

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**2.4 GHZ ELEKTROMANYETİK ALANA MARUZ KALAN
RATLARDA, BİLİŞSEL FONKSİYONLARIN WATER-MAZE
HAFIZA TESTİ VE NMDA RESEPTÖR EKSPRESYONU İLE
DEĞERLENDİRİLMESİ, EEG KAYITLARI İLE
KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Halime YÜCEL

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

DANIŞMANLAR

Doç. Dr. Nihal Olgaç DÜNDAR

Doç. Dr. Özgür PİRGON

**Bu tez, Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu tarafından
2927-TU-11 proje numarası ile desteklenmiştir.**

ISPARTA – 2013

ÖNSÖZ

Tez çalışmalarım sırasında her konuda yol göstericim olan, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan tez danışmanlarım sayın Doç. Dr. Nihal OLGAC DÜNDAR ve Doç. Dr. Mustafa Özgür PİRGON'a teşekkürlerimi bildiririm.

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ahmet Rıfat ÖRMECİ ve tüm değerli hocalarım Prof. Dr. Ali AYATA, Prof. Dr. Mustafa AKÇAM, Prof. Dr. Metehan ÖZEN, Doç. Dr. Hasan ÇETİN, Yrd. Doç. Dr. Ayça Esra KUYBULU, Uzm. Dr. Gonca SANDAL'a uzmanlık eğitimimdeki katkılarından ve yardımlarından dolayı teşekkürlerimi bildiririm.

Tez çalışmam ile ilgili EEG değerlendirmelerini sabırla ve özveri ile gerçekleştiren Biyofizik A.D. öğretim üyeleri Prof. Dr. Mustafa NAZIROĞLU, Yrd. Doç. Dr. Ömer ÇELİK, Yrd. Doç. Dr. A.Cihangir UĞUZ'a; deney düzeneğinin kurulmasını sağlayan ve teknik bilgilerinden yararlandığım Elektronik ve Haberleşme Mühendisliği A.D. öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Selçuk ÇÖMLEKÇİ'ye; laboratuvar çalışmalarını titizlikle yürüten Biyokimya A.D öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Duygu Kumbul DOĞUÇ'a çok teşekkür ederim.

Çalışma süresince verdikleri destekten dolayı Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon birimine ve çalışanlarına teşekkürlerimi bildiririm.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma, hemşire ve personelimize ilgi ve destekleri için teşekkür ederim.

Yoğun çalışma sürecinde sonsuz sevgi ve desteğini hissettiğim aileme, en büyük destekçim eşime ve oğluma çok teşekkür ederim.

Dr. Halime YÜCEL
2013- ISPARTA

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR	v
TABLolar DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
GRAFİKLER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Elektromanyetik Alan Nedir?	3
2.1.1. Elektromanyetik Spektrum	4
2.1.2. İyonlaştırmayan Radyasyonun Biyolojik Sistemlere Etki Mekanizması... 5	5
2.1.3. İyonlaştırmayan Radyasyonun Biyolojik Sistemlere Etkileri..... 7	7
2.1.4. İyonlaştırmayan Radyasyonun Hücre Membranı Üzerine Etkileri..... 9	9
2.1.5. İyonlaştırmayan Radyasyonun Sinyal İletimi Üzerine Etkileri	10
2.1.6. İyonlaştırmayan Radyasyona Maruziyetin Davranışsal Etkileri..... 10	10
2.2. Hipokampus	11
2.2.1. Hipokampusün Yapısı ve İşlevleri..... 11	11
2.3. Öğrenme ve Hafıza	12
2.3.1. Hafızanın Sınıflandırılması	13
2.3.1.1. Kalıcılık Süresine Göre Hafıza Türleri	13
2.3.1.2. İçeriğine Göre Hafıza Türleri..... 15	15
2.3.1.2.1. İmplicit Hafıza (Dekleratif Olmayan Hafıza, Refleksif Hafıza, İşlemsel Hafıza)..... 15	15
2.3.1.2.2. Eksplisit Hafıza (Dekleratif Hafıza, Bilinçli Hafıza ve Tanıma Hafızası)	15
2.4. Mekansal/Uzamsal Hafıza ve Morris Su Labirenti..... 16	16
2.5. Glutamat Reseptörleri	18
2.5.1. N-Metil-D-Aspartat (NMDA) Reseptörleri	19
2.5.2. NMDA Reseptör Tipleri	23
2.5.3. NMDA Reseptörünün Yapısı..... 25	25
2.5.4. Gelişim Dönemi ve Yetişkin Dönem NMDA Reseptörleri	26
3. GEREÇ ve YÖNTEM	28

3.1. Gereç	28
3.1.1. Deney Hayvanları	28
3.1.2. Projenin Yapıldığı Ortam ve Koşullar	28
3.1.3. Maruziyet Sistemi ve Tasarımı	29
3.1.4. 2.45 GHz ISM Bandı (WiFi Haberleşme) Monopol Anteninden Yayılan 1 Watt Enerjinin Soğurma Hesabı.....	31
3.2. Yöntem.....	32
3.2.1. Morris Su Labirenti ve Öğrenme Testleri	32
3.2.2. EEG.....	33
3.2.3. Beyin Dokusunun Elde Edilmesi	33
3.2.4. Hipokampus Örneklerinin Homojenizasyonu.....	34
3.2.5. SDS-PAGE Yöntemi.....	34
3.2.6. Western Blot Yöntemi	34
4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME.....	36
5. BULGULAR.....	37
5.1. Morris Su Labirenti Test Sonuçları.....	37
5.1.1. Hedef Platformu Bulma Süresi	37
5.1.2. Probe Test	38
5.1.3. Görünür Platform Testi (Visible Platform Test)	39
5.2. Western Blot Analizi ile NR2A ve NR2B Reseptör Düzeyleri	39
5.3. EEG Sonuçları.....	40
6. TARTIŞMA	44
7. SONUÇLAR	51
ÖZET.....	52
SUMMARY	53
KAYNAKLAR	54

KISALTMALAR

ADP	: Adenozin Difosfat
AMPA	: Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol propionat
AMPAR	: AMPA reseptörü
ATP	: Adenozin trifosfat
Ca⁺⁺	: Kalsiyum
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EA	: Elektriksel Alan
EEG	: Elektroensefalografi
ELF	: Çok düşük frekanslı
EMA	: Elektromanyetik Alan
EMD	: Elektromanyetik Dalga
EMR	: Elektromanyetik radyasyon
EPSP	: Eksitator postsinaptik potansiyel
GABA	: Gamma-aminobütirik asit
GHz	: Gigahertz
ICNIRP	: Uluslararası İyonlaştırmayan Radyasyondan Korunma Kurulu (The International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection)
IEGMP	: Independent Expert Group on Mobile Phones
iGluR	: İyonotropik glutamat reseptörleri
KAR	: Kainat reseptörleri
kHz	: Kilohertz
km	: Kilometre
LTD	: Uzun süreli depresyon (Long term depression)
LTM	: Uzun süreli hafıza (Long term memory)
LTP	: Uzun süreli potansiyalizasyon (Long term potentiation)
MHz	: Megahertz
MSS	: Merkezi sinir sistemi
NMDA	: N-metil D-aspartat
NMDAR	: NMDA reseptörü
ODC	: Ornitin dekarboksilaz
RF	: Radyofrekans
SAR	: Özgül Soğurma Oranı
STM	: Kısa süreli hafıza (Short term memory)

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Morris su labirentinde öğrenme süreleri ve hedef kadranda geçirilen süreler.....	38
Tablo 2. Morris su labirentinde hafıza işlevlerinin değerlendirildiği test verileri.....	39
Tablo 3. NR2A ve NR2B reseptör yoğunlukları	40
Tablo 4. Grupların ortalama diken sayısı ve ortalama ilk diken görülme zamanı	43

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Elektromanyetik spektrum.....	5
Şekil 2. Uzun ve kısa süreli hafıza türleri.....	16
Şekil 3. Glutamatın NMDA ve AMPA reseptörlerine bağlanması	20
Şekil 4. NMDA reseptör alt birimleri	24
Şekil 5. RF oluşturan cihazla birlikte deneklerin maruziyet esnasındaki görüntüsü .	29
Şekil 6. Çelik tabakalarla tamamen dış ortam radyasyonundan izole edilmiş çalışma odası	30
Şekil 7. Maruziyet düzeneği şeması	31
Şekil 8. Grupların ortalama EEG kayıtları ve diken dalgalar	41
Şekil 9. Kontrol ve deney gruplarına ait EEG kayıt örnekleri.....	41
Şekil 10. Grupların ortalama diken sayısı.....	42
Şekil 11. Ortalama ilk diken görülme zamanı	42

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1A. Morris su labirentinde hedef platformu bulma süresi açısından grup içi karşılaştırma	37
Grafik 1B. Morris su labirentinde hedef platformu bulma süresi açısından gruplar arası karşılaştırma	38
Grafik 2. Western Blot analizi ile NR2A ve NR2B reseptör yoğunluklar.....	40

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Elektromanyetik dalgalar (EMD) birçok doğal ve insan yapımı kaynaklar tarafından yayılmakta ve hayatımızda önemli bir rol oynamaktadır. Teknolojideki gelişmelerin sonucu olarak elektromanyetik dalgaların kullanımı her geçen gün artmakta ve dolayısıyla günlük hayatımızda, doğada bulunanın çok üstündeki seviyelerde elektromanyetik dalgalara maruz kalınmaktadır. Özellikle 2.45 gigahertzlik (GHz) radyasyonun geniş bir yayılma alanı vardır.

Elektromanyetik radyasyon (EMR) enerjinin dalga halinde elektrik ve manyetik alan bileşenleriyle birlikte uzayda hareketidir. Birçok doğal ve yapay kaynak, elektromanyetik enerjiyi EMD halinde yaymaktadır (1). Elektromanyetik ortam; doğal radyasyon ve insanlar tarafından bilinçli ya da elektrikli aletlerin çalışması sırasında istenmeden oluşturulan elektromanyetik alanlardan (EMA) meydana gelmektedir (2). Günlük yaşamımızda EMA oluşturan teknolojileri sıklıkla ve uzun süreli kullanmaktayız. Özellikle yayın yapan cihazlarda, kapsama alanını arttırmak amacıyla yüksek radyo frekans (RF) gücü gerekmektedir (2).

Elektromanyetik kuvvetler vücutta atomlardan moleküllere, moleküllerden hücrelere ve organlara kadar tüm yapıları bir arada tutan kuvvetlerdir. Dolayısıyla dışarıdan verilen elektromanyetik kuvvetler aletleri bozabildiği gibi biyolojik sistemi de etkileyebilir. Elektromanyetik dalgaların biyolojik organizmalarla etkileşimi, enerji miktarına ve frekansına bağlıdır. Elektromanyetik dalgaların dokuda oluşturabileceği zarar, onun enerjisine, doku ile yaptığı etkileşimin türüne, dokuda emilen enerji miktarına ve maruz kalma süresine bağlıdır.

Beynimiz sinir hücreleriyle örülmüş bir ağ gibidir. Bu ağ sayesinde yeni bilgilerin önceki bilgilerle birleştirilmesi, daha önce edindiğimiz bilgilerin geri çağırılması sağlanmaktadır (3). Beyindeki temel birimler, nöronlar ve sinapslardır. Nöronların oluşturduğu ağ örüntü sayısı ne kadar fazla olursa, bilgi işleme süreci o kadar güçlü olur (4).

Memelilerde davranışın belirlenmesindeki en önemli etken çevresel şartlar hakkında yeni bilgiler edinilmesi ve bu bilgilerin saklanmasıdır. Öğrenme, çevre

hakkında bilgi edinilmesi işlemi; hafıza ise edinilen bilgilerin tekrar hatırlanabilecek bir biçimde şifrelenerek depolanmasıdır (5).

Mekansal hafıza, kavrama fizyolojisi ve sinir biyokimyasında, hafızanın bir parçası olarak nitelendirilmektedir. Canlının çevresel konum ve mekansal farkındalık ile ilgili bilgisinin kaydedilmesini ifade eder. Mekansal hafıza, organizmanın çevresi ile ilgili duyuşsal verileri özellikle görsel ve proprioseptik duyularını kullanarak bu verileri bir araya getirip işlemek ile oluşur. Genelde memeliler, mekansal/uzamsal özellikleri ve verileri oluşturabilmek için özellikle CA1 bölgesi işlev gören hipokampüse ihtiyaç duyarlar. Mekansal hafıza hem N-metil D-aspartat (NMDA) hem de Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol propionat (AMPA) reseptörlerine ihtiyaç duyar. Bilginin sağlamlaştırılmasında NMDA reseptörleri, geri çağırılması yani hatırlanmasında AMPA reseptörlerine ihtiyaç duyulur (6-9).

NMDA reseptörleri merkezi sinir sisteminde (MSS) sinaptik işlevinin düzenlenmesinde esas rol oynar. NMDA reseptörleri üzerinde en çok çalışılan ve bilgi sahibi olunan reseptör kompleksidir. NMDA reseptör aracılı kalsiyum, hücre içi akımı, sinapsların şekillenmesi, düzenlenmesi ve seçilmesi gibi farklı kavramların düzenlendiği sinyal iletim şelalesini uyarır (10, 11).

Sonuç olarak, EMR beynin çalışmasını doğrudan etkileyebilir ki, bu da kablosuz iletişimde (örneğin cep telefonlarında, dizüstü bilgisayar v.b.) ortaya çıkan EMR'nin, başta bilişsel işlevler olmak üzere, birçok beyin işlevini etkileyebileceği ihtimalini de akla getirmektedir. EMA'nın beyni nasıl etkilediği konusunda çok az çalışma yapılmıştır (5). Biz de çalışmamızda 2.45 GHz EMR'ye maruz kalan ratlarda bilişsel işlevlerin, bilişsel işlev göstergesi olan NMDA reseptörleri ve water maze (su labirenti) hafıza testi ile değerlendirilmesi ve elektroensefalografi (EEG) değışikliklerinin incelenmesini planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Elektromanyetik Alan Nedir?

Elektromanyetik radyasyon (ışınım) enerjinin dalga halinde elektrik ve manyetik alan bileşenleriyle birlikte uzayda hareketidir. Birçok doğal ve yapay kaynak elektromanyetik enerjiyi EMD halinde yaymaktadır. Bu dalgalar elektriksel ve manyetik frekans (titreşim) alanlarından oluşur. Madde içine nüfuz edip atomları iyonlaştırabilmesi veya iyonlaştıramaması özelliklerine göre iki sınıfta incelenirler. Birincisi, iyonlaştırmayan radyasyon veya bir diğer deyişle elektromanyetik radyasyon, ikincisi ise, nötron, proton, alfa (α), beta (β) tanecikleri, kapa (χ) ve gamma (γ) ışınları gibi iyonlaştırıcı radyasyonlardır (1).

Elektromanyetik ortam; doğal radyasyon ve insanlar tarafından bilinçli ya da elektrikli aletlerin çalışması sırasında istenmeden oluşturulan EMA'lardan meydana gelmektedir. Doğal elektromanyetik ortam yerküreden kaynaklı ya da yerküre dışı (atmosferdeki elektriksel deşarjlar/güneş ve uzay kaynaklı radyasyon) olabilir. Doğal alanlar rastlantısal, yüksek zirve noktalı, çok geniş dalga spektrumunda geçici dalgalar veya gürültü-benzeri sürekli zeminde ortaya çıkan patlamalar şeklindedir. Bu doğal zemin, büyüklük açısından sıklıkla insanlar tarafından oluşturulan radyofrekans kaynaklarından daha düşük seviyededir (2).

Günlük yaşamımızda EMA oluşturan teknolojileri sıklıkla ve uzun süreli kullanılmaktadır. Özellikle yayın yapan cihazlarda, kapsama alanını arttırmak amacıyla yüksek RF gücü gerekmektedir. Antenlerin yakınında elektriksel alan (EA) gücü daha da artmaktadır. İnsanlar tarafından sık kullanılan RF kaynakları [kablesiz haberleşme, veri transferi ya da yiyecek hazırlanması (mikrodalga fırınlar)] genellikle düşük oranda EMA oluşturmaktadır. Ancak bu durum da kullanıcının başta RF kaynağına uzaklık olmak üzere kullanım sırasındaki davranışlarıyla bağlantılıdır. Örneğin mobil telefon iletişim ağları halkın kullanımına açık alanlarda genel olarak düşük EMA'ya sebep olmaktadır. Ancak cep telefonları ve telsiz telefonlar kullanım esnasında çok daha yüksek seviyelerde EMA yaratmaktadır(2).

Elektromanyetik radyasyon boşlukta dalgalar biçiminde yayılır. Bilinen pek çok dalgalı yayılım için (ses dalgalarının hava, su ya da vücut dokuları içindeki

yayımları) mutlak bir ortama gerek vardır. Oysa elektromanyetik dalgalar, boşlukta da yayılabilme özelliğine sahiptirler ve bir ortama gereksinim duymazlar. Her çeşit dalganın kendisini tanımlayan bir dalga boyu (λ) ve frekansı vardır. Dalga boyu ile frekansın çarpımı elektromanyetik dalganın hızını verir. Tüm EM dalgaların boşlukta hızı, ışık hızı ile eşittir ve saniyede 300.000 kilometre (km)'dir. Fakat ışınların frekansları dalga boyları ile ters orantılıdır (1).

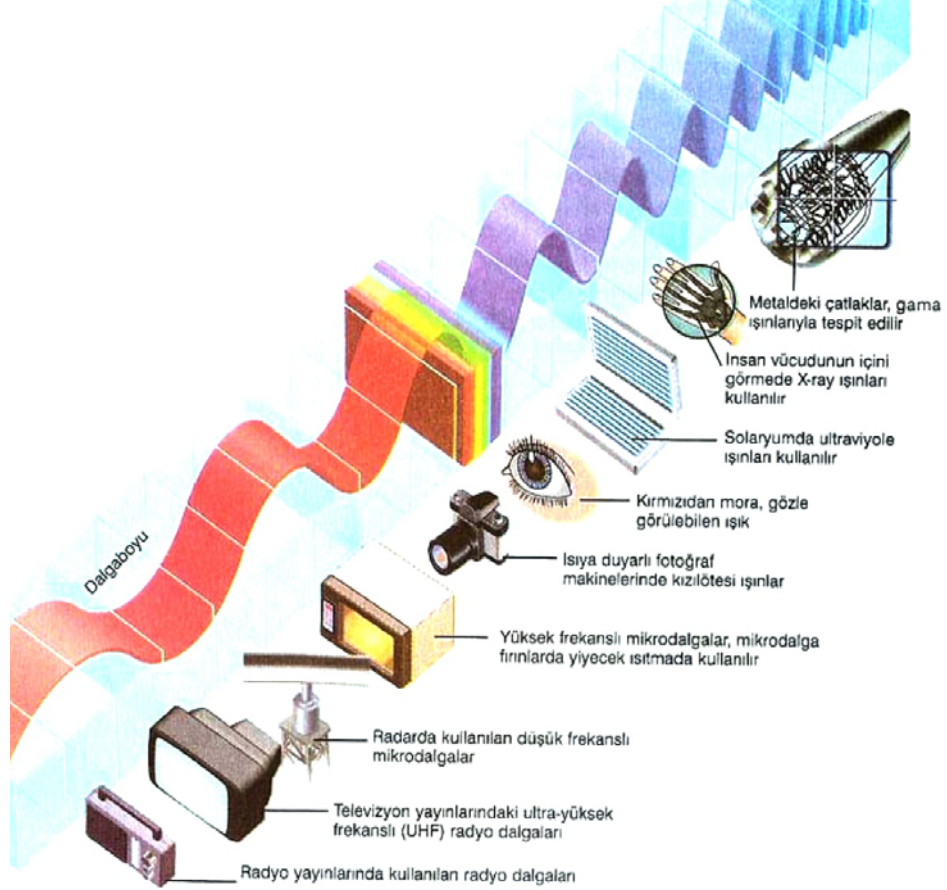
Elektromanyetik spektrumu oluşturan tüm radyasyonlar (χ ve γ ışınları hariç) iyonlaştırmayan radyasyon türüne girer. Bu çalışmanın konusu olan 2.45 GHz EMA iyonlaştırmayan radyasyon grubundandır.

2.1.1. Elektromanyetik Spektrum

Elektromanyetik frekanslarına göre EMD'ler, elektromanyetik spektrumu oluşturur. Elektromanyetik spektrumda bölgeler, aşağıdaki gibi sınıflandırılır; (12)

- 1- 3 Hz-3 KHz arası: Çok Çok düşük frekans bölgesi
- 2- 3 KHz-30 KHz arası: Çok düşük frekans bölgesi
- 3- 30 KHz- 10^{12} Hz'lere kadar olan bölge: Radyo Dalgaları
- 4- $>10^{12}$ Hz' ler, kızıl ötesi ışınım bölgesidir. Bütün nesnelere bu frekanslarda ışınım yaparlar. Örneğin vücudumuzdaki ısının yaklaşık %60'ı, kızıl ötesi ışınım ile dışarı atılmaktadır.
- 5- Görünür ışık frekansları 10^{14} Hz'lerdir. Bu frekansların üstü iyonlaştırıcı radyasyon bölgesi olup, x ve gama ışınları bu bölgededir.

Elektromanyetik spektrum Şekil 1'de görsel olarak ifade edilmiştir.



Şekil 1. Elektromanyetik spektrum

2.1.2. İyonlaştırmayan Radyasyonun Biyolojik Sistemlere Etki Mekanizması

Elektromanyetik kuvvetler vücutta atomlardan moleküllere, moleküllerden hücrelere ve organlara kadar tüm yapıları bir arada tutan kuvvetlerdir. Dolayısıyla dışarıdan verilen elektromanyetik kuvvetler aletleri bozabildiği gibi biyolojik sistemi de etkileyebilir. Elektromanyetik dalgaların etkileri tek bir mekanizma ile açıklanamamıştır.

Elektromanyetik dalgaların biyolojik organizmalarla etkileşimi, enerji miktarına ve frekansına bağlıdır. İnsan bedeni bazı frekanslar için geçirgen özellik gösterirken, bazı frekanslar için göstermez. İyonlaştırıcı olmayan radyasyon, yüksek şiddette bile olsa biyolojik sistemlerden elektron koparamazken, sıcaklık artırarak, kimyasal reaksiyonları değiştirerek ya da elektriksel akımı indükleyerek etkilerini gösterebilirler.

İyonlaştırıcı olmayan elektromanyetik alan dalgalarının etkisine maruz kalma sonucunda iki tür etki oluşmaktadır (13).

- 1) Isıl Etki: Elektromanyetik dalgalar etkileşen cisimde, artan molekül hareketi ve sürtünmeden dolayı, sistemde ısı artışı olur.
- 2) Isıl Olmayan Etki: Gelen dalganın alan şiddeti küçükse, ısı oluşmaz.

İnsan dokuları tarafından enerjinin emilimi, dokularda ısı artışına neden olur. Küçük ısı artışlarının fizyolojik etkisi, bazı hassas organlarda daha şiddetli olarak gözlenebilir. Vücut ısısında 1–5°C'lik artış, geçici infertilite, beyin lezyonları ve kan biyokimyasında değişikliklerle sonuçlanabilir. Yaklaşık 1°C'lik küçük ısı artışları bile hormon üretiminde değişikliklere ve immün cevabın baskılanmasına yol açabilir (14).

Radyofrekans enerjisi bir vücut yüzeyine çarptığında enerjisinin bir kısmı yansır, bir kısmı vücut içine girerek emilir. Elektromanyetik dalga dokudan geçtikçe ortamın elektriksel özelliklerine bağlı olarak hızı değişir. Bu da dalga boyunda değişmeye neden olur. Elektromanyetik alan dokular üzerinde bir metrekare yüzey başına watt/metrekare (W/m^2) birimiyle ifade edilen güç yoğunluğunun canlı vücudunda soğurulmasına ve oradan doku ısınması yoluyla hasar oluşmasına neden olurlar. Soğurulan bu güç (özellik soğurma oranı, SAR) gelen dalganın frekansına, geliş açısına, canlı dokunun su muhtevasına ve biyolojik malzemenin elektriksel özelliklerine (iletkenlik, dielektrik sabitleri) bağlıdır. Atomlara kinetik enerji verdikleri gibi polarizasyon, ısı artışı ve enerji transferine neden olabilir.

Ortalama SAR ya da SAR dağılımları laboratuvar ölçümleri ile belirlenebilir. SAR değerleri aşağıdaki faktörlere göre değişmektedir:

1. Durumsal saha parametreleri [Frekans, yoğunluk, polarizasyon, kaynak-obje konfigürasyonu (yakın-uzak)],
2. Maruz kalan cismin özellikleri (Büyükük, içsel ve dışsal geometri, farklı dokuların dielektrik özellikleri),
3. Maruz kalan cismin yakınındaki zemin ya da diğer objeler ile ilgili yansıma, soğurma ve saçılma etkileri,

Belirtildiği gibi emilen enerji miktarı maruz kalan cismin büyüklüğünü de içeren birçok faktöre bağlıdır. Topraklanmamış zeminde olan “Standard referans insan” yaklaşık 70 MHz’lik bir emilim frekansına sahiptir. Daha uzun bireyler için bu değer biraz daha düşük iken daha kısa bireyler, çocuklar ve bebekler içinse 100 MHz’i aşacak kadar fazla olabilir. Bu yüzden çocukların EMA’dan etkilenme olasılığı büyüklerden daha yüksektir (15). Ayrıca çocuklarda başın büyümesi RF maruziyetine duyarlık ile ilgili önemli bir parametredir ve lineer değildir. Baş, beyin hacmi, cilt ve kafatası kalınlığı farklı oranlarda büyür. Bir yaşındaki bir çocuğun nörokraniumu 900 cm^3 iken, 5 yaşında 1200 cm^3 ve erişkin kafatasının hacmi ise $1300-1450 \text{ cm}^3$ ’tür. Beş ile 18 yaş arasında beyin hacmi oldukça sabit bir değerdeyken kafatasının kalınlığı yaklaşık %75 artar (16). Cilt EMA ile karşılaşan ilk doku olması sebebiyle önemlidir ve cilt kalınlığı da yaşla giderek artar (Alında cilt kalınlığı 2-3 yaşta $1.18 \pm 0.22 \text{ mm}$ iken, 11-13 yaşta $1.56 \pm 0.36 \text{ mm}$ ve yetişkinde $1.99 \pm 0.34 \text{ mm}$) (17). Yani başın gövdeye oranla büyük, cilt ve kafatasının ise daha ince olması nedeniyle de çocuklar EMA’ya erişkinlerden daha duyarlıdır.

Elektromanyetik dalgaların dokuda oluşturabileceği zarar onun enerjisine, doku ile yaptığı etkileşimin türüne, dokuda emilen edilen enerji miktarına ve maruz kalma süresine bağlıdır.

İnsan vücudu emilim karakteristiği dikkate alındığında RF bandı üç alt bölgeye ayrılabilir (18). İnsan gövdesi için 30 MHz’den daha küçük alt direnç bölgesinde yüzey emilim belirgindir, boyun ve bacaklarda enerji emilimi hızla artar. Tüm vücut için 30-300 MHz direnç bölgesinde ve hatta vücudun bir kısmının direnci için daha yüksek frekanslarda, özellikle kafa için çok dikkatli olunmalıdır. 400 MHz’den 3 GHz’e kadar olan aralıkta ısı etkisi daha belirgindir (18). Standart insan boyutlarındaki bir kişi 2.45 GHz’lik manyetik alanda mevcut alanın % 50’sini absorbe edecektir. Çocuklarda ise kafa boyutu, vücut yüzey alanı büyük, cilt kalınlığı ince olduğu için maruz kalınan elektromanyetik alanın zarar verici etkisi daha da artabilir.

2.1.3. İyonlaştırmayan Radyasyonun Biyolojik Sistemlere Etkileri

Düşük frekanslı radyasyonun membranda hücresel cevabı tetikleyen yapısal ve işlevsel özellikleri değiştirebildiğine dair in vitro araştırmalar mevcuttur.

Radyofrekans alan tarafından indüklenen bu değişiklikler şu anda çok az bilinmekte ancak hücre membranını geçerek sitoplazmik yapı ve işlevini de etkilediği düşünülmektedir (15, 19). Fakat bazı çalışmalarda da EMA'ya maruz kalmanın kromozom bozukluğu sıklığını artırdığı gösterilememiştir (20). Yine de yüksek gerilim hatları yakınlarındaki yerleşim bölgelerinde çocukluk çağı lösemi sıklığında artış gözlenmesi bu alanların biyolojik sistemler üzerinde etkilerinin araştırılmasına yol açmıştır (1, 12, 18, 21). RF alanların DNA'yı direkt olarak etkilediğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda; akut olarak düşük yoğunluklu 2.45 GHz mikrodalga maruziyetinden 2 saat sonra belirgin bir etki gözlenmemiş, ancak doz artırıldıktan [0.6 ve 1.2 W/kg tüm vücut SAR] 4 saat sonra ratların beyin hücrelerinde tek-iplikçik kırılmalarda artış olduğu bildirilmiştir (22, 23). Bu deneyler tekrarlandığında ise aynı sonuçlar elde edilememiştir (24). Uluslararası İyonlaştırmayan Radyasyondan Korunma Kurulu (ICNIRP) raporunda birçok iyi planlanmış hayvan çalışmasında somatik ya da germ hücrelerinde klastojenik etki (kromozom hasarı yaratan etki) saptanmadığı, diğer bazı çalışmalarınsa kimyasal ya da fiziksel mutajenler ya da karsinojenlerle RF maruziyetinin sinerjistik etkileri ile ilgili olduğu bildirilmiştir (25).

Elde edilen bulguları açıklayabilecek mekanizmalar henüz ortaya konulamamış olsa da manyetik alan etkilerinin lineer olmayan bir şekilde olduğu kabul edilmektedir (1, 12, 18, 21). "Pencere etkisi" olarak tanımlanan bu etki; sadece belirli frekans ve alan şiddeti aralıklarında farklı fizyolojik yanıtların elde edilebileceği anlamına gelmektedir. Farklı manyetik alan koşullarında farklı yanıtların elde edilme olasılığı, çeşitli tıp dallarında tedavi yöntemi olarak kullanılıp kullanılmayacağı düşüncesini beraberinde getirmiştir. Günlük yaşamda kullanım sıklıkları da göz önüne alındığında manyetik alanların canlı organizmalar üzerine olumsuz etkilerinin olup olmadığı tartışmaları devam etmektedir (1, 12, 18, 21).

Elektromanyetik alanın iki tür etkisi vardır. Kısa zamanda hissedilen etkiler baş ağrıları, göz yanmaları, yorgunluk, halsizlik ve baş dönmeleri gibi yakınmalardır. Ayrıca gece uykusuzlukları, gündüz uykulu dolaşma, depresyon ve sürekli rahatsızlık nedeniyle topluma katılmamak gibi neticeler de literatürde rapor edilmiştir. Diğer bir etki ise moleküler ve kimyasal bağlara, hücre yapısına, vücut koruma sistemine yaptığı ve uzun sürede ortaya çıkabilen etkilerdir (1, 12, 18, 21).

Cep telefonlarının zararlı etkilerini izlemek için oluşturulmuş olan IEGMP (Independent Expert Group on Mobile Phones) grubu kanser çalışmaları ile ilgili raporlarında bazı bireysel çalışmaların RF radyasyonun tümör oluşumunu tetiklediği, bilinen karsinojenlerin etkisini arttırdığı ve transplante edilen tümörlerin büyümesini kolaylaştırdığını gösterdiğini ifade etmişlerdir (20). Şu ana kadar özellikle cep telefonlarından yayılan EMA etkileri ile ilgili ciddi çalışmalar yürütülmüş ve sonuçta değişik organ sistemlerinde farklı kötü etkilerinin olduğu görülmüştür. Bunları özetlemek gerekirse, hematolojik olarak eritrosit, lenfosit öncülleri ve lenfositlerde artış, blastojeneziste artış, hematokrit düzeyinde artış, periferik lökosit, eritrosit seviyelerinde azalma ve lenfositoz saptanmıştır (1, 12, 18, 21). Merkezi sinir sisteminde özellikle hipotalamusta norepinefrin ve dopamin sentezi azalmış, nöron hücrelerinde anormal büyümeler, elektromanyetik dalga boyutu özellikle kablosuz ağlardan yayılan 2.45 GHz boyutuna ulaştığında purkinje hücrelerinde azalma, beyin hücreleri sıcaklığında artış, EEG frekanslarında değişim, kan beyin bariyeri geçirgenliğinde artış, myelin dejenerasyonu ve glial hücre proliferasyonu görülmektedir (26). Kardiyolojik sisteme etkileri ise taşikardi, QT kısalması, T dalgası yüksekliğinde artıştır (27). Tiroid hormonlarında artış, TSH seviyesinde azalma, kortikosteroid hormonlarda ve luteinizan hormonlarda artış saptanırken adrenal bez ağırlığında artış saptanmıştır (28, 29). Vücut ağırlığında azalma, gestasyon yaşına göre düşük doğum ağırlıklı çocuk sahibi olma riski, doğum sonrası ölüm hızında artış saptanmıştır. Üreme organlarına etkilerinde ise özellikle 9.4 GHz boyutunda sperm hücrelerinde translokasyon, mutasyon sıklığında artış, testis DNA'sında ısıl denaturasyon sonucu değişimler, interstisyel hücrelerde bozulma, testiküler dejenerasyon, testiküler lezyonlar, dişi doğum sayısında artış saptanmaktadır. Metabolizma üzerine etkileri ise ATP üretiminde azalma, serum glikozunda artış, metabolik hızın azalması şeklinde sıralanabilir. İntraoküler sıcaklığın artışı ve katarakt gelişimi riskinin artışında bildirilmektedir (30).

2.1.4. İyonlaştırmayan Radyasyonun Hücre Membranı Üzerine Etkileri

Radyofrekans manyetik alanların; kanal iyon yapısı değişiminde azalma, tek kanal açılma sıklığında azalma ve hızlı (burst-like) ateşlenmesinde artışlar gibi çeşitli iyon kanal özelliklerini etkilediği bildirilmektedir. Radyofrekans manyetik alanların

membran kanallarını etkilediğini gösterilse de deneysel olarak özellikli bir etkileşim mekanizması ortaya koyamamışlardır (31). Radyofrekans manyetik alanların sodyum (Na) ve potasyum (K) gibi katyonların hücre membranından transportu üzerine olan etkileri ölçülebilen ısı değişiklikleri olmadan membran değişikliklerinin meydana gelebileceğini göstermiştir (32). Bazı çalışmalar ise RF manyetik alanların katyon geçirgenliği üzerine etkilerinin belirli ısı değerleri üzerinde oluştuğunu; bunun da bir “pencere etkisi” varlığını desteklediğini göstermişlerdir (33). Radyofrekans enerjinin, faz geçiş derecelerine yakın derecelerde membran lipid-faz geçişlerini kolaylaştırması olası görünmektedir. Radyofrekans manyetik alanların bu etkisi eritrositlerdeki Na-K ATPaz iyon pompasındaki iyonları taşıyan moleküller üzerindeki etkilerine bağlanabilir (34). Serbest radikallerin 2.45 GHz manyetik alana maruz bırakılan membranda lipid veziküllerin yoğunlaşmasını tetiklediği gösterilmiştir (35).

2.1.5. İyonlaştırmayan Radyasyonun Sinyal İletimi Üzerine Etkileri

Protein kinazlar; hormonların, büyüme faktörlerinin işlev göstermesinde ve sinyal iletiminde yer alan esas enzimlerdir. Çok düşük frekanslı (ELF) manyetik alan maruziyeti ile siklik-AMP-bağımsız protein kinaz aktivitesinde azalma saptanmıştır (36). Ornitin dekarboksilaz (ODC) aktivitesi membran aracılı sinyal iletim olaylarında yer alır ve ODC aktivasyonu karsinogenezde rol alan birçok mitojen ve tümör-promotor ajanın aktivasyonunda rol alır. Ornitin dekarboksilaz aktivitesinin 450 MHz EMA’ya maruz bırakılan insan melanom ve rat hepatoma hücrelerinde anlamlı olarak yüksek olduğu rapor edilmiştir (37).

2.1.6. İyonlaştırmayan Radyasyona Maruziyetin Davranışsal Etkileri

Nörotoksisitenin erken bulguları anatomik olmaktan çok davranışsaldır (38). Hayvanların davranışları olumsuz sağlık durumlarının oldukça hassas bir göstergesi olduğundan, hafızanın biyolojik temellerini araştırmak için kullanılabilir. Eski çalışmalar genellikle yüksek ya da düşük-orta seviyeli radyasyona tüm vücut maruziyeti oluşturularak yapılmıştır ve bu çalışmalarda saptanan davranışsal değişikliklerin ortaya çıktığı en düşük RF maruziyeti sınırlarından uluslararası kılavuzlardaki insan maruziyeti sınırlarını belirlemek için yararlanılmıştır (15).

Davranış değişiklikleri genellikle bu sınırların oldukça üstünde gerçekleşmesine rağmen, bazı çalışmalarda haberleşme sistemlerindeki benzer şekilde daha düşük RF maruziyeti durumlarında da etkilenme bildirilmiştir (19, 39, 40). IEGMP'nin 2000 raporunda ise "Vücut ısısının 1°C ya da daha fazla artması iyi-öğrenilmiş görev performansı ve diğer basit davranışlarda kesin olarak değişikliklere yol açmaktadır. Ancak düşük dereceli RF alan maruziyetinin hayvanlarda öğrenme ve hatırlama üzerine etkilerini gösteren yeterli deneysel kanıt yoktur." denmektedir (20). D'Andrea ve ark. (41) çalışmasında; bazı bilişsel görevlerin RF maruziyetine özellikle hassasiyet gösterebildiği ve bu etkinin basit, iyi-öğrenilmiş görevleri bozmak için gereken SAR değerlerinden daha düşük seviyelerde ortaya çıktığı bildirilmiştir.

2.2. Hipokampus

Hipokampus temporal korteksin lateral ventrikülünün alt boynuzunun tabanı boyunca uzanan, kıvrılmış bir gri cevher parçasıdır. Hipokampüse bu ad koronal kesitte deniz atına benzediği için verilmiştir (42).

2.2.1. Hipokampusün Yapısı ve İşlevleri

Hipokampus limbik sistem içerisinde önemli işlevleriyle odak noktasını oluşturmaktadır. Hipokampus ve ona bağlı temporal lop yapıları; serebral korteks, amigdala, hipotalamus, septum, mamiller cisimler gibi temel limbik sistem bölgeleriyle sayısız indirekt bağlantılar gösterir ve "hipokampal formasyon" adını alır. Hipokampus forniks yoluyla ön talamus, hipotalamus ve limbik sistemin diğer bölgelerine sinyaller gönderir. Böylece gelen duyuşal sinirleri farklı amaçlar için uygun davranış reaksiyonlarının içerisinde geçiren ek bir kanal rolü oynar (43-46).

Ayrıca glukokortikoid hormon reseptörü bölgesi olması nedeniyle, glukokortikoid hormonun nöroendokrin kontrolünü sağlar. Plazma steroid düzeylerine olan etkisini indirekt olarak hipokampusa negatif feedback yapmak suretiyle gösterdiğine inanılmaktadır.

Hipokampus hipereksitabilite özelliğine sahiptir. Elektriksel olarak hafif uyarılması ile uyarı bittikten sonra dahi saniyelerce süren bir epileptik nöbet

gözlenir. Bu da hipokampüsün normal koşullarda bile uzun süren sinyaller yaydığını gösterir. Hareket, yürüme ve diğer motor işlerde major rol oynamaktadır. Öğrenme ve hafıza, limbik sistem de dahil olmak üzere MSS'nin birçok bölgeleri ile ilgili karmaşık işlevleridir. Yeni edinilen bilgilerin depolanmasında hipokampal formasyonun önemli rolü olduğu bilinmektedir. Hipokampüsü etkileyen lezyonu olan hastalarda kısa süreli hafızanın uzun süreli hafızaya dönüştürülemediği gözlemlenmiştir. Lezyon sol hipokampüste olduğu zaman daha çok sözel hafıza etkilenirken, sağda olduğu durumlarda görsel hafıza etkilenmektedir. Alzheimer hastalığında beynin ilk hasar gören bölgelerinden biridir. İlk belirtilerden bazıları hafıza problemleri ve disoryantasyondur. Hipokampüste meydana gelen büyük hasarlar yeni hafıza komponentleri oluşturmayı ve oluşmuş olanı korumayı imkansızlaştırdığı ve amnezi oluşturduğu gözlenmiştir (46).

2.3. Öğrenme ve Hafıza

Beynimiz sinir hücreleriyle örülmüş bir ağ gibidir. Bu ağ sayesinde yeni bilgilerin önceki bilgilerle birleştirilmesi, daha önce edindiğimiz bilgilerin geri çağırılması sağlanmaktadır. Tecrübeyle ve çevreden edindiğimiz bilgileri depolama yeteneği beynin karmaşık işlevlerinden biridir. Birçok bilişsel işlev eğer bu yetenek olmasaydı gerçekleştirilemezdi. Sinir sistemi iç ve dış olayları algılar ve tepkide bulunur. Bu içsel ve dışsal olayları duyu organları algılar. Bilgi; duyu organları tarafından beynin arka kısmında omurilikteki çok sayıda sinir ağlarının yardımıyla merkezi sinir sistemine iletilir. Başka bir ifadeyle bilinç için önemli olan bilgi seçilmektedir (3).

Beyindeki temel birimler nöronlar ve sinapslardır. Nöronların oluşturduğu ağ örüntü sayısı ne kadar fazla olursa bilgi işleme süreci o kadar güçlü olur (4).

Memelilerde davranışın belirlenmesindeki en önemli etken çevresel şartlar hakkında yeni bilgiler edinilmesi ve bu bilgilerin saklanmasıdır. Öğrenme, çevre hakkında bilgi edinilmesi işlemi; hafıza ise edinilen bilgilerin tekrar hatırlanabilecek bir biçimde şifrelenerek depolanmasıdır (5).

Zihinde bazı anılar sadece birkaç saniye kalırken; bazıları dakikalar, günler, aylar ve hatta yıllar boyunca kalırlar. Bellek başlangıçta bozulmaya elverişlidir. Yani

benzer başka bir materyalin öğrenilmeye çalışılması, ilk materyale ait bilginin tutulduğu belleği bozabilir. Günler ve haftalarca devam eden bilginin belleğe alınması ve saklanması ancak zamanla sağlamlaşır (konsolide olur). Ayrıca beyin bilgileri belleğe kaydederken, işlerken ve depolarken, bilgilerin belirli ve benzer özelliklerine göre sınıflama yapar. Bilgilerin daha uzun süre bellekte saklanması için tekrarlama çok önemlidir (3, 47, 48).

2.3.1. Hafızanın Sınıflandırılması

Hafıza, kalıcılık süresine ve içeriğine göre sınıflandırılmaktadır (Şekil 2).

2.3.1.1. Kalıcılık Süresine Göre Hafıza Türleri

Öğrenilen bilginin ne kadar süre ile hafızada tutulduğuna dayanarak uzun süreli hafıza ve kısa süreli hafıza türleri tanımlanmıştır.

1. Uzun süreli hafıza (LTM – Long term memory) edinilen bilginin yıllarca, hatta yaşam boyu depolandığı hafıza türüdür.

2. Kısa süreli hafıza (STM – Short term memory) kısa sürede kazanılan bilginin birkaç saat kadar hatırlanabildiği hafıza türüdür (49).

Kısa süreli hafıza iki alt bileşene ayrılır:

Çok kısa süreli hafıza (*Immediate memory*): Bilginin alındığı andan itibaren akılda aktif bir şekilde tutulmasından sorumlu sistemdir. Şu anki dikkatimizin odaklandığı bilgiyi tutar. Kapasitesi çok azdır, tekrarlama yapılmadığı takdirde 30 sn'den kısa sürelidir.

Çalışan hafıza (*Working memory*): Çok kısa süreli hafıza'daki bilgi aktif bir şekilde tekrarlanırsa, bellekte tutulma süresi dakikalarca uzatılabilir. Çok kısa süreli hafızanın bu şekilde uzatılmış şekline çalışan hafıza adı verilmektedir. Kısa süreli bellekteki bilgi sürekli tekrarlanırsa uzun süreli belleğe aktarılmış olur. Kısa süreli belleğin oluşumunda sinapslardaki kimyasal değişiklikler rol oynamaktadır. Kısa süreli bellekteki bilgiler bir süre hipokampüste saklandıktan sonra uzun süreli belleğe aktarılmaktadır (3, 47, 50).

Çalışan hafıza; bilgiyi kalıcı hafızaya (uzun süreli hafıza) aktarmak için gerekli işlemlerin, çağrışımların, ilişkilerin yapıldığı bölümdür. Çalışan hafızadaki bilgi belli bir süre kalır ve gerekli işlemler yapılmadığı takdirde kaybedilir.

Çalışan hafıza mekansal ve mekansal olmayan hafıza olarak iki ayrı şekilde değerlendirilir. Mekansal hafıza canlının çevresiyle ilgili duyuşal verileri kullanarak çevresel konum ve oryantasyon bilgisinin kaydedilmesini ifade eder. Mekansal olmayan hafıza ise daha çok objelerin, yüzlerin, sayısal ve anlamsal ifadelerin hatırlanmasıyla ilgilidir.

Bilgiyi kalıcı hafızaya aktarmak için yapılması gereken temel işlem; yeni gelen bilginin hafızadaki mevcut bilgilerle ilişkilendirilmesi, sık tekrar edilerek kullanılması ve kodlanmasıdır. Çalışan hafıza insan beyninde genişçe bir alana dağılmış nöronal haberleşmeyi sağlayan taşıyıcı yapılarla yani nörotransmitterlerle düzenlenir ve beynin ön lobu özellikle dorsolateral prefrontal korteks ile bağlantılıdır.

Bilginin kısa süreli hafızadan uzun süreli hafızaya aktarılmasında ise hipokampus rol oynar. Çalışan hafızada görevli nörokimyasal sistem içerisinde dopamin, serotonin, noradrenalin, asetilkolin, gamma-aminobütirik asit (GABA) ve glutamat gibi nörotransmitterler yer almaktadır (51, 52).

Uzun süreli hafızayı kısa süreli hafızadan ayıran özelliklerden biri bilginin daha uzun süre saklanması, depolanması ve gerektiğinde geri çağrılabilmesidir. Kısa süreli hafızanın aksine sınırsız bir kapasitesi vardır. Uzun süreli hafızanın oluşumunda sadece sinapslardaki kimyasal mekanizmalar değil, aynı zamanda gerçek yapısal değişiklikler de rol oynamaktadır. Bilgilerimizi ömür boyu saklayabiliriz ve potansiyel olarak bu bilgilere ulaşabiliriz ancak her zaman geri çağıramayabiliriz. Bir bilginin uzun süreli hafızada saklanması ancak beynimizdeki nöral bağlantılarda meydana gelen kalıcı işlevsel, biyokimyasal ve yapısal değişikliklerle mümkün olabilmektedir (3, 47, 50).

Kısa süreli hafızada edinilmiş bilgi travmalara veya çeşitli ilaçlara bağlı olarak bozulabilirken, uzun süreli hafıza bozulmaya karşı belirgin olarak dirençlidir (5, 53).

2.3.1.2. İçeriğine Göre Hafıza Türleri

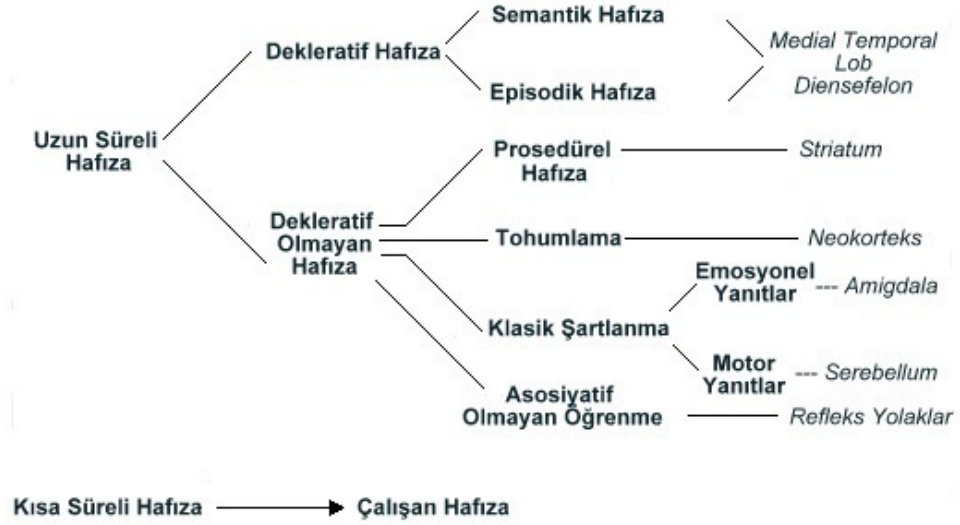
İçeriğine göre hafıza temel olarak ikiye ayrılmıştır:

2.3.1.2.1. İmplit Hafıza (Dekleratif Olmayan Hafıza, Refleksif Hafıza, İşlemsel Hafıza)

İmplit hafıza bir kez kazanıldıktan sonra otomatik olarak gerçekleşen beceri ve alışkanlıkları kapsar. Bu hafıza türü fazla esneklik göstermez, katıdır ve öğrenmenin gerçekleştiği orijinal uyaran koşullarına sıkı sıkıya bağlıdır. İmplit hafızanın tohumlama, prosedürel, asosiyatif ve asosiyatif olmayan olmak üzere dört alt türü mevcuttur (5, 53).

2.3.1.2.2. Eksplicit Hafıza (Dekleratif Hafıza, Bilinçli Hafıza ve Tanıma Hafızası)

Eksplicit hafıza implit hafızadan farklı olarak karmaşık, bilince eşlenik, esnek ve değişmeye açıktır. Bilgi hipokampus ile beynin medial temporal loblarının diğer bölümlerinde depolanmaktadır. İnsanlar, mekanlar ve tarih gibi çeşitli bilgi türleriyle ilişkili olup semantik ve episodik hafıza olarak ikiye ayrılmaktadır. Semantik hafıza genel kabul gören bilgileri kapsarken, episodik hafıza kişisel deneyim ve olaylara ilişkin bilgileri içermektedir. Semantik ve episodik hafızanın oluşumu için birbiriyle ilişki içinde fakat ayrı olan en az dört işlem gerekmektedir. Bu işlemler sırasıyla kodlama (encoding), pekiştirme (consolidation), depolama (storage) ve geri ağırmadır (retrieval). Kodlama ilk defa karşılaşılan bilginin işlenip hafızaya alınma sürecidir. Bu işlemin kapsamı ve doğası öğrenilen bilginin ilerleyen zamanlarda ne kadar iyi hatırlanabileceğinin belirlenmesinde kritik önem taşımaktadır. Pekiştirme yeni kodlanmış ve henüz yerleşmemiş olan bilgilerin uzun süreli depolanabilmesi, daha yerleşik duruma getirilmesi için gereken işlemleri kapsamaktadır. Depolama hafızanın uzun süre boyunca korunmasını sağlayan mekanizmalardan oluşmaktadır. Geri ağırma ise, depolanan bilgilerin hatırlanması ve kullanılmasıdır (49).



Şekil 2. Uzun ve kısa süreli hafıza türleri (49)

Hafıza beynin çeşitli bölgelerinin integrasyonunu gerektiren karmaşık bir işlemdir ve farklı hafıza işlemlerinde bazı serebral bölgeler diğer bölgelerden daha baskın görevlere sahiptir (Şekil 2).

2.4. Mekansal/Uzamsal Hafıza ve Morris Su Labirenti

Mekansal hafıza; kavrama fizyolojisi ve sinir biyokimyasında hafızanın bir parçası olarak nitelendirilmektedir. Canlının çevresel konum ve mekansal oryantasyon ile ilgili bilgisinin kaydedilmesini ifade eder. İnsanların mekansal hafızası tanıdık bir şehirde yönünü ve çevresel ipuçlarını belirleyerek oluşturuluyor ve ratların labirentin kollarındaki yiyeceğin yerini öğrenmesi de mekansal hafızanın oluşturulması ile oluyor. İnsan veya hayvanların mekansal hafızalarının beyinde kavramsal haritada yapılandırıldığı üzerinde tartışılmaktadır. Mekansal hafıza; organizmanın çevresi ile ilgili duyuşsal verileri özellikle görsel ve proprioseptik duyularını kullanarak bu verileri bir araya getirip işlemek ile oluşur. Genelde memeliler mekansal/uzamsal özellikleri ve verileri oluşturabilmek için özellikle CA1 bölgesi işlev gören hipokampüse ihtiyaç duyarlar. İnsan mekansal hafızasının sağ hemisfer ile güçlü bir bağlantı içinde olduğuna dair bazı ipuçları vardır. Mekansal hafıza hem NMDA hem de AMPA reseptörlerine ihtiyaç duyar. Bilginin sağlamlaştırılmasında NMDA reseptörleri (NMDAR), geri çağırılması yani hatırlanmasında AMPA reseptörlerine (AMPA) ihtiyaç duyulur. Kemirgenlerde yapılan çalışmalarda mekansal hafıza hipokampal yosunsu fibrillerin

projeksiyonunun hacmi ile doğru orantılı olarak yapılanmaktadır. Mekansal hafıza üzerinde yapılan çalışmalar insanlarda kompleks tipte olayların anlaşılması için çok değerli bilgiler sağlamıştır. Hayvanlardaki göç olgusu, birçok besin kaynağını bir arada tutan karmaşık çevredeki besin kaynaklarına ulaşmak gibi olaylarda mekansal hafıza çok önemlidir (6-9).

Açık alan su labirenti; dairesel ve ortalama 150-200 cm çaplı bir su tankıdır. Ratlar ve benzeri küçük kemirgenlerin labirentin çevresinde sabit bulunan çeşitli çevresel ipuçlarını kullanarak suyun ortalama 2 cm altında bulunan gizli platformu bulması için eğitildiği bir aparattır. Normalde hayvanlar platformun yerini kısa bir sürede (ortalama 3-5 gün) öğrenirler. Su labirentinde öğrenme olgusunun davranışsal analizi kavrama sürecinde bazı etkileşimler gerektirmektedir, mekansal bilginin depolanması ve ihtiyaç duyulduğunda hatırlanıp kullanılması, diğer yandan da hangi yöne gidileceği ile ilgili planlamayı gerektiren bir süreçtir. Hem ilaç hem de lezyon çalışmalarında kullanılmaktadır. Su labirentinde yapılan davranışsal çalışmalar göstermiştir ki öğrenme; hızlı ve aynı zamanda bir seri öğrenme egzersizi ile platform lokalizasyonunun uzun süreli hafızaya yerleştirilebildiği bir uygulamadır. Oluşan hafızanın kuvveti basit bir test ile kolaylıkla değerlendirilebilmektedir. Eğitim süreci sonrasında platform labirentten alınmakta ve ratlar belli bir süre (1 dk) su labirentine bırakılmaktadır. Normal ratlar sürekli hedef lokalizasyonda (daha önce platformun bulunduğu kadranda) yüzmektedirler. Su labirenti gibi basit yer-yön algılamasına dayanan testler hipokampal lezyonlara ciddi anlamda sensitiftir. Daha sonra yapılan çalışmalar göstermiştir ki geleneksel lezyon yapıcı teknikler veya selektif nörotoksinlerin kullanılmasıyla oluşan septal nukleus, subiculum ve entorhinal korteks gibi komşu yapıların lezyonlarına da sensitivite söz konusu olmaktadır ve su labirentini öğrenme veya hatırlama performansında azalma olmaktadır. Küçük prosedürel farklarla mekansal hafıza, uzun süreli hafıza, uzun süreli mekansal hafıza gibi hipokampüse dayalı öğrenme süreçlerini test etmek için kullanılan bir sistemdir. Ayrıca mekansal olmayan genel öğrenme prosedürünü de test edebilmektedir. Demans, yaşlanma, Alzhemier hastalığı, kafa travması ve inme gibi hastalıkların deneysel çalışmalarında, nörotransmitter yolları üzerine yapılan çalışmalarda kullanılmaktadır (54).

2.5. Glutamat Reseptörleri

Glutamat memeli MSS'inde önde gelen eksitatör nörotransmitterdir (55). Beyinde yüksek yoğunlukta bulunurlar (10 mmol/L), sinir terminallerindeki sinaptik geçişi yönlendirir ve nöron içine iyon geçişini kontrol ederler. Glutamat reseptörleri memelilerin merkezi sinir sistemindeki çoğu uyarıcı sinir iletimini düzenlemektedirler. Kortikospinal motor nöronların spinal motor nöronlara yaptığı sinapslarda major nörotransmitter glutamattır. Normalde üst motor nöron eksitasyonu ile glutamat molekülleri sinaptik aralığa düşmekte ve spinal motor nöronlardaki (postsinaptik) reseptör yerlerine giderek spinal motor nöronları depolarize etmektedirler. Glutamat reseptörleri memelilerin MSS'deki çoğu uyarıcı sinir iletimini düzenlemektedir. Glutamat reseptörleri hafıza ve öğrenme işlevlerini katkıda bulunan sinaptik iletimde rol alırken, bir yandan da sinir sisteminin gelişimi esnasındaki nöronlar arası bağlantının da oluşturulmasına katkıda bulunmaktadır (42, 55, 56).

Glutamat reseptörleri temelde postsinaptik membranda yerleşiktir. Başlıca iki tipi vardır.

I- İyonotropik glutamat reseptörleri (iGluR): Doğrudan iyon kanallarını kontrol eder.

II- Metabotropik glutamat reseptörleri: İkincil haberciler üzerinden dolaylı olarak iyon kanallarını kontrol eder (57-59).

Bugüne kadar memeli MSS'inde 16 adet iGluR cDNA'sı ve 8 adet metabotropik glutamat reseptör cDNA'sı tanımlanmıştır. Şimdiye kadar izole edilen 16 adet iGluR cDNA'sının; 4 tanesi AMPAR subüniti (GluR1, GluR2, GluR3, GluR4), 5 tanesi kainat reseptör subüniti (GluR5, GluR6, GluR7, KA1, KA2) ve 7 tanesi NMDA reseptör subünitidir (NR1, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D, NR3A, NR3B). Günümüzde glutamat reseptör genlerinin ekspresyonunu manipüle edici birçok farklı teknik kullanılarak, glutamat reseptörlerinin tüm fizyolojisi ve patolojisi geniş bir şekilde araştırılmaktadır. Birçok orguda iGluR subünitleri değişik laboratuvarlar tarafından ayrı ayrı ve de eş zamanlı olarak kopyalandığı için benzer subünitlere her biri farklı isimler vermişlerdir (55).

I. İyonotropik Glutamat Reseptörleri:

Presinaptik sinir terminallerinden salınan glutamat molekülleri iGluR'e bağlandığında bir elektriksel olaya döndürülen kısa bir kimyasal sinyal meydana getirmektedir. Postsinaptik depolarizasyonla sonuçlanan net bir iç akıma izin veren bir integral katyon seçici kanal içeren iyonotropik glutamat reseptörleri 3 geniş gruba ayrılır:

1. Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol propionat tercih eden reseptörler (AMPA)

2. Kainat tercih eden reseptörler (KAR)

3. N-metil D-aspartat tercih eden reseptörler (NMDAR) (57-59)

II- Metabotropik glutamat reseptörleri

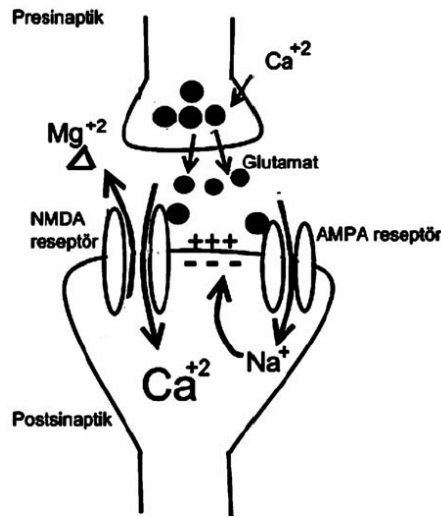
Metabotropik reseptörler GTP-bağlayıcı proteinlerle (G proteinleri) bağlantılıdır ve intraselüler mesajcıların üretimini kontrol etmektedirler (60-62). *trans*-(1S, 3R)-1-amino-1,3-cyclopentanedicarboxylic asit (ACPD) ile selektif olarak aktive olurlar. Glutamat iyonotropik reseptörler üzerinden eksitasyon yaparken, metabotropik reseptörler üzerinden eksitasyon veya inhibisyon oluşturabilmektir (57-59).

2.5.1. N-Metil-D-Aspartat (NMDA) Reseptörleri

NMDA reseptör dağılımını saptamak için bir dizi değişik radyoligandlar kullanılarak ligand bağlama çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda; NMDA reseptörlerinin tüm beyinde yaygın bulunurken, baskın olarak ön beyinde bulunduğu gösterilmiştir. Tüm beyindeki en yüksek düzeyler ise hipokampusdeki CA1 bölgesindedir (10). İyonotropik glutamat reseptörleri sentetik agonistlere göre isimlendirilmişlerdir. NMDA glutamat reseptörleri 2-amino-5-phosphono valerik asit ile selektif olarak bloke olurken, AMPA ve kainat reseptörleri bu ajanla bloke olmazlar. Her iki reseptör de 6-cyano-7-nitroquinoxalin-2,3 dione ile bloke olurlar. Bu nedenlerle AMPAR ve KAR non-NMDA reseptörü olarak da isimlendirilmektedir (10).

Üzerinde en çok çalışılan ve bilgi sahibi olunan reseptör kompleksi olan NMDAR, MSS'de sinaptik işlevin düzenlenmesinde esas rol oynar. NMDA reseptör aracılı kalsiyum, hücre içi akımı, sinapsların şekillenmesi, düzenlenmesi ve seçilmesi gibi farklı kavramların düzenlendiği sinyal iletim şelalesini-kaskadlarını uyarır (10, 11). NMDAR; monovalan katyonlara ek olarak, Ca^{+2} iyonunun da hücre membranından geçişini sağlar. Diğer iyonotropik reseptörlere kıyasla Ca^{+2} 'a karşı en az beş kez daha fazla geçirgen olduğu gösterilmiştir (11). MSS'de yaygın olarak dağılmıştır. Duyusal ileti ve iletinin integrasyonu ile motor işlev ve aktivitenin koordinasyonu ve programlamasında yer alır (63).

NMDAR agonistleri olan glutamat ve aspartat tipik olarak kısa zincirli dikarboksilik aminoasitlerdir ve kuvvetli eksitatör nörotransmitterlerdir. Aspartat da glutamat gibi NMDAR'lerine bağlanır ve aktivite gösterir. Ancak AMPAR'ler ve KAR'lere bağlandığında oluşturduğu etkiden daha az bir etki gösterir. NMDAR'leri ile AMPAR'leri ve KAR'leri arasında benzerlik az iken AMPAR'leri ve KAR'lerinin kendi aralarındaki benzerlikleri daha çoktur. Tüm NMDAR alt üniteleri nötral aminoasit içermektedir. Bir tek M2 bölgesinde polar asparajin rezidüsü bulunmaktadır (58, 64).



Şekil 3. Glutamatın NMDA ve AMPA resptörlerine bağlanması

Genelde postsinaptik bölgeler hem AMPAR'ı hem de NMDAR'ı içerirken; bazı bölgelerde sadece NMDAR'leri bulunur. Gelişimin erken evresinde sinapslar sadece NMDA tipi reseptörler içermektedir (65-67). Non-NMDA iyonotropik

reseptörler motor nöronlarda ve beyinde eksitator postsinaptik potansiyelin (EPSP) büyük erken komponentini oluşturmaktadır. Yani birçok sinapsta AMPAR'ları eksitator aşırım sırasında ana başlangıç; şarj edici gibi etki etmektedir. Bu reseptörler göreceli olarak düşük bir katyon iletkenliğine sahiptirler (<20 pS). Na^+ ve K^+ 'a geçirgen iken Ca^{+2} 'a geçirgen değildirler. Bu sırada NMDAR'leri, hücre içi enzimler ve ikincil mesajcıların aktivelerini modüle edebilen katı bir Ca^{+2} komponenti ile birlikte daha yavaş bir akım sağlamaktadır (58, 64).

EPSP'nin geç komponentini oluşturan NMDA reseptör kanallarının üç özelliği vardır.

1- Yüksek iletkenliğe sahip iyon kanallarını kontrol ederler (50 pS) ve Na^+ ile K^+ 'un yanı sıra Ca^{+2} 'a da geçirgendirler.

2- Kanalin açılması bir ko-faktör olarak glisin hücre dışı olarak bulunmasına bağlıdır. Kanal sadece glisin varlığında çalışır. Normal koşullarda hücre dışı glisin yoğunluğu NMDA kanalının çalışabileceği miktarlarda bulunmaktadır. Kinürenik asit ve aminoksalinedikarboksilik asit'in her ikisinin çoğu türevleri glisin bölgesinin yarışmacı antagonistleridir.

3- Açılması kimyasal haberciye bağlı olduğu kadar membran potansiyeline de bağlıdır. Bu; NMDA'lerini diğer voltaj kontrollü kanallardan ayıran bir özelliktir.

Voltaja bağımlılık diğer kanallarda olmayan farklı bir mekanizmadan kaynaklanmaktadır. Diğer kanallarda membran potansiyelindeki değişiklikler intrinsek voltaj sensörünün sayesinde kanalda konformasyonel değişikliklere neden olurken; NMDA ile aktive olan kanalda ekstrinsek bloker olan Mg^{+2} (hücre dışı Mg^{+2}) açık olan kanalı kapayan bir tıkaç gibi davranır ve iyon akışına engel olur. İstirahat membran potansiyelinde (-65 mV'da) Mg^{+2} kanala sıkıca bağlanır. Ancak membran depolarize olduğunda (örneğin non-NMDA reseptörleri glutamat ile aktive olduğunda), Mg^{+2} elektrostatik etkiyle kanaldan uzaklaştırılır ve Na^+ ile Ca^{+2} 'un geçişine izin verir. Bu nedenle NMDA'lerinde en yüksek iyon akımı her iki koşulun da gerçekleşmesiyle ortaya çıkmaktadır. Bu özellikleri nedeniyle NMDA'ı sinaptaki presinaptik aktivite ve postsinaptik depolarizasyonu eş zamanlı olarak saptayan bir araç gibi davranmakta ve postsinaptik hücreye yeterli miktarda ikincil

haberci iyon olan Ca^{+2} 'un girişine imkan vermektedir. Bu da sinaptik bağlantının kuvvetindeki plastik değişiklikleri başlatmaktadır (55, 58, 64).

Birçok hücrede hem non-NMDAR'ler hem de NMDAR'ler bulunmaktadır. Mg^{+2} istirahat membran potansiyelinde NMDAR kanalını bloke ettiği için, NMDAR'lerinin EPSP'lerin oluşmasında önemli bir katkısı yoktur. Bu nedenle istirahat durumunda oluşan EPSP'lerde büyük oranlarda non-NMDA reseptörlerinin katkısı bulunmaktadır. Depolarizasyon arttıkça Mg^{+2} NMDAR kanalından uzaklaşmakta ve NMDAR açılarak bu kanallardan iyon akışı gerçekleşmektedir.

NMDAR kanalının diğer bir farkı göreceli olarak daha yavaş açılıp yavaş kapanması ve bu özelliği nedeniyle EPSP'lerin geç fazına katkıda bulunmasıdır. EPSP'nin geç fazı, Mg^{+2} 'un kanalı bloke etmesi nedeniyle, tek bir presinaptik sinyalden sonra zayıf bir yanıt olarak karşımıza çıkmaktadır. Oysa presinaptik nöron art arda sinyaller gönderirse postsinaptik hücrede EPSP'ler toplanarak 20 mV veya daha fazla bir depolarizasyon oluşturmaktadır. Bu durumda NMDAR'ı büyük ölçüde Ca^{+2} 'un katkısı ile daha büyük akımlara yol açmaktadır. NMDAR aktivasyonu sonucu post-sinaptik hücrelerde Ca^{+2} 'a bağımlı enzimler ve bazı ikincil haberciler devreye girmektedir. Bu biyokimyasal reaksiyonlar sinapsta bazı uzun vadeli modifikasyonlara katkıda bulunan sinyal yollarını tetiklemektedir. Öğrenme ve bellek oluşumunda sinapsta gerçekleşen değişikliklerin önemli olduğu düşünülmektedir. NMDAR'lerin aktivasyonu presinaptik aktiviteye bağlı olduğu ve uzun süreli sinaptik modifikasyonlar ile ortaya çıktığı için çoğu kez bu duruma aktiviteye bağımlı sinaptik modifikasyonlar denmektedir (57, 58).

Gen knockout teknikleri kullanılarak öğrenme ve hafızada rolü olan NMDAR'e bağlı sinaptik plastisite keşfedilmiştir. Yapılan bu deneyler CA1 hipokampal NMDAR'ın hipokampusa bağımlı mekansal hafıza ve mekansal olmayan hafızanın oluşması için gerekli olduğunu ortaya koymuştur (65). Öğrenmenin değişik formlarının meydana gelmesinde rolü olan hipokampusta sinaptik plastisitenin bir türü olan "uzun süreli potansiyalizasyon-long term potention (LTP)" öğrenme ve hafızanın nöronal mekanizmalarını araştırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (10, 58). LTP, sinaptik kuvvetteki aktiviteye bağımlı uzamış potansiyel olarak tanımlanabilir (64). Daha önceki çalışmalar hipokampal sinaptik

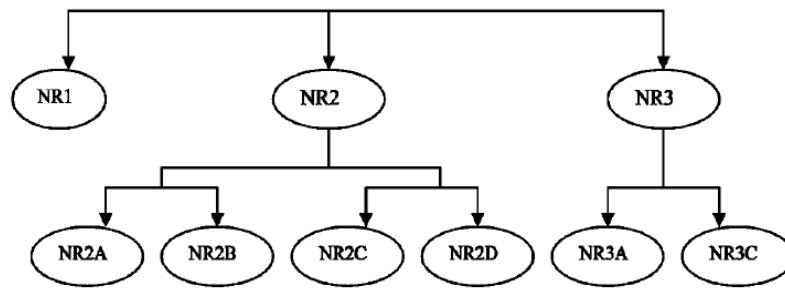
plastisitenin LTP benzeri formlarının mekansal öğrenme ve hafıza ile ilişkili olabileceğini göstermiştir (58). Hipokampusun CA1 bölgesindeki LTP'nin indüksiyonu bir dizi olayı içermektedir. İlk olarak NMDAR kanalının presinaptik glutamat salınımına cevap olarak açılması için postsinaptik membranın yeterince depolarize olması gerekmektedir. Kanalin açılması postsinaptik hücre içi Ca^{+2} yoğunluğunun önemli derecede yükselmesine olanak vermektedir. Ca^{+2} 'daki bu artış metabotropik glutamat reseptörünün aktivasyonuna bağlı fosfoinozitid düzeylerindeki yükselmeye birlikte protein kinaz C ve CAMK II'nin de dahil olduğu protein kinazların aktivasyonuna neden olmaktadır. Bu protein kinazlar daha sonra sinaptik kuvvette uzun süreli modifikasyonlara yol açacak proteinleri düzenlemektedirler (64).

Homosinaptik “uzun süreli depresyon-long term depression-(LTD)” ise sinaptik kuvvetin aktiviteye bağımlı uzamış zayıflaması olarak tanımlanır ve bir anlamda LTP'in işlevsel karşıtıdır. CA1 alanındaki LTP gibi LTD'in indüksiyonu da NMDAR'lerin aktivasyonuna ihtiyaç duymaktadır (64, 65).

Sinaptik aktivitenin düzenlenmesinde protein fosforilasyonu ve defosforilasyonunun önemli mekanizmalar olduğu düşünülmektedir. NMDAR kanalının subünitleri farklı protein kinazlar ve protein fosfatazlar tarafından doğrudan fosforile ve defosforile edilmektedir. NR1, NR2A ve NR2B subünitleri hem cAMP bağımlı protein kinaz A hem de protein kinaz C tarafından farklı bölgelerden fosforile edilebilmektedir. CAMK II, NR2B subünitinin karboksi terminal ucundaki spesifik bir kalıntıyı ve/veya onun NR2A subünitindeki karşılığını fosforile etmektedir. Protein tirozinkinaz da NR2A ve NR2B subünitlerini fosforile etmektedir (66).

2.5.2. NMDA Reseptör Tipleri

NMDAR; işlevsel kanalları endoplazmik retikulumda bir araya getirilen, NR1, NR2 ve NR3 subtipleri tarafından meydana getirilir yedi tane subuniti vardır (şekil 4). Bunlar; NR1, NR2A-B-C-D ve NR3A-B. NMDAR'leri beyin tümünde yaygın olarak bulunmaktadır ancak baskın olarak ön beyine yerleşiktirler. En yüksek düzeyde buldukları yer ise hipokampusun CA1 bölgesidir (55).



Şekil 4. NMDA reseptör alt birimleri

NR1: Glisin bağlayıcı bölgeyi içerir. 938 aminoasitten meydana gelmiştir. 105.5 kDA ağırlığındadır. NR1 reseptör subtip ekspresyonu MSS’de hemen hemen her yerde bulunmaktadır.

NR2: Glutamat bağlayıcı bölgeyi içerir. 4 subtipi bulunur:

NR2A: Beyinde postnatal eksprese edilir. 1464 aminoasitten meydana gelir ve 165.5 kDA ağırlığındadır. Ekspresyonu için yüzeyde NR1 N-terminalinin bulunması gereklidir. NR2A mRNA’sı tüm beyinde yaygın olarak bulunur; fakat serebral korteks, hipokampus ve serebellumda daha yoğun olarak bulunmaktadır.

NR2B: Tüm embriyonik beyinde eksprese edilir. Ayrıca embriyonik ve neonatal kardiyak myositlerde eksprese edilir. Postnatal olarak yalnız ön beyinde eksprese edilir. 1482 aminoasitten oluşur ve 165.9 kDA ağırlığındadır. NR2B’nin ekspresyonu önbeyinde, serebral korteks, hipokampus, septum, kaudat ve putamende seçici olarak yüksek düzeyde bulunmaktadır.

NR2C: Postnatal olarak serebellumda eksprese edilir. 1239 aminoasitten oluşur ve 135.4 kDA ağırlığındadır. NR2C’nin ekspresyonu ise serebellumda dominant olarak bulunurken, talamusda ve olfaktör bulbusda daha az olarak bulunmaktadır.

NR2D: Diensefalon ve beyinsapında embriyonal ve neonatal olarak eksprese edilir. 1323 aminoasitten oluşur ve 142.9 kDA ağırlığındadır. NR2D’nin ekspresyonu ortabeyin ve arkabeyinde yüksek iken; düşük düzeyleri talamusda, olfaktör bulbusda ve beyin sapında bulunmaktadır. NR2A ekspresyonununa tamamlayıcıdır.

NR3: Silik işlev gösterir. NR3A ve NR3B olarak iki tiptir. Ca^{+2} geçirgenliği yavaş ve uzun sürer. NR3A; Serebellum hariç korteks, hipokampus (CA1), ortabeyin, arkabeyin ve spinal kordda eksprese edilir. Neonatal ekspresyonları çok güçlüdür, sonra azalmaya başlamaktadır (58, 59).

2.5.3. NMDA Reseptörünün Yapısı

Şu anda genellikle hemfikir olunan nokta; NMDAR'lerin NR1 subüniteleri ve beraberinde NR2 subünitelerinin en azından bir tipinden oluşan heteromerik yapılar olduğu şeklindedir. NR2 subünitelerinden gelen domainler glisin bağlanma bölgesini oluşturmaktadır. Membrana doğru dizilmiş her glutamat reseptör subünitesi, farklı yaklaşımların bir bileşkesinden ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışmalar kaçınılmaz bir kanıt ortaya koymuştur: NMDAR, AMPAR ve KAR subüniteleri 3 adet membrana uzanan domain içermektedir (M1, M3 ve M4). M2 domaini membrana sitoplazmik kenardan daldırılmış şekilde bir büküm oluşturmaktadır. Her NMDAR subünitesi geniş bir ekstrasellüler N-terminal domaini ve intrasellüler C- terminali içermektedir (58, 59, 64).

NMDAR poru Ca^{+2} 'a yüksek derecede geçirgenlik sağlar ve Mg^{+2} ile bloke olur. NMDAR, voltaja bağımlı tek iyonotropik reseptördür. Normal miktarlarda Ca^{+2} bazı bellek tiplerinin oluşmasında gerekli sinyal yollarını tetiklemektedir. NMDAR'lerin aktivitesi, Mg^{+2} ile voltaja hassas blokajı ve Ca^{+2} 'a geçirgenliği, pora uzanmış olan M2 segmentindeki aminoasit kalıntılarına dayanmaktadır. Katyon seçiciliği, M2 segmentinin kritik bir alanına (N alanı) dayanmakta, bu alan NR1 ve NR2 alt ünitelerinde bulunan bir asparajin kalıntısı tarafından oluşturulmaktadır. NR2 subünitesi, membranın ekstrasellüler yüzünden gelen Mg^{+2} iyonları için temel bağlanma bölgesini içermektedir. Yani Mg^{+2} blokları M2'deki kritik asparajin kalıntıları veya onlara çok yakın olan aminoasit kalıntılarının etkileşimine dayanmaktadır. Bu bağlanma bölgesi; N bölgesi, yüksek Ca^{+2} geçirgenliği için kritiktir. NR1 kalıntıları kanalın dış vestibülünü oluşturmaktadır. Bu vestibül M3 (C-terminal ucunda) ve M4 (N-terminal ucunda) segmentlerinin M1'den önce gelen parçaları tarafından oluşturulmuştur (57-59, 64).

2.5.4. Gelişim Dönemi ve Yetişkin Dönem NMDA Reseptörleri

Yetişkin dönemdeki NMDA reseptörleri ile gelişim dönemindeki NMDA reseptörleri arasında bir takım farklılıklar bulunmaktadır (68). NMDA reseptörlerinde gelişimsel olarak ilk değişiklikler reseptörün yapısında görülen değişikliklerdir (69). Buna göre yenidoğanda bulunan sinir hücrelerinde NMDA reseptörlerinin yapısı daha büyüktür ve yetişkin dönemdeki NMDA reseptörlerine göre daha uzun süre bulunmaktadır (68, 69).

Ratlarda yapılan başka bir çalışmada ise, Mg^{+2} iyonu ile NMDA reseptör kanal blokajına karşı doğumdan sonraki 7. günde, doğumdan sonraki 15. güne göre daha az duyarlı olduğu gösterilmiştir. Yani doğumdan sonraki 7. günde NMDA reseptör kanalları glutamata daha fazla duyarlı olmaktadır. Beyinde sinir hücresi büyümesi ve yaşamının NMDA reseptör aktivitesi ile belirlendiği zaman olan, yeni sinaps oluşumu ve büyümenin olduğu bu dönem, NMDA reseptörlerinin tepe yaptığı zaman ile uyumaktadır (68).

Yapılan çalışmalarda beynin erken gelişim dönemlerinde, glutamaterjik sinapslarda iletimin, işlevsel AMPA reseptörleri olmadan yalnızca NMDA reseptörleri ile gerçekleştiği gösterilmiştir (69, 70).

Yine bir kısım çalışmalarda, bu dönemde NMDA reseptörlerindeki Mg^{+2} blokajının, erken gelişim döneminde beyinde eksitatör nörotransmitter olarak görev yapan GABA ile NMDA reseptörlerinin birlikte aktifleşmesi sonucu ortadan kalktığı gösterilmiştir. Gelişimin ileri dönemlerinde ise, olgunlaşmamış hipokampal sinapslarda eksitatör iletiye geçici olarak katılan GABA reseptörlerinin yerini işlevsel AMPA reseptörleri almaktadır (70).

Erken beyin gelişim dönemi ile yetişkin dönem NMDA reseptörleri arasındaki elektrofizyolojik farkları özetleyecek olursak; erken beyin gelişimi döneminde NMDA reseptörlerinin Mg^{+2} iyonları ile kanal blokajına duyarlılığı yetişkin döneme göre daha azdır. Poliaminlerle farklılaşmış modülasyona ve koagonist glisin pozitif modülasyonuna aşırı duyarlıdır. Elektrofizyolojik olarak erken dönemde reseptörün aktivasyonu ile genliği artmış ve süresi daha uzun olan bir EPSP oluşur. NMDA reseptör kanallarından yüksek Ca^{+2} iyonu geçirgenliği ile birlikte LTP gibi sinaptik plastisitenin işaretçilerinin oluşması erken dönem beyin

gelişimi sırasında görülen farklılıklar arasındadır. Erken gelişim dönemi ve yetişkin dönemdeki NMDA reseptörlerinin farklı olmasının temelinde, özellikle NMDA reseptör alt birimlerinin çeşitli şekilde organize olması sorumlu tutulmaktadır (71).

NMDA reseptör alt birim yapılandırmaları, merkezi sinir sistemi gelişim dönemi ve yetişkin dönemi arasında farklılık göstermektedir. İnsan fetus beynindeki baskın alt birimler NR1, NR2B, NR2D'dir ve yenidoğan rat beyinde de aynı dağılım bulunmaktadır. İnsan fetüs korteksinde NR2A ve NR2C de gösterilmiştir, fakat bu alt birimler doğuma kadar ratda görülmez (72). Ratlarda NR2C alt birimi doğumdan sonra 5. günde ortaya çıkar ve 10. günde pik yapar. NR2B alt biriminin NR2C alt birimine yer değiştirmesi sinaptik olgunlaşma ile uyumluluk gösterir (68). Ratda NR1 ve NR2A alt birimleri doğumdan sonra 21. günde pik yapar ve yaşla birlikte artar. Diğer yandan NR2B alt birimi doğumda yüksektir ve doğumdan sonra 14. günde pik yapar ve 21. güne doğru ise azalır. Doğumda NR1-NR2B alt birimleri bulunan NMDA reseptörleri, NR1-NR2D ve NR1-NR2B/NR2D alt birimleri bulunan reseptörlerden daha fazla bulunur. Doğumdan sonra 14. günde NR1-NR2B alt birimleri bulunan NMDA reseptör seviyeleri, NR1-NR2A alt birimleri bulunan NMDA reseptör seviyelerinden daha yüksek iken 21. günde ise NR1-NR2A alt birimleri bulunan NMDA reseptör düzeyleri daha yüksektir (73).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Süleyman Demirel Üniversitesi (SDÜ) Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 2927-TU-11 proje numarası ile desteklenen çalışmamız, SDÜ Tıp Fakültesi Hayvan Üretimi ve Deneysel Araştırma Merkezi, Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı ve Biyofizik Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız deney hayvanlarının bilimsel amaçla kullanılabilmesi için SDÜ Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurulu (HADYEK)'nden 28.06.2011 tarih ve 12-03 sayılı kararı ile onay alınarak etik kurul kurallarına uygun bir şekilde yapılmıştır.

3.1. Gereç

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada Wistar albino cinsi, süttten yeni kesilmiş 21 günlük 21 adet erkek rat kullanılmıştır. Ratlar deney (n=12) ve kontrol (n=9) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Manyetik alan maruziyetini sağlamak için monopol anten ve içine ancak bir ratın sığabileceği büyüklükteki pleksiglass kafes kullanılmıştır. Daha önce yapılan benzer bir çalışmada kontrol grubu ile sham grubu arasında anlamlı fark olmadığından HADYEK'in önerisiyle sham grubu oluşturulmadı (74).

Deney grubu: Günde 1 saat olmak üzere 28 gün boyunca 2.45 GHz manyetik alana maruz bırakılmıştır.

Kontrol grubu: Hiçbir etkiye maruz bırakılmadan kafeslerde bekletilmiştir.

3.1.2. Projenin Yapıldığı Ortam ve Koşullar

Ratlar EMA geçirmeyen, özel olarak tasarlanmış bir odada, ideal koşullar olan 20-25°C sıcaklık, %45-60 nispi nem ve günde 12-16 saat ışık görmeleri sağlanacak şekilde tutulmuşlardır. Denekler; yeterli miktarda hayvansal ve bitkisel protein, vitamin ve mineral madde bulunduran ve tüketilen yem miktarını ölçmekte kolaylık sağlayan, standard kalın pellet yem (Korkutelim Yem Gıda Sanayi Ticaret

AS, Antalya) ile beslenmiştir. Ortam sıcaklığı ve havalandırma, SDÜ Hayvan Denepleri Araştırma Laboratuvarı tarafından ayarlanmıştır.

3.1.3. Maruziyet Sistemi ve Tasarımı

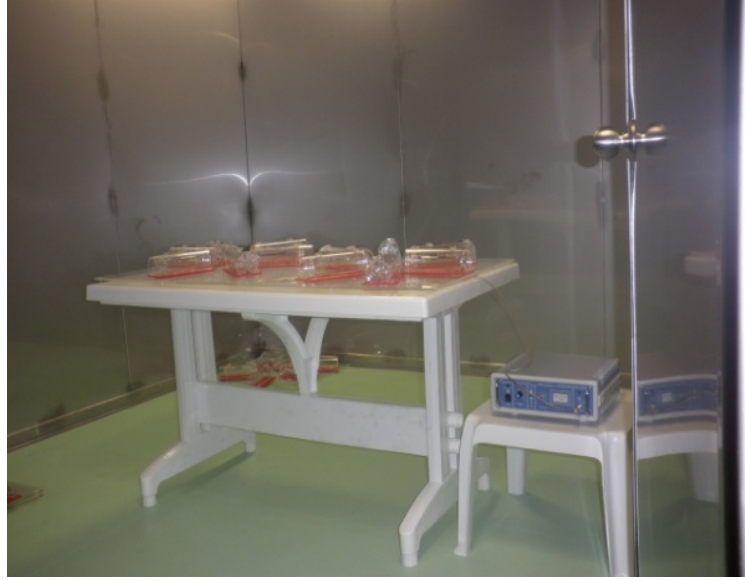
Deneysel 2.45 GHz maruziyet için, 217 Hz darbeleri RF enerji kaynağı olan RF kaynağı (SET ELECO, Set Elektronik, İstanbul) cihazı ve bu cihaza ait monopol anten düzeneği kullanılmıştır. Bu cihaz ile yapılan ön çalışmalarda, antene çok yakın noktalarda (yakın alan bölgesinde) 45.5 V/m elektrik alan yoğunluğu oluşturabildiği ve bu durumda anten çıkış gücünün 1 watt olduğu görülmüştür. Ancak çalışmanın gerçekçi olması için hayvanın tüm vücut ortalama SAR değeri 0.1 W/kg olacak şekilde ve anten RF çıkış gücünün 0.8 Watt ile sınırlandırılması yapılmıştır (75). Maruziyet alacakları zaman hayvanlar Carousel tip düzeneğe yerleştirilmiş ve maruziyet sırasında kıpırdamadan duracakları, büyüklüklerine göre 3 ayrı boyda özel olarak yaptırılmış, EMA'yı tam olarak iletebilen, sabitleyici, PVC kutularda tutulmuşlardır (Şekil 5).

Düzenek 6 hayvana aynı anda ve eşit maruziyet uygulayacak şekilde tasarlanmıştır (Şekil 5). Maruziyet günde 60 dk ve hergün üst üste 12:00-13:00 saatleri arasında uygulanmıştır. Toplamda 28 gün uygulanmıştır.



Şekil 5. RF oluşturan cihazla birlikte deneklerin maruziyet esnasındaki görüntüsü

Kontrol grubunun maruziyetten etkilenmemesi için SDÜ Hayvan Denepleri Laboratuvarının 1 odası, 1 mm kalınlığındaki paslanmaz çelik topraklama levhaları ile kapatılmıştır (100 dB elektromanyetik ekranlama verimliliği ile) (Şekil 6).



Şekil 6. Çelik tabakalarla tamamen dış ortam radyasyonundan izole edilmiş çalışma odası

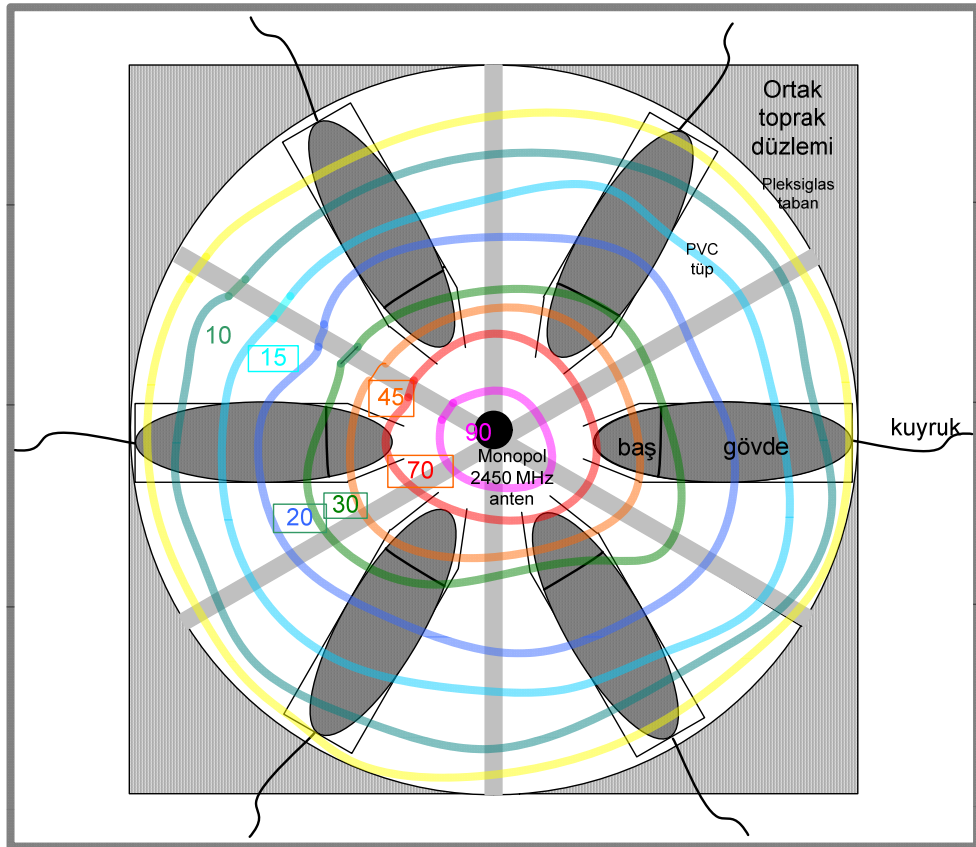
Deney başlangıcında RF enerjinin kontrol edilmesi ve gözlenmesi amacıyla kullanılan teknik cihazlar SDÜ Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Elektronik ve Haberleşme Mühendisliği Bilim Laboratuvarlarından temin edilmiş ve teknik mühendislik desteği de bu Bilim Dalının öğretim üyelerinden alınmıştır. Darbe tekrarlama zamanı ve frekansın ölçülmesi için spektrum analizör (Promax, MC-877C, Barcelona, Spain) kullanılmıştır. Ortamda istenmeyen EMA'ların gözlenmesi için RF Portable Survey System (Holaday, HI-4417, Minnesota, USA) cihazı kullanılmıştır. Bu çalışmada biyolojik dokularda emilen enerjinin hesabı için Zamanda Sonlu Farklar Metodundan yararlanılmıştır (76, 77). SAR hesabı için önce ortamda ölçülen EA, biyolojik dokunun antene olan uzaklığı ve dokunun 2.45 GHz'deki elektriksel parametreleri bulunmuş ve Zamanda Sonlu Farklar Metodu, MATLAB yazılımı ile hesaplanmıştır (77, 78). Yapılan çalışmalar ile tüm vücut ortalama SAR değerinin 0.1 W/kg (tam olarak 0.143 W/kg)'a ayarlanabildiği görülmüştür. Kablosuz haberleşme cihazlarının çalışma koşullarına bağlı olarak ve genel olarak 0.1 W/kg SAR indükleyebildikleri bilinmektedir (79, 80).

3.1.4. 2.45 GHz ISM Bandı (WiFi Haberleşme) Monopol Anteninden Yayılan 1 Watt Enerjinin Soğurma Hesabı

Antenden eşit uzaklıkta tutulan ve aynı anda maruz bırakılan 6 adet rat için maruziyet düzeneği, Şekil 7’de görülmektedir. Burada her ratın tüm vücut maruziyeti eşit olmaktadır. Çünkü anten tüm yönlere eşit yayılım sağlamaktadır ve düzenek tam simetriktr. Antenden uzaklaştıkça simetrik olan yayılan EMD’lar, halkalar şeklinde şematize edilmiştir. Halkaların içindeki rakamlar, Volt/m cinsinden giderek azalan EA değerlerini göstermektedir.

2.45 GHz’te rat dokuları için ϵ_r , iletkenlik; σ , özgül ağırlık; ρ değerleri bilimsel literatürde verilen tablolardan bulunmuştur (81, 82).

Literatürden alınan doku özellikleri ile Zamanda Sonlu Farklar Metodu (FDTD) kullanan yazılım, ortalama tüm vücut SAR değerini 0.1 W/kg olarak bulmuştur.



Şekil 7. Maruziyet düzeneği şeması

3.2. Yöntem

3.2.1. Morris Su Labirenti ve Öğrenme Testleri

Su labirenti 150 cm çaplı, içi beyaz boyalı, galvanik metalden yapılmış dairesel bir havuzdur. Su labirentinin bulunduğu laboratuvar, labirentin dört yanına yerleştirilmiş ve ışığı tavana yansıtılmış halojen lambalar ile aydınlatılmıştır. Su labirentinin çevresinde sabit olarak tutulan görsel ipuçları (tablo, sandalye, masa) konulmuştur. Deney öncesi su labirenti su ile doldurulmuş, 23 °C'ye ısıtılmış ve toksik olmayan sarı boya ile boyanmıştır. Labirent SMART versiyon 2.5 bilgisayar programı kullanılarak “1. kadrant”, “2. kadrant”, “3. kadrant” ve “4. kadrant” olmak üzere dört kadranta ayrılmıştır. 4. kadrant hedef kadrant olarak belirlenmiş ve bu kadranta su seviyesinin 2 cm altında kalacak şekilde gizli bir platform konulmuştur. Herbir rat yüzü labirentin duvarına dönmüş şekilde ve her defasında rastgele, farklı bir kadrandan havuza bırakılmıştır. Her rata 1 dk süre tanınmış, platformu bulamazsa elle platform üzerine yönlendirilerek ilk gün 30 sn, ikinci günden itibaren 15 sn platform üzerinde kalmasına izin verilmiş böylece mekanı algılaması ve hedefini öğrenmesi için şans tanınmıştır. Platformu bulan ratlar için de ilk gün platform üzerine çıktıktan sonra 30 sn dinlenme süresi tanınmıştır. Tüm egzersizler havuzun üzerinde tavana asılı bir kamera ile (Sony SSC-DC398P, Japonya) kaydedilmiştir. Günde 5 eğitim olacak şekilde, 4 gün boyunca eğitim devam etmiştir ve her bir rat toplam 20 egzersiz yapmış ve platformun yerini bulmayı öğrenmişlerdir. Herbir rat için gün içindeki egzersizleri arasında en az 20 dk olmasına özellikle dikkat edilmiştir. Beşinci gün platform bulunduğu kadrandan kaldırılmış ve her bir ratın hedef kadranda geçirdiği süre kaydedilmiştir (Probe Trial). Bu bellek ya da öğrenme düzeyini ölçen testin ardından ‘Görünür Platform Testi’ yapılmıştır. Bu testte su seviyesi düşürülerek platform görünür hale getirilmektedir. Ardından ratlar her defasında hedef kadrant olarak bilinen ‘4. kadrant’dan bırakılırken platform diğer kadrantlara taşınmıştır. Bu testi yapmaktaki amaç ise yapılan 28 günlük EMA uygulamasının rat üzerinde görme işlevi üzerine lokomotor aktiviteye ya da motivasyona yan etkileri olup olmadığını saptamak ya da ekarte etmektir (83).

3.2.2. EEG

EEG kayıtları sakrifiye edilmeden önce gruplardaki tüm hayvanlardan Poligraf cihazı (ADI Instruments, Avustralya) ile alınmıştır. Kayıt esnasında gürültüyü önlemek amacıyla hayvanlar stereotaktik olarak sabitlendi. Tüm kayıtlar, elektriksel iletken bir metal ile kaplanmış, içteki hacmi dışardaki elektrik alanlardan koruyan ve faraday kafesi adı verilen yapı içerisinde alındı. Kayıt öncesinde hayvanlar kayıt için paslanmaz çelikten imal edilmiş elektrotlar kullanıldı. Negatif elektrot frontal korteks üzerine, pozitif elektrot parietal korteks üzerine, topraklama elektrodu ise kuyruk köküne bağlandı. Hayvanlar poligraf sistemi ve XA-400 quad kanal diferansiyelli yükseltece (ML 870, ADI Instruments) sahip kayıt cihazının amplifikatörüne bir mikrokonnektör vasıtasıyla bağlandılar. EEG biyopotansiyeli ADI Instruments X-chart 5 bilgisayar programı ile kaydedildi (zaman sabiti 1 sn, Low-pass filtre 50 Hz, High-pass filtre 1 Hz, Range 200 μ V). Elektrotlar yerleştirildikten sonra 5 dakika boyunca bazal EEG kayıtları alındı. EEG kayıtlarının değerlendirilmesi 5 dakikalık bu sürenin sona ermesinden sonra elde edilen kayıtlar üzerinde gerçekleştirilmiştir. EEG çekimi sırasında ortaya çıkan ve normal (bazal) aktivite düzeyinden ayırt edilebilen, birdenbire başlayan ve hızla maksimuma ulaşan ve yine birden bire bitme eğilimi gösteren aktiviteler 'paroksizma' olarak tanımlanmaktadır. Patolojik beyin dalgaları ya teta ve delta gibi yavaş dalgalar veya paroksizmal dalgalardır. Deney protokolünde (AD Instruments Lab Tutor-EEG Records) belirtilen 'Spike (diken)' dalgalar beyindeki 20-70 milisaniye süreli paroksizmal aktivitenin göstergesi olarak kabul edilmiştir. Elde edilen bulgular ortalama diken dalga görülme sıklığı ve diken dalganın ilk görülme zamanı (First Spike Latency) açısından değerlendirilmiştir.

3.2.3. Beyin Dokusunun Elde Edilmesi

EEG çekiminin ardından %10'luk ketamin (90 mg/kg) (Alfamin, Alfasan IBV) - %2'lik ksilazin (10 mg/kg) (Alfazin, Alfasan IBV) anestezisi altında ratlar sakrifiye edilmiştir. Soğuk fosfat tamponuyla ıslatılmış buz aküsü üzerinde kafatasından beyin dokusu ardından da hipokampus ayrılmıştır. Fosfat tamponu dolu ependorf tüplere hızla aktarılarak Biyokimya Laboratuvarına transfer edilmiştir.

3.2.4. Hipokampus Örneklerinin Homojenizasyonu

Aynı gruptaki farklı ratlara ait hipokampus örnekleri tartılıp yeterli protein yoğunluğunu sağlamak amacıyla ağırlıklarına göre 3 hipokampus 1 örnek oluşturacak şekilde birleştirilmiş ve ardından 1/5 oranında soğuk homojenizasyon tamponu (50 mM Tris-HCl (pH 7.5), 0.15 M NaCl, 1% Triton X-100, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 25 µg/ml leupeptin, 25 µg/ml aprotinin, 1 mM sodium orthovanadate, 10 µM benzamidin ve 4 mM p-nitrophenyl phosphate) ile homojenize edilmiştir. İlk adımda buz üzerinde teflon-cam homojenizatör ile 18-20 darbeye homojenizasyon yapılmış ardından 1 dk süreyle sonikasyon işlemi (UW-2070 Bandeun Electronic, Almanya) ile homojenizasyon tamamlanmıştır. Homojenize edilen örnekler +4°C'de, 10000 g'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Süpernatantlarından Lowry yöntemi kullanılarak protein tayini yapılmıştır (84). Son olarak süpernatantları porsiyonlanarak çalışılincaya kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.5. SDS-PAGE Yöntemi

Laemmli'nin yöntemi esas alınarak çalışılmıştır (85). % 7.5'lik lower jel ve % 4'lük upper jel hazırlanıp, kuyucuk başına son yoğunluğu 50 µgr protein olacak şekilde, doku homojenatı sample buffer ile 1/1 oranında dilue edilerek uygulama yapılmıştır.

3.2.6. Western Blot Yöntemi

SDS-PAGE prosedürü ile örneklerin protein içeriği jel üzerinde ayrılmıştır ve daha sonra polyvinylidene difluorid membrana (immobilon-P) transfer edilmek üzere transfer tankına alınmıştır. Transfer prosedürü sonrası anti NR2A (1/500), anti NR2B (1/500) ve beta aktin (1/5000) içeren solüsyonlarda bir gece boyunca inkübe edilmiştir. Daha sonra sekonder antikorla (1/10000) 1 saat süre ile inkübe edilen membranlar, taze hazırlanan BCIP/NBT solüsyonunda yeterli boyanma sağlanana kadar bekletilmiştir (86). Oluşan bantlar Kodak Image Station 2000 MM (Amerika) cihazı kullanılarak taranmıştır. Elde edilen bant yoğunlukları her bir reseptör subünitinin kendine ait β aktin bantları ile oranlanarak normalize edilmiştir.

Ardından kontrol grubunun bant yoğunluğu ortalaması 100 kabul edilerek deney grubunun buna göre değişimi % olarak ifade edilmiştir (87).

4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 15 programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Grupların verileri ortalama ve standart sapma dağılımları ile gösterilmiştir.

Grup içi günden güne değişimi değerlendirmek amacı ile Repeated Measure ANOVA (RMANOVA) kullanılmıştır. Öğrenmeye gün/zaman etkisi değerlendirilmiştir. Green House-Geisser düzeltmesi dikkate alınmıştır ($p < 0.05$). Farkın anlamlılığının hangi günden kaynaklandığını anlamak için T-test ile ikili karşılaştırmalar yapılmıştır.

Grupların NR2A ve NR2B reseptör düzeylerinin birbiriyle karşılaştırılması için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Western Blot sonuçları yüzde ortalama \pm SD olarak verildi. İstatistik anlamlılık değeri %95 güven aralığında $p < 0.05$ olarak alınmıştır.

Grupların EEG verilerinin birbiriyle karşılaştırılması için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Grupların ortalama diken sayısı ve ortalama ilk diken görülme zamanı sonuçları ortalama \pm SD olarak verildi.

5. BULGULAR

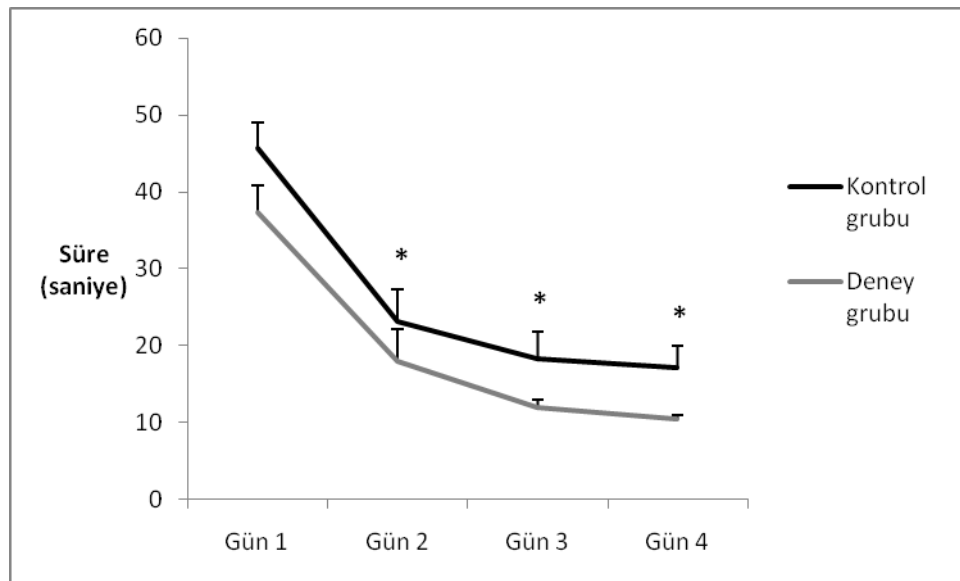
5.1. Morris Su Labirenti Test Sonuçları

5.1.1. Hedef Platformu Bulma Süresi

Morris su labirentinde eğitim dönemi boyunca (1.- 4. günler) hedef platformu bulma süreleri her iki grup için de kendi içinde değerlendirilmiş, bu şekilde grup içi günden güne değişim, öğrenmeye gün (zaman) etkisi değerlendirilmiştir ve tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır.

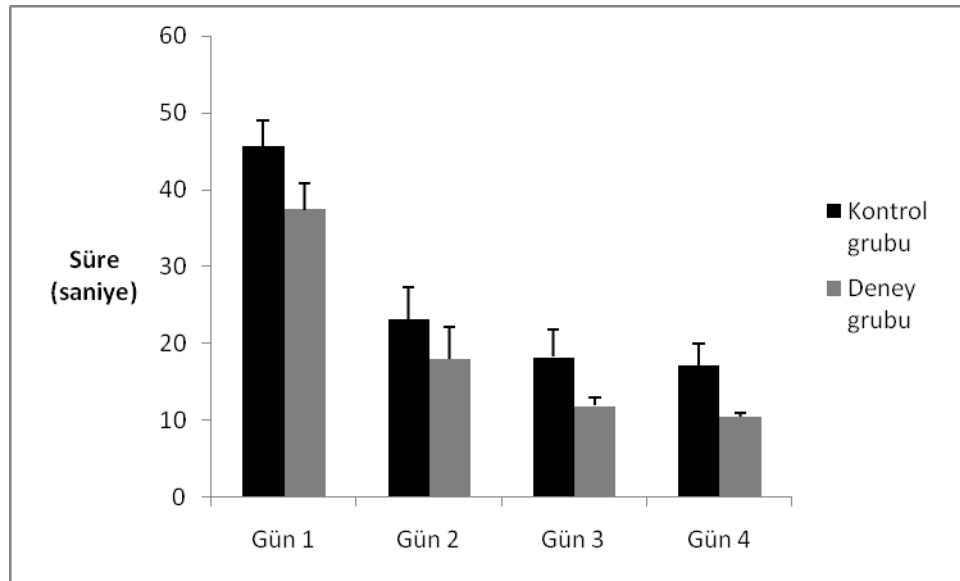
Her iki grupta da 1. ile 2. gün arasında ($p= 0.0001$); 1. ile 3. gün arasında ($p= 0.0001$); 1. ile 4. gün arasında ($p= 0.0001$) anlamlı fark saptanmıştır. Bu veriler her iki grubun da sistemi 2. günden itibaren öğrendiğini ifade etmektedir (Grafik 1A).

Hedef kadranı bulma süreleri açısından gruplar arasında fark olup olmadığı da incelenmiş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Grafik 1B, tablo 1).



“*” simgesi, heriki grupta da hedef platformu bulma sürelerinin 1. Gün ile karşılaştırıldığında 2., 3. ve 4. günlerde anlamlı olduğunu ifade etmektedir. Veriler “Tekrarlayan Ölçümlerde Varyans Analizi” ile değerlendirilmiş, ardından anlamlılığın hangi günden kaynaklandığını saptamak için ikili karşılaştırmalar t test ile yapılmıştır. Sonuçlar ortalama \pm ortalama standart hata olarak verilmiştir.

Grafik 1A. Morris su labirentinde hedef platformu bulma süresi açısından grup içi karşılaştırma



Grafik 1B. Morris su labirentinde hedef platformu bulma süresi açısından gruplar arası karşılaştırma

Eğitim döneminde tüm günler için gruplar arası karşılaştırmada anlamlı bir fark saptanmamıştır. Veriler Mann Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar ortalama \pm ortalama standart hata olarak verilmiştir.

Tablo 1. Morris su labirentinde öğrenme süreleri ve hedef kadranda geçirilen süreler

	Deney (n=12)	Kontrol (n=6)	p
1.gün (sn)	37.4 \pm 11	45.6 \pm 10	0.08
2.gün (sn)	17.9 \pm 14	23.2 \pm 12	0.22
3.gün (sn)	11.9 \pm 3	18.2 \pm 0	0.11
4.gün (sn)	10.4 \pm 2	17.1 \pm 8	0.25
Hedef kadranda (sn) speed total	14.4 \pm 2	15 \pm 2	0.43

‘*’ p<0.05 ifade etmektedir. Sn:saniye. n:gruptaki rat sayısı. Sonuçlar ortalama \pm ortalama standart hata olarak verilmiştir.

5.1.2. Probe Test

Dört günlük eğitim döneminin ardından hedef kadranda bulunan platform kaldırılmış ve bu kadranda geçirdikleri süre değerlendirilmiştir. Tablo 2’de

gösterildiği gibi gruplar arasında hedef kadranda geçirilen süre ve ortalama hızları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

5.1.3. Görünür Platform Testi (Visible Platform Test)

Görünür platform testi ile uygulanan radyofrekansın ratların motivasyonu ve lokomotor aktivitesi üzerine olası etkileri değerlendirilmeye çalışılmıştır. Deney grubu kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha uzun sürede görünür platforma ulaşmıştır. Ancak hızları açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktur (Tablo 2). Bu durum şöyle değerlendirilebilir; deney grubunda lokomotor aktiviteden öte motivasyon ve dikkat açısından olumsuz yönde etkilenme olmuştur.

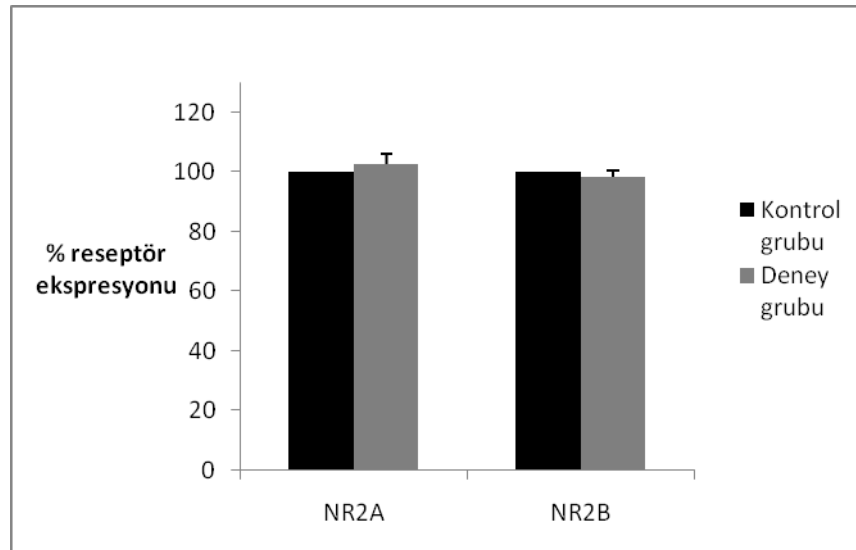
Tablo 2. Morris su labirentinde hafıza işlevlerinin değerlendirildiği test verileri

	Deney (n=12)	Kontrol (n=9)	p
Hedef kadranda geçirilen süre (sn)	30.8 ± 1.59	26.4 ± 1.79	0.081
Görünür platformu bulma süresi (sn)	24.7 ± 4.3*	13.5 ± 4.3	0.039
Ortalama hız (cm/sn)	14.4 ± 0.6	15 ± 0.8	0.43

“*” simgesi, görünür platformu bulma süreleri açısından gruplar arasında anlamlı fark olduğunu ifade etmektedir. Veriler Mann Whitney U test ile değerlendirilmiştir. Sn:saniye, cm:santimetre, n:gruptaki rat sayısı. Sonuçlar ortalama ± ortalama standart hata olarak verilmiştir.

5.2. Western Blot Analizi ile NR2A ve NR2B Reseptör Düzeyleri

Reseptör ekspresyonlarının gruplar arası değerlendirmesinde kontrol grubunun her iki reseptör açısından optik dansite ortalaması ayrı ayrı 100 kabul edilmiş ve deney grubunun her iki reseptör için ölçülen optik dansiteleri 100 ile karşılaştırılarak yüzde değişim şeklinde ifade edilmiştir. NR2A ve NR2B reseptör ekspresyonları açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$) (Grafik 2, tablo 3).



Grafik 2. Western Blot analizi ile NR2A ve NR2B reseptör yoğunlukları. NR2A: NMDA reseptör 2A subüniti, NR2B: NMDA reseptör 2B subüniti. Her bir reseptör için kontrol grubu konsantrasyon değerlerinin ortalaması 100 kabul edilmiş ve tüm gruplar kontrole göre yüzde değişim olarak ifade edilmiştir.

Tablo 3. NR2A ve NR2B reseptör yoğunlukları

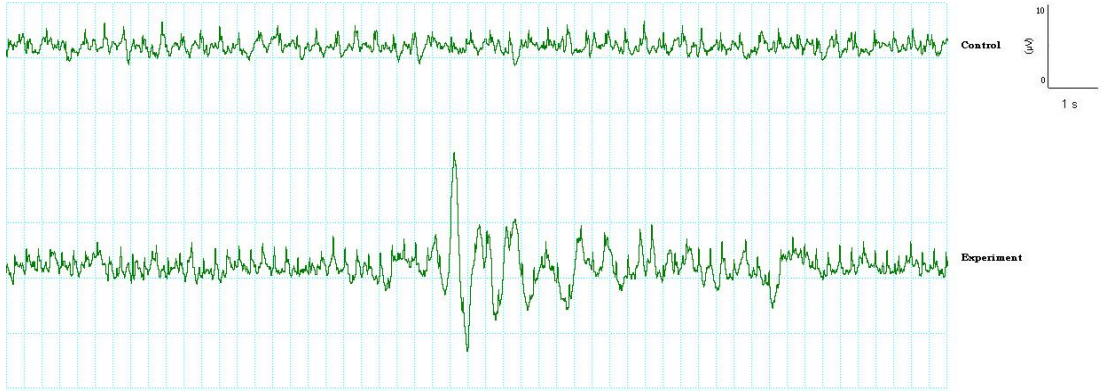
Reseptörler	Deney (n=12)	Kontrol (n=9)	p
NR2A (optik dansite) (%)	102.5±18	100.0±0	0.094
NR2B (optik dansite) (%)	98.5±10	100.0±0	1

‘*’ p<0.05 ifade etmektedir. n:gruptaki rat sayısı. NR2A: NMDA reseptör 2A subüniti, NR2B: NMDA reseptör 2B subüniti

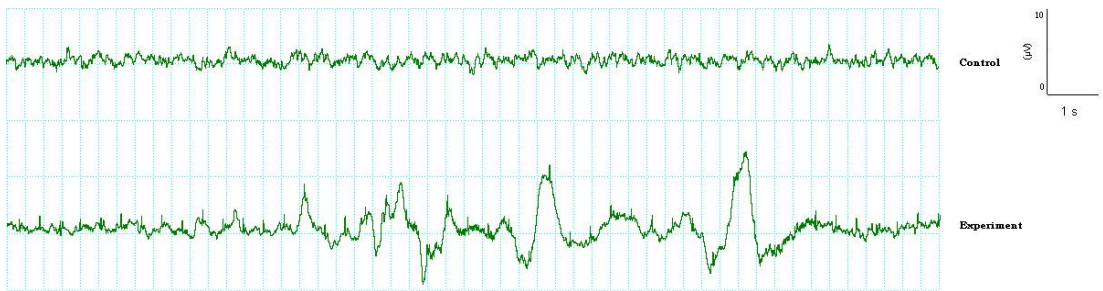
5.3. EEG Sonuçları

Deney gruplarından elde edilen EEG kayıtları, Diken dalgalar ve filtrelenmiş kayıtlar (Alfa Dalgalarının gösterimi: High cutoff; 12 Hz ve Low cutoff; 8 Hz) sırasıyla şekil 8 ve şekil 9’da sunulmuştur. Grupların ortalama diken sayıları şekil 10 ve tablo 4’de gösterilmiştir. Diken sayısı açısından gruplar karşılaştırıldığında deney grubunda kontrol grubundan anlamlı olarak daha fazlaydı. Total beyin aktivitesi sonucu elde edilen kayıtlarda, kaydın yaklaşık %70’ini alfa dalgalarının oluşturduğu tespit edilmiştir. Beyin dalgalarının genlikleri ise deney protokolünde sunulduğu (AD Instruments Lab Tutor-EEG Records) gibi -50 (±5) ile +50 (±5) mili volt arasında değişkenlik göstermiştir. Kontrol grubunda alınan EEG

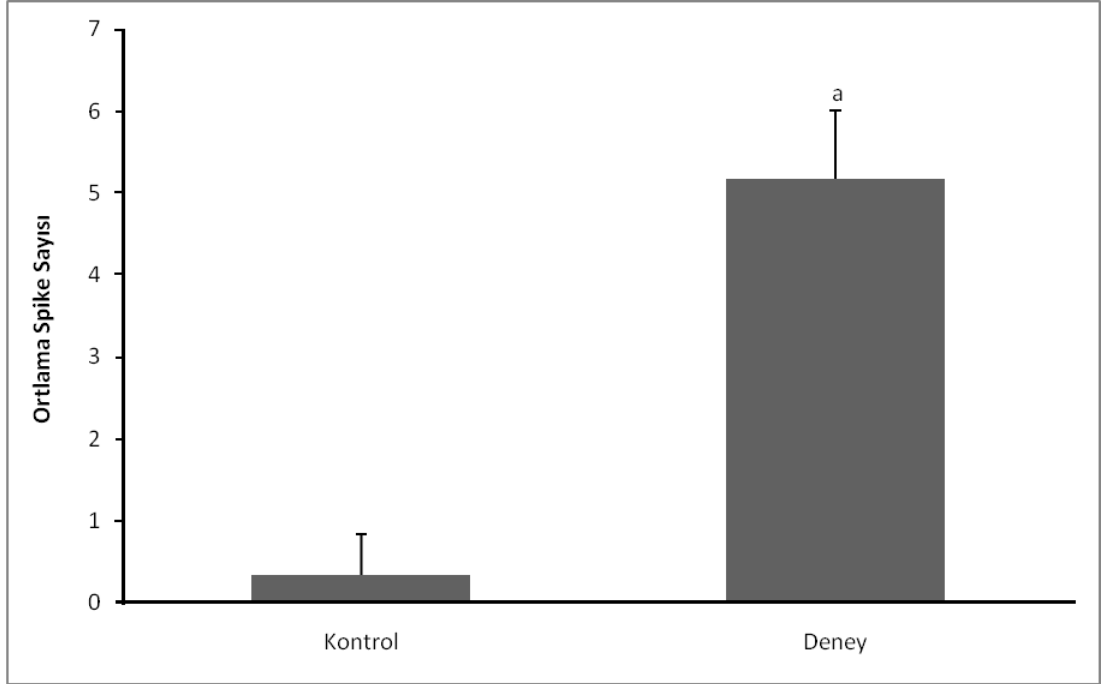
kayıtları deney protokolüne uygunluk gösterirken, deney grubunda alınan kayıtlarda ise nöronal deşarjlar sonucu oluşan, genlikleri (amplitüd) normal kayıtlara oranla 2-3 kat büyük olan ve 'Diken' olarak adlandırılan dalgalar tespit edilmiştir. Görülen Dikenlerin sıklığı ve ilk görülme zamanları (Spike Latency) açısından elde edilen bulgular değerlendirilmiştir. Şekil 10'da gösterildiği gibi, ortalama diken sayısı açısından değerlendirildiğinde, deney grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamda önemli derecede ($p < 0.005$) bir artış olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde ilk diken görülme zaman ortalamaları karşılaştırıldığında deney grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamda önemli derecede daha kısa bir sürede ilk diken dalgasının gözlemlendiği tespit edilmiştir (Şekil 11 ve tablo 4).



Şekil 8. Grupların ortalama EEG kayıtları ve diken dalgalar

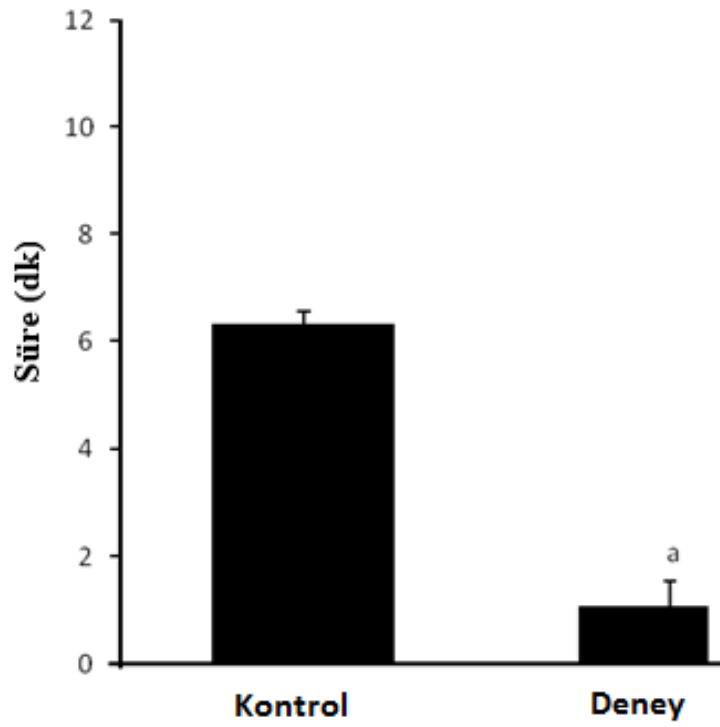


Şekil 9. Kontrol ve deney gruplarına ait EEG kayıt örnekleri (Alfa Dalgalarının gösterimi: High cutoff; 12 Hz ve Low cutoff; 8 Hz filtreleme)



'a' $p < 0.05$ ifade etmektedir.

Şekil 10. Grupların ortalama diken sayısı



'a' $p < 0.05$ ifade etmektedir. Dk:dakika

Şekil 11. Ortalama ilk diken görülme zamanı (Spike Latency)

Tablo 4. Grupların ortalama diken sayısı ve ortalama ilk diken görülme zamanı

	Deney (n=12)	Kontrol (n=9)	P
Ortalama diken sayısı	5.25±2.32	0.22±0.14	0.017*
Ortalama ilk diken görülme zamanı (dakika)	1.06±0.55	6.35±1.59	0.015*

*' p<0.05 ifade etmektedir. n:gruptaki rat sayısı. Sonuçlar ortalama ± ortalama standart hata olarak verilmiştir.

6. TARTIŞMA

Elektromanyetik dalgalar, birçok doğal ve insan yapımı kaynaklar tarafından yayılmakta ve hayatımızda önemli bir rol oynamaktadır. RF bölgesinde (3 kHz -300 GHz) yer alan elektromanyetik dalgalar iletişimde, radyo ve televizyon yayınlarında kullanılmaktadır. Teknolojideki gelişmelerin sonucu olarak elektromanyetik dalgaların kullanımı her geçen gün artmakta ve dolayısıyla günlük hayatımızda, doğada bulunanın çok üstündeki seviyelerde elektromanyetik dalgalara maruz kalmaktadır. Özellikle 2.45 GHz'lik radyasyonun geniş bir yayılma alanı vardır. Bugün 2.45 GHz radyasyon çoğu ev aletlerimizde (mikrodalga fırın, kablosuz bilgisayar) görünür ve birçok nörolojik etkiye sahiptir. Çeşitli çalışmalarda 900 MHz EMR maruz kalan hayvanların beyinlerinde nöron sayısında azalmalar ve korteks, serebellum, hipokampus ve bazal gangliyonlarda nöral hasar gösterilmiştir (88-90).

Günümüzde insanlar anne karnından başlayarak hayatının her döneminde EMR'ye maruz kalmaktadır. Özellikle yenidoğan ve çocukluk döneminde EMR'nin beyin üzerine olan etkileri ile ilgili bilgiler kısıtlıdır. Çalışmamızda süttten yeni kesilmiş ratlar kullanarak EMR'nin gelişmekte olan beyin üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık. EMR'nin etkileri yaşla değişkenlik gösterebilmektedir. EMR'nin doz tespiti ve risk tayini ile ilgili olarak yaşla ilişkili değerlendirilmeler yapılmış ve genç ratlarda dokuların elektriksel geçirgenlik ve iletkenliğinin erişkinlerden daha yüksek olduğu saptanmıştır. Çalışmalarda tüm vücut ortalama SAR değerinin çocuklarda yetişkinlerden daha yüksek olduğunu belirtmektedir (91, 92). Ayrıca çocuğun antene olan uzaklığı, kendi boyutu, oturur ya da yatar konumda olması, farklı vücut bölümlerinde değişik SAR değerlerine ulaşılmasına yol açabilir. Örneğin kablosuz internet kullanımının incelendiği bir çalışmada, oturur durumdaki 10 yaşında erkek dizüstü bilgisayar kullanıcılarının özellikle baş bölgesindeki SAR değerinin diğer vücut bölümlerinden daha yüksek olabileceği gösterilmiştir (79). Başın gövdeye göre büyük, cilt ve kafatasının ise daha ince olması çocuklarda aynı EMR'ye maruz kalan erişkinlere göre daha yüksek SAR değerleri saptanmasının başlıca sebeplerindendir. Çalışılan model ne kadar genç ise, yüksek frekansta oluşan direnç etkisi ve bu etkinin oluşturduğu SAR değeri de yüksek olmaktadır. Conil ve ark. (93) çalışmalarında ortalama direnç frekansını, yetişkinde 60 MHz 12, 8 ve 5

yaşlarda sırasıyla 80, 100 ve 120 MHz olarak bildirmiştir. Amplitüdüler dikkate alındığında tüm vücut SAR değeri erişkinle kıyaslandığında 12, 8 ve 5 yaşlarında sırasıyla %26, %38 ve %48 oranında artmaktadır.

Çalışmamızın temel amacı EMR'nin sinir sistemi üzerine etkilerini araştırmaktır. Literatürde EMR'nin sinir sistemi üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalar hızla artmaktadır. EMR'ye maruziyetin kan beyin bariyerine etkilerinin ısıl kaynaklı olup olmadığı tartışılmaktadır. Yüksek seviyede RF enerjiye maruz kalmanın sinir sistemi yapı ve işlevinde hasara yol açabildiği belirtilmektedir. İzole beyin dokusu ile yapılan çalışmalarla, ısıl mekanizmalar dışında farklı nedenler olduğuna dair bulgular saptanmıştır. Yüksek güç yoğunluğundaki maruziyetlerde, ısıl etkilerin ters etkiler yarattığı belirtilmiş, düşük güç yoğunluklarında ise biyolojik etkiler oluşabildiği, fakat bu etkilerin ısıl etki bazında olmadığı belirtilmiştir (94). EMR'in nörolojik etkileri; kan beyin bariyeri geçirgenliği, EEG ve kalsiyum akışı değişimleri gibi sıralanabilir. Elektromanyetik radyasyon serbest radikal bileşiklerinin ortadan kaldırılma hızlarını azaltarak, daha uzun süre etki etmelerine ve muhtemel zararlı etkilerini daha uzun süre ve daha kesin olarak gerçekleştirebilmelerine neden olmaktadır. Dolayısıyla EMR'nin beyinde serbest radikal miktarını artırması, ilk bakışta hücrel hasar ve tümör oluşumu gibi etkileri de beraberinde getirebileceğini düşündürmektedir (95).

Beyin elektriksel aktiviteleri olan bir organdır. EEG ile elektriksel aktivitedeki değişiklikler kaydedilebilmektedir. Çalışmamızda ratlarda EMR'nin EEG üzerine etkisini araştırdık ve EMR'ye maruz kalan ratlarda diken sayısının istatistiksel anlamda önemli derecede arttığı ve ortalama ilk diken görülme zamanının da istatistiksel anlamda önemli derecede daha kısa olduğunu tespit ettik. Literatürdeki EMR'nin EEG üzerine etkisini araştıran çalışmalar insan ve hayvan çalışmaları olarak iki grupta inceleyebilir. Çalışmaların çoğu insanlarda olup, rat çalışmaları az sayıdadır. Vorobyov ve ark. (96) ve Petrova ve ark. (97) düşük frekanslı EMR'nin kullandığı rat çalışmalarında EEG değişikliklerinin olduğunu bildirmişlerdir. Literatürde 2.45 GHz ile yapılan iki rat çalışması mevcuttur. Thuroczy ve ark. (98) yaptığı çalışmada EEG değişikliğinin olmadığı tespit edilmiştir. 2009 yılında Nazıroglu ve ark. (74) 2.45 GHz EMR'ye maruz kalan ratların EEG kayıtlarında diken sayısının arttığını fakat bu artışın istatistiksel olarak

anlamli olmadigini bildirmisttir. Calismamiz 2.45 GHz EMR'nin EEG uzerine etkisinin arastirildiği rat calismalariyla karšilastirildiğında istatistiksel anlamda EEG değişikligi olduğunu bildiren ilk rat calismasıdır. Ayrıca 2.45 GHz EMR ile yapılan önceki EEG calismalarından farklı olarak calismamızda süttten yeni kesilmiş ratlar kullanılmıştır. Calismamız bu yönüyle de literatürdeki diğer calismalardan farklılık göstermektedir.

Elektromanyetik radyasyonun EEG uzerine etkisini arastıran calismaların büyük bir bölümü gönüllü deneklerde uyku laboratuvarlarında yapılmıştır. EEG calismaları direkt insanlarla yapılmış calismalar olmaları açısından önem taşımaktadır. EMR'nin EEG kayıtları uzerine etkisini arastıran calismalarda farklı sonuçlar bildirilmiştir (99-105). Literatürdeki calismaların çoğu mobil telefon ilişkili EMR maruziyeti ile ilgilidir. Nittby ve ark. (106) EMR'nin kan-beyin bariyerini etkileyerek EEG kayıtlarında değişikliğe neden olduğunu bildirmıştır. Ancak bu calismada ortaya çıkan sonuçtan farklı olarak literatürde 2.45 GHz EMR'nin kan-beyin bariyerini etkilemediğini bildiren calismalar vardır (107, 108). Röscke ve ark. (101) mobil telefonla ilişkili EMR'nin (900 MHz) etkisini 34 erkek bireyin EEG kayıtlarıyla arastırmış ve EEG kayıtlarında herhangi bir değişiklik olmadığını bildirmıştır. Bu calismaya benzer olarak 2000 yılında Hietanen ve ark. (102) ve 2008 yılında Kleinlogel ve ark. (103) mobil ilişkili EMR (900 veya 1800 MHz) nin insan EEG kayıtlarında değişikliğe neden olmadığını bildirmıştır. On gönüllü yetişkin ve 10 çocuk ile yapılan EEG calismasında 900 MHz'in EEG'ye özellikle delta dalga aktivasyonuna etkili olduğu tanımlanmıştır (104). Bir başka calismada cep telefonu bireylerin baş bölgelerinin arka tarafına yerleştirilmiş, konuşma modunda ve aktif bekleme modunda iken alfa (8–13 Hz) ve beta (13–32 Hz) dalgalarında değişimin olduğunu tespit edilmiştir (99). 900 MHz, cep telefonu ve baz istasyonu sistemlerine benzer teknik kurulumlara sahip iki ayrı sistemle 12 sağlıklı sağ elini kullanan erkek gönüllüye 30 dakika uygulama yapılmış, cep telefonu sistemlerine benzer sistemde serebral kan akımı daha yüksek bulunmuş ve uyanıklık ve uyku durumu EEG'de değişimler gözlenmiştir (105). İki bağımsız laboratuvar tarafından yapılan bir arastırmada toplam 32 gönüllü ile 902 MHz cep telefonu modeli uygulanarak bilişsel işlevler incelenmiştir. Finlandiya ve İsveç'te yapılan bu gönüllü calismasında 902 MHz cep telefonlarına maruz bırakılan insanlar Basit Reaksiyon Süresi Testi (Simple

Reaction Time Task) kullanılarak bilişsel işlevler açısından incelenmiş ve bir fark bulunmamıştır (109). Başka bir grubun yaptığı bilişsel işlev çalışmasında 55 gönüllü bilgi işleme, dikkat yürütme işlevleri açısından incelenmiş ve herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (110). 16 sağlıklı gönüllü erkek ile yapılan başka bir EEG çalışmasında ise cep telefonu frekanslarının SP (Slow Brain Potential, Yavaş Beyin Potansiyeli) değişimine neden olduğu fakat bu etkinin ne gibi fizyolojik değişimleri beraberinde getireceğinin belli olmadığı açıklanmıştır (111). Son olarak 2013 yılında yapılan bir çalışmada üçüncü nesil (3G) mobil telefonla ilişkili EMR'nin insan EEG kayıtları üzerine etkisi olmadığı gösterilmiştir (112).

Öğrenme ve hafıza, MSS'nin birçok bölgesi ile ilgili karmaşık işlevleri içerir (46). Karmaşık bir işlev olan öğrenme, sosyal ve fiziksel çevrenin yanında fizyolojik şartlardaki değişikliklerden de etkilenir. MSS, gebeliğin 6. ayından doğumdan birkaç yıl sonrasına kadar olan kritik gelişme döneminde dışarıdan gelen uyarılara daha duyarlıdır. Elektromanyetik alana bu dönemde maruziyet, öğrenme ve hafıza merkezi olan hipotalamus üzerine olumsuz etkilere neden olabilmektedir (113-115). Çalışmamızda öğrenmeyi hedef platformu bulma süresi ile değerlendirdik. Hedef platformu bulma süresi deney grubunda daha kısa olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi. Çalışmamızın bu bulgusu EMR'nin öğrenme üzerine etkisi olmadığını göstermektedir. Farklı olarak Wang ve ark. (116) 2.45 GHz EMR'ye maruz kalan ratlarda öğrenme süresinin istatistiksel olarak daha uzun olduğunu göstererek EMR'nin öğrenmeyi etkilediğini bildirmişlerdir. Yine çok sayıdaki hayvan model çalışması 900 MHz'lik elektromanyetik alan etkisine maruz bırakılma sonrasında beyin korteksinde, beyincikte, hipokampusta ve bazal gangliyonlarda önemli derecede hücre kaybının olduğunu göstermiştir (117). Bu etkilerin öğrenme ve hafıza üzerinde yaygın olumsuz etkileri olduğu düşünülmektedir. Literatürdeki EMR'nin öğrenme üzerine etkisini araştıran diğer çalışmalardan farklı sonuç bulmamızın sebebinin süttten yeni kesilmiş rat kullanmamıza bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Kognisyonda santral kolinerjik işlevler önemlidir. 2.45 GHz EMR uzaysal hafıza defisitlerinin olduğu yolaktaki kolinerjik ve opiat işlevleri değiştirmektedir (118). Uzun süreli 2.45 GHz EMR'ye maruz kalan ratların hafıza ve uzaysal (spatial) öğreniminin belirgin olarak etkilendiği gösterilmiştir. Bu davranışsal bozukluklar

hipokampustaki kortikosteroid seviyelerinin, kortikosteroid reseptör aracılı transkripsiyon aktivasyonunun ve apoptozun artması ile açıklanmaktadır (119). Çalışmamızda hafızayı probe test ile değerlendirdik ve gruplar arasında hedef kadranda geçirilen süre ve ortalama hızları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu bulgular EMR'nin hafıza üzerine olumsuz etkisinin olmadığını göstermektedir. Literatürdeki çalışmaların çoğu EMR'nin hafıza üzerine olumsuz etkisi olduğunu bildirirse de çalışmamızın sonucuna benzer çalışmalarda da vardır (103, 120-122).

Mobil telefonla ilişkili (900 veya 1800 MHz) EMR'nin kognitif işlevler üzerine etkisini araştıran çok sayıda çalışma bildirilmiştir. 2008 yılında 15 sağlıklı insan (103) ve 2011 yılında 30 sağlıklı erkek üzerinde yapılan çalışmalarda mobil telefon ilişkili EMR'nin bilişsel işlevleri üzerine etkisi araştırılmış ve kognitif işlevlerde değişiklik olmadığı bildirilmiştir (120). Barth ve ark. (121) 2008 yılında 19 deneysel çalışmanın sonuçlarını içeren bir meta analiz yayınlamışlardır ve EMR'nin insan dikkati ve çalışma hafıza üzerinde hafif bir etkiye sahip olduğunu bildirmiştir. Barth ve ark. (122) 2011 yılında yayınladıkları son meta analizinde mobil telefon ilişkili EMR'nin insan kognitif işlevleri üzerine etkisi olmadığını bildirmişlerdir. 2012 yılında yayınlanan deneysel bir çalışmada (900 MHz) EMR'nin orta yaşta ratlarda davranışsal parametreleri etkilediği gösterilmiştir (123). EMR maruziyetinin öğrenme ve hafıza üzerine etkisinin water maze testi kullanılarak araştırıldığı bir çalışmada hipokampüste NR2A ekspresyonunun azalmasıyla korale olarak öğrenme ve hafızanın zarar gördüğü bildirilmiştir (124). Başka bir çalışmada ise EMR'ye (2.45 GHz) maruz kalan ratlarda davranışsal özellikler değerlendirilmiş ve EMR'ye kronik olarak maruz kalan ratlarda hiperaktivite saptanmıştır (125).

Çalışmamızda 2.45 GHz EMR'ye maruziyetin süre ve dozda öğrenme süreci ve hafıza üzerine olumsuz bir etkisi saptanmazken öğrenilen olguya motivasyonunu deney grubunda anlamlı düzeyde azalma saptanmış yani olumsuz yönde etkilenmiştir. Çalışmamızda görünür platform testinde EMR'ye maruz kalan ratlar daha uzun sürede görünür platforma ulaşmıştır ancak hızları açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Bu bulgu EMR'nin lökomotor aktiviteden öte motivasyon ve dikkat açısından olumsuz yönde etkilenme olduğunu göstermektedir.

Çalışmamıza benzer olarak EMR'nin sıçanlarda ve maymunlarda davranışa etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmaların neredeyse tümünde öğrenilen davranışın maruziyetle birlikte baskılandığı ortaya çıkmıştır. Davranış değişimi, üzerinde etkili olan güç yoğunluğu ve doz eşik değeri de belirlenebilmiştir. Uygulama süresine ve diğer parametrelere bağlı olarak etkinin açığa çıktığı eşik güç yoğunluğu değerleri 5 – 50 mW/cm² arasında değişmektedir (94). 1200 MHz, kesikli dalga alanlara maruz bırakılan sıçanlar bu alanlardan kaçarken, sürekli dalga alanlara maruz bırakılanlar aynı tepkiyi vermemişlerdir (126). Araştırmacılar kaçma davranışının mikrodalganın işitme sistemine etkisinden kaynaklı olabileceğini belirtmişlerdir. Mikrodalga alanların ısı olmayan etkisinden dolayı işitme sisteminde elektriksel potansiyel değişimler gözlemlendiği, işitme sistemindeki liflerin termo elastik genişlemesinden dolayı kulakta kesikli, çınlama benzeri seslerin oluştuğu düşünülmektedir. Çalışmada hayvanların kaçışının bu nedenden ötürü olabileceği açıklanmıştır (127). Başka bir çalışmada aynı güç yoğunluğu ve frekans kullanarak kesikli ve sürekli dalga alan maruziyetine bırakılan sıçanlar yine kesikli dalga alandan kaçarken, sürekli dalga alana aynı tepkiyi vermemişlerdir (128). 2.45 GHz, sürekli dalga, 2.7 W/kg alanlar 1 günde 420 dakika uygulandığında sıçanlarda lökomotor aktivite ve akustik uyarana tepki azalmıştır (129). 3000 MHz, kesikli dalga, 0.7 W/kg radyasyon 26 dakika sıçanlara uygulandığında koşu bandında sıçanların daha kısa süre kalabildiği gözlenmiştir (130).

NMDA reseptörleri üzerinde en çok çalışılan ve bilgi sahibi olunan reseptör kompleksidir. Monovalan katyonlara ek olarak, Ca⁺⁺ iyonunun da hücre membranından geçişini sağlar. Diğer iyonotropik reseptörlere kıyasla Ca⁺⁺'a karşı en az 5 kez daha fazla geçirgen olduğu gösterilmiştir (11). Merkezi sinir sistemine yaygın olarak dağılmıştır. Duysal ileti ve iletinin bütünleşmesi ile motor işlev ve aktivitenin koordinasyonu ve programlamasında yer alır (63). Çalışmamızda EMR'ye maruz kalan ve kontrol grubu ratların NR2A ve NR2B reseptör dansiteleri karşılaştırıldığında farklılık saptanmamıştır. EMR'nin NMDA reseptörleri üzerine etkisini araştıran çeşitli çalışmalar mevcuttur. Çin'de yapılan bir deneysel çalışmada 1800 MHz EMR'ye maruz kalan ratların çeşitli hipokampus bölgelerindeki NR2A ve NR2B reseptörleri ekspresyonun anlamlı olarak düştüğü saptanmıştır (131). Başka bir çalışmada ise EMR'ye maruz kalan ratlarda hipokampüste NR1, NR2A ve NR2C

ekspresyonun anlamlı olarak azaldığı, NR2D ekspresyonun anlamlı olarak arttığı ve NR2B ekspresyonunda değişiklik olmadığı bildirilmiştir (132).

Bazı araştırmacılar; EMR alanların sinir sistemi üzerine etkilerini farmakolojik açıdan ele almışlardır. Beyin nörokimyası ile ilgili birçok çalışma mevcuttur. Merrit ve ark. (133) 1600 MHz EMR'yi sıçanlara uyguladıklarında norepinefrin ve dopaminde azalışın olduğunu saptamışlardır. 24 W/kg SAR değerinin 10 dakika uygulandığı sıçanlarda ise hipokampal seratonin miktarının azaldığı gözlenmiştir. Aynı çalışmacılar, SAR değerini azaltarak, 3.0 W/kg olarak uyguladıklarında nörotransmitter miktarlarında yine değişimin olduğunu saptamışlardır (133). İlhan ve ark. (134) 2004 yılında yaptıkları araştırmalarında sıçan beyin dokusunda cep telefonu maruziyeti kaynaklı oksidatif stres olduğunu ve bu stresin Ginkgo biloba ile engellenebildiğini saptamışlardır.

Bu sonuçlar, 2.45 GHz elektromanyetik alanın özellikle çocukluk döneminde beyinde hasar verici ve dikkat üzerine olumsuz etkileri olabileceğini düşündürmektedir. Uluslararası otoriteler tarafından kabul edilen güvenli maruziyet sınırlarının özellikle bebek ve küçük çocuklara yönelik olarak yeniden gözden geçirilmesi gerekmektedir. Özellikle bebek ve küçük çocukların 2.45 GHz elektromanyetik alan kaynağından uzak mesafede bulunması ve uzun süreli maruziyetten kaçınılması gereklidir. Bu konuda önlemler alınması ve toplumun bilgilendirilmesi faydalı olacaktır. Yapılacak daha geniş ve kapsamlı çalışmalarla bulgularımızın karşılaştırılmasının uygun olacağını düşünmekteyiz.

7. SONUÇLAR

1. Yabancı veri tabanlarını taradığımızda çalışmamız 2.45 GHz elektromanyetik alanın EEG kayıtlarında istatistiksel olarak anlamlı değişikliğe neden olduğunu bildiren ilk rat çalışmasıdır.
2. Çalışmamızda elektromanyetik alana maruz kalan ratların EEG'lerinde diken sayısının anlamlı derecede arttığı ve ortalama ilk diken görülme zamanının da anlamlı derecede daha erken olduğunu saptadık. Bu bulgu elektromanyetik alanın EEG kayıtlarında hipereksitabiliteyi işaret eden değişikliklere neden olduğunu göstermektedir.
3. Ayrıca çalışmamız, süttten yeni kesilmiş ratlarda 2.45 GHz elektromanyetik alanın EEG üzerine etkilerini inceleyen ilk çalışmadır.
4. Elektromanyetik alanın öğrenmeyi etkilemediği gösterilmiştir.
5. Elektromanyetik alanın hafıza üzerine olumsuz etkisinin olmadığı gösterilmiştir.
6. Görünür platform testinde elektromanyetik alana maruz kalan ratlar daha uzun sürede görünür platforma ulaşmıştır ancak hızları açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Böylece elektromanyetik alanın lökomotor aktiviteden öte motivasyon ve dikkat açısından olumsuz yönde etkilerinin olduğu gösterilmiştir.
7. Elektromanyetik alana maruz kalan ve kontrol grubu ratların NR2A ve NR2B reseptör dansiteleri karşılaştırıldığında farklılık saptanmamıştır.
8. 2.45 GHz elektromanyetik alanın ratlarda öğrenme süreci ve hafızayı etkilemediği görülmüştür.
9. EMR'nin dikkat ve motivasyonu ise olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir.

ÖZET

2.45 GHz Elektromanyetik Alana Maruz Kalan Ratlarda, Bilişsel Fonksiyonların Water-Maze Hafıza Testi ve NMDA Reseptör Ekspresyonu ile Değerlendirilmesi, EEG Kayıtları ile Karşılaştırılması

Elektromanyetik radyasyon (EMR), biyolojik sistemi ve başta bilişsel işlevler olmak üzere birçok beyin işlevini etkileyebilir. Bu çalışmada 2.45 GHz EMR'ye maruz kalan sütten yeni kesilmiş ratların bilişsel işlevleri, bilişsel işlev göstergesi olan NMDA reseptörlerini ve EEG değişikliklerini incelemeyi amaçlanmıştır.

Bu çalışmada Wistar albino cinsi, sütten yeni kesilmiş (21 günlük) 21 adet erkek rat kullanılmıştır. Ratlar deney (n=12) ve kontrol (n=9) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Deney grubu günde 1 saat olmak üzere 28 gün boyunca 245 GHz manyetik alana maruz bırakılmıştır. Kontrol grubu hiçbir etkiye maruz bırakılmadan kafeslerde bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda ratlar Morris su labirentinde eğitim ve öğrenme testine tabi tutulmuştur. EEG kayıtları alındıktan sonra dekapite edilerek hipokampusleri çıkarılmıştır. Hipokampus homojenatlarında NR2A ve NR2B subunitleri Western Blot yöntemi ile çalışılmıştır.

Morris su labirentinde karşılaştırılan hedef kadranı bulma süreleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Benzer şekilde hedef kadranda geçirilen süre ve ortalama hızları açısından istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Ancak deney grubu kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha uzun sürede görünür platforma ulaşmıştır. NR2A ve NR2B reseptör ekspresyonları açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$). EEG kayıtları değerlendirildiğinde diken sayısı açısından gruplar karşılaştırıldığında deney grubunda kontrol grubundan anlamlı olarak daha fazla idi. Benzer şekilde ilk diken görülme zaman ortalamaları karşılaştırıldığında deney grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamda önemli derecede daha kısa bir sürede ilk diken dalgasının gözlemlendiği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak EMR'ye maruz kalan grupta lokomotor aktiviteden öte motivasyon ve dikkat açısından olumsuz yönde etkilenme olmuş, EEG kayıtlarında nöronal deşarj bulguları izlenmiştir. Bu veriler ışığında kablosuz internet frekansında EMR'ye uzun süreli maruziyet motivasyonu olumsuz etkileyebilir. Özellikle çocukluk döneminde EMR maruziyetinden uzak durulması dikkat ve motivasyon üzerine olumsuz etkileri önleyebilir.

Anahtar Kelimeler: Bilişsel fonksiyon, EEG, elektromanyetik radyasyon, NMDA, water-maze hafıza testi

SUMMARY

Evaluation of Cognitive Function by NMDA Receptor Expression and Water Maze Test, Comparison with EEG Records in 2.45GHz Electromagnetic Field Exposed Rats.

Electromagnetic radiation (EMR) may effect the biological system and many brain activities, cognitive activities in particular. In this study, we aimed to examine cognitive functions, NMDA receptors of neonatal rats that exposed to 2.45 GHz EMR, which are indicator for cognitive functions, and EEG alteration on neonatal rats.

In this study 21 weaned male rats, which are Wistar Albino species, are used. Rats were divided into two groups as experiment (n=12) and control (n=9). Experiment group was exposed to 2.45 GHz magnetic field 1 hour in a day, 28 days in total. Control group was waited in the cages without any exposure. At the end of this time, rats were tested in the Morris water maze. After EEG records were taken, rat's hippocampus were pulled out by decapitating them. On the hippocampus homogenates NR2A and NR2B subunits were studied via Western Blot method.

From the point of finding target in Morris water maze, there is no meaningful result is found when the groups were compared. Similarly, about elapsed time in the maze and average speed there is no meaningful result is found statistically. However, experiment group's arrival to the platform took meaningfully much time compared to control group. With regards to NR2A and NR2B receptor expressions, there is no statistically meaningful difference was detected between two groups. ($p>0,05$) When EEG records were assessed, experiment group was meaningfully greater than control group about the spike numbers. Similarly, when the average of spike's first seen time was compared, it is observed in experiment group that the time of first spike wave is significantly earlier than control group.

Consequently, there is a detrimental effect in experiment group about motivation and attention beyond locomotor activity. Also, neuronal discharge symptoms were monitorized in EEG records. In the light of these data, long term EMR exposure at wi-fi frequency may effect motivation negatively. Especially in childhood period, avoiding being exposed to EMA may prevent detrimental effects on learning and attention.

Keywords: Cognitive function, EEG, electromagnetic radiation, NMDA, water-maze test

KAYNAKLAR

1. Şeker S. Çerezci O. Elektromanyetik Alanların Biyolojik Etkileri Güvenlik Standartları ve Korunma Yöntemleri. İstanbul Boğaziçi Üniversitesi Yayınları 1991. s. 95-127.
2. Exposure to high frequency electromagnetic fields, biological effects and health consequences (100 kHz-300 GHz). Review of the Scientific Evidence and Health Consequences. Munich: International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection; 2009. <http://www.icnirp.de/PubMost.htm>. Erişim tarihi: 31.05.2011.
3. Peker ÖG. Beyin Korteksi, Beynin Zihinsel İşlevleri, Öğrenme ve Bellek (Çeviri: Hayrünisa Çavuşoğlu, Berrak Çağlayan Yeğen). Tıbbi Fizyoloji'de. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri 2007.
4. Arıcanlı N. Selektif REM Deprivasyonunun Bellek Fonksiyonları Üzerine Etkisinde Selektif Serotonin Reuptake İnhibitörü Sitalopramın Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Edirne, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2010.
5. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. Principles of Neural Science. 4th ed, New York: McGraw-Hill, Health Professions Division. 2000.
6. Tucker DM, Hartry-Speiser A, McDougal L, Luu P, deGrandpre D. Mood and spatial memory: emotion and right hemisphere contribution to spatial cognition. Biol Psychol. 1999; 50:103-25.
7. Gutbrod K, Cohen R, Maier T, Meier E. Memory for spatial and temporal order in aphasics and right hemisphere damaged patients. Cortex. 1987; 23:463-74.
8. Nunn JA, Graydon FJ, Polkey CE, Morris RG. Differential spatial memory impairment after right temporal lobectomy demonstrated using temporal titration. Brain. 1999; 122:47-59.
9. Liang KC, Hon W, Tyan YM, Liao WL. Involvement of hippocampal NMDA and AMPA receptors in acquisition, formation and retrieval of spatial memory in the Morris water maze. Chin J Physiol. 1994; 37:201-12.
10. Petrie RX, Reid IC, Stewart CA. The N-methyl-D-aspartate receptor, synaptic plasticity, and depressive disorder. A critical review. Pharmacol Ther. 2000; 87:11-25.
11. Schneggenburger R, Zhou Z, Konnerth A, Neher E. Fractional contribution of calcium to the cation current through glutamate receptor channels. Neuron. 1993; 11:133-43.

12. Coşkun Ö. Sinir dokusu modelinde analizinde gerçekçi model ve dışsal manyetik alandan etkilenme mekanizmasının analizi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik ABD Doktora Tezi, Isparta (Doç.Dr.Suat Özkorucuklu ve Yrd.Doç.Dr. Selçuk Çömlekçi) 2009.
13. Çetin T, Pencereci Ş, Uçar N. Yüksek Frekanslı (100 KHz- 300 GHz) Elektromanyetik Alanlara Maruz Kalma İle İlgili Biyolojik Etkiler ve Sağlık Sonuçları, ICNIRP 2009 Yılı Raporu.2009.
14. Stuchly MA. Health effects of exposure to electromagnetic fields. IEEE Aerospace Applicaitons Conference Proceeding. 1995: 351-68.
15. Repacholi MH. Health risks from the use of mobile phones. Toxicol Lett. 2001; 120:323-31.
16. Wiart J, Hadjem A, Gadi N, Bloch I, Wong MF, Pradier A, et al. Modeling of RF head exposure in children. Bioelectromagnetics. 2005; Suppl 7:S19-30.
17. Seidenari S, Giusti G, Bertoni L, Magnoni C, Pellacani G. Thickness and echogenicity of the skin in children as assessed by 20-MHz ultrasound. Dermatology. 2000; 201:218-22.
18. Wallaczek J. Electromagnetic Field Effects on Cells of the Immune System:The Role of Calcium Signaling. FASEB J. 1992; 6:3177-85.
19. Repacholi MH. Low-level exposure to radiofrequency electromagnetic fields: health effects and research needs. Bioelectromagnetics. 1998; 19:1-19.
20. IEGMP. 2000. Mobile Phones and Health. Report of an Independent Expert Group on Mobile Phones. UK Minster of Public Health. National Radiological Protection Board, Chilton, Oxon: www.iegmp.org.uk.
21. Sanalan Y. Nükleer Olmayan Radyasyon da Var. Elektromanyetik Kirlilik Etkileri Sempozyom Kitabı. 1999: 1-4.
22. Lai H, Singh NP. Acute low-intensity microwave exposure increases DNA single-strand breaks in rat brain cells. Bioelectromagnetics. 1995; 16:207-10.
23. Lai H, Singh NP. Single- and double-strand DNA breaks in rat brain cells after acute exposure to radiofrequency electromagnetic radiation. Int J Radiat Biol. 1996; 69:513-21.
24. Malayapa RS, Ahern EW, Struabe WL, Moros EG, Pickard WF, Roti Roti JL. Measurement of DNA damage following exposure to 2450 MHz electromagnetic radiation. Radiat Res 1997; 148:608-17.
25. ICNIRP. Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic and electromagnetic fields (up to 300 GHz). Health Phys 1998; 74:494-522.

26. Mausset-Bonnefont AL, Hirbec H, Bonnefont X, Privat A, Vignon J, de Seze R. Acute exposure to GSM 900-MHz electromagnetic fields induces glial reactivity and biochemical modifications in the rat brain. *Neurobiol Dis.* 2004; 17:445-54.
27. Aliyev F, Turkoglu C, Celiker C, Uzunhasan I. Electromagnetic interference with electrocardiogram recording of exercise test equipment. *Turk Kardiyol Dern Ars.* 2010; 38:352-4.
28. Aydin M, Cevik A, Kandemir FM, Yuksel M, Apaydin AM. Evaluation of hormonal change, biochemical parameters, and histopathological status of uterus in rats exposed to 50-Hz electromagnetic field. *Toxicol Ind Health.* 2009; 25:153-8.
29. Koyu A, Cesur G, Ozguner F, Akdogan M, Mollaoglu H, Ozen S. Effects of 900 MHz electromagnetic field on TSH and thyroid hormones in rats. *Toxicol Lett.* 2005; 157:257-62.
30. Garaj-Vrhovac V, Gajski G, Pazanin S, Sarolic A, Domijan AM, Flajs D, et al. Assessment of cytogenetic damage and oxidative stress in personnel occupationally exposed to the pulsed microwave radiation of marine radar equipment. *Int J Hyg Environ Health.* 2011; 214:59-65.
31. Tarricone L, Cito C, D'inzeo G. A GH Receptor Channels Interaction with MW Fields. *Bioelectrochemistry Bioenergetics* 1993; 30:93-102.
32. Cleary SF. Effects of Radiofrequency Radiation on Mammalian Cells and Biomolecules in vitro. Washington: American Chemical Societ 1995: 467-77.
33. Tenforde TS, Liburdy RP. Magnetic Deformation of Phospholipid Bilayers: Effects on Liposome Shape and Solute Permeability at Prephase Transition Temperatures. *Journal of Theoretical Biology* 1988; 133:385-96.
34. Allis JW, Sinha-Robinson BL. Temperature-specific inhibition of human red cell Na⁺/K⁺ ATPase by 2,450-MHz microwave radiation. *Bioelectromagnetics.* 1987; 8:203-12.
35. Phelan AM, Lange DG, Kues HA, Luty GA. Modification of membrane fluidity in melanin-containing cells by low-level microwave radiation. *Bioelectromagnetics.* 1992; 13:131-46.
36. Byus CV, Lundak RL, Fletcher RM, Adey WR. Alterations in protein kinase activity following exposure of cultured human lymphocytes to modulated microwave fields. *Bioelectromagnetics.* 1984; 5:341-51.
37. Byus CV, Kartun K, Pieper S, Adey WR. Increased ornithine decarboxylase activity in cultured cells exposed to low energy modulated microwave fields and phorbol ester tumor promoters. *Cancer Res.* 1988; 48:4222-6.

38. Salzinger K. Behavioral effects of electromagnetic fields in animals. In: Biological Effects of Electric and Magnetic Fields. Carpenter DO, Ayrapetyan S. Eds. vol. 1. Academic Press, New York, 1994: p. 315-331.
39. UNEP:WHO:IRPA EFH-G. Environmental Health Criteria 137, United Nations Environment Programme. World Health Organization, International Radiation Protection Association. Geneva, World Health Organization. 1993.
40. Royal Society of Canada. A review of the potential health risks of radiofrequency fields from wireless telecommunications devices. An Expert Panel Report. Royal Society of Canada for Health Canada, Ottawa, Royal Society of Canada, RSC EPR. 1999:99-1.
41. D'Andrea JA. Behavioral evaluation of microwave irradiation. Bioelectromagnetics. 1999; Suppl 4:64-74.
42. Yıldırım M. Tıp Öğrencileri İçin Klinik Nöroanatomî, 4. basımdan çeviri. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti. 2000.
43. Gerard JT, Nicholas P, Anagnostakos. Principles of anatomy and physiology. Sixth edition. 1990: 331.
44. Seeley RR, Stephens TD, Tate P. Anatomy and physiology, International edition. 1999: 378.
45. Adel KA, Ronald AB. Functional neuroanatomy text and atlas. 1998.
46. Dere F. Nöroanatomî ve Fonksiyonel Nöroloji birinci baskı. 1990:90.
47. Keleş E, Çepni S. Beyin ve Öğrenme. Türk Fen Eğitimi Dergisi 2006; 3:66-82.
48. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall WC, Lamantia AS, McNamara JO, et al. Neuroscience 3rd Ed. Chapter 30: Memory. . Sinauer Associates Inc. 2004.
49. Öncel GB. Deneysel Beyin İskemi Reperfüzyon Modelinde Öğrenme ve Hafıza Değişikliklerine Ghrelinin Etkisi ve Mekanizmaları. Yüksek Lisans Tezi, Antalya. Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2011.
50. Squire LR. Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. Neurobiol Learn Mem. 2004; 82:171-7.
51. Ellis KA, Nathan PJ. The pharmacology of human working memory. Int J Neuropsychopharmacol. 2001; 4:299-313.
52. <http://egitimbilimleri.net/ogrenme-psikolojisi/bilissel-ogrenme-yaklasimi-bilgiyi-isleme-kurami/293-egitimbilimleri.html> (Erişim tarihi 23.08.2012).
53. Ganong WF. Review of Medical Physiology. 13th Ed, Norwalk, Conn. Appleton & Lange. 1987.

54. Stewart CA, Morris GM. Behavioral Neuroscience, A Practical Approach Volume 1, Chapter 9, The watermaze. 1993: 107-22.
55. Ozawa S, Haruyuki K. Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. *Progress in Neurobiology* 1987; 54:581-618.
56. Heresco U. Glutamatergic neurotransmission modulation mechanisms of antipsychotic atypicality. *Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry* 2003; 23:1113-23.
57. Goebel DJ, Poosch MS. NMDA receptor subunit gene expression in the rat brain: a quantitative analysis of endogenous mRNA levels of NR1Com, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D and NR3A. *Brain Res Mol Brain Res.* 1999; 69:164-70.
58. Carroll RC, Zukin RS. NMDA-receptor trafficking and targetting: Implications for synaptic transmission and plasticity. *Trends in Neuroscience.* 2002; 25:571-7.
59. Cull-Candy S, Brickley SG. NMDA receptors. *Encyclopedia of Life Sciences.* 2001.
60. Meldrum BS, Akbar MT, Chapman AG. Glutamate receptors and transporters in genetic and acquired models of epilepsy. *Epilepsy Res.* 1999; 36:189-204.
61. Anwyl R. Metabotropic glutamate receptors: electrophysiological properties and role in plasticity. *Brain Res Brain Res Rev.* 1999;29 :83-120.
62. Smith Y, Charara A, Paquet M, Kieval JZ, Pare JF, Hanson JE, et al. Ionotropic and metabotropic GABA and glutamate receptors in primate basal ganglia. *J Chem Neuroanat.* 2001; 22:13-42.
63. Coyle JT, Bird SJ, Evans RH, Gulley RL, Nadler JV, Nicklas WJ, et al. Excitatory amino acid neurotoxins: selectivity, specificity, and mechanisms of action. Based on an NRP one-day conference held June 30, 1980. *Neurosci Res Program Bull.* 1981; 19:1-427.
64. Wittenberg GM, Tsien JZ. An emerging molecular and cellular framework for memory processing by the hippocampus. *Trends Neurosci.* 2002; 25:501-5.
65. Yamakura T, Shimoji K. Subunit- and site-specific pharmacology of the NMDA receptor channel. *Prog Neurobiol.* 1999; 59:279-98.
66. Khanduja KL, Sohi KK, Pathak CM, Kaushik G. Nimesulide inhibits lipopolysaccharide-induced production of superoxide anions and nitric oxide and iNOS expression in alveolar macrophages. *Life Sci.* 2006; 78:1662-9.
67. Candelario-Jalil E, Gonzalez-Falcon A, Garcia-Cabrera M, Leon OS, Fiebich BL. Wide therapeutic time window for nimesulide neuroprotection in a model of transient focal cerebral ischemia in the rat. *Brain Res.* 2004; 1007:98-108.

68. du Bois TM, Huang XF. Early brain development disruption from NMDA receptor hypofunction: relevance to schizophrenia. *Brain Res Rev.* 2007; 53:260-70.
69. Feldman DE, Knudsen EI. Experience-dependent plasticity and the maturation of glutamatergic synapses. *Neuron.* 1998; 20:1067-71.
70. Ben-Ari Y, Khazipov R, Leinekugel X, Caillard O, Gaiarsa JL. GABAA, NMDA and AMPA receptors: a developmentally regulated 'menage a trois'. *Trends Neurosci.* 1997; 20:523-9.
71. Contestabile A. Roles of NMDA receptor activity and nitric oxide production in brain development. *Brain Res Brain Res Rev.* 2000; 32:476-509.
72. Haberny KA, Paule MG, Scallet AC, Sistare FD, Lester DS, Haning JP, et al. Ontogeny of the N-methyl-D-aspartat (NMDA) receptor system and susceptibility to neurotoxicity. *Toxicol Sci.* 2007; 68:9-17.
73. Meyer JS, Slotkin TA, Buckley NE, Sircar R. Receptors for abused drugs: development and plasticity. *Neurotoxicol Teratol.* 2000; 22:773-84.
74. Naziroglu M, Gumral N. Modulator effects of L-carnitine and selenium on wireless devices (2.45 GHz)-induced oxidative stress and electroencephalography records in brain of rat. *Int J Radiat Biol.* 2009; 85:680-9.
75. Gumral N, Naziroglu M, Koyu A, Ongel K, Celik O, Saygin M, et al. Effects of selenium and L-carnitine on oxidative stress in blood of rat induced by 2.45-GHz radiation from wireless devices. *Biol Trace Elem Res.* 2009; 132:153-63.
76. Gajsek P, Ziriak JM, Hurt WD, Walters TJ, Mason PA. Predicted SAR in Sprague-Dawley rat as a function of permittivity values. *Bioelectromagnetics.* 2001 ;22:384-400.
77. Gajsek P, Walters TJ, Hurt WD, Ziriak JM, Nelson DA, Mason PA. Empirical validation of SAR values predicted by FDTD modeling. *Bioelectromagnetics.* 2002; 23:37-48.
78. Taflove A. *Computational Electromagnetics—The Finite-Difference Time-Domain Method* (London: Artech House Publishers). 1995.
79. Findlay RP, Dimbylow PJ. SAR in a child voxel phantom from exposure to wireless computer networks (Wi-Fi). *Phys Med Biol.* 2010; 55:405-11.
80. Pinto R, Lopresto V, Galloni P, Marino C, Mancini S, Lodato R, et al. Dosimetry of a set-up for the exposure of newborn mice to 2.45-GHz WiFi frequencies. *Radiat Prot Dosimetry.* 2010; 140:326-32.

81. Peyman A, Rezazadeh AA, Gabriel C. Changes in the dielectric properties of rat tissue as a function of age at microwave frequencies. *Phys Med Biol.* 2001; 46:1617-29.
82. Gabriel C, Gabriel S, Corthout E. The dielectric properties of biological tissues: I. Literature survey. *Phys Med Biol.* 1996; 41:2231-49.
83. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods.* 1984; 11:47-60.
84. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951; 193:265-75.
85. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970; 227:680-5.
86. Delibas N, Doguc DK, Sutcu R, Eroglu E, Gokalp O. EFFECT of nicotine on hippocampal nicotinic acetylcholine alpha7 receptor and NMDA receptor subunits 2A and 2B expression in young and old rats. *Int J Neurosci.* 2005; 115:1151-63.
87. Liu LO, Laabich A, Hardison A, Cooper NG. Expression of ionotropic glutamate receptors in the retina of the rdta transgenic mouse. *BMC Neurosci.* 2001; 2:7.
88. Koyu A, Naziroglu M, Ozguner F, Yilmaz HR, Uz E, Cesur G. Caffeic acid phenethyl ester modulates 1800 MHz microwave-induced oxidative stress in rat liver. *Electromagnetic Biology And Medicine* 2005; 24:135-42.
89. Maoquan LI, Yanyan W, Yanwen Z, Zhou Z, Zhengping YU. Elevation of plasma corticosterone levels and hippocampal glucocorticoid receptor translocation in rats: a potential mechanism for cognition impairment following chronic low-power-density microwave exposure. *J Radial Res* 2008; 49:163-70.
90. Crouzier D, Testylier G, Perrin A, Debouzy JC. [Which neurophysiologic effects at low level 2.45 GHz RF exposure?]. *Pathol Biol (Paris).* 2007; 55:235-41.
91. Uusitupa T, Laakso I, Ilvonen S, Nikoskinen K. SAR variation study from 300 to 5000 MHz for 15 voxel models including different postures. *Phys Med Biol.* 2010; 55:1157-76.
92. Dimbylow P, Findlay R. The effects of body posture, anatomy, age and pregnancy on the calculation of induced current densities at 50 Hz. *Radiat Prot Dosimetry.* 2010; 139:532-8.
93. Conil E, Hadjem A, Lacroux F, Wong MF, Wiart J. Variability analysis of SAR from 20 MHz to 2.4 GHz for different adult and child models using finite-difference time-domain. *Phys Med Biol.* 2008; 53:1511-25.

94. Polk C, Postow E. Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields, 2nd ed, Florida, USA, CRC Press. 1996.
95. Kan P, Simonsen SE, Lyon JL, Kestle JR. Cellular phone use and brain tumor: a meta-analysis. *J Neurooncol.* 2008; 86:71-8.
96. Vorobyov V, Janac B, Pesic V, Prolic Z. Repeated exposure to low-level extremely low frequency-modulated microwaves affects cortex-hypothalamus interplay in freely moving rats: EEG study. *Int J Radiat Biol.* 2010; 86:376-83.
97. Petrova EV, Guliaeva NV, Titarov SI, Rozhnov Iu V, Koval'zon VM. [Effect of impulse extrabroad-band electromagnetic radiation on electroencephalogram and sleep in laboratory animals]. *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova.* 2003; 89:786-94.
98. Thuroczy G, Kubinyi G, Bodo M, Bakos J, Szabo LD. Simultaneous response of brain electrical activity (EEG) and cerebral circulation (REG) to microwave exposure in rats. *Rev Environ Health.* 1994; 10:135-48.
99. D'Costa H, Trueman G, Tang L, Abdel-rahman U, Abdel-rahman W, Ong K, et al. Human brain wave activity during exposure to radiofrequency field emissions from mobile phones. *Australas Phys Eng Sci Med.* 2003; 26:162-7.
100. Croft RJ, Chandler JS, Burgess AP, Barry RJ, Williams JD, Clarke AR. Acute mobile phone operation affects neural function in humans. *Clin Neurophysiol.* 2002; 113:1623-32.
101. Roschke J, Mann K. No short-term effects of digital mobile radio telephone on the awake human electroencephalogram. *Bioelectromagnetics.* 1997; 18:172-6.
102. Hietanen M, Kovala T, Hamalainen AM. Human brain activity during exposure to radiofrequency fields emitted by cellular phones. *Scand J Work Environ Health.* 2000; 26:87-92.
103. Kleinlogel H, Dierks T, Koenig T, Lehmann H, Minder A, Berz R. Effects of weak mobile phone - electromagnetic fields (GSM, UMTS) on well-being and resting EEG. *Bioelectromagnetics.* 2008; 29:479-87.
104. Kramarenko AV, Tan U. Effects of high-frequency electromagnetic fields on human EEG: a brain mapping study. *Int J Neurosci.* 2003; 113:1007-19.
105. Huber R, Treyer V, Schuderer J, Berthold T, Buck A, Kuster N, et al. Exposure to pulse-modulated radio frequency electromagnetic fields affects regional cerebral blood flow. *Eur J Neurosci.* 2005; 21:1000-6.
106. Nittby H, Grafstrom G, Eberhardt JL, Malmgren L, Brun A, Persson BR, et al. Radiofrequency and extremely low-frequency electromagnetic field effects on the blood-brain barrier. *Electromagn Biol Med.* 2008; 27:103-26.

107. Cosquer B, Vasconcelos AP, Frohlich J, Cassel JC. Blood-brain barrier and electromagnetic fields: effects of scopolamine methylbromide on working memory after whole-body exposure to 2.45 GHz microwaves in rats. *Behav Brain Res.* 2005; 161:229-37.
108. Kuribayashi M, Wang J, Fujiwara O, Doi Y, Nabae K, Tamano S, et al. Lack of effects of 1439 MHz electromagnetic near field exposure on the blood-brain barrier in immature and young rats. *Bioelectromagnetics.* 2005; 26:578-88.
109. Haarala C, Bjornberg L, Ek M, Laine M, Revonsuo A, Koivisto M, et al. Effect of a 902 MHz electromagnetic field emitted by mobile phones on human cognitive function: A replication study. *Bioelectromagnetics.* 2003; 24:283-8.
110. Besset A, Espa F, Dauvilliers Y, Billiard M, de Seze R. No effect on cognitive function from daily mobile phone use. *Bioelectromagnetics.* 2005; 26:102-8.
111. Freude G, Ullsperger P, Eggert S, Ruppe I. Effects of microwaves emitted by cellular phones on human slow brain potentials. *Bioelectromagnetics.* 1998; 19:384-7.
112. Trunk A, Stefanics G, Zentai N, Kovacs-Balint Z, Thuroczy G, Hernadi I. No effects of a single 3G UMTS mobile phone exposure on spontaneous EEG activity, ERP correlates, and automatic deviance detection. *Bioelectromagnetics.* 2013; 34:31-42.
113. Bas O, Odaci E, Mollaoglu H, Ucok K, Kaplan S. Chronic prenatal exposure to the 900 megahertz electromagnetic field induces pyramidal cell loss in the hippocampus of newborn rats. *Toxicol Ind Health.* 2009; 25:377-84.
114. Odaci E, Bas O, Kaplan S. Effects of prenatal exposure to a 900 MHz electromagnetic field on the dentate gyrus of rats: a stereological and histopathological study. *Brain Res.* 2008; 1238:224-9.
115. Sonmez OF, Odaci E, Bas O, Kaplan S. Purkinje cell number decreases in the adult female rat cerebellum following exposure to 900 MHz electromagnetic field. *Brain Res.* 2010; 1356:95-101.
116. Wang B, Lai H. Acute exposure to pulsed 2450-MHz microwaves affects water-maze performance of rats. *Bioelectromagnetics.* 2000; 21:52-6.
117. Mausset AL, de Seze R, Montpeyroux F, Privat A. Effects of radiofrequency exposure on the GABAergic system in the rat cerebellum: clues from semi-quantitative immunohistochemistry. *Brain Res.* 2001; 912:33-46.
118. Cassel JC, Cosquer B, Galani R, Kuster N. Whole-body exposure to 2.45 GHz electromagnetic fields does not alter radial-maze performance in rats. *Behav Brain Res.* 2004; 155:37-43.

119. Li M, Wang Y, Zhang Y, Zhou Z, Yu Z. Elevation of plasma corticosterone levels and hippocampal glucocorticoid receptor translocation in rats: a potential mechanism for cognition impairment following chronic low-power-density microwave exposure. *J Radiat Res.* 2008; 49:163-70.
120. Sauter C, Dorn H, Bahr A, Hansen ML, Peter A, Bajbouj M, et al. Effects of exposure to electromagnetic fields emitted by GSM 900 and WCDMA mobile phones on cognitive function in young male subjects. *Bioelectromagnetics.* 2011; 32:179-90.
121. Barth A, Winker R, Ponocny-Seliger E, Mayrhofer W, Ponocny I, Sauter C, et al. A meta-analysis for neurobehavioural effects due to electromagnetic field exposure emitted by GSM mobile phones. *Occup Environ Med.* 2008; 65:342-6.
122. Barth A, Ponocny I, Gnamb T, Winker R. No effects of short-term exposure to mobile phone electromagnetic fields on human cognitive performance: A meta-analysis. *Bioelectromagnetics.* 2011.
123. Bouji M, Lecomte A, Hode Y, de Seze R, Villegier AS. Effects of 900 MHz radiofrequency on corticosterone, emotional memory and neuroinflammation in middle-aged rats. *Exp Gerontol.* 2012; 47:444-51.
124. Li YH, Lu GB, Shi CH, Zhang Z, Xu Q. [Effects of 2000 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$; electromagnetic radiation on expression of immunoreactive protein and mRNA of NMDA receptor 2A subunit in rats hippocampus]. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi.* 2011; 27:15-8.
125. Sinha RK, Aggarwal Y, Upadhyay PK, Dwivedi A, Keshri AK, Das BN. Neural network-based evaluation of chronic non-thermal effects of modulated 2450 MHz microwave radiation on electroencephalogram. *Ann Biomed Eng.* 2008; 36:839-51.
126. Frey AH, Feld SR. Avoidance by rats of illumination with low power nonionizing electromagnetic energy. *J Comp Physiol Psychol.* 1975; 89:183-8.
127. Frey AH. On the Nature of Electromagnetic Field Interactions with Biological Systems, Texas, Austin, Medical Intelligence Unit, RG Landes Company. 1994.
128. Stern S. Behavioral effects of microwaves. *Neurobehav Toxicol.* 1980; 2:49-58.
129. Mitchell CL, McRee DI, Peterson NJ, Tilson HA. Some behavioral effects of short term exposure of rats to 2.45 GHz microwave radiation. *Bioelectromagnetics.* 1998: 259-68.
130. Raslear TG, Akyel Y, Serafini R, Bates F, Belt M. Memory consolidation in the rat following high-power microwave irradiation, Proceedings of the 13th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. 1991; 13:958.

131. Huang CT, Liu P, Wu HX, Wang JL, Wu XN. [Effects of NMDA receptor expression in rat's hippocampus after exposure to 1800 MHz radiofrequency field]. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*. 2006; 40:21-4.
132. Zhang Y, Yu Z, Xie Y, Fang Q. [Effects of microwave irradiation on NMDA receptor subunits mRNA expressions in rat hippocampus]. *Wei Sheng Yan Jiu*. 2008; 37:25-8.
133. Merrit JH, Chamness AF, Hartzell RH, Allen SJ. Orientation Effects on Microwave Induced Hyperthermia and Neurochemical Correlates. *J Microwave Power*. 1977; 12:167-72.
134. Ilhan A, Gurel A, Armutcu F, Kamisli S, Iraz M, Akyol O, et al. Ginkgo biloba prevents mobile phone-induced oxidative stress in rat brain. *Clin Chim Acta*. 2004; 340:153-62.