek veya çift iplik kırıkları ve DNA protein çapraz bağlarının oluşumu şeklinde sıralanabilmektedir (Dizdaroğlu, Jaruga, Birincioğlu ve Rodriguez, 2002).

Oksidatif DNA hasarı, hücrelerde normal aerobik metabolizma ya da iyonize radyasyon ve karsinojenik bileşikler gibi ekzojen kaynaklara maruziyet sonucunda oluşan serbest radikallerin DNA ile etkileşimi sonucunda da oluşmaktadır (Cooke, Evans, Dizdaroğlu ve Lunec, 2003). DNA'da hasar oluşturma gücüne sahip kimyasal, fiziksel ya da viral ajanlar olarak da tanımlanan karsinojenik bileşiklerin etkileri doza-bağımlı, birikimli ve geri dönüşümsüz olarak tanımlanmaktadır. Bir karsinojenik ajana, belirli bir dozda bir kez maruz kalındığında da, aynı karsinojenik ajana aynı toplam dozda uzun bir zaman süresince azar azar maruz kalındığında da eşdeğer etki görülmektedir. Birçok kimyasal ajan ancak organizmada metabolik değişikliğe uğradıktan sonra aktifleşerek karsinojenik hale gelmektedirler. Karsinojenler doğrudan DNA ile etkileşen genotoksik ya da DNA dizilişinde değişiklik oluşturmada hücrenin fenotipini değiştiren epigenetik olarak sınıflandırılabilirler (Gürdöl ve Ademoğlu, 2006) .

Hücre tarafından oluşturulan cevapta;

- uyarıcı faktörün tipi,
- uyarıcı faktöre maruziyet süresi,
- maruziyetin şiddeti önemli rol oynamaktadır.

Hücre hasarı belirli bir noktaya kadar geri dönebilir, yeteri kadar şiddetli ise geri dönüşümsüz bir hasar oluşmakta ve hücre ölmektedir.

Bu doğrultuda; geri dönüşüm meydana gelen hücrelerdeki değişimler, uyarıcı dış faktöre düşük şiddet ve/ veya kısa süreli maruziyet sonrası oluşan hasarlara karşı gelişen cevaplardır. Hücre yapısındaki ani değişimler; bazı materyallerin sitoplazmada birikmesi ile karakterize edilmektedir. Geri dönüşümlü hücre hasarında; durgun hücrelerden ziyade işlevsel hücreler daha çok etkilenmektedirler. Özellikle de, emici ve salgılayıcı epitel hücrelerinin hassasiyetinin, bağ dokusu hücrelerine nazaran daha fazla olduğu bilinmektedir.

Biyolojik sistem uyaran faktöre kısa süreli ve/veya düşük konsantrasyonda/ şiddette maruz kalmış ise genellikle oluşacak cevap geri dönüşümlü olabilmektedir. Eğer organizma, daha uzun süreli ve/veya daha yüksek konsantrasyonlarda/şiddetlerde stres faktörüne maruz kalmışsa meydana gelecek cevap geri dönüşümsüz olabilmektedir. Geri dönüşümlü biyolojik etkiler maruziyet kesildikten sonra kaybolursa dahi, geri dönüşümsüz hücre hasarlarında maruziyet kesildikten sonra etki devam ettiği gibi ilerlemesi de mümkün olabilmektedir (Şen, 2005).

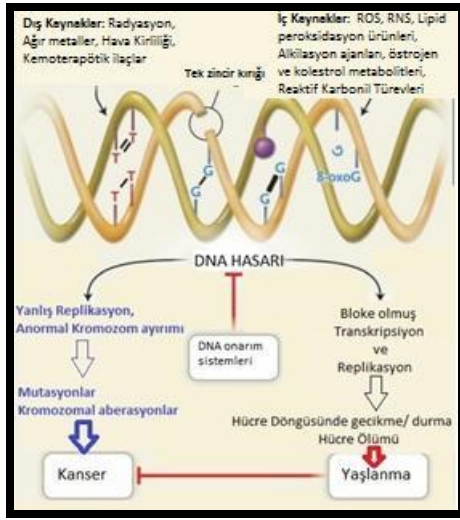
Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization- WHO)' ne bağlı Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC), 1998-1999 yıllarında yaygınlaşmaya başlayan cep telefonu kullanımı ve yine bu yıllarda yetişkinlerde insidansı artan Baş-Boyun bölgesi kanserleri arasındaki ilişkinin araştırılması amacı ile 14 ülkenin katıldığı, "INTERPHONE" adı verilen geniş kapsamlı Dünya çapında bir fizibilite çalışması gerçekleştirmiştir. Bu çalışma beyin tümörü (gliyoma), meninjiyom, akustik nörinom ve parotis bezi tümörlerinin birlikte çalışıldığı en büyük vaka-kontrol çalışmasıdır. IARC cep telefonu kullanılan tarafta riskin daha yüksek olduğunu, özellikle gliyoma riskinin artabileceğini rapor etmiştir. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı çalışma grubu, cep telefonu kaynaklı radyofrekans radyasyonun

etkisini 2011 yılında “İnsanlarda Olası Karsinojen” (Grup 2B) olarak sınıflandırmıştır (Cardis, ve diğerleri, 2007; Lahkola, ve diğerleri, 2007; Takebayashi, ve diğerleri, 2008; Hepworth, ve diğerleri, 2006; Sadetzki, ve diğerleri, 2008; Dünya Sağlık Örgütü (WHO) - Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC), 2011).

Çeşitli iç ve dış sebeplerden dolayı hasara uğrayan biyomoleküllerin onarımı için gerekli kodların DNA bünyesinde bulunması nedeniyle DNA’da oluşan oksidatif hasarın belirlenmesi hayati önem taşımaktadır. Reaktif oksijen türleri (Reactive oxygen species, ROS) ve reaktif nitrojen türleri (reactive nitrogen species, RNS) doğrudan DNA molekülündeki azotlu bazlara etki ederek, bazlar üzerinde modifikasyonların oluşmasına neden olmaktadır. Özellikle Fe^{+2} ve Cu^{+2} gibi geçiş metalleri deoksiriboz şekerlere bağlanarak, Fenton reaksiyonlarının gerçekleşmesini sağlamaktadır. Bu reaksiyonlar sonucu oluşan $\cdot OH$ radikali deoksiriboz şekerlerde hasar meydana getirmektedir. Cu^{+2} iyonları DNA’nın Guanin-Sitozince zengin bölgelerine bağlanarak, Guanin’in H_2O_2 ile reaksiyona girmesi sonucunda Guaninde hasar meydana getirmektedir. Hidroksil radikali, pürin ve pirimidin bazlarında modifikasyonlar meydana getirerek, çok sayıda ürünün oluşmasını sağlamaktadır. Bu baz modifikasyonlarından en çok bilineni 8 hidroksideoksi-guanozin (8OHdG)’dir (Aruoma, Halliwell, Gajewski ve Dizdaroğlu, 1991). Guanin, $\cdot OH$ radikalinin etkisi ile C-8 pozisyonunda hidroksillenmekte ve Guanin’de modifikasyonlara neden olmaktadır. Bu hidroksil modifikasyonu, yapısal ve konformasyonel değişimlere olduğu kadar DNA molekülünü oluşturan dört azotlu bazın yanlış eşlenmesi sonucunda mutasyonların görülmesine de neden olur. Bu oluşan hasar hidroksil radikaleline spesifiktir (Aruoma, Halliwell ve Dizdaroğlu, 1989). Çalışmalar, 8OHdG’in Parkinson, Alzheimer, kanser gibi bazı hastalıkların gelişim evresini tanımlamada yararlı bir belirteç olduğunu göstermektedir (Yasuhara, Hara, Sethi, Morgan ve Borlongan, 2007; Sato, Mizuno ve Hattori, 2005).

DNA hasarı; hücrenin yaşamı boyunca yaygın olarak görülen ve mutasyon, kanser, yaşlanma ve sonuçta hücre ölümüne yol açabilen bir olaydır. DNA, yaşam boyunca hücrenel metabolitler (ROS) ve ekzojen ajanlar tarafından sürekli olarak değişimlere maruz kalır. Bu değişimler sonuçta tek hücreli organizmalarda hücrenel ölüme veya çok hücreli organizmalarda dejenerasyon ve yaşlanmaya sebep olabilir (Sancar, Lindsey-Boltz, Ünsal-Kaçmaz ve Linn, 2004). Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı, in vivo şartlarda bir seri çalışmalar gerçekleştirmiştir: 1800 MHz frekanslı RF alanların hidroksil

radikalleri ve 8OHdG baz modifikasyonlarında değişime neden olduğu tespit edilmiştir (Güler, ve diğerleri, 2012) (Güler, Tomruk, Ozgur ve Seyhan, 2010) (Tomruk, Güler ve Sepici Dinçel, 2010). Yapılan diğer çalışmalarda da (900 MHz, 2100 MHz) RF alanların ROS ve RNS kökenli radikal oluşumunda etkili olduğu saptanmıştır (Ozgur, Güler ve Seyhan, 2010) (Ozgur, ve diğerleri, 2013) (Kısmalı, ve diğerleri, 2012) (Ozgur, ve diğerleri, 2015) (Şahin, ve diğerleri, 2016).

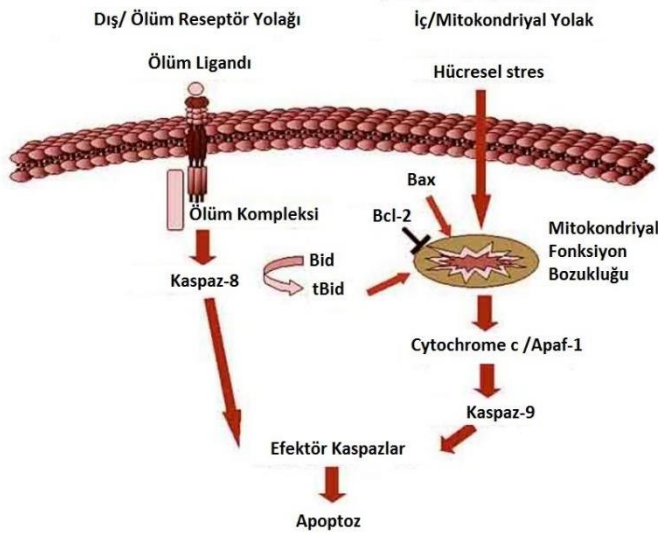


Şekil 2.7. DNA hasarı sebep ve sonuçları (Hoeijmakers, 2009)

2.4. Apoptoz

Hücreler sahip oldukları genetik yapı sayesinde iç ve dış ortamlarında değişikliğe neden olabilecek fiziksel ve kimyasal etkenlere karşı direnç göstererek yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü etkili bir şekilde korumaya çalışmaktadır (Guyton ve Hall, 2001). Normal bir hücrenin fonksiyon ve yapısı; metabolizması, farklılaşım süreci, özelleşirken sahip olduğu genetik programlar, komşu hücre ile ilişkileri ve metabolik maddelerin uygunluğu gibi faktörler ile sınırlanmaktadır. Normal koşullarda dahi hücrelerin dış ortamlarında meydana gelen değişiklikler adaptasyonlara neden olmaktadır. Uyarıcı faktör; fizyolojik bir stres faktörü ya da patolojik bir uyarıcı ise hücreler uyarıcı faktöre yanıt olarak yaşamlarını devam ettirirken, fonksiyonunu ve özelliklerini düzenleyerek değişmiş olan yeni duruma uyum sağlar. Adaptasyon sınırlarını aşan bir uyarıcı olur veya adaptasyon olmazsa hücre hasarı meydana gelir.

Hücrenin tipi, adaptasyon kapasitesi ve genetik özellikleri hücre hasarının oluşmasında etkili diğer faktörlerdir. Hücre hasarı meydana geldiğinde; özellikle hücre membran bütünlüğü, mitokondriyal oksidatif fosforilasyon ve ATP oluşumu, protein sentezi ve hücrenin genetik materyali etkilenmektedir. İç veya dış faktörlerin etkisiyle hücrede hasar meydana geldiğinde, hücreler organizmanın zarar görmemesi için kendilerini öldürmektedirler (Apoptoz) (Ulukaya, Acılan ve Yilmaz, 2011). Apoptoz, bütün çok hücreli organizmaların gelişim ve homeostazlarının korunmasında önemli rol oynamaktadır (Ellis ve Horvitz, 1999; Jacobson ve diğerleri 1997; Shi, 2002). Bu sayede, hasar görmüş, onarılamayan hücrelerin de aktif bir şekilde programlı ölümü sağlanmaktadır. Enerji gerektiren karmaşık moleküler olaylar kaskadından oluşan apoptoz, iki temel mekanizma ile açıklanmaktadır: i. Dış ya da Ölüm Reseptör Yolağı; ii. İç ya da Mitokondriyal Yolak. Yapılan çalışmalar, mekanizmayı oluşturan bu iki yolda yer alan moleküler olayların aslında birbirleriyle bağlantılı olduğunu ve bir yolda yer alan molekülün diğer yolk üzerinde önemli bir etkiye sahip olabileceğini göstermektedir (Igney ve Krammer, 2002). Ayrıca, apoptozun hem granzim B hem de granzim A ile indüklenebildiği, T Hücrelerine bağlı sitotoksositeye bağlı bir üçüncü yolk ile de indüklenebildiği gösterilmektedir: iii. Perforin/Granzim Yolağı. Bu üç yolk aynı terminalde yani Uygulama Yolağında birleşmektedir (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. Apoptoz-ölüm reseptör ve mitokondriyal yolakları

Kaspazların (sistein aspartil -spesifik proteazlar) aktivasyonu ile tetiklenen karmaşık moleküler olaylar sonucunda gelişen morfolojik (hücre ve organellerin büzüşmesi, nükleer

kromatin kondensasyonu, nükleer zarf dağılımı, apoptotik cisimciklerin oluşumu) ve biyokimyasal (kaspaz kaskad aktivasyonu ve DNA fragmentasyonu) değişimler ile karakteristik olarak apoptoz tespit edilebilmektedir (Martinvalet ve diğerleri, 2005).

Apoptotik Yolağın aktivasyonu ve programlı hücre ölümü spesifik protein ligandın hücre yüzey transmembran reseptörüne bağlanması ile tetiklenmektedir. Apoptotik sinyaller; hedef hücrelere, Ölüm Reseptörleri ailesi (TNF süper ailesi: TNF-R1 (P55); TNF-R2 (P75); TNF-R3 (TNF-RP); LT-R; Ox-40; CD27; CD28; CD30; CD40; 4-1BB; P75NGF-R; GIT-R; Rank; CD95; DR6; TRAIL-R1 (DR4); -R2 (DR5); -R3 (DcR-1) ve DcR-2) aracılığı ile iletilmektedir. Reseptör aracılı indüklenen yolak Başlatıcı Kaspazlar olarak adlandırılan Kaspaz-8 ve Kaspaz-10'un aktif hale gelmesini organize etmektedir. Aktif Kaspaz-8; ya sonlandırıcı kaspazlardan olan prokaspaz 3'ü aktive ederek hücre ölümüne ya da Bcl-2 ailesinin üyesi olan Bid'in C-terminal bölgesini keserek aktif formu olan tBid'in oluşmasına ve böylece apoptozun iç yolağa doğru ilerlemesine neden olmaktadır (Elmore, 2007). Mitokondri dış zar potansiyelinin değişmesi Bcl-2 ailesi adı verilen bir protein grubu tarafından düzenlenmektedir. Bu grubun bir kısmı anti-apoptotik (Bcl-2, Bcl-x), bir kısmı da pro-apoptotik (Bax, Bak, Bad, Bim, Bmf, Bid, ve BH-3) aile üyelerinden oluşmaktadır. Bax / Bcl- 2 dengesi hücre için hayati bir öneme sahiptir, hücrenin apoptoza olan eğilimini belirlemektedir. Bax proteini, iç yolda Sitokrom c salınımını indüklediğinden bu proteinin artışı hücre için ölümcül bir anlam taşımaktadır. Bcl-2 proteini ise anti-apoptotik olması nedeniyle Sitokrom C salınımını bloke ettiğinden, bu proteinin artışı hücre için hayatta kalım demektir (Korsmeyer, 1995; Mignotte ve Vayssiere, 1998). İç ya da Mitokondriyal yolak, hem pozitif hem de negatif hücre içi sinyaller tarafından indüklenmektedir. Bazı büyüme faktörlerinin, hormonların, sitokinlerin eksikliği ölüm programlarının baskılanmasında başarısızlığa neden olduğu için negatif hücre içi sinyaller olarak sayılırken, radyasyona maruz kalmak, toksinler, hipoksi, viral enfeksiyon ve serbest radikaller pozitif hücre içi sinyaller olarak değerlendirilmektedir. Mitokondri dış membran geçirgenliğinde önemli derecede artış meydana gelmektedir. Mitokondri dış membranı geçirgenliğindeki artış ile birlikte başta Sitokrom-c olmak üzere Smac/diablo (Apoptoz proteinlerinin inhibitörleri (IAP)'ni inhibe eden mitokondriyal geçirgenlik proteini), AIF (Apoptoz indükleyici faktör), Endonükleaz G ve Omi (HtrA2, Olgun Serin Proteaz) gibi maddelerin salınımı gerçekleşmektedir. Sitokrom-c; Apaf-1 (Apoptotik proteaz aktive eden faktör) ve pro-Kaspaz 9'a bağlanarak apoptozom adı verilen oligomerik Apaf-1 kompleksi (Apaf-1 + Sitokrom-c + ATP + pro-Kaspaz 9)' nin

oluşumunu sağlayarak, Kaspaz-9' u ve efektör kaspaz olan Kaspaz-3'ü aktive etmektedir. Efektör kaspazların aktivasyonu ile birlikte nükleer etkiler de görülmeye başlamaktadır. En belirleyici etkilerden biri de kromozomal DNA'nın nükleozomal birimler halinde parçalanmasıdır (Shamas-Din ve diğerleri, 2011; Wang ve Tjandra, 2013; Bender ve Martinon, 2013; Franklin, 2011; Tait ve Green, 2013; Harris ve Thompson, 2000; Zou ve diğerleri, 2003; Wu ve diğerleri, 2014).

DNA' nın degradasyonu birkaç şekilde gerçekleşmektedir:

- DNA hasarı tamirinden sorumlu olan ve kaspazlar tarafından substrat olarak tanımlanan Poli ADP-riboz polimeraz (PARP) nüklear enzimi, apoptoz süresince DNA'yı parçalayan Endonükleazları inhibe etmektedir. Ortamdaki Ca/Mg Poli ADP-riboz sentezlenmesini katalizleme ve DNA zincir kırıklarına bağlanıp nüklear proteinleri modifiye etme görevi üstlenmektedir. Kaspaz-3'ün bu proteini parçalaması ile DNA hasarı tamiri sonlanmaktadır.
- DNA replikasyonu ve tamirinden sorumlu DNA Topoizomeraz II nüklear enzimi, Kaspazlar tarafından inaktive edilerek DNA' da hasar oluşumuna yol açmaktadır.
- İntra-nüklear proteinler olan laminlerin, Kaspaz-6 proteinleriyle degradasyonu ile kromatin kondensasyonu, nüklear fragmentasyon yapıları gözlenmektedir (Özten Kandaş, 2004).

DNA fragmentasyonu, süreci daha da hızlandırmaktadır. Apoptoz süresince 100'den fazla protein, kaspazlar tarafından bölünmektedir. Bu proteinler, DNA replikasyonunda (DNA sentezi), transkripsiyonunda (RNA sentezi) ya da translasyonunda (protein sentezi) görev alan proteinler, hücre iskeleti proteinleri, kinazlar ve fosfatazlar olarak sayılabilmektedir. Hücre için hayatta kalım anlamı taşıyan DNA replikasyon, transkripsiyon ve translasyonun; kaspazlar tarafından inaktif hale getirilmesi ya da hücre iskeleti proteinleri olan fodrin, gelsolin ve aktinin kaspazlar tarafından bölünmesi ile hücrenin bütünlüğünü kaybetmesi ve programlı hücre ölümünün gerçekleşmesi, kaspaz aktivasyonunun apoptotik yolakta hücre için hayati bir öneme sahip olduğunu göstermektedir (Nagata, 2000).

Tümör hücrelerinin apoptozu sınırlandırmak ya da atlatmak için çeşitli stratejileri bulunmaktadır. En yaygın olanı p53 tümör baskılayıcı genin inaktive olmasıdır ki, bu olay apoptotik yoldan önemli hasar sensörünün çıkarılması anlamını taşımaktadır. Ayrıca, tümör hücreleri, anti-apoptotik düzenleyicilerin (Bcl-2, Bcl-x) ifadenmelerini artırıp, pro-apoptotik faktörlerin (Bax, Bak, Bad, Bim, Bmf, Bid, BH-3, Puma) ifadenmelerini azaltarak ya da apoptozun indüklendiği dış yolak ligandına kısa devre yaptırarak da apoptozu sonlandırabilmektedirler. Kanser, birden fazla doku türünden kaynaklı ve büyük genetik farklılık gösteren oldukça heterojen bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (Hanahan ve Weinberg, 2011).

2.5. Kanser Oluşum Mekanizmaları

Kanser, normal hücrelerin genetik materyallerinin mutasyona uğraması sonucu kontrolsüz bir şekilde çoğaldıkları ve uzak dokulara da yayılabildikleri, metabolik ve davranışsal değişiklikler geçirdikleri bir süreç olarak tanımlanmaktadır (Çetin, 2013). Kanser gelişiminde, tümör baskılayıcı fonksiyon, DNA onarımı ve apoptoz kritik önem taşımaktadır. Mekanizma, hücre proliferasyonunu indükleyen genlerin aktive olması, hücre proliferasyonunu baskılayan genlerin inaktive edilmesi, programlı hücre ölümünde yer alan ve DNA onarımında görevli genlerde meydana gelen değişiklikler şeklinde ifade edilmektedir. Kanser mekanizmaları hem epigenetik (fenotipik) hem de genetik bakımdan değerlendirilmektedir. Genetik materyalde meydana gelen mutasyonlar neticesinde anormal hücre proliferasyonlar gerçekleşmektedir. Anormal hücre proliferasyonlarının engellenmesi için DNA sentezi ve hücre bölünmesinin engellenmesi gerekmektedir. Bu süreçte, hücrenin sahip olduğu anormal hücrelerin yok edilmesini sağlayan bir çeşit “hücre intiharı” olan apoptoz önemli rol oynamaktadır (Ayhan,2007).

Karsinogenez sürecinde, **sinyal iletimi yollarını** ve sinyal proteinlerini hedef alan onkogenik mutasyonlar oldukça sık görülmektedir. Bu onkogenik mutasyonlar hücrenin proliferasyonu ve/veya sağ kalım kontrolünü ortadan kaldırmaktadır (Özcan ve Dikmen, 2015).

2.5.1. Sinyal iletim yolları

Protein-tirozin kinazlar ve sinyal iletimi

Bu reseptörler, dimer yapısına sahiptirler. Reseptör Tirozin Kinazlar (RTK), hedef proteinin serin, treonin veya tirozin gibi uç amino asitlerine fosfor bağlayarak (fosforilasyon) proteinlerin aktivasyonlarını sağlamaktadırlar. İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), epidermal büyüme faktörü (EGF), vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), platelet-kökenli büyüme faktörü (PDGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), sinir büyüme faktörü (NGF), makrofaj koloni uyarıcı faktörü (M-CSF) reseptörleri ve efrin reseptörleri (EphA, EphB) bu reseptörler arasında yer almaktadır. Pek çok hücre yüzeyine bağlı sinyal proteini de bu reseptörler üzerinden çalışmaktadır (Alberts ve diğerleri, 2008). Tirozin kinaz reseptörlerinin aktivasyonu, reseptörün kendi kendini fosforile etmesiyle başlar. İkinci aşamada ise, bu fosforlanan bölgelere çeşitli adaptör proteinler bağlanırlar ve uyarının hücre içine iletimini sağlarlar. Adaptör proteinlerin hepsinde SH2 (Src-homology-2) bölgesi bulunmaktadır. Bu proteinler, SH2 bölgeleri aracılığıyla reseptöre bağlanarak, tirozin kinaz reseptörü ile sitoplazmadaki etkilenecek hedef proteinleri arasında köprü görevi yapmaktadır. Bu reseptörlerin aktivasyonunu fosfataz grubu proteinler sonlandırmaktadır. Tirozin kinaz reseptör aracılı aktivasyonu daima kontrol altında tutulmaktadır. Ancak karsinogenez sürecinde sürekli ve kontrolsüz tirozin kinaz reseptör aktivitesi olduğu görülmektedir.

Sitoplazmik protein kinazlar arasında; Src, A61, Fokal Adezyon Kinazı (FAK) ve “Janus Family Kinases (JAK)” proteinleri yer almaktadır. İstirahat halindeki hücrelerde bu proteinler sitoplazmada inaktif halde bulunmaktadırlar. Büyüme faktörleri veya sitokinler ile hücrenin uyarılmasından sonra aktif hale gelen bu proteinler, sitoplazmadaki veya nükleustaki hedeflerine yönelmektedirler. Sitoplazmik tirozin kinazların sürekli aktivasyonu ve onkojenik sinyal iletimi, transformasyon, tümör büyümesi, motilite ve invazyon artışı ile anjiyogenez gibi malign fenotipe özgü hücresel olayları hızlandırmaktadır (Doğan ve Güç, 2004).

Mitojenle etkileşen protein kinaz (MAP kinaz) sinyal iletim yolu

Mitojenle Etkileşen Protein Kinaz (Mitogen-Activated Protein Kinase, MAP kinaz) sinyal yolağı, reseptör tirozin kinazlarca oluşturulan sinyalleri nükleusa ileterek gen ekspresyonunun aktivasyonuna yol açmaktadır. Hücre proliferasyonunu, apoptozu, hücre farklılaşmasını ve spesifik hücre fonksiyonlarını uyarabilmektedir. Ökaryotik hücrelerin tümünde mevcut olan bu proteinler, hücre membranından çekirdeğe bilgi aktarılmasında çok önem taşımaktadır. MAP kinazlar, genellikle kısa süreli olarak etkinleştirilmekte olup, etkin kaldıkları süre, oluşan yanıtın doğasını derinden etkilemektedir. Defosforilasyon yoluyla da aktivasyonları sonlandırılmaktadır. Tirozin veya treonindeki fosfatlardan birinin uzaklaştırılması aktivasyonu sonlandırmak için yeterli olmaktadır (Alberts ve diğerleri, 1994).

Ras/Raf/MEK/ERK sinyal iletim yolu ve kanser

Hormonlar, büyüme faktörleri, farklılaşım faktörleri ve tümör promoter maddeler bu sinyal yolunu kullanmaktadırlar. Bu iletim yolu Ras aktivasyonu ile başlamakta olup, sırasıyla Raf (= MAPKKK), MEK (= MAPKK) ve Erk (= MAPK) proteinleri ile kinaz kaskadı ilerlemektedir. İstirahat halindeki hücrelerde Ras proteinleri inaktif (Ras-GDP) halde bulunmaktadır. Hücrenin uyarılması ile GDP'nin yerine GTP bağlanarak aktif konformasyona dönüşüm (Ras-GTP) tetiklenmektedir. Ras aktivitesi, GAP (GTPaz-aktive eden proteinler) tarafından uyarılan GTP hidrolizi ile sonlandırılmaktadır.

İnsan kanserlerindeki Ras genlerinde oluşan mutasyonlar sonucunda, Ras proteinine bağlanan GTP hidroliz olamaz, böylece GTP bağlı Ras proteini sürekli aktif durumda kalır. Kanser hücreleri bu durumda büyüme faktörü uyarısına gerek duymadan sınırsız çoğalarak tümör gelişimine neden olmaktadır (Alberts ve diğerleri, 1994).

PI-3 kinaz/protein kinaz B sinyal iletim yolu ve kanser

Fosfoinozotid-3 kinaz (PI-3K) yolağı, hücresel metabolizmanın kontrolünde özellikle glukoz transportu ve kullanımı, hücre büyümesinin regülasyonu, özellikle protein biyosentezi ve apoptozu önlemede fonksiyon görmektedir. Reseptör tirozin kinazlar ve G-

proteini bağı reseptörleri de içeren pek çok yüzey reseptörü tarafından etkinleştirilmektedirler.

MAPK yolağı, hücre proliferasyonunu (örn. DNA sentezi ve mitoz) uyarırken, sebep olduğu pro-apoptoz önleyen ve hücre büyümesi için (protein biyosentezini de içeren) gereken uyarılar için PI3K yolağındaki gibi ilave sinyallere gereksinim duymaktadır. MAPK yolağı ve PI3K yolağı hücre proliferasyonunun büyüme faktörleri tarafından birlikte etkinleştirilmektedir. Böylece, tümör hücrelerinde meydana gelen mutasyonlar, MAPK yolağında yapısal aktivasyona yol açarken, bu durum yaşamsal büyüme faktörlerinin aktivitesinde artışa neden olmaktadır. PI3K sinyal iletimini uzatan mutasyonlar ve PTEN (fosfataz) etkinliği yok olmaktadır (uzatmalı hücre sağkalımı) (Başaran, 2015).

Non-reseptör tirozin kinazlar ile sinyal iletim yolu ve kanser

Birçok hücre yüzey reseptörü tirozin kinazdan yoksun olmasına rağmen, tirozin kinaz fosforillenmesi neticesinde aktive olmaktadır. Bu reseptörler, sitoplazmik tirozin kinazlar yolu ile görev yapmaktadırlar. Bu sitoplazmik tirozin kinazlar, reseptörlerle bağlantılı olup, reseptörler ligandlarına bağlandıklarında, çoğu kez reseptörlerin kendileri de dahil olmak üzere birçok hedef proteini fosforillemektedirler. Bu reseptörlerin birçoğu memeli sitoplazmik tirozin kinazların en büyük ailesinin üyelerinden olan Src ailesi protein kinazlarına (*Yes*, *Fgr*, *Fyn*, *Lck*, *Lyn*, *Hck* ve *Blk*) muhtaçtır. Bu protein kinazlar SH2 ve SH3 alanları içermekte olup, hücre zarının sitoplazmik kısmında yerleşmektedirler. Kinaz, hücre dışı ligand uygun reseptör proteinine bağlanınca aktive olmaktadır. Src' nin kendisi ve diğer aile üyelerinin birçoğu da aktif haldeki tirozin kinazlara bağlanabilmektedir. Böylece, reseptör ve sitoplazmik kinazlar birbirlerinin katalitik etkinliklerini karşılıklı olarak uyararak sinyalin gücünü ve süresini arttırmaktadır. Kanser gelişimi sürecinde Src tirozin kinazın ekspresyonu ve/veya aktivitesi artmaktadır. Kanser hücrelerinde Src aktivasyonunun kontrolünün ortadan kalkması, tümör büyümesini hızlandırmakta ve hücrelerdeki invazyon potansiyelini uyarmaktadır (Başaran, 2015).

Sitokin almaçları JAK-STAT sinyal iletim yolu ve kanser

Jak proteini (Nonreseptör protein kinaz), sitokin reseptörünün karboksil uç bölgesine bağlanan bir protein kinazdır. Sitokin reseptör dimerinin otofosforilasyonunu sağlamaktadır. Jak/STAT sinyal iletim yolu diğer hücre içi sinyal ileti yollarına göre transkripsiyon faktörleri ve protein tirozin kinazlar arasında daha hızlı bir bağlantı sağlamaktadır.

Sinyal ileticisi ve transkripsiyon aktivatörü (STAT, Signal transducer and activator of transcription) proteinlerinde, bazı aktive olmuş tirozin kinaz reseptörlerindeki belirli fosfotirozinlere tutunmalarını sağlayan SH2 bölgeleri bulunmaktadır. Bu reseptörler, Jaklardan bağımsız olarak bağlanan STAT'ları doğrudan aktif hale getirebilmektedir. STAT proteinleri; STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b ve STAT6 şeklinde adlandırılmaktadır.

Sitokin ligandı ile sitokin reseptörü bağlantısı sonucu oluşan dimere JAK proteinleri bağlanarak dimer tirozin reseptör kinazın otofosforilasyonunu sağlamaktadır. Bu bölgeler sitoplazmadaki inaktif STAT proteinlerinin reseptör ile etkileşmesine olanak sağlamaktadır. STAT proteinleri daha sonra homodimer ya da heterodimer oluşturmak üzere reseptörden ayrılarak hücre çekirdeğine gelirler ve DNA üzerinde özgül cevap elemanı dizileri ile etkileşerek hedef genlerin transkripsiyonunu uyarırlar.

STAT proteinleri iki mekanizma aracılığıyla karsinogeneizde etkili olmaktadır. Bunlardan biri STAT'ın sürekli aktivasyonu, diğeri ise proteinin C-ucunun mutasyona uğramasıdır. Devamlı olarak aktif olan STAT proteini anti-apoptotik yolları uyararak malign süreçte etkili olabilmektedir (Alberts ve diğerleri, 1994) (Başaran, 2015).

2.6. Kolorektal Kanser

2012 yılına ait kanser verilerine göre, Dünyada tüm kanserler arasında, görülme sıklığı açısından değerlendirildiğinde; kolorektal kanser erkeklerde üçüncü sırada (746.000 vaka; toplam vakanın %10), kadınlarda ise ikinci sırada (614.000 vaka, toplam vakanın %9.2' si) en sık görülen kanserdir. Türkiye'de kanser insidansı (yeni vakaların oranı) Dünya insidansının üzerinde seyretmektedir. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu

bünyesindeki Kanser Daire Başkanlığı tarafından Kamu Sağlığı Ulusal Kanser Kontrol Programı oluşturulmuş olup, program hedefleri doğrultusunda, çalışmalarına devam etmektedir. 2013 yılı itibariyle, kanser kayıt sistemi ile 15 ilden toplanan veriler doğrultusunda; ülkemizdeki kanser insidansında hızlı bir artışın olduğu tespit edilmiştir. Kanser kayıt sisteminde toplanan veriler değerlendirilirken; ülkemizde görülen kanser türlerinin insidanslarını hesaplamak, kanser türlerinin insidanslarının yaş grupları, cinsiyet, bölgelere dağılımlarını araştırmak, değerlendirmeler doğrultusunda (kanser insidansı-yaş grubu/cinsiyet/bölge dağılımı), yeni bilimsel araştırmalar için hem konu hem veri tabanı oluşturabilmek ve bu veri tabanlarını kullanarak; kanser ve kansere sebep olabilecek etkenlerin önlenebildiği, bu sayede kansere bağlı ölümlerin önüne geçilebildiği, taramalar ve erken teşhis ile tedavi sonrası artan bir yaşam kalitesi hedeflenmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı,2008)

Gelişmiş ülkelerde ciddi morbidite (hastalık durumu) ve mortaliteye (ölüm oranı) yol açan kolorektal kanser, ülkemizde de en sık görülen ilk 10 kanser arasında olup, önemli bir sağlık sorunudur. 2013 yılı itibariyle kanser kayıtçılık sistemi ile alınan veriler doğrultusunda; kolorektal kanserler hem kadınlarda hem de erkeklerde üçüncü sırada yer almaktadır. Erkeklerde, 24,4/100.000 ile kadınlarda ise 15,2/100.000 sıklıkta görülmektedir. Kolorektal kanserin etiyojijisinde diğer kanserlerin etiyojijilerinde olduğu gibi çevresel ve genetik faktörler rol oynamaktadır. Bilinen risk faktörleri arasında yaş, aile öyküsü, kolonda öncül adenomatöz polipler ya da adenokarsinoma, yaygın ve uzun süreli ülser ve/ veya Crohn koliti (iltihabi bağırsak hastalığı-ülseratif kolit) gibi diyet, sigara ve alkol kullanımı, hormonlar, belirli ilaçların kullanımı ve hareketsiz yaşam gibi çevresel faktörleri de saymak mümkündür. Kolon kanseri kolonda kanserli (habis) olmayan, polip adı verilen doku büyümeleri ile başlamaktadır. Çok aşamalı bir gelişim gösteren kolorektal kanser, normal mukozayı etkileyerek, son olarak çevreye yayılan (invaziv) adenokarsinoma haline getirmektedir (Yamaner, 2007). Kolon kanserinde hücre tipi çoğunlukla salgı dokusu hücrelerinden köken alan adenokarsinomadır. Adenokarsinomanın dışında, epitelyal doku hücrelerinden köken alan karsinoma ve lenfositlerden köken alan lenfoma da kolon kanserinde görülen tümör hücre tipleri arasındadır.

Bu çalışmada; 1800 MHz, 2100 MHz, 2600 MHz frekanslarındaki Radyofrekans alanların insan kolorektal karsinoma hücrelerinde kaspaz-bağımlı apoptoz üzerine etkileri incelenmiştir. Kolorektal karsinoma hücre hattı olan HT-29 hücreleri, normal hücrelerin

bazı karakteristik özelliklerini taşımaktadır. Bazı kültür koşulları altında, tek tabakalı mukus salgılayan polarize hücrelerine ve / veya emici hücrelerine farklılaşım gösterebilmektedirler. HT-29 hücreleri fibroblastların gelişimini uyaran faktörlerin de dahil olduğu pek çok peptid salgılamaktadır. HT-29 hücrelerindeki apoptotik etki mekanizmasının aydınlatılmasına yönelik çalışmalar da güncel araştırma konuları arasında yer almaktadır.

2.7. Radyofrekans Alan-Kanser İlişkisi

RF teknolojisinin, yaşamımızın her alanında sıklıkla kullanılmaya başlanmasıyla, bilim insanları “RF Alan-Kanser” ilişkisinin araştırılması gerekliliği üzerinde durmuşlar ve çalışmalarını bu doğrultuda gerçekleştirmişlerdir. Acaba bu alanlara maruz kalmak mı kanser görülme sıklığındaki artışta etkili olan çevresel faktörlerden biridir? Ya da tam tersi iyonizan radyasyona benzer şekilde, non-iyonizan radyasyon sınıfına giren RF alanları da kanser tedavisi için kullanabilir miyiz? Bu doğrultuda yapılan araştırmalar;

- Al-Serori ve diğerleri (2017), akıllı telefonların kullandığı UMTS-RF (SAR dozları; 0,25-0,50-1,00 W/kg) sinyallerin; mikroçekirdek oluşumu ve diğer anomaliler (nüklear tomurcuklar) ve nükleoplazmik köprüler oluşumu üzerine etkileri, insan glioblastoma hücre hatlarında (U87-wild type; U251-mutasyona uğramış) incelenmiştir. Yapılan araştırmanın sonuçları doğrultusunda; mikroçekirdek ve diğer anomalilerin oluşmadığı tespit edilmiştir. Ancak; en yüksek dozda U251 hücrelerinin morfolojik özelliklerinin temelinde **apoptozun indüklendiği** gözlenmiştir. Çalışma bulguları, UMTS-RF sinyalin glioblastoma hücrelerinde kromozomal hasara neden olmadığını göstermektedir (Al-Serori ve diğerleri., 2017).
- Zhang ve diğerleri (2017), 50 adet LLC tümör enjekte edilen C57BL/6 farelerin üzerinde mikrodalga radyasyonun tümör büyümesi ve apoptoz üzerine etkilerini araştırmışlardır. Mikrodalga radyasyona (30 mW/cm^2) sadece 15 dakika tüm vücut maruziyetinde; vücut sıcaklığının ($2,20 \pm 0,82^\circ\text{C}$) diğer gruplarla karşılaştırıldığında ($0,78 \pm 0,29^\circ\text{C}$, $1,24 \pm 0,52^\circ\text{C}$, $0,78 \pm 0,42^\circ\text{C}$, sırasıyla) artış gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak; LLC tümör hücrelerinde apoptozu etkilememiştir. Sürekli mikrodalga radyasyon maruziyetinde, tek doz mikrodalga radyasyon günde bir kez yedi gün boyunca doz ve süreye bağlı olacak şekilde LLC tümör hücrelerinde hücre bölünmesini

inhibe etmiş, **apoptozu indüklemiştir**. Bax, Kaspaz-3, p53 protein seviyeleri up-regüle, Bcl-2 proteini down-regüle olmuştur. LLC enjekte edilen farelerin mikrodalga radyasyona maruziyeti tümör hücre apoptozunun en az bir kısmını pro-apoptotik proteinleri up-regüle etmek, anti-apoptotik proteinleri de down-regüle etmek şeklinde indüklemektedir. Düşük şiddette sürekli mikrodalga radyasyona günde kısa süre ile maruz kalmak küçük hücreli olmayan **akciğer kanseri tedavisi için umut vaat etmektedir** (Zhang ve diğerleri., 2017).

- Lai ve diğerleri (2016), Molt-4 lösemi, BT474 meme kanseri ve HepG2 hepatik kanser hücrelerini RFID mikroçiplerden yayılan radyofrekans alana 1 saat boyunca maruz bırakmışlardır. Enerjinin üç farklı tip **kanser hücresinde de gelişimi** etkili bir şekilde **geciktirdiği** tespit edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen bulgular; mikroçip kaynaklı radyo frekans alan maruziyetinin kanser hücrelerini Fenton Reaksiyonu aracılığı ile etkileyebileceğini göstermektedir. Tümörlerde, **RFID mikroçiplerin implantasyonunun kanser tedavisinde** yeni bir yöntem olabileceği öngörülmektedir (Lai ve diğerleri, 2016).
- Liu ve diğerleri, (2015), insan glioblastoma hücre hatlarını (U251-MG ve U87-MG) 1950 MHz TD-SCDMA (mak. SAR 5.0 W/kg) radyasyona 12, 24, 48 saat süreler ile maruz bırakmışlardır. Hem biyolojik özellikler hem de tümör oluşum yeteneği açısından kontrol grupları ile karşılaştırıldıklarında önemli bir farklılık olmadığını tespit etmişlerdir. Elde edilen bulgular, 1950 MHz TD-SCDMA EM alanların 48 saat maruziyete kadar sitotoksik ya da tümör tetikleyici ajan olarak gliyoblastoma hücrelerinin gen ekspresyon ya da proliferasyon profilini etkilemediğini göstermektedir (Liu ve diğerleri, 2015).
- Lerchl ve diğerleri (2015), Tillmann ve arkadaşlarının 2010 yılında gerçekleştirmiş oldukları, embryo-fetal maruziyet pilot çalışmasını replike etmeyi hedeflemişlerdir. Tillmann ve ark., pilot çalışmalarında 72 haftaya kadar radyofrekans sinyallere maruz bıraktıkları farelerin tümör hassasiyetlerini incelemişlerdir. Önceden etilnitrosoüre (ethylnitrosoürea, zarar veren bir mutajen) ile muamele edilmiş dişi B6C3F1 yavrularda UMTS (universal mobil telecommunications systems; 3. Nesil teknolojileri, 3G) maruziyetinin ($4,8 \text{ W/m}^2$) hayat boyu kanser yapıcı faktörün etkisini artırma eğiliminde olduğuna ilişkin bulgular pilot çalışma ile gösterilmiştir. Pilot çalışmadaki gruplar

artırılarak çalışma replike edilmiştir: 1. Kontrol; 2. Sham Maruziyet; 3. SAR-0,04 W/kg ("düşük"); 4. SAR-0,4 W/kg ("orta") ve 5. SAR-2 W/kg ("yüksek"). Maruziyet gruplarındaki farelerin **akciğer ve karaciğerlerindeki tümör sayılarında** sham maruziyet gruplarına göre önemli derecede **artış** tespit etmişlerdir. Ayrıca, lenfomanın da maruziyet şiddetiyle ile arttığı da saptanmıştır. Çalışmada açıkça bir doz-cevap ilişkisi saptanamamıştır. Çalışmayı gerçekleştiren ekip, tümörün ilerlemesinin maruziyetten kaynaklı metabolik değişikliklerden olabileceğini hipotez etmektedir. Araştırmacılar; birçok etkinin düşük (0,04 W/kg) ve orta (0,4 W/kg) seviyedeki SAR değerlerinde görülmesi nedeniyle; daha fazla çalışma yapılarak altında yatan mekanizmanın anlaşılması gerektiğini, böylelikle de cep telefonu kullanıcılarının maruziyet seviyesinin limit değerlerin altına indirilebileceğini ifade etmektedirler (Lerchl ve ark., 2015).

- Akhavan-Sigari ve diğerleri (2014), gliyoblastoma multiform teşhisi konmuş ve günde 3 saatten fazla cep telefonu kullanan hastaların gliyoblastoma multiform santral ve periferik bölgelerinde p53 geni ekspresyonunu gerçek zamanlı (real-time) ters (reverse) transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) tekniği ile incelemiş ve klinikopatolojik bulgular ile genel sağ kalım ilişkisinin tanımlanmasını hedeflemişlerdir. Araştırmacılar, günde 3 saatten fazla cep telefonu kullanan hastaların %65' inin, gliyoblastomanın periferik bölgesinde **p53 geninin mutant tipinin ekspresyonunun arttığını** tespit etmişlerdir (Akhavan-Sigari ve diğerleri, 2014).
- Curley ve diğerleri (2014), RF uygulamasının (13,56 MHz; 1 KeV' dan 20 KeV/m²' ye kadar) abdominal tümör xenograft hayvan modellerinde **tümörün ilerlemesini engellediğini** tespit etmişlerdir. RF uygulamasında, 10 dakikalık maruziyet süresince tümörde sıcaklık artışının yaklaşık 46°C'ye yükseldiğini, normal dokularda ise sıcaklığın 37°C olduğunu saptamışlardır. Yazarlar, bu çalışmalarında RF ve hipertermi uygulamalarının malign ve normal hücrelerde proliferasyon oranını, oksijen tüketimini ve otofajiyi nasıl değiştirdiğini karşılaştırmışlardır. Sadece RF uygulamasının; kanser **hücre canlılığında ve proliferasyonunda azalmaya neden** olduğu bulunmuştur. Ayrıca, RF uygulamasının kanser hücrelerindeki mitokondriyal fonksiyon üzerinde hipertermi uygulamasına göre daha fazla etkisi olduğu tespit edilmiştir (Curley ve diğerleri, 2014).

- Özgür ve diğerleri (2014), 900 ve 1800 MHz GSM modüleli RF alanlara (SAR 2 W/kg) farklı sürelerde (1 saat, 2 saat, 3 saat ve 4 saat) kesikli [15 dak RF alan maruziyet sistemi açık/ 15 dak RF alan maruziyet sistemi kapalı] maruz bıraktıkları Hepatokarsinoma (HepG2) hücrelerinde hücre proliferasyonundaki ve apoptotik hücre ölümündeki değişimleri incelemiştir. Ayrıca, hücrede oluşan hücre hasarını, kültür mediumundan alınan örnekten analiz edilen laktat dehidrogenaz (LDH) ve hücre lizisi ile salınan glukoz miktarı ile tespit etmişlerdir. Hücre canlılığındaki değişimin, LDH ve glukoz seviyeleri ile de bağlantılı bir şekilde RF radyasyon maruziyetinin frekansı ve süresi ile değişim gösterdiğini tespit etmişlerdir. Maruziyet süresi-biyolojik etki karşılaştırması yapıldığında en fazla etkinin 4 saat maruziyet grubunda olduğu görülmüştür. Frekansa bağlı hücre canlılığındaki değişimler karşılaştırıldığında ise **1800 MHz GSM modüleli RF radyasyon** maruziyetinin hücre canlılığı ve **hücre hasarı üzerinde** 900 MHz GSM modüleli RF radyasyon maruziyetine göre **daha fazla etkisi olduğu** tespit edilmiştir. Morfolojik incelemeler de biyokimyasal analizleri desteklemiştir. 1800 MHz GSM modüleli RF radyasyona 4 saat süre ile kesikli maruz bırakılan HepG2 hücrelerinde DNA hasarı olduğu saptanmıştır (Özgür ve diğerleri, 2014).
- Lee ve diğerleri (2005), insan promiyelositik lösemi hücrelerini (human HL-60) 2,45 GHz frekanslı 10 W/kg SAR değerindeki RF alanlara maruz bırakmış ve gen ekspresyonunda farklılık gözlemişlerdir. Ayrıca araştırmacıların, 2006 yılında basılan çalışmalarında, insan T-lenfosit Jurkat hücreleri ve rat birincil astrosit hücreleri; 1763 MHz frekansa sahip RF alanlara 30 dakika ya da 1 saat boyunca maruz bırakılmış ve uygulanan RF alanların ısı şoku proteinlerinin ekspresyonlarında değişime neden olup olmadığı araştırılmıştır. HSp90, HSp70 ve HSp 27 ekspresyon seviyelerinde herhangi bir değişim olmadığı tespit edilmiştir (Lee ve diğerleri, 2005).
- Leszczynski ve diğerler (2002), kültür ortamında insan endotel hücrelerini, ortalama SAR değeri 2 W/kg olan 900 MHz GSM sinyallerine 1 saat boyunca maruz bırakmış ve uygulanan RF alanın HSp27 ekspresyon seviyelerinde geçici değişimlere neden olduğu tespit edilmiştir (Leszczynski ve diğerleri, 2002).
- Hirose ve diğerleri (2006), insan gliyoblastoma A172 hücrelerini; SAR değerleri 80, 250 ve 800 mW/kg olan W-CDMA (Wideband Code Division Multiple Access, 3G

uygulamaları için kullanılan bir GSM ağı) ve SAR değeri 80 mW/kg olan sürekli dalga formundaki (continuous wave, CW) 2142,5 MHz radyasyona 24 ve 48 saatlik sürelerle maruz bırakılmışlardır. Ayrıca, insan fetüs akciğerlerinden elde edilen insan IMR-90 fibroblastları da; SAR değeri 80 mW/kg olan W-CDMA ve CW 2142,5 MHz radyasyona 28 saat süresince maruz bırakılmıştır. Hücrelerde apoptoz ve stres faktörleri araştırılmıştır. SAR değeri 800 mW/kg'a kadar olan düşük seviyedeki RF sinyallerinin p53-bağımlı apoptozu, DNA hasarını ve diğer stres cevaplarını indüklediği tespit edilmiştir (Hirose ve diğerleri, 2006).

- Merola ve diğerleri (2006), nöroblastoma hücre kültürlerini; SAR değeri 1 W/kg olan GSM modülasyonlu 900 MHz radyofrekans alana 24, 48 ve 72 saat boyunca maruz bırakmış ve değişik sürelerde uygulanan RF EM alanların, nöroblastoma hücrelerinin gelişim ve farklılaşmalarında meydana getirebileceği olası değişimler ve apoptoz üzerine etkileri araştırılmıştır. Yetmiş iki saatlik maruziyete kadar RF EM alanların nöroblastoma hücrelerinde meydana gelen bu 3 temel aktivite üzerinde herhangi bir etkiyi indüklediği tespit edilmiştir (Merola ve diğerleri, 2006).
- Caraglia ve diğerleri (2005), insan epidermoid kanser hücre kültürünü, SAR değeri 3.6 ± 0.2 mW/g olan, 1950 MHz MW EM alana 1 ila 3 saat arasında değişen sürelerde maruz bırakmış ve uygulanan EM alanın stres bağımlı HSP70 ve 27 ekspresyonlarındaki artış ile farklılaşmayı indüklediği ve bunun sonucunda **apoptozu engelleyebileceği** tespit edilmiştir (Caraglia ve diğerleri., 2005).
- Marinelli ve diğerleri (2004), insan T-lenfoblast lösemi hücre kültürünü; SAR değeri 3.5 mW/kg olan 900 MHz radyofrekans alana 2-48 saat süre ile maruz bırakmış ve uygulanan alan değerinin hücre gelişim oranı ve apoptozis üzerine etkilerini araştırmıştır. Kısa süreli maruziyet (2-12 saat) sonrasında, **DNA kırıklarının meydana geldiği, p53-bağımlı ve bağımsız yollarının erken aktivasyonunun indüklendiği** tespit edilmiştir. Uzun süreli maruziyette (24-48 saat) ise **pro-apoptotik sinyallerin, hücre içi (Bcl-2) ve hücre dışı (Ras ve Akt1) sinyallerin dâhil olduğu genlerde aktivasyonun azaldığı** tespit edilmiştir (Marinelli ve diğerleri, 2004).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

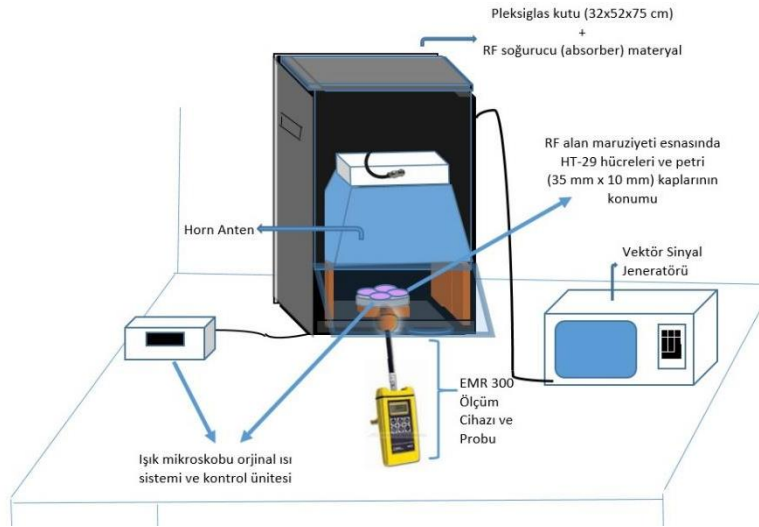
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

3.1.1. Hücre hattı

Çalışmada, Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu (American Type Culture Collection, ATCC)'ndan alınan, insan kolorektal adenokarsinoma hücre hattı olan HT-29 (ATCC®HTB-38) hücreleri kullanıldı. Hücre hattı, 44 yaşındaki kadın kolorektal adenokarsinoma hastasının tümörlü dokusundan alınmış ve kültüre edilmesiyle elde edilmiştir.

3.1.2. Kullanılan cihazlar

Radyofrekans radyasyon maruziyetinde kullanılan cihazlar



Şekil 3.1. Radyofrekans radyasyon maruziyet sistemi

Vektör sinyal jeneratörü

Çalışmada, vektör sinyal jeneratörü olarak Test Ölçüm Cihazları Üretici firması olan Rohde ve Schwarz tarafından üretilen R&S®SMBV100A Vektör Sinyal Jeneratörü kullanıldı (Şekil 3.2). Sinyal jeneratörünün teknik özellikleri Çizelge 3.1 verilmiştir.



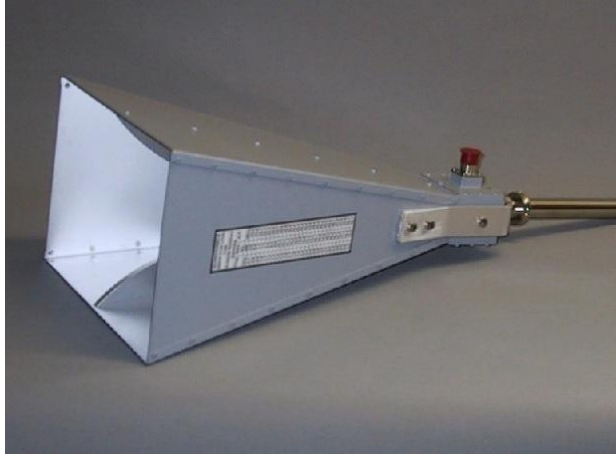
Şekil 3.2. Vektör sinyal jeneratörü

Çizelge 3.1. Vektör sinyal jeneratörünün teknik özellikleri

Frekans aralığı	9 kHz to 3.2 GHz
Frekans çözünürlüğü	0.001 Hz
Çıkış gücü	$1 \text{ MHz} \leq f \leq 6 \text{ GHz}$: (-145 dBm) – (+30 dBm) $300 \text{ kHz} \leq f < 1 \text{ MHz}$: (-145 dBm) – (+18 dBm) $100 \text{ kHz} \leq f \leq 300 \text{ kHz}$: (-145 dBm) – (+13 dBm) $9 \text{ kHz} \leq f \leq 100 \text{ kHz}$: (-145 dBm) – (+8 dBm)
Güç çözünürlüğü	0.01 dB
Çıkış doğruluğu	$200 \text{ kHz} \leq f \leq 3 \text{ GHz}$: < 0.5 dB $f > 3 \text{ GHz}$: < 0.9 dB
Çıkış empedansı	50 Ohm
Modülasyon	AM, FM, Puls, Faz, I/Q

Horn anten

Sistemde alan yayılımı için Schwarzbeck BBHA 9120 L3F horn anten (Double ridged broadband horn antenna, DRHA) (D-96250 Schöna, Germany) (Şekil 3.3) kullanıldı. Horn antenler, mikrodalga ve RF sinyallerinin gönderilmesi ya da alınması için kullanılan anten tiplerinden biridir. Basit geometrilere sahip olmaları nedeniyle analizleri, tasarımları ve imal edilmeleri kolay olan bu antenler, diğer antenlere göre yüksek kazanç verdiklerinden tercih edilmektedirler. Horn antene ait teknik özellikler Çizelge 3.2’de verilmiştir.



Şekil 3.3. Horn anten

Çizelge 3.2. Horn antenin teknik özellikleri

Frekans aralığı	0,5-2,8 GHz
Anten kazancı	5-14 dBi
Anten faktörü	19-26dB/m
VSWR	<2
Boyutları (en x boy x derinlik)	416 240 x 550 mm

Elektromanyetik alan ölçüm cihazı ve probu

RF radyasyon; 1800 MHz, 2100 MHz ve 2600 MHz GSM modüleli cep telefonu sinyali benzeri pulslu dalgalar şeklinde, farklı uygulama sürelerinde (3 saat, kesikli ve sürekli 6 saat), insan kolorektal adenokarsinoma hücrelerine uygulandı. Hücrelerin maruz kaldığı ortamdaki alan şiddeti EMR 300 cihazı ve uygun propları kullanılarak (Şekil 3.4) ölçüldü. Hücrelerin maruz kaldığı elektrik- manyetik alan şiddetleri ve güç yoğunluğu ölçümleri tespit edildi (Çizelge 4.2).



Şekil 3.4. Elektromanyetik alan ölçüm cihazı (NARDA EMR 300 cihazı) ve probu

3.1.3. Hücre kültürünün hazırlanması

HT-29 hücreleri; içerisinde %10 Fetal sığır serumu (Fetal Bovine Serum, FBS, Heat-inactivated, F4135, Sigma-Aldrich, USA), %1 penisilin-streptomisin (Sigma-Aldrich;USA) ve 2mM glutamin (Invitrogen;USA) bulunan Dulbecco'nun Modifiye Eagle Besiyeri (Dulbecco's modified Eagle Medium, DMEM, Biochrom) nde kültüre edilmiştir.

Kültüre edilen insan kolorektal karsinoma hücreleri 37°C' de, %5 CO₂ ve %95 nem ile inkübatörde inkübe edilmiştir.

Hücreler flaska ekildikten sonra genellikle üç büyüme fazı geçirmektedirler:

- Lag fazı: Kültür hücrelerinin yeni koşullara uyum sağladığı dönemdir.
- Hızlı büyüme (eksponansiyel) fazı: En yüksek metabolik aktivitenin gözlemlendiği logaritmik artış (üreme) dönemidir.
- Hücrelerin yüzeyi tamamen kapladığı (confluent) plato fazı: Hücrelerin hücre sayısının sabit kaldığı durağan evredir. Hücre nüfus yoğunluğu baskılamıştır, hücreler daha fazla çoğalamazlar, bu durumda hücrelerin bulundukları kültür ortamından alınıp başka ortamlara aktarılmaları gerekmektedir, bu işleme “pasajlama” adı verilmektedir.

Plato fazındaki confluent hücrelerin biyokimyası, eksponansiyel fazdaki hücrelerin biyokimyasından farklı olacağından; pasajlama işlemi hücrelerin yeterli sayıya ulaştığı ve durağan hale gelmediği evrede yapılmaktadır. Pasajlama işlemi ile hücrelerin kültüre edilme işleminin devamlılığı sağlanmaktadır.

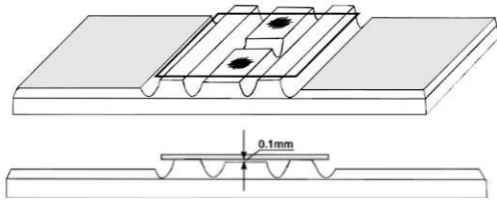
3.1.4. Hücre pasajlama işlemi

Kültür esnasında 75cm²'lik flasklara ekim yapılan hücrelerin üst mediumları (ortamları) atıldıktan sonra, kalsiyum (Ca²⁺) ve magnezyum (Mg²⁺) içermeyen tuzlu fosfat tuz tamponu (Phosphate-buffered saline, PBS) ile yıkama işlemi yapılmaktadır. Bu yıkama işlemi ile yüzeyden besiyerinin iyice uzaklaştırılması amaçlanmaktadır. Besiyeri uzaklaştırıldıktan sonra, yüzeyi kaplayacak kadar (4ml) Tripsin-EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit, Biochrom) solüsyonu eklenmekte, 37°C' de, % 5 CO₂' li inkübatörde 5 dakika süre ile inkübe edilmektedir. İnkübasyon sonrası, yüzeyde yapışan hücrelerin kalmadığına emin olduktan sonra ortama Tripsin'in iki katı hacminde serum (%10 FBS) içeren complete medium (4 ml, çoğaltma ortamı) [Dulbecco'nun Modifiye Eagle Besiyeri, DMEM, (2mM L-glutaminli) + %10 FBS + %1 penisilin-streptomisin] eklenmektedir. Böylelikle, Tripsin'in etkisi nötralize olmaktadır. Bu işlem sonrasında, kaldırılan hücreler sağlıklı bir sonuç için önce sayılmakta, sonrasında da birkaç flaska eşit sayıda olacak şekilde hücrelerin ekimi yapılmaktadır.

Bu projede; ekimi yapılacak hücrelerin sayımı işlemi Tripan Mavisi Boyama Yöntemi kullanılarak yapılmıştır.

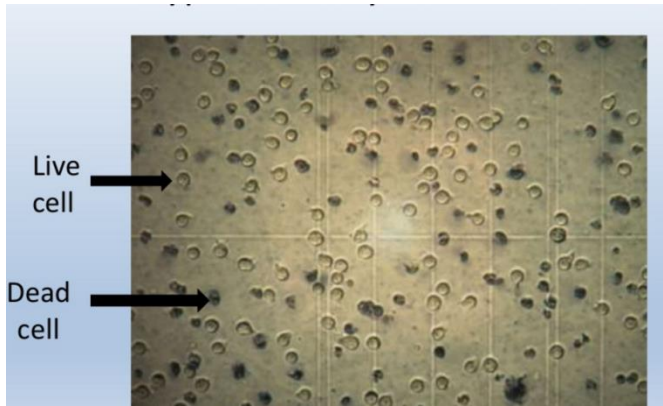
3.1.5. Tripan mavisi boyama yöntemi ile canlı ve ölü hücre oranının tespiti

Araştırma laboratuvarlarındaki hızlı teknik gelişmelere rağmen, Neubauer lamı/Thoma lamı ile hücre sayımı en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir (Şekil 3.5). Temel prensip; 0,1mm³ hacimde sayım yapılmasına dayanmaktadır. Thoma lamı, 25 küçük karenin (kare prizma; Derinlik: 0,1mm; Hacmi: 0,05mm x 0,05mm x 0,1mm = 2,5x10⁻⁴ mm³) oluşturduğu 16 büyük kare olacak şekilde 400 küçük kareden (2,5x10⁻⁴ mm³ x 400 = 0,1mm³) oluşmaktadır. Hücre sayımı bu karelerde yapılmaktadır.



Şekil 3.5. Thoma lamı-hücre canlılık sayımı

Tripan Mavisi boyama yöntemi, hücre canlılığını ölçmek için kullanılan yöntemlerden biridir. Tripan mavisi boyası, hücreye girince hücre içi proteinlerine bağlanmakta ve hücreleri maviye boyamaktadır. Ancak; Tripan mavisi sadece ölü hücrelerin membranından içeri geçerek onları boyamaktadır. Hücre süspansiyonu tripan mavisi ile seyreltildiğinde; Canlı hücreler küçük, yuvarlak ve refraktif (ışık kıran) olarak görünürler. Ölü hücreler şiş, büyük ve koyu mavi hale gelirler (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Canlı hücre ve ölü hücrenin gösterimi

Her iki hücrenin total sayısı mililitre başına ve canlı hücrelerin yüzdesi olarak belirlenebilir. Bu metodun temel prensibi, canlı hücreler boyayı almaz iken ölü hücrelerin almasıdır. Tripan Mavisi Canlılık Testleri floresan bazlı tespit metotları ile karşılaştırıldığında daha yüksek oranda hücre canlılığı ölçmüştür (Altman ve diğerleri, 1993; Mascotti ve diğerleri, 2000).

Uygulama basamakları;

- Tripsinizasyon işlemi sonrasında; falkon tüplerine aktararak 1800 rpm’de 9 dakika santrifüj işlemine tabi tutulan HT-29 hücrelerinin süpernatant adı verilen üst kısmı atılmış, kalan pellet üzerine 2 ml besiyeri eklenerek pipetleme işlemi yapılmıştır. Pipetleme işlemi ile pellet iyice dağıtılmıştır.
- Homojen hale getirilen pelletler, ependorflara alınmıştır.
- Belirli dilüsyon oranlarında seyreltilmiş Hücre süspansiyonları üzerine 0,2 ml % 0.5’lik Tripkan Mavi boyası eklenerek ve iyice karıştırılmıştır.
- Karıştırma işleminden sonra 5 dakika oda sıcaklığında (15-30°C arasında) bekletilmiştir.
- Örnekler Thoma lamına yerleştirilerek, bütün hücreler ve canlı (boya almamış) hücreler sayılmıştır.
- Canlı hücreler yüzdesi aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:
- Canlı hücre oranı (%) = $\frac{\text{Boya almamış hücrelerin sayısı}}{\text{Toplam hücre sayısı}} \times 100$

3.1.6. Kantitatif Gerçek Zamanlı (Real Time) PZR, yöntemi ile kaspaz genlerinin ifadenmesi

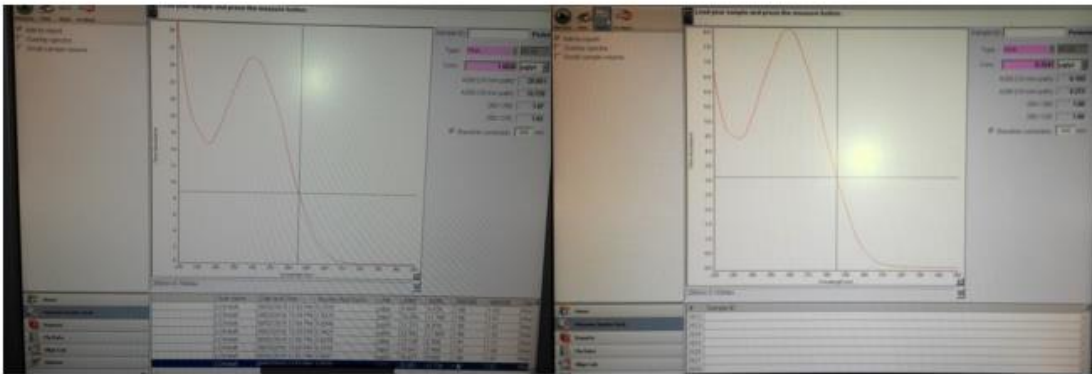
- Kaspaz genlerinin ifadenmesi ticari PZR kit protokolü doğrultusunda tespit edilmiştir.
- Bu PZR kitinin protokolü takip edilerek aşağıda belirtilen işlemler uygulanmıştır:
- Öncelikle Total RNA izolasyonu yapılmış, izole edilen RNA’lar kalite ve kantite açısından değerlendirilmek üzere denatüre jel elektroforezinde (RNA elektroforezi; Agaroz-Formaldehid jel elektroforezi) yürütülmüştür.

Total RNA izolasyonu

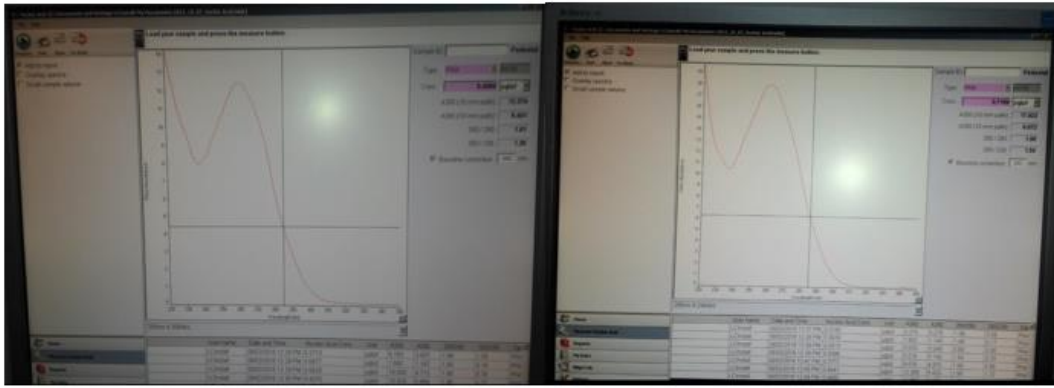
- RNA izolasyonu en az 10^6 hücreden yapıldı. Trizol uzaklaştırılarak, Trizol/ hücre lizatları 1,5 ml’lik ependorflarda muhafaza edildi.
- 5 dakika süresince oda sıcaklığında tutuldu.
- 250 µl kloroform eklenmiş, 15 saniye süresince hızlıca tüpler sallandı.
- Tüpler, 10 000 rpm de 5 dakika süresince santrifüje tabi tutuldu.
- Santrifüj sonrasında tüplerde 3 faz oluştu:
 - Üst faz: açık, sıvı (RNA)

- Orta faz/interfaz: beyaz çöktürülmüş (DNA)
- Alt faz: pembe organik faz (protein)
- Pipet yardımıyla dikkatli bir şekilde üst faz uzaklaştırıldı, 1,5 ml' lik ependorflara alındı.
- Ependorflardaki sıvı faz üzerine 550 µl izopropanol eklenmiş karışım dikkatli bir şekilde karıştırıldı. Oda sıcaklığında 5 dakika tutuldu.
- 14 000 rpm' de 20 dakika (bu süre 30 dakikaya da çıkarılabilir) ependorflar santrifüj işlemine tabi tutuldu.
- Ependorflar buz üzerine alındı, bir sonraki işlem izopropanolü uçurmak ve içerisinde DEPC bulunan su ile hazırlanmış %75 etanolden 1 ml eklemek ve dikkatlice karıştırmak oldu.
- Ependorflar sonrasında, 9500 rpm de 5 dakika süresince santrifüj işlemine tabi tutuldu.
- Etanol uzaklaştırılmış ve pelletler, kurumaya bırakıldı.
- RNA pelletlerin üzerine yaklaşık 15-25µl ya DEPC uygulanmış TE tamponu ya da su eklendi.
- Ependorf tüp RNA 1/40 (48,8µl TE Tamponundan 1,2µl'si) oranında dilüe edilerek mikroküvete (yol uzunluğu= 1 cm) eklendi. RNA konsantrasyonları için 260 nm dalga boyunda absorbens ölçümleri ve konsantrasyon tayinleri yapıldı.
- Absorbans oranları (260 nm/280nm) 1,8'den büyük olmalıdır. Eğer, bu oran 1,5-1,6' dan düşük ise en azından kısmen parçalanmış anlamına gelmektedir. Düşük oranlarda aynı zamanda DNA ya da tiyosiyanat kontaminasyonu olabilmektedir.

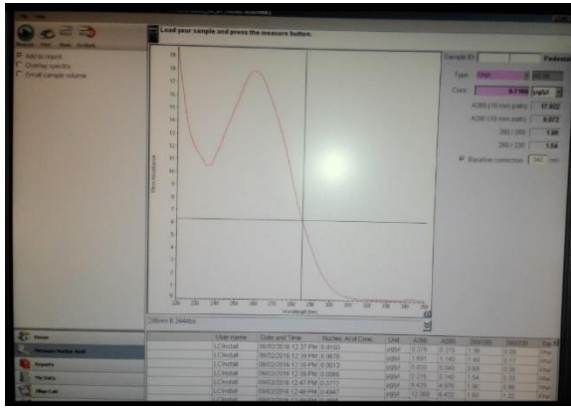
Çalışmada yapılan absorbens ölçümleri ve konsantrasyon tayinlerinden örnekler Şekil 3.7, Şekil 3.8 ve Şekil 3.9'de gösterilmektedir.



Şekil 3.7. Çalışmada yapılan absorbens ölçümleri ve konsantrasyon tayinlerine örnekler



Şekil 3.8. Çalışmada yapılan absorbans ölçümleri ve konsantrasyon tayinlerine örnekler



Şekil 3.9. Çalışmada yapılan absorbans ölçümleri ve konsantrasyon tayinlerine örnekler

RNA Konsantrasyonu (μl) Hesabı: $1/\text{konsantrasyon}$

RNA + distile su= 9,4 μl

cDNA sentezi protokolü

İzole edilen RNA' lardan Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kiti (Roche Diagnostics. GmbH, Mannheim) kullanılarak cDNA sentezlendi.

- cDNA sentezi için protokolü uygulamaya başlamadan önce kullanılacak olan donmuş haldeki reaktifler çözöldü.
- Reaktifler, protokol öncesinde kısa bir süre santrifüj işlemine tabi tutuldu.
- Uygulamalar süresince de bütün reaktifler buz üzerinde tutuldu.

- Buz üzerinde tutulan, steril (nuclease-free) ince duvarlı PCR tüplerinde template-primer karışımı hazırlandı (20 µl reaksiyon için). Hazırlanmış olan template-primer karışımı Çizelge 3.3’de listelenmektedir.

Çizelge 3.3. Template primer karışımı

İçerik	Hacim (µl)	Son Hacim
Total RNA	(1/konsantrasyon) hesabından	1ng
Random Hexamer	2 µl	60µM
dH₂O	9,4- (1/ konsantrasyonu) hesabından	
Toplam Hacim	11,4 µl	

Hazırlanan template-primer karışımı 10 dakika süre ile ısıtmalı bir blok cycler da denatüre edildi. Bu basamak RNA’ nın ikincil yapılarının denatürasyonunu sağladı. Bu aşamadan sonra, tüpler hızlıca buz üzerine alınarak soğutuldu.

Template-primer karışımı içeren tüplere çoklu reaksiyonlar için hazırlanan master mixler eklendi. Eklenmiş olan master mixler Çizelge 3.4’de listelenmektedir.

Çizelge 3.4. Çoklu reaksiyonlar için hazırlanan master mixler

İçerik	Hacim (µl)	Son Hacim
Transcriptor High Fidelity Reverse Transcriptase Reaction Buffer, 5x conc. (vial 2)	4	1x (8 mM MgCl ₂)
Protector RNase Inhibitor 40 U/µl (vial3)	0,5	20 U
Deoxynucleotide Mix, 10Mm each (vial4)	2	1mM herbiri
DTT (vial7)	1	5 mM
Transcriptor High Fidelity Reverse Transcriptase (vial 1)	1,1	22 U
+ 11,4 µl (Template Primer Mixture)		
Son Hacim	20 µl	

Kontrol reaksiyonu için ise;

İçerisinde cDNA yerine su bulunan negatif kontrol reaksiyonu Çizelge 3.5’de belirtildiği şekilde hazırlandı.

Çizelge 3.5. Negatif kontrol reaksiyonu hazırlanışı

İçerik	Hacim (µl) [50µl reaksiyon]	Son Hacim
Water, PCR Grade (19 µl)	2,6 µl	
İleri (Forward) Primer (30 µM) (0.5 µl)	0,35 µl	300nM
Geri (Reverse) Primer (30µM) (0.5 µl)	0,35 µl	300nM
FastStart Universal SYBR Green Master (ROX) (25 µl)	6,7 µl	1x
Toplam Hacim (45 µl)	10 µl +5 µl cDNA	

İleri ve geri primer dizileri Çizelge 3.6’te listelenmektedir.

Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Gerçek Zamanlı (Real Time) PZR, hedef nükleik asid dizisinin özgül olarak çoğaltılmasını ve bu sırada flöresan işaretleyici moleküller kullanılarak PZR ürün miktarının gerçek zamanlı olarak tesbit edilmesini sağlayan bir yöntemdir.

Flöresan işaretleyici moleküller genel olarak iki başlık altında toplanabilir.

1. SYBR® Green ve benzeri DNA’ya bağlanan boyalar
2. Flöresan işaretli PZR primer ve proplar (Hidroliz-TaqMan-proplar, Scorpion PZR primerleri, Moleküler beacons gibi).

DNA’ya bağlanan boyalar, çift zincirli DNA molekülüne nükleik asid dizisinden bağımsız olarak bağlanırlar. Bu boyalar doymuş ve doymamış olarak iki gruba ayrılır. SYBR® Green doymuş boyalardandır. Belirli bir derişimin üzerinde PZR’nin baskılanmasına neden olur. EvaGreen, LC Green ise doymamış boyalardandır. Bu boyalar PZR’nin baskılanmasına neden olmaz ve PZR karışımının içine olası tüm çift zincir DNA molekülüne bağlanacak derişimde boya konulabilir. Ancak bu boyalar özellikle yüksek çözünürlüklü DNA erime eğrisi analizlerinde kullanılmaktadır.

SYBR® Green I, gerçek zamanlı PZR yönteminde en sık kullanılan boyadır. SYBR® Green boyası, solüsyon içerisinde serbest haldeyken çok düşük düzeyde flöresan ışıma yapar. Çift zincirli DNA molekülüne bağlandıktan sonra yaydığı flöresan ışıma yaklaşık 1000 kat artış gösterir. Karışımdaki çift zincirli DNA molekülü miktarı arttıkça bununla orantılı olarak flöresan ışıma miktarı da artış gösterir. Böylelikle PZR ürün miktarındaki artış gerçek zamanlı PZR cihazları yardımıyla tesbit edilebilir. Bu yöntem aracılığıyla her PZR döngüsü sonunda tüp içinde oluşan çift zincirli ürün miktarı ölçülerek kantitatif analizlerin yapılması sağlanır. Bu yöntem kullanılarak gen ifadenme değişimleri analiz edilebilir (Nolan et al. 2006).

[SYBR® Green gibi çift zincirli DNA molüküllerine diziden bağımsız olarak bağlanan boyaların gerçek zamanlı PZR’da kullanılması, flöresan işaretli PZR primer ve prob lar ile karşılaştırılırsa bazı avantajlara sahiptir. Bunlar:

1. PZR primer dizayn edilmesi daha kolaydır.
3. PZR reaksiyonu için hedef bölgeye bağlanan prob dizayn edilmesine gerek yoktur.
4. Maliyeti daha düşük olduğu için çok sayıda farklı gen aynı zamanda analiz edilebilir.
5. PZR sonrasında gerçekleştirilen erime eğrisi analizi ile elde edilen PZR ürünlerinin özgülüğü kolaylıkla kontrol edilebilir.]

Bununla birlikte DNA’ya bağlanan boyaların, DNA molekülüne diziden bağımsız bir şekilde bağlanmaları nedeniyle bazı eksiklikleri de bulunmaktadır. Bu boyaların flöresan ışıma yapması için karışımda çift zincirli DNA molekülünün bulunması yeterlidir. Bu nedenle eğer kullanılan primer dizileri, kendi kendilerine bağlanıp primer dimer oluşturur veya hedef bölge dışında bazı başka bölgelerin daha çoğaltılmasına neden olur ise bu durumda hedef ürün miktarının hesaplamasında gerçek durumdan sapmalar gözlenebilir (Bustin et al. 2005). Bu nedenle SYBR Green kullanımında en önemli aşama uygun primer seçimidir.

Yöntemin başarıyla uygulanabilmesi için PCR primerlerinin sadece spesifik cDNA’ya bağlanması, primer-dimer veya spesifik olmayan amplifikasyon ürünü oluşturmaması gerekmektedir.

RNA izolasyonu sırasında oluşabilecek olası genomik DNA kontaminasyonu SYBR Green yönteminde sorun yaratabilen bir diğer konudur. Bunun önüne geçebilmek için primerlerin farklı ekzonlardan seçilmesi, primerlerin bağlanacağı ekzonlar arasında büyük intronlar olması, ürün boyutunun 100-150 baz çifti uzunluğu arasında olması önemli noktalardandır (Balcı, 2009)

Gerçekleştirilen PZR reaksiyon ürünlerinin özgüllüğü erime eğrisi (melting curve) analizi ile kontrol edilir. Çift zincirli DNA molekülünün %50'sinin tek zincirli hale geldiği sıcaklığa erime sıcaklığı (melting temperature, T_m) denir. Her çift zincirli DNA molekülünün, baz içeriği tarafından belirlenen kendine özgül bir T_m değeri vardır. Erime eğrisi analizi için, amplifikasyondan sonra sıcaklık, DNA molekülünün tamamen tek zincirli hale geleceği sıcaklığa kadar yükseltilir. Bu sırada belirli aralıklarla floresan ışıma miktarı ölçülür. Çift zincirli DNA molekülü, tek zincirli hale gelmeye başlayınca bağlı olan boyalar serbest hale gelir ve ölçülen flöresan ışınma miktarı bununla orantılı olarak azalır. Bu yöntemle elde edilen erime eğrisi kullanılarak PZR ürünlerinin T_m değeri belirlenir. PZR ürünlerinin erime eğrisi analizi ile test edilmesi sonucunda farklı T_m değerlerinin saptanması, tüp içerisinde hedeflenen bölge dışında başka bölgeye ait ürünlerin veya primer dimerlerinin varlığını göstermektedir.

Gerçek zamanlı PZR yönteminde elde edilen ifadelenme değerlerinin normalizasyonu amacı ile çeşitli koşullarda ifade düzeyi etkilenmeyen bir gen, referans gen olarak kullanılır (Bustin 2002). İncelenen hedef genin ifade düzeyi, referans gen olarak kullanılan housekeeping genin ifade düzeyine oranlanır. Bu oranlamayla amaç, RNA izolasyonu ve cDNA sentezi sırasında oluşabilecek örnekler arası başlangıç farklılıklarını ve ayrıca gerçek zamanlı PZR de dahil deneysel süreçler sırasında oluşabilecek hataları normalize etmektir.

Bu çalışmada Çizelge 3.6 'de listesi ve dizileri verilen genler semi-kantitatif gerçek zamanlı PZR yöntemi ile analiz edildi.

Kantitatif gerçek zamanlı PZR sonucunda elde edilen veriler $2^{-\Delta\Delta C_t}$ yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Beta aktin geni, housekeeping gen olarak kullanılmıştır (Livak ve Schmittgen, 2001).

$$R = 2^{[C_{t_{\text{örnek}}} - C_{P_{\text{kontrol}}}]}$$

$$R = 2^{\Delta C_t}$$

$$R = 2^{-[\Delta C_{t_{\text{örnek}}} - \Delta C_{t_{\text{kontrol}}}]}$$

$$R = 2^{-\Delta \Delta C_t}$$

Bu amaçla uygulanan protokol aşağıda verilmiştir.

Çizelge 3.6. Semi-kantitatif gerçek zamanlı PZR yöntemi ile analiz edilen genlerin listesi ve primer dizileri

Primer Name	Forward (5' to 3')	Reverse (5' to 3')	Amplicon Size (bp)	Reference	Primer Bank ID
CASP3	CATGGAAGCGAATCAATGGACT	CTGTACCAGACCGAGATGTCA	139	1-3	73622121c1
CASP8	TTTCTGCCTACAGGGTCATGC	TGTCCAACCTTCTCTCTCCA	183	1-3	1403329a3
CASP9	CTGTCTACGGCACAGATGGAT	GGGACTCGTCTTCAGGGGAA	177	1-3	312596928c3
CASP12	AACAACCGTAACTGCCAGAGT	CTGCACCGGCTTTTCCACT	118	1-3	300360579c1
ACTB	GGCACCCAGCACAAATGAAG	CCGATCCACACGGAGTACTTG	66	4	-

Toplam 20µl hacimdeki RT-PCR reaksiyonu Çizelge 3.7’teki koşullarda gerçekleştirildi.

Çizelge 3.7. RT-PCR Reaksiyonu koşulları

1 döngü	Başlangıç denatürasyonu	95	5 dakika
35 döngü	Denatürasyon	95	10 saniye
	Yapışma (Annealing)	50	20 saniye
	Uzama (Elongation)	72	30 saniye
1 döngü	Final Uzama (Final Elongation)	72	7 dakika
	Soğuma (Cooling)	4	

3.1.7. RF alan maruziyet grupları

Günümüzde cep telefonu teknolojileri ve en yaygın kullanılan 1800 MHz (2G), 2100 MHz (3G), 2600 MHz (4G) frekanslarının olası etki mekanizmalarını moleküler düzeyde optimum koşullarda araştırabilmek amacı ile; HT-29 hücreleri standardize edilerek, üç farklı uygulama saati belirlenmiş (3 saat sürekli, 6 saat kesikli [3saat RF maruziyet sistemi açık /1saat RF maruziyet sistemi kapalı /3saat RF maruziyet sistemi açık], 6 saat sürekli) ve HT-29 hücreleri bu uygulama sürelerinde söz konusu RF alanlara maruz bırakılmıştır. Maruziyet gruplarına ait hem Sham hem de Kontrol grupları da çalışılmıştır. Kontrol grupları aynı sürede inkübatör içerisinde bekletilip, süre sonunda analizleri yapılmıştır. Sham grupları için RF maruziyet grupları ile aynı koşullar sağlanmış; ancak RF maruziyet sistemi kapalı konumda tutulmuştur. Bu sayede, gruplar arası karşılaştırma yapılarak, deneyi etkileyebilecek faktörler olabildiğince elimine edilmeye çalışılmıştır.

Farklı frekans ve maruziyet sürelerinde uygulanan RF alanların HT-29 hücreleri üzerinde oluşturabileceği olası biyolojik etkileri tespit edebilmek ve en etkin frekans ve uygulama süresinin belirlenebilmesi amacıyla; Hücre Canlılık Testleri yapılmıştır. Etkin olan RF alan şiddetleri ve süreleri uygulanmak suretiyle, HT-29 hücrelerinde programlı hücre ölümü yolağı ve sağkalım mekanizmalarında aktif rol oynayan kaspaz proteinlerinin, başlıca 4 gen üzerinden, araştırılması hedeflenmiştir. Bu hedef doğrultusunda; programlı hücre ölümü ve sağkalım mekanizmalarında önemli rol oynayan Başlatıcı Kaspaz (Kaspaz-8; Kaspaz-9), Uyarıcı Kaspaz (Kaspaz-3) ve Yangı Kaspaz (Kaspaz-12) gen ifadenme düzeyleri tespit edilmiştir.

Deney grupları

Çalışmada, farklı frekanslarda (1800 MHz, 2100 MHz ve 2600 MHz) ve farklı uygulama sürelerinde (3 saat, 6 saat kesikli [3 saat RF Alan Maruziyet sistemi açık / 1 saat RF Alan Maruziyet sistemi kapalı / 3 saat RF Alan Maruziyet sistemi açık], 6 saat sürekli) RF Alanlara Maruz bırakılan HT-29 hücreleri, kendi negatif kontrolleri ve kendi sham grupları olacak şekilde, deney grupları 3 kez tekrar edilerek çalışılmıştır.

Çizelge 3.8. 1800 MHz RF alan maruziyet deney grupları: 1. Deney Grupları

1800 MHz RFR (3 saat sürekli)	Kontrol	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
	Sham	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
	RFR	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
1800 MHz RFR (3 saat RF alan maruziyeti + 1 saat inkübatörde + 3 saat RF alan maruziyeti)	Kontrol	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
	Sham	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
	RFR	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
1800 MHz RFR (6 saat sürekli)	Kontrol	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
	Sham	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
	RFR	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek

Çizelge 3.9. 2100 MHz RF alan maruziyet deney grupları: 2. Deney Grupları

2100 MHz RFR (3 saat sürekli)	Kontrol	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
	Sham	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
	RFR	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
2100 MHz RFR (3 saat RF alan maruziyeti + 1 saat inkübatörde + 3 saat RF alan maruziyeti)	Kontrol	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
	Sham	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
	RFR	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
2100 MHz RFR (6 saat sürekli)	Kontrol	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
	Sham	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
	RFR	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek

Çizelge 3.10. 2600 MHz RF alan maruziyet deney grupları: 3. Deney Grupları

2600 MHz RFR (3 saat sürekli)	Kontrol	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
	Sham	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
	RFR	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
2600 MHz RFR (3 saat RF alan maruziyeti + 1 saat inkübatörde + 3 saat RF alan maruziyeti)	Kontrol	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
	Sham	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
	RFR	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
2600 MHz RFR (6 saat sürekli)	Kontrol	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
	Sham	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek
	RFR	1. Örnek	2. Örnek	3. Örnek

4. BULGULAR

4.1. Farklı Frekanslarda Uygulanan RF E Alan Optimizasyonu

Çalışmada uygulanan farklı frekanslardaki RF alan maruziyetleri uzak alanda gerçekleştirildiği için sadece elektrik alan şiddetinin ölçülmesi yeterli olmasına ve ölçülen elektrik alan şiddetinden hesaplanarak bulunabilmesine rağmen, deney esnasında düzenli olarak manyetik alan şiddeti ve güç yoğunluğu ölçümleri de yapılmıştır.

Elektromanyetik Alanların insan sağlığı üzerindeki etkileri ile ilgili dünyada birçok kuruluş standart ve sınır değerler belirlemişlerdir. Bu sınır değerler, frekansa göre farklılıklar göstermektedir. Ülkemizde bu sınır değerler, Bilişim Teknolojileri ve İletişim Kurumu (BTK) tarafından, 10.11.2008 tarih 5809 sayılı “Elektronik Haberleşme Kanunu” ve 21.04.2011 tarih ve 27912 sayılı “Elektronik Haberleşme Cihazlarından Kaynaklanan Elektromanyetik Alan Şiddetinin Uluslararası Standartlara Göre Maruziyet Limit Değerlerinin Belirlenmesi, Kontrolü ve Denetimi Hakkında Yönetmelik”ine, Uluslararası İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyondan Korunma Komitesi (ICNIRP)’nin belirlediği sınır değerler göz önünde bulundurularak oluşturulmuştur.

Bu sınır değerler çeşitli frekanslar için Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Uluslararası iyonlaştırıcı olmayan radyasyondan korunma komitesi (ICNIRP)’nin belirlediği sınır değerler

Frekans Ağırlığı (MHz)	E-alan şiddeti (V/m)		H-Alan şiddeti (A/m)		B-Manyetik Akı Yoğunluğu (μT)		Eşdeğer Düzlem Dalga Güç Yoğunluğu (W/m ²)	
	Tek cihaz için limit değeri	Ortamin toplam limit değeri	Tez cihaz için limit değeri	Ortamin toplam limit değeri	Tek cihaz için limit değeri	Ortamin toplam limit değeri	Tek cihaz için limit değeri	Ortamin toplam limit değeri
0.010-0,15	22	87	1,3	5	1,5	6,25	-	-
0,15-1	22	87	0,18f	0,73f	0,23f	0,92f	-	-
1-10	22/f ^{1/2}	87/f ^{1/2}	0,18/f	0,73/f	0,23/f	0,92/f	-	-
10-400	7	28	0,02	0,073	0,023	0,092	0,125	2
400-2 000	0,341f ^{1/2}	1,375f ^{1/2}	0,0009f ^{1/2}	0,0037f ^{1/2}	0,001f ^{1/2}	0,0046f ^{1/2}	f/3 200	f/200
2 000-60 000	15	61	0,04	0,16	0,05	0,2	0,625	10

f= frekans (MHz)

Çizelge 4.2. Çalışmada uygulanan RF alanların E ve B alan, güç yoğunluğu ölçüm değerleri

Frekans (MHz)	Elektrik (E) Alan (V/m)			Manyetik (B) Alan (mG)	Güç Yoğunluğu (mW/cm ²)
	Maksimum	Averaj	Maksimum Averaj		
1800	31,20±0,95	27,66±1,82	28,85±1,31	19,73±1,81	0,223±0,009
2100	31,56±0,27	28,93±1,97	29,93±1,31	23,00±8,36	0,248±0,005
2600	31,43±1,15	24,36±4,20	27,85±2,05	21,10±0,28	0,218±0,018

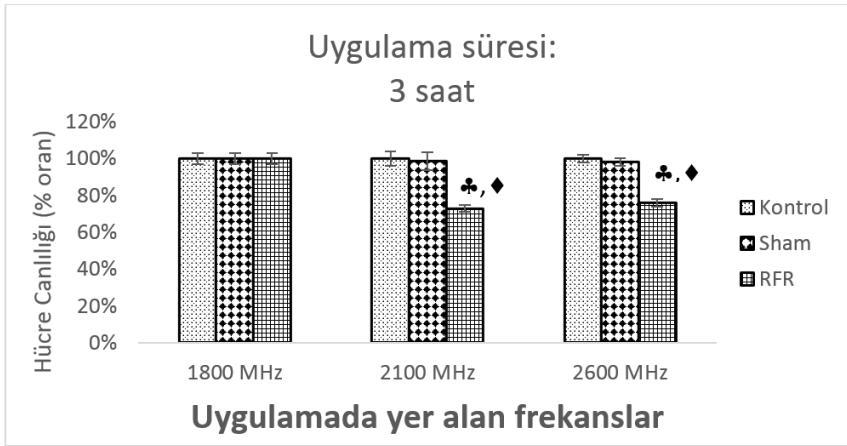
Uzak alanda uygulanan farklı frekanslardaki RF Alan Maruziyetlerinde E Alandan kaynaklı farklılıkları elimine etmek amacıyla BTK' nın belirlemiş olduğu limit değerler göz önünde bulundurulmuştur. Radyofrekans Elektrik Alan değerleri belirli bir alan değerinde sabitlenerek optimizasyon sağlanmıştır. BTK' nın limit değerleri Çizelge 4.3'de verilmektedir.

Çizelge 4.3. 1800 MHz, 2100 MHz ve 2600 MHz limit değerleri

Frekans	1800 MHz		2100 MHz		2600 MHz	
	Tek bir cihaz için sınır değeri	Ortaman toplam sınır değeri	Tek bir cihaz için sınır değeri	Ortaman toplam sınır değeri	Tek bir cihaz için sınır değeri	Ortaman toplam sınır değeri
Elektrik Alan Şiddeti	14,47 V/m	58,34 V/m	15 V/m	61 V/m	15 V/m	61 V/m
Manyetik Alan Şiddeti	0,038 A/m	0,157 A/m	0,04 A/m	0,16 A/m	0,04 A/m	0,16 A/m
Güç Yoğunluğu	0,56 W/m ²	9,0 W/m ²	0,625 W/m ²	10 W/m ²	0,625 W/m ²	10 W/m ²

4.2. Farklı Frekans ve Uygulama Sürelerinde RF Alanlara Maruz Bırakılan İnsan Kolorektal Karsinoma Hücrelerinde Hücre Canlılığının Tripan Mavisi Boyama Yöntemi ile Değerlendirilmesi

Bu araştırmada, farklı frekans ve uygulama sürelerinde, radyofrekans alanlara maruz bırakılan insan kolorektal karsinoma hücrelerinde, öncelikle Tripan Mavisi boyama yöntemi ile hücre canlılığı ölçülmüştür.



Şekil 4.1. 1800 MHz, 2100MHz ve 2600 MHz radyofrekans alanlara 3 saat boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde hücre canlılığı yüzde oranları

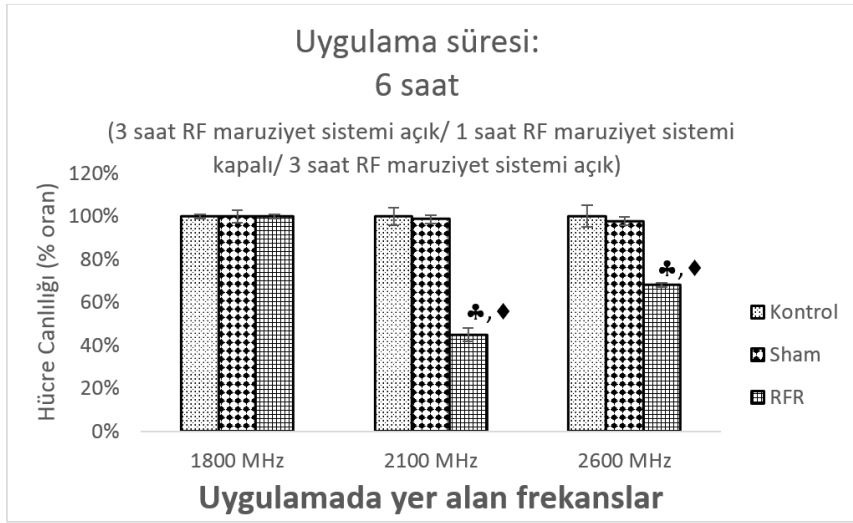
♣: $p < 0.05$ (RFR grubu Kontrol grubundan farklı);

♦: $p < 0.05$ (RFR grubu Sham grubundan farklı)

1800 MHz RF radyasyona **3 saat sürekli** olarak maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde; RF alan maruziyet grubunun hücre canlılık yüzde oranları kendi sham ve negatif kontrol grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).

2100 MHz RF radyasyona **3 saat sürekli** maruz bırakılan hücrelerde hücre canlılık yüzde oranları incelendiğinde; maruziyet grubunun kendi sham grubu ile arasında %23 oranında; kendi negatif kontrol grubu ile arasında %27 oranında istatistiksel anlamlı bir azalma olduğu tespit edilmiştir.

2600 MHz RF radyasyona **3 saat sürekli** maruz bırakılan hücrelerde hücre canlılık yüzde oranları incelendiğinde; maruziyet grubunun kendi sham grubu ile arasında %21,46 oranında, kendi negatif kontrol grubu ile arasında % 24 oranında istatistiksel anlamlı bir azalma olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$).



Şekil 4.2. 1800MHz, 2100MHz ve 2600 MHz radyofrekans alanlara 6 saat kesikli [3 saat RF maruziyet sistemi açık/1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/3 saat RF maruziyet sistemi açık] maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde hücre canlılığı yüzde oranları

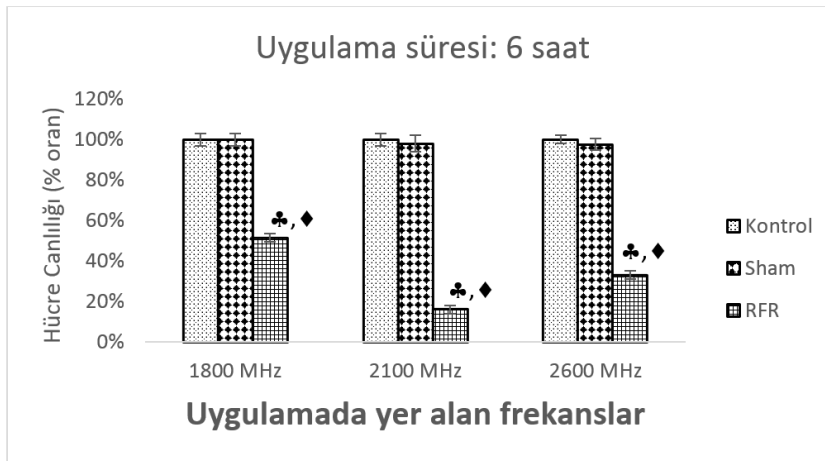
♣: $p < 0.05$ (RFR grubu Kontrol grubundan farklı)

♦: $p < 0.05$ (RFR grubu Sham grubundan farklı)

1800 MHz RF radyasyona 6 saat kesikli [3 saat RF maruziyet sistemi açık/1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/3 saat RF maruziyet sistemi açık] olarak maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde hücre canlılık yüzde oranları değerlendirildiğinde; RF alan maruziyet grubunun hücre canlılık yüzde oranı kendi sham ve negatif kontrol gruplarının hücre canlılık yüzde oranları ile karşılaştırıldığında bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($p > 0.05$).

2100 MHz RF radyasyona 6 saat kesikli maruz bırakılan hücrelerde hücre canlılık yüzde oranları değerlendirildiğinde; RF alan maruziyet grubunun hücre canlılık yüzde oranı kendi sham grubuna göre %52; kendi negatif kontrol grubuna göre %55 istatistiksel anlamlı azalmıştır ($p < 0.05$).

2600 MHz RF radyasyona 6 saat kesikli maruz bırakılan hücrelerde hücre canlılık yüzde oranları değerlendirildiğinde; RF alan maruziyet grubunun hücre canlılık yüzde oranı kendi sham grubuna göre %24; kendi negatif kontrol grubuna göre %32 istatistiksel anlamlı azalmıştır ($p < 0.05$).



Şekil 4.3. 1800MHz, 2100MHz ve 2600MHz radyofrekans alanlara 6 saat sürekli maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde hücre canlılığı yüzde oranları

♣: $p < 0.05$ (RFR grubu Kontrol grubundan farklı)

♦: $p < 0.05$ (RFR grubu Sham grubundan farklı)

1800 MHz RF radyasyona 6 saat sürekli olarak maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde hücre canlılık yüzde oranları değerlendirildiğinde; RF alan maruziyet grubu hücre canlılık yüzde oranı, kendi sham ve kendi negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında %49 oranında istatistiksel anlamlı azalmıştır.

2100 MHz RF radyasyona 6 saat sürekli olarak maruz bırakılan hücrelerde hücre canlılık yüzde oranları değerlendirildiğinde; RF alan maruziyet grubu hücre canlılık yüzde oranı kendi sham grubu ile karşılaştırıldığında %83 oranında; kendi negatif kontrol gruplarına göre %84 oranında bir azalma olduğu tespit edilmiştir.

2600 MHz RF radyasyona 6 saat sürekli olarak maruz bırakılan hücrelerde hücre canlılık yüzde oranları incelendiğinde; maruziyet grubu hücre canlılık yüzde oranı kendi sham grubu ile karşılaştırıldığında %63 oranında; kendi negatif kontrol gruplarına göre %67 oranında bir azalma olduğu tespit edilmiştir.

4.3. Farklı Frekans Ve Uygulama Sürelerinde RF Alanlara Maruz Bırakılan İnsan Kolorektal Karsinoma Hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz'un Başlıca 4 Gen İfadelenmesi Üzerinden İncelenmesi

Etkin radyofrekans alan şiddetleri ve uygulama sürelerinin hücre canlılığı ölçümleri sonucunda belirlendiği HT-29 hücrelerinde kaspaz-bağımlı programlı hücre ölümü yolağı

ve sağkalım mekanizmalarında aktif rol oynayan başlıca 4 genin [Başlatıcı Kaspaz (Kaspaz-8; Kaspaz-9), Uyarıcı Kaspaz (Kaspaz-3) ve Yangı Kaspaz (Kaspaz-12)] ifadenme düzeylerinin kantitatif değerlendirmesi yapılmıştır.

4.3.1. Farklı Frekanslarda RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde kaspaz-8; Kaspaz-9; Kaspaz-3; Kaspaz-12 genlerinin ifadenme düzeylerinin kantitatif değerlendirmesi: 1800 MHz Frekans RF radyasyon maruziyeti

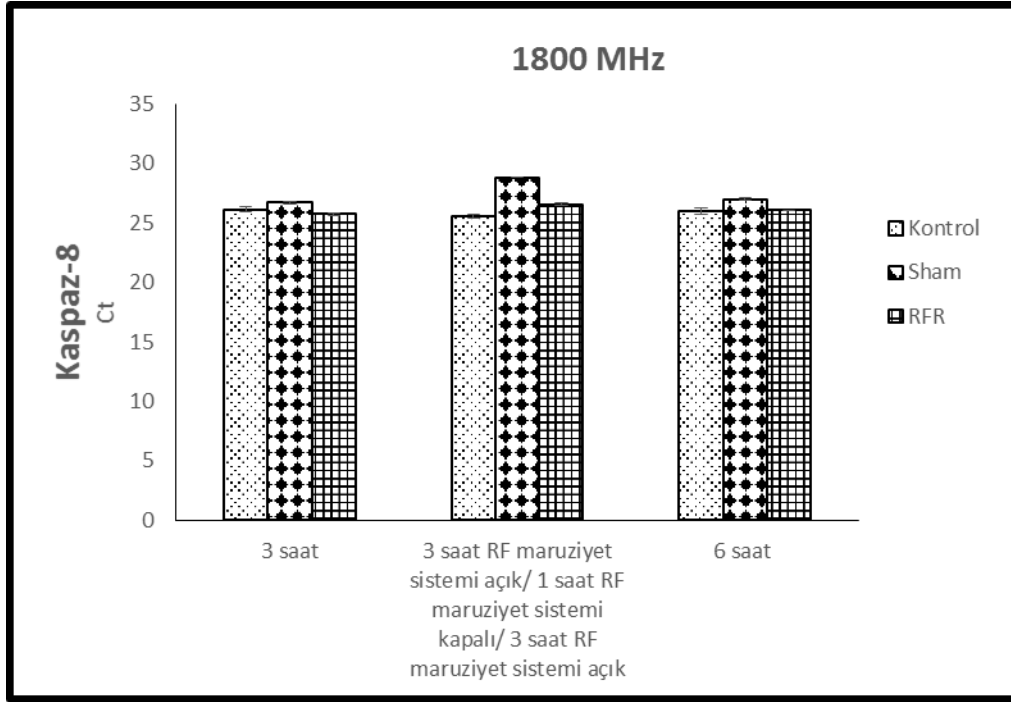
Kaspaz bağımlı apoptoz yolları:

Dış/ölüm reseptör yolları- iç/mitokondriyal yolk

Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyinin kantitatif değerlendirmesi

Çizelge 4.4. 1800 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: *Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyleri (Ct değeri±SD)*

1800 MHz	Kaspaz-8 (Ct değeri±SD)	
	3 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	26,14±0,21
	Sham	26,69±0,15
	RFR	25,74±0,28
	6 Saat Kesikli Maruziyet (3 saat RF Alan Maruziyeti + 1 saat inkübatörde bekletme+ 3 saat RF Alan Maruziyeti)	
	Kontrol	26,55±0,12
	Sham	28,84±0,02
	RFR	25,54±0,09
	6 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	26,02±0,12
	Sham	27,01±0,10
	RFR	26,06±0,12



Şekil 4.4. 1800MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi [3 saat sürekli; 6 saat kesikli; 6 saat sürekli] boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyi

1800 MHz RF alan radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde;

3 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyi ($25,74 \pm 0,28$), kendi sham grubu ($26,69 \pm 0,15$) ve kendi negatif kontrol grubu ($26,14 \pm 0,21$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).

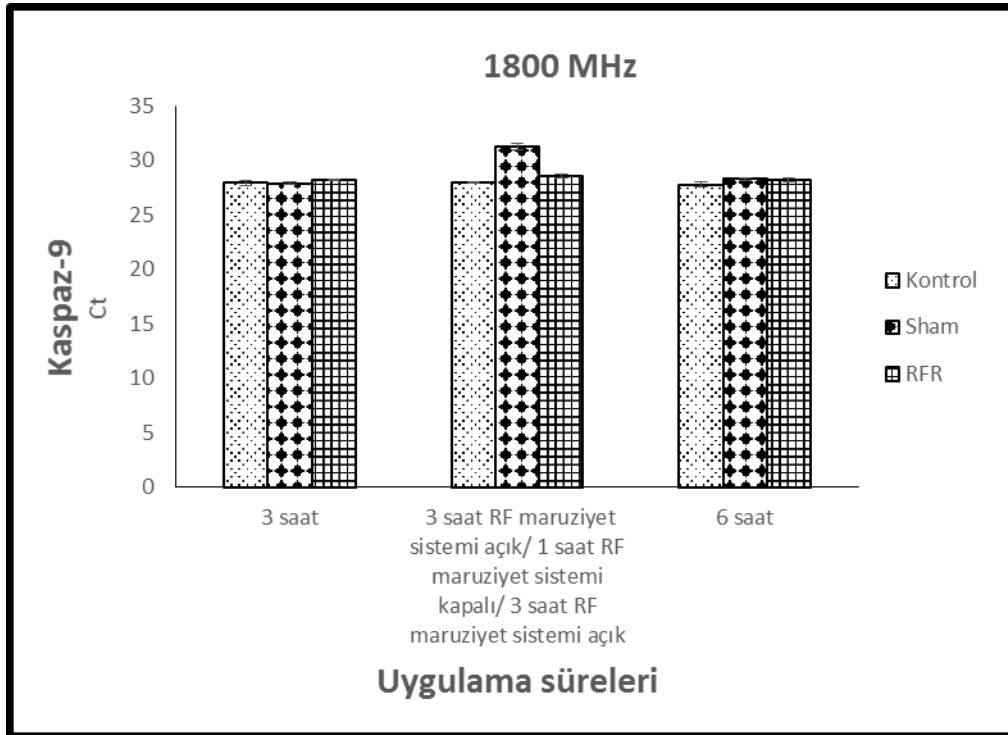
6 saat kesikli (3 saat RF alan maruziyet sistemi açık/1 saat RF alan maruziyet sistemi kapalı/3 saat RF alan maruziyet sistemi açık) maruziyet grubunun Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyi ($25,54 \pm 0,09$), kendi sham grubu ($28,84 \pm 0,02$) ve kendi negatif kontrol grubu ($26,55 \pm 0,12$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).

6 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyi ($26,06 \pm 0,01$), kendi sham grubu ($27,01 \pm 0,10$) ve kendi negatif kontrol grubu ($26,02 \pm 0,12$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).

Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyinin kantitatif değeri

Çizelge 4.5. 1800 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: *Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyleri (Ct değeri±SD)*

1800 MHz	Kaspaz-9 (Ct değeri±SD)	
	3 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	27,94±0,23
	Sham	27,90±0,10
	RFR	28,21±0,03
	6 Saat Kesikli Maruziyet (3 saat RF Alan Maruziyeti + 1 saat inkübatörde bekletme+ 3 saat RF Alan Maruziyeti)	
	Kontrol	28,02±0,05
	Sham	31,29±0,29
	RFR	28,54±0,20
	6 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	27,79±0,25
	Sham	28,27±0,16
	RFR	28,20±0,15



Şekil 4.5. 1800MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi (3 saat sürekli, 6 saat kesikli, 6 saat sürekli) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyi

1800 MHz RF alan radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde;

3 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyi ($28,21 \pm 0,03$), kendi sham grubu ($27,90 \pm 0,10$) ve kendi negatif kontrol grubu ($27,94 \pm 0,23$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0,05$).

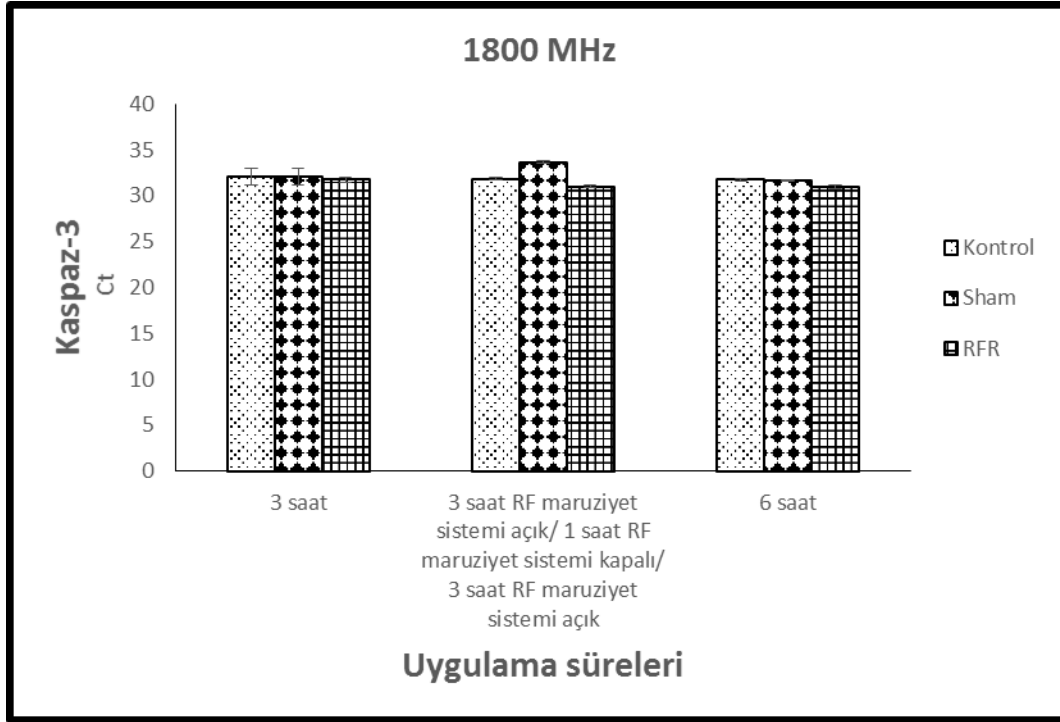
6 saat kesikli (3 saat RF alan maruziyet sistemi açık / 1 saat RF alan maruziyet sistemi kapalı / 3 saat RF alan maruziyet sistemi açık) maruziyet grubunun Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyi ($28,54 \pm 0,20$), kendi sham grubu ($31,29 \pm 0,29$) ve kendi negatif kontrol grubu ($28,02 \pm 0,05$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0,05$).

6 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyi ($28,20 \pm 0,15$), kendi sham grubu ($28,27 \pm 0,16$) ve kendi negatif kontrol grubu ($27,79 \pm 0,25$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0,05$).

Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyinin kantitatif değerlendirilmesi

Çizelge 4.6. 1800 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: *Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyleri (C_t değeri $\pm$ SD)*

1800 MHz	Kaspaz-3 (C_t değeri $\pm$ SD)	
	3 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	$32,07 \pm 0,85$
	Sham	$32,07 \pm 0,93$
	RFR	$31,73 \pm 0,23$
	6 Saat Kesikli Maruziyet (3 saat RF Alan Maruziyeti + 1 saat inkübatörde bekletme+ 3 saat RF Alan Maruziyeti)	
	Kontrol	$31,82 \pm 0,15$
	Sham	$33,65 \pm 0,15$
	RFR	$31,00 \pm 0,15$
	6 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	$31,74 \pm 0,12$
	Sham	$31,64 \pm 0,08$
	RFR	$30,9 \pm 0,21$



Şekil 4.6. 1800 MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi (3 saat, 6 saat: 3 saat RF maruziyet sistemi açık/ 1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/ 3 saat RF maruziyet sistemi açık, 6 saat) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyi

1800 MHz RF alan radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde;

3 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyi ($31,73 \pm 0,23$), kendi sham grubu ($32,07 \pm 0,93$) ve kendi negatif kontrol grubu ($32,07 \pm 0,85$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).

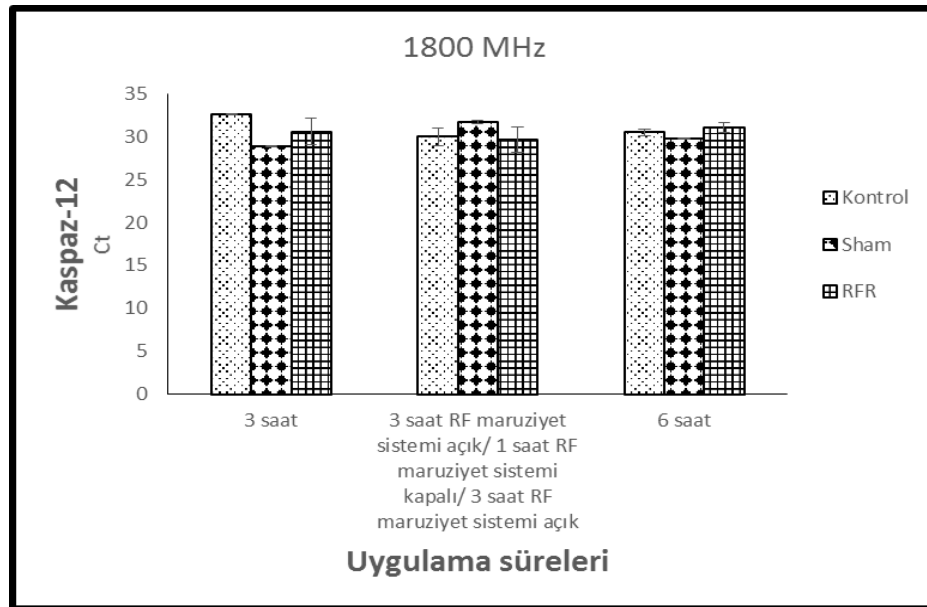
6 saat kesikli (3 saat RF alan maruziyet sistemi açık / 1 saat RF alan maruziyet sistemi kapalı / 3 saat RF alan maruziyet sistemi açık) maruziyet grubunun Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyi ($31,00 \pm 0,15$), kendi sham grubu ($33,65 \pm 0,15$) ve kendi negatif kontrol grubu ($31,82 \pm 0,15$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).

6 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyi ($30,9 \pm 0,21$), kendi sham grubu ($31,64 \pm 0,08$) ve kendi negatif kontrol grubu ($31,74 \pm 0,12$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).

Endoplazmik Retikulum Stresinin İndüklediği Apoptoz-Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyinin kantitatif değerlendirmesi

Çizelge 4.7. 1800 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: *Endoplazmik Retikulum Stresinin İndüklediği Apoptoz-Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyleri (Ct değeri±SD)*

1800 MHz	Kaspaz-12 (Ct değeri±SD)	
	3 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	32,61±0,04
	Sham	28,83±0,05
	RFR	30,59±1,55
	6 Saat Kesikli Maruziyet (3 saat RF Alan Maruziyeti + 1 saat inkübatörde bekletme+ 3 saat RF Alan Maruziyeti)	
	Kontrol	30,00±1,05
	Sham	31,69±0,22
	RFR	29,62±1,44
	6 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	30,51±0,39
	Sham	29,77±0,04
	RFR	31,04±0,55



Şekil 4.7. 1800 MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi (3 saat, 6 saat: 3 saat RF maruziyet sistemi açık/ 1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/ 3 saat RF maruziyet sistemi açık, 6 saat) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyi

1800 MHz RF alan radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde;

3 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyi ($30,59 \pm 1,55$), kendi sham grubu ($28,83 \pm 0,05$) ve kendi negatif kontrol grubu ($32,61 \pm 0,04$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).

6 saat kesikli (3 saat RF alan maruziyet sistemi açık / 1 saat RF alan maruziyet sistemi kapalı / 3 saat RF alan maruziyet sistemi açık) maruziyet grubunun Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyi ($29,62 \pm 1,44$), kendi sham grubu ($31,69 \pm 0,22$) ve kendi negatif kontrol grubu ($30,00 \pm 1,05$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).

6 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyi ($31,04 \pm 0,55$), kendi sham grubu ($29,77 \pm 0,04$) ve kendi negatif kontrol grubu ($30,51 \pm 0,39$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).

1800 MHz GSM benzeri RF sinyaline maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde; Kaspaz-8, Kaspaz-9, Kaspaz-3, Kaspaz 12 gen ifadenme düzeylerinde uygulanan üç maruziyet süresinde de kendi sham ve negatif kontrol gruplarına göre istatistiksel anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($p > 0.05$).

4.3.2. Farklı Frekanslarda RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde kaspaz-8; kaspaz-9; kaspaz-3; kaspaz-12 genlerinin ifadenme düzeylerinin kantitatif değerlendirmesi: 2100 MHz frekans RF radyasyon maruziyeti

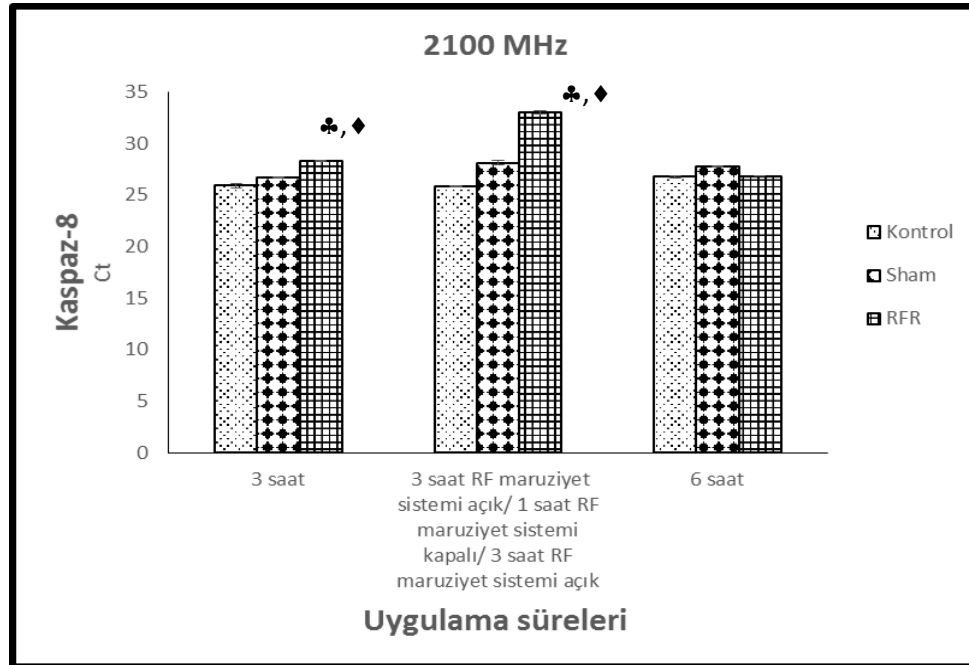
Kaspaz Bağımlı Apoptoz Yolakları:

Dış/Ölüm Reseptör Yolakları- İç/Mitokondriyal Yolak

Kaspaz-8 gen ifadenleme düzeyinin kantitatif değeri

Çizelge 4.8. 2100 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: *Kaspaz-8 gen ifadenleme düzeyleri (Ct değeri±SD)*

2100 MHz	Kaspaz-8 (Ct değeri±SD)	
	3 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	25,91±0,21
	Sham	26,72±0,06
	RFR	28,27±0,02
	6 Saat Kesikli Maruziyet (3 saat RF Alan Maruziyeti + 1 saat inkübatörde bekleme+ 3 saat RF Alan Maruziyeti)	
	Kontrol	25,85±0,04
	Sham	28,11±0,25
	RFR	33,00±0,14
	6 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	26,62±0,12
	Sham	27,71±0,03
	RFR	26,81±0,01



Şekil 4.8. 2100MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi[3 saat sürekli, 6 saat kesikli, 6 saat sürekli] boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-8 gen ifadenleme düzeyi

♣: $p < 0.05$ (RFR grubu Kontrol grubundan farklı)

♦: $p < 0.05$ (RFR grubu Sham grubundan farklı)

2100 MHz RF alan radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde;

3 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyi ($28,27 \pm 0,02$), kendi sham grubu ($26,72 \pm 0,06$) ve kendi negatif kontrol grubu ($25,91 \pm 0,21$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı bir artma olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

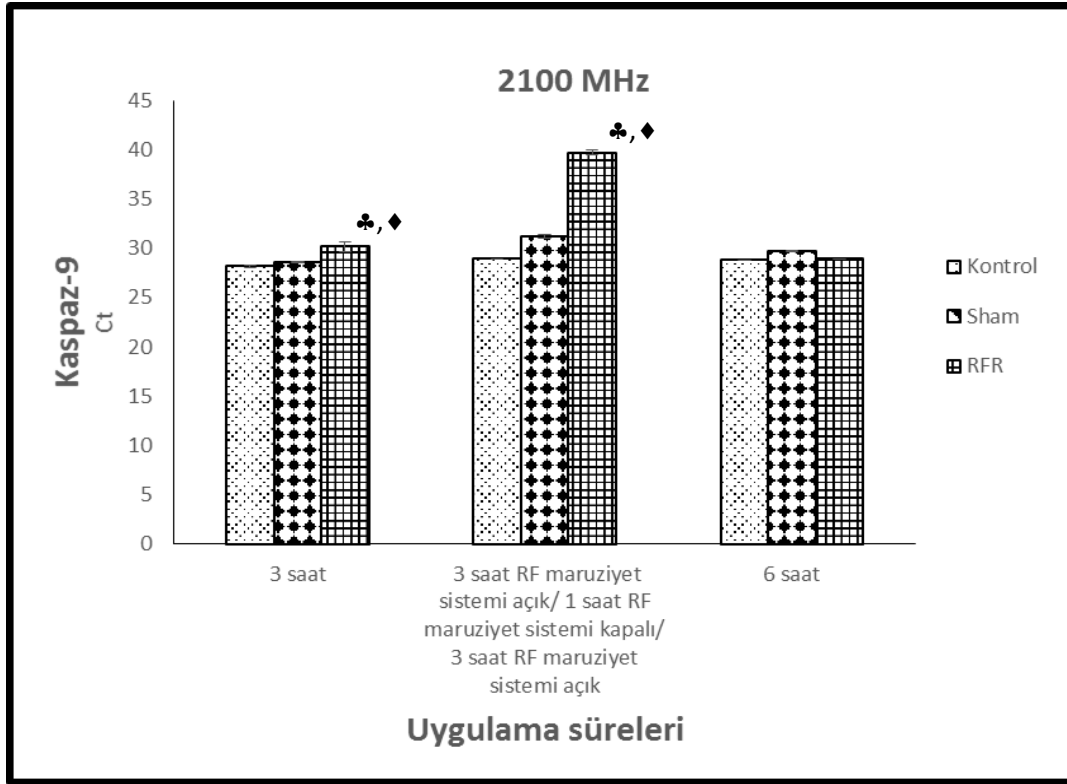
6 saat kesikli (3 saat RF alan maruziyet sistemi açık / 1 saat RF alan maruziyet sistemi kapalı / 3 saat RF alan maruziyet sistemi açık) maruziyet grubunun Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyi ($33,00 \pm 0,14$), kendi sham grubu ($28,11 \pm 0,25$) ve kendi negatif kontrol grubu ($25,85 \pm 0,04$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı bir artma olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

6 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyi ($26,81 \pm 0,01$), kendi sham grubu ($27,71 \pm 0,03$) ve kendi negatif kontrol grubu ($26,62 \pm 0,12$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).

Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyinin kantitatif değerlendirilmesi

Çizelge 4.9. 2100 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: *Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyleri (C_t değeri $\pm$ SD)*

2100 MHz	Kaspaz-9 (C_t değeri $\pm$ SD)	
	3 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	$25,91 \pm 0,21$
	Sham	$26,72 \pm 0,06$
	RFR	$28,27 \pm 0,02$
	6 Saat Kesikli Maruziyet (3 saat RF Alan Maruziyeti + 1 saat inkübatörde bekletme+ 3 saat RF Alan Maruziyeti)	
	Kontrol	$25,85 \pm 0,04$
	Sham	$28,11 \pm 0,25$
	RFR	$33,00 \pm 0,14$
	6 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	$26,62 \pm 0,12$
	Sham	$27,71 \pm 0,03$
	RFR	$26,81 \pm 0,01$



Şekil 4.9. 2100MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi[3 saat sürekli, 6 saat kesikli, 6 saat sürekli] boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyi

♣: $p < 0.05$ (RFR grubu Kontrol grubundan farklı)

♦: $p < 0.05$ (RFR grubu Sham grubundan farklı)

2100 MHz RF alan radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde;

3 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyi ($28,27 \pm 0,02$), kendi sham grubu ($26,72 \pm 0,06$) ve kendi negatif kontrol grubu ($25,91 \pm 0,21$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı bir artma olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

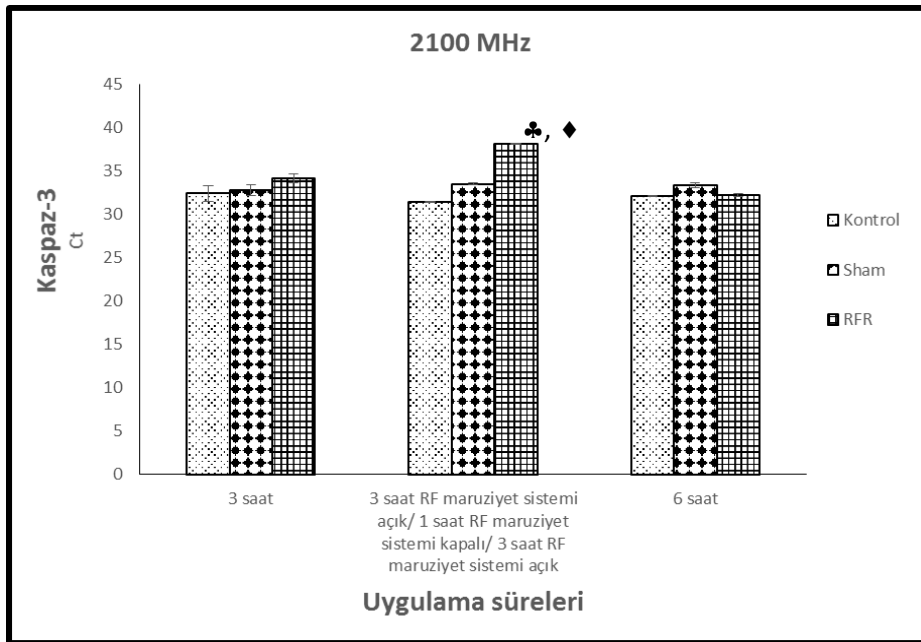
6 saat kesikli (3 saat RF alan maruziyet sistemi açık / 1 saat RF alan maruziyet sistemi kapalı / 3 saat RF alan maruziyet sistemi açık) maruziyet grubunun Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyi ($33,00 \pm 0,14$), kendi sham grubu ($28,11 \pm 0,25$) ve kendi negatif kontrol grubu ($25,85 \pm 0,04$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı bir artma olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

6 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyi ($26,81 \pm 0,01$), kendi sham grubu ($27,71 \pm 0,03$) ve kendi negatif kontrol grubu ($26,62 \pm 0,12$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).

Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyinin kantitatif değeri

Çizelge 4.10. 2100 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: *Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyleri (Ct değeri±SD)*

2100 MHz	Kaspaz-3 (Ct değeri±SD)	
	3 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	32,38±0,92
	Sham	32,76±0,62
	RFR	34,16±0,48
	6 Saat Kesikli Maruziyet (3 saat RF Alan Maruziyeti + 1 saat inkübatörde bekletme+ 3 saat RF Alan Maruziyeti)	
	Kontrol	31,43±0,03
	Sham	33,51±0,15
	RFR	38,09±0,02
	6 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	32,10±0,08
	Sham	33,34±0,24
	RFR	32,20±0,16



Şekil 4.10. 2100 MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi (3 saat, 6 saat: 3 saat RF maruziyet sistemi açık/ 1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/ 3 saat RF maruziyet sistemi açık, 6 saat) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyi

♣: $p < 0.05$ (RFR grubu Kontrol grubundan farklı)

♦: $p < 0.05$ (RFR grubu Sham grubundan farklı)

2100 MHz RF alan radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde;

3 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyi ($34,16 \pm 0,48$), kendi sham grubu ($32,76 \pm 0,62$) ve kendi negatif kontrol grubu ($32,38 \pm 0,92$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($p > 0,05$).

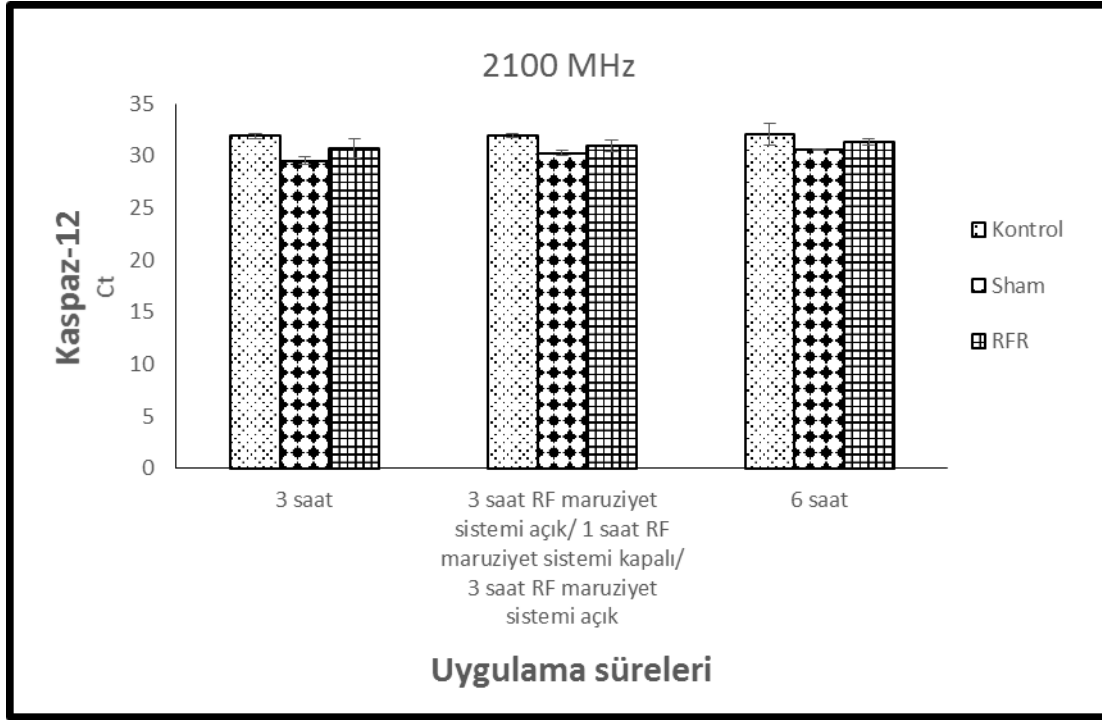
6 saat kesikli (3 saat RF alan maruziyet sistemi açık / 1 saat RF alan maruziyet sistemi kapalı / 3 saat RF alan maruziyet sistemi açık) maruziyet grubunun Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyi ($38,09 \pm 0,02$), kendi sham grubu ($33,51 \pm 0,15$) ve kendi negatif kontrol grubu ($31,43 \pm 0,03$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı bir artma olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

6 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyi ($32,20 \pm 0,16$), kendi sham grubu ($33,34 \pm 0,24$) ve kendi negatif kontrol grubu ($32,10 \pm 0,08$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0,05$).

Endoplazmik Retikulum Stresinin İndüklediği Apoptoz-Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyinin kantitatif değerlendirmesi

Çizelge 4.11. 2100 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: *Endoplazmik Retikulum Stresinin İndüklediği Apoptoz-Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyleri (Ct değeri $\pm$ SD)*

2100 MHz	Kaspaz-12 (Ct değeri $\pm$ SD)	
	3 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	31,91 $\pm$ 0,29
	Sham	29,54 $\pm$ 0,34
	RFR	30,73 $\pm$ 0,90
	6 Saat Kesikli Maruziyet (3 saat RF Alan Maruziyeti + 1 saat inkübatörde bekletme+ 3 saat RF Alan Maruziyeti)	
	Kontrol	31,94 $\pm$ 0,18
	Sham	30,29 $\pm$ 0,21
	RFR	31,02 $\pm$ 0,54
	6 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	32,07 $\pm$ 1,02
	Sham	30,62 $\pm$ 0,10
	RFR	31,33 $\pm$ 0,33



Şekil 4.11. 2100 MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi (3 saat, 6 saat: 3 saat RF maruziyet sistemi açık/ 1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/ 3 saat RF maruziyet sistemi açık, 6 saat) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyi

2100 MHz RF alan radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde;

3 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyi ($30,73 \pm 0,90$), kendi sham grubu ($29,54 \pm 0,34$) ve kendi negatif kontrol grubu ($31,91 \pm 0,29$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0,05$).

6 saat kesikli (3 saat RF alan maruziyet sistemi açık / 1 saat RF alan maruziyet sistemi kapalı / 3 saat RF alan maruziyet sistemi açık) maruziyet grubunun Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyi ($31,02 \pm 0,54$), kendi sham grubu ($30,29 \pm 0,21$) ve kendi negatif kontrol grubu ($31,94 \pm 0,18$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0,05$).

6 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyi ($31,33 \pm 0,33$), kendi sham grubu ($30,62 \pm 0,10$) ve kendi negatif kontrol grubu ($32,07 \pm 1,02$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0,05$).

4.3.4. Farklı Frekanslarda RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde kaspaz-8; kaspaz-9; kaspaz-3; Kaspaz-12 genlerinin ifadenme düzeylerinin kantitatif değerlendirmesi: 2600 MHz frekans RF radyasyon maruziyeti

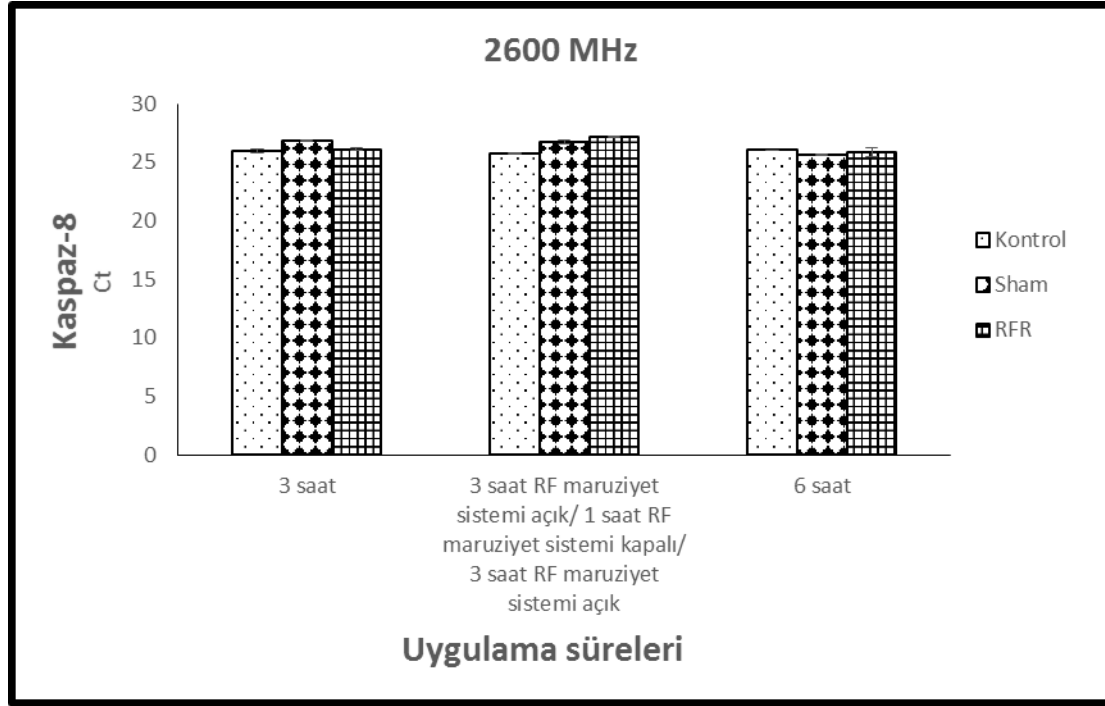
Kaspaz Bağımlı Apoptoz Yolakları:

Dış/Ölüm Reseptör Yolakları- İç/Mitokondriyal Yolak

Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyinin kantitatif değerlendirmesi

Çizelge 4.12. 2600 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyleri (Ct değeri $\pm$ SD)

2600 MHz	Kaspaz-8 (Ct değeri $\pm$ SD)	
	3 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	25,98 $\pm$ 0,19
	Sham	26,85 $\pm$ 0,09
	RFR	26,12 $\pm$ 0,14
	6 Saat Kesikli Maruziyet (3 saat RF Alan Maruziyeti + 1 saat inkübatörde bekletme+ 3 saat RF Alan Maruziyeti)	
	Kontrol	25,76 $\pm$ 0,03
	Sham	26,79 $\pm$ 0,16
	RFR	27,18 $\pm$ 0,05
	6 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	26,06 $\pm$ 0,02
	Sham	25,64 $\pm$ 0,03
	RFR	25,88 $\pm$ 0,35



Şekil 4.12. 2600MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi(3 saat sürekli, 6 saat kesikli, 6 saat sürekli) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyi

2600 MHz RF alan radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde;

3 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyi ($26,12 \pm 0,14$), kendi sham grubu ($26,85 \pm 0,09$) ve kendi negatif kontrol grubu ($25,98 \pm 0,19$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0,05$).

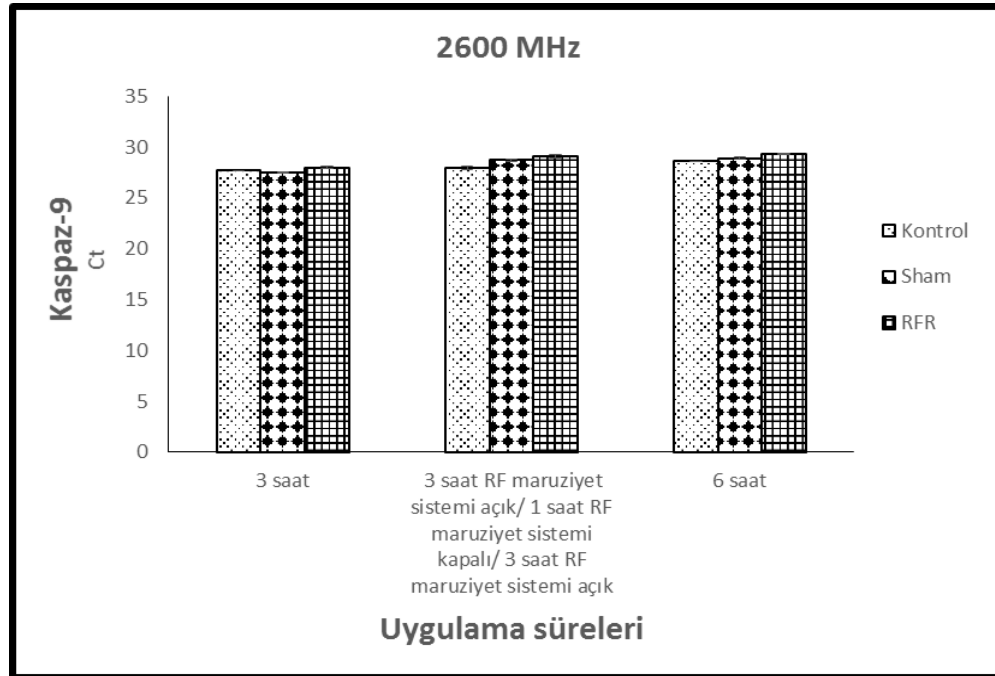
6 saat kesikli (3 saat RF alan maruziyet sistemi açık / 1 saat RF alan maruziyet sistemi kapalı / 3 saat RF alan maruziyet sistemi açık) maruziyet grubunun Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyi ($27,18 \pm 0,05$), kendi sham grubu ($26,79 \pm 0,16$) ve kendi negatif kontrol grubu ($25,76 \pm 0,03$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0,05$).

6 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyi ($25,88 \pm 0,35$), kendi sham grubu ($25,64 \pm 0,03$) ve kendi negatif kontrol grubu ($26,06 \pm 0,02$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0,05$).

Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyinin kantitatif değeri

Çizelge 4.13. 2600 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: *Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyleri (Ct değeri±SD)*

2600 MHz	Kaspaz-9 (Ct değeri±SD)	
	3 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	27,68±0,02
	Sham	27,48±0,02
	RFR	28,00±0,11
	6 Saat Kesikli Maruziyet (3 saat RF Alan Maruziyeti + 1 saat inkübatörde bekletme+ 3 saat RF Alan Maruziyeti)	
	Kontrol	27,98±0,15
	Sham	28,72±0,11
	RFR	29,10±0,20
	6 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	28,59±0,01
	Sham	28,90±0,10
	RFR	29,31±0,02



Şekil 4.13. 2600 MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi (3 saat, 6 saat: 3 saat RF maruziyet sistemi açık/ 1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/ 3 saat RF maruziyet sistemi açık, 6 saat) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyi

2600 MHz RF alan radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde;

3 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyi ($28,00 \pm 0,11$), kendi sham grubu ($27,48 \pm 0,02$) ve kendi negatif kontrol grubu ($27,68 \pm 0,02$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0,05$).

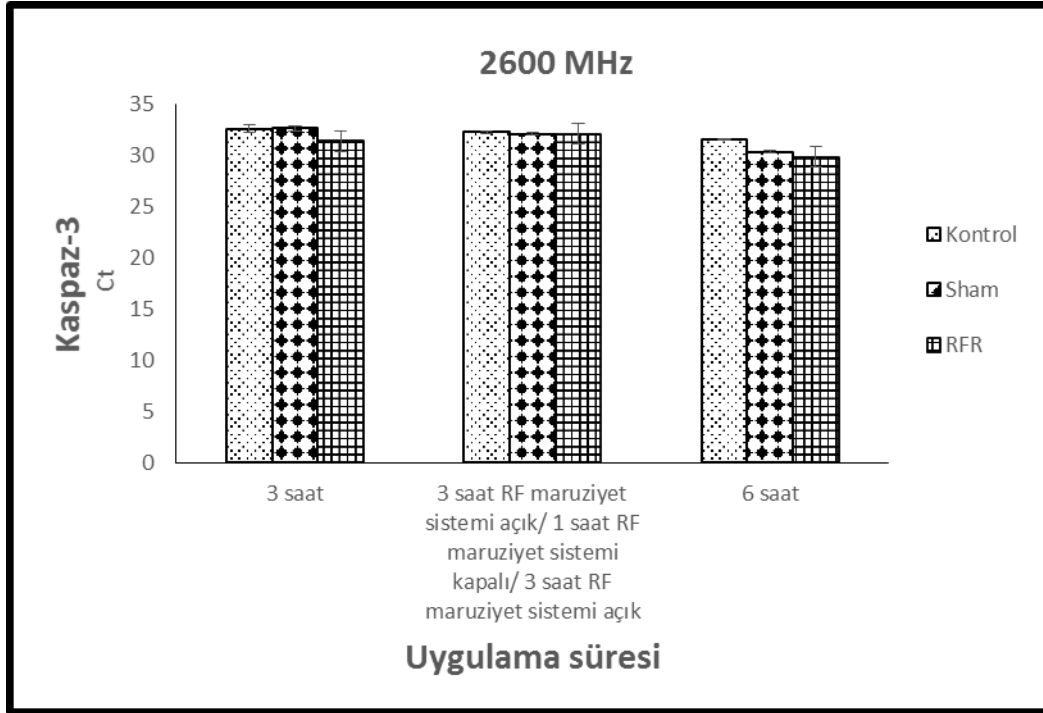
6 saat kesikli (3 saat RF alan maruziyet sistemi açık / 1 saat RF alan maruziyet sistemi kapalı / 3 saat RF alan maruziyet sistemi açık) maruziyet grubunun Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyi ($29,10 \pm 0,20$), kendi sham grubu ($28,72 \pm 0,11$) ve kendi negatif kontrol grubu ($27,98 \pm 0,15$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0,05$).

6 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyi ($29,31 \pm 0,02$), kendi sham grubu ($28,90 \pm 0,10$) ve kendi negatif kontrol grubu ($28,59 \pm 0,01$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0,05$).

Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyinin kantitatif değerlendirilmesi

Çizelge 4.14. 2600 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: *Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyleri (Ct değeri $\pm$ SD)*

2600 MHz	Kaspaz-3 (Ct değeri $\pm$ SD)	
	3 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	$32,57 \pm 0,38$
	Sham	$32,60 \pm 0,23$
	RFR	$31,38 \pm 0,18$
	6 Saat Kesikli Maruziyet (3 saat RF Alan Maruziyeti + 1 saat inkübatörde bekletme + 3 saat RF Alan Maruziyeti)	
	Kontrol	$32,27 \pm 0,12$
	Sham	$32,09 \pm 0,10$
	RFR	$32,09 \pm 0,23$
	6 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	$31,51 \pm 0,04$
	Sham	$30,34 \pm 0,12$
	RFR	$29,83 \pm 0,06$



Şekil 4.14. 2600 MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi (3 saat, 6 saat: 3 saat RF maruziyet sistemi açık/ 1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/ 3 saat RF maruziyet sistemi açık, 6 saat) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyi

2600 MHz RF alan radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde;

3 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyi ($31,38 \pm 0,18$), kendi sham grubu ($32,60 \pm 0,23$) ve kendi negatif kontrol grubu ($32,57 \pm 0,38$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).

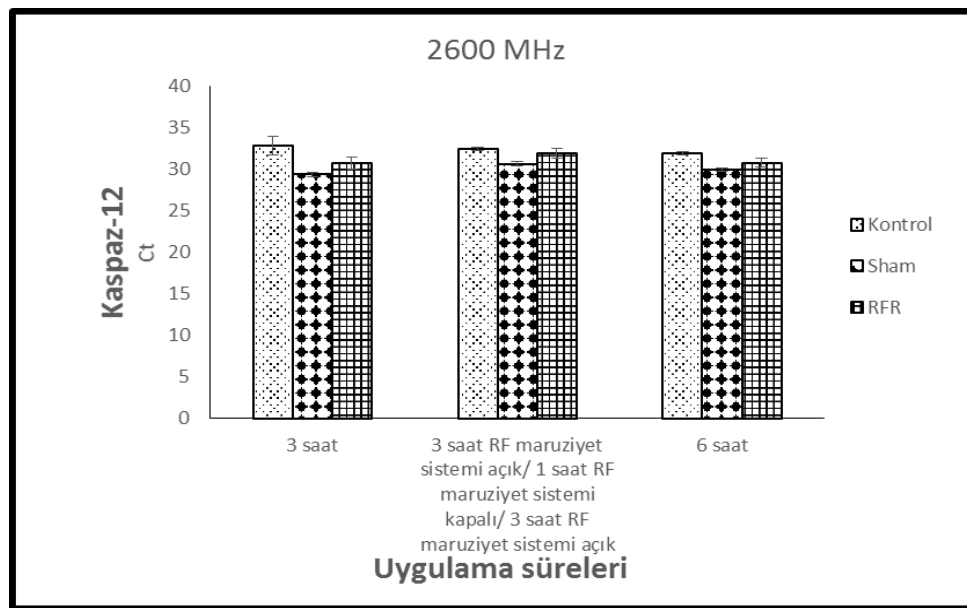
6 saat kesikli (3 saat RF alan maruziyet sistemi açık / 1 saat RF alan maruziyet sistemi kapalı / 3 saat RF alan maruziyet sistemi açık) maruziyet grubunun Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyi ($32,09 \pm 0,23$), kendi sham grubu ($32,09 \pm 0,10$) ve kendi negatif kontrol grubu ($32,27 \pm 0,12$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).

6 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyi ($29,83 \pm 0,06$), kendi sham grubu ($30,34 \pm 0,12$) ve kendi negatif kontrol grubu ($31,51 \pm 0,04$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).

Endoplazmik Retikulum Stresinin İndüklediği Apoptoz-Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyinin kantitatif değerlendirmesi

Çizelge 4.15. 2600 MHz RF radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz' un SYBR Green temelli gerçek zamanlı PCR protokolü ile analiz edilmesi: *Endoplazmik Retikulum Stresinin İndüklediği Apoptoz-Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyleri (Ct değeri±SD)*

2600 MHz	Kaspaz-12 (Ct değeri±SD)	
	3 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	32,83±1,11
	Sham	29,40±0,23
	RFR	30,73±0,75
	6 Saat Kesikli Maruziyet (3 saat RF Alan Maruziyeti + 1 saat inkübatörde bekletme+ 3 saat RF Alan Maruziyeti)	
	Kontrol	32,52±0,22
	Sham	30,69±0,26
	RFR	31,94±0,60
	6 Saat Sürekli Maruziyet	
	Kontrol	31,98±0,18
	Sham	29,97±0,25
	RFR	30,80±0,54



Şekil 4.15. 2600 MHz radyofrekans radyasyona üç farklı uygulama süresi (3 saat, 6 saat: 3 saat RF maruziyet sistemi açık/ 1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/ 3 saat RF maruziyet sistemi açık, 6 saat) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyi

2600 MHz RF alan radyasyona maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde;

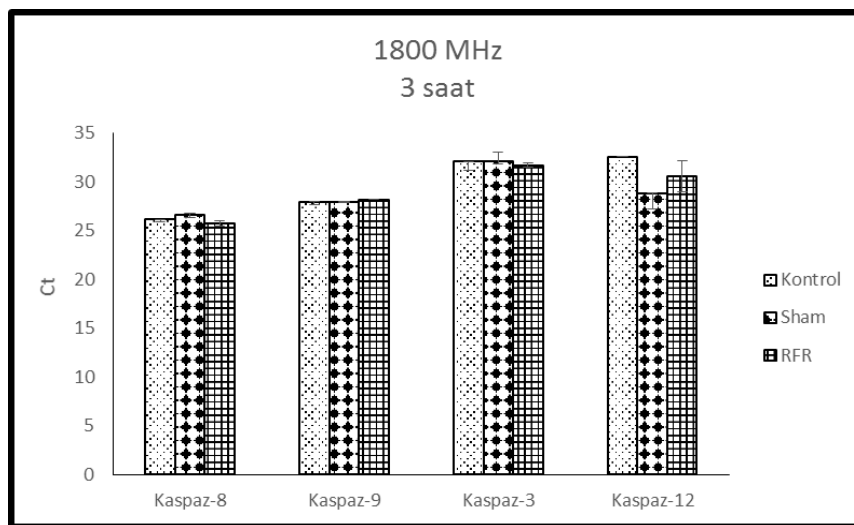
3 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyi ($30,73 \pm 0,75$), kendi sham grubu ($29,40 \pm 0,23$) ve kendi negatif kontrol grubu ($32,83 \pm 1,11$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).

6 saat kesikli (3 saat RF alan maruziyet sistemi açık / 1 saat RF alan maruziyet sistemi kapalı / 3 saat RF alan maruziyet sistemi açık) maruziyet grubunun Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyi ($31,94 \pm 0,60$), kendi sham grubu ($30,69 \pm 0,26$) ve kendi negatif kontrol grubu ($32,52 \pm 0,22$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).

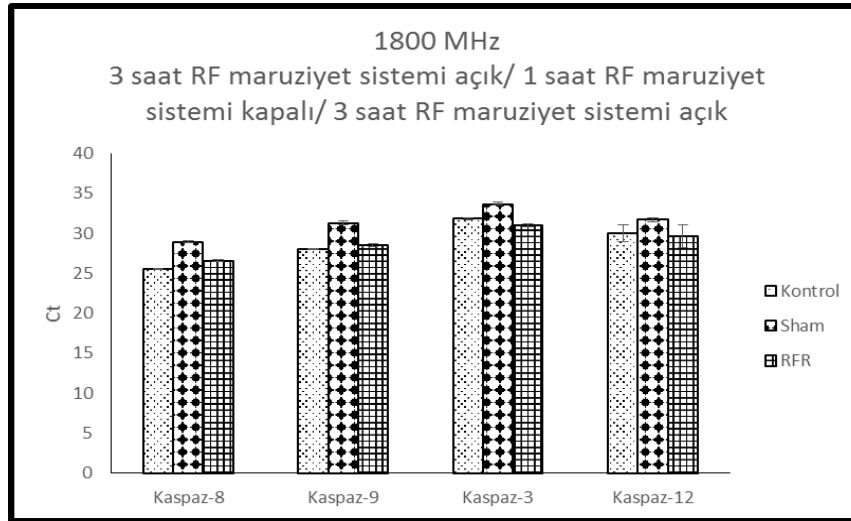
6 saat sürekli maruziyet grubunun Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyi ($30,80 \pm 0,54$), kendi sham grubu ($29,97 \pm 0,25$) ve kendi negatif kontrol grubu ($31,98 \pm 0,18$) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).

4.4. Farklı Frekans ve Uygulama Sürelerinde RF Alanlara Maruz Bırakılan İnsan Kolorektal Karsinoma Hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz'un Başlıca 4 Gen İfadenmesi Üzerinden İncelenmesi:

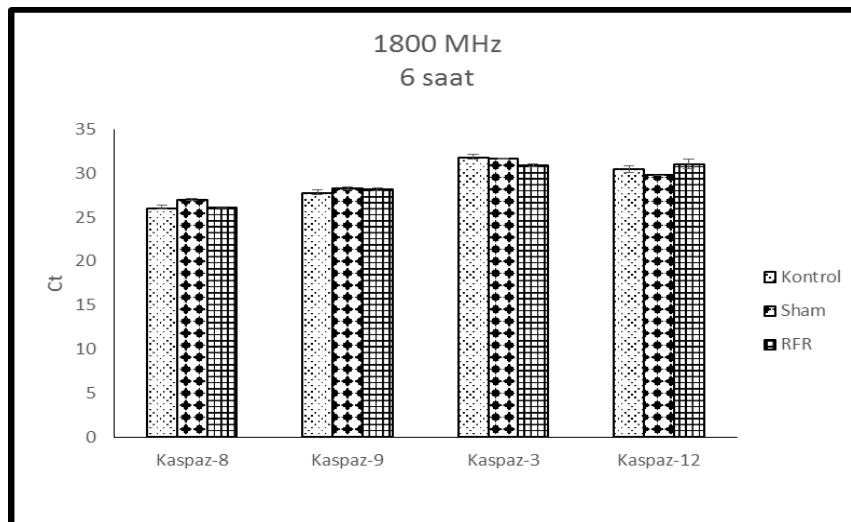
4.4.1. 1800 MHz RF radyasyona farklı uygulama sürelerinde maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde başlatıcı-uyarıcı-yağcı kaspazların gen ifadenme düzeyleri



Şekil 4.16. 1800 MHz radyofrekans radyasyona 3 saat boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-bağımlı apoptoz da yer alan başlıca 4 genin ifadenme düzeyleri

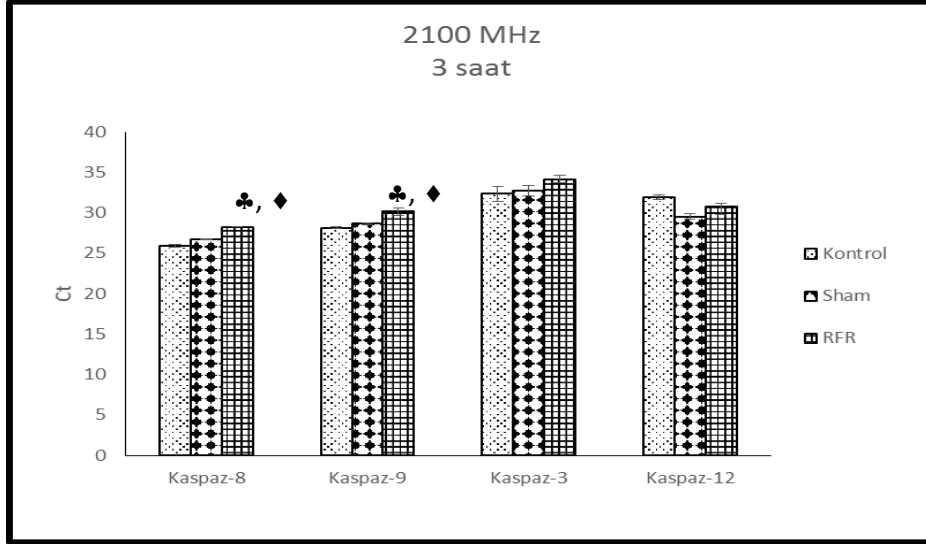


Şekil 4.17. 1800 MHz radyofrekans radyasyona 6 saat(3 saat RF maruziyet sistemi açık/ 1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/ 3 saat RF maruziyet sistemi açık) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde kaspaz-bağımlı apoptozda yer alan başlıca 4 genin ifadenme düzeyleri



Şekil 4.18. 1800 MHz radyofrekans radyasyona 6 saat boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde kaspaz-bağımlı apoptoz da yer alan başlıca 4 genin ifadenme düzeyleri

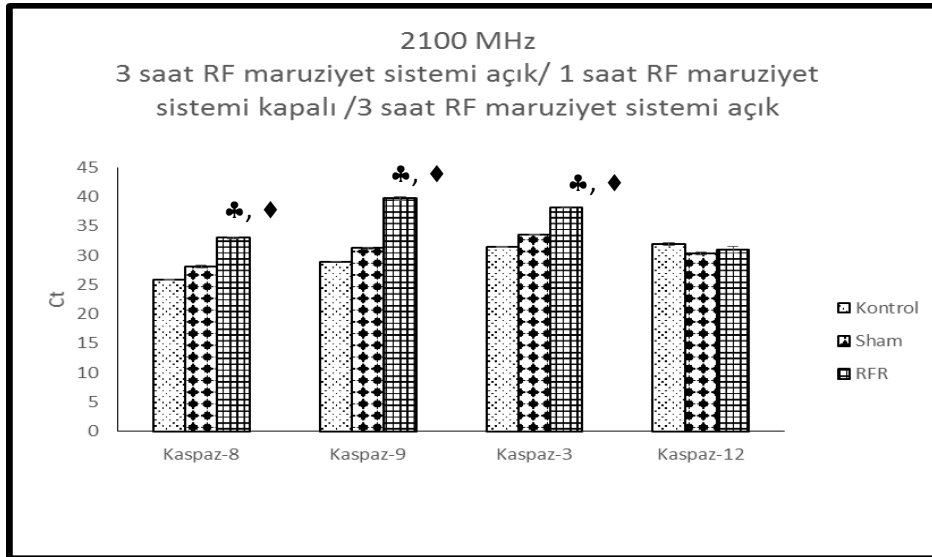
4.4.2. 2100 MHz RF radyasyona farklı uygulama sürelerinde maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde başlatıcı-uyarıcı-yangı Kaspazların gen ifadenme düzeyleri



Şekil 4.19. 2100 MHz radyofrekans radyasyona 3 saat boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-bağımlı apoptoz da yer alan başlıca 4 genin ifadenme düzeyleri

♣: $p < 0.05$ (RFR grubu Kontrol grubundan farklı)

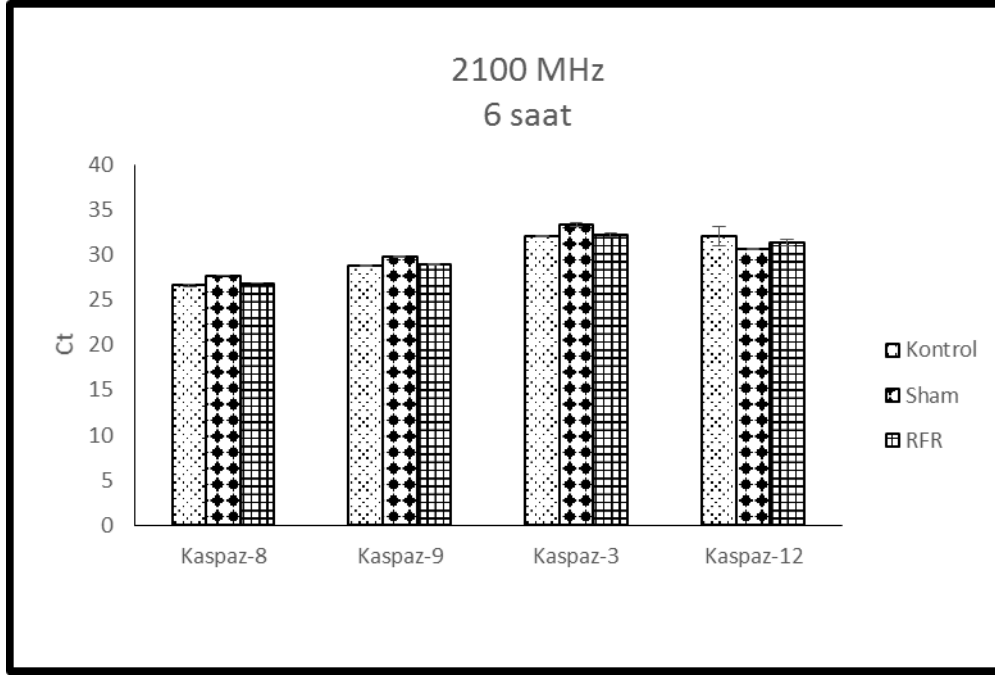
♦: $p < 0.05$ (RFR grubu Sham grubundan farklı)



Şekil 4.20. 2100 MHz radyofrekans radyasyona 6 saat(3 saat RF maruziyet sistemi açık/ 1 saat RF maruziyet sistemi kapalı / 3 saat RF maruziyet sistemi açık) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-bağımlı apoptoz da yer alan başlıca 4 genin ifadenme düzeyleri

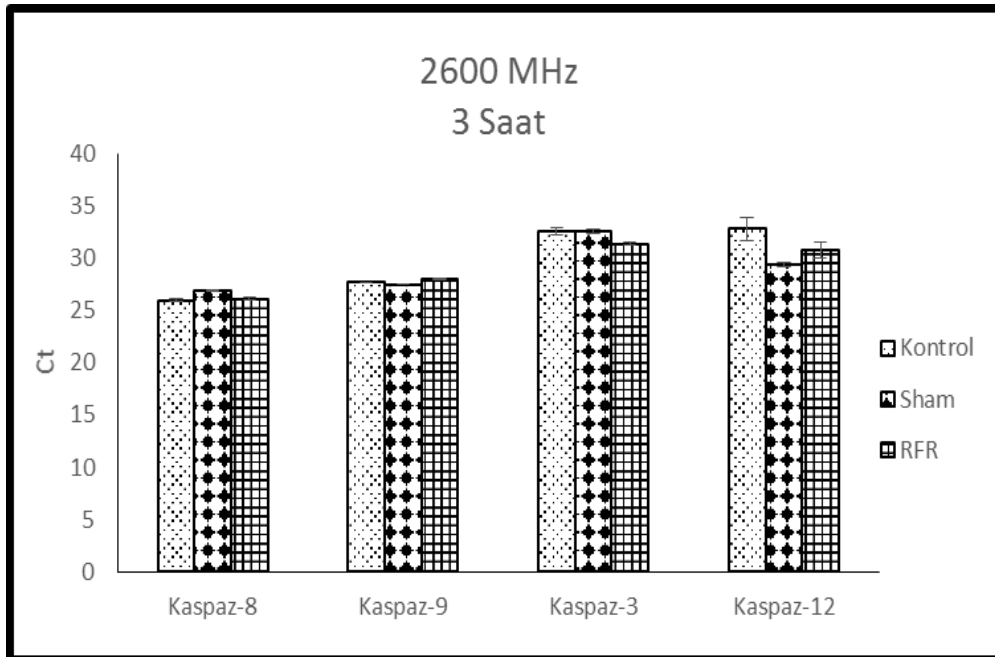
♣: $p < 0.05$ (RFR grubu Kontrol grubundan farklı)

♦: $p < 0.05$ (RFR grubu Sham grubundan farklı)

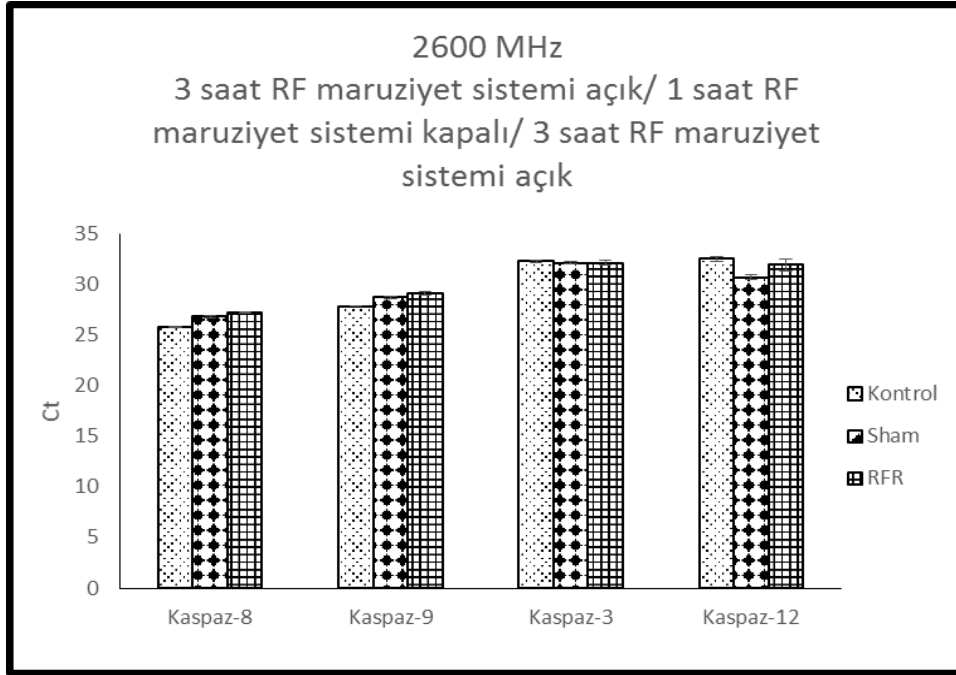


Şekil 4.21. 2100 MHz radyofrekans radyasyona 6 saat boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-bağımlı apoptoz da yer alan başlıca 4 genin ifadenme düzeyleri

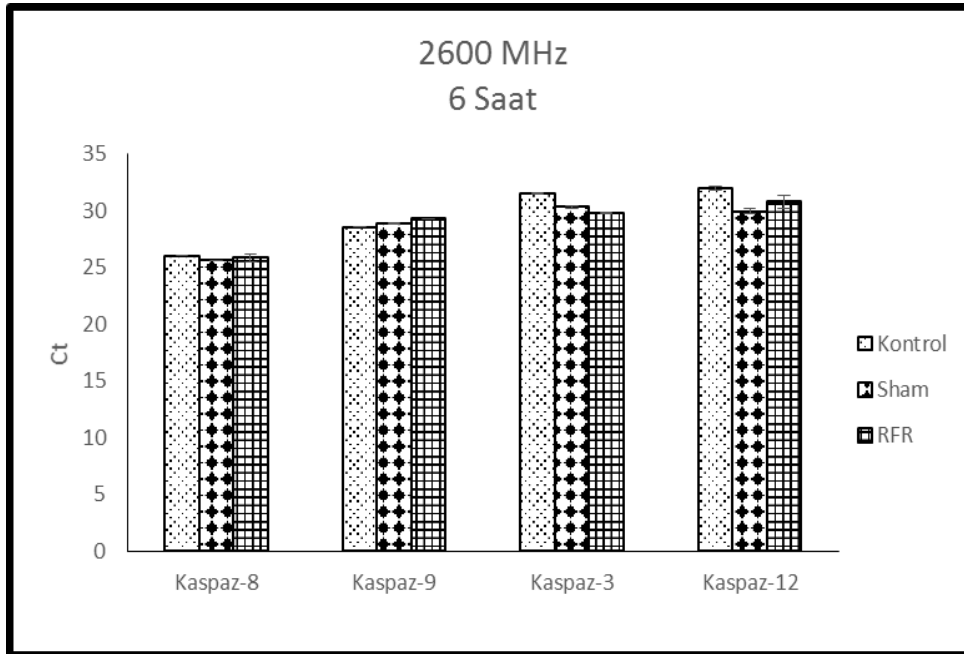
4.4.3. 2600 MHz RF radyasyona farklı uygulama sürelerinde maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde başlatıcı-uyarıcı-yağı kaspazların gen ifadenme düzeyleri



Şekil 4.22. 2600 MHz radyofrekans radyasyona 3 saat boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-bağımlı apoptoz da yer alan başlıca 4 genin ifadenme düzeyleri



Şekil 4.23. 2600 MHz radyofrekans radyasyona 6 saat (3 saat RF maruziyet sistemi açık/1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/3 saat RF maruziyet sistemi açık) boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde kaspaz-bağımlı apoptoz da yer alan başlıca 4 genin ifadenme düzeyleri



Şekil 4.24. 2600 MHz radyofrekans radyasyona 6 saat boyunca maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-bağımlı apoptoz da yer alan başlıca 4 genin ifadenme düzeyleri

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Canlı sistemlerin Radyo frekans/Mikrodalga alanlara verdiği biyolojik cevaplar birçok fiziksel faktöre bağlı değişiklik göstermektedir. Güç (özellik soğurma oranı (SAR)) ve güç yoğunluğu (W/m^2), dalga boyu (λ), frekans (f), yakın alan-uzak alan, polarizasyon (doğrusal, dairesel), sürekli dalga (CW) ve pulslu alanlar (puls tekrar hızı, puls genişliği, doluluk/boşluk oranı, puls şekli, puls ortalama gücü, vb.), modülasyon (genlik, frekans, faz), toplam maruziyet süresi ve maruziyet aralığı (sürekli, kesikli), akut ve kronik maruziyetler; canlı organizmanın radyo frekans ya da mikrodalga alan maruziyetlerinde oluşturacakları olası biyolojik cevaplarda farklılıklara neden olabilecek fiziksel faktörler olarak sayılmaktadır (Belyaev ve diğçerleri, 2009).

Radyofrekans ve mikrodalga alanların canlı sistemler ile etkileşiminde; yapılan ölçüm ve modelleme çalışmalarında kullanılan SAR ve güç yoğunluğu parametreleri doğrultusunda, soğurulan enerji miktarına bağlı bir ısı artışı olduğu tespit edilmiş ve elde edilen sonuç “RF/MW” nın ısısal etkisi” olarak değçerlendirilmiştir. Aynı zamanda, bu alanların bir bölümünün de canlı organizmada ısı artışına neden olmadığı tespit edilmiş ve bu durum bilim insanları tarafından “RF/MW” nın ısısal olmayan etkisi” olarak yorumlanmıştır. Radyofrekans/Mikrodalga alanların canlı sistemlerle etkileşimlerinde, ısısal olmayan etkileşim mekanizmalarının önemli bir yer tuttuğı görölmektedir. Radyofrekans ve mikrodalga alan uygulamalarında, moleküler seviyede hücre membranı, kromozomal DNA, radikal, protein ve protein kavitelelerindeki iyonlar ile etkileşimleri; söz konusu alanların ısısal olmayan etkileşim mekanizmalarına örnek verilebilmektedir (de Pomerai ve diğçerleri, 2003).

Yapılan çalışmalarda; uygulanan frekansların, modülasyonların, özgül soğurma oranlarının (SAR), hücre tiplerinin, maruziyet sürelerinin oluşacak olası biyolojik cevaplar üzerindeki etkilerini değçerlendirebilmek amacıyla; farklı genotoksisite testleri kullanılmıştır, tek ve çift zincir kırıkları, kromozomal aberasyon, mikroçekirdek, kardeş kromatid değış-tokuşu ve mutasyonlar vb. parametreler değçerlendirilmiştir. Hücrede herhangi bir nedenle hasara uğramış moleküllerin neredeyse tamamına yakın bir kısmının onarımından DNA’nın sorumlu olması nedeniyle; DNA üzerinde meydana gelebilecek bir hasarı tespit edebilmek ayrıca önem taşımaktadır (Capri ve diğçerleri, 2004; Lantow ve diğçerleri, 2006; Zhao ve diğçerleri, 2007; Speit ve diğçerleri, 2007; Zeni ve diğçerleri, 2007; Diem ve diğçerleri, 2005;

Hou ve diğerleri, 2015). Ancak; **farklı frekanslarda ve farklı uygulama sürelerinde** maruz bırakılan farklı hücre tiplerinin moleküler seviyede oluşturdukları biyolojik cevaplar incelendiğinde şu sonuçlar ortaya çıkabilmektedir:

- i. Radyo frekans alanların tek başına genotoksik etkisi olduğuna dair yeterli kanıt bulunmamaktadır,
- ii. Radyo frekans alan maruziyeti, bilinen bir genotoksik ajan tarafından indüklenen hasarı değiştirememektedir (artırmak ya da azaltmak gibi),
- iii. Bazı raporlarda yer alan “olumsuz” etkiler, radyo frekans alanların indüklediği hipertermi (hyperthermia)’dan ileri gelebilmektedir [Heynick ve diğerleri, 2003; Meltz, 2003; Obe, 2004; Verschaeve, 2005, 2009; Lai, 2007; Vijayalaxmi ve Prihoda, 2008; Phillips ve diğerleri, 2009; Ruediger, 2009; Verschaeve ve ark. 2010].

Radyo frekans alanların tek başına genotoksik etkisi olup olmadığına yönelik; Diem ve diğerleri (2005), 1800 MHz RF radyasyona (SAR 2 W/kg) farklı modülasyonlarda (GSM-basic, GSM-talk), 4 saat, 16 saat ve 24 saat boyunca sürekli ve kesikli (5 dak. alan açık/ 10 dak. alan kapalı) maruz bıraktıkları sağlıklı donörlerin deri biyopsilerinden çoğaltılan insan diploid fibroblast hücrelerinde (ES1) ve transforme (dönüşmüş) rat granuloza (GFSH-R17) hücrelerinde; 16 saat RF alan maruziyetinde genotoksisitede önemli derecede bir artış olduğunu; ancak maruziyetin 16. ve 24. saatleri arasında anlamlı bir farklılık olmadığını göstermişlerdir. Ayrıca; kesikli puls modülasyonu ve konuşma modülasyonu maruziyetlerinden elde edilen biyolojik cevapların (comet assay açısından) sürekli maruziyet sonrası elde edilen bulgulara göre daha etkili olduğu gösterilmiştir (Diem ve diğerleri, 2005).

Speit ve diğerleri (2007); 1800 MHz RF radyasyona (SAR 2W/kg), 1 - 24 saat arasında sürekli ve kesikli (5 dak. alan açık/ 10 dak. alan kapalı) maruz bırakılan insan diploid fibroblast hücreleri (ES1 hücreleri) ve Çin Hamsteri (V79) hücrelerinde genotoksisite testleri (Comet assay, mikroçekirdeklenme) uygulanmıştır. Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde, yazarlar Diem ve diğerleri (2005)’in çalışma sonuçları ile benzer sonuçlar göstermediğini ifade etmişlerdir.

Bu çalışmada, üç farklı frekanstaki (1800 MHz, 2100 MHz, 2600 MHz) radyofrekans alana farklı sürelerde (3 saat sürekli, 6 saat kesikli ve 6 saat sürekli) maruz bırakılan insan

kolorektal karsinom hücrelerinde (HT-29), hücre canlılık oranlarını ve programlı hücre ölümü sürecinde önemli rol oynayan sistein-bağı ve hücrenin redoks tepkimelerine duyarlı enzimler olan kaspazların (Kaspaz-8, Kaspaz-9, Kaspaz-3, Kaspaz-12) gen ifadenme düzeylerinin farklı frekans ve maruziyet sürelerindeki değişimleri analiz edilmiştir.

Araştırmada, öncelikle frekans farkı göz önüne alınarak **hücre canlılığı (% oranı)** değerlendirilmiştir: Kablosuz iletişim teknolojilerinin gelişim sürecinde, analog yayından dijital yayına geçiş olarak bilinen **2. Nesil teknolojilerinin** frekans aralığında (850/900/1800 MHz) yer alan **1800 MHz GSM benzeri RF sinyaline** maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde; **hücre canlılığı (% oranı) değerlendirildiğinde**, kendi sham ve negatif kontrol gruplarına göre yapılan istatistiksel karşılaştırmada anlamlı bir **farklılık olmadığı** tespit edilmiştir. Yayın frekansının biraz daha yükseltilerek, 2. Nesil teknolojilere göre yüksek hızda güvenli veri iletişimine olanak sağlayan **3. Nesil teknolojilerinin** frekans aralığında (2100/2400 MHz) yer alan **2100 MHz GSM benzeri RF sinyaline** maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde; **hücre canlılığı (% oranı) değerlendirildiğinde**, kendi sham ve negatif kontrol gruplarına göre anlamlı bir **farklılık olduğu** tespit edilmiştir. Benzer şekilde, 2007 yılında uygulamaya geçen, en önemli avantajı sürekli doğrudan internet bağlantısı olan telefonların kullanılmasına olanak sağlayan **4. Nesil teknolojilerinin** frekans aralığında (800 MHz/900 MHz/1800 MHz/2600 MHz/2700 MHz) yer alan **2600 MHz HT-29 hücrelerinde**; **hücre canlılığı (% oranı) değerlendirildiğinde**; kendi sham ve negatif kontrol gruplarına göre anlamlı bir **farklılık olduğu** tespit edilmiştir. **Sonuç olarak**; insan kolorektal hücrelerinde uygulanan üç farklı frekansa bağlı olarak, hücre canlılıkları değerlendirildiğinde, hücre canlılık oranının en fazla 2100 MHz frekans bandında azaldığı tespit edilmiştir.

Hücre canlılığı (% oranı) maruziyet süreleri açısından değerlendirildiğinde; **1800 MHz GSM benzeri RF alana 3 saat sürekli ve 6 saat kesikli uygulamalarda** anlamlı bir farklılık tespit edilmezken, **6 saat sürekli uygulama** gruplarında kendi sham ve negatif kontrol gruplarına göre anlamlı bir **farklılık olduğu** tespit edilmiştir. **2100 MHz ve 2600 MHz RF alanlara, 3 saat sürekli, 6 saat kesikli, 6 saat sürekli** maruz bırakılan HT-29 hücrelerinin, hücre canlılık oranlarında, kendi sham ve negatif kontrol gruplarına göre **anlamlı bir farklılık** tespit edilmiştir. 3 saat RF alan maruziyeti sonrasında özellikle 2100 MHz (3G) ve 2600 MHz (4G) frekans bantlarında insan kolorektal hücrelerinin hücre

canlılık oranlarında **azalmanın başladığı**, maruziyet süresi 6 saate çıkarıldığında hücre canlılık oranındaki bu **azalmanın daha da arttığı** tespit edilmiştir.

1800 MHz, 2100 MHz ve 2600 MHz frekans bantlarında; elde edilen hücre canlılık oran bulguları doğrultusunda; sağ kalım ve apoptozsürecinde yer alan kaspazların (Kaspaz 8, Kaspaz 9, Kaspaz 3, Kaspaz 12) gen ifadenme düzeylerine bakılarak, RF alanların moleküler düzeyde etki mekanizmalarının analizi hedeflenmiştir.

Radyo frekans alanların hücreler üzerindeki etkisini değerlendirmek için en önemli yöntem hücrelerin gelişimi ve apoptozunun in-vitro olarak çalışılmasıdır.

Zhao ve diğerleri (2007), 1900 MHz GSM modüleli RF radyasyona 2 saat maruz bırakılan fare primer kültür nöron ve astrosit hücrelerinde apoptoz yolağında görev alan, içerisinde **Kaspaz-2** (Uyarıcı Kaspaz, DNA Hasarı olduğu zaman aktive olur. Kaspaz-2, mitokondriye Bax translokasyonunu ilerletir, mitokondriyal geçirgenlik artar, sitokrom c sitozole salınır ve Kaspaz-9 aktive olur.), **Kaspaz-6** (Kaspaz-6; Sitokrom c salınımı ve Kaspaz-8 aktivasyonuna bağlı olarak Bid indüksiyonu aracılığı ile insan nöronal dejenerasyonunda kritik bir rol oynamaktadır.) ve **Asc**' nin de bulunduğu birkaç genin (I-TRAF, TRAF2, TRAF3, TRAF5, TRAF6) up-regüle olduğunu tespit etmişlerdir (Zhao ve diğerleri, 2007).

Lu ve diğerleri (2012), cep telefonu röle istasyonlarına 20 metre mesafe içerisinde ikamet eden, mesleki olarak mikrodalga iletişim araçlarının bulunduğu bir odada bulunan ya da gözetim radarları etrafında bulunan insanları göz önünde bulundurarak insanlardan izole edilmiş periferik kan mononükleer hücrelerini 900 MHz GSM benzeri RF radyasyona (SAR 0,43W/ kg) farklı sürelerde (1 saat, 2 saat, 4 saat, 6 saat ve 8 saat) maruz bırakmışlar, reaktif oksijen türlerinin (ROS) aktivasyonu, Kaspaz-3 aktivitesi, mitokondriyel potansiyeli, DNA ve proteinlerin Raman spektrumlarını incelemişlerdir. İnsan periferik kan mononükleer hücreleri 1 saat süre ile 900 MHz GSM benzeri RF radyasyona maruz bırakıldıklarında, ROS aktivasyonunun gerçekleştiği, 2 saat RFR maruziyetinden 6 saat RFR maruziyetine kadar ROS seviyesinde sürekli bir artışın olduğu, ancak 6 saat RFR maruziyeti sonrasında ROS seviyesinin azalmaya başladığını tespit etmişlerdir. Benzer şekilde, Kaspaz-3 aktivitesindeki varyasyonlarda da, ilk 2 saatlik RFR maruziyeti içerisinde Kaspaz-3 düzeyinde değişim tespit edilmiştir. Maruziyet süresine

bağlı olarak Kaspaz-3 seviyesinde de artış gözlenmektedir, 6 saat RFR maruziyetinde Kaspaz-3 seviyesi kontrol grubuna göre 6 katına ulaşmaktadır. Ancak, RFR maruziyetin 8. saatinde Kaspaz-3 seviyesi anlamlı bir şekilde azalmaya başlamıştır. Raman spektrum sonuçlarından; lipid ve protein C-H bağında kırık, protein yan zincirinde hasar, protein ikincil yapısında bozulma, alfa-sarmal (α -helix) ve beta-yaprak (β -sheet) konfigürasyonunda azalma, rastgele sarımda (random coil) artma ve DNA hasarı tespit etmişlerdir. Bu bulgular doğrultusunda, protein konformasyonundaki kararlılığında meydana gelen değişikliklerden dolayı proteinlerin normal fonksiyonlarını yerine getiremediklerini ve bu nedenle; hücre içerisinde biriken reaktif oksijen türlerini yok edemediklerini öne sürmüşlerdir.

Pokorny ve diğerleri (1999), mikrodalga frekans aralığındaki radyasyonun non-termal hücresel etkilerini araştırdıklarında; hücrelerarası değişikliklerin dışarıdan uygulanan radyasyondan kaynaklı makromoleküler zincir rezonansı olduğunu tespit etmişlerdir. Elektrobiyolojik bir sistemde, kendi hücrelerarası polar yapıları tarafından oluşturulan iç elektromanyetik alan dışarıdan uygulanan alan ile birlikte koherent (eşyuyum) durum içerisine girmektedir ki bu düşük şiddette oluşan salınımlı elektrik alanın non-termal biyolojik değişimlere neden olabileceğini göstermektedir. Koherent durumunda, dışarıdan uygulanan alan; iç elektromanyetik alan frekansını homeostatik dengeyi bozmaya yönelik azaltabilmekte ya da artırabilmektedir. Bu çalışmalar doğrultusunda, radyo frekans ve mikrodalga radyasyon biyolojik sistemlerde elektrik salınımlar indükleyerek, hücre yüzey sinyallerini hücrelerarası sisteme ileten enzim kaskadlarının aktivasyonu, hücre membran proteinleri üzerinde etkili olabilmektedirler.

Non-iyonize radyasyon (radyo frekans, görünür ışık, kızıl ötesi ve radyasyonun diğer EM formları) organizmayı non-termal seviyede önemli ölçüde etkileyebilmektedir:

- i. Radyo frekans radyasyon hücre membran sinyal iletimini değiştirebilmektedir. Bu değişiklik; iyon kanal oluşumu ve tek kanal açılımlarının frekansını azaltmaktadır. Ayrıca; Na^+ , K^+ , Ca^{2+} gibi katyonların membranda taşınımalarını membran yüzeylerine bağlanarak etkileyebilmektedir.

- ii. Non-termal RF radyasyonun membran üzerindeki diğer bir etkisi, serbest radikal oluşumdur. Reaktif oksijen türleri oluşturarak ve oksidatif stresi indükleyerek birçok hastalığın oluşmasına neden olabilmektedir.
- iii. Fröhlich'in hipotezine göre, biyolojik dokudaki büyük moleküller, dışarıdan uygulanan enerjinin soğurulma için izin verilen frekanslarında titreşebilmektedirler. Diğer bir deyişle, mikrodalga frekans bandında EM radyasyon, canlı organizmanın moleküllerinde bir rezonans oluşturabilmektedir. Bu rezonans, non-termal biyolojik bir etki olarak tanımlanabilmektedir. Rezonansın gerçekleşebilmesi için, EM radyasyonun dalga boyunun biyolojik doku özellikleri ile uyum göstermesi gerekmektedir.

Bohr ve Bohr (2000), katlanmış ve katlanmamış proteinlerin sahip oldukları iç dinamikleri ve en düşük doğal vibrasyon modları (eigenmode) mikrodalga frekans aralığında olup birkaç GHz' e karşılık geldiğini, böylece, moleküllerin mikrodalga radyasyon ile uyarılabileceğini öne sürmektedirler. Bu iç dinamikler, proteinlerin kararlılık, katlanma ve denatürasyon süreçlerinde değişikliklere neden olabildiği için önemli sayılmaktadır. Bu doğrultuda, dışarıdan uygulanan EM radyasyon iç dinamiklerin frekansına yakın bir frekansta ise normalde o yapı için mevcut olan vibrasyonel, rotasyonel, lateral, flip-flop... tarzındaki hareketliliklerde artış gerçekleşmektedir.

Serbest radikal mekanizması, hücre-EM alan etkileşimini açıklayabilecek en olası mekanizmalardan biri olarak görülmektedir. İki radikalın elektron spinleri, hem singlet hem de triplet durumda olabilmektedir (biri diğerine paralel ya da ters yönde olabilir). İki durum arasındaki salınımlar (osilasyonlar); birbirleri ile çiftleşmemiş elektronların manyetik etkileşimlerine, nükleer spinlere ve dış manyetik alana bağlıdır. Kararlı moleküllerde spinler birbirine ters yönde konumlanmıştır; paralel konumlanmış spinler öncelikle spin değiştirmek isteyecektir. Dışarıdan uygulanan manyetik alan, spin değişim sürecini yavaşlatarak, radikal çiftlerin birbirinden ayrılmasını sağlayarak, hem ömürlerini uzatmaktadır hem de konsantrasyonlarını artırmaktadır. Yapılan çalışmalar, RF/MW alan maruziyeti ve ROS oluşumu arasında da ilişki olduğu yönündedir.

Aydoğan ve diğerleri (2015), dijital modüleli 2100 MHz 3G sinyallerine kısa süreli (10 gün) ve göreceli uzun süreli (40 gün) maruz bırakılan dişi yetişkin ratların parotid dokularında antioksidan enzim aktivitelerinde ve oksidatif stres belirteçlerinde anlamlı bir

farklılık olmadığını tespit etmişlerdir. Literatür çalışmalarında; 900 MHz ve 1800 MHz RF radyasyona maruz kalan farklı tipte dokuların serbest radikaller ve antioksidan enzim aktivitelerinde farklı sonuçlara neden olduğu görülmektedir.

Ozgur ve diğerleri (2010), 1800 MHz GSM benzeri RF radyasyona günde 10 dak. ve 20 dak olmak üzere 1 hafta süre ile maruz bıraktıkları 14 haftalık erkek kobayların karaciğer dokusunda; oksidatif stres parametreleri ve lipid peroksidasyon son ürünü Malondialdehid (MDA) ve Nitrik Oksit (NOx) seviyelerinde istatistiksel anlamlı bir artma, antioksidan savunma sisteminde yer alan enzimlerin seviyelerinde ise istatistiksel anlamlı bir azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Ancak; dışarıdan uygulanan bir antioksidan ilaç takviyesi yapıldığı takdirde; karaciğer dokusundaki serbest radikal seviyesinde azalma, antioksidan savunma sisteminde yer alan başlıca enzimlerin seviyelerinde ise artma olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışma ile Güler ve diğerleri, GSM benzeri RF radyasyonun kısa süreli maruziyet ile karaciğer dokusunda serbest radikal seviyesinde artışa neden olarak oksidatif stresini indükleyebileceğini, antioksidan savunma sistemini baskılayabileceğini; ancak dışarıdan alınabilecek takviye antioksidan ilaçlar ile antioksidan savunma sisteminin artırılabilirliğini tespit etmişlerdir.

Ozgur ve diğerleri (2015), 900 MHz puls modüleli RF radyasyona günde 10 dak. ya da 20 dak. olmak üzere 1 hafta süre ile maruz bırakılan yetişkin erkek kobayların karaciğer dokularında; serbest radikal seviyesine bağlı protein oksidasyonu ürünlerinde (AOPP ve PCO) artış olduğunu, antioksidan savunma sisteminde önemli bir görev alan SOD enzim seviyesinde bir baskılanma olduğunu tespit etmişlerdir. Dışarıdan uygulanan ilaç takviyelerinin (NAC ve EGCG için) antioksidan (süpürücü) ve pro-oksidan (serbest radikal) özellikleri oksidatif sistemin radikal oluşturma doğasına bağlıdır. Bu farklılık, RF radyasyona karşı çocuklar ve yetişkinlerin hassasiyetinden kaynaklanabileceği gibi, doku özelliklerinden de oluşabilmektedir.

Yapılan çalışmalar; RF alanların dokularda serbest radikaller ve antioksidan enzim aktivitelerinin yanı sıra apoptoz üzerine de etkili olabildiğini göstermektedir. Apoptoz iki farklı yolak ile kontrol edilmektedir: iç ya da mitokondriyal yürütülen yolak ve dış ya da ölüm reseptörlerinin yürüttüğü yolak. İç yolak; mitokondriden Sitokrom c salınımı ve Kaspaz-9 ve Kaspaz-3'ün aktivasyonunu kapsamaktadır. Dış yolak ise; ligandın kendi ölüm reseptörüne bağlanması ile Kaspaz-8 ve Kaspaz-3'ün aktivasyonuna neden olması

şeklinde gerçekleşmektedir. Böylece, **Kaspaz-3'ün apoptozun önemli bir yürütücüsü olduğu görülmektedir.**

Bu çalışmada; radyo frekans alanların insan kolorektal karsinom hücreleri üzerindeki olası etkileri ve apoptoz süreci; Başlatıcı (Kaspaz-8 ve Kaspaz-9); Uyarıcı (Kaspaz-3); Yangı (Kaspaz-12) Kaspazların gen ifadenme düzeylerinin frekansa ve maruziyet sürelerine bağlı değişimleri analiz edilerek değerlendirilmiştir.

Çalışmada; RF alanların farklı frekans ve maruziyet sürelerinin öncelikle mitokondriyal iç yolak üzerindeki olası etkileri araştırılmıştır. Mitokondriyal iç yolak, ekstrasellüler ya da intrasellüler stres tarafından indüklenebilmektedir. Bu yolak, dış mitokondriyal membran geçirgenliğini artırarak pro-apoptotik moleküllerin sitoplazmaya salınımına neden olmaktadır (Şekil 5.1).

1800 MHz GSM benzeri RF sinyaline maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde; mitokondriyal iç yolak değerlendirildiğinde; Kaspaz-8, Kaspaz-9 ve Kaspaz-3 gen ifadenme düzeylerinde kendi sham ve negatif kontrol gruplarına göre istatistiksel anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada 2. Nesil teknolojilerin frekansında yer alan 1800 MHz RF radyasyonun HT-29 hücrelerinde apoptozu mitokondriyal iç yolak üzerinden indükleyemeyeceği sonucuna varılmıştır.

3. Nesil teknolojilerinin frekans aralığında yer alan 2100 MHz GSM benzeri RF sinyaline maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde; Kaspaz-8 ve Kaspaz-9 ifadenme düzeyleri incelendiğinde; sürekli 3 saat ve kesikli 6 saat maruziyet gruplarının kendi sham ve negatif kontrol gruplarına göre istatistiksel anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyi incelendiğinde; sadece kesikli 6 saat maruziyet gruplarının kendi sham ve negatif kontrol gruplarına göre istatistiksel anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada 3. Nesil teknolojilerin frekansında yer alan 2100 MHz RF radyasyonun HT-29 hücrelerinde apoptozu mitokondriyal iç yolak üzerinden indükleyebileceği sonucuna varılmıştır (Şekil 5.1).

4. Nesil teknolojilerinin frekans aralığında yer alan 2600 MHz RF sinyaline maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde ise Kaspaz-8, Kaspaz-9, ve Kaspaz-3'ün gen ifadenme düzeyleri incelendiğinde; her üç maruziyet süresinde de kendi sham ve negatif kontrol gruplarına

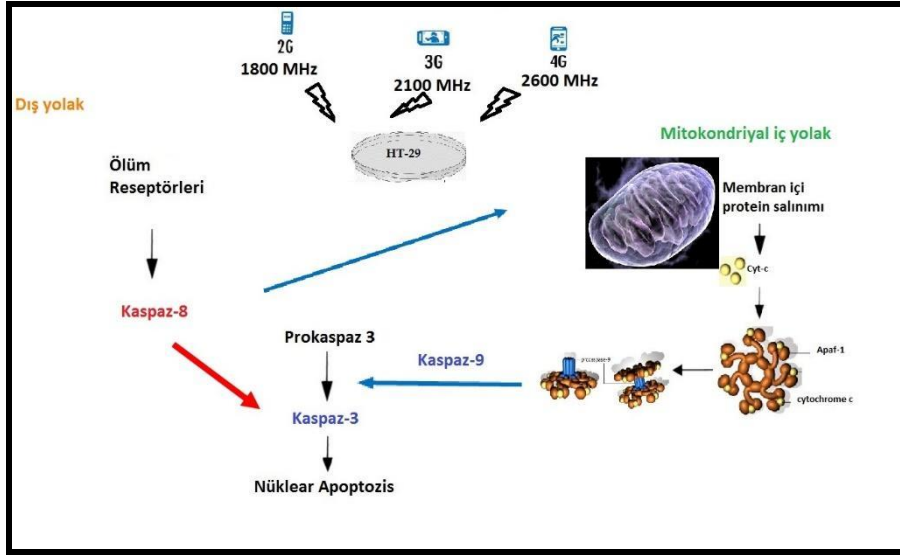
göre istatistiksel anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada 4. Nesil teknolojilerin frekansında yer alan 2600 MHz RF radyasyonun HT-29 hücrelerinde apoptozu mitokondriyal iç yolak üzerinden indükleyemeyeceği sonucuna varılmıştır.

Çalışmada mitokondriyal iç yolağın yanısıra; RF alanların dış yolak üzerindeki olası etkileri de araştırılmıştır. Reseptör ya da sitoplazmik yolak olarak da bilinen dış yolak; plazma membranında yer alan reseptör polipeptidlerin sitoplazmik bölümlerinin ölüm alanı (Death Domain) adı verilen bir aminoasit dizisi ile adaptör proteinlere bağlanması ve bu adaptör proteinlerin reseptör aracılığı ile gelen sinyal ile kaspazların aktivasyonu sağlaması ile başlamaktadır. Bu çalışmada; kaspaz-bağımlı apoptoz sürecinde; dış yolağın başlıca üyeleri Kaspaz-8 ve Kaspaz-3'ün gen ifadenme düzeylerini incelendiğinde;

1800 MHz GSM benzeri RF sinyaline maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde; Kaspaz-8 ve Kaspaz-3 gen ifadenme düzeylerinde kendi sham ve negatif kontrol gruplarına göre istatistiksel anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada 2. Nesil teknolojilerin frekansında yer alan 1800 MHz RF radyasyonun HT-29 hücrelerinde apoptozu dış yolak üzerinden indükleyemeyeceği sonucuna varılmıştır.

3. Nesil teknolojilerinin frekans aralığında yer alan 2100 MHz GSM benzeri RF sinyaline maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyinin sürekli 3 saat ve kesikli 6 saat maruziyet gruplarının kendi sham ve negatif kontrol gruplarına göre istatistiksel anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Kaspaz-3 gen ifadenme düzeyi incelendiğinde; sadece kesikli 6 saat maruziyet gruplarının kendi sham ve negatif kontrol gruplarına göre istatistiksel anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada 3. Nesil teknolojilerin frekansında yer alan 2100 MHz RF radyasyonun HT-29 hücrelerinde apoptozu dış yolak üzerinden indükleyebileceği sonucuna varılmıştır (Şekil 5.1).

4. Nesil teknolojilerinin frekans aralığında yer alan 2600 MHz RF sinyaline maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde ise Kaspaz-8 ve Kaspaz-3'ün gen ifadenme düzeyleri incelendiğinde; her üç maruziyet saatinde de kendi sham ve negatif kontrol gruplarına göre istatistiksel anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada 4. Nesil teknolojilerin frekansında yer alan 2600 MHz RF radyasyonun HT-29 hücrelerinde apoptozu dış yolak üzerinden indükleyemeyeceği sonucuna varılmıştır.



Şekil 5.1. Farklı frekanslarda Radyo frekans alanlara maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde olası apoptoz süreci

Apoptozu tetikleyen iki temel yolağın dışında; Kaspaz-12'nin aktivasyonunun dahil olduğu endoplazmik retikulum spesifik apoptotik yolağı bulunmaktadır (Nagakawa ve diğerleri 2000a; 2000b; Szegezdi ve diğerleri 2003; Yoneda ve diğerleri 2001). Yüksek hücre içi serbest Ca^{2+} miktarındaki artışa bağlı olarak, kalpain aktive olmakta ve aktif olmayan prokaspaz-12'nin aktif Kaspaz-12'ye dönüşümünü sağlamaktadır. Aktif Kaspaz-12 sitoplazmaya geçerek aktif olmayan pro-kaspaz-9' unsitokrom c ye gerek olmaksızın aktivasyonunu sağladığı gibi doğrudan Kaspaz-3' ü de aktif hale dönüştürebilmektedir (Fan ve diğerleri, 2005; Morishima ve diğerleri, 2002; Rao ve diğerleri, 2001; Suzuki ve diğerleri 1987). Bu durumda ayrıca JNK yolu da aktive edilebilmektedir (Scheuner ve diğerleri 2001).

Bu çalışmada sadece, 2100 MHz RF radyasyona 6 saat kesikli (3 saat RF maruziyet sistemi açık/1 saat RF maruziyet sistemi kapalı/ 3 saat RF maruziyet sistemi açık) maruz bırakılan insan kolon kanseri (HT-29) hücrelerinde Kaspaz-3 gen ekspresyon düzeyinde kendi sham ve negatif kontrol grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir. Bu değişim, 2100 MHz RF radyasyona 3 saat sürekli maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde indüklenebilecek kaspaz-bağımlı apoptozun hem dış yolak (Kaspaz-8 gen ifadenme düzeyindeki istatistiksel artış) hem de iç mitokondriyal yolak yoluyla (Kaspaz-9 gen ifadenme düzeyindeki istatistiksel artış) olabileceği ve her iki apoptotik yoldan da ayrı ayrı Kaspazların; Kaspaz-3' ü up-regüle edebileceği sonucuna varılmıştır. Elde edilen bulgular doğrultusunda; uygulanan farklı frekanslarda (1800 MHz, 2100 MHz,

2600MHz) ve farklı maruziyet sürelerinde (3 saat sürekli, 6 saat kesikli [3 saat RF sistemi açık/1 saat RF sistemi kapalı/ 3 saat RF sistemi açık], 6 saat sürekli) Kaspaz-12 gen ifadenme düzeyinde kendi sham ve negatif kontrol bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir.

Özellikle 2100 MHz frekanslı RF alanların hücre canlılık oranlarında düşüşe, buna karşın Kaspaz-3, Kaspaz-8 ve Kaspaz-9 düzeyleri üzerinde artışa neden olması, söz konusu alanların kanser tedavisinde kullanılabileceğini düşündürmektedir. Çünkü kaspazlar; hem programlı hücre ölümü hem de hasara bağlı apoptozda önemli rol oynadıkları için kaspaz aktivitelerinin doğru tanımlanabilmesi ve bu aktivasyonlar üzerinden geliştirilebilecek bir terapi yöntemi, doku homeostazı üzerindeki olası olumsuz etkilere karşı etkili olabileceği düşünülmektedir.

Özetle elde ettiğimiz sonuçları değerlendirecek olursak;

❖ **1800 MHz** RF radyasyon maruziyetinde

- 3 saat sürekli ve 6 saat (kesikli) RF alan maruziyetlerinde hücre canlılık yüzde oranında değişim tespit edilmedi.
6 saat (sürekli) RF alan maruziyetinde hücre canlılık yüzde oranında %49 azalma olduğu tespit edildi.
- Kaspaz-8, Kaspaz-9, Kaspaz-3 ve Kaspaz-12 gen ifadenme düzeylerinde ise uygulanan her üç maruziyet süresinde de değişim olmadığı tespit edildi.

❖ **2100 MHz** RF radyasyon maruziyetinde

- 3 saat sürekli RF alan maruziyetinde hücre canlılık yüzde oranında %25,
6 saat (kesikli) RF alan maruziyetinde hücre canlılık yüzde oranında ~%54,
6 saat (sürekli) RF alan maruziyetinde hücre canlılık yüzde oranında ~%84 azalma olduğu tespit edildi.
- Kaspaz-8; 3 saat sürekli ve 6 saat (kesikli) RF alan maruziyetinde gen ifadenme düzeylerinde artış; 6 saat (sürekli) RF alan maruziyetinde bir değişim olmadığı tespit edildi.

- Kaspaz-9; 3 saat sürekli ve 6 saat (kesikli) RF alan maruziyetinde gen ifadenme düzeylerinde artış; 6 saat (sürekli) RF alan maruziyetinde bir değişim olmadığı tespit edildi.
- Kaspaz-3; 6 saat (kesikli) RF alan maruziyetinde gen ifadenme düzeyinde artış; 3 saat sürekli ve 6 saat (sürekli) RF alan maruziyetinde bir değişim olmadığı tespit edildi.
- Kaspaz-12; Uygulanan her üç maruziyet süresinde de gen ifadenme düzeylerinde bir değişim olmadığı tespit edildi.

❖ **2600 MHz** RF radyasyon maruziyetinde;

- 3 saat sürekli RF alan maruziyetinde hücre canlılık yüzde oranında ~ %23, 6 saat (kesikli) RF alan maruziyetinde hücre canlılık yüzde oranında %28, 6 saat (sürekli) RF alan maruziyetinde hücre canlılık yüzde oranında %65 azalma olduğu tespit edildi.
- Kaspaz-8, Kaspaz-9, Kaspaz-3 ve Kaspaz-12 gen ifadenme düzeylerinde ise uygulanan her üç maruziyet süresinde de değişim olmadığı tespit edildi.

Elde edilen bu veriler doğrultusunda; belli şiddet ve belli süreler için hücre canlılık yüzde oranlarında meydana gelen azalmaların apoptoza bağlı gerçekleştiği söylenebilmektedir. Ancak; hücre ölümünün gerçekleşmesine rağmen, Kaspaz gen ifadenme düzeylerinde bir değişimin tespit edilmemesi bu gruplarda farklı bir yolak ve mekanizmanın varlığını bize düşündürmüştür.

Bundan sonra yapılacak çalışmalarda özellikle bu gruplar için farklı ölüm mekanizmalarının araştırılması gerekliliği gündeme gelmiştir.

KAYNAKLAR

- Akhavan-Sigari, R., Baf, M. M. F., Ariabod, V., Rohde, V., and Rahighi, S. (2014). Connection between cell phone use, p53 gene expression in different zones of glioblastoma multiforme and survival prognoses. *Rare Tumors*, 6(3).
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Walter, P. (1994). *Molecular biology of the cell*. New York: Garland Sciences.
- Al-Serori, H., Kundi, M., Ferk, F., Mišák, M., Nersesyan, A., Murbach, M., ... and Knasmüller, S. (2017). Evaluation of the potential of mobile phone specific electromagnetic fields (UMTS) to produce micronuclei in human glioblastoma cell lines. *Toxicology in Vitro*, 40, 264-271.
- Altman, S. A., Randers, L., and Rao, G. (1993). Comparison of trypan blue dye exclusion and fluorometric assays for mammalian cell viability determinations. *Biotechnology progress*, 9(6), 671-674.
- Apollonio, F., Liberti, M., Amadei, A., Aschi, M., Pellegrino, M., D'Alessandro, M., . . . d'Inzeo, G. (2008). Mixed quantum-classical methods for molecular simulations of biochemical reactions with microwave fields: the case study of myoglobin. *IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques*, 56(11), 2511-2519.
- Aruoma, O. I., Halliwell, B., and Dizdaroğlu, M. (1989). Iron ion-dependent modification of bases in DNA by the superoxide radical-generating system hypoxanthine/xanthine oxidase. *The Journal of Biological Chemistry*, 264, 13024-13028.
- Aruoma, O. I., Halliwell, B., Gajewski, E., and Dizdaroğlu, M. (1991). Copper-ion-dependent damage to the bases in DNA in the presence of hydrogen peroxide. *Biochemical Journal*, 273(3), 601-604.
- Aydoğan, F., Unlu, İ., Aydın, E., Yumusak, N., Devrim, E., Samim, E. E., ... and Seyhan, N. (2015). The effect of 2100 MHz radiofrequency radiation of a 3G mobile phone on the parotid gland of rats. *American journal of otolaryngology*, 36(1), 39-46.
- Ayhan A. Textbook of Pathology, Editor: G. Mocan. Chapter: 7. Neoplasia. 2007, Ankara, Gunes Bookstore (Turkish).
- Balzano, Q., Sheppard, A. (2003). RF nonlinear interactions in living cells-I: Nonequilibrium thermodynamic theory. *Bioelectromagnetics*, 24, 473-482.
- Başaran, A. (2015). *Tıbbi Biyoloji Ders Kitabı*. Ankara: Pelikan Yayıncılık.
- Belyaev, I. Y., Markova, E., Hillert, L., Malmgren, L. O., and Persson, B. R. (2009). Microwaves from UMTS/GSM mobile phones induce long-lasting inhibition of 53BP1/γ-H2AX DNA repair foci in human lymphocytes. *Bioelectromagnetics*, 30(2), 129-141.
- Bohr, H., Bohr, J. (2000). Microwave-enhanced folding and denaturation of globular proteins. *Physical Review E*, 61(4), 4310.

- Bold, A., Toros, H. and Şen, O. (2003). Manyetik alanın insan sağlığı üzerindeki etkisi. *III. Atmosfer Bilimleri Sempozyumu*, 19-21.
- Bustin, S. A. (2002). Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems. *Journal of molecular endocrinology*, 29(1), 23-39.
- Bustin, S. A., Benes, V., Nolan, T., and Pfaffl, M. W. (2005). Quantitative real-time RT-PCR—a perspective. *Journal of molecular endocrinology*, 34(3), 597-601.
- Capri, M., Scarcella, E., Fumelli, C., Bianchi, E., Salvioli, S., Mesirca, P., ... and Bersani, F. (2004). In vitro exposure of human lymphocytes to 900 MHz CW and GSM modulated radiofrequency: studies of proliferation, apoptosis and mitochondrial membrane potential. *Radiation research*, 162(2), 211-218.
- Caraglia, M., Marra, M., Mancinelli, F., D'ambrosio, G., Massa, R., Giordano, A., ... and Bismuto, E. (2005). Electromagnetic fields at mobile phone frequency induce apoptosis and inactivation of the multi-chaperone complex in human epidermoid cancer cells. *Journal of cellular physiology*, 204(2), 539-548.
- Cardis, E., Richardson, L., Deltour, I., Armstrong, B., Feychting, M., Johansen, C., . . . Yamaguchi, N. (2007). The INTERPHONE study: design, epidemiological methods, and description of the study population. *European Journal of Epidemiology*, 22, 647-664.
- Challis, L. J. (2005). Mechanism for interaction between RF fields and biological tissue. *Bioelectromagnetics Supplement*, 7, 98-106.
- Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroğlu, M. and Lunec, J. (2003). Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation and disease. *FASEB Journal*, 17, 1195-1214.
- Curley, S. A., Palalon, F., Sanders, K. E., and Koshkina, N. V. (2014). The effects of non-invasive radiofrequency treatment and hyperthermia on malignant and nonmalignant cells. *International journal of environmental research and public health*, 11(9), 9142-9153.
- Çetin A., Püsküllü M.O. (2013). *Kanser tedavisinde yeni yaklaşımlar*. Kayseri: Erciyes Üniversitesi.
- de Lorge, J. O. (1984). Operant behavior and colonic temperature of Macaca mulatta exposed to radio frequency fields at and above resonant frequencies. *Bioelectromagnetics*, 5, 233-246.
- de Lorge, J. O., Ezell, C. S. (1980). Observing-responses of rats exposed to 1.28 and 5.62 GHz microwaves. *Bioelectromagnetics*, 1, 183-198.
- de Pomerai, D. I., Smith, B., Dawe, A., North, K., Smith, T., Archer, D. B., ... and Candido, E. P. M. (2003). Microwave radiation can alter protein conformation without bulk heating. *FEBS Letters*, 543(1-3), 93-97.

- Diem, E., Schwarz, C., Adlkofer, F., Jahn, O., and Rüdiger, H. (2005). Non-thermal DNA breakage by mobile-phone radiation (1800MHz) in human fibroblasts and in transformed GFSH-R17 rat granulosa cells in vitro. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 583(2), 178-183.
- Dizdaroğlu, M., Jaruga, P., Birincioğlu, M., and Rodriguez, H. (2002). Free radical-induced damage to DNA mechanisms and measurement. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(11), 1102-1115.
- Doğan, L. A., Güç, D. (2004). Sinyal İletimi Mekanizmaları ve Kanser. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 35, 34-42.
- Fan, T. J., Han, L. H., Cong, R. S., and Liang, J. (2005). Caspase family proteases and apoptosis. *Acta biochimica et biophysica Sinica*, 37(11), 719-727.
- Franklin, J. L. (2011). Redox regulation of the intrinsic pathway in neuronal apoptosis. *Antioxidants and Redox Signaling*, 14(8), 1437-1448.
- Guyton, A. C., Hall, J. E. (2001). *Textbook of medical physiology (Tıbbi Fizyoloji)*. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri.
- Güler, G., Tomruk, A., Ozgur, E., and Seyhan, N. (2010). The effect of radiofrequency radiation on DNA and lipid damage in non-pregnant and pregnant rabbits and their newborns. *General Physiology of Biophysics*, 29, 59-66.
- Güler, G., Tomruk, A., Ozgur, E., Sahin, D., Sepici, A., Altan, N., and Seyhan, N. (2012). The effect of radiofrequency radiation on DNA and lipid damage in female and male infant rabbits. *International Journal of Radiation Biology*, 88(4), 367-373.
- Gülersoy, Y. E. (2009, Nisan). Piyasa Gözetimi ve Denetimi Kapsamında Mobil Telefonlarda Özgül Soğurma Oranı Deneylerinin İncelenmesi ve Türkiye için Öneriler. (B. T. Kurumu, Dü.) Ankara, Türkiye.
- Gürdöl, F., Ademoğlu, E. (2006). *Biyokimya*. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri. Harman, D. (1972). The Biologic Clock: The Mitochondria? *Journal of The American Geriatrics Society*, 20(4), 145-147.
- Harris, M. H., Thompson, C. B. (2000). The role of the Bcl-2 family in the regulation of outer mitochondrial membrane permeability. *Cell death and differentiation*, 7(12), 1182.
- Hepworth, S. J., Schoemaker, M. J., Muir, K. R., Swerdlow, A. J., van Tongeren, M. J., and McKinney, P. A. (2006). Mobile phone use and risk of glioma in adults: case-control study. *British Journal of Medical*, 332, 883.
- Heynick, L. N., Johnston, S. A., and Mason, P. A. (2003). Radio frequency electromagnetic fields: cancer, mutagenesis, and genotoxicity. *Bioelectromagnetics*, 24(S6), S74-S100.

- Hirose, H., Sakuma, N., Kaji, N., Suhara, T., Sekijima, M., Nojima, T., and Miyakoshi, J. (2006). Phosphorylation and gene expression of p53 are not affected in human cells exposed to 2.1425 GHz band CW or W-CDMA modulated radiation allocated to mobile radio base stations. *Bioelectromagnetics*, 27(6), 494-504.
- Hoeijmakers, J. H. (2009). DNA damage, aging, and cancer. *New England Journal of Medicine*, 361(15), 1475-1485.
- Hou, Q., Wang, M., Wu, S., Ma, X., An, G., Liu, H., and Xie, F. (2015). Oxidative changes and apoptosis induced by 1800-MHz electromagnetic radiation in NIH/3T3 cells. *Electromagnetic biology and medicine*, 34(1), 85-92.
- Igney, F. H., and Krammer, P. H. (2002). Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. *Nature Reviews Cancer*, 2(4), 277-288.
- Kısmalı, G., Ozgur, E., Guler, G., Akcay, A., Sel, T. and Seyhan, N. (2012). The influence of 1800 MHz GSM-like signals on blood chemistry and oxidative stress in non-pregnant and pregnant rabbits. *International Journal of Radiation Biology*, 88(5), 414-419.
- KONU-GÜNCELLEME, T.E.M.E.L. (2007). Yamaner S. Kolorektal Polipler. *Türk Kolon ve Rektum Cerrahisi Derneği'nin*, 1.
- Korsmeyer, S. J. (1995). Regulators of cell death Lipid peroxidation. *Trends in Genetic*, 11(3), 101-5. [https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(00\)89010-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(00)89010-1)
- Lahkola, A., Auvinen, A., Raitanen, J., Schoemaker, M. J., Christensen, H. C., Feychting, M., . . . Salminen, T. (2007). Mobile phone use and risk of glioma in 5 north european countries. *International Journal of Cancer*, 120, 1769-1775.
- Lai, H. (2007). Evidence For Genotoxic Effects. *The BioInitiative Working Group*.
- Lai, H. C., Chan, H. W., and Singh, N. P. (2016). Effects of radiation from a radiofrequency identification (RFID) microchip on human cancer cells. *International journal of radiation biology*, 92(3), 156-161.
- Lantow, M., Lupke, M., Frahm, J., Mattsson, M. O., Kuster, N., and Simko, M. (2006). ROS release and Hsp70 expression after exposure to 1,800 MHz radiofrequency electromagnetic fields in primary human monocytes and lymphocytes. *Radiation and environmental biophysics*, 45(1), 55-62.
- Lee, S., Johnson, D., Dunbar, K., Dong, H., Ge, X., Kim, Y. C., ... and Gerber, H. L. (2005). 2.45 GHz radiofrequency fields alter gene expression in cultured human cells. *Febs letters*, 579(21), 4829-4836.
- Lerchl, A., Klose, M., Grote, K., Wilhelm, A. F., Spathmann, O., Fiedler, T., ... and Clemens, M. (2015). Tumor promotion by exposure to radiofrequency electromagnetic fields below exposure limits for humans. *Biochemical and biophysical research communications*, 459(4), 585-590.

- Leszczynski, D., Joenväärä, S., Reivinen, J., and Kuokka, R. (2002). Non-thermal activation of the hsp27/p38MAPK stress pathway by mobile phone radiation in human endothelial cells: molecular mechanism for cancer-and blood-brain barrier-related effects. *Differentiation*, 70(2-3), 120-129.
- Lin, J. C. (1994). *Advances in Electromagnetic Fields in Living Systems*. Springer US.
- Liu, Y. X., Li, G. Q., Fu, X. P., Xue, J. H., Ji, S. P., Zhang, Z. W., ... and Li, A. M. (2015). Exposure to 3G mobile phone signals does not affect the biological features of brain tumor cells. *BMC public health*, 15(1), 764.
- Livak, K. J., and Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods*, 25(4), 402-408.
- Lu, Y. S., Huang, B. T., and Huang, Y. X. (2012). Reactive oxygen species formation and apoptosis in human peripheral blood mononuclear cell induced by 900 MHz mobile phone radiation. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2012.
- Marinelli, F., La Sala, D., Cicciotti, G., Cattini, L., Trimarchi, C., Putti, S., ... and Cinti, C. (2004). Exposure to 900 MHz electromagnetic field induces an unbalance between pro-apoptotic and pro-survival signals in T-lymphoblastoid leukemia CCRF-CEM cells. *Journal of cellular physiology*, 198(2), 324-332.
- Martinvalet, D., Zhu, P., and Lieberman, J. (2005). Granzyme A induces caspase-independent mitochondrial damage, a required first step for apoptosis. *Immunity*, 22(3), 355-370.
- Mascotti, K., McCullough, J., and Burger, S. R. (2000). HPC viability measurement: trypan blue versus acridine orange and propidium iodide. *Transfusion*, 40(6), 693-696.
- Matthes, R. (1996). *Non-Ionizing Radiation ICNIRP-1/96*. ICNIRP.
- Meltz, M. L. (2003). Radiofrequency exposure and mammalian cell toxicity, genotoxicity, and transformation. *Bioelectromagnetics*, 24(S6), S196-S213.
- Merola, P., Marino, C., Lovisolo, G. A., Pinto, R., Laconi, C., and Negroni, A. (2006). Proliferation and apoptosis in a neuroblastoma cell line exposed to 900 MHz modulated radiofrequency field. *Bioelectromagnetics*, 27(3), 164-171.
- Michaelson, S., Lin, J. (1987). *Biological Effects and Health Implications of Radiofrequency Radiation*. Springer US.
- Mignotte B., Vayssiere J.L. (1998). Mitochondria and Apoptosis. *European Journal of Biochemistry*, 252, 1-15.
- Morishima, N., Nakanishi, K., Takenouchi, H., Shibata, T., and Yasuhiko, Y. (2002). An endoplasmic reticulum stress-specific caspase cascade in apoptosis cytochrome c-independent activation of caspase-9 by caspase-12. *Journal of Biological Chemistry*, 277(37), 34287-34294.
- Nolan, T., Hands, R. E., and Bustin, S. A. (2006). Quantification of mRNA using real-time RT-PCR. *Nature Protocols*, 1(3), 1559.

- Nur Özten Kandaş. 2004. "Apoptosis, Programlı Hücre Ölümü." *Ankara Üniversitesi Dikimevi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi*, 5(1), 7–10.
- Obe, G. (2004). Controversial cytogenetic observations in mammalian somatic cells exposed to radiofrequency radiation. *Radiation Research*, 162(5), 481-496.
- Ozgur, E., Guler, G., Kismali, G., and Seyhan, N. (2014). Mobile phone radiation alters proliferation of hepatocarcinoma cells. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 70(2), 983-991.
- Ozgur, E., Güler, G., and Seyhan, N. (2010). Mobile phone radiation- induced free radical damage in the liver is inhibited by the antioxidants n-acetyl cysteine and epigallocatechin-gallate. *International Journal of Radiation Biology*, 86(11), 935-945.
- Ozgur, E., Kismalı, G., Güler, G., Akçay, A., Özkurt, G., Sel, T. and Seyhan, N. (2013). Effects of prenatal and postnatal exposure to GSM-like radiofrequency on blood chemistry and oxidative stress in infant rabbits an experimental study. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 67(2), 743-751.
- Ozgur, E., Sahin, D., Tomruk, A., Güler, G., Sepici-Dinçel, A., Altan, N., and Seyhan, N. (2015). The effects of N-acetylcysteine and epigallocatechin-3-gallate on liver tissues protein oxidation and antioxidant enzyme levels after the exposure to radiofrequency radiation. *International Journal of Radiation Biology*, 91(2), 187-193.
- Özcan, Ö., Dikmen, M. (2015). Kanser Tedavisinde mTOR inhibitörleri. *Marmara Pharmacuetical Journal*, 19, 290-297.
- Phillips, J. L., Singh, N. P., and Lai, H. (2009). Electromagnetic fields and DNA damage. *Pathophysiology*, 16(2), 79-88.
- Pokorný, J., Foletti, A., Kobilková, J., Jandová, A., Vrba, J., Vrba, J., ... and Tuszyński, J. A. (2013). Biophysical insights into cancer transformation and treatment. *The Scientific World Journal*, 2013.
- Prohofsky, E. W. (2004). RF Absorption Involving Biological Macromolecules. *Bioelectromagnetics*, 25, 441-451.
- Rao, R. V., Hermel, E., Castro-Obregon, S., del Rio, G., Ellerby, L. M., Ellerby, H. M., and Bredesen, D. E. (2001). Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program mechanism of caspase activation. *Journal of Biological Chemistry*, 276(36), 33869-33874.
- Ruediger, H. W. (2009). Genotoxic effects of radiofrequency electromagnetic fields. *Pathophysiology*, 16(2), 89-102.
- Sadetzki, S., Chetrit, A., Jarus-Hakak, A., Cardis, E., Deutch, Y., Duvdevani, S., . . . Wolf, M. (2008). Cellular phone use and risk of benign and malignant parotid gland tumors- A nationwide case-control study. *American Journal of Epidemiology*, 167(4), 457-467.

- Sancar, A., Lindsey-Boltz, L. A., Ünsal-Kaçmaz, K., and Linn, S. (2004). Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annual Review of Biochemistry*, 73, 39-85.
- Sato, S., Mizuno, Y., and Hattori, N. (2005). Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine levels as a biomarker for progression of Parkinson disease. *Neurology*, 64(6), 1081-1083.
- Schwan, H. P. (1971). Interaction of microwave and radiofrequency radiation with biological systems. *IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques*, 19(2), 146-152.
- Shamas-Din, A., Brahmabhatt, H., Leber, B., and Andrews, D. W. (2011). BH3-only proteins: Orchestrators of apoptosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1813(4), 508-520.
- Speit, G., Schütz, P., and Hoffmann, H. (2007). Genotoxic effects of exposure to radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF) in cultured mammalian cells are not independently reproducible. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 626(1), 42-47.
- Stedwell, C. N., Polfer, N. C. (2013). In laser photodissociation and spectroscopy of mass-separated biomolecular ions. In *Spectroscopy and The Electromagnetic Spectrum* (pp. 1-20). Springer International Publishing.
- Stuchly, M. A. (1979). Interaction of radiofrequency and microwave radiation with living systems. A review of mechanisms. *Radiation and Environmental Biophysics*, 16(1), 1-14.
- Suzuki, K., Imajoh, S., Emori, Y., Kawasaki, H., Minami, Y., and Ohno, S. (1987). Calcium-activated neutral protease and its endogenous inhibitor activation at the cell membrane and biological function. *FEBS Letters*, 220(2), 271-277.
- Şahin, D., Özgür, E., Güler, G., Tomruk, A., Unlu, I., Sepici-Dinçel, A., and Seyhan, N. (2016). The 2100 MHz radiofrequency radiation of a 3G-mobile phone and the DNA oxidative damage in brain. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 75(Part B), 94-98.
- Şen, S. (2005). Hücre zedelenmesi ders notları. İzmir: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji A.D.
- T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Kanser Daire Başkanlığı, Bilgi Dokümanları: Kolorektal Kanser Taramaları, 2008.
- Tait, S. W., Green, D. R. (2013). Mitochondrial regulation of cell death. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 5(9), a008706.
- Takebayashi, T., Varsier, N., Kikuchi, Y., Wake, K., Taki, M., Watanabe, S., . . . Yamaguchi, N. (2008). Mobile phone use, exposure to radiofrequency electromagnetic field, and brain tumour: a case-control study. *British Journal of Cancer*, 98, 652-659.

- The Institute of Electrical and Electronics Engineers Standards . (2005). *IEEE Standards: IEEE Standards for safety levels with respect to human exposure to radio frequency electromagnetic fields 3kHz to 300GHz; IEEE Std C95.1-2005*. The Institute of Electrical and Electronics Engineers.
- The International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection. (1998). *ICNIRP-1998 Standards: Guidelines for limiting exposure to time varying electric and magnetic fields (up to 300 GHz)*. The International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection.
- Tomatır, A. G. (2003). Apoptoz: Programlı hücre ölümü. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 23(6), 499.
- Tomruk, A., Güler, G., and Sepici Dinçel, A. (2010). The influence of 1800 MHz GSM-like signals on hepatic oxidative DNA and lipid damage in nonpregnant, pregnant and newly born rabbits. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 56, 39-47.
- Ulukaya, E., Acilan, C., and Yilmaz, Y. (2011). Apoptosis: why and how does it occur in biology. *Cell Biochemistry and Function*, 29(6), 468-480.
- van Rhoon, G. C., Aleman, A., Kelfkens, G., Kromhout, H., Van Leeuwen, F. E., Savelkoul, H. F., . . . and Netherlands, T. E. (2011). Health council of the Netherlands: No need to change from SAR to time-temperature relation in electromagnetic fields exposure limits. *International Journal of Hyperthermia*, 27(4), 399-404.
- Varlberg, P. A., van Deventer, T., and Repacholi, M. H. (2007). Workgroup report: base stations and wireless networks: radiofrequency (RF) exposures and health consequences. *Environmental Health Perspectives*, 115(3), 416-424.
- Verschaeve, L. (2005). Genetic effects of radiofrequency radiation (RFR). *Toxicology and applied pharmacology*, 207(2), 336-341.
- Verschaeve, L. (2009). Genetic damage in subjects exposed to radiofrequency radiation. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 681(2), 259-270.
- Verschaeve, L., Juutilainen, J., Lagroye, I., Miyakoshi, J., Saunders, R., De Seze, R., ... and Xu, Z. (2010). In vitro and in vivo genotoxicity of radiofrequency fields. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 705(3), 252-268.
- Vijayalaxmi, P. T., Prihoda, T. J. (2008). Genetic damage in mammalian somatic cells exposed to radiofrequency radiation: a meta-analysis of data from 63 publications (1990-2005). *Radiat Res*, 169(5), 561-574.
- Wang, Y., Tjandra, N. (2013). Structural insights of tBid, the caspase-8-activated Bid, and its BH3 domain. *Journal of Biological Chemistry*, 288(50), 35840-35851.
- Bender, T., and Martinou, J. C. (2013). Where killers meet—permeabilization of the outer mitochondrial membrane during apoptosis. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 5(1), a011106.
- Weaver, J. C., Vaughan, T. E., and Astumian, R. D. (2000). Magnetically sensitive chemical reactions can provide biological sensing of small field differences. *Nature*, 405, 707-709.

- WHO-International Agency for Research on Cancer. (2011, May 31). IARC classifies radiofrequency electromagnetic fields as possibly carcinogenic to humans. Lyon, France.
- Wu, H., Che, X., Zheng, Q., Wu, A., Pan, K., Shao, A., ... and Hong, Y. (2014). Caspases: a molecular switch node in the crosstalk between autophagy and apoptosis. *International Journal of Biological Sciences*, 10(9), 1072-1083.
- Yakymenko, I., Sidorik, E., Kyrylenko, S., and Chekhun, V. (2011). Long-term exposure to microwave radiation provokes cancer growth: evidences from radars and mobile communication systems. *Experimental Oncology*, 33(2), 62-70.
- Yasuhara, T., Hara, K., Sethi, K. D., Morgan, J. C., and Borlongan, C. V. (2007). Increased 8-OHdG levels in the urine, serum and substantia nigra of hemiparkinsonian rats. *Brain Research*, 1133, 49-52.
- Zamanian, A., Hardiman, C. (2005). Electromagnetic radiation and human health: a review of sources and effects. *High Frequency Design EMR and Human Health*, 16-26.
- Zeni, O., Di Pietro, R., d'Ambrosio, G., Massa, R., Capri, M., Naarala, J., ... and Scarfi, M. R. (2007). Formation of reactive oxygen species in L929 cells after exposure to 900 MHz RF radiation with and without co-exposure to 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2 (5H)-furanone. *Radiation Research*, 167(3), 306-311.
- Zhang, K. D., Tong, L. R., Wang, S. M., Peng, R. Y., Huang, H. D., Dong, Y. C., ... and Bai, C. (2017). Apoptosis of Lewis Lung Carcinoma Cells Induced by Microwave via p53 and Proapoptotic Proteins In vivo. *Chinese Medical Journal*, 130(1), 15.
- Zhao, R., Zhang, S., Xu, Z., Ju, L., Lu, D., and Yao, G. (2007). Studying gene expression profile of rat neuron exposed to 1800MHz radiofrequency electromagnetic fields with cDNA microassay. *Toxicology*, 235(3), 167-175.
- Zou, H., Yang, R., Hao, J., Wang, J., Sun, C., Fesik, S. W., ... and Armstrong, R. C. (2003). Regulation of the Apaf-1/caspase-9 apoptosome by caspase-3 and XIAP. *Journal of Biological Chemistry*, 278(10), 8091-8098.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Tomruk, Arın
 Uyruğu : T.C
 Doğum tarihi ve yeri : 01/04/1979, Düsseldorf
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 05301455884
 Faks : 03122129023
 e-mail : atomruk@gazi.edu.tr



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik AbD	Devam Ediyor
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik AbD	2005-2008
Lisans	Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	1998-2002
Lise	Özel Yüce Fen Lisesi	1997
	Özel Ankara Tevfik Fikret Lisesi	

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2005-Halen devam ediyor	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik AbD	Araştırma Görevlisi (33/a)

Yabancı Dil

İngilizce

Fransızca

Yayınlar

1. Guler G, Turkozer Z, **Tomruk A**, Seyhan N. The protective effects of N-acetyl-L-cysteine and epigallocatechin-3-gallate on electric field-induced hepatic oxidative stress. International Journal of Radiation Biology 2008 Aug;84(8):669-80.

2. Guler G, Turkozer Z, Ozgur E, **Tomruk A**, Seyhan N, Karasu C. Protein oxidation under the stress of extremely low frequency electric field: Effects of treatment with N-Acetylcysteine. *General Physiology and Biophysics* 2009, 28: 47-55.
3. **Tomruk A.**, Guler G., Dincel Sepici A. The Influence of 1800 MHz GSM-like Signals on Hepatic Oxidative DNA and Lipid Damage in Nonpregnant, Pregnant, and Newly born Rabbits. *Cell Biochemistry and Biophysics* 2010, 56(1): 39-47.
4. Guler G., **Tomruk A.**, Ozgur E., Seyhan N. The Effect of Radiofrequency Radiation on DNA and Lipid Damage in Non-pregnant and Pregnant Rabbits and their Newborns. *General Physiology and Biophysics* 2010, 29: 59-66.
5. Guler G., Ozgur E., Keles H., **Tomruk A.**, Atalay Vural S., Seyhan N. Apoptosis resulted by Radiofrequency Radiation exposure on pregnant rabbits and their infants. *The Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 2011, 55: 127-134.
6. Guler G., **Tomruk A.**, Ozgur E., Sahin D., Sepici A., Altan N., Seyhan N. The effect of radiofrequency radiation on DNA and lipid damage in female and male infant rabbits. *International Journal of Radiation Biology*, 2012, 88(4):367-373.
7. Aydogan F., Unlu I., Aydin E., Yumusak N., Devrim E., Samim E.E., Ozgur E., Unsal V., **Tomruk A.**, Guler Ozturk G., Seyhan N. The effect of 2100 MHz radiofrequency radiation of 3G mobile phone on the parotid gland of rats. *American Journal of Otolaryngology*, 2015; 36: 39-46.
8. Aydogan F., Aydin E., Koca G., Ozgur E., Atilla P. ,Tuzuner A., Demirci S. ,**Tomruk A.**, Guler Ozturk G., Seyhan N., Korkmaz M., Muftuoglu S. ,Samim E.E. The effects of 2100-MHz radiofrequency radiation on nasal mucosa and mucociliary clearance in rats. *International Forum of Allergy & Rhinology*. 2015; 5(7): 626–632.
9. Ozgur E., Sahin D., **Tomruk A.**, Guler G., Sepici A., Altan N., Seyhan N. The effects of N-acetylcysteine and epigallocatechin-3-gallate on liver tissue protein oxidation and antioxidant enzyme levels after the exposure to radiofrequency radiation. *International Journal of Radiation Biology*. 2015; 91 (2):187-193.
10. Güler G, Ozgur E, Keles H, **Tomruk A**, Atalay-Vural S, Seyhan N. Neurodegenerative changes and apoptosis induced by intrauterine and extrauterine exposure of radiofrequency radiation. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 2015 Oct 28. pii: S0891-0618(15)00075-7. doi: 10.1016/j.jchemneu.2015.10.006. [Epub ahead of print].
11. Sahin D., Ozgur E., Guler G., Tomruk A., Unlu I., Sepici-Dinçel A., Seyhan N. The 2100MHz radiofrequency radiation of a 3G-mobile phone and the DNA oxidative damage in brain. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 2016 Sep;75(Pt B):94-98.
12. Esmekaya M.A., Tuysuz M.Z., **Tomruk A.**, Canseven A.G., Yucel E., Aktuna Z, Keskil S., Seyhan N. Effects of cell phone radiation on lipid peroxidation, glutathione and nitric oxide levels in mouse brain during epileptic seizure. *Journal of Chemical Neuroanatomy*.2016, Sep75(PtB): 111-115.

Uluslararası Bildiriler

1. **Tomruk A.**, Terzi Y.K., Ozturk Guler G. (2017). The Effects of Radiofrequency Fields on Caspase-Dependent Apoptosis in Human Colorectal Carcinomas Cells. VI. International Congress of Molecular Medicine: Molecular Medicine From The Updates Till The Futures, 22-25 May 2017 Istanbul, TURKEY.(Oral presentation-46)
2. Aydoğan F., Ünlü İ., Aydın E., Yumuşak N., Devrim E., Samim E.E., Ozgur E., Unsal V., **Tomruk A.**, Güler Öztürk G., Seyhan N. 3G Cep Telefonu 2100 MHz Radyofrekans Radyasyonunun Sıçanların Parotis Bezine Etkisi. Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Derneği, 11. Uluslararası Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi, S22, 17-19 Nisan 2014, Ankara.
3. Aydoğan F., Aydın E., Koca G., Ozgur E., Atilla P., Tüzüner A., Demirci Ş., **Tomruk A.**, Güler Öztürk G., Seyhan N., Korkmaz M., Samim E. Sıçanlarda 2100 MHz frekans radyofrekans radyasyonun nazal mukoza ve mukosilier klirrens üzerine etkileri. Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Derneği, 11. Uluslararası Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi, S33, 17-19 Nisan 2014, Ankara.
4. Ulusu N.N., **Tomruk A.**, Guler G., Seyhan N. Effects of Intrauterine and Extrauterine Exposure to 1800 MHz GSM-Like Radiofrequency Radiation on Liver Regulatory Enzymes Activities in one-month-old male New Zealand Rabbits. 28th Symposium of The Protein Society, 27-30 Temmuz 2014, San Diego, USA
5. Koca C., Aydın M., Canseven A.G., **Tomruk A.**, Yigitoglu M.R., Seyhan N., “Oxidative DNA Damage After Acute Exposure to 50 Hz Magnetic Fields.” The 2nd International Biophysics Congress and Biotechnology at GAP & 21st National Biophysics Congress Brochure P-17, page 71-72, Diyarbakır, Turkey, October 5-9, 2009.
6. **Tomruk A.**, Yilmazoglu K., Cevher Coskun S., Canseven A.G., Seyhan N., “The Analysis of Renal Tissue Oxidative Stres Parameters Under 50 Hz Magnetic Fields.” The 2nd International Biophysics Congress and Biotechnology at GAP & 21st National Biophysics Congress Brochure P-18, page 72, Diyarbakır, Turkey, October 5-9, 2009.
7. **Tomruk A.**, Canseven A.G., Cevher Coskun S., Seyhan N., “Cardiac and Pulmonar Lipid Peroxidation and Antioxidant Defense System Under 50 Hz Magnetic Fields.” The 2nd International Biophysics Congress and Biotechnology at GAP & 21st National Biophysics Congress Brochure P-19, page 72-73, Diyarbakır, Turkey, October 5-9, 2009.
8. Ozgur E., **Tomruk A.**, Guler G., Seyhan N. Exposure to GSM 1800 MHz Radiofrequency Radiation Induces Apoptosis in The Tissues of Pregnant Rabbits. The 2nd International Biophysics Congress and Biotechnology at GAP & 21st National Biophysics Congress Brochure P-28, Diyarbakır, Turkey, October 5-9, 2009.
9. **Tomruk A.**, Ozgur E., Guler G., Seyhan N. Does GSM 1800 MHz Radiofrequency Radiation Affect DNA and Lipid Damage in Brain Tissue of Newborn Rabbits? The 2nd International Biophysics Congress and Biotechnology at GAP & 21st National Biophysics Congress Brochure P-31, Diyarbakır, Turkey, October 5-9, 2009.

10. Seyhan N, Giuliani L, Canseven A, Guler G, **Tomruk A**, Ozden S, Bedini A, Giliberti C, Palomba R, D' Emilia E. Exposing Pregnant and Newborn Rabbits To Ca⁺⁺ and Mg⁺⁺ Larmor Frequency Magnetic Fields. XVI INTERNATIONAL CONFERENCE AND DEBATING SCIENTIFIC CLUB, New Information Technologies in Medicine, Biology, Pharmacology and Ecology (IT+M&EC' 2008), May 31- June 9, 2008, Ukraine, Crimea, Yalta-Gourzuf.
11. Tandoğan B., **Tomruk A.**, Guler G., Seyhan N., Ulusu N. The effect of 1800 MHz radiofrequency radiation on pentose phosphate pathway, glutathione-dependent enymes activities in pregnant rabbits. XVI. National Congress of Biochemistry, October 22-25,2008, Porta Delgada, PORTUGAL, P5.
12. **Tomruk A**, Güler G, Seyhan N. The Relation Assessment Between 50 Hz Electric Field Exposure-Induced Protein Carbonyl Levels and The Protective Effect of Green Tea Catechin (EGCG).11th Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing, Ljubljana, Slovenia, June 26–30,2007, Full text, p230-233.
13. **Tomruk A**, Güler G, Seyhan N. N-Acetyl Cysteine (NAC) inhibits ELF Electric Field induced Nitric Oxide production. International EMF Conference 2007: Electromagnetic Fields, Bioeffects Research, Medical Applications, and Standards Harmonization, Kuala Lumpur, Malaysia, 4–6 June 2007 .
14. Canseven A.G., **Tomruk A.**, Coşkun Ş., Seyhan N. (2006): Effect of intemittent and continuous exposure to 50 Hz, 1.5 mT on lipid peroxidation in liver. Proceedings, Vol. II., ISBN: 960-233-173-9. Editor: P. Kostarakis (Proceedings of the 4th International Workshop on Biological Effects of EMFs, Crete, Greece, 16-20.10 2006). pp: 1399-1402

Ulusal Bildiriler

1. **Tomruk A.**, Güler G., Ozgur E., Tandogan B., Ulusu N.N., Seyhan N. "Cep Telefonlarının Gelişim Sürecindeki Çocukların Glikoz Metabolizması Üzerine Etkileri", 23. Ulusal Biyofizik Kongresi, Edirne, 13-16 Eylül 2011 (Sözlü Sunum)
2. **Tomruk A.**, Ozgur E., Guler G., Seyhan N, “Hamile Hayvanlarda Cep Telefonu Maruziyeti Kaynaklı Oluşan Oksidatif Stres”, 9. Ulusal Sinirbilimleri Kongresi, İstanbul, P-104, sf: 231, 2010 (Poster Ödülü).
3. **Tomruk A.**, B. Balabanlı, Coşkun S, A.G. Canseven, N. Seyhan, “ELF Manyetik Alanlar Beyinde Nitrozatif Stres ve Solunum Patlamasına Neden Olur Mu?” 9. Ulusal Sinirbilimleri Kongresi, İstanbul, P-105, sf: 232, 2010.
4. Güler G, Türközer Z, Ozgur E, **Tomruk A**, Seyhan N ,Karasu Ç, Yüksek Gerilim Hatları Mertebesindeki Elektrik Alan Maruziyetinin Protein Oksidasyonu Üzerine Etkileri: N-Asetil Sistein Uygulaması. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi, 1. Antiaging Ve Estetik Tıp Kongresi Supplement, Aralık 2008, 28(6),285.
5. **Tomruk A**, Güler G. “ Radyo Frekans Alan Maruziyetinin Hamile ve Yeni Doğan Tavşanların Karaciğer DNA Hasarı ve Lipid Peroksidasyonu Üzerine Etkileri” XX.

Ulusal Biyofizik Kongresi, 22-25 Ekim 2008, MERSİN, Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, özel sayı, ISSN: 1308-0822, S15, (2008) (Sözlü Sunum).

6. Güler G, Özgür E, **Tomruk A**, Seyhan N. "N-Asetil Sistein ve Elektrik Alanın Protein Oksidasyonuna Etkisi" XX. Ulusal Biyofizik Kongresi, 22-25 Ekim 2008, MERSİN, Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, özel sayı, ISSN: 1308-0822, P45, (2008).
7. **Tomruk A.**, Ş. Coşkun, A.G. Canseven ve N. Seyhan, "50 Hz 1.5 mT Manyetik Alanların Kesikli ve Sürekli Uygulamalarının Oksidatif Stress Üzerine Etkisi" Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 33. Ulusal Kongresi, Girne Kıbrıs, P19, (2007).
8. Canseven A.G., **Tomruk A.**, Coşkun Ş., Seyhan N.: "Değişik Sürelerde Uygulanan 50 Hz, 3mT Manyetik Alanın Karaciğer ve Böbrek Dokularında NO Düzeylerine Etkisi", XVIII. Ulusal Biyofizik Kongresi, 6-9 Eylül 2006, ANKARA, Bildiri Özetleri, P 73 (2006).

Ödüller :

I. SCI makaleleri için TÜBİTAK Bilimsel Yayınları Teşvik Ödülü

1. **Tomruk A.**, Guler G., Dincel Sepici A. The Influence of 1800 MHz GSM-like Signals on Hepatic Oxidative DNA and Lipid Damage in Nonpregnant, Pregnant, and Newly born Rabbits. Cell Biochemistry and Biophysics 2010, 56(1): 39-47.
2. Guler G, Turkozer Z, **Tomruk A**, Seyhan N. The protective effects of N-acetyl-L-cysteine and epigallocatechin-3-gallate on electric field-induced hepatic oxidative stress. International Journal of Radiation Biology 2008 Aug;84(8):669-80.

Katıldığı Kurslar:

1. 13-15 Haziran 2014 tarihleri arasında Tübitak 2237 Proje Eğitimi Etkinlikleri Destekleme Programı, " Sağlık Bilimleri Alanında Proje Hazırlama ve Yürütme Eğitimi: ProS-Ankara 2014", Ankara
2. 18-29 Mart 2013 tarihleri arasında Almanya Münih' te Helmholtz-Center Münih ve Pavia Üniversitesi tarafından düzenlenen "Molecular Mechanisms of Radiation Carcinogenesis" konulu 2 haftalık eğitim programı.
3. 10 Mayıs ve 28 Mayıs 2013 tarihlerinde Tübitak 2237 Proje Eğitimi Etkinlikleri Destekleme Programı, " Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Alanında Uygulamalı Araştırma Projesi Hazırlama Etkinliği", Ankara.
4. 9. Ulusal Sinirbilimleri Kongresi kapsamında Prof. Dr. Kemal Türker tarafından 13 Nisan 2010 tarihlerinde verilen Elektrofizyoloji Kursu, İstanbul.
5. 9. Ulusal Sinirbilimleri Kongresi kapsamında Prof. Dr. Mehmet Bilgen tarafından 13 Nisan 2010 tarihlerinde verilen Sinir Sistemi Görüntüleme Kursu, İstanbul.

6. Tübitak Marmara Araştırma Merkezi (MAM), Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü tarafından 26-30 Nisan 2010 tarihlerinde düzenlenen “ Moleküler Biyoloji Yöntemleri uygulamalı Eğitim Kursu” konulu eğitim programı, Gebze.
7. “Biological Effects of Nonionizing Electromagnetic Fields-Mobile Phones.” (Prof. Dr. Henry C. Lai) NATO-RTA Semineri, Gazi Biyofizik Abd ve GNRK, 12-15 Ekim 2009, Gazi Tıp 6. Kat Dekanlık Toplantı Salonu, Ankara
8. XX. Ulusal Biyofizik Kongresi kapsamında Prof. Recep Avcı tarafından, 21-22 Ekim 2008 tarihlerinde verilen “A Two-Day Short Course on “Microscopy and Spectroscopy for Solving Problems in Biophysics at the Nanoscale”, eğitim semineri, Mersin
9. Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü tarafından 26-28 Kasım 2007 tarihlerinde düzenlenen “ Kromatografi Kursu”, konulu eğitim programı, Ankara.
10. “Mechanisms for Interaction Between RF Fields and Biological Tissue” (Prof. Dr. Lawrie Challis), NATO-RTA Semineri, Gazi Biyofizik Abd ve GNRK, 8-9 Mayıs 2008, Gazi Tıp 6. Kat Dekanlık Toplantı Salonu, Ankara
11. “Mechanisms for Interaction Between RF Fields and Biological Tissue” (Prof. Dr. James C. Lin), NATO-RTA Semineri, Gazi Biyofizik Abd ve GNRK, 5-7 Mayıs 2008, Gazi Tıp 6. Kat Dekanlık Toplantı Salonu, Ankara.
12. “The CNR-ISPEL Apparatus for Culturing Eukaryotic and/or Prokaryotic Cells Patent WO/2007/004073” (Dr. Livio Giuliani), Gazi Biyofizik Abd ve GNRK, 26-28 Mart 2008, Gazi Tıp 5. Kat Biyofizik Anabilim Dalı, Ankara.
13. “Biophysical Mechanism of Interaction and Dosimetry: RF and ELF Fields” (Prof.Dr. Kenneth Foster), NATO-RTA Semineri, Gazi Biyofizik Abd ve GNRK, 10-12 Mart 2008, Gazi Tıp 6. Kat Dekanlık Toplantı Salonu, Ankara.
14. "Experimental Exposure Systems for in vivo, in vitro and Volunteer Studies" (Dr.Andreas BITZ), NATO-RTA Semineri, Gazi Biyofizik Abd ve GNRK, 01-05 Ekim 2007, Gazi Tıp 6. Kat Dekanlık Toplantı Salonu, Ankara.
15. "Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu (I)" : Gazi Üniversitesi Laboratuar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi (GÜDAM) 11-13 Nisan 2007, Gazi Üniversitesi - Ankara
16. Tübitak Marmara Araştırma Merkezi (MAM), Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü tarafından 13-17 Ağustos 2007 tarihlerinde düzenlenen “ Enzim Saflaştırmasında Temel Yöntemler X. Uygulamalı Lisansüstü Eğitim Kursu” konulu eğitim programı, Gebze
17. Gazi Üniversitesi Laboratuar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi tarafından 11-13 Nisan 2007 tarihleri arasında düzenlenen “Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu III”, konulu eğitim programı, Ankara.
18. Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü tarafından 21-22 Mart 2005 tarihlerinde düzenlenen “DNA Biyosensörleri Çalıştayı” konulu eğitim programı, Ankara.

19. Süleyman Demirel Üniversitesi, International Workshop on “ Introduction of efficient teaching methods and alternatives to using animals into Turkish higher education”, 24-25 Eylül 2004, Isparta

Katıldığı Bilimsel Aktiviteler:

1. **8-9 Kasım 2013 tarihlerinde İstanbul Yıldız Teknik Üniversitesi Oditoryumu’nda gerçekleştirilen 2. Elektromanyetik Alanlar ve Etkileri Sempozyumu’na (EMANET 2013) “Gazi Biyofizik RF Çalışmaları” adlı sunumu ile panelist olarak katıldım.**
2. Türk Biyofizik Derneği, The 2nd International Biophysics Congress and Biotechnology at GAP & 21st National Biophysics Congress, 5-9 Ekim 2009, Diyarbakır.
3. “Biological Effects of Nonionizing Electromagnetic Fields-Mobile Phones.” (Prof. Dr. Henry C. Lai) NATO-RTA Semineri, Gazi Biyofizik Abd ve GNRK, 12-15 Ekim 2009, Gazi Tıp 6. Kat Dekanlık Toplantı Salonu, Ankara
4. Türk Biyofizik Derneği, XX. Ulusal Biyofizik Kongresi, 22-25 Ekim 2008, Mersin.
5. NATO-RTA: ‘Prof.Dr. Lawrie Challis- Mechanisms for Interaction Between RF Fields and Biological Tissue.’,Gazi Biophysics Dep.-Gazi Non-Ionizing- Radiation Protection Center (GNRK).ANKARA
6. NATO-RTA: ‘Prof.Dr. James C. Lin- Mechanisms for Interaction Between RF Fields and Biological Tissue.’,Gazi Biophysics Dep.-Gazi Non-Ionizing- Radiation Protection Center (GNRK).ANKARA
7. NATO-RTA: ‘Prof.Dr. Kenneth Foster- Biophysical Mechanism of Interaction and dosimetry: RF and ELF fields.’,Gazi Biophysics Dep.-Gazi Non-Ionizing- Radiation Protection Center (GNRK).ANKARA
8. NATO-RTA: ‘Dr.Andreas Bitz- Experimental Exposure Systems’, Gazi Biophysics Dep.-Gazi Non-Ionizing- Radiation Protection Center (GNRK),ANKARA
9. 11th Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing, Ljubljana, Slovenia, 26-30 June 2007.
10. GAZİ ÜNİVERSİTESİ NON-İYONİZAN RADYASYONDAN KORUNMA MERKEZİ - GNRK tarafından düzenlenen “İşçi Sağlığı ve İş Güvenliğinde Risk Değerlendirmesi ve Eğitimi” konulu seminer 12 Mayıs 2007, ANKARA
11. Türk Biyofizik Derneği, XVIII. Ulusal Biyofizik Kongresi, 6-9 Eylül 2006, Beypazarı, ANKARA.

Hazırlanmasında Katkıda Bulunduğu Bilimsel Aktiviteler:

1. “Biological Effects of Nonionizing Electromagnetic Fields-Mobile Phones.” (Prof. Dr. Henry C. Lai) NATO-RTA Semineri, Gazi Biyofizik Abd ve GNRK, 12-15 Ekim 2009, Gazi Tıp 6. Kat Dekanlık Toplantı Salonu, Ankara
2. NATO-RTA: ‘Prof.Dr. Lawrie Challis- Mechanisms for Interaction Between RF Fields and Biological Tissue.’,Gazi Biophysics Dep.-Gazi Non-Ionizing- Radiation Protection Center (GNRK).ANKARA
3. NATO-RTA: ‘Prof.Dr. James C. Lin- Mechanisms for Interaction Between RF Fields and Biological Tissue.’,Gazi Biophysics Dep.-Gazi Non-Ionizing- Radiation Protection Center (GNRK).ANKARA
4. NATO-RTA: ‘Prof.Dr. Kenneth Foster- Biophysical Mechanism of Interaction and dosimetry: RF and ELF fields.’,Gazi Biophysics Dep.-Gazi Non-Ionizing- Radiation Protection Center (GNRK).ANKARA
5. NATO-RTA: ‘Dr.Andreas Bitz- Experimental Exposure Systems’, Gazi Biophysics Dep.-Gazi Non-Ionizing- Radiation Protection Center (GNRK),ANKARA



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

